

哮喘宁片的质量标准研究

庾燕珍, 邓慧敏, 何文玲*

(广州中一药业有限公司, 广东 广州 510530)

摘要:目的 为哮喘宁片建立一个科学、全面的质量控制标准。方法 利用薄层色谱法对哮喘宁片中的麻黄、五味子、远志进行定性鉴别, 采用高效液相色谱法测定制剂中麻黄的有效成分盐酸麻黄碱。结果 麻黄、五味子和远志可在不同的薄层色谱条件下分别检出; 利用高效液相色谱法测定制剂中麻黄的有效成分盐酸麻黄碱。盐酸麻黄碱的线性范围为 4.7~75.5 μg/ml, 平均回收率为 100.05%, RSD 为 2.21% (n=6)。结论 建立的定性和定量方法均具有专属性好、准确可靠和简便的特点, 能有效的对哮喘宁片进行质量控制。

关键词:哮喘宁片; 麻黄; 五味子; 远志; 薄层色谱; 盐酸麻黄碱; 高效液相色谱

中图分类号: R286.02 文献标识码: B 文章编号: 0253-2670(2009)05-0736-03

哮喘宁片是由麻黄、太子参、五味子、远志、胆南星、石膏、洋金花和甘草组成的复方制剂, 具有镇咳定喘, 消炎化痰的功效, 主要用于支气管哮喘, 慢性咳嗽, 气急。哮喘宁片收载于《中华人民共和国卫生部药品标准》中药成方制剂第 4 册, 由于该部颁标准要求已经偏低, 故对原标准进行了再研究。本研究经过多次摸索, 增订了麻黄、五味子、远志药材的薄层色谱鉴别, 同时采用高效液相色谱法对方中有效成分盐酸麻黄碱进行了定量分析研究, 获得了满意的效果。

1 仪器与材料

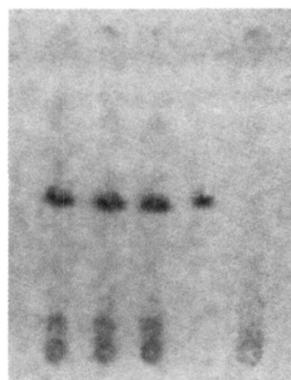
Agilent 1100 高效液相色谱仪, VWD 检测器, Agilent 1100 化学工作站, Mettler AE 100 型电子天平, Mettler XS 205 型电子天平, KQ-200VDB 型双频数控超声波清洗器(功率 120 W, 频率 40 kHz), GAMAG 薄层色谱扫描摄像系统。

盐酸麻黄碱(批号: 714-8501)、五味子甲素(批号: 0764-9804)对照品, 五味子(批号: 120922-200505)、远志(批号: 120989-200304)对照药材均由中国药品生物制品检定所提供; 薄层色谱用硅胶 G 和硅胶 GF₂₅₄ 为青岛海洋化工厂生产; 乙腈、甲醇为色谱纯, 水为超纯水, 其他试剂为分析纯。哮喘宁片及各阴性对照样品均为广州中一药业有限公司提供。

2 薄层色谱鉴别

2.1 麻黄的薄层色谱鉴别: 取本品 15 片, 研细, 加浓氨试液 20 滴, 再加氯仿 10 mL, 加热回流 1 h, 滤

过, 滤液蒸干, 残渣加甲醇 1 mL 使溶解, 作为供试品溶液。另取盐酸麻黄碱对照品, 加甲醇制成 1 mg/mL 的溶液, 作为对照品溶液。照薄层色谱法(《中国药典》2005 年版一部 附录 V B) 试验, 吸取上述两种溶液各 5 μL, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 在用浓氨试液预饱和的展开缸里, 以甲苯-氯仿-甲醇(5:20:2) 为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以茚三酮试液, 105 °C 加热至斑点显色清晰^[1], 结果见图 1。可见供试品色谱中, 在与对照品色谱相应的位置上, 显相同颜色的斑点, 阴性对照色谱在相应位置上无干扰。



