

通过功率为 $2.26 \text{ W} \cdot \text{cm}^{-2}$ 的超声波处理皮肤 5 min, 利多卡因的经皮速率是复方利多卡因乳膏的 3 倍。当超声波功率增大时, 盐酸利多卡因的透皮速率会更快。现在已用于临床的利多卡因贴含利多卡因为 5%, 假如制成相当浓度的 6.25% 盐酸利多卡因凝胶, 用超声波导入, 可能会大大加快止痛作用。因此, 超声介导盐酸利多卡因凝胶, 将可作为血管穿刺止痛的新给药方式。

REFERENCES

- [1] WANG Y M, ZENG W H, YING Z X A. Review of the anesthetic efficacy of EMLA cream on local application [J]. Chin J Derm Venereol(中国皮肤性病杂志), 2003, 17(1): 40-41.
- [2] LI X G, ZHAO R S, QIN Z L, et al. Painless microneedle transdermal patch enhances permeability of topically applied lidocaine [J]. Chin J New Drugs(中国新药杂志), 2008, 17(7): 597-601
- [3] HUANG L, CHEN Z L, LI G F, et al. Comparison of transdermal permeation *in vitro* of lidocaine tincture and microemulsion [J]. J South Med Univ(南方医科大学学报), 2007, 27(4): 541-543
- [4] ZHU X L, LI G F, ZENG K, et al. Preparation of lidocaine nanoemulsion and its transdermal absorption by rat skin *ex vivo* [J]. J South Med Univ(南方医科大学学报), 2010, 30(3): 451-454
- [5] LOU W, LI X, WANG G. Sonophoresis induces the enhanced permeation of drug and its effect on Stratum Corneum [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2009, 26(6): 510-513.
- [6] POLAT B E, BLANKCHEIN D. Low-frequency sonophoresis: application to the transdermal delivery of macromolecules and hydrophilic drugs [J]. Expert Opin Drug Deliv, 2010, 7(12): 1415-32.
- [7] MARUANI A, BOUCAUD A. Low-frequency ultrasound sonophoresis to increase the efficiency of topical steroids: a pilot randomized study of humans [J]. Int J Pharm, 2010, 395(1/2): 84-90.
- [8] LIU T. Studies on the preparation of lidocaine hydrochloride poultice and its pharmacokinetics [D]. Wuhan: Huazhong University of Science and Technology, 2007.
- [9] TEZEL A, SENS A, TUCHSCHERER J, et al. Frequency dependence of sonophoresis [J]. Pharm Res, 2001, 18(12): 1694-1700.
- [10] PARK D, PARK H, SEO J, et al. Sonophoresis in transdermal drug deliveries [J]. Ultrasonics, 2014, 54(1): 56-65.

收稿日期: 2013-08-02

尿素软膏的质量研究

黄静¹, 张毅² (1. 石家庄市药品不良反应监测中心, 石家庄 050031; 2. 河北省食品药品检验院, 石家庄 050011)

摘要: 目的 建立尿素软膏的定性定量方法。方法 采用 TLC 对该制剂中尿素成分进行定性鉴别; 采用高效液相色谱法测定尿素的含量。色谱柱为 Ultimate XB-NH₂ 柱(4.6 mm×200 mm, 5 μm), 流动相为乙腈-甲醇-水(10%磷酸调 pH 至 3.6)(90:7:3); 检测波长: 200 nm; 柱温: 30 °C; 流速: 0.8 mL·min⁻¹; 进样量: 20 μL。结果 尿素 TLC 定性鉴别专属性强; 尿素进样量在 2~40 μg 内呈良好的线性关系($r=0.999\ 5$), 平均回收率为 98.8%($n=9$)。结论 本方法定性专属性强, 定量准确可靠, 方法简便易行, 灵敏度高, 适用于尿素软膏的质量控制。

