

複方製劑中 Tolnaftate 定量法之比較

周秀冠 徐廷光 謝彭生

摘 要

Tolnaftate 在分別與 Benzocaine, Hexachlorophene, Salicylic acid, Methyl salicylate 等成分配合之複方外用製劑中，其定量方法有：(1)紫外光吸光度測定法¹，(2)可視光吸光度測定法²，(3)高效液相層析法³。經研討比較，其中仍以高效液相層析法最為便捷、實用。

鍵語：Tolnaftate, Benzocaine, 複方製劑，紫外光吸光度法，可視光吸光度法，高效液相層析法。

前 言

Tolnaftate (Naphthiomate T) [0-2-Naphthyl m, -N-dimethylthiocarbanilate, $C_{19}H_{17}NOS = 307.41$] 之主要藥理作用為抑制表皮癬菌屬 (*Epidermophyton*)、小芽胞菌屬 (*Microsporum*)、毛髮癬菌 (*Trichophyton spp.*) 及糠疹癬菌 (*Pityrosporum orbiculare*) 之生長⁴；可治療髮癬、錢癬、腹股溝癬、香港腳等。醫療上，每與 Benzocaine、Hexachlorophene、Methylsalicylate、Salicylic acid 等成分配合，製成溶液、軟膏、粉劑及凝膠劑等。其常見之處方配合如下：

處方 A：Tolnaftate 2 %

Benzocaine 1 %

處方 B：Tolnaftate 1 %

Hexachlorophene 0.25 %

處方 C：Tolnaftate 2 %

Methylsalicylate 2 %

處方 D：Tolnaftate 2 %

Salicylic acid 2 %

Tolnaftate 之含量測定法常見者有三種：一、紫外光吸光度測定法，二、可視光吸光度測定法，三、高效液相層析法。茲為對上述複方製劑中所含 Tolnaf-

tate 確立一準確迅速之定量分析條件，就此等不同的含量測定法予以研討、比較。

材 料 與 方 法

一、紫外光吸光度測定法

依美國藥典第二十版 806 頁 "Tolnaftate cream" 之含量測定法操作。

Tolnaftate 對照標準品之紫外光吸收圖譜如圖一，檢量線如圖二。

二、可視光吸光度測定法

(一) 試藥

1. 胺基苯磺酸 (Sulfanilic acid) 溶液：取胺基苯磺酸 1.57 g 加稀鹽酸 (27 → 100) 20 ml 及水 150 ml，振盪使溶後，加水稀釋至 200.0 ml。

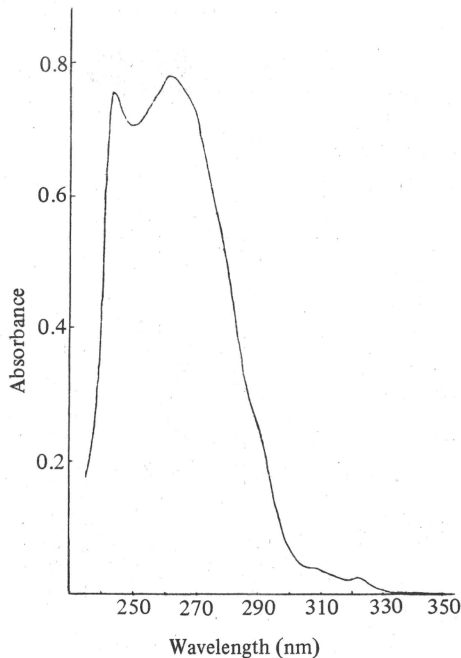
2. 氫氧化鈉溶液 (0.86 → 100)。

3. 胺基磺酸銨 (Ammonium sulfamate) 溶液 (20 → 100)。

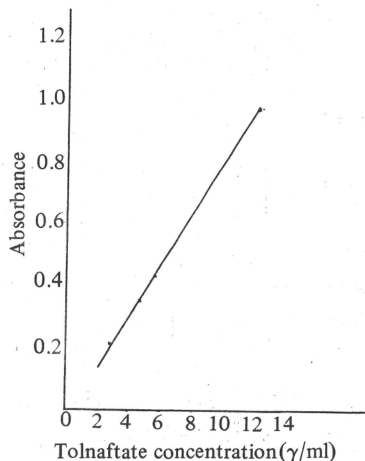
4. 甲醇鈉 (Sodium methylate, $NaOCH_3$) 溶液：2.8 % 甲醇溶液。

