

HPLC 测定小儿感冒丹中盐酸麻黄碱 和盐酸伪麻黄碱的含量

王苏会, 闫荟*, 孙晓迪, 张京, 王瑞, 孙世光*
(北京军区总医院药剂科, 北京 100700)

[摘要] 目的: 建立小儿感冒丹中盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱的含量测定方法。方法: 用 HPLC 对小儿感冒丹中盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱进行定量分析。结果: 盐酸麻黄碱的线性范围为 0.120 ~ 0.600 μg ($r = 0.9999$), 平均加样回收率为 100.80%, RSD 1.8%; 盐酸伪麻黄碱的线性范围为 0.148 ~ 0.740 μg ($r = 0.9998$), 平均加样回收率为 99.12%, RSD 1.4%。结论: 所建立的方法简便、准确、专属性强、可用于控制该制剂的质量。

[关键词] 麻黄; 含量分析; HPLC

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)06-0145-03

Simultaneous Determination of Ephedrina Hydrochloridum and Pseudoephedrine Hydrochloride in Xiaorganmaodan Patch by HPLC

WANG Su-hui, YAN Hui*, SUN Xiao-di, ZHANG Jing, WANG Rui, SUN Shi-guang*

(Department of Pharmacy, General hospital of Beijing Military Command, Beijing 100700, China)

[Abstract] **Objective:** This study is aimed to develop and validate a HPLC method for quantitative analysis of ephedrina hydrochloridum and pseudoephedrine hydrochloride in Xiaorganmaodan Patch. **Method:** Phedrina hydrochloridum and pseudoephedrine hydrochloride were analyzed quantitatively by HPLC method. **Result:** A good linearity was obtained over the concentration range of 0.12-0.60 μg for ephedrina hydrochloridum ($r = 0.9999$), and 0.148-0.740 μg for pseudoephedrine hydrochloride ($r = 0.9998$). The average recovery of ephedrina hydrochloridum was 100.8% (RSD 1.8%), and the average recovery of pseudoephedrine hydrochloride was 99.12% (RSD 1.4%), respectively. **Conclusion:** The results of the study showed that the HPLC method was simple, sensitive and selective. It is suitable for the quality control of this preparation.

[Key words] Ephedrae Herba; quantitative analysis; high performance liquid chromatography

小儿感冒丹是由麻黄、蒲公英、薄荷等多味中药组成的复方外用贴剂, 具有发汗解表之功效, 用于风寒表证, 尤治小儿风寒外束, 具有内病外治之特效。

本制剂由我院自主研发, 经多年临床应用, 疗效显著。为准确有效控制该制剂质量, 我们对盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱采用 HPLC 进行含量测定, 该方法简便、准确、可行。

1 材料

1.1 仪器 LC-20AT 高效液相色谱仪, SPD-20A 紫外检测器, SIL-20A 自动进样器, LC-solution 色谱工作站(日本岛津)。

1.2 试剂 甲醇为色谱纯; 三乙胺、磷酸、二正丁胺、氨水、乙醚、盐酸、甲苯、乙酸乙酯、甲酸等均为分析纯。

1.3 药品 对照品咖啡酸(供含量测定用, 批号 110885-200102)、盐酸麻黄碱(供含量测定用, 纯度

[收稿日期] 20120806(489)

[第一作者] 王苏会, 药师, 从事中药临床制剂的开发及分析, Tel: 010-66721840, E-mail: sulin9805@163.com

[通讯作者] * 孙世光, 硕士, 主任医师, 从事药物药效及临床使用评价, Tel: 010-66721268, E-mail: ssgbzc@163.com; 闫荟, 副主任药师, 从事药物提取、制剂研究及评价工作, Tel: 010-66721840-1031, E-mail: yanyi588585@163.com

99.7%,批号 171241-201007)和盐酸伪麻黄碱(供含量测定用,纯度 99.9%,171237-200807)均购自中国药品生物制品检定所。小儿感冒丹(批号 11061,11062,11063)由北京军区总医院药剂科制剂中心提供。

