

高效液相色谱法测定盐酸阿比朵尔片的含量及其有关物质

封宇飞¹, 闫颖², 李可欣¹, 孙春华¹ (1. 卫生部北京医院药理学部临床药理室, 北京 100730; 2. 卫生部临床检验中心, 北京 100730)

[摘要] 目的:建立高效液相色谱(HPLC)法分离测定盐酸阿比朵尔片及其有关物质。方法:采用高效液相色谱紫外检测法测定盐酸阿比朵尔片的含量,检测波长:315 nm;色谱柱:Alltech Apollo C₁₈ (5 μm, 250 mm × 4.6 mm);流动相:缓冲液为 0.1% 三乙胺水溶液(用磷酸调节 pH 2.0)-乙腈(52.5:47.5);流速:1.0 mL·min⁻¹,柱温:25℃,进样量:10 μL。结果:在 0.5~9.0 mg·L⁻¹ 范围内,对照品溶液的浓度与峰面积呈良好的线性关系($r=0.9998$),平均加样回收率为 93.0%~99.9%,RSD 为 1.7%~2.4%。盐酸阿比朵尔与有关物质分离良好。结论:本法测定盐酸阿比朵尔片的含量及有关物质,方法简便,快捷,准确,专属性好。

[关键词] 盐酸阿比朵尔;高效液相色谱法;含量测定

[中图分类号] R927.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1001-5213(2007)04-0492-03

Determination of arbidol hydrochloride and its related substance in tablets by HPLC

FENG Yu-fei¹, YAN Ying², LI Ke-xin¹, SUN Chun-hua¹ (1. Department of clinical pharmacology of Beijing Hospital, Beijing 100730, China; 2. National Center of Clinical Laboratory, Beijing 100730, China)

ABSTRACT:OBJECTIVE To establish an HPLC method for determining arbidol hydrochloride in tablets and its related substance by HPLC. **METHODS** An high performance liquid chromatography with UV detection was adopted, the detection wavelength was 315 nm. The sample was separated on Alltech Apollo C₁₈ (5 μm, 250 mm × 4.6 mm), with 0.1% triethylamine (pH was adjusted to 2.0 using phosphoric acid)-acetonitrile (52.7:47.5) as the mobile phase (flow rate 1.0 mL·min⁻¹). The column temperature was 25℃. Injection volume was 10 μL. **RESULTS** A good linearity was obtained in the range of 0.5 - 9.0 mg·L⁻¹ ($r=0.9998$). The recoveries of arbidol was 93.0% - 99.9% and the RSD was 1.7% - 2.4%. **CONCLUSION** This method is simple, accurate and can be used to assay arbidol hydrochloride and its related substances in the tablets.

KEY WORDS: arbidol hydrochloride; HPLC; quantitative determination

盐酸阿比朵尔是一个新的抗病毒药物,对具有 A、B 型抗原的流感病毒的抗病毒活性最为显著。其作用与 2,5-寡腺苷酸合成酶的活化相关。盐酸阿比朵尔选择性抑制流感病毒 A、B 在细胞中心的复制。临床上用于治疗成人和儿童的感冒和其他急性呼吸道感染^[1]。国外有采用高效液相色谱(HPLC)法测定血浆中阿比朵尔含量的报道^[2]。国内尚无盐酸阿比朵尔的含量测定的报道,本试验使用 HPLC 法测定盐酸阿比朵尔片剂中主药含量,同时对其有关物质进行控制,方法简便、快速、准确、灵敏。

1 材料

HP-1100 高效液相色谱系统:G1314A 紫外检测器, G1313A 自动进样器, G1316A 柱温箱, HP-1100 液相工作站;Mettler Toledo 320 型 pH 计;盐酸阿比朵尔对照品(沈阳中海生物技术有限公司, HPLC 纯度 99.4%);盐酸阿比朵尔片剂(规格

