

醋酸地塞米松片补充检验方法的研究

洪俊荣, 黄诺嘉, 罗丽娟 (广东省汕头市药品检验所, 515041)

摘要: 对现行版《中国药典》“醋酸地塞米松片”质量标准提出改进意见, 建立高效液相色谱法测定醋酸地塞米松片中的醋酸地塞米松含量。色谱柱: Diamonsil (TM) 钻石 C₁₈ (4.6mm×200mm, 5μm); 流动相: 甲醇-水 (70:30); 检测波长: 240nm; 流速: 1.0ml·min⁻¹。醋酸地塞米松的线性范围为 11.16~39.06μg·ml⁻¹, r=0.9999, 平均回收率为 98.82%, RSD 为 1.76%。本方法简单, 专属性强, 重现性好, 易于操作。

关键词: 高效液相色谱法; 醋酸地塞米松

中图分类号: R927.2; R9-3 文献标识码: A 文章编号: 1002-7777 (2005) 02-0101-04

Study on the Supplemental Testing Method for Dexamethasone Acetate Tablets

Hong Junrong, Huang Nuojia and Luo Lijuan (Institute for Drug Control of Shantou City, Guangdong Province, 515041)

ABSTRACT A HPLC method for the determination of Dexamethasone acetate in the tablets was established. The method was regarded as a supplemental testing method for Dexamethasone acetate tablets to the specification recorded in current version of China Pharmacopoeia. A Diamonsil (TM) C₁₈ column (4.6mm×200mm, 5μm) was used with methanol-water (70:30) as mobile phase. The flow rate was 1ml·min⁻¹ and detection wavelength 240nm. The linear range was 11.16~39.06μg·ml⁻¹, r=0.9999. The average recovery rate was 98.82%, RSD=1.76%. The method was simple, specific, reproductive and easy to use.

KEY WORDS HPLC; dexamethasone acetate

《中国药典》2000 年版二部收载的醋酸地塞米松原料已采用 HPLC 法测定含量, 但其片剂仍采用 UV 法测定含量。近几年来, 出现了以添加与醋酸地塞米松有类似 UV 光谱的化学物质和少量含氟物质的方法制售假劣醋酸地塞米松片。而现行的紫外检测方法是鉴别不出其真伪的。实验研究证明, 采用 HPLC 法对醋酸地塞米松片进行鉴别和含量测定, 专属性强, 重现性好, 可及时检出假劣醋酸地塞米松片, 且方法简单, 易于操作。现将方法学考察报告如下:

1 仪器与试药

1.1 仪器

高效液相色谱仪 (美国 TSP, P-2000 泵, UV-6000 检测器, PC-1000 色谱工作站)。

1.2 试药

醋酸地塞米松对照品 (0122-9403, 中国药品生物制品检定所); 水为重蒸馏水; 甲醇为色谱纯;

其它试剂均为分析纯。

醋酸地塞米松片均为市场监督抽样所得, 规格为 0.75mg, 100 片/瓶。[标示厂家如下: 浙江仙居制药股份有限公司 (批号 020514, 030224, 021043); 天津药业集团新郑股份有限公司 (批号 020723, 020401, 021106, 030805); 郑州市新郑制药股份有限公司 (批号 20001218); 中国重庆西南制药一厂 (批号 010701); 中国上海信谊药厂 (批号 010501 甲); 广东邦民制药厂有限公司 (批号: 020804); 成都天台山制药有限公司 (批号 010706); 河南省安阳市豫北制药厂 (批号 020301, 020926, 020716); 河南省新乡市常乐制药厂 (批号 20020106, 020516); 广东省河源市康泰制药厂 (批号 20000711); 广东省九连山制药厂 (批号 20020701); 中美陕西麦克制药有限公司 (批号 011008); 陕西麦克制药有限责任公司 (批号 020108)。]

