

# 咳清胶囊的质量标准提高研究<sup>△</sup>

刘学<sup>1\*</sup>, 邱红燕<sup>2</sup>, 彭静<sup>1</sup>, 刘春艳<sup>3</sup>, 曲书阅<sup>3</sup>, 马莹<sup>2</sup>, 许乾丽<sup>1,2</sup>, 沈祥春<sup>1</sup>, 陶玲<sup>1</sup>, 茅向军<sup>1,2#</sup>(1.贵州医科大学药学院贵州省天然药物资源高效利用工程中心/贵州省普通高等学校天然药物药理与成药性评价特色重点实验室/贵州医科大学-贵阳市联合重点实验室/天然药物资源优效利用重点实验室, 贵阳 550025; 2.贵州省食品药品检验所, 贵阳 550004; 3.贵州中医药大学药学院, 贵阳 550025)

中图分类号 R286 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2020)05-0595-06

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2020.05.18

**摘要** 目的:完善和提高咳清胶囊的质量标准。方法:根据2015年版《中国药典》(四部)通则0502法对咳清胶囊中吉祥草、桑白皮进行薄层色谱(TLC)鉴别[展开剂分别为二氯甲烷-乙酸乙酯-甲酸(10:4:0.2, V/V/V)、乙酸乙酯-甲醇-浓氨试液(12:2:1, V/V/V)];采用高效液相色谱法(HPLC)同时测定咳清胶囊中吗啡、磷酸可待因的含量[色谱柱为XBridge C<sub>18</sub>, 流动相为乙腈-0.01 mol/L磷酸二氢钾水溶液(以5%磷酸溶液调节pH至2.7)(5:95, V/V), 流速为1.0 mL/min, 检测波长为210 nm, 柱温为35℃, 进样量为10 μL]。结果:在吉祥草、桑白皮供试品TLC图谱中,与对照药材图谱相应的位置上显相同颜色的斑点,且阴性对照无干扰。吗啡、磷酸可待因检测进样量的线性范围分别为0.301 56~2.110 90、0.064 93~0.454 52 μg( $r=0.999 9$ 、 $0.999 9$ ),检测限分别为0.000 10、0.001 28 μg,定量限分别为0.000 34、0.042 5 μg,精密性、稳定性(12 h)、重复性、耐用性试验的RSD均小于3%( $n=6$ ),平均加样回收率分别为96.18%、95.95%(RSD=1.78%、2.07%,  $n=6$ )。18批咳清胶囊样品中吗啡、磷酸可待因的含量范围分别为0.97~1.37、0.16~0.37 mg/g。结论:本研究建立了咳清胶囊吉祥草、桑白皮的TLC鉴别方法以及吗啡、磷酸可待因的HPLC含量测定方法,操作简便、准确可靠、专属性强,提升和完善了该制剂的质量标准。

**关键词** 咳清胶囊;质量标准;吗啡;磷酸可待因;薄层色谱法;高效液相色谱法

## Study on the Improvement of Quality Standard for Keqing Capsules

LIU Xue<sup>1</sup>, QIU Hongyan<sup>2</sup>, PENG Jing<sup>1</sup>, LIU Chunyan<sup>3</sup>, QU Shuyue<sup>3</sup>, MA Ying<sup>2</sup>, XU Qianli<sup>1,2</sup>, SHEN Xiangchun<sup>1</sup>, TAO Ling<sup>1</sup>, MAO Xiangjun<sup>1,2</sup>(1. Guizhou Provincial Engineering Center for High Efficacy Application of Natural Medicinal Resources/Key Laboratory of Natural Medicinal Pharmacology and Druggability Evaluation in Guizhou University/Guizhou Medical University-Guiyang City Joint Key Laboratory/Key Laboratory of Optimal Utilization of Natural Medicine Resources, School of Pharmacy, Guizhou Medical University, Guiyang 550025, China; 2. Guizhou Provincial Food and Drug Inspection Institute, Guiyang 550004, China; 3. School of Pharmacy, Guizhou University of TCM, Guiyang 550025, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To optimize and improve the quality standard for Keqing capsules. METHODS: According to general rule 0502 method stated in 2015 edition of *Chinese Pharmacopoeia* (part IV), TLC method was used to identify *Reineckia carnea* and *Morus alba* in Keqing capsules [the developing solvents were dichloromethane-ethyl acetate-formic acid (10:4:0.2, V/V/V) and ethyl acetate-carbinol-ammonia (12:2:1, V/V/V), respectively]. The contents of morphine and codeine phosphate in Keqing capsules were determined by HPLC. The determination was performed on XBridge C<sub>18</sub> column with mobile phase consisted of acetonitrile-0.01 mol/L potassium dihydrogen phosphate aqueous solution (pH value adjusted to 2.7 with 5% phosphoric acid solution) (5:95, V/V) at the flow rate of 1.0 mL/min. The detection wavelength was set at 210 nm, and the column temperature was 35℃. The sample size was 10 μL. RESULTS: In TLC of *R. carnea* and *M. alba* in samples, same color spots were shown in

