

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2020.13.020

高效液相色谱法测定止喘灵注射液中盐酸麻黄碱、 丁溴东莨菪碱和苦杏仁苷含量

崔雅慧, 金志国

(首都医科大学附属北京世纪坛医院药剂科, 北京 100038)

摘要:目的 建立测定止喘灵注射液中盐酸麻黄碱、丁溴东莨菪碱和苦杏仁苷成分含量的高效液相色谱法。方法 色谱柱为 Waters Sunfire C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm), 柱温为 28℃, 流速为 1.0 mL/min, 流动相为乙腈(A)-0.1% 磷酸溶液(B, 含 0.05% 三乙胺和 0.02% 十二烷基苯磺酸钠, 磷酸调节 pH 至 6.0), 梯度洗脱, 洗脱程序为 0~7 min 时 3% A, 7~26 min 时 3% A~58% A, 26~29 min 时 58% A~3% A, 29~34 min 时 3% A, 检测波长为 210 nm, 进样量为 20 μL。结果 盐酸麻黄碱、丁溴东莨菪碱和苦杏仁苷质量浓度均在 0.3~10.0 μg/mL 范围内与峰面积线性关系良好; 平均加样回收率分别为 100.66%, 99.19%, 98.71%, RSD 分别为 2.58%, 2.11%, 2.25% (n=6)。结论 该方法操作简单、准确可靠、重复性好, 可用于止喘灵注射液中盐酸麻黄碱、东莨菪碱和苦杏仁苷的含量测定。

关键词: 高效液相色谱法; 止喘灵注射液; 盐酸麻黄碱; 丁溴东莨菪碱; 苦杏仁苷; 含量测定

中图分类号: R932; R284.1; R286.0

文献标识码: A

文章编号: 1006-4931(2020)13-0071-03

Content Determination of Ephedrinehydrochloride, Scopolamine Butylbromide and Amygdalin in Zhikeling Injection by HPLC

CUI Yahui, JIN Zhiguo

(Department of Pharmacy, Beijing Shijitan Hospital, Capital Medical University, Beijing, China 100038)

Abstract: Objective To establish a high performance liquid chromatography(HPLC) method for the determination of ephedrinehydrochloride, scopolamine butylbromide and amygdalin in Zhikeling Injection. **Methods** Waters sunfire C₁₈ column(250 mm×4.6 mm, 5 μm) was used for analytical column with temperature settled at 28℃; the flow rate was 1.0 mL/min; the mobile phase was acetonitrile(A)-0.1% phosphoric acid solution(B, containing 0.05% triethylamine and 0.02% sodium dodecylbenzene sulfonate, phosphoric acid adjust pH to 6.0). Gradient elution procedure was 0-7 min 3% A, 7-26 min 3% A-58% A, 26-29 min 58% A-3% A, 29-34 min 3% A. detection wavelength was set at 210 nm and sample size was 20 μL. **Results** The 3 components showed good linear relationships in concentration range of 0.3-10.0 μg/mL. The average recoveries of ephedrinehydrochloride, scopolamine butylbromide and amygdalin were 100.66%, 99.19% and 98.71%, respectively, the RSDs were 2.58%, 2.11%, 2.25% (n=6), respectively. **Conclusion** The method is simple of operation, accurate and reliable, and can be used for the determination of ephedrinehydrochloride, scopolamine butylbromide and amygdalin in Zhikeling Injection.

Key words: high performance liquid chromatography; Zhikeling Injection; ephedrinehydrochloride; scopolamine butylbromide; amygdalin; content determination

目前,止喘灵注射液在我国临床应用广泛,加强对其质量控制对于保障患者的用药安全,具有重要意义^[1]。止喘灵注射液是由麻黄、洋金花、苦杏仁和连翘4味药材经煎煮、过滤、浓缩、沉淀、杀菌等工艺加工而成的中药注射剂^[2],具有宣肺平喘、祛痰止咳的功效,临床常用于治疗痰浊阻肺、肺失宣降所致的哮喘、咳嗽、胸闷、痰多等症,对支气管哮喘、喘息性支气管炎效果明显^[3-4]。方中麻黄有发汗散寒、宣肺平喘、利水消肿等功效^[5-8],洋金花有平喘止咳、解痉定痛等功效^[9-13],苦杏仁有降气止咳平喘、润肠通便等功效^[14-17]。2015年版《中国药典(一部)》中,止喘灵注射液含量测定项不能更好地控制该产品的质量。该药方中麻黄为君药,洋金花为臣药,苦杏仁为佐药,连翘为使药,麻黄、洋金花和苦杏仁3味药

