

阿司匹林含量测定方法研究进展

夏方亮*, 雷永艳

(滨州市检验检测中心, 滨州 256600)

摘要: 阿司匹林为临床常用药品, 因其确切的疗效和较小的药物不良反应而为大众所熟知, 根据近年来阿司匹林含量测定方法研究成果, 介绍滴定法、紫外-可见分光光度法、高效液相色谱法、近红外漫反射法等测定阿司匹林含量方面的研究进展, 为进一步开发阿司匹林新的检测方法提供参考依据。

关键词: 阿司匹林; 含量测定; 滴定法; 紫外-可见分光光度法; 高效液相色谱法; 近红外漫反射法

Research progress on determination methods of aspirin content

XIA Fang-Liang*, LEI Yong-Yan

(Binzhou Testing Center, Binzhou 256600, China)

ABSTRACT: Aspirin is a commonly used drug in clinical practice, which is well-known to the public for its precise therapeutic effect and minimal adverse drug reactions. Based on the research results of aspirin content determination methods in recent years, this paper introduces the research progress of titration, ultraviolet and visible spectrophotometry, high performance liquid chromatography, near infrared diffuse reflectance method, etc. in determining aspirin content, providing a reference basis for further developing new detection methods for aspirin.

KEY WORDS: Aspirin; content determination; titration method; ultraviolet and visible spectrophotometry; high performance liquid chromatography; near infrared diffuse reflection method

0 引言

阿司匹林, 化学式为 $C_9H_8O_4$, 别名乙酰水杨酸, 性状为白色结晶或结晶性粉末; 遇湿气即缓慢水解; 无臭或微带醋酸臭。易溶于乙醇, 溶解于三氯甲烷、乙醚, 微溶于水、无水乙醚; 在氢氧化钠溶液、碳酸钠溶液中溶解, 但同时分解^[1]。

阿司匹林于 1898 年上市, 具有解热、镇痛、抗炎、抗风湿和抗血小板聚集等多方面作用, 药效发挥迅速, 药效肯定, 超剂量易于诊断和处理, 很少发生过敏反应, 被广泛应用于临床。本文总结分析了近年来阿司匹林原料药及制剂的含量测定方法, 概述阿司匹林含量测定方法的研究进展, 为更准确的控制阿司匹林药物质量及新方法开发提供参考。

1 阿司匹林含量测定方法

1.1 滴定法

滴定法是传统的检测方法, 具有极高的准确度, 不需要专门的仪器设备, 目前广泛应用于原料药及部分药物制剂的含量测定。

《中国药典》2020 年版二部收录的阿司匹林原料药含量测定的方法为直接滴定法^[1], 因阿司匹林在乙醇中易溶, 故溶剂使用乙醇, 又因乙醇对酚酞指示剂可能显酸性, 会消耗氢氧化钠滴定液而使测定结果偏高, 所以乙醇在使用前先用氢氧化钠中和至对酚酞指示液显中性。亦可采用常规的“空白试验校正”法消除溶剂的影响。丁世环、王蓉等采用两步滴定法测定阿司匹林肠溶片的含量, 先用氢氧化钠消除样品中酸性降解产物及酸性稳定剂的干扰, 再加入过量氢氧化钠使阿司匹林在碱性条件下水解, 然后用硫酸滴定液滴定剩余的氢氧化钠, 同时做空白试验^[2-3]。

*通信作者: 夏方亮, 副主任药师, 研究方向: 药品质量研究。E-mail: xiafl1980@126.com

*Corresponding author: XIA Fang-Liang, Deputy Chief Pharmacist, Binzhou Testing Center, Binzhou 256600, China. E-mail: xiafl1980@126.com

1.2 紫外-可见分光光度法

紫外-可见分光光度法(Ultraviolet and Visible Spectrophotometry, UV-Vis)也称为紫外可见(吸收)光谱法,是基于物质分子在紫外-可见光区(200-760 nm)范围内有辐射的吸收特性,建立起来的一种定性、定量的光谱分析方法。测定前通常先设置好波长范围,将样品配置好后取续滤液倒入吸收池中,放入仪器内进行检测,检测器检测到信号,经数据处理系统处理显示出对应的光谱图或光度图,常用于药品的鉴别、杂质检查和含量测定。进行定量分析时通常选择在待测物质的最大吸收波长处测定吸光度,再配置不同浓度对照品测定吸光度,绘制标准曲线得到吸收系数进而求出待测物质的含量。其方法灵敏度较高,一般可达 10^{-4} - 10^{-6} g/mL,同时具有仪器普及、操作简单和重现性好等优点,广泛应用于医药卫生等领域。

