

感冒藥糖漿有效成分定量—實驗室間測試研究

吳慧眼 程亦妮 張夢玲 林雨平

工業技術研究院化學工業研究所

摘 要

本實驗室間之測試研究是利用高效液相層析法測定感冒藥糖漿中有效成份的含量。十八家國內製劑藥廠的分析實驗室參加測試,分析的數據是利用排列分數及t值測試來評估測試的結果。

由排列分數的測試了解,參與的實驗室都沒有明顯的系統性誤差。但是t值評估的結果指出有些實驗室做出來的數據不在95%的可信賴區內。依據實驗室內及實驗室間評估的結果,顯示本研究所提供的方法,適用於感冒藥糖漿中Acetaminophen、Caffeine、Guaifenesin的定量分析。

前 言

分析品保計畫或優良實驗室操作,都是為了使分析實驗室所分析的結果,能達到一定的品質,所設計及執行的計畫。完整的品保計畫包括許多的工作項目,其中很重要的一點是在於參與分析的工作人員。要了解分析結果及工作人員的品質,可以利用實驗室內及實驗室間的測試。

實驗室內的測試是在一個實驗室內做連續性而有系統性的測試,可做為了解個別工作人員分析的品質或其他的目的。實驗室間測試⁽¹⁾是以一個或一系列的樣品,由多間實驗室來分析,可以具有多種的功能和目的,包括(1)評估不同實驗室間分析結果的準確性和精密性,以了解其分析結果的品質(2)藉分析方法的評估,了解實驗室工作人員需要再接受技術訓練的需求及重點(3)比較不同的分析方法(4)利用多家可靠的分析結果,求得參考標準品中目的物最接近真值的參考值(5)提昇分析實驗室的品質。

實驗室間測試依以上不同的目的及功能,文獻上有許多的研究⁽²⁻⁶⁾。本研究是以測定感冒藥糖漿中Acetaminophen, Caffeine, Guaifenesin含量的分析方法,做為實驗室間測試的方法,測試時,對樣品的處理,分析的步驟,試劑使用的規格、配製,儀器的使用校正,容器的清洗,數據的記錄處理及

運算和其他分析上應注意的事項都有所要求,由評估分析的結果,了解藥廠分析的品質,及工作人員可能需要再接受分析技術訓練的重點。最後亦希望利用實驗室間測試測的方法,評估本研究所使用的以高效液相層析(HPLC)分析感冒藥複方糖漿中Acetaminophen, Caffeine, Guaifenesin含量的分析方法,對國內藥廠的適用性。

材料與方法

(一)感冒藥糖漿中Acetaminophen、Caffeine及Guaifenesin之含量分析

1. 器具及材料

(1)裝置設備

具有紫外光檢測之高效液相層析儀,振盪器或超音波振盪器,褐色量瓶(100ml),精密天平(至小數點後第四位)濾膜:孔徑0.45 μ m(有機溶劑可通過者)。

(2)試劑

去離子水,氘甲烷(HPLC級),磷酸二氫鈉和磷酸85%(試藥特級),Acetaminophen, Caffeine及Guaifenesin標準品(USP級)。

(3)溶液配製

A. 緩衝溶液

取磷酸二氫鈉粉末以去離子水配製成0.01M之緩衝溶液,用濃磷酸溶液調PH值至約3,

再以稀磷酸溶液(1/5,v/v)調PH至2.5。

B. 移動相溶液

將氰甲烷和緩衝溶液以12:88容積比例混合均勻,以濾膜過濾並除氣。

C. 標準品溶液

精秤乾燥18小時後之Acetaminophen、Caffeine、Guaifenesin 各約150,25,100mg,先溶於5ml之氰甲烷,置振盪器內待溶解完全後,加入移動相溶液稀釋至100ml。取此溶液5ml,再以移動相溶液稀釋至100ml。單一標準品溶液,可稱取單一標準品依上法配製之。

D. 檢品溶液

取檢品10ml,加入移動相溶液至100 ml,均勻混合後,再取此溶液5ml,以移動相溶液稀釋至100ml。

2. 高效液相層析儀分析條件

分離管:C18管柱(粒徑:5 μ m~10 μ m),移動相溶液:氰甲烷:緩衝溶液(12:88 ,V/V),檢測波長:UV 271nm,流速:1 ml/min,溫度:室溫(20~25°C)注射量:10或20 μ l。

3. 檢量線

取糖漿賦形劑10ml,加入移動相溶液稀釋至100ml,各取此液5ml,加入分別量取之標準溶液0、2.5、5、7.5、10ml於5個量瓶中,以移動相溶液稀釋至100ml,以10 μ l之標準溶液注入高效液相層析儀,由波峰的峰高或積分面積及相對濃度,作出檢

