

HPLC 测定复方氨酚烷胺颗粒中人工牛黄的含量

于如海, 马月英(山西省大同市药品检验所, 山西 大同 037006)

摘要: 目的 建立复方氨酚烷胺颗粒中人工牛黄含量测定的高相液相色谱法。方法 采用 HPLC 对人工牛黄中胆红素进行定量测定, 采用 SHIMADZU C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm), 流动相为甲醇-氯仿-1%磷酸溶液(80:14:6), 检测波长为 449 nm, 流速为 1.0 mL·min⁻¹。结果 胆红素在 2.50~17.5 μg·mL⁻¹ 内呈良好的线性关系($r=0.999\ 7$), 平均回收率为 100.4%, RSD 为 1.3%($n=9$), 重复性试验 RSD 为 0.15%($n=9$)。结论 所建立的方法可准确、快速地进行定量检测, 可用于该制剂的质量控制。

关键词: 复方氨酚烷胺颗粒; 人工牛黄; 高相液相色谱法

中图分类号: R917.101

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2009)10-0852-03

Determination of Calculus Bovis Artifactus in Compound Paracetamol and Amantadine Hydrochloride Granules by HPLC

YU Ruhai, MA Yueying(Datong, Shanxi Provincial, Institute for Drug Control, Datong 037006, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish an HPLC method for calculus bovis artifactus of compound paracetamol and amantadine hydrochloride granules. **METHODS** To establish a determination method of bilirubin in calculus bovis artifactus by HPLC, SHIMADZU-C₁₈ column(4.6 mm × 250 mm, 5 μm) was used, the mobile phase consisted of methanol-chloroform-1% phosphoric acid solution (80:14:6), the detection wavelength was 449 nm and the flow rate was 1.0 mL·min⁻¹. **RESULTS** Bilirubin showed a good linear relationship at the range of 2.50-17.5 μg·mL⁻¹($r=0.999\ 7$). The average recovery of assay was 1.6%($n=9$). **CONCLUSION** This method is accurate and fast, and can be used for the quality control of these granules.

KEY WORDS: compound paracetamol and amantadine hydrochloride granules; calculus bovis artifactus; HPLC

复方氨酚烷胺颗粒是由对乙酰氨基酚、盐酸金刚烷胺、人工牛黄、咖啡因和马来酸氯苯那敏组成的复方制剂^[1], 具有抗病毒、解热、镇痛、抗炎、抗过敏等作用, 是临床广泛使用的抗感冒药, 该制剂收载于《国家药品标准》化学药品地方标准升国家标准第三册中, 但这一质量标准无该处方组成中人工牛黄主要成分的定量分析。笔者采用高效液相色谱法测定了人工牛黄中所含有效成分胆红素的含量^[2-3], 结果表明该方法简便, 结果准确, 专属性强, 对控制本品的质量具有重要意义。

1 仪器与试剂

日本岛津 LC-2010A H T 高效液相色谱仪, 日本岛津 UV-2450 紫外分光光度计。

对照品: 胆红素(供含量测定用, 批号: 10077-200503, 中国药品生物制品检定所); 甲醇、氯仿均为色谱纯, 水为重蒸馏水, 其他试剂均为分析纯。复方氨酚烷胺颗粒由 5 个厂家(A, B, C, D, E)提供的 10 批样品, 阴性样品: 用缺人工牛黄各药物按处方量依法配制。阳性样品: 按处方量依法配制。

作者简介: 于如海, 女, 副主任药师 Tel: 13327520027 E-mail: 758156504@qq.com

2 方法与结果

2.1 色谱条件

SHIMADZU- C_{18} (4.6 mm×250 mm, 5 μ m); 流动相: 甲醇-氯仿-1%磷酸溶液(80:14:6), 检测波长: 449 nm; 流速: 1.0 mL·min⁻¹, 进样量: 10 μ L。

