

HPLC 法测定抗过敏滴鼻液各组分含量的质控研究

叶吉明¹, 杨景然², 刘宇¹, 王竞宇¹, 杜明¹, 冯琳珊^{1*}, 陈文君³

(1. 云南省第一人民医院 药学部, 云南 昆明 650032; 2. 宁波工程学院 理学院, 浙江 宁波 315211;

3. 昆明赛诺制药股份有限公司 质量部, 云南 昆明 650051)

摘要: 为建立抗过敏滴鼻液中 3 种组分的质量标准, 采用高效液相色谱法对其含量进行测定. 结果显示, 醋酸氢化可的松、盐酸麻黄碱和马来酸氯苯那敏的质量浓度分别在 0.250 ~ 2.502 $\mu\text{g/mL}$ 、0.030 ~ 0.750 $\mu\text{g/mL}$ 和 0.083 ~ 2.076 $\mu\text{g/mL}$ 范围与峰面积呈良好线性关系, 平均加样回收率分别为 101.2%、99.2% 和 101.9%, *RSD* 分别为 0.5%、0.4% 和 1.4%. 测定结果符合 2015 年版《中国药典: 四部》中的相关要求. 表明该方法专属性强, 重现性良好.

关键词: 高效液相色谱法; 醋酸氢化可的松; 盐酸麻黄碱; 马来酸氯苯那敏; 质量标准; 稳定性

中图分类号: R927 **文献标识码:** A **文章编号:** 1674 - 5639 (2020) 06 - 0105 - 05

DOI: 10.14091/j.cnki.kmxyxb.2020.06.023

Quality Control Research on Content Determination of Each Component in Anti-allergy Drops by HPLC

YE Jiming¹, YANG Jingran², LIU Yu¹, WANG Jinyu¹, DU Ming¹, FENG Linshan^{1*}, CHEN Wenjun³

(1. Department of Pharmacy, The First People's Hospital of Yunnan Province, Kunming, Yunnan, China 650032;

2. School of Science, Ningbo University of Technology, Ningbo, Zhejiang, China 315211;

3. Department of Quality, Kunming Sainuo Pharmacy Co., Ltd., Kunming, Yunnan, China 650051)

Abstract: To establish the quality standards of three components in anti-allergy drops, HPLC is used for content determination. The results show that the mass concentration of hydrocortisone acetate, ephedrine hydrochloride, and chlorpheniramine maleate is in the range of 0.250 ~ 2.502 $\mu\text{g/mL}$, 0.030 ~ 0.750 $\mu\text{g/mL}$ and 0.083 ~ 2.076 $\mu\text{g/mL}$ respectively and has a good linear relationship with the peak area. The average sample recovery rate is 101.2%, 99.2% and 101.9% respectively; *RSD* is 0.5%, 0.4% and 1.4% respectively. The measurement results are in line with *Chinese Pharmacopoeia Part Four* 2015 edition, and the method has strong specificity, good reproducibility.

Key words: HPLC; hydrocortisone acetate; phedrine hydrochloride; chlorpheniramine maleate; quality standard; stability

随着城市建设进程的不断加快, 空气中粉尘也随之增加, 加之畜牧饲养中抗生素、激素的大量使用, 使得过敏性鼻炎的发生率呈逐年上升趋势. 过敏性鼻炎以突发和反复发作性鼻塞、鼻痒、打喷嚏、流涕为主要症状, 常有过敏史, 严重影响患者的生活质量^[1-3]. 抗过敏滴鼻液是某医院耳鼻喉科的外用经验方, 临床上已使用多年, 其主要由醋酸氢化可的松、盐酸麻黄碱、马来酸氯苯那敏和部分辅料制成, 作为医院的协定处方, 在疗效上已得到

患者的肯定. 作为医院的传统制剂, 其具有疗效确切、价廉物美的优势, 但对其质量标准上的探讨, 还仅停留在对醋酸氢化可的松、盐酸麻黄碱、马来酸氯苯那敏等用化学显色法的定性鉴别. 目前, 大量报道^[4-9]主要是对醋酸氢化可的松、盐酸麻黄碱、马来酸氯苯那敏单药测定的研究, 而作为协定处方, 从多点对抗过敏滴鼻液进行考察和评价的报道却较少. 为此, 采用高效液相色谱法对抗过敏滴鼻液进行系统稳定性考察, 旨在为控制产品质量,

收稿日期: 2020 - 06 - 30

作者简介: 叶吉明 (1974—), 女, 云南临沧人, 主管药师, 主要从事医院药学研究.

