

工作简报

电堆积柱上富集-高效毛细管电泳法测定药品中
盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱的含量涂逢樟¹, 姚辉梅¹, 钟春龙¹, 卢艺平¹, 林竹光²

(1. 龙岩学院 化学与材料学院, 龙岩 364000;

2. 厦门大学 化学化工学院化学系, 现代分析科学教育部重点实验室, 厦门 361005)

摘要: 应用电堆积柱上富集-高效毛细管电泳法测定了 6 种药品中盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱含量。试验选择了以下分析条件: ① 检测波长 205 nm; ④ 内标物为间苯二酚; ④ 运行液为 pH 9.2 的 40 mmol·L⁻¹ 硼砂缓冲溶液; ¼ 分离电压 20 kV; ½ 进样时间 10 s; ¾ 分离温度 25 °C。麻黄碱及伪麻黄碱质量浓度在 1~400 mg·L⁻¹ 之间与相应的相对峰面积值(即被测物与内标物的峰面积之比)呈线性关系。方法的检出限(3S/N)为 0.35 mg·L⁻¹(麻黄碱)和 0.29 mg·L⁻¹(伪麻黄碱)。以 2 种药品作基体加入标准溶液做回收试验, 测得平均回收率依次为 101.1% 及 103.6%。

关键词: 高效毛细管电泳法; 电堆积; 盐酸麻黄碱; 盐酸伪麻黄碱

中图分类号: O657.8

文献标志码: A

文章编号: 1001-4020(2011)05-0569-03

HPCE Determination of Ephedrine Hydrochloride and Pseudo-Ephedrine Hydrochloride in Drugs with Enrichment by Electro-stacking

TU Feng-zhang¹, YAO Hui-mei¹, ZHONG Chun-long¹, LU Yi-ping¹, LIN Zhu-guang²

(1. Dept. of Chemistry and Material Science, Longyan College, Longyan 364000, China;

2. Key Lab. of Modern Analytical Science sponsored by the Ministry of Education, Dept. of Chemistry, College of Chem. and Chem. Eng., Xiamen University, Xiamen 361005, China)

Abstract: HPCE with electro-stacking enrichment was applied to the determination of ephedrine hydrochloride and pseudo-ephedrine hydrochloride in 6 drugs. Analytical conditions were studied and following optimized parameters were given: ① wavelength for UV-detection: 205 nm; ④ internal standard: resorcinol; ④ electrophoretic medium: 40 mmol·L⁻¹ borax solution (pH 9.2); ¼ separation voltage: 20 kV; ½ time of sample introduction: 10 s; ¾ temperature of capillary: 25 °C. Linear relationships between values of relative peak area (i.e., ratio of peak area of the analyte to peak area of internal standard) and concentration of ephedrine and pseudo-ephedrine were kept in the same range of 1 to 400 mg·L⁻¹, with detection limits (3S/N) of 0.35 mg·L⁻¹ and 0.29 mg·L⁻¹ respectively. Recovery was tested by standard addition method using 2 drug samples as matrixes, giving values of average recovery of 101.1% (for ephedrine) and 103.6% (for pseudo-ephedrine).

Keywords: HPCE; Electro-stacking; Ephedrine hydrochloride; Pseudo-ephedrine hydrochloride

盐酸麻黄碱能发挥拟肾上腺素作用, 临床用于

支气管哮喘、蛛网膜下腔麻醉或硬膜外麻醉引起的低血压和解除鼻黏膜充血、水肿; 盐酸伪麻黄碱能选择性收缩上呼吸道血管, 消除鼻黏膜水肿, 对全身血管和血压的影响较弱, 与抗组胺药配伍, 可治疗感冒、过敏性鼻炎等症。这两种药物的滥用会造成药物依赖性, 严重时可导致用药者精神崩溃, 作出极端

