

高效液相色谱法测定儿童用药盐酸异丙嗪片含量研究

赵雪娜¹, 孙晶^{2*}

(1. 金昌市药品检验检测中心, 金昌 737100;

2. 金昌市中心医院, 金昌 737100)

摘要: 盐酸异丙嗪针对皮肤、耳鼻喉与内科疾病均具有良好作用, 因此在临床儿科中应用较为广泛, 由于该药规格较大, 在临床儿童用药应用中受到一定限制。盐酸异丙嗪片含量过高极易引起不良反应, 因此需分析盐酸异丙嗪片的含量, 以便对用药偏差进行调整。高效液相色谱法能够结合药物动力学实现对药物实际含量的分析, 凭借其高敏感性、特异性等优势, 在近年药物分析中具有广泛应用。高效液相色谱法以药物的应用范围为准, 形成完善的色谱药物分析方案, 及时对色谱色相变化进行调整, 并进行科学评估, 增强分离效果, 准确测定药物含量, 以优化高效液相法分析中药物成分的应用。本次研究主要对高效液相法测定儿童用药盐酸异丙嗪片含量研究进行综述, 以期为儿科临床合理用药提供参考。

关键词: 高效液相色谱法; 盐酸异丙嗪; 儿童用药; 含量测定

Study on determination of content of promethazine hydrochloride tablets for children based on high performance liquid chromatography method

ZHAO Xue-Na¹, SUN Jing^{2*}

(1. Jinchang Drug Inspection and Testing Center, Jinchang 737100, China;

2. Jinchang Central Hospital, Jinchang 737100, China)

ABSTRACT: Promethazine hydrochloride has good effects on skin, ear, nose, and throat, as well as internal medicine diseases. Therefore, it is widely used in clinical pediatrics. Due to its large size, the use of this drug in clinical pediatric medicine is limited to some extent. Excessive content of promethazine hydrochloride tablets can easily cause adverse reactions, so it is necessary to analyze the content of promethazine hydrochloride tablets in order to adjust the medication deviation. High performance liquid chromatography can combine pharmacokinetics to analyze the actual content of drugs. With its advantages of high sensitivity and specificity, it has been widely applied in drug analysis in recent years. High performance liquid chromatography is based on the application scope of drugs, forming a comprehensive chromatographic drug analysis plan, timely adjusting chromatographic phase changes, and conducting scientific evaluations to enhance separation efficiency and accurately determine drug content, in order to optimize the application of drug components in high-performance liquid chromatography analysis. This study mainly reviews the research on the determination of the content of promethazine hydrochloride tablets in children's medication by high-performance liquid chromatography, in order to provide reference for the rational use of drugs in pediatric clinical practice.

KEY WORDS: high performance liquid chromatography; promethazine hydrochloride; children's medication; content determination

基金项目: 一般科技计划-青年人才基金类, 项目名称: 儿科用药异丙嗪手工分量法可行性研究, 项目编号: 2023RC004

Fund: Supported by General Science and Technology Plan - Youth Talent Fund category, Project Name: Feasibility Study of Manual Dosage of Promethazine for Pediatric Use, Project Number: 2023RC004

*通信作者: 孙晶, 主管药师, 研究方向为药物原理。E-mail: tgzy541488717@126.com

*Corresponding author: SUN Jing, Chief Pharmacist, Jinchang Drug Inspection and Testing Center, Jinchang 737100, China. E-mail: tgzy541488717@126.com