0.1 g/片,沈阳中海生物技术有限公司,批号 050201, 050202, 050301);甲醇、乙腈(色谱纯,美国 Fisher 公司);磷酸、三乙胺(分析纯,北京化学试剂公司)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱:Alltech Apollo C₁₈ (5 μm, 250 mm × 4.6 mm) 柱;流动相:乙腈-0.1% 三乙胺水溶液(用磷酸调节 pH 至 2.0, 摇匀, 即得) (47.5:52.7);检测波长:315 nm;流速:1.0 mL·min⁻¹;温度:25℃;进样量:10 μL。在上述条件下,盐酸阿比朵尔与其有关物质分离完全,理论塔板数以盐酸阿比朵尔计算不低于 10 000。

2.2 破坏试验 取盐酸阿比朵尔对照品适量,分别在下述条件下进行试验(1)碱破坏:加 0.1 mol·L⁻¹ 氢氧化钠溶液适量使溶解,水浴加热 2 h,放冷,加酸中和,加流动相至规定体积,作为碱有关物质溶液;(2)酸破坏:加 0.1 mol·L⁻¹ 盐酸溶液适量使溶

[作者简介] 封宇飞,男,硕士,副主任药师,电话:010-85133632, E-mail: fengyufei@126.com

解,水浴加热 2 h,放冷,加碱中和,加流动相至规定体积,作为酸有关物质溶液;(3)高温破坏:直火加热熔融后,放冷,用乙腈溶解,加流动相稀释,作为高温有关物质溶液;(4)光破坏:紫外灯下照射 48 h,用乙腈溶解,加流动相稀释,作为光有关物质溶液。(5)氧化破坏:加 30%过氧化氢溶液适量,加甲醇溶解,并用缓冲液稀释。色谱图见图 1。图中各杂质峰与主峰均有很好的分离。由图可见,本品对光照、高温敏感,对氧化及碱较敏感,本品在酸性条件下较稳定。

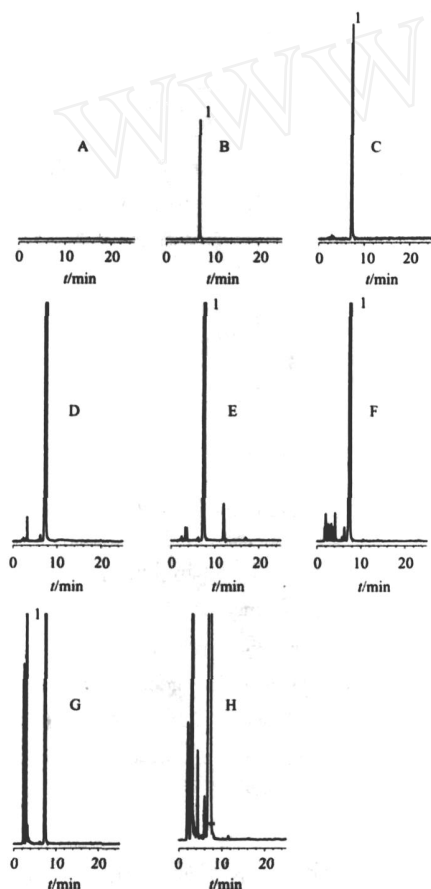


图 1 高效液相色谱图

A. 空白溶液; B. 对照品溶液; C. 片剂; D. 酸破坏; E. 碱破坏; F. 高温破坏; G. 氧化破坏; H. 光照破坏; 1 - 盐酸阿比朵尔

Fig 1 HPLC chromatograms

A. blank solution; B. reference substance solution; C. tablets solution; D. forced degradation with acid; E. forced degradation with alkali; F. forced degradation with high temperature; G. forced degradation with oxydation; H. forced degradation with light; 1 - arbidol hydrochloride

