

doi:10.3969/j.issn.1000-9760.2013.04.007

高效液相色谱法测定复方氨酚烷胺胶囊中咖啡因和对乙酰氨基酚含量

凌爱霞 李淑玲

(济宁医学院基础学院, 山东 济宁 272067)

摘要 **目的** 用高效液相色谱法测定复方氨酚烷胺胶囊中咖啡因和对乙酰氨基酚的含量。**方法** 采用迪玛 C18 色谱柱,流动相为水—甲醇(60:40),流速 1.0ml/min,检测波长 273nm,进样量 20 μ l,柱温为室温。**结果** 咖啡因和对乙酰氨基酚与杂质分离效果较好。咖啡因在 0.0151~0.0755mg/ml 浓度范围内呈良好线性($r=0.9996$),平均加样回收率为 99.7%,RSD 为 0.65%;对乙酰氨基酚在 0.2499~1.2495mg/ml 浓度范围内呈良好线性($r=0.9995$),平均加样回收率 99.7%,RSD 为 1.6%。**结论** 该方法简便、准确,是测定复方氨酚烷胺胶囊中对乙酰氨基酚与咖啡因含量的一种好的方法,可作为该药的质量控制标准。

关键词 高效液相色谱法;复方氨酚烷胺胶囊;对乙酰氨基酚;咖啡因

中图分类号:R927.2 文献标志码:A 文章编号:1000-9760(2013)08-256-03

Determination of caffeine and paracetamol in compound paracetamol and amantadine hydrochloride capsules by HPLC

LING Ai-xia, LI Shu-ling

(Academy of Basic Medicine, Jining Medical University, Jining 272067, China)

Abstract: Objective To establish a high performance liquid chromatograph method for determination of caffeine and paracetamol in compound paracetamol and amantadine hydrochloride capsules. **Methods** Inertsil C18 column was used with a mobile phase composed of water-methanol (60:40) at a flow rate of 1.0 ml/min. The detection wavelength was 273nm and injection volume was 20 μ l. The temperature of column was room temperature. **Results** The calibration curve of caffeine was linear in the range of 0.0151~0.0755 mg/ml, $r=0.9996$, and paracetamol was linear in the range of 0.2499~1.2495 mg/ml, $r=0.9995$. The average recovery rate of caffeine was 99.7% with RSD 0.65% ($n=6$) and paracetamol was 99.7% with RSD 1.6% ($n=6$). **Conclusion** This method is simple, accurate, reliable and can be used for determination of paracetamol and caffeine in compound paracetamol and amantadine hydrochloride capsules.

Key words: High performance liquid chromatograph; Compound paracetamol and amantadine hydrochloride capsules; Paracetamol; Caffeine

复方氨酚烷胺胶囊是由对乙酰氨基酚、咖啡因等 5 种成分组成的复方制剂。其质量标准收载于部颁标准^[1]中,此标准仅规定了对乙酰氨基酚和盐酸金刚烷胺的含量,对咖啡因无含量测定要求,且对乙酰氨基酚的含量的测定采用的是外指示剂法,此方法步骤繁琐易受干扰,总体上不利于控制该药的产品质量^[2]。我们应用高效液相色谱法测定复方氨酚烷胺胶囊中咖啡因和对乙酰氨基酚的含量,方法介绍如下。

1 仪器和试剂

岛津高效液相色谱仪(包括 LC-10ATVP 型输液泵、SPD-10AVP 型紫外-可见检测器);C-R8A 高效液相色谱积分仪;迪玛 C₁₈ (250mm $\times$ 4.6mm, 5 μ m)柱;TU-1901 双光束紫外可见分光光度计(北京普新通用仪器有限责任公司);KQ-500DB 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);SYZ-550 型石英亚沸高纯水蒸馏器(江苏金坛市金城国胜实验仪器厂);SHB-B 型循环水式多用真空

泵(郑州长城科工贸有限公司);甲醇(色谱纯,天津市永大化学试剂开发中心);重蒸水;咖啡因和对乙酰氨基酚对照品(中国药品生物制品检定所提供);复方氨酚烷胺胶囊(山西云华药业有限公司)。

2 结果

2.1 色谱条件

色谱柱为迪玛 C18 柱(250mm×4.6mm, 5μm),检测波长 273nm,流动相为水—甲醇(60:40),进样量 20μl,控制流速 1.0ml/min,柱温为室温。在此条件下对乙酰氨基酚与咖啡因能得到较好分离,如图 1、2 所示。

