

doi:10.11751/ISSN.1002-1280.2018.10.10

# HPLC 法同时测定麻杏石甘口服液中盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱及苦杏仁苷含量

章安源,李有志,张传津,张呈军,刘道中

(山东省兽药质量检验所,山东省畜产品质量安全监测与风险评估重点实验室,济南 250022)

[收稿日期] 2018-08-20 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280 (2018) 10-0072-06 [中图分类号] S853.7

**[摘要]** 建立一种 HPLC 法同时测定麻杏石甘口服液中盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱及苦杏仁苷含量。使用 Waters C18(250 mm×4.6 mm, 5 μm,) 色谱柱,样品前处理使用初始流动相稀释,乙腈:磷酸盐缓冲液梯度洗脱,采用二极管阵列检测器(HPLC-DAD),波长采集范围为 200~400 nm,记录色谱图波长为 210 nm,流速为 1 mL/min,进样量为 10 μL。结果表明,盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱在 0.5~200 μg ( $r^2 = 0.9993, R^2 = 0.9997$ )、苦杏仁苷在 5~20 0 μg ( $r^2 = 0.9992$ ) 呈良好的线性关系;平均回收率分别为 92.16%, 92.03%, 90.24% ( $n = 6$ ),  $RSD$  分别为 0.53%, 1.08%, 3.20%。该方法简单、准确、重复性好,适用于该制剂的质量控制。

**[关键词]** 高效液相色谱法;麻杏石甘口服液;盐酸麻黄碱;盐酸伪麻黄碱;苦杏仁苷

## Determination of Ephedrine Hydrochloride and Pseudoephedrine Hydrochloride and Amygdalin in Maxingshigan Oral Liquid by HPLC

ZHANG An-yuan, LI You-zhi, ZHANG Chuan-jin, ZHANG Cheng-jun, LIU Dao-zhong

(Institute of Veterinary Drug Quality Inspection of Shandong Province, Jinan 250022, China)

**Abstract:** A detection method of ephedrine hydrochloride and pseudoephedrine hydrochloride and amygdalin in Maxingshigan oral liquid. It was established by HPLC. Samples directly diluted by initial mobile phase. High performance liquid chromatography with diode array detector. Photodiode array detector wavelength range was 200~400 nm, The recorded wave length was 210 nm, The flow rate was 1 mL/min, The injection volume was 10 μL. Ephedrine hydrochloride and pseudoephedrine hydrochloride and amygdalin were linear within the range of 0.5~200 μg/mL ( $r^2 = 0.9993, r^2 = 0.9997$ ), and 0.5~200 μg/mL ( $r^2 = 0.9992$ ) respectively. The recoveries of ephedrine hydrochloride and pseudoephedrine hydrochloride and amygdin were 92.16% ( $RSD = 0.53%$ ) and 92.03% ( $RSD = 1.08%$ ) and 90.24% ( $RSD = 3.20%$ ) ( $n = 6$ ), respectively. The method was accurate and simultaneous analysis, which can be provided a reliable way for the quality control Maxingshigan oral liquid.

**Key words:** HPLC; Maxingshigan oral liquid; ephedrine hydrochloride; pseudoephedrine hydrochloride; amygdalin

麻杏石甘口服液是由麻黄、杏仁、石膏、甘草这 4 味中药经过现代提取工艺而成的口服液制剂。麻黄为本方的君药,所含有效成分盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱为拟肾上腺类药物,是国家规定的需要严格控制的毒、麻类药品<sup>[1]</sup>,具有发汗散寒,宣肺平喘,利水消肿的作用。且近年来有关麻黄生物碱类毒副作用报道日趋增多<sup>[2]</sup>,严格控制含量势在必行。苦杏仁苷是苦杏仁的主要有效成分,止咳平喘,协助麻黄,为佐药<sup>[3]</sup>。《中国兽药典 2015 年版二部》仅有薄层色谱技术鉴别麻黄碱及甘草的存在与否,缺少麻黄和苦杏仁两种主药成分含量控制指标,目前尚未有应用 HPLC 同时检测麻杏石甘口服液中各组分的报道,建立一种快速、可靠、易行的检测方法具有十分重要意义。研究首次建立 HPLC 在同一色谱体系中对含量测定方法,可更好控制本制剂的内在质量。

## 1 材料与方法

1.1 仪器与设备 高效液相色谱仪 Waters 2695 (配二极管阵列检测器 2998); AE-240 电子天平 (瑞士 Mettler Toledo 公司); KQ-250DB 超声仪 (昆山市超声仪器有限公司);

