

药品检验·药品质量

# HPLC法测定复方茶碱麻黄碱片中可可碱、盐酸麻黄碱、茶碱和咖啡因的含量

杨宏伟 (辽宁省药品检验所, 沈阳 110023)

**摘要:** 建立 HPLC 法测定复方茶碱麻黄碱片中可可碱、盐酸麻黄碱、茶碱和咖啡因的含量。采用 Diamonsil C<sub>18</sub> 色谱柱, 以 0.05mol·L<sup>-1</sup> 磷酸二氢钾-甲醇-三乙胺 (77: 23: 0.2) 为流动相, 检测波长为 215nm。线性范围为可可碱: 0.1011~0.9097μg (r=0.9998); 盐酸麻黄碱: 0.0418~0.3758μg (r=0.9999); 茶碱: 0.0973~0.8759μg (r=0.9999); 咖啡因: 0.0614~0.5522μg (r=0.9999), 平均回收率为可可碱: 99.8% (RSD=0.6%, n=9); 盐酸麻黄碱: 100.4% (RSD=0.9%, n=9); 茶碱: 99.6% (RSD=0.5%, n=9); 咖啡因 100.1% (RSD=0.3%, n=9)。本方法简便、快速, 专属性强, 可有效地控制复方茶碱麻黄碱片中可可碱、茶碱、咖啡因和麻黄碱的含量。

**关键词:** 高效液相色谱法; 复方茶碱麻黄碱片; 可可碱; 盐酸麻黄碱; 茶碱; 咖啡因; 含量测定

中图分类号: R927.2 文献标识码: A 文章编号: 1002-7777 (2007) 02-0101-03

## Determination of Theobromine, Ephedrine Hydrochloride, Theophylline and Caffeine in Compound Theophylline and Ephedrine Hydrochloride Tablets

Yang Hongwei (Liaoning Provincial Institute for Drug Control, Shenyang 110023)

**ABSTRACT** A HPLC method was established for determination of theobromine, ephedrine hydrochloride, theophylline and caffeine in Compound Theophylline and Ephedrine Hydrochloride Tablets. A Diamonsil C<sub>18</sub> column was used with 0.05mol·L<sup>-1</sup> potassium dihydrogen phosphate, methanol and triethylamine (77: 23: 0.2) as the mobile phase. The wavelength of detection was at 215nm. A good calibration linearity and correlation coefficient were obtained which theobromine was at 0.1011~0.9097μg (0.9998), ephedrine hydrochloride at 0.0418~0.3758μg (0.9999), theophylline at 0.0973~0.8759μg (0.9999) and caffeine at 0.0614~0.5522μg (0.9999). The recoveries were 99.8% (RSD%=0.6%) for theobromine, 100.4% (RSD%=0.9%) for ephedrine hydrochloride, 99.6% (RSD%=0.5%) for theophylline and 100.1% (RSD%=0.3%) for caffeine. The method is convenient and accurate, and could be used on the quality control.

**KEY WORDS** Compound Theophylline and Ephedrine Hydrochloride Tablets; theobromine; ephedrine hydrochloride; theophylline; caffeine; determination; HPLC

复方茶碱麻黄碱片主要成分为可可碱、盐酸麻黄碱、茶碱和咖啡因。质量标准中<sup>[1]</sup>没有含量测定方法。本文经过试验摸索, 建立了 HPLC 法同时测定复方茶碱麻黄碱片中四组分的含量, 方法简便, 分离效果好, 专属性强, 辅料无干扰。

### 1 仪器与试剂

LC-10A 高效液相色谱仪, 包括 LC-10AD 型双波长紫外检测器, 自动进样器以及工作站 (岛津公司)。

可可碱对照品 (自精制, 纯度 99.5% 以上); 茶碱、盐酸麻黄碱和咖啡因对照品 (中国药品生物制品检定所, 批号分别为: 100121-199903, 171215-200305, 171241-200303); 复方茶碱麻黄碱片 (吉林 A 厂, 批号: 20050703, 山东 B 厂, 批号: 0502045, 辽宁 C 厂, 批号: 20041203, 内蒙 D 厂, 批号: 040303, 山西 E 厂, 批号: 040202)。

甲醇为色谱纯试剂, 三乙胺、磷酸二氢钾为分

析纯试剂。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: Diamonsil C<sub>18</sub> (4.6 × 150mm, 5μm); 流动相: 0.05mol·L<sup>-1</sup>磷酸二氢钾-甲醇-三乙胺 (77: 23: 0.2); 流速: 1.0mL·min<sup>-1</sup>; 检测波长: 215nm; 柱温: 室温; 进样量: 20μL。

在上述色谱条件下, 辅料峰及可可碱、盐酸麻黄碱、茶碱和咖啡因各色谱峰之间的分离度分别为 10.28、4.28、4.13、9.67, 均符合规定。按可可碱峰计算, 理论板数为 3190。

