

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2022.01.022

高效液相色谱法同时测定复方酚咖伪麻胶囊中5种成分溶出度

陈 岚¹, 魏长勇^{2△}, 李 根¹, 高 羽¹, 李 莉¹, 江永贤¹

(1. 电子科技大学医学院附属妇女儿童医院·四川省成都市妇女儿童中心医院, 四川 成都 611731; 2. 四川省乐山市食品药品检验检测中心, 四川 乐山 614000)

摘要:目的 建立同时测定复方酚咖伪麻胶囊5种成分溶出度的高效液相色谱(HPLC)法。方法 色谱柱为 Waters XTerra C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相 A 为 0.02 mol/L 磷酸二氢钾溶液-三乙胺(100:0.02, V/V)、流动相 B 为甲醇(梯度洗脱), 流速为 1.0 mL/min, 检测波长为 215 nm; 采用篮法, 转速为 100 r/min, 溶出介质为 0.1 mol/L 盐酸溶液 500 mL。结果 盐酸伪麻黄碱、对乙酰氨基酚、咖啡因、马来酸氯苯那敏和盐酸氯哌丁质量浓度分别在 6.14~61.42 μg/mL, 60.62~606.23 μg/mL, 5.28~52.80 μg/mL, 0.52~5.21 μg/mL, 2.47~24.68 μg/mL 范围内与峰面积线性关系良好($r \geq 0.9998$), 精密度和稳定性试验的 RSD 均小于 2.0% ($n=6$), 平均加样回收率分别为 100.09%, 99.65%, 99.67%, 99.83%, 99.17%, RSD 分别为 1.07%, 1.29%, 1.16%, 0.98%, 1.28% ($n=9$)。结论 该方法操作简便, 结果准确可靠, 专属性强、可用于复方酚咖伪麻胶囊的质量控制。

关键词: 高效液相色谱法; 复方酚咖伪麻胶囊; 篮法; 溶出度

中图分类号: R917; R971^{·1}

文献标志码: A

文章编号: 1006-4931(2022)01-0085-05

Dissolution Determination of Five Compounds in Compound Paracetamol Caffeine and Pseudoephedrine Hydrochloride Capsules by HPLC

CHEN Lan¹, WEI Changyong², LI Gen¹, GAO Yu¹, LI Li¹, JIANG Yongxian¹

(1. The Affiliated Women's and Children's Hospital, School of Medicine, University of Electronic Science and Technology of China · Chengdu Women's and Children's Central Hospital, Chengdu, Sichuan, China 611731; 2. Leshan Food and Drug Inspection Center, Leshan, Sichuan, China 614000)

Abstract: Objective To establish an high-performance liquid chromatography(HPLC) method for the dissolution determination of five compounds in Compound Paracetamol Caffeine and Pseudoephedrine Hydrochloride Capsules. **Methods** The chromatographic column was Waters XTerra C₁₈ column(250 mm×4.6 mm, 5 μm) with gradient elution, the mobile phase A was 0.02 mol/L potassium dihydrogen phosphate-triethylamine(100:0.02, V/V), and the mobile phase B was methanol(gradient elution), the flow rate was 1.0 mL/min, the detection wavelength was 215 nm. The dissolution was detected by basket method using 500 mL of 0.1 mol/L hydrochloric acid as solvent at rotation speed of 100 r/min. **Results** The linear ranges of pseudoephedrine hydrochloride, paracetamol, caffeine, chlorphenamine maleate and cloperastine hydrochloride were 6.14-61.42 μg/mL, 60.62-606.23 μg/mL, 5.28-52.80 μg/mL, 0.52-5.21 μg/mL and 2.47-24.68 μg/mL, respectively ($r \geq 0.9998$). The RSDs of precision and stability tests were less than 2.0% ($n=6$). The average recoveries of pseudoephedrine hydrochloride, paracetamol, caffeine, chlorphenamine maleate and cloperastine hydrochloride were 100.09%, 99.65%, 99.67%, 99.83%, 99.17% with RSDs of 1.07%, 1.29%, 1.16%, 0.98% and 1.28% ($n=9$), respectively. **Conclusion** The method is accurate, specificity, simple, which is suitable for the quality control of the Compound Paracetamol Caffeine and Pseudoephedrine Hydrochloride Capsules.

