

中图分类号: R917; R927 文献标志码: A 文章编号: 1006-4931(2026)04-0092-04  
doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2026.04.016



## 手性流动相添加剂高效液相色谱法检测酒石酸布托啡诺右旋异构体\*

蒲婷<sup>1</sup>, 喻欢欢<sup>2</sup>, 刘芹<sup>1</sup>, 匡鑫玉<sup>1</sup>, 余蕾<sup>1</sup>, 李杰<sup>1△</sup>

(1. 西南药业股份有限公司, 重庆 400038; 2. 重庆市食品药品检验检测研究院·国家药品监督管理局麻醉精神药品质量监测重点实验室, 重庆 401121)

**摘要:**目的 建立检测酒石酸布托啡诺右旋异构体的高效液相色谱(HPLC)法。方法 色谱柱为 Agilent TC-C<sub>18</sub>(2)柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为 0.05 mol/L 乙酸铵缓冲液(含 14.5 g/L 磺丁基-β-环糊精钠, 用冰醋酸调 pH 至 4.1)-乙腈(75:25, V/V), 流速为 1.0 mL/min, 检测波长为 280 nm, 柱温为 25 °C, 进样量为 20 μL。结果 酒石酸布托啡诺右旋异构体质量浓度在 0.900 3~13.504 5 μg/mL 范围内与峰面积线性关系良好( $r=1.000 0, n=5$ ); 检测限为 0.02 μg/mL, 定量限为 0.05 μg/mL; 精密性、稳定性、重复性、耐用性试验结果的 RSD 均小于 3.0%; 平均加样回收率为 98.06%, RSD 为 0.60% ( $n=9$ )。结论 该方法专属性好、准确度高, 可用于酒石酸布托啡诺制剂的质量控制。

**关键词:**手性流动相添加剂; 高效液相色谱法; 磺丁基-β-环糊精; 酒石酸布托啡诺; 右旋异构体

### Determination of Butorphanol Tartrate Dextrorotatory Isomer by HPLC with Chiral Mobile Phase Additive

PU Ting<sup>1</sup>, YU Huanhuan<sup>2</sup>, LIU Qin<sup>1</sup>, KUANG Xinyu<sup>1</sup>, YU Lei<sup>1</sup>, LI Jie<sup>1△</sup>

(1. Southwest Pharmaceutical Co., Ltd., Chongqing 400038, China; 2. Chongqing Institute for Food and Drug Control·NMPA Key Laboratory for Quality Monitoring of Narcotic Drugs and Psychotropic Substances, Chongqing 401121, China)

**Abstract: Objective** To establish a high-performance liquid chromatography (HPLC) method for the determination of butorphanol tartrate dextrorotatory isomer. **Methods** The chromatographic column was Agilent TC-C<sub>18</sub>(2) column (250 mm×4.6 mm, 5 μm), the mobile phase was 0.05 mol/L ammonium acetate buffer (containing 14.5 g/L sulfobutyl-β-cyclodextrin sodium, adjusted pH to 4.1 with glacial acetic acid)-acetonitrile (75:25, V/V), the flow rate was 1.0 mL/min, the detection wavelength was 280 nm, the column temperature was 25 °C, and the injection volume was 20 μL. **Results** The linear range was 0.900 3-13.504 5 μg/mL ( $r=1.000 0, n=5$ ). The limit of detection was 0.02 μg/mL, and the limit of quantification was 0.05 μg/mL. The RSDs of precision, stability, repeatability and robustness test results were all lower than 3.0%. The average recovery rate was 98.06%, with an RSD of 0.60% ( $n=9$ ). **Conclusion** The established method is accurate and reliable, which can be used to control the quality of the preparation of butorphanol tartrate.

