

HPLC 法测定复方四嗪利血平片中氢氯噻嗪的含量

陈玉璞

(焦作市食品药品检验所,河南焦作 454000)

[摘要] 目的:建立高效液相法测定复方四嗪利血平片中氢氯噻嗪含量的方法。方法:采用 Diamonsil-C₁₈(6.0 mm×150 mm, 5 μm)色谱柱;流动相:甲醇-水-磷酸盐缓冲液(30:66:4)(0.05 mol/L 磷酸二氢钾溶液,用磷酸调节 pH 至 3.0);检测波长:272 nm;流速:1.0 ml/min。结果:氢氯噻嗪在 0.089 6~0.089 6 μg 范围内与峰面积呈良好的线性关系($r=0.999\ 9$),平均回收率为 98.92%, $RSD=0.60\%$ ($n=6$)。结论:本方法简便、准确、重现性好,可用于复方四嗪利血平片中氢氯噻嗪的质量控制。

[关键词] 高效液相法;氢氯噻嗪;复方四嗪利血平片;含量测定

[中图分类号] R927.2

[文献标识码] A

[文章编号] 1673-7210(2010)02(b)-055-02

Content determination of hydrochlorothiazide in Compound Tatrazin and Reserpine Tablets by HPLC

CHEN Yupu

(Institute for Food and Drug Control of Jiaozuo City, Jiaozuo 454000, China)

[Abstract] **Objective:** To establish a method for the content determination of hydrochlorothiazide in Compound Tatrazin and Reserpine Tablets by HPLC. **Methods:** The Diamonsil-C₁₈(6.0 mm×150 mm, 5 μm) column was used. The mobile phases consisted of methanol, water and phosphate buffer solution (30:66:4) [adjust Potassium dihydrogen phosphate, Solution (0.05 mol/L) to pH=3.0 by phosphoric acid], the flow rate was 1.0 ml/min and the detection wavelength was at 272 nm. **Results:** The linear ranges of hydrochlorothiazide was at 0.089 6~0.089 6 μg ($r=0.999\ 9$), the average recovery was 98.92% with a RSD of 0.60% ($n=6$). **Conclusion:** The method is fast, reliable, accurate and can be used in the quality control of hydrochlorothiazide in Compound Tatrazin and Reserpine Tablets.

[Key words] HPLC; Hydrochlorothiazide; Compound Tatrazin and Reserpine Tablets; Content determination

复方四嗪利血平片为常用降压药品,主要成分为利血平和氢氯噻嗪,其中氢氯噻嗪有利尿、降压等作用。复方四嗪利血平片现行国家药品标准中氢氯噻嗪只做定性鉴别,无含量测定。本实验建立用高效液相色谱法测定其中氢氯噻嗪的含量,作为复方四嗪利血平片质量控制指标之一,为控制药品质量,提供了一种简单、灵敏、快速准确的检测方法。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

UVIKONXL 型紫外分光光度计(法国);AE-240 双量程电子天平(瑞士梅特勒公司);岛津高效液相色谱仪(LC-10AD-VP 泵;SPD-10AVP 紫外检测器;CS-Light Potrun Analysis 数据处理系统)。

1.2 试剂

氢氯噻嗪对照品(批号:10309-0001,中国药品生物制品

[作者简介] 陈玉璞(1966.12-),本科学历,籍贯:河南省沁阳市。现就职于焦作市食品药品检验所,化学室主任,主管药师,专业方向:药物分析。

检定所,供含量测定用,含量为 99.40%);复方四嗪利血平片(批号:080317,郑州邦泰药业有限公司;批号:080102,新乡中杰药业有限公司;批号:20090602,郑州海绵邦林制药有限公司);水为纯净水,甲醇为一级色谱纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:Diamonsil-C₁₈(6.0 mm×150 mm, 5 μm);流动相:甲醇-水-磷酸盐缓冲液(30:66:4)(0.05 mol/L 磷酸二氢钾溶液,用磷酸调节 pH 至 3.0);检测波长:272 nm;流速:1.0 ml/min。柱温:30℃;进样量:20 μl;理论塔板数按氢氯噻嗪计不低于 3 000。

2.2 检测波长的选择

取对照品溶液,在 180~300 nm 的波长范围内进行扫描。结果在 272 nm 的波长处有最大吸收,故选用 272 nm 为氢氯噻嗪的检测波长。

2.3 对照品溶液的制备

精密称取氢氯噻嗪对照品 22.4 mg,置 100 ml 量瓶中,

The Veterinary Journal,2009,181(3):299-304.

