

## 高效液相色谱法测定体液中的N-去甲麻黄碱

天津市计划生育研究所 王殿英

N-去甲麻黄碱(Phenylpropanolamine, 苯丙醇胺、简称PPA)是和麻黄碱相似的拟交感神经作用药物。与麻黄碱相比,其中中枢兴奋作用和支气管扩张作用较弱而血管收缩作用较强。因此常配伍应用于治疗感冒、鼻炎、窦炎及干草热等复方制剂中。由于PPA在常用的紫外区只有微弱的吸收,所以当用高效液相色谱法时必须先经衍生化处理。例如:Endo利用PPA与 $\beta$ -萘醌-4-磺酸钠反应、检测反应生成的有色物质<sup>[1]</sup>。Mason将PPA与邻苯二醛作用,以荧光检测器测定反应生成的荧光物质<sup>[2]</sup>。最早报导直接以紫外检测器测定尿和血清中PPA含量的是Dowse<sup>[3]</sup>。本文报导的方法具有试剂易得,操作简单、精度及重现性好的特点,可用于体液中PPA的测定。

### 实验部分

#### 一、仪器与试剂

液相色谱仪:① Perkin-Elmer 10型。② M-45溶剂输送系统, Lambda-Max 480型紫外检测器及J. J. Instruments CR 650A记录器组成。灵敏度0.02Aufs。

色谱柱: Spherisorb 10 ODS, 25cm × 4.5mm i.d.的不锈钢予填充柱。

检测器: LC-75可变波长紫外检测器。

记录仪: Perkin-Elmer R-100。

N-去甲麻黄碱盐酸盐(PPA-HCl)、伪麻黄碱盐酸盐均为Sigma公司产品。磷

酸二氢铵AR、甲醇HPLC级、其他试剂均为AR。

配制溶液及流动相所用的水为去离子、玻璃容器重蒸水。

#### 二、色谱条件

进样量6 $\mu$ l,室温下,以0.25M磷酸二氢铵:甲醇(80:20)为流动相。流速2ml/min,在Spherisorb 10 ODS柱上分离PPA。紫外检测器监测波长设于208nm。PPA及用作内标的伪麻黄碱分离完全,峰形对称。保留时间分别为3.2分及5.2分。峰高与浓度在0—1000 $\mu$ g内呈良好的线性关系:相关性0.9999。

#### 三、标准曲线的制备

精密称取N-去甲麻黄碱盐酸盐0.1241克,在100ml容量瓶中加水溶解至刻度,即得每ml含PPA 1mg的贮备溶液。

吸取PPA贮备液一定量,以正常人尿稀释至浓度为0、10、20、40、80、120、160、200 $\mu$ g PPA/ml的系列溶液。

吸取上述系列溶液1ml,加入内标溶液1ml(含盐酸伪麻黄碱200 $\mu$ g),混和,加10%氢氧化钠溶液5滴,氯仿5ml,在10ml离心管中密塞振摇3分钟,3000×g离心3分钟,吸出上层水相弃去。以干燥的刻度吸管吸取下层氯仿液4ml,转移至另一含有0.1N硫酸0.8ml的离心管中,密塞振摇1分钟,吸取10 $\mu$ l的水层溶液注射进样,量取PPA及内标峰高,以PPA/内标峰高比值对PPA浓度作图,得一通过原点的直线。PPA标准曲线用

Altenuation1/32, 纸速 5mm/min。

#### 四、方法的精度和重现性

取不同人、日的尿液, 加入PPA使每ml尿液含PPA 10 $\mu$ g, 加入1ml内标溶液, 同上述标准曲线项下方法操作, 5次测定的平均值为: 10.41 $\mu$ g $\pm$ 0.15 $\mu$ g。变异系数1.51%。

#### 五、样本测定

健康的志愿者, 一次口服含PPA-HCl 120mg及扑尔敏15mg的缓释颗粒, 于服药后的0、1、2、3、4、6、8、10、12、14、16、24、32, 及必要时排尿、计量。

尿液测定: 取尿液1ml, 加内标溶液1ml, 同标准曲线制备项下操作, 测得PPA及内标峰高, 从标准曲线查得PPA含量。典型的色谱图见图1, 图2为PPA的尿累计排泄曲