**Key words:** chiral mobile phase additive; HPLC; sulfobutyl-β-cyclodextrin; butorphanol tartrate; Dextrorotatory isomer

酒石酸布托啡诺属弱碱性阿片受体激动拮抗剂, 其为人工合成麻醉药, 静脉注射时可快速止痛。与其他阿片类止痛药相比, 不仅止痛作用良好, 且几乎无呼吸抑制、躯体依赖、胃肠道不适、皮肤瘙痒等副作用, 患者生活质量显著提高<sup>[1]</sup>, 临床应用广泛。布托啡诺有 3 个手性中心, 其右旋异构体为合成工艺中可能产生的杂质, 结构上仅 1 个羟基与布托啡诺手性构型相反, 因生物活性差异<sup>[2]</sup>, 《中国药典(二部)》中设定了其质量标准。然而, 异构体分离一直是色谱分离的难点, 手性色谱柱法是目前应用最多的方法, 其利用手性柱固定相上的手性选择区域对异构体结构特征进行识别, 通过使异构体在固定相上的保留时间与主成分不同而达到

分离效果<sup>[3]</sup>。随着对色谱分离机理认识的深入, 分析工作者尝试将具有手性识别特性的试剂加入到流动相中, 采用常规色谱柱对异构体进行分离, 由于异构体与手性添加剂间存在空间结构匹配性或作用位点差异, 在色谱柱中分配系数不同, 从而可实现分离<sup>[4]</sup>。2025 年版《中国药典(二部)》酒石酸布托啡诺质量标准中, 其右旋异构体检测是基于环糊精的手性固定相法, 但实际应用中发现, 该方法主峰理论板数仅约为 2 000, 且不同批次色谱柱的色谱图出峰行为存在差异, 耐用性欠佳。此外, 该色谱柱价格较高, 需特殊维护, 使用寿命较短, 提高了企业的分析成本。在此, 基于手性固定相与手性流动相分离机理的共通之处, 采用手性流动相添

\* 基金项目: 重庆市自然科学基金博士后科学基金项目[ cstc2021jcyj-bshX0031 ]。

第一作者: 蒲婷, 女, 大学本科, 研究方向为药物分析, (电子信箱)728987985@qq.com。

△通信作者: 李杰, 男, 硕士, 高级工程师, 研究方向为药物分析, (电子信箱)lijie.stu@163.com。

加剂法对酒石酸布托啡诺右旋异构体的分离进行了尝试,建立的方法与《中国药典》中方法相比,分离性能、理论板数显著提高,色谱柱耐用性良好,可高效、稳定且低成本地检测样品中酒石酸布托啡诺右旋异构体含量。现报道如下。

## 1 仪器与试剂

### 1.1 仪器

Agilent 1260 VWD型高效液相色谱仪(美国Agilent公司);PHS-3C型酸度计(上海雷磁科技有限公司);XPE26型电子天平(瑞士Mettler Toledo公司,精度为1 μg)。

### 1.2 试剂

酒石酸布托啡诺注射液(西南药业股份有限公司,批号分别为240401、240402、240403);酒石酸布托啡诺对照品(批号为171288-202202,含量99.7%),酒石酸布托啡诺右旋异构体对照品(批号为171293-201601,含量100%),均购自中国食品药品检定研究院;乙腈为色谱纯,其余试剂均为分析纯,水为超纯水。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

色谱柱:Agilent TC-C<sub>18</sub>(2)柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm);流动相:0.05 mol/L乙酸铵缓冲液(含14.5 g/L磺丁基-β-环糊精钠,用冰醋酸调pH至4.1)-乙腈(75:25, V/V);流速:1.0 mL/min;检测波长:280 nm;柱温:25 °C;进样量:20 μL。

### 2.2 溶液制备

系统适用性溶液:称取2种对照品各适量,置同一容量瓶中,加入0.02 mol/L硫酸溶液,振摇使溶解,加水稀释,制成每1 mL中约含酒石酸布托啡诺1 mg与其右旋异构体10 μg的混合溶液。

右旋异构体对照品溶液:取酒石酸布托啡诺右旋异构体对照品8.406 mg,精密称定,置100 mL容量瓶中,加水溶解并定容,摇匀,即得右旋异构体贮备液;取1 mL,置10 mL容量瓶中,加水定容,摇匀,即得。

