颠茄口服溶液质量标准提升及稳定性统计分析Δ

汪秋兰*,谢雪佳,谢　委,田　玉#,马永贵(华中科技大学同济医学院附属同济医院药学部,武汉　430030)

中图分类号　R917　　文献标志码　A　　文章编号　1672-2124(2026)08-0957-05
DOI　10.14009/j.issn.1672-2124.2026.08.014

摘　要　目的:提升颠茄口服溶液的质量标准,并对其稳定性考察数据进行统计学分析与评价。方法:采用薄层色谱法对颠茄酊进行定性鉴别,采用高效液相色谱法对硫酸天仙子胺进行含量测定,并运用 Minitab 21 软件对 24 个月稳定性数据进行回归分析。结果:薄层色谱图中斑点清晰、分离度好,专属性强。硫酸天仙子胺在 7.17~35.83 μg/mL 浓度范围内与峰面积呈良好线性关系(r=0.999 2,n=6),平均回收率为 102.32%(RSD=1.21%)。含量稳定性随月份的变化逐步降低,批间精密度良好,回归预测有效期为 75 个月。结论:研究所建立的分析方法操作简便、专属性强、重复性好,可用于提升颠茄口服溶液的质量控制标准,回归分析能够有效用于该制剂的稳定性评价。

关键词　颠茄口服溶液; 质量标准; 稳定性; 硫酸天仙子胺; 回归分析; 薄层色谱法; 高效液相色谱法

Quality Standard Improvement and Stability Analysis of Dianqie Oral SolutionΔ

WANG Qiulan, XIE Xuejia, XIE Wei, TIAN Yu, MA Yonggui (Dept. of Pharmacy, Tongji Hospital of Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, China)

ABSTRACT　OBJECTIVE: To improve the quality standard of Dianqie oral solution, and to conduct analysis and evaluation of its stability. METHODS: Thin layer chromatography (TLC) was used for the qualitative identification of belladonna tincture. The content of hyoscyamine sulfate was determined by high performance liquid chromatography (HPLC). Additionally, regression analysis was performed on the 24-month stability data using Minitab 21 software. RESULTS: TLC chromatogram spots were clear and well-separated, demonstrating strong specificity. Hyoscyamine sulfate exhibited a good linear relationship with peak area in the concentration range of 7.17-35.83 μg/mL (r=0.999 2, n=6), with an average recovery of 102.32% (RSD=1.21%). The content stability exhibited a gradual decline over time, with good inter-batch consistency. Regression analysis predicted a validity period of 75 months. CONCLUSIONS: The established method is simple, specific, reproducible, and suitable for improving the quality control standard of Dianqie oral solution. Regression analysis is effective for stability evaluation.

KEYWORDS　Dianqie oral solution; Quality standard; Stability; Hyoscyamine sulfate; Regression analysis; TLC; HPLC

颠茄口服溶液是临床常用的医院制剂,具有解除平滑肌痉挛、减少胃液分泌等作用,适用于缓解胃肠痉挛引起的疼痛、恶心、呕吐等症状。该制剂收载于《湖北省医疗机构制剂规范》2011 年版[1],其处方中主要原料为颠茄酊,颠茄酊有效成分为 *L*-天仙子胺和东莨菪碱等生物碱类成分,其中天仙子胺在储藏、加工和提取过程中逐渐转化为其消旋体阿托品[2-3],但转化生成的阿托品含量极低,而天仙子胺和阿托品为同分异构体,在薄层色谱法(thin layer chromatography,TLC)中两成分比移值完全重叠,虽可用手性柱或液质联用技术实现分离,但检验成本高,不适用常规质量控制。近年来,由于阿托品原料药价格低廉,在颠茄酊中非法添加阿托品的现象时有发生[4-6],进一步加大了质量控制的难度。原质量标准采用理化反应鉴别莨菪碱类成分,高效液相色谱法(high performance liquid chromatography,HPLC)控制阿托品的含量,方法专属性差,难以全面反映制剂质量,更无法有效识别非法添加行为。本研究参考相关文献[7-10]和《中华人民共和国药典》一部[11],最终采用 TLC 法同时鉴别硫酸天仙子胺和硫酸阿托品,以杜绝阿托品的虚假添加,采用 HPLC 法检测硫酸天仙子胺的含量,并利用 Minitab 21 软件对 24 个月稳定性数据进行回归拟合与残差分析[12-13]。本研究提升了质量控制的准确性与可靠性,同时也为回归分析统计学工具在药品稳定性评价中的应用提供了参考。

