高效液相色谱法测定哮喘片中盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱及苦杏仁苷的含量

邝林娟，毛国华，陈刚，李常伟

张家界市食品药品检验所，湖南 张家界 427000

［摘要］**目的：**采用高效液相色谱法测定哮喘片中盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱及苦杏仁苷的含量。**方法：**色谱柱为月旭 XB-C_{18}（4.6 mm×250 mm，5 μm），流动相为乙腈-0.2%磷酸水溶液（梯度洗脱），流速为 1.0 mL/min，检测波长为 210 nm，柱温为 30 ℃。**结果：**盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱、苦杏仁苷的质量浓度分别在 11.552～57.76 μg/mL（r=0.999 5）、7.664～38.32 μg/mL（r=0.999 6）、32.348～161.74 μg/mL（r=0.999 9）范围内与峰面积线性关系良好；平均加样回收率分别为 99.6%、99.2%、99.7%，RSD 分别为 0.35%、0.41%、0.28%（n=6）。**结论：**该方法简单、准确，重复性好，可用于哮喘片的质量控制。

［关键词］哮喘片；高效液相色谱法；含量测定；盐酸麻黄碱；盐酸伪麻黄碱；苦杏仁苷

［中图分类号］R284.1；R286.0 ［文献标志码］A ［文章编号］0256-7415（2023）05-0018-04

DOI：10.13457/j.cnki.jncm.2023.05.004

Determination of Ephedrine Hydrochloride, Pseudoephedrine Hydrochloride and Amygdalin in Xiaochuan Tablets by HPLC

KUANG Linjuan, MAO Guohua, CHEN Gang, LI Changwei

Abstract：Objective： To establish a HPLC method for the determination of ephedrine hydrochloride, pseudoephedrine hydrochloride and amygdalin in Xiaochuan Tablets. **Method：** The chromatographic column was Yuexu XB-C_{18} (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), the mobile phase is acetonitrile-0.2% phosphoric acid aqueous solution (gradient elution), the flow rate is 1.0 mL/min, the detection wavelength is 210 nm, and the column temperature is 30 ℃. **Results：** The mass concentrations of ephedrine hydrochloride, pseudoephedrine hydrochloride and amygdalin were 11.552-57.76 μg/mL (r=0.999 5), 7.664-38.32 μg/mL (r=0.999 6), 32.348-161.74 μg/mL (r=0.999 9). The linear relationship between peak area and the range is good. The average recoveries were 99.6%, 99.2% and 99.7%, respectively, with RSDs of 0.35%, 0.41% and 0.28% (n=6). **Conclusion：** The method is simple, accurate, reproducible and can be used for the quality control of Xiaochuan Tablets.

Keywords： Xiaochuan Tablets; High performance liquid chromatography; Content determination; Ephedrine hydrochloride; Pseudoephedrine hydrochloride; Amygdalin

哮喘片是湖南省张家界市慈利县中医医院研制的具有止咳平喘功效的中药复方制剂，用于支气管哮喘证属痰浊阻肺者[1]，在临床上取得了良好疗效。该方由麻黄、法半夏、黄芩、苦杏仁、板蓝根等 13 味中药组成，目前该方收载于《湖南省医疗机构制剂规范》（2016 年版）中，现行质量标准中仅有麻

［收稿日期］2022-06-14
［修回日期］2022-12-26
［作者简介］邝林娟（1981-），女，主管中药师，E-mail：63448436@qq.com。
［通信作者］李常伟（1989-），男，主管中药师，E-mail：340618314@qq.com。

黄、黄芩的薄层色谱鉴别以及部分中药的显微鉴别[1]，在质量控制中稍显不足。该方中麻黄性温、味辛苦，具有发汗散寒、宣肺平喘等功效，临床可用于治疗风寒感冒、支气管哮喘等病症，主要有效成分为多种生物碱，如麻黄碱、伪麻黄碱等[2]。苦杏仁性微温、味苦，具有止咳平喘、润肠通便等功效，是治疗哮喘的要药，主要有效成分为苦杏仁苷[2]。盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱、苦杏仁苷3种成分为哮喘片的止咳平喘功效的活性成分，因此将以上3种成分作为哮喘片的含量测定指标对哮喘片的质量控制具有重要意义。本试验中建立了一种高效液相色谱法可同时测定该药中盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱、苦杏仁苷的含量，为该药质量标准进一步提升提供参考。报道如下。

