

HPLC法测定小儿清热止咳口服液中盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱和苦杏仁苷的含量

陈佩*,翟宇,王曼泽(宁夏回族自治区药品检验所,银川市 750004)

中图分类号 R917 文献标识码 A 文章编号 1001-0408(2011)44-4212-03

摘要 目的:建立同时测定小儿清热止咳口服液中盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱和苦杏仁苷含量的方法。方法:采用高效液相色谱法。色谱柱为Platasil ODS柱,流动相为乙腈-0.1%磷酸溶液(含0.1%三乙胺)=5:95,流速为 $1.0\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$,检测波长为215 nm,进样量为 $10\text{ }\mu\text{L}$,柱温为30 ℃。结果:盐酸麻黄碱进样量在 $0.146\sim4.85\text{ }\mu\text{g}$ 范围内与峰面积积分值呈良好的线性关系($r=0.9999$),平均加样回收率为99.4%, $\text{RSD}=1.0\%$;盐酸伪麻黄碱进样量在 $0.157\sim5.23\text{ }\mu\text{g}$ 范围内与峰面积积分值呈良好的线性关系($r=0.9999$),平均加样回收率为99.6%, $\text{RSD}=1.7\%$;苦杏仁苷进样量在 $0.297\sim9.90\text{ }\mu\text{g}$ 范围内与峰面积积分值呈良好线性关系($r=0.9999$),平均加样回收率为98.9%, $\text{RSD}=0.7\%$ 。结论:该方法简便、灵敏、准确,可用于小儿清热止咳口服液的质量控制。

关键词 高效液相色谱法; 小儿清热止咳口服液; 盐酸麻黄碱; 盐酸伪麻黄碱; 苦杏仁苷

Content Determination of Ephedrine Hydrochloride, Pseudoephedrine Hydrochloride and Amygdalin in Xiao'er Qingre Zhike Oral Solution by HPLC

CHEN Pei, ZHAI Yu, WANG Man-ze(Ningxia Hui Autonomous Region Institute for Drug Control, Yinchuan 750004, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish the method for the content determination of ephedrine hydrochloride, pseudoephedrine hydrochloride and amygdalin in Xiao'er qingre zhike oral solution. METHODS: HPLC method was adopted. The determination was performed on Platasil ODS column with mobile phase consisted of acetonitrile-0.1% phosphoric acid solution (containing 0.1% triethylamine, 5:95) at the flow rate of $1.0\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$. The detection wavelength was set at 215 nm and injection volume was $10\text{ }\mu\text{L}$. The column temperature was 30 ℃. RESULTS: The linear range of ephedrine hydrochloride was $0.146\sim4.85\text{ }\mu\text{g}$ ($r=0.9999$) with an average recovery of 99.4% ($\text{RSD}=1.0\%$). The linear range of pseudoephedrine hydrochloride was $0.157\sim5.23\text{ }\mu\text{g}$ ($r=0.9999$) with an average recovery of 99.6% ($\text{RSD}=1.7\%$). The linear range of amygdalin was $0.297\sim9.90\text{ }\mu\text{g}$ ($r=0.9999$) with an average recovery of 98.9% ($\text{RSD}=0.7\%$). CONCLUSION: The method is simple, sensitive and accurate, which can be used for the quality control of Xiao'er qingre zhike oral solution.

KEY WORDS HPLC; Xiao'er qingre zhike oral solution; Ephedrine hydrochloride; Pseudoephedrine hydrochloride; Amygdalin

小儿清热止咳口服液是由麻黄、苦杏仁(炒)、石膏、甘草、黄芩、板蓝根、北豆根7味中药组成,具有清热宣肺、平喘、利咽的作用,主要用于小儿外感风热所致的感冒、发热恶寒和咳嗽

痰黄等症状。现行质量标准^[1,2]中除性状、鉴别等质量控制项目外,仅对盐酸麻黄碱有定量测定方法;而对麻黄中盐酸伪麻黄碱和苦杏仁的主要成分苦杏仁苷无含量测定方法。作为该

