

- [16] 张金莲, 何敏, 谢一辉, 等. 高效液相色谱法测定枳壳饮片中柚皮苷、橙皮苷和新橙皮苷的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(6): 68-70.
- [17] 康四和, 周锐, 聂晶. HPLC测定小儿消积止咳口服液中柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷的含量[J]. 中成药, 2010, 32(12): 2088-2091.
- [18] 张月辉, 王冬梅, 王安达, 等. HPLC法同时测定益胃口服液中芍药苷和橙皮苷的含量[J]. 沈阳药科大学学报, 2007, 24(8): 495-497, 503.
- [19] 谭洪根, 林生, 张启伟, 等. 高效液相色谱法测定续断药材中川续断皂苷VI的含量[J]. 中国中药杂志, 2006, 31(9): 726-727, 739.

## HPLC法同时测定气管炎颗粒中7种有效成分

张建春<sup>1,2</sup>, 苟亚军<sup>1\*</sup>, 邓永强<sup>2</sup>

(1. 兰州大学, 甘肃兰州 730000; 2. 中国人民解放军第一医院, 甘肃兰州 730000)

**摘要:** **目的** 建立 HPLC 法同时测定气管炎颗粒(麻黄、苦杏仁、橘红等)中盐酸麻黄碱、苦杏仁苷、柚皮苷、党参炔苷、五味子醇甲、远志皂苷元和款冬酮的含有量。**方法** 分析采用 Agilent ZORBAX SB-C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm); 流动相为乙腈-0.1% 磷酸溶液, 梯度洗脱; 体积流量 1 mL/min; 检测波长 210 nm。**结果** 盐酸麻黄碱、苦杏仁苷、柚皮苷、党参炔苷、五味子醇甲、远志皂苷元和款冬酮分别在 15.4 ~ 770 μg/mL、10.2 ~ 510 μg/mL、5.2 ~ 260 μg/mL、4 ~ 200 μg/mL、8 ~ 400 μg/mL、7.5 ~ 375 μg/mL 和 7 ~ 350 μg/mL 范围内呈良好的线性关系, 平均回收率分别为 98.5% (RSD = 1.8%)、98.9% (RSD = 1.2%)、100.4% (RSD = 0.7%)、97.5% (RSD = 1.9%)、101.1% (RSD = 1.7%)、99.3% (RSD = 1.7%) 和 101.1% (RSD = 1.1%)。**结论** 该方法简便、准确、灵敏、重复性好, 可用于气管炎颗粒的质量控制。

**关键词:** 气管炎颗粒; 盐酸麻黄碱; 苦杏仁苷; 柚皮苷; 党参炔苷; 五味子醇甲; 远志皂苷元; 款冬酮; HPLC

**中图分类号:** R927.2

**文献标志码:** A

**文章编号:** 1001-1528(2016)04-0806-04

**doi:**10.3969/j.issn.1001-1528.2016.04.018

## Simultaneous determination of seven effective constituents in Qiguanyan Granules by HPLC

ZHANG Jian-chun<sup>1,2</sup>, GOU Ya-jun<sup>1\*</sup>, DENG Yong-qiang<sup>2</sup>

(1. Lanzhou University, Lanzhou 730000, China; 2. The First Hospital of PLA, Lanzhou 730000, China)

**ABSTRACT: AIM** To establish an HPLC method for the simultaneous determination of the contents of ephedrine hydrochloride, nitrilosides, naringin, lobetyolin, schisandrin, senegenin and tussilagone in Qiguanyan Granules (*Ephedra sinica*, *Semen Armeniacae*, *Citrus reticulata*, etc.). **METHODS** The analysis was performed on Agilent ZORBAX SB-C<sub>18</sub> column (4.6 mm × 150 mm, 5 μm), mobile phase was acetonitrile-0.1% phosphoric acid solution with gradient elution, flow rate was 1 mL/min, and detection wavelength was set at 210 nm. **RESULTS**

Ephedrine hydrochloride, nitrilosides, naringin, lobetyolin, schisandrin, senegenin and tussilagone showed good linear relationships within the ranges of 15.4 - 770 μg/mL, 10.2 - 510 μg/mL, 5.2 - 260 μg/mL, 4 - 200 μg/mL, 8 - 400 μg/mL, 7.5 - 375 μg/mL and 7 - 350 μg/mL, whose average recoveries were 98.5% (RSD = 1.8%), 98.9% (RSD = 1.2%), 100.4% (RSD = 0.7%), 97.5% (RSD = 1.9%), 101.1% (RSD = 1.7%), 99.3% (RSD = 1.7%) and 101.1% (RSD = 1.1%), respectively. **CONCLUSION** This