量線。

4. 含量測定及計算

取相同容積之檢液及標準品溶液,分別注入液相層析儀,比較檢品溶液和標準品溶液所得之峰高或面積即可算出檢品中所含Acetaminophen, Caffeine, Guaifenesin之含量,其計算方式如下:

所測成分檢品中的含量(mg)=0.1C $\times$ (R/R')

C=所稱取標準品成份之ml數

R=檢品溶液所得各成份之平均峰高或平均面積值

R'=標準溶液所得之平均峰高或平均面積值

(二)分析數據評估⁽⁷⁾

1. 數據排列(Ranking)

排列方法的評估是將相同成分濃度的分析數值,由低而高依序排列,查表評定分數,可以得到在十八個特定的實驗室數目及三種不同濃度之檢品數目下,可接受的最低排列總分及最高排列總分,超出上、下限排列總分的實驗室,表示分析結果有較大的偏差。

2. 可信賴區域(Confidence interval)的評估⁽⁷⁾; t值的測試

t值測試是利用實驗室對檢品分析數次,所得的分析平均值與標準偏差值與其他實驗比較時,經運算而得t值。由t值可查表得到t臨界值,由t臨界值的大小,可判定該分析數據是否在某一個可信賴

Table 1. The standard spike recoveries for syrup sample 1

Active ingredient	Spiked concentration mg/ml	Spike recovery %	Average spike recovery (n=9) %	Relative standard deviation %
Acetaminophen	7.52	96.2	98.0	1.6
	22.25	99.4		
	30.06	98.3		
Caffeine	1.13	96.7	95.4	1.5
	3.65	95.7		
	5.04	93.8		
Guaifenesin	5.02	92.4	95.5	3.2
	15.06	95.3		
	20.08	98.6		