2 方法学考察

2.1 色谱条件与系统适应性试验

色谱柱: Diamondsil (TM) 钻石 C₁₈ (4.6mm × 200mm, 5μm); 流动相: 甲醇-水 (70: 30); 检测波长: 240nm; 流速: 1.0ml•min⁻¹; 进样量: 20μl; 柱温: 室温; 理论板数按醋酸地塞米松峰计算 4078; 测定方法: 外标法。在此色谱条件下, 醋酸地塞米松峰保留时间约为 7.4 分钟, 主峰峰形对称, 辅料对主峰检测无干扰。

2.2 线性关系考察

取在 105℃干燥至恒重的醋酸地塞米松对照品约 13mg, 精密称定, 置 50ml 量瓶中, 加甲醇 35ml 使溶解, 加水稀释至刻度, 摇匀; 精密量取 (0.279 mg • ml⁻¹) 2.0、2.5、3.0、3.5、4.0、4.5、5.0、5.5、6.0、6.5、7.0 ml, 分别置 50 ml 量瓶中, 各精密加入流动相稀释至刻度, 摇匀, 各取 20μl 注入液相色谱仪, 记录各浓度的色谱图。以溶液浓度 X (μg) 为横坐标, 测得峰面积值 Y 为纵坐标, 进行线性回归, 回归方程 Y = -1.4189 × 10⁴ + 2.027 × 10⁵X, 相关系数 r = 0.9999, 结果表明在浓度为 11.16 ~ 39.06μg • ml⁻¹ 范围内线性关系良好。

2.3 精密度试验

精密量取 2.7 样品测定项下的对照品溶液及同一批号的供试品溶液, 分别重复进样 5 次, 按样品测定项下的方法操作, 测得其峰面积值 (Y) 的平均值分别为 5658409.8 和 5230208.4, RSD 分别为 0.47% 和 0.26%。

2.4 重复性试验

精密称取同一批号的样品 5 份, 按 2.7 样品测定项下方法操作, 测得平均含量为 95.59%, RSD 为 0.53%。实验表明重复性良好。

2.5 稳定性试验

取按 2.7 样品测定项下方法配制的供测定用的对照品溶液及供试品溶液, 在室温条件下, 分别于 0, 1.5, 3.0, 5.0, 8.0, 12.0 h 进行测定, 结果 RSD 分别为 0.70% 和 0.26% (n= 6)。实验表明对照品溶液及供试品溶液在配制后 12h 内稳定。

2.6 加样回收率试验

精密称取已知含量的样品 (浙江仙居制药股份有限公司, 批号 030224), 按 2.7 样品测定项下方法操作, 分别精密加入对照品溶液适量 (按 80%, 100%, 120% 比例), 测定其含量, 并计算回收率, 结果见表 1。

表 1 加样回收试验

编号	样品中醋酸地塞米松量 (mg)	加入量 (mg)	测得总量 (mg)	回收率 (%)	均值 (%)	RSD (%)
1	3.5623	2.0456	5.5524	97.29		
2	3.5356	2.0456	5.5588	98.90		
3	3.4384	2.0456	5.4488	98.28		
4	3.7054	2.5570	6.2758	100.52		
5	3.6748	2.5570	6.2575	101.01	98.82	1.76
6	3.6481	2.5570	6.0989	95.85		
7	3.5585	3.0684	6.5483	97.44		
8	3.6653	3.0684	6.7333	99.99		
9	3.6863	3.0684	6.7584	100.12		

2.7 样品测定

取在 105℃干燥至恒重的醋酸地塞米松对照品约 13mg, 精密称定, 置 50ml 量瓶中, 加甲醇 35ml 使溶解, 加水稀释至刻度, 摇匀; 精密量取该溶液 5ml, 置 50ml 量瓶中, 用流动相稀释至刻度, 摇匀 (每 1 ml 中含醋酸地塞米松 26μg)。另取样品 20 片, 精密称定, 研细, 精密称取适量 (约相当于醋酸地塞米松 6.5mg), 置 50ml 量瓶中, 加甲醇 35ml, 超声处理 10 分钟, 使醋酸地塞米松溶解, 放冷至室温, 加水稀释至刻度, 摇匀, 滤过; 取续滤液 10 ml, 置 50ml 量瓶中, 用流动相稀释至刻度, 摇匀。分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 20μl, 注入液相色谱仪, 测定, 即得。按外标法以峰面积计算, 测定 21 批样品。结果见表 2。

