

UPLC-MS/MS法同时测定复方血栓通胶囊中9种成分的含量^Δ

孙志^{1*}, 胡玉荣², 左莉华¹, 周霖¹, 姜晓芳¹, 刘新¹, 吕晓景¹, 包晓悦¹, 康建¹, 张晓坚^{1#} (1. 郑州大学第一附属医院药学部, 郑州 450052; 2. 郑州大学药学院, 郑州 450001)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2017)21-2959-05

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2017.21.22

摘要 目的: 建立同时测定复方血栓通胶囊中丹参素、咖啡酸、迷迭香酸、丹酚酸B、丹酚酸A、丹参酮I、隐丹参酮、丹参酮II A和熊果酸含量的方法。方法: 采用超高效液相色谱-串联质谱法。色谱柱为ACQUITY UPLC[®] BEH C₁₈, 流动相为乙腈-0.1%甲酸(梯度洗脱), 流速为0.2 mL/min, 柱温为40 ℃, 进样器温度为10 ℃, 分析时间为7 min, 进样量为5 μL; 离子化模式为电喷雾电离, 离子源温度为150 ℃, 毛细管电压为3.5 kV, 锥孔气流量为50 L/h, 脱溶剂气温为350 ℃, 脱溶剂气流量为650 L/h, 雾化气压力为7×10⁵ Pa, 工作模式为正、负离子结合的多反应监测模式。结果: 丹参素、咖啡酸、迷迭香酸、丹酚酸B、丹酚酸A、丹参酮I、隐丹参酮、丹参酮II A和熊果酸检测质量浓度线性范围分别为10.0~100.0 μg/mL(*r*=0.999 8)、0.1~1.0 μg/mL(*r*=0.999 8)、4.0~40.0 μg/mL(*r*=0.999 9)、10.0~100.0 μg/mL(*r*=0.999 9)、15.0~150.0 μg/mL(*r*=0.999 7)、8.0~80.0 μg/mL(*r*=0.999 8)、10.0~100.0 μg/mL(*r*=0.999 7)、50.0~500.0 μg/mL(*r*=0.999 7)、6.0~60.0 μg/mL(*r*=0.999 8); 定量限分别为40.0、9.6、38.0、88.0、130.0、39.0、4.4、3.2、10.0 ng/mL, 检测限分别为12.0、3.0、11.0、26.0、39.0、12.0、1.3、1.0、3.0 ng/mL; 精密度、稳定性、重复性试验的RSD<3%; 加样回收率分别为97.34%~103.20% (RSD=2.19%, *n*=6)、97.22%~102.39% (RSD=2.03%, *n*=6)、98.51%~101.70% (RSD=1.32%, *n*=6)、97.86%~102.49% (RSD=2.09%, *n*=6)、96.75%~103.12% (RSD=2.36%, *n*=6)、98.43%~101.65% (RSD=1.25%, *n*=6)、97.59%~101.50% (RSD=1.50%, *n*=6)、96.45%~102.88% (RSD=2.58%, *n*=6)、97.02%~103.11% (RSD=2.38%, *n*=6)。结论: 该方法操作简单、结果准确, 可用于复方血栓通胶囊中9种成分含量的同时测定。

关键词 超高效液相色谱-串联质谱法; 复方血栓通胶囊; 含量测定; 丹参素; 咖啡酸; 迷迭香酸; 丹酚酸B; 丹酚酸A; 丹参酮I; 隐丹参酮; 丹参酮II A; 熊果酸

Simultaneous Determination of 9 Components in Compound Xueshuantong Capsules by UPLC-MS/MS

