

# HPLC法测定罗浮山风湿膏药中盐酸麻黄碱的含量

杨家彬<sup>1\*</sup>,张先平<sup>2#</sup>,吴世平<sup>1</sup>,龚少智<sup>1</sup>(1.荆州市第一人民医院皮肤科,湖北荆州 434000;2.荆州市第一人民医院药学部,湖北荆州 434000)

中图分类号 R284.1;R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)21-2994-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.21.41

**摘要** 目的:建立测定罗浮山风湿膏药中盐酸麻黄碱含量的方法。方法:采用高效液相色谱法。色谱柱为Eclipse XDB-C<sub>18</sub>,流动相为乙腈-0.1%磷酸溶液(9:91, V/V),流速为1.0 ml/min,检测波长为207 nm,柱温为40 ℃,进样量为5 μl。结果:盐酸麻黄碱进样量在81.6~408 ng范围内与其峰面积呈良好的线性关系( $r=0.9997$ ),精密性、稳定性、重复性试验的RSD均<2%,平均加样回收率为96.73%,RSD为1.9%( $n=6$ )。结论:该方法快速、准确,适用于罗浮山风湿膏药中盐酸麻黄碱的含量测定。

**关键词** 罗浮山风湿膏药;盐酸麻黄碱;高效液相色谱法;含量测定

## Content Determination of Ephedrine Hydrochloride in Luofu Mountain Rheumatism Plaster by HPLC

YANG Jia-bin<sup>1</sup>, ZHANG Xian-ping<sup>2</sup>, WU Shi-ping<sup>1</sup>, GONG Shao-zhi<sup>1</sup>(1.Dept. of Dermatology, the First People's Hospital of Jingzhou City, Hubei Jingzhou 434000, China; 2.Dept. of Pharmacy, the First People's Hospital of Jingzhou City, Hubei Jingzhou 434000, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish a method for the content determination of ephedrine hydrochloride in Luofu mountain rheumatism plaster. METHODS: HPLC was performed on the column of Eclipse XDB-C<sub>18</sub> with the mobile phase of acetonitrile-0.1% phosphoric acid (9:91, V/V), at the flow rate of 1.0 ml/min. The detection wavelength was 207 nm, the column temperature was 40 ℃, and the volume was 5 μl. RESULTS: The linear range of ephedrine hydrochloride was 81.6-408 ng( $r=0.9997$ ); RSDs of precision, stability and repeatability tests were lower than 2%; and the average recovery rate was 96.73% (RSD=1.9%,  $n=6$ ). CONCLUSIONS: The method is fast and accurate, and can be used for the content determination of ephedrine hydrochloride in Luofu mountain rheumatism plaster.

**KEYWORDS** Luofu mountain rheumatism plaster; Ephedrine hydrochloride; HPLC; Content determination

罗浮山风湿膏药为摊于布或纸上的黑膏药,由金钱白花蛇、七叶莲、过岗龙、麻黄、三七、油松节等41味药品组成,具有驱风除湿、消肿止痛的功效,用于治疗风湿性关节炎、类风湿性关节炎、坐骨神经痛、外伤肿痛<sup>[1]</sup>。其来源于中药传统古方,药味组成较多,现有的检测标准为原卫生部药品标准<sup>[2]</sup>,但其仅规定了性状和检查项,不能对药品质量进行有效控制。笔者对罗浮山风湿膏药主要有效成分麻黄进行研究,测定其中盐酸麻黄碱的含量,以期完善国家药品标准提供参考依据。

## 1 材料

### 1.1 仪器

LC-20A型HPLC仪,包含真空在线脱气机、四元泵、自动进样器、柱温箱、二极管阵列检测器和ChemStation工作站(日本岛津公司);FA2004型电子分析天平(上海天平仪器厂);AB204-N型电子分析天平(瑞士Mettler-Toledo公司);650Y型超声波提取仪(上海比朗仪器制造有限公司)。

### 1.2 药品与试剂

罗浮山风湿膏药(广东罗浮山国药股份有限公司,批号:6L30201、8M30502、6M30602、3H20404、3H20406、5M10303,规格:5 g/张);盐酸麻黄碱对照品(中国食品药品检定研究院,

批号:171237-201211,纯度:98.6%);甲醇、乙腈等为色谱纯,乙醇、盐酸均为分析纯,水为纯化水。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

色谱柱:Eclipse XDB-C<sub>18</sub>(150 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:乙腈-0.1%磷酸溶液(9:91, V/V);流速:1.0 ml/min;检测波长:207 nm;柱温:40 ℃;进样量:5 μl。

