

## 反相高效液相色谱法测定醋酸氯己定器械保存液的含量

黄金华, 毛桂福, 吴蓉, 凌义 (柳州市第三人民医院药剂科, 广西柳州 545007)

**摘要** 目的: 建立反相高效液相色谱法测定醋酸氯己定器械保存液中醋酸氯己定的含量。方法: 采用 Shim-pack CLC-C<sub>8</sub> 为色谱柱, 以乙腈-水 (含 1% 三乙胺, 并用醋酸调节 pH 至 4.0) (42: 58) 为流动相, 检测波长为 258 nm, 流速 1.0 mL/min, 柱温为 30 °C, 进样体积为 20 μL。结果: 醋酸氯己定在 20~80 μg/mL 浓度范围内线性关系良好 ( $r = 0.9998$ )。醋酸氯己定的平均回收率为 99.96%;  $RSD = 1.71%$  ( $n = 6$ )。结论: 本法用于测定器械保存液的醋酸氯己定含量, 快速准确, 结果满意。

**关键词** 醋酸氯己定; 器械保存液; 反相高效液相色谱法; 含量测定

中图分类号: R927 文献标识码: A 文章编号: 1006-0111(2008)01-0048-03

## Determination of chlorhexidine acetate in appliance-preserving solution by RP-HPLC

HUANG Jinhua, MAO Guifu, WU Rong, LING Yi (Department of Pharmacy, The Third People's Hospital of Liuzhou, Liuzhou 545007, China)

**ABSTRACT Objective** To develop a RP-HPLC method for determination of chlorhexidine acetate in appliance preserving solution. **Methods** RP-HPLC was used for the determination of chlorhexidine acetate in appliance's preserving solution on a Shim-pack CLC-C<sub>8</sub> column, with acetonitrile-water (including 1% triethylamine, adjusting pH to 4.0 by glacial acetic acid) (42: 58) as mobile phase. The detection wavelength was 258 nm, flow rate was 1.0 mL/min, column temperature was 30 °C, sample injection volume was 20 μL. **Results** Chlorhexidine acetate had a good linear coefficient ( $r = 0.9998$ ) over the range of 20~80 μg/mL. The average recoveries of chlorhexidine acetate was 99.96%,  $RSD = 1.71%$  ( $n = 6$ ). **Conclusion** This method was quick and accurate for determination of chlorhexidine acetate in appliance preserving solution.

**KEY WORDS** chlorhexidine acetate; appliance preserving solution; RP-HPLC; determination

醋酸氯己定是一种广谱、高效、低毒的消毒剂, 临床上常用于器械、皮肤及黏膜等的消毒。本院配制含亚硝酸钠的器械保存液<sup>[1]</sup>用于不耐高温器械消毒后的保存, 其处方组成为: 醋酸氯己定 0.2 g, 亚硝酸钠 1 g 加蒸馏水至 1 000 mL。醋酸氯己定的主要测定方法有紫外分光光度法<sup>[2,3]</sup>和高相液相色谱法<sup>[4,5]</sup>等。因器械保存液中的亚硝酸钠, 对紫外分光光度法测定醋酸氯己定有干扰, 为此, 建立了反相高效液相色谱法测定器械保存液中醋酸氯己定的含量。

### 1 仪器与试剂

**1.1 仪器** 岛津 LC-10AD 高效液相色谱系统: LC-10AD 高压泵, SPD-10 紫外检测器, CTO-10A 柱温箱, C-R7A 数据处理机 (日本岛津)。760CRT-双光束紫外可见分光光度计 (上海精密科学仪器有限公司); TG328A 分析天平 (上海分析天平厂); SK5200 LH 超声清洗器 (上海科导超声仪器有限公司)。