关键词: 尿素软膏; 尿素; 薄层色谱法; 高效液相色谱法

中图分类号: R917.101; R943

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2014)04-0441-04

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2014.04.014

Study on Quality Specification for Urea Ointment

HUANG Jing¹, ZHANG Yi² (1. Center for ADR Monitoring of Shijiazhuang, Shijiazhuang 050013, China; 2. Hebei Provincial Institute for Food and Drug Control, Shijiazhuang 050011, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish the quality and quantity methods of urea ointment. **METHODS** Urea in urea ointment was identified by TLC. The sample was purified with XB-NH₂ column and its content was determined with HPLC. The XB-NH₂ column(4.6 mm×200 mm, 5 μm) was used and mobile phase was acetonitrile-methanol-water(90:7:3, adjusted to pH 3.6 with 10% phosphoric acid). The detection wavelength was 200 nm, and the flow rate was 0.8 mL·min⁻¹. **RESULTS** Within the range of 2~40 μg, peak area and urea injection quantity were in linear($r=0.999\ 5$), and the average recovery was 99.9%($n=9$).

CONCLUSION The method is specific, effect, sensitive and accurate. It can be used for quality control of urea ointment.

KEY WORDS: urea ointment; urea; TLC; HPLC

尿素软膏为皮肤外用药, 曾用名治裂膏, 主要成分是尿素, 化学名为碳酸二甲胺。主要用于治疗鱼鳞病、手足皲裂、皲裂性湿疹、老年皮肤瘙痒及掌趾角化症。该品种质量标准收载于《国家药品标准》化学药品地方标准上升国家标准第一册^[1], 其他各国药典均未收载。在我国质量标准中, 该品种鉴别只有一个理化鉴别, 增订专属性更好的 TLC 鉴别可以更好的完善尿素软膏的质量标准; 含量测定方法现行标准采用对二甲氨基苯甲醛为显色剂的 UV 测定, 重现性差, 测定时对供试品溶液放置时间要求高, 稳定性不好; 计算采用标准曲线法, 计算繁琐。本研究建立专属性强、灵敏度高, 操作简便的 HPLC 测定尿素软膏含量。

1 仪器和试剂

LC2010CHT 高效液相色谱仪(日本岛津), 紫外检测器、自动进样器; TU-1901 双光束紫外可见分光光度计(北京普析通用)。

尿素对照品(USP 对照品, 批号: 1706701, 纯度: 100.0%); 尿素软膏: 生产企业提供(批号: 100302, 101001, 101003); 对二甲氨基苯甲醛(北京化工厂, 批号: 920404); 缩二脲(上海试剂一厂, 批号: 2008-07-1); 薄层板: 硅胶 G(青岛海洋化工厂分厂); 空白辅料由生产厂家提供; 乙腈、甲醇为色谱纯, 水为去离子水, 其他试剂均为分析纯。

2 TLC 鉴别

取本品适量(约相当于 50 mg 尿素), 加无水乙醇 5 mL, 水浴加热使尿素溶解, 移置冰浴中冷却, 滤过, 滤液为供试品溶液; 另取尿素对照品约 50 mg, 加无水乙醇 5 mL, 振摇使溶解, 为对照品溶液; 取供试品溶液和对照品溶液各 1 mL 混匀, 为系统适用性溶液。按薄层色谱法试验, 吸取上述 3 种溶液各 5 μ L, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以无水乙醇和 13.5 mol·L⁻¹ 的氨水(99:1)为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以含 0.5% 的对二甲氨基苯甲醛和 0.5% 硫酸的无水乙醇溶液, 系统适用性溶液只显 1 个斑点, 供试品溶液在与对照品相应的位置上, 显相同颜色的主斑点。展开分离清晰、良好、 R_f 值合理。结果见图 1。

