

HPLC 测定感冒清胶囊中对乙酰氨基酚和盐酸吗啡的溶出度

王芳¹, 陈翔^{2*} (1.浙江省舟山医院药剂科, 浙江 舟山 316021; 2.浙江省舟山市食品药品检验所, 浙江 舟山 316021)

摘要: 目的 建立感冒清胶囊中对乙酰氨基酚和盐酸吗啡的溶出度测定方法。方法 采用桨法, 以 0.1 mol·L⁻¹ 的盐酸溶液为溶出介质, 转速为 50 r·min⁻¹, 取样时间为 30 min。高效液相色谱法采用 ZORBAX SB-C₁₈(150 mm×4.6 mm, 5 μm) 色谱柱, 以乙腈-0.02 mol·L⁻¹ 庚烷磺酸钠溶液(15:85)为流动相, 检测波长为 237 nm, 流速为 1.0 mL·min⁻¹, 柱温为 30 ℃。结果 对乙酰氨基酚在 4.588×10⁻²~0.458 8 μg 内呈良好的线性关系($r=0.999\ 8$), 平均回收率为 98.1%, RSD 为 1.06%($n=9$); 盐酸吗啡在 4.654×10⁻²~0.465 4 μg 内呈良好的线性关系($r=0.999\ 6$), 平均回收率为 97.9%, RSD 为 1.09%($n=9$)。结论 该方法简便、准确、可行, 能准确测定感冒清胶囊中对乙酰氨基酚和盐酸吗啡的溶出度, 专属性良好。

关键词: 感冒清胶囊; 对乙酰氨基酚; 盐酸吗啡; 高效液相色谱法

中图分类号: R917.101

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2014)10-1245-04

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2014.10.021

Dissolution Determination of Acetaminophen and Moroxydine Hydrochloride in Ganmaoqing Capsule by HPLC

WANG Fang¹, CHEN Xiang^{2*} (1.Department of Pharmacy, Hospital of Zhoushan City, Zhoushan 316021, China; 2.Zhoushan Municipal Institute for Food and Drug Control, Zhoushan 316021, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish the method of dissolution determination of acetaminophen and moroxydine hydrochloride in Ganmaoqing capsule. **METHODS** Paddle apparatus was used with 0.1 mol·L⁻¹ hydrochloric acid solution as the dissolution medium at a speed of 50 r·min⁻¹ and dissolution time limit was 30 min. The analysis was carried out on a ZORBAX SB-C₁₈(150 mm×4.6 mm, 5 μm) column, the mobile phase was composed of acetonitrile-0.02 mol·L⁻¹ sodium heptanesulfonate(15:85) at the flow rate of 1.0 mL·min⁻¹ and the detection wavelength was 237 nm. **RESULTS** Acetaminophen showed good linearity in the range of 4.588×10⁻²~0.458 8 μg($r=0.999\ 8$), the average recovery was 98.1% with RSD of 1.06%($n=9$); moroxydine hydrochloride showed good linearity at the range of 4.654×10⁻²~0.465 4 μg($r=0.999\ 6$), the average recovery was 97.9% with RSD of 1.09%($n=9$). **CONCLUSION** The method is convenient, accurate and practicable. It can be applied to determine the dissolution of the preparations.

KEY WORDS: Ganmaoqing capsule; acetaminophen; moroxydine hydrochloride; HPLC

感冒清胶囊是常用的中西药复方制剂, 由南板蓝根、大青叶、岗梅等 6 味中药成分与对乙酰氨基酚、盐酸吗啡和马来酸氯苯那敏 3 种西药成分组成, 具有疏风解表、清热解毒之功效, 常用于风热感冒、发烧、头痛、鼻塞流涕、喷嚏、咽喉肿痛、全身酸痛等症^[1]。该制剂现行标准(WS₃-B-3717-98)检查项下, 采用崩解时限考察药物的释放过程, 未对溶出度作出规定。溶出度是体外评价样品质量、判断药物疗效的有效方法, 并在对乙酰氨基酚胶囊^[2]、盐酸吗啡片^[3]等相关化学药品的质量评价中得到广泛使用。因此, 本实验建立了 HPLC 同时测定感冒清胶囊中对乙酰氨基酚和盐酸吗啡溶出度的方法, 并进行了方

法验证。

1 仪器与试剂

RCZ-8M 溶出试验仪和 RZQ-8D 自动取样收集系统均购自天津天大天发; Agilent 1200 HPLC 系统(美国 Agilent 公司, G1322A 自动脱气机、G1311A 四元泵、G1329A 自动进样仪、G1316 DAD 检测器、Agilent 1200LC 化学工作站); BS124S 电子分析天平(北京赛多利斯); Delta-320S pH 计(梅特勒-托利多); UBC-302 超声波清洗器(上海波龙)。

