

阿胶三宝膏的质量标准提高研究^Δ

焦 阳*,汪 冰,林永强,徐丽华(山东省食品药品检验研究院,济南 250101)

中图分类号 R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2017)03-0376-05

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2017.03.25

摘要 目的:提高阿胶三宝膏的质量标准。方法:采用超高效液相色谱-质谱联用法(UPLC-MS)鉴别制剂中的阿胶;色谱柱为Acquity UPLC BEH-C₁₈,流动相为乙腈-0.1%甲酸溶液(梯度洗脱),流速为0.3 mL/min,进样量为5 μL,离子源为电喷雾离子源,毛细管电压为3.5 kV,毛细管出口电压为120 V,锥孔电压为50 V,脱溶剂温度为400 ℃,干燥气流速为10 L/min,雾化器压为40 psi,碰撞能量为10~45 V,扫描范围 m/z 200~1 500,检测方式为正离子模式(ESI+),多反应监测(MRM);采用高效液相色谱法测定制剂中4种水解氨基酸的含量;色谱柱为Agela Venusil XBP-C₁₈,流动相A为乙腈-0.1 mol/L乙酸钠溶液(36%乙酸调pH至6.5)(7:93, V/V),流动相B为80%乙腈溶液(梯度洗脱),流速为1.0 mL/min,检测波长为254 nm,柱温为43 ℃。结果:阿胶的UPLC-MS图峰形清晰,专属性强,阴性无干扰。*L*-羟脯氨酸、甘氨酸、丙氨酸、*L*-脯氨酸检测进样量线性范围分别为0.081 9~0.655 2 μg($r=0.999\ 9$)、0.186 2~1.489 6 μg($r=0.999\ 8$)、0.070 3~0.562 0 μg($r=0.999\ 9$)、0.124 2~0.993 6 μg($r=0.999\ 9$);精密密度、稳定性、重复性试验的RSD<2.0%;加样回收率分别为99.85%~103.69%(RSD=1.35%, $n=6$)、99.91%~103.93%(RSD=1.46%, $n=6$)、96.86%~101.27%(RSD=1.69%, $n=6$)、97.44%~101.45%(RSD=1.54%, $n=6$)。结论:提高的标准能更加有效地控制阿胶三宝膏的质量。

样回收率,结果见表1。

表1 加样回收率试验结果($n=6$)

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

| 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,% |
|---------|---------|---------|---------|-----------|-------|
| 0.309 8 | 0.299 9 | 0.603 1 | 97.80 | 99.68 | 1.57 |
| 0.309 8 | 0.299 9 | 0.616 0 | 102.10 | | |
| 0.309 8 | 0.299 9 | 0.609 2 | 99.83 | | |
| 0.309 8 | 0.299 9 | 0.606 8 | 99.03 | | |
| 0.309 8 | 0.299 9 | 0.612 0 | 100.77 | | |
| 0.309 8 | 0.299 9 | 0.605 4 | 98.57 | | |

2.2.10 样品含量测定 取3批样品各适量,分别按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液,再按“2.2.1”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($n=3$,mg/mL)

Tab 2 Results of content determination of samples($n=3$,mg/mL)

| 样品批号 | 吗啡含量 | 平均含量 |
|----------|---------|---------|
| 20150123 | 0.015 5 | 0.014 5 |
| 20150205 | 0.019 1 | |
| 20150219 | 0.010 2 | |

3 讨论

预试验中,笔者首先考虑以萃取方法提取,其中夏枯草以乙酸乙酯萃取,拳参以正丁醇萃取;笔者根据文献[4]及实际操作,考虑到展开剂毒性问题,选取环己烷-乙酸乙酯-异丙醇-甲醇(15:3:3.5:0.5, V/V/V/V)作为夏枯草鉴别的展开剂,置紫外光灯(365 nm)下检视;选取醋酸为拳参鉴别的展开剂,置紫外光灯(365 nm)下检