1 材料

1.1 仪器 安捷伦1260型高效液相色谱仪；XSE205型电子分析天平(梅特勒托利多，瑞士)；SB-5200D型超声波清洗器(功率360 W，频率40 kHz，宁波新芝生物科技)。

1.2 试药 所有对照品均购于中国食品药品检验研究院：盐酸麻黄碱对照品(纯度100%，批号171241-201809)、盐酸伪麻黄碱对照品(纯度99.8%，批号171237-201510)、苦杏仁苷对照品(纯度93.6%，批号110820-201004)。哮喘片(慈利县中医医院，批号20210304、20210602、20211208)，乙腈(进口，默克公司)，磷酸(优级纯，国药集团)，甲醇(分析纯，国药集团)，超纯水(自制，摩尔公司)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件[3] 以月旭XB-C_{18}(250 mm×4.6 mm，5 μm)为色谱柱；以乙腈(A)-0.2%磷酸水溶液(B)为流动相进行二元梯度洗脱(0～10 min，5% A；10～20 min，5% A→10% A；20～35 min，10% A→18% A；35～36 min，18% A→5% A；36～41 min，5% A)；波长为210 nm；柱温为30 ℃；流速为1.0 mL/min；进样量为10 μL。

2.2 溶液制备

2.2.1 混合对照品溶液 精密称取盐酸麻黄碱7.22 mg、盐酸伪麻黄碱9.60 mg，分别置于25 mL棕色容量瓶中，加甲醇定容至刻度，作为盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱对照品的贮备液。另精密称取苦杏仁苷对照品17.28 mg，置20 mL棕色容量瓶中，加甲醇溶解并定容，做为苦杏仁苷对照品的贮备液。再精密量取盐酸麻黄碱贮备液、苦杏仁苷贮备液各5.0 mL，盐酸伪麻黄碱贮备液2.5 mL，置同一25 mL的容量瓶中，加甲醇定容至刻度，摇匀，即得含盐酸麻黄碱57.76 μg/mL、盐酸伪麻黄碱38.32 μg/mL及苦杏仁苷161.74 μg/mL的混合对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液[4] 取哮喘片(批号为20211208)20片，用刀片刮去糖衣，称定基片的质量，研细。精密称取细粉约1.0 g，置具塞锥形瓶中，加入25.0 mL甲醇，称定质量，超声处理30 min，用甲醇补足减失的质量，用0.45 μm的滤膜滤过，取续滤液，即得。

