

HPLC法测定阿咖片中 2种成分的含量

杨学军

(湖南省衡阳市药检所, 衡阳 421001)

摘要 目的: 建立同时测定阿咖片中 2 种成分(阿司匹林、咖啡因)的 HPLC 法。方法: 色谱柱为 Phenomenex C_{18} 柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μ m), 流动相为 1% 醋酸-甲醇 (55:45), 流速为 1.0 mL·min⁻¹, 检测波长为 272 nm, 柱温为 30℃。结果: 阿司匹林和咖啡因的进样量分别在 0.4864~5.8368 和 0.0564~0.6768 μ g 范围内与峰面积呈良好线性关系, r 均为 1.0000 ($n=5$), 平均加样回收率分别为 99.6%, 100.2%; RSD 分别为 1.3%, 0.9% ($n=9$)。结论: 本方法快速简便, 准确可靠, 可用于阿咖片的质量控制

关键词: 阿司匹林; 咖啡因; 高效液相色谱法

中图分类号: R917 文献标识码: A 文章编号: 0254-1793(2009)11-1941

HPLC determination of two constituents in aspirin and caffeine tablets

YANG Xue-jun

(Hengyang Institute for Drug Control of Hunan province Hengyang 421001, China)

Abstract Objective To establish an HPLC method for determination of two constituents (aspirin and caffeine) in aspirin and caffeine tablets **Method** The analytical column was Phenomenex C_{18} (4.6 mm × 250 mm, 5 μ m). The mobile phase was 1% acetic acid-methanol (55:45) at flow rate of 1.0 mL·min⁻¹. Detection wavelength was set at 272 nm and the column temperature was 30℃. **Results** The linear ranges of aspirin and caffeine were 0.4864-5.8368 μ g ($r=1.0000$, $n=5$) and 0.0564-0.6768 μ g ($r=1.0000$, $n=5$), respectively. The average recoveries ($n=9$) of aspirin and caffeine were 99.6% (RSD = 1.3%), and 100.2% (RSD = 0.9%). **Conclusion** The method is simple, accurate, and suitable for determination of the three constituents in aspirin and caffeine tablets

Key words aspirin; caffeine; HPLC

阿咖片含有阿司匹林、咖啡因 2 种药物, 国家药品标准采用容量法分别测定 2 种药物的含量^[1]。操作较烦琐, 本法采用高效液相色谱法同时测定 2 组分的含量, 方法简便、准确。

1 仪器与试剂

岛津 LC-20AT 高效液相色谱仪; SPD-M 20A 检测器, CTO-10AS 柱温箱, Lcsolution 工作站。岛津 UV-2401PC 紫外可见分光光度计; 润通 JRC 超声仪。

对照品阿司匹林和咖啡因 (中国药品生物制品检定所, 批号分别为 100113-200302 和 171215-200406 含量测定用), 阿咖片为市售品 (规格: 每片含阿司匹林 0.3 g 咖啡因 35 mg)。甲醇为色谱纯, 其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱: Phenomenex C_{18} (4.6 mm × 250 mm, 5 μ m); 流动相: 1% 醋酸-甲醇 (55:45); 流速 1.0 mL·min⁻¹, 检测波长 272 nm, 柱温 30℃。

2.2 溶液制备

对照品溶液: 精密称取阿司匹林对照品 48.64 mg 咖啡因对照品 5.64 mg (80℃干燥 4 h), 置同一 50 mL 量瓶中, 加流动相溶解, 并稀释至刻度, 摇匀, 作为对照品储备液。精密取储备液 2 mL, 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 即得。

供试品溶液: 取供试品 10 片, 精密称定, 研细, 精密称取适量 (约相当阿司匹林 50 mg), 置 50 mL 量瓶中, 加甲醇约 40 mL 超声 (40 kHz, 400 W) 5 min 使溶解并稀释至刻度, 摇匀, 滤过, 精密量取续

滤液 2 mL, 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 用 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 即得。

2.3 专属性试验 照上述色谱条件, 精密吸取“2.2”项下的对照品溶液和供试品溶液各 10 μL , 分别注入液相色谱仪, 供试品溶液的色谱图在与对照品溶液色谱图相应的位置上有相同的色谱峰, 根据阿咖片的处方, 取辅料按供试品溶液的配制方法制备辅料对照液, 辅料对照液在与对照品溶液色谱图相应的位置上无色谱峰干扰, 色谱图见图 1。

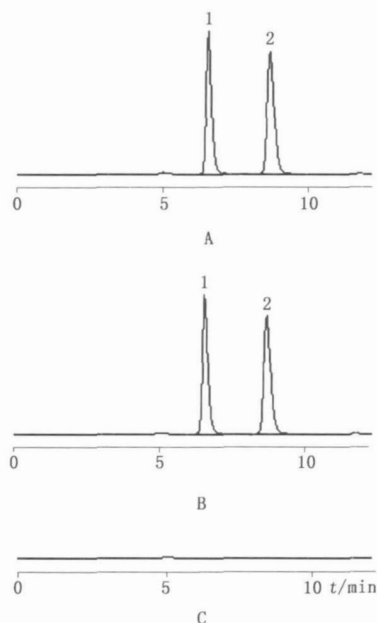


图 1 对照品 (A) 供试品 (B) 和辅料 (C) 色谱图

Fig 1 HPLC chromatograms of reference substance (A), sample (B) and excipient (C)

1 阿司匹林 (aspirin) 2 咖啡因 (caffeine)

