

- 86-89.
- [ 3 ] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2015年版一部 [S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 1287.
- [ 4 ] 王宝全, 赵庆华, 刘忠良, 等. 不同厂家安神补脑液中淫羊藿苷含量考察 [J]. 实用医药杂志, 2011, 28(2): 140-141.
- [ 5 ] 师涛, 吕琳昂, 覃峰, 等. 定量指纹图谱在安神补脑液质量评价中的应用 [J]. 中国药理学杂志, 2009, 44(5): 386-389.
- [ 6 ] 夏清荣. HPLC测定安神补脑液中甘草酸的含量 [J]. 安徽医药, 2008, 12(7): 605-606.
- [ 7 ] 赵群涛, 杨俊杰, 刘菊, 等. 高效液相色谱紫外检测法测定安神补脑液中维生素 B1 含量 [J]. 中医学报, 2014, 29(2): 244-245.
- [ 8 ] 俞建平, 曾玲, 黄一平. 高效液相色谱法测定安神补脑液中淫羊藿苷的含量 [J]. 中国现代应用药学杂志, 2002, 19(6): 498-499.
- [ 9 ] 王伟, 许祺, 杜秀芳, 等. 高效液相色谱法同时测定安神补脑液中淫羊藿苷和二苯乙烯苷的含量 [J]. 河北科技大学学报, 2010, 31(5): 403-405.
- [ 10 ] 苏靖, 戴荣继. 液质联用技术在中药研究中的应用 [J]. 生命科学仪器, 2014, 12(Z1): 38-42.
- [ 11 ] Sun H Y, Liu M X, Lin Z T, *et al.* Comprehensive identification of 125 multifarious constituents in Shuang-huanglian powder injection by HPLC-DAD-ESI-IT-TOF-MS [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2015, 115: 86-106.
- [ 12 ] 林彦君, 游宇, 季宁平, 等. HPLC-Q-TOF/MS 指纹技术对比分析附子配伍炙甘草前后化学组分变化 [J]. 中草药, 2014, 45(11): 1556-1560.
- [ 13 ] 赵志国, 张晓梦, 张敏敏, 等. HPLC-DAD-ESI-TOF/MS 鉴别和测定前列欣胶囊中多种成分及其多指标定量指纹图谱研究 [J]. 药物分析杂志, 2017, 37(10): 1810-1816.
- [ 14 ] 梁琰, 张贵民, 苏瑞强, 等. 小儿消积止咳口服液多指标成分分析及其 HPLC 指纹图谱研究 [J]. 中草药, 2017, 48(21): 4440-4447.
- [ 15 ] 颜世伦. 制何首乌的化学成分研究 [D]. 天津: 天津大学, 2014.
- [ 16 ] 李波, 安睿, 王新宏. 淫羊藿苷和补肾复方对肾阳虚大鼠下丘脑 CRH 基因和垂体 POMC 基因表达的影响 [J]. 中成药, 2008, 30(1): 132-134.
- [ 17 ] 郭琪, 赵晓红, 韩海建, 等. 干姜 HPLC 指纹图谱研究 [J]. 中国药师, 2015, 18(3): 397-399.
- [ 18 ] 李航, 胡嵘, 张辉, 等. UFLC 测定安神补脑液中次黄嘌呤的含量 [J]. 中国现代中药, 2011, 13(12): 39-40, 45.

## HPLC 法同时测定麝香保心丸中间体中 7 种成分

朱诗竟, 李淞明, 詹常森\*

(上海和黄药业有限公司, 上海中药固体制剂创新工程技术研究中心, 上海 201401)

**摘要:** 目的 建立 HPLC 法同时测定麝香保心丸 (人工麝香、人参提取物、苏合香等) 中间体中日蟾毒他灵、香豆素、肉桂酸、蟾毒他灵、蟾毒灵、华蟾酥毒基、酯蟾毒配基的含有量。方法 该中间体甲醇提取液的分析采用 Agilent Zorbax SB-C<sub>18</sub> 色谱柱 (4.6 mm×250 mm, 5 μm); 流动相乙腈-0.1% 磷酸, 梯度洗脱; 体积流量 1.0~1.2 mL/min; 柱温 30 °C; 检测波长 280 nm。结果 7 种成分在各自范围内线性关系良好 ( $r \geq 0.9998$ ), 平均加样回收率 98.24%~102.49%, RSD 0.93%~2.87%。结论 该方法简便准确, 重复性好, 可用于麝香保心丸的质量控制。

