

HPLC 法同时测定伤风停胶囊中 3 种成分

盛云杰， 杨春兰， 许家新， 汤晗霄， 郑 婷， 张永生*
(浙江中医药大学, 浙江 杭州 310053)

摘要: **目的** 建立 HPLC 法同时测定伤风停胶囊(麻黄、陈皮、荆芥等)中 3 种成分的含有量。**方法** 伤风停胶囊 1% 盐酸-甲醇提取液的分析采用 SunFire C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm); 流动相乙腈-0.1% 磷酸溶液, 梯度洗脱; 检测波长 210 nm (盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱)、283 nm (橙皮苷); 体积流量 1.0 mL/min; 柱温 30 ℃。**结果** 盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱、橙皮苷分别在 0.005 3~2.120 μg ($r=0.999\ 9$)、0.003 9~1.546 μg ($r=0.999\ 9$)、0.002 8~1.153 μg ($r=0.999\ 9$) 范围内线性关系良好, 平均回收率分别为 102.0% (RSD=1.0%)、100.4% (RSD=1.9%)、98.80% (RSD=1.8%)。**结论** 该方法简便、稳定、可靠, 可用于伤风停胶囊的质量控制。
关键词: 伤风停胶囊; 盐酸麻黄碱; 盐酸伪麻黄碱; 橙皮苷; HPLC
中图分类号: R927.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1528(2016)09-1960-04
doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2016.09.018

Simultaneous determination of three constituents in Shangfengting Capsules by HPLC

SHENG Yun-jie, YANG Chun-lan, XU Jia-xin, TANG Han-xiao, ZHENG Ting, ZHANG Yong-sheng*
(Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, China)

ABSTRACT: **AIM** To establish an HPLC method for the simultaneous determination of three constituents in Shangfengting Capsules (for cold of wind-cold pattern, containing *Ephedrae Herba*, *Pericarpium Citri Reticulatae*, *Schizonepetae Herba*, etc.). **METHODS** The analysis of Shangfengting Capsules 1% hydrochloric acid-methanolic extract was performed on a 30 ℃ thermostatic SunFire C₁₈ column (4.6 mm×250 mm, 5 μm), with the mobile phase comprising of acetonitrile-0.1% phosphoric acid flowed at 1 mL/min in a gradient elution manner. The detection wavelengths were set at 210 nm for ephedrine hydrochloride and pseudoephedrine hydrochloride, and 283 nm for hesperidin. **RESULTS** Ephedrine hydrochloride, pseudoephedrine hydrochloride and hesperidin showed good linear relationships within the ranges of 0.005 3–2.120 μg ($r=0.999\ 9$), 0.003 9–1.546 μg ($r=0.999\ 9$) and 0.002 8–1.153 μg ($r=0.999\ 9$), whose average recoveries were 102.0% (RSD=1.0%), 100.4% (RSD=1.9%) and 98.8% (RSD=1.8%), respectively. **CONCLUSION** This simple, stable and reliable method can be used for the quality control of Shangfengting Capsules.
KEY WORDS: Shangfengting Capsules; ephedrine hydrochloride; pseudoephedrine hydrochloride; hesperidin; HPLC

伤风停胶囊^[1]由麻黄、荆芥、白芷、陈皮、苍术(炒)、甘草 6 味中药组成,具有发散风寒的 功效,在《中药成方制剂 13 册》^[2]中只有关于麻黄碱的定性检测方法,并无具体的含有量测定标

收稿日期: 2015-09-15
基金项目: 国家自然科学基金(81573700); 浙江省自然科学基金(LY16H280004)
作者简介: 盛云杰(1982—),男,实验师,研究方向为中药质量标准及抗肝纤维化。Tel: (0571) 86613604, E-mail: belemi123@163.com
* 通信作者: 张永生(1971—),男,副研究员,研究方向为抗肝纤维化。Tel: (0571) 86613763, E-mail: alex.yszhang@zcmu.edu.cn

