

## · 研究报告 ·

# HPLC法测定麻杏抗感颗粒中盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱的含量

郝哲, 王丽军, 张建帮 (解放军153中心医院制剂中心, 河南郑州450042)

**[摘要]** 目的 建立麻杏抗感颗粒中盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱的含量测定方法。方法 采用高效液相色谱(HPLC)法, 色谱柱: Wondasil C<sub>18</sub> (4.6 mm×250 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-0.1% 磷酸溶液(5:95); 流速: 1 ml/min; 检测波长: 215 nm; 柱温: 30 °C; 进样量: 10 μl。结果 盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱的质量浓度分别在4.231~42.31 μg/ml( $r=0.9997$ )、1.187~11.87 μg/ml( $r=0.9999$ )范围内与各自峰面积线性关系良好, 平均加样回收率为分别为98.9%、98.1%; RSD分别为0.48%、0.64%。结论 该法准确度高、重复性好, 可用于麻杏抗感颗粒中盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱的含量测定。

**[关键词]** 麻杏抗感颗粒; 盐酸麻黄碱; 盐酸伪麻黄碱

**[中图分类号]** R917

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 1006-0111(2018)04-0355-03

**[DOI]** 10.3969/j.issn.1006-0111.2018.04.015

## Determination of ephedrine hydrochloride and pseudoephedrine hydrochloride in Mxing Kanggan Granules by HPLC

HAO Zhe, WANG Lijun, ZHANG Jianbang (No. 153 Hospital of PLA, Zhengzhou 450042, China)

**[Abstract]** **Objective** To establish a method of HPLC for the determination of ephedrine hydrochloride and pseudo-ephedrine hydrochloride in Mxing Kanggan Granules. **Methods** Wondasil C<sub>18</sub> (4.6 mm×250 mm, 5 μm) was used at 30 °C and the acetonitrile-0.1% H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> (5:95) was the mobile phase with a flow rate of 1.0 ml/min. The detection wavelength was at 215nm. **Results** The linear range of ephedrine hydrochloride and pseudoephedrine hydrochloride were 4.231-42.31 μg/ml( $r=0.9997$ )、1.187-11.87 μg/ml( $r=0.9999$ ), the average recovery were 98.9% (RSD=0.48%,  $n=6$ ) and 98.1% (RSD=0.48%,  $n=6$ ). **Conclusion** This method was accurate and good reproducibility, which could be used for the determination of ephedrine hydrochloride and pseudoephedrine hydrochloride in Mxing Kanggan Granules.

**[Key words]** Mxing Kanggan Granules; ephedrine hydrochloride; pseudoephedrine hydrochloride

麻杏抗感颗粒是解放军153中心医院自主研制的医院制剂, 临床已应用30多年, 其疗效确切, 效果显著, 深受广大患者好评。其组方是在麻杏石甘汤的基础上, 增加黄芩、柴胡、板蓝根、鱼腥草四味药材。具有辛凉宣泄、清肺平喘、散风解表、清热解毒之功效, 用于感冒引起的身热不解、喘逆气急鼻塞、头痛、咳嗽、咽痛等症。麻黄为本方君药, 具有发汗平喘之药效, 其主要活性成分盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱<sup>[1]</sup>, 约占6种麻黄碱总量的70%<sup>[2]</sup>, 均有缓解支气管平滑肌痉挛等作用, 且作用较缓而持久。现行标准中无此项含量测定, 故将其作为评价制剂质量的2个指标性成分, 采用HPLC法对其进行含

量测定, 为进一步提高该制剂的质量标准, 保证临床疗效提供重要的科学依据。

### 1 仪器与试剂

岛津LC-10A高效液相色谱仪; BT-125D型电子天平(赛多利斯公司); KQ-50E型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

盐酸麻黄碱标准品(批号: 171241-201007, 含量: 99.7%)、盐酸伪麻黄碱标准品(批号: 171237-201208, 含量: 99.9%)均由中国食品药品检定研究院提供; 麻杏抗感颗粒(批号: 150519, 150627, 150708, 本院自制); 甲醇(天津四友, 色谱级); 其他试剂均为分析纯。

