

HPLC法检测银翘解毒制剂中非法添加的对乙酰氨基酚

邱国俊^{1*}, 许亚玲², 田静³, 何咏梅^{4#} (1. 兴义民族师范学院, 贵州 兴义 562400; 2. 贵州省食品药品检验所, 贵阳 550006; 3. 贵州省药品集中采购服务中心, 贵阳 550002; 4. 贵州黔东南州中医院, 贵州 兴义 562400)

中图分类号 R283; R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)27-2562-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.27.24

摘要 目的: 建立检测银翘解毒制剂中是否非法添加解热镇痛药对乙酰氨基酚的方法。方法: 采用高效液相色谱法。色谱柱为 Waters C₁₈(250 mm×5.0 mm, 4.6 μm), 流动相为甲醇-0.5%冰醋酸溶液(2:98, V/V), 检测波长为 249 nm, 柱温为 30 ℃, 流速为 1 ml/min, 进样量为 5 μl。在此条件下检测了 73 个厂家 205 批样品, 并在未检出对乙酰氨基酚的样品中添加适量对照品作为阳性参比对照进行检测。结果: 对乙酰氨基酚的进样量在 0.050 7~1.010 4 μg 范围内与其峰面积积分值呈良好的线性关系($r=0.999\ 9$); 检出限为 0.4 ng。银翘解毒片、丸、颗粒的平均加样回收率分别为 99.9% (RSD=0.7%, $n=6$)、96.9% (RSD=0.6%, $n=6$)、97.6% (RSD=0.4%, $n=6$)。阳性参比对照均检出对乙酰氨基酚, 205 批样品均未检出。结论: 该方法专属性强、灵敏度高、操作方便, 可用于检测中成药中是否非法添加对乙酰氨基酚。

关键词 高效液相色谱法; 银翘解毒制剂; 对乙酰氨基酚; 非法添加

Detection of Illegal Added Acetaminophen in Yinqiao Jiedu Preparation by HPLC

QIU Guo-jun¹, XU Ya-ling², TIAN Jing³, HE Yong-mei⁴ (1. Xingyi Normal University for Nationalities, Guizhou Xingyi 562400, China; 2. Guizhou Institute for Food and Drug Control, Guiyang 550006, China; 3. Guizhou Provincial Service Center for Drugs Centralized Purchase, Guiyang 550002, China; 4. Guizhou Qianxinan Prefecture Hospital of Traditional Chinese Medicine, Guizhou Xingyi 562400, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for determining whether there are illegal added acetaminophen in Yinqiao jiedu preparation. METHODS: HPLC method was adopted. The determination was performed on Waters C₁₈(250 mm×5.0 mm, 4.6 μm) column with mobile phase consisted of methanol-glacial acetic acid (2:98, V/V) at the flow rate of 1 ml/min. The detection wavelength was set at 249 nm, and column temperature was set at 30 ℃. The sample size was 5 μl. 205 batches of samples from 73 factories were determined under the same condition. A positive control was made by adding appropriate amount of reference substance into samples in which acetaminophen was not detected. RESULTS: The linear range of acetaminophen was 0.050 7-1.010 4 μg ($r=0.999\ 9$). The examination limits was 0.4 ng. Average recoveries of Yinqiao jiedu preparations (tablets, pills, particles) were 99.9% (RSD=0.7%, $n=6$), 96.9% (RSD=0.6%, $n=6$) and 97.6% (RSD=0.4%, $n=6$), respectively. Acetaminophen were detected in positive reference substance and not detected in 205 batches of samples. CONCLUSIONS: The method is specific, sensitive and simple, and can be used to detect illegal added acetaminophen in Chinese patent medicine.

