

HPLC法测定复方双花气雾剂中麻黄碱的含量*

Determination of Ephedrine in the Shuanghua Compound Aerosol by HPLC

刘华钢 赖茂祥* 陈燕军 谢宇梅
Liu Huagang Lai Maoxiang Chen Yanjun Xie Yumei

(广西医科大学 南宁市滨湖路6号 530021)

(Guangxi Medical University, 6 Binhulu, Nanning, Guangxi, 530021, China)

摘要 为建立一种用高效液相色谱法测定复方双花气雾剂中麻黄碱含量的方法,用 C₁₈-ODS为固定相,甲醇-水-三乙胺(20:80:0.1,用磷酸调 pH值 3.5~4.5)为流动相,检测波长为 257 nm。结果表明,在进样量 2.04~10.20 μg 范围内,该方法线性关系良好($r = 0.9992$),平均回收率为 98.9%,RSD 为 3.6% ($n = 5$)。表明该方法简便、准确、重复性好,可作为该制剂含量的测定方法。

关键词 复方双花气雾剂 麻黄碱 HPLC

中图分类号 R917

Abstract To establish a method to determine the content of ephedrine in the Shuanghua compound aerosol by HPLC, C₁₈ODS was used as fixed phase, methanol-water-triethylamine (20:80:0.1, with the pH value ranging from 3.5 to 4.5 adjusted with phosphoric acid) as mobile phase. The detection wavelength was 257 nm. It is found that the standard curve is linear in the range of 2.04 to 10.20 μg. The correlation coefficient is 0.9992. The average recovery was 98.9%, and RSD was 3.6% ($n = 5$). It is suggested that the method is simple, convenient, and accurate with a good reduplication, and could be used to detect the content of ephedrine in the Shuanghua compound aerosol.

Key words Shuanghua compound aerosol, ephedrine, HPLC

复方双花气雾剂是由麻黄、旋覆花、七叶一枝花等 7 味中药组成,其中麻黄为方中君药,麻黄碱是麻黄的有效成分之一。本文用 HPLC 法对麻黄碱进行了含量测定,拟将其作为控制复方双花气雾剂质量的指标之一。

1 仪器与药品

LC-8A 高效液相色谱仪、CR4-A 数据处理机、SPD-6AV 检测器、SCL-8A 系统控制器(日本岛津)、LG15-W 高速微量离心机(北京医用离心机厂)、UV-160A 紫外分光光度计(日本岛津)、SB2200 超声清洗器(上海必能信公司)

2001-10-04 收稿, 2002-02-21 修回。

* 广西科技厅攻关项目。

** 广西中医药研究所(Guangxi Institute of Traditional Medical and Pharmaceutical Sciences)

盐酸麻黄碱对照品(批号: 0714-8501), 由中国药品生物制品检定所提供。

复方双花气雾剂(自制)。

实验所用试剂: 甲醇(色谱纯); 色谱用水为去离子重蒸水; 其它试剂均为分析纯

2 对照品溶液及样品溶液的制备

2.1 对照液的配制

精密称取盐酸麻黄碱对照品(批号: 0714-8501) 51.0 mg, 用少量甲醇溶解, 定量转移至 50 ml 容量瓶中并以甲醇稀释至刻度, 摇匀, 制得盐酸麻黄碱含量为 1.02 mg/ml 的对照液。

2.2 供试液的配制

取复方双花气雾剂 14 ml, 加入 2 mol/L 盐酸 14 ml, 放置 24 h, 过滤, 滤液移至 125 ml 分液漏斗中, 用蒸馏水少许荡洗容器及滤纸数次, 一并滤入分液漏

斗。加入 NaCl 1 g, 振荡使溶解。依次用 20 10 10 10 10 ml 乙醚洗涤提取液, 静置, 分层后分去乙醚层, 将乙醚液合并, 用 6 ml 蒸馏水洗涤。洗涤液并入提取液, 加浓氨水 8 ml 使其成碱性, 依次加入氯仿 20 10 10 10 10 ml 振荡, 静置, 分取下层清液移入 100 ml 圆底烧瓶中, 回收氯仿, 挥干。用磷酸调 pH 值 3.5~4.5 的蒸馏水溶解。蒸干的样品, 移至 50 ml 容量瓶中, 定容, 过滤, 制得供试液^[1]。

3 色谱条件

色谱柱: Shim-pack CLC-ODS 柱 (15 cm × 6.0 cm); 柱温: 室温; 流动相: 甲醇-水-三乙胺 (20: 80: 0.1, 用磷酸调 pH 值 3.5~4.5); 流速: 1 ml/min; 检测波长: 257 nm; 灵敏度: 0.02 AUFS; 进样量: 10 μl

