

紫外分光光度计测定小儿速效感冒口服溶液中对乙酰氨基酚含量的4种定量分析方法比较

景霞*,徐进#,初立梅,李文静(南京医科大学附属南京儿童医院药学部,南京 210008)

中图分类号 R927.2;R971+.1 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)21-1996-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.21.27

摘要 目的:比较紫外分光光度计测定小儿速效感冒口服溶液中对乙酰氨基酚含量的4种定量分析方法。方法:采用双波长法(测定波长257.2 nm、参比波长283.4 nm)、一阶导数法(271 nm)、单波长校正曲线法(257.2 nm)、吸光系数法(257.2 nm)对紫外扫描光谱数据进行定量分析,并进行4种方法的方法学考察。结果:4种方法中对乙酰氨基酚检测质量浓度线性范围均为2~10 μg/ml($r \geq 0.999\ 8$),平均回收率为99.30%~99.84%,批内RSD分别为0.13%、0.01%、0.27%、0.27%,批间RSD分别为0.18%、0.01%、0.37%、0.37%。结论:上述4种分析方法都可用于小儿速效感冒口服溶液中对乙酰氨基酚的含量测定,但双波长法和一阶导数法因操作更简便更适合医院制剂的测定。
关键词 小儿速效感冒口服溶液;对乙酰氨基酚;含量;紫外光谱扫描;双波长法;一阶导数法;单波长校正曲线法;吸光系数法

Comparison of Content Determination of Acetaminophen in Xiaoer Suxiao Ganmao Oral Solution by 4 Quantitative Analysis Methods with UV Spectrophotometer
JING Xia, XU Jin, CHU Li-mei, LI Wen-jing (Dept. of Pharmacy, Nanjing Children's Hospital Affiliated to Nanjing Medical University, Nanjing 210008, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To compare 4 quantitative analysis methods for the determination of acetaminophen content in Xiaoer suxiao ganmao oral solution with UV spectrophotometer. METHODS: UV scanning spectrum was analyzed quantitatively by dual-wavelength spectrophotometry (detection wavelength of 257.2 nm, reference wavelength of 283.4 nm), first-derivative spectrophotometry (271 nm), single-wavelength calibration curve method (257.2 nm) and absorbancy index (257.2 nm). Methodology of 4 methods were all investigated. RESULTS: The linear range of acetaminophen were 2-10 μg/ml ($r \geq 0.999\ 8$) by 4 methods with average recoveries of 99.30%-99.84%; RSDs were 0.13%, 0.01%, 0.27% and 0.27% for within-run assays, and 0.18%, 0.01%, 0.37% and 0.37% for between-run assays. CONCLUSIONS: Above 4 methods can be used for the determination of acetaminophen in Xiaoer suxiao ganmao oral solution, and dual-wavelength spectrophotometry and first-derivative spectrophotometry are simpler and more convenient for the determination of hospital preparation.
KEY WORDS Xiaoer suxiao ganmao oral solution; Acetaminophen; Content; UV spectrum scanning; Dual-wavelength spectrophotometry; First-derivative spectrophotometry; Single-wavelength calibration curve method; Absorbancy index

表2 两种方法样品含量测定结果(mg/片)
Tab 2 Results of content determination of samples by 2 methods(mg/tablet)

样品批号	曲克芦丁		香豆素 (本文方法)
	本文方法	国标方法	
090901	79.4	78.6	14.2
870301	49.7	49.0	15.6
870302-2	46.5	45.2	13.5

作为检测波长。
本文参考《欧洲药典》7.0版曲克芦丁原料标准“组分测定”的色谱条件^[9],建立了HPLC法同时测定曲克芦丁香豆素片中曲克芦丁和香豆素的含量。结果表明,采用本文方法不仅曲克芦丁各组分得到有效分离,还排除了曲克芦丁各组分对香豆素测定的干扰,灵敏度高,专属性强,能更好地控制制剂质量。
现行国家标准仅测定样品中曲克芦丁的含量,并规定每片含曲克芦丁应不低于40.0 mg。作为处方明确的市售制剂,现行国家标准限度规定明显不够完善。从表2可知,2个厂家的曲克芦丁含量有较大差异,YB公司产品的曲克芦丁含量几