<sup>△</sup>基金项目:国家药典委员会2017年度药品标准提高工作项目(中药)(No.462);贵州省科技创新人才团队建设项目(No.黔科合人才团队[2015]4025号);贵州医科大学药学院国际科技合作基地(No.黔科合平台人才[2017]5802号);贵州省高层次创新型人才百层次人才项目(No.黔科合人才[2015]4029号);贵州省中医药管理局中医药、民族药科学技术研究课题(No.QZYY-2019-059);贵阳市科技计划项目(No.筑科合同[2017]30-25)

\* 硕士研究生。研究方向:中药质量控制。电话:0851-86808857。E-mail:1217190211@qq.com

# 通信作者:主任药师,硕士生导师,博士。研究方向:药物质量控制。电话:0851-86808857。E-mail:1074459931@qq.com

the corresponding positions of reference substance chromatogram without interference from negative control. The linear range of morphine and codeine phosphate were 0.301 56-2.110 90 and 0.064 93-0.454 52 μg ( $r=0.999 9$ ,  $0.999 9$ ), respectively. The detection limits were 0.000 10, 0.001 28 μg, respectively. The limits of quantitation were 0.000 34, 0.042 5 μg, respectively. RSDs of precision, reproducibility (12 h), stability and durability tests were lower than 3% ( $n=6$ ). The average recoveries were 96.18% and 95.95% (RSD=1.78%, 2.07%,  $n=6$ ), respectively. The content ranges of morphine and codeine phosphate in 18

batches of Keqing capsules were 0.97-1.37, 0.16-0.37 mg/g, respectively. CONCLUSIONS: TLC identification method for *R. carnea* and *M. alba*, as well as HPLC content determination method for morphine and codeine phosphate in Keqing capsules are established; the method is simple, accurate and reliable with strong specificity, which improves the quality standard of Keqing capsules.

**KEYWORDS** Keqing capsules; Quality standard; Morphine; Codeine phosphate; TLC; HPLC

咳清胶囊是贵州特色苗药品种之一,由吉祥草、罂粟壳、矮地茶、虎耳草、枇杷叶和桑白皮6味药材组成,具有润肺平喘、止咳化痰的功效,主要用于治疗感冒及慢性支气管炎引起的咳嗽<sup>[1]</sup>。该制剂处方中的罂粟壳属于麻醉药品管制品种,其含有的吗啡和磷酸可待因作为其主要活性成分,在临床上常用于镇痛、止咳等<sup>[2-3]</sup>,这2种成分也是咳清胶囊治疗感冒、咳嗽、气喘等症的主要有效成分。但二者同时也是强成瘾性成分<sup>[4-5]</sup>,若对其用量控制不当,不仅久服易成瘾,还会对人体神经系统造成损害,甚至有可能造成慢性中毒<sup>[6]</sup>。所以,为了确保该制剂的安全性及有效性,必须严格控制以上2种成分的含量。

目前,有关咳清胶囊质量控制方面的研究报道较少,仅有席晓岚等<sup>[7]</sup>采用高效液相色谱(HPLC)法测定了咳清胶囊中磷酸可待因的含量。在咳清胶囊的现行质量标准[国家食品药品监督管理局国家药品标准WS-10201(ZD-0201)-2002-2012Z]中,也仅涉及罂粟壳、枇杷叶2味药材的薄层色谱(TLC)定性鉴别和罂粟壳中磷酸可待因一个成分的HPLC定量分析<sup>[1]</sup>,难以全面评价该制剂的质量安全。并且,按该质量标准中含量测定方法操作,供试品前处理过程繁琐,易导致平行样偏差大,结果不易判定。鉴于此,本课题组按照国家药典委员会2017年度国家药品标准提高工作(中药)任务书(No.462)有关要求,采用TLC法对咳清胶囊中吉祥草、桑白皮进行定性鉴别研究,并通过简化供试品前处理方式及优化色谱条件,建立HPLC法同时测定其中吗啡和磷酸可待因的含量,使该制剂质量可控性更强、检验标准更加全面和完善,以提高其现行质量标准。

## 1 材料

### 1.1 仪器

e2695型HPLC仪(美国Waters公司);HH-6型电热恒温水浴锅(北京科伟永兴仪器有限公司);ZF-7型三用紫外分析仪(巩义市予华仪器有限责任公司);MS105DU型电子天平[梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司];5804型台式高速离心机(德国Eppendorf公司);薄层硅胶G板(青岛海洋化工有限公司);KQ-500DE型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);UPW-UP-10型纯水仪(成都天萃宁科技有限公司)。

### 1.2 药品与试剂

18批咳清胶囊(贵州百灵企业集团和仁堂药业有限公司,批号:20171106、20171107、20171202、20171204、20171205、20180102、20180301、20180501、20180502、20180602、20180603、20180604、20180605、20180608、

