

## 皮炎灵搽剂质量标准研究

李娜, 赵娜娜, 陈晴, 葛媛, 杨阳, 朱斌<sup>△</sup>

(中国人民解放军第九七医院药剂科, 江苏 徐州 221004)

**摘要:**目的 建立皮炎灵搽剂的质量标准。方法 鉴别制剂的理化性质;采用薄层色谱(TLC)法定性鉴别制剂中的冰片;进行相对密度等相关项目检查和刺激性试验。采用高效液相色谱法测定制剂中间苯二酚和水杨酸含量,色谱柱为 Dikma Diamonsil C<sub>18</sub> 柱(150 mm × 4.6 mm, 5 μm),流动相为甲醇-2% 乙酸溶液(梯度洗脱),流速为 1.0 mL/min,检测波长为 270 nm,柱温为 35 ℃,进样量为 20 μL。结果 制剂理化特征符合规定;冰片的 TLC 图斑点清晰,分离度好,阴性对照无干扰;制剂相对密度为 1.113, pH 为 2.7,最低装量为 (20.08 ± 0.56) mL,样品细菌数 ≤ 100 cfu/mL,霉菌数 ≤ 10 cfu/mL,金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌未检出;24 h 皮肤未见红肿。间苯二酚和水杨酸检测质量浓度线性范围分别为 0.02 ~ 0.20 mg/mL,  $r = 0.999\ 5$  ( $n = 8$ ), 0.01 ~ 0.10 mg/mL,  $r = 0.999\ 3$  ( $n = 8$ );精密度、稳定性、重复性试验结果的 RSD 均小于 2%,平均加样回收率分别为 99.19% 和 98.16%, RSD 分别为 2.59% 和 2.12% ( $n = 9$ )。结论 该方法可为建立皮炎灵搽剂的质量标准提供参考。

**关键词:**皮炎灵搽剂;质量标准;间苯二酚;水杨酸;薄层色谱法;高效液相色谱法

中图分类号:R927.2;R986

文献标识码:A

文章编号:1006-4931(2019)02-0030-04

### Quality Standard of Piyanling Liniment

LI Na, ZHAO Nana, CHEN Qing, GE Yuan, YANG Yang, ZHU Bin

(Department of Pharmacy, The 97th Hospital of PLA, Xuzhou, Jiangsu, China 221004)

**Abstract:** **Objective** To establish the quality standard of Piyanling Liniment. **Methods** The physicochemical properties of Piyanling Liniment was identified. TLC method was used for the qualitative identification of borneol in the preparation, the relative density and other related items were examined and the irritation test was carried out. HPLC method was used for the content determination of resorcinol and salicylic acid in the preparation, the chromatographic column was Dikma Diamonsil C<sub>18</sub> column (150 mm × 4.6 mm, 5 μm), the mobile phase was methanol-2% acetic acid solution (gradient elution), the flow rate was 1.0 mL/min, the detection wavelength was 270 nm, the column temperature was 35 ℃, and the sample size was 20 μL. **Results** The physicochemical properties of Piyanling Liniment were in conformity with the regulations, the TLC chromatographic spots of borneol were clear with good separation, and the negative control had no interference. The relative density of the preparation was 1.113, the pH was 2.7, the lowest loading was (20.08 ± 0.56) mL, the number of bacteria in the sample was not more than 100 cfu/mL, and the number of moulds was not more than 10 cfu/mL. *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* were not detected. No swelling was observed in the skin within 24 h. Resorcinol showed a good linear relationship with peak area in the range of 0.02-0.20 mg/mL,  $r = 0.999\ 5$  ( $n = 8$ ). Salicylic acid showed a good linear relationship with peak area in the range of 0.01-0.10 mg/mL,  $r = 0.999\ 3$  ( $n = 8$ ). The RSDs of precision, stability and repeatability test results were all less than 2%. The average recovery rates of resorcinol and salicylic acid were 99.19% and 98.16%, RSDs were 2.59% and 2.12% ( $n = 9$ ). **Conclusion** This method can provide a reference for establishing the quality standard of Piyanling Liniment.

