

# 风湿关节炎片中麻黄碱的 HPLC 测定

胡 爽, 李晓妮, 葛 新, 一 红\*

(山西医科大学药学院, 山西 太原 030001)

风湿关节炎片是由马钱子、麻黄、当归、苍术、红花、羌活等组成的中成药, 用于治疗风湿性关节炎和腰腿疼痛等症。方中麻黄属君药, 主要成分为多种生物碱, 指标成分左旋麻黄碱(1-ephedrine)除具有松弛平滑肌、抗菌、抗病毒、发汗解热和平喘作用外, 还能够提高中枢性痛觉阈值, 产生镇痛作用<sup>[1]</sup>, 是本方发挥疗效的重要成分。本实验对麻黄碱进行反相高效液相色谱分析, 以期为提高、完善风湿关节炎片的质量标准提供实验依据。

## 1 仪器与试剂

岛津高效液相色谱仪(LC-10A 泵, SPD-10A 紫外可见检测器, C-R6A 数据处理机)。

甲醇为色谱纯, 其他试剂均为分析纯。盐酸麻黄碱对照品(中国药品生物制品检定所, 批号: 0714-9903), 伪麻黄碱对照品(大同制药厂, 经面积归一化法测定其纯度不低于 98.0%), 风湿关节炎片(山西华康药业股份有限公司)。

## 2 方法与结果

2.1 色谱条件: 色谱柱: Hyperil BDS C<sub>18</sub>柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm)(大连依利特公司); 流动相: 甲醇-0.05 mol/L 磷酸二氢钾(三乙胺调节 pH 值为 5.5)(5:95); 体积流量: 1.5 mL/min; 检测波长: 210 nm; 柱温: 40 °C; 进样量: 20 μL。理论塔板数按盐酸麻黄碱峰计算不低于 7 000。

2.2 对照品溶液的制备: 精密称取盐酸麻黄碱对照品 24.9 mg, 置 25 mL 量瓶中, 加甲醇溶解, 并加至刻度, 摇匀, 即得。

2.3 供试品溶液的制备: 取本品 20 片, 除去糖衣, 精密称定, 研细, 精密称取约 0.8 g, 置具塞锥形瓶中, 加入碱性氯仿[氯仿-氨水(9:1)] 20.00 mL, 称定质量, 冷浸 24 h, 超声处理 20 min, 放冷, 用碱性氯仿补足减失的质量, 摇匀滤过。精密量取续滤液 5 mL 置蒸发皿中, 温水浴蒸至近干, 残渣用 1~2 滴 4 mol/L 盐酸使溶解, 再用 50% 甲醇充分洗涤, 转移至 10 mL 量瓶中, 加 50% 甲醇至刻度, 摇匀备用。

2.4 阴性对照溶液的制备: 取缺麻黄的其他各味药材按处方工艺制成阴性对照, 按 2.3 项下方法制成阴性对照溶液。

## 2.5 方法学考察

2.5.1 线性关系考察: 精密吸取盐酸麻黄碱对照品溶液 0.1、0.3、0.5、0.7、0.9 mL 置 25 mL 量瓶中, 用 50% 甲醇稀释并加至刻度, 分别进样 20 μL。以盐酸麻黄碱质量浓度(μg/mL)为横坐标、峰面积为纵坐标绘制标准曲线, 得回归方程  $Y = 16\,743 X - 8\,678.4$ ,  $r = 0.9997$ 。表明盐酸麻黄碱在 3.984~35.86 μg/mL 与峰面积线性关系良好。

2.5.2 精密度试验: 取 19.92 μg/mL 盐酸麻黄碱对照品溶液连续进样 6 次, 结果盐酸麻黄碱峰面积的 RSD 为 1.2%

2.5.3 重现性试验: 取批号为 20020701 样品平行取样 5 份, 配制供试品溶液, 测定, 结果盐酸麻黄碱质量分数为 0.7544 mg/g, RSD 为 3.2%。

2.5.4 稳定性试验: 取批号为 20020701 样品的同一供试品溶液在配制后 0.5、2、4、6、8 h 分别进样测定, 结果盐酸麻黄碱峰面积的 RSD 为 1.8%, 表明样品溶液在 8 h 内稳定。

2.5.5 回收率试验: 取已知质量分数的样品(批号: 20020701) 0.5 g, 分别加入约 0.996 mg/mL 盐酸麻黄碱对照品溶液 0.1、0.3、0.5 mL, 平行 2 份, 制备供试品溶液, 按上述色谱法测定, 结果平均回收率为 95.1%, RSD 为 1.6%。

2.6 样品测定: 采用外标法测定 3 批样品中麻黄碱的质量分数。结果见表 1, 色谱图见图 1。

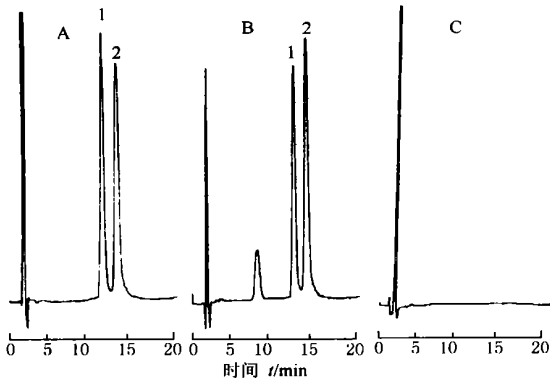
表 1 风湿关节炎片中麻黄碱的测定结果 ( $n = 3$ )