0 引言

盐酸异丙嗪属于抗组胺药物,能够治疗支气管肺炎、哮喘、晕动症、过敏性鼻炎、荨麻疹等儿科常见疾病,因此在临床儿科中应用范围较广,每日应用异丙嗪的患儿约占30%。由于儿童与成人具有一定差异,由于儿童发育尚未成熟,其代谢与循环系统未完善,应用药物剂量过高则会阻碍儿童正常的代谢,极易增加不良反应,或是阻碍儿童身体发育,因此在应用异丙嗪时,需要对药物剂量进行合理控制。盐酸异丙嗪能够阻断毛细血管、平滑肌等组织H1受体,形成一定拮抗作用,有助于缓解支气管痉挛状态,减少喘息症状。陈嘹等在研究中发现采取一般剂量对支气管肺炎治疗时,并未呈现出平喘、止咳的显著效果,增大用药剂量以后还会加重不良反应^[1]。过量应用盐酸异丙嗪还会引起头晕、嗜睡、口干、胃肠道不适、恶心、呕吐等症状,患者在片刻休息后上述症状即可自行消失,如果患者不良反应过于强烈还会出现呼吸困难、心率加快、发热等表现,极易造成儿童发生锥体外系反应,甚至会对患者生命产生威胁。当前异丙嗪规格最低为12.5 mg/片,但是在儿童用药中需要给予8 mg甚至更低剂量,为了应对剂量问题,通常是手工掰开药物进行剂量分类,但是会出现药物剂量不均问题,因此需加强对异丙嗪含量的研究,以便临床用药更加规范。

高效液相色谱法产生于20世纪60年代,与传统液相色谱相比,具有更高的色谱柱,检测范围较广,在医学药物、环境保护与食品加工等行业中军具有广泛应用^[2]。在短时间内能够及时对检测样品实施高效分离,并在多种检测器与计算机的协助下,促使分析过程更具智能化、信息化特点,能够对检测样本实施精准分析,具有较高的灵敏度、可重复测试的优势,在药物分析领域属于广泛应用的技术,对于药物含量检测具有积极作用。本文基于高效液相色谱法测定儿童用药盐酸异丙嗪片含量研究进行综述,通过对高效液相色谱法的检测原理、应用优势进行分析,了解高效液相色谱法的应用方法,探讨高效液相色谱法在儿童用药盐酸异丙嗪片含量测定中的应用过程,以掌握高效液相色谱法的应用价值,为临床儿童盐酸异丙嗪片的合理应用提供启示,具体如下文。

1 高效液相色谱法分析

1.1 检测原理

高效液相色谱法能够契合药物分析的灵敏度要求,能够对药物实施精准分离,同时进行科学优化。在技术日益发展形势下,促使分离检验速度水平不断提升,并能够以相关药物分析为基准,促进高效液相色谱法的良性发展。应用高效液相色谱法能够实施科学评估,周鹏妹在研究中

提出应用5 μm以内的色谱柱实施填料操作,能够对药物进行整体分离,以实现预期的实验目标^[3]。通过运用高效液相色谱法的优势,能够促使实际分析效率、速度均得到提升,此外孙熠等在研究中运用高效液相色谱法对食品防腐剂实施检测,发现在研究中可以对色谱长度可进行适当调整,同时能够针对分析的实际速度范围进行控制,进而深入对食品防腐剂的测试数据的分析^[4]。应用高效液相色谱分析法,针对不同的物质能够实施分离,并对色谱柱分离速度进行控制,在分离时需要严格遵循分离的规范,并对液相分离的方程水平进行适度优化,在液相融合比例的影响下,能够对乙酰氨基酚技术给予评估,与传统的检测方式进行对比,高效液相色谱法能够缩短4.8 s的分析时间,且能够分离出更高层次的代谢物,说明应用高效液相色谱法能够促使检验精准度得到一定提高,进而降低最终分析结果的偏差。在进行药物检验分析时,可以采取填料直径缩小的方式,对信噪比进行科学的调整,促使敏感度水平不断提高,同时需要对离子化反应水平进行调节,需要依据色谱扩展比例对实际范围的浓度进行合理的控制,依据杂质分离过程对其基础效应进行改善,促使检验敏感度得到一定提升。管丹娅在研究中发现对药物实施分析时,应用高效液相色谱分析法具有可重复检测的优势,能够取得效率更高的检验结果,进而提升分析效果^[5]。