Key words: HPLC; Compound Paracetamol Caffeine and Pseudoephedrine Hydrochloride Capsules; basket method; dissolution

复方酚咖伪麻胶囊为抗感冒药^[1-2], 处方含盐酸伪麻黄碱、对乙酰氨基酚、咖啡因、马来酸氯苯那敏和盐酸氯哌丁。文献[2-3]和现行标准^[4]均采用紫外分光光度法测定复方酚咖伪麻胶囊中对乙酰氨基酚的溶出度, 对其他有效成分的溶出度无相关研究, 药物有效成分不足将影响治疗效果^[5], 若不控制其溶出度, 将很难保证药品的安全性和有效性。本研究中采用篮法, 转速为 100 r/min, 溶出介质为 0.1 mol/L 盐酸溶液 500 mL, 并以高效液相色谱(HPLC)法同时测定5种成分的溶出度, 拟为复方酚咖伪麻胶囊的质量控制提供依据。现报道如下。

1 仪器与试药

1.1 仪器

PerkinElmer A-10 型高效液相色谱仪(美国珀金

埃尔默有限公司); RCZ-8M 型溶出试验仪(天津市天大天发科技有限公司); Mettler-Toledo XS205 型电子天平(瑞士梅特勒-托利多仪器有限公司, 精度为 0.01 mg)。

1.2 试药

盐酸伪麻黄碱对照品(批号为 171237-201208, 含量为 99.9%), 对乙酰氨基酚对照品(批号为 100018-201409, 含量为 99.9%), 咖啡因对照品(批号为 171215-201010, 含量为 100.0%), 马来酸氯苯那敏对照品(批号为 100047-200606, 含量为 99.7%), 盐酸氯哌丁对照品(批号为 100529-201001, 含量为 100.0%), 均购自中国食品药品检定研究院; 复方酚咖伪麻胶囊(四川杨天生物药业股份有限公司, 批号分别为 150109,

第一作者: 陈岚, 女, 大学本科, 主管药师, 研究方向为医院药学, (电子信箱)804942294@qq.com。

△通信作者: 魏长勇, 男, 硕士, 工程师, 研究方向为药物分析, (电子信箱)381060690@qq.com。

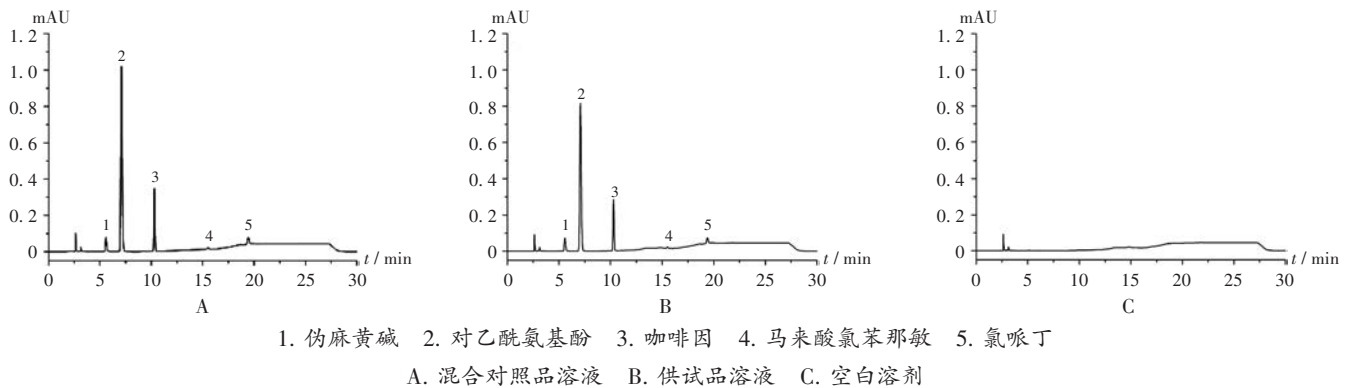


图1 高效液相色谱图

1. Pseudoephedrine hydrochloride 2. Paracetamol 3. Caffeine 4. Chlorphenamine maleate 5. Cloperastine hydrochloride
A. Mixed reference solution B. Test solution C. Blank solvent

Fig. 1 HPLC chromatograms

151023, 151229); 甲醇为色谱纯, 磷酸二氢钾、三乙胺均为分析纯, 试验用水为纯化水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件与系统适用性试验

色谱柱: Waters XTerra C₁₈ 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: A为0.02 mol/L磷酸二氢钾溶液-三乙胺(100:0.02, V/V), B为甲醇, 梯度洗脱(0~5 min时85%A, 5~15 min时85%A→25%A, 15~24 min时25%A, 24~25 min时25%A→85%A, 25~30 min时85%A); 流速: 1.0 mL/min; 柱温: 30℃; 检测波长: 215 nm; 进样量: 20 μL。理论板数按各组峰计均大于5 000, 分离度均大于2.0。在此色谱条件下的色谱图见图1。

