

## SPE-HPLC 法测定强力枇杷露中盐酸可待因

巩晓宇, 陆燕萍, 邱凤邹

深圳市龙岗区人民医院, 广东 深圳 518172

**摘要:** 目的 建立反相高效液相色谱测定强力枇杷露中磷酸可待因的方法。方法 采用 Eclipse XDB-C<sub>18</sub> 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 乙腈-0.035 mol/L 醋酸钠溶液 (冰醋酸调 pH=3.5) (25:75) 为流动相, 体积流量为 1.0 mL/min, 检测波长为 240 nm, 柱温为 40℃。结果 磷酸可待因在 2.024~40.24 μg/mL 线性良好, 回归方程为  $y=8.18 \times 10^5 x + 12.2$  ( $r=0.9992$ ); 平均加样回收率为 98.2%, RSD 为 1.0% ( $n=6$ )。结论 该方法快速准确, 灵敏度高, 用于强力枇杷露中盐酸可待因含量测定, 控制药品质量。

**关键词:** 强力枇杷露; 盐酸可待因; 固相萃取; 高效液相色谱法

中图分类号: R927.2 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2017)05-0672-03

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2017.05.016

## Determination of SPE-HPLC Codeine Hydrochloride in Qiangli Pipa Syrup

GONG Xiao-yu, LU Yan-ping, QIU Feng-zou

People's Hospital of Longgang District, Shenzhen 518172, China

**Abstract: Objective** To establish the determination method of Codeine phosphate in Qiangli Pipa Syrup by RP-HPLC. **Methods** Using XDB-C<sub>18</sub> Eclipse column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), acetonitrile: 0.035 mol/L sodium acetate solution (glacial acetic acid to adjust pH = 3.5) (25: 75) as mobile phase, the flow rate was 1.0 mL/min, the detection wavelength is 240 nm, the column temperature is 40. **Results** the linear range of codeine phosphate in 2.024—40.24 μg/mL was good  $y = 8.18 \times 10^5 x + 12.2$  ( $r = 0.9992$ ); the average recovery rate was 98.2% and RSD was 1.0% ( $n = 6$ ). **Conclusion** This method is simple, rapid, accurate, and reliable, with high sensitivity, and could be applied to determination of Qiangli Pipa Syrup codeine hydrochloride content and controlment of the drug quality.

**Keywords:** Qiangli Pipa Syrup; codeine hydrochloride; solid phase extraction; high performance liquid chromatography

强力枇杷露为国家基本药物目录品种, 由枇杷叶、罂粟壳、百部、白前、桑白皮、桔梗、薄荷脑组成, 具有养阴敛肺、镇咳祛痰的功效, 用于咳嗽、支气管炎等。罂粟壳为主要君药之一, 盐酸可待因为其主要有效成分。

该药品检验标准收载于部颁标准<sup>[1]</sup>, 缺少相应的含量测定项, 文献中报道强力枇杷露含量测定的高效液相检测方法有很多<sup>[2-7]</sup>, 但实验发现, 常规的样品处理方法, 杂质干扰严重, 影响分析结果, 实验中尝试固相萃取处理样品, 可以去除样品中大部分干扰杂质, 以达到净化样品的目的, 提高含量分析的准确性, 起到有效控制药品质量的作用, 为进一步完善该药品的标准提供参考。

### 1 仪器与试剂

#### 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、PDA 检测器和 Chemstation 化学工作站(日本岛津公司); AB204-N 型电子分析天平(瑞士 Mettler-Toledo 公司); 650Y 型超声波提取仪(上海比朗仪器制造公司)。

#### 1.2 试剂

盐酸可待因对照品(中国食品药品检定研究院, 批号 20100602, 供含量测定用)。强力枇杷露: 江西药都樟树制药有限公司生产, 批号 150206、150306、150401; 葵花药业集团(佳木斯)有限公司, 批号 201504013; 广州白云山光华制药股份有

收稿日期: 2016-05-11

作者简介: 巩晓宇, 女, 主管中药师, 主要研究方向为中药鉴定与临床药物分析。

Tel: (0755)28932833-8131 E-mail: xiaoyu123126@163.com

限公司, 批号 T40088; 华润三九(南昌)药业有限公司, 批号 1501077J。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件的选择

