

## HPLC 法同时测定咳速停糖浆中 5 个生物碱的含量<sup>\*</sup>

黄红梅<sup>1,2</sup>, 苏菊<sup>3</sup>, 王芳<sup>4</sup>, 茅向军<sup>2\*\*</sup>

(1. 贵阳中医学院, 贵阳 550002; 2. 贵州省食品药品检验所, 贵阳 550004;

3. 贵州医科大学, 贵阳 550004; 4. 遵义医学院, 遵义 563000)

**摘要 目的:** 建立同时、简便测定咳速停糖浆中 5 个生物碱(吗啡、盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱、磷酸可待因、盐酸罂粟碱)含量的 HPLC 分析方法。**方法:** 采用 Welch Ultimate<sup>®</sup> AQ-C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm), 以乙腈-0.1% 磷酸水溶液为流动相进行梯度洗脱, 流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, 检测波长为 210 nm(吗啡、麻黄碱、伪麻黄碱、可待因)与 250 nm(罂粟碱), 柱温 35 ℃。**结果:** 5 个生物碱类成分质量浓度分别在 0.9~7.48 μg·mL<sup>-1</sup> ( $r=0.999\ 1$ )、2.43~20.24 μg·mL<sup>-1</sup> ( $r=0.999\ 9$ )、4.49~37.44 μg·mL<sup>-1</sup> ( $r=0.999\ 2$ )、0.43~3.58 μg·mL<sup>-1</sup> ( $r=0.999\ 5$ )、0.09~0.79 μg·mL<sup>-1</sup> ( $r=0.999\ 8$ ) 范围内线性关系良好, 平均回收率( $n=9$ )分别为 99.1%、102.5%、107.5%、100.1%、94.0%, 相应的 RSD 分别为 3.7%、3.4%、2.3%、1.5%、1.2%。10 批咳速停糖浆样品中上述 5 个生物碱的含量范围分别为 8.46~21.71、28.18~153.9、26.58~196.9、4.23~15.30、1.20~2.89 μg·mL<sup>-1</sup>。**结论:** 该方法为咳速停糖浆质量标准的提升提供参考依据。

**关键词:** 吗啡; 盐酸麻黄碱; 盐酸伪麻黄碱; 磷酸可待因; 盐酸罂粟碱; 麻黄; 罂粟壳; 咳速停糖浆; 高效液相色谱

中图分类号: R 917

文献标识码: A

文章编号: 0254-1793(2018)04-0688-08

doi: 10.16155/j.0254-1793.2018.04.18

## Determination of five alkaloids in Kesuting syrup by HPLC<sup>\*</sup>

HUANG Hong-mei<sup>1,2</sup>, SU Ju<sup>3</sup>, WANG Fang<sup>4</sup>, MAO Xiang-jun<sup>2\*\*</sup>

(1. Guiyang College of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550002, China; 2. Guizhou Provincial Food and Drug Inspection Institute, Guiyang 550004, China; 3. Guizhou Medical University, Guiyang 550004, China; 4. Zunyi Medical College, Zunyi 563000, China)

**Abstract Objective:** To establish a method for simultaneous and convenient determination of five kinds of alkaloids (morphine, ephedrine hydrochloride, pseudoephedrine hydrochloride, codeine phosphate, papaverine hydrochloride) in Kesuting syrup by HPLC analytical method. **Methods:** Welch Ultimate<sup>®</sup> AQ-C<sub>18</sub> column (4.6 mm×250 mm, 5 μm) was adopted, the mobile phase was acetonitrile and 0.1% phosphoric acid with gradient elution at a flow rate of 1.0 mL·min<sup>-1</sup>. The detection wavelength was 210 nm for morphine, ephedrine, pseudoephedrine and codeine, and 250 nm for papaverine. The column temperature was 35 ℃. **Results:** Good linear relationship was observed for morphine, ephedrine hydrochloride, pseudoephedrine hydrochloride, codeine

<sup>\*</sup> 国家药典委员会 2015 年度药品标准提高工作[项目编号 88]

<sup>\*\*</sup> 通信作者 Tel: (0851) 86807958; E-mail: 1074459931@qq.com

第一作者 Tel: 18285140032; E-mail: 1515979920@qq.com

phosphate and papaverine hydrochloride in the range of 0.9–7.48  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  ( $r=0.999\ 1$ ), 2.43–20.24  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  ( $r=0.999\ 9$ ), 4.49–37.44  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  ( $r=0.999\ 2$ ), 0.43–3.58  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  ( $r=0.999\ 5$ ) and 0.09–0.79  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  ( $r=0.999\ 8$ ), respectively. The average recoveries ( $n=9$ ) were 99.1% (RSD=3.7%), 102.5% (RSD=3.4%), 107.5% (RSD=2.3%), 100.1% (RSD=1.5%) and 94.0% (RSD=1.2%), respectively. The content ranges of the above-mentioned five alkaloids were 8.46–21.71  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ , 28.18–153.9  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ , 26.58–196.9  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ , 4.23–15.30  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  and 1.20–2.89  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  respectively in 10 Kesuting syrup. **Conclusion:** This method provided reference basis for the improvement of the quality standard of Kesuting syrup.

