

高效液相色谱法测定甘露药浴颗粒中盐酸麻黄碱的含量

库进良,多杰,余满堂,多杰拉旦,尼玛才让(青海省藏医药研究所,青海 810007)

甘露药浴颗粒为藏药药浴五味甘露汤(藏药标准)的剂型改革品种,本品由刺柏叶、水柏枝、麻黄等五味藏药组成,经提取加工制成,具有清热祛风,除湿止痒,通络止痛,润肤消斑的功效,用于风湿痹阻所致关节肿痛,痛风,湿疹湿疮,黄褐斑,痤疮。为了控制该产品质量,本文用 HPLC 法测定甘露药浴颗粒中麻黄碱的含量,结果表明方法简便、快速、准确、可行,为该制剂质量控制提供科学依据。

1 仪器及试剂

Waters 高效液相色谱仪、515 二元泵、2487 紫外检测器, Waters Millennium 数据处理软件、KQ 一 250 超声波处理器。重蒸水;乙腈为色谱纯(山东试剂厂),其余试剂均为分析纯。对照品:盐酸麻黄碱(中国药品生物制品检定所提供,批号为 785-9001)。阴性对照样品:除麻黄外的处方组成以及样品,均由青海金诃藏药股份有限公司提供。

2 色谱条件

色谱柱:Waters Symmetry C₁₈(150×3.9mm);流动相:甲醇-0.2mol/L 磷酸二氢钾-乙酸-三乙胺(8: 92: 0.2: 0.02);流速:1.0mL/min;柱温:25℃;检测波长 210nm。理论塔板数以麻黄碱计算,不低于 2000。

3 样品溶液的制备

分别精密称定五份甘露药浴颗粒(外用)成品 0.3g,精密称定,置 10mL 容量瓶中,加甲醇 8mL,超声处理 30min,放冷,加甲醇至刻度,摇匀,用 0.45μm 微孔滤膜滤过,滤液作为样品溶液。

4 对照品溶液的制备

精密称取盐酸麻黄碱 1.277mg,置于 10mL 容量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,即得 0.1277mg/mL 的盐酸麻黄碱对照品溶液,用 0.45μm 微孔滤膜过滤。

5 实验方法

5.1 方法学考察

提取方法:精密称定甘露药浴颗粒 0.3g 按照样品提取方法进行回流、超声提取处理,结果以超声处理提取完全并且方法简便,超声提取时间以 30min 为佳。结果见表 1。

表 1 方法学考察试验结果

提取名称	提取时间 (min)	进样量 (μL)	峰面积
回流	20	10	9956431
	30	10	10065421
	60	10	9807834
超声	20	10	10689735
	30	10	10993578
	60	10	10985746

5.2 线性关系的考察

精密取盐酸麻黄碱对照品溶液(0.1277mg/mL)溶液 2, 4, 6, 8, 10μL, 按上述色谱条件进行测定,实验结果见表 2。以峰面积为纵坐标,对照品浓度(μg)为横坐标,绘制坐标曲线即得。盐酸麻黄碱在 0.2554~1.277μg 范围内呈良好的线性关系。回归方程为 $Y = 303347.6 + 17998327.33X$, $r = 0.9995$ ($n = 5$)。

表 2 线性试验结果

进样体积(μL)	进样量 μg	峰面积
2	0.2554	4742492
4	0.5108	9454968
6	0.7662	14472478
8	1.0216	18689104
10	1.277	23109288

$Y = 303347.6 + 17998327.33X$
 $r = 0.9995(n = 5)$

5.3 精密度试验

精密吸取盐酸麻黄碱标准品溶液 10μL,重复进样 5 次,记录盐酸麻黄碱的峰面积值的 RSD 为 1.60%。结果见表 3。

表 3 精密度试验结果

序号	峰面积	平均	RSD(%)
1	23109288	23242966.8	1.60
2	23284873		
3	22884333		
4	23859566	23076774	
5	23076774		

5.4 稳定性试验

精密吸取样品(批号 20010921)溶液各 10μL,分别于 0, 0.5, 1, 1.5, 2h 进样测定,记录样品中盐酸麻黄碱的色谱峰面积值,2h 内峰面积值基本不变,RSD 为 1.47%。结果见表 4。

