高效液相色谱法测定千柏鼻炎片中盐酸麻黄碱的含量

★ 林晓莲[1] 周国莉[1] 程聪[1] 詹云丽[2] (1. 深圳市罗湖区中医院 深圳 518001;2. 广东惠州市药检所 惠州 516000)

摘要:目的:建立以高效液相色谱法测定千柏鼻炎片中盐酸麻黄碱含量的方法。方法:色谱柱为 DiamonsilC18(5 μm,250 mm ×4.6 mm),流动相:0.01 mol/L 磷酸二氢钾(用磷酸调节 pH 至 2.5):甲醇(94:6),检测波长为 210 nm,流速为 1.0 mL/min。结果:盐酸麻黄碱进样量为 0.076 ~0.415 μg 范围内呈良好线性关系(r =0.9993),平均回收率为 99.93%,*RSD* 为 0.36%。结论:本法简便、快速、准确、专属性强,可用于千柏鼻炎片的质量控制。

关键词:高效液相色谱法;千柏鼻炎片;盐酸麻黄碱;含量测定

中图分类号:R 284.1 **文献标识码**:B

千柏鼻炎片由千里光、麻黄、卷柏、川芎等中药组成的复方制剂,具有清热解毒、活血祛风、宣肺通窍的功效。用于急慢性鼻炎、过敏性鼻炎、鼻窦炎及咽炎等症。盐酸麻黄碱是处方中的有效成分,现行标准[1]中仅对盐酸麻黄碱采用薄层色谱法作定性鉴别。为了更好地控制产品质量,保证临床疗效,现采用高效液相色谱法对制剂中主药麻黄的有效成分盐酸麻黄碱进行含量测定。

1 仪器与试药

LC-10ATVP 泵高效液相色谱仪(日本岛津公司),SPD-10AVP 型紫外可见检测器(日本岛津公司),电子天平,超声波清洗器。盐酸麻黄碱对照品(中国药品生物制品检定所,批号 171241-200303),千柏鼻炎片(广州奇星药业有限公司,批号 8028,8065,8101),千里光(产地:浙江)、麻黄(产地:山西)、卷柏(产地:广东)、川芎(产地:四川)、决明子(产地:安徽)、羌活(产地:四川)、白芷(产地:浙江)均购自深圳市华辉医药公司;阴性对照样品为

2.6 稳定性试验 精密吸取供试品溶液 10 μl 分别于 0、4、8、12、24 小时各进样 1 次,其峰面积相对标准偏差(*RSD*)为 0.46%。说明在 24 小时内测定,供试品溶液稳定。

2.7 重现性试验 取同一批号样品(0304220 批次),共 5 份,精密称定,按照供试品溶液制备方法制得供试品溶液,精密吸取供试品溶液 10 μL,进样测定,结果葛根素含量平均值为 17.74 mg/g,*RSD* 值为 0.4%。

2.8 加样回收试验 取同一批已知含量的本品(批号 0304220)精密称取 5 份,分别加入适量的葛根素对照品,按供试品溶液制备项下方法测定葛根素的含量。平均回收率为 97.0%,*RSD*(%)为 0.89,表明此法回收率较好。

3 成品中葛根素含量测定

根据制订的方法,测定了 3 批成品中葛根素的含量,结果见表 1。

表 1 不同批次成品中葛根素含量测定结果 /mg·g^{-1}

批号	葛根素含量
030315	19.21
0304220	17.77
030958	18.80

据 3 批成品葛根素含量测定结果,建议规定:本品每克不低于 17 mg。

4 讨论

本试验根据葛根素的性质,拟以甲醇为溶媒,超声提取,实验证明超声提取 30 分钟后,即能将样品中葛根素基本提取完全,故确立该提取方法。预防非典型肺炎颗粒为复方制剂,干扰成分较多,参考文献[1~4]对流动相甲醇-水的不同比例进行试验模索,结果以甲醇-水(25:75)为最佳,基线平稳,葛根素峰与其他组分峰达到了基线分离。从实验结果可以看出,供试品中葛根素的分离效果好,方法简单、准确,重现性好,稳定性强,可以作为本品得含量测定方法。

参考文献

[1]国家药典委员会. 中华人民共和国药典 2005 年版[M]. 北京:化学工业出版社,2005. 233。.

[2]魏尊喜,代磊. HLPC 测定消渴丸中葛根素的含量[J]. 中成药,2003,15(9):772 -773.

[3]代启良. HPLC 测定颈痛灵颗粒中葛根素含量[J]. 中成药,2003,15(10):857 -858.

[4]濮存海,张晓骞. HPLC 测定小儿感冒舒颗粒中葛根素的含量[J]. 中成药,2004,26(8):6 -7.

