

复方美沙芬片的 HPLC 分析

郭平 项进

(南京药物研究所, 南京 210009)

摘要 对新药复方美沙芬片中美沙芬、盐酸伪麻黄碱和扑尔敏的 HPLC 分析进行了研究, 考察了流动相组成、pH 等对分离的影响情况。以盐酸萘甲唑啉为内标, 检测波长为 265 nm, 在所测范围内, 峰面积与被测物浓度的线性关系良好。美沙芬、盐酸伪麻黄碱和扑尔敏平均回收率分别为 98.92%, 98.73% 和 98.45%, $RSD < 1.02\%$ ($n=5$)。

关键词 美沙芬; 复方美沙芬片; 盐酸伪麻黄碱; 扑尔敏; HPLC

复方美沙芬片在国外已广泛用于临床^[1], 本品在 0.5 h 内迅速解除鼻塞、过敏症状, 缓解咳嗽。关于美沙芬、盐酸伪麻黄碱和扑尔敏的二阶导数含量测定方法国外已有报道^[2], 但国内外尚未见复方美沙芬片中美沙芬、盐酸伪麻黄碱和扑尔敏的 HPLC 含量测定的报道。我们在研究开发国内这一新药的同时, 采用 C_{18} 柱, 建立了复方美沙芬片的 HPLC 含量测定方法, 并与国外二阶导数法进行了比较, 表明该法简便准确。以甲酸钠缓冲液 (pH 3.0)^[3]-乙腈-甲醇-四氢呋喃 (400:400:100:100) 加入十二烷基硫酸钠 2.0 g 为流动相, 在 15 min 内成功地分离了各组分, 设计了同时测定美沙芬、盐酸伪麻黄碱和扑尔敏含量的方法。

1 实验部分

1.1 仪器和试剂

仪器: 岛津 LC-4A 高效液相色谱仪; 岛津 SPD-3AM 紫外检测器, 岛津 C-R3A 数据处理机。

样品: 美沙芬标准品由苏州第一制药厂提供 (含量为 99.9%); 盐酸伪麻黄碱标准品由赤峰制药厂提供 (含量为 99.8%); 扑尔敏标准品由常州四药厂提供 (含量为 99.9%);

盐酸萘甲唑啉内标由常州四药厂提供 (含量为 99.5%); 复方美沙芬片自制 (批号 93001), 国外片为美国 McNEIL 公司的产品 Pedia Care。

试剂: 十二烷基硫酸钠 (SDS, 中国科学院新疆化学研究所); 乙腈 (色谱纯, 淮阴精细化工研究所); 甲醇、四氢呋喃、甲酸 (分析纯, 南京化学试剂厂)。

1.2 色谱条件

色谱柱: YWG- C_{18} 分析柱 ($7\mu m$, 200 mm \times 4.6 mm i.d. 大连化学物理研究所)。流动相: 甲酸钠缓冲液 (pH 3.0)-乙腈-甲醇-四氢呋喃 (400:400:100:100) 加入 SDS 2.0 g, 流速 1.0 ml/min, 检测波长 265 nm, 进样量 10 μl , 柱温为室温。

1.3 溶液的配制

标准贮备液的配制: 取美沙芬、盐酸伪麻黄碱、扑尔敏和盐酸萘甲唑啉适量, 分别用水溶解制成每毫升含美沙芬 1.0 mg、盐酸伪麻黄碱 3.0 mg、扑尔敏 0.2 mg、盐酸萘甲唑啉 0.5 mg 的标准液, 置冰箱中备用。

样品溶液的配制: 取复方美沙芬片 20 片, 研细, 精密称取适量 (约相当于 1 片量), 置于 25 ml 量瓶中, 加入内标液 (0.5 mg/ml) 2 ml, 用水溶解并定容, 摇匀后过滤, 取续滤

收稿日期 1994-12-15

液备用。

1.4 方法和结果

1.4.1 色谱行为与系统适用性试验 根据处方,按“样品溶液的配制”项下方法配制模拟样品溶液和不含主药的空白样品液,进样,得 HPLC 色谱图见图 1。美沙芬、盐酸伪麻黄碱、扑尔敏和内标盐酸萘甲唑啉的保留时间分别约为 10,4,12,6 min,四者之间达到良好分离。片剂空白介质也不对主药及内标产生干扰。