### 2 方法与结果

#### 2.1 色谱条件

参照小儿麻甘颗粒质量标准<sup>[3]</sup>, 选用色谱柱: Wondasil C<sub>18</sub> (4.6 mm×250 mm, 5 μm); 流动相: 乙

**[基金项目]** 军队医疗机构制剂标准提高科研专项课题重点项目(14ZJZ02)

**[作者简介]** 郝哲, 硕士, 主管药师, 研究方向: 药物质量控制与新药研究, Tel: (0371)60653574, Email: hzsunshine@126.com

**[通讯作者]** 王丽军, Tel: (0371)60653572, Email: 153wlj@163.com

脲-0.1% 磷酸溶液(5:95);流速:1 ml/min;检测波长:215 nm;柱温:30 °C;进样量:10  $\mu$ l。理论塔板数按盐酸麻黄碱峰计算应不低于 3 000。

## 2.2 对照品溶液的制备

精密称取盐酸麻黄碱对照品、盐酸伪麻黄碱对照品适量,置 50 ml 容量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,制成每 1 ml 含盐酸麻黄碱 211.56  $\mu$ g 和含盐酸伪麻黄碱 59.34  $\mu$ g 的混合对照品储备溶液。精密量取混合对照品储备溶液 5 ml,置 50 ml 容量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,即得。

## 2.3 供试品溶液的制备

取本品 2 g,研细,加乙醇 25 ml,超声 20 min,滤过,滤液蒸干,残渣加水 20 ml 使溶解,加氨水 5 滴,用二氯甲烷萃取 2 次,每次 15 ml,合并二氯甲

烷层,蒸干,残渣加甲醇溶解,定量转移至 10 ml 容量瓶中,再精密量取 5 ml 至 10 ml 容量瓶中,加甲醇稀释至刻度,即得。

## 2.4 阴性对照溶液的制备

取缺麻黄的阴性样品 2 g,按照“2.3”项下供试品溶液的制备方法制备,即得。

## 2.5 系统适应性试验

吸取对照品溶液、供试品溶液、阴性对照溶液各 10  $\mu$ l,分别按上述色谱条件测定,记录色谱峰。结果盐酸麻黄碱保留时间在 18 min 左右,盐酸伪麻黄碱保留时间在 19 min 左右,样品中盐酸麻黄碱与盐酸伪麻黄碱峰达到基线分离,与其他组分峰良好分离,且阴性对照无干扰(图 1)。

## 2.6 线性范围

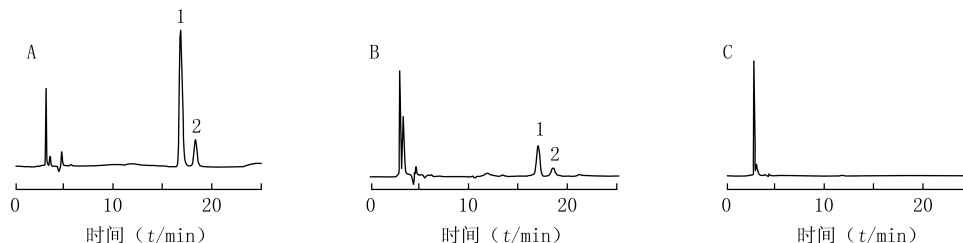


图 1 盐酸麻黄碱与盐酸伪麻黄碱峰的 HPLC 图

A. 对照品溶液;B. 供试品溶液;C. 阴性样品溶液;1. 盐酸麻黄碱;2. 盐酸伪麻黄碱

精密吸取“2.2”项下对照品储备溶液 1、3、5、7、10 ml 各置 50 ml 容量瓶中,分别加甲醇稀释至刻度,摇匀,精密吸取各对照品溶液 10  $\mu$ l 注入色谱仪,记录峰面积。以峰面积(Y)为纵坐标,进样浓度  $\mu$ g/ml(X)为横坐标,绘制标准曲线,得盐酸麻黄碱回归方程为:

$$Y=13\ 595\ X+2\ 032.5, r=0.999\ 7 (n=5),$$

盐酸伪麻黄碱回归方程为:

$$Y=14\ 110\ X+450.16, r=0.999\ 9 (n=5).$$

结果表明,盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱分别在 4.231~42.31、1.187~11.87  $\mu$ g/ml 范围内与各自的峰面积呈良好的线性关系。

