

高效液相色谱法测定乙酰乌头碱片含量及含量均匀度

解瑞辉¹, 郭社民¹, 申利平²

(1. 河南省濮阳市食品药品检验检测中心, 河南 濮阳 457000; 2. 河南省濮阳市食品监督所, 河南 濮阳 457000)

摘要:目的 建立测定乙酰乌头碱片含量及含量均匀度的高效液相色谱法。方法 色谱柱为 Waters Bridge C₁₈ 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 流动相为 0.1% 碳酸氢铵溶液 - 乙腈(60:40, V:V), 检测波长为 232 nm, 流速为 1.0 mL/min, 进样量为 20 μL。结果 乙酰乌头碱质量浓度在 6.0~60.2 μg/mL 范围内与峰面积线性关系良好($r=0.9998$); 平均回收率为 96.91%, RSD 为 0.58% ($n=9$); 3 批样品的平均含量分别为 100.21%, 99.14%, 99.72%, 含量均匀度($A+2.2S$)分别为 12.23, 8.61, 9.32。结论 该方法简便准确, 重复性好, 专属性强, 可用作乙酰乌头碱片的质量控制。

关键词: 乙酰乌头碱片; 高效液相色谱法; 含量测定; 含量均匀度检查

中图分类号: R927.2; R971*.1

文献标识码: A

文章编号: 1006-4931(2019)15-0036-03

Determination of Content and Content Uniformity of Acetylaconitine in Acetylaconitine Tablets by HPLC

XIE Ruihui¹, GUO Shemin¹, SHEN Liping²

(1. Puyang Food and Drug Inspection and Testing Center, Puyang, Henan, China 457000; 2. Puyang Food and Drug Complaints and Reporting Center, Puyang, Henan, China 457000)

Abstract: **Objective** To establish an HPLC method for the determination of content and content uniformity of acetylaconitine in Acetylaconitine Tablets. **Methods** The chromatographic column was Waters Bridge C₁₈ column(250 mm × 4.6 mm, 5 μm), the mobile phase was 0.1% ammonium bicarbonate solution - acetonitrile(60:40, V:V), the detection wavelength was 232 nm, the flow rate was 1.0 mL/min and the sample size was 20 μL. **Results** Acetylaconitine showed good linear relationship with peak area in the range of 6.0~60.2 μg/mL($r=0.9998$), the average recovery was 96.91% and RSD was 0.58% ($n=9$). The average contents of three batches of samples were 100.21%, 99.14% and 99.72%, the content uniformity($A+2.2S$) of three batches of samples was 12.23, 8.61 and 9.32, respectively. **Conclusion** The method is simple, accurate, reproducible and specific, which is suitable for the quality control of Acetylaconitine Tablets.

Key words: Acetylaconitine Tablets; HPLC; content determination; test of content uniformity

乙酰乌头碱片曾用名 3-乙酰乌头碱片、新乌宁通片,适用于各类止痛^[1-3],主要成分为 20-乙基-1,6,16-三甲基氧基-4-(甲氧基甲基)乌头烷-3,8,13,14,15-五醇-3,8-二醋酸酯-14-苯甲酸酯,系由毛茛科乌头属植物伏毛铁棒锤中分离提取有效成分加工制成的片剂。乙酰乌头碱片现行标准采用紫外可见分光光度法(UV)测定其含量^[4]。国内有 2 家企业生产乙酰乌头碱片,规格均为 0.3 mg,重量差异不能真正反映药品的均匀性。本研究中采用高效液相色谱(HPLC)法测定乙酰乌头碱片的含量,同时增加含量均匀度的测定。现报道如下。

1 仪器与试剂

Waters2695 型高效液相色谱仪(美国沃特世公司),包括 Empower3 化学工作站和 2489UV/vis 检测器;Secomam UVIKON xL 型双光束扫描紫外/可见分光光度计(法国赛克曼公司);Mettler Toledo XS205EU 型电子天平(瑞士梅特勒-托利多公司)。乙酰乌头碱(阿拉丁工业公司,美国 CAS NO. 77181-26-1, LOT. E1508001,

含量为 98%);乙酰乌头碱片(市售,北京某厂家,批号为 20180403;陕西某厂家,批号分别为 170801,171101;规格均为 0.3 mg);甲醇、乙腈均为色谱纯,乙醇、无水三氯甲烷均为分析纯,碳酸氢铵(优级纯),水为纯化水。

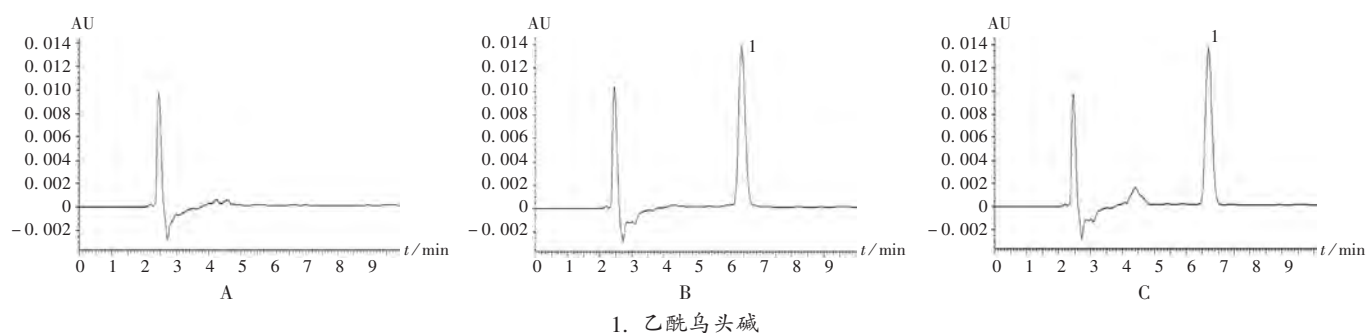
2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:Waters Bridge C₁₈ 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm);流动相:0.1% 碳酸氢铵溶液 - 乙腈(60:40, V:V);流速:1.0 mL/min;检测波长:232 nm;柱温:室温;进样量:20 μL。外标法峰面积定量。

