

高效液相色谱法测定复方苯丙醇胺缓释胶囊二组分含量和溶出度

刘洁¹, 杭太俊¹, 谢莹² (1. 中国药科大学药物分析教研室, 江苏 南京 210009; 2. 江苏省药品检验所)

摘要:目的 采用反相高效液相色谱法分别测定复方苯丙醇胺缓释胶囊中两主药成分盐酸苯丙醇胺和富马酸氯马斯汀。方法 采用 C_{18} 色谱柱, 检测波长 215 nm, 流速 1.0 mL/min, 以 pH2.5 磷酸盐缓冲溶液(2.04g 磷酸二氢钾和 2 mL 三乙胺至 1 000 mL 水中, 用磷酸调 pH)- 甲醇 (85:15) 为流动相分析苯丙醇胺; 以相同磷酸盐缓冲溶液- 甲醇 (70:30) 为流动相分析富马酸氯马斯汀。结果 方法回收率、重复性和线性均良好。测试溶液在 12h 内稳定。测得复方盐酸苯丙醇胺缓释胶囊中盐酸苯丙醇胺在 1、2、4 和 8h 的释放量为标示量的 15% ~ 45%, 35% ~ 65%, 55% ~ 85% 和 75% 以上。结论 方法具有灵敏、准确、可靠等优点。

关键词: 盐酸苯丙醇胺; 富马酸氯马斯汀; 高效液相色谱法

中图分类号: R917.101; R971

文献标识码: B

文章编号: 1007-7693(2003)05-0409-03

Quantitative determination of compound phenylpropanolamine hydrochloride sustained release capsules by HPLC

LIU Jie¹, HANG Tai-Jun¹, XIE Yin² (1. Pharmaceutical analysis, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To develop a RP-HPLC method for the determination of phenylpropanolamine hydrochloride and cle mastine fumarate. **METHOD** The HPLC was performed on C_{18} column with the mobile phases consisting of methanol-pH2.5 phosphate buffer 85:15 and 70:30 for assay of phenylpropanolamine hydrochloride and cle mastine fumarate, respectively. The flow rate was 1.0 mL/min. The UV detector was set at 215 nm. **RESULTS** The recovery and reproducibility of the assay were excellent. And the drug release of phenylpropanolamine hydrochloride were found to be more than 15% ~ 45%, 35% ~ 65%, 55% ~ 85% and 75% at 1, 2, 4, and 8 hour respectively. **CONCLUSION** Two simple, sensitive, accurate, reproducible and rugged HPLC methods were developed for the assay of a compound phenylpropanolamine hydrochloride extended release capsules.

KEY WORDS: phenylpropanolamine hydrochloride; cle mastine fumarate; HPLC

复方苯丙醇胺缓释胶囊由缓释的盐酸苯丙醇胺和速释的富马酸氯马斯汀组成。苯丙醇胺为苯丙胺同类物, 是通过直接激动肾上腺素受体和间接的促使去甲肾上腺素自贮存处释放两种机制而发挥作用, 并具有拟交感神经功能, 其中枢兴奋作用和支气管舒张作用较弱, 而血管收缩作用略强, 主要用于血管黏膜充血的治疗。氯马斯汀为苯海拉明的衍生物, 主要通过抑制咳嗽中枢而镇咳, 还有微弱的抗组胺作用, 能缓解支气管痉挛及黏膜水肿, 适用上呼吸道感染引起的咳嗽。

美国药典 24 版(USP24) 收载盐酸苯丙醇胺和富马酸氯马斯汀原料及其单方制剂质量标准。制剂标准中利用 ODS 柱的高效液相色谱法进行含量测定。分析盐酸苯丙醇胺缓释胶囊采用的流动相是水-甲醇-10% 四甲基氢氧化铵-磷酸 (700:300:14:3.5)。分析氯马斯汀片采用的流动相是甲醇-pH7.0 磷酸盐缓冲溶液 (83:17)。本品为复方制剂, 根据 USP24 中的条件和文献方法, 通过优化比较, 建立了对本品中两主药成分盐酸苯丙醇胺的含量和释放度, 及富马酸氯马斯汀的含量和溶出度进行测定的高效液相色谱法。此方法

准确可靠, 重现性好, 空白试验无干扰。

1 仪器和试剂

SPD-10A 高效液相色谱系统 (SHIMADZU CORPORATION), HS2000 色谱数据工作站 (杭州英谱科技开发有限公司)。

甲醇、磷酸二氢钾、三乙胺、冰醋酸, 南京化学试剂厂; 二次重蒸水, 自制。

对照品: 由中国药品检验所提供, 盐酸苯丙醇胺纯度 > 99.5%, 富马酸氯马斯汀纯度 > 99.5%。

复方苯丙醇胺缓释胶囊制剂是二元复方, 成分: 盐酸苯丙醇胺为以 PVP 制成的缓释微丸里包裹的缓释成分, 剂量 (盐式) 75.0 mg/胶囊 (0.3g); 富马酸氯马斯汀为缓释微丸表面层内添加的速释成分, 剂量 (盐式) 1.34 mg/胶囊 (0.3g)。