1.2 应用优势

(1)分析速度快:伴随填料直径的缩小能够促使检测速度得到提升,同时不会对柱效产生干扰,可以结合比例对色谱柱的长度进行调整,以便提示分析速度。临床研究中发现应用高效液相色谱分析法对不同尼泊金酯类物质实施分析,在维持相同的分离度状态下,应用5 μm色谱柱与普通高效液相色谱法进行对比,其分离速度更快^[6]。宋兰英在研究中提出高效液相色谱法可在多个领域中实施结果分析,且高效液相色谱法具有快速、准确、高效的特点,能够对药物实施有效测定^[7]。(2)分离度较好:从等度液相分离度方程可以得出,缩短填料直径能够增强分离度,宁霄等在研究中对动物源性食品中对乙酰氨基酚残留量进行检测时,发现应用高效液相色谱法能够缩短检测时间,相比传统方法所分离出的代谢物数量更高,提示高效液相色谱法能够增强检验的精准度,避免出现较大的检验偏差,进而促使临床检验效率与质量得到协同提升,为检验提供了新的参考^[8]。(3)检验精准度高:通过高效液相色谱法能够呈现更窄的色谱峰,同时促使信噪比呈升高趋势,进而增加了检验的敏感性、灵敏度。有学者在研究中应用高效液相色谱

法对大鼠血浆中灯盏花乙素药物浓度进行分析, 结果得知灯盏花乙素在 0.1 ~ 100 $\mu\text{g/L}$ 范围内呈现良好的线性关系, 且灯盏花乙素提取回收率处于 80% 以上, 日内与日间精密度 RSD 处于 5.74% 以内, 其精准度处于 96.24% ~ 97.89% 范围内, 说明高效液相色谱法能够增强药物浓度分析的敏感性^[9]。

1.3 分析方法

高效液相色谱法属于药物分析的重要手段, 在实验室分析、检验中为常见方法。在研究要求的指导下, 需要不断增强检验与分析的稳定性, 进而提高检验质量。通过完善色谱标准, 实现对药物分析的终极目标。罗鸣在药物检验分析中应用超高效液相色谱法的研究中提出, 高效液相色谱法与传统检测方法进行比较, 具备更高的分离度, 且检验速度更快, 呈现更精准的检验结果, 在实际操作规范下, 能够增强实际回收率, 获得实际参考的依据, 因此在药物检验中具有广泛应用^[10]。

2 高效液相法在儿童用药盐酸异丙嗪片含量测定中的应用

2.1 色谱条件与系统适用性试验

色谱系统适用性试验在色谱分析方法中具有重要作用, 对试验条件具有较高的敏感度, 系统适用性是基于仪器、电子元件与分析方法操作的整体系统, 其试验参数需要结合其评价分析方法进行调整, 且系统适用性试验的参数之间并非孤立, 而是具有紧密关联, 能够进行相互作用^[11]。分离度 R_s 是柱效 N 的函数, 拖尾因子会对重复性产生直接影响, 进而影响最终的分离度, 而保证灵敏度则是为参数结果提供保障。因此在系统适用性试验的要求下需要形成整体评价, 而非对单独参数的要求, 需要与分析方法进行结合, 进而满足分析方法的检测需求。吴红英等在研究中针对儿童用药盐酸异丙嗪片含量进行测定时, 实施了高效液相色谱法, 其中色谱柱选取了 Agilent Eclipse XDB-C18 (4.6 mm \times 150 mm, 5 μm), 柱温控制在 30~35 $^{\circ}\text{C}$ 之间, 水(用冰醋酸调节 pH 值至 2.3)-甲醇(55:45), 流速为 1.0 mL/min 之内, 检测波长为 254 nm, 进样量控制在 5~20 μL 范围内, 理论塔板数需不低于 3500, 进而能够取得预期的实验效果^[12]。

