

保泰松糖衣片剂中保泰松含量测定的 高效液相色谱法改进

孙 婷, 张 菁

(河北省药品检验研究院, 河北 石家庄 050011)

摘要:目的 改进测定保泰松片剂中保泰松含量的高效液相色谱法。方法 色谱柱采用 Agilent Eclipse XDB-C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为醋酸钠缓冲液(取醋酸钠 2.72 g, 加水 700 mL 溶解, 用冰醋酸调节 pH 至 4.1, 加水至 1 000 mL, 摇匀)-乙腈(30:70, V/V), 流速为 1.0 mL/min, 检测波长为 240 nm, 柱温为 30 ℃, 进样量为 20 μL。结果 保泰松主峰能与已知杂质有效分离。保泰松检测质量浓度线性范围为 0.01~0.30 g/L($r=0.9999$), 精密性、稳定性、重复性试验的 RSD 均小于 2.0% ($n=6$); 加样回收率为 99.00%~101.66%, RSD 为 1.41% ($n=9$)。结论 改进方法灵敏度更高, 重复性更好, 适用于测定保泰松片中保泰松的含量。

关键词: 高效液相色谱法; 保泰松片; 保泰松; 含量测定; 杂质分离; 方法改进

中图分类号: R927.2; R971+.1

文献标识码: A

文章编号: 1006-4931(2018)01-0038-03

Content Determination of Phenylbutazone in Phenylbutazone Tablets by Improved HPLC

Sun Ting, Zhang Jing

(Hebei Institute for Drug Control, Shijiazhuang, Hebei, China 050011)

Abstract: Objective To improve the method of content determination of phenylbutazone in Phenylbutazone Tablets. **Methods** The Agilent Eclipse XDB-C₁₈ column(250 mm×4.6 mm, 5 μm) was adopted, the mobile phase was sodium acetate buffer (2.72 g sodium acetate was taken and dissolved with 700 mL of water, the pH was adjusted to 4.1 with glacial acetic acid, the water was added to 1 000 mL and shaken well)-acetonitrile(30:70, V/V), the flow rate was 1.0 mL/min, the detection wavelength was 240 nm, the column temperature was 30 ℃, and the injection volume was 20 μL. **Results** Phenylbutazone could effective separate from the known impurities. The linear range of phenylbutazone was 0.01-0.30 g/L($r=0.9999$); RSDs of precision, stability and reproducibility tests were lower than 2.0% ($n=6$), the recovery was 99.00%-101.66%, RSD=1.41% ($n=9$). **Conclusion** The improved method is more sensitive and reproducible, which is suitable for content determination of phenylbutazone in Phenylbutazone Tablets.

Key words: HPLC; Phenylbutazone Tablets; phenylbutazone; content determination; impurities separation; method improvement

保泰松又名布他酮, 属非甾体抗炎药^[1], 主要用于治疗类风湿关节炎、风湿性关节炎及痛风, 也可用于治疗丝虫病急性淋巴管炎。保泰松通过肝内代谢, 代谢产物为羟基保泰松, 仍有活性。保泰松的不良反应发生率较高^[2-4], 其中还出现了服用保泰松导致儿童中毒的实例^[5], 其代谢产物羟基保泰松也曾在英国被吊销生产许可执照^[6]。而保泰松片剂的质量标准多年未提高, 现行质量标准中保泰松片的含量测定方法仍为易受包衣颜色、检测环境干扰的酸碱容量分析法^[7]。文献[8-16]报道, 要保证质量, 既要考虑避免对色谱柱造成损害, 又要保证能检测到保泰松的已知杂质, 以及已知杂质和保泰松主峰是否能有效分离。本研究中选择乙腈-乙酸缓冲液系统作为流动相, 可有效检测保泰松的已知杂质, 且已知杂质和保泰松主峰能有效分离, 能准确地检测保泰松的有效含量。该方法灵敏度高, 专属性好, 精密度高, 重复性良好, 现报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Agilent 1260 型高效液相色谱仪, 包括 G1311C 四元泵, G1329B 自动进样器, G1316A 柱温箱, G1314 紫外可变波长检测器, Agilent 1260 EZChrom 化学工作站(美国 Agilent 公司); XS105 型电子天平(瑞士梅特勒-托利多公司); KQ5200DE 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