1　仪器与试药

1.1　仪器

LC-20 AD 型高效液相色谱仪[岛津企业管理(中国)有限公司],包括 LC-20 AD 泵,SPD-M20A 二极管阵列检测器(190~800 nm),LabSolutions 工作站,SIL-20A 自动进样器;AUW220 D 型双量程分析天平[岛津企业管理(中国)有限公司,精度 0.1 mg/0.01 mg];JY6002 型电子天平(上海舜宇恒

Δ 基金项目:2025 年湖北省医疗机构制剂规范研究课题(No. 鄂 ZJGF202505)

* 主管药师。研究方向:药物有效成分分析与质量控制。E-mail:qiulan1110@126.com

通信作者:主管药师。研究方向:医院药学与药物分析。E-mail:2820290875@sina.com

平仪器有限公司);UV-3C 型紫外投射分析仪(珠海黑马医学仪器有限公司);硅胶 G 薄层板(青岛海洋化工有限公司,批号 20241014)。

1.2 药品与试剂

硫酸天仙子胺对照品(批号 111982-202103,含量为 96.7%,中国食品药品检定研究院);硫酸阿托品对照品(批号 100040-201613,含量为 96.7%,中国食品药品检定研究院);颠茄口服溶液(批号 20241111、20250102、20250103、20250104,本院自制制剂);乙腈(批号 24015043,色谱级,美国天地有限公司);磷酸(批号 20200904,分析纯,广东光华科技股份有限公司);丙酮(批号 20240509,国药集团化学试剂有限公司);氨水(批号 20230630,国药集团化学试剂有限公司);十二烷基磺酸钠(批号 20170821,分析纯,天津市天力化学试剂有限公司);水为新制多效纯化水。

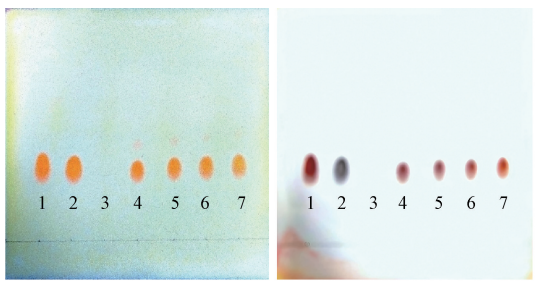
2 方法与结果

2.1 TLC 鉴别

2.1.1 溶液的制备:取本品 150 mL,加浓氨试液 10 mL,摇匀,用乙醚振摇提取 2 次,每次 30 mL,合并乙醚液挥干,残渣加甲醇 0.5 mL 使溶解,作为供试品溶液。同法制备缺颠茄酊的阴性对照溶液。另取硫酸天仙子胺对照品、硫酸阿托品对照品,分别用甲醇制成每 1 mL 含 3 mg 的溶液作为对照品溶液。

2.1.2 检测条件:吸取上述供试品溶液和阴性对照溶液各 10~20 μL,硫酸天仙子胺、硫酸阿托品对照品溶液各 10 μL 分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以丙酮-水-浓氨试液(18∶1.4∶0.6)为展开剂,展开,取出,晾干,放冷,喷以稀碘化铋钾试液,在 105 ℃加热至斑点显色清晰,检视。

结果显示:供试品色谱图中,在与硫酸天仙子胺对照品相应的位置,显相同颜色斑点,见图 1A。再喷以 10%亚硝酸钠溶液,放置 5~15 min,供试品色谱中在与硫酸天仙子胺对照品相应的位置上应由橘红色变为红棕色或棕色,供试品色谱中的主斑点不得出现与硫酸阿托品一致的灰色或灰蓝色。阴性对照色谱中,在主斑点相应位置无干扰,见图 1B。



A　　B

A. 喷 10%亚硝酸钠溶液前薄层色谱图;B. 喷 10%亚硝酸钠溶液后薄层色谱图。1. 硫酸天仙子胺对照品溶液;2. 硫酸阿托品对照品溶液;3. 阴性对照溶液;4. 供试品溶液(批号 20241111);5. 供试品溶液(批号 20250102);6. 供试品溶液(批号 20250103);7. 供试品溶液(批号 20250104)。