2.2.3 阴性对照溶液 按哮喘片处方比例分别取缺麻黄、缺苦杏仁的药材粉末混合均匀，制成缺麻黄和缺苦杏仁的阴性对照样品，再按“2.2.2”制成阴性样品溶液。

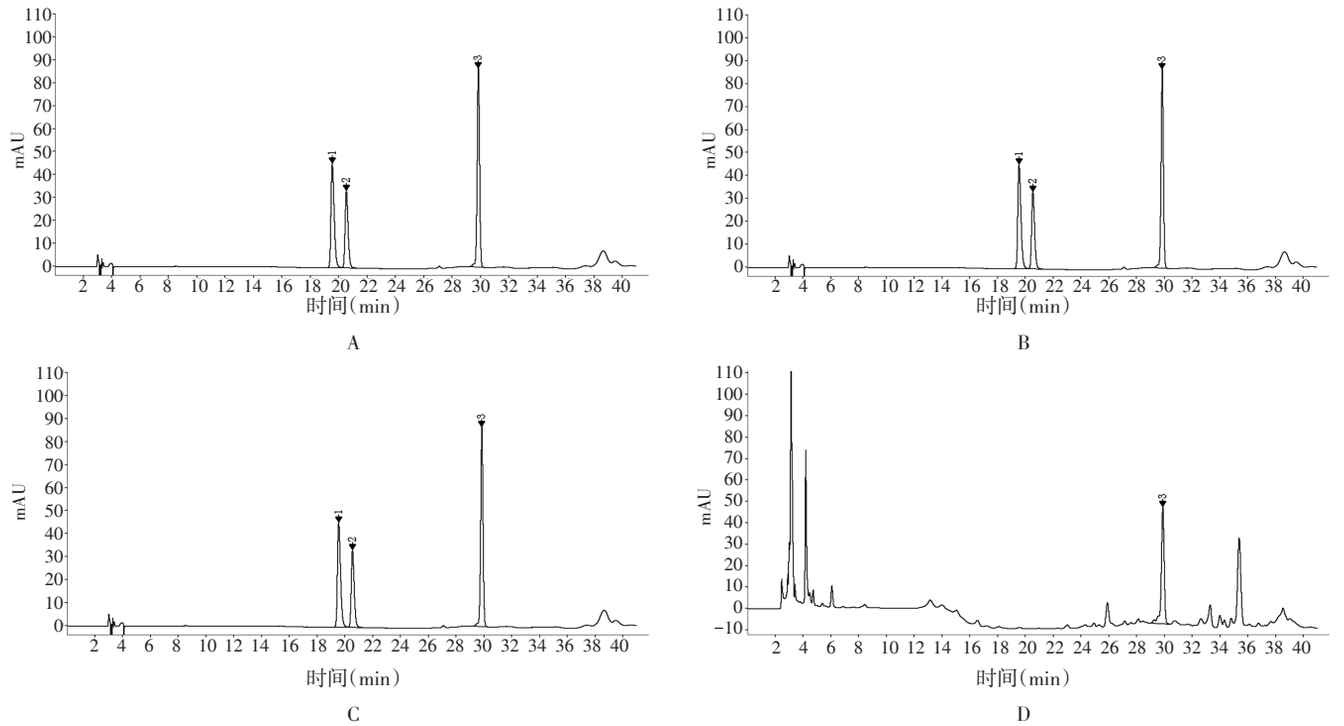
2.3 方法学考察

2.3.1 专属试验 见图1。按本试验中“2.1”项下的色谱条件，吸取“2.2”项下制备的3种溶液分别进样测定。结果可见样品溶液中盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱、苦杏仁苷3种色谱峰能与其他色谱峰获得较好的分离，分离度均大于1.5，且3种成分的理论塔板数均大于20 000，表明该方法专属性良好。

2.3.2 线性关系考察 精密吸取“2.2.1”项下制备的混合对照品溶液适量加甲醇制成盐酸麻黄碱质量浓度分别为11.552，23.104，34.656，46.208，57.760 μg/mL，盐酸伪麻黄碱浓度为7.664，15.328，22.992，30.656，38.320 μg/mL，苦杏仁苷浓度为32.348，64.696，97.044，129.392，161.740 μg/mL的系列混合对照品溶液。按规定的色谱条件进样测定，以待测成分质量浓度(X，μg/mL)为横坐标，峰面积(Y)为纵坐标，绘制各组分标准曲线，得回归方程[4]，盐酸麻黄碱为Y=21.612 04X-17.652 67(r=0.999 5，n=5)；盐酸伪麻黄碱为Y=20.607 97X+8.820 59(r=0.999 6，n=5)；苦杏仁苷为Y=10.570 13X-2.820 59(r=0.999 9，n=5)。结果表明，盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱、苦杏仁苷分别在11.544～57.76 μg/mL、7.664～38.32 μg/mL和32.348～161.74 μg/mL范围内与峰面积之间的线性关系良好。

2.3.3 精密度试验 吸取“2.2.1”项下制备的混合对照品溶液，按本试验中“2.1”项下的色谱条件连

续进样6针，测得盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱、苦杏仁苷峰面积的RSD分别为0.45%、0.75%、0.76%(*n*=6)，表明仪器精密度良好。