1.2 试剂

保泰松对照品(中国食品药品检定研究院, 批号为 100481-200601, 含量为 99.9%, 使用前不需干燥); 保泰松杂质 B(批号为 160523)、C(批号为 160527)对照品(TPC 公司); 保泰松原料药(JH 公司, 批号为 BTZ2016490); 保泰松片(厂家 A, 批号为 16080921, 16100621, 16111121, 规格为每片 0.1 g); 乙腈为色谱纯(Fisher Scientific 公司); 水为超纯水, 冰醋酸为分析纯,

第一作者: 孙婷, 硕士研究生, 主管药师, 研究方向为药物分析、仿制药质量一致性评价和杂质鉴定, (电话)0311-85212008 (电子邮箱)122547652@qq.com。

均由天津市风船化学试剂科技有限公司提供;醋酸钠(分析纯,天津市赢达稀贵化学试剂厂)。

2 方法及结果

2.1 色谱条件与系统适用性试验

色谱柱: Agilent Eclipse XDB-C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相: 醋酸钠缓冲液(取醋酸钠 2.72 g,加水 700 mL 溶解,用冰醋酸调节 pH 至 4.1,加水至 1 000 mL,摇匀)-乙腈(30:70, V/V);检测波长: 240 nm;柱温: 30 ℃;流速: 1.0 mL/min;进样量: 20 μL。

2.2 溶液制备

对照品溶液: 取保泰松对照品 100 mg,精密称定,置 10 mL 容量瓶中,加乙腈溶解,并稀释至刻度,摇匀,即得质量浓度为 10 g/L 的对照品贮备液。精密量取上述贮备液 1 mL,置 100 mL 容量瓶中,加乙腈溶解,并稀释至刻度,摇匀,即得。

供试品溶液: 取本品 20 片,去糖衣,研细,精密称取细粉适量(约相当于保泰松 0.1 g),置 10 mL 容量瓶中,加乙腈适量,振摇使其溶解,用乙腈稀释至刻度,摇匀,滤过,得供试品贮备液。精密量取供试品贮液 5 mL,置 500 mL 容量瓶中,用乙腈稀释至刻度,摇匀,即得。

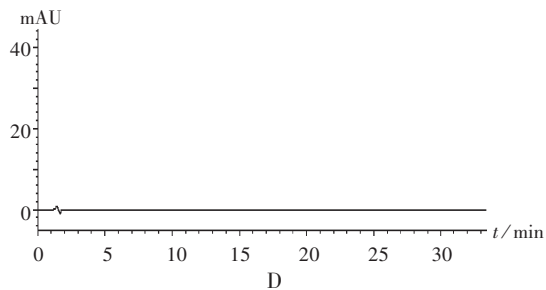
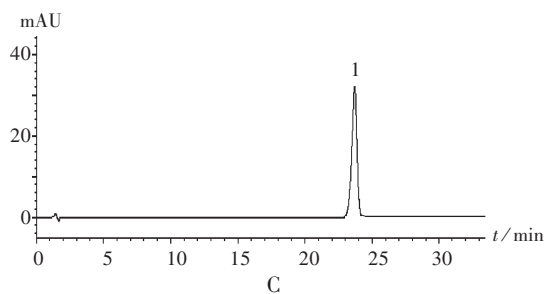
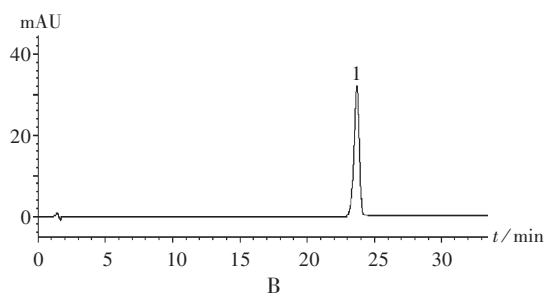
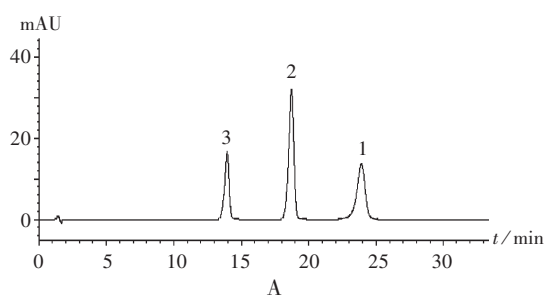
空白辅料溶液: 取生产厂家处方中的所有辅料适量,精密称定,按供试品溶液的制备方法操作,制备,即得。