KEY WORDS HPLC; Yinqiao jiedu preparation; Acetaminophen; Illegal added

与文献报道^[2]相一致。目前, 市场上销售的普通输液器对直径为 10~25 μm 的微粒清除率达 99.9%, 但对 10 μm 以下的微粒无明显拦截效果。由此可见, 随着我国 GMP 的实施, 国产的一次性输液器质量已大幅提高, 更好地保证了临床用药的安全; 但是《中国药典》对 ≥10 μm 微粒数的标准过低, 不利于微粒的控制, 值得进一步探讨。为保证输入体内药液的质量, 减少微粒给人体造成的危害, 在提高输液质量的同时, 还应提高静脉注射用带终端滤过功能输液器的质量。

根据表 3 结果, 输液的微粒在配制后 1 h 没有增加, 甚至有减少的趋势; 随着时间的延长, 放置 6 h 后其微粒数逐渐增加, 这也与文献报道^[2]相一致。这可能是由于放置一段时间后, 部分细小的微粒发生了复溶, 但长时间的放置, 各种理化反应又使得微粒增多。因此, 建议中药注射剂在配制完成后 1 h 内输完。本研究仅对同一厂家同一批号的中药注射液微粒进行了测

定, 且所选择的注射液品种数有限, 有待进一步考察。

人体最小的毛细血管直径只有 4~7 μm, 而常用的一次性输液器对 10 μm 以下的微粒无明显拦截效果, 因此常用中药输液过程中超过 4 μm 的微粒会蓄积在人体的毛细血管中, 可见增加 ≥2 μm 和 ≥5 μm 微粒的检测不容忽视。建议再版的《中国药典》增加中药注射液 ≥2 μm、≥5 μm 微粒的检测标准, 以及对供静脉注射的小容量注射液规定进行微粒限度检查, 提高药物质量标准, 树立药物警戒概念, 加强新药上市前临床研究, 增强上市后的不良反应监测和风险管理等。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 一部[S]. 2010 年版. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 附录 58-附录 59.
- [2] 何曙云, 刘宇英, 温冬梅. 静脉注射液过滤前后不溶性微粒的观察[J]. 中华护理杂志, 2004, 39(6): 451.
- [3] 潘玲. 6 种中药注射液在输液中的不溶性微粒测定[J]. 中国药房, 2008, 19(6): 451.

(收稿日期: 2013-04-12 修回日期: 2013-05-21)

* 教授。研究方向: 药物作用及其机制。电话: 0859-2280835

通信作者: 主任药师。研究方向: 医院药学。E-mail: yangmei510926714@qq.com

银翘解毒制剂具有疏风解表、清热解毒等功效,常用于治疗风热感冒,症见发热头痛、咳嗽口干、咽喉疼痛^[1]。根据本品的功效与用途,有可能发生在样品中擅自添加解热镇痛类化学药对乙酰氨基酚以增强疗效的现象^[2]。因此,笔者对银翘解毒制剂中添加该类化学药品的检测方法进行了研究,并对73个厂家生产的205批样品进行了检测。

1 材料

1.1 仪器

1100型高效液相色谱(HPLC)仪[配有四元梯度泵、在线脱气装置、自动进样器、柱温箱、二极管阵列检测器(DAD)]、Chemstation色谱处理系统(美国Agilent公司);AE240型电子天平[梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司];CQ-250H型超声处理器(上海吉理超声仪器有限公司,功率:250 W,频率:35 kHz)。

1.2 药品与试剂

抽取样品的地域分布全国31个省、市、自治区,涉及73家生产企业,共205批;对乙酰氨基酚对照品(中国食品药品检定研究院,批号:100018-200408);甲醇为色谱纯,水为重蒸馏水,其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:Waters C₁₈(250 mm×4.6 mm,5 μm);流动相:甲醇-0.5%冰醋酸溶液(2:98,V/V);检测波长:249 nm;柱温:30 ℃;流速:1 ml/min。