准,无法有效控制其质量。麻黄^[3-6]宣肺平喘、利水消肿,用于风寒感冒、胸闷喘咳、风水浮肿;陈皮中主要成分橙皮苷具有抑菌、抗炎、抗病毒作用^[7-9],与该药物疗效有着非常密切的关系。本实验采用HPLC法对伤风停胶囊中麻黄主要成分盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱,以及陈皮和荆芥中共有成分橙皮苷的含有量进行测定,以控制该药物的质量。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 Waters e2695 高效液相色谱仪(美国Waters公司);KQ5200B 超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);BP-211D 电子天平(十万分之一,德国Sartorius公司)。

1.2 试剂 盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱对照品(中国食品药品检定研究院,批号171241-201007、171237-201208);橙皮苷对照品(上海金穗生物科技有限公司,批号20150303)。伤风停胶囊(云南白药集团股份有限公司,批号WXMA1311)。十二烷基硫酸钠(美国Amresco公司,批号3567B028);乙腈为色谱纯。

2 方法与结果

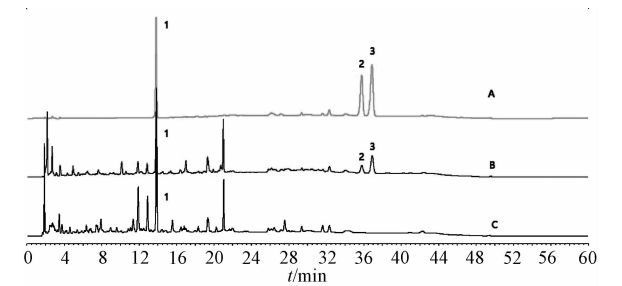
2.1 色谱条件 SunFire C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm);流动相乙腈(A)-0.1%磷酸溶液(B,含5 mmol/L 十二烷基硫酸钠和0.1%磷酸氢二钠),梯度洗脱(0~12 min, 87%~72% B;12~20 min, 72%~64% B;20~40 min, 64% B;40~45 min, 64%~87% B;45~60 min, 87% B);体积流量1.0 mL/min;检测波长210 nm(盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱)、283 nm(橙皮苷);柱温30℃;进样量10 μL,各色谱峰分离良好,见图1~2。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液 精密称取橙皮苷、盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱对照品适量,加甲醇定容制成每1 mL含0.360 4、1.104、1.208 mg上述成分的溶液,即得。

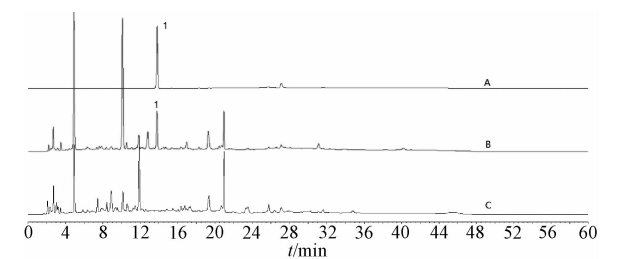
2.2.2 供试品溶液 取伤风停胶囊20粒,取出药粉,碾钵中混匀研细,精密称取0.5 g,置于25 mL量瓶中,1%盐酸-甲醇定容至刻度,常温下超声30 min,放冷,1%盐酸-甲醇补足,摇匀、0.22 μm微孔滤膜过滤,即得。

2.2.3 阴性溶液 按处方比例,制备橙皮苷(缺陈皮和荆芥)和麻黄碱、伪麻黄碱(缺麻黄)的阴性对照,按“2.2.2”项下方法制备溶液,



A. 对照品 B. 样品 C. 缺麻黄阴性对照
1. 橙皮苷 2. 盐酸伪麻黄碱 3. 盐酸麻黄碱
A. reference substance B. sample C. negative control without Ephedrae Herba
1. hesperidin 2. pseudoephedrine hydrochloride 3. ephedrine hydrochloride

图1 HPLC 色谱图 (210 nm)
Fig 1 HPLC chromatograms (210 nm)



A. 对照品 B. 样品 C. 缺陈皮、荆芥阴性对照
1. 橙皮苷
A. reference substance B. sample C. negative control without Pericarpium Citri Reticulatae and Schizonepetae Herba
1. hesperidin

