

RP-HPLC法同时测定复方苯海拉明滴鼻液中3种成分的含量

安珍珍*, 杨云, 任磊, 马长勇, 刘西亚, 张娟, 王建平*(解放军空军航空医学研究所附属医院药剂科, 北京100089)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2017)18-2573-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2017.18.35

摘要 目的:建立同时测定复方苯海拉明滴鼻液中盐酸麻黄碱、呋喃西林、盐酸苯海拉明含量的方法。方法:采用反向高效液相色谱法。色谱柱为Inertsil ODS-3 C₁₈,流动相为0.05 mol/L磷酸二氢钾缓冲液(pH 7.0)-乙腈(梯度洗脱),流速为1.0 mL/min,检测波长为256 nm,柱温35 ℃,进样量为20 μL。结果:盐酸麻黄碱、呋喃西林、盐酸苯海拉明检测质量浓度线性范围分别为122.1~366.3 μg/mL($r=0.999\ 9$)、5.2~15.5 μg/mL($r=0.999\ 8$)、31.5~94.5 μg/mL($r=0.999\ 4$);定量限分别为2.442、0.010、2.520 μg/mL,检测限分别为0.810、0.003、0.830 μg/mL;精密度、稳定性、重复性试验的RSD<1.0%;加样回收率分别为99.2%~101.7%(RSD=0.9%, $n=9$),96.4%~102.0%(RSD=1.7%, $n=9$),100.2%~101.9%(RSD=0.4%, $n=9$)。结论:该方法操作简便、结果准确、重复性好,适用于复方苯海拉明滴鼻液中盐酸麻黄碱、呋喃西林、盐酸苯海拉明含量的同时测定。

关键词 高效液相色谱法;盐酸麻黄碱;呋喃西林;盐酸苯海拉明;复方苯海拉明滴鼻液;含量

Simultaneous Determination of 3 Components in Compound Diphenhydramine Nasal Drop by RP-HPLC

AN Zhenzhen, YANG Yun, REN Lei, MA Changyong, LIU Xiya, ZHANG Juan, WANG Jianping (Dept. of Pharmacy, the Affiliated Hospital of Aeromedicine Institute of PLA, Beijing 100089, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for simultaneous determination of ephedrine hydrochloride, nitrofurantoin and diphenhydramine hydrochloride in Compound diphenhydramine nasal drop. METHODS: RP-HPLC method was adopted. The determination was performed on Inertsil ODS-3 C₁₈ column with mobile phase consisted of 0.05 mol/L potassium dihydrogen phosphate buffer (pH 7.0)-acetonitrile (gradient elution) with flow rate of 1.0 mL/min. The detection wavelength was set at 256 nm, and the column temperature was 35 ℃. The sample size was 20 μL. RESULTS: The concentrations of phedrine hydrochloride, nitrofurantoin and diphenhydramine hydrochloride ranged 122.1-366.3 μg/mL ($r=0.999\ 9$), 5.2-15.5 μg/mL ($r=0.999\ 8$) and 31.5-94.5 μg/mL ($r=0.999\ 4$), respectively. The limits of quantitation were 2.442, 0.010, 2.520 μg/mL, and the limits of detection were 0.810, 0.003, 0.830 μg/mL, respectively. RSDs of precision, stability and reproducibility tests were lower than 1.0%. The recoveries of them were 99.2%-101.7% (RSD=0.9%, $n=9$), 96.4%-102.0% (RSD=1.7%, $n=9$), 100.2%-101.9% (RSD=0.4%, $n=9$), respectively. CONCLUSIONS: The method is simple, accurate and reproducible, and can be used for simultaneous determination of ephedrine hydrochloride, nitrofurantoin and diphenhydramine hydrochloride in Compound diphenhydramine nasal drop.

