

# 以羟丙基- $\beta$ -环糊精为手性选择剂的毛细管电泳法分离测定 日夜百服宁片剂中的伪麻黄碱

武向锋<sup>1</sup>, 柴逸峰<sup>1</sup>, 刘荔荔<sup>1</sup>, 娄子洋<sup>1</sup>, 李捷玮<sup>2</sup>, 张国庆<sup>2</sup>, 王 彬<sup>2</sup>

(1. 第二军医大学药学院, 上海 200433; 2. 第二军医大学东方肝胆外科医院, 上海 200438)

摘要 建立了伪麻黄碱手性对映体的毛细管电泳分离分析方法, 分离用缓冲液为 25 mmol/L 的三羟甲基氨基甲烷-磷酸缓冲液 (pH 2.65), 含 38 mmol/L 的羟丙基- $\beta$ -环糊精。测定了日夜百服宁片剂中右旋伪麻黄碱的含量。方法简便快速, 具有良好的精密性、回收率和线性关系。

关键词 毛细管电泳 羟丙基- $\beta$ -环糊精 伪麻黄碱 对映体 日夜百服宁片

中图分类号 O658 文献标识码 A 文章编号 1000-871X(2001)06-0552-03

## 1 前言

伪麻黄碱是常用中药麻黄的主要活性成分之一<sup>[1]</sup>, 是西药复方感冒药中的主要成分。该类药物治疗常用的含量测定方法有紫外分光光度法<sup>[2]</sup>、薄层色谱法<sup>[3]</sup>、气相色谱法<sup>[4]</sup>和高效液相色谱法<sup>[5]</sup>等, 但这些方法通常无手性选择性。国外有文献<sup>[6]</sup>报道用毛细管区带电泳法分离麻黄碱类化合物, 但分析时间太长。本文以羟丙基- $\beta$ -环糊精 (CD) 为手性选择剂, 利用毛细管电泳 (CE) 技术在 6 min 内实现了伪麻黄碱对映体的手性分离, 并测定了日夜百服宁片剂中右旋伪麻黄碱的含量, 为开展此类药物对映体的研制及临床研究工作提供了一种有效可靠的分析方法。

## 2 实验部分

### 2.1 仪器与试剂

Waters 空心熔融石英毛细管柱 (75  $\mu$ m i. d.  $\times$  50 cm), 柱上紫外检测。消旋伪麻黄碱和右旋伪麻黄碱由华东理工大学化学工程学院提供, 纯度大于 99%。日夜百服宁片剂购自上海施贵宝制药有限公司, 羟丙基- $\beta$ -CD 由上海药物所提供, 纯度大于 98%。含量测定用内标 8-羟基喹啉购自中国药品生物制品鉴定所。甲醇、磷酸和三羟甲基氨基甲烷 (Tris) 均为分析纯, 水为重蒸馏水。

### 2.2 电泳条件

电压 24 kV, 温度 25  $^{\circ}$ C, 虹吸进样, 高度 10 cm, 进样时间 1 s, 紫外检测波长 214 nm; 分离用缓冲液为 25 mmol/L 的 Tris-磷酸缓冲液 (pH 2.65), 含 38 mmol/L 的羟丙基- $\beta$ -CD。进样前, 用 0.1 mol/L NaOH 冲柱 20 min、蒸馏水冲柱 10 min、缓冲液平衡

10 min, 两次进样间用 0.1 mol/L NaOH 冲柱 2 min, 缓冲液冲柱 5 min。

### 2.3 样品制备

2.3.1 对照品溶液的制备 精密称定对照品消旋伪麻黄碱、右旋伪麻黄碱和内标 8-羟基喹啉依次为 50.2 mg, 29.9 mg 和 22.5 mg, 用甲醇溶解, 分别置于 25 mL 的量瓶中, 用甲醇定容至刻度, 摇匀, 置冰箱中保存备用。

2.3.2 样品液的配制 取日夜百服宁片剂 10 片在研钵中碾成粉末, 精密称取粉末适量 (约含伪麻黄碱 60 mg), 用蒸馏水定容于 50 mL 的量瓶中, 超声 3 h 提取其中的盐酸伪麻黄碱, 过滤, 取续滤液 2 mL, 内标 1 mL 置于 10 mL 的容量瓶中, 用蒸馏水定容至刻度, 摇匀, 备用。

## 3 结果与讨论

### 3.1 分离条件的影响与优化

3.1.1 手性选择剂对分离的影响 分别以  $\alpha$ -CD,  $\beta$ -CD 和羟丙基- $\beta$ -CD 为手性选择剂, 通过改变手性选择剂的浓度、背景电解质的 pH 值、毛细管的柱长和柱内径, 考察了手性选择剂对分离选择性的影响。结果发现  $\alpha$ -CD 和  $\beta$ -CD 选择性较差, 而羟丙基- $\beta$ -CD 对伪麻黄碱对映体有很好的分离度和选择性, 且峰形好, 因此选用羟丙基- $\beta$ -CD 为手性选择剂。