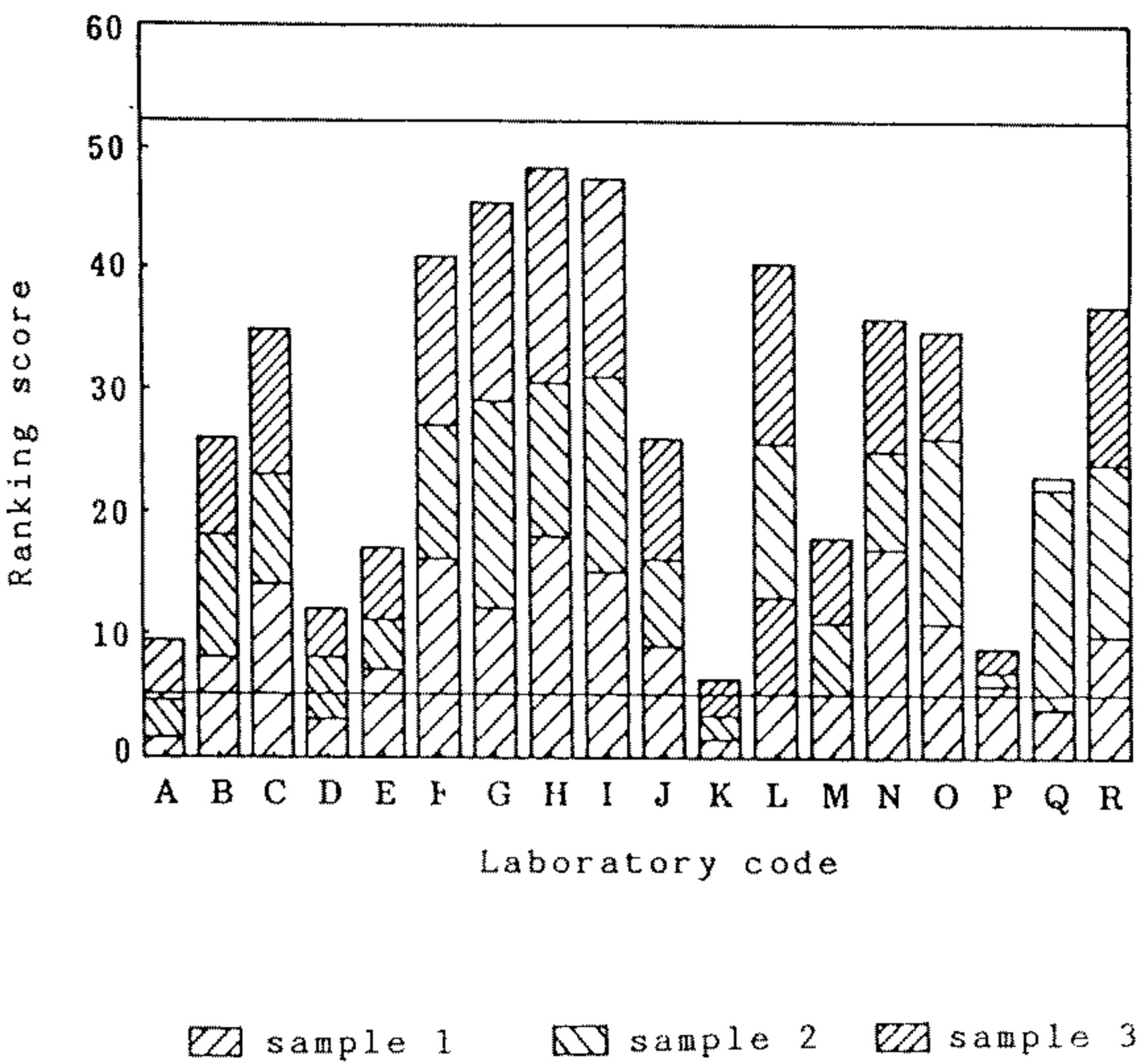


Figure 1. Evaluation of collaborative results for ranking scores of Acetaminophen
(Lower limit & upper limit; 5 and 52)

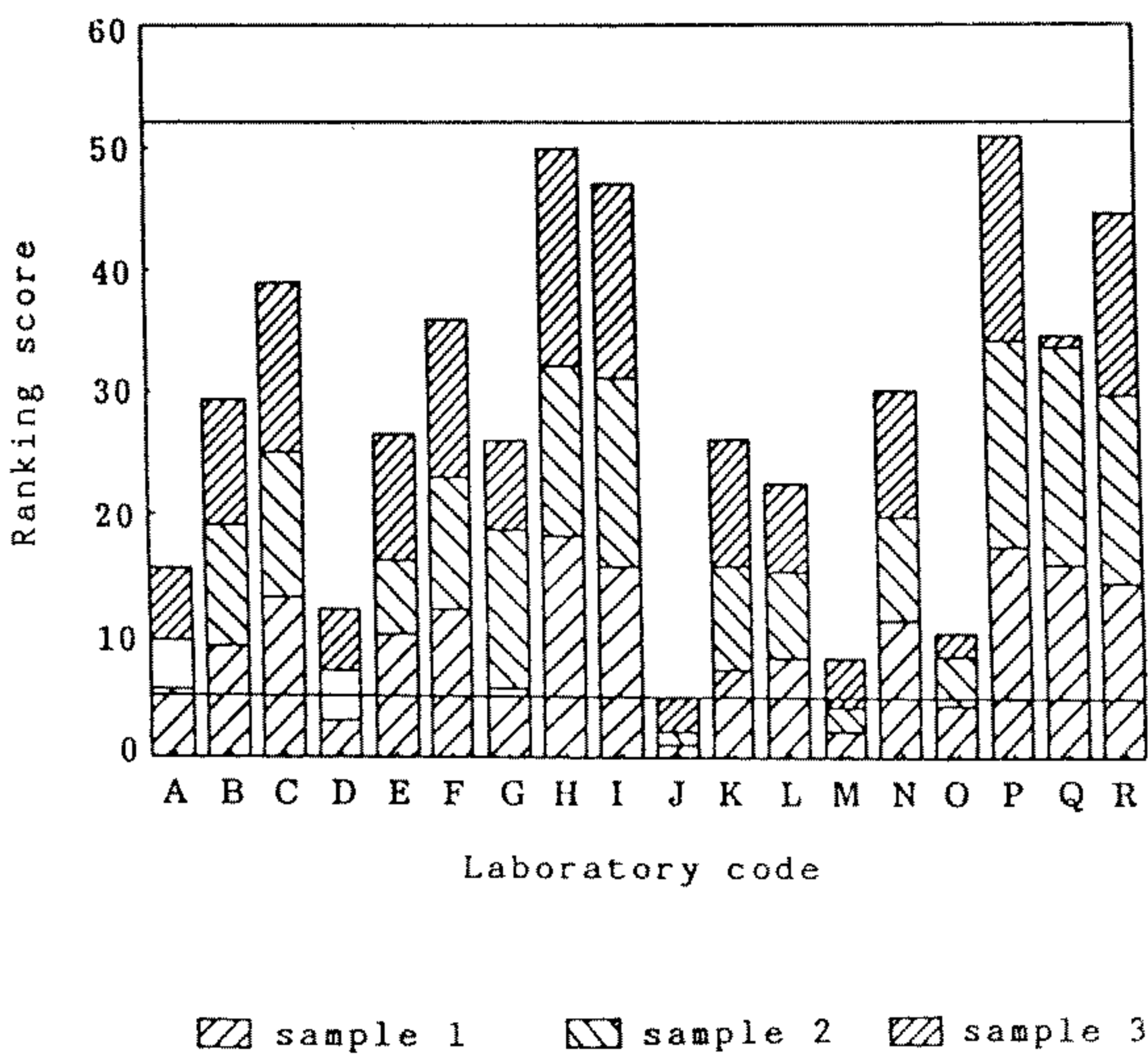


Figure 2. Evaluation of collaborative results for ranking scores of Caffeine
(Lower limit & upper limit; 5 and 52)