对乙酰氨基酚对照品(中国药品生物制品检定所, 批号: 100018-200408, 供含量测定用); 盐酸吗啡对照品(中国药品生物制品检定所, 批号:

作者简介: 王芳, 女, 主管药师 Tel: (0580)2290408
(0580)2026049 E-mail: cx_1983@163.com

E-mail: wf663111@163.com

*通信作者: 陈翔, 男, 硕士, 主管药师 Tel:

100483-200402, 供含量测定用); 乙腈为色谱纯; 水为重蒸馏水; 其他试剂均为分析纯。9 批感冒清胶囊为不同厂家、不同批号的市售品(A. 福建省泉州恒达制药有限公司, 批号: 20130117; B. 吉林市鹿王制药股份有限公司, 批号: 120505, 130104, 120804; C. 江西南昌制药有限公司, 批号: 20121113, 20120802; D. 江西仁丰药业有限公司, 批号: 121116; E. 深圳金活利药业有限公司, 批号: 110121; F. 浙江泰利森药业有限公司, 批号: 130302)。

2 方法与结果

2.1 含量测定方法

2.1.1 色谱条件 色谱柱: ZORBAX SB-C₁₈ (150 mm×4.6 mm, 5 μm); 柱温: 30 ℃; 检测波长: 237 nm; 流动相^[4]: 乙腈-0.02 mol·L⁻¹ 庚烷磺酸钠溶液(15:85); 流速: 1.0 mL·min⁻¹; 进样量: 10 μL。

2.1.2 对照品溶液的制备 精密称取对乙酰氨基酚对照品 45.88 mg, 盐酸吗啉胍对照品 46.54 mg, 置同一 200 mL 量瓶中, 加 0.1 mol·L⁻¹ 的盐酸溶液溶解并稀释至刻度, 制成对乙酰氨基酚和盐酸吗啉胍浓度分别为 229.4 和 232.7 μg·mL⁻¹ 的混合对照品贮备液。分别精密吸取混合对照品贮备液 1.0, 2.0, 4.0, 5.0, 8.0, 10.0 mL, 置 50 mL 量瓶中, 加 0.1 mol·L⁻¹ 的盐酸溶液至刻度, 摇匀, 作为混合对照品溶液 1[#]~6[#], 备用。

2.1.3 供试品溶液的制备 将剪碎后的胶囊壳与内容物混匀, 研细, 精密称取粉末约 0.2 g, 置 200 mL 量瓶中, 加入 0.1 mol·L⁻¹ 的盐酸溶液 100 mL, 于 37 ℃ 超声 20 min, 冷至室温, 用 0.1 mol·L⁻¹ 的盐酸溶液定容至刻度, 摇匀, 滤过, 精密量取续滤液 5 mL, 置 10 mL 量瓶中, 加 0.1 mol·L⁻¹ 的盐酸溶液至刻度, 摇匀。

2.1.4 阴性样品溶液的制备 取南板蓝根、大青叶等 6 味中药, 按处方比例和制法制成缺对乙酰氨基酚和盐酸吗啉胍的阴性样品, 将阴性样品与剪碎后的空胶囊壳混匀, 研细, 精密称取约 0.2 g, 按“2.1.3”项下方法制成阴性样品溶液。

2.1.5 空白干扰试验 分别取阴性样品溶液、供试品溶液、4[#]混合对照品溶液, 按“2.1.1”项下色谱条件测定, 结果见图 1。说明样品中对乙酰氨基酚、盐酸吗啉胍与其他组分峰可达到基线分离,

分离度>1.5, 其他成分不干扰对乙酰氨基酚和盐酸吗啉胍的测定。

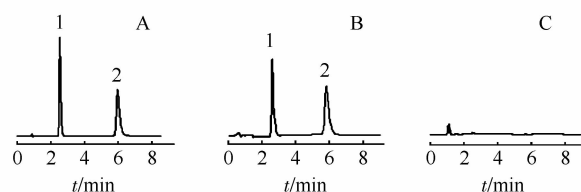


图 1 高效液相色谱图

A-对照品; B-供试品; C-阴性样品; 1-对乙酰氨基酚; 2-盐酸吗啉胍。

Fig. 1 HPLC chromatograms

A-standard solution; B-sample; 3-blank control; 1-acetaminophen; 2-moroxydine hydrochloride.

