

基于 Auto·Blend Plus 技术的 HPLC 法同时测定抗感冒复方制剂中 5 种不同酸碱性成分的含量^Δ

李欣^{1,2*}, 顾王文², 李金丰^{1,2}, 张志文², 孙考祥^{1#} (1. 烟台大学药学院, 山东烟台 264005; 2. 中国科学院上海药物研究所药物制剂研究中心, 上海 201203)

中图分类号 R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2018)20-2758-05

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2018.20.05

摘要 目的: 建立同时测定抗感冒复方制剂中 5 种不同酸碱性成分含量的方法。方法: 采用高效液相色谱法, 工作站为 ACQUITY Arc 系统的 Auto·Blend Plus 软件, 色谱柱为 Discovery[®] HS F5-5, 流动相为酸混合液-碱混合液-甲醇-0.3% 三乙胺(梯度洗脱), 流速为 1.0 mL/min, 检测波长为 270 nm(对乙酰氨基酚、水杨酰胺、马来酸氯苯那敏、盐酸曲普利啶)、299 nm(乙酰水杨酸), 柱温为 35 ℃, 进样量为 20 μL。结果: 对乙酰氨基酚、水杨酰胺、乙酰水杨酸、马来酸氯苯那敏、盐酸曲普利啶检测质量浓度线性范围分别为 26~411 μg/mL ($r=0.999\ 6$)、16~254 μg/mL ($r=0.999\ 8$)、16~748 μg/mL ($r=0.998\ 1$)、35~565 μg/mL ($r=0.999\ 8$)、25~404 μg/mL ($r=0.999\ 7$); 定量限分别为 3.6、3.1、4.0、9.6、6.3 μg/mL, 检测限分别为 1.9、1.3、1.4、2.9、2.3 μg/mL; 中间精密密度、稳定性、重复性试验的 RSD 均小于 2%; 加样回收率分别为 100.0%~102.0% (RSD=0.59%, $n=9$)、95.2%~101.0% (RSD=1.55%, $n=9$)、96.2%~99.9% (RSD=1.24%, $n=9$)、96.2%~101.5% (RSD=1.57%, $n=9$)、96.3%~98.9% (RSD=0.83%, $n=9$); 耐用性试验的 RSD 均小于 3%。结论: 该方法操作简便、准确, 精密密度、稳定性、重复性、耐用性好, 可用于抗感冒复方制剂中 5 种不同酸碱性成分含量的同时测定。

关键词 Auto·Blend Plus 技术; ACQUITY Arc 系统; 高效液相色谱法; 对乙酰氨基酚; 水杨酰胺; 乙酰水杨酸; 马来酸氯苯那敏; 盐酸曲普利啶; 含量测定

Simultaneous Determination of 5 Kinds of Acid and Alkaline Components in Anti-cold Compound Preparation by HPLC Based on Auto·Blend Plus Technology

LI Xin^{1, 2}, GU Wangwen², LI Jinfeng^{1, 2}, ZHANG Zhiwen², SUN Kaoliang¹ (1. School of Pharmacy, Yantai University, Shandong Yantai 264005, China; 2. Center for Formulation Research, Shanghai Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 201203, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish the method for simultaneous contents determination of 5 kinds of acid and alkaline components in anti-cold compound preparation. METHODS: HPLC method was adopted. The workstation was Auto·Blend Plus software of ACQUITY Arc system. The determination was performed on Discovery[®] HS F5-5 column with mobile phase consisted of acid mixture-base mixture-methanol-0.3% triethylamine (gradient elution) at the flow rate of 1.0 mL/min. The detection wavelengths were set at 270 nm (acetaminophen, salicylamide, chlorphenamine maleate, triprolidine hydrochloride) and 299 nm (aspirin). The column temperature was 35 ℃, the sample size was 20 μL. RESULTS: The linear ranges of acetaminophen, salicylamide, acetylsalicylic acid, chlorphenamine maleate, triprolidine hydrochloride were 26-411 μg/mL ($r=0.999\ 6$), 16-254 μg/mL ($r=0.999\ 8$), 16-748 μg/mL ($r=0.998\ 1$), 35-565 μg/mL ($r=0.999\ 8$) and 25-404 μg/mL ($r=0.999\ 7$), respectively. LOQ were 3.6, 3.1, 4.0, 9.6, 6.3 μg/mL; LOD were 1.9, 1.3, 1.4, 2.9, 2.3 μg/mL, respectively. RSDs of intermediate precision, stability and reproducibility tests were all lower than 2%. Average recoveries were 100.0%-102.0% (RSD=0.59%, $n=9$), 95.2%-101.0% (RSD=1.55%, $n=9$), 96.2%-99.9% (RSD=1.24%, $n=9$), 96.2%-101.5% (RSD=1.57%, $n=9$), 96.3%-98.9% (RSD=0.83%, $n=9$), respectively. RSDs of durability tests were lower than 3%. CONCLUSIONS: The method is simple, accurate, precise, stable, reproducible and durable, and can be used for simultaneous contents determination of 5 kinds of acid and alkaline components in anti-cold compound preparation.

