

HPLC法测定氢溴酸山莨菪碱片的含量及含量均匀度

高微^{1*}, 邵海云¹, 张吉娟¹, 李凤华¹, 王宗立¹, 黄雨蒙¹, 王萌萌¹, 王超众^{2#}(1. 齐齐哈尔市第一医院, 黑龙江齐齐哈尔 161005; 2. 齐齐哈尔市食品药品检验检测中心, 黑龙江齐齐哈尔 161006)

中图分类号 R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)09-1284-02
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.09.48

摘要 目的: 建立测定氢溴酸山莨菪碱片的含量和含量均匀度的方法。方法: 采用高效液相色谱法。色谱柱为 SunFire C₈, 流动相为乙腈-0.1% 庚烷磺酸钠溶液(用磷酸调节 pH 值至 2.5)(40:60, V/V), 流速为 1.0 ml/min, 柱温为 28 °C, 检测波长为 256 nm, 进样量为 10 μl。结果: 氢溴酸山莨菪碱的质量浓度在 2.5~100 μg/ml 范围内与峰面积呈良好的线性关系($r=0.9999$); 精密性、重复性、稳定性试验的 RSD < 1%; 平均加样回收率为 99.27%, RSD 为 0.67% ($n=9$)。结论: 该方法简便、快速、准确, 适用于氢溴酸山莨菪碱片的含量及含量均匀度的测定。

关键词 氢溴酸山莨菪碱片; 高效液相色谱法; 含量; 含量均匀度; 质量控制

Determination of Content and Content Uniformity in Anisodamine Hydrobromide Tablets by HPLC

GAO Wei¹, SHAO Hai-yun¹, ZHANG Ji-juan¹, LI Feng-hua¹, WANG Zong-li¹, HUANG Yu-meng¹, WANG Meng-meng¹, WANG Chao-zhong²(1. The First Hospital of Qiqihaer City, Heilongjiang Qiqihaer 161005, China; 2. Qiqihaer Municipal Food and Drug Inspection and Testing Center, Heilongjiang Qiqihaer 161006, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for the determination of content and content uniformity in Anisodamine hydrobromide (AH) tablets. METHODS: HPLC was conducted with the SunFire C₈ column. The mobile phase was acetonitrile-0.1% heptane sulfonic acid sodium solution (pH was adjusted to 2.5 by phosphoric acid)(40:60, V/V), the detection wavelength was 256 nm, the flow rate was 1.0 ml/min, the column temperature was 28 °C and sampling volume was 10 μl. RESULTS: There was a good linear relationship between the quality concentration of AH and peak area in the range of 2.5-100 μg/ml ($r=0.9999$); the RSDs of precision, repeatability and stability test were less than 1%; the recovery rate was 99.27% (RSD=0.67%, $n=9$). CONCLUSIONS: The method is simple, rapid and accurate. It can be used for the quality control of AH tablets.

KEYWORDS Anisodamine hydrobromide tablets; HPLC; Content; Content uniformity; Quality control

氢溴酸山莨菪碱为莨菪生物碱类 M 胆碱受体拮抗药, 临床应用较为广泛^[1]。对于其含量测定方法, 2010 年版《中国药典》(二部)采用紫外-可见分光光度(UV)法^[2], 也有文献采用线性滴定微机算法^[3]、一阶导数分光光度法^[4]和电感耦合等离子体-原子发射光谱法^[5]。为研究更为简单便捷的含量测定方法, 本研究尝试采用高效液相色谱(HPLC)法测定氢溴酸山莨菪碱片的含量, 并测定其含量均匀度, 现报道如下。

1 材料

1.1 仪器

e2695 型 HPLC 仪, 配有 e2998 型二极管阵列检测器和 Empower 3 色谱工作站(美国 Waters 公司); BP211D 型电子分析天平(德国赛多利斯公司); SHIMADZU UV-2550 型 UV 计。

1.2 药品与试剂

氢溴酸山莨菪碱片(安徽宏昌制药厂, 规格: 5 mg, 批号: 20130901、20130902、20130903); 氢溴酸山莨菪碱对照品(中国食品药品检定研究院, 批号: 100051-201105); 乙腈为色谱纯, 水为超纯水, 其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: SunFire C₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙

腈-0.1% 庚烷磺酸钠溶液(用磷酸调节 pH 值至 2.5)(40:60, V/V); 流速: 1.0 ml/min; 柱温: 28 °C; 检测波长: 256 nm; 进样量: 10 μl。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液 精密称取氢溴酸山莨菪碱对照品适量, 加水使溶解, 制成每 1 ml 中约含 1 mg 氢溴酸山莨菪碱的溶液, 摇匀, 作为对照品贮备液。精密量取对照品贮备液适量, 加水溶解并稀释成每 1 ml 约含 0.02 mg 氢溴酸山莨菪碱的溶液, 摇匀, 滤过, 作为对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液 取氢溴酸山莨菪碱片 20 片, 精密称定, 研细, 精密量取适量(约相当于氢溴酸山莨菪碱 10 mg), 加水稀释成每 1 ml 中约含 0.02 mg 的溶液, 摇匀, 滤过, 即得供试品溶液 A(供含量测定用)。取本品 1 片, 置于 250 ml 量瓶中, 加水适量, 充分震荡使溶解, 加水稀释至刻度, 摇匀, 滤过, 即得供试品溶液 B(供含量均匀度测定用)。

2.2.3 阴性对照溶液 按处方比例和工艺制备缺乏氢溴酸山莨菪碱的阴性样品, 并按“2.2.2”项下供试品溶液 A 的制备方法制得阴性空白溶液。

2.3 系统适用性试验

精密量取对照品、供试品和阴性对照溶液各 10 μl, 按“2.1”项下色谱条件进样测定, 记录色谱图。结果, 在此条件下, 阴性对照无干扰; 理论板数按氢溴酸山莨菪碱峰计应不低于 4 000。色谱见图 1。

* 主管药师。研究方向: 医院药学。电话: 0452-2344697

通信作者: 主管药师, 硕士。研究方向: 药物分析。E-mail: wangchaozhongkcn@163.com

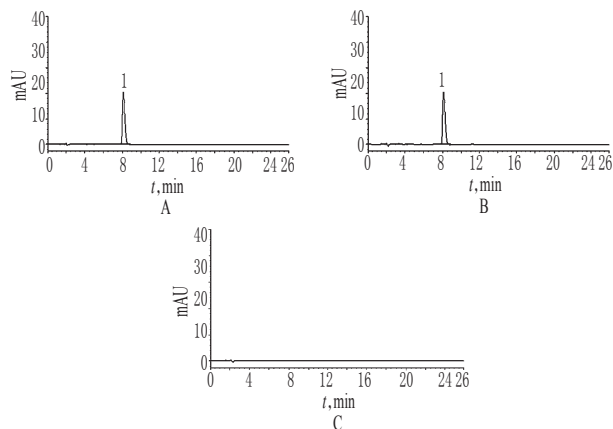


图1 高效液相色谱图

A.对照品;B.供试品;C.阴性对照;1.氢溴酸山莨菪碱

Fig 1 HPLC chromatogram

A.control sample; B.test sample; C.negative control; 1.anisodamine hydrobromide

2.4 线性关系与定量限考察

精密量取“2.2.1”项下的对照品贮备液适量,分别置于100 ml量瓶中,加水稀释成质量浓度分别为2.5、5、10、20、50、100 $\mu\text{g/ml}$ 的系列对照品溶液。分别精密量取系列对照品溶液各20 μl ,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录色谱图。以对照品溶液的质量浓度($x, \mu\text{g/ml}$)为横坐标、峰面积(y)为纵坐标,绘制标准曲线,得回归方程为 $y=3\ 064.8x-646.12(r=0.999\ 9)$ 。结果表明,氢溴酸山莨菪碱的质量浓度在2.5~100 $\mu\text{g/ml}$ 范围内与峰面积呈良好线性关系。以信噪比为10计算,测得氢溴酸山莨菪碱的定量限为10 ng。

2.5 精密度试验

取氢溴酸山莨菪碱对照品适量,按“2.2.1”项下方法制备对照品溶液,再按“2.1”项下色谱条件连续进样6次,记录峰面积。结果, $\text{RSD}=0.22\%(n=6)$,表明仪器精密度良好。

