

HPLC 法测定复方美沙芬缓释片的释放度和含量

张建军 蒋曙光 屠锡德

(中国药科大学药剂学教研室, 南京 210009)

摘要 采用 HPLC 法测定复方美沙芬缓释片释放度和含量。该法采用 YWG-C₁₈ 色谱柱, 以乙腈-醋酸钠溶液-高氯酸-三乙胺(40:60:0.5:0.1)为流动相, 能同时测定制剂中伪麻黄碱和氢溴酸右美沙芬, 精密度好, 峰面积与浓度呈良好线性关系, 回收率约 100%, $RSD < 1.5\%$ 。

关键词 盐酸伪麻黄碱; 氢溴酸右美沙芬; HPLC; 释放度; 含量测定; 缓释片

复方美沙芬缓释片是由盐酸伪麻黄碱(*d*-pseudoephedrine hydrochloride, P)和氢溴酸右美沙芬(dextromethorphan hydrobromide, D)组成的复方缓释制剂, 每片含 P 60 mg、D 30 mg, 用于缓解感冒引起的鼻塞、咳嗽等症状。该复方普通片每日需口服 3~4 次, 而缓释片每日只需给药 1~2 次, 且口服后血浓平稳, 疗效持久, 副作用小。美国药典分别采用 HPLC 法测定制剂中的 P 和 D^[1]。对复方美沙芬缓释片体外释放度研究少见报道。本文旨在建立一种能同时测定制剂中两种组分的释放度和含量的 HPLC 法, 以便对本品进行处方优化与质量控制。

1 仪器与试剂

日本 Shimadzu HPLC 仪 (SPD-6AV 检测器, C-R3A 积分仪, LC-6A 泵, SCL-6A 系统控制器)。

盐酸伪麻黄碱(内蒙古赤峰制药厂), 氢溴酸右美沙芬(上海新亚制药公司), 复方美沙芬缓释片(自制)。

pH 6.8 磷酸盐缓冲液(PBS): 取磷酸二氢钾 6.8 g 溶于适量水中, 用浓氢氧化钠溶液调节 pH 至 6.8, 加水至 1000 ml。稀盐酸(0.1 mol/L): 浓盐酸 9 ml 加水至 1000 ml。

乙腈(色谱纯), 其它试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

流动相: 乙腈-无水醋酸钠溶液(0.02 mol/L)-

高氯酸-三乙胺(40:60:0.5:0.1), 1.25 mol/ml NaOH 调 pH 至 3.0; 色谱柱: YWG-C₁₈ 柱(长 25 cm, 内径 4.6 mm); 检测波长: 214 nm; 流速 1 ml/min; 灵敏度 0.04; 进样量: 20 μ l; 理论板数 1500(以 D 计)。按此色谱条件, 分别注入两种介质中的样品溶液, 记录色谱图, 见图 1、2(P 和 D 的保留时间分别为 3.8 和 13.5 min)。结果表明, P 和 D 分离情况良好。该色谱条件下辅料不干扰测定, P 和 D 的最低检出限分别为 0.5 μ g/ml 和 1 μ g/ml。

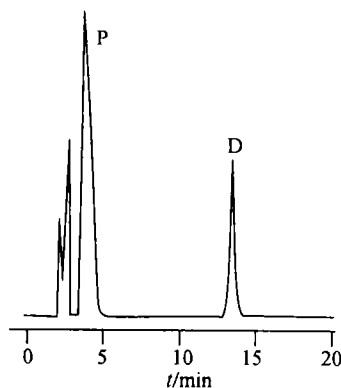


Fig 1. HPLC in 0.1 mol/L HCl Soln

2.2 线性考察

精密称取适量 P 和 D 于同一容量瓶中, 加稀盐酸溶解并定容, 摇匀, 作为储备液; 精密量取一定体积的储备液, 加稀盐酸制备系列浓度的标准溶

液。同法制备 pH 6.8 磷酸盐缓冲液中的系列标准溶液。

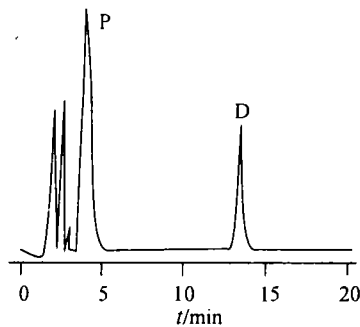


Fig 2. HPLC in pH 6.8 PBS

分别量取标准溶液 20 μl 进样于 HPLC, 记录色谱图, 测定峰面积, 以浓度(C)为纵坐标, 峰面积(A)为横坐标进行线性回归, 得两种介质中 P 和 D

的回归方程。在稀盐酸中 P 和 D 的标准曲线分别为 $C=1.3854+6.9637\times10^{-4}A$ ($r=0.9999$, 线性范围 10.0~60.0 μg/ml) 和 $C=1.6679+7.9755\times10^{-4}A$ ($r=0.9999$, 线性范围 5.0~30.0 μg/ml); 在 pH 6.8 磷酸盐缓冲液中 P 和 D 的标准曲线分别为 $C=0.6049+6.4546\times10^{-4}A$ ($r=0.9999$, 线性范围 10.0~60.0 μg/ml) 和 $C=-1.1988+6.4966\times10^{-4}A$ ($r=0.9999$, 线性范围 5.0~30.0 μg/ml)。