**Key words:** Piyanling Liniment; quality control; resorcinol; salicylic acid; TLC; HPLC

皮炎灵搽剂为我院非标准自制制剂,由间苯二酚、水杨酸、冰片、醋酸氟轻松等组方,具有抗菌消炎、抗过敏、止痒作用,主治神经性皮炎、慢性湿疹等症,在我院临床应用 10 余年,疗效确切。前期,本课题组通过家兔及豚鼠皮肤刺激性实验<sup>[1]</sup>、安全性实验<sup>[2]</sup>,证实该制剂为较安全的外用制剂。本研究中通过理化鉴别、薄层色谱(TLC)鉴别、相关检查及对该制剂中间苯二酚、水杨酸含量的测定,以期为其质量控制提供参考。现报道如下。

#### 1 仪器与试剂

仪器:1260 型高效液相色谱仪,包括二极管阵列检

测器(美国 Agilent 公司);AB265S-5 型电子分析天平(瑞士 Mettler Toledo 公司,最大载荷 220 g,最小分度值 0.01 mg);硅胶 G 薄层板(青岛海洋化工厂分厂,批号为 20160902)。

试剂:皮炎灵搽剂(我院药剂科制剂室自制,批号分别为 20150611, 20150617, 20150625,规格均为每瓶 20 mL);间苯二酚对照品(批号为 100389-201202,纯度为 100%),水杨酸对照品(批号为 100106-201104,纯度为 100%),冰片对照品(批号为 110743-200905,纯度为 100%),均购自中国食品药品检定研究院;甲醇

第一作者:李娜,女,大学本科,药师,研究方向为临床药学及药物分析学,(电话)0516-83349634(电子信箱)linacactus@126.com。

<sup>△</sup>通信作者:朱斌,男,硕士研究生,副主任药师,研究方向为医院药学及药物分析学,(电话)0516-83349132(电子信箱)zhu97bin@163.com。

(德国 Merck 公司)为色谱纯,其余试剂(国药集团化学试剂有限公司)均为分析纯,水为超纯水。

## 2 方法与结果

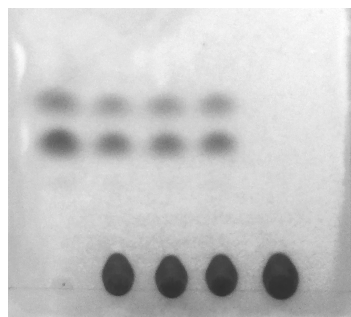
### 2.1 性状

本品为无色或淡黄色澄明溶液,具有清香气味。

### 2.2 鉴别

理化鉴别:取样品 1 mL,加三氯化铁试液 2 滴,即显蓝紫色,再加氨试液数滴,即变为棕黄色,符合规定。

TLC 鉴别:取冰片 5 mg,用 75% 乙醇溶解至 1 mL,即得对照品溶液。取样品 2 mL,作为供试品溶液。按皮炎灵搽剂处方和工艺制备缺冰片的阴性对照品溶液。按 2015 年版《中国药典(四部)》TLC 法<sup>[3120]</sup> 试验,吸取上述 3 种溶液各 2  $\mu$ L,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以环己烷-乙酸乙酯(6:1, V/V)为展开剂,展开,取出,晾干,喷 1% 香草醛硫酸溶液,于 105  $^{\circ}$ C 下加热至斑点显色清晰,日光下检视。供试品溶液色谱中,在与对照品溶液色谱相应位置上显相同颜色的斑点,阴性对照无干扰。详见图 1。

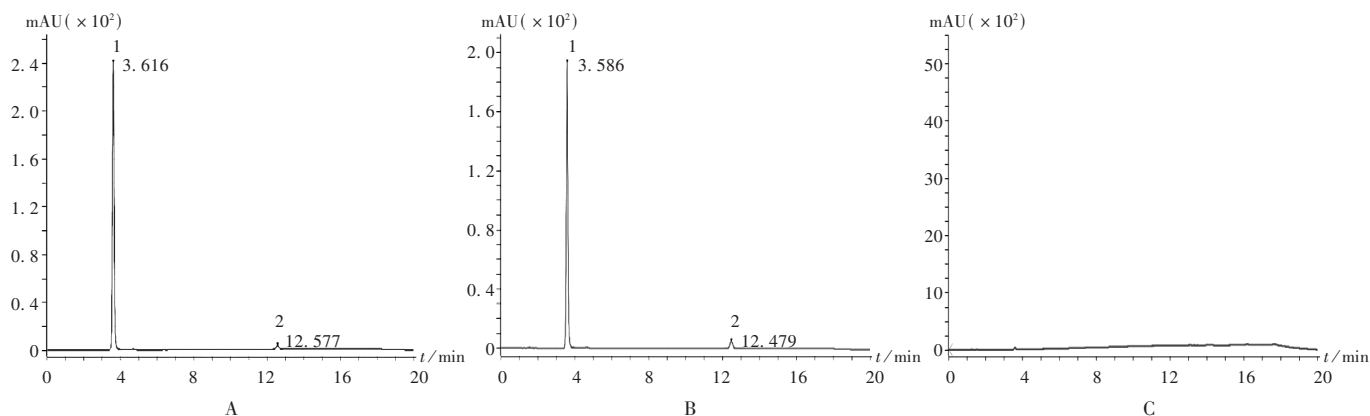


1. 对照品溶液 2-4. 供试品溶液 5. 阴性对照品溶液

图 1 薄层色谱图

### 2.3 相关检查

相对密度:取样品适量,按 2015 年版《中国药典(四部)》通则 0601 相对密度测定法<sup>[3173-74]</sup> 测定,结果样品相对密度为 1.113。