* 通讯作者: 冯琳珊 (1974—), 女, 云南昆明人, 主管药师, 主要从事药学研究, E-mail: 1870156279@qq.com.

保证临床用药的安全性、有效性,以及效期、法定标准和补充检验方法的制定提供参考依据。

1 仪器与方法

1.1 仪器与材料

LC-2030 高效液相色谱仪(日本岛津有限公司),C18 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm)。

醋酸氢化可的松(中国食品药品检定研究院,批号:100013-201408),盐酸麻黄碱(中国食品药品检定研究院,批号:171241-201809),马来酸氯苯那敏(中国食品药品检定研究院,批号:100047-201507);乙腈(色谱纯,西格玛奥德里奇(上海)贸易有限公司);磷酸、三乙胺、磷酸二氢钾(分析纯,天津市风船化学试剂有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 色谱条件

以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂(250 mm×4.6 mm, 5 μm),柱温 30℃,流速 1 mL/min。醋酸氢化可的松: $V(\text{流动相乙腈}):V(\text{水})=36:64$,检测波长 254 nm;盐酸麻黄碱: $V(\text{磷酸盐缓冲液}):V(\text{乙腈})=90:10$,检测波长为 210 nm;马来酸氯苯那敏: $V(\text{磷酸盐缓冲液}):V(\text{乙腈})=76:24$,检测波长 262 nm。

1.2.2 溶液的制备

1) 醋酸氢化可的松。对照品溶液制备:取醋酸氢化可的松适量,精密称定 2.5 mg,置 50 mL 容量瓶中,用流动相制成每 1 mL 含 50 μg 的溶液,作为对照品溶液。

供试品溶液制备:取本品数支,充分混合均匀后,并入同一具塞锥形瓶中,再充分振摇。精密吸取 5 mL 置 50 mL 量瓶中,用甲醇分 3 次洗涤移液管内壁,洗液并入量瓶中,振摇使醋酸氢化可的松溶解,加甲醇稀释至刻度,摇匀。精密量取 5 mL 置 25 mL 量瓶中,用流动相稀释至刻度,摇匀,作为供试品溶液。

阴性样品溶液的制备:按处方比例,称取缺少醋酸氢化可的松的其他原料与辅料,加水制成阴性样品,充分振摇后,并入同一具塞锥形瓶中,再充分振摇。精密量取 5 mL 置 50 mL 量瓶中,用甲醇分 3 次洗涤移液管内壁,洗液并入量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀。精密量取 5 mL,置 25 mL 量瓶中,用流动相稀释至刻度,摇匀,作为阴性样品

溶液。

2) 盐酸麻黄碱。对照品溶液的制备:取盐酸麻黄碱对照品适量,精密称定 1.5 mg,置 50 mL 容量瓶中,用流动相制成每 1 mL 含 30 μg 的溶液,作为对照品溶液。

供试品溶液的制备:取本品数支,充分振摇后,并入同一具塞锥形瓶中,充分振摇。精密量取 3 mL 置 50 mL 量瓶中,用流动相稀释至刻度,摇匀。精密量取 5 mL 置 50 mL 量瓶中,用流动相稀释至刻度,摇匀,作为供试品溶液。

阴性样品溶液的制备:按处方比例,称取缺少盐酸麻黄碱的其他原料与辅料,加水制成阴性样品,充分振摇后,并入同一具塞锥形瓶中,再充分振摇。精密量取 3 mL 置 50 mL 量瓶中,用流动相稀释至刻度,摇匀。精密量取 5 mL 置 50 mL 量瓶中,用流动相稀释至刻度,摇匀,为阴性样品溶液。

3) 马来酸氯苯那敏。对照品溶液的制备:取马来酸氯苯那敏对照品适量,精密称定 2 mg,置 25 mL 容量瓶中,加流动相制成每 1 mL 含 80 μg 的溶液,作为对照品溶液。

供试品溶液的制备:取本品数支,充分振摇后,并入同一具塞锥形瓶中,再充分振摇。精密量取 2 mL,然后置于 25 mL 量瓶中,用流动相稀释至刻度,摇匀,作为供试品溶液。

