

· 研究报告 ·

复方颠茄合剂质量标准研究

陶晓璇, 李刚, 徐兰, 章强 (解放军94医院药学科, 江西南昌330002)

[摘要] **目的** 提高复方颠茄合剂的质量控制标准。**方法** 采用薄层色谱法(TLC)对复方颠茄合剂中的吗啡进行定性鉴别;采用高效液相色谱法(HPLC)测定复方颠茄合剂中吗啡的含量。以 WondaSil C₁₈ (4.6 mm×150 mm, 5 μm) 为色谱柱; A相: 0.01 mol/L 磷酸二氢钾溶液-0.002 5 mol/L 庚烷磺酸钠溶液(含 0.1% 三乙胺, 磷酸调 pH 至 2.5), B相: 乙腈, A : B = 90 : 10 为流动相; 流速: 1.0 ml/min; 检测波长: 220 nm; 柱温: 30 ℃。**结果** 在 TLC 图谱中可检出吗啡的特征斑点。吗啡在 0.525~10.5 μg/ml 范围内与其峰面积线性关系良好($r=0.999\ 9$), 平均回收率为 99.44%, RSD = 0.23% ($n=9$)。**结论** 本方法简便准确, 专属性强, 能够用于复方颠茄合剂的含量测定和质量控制。

[关键词] 薄层色谱法; 高效液相色谱法; 吗啡; 质量标准

[中图分类号] R927 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1006-0111(2017)03-0256-03

[DOI] 10.3969/j.issn.1006-0111.2017.03.015

Study on quality standard of Compound Belladonna Mixture

TAO Xiaoxuan, LI Gang, XU Lan, ZHANG Qiang (Department of Pharmacy, No. 94 Hospital of PLA, Nanchang 330002, China)

[Abstract] **Objective** To improve the quality standard for Compound Belladonna Mixture. **Methods** TLC was used for the qualitative identification of morphine. HPLC was used for the content of morphine in the Compound Belladonna Mixture. **Results** Morphine could be identified by TLC. A good linear correlation of morphine was observed within the range of 0.525~10.5 μg/ml ($r=0.999\ 9$). The average recovery was 99.44% with RSD of 0.23% ($n=9$). **Conclusion** This method is simple, accurate and quick, which could be used for determination and quality control of Compound Belladonna Mixture with good selectivity and repeatability.

[Key words] TLC; HPLC; morphine; quality standard

复方颠茄合剂收载于《中国人民解放军医疗机构制剂规范》2002年版^[1],是由颠茄酊、复方樟脑酊、聚山梨酯80等多种成分组成的复方制剂,具有解痉、止痛、解除平滑肌痉挛等作用。用于缓解胃肠痉挛所致的疼痛及止泻。复方樟脑酊是由樟脑、阿片酊、八角茴香油等组成,本制剂中阿片酊含有吗啡^[2],久服易成瘾。原标准中只进行了莨菪碱和吗啡的鉴别,没有复方樟脑酊中吗啡含量的测定项目。为了更全面地控制该制剂的内在质量,本研究采用HPLC法对复方颠茄合剂中的吗啡进行了方法学考察和含量测定。

1 仪器与试药

1.1 仪器 LC-15C型高效液相色谱仪(日本岛津,

自动进样器,UV检测器,柱温箱),HiCapt C₁₈固相萃取小柱(维泰克科技有限公司,1 000 mg/6 ml),KQ3200E超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司),AUW120D型分析天平(日本岛津)。

1.2 试药 吗啡对照品(中国药品生物制品检定所,批号:171201-201324);复方颠茄合剂(解放军94医院制剂室,批号:20140818、20140825、20140902),依据参考文献[1]项下规定制备;甲醇、乙腈为色谱纯;水为纯化水;其他所用试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 TLC鉴别

2.1.1 莨菪碱的鉴别 取本品20 ml,置分液漏斗中,加氨试液2 ml,用氯仿20 ml振摇提取,分取氯仿层蒸干,取残渣约10 mg,加发烟硝酸5滴,置水浴上蒸干,得黄色残渣,放冷,加乙醇2~3滴湿润,加固体氢氧化钾1小粒,即显深紫色。

[基金项目] 军队医疗机构制剂标准提高科研专项(13ZJZ20-1)

[作者简介] 陶晓璇,硕士,药师.研究方向:医院制剂,临床药学.

