

HPLC 测定复方关节炎胶囊中维生素 B₁、 吡罗昔康和醋酸泼尼松

冯维希¹, 陈坚², 陈乃江², 张源源¹

(1. 江苏联合职业技术学院连云港中医药分院, 江苏 连云港 222006;

2. 连云港药品检验所, 江苏 连云港 222006)

[摘要] 目的:建立了高效液相色谱-二极管阵列检测器(HPLC-DAD)测定复方关节炎胶囊中维生素 B₁、吡罗昔康和醋酸泼尼松 3 种西药成分。方法:采用 HPLC-DAD 分析技术确定复方关节炎胶囊中 3 种西药成分,并对其进行含量测定。色谱柱 Phenomenex Luna ODS C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相为乙腈-0.1% 磷酸溶液(38:62),柱温室温,流速 1.0 mL·min⁻¹,检测波长 254 nm。结果:复方关节炎胶囊中检出维生素 B₁、吡罗昔康和醋酸泼尼松 3 种西药成分含量分别为 22.6, 13.8, 7.12 mg·g⁻¹。结论:方法简便,结果准确,可作为中药制剂中西药成分的检测分析方法。

[关键词] 高效液相色谱;二极管阵列检测器;复方关节炎胶囊;维生素 B₁;吡罗昔康;醋酸泼尼松

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)09-0087-03

Determination of Vitamin B₁ Piroxicam and Prednisone Acetate in Compound Arthritis Capsules by HPLC

FENG Wei-xi¹, CHEN Jian², CHEN Nai-jiang², ZHANG Yuan-yuan¹

(1. Lianyungang Chinese Medicine Branch of Jiangsu United Vocational College, Lianyungang 222006, China;

2. Lianyungang Institute for Drug Control, Lianyungang 222006, China)

[Abstract] **Objective:** To analyze western medicines added in Compound Arthritis Capsules by High performance liquid chromatography-diode array detector (HPLC-DAD). **Method:** To identify and determine of vitamin B₁, piroxicam and prednisone acetate in compound arthritis capsules by HPLC-DAD. The HPLC conditions were as follows: column of Phenomenex luna ODS C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), mobile phase consisted of acetonitrile-0.1% phosphoric acid solution (62:38), detection wavelength of 254 nm, flow rate of 1.0 mL·min⁻¹ and column temperature of 30 °C. **Result:** Compound arthritis capsules contained vitamin B₁, piroxicam and prednisone acetate and the contents were 22.6, 13.8, 7.12 mg·g⁻¹. **Conclusion:** The methods is simple, reliable and can used to analyze western medicines added in traditional Chinese medicines.

[Key words] HPLC; DAD; compound arthritis capsules; vitamin B₁; piroxicam; prednisone acetate

风湿和类风湿性关节炎是临床上常见的一种疾病,在我国尤其是在农村患病率较高。复方关节炎胶囊是前阶段严肃查处的非法添加西药成分的三无产品类中成药制剂,系非法分子将激素类和抗风湿

止痛类西药成分参入到中成药制剂中。这类假药能够暂时缓解症状,但是长期服用形成药物依赖,不仅加重病情,而且容易造成严重的不良反应,如骨质疏松、瘫痪甚至死亡等病例^[1]。由于添加的西药成分具有不确定性,采用一般检测分析方法很难确定其成分,笔者参考相关文献^[2-4]通过高效液相色谱法-二极管阵列检测器(HPLC-DAD),通过 DAD 光谱进行定性,检测出产品含有维生素 B₁、吡罗昔康和醋

[收稿日期] 20110126(003)

[第一作者] 冯维希,本科,副教授,从事中药化学研究与应用,
E-mail: fengweixi@sina.com

酸泼尼松 3 种西药成分,并对 3 种西药成分进行了含量测定,为建立相关的检测体系提供依据。

1 仪器与试剂

Waters-2695 型高效液相色谱仪, Waters-2996 型二极管阵列紫外检测器, Empower 色谱工作站, Phenomenex luna ODS C₁₈ 柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 维生素 B₁ 对照品、吡罗昔康对照品、醋酸泼尼松对照品 (中国药品生物制品检定所); 乙腈为色谱纯, 磷酸为优级纯, 水为双蒸水, 复方关节炎胶囊为连云港药品检验所抽检样品。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 流动相为乙腈-0.1% 磷酸溶液 (38:62) (用三乙胺调节 pH 至 3.0), 柱温为室温, 流速为 1.0 mL·min⁻¹, 检测波长为 254 nm, 进样体积 15 μL, 在该色谱条件下维生素 B₁、吡罗昔康、醋酸泼尼松理论塔板数均不低于 5 000, 相互分离度均大于 1.5。