KEYWORDS Auto·Blend Plus method; ACQUITY Arc system; HPLC; Acetaminophen; Salicylamide; Acetylsalicylic acid; Chlorphenamine maleate; Triprolidine hydrochloride; Content determination

高效液相色谱法(HPLC)是针对一个或一批样品建

Δ 基金项目: 国家科技计划课题(No.2015CB932103)

* 硕士研究生。研究方向: 固体制剂。电话: 021-20231000-1521。E-mail: lixin252@163.com

通信作者: 博士, 教授。研究方向: 药物新剂型与新技术。电话: 0535-3946400。E-mail: sunkaoliang@luye.cn

立的一整套完整的色谱分析方法^[1]。在试验过程中, 分析人员需对一系列的色谱参数, 如流动相类型、pH、缓冲液浓度以及流速、柱温、检测波长等条件, 不断进行优化以筛选出最适用的条件^[2-4]。当待测成分分离度依赖于流动相的 pH 时, 需要配制系列 pH 缓冲液作为流动相进

行筛选,其过程复杂、操作烦琐。对乙酰氨基酚、水杨酰胺、乙酰水杨酸、马来酸氯苯那敏、盐酸曲普利啶都是常见的抗感冒复方制剂组成成分,其酸碱性不同,当同时含有这样几种性质差异较大的成分时,很难采用相同的色谱条件将其分离并进行测定^[5-6]。鉴于此,笔者应用美国 Waters 公司推出的 Auto·Blend Plus 技术,开发出同时测定抗感冒复方制剂中多种酸碱性成分的色谱分析方法,不需手动配制系列 pH 缓冲液,仅需设定好每个成分的适用 pH,系统即可自动调节流动相^[7],从而可为建立实验室快速分析方法提供一定借鉴。

1 材料

1.1 仪器

ACQUITY Arc 系统、Auto·Blend Plus 软件、e2695 型 HPLC 仪(包括四元泵、光电二极管阵列检测器、自动进样器、Empower 色谱工作站)均购自美国 Waters 公司;CP225D 型十万分之一电子分析天平、QUINTIX224-1CN 型万分之一电子分析天平(德国 Sartorius 公司);Micro 17R 型台式冷冻离心机(美国 Thermo 公司);Milli-Q 型纯水仪(美国 Millipore 公司);DL-480A 型超声波清洗仪(上海之信仪器有限公司);ACD Labs 12.0 软件(加拿大 Advanced Chemistry Development, Inc.)。

1.2 试剂

对乙酰氨基酚对照品(批号:A1125AS,纯度:>99%)、水杨酰胺对照品(批号:S1101AS,纯度:>98%)、乙酰水杨酸对照品(批号:O0312AS,纯度:>99%)、马来酸氯苯那敏对照品(批号:A0703AS,纯度:>98%)均购自上海赛抑生物科技有限公司;盐酸曲普利啶对照品(中国食品药品检定研究院,批号:101068-201001,纯度:94.2%);甲醇、三乙胺为色谱纯,马来酸、柠檬酸、琥珀酸、4-甲基吗啡啉、吗啡啉、氢氧化铵、哌啶为分析纯,水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