乎是XS公司的1.6倍。因此,为了保证药品的内在质量和临床疗效,该品种的质量标准需修订和提高。

参考文献

[1] 邓海星,晁若冰.HPLC检查曲克芦丁原料药中其它羟乙基芦丁衍生物[J].华西药学杂志,2001,16(4):251.
[2] 周昌奎,吴晓华.曲克芦丁临床研究新进展[J].中国生化药物杂志,2005,26(5):317.
[3] 张国铎,李航.香豆素类化合物的药理作用研究进展[J].中国药业,2011,20(17):1.
[4] 国家药品监督管理局.曲克芦丁香豆素片 WS-10001-(HD-1045)-2002[S].北京:人民卫生出版社,2002:111-113.
[5] 李军,徐本明,刘珂.曲克芦丁对照品的制备液相色谱法分离[J].中国医药工业杂志,2004,35(5):285.
[6] 翁水旺.注射用曲克芦丁中其它羟乙基芦丁衍生物的高效液相色谱法测定[J].分析试验室,2005,24(增刊):53.
[7] 陈捷,胡国昌.高效液相色谱法测定食品中的香豆素[J].色谱,1999,17(2):204.
[8] 董宇静,张玉英.高效液相色谱法测定黑香豆中香豆素的含量[J].中国民族民间医药,2010,6(12):54.
[9] Council of Europe. EP: Vol II [S].7.Oed.Strasbourg: ED-QM, 2011:3 155-3 156.

(收稿日期:2013-01-21 修回日期:2013-03-07)

* 主管药师。研究方向:医院制剂检验。电话:025-83117221。
E-mail:jing_xiaxia@163.com
通信作者:副主任药师。研究方向:医院药学。电话:025-83117223。E-mail:xujin_cn@163.com

小儿速效感冒口服溶液系我院自制制剂,主要由对乙酰氨基酚(AAP)、咖啡因、马来酸氯苯那敏、维生素C、牛磺酸等多种成分组成,适用于小儿感冒或流行性感冒引起的发热、头痛、四肢酸痛。本制剂的质量控制项目主要是AAP的含量。AAP的测定有多种方法^[1-3],通过试验筛选,笔者发现采用紫外光谱法是较简便、准确的方法,而AAP的含量测定可采用该方法中的双波长法、一阶导数法、单波长校正曲线法、吸光系数法。为比较这4种定量分析方法的优劣,笔者在本文中采用这4种方法进行了AAP的含量测定,并进行了方法学的比较。结果表明,这4种方法都能够准确测定AAP的含量;但由于双波长法、一阶导数法操作方法相对简便,更适合医院制剂含量的快速测定。

1 材料

1.1 仪器

UV-1750紫外分光光度计(日本岛津公司);精密天平(德国Sartorius公司);KH3200V型超声波清洗器(昆山禾创超声仪器有限公司)。

1.2 药品与试剂

AAP对照品(常熟华港制药有限公司,批号:1110035,纯度:99.8%);咖啡因原料药(山东新华制药有限公司,批号:09111449,纯度:99.6%);马来酸氯苯那敏原料药(河南九势制药股份有限公司,批号:111110,纯度:99.4%);牛磺酸原料药(天津天成制药有限公司,批号:120504,纯度:98.9%);维生素C原料药(东北制药集团,批号:02612041099,纯度:99.5%);85%单糖浆(自制,批号:110406);小儿速效感冒口服溶液(批号:120618-2、120704-1、120724-2,规格:每支10 ml,含AAP 0.1 g、咖啡因5 mg、马来酸氯苯那敏1 mg);纯化水为自制,氢氧化钠(NaOH)为分析纯。

2 方法与结果

2.1 对照品溶液的配制

精密称定经105℃干燥至恒质量的AAP对照品1 g,加水经超声溶解后,定量配制成AAP质量浓度为10 mg/ml的溶液,即得。

2.2 空白溶液的配制

依照小儿速效感冒口服溶液处方工艺配制不含AAP的空白溶液,放冷滤过,即得。

2.3 样品溶液的配制

取小儿速效感冒口服溶液作为样品溶液。

2.4 稀释液的配制

分别取对照品溶液、空白溶液和样品溶液1 ml至100 ml量瓶中,加水至刻度;再取3 ml至50 ml量瓶中,由于AAP在碱性溶液中以分子状态存在,在紫外光区(257±1) nm波长处有最大吸收,所以采用0.4%的NaOH溶液定容配制3种稀释液。

2.5 方法与检测波长的选择

使用UV-1750紫外分光光度计在220~350 nm波长范围内分别对上述“2.4”项下3种稀释液进行全面扫描,结果见图1。

2.5.1 双波长法:由于AAP在257.2 nm波长处有最大吸收,空白稀释液在257.2、283.4 nm波长处吸光度相同,且AAP在两波长处的吸光度差值足够大,所以257.2、283.4 nm可作为双波