司); TG328A 分析天平 (上海分析天平厂); SK5200 LH 超声清洗器 (上海科导超声仪器有限公司)。

**1.2 试剂** 醋酸氯己定 (锦州九泰药业有限责任公司, 批号 050401, 含量 99.8%); 乙腈为色谱纯; 亚硝酸钠、冰醋酸、三乙胺等均为分析纯, 蒸馏水 (柳州市第三人民医院自制)。

### 2 方法与结果

**2.1 色谱条件** 色谱柱: Shim-pack CLC-C<sub>8</sub> (6.0 mm × 150 mm, 5 μm, 日本岛津), 流动相: 乙腈-水 (含 1% 三乙胺, 并用醋酸调节 pH 至 4.0) (42: 58); 流速 1.0 mL/min, 衰减 6 紫外检测波长 258 nm; 柱温 30 °C; 进样量为 20 μL。

**2.2 对照品溶液制备** 精密称取 105 °C 干燥至恒重的醋酸氯己定 50 mg 置于 50 mL 棕色容量瓶中, 加入无水乙醇至刻度, 摇匀, 即得 1 mg/mL 醋酸氯己定的对照液, 放入冰箱 4 °C 中保存备用。

**2.3 样品溶液配制** 精密量取样品 5 mL, 置于 25 mL 棕色容量瓶中, 加流动相稀释至刻度, 摇匀, 并用 0.45 μm 微孔滤膜滤过即可。

**2.4 阴性对照溶液配制** 按处方配制缺醋酸氯己定的阴性样品, 按照 2.3 项下方法制成阴性对照溶液。

**2.5 系统适用性试验** 分别取阴性对照溶液、对照品溶液、样品溶液各 20 μL 进样分析, 记录色谱, 详见图 1。在该色谱条件下, 醋酸氯己定的保留时间为 6.85 min, 理论塔板数为 1314, 表明该色谱条件下, 阴性对照无干扰。

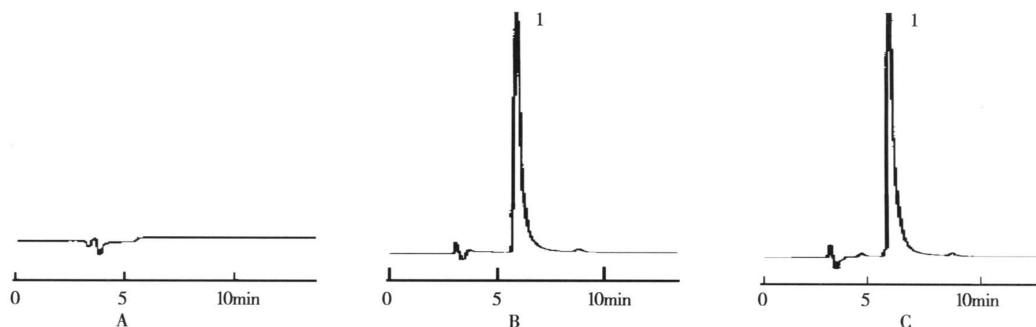


图 1 高效液相色谱图  
A-阴性对照; B-对照品; C-样品; 1-醋酸氯己定

**2.7 精密度和重复性试验** 取醋酸氯己定对照品液 (40 μg/mL), 连续进样 5 次, 测定峰面积 (A), 计算 RSD 为 2.0%; 另取醋酸氯己定样品, 依样品含量测定方法测定 5 次, 测得平均含量为 101.28%, RSD = 1.5%。

**2.8 回收率试验** 精密称取适量的醋酸氯己定对照品, 按处方比例配制低 (160 μg/mL)、中 (200 μg/mL)、高 (240 μg/mL) 3 种不同浓度的模拟样品 6 份, 参照 2.3 项下方法配成样品溶液进行含量测定, 并计算回收率 (见表 1)。

表 1 醋酸氯己定回收率实验结果

加入量 (μg/mL)	测得量 (μg/mL)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
160.00	155.84	97.40		
160.00	157.94	98.71		
200.00	201.94	100.97	99.96	1.71
200.00	203.68	101.84		
240.00	243.05	101.27		
240.00	238.97	99.57		

