

HPLC 法测定复方氨酚美沙糖浆中对氨基酚含量

蔡锦雄, 江 坤, 陈颜清, 刘 敏, 李玉兰

(深圳市药品检验研究院/深圳药品质量标准研究重点实验室, 广东 深圳 518057)

摘要: 目的 建立测定复方氨酚美沙糖浆中对氨基酚含量的方法。方法 采用高效液相色谱法, 色谱柱为 Agilent SB C18 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μ m), 流动相为 0.05 mol/L 醋酸铵溶液-甲醇, 进行梯度洗脱, 流速为 1.0 ml/min, 柱温为 30 $^{\circ}$ C, 检测波长为 231 nm。结果 对氨基酚浓度在 0.30~15.18 μ g/ml 浓度范围内线性关系良好, $r=1.000$ ($n=6$); 平均回收率为 100.30% ($n=9$), RSD 为 0.90%; 检测限为 0.1 μ g/ml, 定量限为 0.2 μ g/ml; 耐用性良好。结论 HPLC 法测定复方氨酚美沙糖浆中对氨基酚含量简单、灵敏、结果准确, 可用于复方氨酚美沙糖浆的质量控制。

关键词: 高效液相色谱法; 复方氨酚美沙糖浆; 对氨基酚

中图分类号: R927.2

文献标识码: A

DOI: 10.3969/j.issn.1006-1959.2021.16.047

文章编号: 1006-1959(2021)16-0166-03

Determination of Para-aminophenol in Compound Paracetamol and Dextromethorphan Syrup by HPLC

CAI Jin-xiong, JIANG Kun, CHEN Yan-qing, LIU Min, LI Yu-lan

(Shenzhen Institute for Drug Control/Shenzhen Key Laboratory of Pharmaceutical Quality Standards Research, Shenzhen 518057, Guangdong, China)

Abstract: Objective To establish a method to determine the content of para-aminophenol in compound paracetamol and dextromethorphan syrup. **Methods** Using high performance liquid chromatography, the chromatographic column was an Agilent SB C18 column (250 mm×4.6 mm, 5 μ m), the mobile phase was 0.05 mol/L ammonium acetate solution-methanol, gradient elution was performed, and the flow rate was 1.0 ml/min. The column temperature was 30 $^{\circ}$ C, and the detection wavelength was 231 nm. **Results** The concentration of p-aminophenol had a good linear relationship in the concentration range of 0.30~15.18 μ g/ml, $r=1.000$ ($n=6$); The average recovery rate was 100.30% ($n=9$), the RSD was 0.90%; the detection limit was 0.1 μ g/ml, and the quantification limit was 0.2 μ g/ml; and the durability was good. **Conclusion** The determination of para-aminophenol in compound paracetamol and dextromethorphan syrup by HPLC is simple, sensitive and accurate, and it can be used for the quality control of compound paracetamol and dextromethorphan syrup.

Key words: High performance liquid chromatography; Compound paracetamol and dextromethorphan syrup; Para-aminophenol

复方氨酚美沙糖浆为复方制剂, 含有对乙酰氨基酚、氢溴酸右美沙芬、盐酸甲基麻黄碱、愈创甘油醚和马来酸氯苯那敏 5 个药物活性成分, 临床用于普通感冒或流行性感感冒引起的发热、头痛、四肢酸痛、打喷嚏、流鼻涕和咳嗽等症状。处方中对乙酰氨基酚用量较大, 在《中国药典》^[1]2020 年版(二部)中, 含对乙酰氨基酚的品种, 控制的主要杂质均有对氨基酚。对氨基酚毒性较大, 其主要来源为合成过程中的原料残留或贮藏过程中降解产生^[2,3], 而复方氨酚美沙糖浆的现行标准^[4]中, 未对其进行控制。本文参考《中国药典》对乙酰氨基酚品种相关方法, 建立了高效液相色谱法测定复方氨酚美沙糖浆中对氨基酚含量的方法。

1 仪器与材料

1.1 仪器 Waters e2695-2998 高效液相色谱仪(美国沃特世公司); XS205DU 电子天平(瑞士梅特勒公司); UW620H 电子天平(日本岛津公司); Milli-Q Reference 纯水器(德国默克密理博公司)。