1.2 试药与试剂 盐酸麻黄碱 (批号: 171241-201007, 含量 99.7%); 盐酸伪麻黄碱对照品 (171237-201510, 含量 99.8%); 苦杏仁苷对照品 (110820-201607, 含量 90.7%); 均购自中国食品药品检定研究院。乙腈 (Merck, 色谱纯,) 磷酸 (分析纯, 国药集团化学试剂有限公司); 水为超纯水。

### 1.3 检测方法

1.3.1 色谱条件 色谱柱为 waters Eclispo XDB-118 C18 柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相 A: 乙腈; 流动相 B: 0.1% 磷酸溶液 (含 0.3% 三乙胺, 用磷酸调节 pH 值至 3.0)<sup>[2]</sup>, 按表 1 进行梯度洗脱; 流速 1.0 mL/min; 进样量 10 μL; 柱温为 30 °C。检测波长范围 210 nm。

1.3.2 阴性对照溶液 按麻杏石甘口服液处方比例精确称取药材 (麻黄、杏仁除外), 按照制备工艺制成阴性样品溶液后<sup>[4]</sup>, 照“2.2.3”项下方法处理

制成空白样品溶液。

表 1 梯度洗脱条件表

时间/min	A/%	B/%
0	5	95
30	5	95
35	8	92
50	8	92
55	5	95

1.3.3 混合对照品溶液 精密称取盐酸麻黄碱, 盐酸伪麻黄碱, 苦杏仁苷对照品适量, 加初始比列流动相配制成浓度为 200 μg/ml 的混合对照品溶液。0.22 μm 微孔滤膜滤过, 即得。

1.3.4 标准工作液的制备 取适量 2.2.1 项下溶液, 用初始流动相稀释, 制备成系列浓度为: 0.5、1、5、12.5、25、50、100、200 μg/mL 标准工作液, 绘制标准曲线。

1.3.5 供试品溶液制备 取样品充分振摇, 混匀, 精密量取 1 mL, 置 25 mL 量瓶中, 加初始流动相至刻度, 超声 (120 W, 40 kHz) 处理 30 min, 放冷, 用流动相补足至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 0.22 μm 微孔滤膜滤过, 即得<sup>[5]</sup>。

1.3.6 阳性添加样品 精密量取 1.3.2 项下阴性样品溶液 2 mL, 分别精密加入各成分对照品, 平行 6 份, 混合均匀, 按 1.3.5 项下方法制成阳性添加样品溶液。

## 2 结果与分析

2.1 色谱图 通过阴性对照溶液和阳性添加试验排除各制剂中主要成分与辅料对被测物的干扰。分别精密量取 1.3.2、1.3.3、1.3.5 项下溶液各 10 μL, 照 1.3.1 项下色谱条件, 记录色谱图与光谱图。结果显示, 混合对照品溶液中盐酸麻黄碱的保留时间约为 8.289 min, 盐酸伪麻黄碱与苦杏仁苷的保留时间约为 10.294、40.683 min, 与供试品三组峰出峰时间相吻合, 峰分离度好, 辅料峰也不在三组成分峰处出峰 (图 1~图 3)。

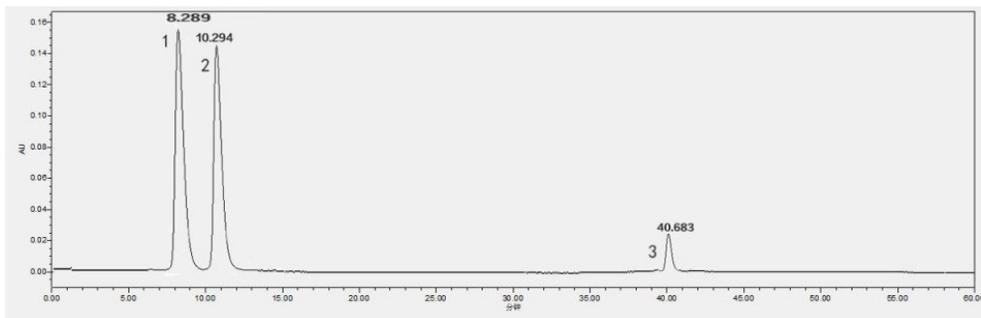


图 1 混合对照品溶液 (1 盐酸麻黄碱, 2 盐酸伪麻黄碱 3 苦杏仁苷)