2.3 方法学考察

系统适用性试验: 取保泰松杂质 B、杂质 C 各 5 mg,精密称定,精密量取供试品贮备液 0.5 mL,置 50 mL 容量瓶中,用乙腈稀释至刻度,摇匀,精密量取上述溶液 2.5 mL,置 10 mL 容量瓶中,用乙腈稀释至刻度,摇匀,即得。取系统适用性试验溶液及空白辅料溶液,按拟订色谱条件进样测定,记录色谱图,见图 1。可见,保泰松峰保留时间约为 24 min,杂质 B 峰保留时间约为 13 min,杂质 C 峰保留时间约为 18 min。保泰松与杂质 C、杂质 C 与杂质 B 相互之间的分离度均大于 2.0,理论板数按保泰松峰计算应不低于 3 000。在该色谱条件下,待测成分峰与溶剂及其他杂质峰分离良好,辅料对测定无影响。

线性关系考察: 精密量取对照品溶液 0.10、0.25、0.50、1.00、2.00、3.00 mL,按拟订色谱条件进样测定,记录峰面积。以待测成分质量浓度(X , g/L)为横坐标、峰面积(Y)为纵坐标进行线性回归,得回归方程 $Y = 160\,007\,176X + 445\,888$, $r = 0.999\,9$ ($n = 6$)。结果表明,保泰松检测质量浓度在 0.01~0.30 g/L 范围内与峰面积线性关系良好。

精密度试验: 精密量取对照品溶液适量,按拟订色谱条件连续进样测定 6 次,记录峰面积。结果保泰松峰面积的 RSD 为 0.41% ($n = 6$),表明仪器精密度良好。



1. 保泰松 2. 杂质 C 3. 杂质 B

A. 系统适用性试验溶液 B. 对照品溶液 C. 供试品溶液

D. 空白辅料溶液

图 1 高效液相色谱图

稳定性试验: 精密量取供试品溶液(批号为 16080921)适量,分别于室温下放置,于 0、1、2、4、6、8 h 时按拟订色谱条件进样测定,记录峰面积。结果保泰松峰面积的 RSD 为 0.67% ($n = 6$),表明供试品溶液在室温下放置 8 h 内稳定性良好。

重复性试验: 取同一批(批号为 16080921)样品适量,共 6 份,依法制备供试品溶液,按拟订色谱条件进样测定,记录峰面积,并按外标法计算样品含量。结果保泰松的平均含量为 97.69%, RSD 为 0.88% ($n = 6$),表明方法重复性良好。

加样回收试验: 取已知含量的样品(批号为

表1 保泰松加样回收试验结果 ($n=9$)

取样量(mg)	样品含量(mg)	加入量(mg)	测得量(mg)	回收率(%)	$\bar{X}$ (%)	RSD (%)
100.02	97.61	0.80	98.40	98.75		
100.03	97.32	0.80	98.10	97.50		
100.04	97.60	0.80	98.38	97.50		
100.01	97.38	1.00	98.37	99.00		
100.06	97.86	1.00	98.86	100.00	99.36	1.41
100.04	97.77	1.00	98.76	99.00		
100.03	97.39	1.20	98.59	100.00		
100.02	97.28	1.20	98.49	100.83		
100.06	97.15	1.20	98.37	101.66		

16080921)100 mg,精密称定,共9份,各置10 mL容量瓶中,分别加入低、中、高质量浓度的保泰松对照品,依法制备供试品溶液,再按拟订色谱条件进样测定,记录峰面积,并计算加样回收率。结果见表1。