收稿日期: 2010-03-18

基金项目: 龙岩学院第二批教育教学改革立项项目(岩学院教[2009]40号)资助

作者简介: 涂逢樟(1977-), 男, 福建长汀人, 硕士, 主要从事毛细管电泳、色质联用的研究。

行为,因而,对这些药物的管理很重要,测定其含量具有重要意义。目前,已报道的测定麻黄碱类药物的方法有微流控芯片非接触电导法^[1]、近红外光谱法^[2]、高效液相色谱法^[3]、液相色谱-质谱联用法^[4]和高效毛细管电泳法(HPCE)^[5]等。

盐酸麻黄碱与盐酸伪麻黄碱是一对理化性质极其相似的差向异构体,一般条件下不易分离。HPCE具有灵敏度高、检出限低、样品用量少等优点^[6],在复杂样品的分离分析中具有广阔的应用前景^[7],现已广泛应用到食品、药品等领域。本工作采用了电堆积柱上富集-HPCE法测定药品中盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱的含量。考察了不同缓冲溶液、不同电泳电压、进样时间、温度和内标物对盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱混合液电泳行为的影响,选择在最佳的电泳条件下测定了6种药品中两个目标物的含量。

1 试验部分

1.1 仪器与试剂

LUMEX CAPEL 105型毛细管电泳仪, TU-1901双光束紫外可见分光光度计,未涂层熔融石英毛细管, KQ-250B超声波清洗仪。

盐酸麻黄碱标准溶液:称取盐酸麻黄碱对照品50.00 mg于50 mL棕色容量瓶中,用适量的甲醇溶解,用二次蒸馏水定容,配制成 $1\ 000\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 标准溶液,置于4℃冰箱中保存。

盐酸伪麻黄碱标准液:称取盐酸伪麻黄碱对照品50.00 mg于50 mL棕色容量瓶中,用适量的甲醇溶解,用二次蒸馏水定容,配制成 $1\ 000\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 标准溶液,置于4℃冰箱中保存。

内标溶液: $1\ 000\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 间苯二酚溶液。

其他试剂均为分析纯,试验用水为二次蒸馏水。

试验中所有溶液进入毛细管之前均用 $0.45\ \mu\text{m}$ 纤维素滤膜过滤。

1.2 仪器工作条件

未涂层熔融石英毛细管($\phi 75\ \mu\text{m}\times 65\ \text{cm}$,有效长度57 cm),分离电压20 kV,检测波长205 nm,进样压力30 kPa,进样时间10 s,柱温25℃,缓冲溶液为 $40\ \text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 硼砂溶液。

1.3 试验方法

1.3.1 毛细管冲洗方法

每次进样前依次用水、 $0.1\ \text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 氢氧化钠溶液、水各冲洗10 min,最后用缓冲溶液冲洗5 min,两次测定间用缓冲溶液冲洗毛细管3 min。

1.3.2 电泳样品前处理

称取已研碎混匀的麻黄碱片剂0.220 0 g,用甲醇溶解,移至50 mL容量瓶中,加 $1\ 000\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 间苯二酚溶液2.00 mL,用二次蒸馏水定容至刻度,用滤膜过滤,取滤液按仪器工作条件进行测定。

移取注射液(滴鼻液、糖浆)1.00 mL于100 mL容量瓶中,加入 $1\ 000\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 内标间苯二酚溶液2.00 mL,用二次蒸馏水定容至刻度,用滤膜过滤,取滤液按仪器工作条件进行测定。

2 结果与讨论

2.1 检测波长与内标物的选择

取盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱标准溶液在190~400 nm范围内扫描,在205 nm波长处有最大吸收峰,选择205 nm为检测波长,紫外吸收光谱见图1。为减少进样误差等因素的影响,提高定量分析的精密性,考察了苯酚、间苯二酚、焦性没食子酸和对硝基苯酚的电泳行为,结果表明:间苯二酚的电泳淌度与被测组分相近,吸收灵敏度高,峰形好,选择其为内标物。

