

• 药物分析 •

HPLC 法测定氨糖美辛肠溶片中吲哚美辛的含量

王琼芬, 梅宏辉(浙江省舟山市药品检验所, 舟山 316000)

摘要: 目的: 建立 HPLC 法测定氨糖美辛肠溶片中吲哚美辛的含量。方法: 采用 SPHERI- 5Rp- 18 色谱柱, 以甲醇- 水- 乙腈- 磷酸(60: 25: 15: 0.04) 为流动相。结果: 吲哚美辛在 10~ 60 μ g/ml 范围内浓度与峰面积有良好的线性关系 ($r = 0.9999$), 平均回收率为 99.56%, RSD 为 0.65%。结论: 本法准确、快速、重现性好。

关键词: 吲哚美辛; 氨糖美辛肠溶片; 高效液相色谱; 含量测定

中图分类号: R927.2; R971⁺.2 文献标识码: B 文章编号: 1006- 0111(2000)02- 0091- 03

Determination of indometacin in glucosamine indometacin enteric-coated tablets by HPLC

WANG Qiong-fen, MEI Hong-hui (Zhoushan Institute for Drug Control, Zhoushan 316000)

ABSTRACT: OBJECTIVE: To establish a method for the determination the indometacin content in glucosamine indometacin enteric-coated tablets by HPLC. **METHODS:** Using SPHERI- 5 RP- 18 column, with methanol-water-acetonitrile-phosphoric acid(60: 25: 15: 0.04) as the mobile. **RESULTS:** An excellent linear relationship was obtained between the peak area and the concentration with the range of 10~ 60 μ g/ml. The average recovery was 99.56%, the RSD was 0.65%. **CONCLUSION:** This method is accurate, quick and reproducible.

KEY WORDS: indometacin, glucosamine indometacin, HPLC, determination

氨糖美辛肠溶片系吲哚美辛和盐酸氨基葡萄糖的复方制剂, 临床上用于退行性骨关节炎、风湿性、类风湿性关节炎的治疗, 现已载入新颁卫生部药品标准生化药品分册^[1], 标准中吲哚美辛的含量测定采用丙酮提取后酸碱滴定法, 该法操作繁琐, 专属性差, 且常因提取、过滤及终点判断中引入的误差, 使测定结果准确度低、重现性差。本文采用 HPLC 测定吲哚美辛的含量。方法简便、结果准确、专属性强。

1 仪器与试剂

TSP 高效液相色谱仪 (P1000); SPECTRA 100 紫外检测器, DATAJET- CHI 数据处理机。

吲哚美辛对照品由中国药品生物制品检定所提供, 样品由浙江海力生制药公司提供; 甲醇、乙腈为色谱纯, 磷酸为分析纯。

2 实验方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: SPHERI- 5- Rp- 18 220mm \times 4.6mm; 流动相: 甲醇- 水- 乙腈- 磷酸(60: 25: 15: 0.04, pH3.0 \pm 0.1); 流速: 1ml/min; 检测波长: 254nm; 灵敏度: 0.05AUFS; 柱温: 室温; 进样量: 20 μ l。

在上述色谱条件下对照品溶液, 供试品溶液和空白对照品溶液的色谱图见图1, 吲哚美辛的保留时间为 5.64min, 测得理论塔板数为 6900。

2.2 标准液的制备

精密称取 105 $^{\circ}$ C 干燥至恒重的吲哚美辛对照品 50mg, 置 100ml 量瓶中, 加甲醇 60ml 使溶解, 加水至刻度, 制成 500 μ g/ml 的标准液。

