

# 福尔可定原料药中有关物质测定方法的建立

赵学刚\*,冯雅慧,康海霞,滑千里,王乃浩(河北奥星集团药业有限公司,石家庄 050700)

中图分类号 R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)05-0443-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.05.21

**摘要** 目的:建立测定福尔可定原料药中有关物质的检查方法。方法:采用高效液相色谱法测定已知杂质(吗啡、可待因)、未知杂质和总杂质的量;采用气相色谱法测定已知杂质*N*-( $\beta$ -氯乙基)吗啡盐酸盐的量。结果:吗啡、可待因、*N*-( $\beta$ -氯乙基)吗啡盐酸盐检测质量浓度线性范围分别为0.404 6~2.023 2( $r=0.999 4$ )、0.812 2~4.060 8( $r=0.999 1$ )  $\mu\text{g/ml}$ 与0.010 1~0.100 9  $\text{mg/ml}$ ( $r=0.999 7$ ),回收率分别为99.6%、103.67%、101.3%,RSD分别为4.57%、2.45%、2.36%,定量限分别为0.2、0.4、5.0  $\mu\text{g/ml}$ 。结论:该方法选择性强、灵敏度高、结果准确,可用于福尔可定原料药的有关物质检查。

**关键词** 福尔可定原料药;有关物质;高效液相色谱法;气相色谱法

## Establishment of the Method for the Determination of Related Substance in Pholcodine Crude Materials

ZHAO Xue-gang, FENG Ya-hui, KANG Hai-xia, HUA Qian-li, WANG Nai-hao (Hebei Aoxing Pharmaceutical Co., Ltd., Shijiazhuang 050700, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish a method for the determination of related substances in pholcodine crude materials. METHODS: The contents of morphine, codeine, other unknown impurities and total impurities were determined by HPLC; the content of *N*-( $\beta$ -chloroethyl) morpholine hydrochloride was determined by GC. RESULTS: The linear range was 0.404 6-2.023 2  $\mu\text{g/ml}$  for morphine ( $r=0.999 4$ ), 0.812 2-4.060 8  $\mu\text{g/ml}$  for codeine ( $r=0.999 1$ ) and 0.010 1-0.100 9  $\text{mg/ml}$  for *N*-( $\beta$ -chloroethyl) morpholine hydrochloride ( $r=0.999 7$ ). Average recoveries were 99.6% (RSD=4.57%), 103.67% (RSD=2.45%) and 101.3% (RSD=2.36%), respectively. The limits of quantitation were 0.2, 0.4 and 5.0  $\mu\text{g/ml}$ . CONCLUSIONS: The method is selective, sensitive and accurate, and it could be used for the determination of related substances in pholcodine crude materials.

**KEY WORDS** Pholcodine crude materials; Related substances; HPLC; GC

福尔可定与磷酸可待因作用相似,具有中枢性镇咳作用,也有镇静和镇痛作用,但成瘾性较磷酸可待因弱,主要用于剧烈咳嗽和中度疼痛。新生儿和儿童易耐受此药,不致引起便秘和消化紊乱<sup>[1]</sup>。临床上已有的制剂有福尔可定片、复方福尔可定糖浆、复方福尔可定口服溶液。福尔可定已被2010年版《中国药典》(二部)、《欧洲药典》7.0版收载。《中国药典》<sup>[2]</sup>中本品采用薄层色谱(TLC)方法进行有关物质检查,采用化学比色法进行吗啡的检查,专属性较差。《欧洲药典》7.0版<sup>[3]</sup>采用高效液相色谱(HPLC)法的主成分自身对照法进行有关物质检查,但该方法不能检出工艺杂质*N*-( $\beta$ -氯乙基)吗啡盐酸盐(CMH,因其无紫外吸收);同时吗啡和可待因的校正因子均不在0.95~1.05范围内,因此,用主成分自身对照法测定结果不够准确。为了严格控制产品质量,笔者在此基础上,对福尔可定的有关物质检查进行了系统研究,确定采用HPLC外标法测定已知杂质吗啡、可待因,主成分自身对照法测定未知杂质和总杂质;采用气相色谱(GC)外标法测定工艺杂质CMH;同时参考2010年版《中国药典》(二部)、《欧洲药典》7.0版、ICH(人用药品注册技术规范的国际协调会)指导原则<sup>[4]</sup>制定了本品有关物质的检查限度。

