

· 研究报告 ·

UHPLC 法测定辐射后对乙酰氨基酚缓释片含量

于德勋¹, 黄心慧¹, 朱可涵¹, 黄 婷¹, 周婷婷¹, 高建义² (1. 海军军医大学药学院, 上海 200433; 2. 中国航天员科研训练中心, 北京 100094)

【摘要】 目的 采用超高效液相色谱法, 对 γ 射线辐射的对乙酰氨基酚缓释片进行含量测定。**方法** 采用 ^{60}Co 对对乙酰氨基酚缓释片进行辐射, 使用超高效液相色谱法测定其含量, 色谱柱为 Shim-pack GISS C₁₈ (2.1 mm×50 mm, 1.9 μm), 以 0.05% 醋酸铵溶液-甲醇 (85 : 15) 为流动相, 流速为 0.3 ml/min, 检测波长为 245 nm。**结果** 对乙酰氨基酚含量在浓度为 20 ~ 100 $\mu\text{g/ml}$ 范围内线性良好, 相关系数 $r=0.9994$, 重复性为 0.9%, 加样回收率 97.9% ~ 104.9%, 在 0、8、50 和 80 kGy 辐射量条件下, 对乙酰氨基酚含量分别为 96.2%、92.2%、91.8% 和 83.9%。**结论** 超高效液相色谱法的分离效果快速、结果准确, 适用于经辐射的对乙酰氨基酚缓释片的含量测定, 辐射后对乙酰氨基酚含量有所降低。

【关键词】 对乙酰氨基酚; 超高效液相色谱法; 含量; 辐射

【中图分类号】 R284.1

【文献标志码】 A

【文章编号】 2097-2024(2022)06-0550-03

【DOI】 10.12206/j.issn.2097-2024.202109100

Acetaminophen content assay with UHPLC in the sustained-release tablet exposed to radiation

YU Dexun¹, HUANG Xinhui¹, ZHU Kehan¹, HUANG Ting¹, ZHOU Tingting¹, GAO Jianyi² (1. School of Pharmacy, Naval Medical University, Shanghai 200433, China; 2. China Astronaut Research and Training Center, Beijing 100094, China)

【Abstract】 Objective To assay the contents of acetaminophen with ultra high-performance liquid chromatography (UHPLC) method in the sustained-release tablets radiated by Gamma ray. **Methods** Acetaminophen sustained-release tablets were radiated by ^{60}Co . UHPLC equipped with the Shim-pack GISS-C₁₈ (2.1 mm×50 mm, 1.9 μm) was used for the assay. The mobile phase was methanol-0.05 % ammonium acetate solution (15 : 85). The flow rate was 0.3 ml/min with the detection wavelength at 245 nm. **Results** The acetaminophen showed good linear relationship within the range of 20-100 $\mu\text{g/ml}$ ($r=0.9994$). The RSD values of repeatability was 0.9 %. The average recovery was 97.9 %-104.9 %. Acetaminophen content was 96.2 %, 92.2 %, 91.8 %, 83.9 % at 0, 8, 50 and 80 kGy radiation, respectively. **Conclusion** This method is speedy and accurate. It can be used to assay the content of acetaminophen in the sustained-release tablets after radiation. The content of acetaminophen decreased after radiation.

【Key words】 acetaminophen; UHPLC; content; radiation

长期的航天载人飞行的特殊环境会影响航天员的生活质量和身体健康, 因此, 需要安全、有效的药物进行预防、治疗, 以保障航天员的身体健康。然而, 空间环境与地面环境有较大的不同, 在地面上空气、温度、湿度、日光灯是主要影响药物稳定性的因素, 需要规定药物的储存条件以保证药物在一定有效期内可以安全使用。但是, 航天环境中的稳定性因素主要是空间辐射, 包括非电离辐射和电离辐射。在执行航天任务的过程中, 宇航员会受到

空间电离辐射的影响。美国航空航天局(NASA)认为, 空间辐射在未来可能会成为人类进行深空探测活动的最大限制因素之一^[1]。其中的非电离辐射可以被药品的包装等屏蔽, 而电离辐射的 γ 射线、 χ 射线等电磁波以及电子、质子、高能粒子等则难以完全屏蔽, 会使药物的结构发生一定变化, 从而导致其失效。