供试品溶液:精密量取样品适量,加水稀释,得每1 mL约含酒石酸布托啡诺1 mg的溶液。

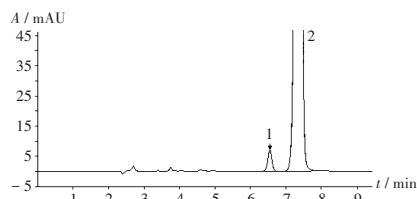
加标供试品溶液:精密量取样品(批号为240401)适量,加右旋异构体贮备液1 mL,加水稀释成每1 mL约含酒石酸布托啡诺1 mg与其右旋异构体10 μg的混合溶液。

空白对照:超纯水。

空白辅料溶液:称取处方辅料,置100 mL容量瓶中,加水定容,摇匀,即得。

### 2.3 方法学考察

系统适用性试验:精密量取2.2项下系统适用性溶液20 μL,按2.1项下色谱条件进样测定,记录色谱图。结果显示,布托啡诺峰与其右旋异构体峰的分



1. 布托啡诺右旋异构体 2. 布托啡诺

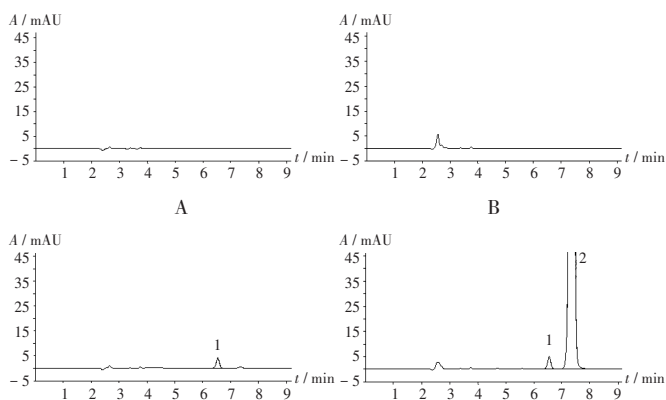
图1 系统适用性试验高效液相色谱图

1. Butorphanol dextrorotatory isomer 2. Butorphanol

Fig.1 HPLC chromatograms of system suitability test

3.4,理论板数按布托啡诺峰计为14 251,显著高于2025版《中国药典(二部)》要求( $\geq 2 000$ ),基线分离良好。详见图1。

专属性试验:分别精密量取2.2项下空白对照、空白辅料溶液、右旋异构体对照品溶液及加标供试品溶液各20 μL,按2.1项下色谱条件进样测定,记录色谱图。结果空白对照及空白辅料溶液色谱在布托啡诺峰及其右旋异构体色谱峰保留时间相同处无干扰峰,表明方法专属性较好。详见图2。



1. 布托啡诺右旋异构体 2. 布托啡诺

A. 空白对照 B. 空白辅料溶液 C. 右旋异构体对照品溶液  
D. 加标供试品溶液

图2 专属性试验HPLC色谱图

1. Butorphanol dextrorotatory isomer 2. Butorphanol

A. Blank reference B. Blank excipient solution C. Dextrorotatory isomer reference solution D. Spiked test solution

Fig.2 HPLC chromatograms of specificity test

线性关系考察:取酒石酸布托啡诺右旋异构体对照品9.003 mg,精密称定,置100 mL容量瓶中,加水溶解并定容,摇匀,制成右旋异构体线性贮备液,分别精密量取1.5,1.0,0.5,0.25,0.1 mL,置10 mL容量瓶中,加水定容,摇匀,即得右旋异构体线性溶液,按2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以酒石酸布托啡诺右旋异构体峰面积(X)为横坐标、质量浓度(Y, μg/mL)为纵坐标进行线性回归,得回归方程 $Y = 0.204 9X + 0.015 1$ ( $r = 1.000 0, n = 5$ )。结果表明,酒石酸布托啡诺

右旋异构体质量浓度在0.900 3 ~ 13.504 5  $\mu\text{g}/\text{mL}$  范围内与峰面积线性关系良好。

定量限与检测限:取右旋异构体线性贮备液适量,用水逐级稀释,按2.1项下色谱条件进样测定,以信噪比( $S/N$ )约为10和3.3分别计算定量限和检测限。结果酒石酸布托啡诺右旋异构体定量限为0.05  $\mu\text{g}/\text{mL}$  ( $S/N$ 为12.8,相当于限度浓度的0.5%),检测限为0.02  $\mu\text{g}/\text{mL}$  ( $S/N$ 为5.2,相当于限度浓度的0.2%)。