2.2 线性关系考察

精密称取上述 4 种对照品 25.27mg、10.44mg、24.33mg、15.34mg, 加流动相溶解并定容至 100mL, 摇匀。精密量取 1、3、5、7、9mL, 分别加流动相定容至 50mL, 摇匀。各进样 20μL, 记录色谱图。以峰面积为纵坐标 (Y), 绝对进样量 (μg) 为横坐标 (X) 作图。结果表明, 可可碱在 0.1011~0.9097μg 呈良好的线性关系, 其回归方程为:  $Y = 4427280X - 4251.5$  ( $r = 0.9998$ ); 盐酸麻黄碱在 0.0418~0.3758μg 呈良好的线性关系, 其回归方程为:  $Y = 1173071X - 2256.2$  ( $r = 0.9999$ ); 茶碱在 0.0973~0.8759μg 呈良好的线性关系, 其回归方程为:  $Y = 3780807X - 4612.2$  ( $r = 0.9999$ ); 咖啡因在 0.0614~0.5522μg 呈良好的线性关系, 其回归方程为:  $Y = 4609541X - 11983.6$  ( $r = 0.9999$ )。

2.3 回收率试验

按处方比例, 配制高、中、低 3 个浓度模拟样品共 9 份, 按“样品测定”项下操作, 计算四组分的平均回收率, 分别为可可碱 99.8% ( $RSD = 0.6\%$ ,  $n = 9$ ); 盐酸麻黄碱 100.4% ( $RSD = 0.9\%$ ,  $n = 9$ ); 茶碱 99.6% ( $RSD = 0.9\%$ ,  $n = 9$ ); 咖啡因 100.1% ( $RSD = 0.3\%$ ,  $n = 9$ )。

2.4 重复性试验

精密称取辽宁 C 厂的样品适量 (约相当于可可碱 25mg) 共 6 份, 按“样品测定”项下操作, 得可可碱、盐酸麻黄碱、茶碱和咖啡因的平均含量分别为 24.24mg/片、10.81mg/片、25.05mg/片、16.53mg/片, 其  $RSD$  分别为 0.40%、0.74%、0.42%、0.28%。

2.5 溶液的稳定性试验

取供试品溶液分别于 0、2、4h 测定, 得可可碱、盐酸麻黄碱、茶碱、咖啡因峰面积的平均值分

别为 2245742、210473、1969745、1384742, 其  $RSD$  分别为 0.47%、0.74%、0.65%、0.52%, 结果表明溶液在 4 小时内稳定。

2.6 样品测定

取本品 20 片, 精密称定, 研细, 精密称取适量 (约相当于可可碱 25mg), 置 100mL 量瓶中, 加流动相适量, 超声溶解并定容, 滤过, 精密量取续滤液 5mL, 加流动相定容至 50mL, 摇匀, 作为供试品溶液。另精密称取可可碱、盐酸麻黄碱、茶碱和咖啡因对照品适量, 加流动相溶解并定量稀释制成每 1mL 中约含 25μg、10μg、25μg、15μg 的溶液, 作为对照品溶液, 分别进样测定, 见图, 按外标法分别计算含量, 结果见表。

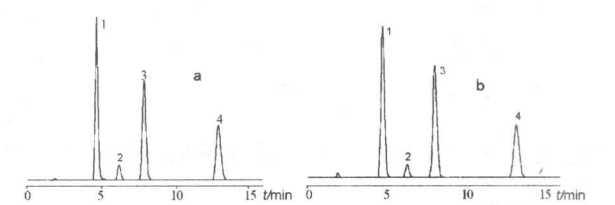


图 复方茶碱麻黄碱片 HPLC 色谱图

a 对照品; b 样品; 1 可可碱; 2 盐酸麻黄碱;  
3 茶碱; 4 咖啡因

表 含量测定结果 (mg/片)

| 批号           | 含量    |       |       |       |
|--------------|-------|-------|-------|-------|
|              | 可可碱   | 盐酸麻黄碱 | 茶碱    | 咖啡因   |
| A 厂 20050703 | 0.125 | 8.50  | 16.32 | 10.12 |
| B 厂 0502045  | 23.98 | 9.62  | 22.80 | 16.35 |
| C 厂 20041203 | 24.42 | 10.81 | 25.05 | 16.53 |
| D 厂 040303   | 23.78 | 10.26 | 24.25 | 16.22 |
| E 厂 040202   | 23.52 | 10.53 | 24.20 | 16.29 |

3 讨论

3.1 结晶水问题

《国家药品标准》化学药品地方标准上升国家标准第十四册收载的本品质量标准的处方中咖啡因和茶碱均未注明是否带结晶水, 本方法中咖啡因和茶碱的含量测定结果均按带一个结晶水计算, 与按不带结晶水计算的结果相差约 10%。

3.2 现行质量标准的弊端

从上述五个生产单位的样品测定结果可见, 批号为 20050703 的样品含量极低, 但按照《国家药品标准》化学药品地方标准上升国家标准第十四册质量标准检验, 样品仍符合规定, 所以现行质量标准无法控制该产品的质量。

3.3 测定波长的选择

(下转第 111 页)