表 4 表稳定性试验结果

时间(h)	峰面积	平均	RSD(%)
0.0	10978942	10857156	1.49
0.5	11013563		
1.0	10784521		
1.5	10894175		
2.0	10614579		

5.5 重现性试验

取同批样品(批号 20010921)5 份,按含量测定项下色谱条件测定,结果平均 RSD 为 2.0%。结果见表 5。

表 5 重现性试验结果

序号	样品重量 (g)	峰面积	样品含量 (mg/g)	平均 (mg/g)	RSD (%)
1	0.3001	10508399	1.89		
2	0.3005	10688383	1.92		
3	0.3126	10914977	1.94	1.90	1.53
4	0.3018	10460992	1.87		
5	0.3054	10637123	1.88		

表 6 加样回收实验结果

序号	样品重 (g)	样品中麻黄碱 含量(mg)	加入麻黄碱量 (mg)	测得峰面积	测定结果 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
1	0.1512	0.2725	0.28	10263622	0.5534	100.32		
2	0.1507	0.2716	0.28	10227626	0.5514	99.93		
3	0.1502	0.2707	0.28	10303218	0.5556	101.75	99.63	1.73
4	0.1531	0.2759	0.28	10161032	0.5477	97.07		
5	0.1499	0.2701	0.28	10157432	0.5475	99.07		

5.7 阴性干扰实验

按照处方比例,取除去麻黄的其它成分,按照制备工艺制得阴性样品。按上述条件与方法试验,结果阴性样品在与对照品色谱峰相应的位置上无吸收峰。说明处方中其它成分对测定结果无影响。

5.8 样品测定

精密吸取对照品溶液与样品溶液各 10μL,分别进样测定,测定峰面积,以外标法计算样品中盐酸麻黄碱含量,五批样品测定表明,本品含盐酸麻黄碱计为 1.81~1.90mg/g,见表 7。

表 7 样品中盐酸麻黄碱的含量

批号	麻黄碱含量(mg/g)		平均
20002026	1.82	1.87	1.84
20000908	1.80	1.82	1.81
20010921	1.89	1.92	1.90
20020528	1.81	1.89	1.85
20020605	1.87	1.81	1.84

6 麻黄药材含量测定

取麻黄药材 0.2g,按照样品含量测定方法对 5 批麻黄药材进行麻黄碱含量测定,结果见表 8。

表 8 麻黄中麻黄碱含量

批号	麻黄碱含量(%)		平均(%)
1(青海贵德)	0.587	0.581	0.584
2(西藏)	0.612	0.618	0.615
3(甘肃)	0.353	0.356	0.354
4(青海格尔木)	0.251	0.259	0.255
5(青海海南)	0.414	0.410	0.412

根据测定结果,麻黄含麻黄碱为 0.255~0.615%。

5.6 加样回收实验

精密称取已知含量的样品(批号 20010921,麻黄碱含量为 1.802mg/g)0.15g,加入对照品溶液(0.14mg/mL)2 mL,混匀,按上述样品含量测定方法提取及测定,实验结果见表 6。

7 两种含量测定方法对比

采用中国药典 2000 年版一部收录的麻黄含量测定方法与本研究 HPLC 法进行对比,结果表明,甘露药浴颗粒中麻黄中麻黄碱含量符合中国药典规定(不少于 0.8%),采用 HPLC 法测定,麻黄中麻黄碱分离较好,含量结果不包括其他生物碱。结果见表 9。

表 9 两种含量测定方法对比

麻黄中总生物碱含量(%) (酸碱滴定法,n=2)	麻黄中麻黄碱含量(%) (HPLC 法,n=2)
0.801	0.584
0.847	0.615
0.904	0.354
0.872	0.255
0.887	0.412

8 讨论

用高效液相色谱法测定甘露药浴颗粒(外用)中麻黄碱含量方法简便、准确、分离度好、结果稳定,可作为该药品的质量控制指标。

参考文献

[1] 王慕邹 常用中草药高效液相色谱分析.1997:338-341.
 [2] 2000 版《中国药典》一部.
 [3] 中医药管理局.中国药学杂志,2000(9):623-624;2000(11):91-92.

收稿日期:2002-12-16