- [3] Declan Walsh, Pamela S. Long-term rectal administration of high-dose sustained-release morphine tablets [J]. Supportive Care in Cancer,2002,10(8):571-659.
- [4] Schwarz P, Schwarz H, East S, et al. Prescription products Moraxen suppositories [J]. The Pharmaceutical Journal,2000,265:378.
- [5] Vromans H, Moolenaar F, Visser J, et al. Rectal absorption of metronidazol from polyethylene glycol suppositories [J]. Pharmacy World & Science,

2005,6(1):18-20.

- [6] Hans E, Junginger. Excipients as Absorption Enhancers [M]. Biopharmaceutics Applications in Drug Development: Springer US,2007:139-174.
- [7] 国家药典委员会.中华人民共和国药典[M].二部.北京:化工出版社,2005:728.
- [8] 梁文权.生物药剂学与药物动力学[M].北京:人民卫生出版社,2003:354.

(收稿日期:2009-09-28)

用流动相超声溶解并稀释至刻度,摇匀。即得。

2.4 供试品溶液的制备

取本品 20 片,除去包衣后,精密称取细粉适量(约相当于氢氯噻嗪 20 mg),置 100 ml 量瓶中,用流动相超声溶解并稀释至刻度,摇匀,用 0.45 μm 的微孔滤膜滤过,取续滤液 5.0 ml,置 100 ml 量瓶中,用流动相稀释至刻度,摇匀,即得。

2.5 阴性对照试验

按复方四嗪利血平片的处方工艺,不加氢氯噻嗪,制成阴性对照品,同供试品溶液的制备方法制成阴性溶液。在选定的色谱条件下,准确进样 20 μl ,从色谱图上看出,在该色谱条件下,在保留时间(t_R)4.1 min 处,供试品和对照品溶液中出现色谱峰,而阴性对照溶液未见此色谱峰,表明在本实验条件下,氢氯噻嗪的测定不受其他杂质峰干扰。见图 1。

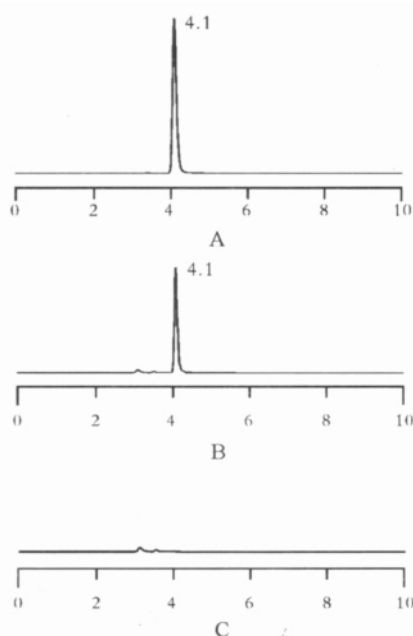


图 1 HPLC 色谱图

(A.对照品;B.供试品;C.阴性)

Fig.1 HPLC chromatography

(A.Reference substance; B.Sample; C.Negative)

2.6 线性关系的考察

分别精密量取“2.3”项下氢氯噻嗪对照品溶液 1.0、2.5、5.0、7.5、10.0 ml,分别置于 50 ml 量瓶中,加流动相稀释至刻度,摇匀,即得。分别精密吸取 20 μl ,注入液相色谱仪,按上述色谱条件测定色谱峰峰面积,以对照品进样量(μg)为横坐标,峰面积为纵坐标,计算回归方程,结果表明氢氯噻嗪进样量在 0.089 6~0.089 6 μg 范围内,呈良好的线性关系。回归方程为 $Y=44\ 102.9X+1\ 637.05$ ($r=0.999\ 9$)。