3 讨论

3.1 测定波长及流动相、样品溶剂等条件的选择

参照《中国药典》2000 年版二部的醋酸地塞米松原料的 HPLC 含量测定方法, 建立了醋酸地塞米松片剂中醋酸地塞米松的 HPLC 测定方法, 并对新建的分析方法进行验证。实验结果表明: 药典法用于测定醋酸地塞米松原料中醋酸地塞米松的条件, 同样也适用于片剂的含量测定。为了简化操作, 采用外标法测定。

为考察不同厂家不同辅料对片剂的 HPLC 法的影响, 在回收率试验采取加样回收法, 实验结果表明该法不受辅料的影响, 且醋酸地塞米松峰与其它峰达到基线分离, 定量结果准确。

在本实验中, 考虑到各生产厂家的辅料不同, 我们假定将 2 批伪品作为阴性空白, 并将该阴性空白溶液、阴性空白溶液与对照品混合液分别注入色谱仪, 记录色谱图。结果表明: 假定的阴性空白在醋酸地塞米松峰相应位置无色谱峰, 即本实验条件下醋酸地塞米松与其它组分分离完全。见图。

表 2 21 批样品测定结果

编号	标示厂家	批号	原法		修订法	
			氟化物鉴别	UV 法	HPLC 鉴别	HPLC(%)
1	天津药业集团新郑股份有限公司	030805	+	96. 60	+	92. 84
2	天津药业集团新郑股份有限公司*	020723	+	90. 50	+	91. 18
3	天津药业集团新郑股份有限公司	020401	+	95. 98	+	96. 06
4	天津药业集团新郑股份有限公司*	021106	+	97. 70	+	97. 69
5	郑州市新郑制药股份有限公司	20001218	+	99. 02	+	98. 39
6	中国重庆西南制药一厂	010701	+	90. 28	+	92. 40
7	中国上海信谊药厂	010501 甲	+	97. 15	+	97. 16
8	广东邦民制药厂有限公司*	020804	+	100. 36	+	100. 40
9	浙江仙居制药股份有限公司*	030224	+	96. 73	+	98. 02
10	浙江仙居制药股份有限公司*	020514	+	98. 97	+	98. 34
11	浙江仙居制药股份有限公司	021043	+	97. 08	+	97. 02
12	成都天台山制药有限公司	010706	+	100. 34	+	100. 94
13	河南省安阳市豫北制药厂	020301	+	96. 61	+	26. 72
14	河南省安阳豫北制药厂	020926	+	112. 26	—	0
15	广东省九连山制药厂	20020701	+	100. 65	—	0
16	广东省河源市康泰制药厂	20000711	+	105. 04	—	0
17	陕西麦克制药有限公司	020108	+	90. 43	—	0
18	中美陕西麦克制药有限公司	011008	+	86. 17	—	0
19	河南省新乡市常乐制药厂	20020516	+	35. 2	—	0
20	河南省新乡市常乐制药厂	20020106	+	$\lambda_{240\text{nm}}$ 无最大吸收	—	0
21	河南省安阳豫北制药厂	020716	+	$\lambda_{240\text{nm}}$ 无最大吸收	—	0

