

· 药物分析和鉴定 ·

HPLC 法测定复方扑尔敏片剂各成份的含量

空军兰州军区药剂科(兰州 730070)

周嘉秀 魏晓龙 汪建彤*

复方扑尔敏片由扑尔敏、阿司匹林、非那西汀、咖啡因四种成份组成,^[1]是临床常用的解热镇痛及抗组胺药物。药典分析方法^[2]操作复杂、费时、干扰因素多,且不包括扑尔敏的含量测定。有关复方扑尔敏片剂中四种成份的仪器分析法尚未见报道,为此,作者应用高效液相色谱(HPLC)法,以扑热息痛为内标物,对其所含成份进行了含量测定。与药典法比较,本法简便快速、重现性好、结果可靠,适于复方扑尔敏片剂的定量分析。

实验部分

一、仪器、药品、试剂

高效液相色谱仪(501泵, U6K进样器, 431UV检测器, 740数据处理机, Waters);

复方扑尔敏片 I 号(某厂 1), II 号(某厂 2);

扑尔敏、非那西汀、咖啡因对照品(中国药品生物制品检定所); 阿司匹林、扑热息痛对照品(由原料药精制而成, 经高效液相分析只有一个峰); 其余试剂均为色谱纯和分析纯。

二、方法与结果

1. 色谱条件

固定相: NOVA-PAK C₁₈ 4 μ m;

流动相: 40% 甲醇的 0.00857 mol/L 磷酸二氢钾溶液, 用磷酸调 pH 至 2.5;

测定波长: 254 nm;

流速: 0.6 ml/min;

纸速: 5 min/cm;

压力: 2,000 Psi;

灵敏度: 0.1 AUFS。

2. 标准曲线的制备

精密称取干燥至恒重的各对照品适量, 分别加流动相制成浓溶液, 然后按复方扑尔敏片中四种成份的比例混合制成贮备液(即含扑尔敏、阿司匹林、非那西汀、咖啡因分别为 50、5,689、3,140、807 μ g/ml); 将扑热息痛对照品配成 1 mg/ml 的内标贮备液; 再按表 1 所列浓度精密量取上述贮备液适量, 分别加入内标贮备液使含扑热息痛 25 μ g/ml, 最后加流动相定容即成标准溶液。将各浓度的标准溶液分别进样 3 次, 每次 5 μ l, 测定各成份和内标物的峰面积值(见表 1), 并以各成份的峰面积与内标物的峰面积之比(A_x/A_s)为纵坐标, 以相应浓度为横坐标作回归处理, 得回归方程(见表 2)。

表 1 各成份浓度(C_x ; μ g/ml) 及其面积与内标物面积之比的关系 ($n=3$)

	C	A_x/A_s	\pm SD
咖 啡 因	40.3700	0.2414	0.0191
	80.7300	0.5135	0.0117
	161.4600	0.9797	0.0234
	322.9200	1.8787	0.0456
	484.3800	2.8294	0.0369
阿司匹林	284.3300	0.4557	0.0129

续表

C	A _x /A _s	±SD	
568.6600	0.9550	0.0216	
1137.3200	1.8103	0.0450	
2274.6400	3.4975	0.0363	
3411.9600	5.2328	0.0536	
非那西汀	159.9900	3.2260	0.0351
	313.9700	6.7426	0.1496
	627.9400	12.9489	0.3707
	1255.8800	25.2562	0.2414
	1883.0200	37.6404	0.7414
扑尔敏	2.5000	0.0930	0.0049
	5.0000	0.1915	0.0074
	10.0000	0.3824	0.0117
	20.0000	0.7512	0.1244
	30.0000	1.1305	0.0320

表2 各成份浓度(C; μg/ml)与峰面积比(A_x/A_s)值的线性关系(n=3)

成份	回归方程	r
咖啡因	$Y = 5.77 \times 10^{-6}x + 0.0308$	0.9999
阿司匹林	$Y = 1.52 \times 10^{-6}x + 0.0639$	0.9999
非那西汀	$Y = 1.98 \times 10^{-1}x + 0.3627$	0.9999
扑尔敏	$Y = 3.76 \times 10^{-2}x + 0.0023$	0.9999

3. 样品测定:

取复方扑尔敏片 I、II 号产品各 20 片, 分别精密称定后研细成粉, 各精密称取约相当一片的重量, 分置于两个容量瓶中, 各加入扑热息痛贮备液 2.5 ml, 加流动相约 80ml, 超声波脱气 30min, 加流动相至 100ml, 摇匀、过滤, 初滤液约 10ml 弃之, 续滤液即为 I、II 号各测液。取各测液各进样 3 次, 每次 5 μl, 将测得的峰面积值代入上述各成份的回归方程, 计算其相应的浓度。另将上述研细的粉末按药典方法分析含量, 并将两法测定结果进行比较(见表 3)。测得的色谱图见图 1。

表3

样品测定结果 (n=3)

名	I				II			
	HPLC法		药典法		HPLC法		药典法	
	称 占标示量 (%)	CV (%)	占标示量 (%)	CV (%)	占标示量 (%)	CV (%)	占标示量 (%)	CV (%)
咖啡因	99.50	0.31	95.05	1.56	98.27	0.26	94.46	1.75
阿司匹林	101.72	0.25	95.15	1.22	102.93	0.28	95.51	1.32
非那西汀	102.96	0.18	96.60	2.31	98.42	0.24	95.39	2.02
扑尔敏	98.80	0.36	/	/	96.90	0.20	/	/

注: 扑尔敏在复方制剂中的定量分析法在药典中未收载, 因而未作测定比较

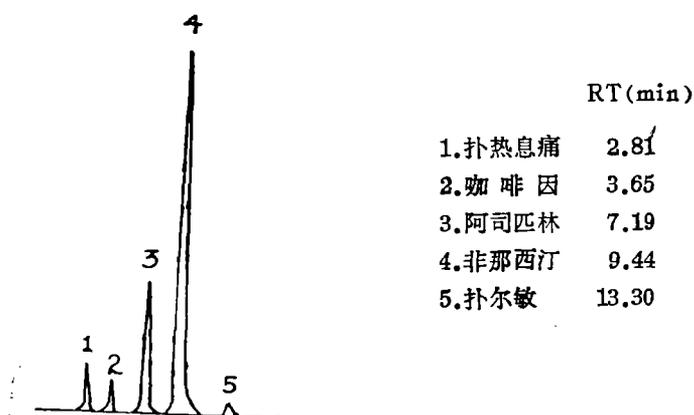


图 1 各成份的色谱图

4. 加样回收实验: (作为加入量的计算依据), 再加入流动相至
精密量取贮备液 50、100、200、400、600 μl (作为本底量计算依据) 加入贮备液 200 μl 1ml, 混匀。各进样 3 次, 每次 5 μl , 测定回收率 (见表 4)。

表 4 加样回收率实验结果 (n=3)

组 份	本底量 (μg)	加样量 (μg)	加 样 回收量(μg)	加 样 回收率(%)	$\bar{X}(SD)\%$	CV%
咖 啡 因	0.202		0.767	95.04	98.94(3.39)	3.42
	0.404		0.829	102.73		
	0.807	0.807	0.779	96.53		
	1.615		0.824	102.11		
	2.422		0.793	98.27		
阿 司 匹 林	1.423		5.483	96.41	100.49(3.34)	3.32
	2.843		5.880	103.39		
	5.687	5.687	5.563	97.82		
	11.373		5.734	100.83		
	17.060		5.914	103.99		
非 那 西 汀	0.785		3.012	95.92	99.60(2.65)	2.66
	1.570		3.242	103.25		
	3.140	3.140	3.105	98.89		
	6.279		3.124	99.49		
	9.419		3.154	100.45		

续表

组分	本底量 (μg)	加样量 (μg)	加样 回收量(μg)	加样 回收率(%)	$\bar{X}(\text{SD})\%$	CV%
扑尔敏	0.013		0.051	102.00		
	0.025		0.050	100.00		
	0.050	0.050	0.049	98.00	100.40(1.67)	1.67
	0.100		0.051	102.00		
	0.150		0.050	100.00		

5. 稳定性实验: 3次求各样品的含量,以观察样品的稳定性, 配制低、中、高三不同浓度的溶液, 将0时分别与8、24h的测定结果作成对t-检验 于配制后即刻(即0时)、8、24h,各样品进样 均无显著差异($P>0.05$),(见表5)。

表 5 样品在不同时刻的实测浓度($\mu\text{g}/\text{ml}$)