在该色谱条件下,以内标盐酸萘甲唑啉为标准,计算色谱柱的理论塔板数为 $2.0 \times 10^4/10 \text{ cm}$ 。盐酸伪麻黄碱与盐酸萘甲唑啉的分离度 2.0,盐酸萘甲唑啉与美沙芬的分离度 2.9,美沙芬与扑尔敏的分离度 2.0。

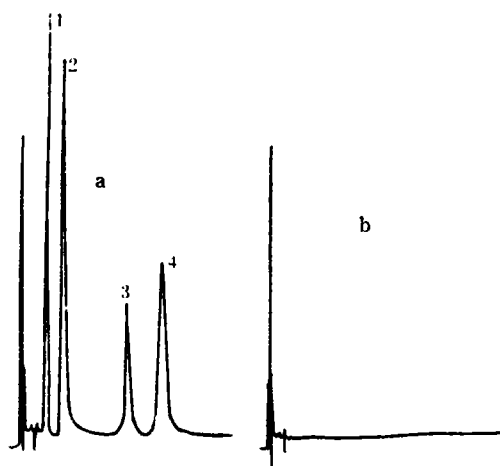


Fig 1. Chromatogram of Compound Dextromethorphan Tablet (a) and blank(b)
1-pseudoephedrine hydrochloride (4.375 min); 2-naphazoline hydrochloride (internal standard, 6.203 min); 3-dextromethorphan hydrobromide (10.692 min); 4-chlorpheniramine maleate (12.458 min)

1.4.2 线性范围 精密吸取盐酸伪麻黄碱标准溶液 2.0,3.0,4.0,5.0,6.0,7.0,8.0 ml 置于 25 ml 量瓶中,加入 0.5 mg/ml 盐酸萘甲唑啉标准液 2.0 ml,用水稀释至刻度,摇匀进样。以盐酸伪麻黄碱与内标的峰面积比(A)对盐酸伪麻黄碱的浓度(C)进行线性回归,得回归方程为 $A=0.01413+5.48C$, $r=$

0.9995。取美沙芬标准溶液 2.0,3.0,4.0,5.0,6.0,7.0,8.0 ml 置于 25 ml 量瓶中,加入 0.5 mg/ml 盐酸萘甲唑啉 2.0 ml,用水稀释至刻度,摇匀进样。以美沙芬与内标的峰面积比(A)对美沙芬的浓度(C)进行线性回归,得回归方程为 $A=0.01034+1.12C$, $r=0.9998$ 。取扑尔敏标准溶液 2.0,3.0,4.0,5.0,6.0,7.0,8.0 ml,置于 25 ml 量瓶中,加入 0.5 mg/ml 盐酸萘甲唑啉标准液 2.0 ml,用水稀释至刻度,摇匀进样。以扑尔敏与内标的峰面积比(A)对扑尔敏的浓度(C)进行线性回归,得回归方程为 $A=0.0193+8.14C$, $r=0.9992$ 。由此可见,盐酸伪麻黄碱在 0.24~0.96 mg/ml,美沙芬在 0.08~0.32 mg/ml,扑尔敏在 0.016~0.064 mg/ml 范围内,线性关系良好。

1.4.3 制剂回收率 按处方比例准确称取美沙芬、盐酸伪麻黄碱和扑尔敏标准品,加入辅料,研磨混匀,制成模拟片粉末,随机精密取样(约相当于 1 片量),置于 25 ml 量瓶中,按样品“溶液的配制”项下方法制成模拟样品溶液,10 μ l 进样,测定峰面积,从美沙芬、盐酸伪麻黄碱和扑尔敏的标准曲线上求得含量,计算回收率,结果见表 1。

1.4.4 样品的测定 取 5 个批号的样品,分别按“样品溶液的配制”项下方法配制样品溶液,进样 10 μ l,进行 HPLC 测定。结果见表 2,其中片剂 A 为美国 Pedia Care,片剂 B 为复方美沙芬片。

2 讨论

2.1 检测波长的选择

美沙芬、盐酸伪麻黄碱和扑尔敏的最大吸收波长分别位于 278 nm,254 nm 和 265 nm,鉴于扑尔敏在本品中标示量极低,故以扑尔敏最大吸收波长 265 nm 为测定波长。