(二) 檢品溶液

取相當於 Tolnaftate 6 mg 之檢體 (處方 A、B、C 及 D 之軟膏劑)，置茄形瓶內，加甲醇 10 ml 及甲醇鈉溶液 10 ml，接裝迴流冷凝器，於沸



圖一 Tolnaftate 之紫外光吸收圖譜



圖二 Tolnaftate 標準品之紫外光吸光度測定法檢量線

水浴上加熱 3 小時。冷後，移入 50ml 容量瓶。以甲醇洗滌茄形瓶 3 次，每次 10ml，洗液併入容量瓶。加甲醇，使成 50.0ml，過濾。取濾液 5.0ml 置 50ml 容量瓶中，加甲醇至定容，混勻。

標準品溶液

取經乾燥之 Tolnaftate 標準品約 30mg，精確稱定，置 50ml 容量瓶中，加甲醇使成 50.0ml

。取此溶液 10.0ml，置茄形瓶內，以下與檢品同樣操作，調配成每 ml 含量約 12 μg 之濃度，即得。

操作

取 25ml 容量瓶三個（瓶甲、乙及丙），置水浴中，分別按下列程序操作：

	甲	乙	丙
1. 加胺基苯磺酸溶液	2.0ml	2.0ml	2.0ml
2. 加 1% 亞硝酸鈉溶液	1.0ml	1.0ml	1.0ml
3. 靜置 5 分鐘			
4. 加胺基磺酸鉍溶液	1.0ml	1.0ml	1.0ml
5. 加標準品溶液	15.0ml		
檢品溶液	—	15.0ml	—
甲醇（空白對照液）	—	—	15.0ml
6. 加氫氧化鈉溶液	2.0ml	2.0ml	2.0ml
7. 加 1N 鹽酸 使成	25.0ml	25.0ml	25.0ml
8. 靜置 1 ~ 2 分鐘			

然後，以瓶丙中甲醇所得溶液為空白對照液，用分光光度計，在波長 483 nm 附近呈最大吸收處，分別測定甲瓶中對照標準品溶液及乙瓶中檢品溶液所得最終溶液之吸光度。據以計算檢品中之含量。

三、高效液相層析法：

液相層析儀：

溶媒輸送系統：Waters，model 6000 A 二部。

溶媒程式設定器：Waters，model 660。

μ 6K 注射器：Waters，μ 6K injector。

μ-Porasil 正相層析管：Waters，3.9mm ID × 30 cm。

μV 偵知器：Waters，model 450。

紀錄器：Omniscrite recorder。

試藥及對照標準品

1. Tolnaftate，Benzocaine，Hexachlorophene，Methylsalicylate 及 Salicylic acid：藥典級。

2. 氯仿：液相層析用試藥級（E. Merck）。

3. 異辛烷（iso-octane）：液相層析用試藥級（E. Merck）。

實驗步驟：

1. 檢品溶液

精確稱取相當於 Tolnaftate 20mg 之檢體（

處方 A、B、C 及 D 之軟膏劑)，加氯仿 70 ml，微溫溶解後，急速冷卻，將凝為絮狀之基劑濾去。殘渣以氯仿充分清洗，洗液併入濾液，加適量之氯仿，使全量成 100.0 ml。

