

· 药物分析 ·

高效液相色谱法测定复方苯硝那敏片中维生素 B₆、苯巴比妥、马来酸氯苯那敏和硝西泮含量

谭生建,刘刚,王海涛,赵森,姜韧,张华(中国人民解放军第306医院药学部,北京100101)

摘要 目的:建立 HPLC 同时测定复方苯硝那敏片中维生素 B₆、苯巴比妥、马来酸氯苯那敏和硝西泮含量的方法。方法:色谱柱用十八烷基硅烷键合硅胶为固定相(150 mm × 4.6 mm, 4.6 μm)。流动相 A:乙腈-水-三乙胺(100:900:1,含 0.01 mol/L 庚烷磺酸钠,用冰醋酸调 pH 值 3.5),流动相 B:乙腈。洗脱程序:0~12 min, A 100%~70%;12~200 min, A 70%;流速:1 mL/min,检测波长 260 nm。结果:维生素 B₆、苯巴比妥、马来酸氯苯那敏和硝西泮的保留时间分别约为 4.6、10.2、12.3 和 14.3 min,与各自相邻峰的分度均大于 1.5。以峰面积对进样量(μg)线性回归,维生素 B₆ 回归方程: $y = 251.4x + 2.403$,线性范围:0.168 4~2.021 μg, $r = 0.999 8$;苯巴比妥回归方程: $y = 145.8x + 1.612$,线性范围:0.510 8~6.130 μg, $r = 0.999 9$;马来酸氯苯那敏回归方程: $y = 697.3x - 7.252$,线性范围:0.122 8~1.474 μg, $r = 0.999 9$;硝西泮回归方程: $y = 2767x + 17.75$,线性范围:0.049 60~0.595 2 μg, $r = 0.999 8$ 。维生素 B₆、苯巴比妥、马来酸氯苯那敏和硝西泮回收率分别为 100.1%、99.4%、99.3% 和 100.7%,RSD 分别为 0.18%、0.13%、0.47% 和 0.16%。结论:本方法精密度、准确度高,操作简便,可用于复方苯硝那敏片中维生素 B₆、苯巴比妥、马来酸氯苯那敏和硝西泮含量测定。

关键词 高效液相色谱;复方苯硝那敏片;维生素 B₆;苯巴比妥;马来酸氯苯那敏;硝西泮

中图分类号:R927.2 文献标识码:A 文章编号:1006-0111(2008)04-0286-04

Determination of vitamin B₆, phenobarbital, chlorphenamine maleate and diazepam in compound benzionamin tablets by HPLC

TAN Sheng-jian, LIU Gang, WANG Hai-tao, ZHAO Miao, JIANG ren, ZHANG Hua (Department of Pharmacy, Hospital 306 of PLA, Beijing 100101, China)

ABSTRACT Objective: To develop an HPLC quantitative method for the determination of vitamin B₆, phenobarbital, chlorphenamine maleate and diazepam in compound benzionamin tablets. **Methods:** The chromatographic conditions include column C₁₈ (150 mm × 4.6 mm, 4.6 μm); mobile phase A: acetonitrile-water-triethylamine (100:900:1, contain 0.01 mol/L Sodium Heptane, adjusted to pH 3.5 by acetic acid); mobile phase B: acetonitrile. gradient elution: 0~12 min, A: 100%~70%, 12~20 min, A: 70%. The flow rate was 1 mL/min and monitored at 260 nm. **Results:** The retention time of vitamin B₆, phenobarbital, chlorphenamine maleate and diazepam were 4.6 min, 10.2 min, 12.3 min and 14.3 min respectively. The regress equation for Vitamin B₆ was $y = 251.4x + 2.403$, $r = 0.999 8$, and the linear range was 0.168 4~2.021 μg, phenobarbital $y = 145.8x + 1.612$, $r = 0.999 9$, and the linear range was 0.510 8~6.130 μg; chlorphenamine maleate $y = 697.3x - 7.252$, $r = 0.999 9$, and the linear range was 0.122 8~1.474 μg, diazepam $y = 2767x + 17.75$, $r = 0.999 8$ and the linear range was 0.049 60~0.595 2 μg. The average recovery of vitamin B₆, phenobarbital, chlorphenamine maleate and diazepam were 100.1%, 99.4%, 99.3% and 100.7%; and RSD were 0.18%, 0.13%, 0.47% and 0.16% respectively. **Conclusion:** The method was sensitive, time-saving and accurate.