3.1.2 手性选择剂浓度对分离的影响 在 25 mmol/L 的 Tris-磷酸缓冲液 (pH 2.65) 中分别加入不同浓度的手性选择剂以考察选择剂用量对手性分离效果的影响。结果表明以 38 mmol/L 的羟丙基- $\beta$ -CD 作为手性选择剂, 从分离时间和分离度这两方面综合评价, 效果最佳。

收稿日期 2001-05-30

基金项目 全军医学科研基金课题 (98M074)

作者简介 武向锋 (1973-) 男, 第二军医大学药学院药物分析专业硕士研究生。

通讯联系人 柴逸峰 (1965-) 男, 博士, 副教授, 硕士生导师, 电话 (021) 25070338, E-mail yfchai@guomai.sh.cn。

**3.1.3 缓冲溶液浓度及电压对分离的影响** 实验表明,缓冲溶液浓度及电压对分离的选择性和效率均有较大影响,过高的电压及过高的缓冲液浓度均可能导致焦耳热增加而影响分离<sup>[7]</sup>。研究结果表明,缓冲溶液的浓度为 25 mmol/L、电压为 24 kV 时效果最好。

**3.1.4 pH 对分离的影响** 考察了背景电解质中 Tris-磷酸缓冲溶液的 pH 值(pH 2.2~5.0)对上述手性药物分离的影响。pH>2.7 时分离度小且峰形矮胖,而 pH<2.7 时峰形好但迁移时间长,本文选择 pH 2.65 作为分离缓冲液的 pH 值。

**3.1.5 毛细管柱的壁、内径和长度的影响** 为了抑制毛细管壁的硅醇基对碱性药物的吸附,降低电渗流,增加分离选择性,通常此类药物的手性分离多采用涂渍的毛细管柱,但涂渍柱的使用重现性不十分理想,推广还存在一定困难。本文采用未涂渍柱,通过低 pH 值也能有效地抑制吸附和降低电渗流,达到满意的分离。

我们考察了内径分别为 75  $\mu\text{m}$  和 50  $\mu\text{m}$  的毛细管柱对分离选择性的影响,结果表明二者均能基线分离伪麻黄碱手性对映体。因为内径 75  $\mu\text{m}$  的柱灵敏度高,我们选择了内径 75  $\mu\text{m}$  的柱。同时也考察了长度分别为 40 cm、50 cm 和 60 cm 的毛细管柱对分离效果的影响,结果表明 50 cm 长的毛细管柱最佳。

在上述优化条件下,得到的最佳分离图谱见图 1 和图 2。

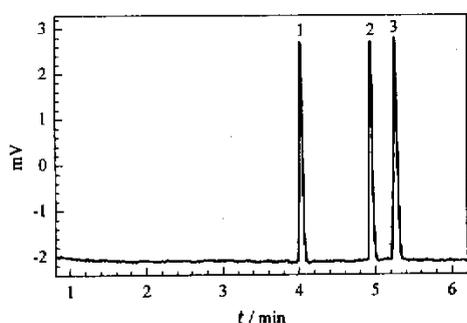


图 1 伪麻黄碱的手性分离电泳图

Fig.1 The chiral separation electropherogram of pseudoephedrine standard

1. 8-hydroxyquinoline; 2. (1R,2R)-pseudoephedrine; 3. (1S,2S)-pseudoephedrine.

## 3.2 方法学评价

**3.2.1 最低检测限的测定** 配制一系列低浓度的对照品溶液,按“2.2”节所述条件,以信噪比  $S/N$  为 3:1 测得消旋伪麻黄碱的最低检测限为 2.0 mg/L、右旋伪麻黄碱的最低检测限为 4.0 mg/L。

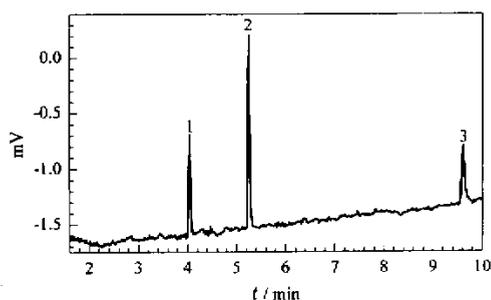


图 2 日夜百服宁片剂中有关成分的电泳分离图谱

Fig.2 The electropherogram of the Bufferin Cold tablet

1. 8-hydroxyquinoline; 2. (1S,2S)-pseudoephedrine; 3. unknown content.

