

HPLC 同步测定克咳胶囊中麻黄碱、吗啡

王金钱¹, 周建波¹, 王焱², 黄何松¹, 冯育林^{1*}, 田紫平³

(1. 中药固体制剂制造技术国家工程中心, 南昌 330006; 2. 澳门大学中华医药研究院, 澳门 999078;
3. 贵州益佰制药股份有限公司, 贵阳 550008)

[摘要] 目的: 建立克咳胶囊中麻黄碱、吗啡含量的高效液相色谱同时测定含量的方法。方法: 采用高效液相色谱法, 色谱柱依利特 SinoChrom ODS-BP C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相为乙腈-0.01 mol·L⁻¹ 磷酸二氢钾溶液-磷酸三乙胺 (5:95:0.2:0.4), 检测波长 222 nm, 柱温为室温, 流速 1.0 mL·min⁻¹, 进样量 10 μL。结果: 盐酸麻黄碱、吗啡的线性范围分别为 0.16~0.8 g·L⁻¹ (r₁ = 0.999 6), 0.012~0.06 g·L⁻¹ (r₂ = 0.999 1), 线性良好, 平均加样回收率分别为 96.13%, 95.26%, RSD 分别为 1.10%, 1.60%。结论: 该法快速、简便、重复性好, 可用于克咳胶囊的质量评价。

[关键词] 克咳胶囊; 麻黄碱; 吗啡; 高效液相色谱法; 含量测定

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)12-0062-03

Simultaneous Determination of Ephedrine Hydrochloride and Morphine in Keke Capsule by HPLC

WANG Jin-qian¹, ZHOU Jian-bo¹, WANG Yan², HUANG He-song¹, FENG Yu-lin^{1*}, TIAN Zi-ping³

(1. National Pharmaceutical Engineering Centre for Solid Preparation in Chinese Herbal Medicine, Nanchang 330006, China; 2. Institute of Chinese Medical Science University of Macau, Macau 999078, China; 3. Guizhou Yibai Pharmaceutical Co. Ltd. Guiyang 550008, China)

[Abstract] **Objective:** To establish an HPLC method for simultaneous determination of ephedrine hydrochloride and morphine in Keke capsule. **Method:** The analysis carried out on a Sino Chrom ODS-BP C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm). Mobile phase comprised with methyl cyanides, 0.01 mol·L⁻¹ potassium dihydrogen phosphate, phosphoric acid and triethanolamine under a ratio as 5:95:0.2:0.4. Detect wave-length was at 222 nm. Flow rate was 1.0 mL·min⁻¹ under room column temperature. Sample size was 10 μL. **Result:** The calibration curves were linear over the range of 0.16-0.8 g·L⁻¹ for ephedrine hydrochloride and 0.012-0.06 g·L⁻¹ for morphine respectively. The average recoveries were 99.09% for ephedrine hydrochloride with RSD 1.24% and 98.44% for morphine with RSD 1.45% respectively. **Conclusion:** The determination method is rapid, simple, and repeatable and can be used for the quality control of Keke capsule.

[Key words] Keke capsule; ephedrine hydrochloride; morphine; HPLC; quantitative determination.

克咳胶囊收载于部颁标准^[1], 是在《伤寒论》经典名方“麻杏石甘汤”的基础上研制而成, 由麻黄、罂粟壳、甘草、苦杏仁、莱菔子、桔梗、石膏共 7 味中药组成, 具有止咳、定喘、祛痰的功效, 主治各种上呼吸道感染、咳嗽、支气管哮喘、急性慢性支气管炎、咽喉炎等病症。方中所含麻黄、罂粟壳分别含有苯丙胺类生物碱及吗啡类生物碱, 是克咳胶囊的有效成分^[2-3], 具有一定的成瘾性和毒性, 原标准未对其含

[收稿日期] 20110126(012)

[基金项目] “重大新药创制”科技重大专项 (2009ZX09308-003)

[第一作者] 王金钱, 硕士, 从事中药新剂型和中药制剂关键技术研究

[通讯作者] * 冯育林, 副教授, 从事中药天然药物研究, Tel: 0791-7119632, E-mail: fengyulin2003@hotmail.com