阴性样品溶液的制备:按处方比例,称取缺少马来酸氯苯那敏的其他原料与辅料,加水制成阴性样品,充分振摇后,并入同一具塞锥形瓶中,再充分振摇。精密量取 2 mL 置 25 mL 量瓶中,用流动相稀释至刻度,摇匀,作为阴性样品溶液。

2 试验结果

2.1 系统适用性试验

按 1.2.2 项下方法配制各溶液,并按 1.2.1 项下色谱条件进样分析,记录色谱图。由图 1 至图 3 可见,醋酸氢化可的松、盐酸麻黄碱和马来酸氯苯那敏的对照品溶液、供试品溶液和阴性样品溶液各溶剂峰形良好,分离度大于 1.5,理论塔板数分别按醋酸氢化可的松、盐酸麻黄碱和马来酸氯苯那敏峰计算不低于 1 500。在此色谱条件下,其他原料、辅料均对这 3 种药物的含量测定不产生干扰,表明所用方法专属性良好。

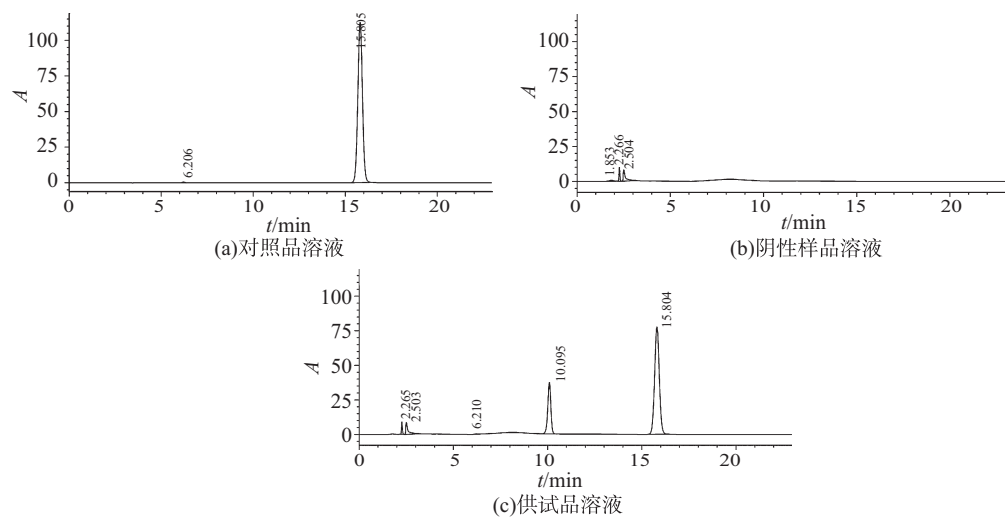


图 1 醋酸氢化可的松色谱图

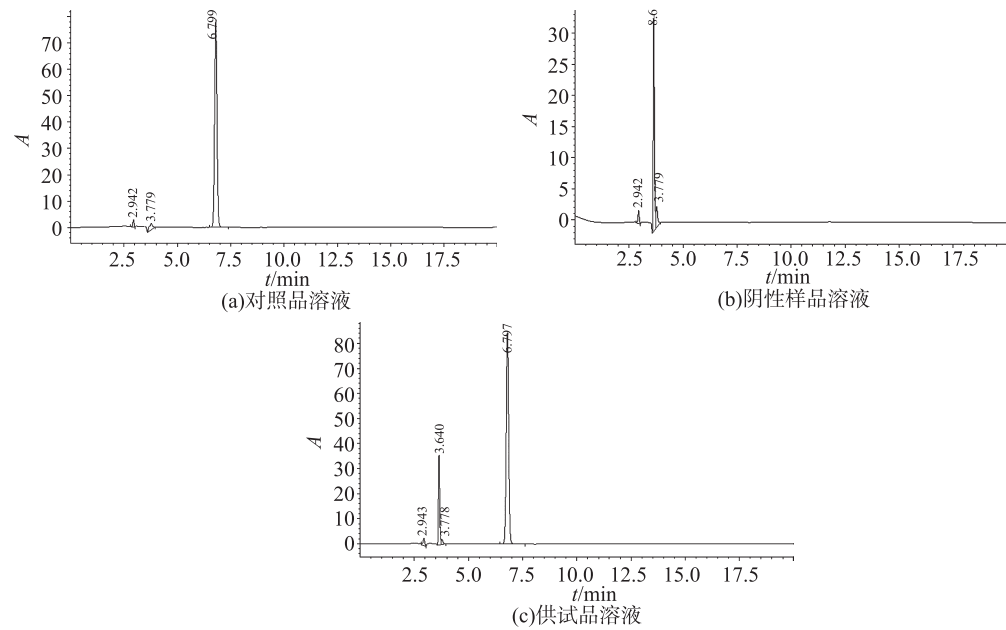


图 2 盐酸麻黄碱色谱图

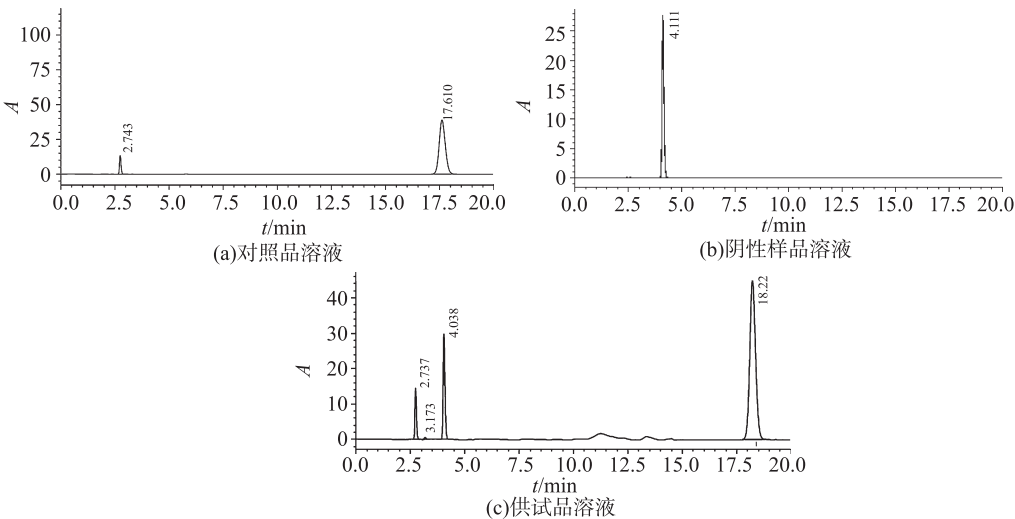


图 3 马来酸氯苯那敏色谱图

2.2 标准曲线的绘制