1.2 材料 对氨基酚对照品(中国药品检验研究院, 批号 100802-201604, 含量 100%); 乙酸铵(阿拉丁, 阿拉丁, 批号 C1915017), 甲醇(色谱纯, 德国默克公司, 批号 I1095607022); 复方氨酚美沙糖浆(国内某

公司, 批号 19111712、19111812、19111912)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱: Agilent SB C18 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μ m); 流动相 A 为 0.05 mol/L 醋酸铵溶液, 流动相 B 为甲醇, 按表 1 进行梯度洗脱; 流速为 1.0 ml/min; 柱温为 30 $^{\circ}$ C; 进样量为 20 μ l; 检测波长为 231 nm。

表 1 HPLC 梯度洗脱程序

时间(min)	流动相 A(%)	流动相 B(%)
0	90	10
10	90	10
15	20	80
23	20	80
24	90	10
30	90	10

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液制备 取对氨基酚对照品 15 mg, 精密称定, 至 100 ml 量瓶中, 加溶剂 0.05 mol/L 醋酸铵-甲醇(90:10)使溶解并稀释至刻度, 摇匀, 精密量取 1 ml, 至 50 ml 量瓶中, 加溶剂稀释至刻度, 摇匀。

2.2.2 供试品溶液制备 用内容量移液管精密量取本品 1 ml, 置 5 ml 量瓶中, 加溶剂稀释至刻度, 摇匀。

2.2.3 灵敏度溶液制备 精密量取对照品溶液 1 ml, 置 10 ml 量瓶中, 加溶剂稀释至刻度, 摇匀。

2.2.4 分离度溶液制备 精密量取等量对照品溶液和

作者简介: 蔡锦雄(1986.6-), 男, 广东潮州人, 本科, 主管药师, 主要从事药物分析与药品质量标准研究

通讯作者: 李玉兰(1966.12-), 女, 山东沂水人, 博士, 主任药师, 主要从事药物分析与药品质量标准研究

供试品溶液,混合均匀。

2.3 系统适用性试验 分别取分离度溶液和灵敏度溶液,按“2.1”项下色谱条件进行测定,色谱图见图1。结果显示,在分离度溶液中,对氨基酚的保留时间约为4.9 min,与相邻杂质峰的分度度均大于5.0,理论板数为8108,拖尾因子为1.5;在灵敏度溶液中,对氨基酚峰的信噪比为24。

