

- [8]

陈闽军, 吴永江, 程翼宇. 高效液相色谱用于参麦注射液人参皂苷的含量测定和批次一致性考察[J]. 中国药学杂志, 2003, 38(8): 623-626.
- [9]

刘 婷, 徐 虹. 超高效液相色谱法快速测定参麦注射液中 6 种皂苷类成分含量[J]. 医药导报, 2016, 35(11): 1259-1261.
- [10]

刘 燕, 聂黎行, 陈方军, 等. 高分离度快速液相色谱-离子阱质谱分析参麦注射液化学成分[J]. 药物分析杂志, 2011, 31(9): 1672-1677.
- [11]

董 礼, 干建伟, 李 梅, 等. HPLC 法快速测定参麦注射液指纹图谱[J]. 中成药, 2016, 38(3): 599-602.

HPLC 法同时测定涤痰丸中 7 种成分

徐 阳¹, 单柏宇², 徐伟男³, 鲍慧玮^{4*}

(1. 长春医学高等专科学校药品食品学院, 吉林 长春 130031; 2. 白城市食品药品检验所, 吉林 白城 137000; 3. 呼伦贝尔北方药业有限公司, 内蒙古 呼伦贝尔 022150; 4. 长春中医药大学药学院, 吉林 长春 130117)

摘要: **目的** 建立 HPLC 法同时测定涤痰丸(牵牛子、大黄、黄芩)中没食子酸、儿茶素、咖啡酸、大黄酸、大黄素、阿魏酸、黄芩苷的含有量。**方法** 该药物甲醇提取液的分析采用 Agilent ZORBAX SB-C₁₈ 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相甲醇-0.1% 磷酸, 梯度洗脱; 体积流量 1.0 mL/min; 柱温 30 ℃; 检测波长 254、278、320 nm。**结果** 7 种成分在各自范围内线性关系良好($r>0.999\ 5$), 平均加样回收率 98.74%~100.95%, RSD 0.86%~1.84%。**结论** 该方法简便准确, 重复性好, 可用于涤痰丸的质量控制。

关键词: 涤痰丸; 化学成分; HPLC

中图分类号: R927.2 文献标志码: A 文章编号: 1001-1528(2019)01-0030-05

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2019.01.007

Simultaneous determination of seven constituents in Ditan Pills by HPLC

XU Yang¹, SHAN Bai-yu², XU Wei-nan³, BAO Hui-wei^{4*}

(1. College of Drug and Food, Changchun Medical College, Changchun 130031, China; 2. Baicheng Municipal Institute for Food and Drug Control, Baicheng 137000, China; 3. Hulunbuir Northern Pharmaceutical Co., Ltd., Hulunbuir 022150, China; 4. College of Pharmacy, Changchun University of Chinese Medicine, Changchun 130117, China)

ABSTRACT: **AIM** To establish an HPLC method for the simultaneous content determination of gallic acid, catechin, caffeic acid, rhein, emodin, ferulic acid and baicalin in Ditan Pills (*Pharbitidis Semen*, *Rhei Radix* et *Rhizoma*, *Scutellariae Radix*). **METHODS** The analysis of methanol extract of this drug was performed on a 30 ℃ thermostatic Agilent ZORBAX SB-C₁₈ column (250 mm×4.6 mm, 5 μm), with the mobile phase comprising of methanol-0.1% phosphoric acid flowing at 1.0 mL/min in a gradient elution manner, and the detection wavelengths were set at 245, 320, 278 nm. **RESULTS** Seven constituents showed good linear relationships within their own ranges ($r>0.999\ 5$), whose average recoveries were 98.74%–100.95% with the RSDs of 0.86%–1.84%. **CONCLUSION** This simple, accurate and reproducible method can be used for the quality control of Ditan Pills.

