

## · 技术研究 ·

# 核磁共振定量法测定茶苯海明的含量

张才煜<sup>1</sup>, 耿颖<sup>1</sup>, 卢日刚<sup>2</sup>, 何兰<sup>1\*</sup> (1. 中国食品药品检定研究院, 北京 100050; 2. 广西壮族自治区食品药品检验所, 南宁 530021)

**摘要** 目的: 建立定量核磁共振波谱法同时测定茶苯海明中苯海拉明和8-氯茶碱的方法。方法: 以对苯二酚为内标, 氘代甲醇为溶剂, 分别采用苯海拉明中的 $\delta$  2.89的甲基峰与8-氯茶碱中的 $\delta$  3.47的甲基峰和内标峰的比值计算含量。结果: 该方法精密度小于0.6%, 线性相关系数( $r$ )均为0.9999, 实际测定茶苯海明原料药中的苯海拉明与8-氯茶碱的含量分别为54.04%与45.37%。结论: 本文建立的核磁定量法快速、简单、准确, 为该品种的含量测定提供了新的方法。

**关键词:** 核磁定量法; 茶苯海明; 含量测定; 对照品

中图分类号: R917; R927.2 文献标识码: A 文章编号: 1002-7777(2018)06-0743-04

doi:10.16153/j.1002-7777.2018.06.008

## Quantitative Determination of the Content of Dimenhydrinate by qNMR

Zhang Caiyu<sup>1</sup>, Geng Ying<sup>1</sup>, Lu Rigang<sup>2</sup>, He Lan<sup>1\*</sup> (1. National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 100050, China; 2. Guangxi Institute for Food and Drug Control, Nanning 530021, China)

**Abstract Objective:** To establish a quantitative nuclear magnetic resonance spectroscopic (qNMR) method for simultaneous determination of diphenhydramine and 8-chlorotheophylline in dimenhydrinate. **Methods:** Hydroquinone was used as internal standard and deuterated methanol was used as solvent. The ratios of methyl peak of  $\delta$  2.89 in diphenhydramine and the methyl peak of  $\delta$  3.47 in 8-chlorotheophylline with internal standard peak were used to calculate the contents respectively. **Results:** The precision of the method was less than 0.6% and the linear correlation coefficient ( $r$ ) was 0.9999. The actual content of diphenhydramine and 8-chlorotheophylline in the raw material of dimenhydrinate was 54.04% and 45.37%, respectively. **Conclusion:** The qNMR method established in this paper is a rapid, simple and accurate method, which provides a new way to determine the content of the dimenhydrinate.

**Keywords:** quantitative nuclear magnetic resonance; dimenhydrinate; determination of content; reference material

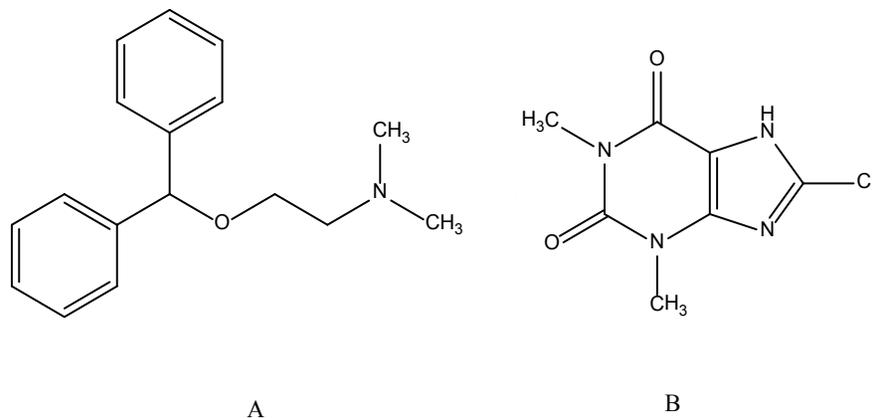
茶苯海明为抗组胺药, 为苯海拉明(1,3-二甲基-8-氯-1H-嘌呤-2,6-二酮)和8-氯茶碱[N,N-二甲基-2-(二苯基甲氧基)乙胺]1:1的混合物(见图1), 收载于《中国药典》2015年版二部<sup>[1]</sup>, 规定本品按干燥品计, 含苯海拉明应为

