

双波长HPLC法同时测定复方水杨酸甲酯软膏中盐酸麻黄碱和水杨酸甲酯的含量^Δ

时正媛^{1*}, 曾蔚欣¹, 杨 丽², 贝 雷², 孙路路^{1#} (1.首都医科大学附属北京世纪坛医院药剂科, 北京 100038; 2.北京市食品药品监督管理局, 北京 100038)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)03-0369-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.03.25

摘要 目的:建立同时测定复方水杨酸甲酯软膏中盐酸麻黄碱和水杨酸甲酯含量的方法。方法:采用高效液相色谱法。色谱柱为Agilent ZORBAX SB-C₁₈,流动相为乙腈-磷酸三乙胺溶液(梯度洗脱),流速为1.0 ml/min,进样量为20 μl,柱温为室温,盐酸麻黄碱的检测波长为207 nm,水杨酸甲酯的检测波长为304 nm。结果:盐酸麻黄碱、水杨酸甲酯质量浓度分别在5.0~150.0、0.014 16~0.424 8 μg/ml范围内与各自峰面积积分值呈良好线性关系($r=0.999\ 9$ 、 $0.999\ 8$);精密性、稳定性、重复性试验的RSD≤1.36%;平均加样回收率分别为99.31%、100.00%,RSD分别为0.99%、1.12%($n=3$)。结论:该方法操作简便、准确、重复性好,可用于复方水杨酸甲酯软膏的质量控制。

关键词 复方水杨酸甲酯软膏;盐酸麻黄碱;水杨酸甲酯;高效液相色谱法

Simultaneous Determination of Ephedrine Hydrochloride and Methyl Salicylate in Compound Methyl Salicylate Ointment by Dual Wave-length HPLC

SHI Zheng-yuan¹, ZENG Wei-xin¹, YANG Li², BEI Lei², SUN Lu-lu¹ (1.Dept. of Pharmacy, Beijing Shijitan Hospital, Capital Medical University, Beijing 100038, China; 2.Beijing Food and Drug Administration, Beijing 100038, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish the method for simultaneous determination of ephedrine hydrochloride and methyl salicylate in Compound methyl salicylate ointment. METHODS: HPLC method was adopted. The determination was performed on Agilent ZORBAX SB-C₁₈ column with mobile phase composed of acetonitrile-triethylamine phosphate solution (gradient elution) at the flow rate of 1.0 ml/min. The sample size was 20 μl. The column temperature was room temperature. The detection wavelength was set at 207 nm for ephedrine hydrochloride and 304 nm for methyl salicylate, respectively. RESULTS: The linear range of ephedrine hydrochloride was 5.0-150.0 μg/ml ($r=0.999\ 9$) with an average recovery of 99.31% (RSD=0.99%, $n=3$). The linear range of methyl salicylate was 0.014 16-0.424 8 mg/ml ($r=0.999\ 8$) with an average recovery rate of 100.00% (RSD=1.12%, $n=3$). RSDs of precision, stability and reproducibility tests were ≤1.36%. CONCLUSIONS: The method is simple, accurate and reproducible, and can be used for the quality control of Compound methyl salicylate ointment.

KEYWORDS Compound methyl salicylate ointment; Ephedrine hydrochloride; Methyl salicylate; HPLC

复方水杨酸甲酯软膏为常用的医院制剂,可用于外伤消肿、肌肉疼痛及冻疮等的治疗,其主要成分为盐酸麻黄碱和水杨酸甲酯。目前,盐酸麻黄碱和水杨酸甲酯含量测定的方法主要有荧光分析法^[1]、毛细管气相色谱法^[2-3]及高效液相色谱(HPLC)法^[4-7]。为此,笔者参考了相关文献^[1-7],建立了双波长HPLC法同时测定复方水杨酸甲酯软膏中盐酸麻黄碱和水杨酸甲酯的含量,以为有效控制复方水杨酸甲酯软膏的质量提供参考。

1 材料

1260型HPLC仪,包括四元泵、标准型自动进样器、柱温

Δ基金项目:首都卫生发展科研专项项目——“医院制剂注册标准研究”(No.首发2011-2008-01)

