

SPE-HPLC 测定两种止咳合剂中吗啡含量

高从^{1,2}, 黄力^{2*}, 杨宁², 赖文红², 苏芳²

(1. 河北北方学院, 河北 张家口 075000; 2. 北京军区联勤部药品仪器检验所, 北京 100071)

[摘要] 目的: 建立小儿止咳合剂和止咳合剂中吗啡的含量测定方法。方法: 采用固相萃取预处理结合 HPLC 测定, 色谱条件为 Agilent ZORBAX Eclipse XDB-C₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相 0.05 mol·L⁻¹ 磷酸二氢钾溶液-0.002 5 mol·L⁻¹ 庚烷磺酸钠溶液-乙腈(18:18:5), 检测波长 220 nm。结果: 吗啡在 1.717 ~ 12.02 mg·L⁻¹ ($r = 0.999\ 8$) 与峰面积呈良好线性关系; 小儿止咳合剂的平均回收率 99.4% (RSD 2.01%), 止咳合剂平均回收率 100.9% (RSD 0.36%)。结论: 该法简便、准确、重复性好, 可作为该制剂的质量控制方法。

[关键词] 吗啡; SPE-HPLC; 小儿止咳合剂; 止咳合剂

[中图分类号] R283.6, R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)10-0070-03

[doi] 10.11653/syfy2013100070

Content Determination of Morphine in Two Kinds of Cough Mixtures by SPE-HPLC

GAO Cong^{1,2}, HUANG Li^{2*}, YANG Ning², LAI Wen-hong², SU Fang²

(1. Hebei North University, Zhangjiakou 075000, China; 2. Drug and Instrument Control Institute of Joint Logistics Department, Beijing Military Area Command, Beijing 100071, China)

[Abstract] **Objective:** To establish a method for determining the content of morphine in childhood cough mixture and cough mixture. **Method:** Samples were purified by solid phase extraction column and were determined by HPLC. Chromatography conditions were as followings: Agilent ZORBAX Eclipse XDB-C₈ column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), the mobile phase of 0.05 mol·L⁻¹ KH₂PO₄-0.002 5 mol·L⁻¹ sodium heptane-acetonitrile (18:18:5), the detection wavelength 220 nm. **Result:** Morphine had a good linear relationship in the rang of 1.717-12.02 mg·L⁻¹ ($r = 0.999\ 8$). The average recovery of childhood cough mixtrue was 99.4% (RSD 2.01%), the average recovery of cough mixtrue was 100.9% (RSD 0.36%). **Conclusion:** This established method was simple and accurate with good reproducibility, it could be used to effectively control the content of morphine in childhood cough mixture and cough mixture.

[Key words] morphine; SPE-HPLC; childhood cough mixture; cough mixture

小儿止咳合剂和止咳合剂系《军队制剂规范》^[1]2002 年版收录的两个复方制剂, 用于镇咳、祛痰, 由复方樟脑酊、远志酊、氯化铵、复方羟苯乙酯溶液和单糖浆等组成(小儿止咳合剂另含有远志酊和

聚山梨酯 80)。其中复方樟脑酊含有毒成分吗啡, 易致成瘾, 但原质量标准未对其含量进行控制。本实验将固相萃取(SPE)技术应用于样品预处理, 采用 HPLC 测定吗啡含量, 为该制剂的质量控制提供参考。

1 材料

LC-20AT 型高效液相色谱仪(日本岛津公司), SPE 装置(12 管, 上海安普科技有限公司), SPE 柱(CNWBOND LC-C₈, 填料 200 mg, 上海安普科技有限公司), R200D 型沙多利斯电子分析天平(德国沙

[收稿日期] 20121126(009)

[第一作者] 高从, 在读硕士, 从事药物质量控制研究, Tel: 18301324292, E-mail: jinzhougaocong@163.com

[通讯作者] *黄力, 硕士, 副主任药师, 从事药物质量控制研究, Tel: 010-66715610, E-mail: hlwdg@sina.com

多利斯公司)。吗啡对照品(中国药品生物制品检定所,批号 171256-200925),小儿止咳合剂(3批)及止咳合剂(4批)购自 7 个不同医疗机构,乙腈为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 Agilent EcLipse XDB-C₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相 0.05 mol·L⁻¹磷酸二氢钾溶液-0.002 5 mol·L⁻¹庚烷磺酸钠-乙腈(18:18:5),检测波长 220 nm,柱温 30 °C,流速 1.0 mL·min⁻¹,进样量 10 μL。

2.2 SPE 柱的准备 取以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂的 SPE 柱,依次用甲醇-水(3:1)混合液 15 mL 与水 5 mL 冲洗,再用 pH 约 9 的氨水溶液冲洗至流出液的 pH 约 9,备用。