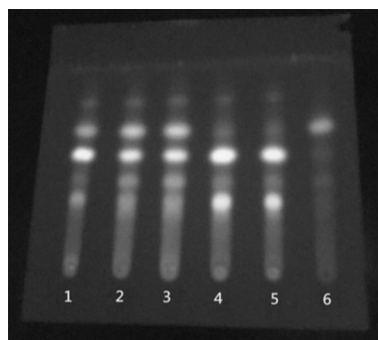
20180609、20180610、20181107、20181204,规格:每粒装0.35g);吉祥草对照药材(批号:121314-201603)、桑白皮对照药材(批号:121124-201608)、吗啡对照品(批号:171201-201325,纯度:93.6%)、磷酸可待因对照品(批号:171201-201325,纯度:96.9%)均购自中国食品药品检定研究院;乙腈、甲醇为色谱纯,其余试剂均为分析纯,水为超纯水。

## 2 方法与结果

### 2.1 TLC鉴别

#### 2.1.1 吉祥草的TLC鉴别

取本品内容物8g,加70%乙醇50mL,水浴加热回流1.5h,放冷,滤过;滤液蒸干,残渣加水20mL微热溶解,移至锥形瓶中,再加盐酸8mL,水浴加热回流2.5h,放冷,滤过;滤液用三氯甲烷分3次提取,每次30mL,合并三氯甲烷液,蒸干,残渣加甲醇2mL使溶解,作为供试品溶液。另取吉祥草对照药材2g和缺吉祥草阴性空白胶囊内容物(本课题组按咳清胶囊处方和工艺自制)8g,同法制备吉祥草对照药材溶液和缺吉祥草阴性样品对照溶液。按照2015年版《中国药典》(四部)通则0502法<sup>[8]</sup>进行试验:吸取上述3种溶液各10 $\mu$ L,点样于同一硅胶G薄层板上,以二氯甲烷-乙酸乙酯-甲酸(10:4:0.2, V/V/V)为展开剂,展开,取出,晾干,置于紫外光灯(波长为365nm)下检视。结果,供试品色谱中,在与对照药材色谱相应的位置上显相同颜色的荧光斑点,且阴性对照无干扰,结果见图1。



注:1~3.供试品(批号:20180501、20181107、20181204);4~5.吉祥草对照药材;6.缺吉祥草阴性样品

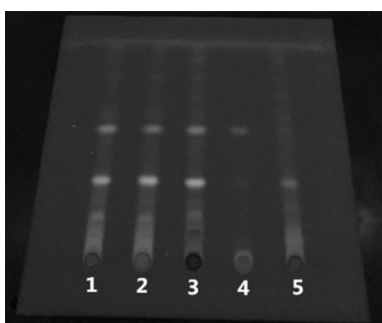
Note: 1-3. test samples (batch number: 20180501, 20181107, 20181204); 4-5. reference substance of *R. carnea*; 6. negative sample without *R. carnea*

图1 咳清胶囊中吉祥草鉴定的TLC图

Fig 1 TLC chromatogram of *R. carnea* in Keqing capsules

#### 2.1.2 桑白皮的TLC鉴别

取本品内容物 10 g,加饱和碳酸钠溶液 40 mL,超声(功率为 300 W,频率为 40 kHz)处理 30 min,以 10 000 r/min 离心 5 min,滤过;滤液加盐酸调节 pH 至 1~2,静置 30 min,滤过;滤液用乙酸乙酯振荡提取 2 次,每次 30 mL,合并乙酸乙酯液,蒸干,残渣加甲醇 2 mL 使溶解,作为供试品溶液。另取桑白皮对照药材 1 g 和缺桑白皮阴性空白制剂内容物(本课题组按咳清胶囊处方和工艺自制)10 g,同法制备桑白皮对照药材溶液和缺桑白皮阴性对照溶液。按照 2015 年版《中国药典》(四部)通则 0502 法<sup>[8]</sup>进行试验:吸取上述 3 种溶液各 5  $\mu$ L,点样于同一硅胶 G 薄层板上,以乙酸乙酯-甲醇-浓氨试液(12:2:1, V/V/V)为展开剂,展开,取出,晾干,置于紫外光灯(波长为 365 nm)下检视。结果,供试品色谱中,在与对照药材色谱相应的位置上显相同颜色的荧光斑点,且阴性对照无干扰,结果见图 2。



注:1~3. 供试品(批号:20180501、20181107、20181204);4. 桑白皮对照药材;5. 缺桑白皮阴性样品

Note: 1-3. test sample (batch numbers: 20180501, 20181107, 20181204); 4. reference substance of *M. alba*; 5. negative sample without *M. alba*

