

# HPLC 测定盐酸氨溴索口腔崩解片的含量及有关物质

汤南, 张丹\*, 孙文霞, 仇丽颖, 赵曦

(四川大学华西药学院, 四川成都 610041)

**摘要:** 目的 建立测定盐酸氨溴索口腔崩解片中主药含量及其有关物质检查的方法。方法 采用 HPLC 法, 用 Hypersil C<sub>18</sub> 柱, 甲醇-20 mmol·L<sup>-1</sup> 磷酸二氢钠-三乙胺(50:50:0.1, 磷酸调 pH 3.60±0.1) 为流动相, 检测波长 244 nm, 流速 1.0 ml·min<sup>-1</sup>。结果 盐酸氨溴索在 2.5~60.0 μg·ml<sup>-1</sup> 范围内, 峰面积与浓度的线性关系良好( $r=0.9999$ ), 高、中、低浓度的平均回收率为 100.9%~103.2%, RSD 为 0.67%~1.09%。结论 所用方法准确、简便、快速, 适用于盐酸氨溴索口腔崩解片的质量控制。

**关键词:** 盐酸氨溴索; 口腔崩解片; 高效液相色谱法; 有关物质

中图分类号: R917

文献标识码: A

文章编号: 1006-0103(2005)06-0538-03

## Determination of the contents and related substances in Ambroxol hydrochloride orally disintegrating tablet by HPLC

TANG Nan, ZHANG Dan\*, SUN Wen-xia, QIU Li-ying, ZHAO Xi

(West China School of Pharmacy, Sichuan University, Chengdu 610041, China)

**Abstract:** **OBJECTIVE** To establish a method for determination of the contents and related substances in Ambroxol hydrochloride orally disintegrating tablet. **METHODS** HPLC method was adopted with a Hypersil C<sub>18</sub> column (250 mm × 4.6 mm, 10 μm), and the mobile phase consisted of methyl alcohol-20 mmol·L<sup>-1</sup> NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>-triethylamine (50:50:0.1, adjusted to pH 3.60±0.1 with phosphoric acid). The UV detection was at 244 nm and the flow rate was 1.0 ml·min<sup>-1</sup>. **RESULTS** The calibration curve was linear ( $r=0.9999$ ) within the range of 2.5~60.0 μg·ml<sup>-1</sup> for Ambroxol hydrochloride. The average recovery was from 100.9% to 103.2% for three different levels of the amount of Ambroxol hydrochloride, with RSD was from 0.67% to 1.09%. **CONCLUSION** This method is simple, rapid, accurate and effective for testing content and related substances in Ambroxol hydrochloride orally disintegrating tablet. This method is suitable for the quality control of Ambroxol hydrochloride orally disintegrating tablets.

**Key words:** Ambroxol hydrochloride; Orally disintegrating tablet; HPLC; Related substances

CLC number: R917

Document code: A

Article ID: 1006-0103(2005)06-0538-03

盐酸氨溴索{反-4-[(2-氨基-3,5-二溴苯甲基)氨基]环己醇盐酸盐}具有较强的祛痰和改善肺功能的作用。临床作为黏液溶解型祛痰药, 广泛用于各种急、慢性呼吸道疾病(急慢性支气管炎、支气管哮喘、支气管扩张、肺结核等引起的痰液黏稠、咳痰困难等)的治疗。其普通片及口服液的含量测定方法有 HPLC 法<sup>[1,2]</sup>, 而作为新剂型口腔崩解片, 其质量控制尚未见文献报道。为此, 特建立了 RP-HPLC 法测定盐酸氨溴索口腔崩解片的含量及有关物质。方法简便、快速、准确, 适用于崩解片的质量控制。

## 1 实验部分

### 1.1 仪器与试剂

LC-10ATvp 型高效液相色谱仪(日本岛津); Alltech ChromTEK 色谱工作站(美国); Rheodyne 7725 型液相色谱进样器(美国)。盐酸氨溴索对照品(北

京太洋药业有限公司, 含量 99.98%); 盐酸氨溴索口腔崩解片(四川大学华西药学院药剂学教研室制备); 水为重蒸馏水; 其余试剂均为分析纯。

### 1.2 色谱条件与系统适用性试验

Hypersil C<sub>18</sub> 柱(250 mm × 4.6 mm, 10 μm); 流动相为甲醇-20 mmol·L<sup>-1</sup> 磷酸二氢钠-三乙胺(50:50:0.1, 磷酸调 pH 3.60±0.1); 流速为 1.0 ml·min<sup>-1</sup>; 检测波长 244 nm; 柱温 25℃。理论板数按盐酸氨溴索峰计算应不低于 1×10<sup>3</sup>。

