

发油应用。

结果显示,以离子液体和水为混合溶剂时,前者可增加马齿苋挥发油提取率,其中[OMIM]Br⁻水所提取出的挥发油成分最多,有助于该类成分的提取。

参考文献:

[1] 徐雁南. 离子液体在有机合成中的拓展研究[D]. 上海: 华东师范大学, 2010.

[2] 王昊迪. 离子液体的性质及研究进展[J]. 当代化工研究, 2019(1): 121-122.

[3] 冯 靖, 彭效明, 李翠清, 等. 离子液体在提取天然产物活性物质中的应用[J]. 应用化工, 2019, 48(4): 945-949.

[4] Lin H M, Zhang Y G, Han M, *et al.* Aqueous ionic liquid based ultrasonic assisted extraction of eight ginsenosides from ginseng root[J]. *Ultrason Sonochem*, 2013, 20(2): 680-684.

[5] 李兰杰, 李绪文, 丁 健, 等. 超声辅助结合离子液体双水相提取-高效液相色谱法测定三七中 5 种稀有皂苷的含量[J]. 高等学校化学学报, 2016, 37(3): 454-459.

[6] 卢彩会, 牟德华. 离子液体 [BMIM]PF₆ 酶法辅助提取姜黄挥发油工艺优化及成分分析[J]. 食品科学, 2017, 38(10): 264-271.

[7] 冯 靖, 彭效明, 李翠清, 等. 离子液体在提取天然产物活性物质中的应用[J]. 应用化工, 2019, 48(4): 945-949.

[8] 周惠燕, 陈 珏, 徐蓓华. 离子液体提取金银花中绿原酸的研究[J]. 上海中医药杂志, 2018, 52(5): 83-86.

[9] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2020 年版一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 51.

[10] 胡一梅, 葛一漫, 王 华, 等. 马齿苋挥发油对辣椒素诱导瘙痒相关胞内通路的影响[J]. 世界科学技术 (中医药现代化), 2016, 18(7): 1199-1205.

[11] 李鹏飞, 苗明三. 马齿苋的现代研究及临床应用[J]. 中医学报, 2014, 29(9): 1342-1344.

[12] Jin T Y, Shen T, Zhou M X, *et al.* Chemical constituents from *Portulaca oleracea* and their bioactivities [J]. *J Chin Pharmaceut Sci*, 2016, 25(12): 898-905.

[13] 唐一梅, 张 博, 房海娜, 等. 离子液体辅助提取石菖蒲挥发油的工艺研究[J]. 西北大学学报 (自然科学版), 2018, 48(3): 393-398.

[14] 李 佳, 刘红燕, 张永清, 等. 顶空固相微萃取-气质色谱联用技术分析海州香薷与石香薷中挥发性成分[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(16): 118-122.

[15] de Araujo Junior R F, Eich C, Jorquera C, *et al.* Ceramide and palmitic acid inhibit macrophage-mediated epithelial-mesenchymal transition in colorectal cancer [J]. *Mol Cell Biochem*, 2020, 468(1-2): 153-168.

[16] Prommaban A, Utama-Ang N, Chaikitwattana A, *et al.* Linoleic acid-rich guava seed oil: Safety and bioactivity [J]. *Phytother Res*, 2019, 33(10): 2749-2764.

[17] 李锦灵, 林立龙, 李治寰. 不饱和脂肪酸对人脂肪间充质干细胞生物学特性的影响[J]. 生命科学研究, 2021, 25(1): 15-23; 52.

[18] Saeed N M, El-Demerdash E, Abdel-Rahman H M, *et al.* Anti-inflammatory activity of methyl palmitate and ethylpalmitate in different experimental rat models[J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2012, 264(1): 84-93.

HPLC 法同时测定枸杞配方颗粒中 4 种成分

毛琼丽^{1,2}, 胡 杨^{1,2}, 田有余¹, 刘 洋^{1,2}, 石 豪¹, 严 玲¹, 李先芝¹, 陈彦和^{1,2}
(1. 劲牌有限公司, 湖北 大冶 435112; 2. 中药保健食品质量与安全湖北省重点实验室, 湖北 大冶 435112)

摘要: **目的** 建立 HPLC 法同时测定枸杞配方颗粒中 4 种成分的含量。**方法** 该药物甲醇提取液的分析采用 Waters T3 色谱柱 (4.6 mm×250 mm, 5 μm); 流动相乙腈-0.1% 磷酸, 梯度洗脱; 体积流量 1.0 mL/min; 柱温 30 ℃; 检测波长 270 nm。**结果** 5-羟甲基糠醛、对香豆酸、芦丁、肉桂酸在各自范围内线性关系良好 ($r>0.999\ 9$), 平均加样回收率 100.7%~102.0%, RSD 0.56%~1.73%。**结论** 该方法重复性好, 稳定可靠, 可用于枸杞配方颗粒的质量控制。

