

表 4 FODT 法测定不同厂家复方磺胺甲噁唑片平均溶出 70% 的时间. min,  $\bar{x} \pm s$

Tab.4 Time of the mean 70% dissolution of compound sulfamethoxazole tablets in different industries with FODT. min,  $\bar{x} \pm s$

Sulfamethoxazole	n	t <sub>70</sub>	Trimethoprim	n	t <sub>70</sub>
A <sub>1</sub> and A <sub>2</sub>	2	19.5±1.5 <sup>1)</sup>	A <sub>1</sub> and A <sub>2</sub>	2	6.3±0.0 <sup>1)</sup>
B <sub>2</sub>	1	12.5	B <sub>2</sub>	1	1.8
C <sub>1</sub> and C <sub>2</sub>	2	4.4±0.6	C <sub>1</sub> and C <sub>2</sub>	2	1.1±0.4

注: <sup>1)</sup> P≤0.01, A 组与 C 组比较

Note: <sup>1)</sup> P≤0.01, comparing A groups with C groups

苯啶溶出 100% 时的吸光度还不到 0.3, 吸光度值不够稳定, 较小的测量误差使样品测定值增大; 二是前期制作软件时, 实验还不够多, 多元回归曲线的拟合性还不够好。从趋势看, 甲氧苯啶累积溶出百分率较高, 属于系统误差, 通过完善软件程序, 和 Ch.P 法的差异可能会明显降低。

3.2 FODT 法代替 Ch.P 法检查复方磺胺甲噁唑片的溶出度优势明显。主要体现在 FODT 法可以反映固体制剂的整个溶出过程, 观察到各溶出时段的快慢, 为进一步提高药品质量提供了空间; 同时和 Ch.P 法相比, FODT 法更加简便易行, 可以大大降低劳动强度, 提高检验效率。

#### REFERENCES

- [1] CHEN J. The optical chemical sensor research based on fluorescence quench of principle [J]. *Xinjiang J Coll Med* (新疆医学院学报), 1993, 16 (2): 45-48.
- [2] SIMAYI A, CHEN J, LI X. On-line-fiber optic dissolution test of aspirin enteric-coated tablets [J]. *Xinjiang J Univ Med* (新疆医科大学学报), 2005, 28 (6): 528-529.
- [3] LI X X, WANG Y W, WANG Y, et al. The real-time FODT detection method and conditions for dissolution test of refampicin tablets [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 2002, 37 (9): 721-723.
- [4] Ch.P (2005) vol II (中国药典 2005 年版二部) [S]. 2005: 439. (收稿日期: 2008-11-25)

## HPLC 测定复方地巴唑氢氯噻嗪胶囊中 8 种组分的含量

陈鼎雄<sup>1</sup>, 黄诗亮<sup>2</sup> (1.福建省药品检验所,福州 350001; 2.福建医科大学药学院,福州 350004)

摘要: 目的 建立高效液相色谱法同时测定复方地巴唑氢氯噻嗪胶囊中氢氯噻嗪、维生素 B<sub>6</sub>、维生素 B<sub>1</sub>、硫酸胍生、地巴唑、氯氮革、磷酸氯喹和盐酸异丙嗪等 8 种组分含量的方法。方法 提取溶剂为甲醇-水(50:50), 色谱柱为 Ultimate XB-C<sub>18</sub>(4.6 mm × 150 mm, 5 μm), 流动相为甲醇-5 mmol·L<sup>-1</sup>庚烷磺酸钠溶液-冰醋酸(55:45:0.25), 检测波长为 284 nm。结果 线性范围分别为氢氯噻嗪 30.2~151.0 mg·L<sup>-1</sup> (r=0.999 8); 维生素 B<sub>6</sub> 10.2~51.0 mg·L<sup>-1</sup> (r=1.000 0); 维生素 B<sub>1</sub> 10.1~50.5 mg·L<sup>-1</sup> (r=0.999 9); 硫酸胍生 12.1~60.5 mg·L<sup>-1</sup> (r=1.000 0); 地巴唑 99.8~499.0 mg·L<sup>-1</sup> (r=0.999 2); 氯氮革 20.1~100.5 mg·L<sup>-1</sup> (r=1.000 0); 磷酸氯喹 24.88~124.4 mg·L<sup>-1</sup> (r=1.000 0); 盐酸异丙嗪 30.3~151.5 mg·L<sup>-1</sup> (r=1.000 0)。平均回收率(n=9)分别为氢氯噻嗪 101.2%(RSD=1.4%), 维生素 B<sub>6</sub> 102.2%(RSD=0.9%), 维生素 B<sub>1</sub> 100.5%(RSD=1.5%), 硫酸胍生 101.6%(RSD=1.5%), 地巴唑 101.8% (RSD=1.1%), 氯氮革 99.3% (RSD=1.3%), 磷酸氯喹 101.5%(RSD=1.6%), 盐酸异丙嗪 101.7% (RSD=1.7%)。结论 本法简便快速, 准确可靠, 适于该复方制剂中 8 种组分的同时测定。

