

HPLC-ELSD 测定注射用益气复脉（冻干）中葡甲胺

王雨华¹, 习斌斌³, 李德坤², 周大铮², 杨悦武², 余伯阳^{1*}, 鞠爱春^{2*}

1. 中国药科大学 中药学院, 江苏 南京 211198

2. 天津天士力之骄药业有限公司, 天津 300402

3. 广东彼迪药业有限公司, 广东 广州 529331

摘要: 目的 建立 HPLC-ELSD 法测定注射用益气复脉（冻干）中葡甲胺的量。方法 色谱柱为 Waters Sepherisorb SCX (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为 0.05 mol/L 醋酸铵(醋酸调节 pH=3.0)-乙腈(57:43), 体积流量 1.0 mL/min, 柱温 40 °C, ELSD 漂移管温度 60 °C, 载气气体压力 137.90 kPa, 增益 30。结果 葡甲胺进样量在 4.351~29.005 μg 呈良好的线性关系, $r=0.9998$, 平均回收率 ($n=9$) 为 100.3%, RSD 为 2.27%。结论 本实验建立的方法简便、准确、可靠, 可用于测定注射用益气复脉（冻干）的质量控制。

关键词: HPLC-ELSD; 注射用益气复脉（冻干）; 葡甲胺; 含量测定; 方法学

中图分类号: R917

文献标志码: A

文章编号: 1674-6376(2018)03-0481-04

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2018.03.022

Determination of meglumine in Yiqi Fumai Lyophilized Injection by HPLC-ELSD

WANG Yuhua¹, XI Binbin³, LI Dekun², ZHOU Dazheng², YANG Yuewu², YU Boyang¹, JU Aichun²

1. China Pharmaceutical University, Jiangsu Nanjing 211198, China

2. Tianjin Tasly Pride Pharmaceutical Co., Ltd., Tianjin 300402, China

3. Guangdong Pitt Pharmaceutical Co., Ltd, Guangzhou 529331, China

Abstract: Objective To establish an HPLC-ELSD method for the determination of the content of meglumine in Yiqi Fumai Lyophilized Injection. **Methods** The chromatographic separation was carried on a Waters Sepherisorb SCX column (250 mm×4.6 mm, 5 μm) at 40°C and the flow rate of 1.0 mL/min. The mobile phase was water solution consisting of 0.05 mol/L ammonium acetate (pH was adjusted to 3.0 by acetic acid)-acetonitrile (57:43). The drift tube temperature for the ELSD was set at 60°C with the carrier gas pressure of 137.90 kPa and the detector gaining of 30. **Results** The calibration curve for meglumine revealed good linearity in the range of 4.351—29.005 μg ($r = 0.9998$). The average recovery ($n = 9$) of the method was 100.3% with RSD 2.27%. **Conclusion** The method is simple, accurate and reliable. It could be used for the quality control of Yiqi Fumai Lyophilized Injection.

Key words: HPLC-ELSD; Yiqi Fumai Lyophilized Injection; meglumine; determination; methodology

注射用益气复脉（冻干）是由天士力之骄药业有限公司生产的中药注射剂产品，源于经典古方生脉散，临床主要用于冠心病劳累型心绞痛气阴两虚证，冠心病所致慢性左心功能不全 II、III 级气阴两虚证，具有确切疗效^[1-3]。该制剂是由红参、麦冬、五味子三味药材经过一定工艺制成，主要有效成分

为皂苷、黄酮、糖类等，除三味药材外，制剂中还加入了甘露醇、葡甲胺等辅料。葡甲胺可作为食品添加剂使用，由于其结构中具有亚氨基可以与一些药物成盐，增加其溶解度，因而在一些药品中常被作为助溶剂使用。近年来，少见有药物中葡甲胺含量测定的报道，对注射用益气复脉（冻干）中葡甲

收稿日期: 2017-06-04

第一作者: 王雨华 (1990—), 硕士在读, 研究方向为中药质量研究, Tel: (022)84498151 E-mail: lanxingyu1239@163.com