量限度进行控制。因此,控制克咳胶囊中麻黄碱、吗啡的含量限度有利于提高其临床应用的有效性和安全性。目前麻黄碱、吗啡多采用 HPLC 进行定量分析,熊慧林^[4-5]、李娜^[6]、张丽萍^[7]等分别对克咳胶囊中麻黄碱、吗啡、可待因成分进行了含量测定研究,但同时测定克咳胶囊中多个化学成分的研究未见报道。本研究旨在建立同时测定克咳胶囊中麻黄碱、吗啡的 HPLC 分析方法,为克咳胶囊的质量评价提供依据。

1 仪器与试剂

Agilent 1100 型高效液相色谱仪(G1316A 四元泵、G1314A VWD 紫外检测器);KQ-250DB 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);AR-5120 电子天平(梅特勒-托利多仪器上海有限公司);岛津 AUW220D 型电子分析天平;MILLI-Q 型超纯水仪;HH-6 数显恒温水浴锅(国华电器有限公司)。

盐酸麻黄碱对照品(批号 171241-201007)、吗啡对照品(批号 171201-200822)均购于中国药品生物制品检定所;10 批克咳胶囊由贵州益佰制药股份有限公司提供(批号分别为 20090408,20090615,20090811,20090919,20091023,20091110,20091202,20100409,20100512,20100628);乙腈为色谱纯,其余所用试剂均为分析纯,蒸馏水自制。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱依利特 Sino Chrom ODS-BP C₁₈(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相为乙腈-0.01 mol·L⁻¹磷酸二氢钾溶液-磷酸三乙胺(5:95:0.2:0.4),紫外检测波长 222 nm,柱温为室温,流速 1.0 mL·min⁻¹,进样量 10 μL。

2.2 溶液的制备

2.2.1 混合对照品溶液制备 取盐酸麻黄碱对照品、吗啡对照品适量,加 0.05% 盐酸溶液配制成每 1 mL 含盐酸麻黄碱 0.1 mg、吗啡 0.01 mg 的混合对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液的制备 取克咳胶囊内容物 1 g,精密称定,置于 50 mL 量瓶中,精密加入氨试液 1 mL 与氯仿 25 mL,称定质量,超声 45 min,放冷,再称定其质量,用氯仿补足其减失的质量,摇匀,滤过,精密取续滤液 5 mL,加入 2% 盐酸无水乙醇溶液 2 mL,摇匀,置水浴锅上蒸干,残渣加 0.1% 盐酸溶液 10 mL,超声使之溶解完全,定容至 10 mL 量瓶中,用 0.45 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液作为供试品溶液。

2.2.3 阴性样品溶液的制备 取按处方比例除去麻黄和罂粟壳药材的其他药材适量,依克咳胶囊制备工艺和供试品溶液的制备方法制得不含麻黄碱和吗啡的溶液,作为阴性样品溶液。

2.3 测定方法 分别精密吸取供试品溶液和对照品溶液 10 μL 注入液相色谱仪,记录色谱图,见图 1,结果表明麻黄碱、吗啡分离良好,无阴性干扰,符合含量测定分析要求。

