

# HPLC法测定白芥子饮片中白芥子苷的含量<sup>△</sup>

徐敏<sup>1\*</sup>, 叶凡<sup>2</sup>, 赖先荣<sup>2</sup>, 杨艳<sup>1</sup>(1.成都市第三人民医院中药剂科/重庆医科大学附属成都第二临床学院, 成都 610031; 2.成都中医药大学民族医药学院, 成都 611137)

中图分类号 R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)18-2549-03  
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.18.34

**摘要** 目的:建立测定白芥子饮片中白芥子苷含量的方法。方法:采用高效液相色谱法。色谱柱为 Sepax HP-C<sub>18</sub>, 流动相为 50% 乙腈-水溶液(含 5 mmol/L 四正辛基溴化铵), 流速为 1.0 ml/min, 检测波长为 227 nm, 柱温为 30 ℃, 进样量为 10 μl。结果:白芥子苷的检测质量浓度线性范围为 0.010 1~0.202 4 mg/ml( $r=0.999 7$ ); 精密性、稳定性、重复性试验的 RSD < 2%; 加样回收率为 98.51%~104.62%, RSD=1.90% ( $n=9$ )。结论:该方法操作简便、结果准确可靠, 可用于白芥子饮片中白芥子苷的含量测定。

**关键词** 白芥子; 白芥子苷; 高效液相色谱法; 含量测定

## Content Determination of Sinalbin in *Sinapis alba* Decoction Piece by HPLC

XU Min<sup>1</sup>, YE Fan<sup>2</sup>, LAI Xianrong<sup>2</sup>, YANG Yan<sup>1</sup>(1.Dept. of TCM, the Third People's Hospital of Chengdu/Second Affiliated Hospital, Chongqing Medical University, Chengdu 610031, China; 2.College of Ethnic Medicine, Chengdu University of TCM, Chengdu 611137, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish a method for the content determination of sinalbin in *Sinapis alba* decoction piece. METHODS: HPLC was performed on the column of Sepax HP-C<sub>18</sub> with mobile phase of 50% acetonitrile-water solution (containing 5 mmol/L tetraoctyl ammonium bromide) at a flow rate of 1.0 ml/min, detection wavelength was 227 nm, column temperature was 30 ℃, and the injection volume was 10 μl. RESULTS: The linear range of sinalbin was 0.010 1-0.202 4 mg/ml ( $r=0.999 7$ ); RSDs of precision, stability and reproducibility tests were lower than 2%, recovery was 98.51%-104.62% (RSD=1.90%,  $n=9$ ). CONCLUSIONS: The method is simple, accurate and reliable, and can be used for determination of sinalbin in *Sinapis alba* decoction piece.

**KEYWORDS** *Sinapis alba*; Sinalbin; HPLC; Content determination

芥子为十字花科植物白芥 *Sinapis alba* L. 或芥 *Brassica juncea* (L.) Czern. et Coss. 的干燥成熟种子, 前者习称“白芥子”, 后者习称“黄芥子”。芥子味辛、性温, 归肺经, 具有温肺豁痰利气、散结通络止痛之功效, 主治痰滞经络、寒痰喘咳、痰湿流注等证<sup>[1-2]</sup>; 生品辛散力强, 善于通络止痛, 炒制后可缓和辛散走窜之性, 避免耗气伤阴, 并善于顺气豁痰, 多用于痰多咳嗽<sup>[3]</sup>。现代药理研究表明, 芥子具有祛痰、镇咳、平喘、抗炎镇痛、抑制前列腺增生和抗肿瘤等作用<sup>[4]</sup>。由于白芥子的祛痰平喘作用优于黄芥子, 毒性低于黄芥子, 因此白芥子为主要的市场流通品种<sup>[5]</sup>。白芥子主要成分为白芥子苷、芥子碱和脂肪酸等<sup>[6]</sup>, 2015年版《中国药典》(一部)中采用高效液相色谱(HPLC)法测定了芥子中芥子碱硫氰酸盐的含量, 而白芥子苷作为白芥子中刺激性成分芥子油的主要来源, 其含量测定目前尚未见文献报道。因此, 笔者采用 HPLC 法<sup>[7]</sup>测定白芥子饮片中白芥子苷的含量, 为进一步控制白芥子饮片质量提供参考。