2.1.6 线性关系考察 精密吸取上述混合对照品溶液 1[#]~6[#]各 10 μL, 分别注入高效液相色谱仪, 以进样量(μg)为 X 轴, 峰面积为 Y 轴, 用最小二乘法进行线性回归, 得到对乙酰氨基酚的线性方程为 $Y=2.40 \times 10^3 X + 29.6$, 线性范围为 $4.588 \times 10^{-2} \sim 0.4588 \mu\text{g}$ ($r=0.9998$), 盐酸吗啉胍线性方程为 $Y=1.74 \times 10^3 X + 19.1$, 线性范围为 $4.654 \times 10^{-2} \sim 0.4654 \mu\text{g}$ ($r=0.9996$)。

2.1.7 仪器精密度试验 精密吸取同一份感冒清胶囊供试品溶液, 重复进样 6 次, 测定对乙酰氨基酚和盐酸吗啉胍的峰面积, 计算 RSD。结果峰面积的 RSD 分别为 0.64%, 0.79%, 表明仪器精密度良好。

2.1.8 稳定性试验 取供试品溶液, 在 2, 4, 6, 8, 12 h 各进样 1 次, 测定峰面积, 结果对乙酰氨基酚的 RSD 为 0.79% ($n=5$)、盐酸吗啉胍的 RSD 为 1.07% ($n=5$), 说明样品至少在 12 h 内稳定。

2.1.9 重复性试验 取同一批供试品(生产厂家: A, 批号: 20130117)约 0.2 g, 共 6 份, 分别按“2.1.3”项下方法制备, 并按“2.1.1”项下色谱条件测定, 测得对乙酰氨基酚和盐酸吗啉胍的平均含量分别为标示量的 94.72% 和 93.04%, RSD 值分别为 0.8% 和 1.3%, 表明方法重复性良好。

2.1.10 加样回收率试验 取同一批已知含量的供试品(生产厂家: A, 批号: 20130117)约 0.1 g, 精密称定, 平行 9 份, 分别按比例加入一定量的混合对照品贮备液, 按“2.1.3”项下方法制备供试品溶液, 按“2.1.1”项下色谱条件进样测定, 计算加样回收率。对乙酰氨基酚平均加样回收率为 98.1% (RSD 为 1.06%), 盐酸吗啉胍为 97.9% (RSD 为 1.09%), 说明方法准确度较高。结果见表 1。

表 1 加样回收率试验($n=9$)

Tab. 1 Results of recovery test ($n=9$)

化合物	称样量/ g	原有量/ mg	加入量/ mg	测得量/ mg	回收率/ %	平均回 收率/%	RSD/ %
对乙酰氨基酚	0.101 7	4.705	2.294	6.923	96.7	98.1	1.06
	0.102 9	4.760	2.294	7.022	98.6		
	0.105 3	4.871	2.294	7.108	97.5		
	0.103 8	4.802	3.670	8.380	97.5		
	0.100 4	4.645	3.670	8.297	99.5		
	0.102 7	4.751	3.670	8.370	98.6		
	0.103 1	4.769	5.276	10.009	99.3		
	0.101 2	4.682	5.276	9.805	97.1		
	0.103 1	4.769	5.276	9.945	98.1		
盐酸吗啡	0.101 7	4.621	2.327	6.890	97.5	97.9	1.09
	0.102 9	4.676	2.327	6.940	97.3		
	0.105 3	4.785	2.327	7.089	99.0		
	0.103 8	4.717	3.723	8.377	98.3		
	0.100 4	4.562	3.723	8.256	99.2		
	0.102 7	4.667	3.723	8.304	97.7		
	0.103 1	4.685	5.352	9.935	98.1		
	0.101 2	4.599	5.352	9.720	95.7		
	0.103 1	4.685	5.352	9.967	98.7		

2.2 溶出度测定方法

2.2.1 装置的选择 中国药典 2010 年版收载了 3 种溶出度测定方法：篮法、桨法和小杯法。感冒清胶囊中对乙酰氨基酚和盐酸吗啡规格较大，考虑到本品含有大量中药材提取后的干浸膏，在溶出过程中可能会堵塞转篮筛网，故采用桨法进行溶出度考察。