关键词: 枸杞配方颗粒; 5-羟甲基糠醛; 对香豆酸; 芦丁; 肉桂酸; HPLC

中图分类号: R927.2 文献标志码: B 文章编号: 1001-1528(2023)05-1619-03
doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2023.05.038

收稿日期: 2022-11-04
基金项目: 湖北省重点研发计划项目 (2021ACA004)
作者简介: 毛琼丽 (1982—), 女, 执业药师, 研究方向为产品质量控制。E-mail: 95358226@qq.com

枸杞子为茄科植物宁夏枸杞 *Lycium barbarum* L. 的干燥成熟果实，具有滋补肝肾、益精明目的功效，用于治疗虚劳精亏、腰膝酸痛、眩晕耳鸣、阳痿遗精、内热消渴、血虚萎黄、目昏不明^[1-2]，富含大量多糖^[3-5]、类胡萝卜素^[6-7]、生物碱^[8-10]、黄酮^[10-13]等成分，具有广泛的生物活性及营养价值，已被列入我国药食同源品种目录中^[14-16]。目前，临床中药处方中的药材大多以饮片形态入药，随着现代科技的进步，各种相关新剂型层出不穷^[17-18]，其中配方颗粒因其规格统一、质量标准统一、携带便利、服用方便等特点，具有较广泛的应用前景^[19-20]。

枸杞子配方颗粒是以枸杞子为原料，经提取、浓缩、干燥、制粒、包装等工序制成的新型中药制剂^[21]，近年来相关研究主要集中于枸杞多糖^[22-24]，鲜有涉及其他成分的含量测定。为了有效评价和控制枸杞子配方颗粒质量，本实验建立 HPLC 法同时测定该制剂中 5-羟甲基糠醛、对香豆酸、芦丁、肉桂酸的含量。

1 材料

1.1 仪器 Agilent 1260 高效液相色谱仪，配置 G1379A 在线真空脱气机、G1311A 四元梯度泵、G1313A 自动进样器、G1316A 柱温箱、G1314B 紫外检测器（美国 Agilent 公司）；超声波提取器（上海科导超声仪器有限公司）；Option R7-Flex2 纯水/超纯水一体系统 [威立雅水处理技术（上海）有限公司]。

1.2 试剂与药物 5-羟甲基糠醛（纯度 98.7%，批号 111626-202114）、芦丁（纯度 91.6%，批号 100080-202012）、肉桂酸（纯度 98.8%，批号 110786-201604）对照品（中国食品药品检定研究院；对香豆酸对照品（成都普菲德生物技术有限公司，纯度≥98%，批号 18011605）。枸杞子配方颗粒由劲牌持正堂药业有限公司提供，批号 C20392012011、C20392012021、C20392012031。乙腈为色谱纯（美国费希尔公司）；磷酸为色谱纯（美国默克公司）；其他试剂均为分析纯；水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 Waters Atlantis™ T3 色谱柱（4.6 mm×250 mm，5 μm）；流动相乙腈-0.1% 磷酸，梯度洗脱，程序见表 1；体积流量 1.0 mL/min；柱温 30 ℃；检测波长 270 nm。

表 1 梯度洗脱程序		
时间/min	乙腈/%	0.1% 磷酸/%
0	2	98
5	2	98
25	10	90
32	10	90
60	30	70
70	50	50
75	50	50

2.2 溶液制备

2.2.1 对照品溶液 精密称取 5-羟甲基糠醛、对香豆酸、芦丁、肉桂酸对照品适量，甲醇溶解，制成每 1 mL 分别含

0.1、0.05、0.05、0.025、0.025 mg 上述成分的溶液，即得。

2.2.2 供试品溶液 称取本品粉末 0.2 g，置于 20 mL 棕色量瓶中，加 15 mL 甲醇超声处理 15 min，冷却至室温，甲醇定容至刻度，摇匀，0.22 μm 微孔滤膜过滤，即得。

2.2.3 阴性样品溶液 称取辅料麦芽糊精粉末 0.2 g，置于 20 mL 棕色量瓶中，加 15 mL 甲醇超声处理 15 min，冷却至室温，甲醇定容至刻度，摇匀，0.22 μm 微孔滤膜过滤，即得。

2.3 方法学考察

2.3.1 系统适应性考察 取对照品、供试品、阴性样品溶液适量，在“2.1”项色谱条件下进样测定，结果见图 1。由此可知，供试品、对照品溶液中各成分在相同保留时间处均有相应色谱峰，阴性无干扰。