KEY WORDS: Ditan Pills; chemical constituents; HPLC

收稿日期: 2018-02-09

作者简介: 徐 阳 (1988—), 男, 博士, 讲师, 从事中药成分及药效研究。Tel: (0431) 84825155, E-mail: 251748191@qq.com

* 通信作者: 鲍慧玮 (1989—), 女, 硕士, 实验师, 从事中药成分及药效研究。Tel: (0431) 86172690, E-mail: baohuiwei@163.com

涤痰丸收载于《中华人民共和国卫生部药品标准（中药成方制剂）》第二册（标准编号 WS3-B-0386-90），是由牵牛子（炒）、大黄、黄芩 3 味药材与百草霜、煅金礞石粉末、桃胶一起配研、熔化制成的褐黄色水丸，具有清热化痰、开郁化痞的功效，临床上用于痰火郁结、气急疯痫、湿热咳嗽、胸满作喘、痰涎壅盛、大便燥结^[1-2]。其中，大黄素、大黄酸、儿茶素、没食子酸、阿魏酸是大黄主要药效成分，具有泻下攻积、清热泻火、逐瘀通经、抗病原微生物、抗炎、止血等作用^[3-4]；黄芩苷是黄芩主要药效成分，具有清热燥湿、泻火解毒、止血、抗炎等作用^[5-6]；大黄素、咖啡酸是牵牛子（炒）的主要药效成分，具有治疗水肿胀满、二便不通、痰饮积聚、气逆喘咳等作用^[7]。然而，目前涤痰丸质量标准不完善，尚无针对其含有量测定的方法，故本实验建立 HPLC 法同时测定其中没食子酸、儿茶素、咖啡酸、大黄酸、大黄素、阿魏酸、黄芩苷的含有量，为该制剂质量评价和控制提供依据。

1 材料

1.1 仪器 Agilent 1260 高效液相色谱仪，配置 DAD 检测器（美国 Agilent 公司）；AB135-S 型电子分析天平 [梅特勒-托利多国际贸易（上海）有限公司]；DK-98-II 型电热恒温水浴锅（天津市泰斯特仪器有限公司）；R 系列旋转蒸发器（上海申生科技有限公司）；KQ-250 型超声波清洗器（昆山市超声仪器有限公司）。

1.2 试药 涤痰丸（按照标准处方及制备工艺自制）。没食子酸（批号 110831-201204）、儿茶素（批号 877-200001）、咖啡酸（批号 110885-200102）、大黄酸（批号 110757-2000206）、大黄素（批号 110756-200110）、阿魏酸（批号 110773-200611）、黄芩苷（批号 110715-201318）对照品（中国食品药品检定研究院）。甲醇为色谱纯；其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 Agilent ZORBAX SB-C₁₈ 色谱柱（4.6 mm×250 mm，5 μm）；流动相甲醇（A）-0.1%磷酸（B），梯度洗脱，程序见表 1；体积流量 1.0 mL/min；柱温 30 ℃；检测波长 254、278、320 nm；进样量 10 μL。

2.2 溶液制备

2.2.1 对照品溶液 取没食子酸、儿茶素、咖啡酸、大黄酸、大黄素、阿魏酸、黄芩苷对照品适

表 1 梯度洗脱程序

Tab. 1 Gradient elution programs

时间/min	A 甲醇/%	B 0.1% 磷酸/%
0	10	90
7	10	90
10	23	77
26	23	77
29	28	72
42	28	72
45	45	55
61	45	55
67	80	20
91	80	20

量，置于 10 mL 量瓶中，甲醇溶解并定容至刻度，制得每 1 mL 分别含没食子酸 349.3 μg、儿茶素 584.3 μg、咖啡酸 0.943 5 μg、大黄酸 134.4 μg、大黄素 53.32 μg、阿魏酸 1.636 μg、黄芩苷 863.8 μg 的溶液，即得。

2.2.2 供试品溶液 本品研细，精密称取约 0.5 g 粉末，置于具塞锥形瓶中，加入 10 mL 甲醇，密塞，称定质量，超声 60 min，放冷，甲醇补足缺失的质量，摇匀，滤过，取续滤液，即得。