视,结果显示,夏枯草和拳参斑点清晰,分离度好,阴性对照无干扰。

本试验首次将痛块消口服液中毒性药材罂粟壳中吗啡的含量纳入其质量控制项中,经紫外光谱扫描发现,吗啡的最大吸收在220 nm波长处,与文献^[5]报道一致,故选用220 nm为检测波长;笔者考察了3种溶剂,分别以甲醇、70%甲醇、含5%醋酸的20%甲醇溶液溶解吗啡^[6],结果表明,以含5%醋酸的20%甲醇溶液作为溶剂时对照品峰形良好,基线平稳,故选取其为溶剂;另外,痛块消口服液为复方制剂,提取方法为水提,吗啡在水中的溶解度较小,且水提后痛块消口服液中其他组分对吗啡的干扰较大,故笔者参照文献[5],优先考察了烘干后甲醇提取、三氯甲烷-异丙醇(9:1, V/V)萃取2种方法,结果表明,三氯甲烷-异丙醇(9:1, V/V)萃取能有效地去除杂质,排除干扰,对吗啡的提取率高,重现性好,便于医院制剂的常规检测。

综上所述,本研究所建标准可用于痛块消口服液的质量控制。

参考文献

- [1] 刘猛,贾立群.痛块消口服液治疗乳腺癌家族史合并重度乳腺增生1例[J].医学信息,2014,27(7):632-633.
- [2] 国家食品药品监督管理局.医疗机构制剂注册管理办法:试行[S].2006-06-01.
- [3] 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.
- [4] 陈蔚琳,漏德宝.畅声口服液质量标准研究[J].中国药房,2008,19(12):933-935.
- [5] 何禄仁,宋平顺.高效液相色谱法测定蜜炙罂粟壳及种子中吗啡含量[J].中国药业,2007,16(21):25-27.

(收稿日期:2016-04-15 修回日期:2016-07-24)

(编辑:张 静)

^Δ 基金项目:国家科技重大专项课题(No.2014ZX09304307-002-002);山东省自然科学基金资助项目(No.ZR2013HM074)

* 药师。研究方向:药物分析。电话:0531-81216522。E-mail: jiaoyang579@hotmail.com

Study on the Improvement of Quality Standard for Ejiao Sanbao Cream

JIAO Yang, WANG Bing, LIN Yongqiang, XU Lihua (Shandong Institute for Food and Drug Control, Jinan 250101, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To improve the quality standard of Ejiao sanbao cream. METHODS: UPLC-MS was adopted to identify the donkey-hide glue in the preparation, the chromatographic conditions: column was Acquity UPLC BEH-C₁₈ with mobile phase of acetonitrile-0.1% formic acid (gradient elution), volumetric flow rate was 0.3 mL/min, injection volume was 5 μ L, ion source is electrospray ionization source, capillary voltage was 3.5 kV, capillary outlet voltage was 120 V, cone voltage was 50 V, desolvation temperature was 400 $^{\circ}$ C, drying gas flow was 10 L/min, nebulizer pressure was 40 psi, collision energy was 10-45 V, scan range was m/z 200-1 500; detection mode was positive ion mode (ESI+), multiple reaction monitoring. HPLC was used to determine the contents of 4 hydroxyzing amino acid: column was Agela Venusil XBP-C₁₈ with mobile phase A of acetonitrile-0.1 mol/L sodium acetate solution (36% acetic acid adjusted to pH 6.5) (7:93, V/V) and B of 80% acetonitrile solution (gradient elution) at a flow rate of 1.0 mL/min, the detection wavelength was 254 nm, and column temperature was 43 $^{\circ}$ C. RESULTS: The UPLC-MS peak of *Equus asinus* was clear and specific, without negative interference. The linear range was 0.081 9-0.655 2 μ g for *L*-hydroxyproline ($r=0.999\ 9$), 0.186 2-1.489 6 μ g for glycine($r=0.999\ 8$), 0.070 3-0.562 0 μ g for alanine ($r=0.999\ 9$) and 0.124 2-0.993 6 μ g for *L*-proline($r=0.999\ 9$); RSDs of precision, stability and reproducibility tests were lower than 2.0%; recoveries were 99.85%-103.69% (RSD=1.35%, $n=6$), 99.91%-103.93% (RSD=1.46%, $n=6$), 96.86%-101.27% (RSD=1.69%, $n=6$) and 97.44%-101.45% (RSD=1.54%, $n=6$), respectively. CONCLUSIONS: The improved standard can more effectively control the quality of Ejiao sanbao cream.