KEY WORDS HPLC; compound benzionamin tablets; vitamin B₆; phenobarbital; chlorphenamine maleate; diazepam

复方苯硝那敏片为抗癫痫药,收载于中华人民共和国卫生部药品标准[WS1-(X-196)-97Z],由维生素 B₆(盐酸吡哆辛)、苯巴比妥、马来酸氯苯

那敏、硝西泮、羊脑粉和片剂辅料加工制成,现行标准中分别采用薄层扫描法测定马来酸氯苯那敏、HPLC 法测定苯巴比妥和硝西泮的含量,没有建立维生素 B₆ 的含量测定项目。维生素 B₆、苯巴比妥、马来酸氯苯那敏和硝西泮含量测定方法报道有高效

作者简介:谭生建(1956-),男,主任药师。Tel: (010)66356172, E-mail: tansj163@163.com.

液相色谱法^[1-4]、光谱法^[5]和薄层扫描法^[6]。本研究建立了离子对高效液相色谱法同时测定复方苯硝那敏片中维生素 B₆、苯巴比妥、马来酸氯苯那敏和硝西泮含量的方法。

1 仪器与试剂

高效液相色谱仪(Agilent 1200 系列):G1311A 四元色谱泵,G1329A 自动进样器,G1315B 二极管阵列检测器,G2170BA 色谱工作站,G1316A 柱温箱和 G1379B 在线脱气机。维生素 B₆(盐酸吡哆辛)对照品(100116-199801)、苯巴比妥对照品(1222-9602)、马来酸氯苯那敏对照品(0047-9904)、硝西泮对照品(1217-9201)购自中国药品生物制品检定所;乙腈(DIMA TECHNOLOGY INC)色谱纯,水为纯化水,其他试剂均为分析纯。复方苯硝那敏片由本院制剂室制备(批号:070313-1、070313-2、070313-3)。

取维生素 B₆ 对照品 42.10 mg、苯巴比妥对照品 127.7 mg、马来酸氯苯那敏对照品 30.70 mg、硝西泮对照品 12.40 mg,精密称定,置 50mL 量瓶中,加 37% 乙腈溶解并稀释至刻度,摇匀,作为混合对照品储备溶液;精密称取混合对照品储备溶液 5 mL,置 50 mL 量瓶中,加 37% 乙腈稀释至刻度,摇匀,作为混合对照品溶液(每 1 mL 含维生素 B₆ 84.20 μg、苯巴比妥 255.4 μg、马来酸氯苯那敏 61.40 μg 和硝西泮 24.80 μg)。

取复方苯硝那敏片 10 片,称重,研细,取相当 2

片的细粉,精密称定,置 100 mL 磨口锥形瓶中,加 37% 乙腈 50 mL,精密称重,超声 15 min,擦干瓶壁,精密称定,补足损失的溶剂,摇匀,取少量过滤(0.45 μm 滤膜),作为复方苯硝那敏片的供试品溶液。按照卫生部药品标准[WS1-(X-196)-97Z]复方苯硝那敏片项下的处方和制法,制备不含维生素 B₆、苯巴比妥、马来酸氯苯那敏和硝西泮的复方苯硝那敏阴性片,研细,称取相当 2 片的阴性细粉,按供试品溶液的制备方法操作,制备复方苯硝那敏片的阴性供试品溶液。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 Agilent-DOS 分析色谱柱(150 mm × 4.6 mm, 4.6 μm),流动相 A:乙腈-水-三乙胺(100 : 900 : 1,含 0.01 mol/L 庚烷磺酸钠,用冰醋酸调 pH 值 3.5),流动相 B:乙腈。洗脱程序:0 ~ 12 min,A 100% ~ 70%;12 ~ 20 min,A 70%;流速:1 mL/min,检测波长 260 nm。