果无明显差别,但超声法简便、快速、一次能够提取完全,故选择稀乙醇超声提取。

3.2 流动相的选择

笔者曾试用甲醇-0.05 mol·L⁻¹磷酸二氢钾溶液-醋酸-异丙醇(67:173:4:4)^[5]和甲醇-水(35:65)^[6]等流动相,经反复比较,以正文所选流动相重复性更好,出峰时间更快,分离更好。

3.3 测定结果

根据30批样品含量测定的结果,并考虑到方中白芍药材的产地、采收、加工等因素,暂定为每袋三九胃泰颗粒含白芍以芍药苷($C_{10}H_{10}O_4$)计不得少于12.0 mg。

综上所述,采用RP-HPLC法测定三九胃泰颗粒中芍药苷的含量,该法灵敏、准确、重复性好、专属性强,阴性对照无干扰,可有效控制该药品的质量。

* 副主任药师,本科。研究方向:药品质量标准与药物分析。电话:0951-6023763。E-mail:chenpei718@126.com

参考文献

- [1] 卫生部.《卫生部药品标准》中药成方制剂第16册[S]. WS3-B-3055-98.北京:人民卫生出版社,1998:7.
- [2] 国家药典委员会.中华人民共和国药典(一部)[S].2010年版.北京:中国医药科技出版社,2010:452.
- [3] 杜冠华,张均田.丹参现代研究概况与进展(续前)[J].医药导报,2004,23(7):435.
- [4] 陈象青,谢军,方焱,等.白芍总苷和当归提取物合用对肝细胞凋亡的保护作用[J].中国药房,2007,18(18):1368.
- [5] 贾传弟.高效液相色谱法测定败酱草片中芍药苷的含量测定[J].中医药临床杂志,2010,22(8):342.
- [6] 杨翰,王海宁,刘丰丰.HPLC法测定舒心宁片中芍药苷的含量[J].中国药房,2007,18(24):1885.

(收稿日期:2011-07-26 修回日期:2011-08-17)

口服液的主要药效成分麻黄，主含标志性成分麻黄碱和伪麻黄碱，二者属于需控制的毒、麻类成分，且伪麻黄碱也具有一定的治疗作用和不良反应。为此，笔者参考有关文献^[3~7]，建立了高效液相色谱(HPLC)法同时测定小儿清热止咳口服液中盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱和苦杏仁苷的含量，以期为该品种的安全、有效使用和全面控制产品质量提供科学依据。

1 仪器与试药

Agilent 1260型HPLC仪，包括G1329B自动进样器、G1316A柱温箱、G1311C四元泵、G1315D二极管阵列检测器(美国Agilent公司)；AE-240型天平(METTLER公司)；H66005超声清洗机(无锡超声电子设备厂)。

盐酸麻黄碱对照品(批号：171241-201007，含量：99.7%)、盐酸伪麻黄碱对照品(批号：171237-200807，含量：99.9%)、苦杏仁苷对照品(批号：820-200002，含量：100.0%)均由中食药品检定研究院提供；小儿清热止咳口服液(吉林吉春制药有限公司，批号：100106、100207、100512)；乙腈为色谱纯，水为高纯水，其他试剂均为优级纯。

2 方法与结果

2.1 溶液的制备

2.1.1 对照品混合溶液的制备 精密称取盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱和苦杏仁苷对照品19.41、20.93、19.79 mg，分别置于10 mL容量瓶中，用甲醇溶解并稀释至刻度，摇匀，作为对照品贮备溶液。分别精密量取盐酸麻黄碱对照品贮备溶液0.5 mL、盐酸伪麻黄碱对照品贮备溶液0.5 mL和苦杏仁苷对照品贮备溶液1.0 mL，置于同一10 mL容量瓶中，用甲醇稀释至刻度，摇匀，即得对照品混合溶液。

2.1.2 供试品溶液的制备 精密量取小儿清热止咳口服液5 mL，置于25 mL容量瓶中，加甲醇适量，超声处理40 min，放置至室温，用甲醇稀释至刻度，摇匀，用0.45 μm滤膜过滤，取续滤液，即得供试品溶液。