注: * 是指取自同一批样品 50 片, 研细, 精密称取 4 份细粉, 各取 2 份分别用 UV 法、HPLC 法测定含量。

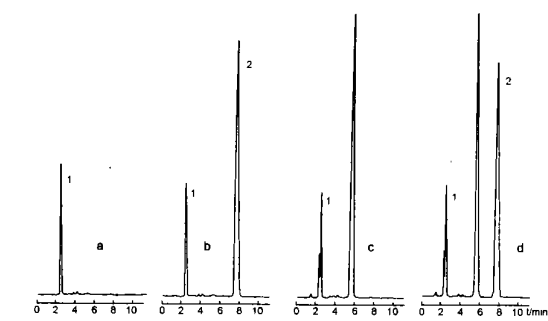


图 醋酸地塞米松对照品与伪品 HPLC 色谱图

a. 溶剂峰; b. 溶剂峰+ 醋酸地塞米松对照品; c. 伪品 (假定阴性空白);
d. 伪品 (假定阴性空白) + 醋酸地塞米松对照品;
1. 溶剂峰; 2. 醋酸地塞米松对照品

3.2 样品提取方法及提取时间的选择

我们对样品进行了 50~ 60℃水浴加热 10 分钟、超声处理 (10 分钟、15 分钟、20 分钟、25 分钟、30 分钟) 几种提取方法的比较, 实验结果表明: 超声 10 分钟和 50~ 60℃水浴加热 10 分钟的提取效率高, 且结果无差异, 故选用超声处理 10 分钟。

3.3 UV 法和 HPLC 法含量测定结果分析

从含量测定结果来看, 其中 7 批 HPLC 测定结果比 UV 法高 0.01%~ 2.12%, 5 批测定结果低 0.06%~ 3.76%, 原因之一是两种检测方法的差异, 之二是同一批样品各瓶之间的片重差异或同一瓶样品中各片的片重差异的影响。因为醋酸地塞

米松片中醋酸地塞米松仅含 0.75mg/片, 所以, 每 20 片的重量差异对测定结果有较大的影响。我们在实验中发现: 若取同一批样品 50 片, 研细, 精密称取 4 份样品细粉, 其中 2 份采用 UV 法测定含量, 另 2 份采用 HPLC 法测定含量, 则含量测定的结果就非常接近, 约为- 1.29%~ + 0.01% {共 5 批*, (1)- 0.68%, (2)+ 0.01%, (3)- 0.04%, (4)- 1.29%, (5)+ 0.63%}。否则, 因片重引起含量测定结果的误差就比较大, 约为- 0.01%~ + 3.76% {共 7 批, (1)+ 3.76%, (2)- 0.08%, (3)+ 0.63%, (4)- 2.12%, (5)- 0.01%, (6)+ 0.06%, (7)- 0.60%}。详见表 2。

3.4 UV 法与 HPLC 法测定结果比较

取汕头所近期抽样检品 21 批, 按《中国药典》2000 年版二部“醋酸地塞米松片”检验: 有机氟化物鉴别均为正反应, 含量 (UV 法) 测定有 17 批合格, 仅有 4 批不合格, 其中 2 批波长不符, 1 批稍超标, 1 批为 35.2%。而按 HPLC 法操作, 在 21 批样品中, HPLC 鉴别仅有 13 批与对照品一致, 12 批含量在合格范围内, 1 批掺假品含量仅为 26.72% (见表 2 的样品编号 13), 余 8 批全为假药, 不含有醋酸地塞米松的成分。

目前, 不法分子的造假技术越来越高, 造假品

高效液相色谱法测定氨咖敏片的含量

姚福祥, 董 春¹, 巴力吉¹ (内蒙古通辽市铁路医院, 028000; ¹ 内蒙古通辽市药检所)

中图分类号: R927.2 文献标识码: A 文章编号: 1002- 7777 (2005) 02- 0104- 02

氨咖敏片为氨基比林、咖啡因和马来酸氯苯那敏的复方制剂。国家药品标准用化学分析法测定氨基比林、咖啡因含量^[1], 操作繁琐、费时, 不适合对大批量样品的分析。而马来酸氯苯那敏不定量。本文用高效液相色谱法, 不需分离, 测定 3 种成份的含量, 简单, 快速, 专属性强, 结果准确。