1. 间苯二酚 2. 水杨酸

A. 混合对照品溶液 B. 供试品溶液 C. 阴性对照品溶液

图 2 高效液相色谱图

pH:取样品适量,按 2015 年版《中国药典(四部)》通则 0631 pH 值测定法<sup>[3177-78]</sup> 测定,结果样品的 pH 为 2.7。

最低装量:取样品 5 瓶,按 2015 年版《中国药典(四部)》通则最低装量检查法<sup>[31125]</sup> 测定,结果样品最低装量为(20.08  $\pm$  0.56)mL,符合规定。

微生物限度:取样品适量,按 2015 年版《中国药典(四部)》通则方法<sup>[31149-151]</sup> 检测。结果,样品细菌数  $\leq$  100 cfu/mL,霉菌数  $\leq$  10 cfu/mL,金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌未检出,均符合规定。

### 2.4 刺激性试验

取样品适量,涂于手臂内侧,24 h 后进行观察<sup>[4]</sup>。结果未见红肿、水疱等刺激症状。

### 2.5 含量测定

#### 2.5.1 色谱条件

色谱柱:Dikma Diamonsil C<sub>18</sub> 柱(150 mm  $\times$  4.6 mm, 5  $\mu$ m);流动相:甲醇(A)-2% 乙酸溶液(B),梯度洗脱(0~15 min, 30%  $\rightarrow$  60% A);流速:1.0 mL/min;检测波长:270 nm;柱温:35  $^{\circ}$ C;进样量:20  $\mu$ L。

#### 2.5.2 溶液制备

取间苯二酚对照品约 10 mg、水杨酸对照品约 5 mg,精密称定,置同一 5 mL 容量瓶中,加入初始流动相溶解并定容,制成混合对照品贮备液。取适量,用初始流动相稀释,制成间苯二酚、水杨酸质量浓度分别为 0.1 g/L 和 0.05 g/L 的混合对照品溶液。

精密量取样品 80  $\mu$ L,置 4 mL 容量瓶中,用初始流动相定容,制成供试品贮备液,精密量取 200  $\mu$ L,置 2 mL 容量瓶中,用初始流动相定容,经 0.45  $\mu$ m 微孔滤膜滤过,取续滤液,即得供试品溶液。

按样品处方和工艺制备缺间苯二酚、水杨酸的阴性样品,并按供试品溶液制备方法制成阴性对照品溶液。

#### 2.5.3 方法学考察

专属性试验:取 2.5.2 项下 3 种溶液各适量,按 2.5.1 项下色谱条件进样测定,记录色谱图。结果见图 2。

阴性对照无干扰,表明方法专属性良好。

线性关系考察:分别精密量取2.5.2项下混合对照品溶液0.2,0.4,0.6,0.8,1.0,1.4,1.6,2.0 mL,置20 mL容量瓶中,加初始流动相定容,摇匀,制成系列混合对照品溶液,各精密量取20  $\mu$ L,按2.5.1项下色谱条件进样测定。以待测成分质量浓度( $X$ )为横坐标、峰面积( $Y$ )为纵坐标进行线性回归,得间苯二酚和水杨酸回归方程分别为 $Y = 16\,451X + 47.856$ ,  $r = 0.999\,5$  ( $n = 8$ ),  $Y = 690X + 0.340\,5$ ,  $r = 0.999\,3$  ( $n = 8$ )。结果表明,间苯二酚和水杨酸质量浓度线性范围分别为0.02 ~ 0.20 g/L和0.01 ~ 0.1 g/L。

精密度试验:取2.5.2项下混合对照品溶液适量,按2.5.1项下色谱条件连续进样6次,结果间苯二酚和水杨酸峰面积的RSD分别为0.42%和0.56% ( $n = 6$ ),表明日内精密度良好。按2.5.1项下色谱条件连续3 d进样测定,每天测定3次,结果间苯二酚和水杨酸峰面积的RSD分别为0.45%和0.59% ( $n = 9$ ),表明日间

精密度良好。

稳定性试验:取2.5.2项下同一供试品溶液(批号为20150617)适量,分别于室温下放置0,1,2,4 h后按2.5.1项下色谱条件进样测定。结果间苯二酚和水杨酸峰面积的RSD分别为0.20%和1.01% ( $n = 4$ ),表明供试品溶液室温放置4 h内基本稳定。

