

HPLC 法测定复方止咳宝片中吗啡的含量

古星妙¹, 刘东辉², 高 英², 黄意甜²

(1 广东新会市中医院, 广东 新会 529100; 2 广州中医药大学, 广东 广州 510405)

摘要: 目的: 建立复方止咳宝片中吗啡含量测定方法。方法: 采用 Nucleodur C₁₈ Gravity 色谱柱; 流动相为甲醇-0.5% 乙酸铵溶液-三乙胺(40: 60: 0.02); 检测波长为 254nm。结果: 吗啡在 0.5104~2.5520 μ g 范围内具有良好的线性关系, $r=0.9999$, 平均回收率为 99.15%, RSD 为 1.51%。结论: 该方法简便、准确、重复性好, 可有效控制制剂质量。

关键词: 复方止咳宝片; 吗啡; HPLC

中图分类号: R284.2 文献标识码: B 文章编号: 1005-9903(2004)05-0005-02

复方止咳宝片是由罂粟壳浸膏、紫菀等组成的中西药复方制剂, 临床用于治疗慢性支气管炎与上呼吸道感染所致的久咳, 疗效确切。为了保证其疗效, 我们以罂粟壳浸膏中吗啡为指标成分, 用 HPLC 法建立其含量测定方法以控制其产品质量。

1 仪器与试药

HP-1100 高效液相色谱仪(安捷伦); DAD 检测器; 甲醇为色谱纯, 其他试剂均为分析纯; 吗啡对照品: 中国药品生物制品检定所提供, 批号 1201-0117; 复文止咳宝片为广东台山制药厂产品。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱: Nucleodur C₁₈ Gravity (250 \times 4.6mm, 5 μ m); 流动相为甲醇-0.5% 乙酸铵溶液-三乙胺(40: 60: 0.02); 流速: 0.8mL/min; 检测波长: 254nm; 柱温: 室温。在上述条件下吗啡与其他成分分离度很好, 阴性对照无干扰, 结果见图 1~3。

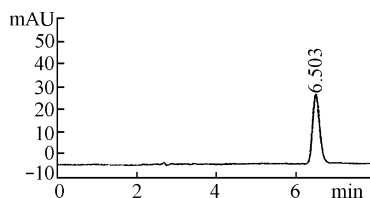


图 1 吗啡 HPLC 图谱

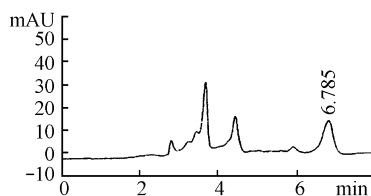


图 2 供试品 HPLC 图谱

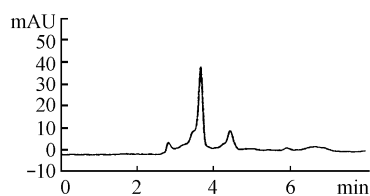


图 3 缺罂粟壳阴性对照 HPLC 图谱

2.2 对照品溶液的制备 精密称取在 105 $^{\circ}$ C 干燥 1h 的无水吗啡对照品适量, 加甲醇制成每 1mL 含 0.12mg 的溶液, 摇匀, 即得。

2.3 供试品溶液的制备 取本品 30 片, 除去包衣, 精密称定, 研细, 取适量(相当于无水吗啡 6mg), 精密称定, 加氢氧化钙 1g 与水少量, 研磨成糊状后, 继续研磨 15min, 用水转移至 100mL 量瓶中并稀释至刻度, 摇匀, 放置 30min, 用干燥滤纸滤过, 精密量取续滤液 50mL, 加硫酸铵 0.5g, 并使其溶解, 用苯振摇提取 2 次(25、15mL), 合并苯液, 用水 10mL 洗涤, 洗液并入水层后, 用氯仿-乙醇(1:1) 60mL 振摇提取 1 次, 再用氯仿-乙醇(2:1) 提取 3 次(45、45、15mL), 合并提取液, 用水 10mL 与乙醇 5mL 的混合液洗涤后, 置水浴上蒸干, 残渣加甲醇溶解, 转移至 25mL 量瓶中, 并稀释至刻度, 摇匀, 即得。

2.4 线性关系的考察 分别精密吸取吗啡对照品溶液 4、8、12、16、20 μ L, 按上述色谱条件测定, 以峰面积积分值 A 为纵坐标, 对照品量 X (μ g) 为横坐标, 绘制标准曲线, 计算回归方程。吗啡回归方程为 $A = 3.4990 + 343.7610X$, $r = 0.9999$, 在 0.5104 ~ 2.5520 μ g 范围内呈良好的线性关系。