2.1.3 阴性样品溶液的制备 按小儿清热止咳口服液处方及工艺制备不含麻黄和苦杏仁(炒)的阴性样品，再按“2.1.2”项下方法制备阴性样品溶液。

2.2 色谱条件

色谱柱：迪马Platasil ODS柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm)；流动相：乙腈-0.1%磷酸溶液(含0.1%三乙胺,V/V)=5:95；流速：1.0 mL·min⁻¹；检测波长：215 nm；进样量：10 μL；柱温：30 °C。

2.3 专属性试验

取对照品混合溶液、供试品溶液、阴性样品溶液各10 μL，按“2.2”项下色谱条件进样，记录色谱图，色谱见图1。结果表明，阴性样品溶液中其他成分对盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱和苦杏仁苷的测定无干扰。

2.4 线性关系考察

分别精密量取“2.1.1”项下盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱和苦杏仁苷对照品贮备溶液适量，置于同一容量瓶中，制成含盐酸麻黄碱14.6、24.3、48.5、97.0、243、485 μg·mL⁻¹、盐酸伪麻黄碱15.7、26.2、52.3、105、262、523 μg·mL⁻¹和苦杏仁苷29.7、49.5、99.0、198、495、990 μg·mL⁻¹的系列对照品溶液，精密量

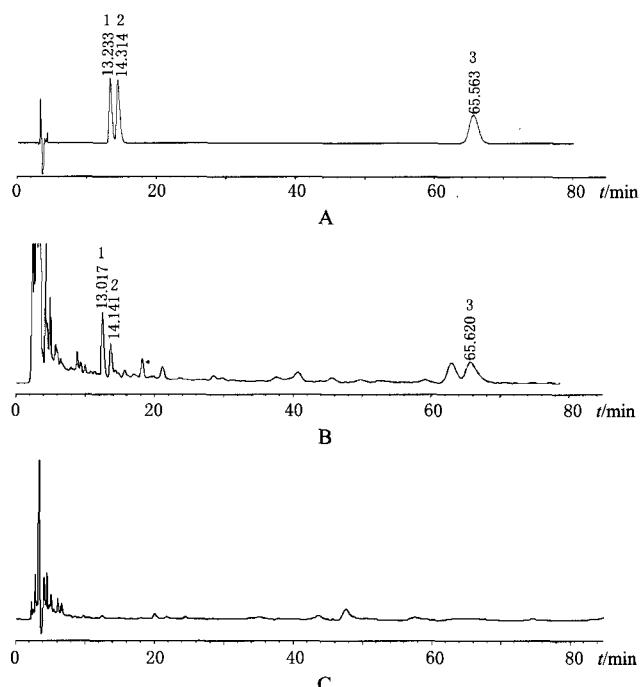


图1 高效液相色谱图

A.混合对照品；B.样品；C.阴性样品；1.盐酸麻黄碱；2.盐酸伪麻黄碱；3.苦杏仁苷

Fig 1 HPLC chromatograms

A. mixed control; B. sample; C. negative sample; 1. ephedrine hydrochloride; 2. pseudoephedrine hydrochloride; 3. amygdalin

取10 μL，注入HPLC仪，记录峰面积。结果，以对照品的进样量(X)为横坐标，以峰面积(Y)为纵坐标，进行线性回归，得盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱和苦杏仁苷对照品的回归方程分别为 $Y=3.812\times 10X+1.136\times 10^3$ ； $Y=2.684\times 10X+1.208\times 10^3$ ； $Y=1.978\times 102X+8.432\times 10^2$ 。结果表明，盐酸麻黄碱进样量在0.146~4.85 μg($r=0.999\ 9$)范围内、盐酸伪麻黄碱进样量在0.157~5.23 μg($r=0.999\ 9$)范围内、苦杏仁苷进样量在0.297~9.90 μg($r=0.999\ 9$)范围内均与峰面积积分值呈良好的线性关系。

2.5 精密度试验

分别精密吸取“2.1.1”项下对照品混合溶液适量，按“2.2”项下色谱条件连续进样6次，分别测定峰面积值。结果，盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱和苦杏仁苷峰面积的RSD分别为0.7%、0.9%、0.6%，表明仪器精密度良好。

2.6 稳定性试验

取同一供试品溶液适量，室温放置0、2、4、8、12、24 h，分别进样10 μL，测定其峰面积。结果，盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱、苦杏仁苷峰面积的RSD分别为0.4%、0.3%、0.9%，表明盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱和苦杏仁苷在24 h内稳定。