2.2 内标的选择

试验了扑热息痛、布洛芬和盐酸萘甲唑

Tab 1. The recovery test

| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
|-------------------------------|---------------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| Dextromethorphan hydrobromide | Added,mg/ml | 0.2452 | 0.2346 | 0.2256 | 0.2101 | 0.1004 | 0.1832 | 0.1612 |
| | Found,mg/ml | 0.2411 | 0.2317 | 0.2236 | 0.2118 | 0.1985 | 0.1765 | 0.1614 |
| | Recovery, % | 98.32 | 101.2 | 99.15 | 99.19 | 97.06 | 97.96 | 100.11 |
| | Average recovery, % | | | | | 99.28 | | |
| | RSD, % | | | | | 0.83 | | |
| Pseudoephedrine hydrochloride | Added,mg/ml | 0.6404 | 0.6317 | 0.6228 | 0.6049 | 0.5707 | 0.5505 | 0.5705 |
| | Found,mg/ml | 0.6282 | 0.6296 | 0.6209 | 0.6003 | 0.6049 | 0.5848 | 0.5604 |
| | Recovery, % | 98.10 | 100.3 | 99.69 | 101.9 | 100.0 | 97.59 | 98.23 |
| | Average recovery, % | | | | | 99.40 | | |
| | RSD, % | | | | | 1.31 | | |
| Chlorpheniramine meclate | Added,mg/ml | 0.0792 | 0.0613 | 0.0572 | 0.0473 | 0.0421 | 0.380 | 0.0364 |
| | Found,mg/ml | 0.0770 | 0.0619 | 0.0563 | 0.0482 | 0.0416 | 0.0373 | 0.0362 |
| | Recovery, % | 97.26 | 99.03 | 98.34 | 98.13 | 99.06 | 98.27 | 99.35 |
| | Average recovery, % | | | | | 98.49 | | |
| | RSD, % | | | | | 1.14 | | |

Tab 2. Determination of dextromethorphan hydrobromide, pseudoephedrine hydrochloride and chlorpheniramine meclate in Pedia Care (A) and Compound Dextromethorphan Tablets(B)

| Method | | Dextromethorphan hydrobromide | | | Pseudoephedrine hydrochloride | | | Chlorpheniramine meclate | | |
|--------|------|-------------------------------------|---------------|--------|------------------------------------|---------------|--------|------------------------------------|---------------|--------|
| | | Concentration, % | \bar{x} , % | RSD, % | Concentration, % | \bar{x} , % | RSD, % | Concentration, % | \bar{x} , % | RSD, % |
| A | HPLC | 98.34,99.15,99.64 100.03,98.26 | 99.08 | 1.01 | 101.11,99.36,98.14 100.72,99.84 | 99.83 | 1.12 | 100.17,98.26,98.34 97.12,97.36 | 98.25 | 1.04 |
| | UV | 99.02,98.15,99.14 99.96,97.37 | 98.13 | 1.14 | 102.04,98.74,98.33 99.26,100.15 | 99.96 | 1.27 | 101.21,99.04,98.34 98.05,97.85 | 98.37 | 1.12 |
| | HPLC | 97.39,99.68,100.12 105.34,99.17 | 100.34 | 1.15 | 103.17,100.26,99.84 97.62,98.33 | 99.83 | 1.07 | 100.29,100.14,99.78 99.33,98.04 | 99.52 | 1.09 |
| B | UV | 98.19,99.94,100.26 106.17,100.24 | 102.17 | 1.24 | 102.36,101.07,98.92 98.04,99.33 | 99.76 | 1.11 | 99.96,99.82,99.14 98.97,98.01 | 98.74 | 1.17 |

啉在本实验色谱条件下的保留行为,发现盐酸萘甲唑啉保留时间在盐酸伪麻黄碱和美沙芬之间,且峰形稳定,分离度好,无杂峰干扰。

2.3 流动相的选择

随着甲酸钠缓冲液 pH 值的提高,本品中各组分 t_R 值不断减小,尤以扑尔敏显著,经梯度试验,当 $pH < 2.75$ 时,扑尔敏 t_R 值 > 20 min,当 $pH > 3.25$ 时,盐酸伪麻黄碱 t_R 值 < 3 min,与本品的辅料峰不能完全分离,且美沙芬峰与扑尔敏峰之间的分离度 $R < 1$,所以甲酸钠缓冲液最佳 pH 为 3.0。此外,盐酸伪麻黄碱和盐酸萘甲唑啉的保留时间随乙腈量的增大而明显减小^[4],美沙芬和扑尔敏随甲醇量的增大而明显减小,为了使溶剂前沿、辅料峰及四组分色谱峰之间有足够的分离度,并保证在最短的时间内完成测定过程,选择流动相