**Keywords:** morphine; ephedrine hydrochloride; pseudophedrine hydrochloride; codeine phosphate; papaverine hydrochloride; Ephedrae Herba; Papaveris Pericarpium; Kesuting syrup; HPLC

咳速停糖浆作为特色苗药,其处方包括罂粟壳、麻黄、百尾参、虎耳草、吉祥草、桔梗、桑白皮、黄精、枇杷叶 9 味药材,具有补气养阴、润肺止咳、益胃生津的功效,主要用于感冒及急、慢性支气管炎引起的咳嗽及咽干、咳痰、气喘等症。处方中的麻黄具有发汗散寒、宣肺平喘、利水消肿的作用,盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱作为麻黄的主要有效特征成分<sup>[1]</sup>,属于拟肾上腺类药物,是国家规定需要严格控制的毒麻类成分<sup>[2]</sup>;又由于该制剂中含有麻醉药品罂粟壳,若对其用量控制不当,久服易成瘾,其主要成分为吗啡、磷酸可待因、盐酸罂粟碱,可用于止痛、止咳<sup>[3-4]</sup>,三者均为罂粟壳中的有效成分,同时也属于强成瘾性成分<sup>[5]</sup>。2 味药材中含有的 5 个生物碱是咳速停糖浆治疗感冒及咳嗽、气喘等症的主要有效成分,为了确保制剂的安全性及有效性,必须控制其含量。目前,已有大量文献报道<sup>[6-17]</sup>麻黄、罂粟壳及其不同制剂的含量测定,其中罗奕等<sup>[18]</sup>采用 HPLC 法同时测定咳速停胶囊中 4 个成分含量,刘绪林等<sup>[19]</sup>采用离子对色谱法测定咳速停颗粒中吗啡的含量,朱平川等<sup>[20]</sup>采用 UPLC-MS/MS 法测定速停糖浆中 3 种兴奋剂类生物碱,左琳等<sup>[21]</sup>采用 HPLC 法测定咳速停糖浆中盐酸麻黄碱的含量。

咳速停糖浆的现有质量标准<sup>[22]</sup>中只对吉祥草、桔梗、桑白皮 3 味药材进行薄层鉴别,含量测定项中仅对罂粟壳中的吗啡及麻黄中的盐酸麻黄碱进行测定。其质量标准简单,无法控制产品的质量,确保临床用药安全、有效。因此,本实验采用 HPLC 法测定咳速停糖浆中 5 个生物碱(吗啡、盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱、磷酸可待因、盐酸罂粟碱)含量,以完善、提升咳速停糖浆的质量控制水平。同时,本实验简化了样品前处理及色谱条件。

## 1 仪器、试剂与试药

### 1.1 仪器

岛津公司 LC-20AD 高相液相色谱仪(DAD 检测器,LC solution 软件工作站),月旭科技(上海)股份有限公司 Welch Ultimate<sup>®</sup> AQ-C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5  $\mu\text{m}$ ; 填料:十八烷基硅烷键合硅胶),北京科伟永兴仪器有限公司 HH-6 型电热恒温水浴锅,梅特勒-托利多仪器上海有限公司 XS105DU 型电子分析天平。

### 1.2 试剂与试药

吗啡(批号 171201-201123)、盐酸麻黄碱(批号 171241-201508)、盐酸伪麻黄碱(批号 171237-200807)、磷酸可待因(批号 171203-201005)、盐酸罂粟碱(批号 171214-200404)均购买于中国食品药品检定研究院;磷酸、乙腈、甲醇为色谱纯,其他试剂均为分析纯,水为超纯水;10 批咳速停糖浆、9 味药材(吉祥草、百尾参、枇杷叶、虎耳草、桔梗、黄精、麻黄、桑白皮、罂粟壳)均由贵州百灵有限公司提供,药材由贵州省食品药品检验所中药标本馆李杨老师鉴定,根据处方自制阴性样品。

## 2 方法和结果

### 2.1 溶液制备

**2.1.1 对照品储备液** 精密称取吗啡 0.003 74 g,置于 10 mL 量瓶中,盐酸麻黄碱 0.005 06 g,置于 5 mL 量瓶中,盐酸伪麻黄碱 0.009 36 g,置于 5 mL 量瓶中,磷酸可待因 0.003 58 g,置于 20 mL 量瓶中,盐酸罂粟碱 0.000 79 g,置于 20 mL 量瓶中,分别加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,制得吗啡 374  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ,盐酸麻黄碱 1 012  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ,盐酸伪麻黄碱 1 872  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ,磷酸可待因 179  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ,盐酸罂粟碱 39.5  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  的溶液,即得各个对照品储备液。