2 实验方法与结果

2.1 色谱条件

用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂; 以 pH2.5 磷酸盐缓冲溶液 (2.04g 磷酸二氢钾和 2 mL 三乙胺至 1 000 mL 水中, 用磷酸调 pH)- 甲醇 (85:15) 为流动相分析苯丙醇胺; 以相同

磷酸盐缓冲溶液-甲醇(70:30)为流动相分析富马酸氯马斯汀;检测波长为215nm;流速为1.0mL/min;灵敏度0.01 AUFS(10mv)。苯丙醇胺测定典型色谱见图1,富马酸氯马斯汀测定典型色谱见图2。

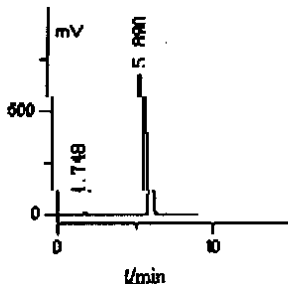


图1 盐酸苯丙醇胺测定典型色谱图

Fig 1 Typical chromatogram of phenylpropanolamine hydrochloride

$t_{R\text{富马酸}} = 1.748 \text{ min}$, $t_{R\text{盐酸苯丙醇胺}} = 5.890 \text{ min}$,在此色谱系统下氯马斯汀不出峰

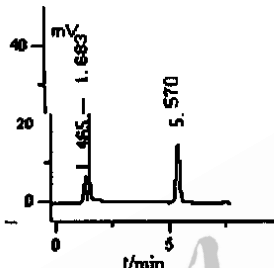


图2 富马酸氯马斯汀测定典型色谱图

Fig 2 Typical chromatogram of fumarate clemastine

$t_{R\text{富马酸}} = 1.465 \text{ min}$, $t_{R\text{盐酸苯丙醇胺}} = 1.683 \text{ min}$, $t_{R\text{氯马斯汀}} = 5.570 \text{ min}$

2.2 线性范围

取盐酸苯丙醇胺对照品适量,精密称定,用盐酸苯丙醇胺流动相溶解并定量稀释制备成盐酸苯丙醇胺浓度分别为:2,10,20,40,100,和200 $\mu\text{g/mL}$ 的试液,同法制备出富马酸氯马斯汀浓度分别为1,5,10,20,50,100 $\mu\text{g/mL}$ 的试液。分别在各自的色谱条件下,精密吸取各试液20 μL ,定量注入高效液相色谱仪进行分析,测量色谱峰峰面积。以峰面积(A)对浓度(C)进行线性回归。结果表明:在2~200 $\mu\text{g/mL}$ 内,盐酸苯丙醇胺色谱峰峰面积与盐酸苯丙醇胺溶液的浓度成良好线性关系。 $A = -0.921 \times 10^4 + 1.581 \times 10^4 C$, $r = 0.9999$ 。在1~100 $\mu\text{g/mL}$ 内,富马酸氯马斯汀色谱峰峰面积与富马酸氯马斯汀溶液的浓度成良好的线性关系 $A = 0.148 \times 10^4 + 3.520 \times 10^4 C$, $r = 0.9999$ 。

2.3 专属性试验

分别取本品内容物,盐酸苯丙醇胺原料和富马酸氯马斯汀原料各适量3份,分别经强酸(2mol/L H_2SO_4)、强碱(2mol/L NaOH)和高温($\sim 100^\circ\text{C}$)破坏处理,然后用相应流动相溶解稀释(强酸强碱破坏样先用碱或酸中和)后进行HPLC分离分析。结果表明:在上述两色谱系统之下,盐酸苯丙醇胺和富马酸氯马斯汀色谱峰不受辅料和降解产物的干扰。

2.4 样品含量的测定

取装量差异项下的内容物,混合均匀(不研磨),精密称取适量(约相当于富马酸氯马斯汀5.36mg)置100mL量瓶中,加甲醇适量,超声20min,使溶解,放冷至室温后用甲醇定容至刻度,摇匀,4000r/min高速离心5min,分取上清液作供试品储备液。

盐酸苯丙醇胺:精密量取供试品储备液2.0mL置50mL量瓶中,加盐酸苯丙醇胺用流动相稀释至刻度,摇匀,精密量取20 μL ,注入液相色谱仪,记录色谱图;另盐酸苯丙醇胺对照品约12mg,精密称定,置100mL量瓶中,加盐酸苯丙醇胺用流动相溶解并稀释至刻度,摇匀,同法测定;按外标法以峰面积计算,即得。

富马酸氯马斯汀:精密量取供试品储备液2mL置10mL量瓶中,加富马酸氯马斯汀测定用流动相稀释至刻度,摇匀,精密量取20 μL ,注入液相色谱仪,记录色谱图;另取富马酸氯马斯汀对照品约13.4mg,精密称定,置50mL量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,精密量取2mL置50mL量瓶中,加流动相溶解并稀释至刻度,摇匀,同法测定;按外标法以峰面积计算,即得。三批供试品测定结果均符合规定,结果见表1。