2.2 溶液制备

供试品溶液: 取样品6粒, 按2015年版《中国药典(四部)》通则0931溶出度与释放度测定法第一法, 转速为100 r/min, 分别于10, 20, 30, 40, 50, 60 min时取溶出液5 mL, 每次取样后补充37℃0.1 mol/L盐酸溶液5 mL, 过滤, 取续滤液, 即得。

对照品溶液: 取盐酸伪麻黄碱对照品15.37 mg、对乙酰氨基酚对照品151.71 mg、咖啡因对照品13.20 mg, 精密称定, 置100 mL容量瓶A中, 用适量0.1 mol/L盐酸溶液溶解; 取马来酸氯苯那敏对照品13.06 mg, 精密称定, 置10 mL容量瓶中, 用0.1 mol/L盐酸溶液溶解并稀释至刻度, 摇匀, 精密量取1 mL, 置容量瓶A中; 取盐酸氯哌丁对照品12.34 mg, 精密称定, 置10 mL容量瓶中, 用0.1 mol/L盐酸溶液溶解并稀释至刻度, 摇匀, 精密量取5 mL, 置容量瓶A中, 用0.1 mol/L盐酸溶液稀释至刻度, 摇匀, 即得对照品贮备液。精密量取对照品贮备液2 mL, 置10 mL容量瓶中, 用0.1 mol/L盐酸溶液稀释至刻度, 摇匀, 即得。

混合对照品贮备液: 取盐酸伪麻黄碱对照品75.09 mg、对乙酰氨基酚对照品764.40 mg、咖啡因对照品62.59 mg、

盐酸氯哌丁对照品30.37 mg, 精密称定, 置同一25 mL容量瓶中, 用适量0.1 mol/L盐酸溶液溶解; 取马来酸氯苯那敏对照品12.92 mg, 精密称定, 置10 mL容量瓶中, 用0.1 mol/L盐酸溶液溶解并稀释至刻度, 摇匀, 精密量取5 mL, 置上述25 mL容量瓶中, 用0.1 mol/L盐酸溶液溶解并稀释至刻度, 摇匀, 即得。

2.3 方法学考察

线性关系考察: 精密量取2.2项下对照品贮备液1, 2, 4, 6, 8, 10 mL, 分别置25 mL容量瓶中, 加0.1 mol/L盐酸溶液稀释至刻度, 摇匀。精密量取各溶液20 μL, 分别注入液相色谱仪测定, 记录色谱图。以峰面积(Y)为纵坐标、质量浓度(X, μg/mL)为横坐标进行线性回归, 得各被测成分的回归方程及线性范围。详见表1。

表1 5种成分线性关系考察结果(n=5)

Tab. 1 Results of linear relation test of five components(n=5)

成分	线性回归方程	r	线性范围(μg/mL)
盐酸伪麻黄碱	$Y = 22\,550X + 1\,563.2$	1.000 0	6.14~61.42
对乙酰氨基酚	$Y = 33\,914X + 111\,104$	1.000 0	60.62~606.23
咖啡因	$Y = 89\,118X + 14\,983$	1.000 0	5.28~52.80
马来酸氯苯那敏	$Y = 29\,791X + 1\,637.4$	1.000 0	0.52~5.21
盐酸氯哌丁	$Y = 35\,967X - 23\,572$	0.999 8	2.47~24.68

精密度试验: 精密量取对照品溶液20 μL, 按2.1项下色谱条件连续进样测定6次, 记录色谱图。结果盐酸伪麻黄碱、对乙酰氨基酚、咖啡因、马来酸氯苯那敏和盐酸氯哌丁峰面积的RSD分别为0.21%, 0.54%, 0.34%, 0.65%, 0.76%(n=6), 表明仪器精密度良好。

稳定性试验: 取同一批(批号为151229)样品, 依法制备供试品溶液, 取溶出40 min时的供试品溶液, 在室温下放置, 分别于0, 2, 4, 6, 12, 24 h时按2.1项下色谱条件进样测定, 记录色谱图。结果盐酸伪麻黄碱、对乙酰氨基酚、咖啡因、马来酸氯苯那敏和盐酸氯哌丁峰面积的RSD分别为0.72%, 0.54%, 1.16%, 0.56%, 0.53%

