

· 检验检测 ·

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2019.21.011

高效液相色谱法同时测定感冒清胶囊中对乙酰氨基酚和盐酸吗啡含量

王丽琼, 吴 丽[△]

(四川省乐山市食品药品检验检测中心, 四川 乐山 614000)

摘要:目的 建立同时测定感冒清胶囊中对乙酰氨基酚和盐酸吗啡含量的高效液相色谱法。方法 色谱柱采用 Waters XTerra C₁₈ 柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 流动相为 0.02 mol/L 磷酸二氢钾溶液 (含 0.005 mol/L 辛烷磺酸钠, 用 10% 磷酸调 pH 至 3.0) - 甲醇 (75:25, V/V), 检测波长为 215 nm, 流速为 1.0 mL/min, 柱温为 30 ℃。结果 感冒清胶囊中对乙酰氨基酚和盐酸吗啡的分离度符合要求, 线性范围分别为 96.66 ~ 966.63 μg/mL ($r=0.999\ 9$) 和 95.48 ~ 954.80 μg/mL ($r=0.999\ 8$), 平均回收率分别为 99.37% 和 100.04%, RSD 分别为 0.66% 和 1.53% ($n=6$)。结论 该方法简单、快速、准确, 适用于感冒清胶囊的质量控制。

关键词:感冒清胶囊; 对乙酰氨基酚; 盐酸吗啡; 高效液相色谱法; 含量测定

中图分类号: R927.2; R971+.1

文献标识码: A

文章编号: 1006-4931(2019)21-0038-03

Simultaneous Determination of Paracetamol and Moroxydine Hydrochloride in Ganmaoqing Capsules by HPLC

WANG Liqiong, WU Li

(Leshan Food and Drug Inspection Center, Leshan, Sichuan, China 614000)

Abstract: Objective To establish an HPLC method for the simultaneous determination of paracetamol and moroxydine hydrochloride in Ganmaoqing Capsules. **Methods** The chromatographic column was Waters XTerra C₁₈ column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), the mobile phase was 0.02 mol/L potassium dihydrogen phosphate solution (containing 0.005 mol/L sodium 1-octanesulfonate, and the pH was adjusted to 3.0 with 10% phosphate acid) - methanol (75:25, V/V), the detection wavelength was 215 nm, the flow rate was 1.0 mL/min and the column temperature was 30 ℃. **Results** The separation of paracetamol and moroxydine hydrochloride in Ganmaoqing Capsules met the requirements, the linear range of paracetamol and moroxydine hydrochloride was 96.66 ~ 966.63 μg/mL ($r=0.999\ 9$) and 95.48 ~ 954.80 μg/mL ($r=0.999\ 8$), respectively. The average recoveries were 99.37% and 100.04%, RSDs were 0.66% and 1.53% ($n=6$), respectively. **Conclusion** The method is simple, rapid and accurate, which is suitable for the quality control of Ganmaoqing Capsules.

Key words: Ganmaoqing Capsules; paracetamol; moroxydine hydrochloride; HPLC; content determination

感冒清胶囊属抗感冒药类中西药复方制剂, 由对乙酰氨基酚、盐酸吗啡、马来酸氯苯那敏和其他 6 味药材 (南板蓝根、大青叶、金盏银盘、岗梅、山芝麻和穿心莲叶) 制成, 主治疏风解表、清热解毒, 用于风热感冒之发

热、头痛、鼻塞流涕、喷嚏、咽喉肿痛、全身酸痛等症。其临床应用广泛, 不良反应事件也有报道, 这与其中含有的西药成分有关, 故严格控制中西药复方制剂中的西药成分尤为重要^[1-2]。盐酸吗啡在反相色谱系统中保留

