

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2020.03.017

酚氨咖敏颗粒质量标准研究

董秋香,张月寒,姚 辉,付萍萍[△],王 腾,王 楠

(河北省保定市食品药品监督管理局,河北 保定 071051)

摘要:目的 完善酚氨咖敏颗粒的质量标准。方法 采用薄层色谱(TLC)法对乙酰氨基酚、氨基比林、咖啡因及马来酸氯苯那敏进行定性鉴别。采用气相色谱(GC)法同时测定4种成分的含量,色谱柱为TR-1弹性石英毛细管柱(30 m×0.32 mm,0.25 μm),程序升温(起始温度为180℃,保持1 min,再以8℃/min的速率升至240℃,保持2 min),氢火焰离子化检测器温度为260℃。结果 TLC法可同时鉴别酚氨咖敏颗粒中4种成分。对乙酰氨基酚、氨基比林、咖啡因及马来酸氯苯那敏质量浓度线性范围分别为186.3~5 960 μg/mL($r=0.9999$),124.9~3 996 μg/mL($r=0.9999$),38.24~1 224 μg/mL($r=1.0000$)和2.525~80.80 μg/mL($r=0.9999$);平均加样回收率分别为98.69%,99.45%,99.52%,101.40%,RSD分别为1.36%,1.62%,1.20%,1.25%($n=9$)。结论 该方法简便快速、准确可靠,适用于酚氨咖敏颗粒中4种成分的定性、定量分析,可更全面地控制该制剂的质量。

关键词:酚氨咖敏颗粒;薄层色谱法;气相色谱法;对乙酰氨基酚;氨基比林;咖啡因;马来酸氯苯那敏

中图分类号:R971⁺.1;R927.2 文献标识码:A 文章编号:1006-4931(2020)03-0056-04

Quality Standard of Paracetamol Aminophenazone Caffeine and Chlorphenamine Maleate Granules

DONG Qiuxiang, ZHANG Yuehan, YAO Hui, FU Pingping, WANG Teng, WANG Nan

(Baoding Institute for Food and Drug Control, Baoding, Hebei, China 071051)

Abstract: Objective To improve the quality standard of Paracetamol Aminophenazone Caffeine and Chlorphenamine Maleate Gran-

第一作者:董秋香,女,硕士研究生,主管药师,研究方向为药品质量控制及药物分析,(电子信箱)739998331@qq.com。

[△]通信作者:付萍萍,女,大学本科,主任药师,研究方向为药品质量标准及药物分析,(电子信箱)fupp2008@163.com。

3 讨论

处方中鞣蕊苏有效成分异佛司可林只有紫外末端吸收,目前对鞣蕊苏异佛司可林含量测定报道主要有2种方法:一是选用紫外检测器测定,采用末端吸收波长210 nm^[5-6];二是采用高效液相色谱-蒸发光散射(HPLC-ELSD)法,使用流动相乙腈-水系统^[7]。采用紫外检测波长210 nm测定时,由于异佛司可林含量低、杂质峰相对较大,无论是调节流动相比例还是调节流动相酸度、柱温,都无法将主峰与杂质峰分开。采用HPLC-ELSD,使用流动相乙腈-水系统时异佛司可林主峰与杂质峰完全重合,阴性样品有干扰。该2种方法对苏苏小儿止咳颗粒样品的分离度有限,阴性样品总会有干扰。本研究中以HPLC-ELSD法测定异佛司可林含量时,在流动相中加入挥发性的酸,使本来与主峰重叠的杂质峰,得到了完全分离,分离效果得到极大改善,方法可行。

关于鞣蕊苏中异佛司可林含量测定,按2015年版《中国药典(四部)》通则0512中高效液相色谱法测定。分别精密吸取对照品溶液5,10 μL,供试品溶液5~10 μL,注入液相色谱仪,测定,用外标两点法常用对数方程计算即得。本品按干燥品计算,含异佛司可林(C₂₂H₃₄O₇)不得少于0.01%。工艺研究中各试验样品投料用鞣蕊苏异佛司可林含量按本法测定为151.7 μg/g。