为甲酸钠缓冲液(pH3.0):乙腈:甲醇(400:400:100),另加入四氢呋喃以减少扑尔敏峰的拖尾。

参 考 文 献

1 程大敦.右旋伪麻黄碱应充分利用.药学通报,1986,21(6):365
 2 Muntha J, Julian TN, Radebaugh GW. Simultaneous determination of pseudoephedrine hydrochloride, chlorpheniramine maleate, and dextromethorphan hydrobromide by second-derivative photodiode array spectroscopy. J Pharm Sci, 1988, 77(8):715
 3 中华人民共和国药典委员会. 中华人民共和国药典:二年. 北京:化学工业出版社,人民卫生出版社,1990. 附录 4.73
 4 梁宏峰,于如耀,杨清华等. 共轭方向法在 HPLC 流动相条件优化中的应用—麻黄碱、伪麻黄碱的分离. 药学报,1991,20(1):49

Determination of Dextromethorphan Hydrobromide, Pseudoephedrine Hydrochloride and Chlorpheniramine Meleate in Compound Dextromethorphan Tablets by HPLC

Guo Ping, Xiang Jing

Nanjing Institute of Materia Medica, Nanjing 210009

Abstract A sensitive and simplified high performance liquid chromatographic procedure was developed to determine dextromethorphan hydrobromide, pseudoephedrine hydrochloride and chlorpheniramine meleate in Compound Dextromethorphan Tablets. Naphazoline hydrochloride was used as internal standard and the detection wavelength was 265 nm. Effect of the pH of the mobile phase and the proportion of the acetonitrile and methanol in the mobile phase on retention behavior was investigated. The standard curve was linear in the detection range. The proposed method was simple and accurate, and the recoveries were 99.28% for dextromethorphan hydrobromide and 99.40% for pseudoephedrine hydrochloride and 98.49% for chlorpheniramine meleate with *RSD* less than 1.4% ($n=7$).

Key words Dextromethorphan hydrobromide; Compound Dextromethorphan Tablet; Pseudoephedrine hydrochloride; Chlorpheniramine meleate; HPLC

【文摘 027】肌苷产生菌 LL-111 突变株的选育及发酵罐小试研究 刘长云, 李玉祥, 李东阳. 药物生物技术, 1995, 2(1): 33~36

以枯草芽孢杆菌 LSBS-1247 为出发菌株, 经亚硝基胍和紫外诱变处理, 获得一株高产突变菌 LL-111, 摇瓶发酵产量为 28 mg/ml, 发酵条件优化后可达 29.6 mg/ml。5 L 发酵罐产量最高为 24.7 g/L。菌株性状稳定。

【文摘 028】用固定化德阿昆合假单胞生产 L-丙氨酸 刘景晶, 吕伟峰, 吴梧桐. 药物生物技术, 1995, 2(1): 40~44

用卡拉胶固定含有 L-天门冬氨酸-β-脱羧酶活性的德阿昆合假单胞。该固定化细胞经 0.1 mol/L 天门冬氨酸铵, 0.1 mmol/L PLP 和 0.2 mol/L 醋酸缓冲液 (pH 5.1) 的活化液处理 24 h, 酶活力可从 620 IU/g 湿细胞提高到 13 000 IU/g 湿细胞。最佳反应条件研究的结果显示, 在 pH 6.2~7.25、底物浓度 0.4~0.5

mol/L 时, 固定化细胞表现最高的酶活力。设计了一个能维持反应液 pH 和底物浓度的循环式反应器, 使天门冬氨酸结晶直接转化成丙氨酸。在 144 h 的连续转化中, 固定化细胞平均活力为 7000 IU/g 湿细胞。

【文摘 029】维生素 C 生物转化的现状和进展 陈建华, 陈英祖, 吴梧桐. 药物生物技术, 1995, 2(1): 56~60

就近年来维生素 C 研究的发展、生物转化的方法、途径等方面作了综述。目前, 维生素 C 的生产仍沿用“莱氏法”, 我国在 70 年代研究“二步发酵法”获得成功。以后发现某些微生物能非常有效地直接转化 D-葡萄糖为 2,5-二酮基-D-葡萄糖酶, 2-酮基-L-古龙酸, 在此基础上, 人们运用基因工程技术, 把第二步菌株的相关基因转移到第一步菌株中, 构建成新的基因工程菌株, 从而使从 D-葡萄糖到 2-酮基-L-古龙酶的生物转化过程只需一种菌一步发酵即可完成。