分别精密吸取醋酸氢化可的松对照品溶液 5, 10, 20, 25, 50 μL , 盐酸麻黄碱和马来酸氯苯那敏对照品溶液各 1, 5, 10, 20, 25 μL , 按 1.2.1 项下色谱条件进样分析, 以峰面积 (Y) 为纵坐标, 质量浓度 (X) 为横坐标, 进行线性回归计算, 则得到醋酸氢化可的松、盐酸麻黄碱和马来酸氯苯那敏的回归方程分别为: $Y = 18\,874X - 383$, $R^2 = 1$; $Y = 2\,001.5X - 0.608\,1$, $R^2 = 1$ 和 $Y = 94\,725X - 688.5$, $R^2 = 1$.

结果表明, 醋酸氢化可的松在 0.250 ~ 2.502 $\mu\text{g/mL}$, 盐酸麻黄碱在 0.030 ~ 0.750 $\mu\text{g/mL}$ 和马来酸氯苯那敏在 0.083 ~ 2.076 $\mu\text{g/mL}$ 范围内与峰面积呈良好线性关系.

2.3 精密度试验

取醋酸氢化可的松对照品溶液 20 μL , 盐酸麻黄碱和马来酸氯苯那敏对照品溶液各 10 μL , 在上述色谱条件下, 重复进样 6 次, 记录峰面积, 计算得到醋酸氢化可的松、盐酸麻黄碱和马来酸氯苯那敏峰面积的 RSD 分别为 0.06%、0.06% 和 0.70%.

说明在该色谱条件下, 各供试品溶液色谱图中醋酸氢化可的松、盐酸麻黄碱和马来酸氯苯那敏峰面积的精密度良好.