取约 0.4g 精密称定，置 50mL 量瓶中，加稀乙醇 30mL，超声处理（功率 250w，频率 50kHz）30 分钟，放冷至室温，用稀乙醇稀释至刻度，摇匀，滤过，取续滤液，即得。

2.4 线性关系的考察

取浓度为  $0.3104\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  的芍药苷对照品溶液。分别吸取 0.3 0.5 1.0 2.0 2.5 3.0mL 置 10mL 量瓶中，分别加稀乙醇稀释至刻度，分别精密吸取 10 $\mu$ L 注入高效液相色谱仪分析测定，以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，得回归方程  $Y = 12635X - 7773.9$ ， $r = 0.9995$ ，结果表明，芍药苷在  $9.31\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1} \sim 93.12\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  范围内具有良好的线性关系。

2.5 精密度试验

取同一供试品（批号：041101），连续进样 6 次，测定。平均峰面积值为 708804， $RSD = 1.5\%$ （ $n = 6$ ），结果表明仪器具有良好的精密度。

2.6 稳定性试验

取同一供试品（批号：041101），照 2.3 方法测定，考察 0 4 8 12 16 24 小时峰面积值的变化，平均峰面积值为 714634  $RSD = 1.0\%$ （ $n = 6$ ）。

结果表明，在 24 小时内，供试品溶液中芍药苷的含量基本稳定，说明该方法稳定性试验良好。

2.7 重复性试验

取同一供试品 6 份（批号：041107），每份约 0.4g 精密称定，按本文方法测定。平均含量 2.18mg/片， $RSD = 1.2\%$ （ $n = 6$ ）。

2.8 回收率试验

精密称取已知含量的供试品（批号：041107）细粉 9 份，各份约 0.2g 精密加入芍药苷对照品溶液（ $0.1015\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ ）12mL、15mL、18mL，测定含量，计算回收率，结果见表 1。

2.9 样品含量测定

按本文方法测定 10 批供试品，依外标法计算

含量，测定结果见表 2。

表 1 回收率试验结果表

| 样品中芍药苷的含量 (mg) | 对照品加入量 (mg) | 实测总量 (mg) | 回收率 (%) | 平均回收率 (%) | RSD (%) |
|----------------|-------------|-----------|---------|-----------|---------|
| 1.538          | 1.218       | 2.762     | 100.5   |           |         |
| 1.452          | 1.218       | 2.660     | 99.2    |           |         |
| 1.553          | 1.218       | 2.788     | 102.1   |           |         |
| 1.622          | 1.522       | 3.193     | 103.2   |           |         |
| 1.544          | 1.522       | 3.104     | 102.5   | 100.6     | 1.7     |
| 1.449          | 1.522       | 2.966     | 99.7    |           |         |
| 1.507          | 1.826       | 3.307     | 98.6    |           |         |
| 1.540          | 1.826       | 3.381     | 100.8   |           |         |
| 1.569          | 1.826       | 3.375     | 98.9    |           |         |

表 2 10 批供试品的测定结果

| 批号     | 测得含量 (mg/片) |       |       |       | 平均含量 (mg/片) | RSD (%) |
|--------|-------------|-------|-------|-------|-------------|---------|
| 041101 | 2.156       | 2.151 | 2.154 | 2.153 | 2.15        | 0.1     |
| 041102 | 2.110       | 2.110 | 2.113 | 2.108 | 2.11        | 0.1     |
| 041103 | 2.204       | 2.201 | 2.142 | 2.139 | 2.17        | 1.7     |
| 041104 | 2.228       | 2.165 | 2.225 | 2.162 | 2.20        | 1.7     |
| 041105 | 2.194       | 2.123 | 2.192 | 2.120 | 2.16        | 1.9     |
| 041106 | 2.257       | 2.202 | 2.254 | 2.203 | 2.23        | 1.3     |
| 041107 | 2.179       | 2.180 | 2.183 | 2.176 | 2.18        | 0.1     |
| 041108 | 2.242       | 2.220 | 2.237 | 2.222 | 2.23        | 0.5     |
| 041109 | 2.206       | 2.293 | 2.296 | 2.203 | 2.25        | 2.3     |
| 041110 | 2.248       | 2.245 | 2.248 | 2.245 | 2.25        | 0.1     |

3 讨论

本研究采用高效液相色谱法，选用芍药苷作为指标性成分，对痢必灵片中白芍的有效成分之一芍药苷进行含量测定。并分别对精密度，稳定性，重复性和回收率进行了考察。

实验结果表明所建立的方法稳定，准确，可行，能有效的控制痢必灵片的内在质量，确保临床疗效。

参考文献:

[1] 卫生部药品标准 [S]. 中药成方制剂. 第三册, 1991: 176

(上接第 102 页)

由于用本方法测定的四个组分中盐酸麻黄碱在处方中所占的比例最少，并且其在 257nm 的最大吸收波长处的吸收也较其它三个组分弱，所以选择其较强的末端吸收即 215nm 作为测定波长，在此

波长处，采用一个色谱系统，能同时测定四个组分的含量。

参考文献:

[1] 国家药品标准 [S]. 地方标准上升国家标准. 第十四册, 2003: 100