第一作者: 王丽琼, 女, 硕士研究生, 主管药师, 研究方向为药物分析及药品质量控制, (电子信箱) 527414762@qq.com。

[△]通信作者: 吴丽, 女, 硕士研究生, 工程师, 研究方向为食品药品检验检测, (电子信箱) 317963779@qq.com。

- 含量[J]. 中国药事, 2007, 21(1): 46-47.
- [7] 吴 璐. HPLC 测定氨茶碱片中的无水茶碱[J]. 华西药学杂志, 2010, 25(2): 202-203.
- [8] 陈 燕, 孟德钢, 陈翠红. 高效液相色谱法测定茶新那敏片中无水茶碱含量[J]. 中国当代医药, 2016, 23(24): 127-129.
- [9] 王金库. 茶碱缓释片的工艺研究[J]. 医学信息, 2009, 22(11): 2472-2473.
- [10] 卫世乾, 贾嫣茹, 张立科. 紫外-可见光度法测定茶碱缓释片中茶碱的研究[J]. 江西师范大学学报(自然科学版), 2012, 36(2): 205-208.
- [11] 程弘夏, 吴沁林, 冉林荣, 等. 紫外分光光度法测定茶碱缓释片中茶碱的含量[J]. 化学与生物工程, 2013, 30(12): 75-77.
- [12] 马福家. 茶碱缓释片的制备及其初步稳定性考察[J]. 药学服务与研究, 2009, 9(2): 111-113.
- [13] 谷大建, 王本杰, 李宏建. 氨茶碱缓释片的人体生物等效性研究[J]. 药学服务与研究, 2010, 10(3): 208-211.
- [14] 周海云, 廖宏年. 4 种前处理方法对茶碱缓释片含量测定结果的影响[J]. 中国医药科学, 2013, 3(6): 42-43.
- [15] 黄 敏. 茶碱缓释片有关物质检查系统适用性探讨[J]. 医药导报, 2014, 33(4): 511-512.

(收稿日期: 2019-03-11)

弱,易受溶剂峰的干扰^[3-6],在流动相中加入反相离子^[7-11],结合成离子对化合物,在 C_{18} 柱保留增强,分离效能提高。本研究中建立反相离子对高效液相色谱法,同时测定感冒清胶囊中对乙酰氨基酚和盐酸吗啡的含量,为质量标准的提高提供参考。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Agilent 1260 型高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司,含 DAD 检测器);XSE205 型 DualRange 电子天平(瑞士梅特勒-托利多公司);CQ-100B 型超声波清洗机(上海跃进医用光学器械厂);16K 型台式离心机(珠海黑马医学仪器有限公司);FE 28 型 pH 计(瑞士梅特勒-托利多公司)。

1.2 试剂

对乙酰氨基酚对照品(批号为 100018-201610,含量为 99.9%),盐酸吗啡对照品(批号为 100483-200402),均购自中国食品药品检定研究院;感冒清胶囊(市售,通化颐生药业股份有限公司,批号分别为 171214,180615;广州白云山医药集团股份有限公司白云山制药总厂,批号为 1180008);甲醇(色谱纯,河北百灵威超精细材料有限公司);辛烷磺酸钠(离子对色谱试剂,成都市科隆化学品有限公司);水为纯化水,其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件与系统适用性试验

色谱柱:Waters XTerra C_{18} 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μ m);流动相:0.02 mol/L 磷酸二氢钾溶液(含 0.005 mol/L 辛烷磺酸钠,用 10% 磷酸调 pH 至 3.0) - 甲醇(75:25, V/V);检测波长:215 nm;进样量:10 μ L;流速:1.0 mL/min;柱温:30 $^{\circ}$ C。在此色谱条件下,理论板数按对乙酰氨基酚峰计为 7 647,对乙酰氨基酚和盐酸吗啡分离度为 7.58,阴性样品溶液色谱图中未检出与对照品溶液主峰保留时间一致的色谱峰,辅料及其他主药对测定无干扰(见图 1)。

2.2 溶液制备

取对乙酰氨基酚对照品 48.38 mg 和盐酸吗啡对照品 47.74 mg,精密称定,置同一 50 mL 容量瓶中,用适量 25% 甲醇(用 10% 磷酸调 pH 至 3.0,以下简称溶剂)溶解并稀释至刻度,摇匀,即得对照品贮备液。精密量取对照品贮备液 5 mL,置 10 mL 容量瓶中,用溶剂稀释至刻度,摇匀,即得对照品溶液。取样品 10 粒,精密称定,计算平均装量,混匀,精密称取适量(约相当于对乙酰氨基酚 24 mg),置 50 mL 容量瓶中,加溶剂适量,超声助溶,用溶剂稀释至刻度,摇匀,离心,取上清液滤过,即得供试品溶液。按处方比例配制不含对乙酰氨基酚和盐酸吗啡的阴性样品,依法制备阴性对照溶液。