*通信作者: 余伯阳 (1959—), 男, 教授, 研究方向为中药及复方药效物质基础及作用机制研究。Tel: (025) 86185287 E-mail: boyangyucpu@163.com

鞠爱春 (1973—), 高级工程师, 从事中药注射剂工艺及质量控制方向的研究。Tel: (022)86342096 E-mail: juach@tasly.com

胺的含量进行测定的文章也未见。本文以注射用益气复脉(冻干)为研究对象,采用 HPLC-ELSD 对 10 批制剂中的葡甲胺含量进行了测定分析,为注射用益气复脉(冻干)的质量控制提供科学依据。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Waters 2695 高效液相色谱仪(美国 Waters 公司,包括四元泵、ELSD 检测器、柱温箱、自动进样器),Empower 色谱工作站;XWK-3A 空气泵(天津市华生分析仪器厂);AL 204 十万分之一电子分析天平(梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司);Milli-Q A10 自动双重纯水蒸馏器(美国密理博);超声波清洗器(上海超声仪器厂)。

1.2 试剂

对照品葡甲胺购自德国 Sigma 公司(批号 011M0125V);注射用益气复脉(冻干)由天津天士力之骄药业有限公司提供。乙腈为色谱纯(美国 OMNI 公司);水为超纯水(实验室自制);其它试剂为分析纯。

2 方法与结果

2.1 对照溶液的制备

对照品溶液:精密称取葡甲胺对照品适量,置于 250 mL 量瓶中,加水定容至刻度,制成浓度为 3.625 6 mg/mL 的对照品溶液。

阴性对照溶液:按照益气复脉制剂配方比例,取红参提取物、五味子提取物、麦冬提取物,按照工艺流程制备葡甲胺阴性对照溶液。

2.2 供试品溶液的制备

取一支注射用益气复脉(冻干)0.65 g,精密称定,精密加入 10 mL 水溶解(超声助溶),用 0.45 μ m PES 微孔滤膜滤过,即得。

2.3 色谱条件及系统适用性试验

采用 Waters Spherisorb SCX 色谱柱(250 mm \times 4.6 mm, 5 μ m),以 0.05 mol/L 醋酸铵(醋酸调节 pH = 3.0)-乙腈(57:43)为流动相,体积流量 1.0 mL/min,柱温 40 $^{\circ}$ C,进样量 10 μ L。ELSD 检测器,漂移管温度 60 $^{\circ}$ C,载气气体压力 137.90 kPa,增益 30。

在上述色谱条件下,葡甲胺峰与相邻峰的分度大于 1.5,对称因子符合要求,理论塔半数按葡甲胺峰计高于 20 000。样品与对照品的色谱图见图 1。

2.4 线性关系考察

分别精密吸取“2.1”项下葡甲胺对照品溶液

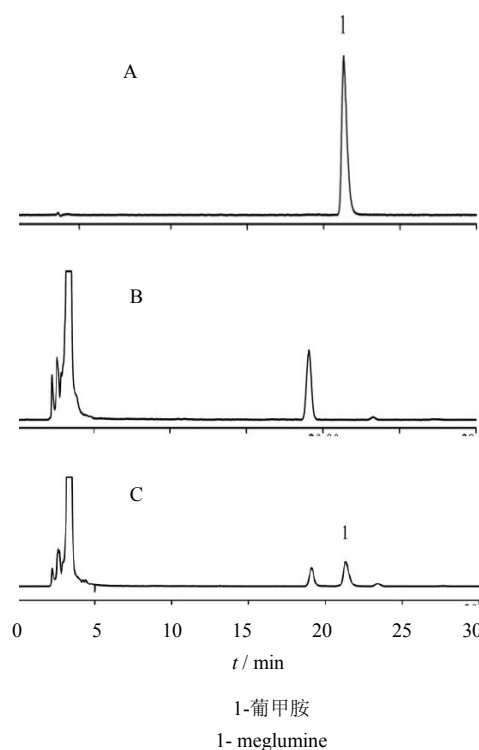


图 1 葡甲胺对照品(A)、注射用益气复脉(冻干)阴性对照(B)和注射用益气复脉(冻干)样品(C)的 HPLC-ELSD 色谱图

Fig. 1 HPLC-ELSD chromatograms of meglumine (A), Yiqi Fumai Lyophilized Injection negative samples (B) and Yiqi Fumai Lyophilized Injection samples (C)

