

· 检验检测 ·

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2019.16.009

# 高效液相色谱法同时测定氨咖愈敏溶液中4种成分含量

梁爱仙, 庞发根, 刘敏, 李玉兰<sup>△</sup>

(广东省深圳市药品检验研究院·广东省深圳市药品质量标准研究重点实验室, 广东 深圳 518057)

**摘要:**目的 建立同时测定氨咖愈敏溶液中对乙酰氨基酚、咖啡因、愈创木酚甘油醚和马来酸氯苯那敏含量的高效液相色谱(HPLC)法。方法 采用 Diamonsil C<sub>18</sub> 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为磷酸三乙胺缓冲液(取三乙胺 3.0 mL, 加水至 1 000 mL, 用磷酸调 pH 至 2.6)-乙腈(85:15, V/V), 流速 1.0 mL/min, 检测波长 264 nm, 柱温 40 ℃, 进样量 20 μL。结果 对乙酰氨基酚、咖啡因、愈创木酚甘油醚和马来酸氯苯那敏质量浓度线性范围分别为 4.816~240.800 μg/mL, 3.808~190.400 μg/mL, 3.816~190.800 μg/mL, 2.226~111.300 μg/mL( $r>0.999\ 0$ ), 平均回收率为 99.88%~100.66%, RSD 为 0.48%~1.20% ( $n=9$ ); 精密度、稳定性、重复性试验的 RSD 均小于 2%。结论 该方法简便、快速、准确, 精密度、稳定性、重复性均较好, 可用于同时测定氨咖愈敏溶液中 4 种成分的含量。

**关键词:** 高效液相色谱法; 氨咖愈敏溶液; 含量测定; 对乙酰氨基酚; 咖啡因; 愈创木酚甘油醚盐酸; 马来酸氯苯那敏; 质量控制

中图分类号: R917; R927.2; R971\*.1

文献标识码: A

文章编号: 1006-4931(2019)16-0029-03

## Simultaneous Determination of Four Components in Paracetamol, Caffeine, Guaifenesin and Chlorphenamine Maleate Solution by HPLC

LIANG Aixian, PANG Fagen, LIU Min, LI Yulan

(Shenzhen Institute for Drug Control, Shenzhen Key Laboratory of Drug Quality Standard Research, Shenzhen, Guangdong, China 518057)

**Abstract: Objective** To establish an HPLC method for simultaneous determination of paracetamol, caffeine, guaifenesin and chlorphenamine maleate in Paracetamol, Caffeine, Guaifenesin and Chlorphenamine Maleate Solution. **Methods** The chromatographic column was Diamonsil C<sub>18</sub> column(250 mm×4.6 mm, 5 μm), the mobile phase was triethylamine phosphate buffer(added water to 3.0 mL of trimethylamine to 1 000 mL, adjusted pH to 2.6 with phosphoric acid)-acetonitrile(85:15, V/V), the flow rate was 1.0 mL/min, the detection wavelength was 264 nm, the column temperature was 40 ℃ and the sample size was 20 μL. **Results** The paracetamol, caffeine, guaifenesin and chlorphenamine maleate showed good linear relationship with peak area in the ranges of 4.816~240.800 μg/mL, 3.808~190.400 μg/mL, 3.816~190.800 μg/mL and 2.226~111.300 μg/mL( $r>0.999\ 0$ ), the average recovery was in the range of 99.88%~100.66% and the RSD was in the range of 0.48%~1.20% ( $n=9$ ). **Conclusion** The method is simple, rapid and accurate with good precision and repeatability. It can be used for the simultaneous determination of four components in Paracetamol, Caffeine, Guaifenesin and Chlorphenamine Maleate Solution.

