

การพัฒนาวิธีวิเคราะห์ด้วยที่เป็นเบลในตำรับยาน้ำเชื่อมโดยการสกัดด้วย  
เฟสที่เป็นของแข็ง และหาปริมาณโดยไอเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิควิด  
โครมาโทกราฟี



นาง สุขศรี อึ้งบริบูรณ์ไพศาล

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร เกษศาสตรมหาบัณฑิต

ภาควิชาเกษตรเคมี

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พ.ศ. 2535

ISBN 974-581-934-4

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

018687

115178997

The Development of Solid Phase Extraction and HPLC Method  
for the Simultaneous Analysis of Basic Drugs in Syrup  
Formulation

Mrs. Sooksri Ungboriboonpibal

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements  
for the Degree of Master of Science in Pharmacy  
Department of Pharmaceutical Chemistry  
Graduate School  
Chulalongkorn University  
1992  
ISBN 974-581-934-4

Thesis Title      The Development of Solid Phase Extraction and HPLC  
Method for the Simultaneous Analysis of Basic Drugs  
in Syrup Formulation

By                      Mrs. Sooksri Ungboriboonpisa

Department        Pharmaceutical Chemistry

Thesis Advisor    Miss Walapa Tatong, Ph.D.

Associate Professor Darawan Thanyavuthi



---

Accepted by the Graduate School, Chulalongkorn University  
in Partial Fulfillment of the Requirements for the Master's Degree,

*Thanon Vajrabhaya*

..... Dean of Graduate School

(Professor Thavorn Vajrabhaya, Ph.D.)

Thesis Committee :

*Suttatip Chantaraskul.*

..... Chairman

(Asso. Prof. Suttatip Chantaraskul, M.Sc. in Pharm.)

*Walapa Tatong*

..... Thesis Advisor

(Miss. Walapa Tatong, Ph.D.)

*Darawan Thanyavuthi*

..... Thesis Coadvisor

(Asso. Prof. Darawan Thanyavuthi, M.S. in Pharm)

*Mitr Pathipvanich*

..... Member

(Instructor Mitr Pathipvanich, Ph.D.)

*Duangchit Panomvana*

..... Member

(Asso.Prof. Duangchit Panomvana Na Ayudhya, Ph.D.)

สุขศรี อังบริบูรณ์ไพศาล : การพัฒนาวิธีวิเคราะห์ด้วยที่เป็นเบสในตำรับยาน้ำเชื่อม  
 โดยการสกัดด้วยเฟสที่เป็นของแข็ง และหาปริมาณโดยไฮเพอร์ฟอร์แมนซิลิควิดโครมาโทกราฟี  
 (THE DEVELOPMENT OF SOLID PHASE EXTRACTION AND HPLC  
 METHOD FOR THE SIMULTANEOUS ANALYSIS OF BASIC DRUGS IN  
 SYRUP FORMULATION) อ. ที่ปรึกษา : ดร. วัลลภา ทาทอง, และ  
 รองศาสตราจารย์ คาราวัลย์ ธีญญะวุฒิ, 87 หน้า  
 ISBN 974-581-934-4

การพัฒนาวิธีวิเคราะห์หาปริมาณตัวยาอีเฟดรีนไฮโดรคลอไรด์, โคลเคอีน ฟอสเฟต และ  
 โพรเมทาซีน ไฮโดรคลอไรด์ ในตำรับยาน้ำเชื่อม โดยการสกัดด้วยเฟสที่เป็นของแข็ง คือ แอมเบอร์ไลต์  
 XAD-2 และหาปริมาณโดยไอโซครติก ไฮเพอร์ฟอร์แมนซิลิควิดโครมาโทกราฟี ใช้สารเอทีลอีเฟดรีน-  
 ไฮโดรคลอไรด์เป็นอินเทอร์นอลแสตนดาร์ด ให้ผลการวิเคราะห์ที่ดีสำหรับผลิตภัณฑ์จำหน่ายในท้องตลาด  
 จากผู้ผลิต 5 แห่ง กราฟเทียบมาตรฐานเป็นเส้นตรงในช่วงความเข้มข้นของอีเฟดรีนไฮโดรคลอไรด์,  
 โคลเคอีน ฟอสเฟต และโพรเมทาซีน ไฮโดรคลอไรด์ เท่ากับ 40-73 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร, 48-87  
 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และ 20-36 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ค่าเปอร์เซ็นต์การกลับคืน  
 เฉลี่ยสำหรับการวิเคราะห์ที่สามความเข้มข้นของตัวยาอีเฟดรีนไฮโดรคลอไรด์, โคลเคอีน ฟอสเฟต และ  
 โพรเมทาซีน เท่ากับ 99.7 %, 101.7% และ 100.2% ตามลำดับ ความเที่ยงตรงของวิธีวิเคราะห์ใน  
 หนึ่งวัน (n = 10) และระหว่างวันจำนวน 3 วัน (n=3) ในตำรับยาแม่แบบแสดงในรูปของค่า  
 สัมประสิทธิ์ของความแปรปรวนมีค่าอยู่ระหว่าง 1.22-1.86% และ 1.37-2.04% ตามลำดับ วิธี  
 วิเคราะห์ที่พัฒนาได้มีความสะดวก มีความจำเพาะแม่นยำและเที่ยงตรง ไม่ถูกรบกวนด้วยสารละลายตัว  
 ของโพรเมทาซีน ไฮโดรคลอไรด์