王晨霞、朱星枚等研究了紫外分光光度法测定阿司匹林肠溶片和人乳腺癌细胞内外液中阿司匹林的含量测定方法,取得了良好的线性关系,同时在回收率、精密度、稳定性实验及样品测定中均得到了符合标准的实验结果^[4-5]。郭新颖等建立了一种紫外分光光度法对阿司匹林中有效成分含量进行快速定量分析测定的方法,测试选择最佳吸收波长为276 nm,选择无水乙醇作为处理样品及对照品的溶剂,考虑阿司匹林水解的特性确定测定时间,绘制标准曲线,同时进行精密度和回收率试验,得到满意结果,验证了方法的可行性^[6-7]。邓冬莉等人基于阿司匹林和水杨酸在紫外光区域的特定吸收特性,根据紫外分光光度法吸光度的加和性,通过在273 nm和297 nm波长下测定阿司匹林肠溶片溶液的吸光度,同时检测阿司匹林和水杨酸的含量,在确定药品有效成分含量同时也对药品杂质进行鉴定,使检测更为便捷^[8]。

1.3 高效液相色谱法

高效液相色谱法(High Performance Liquid Chromatography, HPLC)是将预先处理好的样品装入液相小瓶放入进样器,设置好色谱条件,运行仪器,泵开始转动,带动自动进样器按照程序吸取样品,经液体流动相将样品带入色谱柱,由于样品各组分性质不同在色谱柱中保留时间不同从而实现各组分的分离,检测器检测到信号便可以实现对复杂样品的分析计算,最终由积分仪或数据处理系统对色谱图进行处理。高效液相色谱法需要根据被分离的物质性质选择合适的色谱柱。因其分析精度高,分离速度快且操作自动化在复杂样品、各种药物及其制剂、生物样品、中药等复杂体系的成分分离分析中被广泛应用并且发挥着不可替代的作用。

《中国药典》2005年版二部中阿司匹林肠溶胶囊、泡腾片、栓的含量测定开始改用高效液相色谱法,2020年版二部中阿司匹林制剂如片、肠溶片、肠溶胶囊、泡腾片、栓等均采用了高效液相色谱法测定阿司匹林含量,其选用反相色谱柱,以十八烷基硅烷键合硅胶(Ostade-Cylsilane, ODS)为填充剂,以1%冰醋酸的甲醇溶液为溶剂,乙腈-四氢呋喃-冰醋酸-水(20:5:5:70)为流动相,流动相中添加冰醋酸可抑制阿司匹林的解离,进而消除因色谱柱对阿司匹林的吸附而造成的色谱峰拖尾与分裂现象,同时,流动相及供试品溶液的醋酸也可抑制阿司匹林的水解,增加溶液的稳定性。隋译、孙瑛、巴然然、王森等采用HPLC法测定阿司匹林制剂中阿司匹林含量,用不同浓度的甲醇-冰醋酸溶液、乙腈-磷酸溶液或甲醇-磷酸盐缓冲液为流动相,取得了满意的检测结果^[9-12]。

1.4 近红外漫反射法

近红外分光光度法是一种光谱分析技术,是利用物质在近红外光谱区(780-2500 nm, 12800-4000 cm^{-1})处存在特征光谱,运用化学计量学方法以及电子计算机技术可实现对物质定性、定量分析。检测时无需对样品进行特殊处理,设置好光谱扫描范围,可直接利用探测器照射样品表面,之后经检测器、数据处理系统对信号进行分析处理,形成光谱图。不仅能进行“离线”分析,还能直接进行“在线”过程控制,可以直接测定原料和制剂中活性成分,并能对药物辅料、中间产物以及包装材料进行定性和分级。具有快速、准确、对样品无破坏的检测特性。