对乙酰氨基酚具有解热镇痛作用, 临床上主要用于缓解轻、中度疼痛, 如能最小限度地缓解膝关节的疼痛, 是轻型骨关节炎短期镇痛的首选药物, 广泛用于发热、头痛、神经痛以及痛经等症状, 是常用的非处方药, 也是航天飞行中的必备药物^[2-4]。

为了考察对乙酰氨基酚缓释片在太空环境中的稳定性, 本研究采 ^{60}Co 辐射模拟太空的射线环

【基金项目】 军队后勤科研项目(BWS17J028)

【作者简介】 于德勋, 硕士, Email: ydxtrenem@163.com

【通信作者】 周婷婷, 博士, 教授, 博士生导师, 研究方向: 中药药效物质基础与体内代谢研究, Email: tingting_zoo@163.com

境。 ^{60}Co 是金属元素钴的放射性同位素之一, 是一种穿透力很强的核辐射元素, 通过 β 衰变释放能量产生 β 射线和 γ 射线。而太空辐射是一种包含 γ 射线、高能质子和宇宙射线的特殊混合体, ^{60}Co 辐射和太空辐射都包含 γ 射线, 且 ^{60}Co 的 γ 射线有很强的穿透力, 效果显著, 具有常温常压可处理, 方法简单, 成本低廉等优点^[5], 常以放射源形式在各行各业广泛应用, 因此, 可以选择 ^{60}Co 辐射模拟太空的射线环境。

本文建立 UHPLC 法测定不同辐射剂量下的对乙酰氨基酚缓释片的含量变化, 为太空环境下药品稳定性研究提供以辐射因素为主的研究思路, 以揭示辐射因素对常用航天化学药品质量稳定性的影响, 从而, 可科学预测太空环境中药品的有效期, 为今后航天药品的制剂工艺、包装储存等提供依据。

1 仪器与试药

LC-2030 PLUS 高效液相色谱仪(日本岛津公司); 电子天平(北京赛多利斯科学仪器有限公司); ^{60}Co 辐照装置(海军军医大学海军医学系辐照中心)。

对乙酰氨基酚缓释片(上海强生制药有限公司, 批号: 190611); 对乙酰氨基酚对照品(中国食品药品检定研究院, 批号: 100802-20100, 含量 99.8%); 甲醇(Merck)、乙酸铵(Fisher)均为色谱纯; 水为自制纯化水。

2 实验方法与结果

2.1 辐射样品制备

将对乙酰氨基酚缓释片(含包装)置于辐照环境中, 设定剂量辐射率, 按照接收剂量为 0、8、50、80 kGy 进行 ^{60}Co 辐射, 每天辐射 1 次, 于 1 个月后取样。

2.2 对照品溶液的制备

取对乙酰氨基酚对照品约 20 mg, 精密称定, 置 10 ml 量瓶中, 加溶剂甲醇-水(4:6)溶解并稀释至刻度, 摇匀, 得对乙酰氨基酚对照品储备液; 再精密量取 2 ml 置 100 ml 量瓶中, 加溶剂稀释至刻度, 摇匀, 得浓度为 40 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备

取经 0、8、50、80 kGy 辐射后对乙酰氨基酚缓释片各 10 片, 精密称定, 研细, 精密称取细粉适量(约相当于对乙酰氨基酚 20 mg)置 10 ml 量瓶中, 加溶剂甲醇-水(4:6)溶解并稀释至刻度, 摇匀, 再精密量取续滤液 2 ml, 置 100 ml 量瓶中, 加溶剂稀释至刻度, 摇匀, 用 0.45 μm 微孔滤膜过滤, 得供试品溶液。

2.4 色谱条件与系统适用性试验

色谱柱为 Shim-pack GISS C_{18} 色谱柱(2.1 mm $\times$ 50 mm, 1.9 μm)。流动相为甲醇-0.05% 乙酸铵溶液(15:85), 检测波长为 245 nm, 流速为 0.3 ml/min, 柱温 40 $^{\circ}\text{C}$, 进样量为 10 μl , 色谱图中对乙酰氨基酚的保留时间为 2.67 min, 理论塔板数按对乙酰氨基酚峰计算大于 5000。精密称取标准品配制浓度约为 40 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的对照品溶液, 在上述色谱条件下重复进样 6 次, 测定峰面积, 计算峰面积 RSD 为 0.02%, 表明仪器精密度良好。每个辐射强度取 1 批供试品, 按照“2.3”项下配制供试品溶液, 此色谱条件下进样分析。对照品溶液及供试品溶液的色谱结果见图 1。