ภาควิชา ..... เกสซ์เคมี  
 สาขาวิชา ..... เกสซ์เคมี  
 ปีการศึกษา ..... 2535

ลายมือชื่อนิสิต ..... สุทธิ อังบริบูรณ์ไพศาล  
 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา ..... วณ นนอ  
 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ..... วณ นนอ

C 275267 : MAJOR PHARMACEUTICAL CHEMISTRY

KEY WORD : SOLID PHASE EXTRACTION/HPLC METHOD/BASIC DRUGS.

SOOKSRI UNGBORIBOONPISAL : THE DEVELOPMENT OF SOLID PHASE EXTRACTION AND HPLC METHOD FOR THE SIMULTANEOUS ANALYSIS OF BASIC DRUGS IN SYRUP FORMULATION. THESIS ADVISOR : MISS. WALAPA TATONG, Ph.D.; CO-ADVISOR : ASSO. PROF. DARAWAN THANYAVUTHI, 87 pp.  
ISBN 974-581-934-4

A system, involving the combination of non-polar XAD-2 solid phase extraction and isocratic reversed-phase high-performance liquid chromatography, was developed for simultaneous determination of ephedrine hydrochloride codeine phosphate and promethazine hydrochloride. Ethylephedrine hydrochloride was used as the internal standard. The study was performed on five commercial cough-cold syrups. Excellent linearities were obtained over concentration ranges of 40-73 mcg/ml, 48-87 mcg/ml and 20-36 mcg/ml for ephedrine hydrochloride, codeine phosphate and promethazine hydrochloride, respectively. The mean recoveries, averaging recoveries at 3 concentration levels were 99.7, 101.7 and 100.2% for ephedrine hydrochloride, codeine phosphate and promethazine hydrochloride, respectively. The intra-day precision (n=10) and inter-day precision (n = 3) of the three days expressed as coefficient of variation were between 1.22-1.86% and 1.37-2.04%, respectively. The method was simple, specific, precise and accurate. The oxidative degradation products of promethazine hydrochloride were not found to interfere the procedure.

ภาควิชา ..... เกสซ์เคมี  
สาขาวิชา ..... เกสซ์เคมี  
ปีการศึกษา ..... 2525

ลายมือชื่อนิสิต ..... สุกศรี อึ้งบุญพิศาล  
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา ..... วไลยา ทตอง  
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ..... ดารawan Thanyavuthi



## ACKNOWLEDGEMENT



I wish to express my gratitude to my advisor, Dr. Walapa Tatong and Associate Professor Darawan Thanyavuthi for their guidance, encouragement and understanding throughout this research.

I would like to thank Associate Professor Suttatip Chantaraskul and the staff of Pharmaceutical Chemistry Department, for their advice and helpful.

I also wish to thank the Graduate School of Chulalongkorn University for granting partial financial support for this project.

Appreciation is extended to Mrs. Sangthong Sawasdiphab Principal Medical Scientist and Mrs. Pratoommal Xumsaeng, Deputy Director General Department of Medical Sciences, for their kind assistance.

I am also indebted to Dr. Krisana Kraisintu and Miss Pornlada Krobthong for their valuable advice on the application and optimization of High-Performance Liquid Chromatography.