**2.1.2 混合对照品储备液** 精密吸取“2.1.1”项下的

各对照品储备液均 1 mL, 置于同一 25 mL 量瓶中, 加入 0.1% 磷酸水溶液稀释定容至刻度, 摇匀, 制得吗啡  $14.96 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ , 盐酸麻黄碱  $40.48 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ , 盐酸伪麻黄碱  $74.88 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ , 磷酸可待因  $7.16 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ , 盐酸罂粟碱  $1.58 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  的混合溶液, 即得。

**2.1.3 供试品溶液** 准确量取咳速停糖浆 10 mL, 置 125 mL 分液漏斗中, 加入氨水 3 mL, 振摇 1 min 后加乙酸乙酯振摇提取 3 次, 每次 15 mL, 合并上层溶液, 水浴挥干, 残渣加 0.1% 磷酸水溶液定容至 10 mL 量瓶中, 摇匀, 过  $0.45 \mu\text{m}$  滤膜, 即得。

**2.1.4 阴性样品溶液** 分别准确量取缺麻黄药材、缺罂粟壳药材的阴性样品各 10 mL, 按“2.1.3”项下方法制备阴性样品溶液。

## 2.2 色谱条件

采用 Welch Ultimate<sup>®</sup> AQ-C<sub>18</sub> 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm, 5  $\mu\text{m}$ ), 以乙腈为流动相 A, 0.1% 磷酸水溶液为流动相 B, 梯度洗脱 (0~15 min, 4%A; 15~30 min, 4%A → 10%A; 30~60 min, 10%A → 40%A), 流速  $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ , 柱温 35  $^{\circ}\text{C}$ , 吗啡、麻黄碱、伪麻黄碱、可待因检测波长为 210 nm, 罂粟碱检测波长为 250 nm, 进样量 10  $\mu\text{L}$ 。

## 2.3 系统适用性试验

取供试品溶液、混合对照品溶液及阴性样品溶液分别按“2.2”项下色谱条件进样测定, 结果在供试品溶液和混合对照品溶液的色谱图中吗啡、麻黄碱、伪麻黄碱、可待因、罂粟碱的色谱峰均在 60 min 内即可达到基线分离, 且所对应的分离度分别为 1.600、3.665、1.707、2.777、2.559, 理论塔板数均大于 7 500, 且各色谱峰峰形较好, 阴性样品溶液色谱图中未出现待测成分峰, 见图 1。

## 2.4 线性关系考察

分别精密吸取“2.1.2”项下混合对照品储备液 0.3、0.7、1、1.5、2.0、2.5 mL, 分别置于 5 mL 量瓶中, 加入 0.1% 磷酸水溶液定容至刻度, 即得系列浓度的混合对照品溶液, 按“2.2”项下色谱条件进行测定, 记录各色谱峰峰面积。以质量浓度 ( $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ) 为横坐标, 峰面积为纵坐标, 绘制标准曲线, 分别得吗啡、盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱、磷酸可待因、盐酸罂粟碱的回归方程及线性范围, 见表 1。

## 2.5 精密度试验

取混合对照品溶液, 按“2.2”项下色谱条件连续进样 6 次, 记录各色谱峰峰面积。分别计算吗啡、麻

黄碱、伪麻黄碱、可待因、罂粟碱峰面积的 RSD 分别为 0.84%、0.41%、0.90%、0.32%、0.31%, 表明仪器的精密度良好。

## 2.6 重复性试验

分别准确量取咳速停糖浆 (批号 20150610) 10 mL, 6 份, 按“2.1.3”项下方法平行制备 6 份供试品溶液, 按“2.2”项下色谱条件分别进行测定, 记录各色谱峰的峰面积。分别计算吗啡、麻黄碱、伪麻黄碱、可待因、罂粟碱含量的 RSD 分别为 2.0%、1.6%、2.9%、1.9%、3.0%, 表明该方法的重复性良好。

## 2.7 稳定性试验

准确量取咳速停糖浆 (批号 20150610) 10 mL, 按“2.1.3”项下方法制备供试品溶液, 按“2.2”项下色谱条件分别在 0、3、5、9、15、24 h 内测定同一供试品溶液, 记录各色谱峰面积。分别计算吗啡、麻黄碱、伪麻黄碱、可待因、罂粟碱峰面积的 RSD 分别为 1.2%、0.92%、1.2%、1.1%、0.44%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

## 2.8 加样回收率试验

分别准确量取咳速停糖浆 (批号 20150610) 适量, 9 份, 分为 3 组, 每组 3 份, 每组分别精密加入相当于样品含量 50%、100%、150% 的混合对照品溶液, 按“2.1.3”项下方法分别制备低、中、高不同浓度的供试溶液, 按“2.2”项下色谱条件分别进行测定, 记录各色谱峰面积。分别计算不同浓度的加样回收率及 RSD, 结果见表 2。

