

HPLC法测定撒痛风注射液中三组分的含量

廖 斌 丛 欣¹

(江苏省药品检验所,南京 210008)

摘 要 采用 HPLC法测定撒痛风注射液中咖啡因、安替比林和水杨酸钠的含量。色谱条件为: Kromasil C₁₈色谱柱,流动相为 20 mmol/L 磷酸二氢钾-甲醇-冰醋酸 (55: 25: 0. 4),流速 1 ml/min,检测波长为 242 nm,线性范围: 咖啡因 14. 0~ 140. 0 μg/ml, $r=0.9998$; 安替比林 27. 0~ 270. 0 μg/ml, $r=0.9998$; 水杨酸钠 0. 1~ 1. 0 mg/ml, $r=0.9999$ 。加样回收分别为: 咖啡因 100. 8%; 安替比林 100. 6%; 水杨酸钠 99. 1%, RSD 均小于 0. 5%。

关键词 咖啡因; 安替比林; 水杨酸钠; 撒痛风注射液; 高效液相色谱法; 含量测定

撒痛风注射液为解热镇痛类药物,临床上用于神经痛、急性关节炎、痛风、次急性佝偻病及尿酸性关节炎等疾病治疗,主要含水杨酸钠、安替比林及咖啡因。因三组分含量悬殊较大: 水杨酸钠为安替比林量的 3. 5 倍,为咖啡因量的 7 倍,江苏省药品标准^[1]采用双相滴定法测定水杨酸钠的含量,用比色法测定安替比林的含量,操作繁杂费时,而且未测定咖啡因的含量。本文采用 HPLC法同时测定该三组分的含量,操作简便快速。

1 实验部分

1. 1 仪器与试剂

岛津 UV-265 可见紫外分光光度计,岛津 LC-10AT 泵,岛津 SPD-10A 紫外检测器,岛津 C-R6A 记录仪。咖啡因(中国药品生物制品检定所); 水杨酸钠、安替比林(药用); 撒痛风注射液(常州制药厂); 甲醇、磷酸二氢钾、冰醋酸 (AR 级); 重蒸馏水(自制)。

1. 2 色谱条件

Kromasil C₁₈ 色谱柱 (4. 6 mm× 250 mm, 5 μm); 流动相: 20 mmol/L 磷酸二氢钾-甲醇-冰醋酸 (55: 25: 0. 4); 流速 1 ml/min; 检测波长 242 nm; 检测器范围为 0. 01; 纸速 0. 1 cm/min; 进样量 20 μl, 得色谱图见图 1。

1. 3 测定方法的建立

1. 3. 1 测定波长的选择

林、水杨酸钠的水溶液,在 400~ 200 nm 波长范围内扫描,结果见图 2。根据各组分浓度与响应值的关系,选择 242 nm 为检测波长。

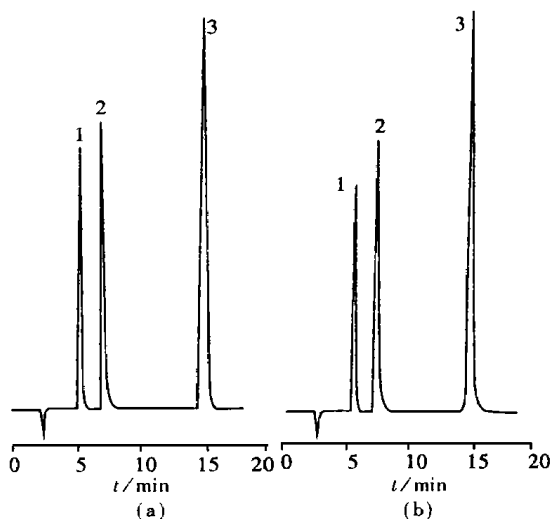


Fig 1. HPLC (a. Standard; b. Sample)

1. Caffeine; 2. Antipyrine; 3. Sodium salicylate

1. 3. 2 流动相的选择与优化 参考有关文献^[2~4], 选用甲醇-水-冰醋酸 (I); 10 mmol/L 磷酸二氢钾-甲醇-冰醋酸 (II); 20 mmol/L 磷酸二氢钾-甲醇-冰醋酸 (III) 三种系统, 以三组分彼此分离度大于 1. 5 为指标优选出合适的流动相。实验结果表明: 系统 (I) (II) 只能分离水杨酸钠和咖啡因, 系统 (III) 能使三者分离, 但因该制剂中水杨酸钠量