Finally, my appreciation goes to my family who has graciously accepted my absence while working on this research. The understanding and patience of Puvadol and Touch have helped this effort immensely.

## CONTENTS

	Page
Thai abstract.....	iv
English abstract.....	v
Acknowledgement.....	vi
List of tables.....	viii
List of figures.....	x
List of abbreviations.....	xii
Chapter	
I Introduction.....	1
II Experimentation.....	15
- Instruments and materials.....	15
- Method.....	18
- Optimization of mobile phase	18
- Preparation and optimization of SPE procedure.....	19
- Photolytic degradation study of promethazine hydrochloride.....	23
- Method validation.....	23
- Linearity.....	23
- Precision.....	24
- Extraction recovery.....	24
- Application.....	25
III Results and discussion.....	26
IV Summary.....	35
References.....	37
Appendix.....	44
Vita.....	75



## List of Tables

Table No.		Page
1	Variation of capacity factor ( $k'$ ) with percent (%) methanol in mobile phase..	45
2	Variation of capacity factor ( $k'$ ) with pH of mobile phase.....	46
3	Variation of capacity factor ( $k'$ ) with concentration of ammonium acetate buffer (mM).....	47
4	Approximate retention times of active ingredients and internal standard, and resolution factors of each peak pair in the proposed HPLC system.....	48
5	Efficiency of organic solvents used as eluting solvent in Solid Phase Extraction procedure for complete extraction of analytes.....	49
6	Linearities of ephedrine hydrochloride, codeine phosphate and promethazine hydrochloride from synthetic mixtures in syrup USP using fixed amount of internal standard .....	50
7	Intra-day precision.....	51
8	Inter-day precision of 3 non-consecutive days.....	52



Table No.		Page
9	Recoveries of standards from syrup USP spiked with corresponding standards.....	53
10	Percent labeled amounts of 5 commercial products according to the proposed method	54

## List of Figures

Figure No.		Page
1	Capacity factor ( $k'$ ) versus percent methanol in mobile phase.....	55
2	Capacity factor ( $k'$ ) versus pH of mobile phase.....	56
3	Capacity factor ( $k'$ ) versus concentration of buffer in mobile phase.....	57
4	Chromatogram of ephedrine hydrochloride and ethylephedrine hydrochloride.....	58
5	Chromatogram of codeine phosphate and ethylephedrine hydrochloride.....	59
6	Chromatogram of promethazine hydrochloride and ethylephedrine hydrochloride.....	60
7	UV spectra of ephedrine hydrochloride, codeine phosphate and promethazine hydrochloride in the mobile phase.....	61
8	Chromatograms of freshly prepared promethazine hydrochloride, working standard and USP reference standard.....	62
9	Chromatograms of standard promethazine hydrochloride.....	63
10	Chromatograms of a standard mixture of ephedrine hydrochloride, codeine phosphate and promethazine hydrochloride.....	64

Figure No.		Page
11	Thin-layer chromatogram of standard ephedrine hydrochloride, codeine phosphate, promethazine hydrochloride and the eluate sample.....	65
12	Peak area ratio versus concentration of ephedrine hydrochloride.....	66
13	Peak area ratio versus concentration of codeine phosphate.....	67
14	Peak area ratio versus concentration of promethazine hydrochloride.....	68
15	Chromatogram of the syrup USP spiked with ephedrine hydrochloride, codeine phosphate, promethazine hydrochloride and the internal standard.....	69
16	Chromatogram of syrup No. 1.....	70
17	Chromatogram of syrup No. 2.....	71
18	Chromatogram of syrup No. 3.....	72
19	Chromatogram of syrup No. 4.....	73
20	Chromatogram of syrup No. 5.....	74

## LIST OF ABBREVIATIONS

HPLC	=	High-Performance Liquid Chromatography
nm.	=	nanometre
mm	=	millimetre
i.d.	=	internal diameter
IR	=	Infrared
TLC	=	Thin-Layer Chromatography
GLC	=	Gas-Liquid Chromatography
SPE	=	Solid Phase Extraction
mcg	=	microgram
ml	=	millilitre
mM	=	millimolar
mg	=	milligram
g	=	gram
ul	=	microlitre
v/v	=	volume by volume
min.	=	minute
UV	=	Ultraviolet