2.2.2 溶出介质的选择 分别以水、 $0.1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的盐酸溶液、pH 6.8 和 pH 7.2 的缓冲液 900 mL 为溶出介质，采用桨法进行测定，转速为 $50\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ ，在 5, 10, 15, 20, 30, 45 min 分别取样 5 mL(同时补充等温的对应溶出介质 5 mL)，滤过，取续滤液按“2.1.1”项下色谱条件测定，计算 9 个批次样品在各时间点的累积溶出量。结果在水、pH 6.8 和 pH 7.2 的缓冲液中，各批次样品中对乙酰氨基酚和盐酸吗啡在 15 min 时的平均溶出量($n=6$)均 $>85\%$ 。在 $0.1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的盐酸溶液中，不同样品在 15 min 时的平均溶出量差别较大，且大部分样品的平均溶出量均 $<85\%$ ，考虑 $0.1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的盐酸溶液与人体胃液较为接近，因此选择 $0.1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的盐酸溶液作为溶出介质。

2.2.3 介质体积的选择 根据桨法的溶出介质体积范围和目标成分的漏槽条件，以 $0.1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的盐酸溶液为溶出介质，转速为 $50\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ ，考察了

样品(生产厂家：A，批号：20130117)中对乙酰氨基酚和盐酸吗啡在溶出介质体积为 750, 900, 1 000 mL 时，不同时间点的累积溶出量，结果 2 种成分在上述体积下，累积溶出差别不大且都能完全溶出，考虑 900 mL 与人体消化道内体液总体积较为接近^[5]，因此选择溶出介质体积为 900 mL。

2.2.4 转速的选择 一般认为桨法转速控制在 $50\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 时，与正常胃肠道蠕动状态相当，并以 $50\sim75\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 的转速最为常见^[6]，因此以 $0.1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的盐酸溶液 900 mL 为溶出介质，转速为 50, $75\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ ，对感冒清胶囊(生产厂家：A，批号：20130117)进行溶出试验。在 5, 10, 15, 20, 30, 45 min 分别取样 5 mL(同时补充等温的对应溶出介质 5 mL)，滤过，取续滤液按“2.1.1”项下色谱条件测定，计算样品在各时间点的累积溶出量。结果表明在转速为 $75\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 时，样品的前期溶出速率过快，而 20 min 后，样品中对乙酰氨基酚和盐酸吗啡在 2 种转速下的累积溶出量均能达到 85% 以上且差别不大，因此选择转速为 $50\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 。见图 2。

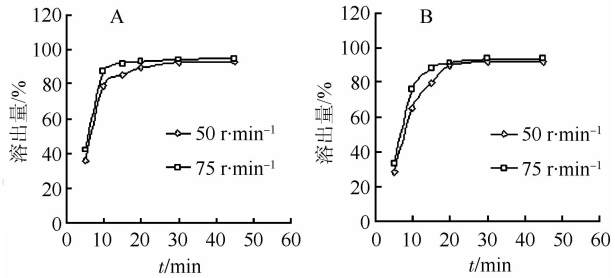


图 2 不同转速下的样品溶出曲线

A-对乙酰氨基酚；B-盐酸吗啡

Fig. 2 Dissolution curves of sample by different rotation speed

A-acetaminophen; B-moroxydine hydrochloride

2.2.5 溶出均一性试验 取同一批样品(生产厂家：B，批号：120505)6 粒，按上述确定的溶出度测定方法，在 5, 10, 15, 20, 30, 45 min 时，分别取溶液测定，结果显示样品中对乙酰氨基酚和盐酸吗啡在第 1 个取样时间点的批内溶出量 RSD 均 $<16\%$ ，其余各时间点批内溶出量 RSD 均 $\leq 8\%$ ，表明溶出均一性良好。

2.2.6 溶出重复性试验 取厂家 B 的 3 批样品(批号：120505, 120804, 130104)各 6 粒，按上述确定的溶出度测定方法，在 5, 10, 15, 20, 30, 45 min 时，分别取溶液测定，结果显示各取样时间点的

平均溶出量 RSD 均<5%，表明溶出重复性较好。

2.2.7 溶出曲线的绘制 取不同生产厂家的样品各一批，按上述确定的溶出度测定方法，在 5, 10, 15, 20, 30, 45 min 分别取样 5 mL(同时补充等温的溶出介质 5 mL)，滤过，取续滤液按“2.1.1”项下色谱条件测定，计算样品在各时间点的累积溶出量，绘制溶出曲线，结果表明取样时间为 30 min，对乙酰氨基酚和盐酸吗啡的溶出限度均为标示量的 80%比较合适，见图 3。