苏苏小儿止咳颗粒样品中异佛司可林含量相对较低,要达到检测要求,取样量较大,直接浓缩加硅胶拌匀

时发现样品黏性较强,呈团块状不易分散,加至硅胶柱上时干扰洗脱,故根据异佛司可林的溶解性,以有机溶剂萃取纯化,但萃取后的样品中仍含有较多杂质,颜色较深,对异佛司可林的测定产生干扰,且易降低色谱柱的柱效和使用寿命,因而仍有必要进一步通过硅胶柱对萃取后的样品进行纯化。以二氯甲烷-乙酸乙酯不同比例混合,进行梯度洗脱,通过系列对比试验确定了硅胶柱的内径、用量,以及二氯甲烷-乙酸乙酯洗脱剂的最佳用量。以上研究方法为中药新药研发过程中相对含量较低的复杂成分的质量控制提供了一定的研究思路。

参考文献:

- [1] 云 YCBZ0048-2005,云南省中药材标准[S].
- [2] 金歧端,谢显厚,木全章.毛喉鞣蕊花的化学成分研究[J].天然产物研究与开发,1990,2(3):6-8.
- [3] HARMS AF. Innovative Approaches in Drug Research[M]. Amsterdam: Elsevier Science Pub, 1986: 191-207.
- [4] 陈植和.毛喉鞣蕊花乙酸乙酯提取物对呼吸道平滑肌的解痉作用[J].昆明医学院学报,1990,11(3):1-3.
- [5] 王光忠,刘艳菊,刘焱文. HPLC-ELSD法测定鞣蕊苏胶囊中异佛司可林的含量[J].中国药师,2008,11(6):77-78.
- [6] 王光忠,李水清,邹国安,等. HPLC-ELSD测定鞣蕊苏中异佛司可林的含量[J].中国中药杂志,2008,33(12):1480-1481.
- [7] 张 伟,许云龙,金歧端. HPLC法同时测定鞣蕊苏中三种劳丹烷型二萜类成分[J].云南中医学院学报,2010,33(2):4-6.

(收稿日期:2019-06-26)

ules. **Methods** Paracetamol, aminophenazone, caffeine and chlorphenamine maleate were identified by thin-layer chromatography (TLC) method. The contents of the four components were simultaneously determined by gas chromatography (GC) method on a TR-1 silica capillary column (30 m × 0.32 mm, 0.25 μm), and a programming temperature was used with a flame ionization detector (FID) of 260 °C. The column temperature was kept at 180 °C for 1 min and then rose at a rate of 8 °C/min to 280 °C and maintained for 2 min.

Results TLC could be used to identify the four components. The linear ranges of paracetamol, aminophenazone, caffeine and chlorphenamine maleate were 186.3–5 960 μg/mL ($r=0.999\ 9$), 124.9–3 996 μg/mL ($r=0.999\ 9$), 38.24–1 224 μg/mL ($r=1.000\ 0$) and 2.525–80.80 μg/mL ($r=0.999\ 9$), respectively. The average recoveries were 98.69%, 99.45%, 99.52%, 101.40%, RSDs were 1.36%, 1.62%, 1.20%, 1.25%, respectively ($n=9$). **Conclusion** This method is simple, quick, accurate and reliable for the qualitative and quantity analysis of Paracetamol Aminophenazone Caffeine and Chlorphenamine Maleate Granules, which can be used for the quality control of the preparation.

