

# HPLC测定肾上腺色胺注射液的含量及有关物质

王国勇<sup>1</sup>, 王雪芹<sup>2\*</sup>, 张建革<sup>3</sup>

(1. 郑州大学第二附属医院, 河南 郑州 450003; 2. 河南省食品药品检验所, 河南 郑州 450003; 3. 郑州大学, 河南 郑州 450001)

**摘要:** 目的 测定肾上腺色胺注射液的含量及有关物质。方法 采用 HPLC法, 用 Zorbax C<sub>18</sub> 色谱柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 甲醇 - 0.01 mol L<sup>-1</sup> 磷酸二氢钾溶液 (含 0.1% 三乙胺, 磷酸调 pH 3.8) (25: 75) 为流动相; 流速 1.0 mL min<sup>-1</sup>; 检测波长 355 nm; 柱温 30°C; 进样量 10 μL。结果 在该色谱条件下, 肾上腺色胺与其相邻杂质峰能完全分离, 在 10~100 μg mL<sup>-1</sup> 线性关系良好 ( $r^2 = 0.9999$ )。结论 所建方法简便、准确、专属性好, 可作为肾上腺色胺注射液中主药的测定及有关物质检查。

**关键词:** 肾上腺色胺; 高效液相色谱法; 有关物质; 含量测定

中图分类号: R917

文献标识码: A

文章编号: 1006-0103(2008)04-0472-03

## Determination of Carbazochrome and related substances in Carbazochrome injection by HPLC

WANG Guo-yong<sup>1</sup>, WANG Xue-qin<sup>2\*</sup>, ZHANG Jian-ge<sup>3</sup>

(1. Second Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450003 China; 2. Henan Provincial Institute for Food and Drug Control, Zhengzhou 450003 China; 3. Zhengzhou University, Zhengzhou 450001 China)

**Abstract** **OBJECTIVE** To establish a method for the determination of Carbazochrome and its related substances in Carbazochrome injection. **METHODS** The HPLC system consisted of a Zorbax C<sub>18</sub> column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), a mixture of methanol and solution of potassium phosphate (25: 75) as mobile phase, the flow rate was 1.0 mL min<sup>-1</sup> and the detection wavelength was at 355 nm. The column temperature was 30°C. **RESULTS** Carbazochrome could be completely separated from other impurities. The linear range of carbazochrome was 10~100 μg mL<sup>-1</sup> ( $r^2 = 0.9999$ ). **CONCLUSION** The method is simple, accurate and is suitable for the determination of Carbazochrome and related substances in carbazochrome injection.

**Key words** Carbazochrome; HPLC; Related substance; Determination

CLC number: R917

Document code A

Article ID: 1006-0103(2008)04-0472-03

肾上腺色胺可增加毛细血管对损伤的抵抗力。用于治疗毛细血管损伤所致的出血及血小板减少性紫癜。肾上腺色胺及其制剂均收载于卫生部药品标准化学药品及制剂 (89年版) 第一册, USP、BP 及 EP 均未收载该品种。为配合国家药监局开展的药品标准提高行动计划, 根据国家药典委员会关于“第二次注射剂 (化学药) 质量标准提高工作”的安排, 我们对肾上腺色胺注射液的质量标准进行了研究, 采用 HPLC 法测定肾上腺色胺注射液中主药的含量和有关物质。

## 1 实验部分

### 1.1 仪器与试剂

2695 高效液相色谱仪 (美国 Waters); 1100 高效液相色谱仪 (美国 Agilent)。肾上腺色胺对照品 (原料精制而得, 郑州羚锐制药有限公司, 99.9%); 肾上腺色胺注射液 (无锡市第七制药有限公司、徐州莱恩药业有限公司、郑州羚锐制药有限公司、杭州

回音必集团抚州制药有限公司、武汉远大制药集团有限公司); 甲醇为色谱纯; 其余试剂为分析纯。

### 1.2 方法与结果

**1.2.1 色谱条件** 色谱柱为 Zorbax C<sub>18</sub> 柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 流动相为甲醇 - 0.01 mol L<sup>-1</sup> 磷酸二氢钾 (含 0.1% 三乙胺, 磷酸调 pH 3.8) (25: 75); 检测波长 355 nm; 柱温 30°C; 流速 1.0 mL min<sup>-1</sup>; 进样量 10 μL。理论板数按肾上腺色胺峰计不低于 2.5 × 10<sup>3</sup>, 肾上腺色胺与相邻峰的分度应符合要求。