KEYWORDS Ejiao sanbao cream; Quality standard; UPLC-MS; HPLC

阿胶三宝膏由阿胶、大枣和黄芪3味中药组合而成,具有补气血、健脾胃之功效,常用于气血两亏、脾胃虚弱所致的心悸、气短、崩漏、浮肿、食少等症的治疗^[1]。其最早载于《卫生部药品标准·中药成方制剂(第二册)》^[2],但仅收录了性状和常规检查项。现行标准为2015年版《中国药典》(一部),增加了采用高效液相色谱法(HPLC)测定黄芪甲苷含量和总氮量项目。本试验对现行标准进行完善,增加了制剂中君药阿胶的特征鉴别^[3],并将原标准中总氮量的测定修订为阿胶中4种水解氨基酸的HPLC定量测定^[4]。

1 材料

1.1 仪器

Quattro Premier XE型超高效液相色谱-质谱联用(UPLC-MS)仪、LC-20A型HPLC仪(包括LC-20AT四元泵、SPD-20A紫外可见光检测器、DGU-20A5自动脱气装置、SIL-20AC自动进样器、CTO-20AC柱温箱)均购自美国Waters公司;CP225D型电子分析天平(德国Sartorius公司);KQ5200DE型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司,功率:500 W,频率:40 kHz)。

1.2 药品与试剂

阿胶三宝膏(山东东阿阿胶股份有限公司,批号:120701、1211001、1301001,规格:250 g/瓶);*L*-羟脯氨酸对照品(批号:111578-200201,纯度:100%)、甘氨酸对照品(批号:140689-201103,纯度:99.9%)、丙氨酸对照品(批号:140680-201303,纯度:99.9%)、*L*-脯氨酸对照品(批号:140677-201206,纯度:100%)、阿胶对照药材(批号:121274-201202)均购于中国食品药品检定研究

院;胰蛋白酶(美国Promega公司,批号:ADV52800001120296);乙腈、甲醇为色谱纯,其余试剂均为分析纯,水为纯化水。

2 方法与结果

2.1 阿胶的鉴别

2.1.1 试验条件 (1)色谱条件。色谱柱:Acquity UPLC BEH-C₁₈(100 mm \times 2.1 mm,1.7 μ m);流动相:乙腈(A)-0.1%甲酸溶液(B),梯度洗脱(0~25 min,5% \rightarrow 20% A;25~40 min,20% \rightarrow 50% A);流速:0.3 mL/min;进样量:5 μ L。(2)质谱条件。离子源:电喷雾离子源;毛细管电压:3.5 kV;毛细管出口电压:120 V;锥孔电压:50 V;脱溶剂温度:400 $^{\circ}$ C;干燥气流速:10 L/min;雾化器压:40 psi;碰撞能量:10~45 V;扫描范围: m/z 200~1 500;检测方式:正离子模式(ESI+),多反应监测(MRM)。

2.1.2 对照药材溶液的制备 取阿胶对照药材0.1 g,加1%碳酸氢铵溶液50 mL,超声处理30 min,微孔滤膜滤过,取续滤液100 μ L,置于微量进样瓶中,加胰蛋白酶溶液(胰蛋白酶100 μ g溶于1%碳酸氢铵溶液100 μ L中,下同)10 μ L,摇匀,37 $^{\circ}$ C恒温酶解12 h,即得。

2.1.3 供试品溶液的制备 取样品1.0 g,加1%碳酸氢铵溶液50 mL,超声处理30 min,微孔滤膜滤过,取续滤液100 μ L,置于微量进样瓶中,加胰蛋白酶溶液10 μ L,摇匀,37 $^{\circ}$ C恒温酶解12 h,即得。