2.2 系统适用性试验

2.2.1 理论板数和分离度 在上述色谱条件下,取混合对照品溶液,复方苯硝那敏片阴性样品和复方苯硝那敏片供试液各 10 μL,分别进样,记录色谱图,见图 1。在图 1 中,维生素 B₆、苯巴比妥、马来酸氯苯那敏和硝西泮保留时间分别为 4.6 min、10.2 min、12.3 min 和 14.3 min,与相邻峰的分度均大于 1.5,理论板数分别约为 2 500、5 500、7 600 和 3 600。

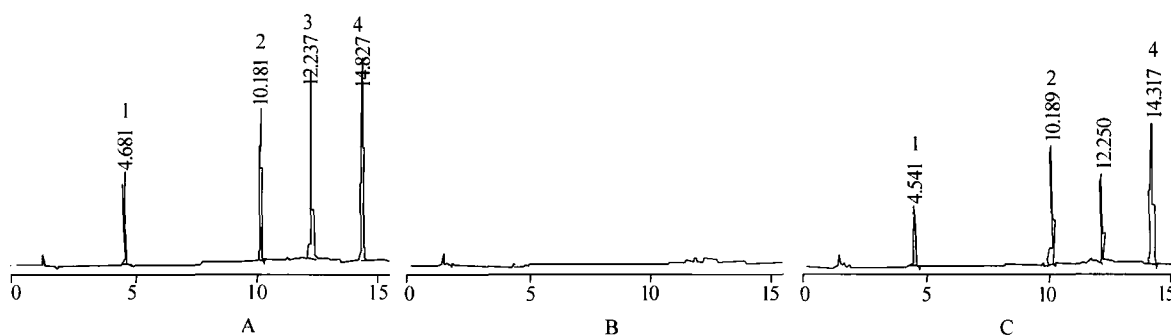


图 1 对照品和样品色谱图

A-混合对照品溶液;B-阴性样品;C-复方苯硝那敏片;1-维生素 B₆;2-苯巴比妥;3-马来酸氯苯那敏;4-硝西泮

2.2.2 精密度试验 取维生素 B₆、苯巴比妥、马来酸氯苯那敏和硝西泮混合对照品溶液重复进样 5 次,记录色谱峰面积,RSD 分别为 0.17%、0.13%、0.045% 和 1.1%。

2.3 重复性试验 按样品测定方法,制备 3 个供试品溶液(含量分别相当供试品溶液浓度的 80%、100% 和 120%,各浓度重复制备 3 份),分别测定含

量。维生素 B₆、苯巴比妥、马来酸氯苯那敏和硝西泮含量的 RSD 分别为 0.18%、0.13%、0.47 和 0.16%。

2.4 线性关系 取维生素 B₆、苯巴比妥、马来酸氯苯那敏和硝西泮混合对照品溶液(每 1 mL 含维生素 B₆ 84.20 μg、苯巴比妥 255.4 μg、马来酸氯苯那敏 61.40 μg 和硝西泮 24.80 μg)。置自动进样器中,分别取 2、6、8、10、24 μL 进样,记录色谱峰面积,

以进样量(μg)对峰面积线性回归,维生素 B_6 回归方程: $y = 251.4x + 2.403$,线性范围:0.168 4 ~ 2.021 μg , $r = 0.999\ 8$;苯巴比妥回归方程: $y = 145.8x + 1.612$,线性范围:0.510 8 ~ 6.130 μg , $r = 0.999\ 9$;马来酸氯苯那敏回归方程: $y = 697.3x - 7.252$,线性范围:0.1228 ~ 1.474 μg , $r = 0.999\ 9$;硝西洋回归方程: $y = 276.7x + 17.75$,线性范围:0.049 60 ~ 0.595 2 μg , $r = 0.999\ 8$ 。

2.5 定量限 取混合对照品溶液,用37%乙腈稀释至峰高约为基线噪音的10倍进样,测得维生素 B_6 、苯巴比妥、马来酸氯苯那敏和硝西洋的定量限均小于0.01 μg 。