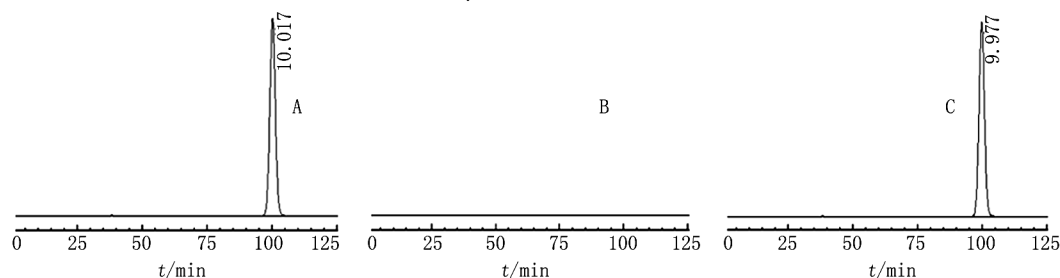


图1 复方氨酚烷胺颗粒高效液相色谱图

A-胆红素对照品; B-阴性对照; C-供试品

Fig 1 HPLC chromatograms of compound paracetamol and amantadine hydrochloride granules

A-reference substance of bilirubin; B-negative sample; C-sample

2.2 对照品溶液的制备

精密称取胆红素对照品 10 mg, 置 50 mL 棕色量瓶中, 加溶剂甲醇-氯仿-磷酸盐缓冲液 pH 7.8(80:14:6)适量, 超声使溶解并稀释至刻度, 摇匀, 精密量取 2 mL, 置 50 mL 棕色量瓶中加入上述溶剂至刻度即得。

2.3 供试品溶液的制备

取本品 10 袋, 精密称定内容物, 研细, 精密称取细粉适量(约相当于人工牛黄 50 mg), 置 50 mL 棕色量瓶中, 加入溶剂甲醇-氯仿-磷酸盐缓冲液 pH 7.8(80:14:6)40 mL, 超声提取 15 min, 迅速放冷, 加上述溶剂至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液作为供试品溶液。

2.4 线性关系考察

精密称取胆红素对照品约 5 mg 置 100 mL 棕色量瓶中, 加溶剂甲醇-氯仿-磷酸盐缓冲液 pH 7.8(80:14:6)适量使溶解并稀释至刻度, 分别取以上配制的对照品溶液 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 3.5 mL 置 10 mL 棕色量瓶中, 分别加上述溶剂至刻度, 摇匀, 在上述色谱条件下进行测定, 分别进样 10 μ L, 记录色谱峰面积, 以胆红素浓度(C)为横座标, 峰面积(A)为纵座标, 经统计得回归方程为: $A=139\,476C-54\,563$, $r=0.999\,7$ 。结果表明胆红素对照品在 2.50~17.5 μ g·mL⁻¹ 内有良好的线性关系。

2.5 稳定性试验

分别取按上述方法配制的同一份对照品和供试品溶液, 分别在 0, 1, 2, 3, 4, 5, 7, 8, 10 h 和 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6 h 进样 10 μ L, 测定峰面积

按上述色谱条件试验, 胆红素色谱峰可达基线分离, 且分离效果良好, $R>1.5$; 按胆红素峰计算, 理论板数在 4 000 以上。取缺人工牛黄的阴性样品液进行测定, 在与胆红素对照品峰相应位置上无峰, 说明阴性无干扰。所得色谱见图 1。

积分值, 结果: 峰面积积分值的 RSD 分别为 0.92% 和 0.76%, 结果表明对照品溶液和供试品溶液分别在 10 h 和 6 h 内稳定。

2.6 仪器精密度试验

取“2.2”项下对照品溶液, 连续进样 6 次, 测定峰面积, RSD 为 0.15%, 表明仪器精密度良好。

2.7 重复性试验

取同一批供试品, 依法配制成 80%, 100%, 120% 3 种浓度的供试品溶液 9 份, 按上述色谱条件, 每次进样 10 μ L, 按外标法计算, 结果测得胆红素含量的 RSD 为 1.6%($n=9$), 方法重复性良好。