2.3 溶液的制备

2.3.1 对照品溶液 取于 105 °C 干燥 1 h 的吗啡对照品适量,精密称定,用 5% 乙酸溶液溶解制成质量浓度 0.171 7 g·L⁻¹ 的对照品贮备液。精密量取该贮备液 5 mL 至 100 mL 量瓶中,用 5% 乙酸溶液溶解并稀释至刻度,即得。

2.3.2 供试品溶液 分别取小儿止咳合剂和止咳合剂适量,超声处理 10 min(250 W, 40 kHz) 摇匀,分别精密量取 3, 1 mL,置于上述准备好的 SPE 柱上,加氨试液调 pH 9,摇匀,待溶剂滴尽,用水 20 mL 冲洗,水滴尽后用 5% 乙酸溶液洗脱,洗脱液收集于 5 mL 量瓶至刻度,摇匀,即得。

2.3.3 空白溶液 制备小儿止咳合剂和止咳合剂空白样品(不加复方樟脑酊),按 2.3.2 项下方法配制,即得。

2.4 专属性试验 精密吸取对照品溶液、供试品溶液、空白溶液适量,按 2.1 项下色谱条件进行测定,见图 1。结果表明在空白溶液色谱中,在吗啡色谱峰相同保留时间处,无色谱峰出现,即空白无干扰。

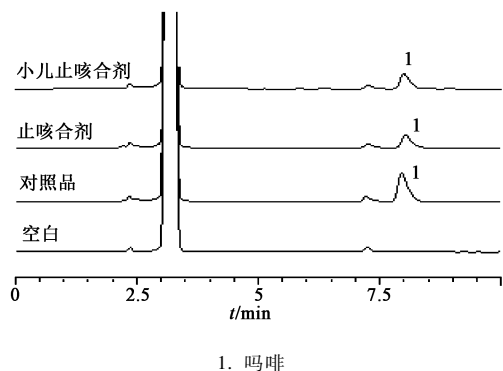


图 1 小儿止咳合剂和止咳合剂 HPLC

2.5 线性关系的考察 取对照品贮备液适量,稀释

制成 17.17 mg·L⁻¹ 对照品溶液,分别精密量取该溶液 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 mL 置 10 mL 量瓶中,用 5% 乙酸溶液稀释至刻度,摇匀,制成系列质量浓度的对照品溶液,按 2.1 项下方法测定,以进样量为横坐标,峰面积为纵坐标,得线性回归 $Y = 3.40 \times 10^6 X - 2\ 318$ ($r = 0.999\ 8$),线性范围 0.017 17 ~ 0.120 2 μg。

2.6 精密度试验 取小儿止咳合剂和止咳合剂各 1 批,按 2.3.2 项下方法各平行制备 6 份供试品溶液,按 2.1 项下色谱条件进样,结果小儿止咳合剂和止咳合剂吗啡含量的 RSD 分别为 1.09%, 1.55%。

2.7 稳定性试验 取小儿止咳合剂和止咳合剂的供试品溶液各 1 批,分别在 0, 2, 4, 6, 8 h 按 2.1 项下条件进行测定,结果小儿止咳合剂和止咳合剂吗啡峰面积的 RSD 分别为 0.31%, 0.76%。

2.8 加样回收率试验 精密量取已知吗啡含量的小儿止咳合剂和止咳合剂供试品各 1 批,置量瓶中,分别精密加入一定量吗啡对照品溶液,加水至刻度,摇匀,制成含吗啡量约相当于标示量 80%, 100%, 120% 的样品,按 2.3.2 项下方法制备供试品溶液,进行含量测定,计算回收率,结果见表 1。

表 1 小儿止咳合剂和止咳合剂中吗啡含量测定的加样回收率试验

样品	样品量 /μg	加入量 /μg	实测量 /μg	回收率 /%	平均 回收率 /%	RSD /%
小儿止咳合剂	11.83	25.80	25.10	97.3	99.4	2.01
	11.83	25.80	25.20	97.7		
	11.83	25.80	26.47	102.6		
	11.83	32.25	31.60	98.0		
	11.83	32.25	32.25	100.0		
	11.83	32.25	32.80	101.7		
	11.83	38.70	37.75	97.5		
	11.83	38.70	38.33	99.0		
	11.83	38.70	39.15	101.2		
止咳合剂	17.40	13.76	13.85	100.7	100.9	0.36
	17.40	13.76	13.89	100.9		
	17.40	13.76	13.98	101.6		
	17.40	27.52	27.71	100.7		
	17.40	27.52	27.76	100.9		
	17.40	27.52	27.90	101.4		
	17.40	34.40	34.55	100.4		
	17.40	34.40	34.64	100.7		
	17.40	34.40	34.71	100.9		