近红外光谱分析中常采用透射、反射测量模式,反射模式又称作漫反射模式,精氨酸阿司匹林在溶液中不稳定,极易分解为精氨酸和阿司匹林2个化合物,因而无法用HPLC等其他检测方法定量分析片剂中精氨酸阿司匹林的含量,乔梁等在基于此种情况下研究探索了利用近红外漫反射技术的方法,在无需破坏片剂的基础上直接测定精氨酸阿司匹林的含量,该文研究利用近红外漫反射光谱技术,用偏最小二乘法(Partial Least Squares Method, PLS)建立数学模型,兼顾了被分析样品内部各成分之间的关系,得到了近红外光谱和精氨酸阿司匹林含量之间的相关性,进而为准确测定精氨酸阿司匹林含量的方法提供了可靠参考^[13]。王桂芳等将偏最小二乘法(PLS)与近红外漫反射光谱法相结合,对复方乙酰水杨酸片进行无损非破坏定量分析,建立了最佳的数学校正模型,比较了样品中3种有效成分(乙酰水杨酸、非那西丁和咖啡因)同时测定和单独测定时的主成分对PLS定量预测能力的影响,预测了未知样品^[14]。刘佳明等建立了近红外光谱技术快速筛查清咽类制剂中非法添加的3种化学药物(阿司匹林、布洛芬、对乙

酰氨基酚)的方法,将样品光谱与参照光谱对比,确定近红外光谱中的特征谱段和阈值等参数,建立检测模型,用于阿司匹林等化学成分的快速分析^[15]。

1.5 其他检测方法

除了上述方法,比色法、荧光光度法、薄层扫描法等方法也常用于阿司匹林的含量测定。

比色法是对能吸收可见光的有色溶液的测定方法,通常也称为可见分光光度法,对于许多不吸收可见光的无色物质可以用显色反应将其变成有色物质,再用比色法进行测定。比色法因具有灵敏、简便等优点被广泛采用。因阿司匹林锌中锌离子的存在,会干扰含量测定,水杨酸遇硫酸铁铵指示液显紫色并且在 $530\pm 1\text{ nm}$ 处有最大吸收,基于上述特性高革等采用比色法测定阿司匹林锌中阿司匹林的含量,其先求得水杨酸的量再折算成阿司匹林的量,得到了满意的结果^[16]。

荧光光度法是在一定的激发光,试验条件下,给定物质在一定浓度范围内(溶液溶度较低时),其荧光强度与溶液中该物质的浓度存在线性关系,利用此关系来测定物质的含量。该方法具有灵敏度高,选择性强、试样量少等优点。因阿司匹林水解物水杨酸具有荧光特性以及荧光法的高灵敏度特点,康志健等建立了荧光光度法测定小剂量阿司匹林片含量的方法,选择pH7.0磷酸盐缓冲液为空白,确定 λ_{ex} 、 λ_{em} 分别为303 nm、416 nm为测定条件,测定样品荧光强度,代入回归方程,进而求得阿司匹林含量,取得了准确可靠的结果^[17]。

薄层扫描法是先配置好样品用毛细管在薄层板上点样,将薄层板放入展开剂中展开,形成斑点,再用一定强度波长的光对薄层板中的样品斑点进行扫描,得到图谱,利用积分数据进行比较分析,这种方法可用于药品的鉴别、检查以及含量测定。李金阳等建立了菊蓝抗流感胶囊中阿司匹林的含量测定方法,以正戊醇-环己烷-冰醋酸(8:2:0.2)为展开剂,展开后热风吹至无醋酸味,再喷以5%三氯化铁乙醇溶液,置 105°C 烘5 min,在波长400-700 nm范围内扫描②分析谱图确定检测波长为580 nm,在此条件下进行点样,展开,吹干,显色扫描,最终得到满意结果,实验结果表明,该方法准确可靠,重现性较好^[18]。

