

# HPLC 法测定小儿清热止咳口服液中盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱的含量

## Determination of Ephedrine Hydrochloride and Pseudoephedrine Hydrochloride in Heat Oral Solution for Children by HPLC

覃晓媚, 韦 薇, 黄妹春, 周征福, 陆红萍, 陈晓军, 黄 园

QIN Xiao-mei, WEI Wei, HUANG Mei-chun, ZHOU Zheng-fu, LU Hong-ping, CHEN Xiao-jun, HUANG Yuan

(广西博科药业有限公司, 广西南宁 530007)

(Guangxi Boke Pharmaceutical Co., LTD., Nanning, Guangxi, 530007, China)

**摘要:**采用 C18 色谱柱(4.6 mm×250mm, 5 $\mu$ m), 以甲醇-0.02mol/L 磷酸二氢钠溶液(含 0.2% 三乙胺, 磷酸调 pH 值 2.5, 9:91)为流动相, 流速 1.0ml·min<sup>-1</sup>, 检测波长 210nm, 建立反相高效液相色谱法测定小儿清热止咳口服液中盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱含量。结果表明, 盐酸麻黄碱在 0.102~1.02 $\mu$ g 范围内与峰面积呈良好线性关系,  $r=0.9999$ , 平均加样回收率为 97.62%, RSD 为 1.56% ( $n=6$ ); 盐酸伪麻黄碱在 0.1016~1.6256 $\mu$ g 范围内与峰面积呈良好线性关系,  $r=0.9999$ , 平均加样回收率为 97.55%, RSD 为 1.84% ( $n=6$ )。本方法分离度好, 具有良好的重复性, 可以同时测定小儿清热止咳口服液中盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱的含量。

**关键词:**含量测定 盐酸麻黄碱 盐酸伪麻黄碱 小儿清热止咳口服液 高效液相色谱法

中图分类号:O657.7<sup>+</sup>2, R917 文献标识码:A 文章编号:1005-9164(2012)03-0244-03

**Abstract:** The HPLC determination method was used to detect the ephedrine hydrochloride and pseudoephedrine hydrochloride in heat oral solution for children by C18 (4.6 mm×250mm, 5 $\mu$ m) and methanol-0.02mol/L sodium dihydrogen phosphate (with 0.2% triethylamine, adjusted with phosphoric acid pH=2.5, 9:91) were used as the mobile phase. The flow was set at 1.0ml·min<sup>-1</sup>, and the detection wavelength was 210nm. The precision and stability were fine in those conditions. The calibration curve was linear over the range of 0.102~1.02 $\mu$ g for ephedrine hydrochloride ( $r=0.9999$ ) and 0.1016~1.6256 $\mu$ g for pseudoephedrine hydrochloride ( $r=0.9999$ ). The average recovery rates ( $n=6$ ) was 97.62% for ephedrine hydrochloride and 97.55% for pseudoephedrine hydrochloride. The proposed method can be used in simultaneously quantitative analysis of ephedrine hydrochloride and pseudoephedrine hydrochloride in heat oral solution for children.

**Key words:** content determination, ephedrine hydrochloride, pseudoephedrine hydrochloride, heat oral solution for children, HPLC

小儿清热止咳口服液是以麻黄、苦杏仁、石膏、甘草等 7 味中药制成的中药复方制剂, 具有清热宣肺、平喘利咽的功效。其标准收载于 2010 年版《中国药典》一部 496 页<sup>[1]</sup>。标准中的含测方法采用高效液相色谱法测定盐酸麻黄碱的含量, 提取方法是用乙醚进行多次萃取。我们在小儿清热止咳口服液的实际检验过程中发现萃取时容易乳化, 检验结果偏差大。为

此, 我们参考文献[2~6] 重新制定了含量测定方法, 增加另一有效成分盐酸伪麻黄碱为含测指标。实验结果表明, 该方法分离度高, 具良好的重复性, 能够同时测定 2 个活性成分, 可以用于小儿清肺止咳口服液的质量控制。

### 1 实验仪器与试剂

实验的主要仪器有: 日本岛津 LC-10ATvp 高效液相色谱仪, SPD-10Avp 紫外检测器, 威玛珑色谱工作站, 梅特勒-托利多 AB265-S 分析天平(梅特勒-托