2.4 重复性考察

取同一批号 (20181218) 的制剂样品, 共 6 份, 在 3 种条件下分别重复进样 6 次, 记录峰面积, 通过计算得到醋酸氢化可的松、盐酸麻黄碱和马来酸氯苯那敏峰面积的 RSD 分别为 0.25%、

0.08% 和 0.27%.

2.5 稳定性考察

取供试品溶液 (批号: 20181218) 于室温下存放, 分别于 0, 2, 4, 6, 8, 12, 18, 24 h 进行测定, 得到供试品溶液在室温放置 24 h, 醋酸氢化可的松、盐酸麻黄碱和马来酸氯苯那敏峰面积的 RSD 值分别为 0.25%、1.30% 和 0.60%.

2.6 加样回收试验

分别精密量取醋酸氢化可的松和盐酸麻黄碱的阴性样品各 5 mL, 分置于 25 mL 量瓶中; 精密量取马来酸氯苯那敏阴性样品 2 mL, 置 25 mL 量瓶中, 然后再分别精密量取 4, 5, 6 mL 醋酸氢化可的松、盐酸麻黄碱和马来酸氯苯那敏的对照品溶液 (质量浓度分别为 0.252, 0.150, 0.393 mg/mL), 加流动相稀释至刻度, 摇匀. 吸取醋酸氢化可的松 20 μL , 盐酸麻黄碱和马来酸氯苯那敏各吸取 10 μL , 按 1.2.1 项下色谱条件进样分析, 结果见表 1. 醋酸氢化可的松、盐酸麻黄碱和马来酸氯苯那敏的平均回收率分别为 101.2%、99.2% 和 101.9%; RSD 分别为 0.5%、0.4% 和 1.4%.

2.7 样品质量分数测定及限度确定

取抗过敏滴鼻液 (批号: 20190423; 20190424; 20190425), 按 1.2.2 项下方法制备供试品溶液, 按 1.2.1 项下色谱条件进样分析, 其质量分数 (含量, 下同) 测定结果见表 2. 根据质量分数测定结果以及处方组成和制备过程, 为保证本品的质量, 将本品的 3 种药物的质量分数限度定为标示量的 90.0% ~ 110.0%.

表 1 制剂样品中 3 种药物的加样回收试验结果

醋酸氢化可的松			盐酸麻黄碱			马来酸氯苯那敏		
加入量/ ($\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)	测得量/ ($\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)	回收率/%	加入量/ ($\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)	测得量/ ($\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)	回收率/%	加入量/ ($\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)	测得量/ ($\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)	回收率/%
1.007 2	1.017 3	101.00	0.600 0	0.594 0	99.02	1.572 8	1.630 1	103.65
1.007 2	1.017 6	101.00	0.600 0	0.593 0	99.87	1.572 8	1.632 3	103.78
1.259 0	1.280 5	101.70	0.750 0	0.745 0	99.38	1.966 0	1.976 3	100.53
1.259 0	1.282 3	101.90	0.750 0	0.745 0	99.28	1.966 0	1.977 5	100.58
1.510 8	1.522 7	100.80	0.900 0	0.888 0	98.60	2.359 2	2.396 2	101.57
1.510 8	1.522 6	100.80	0.900 0	0.892 0	99.07	2.359 2	2.387 2	101.19

表 2 3 批样品中 3 种药物的质量分数测定结果

样品批号	编号	醋酸氢化可的松		盐酸麻黄碱		马来酸氯苯那敏	
		质量分数/%	平均质量分数/%	质量分数/%	平均质量分数/%	质量分数/%	质量分数/%
20190423	1#	98.59	98.60	102.46	102.50	100.58	100.60
	2#	98.68		102.49		100.55	

续表 2

样品批号	编号	醋酸氢化可的松		盐酸麻黄碱		马来酸氯苯那敏	
		质量分数/%	平均质量分数/%	质量分数/%	平均质量分数/%	质量分数/%	质量分数/%
20190424	1#	98.93	98.90	103.14	103.10	100.50	100.60
	2#	98.90		103.14		100.74	
20190425	1#	100.40	100.50	103.22	103.30	100.64	100.50
	2#	100.51		103.28		100.44	