2 讨论

2.1 各分析方法选择原则

阿司匹林含量测定因剂型、规格等因素影响可采用不同的分析方法,上述方法各有优缺点,相互补充,在实际

工作中,应根据样品特点选用不同的分析方法。

如测定阿司匹林原料药的含量,则首选滴定法,滴定法准确度高、操作简单、不需要专用仪器设备,但滴定法专属性差,易受样品中辅料的干扰而影响结果准确性,同时滴定液需要准确标定,额外增加了工作量,另外,滴定法的结果是否准确很大程度上依赖于操作者的专业水平和实践能力,因此,选用滴定法时应特别注意人员培训,如果样品批次不多的话建议购买商品化的滴定液,可节省标定滴定液的时间。

如测定阿司匹林制剂如片、肠溶片、肠溶胶囊等以及含阿司匹林的复方制剂,则首选高效液相色谱法(HPLC),高效液相色谱仪目前普及程度很高,因其具较高的分离效率和选择性,特别适合于药物制剂分析,通过选择合适的流动相,可将阿司匹林与其他主药、辅料、降解产物、其他杂质等实现充分的分离,按外标法或内标法以峰面积定量,由于自动进样器的应用,仪器进样精度很高,可首选外标法。但HPLC法需要对照品和样品同时检测,且需购置专门仪器设备并使用色谱柱等耗材,检测成本较高,同时高效液相色谱仪需定期校准以保证性能正常。《中国药典》2020年版二部收录的阿司匹林各剂型含量测定方法均为HPLC法,说明该方法应成为首选方法。HPLC法特别适用于药品生产企业连续多批样品的同时检测,既可在一定程度上节约了试剂试药和色谱柱耗材等,又可通过多批次的检测结果分析阿司匹林制剂质量变化趋势,更好地增强产品质量可控性。

如测定小剂量阿司匹林的含量,可选择荧光光度法,因其灵敏度极高,可用于滴定法、紫外-可见分光光度法等方法无法检测的样品测定,另外,HPLC法也可用于小剂量阿司匹林的含量测定,有些品牌的液相色谱仪具有较高的灵敏度,可有效检测ppm甚至ppb级别的样品。

近红外漫反射法有其独特的优势,比如不破坏样品无需进行前处理、操作简单快速等,特别适合于快检分析,由于需要大量的样品先建立数学模型,所以尤其适用于药品生产企业快速筛查样品,同时由于该方法存在专属性差、准确度不够高等问题,而且建立的数学模型容易得出假阳性或假阴性的结果,所以建议近红外漫反射法与HPLC法联合使用,近红外法检测异常的样品再以HPLC法进行确认,以提高结果准确性。

紫外-可见分光光度法、比色法、薄层扫描法测定阿司匹林含量时与滴定法、HPLC法等方法相比没有优势,同时也存在专属性准确性方面的问题,所以有其他方法可以使用时,不建议采用这三种方法。

2.2 分析前景展望

阿司匹林含量测定所用的几种方法完全可以满足日常工作需求,并可解决阿司匹林原料及制剂分析中的各种问题,随着技术进步和新型检测仪器的出现,预测将会有更快速更准确的检测方法被应用,同时一些已经比较成熟的分析方法正越来越多的用于药物质量控制。在提高准确度和灵敏度方面,超高效液相色谱法(Ultra Performance Liquid Chromatography, UPLC)发挥了重要作用,UPLC借助于HPLC的理论及原理,利用小颗粒固定相($< 2 \mu\text{m}$)、非常低的系统体积及快速检测手段等技术,使分离度、分析速度、检测灵敏度及色谱峰容量大大提高,从而全面提升了液相色谱的分离分析效能^[19];在提高专属性方面,质谱法(MS)具有较大优势,MS是应用多种离子化技术将物质分子转化为气态离子,并按质核比(m/z)大小进行分离并记录其信息,从而进行物质成分和结构分析的方法,MS还可与气相色谱法(Gas Chromatography-Mass Spectrometry, GC-MS)和液相色谱法联用(Liquid Chromatography-Mass Spectrometry, LC-MS),使应用领域发生了巨大变化,迅速成为现代分析化学最前沿的领域之一^[20];在快速检验方面,拉曼光谱得到了广泛应用,拉曼光谱法研究化合物分子受光照后所产生的非弹性散射,优点在于快速、准确,同近红外法一样通常不破坏样品,样品制备简单甚至不需样品制备,既可用于化学鉴别、结构分析和固体性质如晶型转变的快速和非破坏性检测,也可能用于假药检测和质量控制^[21]。