2.5 线性关系考察

精密量取对乙酰氨基酚对照品储备液 1、2、3、4、5 ml, 置 100 ml 量瓶中, 加溶剂稀释至刻度, 摇匀, 得浓度分别为 20、40、60、80、100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的工作曲线。按“2.4”项下色谱条件分别进样 10 μl 进行测定, 记录色谱图。以对乙酰氨基酚对照品浓度($\mu\text{g}/\text{ml}$) 为横坐标, 相应峰面积为纵坐标, 绘制标

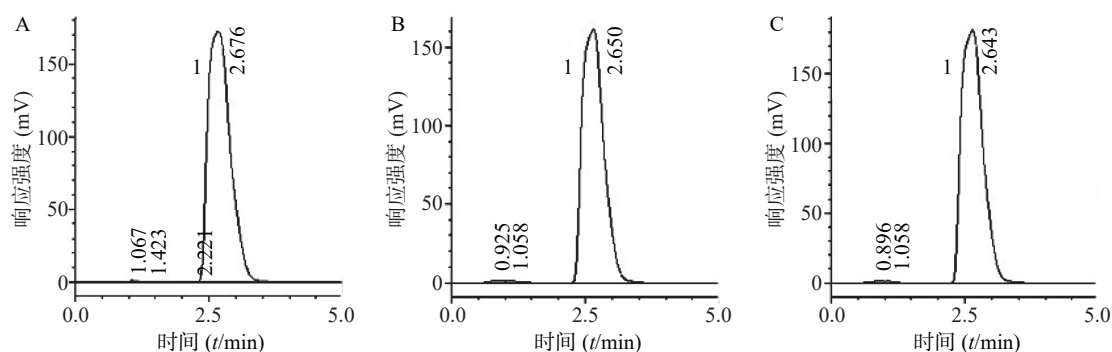


图 1 对乙酰氨基酚溶液超高效液相色谱图

A. 对照品; B. 8kGy 辐射量供试品; C. 80kGy 辐射量供试品; 1. 对乙酰氨基酚

准曲线, 得回归方程为 $Y=2.72 \times 10^5 X+1.5 \times 10^4$, $r=0.9997$, 结果表明, 对乙酰氨基酚在 20 ~ 100 $\mu\text{g/ml}$ 浓度范围内, 线性关系良好。

2.6 重复性试验

精密称取同一批未辐射的对乙酰氨基酚缓释片样品 6 份, 按照“2.3”项下方法制成供试品溶液, 按“2.4”项下色谱条件分别进样 10 μl 测定, 记录峰面积, 计算含量, 其 RSD 为 0.9%(表 1), 表明该方法重复性良好。

表 1 对乙酰氨基酚缓释片重复性试验结果

编号	含量(%)	平均含量(%)	RSD(%)
1	96.9	96.9	0.9
2	97.9		
3	98.3		
4	95.8	96.1	
5	96.1		
6	96.3		

2.7 加样回收率试验

精密称取同一批未辐射的对乙酰氨基酚缓释片样品(约相当于对乙酰氨基酚 20 mg)各 3 份, 样品分别置于 10 ml 容量瓶中, 再精密称取对乙酰氨基酚对照品 16、20、24 mg 各 3 份, 置于上述 3 个量瓶中, 加溶剂(甲醇-水为 4 : 6)溶解并稀释至刻度, 摇匀, 再精密量取续滤液 2 ml, 置于 100 ml 量瓶中, 加溶剂稀释至刻度, 摇匀, 每个浓度制备 3 份, 照“2.4”项下色谱条件进样分析, 计算回收率结果见表 2。

表 2 对乙酰氨基酚缓释片加样回收率试验结果 ($n=9$)

称量量 (m/mg)	原有量 (m/mg)	测得量 (m/mg)	加入量 (m/mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
25.61	20.98	37.19	15.98	101.4	101.5	1.6
25.62	20.99	37.21		101.5		
25.62	20.99	37.13		101.0		
25.63	21.00	42.19	20.84	101.7	101.3	
25.63	21.00	42.11		101.3		
25.62	20.99	42.85		104.9		
25.63	21.00	45.49	24.01	102.0	97.9	
25.63	21.00	44.51		97.9		
25.63	21.00	45.49		102.0		

2.8 稳定性试验

取辐射强度为 8 kGy 的供试品, 按“2.3”项下方法制备供试品溶液, 按含量测定方法测定, 在 0、1、2、5、8、12 h 分别进样 10 μl , 记录峰面积, 结果 RSD 为 0.19%, 表明溶液在 12 h 内稳定。

