

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2022.13.015

# 高效液相色谱法同时测定口腔溃疡油中盐酸达克罗宁和醋酸氯己定含量\*

熊英,雷健,邢茂<sup>△</sup>

(中国人民解放军陆军军医大学第二附属医院药学部,重庆 400037)

**摘要:**目的 提高口腔溃疡油的质量标准。方法 采用高效液相色谱法同时测定口腔溃疡油中盐酸达克罗宁和醋酸氯己定的含量,色谱柱为 Phenomenex Luna C<sub>8</sub> 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm),流动相为甲醇(A) - 0.02 mol/L KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 溶液(B,冰醋酸调 pH 至 2.5),梯度洗脱(0~20 min 时 45%A, 20~21 min 时 45%A~60%A, 21~30 min 时 60%A, 30~31 min 时 60%A~45%A, 31~35 min 时 45%A),流速为 1.0 mL/min,检测波长为 259 nm,柱温为 30 ℃,进样量为 10 μL。结果 盐酸达克罗宁和醋酸氯己定的质量浓度分别在 39.23~196.17 μg/mL 和 3.87~19.35 μg/mL 范围内与峰面积线性关系良好;精密性、稳定性、重复性试验的 RSD 均小于 1%(n=6);平均加样回收率分别为 101.18% 和 98.74%,RSD 分别为 0.79% 和 0.94%(n=9);耐用性试验的 RSD 分别为 0.95% 和 1.37%(n=9)。结论 该方法专属性强、准确度高、重复性和耐用性良好,可用于提升口腔溃疡油的质量标准。

**关键词:**口腔溃疡油;高效液相色谱法;盐酸达克罗宁;醋酸氯己定;含量测定

中图分类号:R927.2;R988.2

文献标志码:A

文章编号:1006-4931(2022)13-0067-04

## Simultaneous Determination of Dyclonine Hydrochloride and Chlorhexidine Acetate in Dental Ulcer Oil by HPLC

XIONG Ying, LEI Jian, XING Mao

(Department of Pharmacy, The Second Affiliated Hospital, Army Medical University, Chongqing, China 400037)

**Abstract: Objective** To improve the quality standard of Dental Ulcer Oil. **Methods** The contents of dyclonine hydrochloride and chlorhexidine acetate in Dental Ulcer Oil were simultaneously determined by the high-performance liquid chromatography (HPLC) method. The chromatographic column was Phenomenex Luna C<sub>8</sub> column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), the mobile phase was methanol (A) - 0.02 mol/L KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> solution (B, adjusted to pH 2.5 with glacial acetic acid), the elution method was gradient elution (45%A at 0-20 min, 45%A-60%A at 20-21 min, 60%A at 21-30 min, 60%A-45%A at 30-31 min and 45%A at 31-35 min), the flow rate was 1.0 mL/min, the detection wavelength was 259 nm, the column temperature was 30 ℃, and the injection volume was 10 μL. **Results** The linear ranges of dyclonine hydrochloride and chlorhexidine acetate were 39.23 - 196.17 μg/mL and 3.87 - 19.35 μg/mL, respectively. The RSDs of precision, stability and repeatability tests were less than 1% (n = 6). The average recoveries of dyclonine hydrochloride and chlorhexidine acetate were 101.18% and 98.74% with RSDs of 0.79% and 0.94% (n = 9), respectively. The RSDs of the above two components in the durability test were 0.95% and 1.37% (n = 9), respectively. **Conclusion** The method has strong specificity, high accuracy, good repeatability and durability, which can be used to improve the quality standard of Dental Ulcer Oil.

**Key words:** Dental Ulcer Oil; HPLC; dyclonine hydrochloride; chlorhexidine acetate; content determination

口腔溃疡油主要由醋酸氯己定、醋酸泼尼松龙、盐酸达克罗宁、冰片、鞣酸等配伍制成,可改善口腔溃疡症状,治疗口腔溃疡的疗效显著。其中,醋酸氯己定可杀菌、消炎<sup>[1-3]</sup>;醋酸泼尼松龙有抗炎作用<sup>[4]</sup>;盐酸达克罗宁有止痛功效<sup>[5]</sup>;冰片可止痛消肿<sup>[6]</sup>;鞣酸可减轻皮肤或黏膜的炎症,在炎症表面使蛋白质形成一层保护膜,减轻外界对神经末梢的刺激作用,消除痛觉和局部血管的扩张反应<sup>[7-8]</sup>。口腔溃疡油原质量标准未完全解决鞣酸对主要成分测定的干扰,以及醋酸氯己定的色

