

# 高效液相色谱法测定喘静片的 3 种主要成分

李发美, 邱 枫, 王伟红, 郭兴杰, 邱 欣

(沈阳药科大学分析化学教研室, 辽宁 沈阳 110015)

**摘要** 采用高效液相色谱法同时测定喘静片中的 3 种主要成分: 茶碱、异戊巴比妥和盐酸甲基麻黄碱。以 ODS 作固定相, 通过均匀设计方法选择的最佳流动相为  $V(0.015 \text{ mol/L}$  磷酸二氢钠缓冲液, 含体积分数为 0.3% 的三乙胺,  $\text{pH} 4.9): V(\text{甲醇}) = 35:65$ 。检测波长为 215 nm, 用程序调节检测器的灵敏度, 以咖啡因作内标物。茶碱、异戊巴比妥、盐酸甲基麻黄碱的回收率分别为 99.7% ~ 102.6%, 98.5% ~ 100.2%, 98.0% ~ 102.7%, 日间 RSD 分别为 0.23% ~ 1.2%, 0.35% ~ 2.5%, 0.33% ~ 1.6%。该方法简便、快速、准确。

**关键词** 高效液相色谱法, 喘静片, 茶碱, 异戊巴比妥, 盐酸甲基麻黄碱, 均匀设计, 程序调节灵敏度

中图分类号: O658; O657.7; R917 文献标识码: A 文章编号: 1000-871X(2000)05-0442-03

## 1 前言

喘静片是一种平喘、止咳、祛痰药, 含茶碱、异戊巴比妥、盐酸甲基麻黄碱、马来酸氯苯那敏及暴马子浸膏, 其中前 3 种为主要成分。辽宁省药品标准采用薄层色谱分离后, 用紫外分光光度法分别测定喘静片中茶碱和异戊巴比妥的质量分数<sup>[1]</sup>, 操作繁琐, 而且对盐酸甲基麻黄碱无法定量。高效液相色谱法 (HPLC) 曾被广泛用于分析中药中的甲基麻黄碱<sup>[2]</sup>、药物或生物样品中的茶碱<sup>[3~6]</sup>或异戊巴比妥<sup>[6,7]</sup>, 但是由于茶碱、异戊巴比妥和盐酸甲基麻黄碱的酸碱性、极性和吸收光谱等性质差异悬殊, 尚未见用 HPLC 同时分析这 3 种组分的报道。本文以均匀设计方法<sup>[8]</sup>选择最佳流动相, 以程序调节检测器的灵敏度, 同时直接测定喘静片中理化性质和质量分数都相差很大的 3 种主要成分: 茶碱、异戊巴比妥和盐酸甲基麻黄碱。

## 2 实验部分

### 2.1 仪器和试剂

Jasco PU-980 高效液相色谱输液泵和 Jasco UV-975 紫外-可见检测器(日本分光公司), CKChrom 色谱工作站 (Scientific System Inc.); CX-250 超声波清洗器(北京医疗设备二厂); PHS-3C 型酸度计(上海第二分析仪器厂)。

茶碱、异戊巴比妥、盐酸甲基麻黄碱和咖啡因对照品由中国药品生物制品检定所提供; 马来酸氯苯那敏、暴马子浸膏及淀粉、硬脂酸镁、滑石粉等辅料由辽宁省沈阳市管城制药厂提供; 甲醇为色谱纯(山

东禹王试剂厂); 其他试剂均为分析纯试剂。

### 2.2 溶液的配制

**2.2.1 内标溶液的配制** 精密称取咖啡因对照品适量, 用甲醇溶解并稀释成质量浓度为 1 g/L 的内标溶液。

**2.2.2 对照品储备液的配制** 精密称取茶碱对照品约 10 mg, 异戊巴比妥和盐酸甲基麻黄碱对照品各约 25 mg, 分别置于 10 mL 量瓶中, 用甲醇溶解并稀释至刻度, 所得茶碱溶液作为茶碱对照品储备液。再从上述配制的异戊巴比妥和盐酸甲基麻黄碱溶液中精密量取 1 mL, 分别置于 10 mL 量瓶中, 稀释至刻度, 作为对照品储备液。