4 实验方法与结果

4.1 检测波长的选择

吸取盐酸麻黄碱对照品溶液适量, 以甲醇为空白, 在 200~400 nm 波长段进行紫外扫描 (见图 1)。从图 1 知道, 盐酸麻黄碱对照液分别在 252 nm、257 nm 和 264 nm 有吸收峰, 而在 257 nm 波长处是最大吸收。另取样品溶液 (批号: 200001) 适量, 以甲醇为空白对照进行紫外扫描 (见图 2)。从图 2 得知, 样品溶液在 257 nm 波长处也有最大吸收。因此, 本品选择 257 nm 为检测波长。

4.2 阴性试验

按相应处方量称取各味药材 (缺麻黄) 共 16 g, 照

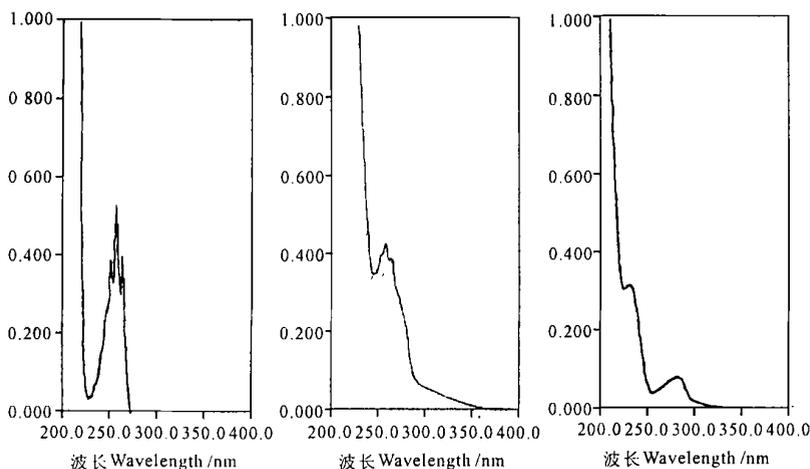


图 1 盐酸麻黄碱对照品 (批号: 714-8501) 紫外吸收光谱扫描图

Fig. 1 UV absorption spectrum of the control samples of ephedrina hydrochloridum (Batch No.: 714-8501)

图 2 复方双花气雾剂样品 (批号: 200001) 紫外吸收光谱扫描图

Fig. 2 UV absorption spectrum of the Shuanghua compound aerosol (Batch No.: 200001)

图 3 阴性试验对照品 (不含麻黄) 紫外吸收光谱扫描图

Fig. 3 UV absorption spectrum of the control sample (non-ephedra) in the negative test

本品工艺进行提取分离, 并按拟定方法进行扫描检测, 结果表明: 阴性样品在盐酸麻黄碱出峰处无干扰 (见图 3 图 4)。

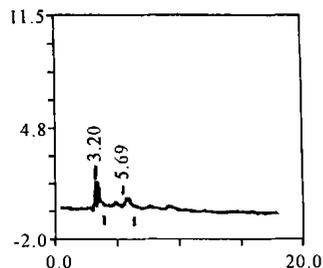


图 4 阴性试验对照品 (不含麻黄) HPLC 色谱图

Fig. 4 HPLC chromatogram of the control sample (non-ephedra) in the negative test

4.3 标准曲线制备

精密吸取上述对照液 1.0 1.5 2.5 3.5 4.5 5.0 ml, 分别置于 5 ml 容量瓶中, 用重蒸馏水稀释至刻度, 摇匀, 浓度分别为 0.204 0.306 0.510 0.714 0.918 1.020 mg/ml。在上述色谱条件下分别进样 10 μl 测定, 以进样量为横坐标, 峰面积为纵坐标作图, 得回归方程为 $Y = 42114X + 367.23$; $r = 0.9992$ 。详细数据见表 1。标准曲线见图 5。盐酸麻黄碱对照品 HPLC 色谱图见图 6。盐酸麻黄碱对照品纯度检查 HPLC 色谱图见图 7。

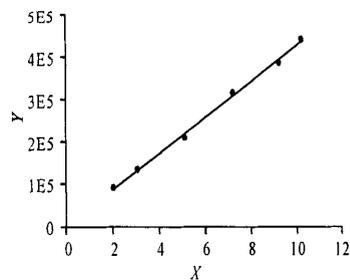


图 5 盐酸麻黄碱对照品 (批号: 714-8501) 标准曲线图

Fig. 5 The standard curve of the control sample of ephedrina hydrochloridum (Batch No. 714-8501)

结果表明, 盐酸麻黄碱溶液在 2.04~10.20 μg 范围内线性关系良好。

4.4 精密度试验

取同一批号样品 (批号: 200001), 精密吸取 10 μl, 连续进样 5 次, 测得 5 次样品中麻黄碱含量为 3.90%、3.97%、4.00%、3.93%、4.09%, RSD 为 1.84% ($n = 5$)。

