

# 高效液相色谱法测定复方氨酚烷胺分散片中三组分含量的策略探讨

王鹏

(齐鲁制药有限公司 山东 济南 250100)

摘要：为通过高效液相色谱法实现对复方氨酚烷胺分散片中的马来酸氯苯那敏、咖啡因、对乙酰氨基酚三组分含量的测定，采用高效液相色谱法、双波长检测、梯度洗脱的方法建立了本检测方法，与现行标准的检测结果进行比对，证实 在 200 mmx4.6 mm, 5 μm 色谱柱，流动相乙腈+0.1%三乙胺水溶液按照梯度洗脱的方法并在 280nm、210nm 的波长下进行检测的重复性、普适性良好，与现行标准检测结果基本一致，且建立的方法检测结果准确，应用于该药组分的测定及质量控制具有较高的应用价值。

关键词：复方氨酚烷胺分散片；咖啡因；对乙酰氨基酚；马来酸氯苯那敏

复方氨酚烷胺分散片的主要成分为马来酸氯苯那敏、咖啡因、对乙酰氨基酚、盐酸金刚烷胺、人工牛黄，除此以外还包括一定辅料<sup>[1]</sup>。该药物在由于因伤风感冒引起的发热、咽喉痛、头痛、打喷嚏、流鼻涕及鼻塞等治疗中应用较多，还可以应用于防治流行性感冒<sup>[2]</sup>。本次研究主要探讨高效液相色谱法测定复方氨酚烷胺分散片中三组分含量的测定，为该药品的质量控制提供一定参考，报道如下。

## 1、仪器与试剂

仪器为美国戴安公司的高效液相色谱仪。

试剂包括马来酸氯苯那敏、咖啡因及对乙酰氨基酚对照品，均来源于中国药品生物制品检定所。复方氨酚烷胺分散片（葵花药业集团生物制药有限公司，每片含对乙酰氨基酚 250 毫克、盐酸金刚烷胺 100 毫克、人工牛黄 10 毫克、咖啡因 15 毫克、马来酸氯苯那敏 2 毫克），乙腈为色谱纯试剂，磷酸、庚烷磺酸钠、磷酸二氢铵为分析纯试剂，水为重蒸蒸馏水。

## 2、方法

### 2.1 色谱条件

色谱柱为 Diamonsil C18 柱(200 mmx4.6 mm, 5 μm)，流动相 A 为乙腈，流动相 B 为用磷酸调节 pH 值为 3.2~4.2 的 0.1%三乙胺水溶液，使用流动相 A 和流动相 B 进行梯度洗脱。检测时进体积样为 5 μl，柱温为 30℃，流速为 1ml/min。洗脱条件为 0~9min 流动相 A 为 15%，流动相 B 为 85%，这时检测波长设定为 280nm；9~10min 时，流动相 A 调整为 15%~25%，流动相 B 则调整为 85%~75%，检测波长调整为 210nm；10~20min 时，流动相 A 调整为 25%，流动相 B 调整为 75%，检测波长为 210nm 保持不变。

### 2.2 制备对照品溶液

精密称取 15mg 马来酸氯苯那敏对照品，将其放置于容量为 50ml 的量瓶 A 中，加 15%乙腈溶液适量使溶解并稀释至刻度，摇匀。采用电子天平精密称取咖啡因对照品 12mg 及对乙酰氨基酚对照品 0.2g，将其放置于容量为 50ml 的量瓶 B 中，加入 15%乙腈溶液适量使溶解；从量瓶 A 中精密量取 5ml 溶液至量瓶 B 中，加入 15%乙腈溶液稀释至刻度并摇匀，得到对照品溶液。

### 2.3 制备供试品溶液

取一片复方氨酚烷胺分散片，将其放置于容量为 50ml 的量瓶中，加入 15%乙腈溶液适量超声使其溶解，放冷至室温后用 15%乙腈溶液稀释至刻度，摇匀并过滤，取续滤液作为供试品溶液。

## 3、结果及讨论

### 3.1 溶剂的选择

复方氨酚烷胺分散片中的咖啡因、对乙酰氨基酚、马来酸氯苯那敏这三种组分都可以使用乙腈实现溶解<sup>[3-4]</sup>。使用 15%乙腈溶液作为溶剂可以将样品中的绝大多数辅料溶解；经试验证实将乙腈作为溶剂的提取率不高，且乙腈在溶剂中的占比超过 50%时溶液出现分层现象，结果发现两相中都含有马来酸氯苯那敏，这对定量分析不利。因此与乙腈相比，15%的乙腈溶液作为溶剂更加适合。