### 2.3 色谱条件

色谱柱: Techsphere ODS 柱(5  $\mu\text{m}$ , 250 mm  $\times$  4.6 mm i. d.); 流动相:  $V(\text{缓冲溶液}): V(\text{甲醇}) = 35:65$ , 其中缓冲溶液为 0.015 mol/L  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ , 含体积分数为 0.3% 的三乙胺, 以体积分数为 10% 的磷酸调节  $\text{pH} 4.9$ 。流速 0.6 mL/min, 检测波长 215 nm, 检测器灵敏度 0 min ~ 6.9 min 为 0.16 AUFS, 6.9 min 之后为 0.02 AUFS, 柱温 室温, 进样量 20  $\mu\text{L}$ 。

### 2.4 样品的测定

取喘静片 20 片, 精密称定, 研细, 混匀, 精密称取适量(相当于平均片重)细粉置于 100 mL 量瓶中, 加入甲醇, 超声溶解 10 min 并稀释至刻度。静置后精密量取上清液 1 mL 置于 10 mL 量瓶中, 精密加入内标溶液 1 mL, 用甲醇稀释至刻度。同时, 取标示量的马来酸氯苯那敏、暴马子浸膏和辅料, 以同样方法提取、稀释(不加内标溶液), 所得溶液作为空白溶液。

### 3 结果与讨论

#### 3.1 流动相的优化

根据待测定的3种组分的理化性质(酸碱性、极性)及有关文献资料,选择与茶碱性质相似的咖啡因作内标物,以  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  缓冲液与甲醇为流动相体系。通过预试验发现,缓冲液浓度为  $0.015 \text{ mol/L}$  时,在  $\text{pH}$  值为  $4.0 \sim 5.0$ 、三乙胺的体积分数为  $0.15\% \sim 0.65\%$ 、甲醇的体积分数为  $60\% \sim 70\%$  的条件下,3种组分有可能实现较好的分离。而且这3个因素对异戊巴比妥的保留时间、盐酸甲基麻黄碱的保留时间和峰形及上述两组分之间的分离度有较复杂的影响。因此选用3个因素(缓冲液的  $\text{pH}$  值、三乙胺的体积分数、流动相中甲醇的体积分数)11个水平的均匀设计方法,以各相邻色谱峰间的分离度、峰形最差的色谱峰(即最后一个峰)的对称性和分析时间为指标,通过11次试验(见表1)迅速确定了最佳流动相(见“2.3”项),即实验10的条件。

表1 均匀设计实验

Table 1 Uniform design experiments

实验号 Experiment No.	$\text{pH}$	$\varphi$ (三乙胺) $\varphi$ (Triethylamine) (%)	$\varphi$ (甲醇) $\varphi$ (Methanol) (%)
1	4.0	0.45	64
2	4.1	0.25	69
3	4.2	0.60	63
4	4.3	0.40	68
5	4.4	0.20	62
6	4.5	0.55	67
7	4.6	0.35	61
8	4.7	0.15	66
9	4.8	0.50	60
10	4.9	0.30	65
11	5.0	0.65	70

#### 3.2 检测波长和灵敏度的选择

喘静片中含有  $130 \text{ mg}$  茶碱、 $25 \text{ mg}$  异戊巴比妥和  $25 \text{ mg}$  盐酸甲基麻黄碱。茶碱在  $270 \text{ nm}$  处有最大吸收,但在此波长下其他两种成分吸收较弱。选择盐酸甲基麻黄碱的最大吸收波长  $215 \text{ nm}$  作为检测波长,异戊巴比妥(最大吸收波长为  $218 \text{ nm}$ )和茶碱在此波长下也有很强的吸收。实验中当茶碱和内标物流出后,提高检测器的灵敏度,以便检测含量较低的异戊巴比妥和盐酸甲基麻黄碱。通过回收率和精密度实验(见“3.4”和“3.5”项)证明,采用同一内标与灵敏度、改变前后各组分峰面积比计算测定结果的方法可行。