SUN Zhi¹, HU Yurong², ZUO Lihua¹, ZHOU Lin¹, JIANG Xiaofang¹, LIU Xin¹, LYU Xiaojing¹, BAO Xiaoyue¹, KANG Jian¹, ZHANG Xiaojian¹ (1. Dept. of Pharmacy, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, China; 2. College of Pharmacy, Zhengzhou University, Zhengzhou 450001, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for simultaneous determination of tanshinol, caffeic acid, rosmarinic, salvianolic acid B, salvianolic acid A, tanshinone I, cryptotanshinone, tanshinone II A and ursolic acid in Compound xueshuantong capsules. METHODS: UPLC-MS/MS method was adopted. The determination was performed on ACQUITY UPLC[®] BEH C₁₈ column with mobile phase consisted of acetonitrile-0.1% formic acid (gradient elution) at the flow rate of 0.2 mL/min. The column temperature was 40 ℃, and the temperature of injector was 10 ℃. Analysis time was 7 min, and sample size was 5 μL. The electrospray ionization source (ESI) was used; ion source temperature was 150 ℃; capillary voltage was 3.5 kV; cone flow was 50 L/h; desolvation temperature was 350 ℃; desolvation gas flow was 650 L/h; nebuliser pressure was 7×10⁵ Pa; ion monitoring and multiple reaction monitoring (MRM) was performed. RESULTS: The linear ranges of tanshinol, caffeic acid, rosmarinic, salvianolic acid B, salvianolic acid A, tanshinone I, cryptotanshinone, tanshinone II A and ursolic acid were 10.0-100.0 μg/mL (*r*=0.999 8), 0.1-1.0 μg/mL (*r*=0.999 8), 4.0-40.0 μg/mL (*r*=0.999 9), 10.0-100.0 μg/mL (*r*=0.999 9), 15.0-150.0 μg/mL (*r*=0.999 7), 8.0-80.0 μg/mL (*r*=0.999 8), 10.0-100.0 μg/mL (*r*=0.999 7), 50.0-500.0 μg/mL (*r*=0.999 7) and 6.0-60.0 μg/mL (*r*=0.999 8), respectively. The limits of quantitation were 40.0, 9.6, 38.0, 88.0, 130.0, 39.0, 4.4, 3.2 and 10.0 ng/mL, separately. The limits of detection were 12.0, 3.0, 11.0, 26.0, 39.0, 12.0, 1.3, 1.0 and 3.0 ng/mL, respectively. RSDs of precision, stability and reproducibility tests were all lower than 3%. The recoveries were 97.34%-103.20% (RSD=2.19%, *n*=6), 97.22%-102.39% (RSD=2.03%, *n*=6), 98.51%-101.70% (RSD=1.32%, *n*=6), 97.86%-102.49% (RSD=2.09%, *n*=6), 96.75%-103.12% (RSD=2.36%, *n*=6), 98.43%-101.65% (RSD=1.25%, *n*=6), 97.59%-101.50% (RSD=1.50%, *n*=6), 96.45%-102.88% (RSD=2.58%, *n*=6), 97.02%-103.11% (RSD=2.38%, *n*=6), separately. CONCLUSIONS: The method is simple and accurate, and can be used for simultaneous determination of 9 components in Compound xueshuantong capsules.

Δ 基金项目: 国家自然科学基金资助项目(No.81272563); 郑州大学第一附属医院院内青年创新基金项目

* 主管药师, 博士。研究方向: 质谱分析和中药质量控制。电话: 0371-66862570。E-mail: sunzhi2013@163.com

通信作者: 主任药师。研究方向: 医院药学。电话: 0371-66862570。E-mail: zhangxiaojian_yxb@163.com

KEYWORDS UPLC-MS/MS; Compound xueshuantong capsules; Content determination; Tanshinol; Caffeic acid; Rosmarinic; Salvianolic acid B; Salvianolic acid A; Tanshinone I; Cryptotanshinone; Tanshinone II A; Ursolic acid

复方血栓通胶囊是由三七、丹参、玄参和黄芪组成的纯中药复方制剂^[1],具有活血化瘀、益气养阴之功效,主要用于血瘀兼气阴两虚导致的稳定型心绞痛^[2-4]和视网膜静脉阻塞^[5-8]等的治疗。该制剂收载于2015年版《中国药典》(一部)^[9],采用高效液相色谱法(HPLC)进行测定。该方法测定的成分较少,色谱柱填充剂为十八烷基硅烷键合,对HPLC仪有损害。因此,本课题组采用超高效液相色谱-串联质谱法(UPLC-MS/MS)建立了同时测定复方血栓通胶囊中丹参素、咖啡酸、迷迭香酸、丹酚酸B、丹酚酸A、丹参酮I、隐丹参酮、丹参酮II A、熊果酸含量的方法^[10-12],以期为完善该制剂的质量控制提供参考。

1 材料

1.1 仪器

ACQUITY UPLC I-Class 型 UPLC 仪,包括流通柱式进样器、masslynx 4.1 色谱工作站(美国 Waters 公司); Xevo TQ-D 型三重四极杆质谱仪(美国 Waters 公司); AL104 型万分之一电子分析天平(瑞士 Mettler-Toledo 公司); BX7200HP 型台式超声波清洗器(上海新苗医疗器械制造有限公司,功率:400 W,频率:40 kHz); Master-E 型超纯水机(上海和泰仪器有限公司)。