*药师,博士。研究方向:药物分析学。电话:010-63926179。E-mail:zhengyuan9999@126.com

#通信作者:主任药师。研究方向:医院药学。电话:010-63926362。E-mail:sunlulu@263.net

箱、二极管阵列检测器(美国安捷伦公司);AG285型电子天平(瑞士梅特勒-托利多公司)。

盐酸麻黄碱、水杨酸甲酯对照品(中国食品药品检定研究院,批号:171241-201007、110707-201011,纯度:99.7%、99.4%);复方水杨酸甲酯软膏(首都医科大学附属北京世纪坛医院制剂室自制,批号:20140525、20140526、20140528,规格:20 g/支,每100 g软膏含盐酸麻黄碱2.5 g、水杨酸甲酯7.08 g);甲醇、乙腈均为色谱纯,磷酸、三乙胺均为分析纯,水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:Agilent ZORBAX SB-C₁₈(250 mm×4.6 mm,5 μm),流动相:磷酸三乙胺溶液(流动相A,取磷酸1 ml,用纯化水溶解并稀释至1 000 ml,加三乙胺1 ml混匀)-乙腈(流动相B),梯度洗脱程序见表1;柱温:室温;流速:1.0 ml/min;进样量:20 μl;检测波长:盐酸麻黄碱为207 nm,水杨酸甲酯为304 nm。

表1 梯度洗脱程序

Tab 1 Gradient elution program

| 时间, min | 流动相A, % | 流动相B, % |
|-------------|---------|---------|
| 0~7.00 | 85 | 15 |
| 7.01~13.00 | 20 | 80 |
| 13.01~15.00 | 85 | 15 |

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液 取盐酸麻黄碱、水杨酸甲酯对照品适量,精密称定,加无水乙醇溶解并稀释,制成每1 ml约含盐酸麻黄碱500 μg、水杨酸甲酯1.416 mg的混合贮备液;精密量取混合贮备液适量,加无水乙醇溶解并稀释,制成每1 ml约含盐酸麻黄碱50 μg、水杨酸甲酯0.1416 mg的混合溶液,即得对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液 精密量取复方水杨酸甲酯0.2 g,置于100 ml量瓶中,加无水乙醇适量,于40~50 °C水浴加热,缓慢振摇至溶解,放冷至室温,加入无水乙醇稀释至刻度,摇匀,用0.45 μm的微孔滤膜滤过,取续滤液,即得供试品溶液。

2.2.3 阴性对照溶液 按复方水杨酸甲酯软膏处方比例制备不含盐酸麻黄碱、水杨酸甲酯的阴性样品,并按“2.2.2”项下方法制备,即得阴性对照溶液。

2.3 系统适用性试验

取“2.2”项下对照品溶液、供试品溶液、阴性对照溶液适量,按“2.1”项下色谱条件进样测定,色谱见图1。结果显示,盐酸麻黄碱、水杨酸甲酯保留时间处样品中的辅料与溶剂无干扰,分离度为103.32,理论板数分别为30 579.36、599 948.01。

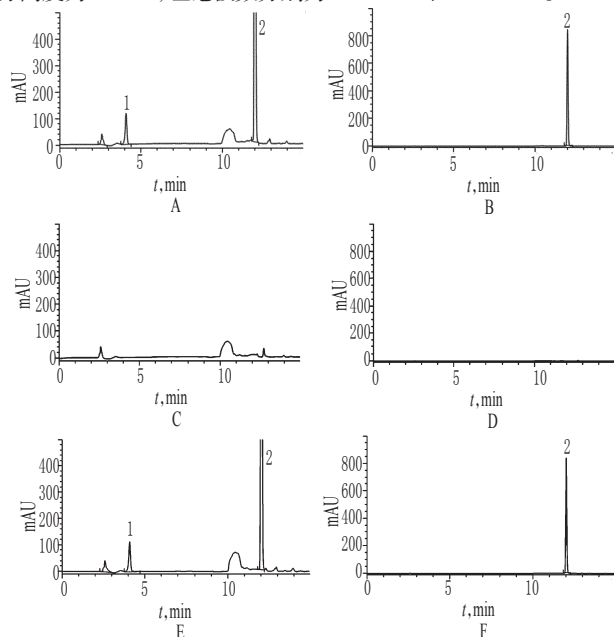


图1 高效液相色谱图

A. 对照品溶液(波长为207 nm); B. 对照品溶液(波长为304 nm); C. 阴性对照溶液(波长为207 nm); D. 阴性对照溶液(波长为304 nm); E. 供试品溶液(波长为207 nm); F. 供试品溶液(波长为304 nm); 1. 盐酸麻黄碱; 2. 水杨酸甲酯