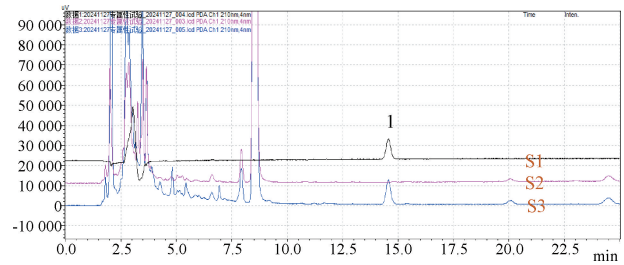
图 1 薄层色谱图

2.2 含量测定

2.2.1 色谱条件与系统适用性实验:色谱柱为 Agilent 5TC-C_{18} 柱(4.6×250 mm,5 μm)[安捷伦科技(中国)有限公司];流动相为乙腈-0.25%十二烷基磺酸钠的 0.004%磷酸溶液(40∶60);柱温为 40 ℃;流速 1 mL/min;检测波长为 210 nm;进样量 10 μL。在此色谱条件下,理论板数按硫酸天仙子胺峰计算应不低于 2 000。

2.2.2 溶液的制备:取本品滤过,取续滤液,即得供试品溶液。取阴性样品滤过,取续滤液,即得阴性对照溶液。取硫酸天仙子胺对照品适量,精密称定,加 50%甲醇制成每 1 mL 含 15 μg 的溶液,即得对照品溶液。

2.2.3 方法学考察:(1)系统适用性考察。取上述对照品溶液、供试品溶液、阴性对照溶液各 10 μL,按 2.2.1 项下色谱条件进样测定,记录色谱图。结果显示,对照品溶液色谱图中,硫酸天仙子胺峰保留时间为 14.569 min,理论板数为 21 194,供试品溶液色谱图中,硫酸天仙子胺峰保留时间为 14.568 min,理论板数为 20 954,分离度为 18.75,色谱峰的峰形对称,拖尾因子均为 0.85~1.20。阴性对照溶液色谱图中,在主峰保留时间处无吸收干扰峰,对本实验检测无干扰。见图 2。

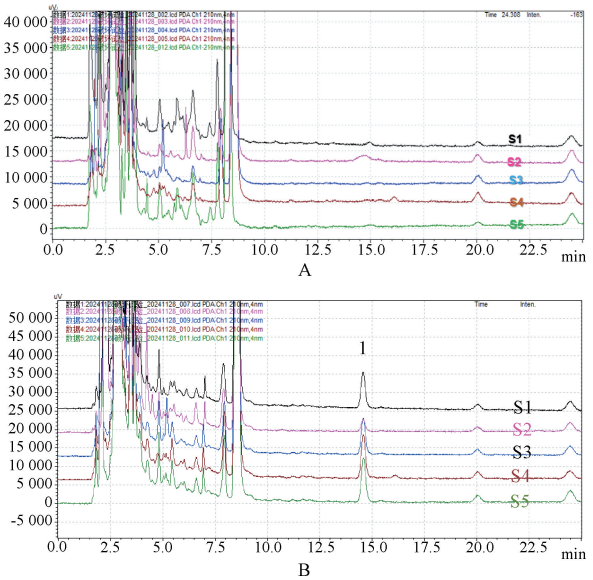


S1 为对照品溶液;S2 为阴性对照溶液;S3 为供试品溶液;1 为硫酸天仙子胺色谱峰。

图 2 系统适用性实验 HPLC 叠加图

(2)破坏实验考察。取本品 4 mL,各 5 份,置 5 mL 量瓶中。①酸破坏:加入 1 mol/L HCl 溶液 0.5 mL,于室温条件下放置 12 h,加 1 mol/L NaOH 溶液中和。②碱破坏:加入 1 mol/L NaOH 溶液 0.1 mL,于室温条件下放置 1 h,加 1 mol/L HCl 溶液中和。③氧化破坏:加入 3% H_2O_2 溶液 1 mL,室温条件下放置 24 h。④强光照破坏:于照度 5 000 lx、近紫外照度为 90 μW/cm^2 的光照箱中放置 48 h。⑤高温破坏:于 80 ℃条件下放置 4 h。同法将缺颠茄酊的空白对照溶液经上述条件破坏后,摇匀,滤过,即得空白辅料溶液。分别取上述各破坏条件下供试品溶液和空白辅料溶液各 10 μL 进样,记录色谱图。结果样品在碱和强光照条件下破坏较明显,对氧化、酸、高温条件下较稳定。空白辅料对本实验检测无干扰。提示本方法的有效性和适用性满足要求,专属性较好。见图 3。

