

反相高效液相色谱法测定蜂地麻滴眼液的含量

孙艳,周晓兵,谢牧牧(中国人民解放军总医院药品保障中心,北京 100853)

摘要 目的:建立 RP-HPLC 法测定蜂地麻滴眼液中盐酸丁卡因和盐酸麻黄碱含量的方法。**方法:**采用梯度洗脱反相高效液相色谱法;C₁₈ 色谱柱;以 0.05 mol/L 磷酸二氢钠:乙腈=9:1 为流动相 A,0.05 mol/L 磷酸二氢钠:乙腈=3:7 为流动相 B;检测波长:218 nm。**结果:**盐酸丁卡因和盐酸麻黄碱在 50.26~753.9 μg/mL 和 51.38~770.7 μg/mL 范围内线性良好($r=1.000, 0.9995$),平均回收率为 100.25%、99.57%,RSD 为 0.75%、0.91%($n=9$)。**结论:**该方法可有效地同时测定样品中盐酸丁卡因和盐酸麻黄碱的含量,简便准确,适用于有蜂蜜干扰的制剂的含量测定。

关键词 反相高效液相色谱法;含量测定;盐酸丁卡因;盐酸麻黄碱

中图分类号:R927.2 文献标识码:A 文章编号:1006-0111(2008)04-0294-03

Determine of the Fengdima eye drops by RP-HPLCC

SUN Yan, ZHOU Xiao-bing, XIE Mu-mu (Department of pharmacy in Chinese PLA General Hospital, Beijing 100853, China)

ABSTRACT Objective: To establish a RP-HPLC method for determining the contents of tetracaine hydrochloride and ephedrine hydrochloride in Fengdima eye drops. **Methods:** A gradient elution RP-HPLC method was used with a C₁₈ column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), the mobile phase consisted of 0.05 mol/L sodium dihydrogen phosphate-acetonitril (9:1, for A pump) and 0.05 mol/L sodium dihydrogen phosphate buffer-acetonitril (3:7, for B pump); the determination wavelength was 218 nm. **Results:** The determination was not interfered by the excipient. The linear range of tetracaine hydrochloride was 50.26~753.9 μg/mL, $r=1.000$. The linear range of ephedrine hydrochloride was 51.38~770.7 μg/mL, $r=0.9995$. The average recovery were 100.25%, 99.57% respectively, while RSD were 0.75%, 0.91%, respectively. **Conclusion:** The contents of tetracaine hydrochloride and ephedrine hydrochloride could be determined effectively at the same time by the proposed method, which is simple, accurate and can be applied for determining the contents of preparation interfered by honey.

KEY WORDS RP-HPLC; determination; tetracaine hydrochloride; ephedrine hydrochloride

蜂地麻滴眼液是在我院已使用二十余年的特色制剂,以盐酸丁卡因和盐酸麻黄碱为主要成分,可有效治疗电光性眼炎和角膜上皮溃疡等疾病。本制剂为复方制剂,用药典中的化学滴定法对制剂中的化学药进行含量测定时,制剂中的蜂蜜常引起干扰^[1],使测定结果难以准确可靠。为此,本法参考有关文献^[2-4],采用梯度洗脱反相高效液相色谱法进行含量测定,以排除蜂蜜的干扰,同时测定制剂中的两种化学药。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 Agilent 1090A 高效液相色谱仪(美国安捷伦公司,配紫外检测器,自动进样器和色谱数据工作站),ME215S 分析天平(德国 Sartorius 公司),DB303 分析天平(瑞士梅特勒公司)。

1.2 药品与试剂 乙腈(色谱纯,北京化工厂,批号 20040926),磷酸二氢钠(分析纯,北京化工厂),纯化水,样品(自制,批号:20060828、20061128、20061204),蜂蜜(槐花蜂蜜流通蒸汽灭菌 30 min,未过滤),盐酸丁卡因(北京市燕京制药厂,批号:060401),盐酸麻黄碱(赤峰艾克制药科技有限公司,批号:040404)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 Agilent 1090A 高效液相色谱仪;CAPCELL PAK C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm);以 0.05 mol/L 磷酸二氢钠:乙腈=9:1 为流动相 A,0.05 mol/L 磷酸二氢钠:乙腈=3:7 为流动相 B,水相中加入浓度为 0.2% 的三乙胺,均用磷酸调 pH 值至 4.0;检测波长为 218 nm;柱温为 40 °C;流速为 1.0 mL/min;进样量为 10 μL。因盐酸丁卡因需梯度洗脱测定,故本试验设置梯度洗脱程序见表 1。

表 1 梯度洗脱程序

时间(min)	流动相 A(%)	流动相 B(%)
0~7	95	5
7~33	70	30
33~39	95	5

2.2 样品供试液的制备 精密量取本品 5 mL, 置 50 mL 容量瓶中, 加水稀释至刻度, 摇匀, 即得样品供试液。

2.3 对照品溶液的配制 各取蜂地麻滴眼液对照品盐酸丁卡因和盐酸麻黄碱约 25 mg, 精密称定, 分别置 10 mL 容量瓶中, 加水稀释至刻度, 摇匀, 精密量取各溶液 1 mL 置 10 mL 量瓶中, 加水稀释至刻度, 摇匀, 即得对照品供试液。