2.1.4 阴性对照溶液的制备 按阿胶三宝膏处方和制备工艺制备缺阿胶的阴性样品,并按“2.1.3”项下方法制成阴性对照溶液。

2.1.5 专属性试验 取“2.1.2”“2.1.3”“2.1.4”项下对照药材溶液、供试品溶液、阴性对照溶液各适量,按“2.1.1”项下试验条件进样测定,记录色谱,详见图1。结果表明,阴性对照在相应位置未见干扰峰,方法专属性良好。

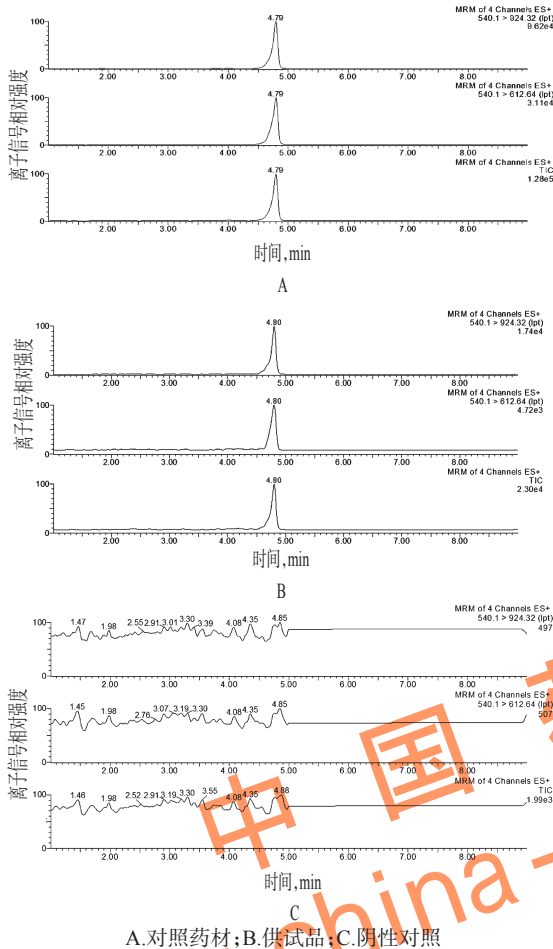


图1 对照药材、供试品、阴性对照的超高效液相色谱-质谱图

Fig 1 UPLC-MS chromatograms of reference medicinal herbs, test samples and negative control

2.1.6 精密度试验 取“2.1.2”项下对照药材溶液适量,按“2.1.1”项下试验条件连续进样测定6次,记录峰面积。结果, m/z 539.8 \rightarrow 612.4提取离子流峰与 m/z 539.8 \rightarrow 923.8提取离子流峰峰面积的RSD分别为4.32%、4.18%,表明仪器精密度良好。

2.1.7 样品鉴别 取3批样品各适量,分别按“2.1.3”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1.1”项下试验条件进样测定,鉴别其成分,详见图2。结果,3批样品的UPLC-MS出峰时间一致。

2.2 4种水解氨基酸的含量测定

2.2.1 色谱条件 色谱柱:Agela Venusil XBP-C₁₈(250 mm \times 4.6 mm, 5 μ m);流动相A:乙腈-0.1 mol/L乙酸钠溶液(36%乙酸调pH至6.5)(7:93, V/V),流动相B:80%乙腈溶液,梯度洗脱(0~20 min, 100% \rightarrow 93% A; 20~23.9 min, 93% \rightarrow 88% A; 23.9~24 min, 88% \rightarrow 85% A; 24~39

