

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2021.08.014

复方小儿退热栓中对乙酰氨基酚含量测定及其均匀度研究*

谢思敏,陈家仪,顾利红[△],栗建明

(广东省广州市药品检验所·国家药品监督管理局中成药质量评价重点实验室,广东 广州 510160)

摘要:目的 建立测定复方小儿退热栓中对乙酰氨基酚含量的高效液相色谱法,并研究其均匀度。方法 色谱柱采用 Agilent Zorbax SB-C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm,5 μm),流动相为甲醇-水(20:80, V/V),流速 1.0 mL/min,检测波长 244 nm,柱温 30℃,进样量 10 μL。结果 对乙酰氨基酚进样量在 0.0819~1.639 μg 范围内与峰面积线性关系良好($r=0.9995$);精密度、稳定性、重复性试验结果的 RSD 均小于 1.0%;平均加样回收率为 101.25%,RSD 为 0.87% ($n=9$);17 批样品的平均含量为 99.35%~107.37%,含量均匀度($A+2.2S$)为 2.92~9.38。结论 该方法简便准确,重复性好,专属性强,可用于复方小儿退热栓的质量控制。

关键词:复方小儿退热栓;高效液相色谱法;对乙酰氨基酚;含量;含量均匀度

中图分类号:R932;R284.1;R286.0

文献标志码:A

文章编号:1006-4931(2021)08-0049-03

Determination of Content and Content Uniformity of Paracetamol in Compound Child Antifebrile Suppository

XIE Simin, CHEN Jiayi, GU Lihong, LI Jianming

(Guangzhou Institute for Drug Control · Key Laboratory of Quality Evaluation of Chinese Patent Medicines, NMPA, Guangzhou, Guangdong, China 510160)

Abstract: Objective To establish a high-performance liquid chromatography(HPLC) method for the determination of content and content uniformity of paracetamol in Compound Child Antifebrile Suppository. **Methods** The chromatographic column was Agilent Zorbax SB-C₁₈ column(250 mm×4.6 mm,5 μm),the mobile phase was methanol-water(20:80, V/V),the flow rate was 1.0 mL/min,the detection wavelength was 244 nm,the column temperature was 30℃ and the injection volume was 10 μL. **Results** Paracetamol showed good linear relationship with peak area in the range of 0.0819-1.639 μg($r=0.9995$),the RSDs of precision, stability and repeatability tests were less than 1.0%, the average recovery of paracetamol was 101.25% with RSD of 0.87% ($n=9$). The contents of 17 batches of samples were in the range of 99.35%-107.37%,and the content uniformity($A+2.2S$) was in the range of 2.92-9.38. **Conclusion** The method is simple, accurate, reproducible and specific, which can be used for the quality control of Compound Child Antifebrile Suppository.

Key words:Compound Child Antifebrile Suppository;HPLC;paracetamol;content;content uniformity

复方小儿退热栓由对乙酰氨基酚、人工牛黄、南板蓝根浸膏粉制成,有解热镇痛、利咽解毒、祛痰定惊功效,临床多用于小儿发热、上呼吸道感染、支气管炎肺热咳嗽^[1-4],特别适用于小儿高热惊厥症,临床疗效明显^[5-7]。其质量标准收载于《中华人民共和国卫生部药品标准·中药成方制剂(第14册)》(WS₃-B-2748-97),部分企业执行企业注册标准时采用紫外分光光度法测定对乙酰氨基酚含量,方法专属性较差,不能完全排除处方中其他成分对测定结果的干扰,具有一定局限性。王巍等^[8]采用反相高效液相色谱(RP-HPLC)法测定其对乙酰氨基酚的含量,但含量均匀度的控制未见报道。本研究中建立了测定复方小儿退热栓中对乙酰氨基酚含量及其均匀度的方法,现报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

1260 II 型高效液相色谱仪,包括 G7111A 型四元

泵、G7129A 型自动进样器、G7117C 型二极管阵列检测器、OpenLab CDS 2.4 色谱工作站,均购自美国 Agilent 公司;XS 204 型电子天平(精度为万分之一),XP26 型电子天平(精度为百万分之一),均购自瑞士 Mettler Toledo 公司;P300H 型超声波清洗机(德国 Elma 公司)。