Fig 1 Mixed control solution

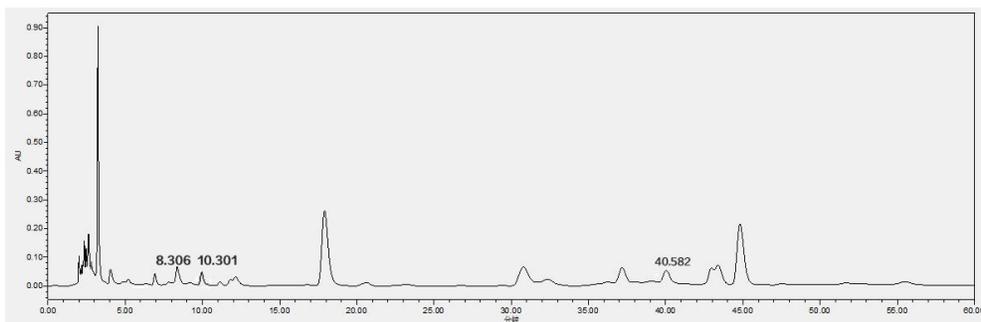


图 2 供试品溶液

Fig 2 sample solution

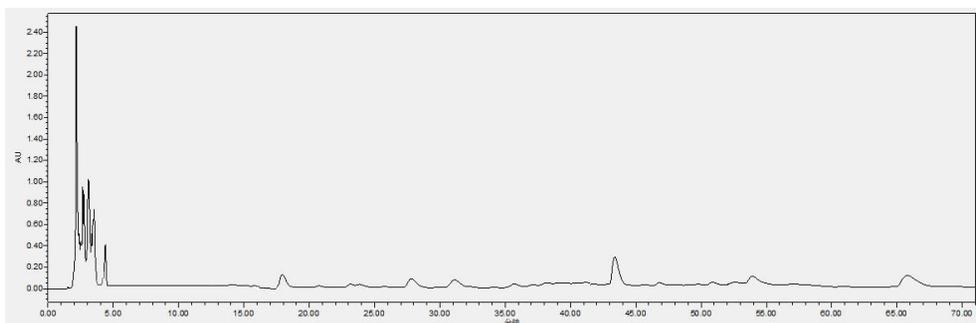


图 3 阴性对照溶液

Fig 3 Negative contrast solution

2.2 方法线性考察 分别精密量取 1.3.4 项下各浓度工作液 20  $\mu\text{L}$ , 照 1.3.1 项色谱条件下注入仪器, 以浓度 ( $\mu\text{g}$ ) 为横坐标 ( $X$ ), 峰面积为纵坐标 ( $Y$ ), 计算回归方程  $Y_{\text{盐酸麻黄碱}} = 19612X + 9440.4, R^2 = 0.9993$ ;  $Y_{\text{盐酸伪麻黄碱}} = 20095x + 949.14, R^2 = 0.9997$ ;  $Y_{\text{苦杏仁苷}} = 6714x - 29014, R^2 = 0.9992$ 。结果表明, 盐酸麻黄碱, 盐酸伪麻黄碱在 0.5 ~ 200  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 苦杏

仁苷在 5 ~ 200  $\mu\text{g}/\text{mL}$  浓度范围内与其对应的峰面积有良好的线性关系。

2.3 精密度试验 精密吸取混合对照品溶液 10  $\mu\text{L}$  注入色谱仪, 连续进样 6 次。以峰面积计算, 得出盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱, 杏仁苷的  $RSD$  分别为 2.23%, 2.52%, 3.02%。表明仪器精密度良好, 符合检测要求。

2.4 重复性试验 同批供试品(批号为 20180101, 山东某兽药生物科技有限公司提供), 按 1.3.5 项下制备 6 份样品溶液, 分别注入液相色谱仪, 计算盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱、苦杏仁苷含量, *RSD* 分别为 1.2%、1.6%、2.0%, 说明该方法重现性好, 含量稳定。

2.5 稳定性试验 取 1.3.5 项下同一供试品溶液(批号: 20180101), 室温下每隔 3 h 连测 8 次, 进样

体积 20  $\mu\text{L}$ , 盐酸麻黄碱, 盐酸伪麻黄碱, 苦杏仁苷峰面积 *RSD* 分别为 0.81%、0.82%、0.92%, 表明本制剂在制备后的 24 h 内成份较稳定。