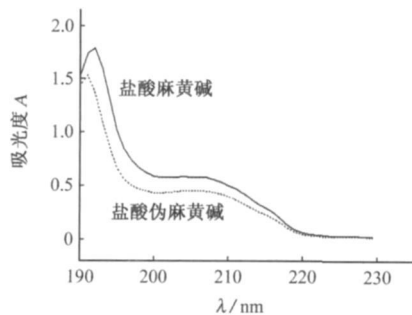


图1 紫外吸收光谱图

Fig. 1 UV-absorption spectra

2.2 缓冲体系的选择

考察了乙酸-乙酸钠混合溶液等6种缓冲体系对盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱、内标物的电渗流和分离效果的影响。结果表明:在pH 9.0的磷酸氢二钠-磷酸和pH 9.2的硼砂缓冲溶液中,盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱都能出峰,在硼砂体系中,盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱和内标的分离效果与灵敏度较好,在pH 4.0乙酸-乙酸钠、pH 6.2柠檬酸-柠檬酸钠、pH 7.6柠檬酸-磷酸氢二钠和pH 8.0磷酸氢二钠-磷酸二氢钠缓冲体系中仅盐酸麻黄碱出峰,在pH 7.4硼砂-硼酸缓冲溶液中两个目标物均不出峰。试验选择pH 9.2的硼砂缓冲溶液作为毛细管电泳的运行液。

2.3 电堆积富集过程中缓冲液浓度的选择

电堆积富集是毛细管电泳中的一种柱上样品浓缩技术, 通过流体动力学进样来实现。Burgi 等^[8]认为, 样品离子的富集率正比于样品溶液和运行缓冲溶液的电阻率比值, 即运行缓冲溶液和样品溶液的浓度比值。如果将样品溶于水, 可使样品各组分得到最大程度的富集。试验中将盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱溶于水, 考察了硼砂缓冲溶液浓度为 10, 20, 30, 40, 50, 60 mmol · L⁻¹ 时对分离和富集效果的影响。结果表明: 随缓冲溶液浓度增大, 目标物和内标物的迁移时间增加, 峰展宽增大, 当缓冲溶液浓度大于 40 mmol · L⁻¹ 时, 盐酸麻黄碱与盐酸伪麻黄碱分离和富集效果较好。综合考虑分离时间、分离效果, 试验选择硼砂缓冲溶液浓度为 40 mmol · L⁻¹。

2.4 分离电压的选择

盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱的迁移时间随着电压的增大而逐渐减少, 当分离电压为 20 kV 以上时, 迁移时间增幅很小。试验选择分离电压为 20 kV。

2.5 进样时间的选择

试验了不同进样时间对分离效果和灵敏度的影响, 结果表明: 进样时间越长, 盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱峰高越大, 灵敏度越高, 当进样时间大于 10 s 时, 峰形会展宽; 当进样时间小于 10 s 时, 灵敏度偏低。试验选择进样时间为 10 s。

2.6 分离温度的选择

控制适当的分离温度可有效地减少焦耳热的影响, 保持系统的稳定性和重现性。柱温为 20 °C 时, 随迁移时间增大, 基线向上漂移; 柱温大于 35 °C 时, 随迁移时间增大, 基线向下漂移, 考虑迁移时间以及基线的稳定等因素, 试验选择 25 °C 作为分离温度。

2.7 标准曲线和检出限

配制盐酸麻黄碱与盐酸伪麻黄碱混合标准溶液系列(含内标物), 在仪器工作条件下进行分析。以盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱的峰面积分别与内标物的峰面积之比为纵坐标, 以相对应的质量浓度为横坐标进行线性回归。结果表明: 盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱的质量浓度在 1~ 400 mg · L⁻¹ 范围内呈线性, 线性回归方程分别为: $y = 0.00549x + 0.00578$ 和 $y = 0.00719x + 0.00686$, 相关系数分别为 0.9996, 0.9997。盐酸麻黄碱的检出限(3S/N) 为 0.35 mg · L⁻¹, 测定下限(10S/N) 为 1.17 mg · L⁻¹。盐酸伪麻黄碱的检出限(3S/N) 为 0.29 mg · L⁻¹, 测定下限(10S/N) 为 1.00 mg · L⁻¹。

