

高效液相色谱法同时测定小儿氨酚黄那敏颗粒剂中二组分的含量

周静安 (浙江省衢州市药品检验所, 浙江 衢州 324002)

摘要:目的 建立一种用反相高效液相色谱法,同时测定小儿氨酚黄那敏颗粒中对乙酰氨基酚和马来酸氯苯那敏含量的方法。方法 采用 RP-HPLC法,以 Shim-pack VP-ODS (150mm × 4.6mm, 5 μ m)为色谱柱,甲醇-水-冰醋酸 (40:60:0.5)为流动相,检测波长 (λ)为:261 nm,流速:1.0 mL/min,柱温:40℃,面积外标法定量。结果 对乙酰氨基酚、马来酸氯苯那敏线性范围分别在 40 ~ 280 μ g·mL⁻¹, 0.32 ~ 2.24 μ g·mL⁻¹;浓度范围内呈现出良好的线性关系,方法平均回收率分别为:98.85%, 97.97% ($n=3$)。相关系数 $r=0.9999$, $r=0.9997$, RSD为 0.81%, 1.76% ($n=5$)。结论 该方法简便、快速,二组分分离度好,其他成分无干扰,测定结果准确可靠,可作为该制剂质量控制的有效方法。

关键词:小儿氨酚黄那敏颗粒剂;对乙酰氨基酚;马来酸氯苯那敏;高效液相色谱

作者简介:周静安,男,45岁,在职药理学研究生,主管药师,主要从事药品质量检验工作。

Determination of paracetamol and chlorphenamine maleate in Xiao'er Anfen Huang Nam in granules by HPLC

ZHOU Jing-an (Quzhou institute for Drug Control of Zhejiang Province, Quzhou 324002)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish a RP-HPLC method for the determination of paracetamol and chlorphenamine maleate in Xiao'er Anfen Huang Nam in granules. **METHODS** The shim-pack VP-ODS (150mm × 4.6mm, 5μm) was used. The mobile phase was consisted of methanol-water-acetic acid (40:60:0.5). The UV detection wavelength was 261 nm. The flow rate was 1.0 mL/min with the column temperature 40°C. External standard method was used. **RESULTS** The linear ranges were 40 μg/mL ~ 280 μg/mL for paracetamol and 0.32 μg/mL ~ 2.24 μg/mL for chlorphenamine maleate. The average recoveries were 98.85% and 97.97% (n=3) with RSD 0.81% and 1.76% (n=5), respectively. **CONCLUSION** The proposed method is simple, rapid, sensitive and accurate. It is available to the quality control of Xiao'er Anfen Huang Nam in granules.

KEY WORDS: Xiao'er Anfen Huang Nam in granules; paracetamol; chlorphenamine maleate; HPLC

小儿氨酚黄那敏颗粒剂,在临床上为一常用的抗感冒药,可用于风热感冒及温病引起的头痛、发热等诸多症状。处方中含对乙酰氨基酚与马来酸氯苯那敏,另外还含有人工牛黄以及适量的辅料。现行国家药品标准 WS-10001-(HD-0214)-2002中只对对乙酰氨基酚的含量测定采用紫外分光光度法测定^[1],操作繁琐,费时,结果重现性差。而对马来酸氯苯那敏未作含量控制,制剂的质量不易准确控制。为改进现有质控方法,本实验采用反相高效液相色谱法,同时分离、测定小儿氨酚黄那敏颗粒剂中二组分的含量,结果简便、快速、准确。经方法学研究,证明本法可行。现报道如下。

1 仪器与试剂

日本岛津 LC-HPLC 2010 A高效液相色谱仪,配自动进样系统,CLASS-VP ver. 6.12 色谱数据工作站,BOLOGMSC-302超声波清洗器(上海波龙电子设备有限公司)。日本岛津 MV-2450型紫外分光光度计。

甲醇为色谱纯;水为重蒸馏水;冰醋酸(AR级);对照品:(对乙酰氨基酚 批号:018-8905;马来酸氯苯那敏 047-8902 供含量测定用 中国药品生物制品检定所);小儿氨酚黄那敏颗粒剂[由浙江经纬药业有限公司等提供 批号:030701 030702 030703 030801 031018 规格:6g(对乙酰氨基酚 0.125 g、马来酸氯苯那敏 0.5mg)/包。]

2 色谱条件

色谱柱:岛津 Shim-pack VP-ODS (150 mm × 4.6 mm 5μm);流动相:甲醇-水-冰醋酸(40:60:0.5);检测波长(λ_{nm})为 261 nm;流速:1.0 mL/min;柱温:40°C;进样量:20 μL;面积外标法定量。