2.6 重复性试验

精密称取同一批样品,共6份,分别按“2.2.1”项下方法制备供试品溶液A,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积,并计算样品含量。结果,样品占标示量的百分含量为98.26%, $\text{RSD}=0.43\%(n=6)$,表明该方法重复性良好。

2.7 稳定性试验

取“2.2.2”项下供试品溶液A适量,于配制0、1、2、4、6 h时分别按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果, $\text{RSD}=0.39\%(n=5)$,表明供试品溶液A在6 h内稳定性良好。

2.8 加样回收率试验

取同一批样品各适量,共9份,每3份为一组,分别加入适量氢溴酸山莨菪碱对照品贮备液,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液A,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积,并计算加样回收率,结果见表1。

2.9 样品含量及含量均匀度测定

取3批氢溴酸山莨菪碱片样品(批号:20130901、20130902、20130903)粉末适量,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液A,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积,并按外标法计算样品含量。取氢溴酸山莨菪碱样品10片,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液B,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积,判定样品的含量均匀度是否符合规

定。结果,3批样品占标示量的百分含量分别为98.26%、98.75%、98.86%,含量均匀度分别为2.82、2.33、2.22。

表1 加样回收率试验结果($n=3$)

Tab 1 Results of recovery test($n=3$)

称样量,mg	加入量,mg	测得量,mg	回收率,%	加样回收率,%	RSD,%
9.826	8.144	17.875	99.03		
9.826	8.144	17.867	98.95		
9.826	8.144	17.906	99.35		
9.826	10.180	19.852	98.43		
9.826	10.180	19.914	99.06	99.27	0.67
9.826	10.180	19.933	99.26		
9.826	12.216	22.008	99.65		
9.826	12.216	21.936	98.92		
9.826	12.216	22.120	100.79		

3 讨论

3.1 检测波长的选择

将二极管阵列检测器的检测波长设置为200~300 nm,结果供试品溶液在256 nm处有最大吸收,并在200~240 nm处有较强的末端吸收。虽然在两个波长处均可以得到较好的峰形,但200~240 nm处检测到的杂质峰较多且基线噪音较大;而256 nm为氢溴酸山莨菪碱的特征吸收峰,专属性更强,因此本研究将检测波长选为256 nm。

3.2 色谱柱、流动相的选择

在预试验中,笔者曾考察了 C_{18} 、 C_8 等色谱柱,甲醇-磷酸盐缓冲液,离子对色谱等色谱条件。结果表明,在采用乙腈-0.1%庚烷磺酸钠溶液(用磷酸调节pH至2.5,40:60, V/V)为流动相、 C_8 色谱柱的色谱条件时,氢溴酸山莨菪碱的色谱峰形最佳、重复性最好。

本研究建立了HPLC法测定氢溴酸山莨菪碱片含量的方法,而2010年版《中国药典》(二部)中收录的方法为UV法。笔者曾对两种方法进行比较,结果表明UV法提取过程较为烦琐,消耗时间较长,且结果重复性较差;而HPLC法则更为简便准确,且重复性更好、专属性更高,更适合该样品的含量测定。《中国药典》附录中规定:片剂每片标示量不大于10 mg者,均应检查含量均匀度^[6],因此有必要将含量均匀度检查列入氢溴酸山莨菪碱片的质量标准之中。

参考文献

- [1] 陈桃生.氢溴酸山莨菪碱的临床新应用[J].海峡药学,2000,12(supple):30.
- [2] 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,2010:556、附录X E88.
- [3] 曹共民,高庆一,尹光华,等.线性滴定微机算法测定氢溴酸山莨菪碱含量的初步研究[J].华西药学杂志,1989,4(1):37.
- [4] 李德明,范义凤,王华.一阶导数分光光度法测定氢溴酸山莨菪碱凝胶中氢溴酸山莨菪碱的含量[J].中国交通医学杂志,2005,19(1):83.
- [5] 王伟,孙为德.电感耦合等离子体-原子发射光谱法间接测定氢溴酸山莨菪碱注射液[J].中国医药工业杂志,2003,34(4):183.

(收稿日期:2014-11-18 修回日期:2014-12-23)

(编辑:孙冰)