收稿日期: 2011-08-29

修回日期: 2012-05-20

作者简介: 覃晓媚(1968-), 女, 工程师, 主要从事质量管理和质量检验工作。

利多公司),阿修罗 AXLC1820 超纯水机(重庆阿修罗科技发展有限公司)。

实验的主要试剂有:盐酸麻黄碱化学对照品(批号:171242-200405),盐酸伪麻黄碱化学对照品(批号:171237-200807),小儿清热止咳口服液(批号:20100101),甲醇和水等其他试剂。盐酸麻黄碱化学对照品和盐酸伪麻黄碱化学对照品均购于中国食品药品检定研究院。小儿清热止咳口服液是云南云龙制药有限公司产品。甲醇为色谱纯,水为自制超纯水,其他试剂均为分析纯。

## 2 实验方法与结果

### 2.1 色谱条件

Thermo Hypersil GOLD 色谱柱(4.6 mm × 250mm, 5μm),流动相为甲醇-0.02mol/L 磷酸二氢钠溶液(含 0.2% 三乙胺,磷酸调 pH 值 2.5, 9:91),流速 1.0ml · min<sup>-1</sup>,检测波长 210nm。

### 2.2 对照品、供试品和阴性样品溶液制备

对照品溶液制备是精密称取盐酸麻黄碱对照品 10.20mg,置 100ml 容量瓶中,加流动相使溶解并稀释至刻度,摇匀(0.102mg/ml);精密称取盐酸伪麻黄碱对照品 10.16mg,置 100ml 容量瓶中,加流动相使溶解并稀释至刻度,摇匀(0.1016mg/ml)。分别精密量取盐酸麻黄碱对照品溶液 1.5ml,盐酸伪麻黄碱对照品溶液 2ml,置同一 10ml 容量瓶中,加流动相稀释至刻度,摇匀,即得每 1ml 含盐酸麻黄碱 15.3μg 和盐酸伪麻黄碱 20.32μg 的混合对照品溶液。

供试品溶液制备是精密量取小儿清热止咳口服液 5.0ml,置 500ml 圆底烧瓶中,加氯化钠 20g,8% 氢氧化钠溶液 150ml,摇匀,蒸馏(馏速 0.5ml/min),用盛有 1mol/L 盐酸 10ml 的 100ml 容量瓶接收馏出液至约 95ml,稀释至刻度,摇匀,超声 10min,即得。

阴性样品溶液制备按处方比例称取除麻黄外的药味,按照制法制成麻黄阴性制剂,再取此阴性制剂按上述供试品溶液制备方法制备不含麻黄的阴性样品溶液。

### 2.3 专属性试验

分别吸取对照品溶液、供试品溶液及不含麻黄的阴性样品溶液各 20μl,注入液相色谱仪,绘制色谱图。结果(图 1)表明其他组分对测定无干扰。

### 2.4 标准曲线的测定

盐酸麻黄碱标准曲线测定精密称取盐酸麻黄碱对照品 10.20mg,置 100ml 容量瓶中,加流动相使溶解并稀释至刻度,摇匀,精密量取 0.5ml、1ml、1.5ml、3ml、5ml,分别置 10ml 容量瓶中,加流动相至刻度,

摇匀,即得,按上述色谱条件,分别进样 20μl,测定,以峰面积积分值 A 对盐酸麻黄碱进样量 C (μg) 进行回归分析,绘制标准曲线,得回归方程:  $A = 2.22 \times 10^6 C - 1.20 \times 10^4$ ,  $r = 0.9999$ 。盐酸麻黄碱进样量在 0.102~1.02μg 范围内线性关系良好。

