

离子对色谱法测定麻杏石甘汤中的麻黄碱和伪麻黄碱

刘 涛, 王晓辉, 赵云丽, 高晓霞, 于治国

(沈阳药科大学药学院, 辽宁 沈阳 110016)

关键词: 离子对高效液相色谱法(ion pair-HPLC) 麻黄碱(ephedrine) 伪麻黄碱(pseudoephedrine) 麻杏石甘汤(Maxingshigan Tang)

中图分类号: O658 文献标识码: B 文章编号: 1000-8713 (2006) 04-0417-01 栏目类别: 技术与应用

麻杏石甘汤出自《伤寒论》,由麻黄、杏仁、甘草和石膏四味中药组成。麻黄主要含麻黄碱和伪麻黄碱,两者是麻杏石甘汤中的主要有效成分。对麻黄及其制剂中的麻黄碱和伪麻黄碱含量测定的方法主要有高效液相色谱法(HPLC)^[1]、高效毛细管电泳法^[2]和气相色谱-质谱联用法^[3]等。由于麻黄碱和伪麻黄碱结构相似,而且生物碱容易产生拖尾现象,采用反相高效液相色谱法一般难以使两者达到良好的分离。本文采用反相离子对 HPLC 使两者获得了良好的分离,并以此法对麻杏石甘汤中的麻黄碱和伪麻黄碱进行了测定。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

LC-10ATvp 液相色谱仪(岛津公司),N2010 色谱工作站(浙江大学智达信息工程有限公司)。

盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱对照品(Sigma 公司,纯度 > 99%);离子对试剂庚烷磺酸钠(比利时 Acrops Organics 公司,色谱纯);甲醇为色谱纯(天津市康科德科技有限公司),其他试剂均为分析纯;麻黄、甘草、杏仁、石膏药材均购自沈阳中街天益堂药店并经沈阳药科大学孙启时教授鉴定。

1.2 色谱条件

色谱柱:Diamonsil™ C₁₈柱(200 mm × 4.6 mm i. d., 5 μm);流动相:甲醇-5 mmol/L 庚烷磺酸钠溶液(体积比为 38:62,其中庚烷磺酸钠溶液以磷酸调节 pH 值为 3.3),流速为 1.0 mL/min;检测波长:210 nm;柱温:30 °C;进样量:10 μL。

1.3 溶液的配制

1.3.1 对照品储备液的配制 精密称定麻黄碱 5 mg 和伪麻黄碱 2.5 mg,置于同一 50 mL 量瓶中,以甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,备用。

1.3.2 模拟处方中药的制备 按处方比例精密称取麻黄、杏仁、甘草和石膏(按 4:4:3:8 的质量比)适量,捣碎,加 10 倍质量的水,煮沸 45 min,过滤。在药渣中加入 8 倍质量的水,煮沸 45 min,过滤。将两次滤液合并,减压抽滤,将滤液浓缩后减压干燥,得麻杏石甘汤提取物粉末,精密称定。除不加麻黄外,其他处理方法同上,制得阴性对照粉末。

1.3.3 供试品溶液的制备 取麻杏石甘汤提取物粉末适量(相当于总药材 0.1 g),精密称定,加水 1 mL 使其溶解,加氢氧化钠溶液(质量浓度为 0.4 mg/L)50 μL,涡旋混合 1 min,以乙醚提取 4 次(每次用 2 mL 乙醚)。合并醚层,用氮气吹干,然后精密加入甲醇 4 mL 使残渣溶解,备用。另取阴性对照粉末适量,同法操作,制成阴性对照溶液,备用。

2 结果与讨论

2.1 庚烷磺酸钠溶液浓度及 pH 的影响

中国药典(2005 年版)采用乙腈-水流动相系统测定麻

黄药材中的麻黄碱,但试验发现,对麻杏石甘汤中的麻黄碱和伪麻黄碱进行测定时,色谱峰拖尾比较严重且不能达到良好的分离。本实验尝试采用反相离子对 HPLC 对其进行分离,结果发现以甲醇-庚烷磺酸钠溶液为流动相,当庚烷磺酸钠浓度为 5 ~ 25 mmol/L、pH 值为 3.0 ~ 4.0 时两者色谱保留行为良好;当庚烷磺酸钠浓度低于 5 mmol/L 时,分离效果较差;pH 值大于 4.0 时保留时间变化较大。

2.2 系统适用性试验

精密吸取对照品溶液、供试品溶液和阴性对照溶液各 10 μL 进行色谱分析(图略),麻黄碱和伪麻黄碱的保留时间分别约为 14.5 和 15.7 min,峰形良好。阴性对照溶液色谱图中未见干扰峰,两者之间的分离度满足含量测定要求。

2.3 线性范围

分别精密吸取对照品储备液 4.0,3.0,2.0,1.0 和 0.5 mL,置于 10 mL 量瓶中,以流动相稀释并定容至刻度,摇匀。各取 10 μL 进样分析。以质量浓度(x ,mg/L)为横坐标,峰面积(y)为纵坐标绘制标准曲线,经最小二乘法回归分析,得到麻黄碱回归方程为 $y = 8\,753x + 899$, $r = 0.999\,8$;伪麻黄碱的回归方程为 $y = 8\,384x + 167$, $r = 0.999\,5$ 。结果表明,麻黄碱在 5 ~ 40 mg/L、伪麻黄碱在 2.5 ~ 20 mg/L 范围内与其峰面积呈良好的线性关系。

2.4 精密度

取麻杏石甘汤提取物粉末适量 6 份,分别按“1.3.3”节下方法处理,各取 10 μL 进样分析,计算峰面积的相对标准偏差(RSD),得麻黄碱和伪麻黄碱的 RSD 值分别为 2.1% 和 1.1%,表明分析方法的重复性良好。

2.5 加标回收率

精密称取已知含量的样品(麻杏石甘汤提取物粉末)适量,分别精密加入麻黄碱对照品(0.48,1.20,1.80 mg)和伪麻黄碱对照品(0.24,0.60,0.90 mg),按“1.3.3”节下方法操作,在上述色谱条件下依法测定(每个添加水平平行测定 3 次),计算麻黄碱和伪麻黄碱的加标回收率分别为 98.4% 和 99.1%,RSD 分别为 1.9% 和 1.1%(表略)。

2.6 样品测定

按“1.3.2”节下方法制成 3 批麻杏石甘汤供试粉末,按“1.3.3”节下方法制备供试品溶液,在选定的色谱条件下,取 10 μL 进样分析,得相当于每 1 g 总药材的麻杏石甘汤粉末中麻黄碱和伪麻黄碱的平均含量分别为 0.814 和 0.488 mg,RSD 分别为 2.1% 和 1.8%。

参考文献:

- [1] 王曙东,宋炳生,李汉宝,谢虞升. 华西药学杂志,2000,15(6):458
- [2] 李琴韵,王智华,洪筱坤. 中成药,2000,22(2):130
- [3] 李吉来,陈飞龙,刘传明,罗佳波. 中草药,2002,33(4):307