(3)线性关系考察。精密称取硫酸天仙子胺对照品 7.41 mg,置于 20 mL 量瓶中,加 50%甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,作为对照品储备液。精密量取对照品储备液 0.5、1、1.2、1.5、2、2.5 mL,分别置于 6 个 25 mL 量瓶中,加 50%甲醇定容至刻度,摇匀,即得各系列浓度的对照品溶液。分别精密量取各系列对照品溶液 10 μL,注入液相色谱仪测定,并记录色谱图。以峰面积 A 对浓度 C 作线性回归,得回归方程:A =



A. 空白辅料破坏实验 HPLC 叠加图；B. 样品破坏实验 HPLC 叠加图。S1 为酸破坏；S2 为碱破坏；S3 为氧化破坏；S4 为高温破坏；S5 为光照破坏。

图 3　破坏实验 HPLC 叠加图

9 679.2*C*+9 451.6，*r*=0.999 2，结果表明在 7.17～35.83 μg/mL 范围内，硫酸天仙子胺线性关系良好。

（4）重复性实验。按“2.2.2”溶液的制备项下方法平行制备 6 份供试品溶液，测定峰面积，采用外标法计算。结果显示，本品平均含量为 17.65 μg/mL，相对标准偏差（relative standard deviation，*RSD*）（*n*=6）为 1.78%，说明该方法重复性良好。

（5）供试品溶液的稳定性考察。取供试品溶液，于室温条件下放置，分别于 0、2、4、8、20、24 h 定点精密量取 10 μL 进样，测定峰面积。硫酸天仙子胺测定结果 *RSD*（*n*=6）为 1.19%，说明供试品溶液在 24 h 内稳定。

（6）中间精密度实验。由 3 名不同的分析人员按“2.2.2”方法制备供试品溶液，各 2 份，另选不同仪器［LC-16 型 HPLC 仪，岛津仪器（苏州）有限公司］精密量取 10 μL 进样，记录色谱图。采用外标法计算。结果测定 *RSD*（*n*=6）为 1.61%，说明该方法中间精密度良好。

（7）加样回收率实验。精密量取已知含量的供试品溶液（批号 20241111，含量 17.65 μg/mL）1 mL，共 9 份，分别置于 5 mL 量瓶中，分别精密添加 3 个不同浓度的硫酸天仙子胺对照品溶液 1 mL（分别为 7.17、14.33、35.83 μg/mL）各 3 份，分别置上述量瓶中，摇匀，滤过，取续滤液进样，记录色谱图。硫酸天仙子胺平均回收率为 102.32%（*RSD*=1.21%）。结果表明，该实验回收率良好，准确度高。

（8）多批样品检测。取颠茄口服溶液样品 14 批，按“2.2.2”项下方法制备成供试品溶液，按外标法计算硫酸天仙子胺的含量。结果见表 1。

2.3　稳定性考察

2.3.1　加速实验：取三批样品，在温度为（40±2）℃、湿度（25±5）%的稳定性实验箱中放置 6 个月，于第 0、3、6 个月取样考察其性状、鉴别、微生物限度和硫酸天仙子胺含量。性状、鉴别、微生物限度结果均符合规定，见表 2。

表 1　样品含量测定实验结果（μg/mL，*n*=2）

批号	硫酸天仙子胺	批号	硫酸天仙子胺
20220209	13.09	20231123	14.79
20220630	14.17	20240325	12.72
20220920	15.78	20240709	13.72
20221025	13.69	20241111	17.65
20230712	15.64	20250102	13.92
20230713	16.02	20250103	16.08
20230714	16.90	20250104	15.80

注：*n*=2 表示每个批次配制了 2 份样品，表格中含量为平均值。

表 2　加速实验结果（*n*=2）

批号	时间/个月	性状	鉴别		微生物限度	硫酸天仙子胺含量/（μg/mL）
			理化鉴别	薄层鉴别		
20230712	0	符合规定	呈正反应	符合规定	符合规定	15.64
	3	符合规定	呈正反应	符合规定	符合规定	16.09
	6	符合规定	呈正反应	符合规定	符合规定	16.14
20230713	0	符合规定	呈正反应	符合规定	符合规定	16.02
	3	符合规定	呈正反应	符合规定	符合规定	16.87
	6	符合规定	呈正反应	符合规定	符合规定	16.74
20230714	0	符合规定	呈正反应	符合规定	符合规定	16.90
	3	符合规定	呈正反应	符合规定	符合规定	17.97
	6	符合规定	呈正反应	符合规定	符合规定	17.41