工作站:ACQUITY Arc 系统的 Auto·Blend Plus 软件;色谱柱:Discovery® HS F5-5 (250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:酸混合液(马来酸、柠檬酸、琥珀酸浓度分别为 50、25、25 mmol/L)(A)-碱混合液(4-甲基吗啡啉、吗啡啉、氢氧化铵、哌啶浓度均为 50 mmol/L)(B)-甲醇(C)-0.3% 三乙胺(D),梯度洗脱(洗脱程序见表 1);流速:1.0 mL/min;检测波长:270 nm(对乙酰氨基酚、水杨酰胺、马来酸氯苯那敏、盐酸曲普利啶),299 nm(乙酰水杨酸);柱温:35 ℃;进样量:20 μL。

2.2 样品与溶液的制备

2.2.1 样品 参照已上市药品氨酚曲麻片、复方氨酚烷胺片、阿司匹林片的处方,取对乙酰氨基酚对照品 0.1 g、水杨酰胺对照品 0.05 g、乙酰水杨酸对照品 0.1 g、马来酸氯苯那敏对照品 2 mg、盐酸曲普利啶对照品 1.2 mg,辅料为淀粉、乳糖、微晶纤维素、低取代羟丙纤维素和硬脂

表 1 梯度洗脱程序

Tab 1 Gradient elution procedure

时间, min	A, %	B, %	C, %	D, %	pH
0	14.5	5.5	30	50	3.5
7.0	14.5	5.5	30	50	3.5
7.5	14.5	5.5	40	40	3.5
16.0	14.5	5.5	40	40	3.5
16.5	10.2	9.8	79	1	6.0
26.0	10.2	9.8	79	1	6.0

酸镁,采用粉末直压工艺得到同时包含 5 种待测成分的样品,平均片质量为 1.2 g,载药量为 21%。

2.2.2 混合对照品溶液 分别取对乙酰氨基酚对照品、水杨酰胺对照品、乙酰水杨酸对照品、马来酸氯苯那敏对照品、盐酸曲普利啶对照品 17.13、10.57、31.17、23.55、16.85 mg,精密称定,置于 20 mL 量瓶中,加 70% 甲醇超声(功率:480 W,频率:40 kHz,下同)溶解并定容,摇匀,即得。

2.2.3 供试品溶液 取样品适量,研细,精密称取 0.6 g,置于 20 mL 量瓶中,加 70% 甲醇溶液超声溶解并定容,摇匀,12 000 r/min 离心 10 min,取上清液,即得。

2.2.4 阴性对照溶液 按样品处方和工艺制备缺对乙酰氨基酚、水杨酰胺、乙酰水杨酸、马来酸氯苯那敏、盐酸曲普利啶的阴性样品,并按“2.2.3”项下方法制成阴性对照溶液。

2.3 系统适用性试验

取“2.2”项下混合对照品溶液、供试品溶液各适量,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录色谱图,详见图 1。结果,理论板数按对乙酰氨基酚、水杨酰胺、乙酰水杨酸、氯苯那敏、曲普利啶峰计均大于 6 000;基线分离良好,分离度均大于 1.9。

2.4 专属性试验

取“2.2”项下混合对照品溶液、阴性对照溶液各适量,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录色谱图,详见图 1。结果,阴性对照在与对乙酰氨基酚、水杨酰胺、乙酰水杨酸、氯苯那敏、曲普利啶峰保留时间相同处未见干扰峰,表明本方法专属性良好。

2.5 线性关系考察

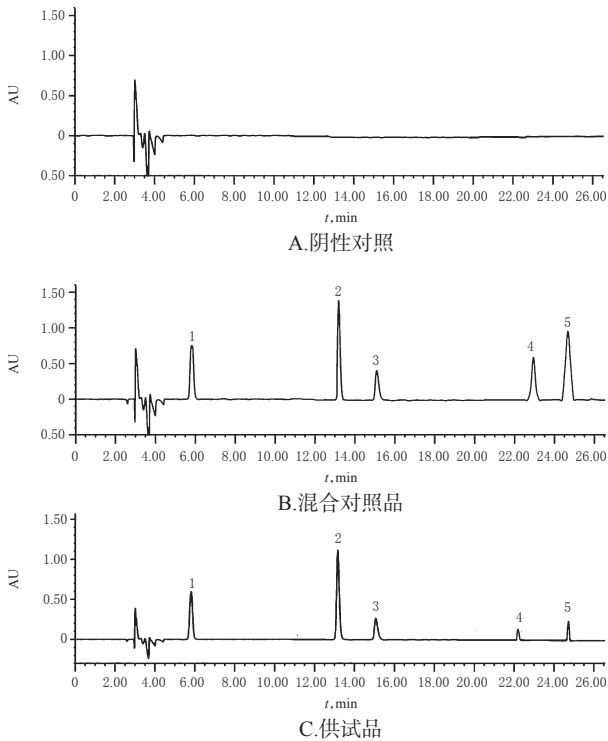
分别精密量取“2.2.2”项下混合对照品溶液 0.3、0.5、1.0、1.2、2.4、4.8 mL,置于 10 mL 量瓶中,加 70% 甲醇定容,摇匀,制成系列混合对照品溶液。精密量取上述系列混合对照品溶液各 20 μL,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以待测成分质量浓度(x , μg/mL)为横坐标、峰面积(y)为纵坐标进行线性回归,回归方程与线性范围见表 2。