材成分最大,吸收波长接近。因此,本研究中建立了测定止喘灵注射液中盐酸麻黄碱、东莨菪碱和苦杏仁苷含量的高效液相色谱(HPLC)法。现报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Shimadzu Prominence LC-20A 型高效液相色谱仪,包括 SPD-M20A 型 PDA 检测器、SIL-20A 型自动进样器、CTO-20A 型自动柱温箱、LC-Solution 型色谱工作站(日本岛津公司);Quintix65-1CN 型电子天平(德国赛多利斯公司,精度为十万分之一);Waters Sunfire C₁₈ 色谱柱(美国沃特世公司);FRQ-1006T 型超声波仪(杭州法兰特科技公司,功率为 300 W,频率为 42 kHz);Milli-Q advantage A10 型超纯水系统(美国密理博公司)。

第一作者:崔雅慧,女,大学本科,初级药师,主要从事静脉用药调配工作,(电子信箱)qieshu0636393969@163.com。

1.2 试药

止喘灵注射液(江苏苏中药业有限公司,批号分别为19030212,19040415,19050311,规格为每支2 mL);盐酸麻黄碱对照品(批号为171241-201809,含量以100.0%计),丁溴东莨菪碱对照品(批号为100130-201103,含量以99.7%计),苦杏仁苷对照品(批号为110820-201808,含量以88.2%计),均购于中国食品药品检定研究院;甲醇、乙腈均为色谱纯(Tedia试剂公司);磷酸、三乙胺、十二烷基苯磺酸钠均为分析纯(国药集团);试验用水为超纯水,其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:Waters Sunfire C₁₈柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm);流速:1.0 mL/min;流动相:乙腈(A)-0.1%磷酸溶液(B,含0.05%三乙胺和0.02%十二烷基苯磺酸钠,磷酸调节pH至6.0),梯度洗脱,洗脱程序为0~7 min时3% A,7~26 min时3% A~58% A,26~29 min时58% A~3% A,29~34 min时3% A;检测波长:210 nm;柱温:28℃;进样量:20 μL。

2.2 溶液制备

取盐酸麻黄碱对照品25.00 mg、丁溴东莨菪碱对照品25.07 mg、苦杏仁苷对照品28.34 mg,精密称定,置25 mL容量瓶中,加流动相溶解并定容至刻度,摇匀,即得对照品混合贮备溶液,精密移取该贮备溶液1.0 mL,置50 mL容量瓶中,加流动相溶解并定容至刻度,摇匀,即得对照品溶液。取样品(批号为19030212),精密量取1.0 mL,置25 mL容量瓶中,加流动相溶解并定容至刻度,摇匀,用0.45 μm滤膜滤过,弃去初滤液,取续滤液,即得供试品溶液。按处方比例和制备工艺制备缺麻黄、洋金花和苦杏仁的阴性样品,按供试品溶液制备方法制备阴性对照品溶液。

2.3 方法学考察

专属性试验:取试剂空白溶液及2.2项下3种溶液,按拟订色谱条件进样分析。色谱图见图1。可见,阴性对照品溶液色谱中,在与对照品溶液色谱相同保留时间处无干扰峰,表明方法专属性良好。

线性关系考察:精密移取2.2项下对照品混合贮备溶液,加流动相制成含盐酸麻黄碱、苦杏仁苷和丁溴东莨菪碱质量浓度依次为0.3,0.6,1.0,3.0,6.0,10.0 μg/mL的标准曲线溶液,按拟订色谱条件依次进样分析,记录色谱图。以质量浓度(X)为横坐标、峰面积(Y)为纵坐标进行线性回归,绘制标准曲线。结果3种成分质量浓度均在0.3~10.0 μg/mL范围内与峰面积线性关系良好。详见表1。

表1 各成分线性关系考察结果(n=6)

成分	曲线方程	相关系数(r^2)	质量浓度范围(μg/mL)
盐酸麻黄碱	$Y = 571.702X + 178.348$	0.9985	0.3~10.0
苦杏仁苷	$Y = 157.515X + 84.7290$	0.9984	0.3~10.0
丁溴东莨菪碱	$Y = 116.682X + 181.495$	0.9990	0.3~10.0

稳定性试验:取样品(批号为19030212),依法制备供试品溶液,室温下放置0,3,6,9,12,18,24 h时分别取样,按拟订色谱条件分别进样分析,记录色谱图,根据峰面积计算RSD。结果盐酸麻黄碱、丁溴东莨菪碱和苦杏仁苷峰面积的RSD分别为2.34%,1.91%,1.47%(n=7),表明供试品溶液在24 h内稳定。