53.0%~55.5%, 含8-氯茶碱应为44.0%~47.0%。此外, 美国药典38版<sup>[2]</sup>、欧洲药典8.0版<sup>[3]</sup>及日本药典17版<sup>[4]</sup>都收载该品种, 其含量测定方法均为分别采用高氯酸滴定液滴定苯海拉明的含量、采用硫氰酸铵滴定液滴定8-氯茶碱的含量, 方法较为繁琐

且专属性不强。

在对照品标化中,为保证赋值准确,通常采用多种含量测定方法如HPLC外标法、滴定法、紫外光谱法等测定结果来相互佐证。在标化茶苯海明对照品时,经查阅文献<sup>[5]</sup>报道了HPLC-UV梯度洗脱的方法对茶苯海明及其杂质进行测定,考虑到苯海拉明和8-氯茶碱的紫外响应可能不同,故需要建

立新的方法来测定其含量。近年来,核磁定量法(qNMR法)技术日趋成熟,并因其具有绝对定量的优势<sup>[6-7]</sup>,被越来越多地应用于标准物质的含量测定中,甚至混合物的测定中<sup>[8-14]</sup>,因此,本研究建立了qNMR法,首次同时测定了茶苯海明中苯海拉明与8-氯茶碱两组分的绝对含量,方法快速简单、准确且专属性强。



A. 苯海拉明; B. 8-氯茶碱。

图1 茶苯海明化学结构

## 1 仪器与试剂

### 1.1 仪器

Avance DRX 500型核磁共振谱仪(瑞士布鲁克公司), Mettler Toledo XP230分析天平。

### 1.2 试剂

氘代甲醇(J&K Scientific,批号:182473);对苯二酚(ACROS公司,纯度99.5%)。茶苯海明原料药(上海万代制药有限公司,批号:1507014);茶苯海明对照品(中国食品药品检定研究院,批号:100120-200403,含量:99.7%)。高氯酸滴定液( $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ )、硝酸银滴定液( $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ )、硫氰酸铵滴定液( $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ )均为实验室自制。

## 2 方法与结果

### 2.1 核磁定量方法

#### 2.1.1 样品制备

精密称取一定量的内标(对苯二酚)及茶苯海明适量,加入一定体积的氘代甲醇配成浓度均为 $0.05 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的溶液,作为供试品溶液;同法制备对照品溶液;分别转入5 mm核磁管中备用。

#### 2.1.2 核磁共振定量

核磁共振(NMR)采集条件:采用zg30脉

冲序列在恒温( $25 \text{ }^{\circ}\text{C}$ )下获取 $^1\text{H}$  NMR谱。具体试验参数:谱宽(SWH)10000 Hz,采样点数(TD)64K,采样时间(AQ)3.28 s,弛豫延迟时间(D1)20 s,采样次数(NS)16次,空扫次数(DS)2次,采用手动积分,每个峰积分3次,相对标准偏差(RSD) $<1\%$ 时取平均值,测定样品和内标选定峰峰面积的相对比值,采用《中国药典》2015年版附录0441中绝对定量公式进行计算<sup>[15]</sup>。

#### 2.1.3 氘代溶剂与内标物的选择

根据样品的溶解性选择了氘代甲醇作为溶剂,且溶剂峰与茶苯海明中的苯海拉明与8-氯茶碱的定量峰互不干扰。

根据茶苯海明的 $^1\text{H}$ -NMR的归属以及 $\text{CD}_3\text{OD}$ 的溶解性,选择了对苯二酚为内标,既不干扰样品峰,又在 $\text{CD}_3\text{OD}$ 中有较好的溶解性。

