

# 药物的紫外百分吸收系数用于 HPLC 定量测定的方法探讨

陈忆庭(杭州 310003 康恩贝集团有限公司)

**摘要** 目的:解决 HPLC 定量测定中需要对照品的问题。方法:对不同的流动相及组成、比例、pH、药物性质对记录仪的响应因子进行研究。结果:对一定的仪器、柱子和记录仪而言,  $K$  为一常数。结论:以药物的紫外百分系数  $E_{1\%}^{1\text{cm}}$  可直接进行 HPLC 定量测定的方法( $C = SF / KE_{1\%}^{1\text{cm}} V$ )。以本法测定复方新诺明中的 SMZ、TMP 含量,与文献方法比较,两者并无显著性差异。

**关键词** HPLC 定量测定;百分吸收系数;复方新诺明

## The Determination of Drugs Contents By HPLC With $E_{1\%}^{1\text{cm}}$

Chen Yiting(Conba Group Ltd. Co.310003)

**ABSTRACT** **OBJECTIVE:**To determine drug contents by HPLC with  $E_{1\%}^{1\text{cm}}$ . **METHOD:**Study the influence of the kinds, ratio, pH of mobile phase and properties of drugs on the respond factors of recorder. **RESULTS:** $K$  is a constant for a certain instrument, column and recorder. **CONCLUSION:**Drugs content can be determined by HPLC with  $E_{1\%}^{1\text{cm}}$  directly. ( $C = SF / KE_{1\%}^{1\text{cm}} V$ ). There is no difference when determining SMZ, TMP in SMZ, compared with reference.

**KEY WORDS** HPLC Determination,  $E_{1\%}^{1\text{cm}}$ , SMZ

由于 HPLC 集分离和定量于一体,灵敏度高,适用性广,不破坏样品等特点,在药物分析中的应用越来越广。然而, HPLC 有一致命弱点,就是以它作分析测定时,必须要有对照品作参比。为此色谱工作者作了大量的研究,但进展甚微。国内已有人报道了以  $E_{1\%}^{1\text{cm}}$  计算定量校正因子  $f$ ,然后再以内标法测定样品含量的方法<sup>[1]</sup>以及以双流动相技术进行 HPLC 定量测定的方法<sup>[2]</sup>。但是,双流动相技术比较繁琐,而且实际应用中要寻找两种流动相使样品的紫外吸收值相同也比较困难。本文则提出了一种更为简便、直接的方法,对一定的仪器、柱子、记录仪而言,  $C = SF / KE_{1\%}^{1\text{cm}} V$ ,其中  $K$  为常数。因此,只要已知样品在流动相中的  $E_{1\%}^{1\text{cm}}$ ,就可以对药品进行 HPLC 定量测定。方法相当简单、便利。以本法测定复方新诺明片中的 SMZ、TMP 含量,其结果与内标法无显著性差异。

### 1 仪器与设备

仪器:Shimadzu UV-265 F W Spectrophotometer

中国现代应用药学杂志 2002 年 8 月第 19 卷第 4 期

Waters 501 HPLC Pump

Waters 481 Tunable Absorbance Detector

Waters U6 K Injector

Column: Waters  $\mu$ Bondapak  $C_{18}$   $3.9 \times 250$  mm

试剂:均为 AR

样品:为中国药品生物制品检定所提供的对照品或符合

CH.P

### 2 实验

#### 2.1 色谱条件对 $K$ 的影响:

以表 1 所列的流动相分别配制一定浓度的扑热息痛液,按表 1 所列的条件分别测定  $\lambda_{\text{max}}$  及相应的  $A$  值,以比尔-郎伯定律求得在最大吸收波长下的  $E_{1\%}^{1\text{cm}}$ ,结果见表 1。以  $\lambda_{\text{max}}$  为检测波长,按表 1 所列条件测定  $S$  值,并计算得到  $K$  值,结果见表 1。

#### 2.2 样品性质对 $K$ 的影响:

以甲醇和水配制 70:30 为溶剂分别配制一定深度的样

品液,分别测定  $\lambda_{\max}$  及相应的 A 值,求得  $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ ,以  $\lambda_{\max}$  为检测波长,按表 2 所列条件测定 S 值,并计算得到 K 值,结果见表 2。

表 1 色谱条件对 K 值的影响 ( $n=10, \alpha=0.005$ )