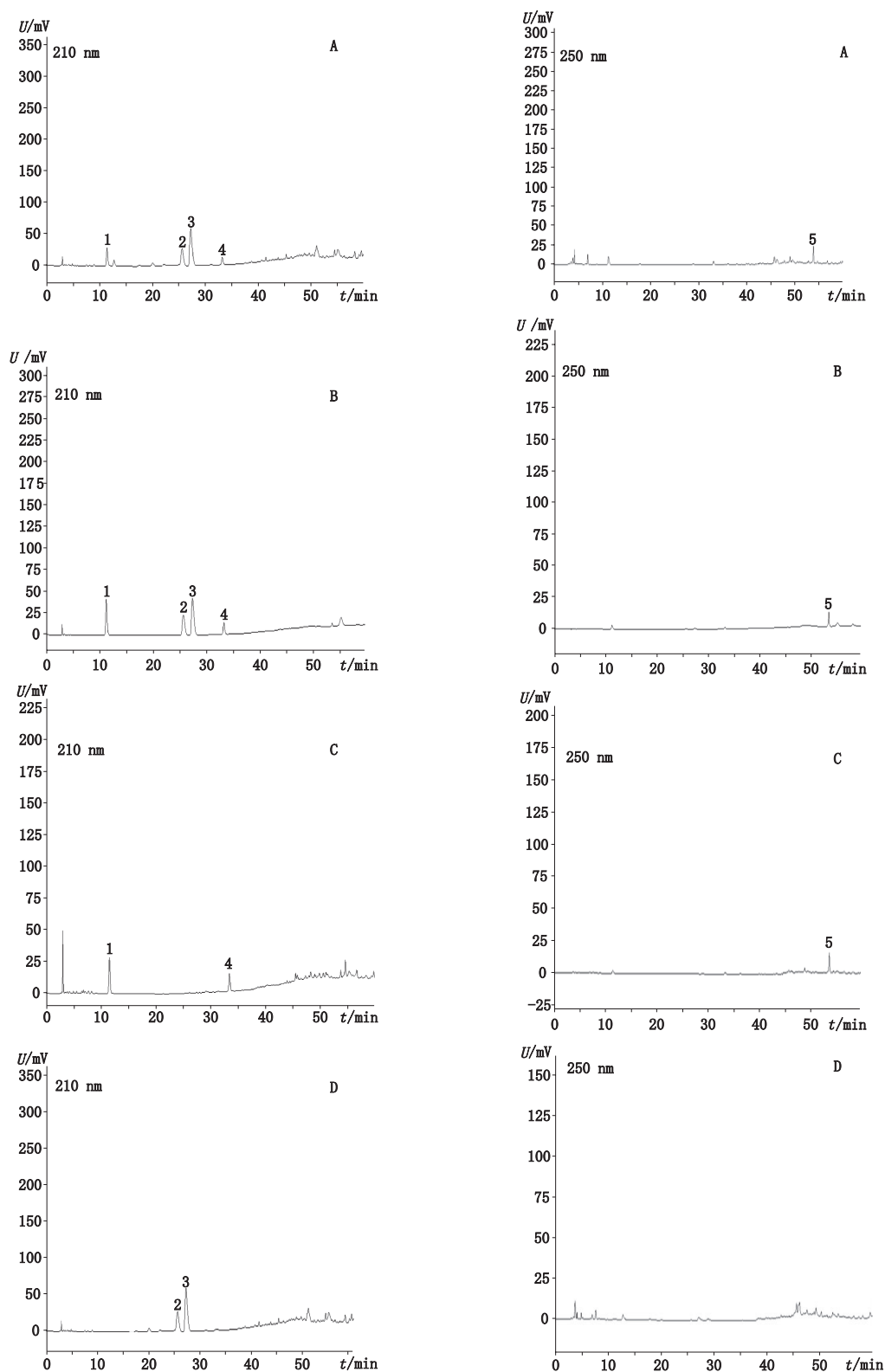
## 2.9 咳速停糖浆中 5 个生物碱的含量测定

分别准确量取同一厂家 10 个不同批号的咳速停糖浆 10 mL, 每批样品取 3 份, 按“2.1.3”项下方法分别制备供试品溶液, 按“2.2”项下色谱条件分别进行测定, 记录各色谱峰峰面积。按“2.4”项下线性回归方程分别计算 5 个生物碱的含量, 见表 3。

# 3 讨论

## 3.1 流动相的优化

通过查阅相关文献资料<sup>[6, 18, 21]</sup>, 本实验主要考察了乙腈-0.1% 磷酸水、乙腈-0.01  $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  磷酸二氢钾缓冲液 (含 0.1% 磷酸)、甲醇-0.1% 磷酸水 3 种流动相。实验结果表明, 甲醇-0.1% 磷酸水不能洗脱出 5 个生物碱。乙腈-0.01  $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  磷酸二氢钾缓冲液 (含 0.1% 磷酸) 不利于罂粟碱的分离。乙腈-0.1% 磷酸水各色谱峰的分离度均大于 1.5, 且各色谱峰的峰形好; 在考察磷酸溶液浓度的过程中发现,