2.4 专属性试验 分别取对照品溶液、供试品溶液和空白溶液,按“2.1”项下色谱条件进行测定,色谱图见图2,结果显示空白溶剂对测定无干扰。

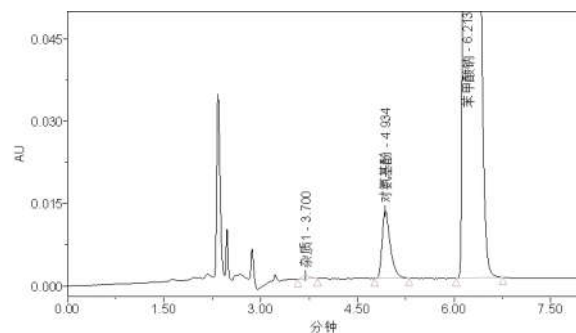
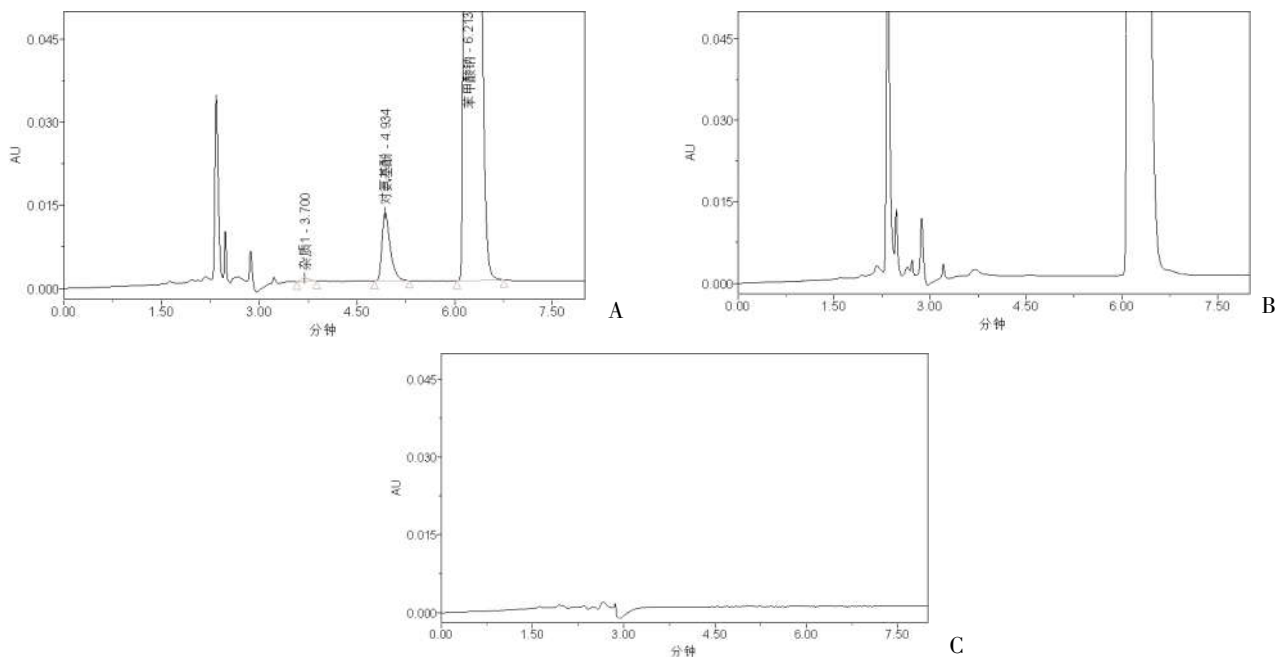


图1 分离度溶液色谱结果



注:A:对照品溶液;B:供试品溶液;C:空白溶剂

图2 专属性试验结果

2.5 线性关系试验 精密称取对氨基酚对照品约15 mg,加溶剂并稀释制成浓度为0.30~15.18 $\mu\text{g/ml}$ 的系列溶液,按“2.1”项下色谱条件进行测定,以浓度(x)为横坐标,峰面积(y)为纵坐标,进行线性回归。结果显示,对氨基酚在0.30~15.18 $\mu\text{g/ml}$ 浓度范围内线性良好,线性回归方程为 $y=722704x-9838$,相关系数 $r=1.000$ 。

2.6 准确度试验 精密量取本品(批号19111712)1 ml,置5 ml量瓶,分别加入浓度为15 $\mu\text{g/ml}$ 对氨基酚溶液0.8、1.0和1.2 ml,加溶剂稀释至刻度,按“2.1”项下色谱条件进行测定,依法计算回收率,结果显示,平均回收率为100.30%,RSD为0.90%($n=9$)。

2.7 重复性试验 本品(批号19111712)6份,按“2.2.2”项下方法配制供试品溶液,并按“2.1”项下色谱条件进行测定,结果显示,6份供试品溶液均未检出对氨基酚峰,方法重复性良好。

2.8 检测限及定量限试验 取“2.5”线性溶液依法稀释,作为检测限和定量限溶液,按“2.1”项下色谱条件进行测定,结果显示,对氨基酚的检测限为0.1 $\mu\text{g/ml}$ (0.002%),定量限为0.2 $\mu\text{g/ml}$ (0.005%)。

2.9 耐用性 取3根不同型号的色谱柱(Agilent SB C18、Waters XBridge C18和Kromasil 100-5C18,规格均为4.6 mm \times 250 mm,5 μm),在3台不同品牌仪器上,按“2.1”项下色谱条件进行测定系统适用性溶液,结果见表2。结果显示该法耐用性良好。