Table 2. Comparision between the mean values from collaborative result and reference values from the sample preparation

Sample Item		Reference Value	Mean Value	Relative standard deviation	Deviation
Active ingradient		mg/ml	(TS,n=18) mg/ml	%	(TS/R×100) %
Acetaminophen	1	15.00	15.37	2.73	104.47
	2	12.00	11.79	3.60	99.33
	3	10.00	10.83	3.60	108.30
Ceffeine	1	2.50	2.55	3.92	102.00
	2	2.50	2.51	7.17	100.40
	3	2.00	2.04	6.37	102.00
Guaifenesin	1	10.00	9.97	1.80	99.70
	2	5.00	5.08	4.92	101.60
	3	6.00	6.04	6.29	99.34

區域內(如95%)。

結果與討論

(一)感冒藥糖漿中 Acetaminophen, Caffeine, Guaifenesin之定量分析方法的確認

1.標準添加回收率

為了解用於實驗室間測試所使用之分析方法的合適性,先於實驗室內做方法的研究,內容包括選擇HPLC分離管柱,移動相溶液、流速,檢測波

長和分析線性及適用濃度範圍之探討。同時利用標準添加求回收率,以確定分析方法的精密度和準確度。表1是感冒藥糖漿檢品中,分別添加不同量的 Acetaminophen, Caffeine, Guaifenesin之標準品,所得到的回收率。由分析結果顯示,各成分的平均回收率和變異係數分別在95.4%~98.0%和1.6%~3.2%之間,其準確度和精密度都在可以接受的範圍內。