1. 吗啡 (morphine) 2. 麻黄碱 (ephedrine) 3. 伪麻黄碱 (pseudoephedrine) 4. 可待因 (codeine) 5. 罂粟碱 (papaverine)

A. 样品 (sample) B. 混合对照品 (mixed reference substances) C. 缺麻黄阴性样品 (negative sample without Ephedrae Herba) D. 缺罂粟壳阴性样品 (negative sample without Papaveris Pericarpium)

图 1 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms

表 1 5 个生物碱的回归方程及线性范围

Tab. 1 The regression equations and linear ranges of five alkaloids

| 成分 (component)                        | 线性范围 (linear range) / ( $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ) | 回归方程 (regression equation) | <i>r</i> |
|---------------------------------------|--------------------------------------------------------------|----------------------------|----------|
| 吗啡 (morphine)                         | 0.9~7.48                                                     | $Y=32\,230X+796.06$        | 0.999 1  |
| 盐酸麻黄碱 (ephedrine hydrochloride)       | 2.43~20.24                                                   | $Y=17\,771X+867.5$         | 0.999 9  |
| 盐酸伪麻黄碱 (pseudophedrine hydrochloride) | 4.49~37.44                                                   | $Y=16\,876X+11\,255$       | 0.999 2  |
| 磷酸可待因 (codeine phosphate)             | 0.43~3.58                                                    | $Y=34\,905X-698.67$        | 0.999 5  |
| 盐酸罂粟碱 (papaverine hydrochloride)      | 0.09~0.79                                                    | $Y=63\,165X-102.52$        | 0.999 8  |

表 2 加样回收率试验

Tab. 2 Results of recovery test

| 成分<br>(component) v      | 原有量<br>(original) / $\mu\text{g}$ | 加入量<br>(added) / $\mu\text{g}$ | 测得量<br>(detected) / $\mu\text{g}$ | 回收率<br>(recovery) / % | 平均回收率<br>(average recovery) / %<br>( <i>n</i> =9) | RSD/% |
|--------------------------|-----------------------------------|--------------------------------|-----------------------------------|-----------------------|---------------------------------------------------|-------|
| 吗啡<br>(morphine)         | 15.23                             | 7.48                           | 22.68                             | 99.6                  | 99.9                                              | 1.1   |
|                          | 15.23                             | 7.48                           | 22.72                             | 100.1                 |                                                   |       |
|                          | 15.23                             | 7.48                           | 22.64                             | 99.1                  |                                                   |       |
|                          | 15.23                             | 14.96                          | 30.51                             | 102.1                 |                                                   |       |
|                          | 15.23                             | 14.96                          | 30.29                             | 100.7                 |                                                   |       |
|                          | 15.23                             | 14.96                          | 30.28                             | 100.6                 |                                                   |       |
|                          | 15.23                             | 22.44                          | 37.62                             | 99.8                  |                                                   |       |
|                          | 15.23                             | 22.44                          | 37.29                             | 98.3                  |                                                   |       |
|                          | 15.23                             | 22.44                          | 37.48                             | 99.2                  |                                                   |       |
|                          | 15.23                             | 22.44                          | 37.48                             | 99.2                  |                                                   |       |
| 麻黄碱<br>(ephedrine)       | 41.25                             | 20.24                          | 61.17                             | 98.4                  | 99.7                                              | 1.0   |
|                          | 41.25                             | 20.24                          | 61.15                             | 98.3                  |                                                   |       |
|                          | 41.25                             | 20.24                          | 61.51                             | 100.1                 |                                                   |       |
|                          | 41.25                             | 40.48                          | 81.96                             | 100.6                 |                                                   |       |
|                          | 41.25                             | 40.48                          | 81.67                             | 99.9                  |                                                   |       |
|                          | 41.25                             | 40.48                          | 82.24                             | 101.3                 |                                                   |       |
|                          | 41.25                             | 60.72                          | 101.83                            | 99.8                  |                                                   |       |
|                          | 41.25                             | 60.72                          | 102.13                            | 100.3                 |                                                   |       |
|                          | 41.25                             | 60.72                          | 101.32                            | 98.9                  |                                                   |       |
|                          | 41.25                             | 60.72                          | 101.32                            | 98.9                  |                                                   |       |
| 伪麻黄碱<br>(pseudophedrine) | 78.81                             | 37.44                          | 115.47                            | 97.9                  | 99.3                                              | 1.3   |
|                          | 78.81                             | 37.44                          | 115.93                            | 99.1                  |                                                   |       |
|                          | 78.81                             | 37.44                          | 115.24                            | 97.3                  |                                                   |       |
|                          | 78.81                             | 74.88                          | 153.11                            | 99.2                  |                                                   |       |
|                          | 78.81                             | 74.88                          | 154.18                            | 100.7                 |                                                   |       |
|                          | 78.81                             | 74.88                          | 154.52                            | 101.1                 |                                                   |       |
|                          | 78.81                             | 112.32                         | 190.84                            | 99.7                  |                                                   |       |