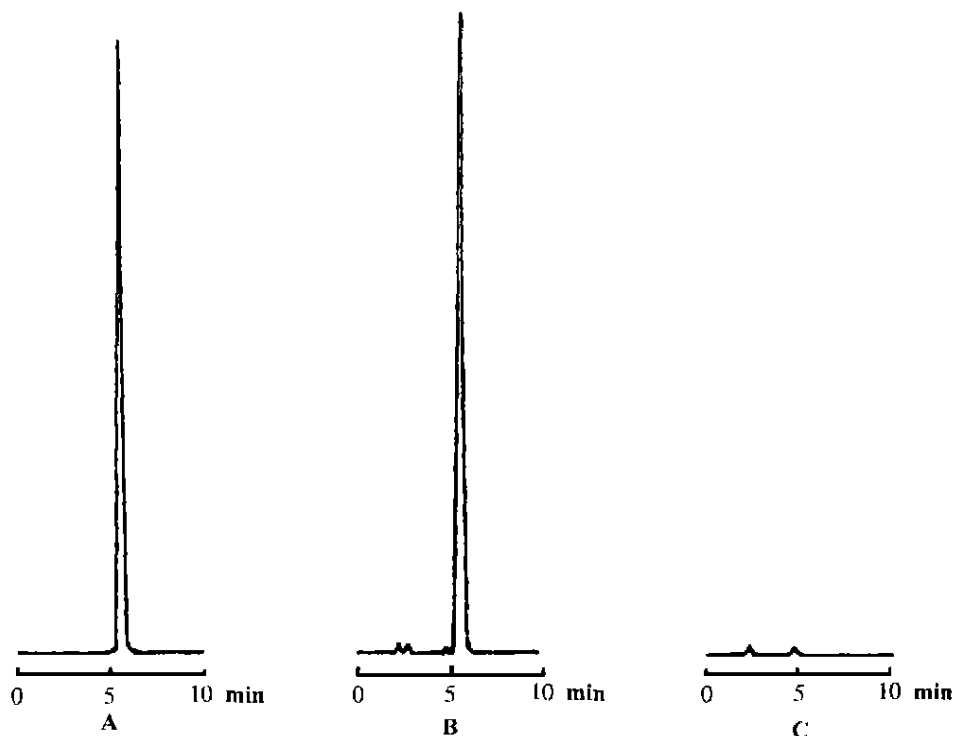


图1 利多美辛色谱图

A 对照品溶液; B 样品溶液; C 空白对照溶液

2.3 线性关系

精密吸取标准液 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 与 3.0ml, 分置 25ml 量瓶中, 加流动相稀释至刻度, 依次进样, 以峰面积为纵坐标 (Y), 相应浓度为横坐标 (X), 进行线性回归, 得方程为: $Y = 8400.1 + 151425.9X$, $r = 0.9999$ 。结果表明, 利多美辛在 10~60 μ g/ml 浓度范围内, 峰面积与浓度呈良好的线性关系。

2.4 精密度与溶液稳定性试验

取同一利多美辛溶液, 重复进样 6 次, 得 RSD 为 0.08%。

取一样品溶液每隔 2h 进样 1 次, 在 8h 内结果稳定, RSD 为 0.23% ($n = 5$), 说明样品稳定性好。

2.5 回收率试验

精密称取 105 $^{\circ}$ C 干燥至恒重的利多美辛对照品约 50mg, 置 100ml 量瓶中, 按处方比例加入盐酸氨基葡萄糖和辅料, 加甲醇 60ml 使溶解, 加水至刻度, 过滤, 取续滤液 2.0 置 25ml 量瓶中, 加流动相稀释至刻度, 进样, 测定峰面积, 测得

平均回收率为 99.56%、RSD 为 0.65% ($n = 5$)。

2.6 空白对照试验

按回收率试验项下进行不加对照品的空白试验, 在对照品峰相同的保留时间处, 空白样品无响应, 表明盐酸氨基葡萄糖及辅料不影响测定。

2.7 样品测定

取样品 20 片, 除去包衣后, 精密称定。研细, 精密称取适量 (约相当于利多美辛 50mg) 置 100ml 量瓶中, 按回收率试验项下的方法操作, 按外标法, 以峰面积计算含量, 并与法定方法进行比较, 结果见表 1。

表 1 利多美辛样品测定结果

批号	本法		部颁法	
	标示量%	RSD (%)	标示量%	RSD (%)
990520	103.07	0.72	101.83	0.89
990525	104.22	0.55	102.45	1.12
990701	97.29	0.10	97.37	0.75
990709	98.54	0.39	97.42	1.18

(下转第 95 页)

由表可见,在展开剂 A 体系中,7 种红曲能产生 1~7 个荧光斑点(R_f 值 0.13~0.69)或 6~10 个碘斑点(R_f 值 0.11~0.91),在展开剂 B 体系中,7 种红曲能产生 2~3 个荧光斑点(R_f 值 0.10~0.86)或 4~8 个碘斑点(R_f 值 0.10~0.93),基于红曲生药氯仿提取液的薄层色谱,解析成 0 与 1 表示的数量化矩阵,并进行聚类分析,得到种间的相似性矩阵,见表 3。

