

HPLC测定小儿清热止咳颗粒中盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱的含量

谢升谷, 祝明(浙江省食品药品检验所, 杭州 310004)

摘要: 目的 建立用反相高效液相色谱法测定小儿清热止咳颗粒中盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱含量的方法。方法 采用 ZORBAX SB C₁₈ 色谱柱, 流动相为 0.1%磷酸溶液-乙腈(96:4), 流速为 1.0 mL·min⁻¹, 紫外检测波长为 205 nm。结果 盐酸麻黄碱线性范围为 4.388~43.88 μg·mL⁻¹($r=0.9999$), 平均回收率 99.7%, RSD 为 2.1%($n=6$)。盐酸伪麻黄碱线性范围为 5.300~53.00 μg·mL⁻¹($r=0.9997$), 平均回收率 98.5%, RSD 为 2.8%($n=6$)。结论 本法定量准确、重复性好, 可作为该制剂的质量控制方法。

关键词: 盐酸麻黄碱; 盐酸伪麻黄碱; 小儿清热止咳颗粒; 高效液相色谱法

中图分类号: R917.101

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2010)03-0255-04

Determination of Ephedrine Hydrochloride and Pseudoephedrine Hydrochloride Contents in Xiao'er Qingre Zhike Granules by HPLC

XIE Shenggu, ZHU Ming(*Zhejiang Institute for Food and Drug Control, Hangzhou 310004, China*)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish a HPLC method for the determination of ephedrine hydrochloride and

作者简介: 谢升谷, 男, 硕士, 药师 Tel: (0571)86459414 E-mail: xiesgu@163.com

pseudoephedrine hydrochloride contents in Xiao'er Qingre Zhike granules. **METHODS** Separation was performed on ZORBAX SB C₁₈ column. 0.1% phosphoric acid solution-acetonitrile(96 : 4) was selected as the mobile phase, flow rate was set at 1.0 mL·min⁻¹ and detection wavelength was 205 nm. **RESULTS** The linear range for ephedrine hydrochloride was 4.388-43.88 μg·mL⁻¹(*r*=0.999 9), the average recovery of ephedrine hydrochloride was 99.7%, RSD=2.1% (*n*=6). The linear range for pseudoephedrine hydrochloride was 5.300-53.00 μg·mL⁻¹(*r*=0.999 7), the average recovery of pseudoephedrine hydrochloride was 98.5%, RSD=2.8%(*n*=6). **CONCLUSION** The method is accurate and repeatable, and it can be applied to control the quality of this drug.

KEY WORDS: ephedrine hydrochloride; pseudoephedrine hydrochloride; Xiao'er Qingre Zhike granules; HPLC

小儿清热止咳颗粒是由麻黄、苦杏仁、黄芩、甘草等7味药材组成,具有清热、宣肺、平喘的功效,主要用于小儿外感引起的发热恶寒和咳嗽痰黄等症状。目前该制剂含量测定的主要方法有分光光度法测定盐酸麻黄碱含量、高效液相色谱法测定盐酸麻黄碱含量、分光光度法测定总黄酮等^[1],而处方相同的小儿清热止咳口服液高效液相色谱法测定含量也有报道^[2]。作为此颗粒剂的主要药效成分麻黄,主含标志性成分麻黄碱和伪麻黄碱,同时也属于需控制的毒、麻类成分。不同产地的麻黄药材,其中的麻黄碱和伪麻黄碱含量差别很大,且伪麻黄碱也具有一定的治疗和不良反应。因此,建立专属性强的分析方法用于同时测定盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱的含量,控制其含量,对于该品种的安全有效使用和质量控制显得尤为必要。

1 仪器与试药

Agilent 1100 高效液相色谱仪(G1322A 脱气

机, G1311A 四元泵, G1313A 自动进样仪, G1316A 柱温箱, G1314A 紫外检测器)。

乙腈为色谱纯,水为重蒸水,其余为分析纯。盐酸麻黄碱对照品(中国药品生物制品检定所,批号: 714-8501, 供含量测定用); 盐酸伪麻黄碱对照品(中国国家麻醉品实验室,批号: 1237-9601, 供含量测定用)。小儿清热止咳颗粒(浙江泰利森药业有限公司,批号分别为080301、080502、080503,其中批号080301的样品作为方法学考察用)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: ZORBAX SB C₁₈ 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-0.5% 磷酸溶液(4 : 96); 检测波长: 205 nm; 流速: 1.0 mL·min⁻¹, 在此条件下色谱能达到很好分离,结果见图1。色谱柱的理论板数按盐酸麻黄碱峰计算大于5 000,分离度大于1.5。