2.9 含量测定

每个辐射强度取 1 批供试品, 按“2.3”项下方法制备供试品溶液, 平行 3 份, 按“2.4”项下色谱条件进样分析, 记录色谱峰面积, 按照外标法计算对乙酰氨基酚含量。结果见表 3。

表 3 对乙酰氨基酚缓释片含量测定结果 ($n=3$)

辐射剂量(kGy)	含量(%)	平均含量(%)
0	96.3	96.2
	95.2	
	97.3	
8	94.2	92.2
	90.3	
	92.1	
50	90.8	91.8
	93.0	
	91.7	
80	81.7	83.9
	83.0	
	86.8	

3 讨论

3.1 含量测定方法的确定

对乙酰氨基酚片剂含量测定的常用方法, 主要有紫外分光光度法、双波长分光光度法、高效液相色谱法等^[6-8]。而常规高效液相色谱法, 主峰出峰时间较长, 若要缩短出峰时间, 则会受到干扰。超高效液相色谱法粒径更小, 柱效更高, 可使主峰峰形较好且出峰较快, 可在 5 min 内测定对乙酰氨基酚缓释片主成分含量, 便于大量辐射样品的测定, 快速且准确。

3.2 辐射对药物稳定性影响

根据原中华人民共和国卫生部发布的《⁶⁰Co 辐射中药灭菌剂量标准》^[9] 和《美国药典》第 42 版^[10] 对辐射灭菌的规定, 选定用 8、50、80 kGy 来考察不同辐射剂量下对乙酰氨基酚缓释片的质量稳定性。结果显示, 随着辐射剂量逐步增大, 在其他条件相同的情况下, 对乙酰氨基酚缓释片的主药含量逐步下降, 降解程度超过 10%。提示辐射强度越高, 药物降解的程度越大。

【参考文献】

- [1] CHANCELLOR J C, SCOTT G B I, SUTTON J P. Space radiation: the number one risk to astronaut health beyond low earth orbit[J]. Life Basel Switz, 2014, 4(3): 491-510.

(下转第 562 页)

进一步探索。综合色谱峰指认结果以及峰形、峰高等因素^[24],最终确定了9个峰作为纯阳正气胶囊挥发油特征谱的特征峰,15批挥发油的特征图中利用面积归一化法得9个特征峰面积占比均在90%以上,相似度均在0.9~1.0之间,说明挥发油的制备工艺稳定。

本文建立的气相特征谱可从整体上对纯阳正气胶囊挥发油进行控制,根据成品的功能主治及指标成分^[24]对桂皮醛和丁香酚进行含量测定,可从定量基础上更准确地反映挥发油成分的存在情况,故本实验建立的气相特征图谱和挥发油的含量测定方法可分别作为纯阳正气胶囊挥发油的质量控制方法,同时也为后续进一步提升纯阳正气胶囊质量标准提供了有效依据。