**Key words:** HPLC; Paracetamol, Caffeine, Guaifenesin and Chlorphenamine Maleate Solution; content determination; paracetamol; caffeine; guaifenesin; chlorphenamine maleate; quality control

氨咖愈敏溶液为抗感冒类复方制剂, 主要含对乙酰氨基酚、咖啡因、愈创木酚甘油醚和马来酸氯苯那敏 4 种成分, 用于减轻由感冒(包括流行性感冒)引起的发热、头痛、咽痛、鼻塞、流涕、咳嗽、咳痰等症状<sup>[1]</sup>。现行国家药品标准<sup>[2-3]</sup>中 4 种成分均采用高效液相色谱(HPLC)法测定含量, 其中对乙酰氨基酚、咖啡因和愈创木酚甘油醚 3 种成分在同一流动相体系下测定, 而马来酸氯苯那敏会在溶液中解离为马来酸和氯苯那敏<sup>[4]</sup>, 由于氯苯那敏极性很小, 在 C<sub>18</sub> 柱上保留较强, 易形成拖尾峰, 故在另一洗脱能力较强的流动相体系下测定。为了提高检测效率<sup>[5]</sup>, 节约成本, 本研究中建立了同时测定氨咖愈敏溶液中上述 4 种成分含量的 HPLC 法。现报道如下。

### 1 仪器与试剂

#### 1.1 仪器

LC-20AD 型高效液相色谱仪(日本岛津公司, 包括高压四元泵, 在线脱气机, 自动进样器, 柱温箱, 二极管阵列检测器、LCsolution 工作站); XS205DU 型电子天平、MP220 型 pH 计(瑞士梅特勒-托利多公司); Millipore Q 纯水器(德国默克公司)。

#### 1.2 试剂

对乙酰氨基酚对照品(批号 100018-201610, 含量为 99.9%)、咖啡因对照品(批号 171215-201211, 含量为 99.9%)、马来酸氯苯那敏对照品(批号 100047-201507, 含量为 99.7%)、愈创木酚甘油醚对照品(批号 100528-201303, 含量为 99.6%), 均购于中国食品药

第一作者: 梁爱仙, 女, 硕士研究生, 主管药师, 研究方向为化学类药物检验技术和质量标准, (电子信箱)804059171@qq.com。

<sup>△</sup>通信作者: 李玉兰, 女, 博士研究生, 主任药师, 研究方向为药品、保健品、化妆品的检验技术新应用, 非法添加检测方法和质量控制, (电子信箱)981230481@qq.com。

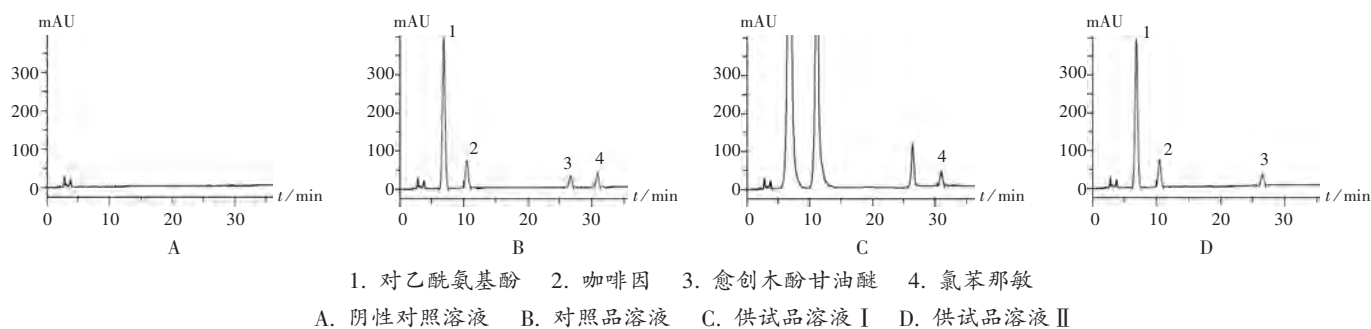


图1 高效液相色谱图

品检定研究院;氨咖愈敏溶液(批号分别为151105, 160205, 160407, 规格为每1 mL含对乙酰氨基酚12.0 mg, 无水咖啡因1.875 mg, 愈创木酚甘油醚3.750 mg和马来酸氯苯那敏0.1125 mg)购于北京九龙制药有限公司;乙腈为色谱纯,其余试剂均为分析纯,水为纯化水。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