2. 標準品溶液

以氯仿為溶媒，分別調配為含下列成分及濃度之標準品溶液：

Tolnaftate 200 $\mu\text{g/ml}$

Benzocaine 100 $\mu\text{g/ml}$

Hexachlorophene 50 $\mu\text{g/ml}$

Methylsalicylate 200 $\mu\text{g/ml}$

Salicylic acid 200 $\mu\text{g/ml}$

3. 實驗分析條件

(1) 層析管： μ -Porasil 3.9 mm ID $\times$ 30 cm。

(2) 移動相：iso-octane : chloroform =

19 : 1。

(3) 偵知器： μV 254 nm，0.4 AUFS。

(4) 流速：2.0 ml/min。

(5) 紀錄紙速度：0.25 cm/min。

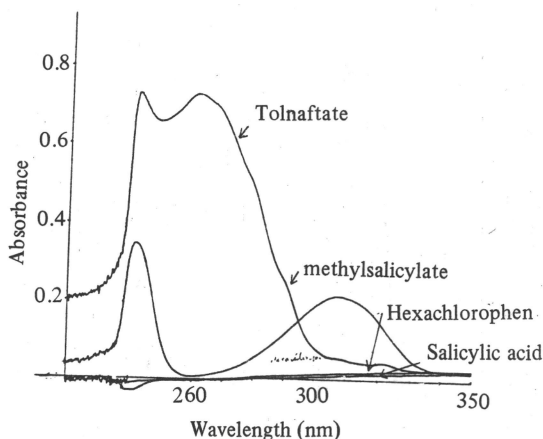
4. 鑑別及含量測定法：

依上述分析條件，分別注射檢品溶液及標準品溶液各 10 μl 。由各波峯之滯留時間可鑑別各成分，同時依其波峯面積計算檢品溶液中 Tolnaftate 之含量。

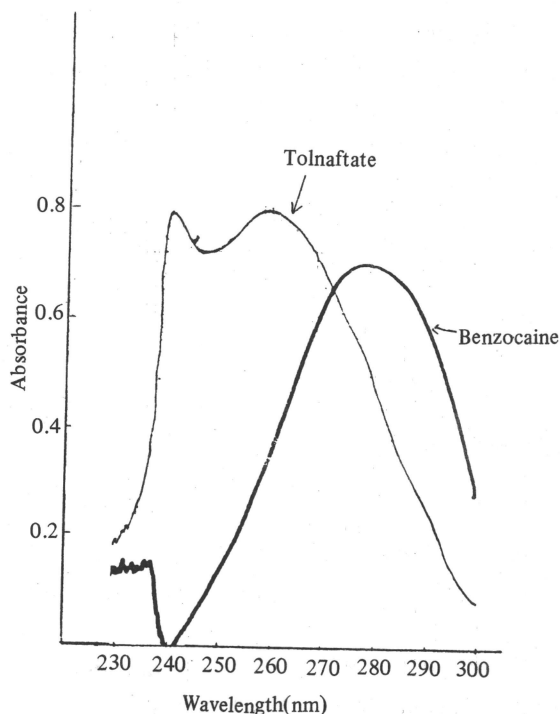
結果與討論

一、紫外光吸光度測定法

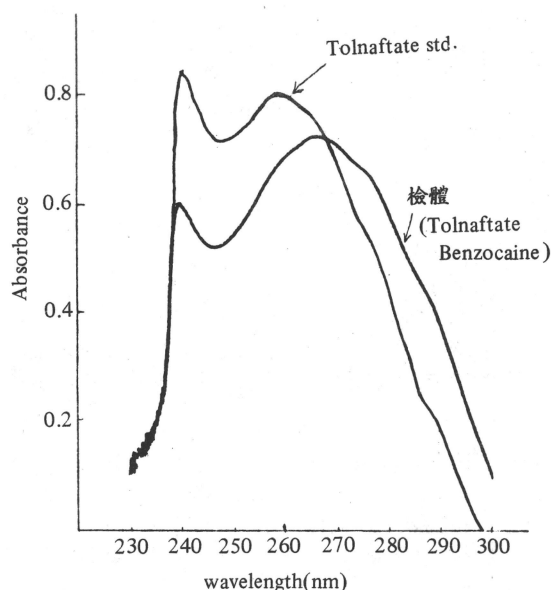
因有機層須經酸、鹼、水等多次振搖洗滌，部份製劑之基劑會引起乳化，以致分層不易，欲獲最後過濾之澄清溶液，頗為費時。如能克服此項困難，四種處方中，Hexachlorophene，Salicylic acid，Methylsalicylate 均不會影響 Tolnaftate 在 258 nm 之測定。圖三即為個別的 Hexachlorophene，Salicylic acid，Methylsalicylate 與 Tolnaftate 經前述紫外光吸光度測定法處理後之紫外光吸收圖譜。而單獨處理的 Benzocaine 其最大吸收處在 282 nm，以下即急速下降（圖四），故處方 A 用此法定量，最大吸收處會發生偏移（圖五），並不適用。