**1.2.2 溶液的制备** 取 1 mL 样品, 加 10 mL 1 mol L<sup>-1</sup> 的盐酸溶液, 室温放置 0.5 h, 用 1 mol L<sup>-1</sup> 的氢氧化钠溶液中和, 再用流动相稀释至 50 mL 得酸破坏溶液。取 1 mL 样品, 加 10 mL 1 mol L<sup>-1</sup> 的氢氧化钠溶液, 室温放置 0.5 h, 用 1 mol L<sup>-1</sup> 的盐酸溶液中和, 再用流动相稀释至 50 mL 得碱破坏溶液。取样品, 在 120°C 加热 4 h, 取适量用流动相稀释至 50 mL 得高温破坏溶液。取样品, 3.5 × 10<sup>3</sup> kx 光强照射 5

作者简介: 王国勇, 男, 河南郑州, 主管药师, 从事医院药学工作。

\* 通讯作者 (Correspondent author)

d 得光照破坏溶液。取样品适量, 加流动相制成  $50 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  的样品溶液。同法制备按处方配比的空白辅料、肾上腺素对照品溶液。

**1.2.3 方法的专属性** 分别取  $10 \mu\text{L}$  按处方配比的空白辅料、肾上腺素对照品及样品的溶液, 按“1.2.1”项色谱条件测定。结果肾上腺素对照品

及样品各色谱峰均分离很好, 空白辅料不干扰测定 (图 1A~C)。同法取酸破坏、碱破坏、光照破坏、高温破坏溶液测定, 结果各条件下均能产生明显杂质, 且各杂质峰均能与肾上腺素主成分峰很好分离 (图 1D~G)。

**1.2.4 线性关系考察** 取肾上腺素对照品适量,

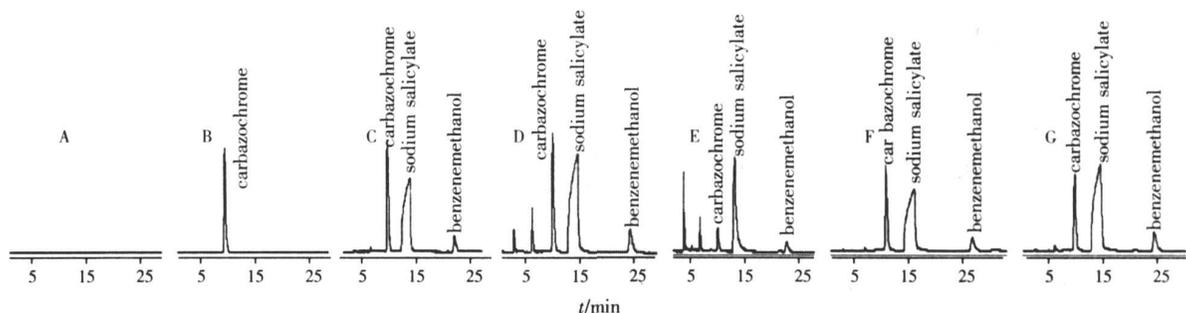


图 1 空白辅料 (A)、对照品 (B)、样品 (C)、酸破坏 (D)、碱破坏 (E)、光照破坏 (F) 和热破坏 (G) 溶液的 HPLC 图谱

Fig 1 HPLC chromatograms of tablet excipients solution (A), control solution (B), sample solution (C), acid destruction solution (D), alkali destruction solution (E), light destruction solution (F) and heat destruction solution (G)

用流动相制成  $0.1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  的贮备液。分别精密量取 1、2、5、7、10 mL 于 10 mL 量瓶中, 用流动相定容, 摇匀, 按“1.2.1”项条件测定, 记录色谱图。以浓度对峰面积进行回归, 其回归方程为:  $A = 61.495C + 41.043 (r = 0.9999)$ 。结果表明, 肾上腺素  $10 \sim 100 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  与峰面积的线性关系良好。