2.6 回收率试验 取 1.3.6 项下溶液 2 mL, 按 1.3.1 项下条件测定盐酸麻黄碱, 盐酸伪麻黄碱, 苦杏仁苷含量。回收率在 90.24~92.16% 之间, 变异系数在 0.53%~3.20% 之间, 结果见表 2~表 4。表明该方法回收率较好, 准确度和精密度可以满足检测需求。

表 2 盐酸麻黄碱回收率试验 ( $n=6$ )

Tab 2 The result of the recovery rate of ephedrine hydrochloride

成分名称	添加量/mg	测量值/mg	回收率/%	平均回收率/%	<i>RSD</i> /%
盐酸麻黄碱	0.6426	0.5912	92.00	92.16	0.53
	0.6402	0.5913	92.36		
	0.6435	0.5904	91.75		
	0.6412	0.5958	92.92		
	0.6408	0.5884	91.82		
	0.6492	0.5958	91.77		

表 3 盐酸伪麻黄碱回收率试验 ( $n=6$ )

Tab 3 The result of the recovery rate of pseudoephedrine hydrochloride

成分名称	添加量/mg	测量值/mg	回收率/%	平均回收率/%	<i>RSD</i> /%
盐酸伪麻黄碱	0.8126	0.7546	92.86	92.03	1.08
	0.8224	0.7541	91.70		
	0.8328	0.7762	93.20		
	0.8167	0.7421	90.87		
	0.8452	0.7690	90.98		
	0.8327	0.7707	92.56		

表 4 苦杏仁苷回收率试验 ( $n=6$ )

Tab 4 The result of the recovery rate of amygdalin

成分名称	添加量/mg	测量值/mg	回收率/%	平均回收率/%	<i>RSD</i> /%
苦杏仁苷	0.9601	0.8753	91.17	90.24	3.20
	0.9623	0.8839	91.85		
	0.9637	0.8138	84.45		
	0.9645	0.8814	91.38		
	0.9658	0.8746	90.56		
	0.9668	0.8898	92.04		

2.7 样品测定 按照 1.3.5 项下条件配制不同批号供试品溶液,进样,测定,计算。结果见表 5。该方法稳定,适合检测需求。

表 5 样品测定结果( $n=6$ )

Tab 5 The result of the sample content

批号	盐酸麻黄碱/mg	盐酸伪麻黄碱/mg	苦杏仁苷/mg
20180101	0.8126	0.5132	0.3621
20180102	0.8145	0.5046	0.3645
20180103	0.8172	0.5314	0.3682

2.8 检出限和定量限 “1.3.2”项下溶液色谱图显示无麻黄碱及苦杏仁苷及其他成分干扰,分别添加浓度 2.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$  盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱对照品,12.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$  苦杏仁苷对照品,显示信噪比( $S/N$ ) $>3$ ,故确定为方法的检出限。添加浓度 12.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$  盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱对照品,65  $\mu\text{g}/\text{mL}$  苦杏仁苷对照品,信噪比( $S/N$ ) $>10$ ,作为此方法定量限。

### 3 讨论与结论

3.1 流动相的选择 苦杏仁苷和麻黄碱的测定中,流动相的使用有多种,由于苦杏仁苷和麻黄碱在 207、210 nm 波长分别有最大吸收波长,但是甲醇在 210 nm 的末端波长处有少量紫外吸收,对准确测定结果具有一定的影响,改用在末端波长吸收较小的乙腈替换甲醇做流动相,基线更加平稳<sup>[6]</sup>。故考察以下 5 种有机相成分为乙腈的组成及比例:乙腈-0.1%磷酸溶液(5:95)<sup>[7]</sup>、乙腈-0.2%磷酸溶液(5:95)<sup>[8]</sup>、乙腈-0.1 mol/L 磷酸二氢钾溶液(含 0.1%三乙胺,磷酸调节 Ph3.0)(4.5:95.5)<sup>[9]</sup>、乙腈-0.1 mol/L 磷酸盐缓冲液(10:90)<sup>[10]</sup>、乙腈-1%磷酸(3:97)<sup>[11]</sup>。优化筛选后发现乙腈-0.1%磷酸溶液流动相中添加 0.3%三乙胺,磷酸调节 pH 值至 3.0,可使制剂中麻黄碱和伪麻黄碱分离良好,峰形佳,并无拖尾及其它杂质峰的干扰。此外,为了扩大方法的适用范围,综合考虑苦杏仁苷的出峰时间不能太晚且与其它物质能完全分离,采用了梯度洗脱,论证了三组不同比例乙腈-0.1 磷酸溶液对苦杏仁苷峰的影响,使用流动相乙腈-0.1%磷酸溶