1~3-哮喘宁片 4 盐酸麻黄碱对照品 5-阴性对照
1-3-Xiaochuaning Tablets 4 ephedrine hydrochloridum
reference substance 5-negative sample

图 1 哮喘宁片中麻黄的薄层色谱图

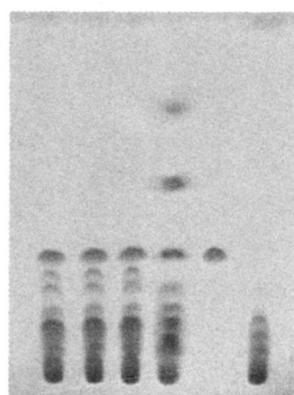
Fig. 1 TLC Chromatogram of *Herba Ephedrae* in Xiaochuaning Tablets

* 收稿日期: 2008-09-25

作者简介: 庾燕珍(1981-), 女, 广东广州人, 制药助理工程师, 理学学士, 毕业于中国药科大学, 研究方向为药品质量标准研究。

Tel: (020) 82091902 E-mail: fish3130@21cn.com

2.2 五味子的薄层色谱鉴别: 取本品 15 片, 研细, 加氯仿 20 mL, 加热回流 30 min, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加氯仿 1 mL 使溶解, 作为供试品溶液。取五味子对照药材 1 g 同法制成对照药材溶液。再取五味子甲素对照品, 加氯仿制成 1 mg/mL 的溶液, 作为对照品溶液。照薄层色谱法(《中国药典》2005 年版一部附录 V B) 试验, 吸取上述 3 种溶液各 5 μ L, 分别点于同一硅胶 GF₂₅₄ 薄层板上, 以甲苯-醋酸乙酯(9:1) 为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 置紫外灯(254 nm) 下检视^[1], 结果见图 2。可见供试品色谱中, 分别在对照药材、对照品色谱相应的位置上, 显相同颜色的斑点, 阴性对照色谱在相应位置上无干扰。



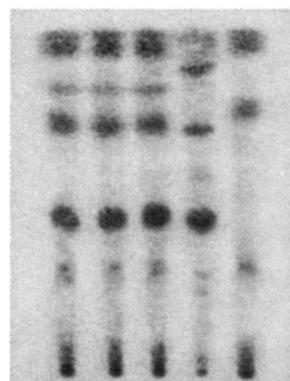
1-3-哮喘宁片 4-五味子对照药材 5-五味子甲素对照品
6-阴性对照
1-3-Xiaochuanming Tablets 4-Fructus Schisandrae
5-deoxy schizandrin reference substance 6-negative sample

图 2 哮喘宁片中五味子的薄层色谱图

Fig. 2 TLC Chromatogram of Fructus Schisandrae in Xiaochuanming Tablets

2.3 远志的薄层色谱鉴别: 取本品 20 片, 研细, 加盐酸无水乙醇溶液(10⁻¹ 100) 30 mL, 水浴加热回流 30 min, 取出, 放冷, 滤过, 滤液加水 45 mL, 用氯仿提取 2 次, 每次 30 mL, 合并氯仿液, 蒸干, 残渣加醋酸乙酯 1 mL 使溶解, 作为供试品溶液。另取远志对照药材 1 g, 同法制成对照药材溶液。照薄层色谱法(《中国药典》2005 年版一部附录 V B) 试验, 吸取上述两种溶液各 5 μ L, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以氯仿-丙酮-正己烷-乙酸(15:3:0.3:0.5) 为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以 8% 香草醛无水乙醇溶液与硫酸乙醇溶液(7⁻¹ 10) 按 1:10 的比例配制而成的溶液^[2], 105 $^{\circ}$ C 烘至斑点清晰, 结果见图 3。可见供试品色谱中, 在与对照药材色谱相应的位置