2.8 样品分析

取泰诺、白加黑、新康泰克、布洛伪麻分散片、伪麻滴鼻液、注射液, 按试验方法处理后进行测定, 对照品和新康泰克样品毛细管电泳图见图 2, 测定结果见表 1。同时对伪麻滴鼻液、新康泰克进行加标回收试验, 盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱的标准加入量均为 10, 50, 100 mg · L⁻¹, 平均回收率依次为 101.1% 和 103.6%。

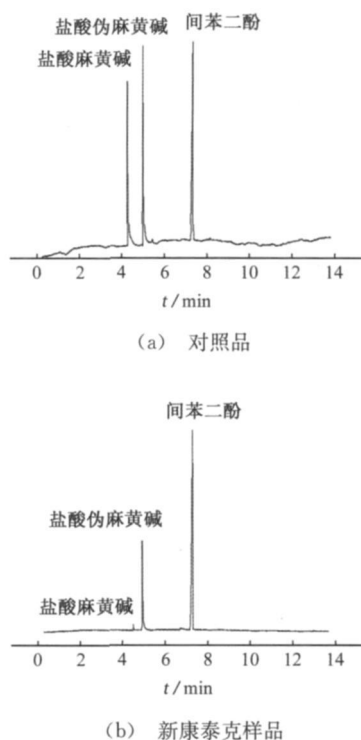


图 2 对照品(a)和新康泰克样品(b)的毛细管电泳图
Fig. 2 Electropherograms of standard (a) and compound pseudoephedrine HCl sustained release capsules (b)

表 1 样品分析结果(n= 6)

Tab. 1 Analytical results of samples

样品	盐酸麻黄碱			盐酸伪麻黄碱		
	标示量 w/(mg · g ⁻¹)	测定值 w/(mg · g ⁻¹)	RSD /%	标示量 w/(mg · g ⁻¹)	测定值 w/(mg · g ⁻¹)	RSD /%
泰诺	-	-	-	30.00	30.25	2.08
白加黑(黑片)	-	-	-	30.00	31.04	2.33
新康泰克	-	-	-	40.00	39.82	2.46
布洛伪麻分散片	-	-	-	-	49.49	2.09
伪麻滴鼻液	10.00	9.26	2.33	-	-	-
注射液	35.00	34.59	2.51	-	-	-

参考文献:

[1] 杨秀娟, 李偶连, 陈缙光, 等. 微流控芯片非接触电导法
(下转第 576 页)

表 1 回收试验结果

Tab. 1 Results of test for recovery

样号	本底值 $\rho/(\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1})$	加标量 $\rho/(\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1})$	测定总量 $\rho/(\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1})$	回收率 /%
1	3.426	5	8.457	100.6
2	5.943	5	10.78	96.7
3	8.455	8	16.69	102.9
4	8.570	8	16.63	97.0
5	9.150	10	19.52	103.7

灵敏度, 相对标准偏差小于 2.5%, 方法的回收率在 96.7%~103.7% 之间。方法经济实用, 操作简便、快速, 且具有高灵敏度。

参考文献:

[1] 吕跃明. 火焰原子吸收光谱法测定土壤中的镉[J]. 理化检验-化学分册, 2004, 40(8): 468-469.
 [2] 苏耀东, 秦立俊, 李静, 等. 内标和快速共沉淀-火焰原子吸收光谱法测定食盐中的镉[J]. 岩矿测试, 2005, 24(3): 201-204.
 [3] 邵劲松, 高芹. 微波消解石墨炉原子吸收法测定大米中铅镉[J]. 粮食与食品工业, 2005, 12(2): 42-44.
 [4] 倪小英, 王玉枝, 陈渠玲, 等. 微波消解-石墨炉原子吸

收测定大米中的铅镉[J]. 微量元素与健康研究, 2008, 25(5): 44-46.