2.實驗室間測試之結果

由於提供測試所使用的檢品是在控制的條

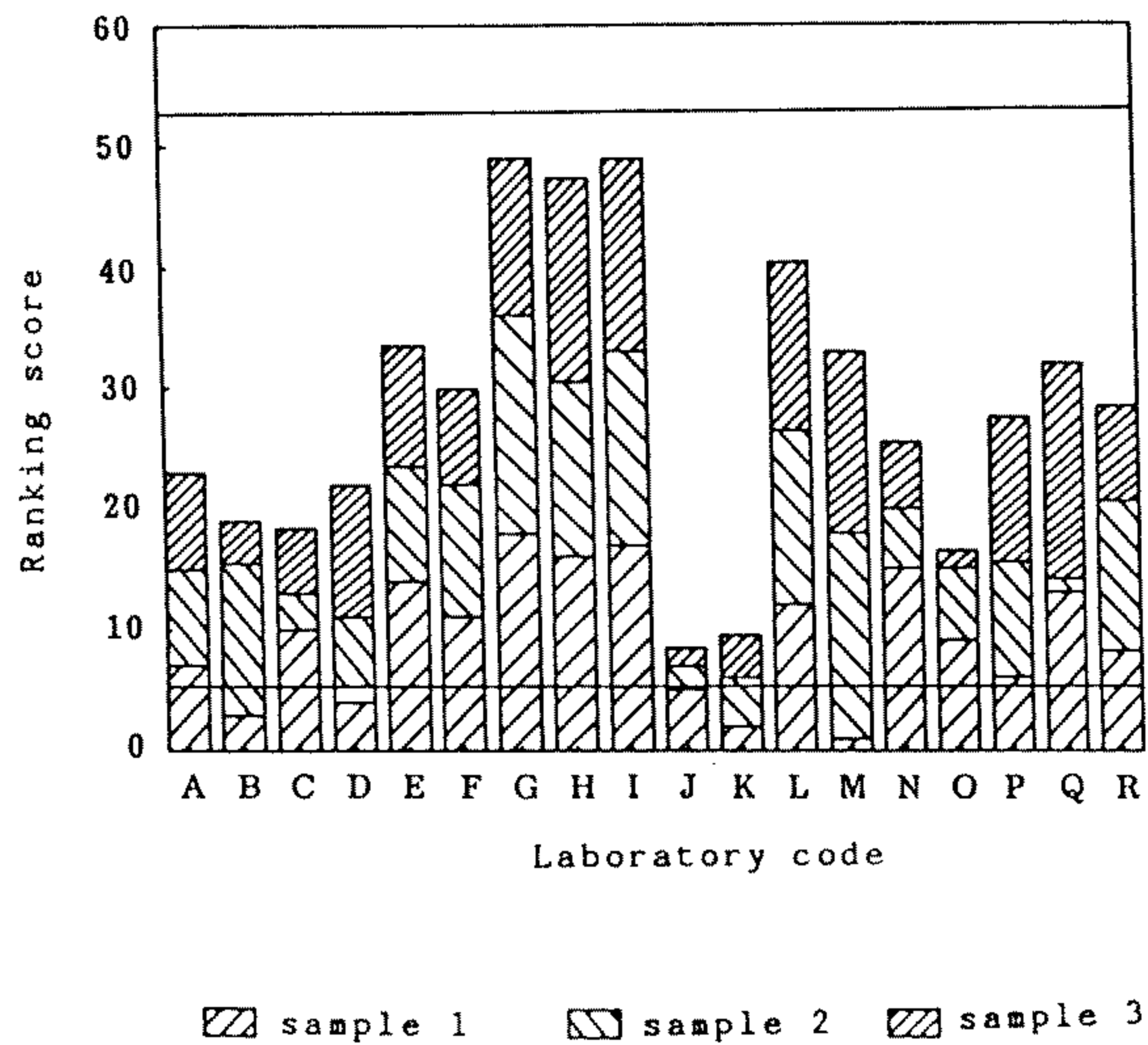


Figure 3. Evaluation of collaborative results for ranking scores of Guaifenesin (Lower limit & upper limit; 5 and 52)

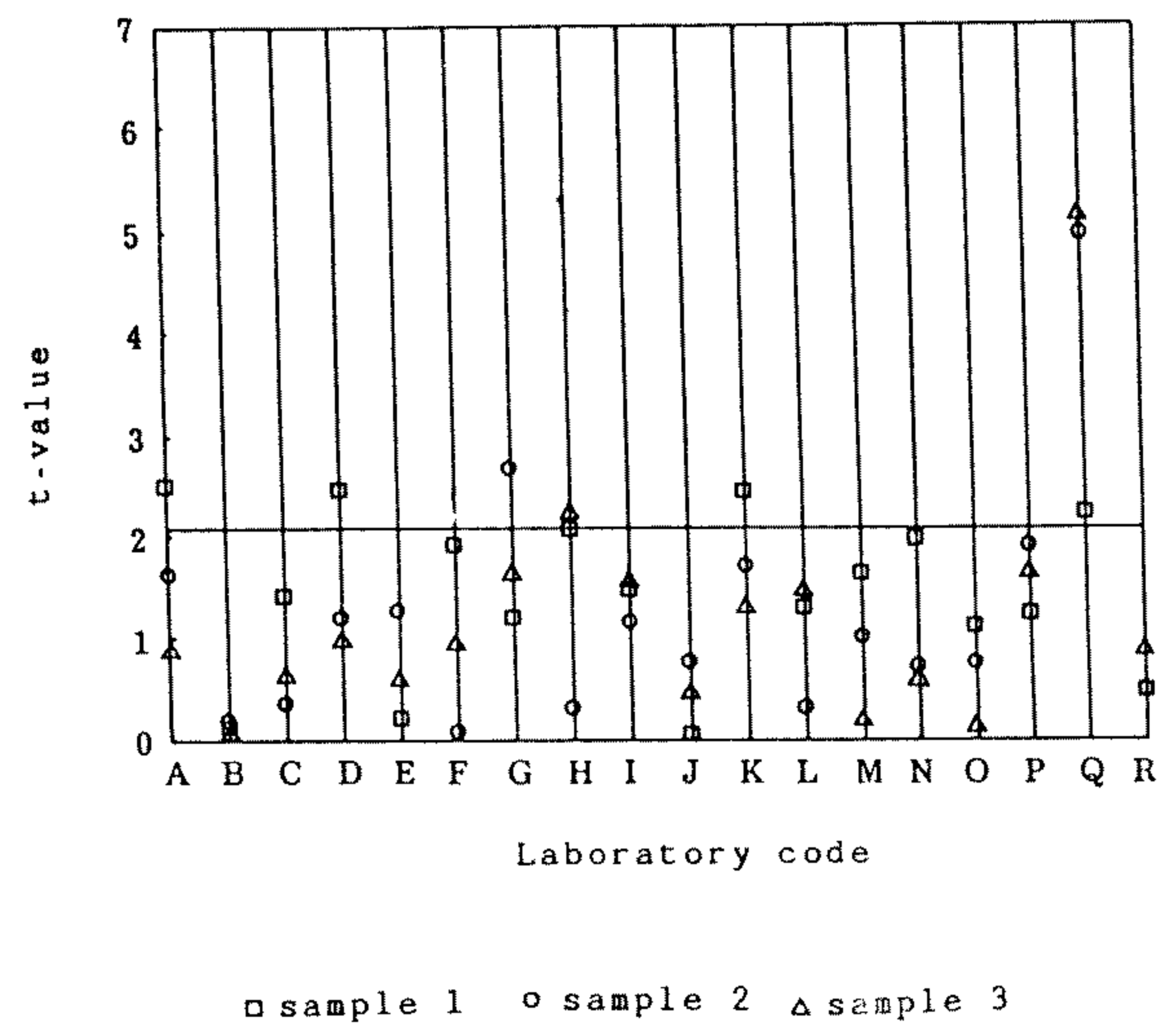


Figure 4. Evaluation of collaborative results for 95 % confidence intervals of Acetaminophen (Critical t-value; 2.093)