Fig 1 HPLC chromatograms

A. control solution (at 207 nm); B. control solution (at 304 nm); C. negative control solution (at 207 nm); D. negative control solution (at 304 nm); E. test sample solution (at 207 nm); F. test sample solution (at 304 nm); 1. ephedrine hydrochloride; 2. methyl salicylate

2.4 线性关系考察

精密量取“2.2.1”项下混合贮备液1.0、2.0、5.0、10.0、20.0、30.0 ml,分别置于100 ml量瓶中,加无水乙醇定容至刻度,摇匀,制成系列浓度的对照品溶液,按“2.1”项下色谱条件进样测定。以质量浓度(x , μg/ml)为横坐标、峰面积(y)为纵坐标进行线性回归,得盐酸麻黄碱、水杨酸甲酯的回归方程分别为 $y=24.19x+71.36$ ($r=0.9999$), $y=30.12x+37.02$ ($r=0.9998$)。表明盐酸麻黄碱、水杨酸甲酯质量浓度分别在5.0~150.0、0.01416~0.4248 μg/ml范围内与峰面积积分值呈良好线性关系。

2.5 精密度试验

取“2.2.1”项下对照品溶液,按“2.1”项下色谱条件进样6次。结果,盐酸麻黄碱、水杨酸甲酯峰面积的RSD分别为0.92%、0.63%,表明仪器精密度良好。

2.6 稳定性试验

取样品(批号:20140526)适量,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,分别放置于0、2、4、6、8 h时进样测定。结果,盐酸麻黄碱、水杨酸甲酯峰面积的RSD分别为1.20%、0.96%,表明供试品溶液在8 h内稳定性良好。

2.7 重复性试验

取样品(批号:20140526)适量,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件进样6次。结果,盐酸麻黄碱、水杨酸甲酯峰面积的RSD分别为1.36%、0.99%,表明该方法重复性良好。

2.8 加样回收率试验

取样品(批号:20140526)0.2 g,按其所含盐酸麻黄碱和水杨酸甲酯量的80%、100%和120%,精密加入一定量的盐酸麻黄碱、水杨酸甲酯对照品,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件进样并计算加样回收率,结果详见表2。

表2 加样回收率试验结果($n=3$)Tab 2 Results of recovery tests ($n=3$)

| 待测成分 | 已知含量,mg | 加入量,mg | 测得量,mg | 加样回收率,% | 平均加样回收率,% | RSD,% |
|-------|---------|--------|--------|---------|-----------|-------|
| 盐酸麻黄碱 | 5.01 | 4.03 | 9.10 | 100.66 | 99.31 | 0.99 |
| | 5.02 | 4.05 | 8.97 | 98.90 | | |
| | 5.04 | 4.06 | 9.08 | 99.78 | | |
| | 5.06 | 5.09 | 10.05 | 99.01 | | |
| | 5.01 | 5.07 | 9.86 | 97.82 | | |
| | 5.03 | 5.11 | 9.98 | 98.42 | | |
| | 5.07 | 6.12 | 11.05 | 98.75 | | |
| | 5.02 | 6.15 | 11.25 | 100.72 | | |
| 水杨酸甲酯 | 5.08 | 6.07 | 11.12 | 99.73 | 100.00 | 1.12 |
| | 14.19 | 11.35 | 25.24 | 98.83 | | |
| | 14.22 | 11.34 | 25.48 | 99.72 | | |
| | 14.27 | 11.38 | 25.55 | 99.61 | | |
| | 14.33 | 14.23 | 28.98 | 101.48 | | |
| | 14.19 | 14.20 | 28.65 | 100.92 | | |
| | 14.24 | 14.22 | 28.92 | 101.62 | | |
| | 14.36 | 17.06 | 30.99 | 98.62 | | |
| 14.22 | 17.00 | 30.93 | 99.07 | | | |
| 14.39 | 17.03 | 31.46 | 100.15 | | | |

2.9 样品含量测定

取3批样品适量,按“2.2”项下方法制备供试品溶液、对照品溶液,按“2.1”项下色谱条件进样测定,结果见表3。

HPLC法测定去羟肌苷咀嚼片中阿斯巴甜的含量^Δ

陈炜*, 仲平#, 张军霞(河南省食品药品检验所, 郑州 450003)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)03-0371-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.03.26