表 3 不同种红曲薄层层析结果的相似性矩阵(%)

	5015	5016	5017	5021	5029	5032	5035
5015	100						
5016	59.46	100					
5017	53.33	80.95	100				
5021	51.16	61.90	83.33	100			
5029	51.43	75.00	70.00	41.38	100		
5032	51.06	63.64	80.77	76.00	57.14	100	
5035	48.65	76.47	76.19	70.00	87.50	63.64	100

由表可见,红曲霉种间的相似率为 41.38%~87.50%,平均 64.44%;种间具有显著性意义,5015 与其它种的相似性最差,5016 与 5017,5017 与 5021、5032,5029 与 5032 的相似性较好。

3 小结与讨论

3.1 不同种红曲霉用相同方法发酵制备而成的红曲,其外观性状、组织构造及化学成分等方面极为相似,因此单纯依靠经典方法的鉴定有一定的困难,同时红曲的降脂作用与红曲中含有的洛伐他汀及其类似物等成分的含量高低密

切相关,不同种红曲药材的临床疗效存在较大差异。薄层色谱的特征是由化合物的结构所确定,斑点的多少及位置定性地反映了不同样品所含化学成分上的差异,而化学成分的差异正是导致品种间质量差异的主因;我们利用红曲氯仿提取液的薄层色谱所含有的信息,通过统计分析发现红曲种间存在较大的差异,相似率范围为 41.38%~87.50%,可用来加以区分鉴别,反映了红曲霉属的分类与所含的化学成分及红曲色素的分布有关联性,可用作分类的指标来考察。

3.2 作为商品药材主流的紫红曲与橙色红曲、变红红曲及红色红曲在外观性状上极为相似,但在化学成分上存在明显差异,通过薄层层析可以鉴别红曲的品种,结果可靠,而避免人为因素,可作为中药鉴定的一种简便有效方法加以推广。

参考文献:

- [1] 宋洪涛,宓鹤鸣,郭涛. 中药红曲的研究进展[J]. 药学实践杂志, 1999, 17(3): 172.
- [2] 宋洪涛,郭涛,宓鹤鸣,等. 薄层扫描法测定血脂平胶囊中洛伐他汀的含量[J]. 中草药, 1997, 28(12): 723.
- [3] 章育中,郭希圣. 薄层层析和薄层扫描法[M]. 北京: 中国医药出版社, 1990. 118.
- [4] 苏薇薇. 聚类分析法在黄芩鉴别分类中的应用[J]. 中国中药杂志, 1991, 16(10): 579.
- [5] 傅金泉. 中国红曲及其实用技术[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1997. 23

收稿日期: 1999-12-06

(上接第 92 页)

3 讨论

3.1 吡啶美辛具弱酸性,有较强极性,参考有关文献^[2],选用甲醇-水(60:40) pH6.3 作为流动相,结果色谱峰宽,柱效低。加入 H_3PO_4 ,可抑制吡啶美辛的解离,使峰明显变窄,柱效提高,同时 t_R 延长;加入乙腈,可增加溶剂的洗脱强度, t_R 随乙腈量的增加而缩短,最终实验选用甲醇-水-乙腈-磷酸(60:25:15:0.04)为流动相。

3.2 最低检测浓度测定,当信噪比(S/N)为 3

时,吡啶美辛的最低检测浓度为 13ng/ml。

3.3 吡啶美辛结构中含有酰胺键,容易水解,同时本品遇光遇热不稳定,逐渐降解,将吡啶美辛溶液于 60℃水浴加热 24h 后测定,杂质峰增加,但与主峰有良好的分离,故本法也可用于吡啶美辛原料及制剂的稳定性研究。

参考文献:

- [1] 中华人民共和国药品标准,二部第六册[M](生化药品第一册). 1998. 108.
- [2] 王茂义,杨亚惠,田薇. 复方消炎镇痛软膏中三组分的 HPLC 测定法[J]. 中国医药工业杂志, 1994, 25(1): 30

收稿日期: 1999-11-25