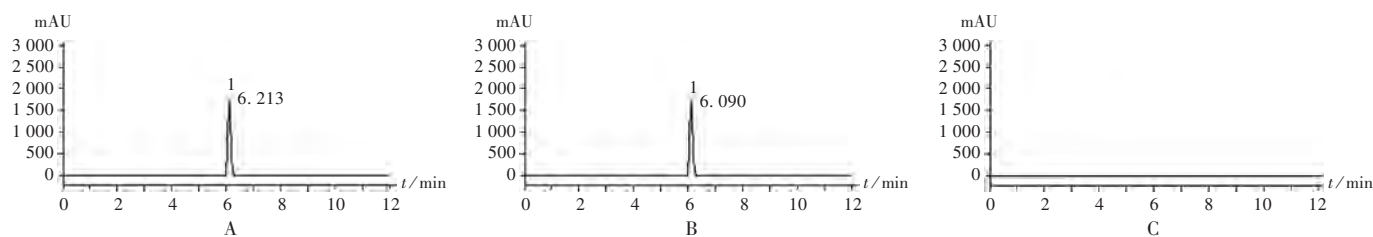
1.2 试剂

对乙酰氨基酚对照品(中国食品药品检定研究院,批号为 100018-201610,含量以 99.9% 计);17 批市售复方小儿退热栓样品(市售品。生产企业 A,批号分别为 20180301,20181005,20190301,20190604;生产企业 B,批号分别为 B05001,B05002,B05003;生产企业 C,批号分别为 180301,180302,180303,180401,180402,180403,180601,180602,180603,180604);甲醇(德国 Merck 公司)、冰醋酸(美国阿拉丁工业公司)均为色谱纯;其余试剂均为分析纯(广州化学试剂厂);水为自制 Milli-Q 超纯水。

*基金项目:国家药典委员会药品标准制修订研究课题[2019Z028]。

第一作者:谢思敏,女,硕士研究生,主管中药师,研究方向为药品质量检验,(电话)020-26282338(电子信箱)798447372@qq.com。

[△]通信作者:顾利红,女,主任中药师,研究方向为中药质量标准,(电话)020-26283696(电子信箱)Gulh@gzfd. gov. cn。



1. 对乙酰氨基酚

A. 对照品溶液 B. 供试品溶液 C. 阴性对照品溶液

图 1 高效液相色谱图

1. paracetamol

A. Reference solution B. Test solution C. Negative reference solution

Fig. 1 HPLC chromatograms

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: Agilent Zorbax SB-C₁₈ 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-水(20:80, V/V); 检测波长: 244 nm; 流速: 1.0 mL/min; 柱温: 30 °C; 进样量: 10 μL。

2.2 溶液制备

对照品溶液: 取对乙酰氨基酚对照品约 3.0 mg, 精密称定, 置 50 mL 容量瓶中, 加 20% 甲醇溶解, 并稀释至刻度, 摇匀, 即得。

供试品溶液: 取本品 20 粒, 研细, 称取适量(约相当于对乙酰氨基酚 150 mg), 精密称定, 置 50 mL 容量瓶中, 加甲醇约 40 mL, 置 50 °C 超声浴中处理(功率为 380 W, 频率为 37 kHz, 下同)10 min, 取出, 放冷至室温, 用甲醇稀释至刻度, 于 4 °C 下放置 1.5 h, 离心, 上清液放置至室温, 精密量取上清液 2 mL, 置 100 mL 容量瓶中, 用 20% 甲醇稀释至刻度, 摇匀, 经 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 弃去初滤液, 取续滤液, 即得。

阴性对照品溶液: 按样品处方制备工艺制得不含对乙酰氨基酚的阴性样品, 同供试品溶液制备方法制备, 即得。

2.3 方法学考察

专属性试验: 吸取 2.2 项下 3 种溶液各 10 μL, 按选定色谱条件测定, 记录色谱峰。结果对乙酰氨基酚的保留时间为 6.090 min, 理论板数按对乙酰氨基酚峰计应不低于 2 000, 基线分离良好, 且阴性对照无干扰。色谱图见图 1。