图 2 咳清胶囊中桑白皮鉴定的 TLC 图

Fig 2 TLC chromatogram of *M. alba* in Keqing capsules

## 2.2 吗啡和磷酸可待因的含量测定

### 2.2.1 溶液的制备

(1)混合对照品溶液:精密称取吗啡对照品 25 mg,置于 25 mL 量瓶中,用甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,制得质量浓度为 1 mg/mL 的吗啡对照品贮备液;精密称取磷酸可待因对照品 10 mg,置于 25 mL 量瓶中,用甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,制得质量浓度为 0.4 mg/mL 的磷酸可待因对照品贮备液。精密量取吗啡对照品贮备液 2 mL 和磷酸可待因对照品贮备液 1 mL,置于同一 25 mL 量瓶中,用流动相稀释至刻度,摇匀,制得吗啡质量浓度为 80  $\mu$ g/mL、磷酸可待因质量浓度为 16  $\mu$ g/mL 的混合对照品溶液。

(2)供试品溶液 1:取本品 20 粒内容物,混匀,取 1.0 g,精密称定,置于 100 mL 具塞锥形瓶中,精密加入提取溶剂(氨水 4 mL、三氯甲烷 50 mL),密塞,称定质量,超声(功率为 300 W,频率为 40 kHz)处理 30 min,放冷,再次称定质量,用三氯甲烷补足减失的质量,摇匀,滤过,

滤液置于蒸发皿中;残渣再加提取溶剂同法操作,重复提取 3 次。合并提取液,蒸干,残渣加流动相定容至 10 mL 量瓶中,摇匀,过 0.45  $\mu$ m 滤膜,取续滤液,即得。

(3)供试品溶液 2:按现行质量标准中方法<sup>[1]</sup>制备。

(4)阴性对照溶液:按咳清胶囊处方和工艺制备缺罂粟壳药材的阴性样品,并按供试品溶液制备方法制成阴性对照溶液。

### 2.2.2 按现行标准进行含量测定

取供试品溶液 2(批号:20180301)及混合对照品溶液,分别按现行质量标准方法中色谱条件<sup>[1]</sup>进样分析,记录色谱图。结果显示,按现行质量标准仅能对咳清胶囊中磷酸可待因进行含量测定,不能满足质量标准提高要求。按现行质量标准方法测得的色谱图见图 3。

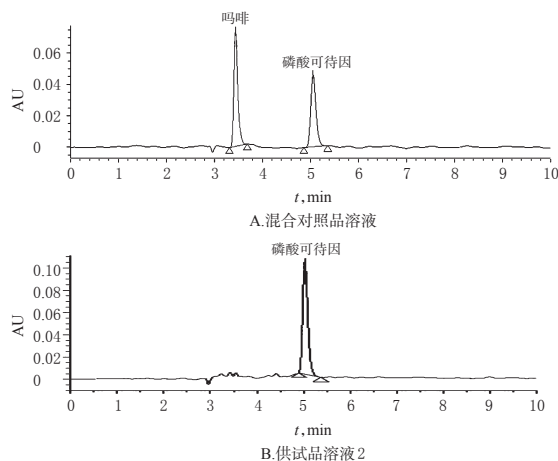


图 3 按现行质量标准方法测得的高效液相色谱图

Fig 3 HPLC chromatograms by current quality standard

### 2.2.2 按本研究建立方法进行含量测定

(1)色谱条件。色谱柱:XBridge C<sub>18</sub>(250 mm×4.6 mm, 5  $\mu$ m);流动相:乙腈-0.01 mol/L 磷酸二氢钾水溶液(以 5% 磷酸溶液调节 pH 至 2.7)(5:95, V/V);流速:1.0 mL/min;检测波长:210 nm;柱温:35  $^{\circ}$ C;进样量:10  $\mu$ L。

(2)专属性与系统适用性试验。分别吸取混合对照品溶液、供试品溶液 1(批号:20180301)、阴性对照溶液各 10  $\mu$ L,按“2.2.2(1)”项下色谱条件进行测定,记录色谱图。结果显示,在该条件下能够同时测定咳清胶囊中吗啡和磷酸可待因 2 个成分;理论板数按吗啡和磷酸可待因计均不低于 8 000,相邻峰间分离度均大于 1.5,基线分离度良好,且阴性对照溶液在供试品和对照品色谱峰相应位置处无相应峰出现,表明该方法专属性较好。按本研究新建方法测得的色谱图见图 4。

(3)线性关系考察。分别精密吸取“2.2.1”项下混合对照品溶液 4、8、12、16、20、24、28  $\mu$ L,注入高效液相色谱仪,按“2.2.2(1)”项下色谱条件进行测定,记录峰面积。以进样量(x,  $\mu$ g)为横坐标、峰面积(y)为纵坐标绘制标准曲线,得吗啡和磷酸可待因的回归方程分别为: $y=4\ 948\ 991x-97\ 372$ ( $r=0.999\ 9$ )、 $y=3\ 858\ 213x-$