圖三 Hexachlorophene (2.57/ml), Salicylic acid (107/ml), Methylsalicylate (107/ml) 及 Tolnaftate (107/ml) 分別經紫外光吸光度測定法處理後之紫外光吸收圖譜



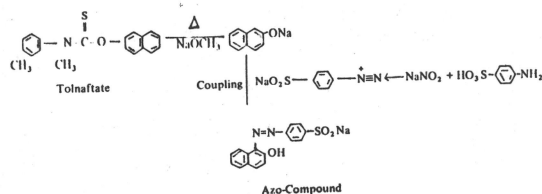
圖四 Tolnaftate 與 Benzocaine 紫外光吸收圖譜之比較



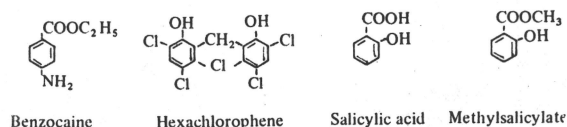
圖五 處方 A 檢體之紫外光吸收圖譜

二、可視光吸光度測定法

係利用胺基苯磺酸與亞硝酸鈉起偶氮化反應 (diazotisation)，所產生之重氮化合物 (diazonium compound)⁵，再和 Tolnaftate 與甲醇鈉迴流加熱反應後之產物偶合 (coupling)。其作用機序略如下：



而四種共存成分之構造式如下：

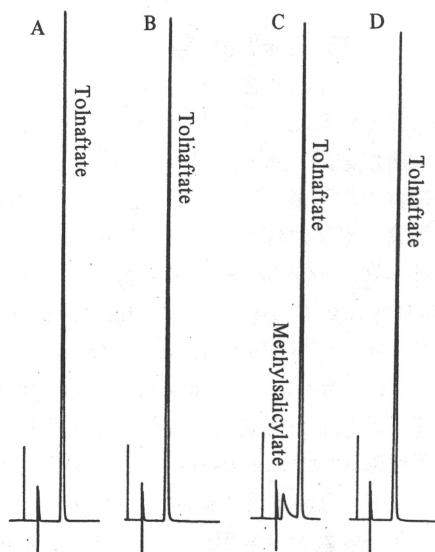


經多次反覆試驗，發現：(+)單獨的 Benzocaine，Hexachlorophene，Salicylic acid，Methylsalicylate 分別與甲醇鈉溶液迴流加熱，其甲醇溶液之紫外光吸收圖譜，最大吸收處均發生極大移位 (shift) 現象。而進一步進行呈色反應時，於波長 483 nm 處並無顯著之吸收。但各該成分與

Tolnaftate 共存時，經與甲醇鈉共熱並進行呈色反應後，則在 483 nm 處之吸光值顯著下降，致有使 Tolnaftate 之回收率下降 10 % 以上者，尤以 Methylsalicylate 與 Salicylic acid 為甚；其原因不明，尚待進一步之探討。(+)Tolnaftate 經迴流加熱後，原為無色澄明之甲醇溶液，暴露於光線下，極易變為黃色；而用已變色之溶液續作呈色反應，則在 483 nm 之吸光值顯著下降。(+)甲醇鈉對空氣、濕氣極為敏感，遇水即分解。因此第一步驟之迴流過程，須做到無水狀態。而(+)胺基苯磺酸與亞硝酸鈉所生成之重氮化合物極不穩定，甚至在水浴中亦會緩慢分解⁵。故重氮化合物溶液製備後應立即使用，否則影響呈色之吸光值甚鉅。由於以上種種因素，Tolnaftate 在此四種複合處方中以此項可視光吸光度法定量，所得之結果極不穩定。