1 仪器 药品及试剂

日本岛津 LC- 5A 高效液相色谱仪, SPD- 2Am 紫外检测器, C- R3A 数据处理机。氨基比林、咖啡因和马来酸氯苯那敏对照品(中国药品生物制品检定所), 甲醇为色谱纯, 乙腈、十二烷基硫酸钠、磷酸、三乙胺为分析纯。氨咖敏片(市售品)。

2 氨基比林和咖啡因的测定

2.1 色谱条件与系统适应性试验

色谱柱: Hypersil C₁₈ (4.6mm × 200mm, 5μm), 流动相: 甲醇-水 (52:48), 流速: 0.8ml·min⁻¹, 检测波长为 273nm, 进样量: 20μl。理论板数按氨基比林计算应不低于 1500。外标法峰面积定量。

2.2 线性关系实验

精密称取 105℃干燥恒重的咖啡因和 40℃减压干燥恒重的氨基比林对照品适量, 分置量瓶中, 用水溶解并稀释成 10、50、100、150、200、250、300μg·ml⁻¹, 各精密量取 20μl, 注入液相色谱仪, 记录色谱图。经过线性回归处理, 结果表明: 氨基比林和咖啡因在 10~ 0.30μg·ml⁻¹ 范围内线性关系均良好, 回归方程为 $A = 6.552 \times 10^4 C - 3.400 \times 10^5$ 和 $A = 6.452 \times 10^4 C - 2.025 \times 10^5$, 相关系数分别为: 0.9999、0.9998, n= 7。

2.3 重复性实验

分别取 2.2 项下浓度为 150μg·ml⁻¹ 的氨基比

林和咖啡因溶液, 各精密量取 20μl, 按上述色谱条件测定, 重复测定 10 次, 氨基比林峰面积的 RSD = 0.1%, 咖啡因峰面积的 RSD = 0.2%。

2.4 稳定性实验

分别取 2.2 项下浓度为 150μg·ml⁻¹ 的氨基比林和咖啡因溶液, 室温下放置 2、4、6、8、10 小时后, 各精密量取 20μl, 按上述色谱条件测定, 结果氨基比林峰面积的 RSD = 0.2%, 咖啡因峰面积的 RSD = 0.2%。

2.5 专属性实验

按处方称取辅料适量, 置量瓶中, 用水稀释至刻度, 摇匀, 滤过, 精密量取续滤液 20μl, 按 2.1 色谱条件测定, 记录色谱图见图 1, 结果无干扰。

2.6 回收率试验

精密称取 40℃减压干燥恒重的氨基比林和 105℃干燥恒重的咖啡因、马来酸氯苯那敏对照品: 0.1000g、0.0100g、0.0010g 及辅料适量置 50ml 量瓶中, 加水溶解并稀释至刻度, 摇匀, 滤过, 精密量取续滤液 5ml, 置 50ml 量瓶中, 加水稀释至刻度, 摇匀。精密量取 20μl, 按上述色谱条件测定, 结果氨基比林的回收率分别为 99.5%, RSD = 0.3%, 咖啡因的回收率为 99.6%, RSD = 0.2%, n= 6。

2.7 样品测定

取氨咖敏片 20 片, 精密称定, 研细, 精密称取适量 (约相当于氨基比林 0.1g), 置 50ml 量瓶中, 加水溶解并稀释至刻度, 摇匀, 滤过, 精密量取续滤液 5ml, 置 50ml 量瓶中, 加水稀释至刻度, 摇匀。精密量取 20μl, 按上述色谱条件测定, 本法与国家药品标准方法测定结果比较, 见表, 经 t 检验, 无显著性差异 (P> 0.05)。

掺入与醋酸地塞米松有类似 UV 光谱的化学物质和少量含氟物质而成, 采用氟化物鉴别和 UV 法测定不能反映此类造假品的真实质量, 采用 HPLC 法进行检测可有效的识别高科技造假的醋酸地塞米松

片, 确保人民用药安全有效。

参考文献:

[1] 中国药典 [S] 一部, 2000: 1018