## 1 材料

e2695型HPLC仪,配置2998二极管阵列检测器(DAD)(美国Waters公司);6890N型GC仪(美国Agilent科技仪器有

\*助理工程师,硕士。研究方向:药品质量。电话:0311-85196488。E-mail:zhaoxuegang999@163.com

限公司);CPA225D电子天平(德国Sartorius公司)。

样品:福尔可定原料药(河北奥星集团药业有限公司,批号:050901、050902、050903、061101、061102、061103,纯度:99.86%、99.85%、99.86%、99.87%、99.88%、99.87%);福尔可定对照品(批号:171205-200504,纯度:99.8%)、吗啡对照品(批号:171201-200521,纯度:99.2%)、磷酸可待因对照品(批号:171203-200504,纯度:99.5%)均来源于中国食品药品检定研究院;CMH对照品(美国Sigma-Aldrich公司,批号:15803DH,纯度:99.9%);甲醇、乙腈均为色谱纯,磷酸二氢钾、氢氧化钠均为分析纯,水为去离子水。

## 2 方法与结果

### 2.1 HPLC检查有关物质

2.1.1 色谱条件。色谱柱:Phenomenex 苯基己基柱(75 mm $\times$ 4.6 mm,3  $\mu\text{m}$ );流动相:乙腈-四氢呋喃-0.02 mol/L的磷酸盐缓冲溶液[量取80.0 ml氢氧化钠溶液(0.02 mol/L)和100.0 ml的磷酸二氢钾溶液(0.02 mol/L),置于1 000 ml量瓶中,用水稀释至刻度,摇匀](75:50:875, V/V/V),用氢氧化钠溶液(0.2 mol/L)调整pH值至7.9 $\pm$ 0.05,流速:1.0 ml/min;检测波长:238 nm;进样量:20  $\mu\text{l}$ ;柱温:35  $^{\circ}\text{C}$ 。

2.1.2 供试品溶液的制备。精密称取样品约50 mg,置于50 ml量瓶中,用混合溶剂(量取80 ml乙腈,置于1 000 ml量瓶中,用0.02 mol/L的磷酸盐缓冲溶液稀释至刻度,摇匀)溶解并稀释至刻度,摇匀,滤过,即得。

2.1.3 对照溶液的制备。精密量取“2.1.2”项供试品溶液1 ml

置于100 ml量瓶中,加混合溶剂稀释至刻度,摇匀,滤过,即得。

2.1.4 对照品溶液的制备。精密称取吗啡对照品、磷酸可待因对照品适量,加混合溶剂溶解并定量稀释制成每1 ml中约含吗啡10 μg、磷酸可待因26.5 μg(约相当于可待因20 μg)的溶液,作为对照品溶液。

2.1.5 专属性试验。精密称取样品约50 mg,共5份,分别进行强酸(盐酸1 mol/L)、强碱(氢氧化钠1 mol/L)、氧化(30%双氧水)、光照、高温(105 ℃,2 h)破坏处理后,用混合溶剂溶解并稀释制成1 mg/ml的溶液,分别精密量取续滤液20 μl注入色谱仪,同时进行DAD扫描,扫描范围为200~400 nm波长。结果表明,福尔可定与已知杂质分离较好,在各破坏条件下,主成分与降解产物能够得到良好分离,故本品中有关物质的检测方法专属性良好。

2.1.6 供试品溶液的稳定性。按“2.1.2”项下方法配制供试品溶液,分别于0、2、4、8、12 h量取20 μl,注入色谱仪,记录福尔可定峰面积。结果RSD=0.12%,表明供试品溶液在12 h内稳定。

2.1.7 回收率试验。分别精密称取样品9份,置于50 ml量瓶中,分别加入含吗啡10.12 μg/ml、磷酸可待因20.30 μg/ml的对照品溶液4、4、4、5、5、5、6、6、6 ml,溶液稀释至刻度,滤过,进样,测定其含量,计算回收率。回收率试验结果见表1。