精密密度试验:精密量取2.2项下右旋异构体对照品溶液20  $\mu\text{L}$ ,按2.1项下色谱条件连续进样测定6次,记录峰面积。结果酒石酸布托啡诺右旋异构体峰面积的RSD为0.38% ( $n=6$ ),表明仪器精密密度良好。

稳定性试验:取2.2项下加标供试品溶液适量,分别于室温放置0,6,24,48 h,按2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果酒石酸布托啡诺右旋异构体峰面积的RSD为0.29% ( $n=4$ ),表明加标供试品溶液室温放置48 h内基本稳定。

重复性试验:取样品(批号为240401)6份,按2.2项下方法制备加标供试品溶液,再按2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积,并计算样品含量。结果酒石酸布托啡诺右旋异构体含量的RSD为0.51% ( $n=6$ ),表明方法重复性良好。

加样回收试验:取酒石酸布托啡诺对照品10.02 mg,精密称定,共9份,分别置10 mL容量瓶中,分别加入低、中、高浓度(50%,100%,120%)右旋异构体贮备液适量,按2.2项下方法制备供试品溶液,再按2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积,计算回收率。结果见表1。

表1 加样回收试验结果( $n=9$ )

Tab. 1 Results of the recovery test ( $n=9$ )

本底量(mg)	加入量(mg)	测得量(mg)	回收率(%)	$\bar{X}$ (%)	RSD(%)
0	0.042 03	0.041 20	98.03		
0	0.042 03	0.041 55	98.86		
0	0.042 03	0.040 99	97.53		
0	0.084 06	0.083 05	98.80		
0	0.084 06	0.082 62	98.29	98.06	0.60
0	0.084 06	0.082 05	97.61		
0	0.100 872	0.098 99	98.13		
0	0.100 872	0.097 89	97.04		
0	0.100 872	0.099 10	98.24		

耐用性试验:分别改变色谱柱批次(同型号)、流速(0.8,1.0,1.2 mL/min)、柱温(23,25,27  $^{\circ}\text{C}$ )、波长(278,280,282) nm、流动相比(73:27,75:25,77:23, V/V)。结果空白对照、空白辅料溶液均不干扰测定,酒石酸布托啡诺峰与其右旋异构体峰的分度均大于1.5,理论板数按酒石酸布托啡诺峰计均大于14 000,酒石酸布托啡诺右旋异构体含量的RSD为1.98%,表明各条件

在一定范围变化时对结果影响较小,方法耐用性良好。

## 2.4 样品含量测定

取3批样品各适量,按2.2项下方法制成供试品溶液,再按2.1项下色谱条件进行测定,记录峰面积,并计算样品含量。结果3批样品中均未检出酒石酸布托啡诺右旋异构体。

## 3 讨论

### 3.1 手性流动相添加剂的选择

2025年版《中国药典(二部)》采用以环糊精为填充剂的色谱柱进行分离,基于分离原理的相似性,本研究中优先选择环糊精类的手性流动相添加剂。环糊精是一类环状低聚糖同系物<sup>[5]</sup>,有类似“截锥”状的分子结构,内部含非极性空腔,外部边缘有极性羟基<sup>[6]</sup>。异构体分子进入环糊精的疏水性空腔内部,发生包合作用,外缘羟基可与异构体的极性基团发生不同类型的相互作用,包括偶极-偶极、氢键、离子、 $\pi-\pi$ 作用等,从而形成稳定性不同的包合物,因分配和吸附能力不同而实现分离<sup>[7]</sup>。环糊精具有相当数量的立体中心,这也有助于异构体的识别<sup>[8]</sup>。