3.0、5.0、9.0、13.0、15.0、20.0 mL,置于 25 mL 量瓶中,加水定容至刻度,摇匀,制成浓度依次为 0.435、0.725、1.305、1.885、2.175、2.900 μ g/mL 的品溶液,依次精密吸取 10 μ L,注入液相色谱仪,按“2.3”项下色谱条件测定,记录峰面积。进样量的对数与峰面积的对数经线性回归,得回归方程为: $Y=1.195 6 X+9.405 9$, $r=0.999 8$ 。结果表明葡甲胺进样量在 4.351~29.005 μ g 线性关系良好。

2.5 定量限和检测限

以信噪比 10:1 时确定葡甲胺的定量限为 174.03 μ g/mL,以信噪比为 3:1 时确定葡甲胺的检测限为 72.51 μ g/mL。

2.6 精密度试验

精密吸取“2.1”项下浓度为 1.305 mg/mL 的对照品溶液,按“2.3”项下色谱条件进样 10 μ L,连续进样 6 次,结果葡甲胺峰面积值的 RSD 为 1.30%,表明仪器精密度良好。

2.7 重复性试验

取同一批样品(2号样品)6支,按“2.2”项

下方法平行制备 6 份供试品溶液, 进样 10 μL 进行测定, 结果样品中葡甲胺的平均含量为 16.29 mg/g, RSD 为 2.72%, 表明本方法重复性良好。

2.8 稳定性试验

取同一样品 (2 号样品) 的供试品溶液 1 份, 分别在 0、2、4、6、8、10、12 h 进样 10 μL 进行测定, 结果葡甲胺峰面积的 RSD 为 2.02%, 表明供试品溶液 12 h 内稳定性良好。

2.9 加样回收率试验

精密称取已知含量的注射用益气复脉 (冻干) (2 号样品) 0.368 g, 共 9 份, 3 份为一组, 分别按照样品中葡甲胺含量的 80%、100%、120% 加入葡甲胺标准品, 以“2.2”项下方法平行制备成供试品溶液, 每份溶液进样 10 μL , 按上述色谱条件测定并计算回收率, 结果平均回收率 ($n=9$) 为 100.3%, RSD 为 2.27%。

2.10 含量测定

取 10 批注射用益气复脉 (冻干) 各 3 份, 分别按“2.2”项下的方法制备供试品溶液, 再按“2.3”项下的色谱条件分别进样 10 μL 进行分析, 记录色谱峰面积, 以外标两点法计算葡甲胺含量, 结果见表 1。

表 1 10 批注射用益气复脉 (冻干) 中葡甲胺含量测定结果 ($n=3$)

Table 1 10 batch of Yiqi Fumai Lyophilized Injection determination results of meglumine ($n=3$)

样品编号	样品量/g	葡甲胺/(mg·g ⁻¹)	RSD/%
1	0.6413	16.66	1.1
2	0.6399	16.29	0.81
3	0.6479	16.34	0.56
4	0.6532	17.62	1.1
5	0.6374	16.41	1.1
6	0.6421	16.88	1.0
7	0.6393	17.11	1.9
8	0.6423	17.15	1.1
9	0.6428	17.09	0.87
10	0.6352	17.74	1.2

2.11 耐用性实验

对“2.3”项下色谱条件进行耐用性实验研究, 考察不同漂移管温度、柱温以及流动相流速条件下的该色谱检测条件的耐用性情况。精密吸取“2.1”和“2.2”项下制备的对照品溶液和供试品溶液各 10