名称	0h	8h	24h	$\bar{C}(\text{SD})$	CV(%)
咖啡因	36.52	38.12	38.20	37.61(0.95)	2.51
	164.45	158.02	164.15	162.21(3.63)	2.24
	484.99	475.27	483.37	481.21(5.21)	1.08
阿司匹林	258.75	260.44	262.05	260.41(1.65)	0.63
	1152.52	1124.13	1153.59	1143.41(16.71)	1.46
	3412.04	3390.34	3404.99	3402.46(11.07)	0.33
非那西汀	144.47	144.44	145.69	144.87(0.71)	0.49
	635.08	624.95	637.31	632.45(6.59)	1.04
	1880.97	1861.20	1883.39	1875.19(12.17)	0.65
扑尔敏	2.42	2.57	2.55	2.51(0.08)	3.24
	10.11	10.16	10.17	10.15(0.03)	0.32
	30.02	29.94	30.15	30.04(0.11)	0.35

三、讨论

1. 本文采用 NOVA-PAK C18 色谱柱虽与文献^[3]的类似报道不同但也获得了较好的效果。

2. 流动相中甲醇与水的比例不同,对各组份的分离度有很大影响。作者考察了含甲醇分别为20、30、40、50(%)的各组份的容

量因子(k)值。当含醇量为20%时各组份的k相差较大,分离效果很好,但分析时间长达1小时。随着含醇量增高,组份间的k值逐渐接近,分析时间相应变短,分离效果下降。当甲醇量调到40%时,其余条件不变,四组份可完全分离且分析时间比较适宜(14min)。k值与甲醇含量的变化见图2。

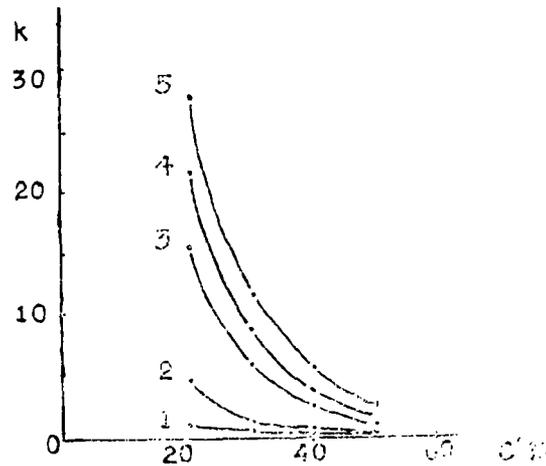


图 2 流动相中甲醇浓度(C)与各组份容量因子(k)的关系

- | | |
|--------|--------|
| 1.扑热息痛 | 4.非那西汀 |
| 2.咖啡因 | 5.扑尔敏 |
| 3.阿司匹林 | |

3. HP LC法与药典法测定样品含量无显著差异($P>0.05$)。但药典法测定结果比HPLC法要低6%左右,作者认为这可能与药典法操作繁杂、干扰因素较多、样品可能丢失有关。

4. 稳定性实验结果表明样品在24h内测定变化不大,8h和24h的测定值与0h比,经检验其间无显著差异($P>0.05$)。

结语:

使用 HPLC 法测定复方扑尔敏片剂中

各组份的含量,分离度好,操作简便,结果准确。

参 考 文 献

- [1] 陈新谦主编. 新编药理学. 第十二版. 人民卫生出版社, 212
- [2] 北京市药品检验所编印. 北京市药品标准汇编. 1974年. 191
- [3] 安登魁主编. 药物分析. 第二版. 人民卫生出版社. 1935. 246~249

噻唑蓝比色法检测环孢霉素A和氢化考地松对小鼠的淋巴细胞和巨噬细胞的作用

首都医学院微生物学免疫学教研室(北京 100054) 陈哲生 孙明杰 刘振龙

摘要 本文报道噻唑蓝(MTT)比色法检测环孢霉素A和氢化考地松对小鼠的淋巴细胞和巨噬细胞的作用。结果表明,环孢霉素A对小鼠淋巴细胞的抑制作用强于巨噬细胞;氢化考地松

对两种细胞都有抑制作用。因此,MTT比色法不仅用来研究免疫增强剂,而且还可用于免疫抑制剂,即免疫抑制剂的筛选。