谱峰形的展宽和拖尾问题<sup>[9]</sup>。本研究中建立了同时测定口腔溃疡油中醋酸氯己定和盐酸达克罗宁含量的高效液相色谱(HPLC)法<sup>[10-13]</sup>,以提高口腔溃疡油的质量标准。现报道如下。

### 1 仪器与试剂

#### 1.1 仪器

Agilent 1200型高效液相色谱仪(美国安捷伦科技公司),包括 G7114A VWD 检测器和 Chemstation 工作站;PB-10型 pH 计(上海雷磁仪器有限公司);ME235S

\*基金项目:军队医疗机构制剂标准提高科研专项课题面上项目[14ZJZ06-2]。

第一作者:熊英,女,硕士研究生,主管药师,研究方向为医院制剂,(电话)023-68774707(电子信箱)yueyingmy@163.com。

<sup>△</sup>通信作者:邢茂,男,博士研究生,副主任药师,研究方向为医院制剂,(电子信箱)xingmao1997@sina.com。

型电子天平(德国 Sartorius 公司,精度为十万分之一)。

## 1.2 试药

口腔溃疡油(陆军军医大学第二附属医院制剂室,批号分别为141219,150310,150416,150506);盐酸达克罗宁对照品(批号为100423-201102,含量为99.8%),醋酸氯己定对照品(批号为100183-201003,含量为96.2%),均购自中国食品药品检定研究院;甲醇(色谱纯,美国 Honeywell 公司);磷酸二氢钾(色谱纯,阿拉丁试剂<上海>有限公司);冰醋酸(分析纯,重庆川东化工集团有限公司)。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

色谱柱:Phenomenex Luna C<sub>8</sub>柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm);流动相:甲醇(A) - 0.02 mol/L KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>溶液(B,冰醋酸调pH至2.5),梯度洗脱(0~20 min时45%A,20~21 min时45%A~60%A,21~30 min时60%A,30~31 min时60%A~45%A,31~35 min时45%A);流速:1.0 mL/min;检测波长:259 nm;柱温:30 ℃;进样量:10 μL。

### 2.2 溶液制备

取醋酸氯己定对照品25 mg,精密称定,置50 mL容量瓶中,用初始比例流动相[甲醇-磷酸盐缓冲液(45:55, V/V)]溶解并定容,摇匀,作为醋酸氯己定对照品浓溶液。取盐酸达克罗宁对照品25 mg,精密称定,置25 mL容量瓶中,精密量取醋酸氯己定对照品浓溶液5 mL,加入同一容量瓶中,用流动相溶解并定容,摇匀,即得混合对照品贮备液。精密量取混合对照品贮备液1 mL,置10 mL容量瓶中,用流动相稀释并定容,摇匀,即得混合对照品溶液。

取样品,用移液管精密量取2 mL,置200 mL容量瓶中,用甲醇分次洗涤移液管内壁,洗液并入容量瓶中。加甲醇适量,振摇使溶解,再加流动相稀释并定容,摇匀,即得供试品溶液。

按处方工艺配制缺醋酸氯己定和盐酸达克罗宁的阴性样品,按供试品溶液制备方法制备阴性对照品溶液。

### 2.3 方法学考察

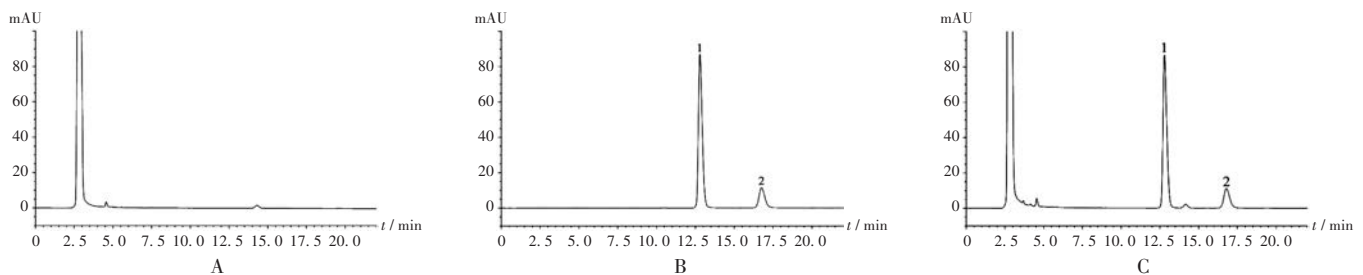
专属性试验:取2.2项下混合对照品溶液、供试品溶液、阴性对照品溶液各适量,按2.1项下色谱条件进样测定,记录色谱图,详见图1。结果相邻峰之间的分离度均大于1.5,且阴性对照无干扰,表明方法专属性良好。