上, 显相同的紫罗兰色斑点, 阴性对照色谱在相应位置上无干扰。



1 2 3 4 5
1-3-哮喘宁片 4-远志对照药材 5-远志阴性对照
1-3-Xiaochuanming Tablets 4-Radix Polygalae
5-negative sample

图 3 哮喘宁片中远志的薄层色谱图

Fig. 3 TLC Chromatogram of Radix Polygalae in Xiaochuanming Tablets

3 盐酸麻黄碱的测定

3.1 色谱条件: 用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂(200 mm \times 4.6 mm, 5 μ m); 0.02 mol/L 磷酸二氢钾(加 0.1% 三乙胺和 0.1% 磷酸)-乙腈(95:5) 为流动相; 检测波长为 207 nm; 进样量 10 μ L。

3.2 对照品溶液的制备: 精密称取盐酸麻黄碱对照品适量, 加 0.1 mol/L HCl 溶液制成 10 μ g/mL 的溶液, 即得。

3.3 供试品溶液的制备: 取重量差异项下的本品, 研细, 取 1.0 g, 精密称定, 置 50 mL 具塞锥形瓶中, 精密加入浓氨试液 1 mL 使湿润, 再精密加入 25 mL 二氯甲烷, 称定质量, 超声处理 30 min, 放冷, 称定质量, 用二氯甲烷补足减失的质量, 滤过, 取续滤液 10 mL, 置 25 mL 蒸发皿中, 加入 1 mL 盐酸乙醇溶液(1⁻¹ 20), 低温蒸干, 残渣加盐酸乙醇溶液(1⁻¹ 20) 适量使溶解, 转移至 25 mL 量瓶中, 加 0.1 mol/L HCl 溶液洗涤容器并稀释至刻度, 摇匀, 用 0.45 μ m 微孔滤膜滤过, 取续滤液, 即得。

3.4 阴性对照溶液的制备: 按处方及制法, 制成缺麻黄药材的阴性对照样品。取相当于供试品的量, 按供试品溶液的制备方法制成阴性对照品溶液。

3.5 线性关系考察: 精密量取 0.094 4 mg/mL 盐酸麻黄碱对照品溶液 0.5、1、2、4、6、8 mL, 置 10 mL 量瓶中, 加 0.1 mol/L HCl 至刻度, 摇匀。分别精

密吸取 10 μL, 注入液相色谱仪, 进样测定。以质量浓度为横坐标, 测得的峰面积为纵坐标, 绘制标准曲线, 得回归方程: $Y = 22\,937.2427 X + 3\,528.8$, $r = 0.99994$ 。结果表明, 盐酸麻黄碱在 4.7~75.52 μg/mL 与其峰面积呈良好的线性关系。

3.6 专属性试验: 精密吸取盐酸麻黄碱对照品溶液、供试品溶液和阴性对照溶液各 10 μL, 分别注入液相色谱仪, 进样测定, 见图 4。结果未见阴性对照品溶液对试验有干扰。

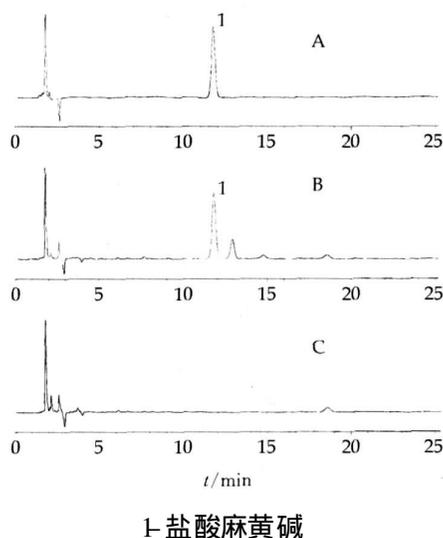


图 4 盐酸麻黄碱对照品(A)、哮喘宁片(B)和阴性对照样品(C)的 HPLC 图谱

Fig. 4 HPLC Chromatograms of ephedrine hydrochloridum (A), Xiaochuanning Tablets (B), and negative sample (C)