图2 HPLC 色谱图 (283 nm)
Fig 2 HPLC chromatograms (283 nm)

即得。

2.3 线性关系考察 精密移取“2.2.1”项下橙皮苷、麻黄碱、盐酸伪麻黄碱对照品溶液,进样10 μL。以峰面积为纵坐标(Y),对照品质量浓度为横坐标(X)绘制标准曲线,结果见表1,表明各成分线性关系良好。

表1 3种成分的线性关系

Tab. 1 Linear relationships of three constituents			
成分	回归方程	相关系数	线性范围/ug
橙皮苷	$Y = 19\,295X - 19\,341$	0.999 9	0.002 8 ~ 1.153
伪麻黄碱	$Y = 25\,233X - 13\,846$	0.999 9	0.003 9 ~ 1.546
麻黄碱	$Y = 24\,904X - 44\,195$	0.999 9	0.005 3 ~ 2.120

2.4 精密度试验 取各对照品适量,连续进样5次,测得橙皮苷、盐酸伪麻黄碱、盐酸麻黄碱峰面积RSD分别为0.4%、0.3%、0.4%,表明仪器精密度良好。

2.5 稳定性试验 取供试品溶液适量，于 0、2、4、8、24 h 测定，测得峰面积 RSD 分别为橙皮苷 0.9%、伪麻黄碱 1.1%、麻黄碱 1.1%，表明溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.6 重复性试验 取同一批（批号 WXMA1311）伤风停胶囊 5 份，按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液，测得橙皮苷、伪麻黄碱、麻黄碱含有量 RSD 分别为 0.9%、1.7%、1.9%，表明该方法重复性良好。

2.7 加样回收率试验 精密称取含有量已知的同一批样品（批号 WXMA1311）0.25 g，精密加入相当于样品含有量 80%、100%、120% 的对照品溶液（橙皮苷、盐酸伪麻黄碱、盐酸麻黄碱质量浓度分别为 0.137、0.059、0.147 mg/mL），测定回收率，结果见表 2。

表 2 加样回收率试验结果 (n=9)

Tab. 2 Results of recovery tests (n=9)

成分	称样量/ g	原有量/ mg	加入量/ mg	测得量/ mg	回收率/ %	平均回收 率/% (RSD/%)
橙皮苷	0.253 4	0.606 1	0.411 0	1.022 0	101.3	98.7 (1.8)
	0.253 2	0.605 6	0.411 0	1.020 0	100.8	
	0.253 9	0.607 3	0.411 0	1.019 0	100.2	
	0.253 5	0.606 4	0.548 0	1.139 0	97.2	
	0.253 5	0.606 4	0.548 0	1.151 0	99.4	
	0.253 9	0.607 3	0.548 0	1.143 0	97.8	
	0.253 0	0.605 2	0.685 0	1.272 0	97.3	
	0.252 9	0.604 9	0.685 0	1.265 0	96.4	
	0.253 3	0.605 9	0.685 0	1.278 0	98.2	
盐酸伪麻黄碱	0.253 4	0.215 4	0.177 0	0.395 1	101.6	99.7 (1.8)
	0.253 2	0.215 2	0.177 0	0.394 5	101.3	
	0.253 9	0.215 8	0.177 0	0.396 6	102.1	
	0.253 5	0.215 4	0.236 0	0.450 0	99.4	
	0.253 5	0.215 4	0.236 0	0.450 6	99.7	
	0.253 9	0.215 8	0.236 0	0.453 1	100.6	
	0.253 0	0.215 0	0.295 0	0.502 6	97.5	
	0.252 9	0.214 9	0.295 0	0.504 0	98.0	
	0.253 3	0.215 3	0.295 0	0.502 5	97.4	
盐酸麻黄碱	0.253 4	0.506 8	0.441 0	0.949 8	100.4	101.6 (1.0)
	0.253 2	0.506 4	0.441 0	0.956 7	102.1	
	0.253 9	0.507 8	0.441 0	0.962 0	103.0	
	0.253 5	0.507 0	0.588 0	1.097 0	100.3	
	0.253 5	0.507 0	0.588 0	1.113 0	103.1	
	0.253 9	0.507 8	0.588 0	1.109 0	102.2	
	0.253 0	0.506 0	0.735 0	1.254 0	101.8	
	0.252 9	0.505 8	0.735 0	1.248 0	100.9	
	0.253 3	0.506 6	0.735 0	1.248 0	100.8	

