

反相高效液相色谱法测定盐酸麻黄碱的血药浓度

王 葳 王秀玲 刘安西

(南开大学生命科学学院 天津 300071)

摘 要 本文采用反相高效液相色谱法对中药贴剂中盐酸麻黄碱的血药浓度进行测定。

方法简便,易行,分离度较好,可作为测定盐酸麻黄碱血药浓度的测定方法。

关键词 反相高效液相色谱法 盐酸麻黄碱 血药浓度

中药小儿清热止咳贴剂系由麻黄、苦杏仁、黄芩、石膏等中药经提取加工而成的中药复方外用贴剂,具有清热、宣肺、平喘、利咽的功能。中药复方成分复杂,且有效成分含量较低,较难用一般检测手段测出在体动物血清中指标成分—盐酸麻黄碱的含量,国内外对口服麻黄类药物的检测一般采用 GC/MS 法¹,GC/MSD 法² 和 HPLC 法³ 对动物或人的尿液成分进行检测,而对中药复方贴剂中指标成分—盐酸麻黄碱的动物在体经皮给药效果的检测至今还少有报告,本文采用高效液相色谱法对其中主要成分盐酸麻黄碱的兔血药浓度进行测定,方法较为简便、快速、准确,且不受其它组分干扰,结果满意¹。

1 材料与试剂

1.1 仪器

日本岛津 LC-4A 高效液相色谱仪;SPD-2AS 紫外检测仪;Anaster 色谱数据工作站。

1.2 药品与试剂

盐酸麻黄碱对照品(中国药品生物制品鉴定所 1241—200001,纯度为 99.84%)。甲醇、乙腈为色谱试剂,磷酸二氢钾、乙醇、无水乙醚、三氯乙酸等均为分析纯。

2 方法

2.1 色谱条件

色谱柱:Kromasil C18 (4.6mm × 250mm, i. d: 7 μ m);流动相:甲醇-0.05mol·L⁻¹磷酸二氢钾缓冲溶液(用磷酸调 pH 至 3.0, V/V: 22:78);流速:1.0mL·min⁻¹,检测波长:212nm,柱温:25℃。

2.2 标准储备液的配制

称取盐酸麻黄碱标准品 10.0mg,用流动相配制 1mg·mL⁻¹的储备液,避光保存。

2.3 血样预处理

将上述盐酸麻黄碱储备液稀释,制成 0.05mg·mL⁻¹的备用液,取 1mL 备用液于 10mL 离心管中,加入 1mL 兔血浆,用 3.0mL 乙腈去蛋白,离心(5000r·min⁻¹)6min⁻¹,将上清液转移至另一离心管中,进样测定。

3 结果与讨论

3.1 系统适应性试验

将空白兔血浆、空白兔血浆加盐酸麻黄碱对照品注入高效液相色谱仪,记录色谱图(见图 1)。

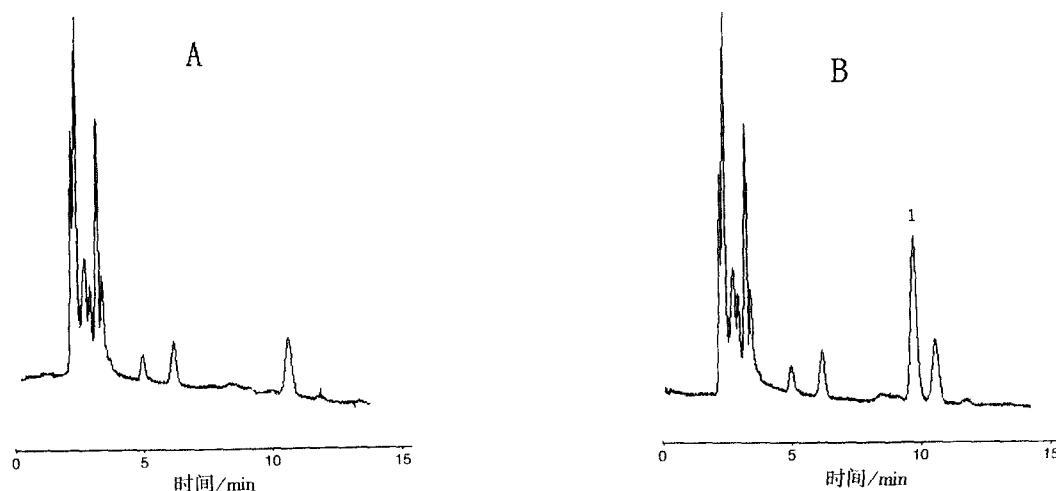


图 1 A. 空白血清的色谱图; B. 空白血清 + 盐酸麻黄碱对照品色谱图

3.2 线性关系测定

用空白兔血清及盐酸麻黄碱储备液,按上述预处理方法制成浓度分别为 0.1, 0.25, 0.5, 1.0, 1.25, 1.5 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的血清标准储备液,各浓度点分别进样 5 次,每次 20 μL ,用峰面积对浓度进行线性回归。回归方程为: $y = 14786x + 1173.4r = 0.9987 n = 5$ 。线性关系良好。