3.7 精密度试验: 取同一份供试品溶液重复进样 5 次, 测定盐酸麻黄碱峰面积, 计算, 其 RSD 为 0.87%。

3.8 重现性试验: 取批号 20071205 样品 6 份, 制备供试品溶液, 进样测定, 结果计算得盐酸麻黄碱平均质量分数为 0.7183 mg/g, RSD 为 2.75%。

3.9 稳定性试验: 取同一份供试品溶液, 分别在 0、2、4、8 h 进样测定盐酸麻黄碱峰面积值, 计算, 结果 RSD 为 1.00%, 表明供试品溶液制备后 8 h 内测定基本稳定。

3.10 回收率试验: 取批号 20071205 的供试品 6 份, 每份 0.5 g, 分别精密加入 0.0906 mg/mL 盐酸麻黄碱对照品溶液 5 mL, 制备供试品溶液, 进样测定, 计算盐酸麻黄碱的回收率。结果平均回收率为

100.05%, RSD 为 2.21%

3.11 样品测定: 取哮喘宁片(规格 0.35 g/片) 4 批, 每批 2 份, 制备供试品溶液, 另取盐酸麻黄碱对照品溶液 2 份, 进样测定, 用外标法计算样品中盐酸麻黄碱的质量分数, 结果见表 1。

表 1 哮喘宁片中盐酸麻黄碱的测定结果(n=2)

Table 1 Determination of ephedrine hydrochloridum in Xiaochuanning Tablets (n=2)

批号	盐酸麻黄碱/(mg·片 ⁻¹)
20071205	0.2573
SZ080101	0.2247
SZ080102	0.2221
SZ080103	0.2314

4 讨论

在远志的薄层色谱鉴别中, 曾尝试多种展开系统和显色剂, 发现斑点分离不好, 显色效果不理想, 最终以氯仿-丙酮-正己烷-乙酸(15:3:0.3:0.5)展开, 以 8% 香草醛无水乙醇溶液与硫酸乙醇溶液(7→10)按 1:10 的比例配制而成的溶液显色, 色谱清晰, 样品斑点分离良好。

在测定中, 采用回流提取、超声提取等多种提取方法进行了试验, 比较了不同时间超声提取, 在流动相上比较了 1.05 mol/L 磷酸二氢钾-甲醇不同比例, ④磷酸盐缓冲液(2 g 磷酸二氢钾+2 mL 三乙胺+2 mL 磷酸)-甲醇(30:70), ④0.02 mol/L 磷酸二氢钾溶液(含 0.1% 三乙胺, 用磷酸调 pH 值至 2.7)-乙腈(96:4), ¼ 0.02 mol/L 磷酸二氢钾(加 0.1% 三乙胺和 0.1% 磷酸)-乙腈(95:5), 结果以 ¼ 0.02 mol/L 磷酸二氢钾(加 0.1% 三乙胺和 0.1% 磷酸)-乙腈(95:5)为流动相效果最好, 供试品中盐酸麻黄碱峰达到基线分离, 峰形对称, 保留时间适中。对不同色谱柱进行了考察, 取同一供试品溶液进行测定, 分别考察使用 Waters Atlantis R C₁₈(150 mm×4.6 mm, 5 μm)、Kromasil 100-5 C₁₈(200 mm×4.6 mm, 5 μm)和 Alltech Alltima C₁₈(150 mm×4.6 mm, 5 μm)3 种色谱柱对盐酸麻黄碱测定的影响。实验表明, 不同厂家色谱柱对测定结果的影响很小。

参考文献:

[1] 中国药典[S]. 一部. 2005.
 [2] 刘友平, 万德光. 薄层扫描法测定远志中远志皂苷元的含量[J]. 中草药, 2000, 31(7): 512-514.