

高效液相色谱法测定盐酸苯海拉明片的有关物质和溶出度

江燕 (湖北省药品检验所, 武汉 430064)

摘要:目的 采用高效液相色谱法考察并建立同时测定盐酸苯海拉明片的有关物质和溶出度的方法。方法 色谱柱为 Diamonsil-C₁₈ (200 mm × 4.6 mm, 5 μm), 流动相为 0.5% 三乙胺溶液 (用磷酸调 pH 值至 6.5) 乙腈 (58:42), 检测波长为 259 nm。结果 精密度及稳定性均良好, 盐酸苯海拉明浓度在 0.025 ~ 2.5 mg/mL 范围内与峰面积呈良好的线性关系, r 为 0.999 9; 加样回收率的平均值为 98.4%, RSD = 0.34%。结论 本法精密度好, 结果准确可靠, 适用于盐酸苯海拉明片有关物质和溶出度这两项质量检验分析。

关键词: 盐酸苯海拉明片; 高效液相色谱法; 有关物质; 溶出度

中图分类号: R917.799.1

文献标识码: B

文章编号: 1007-7693(2006)04-0331-03

Determination of the related substances and the dissolution of diphenhydramine hydrochloride tablets by HPLC

JIANG Yan (Hubei Institute for Drug Control, Wuhan 430064, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish an HPLC method for detecting the related substance and the dissolution of diphenhydramine

hydrochloride tablets. **METHODS** The condition of detection were: Diamonsil- C_{18} (200mm $\times$ 4.6mm, 5 μ m), the mobile phase consisted of water (0.5% triethylamine, adjust with phosphoric acid to a pH of 6.5) and acetonitrile (58:42), the UV detection wavelength was 259nm. **RESULTS** The calibration curves were linear in the range of 0.025 ~ 2.5 mg/mL for diphenhydramine hydrochloride($r=0.9999$). The average recoveries were 98.4% (RSD =0.34%). **CONCLUSION** The method is accurate, reliable and simple for the quality control of Diphenhydramine Hydrochloride Tablets.

KEY WORDS: HPLC; diphenhydramine hydrochloride tablets; related substances; dissolution

盐酸苯海拉明为组胺 H1 受体拮抗剂。中国药典^[1], 英国药典^[2]均有收载, 其盐酸苯海拉明片有关物质和溶出度的检测方法分别为薄层色谱法和提取比色法, 操作繁琐、费时。笔者采用 HPLC 可同时测定盐酸苯海拉明片的有关物质和溶出度, 结果表明, 本法简便, 能准确可靠地进行盐酸苯海拉明片质量分析。

1 仪器与试药

美国惠普公司 HP1100 液相色谱仪, HP1100 紫外检测器, HP1100 色谱工作站。

盐酸苯海拉明对照品 (中国药品生物制品检定所); 盐酸苯海拉明 (上海第四制药厂); 盐酸苯海拉明片 (市售品, 每片 25mg, 山西临汾制药厂, 批号: 02080702、0206111; 江苏林海药业, 批号: 020327; 大同市利群制药厂, 批号: 020103); 乙腈 (色谱纯), 磷酸和三乙胺 (分析纯), 重蒸馏水。

2 实验方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱为 Diamonsil- C_{18} (200mm $\times$ 4.6mm, 5 μ m), 流动相为 0.5% 三乙胺溶液 (用磷酸调 pH 值至 6.5) 乙腈 (58:42), 检测波长为 259nm, 流速 1.0mL/min。

2.2 系统适用性试验

取盐酸苯海拉明对照品和盐酸苯海拉明片细粉, 分别用流动相制成含盐酸苯海拉明 2mg/mL 的溶液, 测得色谱图, 理论板数以盐酸苯海拉明峰 (约 8min) 计大于 4000。取对照品溶液重复进样 6 次, 峰面积的 RSD 为 0.16%, 系统重复性良好。

2.3 降解产物的分析

取盐酸苯海拉明约 80mg, 分成 4 等份, 分别完成下列试验: ①加 0.1mol/L 的 HCl 溶液 50mL, 经水浴加热 30min, 蒸干后用 10mL 流动相溶解, 得溶液 (a)。②加 0.1mol/L 的 NaOH 溶液 50mL, 经水浴加热 30min, 蒸干后用 10mL 流动相溶解, 并用 0.1mol/L 的 HCL 溶液调 pH 至 6.5, 过滤, 得溶液 (b)。③直接置电炉上, 加热融化后, 放冷, 用流动相溶解并稀释至 10mL, 得溶液 (c)。④直接用 10mL 流动相溶解, 配成 2mg/mL 的溶液, 在日光下放置 1 个月, 得溶液 (d)。分别取上述 a, b, c, d 溶液各 20 μ L, 注入液相色谱仪, 记录色谱图, 结果见表 1。

结果表明, 盐酸苯海拉明在热酸, 热碱, 高温, 光照下均有降解, 降解产物均在盐酸苯海拉明峰保留时间的 2 倍内, 而且在本色谱条件下, 降解产物能够得到有效分离和检测。