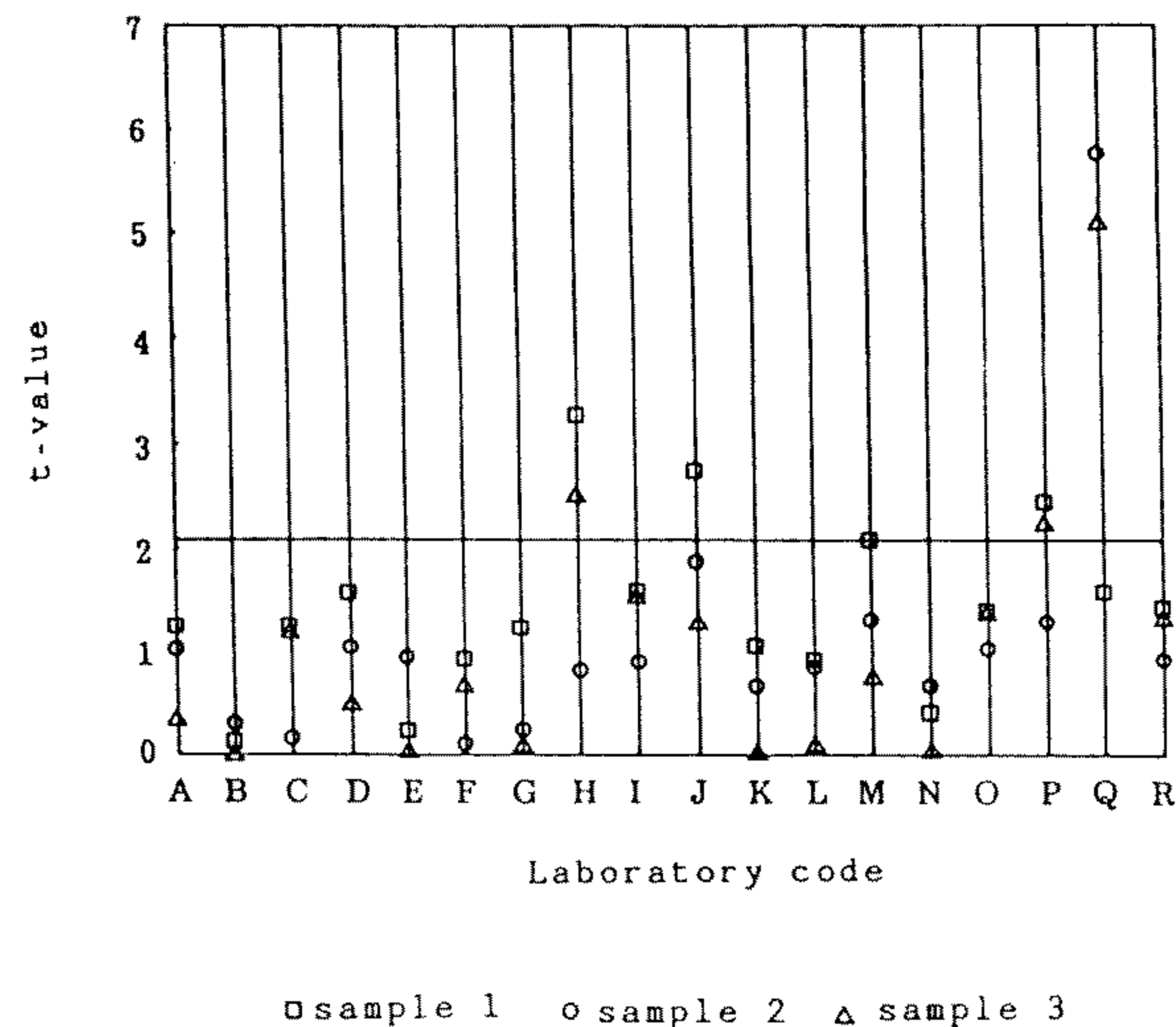


Figure 5. Evaluation of collaborative results for 95 % confidence intervals of Caffeine (Critical t-value; 2.093)