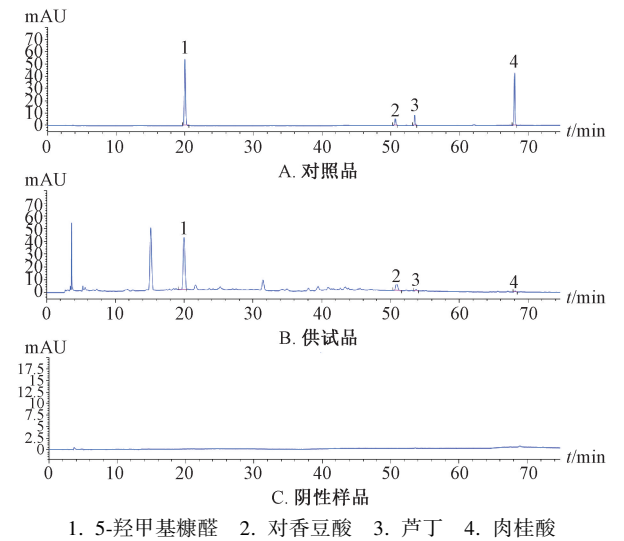


图 1 各成分 HPLC 色谱图

2.3.2 线性关系考察 按“2.2.1”项下方法制备对照品溶液，并稀释成 5 个质量浓度，在“2.1”项色谱条件下各进样 10 μL 测定。以对照品质量浓度为横坐标（X），峰面积为纵坐标（Y）进行回归，结果见表 2，可知各成分在各自范围内线性关系良好。

表 2 各成分线性关系

成分	回归方程	r	线性范围/(mg·L ⁻¹)
5-羟甲基糠醛	Y=53.509 6X+12.890 9	0.999 9	0.617 8~74.147 4
对香豆酸	Y=29.408 8X+2.937 4	0.999 9	0.278 2~33.382 8
芦丁	Y=17.452 8X+1.444 0	0.999 9	0.229 2~27.510 0
肉桂酸	Y=88.570 2X+4.164 1	0.999 9	0.125 1~15.012 6

2.3.3 精密度试验 取同一份供试品溶液，在“2.1”项色谱条件下进样测定 6 次，测得 5-羟甲基糠醛、对香豆酸、芦丁、肉桂酸峰面积 RSD 分别为 0.22%、0.25%、0.57%、1.21%，表明仪器精密度良好。

2.3.4 稳定性试验 取同一份供试品溶液，于 0、2、6、12、18、22 h 在“2.1”项色谱条件下进样测定，测得 5-羟甲基糠醛、对香豆酸、芦丁、肉桂酸峰面积 RSD 分别为 0.39%、0.79%、1.26%、1.58%，表明溶液在 22 h 内稳定性良好。

2.3.5 重复性试验 取同一份本品，按“2.2.2”项下方法平行制备 6 份供试品溶液，在“2.1”项色谱条件下进样测定，测得 5-羟甲基糠醛、对香豆酸、芦丁、肉桂酸含量 RSD 分别为 0.46%、0.39%、0.76%、1.01%，表明该方法重复性良好。

2.3.6 加样回收率试验 精密称取同一份本品 0.1 g，共 9 份，置于 20 mL 棕色量瓶中，平均分成 3 组，每组分别加入对照品溶液 0.8、1.0、1.2 mL，按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液，在“2.1”项色谱条件下进样测定，计算回收率。结果，5-羟甲基糠醛、对香豆酸、芦丁、肉桂酸平均加样回收率分别为 100.7%、101.2%、99.3%、101.5%，RSD 分别为 0.56%、1.01%、1.73%、1.29%。

2.3.7 样品含量测定 取 3 批样品，按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液，在“2.1”项色谱条件下进样测定，计算含量，结果见表 3。

表 3 各成分含量测定结果 (mg/g, n=3)				
批号	5-羟甲基糠醛	对香豆酸	芦丁	肉桂酸
C20392012011	0.70	0.21	0.081	0.006 5
C20392012021	0.57	0.19	0.075	0.006 1
C20392012031	0.78	0.26	0.089	0.006 8

3 讨论

3.1 检测波长筛选 本实验分别在 250、270、280、290、310、320、330 nm 波长处采集供试品溶液色谱图，对其整体性进行考察，发现各成分色谱峰在 270 nm 处均有良好的响应值。最终确定，检测波长为 270 nm。

3.2 提取溶剂筛选 本实验分别以纯水、50% 甲醇、甲醇为溶剂进行提取，发现各成分含量差异不大，但纯水提取后过滤时阻力大而难以进行；甲醇提取时色谱图基线平稳，杂质峰少。最终确定，提取溶剂为甲醇。

3.3 流动相筛选 本实验考察了乙腈-水、乙腈-0.1% 乙酸、乙腈-0.1% 甲酸、乙腈-0.1% 磷酸、甲醇-0.1% 磷酸洗脱后各成分色谱峰对称性、基线漂移情况。最终确定，流动相为乙腈-0.1% 磷酸。

4 结论

本实验建立了 HPLC 法同时测定枸杞子配方颗粒中 5-羟甲基糠醛、对香豆酸、芦丁、肉桂酸的含量，该方法操作简便，稳定性好，结果准确可靠，可为该制剂质量控制提供参考。

参考文献：

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典：2020 年版一部[S]. 北京：中国医药科技出版社，2020：260-261.

