

高效液相色谱法同时测定“四合一”片中氨茶碱和苯巴比妥含量

袁恒杰¹, 万敬², 任耘¹, 范立君² (1. 天津医科大学总医院药剂科, 天津 300052; 2. 天津天士力制药集团研究院, 天津 300142)

摘要:目的 建立同时测定“四合一”片中氨茶碱和苯巴比妥含量的 HPLC 方法。方法 色谱柱: Kromasil C₁₈, 5mm × 150mm; 流动相: 甲醇-醋酸盐缓冲液 (30:70); 流速: 1.0mL/min; 检测波长: 254nm; 柱温: 室温。结果 氨茶碱在 240 ~ 1800 μg · mL⁻¹ 时与峰面积有良好的线性关系 $r = 0.9996$; 苯巴比妥在 240 ~ 1200 μg · mL⁻¹ 时与峰面积有良好的线性关系, $r = 0.9995$ 。氨茶碱、苯巴比妥精密密度良好, 精密度的平均 RSD 均为 0.4%。氨茶碱的回收率为 100.1%, 苯巴比妥的回收率为 99.46%。“四合一”片中氨茶碱的平均含量为标示量的 99.9%, 苯巴比妥的平均含量为标示量的 101.3%。结论 HPLC 法对苯巴比妥、氨茶碱的含量测定简便可靠, 专属性强。

关键词: 苯巴比妥; 氨茶碱; 高效液相色谱

中图分类号: R917.780.1

文献标识码: B

文章编号: 1007-7693(2006)07-0646-03

Simultaneous determination of aminophylline and Phenobarbital in “Siheyi” tablets by HPLC

YUAN Heng-jie¹, WAN Jing², REN Yun¹, FAN Li-jun² (1. Pharmacy Department, General Hospital, Tianjin Medical University, Tianjin 300052, China; 2. Tianjin Tianshili Pharmaceutical Group Co. Ltd. Tianjin 300142, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish HPLC method for simultaneous determination of the concentration of aminophylline and Phenobarbital in “Siheyi” tablets. **METHODS** HPLC analysis was carried out with Kromasil C₁₈ column (5mm × 150mm) at UV 254nm in room temperature. The mobile phase was methyl alcohol and acetate buffer solution (30:70) and the fluid speed was 1.0mL/min. **RESULTS** Aminophylline had good linear relation in the range linear relation in the range of 240 ~ 1800 μg · mL⁻¹ ($r = 0.9996$). Phenobarbital had good linear relation in the range linear relation in the range of 240 ~ 1200 μg · mL⁻¹ ($r = 0.9995$). phenobarbital and aminophylline both had good precision and the average RSDs were both 0.4%. The recovery rate of aminophylline and

Phenobarbital were 100.1% and 99.46% respectively. The content of aminophylline and Phenobarbital in “siheyi” tablets were 99.9% and 101.3% respectively. **CONCLUSION** The HPLC method for simultaneous determination of phenobarbital and aminophylline was simple, feasible and specific.

KEY WORDS: Phenobarbital; aminophylline; HPLC

我院自制制剂“四合一”片是由氨茶碱和苯巴比妥等药物组成,为棕褐色片剂,味甘辛,用于小儿感冒、咳嗽、喘。国内多采用不同的高效液相条件,分别测定氨茶碱和苯巴比妥的含量,操作繁琐。我们采用 HPLC 法同时对氨茶碱,苯巴比妥含量进行测定,方法简便,获得了满意的结果。

1 仪器与药品

Waters 2690 高效液相色谱仪, Waters996 二极管阵列检测器, Waters 自动进样器(美国 Waters 公司); AR2140 电子天平(上海奥豪斯公司); UV-260 紫外分光光度计(日本岛津株式会社); 100-A 数显电热鼓风干燥箱(上海锦屏仪器有限公司通州公司)。甘草对照药材购自中国生物制品检定所; 苯巴比妥(南通制药总厂,批号 030215,含量 98.9%); 氨茶碱(南通制药总厂,批号 030816,含量 99.1%); 异丙嗪(国营武进制药厂,批号 030425,含量 99.5%); 甲醇(色谱纯,天津市康科德科技有限公司); 水为纯化水(自制); 硅胶 G 薄层板(薄层色谱用,烟台市化学工业研究所); 其他试剂均为分析纯。“四合一”片[本院制剂室自制,许可证号:津药制字(2001)H 第 0628 号]。