液(8:92)梯度洗脱,流速控制在 0.8 mL/min,与杂质峰分离度较好,峰形对称。故此流动相能够使待测三种成分较好分离,分析时间控制在 55 min 内,准确度高,重现性好。

3.2 色谱柱的选择 《中国兽药典》2015 年版二部中要求麻黄项下对麻黄碱伪麻黄碱测定中使用极性乙醚连接苯基键合硅胶柱,造价高,未使用。使用不同型号的 ZORBAX SB C18<sup>[12]</sup>、(250 mm $\times$ 4.6 mm,5  $\mu\text{m}$ )、Wonda-Sil C18(250 mm $\times$ 4.6 mm,5  $\mu\text{m}$ )<sup>[6]</sup>、Waters Eclispro XDB-118 C18 柱(250 mm $\times$ 4.6 mm,5  $\mu\text{m}$ )进行比较,后者普通 C18 柱即可满足三组成分同时进行测定的需求。

3.3 供试品溶液前处理 供试品溶液的制备过程中先后使用 1 mol/L 盐酸-20%乙醇(1:10)萃取<sup>[13]</sup>; AB-8 大孔树脂(内径 10-15mm)水洗脱<sup>[14]</sup>; 乙醚振摇<sup>[8]</sup>等提取方法、提取溶剂、提取时间进行考察;结果表明以上几种处理方法繁琐,重现性差。考虑到麻黄碱及苦杏仁苷的溶解性,使用初始流动相超声(功率 120 W,40 kHz)处理样品溶液 30 min,样品过滤后直接进样,操作简单,有效成分能够较完全提取。符合中药质量评价偏向于样品前处理简单,重复性高,成本低、效率高的发展方向<sup>[15]</sup>。

3.4 柱温的确定 对 25  $^{\circ}\text{C}$ 、30  $^{\circ}\text{C}$ 、35  $^{\circ}\text{C}$  柱温进行比较试验,30  $^{\circ}\text{C}$  柱温时,基线平稳,系统柱压稳定,出峰时间稳定,因此 30  $^{\circ}\text{C}$  柱温符合检测要求。

3.5 结论 使用 HPLC、UPLC 同时测定中药材中多种成分是控制质量的有效方法之一<sup>[16-17]</sup>,建立的方法可以同时分离 3 种有效成分后进行定量分析,前处理快速准确,实用性强,可用于盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱、苦杏仁苷的含量测定,为快速有效地控制麻杏石甘口服液的质量提供新的方法。

### 参考文献:

- [1] 邱燕. HPLC 测定防风通圣颗粒中盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱含量. [J]. 海峡药学,2018,30(1):75-77.  
Qiu Y. Determination of Ephedrine Hydrochloride and Pseudoephedrine Hydrochloride in Fang Feng Tong Sheng Granules by HPLC [J]. Strait Pharmaceutical Journal, 2018,30(1):75-77.
- [2] 丁丽丽,施松善,崔健,等. 麻黄化学成分与药理作用研究进展[J]. 中国中药杂志,2006,31(20):1661-1664.

Ding L L, Shi S S, Cui J, *et al.* Advances in the study of chemical constituents and pharmacological effects of Ephedra [J]. China Journal of Chinese Material Medica, 2006, 31(20):1661-1664.

[3] 宋华斌, 焦莉, 杨宝彦. 麻杏石甘口服液在畜禽中的应用[J]. 北方牧业, 2015, 3(3):27.

Song H B, Jiao L, Liu B Y, *et al.* The work of MaXingShiGan oral liquid in livestock and poultry [J]. Northern Pasture, 2015, 3(3):27.

[4] 中华人民共和国兽药典委员会. 中华人民共和国兽药典 2015 年版兽药典[S].

China Veterinary Pharmacopoeia 2015.

[5] 许贵军, 齐威, 王雪松, 等. HPLC 法同时测定抗支糖浆中盐酸麻黄碱和苦杏仁苷的含量[J]. 中国药师, 2018, 21(3):499-501.

Xu G J, Qi W, Wang X S, *et al.* Simultaneous Determination of Ephedrine Hydrochloride and Amygdalin in Kangzhi Syrup by HPLC[J]. China Pharmacist, 2018, 21(3):499-501.

[6] 陈繁华, 曾玉梅. 对《中国药典》麻黄含量测定方法的改进[J]. 今日药学, 2016, 26(2):110-112.

Chen F H, Zen Y M, Improvement of determination method of Ephedra in Chinese Pharmacopoeia[J]. Pharmacy Today, 2016, 26(2):110-112.