2.3 线性关系 精密称取盐酸阿比朵尔对照品约 10 mg,置 10 mL 量瓶中,加甲醇 5 mL 使其溶解,并用甲醇稀释至刻度,摇匀,滤过。精取续滤液 1 mL 至 100 mL 量瓶中,加流动相稀释至刻度,为对照品溶液。精密量取对照品溶液 0.5, 1, 3, 5, 7, 9 mL,分

别置 10 mL 量瓶中,加流动相稀释至刻度,摇匀,取滤液 10 μ L 注入液相色谱仪,测定峰面积。以质量浓度(C , $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)为横坐标,峰面积为纵坐标进行线性回归,得回归方程: $A = 19.49 C - 0.74$ ($r = 0.9998$),质量浓度在 0.5 ~ 9.0 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 范围内与峰面积呈良好线性。

2.4 精密度试验 分别取“2.3”项下 1, 5, 9 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 溶液,以含量测定项下的方法测定,每日测定 5 次,连续测定 5 d,记录色谱峰面积。结果,日内 RSD 为 0.1% ~ 0.3%,日间 RSD 为 1.2% ~ 3.2%。

2.5 稳定性试验 取含量测定项下溶液,分别于 0, 3, 6, 9, 12 h 进行测定,峰面积的 RSD 为 0.9%,说明测定液在 12 h 内稳定。

2.6 加样回收率试验 精密量取对照品溶液 1.0, 5.0, 9.0 mL 分别置不同的 100 mL 量瓶中,再精密量取样品溶液 1.0 mL 置上述各量瓶中,加流动相稀释至刻度,摇匀,按照“样品测定”项依法测定。结果,低、中、高浓度的平均回收率分别为 93.0%, 99.5% 和 99.9%, RSD 分别为 1.7%, 1.7% 和 2.4%。

2.7 样品测定 取片剂 3 批,精密称取适量至 100 mL 量瓶中,加甲醇适量,振荡,加甲醇至刻度,滤过,取续滤液适量,加流动相使成 5 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 溶液,作为供试品溶液。另精密称取对照品适量,加流动相溶解并稀释成每 1 mL 中约含 5 μ g 的溶液,作为对照品溶液。用 0.45 μ m 滤膜滤过,分别取上述 4 种滤液各 10 μ L 注入液相色谱仪,测定,记录色谱图,按外标法以峰面积计算,结果见表 1。

表 1 样品含量测定结果 ($n=3$)

Tab 1 Assay results of samples ($n=3$)

批号	含量/ %	有关物质/ %
050201	99.1	0.5
050202	98.4	0.7
050301	97.4	0.8

2.8 有关物质检查 精密量取“2.7”项下的供试品溶液各 40 μ L,注入液相色谱仪,记录色谱图至主成分峰保留时间的 2.5 倍,按不加校正因子的峰面积归一化法计算有关物质的量,结果见表 1。

3 讨论

取盐酸阿比朵尔对照品适量,加缓冲液溶解,稀释制成每 1 mL 含 10 μ g 的溶液,照分光光度法在 200 ~ 400 nm 处扫描测定,结果显示本品在 216, 265, 315 nm 处有最大吸收,为了排除干扰,我们选择 315 nm 作为检测波长。

据报道,使用高氯酸胺和庚磺酸配置流动相可得到较好分离效果^[2],但考虑到此方法配制繁琐,因

此我们选择用三乙胺配置流动相,三乙胺可使样品的吸附作用减少至最小程度,提高柱效,减少拖尾,提高测定的选择性和准确度。经过多次试验,我们把方法测定进行优化,以乙腈-0.1%三乙胺缓冲液(用磷酸调节 pH 至 2.0,摇匀,即得)(47.5:52.5)为流动相,取得理想效果(见图 1),取缓冲液 10 μL 进样,证实无干扰。

我们采用 HPLC 法测定了盐酸阿比朵尔的含量,并同时对其中的有关物质进行了测定。本方法

简便,快速,准确,灵敏。

参考文献:

- [1] Shumilov VI, Shuster AM, Lobastov SP. Efficacy of Arbidol in prophylaxis and treatment of acute respiratory viral infections in servicemen[J]. *Voen Med Zh*, 2002, 323(9):51.
- [2] Metz R, Muth P, Ferger M, *et al.* Heumann Pharma, Nurnberg, Germany. Sensitive high-performance liquid chromatographic determination of Arbidol, a new antiviral compound, in human plasma[J]. *J Chromatogr A*, 1998, 810(1-2):63.