关键词: 高效液相色谱法; 氢氯噻嗪; 维生素 B<sub>6</sub>; 维生素 B<sub>1</sub>; 硫酸胍生; 地巴唑; 氯氮革; 磷酸氯喹; 盐酸异丙嗪

中图分类号: R917

文献标识码: A

文章编号: 1001-2494(2009)17-1346-04

### Determination of Eight Components in Compound Dibazol and Hydrochlorothiazide Capsules by HPLC

CHEN Ding-xiong<sup>1</sup>, HUANG Shi-liang<sup>2</sup> (1. Fujian Province Institute for Drug Control, Fuzhou 350001, China; 2. College of Pharmacy, Fujian Medical University, Fuzhou 350004, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To establish a HPLC method for the simultaneous determination of eight components in compound dibazol and hydrochlorothiazide capsules: hydrochlorothiazide, vitamin B<sub>6</sub>, vitamin B<sub>1</sub>, guanoxan sulfate, dibazol, chlorthalidone, chloroquine phosphate and promethazine hydrochloride. **METHODS** The methanol-water (50:50) was used as extraction solvent. The chromatographic analysis was carried out on a Ultimate XB-C<sub>18</sub> column (4.6 mm × 150 mm, 5 μm). The

作者简介: 陈鼎雄, 男, 副主任药师 研究方向: 药品质量控制 Tel: (0591) 87622201 E-mail: dingxiong7512@163.com

mobile phase consisted of methanol-5 mmol·L<sup>-1</sup> sodium heptanesulfonate solution-acetic acid glacial (55 : 45 : 0.25). The detection wavelength was at 284 nm. **RESULTS** The linear response ranges were: 30.2–151.0 mg·L<sup>-1</sup> for hydrochlorothiazide ( $r=0.999\ 8$ ), 10.2–51.0 mg·L<sup>-1</sup> for vitamin B<sub>6</sub> ( $r=1.000\ 0$ ), 10.1–50.5 mg·L<sup>-1</sup> for vitamin B<sub>1</sub> ( $r=0.999\ 9$ ), 12.1–60.5 mg·L<sup>-1</sup> for guanoxan sulfate ( $r=1.000\ 0$ ), 99.8–499.0 mg·L<sup>-1</sup> for dibazol ( $r=0.999\ 2$ ), 20.1–100.5 mg·L<sup>-1</sup> for chlordiazepoxide ( $r=1.000\ 0$ ), 24.88–124.4 mg·L<sup>-1</sup> for chloroquine phosphate ( $r=1.000\ 0$ ), 30.3–151.5 mg·L<sup>-1</sup> for promethazine hydrochloride ( $r=1.000\ 0$ ) respectively. The mean recoveries( $n=9$ ) were 101.2% (RSD=1.4%) for hydrochlorothiazide, 102.2% (RSD=1.2%) for vitamin B<sub>6</sub>, 100.5% (RSD=1.5%) for vitamin B<sub>1</sub>, 101.6%(RSD=1.5%) for guanoxan sulfate, 101.8% (RSD=1.1%) for dibazol, 99.3%(RSD=1.3%) for chlordiazepoxide, 101.5%(RSD=1.6%) for chloroquine phosphate, 101.7% (RSD=1.7%) for promethazine hydrochloride respectively. **CONCLUSION** A satisfactory separation of eight components was obtained. This method is simple, quick, precise and accurate. This method is suitable for the determination of the eight components in compound dibazol and hydrochlorothiazide capsules.