表 2(续)

| 成分<br>(component) v      | 原有量<br>(original) / $\mu\text{g}$ | 加入量<br>(added) / $\mu\text{g}$ | 测得量<br>(detected) / $\mu\text{g}$ | 回收率<br>(recovery) /% | 平均回收率<br>(average recovery) /%<br>(n=9) | RSD/% |
|--------------------------|-----------------------------------|--------------------------------|-----------------------------------|----------------------|-----------------------------------------|-------|
| 伪麻黄碱<br>(pseudophedrine) | 78.81                             | 112.32                         | 189.53                            | 98.6                 | 95.7                                    | 3.0   |
| 可待因<br>(codeine)         | 78.81                             | 112.32                         | 191.63                            | 100.4                |                                         |       |
|                          | 7.11                              | 3.58                           | 10.52                             | 95.3                 |                                         |       |
|                          | 7.11                              | 3.58                           | 10.46                             | 93.6                 |                                         |       |
|                          | 7.11                              | 3.58                           | 10.38                             | 91.3                 |                                         |       |
|                          | 7.11                              | 7.16                           | 13.86                             | 94.3                 |                                         |       |
|                          | 7.11                              | 7.16                           | 13.94                             | 95.4                 |                                         |       |
|                          | 7.11                              | 7.16                           | 14.19                             | 98.9                 |                                         |       |
|                          | 7.11                              | 10.74                          | 17.25                             | 94.4                 |                                         |       |
|                          | 7.11                              | 10.74                          | 17.82                             | 99.7                 |                                         |       |
|                          | 7.11                              | 10.74                          | 17.73                             | 98.9                 | 100                                     | 3.1   |
| 罂粟碱<br>(papaverine)      | 1.17                              | 0.79                           | 1.92                              | 94.9                 |                                         |       |
|                          | 1.17                              | 0.79                           | 1.99                              | 103.8                |                                         |       |
|                          | 1.17                              | 0.79                           | 1.94                              | 97.5                 |                                         |       |
|                          | 1.17                              | 1.58                           | 2.73                              | 98.7                 |                                         |       |
|                          | 1.17                              | 1.58                           | 2.71                              | 97.5                 |                                         |       |
|                          | 1.17                              | 1.58                           | 2.68                              | 95.6                 |                                         |       |
|                          | 1.17                              | 2.37                           | 3.57                              | 101.3                |                                         |       |
|                          | 1.17                              | 2.37                           | 3.46                              | 96.6                 |                                         |       |
|                          | 1.17                              | 2.37                           | 3.41                              | 94.5                 |                                         |       |

表 3 咳速停糖浆中 5 种生物碱的含量 ( $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ,  $n=3$ )

Tab. 3 Results of content determination of five alkaloids

| 批号<br>(lot No.) | 吗啡<br>(morphine) | 麻黄碱<br>(ephedrine) | 伪麻黄碱<br>(pseudophedrine) | 可待因<br>(codeine) | 罂粟碱<br>(papaverine) |
|-----------------|------------------|--------------------|--------------------------|------------------|---------------------|
| 20170302        | 21.71            | 94.01              | 64.50                    | 15.30            | 2.18                |
| 20170306        | 21.03            | 153.9              | 91.26                    | 11.50            | 1.47                |
| 20170326        | 15.65            | 31.44              | 26.58                    | 9.54             | 2.89                |
| 20170331        | 20.47            | 60.00              | 88.84                    | 9.84             | 1.20                |
| 20170332        | 18.64            | 42.74              | 67.81                    | 9.43             | 1.84                |
| 20160409        | 19.19            | 113.9              | 117.6                    | 8.51             | 1.94                |
| 20160410        | 19.44            | 127.0              | 196.9                    | 8.33             | 1.50                |
| 20150511        | 20.29            | 60.20              | 90.47                    | 9.74             | 1.37                |
| 20150703        | 8.46             | 28.18              | 46.07                    | 4.23             | 1.32                |
| 20150610        | 15.42            | 39.95              | 79.45                    | 5.94             | 1.40                |

酸度对麻黄碱和伪麻黄碱的峰形影响较大, 2 个有效成分在 0.05% 磷酸水条件下色谱峰形差, 0.2% 磷酸水与 0.1% 磷酸水无明显差别, 由于考虑到色谱柱的耐酸程度, 故选择乙腈-0.1% 磷酸水作为流动相。

### 3.2 检测波长的考察

通过 DAD 检测器进行全波长扫描, 发现吗啡、麻黄碱、伪麻黄碱、可待因、罂粟碱分别在 209、207、206、211、251 nm 波长处具有最大吸收, 考虑末端吸收因素, 选择对比 220 nm 与 210 nm 吸收波长处前 4 个生物碱的峰面积, 结果表明前 4 个成分在 210 nm 处响应值大于 220 nm 处, 且灵敏度高, 通过参考相关文献及资料<sup>[6]</sup>, 最终确定 210 nm 作为检测波长; 罂粟碱虽在 251 nm 下有最大吸收, 但其在 250 nm 下响应值最大, 在这 2 个波长下, 罂粟碱的分离度及灵敏度无明显区别, 考虑准确定量罂粟碱在本品中的含量, 最终确定 250 nm 作为罂粟碱的检测波长。