3 讨论

抗过敏滴鼻液作为医院制剂已得到临床和患者的肯定,其用量逐步稳定增长,但作为内控标准的质量控制仍然停留在从前.为此,从保障患者用药安全的角度以及复方制剂的多维度含量测定出发,提升复方制剂的质控标准势在必行^[10-12].2015年版《中国药典:二部》,依旧采用单一成分对照品进行含量测定,但单一成分难以代表多组分制剂,如抗过敏滴鼻液等的复杂体系.有研究^[6]发现,马来酸氯苯那敏的稳定性会因遇碱性物质或过渡金属离子而降低,从而游离出马来酸和氯苯那敏,因此,控制流动相极性和比例是准确定量的关键环节;张诚贤等^[4]用超高效液相色谱-串联质谱法同时测定抗鼻炎中成药及保健品中19种化学药物;吕冠欣等^[7]用HPLC梯度洗脱法同时测定鼻炎喷剂中3种组分的含量,为抗过敏滴鼻液的质量控制提供参考;张新军等^[8]用HPLC测定荆桔抗感合剂中盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱的含量;庄爱爱等^[9]用双波长HPLC法同时测定麻杏止咳糖浆中5个成分含量,并在多组分含量测定中对流动相的选择进行了研究和比较.采用磷酸盐缓冲液-乙腈为流动相进行梯度洗脱,能够维持流动相pH值稳定,所得色谱峰峰形对称,分离度好,阴性对照无干扰,与本研究所用流动相V(磷酸盐缓冲液):V(乙腈)=90:10相似.此外,需要引起大家关注的是,盐酸麻黄碱和醋酸氢化可的松分别属于限制用特殊管理药物和激素用药,用量过大将造成不良后果,而用量过小达不到治疗目的.为此,应依据临床所需和疗效按需投料,并对其含量进行上下限限度检测和控制,这也是今后工作的要求和期望.此外,依据临床要求,完善和提高抗过敏滴鼻液的质量标准和控制,可进一步保障患者用药的安全性和有效性.

[参考文献]

[1] 倪梅,陈变玉. 护理干预对门诊治疗过敏性鼻炎患者依从性的影响[J]. 海南医学, 2012, 23 (13): 148-149.

[2] WISE S K, LIN S Y, TOSKALA E, et al. International consensus statement on allergy and rhinology: allergic rhinitis [J]. International Forum of Allergy & Rhinology, 2018, 8 (2): 1-121.

[3] 简洁君,伍启刚,田磊,等. 鼻用皮质类固醇激素联合抗组胺药对变应性鼻炎疗效的系统评价[J]. 军事医学, 2016, 40 (7): 573-578.

[4] 张诚贤,陈晓平,杨红霞,等. 超高效液相色谱-串联质谱法同时测定抗鼻炎中成药及保健品中19种化学药物[J]. 医药导报, 2018, 37 (3): 356-360.

[5] 区洁雯,周小圆,邓红. 超高效液相色谱法同时测定复方氟噻酸鼻喷剂中3种组分的含量[J]. 中国药房, 2013, 24 (41): 3918-3920.

[6] 马春梅,赵变,席荣英,等. 高效液相色谱法测定马来酸氯苯那敏[J]. 理化检测(化学分册), 2012, 48 (10): 1244-1246.

[7] 吕冠欣,龚越强,严静,等. HPLC梯度洗脱法同时测定鼻炎喷剂中3种组分的含量[J]. 中国药房, 2014, 25 (25): 2371-2373.

[8] 张新军,梁瑞雪,周胜红,等. HPLC测定荆桔抗感合剂中盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱的含量[J]. 药学研究, 2016, 35 (4): 2090-2095.

[9] 庄爱爱,永利,赵振霞,等. 双波长HPLC法同时测定麻杏止咳糖浆中5个成分含量[J]. 药物分析杂志, 2018, 38 (5): 883-887.

[10] 秦昆明,杨冰,胡静,等. 一测多评在中药多组分质量控制中的应用现状与思考[J]. 中草药, 2018, 49 (3): 725-731.

[11] 陆春美,崔秀明. 基于代谢组学技术的中药质量控制和毒性评价研究进展[J]. 中国中医药信息杂志, 2019, 26 (1): 141-144.

[12] 兰杨,姜红,张仕瑾,等. 余甘子化学成分、药理活性及质量控制提升的研究进展[J]. 中国药业, 2020, 29 (7): 156-160.