

高效液相色谱法测定硫酸特布他林片剂含量*

严小平¹, 方应国¹, 李成平^{1,2}, 单伟光^{2*}

(1. 浙江树人大学生物与环境工程学院, 杭州 310015; 2. 浙江工业大学药学院, 杭州 310032)

摘要 目的: 建立测定硫酸特布他林片剂含量的高效液相色谱法。方法: 选用 Agilent Eclipse XDB-C₈ 柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm); Lab Alliance C₈ 保护柱 (4.6 mm × 10 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-水 [10:90 (含 28 mmol·L⁻¹ 磷酸二氢钾, 用 0.2% 磷酸调 pH = 4.6)]; 流速: 1.0 mL·min⁻¹; 检测波长: 280 nm; 进样量: 20 μL; 柱温: 室温。结果: 方法的线性范围为 0.5~200 μg·mL⁻¹ ($r = 0.9982$); 最低检测限 2.0 ng; 回收率在 98.6%~102.7% 之间, RSD 在 0.38%~2.4% ($n = 5$)。结论: 方法简便灵敏, 结果准确可靠, 可用于硫酸特布他林片剂的质量控制。

关键词: 高效液相色谱法; 硫酸特布他林; 测定; 相关物质

中图分类号: R917

文献标识码: A

文章编号: 0254-1793(2010)02-0217-03

HPLC determination content of terbutaline sulfate tablets*

YAN Xiao-ping¹, FANG Ying-gong¹, LI Cheng-ping^{1,2}, SHAN Wei-guang^{2*}

(1. College of Biology and Environment Engineering Zhejiang Shuren University, Hangzhou 310015, China

2. College of Pharmaceutical Sciences Zhejiang University of Technology, Hangzhou 310032, China)

Abstract Objective To establish HPLC method for the determination of terbutaline sulfate tablets. **Method** Agilent Eclipse XDB-C₈ column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), with the mobile phase consisted of methanol-water (10:90 contain 28.0 mmol·L⁻¹ potassium dihydrogen phosphate by 0.2% phosphoric acid adjust to pH 4.6), the flow rate was 1.0 mL·min⁻¹, detection wavelength at 280 nm, the injection volume was 20 μL and external standard method. **Results** The linear range of the method was 0.5~200 μg·mL⁻¹ ($r = 0.9982$), the limit of detection was 2.0 ng, the average recovery was 98.6%~102.7%, with RSD of 0.38%~2.4% ($n = 5$). **Conclusion** The method is simple, sensitive, accurate and can be used for the determination terbutaline sulfate tablets.

Key words HPLC; terbutaline sulfate; determination; related substances

硫酸特布他林 (Terbutaline Sulfate), 化学名为 (±) α-[(叔丁氨基) 甲基-3,5-二羟基苯甲醇硫酸盐] (2:1), 是一种合成的 β₂-肾上腺素受体激动剂, 是治疗支气管哮喘、慢性支气管炎、肺气肿及伴有支气管痉挛等肺部疾病的药品, 在国内外已得到广泛的应用^[1]。目前, 硫酸特布他林片剂含量测定主要有流动注射化学发光法^[2,3]、高效液相色谱离子对试剂法^[4-6], 在 2005 年版中华人民共和国药典^[7]中硫酸特布他林含量测定采用电位滴定法, 操作烦琐。美国药典 USP 32 版^[8]中硫酸特布他林片剂含量的测定采用反相高效液相色谱离子对试剂法。本文用反相高效液相色谱外标法以甲醇和磷酸二氢钾缓冲溶液为流动相直接测定其含量, 较之离

子对试剂法流动相体系更为简单、经济, 适用于硫酸特布他林片剂的产品质量控制分析。

1 仪器与试剂

Agilent 1100 高效液相色谱仪 (HP 1100 系列四元泵, VWD 检测器, HP 1100 化学工作站), CQ-250S 超声波清洗器 (上海杰理科技有限公司), pH S-4 型酸度计 (杭州亚美电子仪器厂)。

硫酸特布他林对照品 (中国药品生物制品检定所), 硫酸特布他林片剂 (2.5 mg·片⁻¹) (阿斯利康制药有限公司; 批号: 200310007, 200405008), 超纯水, HPLC 级甲醇 (Merck KGaA), 分析纯磷酸 (浙江建德化工厂) 分析纯磷酸二氢钾 (湖州湖试化学试剂有限公司)。

* 浙江工业大学省制药重中之重学科开放基金 (No. 20050602)