1.2 药品与试剂

复方血栓通胶囊(广东某公司,批号:150410、150411、151012、151129、151203、160203、160208、160302、160414、160417,规格:0.5 g/粒);丹参素对照品(批号:15082714,纯度:99.99%)、咖啡酸对照品(批号:15090803)、迷迭香酸对照品(批号:15082904)、丹酚酸B对照品(批号:15081916)、丹酚酸A对照品(批号:16012810)、丹参酮I对照品(批号:16030210)、隐丹参酮对照品(批号:16022403)、丹参酮II A对照品(批号:15092512)、熊果酸对照品(批号:15082905)均购自成都曼思特生物科技有限公司,纯度均为99.99%;甲醇、甲酸、乙腈为色谱纯,乙醇为分析纯,水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 试验条件

2.1.1 色谱条件 色谱柱:ACQUITY UPLC[®] BEH C₁₈ (50 mm×2.1 mm, 1.7 μm);流动相:乙腈(A)-0.1%甲酸(B),梯度洗脱(0~2 min, 5%→28% A; 2~4 min, 28%→70% A; 4~7 min, 70%→90% A);流速:0.2 mL/min;柱温:40℃;进样器温度:10℃;分析时间:7 min;进样量:5 μL。

2.1.2 质谱条件 离子化模式:电喷雾电离;离子源温度:150℃;毛细管电压:3.5 kV;锥孔气流量:50 L/h;脱溶剂气温:350℃;脱溶剂气流量:650 L/h;雾化气压力:7×10⁵ Pa;母离子扫描范围:*m/z* 80~1 200。主要质谱参数见表1。

表1 主要质谱参数

Tab 1 Main mass parameters

待测成分	工作模式	监测离子/监测离子对, <i>m/z</i>	锥孔电压, V	碰撞能, eV
丹参素	多反应监测, 负	197.13/135.16	28	20
咖啡酸	多反应监测, 负	178.99/135.09	34	14
迷迭香酸	多反应监测, 负	358.93/160.93	34	18
丹酚酸B	多反应监测, 负	716.87/518.95	46	18
丹酚酸A	多反应监测, 负	492.90/294.93	38	22
丹参酮I	多反应监测, 正	276.90/178.01	60	20
隐丹参酮	多反应监测, 正	297.03/254.00	66	36
丹参酮II A	多反应监测, 正	295.02/277.08	58	26
熊果酸	离子监测, 负	455.00	50	0

2.2 溶液的制备

2.2.1 混合对照品溶液 取丹参素、咖啡酸、迷迭香酸、丹酚酸B、丹酚酸A、丹参酮I、隐丹参酮、丹参酮II A、熊果酸对照品各适量,精密称定,加甲醇-水(1:1, *V/V*)制备质量浓度分别为2、0.2、2、2、2、2、5、2 mg/mL的单一对照品贮备液;分别精密量取上述单一对照品贮备液各500、50、200、500、750、400、500、1 000、300 μL,置于同一10 mL量瓶中,加甲醇-水(1:1, *V/V*)定容,摇匀,制备成上述待测成分的质量浓度分别为100.0、1.0、40.0、100.0、150.0、80.0、100.0、500.0、60.0 μg/mL的混合对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液 取样品内容物约1.0 g,精密称定,置于具塞锥形瓶中,精密加甲醇-水(1:1, *V/V*)20 mL,密塞,称定质量,超声处理30 min,放冷,再次称定质量,用甲醇-水(1:1, *V/V*)补足减失的质量,摇匀,经0.22 μm微孔滤膜滤过,取续滤液,即得。