在选定的色谱条件下,喘静片中的3种主要成

分及内标物在  $10 \text{ min}$  内均达到基线分离,色谱峰峰形很好,各组分峰面积比较接近(见图1-a),而且样品中其他组分及辅料均不干扰测定(见图1-b)。

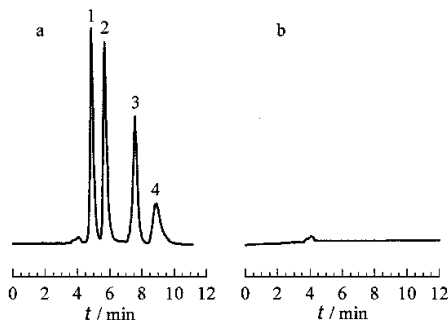


图1 喘静片(a)及空白对照(b)的色谱图

Fig.1 Chromatograms of Chuanjing tablet(a) and blank(b)

1. 茶碱(theophylline); 2. 咖啡因,内标物(caffeine, internal standard); 3. 异戊巴比妥(amobarbital); 4. 盐酸甲基麻黄碱(methylephedrine hydrochloride)

#### 3.3 工作曲线

精密量取各对照品储备液  $0.3 \text{ mL}$ 、 $0.5 \text{ mL}$ 、 $1.0 \text{ mL}$ 、 $1.5 \text{ mL}$ 、 $2.0 \text{ mL}$ ,分别置于  $10 \text{ mL}$  量瓶中。在每个量瓶中分别加入内标溶液  $1.0 \text{ mL}$ ,用甲醇稀释至刻度,得到系列对照品溶液。分别重复进样3次,以各组分与内标物峰面积之比的平均值( $Y$ )对对照品溶液中各组分的质量浓度( $X$ ,  $\text{g/L}$ )进行回归分析,得到茶碱、异戊巴比妥、盐酸甲基麻黄碱的回归方程依次为: $Y = 6.953X + 0.03682$ ,  $r = 0.9995$  ( $0.03 \text{ g/L} \sim 0.20 \text{ g/L}$ );  $Y = 33.08X + 0.02772$ ,  $r = 0.9998$  ( $7.5 \text{ mg/L} \sim 50 \text{ mg/L}$ );  $Y = 22.22X + 0.04375$ ,  $r = 0.9999$  ( $7.5 \text{ mg/L} \sim 50 \text{ mg/L}$ )。可见在一定的质量浓度范围内,3种药物成分的  $Y$  与  $X$  均有良好的线性关系。

#### 3.4 回收率

按标示量称取马来酸氯苯那敏、暴马子浸膏及各种辅料,精密加入各待测成分标示量的  $80\%$ 、 $100\%$ 、 $120\%$  的对照品,按“样品的测定”项测定( $n = 6$ )。结果茶碱的回收率为  $99.7\%$ 、 $102.6\%$ 、 $102.2\%$ ; 异戊巴比妥为  $100.2\%$ 、 $98.5\%$ 、 $100.0\%$ ; 盐酸甲基麻黄碱为  $102.7\%$ 、 $98.0\%$ 、 $101.8\%$ 。它们的  $\text{RSD}$  分别小于  $1.3\%$ 、 $1.6\%$ 、 $1.6\%$ 。

#### 3.5 精密度

以茶碱的质量浓度为  $0.03 \text{ g/L}$ 、 $0.1 \text{ g/L}$ 、 $0.2 \text{ g/L}$ 、异戊巴比妥和盐酸甲基麻黄碱的质量浓度分别为

7.5 mg/L, 25.0 mg/L, 50.0 mg/L 的对照品溶液连续测定 5 d, 测得茶碱、异戊巴比妥和盐酸甲基麻黄碱的日间 RSD 依次为 0.23%、0.40%、1.2%、2.5%、0.35%、0.40% 和 0.33%、0.70%、1.6%。

### 3.6 样品中 3 种组分的质量分数

按“样品的测定”项中的方法对 3 批实际样品进行测定, 结果见表 2。

表 2 喘静片中茶碱、异戊巴比妥和盐酸甲基麻黄碱的质量分数\* 及 RSD 值( n = 3 )