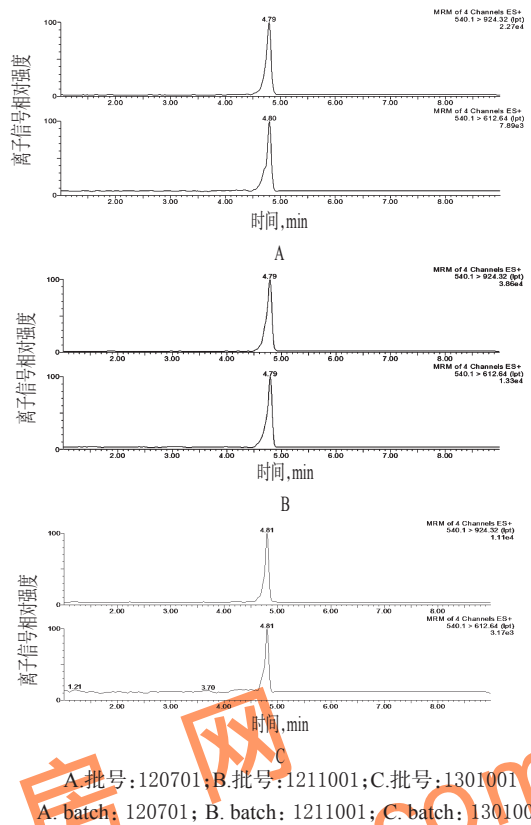


图2 样品的超高效液相色谱-质谱图

Fig 2 UPLC-MS chromatograms of samples

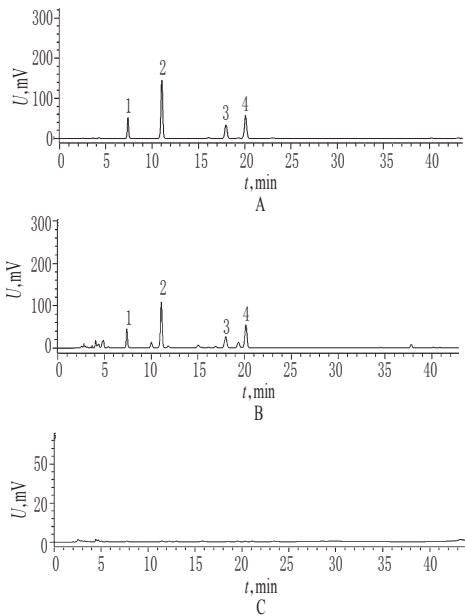
min, 85% \rightarrow 66% A; 39~40 min, 66% \rightarrow 0A);流速:1.0 mL/min;检测波长:254 nm;柱温:43 $^{\circ}$ C。

2.2.2 混合对照品溶液的制备 取待测水解氨基酸对照品适量,加0.1 mol/L盐酸溶液制成L-脯氨酸、甘氨酸、丙氨酸、L-脯氨酸质量浓度分别为0.081 9、0.186 2、0.070 3、0.124 2 mg/mL的混合对照品溶液。

2.2.3 供试品溶液的制备 取样品约2.5 g,精密称定,加0.1 mol/L盐酸溶液20 mL,超声处理30 min,放冷,加0.1 mol/L盐酸溶液定容至25 mL,摇匀。精密量取上述溶液2 mL,置于10 mL安瓿中,加2 mL盐酸,熔封,置于150 $^{\circ}$ C恒温箱中1 h,放冷,移至蒸发皿中,用水10 mL分次洗涤,洗液并入蒸发皿中,蒸干,残渣加0.1 mol/L盐酸溶液溶解并定容至25 mL,摇匀,滤过,即得。

2.2.4 混合对照品溶液、供试品溶液、阴性对照溶液的衍生化溶液的制备 分别精密量取“2.2.2”“2.2.3”“2.1.4”项下混合对照品溶液、供试品溶液、阴性对照溶液各5 mL,加1 mol/L异硫氰酸苯酯(PITC)乙腈溶液2.5 mL,然后再加1 mol/L三乙胺乙腈溶液2.5 mL,摇匀,室温放置1 h,加50%乙腈定容至25 mL,摇匀。量取上述溶液10 mL,置于分液漏斗中,加正己烷10 mL,振荡后静置分层,取下层溶液,滤过,即得。

2.2.5 专属性试验 取“2.2.4”项下混合对照品溶液、供试品溶液、阴性对照溶液的衍生化溶液各适量,按“2.2.1”项下色谱条件进样测定,记录色谱,详见图3。结果表明,阴性对照在相应位置未见干扰峰,方法专属性



A. 混合对照品; B. 供试品; C. 阴性对照; 1. *L*-羟脯氨酸; 2. 甘氨酸; 3. 丙氨酸; 4. *L*-脯氨酸

A. mixed reference substance; B. test sample; C. negative control; 1. *L*-hydroxyproline; 2. glycine; 3. alanine; 4. *L*-proline