**KEY WORDS:** HPLC; hydrochlorothiazide; vitamin B<sub>6</sub>; vitamin B<sub>1</sub>; guanoxan sulfate; dibazol; chlordiazepoxide; chloroquine phosphate; promethazine hydrochloride

复方地巴唑氢氯噻嗪胶囊是由氢氯噻嗪、维生素 B<sub>6</sub>、维生素 B<sub>1</sub>、硫酸胍生、地巴唑、氯氮草、磷酸氯喹、盐酸异丙嗪等 12 种组分组成的复方制剂, 具有较好的降压效果, 在临床上应用较广。由于本品组分多, 检测时相互干扰严重, 据检索, 文献<sup>[1-10]</sup>中有收载测定处方中单一组分或部分组分的方法, 但未发现同时测定 8 种组分的方法。本实验建立 HPLC 同时测定复方地巴唑氢氯噻嗪胶囊中上述 8 种主要组分的含量, 本法简便快捷, 准确可靠。

## 1 仪器与试剂

日本岛津高效液相色谱仪: LC2010HT 系列; 美国 VARIAN 分光光度计 CARY 100。

氢氯噻嗪 (含量 99.9%, 批号 100390-200001), 维生素 B<sub>6</sub>(含量 99.9%, 批号 100390-200502)和维生素 B<sub>1</sub>(含量 99.1%, 批号 100390-200502)对照品均由中国药品生物制品检定所, 硫酸胍生(含量 99.2%, 批号 20040705), 地巴唑(含量 99.7%, 批号 20050312), 氯氮草(含量 99.9%, 批号 20030921), 磷酸氯喹(含量 99.4%, 批号 20050817), 盐酸异丙嗪 (含量 99.0%, 批号 20040625) 对照品均由福建省药品检验所提供。

复方地巴唑氢氯噻嗪胶囊(福建延年药业有限公司, 批号 20060906, 20070402, 20070407), 每粒含氢氯噻嗪 3 mg、维生素 B<sub>6</sub> 1 mg、维生素 B<sub>1</sub> 1mg、硫酸胍生 1.2 mg、地巴唑 10 mg、氯氮草 2 mg、磷酸氯喹 2.5 mg、盐酸异丙嗪 3 mg、利血平 0.03 mg、乳酸钙 1 mg、氯化钾 30 mg、三硅酸镁 30 mg。

庚烷磺酸钠和甲醇为色谱纯, 其他试剂均为分析纯, 水为超纯水。

## 2 方法和结果

### 2.1 色谱条件和系统适用性实验

色谱柱为 Ultimate XB-C<sub>18</sub>(4.6 mm×150 mm, 5 μm), 流动相为甲醇-5 mmol·L<sup>-1</sup>庚烷磺酸钠溶液-冰醋酸(55 : 45 : 0.25), 检测波长为 284 nm, 流速: 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, 柱温: 40 °C。在此色谱条件下 8 个待测组分分离效果良好, 分离度符合要求, 理论板数不低于 2 400。

### 2.2 对照品溶液的制备

避光操作。精密称取对照品氢氯噻嗪 30 mg、维生素 B<sub>6</sub>10 mg、维生素 B<sub>1</sub> 10 mg、硫酸胍生 12 mg、地巴唑 100 mg、氯氮草 20 mg、磷酸氯喹 25 mg、盐酸异丙嗪 30 mg, 置 100 mL 量瓶中, 同时加入氯化钾 300 mg, 加甲醇-水(50 : 50)适量, 超声使溶解, 并稀释至刻度, 摇匀, 作为对照品储备液, 精密量取 5 mL 置 25 mL 量瓶中并用甲醇-水(50 : 50)稀释至刻度, 摇匀, 作为对照品溶液。

### 2.3 供试品溶液的制备

避光操作。取装量差异项下的内容物混合均匀, 研细, 精密称取适量(约相当于 1 粒胶囊的重量), 置 50 mL 量瓶中, 加甲醇-水(50 : 50)适量, 超声处理 10 min, 振摇, 并稀释至刻度, 摇匀, 滤过, 作为供试品溶液。

