

# 双波长分光光度法测定非等比例多组分制剂中的间苯二酚含量<sup>Δ</sup>

金锐\*,曾蔚欣,杨平,段松冷,刘俊丽,田佳懿,孙路路<sup>#</sup>(首都医科大学附属北京世纪坛医院药剂科,北京100038)

中图分类号 R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)41-3902-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.41.20

**摘要** 目的:建立非等比例多组分制剂[间苯二酚-水杨酸(5:1)]中间苯二酚的含量测定方法。方法:采用双波长分光光度法,以282 nm(间苯二酚最大吸收波长)为测定波长,320 nm为参比波长,测定并计算间苯二酚的含量。结果:间苯二酚质量浓度在15~40 μg/ml范围内与吸光度差值的线性关系良好( $r=0.999\ 2$ );间苯二酚的平均回收率为100.32%,RSD=1.67%( $n=3$ )。结论:本方法快速简便,结果准确。非等比例多组分制剂中,宜优先选择高浓度成分进行含量测定,并使得测定波长下成分之间的吸光度值差异尽可能小。

**关键词** 双波长分光光度法;非等比例多组分制剂;间苯二酚;水杨酸;含量测定

## Content Determination of Dioxybenzene in Unequal-proportional Multi-component Preparation by Dual-wavelength Spectrophotometry

JIN Rui, ZENG Wei-xin, YANG Ping, DUAN Song-leng, LIU Jun-li, TIAN Jia-yi, SUN Lu-lu (Dept. of Pharmacy, Beijing Shijitan Hospital of Capital Medical University, Beijing 100038, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish the method for the content determination of dioxybenzene in unequal-proportional multi-component preparation [dioxybenzene-salicylic acid (5 : 1)]. METHODS: The content of dioxybenzene was determined and calculated by dual-wavelength spectrophotometry using 282 nm (maximum absorption wavelength of dioxybenzene) as detection wavelength and 320 nm as reference wavelength. RESULTS: The linear relationship of dioxybenzene in the range of 15-40 μg/ml to the absorbance difference was good ( $r=0.999\ 2$ ). Average recovery of dioxybenzene was 100.32% (RSD=1.67%,  $n=3$ ). CONCLUSIONS: The method is rapid, simple and accurate. The high concentration ingredient in the unequal-proportional multi-component preparation should be prior for the content determination. The detection wavelength should be selected to minimum the absorbance difference between ingredients as much as possible.

**KEYWORDS** Dual-wavelength spectrophotometry; Unequal-proportional multicomponent preparation; Dioxybenzene; Salicylic acid; Content determination

间苯二酚是临床常用的杀菌止痒药物,具有一定毒性,常与苯酚、水杨酸、苯甲酸等药物联合制成外用洗剂,例如复方间苯二酚洗剂、复方薄荷脑洗剂、复方水杨酸擦剂等。2010年版《中国药典》记载间苯二酚的含量测定方法为溴量法<sup>[1]</sup>,其也成为《中国医院制剂规范》收录的复方间苯二酚洗剂的质量控制方法。但该方法操作烦琐,溴滴定液因稳定性差也较少使用,且该方法最终只能得到间苯二酚与水杨酸的总量<sup>[2]</sup>,故不适合医院制剂准确、快速、高效检验的要求。近几年,双波长分光光度法、高效液相色谱法等新方法逐渐用于含间苯二酚的多组分复方制剂的含量测定与质量控制<sup>[3-5]</sup>,并取得了良好效果。但是,此类研究大多涉及2种等比例物质的同时测定,目前缺

少针对非等比例情况的研究。本研究选择北京市《医疗单位制剂规程》收录的复方间苯二酚洗剂(处方组成:间苯二酚50 g、水杨酸10 g、蓖麻油50 ml,加乙醇至1 000 ml)<sup>[6]</sup>,采用双波长分光光度法,对其中的主要成分间苯二酚进行含量测定研究,并探讨非等比例情况下的一些特殊问题。

### 1 材料

#### 1.1 仪器

8453E紫外-可见分光光度计(美国惠普公司)。

#### 1.2 药品与试剂

复方间苯二酚洗剂(本院制剂室,批号:20130723、20130724、20130725,含5%间苯二酚、1%水杨酸,包装规格:每瓶30 ml,密封避光);间苯二酚(国药集团化学试剂有限公司,批号:20120427,分析纯);水杨酸(镇江前进化工厂,批号:121003,药用级);蓖麻油(湖南尔康制药股份有限公司,批号:000220121101,药用级);95%乙醇为分析纯。

