

· 基础研究 ·

高效液相色谱法检测细辛脑注射液的有关物质

姜晓燕 陈邕

【摘要】 目的 建立细辛脑注射液有关物质的高效液相色谱(HPLC)检测方法。**方法** 采用 Diamonsil - C18 色谱柱(200 mm × 4.6 mm, 5 μm);流动相 A 为甲醇,流动相 B 为十二烷基硫酸钠、磷酸二氢钾水溶液,采用梯度洗脱,10 min 后流动相 A 在 30 min 内从 60% 升至 80%,维持 5 min,流速 1.0 ml/min,检测波长 258 nm。**结果** 细辛脑的最低检测限量 25 ng,细辛脑与各杂质分离良好。**结论** 本法简便快速,灵敏度高,准确可靠。

【关键词】 细辛脑注射液; 有关物质; 高效液相色谱法; 梯度洗脱

HPLC determination of the related substances of asarone injection JIANG Xiao - yan, CHEN Yong. First People's Hospital of Banan District, Chongqing 401320, China

【Abstract】 Objective To establish a HPLC method for detection of the asarone injection's related substances. **Methods** The analytical column was Diamonsil - C18 (200 mm × 4.6 mm, 5 μm). Using gradient elution method, the mobile phase A was methanol and the mobile phase B was lauryl sodium sulfate, potassium dihydrogen phosphate water so luble fluid (ten minutes later, the mobile phase A rose from 60% to 80% in thirty - five minutes, kept five minutes). The flow rate was 1.0 ml/min. The detect ion wavelength was 258 nm. **Results** The detection limits for asarone were 25 ng respectively. Good resolution for asarone and related substances was obtained. **Conclusion** The method is simple, rapid, sensitive and accurate.

【Key words】 Asarone; Related substances; HPLC method; Gradient elution

细辛脑,又名 1,2,4 - 三甲氧基 - 5 - (1 - 丙烯基)苯,有止咳、祛痰、平喘、镇静、解痉、抗惊厥之功效^[1]。主要用于肺炎、支气管哮喘、慢性阻塞性肺疾病伴咳嗽、咳痰、喘息等症状的治疗。细辛脑有关物质的检查国标中采用层析法,细辛脑注射液未收载有关物质检查。据报道^[2,3]可采用高效液相色谱(HPLC)法测定细辛脑注射液有关物质,均采用等度洗脱,检测波长为 313 nm,其降解产物未能全部检出。本文通过对细辛脑注射液有关物质利用高效液相色谱法测定,梯度洗脱,258 nm 为检测波长。采用的色谱条件能使有关物质得到有效分离,方法简便、重现性好,该法已作为细辛脑注射液注册标准的有关物质检查法。

1 资料与方法

1.1 仪器 Waters - 1525 高效液相色谱仪,2487 检测器(waters 公司),Brees 色谱工作站(waters 公司);Diamonsil - C18 色谱柱(迪马公司);BS210S 分析天平(德国赛多利斯公司);UV7501 紫外分光光度计(上海优浦科学仪器有限公司)。

1.2 试药 细辛脑对照品、原料(常州亚邦药业有限公司,对照品质量分数 99.8%);细辛脑注射液(普众康医药有限公司,规格 2 ml,8 mg);甲醇为 HPLC 级(上海星可生化有限公司),水为重蒸水;其余试剂均为分析纯。

1.3 色谱条件与系统适用性试验 色谱柱:Diamonsil - C18

(200 mm × 4.6 mm, 5 μm);流动相 A 为甲醇,流动相 B 为十二烷基硫酸钠、磷酸二氢钾水溶液(取十二烷基硫酸钠 1.2 g,磷酸二氢钾 1.4 g,加水溶解并稀释至 1000 ml),采用梯度洗脱见表 1,流速 1.0 ml/min,检测波长 258 nm;柱温为 35 ℃;进样量 20 μl。理论塔板数按 α - 细辛脑峰计算应大于 2000。

表 1 梯度洗脱表

时间(min)	流动相 A(%)	流动相 B(%)
0 ~ 10	60	40
10 ~ 40	60 ~ 80	40 ~ 20
40 ~ 45	80	20

1.4 K 溶液的配制 取细辛脑注射液适量,加水稀释制成每 1 ml 中约含 1 mg 的溶液,作为供试品溶液;精密量取适量,加水稀释制成每 1 ml 中含 10 μg 的溶液作为对照溶液。

1.5 检测波长的选择 取细辛脑原料 10 mg,置于玻璃安瓶中,分别加入 0.5 mol/L HCL 溶液、0.5 mol/L NaOH 溶液 2 ml,密封,置 90 ℃ 条件下,放置 24 h,冷却至室温;另取细辛脑原料 10 mg,置于玻璃安瓶中,加 30% H₂O₂ 溶液 0.5 ml,密封,置 100 ℃ 条件下放置 1 h,冷却至室温;再取细辛脑原料 10 mg,加甲醇溶解,置于玻璃安瓶中,分别置 750 W/m² 的光照条件下,放置 51 h 或置 60 ℃ 条件下放置 10 d,作为酸破坏、碱破坏、氧破坏、光破坏、热破坏供试品。取上述细辛脑酸、碱、氧、光、热破坏供试品,分别加甲醇稀释成 8 μg/ml 的溶液,以甲醇溶液为空白,进行全波长扫描,结果细辛脑的热、碱、氧、光破坏样品均在 258 nm 处有最大吸收,细辛脑酸

作者单位:401320 重庆市巴南区第一人民医院(姜晓燕);重庆医科大学附属第一医院(陈邕)

