



1996

Quantitative analysis of acetaminophen, ethoxybenzamide, piroxicam, hydrochlorothiazide, caffeine, chlorzoxazone and nicotinamide illegally adulterated in Chinese medicinal pills

Follow this and additional works at: <https://www.jfda-online.com/journal>

Recommended Citation

Tseng, M.-C.; Tsai, M.-J.; and Wen, K.-C. (1996) "Quantitative analysis of acetaminophen, ethoxybenzamide, piroxicam, hydrochlorothiazide, caffeine, chlorzoxazone and nicotinamide illegally adulterated in Chinese medicinal pills," *Journal of Food and Drug Analysis*: Vol. 4 : Iss. 1 , Article 4. Available at: <https://doi.org/10.38212/2224-6614.2999>

This Original Article is brought to you for free and open access by Journal of Food and Drug Analysis. It has been accepted for inclusion in Journal of Food and Drug Analysis by an authorized editor of Journal of Food and Drug Analysis.

一種固精補元氣中藥丸摻加 Acetaminophen, Piroxicam, Ethoxybenzamide, Hydrochlorothiazide, Chlorzoxazone, Caffeine 及 Nicotinamide 西藥成分之分析與定量研究

曾木全 蔡明哲 溫國慶

行政院衛生署藥物食品檢驗局

摘 要

來自某廟宇供應香客之固精補元氣中藥丸,經薄層層析法以氯仿:乙醇(9:1,v/v)及乙酸乙脂:甲醇:氨水(8:1:1, v/v)雙向垂直展開後,再以紫外光分光光度計篩檢檢出 acetaminophen, piroxicam, ethoxybenzamide, chlorzoxazone, hydrochlorothiazide, caffeine 及 nicotinamide 七種西藥成分。進一步以逆相高效液相層析法探討定量,採 Cosmosil 5C₁₈-AR 層析管柱(4.6 x 150 mm),移動相為 1%v/v triethylamine - 1%v/v phosphoric acid buffer(A), acetonitrile(B) 及 methanol(C) 三種溶媒系, A、B 及 C 以不同之混合比例作梯度沖提,最初 60 分鐘以 90:5:5 線性梯度轉變為 40:30:30 比例沖提,第 60~70 分鐘再線性梯度轉變回復成 90:5:5 比例沖提,以 fenbufen 為內部標準品,流速 1.0 ml/min,檢測波長 260nm,注入量 10 μ l。各檢測成分之檢量線,其線性關係($r=0.9997\sim 0.9999$)良好;其再現性之探討,採一固定已知濃度之混合標準品溶液進行同日內及異日間之測試,其同日內及異日間之相對標準偏差分別為在 0.6~3% 及 1.0~4.6% 之間,再現性尚可接受。

至於回收率分別為 acetaminophen 98.5~104.7%, piroxicam 99.5~104.2%, ethoxybenzamide 97.2~108.0%, hydrochlorothiazide 97.0~118.0%, caffeine 93.3~102.5%, chlorzoxazone 96.0~105.3% 及 nicotinamide 96.0~103.0%, 顯示準確性均良好。經定量結果每丸中各西藥成分之平均含量分別為 acetaminophen 78mg, piroxicam 16mg, ethoxybenzamide 30mg, hydrochlorothiazide 4mg, caffeine 30mg, chlorzoxazone 41mg 及 nicotinamide 16mg。

關鍵詞：中藥摻加西藥檢驗，薄層層析法，高效液相層析法，acetaminophen, piroxicam, ethoxybenzamide, chlorzoxazone, caffeine, hydrochlorothiazide, nicotinamide。