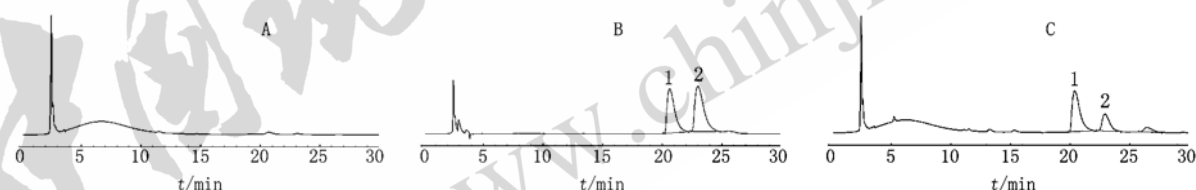


图1 含量测定高效液相色谱图

A-空白; B-对照品; C-供试品; 1-盐酸麻黄碱; 2-盐酸伪麻黄碱

Fig 1 HPLC chromatograms

A-blank; B-reference substances; C-sample; 1-ephedrine hydrochloride; 2-pseudoephedrine hydrochloride

实验中曾对盐酸麻黄碱与盐酸伪麻黄碱对照品峰进行紫外光谱扫描,并参照中国药典2005年版小儿清热止咳口服液盐酸伪黄碱含量测定色谱条件^[3],选用205 nm作为测定波长。

2.2 提取条件的选择

提取方法的选择: 本试验对甲醇-盐酸(100 : 1)超声和碱液蒸馏这2种提取方法进行了比较,结果甲醇-盐酸(100 : 1)超声后供试品色谱中杂质峰干扰比较大,无法准确定量测量。而用碱液蒸馏法得到的供试品色谱中杂质对盐酸麻黄碱和盐酸

伪麻黄碱色谱峰无干扰,故选用碱液蒸馏法提取。

2.3 对照品溶液的制备

取盐酸麻黄碱对照品、盐酸伪麻黄碱对照品适量,精密称定,加0.1 mol·L⁻¹盐酸制成每1 mL含20 μg的溶液,即得。

2.4 供试品溶液的制备

取装量差异项下的本品,研细,取10 g,精密称定,加氯化钠7.5 g、水50 mL及20%氢氧化钠溶液100 mL,蒸馏,用预先盛有稀盐酸10 mL的100 mL量瓶收集蒸馏液约95 mL,加水至刻度,摇

匀, 放置过夜, 即得。

2.5 线性关系考察

精密量取盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱混合对照品溶液(分别含盐酸麻黄碱 $43.88\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、盐酸伪麻黄碱 $53.00\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$), 分别稀释成含盐酸麻黄碱 $4.388, 8.766, 17.552, 32.910, 43.880\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、含盐酸伪麻黄碱 $5.30, 10.60, 21.20, 39.75, 53.00\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 进样量为 $20\text{ }\mu\text{L}$, 注入液相色谱仪, 记录峰面积, 以色谱峰面积为纵坐标, 以进样浓度为横坐标, 进行线性回归, 得线性方程为: 盐酸麻黄碱: $Y=44.045X-21.761, r=0.999\ 9$, 表明盐酸麻黄碱在 $4.388\sim 43.88\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 内有良好的线性关系。盐酸伪麻黄碱: $Y=45.190X-46.728, r=0.999\ 7$, 表明盐酸伪麻黄碱在 $5.300\sim 53.00\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 内有良好的线性关系。

2.6 专属性

模拟处方制得缺麻黄空白样品溶液, 按“2.1”色谱条件测定, 结果在盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱对照品峰处未出现色谱峰, 见图1, 表明本方法专属性良好。

2.7 精密度

2.7.1 仪器精密度试验 精密吸取同一对照品溶液, 连续进样5次, 所得峰面积的RSD分别为盐酸麻黄碱 0.9% , 盐酸伪麻黄碱 1.1% 。

2.7.2 重复性试验 称取同一批样品(批号: 080301)各6份, 按“2.4”项下方法提取测定, 结果平均含量为 $3.4\text{ mg}\cdot\text{袋}^{-1}$, $\text{RSD}=1.1\%$ 。

2.8 回收率

采用加样回收法, 取已知含量的样品, 按约 $1:1$ 加入盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱对照品适量, 按“2.1”色谱条件测定, 计算回收率, 结果见表1、表2。结果表明本法具有良好的回收率。

表1 盐酸麻黄碱回收率测定结果($n=6$)

