

HPLC 测定消炎止咳片中吗啡的含量

王二兵¹, 赵正保^{2*}, 曲婷丽²

(1. 太原科技大学化学与生物工程学院, 太原 030021; 2. 山西医科大学药学院, 太原 030001)

[摘要] 目的: 建立消炎止咳片中吗啡的 HPLC 测定方法。方法: 采用高效液相色谱法, Sinochrom-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相乙腈-0.1 mol·L⁻¹ 磷酸二氢钾溶液-甲酸(7.5:92.5:0.1), 流速 0.7 mL·min⁻¹, 检测波长 284 nm。结果: 吗啡在 42.40~424.0 mg·L⁻¹ 线性关系良好($r=0.9999$), 平均加样回收率为 100.25%, RSD 1.67%。结论: 采用 HPLC 测定吗啡, 方法简单、灵敏、准确, 可用于消炎止咳片中吗啡的含量测定。

[关键词] 消炎止咳片; 吗啡; 罂粟壳; 高效液相色谱

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2013)15-0127-03

[doi] 10.11653/syjf2013150127

Determination of Morphine in Xiaoyanzhike Tablets by HPLC

WANG Er-bing¹, ZHAO Zheng-bao^{2*}, QU Ting-li²

(1. Department of Chemistry and Bioengineering, Taiyuan University of Science and Technology, Taiyuan 030021, China;

2. School of Pharmaceutical Science, Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China)

[Abstract] **Objective:** To establish a method of high performance liquid chromatography (HPLC) for the determination of morphine in Xiaoyanzhike Tablets. **Method:** The method of high performance liquid chromatography was carried out on a column of Sinochrom-C₁₈ using the mobile phase of acetonitrile-0.1 mol·L⁻¹ potassium dihydrogen phosphate solution-methanoic acid (7.5:92.5:0.1) with a flow rate of 0.7 mL·min⁻¹. The detection wavelength was set at 284 nm. **Result:** The calibration curve of morphine was linear over the range of 42.40-424.0 mg·L⁻¹ ($r=0.9999$). The average recovery was 100.25% (RSD 1.67%). **Conclusion:** The method is simple and feasible, which can be used to determine the content of morphine in Xiaoyanzhike Tablets.

[Key words] Xiaoyanzhike Tablets; morphine; *Pericarpium papaveris*; high performance liquid chromatography

消炎止咳片由胡颓子叶、桔梗、太子参、罂粟壳等 9 味中药组成, 具有消炎、镇咳、化痰、定喘的功效。临床主用于咳嗽痰多, 胸满气逆, 气管炎等症。处方中罂粟壳为罂粟科植物罂粟的干燥成熟果

壳^[1], 为《中国药典》收载品种, 具有较好的镇咳作用, 是处方中发挥药效的有效成分, 但有成瘾性。现行《中国药典》和新药研究通则对成药中成瘾药物几乎没有监控措施可循。本试验从安全用药角度考虑, 对处方中的成瘾药物罂粟壳中的主要成分吗啡进行了含量测定方法的研究^[2-3]。

1 材料

岛津 LC-10AD 型高效液相色谱仪, SPD-10A 紫外检测器(浙江大学色谱工作站), 1901 型紫外-可见分光光度计(北京普析通用有限公司)。乙腈(天津四友生物学制品有限公司出品, 色谱纯), 硫酸铵(天津市化学试剂三厂, 分析纯), 甲酸(天津市光复

[收稿日期] 20120827(004)

[第一作者] 王二兵, 硕士, 讲师, 从事有关药物研究和教学工作, Tel: 13485385219, E-mail: erbing_wang@126.com

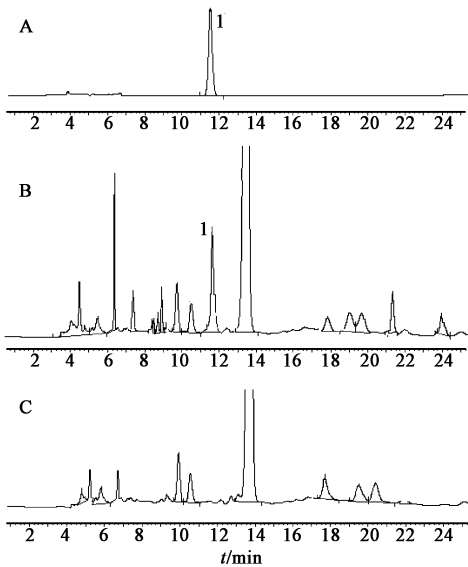
[通讯作者] * 赵正保, 博士, 教授, 从事有关药物研究和教学工作, Tel: 0351-4690242, E-mail: zhengbao_z@163.com

