

# RP-HPLC法测定复方氨酚那敏颗粒中3种成分的含量

蒋婷\*,袁明勇,郑玲利,訾铁营\*(成都医学院第一附属医院,成都 610500)

中图分类号 R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)37-3531-03  
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.37.28

**摘要** 目的:建立同时测定复方氨酚那敏颗粒中对乙酰氨基酚、咖啡因和马来酸氯苯那敏的含量测定方法。方法:采用反相高效液相色谱法。色谱柱为Alltech C<sub>18</sub>,流动相A为0.05 mol/L磷酸二氢钾溶液(pH 3.0),流动相B为甲醇-水(90:10),梯度洗脱,流速为1.0 ml/min,检测波长为210 nm,柱温为30 ℃。结果:对乙酰氨基酚、咖啡因、马来酸氯苯那敏的检测质量浓度线性范围分别为50~175、2.5~15、5~40 μg/ml( $r \geq 0.999 8$ ),平均回收率分别为100.24%、99.89%、100.85%(RSD=0.78%、1.0%、1.1%, $n=9$ )。结论:建立的方法简便易行、准确度高,可同时测定复方氨酚那敏颗粒中3种成分的含量。

**关键词** 反相高效液相色谱法;复方氨酚那敏颗粒;对乙酰氨基酚;咖啡因;马来酸氯苯那敏;含量测定;梯度洗脱

## Content Determination of 3 Components in Fufang Anfen Namin Granules by RP-HPLC

JIANG Ting, YUAN Ming-yong, ZHENG Ling-li, ZI Tie-ying (The First Affiliated Hospital of Chengdu Medical College, Chengdu 610500, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To develop a method for the content determination of acetaminophen, caffeine and chlorphenamine maleate in Fufang anfen namin granules. METHODS: RP-HPLC method was established. The determination was performed on Alltech C<sub>18</sub> column with mobile phase consisted of A by [0.05 mol/L potassium dihydrogen phosphate solution (pH 3.0)] and B [methanol-water (90:10) by gradient elution] at the flow rate of 1.0 ml/min. The column temperature was set at 30 ℃, and detection wavelength was set at 210 nm. RESULTS: The linear ranges were 50-175 μg/ml for acetaminophen, 2.5-15 μg/ml for caffeine and 5-40 μg/ml for chlorphenamine maleate ( $r \geq 0.999 8$ ). Average recoveries were 100.24% (RSD=0.78%,  $n=9$ ), 99.89% (RSD=1.0%,  $n=9$ ) and 100.85% (RSD=1.1%,  $n=9$ ). CONCLUSIONS: Established method is simple and accurate, and it can be used for the content determination of 3 components in Fufang anfen namin granules.

**KEY WORDS** RP-HPLC; Fufang anfen namin granules; Acetaminophen; Caffeine; Chlorphenamine maleate; Content determination; Gradient elution

复方氨酚那敏颗粒为常用的感冒类复方制剂,主要用于缓解感冒引起的症状,成分包括对乙酰氨基酚、咖啡因和马来酸氯苯那敏,各组分含量相差较大。含量测定方法目前采用最多的是化学药品地方标准上升国家标准(第三册)中复方氨酚那敏颗粒标准中的方法<sup>[1]</sup>。该方法分别采用不同的方法测定3种成分的含量,效率不高;且使用乙醇溶解样品不能较充分地溶解出样品中的马来酸氯苯那敏,因此,该方法重复性也

不好。

由对乙酰氨基酚、咖啡因和马来酸氯苯那敏组成的复方制剂应用十分广泛,用高效液相色谱(HPLC)法同时测定复方制剂中这3种成分的含量已有文献报道。如王波等<sup>[2]</sup>通过建立反相(RP)-HPLC法同时测定复方感冒灵片中这3种成分的含量,王润玲等<sup>[3]</sup>也通过建立HPLC法测定了复方氨酚那敏缓释片中这3种成分的含量,但都是采用等度洗脱的方法。而复方

### 3.7 有关物质检查限度

本文采用自身对照法测定有关物质,结果3批样品中各未知杂质的量均在0.1%以下,杂质总量均在0.3%以下。其限度暂定为:除溶剂峰外,单个杂质峰面积不得大于对照溶液主峰面积的1/5(0.2%),各杂质峰面积之和不得大于对照溶液主峰面积(1.0%)。

### 参考文献

- [1] Singh BN, Connolly SJ, Crijns HJ. *et al.* Dronedronarone for maintenance of sinus rhythm in atrial fibrillation or flutter [J]. *N Engl J Med*, 2007, 357(10):987.
- [2] 贺鹏康,周菁.抗心律失常新药决奈达隆[J].*临床药物治*

\*药师,硕士。研究方向:临床药学。E-mail:405445347@qq.com  
#通信作者:主任药师。研究方向:医院药学。电话:028-83016913。E-mail:teachz520@163.com

疗杂志,2010,8(2):58.