色谱柱:Diamondsil C<sub>18</sub>柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:磷酸三乙胺缓冲液(取三乙胺3.0 mL,加水至1 000 mL,用磷酸调pH至2.6)-乙腈(85:15, V/V);流速:1.0 mL/min;检测波长:264 nm;柱温:40℃;进样量:20 μL。

### 2.2 溶液制备

混合对照品溶液:分别称取对乙酰氨基酚对照品约12 mg,咖啡因对照品约9.5 mg,愈创木酚甘油醚对照品约9.5 mg,马来酸氯苯那敏对照品约11 mg,精密称定,分别置10 mL容量瓶中,加流动相溶解并定容,摇匀,作对照品贮备液,临用前用流动相稀释成含对乙酰氨基酚、咖啡因、愈创木酚甘油醚和马来酸氯苯那敏质量浓度分别约为120, 19, 38, 22 μg/mL的混合对照品溶液。

供试品溶液:精密量取氨咖愈敏溶液5 mL,置25 mL容量瓶中,加流动相溶解并定容,滤过,作供试品溶液I(用于测定马来酸氯苯那敏,约相当于22.4 μg/mL),精密量取续滤液5 mL,置100 mL容量瓶中,加流动相稀释并定容,作供试品溶液II(用于测定对乙酰氨基酚、咖啡因和愈创木酚甘油醚,分别约相当于120.00, 18.75, 37.50 μg/mL)。

阴性对照溶液:按处方组成,取处方中不含4种主成分的辅料成分,按供试品溶液制备方法制备,即得。

### 2.3 方法学考察

系统适用性试验:取2.2项下3种溶液,按2.1项下色谱条件进样,色谱图见图1。结果所建立的方法对该4种成分分离良好,分离度均大于1.5,拖尾因子均在0.95~1.05之间,理论板数均大于5 000。

线性关系考察:将对照品贮备液稀释成系列对照品溶液,照上述色谱条件进样测定,记录色谱图,以待测成

分峰面积(Y)为纵坐标、质量浓度(X, μg/mL)为横坐标进行线性回归。结果见表1。

表1 线性方程和范围试验结果(n=7)

| 待测成分    | 线性范围(μg/mL)   | 线性方程                       | r       |
|---------|---------------|----------------------------|---------|
| 对乙酰氨基酚  | 4.816~240.800 | $Y = 39\,504X + 13\,428$   | 0.999 6 |
| 咖啡因     | 3.808~190.400 | $Y = 54\,933X + 13\,791$   | 0.999 6 |
| 愈创木酚甘油醚 | 3.816~190.800 | $Y = 9\,576.7X + 1\,282.2$ | 0.999 5 |
| 马来酸氯苯那敏 | 2.226~111.300 | $Y = 2\,155.0X + 567.85$   | 0.999 5 |

精密度试验:取混合对照品溶液,按拟订色谱条件连续进样6次,测定峰面积。结果对乙酰氨基酚、咖啡因、愈创木酚甘油醚、马来酸氯苯那敏峰面积的RSD分别为0.51%, 0.60%, 0.44%, 1.12%(n=6),表明仪器精密度良好。

稳定性试验:精密吸取同一供试品溶液(批号151105),分别于室温下放置0, 6, 12, 18, 24 h时按拟订色谱条件进样。结果对乙酰氨基酚、咖啡因、愈创木酚甘油醚、马来酸氯苯那敏峰面积的RSD分别为1.23%, 0.96%, 1.21%, 1.33%(n=5),表明供试品溶液在室温下24 h内稳定。

重复性试验:取同一批样品(批号151105)6份,依法制备供试品溶液,在拟订色谱条件进样,测定峰面积,代入对应的线性方程计算。结果对乙酰氨基酚、咖啡因、愈创木酚甘油醚、马来酸氯苯那敏含量平均值分别为12.43, 1.823, 3.782, 0.01099 g/L, RSD分别为1.21%, 0.81%, 1.43%, 1.50%(n=6),表明方法重复性良好<sup>[6]374-378</sup>。