表2 5种成分加样回收试验结果($n=9$)
Tab. 2 Results of the recovery test of five components($n=9$)

成分	取样量(g)	样品含量(mg)	加入量(mg)	测得量(mg)	回收率(%)	$\bar{X}$ (%)	RSD(%)	成分	取样量(g)	样品含量(mg)	加入量(mg)	测得量(mg)	回收率(%)	$\bar{X}$ (%)	RSD(%)
A	0.103 6	7.546 9	6.001 2	13.627 1	101.32	100.09	1.07	C	0.102 8	6.287 1	6.259 0	12.514 2	99.49	99.83	0.98
	0.102 7	7.481 3	6.001 2	13.428 2	99.10				0.102 2	6.250 4	7.510 8	13.701 5	99.21		
	0.101 1	7.364 8	6.001 2	13.375 2	100.15				0.101 8	6.226 0	7.510 8	13.712 4	99.68		
	0.101 2	7.372 1	7.501 5	14.888 2	100.19				0.103 3	6.317 7	7.510 8	13.685 6	98.10		
	0.103 4	7.532 3	7.501 5	14.991 3	99.43				0.103 6	0.621 1	0.515 2	1.140 7	100.85		
	0.102 8	7.488 6	7.501 5	14.877 8	98.50				0.102 7	0.615 7	0.515 2	1.130 7	99.96		
	0.102 2	7.444 9	9.001 8	16.551 2	101.16				0.101 1	0.606 1	0.515 2	1.125 9	100.89		
	0.101 8	7.415 8	9.001 8	16.557 2	101.55				0.101 2	0.606 7	0.644 1	1.241 5	98.56		
	0.103 3	7.525 0	9.001 8	16.473 2	99.40				0.103 4	0.619 9	0.644 1	1.251 8	98.11		
B	0.103 6	77.493 8	61.090 8	138.694 6	100.18	99.65	1.29	D	0.102 8	0.616 3	0.644 1	1.260 3	99.98	99.17	1.28
	0.102 7	76.820 6	61.090 8	138.435 7	100.86				0.102 2	0.612 7	0.772 9	1.391 3	100.74		
	0.101 1	75.623 8	61.090 8	137.764 7	101.72				0.101 8	0.610 3	0.772 9	1.380 5	99.65		
	0.101 2	75.698 6	76.363 6	151.217 1	98.89				0.103 3	0.619 3	0.772 9	1.389 9	99.70		
	0.103 4	77.344 2	76.363 6	152.328 7	98.19				0.103 6	2.943 6	2.429 6	5.368 7	99.81		
	0.102 8	76.895 4	76.363 6	151.976 8	98.32				0.102 7	2.918 0	2.429 6	5.361 1	100.56		
	0.102 2	76.446 6	91.636 3	168.875 8	100.87				0.101 1	2.872 6	2.429 6	5.340 2	101.56		
	0.101 8	76.147 4	91.636 3	167.092 3	99.25				0.101 2	2.875 4	3.037 0	5.899 9	99.59		
	0.103 3	77.269 4	91.636 3	167.587 4	98.56				0.103 4	2.937 9	3.037 0	5.919 2	98.17		
C	0.103 6	6.336 0	5.007 2	11.412 8	101.39	99.67	1.16	E	0.102 8	2.920 9	3.037 0	5.902 7	98.18		
	0.102 7	6.281 0	5.007 2	11.303 7	100.31				0.102 2	2.903 8	3.644 4	6.489 7	98.39		
	0.101 1	6.183 1	5.007 2	11.258 4	101.36				0.101 8	2.892 4	3.644 4	6.479 9	98.44		
	0.101 2	6.189 3	6.259 0	12.381 9	98.94				0.103 3	2.935 1	3.644 4	6.501 5	97.86		
	0.103 4	6.323 8	6.259 0	12.495 5	98.61										

注:A 为盐酸伪麻黄碱,B 为对乙酰氨基酚,C 为咖啡因,D 为马来酸氯苯那敏,E 为盐酸氯哌丁。表3同。

Note:A is pseudoephedrine hydrochloride,B is paracetamol,C is caffeine,D is chlorphenamine maleate,and E is cloperastine hydrochloride(for Tab. 2 and Tab. 3).