前 言

中藥或民間藥均採天然物直接或經炮製後供藥用，除少數劇毒性藥物外，一般有效成分含量均較同類作用成分之西藥為低，故一般人認為中藥作用緩和，甚至無副作用，所以有部份

人喜用中草藥。另因目前西醫西藥尚無法治癒者，而常求助秘方、偏方等，然有少數不肖業者，於中藥中摻加西藥，患者在不知情之情況下服用，常會導致不良之影響或副作用，故中藥製劑摻加西藥檢驗向為本局重點工作，近年來亦常進行市售中藥製劑及中醫診所、中藥房、國術

館等調劑販售中藥之調查⁽¹⁻⁵⁾。亦接受各衛生機關、檢警情治司法機關之檢體,為因應龐大之檢體數量,常採薄層層析法及紫外光分光吸光度法⁽⁶⁾進行篩檢後,再加以確認。

中藥摻加西藥在台灣地區均未被允許,故檢驗只限於定性,但為進一步了解其摻加西藥之含量是否超過一般劑量,近年來本局曾就所送數件檢體予以測定^(7,8),本試驗之檢體經篩檢出七種西藥成分,成分甚多,為進一步確認,使用附光二極體陣列檢出器之高效液相層析儀,探討適宜之分離條件,確認其各波峰是否均為單一成分,並加以定量。本試驗條件係參考A.C. Moffat等人⁽⁹⁾所編對感冒糖漿分析acetaminophen, dl-methylephedrine, caffeine及chlorpheniramine之方法,移動相改以梯度沖提,探討分析此中藥檢體。

材料與方法

一、檢體來源

苗栗縣衛生局會同警方於八十一年八月間查獲某廟宇免費供應香客宣稱固精補元氣之中藥丸二十粒。

二、標準品及試藥

本實驗使用之 acetaminophen, caffeine, chlorzoxazone, fenbufen, hydrochlorothiazide及 piroxicam 對照標準品,購自Sigma公司(St.Louis,USA), ethoxybenzamide對照標準品,

購自Nacalai公司(Kyoto, Japan),nicotinamide (USP reference standard)。乙腈、甲醇均採LC級購自Labscan公司(Dublin, Ireland), 氯仿採LC級購自ALPS公司(台灣新竹), 85%磷酸購自林純藥 (Osaka, Japan), 三乙基胺(triethylamine)購自Merck公司(Frankfurter, Germany)均為特級試藥。

三、儀器及裝置

索氏抽提器(Soxhlet extractor)、減壓濃縮裝置(BÜCHI Rotavapor EL130 with BÜCHI 168 Vacuum/Distillation Controller)、薄層層析分析使用之層析板為 Silica gel 60 F₂₅₄ 厚度2mm,定量分析所使用之高效液相層析儀為Waters 600E系統控制器、Shimadzu SIL-9A自動注射系統附 Waters 486 Tunable紫外線檢出器及訊華實驗數據處理系統。分析使用條件如下:層析管柱為 Cosmosil packed column(5C₁₈-AR,4.6 x 150mm),移動相為A溶媒:1% v/v三乙基胺與1% v/v磷酸溶於水之緩衝溶液, B溶媒:乙腈, C溶媒:甲醇,採梯度沖提法, A.B與C三者之比例,最初60分鐘以 90:5:5 線性梯度轉變成 40:30:30 比例沖提,第 60~70分鐘再線性梯度轉變回復成 90:5:5 比例沖提,流速每分鐘1.0ml,注入量 10 μl,檢測波長 260 nm。