2.8 回收率试验

分别称取约一袋重的阴性对照品粉末 9 份, 分别精密加入胆红素 150, 300, 450 μ g 3 种浓度级(即取“2.4”项下对照溶液 3, 6, 9 mL), 每浓度级配制 3 份, 照“2.3”项下的方法操作, 按上述色谱条件, 测定胆红素的含量, 计算回收率, 结果平均回收率为 100.4%, RSD 为 1.3%。

2.9 耐用性考察

在研究过程中, 对影响液相色谱法耐用性的典型变动因素进行了考察: 色谱柱(Diamonsil- C_{18} 、SHIMADZU- C_{18}), 流动相比比例波动($\pm 1\%$), 柱温波动($\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$)和流速波动($\pm 0.04\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$)。结果表明, 在变动因素波动较小时仍可通过系统适用性试验, 方法耐用性良好。

2.10 样品人工牛黄中胆红素含量测定

按“2.2”和“2.3”项下的方法配制对照品溶液和 10 批供试品溶液, 按上述色谱条件, 每次进

样 10 μL , 记录色谱图, 按外标法计算, 结果见表 1。

表 1 样品人工牛黄中胆红素含量测定结果($n=3$)

Tab 1 Determination results of samples($n=3$)

厂家	批号	含量/ $\mu\text{g}\cdot\text{袋}^{-1}$	RSD/%
A	20080321	60.3	0.56
A	20080601	57.8	0.62
B	20080515	60.0	0.63
B	20081211	61.4	0.55
C	20080325	51.2	0.76
C	20081016	59.2	0.65
D	20081206	53.7	0.53
D	20080309	52.9	0.58
E	20080316	59.3	0.44
E	20081206	57.2	0.46

3 讨论

复方氨酚烷胺颗粒原质量标准中, 仅对人工牛黄中胆酸进行了化学鉴别, 笔者增加人工牛黄中胆红素和对照品保留时间一致的鉴别及含量测定, 对检出不含人工牛黄的此类假药, 有重要意义。

经查阅有关资料和文献, 胆红素化合物, 溶于苯、氯仿等。干燥时稳定, 但在酸、碱溶液中易被氧化, 见光加速, 故在含量测定过程中宜避光操作, 采用棕色量瓶定容。测定波长的选择: 取胆红素对照品用流动相甲醇-氯仿-1%磷酸溶液(80:14:6)稀释成 50 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的溶液, 照分光光度法, 在 300~

500 nm 波长范围扫描, 结果在(449 $\pm$ 2)nm 波长处有最大吸收, 所以测定波长定于 449 nm 处。

选择合适的流动相: 经反复试验, 把流动相调整为甲醇-氯仿-1%磷酸溶液(80:14:6), 峰形好, 胆红素峰可达基线分离, $R>1.5$, 理论板数在 4 000 以上, 出峰时间为 10 min。结果令人满意。

提取方法的选择, 由于胆红素在酸碱溶液中易氧化, 而胆红素在供试品溶液中较稳定, 由此得到启迪, 笔者在溶剂中加入微量的缓冲液, 把溶解胆红素对照品的溶剂改为甲醇-氯仿-磷酸盐缓冲液 pH 7.8(80:14:6), 获得满意效果。对照品胆红素峰面积值在 10 h 内稳定, 供试品胆红素峰面积值在 6 h 内稳定。

REFERENCES

- [1] Natinal Drugs Standard Vol 3 (国家药品标准) WS-10001-(HD-0258)-2002 [S]. 3-203.
- [2] Ch.P(2005) Vol I (中国药典 2005 年版. 一部)[S]. 2005: 4.
- [3] Natinal Drugs Standard Vol 3(国家药品标准) WS-10001-(HD-0204)-2002 [S]. 3-15.