注：1. 盐酸麻黄碱；2. 盐酸伪麻黄碱；3. 苦杏仁苷。A. 混合对照品溶液图谱；B. 供试品溶液图谱；C. 缺苦杏仁的阴性对照品溶液图谱；D. 缺麻黄的阴性对照品溶液图谱。

图1　高效液相色谱图

2.3.4　重复性试验　取哮喘片(批号为20211208)，除去包衣，研细，精密称取试样6份，按“2.2.2”项下方法制备成供试品溶液，再按本试验中“2.1”项下的色谱条件进样测定含量。测得盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱、苦杏仁苷的平均含量分别为0.796 2 mg/mL、0.532 1 mg/mL、2.237 8 mg/mL，RSD分别为0.59%、0.44%、0.82%(*n*=6)，表明方法重复性良好。

2.3.5　稳定性试验　取同一供试品溶液(批号为20211208)，制备后分别置于室温下放置的0，2，4，8，16，24 h时，按“2.1”项下色谱条件进样测定。测得盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱、苦杏仁苷峰面积的RSD分别为0.56%、0.87%、0.68%(*n*=6)，试验证明本试验中制备的溶液在室温下放置24 h内稳定性良好。

2.3.6　加标回收率试验　见表1。精密称取已知含量的哮喘片(批号为20211208)6份，分别精密加入含盐酸麻黄碱0.378 2 mg/mL、盐酸伪麻黄碱

表1　哮喘片中3种成分加样回收率测定结果(*n*=6)

成分	样品量(g)	样品含量(mg)	加入量(mg)	测得量(mg)	X(%)	$\bar{X}$(%)	RSD(%)
A	0.501 2	0.398 9	0.378 2	0.776 3	99.79	99.6	0.35
	0.502 3	0.399 7	0.378 2	0.775 3	99.31		
	0.512 4	0.407 8	0.378 2	0.785 7	99.92		
	0.508 5	0.404 7	0.378 2	0.779 9	99.21		
	0.498 9	0.397 0	0.378 2	0.775 1	99.97		
	0.504 4	0.401 4	0.378 2	0.777 0	99.31		
B	0.501 2	0.266 9	0.255 4	0.521 3	99.61	99.2	0.41
	0.502 3	0.267 5	0.255 4	0.520 1	98.90		
	0.512 4	0.272 9	0.255 4	0.524 9	98.67		
	0.508 5	0.270 8	0.255 4	0.525 3	99.65		
	0.498 9	0.265 7	0.255 4	0.520 1	99.45		
	0.504 4	0.268 6	0.255 4	0.522 0	99.22		
C	0.501 2	1.122 0	1.124 1	2.246 3	100.02	99.7	0.28
	0.502 3	1.124 4	1.124 1	2.245 1	99.70		
	0.512 4	1.147 1	1.124 1	2.270 4	99.93		
	0.508 5	1.138 3	1.124 1	2.254 9	99.33		
	0.498 9	1.116 8	1.124 1	2.235 1	99.48		
	0.504 4	1.129 1	1.124 1	2.252 0	99.89		

注：A为盐酸麻黄碱；B为盐酸伪麻黄碱；C为苦杏仁苷。

0.255 4 mg/mL、苦杏仁苷 1.124 1 mg/mL 的混合对照品溶液 1.0 mL，加甲醇至 25 mL，按“2.2.2”项下制成加标回收溶液，按“2.1”项的色谱条件进样测定含量，计算各待测成分的加标回收率。

2.4　样品含量测定　见表 2。取 3 批哮喘片样品（批号为 20210304、20210602、20211208），按“2.2.2”项下的拟定的方法制备成供试品溶液，在“2.1”项下拟定的色谱条件进样，测定 3 种成分的含量。

表 2　样品含量测定结果（n=3）　mg/g

批　号	A	B	C
20210304	0.742 0	0.483 1	2.396 4
20210602	0.729 7	0.511 1	2.169 2
20211208	0.795 8	0.532 5	2.238 6