## 1 材料

### 1.1 仪器

1200 型 HPLC 色谱仪, 包括 G1322A 型在线脱气机、G1311A 型四元泵、G1329A 型标准自动进样器、HT-340K 型柱温箱、G1315D 型二极管阵列检测器(美国 Agilent 公司); KQ-50B 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司, 功率:

200 W, 频率: 40 kHz); CPA225D 型十万分之一电子天平(德国 Sartorius 公司); ULUP-I-10T 型超纯水机(成都超纯科技有限公司)。

### 1.2 药品与试剂

白芥子苷对照品(德国 Applichem 公司, 批号: 15050103, 纯度 > 99.0%); 四正辛基溴化铵[梯希爱(上海)化成工业发展有限公司, 批号: 6BJ2S-GQ, 纯度 > 98.0%]为离子对试剂; 乙腈为色谱纯, 其余试剂均为分析纯, 水为超纯水。

### 1.3 药材

生白芥子饮片(批号: 141118、150108、150117)、炒白芥子饮片(批号: 141126、150122、150130)均购自四川省中药饮片有限责任公司, 经成都市食品药品检验研究院副主任药师文永盛鉴定为十字花科植物白芥 *Sinapis alba* (L.) 的干燥成熟种子。饮片测定前均粉碎成粉末(过三号筛, 50 目), 备用。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

色谱柱: Sepax HP-C<sub>18</sub> (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 50% 乙腈-水溶液(含 5 mmol/L 四正辛基溴化铵); 流速: 1.0 ml/min; 检测波长: 227 nm; 柱温: 30 ℃; 进样量: 10 μl。

### 2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液 精密称取白芥子苷对照品适量, 置于 10 ml 量瓶中, 加甲醇制成每 1 ml 溶液中含白芥子苷 0.101 2 mg 的对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液 取生白芥子样品粉末约 1 g, 精密称定, 置于 100 ml 具塞锥形瓶中, 精密加入 70% 甲醇 40 ml, 称定质量,

<sup>△</sup> 基金项目: 成都市卫生局科研课题(No. 2013051)

\* 副主任中药师, 硕士。研究方向: 中药品质与临床药学。电话: 028-61318612。E-mail: xumincd@aliyun.com

超声处理 20 min, 放冷, 再次称定质量, 加 70% 甲醇补足减失的质量, 摇匀, 经 0.45  $\mu\text{m}$  微孔滤膜滤过, 取续滤液作为生白芥子供试品溶液。炒白芥子供试品溶液的制备方法同上。

2.2.3 阴性对照溶液 用甲醇作为阴性对照溶液。

### 2.3 系统适用性试验

精密量取“2.2”项下对照品溶液、供试品溶液、阴性对照溶液各适量, 按“2.1”项下色谱条件进样测定, 记录色谱, 详见图 1。由图 1 可见, 在该色谱条件下, 各色谱峰均能达到基线分离, 分离度  $>1.5$ , 理论板数以白芥子苷峰计  $>22\ 000$ , 保留时间为 18.8 min。结果表明, 其他成分对测定无干扰。