表1 吗啡、可待因回收率试验结果(n=9)

Tab 1 Results of recovery tests of morphine and codeine (n=9)

名称	样品中含量, μg	投入量, μg	实测量, μg	回收率, %	平均回收率, %	RSD, %
吗啡	7.52	40.46	46.56	96.5	99.6±4.55	4.57
	7.46	40.46	47.12	98.0		
	7.37	40.46	45.28	93.7		
	7.64	50.58	55.75	95.1		
	7.68	50.58	60.38	104.2		
	7.62	50.58	57.81	99.2		
	7.60	60.70	73.13	108.0		
	7.66	60.70	68.18	99.7		
	7.63	60.70	69.66	102.2		
	可待因	0	81.22	81.30		
0		81.22	86.94	107.0		
0		81.22	84.88	104.5		
0		101.52	102.48	100.9		
0		101.52	107.83	106.2		
0		101.52	102.56	101.0		
0		121.82	129.15	106.0		
0		121.82	125.77	103.2		
0		121.82	126.60	103.9		

2.1.8 线性范围的确定。分别精密量取含吗啡10 μg/ml、磷酸可待因20 μg/ml的对照品溶液2、4、5、6、7、10 ml,置于50 ml量瓶中,用混合溶剂溶解并稀释至刻度,摇匀,滤过。进样测定,分别记录吗啡、可待因的色谱峰面积。将峰面积(y)与各自的质量浓度(x)作线性回归,计算吗啡、可待因的线性方程。结果分别为吗啡: $y=17\ 598x-183.12$ ( $r=0.999\ 4$ ),可待因: $y=18\ 585x-1\ 020.3$ ( $r=0.999\ 1$ )。表明吗啡和磷酸可待因检测质量浓度线性范围分别为0.404 6~2.023 2、0.812 2~4.060 8 μg/ml。

2.1.9 定量限、检测限。取“2.1.4”项下对照品溶液,逐步进行稀释,然后进样,扫峰高为基线噪声的10倍计算定量限。结

果,吗啡、可待因的定量限分别为0.2、0.4 μg/ml。

配制福尔可定对照品溶液,逐步进行稀释,然后进样,扫峰高为基线噪声的3倍计算,福尔可定的检测限为2.03 ng。

2.1.10 方法精密度试验。精密量取含吗啡1 μg/ml、磷酸可待因2 μg/ml的对照品溶液20 μl,连续测定6次。结果吗啡的RSD=1.23%,可待因的RSD=1.46%,表明本法精密度较好。

2.1.11 有关物质的测定结果。取6批样品测定,结果见表2,其中061101批样品色谱图见图1。

表2 6批样品中有关物质测定结果

Tab 2 Results of content determination of related substances in 6 batches of samples

供试品批号	有关物质, %			
	吗啡	可待因	未知杂质	总杂质
050901	0.04	未检出	0.05	0.14
050902	0.03	未检出	0.07	0.15
050903	0.03	未检出	0.06	0.14
061101	0.02	未检出	0.06	0.13
061102	0.02	未检出	0.05	0.12
061103	0.02	未检出	0.06	0.13

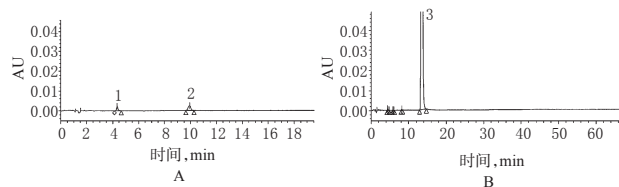


图1 高效液相色谱图

A. 对照品; B. 样品; 1. 吗啡; 2. 可待因; 3. 福尔可定

Fig 1 HPLC chromatograms

A. substance control; B. sample; 1. morphine; 2. codeine; 3. pholcodine

## 2.2 GC法检查CMH

2.2.1 色谱条件。色谱柱:6%氰丙基苯基-94%二甲基聚硅氧烷为固定液的毛细管柱(30 m×530 μm, 3 μm),型号:J&W DB-624;柱温:160 ℃;运行时间:10 min;检测器:氢火焰离子化检测器(FID);检测器温度:280 ℃;检测器气源组成比例:氮气-氢气-空气(30:30:400);进样口温度:250 ℃;分流比:10:1;载气:氮气;流量:4.0 ml/min;进样量:1.0 μl。