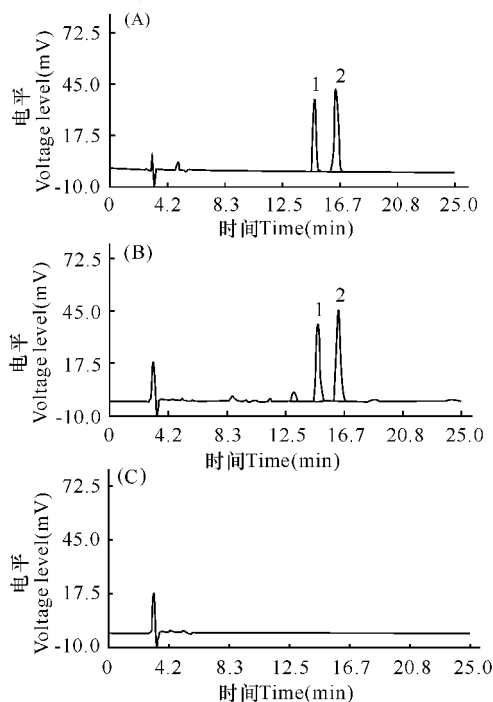


图 1 对照品(A)、供试样品(B)和阴性样品(C)的 HPLC 色谱

Fig. 1 HPLC chromatograms of reference substances (A), sample of Xiao'er Qingre Zhike Koufuye (B) and negative sample without Herbal Ephedrae (C)

1. 盐酸麻黄碱, 2. 盐酸伪麻黄碱。1. Ephedrine hydrochloride, 2. Pseudoephedrine hydrochloride.

盐酸伪麻黄碱标准曲线测定精密称取盐酸麻黄碱对照品 10.16mg,置 100ml 容量瓶中,加流动相使溶解并稀释至刻度,摇匀,精密量取 0.5ml、1ml、2ml、4ml、8ml,分别置 10ml 量瓶中,加流动相至刻度,摇匀,即得,按上述色谱条件,分别进样 20μl,测定,以峰面积积分值 A 对盐酸伪麻黄碱进样量 C (μg) 进行回归分析,绘制标准曲线,得回归方程:  $A = 2.13 \times 10^6 C - 6.23 \times 10^3$ ,  $r = 0.9999$ 。盐酸伪麻黄碱进样量在 0.1016~1.6256μg 范围内线性关系良好。

### 2.5 精密度、稳定性和重复性试验

精密度试验分别精密吸取 15.3μg/ml 的盐酸麻黄碱对照品溶液和 20.32μg/ml 的盐酸伪麻黄碱对照品溶液,重复进样 5 次测定峰面积;结果盐酸麻黄碱峰面积平均值为 671117, RSD 为 0.32%,盐酸伪麻黄碱峰面积平均值为 853923, RSD 为 0.15%,说明仪器精密度比较好。稳定性试验取供试品溶液,分别在放置 0h、2h、4h、6h、8h、24h 时,重复进样 5 次测

定峰面积;结果盐酸麻黄碱峰面积平均值为 660545, RSD 为 1.12%, 盐酸伪麻黄碱峰面积平均值为 894679, RSD 为 1.35%, 说明供试品溶液在 24h 内稳定性好。重复性试验取同一批样品, 按供试品溶液的制备方法制备 6 份供试品溶液, 重复进样 5 次测定, 计算含量及相对标准偏差, 结果盐酸麻黄碱平均含量为 0.300mg/ml, RSD 为 1.33%, 盐酸伪麻黄碱平均含量为 0.413mg/ml, RSD 为 1.33%, 方法的重复性比较好。

## 2.6 加样回收率试验

精密量取已测知含量(盐酸麻黄碱为 0.300mg/ml, 盐酸伪麻黄碱为 0.413mg/ml)的样品 2.5ml, 置 500ml 圆底烧瓶中, 精密加入 1.012mg/ml 盐酸麻黄碱对照品溶液(精密称取盐酸麻黄碱对照品 10.12mg, 置 10ml 容量瓶中, 加流动相使其溶解并稀释至刻度, 摇匀, 即得)0.8ml, 1.025mg/ml 盐酸伪麻黄碱对照品溶液(精密称取盐酸伪麻黄碱对照品 10.25mg, 置 10ml 容量瓶中, 加流动相使其溶解并稀释至刻度, 摇匀, 即得)1ml, 加氯化钠 20g, 8% 氢氧化钠溶液 150ml, 按照供试品溶液制备方法试验, 平行 6 份, 依法测定, 计算加样回收率。结果(表 1 和表 2)盐酸麻黄碱平均回收率为 97.62%, RSD 为 1.56%; 盐酸伪麻黄碱平均回收率为 97.55%, RSD 为 1.84%。方法的回收率比较好。