2.2.3 空白对照溶液 取空白辅料适量,按“2.2.2”项下方法制备空白对照溶液。

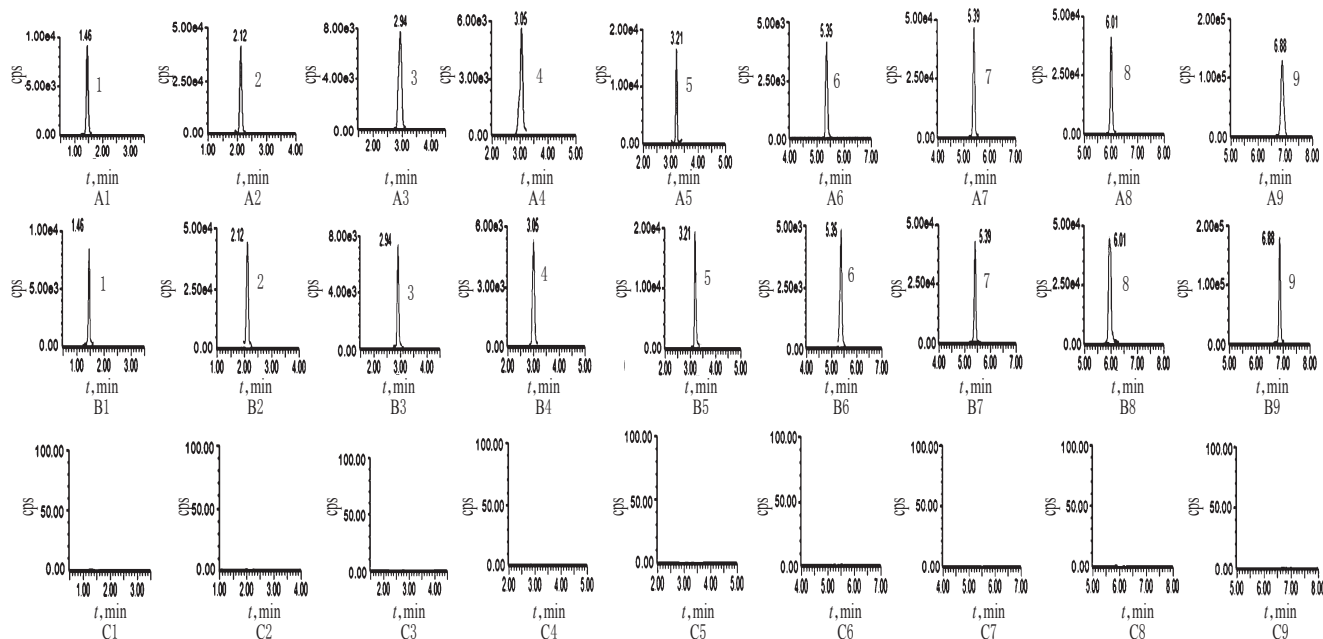
2.3 系统适用性试验

精密量取“2.2”项下混合对照品溶液、供试品溶液和空白对照溶液各适量,按“2.1”项下试验条件进样测定,记录提取离子流色谱(EIC),详见图1。由图1可知,在该试验条件下,待测成分在混合对照品及供试品的EIC图中保留时间一致,理论板数均>5 000;空白对照EIC图在相同保留时间内无干扰峰出现。结果表明,辅料对测定无干扰。

2.4 线性关系考察

取“2.2.1”项下混合对照品溶液1 000、800、600、400、200、100 μL,分别置于1 mL量瓶中,加甲醇-水(1:1, *V/V*)定容,摇匀,即得系列混合对照品溶液。取上述系列混合对照品溶液适量,按“2.1”项下试验条件进样测定,记录离子响应强度。以待测成分质量浓度(*x*, μg/mL)为横坐标,离子响应强度(*y*)为纵坐标进行线性回归,回归方程与线性范围见表2。

2.5 定量限(LOQ)与检测限(LOD)考察



A1~9.供试品;B1~9.混合对照品;C1~9.空白对照;1.丹参素;2.咖啡酸;3.迷迭香酸;4.丹酚酸B;5.丹酚酸A;6.丹参酮 I ;7.隐丹参酮;8.丹参酮 II A ;9.熊果酸

A1-9.test samples;B1-9.mixed control; C1-9.blank control; 1. tanshinol; 2. caffeic acid; 3. rosmarinic acid;4.salvianolic acid B; 5. salvianolic acid A; 6. tanshinone I ;7.cryptotanshinone; 8. tanshinone II A ;9. ursolic acid

图1 提取离子流图

Fig1 Extracted ion chromatogram

表2 回归方程与线性范围

Tab 2 Regression equations and linear range

待测成分	回归方程	r	线性范围, $\mu\text{g/mL}$
丹参素	$y=11.8x+110$	0.999 8	10.0~100.0
咖啡酸	$y=30.6x+0.339$	0.999 8	0.1~1.0
迷迭香酸	$y=14.4x+29.9$	0.999 9	4.0~40.0
丹酚酸B	$y=28.5x-13.5$	0.999 9	10.0~100.0
丹酚酸A	$y=18.0x+138$	0.999 7	15.0~150.0
丹参酮 I	$y=5.89x+78.9$	0.999 8	8.0~80.0
隐丹参酮	$y=953x+8\ 540$	0.999 7	10.0~100.0
丹参酮 II A	$y=276x+724$	0.999 7	50.0~500.0
熊果酸	$y=100x+413$	0.999 8	6.0~60.0