重复性试验:精密称取样品(批号为20150617)适量,依法制备供试品溶液,再按2.5.1项下色谱条件连续进样5次,测定,记录峰面积并计算含量。结果,间苯二酚和水杨酸平均含量分别为31.56 g/L和30.85 g/L, RSD分别为1.42%和1.98% ( $n = 5$ ),表明方法重复性良好。

加样回收试验:取已知含量样品(批号为20150611)适量,共6份,每份0.6 mL,分别加入低、中、高质量浓度的间苯二酚、水杨酸对照品,依法制备供试品溶液,再按2.5.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算加样回收率。结果见表1。

表1 加样回收试验结果( $n = 9$ )

| 样品含量( $\mu$ g) |       | 加入量( $\mu$ g) |       | 测得量( $\mu$ g) |       | 回收率(%) |        | $\bar{X}$ (%) |       | RSD(%) |      |
|----------------|-------|---------------|-------|---------------|-------|--------|--------|---------------|-------|--------|------|
| A              | B     | A             | B     | A             | B     | A      | B      | A             | B     | A      | B    |
| 172.7          | 176.6 | 139.5         | 146.8 | 313.8         | 321.6 | 99.93  | 93.94  |               |       |        |      |
| 171.4          | 176.6 | 139.5         | 146.8 | 317.6         | 329.6 | 102.65 | 99.39  |               |       |        |      |
| 171.4          | 176.6 | 139.5         | 146.8 | 312.7         | 330.3 | 99.14  | 99.86  |               |       |        |      |
| 171.4          | 176.5 | 174.4         | 183.7 | 337.6         | 363.7 | 93.58  | 97.99  |               |       |        |      |
| 171.4          | 176.4 | 174.4         | 183.7 | 347.4         | 367.3 | 99.20  | 103.90 | 99.19         | 98.16 | 2.59   | 2.12 |
| 171.5          | 176.4 | 174.4         | 183.7 | 341.7         | 367.3 | 95.93  | 99.95  |               |       |        |      |
| 171.3          | 176.5 | 209.3         | 220.3 | 384.2         | 392.0 | 100.24 | 94.55  |               |       |        |      |
| 171.4          | 176.7 | 209.3         | 220.3 | 385.7         | 397.9 | 100.96 | 97.23  |               |       |        |      |
| 171.3          | 176.7 | 209.3         | 220.3 | 385.9         | 395.7 | 101.05 | 96.23  |               |       |        |      |

注:A为间苯二酚;B为水杨酸。

#### 2.5.4 样品含量测定

取3批样品各适量,依法制备供试品溶液,再按2.5.1项下色谱条件进样测定,平行测定3次,记录峰面积并计算含量。结果见表2。

表2 样品含量测定结果( $\bar{X} \pm s$ ,  $n = 3$ )

| 批号       | 间苯二酚             |         | 水杨酸              |         |
|----------|------------------|---------|------------------|---------|
|          | 含量(g/L)          | 相对含量(%) | 含量(g/L)          | 相对含量(%) |
| 20150611 | 30.30 $\pm$ 0.01 | 101.00  | 30.44 $\pm$ 0.10 | 101.47  |
| 20150617 | 29.71 $\pm$ 0.03 | 99.03   | 31.67 $\pm$ 0.63 | 105.57  |
| 20150625 | 30.10 $\pm$ 0.04 | 100.33  | 31.76 $\pm$ 0.11 | 105.85  |

注:相对含量指测定值与标示量的比值。

### 3 讨论

皮炎灵搽剂处方由间苯二酚(30 g)、水杨酸(30 g)、冰片(10 g)、醋酸氟轻松(0.25 g)等药物组方。其中,水杨酸具有软化角质、止痒消炎的作用;间苯二酚能杀灭细菌和真菌,同时也有止痒和溶解角质的作用<sup>[5]</sup>;冰片

能消肿止痛且有抗菌作用;醋酸氟轻松可抗炎、止痒、抗过敏,辅以皮肤助渗剂二甲基亚砷可增强药效;同时使用甘油可减少药物刺激且湿润、保护皮肤。考虑间苯二酚在乙醇或水中极易溶解,水杨酸在乙醇中易溶、水中微溶,冰片在乙醇中易溶,醋酸氟轻松在乙醇中微溶、水中不溶,故选择75%乙醇作为溶剂,一方面保证处方中各药物能全部溶解,另一方面75%乙醇也是临床常用的消毒剂。

前期,我院主要采用滴定法测定间苯二酚和水杨酸的含量,但该方法受人为操作影响因素较大。为改进和提升质量标准,本研究中采用高效液相色谱法测定间苯二酚和水杨酸的含量。经方法学验证,该方法简便快捷、灵敏准确、重复性好,适用于皮炎灵搽剂的质量控制。

测定间苯二酚和水杨酸含量时,220,230,254,270,276 nm均可作为检测波长<sup>[6-10]</sup>。预试验表明,在220,