2 方法和结果

2.1 “四合一”的处方组成

甘草浸膏粉 112g, 苯巴比妥 100.0g, 氨茶碱 30.0g, 异丙嗪 8.0g, 淀粉 34g 共制成 1000 片。

2.2 检测波长的选择

分别配制适宜浓度的氨茶碱和苯巴比妥甲醇溶液,紫外扫描。氨茶碱在 270nm 处出现最大吸收。苯巴比妥在 204nm 处出现最大吸收。考虑到流动相和两种药物的最大吸收波长,为了减小流动相的紫外吸收对测定结果的影响以及两种药物在 254nm 处均有较强吸收,所以确定检测波长为 254nm。

2.3 对照品及内标溶液的配制

精密称定氨茶碱 300mg,置于 50mL 量瓶中,用流动相溶解,定容,为氨茶碱贮备溶液。精密称定苯巴比妥 300mg,置于 50mL 量瓶中,用流动相溶解,定容,为苯巴比妥贮备溶液。精密称定盐酸麻黄碱 2g,置于 50mL 量瓶中,用流动相溶解,定容,为内标贮备溶液。

2.4 色谱条件及系统适应性试验

KromasilC₁₈ 色谱柱(5mm × 150mm, 4.5μm); 柱温:室温; 流动相:取醋酸钠 18g,加冰醋酸 9.8mL,加水稀释至 1000mL 得醋酸醋酸钠缓冲液(pH4.5); 甲醇-醋酸醋酸钠缓冲液(30:70); 流速:1.0mL · min⁻¹; 进样量 20μL,检测波长:254nm,灵敏度 0.02AUFS。分别取样品测定项下溶液 20μL,各重复进样 5 次,记录色谱图,量出氨茶碱和苯巴比妥的保留时间和半峰高宽,计算理论塔板数,结果其理论塔板数均大于

2000;氨茶碱保留时间为 3.8min,苯巴比妥的保留时间为 24.1min;拖尾因子亦在 0.95 ~ 1.05 范围内,符合药典规定。阴性对照图谱显示甘草药材的色谱峰在 2min 以内,异丙嗪在此条件下不出峰。

2.5 最低检测限

以信噪比 S/N = 3 计,氨茶碱的最低检测限为 5μg · mL⁻¹,苯巴比妥的最低检测限 50μg · mL⁻¹。

2.6 标准曲线的制备

分别精密吸取氨茶碱贮备溶液 1,2,4,5,7.5mL 和苯巴比妥贮备溶液 1,2,3,4,5 mL,置 25mL 量瓶中,分别加入内标贮备溶液 5mL,用流动相定容。依法进样,测定。以浓度(C)为纵坐标,以氨茶碱或苯巴比妥峰面积与内标峰面积比值(A_i/A_s)为横坐标,进行线性回归,得方程: C = 320.24 A_i/A_{s} - 68.084, r = 0.9995(氨茶碱)和 C = 1910.9 A_i/A_{s} - 114.21, r = 0.9996(苯巴比妥)。结果表明,氨茶碱在 240 ~ 1800μg · mL⁻¹,苯巴比妥在 240 ~ 1200μg · mL⁻¹之间与峰面积有良好的线性关系。}}

2.7 精密度检查

精密吸取对照品溶液 20μL,按上述色谱条件重复进样 5 次,测定峰面积,结果见表 1 和表 2,结果表明精密度良好,氨茶碱精密度平均 RSD 为 0.4%,苯巴比妥精密度平均 RSD 为 0.43%。

表 1 氨茶碱精密度结果

浓度 (μg · mL ⁻¹)	A _i /A _s					平均值	RSD (%)
	1	2	3	4	5		
240	0.5397	0.5323	0.5365	0.5395	0.5352	0.5366	0.6
960	2.8044	2.7747	2.7916	2.8035	2.7866	2.7921	0.4
1800	5.4466	5.3908	5.4225	5.4448	5.4132	5.4236	0.4

表 2 苯巴比妥精密度结果

浓度 (μg · mL ⁻¹)	A _i /A _s					平均值	RSD (%)
	1	2	3	4	5		
240	0.1821	0.1812	0.1816	0.1821	0.1819	0.1818	0.2
720	0.4250	0.4210	0.4236	0.4207	0.4229	0.4226	0.4
1200	0.6680	0.6612	0.6656	0.6608	0.6644	0.6640	0.5