【参考文献】

- [1] 陈旭,刘畅,马宁辉,等.肉桂的化学成分、药理作用及综合应用研究进展[J].*中国药房*,2018(18):2581-2584.
- [2] 李莎莎,李凡,李芳,等.丁香的化学成分与药理作用研究进展[J].*西北药学杂志*,2021(5):863-868.
- [3] 许家其,张海红.广藿香作用的研究进展[J].*神经药理学*,2020(3):27-32.
- [4] 欧阳臻,江涛涛,缪亚东,等.苍术的化学成分、道地性和药理活性研究进展[J].*时珍国医国药*,2006(10):1936-1938.
- [5] 左军,张金龙,胡晓阳.白术化学成分及现代药理作用研究进展[J].*辽宁中医药大学学报*,2021(10):6-9.
- [6] 李雪莲,朴惠善.土木香的化学成分及药理作用研究进展[J].*中国现代中药*,2007(6):28-29+50.
- [7] 李哲,玄静,赵振华,等.半夏化学成分及其药理活性研究进展[J].*辽宁中医药大学学报*,2021(11):154-158.
- [8] 王昌亚.对陈皮药理作用的探讨[J].*临床医药文献电子杂志*,2020(15):135.
- [9] 马丽端,于密密,傅欣彤,等.感冒清热颗粒挥发油特征图谱及薄荷酮和胡薄荷酮的含量测定[J].*药物分析杂志*,2012(8):1374-1378.
- [10] 谭霖,严华,张丽艳,等.坤泰胶囊HPLC特征图谱及多成分含量测定方法的研究[J].*药物分析杂志*,2019(9):1673-1682.
- [11] 杜微波,张志强,万莹莹,等.茵陈蒿汤物质基准特征图谱的建立[J].*亚太传统医药*,2021(12):82-86.
- [12] 程艳芹,朱珊,李明春,等.鼻渊净胶囊的HPLC指纹图谱研究[J].*药学实践杂志*,2021(5):431-436.
- [13] 张志军,张桂芝,王朋朋.广藿香挥发油的红外光谱鉴定和气相色谱-质谱分析[J].*中国医药科学*,2015(1):86-88.
- [14] 姚芳,俞腾飞,朱惠珍,等.水蒸气蒸馏与超临界CO₂萃取土木香挥发油的GC-MS分析[J].*中国民族医药杂志*,2008(1):61-62.
- [15] 张怀予,王军节,陈园凡,等.水蒸气蒸馏法提取花椒精油及挥发性成分分析[J].*食品与发酵工业*,2014(7):166-172.
- [16] 李升,郭楚君,张燕,等.气相色谱-质谱技术分析中药丁香挥发油成分[J].*黑龙江医药科学*,2016(4):8-9.
- [17] 金宏,于慧荣,公衍玲.肉桂挥发油GC-MS指纹图谱研究[J].*中国林副特产*,2010(5):28-30.
- [18] 逢健,姜宇珺,马善鹏,等.基于GC-MS法分析比较四种苍术和白术挥发油成分的异同[J].*亚太传统医药*,2020,16(10):60-66.
- [19] 张新新,梁晋如,赵文娜,等.气相色谱法测定瑞克卫瑞消毒液中桂皮醛和丁香酚的含量[J].*西北大学学报(自然科学版)*,2015(2):257-260.
- [20] 曾惠芳,黄耀海,李湘力,等.百草油中薄荷脑、肉桂醛、丁香酚的含量测定[J].*中成药*,2007(4):558-560.
- [21] 赵娟,谢世静,赵兴华,等.中药指纹图谱质控方法研究进展[J].*云南中医中药杂志*,2020(1):82-86.
- [22] 赵晨曦.中药复方制剂指纹图谱质量评价研究进展[J].*临床医药文献电子杂志*,2019(A2):194.
- [23] 李玲辉,窦德强.白术挥发油中苍术酮的稳定性研究[J].*世界科学技术-中医药现代化*,2014(1):193-198.
- [24] 国家药品监督管理局.中药新药质量标准研究技术指导原则(试行)[EB/OL].(2020-10-16).<https://www.nmpa.gov.cn/xxgk/ggtg/qtggtg/20201016144518188.html>.

【收稿日期】 2021-01-13 【修回日期】 2022-01-31

【本文编辑】 李睿旻

(上接第552页)

- [2] 赵元.对乙酰氨基酚:能最小限度地缓解膝关节炎的疼痛[J].*心血管病防治知识(科普版)*,2017(9):52.
- [3] 肖壮,唐涛,孙先润,等.骨关节炎治疗药物的研究进展[J].*中国药房*,2016,27(35):5037-5040.
- [4] 尤启冬.药物化学[M].8版.北京:人民卫生出版社,2016:257-258.
- [5] 王二兵,赵正保,曲婷丽.⁶⁰Co辐照灭菌对止咳立效口服液主要成分的影响[J].*中成药*,2013,35(9):2056-2058.
- [6] 国家药典委员会.中华人民共和国药典(四部)2020版[S].北京:中国医药科技出版社,2020:387.
- [7] 谢笑英,黄文峰.中成药中对乙酰氨基酚含量测定的4种方法及比较[J].*河北医学*,2005,11(6):563-565.
- [8] 孙晶,薛壮.常用解热镇痛药中对乙酰氨基酚含量测定[J].*科技视界*,2014(5):184-185.
- [9] 中华人民共和国卫生部.⁶⁰Co辐照中药灭菌剂量标准(卫药发[1997]第38号文件)[S].1997.
- [10] United States Pharmacopeial Convention. United States Pharmacopoeia [S]. 42 edition. NF37. Rockville: The United States Pharmacopeial Convention Press, 2019: 292.

【收稿日期】 2021-09-18 【修回日期】 2021-11-24

【本文编辑】 李睿旻