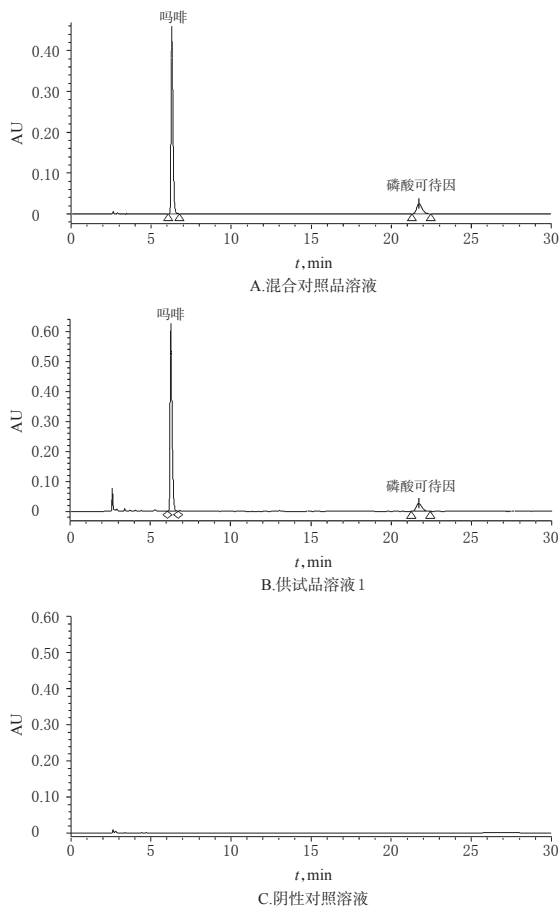


图4 按本研究新建方法测得的高效液相色谱图

Fig 4 HPLC chromatograms by established method in this study

28 313( $r=0.9999$ )。结果表明,吗啡和磷酸可待因分别在进样量为0.301 56~2.110 90、0.064 93~0.454 52  $\mu\text{g}$ 范围内与其峰面积线性关系良好。

(4)检测线和定量限考察。取“2.2.1”项下混合对照品溶液适量,加甲醇倍比稀释,当信噪比为3:1、10:1时分别测得检测限和定量限。结果,吗啡、磷酸可待因的检测限分别为0.000 10、0.001 28  $\mu\text{g}$ ,定量限分别为0.000 34、0.042 5  $\mu\text{g}$ 。

(5)精密密度试验。精密吸取“2.2.1”项下混合对照品溶液,按“2.2.2(1)”项下色谱条件重复进样6次,记录峰面积。结果,吗啡和磷酸可待因峰面积的RSD分别为0.29%、0.38%( $n=6$ ),表明仪器精密密度良好。

(6)稳定性试验。取同一供试品溶液1(批号:20180301),分别在室温下放置0、2、4、6、8、12 h时按“2.2.2(1)”项下色谱条件进行测定,记录峰面积。结果,吗啡和磷酸可待因峰面积的RSD分别为0.13%、0.46%( $n=6$ ),表明供试品溶液在室温下放置12 h内稳定。

(7)重复性试验。取同一批咳清胶囊样品(批号:20180301)内容物,混匀后,取1.0 g,共6份,按“2.2.1”项下供试品溶液1制备方法平行制备溶液,分别按“2.2.2(1)”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算2个成分含量。结果,吗啡和磷酸可待因含量的RSD分别为

1.0%、0.98%( $n=6$ ),表明本方法重复性良好。

(8)加样回收率试验。取同一批已知含量的咳清胶囊样品(批号:20180301)内容物,混匀后,取0.5 g,共6份,精密称定,按1:1质量比分别加入吗啡和磷酸可待因混合对照品,按“2.2.1”项下供试品溶液1制备方法制备溶液,然后按“2.2.2(1)”项下色谱条件进行测定,记录峰面积并计算加样回收率。结果,吗啡、磷酸可待因的平均加样回收率分别为96.18%、95.95%,RSD分别为1.78%、2.07%( $n=6$ ),表明本方法准确度较好,结果详见表1。

表1 加样回收率试验结果( $n=6$ )

Tab 1 Results of recovery tests( $n=6$ )

成分	样品中含 量,mg	加入量, mg	测得量, mg	加样回收 率,%	平均加样回 收率,%	RSD, %
吗啡	0.606 96	0.563 28	1.146 51	95.79	96.18	1.78
	0.617 88	0.563 28	1.166 49	97.40		
	0.611 40	0.563 28	1.144 68	94.67		
	0.594 96	0.563 28	1.123 24	93.79		
	0.615 60	0.563 28	1.163 43	97.26		
	0.615 84	0.563 28	1.168 62	98.14		
磷酸可待因	0.121 39	0.140 70	0.259 87	98.42	95.95	2.07
	0.121 18	0.140 70	0.256 24	94.29		
	0.122 28	0.140 70	0.253 71	93.41		
	0.118 99	0.140 70	0.252 77	95.08		
	0.123 12	0.140 70	0.260 26	97.47		
	0.123 17	0.140 70	0.259 72	97.05		