### 3.3 供试品溶液萃取溶剂的优化

本实验考察了三氯甲烷、乙酸乙酯、三氯甲烷-氨水、乙酸乙酯-氨水作为萃取溶剂的萃取效果, 结果发现, 不加氨水不利于 5 个生物碱的萃取, 三氯甲烷-氨水的萃取率并无明显高于乙酸乙酯-氨水, 鉴于减轻试剂对试验人员的危害程度, 确定乙酸乙酯-氨水作为萃取溶剂; 氨水用量增加, 对 5 个生物碱的萃取效果有所增益, 但氨水用量增加到一定程度后, 萃取率无明显变化。试验过程中, 考察了 1、2、3、5 mL 氨水用量, 最终确定供试品萃取溶剂-氨水的用量为 3 mL。

### 参考文献

- [1] 王瑞明, 张玲, 倪艳, 等. HPLC 测定苏杏胶囊中盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱的含量[J]. 中成药, 2005, 27(6): 651  
WANG RM, ZHANG L, NI Y, *et al.* Determination of ephedrine hydrochloride and pseudoephedrine hydrochloride in Suxing capsules by HPLC[J]. Chin Tradit Pat Med, 2005, 27(6): 651
- [2] 李翔, 刘昉阳, 马建丽, 等. HPLC 法测定麻杏口服液中盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱的含量[J]. 药物分析杂志, 2014, 34(1): 190.  
LI X, LIU BY, MA JL, *et al.* Determination of ephedrine hydrochloride and pseudoephedrine hydrochloride in Mxing oral liquid by HPLC[J]. Chin J Pharm Anal, 2014, 34(1): 190
- [3] 庞晓星, 麻风华, 王清华, 等. UPLC 法测定强力枇杷露中吗啡、可待因和罂粟碱的含量[J]. 中医药信息, 2011, 28(1): 35  
PANG XX, MA FH, WANG QH, *et al.* Determination of morphine, codeine and papaverine in strong loquat dew by UPLC[J]. Inf Tradit Chin Med, 2011, 28(1): 35
- [4] 刘敏敏, 刘利颜, 刘丛丛. 液质联用法测定止咳类中成药中 5 种罂粟壳生物碱[J]. 中国卫生检验杂志, 2016, 26(23): 3353  
LIU MM, LIU LY, LIU CC. Detection of 5 papaveris alkaloids in antitussive traditional Chinese medicine with liquid chromatography mass spectrometry[J]. Chin J Health Lab Technol, 2016, 26(23): 3353
- [5] 刘文伟, 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, 29(5): 731  
LIU WW, GAO YQ, LIU JH, *et al.* Simultaneous determination of morphine, ephedrine hydrochloride and codeine phosphate in asthma tablets by RP-HPLC[J]. Chin J Pharm Anal, 2009, 29(5): 731
- [6] 刘永利, 李冬梅, 冯丽, 等. “一测多评”法测定咳嗽宁片中 5 种生物碱类成分的含量[J]. 中药新药与临床药理, 2012, 23(4): 464  
LIU YL, LI DM, FENG L, *et al.* Determination of 5 kinds of alkaloids in Kechuanning tablets by quantitative analysis of multi-components by single marker[J]. Tradit Chin Drug Res Clin Pharmacol, 2012, 23(4): 464
- [7] 宋玉国, 张新茹, 李秀芬, 等. HPLC 测定清咳平喘颗粒中盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱的含量[J]. 中国现代中药, 2014, 16(4): 319  
SONG YG, ZHANG XR, LI XF, *et al.* Determination of ephedrine hydrochloride and pseudoephedrine hydrochloride in Qingke Pingchuan granules by HPLC[J]. Mod Chin Med, 2014, 16(4): 319
- [8] 毕福钧, 林彤. HPLC 法测定小儿咳嗽宁口服液盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱含量[J]. 中药新药与临床药理, 2014, 25(4): 490  
BI FJ, LIN T. Determination of ephedrine hydrochloride and pseudoephedrine hydrochloride in Xiaoer Kechuanning oral liquid by HPLC[J]. Tradit Chin Drug Res Clin Pharmacol, 2014, 25(4): 490
- [9] 覃晓媚, 韦薇, 黄妹春, 等. HPLC 法测定小儿清热止咳口服液中盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱的含量[J]. 广西科学, 2012, 19(3): 244  
QIN XM, WEI W, HUANG MC, *et al.* Determination of ephedrine hydrochloride and pseudoephedrine hydrochloride in Xiaoer Qingre Zhike oral liquid by HPLC[J]. Guangxi Sci, 2012, 19(3): 244
- [10] 黎春彤, 李翔, 马建丽, 等. HPLC 同时测定防风通圣丸中盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱的含量[J]. 药物分析杂志, 2016, 36(1): 176  
LI CT, LI X, MA JL, *et al.* Simultaneous determination of ephedrine hydrochloride and pseudoephedrine hydrochloride in Fangfeng Tongsheng pills by HPLC[J]. Chin J Pharm Anal, 2016, 36(1): 176
- [11] 祝婧, 钟凌云, 龚千锋, 等. RP-HPLC 法测定麻黄及其炮制品中盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱的含量[J]. 江西中医药, 2014, 45(5): 63  
ZHU J, ZHONG LY, GONG QF, *et al.* Determination of ephedrine hydrochloride and pseudoephedrine hydrochloride in Ephedra and its processed products by RP-HPLC[J]. Jiangxi J Tradit Chin Med, 2014, 45(5): 63
- [12] 刘睿, 王宁, 刘志辉. RP-HPLC 同时测定宣肺止咳口服液中盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱及苦杏仁苷含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(16): 91  
LIU R, WANG N, LIU ZH. Simultaneous determination of ephedrine hydrochloride, pseudoephedrine hydrochloride and amygdalin