2.6 加样回收率 按照本品处方,分别制备含量相当于标示量80%、100%和120%的样品,按含量测定项下方法每个样品各测定3次,计算回收率。回收率测定结果见表1、表2、表3和表4。

表1 维生素 B_6 回收率测定结果

编号	加入量 (mg/片)	测得量 (mg/片)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
1	3.5	3.498	99.9		
2	3.5	3.504	100.1		
3	3.5	3.515	100.4		
4	2.8	2.809	100.3		
5	2.8	2.808	100.3		
6	2.8	2.806	100.2	100.1	0.18
7	4.2	4.198	100.0		
8	4.2	4.198	100.0		
9	4.2	4.202	100.0		

表2 苯巴比妥回收率测定结果

编号	加入量 (mg/片)	测得量 (mg/片)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
1	12	11.92	99.3		
2	12	11.92	99.3		
3	12	11.95	99.6		
4	9.6	9.55	99.5		
5	9.6	9.55	99.5		
6	9.6	9.56	99.5	99.4	0.12
7	14.40	14.29	99.2		
8	14.40	14.30	99.3		
9	14.40	14.30	99.3		

2.7 耐用性

2.7.1 供试品溶液稳定性 配制供试品溶液,10 h内重复进样测定6次,维生素 B_6 、苯巴比妥、马来酸氯苯那敏和硝西洋含量的RSD均不大于0.70%,显示供试品溶液至少在10 h内稳定。

2.7.2 流动相的组成比例和pH 在研究分析方法的过程中可以看出,流动相中有机相和水相的比例有小的变动(1%变化)、pH值在3.0~4.0范围变

动,对测定结果无明显影响。

表3 马来酸氯苯那敏回收率测定结果

编号	加入量 (mg/片)	测得量 (mg/片)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
1	1.600	1.594	99.6		
2	1.600	1.593	99.5		
3	1.600	1.593	99.6		
4	1.280	1.277	99.8		
5	1.280	1.262	98.6	99.3	0.47
6	1.280	1.261	98.5		
7	1.920	1.903	99.1		
8	1.920	1.914	99.7		
9	1.920	1.906	99.3		

表4 硝西洋回收率测定结果

编号	加入量 (mg/片)	测得量 (mg/片)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
1	1.000	1.007	100.7		
2	1.000	1.007	100.7		
3	1.000	1.010	101.0		
4	0.800 0	0.804	100.6		
5	0.800 0	0.805	100.6	100.7	0.16
6	0.800 0	0.805	100.6		
7	1.200	1.206	100.5		
8	1.200	1.208	100.7		
9	1.200	1.209	100.7		

2.8 含量测定 按照上述方法制备混合对照品溶液和供试品溶液,分别取对照品溶液和供试品溶液各10 μL 进样测定,外标法以峰面积计算。测定了3批复方苯硝那敏片的含量,结果见表5。

表5 样品含量测定结果

样品批号	维生素 B_6 (mg/片)	苯巴比妥含量 (mg/片)	马来酸氯苯那敏 (mg/片)	硝西洋含量 (mg/mL)
070313-1	3.504	11.93	1.594	1.008
070313-2	3.500	11.91	1.596	1.004
070313-3	3.515	11.95	1.593	1.010

3 讨论

3.1 马来酸氯苯那敏、硝西洋在260 nm波长处有最大吸收,维生素 B_6 和苯巴比妥在此波长处为吸收值变化比较平缓的肩部,由于在复方苯硝那敏片中马来酸氯苯那敏和硝西洋的含量及其吸收值相对较低,测定中为了提高马来酸氯苯那敏和硝西洋的吸收面积,故选定260 nm作为检测波长,此波长下,维生素 B_6 和苯巴比妥灵敏度也可以满足准确测定的要求。

3.2 提取试验显示,以37%的乙腈为溶剂,超声

10、15 和 20 min 结果一致,所以选用超声 15 min。

3.3 本方法精密度、准确度好,操作简便,可用于复方苯硝那敏片中维生素 B₆、苯巴比妥、马来酸氯苯那敏和硝西洋含量测定。

参考文献:

[1] 刘刚,王驰,闵庆旺,等. 离子对 HPLC 测定特种维生素 B₆ 注射液维生素 B₆ 含量[J]. 解放军药理学学报,2003,19(4): 248.
 [2] 张怡. HPLC 测定复方长效氨茶碱中茶碱和苯巴比妥含量

[J]. 药物分析杂志,2002,20(2):132.
 [3] 杨文静,邹春梅. 液相色谱法测定硝基安定片的含量[J]. 山西医科大学学报,1999,(30)增刊:9.
 [4] 李小清. 高效液相色谱测定复方磷酸可待因溶液中的扑尔敏含量[J]. 中国药业,2001,10(1):29.
 [5] 方洪壮,雷力,孙长海. 紫外分光光度法测定复方苯巴比妥的含量[J]. 中国医院药学杂志,1996,16(7):304.
 [6] 李贵明,安健康,员克明,等. 薄层色谱扫描法测定家兔尿中硝基安定含量的研究[J]. 山西临床医药杂志,1997,6(1): 35.

收稿日期:2007-03-22

高效液相色谱法测定氯霉素醇溶液中氯霉素的含量

刘海英,杨宁,黄力,沈振华,苏芳(北京军区药检所,北京 100071)

摘要 目的:建立高效液相色谱法测定氯霉素醇溶液中氯霉素的含量。**方法:**采用高效液相色谱法,色谱柱为 ZORBAX 80A Extend-C₁₈(4.6 mm × 150 mm, 5 μm);以乙腈-0.1% 庚烷磺酸钠溶液(25 : 75)为流动相;检测波长:278 nm;流速:1 mL/min;柱温:35℃;进样量:10 μL。**结果:**浓度在 24.74 ~ 247.4 μg/mL ($r = 0.9999$) 范围内具有良好线性关系,平均回收率为 99.28%,RSD 为 0.27% ($n = 9$)。**结论:**方法可靠、简单可行,可用于测定氯霉素醇溶液中氯霉素的含量。

关键词 氯霉素醇溶液;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:**1006-0111(2008)04-0289-03

Determination of chloramphenicol alcoholic solution by HPLC

LIU Hai-ying, YANG Ning, HUANG Li, SHEN Zhen-hua, SU Fang (Institute for Drug and Instrument Control of United Logistics Department of Beijing Command, PLA, Beijing 100071, China)

ABSTRACT Objective: To developed a method for determination of chloramphenicol alcoholic solution. **Methods:** HPLC method was carried out on a ZORBAX 80A Extend-C₁₈ column(4.6 mm × 150 mm, 5 μm) with UV detection at 278 nm. The mobile phase was acetonitrile-0.1% sodium heptanesulfonate(25 : 75) with a flow rate of 1.0 mL/min. The column temperature was 35 °C and the inject volumes was 10 μL. The content of chloramphenicol was calculated by external standardization method. **Results:** There was a good linear relationship for chloramphenicol within the range of 24.74 ~ 247.4 μg/mL ($r = 0.9999$). The average recovery was 99.28% and RSD was 0.27% ($n = 9$). **Conclusion:** The method is simple, specific and not interfered by excipients. It is accurate for quality control of chloramphenicol alcoholic solution.

KEY WORDS chloramphenicol ; HPLC; alcoholic solution

氯霉素醇溶液具有抗菌消炎作用,用于脂溢性皮炎、毛囊炎及痱子等。收载于《中国人民解放军医疗机构制剂规范》2002 年版,其主要成分氯霉素的含量测定目前有采用紫外分光光度法,有采用 C₈ 色谱柱 HPLC 法,氯霉素中有关物质有氯霉素二酯物及对硝基苯甲醛,因此笔者采用高效液相色谱法

C₁₈ 色谱柱测定其含量,结果准确,重现性好,可用于本品的质量控制。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 Agilent 1100 型高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司),UV-2450 岛津紫外可见分光光度计(日本岛津公司),R200D 沙多利斯电子分析天平。

1.2 试剂 氯霉素对照品(批号 130555-200501,含

作者简介:刘海英(1976-),女,学士,主管药师. Tel:(010)66716346, E-mail:liuhaiyingz@sohu.com;lhy197176@sohu.com.