## 2.7 精密度试验

精密吸取“2.2”项下混合对照品溶液 10  $\mu$ l,按“2.1”项下方法,重复进样 5 次,记录峰面积,结果盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱的峰面积 RSD 值分别为 0.77%、0.80%,表明仪器精密度良好。

## 2.8 重复性试验

精密称取 6 份麻杏抗感颗粒(批号:150519)粉末各 2 g,按“2.3”项下方法,分别制备供试品溶液,按“2.1”项下方法,进样 10  $\mu$ l,记录峰面积,结果盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱含量的 RSD 值分别为

0.87%、1.21%,表明该法重复性好。

## 2.9 稳定性试验

精密量取同一份供试品溶液 10  $\mu$ l,分别于 0、2、4、8、12 h 各进样 1 次,记录峰面积,结果盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱的峰面积 RSD 值分别为 1.00%、0.82%,表明供试品溶液在 12 h 内稳定。

## 2.10 加样回收率试验

精密称取已知含量的样品(批号:150519)6 份,每份约 1 g,再分别加入盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱对照品适量,按“2.2”项下方法制成供试品溶液,并照“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积,并计算加样回收率,结果见表 1。

## 2.11 样品含量测定

取 3 个批号的麻杏抗感颗粒样品(批号:150519、150627、150708),各 3 份,按“2.3”项下的方法制备供试品溶液,在“2.1”项下色谱条件下,分别精密吸取混合对照品与供试品溶液各 10  $\mu$ l,注入液相色谱仪,测定 3 批样品中盐酸麻黄碱与盐酸伪麻黄碱的量,结果见表 2。

## 3 讨论

### 3.1 提取方法的选择

表1 加样回收率试验结果(n=6)

成分	样品称 样量 (m/g)	样品 含量 (m/μg)	加入量 (m/μg)	测得量 (m/μg)	加样 回收率 (%)	平均 回收率 (%)	RSD (%)
盐酸麻黄碱							
	1.015 4	209.35	211.56	418.56	98.9	98.9	0.48
	1.007 8	207.78	211.56	418.36	99.5		
	1.024 7	211.26	211.56	420.36	98.8		
	1.011 2	208.48	211.56	418.67	99.4		
	1.028 7	212.09	211.56	420.27	98.4		
	1.036 4	213.67	211.56	421.78	98.4		
盐酸伪麻黄碱							
	1.015 4	52.53	53.41	104.88	98.0	98.1	0.64
	1.007 8	52.13	53.41	104.54	98.1		
	1.024 7	53.01	53.41	105.87	99.0		
	1.011 2	52.31	53.41	104.32	97.4		
	1.028 7	53.21	53.41	105.89	98.6		
	1.036 4	53.61	53.41	105.67	97.5		

表2 样品含量测定结果(μg/g, n=3)

批号	盐酸麻黄碱	盐酸伪麻黄碱
150519	208.5	50.93
150627	210.3	51.82
150708	202.4	53.79

本制剂成分较多,曾尝试用水提法<sup>[3]</sup>或者醇提法<sup>[4,5]</sup>或水蒸气蒸馏法<sup>[6]</sup>提取,盐酸麻黄碱前面杂质峰较多且响应值均较高,有一杂质峰与盐酸麻黄碱峰分不开,影响盐酸麻黄碱的含量测定。后分别对板蓝根,甘草,黄芩的水煎液进行测定,结果显示在板蓝根水煎液的色谱图中,在盐酸麻黄碱出峰时间附近有一较大峰。经查阅文献,板蓝根中含有精氨酸,脯氨酸,谷氨酸等多种氨基酸类成分<sup>[10]</sup>,而盐酸麻黄碱也含有NH<sub>2</sub><sup>-</sup>,结构与氨基酸类似,可能由于这个原因引起的干扰。而采用二氯甲烷萃取后,样品杂质少,且氨基酸不溶于有机溶剂,有效解决了这一干扰问题。