Key words: Paracetamol Aminophenazone Caffeine and Chlorphenamine Maleate Granules; TLC; GC; paracetamol; aminophenazone; caffeine; chlorphenamine maleate

酚氨咖敏颗粒曾用名克感敏颗粒、克感敏冲剂,是解热镇痛类处方药,用于治疗感冒、发热、头痛、神经痛及风湿痛等疾病。该药由对乙酰氨基酚、氨基比林、咖啡因及马来酸氯苯那敏4种成分组成,现行标准^[1]中缺少主要成分对乙酰氨基酚的鉴别及含量测定,其他成分的含量选用2种不同的高效液相色谱(HPLC)系统分别测定。酚氨咖敏片现行标准^[2]采用HPLC法测定4种成分的含量,因各成分处方量及其紫外吸收强度差异均较大,需分别制备2种供试品溶液在不同波长下测定,无法实现同时检测。郭琦等^[3]报道,采用气相色谱(GC)内标法可同时测定4种成分。为加强对该药品的质量控制并简化操作,本研究中建立了快速定性鉴别4种成分的薄层色谱(TLC)法,以及可同时测定4种成分含量的GC外标法。现报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Agilent 7820A型气相色谱仪,包括FID检测器,G4513A型自动进样器,EC Chrom Elite工作站(美国Agilent公司);Sartorius BP211D型电子分析天平(德国Sartorius公司,十万分之一);CAMAG型薄层色谱成像系统(瑞士Camag公司);SK250HP型超声波清洗器(上海科导超声仪器有限公司)。

1.2 试剂

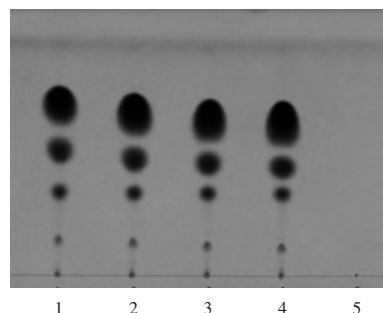
酚氨咖敏颗粒(市售品,批号分别为16062211,15121471,15121375);对乙酰氨基酚对照品(批号为100018–201610,纯度为99.9%),氨基比林对照品(批号为100503–201302,纯度为99.9%),咖啡因对照品(批号为171215–201512,纯度为99.9%),马来酸氯苯那敏对照品(批号为100047–201507,纯度为99.7%),均购自中国食品药品检定研究院;硅胶GF₂₅₄板(德国Merck公司);其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 薄层色谱鉴别

称取对乙酰氨基酚、氨基比林、咖啡因、马来酸氯苯

那敏对照品适量,加三氯甲烷制成质量浓度分别为20, 25, 6, 0.4 mg/mL的混合溶液,必要时滤过,取滤液作为对照品溶液。称取本品细粉适量(约相当于马来酸氯苯那敏4 mg),加三氯甲烷10 mL,振摇使溶解,滤过,取滤液作为供试品溶液。除去4种待测成分,模拟处方(生产企业提供)按供试品溶液制备方法制备阴性对照品溶液。分别吸取上述3种溶液各10 μL,点于同一硅胶GF₂₅₄板上,三氯甲烷–甲醇–丙酮–乙醚–氨水(9:0.8:1:5:0.2, V/V/V/V/V)为展开剂,展开(展开距离约为8 cm),取出,晾干,置紫外光灯(254 nm)下检视。紫外光灯下,4种待测成分完全分离,比移值分别为0.1, 0.4, 0.5, 0.8, 3批样品所显斑点颜色与位置分别与对照品相同,辅料无干扰。色谱图见图1。