四、實驗操作

(一)摻加西藥成分之篩檢

取十丸稱量之,求每丸之平均重量,將中藥丸剪碎後,稱取約5公克之檢體,依文獻⁽⁶⁾所載

Concentrations of standards and internal standard in four calibrators

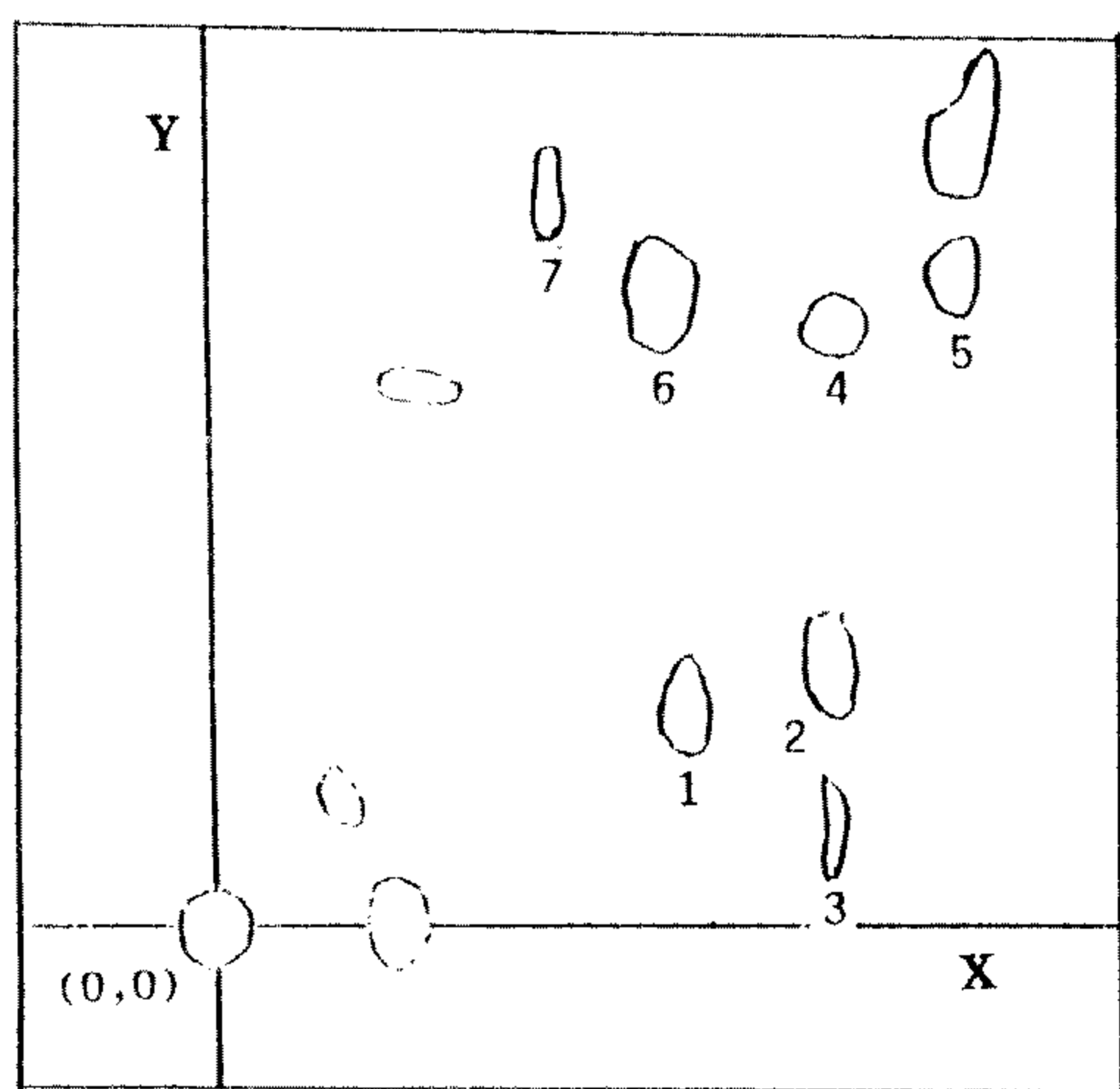
Reference standard	std-1 (μg/ml)	std-2 (μg/ml)	std-3 (μg/ml)	std-4 (μg/ml)
nicotinamide	5	10	15	20
acetaminophen	15	30	45	60
hydrochlorothiazide	1	2	3	4
caffeine	10	20	30	40
ethoxybenzamide	5	10	15	20
chlorzoxazone	10	20	30	40
piroxicam	5	10	15	20
fenbufen	20	20	20	20