Tab 1 Experiments of recovery for ephedrine hydrochloride ($n=6$)

称样量/ g	已知量/ mg	加入量/ mg	测得量/ mg	回收率/ %	平均回收 率/%	RSD/ %
4.675 2	1.909 3	1.968 0	3.821 9	97.19	99.7	2.1
4.995 8	2.040 3	1.968 0	3.981 9	98.65		
5.126 6	2.093 7	1.968 0	4.077 2	100.79		
5.120 1	2.091 0	1.968 0	4.108 8	102.54		
4.789 4	1.956 0	1.968 0	3.885 2	98.02		
5.040 9	2.058 7	1.968 0	4.048 4	101.10		

表2 盐酸伪麻黄碱回收率测定结果($n=6$)

Tab 2 Experiments of recovery for pseudoephedrine hydrochloride($n=6$)

称样量/ g	已知量/ mg	加入量/ mg	测得量/ mg	回收率/ %	平均回收 率/%	RSD/ %
4.675 2	0.742 8	0.976 8	1.687 1	96.68	98.5	2.8
4.995 8	0.793 8	0.976 8	1.724 9	95.33		
5.126 6	0.814 6	0.976 8	1.806 0	101.48		
5.120 1	0.813 5	0.976 8	1.812 7	102.28		
4.789 4	0.761 0	0.976 8	1.710 3	97.18		
5.040 9	0.800 9	0.976 8	1.761 1	98.29		

2.9 稳定性

取同一份对照品溶液及供试品溶液, 分别在 $0, 3, 8, 14, 22, 30\text{ h}$ 进样, 测定盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱峰面积, RSD分别为 $1.1\%、1.2\%$ 和 $1.0\%、1.1\%$ 。结果表明, 对照品溶液和供试品溶液均至少在 30 h 内保持稳定。

2.10 耐用性

试验中比较了3种不同类型的色谱柱: Agilent ZORBAX SB- C_{18} ($250\text{ mm}\times 4.6\text{ mm}, 5\text{ }\mu\text{m}$)、Agilent Extend- C_{18} ($250\text{ mm}\times 4.6\text{ mm}, 5\text{ }\mu\text{m}$)和SHIMADZU VP-ODS C_{18} ($250\text{ mm}\times 4.6\text{ mm}, 5\text{ }\mu\text{m}$), 结果供试品溶液在这3种色谱柱上均能得到很好的分离。

2.11 样品测定

取样品3批, 按“2.4”项下方法处理, 进行HPLC分析测定, 结果见表3。

表3 样品测定结果($n=2$)

Tab 3 Results of sample determination($n=2$)

批号	含量/ $\text{mg}\cdot\text{袋}^{-1}$
080301	3.4
080502	3.2
080503	3.6

3 讨论

麻黄药材中含多种生物碱成分, 如微量的甲基麻黄碱、去甲基麻黄碱、去甲基伪麻黄碱等物质, 采用专属性不强的分光光度法测定总生物碱不能满足于药品的有效质量控制。液相色谱法测定麻黄碱类生物碱所用流动相一般为乙腈- $0.02\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 磷酸二氢钾溶液(用磷酸和三乙胺调节pH值为 2.7)^[2]、乙腈- 0.5% 磷酸溶液(含 0.1% 三乙胺)^[3]以及乙腈- 0.5% 磷酸溶液^[4]等。通过比较, 3者之间对于盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱的峰形基本相似, 故选用较为简单的乙腈- 0.5% 磷酸溶液作为流动相系统。本试验利用麻黄碱和伪麻黄碱的

性质, 采用蒸馏法处理样品, 建立了专属性强的盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱含量测定; 前处理简单方便, 方法重复性、准确度均满足要求。

REFERENCES

- [1] ZHONG R J, YE J Z, ZHANG F. Study of quality standard of xiao'er qingre zhike keli [J]. Drug Stand China (中国药品标

准), 2001, 4(2): 62-63.

- [2] ZOU P, ZHANG Z Q. Determination of ephedrine alkaloids in xiao'er qingre zhike oral solution by HPLC [J]. Chem Anal Meter (化学分析计量), 2006, 15(1): 24-26.
- [3] Ch.P (2005) Vol II (中国药典 2005 年版.二部) [S]. 2005: 348.
- [4] CHEN Y. Determination of ephedrine hydrochloride and pseudoephedrine hydrochloride in Jieduwanling pills by HPLC [J]. Chin Tradit Pat Med (中成药), 2004, 26(2): 195-198.

收稿日期: 2009-06-15