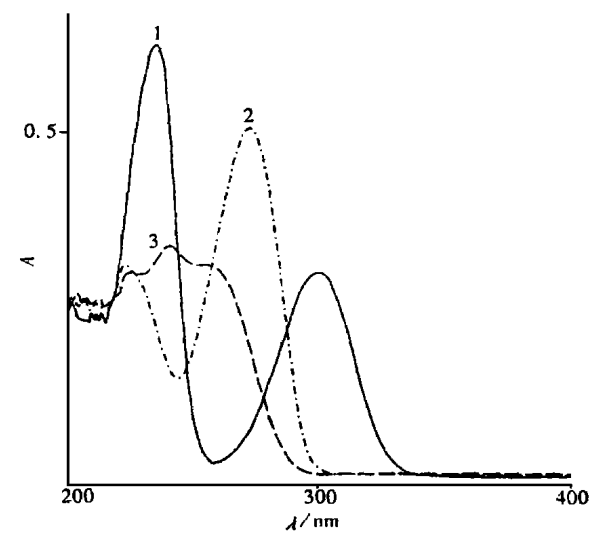


Fig 2 UV of Satongfeng injection
1. Sodium Salicylate; 2. Caffeine; 3. Antipyrine

Tab 1. Linear relationship for concentration-peak area

No.	Caffeine			Antipyrine			Sodium Salicylate		
	Conc. ($\mu\text{g/ml}$)	Area ($n=3$)	RSD (%)	Conc. ($\mu\text{g/ml}$)	Area ($n=3$)	RSD (%)	Conc. ($\mu\text{g/ml}$)	Area ($n=3$)	RSD (%)
1	14.32	22146	1.0	27.01	141629	1.0	0.1001	315906	0.2
2	28.65	44400	0.7	54.02	281492	0.6	0.2002	621743	0.8
3	57.30	89081	0.6	108.04	566185	0.3	0.4004	1226062	0.6
4	85.95	133821	0.05	162.06	847902	0.3	0.6005	1805491	0.04
5	114.60	179531	0.3	216.08	1140110	0.4	0.8007	2382196	0.2
6	143.25	229649	0.3	270.10	1458615	0.3	1.0009	3082196	0.2
Regression equation	Conc. = $6.2539 \times 10^{-4} \text{Area} + 1.2197$			Conc. = $1.857 \times 10^{-4} \text{Area} + 2.2063$			Conc. = $3.359 \times 10^{-7} \text{Area} - 7.434 \times 10^{-3}$		
r	0.9998			0.9998			0.9999		

1.3.4 样品测定 精密量取撒痛风注射液 1 ml, (平行 2 份), 置 25 ml 量瓶中, 加水至刻度, 摇匀; 精密量取 2 ml, 置 25 ml 量瓶中, 加水至刻度, 摇匀, 按 1.2 项的方法, 连续进样三次, 进样量 20 μl 。另按江苏省药品标准方法测定水杨酸钠和安替比林的含量进行对比, 结果见表 2。

1.3.5 回收率试验 取样品液 6 份, 分别加入对照品溶液, 按 1.2 项的方法操作, 连续进样三次, 结果见表 3。

比安替比林量大 3.5 倍, 因此尚需使水杨酸钠在安替比林之后出峰, 才可避免安替比林峰被水杨酸钠峰覆盖而影响测定结果, 故又优化了系统 (III) 的配比, 结果发现选用 20 mmol/L 磷酸二氢钾-甲醇-冰醋酸 (55: 25: 0.4) 为流动相, 既可使三组分彼此的分离度均大于 1.5, 又可使安替比林先于水杨酸钠出峰, 三组分的含量测定可在 18 min 内完成。

1.3.3 标准曲线的绘制 取咖啡因、安替比林、水杨酸钠按处方比例, 用水制成每 1 ml 中含 0.28, 0.54, 2.0 mg 的混合对照贮备液, 分别精密量取 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0 ml, 加水稀释定容至 10 ml, 按 1.2 项下的方法, 每个浓度依次连续进样三次, 进样量 20 μl , 以进样浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标, 求得回归方程, 从表 1 结果可知: 咖啡因在 14.0~140.0 $\mu\text{g/ml}$ 安替比林在 27.0~270.0 $\mu\text{g/ml}$ 水杨酸钠在 0.1~1.0 mg/ml 浓度范围, 峰面积与浓度呈良好线性关系。