2.2 对照品溶液的制备

精密称取对乙酰氨基酚对照品,加甲醇制成每1 ml含对乙酰氨基酚40.56 μg的溶液,摇匀,即得。

2.3 供试品溶液的制备

分别取银翘解毒片、丸、颗粒依次为2.0、9.0、15.0 g,精密加入甲醇25 ml,超声30 min,放冷,摇匀,用0.45 μm微孔滤膜滤过,即得。

2.4 阳性参比对照溶液的制备

取未检出对乙酰氨基酚的银翘解毒片、丸、颗粒细粉依次为1.0、4.5、7.5 g,分别加入质量浓度为1.014 mg/ml的对乙酰氨基酚对照品溶液1 ml,精密加入甲醇25 ml,超声30 min,放冷,摇匀,用0.45 μm微孔滤膜滤过,即得。

2.5 测定法

分别精密吸取对照品溶液、供试品溶液、阳性参比对照溶液各5 μl,注入液相色谱仪,按上述色谱条件测定。

2.6 线性关系考察

取对乙酰氨基酚对照品溶液(1.014 mg/ml)1、3、5、1、1.5、2 ml,分别置于100、100、100、10、10、10 ml量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,按上述色谱条件进样5 μl测定,记录峰面积。以峰面积积分值(y)对进样量(x)进行线性回归,得回归方程为 $y=18\ 706x-5.169$ ($r=0.999\ 9$, $n=6$)。结果表明,对乙酰氨基酚的进样量在0.050 7~1.014 0 μg范围内与其峰面积积分值呈良好的线性关系。

2.7 检出限和定量限

取质量浓度为1.014 mg/ml的对乙酰氨基酚对照品溶液通过一系列倍比稀释,以信噪比为3测出检出限为0.4 ng,信噪比为10测出定量限为1.4 ng。

2.8 精密度试验

精密吸取质量浓度为0.041 mg/ml的对乙酰氨基酚对照品溶液适量,按上述色谱条件进样测定,重复6次,记录峰面积。结果,RSD=0.3%($n=6$),表明仪器精密度良好。

2.9 重复性试验

取未检出对乙酰氨基酚的银翘解毒制剂,按“2.4”项下方法平行制备6份阳性参比对照溶液,分别按上述色谱条件进样测定,记录峰面积。结果,银翘解毒片、丸、颗粒阳性参比对照溶液的RSD分别为0.87%、0.46%、0.35%(n 均为6),表明本方法重复性良好。

2.10 稳定性试验

分别取各银翘解毒制剂的阳性参比对照溶液适量,于0、2、4、6、8、12 h按上述色谱条件分别进样测定,记录峰面积。结果,银翘解毒片、丸、颗粒阳性参比对照溶液的RSD分别为1.56%、0.46%、0.45%(n 均为6),表明阳性参比对照溶液在12 h内稳定。

2.11 加样回收率试验

取未检出对乙酰氨基酚的银翘解毒片、丸、颗粒细粉依次为1.0、4.5、7.5 g,分别加入质量浓度为1.014 mg/ml的对乙酰氨基酚对照品溶液1 ml,精密加入甲醇25 ml,按“2.3”项下方法制备供试品溶液,各6份,与对照品随行进样分析,按外标一点法计算样品含量,并计算各制剂中对乙酰氨基酚的加样回收率,结果分别见表1~表3。

表1 银翘解毒片的加样回收率试验结果($n=6$)

Tab 1 Results of recovery test of Yinqiao jiedu tablets ($n=6$)

取样量,g	样品含量,mg	加入量,mg	测得量,mg	回收率,%	\bar{x} ,%	RSD,%
1.002 5	0	1.014 0	1.007 8	99.39		
1.030 2	0	1.014 0	1.013 0	99.90		
1.025 0	0	1.014 0	1.014 5	100.05	99.9	0.7
1.001 3	0	1.014 0	1.003 6	98.98		
1.003 9	0	1.014 0	1.014 8	100.08		
1.002 5	0	1.014 0	1.021 9	100.78		

表2 银翘解毒丸的加样回收率试验结果($n=6$)

Tab 2 Results of recovery test of Yinqiao jiedu pills ($n=6$)