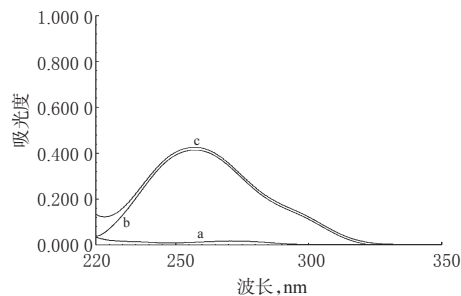


图1 3种稀释液的吸收光谱图

a.空白;b.对照品;c.样品

Fig 1 Absorption spectra of three dilutions

a. blank; b. substance control; c. sample

长法的测定波长和参比波长。

2.5.2 一阶导数法:对图1采用UV Prob 2.33软件进行一阶导数转换,微分波长差:2.000,标尺因子:1。可见在一阶导数图谱中271 nm波长处,空白稀释液的振幅Z为0,对照品稀释液与样品稀释液在此处重合,此波长处空白稀释液对测定无干扰。所以以271 nm作为一阶导数测定波长,以此波长处的振幅Z值作为定量依据,见图2。

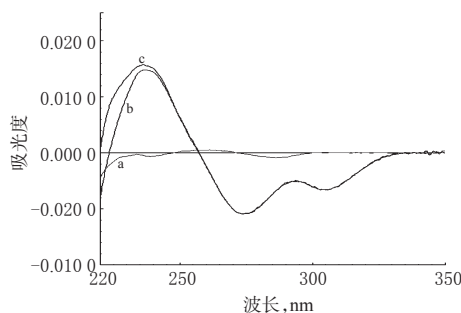


图2 3种稀释液的一阶导数光谱图

a.空白;b.对照品;c.样品

Fig 2 First derivative spectra of three dilutions

a. blank; b. substance control; c. sample

2.5.3 单波长校正曲线法:对照品稀释液在257.2 nm波长处有最大吸收,此波长可作为单波长校正曲线法的测定波长。

2.5.4 吸光系数法:对照品稀释液在257.2 nm波长处有最大吸收,多次试验证实,257.0 nm与257.2 nm波长处的吸光度值的RSD小于0.01%。根据文献^[1],AAP在257.0 nm波长处的吸光系数为715,所以以257.2 nm作为吸光系数法的测定波长。

由于空白辅料在257.2 nm波长处的吸收经多次测定平均值为0.011 2,RSD=0.01%,所以单波长校正曲线法与吸光系数法这2种单波长测定方法在本试验中所列的吸光度值都是通过实测值减去0.011 2后代入公式进行计算的。

2.6 标准曲线的绘制

精密量取1 ml对照品溶液至100 ml量瓶中,用纯化水定容后分别取1、2、3、3.5、4、5 ml,再用0.4%的NaOH溶液稀释定容至50 ml,紫外光谱扫描分析后结果见表1。以吸光度值(A)对质量浓度(c)进行线性回归,回归方程见表2。

结果表明,4种方法测得的AAP检测质量浓度线性范围均为2~10 μg/ml。

2.7 方法学验证

表1 标准曲线紫外光谱数据

Tab 1 Standard curve data of UV spectrum

指标	对照品稀释液质量浓度, $\mu\text{g/ml}$					
	2	4	6	7	8	10
$A_{257.2}$	0.138 6	0.281 8	0.430 4	0.500 6	0.570 0	0.713 6
$A_{263.4}$	0.072 6	0.145 9	0.221 7	0.258 6	0.295 3	0.369 9
Z_{271}	0.003 3	0.006 9	0.010 5	0.012 3	0.014 0	0.017 5

表2 4种方法回归方程

Tab 2 Regression equations of 4 methods

方法	计算方程	r
双波长法	$A_{(257.2-263.4)} = 0.034 7c - 0.002 4$	0.999 8
一阶导数法	$Z_{271} = 0.001 8c - 0.000 2$	0.999 9
单波长校正曲线法	$A_{257.2} = 0.071 9c - 0.004 5$	0.999 9
吸光系数法	$A_{257.2} = 715c/10\ 000$	

2.7.1 回收率试验。分别精密称取105℃干燥至恒质量的AAP对照品,按处方量分别配制3份AAP含量分别为80%、100%、120%的样品溶液,AAP投入量分别为0.804 5、0.805 9、0.805 8 g,0.995 3、0.995 4、1.003 5 g,1.207 8、1.209 8、1.203 5 g。按“2.4~2.5”项下方法对紫外扫描图谱进行数据分析,结果4种方法平均回收率为99.30%~99.84%,符合药物质量控制分析方法的要求,详见表3。