线性关系考察: 取对乙酰氨基酚对照品 20.502 mg, 精密称定, 置 100 mL 容量瓶中, 加流动相溶解并定容, 作为对照品贮备液。分别精密量取 1, 2, 5, 10, 15, 20 mL, 置 25 mL 容量瓶中, 加流动相稀释至刻度, 摇匀。分别精密吸取上述溶液各 10 μL, 依法进样测定, 以峰面积积分值(Y)为纵坐标、进样量(X, μg)为横坐标进行线性回归, 得回归方程 $Y = 22\,588X - 64.731$, $r = 0.999\,5$

($n = 6$)。结果表明, 对乙酰氨基酚进样量在 0.081 9 ~ 1.639 μg 范围内与峰面积积分值线性关系良好。

精密度试验: 精密吸取 2.2 项下对照品溶液, 按选定色谱条件连续进样 6 次, 测定。结果对乙酰氨基酚峰面积的 RSD 为 0.05% ($n = 6$), 表明仪器精密程度良好。

稳定性试验: 取样品(批号为 20190604)适量, 依法制备供试品溶液, 室温放置, 分别于 0, 2, 4, 6, 8, 12, 24 h 时按拟订色谱条件进样测定。结果对乙酰氨基酚峰面积的 RSD 为 0.08% ($n = 7$), 表明室温下供试品溶液在 24 h 内基本稳定。

重复性试验: 取样品(批号为 20190604)适量, 依法制备供试品溶液, 平行制备 6 份, 按选定色谱条件进样测定。结果含量的 RSD 为 0.67% ($n = 6$), 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 20190604, 含量为 153.082 mg/g)0.5 g, 精密称定, 共 9 份, 分别置 50 mL 容量瓶中, 并精密加入对乙酰氨基酚对照品溶液(质量浓度为 3.004 mg/mL, 溶剂为甲醇)20, 25, 30 mL, 依法制备供试品溶液, 分别精密吸取 10 μL, 依法进样测定, 并计算回收率。结果见表 1。

表 1 加样回收试验结果($n = 9$)

Tab. 1 Results of the recovery tests($n = 9$)

取样量 (g)	样品含量 (mg)	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	$\bar{X}$ (%)	RSD (%)
0.526 2	80.551 7	60.080 0	140.947 3	100.53		
0.525 7	80.475 2	60.080 0	141.440 3	101.47		
0.524 5	80.291 5	60.080 0	141.515 8	101.90		
0.513 1	78.546 4	75.100 0	154.839 5	101.59		
0.515 4	78.898 5	75.100 0	155.098 0	101.46	101.25	0.87
0.516 3	79.036 2	75.100 0	155.137 5	101.33		
0.507 6	77.704 4	90.120 0	169.534 3	101.90		
0.516 2	79.020 9	90.120 0	168.399 3	99.18		
0.504 2	77.183 8	90.120 0	169.009 8	101.89		

2.4 样品含量及其均匀度测定

含量测定:取 17 批样品,按 2.2 项下方法制备供试品溶液,照选定色谱条件测定,按外标法计算含量。取其中的 6 批样品,按原标准方法,采用紫外-可见分光光度法测定样品中对乙酰氨基酚的含量,依法计算,结果见表 2。

表 2 复方小儿退热栓样品含量及其均匀度测定结果

Tab. 2 Determination of content and content uniformity of paracetamol in Compound Child Antifebrile Suppository

生产企业	批号	含量(% , $n=2$)		含量均匀度 ($A+2.2S$, $n=10$)
		HPLC 法	UV 法	
A 企业	20180301	101.25		5.73
	20181005	99.76	105.36	2.92
	20190301	101.02		9.23
	20190604	99.35	101.00	3.42
B 企业	B05001	102.56		5.08
	B05002	103.97	109.62	5.30
	B05003	102.81	109.91	4.82
C 企业	180301	103.16		9.29
	180302	105.29		8.06
	180303	107.37		8.51
	180401	106.75		7.27
	180402	105.33		5.81
	180403	105.98		4.30
	180601	105.80		9.38
	180602	104.74	109.87	5.43
	180603	104.91	109.94	6.76
	180604	105.15		8.24