$\beta$ -环糊精为七元环状低聚糖化合物<sup>[9]</sup>,是目前应用最广泛的手性添加剂,通过在 $\beta$ -环糊精上引入不同的取代基,可合成一系列 $\beta$ -环糊精衍生物,该衍生物具有独特的化学性质、分子结构和空间排列,这决定了它们与异构体的手性识别和结合能力<sup>[10]</sup>,常见的 $\beta$ -环糊精衍生物包括磺丁基- $\beta$ -环糊精(SBE- $\beta$ -CD)、羟丙基- $\beta$ -环糊精(HP- $\beta$ -CD)和羧甲基- $\beta$ -环糊精(CM- $\beta$ -CD)等。根据取代基的带电情况, $\beta$ -环糊精衍生物可分为带电环糊精和中性环糊精<sup>[11]</sup>。CM- $\beta$ -CD和SBE- $\beta$ -CD为常见的阴离子型 $\beta$ -环糊精<sup>[12]</sup>,广泛应用于碱性异构体的分离<sup>[13]</sup>,而酒石酸布托啡诺属弱碱性化合物,通过对不同取代环糊精的筛选,发现SBE- $\beta$ -CD优于其他类别的手性选择剂,并经预试验考察确定质量浓度为14.5 g/L。

### 3.2 流动相的pH对分离结果的影响

磺酸根的存在使SBE- $\beta$ -CD在pH 2~9范围内带负电荷<sup>[14]</sup>,酒石酸布托啡诺手性中心的N-烷基在酸性介质下质子化,可与SBE- $\beta$ -CD的带负电荷的磺酸根发生静电相互作用。N-烷基也可参与和SBE- $\beta$ -CD的氢键作用,pH的变化影响它们的电离状态。由于酸性条件更有利于碱性药物异构体的分离及扩大色谱柱的使用范围,故pH范围以3.0~6.0较合适。预试验结果表明,pH为4.1时,SBE- $\beta$ -CD的磺酸根和酒石酸布托啡诺的N-烷基产生强烈的静电作用,手性识别能力最强,形成的非对映体包合物的色谱行为差异最大,分离效果最佳。

### 3.3 无机盐类别及浓度的选择

无机盐具有自身特定的pH缓冲范围,因流动相pH

(4.1)在乙酸铵的缓冲能力范围内,故选择乙酸铵作为缓冲盐。流动相中缓冲盐浓度不同,则离子强度不同,从而使分离物与色谱柱间的次级作用强弱存在差异,影响峰形与保留时间。离子强度越大,理论上次级作用越弱,色谱分离过程中主要分离作用力即转变为SBE- $\beta$ -CD与分离物的手性识别能力。预试验结果显示,乙酸铵浓度从0.01 mol/L升至0.05 mol/L时,主成分峰理论板数从约5 000升至14 000,且基本达到平台,因此最终以0.05 mol/L作为缓冲盐浓度。

### 3.4 有机修饰剂对分离的影响

有机修饰剂可改变被分析物和固定相的相互作用及环糊精对异构体的选择性,反相色谱中常用的有机修饰剂为乙腈和甲醇<sup>[15]</sup>。在甲醇-水体系中,流动相的极性较强,甲醇进入SBE- $\beta$ -CD的空腔降低了疏水作用,易导致异构体被置换到水相中,不能形成稳定的包合物,异构体不易分离。相较甲醇,乙腈可在最短的保留时间内获得最高的分离度,由于乙腈的极性小于甲醇,乙腈对被分析物的洗脱能力较弱,异构体有充足的时间与SBE- $\beta$ -CD发生相互作用,SBE- $\beta$ -CD与异构体形成的包合物稳定性增强,色谱行为差异扩大<sup>[16]</sup>,能达到有效分离。

预试验中还考察了流动相中乙腈比例对分离度和保留时间的影响,流动相中乙腈比例降低时,保留时间和分离度显著增加。乙腈为极性溶剂,可与异构体竞争SBE- $\beta$ -CD的内腔,乙腈比例增加会降低SBE- $\beta$ -CD的疏水作用力,从而降低SBE- $\beta$ -CD的立体选择性,2个异构体之间的分离度随之降低,同时,乙腈比例的增加会导致包合物与固定相之间相互作用减少,从而导致保留时间显著缩短,但乙腈比例过低也会造成峰形过宽,保留时间过长。预试验结果表明,流动相中水与乙腈体积比为75:25时,能在较短的时间达到理想的分离效果。