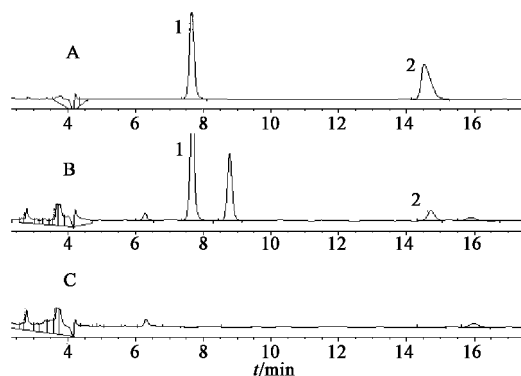


图 1 克咳胶囊 HPLC

A. 对照品; B. 样品; C. 阴性溶液; 1. 吗啡; 2. 盐酸麻黄碱

2.4 线性关系考察 按 2.2.1 项下方法配制得每 1 mL 含盐酸麻黄碱 1.6 mg、吗啡 0.12 mg 的混合对照品储备液,分别精密吸取 0.1, 0.2, 0.5, 1.0, 2.0, 5.0 mL 至 25 mL 量瓶中,加流动相定容,配制的系列浓度的混合对照品溶液,按 2.1 项下色谱条件进行测定,以峰面积 A 为纵坐标,以混合对照品浓度 C 为横坐标作图,得盐酸麻黄碱、吗啡的回归方程分别为 $A = 121.9C - 4.94$ ($R^2 = 0.9996$); $A = 39.1C - 8.01$ ($R^2 = 0.9991$),盐酸麻黄碱、吗啡的线性范围分别为 6.4 ~ 320 mg·L⁻¹, 0.48 ~ 24 mg·L⁻¹,线性关系良好。

2.5 精密性、重复性及稳定性实验

2.5.1 日内精密性 精密吸取同一混合对照品溶液 10 μL,注入液相色谱仪,连续 6 次,结果麻黄碱、吗啡峰面积的 RSD 分别为 1.41%, 1.57%。

2.5.2 日间精密性 精密吸取同一混合对照品溶液 10 μL,注入液相色谱仪,每天 1 次,连续进样 6 次,结果麻黄碱、吗啡峰面积的 RSD 分别为 1.76%, 2.53%。

2.5.3 重复性 取同一批克咳胶囊内容物 1 g,精密称定,按 2.2.2 项下制备供试品溶液,平行制备 6 份,供试液分别注入高效液相色谱仪,检测,以外标法计算麻黄碱、吗啡峰含量,并分析 6 份供试液含量的 RSD 分别为 1.11%, 1.76%,说明供试品制备方

法的重复性良好。

2.5.4 稳定性试验 取同一供试品溶液,室温条件下放置,于 0、3、6、9、12、24 h 分别进样分析麻黄碱、吗啡含量变化,结果 24 h 内麻黄碱、吗啡变化 RSD 分别为 1.54%、1.94%,表明供试样品溶液在室温条件下放置 24 h 内稳定。

2.6 加样回收率试验 取已知含量的克咳胶囊(批次 20090508)内容物样品 0.5 g,平行 9 份,分成 3 组,即每组 3 份,精密称定后,第 1 组每份加入已知含量 80% 的盐酸麻黄碱、吗啡对照品,第 2 组每份加入已知含量 100% 的盐酸麻黄碱、吗啡对照品,第 3 组每份加入已知含量 120% 的盐酸麻黄碱、吗啡对照品,分别按 2.2 项下方法制成供试样品溶液,依法分别进行测定,计算平均回收率和 RSD,结果见表 1、2。

表 1 盐酸麻黄碱对照品加样回收试验 (n=3)

称样量	加入量	测得量	回收率	平均值	RSD
/mg	/mg	/mg	%	%	%
2.14	1.71	3.68	95.58		
2.14	1.70	3.73	97.14		
2.14	1.72	3.7	95.85		
2.14	2.14	4.03	94.16		
2.14	2.13	4.12	96.49	96.13	1.10
2.14	2.13	4.15	97.19		
2.14	2.56	4.51	95.96		
2.14	2.57	4.5	95.54		
2.14	2.56	4.57	97.23		

表 2 吗啡对照品加样回收试验 (n=3)

样品量	加入量	测得量	回收率	平均值	RSD
/mg	/mg	/mg	%	%	%
0.74	0.59	1.27	95.49		
0.74	0.58	1.23	93.18		
0.74	0.58	1.28	96.97		
0.74	0.75	1.41	94.63		
0.74	0.74	1.39	93.92	95.26	1.60
0.74	0.76	1.45	96.67		
0.74	0.89	1.55	95.09		
0.74	0.88	1.58	97.53		
0.74	0.89	1.53	93.87		