含量均匀度($A+2.2S$)测定:取 17 批样品各 10 粒,分别置 50 mL 容量瓶中,加甲醇 40 mL,置 50℃ 超声浴中超声处理 10 min,取出,放冷至室温,用甲醇稀释至刻度,于 4℃ 下放置 1.5 h,离心,上清液放置至室温,精密量取 2 mL,置 100 mL 容量瓶中,用 20% 甲醇稀释至刻度,摇匀,经 0.45 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液,即得,照选定色谱条件测定,按外标法计算含量,按 2015 年版《中国药典(四部)》通则 0941^[9] 含量均匀度检查法,计算含量均匀度($A+2.2S$)。结果见表 2。

3 讨论

由于本品处方中含有南板蓝根浸膏粉,供试品溶液过滤后颜色依然较深,导致紫外吸光度易出现偏差,测定值均偏高,影响测定结果的准确性,具有一定局限性。本试验中建立的对乙酰氨基酚 HPLC 含量测定方法,阴

性对照无干扰,方法专属性强,可用于复方小儿退热栓中对乙酰氨基酚的含量测定。

王巍等^[8]报道,样品以 0.01 mol/L 氢氧化钠溶液溶解提取稀释后,采用 HPLC 法、以甲醇-0.05 mol/L 醋酸铵溶液(10:90, V/V)为流动相测定对乙酰氨基酚的含量。预试验中考察了甲醇-0.05 mol/L 醋酸铵溶液(10:90, V/V)、甲醇-0.5% 冰醋酸(20:80, V/V)和甲醇-水(20:80, V/V)作为流动相,分离效果均较好,色谱峰对称,阴性对照无干扰,故选择甲醇-水(20:80, V/V)作为流动相,方法简单,且可减少含盐流动相的使用;样品采用甲醇溶解提取后冷冻除去栓剂中的基质,起到了纯化的作用,同时避免了使用强碱溶液,减少了对色谱柱柱效的影响。

3 家药品生产企业生产的复方小儿退热栓有每粒 0.7 g 和 1.0 g 两种规格,但对乙酰氨基酚含量均为 150 mg,小于每个单剂质量的 25%,且本品属儿科用药,建议检查含量均匀度^[9],从制剂学角度加强对药物的质量控制。

参考文献

- [1] 侯小瑞. 复方小儿退热栓治疗小儿感冒发热的疗效及其安全性[J]. 当代医学, 2014, 20(26): 116.
- [2] 克有丽. 复方小儿退热栓治疗小儿感冒发热的疗效及安全性[J]. 心血管病防治知识, 2014(8): 132-133.
- [3] 秦瑞娟, 李海莹, 张霞. 复方小儿退热栓治疗小儿上呼吸道感染发热疗效安全性观察[J]. 临床合理用药, 2014, 7(2A): 51-52.
- [4] 王茂平. 复方小儿退热栓治疗伤风感冒引起的发热症 70 例临床观察[J]. 中医药导报, 2013, 19(11): 54-56.
- [5] 苏家辉. 复方小儿退热栓治疗小儿高热惊厥的临床疗效及其安全性[J]. 临床合理用药, 2019, 12(5C): 61-62.
- [6] 李华蓉, 李长金. 复方小儿退热栓治疗小儿高热惊厥 56 例疗效及安全性观察[J]. 中国药业, 2014, 23(23): 109-110.
- [7] 王维. 复方小儿退热栓治疗小儿高热惊厥的临床效果分析[J]. 世界最新医学信息文摘, 2019, 19(2): 110-112.
- [8] 王巍, 余翔, 周翔敏. 反相高效液相色谱法测定复方小儿退热栓中对乙酰氨基酚含量[J]. 中国药业, 2012, 21(20): 37-38.
- [9] 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.

(收稿日期: 2020-04-18; 修回日期: 2020-08-30)

稿件查询专线 (023)86592565 外联发行 (023)86592257(传真)