表1 复方盐酸苯丙醇胺缓释胶囊 HPLC 分析结果(%)
Tab 1 The results of HPLC analysis for compound phenylpropanolamine hydrochloride sustained release capsules(%)

批号	盐酸苯丙醇胺 标示量	富马酸氯马斯汀 标示量
20000420	97.6	99.3
20000425	101.2	103.9
20000428	102.3	102.8

2.5 回收率试验

取本品空白辅料与盐酸苯丙醇胺和富马酸氯马斯汀对照品,按处方比制备80%,100%,120%三水平的模拟样品按含量测定方法测定。结果表明高、中、低三水平的回收率良好,盐酸苯丙醇胺平均回收率=99.6%(RSD=0.8%,n=9),或富马酸氯马斯汀平均回收率=100.8%(RSD=0.9%,n=9)。

2.6 释放度与溶出度

经试验比较,确定了本品的测定条件。取本品,照释放度测定法(《中国药典》2000年版二部附录XD第一法),采用溶出度测定法第一法装置,以水500mL为溶液,转速50r/min,依法操作,经30min时,取溶液5mL,立即4000r/min高速离心5min,分取上清液;并同时补充相同温度、相同体积的水;精密量取上清液20 μL ,照含量测定项下富马酸氯马斯汀和盐酸苯丙醇胺的色谱条件分别测定。另精密称取富马酸氯马斯汀对照品适量,加流动相溶解并稀释制成每1mL中含2.68 μg 的溶液,同法测定;计算出每粒富马酸氯马斯汀的溶出量,限度为标示量的70%,符合规定。经1,2,4和8h时,各取溶液5mL,滤过;并同时补充相同温度、相同体积的水。另精密称取盐酸苯丙醇胺对照品适量,加流动相溶解并定量稀释制成每1mL中分别含30 μg 和150 μg 的溶液,同法测定;分别计算出每粒在不同时间盐酸苯丙醇胺的释放量;本品在

1, 2, 4 和 8h 时的释放量分别为标示量的 15 % ~ 45 %、35 % ~ 65 %、55 % ~ 85 % 和 75 % 以上, 3 批供试品测定结果均符合规定, 见表 2。

表 2 在水溶液中, 复方盐酸苯丙醇胺缓释胶囊中盐酸苯丙醇胺的释放度和富马酸氯马斯汀的溶出度

Tab 2 Release rate of phenylpropanolamine hydrochloride and dissolution rate of clemastine fumarate of the tested capsule in water

组分	时间(h)	20000420	20000425	20000428	RSD(%)
富马酸氯马斯汀	0.5	84.2	84.3	91.8	4.4
盐酸苯丙醇胺	1	36.0	31.2	32.5	2.5
	2	57.1	50.6	53.6	3.3
	4	74.2	72.3	74.8	1.3
	8	85.1	88.7	84.8	2.2

3 讨论

3.1 样品制备方法考察

本品为复方缓释制剂, 含量和释放度测定时, 同时要测定盐酸苯丙醇胺和富马酸氯马斯汀两主药成分。富马酸氯马斯汀标示含量很小, 溶出试验样品若用有机滤膜过滤制备, 氯马斯汀因吸附, 而造成测定结果显著偏差。本法采用了离心分离的样品制备方法, 结果回收率良好。同时含量测

定样品制备时, 因为缓释材料不易研碎混匀, 并且富马酸氯马斯汀附着在缓释外层包衣的表面, 故将装量差异项下内容物在不研磨的情况下混合均匀后, 精密称取适量, 加入容量瓶中, 用甲醇溶解制备供试液。

3.2 溶出度与释放度测定方法与条件选择

本品中富马酸氯马斯汀为速释成分, 故应控制溶出度; 盐酸苯丙醇胺为缓释成分, 故应控制释放度。根据处方工艺和设计要求确定各规定限度。

溶出度与释放度溶出介质选择: 盐酸苯丙醇胺为水易溶解成分, 富马酸氯马斯汀为水微溶解成分, 故应控制本品中富马酸氯马斯汀的溶出速度和程度。由于富马酸氯马斯汀在强酸性介质中不甚稳定。故只分别以水和《中国药典》2000 年版二部中富马酸氯马斯汀片剂溶出度检查中所采用的枸橼酸缓冲液($pH4.0$) [取枸橼酸一水合物 20.0g, 加水 1 000 mL 使溶解, 加氢氧化钠溶液 (3 → 10) 22.0 mL 与盐酸 8.8 mL, 加水混匀, 制成 2 000 mL 的溶液, 调节 pH 值至 4.0, 即得] 为介质进行了比较研究。结果表明, 本品盐酸苯丙醇胺各时的释放度和富马酸氯马斯汀溶出度在水中或枸橼酸缓冲液($pH4.0$) 中没有明显差异, 均一性均良好, 故采用水做介质。