($n=6$),表明常温下供试品溶液在24 h内稳定。

加样回收试验:取已知含量的样品(批号为150109,平均装量为0.198 5 g,每粒含盐酸伪麻黄碱14.46 mg、对乙酰氨基酚148.48 mg、咖啡因12.14 mg、马来酸氯苯那敏1.19 mg、盐酸氯哌丁5.64 mg)内容物,混匀,取0.1 g,精密称定,共9份,分别置500 mL容量瓶中,分为3组,各3份;每组分别精密加入2.2项下混合对照品贮备液2.0,2.5,3.0 mL,用0.1 mol/L盐酸溶液稀释至刻度,摇匀,滤过,取续滤液,按2.1项下色谱条件进样测定,计算加样回收率^[6-9]。结果见表2。

2.4 溶出曲线绘制

精密量取2.2项下供试品溶液和对照品溶液,按2.1项下色谱条件进样测定,记录色谱图,按外标法、以峰面积计算各个时间点的平均累积溶出度。以溶出时间(t ,min)为横坐标、各组分在各个时间点的平均累积溶出度(Y ,%)为纵坐标绘制溶出曲线。3个不同批次样品测定结果见图2。

2.5 溶出度测定

取40 min时溶出液适量,过滤,按2.1项下色谱条

件进样测定,记录色谱图;另精密量取2.2项下对照品溶液,同法测定。按外标法、以峰面积计算溶出量,3批样品的溶出度测定结果见表3。

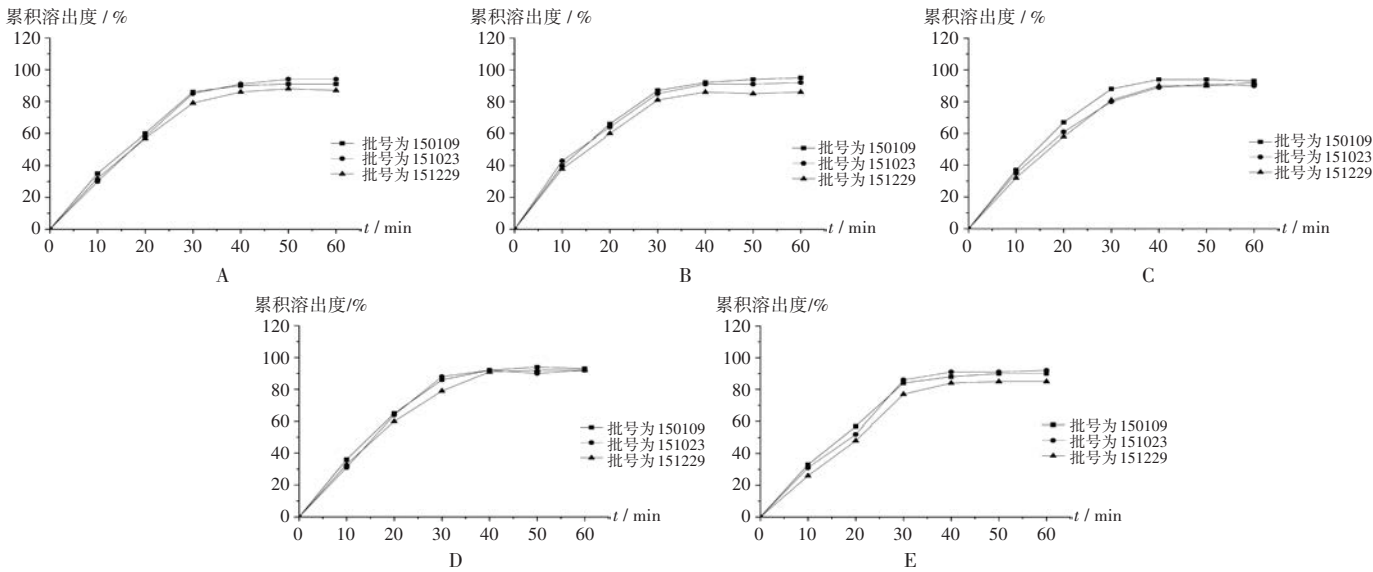
3 讨论

3.1 溶出介质选择

溶出介质直接影响药物的溶出,对于不同药物要根据其性质、检测方法和检测结果选择合适的介质;一般以水、0.1 mol/L盐酸溶液(人工胃液)和缓冲液(人工肠液)为溶出介质^[10-11],复方酚咖伪麻胶囊中5种成分在此3种溶出介质中均可溶解;考虑到复方酚咖伪麻胶囊为胃溶性制剂,0.1 mol/L盐酸为国内外药典中胃溶性制剂的常用溶出介质^[12],故选择0.1 mol/L盐酸溶液作为溶出介质。篮法使用的溶出介质体积一般为500~1 000 mL,试验表明,当选用500 mL或1 000 mL溶出介质体积时各成分在溶出介质中的浓度远低于其饱和浓度,但该制剂中马来酸氯苯那敏含量较小,选用溶出介质体积为1 000 mL时将导致其浓度偏低,故溶出介质体积采用500 mL。