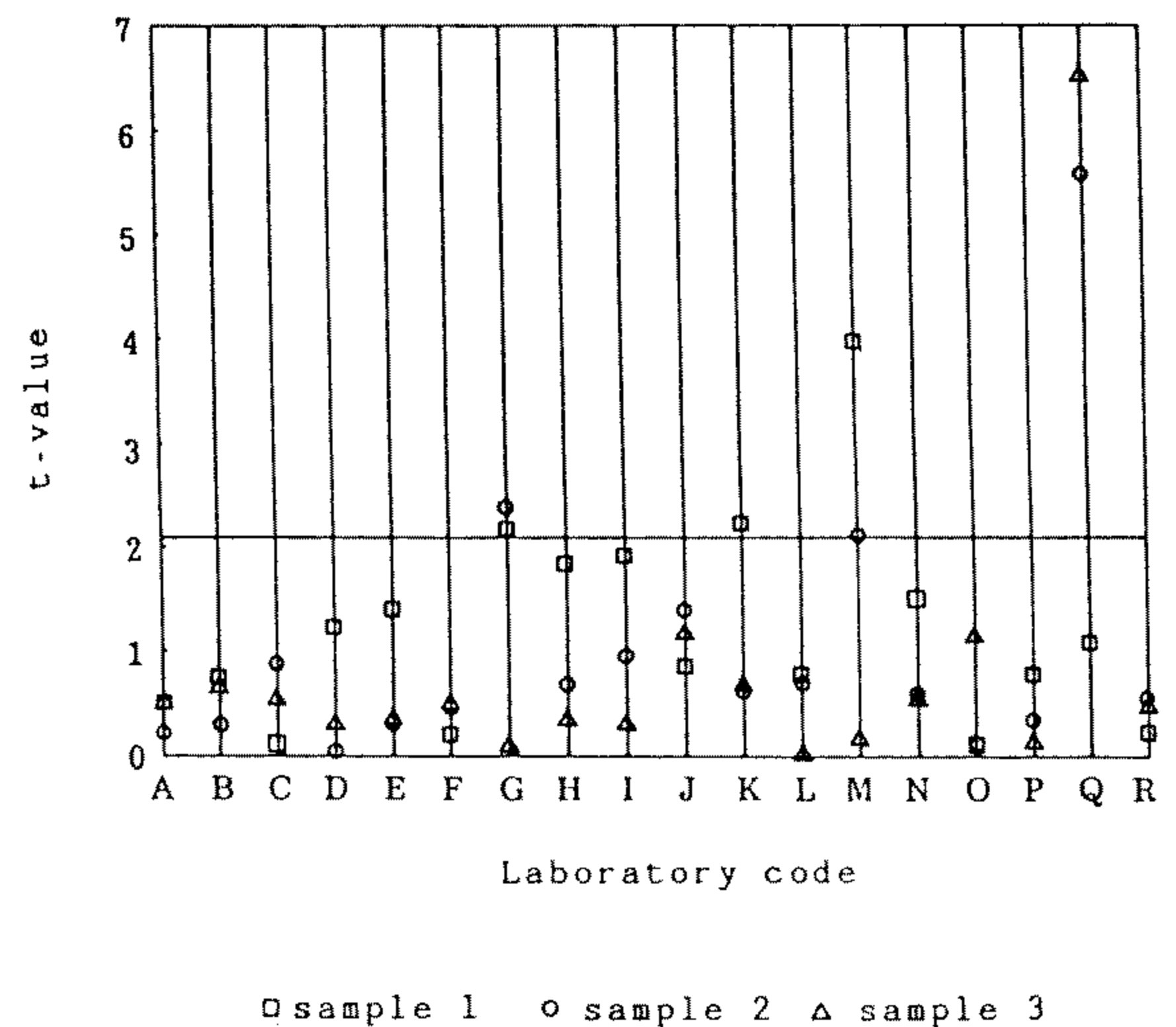


Figure 6. Evaluation of collaborative results for 95 % confidence intervals of Guaifenesin (Critical t-value; 2.093)

件下配製,所以其中所加入的有效成份之含量,可以做為參考的標準值。假設參與的實驗室對分析的品質,都可以達到一定的水準,或在回收的數據中,剔除偏離太大的不當數據再加以計算,則由測試結果的平均值與參考值之比較,也可以評估或確認分析方法的適用性。

表2是由十八家不同實驗室所做出來之各成分含量的平均值和檢品參考標準值的比較,可看出二者非常相近,其間的偏差值,除有一個較高為108.3 %外,其他都在99.33%到102.47%之間,顯示該方法如果應用於國內藥廠,應該是相當合適的。

(二)實驗室間分析數據評估

Table 3. Number of analytical datas and correspond laboratories which collaborative results are not within 95% confidence intervals

Active ingredient	Items out of 95% confidence interval	
	Analytical data	Laboratory
Acetaminophen	$\frac{3}{1}$	$\frac{1}{5}$
Caffeine	$\frac{2}{1}$	$\frac{3}{2}$
Guaifenesin	$\frac{2}{1}$	$\frac{2}{2}$

1. 原始數據

參與測試實驗室的選擇，是以國內較大的GMP製劑廠為主，檢品及分析資料等原來是分送給20家實驗室，但是只有十八家繳回分析的結果⁽⁸⁾。

2. 排列分數

對三個含有不同成分含量的檢品之分析結果，順序排列，得排列名次及總分，繪製如圖1.2 3所示。

三個含量不同的檢品，有十八個實驗室參與時，可接受的最高和最低的極限分數，分別是5和52⁽⁷⁾，在圖2之J實驗室剛好達到排列的最低極限分數5，顯示該實驗室的分析數據都偏低，在分析實驗上有系統性的誤差存在，其他成分及其他實驗室的分數都落在可接受的範圍內。由於未發現其他數據有重大的偏差，所以在做可信賴區域之評估時，沒有剔除不當的數據。