1–3. 供试品溶液 4. 对照品溶液 5. 阴性对照品溶液

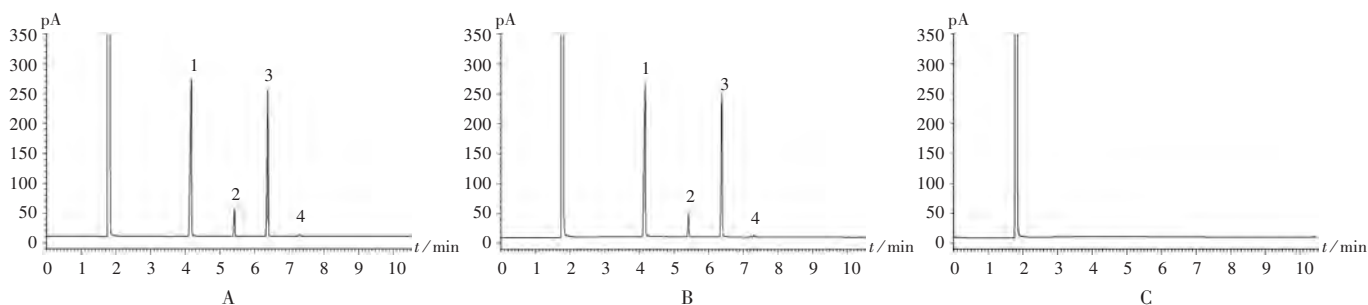
注:斑点自上而下依次为氨基比林、咖啡因、对乙酰氨基酚、马来酸氯苯那敏。

图1 薄层色谱图

2.2 含量测定(GC法)

2.2.1 色谱条件

色谱柱:TR-1弹性石英毛细管柱(30 m × 0.32 mm, 0.25 μm, S/N:11019B03, Thermo 科技公司);升温程序:起始温度为180 °C,保持1 min,再以8 °C/min的速率升至240 °C,保持2 min;进样口温度:240 °C;分流比:20:1;载气:氮气;柱流量:1.5 mL/min;检测器:FID,温度260 °C;氢气流量:30 mL/min;空气流量:400 mL/min;尾吹流量:25 mL/min;进样量:1 μL。



1. 对乙酰氨基酚 2. 咖啡因 3. 氨基比林 4. 马来酸氯苯那敏

A. 对照品溶液 B. 供试品溶液 C. 阴性对照品溶液

图2 气相色谱图

2.2.2 溶液制备

对照品溶液:取对乙酰氨基酚、氨基比林、咖啡因、马来酸氯苯那敏对照品适量,精密称定,加乙醇制成质量浓度分别为 15.0, 10.0, 3.0, 0.2 mg/mL 的混合溶液,作为对照品贮备液;精密量取对照品贮备液 5 mL,置 50 mL 容量瓶中,加乙醇稀释至刻度,摇匀,即得。

供试品溶液:取本品 10 包,精密称定内容物总质量,研细,取细粉适量(约相当于马来酸氯苯那敏 1 mg),精密称定,置 100 mL 具塞锥形瓶中,精密加入乙醇 50 mL,超声(功率 250 W,频率 53 kHz)提取 20 min,放冷,滤过,取续滤液,即得。

阴性对照品溶液:除去 4 种待测成分,以模拟处方按供试品溶液制备方法制备。

2.2.3 方法学考察

专属性试验:取 2.2.2 项下 3 种溶液各 1 μ L,按拟订色谱条件进样测定,记录色谱图,详见图 2。结果,在此色谱条件下,4 种待测成分峰与相邻峰分离良好,分离度均大于 1.5,辅料对测定无干扰。

线性关系考察:精密量取对照品贮备液适量,加流动相等倍逐级稀释成系列质量浓度的对照品溶液,按拟订色谱条件进样测定,记录峰面积。分别以 4 种待测成分的质量浓度(X , μ g/mL)为横坐标、峰面积(Y)为纵坐标进行线性回归,对乙酰氨基酚、氨基比林、咖啡因和马来酸氯苯那敏的回归方程分别为 $Y_{乙} = 3.999 \times 10^3 X_{乙} - 1.238 \times 10^5$ ($r = 0.9999$), $Y_{氨} = 4.506 \times 10^3 X_{氨} + 3.736 \times 10^4$ ($r = 0.9999$), $Y_{咖} = 2.391 \times 10^6 X_{咖} - 2.125 \times 10^3$ ($r = 1.0000$) 和 $Y_{马} = 3.922 \times 10^6 X_{马} + 5.964 \times 10^3$ ($r = 0.9999$)。结果表明,该 4 种成分质量浓度分别在 186.3 ~ 596.0 μ g/mL, 124.9 ~ 3996 μ g/mL, 38.24 ~ 1224 μ g/mL, 2.525 ~ 80.80 μ g/mL 范围内与峰面积线性关系良好。