方法,其溶媒系分別為氯仿:乙醇(9:1, v/v)及乙酸乙脂:甲醇:氨水(8:1:1, v/v)以垂直雙向展開法分離後,以紫外燈254nm檢視,標識出疑似西藥成分之斑點,經刮下各斑點之矽膠層,以乙醇溶解,超音波振盪十分鐘,於3000rpm下離心十分鐘,上澄液以紫外光分光光度計測其紫外光吸收圖譜,並與各西藥對照標準品比對。

(二)定量

1.檢體之萃取

精確稱取上述剪碎混勻之1.0 g檢體,置於索氏抽提器中,加入氯仿:甲醇(1:1)混液,於水浴上迴流充分抽提,萃取液置於減壓



Synthetic drug	R f value	
	X—axis	Y—axis
1.nicotinamide	0.53	0.26
2.acetaminophen	0.69	0.31
3.hydrochlorothiazide	0.69	0.11
4.caffeine	0.70	0.66
5.ethoxybenzamide	0.81	0.74
6.chlorzoxazone	0.50	0.74
7.piroxicam	0.38	0.85

X axis—chloroform : ethanol (9:1, v/v)

Y axis—ethylacetate : methanol : ammonia water (8:1:1, v/v)

Figure 1. Two-dimensional TLC chromatogram and Rf values of synthetic drugs adulterated in the pills.

濃縮裝置中餾去溶媒,殘留物以甲醇溶解,復以甲醇10ml洗滌二次,合併溶液及洗液,以甲醇定容成50ml。精確量取此液 5.0ml,加入 1.0ml,濃度為 1.0mg/ml 之fenbufen 內部標準品溶液,再以甲醇定容至50ml供作檢品溶液。

2.標準品溶液及檢量線製作

精確稱取 nicotinamide, acetaminophen, hydrochlorothiazide, caffeine, ethoxybenzamide, chlorzoxazone及piroxicam之對照標準品適量,加甲醇稀釋成如下表所示之系列濃度,並使 fenbufen內部標準之濃度成為20µg/ml。

取上述配製系列標準品溶液,依上述高效液相層析條件分析,以各標準品與內部標準品波峰積分面積之比值為Y軸,標準品溶液濃度為X軸作圖求出各西藥成分檢量線線性回歸方程式及相關係數。

3.同日內與異日間試驗之評估

精確配製nicotinamide 10.0µg/ml, acetaminophen 20.0µg/ml, hydrochlorothiazide 2.0µg/ml, caffeine 20.0µg/ml, ethoxybenzamide 10.0µg/ml, chlorzoxazone 20.0µg/ml, piroxicam 10µg/ml及fenbufen20.0µg/ml等混合標準品溶液,再依上述高效液相層析條件,於同日內作五次分析,復於連續之五日,每日作一次分析,