[5] 艾伦弘, 汪模辉, 朱霞萍. 微波样品消解-氢化物发生-原子荧光光谱法测定土壤中镉[J]. 理化检验-化学分册, 2009, 45(9): 1103-1105.
 [6] MANZOORI J L, ABDOLMOHAMMAD-ZADEH H, AMJADI M. Ultratrace determination of cadmium by cold vapor atomic absorption spectrometry after pre-concentration with a simplified cloud point extraction methodology[J]. Talanta, 2007, 71(6): 582-587.
 [7] 彭谦, 王光建, 张克荣. 冷蒸气发生原子吸收光谱法测定食品中痕量镉[J]. 理化检验-化学分册, 2003, 39(3): 133-135.
 [8] 姚波, 徐淑坤, 方肇伦. 流动注射在线吸着分离预浓缩冷蒸气原子吸收法测定痕量镉[J]. 高等学校化学学报, 2001, 22(8): 1301-1304.
 [9] 林光西, 乔爱香. 微波消解-电感耦合等离子体质谱测定蔬菜中的铅和镉[J]. 光谱实验室, 2006, 23(4): 766-768.
 [10] 吴政宙, 陈文君. 食品中痕量镉的测定[J]. 光谱实验室, 2005, 22(4): 814-818.
 [11] 龚治湘. 微型多功能进样装置: 中国, ZL 200420084256.7[P], 2005-08-24.

(上接第 571 页)

测定感冒药中盐酸伪麻黄碱和氢溴酸右美沙芬[J]. 分析化学, 2008, 36(5): 673-677.

[2] 高鸿彬, 刘浩, 屈凌波, 等. 氢酚伪麻片中对乙酰氨基酚和盐酸伪麻黄碱的近红外法测定[J]. 中国医药工业杂志, 2009, 40(6): 447-449.
 [3] 贾自力, 田莉, 王耀华, 等. RP-HPLC 法测定盐酸伪麻黄碱的血药浓度及人体药动学研究[J]. 中国药物应用与监测, 2009, 6(2): 74-84.
 [4] 王璐璐, 方芸, 葛卫红. LG-MS 法测定人血浆中盐酸伪麻黄碱的浓度[J]. 中国药房, 2007, 18(32): 2510-2511.
 [5] 李斯光, 李利军, 程昊, 等. 胶束扫描毛细管电泳快速测定止咳露中的麻黄碱和可待因[J]. 分析试验室, 2009, 28(3): 70-73.
 [6] 傅若农. 色谱分析概论[M]. 北京: 化学工业出版社, 2000: 45.
 [7] MONNING C A, KENNEDY R T. Capillary electrophoresis[J]. Analytical Chemistry, 1994, 66: 280-314.
 [8] BURGI D S, CHIEN R L. Optimization in sample stacking for high-performance capillary electrophoresis[J]. Analytical Chemistry, 1991, 63(18): 2042-2047.

(上接第 573 页)

按试验方法对 5 批抗氧化剂 DLTD 样品进行分析, 测得 DLTD 的平均质量分数在 95.6%~99.3% 之间, 相对标准偏差 ($n=5$) 小于 1.1%。

建立了反相高效液相色谱法测定抗氧化剂硫代二丙酸双十二醇酯的含量, 方法快速、精密度高。

参考文献:

[1] 李丹妮, 刘雯雯, 练鸿振. 抗氧化剂 168 的质量控制分析及杂质鉴定[J]. 应用化学, 2005, 22(5): 511-516.
 [2] 开小明, 邱晓生, 王长明. 反相高效液相色谱测定抗氧化剂 3114[J]. 分析试验室, 2005, 24(1): 1-3.
 [3] JENKE D. Chromatographic methods used to identify and quantify organic polymer additives[J]. Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies, 2003, 26(15): 2417-2447.
 [4] 张金芳, 李善茂, 刘国宏, 等. 一种测定 3,3',4,4'-联苯四甲酸二酐纯度的新方法[J]. 理化检验-化学分册, 2009, 45(5): 524-526.
 [5] WARNER C, MODDERMAN J, FAZIO T, et al. Food additives analytical manual[M]. Arlington, VA: AOAC International, 1993.