表3 4种方法回收率试验结果

Tab 3 Results of recovery tests of 4 methods

双波长法						一阶导数法					
组别	投入量, g	测得量, g	回收率, %	平均回收率, %	RSD, %	组别	投入量, g	测得量, g	回收率, %	平均回收率, %	RSD, %
1	0.804 5	0.804 0	99.94	99.82	0.51	1	0.804 5	0.805 6	100.13	99.84	0.55
	0.805 9	0.802 1	99.53				0.805 9	0.805 6	99.96		
	0.805 8	0.799 7	99.24				0.805 8	0.796 3	98.82		
2	0.995 3	0.996 6	100.13			2	0.995 3	1.000 0	100.47		
	0.995 4	1.001 0	100.56				0.995 4	1.000 0	100.46		
	1.003 5	0.994 2	99.08				1.003 5	0.990 7	98.73		
3	1.207 8	1.212 3	100.37			3	1.207 8	1.213 0	100.43		
	1.209 8	1.199 3	99.13				1.209 8	1.203 7	99.50		
	1.203 5	1.208 0	100.37				1.203 5	1.203 7	100.02		
单波长校正曲线法						吸光系数法					
组别	投入量, g	测得量, g	回收率, %	平均回收率, %	RSD, %	组别	投入量, g	测得量, g	回收率, %	平均回收率, %	RSD, %
1	0.804 5	0.803 9	99.92	99.82	0.51	1	0.804 5	0.797 9	99.18	99.30	0.59
	0.805 9	0.802 3	99.55				0.805 9	0.796 3	98.81		
	0.805 8	0.799 7	99.25				0.805 8	0.793 7	98.50		
2	0.995 3	0.996 8	100.15			2	0.995 3	0.991 8	99.65		
	0.995 4	1.001 2	100.58				0.995 4	0.996 3	100.09		
	1.003 5	0.994 2	99.07				1.003 5	0.989 3	98.58		
3	1.207 8	1.212 1	100.36			3	1.207 8	1.208 4	100.05		
	1.209 8	1.199 1	99.12				1.209 8	1.195 3	98.80		
	1.203 5	1.207 9	100.37				1.203 5	1.204 2	100.06		

2.7.2 精密度试验。将上述“2.7.1”项下配制的100%的样品溶液,按照试验方法,每批测定5次,计算批内精密度;在不同天(5 d)连续制备并测定100%样品溶液,并对图谱进行扫描处

理,计算批间精密度。结果双波长法、一阶导数法、单波长校正曲线法、吸光系数法批内RSD分别为0.13%、0.01%、0.27%、0.27%,批间RSD分别为0.18%、0.01%、0.37%、0.37%,表明4种分析方法的精密度良好。

2.8 样品的含量测定

按照“2.4~2.5”项下方法,分别测定3个批次样品中AAP的含量。结果表明,4种方法都可以对小儿速效感冒口服溶液中的AAP进行含量测定,3批样品AAP含量测定结果的RSD分别为0.35%、0.47%、0.28%。

3 讨论

AAP的含量测定方法有薄层扫描法^[2]、高效液相色谱法^[3]等,其方法虽准确,但操作烦琐、测定周期长。所以对于医院制剂来说,能够准确快速测定含量的方法还是优选紫外分光光度法。由于小儿速效感冒口服溶液中成分较多,其原有的方法采用三氯甲烷进行分次萃取,提取AAP后去除辅料成分,虽可以把干扰降到最低,但其在经济、环保方面都不是一种好的选择。所以笔者参考《中国药典》中AAP含量的测定方法^[1],采用纯化水和0.4%的NaOH溶液进行稀释,然后进行紫外光谱扫描,选择使用双波长法、一阶导数法、单波长校正曲线法和吸光系数法分别进行含量测定。结果,4种方法回收率、精密度都在可控范围内,故这4种方法都可用于小儿速效感冒口服溶液中的AAP的含量测定。

由于单波长校正曲线法与吸光系数法这2种方法都需要扣除空白辅料的吸收才能够应用方程式进行计算,空白辅料的测定在大剂量配制时,由于AAP较难溶于冷水,须先加热以后才能溶解,所以每次取空白辅料不太现实。而双波长法和一阶导数法在分析过程中已经消除了空白辅料的干扰,所以这2种方法具有较大的优越性。

以上4种方法,可以对某些具有紫外吸收又存在多种辅料成分的制剂的含量测定提供参考。对于某些具有紫外吸收但吸光度未知的样品,可以通过双波长法、导数光谱法、单波长校正曲线法进行计算。由于双波长法受温度和pH影响较大,所以在制剂检测条件对温度和pH要求较高、线性关系不好时,采用导数光谱法更为简便。

参考文献

- [1] 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, 2010:234.
- [2] 屈爱桃, 孙利民, 温爱萍, 等. 薄层扫描法测定三九感冒灵冲剂中对乙酰氨基酚和咖啡因的含量[J]. 中国药房, 2003, 14(6):365.
- [3] 盖轲, 郑阿利. 高效液相色谱法同时测定氨咖黄敏胶囊中对乙酰氨基酚和咖啡因的含量[J]. 中国药房, 2006, 17(6):456.

(收稿日期:2012-08-20 修回日期:2012-09-27)

《中国药房》杂志——《文摘杂志》(AJ)收录期刊, 欢迎投稿、订阅