[2] 魏雪松，王海洋，孙智轩，等. 宁夏枸杞化学成分及其药理活性研究进展[J]. 中成药，2018，40(11)：2513-2520.

[3] 叶兴乾，周声怡，姚舒婷，等. 枸杞多糖的提取方式、结构及生物活性研究进展[J]. 食品与发酵工业，2020，46(6)：292-300.

[4] 周恒斌，刘雪蕊，张东星，等. 枸杞提取物中糖的组成分析[J]. 食品研究与开发，2018，39(24)：161-168.

[5] 王亚军，梁晓婕，曾晓雄，等. 不同成熟阶段枸杞果实中糖分含量的变化规律研究[J]. 干旱区资源与环境，2019，33(6)：174-178.

[6] 黄 丽，於洪建，吴 巍. 枸杞中类胡萝卜素的研究进展[J]. 食品研究与开发，2012，33(5)：233-236.

[7] 康迎春，尹 跃，赵建华，等. HPLC 法测定枸杞鲜果中主要类胡萝卜素组成[J]. 食品工业，2014，35(12)：270-273.

[8] Youn U J, Lee J Y, Kil Y S, *et al.* Identification of new pyrrole alkaloids from the fruits of *Lycium chinense* [J]. *Arch Pharm Res*, 2016, 39(3)：321-327.

[9] 秦军燕，陈 文，夏寅强，等. HPLC-MS 法测定食品中生物碱的研究[J]. 食品工业科技，2012，33(16)：73-75；78.

[10] 杨志敏，冯 翀，丁 辉，等. 基于 HPLC 法对枸杞中黄酮和甜菜碱含量的测定[J]. 农业科技与信息，2019(8)：32-34.

[11] 李越鲲，梁晓婕，王亚军，等. 不同种质黄果枸杞黄酮组分差异性[J]. 食品工业，2020，41(9)：292-296.

[12] 禄 璐，米 佳，罗 青，等. 枸杞总黄酮提取工艺优化及其体外抗氧化活性分析[J]. 食品工业科技，2019，40(24)：165-171.

[13] 谭 亮，董 琦，肖远灿，等. RP-HPLC 法同时测定枸杞子中 5 个酚酸类成分的含量[J]. 药物分析杂志，2013，33(3)：376-381；394.

[14] 杜娜娜. 枸杞子质量控制相关因素研究[D]. 兰州：兰州大学，2017.

[15] 魏雪松，王海洋，孙智轩，等. 宁夏枸杞化学成分及其药理活性研究进展[J]. 中成药，2018，40(11)：2513-2520.

[16] 丁 燕，孙 浩，徐飞飞，等. 基于雌激素靶标的药食同源中药抗骨质疏松活性网络药理学初探[J]. 中国食品学报，2017，17(12)：182-192.

[17] 王 晨，时 政，刘 钱，等. 不适宜制备中药配方颗粒的中药材品种探讨[J]. 中草药，2021，52(18)：5775-5781.

[18] 张清波，笔雪艳，曲范娜. 中药配方颗粒质量控制概况与思考[J]. 中国食品药品监管，2022(3)：42-46.

[19] 胡 杨，李先芝，钱全全，等. HPLC 法同时测定金银花配方颗粒中 6 种成分[J]. 中成药，2021，43(7)：1717-1720.

[20] 魏 悦，曹静亚，张丽先，等. 金银花药材、标准汤剂、中间体、配方颗粒指纹图谱及过程质量评价研究[J]. 中国现代应用药学，2022，39(4)：495-499.

[21] 赵小军. 枸杞子配方颗粒制备工艺及质量标准研究[D]. 银川：宁夏医科大学，2021.

[22] 刘 鹏，李 达，纪海玉，等. 枸杞多糖的提取及其体外抗氧化活性[J]. 食品研究与开发，2022，43(10)：111-116.

[23] 席璟睿，张懿琳，吴梦琪，等. 基于化学计量学的枸杞多糖部分酸水解产物 PMP-HPLC 指纹图谱[J]. 食品工业科技，2021，42(18)：268-275.

[24] 程莲莲，李 莉. 枸杞子配方颗粒及中药材中枸杞多糖含量的比较研究[J]. 黑龙江中医药，2017，46(1)：69-70.