2 含量测定

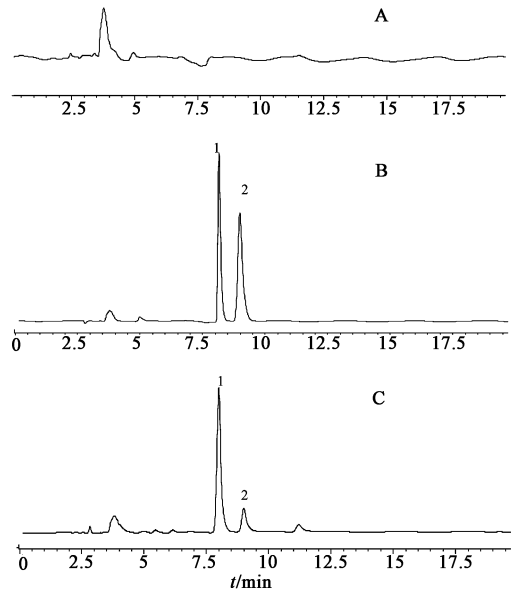
2.1 色谱条件^[3] 极性乙醚连接苯基键合硅胶色谱柱 Synergi Polar-RP(麻黄碱分析专用柱)(4.6 mm × 250 mm,4 μm)(菲罗门公司),流动相甲醇-0.09%磷酸水溶液(含 0.04%三乙胺和 0.02%二正丁胺)(1.5:98.5),检测波长 210 nm,流速 1.0 mL·min⁻¹,进样量 10 μL,理论板数按盐酸麻黄碱峰计算不低于 3 000。

2.2 对照品溶液的制备 取盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱对照品适量,精密称定,加甲醇制成每 1 mL 中分别含盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱各 40 μg 的混合对照品溶液,备用。

2.3 供试品溶液的制备 取小儿感冒丹贴剂内容物 6.0 g,精密称定,置 100 mL 具塞锥形瓶中,精密加入二氯甲烷-浓氨溶液(20:1)50 mL,称定质量,超声(220 W,50 Hz)提取 40 min,取出,放凉,再称定质量,用二氯甲烷-浓氨溶液(20:1)补足减失的质量,摇匀,快速滤过,取续滤液 10 mL,加盐酸-甲醇溶液(1:20)5 mL 酸化,水浴蒸干。残渣用 10 mL 甲醇定容,摇匀,即得。

2.4 专属性试验 按小儿感冒丹的处方组成与制备工艺制备缺麻黄的阴性样品,照供试品溶液的制备方法制成阴性供试品溶液,按确定的色谱条件进样分析。结果表明阴性供试品溶液在盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱相应的保留时间处无干扰峰,证明本方法具有良好的专属性。见图 1。

2.5 线性关系考察 精密称取对照品盐酸麻黄碱 3.00 mg 和盐酸伪麻黄碱 3.70 mg,加甲醇溶解、定容至 50 mL 量瓶中备用。精密量取上述混合盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱对照品溶液 2,4,6,8 mL,分别置于 10 mL 量瓶中,用甲醇定容至刻度,配制系列浓度梯度对照品溶液。梯度溶液及原浓度对照溶液分别进样 10 μL,测定待测成分峰面积,以峰面积积分值(A)对进样量(C)进行线性回归,得回归方程。盐酸麻黄碱 $A = 2.27 \times 10^6 C + 12\ 616$ ($r = 0.999\ 9$); 盐酸伪麻黄碱 $A = 2.50 \times 10^6 C + 77\ 169$ ($r = 0.999\ 9$)。结果表明,盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱分别在 0.120 ~ 0.600 μg 和 0.148 ~ 0.740 μg 线性关系良好。



A. 阴性供试品;B. 对照品;C. 供试品
1. 盐酸麻黄碱;2. 盐酸伪麻黄碱

图 1 小儿感冒丹 HPLC

2.6 精密度试验 精密称取对照品盐酸麻黄碱 2.76 mg 和盐酸伪麻黄碱 3.54 mg,加甲醇溶解、定容至 50 mL 量瓶中备用。精密吸取上述盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱对照品溶液 10 μL,连续进样 6 次,测得盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱峰面积的 RSD% 分别为 1.2%,0.53%,表明仪器的精密度良好。

2.7 重复性试验 取小儿感冒丹(批号 11061)约 6.0 g,精密称定,平行 6 份,按 2.3 项下方法制备供试品溶液,分别进样测定,计算各成分含量。结果测得小儿感冒丹中盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱的平均含量分别为 0.47,0.14 mg·g⁻¹,RSD 分别为 1.39%,1.32%,表明该方法的重复性良好。

2.8 稳定性试验 取同一份小儿感冒丹(批号 11061)供试品溶液,按确定的色谱条件,分别于样品制备后 0,2,4,6,8 h 进样测定,结果供试品溶液中盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱峰面积的 RSD 分别为 1.8%,0.67% 表明供试品溶液在制备后 8 h 内稳定性良好。

2.9 加样回收试验 取已知含量的小儿感冒丹样品 3.0 g,精密称定,平行 6 份,分别精密加入对照品溶液 1 mL(盐酸麻黄碱 1.49 g·L⁻¹,盐酸伪麻黄碱 0.402 g·L⁻¹),挥干溶剂,按上述供试品溶液制备方法和色谱条件制备供试品溶液并测定,计算加样回收率。结果盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱的平均回收率分别为 100.8%,99.12%,RSD 分别为 1.8%,