注：*n*=2 表示每个批次配制了 2 份样品，表格中含量为平均值。

2.3.2　长期实验：取三批样品，在温度为（30±2）℃、湿度（35±5）%的稳定性实验箱中放置 24 个月，于第 0、3、6、9、12、18、24 个月取样考察其性状、鉴别、微生物限度和硫酸天仙子胺含量。性状、鉴别、微生物限度结果均符合规定，见表 3。

表 3　长期实验结果（*n*=2）

批号	时间/个月	性状	鉴别		微生物限度	硫酸天仙子胺含量/（μg/mL）
			理化鉴别	薄层鉴别		
20230712	0	符合规定	呈正反应	符合规定	符合规定	15.64
	3	符合规定	呈正反应	符合规定	符合规定	16.69
	6	符合规定	呈正反应	符合规定	符合规定	15.84
	9	符合规定	呈正反应	符合规定	符合规定	15.79
	12	符合规定	呈正反应	符合规定	符合规定	15.70
	18	符合规定	呈正反应	符合规定	符合规定	15.45
	24	符合规定	呈正反应	符合规定	符合规定	15.79
20230713	0	符合规定	呈正反应	符合规定	符合规定	16.02
	3	符合规定	呈正反应	符合规定	符合规定	16.22
	6	符合规定	呈正反应	符合规定	符合规定	16.52
	9	符合规定	呈正反应	符合规定	符合规定	16.30
	12	符合规定	呈正反应	符合规定	符合规定	16.04
	18	符合规定	呈正反应	符合规定	符合规定	15.01
	24	符合规定	呈正反应	符合规定	符合规定	16.07
20230714	0	符合规定	呈正反应	符合规定	符合规定	16.90
	3	符合规定	呈正反应	符合规定	符合规定	17.51
	6	符合规定	呈正反应	符合规定	符合规定	17.27
	9	符合规定	呈正反应	符合规定	符合规定	17.40
	12	符合规定	呈正反应	符合规定	符合规定	17.13
	18	符合规定	呈正反应	符合规定	符合规定	16.07
	24	符合规定	呈正反应	符合规定	符合规定	16.48

注：*n*=2 表示每个批次配制了 2 份样品，表格中含量为平均值。

2.4　Minitab 21 软件数据分析

采用 Minitab 21 软件对长期 24 个月含量稳定性数据进行回归分析，将含量限度设置为 12.5～18.0 μg/mL，置信限设置为 95%确信至少 50%的响应在规格限内，合并批次 α=0.25，

得三批样品含量交互作用分析表和三批样品回归方程，结果见表 4—5。

表 4　三批样品含量交互作用分析

来源	自由度	*SS*	*MS*	*F*	*P*
月份	1	1.474 3	1.474 3	8.10	0.012
批次	2	4.219 6	2.109 8	11.59	0.001
月份×批次	2	0.064 5	0.032 3	0.18	0.839
误差	15	2.729 5	0.182 0		
合计	20	8.487 9			

表 5　三批样品回归方程

批次	回归方程
20230712	含量=16.352−0.032 8×月份
20230713	含量=16.374−0.033 8×月份
20230714	含量=17.314−0.033 8×月份

根据回归拟合曲线图可知，20230712、20230713 和 20230714 三批样品稳定期分别为 75.299、75.703 和 93.388，最短的有效期估计值为 75.299 个月，因此该制剂的总体有效期估计在 75 个月。见图 4。

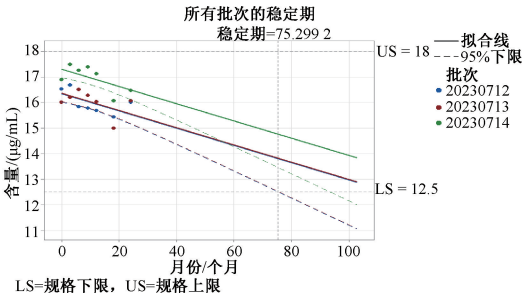
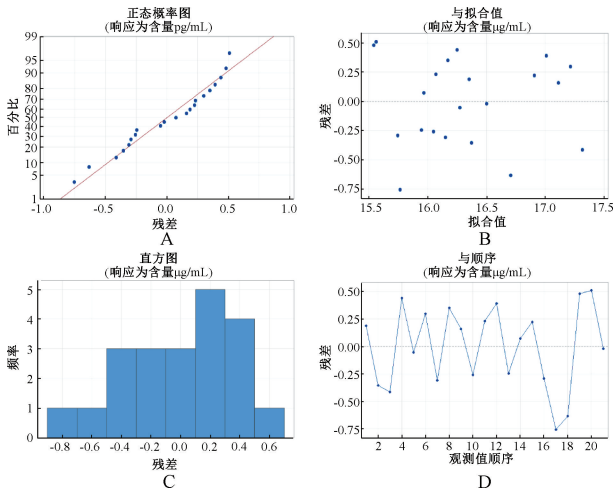