通讯作者:姜晓燕

破坏样品在 258 nm 处也有较大吸收,因此选 258 nm 作为有关物质的检测波长。

2 结果

2.1 专属性考察 取 α 、 β -细辛脑混合溶液及以上各破坏的供试品溶液,注入液相色谱仪,记录色谱图,结果在此色谱条件下, α 、 β -细辛脑及细辛脑酸、碱、氧、光、热等破坏产物与主成分分离度均大于 1.5。

2.2 最低检出限 取细辛脑注射液,加水稀释制成每 1 mL 含细辛脑 5 μ g 的溶液,分别取 1, 5, 10, 15, 20 μ L 注入液相色谱仪,当信噪比为 3:1 时的进样量为 5 μ L,结果在上述色谱条件下,细辛脑的最低检测限为 25 ng,为自身对照溶液浓度 1/100,符合有关物质检测要求。

2.3 有关物质的检测 取 3 批细辛脑注射液样品,按上述有关物质检测方法进行检测,结果均小于 1%。

3 讨论

细辛脑属于脂溶性化合物,结构中的 1,2,4-三甲氧基

苯较稳定,放置过程中丙烯基发生变化,可生成极性更小的降解产物,而采用等度洗脱,既可使其降解产物全部检出,又能使各降解产物与主成分 α -细辛脑及 α 、 β -细辛脑分离完全。细辛脑及其降解产物在 258 nm 处的吸收值大于 313 nm 处测得的吸光值,灵敏度更高,故选择 258 nm 作为检测波长。

参考文献

- [1] 吴闯. α -细辛脑研究进展. 中国药学杂志, 2004, 32(3): 129-132.
- [2] 刘莱, 王东凯, 高斐, 等. 细辛脑葡萄糖注射液中有关注物质的 HPLC 测定. 中国医药工业杂志, 2004, 35(9): 556-557.
- [3] 张婷, 崔颖, 徐平声. 高效液相色谱法测定细辛脑注射液的含量及有关物质. 广东药学院学报, 2006, 22(5): 499-500.

(收稿日期: 2009-01-14)

(本文编辑: 赵正)

· 个案报道 ·

幼儿原发性膀胱结石 1 例

李树全 黄学友

【关键词】 原发性; 膀胱结石; 治疗体会

1 病例介绍

患儿,男,1岁半,系第一胎足月顺产,家庭旧法接生,出生时情况可。产后纯母乳喂养3个月,因其母外出务工而断奶行人工喂养。于出生后7个月时开始间断出现血尿、尿频,并且小便时哭闹,同时发现患儿经常用手搔抓阴茎。每次发病均在当地村卫生室及镇卫生院以“泌尿系感染”给予抗炎对症治疗,处理后好转,未作相关检查。于1岁左右,上述症状加重,发作频繁,每次小便时痛苦不安,尿排不尽,经常尿湿衣裤,患儿极度消瘦,发育较差,体重不增。遂到笔者所在医院检查,拍“KUB 平片及膀胱 B 超”均显示膀胱区有约 1.5 cm $\times$ 2.0 cm 的高密度阴影,提示为膀胱结石。经抗感染及加强营养治疗好转后于1岁半时,在笔者所在医院择期行耻骨上膀胱切开取石术。手术取出约 1.5 cm $\times$ 1.8 cm $\times$ 1.0 cm 的“毛刺状”结石,结石较硬,不易捏碎,术后诊断,幼儿原发性膀胱结石,手术后恢复顺利,预期痊愈出院。

2 讨论

2.1 原发性膀胱结石多见于男性幼儿,与营养不良及低蛋白饮食有直接的关系,同时与经济条件、居住环境、饮水质量及家族遗传史等因素有关。随着生活水平的不断提高,母乳喂养的普及,农村大力推进改厕改水,提高饮水质量。原发

性膀胱结石的发病率呈明显的下降趋势,但是在部分贫困山区,家庭经济困难,饮水质量差及母乳喂养时间较短或未行母乳喂养的幼儿仍有患原发性膀胱结石的可能,同时家族中有结石史的患此病的机率会更高。

2.2 本例患儿,出生3个月时因其母外出务工而断奶行人工喂养,主要以稀粥及少量婴儿奶粉为主。其家住笔者所在县边远山区,常年饮用天然蓄积的不流动水,天旱时常缺水,饮水质量极差。家族中其祖母及父亲均患有“泌尿系结石”,由上述收集到的病史可推断患儿患原发性膀胱结石的可能性较他人大大得多。

2.3 该患儿出生后7个月时出现肉眼血尿及尿频、尿痛等症,但是由于当地医生对此病缺乏认识且受医疗条件限制,未及时指导其到上级医院作相关检查,仅凭经验臆断为“泌尿系感染”而给予抗感染及对症治疗致其病情发展越来越重。患儿长期在痛苦中生活和生长,饮食不佳,加重营养不良,身高及体重明显低于同龄儿。所以,在临床工作中若遇到血尿、尿频、尿急等症,同时发现患儿经常用手搔抓阴茎时,不要简单地考虑为“泌尿系感染”,应详细收集病史,同时了解患儿的生长发育状况,结合临床作如 KUB 片、B 超等相应检查,以免延误原发性膀胱结石的诊治。

作者单位: 441518 湖北省南漳县长坪镇卫生院(李树全); 湖北省南漳县妇幼保健院(黄学友)

通讯作者: 李树全

(收稿日期: 2009-02-02)

(本文编辑: 尹虹妍)