### 2 方法与结果

#### 2.1 各组分吸收光谱的测定及波长选择

依照处方比例[间苯二酚-水杨酸(5:1)],分别精密称取间苯二酚、水杨酸,用95%乙醇分别配制成质量浓度为25.5 μg/ml

<sup>Δ</sup> 基金项目:首都卫生发展科研专项重点攻关项目——医院制剂注册标准研究(No.首发2011-2008-01);北京市食品药品监督管理局项目:北京市医疗机构制剂应急品种质量标准及应急响应预案研究、北京市医疗机构制剂质量标准研究

\* 药师,博士。研究方向:药品质量和合理用药。电话:010-63926353。E-mail:jinrui0441604@126.com

<sup>#</sup> 通信作者:主任药师,硕士研究生导师。研究方向:医院药学和临床药学。电话:010-63926362。E-mail:sunlulu@126.com

的纯标准品液;精密量取蓖麻油,依照处方组成等比例稀释,配制含量为5%的纯品液并稀释2 000倍。在190~400 nm波长范围内扫描,得紫外吸收光谱图。结果,间苯二酚在276、282 nm波长处具有最大吸收,水杨酸在303 nm波长处具有最大吸收,而蓖麻油成分则对以上波长范围内两者的测定影响极小。由于水杨酸在282 nm波长处的吸光度值相对较大,且与320 nm波长处的吸光度值形成良好的对称关系,故选择282 nm作为间苯二酚的测定波长,选择320 nm作为参比波长。光谱图见图1。

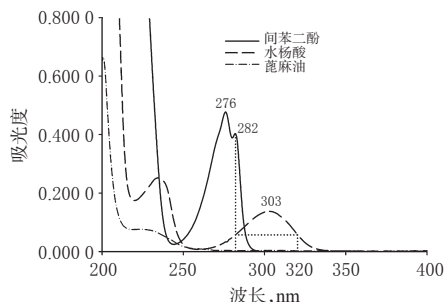


图1 紫外吸收光谱图

Tab 1 UV absorption spectrum

## 2.2 标准曲线的制备

精密称取间苯二酚0.500 g、水杨酸0.100 g,置于100 ml量瓶中,加95%乙醇适量溶解,继续加至刻度,摇匀,制成对照品初液。分别精密量取此液0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8 ml,置于100 ml量瓶中,加95%乙醇至刻度,摇匀,制成含间苯二酚分别为15、20、25、30、35、40 μg/ml的对照品液。依照《中国药典》紫外-可见分光光度法<sup>[1]</sup>,以空白溶剂(95%乙醇)为对照,分别在282、320 nm波长处测定吸光度,计算间苯二酚吸光度差值 $\Delta A = A_{282} - A_{320}$ 。以此吸光度差值为横坐标(x),以间苯二酚质量浓度为纵坐标(y)作标准曲线,得到线性回归方程为: $y = 68.726 8x - 2.992 9 (r = 0.999 2)$ 。结果表明,间苯二酚检测质量浓度范围为15~40 μg/ml。

## 2.3 回收率试验

依照处方比例,精密称取间苯二酚0.500 g、水杨酸0.100 g,精密量取蓖麻油0.5 ml,置于100 ml量瓶中制成供试品溶液。精密量取此溶液并稀释至间苯二酚在20~30 μg/ml范围内(标准含量的80%、100%和120%)。以空白溶剂为对照,分别在282、320 nm波长处测定吸光度,计算吸光度差值。将吸光度差值数据代入标准曲线,计算回收率,结果见表1。

表1 回收率试验结果(n=3)

Tab 1 Results of recovery tests(n=3)

加入量, μg/10 ml	测得量, μg/10 ml	回收率, %	平均回收率, %	RSD, %
2.000 0	2.029 2	101.46		
1.975 0	1.946 7	98.57		
2.000 0	1.970 1	98.50		
2.500 0	2.530 9	101.24		
2.525 0	2.577 6	102.08	100.32	1.67
2.500 0	2.444 3	97.77		
2.975 0	2.998 9	100.80		
3.000 0	3.069 0	102.30		
3.000 0	3.004 4	100.15		

## 2.4 精密度试验

依照处方比例,精密称取并配制间苯二酚占标示量100%

的供试品溶液,平行取6份溶液,以空白溶剂为对照,分别在282、320 nm波长处测定吸光度,计算间苯二酚含量。结果显示,间苯二酚含量变化很小,RSD=0.46%(n=6)。

## 2.5 稳定性试验

依照处方比例,精密称取并分别配制间苯二酚占标示量80%、100%和120%的供试品溶液,密闭,阴凉避光处保存。以空白溶剂为对照,分别在保存1、2、4、8、12、24 h后于282、320 nm波长处测定吸光度,计算间苯二酚含量。结果显示,间苯二酚含量值变化很小,RSD=0.61%(n=6)。

