

Research on Related Substances and Anti-Inflammatory Effect of Aminophenol and Mamei Dry Suspension

Rongquan Feng¹ Liangbi Shao¹ Zengren Hu^{1*} Jingqian Feng² Jiangyan Li³

1. Zhejiang Kant Pharmaceutical Group Co., Ltd., Quzhou, Zhejiang, 324000, China

2. Quzhou College of Technology, Quzhou, Zhejiang, 324000, China

3. Quzhou Municipal Hospital of TCM, Quzhou, Zhejiang, 324000, China

Abstract

Objective: To establish a method for the determination of related substances in the suspension of Aminophenol and Mamei, and compare the change of anti-inflammatory effect. **Methods:** In this paper, the aminophenol of paracetamol under different conditions was studied based on HPLC; the mobile phase was ammonium acetate solution (pH adjusted to 5.0) - methanol (85:15), and the detection wavelength was 257nm. **Results:** Para-aminophenol can be effectively separated from the main components in the sample, but after being destroyed, the anti-inflammatory effect of the drug decreases. **Conclusion:** This method is suitable for the examination of related substances in the suspension and can predict the change of anti-inflammatory effect.

Keywords

Aminophenol and Mamei; high performance liquid chromatography; related substances; anti-inflammatory effect

Fund Project

Supported by science and technology program of Quzhou, Zhejiang (Project No.: 20171026).

氨酚麻美干混悬剂的有关物质及抗炎效果研究

冯荣权¹ 邵良碧¹ 胡增仁^{1*} 冯敬骞² 李姜言³

1. 浙江康德药业集团有限公司, 中国·浙江 衢州 324000

2. 衢州职业技术学院医学院, 中国·浙江 衢州 324000

3. 衢州市中医医院, 中国·浙江 衢州 324000

摘要

目的: 建立氨酚麻美干混悬剂中有关物质的检测方法, 并比较抗炎效果变化。**方法:** 主要考察在不同处理条件下, 对乙酰氨基酚产生相关物质的氨基酚, 采用高效液相色谱(HPLC)法, 以醋酸铵溶液(pH调至5.0)一甲醇(85:15)为流动相, 检测波长为257 nm。**结果:** 对氨基酚与样品中各主要成分能有效分离, 但经破坏处理后, 该药的抗炎效果下降。**结论:** 该方法适用于氨酚麻美干混悬剂的有关物质检查, 并能预测抗炎效果的变化。

关键词

氨酚麻美; 高效液相色谱法; 有关物质; 抗炎效果

基金项目

浙江省衢州市科技计划项目资助(项目编号: 20171026)。

1 引言

感冒是最常见的多发性疾病之一, 儿童由于免疫系统发育不成熟、黏膜娇嫩以及对外界环境的适应性和抵抗能力均较差而更容易罹患感冒。据卫生机构统计, 51%的儿童每年患感冒次数为3~6次, 其中3岁以内的幼儿发病人次最多, 而且多表现为重症, 症状如高烧、食欲不振、睡眠不安、咳嗽频繁等。感冒严重影响着儿童的成长与健康, 而且经常患感冒的儿

童, 其机体抵抗力较弱, 会继发多种疾病, 如喉炎、气管炎、肺炎、心肌炎、关节炎、肾炎等; 同时, 小儿患感冒也容易合并一些急性传染病, 这些并发症对儿童的危害性也很高, 因此, 对于儿童感冒须积极预防、及时治疗、有针对性地用药^[1-2]。

目前, 国际用于治疗儿童感冒的药物大多包含镇静抗过敏成份氯苯那敏, 如美国生产的“Tylenol Cold Plus Cough”、中国生产的优卡丹、护彤、小快克等均含有马来酸

氯苯那敏, 而该抗过敏成份具有一定的中枢神经抑制作用, 极易影响儿童神经系统的正常发育, 损伤小儿的大脑, 因此在临床使用上受到一定的限制。

针对儿童感冒药的上述缺点, 中国也有个别厂家尝试采用对乙酰氨基酚、盐酸伪麻黄碱、氢溴酸右美沙芬为主药开发制剂, 但该产品为干混悬剂, 液体制剂存在着药物稳定性差、贮存运输不便、服药剂量难以精准控制、多次使用又容易污染等问题。

我单位在研发过程中选用对乙酰氨基酚、盐酸伪麻黄碱、氢溴酸右美沙芬三种药物组成复方制剂, 并制备成固体制剂, 临用前配制为液体, 将是一种非常好的儿童感冒药, 主要用于治疗儿童感冒, 副作用少, 顺应性好。运用自主创立的山榆酸甘油酯热熔包衣掩味技术掩盖药物苦味, 使产品口味佳、适合儿童服用; 通过产品配方与工艺的创新, 使药物溶出迅速, 起效快, 能快速解除小儿感冒症状; 采用干法制粒生产技术, 提高了药物稳定性; 产品采用单剂量包装, 服药剂量准确。为儿童提供了新型的感冒药, 具有极大的临床应用价值和广阔的市场前景^[2]。