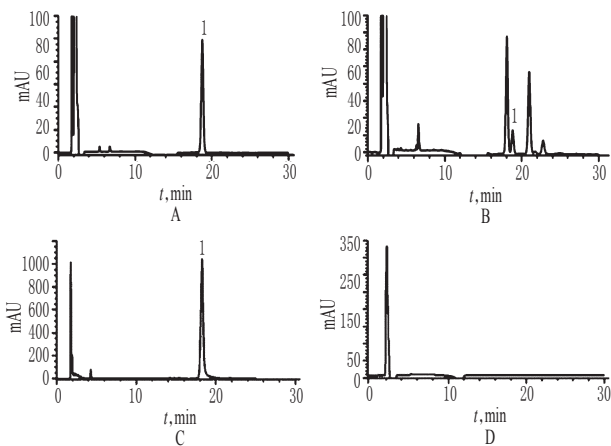


图 1 高效液相色谱图

A. 对照品; B. 生白芥子供试品; C. 炒白芥子供试品; D. 阴性对照; 1. 白芥子苷

Fig 1 HPLC chromatograms

A. reference substance; B. raw *S. sinapis*; C. stir-fried *S. sinapis*; D. negative control; 1. sinalbin

### 2.4 线性关系考察

分别精密量取“2.2.1”项下对照品溶液 1、2、4、10、12、16、20  $\mu\text{l}$ , 按“2.1”项下色谱条件进样测定, 记录峰面积。以质量浓度 ( $x$ ,  $\text{mg/ml}$ ) 为横坐标、峰面积 ( $y$ ) 为纵坐标进行线性回归, 得白芥子苷的回归方程为  $y=6\ 585.1x+7.507\ 5$  ( $r=0.999\ 7$ )。结果表明, 白芥子苷的检测质量浓度线性范围为 0.010 1~0.202 4  $\text{mg/ml}$ 。

### 2.5 精密度试验

精密量取“2.2.2”项下生白芥子供试品溶液 10  $\mu\text{l}$ , 按“2.1”项下色谱条件进样测定, 记录峰面积。结果, 白芥子苷峰面积的  $\text{RSD}=0.63\%$  ( $n=6$ ), 表明仪器精密度良好。

### 2.6 稳定性试验

精密量取“2.2.2”项下生白芥子供试品溶液 10  $\mu\text{l}$ , 分别于放置 0、1、2、4、8、12、24 h 时按“2.1”项下色谱条件进样测定, 记录峰面积。结果, 白芥子苷峰面积的  $\text{RSD}=0.55\%$  ( $n=7$ ), 表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

### 2.7 重复性试验

精密称取生白芥子饮片 (批号: 141118) 适量, 共 6 份, 按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液, 再按“2.1”项下色谱条件进样测定, 计算含量并记录峰面积。结果, 白芥子苷的平均含量为 3.112 5  $\text{mg/g}$ ,  $\text{RSD}=1.58\%$  ( $n=6$ ), 表明本方法重复性良好。

### 2.8 加样回收率试验

取已知含量的生白芥子饮片 (批号: 141118) 约 0.5 g, 精密称定, 共 9 份, 分别置于 10 ml 具塞锥形瓶中, 按已知含量的 80%、100%、120% 3 个浓度分别加入白芥子苷对照品, 按

“2.2.2”项下方法制备供试品溶液, 再按“2.1”项下色谱条件进样测定, 记录峰面积并计算加样回收率, 结果见表 1。

表 1 加样回收率试验结果 ( $n=9$ )

Tab 1 Results of recovery test ( $n=9$ )

称样量, g	样品含量, mg	加入量, mg	测得量, mg	加样回收率, %	平均加样回收率, %	RSD, %
0.500 5	1.562 0	1.246 9	2.841 5	102.61		
0.500 0	1.560 4	1.245 6	2.808 7	100.22		
0.500 6	1.562 3	1.247 1	2.815 4	100.48		
0.500 6	1.562 3	1.558 9	3.159 8	102.48		
0.500 7	1.562 6	1.559 2	3.141 6	101.27	101.90	1.90
0.500 6	1.562 3	1.558 9	3.097 9	98.51		
0.500 7	1.562 6	1.871 0	3.520 0	104.62		
0.500 7	1.562 6	1.871 0	3.498 2	103.45		
0.500 7	1.562 6	1.871 0	3.498 8	103.48		

### 2.9 样品含量测定

分别称取 6 批样品各适量, 按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液, 再按“2.1”项下色谱条件进样测定, 记录峰面积并计算样品含量, 结果见表 2。

表 2 样品含量测定结果 ( $n=3$ ,  $\text{mg/g}$ )

Tab 2 Results of content determination of samples ( $n=3$ ,  $\text{mg/g}$ )