2.7 精密度试验

取浓度为 22.40 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的氢氯噻嗪对照品溶液,重复进样 5 次,分别测定峰面积,结果显示,氢氯噻嗪 $RSD=0.76\%$,表明该法精密度良好。

2.8 稳定性试验

取“2.3”项下的氢氯噻嗪对照品溶液每间隔 1 h 进样 1 次,共 8 次,结果氢氯噻嗪 $RSD=0.67\%$ 。结果表明样品在 8 h 内基本稳定。

2.9 重复性试验

取样品(批号:080317,郑州邦泰药业有限公司)适量,依法平行测定 6 次,结果氢氯噻嗪 $RSD=0.93\%$ 。结果表明该法重现性良好。

2.10 加样回收率试验

取样品(批号:080317,郑州邦泰药业有限公司)约 0.11 g,共 6 份,精密称定,分置 100 ml 量瓶中,分别加入“2.3”项下对照品溶液 5.0 ml,用流动相超声溶解,并稀释至刻度,摇匀,用 0.45 μm 的微孔滤膜滤过,取续滤液,按色谱条件测定,结果见表 1。

表 1 回收率试验结果($n=6$)

Tab.1 Results of recovery test ($n=6$)

取样量 (g)	含氢氯噻 嗪量(mg)	对照品加 入量(mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均回收 率(%)	RSD (%)
0.108 3	1.47	1.12	2.56	98.84	98.92	0.60
0.113 0	1.53	1.12	2.66	100.38		
0.114 2	1.55	1.12	2.63	98.50		
0.109 5	1.49	1.12	2.59	99.23		
0.111 6	1.52	1.12	2.60	98.48		
0.107 2	1.46	1.12	2.53	98.06		

2.11 样品含量测定

取样品 3 批,各 20 片,除去包衣后,精密称取细粉适量(约相当于氢氯噻嗪 20 mg),置 100 ml 量瓶中,用流动相超声溶解并稀释至刻度,摇匀,用 0.45 μm 的微孔滤膜滤过,取续滤液 5.0 ml,置 100 ml 量瓶中,用流动相稀释至刻度,摇匀,即得供试品溶液;另取氢氯噻嗪对照品适量,用流动相制成每毫升中含氢氯噻嗪 11.20 μg 的溶液。分别精密吸取 20 μl 注入液相色谱仪,按上述色谱条件,以峰面积计算,结果见表 2。

表 2 样品含量测定结果(%, $n=3$)

Tab.2 Content determination results of samples (%, $n=3$)

样品批号	氢氯噻嗪(mg/片)	RSD (%)
080317	1.48	1.12
0808102	1.52	0.83
20090602	1.47	0.91

3 讨论

笔者查阅了许多文献,发现许多流动相中含有乙腈。笔者认为,乙腈价格较贵且有毒,故弃用。部分流动相用磷酸盐缓冲液(1 mol/L 磷酸二氢钾溶液,用磷酸调节 pH 至 3.0)-甲醇-水,笔者进行了实验,发现 1 mol/L 磷酸二氢钾溶液与甲醇混合后有大量浑浊产生。通过反复实验,选用 0.05 mol/L 磷酸二氢钾溶液,能达到满意效果。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会.中国药典[S].二部.北京:化学工业出版社,2005:附录 D:28-30.
- [2] 周岐勋,李健和,徐幸民.高效液相色谱法测定盐酸甲氧苄啶分散片含量及有关物质[J].中国当代医药,2009,16(4):73-76.
- [3] 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四册[S].北京:中国医药科技出版社,2002:195-199.
- [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十一册[S].北京:中国科技出版社,2002:235-238.
- [5] 王宜祥,杨汉中,吴韶铭.复方卡托普利中卡托普利和氢氯噻嗪的 HPLC 测定[J].中国医药工业杂志,2003,34(8):404-405.
- [6] 赵素珍,宋卫云.高效液相色谱法测定清热止泻合剂中葛根素的含量[J].中国医药导报,2007,4(30):87-88.

(收稿日期:2009-10-16)