(收稿日期:2008-11-24 责任编辑:曹征)

江西中医药 http://www.ajutcm.com

按药典处方在实验室自制,甲醇为色谱纯,其他试剂为分析纯,水为二次纯化水。

2 方法和结果

2.1 色谱条件[2] 色谱柱为 DiamonsilC18 柱(5 μm,250 mm×4.6 mm),流动相:0.01 mol/L 磷酸二氢钾(用磷酸调节 pH 至 2.5):甲醇(94∶6);检测波长:210 nm,流速:1.0 ml/min,进样量:10 μl,柱温:25 ℃,理论板数按盐酸麻黄碱峰值计算应不低于 2 800。

2.2 对照品溶液的制备[3] 精密称取盐酸麻黄碱对照品约 10 mg,置 100 mL 量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,即得盐酸麻黄碱对照品储备液。精密吸取上述溶液 1 mL 置 10 ml 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,作为对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备[4] 取本品 20 片,除去包衣,精密称定,研细,取约 2.5 g,精密称定,置索氏提取器中,加浓氨试液 2 ml,浸润 2 小时,再加乙醚 60 ml,回流提取 4 小时,提取液转移至烧瓶中,用乙醚 10 ml 洗涤容器,洗液与提取液合并,回收乙醚至干,残渣用甲醇适量分次溶解,滤过,转移至 5 ml 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,作为供试品溶液。

2.4 阴性对照样品溶液的制备 取不含麻黄阴性对照样品,照供试品溶液的制备方法制备即得。分别吸取对照品溶液、供试品溶液、阴性对照样品溶液注入色谱仪,记录色谱图。阴性对照样品溶液在盐酸麻黄碱出峰位置处无干扰。

2.5 标准曲线的制备 分别精密吸取盐酸麻黄碱对照品储备液 1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 mL 置 25 mL 量瓶中,加甲醇至刻度、摇匀,在上述色谱条件下,各进样 10 μl,记录色谱图。以峰面积为纵坐标,进样量(μg)为横坐标进行线性回归,得回归方程:$y = 5.136\,4 \times 10 - 4x - 0.149\,6$,$r = 0.999\,3$。表明盐酸麻黄碱在进样量 0.076 ~ 0.415 μg 范围内与峰面积呈良好的线性关系。

2.6 精密度试验 精密吸取上述对照品溶液,重复进样 6 次,测定峰面积,*RSD* 为 0.51%($n = 6$)。结果表明仪器的精密度符合要求。

2.7 重复性试验 取同一批号样品 6 份(批号 8065),按"2.2.2"项下的方法处理,各进样 10 μL,测定含量。6 份样品中盐酸麻黄碱的平均含量为 0.197 mg/片,*RSD* 为 0.85%($n = 6$)。表明该方法的重复性良好。

2.8 稳定性试验 取同一份供试品液,分别于 0、2、4、6、8 小时进样测定盐酸麻黄碱的含量,分别为 0.195、0.199、0.196、0.197、0.195 mg/片,*RSD* 为 0.72%($n = 5$),表明样品在 8 小时内稳定。

2.9 加样回收率试验 分别精密称取阴性对照样品约 0.5 g(约相当于样品 2 片),分别精密加入盐酸麻黄碱对照品 0.5、1.0、1.5 mg,按上述方法制备供试品溶液,依上述色谱条件测定,计算回收率,结果见表 1。

表 1 回收率测定结果($n = 6$)

加入量/mg	测得值/mg	回收率%	平均回收率%	*RSD*%
0.5023	0.5006	99.66		
0.5019	0.5012	99.80	99.90	0.38
0.5006	0.5018	100.24		
1.0015	1.0007	99.92		
0.9962	0.9978	100.16	99.94	0.36
0.9995	0.9969	99.74		
1.5043	1.5025	99.88		
1.5136	1.5132	99.97	99.95	0.39
1.5010	1.5013	100.00		

2.10 样品含量测定 分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 10 μL,注入高效液相色谱仪,按上述色谱条件测定峰面积,以外标法计算含量,结果 3 批样品中盐酸麻黄碱的含量分别为 0.196、0.202、0.213 mg/片。

3 讨论

3.1 流动相的选择 多次试验表明,选用 C18 柱,以乙腈-水、甲醇-水为流动相进行分离,被测成分达不到良好的分离效果,经参考相关文献[2],以 0.01 mol/L 磷酸二氢钾(用磷酸调节 pH 至 2.5)-甲醇(94∶6)为流动相,样品达到基线分离。

3.2 最大吸收波长的选择 用紫外分光光度计对盐酸麻黄碱的标准溶液进行光谱扫描,由扫描图谱看出,盐酸麻黄碱的紫外最大吸收波长为 208 nm,考虑到此波长处为末端吸收,干扰严重,故把最大吸收波长定在 210 nm。

3.3 方法的可靠性 本方法测定千柏鼻炎片中盐酸麻黄碱含量,具有提取及测定方法简便、快捷、准确,重复性好的特点,可作为该制剂含量测定的方法。

参考文献

[1]国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[S]. 北京:化学工业出版社,2005:337.

[2]国家药品监督管理局编. 国家中成药标准汇编内科肺系分册[M]. 北京,2002,509.

[3]景金柱,余卫兵,毕雪艳,等. HPLC 测定麻杏止咳糖浆中盐酸麻黄碱的含量[J]. 河北医药,2006,28(3):225-226.

[4]高云霞. 千柏鼻炎片中麻黄碱的含量测定[J]. 中国医师杂志,2005,7(6):853.

(收稿日期:2009-01-22 责任编辑:查青林)

江西中医药 http://www.ajutcm.com