3 结论

本文综述了阿司匹林含量测定方面的研究进展,列举了各种分析方法的优缺点,给出了基于不同样品类型和不同检测目的选用不同检测方法的基本原则,展望了新技术新仪器在阿司匹林相关检测方面的应用前景,为更好地开展阿司匹林含量测定及其他检测给出了意见建议,为进一步开发新的分析方法及更有效地控制产品质量提供了参考依据。

参考文献

- [1] 国家药典委员会.《中国药典》二部.中国医药科技出版社,2020:666.
- [2] 丁世环,张姣.两步滴定法测定阿司匹林肠溶片含量在教学中的应用研究[J].云南化工,2021,48(1):185-187.
- [3] 王蓉,栗进才,张黎娟,等.阿司匹林片定量分析实验[J].广州化工,2019,47(12):137-138.
- [4] 王晨霞,舒余琪.紫外分光光度法阿司匹林肠溶片中阿司匹

林的含量测定[J].广东化工,2014,41(289):200-201.

- [5] 朱星枚,高晨,王川,等.紫外分光光度法测定人乳腺癌细胞内外液中阿司匹林的含量[J].中国医药导报,2019,16(22):30-32.
- [6] 郭新颖,陈峰,叶青华,等.快速紫外光谱法对阿司匹林有效成分含量的测定[J].化学工程师,2022,322(7):24-26.
- [7] 倪亚楠,李宇杰,冯蕊,等.紫外分光光度法测定阿司匹林有效期的教学实验设计[J].实验室研究与探索,2022,41(2):224-227.
- [8] 邓冬莉,李芬,徐薇,等.分光光度法快速同时测定阿司匹林肠溶片中阿司匹林和水杨酸含量[J].山东化工,2016,45(18):70-72.
- [9] 隋译,孙菲,赵明.HPLC测定阿司匹林肠溶片的含量[J].中国医药导报,2009,6(27):45-46.
- [10] 孙瑛,何春龙,成业,等.HPLC法测定阿司匹林肠溶片中阿司匹林的含量[J].北方药学,2014,11(11):12-13.
- [11] 巴然然.阿司匹林双嘧达莫片中有效成分含量及游离水杨酸限量研究[J].中国处方药,2022,20(6):13-15.
- [12] 王森.HPLC法同时测定阿司匹林维生素C泡腾片中药物含量[J].海峡药学,2018,30(11):65-68.
- [13] 乔梁,赵环环,李晓微,等.应用近红外漫反射技术测定精氨酸阿司匹林的含量[J].药物分析杂志,1998,18(5):297-299.
- [14] 王桂芳,李光和,窦英,等.偏小二乘法测定复方乙酰水杨酸片中的有效成分[J].化学分析计量,2005,14(1):40-42.
- [15] 刘佳明,陈立波,吕维维,等.近红外光谱快速鉴别清咽类制剂中3种非法添加化学药物的方法[J].食品与药品,2023,25(1):51-57.
- [16] 高革,王福慧.比色法测定阿司匹林片中阿司匹林的含量[J].现代应用药学,1997,14(2):39-40.
- [17] 康志健,哈永红,宋英姬.荧光光度法测定小剂量阿司匹林片的含量[J].药物分析杂志,1998,18(增刊):106-107.
- [18] 李金阳,余世春,琚小龙,等.菊蓝抗流感胶囊阿司匹林的含量测定[J].安徽医药,2002,6(2):45-46.
- [19] 赵坤,梅升辉,李新刚,等.超高效液相色谱法测定阿司匹林和水杨酸的血液浓度[J].中国医院药学杂志,2017,37(3):207-210.
- [20] 王翠翠,赵晴,谢新,等.HPLC-MS/MS法同时测定人血浆中替格瑞洛和阿司匹林及其代谢物[J].中国医院药学杂志,2022,42(1):24-28.
- [21] 刘春梅,朱艳艳,张斌.激光显微拉曼光谱仪在本科实验教学中的应用[J].大学化学,2022,37(2).

作者简介

夏方亮,副主任药师,研究方向:药品质量研究。