摘要 目的:建立测定去羟肌苷咀嚼片中阿斯巴甜含量的方法。方法:采用高效液相色谱法。色谱柱为迪马C₁₈,流动相为甲醇-水(39:61, V/V),流速为0.8 ml/min,柱温为25℃,检测波长为208 nm,进样量为20 μl。结果:阿斯巴甜质量浓度在96.3~144.5 μg/ml范围内与其峰面积积分值呈良好线性关系($r=0.9997$);精密性、稳定性、重复性试验的RSD≤0.76%;平均回收率为98.8%,RSD为1.1%($n=3$)。结论:该方法操作简便、准确度高,可用于去羟肌苷咀嚼片中阿斯巴甜的含量测定。

关键词 阿斯巴甜;去羟肌苷咀嚼片;高效液相色谱法;含量测定

Content Determination of Aspartame in Didanosine Chewable Tablets by HPLC

CHEN Wei, ZHONG Ping, ZHANG Jun-xia (Henan Province Institute for Food and Drug Control, Zhengzhou 450003, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for the content determination of aspartame in Didanosine chewable tablets. METHODS: HPLC method was adopted. The determination was performed on Diamonsil C₁₈ column with mobile phase consisted of methanol-water (39:61, V/V) at the flow rate of 0.8 ml/min. The column temperature was 25℃, and detection wavelength was set at 208 nm. The injection volume was 20 μl. RESULTS: The linear range of aspartame was 96.3-144.5 μg/ml ($r=0.9997$) with an average recovery of 98.8% (RSD=1.1%, $n=3$). RSDs of precision, stability and reproducibility tests were all not more than 0.76%. CONCLUSIONS: The method is convenient and accurate, and can be used for the content determination of aspartame in Didanosine chewable tablets.

KEYWORDS Aspartame; Didanosine chewable tablets; HPLC; Content determination

表3 样品含量测定结果($n=3$, %)

Tab 3 Results of content determination of samples ($n=3$, %)

| 批号 | 盐酸麻黄碱 | 水杨酸甲酯 |
|----------|--------|--------|
| 20140525 | 98.76 | 100.24 |
| 20140526 | 99.60 | 99.12 |
| 20140528 | 100.31 | 101.59 |

3 讨论

复方水杨酸甲酯软膏中盐酸麻黄碱和水杨酸甲酯的紫外吸收特征不同:盐酸麻黄碱在207 nm波长处有最大吸收,水杨酸甲酯在207、304 nm波长处均有最大吸收,但在207 nm波长处水杨酸甲酯的保留时间有干扰,不适合用于复方水杨酸甲酯软膏中水杨酸甲酯的含量测定。因此,为了同时测定复方水杨酸甲酯软膏中两种组分的含量,故选择盐酸麻黄碱的检测波长为207 nm、水杨酸甲酯的检测波长为304 nm。

乳膏基质中含有凡士林和司盘80,为了不影响测定且保护色谱柱,需将其进行处理。本研究采用40~50℃水浴加热使基质溶解,放冷后过滤,取续滤液作为供试品溶液,提取效果较好。

Δ 基金项目:全球基金项目——国家药品标准提高(No.GF2012-14)

* 主管药师。研究方向:药品检验。电话:0371-63389906。

E-mail: chenwei-987@tom.com

通信作者:主任药师,硕士。研究方向:药品检验。电话:0371-63388236。E-mail: zhongp3@126.com

综上所述,该方法操作简便、准确、重复性好,可用于复方水杨酸甲酯软膏的质量控制。

参考文献

- [1] 周晓霞,魏永巨.荧光分析法测定中药透骨香中水杨酸甲酯的含量[J].河北师范大学学报,2013,37(1):82.
- [2] 薛磊冰,赵佳丽,邹燕,等.毛细管气相色谱法同时测定麝香镇痛膏中樟脑、水杨酸甲酯的含量[J].药物分析杂志,2013,33(9):1607.
- [3] 邢俊波,曹红,胡丹,等.毛细管气相色谱法测定伤湿止痛膏中水杨酸甲酯的含量[J].解放军药学学报,2010,26(1):54.
- [4] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:二部[S].2010年版.北京:中国医药科技出版社,2010:777-778.
- [5] 李冬梅,刘永利,赵艳普,等.HPLC同时测定止咳定喘丸中的盐酸麻黄碱及盐酸伪麻黄碱[J].华西药学杂志,2012,27(4):436.
- [6] 徐建白,唐云,庞东颖,等.HPLC法测定活络酊中水杨酸甲酯[J].中草药,2011,42(10):2026.
- [7] 王林丽,陈亮,付若秋,等.HPLC法测定抗病毒口服液盐酸麻黄碱的含量[J].中国药房,2007,18(15):1166.

(收稿日期:2014-08-05 修回日期:2014-08-21)

(编辑:陈宏)