(9)耐用性试验。取供试品溶液1(批号:20180301),在其他色谱条件不变的情况下,分别采用Welch  $\text{C}_{18}$ (250 mm $\times$ 4.6 mm, 5  $\mu\text{m}$ )、ACE  $\text{C}_{18}$ (250 mm $\times$ 4.6 mm, 5  $\mu\text{m}$ )、XBridge  $\text{C}_{18}$ (250 mm $\times$ 4.6 mm, 5  $\mu\text{m}$ )色谱柱进行试验。结果,以不同色谱柱测得的供试品溶液1中吗啡的含量分别为1.2、1.2、1.2 mg/g,磷酸可待因的含量分别为0.23、0.24、0.23 mg/g,RSD分别为0和2.47%( $n=3$ )。结果表明,3种不同品牌的色谱柱对吗啡和磷酸可待因的含量测定结果无显著影响,本方法耐用性良好。

(10)样品含量测定。取18批样品,每批2份,分别按“2.2.1”项下供试品溶液1制备方法制备溶液,按“2.2.2(1)”项下色谱条件进行测定,记录峰面积并计算2个成分含量,取平均值。结果,18批样品中吗啡含量范围为0.97~1.37 mg/g,磷酸可待因含量范围为0.16~0.37 mg/g,详见表2。

### 3 讨论

#### 3.1 TLC鉴别方法的考察

在吉祥草的TLC鉴别试验中,笔者分别对样品的提取方法(超声、水浴回流等)和提取溶剂(70%乙醇、甲醇、50%甲醇等)等前处理条件进行了考察,并且对三氯甲烷-乙酸乙酯-甲酸(8:5:0.2,  $V/V/V$ )、正己烷-乙酸乙酯-冰醋酸(3:2:0.5,  $V/V/V$ )、二氯甲烷-乙酸乙酯-甲酸(10:4:0.2,  $V/V/V$ )等展开剂进行了筛选。结果显示,采用70%乙醇、水浴回流提取的样品前处理方法和以二氯甲烷-乙酸乙酯-甲酸(10:4:0.2,  $V/V/V$ )为展开剂时,TLC

表2 18批样品中吗啡和磷酸可待因含量测定结果 (mg/g, n=2)

Tab 2 Results of content determination of morphine and codeine phosphate in 18 batches of samples (mg/g, n=2)

批号	吗啡	磷酸可待因
20171106	1.34	0.23
20171107	1.26	0.21
20171202	0.97	0.16
20171204	1.14	0.18
20171205	1.14	0.19
20180102	1.20	0.21
20180301	1.17	0.24
20180501	1.37	0.29
20180502	1.20	0.25
20180602	1.31	0.27
20180603	1.37	0.31
20180604	1.26	0.27
20180605	1.20	0.23
20180608	1.14	0.21
20180609	1.06	0.20
20180610	1.03	0.19
20181107	1.00	0.34
20181204	0.97	0.37

图谱中各斑点清晰、分离度好。在方法学研究中,笔者比较了不同厂家(青岛裕民源、青岛海洋化工、安徽良臣)薄层板以及在不同温度(4、25、40℃)、不同湿度(32%、45%、72%)、不同点样量(2、5、10 μL)下的展开情况。结果显示,色谱斑点与分离度均符合要求,耐用性良好。因此,确定上述条件为最终的吉祥草TLC鉴别条件。

在桑白皮TLC鉴别试验中,笔者同样分别对样品的提取方法(超声、水浴回流等)和提取溶剂(乙醇、甲醇、饱和碳酸钠溶液等)等前处理条件进行了考察,并且对二氯甲烷-乙酸乙酯-甲酸(10:4:0.2, V/V/V)、三氯甲烷-甲醇-甲酸(6:1:0.5, V/V/V)、乙酸乙酯-甲醇-浓氨试液(12:2:1, V/V/V)等展开剂进行了筛选。结果显示,采用饱和碳酸钠溶液、超声的前处理方法和以乙酸乙酯-甲醇-浓氨试液(12:2:1, V/V/V)为展开剂时,各斑点清晰、分离度好。在方法学研究中,笔者比较了不同厂家(青岛裕民源、青岛海洋化工、安徽良臣)薄层板以及在不同温度(4、25、40℃)、不同湿度(32%、45%、72%)、不同点样量(2、3、5 μL)下的展开情况,结果显示,色谱斑点与分离度均符合要求,耐用性良好。因此,确定上述条件为最终的桑白皮TLC鉴别条件。

此外,笔者在前期研究中还对虎耳草、矮地茶进行了TLC鉴别,结果发现在供试品色谱中,虽然在与各自对照药材色谱相应的位置上显相同颜色的斑点,但阴性对照有干扰,经过多次试验后没有找到较好的TLC条件,所以未能将虎耳草、矮地茶的TLC鉴别方法列入标准中。