2.3 回收率试验

取低、中、高三种剂量的 P 和 D(见表 1), 分别加入处方量的辅料, 混匀制成模拟片粉。精密称取适量粉末(约相当于 D 30 mg)于 100 ml 量瓶中, 加入稀盐酸溶解并定容至刻度, 摇匀, 过滤, 取续滤液 0.5 ml, 加稀盐酸稀释至 10 ml, 摇匀, 按前法取 20 μl 进样分析, 测定 P 和 D 在稀盐酸中的浓度, 计算回收率。同法测定 P 和 D 在磷酸盐缓冲液中的回收率, 结果见表 1。

Tab 1. Recovery test of P and D in two medium(n=3)

Medium	D			P		
	Added(mg)	Recovery(%)	RSD(%)	Added(mg)	Recovery(%)	RSD(%)
0.1 mol/L HCl Soln	24	100.2	0.54	48	101.1	0.76
	30	99.56	0.82	60	100.8	0.85
	36	99.78	0.97	72	99.12	0.73
pH 6.8 PBS	24	99.64	0.78	48	99.45	0.67
	30	100.7	0.81	60	101.5	1.22
	36	101.4	1.24	7	100.6	0.45

2.4 精密度试验与样品的稳定性

取回收率试验中的中剂量组溶液, 重复测定 6 次, 结果 P 和 D 的 RSD 分别为 0.75% 和 0.68%。溶液室温放置 24 h 后再测定, P 和 D 的峰面积响应值变化在 1.0% 范围内, 表明溶液在 24 h 内稳定。

2.5 释放度测定

按中国药典 1995 年版二部附录释放度测定法第一法, 以稀盐酸 900 ml(9→1000)为释放介质, 2 h 后换用 pH 6.8 磷酸盐缓冲液为介质, 转速为 100 r/min, 依法操作。分别于 2, 4, 6, 8, 10, 12 h 定时取样 5 ml, 滤过(同时补充等量介质), 取续滤液照前述方法测定计算出介质中样品浓度并求出释放百分率。结果见图 3。

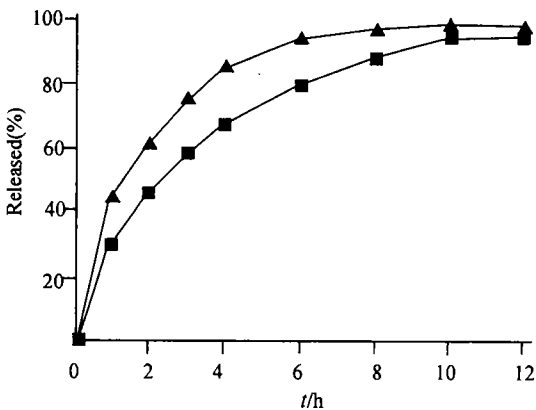


Fig 3. The cumulative release of dextromethorphan hydrobromide and pseudoephedrine hydrochloride from sustained-release tablets.
—▲— P; —■— D

2.6 缓释片的含量测定

对三批样品进行含量测定。取样品 20 片,精密称重,研细。精密称取适量细粉(相当于 D 30 mg)于容量瓶中,用 pH 6.8 磷酸盐缓冲液配成 D 浓度为 15 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的溶液,在上述色谱条件下进样 20 μl 。将所得的结果代入标准曲线算出含量,结果三批缓释片的含量(%)分别为 101.3 ± 1.03 , 102.4 ± 1.22 , 102.1 ± 0.89 。

3 讨论

3.1 流动相中高氯酸和三乙胺的作用

在流动相中加入的少量高氯酸与无水醋酸钠溶液组成缓冲溶液,并用稀 NaOH 溶液调节 pH 值,以提高 P 与两种介质的溶剂峰的分离效果;加入三乙胺可有效防止 D 上的羟基与键合相填料中残余硅醇基形成氢键结合所导致的色谱峰拖尾现象。

3.2 波长的选择

P 和 D 的最大吸收波长分别为 256 nm 和 278 nm。实验表明,释放度实验 3 h 样品中 D 浓度较

低,在此两波长处进行检测时得到的 D 峰形较差,误差较大。由于 P 和 D 在 200~230 nm 间均有很强的吸收,故选用 214 nm 作为测定波长,实验证明此波长处灵敏度高,适合于本制剂体外释放度实验和含量测定的要求。

3.3 含量测定溶剂选择

含量测定采用 pH 6.8 磷酸盐缓冲液作为溶剂。因为稀盐酸溶液为溶剂时含量测定结果偏低,这可能是由于处方中一些肠溶性阻滞剂所致。另外,采用 pH 6.8 磷酸盐缓冲液可减少采用流动相为溶剂时的乙腈消耗。

3.4 释放介质的选择

缓释片在人体胃肠道的滞留时间较长,为模拟制剂在体内胃肠道的 pH 转换情况,释放前 2 h 采用稀盐酸溶液,2 h 后换用 pH 6.8 磷酸盐缓冲液。

参考文献

- 1 USP XX ■ P482,1340

Determination of *in Vitro* Release and Content of Dextromethorphan Hydrobromide and Pseudoephedrine Hydrochloride Sustained-Release Tablets by HPLC

Zhang Jianjun, Jiang Shuguang, Tu Xide

Department of Pharmaceutics, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009

Abstract Determination of release and content of compound dextromethorphan sustained release tablets by HPLC was established. This stationary phase was YWG-C₁₈, the mobile phase was composed of the mixture of acetonitrile and CH₃COONa buffer. This condition for analysis can meet the requirements to determinate simultaneously the release and contents of pseudoephedrine and dextromethorphan hydrobromide in preparation. It was a precise method and the mean recovery was nearly 100%, $RSD < 1.5\%$. The peak area was in good correlation with concentration for both drugs.

Key word Pseudoephedrine hydrochloride; Dextromethorphan hydrobromide; HPLC; *In vitro* release; Determination of content; Sustained-release tablet