批号	生白芥子	平均含量	批号	炒白芥子	平均含量
150108	3.120 8		150130	123.569 2	
141118	3.202 2	3.12	150122	142.575 6	137.13
150117	3.052 0		141126	145.259 2	

## 3 讨论

### 3.1 提取溶剂及其用量的选择

笔者分别将提取溶剂无水乙醇、70% 乙醇、甲醇、90% 甲醇、70% 甲醇、50% 甲醇、30% 甲醇, 按“2.1”项下色谱条件进样测定, 记录峰面积并计算含量。结果, 7 种提取溶剂的含量分别为 0.122 6、2.818 0、1.998 6、2.664 6、3.090 0、2.201 60、0  $\text{mg/g}$ ,  $\text{RSD}$  均  $<2\%$  ( $n=6$ )。由于 70% 甲醇作为提取溶剂的含量最高, 因此选择 70% 甲醇作为本试验的提取溶剂。

笔者还考察了提取溶剂的用量 (10、20、30、40、50 ml)。结果, 加入 70% 乙醇 10、20、30、40 ml 时, 样品的含量是递增的, 当提取溶剂用量为 40 ml 和 50 ml 时, 样品的含量相差不大。因此, 从节约时间、节约溶剂以及色谱峰德尔响度方面综合考虑, 选择 40 ml 为本试验提取溶剂的用量。

### 3.2 色谱纯的选择

白芥子中含有芥子碱硫氰酸盐、白芥子苷两种主要成分。白芥子苷本身无刺激性作用, 遇水后在芥子酶的酶解作用下生成黄色油状物硫代异氰酸对羟基苄酯, 该油状物具有辣味, 为强力的皮肤发红剂、催吐剂及调味剂, 并有起泡作用<sup>[9]</sup>。芥子碱硫氰酸盐和白芥子苷两种成分的化学结构中虽然均具有芥子碱的结构, 但是水解生成的产物不同。白芥子苷对照品的化学结构为阴阳离子复合物, 具有强电离解性。使用 HPLC 法测定这类电离能力比较强的成分时, 需要加入离子对色谱试剂, 可抑制成分的分解。笔者参考相关文献<sup>[9]</sup>采用四正辛基溴化铵为离子对色谱试剂, 结果四正辛基溴化铵能有效抑制对照品的解离, 使色谱峰取得较好的分离效果, 且峰形良好。

### 3.3 对样品含量结果的分析

白芥子外用主要使用生品, 清代张璐的白芥子散外用被后世医家视为治疗支气管哮喘和支气管炎的经典药方, 并一直沿用至今<sup>[10]</sup>。现代研究发现, 白芥子苷酶解后可生成具有刺鼻辛辣味、刺激性的芥子油, 其可使局部皮肤充血、发热, 表皮

# 近红外光谱法快速鉴别三九胃泰颗粒及其水分定量分析

闫 研\*,殷 果,刘凯双,王 珏,王铁杰\*(深圳市药品检验研究院/深圳药品质量标准研究重点实验室,深圳 518057)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)18-2551-04

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.18.35

**摘要** 目的:建立快速鉴别三九胃泰颗粒及其水分定量分析的方法。方法:采用近红外光谱法。采集38批三九胃泰颗粒,用积分球漫反射法测定近红外光谱,通过一致性指数(CI)值和CI限度比较法建立一致性检验模型,通过偏最小二乘法(PLS)建立水分定量模型。结果:当CI值 $<6$ 时,所建模型能够将三九胃泰快速鉴别出来,该模型经验证可行;水分定量模型相关系数( $r^2$ )为97.44,交叉验证均方差(RMSECV)为0.453,预测均方根误差(RMSEP)为0.748。结论:该方法方便、快捷、不破坏样品,可用于三九胃泰颗粒的现场快速筛查和水分含量的快速测定。