### 3.5 方法学评价

本研究中建立了检测酒石酸布托啡诺注射液中酒石酸布托啡诺右旋异构体的手性流动相添加剂HPLC法,与《中国药典》收载方法比较,该方法专属性、灵敏度、准确度、耐用性等均具有一定优势,分离效能提升,且色谱柱更经济,可作为制剂中酒石酸布托啡诺右旋异构体质量控制的方法。

### 参考文献

[1] COOK TA. Butorphanol tartrate: an intravenous analgesic for outpatient surgery [J]. *Otolaryngol Head Neck Surg*, 1983, 91(3):251-254.  
[2] JI JZ, LIN WZ, VRUDHULA A, et al. Molecular interaction between butorphanol and  $\kappa$ -opioid receptor[J]. *Anesth Analg*, 2020, 131(3):935-942.

[3] ABoul - ENEIN HY. High - performance liquid chromatographic enantioseparation of drugs containing multiple chiral centers on polysaccharide - type chiral stationary phases [J]. *J Chromatogr A*, 2001, 906(1-2):185-193.  
[4] YU LS, WANG SJ, ZENG S. Chiral Mobile - Phase Additives in HPLC Enantioseparations [J]. *Methods Mol Biol*, 2019, 1985:81-91.  
[5] TANG ML, ZHANG J, ZHUANG SL, et al. Development of chiral stationary phases for high - performance liquid chromatographic separation [J]. *Trends in Analytical Chemistry*, 2012, 39:180-194.  
[6] LÄMMERHOFER M. Chiral recognition by enantioselective liquid chromatography: mechanisms and modern chiral stationary phases [J]. *J Chromatogr A*, 2010, 1217(6):814-856.  
[7] 翟明翠. HPLC 手性流动相添加剂法拆分药物对映体 [D]. 北京:北京大学, 2012.  
[8] DOHÁRSZKY A, KALYDI E, VÖLGYI G, et al. Cyclodextrin - Enabled Enantioselective Complexation Study of Cathinone Analogs [J]. *Molecules*, 2024, 29(4):876.  
[9] 耿仲乐, 王静, 张峰. 手性流动相高效液相色谱法测定木瓜中齐墩果酸和熊果酸含量 [J]. *中国药业*, 2024, 33(13):93-95.  
[10] CHANKVETADZE B, SCRIBA GK. Cyclodextrins as chiral selectors in capillary electrophoresis: Recent trends in mechanistic studies [J]. *Trends in Analytical Chemistry*, 2023, 160:116987.  
[11] SZEMÁN J, GANZLER K, SALGÓ A, et al. Effect of the degree of substitution of cyclodextrin derivatives on chiral separations by high - performance liquid chromatography and capillary electrophoresis [J]. *J Chromatogr A*, 1996, 728(1-2):423-431.  
[12] SUN WY, QIU HY, YOU HB, et al. Degree and distribution of substitution of hydroxypropyl -  $\beta$  - cyclodextrin in enantioselective liquid - liquid extraction and countercurrent chromatographic enantioseparation [J]. *J Chromatogr A*, 2023, 1687:463684.  
[13] SUN WY, QIU HY, LIN SS, et al. Impact of the degree of substitution on the enantioseparation of anionic  $\beta$  - cyclodextrin in liquid - liquid extraction and countercurrent chromatography: Insights from molecular docking simulations [J]. *J Chromatogr A*, 2024, 1733:465255.  
[14] HUANG M, CHEN WJ, ZHOU Y, et al. Enantiomeric separations of four basic drugs containing *N* - alkyl groups by a RP - HPLC system using SBE -  $\beta$  - CD as chiral mobile phase additive [J]. *Chinese Chemical Letters*, 2013, 24(9):830-840.  
[15] 郑志侠, 汪家权, 程红, 等. 基于环糊精手性选择剂的几种手性药物对映体的毛细管电泳拆分 [J]. *化学研究*, 2010, 21(1):76-79.  
[16] 翟明翠, 苏立强, 王颖, 等. HPLC 手性流动相添加剂法拆分盐酸地匹福林对映体 [J]. *化学试剂*, 2013, 35(6):555-557.  
(收稿日期:2025-02-28;修回日期:2025-10-23)