但是在用药过程中偶有不良反应报道, 分析可能与该药的有关物质相关, 其中对氨基酚是对乙酰氨基酚的重要有关物质, 毒性较大, 毒性靶器官为肾脏、血液和中枢神经系统, 可引起高铁血红蛋白血症和肾损伤, 具有基因毒性, 严重的可致畸。国际药典均对氨基酚作为含对乙酰氨基酚药物中的重要杂质进行控制, 原料中限度仅为 0.005%, 制剂中限度为 0.1%^[3-4]。鉴于本品中对乙酰氨基酚的用量较大, 有必要将对氨基酚作为有关物质进行检查。

2 材料与仪器

安捷伦 1260 高效液相色谱仪: 包括 Agilent 系列柱温箱、Agilent 可变波长紫外扫描检测器、Agilent 系列泵系统 (安捷伦科技 (中国) 有限公司); PA2251 型电子分析天平 (赛多利斯 (上海) 贸易有限公司); KQ5200E 型超声波清洗机 (昆山市超声仪器有限公司); HYJD-T 实验室超纯水机 (杭州永洁达净化科技有限公司); 台式离心机 KA-1000C (上海安亭科学仪器厂) 等。

氨酚麻美干混悬剂取自本公司实验用药, 批号为 20181209; 对乙酰氨基酚对照品 (批号为 100018 - 201709, 纯度为 99.9%), 对氨基酚对照品 (批号为 100802 -

201703, 纯度为 99.9%), 购于中国食品药品检定研究院。

甲醇 (色谱纯)、乙酸铵 (分析纯): 中国医药集团上海化学试剂公司; 水为超纯水 (自制)。

3 方法与结果

3.1 色谱条件

色谱柱: Agilent Extend C18 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: A 相为 0.05 mol/L 醋酸铵溶液 (调至 PH 为 5.0), B 相为甲醇溶液, 等度洗脱; 流速 1.0 mL/min; 柱温: 35°C; 检测波长: 257 nm; 进样量 20 μL, 采用 Agilent 二极管阵列检测器 (DAD) 检测。

3.2 最低检测限试验

取对氨基酚对照品适量, 配制成不同质量浓度的对照品溶液, 照有关物质检查项下方法进样 20 μL, 记录色谱图。结果表明对氨基酚的最低检测限为 40 ng/ml。

3.3 破坏试验

取样品 6 份, 每份 5 mL, 分别置 50 mL 量瓶中, 分别进行如下处理: 加入 2.0 mol/L 盐酸溶液 5.0 mL, 放置 20 h, 作为酸破坏供试品溶液 A; 加入 2.0 mol/L 氢氧化钠溶液 5.0 mL, 放置 20 h, 作为碱破坏供试品溶液 B; 加入 30% 过氧化氢溶液 2.0 mL, 放置 24 h, 作为氧化破坏供试品溶液 C; 于 5 200 Lx 光照下放置 24 h, 作为光照破坏供试品溶液 D; 于 80°C 水浴中放置 24 h, 作为热破坏供试品溶液 E; 于暗处放置 24 h, 作为未破坏供试品溶液 F^[5]。

将以上酸、碱破坏供试品溶液分别用碱、酸中和后用流动相稀释至刻度, 作为待测溶液; 其余供试品溶液直接用流动相稀释至刻度, 作为待测溶液。依法进样, 可见各破坏试验供试品溶液色谱图中均出现对乙酰氨基酚峰, 保留时间与对乙酰氨基酚对照品色谱峰一致, 且与相邻峰之间的分离度均大于 1.5 (如图 1 所示)。

