

高效液相色谱法测定茶碱缓释片中无水茶碱含量

刘喜玲,姚 远,周 翔,赵淑敏,李 春,余 龙

(陕西省商洛市药品检验所,陕西 商洛 726000)

摘要:目的 建立测定茶碱缓释片中茶碱含量的最优高效液相色谱(HPLC)法。方法 色谱柱采用 Agilent Poroshell 120 EC-C₁₈ 柱(150 mm×4.6 mm,4 μm),检测波长为 272 nm,流动相为 0.12% 戊烷磺酸钠[用冰醋酸调节 pH 至(2.9±0.1)]-甲醇(80:20, V/V),柱温为 35℃,流速为 1.0 mL/min。结果 茶碱质量浓度在 25.2~252 μg/mL 范围内与峰面积线性关系良好;平均加样回收率为 100.01%,RSD 为 0.45%(n=9)。结论 该方法操作简单,准确可靠,可用于茶碱缓释片的质量控制和检验标准提升。

关键词:高效液相色谱法;茶碱缓释片;无水茶碱;含量测定

中图分类号:R927.2;R974+.3

文献标识码:A

文章编号:1006-4931(2019)21-0036-03

Content Determination of Anhydrous Theophylline in Sustained-Release Tablets by HPLC

LIU Xiling, YAO Yuan, ZHOU Xiang, ZHAO Shumin, LI Chun, YU Long

(Shangluo Institute for Drug Control, Shangluo, Shaanxi, China 726000)

Abstract: Objective To establish an optimal HPLC method for the content determination of anhydrous theophylline in Theophylline Sustained-Release Tablets. **Methods** The chromatographic column was Agilent Poroshell 120 EC-C₁₈ column(150 mm×4.6 mm, 4 μm), the detection wavelength was 272 nm, the mobile phase was 0.12% sodium pentane sulfonate-methanol[pH was adjusted to (2.9±0.1) with acetic acid](80:20, V/V), the column temperature was 35℃ and the flow rate was 1.0 mL/min. **Results** The anhydrous theophylline showed good linear relationship within the range of 25.2-252 μg/mL, the average recovery was 100.01% and RSD was 0.45% (n=9). **Conclusion** The method is simple and accurate, which can be used for quality control and inspection standards improvement of Theophylline Sustained-Release Tablets.

Key words: HPLC; Theophylline Sustained-Release Tablets; anhydrous theophylline; content determination

茶碱缓释片用于缓解支气管哮喘、喘息型支气管炎、阻塞性肺气肿等喘息症状,也可用于心源性肺水肿引起的哮喘,收载于 2015 年版《中国药典(二部)》,其含量测定滴定法专属性较差,无水茶碱的含量测定方法多样化^[1-9]。本研究中对不同高效液相色谱(HPLC)法测定茶碱缓释片中茶碱的含量,确定专属 HPLC 法,操作简便,结果准确、可靠。现报道如下。

1 仪器与试剂

仪器:1260 型高效液相色谱仪(安捷伦科技有限公司);UV-2600 型紫外分光光度计(日本岛津公司);BT125D 型电子分析天平(赛多利斯科学仪器公司);AS7240A 型超声溶解仪(天津奥特赛恩斯仪器有限公司);1HP-10-H 型试验用超纯水机(重庆力德高端水处理设备研发有限公司)。

试剂:氨茶碱缓释片(广州迈特兴华制药有限公司,批号为 20170822,规格为 0.1 g);氨茶碱缓释片(惠州大亚制药股份有限公司,批号为 170901,规格为 0.1 g);氨茶碱缓释片(广州白云山光华制药股份有限公司,批号为 T70021,规格为 0.1 g);茶碱对照品(中国食品药品检定研究院,批号为 100121-201104,含量为 100%)。甲醇(色谱纯, Sigma-aldrich 公司);乙腈(色谱纯, Sigma-aldrich 公司);醋酸钠(分析纯,天津市河东区红岩