### 3.2 确定检测波长

复方氨酚烷胺分散片中的三种组分由于规格不同含量相差较大，为了实现在同一色谱条件下对三种组分含量的准确测定，采用双波长进行检测；通过紫外全波长扫描可知，咖啡因的最大吸收波长为 280nm，对乙酰氨基酚的最大吸收波长为 257nm，马来酸氯苯那敏的最大吸收波长<sup>[5-6]</sup>为 210nm。因此测定咖啡因及对乙酰氨基酚的含量时，选取含量较小的咖啡因的最大吸收波长 280nm 处为检测波长，减少了两者峰面积的差异，提高了方法的准确性；测定马来酸氯苯那敏的含量时，选取检测波长为 210nm。

### 3.3 流动相的确定

确定流动相时，分别选择了乙腈-0.1%三乙胺水溶液（使用磷酸对 pH 值进行调节，分别调整至 2.6、3.2、4.5、6）、乙腈-0.03%mol/L 磷酸氢二铵（使用磷酸对 pH 值进行调节，分别调整至 3、5）（30：70，40：60，v/v）及甲醇-0.05mol/L 磷酸氢二铵（使用磷酸对 pH 值进行调节，分别调整至 3、5）（30：70，40：60，v/v）等不同流动相并分别进行考察<sup>[7]</sup>。经试验发现咖啡因、对乙酰氨基酚在上面几种流动相的条件下均可以很好地分离，可以准确实现定量计算，峰形对称，但是不能很好地分离马来酸氯苯那敏，峰形上存在严重的拖尾现象，对 pH 值非常敏感。满足了马来酸氯苯那敏出峰的要求后则很难完全分离咖啡因和对乙酰氨基酚<sup>[8]</sup>。

对此决定采用梯度洗脱的方法实现分离。经试验发现流动相采用乙腈和 0.1%三乙胺水溶液实施梯度洗脱时，可以取得一定改善马来酸氯苯那敏峰形拖尾的问题；伴随着 0.1%三乙胺水溶液的 pH 值不断降低，马来酸氯苯那敏的保留就越来越差，当溶液的 pH 值为 6.0 时 30min 内没有发现马来酸氯苯那敏出峰，随着溶液的 pH 值不断降低，马来酸氯苯那敏保留逐渐变弱，最终确定流动相为乙腈和 0.1%三乙胺水溶液，使用磷酸对 pH 值进行调整，调整至 3.2~4.2。梯度洗脱程序如 2.1 中所述。在上述色谱条件下采用空白样品试验，结果显示对待测组分不造成干扰。

### 3.4 线性关系的考察

对系列对照品混合液分别进行测定,将横坐标作为进样质量,将纵坐标作为不同组分的峰面积 A,对线性关系进行考察,结果见表 1。从表 1 中的数据可以发现进样质量与组分的峰面积具有良好的线性关系。

表 1 三种组分的线性关系

组分	回归方程	相关系数	线性范围(μg)
咖啡因	A=0.2941+2.2897C	0.999	0.14-3.6
对乙酰氨基酚	A=0.1513+9.2104C	0.999	2.4-60
马来酸氯苯那敏	A=0.0004+0.2153C	0.999	0.019-0.48

### 3.5 溶液稳定性

按照上述供试品溶液配制方法制备同一供试品溶液,在室温放置 0h、2h、12h、18h 及 24h 时,分别精密量取 5μl 注入液相色谱仪,对三种组分的色谱图峰面积进行记录,并对其相对标准偏差(RSD)进行计算,结果显示 RSD 分别为 0.51%、0.44%、0.63%,证实配置的供试品溶液在 24h 内具有较强的稳定性。

### 3.6 重复性的测定

取平行制备的 6 份供试品溶液,按照上述色谱条件进行检测,结果显示马来酸氯苯那敏、咖啡因、对乙酰氨基酚的平均含量分别为 95.7%、105.3%、97.8%,RSD 分别为 0.22%、0.21%、0.23%。重复性测定结果表明该方法具有较强的重复性。

