维普资讯 http://www.cqvip.com

比色法测定苯佐卡因及其软膏制剂的含量

第一医院药剂科 王体强 宋念蓉

提 要 苯佐卡因与碱性羟胺反应再与Fe^{3+}形成紫红色的螯合物，在513.9nm处有最大吸收峰。线性关系$r=0.9999$，回收率为100.33%±0.76%（$n=6$），变异系数$CV=2.68\%$。本法与重氮化法无显著性差异$P>0.05$。此法具有简便、准确、稳定，易于掌握，适用于快速测定苯佐卡因及其软膏制剂的含量

关键词 比色法；苯佐卡因

苯佐卡因Benzocainum为临床常用的局部麻醉药，有止痒、止痛作用，用于创面、溃疡面及痔疮的止痛及痒症。中国药典1963年版采用重氮化滴定法测定含量，以含锌碘化钾淀粉为外指示剂，1977年版药典改用永停滴定法确定终点，而使用比色法测定苯佐卡因含量尚未见报导。本文对比色法进行的方法学研究并与经典的重氮化法进行了比较，此法具有简便、准确、快速，易于掌握等特点。

原理

苯佐卡因与碱性羟胺反应形成异羟肟酸，能与Fe^{3+}形成红紫色的螯合物，颜色的深浅与苯佐卡因浓度成正比。

$$C_9H_{11}NO_2+NH_2OH\longrightarrow C_7H_8N_2O_2+C_2H_5OH$$

（苯佐卡因）　（异羟肟酸）

$$C_7H_8N_2O_2+Fe^{3+}\longrightarrow C_7H_7N_2O_2Fe^{2+}+H^+$$

（异羟肟酸）　（异羟肟酸铁）

红紫色

仪器与试药（均为分析试剂）。

1. 岛津UV—265型，上分751G型分光光度计或其它可见分光光度计。

2. 0.2mol/L盐酸羟胺溶液，每月配制一次，冰箱保存。

3. 0.35mol/L氢氧化钠溶液。

4. 碱性盐酸羟胺溶液：临用前将上述2、3两项溶液等量混合而成。

5. 三氯化铁溶液：$FeCl_3\cdot 6H_2O$ 10克溶于0.02mol/L盐酸1000ml中，过滤于棕色瓶内，可长期使用。

6. 稀盐酸溶液：取浓盐酸23.4ml，用蒸馏水稀释成100ml。

7. 苯佐卡因标准品（中国药典）经硫酸干燥器中干至恒重。

8. 乙醇50%V/V。

测定条件的选择

1. 测定波长的确定：将苯佐卡因用乙醇（50%V/V）制成2mg/ml的溶液，取此液0.8ml加乙醇（50%V/V）0.2ml，加碱性羟胺溶液1ml，立即在沸水浴中加热1～2分钟，取出立即冷却，加释盐酸溶液1ml，加三氯化铁溶液5ml；另取乙醇（50%V/V）1ml按上法同样操作为试剂空白。取上述两种溶液在UV—265型分光光度计上以蒸馏水为空白于λ400～850nm扫描，在λ513.9nm处苯佐卡因显色液有最大吸收峰，而试剂空白溶液在此吸收甚小，故选用λ513.9nm进行比色（见图）。

