

# 高效液相色谱法测定炎痛净乳膏中双氯芬酸钠和苯佐卡因的含量

茅志安 姚健康<sup>1</sup> 张 艳(嘉兴 314000 武警浙江总队医院; <sup>1</sup> 浙江嘉兴第一医院)

**摘要** 目的: 测定炎痛净乳膏中双氯芬酸钠和苯佐卡因的含量。方法: 高效液相色谱法, 甲醇为提取溶剂, 地西洋为内标, Nova-PakC<sub>18</sub> 色谱柱, 甲醇-水-冰醋酸(80: 20: 0.5) 为流动相, 检测波长为 283nm。结果: 双氯芬酸钠和苯佐卡因在 5 $\mu$ g/ml~40 $\mu$ g/ml 范围内, 其浓度与峰面积均呈良好的线性关系( $r=0.9999$ ), 平均回收率分别为 101.0%, RSD=1.21%; 99.8%, RSD=0.62%。结论: 本法专属性强, 操作简便, 结果准确。

**关键词** 双氯芬酸钠; 苯佐卡因; HPLC

## Simultaneous determination of diclofenac sodium and benzocain in Yantongjing cream by HPLC

Mao Zhian(MAO ZA), Yao Jiankang(Yao JK), Zhang Yan(Zhang Y)(Zhejiang General Troops Hospital of The Chinese People's Armed Police, Jiaxing 314000)

**ABSTRACT OBJECTIVE:** To separate and determine diclofenac sodium and benzocain in yantongjing cream. **METHODS:** A HPLC method was used. Chromatographic conditions included Nova-pak C<sub>18</sub> column, mobile phase of methanol:water:glacial acetic acid (80: 20: 0.5) and detector wavelength of 283nm. Diazepam was used as internal standard. **RESULTS:** Peak area and concentration had good linear relationship in the range of 5 $\mu$ g/ml~40 $\mu$ g/ml for diclofenac sodium and benzocain ( $r=0.9999$ ). The average recoveries of diclofenac sodium and benzocain were 101.0% (RSD=1.21%) and 99.8% (RSD=0.62%). **CONCLUSION:** The method is simple, sensitive and accurate.

**KEY WORDS** diclofenac sodium, benzocain, HPLC

炎痛净乳膏是由双氯芬酸钠和苯佐卡因为主要成份组成的复方外用制剂, 用于治疗急慢性软组织损伤、软组织风湿性疾病和骨性关节炎等疾病。由于其成份复杂且相互干扰, 难以用常规的容量分析和紫外分光光度法测定含量。本文采用 HPLC 法, 以地西洋为内标, 同时测定两主成份的含量, 方法简便、灵敏, 结果准确。

### 1 仪器和试剂

Waters600E 高效液相色谱仪; Waters486 紫外检测器; WatersPC800 色谱工作站; 7530G 紫外可见分光光度计。

双氯芬酸钠(宁波思迈克化学制药有限公司), 苯佐卡因(广东东西江制药厂), 地西洋(上海旭东海普药业有限公司)。以上对照品经面积归一法测定含量均在 99.8% 以上。炎痛净乳膏(自制), 甲醇(色谱纯), 冰醋酸(分析纯)。

### 2 实验方法和结果

#### 2.1 检测波长的选择

以甲醇为溶剂, 配制一定浓度的双氯芬酸钠、苯佐卡因、地西洋溶液及空白乳膏(未加双氯芬酸钠和苯佐卡因)提取液, 于波长 200~400nm 范围扫描。结果双氯芬酸钠于

283nm、苯佐卡因于 290nm 处有最大吸收, 根据药物浓度及吸收系数, 确定测定波长为 283nm, 地西洋在此有吸收而空白乳膏提取液几乎没有吸收。

#### 2.2 色谱条件

色谱柱: Nova-PakC<sub>18</sub>(3.9mm $\times$ 150mm, 4 $\mu$ m); 流动相: 甲醇-水-冰醋酸(80: 20: 0.5); 流速: 0.5ml/min; 检测波长: 283nm; 检测器灵敏度: 0.05A<sub>u</sub>f<sub>s</sub>; 柱温: 室温; 进样量: 10 $\mu$ l。

#### 2.3 标准溶液的配制

混合对照液: 精密称取双氯芬酸钠和苯佐卡因各约 50mg 于 100ml 量瓶中, 用甲醇溶解稀释至刻度。内标溶液: 精密称取地西洋 250mg 于 50ml 量瓶中, 用甲醇溶解稀释至刻度。