2.4 线性关系考察和定量限的测定 精密量取“2.2”项下对照品储备液 0.5, 1.0, 2.0, 4.0, 6.0 mL, 分别置 10 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 照“2.1”项下色谱条件, 精密取 10 μL 注入液相色谱仪, 记录峰面积, 以峰面积为纵坐标, 进样量为横坐标进行回归计算, 阿司匹林和咖啡因回归方程分别为:

$$Y = 5.493 \times 10^5 X + 6429.2 \quad r = 1.0000$$

$$Y = 3.894 \times 10^6 X - 6248.5 \quad r = 1.0000$$

其进样量在 0.4864~5.8368 μg 和 0.0564~0.6768 μg 范围内线性关系良好。分别精密量取阿司匹林和咖啡因对照品储备液 0.5 mL, 加甲醇稀释至一系列浓度, 照“2.1”项下色谱条件, 精密取 10 μL 注入液相色谱仪, 当主成分峰高为噪音峰高的 10 倍时, 进样量即为定量限, 结果阿司匹林和咖啡因的定量

限分别为 0.05, 0.02 μg 。

2.5 精密度试验 取“2.2”项下的对照品溶液 10 μL , 连续进样 5 次, 记录峰面积, 结果阿司匹林 $\text{RSD} = 0.6\%$ ($n = 5$), 咖啡因 $\text{RSD} = 0.18\%$ ($n = 5$), 表明进样精密度良好。

2.6 重复性试验 取同一批号 (08011002) 样品 6 份, 按“2.2”项下方法制备并测定, 结果阿司匹林的平均含量为 0.7223 $\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$, $\text{RSD} = 0.9\%$; 咖啡因平均含量为 0.0804 $\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$, $\text{RSD} = 0.72\%$; 表明方法重复性好。

2.7 稳定性试验 取同一供试品溶液分别在 0, 2, 4, 6, 8 h 测定峰面积, 结果阿司匹林 $\text{RSD} = 1.7\%$, 咖啡因 $\text{RSD} = 0.06\%$, 表明样品溶液在 8 h 内稳定性良好。

2.8 加样回收试验 分别精密称取已知含量的样品 (批号 08011002) (约相当阿司匹林 25 mg), 共 9 份, 分别置 50 mL 量瓶中, 再分别精密加入对照品溶液 (阿司匹林 3.056 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, 咖啡因 0.284 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$); 8.0, 10, 12 mL, 每个浓度 3 份, 按“2.2”项下的方法制备并测定, 结果见表 1。

表 1 加样回收率实验结果 ($n = 3$)

Tab 1 Result of samples recovery test

成分 (component)	加入量 (added) /mg	测得量 (found) /mg	平均回收率 (average recovery) /%	RSD %
阿司匹林 (aspirin)	20.4480	20.5665	100.6	1.2
	25.5600	25.3655	99.2	1.4
	30.6720	30.3202	98.9	1.1
咖啡因 (caffeine)	2.2720	2.2718	100.0	1.3
	2.8400	2.8396	100.0	0.9
	3.4080	3.4269	100.5	0.6

2.9 样品测定 按“2.2”项下的方法制备供试品溶液, 按外标法计算含量, 结果见表 2。

表 2 样品测定结果 ($\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$, $n = 2$)

Tab 2 Assay of samples

批号 (Lot No)	阿司匹林 (aspirin)	咖啡因 (caffeine)
08011002	0.7223	0.0804
07121302	0.7165	0.0785

3 讨论

3.1 由于阿司匹林的稳定性不高, 遇湿气即缓缓水解^[2], 经实验证实 8 h 内进样能保持稳定, 为确保实验可靠, 避免阿司匹林对结果的影响, 以操作在 8 h 内完成为宜。

3.2 对照品咖啡因不含结晶水 ($C_8H_{10}N_4O_2$), 但样品中的咖啡因含结晶水 ($C_8H_{10}N_4O_2 \cdot H_2O$), 计算含量时需乘以 1.0927, 以保证结果准确。

3.3 处方中咖啡因约为阿司匹林的九分之一, 为兼顾各成分的检测灵敏度, 取阿司匹林、咖啡因对照品适量, 分别用流动相溶解并稀释成 $5 \mu g \cdot mL^{-1}$ 的溶液, 用紫外分光光度计在 200~300 nm 波长范围内扫描, 结果阿司匹林、咖啡因在 200~300 nm 波长范围内均有强吸收, 阿司匹林在 226 nm 波长处有最大吸收, 且 226 nm 处的吸光度远大于 275 nm, 咖

啡因在 272 nm 波长处有最大吸收, 选择 272 nm 为本法检测波长。

参考文献

- 1 Drug Specifications Promulgated by State Drug Administration(国家药品标准). ws-1001- (HD-0533)-2002
- 2 CHEN Xin-qian(陈新谦), JIN You-yu(金有豫), TANG Guang(汤光). New Edition of Medical Pharmacology(新编药理学). 15th Ed(第15版). Beijing(北京): People's Medical Publishing House(人民卫生出版社), 2004. 180

(本文于 2008 年 12 月 24 日收到)

药物热分析学术研讨会在苏州召开

热分析在药物及药用材料中的应用学术研讨会于 2009 年 10 月 22 日至 24 日在苏州召开, 80 多人出席了本次会议。此次会议按照我所年度学术会议计划, 由中国药学会药分专业委员会《药物分析杂志》编委会主办, 江苏省食品药品检验所承办, 江苏省热分析专业委员会及苏州药品检验所协办。国内热分析专家在会上作了国家标准热分析术语介绍、热分析在药物分析、药物晶型研究、医疗器械质量控制、中药鉴别、对照物质研究中的应用、以及各国药典热分析技术应用概况、热分析仪器最新进展等专题报告。与会代表就热分析技术在药物研究、药物检验、标准物质、药用辅料及医药材料中的应用等开展了热烈地讨论和并相互交流了经验。编辑部汇编了本次会议论文摘要集。



(《药物分析杂志》编辑部供稿)