2.8 回收率

精密称取已知氨茶碱和苯巴比妥含量的样品,用甲醇溶解,按 80,100,120% 三个剂量,配置成低、中、高三个浓度的溶液,定容至 50mL,摇匀,过滤即得。依法测定,并计算回收率,结果见表 3 和表 4。

表3 氨茶碱的回收率结果($n=3$)

Tab 3 Recovery results of aminophylline($n=3$)

样品含量 (mg)	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
15.0846	8.9324	24.2130	100.8	100.2	0.5
		23.9873	99.9		
		24.0235	100.0		
		29.4623	98.3		
	14.8956	29.7913	99.4	100.6	3
		30.1578	104.0		
		36.1452	99.2		
		21.3612	35.9871		0.3
		36.0042	98.8		

表4 苯巴比妥的回收率结果($n=3$)

Tab 4 Recovery results of phenobarbital($n=3$)

样品含量 (mg)	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
4.9845	3.2122	8.2046	100.1	99.5	0.5
		8.1524	99.5		
		8.1179	99.0		
		10.0112	99.2		
	5.1033	9.4563	93.7	96.6	2.8
		9.7854	97.0		
		12.0579	101.3		
		6.9188	11.9725		0.9
		12.1871	102.4		

2.9 样品的测定

取“四合一”片20片,捣碎,研细,取约相当于2片的量(含氨茶碱约60mg,苯巴比妥约20mg),精密称定。用甲醇溶解,稀释,定容至50mL,摇匀,过滤即得。依法进样测定,按内标法计算样品中氨茶碱和苯巴比妥的含量,重复3次,氨茶碱的平均含量为标示量的99.9%,苯巴比妥的平均含量标示量的为101.3%。结果见表5。

3 讨论

3.1 由于氨茶碱水溶性较好,而苯巴比妥脂溶性较好,二者溶解性相差较大,流动相极性调整需兼顾两种药的溶解性,使两种药物在同一条件下均有较好的分配行为。

表5 样品含量测定结果($n=3$)

Tab 5 Determination results of samples($n=3$)

批号	氨茶碱	RSD	苯巴比妥	RSD
	平均含量(%)	(%)	平均含量(%)	(%)
20031212	99.6	2.7	102.4	2.0
20031105	99.6	2.2	100.7	0.7
20040106	100.6	2.5	100.8	1.5

3.2 本实验考察了甲醇-水^[1-2],甲醇-水-乙腈^[3],甲醇-醋酸盐缓冲液^[4]不同流动相以及不同比例组成的流动相对分离效果的影响,结果显示用甲醇-醋酸盐缓冲液(30:70)作为流动相,操作省时,简便,精密度以及重现性较好,分离效果较好。处方中甘草和异丙嗪对氨茶碱和苯巴比妥的色谱行为无影响。

3.3 本实验采用内标法测定处方中药物含量,曾考察了西替利嗪、安替比林、地塞米松、盐酸地尔硫革、盐酸麻黄碱、 β -羟基氨茶碱以及不同浓度对分离效果的影响,结果显示 β -羟基氨茶碱对氨茶碱的出峰有干扰,其他内标物在本实验采用的流动相条件下不出峰,只有盐酸麻黄碱对氨茶碱和苯巴比妥的峰形和出峰时间无干扰,操作省时,简便,精密度以及重现性均好。

参考文献

[1] 何作民,潘志文,黄金玉. 高效液相色谱法测定姜胆咳喘片中氨茶碱的含量[J]. 中国药业,2003,12(5):36-37.

[2] 费路华,梁建英. HPLC 法测定喘安片中盐酸麻黄碱、氯氮卓与盐酸异丙嗪的含量[J]. 药物分析杂志,2001,21(2):132-134.

[3] 曾明辉,吴正中,陈秋虹,等. 童荣生 HPLC 法同时测定血清中苯巴比妥、苯妥英和卡马西平的浓度[J]. 中国药师,2003,6(12):778-779.

[4] 姜云平,曾仁杰,雍晓兰,等. 双黄连对氨茶碱药动学的影响[J]. 中国药房,2003,14(10):606-607.