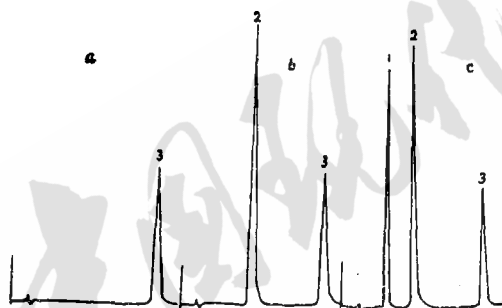


图1

a. 空白尿液 b. 尿液+伪麻黄碱 c. 尿液+伪麻黄碱+PPA峰  
1: PPA(3.2分); 2. 伪麻黄碱(5.2分);  
3. 尿中未知成份(10.7分)

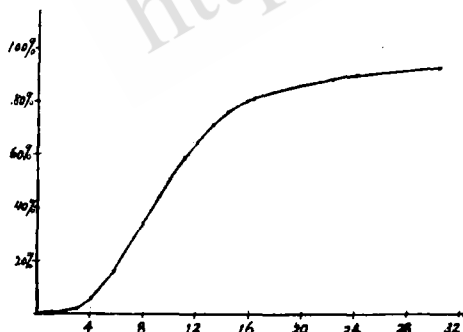


图2

尿中PPA的累计排出率

线, 服药1小时后, 尿中即有可检出的PPA量。8—11小时, 尿排泄达到高峰(140 $\mu$ g/min), 30小时时, 90%以上的PPA已由尿排出体外。

## 讨 论

### 1. 紫外检测波长的选择

无论是PPA的乙醇溶液还是PPA·HCl的水溶液, 在波长为251、257、262nm处有三个吸收峰, 但吸收微弱, 不适用作监测波长。然而在200nm附近均有一强吸收峰。这一强吸收峰作为一般紫外分光法定量无实用价值。但结合HPLC用作监测波长, 则不乏应用先例。如抗疟剂的血药浓度测定, 就曾用过195nm作为紫外监测波长<sup>[4]</sup>, 未发现血清成份干扰测定。我们比较了PPA的紫外光谱图, 发现在225nm处有个低谷, 而后急剧上升, 在200—204nm间达到高峰。在HPLC仪器中, 进样同量的PPA, 比较不同波长的检测器响应值, 也得到一致结果。如果以200nm时的响应为1, 则在204—208nm时为0.9, 220nm时为0.18, 225nm时不可测量。为保证理想的信噪比, 我们选用208nm作为检测波长、血、尿、唾液成份均无干扰, 尿液中虽有一保留时间为10.7分的未知峰, 并不干扰PPA的测定, 只是使分析时间略为延长而已。

2. 本法也可用于血浆或唾液中PPA的测定(本文用液相色谱仪②)。标准曲线以含有25—200ng PPA的血浆或唾液1ml, 加内标溶液1ml(含伪麻黄碱200ng)同标准曲线项下操作, 进样量为20 $\mu$ l, PPA/内标峰高比与PPA浓度成线性关系, 相关性0.9992。血浆或唾液中加入25ng PPA, 测定的变异系数分别为8.08%(n=4)和3.05%(n=5)。

3. 内标的选择, 除伪麻黄碱外还试过茶碱。提取率, 峰形, 和与PPA的分离都令人满意。(保留时间为5.7分)。为考虑病人

的饮茶习惯，故决定用伪麻黄碱。如用于制剂分析，也可选用茶碱。

### 参 考 文 献

[1] M. Endo, H. Imamichi, M. Moriyasu and Y. Hashimoto: *J. chromatogr.*, 196, 334 (1980)

[2] W. D. Mason and E. N. Amick: *J. Pharm. Sci.*, 70, 707 (1981)

[3] R. Dowse, J. M. Haigh and I. Kanfes: *J. Pharm. Sci.*, 72, 1018 (1983)

[4] R. F. Adams: *Advances in chromatography*, Vol. 15 (J. C. Giddings, ed.), Marcel Dekker, New York, pp. 132—167