Table 2 The mass fractions\* and RSD of theophylline, amobarbital and methylephedrine hydrochloride in Chuanjing tablet( n = 3 ) %

批号 Batch No.	茶碱 Theophylline		异戊巴比妥 Amobarbital		盐酸甲基麻黄碱 Methylephedrine hydrochloride	
	$w_T$	RSD	$w_A$	RSD	$w_M$	RSD
	96003304	99.1	0.07	96.8	0.80	92.7
95003710	98.2	0.50	90.8	2.1	90.1	1.3
97003606	95.6	1.2	90.4	1.9	97.8	2.6

\* 为标示量的%( % of labeled )

## 4 结语

通过均匀设计方法快速选择了最佳流动相, 以等强度洗脱 HPLC 和程序调节检测器灵敏度的方法

同时直接测定喘静片中 3 种主要成分: 茶碱、异戊巴比妥和盐酸甲基麻黄碱的质量分数。方法简便、快速、准确, 可以用于喘静片的质量控制和稳定性考察。

### 参考文献:

[ 1 ] Liaoning Public Health Bureau( 辽宁省卫生厅 ). Liaoning drug standard( 辽宁省药品标准 ). Shenyang( 沈阳 ) [ s. n. ] [ 出版者不详 ], 1987. 801

[ 2 ] Zhang J, Tian Z, Lou Z C. Planta Medica, 1988, 54( 1 ): 69-70

[ 3 ] LIU Shu-chun( 刘树春 ). Chinese Journal of Pharmaceutical Analysis( 药物分析杂志 ), 1991, 11( 1 ): 7-9

[ 4 ] Sun P, Mariano G, Barker G. Anal Lett, 1994, 27( 5 ): 927-937

[ 5 ] Papadoyannis I, Georgarakis M, Samanidou V, et al. J Liq Chromatogr, 1991, 14( 8 ): 1587-1603

[ 6 ] HU Jia-chi, WANG Zu-fa, WENG Wen-hu( 胡家炽, 王祖法, 翁文辉 ). Chinese Journal of Pharmaceutical Analysis ( 药物分析杂志 ), 1990, 10( 2 ): 97-99

[ 7 ] ZHUO Hai-tong, LIU Chao( 卓海通, 刘超 ). Chinese Journal of Chromatography( 色谱 ), 1991, 9( 1 ): 49-52

[ 8 ] WANG Xiao-qin, DENG Bo, QIN Jian-hou( 王小芹, 邓勃, 秦建侯 ). Chinese Journal of Analysis Laboratory( 分析试验室 ), 1985, 4( 12 ): 46-54

# Determination of Three Principal Components in Chuanjing Tablets by Using High Performance Liquid Chromatography

LI Fa-mei, QIU Feng, WANG Wei-hong, GUO Xing-jie, DI Xin

( Department of Analytical Chemistry, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110015, China )

**Abstract** Uniform design method was employed to optimize the mobile phase of HPLC in order to determine simultaneously three principal components, theophylline, amobarbital and methylephedrine hydrochloride, in Chuanjing tablet, a compound preparation for asthma and cough. The stationary phase was ODS and the optimal mobile phase composition was V( 0.015 mol/L phosphate buffer containing 0.3% triethylamine, pH 4.9 ): V( methanol ) = 35:65. The detection was performed at 215 nm and the sensitivity was time programmed for simultaneous determination of minor and major components. Caffeine was selected as the internal standard. A baseline separation was achieved within 10 min. The linear ranges for theophylline, amobarbital and methylephedrine hydrochloride were 0.03 g/L-0.20 g/L, 7.5 mg/L-50.0 mg/L and 7.5 mg/L-50.0 mg/L, recoveries 99.7%-102.6%, 98.5%-100.2% and 98.0%-102.7%, inter-day RSDs 0.23%-1.2%, 0.35%-2.5%, 0.33%-1.6% respectively. This HPLC method is rapid and accurate, and suitable for the quality control of the preparation.

**Key words**: high performance liquid chromatography; Chuanjing tablet; theophylline; amobarbital; methylephedrine hydrochloride; uniform design; programmed sensitivity