**收稿日期:** 2015-08-26

**基金项目:** 军队医疗科研专项课题(14JZ12-1)

**作者简介:** 张建春(1968—), 女, 硕士, 主任药师, 硕士生导师, 研究方向为药物新剂型及中药制剂。Tel: (0931) 8993383, E-mail: zjc1508@126.com

\* **通信作者:** 苟亚军(1989—), 男, 硕士, 研究方向为药物新剂型及中药制剂。Tel: 15193166460, E-mail: gouyj09@163.com

method is simple, accurate and sensitive with good reproducibility, which can be used for the quality control of Qiguanyan Granules.

**KEY WORDS:** Qiguanyan Granules; ephedrine hydrochloride; nitrilosides; naringin; lobetyolin; schisandrin; senegenin; tussilagone; HPLC

气管炎颗粒为解放军第一医院自制制剂,由麻黄、苦杏仁、川贝、橘红、党参、冬花、五味子以及远志8味中药经加工提取而成的中成药,具有良好的止咳平喘,清热化痰功效,多年临床应用效果良好。但其一直没有明确的质量标准规范,不符合国家对医院制剂的新要求,限制了其作为医院制剂批文的申报。根据《中国药典》中对麻黄、苦杏仁、橘红、党参、冬花、五味子以及远志7味中药的质量控制是分别是盐酸麻黄碱、苦杏仁苷、柚皮苷、党参炔苷、五味子醇甲、远志皂苷元和款冬酮的含有量为指标,本实验建立了HPLC法,用于同时测定气管炎颗粒中这7种有效成分的含有量。

### 1 材料

1.1 仪器 Agilent 1290 高效液相色谱仪,包括 Agilent 1290 LC 色谱工作站、G4204A 四元泵、手动进样器、G1316C 柱温箱、G4212A 紫外检测器(美国安捷伦科技公司);BP221S 电子天平;超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

1.2 试剂 苦杏仁苷(批号 110830-201305)、盐酸麻黄碱(批号 714-92022)、柚皮苷(批号 110722-201312)、党参炔苷(批号 111732-201206)、五味子醇甲(批号 110857-201412)、远志皂苷元(批号 111572-200702)和款冬酮对照品(批号 111884-201303),均购自中国食品药品检定研究院。气管炎颗粒(批号 20140801、20140802、20140803)。甲醇和乙腈为色谱纯;其他试剂为分析纯;水为超纯水。

### 2 方法与结果

2.1 色谱条件 Agilent ZORBAX SB-C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm);流动相乙腈(A)-0.1% 磷酸溶液(B),梯度洗脱(0 ~ 10 min, 10% A; 10 ~ 30 min, 10 - 65% A; 30 ~ 50 min, 65% A);体积流量 1 mL/min;检测波长 210 nm;柱温 30 °C;进样量 5 μL。

#### 2.2 溶液的制备

2.2.1 混合对照品溶液的制备 精密称取7个对照品适量,甲醇溶解后定容至5 mL,得对照品贮备液。精密吸取适量,甲醇配制成每1 mL 含盐酸麻黄碱 770 μg、苦杏仁苷 510 μg、柚皮苷 260 μg、

党参炔苷 400 μg、五味子醇甲 200 μg、远志皂苷元 375 μg 和款冬酮 350 μg 的混合对照品溶液。分别精密量取 5、2.5、1、0.5、0.2 mL,置于 10 mL 量瓶中,甲醇溶解定容,即得。

2.2.2 供试品溶液的制备 取样品适量,研细,精密称取 5 g,加入甲醇 25 mL,称定质量,超声(功率 40 W) 30 min,放冷,甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,0.45 μm 微孔滤膜滤过,即得。

2.2.3 阴性对照溶液的制备 根据处方中药物的比例,按相关工艺分别制备不含对应药材的阴性样品,再按“2.2.2”项下方法制成阴性对照溶液。

2.3 系统适应性实验 分别取“2.2”项下混合对照品、供试品、阴性对照溶液各 5 μL,在“2.1”项色谱条件下进样测定,结果见图1。由图可知,其分离度较好,阴性样品在对照品色谱峰相应的位置上无吸收峰出现,表明处方中的其他成分对测定结果无影响。

2.4 线性关系考察 精密量取“2.2.1”项下混合对照品溶液 5 μL,在“2.1”项色谱条件下测定。以峰面积为纵坐标(y),质量浓度(μg/mL)为横坐标(x)绘制标准曲线,并进行回归,结果见表1。表明各成分线性关系良好。