2.10 稳定性 取对照品溶液,在样品仓温度为15 $^{\circ}\text{C}$ 条件下,连续考察12 h,按“2.1”项下色谱条件进行测定。结果显示,对照品溶液随着时间的推移,对氨基酚峰峰面积逐渐减小,在3 h内稳定,溶液需临用新制。

表2 耐用性结果

条件	保留时间(min)	理论板数	前相邻色谱峰的分度度	与后相邻色谱峰的分度度	灵敏度溶液信噪比
1	4.937	8108	5.6	5.2	24
2	4.430	9518	5.2	10.0	75
3	5.440	14261	7.8	13.4	38

2.11 样品测定 取3批样品,按“2.2.2”项下方法配制供试品溶液,并按“2.1”项下色谱条件进行测定,结果显示3批样品均为检出对氨基酚峰。

3 讨论

液相色谱方法的确定高效液相色谱法的基本原理是在高压下,利用不同组分与固定相和液体流动相作用力不同,实现分离的色谱方法。目前已成为药物分析与药品检验的主流分析方法^[9]。复方氨酚美沙糖浆为复方抗感冒药品,其处方中具有解热镇痛的对乙酰氨基酚组分含量最高,而对氨基酚为对乙酰氨基酚的主要杂质,且该杂质毒性较大^[6,7],需进行控制。故建立了高效液相色谱法测定复方氨酚美沙糖浆中的对氨基酚含量。

流动相系统选择在《中国药典》2020年版二部中,对氨基酚的检查项下,流动相系统主要有磷酸盐(含四丁基氢氧化铵)-甲醇系统、磷酸盐(pH4.5)-甲醇系统、醋酸铵-甲醇系统和辛烷磺酸钠(pH3.0)-乙腈系统。经考察,在0.05 mol/L醋酸铵-甲醇(85:15)系统中,对氨基酚峰峰型良好,与相邻色谱峰分离较好。但对氨基酚峰出峰较早,且本品处方组成复杂,右美沙芬等在该系统中保留能力较强,故将起始流动相优化为0.05 mol/L醋酸铵-甲醇(90:10),使对氨基酚峰出峰时间更适宜,并将系统进一步优化为梯度系统,使方法准确性和耐用性等更佳。

检测波长选择采用二极管阵列检测器,考察对氨基酚对照品溶液和加标供试品溶液,其对氨基酚峰的3D图谱显示,在231、297 nm(或298 nm)有最大吸收

峰,其中,231 nm吸收峰强度更高,且在该波长下,无其他色谱峰干扰,故选择测定波长为231 nm。

溶剂的选择查看《中国药典》2020年版二部测定对氨基酚的该流动相体系,溶剂均采用流动相,经进一步试验,使用0.05 mol/L醋酸铵-甲醇(90:10)作为溶剂时,对氨基酚对照品和供试品溶液均能完全溶解,且方法学验证结果显示,该溶剂满足试验要求。

综上所述,本试验中采用高效液相色谱法测定复方氨酚美沙糖浆中对氨基酚的含量,方法操作简单、灵敏、结果准确,可用于该制剂的质量控制。

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,2020:386-319.
- [2]杨大龙,严相平,冷柏榕.高效液相色谱法测定酚麻美敏片中对氨基酚含量[J].中国药业,2018,27(19):17-19.
- [3]国家药典委员会.中华人民共和国药典.二部.注释[M].北京:中国医药科技出版社,2019:1304-1308.
- [4]国家药典委员会.国家药品标准.化学药品地方标准上升国家标准(第三册)[M].北京:化学工业出版社,2002:199-202.
- [5]国家药典委员会.中国药典分析检测技术指南[M].北京:中国医药科技出版社,2017:174-201.
- [6]冯金元,杜碧莹.HPLC法测定酚咖片中有关物质对氨基酚的含量[J].中国药品标准,2011,12(1):19-21.
- [7]杨莉,梅勇,龙涛,等.HPLC法测定对乙酰氨基酚片中有关物质的含量[J].中国药房,2020,31(10):1233-1238.

收稿日期:2021-02-04;修回日期:2021-02-18

编辑/冯清亮