图 4　稳定性回归拟合曲线图

使用残差图进行符合分析假设条件判断，各批次含量的残差拟合值在 0 两端随机分布，各点均在−2～2 之间，未出现单个异常值，残差顺序图中残差围绕中心线随机分布，残差的正态概率图大致为一条直线，亦未出现异常值，表明各模型可以充分拟合数据。见图 5。



A. 含量残差正态概率图；B. 含量残差与拟合值图；C. 含量残差直方图；D. 含量残差与观测值顺序图。

图 5　三批样品含量残差图

3　讨论

3.1　色谱条件的选择

参考《中华人民共和国药典》[11] 中颠茄酊色谱条件，并通过耐用性考察了 InertSustain C_{18}、Agilent 5TC-C_{18} 和 Atlantis T3 柱 3 个不同品牌的色谱柱，3 个不同柱温（30、35、40 ℃），不同流动相比例［乙腈-离子对溶液（39∶61）、（40∶60）、（41∶59）*v*/*v*］、不同流速［（1±0.1）mL/min］，最终以耐用性最好的本实验条件为含量测定条件。

3.2　TLC 鉴别和 HPLC 含量测定指标确定

原质量标准采用专属性差的莨菪碱理化反应进行鉴别，本研究改为 TLC 法，不仅能对主要药效成分硫酸天仙子胺进行专属鉴别，还能同步检查硫酸阿托品的限度，从而有效杜绝其非法添加。原标准是控制硫酸阿托品的含量，目前《中华人民共和国药典》[11] 和文献[7-10] 中颠茄酊相关的制剂标准是以控制硫酸天仙子胺和东莨菪内酯的含量为主。《中华人民共和国药典》一部[11] 规定颠茄酊中东莨菪内酯的含量不得少于 8.0 μg/mL，配制成颠茄制剂后，其含量约为万分之四，含量极低，且颠茄酊原料已控制了东莨菪内酯的含量，故本实验暂选硫酸天仙子胺为含量测定的指标成分并根据药典中颠茄酊的限度推算本品中硫酸天仙子胺的限度，结合上述 14 批样品测定结果，暂规定含量范围 12.5～18.0 μg/mL 为本品的含量限度。本研究对颠茄口服溶液的鉴别和含量测定项进行了标准提升，虽然目前含量测定项仅控制硫酸天仙子胺单一成分的量，未来将进一步补充控制东莨菪内酯的含量，以更好监控本制剂的内在质量。

3.3　Minitab 21 软件数据分析

本研究稳定性数据分析参考 ICH Q1E（稳定性数据评价）指南[14] 与 USP <1010>（分析数据的解释与处理）[15] 药典通则要求，采用 Minitab 21 软件稳定性数据进行回归分析，从交互分析结果可知，“月份”和“批次”项 $P<0.05$，表明不同月份和不同批次间的变化差异有统计学意义，“月份×批次”项 $P>0.05$，表明不同批次随时间的变化差异无统计学意义。各批次回归方程表明，含量随月份的变化逐步降低，各批次的截距存在差异，20230712 批样品截距最小，说明该批次初始含量最低，各批次斜率均为−0.033 8，说明各批次每个月下降的含量基本一致。根据回归拟合曲线图可预测该制剂有效期，残差正态概率图显示建立的模型可充分拟合数据，稳定性数据分析结果准确可靠，使用残差图进行符合分析假设条件，判断各模型可以充分拟合数据。本研究不仅为制剂的有效期预测提供了依据，随着药品监管要求的提高，统计学工具在制药领域的应用日益重要，也为统计学方法在药品质量研究中的进一步应用提供了实践依据。

综上所述，本研究建立的方法操作简便、专属性强、重复性好、结果准确可靠，可用于颠茄口服溶液的质量控制。

参考文献

［1］　湖北省食品药品监督管理局. 湖北省医疗机构制剂规范［M］. 武汉：湖北科学技术出版社，2011：356-357.

（下转第 967 页）