KEYWORDS HPLC; Ephedrine hydrochloride; Nitrofurantoin; Diphenhydramine hydrochloride; Diphenhydramine nasal drop; Content

复方苯海拉明滴鼻液临床主要用于慢性鼻炎及慢性鼻窦炎的治理^[1],其主要成分为盐酸苯海拉明、盐酸麻黄碱和呋喃西林。现有相关文献^[2-4]测定该制剂的成分较少,且操作烦琐,为简化操作步骤,更为全面地控制该制剂的质量,笔者采用反向高效液相色谱法(RP-HPLC)建立了同时测定该制剂中盐酸苯海拉明、盐酸麻黄碱、呋喃西林含量的方法。

1 材料

1.1 仪器

LC-20AT型高效液相色谱(HPLC)仪,包括LC-20AD泵、DGU-20A_{3R}在线脱气机、SIL-20A进样器、

*药师,硕士。研究方向:药品质量标准。电话:010-88422297。
E-mail: anzhenzhen2721@126.com

#通信作者:副主任药师。研究方向:医院药学。E-mail: wangjianping@163.com

SPD-M20A检测器、CTO-20A柱温箱、Labsolutions工作站(日本Shimadzu公司);XSE105DU型电子天平(瑞士Mettler-Toledo公司);SK6210LHC型超声波清洗仪(上海科导超声仪器有限公司,功率:250 W,频率:50 kHz);MT-Extract-V型超纯水仪(上海砾鼎水处理设备有限公司)。

1.2 药品与试剂

复方苯海拉明滴鼻液(解放军空军航空医学研究所附属医院药剂科自制,批号:20150914、20150915、20150916,规格:10 mL/瓶);盐酸麻黄碱对照品(批号:171241-201007,纯度:99.8%)、呋喃西林对照品(批号:101167-201001,纯度:99.4%)、盐酸苯海拉明对照品(批号:100066-200807,纯度:99.9%)均购自中国食品药品检定研究院;乙腈为色谱纯,其余试剂均为分析纯,水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:Inertsil ODS-3 C₁₈(250 mm×4.6 mm,5 μm);流动相:0.05 mol/L磷酸二氢钾缓冲液(pH 7.0)(A)-乙腈(B),梯度洗脱(0~25 min,15%→50% A,25~40 min,50%→15% A);流速:1.0 mL/min;检测波长:256 nm;柱温:35℃;进样量:20 μL。

2.2 溶液的制备

2.2.1 混合对照品溶液 取盐酸麻黄碱对照品约25 mg,置于10 mL量瓶中,加流动相溶解并定容,摇匀,即得盐酸麻黄碱对照品贮备液;取呋喃西林对照品约5 mg,置于50 mL量瓶中,加流动相溶解并定容,摇匀,即得呋喃西林对照品贮备液;取盐酸苯海拉明对照品约6.25 mg,置于10 mL量瓶中,加流动相溶解并定容,摇匀,即得盐酸麻黄碱对照品贮备液。取上述贮备液各1 mL,置于同一10 mL量瓶中,加流动相溶解并定容,摇匀,即得盐酸麻黄碱、呋喃西林、盐酸苯海拉明质量浓度分别为250.0、10.0、62.5 μg/mL的混合对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液 精密量取样品5 mL,置于100 mL量瓶中,加流动相溶解并定容,摇匀,经0.45 μm微孔滤膜滤过,取续滤液,即得。

2.2.3 阴性对照溶液 取空白辅料适量,按“2.2.2”项下方法制备阴性对照溶液。

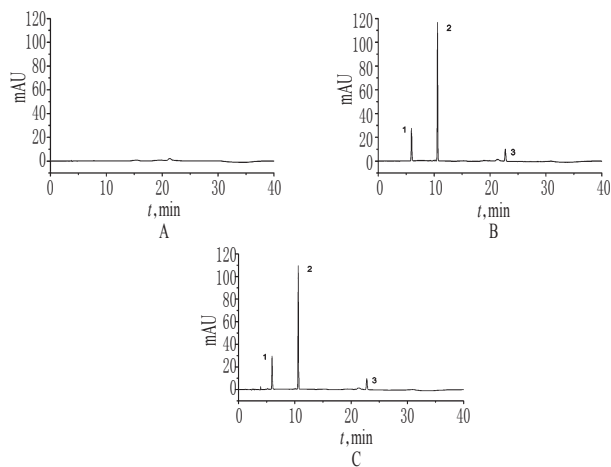
2.3 系统适用性试验

精密量取“2.2”项下混合对照品溶液、供试品溶液和阴性对照溶液各适量,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录色谱,详见图1。由图1可知,在该色谱条件下,理论板数以呋喃西林峰计为8 000,保留时间为10 min;各成分均能达到基线分离,分离度>1.5。结果表明,其他成分对测定无干扰。