Email:ltt10290522@163.com

2.1.2 复方颠茄合剂中吗啡的鉴别 取本品80 ml,置分液漏斗中,加氨试液至溶液的pH值为8~9,用氯仿-乙醇(1:1)轻轻振摇提取3次(30、15、15 ml),合并提取液,水浴蒸干,残渣加无水乙醇3 ml使其溶解,滤过,滤液作为供试品溶液。另取吗啡对照品,加无水乙醇制成每1 ml含2 mg的溶液,作为对照品溶液。阴性对照溶液为按所测供试品的处方组成配制的不含复方樟脑酊的溶液。吸取上述3种溶液各10 μ l,分别点于同一硅胶G薄层板上,以氯仿-甲醇(7:3)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以稀碘化铋钾试液。供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同的橙黄色斑点。缺吗啡的阴性对照无干扰,结果见图1。

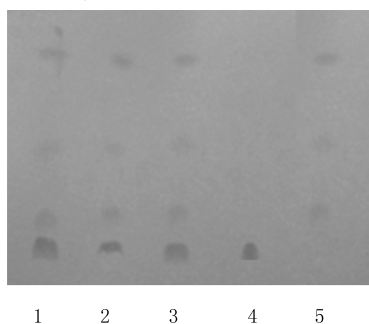


图1 复方颠茄合剂中吗啡的TLC图
1~3.供试品;4.吗啡对照品;5.阴性对照

2.2 含量测定

2.2.1 色谱条件 色谱柱:WondaSil C₁₈(4.6 mm×150 mm,5 μ m);流动相:A:0.01 mol/L磷酸二氢钾溶液-0.002 5 mol/L庚烷磺酸钠溶液(含0.1%三乙胺,磷酸调pH至2.5),B:乙腈,A:B=90:10;流速:1.0 ml/min;检测波长:220 nm;柱温:30 $^{\circ}$ C;进样量10 μ l。

2.2.2 溶液的制备 ①对照品溶液:精密称定吗啡对照品52.50 mg,置100 ml量瓶中,加20%甲醇的5%醋酸溶液溶解后稀释至刻度,摇匀,得浓度为0.525 mg/ml的吗啡对照品储备液,精密量取2 ml,置50 ml量瓶中,用20%甲醇的5%醋酸溶液稀释至刻度,摇匀,即得21 μ g/ml的对照品溶液。②供试品溶液:取以十八烷基硅烷键合硅胶为填充物的固相小柱1支,依次用甲醇-水(3:1)混合溶液15 ml及纯化水5 ml冲洗,再用pH值约为9的氨试液冲洗至流出液pH值约为9,备用。取复方颠茄合剂一瓶,超声处理10 min,取出,摇匀;精密量取5 ml置磨口锥形瓶中,蒸干,加5%醋酸溶液10 ml,超声处理10 min,放至室温。精密量取溶液2 ml,加氨试液调pH值约为9,置已处理好的固相

萃取柱上,摇匀。待溶液滴尽后用水约40 ml冲洗,用色谱分析流动相洗脱,10 ml量瓶收集洗脱液至刻度,摇匀,备用。③阴性对照溶液:根据处方及生产工艺制备缺复方樟脑酊的阴性对照品,按供试品溶液的制备方法,制成阴性对照溶液。

2.2.3 固相萃取柱系统适用性试验 用十八烷基硅烷键合硅胶为填充物;照“2.2.2”项供试品溶液相同的处理和洗脱条件试验。配制浓度为每1 ml中含吗啡对照品0.1 mg的5%醋酸溶液并精密量取1 ml,置处理后的固相萃取柱上,同法洗脱,用10 ml量瓶收集洗脱液至刻度,摇匀,作为系统适用性试验溶液。分别精密移取系统适用性试验溶液与0.1 mg/ml的对照品溶液各10 μ l,依次注入液相色谱仪,记录色谱图。按下列公式计算,系统适用性试验结果(f_s)应在0.97~1.03之间^[3]。

$$\text{系统适用性试验结果}(f_s)=\frac{A_x/C_x}{A_R/C_R}$$

式中, A_x 为系统适用性试验溶液吗啡峰面积; A_R 为对照品溶液吗啡峰面积; C_x 为系统适用性试验溶液浓度; C_R 为对照品溶液浓度。

本试验中,系统适用性试验溶液与对照品溶液色谱图中吗啡峰面积的比值为0.99,本试验所用固相萃取柱符合实验要求。

2.2.4 专属性试验 分别吸取对照品溶液、供试品溶液和阴性对照溶液各10 μ l,按“2.2.1”项色谱条件测定。供试品色谱主峰的保留时间与对照品一致,阴性对照无干扰(图2)。

2.2.5 线性关系考察 精密量取浓度为0.525 mg/ml的吗啡对照品溶液10、20、40、80、100、150、200 μ l,置10 ml量瓶中,分别加20%甲醇的5%醋酸溶液稀释至刻度,摇匀,分别精密量取10 μ l,依次注入液相色谱仪,记录色谱图。分别以浓度 $C(\mu\text{g/ml})$ 为横坐标,峰面积 A 为纵坐标,绘制标准曲线,得吗啡回归方程为: $A=33\ 531\ C-495.2$, $r=0.999\ 9$ 。表明吗啡在0.525~10.5 $\mu\text{g/ml}$ 范围内与峰面积呈良好的线性关系。

2.2.6 精密度试验 取复方颠茄合剂(批号:20140818),按“2.2.1”项色谱条件,重复进样6次测定,计算吗啡峰面积的RSD为0.66%($n=6$),表明仪器精密度良好。

2.2.7 重复性试验 取同一批(批号:20140818)样品6份,按“2.2.2”项下供试品溶液的制备方法处理,按“2.2.1”项色谱条件测定,结果平均含量为23.44 $\mu\text{g/ml}$,RSD为0.32%($n=6$)。说明此方法重复性良好。