- hydrochloride in Xuanfei Zhike oral liquid[J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2011, 17(16): 91
- [13] 郝红艳, 郭济贤, 顺庆生, 等. HPLC 和 HPCE 法测定罂粟壳中 3 种生物活性生物碱[J]. 药学学报, 2000, 13(4): 289
- HAO HY, GUO JX, SHUN QS, *et al.* Determination of 3 kinds of bioactive alkaloids in the opium poppy by HPLC and HPCE[J]. Acta Pharm Sin, 2000, 13(4): 289
- [14] 席晓岚, 李明炬, 李宇飞. 用高效液相色谱法测定咳清胶囊中磷酸可待因的含量[J]. 贵阳医学院学报, 2004, 29(1): 42
- XI XL, LI MJ, LI YF. Determination of codeine phosphate in Keqing capsules by HPLC[J]. J Guiyang Med Coll, 2004, 29(1): 42
- [15] 符映均, 张莉, 胡浩彬, 等. 气相色谱法测定强力枇杷露中薄荷脑、磷酸可待因、吗啡、盐酸罂粟碱的含量[J]. 药学与临床研究, 2014, 22(5): 416
- FU YJ, ZHANG L, HU HB, *et al.* Determination of menthol, codeine phosphate, morphine and papaverine hydrochloride in Qiangli Pipa syrup by GC[J]. Pharm Clin Res, 2014, 22(5): 416
- [16] 太成梅, 金圣龙, 笔雪艳, 等. UPLC 法测定止咳胶囊中吗啡、可待因和罂粟碱的含量[J]. 中国药品标准, 2015, 16(3): 187
- TAI CM, JIN SL, BI XY, *et al.* Determination of morphine, codeine and papaverine in Zhisou Huatan capsules by UPLC[J]. Pharm Stand China, 2015, 16(3): 187
- [17] 罗奕, 姚文丽, 吴琳琳, 等. HPLC 法同时测定咳速停胶囊中 4 种成分[J]. 中成药, 2017, 39(1): 102
- LUO Y, YAO WL, WU LL, *et al.* Simultaneous determination of 4 kinds of components in Kesuting capsules[J]. Chin Tradit Pat Med, 2017, 39(1): 102
- [18] 刘绪林, 付蕾, 刘磊, 等. 离子对色谱法测定咳速停颗粒中吗啡的含量[J]. 中国医院药学杂志, 2008, 28(6): 421
- LIU XL, FU L, LIU L, *et al.* Determination of morphine in Kesuting granules by LPC[J]. Chin J Hosp Pharm, 2008, 28(6): 421
- [19] 朱平川, 岑卫健, 范晓苏. UPLC-MS/MS 法测定咳速停糖浆中 3 种兴奋剂类生物碱[J]. 中成药, 2014, 36(5): 970
- ZHU PC, CEN WJ, FAN XS. Determination of 3 kinds of agonist alkaloids in Kesuting syrup by UPLC-MS/MS[J]. Chin Tradit Pat Med, 2014, 36(5): 970
- [20] 左琳, 孟凤梅. HPLC 法测定咳速停糖浆中盐酸麻黄碱的含量方法研究[J]. 黑龙江科技信息, 2015(26): 2
- ZUO L, MENG FM. Determination of ephedrine hydrochloride in Kesuting syrup by HPLC[J]. Heilongjiang Sci Technol Inf, 2015(26): 2
- [22] WS-10215(ZD-0215)-2002-2011Z 中成药地方标准上升国家标准部分(内科肺系分册)[S]. 2011
- WS-10215(ZD-0215)-2002-2011Z The Upgrade of Local Standards of Chinese Patent Medicine: the part of National Standards (Internal Medicine Branch of Lung)[S]. 2011

(本文于 2017 年 4 月 20 日收到)