试剂厂);磷酸二氢钾(分析纯,天津市北辰方正试剂厂);三乙胺(分析纯,天津市北辰方正试剂厂);戊烷磺酸钠(分析纯,天津市科密欧学试剂厂);冰乙酸(分析纯,天津市大茂试剂厂);水为超纯水。

2 方法与结果

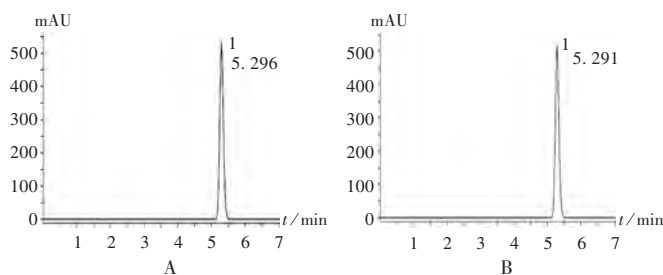
2.1 溶液制备

称取茶碱对照品 25.17 mg,精密称定,置 100 mL 容量瓶,加流动相 30 mL,热水浴超声使溶解^[9-12],放冷后,用流动相稀释至刻度,摇匀,得质量浓度为 0.251 7 g/L 的对照品贮备液。精密量取 10 mL,置 25 mL 容量瓶,用流动相稀释至刻度,摇匀,作为对照品溶液。分别取茶碱缓释片 20 片,精密称定,研细,精密称取细粉适量(约相当于无水茶碱 0.1 g),置 100 mL 容量瓶中,加流动相 30 mL,热水浴超声使溶解,放冷,用流动相稀释至刻度,摇匀,滤过,精密量取续滤液 5 mL,置 50 mL 容量瓶,用流动相稀释至刻度,摇匀,作为供试品溶液。

2.2 色谱条件与系统适用性试验

色谱柱:Agilent Poroshell 120 EC-C₁₈ 柱(150 mm×4.6 mm,4 μm);流动相:0.12% 戊烷磺酸钠[用冰醋酸调节 pH 至(2.9±0.1)]-甲醇(80:20, V/V);检测波长:272 nm;进样量:10 μL;柱温:35℃;流速:1 mL/min。在此色谱条件下,对应的理论板数最高为 10 890,符合理

论板数大于 5 000 的要求(参考茶碱缓释胶囊色谱条件),拖尾因子为 1.089 37,色谱图见图 1。



1. 茶碱

A. 对照品溶液 B. 供试品溶液

图 1 高效液相色谱图

2.3 方法学考察

线性关系考察:分别精密量取 2.1 项下茶碱对照贮备液 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10 mL, 置 10 mL 容量瓶, 以进样质量浓度(X)为横坐标、峰面积(Y)为纵坐标绘制标准曲线, 得回归方程 $Y = 40\,355X - 22.003$, $R^2 = 0.999\,6$ ($n=8$)。结果表明, 茶碱进样质量浓度在 25.2~252 $\mu\text{g/mL}$ 范围内与峰面积线性关系良好。

精密密度试验:精密量取茶碱对照品溶液 10 μL , 在拟订色谱条件下, 重复进样 6 次。结果平均峰面积为 4352.45, RSD 为 0.10% ($n=6$), 表明仪器精密密度良好。

稳定性试验:取样品(批号为 20170822)适量, 依法制备供试品溶液供试品溶液, 按拟订色谱条件, 分别于 0, 2, 4, 8, 12, 24 h 时进样测定茶碱的峰面积。结果的 RSD 为 0.33% ($n=6$), 表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

重复性试验:精密称取样品(批号为 20180822) 6 份, 按 2.1 项下的方法制备供试品溶液, 进样 10 μL 测定峰面积。结果茶碱平均含量为 99.20 mg, RSD 为 0.21% ($n=6$), 表明方法重复性良好。

加样回收试验:精密称取样品(批号为 20170822) 共 9 份, 分别置 10 mL 容量瓶, 精密称取茶碱对照品 9 份, 分别加入上述 9 份样品中, 用流动相稀释至刻度, 摇匀, 按拟订色谱条件测定, 计算样品含量。结果见表 1。