3. 數據可信賴區域的評估

分析數據可信賴區域是以95%為基準，利用t值的計算方法評估。跳出t臨界值的分析數據，表示不在95%的可信賴區內也就是說結果偏差太多，可信賴度較低。如果參與測試實驗室所分析的數據，經t值評估後在95%的可信賴區內，表示分析的品質較佳，相對地其分析品保計畫的執行，也應該是較好的。

圖4、5、6是各實驗室分析三個不同的檢品中Acetaminophen Caffeine, Guaifenesin的含量經t值的計算，對分析數據可信賴度評估的結果。表3是列出對不同成分含量的分析結果，不在95%可信賴區域之數據的個數及相對的實驗室。

在十八個參與實驗室及每個相同檢品分析三次的情況下，分析的結果要在95%可信賴區域內，t的臨界值應該是2.093⁽⁷⁾。Acetaminophen的分

析結果中，有一家實驗室的三個數據都不在95%可信賴區域內。二個數據不在95%可信賴區域內的實驗室，Caffeine有3家，Guaifenesin有2家。

由t值的評估結果顯示，所有分析的9個數據都在95%可信賴區的實驗室有9家，佔總參與數的一半。至於分析數據不在95%信賴者，最明顯的是有二家實驗室，在對三個不同的檢品中，每個有效成分都有二次以上的數據不在95%可信賴區域內，顯示這二家GMP藥廠，分析結果的品質，非常需要改進。

誌 謝

本人十分感謝中華藥學研究基金會中華研究所代為配製檢品，並得衛生署藥政處及藥物食品檢驗局之鼎力相助，及十八家GMP藥廠之參與測試，使本研究能順利完成，特此誌謝。

參考文獻

1. AOAC. 1984. Quality Assurance Principles for Analytical laboratories . pp. 82-97, Frederick M. Garfield (ed). Assoc. Off. Anal. Chem. Washington, D.C. U.S.A.
2. Walter Holak, 1983. Atomic Absorption Spectrophotometric Determination of Mercury in Mercury-Containing Drugs: Collaborative Study. J. Assoc. Off. Anal. Chem. 66 (5) : 1203-1206.
3. Wesley N. Kelley, 1982. Qualitative Ampule and Multitest for Beta-Lactam Residues in Fluid Milk Products: Collaborative Study. J. Assoc. Off. Anal. Chem. 65 (5) : 1193-1207.
4. Stephen G. Capar, 1990. Determination of Copper, Iron and Nickel in oils and Fats by Direct Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry: Summary of Collaborative Study. J. Assoc. Off. Anal. Chem. 73 (2) 320-321.
5. AOAC Administrative Arrangements, 1989. Guildelines for Collaborative Study Procedure to Validate Characteristics of a Method of Analysis. J. Assoc. Off. Anal. Chem. 72 (4) : 694-704.
6. Patrick C. Kelly. 1990. Outlier Detection in Collaborative Studies. J. Assoc. Off. Anal.

Chem. 73 (1) : 58–64.

7. AOAC. 1975. Statistical Techniques for Collaborative Tests in Statistical Manual of the Association of Official Chemist. AOAC, VA. pp. 31–38. William J. Youden, Assoc. Off.

Anal. Chem. Washington, D.C. U.S.A.

8. 衛生署研究計畫報告. 1989. 醫藥品分析實驗室間測試比較. DOH 79-41. pp. 47–49 行政院衛生署. 台北.

Quantitation of Active Ingredients in Cold Syrup—Collaborative Study

HUI-YEN WU, YI-NI CHENG, MENG-LING CHANG AND YEU-PING LIN

*Union Chemical Laboratories,
Industrial Technology Research Institute,
321 Kuang Fu Road, Section 2, Hsinchu, Taiwan 30042, R.O.C.*

ABSTRACT

This collaborative study was performed with a high performance liquid chromatography method to determine the active ingredients content in the cold syrup. Eighteen local drug manufacturers' analytical laboratories participated in this study. The testing results were evaluated by using the ranking score and t-test techniques.

The ranking score test indicated that none of the laboratories have any pronounced

systematic errors, but results from the t-test evaluation indicated that some of the reported data were not within the 95% confidence level. According to the intralaboratory and inter-laboratories studies, it has been shown that this analytical method is applicable to the determination of acetaminophen, caffeine and guaifenesin in cold syrup.

Key Words : Collaborative study, Acetaminophen, Caffeine, Guaifenesin