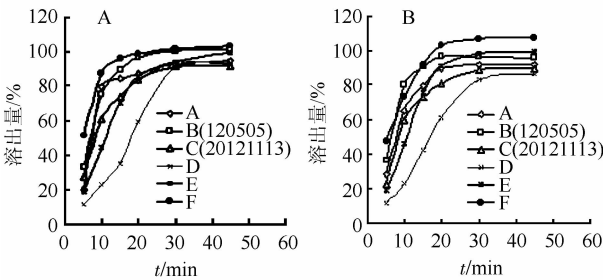


图 3 样品溶出度曲线

A-对乙酰氨基酚；B-盐酸吗啡

Fig. 3 Dissolution curves of sample

A-acetaminophen; B-moroxydine hydrochloride

2.3 样品溶出度测定

取市售 6 个厂家 9 个批次的感冒清胶囊，按“2.2”项下方法测定各组分的溶出度，结果见表 2。

表 2 9 批样品的溶出度测定结果(n=6)

Tab. 2 Dissolution results of samples(n=6)

厂家	批号	对乙酰氨基酚/%	盐酸吗啡/%
A	20130117	94	92
B	120505	102	96
	120804	96	89
	130104	98	99
C	20120802	88	104
	20121113	92	89
D	121116	91	82
E	110121	94	98
F	130302	101	108

3 讨论

3.1 指标成分的选择

溶出度测定在化学药品的质量控制中得到广泛应用，相关研究也较为成熟^[7-9]，而中西药复方制剂仍以崩解时限间接反映药物的溶出情况，缺乏针对性和有效性。为更好地评价该类制剂质量，有必要对其中所含的化学药品成分进行溶出度测定。感冒清胶囊中含有对乙酰氨基酚、盐酸吗啡和马来酸氯苯那敏，前两者在制剂中的标示含量较高，不适合小杯法，而制剂中马来酸氯

苯那敏的标示含量较低(每粒含 1 mg)，按上述溶出度测定方法测定时，样品中马来酸氯苯那敏的测定重复性 RSD 为 15.3%，误差较大。综合考虑，最终选择对乙酰氨基酚和盐酸吗啡作为感冒清胶囊中溶出度测定的指标成分，而制剂中马来酸氯苯那敏的溶出度需采用小杯法对其进一步考察。

3.2 检测波长的选择

精密吸取混合对照品溶液 4[#] 10 μL，分别在对乙酰氨基酚的最大吸收波长 249 nm 和盐酸吗啡的最大吸收波长 237 nm 下进样测定，结果对乙酰氨基酚色谱峰面积在 2 种波长下变化较小，而盐酸吗啡色谱峰面积变化较大，从测定精度考虑，选择 237 nm 为检测波长。

3.3 取样时间和溶出限度的确定^[5]

溶出曲线表明，大部分样品在 20~30 min 时，制剂中的对乙酰氨基酚和盐酸吗啡第 1 次出现溶出量均在 85%以上，且 2 个时间点的溶出量差在 5%以内，即为溶出饱和“平台期”。考虑溶出取样时间一般为刻钟的整数倍，故选择 30 min 为溶出度测定的取样时间，同时将取样点溶出量减去 15%作为溶出限度，确定感冒清胶囊中对乙酰氨基酚和盐酸吗啡的溶出限度均为标示量的 80%，这与相关化学制剂^[2-3]现行标准中的溶出限度相一致。

REFERENCES

[1] Drug Specifications Promulgated by the Ministry of Public Health, PR China. The Preparation of Traditional Chinese Drug Vol 19(中药成方制剂第 19 册) [S]. 1998: 231-232.

[2] Ch.P(2010)Vol II (中国药典 2010 年版. 二部)[S]. 2010: 237.

[3] National Drug Standard. Chemical drug Local Standard Rise to National Drug Standard Vol. 7(化学药品地方标准上升国家标准第 7 册) [S]. 2002: 195.

[4] LI X, LI J, LIU F, et al. HPLC determination of the content and the related substances of moroxydine hydrochloride injection [J]. Chin J Pharm Anal(药物分析杂志), 2009, 29(4): 663-665.

[5] XIE M F. How to develop and validate the dissolution test on the quality criteria [J]. Chin J Pharm(中国医药工业杂志), 2012, 43(3): 23-32.

[6] WANG Y M. Studies on dissolution test methods [J]. Chin J Pharm Anal(药物分析杂志), 2007, 27(10): 1667-1670.

[7] WEI N N, WANG X, SU M. Progress of dissolution test methodologies [J]. Chin J New Drugs(中国新药杂志), 2013, 22(10): 1119-1124.

[8] QIAN Z Y, GE W W. HPLC determination of the content and dissolution of Compound Paracetamol tablets [J]. Chin J Pharm Anal(药物分析杂志), 2012, 32(1): 155-158.

[9] WANG X H. Methods and advances in determination of dissolution of medicine [J]. Tianjin Pharm(天津药学), 2006, 18(2): 68-71.