图3 高效液相色谱图

Fig 3 HPLC chromatograms

良好。

2.2.6 线性关系考察 取待测水解氨基酸对照品适量,加0.1 mol/L 盐酸溶液制成*L*-羟脯氨酸、甘氨酸、丙氨酸和*L*-脯氨酸质量浓度分别为0.081 9、0.186 2、0.070 3、0.124 2 mg/mL的混合对照品溶液。分别精密量取上述混合对照品溶液1、2、4、6、8 μL,按“2.2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以待测水解氨基酸进样量(x , μg)为横坐标,峰面积(y)为纵坐标进行线性回归,得*L*-羟脯氨酸、甘氨酸、丙氨酸和*L*-脯氨酸回归方程,分别为 $y=1\ 356\ 820.6x-254.3(r=0.999\ 9)$ 、 $y=2\ 065\ 568.1x-7\ 326.1(r=0.999\ 8)$ 、 $y=1\ 675\ 750.1x-1\ 011.6(r=0.999\ 9)$ 、 $y=1\ 561\ 586.887\ 8x+65.615\ 9(r=0.999\ 9)$ 。结果表明,*L*-羟脯氨酸、甘氨酸、丙氨酸和*L*-脯氨酸检测进样量线性范围分别为0.081 9~0.655 2、0.186 2~1.489 6、0.070 3~0.562 0、0.124 2~0.993 6 μg。

2.2.7 精密度试验 取“2.2.4”项下混合对照品溶液的衍生化溶液适量,按“2.2.1”项下色谱条件连续进样测定6次,记录峰面积。结果,*L*-羟脯氨酸、甘氨酸、丙氨酸和*L*-脯氨酸峰面积的RSD分别为0.35%、0.38%、0.37%和0.52%($n=6$),表明仪器精密度良好。

2.2.8 稳定性试验 取“2.2.4”项下供试品溶液(批号:1301001)的衍生化溶液适量,分别于室温下放置0、5、10、15、20、25 h时按“2.2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果,*L*-羟脯氨酸、甘氨酸、丙氨酸和*L*-脯氨酸峰面积的RSD分别为1.27%、1.25%、1.48%和1.18%($n=6$),表明供试品溶液在室温放置25 h内基本稳定。

2.2.9 重复性试验 精密称取同一批样品(批号:

1301001)适量,按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液,按“2.2.4”项下方法制备供试品溶液的衍生化溶液,共6份,再按“2.2.1”项下色谱条件进样测定,计算含量。结果,*L*-羟脯氨酸、甘氨酸、丙氨酸和*L*-脯氨酸平均含量分别为8.33、16.37、6.96、13.89 mg/g,RSD分别为1.61%、1.94%、1.19%、1.69%($n=6$),表明本方法重复性良好。

2.2.10 加样回收率试验 取已知含量样品(批号:1301001)适量,共6份,分别加入一定质量的待测水解氨基酸对照品,按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液,另按“2.2.4”项下方法制备供试品溶液的衍生化溶液,再按“2.2.1”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($n=6$)