### 2.4 样品测定

避光操作。精确量取供试品溶液和对照品溶液各 20 μL, 注入液相色谱仪, 记录色谱图, 按外标法以峰面积计算含量。结果见表 1。

### 2.5 专属性实验

按处方比例配制除 8 个待测组分外的其他组分和辅料的空白样品, 按“2.4”项下的方法测定, 结果表明, 空白组分和辅料对测定无干扰(图 1)。

### 2.6 线性实验

精密量取对照品储备液 10, 15, 20, 30, 50 mL 分别置 100 mL 量瓶中, 加甲醇-水(50:50)稀释至刻度, 摇匀, 各精密量取 20  $\mu$ L 注入液相色谱仪并按选定的色谱条件测定, 以质量浓度 ( $\rho$ ) 为横坐标, 峰面积 ( $y$ ) 为纵坐标进行线性回归, 结果 (表 2) 表明在线性浓度范围内, 8 个组分的浓度与峰面积呈良好线性关系。

### 2.7 溶液稳定性考察

取供试品溶液, 分别在 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18 和 20 h 测定, 结果表明, 供试品溶液在 20 h 内稳定, 见表 3。

### 2.8 重复性实验

取同一批号的样品 6 份, 照样品测定项下的方法测定, 结果表明, 平行测定时本法具有良好的重复性。

表 1 样品含量测定结果(标示含量%)。n=2,  $\bar{x} \pm s$

Tab.1 Result of sample determination(labelled amount%). n=2,  $\bar{x} \pm s$

Component	Lot No.		
	20060906	20070402	20070407
Hydrochlorothiazide	100.65	100.25	100.37
Vitamin B <sub>6</sub>	101.68	100.98	100.02
Vitamin B <sub>1</sub>	95.81	96.54	96.78
Guanoxan sulfate	96.33	97.25	97.08
Dibazol	99.95	100.21	100.12
Chlordiazepoxide	96.03	97.24	96.85
Chloroquine phosphate	92.65	93.65	93.42
Promethazine hydrochloride	99.05	100.35	100.01

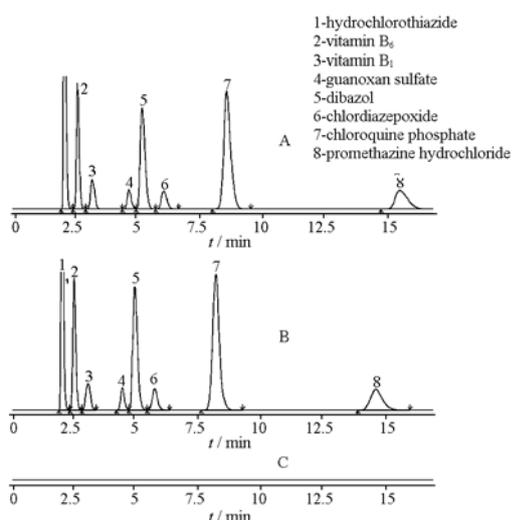


图 1 复方地巴唑氢氯噻嗪胶囊 HPLC 色谱图

A-混合对照品; B-供试品; C-空白

Fig.1 HPLC Chromatograms of eight components in compound dibazol and hydrochlorothiazide capsules

A-mixture of reference substances; B-sample; C-blank

### 2.9 耐用性实验

通过对流动相比比例、流速和柱温的少量改变及另换 Phenomenex C<sub>18</sub> (4.6 mm $\times$ 250 mm, 5  $\mu$ m) 柱以考察本法的耐用性, 结果发现, 对分离度和柱效无明显变化, 说明本法的耐用性良好。

### 2.10 回收率实验

精密称取 8 种待测组分对照品各适量, 并按处方比例分别加入其他组分及辅料, 制成含 8 种待测组分分别为标示量的 80%、100% 和 120% 的模拟回收样品 9 份, 按“2.4”项下的方法测定, 计算回收率, 结果 (表 3) 说明, 本法回收率良好。