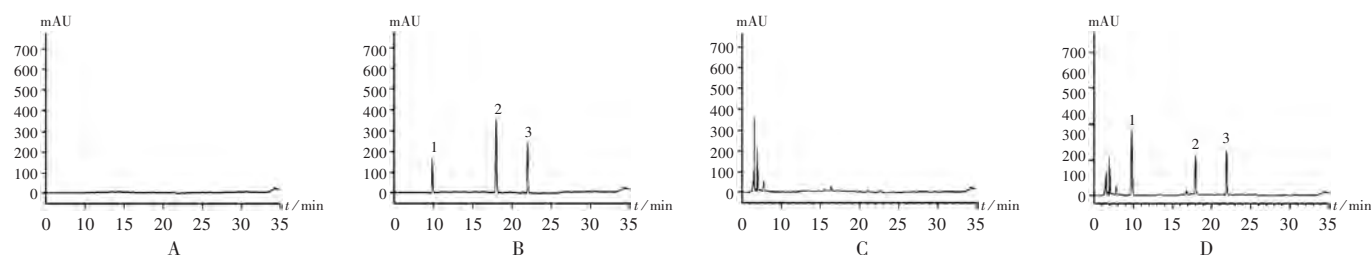
重复性试验:取样品(批号为19030212),依法制备供试品溶液,按拟订色谱条件进样分析。结果盐酸麻黄碱、丁溴东莨菪碱和苦杏仁苷含量的RSD分别为2.92%,3.56%,4.09%(n=6),表明方法重复性良好。

精密度试验:取2.2项下对照品溶液适量,按拟订色谱条件连续进样6次,记录色谱图。结果盐酸麻黄碱、丁溴东莨菪碱和苦杏仁苷峰面积的RSD分别为1.58%,2.02%,1.43%(n=6),表明仪器精密度良好。

加样回收试验:取已知含量的样品(批号为19030212),精密量取1.0 mL,置25 mL容量瓶中,共6份,分别加入2.2项下对照品混合贮备溶液适量,依法制备供试品溶液。按拟订色谱条件分别进样分析,计算加样回收率。结果见表2。

2.4 样品含量测定

取3批样品(批号分别为19030212,19040415,19050311),依法制备供试品溶液,按拟订色谱条件进样分析,记录色谱图,根据峰面积计算含量。结果见表3。



1. 盐酸麻黄碱 2. 苦杏仁苷 3. 丁溴东莨菪碱

A. 空白试剂溶液 B. 对照品溶液 C. 阴性对照品溶液 D. 供试品溶液

图1 高效液相色谱图

表2 加样回收试验结果($n=6$)

成分	样品含量(μg)	加入量(μg)	测得量(μg)	回收率(%)	$\bar{X}$ (%)	RSD(%)
盐酸麻黄碱	451.314	400	863.411	103.02	100.66	2.58
	446.172	400	841.264	98.77		
	453.324	400	869.153	103.96		
	448.716	400	838.243	97.38		
	449.196	400	846.122	99.23		
	452.778	400	859.283	101.63		
苦杏仁苷	62.169	50	113.022	101.71	99.19	2.11
	61.448	50	110.851	98.81		
	60.567	50	108.917	96.70		
	63.371	50	113.246	99.75		
	61.527	50	112.112	101.17		
	60.779	50	109.268	96.98		
丁溴东莨菪碱	43.251	40	82.733	98.71	98.71	2.25
	40.242	40	81.357	102.79		
	42.267	40	81.284	97.54		
	41.473	40	80.561	97.72		
	44.211	40	82.756	96.36		
	42.985	40	82.628	99.11		

表3 3批样品含量测定结果(mg/L)

批号	盐酸麻黄碱	苦杏仁苷	丁溴东莨菪碱
19030212	452.128	63.199	42.747
19040415	427.769	67.558	44.826
19050311	449.485	61.994	50.371

3 讨论

3.1 检测波长选择

分别取盐酸麻黄碱、苦杏仁苷和丁溴东莨菪碱对照品,加流动相制备溶液,在紫外可见区进行全波段扫描,结果盐酸麻黄碱、苦杏仁苷和丁溴东莨菪碱分别在210,208,214 nm波长处有最大吸收,3种待测成分最大吸收波长相近。结合紫外响应值大小,最终确定210 nm作为检测波长。结果表明,选择210 nm作为检测波长时,3种成分响应较好,峰形尖锐,且阴性无干扰。