精细化工研究所,分析纯)。吗啡对照品(购于中国药品生物制品检定所,批号 171201-200521),消炎止咳片(山西三九同达药业有限公司,批号 20110502,20110801,20111001)。

2 方法与结果

2.1 检测波长的选择 对吗啡的 5% 醋酸溶液在 200 ~ 600 nm 进行紫外扫描,发现吗啡在 284 nm 波长处有强吸收,故选择 284 nm 波长作为吗啡的检测波长。

2.2 色谱条件 Sinochrom ODS-BP 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm)(大连依利特公司),流动相乙腈-0.1 mol · L⁻¹ 磷酸二氢钾溶液-甲酸(7.5:92.5:0.1),流速 0.7 mL · min⁻¹,检测波长 284 nm,柱温 40 °C,理论塔板数按吗啡峰计算不低于 2 000。在此条件下,基线得以分离,未见明显干扰,吗啡与其他组分分离,结果见图 1,可以看出消炎止咳片供试品在约 11 min 出现与对照品相同的吸收峰;不含罂粟壳的消炎止咳片阴性供试品,在保留时间约为 11 min 处无吸收峰出现,说明阴性无干扰。



A. 对照品; B. 样品; C. 阴性; 1. 吗啡

图 1 消炎止咳片 HPLC

2.3 对照品溶液的制备 精密称取在 105 °C 干燥 1 h 的吗啡对照品适量,置棕色量瓶中,加 5% 醋酸溶液制成每 1 mL 含 84.8 μg 的溶液,即得。

2.4 供试品溶液的制备 取本品 110 片,除去糖衣,研细,取约 36 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入甲醇 100 mL,称定质量,超声处理(功率 350 W,频率 50 kHz) 30 min,放冷,再称定质量,用甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过。精密量取续滤液 50 mL,回收溶剂至干,残渣用水-氨水(1:1) 50 mL

溶解,用甲苯振摇提取 2 次,每次 25 mL,合并甲苯液,用水 15 mL 洗涤 1 次,弃去甲苯液,合并水液,用氯仿-无水乙醇(1:1) 60 mL 振摇提取 1 次,氯仿-无水乙醇(2:1) 45 mL 振摇提取 2 次,合并氯仿液,用水-无水乙醇(2:1) 15 mL 洗涤 1 次,弃去水-无水乙醇(2:1) 液,氯仿液低温回收溶剂至干,残渣加 5% 醋酸溶液适量使溶解,转移至 5 mL 量瓶中,容器用少量 5% 醋酸溶液洗涤,洗液并入同一量瓶中,再加 5% 醋酸溶液并稀释至刻度,摇匀,即得。

2.5 线性范围考察 精密称取在 105 °C 干燥 1 h 的吗啡对照品 21 mg,精密称定,置 25 mL 棕色量瓶中,加 5% 醋酸溶液稀释至刻度(848 mg · L⁻¹),作为储备液。精密吸取该储备溶液 0.5, 1.0, 1.5, 3.0, 5.0 mL,分别置于 10 mL 棕色量瓶中,用 5% 醋酸溶液稀释至刻度,摇匀。在上述色谱条件下分别进样 20 μL。以峰面积(Y)为纵坐标,质量浓度(X, mg · L⁻¹)为横坐标,绘制标准曲线。回归方程 $Y = 4\,691.72X - 6\,848.72$ ($r = 0.999\,9$),吗啡在 42.40 ~ 424.0 mg · L⁻¹ 具有良好的线性关系。

2.6 精密度考察 精密吸取吗啡对照品溶液($C = 127.2$ mg · L⁻¹) 20 μL,在上述色谱条件下重复进样 6 次,测定峰面积,计算精密度,结果 RSD 1.72%,表明该方法的精密度良好。

2.7 重复性考察 精密称取同一批号(20111001)的样品,平行制备 6 份供试品溶液,分别进样 20 μL,测得峰面积值,计算 RSD,结果吗啡的平均含量为 90.50 mg · L⁻¹, RSD 1.87%,样品的 RSD < 3%,说明此方法重复性良好。