### 3.2 HPLC含量测定方法的考察

#### 3.2.1 色谱条件的选择

(1)流动相的选择:通过查阅相关文献资料<sup>[9-11]</sup>,笔

者主要考察了甲醇-0.03 mol/L醋酸钠(冰醋酸调节pH 3.5)、甲醇-0.1%磷酸、乙腈-0.1%磷酸、乙腈-0.01 mol/L磷酸二氢钾(以5%磷酸溶液调节pH至2.7)等4种流动相。结果显示,在乙腈及磷酸缓冲盐中吗啡和磷酸可待因的出峰时间、峰形及样品峰的纯度最优,故最终采用乙腈-0.01 mol/L磷酸二氢钾(以5%磷酸溶液调节pH至2.7)作为流动相。

(2)检测波长的选择:结合紫外吸收光谱图以及二极管阵列(DAD)检测器进行全波长扫描,结果发现吗啡和磷酸可待因分别在209、211 nm波长处有最大吸收。为简化现行质量标准,考虑同时测定2种成分,设定检测波长为210 nm,在此条件下2个成分均有较好的吸收。

#### 3.2.2 供试品溶液提取条件的选择

笔者分别考察了甲醇+氨水、乙酸乙酯+氨水和三氯甲烷+氨水作为提取溶剂的提取效果。结果发现,以三氯甲烷+氨水为提取溶剂时,吗啡和磷酸可待因的提取效果最好,故最终确定三氯甲烷+氨水作为提取溶剂。当氨水用量从1 mL增加到4 mL时,对2个成分的提取效果变好;但随着氨水用量继续增加,提取效果无明显变化,故最终确定供试品提取溶剂中氨水的用量为4 mL。试验过程中,笔者还考察了超声时间(20、30、50 min)对提取效果的影响。结果显示,在30 min内,随超声时间的延长,吗啡和磷酸可待因的提取量明显上升;30 min后,2种成分基本提取完全,随着超声时间的继续延长,2个成分的提取量无明显上升,故最终确定超声提取时间为30 min。

### 3.3 含量限度的拟定

2015年版《中国药典》(一部)规定,罂粟壳中吗啡含量为0.06%~0.40%<sup>[12]</sup>。再根据咳清胶囊的处方(吉祥草300 g、罂粟壳200 g、矮地茶150 g、虎耳草150 g、枇杷叶150 g、桑白皮50 g)和制法[取以上6味药材,加水煎煮2次,每次2 h,合并煎液,滤过,滤液浓缩至相对密度为1.20~1.25(40℃)的清膏,喷雾干燥。粉末加可压性淀粉250 g,混匀,装入胶囊,制成1 000粒,每粒装0.35 g,即得]计算得出咳清胶囊中吗啡的含量限度应为0.342 9~2.285 7 mg/g。本研究测得18批咳清胶囊样品中吗啡的含量范围为0.97~1.37 mg/g,均在限度之内。在现行质量标准基础上(每粒含磷酸可待因不得少于25 μg),结合上述18批样品测定结果,暂定本品每粒含罂粟壳以吗啡(C<sub>17</sub>H<sub>19</sub>O<sub>3</sub>N)计为0.10~0.75 mg,每粒含罂粟壳以磷酸可待因(C<sub>18</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>3</sub>·H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>)计为0.025~0.160 mg。

综上所述,笔者在咳清胶囊现行版质量标准<sup>[1]</sup>的基础上,增加了吉祥草、桑白皮的TLC鉴别,扩展了含量测定项中的目标成分测定,建立的新方法可同时测定咳清胶囊中的吗啡、磷酸可待因的含量,且方法简便可行、准确,重复性好。上述方法结合现行标准中已有的罂粟壳、枇杷叶2味药材的TLC鉴别,能够有效地提高咳清胶囊的质量控制标准,可为该制剂用于临床的安全性、

# UPLC-Q-Exactive 四极杆-静电场轨道阱高分辨率质谱法同时测定参芪健胃颗粒中8个成分的含量<sup>Δ</sup>

吴丹<sup>1,2\*</sup>, 刘斌<sup>3</sup>, 邹瑜<sup>1#</sup> (1. 武汉科技大学医学院职业危害识别与控制湖北省重点实验室, 武汉 430065; 2. 广州医科大学药学院, 广州 511436; 3. 天津佰肽特医药科技有限公司, 天津 300354)