3.2 流动相选择

由于盐酸麻黄碱、苦杏仁苷和丁溴东莨菪碱3种成分检测波长均在210 nm附近,考虑到甲醇截止波长在210 nm,为降低溶剂基质干扰,故选择乙腈体系。本研究中考察了乙腈-水、乙腈-0.1%磷酸水溶液、乙腈-0.1%磷酸溶液(含0.05%三乙胺和0.02%十二烷基苯磺酸钠,磷酸调节pH至6.0)作为流动相体系时,对3种成分分离、定量效果的影响,结果选择乙腈-水、乙腈-0.1%磷酸水溶液作为流动相体系时,盐酸麻黄碱和丁溴东莨菪碱保留时间短,过早地出峰导致定量不准确;选择乙腈-0.1%磷酸溶液(含0.05%三乙胺和

0.02%十二烷基苯磺酸钠,磷酸调节pH至6.0)体系时,3种成分峰形尖锐,分离度均大于1.5,且定量结果准确,故最终选择第3种乙腈体系作为流动相体系。

3.3 方法评价

本研究中所建立的方法操作简单、准确可靠、重复性好,可用于止喘灵注射液中盐酸麻黄碱、东莨菪碱和苦杏仁苷成分的含量测定。

参考文献:

- [1] 赵亚佩. 止喘灵注射液佐治儿童喘息性支气管炎136例疗效观察[J]. 中国煤炭工业医学杂志,2010,13(1):60-61.
- [2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京:中国医药科技出版社,2015:627-628.
- [3] 张利云,刘利利,王伟. 止喘灵注射液雾化治疗慢性阻塞性肺疾病急性加重期疗效观察[J]. 世界中医药,2017,12(7):1562-1565.
- [4] 尚书华,邓海娟,姬爱云. 止喘灵注射液穴位注射治疗小儿毛细支气管炎的疗效观察[J]. 青海医药杂志,2007,37(12):64.
- [5] 江昌铭,李 慧. 麻黄在儿科肺炎喘嗽中的使用辨析[J]. 光明中医,2019,34(12):1930-1933.
- [6] 秦 鸿. 分析射干麻黄汤加减治疗支气管哮喘的临床疗效[J]. 临床医药文献电子杂志,2019,6(34):162.
- [7] 王宽宏. 射干麻黄汤加减联合重组人干扰素 $\alpha 1b$ 治疗小儿毛细支气管炎的效果[J]. 中国乡村医药,2019,26(12):37-38.
- [8] 王堡鑫,于晶晶,刘 丹,等. HPLC法测定咳嗽宁口服液盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱的含量[J]. 健康大视野,2019,27(9):250-251.
- [9] 杨炳友,杨春丽,刘 艳,等. 洋金花根化学成分研究[J]. 中国中药杂志,2018,43(8):1654-1661.
- [10] 李 冰,宫彬彬,王亮亮. 洋金花提取物对单胺氧化酶B的抑制作用研究[J]. 中国实用医药,2018,13(1):196-198.
- [11] 杨炳友,姜海冰,刘 艳,等. 洋金花种子化学成分研究(IV)[J]. 中药材,2018,41(1):93-98.
- [12] 陈跃军. 丁溴东莨菪碱联合坦索罗辛辅助体外冲击波碎石治疗泌尿系结石的疗效及对血清炎症因子的影响[J]. 中国基层医药,2019,26(3):324-327.
- [13] 郑 磊,杨 静,管玉瑶,等. 丁溴东莨菪碱注射液的临床应用与不良反应分析[J]. 中国药师,2018,21(5):867-870.
- [14] 肖 雄,魏惠珍,张 丹,等. HPLC测定苦杏仁、桃仁、郁李仁中D-苦杏仁苷的含量[J]. 江西中医药大学学报,2019,31(3):76-79.
- [15] 林史珍,杜方敏,林良静,等. 模拟破坏苦杏仁和桃仁品质及酶活性变化研究[J]. 中国药业,2019,28(15):5-8.
- [16] 赵英奎,木其尔. HPLC方法测定止嗽灵效丸中苦杏仁苷含量[J]. 亚太传统医药,2018,14(8):61-62.
- [17] 麦荣国,郭晓莹,招丽娟,等. 麻黄汤不同配伍对苦杏仁和甘草有效成分的影响[J]. 世界中医药,2018,13(3):735-738.

(收稿日期:2019-11-11)