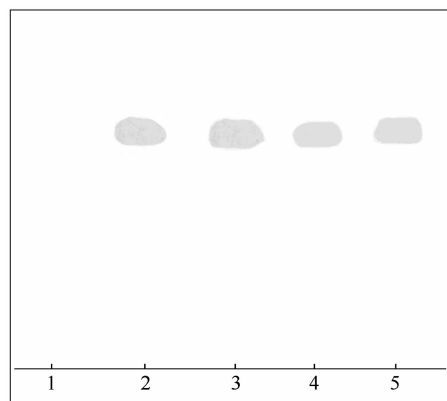


图 1 尿素软膏 TLC 图谱

1-尿素乳膏阴性样品; 2-尿素对照品; 3,4,5-尿素乳膏 3 批样品

Fig 1 TLC of urea ointment

1-negative sample without urea; 2-reference substance of urea; 3,4,5-urea ointment samples

3 含量测定

3.1 色谱条件

色谱柱: Ultimate XB-NH₂ 柱(4.6 mm×200 mm, 5 μ m)流动相: 乙腈-甲醇-水(10%磷酸调 pH 至 3.6)(90:7:3); 检测波长: 200 nm; 柱温: 30 $^{\circ}$ C; 流速: 0.8 mL·min⁻¹; 进样量: 20 μ L。

3.2 检测波长的选择

以流动相作溶剂, 在 200~400 nm 内测定尿素对照品的紫外光谱图, 结果在 196 nm 处有最大吸收, 因此选择 200 nm 为检测波长。

3.3 对照品溶液的制备

精密称取尿素对照品 10 mg, 置 10 mL 量瓶中, 加流动相振摇使溶解并稀释至刻度, 摇匀, 得对照品溶液。

3.4 阴性溶液的制备

称取空白基质适量, 按“3.3”项下方法制备空白基质溶液。

3.5 供试品溶液的制备

取本品适量(约相当于 100 mg 尿素), 置 100 mL 量瓶中, 加流动相适量, 水浴加热使尿素溶解, 放至室温, 加流动相至刻度, 摇匀, 移置冰浴中冷却, 滤过, 滤液为供试品溶液。

3.6 方法学考察

3.6.1 专属性试验 分别吸取阴性溶液、对照品溶液和供试品溶液各 20 μ L, 按“3.1”项下色谱条件进行测定, 记录色谱图。结果表明, 辅料不干扰主成分尿素的测定, 结果见图 2。

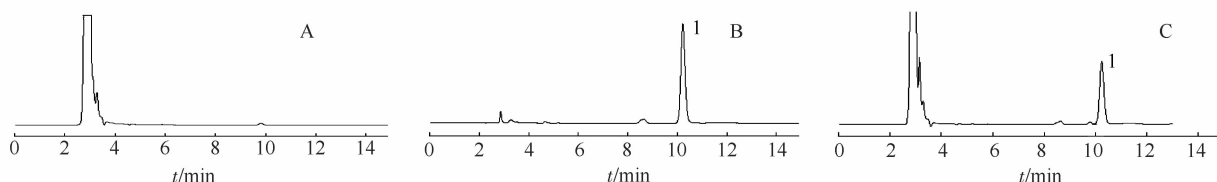


图2 HPLC 色谱图

A-阴性溶液; B-对照品溶液; C-供试品溶液; 1-尿素

Fig 2 HPLC chromatograms

A-negative solution; B-reference solution; C-testing solution; 1-urea

3.6.2 稳定性试验 精密称取尿素对照品约 10 mg, 置 10 mL 量瓶中, 加流动相稀释至刻度, 摇匀。室温分别放置 1, 2, 4, 6, 8 h, 精密量取 20 μ L, 注入液相色谱仪, 记录色谱图, 结果尿素峰面积的平均值为 1 136 255, 计算各杂质峰面积的 RSD 为 0.74%($n=5$)。

3.6.3 线性关系 精密称取尿素对照品约 100 mg, 置 10 mL 量瓶中, 加流动相稀释至刻度, 摇匀。精密量取 0.1, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 mL, 分别置 10 mL 量瓶中, 加流动相稀释至刻度, 摇匀。分别精密量取 20 μ L, 注入高效液相色谱仪, 记录色谱图, 以进样量为横坐标, 峰面积为纵坐标, 绘制标准曲线, 结果表明尿素在 2~40 μ g 内呈良好的线性关系, 回归方程为: $Y=531\ 678X-430\ 097$, $r=0.999\ 5$ ($n=5$)。