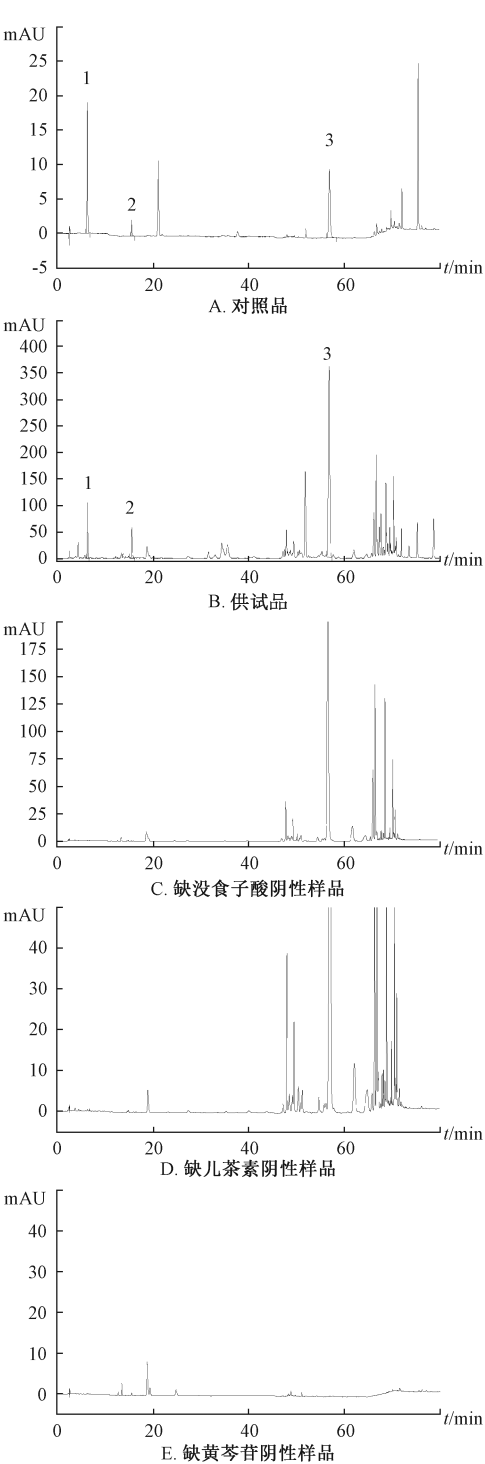
2.2.3 阴性样品溶液 按处方和工艺分别制备缺大黄、缺牵牛子和大黄、缺黄芩和大黄的阴性样品，按“2.2.2”项下方法制备相应溶液，即得。

2.3 方法学考察

2.3.1 专属性试验 取对照品、供试品、阴性样品溶液，在“2.1”项色谱条件下进样测定，结果见图 1~3。由图可知，各成分在相应位置均无干扰，表明该方法专属性良好，而且其色谱峰理论塔板数均大于 3 000，分离度均大于 1.5。

2.3.2 线性关系考察 精密称取没食子酸、儿茶素、咖啡酸、大黄酸、大黄素、阿魏酸、黄芩苷对照品适量，甲醇制成 2 794.4、4 674.4、7.548、1 075.2、426.56、13.088、6 910.4 μg/mL 贮备液，依次稀释 1/2、1/4、1/8、1/16、1/32、1/64 倍，在“2.1”项色谱条件下进样测定。以待测成分峰面积为纵坐标（Y），对照品质量浓度为横坐标（X）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。

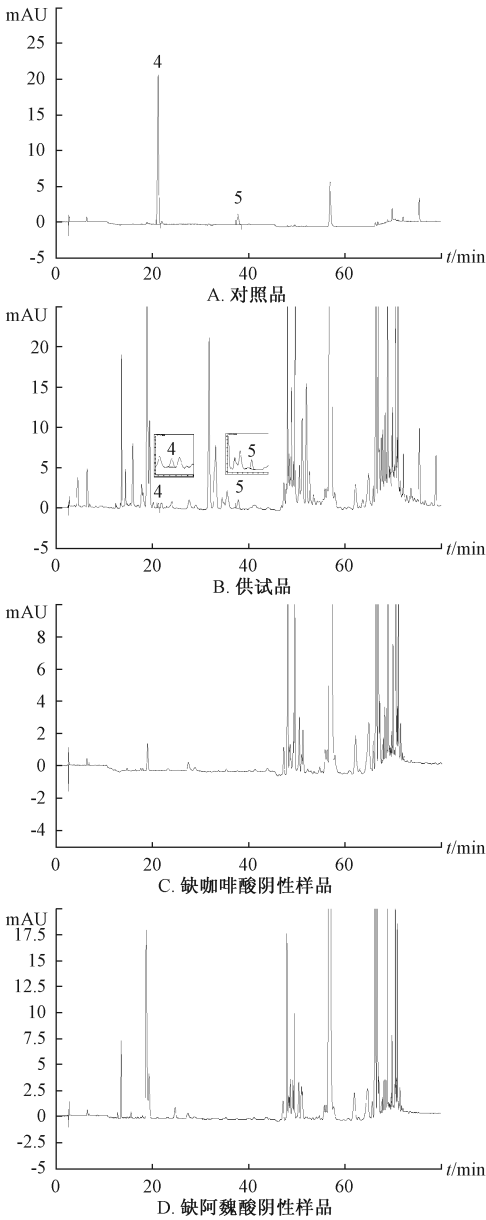
2.3.3 精密度试验 取“2.2.1”项下对照品溶液 6 份，在“2.1”项色谱条件下进样测定，测得没食子酸、儿茶素、咖啡酸、大黄酸、大黄素、阿魏酸、黄芩苷峰面积 RSD 分别为 0.98%、0.68%、1.78%、1.84%、1.77%、0.59%、1.98%，表明仪器精密度良好。