2.2 溶液制备

溶液制备是分析中最基础的要求, 主要包括溶质计算、移液、定容等操作, 同时还有在混合溶液前后的加入顺序,

以及对试剂自身的化学性质进行运用, 掌握溶液配制技术, 能够缩短配置时间, 促使分析效率得到提升。通常在进行溶液配备时需要注意准确称量, 确保达到相应数值, 尽量减少误差; 注意进行定量转入, 确保转入达到 100.0%; 注意试剂水需达到纯度要求, 避免杂质混入; 在进行摇匀时需要将瓶口塞紧, 避免出现溶液溢漏情况。刘圆圆等在研究中提出运用高效液相色谱法, 针对盐酸异丙嗪片含量测定样品制备方法如下: 供试品溶液制备: 将适量盐酸异丙嗪片, 应用研钵进行研细, 并精密称取适量(约相当于酸异盐丙嗪 20 mg)置 100 mL 容量瓶中, 加入 0.1 mol/L 的盐酸稀释至刻度, 摇匀、滤过; 精密量取 5 mL 续滤液置 50 mL 量瓶中, 并用水进行稀释定容至刻度, 摇匀后形成盐酸异丙嗪供试品溶液。对照品溶液制备: 精密称取对照品 10 mg, 将其置入 50 mL 量瓶中, 同时加入 0.1 mol/L 的盐酸进行溶解, 稀释至刻度, 摇匀后得到储备液。精密量取 5 mL 上述溶液将其放置在 50 mL 量瓶中, 加入 0.1 mol/L 的盐酸溶解并稀释、摇匀后, 获得盐酸异丙嗪对照品溶液, 进而能够形成实验的基础^[13]。

2.3 线性关系考察

线性关系考察能够对某一浓度或峰高情况下进行准确的样本分析, 当样品面积与浓度呈正比, 即与朗博比尔定律相符合, 当在浓度范围内浓度与面积呈正比, 进而能够获取准确的分析结果。当得知标准品浓度 X 与两个峰面积 Y 样、 Y 标时, 能够对样品浓度 X 样进行计算, 如果超过线性关系范围, 则会影响分析结果的准确性。线性关系通常对高效液相色谱仪的条件准确与稳定性进行衡量, 同时能够对线性范围进行评估, 其与标准品及其浓度具有紧密联系, 而与样品测定的提取条件并无相关, 因此标准曲线属于独立测定, 能够将其作为参照物对样品浓度标准进行衡量, 进而对试验浓度线性范围进行控制。吴红英等在应用高效液相法对复方利血平片中盐酸异丙嗪的含量进行测定时, 在开展盐酸异丙嗪片线性关系考察时, 取盐酸异丙嗪对照品储备液 6、8、10、11、12、15 mL 置 100 mL 容量瓶中, 并依次取 10 μL 注入高效液相色谱仪进行测定, 对色谱图进行记录, 分别将对对照品的浓度与峰面积作为横、纵坐标, 对标准曲线进行绘制, 随后实施回归分析, 进而确保盐酸异丙嗪在特定范围内呈现良好的线性关系^[14]。朱叶青等在高效液相色谱法测定复方罗布麻片 I 中盐酸异丙嗪含量研究中也验证了盐酸异丙嗪进样量在一定范围内与峰面积呈良好线性关系^[15]。

2.4 专属性试验

专属性试验是对被测物的特性进行准确测定,通过杂质检查、含量测定以及鉴别反应等对其专属性进行评估,使用多个方法进行补充。鉴别试验需要确保被分析物与其特征相符,且对共存的相似物质、结构进行区分,通过含被分析物的样本呈正反应,反之则呈负反应。在获得杂质以后需要向供试品加入适量杂质,确保杂质与共存物质均能够进行分离,可采取强光照、高温、高湿、氧化等方式对供试品进行破坏,以便对杂质质量进行检验。在可获得杂质情况下实施主成分含量测定时,可以在供试品中加入杂质,对测定结果进行评估,同时与未加杂质的试样进行结果对比;在未获得杂质情况下,可以采取破坏性试验进行含量测定,还可以实施色谱峰纯度检查,确保含量测定中的色谱峰无杂质或其他成分。取供试品溶液实施含量测定,如果杂质峰与主峰之间呈良好分离状态,则说明对照品溶液未对主峰产生干扰。杜晓娟等在超高效液相色谱-质谱联用技术评价当归养血丸中阿胶投料情况研究中展开了供试品色谱图的分析,提出如果阴性样品与对照药材的色谱能够呈现出保留时间一致的色谱峰,则代表处方中其他药物不会对测定结果进行干扰,说明专属性较强^[6]。