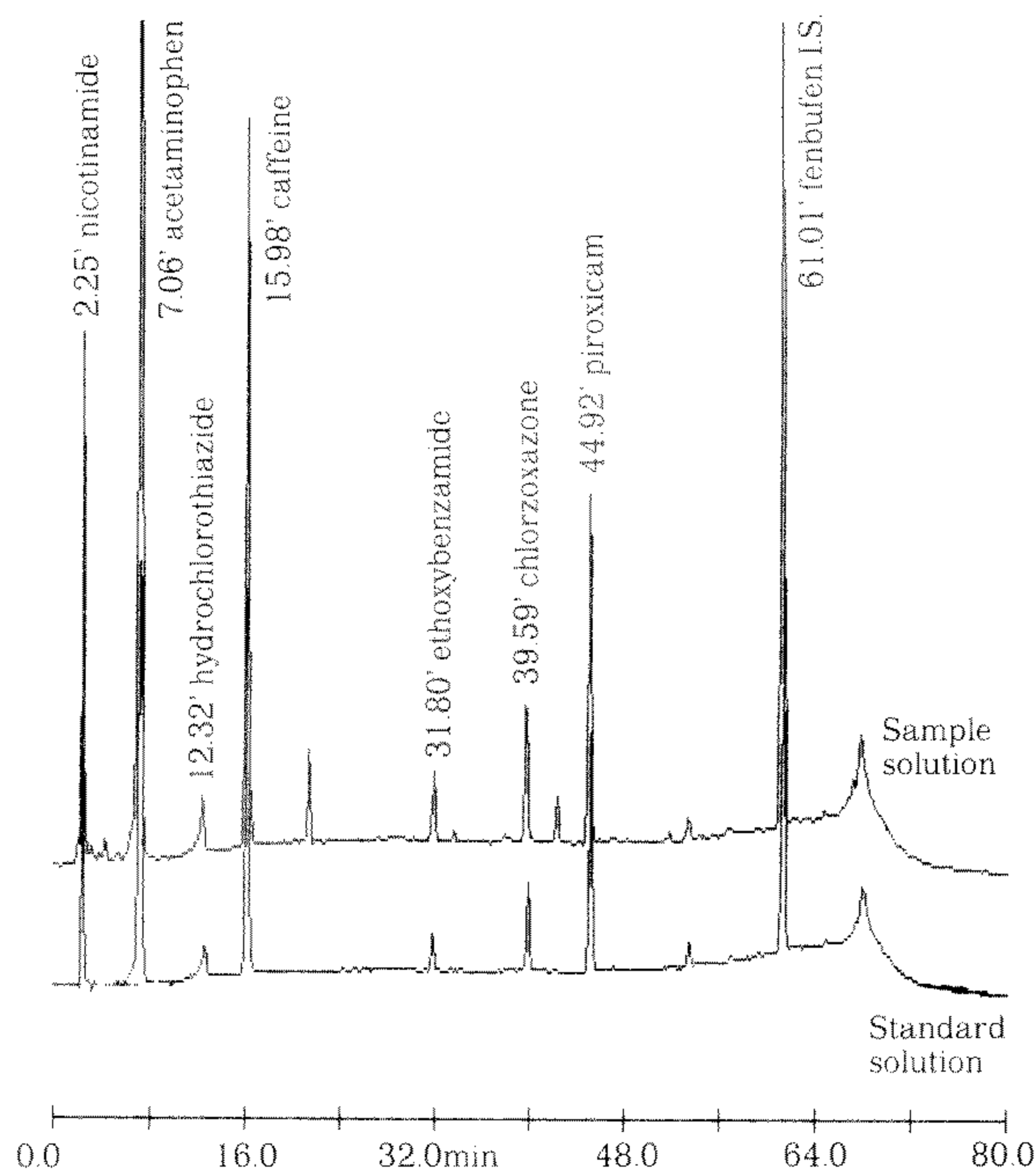


Figure 2. Chromatograms of mixed standards and sample solution.

Table 1. The linear equations and correlation coefficients of the calibration curves

Reference standard	Linear regression($Y = m * X + b$)		r: Correlation coefficient
	m	b	r
nicotinamide	20.47066	-0.154777	0.9997
acetaminophen	18.55433	3.141257E-02	0.9999
hydrochlorothiazide	27.32583	-1.118103E-02	0.9997
caffeine	25.41867	-2.380947E-02	0.9999
ethoxybenzamide	175.78790	-0.1007753	0.9999
chlorzoxazone	140.34840	6.210836E-02	0.9999
piroxicam	26.02628	6.472944E-02	0.9999