2.8 样品含有量测定 取 3 批样品，每批平行制备 5 份供试品溶液，依法测定含有量，结果见 1962

表 3。

表 3 含有量测定结果 (n=5)

Tab. 3 Results of content determination (n=5)

批号	橙皮苷/ (mg·g ⁻¹)	RSD/ %	盐酸伪麻黄碱/ (mg·g ⁻¹)	RSD/ %	盐酸麻黄碱/ (mg·g ⁻¹)	RSD/ %
WXMA1311	2.392	0.88	0.849 9	1.69	2.000	1.88
WXJA1429	1.720	0.59	0.727 1	1.86	0.766 8	1.61
WXKA1435	2.335	0.68	0.948 2	1.52	0.990 2	1.27

3 讨论

本实验以甲醇、乙醇和水为提取溶剂进行考察，发现甲醇提取效率最高。另外，含有 1% 盐酸的甲醇溶液对麻黄碱和伪麻黄碱的提取效率最高，而且橙皮苷在酸性环境下的提取率为 2.33 mg/g，纯甲醇环境下为 2.30 mg/g，没有显著影响，故确定提取溶剂为含 1% 盐酸的甲醇溶液。

同时，考察了 0.1% 三乙胺水溶液-甲醇（80：20，pH6.0）、含 0.1 mol/L 磷酸二氢钾的 0.015 mol/L 十二烷基磺酸钠水溶液-甲醇（38：62，pH5.5）、含 0.1% 磷酸二氢钠和 0.005 mol/L 十二烷基磺酸钠的 0.1% 磷酸水溶液-乙腈（77：23，pH2.1）流动相，结果选择色谱峰分离效果最好的最后一个。但实验发现，该流动相下橙皮苷的出峰时间较早，在与杂质峰的分离度不理想，故对流动相比比例进行微调，最终确定流动相的比例（见“2.1”项），此时各色谱峰分离效果理想。

含有量测定结果显示，不同批样品中橙皮苷、盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱的含有量分别为1.720 ~ 2.392、0.766 8 ~ 2.000、0.727 1 ~ 0.948 2 mg/g，以盐酸麻黄碱变化最大，可能是厂家所用药材质量不均^[10-12]。如今，中药材基源混乱、同名异物，同物异名的问题很多，其化学成分及含有量有明显差异，将严重影响饮片的安全。因此，建议相关生产厂商加强中药饮片质量规范，并严格执行，实现从种植到生产的全过程跟踪和管理，并加强培养掌握中药材特性的从业人员，如仓储人员必须保证在运输过程中对中药材的保护，而质检人员必须保证入库与出库药材的质量，把关生产过程的各个环节，从而确保药品出厂质量。

参考文献：

[1] 张晓燕, 孙 雪. 高效液相色谱法测定复方桔梗麻黄碱糖浆中盐酸麻黄碱的含量[J]. 中国药业, 2014, 23(18): 56-57.
[2] 贾善学, 成培光, 史保荣, 等. 《卫生部药品标准》中药成方制剂 1~19 册分析[J]. 中成药, 2001, 23(7): 530.

[3] 李佳莲, 方磊, 张永清, 等. 麻黄的化学成分和药理活性的研究进展[J]. 中国现代中药, 2012, 14(7): 21-27.

[4] 马勇, 徐瞰海, 徐海燕, 等. 麻黄研究进展[J]. 吉林中医药, 2008, 28(10): 777-779.

[5] 丁丽丽, 施松善. 麻黄化学成分与药理作用研究进展[J]. 中国中药杂志, 2006, 31(20): 1661-1664.

[6] 靳风云, 贺祝英, 赵杨, 等. HPLC 测定华盖散传统汤剂与颗粒汤剂中盐酸麻黄碱、苦杏仁苷、甘草酸、甘草苷的含量[J]. 中成药, 2008, 30(1): 80-86.