**关键词:** 麝香保心丸; 中间体; 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)04-0748-04

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2019.04.007

## Simultaneous determination of seven constituents in Shexiang Baoxin Pills intermediate by HPLC

ZHU Shi-jing, LI Song-ming, ZHAN Chang-sen\*

(Shanghai Engineering and Technology Research Center for Innovation of Traditional Chinese Medicine Solid Preparations, Shanghai Hutchison Pharma-

收稿日期: 2018-04-16

作者简介: 朱诗竟 (1988—), 女, 工程师, 从事中药制剂研发工作。Tel: (021) 62506452-357, E-mail: zhushijing@shpl.com.cn

\* 通信作者: 詹常森 (1968—), 男, 博士, 高级工程师, 从事中药现代研究和成果转化。Tel: (021) 62509065, E-mail: zhanchangsen@shpl.com.cn

ceutical Co., Ltd., Shanghai 201401, China)

**ABSTRACT: AIM** To establish an HPLC method for the simultaneous content determination of gamabufalin, coumarin, cinnamic acid, bufotaline, bufalin, cinobufagin and resibufogenin in Shexiang Baoxin Pills (*Moschus Artifacts*, *Ginseng Radix et Rhizoma* extract, *Styrax*, etc.) intermediate. **METHODS** The analysis of methanol extract of this intermediate was performed on a 30 °C thermostatic Agilent Zorbax SB-C<sub>18</sub> column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), with the mobile phase comprising of acetonitrile - 0.1% phosphoric acid flowing at 1.0-1.2 mL/min in a gradient elution manner, and the detection wavelength was set at 280 nm. **RESULTS** Seven constituents showed good linear relationships within their own ranges ( $r \geq 0.9998$ ), whose average recoveries were 98.24% - 102.49% with the RSDs of 0.93% - 2.87%. **CONCLUSION** This simple, accurate and reproducible method can be used for the quality control of Shexiang Baoxin Pills.

**KEY WORDS:** Shexiang Baoxin Pills; intermediate; chemical constituents; HPLC

麝香保心丸由人工麝香、人参、人工牛黄、肉桂、苏合香、蟾酥、冰片7味药材组成，是在苏合香丸的基础上研制而成，功效芳香温通、益气强心，用于心肌缺血引起的心绞痛、胸闷、心肌梗塞，对各类型心绞痛均具有良好的治疗效果<sup>[1]</sup>。方中肉桂性辛、甘、热，归肾、脾、心、肝经，具有补火助阳、散寒止痛、温通经脉等作用，主要含有挥发油、二萜及其糖苷、黄烷醇及其多聚体，以及黄酮、多酚等成分，其中桂皮醛、肉桂酸含有量测定的报道较多<sup>[2-7]</sup>，2015年版《中国药典》<sup>[7]</sup>以前者为检测指标；蟾酥味甘、辛，性温，有毒，具有解毒、消肿、醒神、开窍、强心、止痛等作用，主要含有蟾蜍毒素、蟾毒配基、蟾毒色胺等成分<sup>[8-13]</sup>，2015年版《中国药典》<sup>[14]</sup>以华蟾酥毒基、酯蟾毒配基为检测指标。

日蟾毒他灵、蟾毒灵、华蟾酥毒基、肉桂酸为麝香保心丸入血成分；蟾毒他灵、酯蟾毒配基均为蟾酥活性成分群——蟾蜍甾二烯类，而且后者是药典规定的蟾酥含有量测定指标成分；香豆素为肉桂中活性成分。因此，本实验建立 HPLC 法同时测定麝香保心丸中间体中上述7种成分的含有量，以期为该制剂全面质量控制提供依据。