Table 2. Intraday and interday analyses of seven synthetic drugs

Reference standard	Concentration ($\mu\text{g/ml}$)	Mean \pm S.D.	(R.S.D.%)*
		intraday	interday
nicotinamide	10	10.1736 \pm 0.1831 (1.80%)	10.0712 \pm 0.1934 (1.92%)
acetaminophen	20	18.5969 \pm 0.1116 (0.60%)	18.9958 \pm 0.3609 (1.90%)
hydrochlorothiazide	2	1.8442 \pm 0.0546 (2.96%)	1.8716 \pm 0.0548 (2.93%)
caffeine	20	18.4022 \pm 0.1785 (0.97%)	18.3590 \pm 0.8353 (4.55%)
ethoxybenzamide	10	9.7961 \pm 0.2449 (2.50%)	9.8312 \pm 0.1947 (1.98%)
chlorzoxazone	20	19.2197 \pm 0.2806 (1.46%)	20.1179 \pm 0.3943 (1.96%)
piroxicam	10	9.2280 \pm 0.0646 (0.70%)	9.3087 \pm 0.1033 (1.11%)

* n=5

求其相對標準偏差。

4. 添加回收試驗

為測定三種不同含量之回收試驗，精確稱取三份各1.0公克之檢體，分別置於三套索氏抽提器中，並分別加入5.0, 10.0及15.0ml之添加回收試驗用之混合標準品溶液，該混合標準品溶液分別含nicotinamide 250 $\mu\text{g/ml}$, aceta-

minophen 750 $\mu\text{g/ml}$, hydrochlorothiazide 50 $\mu\text{g/ml}$, caffeine 500 $\mu\text{g/ml}$, ethoxybenzamide 250 $\mu\text{g/ml}$, chlorzoxazone 500 $\mu\text{g/ml}$ 及 piroxicam 250 $\mu\text{g/ml}$ 。並依(二)-1之檢品溶液配製操作及上述高效液相層析條件分析，各不同添加量作三重複分析，再依據檢量線求出各成分之濃度，並予計算各成分之添加回收率。

Table 3. Recoveries of seven synthetic drugs from pills

Reference standard	Added $\mu\text{g/ml}$	Found $\mu\text{g/ml}$	Relative recovery(%)	Mean \pm S.D.*	R.S.D. (%)
nicotinamide	2.5	2.58	103.2	100.3 \pm 3.8	3.78
	5.0	4.80	96.0		
	7.5	7.63	101.7		
acetaminophen	7.5	7.46	99.5	100.9 \pm 3.3	3.29
	15.0	14.77	98.5		
	22.5	23.55	104.7		
hydrochloro-thiazide	0.5	0.59	118.0	109.0 \pm 10.8	9.92
	1.0	0.97	97.0		
	1.5	1.68	112.0		
caffeine	5.0	4.67	93.4	98.1 \pm 4.6	4.62
	10.0	9.83	98.3		
	15.0	15.37	102.5		
ethoxybenzamide	2.5	2.43	97.2	102.4 \pm 5.4	5.28
	5.0	5.10	102.0		
	7.5	8.10	108.0		
chlorzoxazone	5.0	4.80	96.0	100.1 \pm 4.7	4.74
	10.0	9.90	99.0		
	15.0	15.80	105.3		
piroxicam	2.5	2.56	102.4	102.0 \pm 2.4	2.32
	5.0	5.21	104.2		
	7.5	7.46	99.5		

* n=3

Table 4. The contents of seven synthetic drugs adulterated in the pills

Drug found	Assayed amount(mg/pill)			Mean \pm S.D.*	R.S.D. (%)
	test-1	test-2	test-3		
Nicotinamide	15.89	16.18	16.09	16.05 \pm 0.15	0.92
Acetaminophen	77.59	78.70	78.96	78.42 \pm 0.73	0.92
Hydrochlorothiazide	4.10	4.16	4.47	4.24 \pm 0.20	4.67
Caffeine	29.85	30.93	29.55	30.11 \pm 0.73	2.41
Ethoxybenzamide	30.28	29.09	28.99	29.57 \pm 0.65	2.21
Chlorzoxazone	41.73	39.69	41.75	41.06 \pm 1.18	2.88
Piroxicam	15.73	16.03	16.04	15.93 \pm 0.18	1.10