2.2.2 供试品溶液的制备。精密称取样品适量,用甲醇溶解并定量稀释制成每1 ml中约含50 mg的溶液。

2.2.3 CMH对照品贮备液的制备。精密称取CMH约50 mg,置于100 ml量瓶中,用甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,即得。

2.2.4 CMH对照品溶液的制备。精密量取对照品贮备液5 ml,置于50 ml量瓶中,用甲醇稀释至刻度,摇匀,即得。

2.2.5 专属性试验。取样品约0.50 g,精密称定,共5份,分别进行氧化(30%双氧水)、光照、高温(105 ℃,2 h)破坏处理,然后转移至10 ml量瓶中,用甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀。精密量取1.0 μl,直接进样注入气相色谱仪。结果表明本品在氧化、光照、高温破坏条件下,CMH与降解产物能够得到良好分离。

甲醇、乙醇、苯、丁醇和甲苯是福尔可定合成工艺中用到的有机溶剂,因此还需要在本次试验色谱条件下考察5种残留溶剂对CMH测定的专属性:分别精密量取甲醇、乙醇、苯、丁醇和甲苯、CMH对照品适量,分别按“2.2.1”项下色谱条件直接

进样,记录色谱图,详见图2。

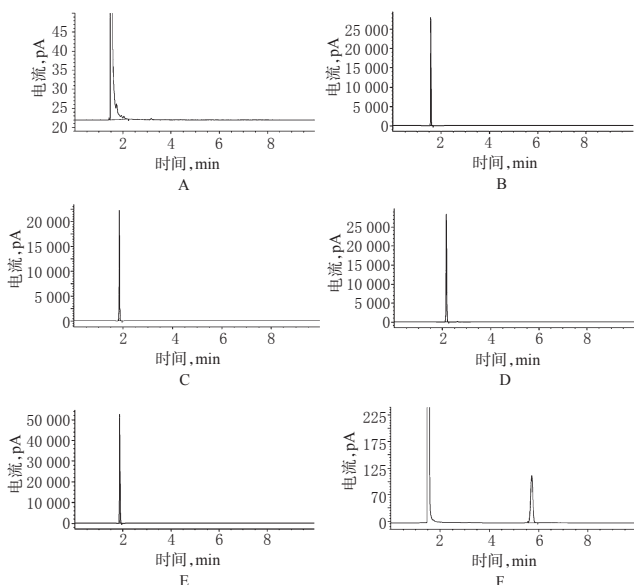


图2 残留溶剂检测气相色谱图

A. 甲醇; B. 乙醇; C. 丁醇; D. 甲苯; E. 苯; F. CMH

Fig 2 GC chromatograms of residual solvents

A. methanol; B. ethanol; C. butanol; D. toluene; E. benzene; F. *N*-( $\beta$ -chloroethyl)morpholine hydrochloride

以上试验表明,福尔可定、吗啡、可待因以及5种残留溶剂均不会干扰CMH的测定。在氧化、高温、光照破坏条件下,CMH与降解产物能够得到良好分离,故此有关物质检测方法专属性良好。

2.2.6 供试品溶液的稳定性。按“2.2.2”项下方法配制供试品溶液,分别于0、2、4、6、8 h精密量取1.0  $\mu$ l,直接进样,记录CMH的峰面积。结果,RSD=2.57%,表明供试品溶液在8 h内稳定。

2.2.7 线性范围的确定。分别精密量取CMH对照品贮备液1、2、4、5、7、10 ml置于50 ml量瓶中,用甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀。分别按照“2.2.1”项下色谱条件进样测定,记录CMH的峰面积。将峰面积(y)与各自的质量浓度(x)作线性回归,并计算标准曲线方程,结果为 $y=645.37x+0.1374$ ( $r=0.9997$ ),表明CMH检测质量浓度线性范围为0.010 1~0.100 9 mg/ml。