色谱柱为 Eclipse XDB- $C_{18}$  (250 mm $\times$ 4.6 mm, 5  $\mu$ m); 流动相为乙腈-醋酸钠溶液(冰醋酸调 pH 值至 3.5) (25:75)。体积流量 1.0 mL/min; 检测波长 240 nm; 柱温 40 $^{\circ}$ C; 进样量 10  $\mu$ L。

### 2.2 对照品溶液的制备

精密称取对照品盐酸可待因 10.12 mg, 置 100 mL 量瓶中, 加甲醇溶液定容至刻度, 得到对照品储备液。再精密量取 5 mL, 置 25 mL 量瓶中, 加甲醇定容到刻度, 摇匀, 即得(盐酸可待因质量浓

度为 20.24  $\mu$ g/mL)。

### 2.3 供试品溶液的制备

精密吸取样品 25 mL, 加 25 mL 甲醇混匀, 超声处理 30 min, 过滤, 滤液经固相萃取小柱(使用前先活化: 取甲醇和纯化水适量, 交替淋洗多次), 用甲醇 25 mL 冲洗固相萃取小柱, 收集流出液, 甲醇定容置 100 mL 量瓶中, 即得。

### 2.4 专属性

分别取对照品溶液、供试品溶液、空白样品溶液各 20  $\mu$ L, 按上述色谱条件进样分析, 记录色谱图(图 1)。结果表明, 样品中的其他峰对盐酸可待因的测定没有干扰, 各峰分离度符合要求。

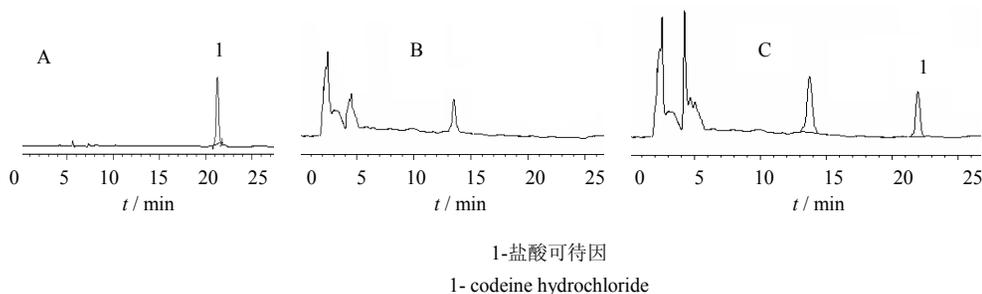


图 1 盐酸可待因对照品(A)、阴性样品(B)、强力枇杷露样品(C)色谱图

Fig. 1 Chromatogram of codeine hydrochloride reference (A), negative sample (B), and strong loquat syrup (C)

### 2.5 精密度试验

在上述色谱条件下, 取 2.2 项下对照品溶液, 连续进样 5 次, 根据盐酸可待因的色谱峰面积, 计算得到 RSD 均为 1.6%, 表明实验精密度良好。

### 2.6 重复性试验

取广州白云山光华制药股份有限公司样品 5 份(批号 1501077J), 每份 25 mL, 按“2.3”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, 记录色谱峰。结果, 盐酸可待因的平均含量为 12.5  $\mu$ g/mL, RSD=0.9% ( $n=5$ )。

### 2.7 线性范围

精密量取盐酸可待因对照品储备液 0.1、0.2、0.5、1.0、2.0 mL, 置 5 mL 量瓶中, 用 70% 甲醇定容至刻度, 采用“2.1”项下的色谱条件进样检测, 绘制标准曲线, 以质量浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标, 进行回归计算, 得到盐酸可待因标准曲线为:  $y=8.18 \times 10^5 x + 12.2$  ( $r=0.999 2$ )。结果表明盐酸可待因在 2.024~40.24  $\mu$ g/mL 线性关系良好。

### 2.8 稳定性试验

取同一批次(批号 1501077J)供试品溶液, 分

别于 0、1、4、8、24、48 h 进样 10  $\mu$ L, 记录色谱图, 测定峰面积, 盐酸可待因质量浓度的 RSD 值均为 1.0%, 表明样品在 48 h 内稳定性良好。

### 2.9 回收率试验

精密量取强力枇杷露样品(江西药都樟树制药有限公司, 批号 150206) 10 mL, 共 6 份, 置锥形瓶中, 共 6 份, 分别加入对照品溶液储备液 1 mL, 按照 2.3 项下方法制备供试品溶液并测定, 盐酸可待因的回收率结果见表 1。