1. 没食子酸 2. 儿茶素 3. 黄芩苷
1. gallic acid 2. catechin 3. baicalin

图 1 各成分 HPLC 色谱图 (278 nm)
Fig. 1 HPLC chromatograms of various constituents (278 nm)

2.3.4 重复性试验 称取本品粉末适量，共 6 份，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，测得没食子酸、儿茶素、



4. 咖啡酸 5. 阿魏酸
4. caffeic acid 5. ferulic acid

图 2 各成分 HPLC 色谱图 (320 nm)
Fig. 2 HPLC chromatograms of various constituents (320 nm)

表 2 各成分线性关系

Tab. 2 Linear relationships of various constituents			
成分	回归方程	线性范围/ ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	r
没食子酸	$Y=2\,533.1X+10.468$	43.663~1 397.2	0.999 8
儿茶素	$Y=1\,048.4X-25.923$	73.038~2 337.2	0.999 7
咖啡酸	$Y=22\,778X-0.056\,7$	0.118~3.774	0.999 8
大黄酸	$Y=5\,262.1X-29.215$	16.8~537.6	0.999 6
大黄素	$Y=15\,502X+16.032$	6.665~213.28	0.999 5
阿魏酸	$Y=25\,696X-0.242\,8$	0.205~6.544	0.999 6
黄芩苷	$Y=7\,895.2X-166.17$	107.98~3 455.2	0.999 6

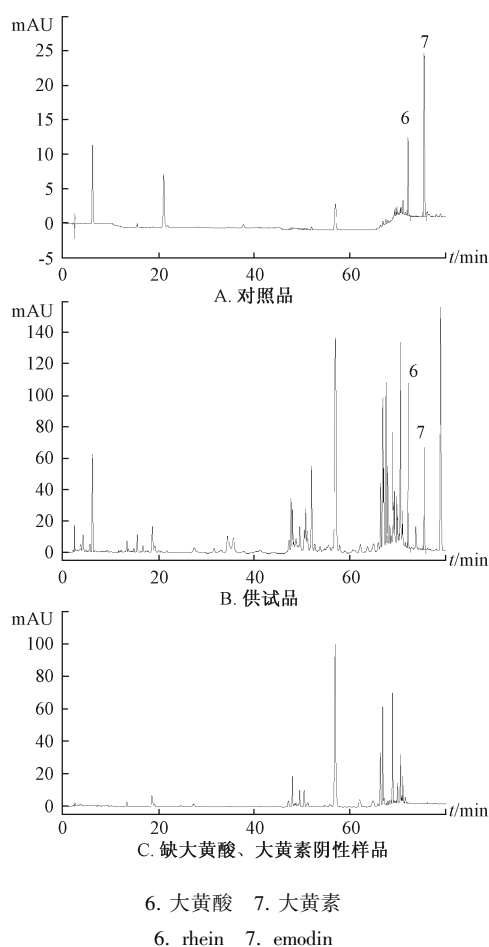


图3 各成分HPLC色谱图(254 nm)

Fig.3 HPLC chromatograms of various constituents (254 nm)

表3 各成分含量测定结果 (mg/g, n=3)

Tab.3 Results of content determination of various constituents (mg/g, n=3)