3.6.4 检测限与定量限 精密称取尿素对照品约 10 mg, 置 10 mL 量瓶中, 加流动相稀释至刻度, 摇匀。吸取上述溶液适量, 用流动相逐级稀释, 进样, 按 3 倍信噪比计算, 尿素的最低检测限为 0.04 μ g。按 10 倍信噪比计算, 尿素的定量限为 0.1 μ g($n=6$, RSD=5.8%)。

3.6.5 仪器精密度试验 精密称取尿素对照品约 10 mg, 置 10 mL 量瓶中, 加流动相稀释至刻度, 摇匀。精密量取 20 μ L, 连续进样 6 次, 记录色谱图, 测定尿素峰面积。结果 RSD 值为 0.43%。

3.6.6 重复性试验 取批号为 100302 的样品, 按“3.5”项下方法配制 6 份供试品溶液, 精密量取 20 μ L 注入高效液相色谱仪, 记录色谱图, 按外标法计算含量, 结果 RSD 值为 0.63%。

3.6.7 回收率试验 称取 9 份空白辅料约 900 mg, 分别置 100 mL 量瓶中, 分别称取尿素对照品约 80, 100, 120 mg 各 3 份, 置上述量瓶中, 加流动相至刻度, 摇匀, 精密量取 20 μ L 注入高效液相色谱仪, 记录色谱图, 计算回收率, 结果见表 1。

表 1 回收率测定结果($n=9$)

Tab 1 Results of recovery($n=9$)

加入量/mg	测得量/mg	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
79.35	79.03	99.60	98.8	0.64
79.44	79.00	99.45		
79.82	79.42	99.51		
100.14	98.58	98.45		
100.56	99.47	98.92		
100.05	99.16	99.12		
120.08	117.34	97.72		
120.51	118.48	98.32		
120.15	118.23	98.41		

3.6.8 样品含量测定新方法和现行方法比较 曾用中检所尿素对照品(供含量测定用), 按新制定方法测定含量为: 93.89%, 而按现行方法(国家药品标准方法)测定, 含量为 99.5%以上。因此取 3 批样品, 分别用 2 种方法测定, 将结果进行比较。按“3.1”项下色谱条件, “3.5”项下方法制备供试品溶液, 测定含量, 为新拟定方法测定结果; 按《国家药品标准》化学药品地方标准上升国家标准第一册中尿素软膏测定方法测定含量为现行方法测定结果, 结果见表 2。

表 2 新方法与现行方法测定结果

Tab 2 Results of samples by new method and current method

批号	现行方法测得含量/%	拟定新方法测得含量/%
100302	98.1	94.1
101001	99.9	94.8
101003	99.8	95.3

由表 2 的测定结果可以看出, 高效液相色谱法与紫外法含量测定的结果有差异。抽取不同厂家 60 批样品, 分别按上述 2 种方法检验, 并对检验结果进行统计, $P<0.05$, 表明高效液相色谱法与紫外法含量测定的结果有显著性差异。高效液相色谱法较紫外法含量测定的结果偏低, 这说明紫

外法的含量测定结果受到了辅料和有关物质的干扰,不能准确反应药品的实际质量,修订后的含量测定方法更科学、有效和可控。

4 讨论

4.1 流动相的选择

参照 USP33^[2]中 C₁₃ 尿素原料中含量测定的方法,以乙腈-甲醇-水(89:10:1)为流动相,尿素峰形不对称,拖尾严重;以乙腈-甲醇-0.01 mol·L⁻¹ 磷酸二氢铵溶液(89:10:1)为流动相,尿素峰形有所改善,但仍有拖尾现象;以乙腈-甲醇-对而言 0.01 mol·L⁻¹ 磷酸二氢铵溶液(10%磷酸调 pH 至 3.6)(89:10:1)为流动相,尿素峰形对称,分离度良好,保留时间适中;以乙腈-甲醇-水(10%磷酸调 pH 至 3.6)(90:7:3)为流动相,尿素峰形对称,分离度良好,保留时间适中。考虑到盐在大量有机溶剂中容易析出,选择乙腈-甲醇-水(10%磷酸调 pH 至 3.6)(90:7:3)为本研究流动相。