2.6 定量限与检测限考察

分别精密量取“2.2.2”项下混合对照品溶液适量,倍比稀释,并按“2.1”项下色谱条件进样测定,以信噪比 10:1、3:1 分别计算定量限、检测限,结果见表 2。

2.7 中间精密度试验

由 2 名分析员分别在不同日期精密称取样品适量,各 6 份,按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”



注: 1. 对乙酰氨基酚; 2. 水杨酰胺; 3. 乙酰水杨酸; 4. 氯苯那敏; 5. 曲普利啶

Note: 1. acetaminophen; 2. salicylamide; 3. acetylsalicylic acid; 4. chlorphenamine; 5. triprolidine

图1 高效液相色谱图

Fig 1 HPLC chromatograms

表2 回归方程、线性范围与定量限、检测限

Tab 2 Regression equation, linear range, LOQ and LOD

待测成分	回归方程	线性范围, $\mu\text{g/ml}$	r	定量限, $\mu\text{g/ml}$	检测限, $\mu\text{g/ml}$
对乙酰氨基酚	$y=1.015 \times 10^3 x - 5.684 \times 10^4$	26~411	0.999 6	3.6	1.9
水杨酰胺	$y=2.635 \times 10^3 x - 4.030 \times 10^4$	16~254	0.999 8	3.1	1.3
乙酰水杨酸	$y=3.998 \times 10^3 x - 5.105 \times 10^4$	16~748	0.998 1	4.0	1.4
马来酸氯苯那敏	$y=2.236 \times 10^3 x - 8.841 \times 10^4$	35~565	0.999 8	9.6	2.9
盐酸曲普利啶	$y=2.384 \times 10^3 x - 8.847 \times 10^4$	25~404	0.999 7	6.3	2.3

项下色谱条件在不同仪器上进样测定,记录峰面积。结果,对乙酰氨基酚、水杨酰胺、乙酰水杨酸、氯苯那敏、曲普利啶峰面积的RSD分别为0.89%、0.65%、0.92%、0.32%、0.14% ($n=12$),表明本方法中间精密度良好。

2.8 稳定性试验

取“2.2.3”项下供试品溶液适量,分别于室温下放置0、2、8、12、24、48 h时按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果,对乙酰氨基酚、水杨酰胺、乙酰水杨酸、氯苯那敏、曲普利啶峰面积的RSD分别为0.71%、0.26%、1.51%、0.62%、0.81% ($n=6$),表明供试品溶液在室温下放置48 h内基本稳定。

2.9 重复性试验

精密称取同一批样品适量,共6份,按“2.2.3”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,记录峰面积并计算标示量百分比。结果,对乙酰氨基

酚、水杨酰胺、乙酰水杨酸、马来酸氯苯那敏、盐酸曲普利啶标示量百分比平均值分别为100.0%、99.8%、99.8%、100.0%、99.6%,RSD分别为0.02%、0.43%、0.02%、0.16%、0.28% ($n=6$),表明本方法重复性良好。

2.10 加样回收率试验

按“2.2.2”项下方法制备混合溶液,共9份,分别加入0.4、0.5、0.6 mL的混合对照品溶液适量,按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液^[8],再按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算加样回收率,结果见表3。

表3 加样回收率试验结果 ($n=9$)