[收稿日期]2006-07-15

高效液相色谱法测定生发凝胶中辣椒素含量

蔡兴东,刘新 (重庆医科大学药学院,重庆 400016)

[摘要] 目的:建立生发凝胶中辣椒素含量测定的高效液相色谱方法。方法:采用 Diamonsil C_{18} 色谱柱,以甲醇-0.1%磷酸(65:35)为流动相,流速为 $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$,检测波长为 280 nm,柱温为 40°C 。结果:辣椒素在 $5.0 \sim 100.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 范围内与峰面积呈良好的线性关系($r=0.9999$),平均回收率为 101.32%,RSD 为 1.72% ($n=6$)。结论:该方法简便、准确、重复性好,可作为生发凝胶中辣椒素的含量测定方法。

[关键词] 高效液相色谱法;生发凝胶;辣椒素;含量测定

[中图分类号] R927.2 [文献标识码] A [文章编号] 1001-5213(2007)04-0494-03

Determination of capsaicin in Shengfa gel by HPLC

CAI Xing-dong, LIU Xin (Pharmacy Department, Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China)

ABSTRACT:OBJECTIVE To establish a method for the determination of capsaicin in Shenfa gel by high performance liquid chromatography (HPLC). **METHODS** High performance liquid chromatography was performed on C_{18} column. The chromatographic conditions were as follows: methanol-0.1% phosphoric acid (65:35) as mobile phase, flow rate being $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, the detecting wavelength at 280 nm and column temperature being 40°C . **RESULTS** Capsaicin had good linear relation within the range from 5.0 to $100.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ($r=0.9999$). The average recovery was 101.32% (RSD = 1.72%, $n=6$). **CONCLUSION**

This method is convenient, accurate, repeatable, which can be used for content determination of capsaicin in Shengfa gel.

KEY WORDS: HPLC; Shenfa gel; capsaicin; content determination

辣椒素(capsaicin)是辣椒中的辛辣成分,属于酰胺类化合物。辣椒素除了作为辣味调味料应用在食品工业中以外,还因其具有抗氧化、清除自由基^[1]、镇痛^[2]消炎和抗菌,刺激毛囊,促进毛发再生等作用而广泛应用于医药行业。生发凝胶剂是由辣椒,干姜等多味药物制备而成的复方新制剂,其处方来源于临床经验方,主要用于促进毛发再生和防治冻疮。辣椒素是本制剂的主要活性成分之一。关于辣椒素含量测定报道较多,但大多为辣椒中辣椒素含量测定或辣椒提取物中的辣椒素的测定,对中药复方中的辣椒素含量测定报道极少。为提高制剂

质量,确保临床疗效,本实验采用高效液相色谱(HPLC)法建立了生发凝胶中的辣椒素含量测定方法,获得了满意效果。

1 材料

岛津 LC-2010A 高效液相色谱仪,CLASS-VP 色谱工作站,UV-VIS 检测器(日本岛津);MILLIFQ BIOCEL 超纯水机(法国密理博公司);KQ218 超声清洗仪器(昆山市超声仪器有限公司)。辣椒素对照品(中国药品生物制品检定所,批号 110839-200403);生发凝胶(本实验室自制,批号 20060516,20060518,20060520);甲醇为色谱纯,水为二次纯化

[作者简介] 蔡兴东,男,硕士,电话:13206255380, E-mail:2001cxd@163.com [通讯作者] 刘新,男,学士,副教授,电话:13808323035, E-mail:Liuxin8829@sina.com