3.3 精密度和回收率

以空白血清中加入高、中、低不同浓度的盐酸麻黄碱对照品作为已知样品,按上述方法处理血清样品,选择一天内不同时间及不同天同一时间测定,得其测定值,计算其日内、日间精密度和回收率(见表 1)。

表 1 精密度和回收率试验

盐酸麻黄碱浓度 $/\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	精密度/ $\% n = 5$		回收率/ $\% n = 3$	
	日内 RSD	日间 RSD	数值	RSD
0.25	2.7	3.2	94.6	3.8
1.00	1.8	2.5	92.9	4.1
1.50	2.4	3.3	93.2	6.2

3.4 血药浓度测定

选取体重为 2.5 ~ 3.0kg 的家兔 6 只,用剪毛剪除兔腹部的毛,贴以中药小儿清热止咳贴剂,以压敏胶带固定,以防脱落及给药面积改变。12h 后除去贴膏,洗净皮肤。给药后分别于 0, 0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24, 30, 48h 定时于耳缘静脉取血,离心(4000r/min)10min 吸取上清血浆 1mL,做血药浓度测定,按样品前处理方法处理,以 HPLC 法测定血浆中盐酸麻黄碱的浓度(见图 2)。

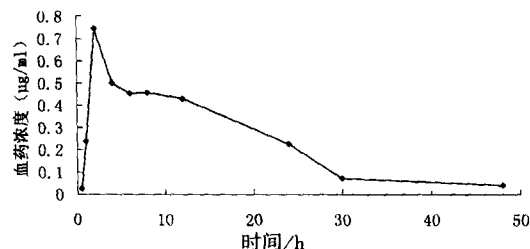


图 2 盐酸麻黄碱的兔血药浓度曲线

4 讨论

4.1 我们对流动相组分比例进行探讨,用不同比例的甲醇-水时,虽然保留时间比较合适,但峰形不好,峰面积难以确定。加入一定浓度的磷酸盐溶液后,峰形有较好的改善作用。

4.2 为研究蛋白质沉淀的方法,我们曾采用三氯乙酸沉淀蛋白,然后碱化上清液,再用有机溶剂提取,结果回收率很低。可能与盐酸麻黄碱可被蛋白质吸附且能溶于水有关。因此我们采用乙腈作为提取液,它不但可以沉淀蛋白,且与水可互溶,能将盐酸麻黄碱有效的提取出来,结果较为理想。

4.3 从盐酸麻黄碱的血药浓度-时间曲线可看出:贴剂中盐酸麻黄碱可迅速通过皮肤吸收,在用约 2h 时,血药浓度达到峰值,12h 去除贴膏后,在随后较长时间内,血液中仍可测得有一定的盐酸麻黄碱存在,且浓度逐渐降低,该现象在口服麻黄碱类药物中并未出现,这可能预示着皮肤和其皮下组织存在一定的药物储库的作用。

参考文献

- 1 Donike M. et al. Quantitative analysis of ephedrine by GC/MS. 9th workshop in Dope Analysis[C]Bologne; Mar 1991, 17 ~ 22
- 2 崔凯荣,周屹,张长久等.尿中 4 种麻黄素类药物的 GC/MSD 测定[J]高等学校化学学报 1992, 13: 1553 ~ 1554
- 3 金晓,王杉,张长久.尿中麻黄碱类药物的 HPLC 定量分析[J]药学学报 1994, 29(5): 375 ~ 379
- 4 买尔旦,王建华,严凤璋等,反相 HPLC 法测定盐酸伪麻黄碱兔血药浓度[J]药物分析杂志 1994, 14(4): 27 ~ 29
- 5 张奇,邓英杰,刘令勉.透皮吸收促进剂对青龙贴剂中盐酸麻黄碱透皮吸收的影响[J]中国中药杂志 2000, 25(3): 154 ~ 156
- 6 陈坚,方维军,张灯玲等,盐酸麻黄碱在人体中的药物动力学[J]中国医院药学杂志 1997, 17(7): 295 ~ 296
- 7 冯怡,史芝英,徐莲英.中药复方直肠给药制剂直肠吸收方法研究[J]中国中药杂志 2001, 26(6): 394 ~ 396

Determination of the concentration of ephedrine hydrochloride in blood drug by Rp - HPLC

Wang Wei Wang Xiuling Liu Anxi

(College of life sciences, Nankai University, Tianjin, 300071)

Abstract Set up a method to determine the concentration of ephedrine hydrochloride in blood drug after using Traditional Chinese Medicine plaster by a reverse-phase high performance liquid chromatographic method (RP - HPLC). The method is a simple, available method to detect the concentration of ephedrine hydrochloride in blood drug.

Key words RP - HPLC Ephedrine hydrochloride Blood drug concentration