批号	没食子酸	儿茶素	咖啡酸	大黄酸	大黄素	阿魏酸	黄芩苷
20170501	7.966	12.701	0.009	3.069	0.919	0.022	19.323
20170502	8.082	13.811	0.009	2.907	0.853	0.028	18.934
20170503	8.057	13.928	0.008	3.134	0.892	0.026	19.743
平均值	8.035	13.480	0.009	3.037	0.888	0.025	19.333

而在甲醇-磷酸-水体系下各待测成分色谱峰峰形和分离度均良好。另外，由于待测成分多，极性差异明显，流动相极性跨度也较大，故梯度变化不宜过快。最终，确定“2.1”项下流动相进行梯度洗脱。

3.2 检测波长选择 本实验通过 HPLC-DAD 检测器，在 200~400 nm 波长范围内进行考察，同时比较供试品中各待测成分色谱峰，以物质吸收大小和与其他色谱峰分离度作为指标。最终确定，检测波长为 254 nm（大黄酸、大黄素）^[8-10]、278 nm（没食子酸、儿茶素、黄芩苷）^[11-13]、320 nm（咖啡

酸、大黄酸、大黄素、阿魏酸、黄芩苷含有量 RSD 分别为 1.98%、1.90%、1.96%、1.77%、1.93%、1.59%、1.44%，表明该方法重复性良好。

2.3.5 稳定性试验 取“2.2.2”项下供试品溶液，于 0、2、4、8、12、24 h 在“2.1”项色谱条件下进样测定，测得没食子酸、儿茶素、咖啡酸、大黄酸、大黄素、阿魏酸、黄芩苷峰面积 RSD 分别为 0.75%、1.80%、1.98%、1.96%、1.82%、0.62%、1.32%，表明溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.3.6 加样回收率试验 精密称取含有量已知的本品（批号 20170501）6 份，每份约 0.25 g，精密加入对照品溶液，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，没食子酸、儿茶素、咖啡酸、大黄酸、大黄素、阿魏酸、黄芩苷平均加样回收率分别为 99.77%、99.84%、100.55%、98.74%、99.67%、100.95%、100.74%，RSD 分别为 1.60%、1.25%、1.84%、1.77%、1.08%、1.58%、0.86%。

2.4 样品含有量测定 取 3 批本品，按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液，在“2.1”项色谱条件下进样测定，计算含有量，结果见表 3。

3 讨论

3.1 流动相选择 本实验考察甲醇-水、乙腈-水、甲醇-磷酸-水，乙腈-磷酸-水体系，发现在甲醇-水、乙腈-水体系下没食子酸和儿茶素有拖尾现象，

酸、阿魏酸)。

3.3 供试品制备方法选择 本实验比较了超声提取法、热回流提取法、索氏提取法、浸渍法的提取效果，最终选择超声提取法，该方法具有较高的提取率，而且可保护一些热敏性物质不被破坏。然后，比较了乙醇、甲醇、三氯甲烷、石油醚的提取效果，最终选择甲醇作为提取溶剂。

参考文献：

[1] 王 晖, 马志鹏. HPLC 法测定涤痰丸中大黄酚的含量[J]. 天津药学, 2008, 20(4): 28-30.

[2] 程玉英. 中西医结合治疗冠心病稳定性心绞痛临床观察

[J]. 山西职工医学院学报, 2012, 22(3): 49-51.

[3] 梁淋渊, 甘麦邻, 罗 燕. 大黄化学成分与药理活性研究进展[J]. 中兽医医药杂志, 2017, 36(1): 80-83.

[4] 傅兴圣, 陈 菲, 刘训红, 等. 大黄化学成分与药理作用研究新进展[J]. 中国新药杂志, 2011, 20(16): 1534-1538, 1568.

[5] 吉晓丽. 黄芩的化学成分与药理作用研究进展[J]. 中医临床研究, 2017, 9(9): 128-129.

[6] 郑勇凤, 王佳婧, 傅超美, 等. 黄芩的化学成分与药理作用研究进展[J]. 中成药, 2016, 38(1): 141-147.

[7] 张 晶. 牵牛子药理、毒副作用及临床应用研究探讨[J]. 中外医疗, 2009, 28(12): 176.

[8] 华之卉, 刘 栋, 李明春. HPLC 法同时测定麻杏抗感颗粒中 5 种成分[J]. 中成药, 2017, 39(12): 2525-2528.