流速 (ml/min)	流动相	$E_{1\text{cm}}^{1\%}$	K ( $10^9 \text{ mm}^3/\text{min}$ )
0.5	CH <sub>3</sub> OH-H <sub>2</sub> O 70:30	861	1.108 ± 0.120
0.8	CH <sub>3</sub> OH-H <sub>2</sub> O 70:30	861	1.078 ± 0.120
1.0	CH <sub>3</sub> OH-H <sub>2</sub> O 70:30	861	1.077 ± 0.111
1.2	CH <sub>3</sub> OH-H <sub>2</sub> O 70:30	861	1.081 ± 0.112
1.5	CH <sub>3</sub> OH-H <sub>2</sub> O 70:30	861	1.074 ± 0.112
1.0	CH <sub>3</sub> OH-H <sub>2</sub> O 90:10	916	1.056 ± 0.080
1.0	CH <sub>3</sub> OH-H <sub>2</sub> O 80:20	894	1.057 ± 0.090
1.0	CH <sub>3</sub> OH-H <sub>2</sub> O 60:40	827	1.107 ± 0.111
1.0	CH <sub>3</sub> OH-H <sub>2</sub> O 50:50	811	1.118 ± 0.121
1.0	CH <sub>3</sub> OH-Buffer (PH3.0) 70:30	829	1.084 ± 0.112
1.0	CH <sub>3</sub> OH-Buffer (PH5.0) 70:30	839	1.034 ± 0.122
1.0	CH <sub>3</sub> OH-Buffer (PH7.0) 70:30	828	1.040 ± 0.118
1.0	CH <sub>3</sub> OH-Buffer (PH9.0) 70:30	834	1.050 ± 0.115
1.0	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH-H <sub>2</sub> O 70:30	854	1.020 ± 0.050
1.0	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH-H <sub>2</sub> O 70:30	117	1.054 ± 0.088

缓冲液: Phosphate 20 m M

紫外测定条件: 速度: 快; 开始波长: 350nm, 结束波长: 200nm

HPLC 测定条件: 灵敏度: 0.2AUFS

表 2 药物性质对 K 值的影响 ( $n=10, \alpha=0.005$ )

药物名称	$\lambda_{\max}$	$E_{1\text{cm}}^{1\%}$	K ( $10^9 \text{ mm}^3/\text{min}$ )
Aceta minophen	247	861	1.074 ± 0.132
Inosine	248	439	0.983 ± 0.143
Progesterin	244	519	1.022 ± 0.111
Cefalexin	262	204	1.046 ± 0.099
$\alpha$ -Naphthol	294	353	1.035 ± 0.076
$\beta$ -Naphthol	273	311	1.010 ± 0.099
Sulfanilicue Acid	249	851	1.080 ± 0.090
Sinomin	205	740	1.065 ± 0.104
Diclofenac Sodium	280	3907	1.074 ± 0.124

紫外测定条件: 扫描速度: 快; 开始波长: 350nm, 结束波长: 200nm

HPLC 测定条件: 流动相: CH<sub>3</sub>OH-H<sub>2</sub>O 70:30 流速: 1.0 ml/min

灵敏度: 0.2AUFS

表 3 复方新诺明片含量测定结果 ( $n=10, \alpha=0.05$ )

序号	1	2	3
成分	SMZ	TMP	SMZ
内标法	98.0	99.2	100.2
	±1.2%	±1.4%	±1.1%
本法	98.7	99.3	100.8
	±1.1%	±1.5%	±0.9%
F 值	1.20	1.15	1.49
$F_{0.05}$ 值			3.18

## 2.3 复方新诺明测定:

按处方比例制备模拟片。取 20 片,精密测定,求得其平均片重,研细,按文献(3) 制备样品液及一定浓度的 SMZ、TMP 对照液,按文献(3) 方法测定其含量;同时分别测定不加内标的 SMZ、TMP 对照液于 240nm 下的 A 值,并求得  $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ ,以 240nm 为检测波长,测得样品液的 S 值,并按式 ③求得浓度,将结果换算成相当于标示量的百分比,结果见表 3。

## 3 讨论

3.1 从式 ③可以看出, K 实际上是  $C=1\%(\text{g/ml}) E_{1\text{cm}}^{1\%} = 1 \text{ ml/g} \times \text{cm}$ ,  $V=1 \text{ ml}$ ,  $F=1.0 \text{ ml/min}$  时的色谱峰面积,因此不妨可以暂时将它命名为系统定量校正因子。以表 1 和表 2 的结果来看,对一定的仪器、记录仪和柱子而言, K 为一常数,与其它因素无关。

3.2 从 K 出发,可以计算得到药物的定量校正因子

$$f = (S_s / W_s) / (S_i / W_i) \\ = E_{1\text{cm}}^{1\%}(S) / E_{1\text{cm}}^{1\%}(i)$$

这就沟通了  $E_{1\text{cm}}^{1\%}$  与 f 的关系,并由此可以计算定量校正因子<sup>[1]</sup>。

3.3 从表 3 的结果可以看到,本法与内标法无显著性差异 ( $\alpha=0.05$ ),其精度和准确度完全可以满足药物分析的要求。

3.4 以式 ③可以看出,流速、检测器波长的精度、S 的测量方法、流动相的配比等因素对结果均有影响,应注意校正。

## 参考文献

- 1 李聪.紫外检测器定量校正因子的性质与实用性探讨.色谱, 1990, 8(4): 255.
- 2 刘文英,安登魁.无参比标准品的液相色谱定时分析方法.药学进展, 1991, 15(1): 23.
- 3 刘德林,胡斯,丁德雯.高效液相色谱法测定复方新诺明片的含量.药物分析杂志, 1991, 11(4): 223.

收稿日期: 2001 - 12 - 07