#### 2.4 系统适应性试验

精密量取对照液及内标溶液各 2ml, 置 50ml 量瓶中, 用流动相稀释至刻度, 混匀, 进样 10 $\mu$ l, 色谱图见图 1。苯佐卡因、地西洋、双氯芬酸钠的保留时间分别为 2.58, 3.94, 5.07min。理论塔板数分别为 1500, 1800, 3000。地西洋与苯佐卡因和双

氯芬酸钠的分离度分别为 3.0, 2.1, 符合中国药典规定。

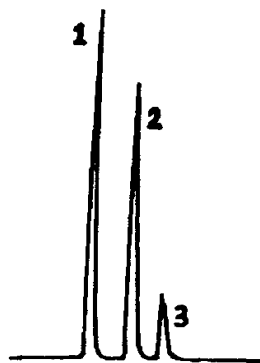


图 1 色谱图

1- 苯佐卡因; 2- 地西洋; 3- 双氯芬酸钠

## 2.5 标准曲线的制备

精密量取混合对照液 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 3.0, 4.0 ml, 置 50 ml 量瓶中, 各加 2 ml 内标溶液, 用流动相稀释至刻度, 混匀。进样 10  $\mu$ l, 以各组分与内标的峰面积比(A)对各自的浓度(C)进行回归, 两者在 5.0  $\mu$ g/ml ~ 40  $\mu$ g/ml 浓度范围内均呈良好的线性关系, 线性方程为: 双氯芬酸钠:  $C = 71.9714A + 0.2972$ ,  $r = 0.9999$ ; 苯佐卡因:  $C = 21.9386A - 0.2973$ ,  $r = 0.9999$ 。

## 2.6 干扰性试验

取空白乳膏约 2.0g, 照样品测定项下方法测定, 结果空白乳膏不干扰主成分的测定。

## 2.7 回收率试验

取空白乳膏 5 份, 各 2.0g, 分别精确加入处方量的双氯芬酸钠、苯佐卡因, 按样品测定项下方法测定, 结果双氯芬酸钠和苯佐卡因的平均回收率及 RSD( $n = 5$ ) 分别为 101.0%, 1.21%; 99.8%, 0.62%。

## 2.8 精密度试验

取同一份样品测定项下待测溶液, 重复进样 6 次, 结果双氯芬酸钠和苯佐卡因的 RSD 分别为 0.27% 和 0.32%, 精密度良好。

## 2.9 稳定性试验

取同一份样品测定项下溶液, 分别在 0, 4, 8, 12 和 16h, 进样测定, 结果双氯芬酸钠和苯佐卡因的 RSD( $n = 5$ ) 分别为 0.38%, 0.37%。可见待测溶液在 16h 内稳定。

## 2.10 重现性试验

取同一批号的炎痛净乳膏 5 份, 精密称定, 照样品测定项下方法测定双氯芬酸钠和苯佐卡因的含量, 结果两者日内 RSD 分别为 0.52% 和 0.69%。用同样方法连续测定 5 天, 以每天的平均含量求得日间 RSD 分别为 0.65% 和 1.47%, 表明方法重现性良好。

## 2.11 样品测定

取 3 批炎痛净乳膏各约 2.0g, 精密称定, 置 100 ml 量瓶中, 加甲醇 40 ml, 于 50 $^{\circ}$ C 水浴溶解, 冰浴冷却后加甲醇至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液 1 ml, 置 50 ml 量瓶中, 加内标溶液 2 ml, 用流动相稀释至刻度, 摇匀, 离心后进样 10  $\mu$ l, 记录色谱图, 按回归方程计算含量, 结果见表 1。

表 1 样品测定结果( $n = 3$ )

样品编号	标示含量(%)	RSD(%)
双氯芬酸钠	1	97.10
	2	95.88
	3	96.76
苯佐卡因	1	102.49
	2	92.64
	3	95.37

## 3 讨论

3.1 实验表明, 提高流动相中甲醇的量, 可以缩短保留时间, 同时改善双氯芬酸钠的峰形。加入一定量的冰醋酸, 可有效地降低双氯芬酸钠的拖尾因子。

3.2 用甲醇将炎痛净乳膏在微热情况下溶解, 冷却后过滤, 这样既保证主成分提取完全, 又可使基质充分析出滤除。另外, 由于提取溶剂(甲醇)与稀释剂(流动相)不同而产生微浑现象, 可进行离心后进样。