### 3.7 回收率的测定

取已经测定含量的样品,精密称量后置于 25ml 量瓶,将三种对照品溶液加入后对加标回收率进行测定,结果显示对马来酸氯苯那敏、乙酰氨基酚、咖啡因的平均回收率分别为 99.8%~100.3%、99.7%~99.9%、99.0%~99.1%。

### 3.8 普适性

采用两根来自不同厂家的色谱柱,分别为 waters 公司及 Agilent 公司,其规格分别为 250mm 格分别为家的,550 及 150mm 格分别为家的,550,测定同一批样品。结果显示马来酸氯苯那敏、乙酰氨基酚、咖啡因测定结果的 RSD 分别为 0.64%、0.21%、0.26%,证实该方法的色谱柱范围较宽,具有良好的普适性。

### 3.9 测定实际样品

按照建立的含量测定方法测定该厂家的 9 批样品的含量,将检测结果与现行标准方法的测定结果进行比较,从表 3 数据可见两种方法的测定结果具有较高的一致性。

表 1 观察建立方法与现行标准对三种组分含量的测定结果

编号	建立方法 (%)	现行方法 (%)
①	97.6	97.2
②	97.0	97.3
③	93.3	91.4
④	99.4	99.0
⑤	98.6	98.4
⑥	98.2	98.6
⑦	98.8	98.5
⑧	99.5	99.7
⑨	99.7	98.8

## 4、结论

采用高效液相色谱法、双波长检测、梯度洗脱的方法建立了对

复方氨酚烷胺分散片中马来酸氯苯那敏、乙酰氨基酚、咖啡因三种组分含量的测定方法,经检验证实该方法与现行标准方法的检验结果具有较高的一致性,且所建立的方法具有高效、简便的优势,无需反复制备样品及测定,该方法的检测结果准确,具有较好的重现性及普适性,应用于复方氨酚烷胺分散片中组分的测定及质量控制具有较高的应用价值。

### 参考文献

- [1] 刘圆圆,孙建绪,李迎,等. 高效液相色谱法测定盐酸异丙嗪咖啡因片的含量及溶出度[J]. 国际药学研究杂志,2016,43(2):392-397.
- [2] SONONE, REVATI, TANDEL, LEENA, JAIN, VANDANA. Novel Rapid Isocratic RP-HPLC Method for Simultaneous Estimation of Phenylephrine Hydrochloride, Paracetamol, Caffeine, Diphenhydramine Hydrochloride[J]. Current pharmaceutical analysis.,2021,17(6):792-800.
- [3] DINC-ZOR, SULE, DONMEZ, OZLEM AKSU, BOZDOGAN, ABDURREZZAK E.. Application of Chemometrics-assisted HPLC-DAD Strategies for Simultaneous Determination of Paracetamol, Pseudoephedrine HCl, Dextro-thorphan HBr, Doxylamine Succinate and Saccharin in Syrup Formulation[J]. Current pharmaceutical analysis.,2021,17(8):1043-1050.
- [4] 程岁寒,张双庆,马灿,等. HPLC-ELSD 法区分小儿氨酚黄那敏颗粒中体外培育牛黄和人工牛黄[J]. 三峡大学学报(自然科学版),2018,40(6):101-103. DOI:10.13393/j.cnki.issn.1672-948X.2018.06.023.
- [5] 散仁,巴拉,岳伟东,等. 反向高效液相色谱法检测双峰驼血浆中对乙酰氨基酚的含量[J]. 中国畜牧兽医,2017,44(8):2517-2522.
- [6] 董玲玲,龚旭昊,王静文,等. HPLC-PDA 方法同时检测黄连解毒散中非法添加的对乙酰氨基酚和盐酸溴己新[J]. 中国兽药杂志,2016,50(5):19-23.
- [7] IBRAHIM, HANY, HAMDY, ABDALLAH M., MEREY, HANAN A., et al. Dual-Mode Gradient HPLC and TLC Densitometry Methods for the Simultaneous Determination of Paracetamol and Methionine in the Presence of Paracetamol Impurities[J]. Journal of AOAC International,2021,104(4):975-982.
- [8] NAGARAJAN, NALINI CALAMBUR, SIVAPERUMANAN, AMUTHALAKSHMI, PRIYA. Stability Indicating RP-HPLC Simultaneous Estimation of Hyoscyine Butylbromide and Paracetamol in Tablets[J]. Pharmaceutical Chemistry Journal,2021,55(4):410-415.