### 2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液 取盐酸麻黄碱对照品适量,精密称定,用甲醇制成60.0 μg/ml的对照品贮备液。精密吸取贮备液1 ml,置于10 ml量瓶中,用甲醇定容至刻度,制成每1 ml含盐酸麻黄碱6.0 μg的对照品溶液<sup>[2]</sup>。

2.2.2 供试品溶液 刮取罗浮山风湿膏药适量,精密称定2.0 g于150 ml锥形瓶中,精密加入乙醇25 ml,超声(功率:300 W,频率:28 kHz)处理20 min,用乙醇补足减失的质量,滤过,取滤液,精密吸取5 ml,加入固相萃取柱(以混合型阳离子交换反向吸附剂为填充剂的固相商品柱,规格:6 cc/200 mg, 30 μm; 6 cc/150 mg, 30 μm,用甲醇、水预洗)中,依次用0.1 mol/L盐酸溶液和甲醇各5 ml洗脱,弃去洗脱液,放置5 min,继续用甲醇-浓氨试液(19:1, V/V)的混合溶液5 ml洗脱,收集洗脱液,用盐酸甲醇混合溶液(盐酸1 ml,用甲醇定容至1 000 ml)定容至10 ml量瓶中,得到供试品溶液<sup>[3-4]</sup>。

2.2.3 阴性样品溶液 按照处方工艺,在投料中不添加麻黄,

\* 副主任医师。研究方向:皮肤病理及美容。电话:0716-8110120。E-mail:1501722375@qq.com

# 通信作者:副主任药师。研究方向:医院药学、临床药学。电话:0716-8112773。E-mail:476542485@qq.com

制得不含麻黄的罗浮山风湿膏药,然后按“2.2.2”项下方法制备,得到阴性样品溶液。

### 2.3 系统适用性试验

分别取“2.2”项下对照品溶液、供试品溶液、阴性样品溶液各5 μl,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录色谱图,详见图1。由图1可见,阴性样品溶液在对照品色谱峰所在位置无干扰峰,供试品溶液的主峰与其相邻色谱峰均能达到基线分离。麻黄碱和伪麻黄碱能良好分离,理论板数按盐酸麻黄碱计,应不得低于3 000,分离度应不小于1.5。

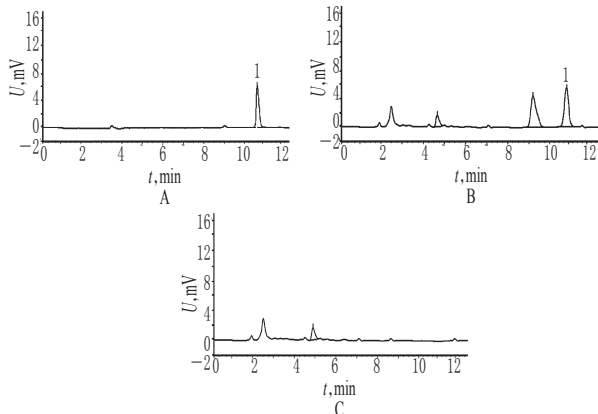


图1 高效液相色谱图

A.对照品;B.供试品;C.阴性样品;1.盐酸麻黄碱

Fig 1 HPLC chromatograms

A.reference; B.sample; C.negative samples; 1.ephedrine hydrochloride

### 2.4 线性关系考察

分别取盐酸麻黄碱对照品贮备液2.0、4.0、6.0、8.0、10.0 ml,置于10 ml量瓶中,用甲醇定容至刻度,按“2.1”项下色谱条件进样测定,以盐酸麻黄碱的进样量(x,ng)为横坐标、峰面积(y)为纵坐标进行线性回归,得回归方程为 $y=6\ 022.2x+8.01$  ( $r=0.999\ 7$ )。结果表明,盐酸麻黄碱进样量在81.6~408 ng的范围内与其峰面积呈良好的线性关系。

### 2.5 精密度试验

精密吸取“2.2.1”项下对照品溶液5 μl,按“2.1”项下色谱条件连续进样6次,记录峰面积。结果,盐酸麻黄碱峰面积的RSD为1.22%,表明仪器精密度良好。

### 2.6 稳定性试验

取同一份供试品(批号:8M30502)溶液适量,分别于放置0、1、2、4、8 h时,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果,盐酸麻黄碱峰面积的RSD为1.33%,表明供试品溶液在8 h内稳定性良好。

### 2.7 重复性试验

精密称取罗浮山风湿膏药样品(批号:8M30502)适量,按“2.2.2”项下方法制备6份供试品溶液,分别按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积,计算样品含量。结果,盐酸麻黄碱的平均含量分别为22.7 μg/g,峰面积的RSD为1.01%,表明本方法重复性良好。