4.2 流动相 pH 的选择

流动相 pH 对尿素保留时间、峰形影响较大。随着 pH 减小,主峰保留时间变短,峰形改善,分离度增加。但 pH 太低影响色谱柱寿命,pH 3.6 时,保留时间适当,峰形对称,分离度能够达到要求。

4.3 溶剂的选择

尿素在乙醇和流动相 2 种溶剂中溶解性都比较好,但考虑到尿素检测波长是 200 nm,为末端吸收,乙醇在末端有较大吸收,而流动相 90%为乙腈,短波长溶剂吸收干扰小,因此选择流动相为溶剂。

4.4 柱温的选择

柱温对尿素的峰形、保留时间影响不大,但考虑到环境温度的变化可能的影响,选择柱温为 30 ℃。

4.5 耐用性实验

本实验选择其他品牌的氨基柱[Alltima Amino (4.6 mm×250 mm, 5 μm)、Boston Crest Amino (4.6 mm×200 mm, 5 μm)、Phenomenex Luna (4.6 mm×250 mm, 5 μm)],在不同的操作时间以及不同的操作者采用合适流动相比例进行试验,峰形对称、分离度良好,结果显示该方法的耐用性较好。

4.6 TLC 鉴别

曾参照英国药典 2010 版^[3]尿素乳膏项下鉴别方法进行鉴别,但是,拖尾较严重,并且软膏预处理方法用水溶解,点样时比较难挥干,丙酮毒性又较大。按“2”项下方法操作,尿素在乙醇中易溶,也易于挥干,毒性相对较小。点样量减小为 5 μL 后,拖尾明显改善。英国药典展开为二次展开,经过多次试验,发现尿素软膏二次展开和一次展开没有明显区别,因此选择一次展开。

REFERENCES

- [1] The National Drug Standard Chemical Local Standards Rise National Standard Volume 1(国家药品标准 化学药品地方标准上升国家标准第一册) [S]. 2002: 73-75.
- [2] USP 33 [S]. 2010: 1802.
- [3] BP(2010) Vol II [S]. 2010: 2179-2180.

收稿日期: 2013-03-13

替代对照品法测定新疆孕马尿中 3 种主要结合雌激素含量

赵倩, 姚军, 高晓黎^{*}(新疆医科大学药学院, 乌鲁木齐 830011)

摘要: 目的 建立 HPLC 替代对照品法测定新疆孕马尿中 3 种主要结合雌激素的含量。方法 采用 HPLC 在不同条件下测定替代对照品雌酮硫酸钠对于马烯雌酮硫酸钠及 17α-双氢马烯雌酮硫酸钠对照品的校正因子,利用校正因子和替代对照品雌酮硫酸钠测定孕马尿中 3 种主要结合雌激素的含量。结果 以替代对照品法测得的结果与常规含量测定方法结果一致。结论 在高效液相色谱仪上使用替代对照品法测定孕马尿中的 3 种主要结合雌激素的含量,此方法准确可靠,可节约检测成本。

基金项目: “重大新药创制” 国家科技重大专项(2011ZX09203-001-10); 新疆维吾尔自治区重大科技专项(201130101)

作者简介: 赵倩, 女, 硕士生 Tel: 18699007966 E-mail: xyd_zq@163.com ^{*}通信作者: 高晓黎, 女, 博士, 教授 Tel: (0991)4362442

E-mail: xli_g@sina.com