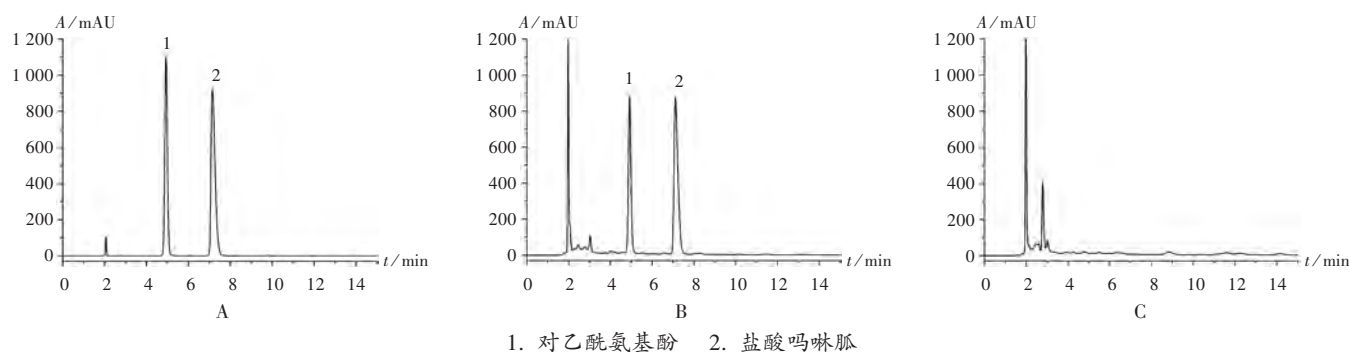
2.3 方法学考察

线性关系考察:精密量取对照品贮备液 1, 2, 4, 6, 8 mL,分别置 10 mL 容量瓶中,加溶剂稀释至刻度,摇匀,得系列溶液;取系列溶液和对照品贮备液共 6 份,按拟订色谱条件测定峰面积。以质量浓度(C , μ g/mL)为横坐标、相应峰面积(A)为纵坐标绘制标准曲线,得回归方程 $A_{\text{对}} = 15.65C + 123.38$, $r = 0.9999$,线性范围为 96.66 ~ 966.63 μ g/mL; $A_{\text{盐}} = 23.53C + 187.46$, $r = 0.9998$ ($n = 6$),线性范围为 95.48 ~ 954.80 μ g/mL。

精密度试验:精密吸取上述对照品溶液,按拟订色谱条件连续进样 6 次,记录峰面积。结果的 RSD 分别为对乙酰氨基酚 0.61% 和盐酸吗啡 0.78% ($n = 6$),表明仪器精密度良好。

重复性试验:取同一批(批号为 171214)样品,依法平行制备 6 份供试品溶液,按拟订色谱条件分别进样测定。结果平均每粒含对乙酰氨基酚和盐酸吗啡分别为标示量的 99.4% 和 99.7%, RSD 分别为 0.98% 和 1.32% ($n = 6$),表明方法重复性良好。

加样回收试验:精密称取已知含量的样品(批号为 171214,每份约 0.25 g)6 份,分别置 6 个 50 mL 容量瓶中;精密称取对乙酰氨基酚对照品 152.81 mg 和盐酸吗啡对照品 165.81 mg,置同一 25 mL 容量瓶中,用溶



A. 对照品溶液 B. 供试品溶液 C. 阴性对照溶液

图 1 高效液相色谱图

剂溶解并稀释至刻度,精密量取2 mL,分别置上述相应的50 mL容量瓶中,依法制备供试品溶液,按拟订色谱条件测定,计算回收率。结果见表1。

表1 加样回收试验结果($n=6$)

样品含量(mg)		加入量(mg)		测得量(mg)		回收率(%)		$\bar{X}$ (%)		RSD(%)	
A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
12.37	12.19	12.21	13.27	24.63	25.32	100.41	98.94				
12.12	11.95	12.21	13.27	24.23	25.18	99.18	99.70				
12.07	11.90	12.21	13.27	24.17	25.53	99.10	102.71	99.37	100.04	0.66	1.53
12.26	12.09	12.21	13.27	24.45	25.49	99.84	100.98				
12.06	11.88	12.21	13.27	24.09	25.01	98.53	98.94				
11.99	11.82	12.21	13.27	24.10	24.95	99.18	98.94				

注:A为对乙酰氨基酚,B为盐酸吗啡。下表同。

稳定性试验:精密量取上述供试品溶液,室温下分别于0,2,4,6,8,12,24 h时进样,测定峰面积。结果对乙酰氨基酚和盐酸吗啡的RSD分别为0.60%和1.06%($n=7$),表明供试品溶液在24 h内稳定。

2.4 样品含量测定

取3批样品,每批平行3份,依法制备供试品溶液,按拟订色谱条件进样测定,采用外标法以峰面积计算样品含量,结果见表2。

表2 样品含量测定结果(% , $n=3$)

批号	含量		$\bar{X}$		RSD	
	A	B	A	B	A	B
171214	101.15	97.16				
	101.61	100.61	100.54	99.10	1.46	1.78
	98.86	99.54				
180615	98.68	97.48				
	95.78	98.62	97.40	98.21	1.52	0.65
	97.76	98.54				
1180008	94.80	93.79				
	96.09	94.65	96.32	94.55	1.71	0.75
	98.07	95.20				