表 1 盐酸麻黄碱加样回收率试验

Table 1 Experiments of recovery for ephedrine hydrochloride

编号 No.	样品量 Sample contents (mg)	加入量 Addition amount (mg)	测得量 Measured amount (mg)	回收量 Recovery amount (mg)	回收率 Recovery rate (%)	平均回收率 Average recovery (%)	RSD (%)
1	0.7500	0.8096	1.5446	0.7946	98.15	97.62	1.56
2			1.5293	0.7793	96.26		
3			1.5487	0.7987	98.65		
4			1.5247	0.7747	95.69		
5			1.5369	0.7869	97.20		
6			1.5575	0.8075	99.74		

表 2 盐酸伪麻黄碱加样回收率试验

Table 2 Experiments of recovery pseudoephedrine hydrochloride

编号 No.	样品量 Sample contents (mg)	加入量 Addition amount (mg)	测得量 Measured amount (mg)	回收量 Recovery amount (mg)	回收率 Recovery rate (%)	平均回收率 Average recovery (%)	RSD (%)
1	1.0325	1.025	2.0366	1.0041	97.96	97.55	1.84
2			2.0161	0.9836	95.96		
3			2.0500	1.0175	99.27		
4			2.0086	0.9761	95.23		
5			2.0282	0.9957	97.14		
6			2.0549	1.0224	99.75		

## 2.7 样品测定

按上述供试品溶液制备方法制备供试品溶液, 按照上述色谱条件, 测定 3 批样品, 以峰面积按外标一点法计算含量。结果(表 3)比较理想。

表 3 样品测定结果(n=3)

Table 3 Content of ephedrine hydrochloride and pseudoephedrine hydrochloride(n=3)

样品批号 Lot No. of samples	盐酸麻黄碱 Ephedrine hydrochloride		盐酸伪麻黄碱 Pseudoephedrine hydrochloride	
	含量 Content (mg · ml <sup>-1</sup> )	RSD (%)	含量 Content (mg · ml <sup>-1</sup> )	RSD (%)
20100503	0.324	1.34	0.451	1.25
20100601	0.287	0.69	0.373	0.89
20100713	0.320	1.13	0.426	0.37

## 3 结束语

本实验参考 2010 年版《中华人民共和国药典》一部麻黄含量测定项<sup>[7]</sup>, 选择 210nm 作为检测波长。供试品溶液的制备中, 由于小儿清热止咳口服液药味比较多, 成分复杂, 而且含有糖类等水溶性成分, 直接进样测定时, 杂质峰干扰严重。经过对比原标准纯化方法, 加氨后再乙醚萃取, 结果该法萃取时容易乳化, 而且重复性不好, 平行制备 6 份供试液, 测得 RSD 为 6.31%。为此, 我们还考察了乙醇沉淀分离法、氧化铝柱色谱分离法等纯化方法, 结果发现以蒸馏法提取效果最好, 盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱提取效率高, 重复性好, 故本实验选用蒸馏提取法制备样品。

本次实验建立的方法可以同时测定小儿清热止咳口服液中的两种活性成分, 提高了小儿清热止咳口服液的质量控制水平。

### 参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 一部[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 496, 300.
- [2] 刘惠军, 陈睿, 王娟. HPLC 测定宣肺清热合剂中盐酸麻黄碱与盐酸伪麻黄碱含量[J]. 药学实践杂志, 2010, 28(3): 199-205.
- [3] 章曙丹, 夏正燕, 冯英. HPLC 测定喘立停喷雾剂中盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱的含量[J]. 中成药, 2008, 30(9): 1308-1311.
- [4] 陈勇. HPLC 测定解毒万灵丸中盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱的含量[J]. 中成药, 2004, 26(3): 195-198.
- [5] 阳志云, 饶伟文. HPLC 法测定麻黄中盐酸麻黄碱及盐酸伪麻黄碱的含量[J]. 首都医药, 2010(2): 53-54.
- [6] 董自波, 李超. HPLC 法测定三拗片中盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱的含量[J]. 西北药学杂志, 2011, 26(5): 329-330.

(责任编辑: 邓大玉)