表 1 茶碱加样回收试验结果($n=9$)

样品含量(mg)	加入量(mg)	测得量(mg)	回收率(%)	$\bar{X}$ (%)	RSD (%)
0.990 1	0.805 4	1.795 6	100.01		
0.989 7	0.804 9	1.793 2	99.83		
0.989 9	0.805 1	1.792 5	99.69		
0.990 5	1.006 8	1.999 8	100.25		
0.990 7	1.007 9	2.001 4	100.28	100.01	0.45
0.989 7	1.006 5	1.992 4	99.62		
0.989 9	1.208 2	2.199 9	100.15		
0.990 3	1.208 3	2.212 5	101.15		
0.990 5	1.207 9	2.198 6	100.02		

2.4 样品含量测定

取 3 批样品, 按 2.1 项下方法平行制备 2 份供试品溶液, 在拟订色谱条件下分别进样 2 次, 每次 10 μL , 测定峰面积, 计算含量。结果 3 批样品(批号分别为 20170822, 170901, T70021) 平均含量分别为 99.03%, 99.63%, 94.27%, RSD 分别为 0.34%, 0.31%, 0.14% ($n=4$)。

3 讨论

流动相选择:分别以 4 种不同流动相比比例, 即甲醇-水(30:70)、甲醇-0.05 mol/L 的磷酸二氢钾-三乙胺(25:75:0.2)、醋酸盐缓冲液(取醋酸钠 1.36 g, 加水 100 mL 使溶解, 加冰醋酸 5 mL, 再加水稀释至 1 000 mL, 摇匀)-乙腈(97:7)、0.12% 戊烷磺酸钠[用冰醋酸调节 pH 至(2.9 $\pm$ 0.1)]-甲醇(80:20, V/V)进行试验, 与其他 3 种方法相比, 最后一种流动相对应的理论板数高, 拖尾因子小, 峰形对称, 分离度符合要求, 故选用其作为流动相。

检测波长选择:采用紫外-可见分光光度法, 将茶碱对照品溶液在 200~300 nm 波长范围内进行扫描, λ_{max} 为 272 nm, 确定 272 nm 作为检测波长^[10-11]。

溶剂选择:分别用 4 种流动相溶解同一批样品, 使用同一检验方法进行测定, 其中使用甲醇-水(30:70, V/V)作为溶剂进行溶解的样品, 主峰面积最大, 杂质峰总面积最小, 甲醇-水(30:70, V/V)与茶碱互溶性最好, 辅料干扰较小, 选择性最强, 故采用甲醇-水(30:70, V/V)作为溶剂^[7]。

样品前处理方法选择:考察水浴温度和超声时间前处理方法对样品溶解的影响, 结果显示, 水浴温度 60 $^{\circ}\text{C}$ 、超声 10 min, 测得茶碱含量最高, 较低的水浴温度不利于茶碱的释放, 随着水浴温度的增加和超声时间的延长, 茶碱含量基本稳定, 但杂质含量显著增高, 故适当降低水浴温度和超声时间, 并选择合适的水浴温度和超声时间, 可有效促进茶碱的溶出, 避免长时间高温水浴导致待测物质分解^[12-15]。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(二部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015:715-716.
- [2] 汪秀月. HPLC 法测定氨茶碱片中无水茶碱的含量[J]. 海峡药学, 2010, 22(9):39-41.
- [3] 康建党, 刘浩, 卢鹏伟, 等. HPLC 法测定氨茶碱氯化钠注射液无水茶碱的含量[J]. 河南大学学报(医学版), 2012, 31(4):281-282.
- [4] 马康, 赵敏, 王海峰, 等. 茶碱标准物质的研制与定值[J]. 分析测试学报, 2011, 30(4):418-424.
- [5] 吴蔚, 龚士学, 张伟, 等. 高效液相色谱法测定迪银片中无水茶碱的含量[J]. 中国药业, 2004, 13(7):35.
- [6] 蔡涛, 祝业光. 高效液相色谱法测定茶碱缓释片中茶碱的