** 通讯作者 Tel: (0571) 88320554 E-mail: swg@zjut.edu.cn

2 色谱条件

色谱分离柱: Agilent Eclipse XDB - C₈ 柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 保护柱: Lab Alliance C₈ 柱, (4.6 mm × 10 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇 - 水 [10: 90 (含 28 mmol L⁻¹ 磷酸二氢钾, 用 0.2% 磷酸调 pH = 4.6)]; 流速: 1.0 mL · min⁻¹; 紫外检测波长: 280 nm; 进样量: 20 μL; 柱温: 室温。在该色谱条件下, 样品及对照品色谱图见图 1。

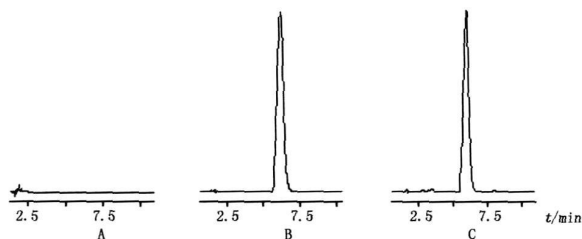


图 1 硫酸特布他林色谱图

Fig 1 HPLC chromatograms of terbutaline sulfate

A. 空白辅料 (blank) B. 对照品 (reference substance) C. 样品 (sample)

3 实验方法

3.1 线性关系 用甲醇准确配制每 1 mL 含硫酸特布他林 10 mg 的储备液, 然后用流动相逐步稀释至 0.5, 5.0, 50, 100, 200 μg · mL⁻¹ 系列梯度对照品溶液, 进样量 20 μL。按上述色谱条件测定峰面积, 以峰面积对溶液质量浓度进行线性回归, 得回归方程为:

$$A = 9.103C + 25.83 \quad r = 0.9982 (n = 5)$$

线性范围为 0.5 ~ 200 μg · mL⁻¹, 最小检测限为 2.0 ng。

3.2 进样重复性与稳定性试验 以同 1 份对照品溶液, 连续进样 5 次, 每次进样 20 μL, 按上述色谱条件测定峰面积, RSD 为 0.78% (n = 5)。分别于 0, 1, 4, 8, 24 h 后测定峰面积, 结果显示对照品溶液的峰面积基本一致, 无杂质峰产生 (RSD = 1.2%), 说明溶液在 24 h 内稳定。

3.3 加样回收率试验 精密称取 3 份已知含量的硫酸特布他林样品 (相当于硫酸特布他林 5.0 mg), 各置于 100 mL 量瓶中, 分别加入精密称定的硫酸特布他林对照品 2.5, 5.0, 7.5 mg 用流动相溶解后稀释至刻度, 分别进样 20 μL, 记录色谱图。测得回收率为 98.6% ~ 102.7%, RSD 为 0.38% ~ 2.4% (n = 5)。

3.4 样品含量测定 取硫酸特布他林片剂 20 粒, 混匀。精密称取适量 (相当于硫酸特布他林 5 mg)

置 100 mL 量瓶中, 加流动相超声溶解, 过滤, 滤液作为供试品溶液。另取硫酸特布他林对照品, 加流动相制成 50 μg · mL⁻¹ 的溶液作为对照品溶液, 按上述色谱条件, 分别进样 20 μL, 按外标法计算其标示含量, 结果与药典法测得含量比较, 见表 1, 试验结果表明, 2 种方法测定结果基本相符。

表 1 本法与药典法含量测定结果 (% , n = 5)

Tab 1 Determination results of the method and ChP method

批号 (Lot No.)	药典法 (ChP method)	本法 (the method)	杂质总量 (impurity amounts)
200310007	99.3	98.9	3.40
200405008	100.8	101.6	2.59

3.5 分离专属性 硫酸特布他林用流动相制成 100 μg · mL⁻¹ 溶液, 共 4 份, 分别经 100 °C 加热 3 h, 0.1 mol · L⁻¹ 酸或碱、1% 过氧化氢 60 °C 恒温处理 2 h。取样测定, 记录色谱图。结果表明, 在上述色谱条件下, 硫酸特布他林峰与酸、碱、高温及氧化降解产物均能很好地分离, 其中碱破坏及氧化降解产物较明显 (图 2)。

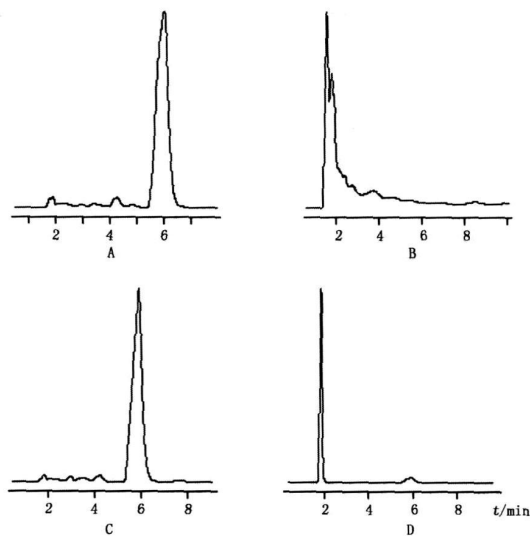


图 2 硫酸特布他林降解产物色谱图

Fig 2 Chromatograms of degradation products of terbutaline sulfate

A. 酸降解产物 (products in acid medium) B. 碱降解产物 (products in base medium) C. 氧化产物 (products in oxidation medium) D. 高温降解产物 (products at high temperature)