2.4 线性关系和灵敏度

精密称取盐酸苯海拉明对照品适量, 用流动相制成 2.5 mg/mL 溶液, 精密量取此溶液 0.25, 0.5, 1, 5, 10, 20, 25mL 分

表 1 盐酸苯海拉明降解产物检测结果 (%)

Tab 1 The content of degradation product in diphenhydramine hydrochloride (%)

破坏条件	含量	降解产物
未经破坏	99.52	0.48
酸破坏	35.01	64.99
碱破坏	63.54	39.46
高温破坏	94.10	5.90
光破坏	59.94	40.06

别置 25mL 量瓶中, 用流动相稀释至刻度, 摇匀, 在上述色谱条件下各进样 20 μ L 测定, 结果盐酸苯海拉明在 0.025 ~ 2.5 mg/mL 的浓度范围内峰面积 (Y) 与浓度 (X, mg/mL) 线性关系良好, 回归方程为 $Y=1685.5X+25.6$, $r=0.9999$ 。盐酸苯海拉明的检出限为 1.2ng (信噪比为 3)。

2.5 加样回收实验

精密称取已准确测定含量的盐酸苯海拉明片细粉, 准确加入适量的盐酸苯海拉明对照品, 按样品溶出度测定项下方法测定, 结果加样回收率的平均值为 98.4% ($n=5$), RSD = 0.34%。

2.6 样品的有关物质测定

精密称取盐酸苯海拉明片细粉适量, 加流动相溶解并稀释制成 2mg/mL 的溶液, 作为供试品溶液; 精密量取供试品溶液适量, 加流动相稀释制成 0.04mg/mL 的溶液, 作为对照溶液。量取对照溶液 20 μ L 注入液相色谱仪, 调节检测器灵敏度, 使盐酸苯海拉明峰高为满量程的 10%, 再量取对照溶液和供试品溶液各 20 μ L 注入液相色谱仪, 记录色谱图至主成分峰保留时间的 2 倍, 以自身对照法计算杂质含量, 结果见表 2。

2.7 样品的溶出度测定

取本品 6 片, 照中国药典 2000 年版附录 XI 第一法, 以水 500mL 为溶剂, 转速为 100r/min, 依法操作, 经 45min 时, 取溶液 5mL, 滤过, 得到续滤液; 另精密称取盐酸苯海拉明对照品适量, 同法溶解并稀释制成 50 μ g/mL 的溶液, 在上述色谱条件下分别进样 20 μ L 测定, 以外标法计算溶出量, 结果见表 2。

表 2 样品测定结果 (%)

Tab 2 Determination results of samples (%)

厂家	批号	平均溶出度 ($n=6$)		杂质含量 (自身对照法)
		提取比色法	HPLC 法	
山西临汾	02080702	97.4	92.2	1.46
山西临汾	0206111	98.5	92.3	1.65
江苏林海	020327	97.8	97.6	1.53
大同利群	020103	95.6	94.5	1.09

3 讨论

盐酸苯海拉明为碱性药物,流动相的 pH 值对其保留行为有很大作用。当 pH 小于 6 时,盐酸苯海拉明峰形随 pH 减小而变宽拖尾,故在流动相的水相中将 pH 值用磷酸调为 6.5。采用 0.5%三乙胺溶液(用磷酸调 pH 值至 6.5) - 甲醇 (30:70)^[3-4]和 0.5%三乙胺溶液(用磷酸调 pH 值至 6.5) - 乙腈 (58:42)两种流动相,发现在后一种流动相中盐酸苯海拉明峰保留时间适中,且杂质集中,能与盐酸苯海拉明峰完全分开。

取盐酸苯海拉明对照品的流动相溶液,在 200 ~ 400 nm 波长范围内扫描,盐酸苯海拉明在 259 nm 的波长处有最大吸收,故选择 259 nm 为检测波长。

在降解产物的试验中,发现酸破坏和光破坏中的降解产物相对较高,而且均在 14 min 出现一较大的杂质峰,这一点与文献报道^[5]中盐酸苯海拉明遇光及在酸性溶液中的主要分解产物是二苯基甲醇相一致,但须进一步证实是否为二苯基甲醇。

薄层色谱法测定盐酸苯海拉明片的有关物质,拖尾现象

严重,不易判断杂质斑点;提取比色法测定盐酸苯海拉明片的溶出度较繁琐费时,而且由于氯仿易挥发及比色造成的误差使得测出的溶出量偏高。采用 HPLC 测定其有关物质和溶出度,能更准确地体现真实性,不仅辅料对测定无干扰,而且快速,灵敏度高,建议在新版药典中将盐酸苯海拉明片的有关物质和溶出度测定方法改为 HPLC。

参考文献

- [1] 中国药典 2000 年版二部 [S]. 2000: 627.
- [2] BP [S]. 2000: 565-566.
- [3] 陆国红,王平全.高效液相色谱法测定气喘片中 4 种成分的含量 [J]. 中国医院药学杂志, 2001, 36(3): 189-191.
- [4] 罗虹,王利杰,王军. 高效液相色谱法测定美息伪麻拉明分散片中组分含量的研究 [J]. 药物分析杂志, 2002, 22(3): 222-224.
- [5] 中国药典 1990 年版二部注释 [S]. 1990: 553-556.

收稿日期: 2005-05-07