1.4%,表明该方法的准确度良好。见表1,2。

表1 盐酸麻黄碱加样回收试验

取样量 /g	样品 含量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均 回收率 /%	RSD /%
2.900 01	1 358.1	2 831.61	98.89		
3.054 34	1 430.3	2 902.87	98.83		
2.900 53	1 358.3	2 901.30	103.56	100.8	1.8
2.950 20	1 381.6	2 878.69	100.48		
3.105 05	1 454.0	2 961.76	101.19		
2.900 87	1 358.4	2 872.23	101.60		

注:加入量均为1.490 mg。

表2 盐酸伪麻黄碱加样回收试验

取样量 /g	样品 含量 /μg	测得量 /μg	回收率 /%	平均 回收率 /%	RSD /%
2.900 01	377.0	771.38	98.10		
3.054 34	397.1	802.84	100.94		
2.900 53	377.1	776.76	99.43	99.12	1.4
2.950 20	383.5	776.06	97.65		
3.105 05	403.6	798.27	98.16		
2.900 87	377.1	780.81	100.42		

注:加入量均为402 μg。

2.10 样品测定 取3批小儿感冒丹,按2.3项下方法制备供试品溶液,按确定的色谱条件分别进样,测定盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱的含量,见表3。

表3 小儿感冒丹含量测定

批号	盐酸麻黄碱 /mg·g ⁻¹	盐酸伪麻黄碱 /mg·g ⁻¹
11061	0.46	0.14
11062	0.45	0.14
11063	0.48	0.13

4 讨论

分别以1.44%磷酸水溶液、2%盐酸水溶液、2%盐酸甲醇溶液和甲醇为提取溶媒,结果杂质峰较多,盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱不能与其他杂质峰有效分离。另以乙醚、二氯甲烷、三氯甲烷为提取溶媒进行提取,测得的杂峰少,分离度好。综合比较,最后确定以提取效率较高的二氯甲烷作为提取溶剂。同时采用超声提取法考察了不同的提取时间20,40,60 min对盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱的影

响,结果发现超声40 min提取较充分。

曾选用Diamonsil C₁₈^[7]色谱柱进行分析,结果麻黄碱和伪麻黄碱不能完全分离。最后选择麻黄碱专用柱极性乙醚连接苯基键合硅胶柱Synergi Polar-RP进行分离,该色谱柱分离度高,峰形较好,适用于盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱的分离。

分别采用乙腈-0.1%水磷酸溶液(5:95)^[8]、乙腈-0.1%磷酸水溶液^[9](1.5:98.5)、乙腈-0.02mol·L⁻¹磷酸二氢钾溶液(3:97)^[10-11]3个流动相系统对盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱分离情况进行了比较,结果发现系统都不能有效分离待测色谱峰。最终确定了分离度较好的甲醇-0.09%磷酸水溶液(含0.04%三乙胺和0.02%二正丁胺)(1.5:98.5)系统,达到满意分离效果。

[参考文献]

- [1] 王绍忠. 清热利咽合剂中麻黄、甘草、紫菀、麦冬的薄层色谱鉴别[J]. 辽宁中医杂志, 2006, 33(2): 225.
- [2] 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: 300.
- [3] 宋庆珍. 止咳化痰片中麻黄甘草陈皮的薄层色谱鉴别[J]. 中医药学刊, 2005, 23(5): 930.
- [4] 姚忠立. 蒲公英和胃口服液液中三味药材的薄层鉴别法[J]. 北方药学, 2011, 8(3): 11.
- [5] 王峰. 蒲公英注射液质量控制标准的研究[J]. 现代中西医结合杂志, 2011, 20(10): 1247.
- [6] 梁少强, 谢仕伟, 李国荣, 等. 舒肝益脾合剂的薄层色谱鉴别[J]. 中国医药指南, 2010, 8(1): 48.
- [7] 章曙丹, 夏正燕, 冯瑛. HPLC测定喘立停喷雾剂中盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱的含量[J]. 中成药, 2008, 30(9): 1308.
- [8] 冯敬文, 沈雪梅, 王四元, 等. 小儿清热利肺口服液中盐酸麻黄碱的含量测定方法研究[J]. 辽宁中医药大学学报, 2011, 13(5): 54.
- [9] 张立峰, 赵国强, 刘灿仿. HPLC法测定小儿咳喘灵颗粒中盐酸麻黄碱的含量[J]. 中国药师, 2008, 11(2): 209.
- [10] 魏尊喜. HPLC测定定喘止咳糖浆中盐酸麻黄碱的含量[J]. 安徽医药, 2007, 11(10): 903.
- [11] 田红伟, 翟光喜, 程宏霞. HPLC法测定麻芩感冒胶囊中的盐酸麻黄碱含量[J]. 中医药导报, 2008, 14(10): 63.

[责任编辑 顾雪竹]