## 3 讨论

### 3.1 流动相的选择

在摸索流动相时, 曾用甲醇-水、乙腈-水、甲醇-乙腈-水作为流动相, 均达不到理想分离效果, 当加入离子对试剂时分离效果得到明显改善, 并试用戊烷磺酸钠、己烷磺酸钠和庚烷磺酸钠作为离子对试剂进行比较, 发现庚烷磺酸钠最为理想。在其他条件不变的情况下, 流动相中加入少量的冰醋酸

表 2 回归方程、线性范围、相关系数实验结果

Tab.2 Results of regression equation, linear range and correlation coefficients

Component	Regression equation	Linear range / $\mu$ g $\cdot$ L <sup>-1</sup>	r
Hydrochlorothiazide	$y=2.696 \times 10^3 \rho + 1.224 \times 10^5$	30.2~151.0	0.999 8
Vitamin B <sub>6</sub>	$y=4.120 \times 10^4 \rho + 1.370 \times 10^4$	10.2~51.0	1.000 0
Vitamin B <sub>1</sub>	$y=1.465 \times 10^3 \rho + 4.076 \times 10^3$	10.1~50.5	0.999 9
Guanoxan sulfate	$y=8.133 \times 10^3 \rho + 7.450 \times 10^2$	12.1~60.5	1.000 0
Dibazol	$y=5.828 \times 10^3 \rho + 1.402 \times 10^5$	99.8~499.0	0.999 2
Chlordiazepoxide	$y=6.477 \times 10^3 \rho - 3.267 \times 10^3$	20.1~100.5	1.000 0
Chloroquine phosphate	$y=3.929 \times 10^4 \rho + 3.306 \times 10^4$	24.88~124.4	1.000 0
Promethazine hydrochloride	$y=9.823 \times 10^3 \rho - 1.401 \times 10^4$	30.3~151.5	1.000 0

表 3 溶液稳定性实验、重复性实验和回收率实验实验结果

n=6,  $\bar{x} \pm s$

Tab.3 Results of stability, reproducibility and recovery. n=6,  $\bar{x} \pm s$

Component	Stability RSD/%	Reproducibility RSD/%	Recovery $\pm$ RSD%
Hydrochlorothiazide	0.6	0.8	101.2 $\pm$ 1.4
Vitamin B <sub>6</sub>	0.3	0.6	102.2 $\pm$ 0.9
Vitamin B <sub>1</sub>	1.1	1.3	100.5 $\pm$ 1.5
Guanoxan sulfate	0.6	0.9	101.6 $\pm$ 1.5
Dibazol	0.8	1.0	101.8 $\pm$ 1.1
Chlordiazepoxide	0.6	0.7	99.3 $\pm$ 1.3
Chloroquine phosphate	0.5	0.6	101.5 $\pm$ 1.6
Promethazine hydrochloride	0.4	1.2	101.7 $\pm$ 1.7

对多数待测组分的保留时间有较大的影响,特别是对保留时间较长盐酸异丙嗪影响较为显著,经对冰醋酸的加入量进行比较后发现当流动相中冰醋酸的含量为 0.25%时柱效和分离度最好。也曾加入少量三乙胺进行实验,结果对分离影响不大,因而不用,最后采用甲醇-5 mmol·L<sup>-1</sup>庚烷磺酸钠-冰醋酸(55:45:0.25)为流动相时分离度和柱效均比较理想。

### 3.2 波长的选择

取 8 个待测组对照品分别用流动相溶解并稀释成一定浓度,在分光光度计上扫描,发现 8 个待测组分在 250~300 nm 波长附近均有较大的吸收,但吸收有一定的差异,由于处方中硫酸胍生含量较低,而且吸收较小,因而选择硫酸胍生的较大吸收波长 284 nm 作为测定波长,在此波长处,8 个待测组分均有较好且均衡的响应值,能达到理想的检测灵敏度。

### 3.3 提取溶剂的选择

因待测组分中既有水溶性又有水不溶性的组分,单独选用甲醇或水作为提取溶剂时都存在部分组分不溶现象,而用甲醇-水(50:50)作提取溶剂时,所有待测组分都可溶解,而且色谱峰分离度较好。实验中曾试用盐酸溶液(9→1 000)、pH 3.5 的醋酸钠缓冲溶液、pH 5.0 的枸橼酸缓冲溶液、pH 6.6 的磷酸盐缓冲溶液替代水作为溶剂,或用乙腈替甲醇作溶剂,结果发现,盐酸胍生和地巴唑峰无法分开,重叠严重,或出现分解产物峰,或维生素 B<sub>1</sub> 峰出现分叉,分离效果也不好,因此本实验最后选择甲醇-水(50:50)作为提取溶剂。