表1 7种成分的线性关系

Tab. 1 Linear relationships of seven constituents

成分	标准曲线	r	线性范围/(μg·mL <sup>-1</sup> )
盐酸麻黄碱	$y = 9.3629x + 1.9599$	0.9997	15.4 ~ 770
苦杏仁苷	$y = 2.5593x + 2.1333$	0.9992	10.2 ~ 510
柚皮苷	$y = 10.092x - 1.3602$	1.0000	5.2 ~ 260
党参炔苷	$y = 5.5896x + 10.142$	0.9997	8 ~ 400
五味子醇甲	$y = 37.108x + 17.688$	0.9994	4 ~ 200
远志皂苷元	$y = 5.9381x - 0.924$	0.9999	7.5 ~ 375
款冬酮	$y = 10.062x + 1.6766$	0.9999	7 ~ 350

2.5 精密度试验 精密量取“2.2.1”项下混合对照品溶液 5 μL,在“2.1”项色谱条件下重复进样6次,测定峰面积。结果,盐酸麻黄碱、苦杏仁苷、柚皮苷、党参炔苷、五味子醇甲、远志皂苷元和款冬酮的峰面积 RSD 分别为 1.95%、1.3%、0.9%、1.4%、1.9%、1.3% 和 1.5%,表明仪器精密度良好。