## 2.6 样品含量测定

精密量取3个不同批次的复方间苯二酚洗剂1 ml,置于100 ml量瓶中,加95%乙醇至刻度,摇匀。精密量取此液5 ml,置于100 ml量瓶中,加95%乙醇至刻度,摇匀,制成供试品溶液。同时,采用相同溶剂,配制含间苯二酚25 μg/ml、水杨酸5 μg/ml的对照品溶液。以空白溶剂为对照,分别在282、320 nm波长处测定供试品溶液吸光度 $A_{S282}$ 、 $A_{S320}$ 和对照品溶液吸光度 $A_{R282}$ 、 $A_{R320}$ ,计算吸光度差值 $\Delta A_s = A_{S282} - A_{S320}$ 和 $\Delta A_r = A_{R282} - A_{R320}$ ,按公式 $c = \Delta A_s / \Delta A_r \times 5.0$ 计算间苯二酚含量,结果见表2。

表2 样品含量测定结果(%)

Tab 2 Results of content determination of samples(%)

批号	含量	标示含量	标示含量平均值	RSD
20130723	4.888 6	97.77		
20130724	4.976 5	99.53	99.37	1.54
20130725	5.041 1	100.82		

## 3 讨论

双波长分光光度法是药品检验和环境分析中常用的定量分析方法,具有简便、灵敏、准确的特点,常用于同时测定两种物质的含量。有文献显示,该方法已经用于含等摩尔比间苯二酚与水杨酸(1:1)制剂的定量分析<sup>[3]</sup>。但是,本研究涉及的制剂中,间苯二酚与水杨酸的摩尔比为5:1,其定量分析存在特殊性:其一,由于2010年版《中国药典》推荐的最佳吸光度值范围为0.3~0.7,试验证明难以将两者的吸光度值同时调整至最佳范围。例如,以间苯二酚的最大吸收波长276 nm和水杨酸的最大吸收波长303 nm为例,当间苯二酚(30 μg/ml)吸光度值为0.57时,水杨酸(6 μg/ml)吸光度值仅有0.17;而增大质量浓度并使水杨酸(12 μg/ml)吸光度值为0.33时,间苯二酚(60 μg/ml)的吸光度值就超过了1.11;而二者叠加后的吸光度值会更大。因此难以同时对本制剂浓度配比下的间苯二酚与水杨酸进行测定。其二,当水杨酸吸光度值达到0.3以上时,5倍于其的间苯二酚吸收光谱产生了一定的拉伸效应,并在303 nm波长处保持着大于0.01且波动增长的吸光度值,可能对水杨酸的测定产生影响。其三,间苯二酚具有一定毒性,可经皮肤吸收而中毒,需要在使用过程中进行含量控制。因此,一般选择间苯二酚作为复方间苯二酚洗剂的含量测定成分。

在测定波长的选择方面,276 nm与282 nm均为间苯二酚的最大吸收波长,均可作为测定波长。但是,由于水杨酸浓度较低且其最大吸收波长在303 nm附近,若选择282 nm会使得水杨酸的吸光度值更大且更接近对称中心(303 nm),而减小随机误差带来的影响并增加对称参比的可信度。故选择282 nm作为测定波长,320 nm为参比波长,试验证明两者吸光度差值与间苯二酚质量浓度的线性关系良好。理论上,在保证间苯二酚吸光度值在0.3~0.7内的基础上,任何增加水杨酸吸

# 司莫司汀胶囊溶出度测定方法的研究

姜建国<sup>1\*</sup>, 苏玉敏<sup>2</sup>, 刘玉真<sup>2#</sup>(1.河北省药品检验研究院, 石家庄 050011; 2.河北科技大学, 石家庄 050011)

中图分类号 R927.1 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)41-3904-03  
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.41.21

**摘要** 目的:建立测定司莫司汀胶囊溶出度的方法。方法:溶出试验方法采用桨法,以900 ml 2.5%十二烷基硫酸钠溶液(pH=6.0)为溶出介质,转速为75 r/min;含量测定采用高效液相色谱法,色谱柱为Agilent C<sub>18</sub>,流动相为甲醇-水(70:30),检测波长为232 nm。结果:司莫司汀质量浓度线性范围为10~100 μg/ml( $r=0.999\ 9$ ),平均回收率为99.92%~100.99%,RSD<0.60%( $n=6$ )。3批胶囊45 min内累积溶出量为69.9%~72.4%。结论:本方法符合溶出度方法的建立原则,可控制司莫司汀胶囊的内在质量;同时建议在该制剂的现行国家标准中增加溶出度检查项目。