## 1 材料

1.1 仪器 Agilent 1260 Infinity 型高效液相色谱仪，配置四元梯度泵、二极管阵列检测器、控温柱温箱、自动进样器、ChemStation 工作站（美国 Agilent 公司）；XS205DU 电子分析天平（瑞士梅特勒-托利多公司）；SB-5200DTD 超声波仪（宁波新芝生物科技股份有限公司）。

1.2 试药 肉桂酸（批号 110786-200503）、蟾毒灵（批号 111981-201503）、华蟾酥毒基（批号 110803-201406）、酯蟾毒配基（批号 110718-

201108）对照品均购自中国食品药品检定研究院；日蟾毒他灵（批号 150809）、蟾毒他灵（批号 150926）对照品均购自成都普菲德生物技术有限公司；香豆素（批号 C4261-50G）对照品购自西格玛奥德里奇（上海）贸易有限公司。麝香保心丸中间体（上海和黄药业有限公司，批号 20160605、20160606、20160609）。乙腈为色谱纯（美国 Fisher 公司）；其他试剂均为分析纯；水为超纯水（美国 Millipore 超纯水仪制备）。

## 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 × 250 mm，5 μm）；流动相乙腈-0.1% 磷酸，梯度洗脱，程序见表 1；柱温 30 °C；检测波长 280 nm；进样量 10 μL。

表 1 梯度洗脱程序

Tab. 1 Gradient elution programs

时间/min	乙腈/%	0.1%磷酸/%	体积流量/(mL·min <sup>-1</sup> )
0	22	78	1.2
20	22	78	1.2
25	34	66	1.1
30	36	64	1.1
35	40	60	1.0
36	40	60	1.1
45	45	55	1.2
50	45	55	1.2

## 2.2 溶液制备

2.2.1 对照品溶液 精密称取各对照品适量，置于同一 10 mL 量瓶中，甲醇定容至刻度，即得（日蟾毒他灵 0.17 mg/mL、香豆素 0.081 1 mg/mL、肉桂酸 0.057 1 mg/mL、蟾毒他灵 0.365 5 mg/mL、蟾毒灵 0.351 5 mg/mL、华蟾酥毒基 0.441 5 mg/mL、酯蟾毒配基 0.415 5 mg/mL）。

2.2.2 供试品溶液 取中间体适量，研磨后精密称取2 g，置于具塞三角烧瓶中，加入20 mL甲醇，密塞，称定质量，超声30 min，放冷，甲醇补足损失的质量，上清液过0.22 μm微孔滤膜，取续滤液，即得。

2.2.3 阴性样品溶液 按照处方和制备工艺去掉肉桂、蟾酥、苏合香，将人工麝香、人参提取物、人工牛黄、冰片细粉混匀，作为阴性样品，按“2.2.2”项下方法制备，即得。

### 2.3 方法学考察

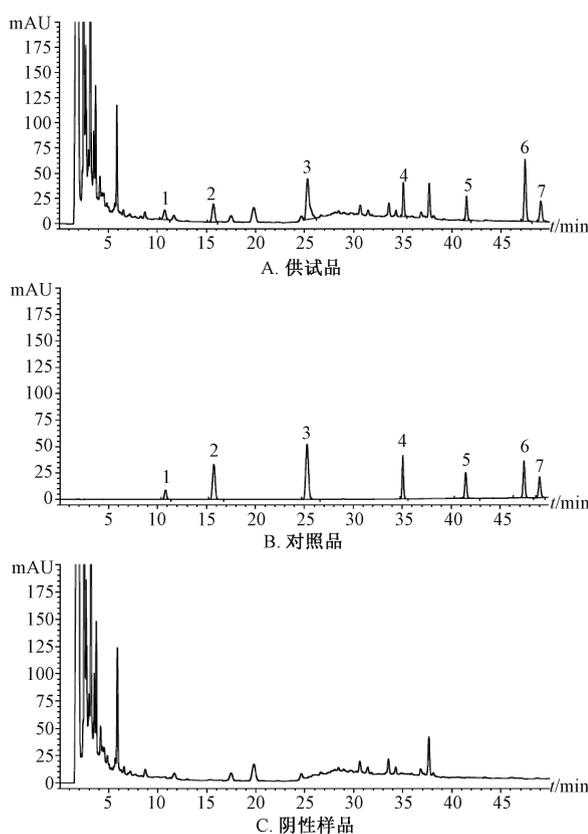
2.3.1 系统适用性考察与专属性试验 取对照品、供试品、阴性样品溶液，在“2.1”项色谱条件下进样测定，结果见图1。由图可知，各成分色谱峰分离度均>1.5，阴性无干扰，方法专属性良好。