Tab 3 Results of recovery tests ($n=9$)

待测成分	样品含量,mg	加入量,mg	测得量,mg	加样回收率,%	平均加样回收率,%	RSD,%
对乙酰氨基酚	0.428 5	0.342 6	0.772 9	100.5	100.7	0.59
	0.428 5	0.342 6	0.771 9	100.2		
	0.428 5	0.342 6	0.773 5	100.7		
	0.428 5	0.428 2	0.858 3	100.4		
	0.428 5	0.428 2	0.856 8	100.0		
	0.428 5	0.428 2	0.858 6	100.4		
	0.428 5	0.513 8	0.946 5	100.8		
	0.428 5	0.513 8	0.947 5	101.0		
	0.428 5	0.513 8	0.952 8	102.0		
水杨酰胺	0.263 9	0.211 4	0.473 2	99.0	98.5	1.55
	0.263 9	0.211 4	0.477 5	101.0		
	0.263 9	0.211 4	0.476 6	99.7		
	0.263 9	0.264 2	0.524 3	98.6		
	0.263 9	0.264 2	0.522 4	97.8		
	0.263 9	0.264 2	0.523 4	98.2		
	0.263 9	0.317 0	0.565 8	99.2		
	0.263 9	0.317 0	0.575 4	98.3		
	0.263 9	0.317 0	0.575 9	98.4		
乙酰水杨酸	7.792 5	6.234 0	13.879 0	97.6	97.3	1.24
	7.792 5	6.234 0	13.798 1	96.3		
	7.792 5	6.234 0	13.786 5	96.2		
	7.792 5	7.792 5	15.576 3	99.9		
	7.792 5	7.792 5	15.338 7	96.8		
	7.792 5	7.792 5	15.467 3	98.5		
	7.792 5	9.351 0	16.795 4	96.3		
	7.792 5	9.351 0	16.876 9	97.1		
	7.792 5	9.351 0	16.890 7	97.3		
马来酸氯苯那敏	0.589 1	0.471 0	1.059 2	99.8	99.6	1.57
	0.589 1	0.471 0	1.061 2	100.2		
	0.589 1	0.471 0	1.042 3	96.2		
	0.589 1	0.588 8	1.175 7	99.6		
	0.589 1	0.588 8	1.170 3	98.7		
	0.589 1	0.588 8	1.171 6	98.9		
	0.589 1	0.706 6	1.297 4	100.2		
	0.589 1	0.706 6	1.303 9	101.2		
	0.589 1	0.706 6	1.306 2	101.5		
盐酸曲普利啶	0.421 0	0.337 0	0.754 3	98.9	97.4	0.83
	0.421 0	0.337 0	0.749 8	97.6		
	0.421 0	0.337 0	0.746 1	96.5		
	0.421 0	0.421 2	0.828 9	96.8		
	0.421 0	0.421 2	0.829 8	97.1		
	0.421 0	0.421 2	0.834 3	98.1		
	0.421 0	0.505 4	0.907 9	96.3		
	0.421 0	0.505 4	0.913 5	97.4		
	0.421 0	0.505 4	0.914 5	97.6		

2.11 耐用性试验

2.11.1 色谱柱考察 精密称取样品适量,按“2.2.3”项

下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件[分别设置色谱柱为 Discovery® HS F5-5 (250 mm×4.6 mm, 5 μm)、Ultimate® XB-Phenyl(250 mm×4.6 mm, 5 μm)]进样