**关键词** 司莫司汀胶囊;溶出度;高效液相色谱法

## Method Study for the Dissolution Determination of Semustine Capsules

JIANG Jian-guo<sup>1</sup>, SU Yu-min<sup>2</sup>, LIU Yu-zhen<sup>2</sup>(1.Hebei Institute for Drug Control, Shijiazhuang 050011, China; 2. Hebei University of Science and Technology, Shijiazhuang 050011, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish a method for the dissolution determination of Semustine capsules. METHODS: Paddle method was used to determine dissolution rate using 900 ml 2.5% sodium dodecyl sulfate solution (pH=6.0) as medium with rotation speed of 75 r/min. HPLC method was adopted. Agilent C<sub>18</sub> column was used with mobile phase consisted of methanol-water (70:30); the detection wavelength was set at 232 nm. RESULTS: The linear range of semustine was 10-100 μg/ml ( $r=0.999\ 9$ ) with average recoveries of 99.92%-100.99% (RSD<0.60%,  $n=6$ ). The accumulative dissolution of 3 batches of samples was 69.9%-72.4% within 45 min. CONCLUSIONS: The method is in line with the principle for the dissolution test method, and can effectively control the internal quality of product. It is suggested to add dissolution test item into present national standard for the preparation.

**KEYWORDS** Semustine capsules; Dissolution; HPLC

司莫司汀(Semustine)是20世纪80年代末国内研制的亚硝胺类烷化剂抗肿瘤药物,属细胞周期非特异性药物。2012年,司莫司汀被收录入国家基本药物目录中,临床上主要用于恶性淋巴瘤、脑瘤、黑色素瘤、肺癌等的治疗,有较好的疗效。其化学名为1-(2-氯乙基)-3-(4-甲基环己基)-1-亚硝基胍,为微黄带淡红色结晶性粉末,对光敏感,几乎不溶于水,易溶于甲

醇、无水乙醇、丙酮等有机溶剂。

溶出度检查是评价制剂品质和工艺水平的一种有效手段,也是评价固体制剂活性成分生物利用度和制剂均匀度的一种有效方法,是口服固体制剂再评价的关键。司莫司汀胶囊被收录在2010年版《中国药典》中<sup>[1]</sup>,无溶出度检查项,因此,按此标准进行检验得到的结果不能完全真实地反映药品

光度值的方法均可以提高测定的准确率,包括调整测定波长、按比例提高整体浓度等。本试验结果显示,选择间苯二酚在282、320 nm波长处采用双波长分光光度法进行复方间苯二酚洗剂(外用制剂)的含量测定,操作简单,结果满意。

另外需要注意的是,《中国医院制剂规范》和北京市《医疗单位制剂规程》中均记载有“复方间苯二酚洗剂”,但是二者的处方组成却不相同。前者主要由间苯二酚、苯酚和硼酸等组成,已有采用分光光度法进行含量测定的报道<sup>[5,7]</sup>;而后者则由间苯二酚、水杨酸等组成,尚缺少相关研究。因此,本研究对此是一个有益的补充。

## 参考文献

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:二部[S]. 2010年

\* 主任药师, 硕士。研究方向:药物分析、药品质量标准。电话:0311-85212004-8037。E-mail:jjg216@126.com

# 通信作者:正高级工程师, 硕士。研究方向:药物分析。E-mail:symtxl@126.com

版.北京:中国医药科技出版社,2010:370、附录VI。

[2] 顾丽红,孔祥瑞,华拯敏,等.复方间苯二酚搽剂的制备及应用[J].中国药房,2002,13(9):531.

[3] 方维军,陈坚,吴芳.双波长分光光度法测定复方薄荷脑洗剂的含量[J].中国医院药学杂志,2001,21(12):727.

[4] 商国美,俞佳.反相高效液相色谱法同时测定复方水杨酸洗剂中水杨酸和间苯二酚的含量[J].中国现代应用药学杂志,2005,22(1):74.

[5] 沈德荣.双波长分光光度法测定复方间苯二酚洗剂中间苯二酚的含量[J].中国现代医生,2008,46(34):85.

[6] 北京市卫生局.医疗单位制剂规程[S].1984:104.

[7] 陈军,陈燕华,刁雨辉,等.双波长分光光度法测定复方间苯二酚洗剂中间苯二酚的含量[J].中国药房,2003,14(6):362.

(收稿日期:2013-12-23 修回日期:2014-04-03)