2.3.2 线性关系考察 将对照品溶液逐级稀释成系列质量浓度，在“2.1”项色谱条件下进样测定。以峰面积为纵坐标(Y)，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呈良好的线性关系。

2.3.3 精密度试验 取“2.2.1”项下对照品溶液，在“2.1”项色谱条件下进样测定6次，测得日蟾毒他灵、香豆素、肉桂酸、蟾毒他灵、蟾毒灵、华蟾酥毒基、酯蟾毒配基峰面积RSD分别为0.12%、0.17%、0.24%、0.21%、0.19%、0.18%、0.04%，表明仪器精密度良好。

2.3.4 稳定性试验 取同一批中间体，按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液，于0、2、4、6、8、12 h在“2.1”项色谱条件下进样测定，测得日蟾毒他灵、香豆素、肉桂酸、蟾毒他灵、蟾毒灵、华蟾酥毒基、酯蟾毒配基峰面积RSD分别为2.68%、0.57%、2.35%、0.76%、0.76%、0.80%、2.75%，表明溶液在12 h内稳定性良好。

2.3.5 重复性试验 取同一批中间体，按“2.2.2”项下方法平行制备6份供试品溶液，在



1. 日蟾毒他灵 2. 香豆素 3. 肉桂酸 4. 蟾毒他灵 5. 蟾毒灵 6. 华蟾酥毒基 7. 酯蟾毒配基  
1. gamabufalin 2. coumarin 3. cinnamic acid 4. bufotaline 5. bufalin 6. cinobufagin 7. resibufogenin

图1 各成分HPLC色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of various constituents

表2 各成分线性关系

Tab. 2 Linear relationships of various constituents

成分	回归方程	r	线性范围/(μg·mL <sup>-1</sup> )
日蟾毒他灵	Y=3 259.4X-1.068 7	0.999 9	10.625~170
香豆素	Y=29 152X-5.321 4	0.999 9	5.069~81.1
肉桂酸	Y=70 000X-7.926 2	0.999 9	3.569~57.1
蟾毒他灵	Y=4 899.2X-3.123 1	0.999 9	22.843~365.5
蟾毒灵	Y=3 497.2X+1.866 8	0.999 8	21.969~351.5
华蟾酥毒基	Y=4 418.2X+3.215 6	0.999 9	27.594~441.5
酯蟾毒配基	Y=3 048.7X+0.439 7	0.999 9	25.969~415.5

“2.1”项色谱条件下进样测定，测得日蟾毒他灵、香豆素、肉桂酸、蟾毒他灵、蟾毒灵、华蟾酥毒基、酯蟾毒配基含有量RSD分别为1.35%、1.11%、2.30%、1.19%、1.39%、1.13%、0.73%，表明该方法重复性良好。

2.3.6 加样回收率试验 精密称取各对照品适量，加到含有量已知的同一批中间体中，平行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，计算回收率。结果，日蟾毒

他灵、香豆素、肉桂酸、蟾毒他灵、蟾毒灵、华蟾酥毒基、酯蟾毒配基平均加样回收率分别为 98.73% (RSD = 1.56%)、99.16% (RSD = 0.93%)、98.24% (RSD = 1.64%)、102.49% (RSD = 1.27%)、100.05% (RSD = 1.86%)、100.64% (RSD = 2.12%)、100.26%