2.2 混合对照品溶液的制备 精密称取维生素 B₁ 对照品约 13 mg、吡罗昔康对照品约 20 mg、醋酸泼尼松对照品约 20 mg, 同置 100 mL 量瓶中, 加流动相 50 mL 超声溶解, 放冷并用流动相稀释至刻度, 摇匀。精密量取 5 mL 置 25 mL 量瓶中, 用流动相稀释到刻度。用 0.45 μm 滤膜过滤, 弃去初滤液, 取续滤液, 即得对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备 取供试品 2 粒, 倾出内容物, 精密称定, 置 200 mL 量瓶中, 加流动相 100 mL 摇匀, 超声使溶解, 放冷并用流动相稀释至刻度, 用 0.45 μm 滤膜滤过, 取续滤液作为供试品溶液。

2.4 可行性试验 取混合对照品溶液和供试品溶液分别进样 10 μL, 在 254 nm 处记录色谱图, 结果见图 1。由图 1 可知, 混合对照品中维生素 B₁、吡罗昔

康和醋酸泼尼松 3 种西药成分均能达到基线分离, 分离良好。混合对照品中 3 种组分出峰处, 供试品色谱中同样出现相对应的色谱峰, 表明供试品中可能含有维生素 B₁、吡罗昔康、醋酸泼尼松 3 种西药成分。

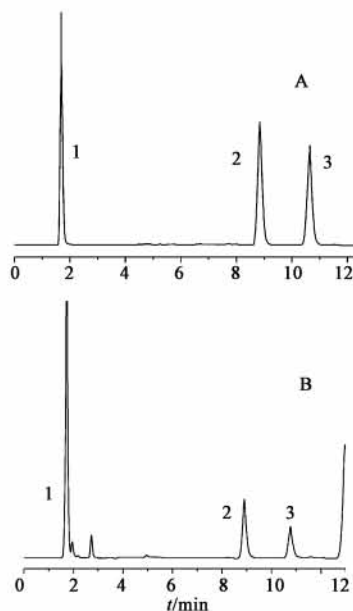


图 1 混合对照品 (A) 和供试品 (B) 溶液的 HPLC

1. 维生素 B₁; 2. 吡罗昔康; 3. 醋酸泼尼松

2.5 紫外光谱的比较 如果单纯以色谱峰的保留时间来判断样品成分, 可能造成误判, 用 DAD 对各组分进行波长扫描, 通过比较供试品成分和对照品成分的 DAD 紫外吸收光谱图, 可看出供试品成分和对照品成分的紫外光谱完全一致, 最大吸收波长相互对应, 表明供试品中的该峰即为我们要测的西药成分峰, 复方关节炎胶囊中含有维生素 B₁、吡罗昔康和醋酸泼尼松 3 种西药成分, 见图 2。

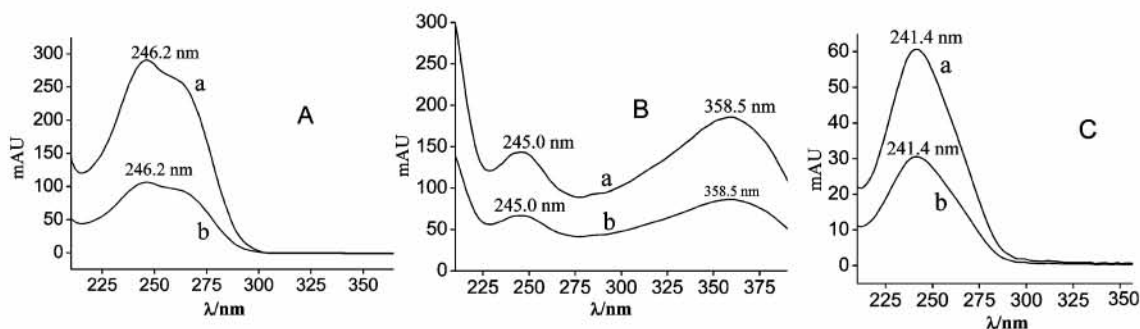


图 2 对照品 (a) 和样品 (b) 组分二极管阵列光谱

A. 维生素 B₁; B. 吡罗昔康; C. 醋酸泼尼松

2.6 线形关系的考察 取维生素 B₁、吡罗昔康、醋酸泼尼松混合对照品溶液,分别进样 5, 10, 15, 20, 25 μL , 选择测定波长 254 nm, 记录各成分色谱峰面积, 以进样量为横坐标 (X), 色谱峰面积为纵坐标 (Y) 分别进行线性回归, 通过计算可得维生素 B₁、吡罗昔康、醋酸泼尼松的回归方程分别为 $Y = 413\ 374X + 2\ 274$ ($r = 0.999\ 7$); $Y = 1\ 402\ 372X + 40\ 439$ ($r = 0.999\ 8$); $Y = 1\ 692\ 354X + 250$ ($r = 0.999\ 8$), 线性范围分别为 0.132 ~ 0.661 μg , 0.203 ~ 1.015 μg , 0.203 ~ 1.015 μg 。