加样回收试验:取已知含量的同一批样品(批号151105)2.5 mL,共9份,置25 mL容量瓶中,分3组,分别精密加入对乙酰氨基酚对照品、咖啡因对照品、愈创木酚甘油醚对照品和0.11 g/L的马来酸氯苯那敏对照品溶液(取1.1 g/L的马来酸氯苯那敏对照品贮备液10.00 mL,置100 mL容量瓶中,加流动相稀释定容,即得),按供试品溶液制备方法制备成低、中、高质量浓度的溶液。按拟订色谱条件进样分析,测定4种成分的峰面积,计算回收率。结果见表2。

### 2.4 样品含量测定

取不同批号的样品,依法制备供试品溶液,按拟订

表2 加样回收试验结果( $n=9$ )

| 成分 | 样品含量(mg) | 加入量(mg) | 测得量(mg) | 回收率(%) | $\bar{X}$ (%) | RSD(%) |
|----|----------|---------|---------|--------|---------------|--------|
| A  | 31.25    | 18.12   | 49.71   | 101.88 | 100.66        | 1.02   |
|    | 31.25    | 17.86   | 49.41   | 101.68 |               |        |
|    | 31.25    | 18.06   | 49.24   | 99.61  |               |        |
|    | 31.25    | 30.17   | 61.71   | 100.96 |               |        |
|    | 31.25    | 29.43   | 60.64   | 99.86  |               |        |
|    | 31.25    | 30.72   | 61.64   | 98.93  |               |        |
|    | 31.25    | 42.18   | 73.56   | 100.31 |               |        |
|    | 31.25    | 41.84   | 73.64   | 101.31 |               |        |
|    | 31.25    | 42.76   | 74.61   | 101.40 |               |        |
| B  | 4.580    | 2.832   | 7.438   | 100.92 | 100.36        | 1.20   |
|    | 4.580    | 2.851   | 7.429   | 99.93  |               |        |
|    | 4.580    | 2.791   | 7.415   | 101.58 |               |        |
|    | 4.580    | 4.761   | 9.426   | 101.79 |               |        |
|    | 4.580    | 4.612   | 9.153   | 99.15  |               |        |
|    | 4.580    | 4.758   | 9.412   | 101.56 |               |        |
|    | 4.580    | 6.481   | 11.08   | 100.28 |               |        |
|    | 4.580    | 6.910   | 11.47   | 99.71  |               |        |
|    | 4.580    | 6.713   | 11.18   | 98.32  |               |        |
| C  | 9.428    | 5.731   | 15.18   | 100.37 | 100.06        | 0.58   |
|    | 9.428    | 5.709   | 15.21   | 101.28 |               |        |
|    | 9.428    | 5.671   | 15.06   | 99.31  |               |        |
|    | 9.428    | 9.521   | 18.90   | 99.49  |               |        |
|    | 9.428    | 9.504   | 18.93   | 99.98  |               |        |
|    | 9.428    | 9.461   | 18.92   | 100.33 |               |        |
|    | 9.428    | 13.42   | 22.80   | 99.64  |               |        |
|    | 9.428    | 13.34   | 22.78   | 100.09 |               |        |
|    | 9.428    | 13.51   | 22.94   | 100.01 |               |        |
| D  | 0.293    | 0.165 5 | 0.457 6 | 99.46  | 99.88         | 0.48   |
|    | 0.293    | 0.165 5 | 0.459 6 | 100.66 |               |        |
|    | 0.293    | 0.165 5 | 0.457 6 | 99.46  |               |        |
|    | 0.293    | 0.275 8 | 0.569 4 | 100.22 |               |        |
|    | 0.293    | 0.275 8 | 0.568 1 | 99.75  |               |        |
|    | 0.293    | 0.275 8 | 0.569 3 | 100.18 |               |        |
|    | 0.293    | 0.386 1 | 0.678 2 | 99.77  |               |        |
|    | 0.293    | 0.386 1 | 0.675 9 | 99.17  |               |        |
|    | 0.293    | 0.386 1 | 0.680 2 | 100.28 |               |        |