批号	盐酸麻黄碱/(mg · g <sup>-1</sup> )
20020601	0.6257
20020701	0.7161
20020702	0.6927

## 3 讨论

3.1 麻黄碱差向异构体的分离是本实验的关键, 文

\* 收稿日期: 2004-04-13  
\* 通讯作者



1-麻黄碱 2-伪麻黄碱

1-ephedrine 2-pseudoephedrine

图 1 麻黄碱对照品(A)、风湿关节炎片和阴性液(C)的 HPLC 图谱

Fig. 1 HPLC chromatograms of ephedrine (A), Fengshi Guanjiyan Tablet (B), and negative sample (C)

献报道的 RP-HPLC 方法较多<sup>[2-4]</sup>。实验曾选用甲醇-0.01 mol/L 磷酸二氢钾(以磷酸调至 pH 2.5)、十二烷基硫酸钠溶液-乙腈-磷酸作为流动相,前者 pH 值较小、使用一段时间后造成柱效明显降低,而

离子对色谱平衡时间长、在所选波长处噪音大、难清洗。本实验选择的色谱条件下麻黄碱和伪麻黄碱分离度较好,适合企业常规质控。

3.2 未对制剂中的伪麻黄碱定量分析,但实验中精密称取伪麻黄碱对照品 2.3 mg,用甲醇溶解定容至 5 mL,稀释 10 倍后在上述色谱条件下进样,以确定此色谱条件下图谱中伪麻黄碱的位置。

3.3 采用碱性氯仿较酸水-有机溶剂提取更为简便,提取效率较高。

References:

[1] Zha L H, Su Z G, Zhang G Z, et al. Application and research on *Ephedra* resource [J]. *Chin Bull Bot (植物学通报)*, 2002, 19(4): 396-405.  
 [2] Liang H X, Yu R G, Yang Q H, et al. Use of the Powell method to optimize the composition of HPLC mobile phase — the separation of ephedrine and pseudoephedrine [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 1991, 26(1): 49-52.  
 [3] Liang H, Li W Y, Chen Y. Determination of ephedrine in Qingxuan Preparations by HPLC [J]. *Chin J Pharm Anal (药物分析杂志)*, 1999, 19(4): 276-277.  
 [4] Kazuhiko S, Keiichi S, Yuji I, et al. Determination of alkaloids in *Ephedra* herb by high-performance liquid chromatography [J]. *Iyakuin Kenkyu (医药品研究)*, 1996, 27(5): 255-261.

## 均匀设计与正交设计联用筛选复方银杏的最佳配比

唐春红<sup>1,2</sup>, 蔡绍哲<sup>1</sup>, 王伯初<sup>1\*</sup>

(1. 重庆大学生物工程学院 生物力学与组织工程教育部重点实验室, 重庆 400044;  
 2. 重庆工商大学环境与生物工程学院, 重庆 400033)

正交设计是在中药复方筛选试验中使用最多的一种设计方法,均匀设计由于其试验次数少,优化效率高的优点也开始用于中药复方的筛选<sup>[1]</sup>。本实验采用均匀设计联用正交设计的方法,以内皮细胞为作用对象,以细胞释放的一氧化氮和细胞生长状态作为观察指标,对以葛根素、银杏提取物和精氨酸为主效药的复方银杏进行最佳配比的筛选,为以后的深入研究奠定基础。

### 1 材料与方法

1.1 材料: 银杏提取物 GBE-828<sub>w</sub> 由贵州大学生化中试基地惠赠。葛根素由陕西正平制药公司惠赠。人脐静脉血管内皮细胞株 ECV-304(中国科学院上海细胞生物研究所),干粉型 DMEM/F12 培养基(美国 Hyclone 公司),水合联胺(重庆东方试剂厂)。

1.2 仪器: CO<sub>2</sub> 培养箱(美国 SHELL LAB 公司), WD800ASL-4(格兰仕)不锈钢型微波炉,倒置显微镜(日本 Olympus 公司),3599 型 96 孔培养板(美国 Corning Incorporated 公司),BIO-RAD 酶标仪。

1.3 NO 的测定: Griess Reagent Kit (Beyotime Biotechnology) 在 1~100 μmol/L 有很好的线性关系。在 96 孔培养板内分别依次加入 50 μL 培养液、Griess Reagent 和 ,用酶标仪在 540 nm 下测定吸光度,与标准曲线比较,计算 NO 浓度。

1.4 各药物最佳质量浓度范围的确定: 将人脐静脉内皮细胞株 ECV-304 传代于 50 mL 培养瓶中,待细胞均匀铺满瓶底,消化细胞 DMEM-F12 培养液吹打制成细胞悬液,接种于 96 孔培养板中,每孔 0.1 mL,含 1 × 10<sup>5</sup> 个细胞,培养 24 h 后,弃上清液

\* 收稿日期: 2004-03-16

作者简介: 唐春红(1965—),女,四川三台县人,副教授,现在重庆大学攻读博士学位,研究方向为保健食品加工与天然产物制药。