线性关系考察:精密量取2.2项下混合对照品贮备液10 mL,置50 mL容量瓶中,用流动相稀释并定容,摇匀,即得200%对照品溶液。分别精密量取200%对照品溶液8,6,5,4,3,2 mL,置10 mL容量瓶中,加流动相定容,摇匀,制成系列混合对照品溶液,按2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以质量浓度( $X, \mu\text{g}/\text{mL}$ )为横坐标、峰面积为纵坐标( $Y$ )进行线性回归,得盐酸达克罗宁和醋酸氯己定的回归方程分别为 $Y_{\text{盐}} = 15\,505.066\,3X_{\text{盐}} - 1.709\,0, r = 0.999\,8 (n = 7)$ ;  $Y_{\text{醋}} = 31\,759.537\,6X_{\text{醋}} - 7.048\,2, r = 0.999\,8 (n = 7)$ 。结果表明,盐酸达克罗宁和醋酸氯己定的质量浓度分别在39.23~196.17 μg/mL和3.87~19.35 μg/mL范围内与各自峰面积的线性关系良好。

精密度试验:取2.2项下混合对照品溶液适量,按2.1项下色谱条件连续进样测定6次,记录峰面积。结果盐酸达克罗宁和醋酸氯己定峰面积的RSD分别为0.35%和0.43%( $n = 6$ ),表明仪器精密度良好。

重复性试验:取样品(批号为141219)适量,按2.2项下方法制备供试品溶液6份,再按2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积,并计算盐酸达克罗宁和醋酸氯己定的含量。结果的RSD分别为0.50%和0.63%( $n = 6$ ),表明方法重复性良好。

稳定性试验:取样品(批号为141219)适量,按2.2项下方法制备供试品溶液,分别于0,2,4,6,8,10 h时按2.1



1. 盐酸达克罗宁 2. 醋酸氯己定  
A. 阴性对照品溶液 B. 混合对照品溶液 C. 供试品溶液

图1 高效液相色谱图

1. Dyclonine hydrochloride 2. Chlorhexidine acetate

A. Negative reference solution B. Mixed reference solution C. Test solution

Fig. 1 HPLC chromatograms

项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果盐酸达克罗宁和醋酸氯己定峰面积的RSD分别为0.55%和0.59% ( $n = 6$ ),表明供试品溶液在室温放置10 h内基本稳定。

加样回收试验:取醋酸氯己定对照品适量,精密称定,置50 mL容量瓶中,加流动相溶解,制成醋酸氯己定对照品浓溶液。取盐酸达克罗宁对照品适量,精密称定,置100 mL容量瓶中,精密量取醋酸氯己定对照品浓溶液20 mL,加入同一容量瓶中,用流动相溶解并定容,摇匀,作为混合对照品贮备液。精密量取已知含量的供试品溶液1 mL(盐酸达克罗宁9.638 mg/mL,醋酸氯己定0.948 mg/mL),共9份,置200 mL容量瓶中,分别加入混合对照品贮备液8, 10, 12 mL,用流动相稀释并定容,摇匀。按2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积,并计算回收率。结果见表1。

表1 加样回收试验结果( $n = 9$ )

Tab. 1 Results of the recovery test ( $n = 9$ )

样品含量 (mg)		加入量 (mg)		测得量 (mg)		回收率 (%)		$\bar{X}$ (%)		RSD (%)	
A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
9.638	0.948	7.847	0.774	17.523	1.704	100.48	97.67				
9.638	0.948	7.847	0.774	17.554	1.716	100.88	99.22				
9.638	0.948	7.847	0.774	17.635	1.704	101.91	97.67				
9.638	0.948	9.808	0.967	19.695	1.918	102.54	100.31				
9.638	0.948	9.808	0.967	19.609	1.910	101.66	99.48	101.18	98.74	0.79	0.94
9.638	0.948	9.808	0.967	19.617	1.909	101.74	99.38				
9.638	0.948	11.770	1.161	21.463	2.094	100.47	98.71				
9.638	0.948	11.770	1.161	21.467	2.084	100.50	97.85				
9.638	0.948	11.770	1.161	21.456	2.090	100.41	98.36				

注:A为盐酸达克罗宁,B为醋酸氯己定。

Note:A refers to dyclonine hydrochloride and B refers to chlorhexidine acetate.