### 2.10 样品中盐酸可待因的含量测定

取不同批次的强力枇杷露样品, 按照供试品溶液的制备方法得到供试品溶液, 按照外标法测定含量, 结果见表 2。

## 3 讨论

样品处理中, 选择固相萃取, 同时也比较了不同的样品处理方法的优劣<sup>[7-11]</sup>, 实验发现, 固相萃取法能较好的提纯样品, 杂质较少, 相对于回流提取、萃取法, 可以更好的改善色谱图质量, 提高分析的精密度和准确性。选择固相萃取方法, 也考察过流出曲线图。以甲醇冲洗, 每 5 mL 收集 1 份样

表1 加样回收率结果 (n=6)

Table 1 Results of sample recovery (n = 6)

样品含量/mg	加入量/mg	测得量/mg	回收率/%	平均值/%	RSD/%
0.125	0.1012	0.2244	98.22	98.02	1.0
0.125	0.1012	0.2241	97.92		
0.125	0.1012	0.2237	97.53		
0.125	0.1012	0.2236	97.43		
0.125	0.1012	0.2261	99.90		
0.125	0.1012	0.2233	97.13		

表2 样品中盐酸可待因的测定结果 (n=6)

Table 2 Results of determination of codeine hydrochloride in samples (n = 6)

生产厂家	批号	盐酸可待因/ ( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )
江西药都樟树制药有限公司	150206	12.5
	150306	13.1
	150407	13.6
葵花药业集团(佳木斯)有限公司	201504013	10.2
广州白云山光华制药股份有限公司	T40088	11.7
华润三九(南昌)药业有限公司	1501077J	17.2

品, 分别进样, 可以发现, 洗出液达到 20 mL 时, 样品已基本洗脱完全, 故供试品溶液中选择用甲醇 25 mL 洗脱基本能完全达到洗出的要求。

液相色谱条件中也进行了重复的考察, 采用 DAD 检测器, 确定盐酸可待因的最大吸收波长分别为 240 nm; 参照文献<sup>[7-11]</sup>, 流动相考察过乙腈-醋酸钠系统和甲醇-水-三乙胺-高氯酸系统, 结果表明乙腈-醋酸钠系统基线稳定性更佳, 各色谱峰分离良好。

从检测结果看, 各厂家样品中, 盐酸可待因的含量差别较大, 这是因为成品中盐酸可待因的含量与原料罂粟壳中盐酸可待因的含量直接相关。根据以上的试验结果, 综合考虑投料的影响, 初步建议样品中盐酸可待因的含量限度应不得低于 8.0  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

#### 参考文献

- [1] 中药成方制剂 [S]. 第二册. 1990.
- [2] 张生华. 强力枇杷露内控标准的探讨 [J]. 中成药, 1991, 13(08): 46.
- [3] 周建衡, 曾建伟. HPLC 法测定强力枇杷露(煎膏剂)中吗啡的含量 [J]. 中医药导报, 2008(09): 74-75.
- [4] 秦文杰, 马开, 高寒, 等. HPLC 测定强力枇杷露中罂粟碱的含量 [J]. 中国中药杂志, 2006(16): 28-30.
- [5] 张国跃, 乔蓉霞. 强力枇杷露质量标准研究 [J]. 医药导报, 2009(12): 105-106.
- [6] 李彬. 高效液相色谱法测定强力枇杷露中吗啡的含量 [J]. 现代中药研究与实践, 2009(02): 43-45.
- [7] 朱跃萍, 尹忠臣, 吕粦. 高效液相色谱法测定复方磷酸可待因口服液中 3 种有效成分的含量 [J]. 医药导报, 2011(10): 95-97.
- [8] 刘文炜, 高玉琼, 刘建华, 等. RP-HPLC 法同时测定哮喘片中吗啡、盐酸麻黄碱、磷酸可待因的含量 [J]. 药物分析杂志, 2009(05): 44-47.
- [9] 李敏, 张宝华, 孟灵华. 强力枇杷露鉴别方法的改进 [J]. 黑龙江医药, 2002(02): 42-44.
- [10] 朱长福, 同利琪, 由会玲, 等. 强力枇杷露的质量标准研究 [J]. 中草药, 2003(11): 46-48.
- [11] 金阳. RP-HPLC 法测定强力枇杷露中磷酸可待因的含量 [J]. 现代中药研究与实践, 2007(4): 42-44.