Tab 2. Determination of caffeine, antipyrine and sodium salicylate in satongfeng injection

Component	HPLC ($n=6$)	Jiangsu provincial drug standard
	Cont. (%)	Cont. (%)
Caffeine	95.2	—
Antipyrine	100.3	98.4
Sodium salicylate	101.0	100.0

Tab 3. The recovery test

	No.	Added	Found	Recovery	Average	RSD
	(n= 6)	(μ g/ml)	(μ g/ml)	(%)	Recovery	(%)
					(%)	
Caffeine	1	63.02	63.43	100.65	100.9	0.2
	2	80.22	81.15	101.16		
	3	97.15	98.06	100.94		
Antipyrine	1	118.84	119.61	100.65	100.6	0.2
	2	151.26	152.52	100.83		
	3	183.67	184.48	100.44		
Sodium salicylate	1	429.9	427.4	99.42	99.1	0.5
	2	547.2	543.4	99.31		
	3	664.4	654.4	98.49		

1.3.6 方法的重现性及稳定性

日内差 取对照溶液,连续进样6次,咖啡因、安替比林、水杨酸钠的 *RSD* 依次为 0.05% , 0.3 % , 1.1%。

日间差 取上述溶液室温放置,每隔24h测定一次,结果表明在96h内三组分均稳定,咖啡因、安替比林、水杨酸钠的 *RSD* 依次为 0.9% , 0.6% , 1.3%。

取样品液,同法操作,三组分日内差的 *RSD* 均小于 0.3% ,日间差的 *RSD* 均小于 0.5% ,结果表明样品液亦是稳定的。

2 讨 论

1)本文采用 HPLC法测定撒痛风注射液 中咖啡因、安替比林、水杨酸钠三组分含量,方便快捷,结果较为满意。

2)当磷酸二氢钾在流动相中的最终浓度低于 13 mmol/L时,将影响安替比林的分离,并可使峰展宽。冰醋酸在流动相中的最终浓度以 100 ml中加 0.5 ml为宜,过低将影响水杨酸钠峰的分离,过高使流动相的 pH偏酸。优选 20 mmol/L磷酸二氢钾-甲醇-冰醋酸 (55: 25: 0.4)的比例,可使得三组分全部基线分离,含量测定可在 18 min之内完成。

参 考 文 献

1 江苏省药品标准, 1977
2 刘树春,王树岚,李立俭等.反相高效液相色谱法系统分析复方抗感冒制剂中主要成分的研究.药物分析杂志, 1995, 15(增刊): 596
3 倪坤仪,韩南银,程光昕等. RP-HPLC测定复方感冒灵片中四种成分的研究.中国药科大学学报, 1998, 29(1): 42
4 Das V, Gupta S. Sachanandani quantitative determinations of antipyrine and benzocaine in ear drops by high pressure liquid chromatography. J Pharm Sci, 1977, 66 897

Assay of Caffeine , Antipyrine and Sodium Salicylate in Satongfeng Injection by HPLC

Liao Bin, Cong Xin
Jiangsu Provincial Institute for Drug Control, Nanjing 210008

Abstract The contents of caffeine, antipyrine and sodium salicylate in Satongfeng Injection were measured by HPLC. The measurement condition used are as follows Kromasil C₁₈ column; mobile phase 20 mmol/L potassium dihydrogen phosphate-methanol-glacial acetic acid (55: 25: 0.4); flow rate 1 ml/min; wavelength for measurement 242 nm. The linear ranges were 14.0~ 140 μ g/ml(*r*= 0.9998) for caffeine; 27.0~ 270.0 μ g/ml (*r*= 0.9998)for antipyrine; 0.1~ 1.0 mg/ml (*r*= 0.9999) for sodium salicylate. The recovery rates for caffeine, antipyrine and sodium salicylate in Satongfeng Injection sample were 100.9% , 100.6% and 99.1% respectively and the *RSD* of them were all not more than 0.5% .

Key words Caffeine; Antipyrine; Sodium Salicylate; Satongfeng Injection; HPLC; Determination of content