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

| 待测成分 | 取样量,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,% |
|----------------|---------|----------|--------|----------|---------|-----------|-------|
| <i>L</i> -羟脯氨酸 | 1.249 6 | 10.409 2 | 10.871 | 21.263 8 | 99.85 | 101.78 | 1.35 |
| | 1.250 2 | 10.414 2 | 10.871 | 21.453 1 | 101.54 | | |
| | 1.250 8 | 10.419 2 | 10.871 | 21.612 1 | 102.96 | | |
| | 1.249 9 | 10.411 7 | 10.871 | 21.393 5 | 101.02 | | |
| | 1.250 3 | 10.415 0 | 10.871 | 21.687 4 | 103.69 | | |
| | 1.251 1 | 10.421 7 | 10.871 | 21.465 2 | 101.39 | | |
| 甘氨酸 | 1.249 6 | 20.456 0 | 24.999 | 45.433 6 | 99.91 | 102.45 | 1.46 |
| | 1.250 2 | 20.465 8 | 24.999 | 46.143 1 | 102.71 | | |
| | 1.250 8 | 20.475 6 | 24.999 | 46.456 1 | 103.93 | | |
| | 1.249 9 | 20.460 9 | 24.999 | 45.839 1 | 101.52 | | |
| | 1.250 3 | 20.467 4 | 24.999 | 46.382 9 | 103.67 | | |
| | 1.251 1 | 20.480 5 | 24.999 | 46.212 6 | 102.93 | | |
| 丙氨酸 | 1.249 6 | 8.697 2 | 10.235 | 18.973 7 | 100.41 | 99.24 | 1.69 |
| | 1.250 2 | 8.701 4 | 10.235 | 18.894 4 | 99.59 | | |
| | 1.250 8 | 8.705 6 | 10.235 | 18.697 0 | 97.62 | | |
| | 1.249 9 | 8.699 3 | 10.235 | 18.903 5 | 99.70 | | |
| | 1.250 3 | 8.702 1 | 10.235 | 19.067 6 | 101.27 | | |
| | 1.251 1 | 8.707 7 | 10.235 | 18.621 2 | 96.86 | | |
| <i>L</i> -脯氨酸 | 1.249 6 | 17.356 9 | 16.766 | 34.115 9 | 99.96 | 99.76 | 1.54 |
| | 1.250 2 | 17.365 3 | 16.766 | 34.025 1 | 99.37 | | |
| | 1.250 8 | 17.373 6 | 16.766 | 33.957 2 | 98.91 | | |
| | 1.249 9 | 17.361 1 | 16.766 | 33.698 0 | 97.44 | | |
| | 1.250 3 | 17.366 7 | 16.766 | 34.376 3 | 101.45 | | |
| | 1.251 1 | 17.377 8 | 16.766 | 34.378 5 | 101.40 | | |

2.2.11 样品含量测定 取3批样品各适量,按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液,另按“2.2.4”项下方法制备供试品溶液的衍生化溶液,再按“2.2.1”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。结合阿胶三宝膏中阿胶的处方量和制成总量计算4种水解氨基酸的理论含量分别为7.2、16.2、6.3和9.0 mg/g。考虑水分、制剂工艺等影响因素,并结合实际测定结果,暂定限度为每1 g含阿胶以*L*-羟脯氨酸计,不得少于6.1 mg;以甘氨酸计,不得少于13.8 mg;以丙氨酸计,不得少于5.4 mg;以*L*-脯氨酸计,不得少于7.7 mg。

3 讨论

阿胶是马科动物驴*Equus asinus* L.的干燥皮或鲜皮经煎煮、浓缩制成的固体胶,是我国的传统中药,具有滋

一测多评法同时测定北青龙衣药材中胡桃醌和胡桃酮的含量^Δ

霍金海^{1*}, 张海燕¹, 王伟明^{1,2#}(1.黑龙江省中医药科学院中药研究所, 哈尔滨 150036; 2.黑龙江省林下经济资源研发与利用协同创新中心, 哈尔滨 150040)

中图分类号 R284.1 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2017)03-0380-04
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2017.03.26

摘要 目的:建立同时测定北青龙衣药材中胡桃醌、胡桃酮含量的方法。方法:采用高效液相色谱法,以胡桃醌为内参物,计算其对胡桃酮的相对校正因子(RCF),通过RCF计算北青龙衣药材中胡桃酮的含量;以外标法测定的胡桃酮含量作实测值,采用夹角余弦法比较一测多评法的计算值与实测值的差异。结果:胡桃醌、胡桃酮检测质量浓度线性范围分别为7.6~76.0 μg/mL($r=0.9990$)、8.2~82.0 μg/mL($r=0.9994$);精密性、稳定性、重复性试验的RSD<3.0%;加样回收率分别为95.37%~97.94%(RSD=1.04%, $n=6$)、99.13%~100.10%(RSD=0.33%, $n=6$)。计算值与实测值之间的夹角余弦值为0.99984,两者差异无统计学意义($P>0.05$)。结论:该方法操作简便,精密性、稳定性、重复性好,可用于北青龙衣药材中胡桃醌、胡桃酮含量的同时测定。