**2.9 样品的含量测定** 取 050923、05113Q、060208 3 批样品各 5 mL, 按 2.3 项下方法配成样品溶液, 依法测定并按外标法计算, 分别为标示量的 102.0%、101.71% 与 98.87%。

**2.6 标准曲线的制备** 分别量取醋酸氯己定对照液 0.5、0.75、1.0、1.5、2 mL, 分别置于 25 mL 棕色容量瓶中, 各加入流动相稀释至刻度, 摇匀, 配成系列浓度的对照品溶液, 分别取 20 μL 进样, 测定醋酸氯己定的峰面积 (A)。以浓度 C (μg/mL) 为横坐标, 以峰面积 (A) 为纵坐标, 进行线性回归。标准曲线为  $C = 3.559 \times 10^{-5} A + 1.393 \times 10^{-3}$  ( $r = 0.9998$ ), 表明醋酸氯己定在 20~80 μg/mL 浓度范围内与峰面积 (A) 呈良好线性关系。

### 3 亚硝酸钠干扰试验

精密称取醋酸氯己定对照品, 按《中国医院制剂规范》处方配制 0.02% 醋酸氯己定溶液; 按本院处方配制器械保存液。精密称取亚硝酸钠 (分析纯), 加蒸馏水配制成 0.1% 亚硝酸钠溶液。3 种溶液均用蒸馏水稀释 20 倍后, 在 240~300 nm 波长范围内扫描, 结果见图 2。表明亚硝酸钠在紫外区有一定的吸收, 对测定醋酸氯己定含量的直接紫外分光光度法有干扰。

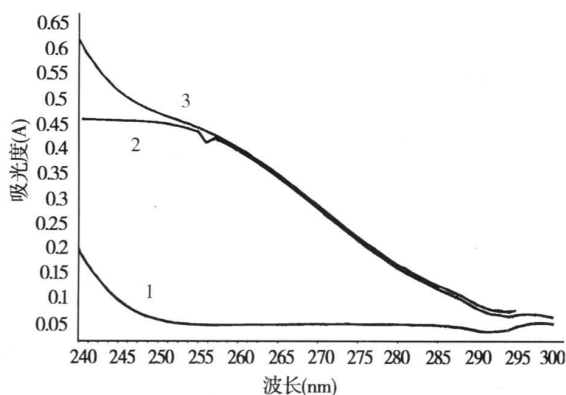


图 2 紫外光谱扫描图

1-0.1% 亚硝酸钠溶液; 2-醋酸氯己定溶液; 3-器械保存液

分别取同一 0.02% 醋酸氯己定对照液 5 mL, 置 10 个 100 mL 棕色容量瓶中, 其中 5 个直接加蒸馏水稀释至刻度, 摇匀; 其余 5 个加入 5 mL 0.1% 亚硝酸钠溶液后, 再加蒸馏水稀释至刻度, 摇匀; 然后均依照紫外分光光度法<sup>[2]</sup>测定醋酸氯己定含量, 并计算回收率, 结果分别为 101.25% (RSD: 1.11%) 和 106.84% (RSD: 0.75%), 经统计学检验,  $P < 0.05$  两者有显著性差异, 说明亚硝酸钠存在下, 直接采用紫外分光光度法测定醋酸氯己定含量会使结果产生正偏差。

#### 4 讨论

对不同比例的乙腈-水组成的流动相进行了考察, 结果以乙腈-水 (42:58) 作为流动相时, 出峰时间适宜 (6.85 min), 基线平直。流动相中加入三乙胺, 可以抑制或掩蔽固定相表面的游离硅醇基的活性, 减少色谱峰的拖尾现象, 改善峰形。