2.7 重复性试验

取同一批号样品适量，按“2.1.2”项下方法平行制备9份样品溶液，按“2.2”项下色谱条件进样10 μL，测定。结果，盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱和苦杏仁苷含量平均值分别为0.25、0.14、0.36 mg·mL⁻¹；RSD分别为1.8%、1.2%、1.9%，表明重复性良好。

2.8 加样回收率试验

精密量取已知含量的小儿清热止咳口服液(批号:100207)3 mL,共9份,分别置于25 mL容量瓶中,分别加入一定量的对照品混合溶液,加甲醇适量,超声处理40 min,放置至室温,用甲醇稀释至刻度,摇匀,用0.45 μm滤膜过滤,取续滤液10 μL,按“2.2”项下色谱条件进样测定并计算加样回收率。结果,盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱和苦杏仁苷平均加样回收率分别为99.4%、99.6%、98.9%,详见表1。

表1 加样回收率试验结果($n=9$)

Tab 1 Results of recovery test($n=9$)

| 成分 | 已知量 /mg | 加入量 /mg | 测得量 /mg | 回收率 /% | 平均回收率 /% | RSD /% |
|--------|------------|------------|------------|-----------|-------------|-----------|
| 盐酸麻黄碱 | 0.75 | 0.78 | 1.52 | 98.7 | 99.4 | 1.0 |
| | 0.75 | 0.78 | 1.54 | 100.0 | | |
| | 0.75 | 0.78 | 1.52 | 98.7 | | |
| | 0.75 | 0.97 | 1.71 | 99.0 | | |
| | 0.75 | 0.97 | 1.71 | 99.0 | | |
| | 0.75 | 0.97 | 1.73 | 101.0 | | |
| | 0.75 | 1.16 | 1.90 | 99.1 | | |
| | 0.75 | 1.16 | 1.89 | 98.3 | | |
| | 0.75 | 1.16 | 1.92 | 100.9 | | |
| | 0.42 | 0.42 | 0.83 | 97.6 | 99.6 | 1.7 |
| | 0.42 | 0.42 | 0.84 | 100.0 | | |
| | 0.42 | 0.42 | 0.85 | 102.4 | | |
| | 0.42 | 0.52 | 0.93 | 98.1 | | |
| | 0.42 | 0.52 | 0.93 | 98.1 | | |
| 盐酸伪麻黄碱 | 0.42 | 0.52 | 0.94 | 100.0 | | |
| | 0.42 | 0.63 | 1.04 | 98.4 | | |
| | 0.42 | 0.63 | 1.05 | 100.0 | | |
| | 0.42 | 0.63 | 1.06 | 101.6 | | |
| | 1.14 | 1.19 | 2.32 | 99.2 | 98.9 | 0.7 |
| | 1.14 | 1.19 | 2.31 | 98.3 | | |
| | 1.14 | 1.19 | 2.32 | 99.2 | | |
| | 1.14 | 1.38 | 2.50 | 98.6 | | |
| | 1.14 | 1.38 | 2.49 | 97.8 | | |
| | 1.14 | 1.38 | 2.51 | 99.3 | | |
| | 1.14 | 1.58 | 2.72 | 100.0 | | |
| | 1.14 | 1.58 | 2.70 | 98.7 | | |
| | 1.14 | 1.58 | 2.71 | 99.4 | | |
| | 1.14 | 1.58 | 2.71 | 99.4 | | |
| 苦杏仁苷 | 1.14 | 1.19 | 2.32 | 99.2 | 98.9 | 0.7 |
| | 1.14 | 1.19 | 2.31 | 98.3 | | |
| | 1.14 | 1.19 | 2.32 | 99.2 | | |
| | 1.14 | 1.38 | 2.50 | 98.6 | | |
| | 1.14 | 1.38 | 2.49 | 97.8 | | |
| | 1.14 | 1.38 | 2.51 | 99.3 | | |
| | 1.14 | 1.58 | 2.72 | 100.0 | | |
| | 1.14 | 1.58 | 2.70 | 98.7 | | |
| | 1.14 | 1.58 | 2.71 | 99.4 | | |
| | 1.14 | 1.58 | 2.71 | 99.4 | | |
| | 1.14 | 1.58 | 2.71 | 99.4 | | |
| | 1.14 | 1.58 | 2.71 | 99.4 | | |
| | 1.14 | 1.58 | 2.71 | 99.4 | | |
| | 1.14 | 1.58 | 2.71 | 99.4 | | |