2.7 样品测定 按 2.2 项下方法分别制备不同批次克咳胶囊供试样品及对照品溶液,按 2.1 项下方法进行 HPLC 分析,测定麻黄碱、吗啡的峰面积,外标法计算含量,每批平行测定 3 次,测定结果见表 3。

3 讨论

本实验分别采用甲醇、50% 甲醇、含 5% 醋酸的 20% 甲醇、乙醇、碱-乙酸乙酯、碱-氯仿为提取溶剂,结果甲醇、50% 甲醇、含 5% 醋酸的 20% 甲醇、乙醇

表 3 10 批克咳胶囊中麻黄碱、吗啡含量 (n=3)

批号	盐酸麻黄碱		吗啡	
	mg·g ⁻¹	mg/粒	mg·g ⁻¹	mg/粒
20090508	4.27 ± 0.06	1.07	1.47 ± 0.021	0.37
20090615	4.86 ± 0.04	1.22	0.72 ± 0.013	0.18
20090811	2.49 ± 0.04	0.62	0.95 ± 0.014	0.24
20090919	3.78 ± 0.05	0.95	0.53 ± 0.010	0.13
20091023	3.23 ± 0.06	0.81	1.12 ± 0.019	0.28
20091110	2.74 ± 0.03	0.69	0.87 ± 0.014	0.22
20091202	2.21 ± 0.05	0.55	1.05 ± 0.018	0.26
20100409	3.19 ± 0.06	0.80	1.42 ± 0.022	0.36
20100512	1.72 ± 0.03	0.43	0.58 ± 0.011	0.15
20100628	3.63 ± 0.06	0.91	0.72 ± 0.012	0.18

提取所制得供试品溶液杂质峰较多,干扰比较严重;由于麻黄碱和吗啡均为弱极性成分,本实验采用氨试液-氯仿提取,效率更高,分离度好;考虑到麻黄碱的挥发性与吗啡的升华性质,本实验采用超声提取法,通过考察超声对样品提取效率的影响,结果显示超声 45 min 最为合适。

本法在参考文献 [6-7] 的基础上,采用缓冲对试剂作为流动相,对乙腈、磷酸二氢钾溶液浓度、磷酸、三乙胺加入量进行了考察,结果,有机相为乙腈,磷酸二氢钾浓度在 0.01 ~ 0.06 mol·L⁻¹,磷酸加入量在 0.2% ~ 0.4%,三乙胺加入量在 0.4% ~ 0.5% 时,样品特征峰分离良好,因此选择流动相为乙腈-0.01 mol·L⁻¹磷酸二氢钾溶液-磷酸-三乙胺 (5:95:0.2:0.4)。本法应用高效液相法将克咳胶囊中麻黄碱和吗啡含量同步测定,其结果准确可靠,方法比以往指标成分分别检测更快速,简单,可用于克咳胶囊质量控制,为中药多指标成分质量控制作借鉴。

【参考文献】

- [1] 中华人民共和国卫生部药品标准. 中药成方制剂. 17 册 [S]. 1998:116.
- [2] 于荣敏,王春盛. 罂粟科植物的化学成分及药理作用研究进展 [J]. 上海中医药杂志, 2004, 38 (7): 59.
- [3] 丁丽丽,施松善,崔健,等. 麻黄化学成分与药理作用进展 [J]. 中国中药杂志, 2006, 31 (20): 1661.
- [4] 熊慧琳,郑茂鑫. HPLC 法测定克咳胶囊中盐酸麻黄碱的含量 [J]. 中国药事, 2006, 20 (12): 749.
- [5] 熊慧琳,郑茂鑫. HPLC 测定克咳胶囊中可待因的含量 [J]. 中国中药杂志, 2005, 30 (15): 1204.
- [6] 李娜,赵斌,黄文华,等. 高效液相色谱法测定克咳胶囊中吗啡的含量 [J]. 时珍国医国药, 2005, 16 (4): 320.
- [7] 张丽萍. 高效液相色谱法测定克咳胶囊中盐酸麻黄碱的含量 [J]. 医药导报, 2005, 24 (8): 725.

[责任编辑 蔡仲德]