### 1.3 含量测定

**1.3.1 测定方法与结果** 取盐酸氨溴索口腔崩解片 10 片, 精密称定, 研细。精密称取适量(约相当于盐酸氨溴索 10 mg), 置 100 ml 量瓶中, 加流动相定容, 滤过; 精密量取续滤液 5 ml, 置 50 ml 量瓶中, 加流动相定容, 作为供试品溶液。另取盐酸氨溴索对照品适量, 精密称定, 加流动相溶解成 10 μg·ml<sup>-1</sup> 的溶液, 作为对照品溶液。分别精密吸取供试品溶液

作者简介: 汤南, 女, 正攻读药物分析专业的硕士学位。

\* 通讯作者( Correspondent author), E-mail: zdkshy@163.com

与对照品溶液各 20  $\mu\text{l}$ , 注入液相色谱仪, 记录色谱峰面积, 按外标法计算出供试品中盐酸氨溴索 ( $\text{C}_{13}\text{H}_{16}\text{ON}_2\text{Br}_2\cdot\text{HCl}$ ) 的含量。测得 3 批片剂的含量 (标示量%) 分别为 99.94%、99.92% 和 100.30%。

**1.3.2 专属性考察** 供试品溶液、对照品溶液和空白辅料溶液的色谱图见图 1。流动相、辅料在盐酸氨溴索峰处无干扰, 主峰与相邻杂质峰的分度符合要求。

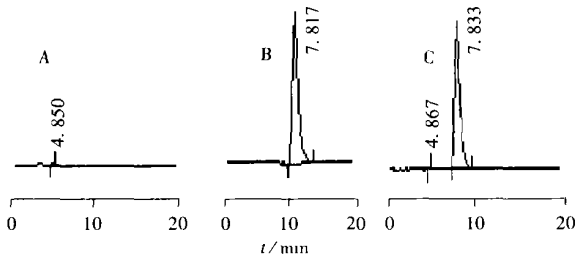


图 1 空白辅料溶液(A)、对照品溶液(B)和供试品溶液(C)的 HPLC 色谱图

Fig 1 HPLC chromatograms of blank excipient solution(A), control solution(B) and sample solution(C)

**1.3.3 线性关系及范围** 精密称取盐酸氨溴索对照品适量, 用流动相制成 2.5、5.0、10.0、20.0、40.0、60.0  $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$  的溶液, 分别精密吸取 20  $\mu\text{l}$  注入液相色谱仪, 记录色谱图。以峰面积对盐酸氨溴索浓度 ( $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ ) 进行线性回归, 得回归方程为:  $Y = 1.462 \times 10^4 X - 1.967 \times 10^3$  ( $r = 0.9999$ ,  $n = 6$ ), 表明在 2.5~60.0  $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$  范围内, 盐酸氨溴索浓度与色谱峰面积的线性关系良好。

**1.3.4 精密度试验** 取“1.3.3”项下盐酸氨溴索对照品溶液 5、10、20  $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ , 分别精密吸取 20  $\mu\text{l}$  注入液相色谱仪, 重复进样 5 次。各浓度峰面积的 RSD 分别为 0.62%、0.63%、0.91% ( $n = 5$ ), 表明进样及仪器精密度良好。

**1.3.5 重复性试验** 取同一批供试品, 按“1.3.1”项下方法平行制备 6 份供试品溶液, 平均含量 (标示量%) 为 99.6%, RSD = 0.31% ( $n = 6$ ), 表明方法精密度良好。

**1.3.6 回收试验** 按片剂处方量配制空白辅料溶液, 并按供试品标示量的 80%、100% 及 120% 加入盐酸氨溴索对照品溶液, 用流动相稀释成高、中、低 3 种浓度的盐酸氨溴索对照品溶液 (8.4、10.0、12.4  $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ ), 按“1.3.1”项下方法测定并计算, 其回收率分别为 103.2%、100.9%、101.9%, RSD 分别为 0.67%、1.09%、0.91% ( $n = 3$ )。