取样量,g	样品含量,mg	加入量,mg	测得量,mg	回收率,%	\bar{x} ,%	RSD,%
4.502 5	0	1.014 0	0.984 8	97.12		
4.530 2	0	1.014 0	0.980 7	96.72		
4.525 0	0	1.014 0	0.982 7	96.91	96.9	0.6
4.501 3	0	1.014 0	0.972 7	95.93		
4.503 9	0	1.014 0	0.989 5	97.58		
4.502 5	0	1.014 0	0.983 9	97.03		

表3 银翘解毒颗粒的加样回收率试验结果($n=6$)

Tab 3 Results of recovery test of Yinqiao jiedu particles ($n=6$)

取样量,g	样品含量,mg	加入量,mg	测得量,mg	回收率,%	\bar{x} ,%	RSD,%
7.502 5	0	1.014 0	0.983 8	97.03		
7.500 2	0	1.014 0	0.987 7	97.41		
7.500 0	0	1.014 0	0.993 1	97.94	97.6	0.4
7.501 3	0	1.014 0	0.992 1	97.84		
7.500 9	0	1.014 0	0.989 7	97.60		
7.500 5	0	1.014 0	0.992 5	97.88		

2.12 结果判断

供试品色谱中,不得出现与对照品峰保留时间相同的色

谱峰。若出现保留时间相同的色谱峰,则采用DAD比较相应色谱峰在200~400 nm波长范围内的紫外-可见吸收光谱,吸收光谱应不相同。阳性参比对照出现与对照品峰保留时间相同的色谱峰,即检出对乙酰氨基酚。

2.13 结果

205批样品均未检出对乙酰氨基酚。色谱见图1。

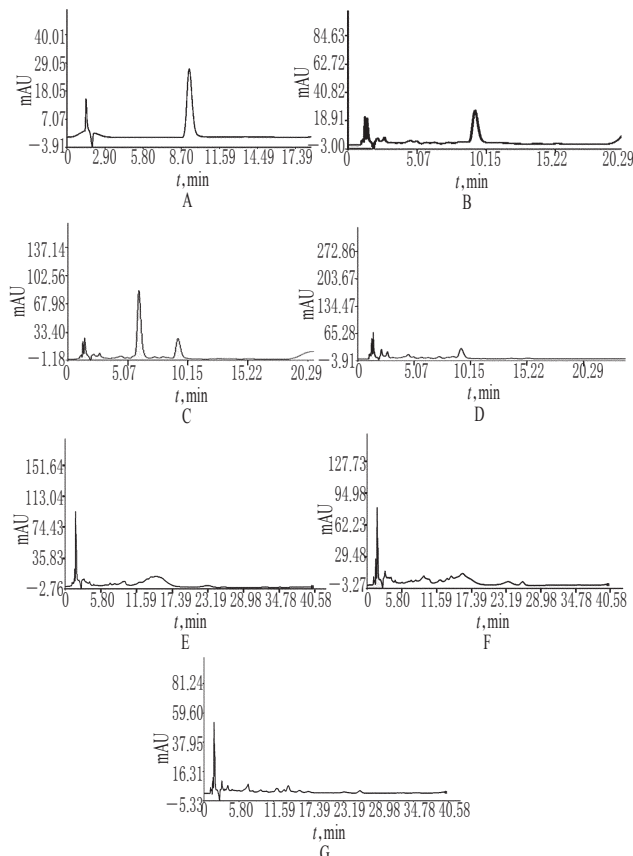


图1 银翘解毒制剂的HPLC图

A. 对乙酰氨基酚对照品; B. 片剂供试品; C. 丸剂供试品; D. 颗粒剂供试品; E. 片剂阳性参比对照; F. 丸剂阳性参比对照; G. 颗粒剂阳性参比对照

Fig 1 HPLC chromatograms of Yinqiao jiedu preparation

A. acetaminophen control; B. test sample of the tablets; C. test sample of the pills; D. test sample of the particles; E. positive control of the tablets; F. positive control of the pills; G. positive control of the particles