2.4 样品含量测定

各取3批样品适量,依法制备供试品溶液,按拟订色谱条件进样测定,记录峰面积,并计算保泰松的含量。结果批号分别为16080921,16100621,16111121的样品中保泰松的平均含量分别为97.71%,97.80%,97.32%,RSD分别为0.46%,0.51%,0.62% ($n=3$)。

3 讨论

3.1 含量测定

随着药品检验技术的发展,方法适用性指标越来越受到关注,越来越多的不良反应事件也让公众的目光聚焦到药品安全性指标的控制是否完善上。2015年版《中国药典(二部)》中质量标准在含量测定项下增加了系统适用性试验。是否能检测出已知杂质,且主成分是否能与已知杂质达到良好的分离效果,最能表明质量标准是否对安全性指标有良好把控。因此,含量测定的检测方法不应仅停留在检测出主成分上。本研究中改进了保泰松含量测定的检测方法,能够更加准确、有效地检验保泰松片剂的主成分。采用高效液相色谱法,保泰松含量结果较原酸碱滴定容量法测定结果略高2%,也验证了原酸碱滴定容量法易受包衣颜色干扰,而使突跃终点观察前置,造成检测结果不够准确。本研究中方法分离效果良好,能够满足检验需求,灵敏度高,准确度高。

3.2 耐用性考察

曾考察4种不同厂家的色谱柱对保泰松片样品进行耐用性试验。结果显示,采用4种不同厂家的色谱柱,主峰与已知杂质分离度均大于1.5,且按保泰松峰计,理论板数均大于3000,峰纯度良好。经方法学考察表明,拟订色谱条件具有良好的系统适用性,适合测定保泰松片中保泰松的含量,且能较好地控制其质量。

参考文献:

- [1] Cynthia S,何葵. 非甾体抗炎药物述评[J]. 药学进展,1989,13(3):36-39.
- [2] 朱学义,董乐,李泽纯. 保泰松合用地塞米松致药物剥脱性皮炎并药物性肝炎1例[J]. 中国药业,2013,22(13):77.
- [3] 肖曙芳,李亚玲,陈祝,等. 保泰松中毒致多器官功能障碍1例[J]. 儿科药学杂志,2006,12(6):62.
- [4] 王蕊婷,卢亚弟,尉亚娥. 保泰松引起频发多源性室性期前收缩一例[J]. 山西医药杂志,2002,4(2):156.
- [5] 但蓓蓓. 保泰松急性中毒患儿1例救治报道[J]. 儿科药学杂志,2012,18(3):1.
- [6] 鱼爱红. 英国吊销羟基保泰松的生产许可证[J]. 药学实践杂志,1985,3(3):58.
- [7] 中华人民共和国卫生部药典委员会. 卫生部药品标准(二部)第五册[M]. 北京:中国医药科技出版社,1996:65.
- [8] 孙旌文,马洪涛. 高效液相色谱法测定保泰松片的含量[J]. 西北药学杂志,2010,25(5):332-333.
- [9] 李玲,陈乃江,姜燕. 保泰松片 HPLC 含量检测方法的建立[J]. 中国医药科学,2015,5(17):61-63.
- [10] 张磊,白青山,王亮. 复方颠茄口服液中硫酸阿托品含量测定及质量标准研究[J]. 药物分析杂志,2013,33(8):1407-1410.
- [11] 穆同娜,王浩,刘艳琴,等. 高效液相色谱法测定化妆品中的保泰松[J]. 日用化学工业,2011,41(6):459-461.
- [12] 车洪勇,杨元玉,冯爱萍. HPLC法测定关节镇痛片中保泰松和马来酸氯苯那敏的含量[J]. 中国药事,2003,17(3):167-168.
- [13] 杜兴. HPLC法测定风湿松片中保泰松及氨基比林的含量[J]. 西北药学杂志,1999,14(2):53.
- [14] 姜泽慧,吴勇. 市售保泰松片溶出度方法的考察[J]. 中国药师,2014,17(6):962-964.
- [15] 郭旭光,郑子栋. 多索茶碱注射液的含量测定方法改进[J]. 中国药事,2014,28(7):774-777.
- [16] 黎昌权,熊雪庆. HPLC法测定尼美舒利颗粒的含量[J]. 中国药师,2014,17(9):1590-1594.

(收稿日期:2017-10-05)