3.2 溶出度方法选择

2015年版《中国药典(四部)》通则中记载的溶出度



A. 盐酸伪麻黄碱 B. 对乙酰氨基酚 C. 咖啡因 D. 马来酸氯苯那敏 E. 盐酸氯哌丁

图2 3批样品中5种成分溶出度曲线

A. Pseudoephedrine hydrochloride B. Paracetamol C. Caffeine D. Chlorphenamine maleate E. Cloperastine hydrochloride

Fig.2 Dissolution profiles of five components in three batches of samples

表3 3批样品中5种成分溶出度测定试验结果(n=6)

Tab.3 Results of dissolution test of five components in three batches of samples(n=6)

成分	批号	溶出度(%)						$\bar{X}$
		1	2	3	4	5	6	
A	150109	86	95	90	94	86	87	90
	151023	88	88	88	89	90	87	88
	151229	84	81	83	83	82	89	84
B	150109	89	96	92	94	96	91	93
	151023	92	93	92	95	89	92	92
	151229	88	85	85	89	86	93	88
C	150109	95	102	93	94	95	91	95
	151023	92	94	96	93	98	90	94
	151229	88	87	86	86	83	95	88
D	150109	92	91	94	101	94	93	94
	151023	95	93	94	89	94	93	93
	151229	90	83	86	91	86	101	90
E	150109	91	88	86	94	91	92	90
	151023	94	91	89	96	88	90	91
	151229	85	84	86	87	84	91	86

与释放度测定法有篮法、桨法、小杯法、桨碟法、转筒法^[13]。复方酚咖伪麻胶囊中马来酸氯苯那敏的规格虽小,但对乙酰氨基酚规格较大,不宜采用小杯法;桨法和篮法均可用于胶囊剂,采用桨法溶出时样品悬浮于溶出介质表面,应将胶囊剂装入规定的沉降篮内,但胶囊存在少量堆积现象,影响药物溶出,故采用篮法。

3.3 时间和限度确定

试验表明,复方酚咖伪麻胶囊经过40 min时溶出基本趋于恒定,考察3批样品的累积溶出度,在40 min

时各成分的累积溶出度均在80%以上,故确定溶出时限为40 min,限度为标示量的80%。

3.4 色谱条件选择

文献[14-15]中对色谱条件的选择已作详细报道,方法学验证结果表明,建立的HPLC法能同时测定复方酚咖伪麻胶囊中5种成分的溶出度,结果准确,方法可靠,且样品溶出后不需稀释,取样滤过后可直接测定,简化了操作过程。

3.5 马来酸氯苯那敏有效成分选择

马来酸氯苯那敏在拟订色谱条件下测得马来酸和氯苯那敏2个峰,氯苯那敏是有效成分,故选择氯苯那敏进行分析。

参考文献

[1] 孙 萍,张文惠. RP-HPLC法同时测定复方酚咖伪麻胶囊中盐酸氯哌丁及马来酸氯苯那敏含量[J]. 江西中医学院学报, 2007,19(3):72-73.

[2] 熊玲娜,孙 萍,刘英明. 复方酚咖伪麻胶囊中对乙酰氨基酚溶出度研究[J]. 中国药业,2007,16(1):34-35.

[3] 高 杰,关丽丽,安贤兰,等. 复方酚咖伪麻胶囊中对乙酰氨基酚溶出度研究[J]. 临床医药文献电子杂志,2018, 5(40):126-127.

[4] 国家药典委员会. 化学药品地方标准上升国家标准(第十六册)[M]. 北京:化学工业出版社,2003:230-231.

[5] 张晶敏,王孝敏,陈维红. 复方酚咖伪麻胶囊与氨酚羟考酮片联用导致急性肝损伤、贫血1例[J]. 中南药学,2017,15(10):1503-1504.

[6] 陈燕军,吴有根,方海红,等. 高效液相色谱法同时测定香连丸中5种成分的含量[J]. 中国医院药学杂志,2016, 36(12):972-975.

[7] 郭怀忠,庞晓敏,王进文,等. 高效液相色谱法测定维C银翘片溶出度的研究[J]. 中成药,2011,33(7):1178-1182.