**1.3.7 供试品溶液的稳定性考察** 供试品溶液室温下放置 1、2、3、4、6、8 h, 分别进样 20  $\mu\text{l}$ , 峰面积的 RSD = 1.32%, 表明供试品溶液在 8 h 内基本稳定。

## 1.4 有关物质的检查

**1.4.1 检查方法** 取盐酸氨溴索口腔崩解片粉适量, 精密称定, 加流动相振摇使溶解, 制成含盐酸氨溴索 500  $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$  的溶液, 摇匀, 滤过, 取续滤液作为供试品溶液; 精密量取适量, 加流动相稀释成含盐酸氨溴索 5  $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$  的溶液, 作为对照溶液; 另精密称取片剂处方量的辅料适量, 按供试品溶液的制备方法制备空白辅料溶液。取对照溶液 20  $\mu\text{l}$  注入液相色谱仪, 调节检测灵敏度, 使主成分峰高约为满量程的 10%~20%; 再取供试品溶液、对照溶液及空白辅料溶液各 20  $\mu\text{l}$ , 分别注入液相色谱仪, 记录色谱图至主成分峰保留时间的 2 倍。供试品溶液色谱图中如显杂质峰, 扣除辅料峰后各杂质峰面积总和不得大于对照溶液主峰的面积 (1.0%)。

**1.4.2 辅料的干扰试验** 取“1.4.1”项下空白辅料溶液 20  $\mu\text{l}$ , 注入液相色谱仪, 记录色谱图至主成分峰保留时间的 2.5 倍。由图 2A 可见, 空白辅料约在 3.2 min 和 4.9 min 处有微弱吸收峰, 其峰面积约占对照溶液主峰面积的 94% 左右。由于所占比例大, 故需在有关物质检查中随行进样空白辅料溶液, 并从供试液色谱图杂质峰总面积中扣除辅料峰后, 剩余杂质峰面积不得大于对照溶液主峰的面积。

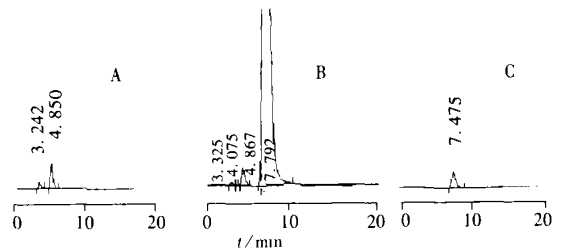


图 2 空白辅料溶液(A)、供试品溶液(B)、对照溶液(C)的色谱图

Fig 2 HPLC chromatograms of blank excipient solution(A), sample solution(B) and control solution(C)

**1.4.3 降解产物的干扰试验** 根据药物结构特点、制剂处方工艺及贮存条件等, 进行了酸解、碱解、高温、强光照射和高湿等强制降解试验, 以验证分析方法对相关降解产物检查的专属性。

取样品细粉适量 (约相当于盐酸氨溴索 40 mg), 加 10 ml 0.1  $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  盐酸溶解, 室温放置 2 h 后, 用 0.1  $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  氢氧化钠中和至中性, 滤过, 照“1.4.1”项下实验, 在保留时间为 5.3、6.0 min 处出现杂质峰, 并能与主成分达到基线分离。

取样品细粉适量 (约相当于盐酸氨溴索 40 mg), 加 10 ml 0.1  $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  氢氧化钠溶解, 室温放置 2 h 后, 用 0.1  $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  盐酸中和至中性, 滤过, 照“1.4.1”项下实验, 在保留时间为 5.3、6.0、6.5 min 处出现杂质峰, 并能与主成分达到基线分离。

取样品细粉适量 (约相当于盐酸氨溴索 20 mg),

在 120℃ 时加热 120 min, 加流动相振摇使溶解, 滤过, 照“1.4.1”项下实验, 在保留时间为 4.1、4.4 min 处出现杂质峰, 并能与主峰达到基线分离。

取样品细粉适量(约相当于盐酸氨溴索 20 mg), 在强光(照射度为  $4.5 \times 10^3 \pm 500$  k)下, 照射 10 d, 加流动相振摇使溶解, 滤过, 照“1.4.1”项下实验, 在保留时间为 3.8、4.4 min 处出现杂质峰, 并能与主峰达到基线分离。

取样品细粉适量(约相当于盐酸氨溴索 20 mg), 在湿度为 92.5% 的环境下放置 10 d, 加流动相振摇使溶解, 滤过, 照“1.4.1”项下实验, 在保留时间为 3.1、3.9、4.5 min 处出现杂质峰, 并能与主峰达到基线分离。