2.5 精密度试验

精密度试验是指在相应的条件下对同一份均匀供试品进行多次取样测定所得到的结果,通常以偏差、相对偏差对精密度进行表示。在同样条件下经由同一个分析人员所测定的结果精密度将其称之重复性,而在同一条件下,不同时间、不同人员与不同设备所测定的结果精密度为中间精密度;在不同条件下由不同分析人员所测定的结果精密度属于重现性。在实施重复性验证时需要多次实施测试,并选择不同浓度进行测定;在进行中间精密度验证时需要注意测定中的干扰因素,由此会产生不同的结果;重现性验证在不同实验室之间具有重要作用,如果基质复杂,可以适当对精密度的接受范围进行放宽。王咏梅等在研究中针对N-烯丙基-O-异丁基硫代氨基甲酸酯含量实施精密度分析实验,在实验过程中均在同一操作条件下,通过同一操作人员针对同一样品共计实施了12次重复取样分析,进而获取了更加精准的数据,验证了精密度试验的有效性^[7]。因此在盐酸异丙嗪含量进行测定时,需要按照供试品的制备流程,制备具有相同浓度的6份供试品溶液,通过对盐酸异丙嗪对照品连续进样6针和对6份供试品溶液进样后分析确保精密度的精准。

2.6 稳定性试验

稳定性试验是对原料药或制剂在温度、湿度与光线的影

响下随着时间变化规律进行评估,能够为药品的有效期提供科学依据。在进行稳定性试验时需要保证药物为同一批,如果实施长期试验需要保证供试品满足相应试验需求,在对盐酸异丙嗪片进行含量分析时,需要取供试品溶液分别在0~12h之内进行分别进样测定,如果主成分峰面积未出现明显变化,则提示在12h内样本溶液处于稳定状态。

2.7 重复性试验

重复性试验是通过应用相同的方法、试验材料在相同条件下进行多次重复测定所获取的结果,确保一个数值在两次试验结果之差能够低于这个数值,在进行结果校准时,需要对重复性所产生的影响进行考虑,以便获取准确结果。取供试品,制备6份相同浓度的供试品溶液,并依据含量测定方法实施测定分析,对色谱图进行记录,对供试品溶液中的盐酸异丙嗪平均含量进行计算,当处于相应范围内,则提示重复性良好。宋新康等在研究中取于盐酸异丙嗪16、20、24mg各3份,并将其制成供试品溶液,依据含量测定方法开展高效液相色谱法测定,当其平均含量处于102.2%,则RSD为0.6%,提示在实施重复性试验后所获取的重复性较好^[8]。

2.8 回收率试验

回收率试验是在样品中加入已知浓度的对照品然后进样通过峰面积计算出样品中的加入的对照品的浓度,与加入量的百分比值。在分析时向试样中加入已知量的被测组分,随后进行测定,能够对加入组分是否定量回收进行检查,进而评估分析过程是否存在系统误差,所得结果通常是应用百分数进行表示,通过回收率试验能够获取测定结果的平均值与真实值之间的界限。精密称取适量盐酸异丙嗪对照品,依据盐酸异丙嗪片处方比例加入供试品,并加入溶剂进行溶解,加入溶剂至刻度摇匀,得到不同浓度的盐酸异丙嗪样品,并实施过滤、进样分析,对色谱图进行记录,结合外标法对平均回收率进行计算。姜云平等在研究中应用高效液相色谱法对盐酸异丙嗪片的含量进行测定,经过回收率试验,显示该次试验平均回收率为99.9%^[9]。

2.9 检测限

检测限是分析方法在规定的实验条件下所检出的被测成分的最低浓度,检出限与仪器噪声、分析流程相关,在对盐酸异丙嗪进行检测时,需要取适量对照品溶液并应用盐酸进行稀释,在拟定色谱条件下进行测定,并应用空白溶剂进行同样的方法测定,在信噪比处于不同比例时,盐酸异丙嗪的浓度也有所差异,当同法操作与测定信噪比处于一致时,则可确定实验的检测限。