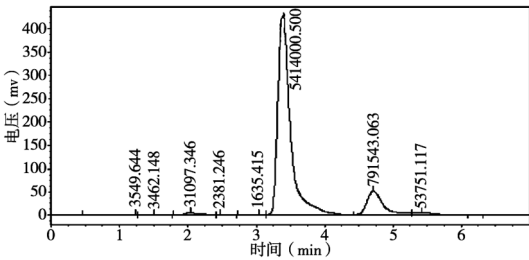


图 1 咖啡因、对乙酰氨基酚标准品

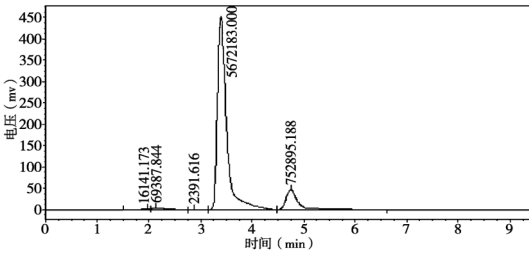


图 2 咖啡因、对乙酰氨基酚样品溶液

2.2 对照品溶液的制备

用电子天平精密称取咖啡因对照品 0.0151g 和对乙酰氨基酚对照品 0.2499g,置于 100ml 容量瓶中,先加入适量流动相超声 5min 溶解,再用流动相定容至刻度,充分摇匀,作为对照品贮备液。精密量取对照品贮备液 5.00ml,置于 25ml 容量瓶中,用流动相定容至刻度,充分摇匀,作为对照品溶液。

2.3 样品溶液的制备

取装量差异项下的本品内容物,研细,精密称取 0.1995g,按照 2.2 溶液配制的步骤溶解定容到 50ml 容量瓶中,充分摇匀后用微孔滤膜滤过。精密量取续滤液 5.00ml,置于 25ml 容量瓶中,用流动相定容至刻度并充分摇匀,作为样品溶液。

2.4 标准曲线

精密吸取对照品贮备液 2.50ml、5.00ml、

7.50ml、10.00ml、12.50ml,分别置于 25ml 容量瓶中,加流动相稀释至刻度,充分摇匀。分别进样 20μl,测定结果如下:咖啡因回归线性方程为 $y = 25615x + 41020$,相关系数 $r = 0.9996$,因此在 0.0151~0.0755mg/ml 浓度范围内线性关系良好。结果见表 1。以浓度(μg/ml)为横坐标,峰面积为纵坐标作标准曲线,如图 3 所示;对乙酰氨基酚回归线性方程为 $y = 9961.8x + 512889$,相关系数 $r = 0.9995$,因此在 0.2499~1.2495mg/ml 浓度范围内线性关系良好。见表 2。以浓度(μg/ml)为横坐标,峰面积为纵坐标作标准曲线,如图 4 所示。

表 1 咖啡因线性关系的考察

标准品浓度(μg/ml)	15.1	30.2	45.3	60.4	75.5
峰面积	420800	808299	1213037	1611754	1953003

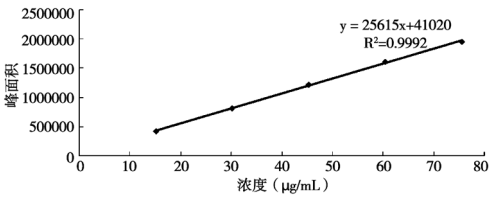


图 3 咖啡因标准曲线

表 2 对乙酰氨基酚线性关系的考察

标准品浓度(μg/ml)	249.9	499.8	749.7	999.6	1249.5
峰面积	2898721	5537021	8034053	10600659	12799610

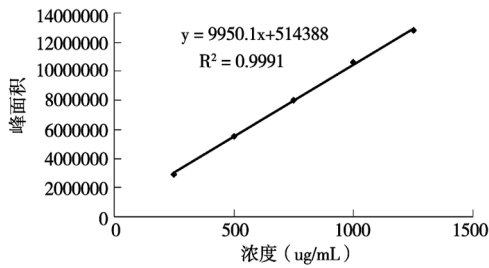


图 4 对乙酰氨基酚标准曲线

2.5 精密度试验

在上述色谱条件下,精密吸取咖啡因和对乙酰氨基酚对照品溶液,进样 20μl,连续测定 6 次,记录峰面积,RSD 分别为 1.4% 和 1.7%,精密度良好。

2.6 重复性试验

精密称取样品 5 份,分别为 0.1995g、0.1995g、0.1994g、0.1994g、0.1998g,按照 2.2 溶液配制的步骤溶解定容到 50ml 容量瓶中,充分摇匀后用微孔滤膜滤过。精密量取续滤液 5.00ml,置 25ml 容量瓶中,用流动相定容至刻度并充分摇

匀,进样,结果咖啡因和对乙酰氨基酚的平均质量分数分别为 88.96%、102.8%,RSD 分别为 2.4%、2.3%,表明重复性良好。

2.7 加样回收实验

精密称取样品 6 份,分别为 0.1995g、0.1995g、0.1994g、0.1994g、0.1993g、0.1997g,按照 2.2 溶液配制的步骤溶解定容到 50ml 容量瓶中,充分摇匀后用微孔滤膜滤过。精密量取续滤液 5.00ml,置于 25ml 容量瓶中,再分别精密加入对照品贮备液 5.00ml,再用流动相定容至刻度并充分摇匀,进样,记录峰面积,结果见表 3。