2.4 空白辅料供试液的制备 量取蜂蜜 5 mL, 置 10 mL 容量瓶中, 加水稀释至刻度, 摇匀, 精密量取各溶液 1 mL 置 10 mL 量瓶中, 加水稀释至刻度, 摇匀, 即得空白辅料供试液。

2.5 系统适用性 在上述的液相色谱条件下, 盐酸麻黄碱对照品的保留值约为 5.1 min 左右, 盐酸丁卡因对照品的保留值约为 31.4 min 左右, 两者的分离度符合要求, 空白辅料对含量测定没有干扰, 见图 1(A, B, C)。在此液相色谱条件下色谱柱的理论塔板数按盐酸丁卡因峰计算为 142 451。

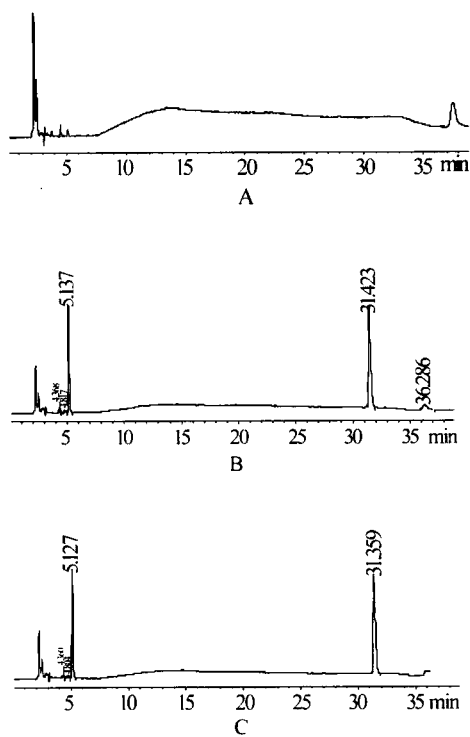


图 1 蜂地麻滴眼液色谱图

A-空白辅料; B-对照品溶液; C-供试品溶液

2.6 溶液稳定性试验 取本品按 2.2 项下配制样

品供试液, 在不同的时间进样, 记录峰面积, 计算, 测得盐酸丁卡因的峰面积 *RSD* 为 0.54%, 盐酸麻黄碱的峰面积 *RSD* 为 1.15%, 结果表明本品含量测定的供试液在 20 h 内基本稳定。

2.7 重复性试验 取批号 20061128 的样品 5 瓶, 按 2.2 项下样品供试液的制备方法配制溶液, 连续进样 6 次, 以峰面积计算其含量。盐酸麻黄碱为标示量的 100.85%, 102.40%, 99.93%, 101.63%, 99.21%, 100.15%, 平均值为 100.70%, *RSD* = 1.16% ± 2% (*n* = 6), 盐酸丁卡因为标示量的 94.85%, 95.31%, 95.40%, 97.46%, 94.96%, 94.29%, 平均值为 95.37%, *RSD* = 1.15% ± 2% (*n* = 6), 表明本方法重复性较好。

2.8 线性关系考察试验 分别取盐酸丁卡因、盐酸麻黄碱对照品 2.5 mg, 精密称定, 置 10 mL 容量瓶中, 加蜂蜜 5 mL, 加水稀释至刻度, 摇匀, 作为贮备液。分别精密量取贮备液 0.2、0.5、1、2、3 mL 置 10 mL 量瓶中, 加水稀释至刻度, 摇匀, 依次进样, 记录峰面积。以盐酸丁卡因和盐酸麻黄碱的浓度 *C* 和吸收值 *A* 做线性回归, 得校正曲线数据分别为盐酸丁卡因: $y = 5.668x - 7.503$ ($r = 1.000, n = 5$); 盐酸麻黄碱: $y = 2.825x + 43.82$ ($r = 0.9995, n = 5$)。结果表明, 该方法在测定 50.26 ~ 753.9 μg/mL 浓度的盐酸丁卡因、51.38 ~ 770.7 μg/mL 浓度的盐酸麻黄碱时有良好的线性关系。

2.9 回收率试验 精密称取 9 份蜂蜜各 5 mL, 分别按对照品溶液浓度的 80%、100%、120% 的量加入对照品, 置 10 mL 量瓶中, 加水稀释至刻度, 摇匀, 即得样品供试液。照含量测定方法测定其加入量, 每个浓度平行 3 份。结果如表 2 所示。

2.10 样品测定 取三批样品按“2.2”项下配制溶液, 照高效液相色谱法(中国药典 2005 年版二部 附录 V D), 以自动进样器精密吸取供试品溶液注入高效液相色谱仪, 测定并以峰面积计算, 即得。结果见表 3。