定量限(LOQ)测定:取 2.2.2 项下的对照品贮备液

适量,等倍逐级稀释,按拟订色谱条件进样测定。结果对乙酰氨基酚、氨基比林、咖啡因和马来酸氯苯那敏的 LOQ 分别为 0.09, 0.06, 0.10, 0.07 ng。

精密度试验:取 2.2.2 项下混合对照品溶液适量,按拟订色谱条件进样测定,记录峰面积。结果对乙酰氨基酚、咖啡因、氨基比林和马来酸氯苯那敏峰面积的 RSD 分别为 0.69%, 0.50%, 0.65%, 0.68% ($n = 6$),表明仪器精密度良好。

稳定性试验:取样品(批号为 15121471),依法制备供试品溶液,分别于室温下放置 0, 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24 h 时,按拟订色谱条件进样测定,记录峰面积。结果对乙酰氨基酚、氨基比林、咖啡因和马来酸氯苯那敏色谱峰面积的 RSD 分别为 1.69%, 1.78%, 1.75%, 1.29% ($n = 9$),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(批号为 15121471)样品,依法制备供试品溶液 6 份,按拟订色谱条件进样测定,以外标法计算平均含量。结果样品中对乙酰氨基酚、氨基比林、咖啡因和马来酸氯苯那敏的平均含量分别为 99.51%, 99.53%, 99.32%, 98.48%, RSD 分别为 0.58%, 0.70%, 1.79%, 1.15% ($n = 6$),表明方法重复性良好。

加样回收试验:取已知含量的样品(批号为 15121471),取细粉适量(约相当于马来酸氯苯那敏 1 mg)9 份,精密称定,置 100 mL 具塞锥形瓶中,分别精密加入低、中、高质量浓度的混合对照品溶液,依法制备供试品溶液($n = 3$),按拟订色谱条件进样测定,计算加样回收率。结果见表 1。

2.2.4 含量测定

取 3 批样品,依法制备供试品溶液,按拟订色谱条件进样测定,记录峰面积,以外标法计算 4 种成分的含量,咖啡因计算结果与 1.0927 相乘,并与现行标准检验结果进行比较。结果见表 2。

表1 加样回收试验结果(n=9)

成分	取样量 (g)	样品含量 (mg)	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	\bar{X} (%)	RSD (%)
A	2.467 6	74.62	59.77	134.6	100.35	98.69	1.36
	2.464 4	74.53	59.77	134.0	99.50		
	2.469 6	74.68	59.77	133.1	97.74		
	2.465 6	74.56	74.72	148.2	98.55		
	2.476 4	74.89	74.72	147.7	97.44		
	2.480 0	75.00	74.72	150.3	100.78		
	2.467 2	74.61	89.66	161.3	96.69		
	2.468 4	74.65	89.66	162.8	98.32		
	2.462 8	74.48	89.66	163.1	98.84		
B	2.467 6	49.67	39.59	89.60	100.86	99.45	1.62
	2.464 4	49.61	39.59	89.23	100.08		
	2.469 6	49.71	39.59	89.28	99.95		
	2.465 6	49.63	49.48	99.24	100.26		
	2.476 4	49.85	49.48	98.88	99.09		
	2.480 0	49.92	49.48	100.24	101.70		
	2.467 2	49.67	59.38	108.02	98.27		
	2.468 4	49.69	59.38	108.26	98.64		
	2.462 8	49.58	59.38	106.73	96.24		
C	2.467 6	13.61	12.18	25.65	98.85	99.52	1.20
	2.464 4	13.59	12.18	25.78	100.08		
	2.469 6	13.62	12.18	25.62	98.52		
	2.465 6	13.60	15.23	28.87	100.26		
	2.476 4	13.66	15.23	28.69	98.69		
	2.480 0	13.68	15.23	29.17	101.71		
	2.467 2	13.61	18.27	31.46	97.70		
	2.468 4	13.61	18.27	31.87	99.95		
	2.462 8	13.58	18.27	31.83	99.89		
D	2.467 6	0.983 3	0.863 9	1.862	101.71	101.40	1.25
	2.464 4	0.982 0	0.863 9	1.863	101.98		
	2.469 6	0.984 1	0.863 9	1.859	101.27		
	2.465 6	0.982 5	1.080	2.067	100.42		
	2.476 4	0.986 8	1.080	2.055	98.91		
	2.480 0	0.988 2	1.080	2.105	103.41		
	2.467 2	0.983 1	1.296	2.291	100.92		
	2.468 4	0.983 6	1.296	2.301	101.65		
	2.462 8	0.981 4	1.296	2.308	102.36		