2.4 线性关系考察

分别精密量取“2.2.1”项下盐酸麻黄碱、呋喃西林、盐酸苯海拉明的对照品贮备液各0.5、0.8、1.0、1.2、1.5 mL,分别置于同一10 mL量瓶中,加流动相溶解并定容,摇匀,即得系列混合对照品溶液。取上述系列混合对照品溶液适量,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以盐酸麻黄碱、呋喃西林、盐酸苯海拉明质量浓度(x , μg/mL)为横坐标、峰面积(y)为纵坐标进行线性回归,得盐酸麻黄碱回归方程 $y=968.6x-7\ 736$ ($r=0.999\ 9$),呋喃西林回归方程 $y=73\ 241x-3\ 796$ ($r=0.999\ 8$),盐酸苯海拉明回归方程 $y=1\ 816x-228$ ($r=0.999\ 4$)。结果表明,盐酸麻黄碱、呋喃西林、盐酸苯海拉明检测质量浓度线性范围分别为122.1~366.3、5.2~15.5、31.5~94.5 μg/mL。

2.5 定量限与检测限考察



A.阴性对照;B.混合对照品;C.供试品;1.盐酸麻黄碱;2.呋喃西林;3.盐酸苯海拉明

A.negative control; B.mixed control; C.test sample; 1.ephedrine hydrochloride; 2.nitrofurazone; 3.diphenhydramine hydrochloride

图1 高效液相色谱图

Fig 1 HPLC chromatograms

取“2.2.1”项下混合对照品溶液适量,倍比稀释,按“2.1”项下色谱条件连续进样测定6次,记录峰面积。当信噪比为10:1时,得定量限(LOQ);当信噪比为3:1时,得检测限(LOD)。结果,盐酸麻黄碱、呋喃西林、盐酸苯海拉明的LOQ分别为2.442、0.010、2.520 μg/mL, LOD分别为0.810、0.003、0.830 μg/mL。

2.6 精密度试验

取“2.2.1”项下混合对照品溶液适量,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果,盐酸麻黄碱、呋喃西林、盐酸苯海拉明峰面积的RSD分别为0.5%、0.4%、0.7%($n=6$),表明仪器精密度良好。

2.7 稳定性试验

取“2.2.2”项下供试品溶液(批号:20150914)适量,分别于室温下放置0、4、8、12、24 h时按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果,盐酸麻黄碱、呋喃西林、盐酸苯海拉明峰面积的RSD分别为0.4%、0.2%、0.3%($n=5$),表明供试品溶液在室温下放置24 h内稳定性良好。

2.8 重复性试验

取样品(批号:20150914)适量,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算盐酸麻黄碱、呋喃西林、盐酸苯海拉明的含量。结果,盐酸麻黄碱、呋喃西林、盐酸苯海拉明的含量的平均值分别为98.1%、93.3%、95.5%,RSD分别为0.3%、0.1%、0.4%($n=6$),表明本方法重复性良好。

2.9 回收率试验

精密量取“2.2.3”项下阴性对照溶液5 mL,共9份,各置于100 mL量瓶中,分别加入低、中、高质量的盐酸

麻黄碱、呋喃西林、盐酸苯海拉明对照品,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算回收率,结果见表1。

表1 回收率试验结果($n=9$)

Tab 1 Results of recovery tests($n=9$)

待测成分	加入量,mg	测得量,mg	回收率,%	平均回收率,%	RSD,%			
盐酸麻黄碱	19.51	19.44	99.6	100.3	0.9			
	19.54	19.39	99.2					
	19.42	19.43	100.1					
	24.38	24.38	100.0					
	24.42	24.48	100.2					
	24.51	24.35	99.3					
	29.42	29.81	101.3					
	29.31	29.63	101.1					
	29.28	29.78	101.7					
	呋喃西林	0.84	0.81			96.4	98.9	1.7
		0.82	0.81			98.8		
		0.81	0.81			100.0		
1.01		1.03	102.0					
1.03		1.03	100.0					
1.05		1.03	98.1					
1.23		1.22	99.2					
1.24		1.22	98.4					
1.26		1.22	96.8					
盐酸苯海拉明		5.15	5.16	100.2	101.2	0.4		
	5.17	5.23	101.1					
	5.05	5.11	101.2					
	6.62	6.70	101.2					
	6.61	6.69	101.2					
	6.59	6.67	101.2					
	7.68	7.80	101.6					
	7.56	7.70	101.9					
	7.66	7.76	101.3					