[7] 李玉山. 橙皮苷研究新进展[J]. 科技导报, 2009, 27(22): 108-115.

[8] 钱俊臻, 王伯初. 橙皮苷的药理作用研究进展[J]. 天然产物研究与开发, 2010, 22(1): 176-180.

[9] 范蕾, 刘敏, 吴查青, 等. HPLC 法同时测定四季感冒胶囊中橙皮苷和连翘苷的含量[J]. 中国药师, 2015, 18(6): 1054-1056.

[10] 陆兔林, 李金慈, 于江泳, 等. 中药标准物质在中药饮片质量控制中的应用[J]. 中国中药杂志, 2014, 39(1): 149-152.

[11] 刘媛, 高文远, 张平, 等. 中药饮片质量控制的现状与对策[J]. 天津药学, 2003, 15(5): 43-48.

[12] 肖永庆, 李丽, 刘颖. 加快中药标准饮片作为标准物质的基础研究步伐[J]. 中国中药杂志, 2014, 39(13): 2428-2431.

薏苡仁油纳米粒的质量评价

郑利, 陈丹*, 黄群, 刘永静, 陈秀雄
(福建中医药大学药学院, 福建 福州 350122)

摘要: **目的** 对薏苡仁油纳米粒进行质量评价。**方法** 透射电镜观察纳米粒的形态, 纳米粒度仪测定粒径及 Zeta 电位, TLC 法鉴别特征成分, GC 法测定油酸与亚油酸含量(两者性质不稳定, 故先测定其甲酯化产物油酸甲酯和亚油酸甲酯含量, 再换算成油酸与亚油酸含量), 超高效液相色谱-质谱(UPLC-MS)法测定甘油三油酸酯含量。**结果** 所制备的纳米粒圆整光滑, 大小均匀, 分散性能较好。平均粒径为(193.3 ± 0.8) nm, 平均 Zeta 电位为-(34.40 ± 5.82) mV。TLC 斑点清晰, 专属性强。油酸甲酯、亚油酸甲酯、甘油三油酸酯分别在 0.025 2 ~ 0.806 4、0.021 3 ~ 0.680 3、0.142 0 ~ 15.62 μg/mL 范围内线性关系良好, 平均回收率分别为 97.18% (RSD = 1.13%)、100.9% (RSD = 0.71%)、100.8% (RSD = 1.84%)。**结论** 该方法简便准确, 可用于控制薏苡仁油纳米粒的质量。**关键词:** 薏苡仁油纳米粒; 油酸; 亚油酸; 甘油三油酸酯; TLC; GC; UPLC-MS

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1528(2016)09-1963-07

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2016.09.019

Quality evaluation of *Coicis Semen* oil nanoparticles

ZHENG Li, CHEN Dan*, HUANG Qun, LIU Yong-jing, CHEN Xiu-xiong
(Department of Pharmacy, Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou 350122, China)

ABSTRACT: AIM To evaluate the quality of *Coicis Semen* oil nanoparticles. **METHODS** The nanoparticles had their morphologies check under transmission electron microscope, and their particle sizes and Zeta potentials were determined by nanoparticle size analyzer. TLC was applied to identifying the characteristic constituents, GC was used for determining the contents of methyl oleate and methyl linoleate, the methyl esterification products of unstable oleic acid and linoleic acid through which the contents of oleic acid and linoleic acid were obtained after calculation. And ultra performance liquid chromatography-mass spectrometry (UPLC-MS) was adopted in the quantitative determination of glycerol trioleate. **RESULTS** The prepared nanoparticles were round and smooth with uni-

收稿日期: 2015-10-04
基金项目: 福建省科技计划重点项目(2014Y0062); 福建省科技计划项目(2010Y2004)
作者简介: 郑利(1988—), 女, 硕士生, 研究方向为中药制剂与质量控制。Tel: (0591) 22861135, E-mail: zhengly822@163.com
* 通信作者: 陈丹(1961—), 女, 博士, 教授, 研究方向为中药制剂与质量分析评价。Tel: (0591) 22861135, E-mail: gscd2@163.com