关键词 北青龙衣;一测多评;高效液相色谱法;校正因子;胡桃醌;胡桃酮;含量

Simultaneous Determination of Contents of Juglone and Regiolone in *Juglans mandshurica* by Quantitative Analysis of Multi-components by Single-maker

HUO Jinhai¹, ZHANG Haiyan¹, WANG Weiming^{1,2} (1. Institute of Chinese Medicine, Heilongjiang Academy of Traditional Chinese Medicine, Harbin 150036, China; 2. Heilongjiang Forest Economy Collaborative R&D and Innovation Center Resource Utilization, Harbin 150040, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for the simultaneous determination of juglone and regiolone in *Juglans mandshurica*. METHODS: HPLC was used and regiolone was used as internal reference, the relative correction factor (RCF) of regiolone and juglone was calculated, then calculated the content of juglone based on RCF; the juglone content was used as measured value, which was determined by external standard method, angle cosine method was used to compare the difference of calculated value in quantitative analysis of multi-components by single-maker and measured value in external standard method. RESULTS: The lin-

表2 样品含量测定结果($n=3$)

Tab 2 Results of contents determination of samples ($n=3$)

| 样品批号 | L-羟脯氨酸 | | 甘氨酸 | | 丙氨酸 | | L-脯氨酸 | |
|---------|---------|-------|---------|-------|---------|-------|---------|-------|
| | 含量,mg/g | RSD,% | 含量,mg/g | RSD,% | 含量,mg/g | RSD,% | 含量,mg/g | RSD,% |
| 120701 | 8.1051 | 0.9 | 15.5378 | 0.7 | 7.2167 | 0.6 | 13.5370 | 1.0 |
| 1211001 | 8.5508 | 0.3 | 17.0181 | 0.4 | 7.3851 | 0.5 | 14.3997 | 0.1 |
| 1301001 | 8.5842 | 0.8 | 16.8714 | 0.8 | 7.0395 | 0.8 | 14.1638 | 1.1 |

阴补血、润燥、止血之效。处方中含有阿胶的中药制剂品种繁多,但由于现行方法对制剂中阿胶的质量控制缺乏针对性,专属性较差。不法厂家用其他劣质皮类替代驴皮熬制阿胶的违法行为时有发生,导致此类制剂质量良莠不齐,药效无法得到保障。

本试验采用UPLC-MS法,建立了阿胶特征肽的专属性鉴别,结果表明,本鉴别方法高效、快速、专属性强,耐用性强,可有效地对阿胶三宝膏中的阿胶进行鉴别。

^Δ 基金项目:国家自然科学基金资助项目(No.81503348);国家“重大新药创制”科技重大专项课题(No.2009ZX09102-138)

* 副研究员。研究方向:中药品质评价及药效物质基础。电话:0451-55653086。E-mail:jinhaihuo@126.com

通信作者:研究员。研究方向:中药新药研发。电话:0451-55665478。E-mail:zyjy@163.com

本试验参照2015年版《中国药典》(一部)阿胶项下含量测定的方法,建立了阿胶三宝膏中阿胶4种水解氨基酸的HPLC含量测定项。由于制剂处方中还含有大枣和黄芪,水溶性杂质较多,因此笔者根据制剂的实际情况优化液相条件,延长洗脱时间,以获得更好的分离度。按优化后的色谱方法进行试验,所得数据线性关系、精密性、重复性和回收率均良好。

综上所述,提高的标准能更加有效地控制阿胶三宝膏的质量。

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,2015:1010.
- [2] 国家药典委员会.卫生部药品标准:中药成方制剂:第二册[S].WS3-B-0297-90.
- [3] 程显隆.胶类药材质量控制关键技术研究[D].北京:北京中医药大学,2014.
- [4] 陈再洁,殷金龙,李坤,等.柱前衍生RP-HPLC法测定人参中17种氨基酸的含量[J].中国药房,2012,23(35):3334-3337.

(收稿日期:2016-02-09 修回日期:2016-04-25)

(编辑:张静)