### 3.2 萃取溶剂的选择

对于盐酸麻黄碱的提取,大多采用乙醚萃取<sup>[7-9]</sup>,因乙醚为易制毒试剂,管控较严,不易购买,且挥发性强,对人体及环境危害较大,不利于环保,因而未采用乙醚萃取。选用乙酸乙酯萃取,其乳化现象严重,不易分离;而采用二氯甲烷萃取,易分层,杂质少,便于测定。

### 3.3 流动相的选择

盐酸麻黄碱与盐酸伪麻黄碱互为差向异构体,在酸性环境中,可明显加大两者在色谱柱上保留的行为差异性,实现两者较好分离。曾比较了乙腈-甲醇-0.1%磷酸溶液(1.5:4:94.5)<sup>[2]</sup>体系;乙腈-0.1%磷酸溶液(5:95)<sup>[3]</sup>体系;甲醇-0.01mol/L磷酸二氢钾溶液(11:89,磷酸调节pH值至2.3)<sup>[6]</sup>体系;甲醇-水-磷酸(20:79:1)<sup>[7]</sup>体系,有的是出峰时间快致使二者不能分开,有的是峰形不好,不对称,而选用乙腈-0.1%磷酸溶液(5:95)体系,盐酸麻黄碱与盐酸伪麻黄碱分离度大于2.0,可以达到基线分离,峰形好,且配制简单,故选择该体系。

综上,本研究建立了高效液相色谱法同时测定麻杏抗感颗粒中盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱含量的方法,方法简便,重复性好,可为麻杏抗感颗粒的质量控制标准提供参考。

### 【参考文献】

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 2015 版(一部)[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015, 320-321.
- [2] 安丽娜, 张鹏, 韩桂茹. HPLC 测定麻黄及其制剂中 3 种生物碱含量[J]. 中国现代应用药学, 2015, 32(10): 1230-1233.
- [3] 国家食品药品监督管理总局. 小儿麻甘颗粒[J]. 中国药品标准, 2016, 17(5): 383-384.
- [4] 邵大志, 谢秋红. HPLC 法测定通宣理肺颗粒中盐酸麻黄碱及盐酸伪麻黄碱的含量[J]. 中国医药指南, 2014, 12(24): 73-74.
- [5] 张敏新, 黄爱文, 宋洪涛. 高效液相色谱法测定麻杏口服液中盐酸麻黄碱及盐酸伪麻黄碱的含量[J]. 药学实践杂志, 2015, 33(5): 445-447.
- [6] 毕福钧, 林彤. HPLC 法测定小儿咳喘灵口服液中盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱含量[J]. 中药新药与临床药理, 2014, 25(4): 491-493.
- [7] 黄顺旺. 麻辛止咳胶囊质量标准的初步研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(14): 84-85.
- [8] 冉亚东, 原欢欢, 官柳. HPLC 法测定鼻炎糖浆中盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱的含量[J]. 药学研究, 2014, 33(12): 699-701.
- [9] 王戈, 赵培敬. HPLC 法测定宣清止咳糖浆中盐酸麻黄碱的含量[J]. 齐鲁药事, 2011, 30(4): 213-215.
- [10] 任国萍, 田璐, 李铮, 等. 板蓝根药材中氨基酸含量测定研究[J]. 中国新药杂志, 2014, 23(1): 99-104.

【收稿日期】 2017-11-23 【修回日期】 2018-04-08

【本文编辑】 陈盛新