3 方法与结果

3.1 供试品溶液的制备

3.1.1 样品溶液的制备 精密称取供试样品适量(约相当于对乙酰氨基酚 20mg)置 100mL量瓶内,加流动相适量,置超声清洗器中超声助溶 5min后,再用流动相稀释至刻度,摇匀,用 0.45μm 滤膜过滤,即得。

3.1.2 阴性对照溶液的制备 按其质量标准中处方比例制备不含对乙酰氨基酚和马来酸氯苯那敏的阴性样品溶液,照

上述供试样品溶液的制备方法制成阴性对照溶液。

3.1.3 对照品溶液的制备 精密称取对乙酰氨基酚和马来酸氯苯那敏对照品适量,用流动相溶解并稀释制成含对乙酰氨基酚 200 μg/mL,马来酸氯苯那敏 0.84 μg/mL 的混合对照品溶液。用 0.45μm 滤膜过滤,即得。

3.2 检测波长的选择和空白试验

分别取对乙酰氨基酚、马来酸氯苯那敏对照品溶液,用日本岛津 UV-2450 紫外分光光度计在波长 200~600 nm 处扫描,结果对乙酰氨基酚与马来酸氯苯那敏对照品溶液的最大吸收波长分别为 245 nm 和 261 nm。由于马来酸氯苯那敏的量在制剂中的含量较低,为提高检测马来酸氯苯那敏的灵敏度,以 261 nm 为检测波长。在此波长下检测,二种组分都有较大的响应值,重现性好。

取对照品溶液、阴性对照溶液和供试样品溶液,在上述色谱条件下测绘 HPLC 图谱。由图谱可知,对乙酰氨基酚、马来酸氯苯那敏的分离度较好,阴性对照样品在二种组分的保留时间区域没有干扰峰出现,故对样品的测定无干扰。

3.3 系统适用性试验

取上述对照品溶液按色谱条件,重复进样 6 次,分别测定二组分的平均峰面积积分值和平均保留时间(t_R)值,结果:对乙酰氨基酚与马来酸氯苯那敏的峰面积值和保留时间(t_R)基本不变,峰面积平均值分别为:11809311 和 22672;RSD 分别为:0.22%、0.42%。平均保留时间(t_R)分别为:3.83 min 和 7.46 min,说明仪器性能良好。理论塔板数以对乙酰氨基酚计不少于 3000,马来酸氯苯那敏不低于 2000,二者分离度大于 2.0。拖尾因子均在 0.95~1.05 之间。

3.4 线性关系的考察

精密称取,经 105°C 干燥至恒重的对乙酰氨基酚和马来酸氯苯那敏对照品适量,用流动相溶解并稀释制成每毫升含:对乙酰氨基酚 1.0mg,马来酸氯苯那敏 8μg 的对照品储备溶液,备用。

精密吸取上述对照品储备液各:1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0, 6.0, 7.0mL,分别置 25mL 量瓶中,加流动相稀释至刻度,作为对照品溶液(系列标准浓度溶液)。按上述色谱条件,各进

样 20 μ L。记录峰面积,以峰面积积分值 (y) 为纵坐标;对乙酰氨基酚;马来酸氯苯那敏量 (x) 为横坐标绘制标准曲线,计算,得回归方程。

对乙酰氨基酚 $y = 49171x + 87412 \quad r = 0.9999$

马来酸氯苯那敏 $y = 14854x + 153 \quad r = 0.9997$

结果表明对乙酰氨基酚与马来酸氯苯那敏的溶液分别在 43.4 ~ 304.1 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 0.32 ~ 2.24 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 内,呈良好的线性关系。

3.5 精密度试验

精密称取一定量的对乙酰氨基酚和马来酸氯苯那敏对照品(约相当于制剂标示量的 80% ~ 120%),每一浓度三份,按“3.8”项下方法制成供试液,并平行测定二种组分的峰面积,分别计算对乙酰氨基酚与马来酸氯苯那敏的日内 RSD和日间 RSD的精密密度,结果对乙酰氨基酚日内 RSD为 0.83%,日间 RSD 1.65%。马来酸氯苯那敏的日内 RSD为 0.76%,日间 RSD为 1.33%。说明方法的精密密度良好。

3.6 稳定性试验

取同一批号样品溶液,按供试品溶液的制备方法,在室温放置,每间隔 2 h 分别测定一次,连续共测定 6 次,结果对乙酰氨基酚和马来酸氯苯那敏含量的 RSD 分别为 0.78%和 1.76%,说明样品溶液在 12h 内测定,结果稳定性良好。

3.7 回收率试验

采用加样回收法,精密称取已知含量的样品 9 份,分别加入一定量相当于标示量 80% ~ 120%的对乙酰氨基酚和马来酸氯苯那敏对照品,每一浓度三份,混匀,按“3.1.1”方法操作,分别制成高、中、低三种不同浓度的溶液,分别进样测定对乙酰氨基酚和马来酸氯苯那敏的含量,并分别计算回收率,结果见表 1。