[7] 田杰, 王仲艳, 宁娱, 等. 高效液相色谱法测定“强力五虎合剂”中苦杏仁苷和盐酸麻黄碱的含量[J]. 宁夏医学杂志, 2016, 38(4):332-334.

Tian J, Wang Z Y, Ning Y, *et al.* Determination of strength tigers Mixture amygdalin and ephedrine hydrochloride HPLC[J]. Ningxia Medicine Journey, 2016, 38(4):332-334.

[8] 张新军, 梁瑞雪, 周胜红, 等. HPLC 测定荆桔抗感合剂中盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱的含量[J]. 药学研究, 2016, 35(4):209-211.

Zhang X J, Liang R X, Zhong S H, *et al.* Determination of ephedrine hydrochloride and pseudoephedrine hydrochloride in Jingjie Kanggan Mixture by HPLC [J]. Journal of Pharmaceutical Research. 2016, 35(4):209-211.

[9] 吕剑豪, 张海平, 高小川, 等. HPLC 法测定麻杏止咳片中盐酸麻黄碱及盐酸伪麻黄碱的含量[J]. 中药材, 2015, 38(12):2626-2627.

Lv J H, Zhang H P, Gao X C, *et al.* Determination of ephedrine hydrochloride and pseudoephedrine hydrochloride in MaXingShiGan tablets by HPLC Journal of Chinese Medicinal Materials. 2015, 38(12):2626-2627.

[10] 郝桂清. 高效液相色谱法测定盐酸麻黄碱原料的含量[J]. 中国医药指南, 2018, 15(18)40-41.

Hao G Q. Determination of content of ephedrine hydrochloride raw materials by HPLC[J]. Guide of China Medicine, 2018, 15(18)40-41.

[11] 李存金, 郭飞宇, 杨建冬, 等. HPLC 测定小儿热咳口服液中的盐酸麻黄碱[J]. 华西药理学杂志, 2016, 31(4):420-421.

Li C J, Guo F Y, Yang J D. Determination of content of ephedrine hydrochloride of Xinerekekoufuye by HPLC[J]. West China journal of pharmaceutical sciences. 2016, 31(4):420-421.

[12] 高瑞敏, 王萍. HPLC 法对于小儿清热止咳口服液中盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱含量的检测结果分析[J]. 中国实用医药, 2013, 8(35):232-234.

Gao R M, Wang P. Analysis of test results for hydrochloric acid jubeikechuanning oral ephedrine and pseudoephedrine hydrochloride by HPLC [J]. Chinese Practical Medicine, 2013, 8(35):232-234.

[13] 王卫, 马霞, 黄一帆. HPLC 法测定麻杏石甘散超微粉中盐酸麻黄碱及盐酸伪麻黄碱的含量[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2015, 4:241-243.

Wang W, Ma X, Huang Y F. Determination of ephedrine hydrochloride and pseudoephedrine hydrochloride in Ma Xing Shi Gan San ultrafine powder by HPLC [J]. Heilongjiang Animal Science and Veterinary Medicine, 2015, 4:241-243.

[14] 刘睿, 王宁, 刘志辉. RP-HPLC 同时测定宣肺止咳口服液中盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱及苦杏仁苷含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(16):91-93.

Liu R, Wang N, Liu Z H. Simultaneous determination of ephedrine hydrochloride in Xuan Fei Zhike oral liquid Content of pseudoephedrine hydrochloride and amygdalin hydrochloride [J]. Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae, 2011, 17(16):91-93.

[15] 陆超, 吴磊, 刘志辉. 多指标正交试验优选鼻敏感颗粒提取工艺[J]. 现代中药研究与实践, 2015(5):56-58.

Lu C, Wu L, Liu Z H. Optimization of extraction technology of nasal sensitive granules by multi index orthogonal test [J]. modern Chinese medicine research and Practice [J]. Research and practice of modern Chinese medicine, 2015(5):56-58.

[16] Zhao X S, Xie L W, Wu H F, *et al.* Analysis of six bioactive components in Semen Ziziphi Spinosae by UPLC-ELSD and UPLC-Q/TOF-MS [J]. Anal Methods, 2014, 6:5856-5863.

[17] Kong W J, Wen J, Yang Y H, *et al.* Simultaneous targeted analysis of five active compounds in licorice by ultra-fast liquid chromatography coupled to hybrid linear-ion trap tandem mass spectrometry [J]. Analyst, 2014, 139:1883-1894.