2.6 稳定性试验 取“2.2.2”项下供试品溶液

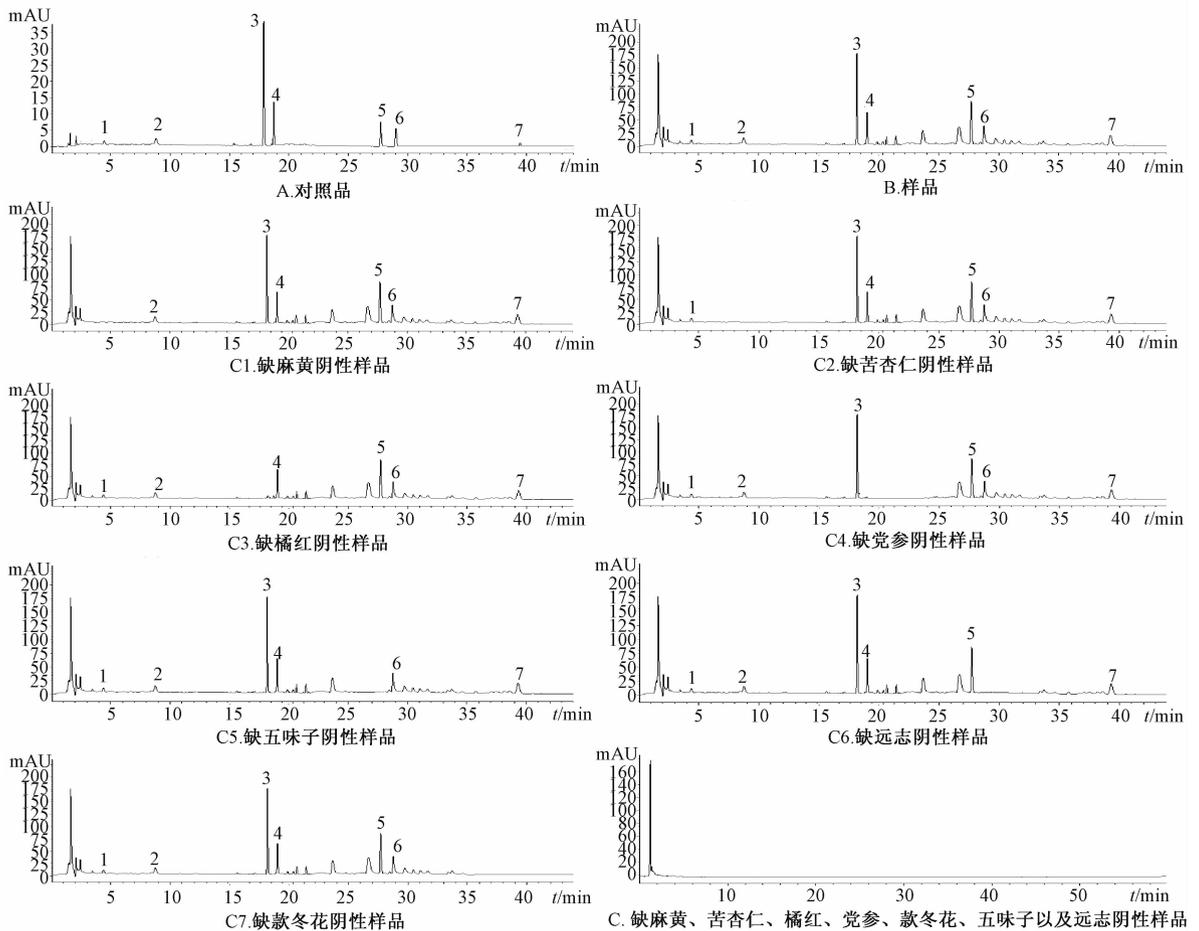


图1 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms

适量，于0、2、4、8、12、24 h在“2.1”项色谱条件下进样5 μL，测定峰面积。结果，盐酸麻黄碱、苦杏仁苷、柚皮苷、党参炔苷、五味子醇甲、远志皂苷元和款冬酮的峰面积RSD分别为1.06%、0.4%、0.9%、1.8%、1.2%、0.9%和1.7%，表明溶液在24 h内稳定性良好。

2.7 重复性试验 取样品适量，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，记录峰面积。结果，盐酸麻黄碱、苦杏仁苷、柚皮苷、党参炔苷、五味子醇甲、远志皂苷元和款冬酮的峰面积RSD分别为2.62%、1.1%、1.4%、1.1%、1.2%、0.6%和1.5%，表明该方法重复性良好。

2.8 加样回收率试验 精密称取各成分含有量已知的气管炎颗粒粉末6份，分别加入含盐酸麻黄碱520 μg/mL、苦杏仁苷540 μg/mL、柚皮苷325 μg/mL、

党参炔苷50 μg/mL、五味子醇甲40 μg/mL、远志皂苷元37.5 μg/mL和款冬酮87.5 μg/mL的混合对照品溶液2 mL，再加入甲醇10 mL，按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液，在“2.1”项色谱条件下测定，计算其加样回收率。

2.9 样品含有量测定 取不同批号的气管炎颗粒，按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液，在“2.1”项色谱条件下测定含有量。

结果见表2~3。

### 3 讨论

根据《中国药典》2010版，盐酸麻黄碱<sup>[1-2]</sup>、苦杏仁苷、柚皮苷、党参炔苷<sup>[3]</sup>、五味子醇甲<sup>[4]</sup>、远志皂苷元和款冬酮的检查波长分别集中在210和283 nm附近。根据两个波长下的吸收峰峰形和分离度，同时为使操作简便、快速、易行，都选择在210 nm波长下测定。

表 2 7种成分含有量的测定结果 (mg/mL, n=3)

Tab. 2 Determination results of the contents of seven constituents (mg/mL, n=3)

样品	盐酸麻黄碱	RSD/%	苦杏仁苷	RSD/%	柚皮苷	RSD/%	党参炔苷	RSD/%	五味子醇甲	RSD/%	远志皂苷元	RSD/%	款冬酮	RSD/%
1	0.406		0.423		0.203		0.027		0.019		0.039		0.044	
2	0.410	1.0	0.418	1.2	0.198	2.5	0.030	5.3	0.020	5.0	0.041	3.8	0.045	3.5
3	0.414		0.428		0.208		0.029		0.021		0.042		0.042	

表 3 加样回收率试验结果 (n=6)

Tab. 3 Results of recovery tests (n=6)