* n=3

結果與討論

一、摻加西藥成分之篩檢

原本聲稱固精、補元氣之中藥檢體，經薄層析法以兩種溶媒系做 X Y 軸垂直雙向展開，其圖譜如 Fig.1 所示，檢出之七種成分 nicotinamide, acetaminophen, hydrochlorothiazide, caffeine, ethoxybenzamide, piroxicam, chlorzoxazone; 其 X 軸、Y 軸之 Rf 值依序分別為 0.53, 0.69, 0.69, 0.70, 0.81, 0.38, 0.50 及 0.26, 0.31, 0.11, 0.66, 0.74, 0.85, 0.74 ; 另各成分經紫外光分光光度計測得之圖譜與各成分標準品之圖譜一致。

二、西藥成分之定量

(一) 檢出西藥成分之確認

本試驗係依 A.C. Moffat⁽⁹⁾ 等所載之高效液相層析條件，並經修改後，有效地分離出七種西藥成分及內部標準品，其各成分標準品溶液及檢體之高效液相層析圖譜如 Fig.2 所示，均無干擾。

(二) 檢量線

以各標準品與內部標準品之波峰面積比換算其濃度，作成檢量線其線性回歸方程式及相關係數如 Table 1 所示，均在 0.9997 以上，顯示良好之線性關係。

(三) 同日內與異日間試驗

七種西藥成分之同日內與異日間試驗之結果如 Table 2 所示，同日內相對標準偏差介於 0.6%~3.0% 之間，異日間相對標準偏差則介於 1.1%~4.6% 之間，由於一次同時定量七種西藥成分且分析滯留時間長達 70 分，所分析各西藥成分劑量及對檢測器紫外光吸收度差異性極大之情況下，上述所得相對標準偏差值應尚可被接受。

(四) 添加回收率試驗

各西藥成分之添加回收率試驗結果如 Table 3 所示，除 hydrochlorothiazide 外，其餘六種成分添加回收率均接近 100%，hydrochlorothiazide 之相對標準偏差稍大為 9.9%，可能因 hydrochlorothiazide 之添加量較少所致。

(五) 各西藥成分之含量

由檢量線求得壹丸中各西藥成分之含量，取三次之平均值，其每丸含量分別為 acetaminophen 78mg, piroxicam 16mg, ethoxybenzamide 30mg, chlorzoxazone 41mg, hydrochlorothiazide 4mg, caffeine 30mg 及 nicotinamide 16mg (Table 4)，檢出相對標準偏差介於 0.9%~4.7% 之間。

三、檢出之西藥成分與聲稱療效及劑量探討

本送驗檢體稱係用於固精補元氣，但並未檢出男性賀爾蒙類成分，卻檢出與該療效無關之二種解熱、鎮痛成分 acetaminophen, ethoxybenzamide, 非類固醇類抗炎劑 piroxicam, 中樞精神興奮劑 caffeine, 骨骼肌鬆弛劑 chlorzoxazone, 利尿降壓劑 hydrochlorothiazide, 由其聲稱之療效與檢出之不同效能七種成分，可見摻加者之濫用。另觀檢出之成分，雖只有 piroxicam 之添加量與一般劑量 10~20mg 相當外，其餘均低於一般劑量甚多，其是否確為添加未達一般西藥使用劑量抑或混合不均所致亦不得而知。