### 2.8 加样回收率试验

称取已知含量的罗浮山风湿膏药(批号:8M30502)适量,剪碎,取约1.0 g,精密称定,共6份,固相萃取前,分别加入“2.2.1”项下对照品溶液1 ml,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积,计算加样

回收率,结果详见表1。

表1 加样回收率试验结果(n=6)

Tab 1 Results of recovery tests(n=6)

称样量, g	样品含量, μg	加入量, μg	测得量, μg	加样回收率, %	平均加样回收率, %	RSD, %
1.002 2	22.749 9	30	51.457 8	95.69		
1.003 7	22.784 0	30	51.609 9	96.09		
1.011 5	22.961 0	30	51.841 1	96.27	96.73	1.9
1.090 8	24.761 2	30	53.469 7	95.70		
1.086 8	24.670 4	30	53.522 4	96.17		
1.004 2	22.795 3	30	52.931 1	100.45		

### 2.9 样品含量测定

取6批样品各适量,每批次2份,按“2.2.2”项下要求制备供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积,计算样品含量,结果详见表2。

表2 样品含量测定结果(n=2)

Tab 2 Determination results of sample contents(n=2)

批号	盐酸麻黄碱含量, μg/g
6L30201	12.2
8M30502	22.7
6M30602	31.5
3H20404	22.6
3H20406	19.9
5M10303	20.5

## 3 讨论

### 3.1 提取条件的选择

本试验中考察了不同提取方法对分析结果的影响<sup>[5-12]</sup>:第一种参照文献<sup>[10]</sup>,用乙醇溶解后,精密量取5 ml,过大孔树脂柱,用50%乙醇洗脱,收集洗脱液,微孔滤膜滤过;第二种是将乙醇提取的溶液中,加入壳聚糖凝胶适量,充分搅匀,静置过夜,滤过。结果显示,这两种方法得到的结果,均低于本方法结果,而且本文方法所得色谱图杂质峰少、分离度好。故本试验选择本文中的固相萃取柱小柱提取。

### 3.2 流动相的选择

参照2010年版《中国药典》(一部)<sup>[2]</sup>及文献<sup>[8]</sup>,笔者分别考察了乙腈-0.1%磷酸(9:91, V/V)、乙腈-0.5%醋酸(12:88, V/V)及乙醇-5%醋酸(15:85, 36:64, V/V)等流动相系统,并根据分离情况,将流动相比例进行调整。结果显示,当流动相为乙腈-0.1%磷酸(9:91, V/V)时,麻黄碱的分离效果最佳,所以最终选择乙腈-0.1%磷酸(9:91, V/V)为本研究的流动相。

### 3.3 测定结果分析

罗浮山风湿膏中麻黄是其中的主药之一<sup>[1]</sup>,麻黄碱是其中的有效成分,针对此类药品中麻黄碱的含量测定的相关研究较少。本文比较分析不同的样品处理方法对分析结果的影响,选择了最优化的固相萃取小柱分析,建立了完整的麻黄碱含量测定方法学,为完善该药品的质量标准提供了参考。

综上所述,该方法快速、准确,适用于测定罗浮山风湿膏药中盐酸麻黄碱的含量。

## 参考文献

- [1] 郑虎占,董泽宏,余靖.中药现代研究与应用[M].北京:学苑出版社,1998:4 187.
- [2] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S].2010年版.北京:中国医药科技出版社,2010:876-877.
- [3] 卫生部药典委员会.中华人民共和国卫生部药品标准:中

# 大腹皮气相色谱指纹图谱质量控制研究

吴大章<sup>1\*</sup>, 苏泰安<sup>1</sup>, 代华均<sup>1</sup>, 吴品江<sup>2,3</sup>, 杨明<sup>3,4</sup>(1.太极集团重庆桐君阁药厂有限公司, 重庆 401366; 2.扬子江药业集团四川海蓉药业有限公司, 四川都江堰 611830; 3.成都中医药大学药学院, 成都 611137; 4.江西中医药大学药学院, 南昌 330004)

中图分类号 R284.1;R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)21-2996-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.21.42

**摘要** 目的:建立大腹皮石油醚部位气相色谱(GC)指纹图谱分析方法,为其质量评价提供依据。方法:采用GC法建立10批不同产地大腹皮石油醚部位的指纹图谱,并对指纹图谱数据进行聚类分析和相似度分析,研究大腹皮的GC指纹图谱的相似性。结果:建立了大腹皮的GC指纹图谱,标定了8个共有特征峰。各产地药材均有上述特征,但特征峰的相对峰面积存在一定差异。结论:GC指纹图谱分析法有良好的重现性和精密度,可作为大腹皮药材的质量控制方法。