**1.2.5 回收率试验** 按照处方比例分别加入肾上腺素和辅料, 3 个水平 9 份 (80%、100%、120% 各 3 份), 加流动相制成  $50 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  的溶液, 摇匀, 过滤, 按“1.2.1”项条件测定, 用回归方程计算回收率。其平均回收率为 100.6%,  $RSD = 1.27\%$ 。

**1.2.6 精密性与稳定性试验** 取“1.2.4”项下的 3 号溶液, 重复进样 6 次, 峰面积的  $RSD = 0.08\%$  ( $n = 6$ )。取样品溶液分别在 0.2、4、6、8、10 h 测定, 结果表明, 供试品溶液在 10 h 内稳定性良好, 峰面积的  $RSD = 0.4\%$ 。

**1.2.7 检出限** 取“1.2.4”项下的 1 号溶液, 用流动相逐步稀释, 分别进样。用 UV 检测器检测,  $0.05 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  的溶液进样  $3 \mu\text{L}$  时,  $S/N = 2.6$  检出限为  $0.15 \text{ ng}$  用 DAD 检测器检测,  $0.5 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  的溶液进样  $2 \mu\text{L}$  时,  $S/N = 3.3$  检出限为  $1 \text{ ng}$ 。

**1.2.8 样品的测定** 分别精密量取  $10 \mu\text{L}$  样品、肾上腺素对照品溶液, 进样, 记录色谱图至主成分峰保留时间的 4 倍, 按外标法以峰面积计算得样品的含量。取样品适量, 分别加流动相制成约含肾上腺素  $100 \sim 1 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  的样品溶液。同法取  $20 \mu\text{L}$   $1 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  的样品溶液进样, 调节检测灵敏度, 使主成分色谱峰的峰高约为满量程的 20%; 再精密量取

各  $20 \mu\text{L}$   $100 \sim 1 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  的样品溶液, 进样, 记录色谱图至主成分峰保留时间的 4 倍。  $100 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  样品溶液的色谱图中如有杂质峰, 各杂质峰面积的和, 不得大于  $1 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  样品溶液的主峰面积 (1.0%)。取不同生产厂家的样品, 按“1.2.1”项条件进行测定, 结果见表 1。

表 1 肾上腺素的含量及有关物质测定结果

Table 1 Carbazochrome content and related substances in Carbazochrome injection

Manufacturers	Batch No	Contents/ %	Related substances/%
无锡市第七制药有限公司	06021611	101.7	0.34
	07040111	99.9	0.21
徐州莱恩药业有限公司	050922	98.6	0.38
	郑州羚锐制药有限公司	0504017	95.3
0603182		96.6	0.28
杭州回音必集团抚州制药有限公司	0702051	94.9	0.19
	05122401	98.1	0.32
武汉远大制药集团有限公司	06011501	95.2	0.32
	06021101	96.6	0.42
1 mL: 5 mg 2 mL: 10 mg	070701	100.1	0.05
	070701	101.4	0.05

## 2 讨论

根据肾上腺素注射液处方比例, 分别取肾上腺素原料药、水杨酸钠、苯甲醇和依地酸二钠, 用流动相制成约相当于肾上腺素  $50 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  的溶液, 用 Waters 2695/2996 HPLC 检测, 在 355 nm 的色谱图中, 只有肾上腺素色谱峰; 在 254 nm 的色谱图中可见 3 个峰, 色谱峰保留时间从小到大依次为肾上腺素、水杨酸钠和苯甲醇, 依地酸二钠在整个

色谱系统中均无色谱峰。用 Agilent 1100 HPLC /UV 检测, 在 355 nm 处即能检出 3 个色谱峰, 出峰顺序同上。故选择 355 nm 作为含量测定的检测波长, 选择 254 nm 作为有关物质检查的检测波长。

取空白辅料、对照品、注射液溶液, 用出峰个数、理论板数、分离度及对称性等参数考察流动相。选择甲醇 - 0.01 mol/L<sup>-1</sup> 磷酸二氢钾 (含 0.1% 三乙胺, 磷酸调 pH 3.8) (25:75) 作为流动相较为合

适<sup>[1]</sup>。在流动相组成及比例不改变的前提下, 调节不同的 pH, 当溶液 pH 3.8 时, 分离效果较好, 辅料中水杨酸钠的色谱峰形状较对称。

#### 参考文献:

[1] 邱颖娟, 罗慧莉, 李军. 高效液相色谱法测定卡巴克络片的含量 [J]. 中国现代应用药学, 2006, 06: 63-64.