參考文獻

1. 劉宜祝，鄭守訓，謝伯舟，徐廷光，莊清堯. 1988. 台灣地區中醫診所及中藥房調製中藥製劑羈加西藥成分之調查報告第二報，藥物食品檢驗局調查研究年報. 6: 146~149.
2. 劉宜祝，徐廷光，莊清堯. 1988. 七十五年度台灣地區市售風濕鎮痛類中藥製劑羈加西藥成分之調查研究，藥物食品檢驗局調查研究年報. 6: 150~151.
3. 劉宜祝，徐廷光，孫慈悌. 1989. 七十六年度市售風濕鎮痛類中藥製劑羈加西藥成分之調查，藥物食品檢驗局調查研究年報. 7: 197~199.
4. 楊美華，方燕嬌，徐廷光，張伯林. 1991. 七十八年度台灣地區中醫診所及中藥房調製風濕鎮痛類中藥製劑羈加西藥成分之調查，藥物食品檢驗局調查研究年報. 9: 48~53.
5. 曾木全，李珮瑜，周秀冠等八人. 1992. 八十年度台灣地區國術館販售風濕鎮痛類中藥製劑羈加西藥成分之調查研究，藥物食品檢驗局調查研究年報. 10: 42~46.
6. 劉宜祝，林哲輝. 1991. 中藥檢驗方法專輯 (四) — 中藥製劑羈加西藥之檢驗. pp.1~36. 行政院衛生署藥物食品檢驗局.
7. 顧祐瑞，蔡明哲，溫國慶. 1995. 利用高效液相層析法篩檢中藥製劑中摻加風濕鎮痛類西

- 藥成分，藥物食品分析. 3(1): 51~56. 行政院衛生署藥物食品檢驗局.
- 8.顧祐瑞，蔡明哲，溫國慶. 1995.中藥摻加 sulfamethoxazole之定量探討，藥物食品分析，3(1): 115~120, 行政院衛生署藥物食品檢驗局.
- 9.Moffat, A.C., Jackson,J.V., Moss, M.S and Widdop, B. 1986. Clarke's Isolation and Identification of Drugs. Second Edition. pp.160-220, The Pharmaceutical Society of Great Britain.

Quantitative Analysis of Acetaminophen, Ethoxybenzamide, Piroxicam, Hydrochlorothiazide, Caffeine, Chlorzoxazone and Nicotinamide Illegally Adulterated in Chinese Medicinal Pills

MU-CHANG TSENG, MINE-JER TSAI AND KUO-CHING WEN

National Laboratories of Foods and Drugs. Department of Health, Executive Yuan

ABSTRACT

A traditional Chinese medicine, which was supplied as pills by a temple and used as Ch'i tonic, was obtained for testing the illegal adulteration with chemical drugs. In the qualitative analysis, two-dimensional TLC, with chloroform:ethanol(9:1,v/v) and ethyl acetate:methanol: ammonia water(8:1:1,v/v) as the solvent systems, established the presence of acetaminophen, piroxicam, hydrochlorothiazide, caffeine, ethoxybenzamide, chlorzoxazone and nicotinamide in the pills. In quantitative analysis, a reversed-phase HPLC method has been established for simultaneous determination of the seven chemical drugs. The analysis of the sam-

ple extract was performed on a Cosmosil 5C₁₈-AR column(4.6 x 150mm) by a linear gradient elution with 1%triethylamine--1% phosphoric acid buffer, acetonitrile and methanol(0 min, 90:5:5; 60min, 40:30:30; 70min,90:5:5) as the mobile phase at 1ml/min and with fenbufen as an internal standard. The monitor was set at 260nm. System suitability tests showed that the established method was quite suitable for the determination of the adulterants in pills. By using this method, 78mg of acetaminophen, 16mg of piroxicam, 30mg of caffeine, 30mg of ethoxybenzamide, 41mg of chlorzoxazone, 4mg of hydrochlorothiazide and 16mg of nicotinamide, were found in each pill of the sample.

Key words: Traditional Chinese medicine, HPLC, TLC, acetaminophen, piroxicam, ethoxybenzamide, chlorzoxazone, caffeine, hydrochlorothiazide, nicotinamide.