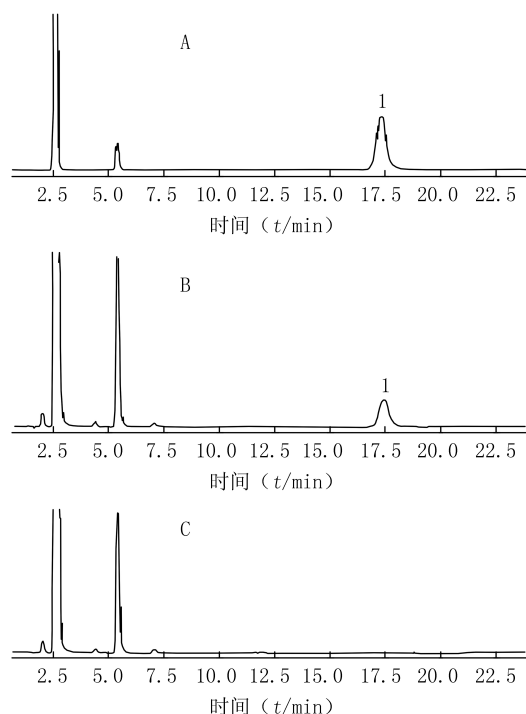


图2 复方颠茄合剂的HPLC色谱图

A. 对照品; B. 供试品; C. 阴性对照; 1. 吗啡

2.2.8 稳定性试验 取同一批(批号:20140818)供试品溶液,在常温下分别于0、2、4、6、8、12 h进样,记录峰面积,RSD为0.89% ($n=6$)。表明溶液在12 h内稳定性良好。

2.2.9 加样回收率试验 精密量取已知吗啡含量的复方颠茄合剂1 ml(相当于吗啡23.44 μg ,批号:20140818)9份,分别置100 ml磨口锥形瓶中,按低、中、高3个比例分别加入吗啡对照品适量,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,按“2.2.1”项色谱条件测定含量,计算回收率,结果平均回收率为99.44%,RSD为0.23% ($n=9$),详见表1。

表1 吗啡回收率测定结果

样品量 ($m/\mu\text{g}$)	加入量 ($m/\mu\text{g}$)	测得量 ($m/\mu\text{g}$)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
23.44	18.96	42.21	99.55		
23.44	18.96	42.29	99.74		
23.44	18.96	42.13	99.36		
23.44	23.14	46.22	99.23		
23.44	23.14	46.17	99.12	99.44	0.23
23.44	23.14	46.32	99.44		
23.44	27.32	50.67	99.82		
23.44	27.32	50.48	99.45		
23.44	27.32	50.39	99.27		

2.2.10 样品含量测定 分别精密吸取对照品溶液和供试品溶液10 μl ,按“2.2.1”项色谱条件进行测定,结果见表2。

表2 样品含量测定结果($n=3$)

批号	含量 ($\rho_B/\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$)
20140818	23.36
20140825	23.49
20140902	23.47

3 讨论

3.1 参照文献[3]中复方樟脑酊采用的流动相为0.05 mol/L磷酸二氢钾溶液-0.002 5 mol/L庚烷磺酸钠溶液-乙腈(2:2:1),试验结果出现基线不稳,吗啡色谱峰型差等现象。而改用流动相为A:0.01 mol/L磷酸二氢钾溶液-0.002 5 mol/L庚烷磺酸钠溶液(含0.1%三乙胺,磷酸调pH至2.5),B:乙腈,A:B=90:10,相比较效果最佳。本方法中选用庚烷磺酸钠试剂,由于其为离子对试剂,用于HPLC色谱中能改善峰形,分析结果重现性好,选用乙腈作为有机相是由于乙腈对柱子的损耗小,洗脱能力比甲醇强^[4]。

3.2 《中华人民共和国药典》^[3]2010年版二部规定复方樟脑酊中每1 ml含吗啡应为0.425~0.575 mg,经换算复方颠茄合剂中每1 ml含吗啡应在21.25~28.75 mg。由复方颠茄合剂3批样品含量测定结果可知,均在此范围内。

试验证明上述方法具有简单、快速的优点,且准确度和重复性良好,能够用于复方颠茄合剂中吗啡的含量测定,提高了该制剂的质量控制标准,为更好地进行质量评价提供参考和帮助。

【参考文献】

- [1] 中国人民解放军总后勤卫生部.中国人民解放军医疗机构制剂规范[S].北京:人民军医出版社,2002:33.
- [2] 汤方萍,杨立香.高效液相色谱法测定复方樟脑酊中吗啡含量[J].中国医院药学杂志,2008,28(14):1227-1228.
- [3] 国家药典委员会.中华人民共和国药典2010年版二部[S].北京:中国医药科技出版社,2010:593-594.
- [4] 熊水莲,侯莉.固相萃取柱高效液相色谱法测定复方甘草含片中吗啡的含量[J].实用临床医学,2012,13(10):10-12.

[收稿日期] 2015-02-15 [修回日期] 2015-08-03

[本文编辑] 顾文华