表 3 加样回收实验						
成分	样品含量 (μg)	加样量 (μg)	实测量 (μg)	回收率 (%)	平均加样 回收率 (%)	RSD (%)
咖啡因	664.335	755	1411.5	99.0	99.7	0.65
	664.002	755	1413.25	99.2		
	664.335	755	1417.47	99.3		
	664.002	755	1422	100.4		
	663.669	755	1413.75	99.4		
	665.001	755	1424.25	100.6		
对乙酰	12666.255	12495	25171.5	100.1	99.7	1.6
氨基酚	12659.906	12495	25376.75	101.8		
	12666.255	12495	25103.25	99.5		
	12659.906	12495	25090	99.5		
	12653.557	12495	24765	96.9		
	12678.953	12495	25229.78	100.5		

2.8 稳定性实验

在上述色谱条件下,间隔 2h 进样一次,共进样 4 次,测得样品中咖啡因、对乙酰氨基酚的含量,RSD 分别为 0.93%、1.4%,说明该样品在 8h 内稳定。

2.9 样品含量测定

在上述色谱条件下,取样品溶液进样,记录峰面积,代入标准曲线测得咖啡因、对乙酰氨基酚含量如下表 4。

表 4 样品含量测定		
	峰面积	标示百分含量(%)
咖啡因	743723	91.9
对乙酰氨基酚	5548040	101.5

3 讨论

3.1 检测波长的选择

咖啡因的最大吸收波长是在 198nm 和 273nm 处,对乙酰氨基酚的最大吸收波长是在 194nm 和 245nm 处,如图 5 所示。但因为咖啡因含量低,而

对乙酰氨基酚含量约是它的 17 倍,并且检测波长应大于溶剂的截止波长,所以综合考虑最后选择咖啡因有最大吸收的 273nm 处。实验结果表明此处两种成分都能达到好的效果。

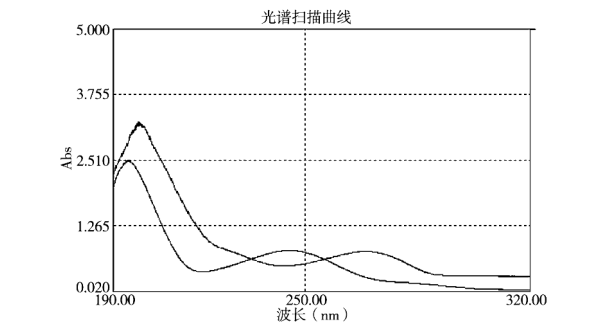


图 5 咖啡因和对乙酰氨基酚的紫外吸收图谱

3.2 流动相的选择

采用水-甲醇为流动相,考察了甲醇占 24%、30%、35%、40%、60% 这 5 个比例的流动相对分离效果的影响,最终选择流动相为水—甲醇(60 : 40)。因为此条件下分离效果较好,而且保留时间较短。

本实验在同一色谱条件下对复方氨酚烷胺胶囊中对乙酰氨基酚和咖啡因的含量进行了测定,结果咖啡因和对乙酰氨基酚与杂质分离效果较好,咖啡因在 0.0151~0.0755mg/ml 浓度范围内呈良好线性,平均加样回收率为 99.7%,RSD 为 0.65%;对乙酰氨基酚在 0.2499~1.2495mg/ml 浓度范围内呈良好线性,平均加样回收率 99.7%,RSD 为 1.6%。此方法简便、分离效果好,可作为该药的质量控制标准。

参考文献:

[1] 中华人民共和国卫生部药典委员会编.中华人民共和国卫生部药品标准(二部)第 5 册[S].1996:60-61.
[2] 吴卫涛.HPLC 法测定复方氨酚烷胺胶囊中对乙酰氨基酚与咖啡因的含量[J].临床医药实践,2009,18(11):1590-1592.
[3] 徐连明,严令耕.HPLC 法测定复方氨酚烷胺胶囊中对乙酰氨基酚和咖啡因的含量[J].黑龙江医药,2009,22(5):596-597.
[4] 陈梅新,陈鋈.高效液相色谱法同时测定复方氨酚烷胺胶囊中 3 种组分的含量[J].中国现代应用药学杂志,2002,19(4):317-318.
[5] 宋闰军.HPLC 法测定复方氨酚烷胺片中 对乙酰氨基酚的含量[J].中国医药科学,2013,3(2):102-103.
[6] 丁瑞芳,张敏娜,朱军.高效液相色谱法测定 可乐中咖啡因含量[J].济宁医学院学报,2012,35(2):106-108.

(收稿日期 2013-06-15)