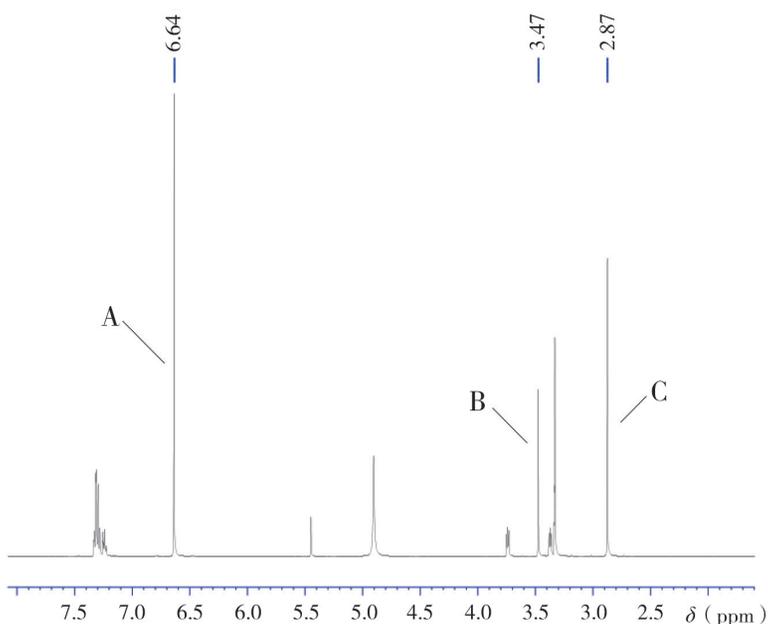
#### 2.1.4 $^1\text{H}$ -NMR峰的归属

茶苯海明为苯海拉明与8-氯茶碱的1:1混合物,在一张谱图中分别对2个化合物的峰进行了归属,其中归属为苯海拉明的信号峰: $\delta$  7.22~7.33(m, 10H, 2个苯环上的H),  $\delta$  5.45(s, 1H, 次甲基),  $\delta$  3.75(t, 2H,  $-\text{CH}_2-$ ),  $\delta$  3.39(t, 2H,  $-\text{CH}_2-$ ),  $\delta$  2.87(s, 6H, 2个 $-\text{CH}_3$ );归属

为8-氯茶碱的信号峰： $\delta$  3.47 (s, 3H,  $-\text{CH}_3$ )， $\delta$  3.33 (s, 3H,  $-\text{CH}_3$ )。溶剂甲醇的信号峰分别为 $\delta$  3.33与 $\delta$  4.90 (水峰)。

### 2.1.5 定量峰的选择

选择苯海拉明中 $\delta$  2.87的6H信号峰与8-氯茶碱 $\delta$  3.47的3H信号峰作为样品定量峰，选择 $\delta$  6.64的4H信号峰为内标定量峰，所选信号峰均为单峰，且互不干扰测定。见图2。



A. 内标 (IS); B. 8-氯茶碱的 H 信号; C. 苯海拉明的 H 信号。

图2 茶苯海明各定量峰信号

### 2.1.6 延迟弛豫时间 (D1) 的选择

在进行核磁定量试验时，为保证积分结果的准确，延迟弛豫时间 (D1) 与纵向弛豫时间 (T1) 的比值应 $\geq 5$ <sup>[16]</sup>，通过翻转恢复试验对所有质子共振谱线的 T1 值分别进行测试，发现最大 T1 为内标  $\delta$  6.64 的 3.996 s，样品中  $\delta$  2.89 与  $\delta$  3.47 峰的 T1 分别为 1.059 s 与 1.551 s，因此，D1 值设定为 20 s。

### 2.1.7 精密度与重复性试验

取样品 (原料药) 溶液，连续测定 5 次，计算样品定量峰面积与内标峰面积比值，结果苯海拉明与 8-氯茶碱的 RSD 分别为 0.07% 与 0.24%。另取对照品平行制备 3 份样品，测得苯海拉明的含量分别为 53.20%、53.40%、53.35%，RSD 为 0.20%；测得 8-氯茶碱的含量分别为 45.73%、46.27%、45.99%，RSD 为 0.59%。

### 2.1.8 线性试验

精密称取茶苯海明 (原料药) 11.11、22.36、40.79、48.56、58.19、79.82 mg 与内标 10.54、10.57、10.99、10.63、10.66、10.30 mg，以不同质

量比制备 6 份待测样品，测定  $^1\text{H-NMR}$  谱。以 (样品 / 内标) 质量比为横坐标 (x)，NMR 定量峰面积比为纵坐标 (y)，做线性回归，得回归方程：

$y_{\text{茶苯海明}} = 0.3484x + 0.0087$ ， $y_{8\text{-氯茶碱}} = 0.1743x + 0.0088$ ，相关系数均为 0.9999，线性关系良好。

### 2.1.9 样品溶液稳定性

取供试品 (原料药) 溶液，分别在配制后 0、3、7 h 进行测定，计算样品定量峰与内标定量峰面积比值，结果苯海拉明与 8-氯茶碱的 RSD 分别为 0.01% 与 0.15%，表明供试品溶液在室温放置 7 h 稳定。