2. 标准曲线的制备：精确称取苯佐卡因标准品制成2mg/ml的乙醇（50%V/V）溶液，取此溶液1.0、0.8、0.6、0.4、0.2ml按下表操作显色。

维普资讯 http://www.cqvip.com

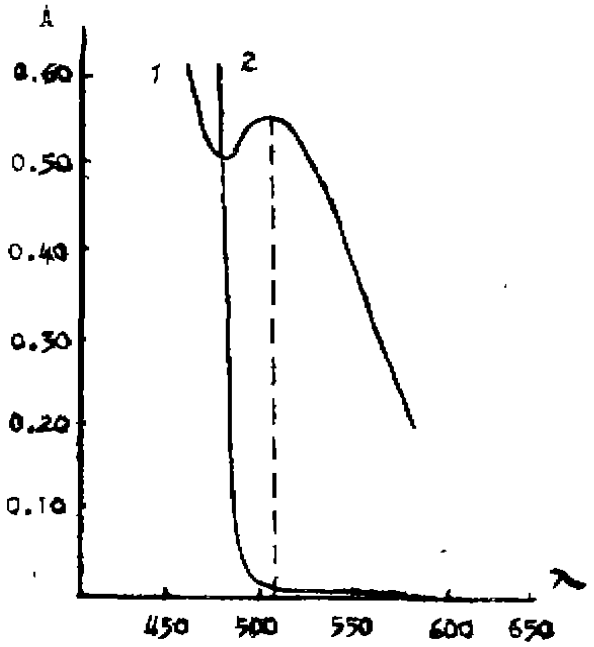


图　苯佐卡因羟肟酸铁螯合物吸收图谱

（1）苯佐长羟因肟羟酸铁螯合物

（2）试剂空白

以0管为空白，在入513.9nm处测得吸收度值A为0.67、0.53、0.40、0.27、0.14。结果表明在浓度为0.4～2.0mg/ml范围内，回归方程为A=0.006+0.33C，r=0.9999(n=6)。

3．稳定性试验：取苯佐卡因2mg/ml溶液1ml，依照制备标准曲线方法显色，立即测定A值．螯合物至少在24小时内稳定。

4．精密度试验：取苯佐卡因2mg/ml溶液0.6ml，按标准曲线项下方法显色、测定A值，平均吸收度士标准为0.4028±0.0108，CV=2.68%(n=10)，重现性较好。

5．回收试验：精确模拟配制高、中、低三个浓度苯佐卡因软膏，取苯佐卡因软膏1克用乙醇50% V/V反复加热溶解，冷却滤入50ml量瓶中，稀释至刻度，取此溶液1ml，按标准曲线项下方法显色，以乙醇（50%V/V）1ml代替检品同样操作为空白，分别测定吸收度，计算回收率为100.33±0.76%，CV=0.76%（n=6）。

6．样品测定：苯佐卡因软膏的处方为苯佐卡因5克，加凡士林适量制成100克。取本品1克，用50%乙醇水浴加热提取4～5次，放冷，滤入50ml量瓶中，稀释至刻度，摇匀．取该溶液1ml按标准曲线项下方法显色测定吸收度A值，按下式计算检品的百分含量。

$$W\% = \frac{A-0.006}{0.33} \times 5$$

通过此法测定8批软膏的百分含量与使用重氮化滴定法[1]测得结果经七检验无显著性差异（P>0.05）。

讨　论

1．凡士林在50%乙醇中几乎不溶，故可用作空白测定。

2．据文献介绍[2]显色形成螯合物反应是可逆的，溶液的pH值对螯合物的组成及稳定性影响很大。如羟肟酸与铁在弱碱性溶液中形成红棕色螯合物，在弱酸性溶液中形成樱红色螯合物．只有当溶液pH值为1～3的相当强酸性溶液中方形成所希望的最稳定的红紫色螯合物$Fe(OHNCOR)^{2+}$，当酸度再增高，则解离成游离的羟肟酸而不形成螯合物了。可见在这类显色反应中严格控制pH是十分必要的。本实验中碱性羟胺及稀盐酸的浓度及用量是通过实验反复确定的。其浓度及用量必须准确，否则对结果将产生较大的影响。

参考文献

[1] 中国药典二部．1963；93

[2] 陈耀祖．有机分析．第一版．高等教育出版社，1981：220

管　　号	0	1	2	3	4	5
2mg/ml 标准溶液	0.00	1.0	0.80	0.60	0.40	0.20
5%　乙　醇	1.0	0	0.20	0.40	0.60	0.80
碱性羟胺	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
混匀，沸水浴中加热 1～2min，立即冷却。						
稀盐酸	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
$FeCl_3$溶液	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0