2.7 精密度试验 取混合对照品溶液 10 μL , 重复进样 6 次, 记录色谱峰面积, 结果表明维生素 B₁、吡罗昔康、醋酸泼尼松成分峰面积的 RSD 分别为 1.63%, 1.02%, 0.84%。

2.8 重复性试验 按照样品测定方法, 取同一批次复方关节炎胶囊, 制备 5 个同一浓度的供试品溶液, 分别测定维生素 B₁、吡罗昔康、醋酸泼尼松成分的含量, 测定的各组分峰面积的 RSD 分别为 1.51%, 1.44%, 1.72%, 重复性良好。

2.9 稳定性实验 制备供试品溶液, 避光保存, 分别在 0, 1, 3, 5, 8 h 进样 10 μL , 记录色谱峰面积, 结果表明维生素 B₁、吡罗昔康、醋酸泼尼松成分峰面积的 RSD 分别为 1.87%, 1.45%, 1.39%, 表明供试品溶液在 8 h 内基本稳定。

2.10 加样回收试验 采用加样回收法, 取复方关节炎胶囊供试品溶液测定含量后, 再取同一批供试液 3 份, 分别加入适量的维生素 B₁、吡罗昔康、醋酸泼尼松混合对照品溶液, 按供试品制备方法进行制备和测定, 计算维生素 B₁、吡罗昔康、醋酸泼尼松理论添加量和回收率, 结果见表 1。

表 1 样品加样回收率测定

组分	基础值 /mg	加入量 /mg	测得总量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
维生素 B ₁	1.095	0.104	1.200	100.1	98.1	1.86
		0.208	1.274	97.8		
		0.312	1.358	96.5		
吡罗昔康	0.675	0.176	0.846	99.4	98.5	1.23
		0.352	1.010	98.3		
		0.528	1.175	97.7		
醋酸泼尼松	0.334	0.162	0.498	100.5	99.1	1.47
		0.324	0.652	97.6		
		0.486	0.814	99.3		

2.11 样品的含量测定 取不同批次样品, 按上述供试品溶液的制备方法制备供试品溶液, 分别进样

10 μL , 记录色谱图, 外标法计算含量, 结果见表 2。

表 2 样品中 3 种成分测定 ($n=3$) $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$

批次	维生素 B ₁	吡罗昔康	醋酸泼尼松
001	21.9	13.5	6.69
002	22.8	13.9	7.23
003	23.0	14.1	7.43
平均值	22.6	13.8	7.12

3 讨论

维生素 B₁、吡罗昔康、醋酸泼尼松 3 种成分均在 225 ~ 275 nm 具有较强的紫外吸收, 为保证各成分具有适宜的灵敏度和精密度, 本试验选用 3 中成分均有较强吸收的 254 nm 作为测定波长。本试验尝试过甲醇-水、乙腈-水等多种流动相体系, 发现使用乙腈-0.1% 磷酸溶液 (38:62) 作为流动相 3 种西药成分分离效果较好, 色谱图简单, 峰形较好, 保留时间恰当。

中药复方制剂中添加西药成分是国内外关注的热点问题, 由于可添加的西药成分种类及数量繁多, 为建立中药复方制剂的检测标准制造了很大的难度。复方关节炎胶囊是一种假药, 成分复杂系三无产品, 无法定的质量标准, 确认和检验起来难度比较大。该药非法添加了激素等化学药物成分, 长期服用会产生依赖性并加重病症。笔者通过高效液相色谱-二极管阵列检测器 (HPLC-DAD), 先通过比较未知成分和标准品的保留时间和紫外吸收光谱进行定性, 确认其含有维生素 B₁、吡罗昔康和醋酸泼尼松 3 种西药成分。然后通过外标法进行含量测定。本方法测定快速, 结果准确可靠, 为建立相关的监测体系提供依据。

[参考文献]

- [1] 杨胜. 复方关节炎胶囊致上消化道严重损害 5 例[J]. 健康大视野·医学分册, 2006, 14(9): 39.
- [2] 李玮, 胡昌勤, 杭太俊. 一种快速鉴别新方法——二维色谱相关光谱法[J]. 光谱实验室, 2005, 22(5): 933.
- [3] 宁素云, 卢方正, 郭兴杰. 中成药中非法掺入对乙酰氨基酚的检测方法研究[J]. 时珍国医国药, 2008, 19(5): 1171.
- [4] 刘福艳, 姜俊, 谢元超, 等. 液相色谱——质谱联用法检测中药制剂中掺入的双氯芬酸、醋酸泼尼松[J]. 药物分析杂志, 2009, 29(12): 2131.

[责任编辑 蔡仲德]