2.2.8 精密度试验。精密量取CMH对照品溶液1.0  $\mu$ l,直接进样,连续测定6次。结果RSD=1.69%,表明本方法精密密度较好。

2.2.9 重复性试验。按“2.2.2”项下方法配制6份供试品溶液,分别精密量取1.0  $\mu$ l,直接进样。结果RSD=2.08%,表明本方法重复性较好。

2.2.10 方法回收率试验。称取已知杂质含量的样品约0.5 g,精密称定,置于10 ml量瓶中,共9份,分别加甲醇使溶解,再分别精密加入CMH贮备液0.8、1.0、1.2 ml,各3份,再用甲醇稀释至刻度,摇匀。分别精密量取1.0  $\mu$ l,直接进样,记录色谱图。按外标法计算回收率,结果见表3。

2.2.11 CMH定量限的测定。制备CMH对照品溶液,逐步进行稀释,然后进样,扫峰高为基线噪声的10倍计算,结果其定量限为5.0  $\mu$ g/ml。

表3 CMH回收率试验结果( $n=9$ )

Tab 3 Results of recovery tests of CMH( $n=9$ )

样品中含量,mg	加入量,mg	测得量,mg	回收率,%	平均回收率,%	RSD,%
0.02	0.40	0.62	102.0	101.3 $\pm$ 2.39	2.36
0.02	0.40	0.60	97.8		
0.02	0.40	0.61	101.2		
0.02	0.50	0.73	103.8		
0.02	0.50	0.71	99.7		
0.02	0.50	0.71	100.3		
0.02	0.60	0.83	103.5		
0.02	0.60	0.84	104.9		
0.02	0.60	0.80	98.8		

2.2.12 有关物质的测定结果。取6批样品,分别按照“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,按“2.2.1”项下色谱条件测定,结果CMH含量分别为0.039%、0.040%、0.036%、0.028%、0.026%、0.029%,其中061101批样品色谱见图3。

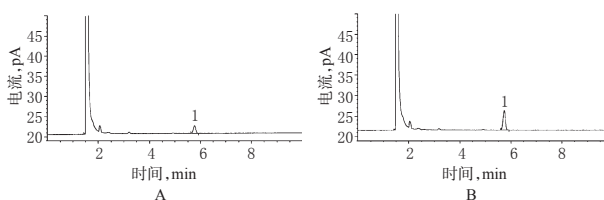


图3 有关物质CMH测定气相色谱图

A. 供试品; B. 对照品; 1. CMH

Fig 3 GC chromatograms of related substance CMH

A. test sample; B. control; 1. CMH

### 3 讨论

(1)因没有市售的可待因对照品,笔者用磷酸可待因对照品代替可待因对照品,在计算可待因含量时应乘以换算系数0.753 4(299.36/397.36)。

(2)根据供试品实测结果及欧洲药典7.0版福尔可定原料药质量标准(吗啡 $\leq$ 0.2%,可待因 $\leq$ 0.2%,未知杂质 $\leq$ 0.1%,总杂质 $\leq$ 0.7%),同时根据2010年版《中国药典》福尔可定检查项下吗啡的杂质限度(吗啡 $\leq$ 0.1%)以及ICH指导原则相关内容,本着严格控制药品质量的目的,暂定本品的有关物质限度为吗啡不得过0.1%,可待因不得过0.2%,未知杂质不得过0.1%,总杂质不得过0.7%。

(3)根据供试品实测结果及ICH指导原则相关内容,福尔可定的最大日用量小于2 g,检定限度为0.10%,为了严格控制药品质量,暂定本品中的CMH限度为不得过0.10%。

### 参考文献

- [1] 陈新谦,金有豫,汤光.新编药理学[M].16版.北京:人民卫生出版社,2007:427.
- [2] 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,2010:1 092.
- [3] 欧洲药品质量委员会.欧洲药典7.0[S].法国:斯特拉斯堡,2010:2 724-2 725.
- [4] 周海钧.药品注册的国际技术要求:质量部分[M].北京:人民卫生出版社,2007:99-110.

(收稿日期:2012-02-20 修回日期:2012-04-05)