测定,记录峰面积并计算标示量百分比,结果见表4。结果表明,当色谱柱发生一定程度变化时,本方法能满足试验要求,耐用性良好。

表4 耐用性试验结果

Tab 4 Results of durability tests

色谱条件	分项	对乙酰氨基酚			水杨酰胺			乙酰水杨酸			马来酸氯苯那敏			盐酸曲普利啶		
		标示量百分比, %	均值, %	RSD, %	标示量百分比, %	均值, %	RSD, %	标示量百分比, %	均值, %	RSD, %	标示量百分比, %	均值, %	RSD, %	标示量百分比, %	均值, %	RSD, %
色谱柱	Discovery® HS F5-5	96.9	96.2	1.10	96.6	96.2	0.66	95.6	96.6	1.39	102.4	101.3	1.54	96.4	95.7	1.03
	Ultimate® XB-Phenyl	95.4			95.7			97.5			100.2			95.0		
流速	0.9 mL/min	97.4	97.1	0.31	97.4	97.4	0.87	95.9	95.6	0.32	101.1	101.7	0.54	95.2	96.6	1.32
	1.0 mL/min	97.2			98.2			95.7			102.0			96.9		
	1.1 mL/min	96.8			96.5			95.3			102.1			97.7		
柱温	33 °C	96.9	97.1	0.21	92.5	95.0	2.25	96.2	95.9	0.73	100.2	100.2	0	95.8	96.4	0.62
	35 °C	97.3			96.2			96.4			100.1			96.4		
	37 °C	97.2			96.2			95.1			100.4			97.0		

2.11.2 流速考察 精密称取样品适量,按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件(分别设置流速为0.9、1.0、1.1 mL/min)进样测定,记录峰面积并计算标示量百分比,结果见表4。结果表明,当流速发生一定程度变化时,本方法能满足试验要求,耐用性良好。

2.11.3 柱温考察 精密称取样品适量,按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件(分别设置柱温为33、35、37 °C)进样测定,记录峰面积并计算标示量百分比,结果见表4。结果表明,当柱温发生一定程度变化时,本方法能满足试验要求,耐用性良好。

2.12 样品标示量百分比测定

取样品适量,分别按“2.2.3”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,平行测定3次,记录峰面积并计算标示量百分比,结果见表5。

表5 样品标示量百分比测定结果(n=3, %)

Tab 5 Results of percent of labeled amount of samples(n=3, %)

序号	对乙酰氨基酚	水杨酰胺	乙酰水杨酸	马来酸氯苯那敏	盐酸曲普利啶
1	101.2	97.6	95.3	97.3	98.4
2	100.9	98.9	96.7	98.7	99.3
3	99.7	97.5	96.2	96.9	99.7

3 讨论

流动相pH的改变是分析过程中一个至关重要的环节,因为一些对pH敏感的成分,即使发生3/10 pH单位的细微变化,也会极大地改变其洗脱时间^[9]。Auto·Blend Plus技术最初用于蛋白质分离,本试验采用该技术优化对pH敏感化学成分的色谱分离,挑选出5种分别具有不同酸碱性的待测成分,在试验设计中选择梯度洗脱更有利于各成分的分离。从化学结构式来看,对乙酰氨基酚、水杨酰胺具有酰胺键,马来酸氯苯那敏和盐酸曲普利啶成盐,均比较稳定。乙酰水杨酸有一个酯键,有文献报导其水溶液不稳定,极易水解生成水杨酸^[10]。笔者比较了流动相pH分别为3.0、3.5、4.0、4.5、5.0、5.5、

6.0、6.5时5种待测成分的分离情况。结果显示,当pH<4时,各色谱峰峰形均较好,但在该条件下无法将马来酸氯苯那敏与盐酸曲普利啶完全分开。当pH≥5时,乙酰水杨酸色谱峰发生改变,峰形变宽且拖尾严重。经验证,该色谱峰为乙酰水杨酸的水解产物水杨酸,而有文献报道酸性体系可有效抑制乙酰水杨酸水解^[11]。当pH≥5.5时,马来酸氯苯那敏与盐酸曲普利啶可得到较好分离,且pH越大两者分离效果越好,但保留时间也会随之延长。在试验过程中发现,马来酸氯苯那敏和盐酸曲普利啶有严重的峰拖尾现象,而后期优化过程中通过加入0.3%三乙胺能明显改善峰拖尾现象。

整个试验过程中采用全波长扫描,在后期采用分段波长处理^[12]。由于乙酰水杨酸在299 nm波长处有最大吸收,在270 nm波长处吸收很弱,而其余4个成分在270 nm波长处吸收较好,因此乙酰水杨酸的出峰时间段采用299 nm波长进行扫描(13.1~13.5 min),其他成分的出峰时间段采用270 nm波长进行扫描。