3 讨论

3.1 检测波长的选择

笔者曾参考2010年版《中国药典》(一部)维C银翘片对乙

酰氨基酚项下的含量测定方法^[1]及相关文献^[2],同时借助DAD对检测波长进行选择,发现对乙酰氨基酚在波长为249 nm处吸收最大,因此将检测波长定为249 nm。

3.2 流动相的选择

笔者参考2010年版《中国药典》(二部)^[3]及相关文献^[4-5],曾采用甲醇-水(20:80, V/V)、0.05 mol/L 醋酸铵溶液-甲醇(85:15, V/V)、甲醇-0.5%冰醋酸溶液(10:90, V/V)、甲醇-0.5%冰醋酸溶液(5:95, V/V)作为流动相进行考察,发现对乙酰氨基酚出峰时间都较快,分别为2、2、4、5 min,阳性参比对照溶液中对乙酰氨基酚峰与其他杂质峰分不开;后采用甲醇-0.5%冰醋酸溶液(2:98, V/V)为流动相,色谱峰峰形较好,主峰与其他杂质峰分离也好,故选其作为流动相。

3.3 存在的问题

笔者曾试用同一个系统同时检测银翘解毒制剂样品中是否添加阿司匹林、马来酸氯苯那敏,结果马来酸氯苯那敏不出峰,阿司匹林出峰时间太晚。后经过反复试验,发现必须在流动相中加入缓冲盐才能检出马来酸氯苯那敏,在一个系统中同时检出对乙酰氨基酚、阿司匹林、马来酸氯苯那敏三组分的方法还有待进一步摸索。

可能由于制剂工艺及赋形剂不一样,颗粒剂阳性参比对照溶液中对乙酰氨基酚峰形不如片剂与丸剂好。

在试验过程中发现,不管对乙酰氨基酚的质量浓度是高还是低,进样量10 μl时峰形均不好,出现超载;后改进样量为5 μl,峰形较好。

综上,本方法专属性强、灵敏度高、操作方便,可用于检测中成药中是否非法添加对乙酰氨基酚。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[S]. 2010年版. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 1 086, 1 089, 1 091, 1 139.
- [2] 宁素云, 郭兴杰, 张虹, 等. HPLC法同时检测清热解毒类中成药中非法添加9种化学药品[J]. 中国药事, 2009, 23(9): 907.
- [3] 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: 236.
- [4] 伍丽萍, 罗亦芬. HPLC法测定腰息痛胶囊中对乙酰氨基酚含量[J]. 广东药学, 2002, 12(5): 29.
- [5] 吴小红, 李焕德, 吴高芬, 等. HPLC-DAD法同时测定部分中成药及保健品中添加的9种解热镇痛药物[J]. 药物分析杂志, 2010, 30(10): 1 865.

(收稿日期:2013-01-08 修回日期:2013-05-15)

国家卫生和计划生育委员会副主任王国强赴中国疾控中心妇幼保健中心考察调研

本刊讯 2013年6月14日,国家卫生和计划生育委员会副主任王国强赴中国疾病预防控制中心妇幼保健中心(以下简称妇幼中心)考察调研。王国强参观了妇幼中心各部室(处),看望了全体工作人员,听取了妇幼中心工作汇报,与疾控中心中层以上干部进行了座谈。

王国强对妇幼中心成立以来队伍持续壮大、业务不断拓展的发展历程和取得的成绩给予了充分肯定,对妇幼中心领导班子的示范作用、良好的团队精神和风貌给予了赞扬和鼓励。

王国强对妇幼中心的发展提出了期望和要求。一是充分认识此次机构改革和职能转变的重要意义,深入分析妇幼保健面临的新形势、新任务,切实增强使命感和责任感;二是善于发现机遇、抓住机遇,结合中国疾控中心总体发展规划和妇幼健康事业发展要求,加强与计生服务资源的优势互补;三是认真审视妇幼保健工作职能定位,推进妇幼保健机构标准化建设,发挥中医药在妇幼保健中的优势和作用,保持公益性;四是加强顶层设计,科学谋划发展,加强人才队伍建设和科研工作。