**关键词** 大腹皮;气相色谱;指纹图谱;聚类分析

## Research on the Quality Control in Fingerprint of Areca Peel by Gas Chromatography

WU Da-zhang<sup>1</sup>, SU Tai-an<sup>1</sup>, DAI Hua-jun<sup>1</sup>, WU Pin-jiang<sup>2,3</sup>, YANG Ming<sup>3,4</sup>(1.Chongqing Tongjunge Pharmaceutical Factory Co., Ltd., Taiji Group, Chongqing 401366, China; 2.Yangtze River Pharmaceutical Group, Sichuan Hairong Pharmaceutical Co., Ltd, Sichuan Dujiangyan 611830, China; 3.College of Pharmacy, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China; 4.College of Pharmacy, Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish the gas chromatography (GC) fingerprint for the petroleum ether part of Areca peel and provide reference for the quality evaluation. METHODS: GC was conducted to establish the fingerprint for the petroleum ether part of Areca peel from 10 different areas, the cluster analysis and similarity of fingerprint data were conducted to study the similarity of GC fingerprint of Areca peel. RESULTS: There were totally 8 common peaks. All the medicine materials had the characteristics, but there were differences among the relative peak area. CONCLUSIONS: The GC fingerprint has high importance and precision and can be used for the quality control of Areca peel.

**KEYWORDS** Areca peel; Gas chromatography; Fingerprint; Cluster analysis

大腹皮是棕榈科植物槟榔 *Areca catechu* L. 的干燥果皮, 始载于《开宝本草》<sup>[1]</sup>。大腹皮是太极集团骨干品种藿香正气口服液的重要药材之一<sup>[2]</sup>。但大腹皮的质量控制除了显微鉴别没有其他的鉴别方法及手段。为了更好地控制药材质量, 笔者收集不同产地的10批大腹皮样品, 对其石油醚部位进行气相色谱(GC)分析研究, 建立大腹皮的GC指纹图谱, 并对不同产地的大腹皮药材指纹图谱进行解析。

## 1 材料

6890N GC系列气相色谱仪, 包括柱温箱、自动进样器、氢火焰离子化检测器(美国Agilent公司); 0.45 μm 针式微孔滤膜; BT224S型电子天平(德国Sartorius, 精度: 0.001 mg); KQ-250B型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

甲醇、氯仿、石油醚、正己烷等均为分析纯, 重庆川东化工集团公司生产。

药成方制剂: 第二十册[S]. 1999: 178.

[4] 朱敏英. HPLC法测定疮疗涂膜剂中盐酸麻黄碱的含量[J]. 湖北民族学院学报: 医学版, 2005, 22(3): 18.

[5] 魏文鹏. HPLC测定麻杏止咳糖浆中盐酸麻黄碱的含量[J]. 中成药, 2007, 29(3): 附4.

[6] 徐先祥, 孔树佳. 薄层扫描法测定哮喘平颗粒中盐酸麻黄碱含量[J]. 中国医院药学杂志, 2005, 25(7): 677.

[7] 杨万军, 张伟东, 孙良, 等. 正交试验法优选麻黄提取工艺[J]. 解放军药学学报, 2011, 27(2): 138.

[8] 吴晓云. 正交试验法优选麻黄的提取工艺研究[J]. 中草药, 2010, 41(5): 747.

[9] 钟凌云, 祝婧, 龚千锋. 多指标正交试验法优选麻黄蜜炙工艺[J]. 中药材, 2008, 32(8): 1126.

[10] 王淑美, 李淑芳, 梁生旺, 等. AB-8大孔吸附树脂纯化复方脑脉通有效部位的工艺研究[J]. 中成药, 2009, 31(1): 47.

[11] 邱华荣, 田吉, 冯文字, 等. 青银注射液中绿原酸与樟脑的含量测定[J]. 中成药, 2004, 26(8): 621.

[12] 姚瑶, 周卫, 丁逸梅. 固相萃取-高效液相色谱法测定紫杉醇脂质纳米粒体外释放度[J]. 中国药房, 2012, 23(7): 608.

(收稿日期: 2014-11-19 修回日期: 2015-01-03)

(编辑: 余庆华)

\*副主任中药师, 博士。研究方向: 中药生产新技术和新剂型、药品营销。电话: 023-88360223。E-mail: wdz100@163.com