收稿日期: 2008-01

## HPLC 测定刺蒺藜总皂苷中的薯蓣皂苷元

余晓红

(成都市儿童医院药剂科, 四川 成都 610017)

摘要: 目的 测定刺蒺藜总皂苷水解后薯蓣皂苷元的含量。方法 采用 ELSD-HPLC 法, 并考察其方法学。结果 薯蓣皂苷元 39.68~942 μg mL<sup>-1</sup> 与峰面积的线性关系良好, 方法具有较好的精密性、稳定性、重复性和较高的回收率。结论 所建方法准确、简便、易行, 可作为刺蒺藜总皂苷的质量控制指标。

关键词: 刺蒺藜总皂苷; 薯蓣皂苷元; 蒸发光散射检测器; 反相高效液相色谱法

中图分类号: R917

文献标识码: A

文章编号: 1006-0103(2008)04-0474-02

## Determination of diosgenin hydrolyzed from total saponins of *Tribulus terrestris* L. by ELSD-HPLC method

YU Xiao-hong

(Department of Pharmacy, Chengdu Childrens Hospital, Chengdu 610017, China)

**Abstract** **OBJECTIVE** The method of evaporation light scattering detector with ELSD-HPLC was established for measuring the content of diosgenin hydrolyzed from total saponins of *Tribulus terrestris* L. **METHODS** and **RESULTS** The results showed that the method of ELSD-HPLC had a good linearity in the range of 39.68-942 μg mL<sup>-1</sup>, and had good precision, stability, repeatability and higher recovery. **CONCLUSION** It is indicated that the method is accurate, convenient and feasible for measuring the content of diosgenin and can be used in quality control of total saponins of *Tribulus terrestris* L.

**Key words** Total saponins of *Tribulus terrestris* L.; Diosgenin; Evaporation light scattering detector (ELSD); RP-HPLC

**CLC number**: R917

**Document code**: A

**Article ID**: 1006-0103(2008)04-0474-02

中药刺蒺藜为蒺藜科蒺藜属植物蒺藜 *Tribulus terrestris* 的干燥成熟果实, 有平肝解郁、活血祛风、明目、止痒的作用, 用于头痛眩晕、胸胁胀痛、乳闭乳痛、目赤翳障、风疹搔痒<sup>[1]</sup>。刺蒺藜中皂苷类成分是其重要的药理活性物质, 能够改善脑血液循环, 对实验性脑缺血动物模型有明显的治疗作用<sup>[2,3]</sup>。刺蒺藜皂苷为甾体皂苷, 其苷元包括薯蓣皂苷元、海可皂苷元、支脱皂苷元和曼诺皂苷元等<sup>[4]</sup>。通过测定水解后薯蓣皂苷元的含量, 可以间接反映刺蒺藜甾体皂苷的含量。

由于薯蓣皂苷元只有紫外末端吸收 (206 nm), 易受溶剂吸收的干扰<sup>[5]</sup>。采用 ELSD-HPLC 法能

够很好地克服普通 UV 检测器的缺陷。实验首次建立了 ELSD-HPLC 法测定刺蒺藜总皂苷水解后薯蓣皂苷元含量的方法, 该法可用于刺蒺藜总皂苷及其制剂的质量控制。

### 1 实验部分

#### 1.1 仪器与试剂

510 液相色谱仪 (美国 Waters); ELS 1000 型蒸发光散射检测器 (英国 PL); HW-2000 色谱工作站; HPD100 大孔吸附树脂 (沧州宝恩化工有限公司); 刺蒺藜 (果实, 上海雷允上饮片厂); 薯蓣皂苷元对照品 (中国药品生物制品检定所); 甲醇为色谱