[9] 颜永刚, 尹立敏, 王红艳, 等. HPLC 法同时测定大黄叶中 9 种成分[J]. 中草药, 2016, 47(13): 2360-2364.

[10] 许乾丽, 茅向军, 宋晓宁, 等. HPLC 法同时测定六味安消胶囊中芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚和大黄素甲醚的含量[J]. 药物分析杂志, 2010, 30(10): 1841-1844.

[11] 罗文华, 田莹莹, 李新辉, 等. HPLC 法同时测定健儿消食口服液 中毛蕊异黄酮苷、橙皮苷和黄芩苷的含量[J]. 药物分析杂志, 2015, 35(11): 1919-1923.

[12] 赵 亮, 王新霞, 吕 磊, 等. HPLC 法测定清肝散结颗粒中黄芩苷、汉黄芩苷、野黄芩苷、黄芩素及汉黄芩素[J]. 中成药, 2014, 36(2): 313-318.

[13] 侯学智, 张振秋, 尤春雪, 等. HPLC 测定黄芩中 6 个成分的含量[J]. 中国现代应用药学, 2012, 29(11): 1010-1014.

UPLC-Q/TOF-MS/MS 法同时测定丹参川芎嗪注射液中 5 种酚酸

程 栋^{1,2}, 申兰慧², 金 坚¹, 杨敏智^{2*}
(1. 江南大学药学院, 江苏 无锡 214122; 2. 无锡市药品安全检验检测中心, 江苏 无锡 214028)

摘要: **目的** 建立 UPLC-Q-TOF-MS/MS 法同时测定丹参川芎嗪注射液 (丹参、盐酸川芎嗪) 中 5 种酚酸的含量。
方法 该药物甲醇提取液的分析采用 ZORBAX Eclipse Plus-C₁₈ 色谱柱 (2.1 mm×50 mm, 1.8 μm); 流动相乙腈-0.5% 甲酸, 梯度洗脱; 体积流量 0.3 mL/min; 柱温 35 ℃。
结果 丹参素、原儿茶醛、咖啡酸、迷迭香酸、丹酚酸 B 在各自范围内线性关系良好 ($R^2>0.999\ 1$), 平均加样回收率 90.0%~101.3%, RSD 1.2%~5.0%。
结论 该方法简便可行, 灵敏度高, 专属性好, 可用于丹参川芎嗪注射液的质量控制。
关键词: 丹参川芎嗪注射液; 丹参素; 原儿茶醛; 咖啡酸; 迷迭香酸; 丹酚酸 B; UPLC-Q/TOF-MS/MS
中图分类号: R927.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1528(2019)01-0034-05
doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2019.01.008

Simultaneous determination of five phenolic acids in *Salviae miltiorrhizae* and Ligustrazine Hydrochloride Injection by UPLC-Q-TOF-MS/MS

CHENG Dong^{1,2}, SHEN Lan-hui², JIN Jian¹, YANG Min-zhi^{2*}
(1. School of Pharmacy, Jiangnan University, Wuxi 214122, China; 2. Wuxi Municipal Center for Drug Control, Wuxi 214028, China)

ABSTRACT: **AIM** To establish a UPLC-Q-TOF-MS/MS method for the simultaneous content determination of five constituents in *Salviae miltiorrhizae* and Ligustrazine Hydrochloride Injection (*Salviae miltiorrhizae Radix et Rhizoma*, ligustrazine hydrochloride). **METHODS** The analysis of methanol extract of this drug was performed on a 35 ℃ thermostatic ZORBAX Eclipse Plus-C₁₈ column (2.1 mm×50 mm, 1.8 μm), with the mobile phase comprising of acetonitrile-0.5% formic acid flowing at 0.3 mL/min in a gradient elution manner. **RESULTS** Danshensu, protocatechuic aldehyde, caffeic acid, rosmarinic acid and salvianolic acid B showed good linear relationships within their own ranges ($R^2>0.999\ 1$), whose average recoveries were 90.0%–101.3% with the RSDs of

收稿日期: 2018-03-03
作者简介: 程 栋 (1992—), 男, 硕士生, 研究方向为药品质量分析。Tel: 15873022308, E-mail: chengthought@163.com
* 通信作者: 杨敏智 (1966—), 女, 主任药师, 从事药品质量检验和标准研究。Tel: 13033513780, E-mail: yangminzhi888@sina.com