- [3] 何晓清,吴泰志,张福利,等.盐酸决奈达隆合成路线图解[J].*中国医药工业杂志*,2010,41(2):148.
- [4] Gubin J, Lucchetti J, Inion H, *et al.* Preparation of benzofurans, benzothiophenes, indoles, and indolizines as cardiovascular agents, EP:471609[P].1992-12-19.
- [5] 李素义,钟启星,陈国华,等.盐酸决奈达隆的合成[J].*中国医药工业杂志*,2011,42(3):161.
- [6] 汪玉梅,张勇,胡永亮.盐酸决奈达隆的合成[J].*河北化工*,2012,35(4):12.
- [7] 刘玉丽,汪玉梅,胡永亮,等.决奈达隆有关物质的合成[J].*中国医药工业杂志*,2012,43(7):535.
- [8] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:二部[S].2010年版.北京:中国医药科技出版社,2010:附录VD.

(收稿日期:2012-12-06 修回日期:2013-03-07)

氢酚那敏颗粒(规格为每袋10 g)中辅料用量多,采用文献报道的等度洗脱方法在测定时辅料干扰大,各成分分离效果差。为更有效地控制产品质量,本文建立了采用梯度洗脱的RP-HPLC法对复方氢酚那敏颗粒中对乙酰氨基酚、咖啡因和马来酸氯苯那敏3种成分的含量同时进行测定,结果表明方法操作简便、快速、重现性好,结果准确可靠。

## 1 材料

### 1.1 仪器

1100 HPLC仪,包括G1311A四元梯度泵、G1367A自动进样器、G1316A柱温箱、G1379A真空在线脱气机、色谱工作站(美国Agilent公司);CP220D电子天平(德国Sartorius集团);PHS-3C型酸度计(上海精密科学仪器有限公司)。

### 1.2 药品与试剂

对乙酰氨基酚(批号:100018-200408,供含量测定用)、咖啡因(批号:1215-0104,供含量测定用)、马来酸氯苯那敏对照品(批号:100047-200305,纯度:99.7%)均来自中国食品药品检定研究院;复方氢酚那敏颗粒(成都医学院第一附属医院药剂科提供,批号:120801、120802、120803,规格:每袋含对乙酰氨基酚250 mg、咖啡因15 mg、马来酸氯苯那敏10 mg);甲醇和乙腈均为色谱纯;水为自制超纯水;马来酸等均为分析纯。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

色谱柱为Alltech C<sub>18</sub>(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相A为0.05 mol/L磷酸二氢钾溶液(用磷酸调节pH至3.0),流动相B为甲醇-水(90:10);采用梯度洗脱法(0~17 min,流动相A从100%~50%,流动相B从0~50%;17~24 min流动相A、B均为50%;24~25 min,流动相A为50%~0,流动相B为50%~100%;25~30 min,流动相B为100%;30~31 min,流动相A为0~100%,流动相B为100%~0;31~35 min,流动相A为100%);流速:1.0 ml/min;检测波长:210 nm;柱温:30 ℃;进样量:20 μl。各成分色谱峰的理论板数不得低于3 000。取“2.2”项下溶液进样分析,色谱结果见图1。

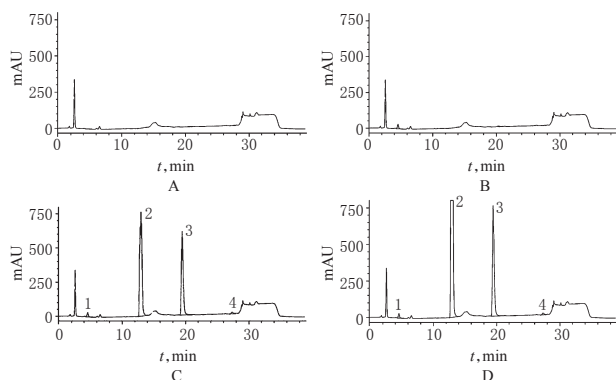


图1 高效液相色谱图

A. 空白溶液; B. 马来酸对照溶液; C. 混合对照品溶液; D. 样品溶液; 1. 马来酸; 2. 乙酰氨基酚; 3. 咖啡因; 4. 氯苯那敏

Fig 1 HPLC chromatograms

A. blank solution; B. maleate control solution; C. mixed control solution; D. sample solution; 1. maleic acid; 2. acetyl aminophenol; 3. caffeine; 4. chlorphenamine