(RSD=2.87%)。

2.4 样品含有量测定 取3批中间体,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,计算含有量,结果见表3。

表3 各成分含有量测定结果 (mg/g, n=3)

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

批号	日蟾毒他灵	香豆素	肉桂酸	蟾毒他灵	蟾毒灵	华蟾酥毒基	酯蟾毒配基
20160605	0.527 7	0.109 2	0.134 0	0.746 9	0.851 8	1.928 4	1.085 9
20160606	0.528 5	0.111 4	0.135 8	0.759 2	0.867 7	1.975 2	1.103 1
20160609	0.515 0	0.109 3	0.131 8	0.744 3	0.848 7	1.926 1	1.086 8

### 3 讨论

3.1 供试品溶液制备方法选择 本实验考察了提取溶剂和提取方式,综合考虑试剂毒性、提取效率、色谱峰分离度及响应值,最终确定供试品溶液制备方法为甲醇超声提取 30 min。

3.2 阴性样品制备方法选择 7种成分均为肉桂或蟾酥中所含,同时苏合香中含有桂皮醛,并且易被氧化成肉桂酸,故在阴性样品中不含肉桂、蟾酥、苏合香。

### 4 结论

本实验建立 HPLC 法同时测定麝香保心丸中间体中日蟾毒他灵、香豆素、肉桂酸、蟾毒他灵、蟾毒灵、华蟾酥毒基、酯蟾毒配基的含有量,该方法简便准确,重复性好,可为该制剂全面质量控制提供依据。

### 参考文献:

[ 1 ] 姜 博,詹常森. 麝香保心丸中九种有效成分的含量测定 [J]. 海峡药学, 2017(6): 45-48.

[ 2 ] 邢 婧,张 琳,汪 轩,等. HPLC-DAD 法同时测定右归丸中 6 种成分[J]. 中成药, 2016, 38(8): 1736-1740.

[ 3 ] 于 艳,张立德,田 原,等. HPLC 波长切换法同时测定桂枝茯苓丸中 4 种成分[J]. 中成药, 2013, 35(11):

2426-2429.

[ 4 ] 赵 凯,姜 勇,薛培凤,等. 国产肉桂的化学成分研究 [J]. 中草药, 2013, 44(17): 2358-2363.

[ 5 ] 曾 超,陆 东,段伟昌,等. 肉桂配方颗粒的 HPLC 指纹图谱研究[J]. 中国药房, 2014, 25(7): 635-638.

[ 6 ] 龚 正,龚 亮,胡丽玲,等. 桂枝和肉桂挥发油成分比较研究[J]. 辽宁中医杂志, 2014, 41(10): 2199-2201.

[ 7 ] 尹亮亮,刘子琛,李 慧,等. 不同产地肉桂及桂枝中有效成分的分析[J]. 中草药, 2007, 38(7): 1094-1096.

[ 8 ] 徐玲玲,蔡国琴,敬应春,等. HPLC 法测定蟾酥中 4 种蟾毒内酯[J]. 中成药, 2012, 34(11): 2151-2155.

[ 9 ] 蒋婉娟,彭奕申,徐瑞林. HPLC 法测定麝香保心丸中华蟾酥毒基和酯蟾毒配基含量[J]. 中成药, 2002, 24(12): 924-926.

[ 10 ] 李淑盈,董海林,梁 晓. HPLC 测定心可宁胶囊中华蟾酥毒基和脂蟾毒配基的含量[J]. 中成药, 2006, 28(6): 812-815.

[ 11 ] 彭成成. 麝香保心丸和黄连解毒汤的药物动力学研究[D]. 上海: 上海交通大学, 2014.

[ 12 ] 寇冠军,秦姿凡,邓雅芳,等. 蟾酥的研究进展[J]. 中草药, 2014, 45(21): 3185-3189.

[ 13 ] 陈瀛澜,郝艳艳,郭夫江,等. 蟾酥化学成分及药理活性研究进展[J]. 中草药, 2017, 48(12): 2579-2588.

[ 14 ] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2015 年版一部 [S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 164-165.