**关键词** 三九胃泰颗粒;近红外光谱;一致性检验模型;水分定量模型

## Rapid Identification of Sanjiu Weitai Granule and Quantitative Analysis of Moisture by Near-infrared Spectroscopy

YAN Yan, YIN Guo, LIU Kaishuang, WANG Jue, WANG Tiejie (Shenzhen Institute for Drug Control/Shenzhen Key Laboratory of Drug Quality Standard Research, Shenzhen 518057, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish a method for the rapid identification of Sanjiu weitai granule and quantitative analysis of moisture. METHODS: Near-infrared (NIR) spectroscopy was adopted. 38 batches of Sanjiu weitai granule were collected, NIR spectrum was determined by integrating sphere diffuse-reflectance. Conformity test model was performed by comparing consistency index (CI) value and CI limit, and quantitative model of moisture was established using partial least squares (PLS) algorithm. RESULTS: When CI value was less than 6, the established model can accurately distinguish Sanjiu weitai granule, the model was proven feasible; the correlation coefficient ( $r^2$ ) of quantitative model was 97.44, the root mean square error of cross validation (RMSECV) was 0.453, the root mean square error of prediction (RMSEP) was 0.748. CONCLUSIONS: The method is simple and rapid without destroying, which can be applied to fast screening of Sanjiu weitai granule in site and fast determination of moisture content.

**KEYWORDS** Sanjiu weitai granule; Near-infrared spectroscopy; Conformity test model; Quantitative model of moisture

渗液形成水泡<sup>[10]</sup>,既可通过皮肤组织对药物有效成分的吸收,发挥药理效应,又可借助经络腧穴对药物刺激作出较强反应,将药物作用放大,从而达到治疗疾病的目的<sup>[11]</sup>。本研究采用HPLC法测定了生、炒白芥子饮片中白芥子苷的含量,结果表明生白芥子中白芥子苷含量明显低于炒白芥子。生白芥子中含有芥子酶,白芥子苷遇水在芥子酶的作用下酶解为芥子油,皮肤刺激性强;炒白芥子经过高温炒制后杀酶保苷,其主要成分为白芥子苷而无芥子油,皮肤刺激性弱。因此,可考虑用炒白芥子替代生白芥子以减少对皮肤的刺激。

### 参考文献

- [1] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S].2015年版.北京:中国医药科技出版社,2015:149-150.
- [2] 杜丽娜,朱伟南,刘晓妍,等.防治哮喘用白芥子涂法复方巴布剂的制备及体内外研究[J].中国中药杂志,2014,39(23):4 596.
- [3] 逢镇,张村,李丽,等.白芥子及其炮制品的HPLC鉴别[J].北京中医药大学学报,2008,31(10):699.

\* 主管药师,硕士。研究方向:药物分析与药品质量控制。  
E-mail:yanyan198333@163.com

# 通信作者:主任药师,博士。研究方向:药品质量控制与质量标准。  
E-mail:wangtj88@163.com

- [4] 万军梅.中药白芥子研究进展[J].中国民族民间医药,2014(11):20.
- [5] 张村,李丽,肖永庆,等.白芥子饮片的质量评价研究[J].中国实验方剂学杂志,2010,16(16):30.
- [6] 张青山,王卓,孔铭,等.芥子中芥子碱类和硫代葡萄糖苷类成分化学稳定性和质量评价研究进展[J].中草药,2015,46(1):148.
- [7] 杜松云,李其兰,余军.RP-HPLC法测定白芥子中芥子碱硫氰酸盐的含量[J].中国药房,2007,18(27):2 126.
- [8] 金禹彤,宣丽华.冬病夏治穴位贴敷理论及临床应用[J].长春中医药大学学报,2015,31(1):90.
- [9] Saqer H, Richard H. Determination of sinigr- in, sinalbin, allyland benzyl isothiocyanates by RP-HP- LC in mustard powder extracts[J]. LWT-FOOD SCI TECHNOL, 2012,47(2):293.
- [10] 郭思佳,孙增涛,刘恩顺.穴位贴敷治疗支气管哮喘临床应用现状[J].辽宁中医杂志,2011,38(1):138.
- [11] 胡晔,张红星,周利,等.三九天灸机理探微[J].辽宁中医药大学学报,2012,14(8):155.

(收稿日期:2016-01-28 修回日期:2016-03-28)

(编辑:刘 柳)