### 2.2 溶液的配制

2.2.1 混合对照品溶液。精密称取咖啡因7.5 mg、马来酸氯苯那敏15 mg,置于同一10 ml量瓶中,加流动相溶解并稀释至刻度,标记为1号瓶;精密称取对乙酰氨基酚12.5 mg,置于100 ml量瓶中,加流动相适量使溶解完全,标记为2号瓶;精密量取1号瓶溶液1 ml置于2号瓶内,加流动相A稀释至刻度,过滤,弃去初滤液4 ml,取续滤液作为混合对照品溶液(相当于对乙酰氨基酚125 μg/ml、咖啡因7.5 μg/ml、马来酸氯苯那敏15 μg/ml)。

2.2.2 空白溶液。称取含有处方量柠檬黄的蔗糖颗粒等约0.25 g,置于50 ml量瓶中,加流动相A溶解并稀释至刻度,过滤,弃去初滤液4 ml,取续滤液即得。

2.2.3 马来酸对照溶液。向空白溶液中加入约2 mg的马来酸,置于50 ml量瓶中,加入空白溶液超声溶解并稀释至刻度,过滤,弃去初滤液4 ml,取续滤液即得。

2.2.4 样品溶液。精密称取复方氢酚那敏颗粒约0.25 g,置于50 ml量瓶中,加流动相A溶解并稀释至刻度,过滤,弃去初滤液4 ml,取续滤液即得。

### 2.3 线性范围考察

2.3.1 对乙酰氨基酚标准曲线的制备。精密称取对乙酰氨基酚对照品,用流动相溶解并制备成0.25 mg/ml的溶液,作为对照品溶液。精密量取对照品溶液1、2、3、5、6、7 ml,分别置于10 ml量瓶中,加流动相稀释至刻度,进样20 μl测定。以峰面积(A)为纵坐标、质量浓度(c)为横坐标,求得回归方程为: $A=255.42c+286.7(r=0.9998)$ 。

2.3.2 咖啡因标准曲线的制备。精密称取咖啡因对照品,用流动相溶解并制备成0.05 mg/ml的溶液,作为对照品溶液。精密量取对照品溶液0.5、1、1.5、2、2.5、3 ml,分别置于10 ml量瓶中,加流动相稀释至刻度,进样20 μl测定。以峰面积(A)为纵坐标、质量浓度(c)为横坐标,求得回归方程为: $A=283.76c+479.34(r=0.9998)$ 。

2.3.3 马来酸氯苯那敏标准曲线的制备。精密称取马来酸氯苯那敏对照品,用流动相溶解并制备成0.1 mg/ml的溶液,作为对照品溶液。精密量取对照品溶液0.5、1、2、2.5、3、4 ml,分别置于10 ml量瓶中,加流动相稀释至刻度,进样20 μl测定。以峰面积(A)为纵坐标、质量浓度(c)为横坐标,求得回归方程为: $A=26.23c+2.13(r=0.9999)$ 。

结果表明,对乙酰氨基酚、咖啡因、马来酸氯苯那敏检测质量浓度线性范围分别为50~175、2.5~15、5~40 μg/ml。

### 2.4 精密度试验

取对乙酰氨基酚、咖啡因、马来酸氯苯那敏质量浓度分别为124.69、7.56、9.72 μg/ml的对照溶液连续重复进样6次,所得峰面积的RSD分别为0.24%、0.98%、0.79%(n=6),结果表明本法具有良好的精密度。

### 2.5 稳定性试验

取“2.6”项下的中质量浓度的溶液,每隔2 h进样1次,进样5次,得对乙酰氨基酚、咖啡因、马来酸氯苯那敏峰面积的RSD分别为0.91%、0.26%、0.67%(n=5),结果表明样品溶液在8 h内稳定。

### 2.6 回收率试验

按处方量称取辅料,按标示量的80%、100%、120%加入对乙酰氨基酚、咖啡因、马来酸氯苯那敏对照品溶液适量,进

样,测定对乙酰氨基酚、咖啡因和马来酸氯苯那敏的含量并分别计算回收率。结果显示,对乙酰氨基酚、咖啡因、马来酸氯苯那敏的低、中、高质量浓度的平均回收率分别为100.24% (RSD=0.78%, n=9)、99.89% (RSD=1.0%, n=9)、100.85% (RSD=1.1%, n=9),表明本方法准确度高,详见表1。

表1 回收率试验结果(n=9)

Tab 1 Result of recovery tests(n=9)