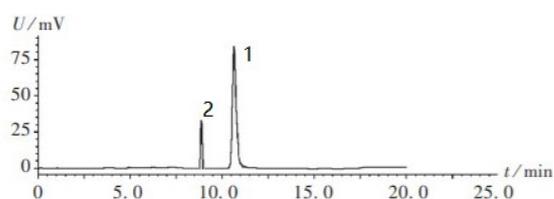


图 1 降解物与对乙酰氨基酚的 HPLC 分离图

注释: 1 对乙酰氨基酚, 2 降解物对氨基酚

结果表明, HPLC 法能使酸、碱、氧化、光照与热破坏

的降解物与对乙酰氨基酚主峰及其他杂质峰能良好分离。

3.4 自由基清除率的测定

精密称取 DPPH 粉末 0.0025 g, 置 100 mL 容量瓶中, 用无水乙醇定容至刻度, 得浓度为 $25 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的 DPPH 溶液, 备用。将 1.3.6 中按最佳萃取工艺提取所得的样品 0.0102 g, 置 100 mL 容量瓶中, 用无水乙醇定容至刻度, 分别取 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10 mL 置 10 mL 容量瓶中, 用无水乙醇定容至刻度, 制得 10.2、20.4、30.6、40.8、51.0、61.2、71.4、81.6、91.8、102.0 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的样品溶液, 在 10 mL 试管中分别加入 2 mL 的 DPPH 溶液和 2 mL 的不同浓度的各样品溶液, 密封, 避光反应 30 min, 于 517 nm 处测定各样品溶液的吸光度为 A_1 ; 同时以等量乙醇溶液作为空白对照, 并且平行测定用无水乙醇作参比时的吸光度 A_2 (即 2 mL 的 DPPH 溶液加入 2 mL 的无水乙醇); 测定样品乙醇液的吸光度 A_0 (即 2 mL 的无水乙醇和 2 mL 不同浓度的各样品的混合液)^[6-7]。根据式 2 计算清除率。

$$\text{清除率} / (\%) = \left(1 - \frac{A_1 - A_0}{A_2} \right) * 100 \quad (\text{式 2})$$

式中, A_2 表示 2 mL 的 DPPH 溶液加入 2 mL 的无水乙醇的吸光度; A_1 表示 2 mL 的 DPPH 溶液加入 2 mL 各不同浓度样品溶液的吸光度; A_0 表示 2 mL 无水乙醇中加入 2 mL 各不同浓度样品溶液的吸光度。

表 1 样品的自由基清除能力

浓度 $\mu\text{g}/\text{mL}$	清除率 / %						
	对照 VC	A	B	C	D	E	F
10.0	13.7	13.2	13.2	13.4	13.3	13.5	15.6
20.0	27.6	27.1	27.2	27.0	27.2	27.5	29.7
30.0	41.2	40.7	40.7	40.8	40.8	41.0	43.1
40.0	57.4	56.9	56.8	56.9	57.0	57.1	59.5
50.0	66.7	66.3	66.4	66.2	66.4	66.7	68.6
60.0	71.6	71.1	71.1	71.2	71.2	71.4	73.8
70.0	78.7	78.2	78.2	78.3	78.3	78.5	80.8
80.0	79.3	78.8	78.8	78.7	78.9	79.1	81.3
90.0	80.1	79.5	79.5	79.6	79.6	79.9	82.2
100.0	81.8	81.3	81.4	81.5	81.4	81.7	83.8

不同浓度的样品溶液、对照品 Vc 溶液对 DPPH 自由基

清除率的结果见表 1。

从表 1 可知, 在 10~100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 浓度范围内, 随着浓度的增大, 对 DPPH 自由基的清除能力均增强, 除了未经处理的 F 对 DPPH 自由基的清除能力高于 Vc 外, 其余各经处理组均低于 Vc, 说明处理后抗氧化活性下降。

综上所述, 本品为复方制剂, 经酸碱破坏后的分解产物较复杂。本品中有 3 个主要成分, 临床应用上较广泛, 从结构上分析较稳定, 鲜见不良反应。但相对来说, 含量最高的对乙酰氨基酚结构中的乙酰基较不稳定, 分解产物主要为对氨基酚, 因此, 本试验主要考察了对乙酰氨基酚的相关物质情况。方法学考察结果表明, 样品的 3 个成分均能与对氨基酚有效分离, 方法灵敏度亦符合有关物质检查的要求。

4 讨论

检测波长选择 用流动相溶解对氨基酚对照品, 进行紫外扫描。结果对氨基酚在 257 nm 波长处有最大吸收 12, 故以此为检测波长。

参考文献

- [1] 杨春雨. 上呼吸道感染小儿通过氨酚麻美干混悬剂进行治疗疗效分析 [J]. 临床医药文献电子杂志, 2016(25):5001-5002.
- [2] 闫向真. 氨酚麻美干混悬剂治疗 150 例小儿上呼吸道感染的临床疗效观察 [J]. 中国现代药物应用, 2016(14):140-141.
- [3] 氨酚麻美干混悬剂的研究与开发 [Z]. 浙江康德药业集团有限公司, 2010.
- [4] 胡献跃, 楼晓峰, 金灵华, 等. 高效液相色谱法检查氨酚麻美糖浆的有关物质 [J]. 中国药业, 2009(16):33-33.
- [5] 杨大龙, 严相平, 冷柏榕. 高效液相色谱法测定酚麻美敏片中对氨基酚含量 [J]. 中国药业, 2018(19):17-19.
- [6] 方健, 吴晓宁, 蒋剑平, 等. 常山胡柚皮黄酮类成分指纹图谱与其抗氧化活性的谱效关系研究 [J]. 中国现代应用药学, 2018(10):1489-1493.
- [7] 李现日, 张杰, 张英美, 等. 金花葵花黄酮提取物不同溶剂萃取物的抗氧化活性 [J]. 食品工业科技, 2019(11):120-125.