醋酸氯己定不稳定, 可随温度和浓度的升高而使降解产物 (对氯苯胺) 增多, 在紫外光照下尤为明

显<sup>[6]</sup>, 因此所有操作均应避光进行。

本文建立的反相高效液相色谱法不受亚硝酸钠的干扰, 直接用于测定器械保存液中醋酸氯己定的含量, 快速准确, 重现性好, 结果满意。

#### 参考文献:

- [1] 陈新谦, 金有豫, 汤光. 新编药理学 [M]. 第 15 版. 北京: 人民卫生出版社, 2003: 766
- [2] 中华人民共和国卫生部药政局. 中国医院制剂规范·西药制剂 [M]. 第 2 版. 北京: 中国医药科技出版社, 1995: 38
- [3] 崔晋涛, 王荔. 醋酸洗必泰溶液含量测定方法改进 [J]. 内蒙古医学杂志, 2004, 36(1): 56
- [4] 李晔, 徐宏祥. 高效液相色谱法测定醋酸氯己定溶液的含量 [J]. 中国药业, 2000, 9(7): 29
- [5] 朱英, 杨艳伟, 戚其平. 高效液相色谱法测定消毒剂中醋酸氯己定 [J]. 卫生研究, 2003, 32(1): 51
- [6] 张丹, 梁红宇, 曾红泽, 等. 用 HPLC 法同时测定醋酸氯己定及有关杂质对氯苯胺的研究 [J]. 华西医科大学学报, 1995, 26(4): 447

收稿日期: 2006-08-28

(上接第 27 页)

#### 3 讨论

本实验采用  $CCl_4$  造成小鼠急性肝损伤模型, 并观察了 YHL-DC 对  $CCl_4$  致小鼠急性肝损伤的保护作用。 $CCl_4$  是一种强烈的可诱发肝细胞坏死的化合物, 一直被研究者用来诱发各种肝损伤模型以阐明化合物的肝脏毒性或保护机制<sup>[6]</sup>。 $CCl_4$  进入体内后, 经肝脏细胞色素  $P_{450}$  激活, 生成三氯甲基自由基, 与细胞膜及细胞内的大分子发生共价结合, 使酶的功能丧失, 引起膜的脂质过氧化, 胞浆  $Ca^{2+}$  浓度升高, 继而引起膜结构和功能完整性的破坏, 且  $CCl_4$  能够影响线粒体的结构和功能, 最终致使肝细胞变性坏死, 胞浆内转氨酶渗入血液, 使血清中该酶的水平升高。

本研究发现 YHL-DC 预防和治疗给药均能明显降低  $CCl_4$  致急性肝损伤小鼠血清中 ALT、AST 及 T-BIL 水平, 这与国内外岩黄连研究的报道一致<sup>[1,5]</sup>, 由此也可以证明 YHL-DC 是岩黄连的主要有效成分。病理观察结果表明, YHL-DC 可有效减轻  $CCl_4$  引起的肝细胞变性、坏死及炎性细胞浸润等病变, 降低肝组织的病理组织学评分。电镜观察结果提示 YHL-DC 预防及治疗给药可减轻  $CCl_4$  致急性肝损伤的小鼠肝细胞超微结构的破坏。因此 YHL-DC 对

$CCl_4$  所致的急性肝损伤有保护作用, 这种作用可能与 YHL-DC 具有一定的稳定肝细胞膜, 对抗  $CCl_4$  引起的脂质过氧化, 从而保护肝细胞的结构完整及功能稳定有关, 其作用机制有待进一步深入探讨。本实验也提示 YHL-DC 作为保肝护肝的中药有效成分, 具有进一步开发和应用价值。

#### 参考文献:

- [1] 孙宁玲, 陆国才, 袁伯俊, 等. 岩黄连研究进展 [J]. 中药新药与临床药理, 2006, 17(1): 78
- [2] 蒋水元, 胡兴华, 赵瑞峰. 岩黄连引种栽培研究 [J]. 广西植物, 2002, 22(5): 469
- [3] 尹华. 岩黄连与丹参注射液合用对慢性乙型肝炎肝纤维化的影响 [J]. 实用医学杂志, 2001, 17(8): 782
- [4] Wilks PJ, Asha VV. Protective effect of *Lygodium flexuosum* (L.) Sw. extract against carbon tetrachloride induced acute liver injury in rats [J]. *J Ethnopharmacol* 2006, 108: 320
- [5] Li HL, Zhang WD, Zhang C, et al. Bioavailability and pharmacokinetics of four active alkaloids of traditional Chinese medicine *Yanhuanglian* in rats following intravenous and oral administration [J]. *Pharm Biomed Anal* 2006, 41(4): 1342
- [6] Basu S. Carbon tetrachloride-induced lipid peroxidation, eicosanoid formation and their regulation by antioxidant nutrients [J]. *Toxicology*, 2003, 189, 113

收稿日期: 2007-03-27