注:A为对乙酰氨基酚,B为氨基比林,C为咖啡因,D为马来酸氯苯那敏。下表同。

表2 2种方法样品含量测定结果(%)

批号		标准方法				本方法			
		A	B	C	D	A	B	C	D
16062211	未控制	100.66	100.72	85.41	102.23	102.04	101.51	97.51	
15121471	未控制	102.17	103.94	87.46	99.51	99.53	99.32	98.48	
15121375	未控制	103.59	102.43	88.94	102.18	102.49	102.53	101.13	

3 讨论

3.1 薄层色谱法建立

酚氨咖敏胶囊现行标准^[4]采用薄层色谱法鉴别4种成分,展开剂为三氯甲烷-甲醇-丙酮-乙醚-氨水(9:0.8:1:3:0.012),该方法要求展距达到15 cm,耗时较长,且展开后马来酸氯苯那敏的Rf值较小。经反复试验和筛查,最终确定三氯甲烷-甲醇-丙酮-乙醚-氨水(9:0.8:1:5:0.2)为展开剂。当展距达到8 cm时4种待测成分即可达到有效分离,操作简便快速,适用于本品的快速鉴别。

3.2 含量测定方法选择

在酚氨咖敏颗粒现行标准的色谱条件下,咖啡因和对乙酰氨基酚色谱峰不能达到有效分离,无法准确定量^[5]。本研究中建立的气相色谱外标法,可实现1次制备样品、1次进样同时测定4种组分,且10 min之内即可达到有效分离,操作更加简便、快速,亦可用于咖啡因及马来酸氯苯那敏含量均匀度的测定^[6]。

3.3 提取溶剂选择

本研究结果比较发现,氨基比林和咖啡因的测定结果接近,马来酸氯苯那敏的测定结果差距较大。现行标准马来酸氯苯那敏的含量测定选用乙腈为溶剂提取后测定。张轶华等^[7]报道,用乙腈作溶剂提取马来酸氯苯那敏,提取率较低。本研究中对标准方法提取剩余残渣中马来酸氯苯那敏进行考察,测定剩余量约相当于标示量的6%,表明此方法提取不完全,致使其含量测定结果偏低。马来酸氯苯那敏在乙醇中易溶^[8],超声提取20 min即可提取完全。

参考文献:

- [1] WS-10001-(HD-1108)-2002,国家药品标准. 化学药品地方标准上升国家标准(第十二册)[S].
- [2] WS-10001-(HD-1021)-2002,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].
- [3] 郭琦,傅强,张鹏宵,等. 毛细管气相色谱法同时测定酚氨咖敏颗粒中的4个组分含量[J]. 药物分析杂志,2009,29(12):2067-2070.
- [4] WS-10001-(HD-1020)-2002,国家药品标准. 化学药品地方标准上升国家标准(第十一册)[S].
- [5] 赫晓军,朱淑芳. 酚氨咖敏颗粒含量测定方法研究[J]. 中国药业,2006,15(12):18-19.
- [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,2015:124-125.
- [7] 张轶华,姜建国,韩学静,等. 高效液相色谱-双波长检测-梯度洗脱法同时测定小儿氨酚烷胺颗粒中的3种有效组分[J]. 色谱,2010,28(10):1005-1008.
- [8] 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,2015:62-63.

(收稿日期:2019-05-20;修回日期:2019-07-18)