表 1 小儿氨酚黄那敏颗粒剂加样回收率试验结果

Tab 1 The results of the recovery test(n = 3)

组分名称	样品含量 (μg)	加入量 (μg)	测得量 (μg)	回收率 (%)	平均值 (%)	RSD (%)
对乙酰氨基酚	99.36	32.12	130.27	99.08	98.85	0.81
	98.89	65.16	162.28	98.65		
	99.74	98.19	195.62	98.83		
马来酸氯苯那敏	0.825	0.812	1.616	98.72	97.97	1.76
	0.733	1.014	1.703	97.48		
	0.881	1.283	2.115	97.70		

3.8 样品的含量测定

精密称取供试样品约 1.0g(约相当于对乙酰氨基酚 20mg)置 100mL 量瓶内,加流动相适量置超声清洗器中超声溶解 5min 后,放冷,用流动相稀释至刻度,摇匀,用 0.45 μm 滤膜过滤,即得。另精密称取对乙酰氨基酚、马来酸氯苯那敏对照品适量,同“3.1.3”项下操作制备得对照品溶液,按上述色谱条件进样 20 μ L,记录峰面积,按外标法计算含量。结果见表 2。

4 讨论

4.1 样品的提取

制剂中对乙酰氨基酚和马来酸氯苯那敏二组分均为酯

表 2 5 批样品含量测定结果

Tab 2 The result of sample determination(标示量 %, n = 3)

样品 批号	反相高效液相色谱法		(现行方法)紫外分光光度法 ^[1]	
	对乙酰氨基酚 (%)	马来酸氯苯那敏 (%)	对乙酰氨基酚 (%)	马来酸氯苯那敏 (%)
030701	99.30	90.32	98.88%	无含量测定方法
030702	104.10	88.69	103.20%	无含量测定方法
030703	99.68	100.36	100.80%	无含量测定方法
030801	100.32	91.25	99.84%	无含量测定方法
031018	104.80	83.66	104.64%	无含量测定方法

溶性,笔者曾用甲醇和流动相作溶剂,分别置超声波内提取 2, 5, 10, 20, 30min 后进样测定峰面积,进行超声波提取比较试验,结果基本相同,均能使样品全部溶解。故选择以流动相为溶剂,超声溶解五分钟为好。

4.2 波长的选择

经扫描紫外吸收图谱,结果对乙酰氨基酚;马来酸氯苯那敏对照品溶液的最大吸收波长分别为: 245nm 和 261nm。由于本制剂中两种成分的含量差异很大(250:1),马来酸氯苯那敏的量在方中比例较小,为提高检测马来酸氯苯那敏的灵敏度,故将测定波长选择在含量小的马来酸氯苯那敏有最大吸收地方,以 261nm 为检测波长。在此波长下检测,二种组分都有较大的响应值,重现性好。

4.3 方法的比较

原标准含量测定方法中仅有对乙酰氨基酚的紫外分光法测定,影响因素多,测定误差大,重现性差。目前,有关采用 HPLC 测定单一组分对乙酰氨基酚含量的文献报道尚多^[2~5]。笔者结合平时工作抽查了几个不同厂家的样品,结果发现:对乙酰氨基酚含量较好,而马来酸氯苯那敏的含量偏低,这可能与原质量标准中对这种成分无含量控制有关。应引起重视。为此,本法同时测定二组分,操作简便,快捷,精密度和准确度都较好,有利于更好地提高和控制药品质量。

4.4 计算马来酸氯苯那敏色谱峰面积的时候,应调节色谱工作站电压范围,使马来酸氯苯那敏色谱峰高为满量程的 1/2 ~ 2/3。

参考文献

[1] 国家药品监督管理局国家药品标准(试行)[S]. WS-10001-(HD-0214)

[2] 李辉,丁水平,冯光. 高效液相色谱法测定双扑伪麻胶囊中三组分的含量[J]. 中国医院药学杂志, 2001, 21(6): 340.

[3] 温金莲. 高效液相色谱法测定感冒通薄膜片中双氯酚酸钠和马来酸氯苯那敏的含量[J]. 中国医院药学杂志, 2001, 21(6): 338.

[4] 陈镇生,林建屏. 高效液相色谱法测定双扑伪麻片中三组分的含量[J]. 中国现代应用药学杂志, 1996, 13(6): 52.

[5] 胡正波,李航,王海. 高效液相色谱法测定力克舒中对乙酰氨基酚和咖啡因的含量[J]. 中国医院药学杂志, 2000, 20(11): 666.

收稿日期: 2004-03-29