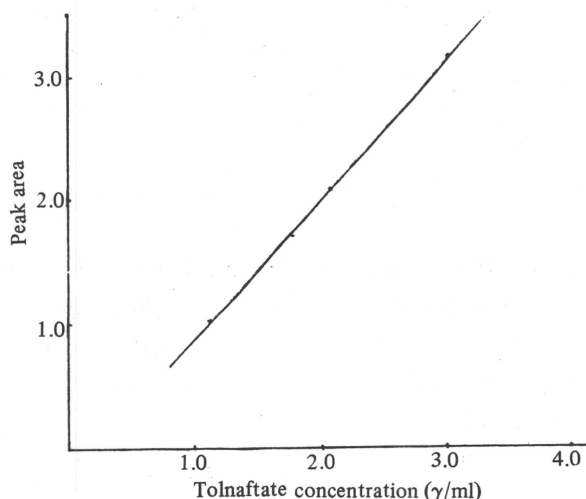
三、高效液相層析法

係於前述材料與方法三項，正相層析條件下進行。因 Tolnaftate，Benzocaine，Hexachlorophene，Salicylic acid，Methylsalicylate 對丙酮之溶解度均甚良好⁶，故採丙酮為溶媒；於溶解過濾後即可直接取濾液操作。層析時，僅 Methylsalicylate 之滯留時間較 Tolnaftate



圖六 處方 A、B、C 及 D 檢體之高效液相層析圖譜 (層析管為 μ -Porasil, 移動相為 iso-octane:CHCl₃ = 19:1)

短暫，且不影響 Tolnaftate 之分離。其他 Benzocaine, Hexachlorophene, Salicylic acid 則並無波峯出現，故亦不干擾 Tolnaftate 之定量。各處方層析之回收率均甚理想，其圖譜如圖六。檢量線如圖七。



圖七 Tolnaftate 標準品之高效液相層析法檢量線

四種模擬檢體（處方 A、B、C、D）分別以上述三種定量法測定，並比較其回收率（%）如表一。

綜觀以上三種 Tolnaftate 之定量法，除可視光吸光度測定法，因再現性不佳，Benzocaine, Hexachlorophene, Methylsalicylate, Salicylic acid 均會降低其吸光值，是否有運用之價值，尚待進一步研討外，茲將紫外光吸光度測定法與高效液相層析法之優缺點列表如表二。

因此，Tolnaftate 在此四種處方中之定量，仍以高效液相層析法最準確實用。

參考文獻

1. The United State Pharmacopeia XX. 1980.
2. Specification for Drug Registration.
3. Specification for Drug Registration modified.
4. Martindale. 1982. The Extra Pharmacopeia. 28th ed.
5. Morrison and Boyd. 1984. Organic Chemistry. 4th ed.
6. Clarke, E.G.C. 1976. Isolation and Identification of Drugs.

表一 四種模擬檢體之回收率比較

	處方 A Tolnaftate + Benzocaine	處方 B Tolnaftate + Hexachlorophene	處方 C Tolnaftate + Methylsalicylate	處方 D Tolnaftate + Salicylic acid
紫外光吸光度測定法 (最大吸收波長偏移)	—	97	95.1	97.2
可視光吸光度測定法 (吸光值下降)	—	—	—	—
高效液相層析法	102.0	99.8	99.7	98.5

表二 紫外光吸光度測定法與高效液相層析法之優劣點比較

	紫外光吸光度測定法	高效液相層析法
優點	1. 步驟簡單毋需昂貴儀器，一般實驗室即可操作。 2. 不受處方中 Hexachlorophene, Salicylic acid 或 Methylsalicylate 之影響。 3. 精確度尚佳。	1. 前處理簡單迅速。 2. 處方中 Benzocaine, Hexachlorophene, Salicylic acid 及 Methylsalicylate 均不影響 Tolnaftate 之定量。 3. 精確度最高。
缺點	1. 多次酸、鹼抽取，易產生乳化，不易分層。 2. Benzocaine 會影響。	1. 儀器設備較昂貴。

COMPARISON ON THE ASSAYS OF TOLNAFTATE IN PHARMACEUTICAL COMPOUND PREPARATIONS

SHOU-GUAN CHOU, TING-GUANG SHYU AND
PENG-SHENG HSIEH

ABSTRACT

In preparations for external use, tolnaftate is usually formulated with benzocaine, hexachlorophene, salicylic acid, and methyl salicylate, respectively. Determination of Tolnaftate in these preparations can be performed by UV spectrophotometric method, colorimetric analysis, and

high performance liquid chromatography. From the comparison on the above methods, the results indicate that determination of Tolnaftate by high performance liquid chromatography is simpler and more practical.