3 小结

盐酸异丙嗪片在应用时不良反应较多,因此需对其含量进行测定,以便对用药剂量进行评估。应用高效液相色谱法能够对盐酸异丙嗪片的成分与含量进行分析,具有高效便捷、灵敏度高的优势,能够形成更加完善的含量分析体系,近年也逐渐在各行各业中得到广泛应用,其在药品检验中的应用价值日益凸显^[20],能够为临床药品检验提供重要参考依据,便于临床规范、科学用药。

参考文献

- [1] 陈嘹,杨贵芬,王莹.克林霉素磷酸酯注射液与盐酸异丙嗪注射液存在配伍禁忌[J].中国实用护理杂志,2013,29(24):46.
- [2] 熊赛霞.高效液相色谱法的特点及应用[J].现代食品,2020,(03):199-201.
- [3] 周鹏妹.高效液相色谱在药物分析中的应用研究进展[J].化学工程与装备,2022,(08):249-250.
- [4] 孙熠,高翠.高效液相色谱法原理及在食品防腐剂检测中的应用[J].中国食品工业,2021,(08):42-43.
- [5] 管丹娅.超高效液相色谱法在药物分析中的应用进展[J].临床医药文献电子杂志,2019,6(30):189-190.
- [6] 霍玉荣.超高效液相色谱法在药物分析中的应用进展[J].首都食品与医药,2016,23(10):25-26.
- [7] 宋兰英.浅析高效液相色谱分析法在各领域的应用及发展前景[J].科技创新与应用,2015,(12):60.
- [8] 宁霄,谢宏洋,杨茜,等.限进介质色谱柱高效液相色谱法测定动物源性食品中对乙酰氨基酚残留量[J].化学分析计量,2023,32(11):7-11.
- [9] 高敏,卢李倩,王晓月,等.高效液相色谱法测定大鼠血浆中灯盏花乙素的药物浓度[J].中国处方药,2018,16(07):34-36.
- [10] 罗鸣.药物检验分析中应用超高效液相色谱法的研究[J].江西医药,2022,57(05):450-453.
- [11] 李飞,李云,许真玉.色谱系统适用性试验在分析方法使用中的重要性[J].中国新药杂志,2019,28(06):666-669.
- [12] 吴红英,邱栋樑.高效液相法测定复方利血平片中盐酸异丙嗪的含量[J].中国医药导报,2009,6(28):50-51.
- [13] 刘圆圆,孙建绪,李迎,等.高效液相色谱法测定盐酸异丙嗪咖啡因片的含量及溶出度[J].国际药学研究杂志,2016,43(02):392-397.
- [14] 吴红英,徐道华,邱栋樑.高效液相色谱法测定盐酸异丙嗪片中盐酸异丙嗪的含量[J].中南药学,2009,7(08):603-605.
- [15] 朱叶青,王瑞生.高效液相色谱法测定复方罗布麻片I中盐酸异丙嗪含量[J].中国药业,2014,23(11):35-36.
- [16] 杜晓娟,王冰,谢耀轩,等.超高效液相色谱-质谱联用技术评价当归养血丸中阿胶投料情况[J].中国药学杂志,2022,57(06):413-419.
- [17] 王咏梅,牟松.气相色谱法测定N-烯丙基-O-异丁基硫代氨基甲酸酯含量的精密度试验分析[J].有色矿冶,2017,33(05):48-50,60.
- [18] 宋新康,刘志辉,严全鸿.高效液相色谱法测定盐酸异丙嗪片含量[J].解放军药学学报,2010,26(04):350-352.
- [19] 姜云平,曾仁杰,张勤,等.高效液相色谱法测定盐酸异丙嗪片的含量[J].西南国防医药,2004,(01):29-31.
- [20] 张良晓.高效液相色谱在药物分析中的应用研究进展[J].内蒙古石油化工,2005,(07):3-5.

作者简介

孙晶,中级药师,研究方向为药物原理。