2.8 稳定性考察 精密称取批号(20111001)的样品,按含量测定项下方法制备成供试品溶液,分别于 0, 6, 12, 24 h 进样 20 μL,测得峰面积值,结果 RSD 2.88%。表明在试验条件下,供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.9 回收率试验 取 6 份已知含量的本品适量,精密称定,将一定量吗啡对照品,分别加入 6 份供试品中,按供试品溶液制备项下操作,用上述试验条件进行 HPLC 分析,计算回收量,并以下列公式计算回收率,结果见表 1。回收率在 95% ~ 105%, RSD < 5%,表明方法准确度良好。

2.10 样品含量的测定 取 3 个批号(批号 20110502, 20110801, 20111001)的消炎止咳片,每批样品平行处理 3 份供试品溶液,依法测定。

结果表明,3 批样品中吗啡的含量分别为 8.59, 8.76, 8.93 μg/片,平均含量为 8.75 μg/片。

表1 消炎止咳片中吗啡加样回收率测定

取样量 /g	含量 /μg	测得量 /μg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
23.714	591.98	1 108.71	101.56		
23.302	581.66	1 089.57	99.83		
23.976	598.50	1 116.68	101.84		
23.286	581.28	1 078.90	97.80	100.25	1.67
23.994	598.96	1 115.76	101.57		
23.554	587.94	1 091.19	98.91		

注:加入量均为508.80 μg。

3 讨论

在流动相选择中,本实验首先考察了药典中所采用的乙腈-0.01 mol·L⁻¹磷酸氢二钾-0.005 mol·L⁻¹庚烷磺酸钠(20:40:40)^[1],但由于盐浓度过高,柱子容易出现堵塞,后来对流动相体系进行了考察,分别采用过甲醇-乙酸铵-三乙胺^[4]、乙腈-水-甲酸^[5]系统作为流动相试验,但结果显示,供试品色谱中,吗啡峰与杂质峰分离较差。经过参考多种文献^[4-7]和试验后,最终确定流动相为乙腈-磷酸二氢钾-甲酸(7.5:92.5:0.1),此时吗啡峰与杂质峰分离较好,因此本试验最终选用乙腈-0.1 mol·L⁻¹磷酸二氢钾溶液-甲酸(7.5:92.5:0.1)为流动相。

在供试品溶液的处理中,分别用甲醇、70%甲醇、无水乙醇、5%醋酸、含5%醋酸的20%甲醇进行超声提取,发现无水乙醇、5%醋酸、含5%醋酸的20%甲醇提取液由于含有大量糖成分,致使提取液黏度较大,不便于进行进一步处理和分析,因此实验确定以甲醇作为提取溶剂,但由于处方中多为原料药入药,干扰吗啡色谱峰的杂质峰较多,故实验又对甲醇提取液进行了处理,参考了《中国药典》2010年

版一部及有关文献^[1,5,8-10],最终选定正文所采用的供试品溶液的处理方法,用甲苯洗涤除去其中的脂溶性成分,用氯仿萃取吗啡。

由于吗啡具有成瘾性,是药品中的限量物质,本法采用高效液相色谱法对其含量进行测定,其结果准确可靠,方法简单、灵敏、准确,可用于消炎止咳片的质量控制。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010:346.
- [2] 孙素杰. 紫外分光光度法测定盐酸吗啡注射液含量[J]. 药物分析杂志,1999,19(3):202.
- [3] 蒋卫华. 罂粟蒴果中可待因、吗啡罂粟碱的GC/MS检验[J]. 质谱学报,2003,(1):134.
- [4] 刘克江,李美芳,张桂香. HPLC法测定复方甘草片中吗啡的含量[J]. 中国药品标准,2006,7(5):43.
- [5] 赵永新,徐乃煊. HPLC法测定复方甘草合剂中吗啡的含量[J]. 西北药学杂志,2000,15(1):6.
- [6] 刘克江. HPLC法测定复方甘草口服溶液中吗啡的含量[J]. 天津药学,2007,19(1):20.
- [7] 王刚,常寿元. HPLC测定力神止咳糖浆中吗啡的含量[J]. 中成药,2001,23(41):289.
- [8] 古星妙,刘东辉,高英,等. HPLC法测定复方止咳宝片中吗啡的含量[J]. 中国实验方剂学杂志,2004,10(5):5.
- [9] 王金钱,周建波,王焱,等. HPLC同步测定克咳胶囊中麻黄碱、吗啡[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(12):62.
- [10] 吴凡. HPLC法测定固肠止泻胶囊中盐酸吗啡的含量[J]. 西北药学杂志,2009,24(6):462.

[责任编辑 顾雪竹]