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/%
盐酸麻黄碱	2.502 1	1.000 8	1.040 0	2.034 0	99.34	98.5	1.8
	2.500 2	1.000 1	1.040 0	2.011 0	97.20		
	2.500 5	1.000 2	1.040 0	2.012 0	97.29		
	2.503 8	1.001 5	1.040 0	2.052 0	101.01		
	2.500 1	1.000 0	1.040 0	2.004 0	96.53		
苦杏仁苷	2.502 1	1.050 0	1.080 0	2.118 0	98.89	98.9	1.2
	2.500 2	1.050 4	1.080 0	2.128 0	99.78		
	2.500 5	1.050 2	1.080 0	2.116 0	98.69		
	2.503 8	1.050 5	1.080 0	2.136 0	100.51		
	2.500 1	1.050 3	1.080 0	2.115 0	98.59		
柚皮苷	2.502 1	0.507 9	0.650 0	1.163 4	100.85	100.4	0.7
	2.500 2	0.507 5	0.650 0	1.154 1	99.47		
	2.500 5	0.507 6	0.650 0	1.157 1	99.93		
	2.503 8	0.508 3	0.650 0	1.165 2	101.07		
	2.500 1	0.507 5	0.650 0	1.156 0	99.77		
党参炔苷	2.502 1	0.075 1	0.100 0	0.173 4	98.34	97.5	1.9
	2.500 2	0.075 0	0.100 0	0.171 1	96.09		
	2.500 5	0.075 0	0.100 0	0.171 2	96.19		
	2.503 8	0.075 1	0.100 0	0.175 2	100.09		
	2.500 1	0.075 0	0.100 0	0.170 4	95.40		
五味子醇甲	2.502 1	0.050 0	0.080 0	0.133 4	104.20	101.1	1.7
	2.500 2	0.050 0	0.080 0	0.131 1	101.37		
	2.500 5	0.050 0	0.080 0	0.131 2	101.49		
	2.503 8	0.050 1	0.080 0	0.129 2	98.91		
	2.500 1	0.050 0	0.080 0	0.130 4	100.50		
远志皂苷元	2.502 1	0.100 1	0.075 0	0.173 4	97.75	99.3	1.7
	2.500 2	0.100 0	0.075 0	0.173 1	97.46		
	2.500 5	0.100 0	0.075 0	0.176 2	101.57		
	2.503 8	0.100 2	0.075 0	0.175 2	100.06		
	2.500 1	0.100 0	0.075 0	0.175 4	100.53		
款冬酮	2.502 1	0.125 1	0.175 0	0.299 0	99.37	101.1	1.1
	2.500 2	0.125 0	0.175 0	0.301 0	100.57		
	2.500 5	0.125 0	0.175 0	0.302 0	101.13		
	2.503 8	0.125 2	0.175 0	0.302 0	101.03		
	2.500 1	0.125 0	0.175 0	0.304 0	102.28		
2.502 4	0.125 1	0.175 0	0.304 0	102.22			

在流动相的选择上,由于盐酸麻黄碱、苦杏仁苷、柚皮苷、党参炔苷、五味子醇甲、远志皂苷元和款冬酮的极性差异较大,故选择梯度洗脱。然后,考察不同流动相,如乙腈-水、乙腈-0.1%磷酸水、乙腈-0.5%醋酸水溶液等溶剂系统,并多次调整梯度洗脱条件以优化分离效果,最终确定文中所述流动相<sup>[2,5]</sup>。另外,还比较了不同的提取溶剂、方式和时间,最终确定文中所述方法。

前期文献报道了分别测定以上7种有效成分的方法<sup>[6-11]</sup>,但要在不同色谱条件和波长下进行,操作费时。本实验采用甲醇溶液一步超声提取,在同一色谱条件下同时测定七者的含有量,该方法简便准确,可用于气管炎颗粒的质量控制。

参考文献:

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2010年版一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010.

[2] 陈 勇. HPLC测定解毒万灵丸中盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱的含量[J]. 中成药, 2004, 26(3): 195-198.

[3] 赵晓华, 刘养清, 王润生, 等. 党参不同部位中党参炔苷的RP-HPLC分析[J]. 中成药, 2007, 29(7): 1046-1047.

[4] 杨春梅, 王玉蓉. HPLC测定眠而安滴丸中五味子醇甲的含量[J]. 中成药, 2004, 26(10): 808-810.

[5] 杨书斌, 刘 青, 孙立立, 等. HPLC测定苦杏仁饮片中苦杏仁苷的含量[J]. 中成药, 2006, 28(10): 1452-1454.

[6] 贺 颖, 王志萍, 王力宁. HPLC法同时测定麻杏石甘汤剂中盐酸麻黄碱和苦杏仁苷含量[J]. 中华中医药杂志, 2013, 28(9): 2778-2780.

[7] 吴学新, 丁百全, 代克敏. HPLC测定小儿支气管炎颗粒中盐酸麻黄碱的含量[J]. 儿科药理学杂志, 2010, 16(1): 49-50.

[8] 孙庆文, 黄 敏, 何顺志. HPLC测定7种党参类植物中的党参炔苷[J]. 华西药理学杂志, 2009, 24(3): 290-292.

[9] 周进东, 陆兔林, 毛春芹, 等. HPLC测定五味子不同炮制品中6种木脂素类成分的含量[J]. 中国药理学杂志, 2011, 9(17): 1353-1356.

[10] 杨国红, 孙晓飞. 反相高效液相色谱法测定远志中远志皂苷元的含量[J]. 药物分析杂志, 2001, 21(4): 260-263.

[11] 刘玉峰, 杨秀伟. 反相高效液相色谱法测定款冬花中的款冬酮含量[J]. 药物分析杂志, 2009, 29(1): 31-34.