2.2 溶液制备

称取乙酰乌头碱 15.32 mg,精密称定,置 50 mL 容量瓶,加无水氯仿 5 mL,超声溶解,用 70% 乙醇稀释至刻度,摇匀,作为对照品贮备液;精密量取贮备液 5 mL,置 50 mL 容量瓶,加 70% 乙醇至刻度,摇匀,作为对照品溶液。按处方制备工艺制得不含乙酰乌头碱的阴性对照品溶液。取本品 20 片,精密称定,研细,称取适量(约相当于乙酰乌头碱 1.5 mg),置 50 mL 容量瓶,加无水



1. 乙酰乌头碱

A. 阴性对照品溶液 B. 对照品溶液 C. 供试品溶液

图1 高效液相色谱图

氯仿 5 mL 超声溶解,加 70% 乙醇稀释至刻度,摇匀,作为供试品溶液。

2.3 方法学考察

干扰试验:分别精密量取阴性对照品溶液、对照溶液、供试品溶液各 20 μ L,进样测定,记录色谱图。结果其他成分对乙酰乌头碱的分析无干扰,详见图 1。

线性关系考察:精密量取 2.2 项下对照品贮备液 2,3,5,10,15,20 mL,分别置 100 mL 容量瓶中,加 70% 乙醇稀释至刻度,摇匀,分别精密量取溶液各 20 μ L,进样测定,记录色谱图。以进样质量浓度(X , μ 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 $Y = 4\,030.2X - 1\,520.4$, $r = 0.999\,8$ ($n = 6$)。结果乙酰乌头碱进样质量浓度在 6.0 ~ 60.2 μ g/mL 范围内与峰面积线性关系良好。

精密度试验:取 2.2 项下同一对照品溶液,按拟订色谱条件连续进样测定 6 次。结果乙酰乌头碱峰面积的 RSD 为 0.28% ($n = 6$),表明仪器精密度良好。

稳定性试验:取 2.2 项下同一批(批号为 170801)供试品溶液,分别于 0,2,4,6,8,10,12 h 时分别精密量取 20 μ L 注入色谱仪测定,记录色谱图。结果乙酰乌头碱峰面积的 RSD 为 0.79% ($n = 6$),表明供试品溶液在 12 h 内基本稳定。

重复性试验:取同一批(批号为 170801)供试品,按 2.2 项下方法制备供试品溶液,平行制备 6 份,按拟订色谱条件进样测定。结果的 RSD 为 0.93% ($n = 6$),表明方法重复性良好。

加样回收试验:称取已知含量的供试品细粉(批号为 170801,含量为每片 0.2973 mg),精密称定,共 9 份,分别置 50 mL 容量瓶中,分别精密加入对照品贮备液 4,5,6 mL,按 2.2 项下方法制备供试品溶液,分别精密吸取 20 μ L 注入液相色谱仪,依法进样测定,计算回收率。结果见表 1。

2.4 样品含量及含量均匀度测定

含量测定:取 3 批供试品,按 2.2 项下方法制备供试品溶液,每批平行 3 份,照拟订色谱条件测定,按外标

表 1 乙酰乌头碱加样回收试验结果 ($n = 9$)

样品含量(μ g/mL)	加入量(μ g/mL)	测得量(μ g/mL)	回收率(%)	$\bar{X}$ (%)	RSD (%)
30.02	24.02	53.26	96.71		
30.08	24.02	53.24	96.42		
30.15	24.02	53.34	96.54		
29.85	30.03	58.99	97.04		
29.99	30.03	58.98	96.54	96.91	0.58
30.38	30.03	59.86	98.17		
30.19	36.03	65.21	97.20		
31.23	36.03	65.98	96.45		
30.25	36.06	65.26	97.09		

法以峰面积计算含量。结果见表 2。

表 2 供试品含量及含量均匀度测定结果

批号(生产企业属地)	含量(%, $n = 3$)	含量均匀度($A + 2.2S$, $n = 10$)
20180403(北京)	100.21	12.23
170801(陕西)	99.14	8.61
171101(陕西)	99.72	9.32

含量均匀度测定:分别取 3 批供试品各 10 片,研细,分别置 10 mL 容量瓶中,加无水氯仿 1 mL 超声溶解,加 70% 乙醇稀释至刻度,摇匀。照拟订色谱条件测定,按外标法以峰面积计算每片的标示量,按 2015 年版《中国药典(四部)》通则 0941^[5] 含量均匀度检查法,计算 $A + 2.2S$ 。结果见表 2。

3 讨论

曾试用不同比例甲醇-水、甲醇-碳酸氢铵溶液、甲醇-磷酸二氢钾溶液等作为流动相进行试验,但均不理想。参考文献[6],以碳酸氢铵溶液-乙腈为流动相,峰形对称性符合要求,乙酰乌头碱峰的理论板数高,与三氯甲烷的峰分离度较好。

国内 2 家药品生产企业生产乙酰乌头碱片,规格均为 0.3 mg。按《中国药典(四部)》要求片剂、硬胶囊剂、颗粒剂或散剂等每一单剂标示量均小于 25 mg,建议检查含量均匀度^[5],增强制剂学对药物的质量控制。

乙酰乌头碱易溶于三氯甲烷,几乎不溶于乙醇,不溶于水。故用无水三氯甲烷溶解,试验过程中溶剂中的