2.9 最低检测限和定量限

精密量取“2.1.1”项下对照品混合溶液适量,用甲醇逐步稀释,按“2.2”项下色谱条件进样测定。结果,以盐酸麻黄碱峰、盐酸伪麻黄碱峰和苦杏仁苷峰的信噪比(S/N)为3计算,最低检测限分别为0.0146、0.0157、0.0891 μg;以盐酸麻黄碱峰、盐酸伪麻黄碱峰和苦杏仁苷峰的信噪比(S/N)为10计算,最低定量限分别为0.0485、0.0523、0.2969 μg。

2.10 样品含量测定

取各批号供试品溶液适量,按“2.2”项下色谱条件进样测定,峰面积以外标法计算,测定结果见表2。

表2 样品含量测定结果($\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)

Tab 2 Content determination of samples($\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)

| 批号 | 盐酸麻黄碱 | 盐酸伪麻黄碱 | 苦杏仁苷 |
|--------|-------|--------|------|
| 100106 | 0.24 | 0.14 | 0.35 |
| 100207 | 0.25 | 0.14 | 0.38 |
| 100512 | 0.27 | 0.12 | 0.37 |

3 讨论

在线光谱显示,在本试验选定的流动相中盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱最大吸收波长均为210 nm,苦杏仁苷最大吸收波长为220 nm,为了缩小3种成分吸收强度的差别,且不影响测定的准确性,最终确定检测波长为215 nm。

笔者曾经采用乙腈-0.1%磷酸溶液(10:90、8:92、7:93)作为流动相,结果盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱和苦杏仁苷不能达到完全分离。经过试验,流动相采用乙腈-0.1%磷酸溶液(5:95),盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱和苦杏仁苷达到完全分离。流动相中加入三乙胺能够改善峰形,降低拖尾,使主峰与干扰峰完全分离。

笔者曾选择0.1%盐酸甲醇溶液和甲醇为提取溶剂,结果用甲醇作为提取溶剂,3种成分的含量较高,故选择甲醇作为提取溶剂。提取时间考察了超声20、40、60、80 min,结果40 min后提取含量不再增加,故选择超声提取40 min。

综上所述,采用HPLC法同时测定小儿清热止咳口服液中盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱和苦杏仁苷的含量,方法简便、灵敏、准确,可用于小儿清热止咳口服液的质量控制。

参考文献

- [1] 国家药典委员会.中华人民共和国药典(二部)[S].2005年版.北京:化学工业出版社,2005:348.
- [2] 国家药典委员会.中华人民共和国药典(二部)[S].2010年版.北京:中国医药科技出版社,2010:496.
- [3] 李沁璇,杨芳.高效液相色谱法同时测定三拗片中盐酸麻黄碱和苦杏仁苷的含量[J].中南药学,2011,9(1):38.
- [4] 赵文明,承伟.RP-HPLC法同时测定小儿肺热咳喘泡腾颗粒中盐酸麻黄碱和苦杏仁苷的含量[J].沈阳药科大学学报,2010,27(6):474.
- [5] 黄良永,王永慧,雷震,等.HPLC法同时测定宣肺止咳糖浆中盐酸麻黄碱和苦杏仁苷的含量[J].中国药师,2010,13(6):837.
- [6] 斯凤云,贺祝英,赵杨,等.HPLC测定华盖散传统汤剂和颗粒汤剂中盐酸麻黄碱、苦杏仁苷、甘草酸、甘草苷的含量[J].中成药,2008,30(1):80.
- [7] 洪美华,卓小萍,何世柯,等.小儿咳喘灵颗粒中盐酸麻黄碱含量测定的2种HPLC法比较[J].中国药房,2008,19(27):2122.

(收稿日期:2011-05-13 修回日期:2011-05-29)