### 3.4 氯化钾的影响

在实验开始阶段发现无论条件怎么改变,对照品溶液的色谱图中维生素 B<sub>1</sub> 的峰均出现分叉,而单独进维生素 B<sub>1</sub> 或供试品溶液时却无此现象,估计样品中的某些成分对维生素 B<sub>1</sub> 有影响,使其产生叉峰。因此在对照品溶液中逐个加入处方中的其他未测组分,发现加入氯化钾时维生素 B<sub>1</sub> 峰的分叉现象消失,进一步对氯化钾的加入量进行考察,发现在对照品储备液中加入氯化钾的浓度为 0.25%~0.45%时,不仅维生素 B<sub>1</sub> 叉峰消失,而且其柱效和分离度均有所提高。因此本实验在对照品储备液中

加入氯化钾的浓度定为 0.30%。

### 3.5 柱温的影响

由于本法测定 8 个组分,分离难度较大,因大部分组分的保留时间比较接近,且分析时间较长,提高柱温至 40 °C 可提高分离度,缩短分析时间,以达到理想的分离效果。另外本品中氯氮革和盐酸异丙嗪对光不稳定,因此本实验须在避光条件下操作。

### 3.6 小结

本品处方中未测组分利血平的量非常少,因而本法无法测出,乳酸钙、三硅酸镁和氯化钾均为无机物,无紫外吸收,本法不能测定,须另用其他方法测定。本法成功地测定了其余的 8 种组分,本法分离效果好,可排除其他组分的干扰,且简便快捷,准确可靠,适于该复方制剂中该 8 种组分的同时测定。

## REFERENCES

- [1] CHEN D X. HPLC Determination of hydrochlorothiazide, dibazol, chlordiazepoxide and promethazine hydrochloride in compound dibazol capsules [J]. *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志), 2005, 25(4):442-445.
- [2] JIANG Y, LIU H J, HAO X H. RP-HPLC Determination of nine water-soluble vitamins [J]. *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志), 2005, 25(3): 339-341.
- [3] CHENG Z Q, SUN C J, LI Y Q. Simultaneous determination of eight water-soluble vitamins in food and multivitamins tablets by reversed phase high performance liquid chromatography [J]. *Chin J Anal Chem* (分析化学), 2001, 29(9):1068-1070.
- [4] JIN B F, WEN L P, LIU W. HPLC Determination of eompotmd reserpine tablets [J]. *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志), 1994, 14(5):47-49.
- [5] FEI L H, LIANG J Y. Simultaneous HPLC determination of three components in Chuan'an tablets [J]. *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志), 2001, 21(2):132-134.
- [6] LIANG G L, WANG X Q, ZHONG P. Determination of promethazine hydrochloride in promethazine and bile tablets [J]. *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志), 2005, 25(9):1129-1131.
- [7] LI B, HU D H, LIU F, et al. HPLC Determination of promethazine hydrochloride and chlordiazepoxide in Fufang Luobuma Pian I [J]. *Chin J Pharm Prac* (药学实践杂志), 2003, 21(6):367-369.
- [8] CHE B Q. Determination of five components in compound hypotensive tablet by HPLC [J]. *Acta Pharm Sin* (药学学报), 2004, 39(8):618-620.
- [9] LIANG H X, MIAO H R, YU R G. Determination of the active ingredient in tablet chlorpromazine hydrochloride composite by high performance liquid chromatography with dual wave length detection [J]. *Chin J Chromatogr* (色谱), 1992, 10(2):100-102.
- [10] ZHAO X M, ZHANG S Q. RP-HPLC Determination of six components in Reserpine Tablets [J]. *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志), 2003, 23(5):335-337.

(收稿日期: 2008-11-26)

欢迎投稿 欢迎订阅 欢迎刊登广告