耐用性试验:取样品(批号为141219)适量,精密称定,按2.2项下方法制备供试品溶液,适当调整色谱条件参数,在不同色谱条件下测定样品含量,考察方法的耐用性。结果盐酸达克罗宁和醋酸氯己定含量的RSD分别为0.95%和1.37% ( $n = 9$ ),表明不同色谱条件对测定结果均无显著影响,方法耐用性良好。

## 2.4 样品含量测定

取3批(批号分别为150310, 150416, 150506)样品各适量,按2.2项下方法制备供试品溶液,按2.1项下色谱条件分别进样测定,记录色谱图。按外标法以峰面积计算盐酸达克罗宁和醋酸氯己定的含量,结果见表2。

## 3 讨论

### 3.1 检测波长选择

样品中盐酸达克罗宁浓度是醋酸氯己定的10倍,

表2 盐酸达克罗宁和醋酸氯己定含量测定结果(%)

Tab. 2 Results of content determination of dyclonine hydrochloride and chlorhexidine acetate (%)

批号	盐酸达克罗宁	醋酸氯己定
150310	105.50	103.65
150416	106.01	104.17
150506	105.36	103.70

故同时测定盐酸达克罗宁和醋酸氯己定时选择醋酸氯己定的最大吸收波长(259 nm)作为检测波长,此波长处盐酸达克罗宁的吸光度也能满足检测要求。

### 3.2 色谱柱和流动相选择

醋酸氯己定结构中含有多个仲胺基和亚胺基,与硅胶表面的硅醇基有较强的氢键作用和亲硅醇基效应<sup>[14-16]</sup>,使用常用的十八烷基硅烷键合硅胶柱,并尝试用不同流动相检测醋酸氯己定,其色谱峰的拖尾均较严重。为了改善峰形,使各组分能选择性地分离,选择辛烷基硅烷键合硅胶柱,以甲醇-0.02 mol/L  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ 溶液为流动相。试验中发现,降低流动相的pH能显著改善醋酸氯己定的峰形,同时,考虑色谱柱对pH的耐受性,调节流动相pH值至2.5。用以上色谱条件检测样品,可使干扰成分鞣酸在5 min内快速出峰,且大幅减少鞣酸的色谱峰拖尾,很好地解决了鞣酸对主成分测定的干扰,使盐酸达克罗宁、醋酸氯己定和鞣酸的色谱峰均达到基线分离。

### 3.3 方法评价

本研究中所建立的方法专属性强、分离度高,盐酸达克罗宁和醋酸氯己定的保留时间适宜,其他组分干扰小,操作简便,结果准确,重复性、耐用性均良好,可用于提升口腔溃疡油的质量标准。

### 参考文献

- [1] 舒凌玲,陈雅,胡大强,等. 醋酸氯己定喷雾消毒剂杀菌效果考察[J]. 中国药业,2004,13(4):42-43.
- [2] 孟真,魏兰芬,郑云燕,等. 某碘伏与胍类复合消毒剂消毒相关性研究[J]. 中国消毒学杂志,2021,38(2):84-87.
- [3] 吴燕,靳芳庆,张福成,等. 醋酸氯己定对急性慢性咽炎主要致病菌的体外抑菌活性考察[J]. 中国抗生素杂志,2011,36(9):712-715.
- [4] 蔡思铭,岑红霞,廖赵妹,等. 雷公藤多苷片联合泼尼松治疗儿童自身免疫性肝炎的临床研究[J]. 药物评价研究,2021,44(2):398-402.
- [5] 孙国栋. 复方达克罗宁搽剂的制备及临床应用[J]. 中国医院药学杂志,2007,27(10):1444-1445.
- [6] 陆继梅. 中药包外敷联合微波照射治疗腹部切口脂肪液化不愈57例[J]. 中国药业,2015,24(8):116-117.
- [7] 赵志昕,温亮,马德思,等. 鞣酸在骨关节炎中软骨保护作用的实验研究[J]. 中国矫形外科杂志,2017,25(11):