注：A 为盐酸麻黄碱；B 为盐酸伪麻黄碱；C 为苦杏仁苷。

3　讨论

3.1　测定条件的选择　检测波长的选择：对 3 种对照品溶液在 190～400 nm 波长段进行扫描，结果盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱、苦杏仁苷均在 210 nm 波长处有最大吸收，故选择检测波长 210 nm。

流动相的考察：本试验中对不同比例所配制出来的甲醇-0.1%磷酸水溶液、乙腈-0.1%磷酸溶液（含 0.1%氯化铵）、乙腈-磷酸水溶液[3-9]作为流动相进行考察，发现甲醇系统中盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱、苦杏仁苷的峰型较宽，拖尾严重；乙腈系统中，峰型有所改善，进一步调整磷酸比例及梯度洗脱程序，发现以乙腈与 0.2%磷酸溶液为流动相按拟定的色谱条件进行测定，效果较好。

样品提取条件的优化：根据参考文献[2-6]，本试验中选择了超声、加热回流 2 种提取方法进行样品考察，结果研究表明，加热回流提取 1h 与超声提取 1 h 的样品含量相比，超声提取的含量更高，故选择超声提取作为样品的提取。再分析了样品超声提取 20、30、40、50、60 min 的样品含量，结果对比表明超声 30 min 后 3 种成分含量无明显变化，故选择以超声 30 min 为超声提取时间。对 3 种提取溶剂（甲醇、50%甲醇、70%甲醇）进行分析比较，结果甲醇提取液更为澄清，容易过滤，且 3 种成分含量在 3 种溶剂中基本相同，故选择提取溶剂为甲醇。

3.2　含量测定结果分析　3 批样品中盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱的总量在 1.22～1.32 mg/g，苦杏仁苷在 2.17～2.40 mg/g，3 种成分的含量测定结果差异不大，表明这 3 批次样品的药材原料来源可能相同，生产工艺稳定。根据哮喘片的处方及制法，按《中华人民共和国药典》2020 年版一部中麻黄、苦杏仁的含量以最低限度进行折算，3 批次样品中盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱的总量及苦杏仁苷的含量均符合药典要求。本研究中因生产厂家一年只生产了 3 批次该产品，且有效期为一年，故收集到的样本批次偏少。下一步需收集更多批次样本进行测定，制定含量测定的合理限度范围，为哮喘片的质量标准提高提供参考。

综上所述，本试验中建立了一种高效液相色谱法可同时测定哮喘片中 3 种有效成分盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱、苦杏仁苷的含量。该方法操作简单、结果准确，可实现多成分控制哮喘片的质量。

［参考文献］

[1] 湖南省食品药品监督管理局. 湖南省医疗机构制剂规范（2016年版）[M]. 长沙：湖南科学技术出版社，2016：8.
[2] 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，2020：5.
[3] 张项，蔺千，唐玉婷. HPLC波长切换法同时测定小儿清热止咳口服液中8种成分的含量[J]. 中国药师，2019，22（8）：1531-1534.
[4] 李沁璇，杨芳. 高效液相色谱法同时测定三拗片中盐酸麻黄碱和苦杏仁苷的含量[J]. 中南药学，2011，9（1）：38-41.
[5] 胡英婕. HPLC测定小儿清肺化痰口服液中5种成分的含量[J]. 中国实验方剂学杂志，2015，21（13）：62-65.
[6] 方艳，罗颂，张晶，等. 一测多评法同时测定小儿麻苷颗粒中5种成分含量[J]. 中国药师，2018，21（3）：515-518.
[7] 程伟，赵万隆，纪世彬. HPLC法同时测定小儿麻甘颗粒中4种活性成分的含量[J]. 中国药物评价，2021，38（3）：209-212.
[8] 唐乔. HPLC法测定百咳静颗粒中8个成分的含量[J]. 药物分析杂志，2021，4（1）：147-153.
[9] 申丽莎，杨巧虹，杨帆，等. 高效液相色谱法同时测定射麻口服液中盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱的含量[J]. 中国药业，2021，9（5）：79-82.

（责任编辑：吴凌，李海霞）