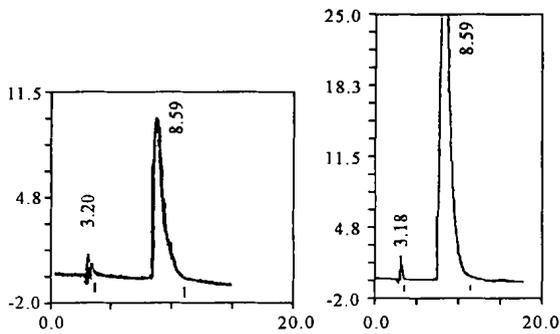


图6 盐酸麻黄碱对照品(批号: 714-8501) HPLC色谱图
Fig. 6 HPLC chromatogram of the control sample of ephedrina hydrochloridum (Batch No. 714-8501)

图7 盐酸麻黄碱对照品(批号: 714-8501) 纯度检查 HPLC色谱图
Fig. 7 HPLC chromatogram of the control sample of ephedrina hydrochloridum (Batch No. 714-8501) in the purity examination

表1 标准曲线数据

Table 1 Data of standard curve

序号 No.	进样量 Sample (μ l)	盐酸麻黄碱含量 Content of ephedrina hydrochloridum (μ g)	峰面积 Peak area	回归方程 Regression equation
1	10	2.04	88468	$Y = 42114X + 367.23$
2	10	3.06	129703	$r = 0.9992$
3	10	5.10	207435	
4	10	7.14	308640	
5	10	9.18	382048	
6	10	10.20	432342	

4.5 重现性考察

取同一批号样品(批号: 200001) 5份,按样品溶液制备方法处理,进样 10μ l,依法测定,样品中麻黄碱含量分别为 3.92%, 4.06%, 3.88%, 3.97%, 4.08%; RSD 为 2.18% ($n = 5$)

4.6 稳定性试验

取同一批号样品溶液(批号: 200001),在 0, 4, 8, 16, 32 hr依法测定,所测定的样品含麻黄碱的量为 3.98%, 3.93%, 3.90%, 3.82%, 3.76%, RSD 为 2.35% ($n = 5$) 上述试验表明,样品在 32 h内基本稳定。

4.7 加样回收率试验

精密吸取已知含量的样品 50 ml(共 5份),分别定量加入盐酸麻黄碱对照液 2 ml(2.04 mg),按样品溶液制备方法进行处理,进样 10μ l,依法测定,结果 5次测定的平均回收率为 98.9%, RSD 为 3.61% ($n = 5$) 测定数据见表 2 样品 HPLC 色谱见图 8 加样回收率 HPLC 色谱见图 9

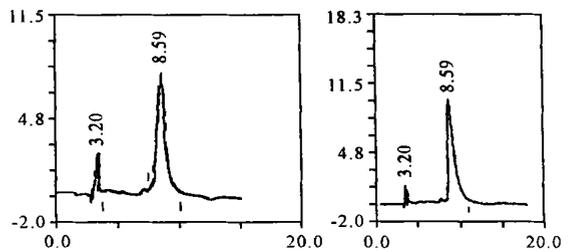


图8 复方双花气雾剂样品(批号: 200001) HPLC 色谱图
Fig. 8 HPLC chromatogram of samples of the Shuanghua compound aerosol (Batch No. 200001)

图9 复方双花气雾剂样品(批号: 200001) 加样回收率 HPLC 色谱图
Fig. 9 HPLC chromatogram of samples of the Shuanghua compound aerosol (Batch No. 200001) in the recovery examination

表2 样品加样回收率试验结果
Table 2 Recovery of sample

Table 2 Recovery of sample

本底 Back-ground (mg)	加入量 Sample (mg)	测得量 Observation (mg)	回收率 Recovery (%)	平均回收率 Average recovery (%)	RSD (%)
1.9910	2.0400	3.9463	97.9		
1.9910	2.0400	4.1842	103.8		
1.9910	2.0400	3.8778	96.2	98.9	3.61
1.9910	2.0400	3.8215	95.3		
1.9910	2.0400	4.0834	101.3		

4.8 样品测定

精密吸取 10批复方双花气雾剂样品,按样品溶液的制备项下操作,制备样品溶液,分别吸取样品溶液 10μ l,注入液相色谱仪,依法测定,测定数据见表 3 表 3 10批样品中麻黄碱含量测定结果 ($n = 3$)

Table 3 The content of ten batches of the ephedrina samples ($n = 3$)