由强制降解试验结果可知, 文中方法能有效地检测出各破坏性试验产生的降解物, 且降解产物峰均能与主成分峰达到基线分离。因此, 所建方法对相关降解产物检查的专属性较好。

**1.4.4 检测限** 精密吸取用流动相制成的盐酸氨溴索对照品梯度浓度溶液( $\geq 1 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ ) 2  $\mu\text{l}$ , 注入液相色谱仪, 记录色谱图, 以峰高计, 当浓度低至  $1 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$  时,  $S/N=3$ , 故确定检测限为 2 ng。

**1.4.5 进样精密度** 按“1.4.1”项下方法, 平行测定  $5 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$  的对照溶液 5 次, 进样 20  $\mu\text{l}$ , 以其主峰面积进行进样精密度考察, 结果  $RSD=1.05\%$ 。

**1.4.6 重复性试验** 按“1.4.1”项下方法精密称取片粉 6 份, 并制备成  $500 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$  的供试品溶液 6

份, 分别进样 20  $\mu\text{l}$ , 按“杂质峰总面积/对照溶液主峰面积  $\times 1.0\%$ ”计算有关物质的含量, 6 份含量的  $RSD=0.11\%$ 。表明方法精密度良好。

**1.4.7 有关物质的测定结果** 用“1.4.1”项下方法, 对 3 批样品进行有关物质检查, 结果各批样品的有关物质含量分别为 0.005%、0.005%、0.006%。

## 2 讨论

实验对有关物质检查的试验条件进行了考察, 确定了文中色谱条件和检查方法。试验证明, 所用方法专属性强、灵敏度高、精密度好、简便快速, 能有效地检查出常规样品与酸、碱、高温、高湿及强光处理后的相关微量杂质, 可用于盐酸氨溴索口腔崩解片的质量控制。

在进行有关物质检查时, 辅料在文中色谱条件下有微弱的吸收, 其峰面积约占对照溶液主峰面积的 94% 左右, 由于所占比例大, 故在有关物质检查时需作随行空白辅料(按片剂处方量称取)校正。

## 参考文献:

- [1] Heiranen M, Barbas C. Validation of an HPLC method for the quantification of ambroxol hydrochloride and benzoic acid in a syrup as pharmaceutical form stress test for stability evaluation[J]. *Pharma & Biom Anal*, 2001, 24(5-6): 1005
- [2] 李军, 李玉兰. RP-HPLC 法测定盐酸氨溴索口服液的含量[J]. *中国药师*, 2002, 5(10): 609

收稿日期: 2005-03

# 贞芪扶正颗粒中红景天苷的含量测定

郭朝晖<sup>1,2</sup>, 蒋生祥<sup>1\*</sup>

(1. 中国科学院兰州化学物理研究所、甘肃省天然药物重点实验室, 甘肃 兰州 730000; 2. 甘肃省药品检验所, 甘肃 兰州 730000)

**摘要:** 目的 建立贞芪扶正颗粒中红景天苷的含量测定方法。方法 采用高效液相色谱法, Kromasil C<sub>18</sub> 柱, 以乙腈-水(5:95)为流动相; 流速 1.0 ml·min<sup>-1</sup>; 检测波长 275 nm; 进样量 10  $\mu\text{l}$ 。结果 红景天苷回归方程为:  $Y=3.655 \times 10^3 X - 8.945 \times 10^2$  ( $r=0.9999$ ), 线性范围 5~80  $\mu\text{g}$ 。贞芪扶正颗粒中红景天苷的平均回收率为 97.83%,  $RSD=3.10\%$ 。结论 所用方法简便、准确, 重复性好, 可作为贞芪扶正颗粒中女贞子的质控方法。

**关键词:** 高效液相色谱法; 红景天苷; 贞芪扶正颗粒; 女贞子

中图分类号: R917

文献标识码: A

文章编号: 1006-0103(2005)06-0540-03

## Determination of salidroside in Zhenqi Fuzheng granule

GUO Zhao-hui<sup>1,2</sup>, JIANG Sheng-xiang<sup>1\*</sup>

(1. Lanzhou Institute of Chemical Physics, the Chinese Academy of Sciences and Gansu Key Laboratory of Natural Medicines, Lanzhou 730000, China; 2. Gansu Provincial Institute for Drug Control, Lanzhou 730000, China)

作者简介: 郭朝晖(1968-), 男, 副主任药师, 从事天然药物的分离分析工作。E-mail: wsgjs@tom.com

\* 通讯作者(Corresponding author). Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. <http://www.cnki.net>