2.9 耐用性试验

2.9.1 不同柱温下的含量测定 按所选色谱条件,将小儿止咳合剂和止咳合剂各 1 批的供试品溶液分别于柱温 20,30,40 °C 下进行含量测定,结果小儿止咳合剂和止咳合剂中吗啡含量的 RSD 分别为 0.51%,1.2%。

2.9.2 不同色谱柱下的含量测定 按所选色谱条件,采用不同色谱柱对同一样品进行含量测定,色谱柱分别为 Agilent Eclipse XDB C₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) 和 SHIMAZDU Inertsil C₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 小儿止咳合剂和止咳合剂中吗啡含量的相对平均偏差范围分别为 0.24% ~ 1.28%, 0.20% ~ 1.43%。

2.10 样品测定 按所选的色谱条件对小儿止咳合剂及止咳合剂中吗啡含量进行测定,结果 3 批小儿止咳合剂中吗啡质量浓度分别为 15.04, 14.9, 12.28 mg·L⁻¹, 4 批止咳合剂中吗啡质量浓度分别为 19.03, 37.11, 38.66, 41.13 mg·L⁻¹。

3 讨论

SPE 技术是建立在液-固色谱理论基础上的的一种分离、纯化方法,在药物分析中应用广泛^[2-8],利用 SPE 柱对于含微量吗啡的复杂样品进行前处理,与液液萃取相比回收率显著性提高,同时可避免大量有机溶剂的使用,减少了影响 HPLC 测定的杂质干扰。100 mg 填料的 SPE 柱回收率偏低,200 mg 填料的 SPE 柱回收率符合规定,与文献[9]一致。小儿止咳合剂回收率高于止咳合剂,可能是小儿止咳合剂的 SPE 柱上样量较止咳合剂大造成的,尽管可通过浓缩减小体积后转移至 SPE 柱,但由于样品量小,浓缩 SPE 柱上样体积,易增加误差,最终采用直接取样上 SPE 柱的方法。

参考《中国药典》2010 年版二部中复方甘草口服溶液中吗啡的含量测定方法^[10],确定色谱条件,小儿止咳合剂和止咳合剂 SPE 柱上样体积分别为 3,1 mL,依次相当于吗啡上样量 0.045,0.04 mg。《中国药典》2010 年版二部中复方樟脑酊^[10]的吗啡含量限度规定为标示量的 85.0% ~ 115.0%,根据

制剂处方组成,小儿止咳合剂含无水吗啡(C₁₇H₁₉NO₃)应为 12.75 ~ 17.25 mg·L⁻¹,止咳合剂含无水吗啡则应为 34.00 ~ 46.00 mg·L⁻¹,结果显示 2 个品种各有 1 批吗啡含量不合格(低于下限)。修订后的小儿止咳合剂和止咳合剂质量标准,控制了啡含量这项关键指标,对 2 种制剂中啡的质量控制标准达到了现行标准水平,具有简便、准确及重复性好等特点。

[参考文献]

- [1] 中国人民解放军总后勤部. 中国人民解放军医疗机构制剂规范. 2002 年版[S]. 北京:人民军医出版社, 2003:18,24.
- [2] 刘红,曾建勇,温贤有,等. 固相萃取技术及其影响因素[J]. 现代农业科技, 2011,40(11):351.
- [3] 陈蕾. 固相萃取技术在中药分析中的应用[J]. 中国药事, 2012,26(2):159.
- [4] 姚钰成,徐黎颖,张帅国. 固相萃取技术在中成药及保健食品非法添加检测中的应用进展[J]. 首都医药, 2010,17(2):26.
- [5] 郭炎荣,符翠莉. 固相萃取-HPLC 同时测定润燥止咳胶囊中苦参碱和二苯乙烯苷的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010,16(12):75.
- [6] 李玲,张大伟,王琳琳,等. 全自动在线固相萃取-高效液相色谱法快速测定中药复方中小檗碱的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012,18(18):88.
- [7] 江宝红,黄一平,鞠建明,等. SPE-HPLC-ELSD 法测定复方藏药制剂肝纤消颗粒中黄芪甲苷的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012,18(3):69.
- [8] 魏敏吉,赵彩芸,毛龙庆,等. 固相萃取-液相串联质谱测定人血浆中安妥沙星的药物浓度[J]. 分析化学, 2012,30(9):896.
- [9] 李永庆,陈蕾,赵文,等. 中国药典中阿片系列品种吗啡含量测定方法的研究与建立(三、四)[J]. 中国药品标准, 2004,5(1):18.
- [10] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 二部[S]. 北京:中国医药科技出版社, 2010:574,592.

[责任编辑 仝燕]