样品批号 Batch sample	含量 Content (%)			平均含量 Average content (%)	相对平均偏差 Relative average deviation (%)
200001	3.97	3.92	4.06	3.98	1.26
200002	3.75	3.83	3.80	3.79	0.79
200003	4.01	4.07	3.90	3.99	1.59
200004	3.81	3.89	3.85	3.85	0.69
200005	3.95	4.04	3.91	3.97	1.26
200006	3.56	3.63	3.52	3.57	1.12
200007	4.07	3.96	3.93	3.99	1.42
200008	3.84	3.92	3.95	3.90	1.11
200009	3.95	3.84	3.99	3.93	1.44
200010	3.60	3.73	3.67	3.67	1.18

5 讨论

实验采用甲醇-水作为流动相^[2],调整甲醇-水的比例,加入三乙胺以防止拖尾,并用磷酸调 pH 值,所得盐酸麻黄碱峰形较好。

实验预处理过程中,考察了用乙醚洗涤 3 次、氯仿提取 3 次及用乙醚洗涤 4 次、氯仿提取 4 次的情况,测得结果含量偏低,并且有干扰。本试验用乙醚洗涤 5 次,氯仿提取 5 次能较好的消除干扰。

将萃取洗涤弃去的乙醚层蒸干,用磷酸调 pH 值 3.5~4.5 的蒸馏水溶解,定容,制成供试液。在同样色谱条件下测定,麻黄碱出峰阶段无色谱峰出现,说明被测组分无损失。

将氯仿提取过程中剩下的水相层用磷酸酸化后浓缩、过滤,制得供试液。在同样色谱条件下测定,麻黄碱出峰阶段无色谱峰出现,表明被测组分提取完全。

本实验方法与《中华人民共和国药典》(1995 年)^[3]的方法进行比较,测定结果重现性好;与氯仿超

声提取法^[4]对比,无干扰峰存在,测得结果准确。

经 10 批样品测定,每批样品测得 3 个数据,结果表明,10 批样品中,最低含量为 3.57%,最高含量为 3.99%,平均含量为 3.86%。考虑到本品在大生产时药材产地不同、药材品种基源不同以及在大量加工提取时存在生产条件的差异,故暂定本品麻黄碱含量不低于 3.40%。

参考文献

- 1 梁宏希,于如焜,杨清华等. HPLC 测定止咳化痰丸中麻黄碱、伪麻黄碱的含量. 中成药, 1990, 12(10): 13.
- 2 张智耀,张贞良,张书润等. 高效液相色谱法测定复方苯海拉明滴鼻液中两组份含量. 药物分析杂志, 1993, 13(3): 162.
- 3 中华人民共和国药典(一部). 1995. 285.
- 4 王喜军. 高效液相色谱在中药研究中的应用. 哈尔滨: 黑龙江科学技术出版社, 1994. 81.

(责任编辑: 蒋汉明)

(上接第 209 页 Continue from page 209)

参考文献

- 1 姚咏明,盛志勇. MODS 抗炎治疗研究的反思. 中国危重病急救医学, 1999, 11(8): 456~458.
- 2 冯国清,秦晓晨,刘洁等. 黄芪对大鼠心肌缺血再灌注损伤的防护作用. 中药药理与临床, 1997, 13(3): 27~29.
- 3 胡森,盛志勇,薛丽波等. 多器官系统功能障碍综合征动物模型的系列研究. 解放军医学杂志, 1996, 21(1): 5~9.
- 4 刘艳红,赵胜利,石瑞如等. 黄芪、枸杞子对衰老大鼠血浆 LPO、SOD 及某些激素的影响. 中药药理与临床, 1996, 12(2): 20~22.
- 5 丁继军,章同华,沈茜. 黄芪皂甙对小鼠柯萨奇 B3 病毒性心肌炎的治疗作用. 第二军医大学学报, 1999, 20(9): 666~668.
- 6 孙春雷,朱锦祥,张锡庆. 肠缺血再灌注粒细胞介导肝损伤实验研究. 苏州医学院学报, 1995, 15(4): 624~626.
- 7 张文颖,郑珊. 小肠缺血再灌注所致肺损伤的机理和治

疗. 中国小儿外科杂志, 1998, 19(3): 182~184.

- 8 华鲁纯,孟淑美,杨俭. 小肠缺血再灌注损伤时自由基清除剂及 MDA 变化的实验研究. 中国微循环, 1999, 3(4): 205~207.
- 9 王今达. 脓毒症: 感染性 MODS 的预防. 中国危重病急救医学, 1999, 11(8): 453~455.
- 10 Yao Y M, Sheng Z Y, Yu Y, et al. The potential etiologic role of tumor necrosis factor in mediating multiple organ dysfunction in rats following intestinal-ischemia-reperfusion injury. Resuscitation, 1995, 29(2): 157~168.
- 11 Sorkine P, Setton A, Halpern P, et al. Soluble tumor necrosis factor receptors reduce bowel ischemia-induced lung permeability and neutrophil sequestration. Crit Care Med, 1995, 23(8): 1377~1381.

(责任编辑: 邓大玉)