3.6 杂质的测定 精密称取本品适量 (约相当于硫酸特布他林 5 mg), 置 100 mL 量瓶中, 加流动相超声溶解并稀释定容, 摇匀, 过滤, 即得供试溶液。精密量取供试液 1 mL 置 100 mL 量瓶中, 用流动相定容摇匀, 即得对照溶液。将对照溶液 20 μL 注入

液相色谱仪, 调节仪器灵敏度, 使主成分峰高为满量程的 20%, 再取供试溶液和对照溶液各 20 μ L 进样, 记录色谱图至主成分峰保留时间的 3 倍, 如有杂质峰, 量取除溶剂峰以外的各杂质峰面积之和, 用自身对照法测定杂质的含量, 测定结果见表 1, 色谱图见图 3。

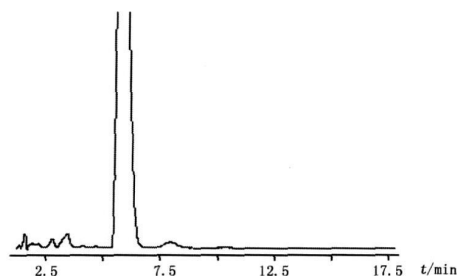


图 3 杂质总量色谱图

Fig 3 Chromatogram of impurity amounts

4 讨论

4.1 流动相的选择 对流动相所用的比例进行系列试验, 结果表明甲醇-水 (10: 90) 时峰形为最佳。

4.2 pH 缓冲液对测定的影响 实验结果表明, 含 28 mmol $\cdot$ L⁻¹ 磷酸二氢钾的缓冲溶液做流动相比纯水要佳, 试验了各种 pH, 结果表明在 pH 4.6 时最佳, 故本文选择 pH 为 4.6。

4.3 辅料的影响 按处方比例制备空白辅料溶液, 进样 20 μ L, 记录色谱图 (见图 1)。结果表明, 辅料对硫酸特布他林片剂含量测定无影响。

4.4 小结 实验表明, 用高效液相色谱法对硫酸特布他林片剂含量进行测定, 快速、简便、灵敏, 重现性好, 利于更好地控制产品质量。

参考文献

- 1 Persson H, Olsson T. Some pharmacological properties of terbutaline. *Acta Med Scand (Suppl)*, 1997, 11: 512
- 2 CHEN Xiao-lan (陈效兰), YANG Juan (杨娟), XU Shu-jing (徐淑静), et al Determination of terbutaline sulfate based on the enhancement chemiluminescence of Ag nanoparticles in luminol-potassium ferriyanide chemiluminescence system (基于纳米银对鲁米诺-铁氰化钾化学发光体系的增敏作用测定硫酸特布他林). *Chin J Anal Chem* (分析化学), 2009, 37(11): 1662
- 3 HE Shu-hua (何树华), HU Yu-fei (胡玉斐), LÜ Ge (吕戈), et al Study on the chemiluminescence system of luminol-potassium ferriyanide-terbutaline sulfate (鲁米诺-铁氰化钾-硫酸特布他林化学发光体系的研究). *J Instrum Anal* (分析测试学报), 2004, 23(4): 49
- 4 CAO Ling (曹玲), ZHOU Guo-xiong (周帼雄). Determination of terbutaline sulfate in brianal tablets by HPLC (博利康尼片中硫酸特布他林含量的 HPLC 测定). *Chin J Pharm* (中国医药工业杂志), 2001, 32(6): 262
- 5 KONG Yao (孔遥), YUAN Jun (袁军), YANG Lei (杨蕾), et al Determination of terbutaline sulfate injection and related substances by HPLC (HPLC 测定硫酸特布他林注射液的含量并检查有关物质). *West China J Pharm Sci* (华西药科学杂志), 2009, 24(5): 540
- 6 Shenoy KPR, Krishnamurthy KS, Vasundhara I HPLC method for simultaneous determination of terbutaline, guaiphenesin and ambroxol in formulations. *Indian Drugs* 2001, 38(8): 428
- 7 ChP (中国药典). 2005. Vol II (二部): 749
- 8 USP. 32 3681

(本文于 2009 年 6 月 17 日修改回)