本试验建立了一种可以同时测定酸碱性不同的多成分的方法。在一个流动相体系中可以设置两个pH值,简化了配制不同pH流动相的过程,达到快速、简便、准确的效果。在整个方法操作过程中,只需配制两次流动相(A相和B相的贮备溶液),通过设置一个序列表即可实现连续进样,从而快速完成各个组分的分离鉴定。与采用pH/溶剂双梯度反相HPLC法^[13]以及微乳液相色谱法^[14]同时测定一种抗感冒复方制剂中多种组分的含量相比,极大地减少了方法摸索过程中的工作量。与文献[15]报道的采用普通溶剂梯度法测定阿酚咖敏片中对乙酰氨基酚、乙酰水杨酸和马来酸氯苯那敏的含量相比,本试验方法检测时间缩短了近40 min。综上所述,本方法可同时分离酸性、碱性化学成分,有效简化了工作流程,适用于同时测定抗感冒复方制剂中多种酸碱性不同的成分的含量。

参考文献

- [1] VANDER HEYDEN Y, NIJHUIS A, SMEYERS-VERBEKE J, et al. Guidance for robustness: ruggedness tests in method validation[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2001, 24(5/6):723-753.
- [2] PRAFULLA KUMAR S, NAGESWARA RAO R, TERESA C, et al. An overview of experimental designs in HPLC method development and validation[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2018, 147(5):590-611.
- [3] SNYDER LR, DOLAN JW. Optimizing selectivity during reversed-phase high performance liquid chromatography method development: prioritizing experimental conditions[J]. *J Chromatogr A*, 2013, 1302(9):45-54.
- [4] FREDERICK TM, ALEXEY AM, ERIK LR, et al. Current challenges and future prospects in chromatographic method development for pharmaceutical research[J]. *TrAC-Trends Anal Chem*, 2017, 95(10):36-46.
- [5] 刘伟, 卢珊, 秦峰. HPLC法同时测定人血浆中的对乙酰氨基酚、水杨酸和咖啡因的含量[J]. *沈阳药科大学学报*, 2009, 26(7):547-550.
- [6] 张行山, 张立清, 李斌. HPLC法同时测定复方氨酚烷胺胶囊中对乙酰氨基酚和咖啡因的含量[J]. *中国药师*, 2003, 6(10):641-642.
- [7] EOIN FJ, SEAN M, WATERS CORPORATION, et al. Future proofing the biopharmaceutical QC Lab: benefits of automating mobile phase delivery to improve pH consistency in size exclusion chromatography methods[EB/OL]. [2015-11-08]. www.waters.com/webassets/cms/library/docs/720005264en.pdf.
- [8] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 四部[S]. 2015年版. 北京: 中国医药科技出版社, 2015:374-375.
- [9] 曹越, 罗颂平, 苏薇薇, 等. 高效液相色谱法中不同pH值对黄酮及有机酸分离效果的探讨[J]. *中国卫生产业*, 2012, 9(14):27-29.
- [10] 常书阳, 陈玉海, 郑梅花. HPLC法测定复方乙酰水杨酸片的含量及有关物质[J]. *药物分析杂志*, 2007, 27(8):1252-1255.
- [11] LI JP, GUO JM, SHANG EX, et al. Quantitative determination of five metabolites of aspirin by UHPLC-MS/MS coupled with enzymatic reaction and its application to evaluate the effects of aspirin dosage on the metabolic profile[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2017, 138(10):109-117.
- [12] 杨平, 曾蔚欣, 孙路路. HPLC-DAD多波长法同时测定丁氯麻滴眼剂中3种成分的含量[J]. *中国药房*, 2016, 27(33):4698-4700.
- [13] 禚学怡, 黄丽娜, 潘晓玲, 等. pH/溶剂双梯度反高效液相色谱法同时测定氨酚曲麻片中的5种有效成分[J]. *色谱*, 2013, 31(2):133-138.
- [14] 江洁, 杨若因, 任晶波, 等. 微乳液相色谱法同时测定氨酚曲麻片中5种成分的含量[J]. *沈阳药科大学学报*, 2012, 29(6):456-461.
- [15] 牟英迪, 黄宝群, 盖成. 程序可变波长HPLC法测定阿酚咖敏片中4种有效成分及不确定度评定[J]. *中国药房*, 2014, 25(17):1605-1608.

(收稿日期:2017-12-18 修回日期:2018-02-06)

(编辑:张静)

《中国药房》杂志——中文核心期刊, 欢迎投稿、订阅