μL , 分别进样, 计算结果。

实验结果表明, ELSD 检测器的漂移管温度设定温度 60 $^{\circ}\text{C}$ 上下浮动, ELSD 检测器漂移管温度在 58~62 $^{\circ}\text{C}$ 内, 葡甲胺含量测定 RSD=1.84%, 分离度符合要求。设定柱温 40 $^{\circ}\text{C}$ 上下浮动, 柱温在 38~41 $^{\circ}\text{C}$ 内, 含量测定 RSD=1.03%, 分离度符合要求。在设定体积流量 1.0 mL/min 上下浮动, 在体积流量 0.9~1.2 mL/min, 含量测定 RSD=1.28%, 分离度符合要求。

因此, 漂移管温度 58~62 $^{\circ}\text{C}$ 内, 柱温 38~41 $^{\circ}\text{C}$ 围内以及流动相体积流量 0.9~1.2 mL/min 均可对注射用益气复脉 (冻干) 中葡甲胺进行准确的含量测定。

3 讨论

葡甲胺为结晶性粉末, 呈黄色至淡黄色, 由于其结构中含有亚氨基, 在酸性环境中可以与一些药物成盐增加药物的溶解度, 而作为助溶剂广泛地用于中药注射剂产品中, 如美洛昔康、水飞蓟宾等^[4]。2010 版《中国药典》采用酸碱滴定法对葡甲胺的含量进行测定, 2015 版《中国药典》用 HPLC-RID 测定, 由于示差折光检测器灵敏度低, 受外界环境如温度、湿度等的影响较大, 限制了该检测方法的使用^[5]。液相方法中, 除使用示差折光检测器外^[6-7], 近年来, 还有一些文章报道采用 ELSD 测定药品中葡甲胺的含量^[8]。

本文采用通用型检测器 ELSD 测定不具有紫外吸收的葡甲胺含量, 利用阳离子交换色谱柱对阳离子具有保留能力的特点, 选取具有挥发性的醋酸铵-醋酸作为缓冲对, 对液相条件进行优化。由于葡甲胺极性较强, 拖尾较严重, 流动相 pH 值须较低才能改善其拖尾, 最终选择 pH3.0 作为检测条件。我们建立了对注射用益气复脉 (冻干) 中葡甲胺的含量测定方法, 并对该检测方法进行了方法学验证。耐用性实验结果表明, 该色谱条件在一定范围内发生变动时, 不影响含量测定的准确度。所建立的条件稳定、可靠, 可以用来测定注射用益气复脉 (冻干) 中葡甲胺的含量。

参考文献

- [1] 冯琛. 注射用益气复脉(冻干)治疗冠心病慢性心力衰竭的临床观察 [J]. 光明中医, 2013, 28(8): 1607-1608.
- [2] 姜涛. 注射用注射用益气复脉(冻干)治疗冠心病慢性心力衰竭(气阴两虚型)的临床观察 [D]. 哈尔滨: 黑

- 龙江中医药大学, 2012.
- [3] 张兆琨. 辨证分型论治对冠心病慢性心力衰竭预后的影响 [J]. 中医药临床杂志, 2010, 22(10): 850-851.
- [4] 李建伟, 李慧峰. HPLC 法测定瑞格列奈片中葡甲胺的含量 [J]. 长治医学院学报, 2013, 29(1): 8-11.
- [5] 伍清龙, 孙永成, 李雪峰, 等. HPLC-ELSD 法测定注射用银杏二萜内酯中甘露醇和葡甲胺的含量 [J]. 世界科学技术(中医药现代化), 2013, 15(9): 1985-1989.
- [6] 岳云飞, 张丽英, 刘永成, 等. HPLC 法测定葡甲胺中的有关物质 [J]. 中国药品标准, 2011, 12(3): 184-187.
- [7] 张春林, 张 莉. HPLC-RID 法测定葡甲胺原料药的含量 [J]. 中国药房, 2014, 25(25): 2362-2363.
- [8] 蒋大圆, 李国喜. HPLC-ELSD 法测定注射用福沙匹坦二甲葡胺中葡甲胺含量 [J]. 九江学院学报(自然科学版), 2015(2): 64-66.