3 讨论

3.1 检测波长选择

根据对乙酰氨基酚、盐酸吗啡和马来酸氯苯那敏在200~400 nm波长范围内的紫外光谱图,在215 nm波长处,对乙酰氨基酚有最小吸收,盐酸吗啡有最大吸收,测定波长宜选用曲线平缓区域(波峰和波谷);且本色谱条件下,对乙酰氨基酚和盐酸吗啡在此波长处的响应值相近。最后确定215 nm为测定波长。

3.2 离子对试剂选择

盐酸吗啡流动相中电离成阳离子,选用磺酸类阴离子试剂。考察了戊烷磺酸钠(0.01 mol/L)、己烷磺酸钠(0.01 mol/L)、庚烷磺酸钠(0.005,0.01 mol/L)和辛烷磺酸钠(0.001,0.002,0.003,0.004,0.005,

0.01 mol/L)对分离的影响。结果显示,0.01 mol/L庚烷磺酸钠、0.005 mol/L辛烷磺酸钠和0.01 mol/L辛烷磺酸钠均能较好地分离。考虑到离子对试剂浓度大对色谱柱的影响^[12],最后选择0.005 mol/L辛烷磺酸钠。

3.3 应用价值

感冒清胶囊现行标准有5个:中华人民共和国卫生部药品标准中药成方制剂(第十九册,WS₃-B-3717-98)、国家食品药品监督管理局国家药品标准(WS₃-B-3717-98-2)、国家食品药品监督管理局国家药品标准修订批件2002ZFB 0245、国家食品药品监督管理局国家药品标准(WS₃-B-3717-98-1)和国家食品药品监督管理局国家药品标准(WS₃-B-3717-98-3)。各标准之间检验项目和检验方法各不相同,前三者含量测定项下只控制了对乙酰氨基酚的含量,后两者含量测定项下包含了对乙酰氨基酚和盐酸吗啡,但盐酸吗啡出峰时间很快(2 min左右),溶剂峰和未知杂质峰干扰大。在本试验条件下,盐酸吗啡保留时间延长至7 min左右,与相邻对乙酰氨基酚峰分离度符合要求,不受干扰。经方法学验证,方法专属性好,精密度、重复性、准确度高,适用于感冒清胶囊的质量控制,可为其质量标准的提高提供参考。

参考文献:

- [1] 黄胜男,郭 猛,常佩滢,等. 治疗感冒的中西药复方制剂不良反应/事件与合理用药分析[J]. 中药与临床,2015,6(3):52-55.
- [2] 农金沙. 中成药质量标准研究[J]. 现代医学与健康研究,2018,2(4):20.
- [3] 吕海华,陈 军. HPLC法同时测定感冒清胶囊中3组分的含量[J]. 安徽医药,2007,11(8):708-709.
- [4] 张树强. 高效液相色谱法测定盐酸吗啡注射液的含量[J]. 中国药业,2011,20(22):46-47.
- [5] 苗爱东,王本富,冯 冰,等. 盐酸吗啡片的HPLC测定[J]. 中国医药工业杂志,1997,28(10):460-461.
- [6] 梁 敏,李 芳,张 彬. 高效液相色谱法同时测定感冒清胶囊中两组分的含量[J]. 广东药学院学报,2006,22(5):521-523.
- [7] 宋周虎,周璐意,胡晓敏,等. 离子对色谱法测定保健食品中左旋肉碱的含量[J]. 今日药学,2014,24(5):337-339.
- [8] 刘朝霞,何 兰,丁丽霞. 国内离子色谱技术在化学药品质量控制中的应用[J]. 中国药师,2016,19(5):966-969.
- [9] 李 琳,王承潇,曲 媛,等. 反相离子对色谱法测定三七中三七素的含量[J]. 中国中药杂志,2015,40(20):4026-4030.
- [10] 黄湘杰,朱 芹. 反相离子对色谱法同时测定黄柏八味片中盐酸黄柏碱和盐酸小檗碱含量[J]. 中国药业,2016,25(3):52-54.
- [11] 李浩然,万 彦,付小六. 反相离子对色谱法测定氯甲苯酸片的含量[J]. 中国药品标准,2018,19(1):54-57.
- [12] 王茉莉,宋更中,庞文哲,等. 反相离子对色谱法测定替卡西林钠中的有关物质的含量[J]. 沈阳药科大学学报,2017,34(6):503-508.

(收稿日期:2019-05-05)