3 讨论

根据中国药典, 盐酸丁卡因和盐酸麻黄碱的含量测定均采用高氯酸滴定法, 而在本滴眼液中, 这两种药物若采用此法测定含量会产生干扰, 因此考虑采用高效液相色谱法进行含量测定。在摸索液相条件时发现, 在流动相比比例为 0.05 mol/L 磷酸二氢钠: 乙腈 = 9 : 1 时, 盐酸麻黄碱出峰过快, 不符合含量测定的要求; 而盐酸丁卡因出峰过慢, 不利于节约时间和流动相, 且洗脱情况不佳, 因此, 参考有关文献^[2-4], 选用梯度洗脱的方法, 在有机相比比例较低时测定盐酸麻黄碱的含量, 在

有机相比比例较高时测定盐酸丁卡因的含量。另外,根据资料^[5],在水相中还加入 0.2% 三乙胺作为扫尾剂以改善峰形,减少脱尾。实验表明,在“2.1”项下的梯度条件下测定盐酸丁卡因和盐酸麻黄碱的含量,盐酸麻黄碱的出峰时间可在 5 ~

6min,盐酸丁卡因的出峰时间可在 30 ~ 32 min,保留时间适宜,分离度较好,空白辅料不干扰。此方法可较好地同时测定盐酸丁卡因和盐酸麻黄碱的含量,适用于有蜂蜜干扰的制剂的含量测定,在方法和技术上都有所创新。

表 2 回收率试验结果

	盐酸丁卡因					盐酸麻黄碱				
	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
	20.23	20.43	101			20.7	20.67	99.87		
80%	19.67	19.44	98.82	100.11	1.13	21.09	20.8	98.62	99.60	0.88
	20.12	20.23	100.5			20.32	20.38	100.3		
	25.69	25.89	100.8			24.59		99.94		
100%	25.69	25.89	100.8	100.66	0.19	26.33	26.1	99.13	100.05	0.98
	24.68	24.79	100.5			25.38	25.65	101.1		
	30.64	30.41	99.26			29.09	29.06	99.89		
120%	30.67	30.65	99.95	99.97	0.72	29.64	29.07	98.09	99.05	0.91
	30.4	30.61	100.7			30.17	29.92	99.18		

表 3 含量测定结果

批号	盐酸丁卡因标示含量 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)	盐酸麻黄碱标示含量 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
20060828	96.09			99.48		
20061128	95.37	95.43	0.66	100.7	99.73	0.87
20061204	94.83			99.01		

参考文献:

- [1] 徐红,陆志华.复方蜂蜜滴眼液的制备和质量控制[J].中国医院药学杂志,2006,26(4):482.
- [2] 王兆龙.反相高效液相色谱法测定风寒感冒颗粒中盐酸麻黄碱和伪麻黄碱的含量[J].中南药学,2006,4(4):289.
- [3] 林凯.RP-HPLC法测定麻黄中麻黄碱、伪麻黄碱和甲基麻

黄碱[J].中草药,2006,37(2):283.

- [4] 徐华.高效液相色谱法快速测定疱疹灵中甲硝唑与盐酸丁卡因含量[J].中国医院药学杂志,2001,21(10):629.
- [5] 张国阳,王利.反相高效液相色谱法测定哮喘灵口服液中麻黄碱的含量[J].江苏药学与临床研究,2005,13(1):25.

收稿日期:2008-07-08

(上接第 260 页)

这是本实验对于代谢型谷氨酸 III 型受体激动剂 L-SOP 的作用方式的新发现,使我们对于其作用途径及机理有一个新认识,为其作用机制的进一步研究打下基础,并为今后关系到 L-SOP 的兴奋性氨基酸受体系列研究提供实验依据。

参考文献:

- [1] Vickery RM, Morris SH, Bindman LJ. Metabotropic glutamate receptors are involved in long-term potentiation in isolated slices of rat medial frontal cortex [J]. J Neurophysiol, 1997, 78 (6): 3039.
- [2] 袁芳,王天佑.代谢型谷氨酸受体在脑缺血缺氧损伤中的作用[J].基础医学与临床,1998,18(2):20.
- [3] Pin JP, Duvoisin R. The metabotropic glutamate receptors: struc-

ture and functions [J]. Neuropharmacology, 1995, 34(1): 1.

- [4] Guatteo E, Mercuri NB, Bernardi G, et al. Group I metabotropic glutamate receptors mediate an inward current in rat substantia nigra dopamine neurons that is independent from calcium mobilization [J]. J Neurophysiol, 1999, 82(4): 1974.
- [5] 陈厚昌, Gerge P HESS. 烟碱受体在非洲爪蟾卵母细胞的表达及特征 [J]. 中国药理学与毒理学杂志, 1994, 8(2): 110.
- [6] Dascal N, Gillo B, Lass Y. Role of calcium mobilization in mediation of acetylcholine-evoked chloride currents in *Xenopus laevis* oocytes [J]. J Physiol, 1985, 366: 299.
- [7] 陈厚昌, 蒋毅萍, 陈中玉. 电压钳位法检测细胞内钙振荡 [J]. 第一军医大学学报, 1999, 19(6): 504.
- [8] Parker I, Miledi R. Changes in intracellular calcium and in membrane currents evoked by injection of inositol trisphosphate into *Xenopus* oocytes [J]. Proceeding of Royal Society, 1986, 288: 307.

收稿日期:2007-07-02