2.5 仪器精密度试验 精密吸取吗啡对照品溶液各 10 μ L, 连续进样 5 次, 按上述色谱条件测定峰面积, 结果峰面积平均值为 465.386, RSD 为 1.55%, 表示精密度良好。

2.6 稳定性试验 精密吸取同一批供试品溶液(批号 20030203)各 10 μ L,分别在 0 40 80 120 140min 进样,按上述色谱条件测定峰面积,结果峰面积的平均值为 427.474, RSD 为 2.35%,表明吗啡在 200min 内较稳定。

2.7 重复性试验 用同一批号的样品(批号 20030203),按正文中样品制备方法,平行测定 5 次,结果样品含量为 0.618mg/片, RSD 为 2.90%,表明方法具有良好的重复性。

2.8 回收率测定 采用加样回收法,取已知含量的本品(批号 20030203)40 片,除去包衣,精密称定,研细,精密称取约 2g 的量,精密加入约 3.6mg 的吗啡对照品,加入甲醇 20mL,按正文中样品制备方法制备并测定,结果加样回收率为 99.15%, RSD 为 1.51%,表明方法中吗啡有良好的回收率,结果见表 1。

表 1 无水吗啡回收率测定结果

编号	样品中的量(mg)	加入量(mg)	实际测得量(mg)	回收率(%)	平均回收率(%)	RSD(%)
1	3.555	3.56	7.026	97.50		
2	3.558	3.69	7.185	98.30		
3	3.556	3.61	7.120	98.72	99.15	1.51
4	3.558	3.58	7.185	101.31		
5	3.557	3.64	7.195	99.94		

2.9 样品的测定 精密吸取对照品溶液和供试品溶液各 10 μ L,分别注入液相色谱仪中,测定峰面积,按外标法计算含量,结果见表 2。

3 讨论

3.1 测定波长的选择 吗啡的甲醇液经紫外扫描,在 232 286nm 处有最大吸收,文献报导吗啡的测定波长有 280^[1] 230^[2] 254nm^[3],经试验供试品在 280、230nm 处峰值较大,但阴性对照在此波长处干扰大,而在 254nm 波长处阴性几乎无干扰,故选择 254nm 作为测定波长。

3.2 流动相的选择 曾试验用中国药典 2000 年版

表 2 样品含量测定结果(mg/片, n= 2)

批号	样品含量	$\bar{x} \pm s$	RSD(%)
20030301	0.559	0.558 \pm 0.0014	0.25
	0.557		
20030302	0.541	0.552 \pm 0.0148	2.68
	0.562		
20030401	0.621	0.623 \pm 0.0028	0.45
	0.625		
20030402	0.609	0.606 \pm 0.0035	0.58
	0.604		
20030203	0.605	0.613 \pm 0.0113	1.84
	0.621		
20030201	0.572	0.586 \pm 0.0410	3.38
	0.600		
20030202	0.641	0.640 \pm 0.0014	0.22
	0.639		
20030501	0.544	0.550 \pm 0.0078	1.42
	0.555		
20030502	0.555	0.550 \pm 0.0082	1.54
	0.543		
20030101	0.553	0.541 \pm 0.0085	1.57
	0.541		

二部盐酸吗啡控释片项下的流动相 0.05mol/L 磷酸二氢钾溶液-甲醇(4:1),峰值很小,且出峰时间太短,不适宜于中药复方制剂。文献^[2]报导的流动相甲醇-0.5%乙酸铵溶液-1%三乙胺(50:49:1),吗啡显游离状态,峰值明显较大,经试验最后确定流动相为甲醇-0.5%乙酸铵溶液-三乙胺(40:60:0.02)。

3.3 该产品收载于部颁标准,原标准为分光光度测定吗啡含量,现改用 HPLC 法测定其吗啡含量,结果 10 批样品含量测定结果均在原标准规定的范围内(0.54~0.66mg/片),表明用本文建立的高效液相色谱法代替原分光光度法测定止咳宝片中吗啡的含量方法可行。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 二部[S]. 北京: 化学工业出版社, 2000. 588.
- [2] 郝红艳, 郭济贤, 顺庆生, 等. HPLC 和 HPCE 法测定罂粟壳 3 种生物活性生物碱[J]. 药学报, 2000, 35(4): 289.
- [3] 顾利红, 施亦斌. 反相 HPLC 测定罂粟壳中吗啡、可待因的含量[J]. 广东药学, 1999, 9(3): 17.