### 2.1.10 测定结果

分别对原料药与对照品进行测定，含量结果见表 1。

## 2.2 滴定法

参照《中国药典》2015 年版茶苯海明含量测定方法<sup>[1]</sup>，采用  $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  高氯酸滴定液滴定苯海拉明的含量，采用  $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  硫氰酸铵滴定液滴定 8-氯茶碱的含量，测定结果见表 1。

表1 茶苯海明含量测定结果

样品	方法	苯海拉明	8-氯茶碱
对照品	qNMR法	53.32% (RSD=0.20%, n=3)	46.00% (RSD=0.59%, n=3)
原料药	qNMR法	54.04% (RSD=0.26%, n=3)	45.37% (RSD=0.55%, n=3)
原料药	滴定法	54.12% (RSD=0.20%, n=3)	45.75% (RSD=0.59%, n=3)

### 3 讨论

目前各国药典收载的茶苯海明原料药的含量测定方法均为滴定法,样品处理与测定方法较为繁琐。由于核磁共振的原理是运用某一特定频率的电磁波来照射样品,使其原子核进行能级之间的跃迁,因此,不同化合物中氢信号的化学位移通常会有区分,本研究发挥了其在测定混合物上的技术优势,所建立的核磁定量方法,实现了在一张图谱上不仅同时测定出2种成分的绝对含量,还准确给出了2种成分含量的比例,方法准确快速,操作简单,为测定茶苯海明的含量增加了另外一种手段。

#### 参考文献:

- [1] 中国药典:二部[S]. 2015: 713-714.
- [2] USP 38 [S]. 2015: 3134.
- [3] EP 8.0 [S]. 2015: 2063-2065.
- [4] JP 17 [S]. 2016: 809.
- [5] U.DÖGE, K. EGER. A Simple HPLC-UV Method for the Determination of Dimenhydrinate and Related Substances - identification of an Unknown Impurity[J]. Pharmazie, 2007, (64): 174-178.
- [6] F. Malz, H. Jancke. Validation of Quantitative NMR [J]. J Pharm Biomed Anal, 2005, 38: 813-823.
- [7] U. Holzgrabe, R. Denbner, C. Schollmayer, et al. Quantitative NMR Spectroscopy-applications in Drug Analysis[J]. J Pharm Biomed Anal, 2005, 38: 806-812.
- [8] 禹珊, 郭强胜, 王会琳, 等. 定量核磁共振波谱法同时测定中药虎杖中白藜芦醇和虎杖苷的含量[J]. 分析化学, 2015, 43 (1): 69-74.
- [9] 胡敏, 胡昌勤, 刘文英. 核磁共振波谱法测定药物基准物质的绝对含量[J]. 分析化学, 2004, 32 (4): 451-455.
- [10] 韦英亮, 莫建光, 潘艳坤, 等. 磺胺类标准物质期间核查NMR定量方法研究[J]. 波谱学杂志, 2013, 30 (3): 371-379.
- [11] Liu SY, Hu CQ. A Comparative Uncertainty Study of the Calibration of Macrolide Antibiotic Reference Standards Using Quantitative Nuclear Magnetic Resonance and Mass Balance Methods[J]. Anal Chim Acta, 2007, (602): 114-121.
- [12] Wu Y, He Y, He W Y, et al. Application of Quantitative <sup>1</sup>H NMR for the Calibration of Protoberberine Alkaloid Reference Standards[J]. J Pharm Biomed Anal, 2014, 90: 92-97.
- [13] Stephen A. Wise, Hendrik Emons. Reference Materials for Chemical Analysis [J]. Anal Bioanal Chem, 2015, 407: 8557-8569.
- [14] Michael A. Nelson, Mary Bedner, Brian E. Lang, et al. Metrological Approaches to Organic Chemical Purity: Primary Reference Materials for Vitamin D Metabolites[J]. Anal Bioanal Chem, 2015, 407: 8557-8569.
- [15] 中国药典:四部[S]. 2015: 52-56.
- [16] Pauli G F, Jaki B U, Lankin D C, et al. Quantitative <sup>1</sup>H NMR Development and Potential of an Analytical Method: An Update[J]. J Nat Prod, 2005, 68 (1): 133-149.

(收稿日期 2017年12月5日 编辑 王雅雯)