注:A 为对乙酰氨基酚,B 为咖啡因,C 为愈创木酚甘油醚,D 为马来酸氯苯那敏。

色谱条件进样分析,外标法计算供试品溶液中对乙酰氨基酚、咖啡因、愈创木酚甘油醚和氯苯那敏含量,并与现行标准<sup>[2]</sup>比较。结果见表3。

### 3 讨论

氨咖愈敏溶液中,马来酸氯苯那敏的含量低,不到对乙酰氨基酚含量的1%,故这2种成分不适合在同一供试品溶液中测定<sup>[7]</sup>。故本研究中分别配制2种不同质量浓度的供试品溶液。经全波长扫描,发现在混合对照

表3 样品含量测定结果(g/L,  $n=3$ )

| 待测成分    | 本方法含量   |         |         | 现行标准含量  |         |         |
|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
|         | 1 批次    | 2 批次    | 3 批次    | 1 批次    | 2 批次    | 3 批次    |
| 对乙酰氨基酚  | 12.50   | 12.53   | 12.57   | 12.49   | 12.51   | 12.55   |
| 咖啡因     | 1.832   | 1.881   | 1.920   | 1.843   | 1.900   | 1.915   |
| 愈创木酚甘油醚 | 3.771   | 3.842   | 3.901   | 3.761   | 3.850   | 3.910   |
| 马来酸氯苯那敏 | 0.117 2 | 0.120 1 | 0.123 1 | 0.118 1 | 0.120 5 | 0.122 6 |

注:1,2,3 批次样品批号分别为 151105,160205,160407。

品溶液中,对乙酰氨基酚、咖啡因、愈创木酚甘油醚和氯苯那敏分别在 245,272,274,264 nm 波长处有最大吸收。考虑到氨咖愈敏溶液中对乙酰氨基酚、咖啡因和愈创木酚甘油醚的含量较高,且最大吸收峰均较宽,在 264 nm 波长处仍有较强吸收,故本研究中选择氨咖愈敏溶液中含有最低的氯苯那敏的最大吸收波长 264 nm 作为检测波长<sup>[8]</sup>。

本研究中建立的流动相体系能较好地分离该4种成分。溶剂色谱峰和辅料色谱峰均能与最先出峰的对乙酰氨基酚色谱峰分离<sup>[9]318-319</sup>,不干扰测定;最后出峰的氯苯那敏色谱峰<sup>[9]62-63</sup>在约 32 min 时出峰,质量浓度线性范围内峰形均较好,质量浓度约为 22  $\mu\text{g/mL}$ 时,拖尾因子为 1.04,符合要求<sup>[6]59-61</sup>;高质量浓度(大于 100  $\mu\text{g/mL}$ )略有拖尾,拖尾因子为 1.15。

3 批样品含量测定结果与现行标准方法的结果相近。本研究中在同一种流动相体系下同时测定氨咖愈敏溶液中4种成分,方法比现行标准更简便、快速。

### 参考文献:

- [1] 马粤闽,曾常青,张志福,等. 氨咖愈敏溶液中对乙酰氨基酚、愈创甘油醚、咖啡因、马来酸氯苯那敏含量测定方法的研究[J]. 中国当代医药,2013,20(34):13-16.
- [2] WS-10001-(HD-0758)-2002,国家药品标准·化学药品地方标准上升国家标准(第八册)[S].
- [3] WS<sub>1</sub>-XG-006-2001,国家药品标准·化学药品地方标准上升国家标准(第十六册)[S].
- [4] 李建定,王 沛. 马来酸氯苯那敏的检测方法[J]. 科技视界,2015(17):176-205.
- [5] 姜 晖,李开智,王绍志,等. 高效液相色谱法测定养阴降糖片4种成分的含量[J]. 中国药业,2017,26(7):32-36.
- [6] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(四部)[M]. 北京:中国医药科技出版社,2015.
- [7] 木其尔. HPLC 法测定复方氨敏虎杖胶囊中对乙酰氨基酚和马来酸氯苯那敏的含量[J]. 今日药学,2018,28(6):391-394.
- [8] 张黎莉,吴昱景. 双波长 HPLC 法同时测定感冒灵胶囊中对乙酰氨基酚、马来酸氯苯那敏、咖啡因3种化学药物和野菊花指标性成分蒙花苷的含量[J]. 海峡药学,2016,28(7):57-61.
- [9] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(二部)[M]. 北京:中国医药科技出版社,2015.

(收稿日期:2018-12-20)