组分	加入量,mg	测得量,mg	回收率,%	平均回收率,%	RSD,%			
对乙酰氨基酚	5.05	5.03	99.64	100.24	0.78			
		5.09	100.79					
		5.06	100.16					
	6.31	6.34	100.54					
		6.40	101.42					
		6.37	100.97					
	7.52	7.52	99.97					
		7.43	98.82					
		7.51	99.89					
	咖啡因	302.9	302.5			99.86	99.89	1.00
			300.2			99.12		
			297.0			98.06		
378.6		379.3	100.19					
		385.3	101.76					
		379.8	100.32					
454.3		452.1	99.51					
		454.2	99.98					
		455.1	100.17					
马来酸氯苯那敏		598.6	602.4	100.64	100.86	1.10		
			597.3	99.79				
			592.9	99.06				
	748.2	759.7	101.54					
		766.4	102.43					
		755.5	100.97					
	897.8	918.2	102.27					
		898.8	100.11					
		905.8	100.89					

## 2.7 样品含量测定

分别取混合对照品溶液和样品溶液各20 μl进样,记录色谱图。按外标法分别计算出对乙酰氨基酚、咖啡因和马来酸氯苯那敏的标示含量百分比(马来酸峰不计算,仅以氯苯那敏峰计),结果见表2。

表2 样品含量测定结果

Tab 2 Results of content determination of samples

批号	对乙酰氨基酚		咖啡因		氯苯那敏	
	含量,%	RSD,%	含量,%	RSD,%	含量,%	RSD,%
120801	95.47	0.25	93.02	0.22	96.00	0.49
120802	96.61	0.34	92.81	0.26	96.88	0.64
120803	95.81	0.42	93.95	0.58	96.40	0.58

## 3 讨论

(1)复方氨酚那敏颗粒中成分多而复杂(对乙酰氨基酚、

咖啡因、马来酸氯苯那敏、人工牛黄和柠檬黄等),测定时互相之间的干扰比较大,等度洗脱不易将进入色谱柱的物质全部洗脱出来,对系统有影响,且检测的总时间也比较长。本文通过梯度洗脱的方法实现了复方氨酚那敏颗粒中3种成分的同时测定,操作方法可行,结果能够满足要求。马来酸氯苯那敏在检测时会形成马来酸和氯苯那敏2个峰,以马来酸峰定性,以氯苯那敏峰定量,色谱图中氯苯那敏峰信噪比都在10以上,表明试验条件能够满足定量测定。

(2)笔者曾经试验过用甲醇-水的不同比例如45:55、60:40、70:30、80:20为流动相B,结果分离效果很差。改用磷酸盐缓冲液(磷酸调节pH至3.0)和甲醇-水(90:10)作为流动相,随着流动相甲醇-水(90:10)比例的改变,组分中各成分逐渐被洗脱出来,分离效果好,能满足对样品中各组分的含量测定要求。改用乙腈再试,当用磷酸盐缓冲液(磷酸调节pH至3.0)和乙腈-水(90:10)作为流动相时,由于乙腈的洗脱能力强,出峰时间很短,分离效果不好。故最终选择用磷酸盐缓冲液(磷酸调节pH至3.0)和甲醇-水(90:10)作为流动相,保留时间适中,分离效果好且峰形对称;且用甲醇作为有机溶剂,成本低,对操作人员来说较乙腈相对安全。

(3)本试验3种成分均具有弱酸性,因此调节流动相pH在弱酸性条件下可以增加组分保留时间,改善分离度。磷酸盐溶液呈碱性时,峰严重变形;pH值过低时主峰部分重叠,分离效果不理想。最后选用pH值3.0的磷酸盐缓冲液作为流动相A,主峰分离效果很好且峰形对称。

(4)笔者曾先后试验了多种溶剂溶解样品:用超纯水溶解,马来酸氯苯那敏的重现性很不好,而且由于样品中含有蔗糖较多,在水中溶解后黏度增大,不易过滤,不利于马来酸氯苯那敏的测定;按照文献<sup>[1]</sup>中规定的用乙腈作为溶剂溶解样品,结果蔗糖不溶于乙腈,样品中马来酸氯苯那敏也不易完全溶于乙腈中,测定结果精密度不好。最后确定了用流动相A溶解样品,既能达到很好溶解样品的目的,又便于过滤,测定结果重现性较好。

## 参考文献

- [1] 国家药品监督管理局.国家药品标准:化学药品地方标准上升国家标准:第3册[S].北京:国家药品监督管理局,2002:195-196.
- [2] 王波,王健,董蓬.RP-HPLC测定复方感冒灵片中对乙酰氨基酚、咖啡因和马来酸氯苯那敏的含量[J].中成药,2003,25(7):540.
- [3] 王润玲,张庆伟.复方氨酚那敏缓释片的含量测定[J].药物分析杂志,2006,26(3):369.

(收稿日期:2012-12-12 修回日期:2013-03-17)

《中国药房》杂志——《文摘杂志》(AJ)收录期刊,欢迎投稿、订阅