中图分类号 R285.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2020)05-0600-07

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2020.05.19

**摘要** 目的: 建立同时测定参芪健胃颗粒中绿原酸、芍药苷、橙皮苷、甘草酸铵、柠檬苦素、川陈皮素、橘皮素、党参炔苷含量的方法。方法: 采用超高效液相色谱(UPLC)-Q-Exactive 四极杆-静电场轨道阱高分辨率质谱法。色谱柱为 Hypersil Gold C<sub>18</sub>, 流动相为乙腈-0.1% 甲酸水溶液(梯度洗脱), 流速为 0.4 mL/min, 柱温为 35 °C, 进样量为 1 μL; 采用加热型电喷雾离子源, 以正离子检测模式, 在质荷比 100~1 000 范围内进行高分辨率全扫描。通过提取目标化合物的精确质量数进行定量, 测定 2 个厂家共 3 批样品中 8 个成分的含量。结果: 绿原酸、芍药苷、橙皮苷、甘草酸铵、柠檬苦素、川陈皮素、橘皮素、党参炔苷 8 个成分的检测质量浓度线性范围分别为 0.12~1.46, 3.51~42.15, 2.71~32.55, 1.76~21.10, 0.04~0.46, 0.04~0.24, 0.02~0.21, 0.01~0.25 μg/mL ( $r \geq 0.999 0$ ); 定量限分别为 6.06, 0.04, 0.03, 0.02, 7.60, 0.05, 0.02, 6.25 ng/mL; 检测限分别为 3.03, 0.01, 0.01, 0.01, 3.80, 0.01, 0.01, 2.50 ng/mL; 精密密度、重复性及稳定性(24 h) 试验的 RSD 均小于 5% ( $n=6$ ); 平均加样回收率为 93.16%~97.78% ( $RSD \leq 5\%$ ,  $n=6$ ); 3 批样品中 8 个成分的含量分别为 12.62~13.20, 265.01~472.26, 234.20~278.90, 173.10~255.74, 2.32~2.83, 2.37~3.58, 0.79~1.22, 0.91~1.78 μg/g。结论: 本方法简便、快速、准确且重复性好、灵敏度高, 可为参芪健胃颗粒的质量控制提供依据。

**关键词** 超高效液相色谱-Q-Exactive 四极杆-静电场轨道阱高分辨率质谱法; 参芪健胃颗粒; 含量测定

## Simultaneous Determination of 8 Components Contents in Shenqi Jianwei Granules by UPLC-Q-Exactive Quadrupole Electrostatic Field Orbital Hydrazine High Resolution Mass Spectrometry

WU Dan<sup>1,2</sup>, LIU Bin<sup>3</sup>, ZOU Yu<sup>1</sup> (1. Hubei Province Key Laboratory of Occupational Hazard Identification and Control, School of Medicine, Wuhan University of Science and Technology, Wuhan 430065, China; 2. School of Pharmacy, Guangzhou Medical University, Guangzhou 511436, China; 3. Tianjin Best Peptide Pharmaceutical Technology Co., Ltd., Tianjin 300354, China)

有效性提供理论依据。

### 参考文献

- [1] 国家食品药品监督管理局. WS-10201(ZD-0201)-2002-2012Z 中成药地方标准上升国家标准部分: 内科肺系分册[S]. 2012.
- [2] 庞晓星, 麻风华, 王清华, 等. UPLC法测定强力枇杷露中吗啡、可待因和罂粟碱的含量[J]. 中医药信息, 2011, 28(1): 35-38.
- [3] 刘敏敏, 刘利颜, 刘丛丛. 液质联用法测定止咳类中成药中 5 种罂粟壳生物碱[J]. 中国卫生检验杂志, 2016, 26(23): 3353-3356.
- [4] 刘文伟, 高玉琼, 刘建华, 等. RP-HPLC法同时测定哮喘片中吗啡、盐酸麻黄碱、磷酸可待因的含量[J]. 药物分析杂志, 2009, 29(5): 731-734.
- [5] 张媛媛, 邱琳, 刘莹. HPLC法测定京制咳嗽痰喘丸中吗啡的含量[J]. 中国现代药物应用, 2014, 8(4): 248-249.
- [6] 王金钱, 周建波, 王焱, 等. HPLC同步测定克咳胶囊中麻黄碱、吗啡[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(12): 62-64.
- [7] 席晓岚, 李明炬, 李宇飞. 用高效液相色谱法测定咳清胶囊中磷酸可待因的含量[J]. 贵阳医学院学报, 2004, 29(1): 42-43, 47.
- [8] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 四部[S]. 2015年版. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 57-59.
- [9] 罗奕, 姚文丽, 茅向军, 等. HPLC法同时测定咳速停胶囊中 4 种成分[J]. 中成药, 2017, 39(1): 102-106.
- [10] 赵超, 白晓丹, 李锐莉, 等. 川参胶囊的质量标准提高研究[J]. 中国药房, 2018, 29(21): 2902-2907.
- [11] 黄红梅, 苏菊, 王芳, 等. HPLC法同时测定咳速停糖浆中 5 个生物碱的含量[J]. 药物分析杂志, 2018, 38(4): 688-695.
- [12] 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: 369-370.

(收稿日期: 2019-11-29 修回日期: 2020-01-06)

(编辑: 林静)

<sup>Δ</sup> 基金项目: 湖北省自然科学基金资助项目(No. 2019CFB104)

\* 实验员, 硕士。研究方向: 中药分析。E-mail: 1124868999@qq.com

# 通信作者: 讲师, 博士。研究方向: 新药研发。E-mail: zouyu@wust.edu.cn