**3.2.2 标准曲线的建立** 分别精密量取化学对照品溶液 0.1 mL、0.2 mL、0.4 mL、1.0 mL 和 2.0 mL 于 5.0 mL 的量瓶中,再分别加入内标 0.5 mL,按“2.2”节所述电泳条件进行测定。以待测成分峰面积与内标峰面积之比  $Y$  对质量浓度  $X$  进行线性回归,得回归方程如下:

消旋伪麻黄碱  $Y = -0.01924 + 0.00564X$ ,  $r = 0.9998$  ( $n = 5$ );

右旋伪麻黄碱  $Y = -0.00174 + 0.00905X$ ,  $r = 0.9999$  ( $n = 5$ )

**3.2.3 日内和日间精密度考察** 分别对高、中、低 3 个质量浓度水平的消旋伪麻黄碱和右旋伪麻黄碱标准溶液进行日内和日间精密度考察,结果见表 1。

表 1 方法的精密度 ( $n = 3$ )

Table 1 Precision of the method ( $n = 3$ )

Component	Content (mg/L)	RSD (%)	
		intra-day	inter-day
Pseudoephedrine	80.32	1.7	2.0
	160.64	1.0	2.8
	401.60	1.4	1.7
(1S,2S)-pseudoephedrine	23.92	0.8	0.8
	95.68	0.7	1.1
	239.20	1.5	3.0

**3.2.4 加样回收率考察** 分别精密称取已知含量的纯品,加入一定量的消旋伪麻黄碱和右旋伪麻黄碱,计算加样回收率,结果见表 2。

表 2 加样回收率测定结果 ( $n = 3$ )

Table 2 Results of recovery test ( $n = 3$ )

Component	Amount added ( $\mu\text{g}$ )	Recovery (%)
Pseudoephedrine	80.32	95.6
	160.64	104.3
	401.60	98.4
(1S,2S)-pseudoephedrine	23.92	103.6
	95.68	96.2
	239.20	101.7

### 3.3 样品液含量测定结果

经研究发现,日夜百服宁片剂中含右旋伪麻黄碱,其含量测定结果见表 3。

表 3 样品含量测定结果

Table 3 The determination results of the sample %

Test No.	Percentage of labelled amount	Average	RSD
1	98.49		
2	96.70	98.65	2.0
3	100.76		

#### 参考文献:

[1] CHEN Fa-kui. Determination of effective component in common Chinese traditional and herbal drugs. Beijing: People's Health Press, 1997. 668-686  
陈发奎. 常用中草药有效成分的含量测定. 北京:人民卫生出版社, 1997. 668-686

[2] LI Guang-xiu, ZHENG Rong-qing. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 1992, 23(6): 322-324  
李光秀, 郑荣庆. 中草药, 1992, 23(6): 322-324

[3] YANG Zheng-xian. Acta Medicinæ Sinica, 1988, 3(3): 29-31  
杨正贤. 中国医学学报, 1988, 3(3): 29-31

[4] Barkan S, Weber J D, Smith E. J Chromatogr A, 1981, 219: 81-88

[5] JIN Xiao, WANG Shan, ZHANG Chang-jiu. Acta Pharmaceutica Sinica, 1994, 29(5): 375-379  
金 晓, 王 杉, 张长久. 药学报, 1994, 29(5): 375-379

[6] Tagliaro F, Manetto G, Bellini S. Electrophoresis, 1998, 19(1): 42-50

[7] DENG Yan-zhuo, HE Jin-lan. High performance capillary electrophoresis. Beijing: Science Press, 2000. 45-46  
邓延倬, 何金兰. 高效毛细管电泳. 北京: 科学出版社, 2000. 45-46

## Separation and Determination of Pseudoephedrine in Bufferin Cold Tablet by Capillary Electrophoresis with Hydropropyl- $\beta$ -Cyclodextrin as Chiral Selective Reagent

WU Xiang-feng<sup>1</sup>, CHAI Yi-feng<sup>1</sup>, LIU Li-li<sup>1</sup>, LOU Zi-yang<sup>1</sup>,  
LI Jie-wei<sup>2</sup>, ZHANG Guo-qing<sup>2</sup>, WANG Bin<sup>2</sup>

(1. College of Pharmaceutical Science, The Second Military Medical University, Shanghai 200433, China; 2. Eastern Hospital of Hepatobiliary Surgery, The Second Military Medical University, Shanghai 200438, China)

**Abstract:** A method for the separation and analysis of the chiral pseudoephedrine enantiomers using capillary electrophoresis was established. The buffer solution for separation was 25 mmol/L Tris-phosphate, including 38 mmol/L hydropropyl- $\beta$ -cyclodextrin with pH value of 2.65. (1S, 2S)-Pseudoephedrine in Bufferin Cold tablet was determined. The method has good precision, recovery and linear relationship.

**Key words:** capillary electrophoresis; hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin; pseudoephedrine; enantiomer; Bufferin Cold tablet