2.10 样品含量测定

取3批样品各适量,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算样品含量,结果见表2。

表2 样品含量测定结果($n=3$,%)

Tab 2 Results of contents determination of samples ($n=3$,%)

样品批号	盐酸麻黄碱	呋喃西林	盐酸苯海拉明
20150914	98.1	93.3	95.5
20150915	98.5	93.7	95.2
20150916	98.7	93.1	95.8

3 讨论

3.1 流动相的选择

笔者参考文献[2-6],考察了不同配比下十二烷基硫酸钠溶液-甲醇-三乙胺、水-甲醇-三乙胺、水-乙腈-三乙胺、甲醇-水、磷酸盐缓冲液-乙腈等作为流动相时的情况。结果,不同配比下十二烷基硫酸钠溶液-甲醇-三乙胺、水-甲醇-三乙胺、水-乙腈-三乙胺、甲醇-水作为流动

相进行梯度洗脱时,色谱的分离度、稳定性均不够理想;而选择0.05 mol/L 磷酸二氢钾缓冲液-乙腈为流动相进行梯度洗脱时,色谱的分离度、稳定性有所改善,且还可避免十二烷基硫酸钠和三乙胺给色谱柱带来的损害。因盐酸麻黄碱和盐酸苯海拉明均有胺基侧链,显碱性,在反相色谱系统中,流动相的pH对二者的峰形和保留时间有明显的影响^[7-8],笔者尝试调节不同pH,最终确定pH为7.0时二者峰形良好。因此,选择0.05 mol/L 磷酸二氢钾缓冲液(pH 7.0)-乙腈为本试验的流动相。

3.2 检测波长的考察

盐酸苯海拉明与盐酸麻黄碱在255 nm波长处出现最大吸收峰,呋喃西林在260 nm和360 nm波长处出现最大吸收峰,结合2015年版《中国药典》盐酸苯海拉明与盐酸麻黄碱的紫外检测波长^[6],故选择256 nm作为本试验的检测波长。

综上所述,本方法操作简便、结果准确、重复性好,适用于复方苯海拉明滴鼻液中盐酸麻黄碱、呋喃西林、盐酸苯海拉明含量的同时测定。

参考文献

- [1] 中央军委后勤保障部卫生局.中国人民解放军医疗机构制剂规范[S].北京:人民军医出版社,2015:202-205.
- [2] 刘炜,曾蔚欣,刘礼斌,等.反相离子对高效液相色谱法测定复方苯海拉明滴鼻液中盐酸苯海拉明和盐酸麻黄碱的含量[J].中国药房,2011,22(41):3894-3896.
- [3] 张钢平,余卫兵,毕雪艳,等.HPLC法测定复方苯海拉明滴鼻剂的含量[J].中国药事,2008,22(3):240-241.
- [4] 刘新云,甘春英,李志荣,等.高效液相色谱法同时测定复方呋喃西林滴鼻液中盐酸麻黄碱和呋喃西林的含量[J].医药导报,2006,25(8):821-823.
- [5] 韩枫,闫永波,赫玉霞.紫外分光光度法测定盐酸苯海拉明乳膏中盐酸苯海拉明的含量[J].中国医院药学杂志,2007,27(12):1787-1788.
- [6] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:二部[S].2015年版.北京:中国医药科技出版社,2015:1000、1076.
- [7] 傅若农.色谱分析概论[M].北京:化学工业出版社,2000:176-178.
- [8] 程辉跃.HPLC法同时测定百喘朋中盐酸麻黄碱和盐酸苯海拉明的含量[J].中国药房,2001,12(10):622-623.

(收稿日期:2016-09-13 修回日期:2017-03-01)

(编辑:刘柳)