取“2.2.1”项下混合对照品溶液适量,倍比稀释,按“2.1”项下试验条件连续进样测定6次,记录峰面积。当信噪比为10:1时,得LOQ;当信噪比为3:1时,得LOD。结果,丹参素、咖啡酸、迷迭香酸、丹酚酸B、丹酚酸A、丹参酮 I 、隐丹参酮、丹参酮 II A、熊果酸的LOQ分别为40.0、9.6、38.0、88.0、130.0、39.0、4.4、3.2、10.0 ng/mL;LOD分别为12.0、3.0、11.0、26.0、39.0、12.0、1.3、1.0、3.0 ng/mL。

2.6 精密度试验

精密量取“2.2.1”项下混合对照品溶液适量,按“2.1”项下试验条件连续进样测定6次,记录离子响应强度。结果,丹参素、咖啡酸、迷迭香酸、丹酚酸B、丹酚酸A、丹参酮 I 、隐丹参酮、丹参酮 II A、熊果酸离子响应强度的RSD分别为1.46%、1.94%、1.43%、1.89%、1.21%、2.21%、0.75%、1.46%、1.01% ($n=6$),表明仪器精密度良好。

2.7 稳定性试验

精密量取“2.2.2”项下供试品溶液(批号:150410)适量,分别于室温下放置0、2、6、10、12、24 h时,按“2.1”项下试验条件进样测定,记录离子响应强度。结果,丹参素、咖啡酸、迷迭香酸、丹酚酸B、丹酚酸A、丹参酮 I 、隐丹参酮、丹参酮 II A、熊果酸离子响应强度的RSD分别为1.06%、1.32%、1.23%、2.61%、1.35%、2.38%、1.12%、0.88%、1.57% ($n=6$),表明供试品溶液在室温下放置24 h内稳定性良好。

2.8 重复性试验

精密量取“2.2.2”项下供试品溶液(批号:150410)适量,共6份,按“2.1”项下试验条件进样测定,计算含量并记录离子响应强度。结果,丹参素、咖啡酸、迷迭香酸、丹酚酸B、丹酚酸A、丹参酮 I 、隐丹参酮、丹参酮 II A、熊果酸的含量平均值分别为1.170、0.013、0.403、1.076、0.832、0.581、0.418、2.450、0.569 mg/g, RSD分别为1.68%、1.30%、2.81%、2.77%、1.55%、2.29%、2.94%、1.24%、1.97% ($n=6$),表明本方法重复性良好。

2.9 加样回收率试验

取已知含量的样品(批号:150410)内容物约0.5 g,共6份,精密称定,各置于10 mL量瓶中,分别加入一定质量的待测成分对照品,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下试验条件进样测定,记录离子响应强度并计算加样回收率,结果见表3。

2.10 样品含量测定

取10批样品各适量,按“2.2.2”项下方法制备供试品

表3 加样回收率试验结果(n=6)

Tab 3 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, %
丹参素	0.499 8	0.578 6	0.585 0	1.153 1	98.21	99.58	2.19
	0.500 8	0.584 0	0.585 0	1.175 7	101.14		
	0.501 0	0.594 7	0.585 0	1.164 1	97.34		
	0.501 0	0.592 2	0.585 0	1.195 9	103.20		
	0.499 9	0.576 2	0.585 0	1.152 3	98.47		
	0.500 4	0.574 4	0.585 0	1.154 3	99.13		
咖啡酸	0.499 9	0.006 3	0.006 0	0.012 2	97.25	98.95	2.03
	0.500 2	0.006 5	0.006 0	0.012 6	102.39		
	0.500 6	0.006 4	0.006 0	0.012 3	97.68		
	0.499 8	0.006 4	0.006 0	0.012 3	99.40		
	0.500 1	0.006 4	0.006 0	0.012 3	97.22		
	0.500 9	0.006 5	0.006 0	0.012 4	99.73		
迷迭香酸	0.500 5	0.203 6	0.202 0	0.402 6	98.51	100.11	1.32
	0.499 5	0.203 3	0.202 0	0.408 2	101.46		
	0.500 5	0.198 3	0.202 0	0.397 7	98.75		
	0.499 6	0.199 2	0.202 0	0.401 3	100.06		
	0.500 1	0.200 6	0.202 0	0.403 0	100.18		
	0.500 5	0.203 1	0.202 0	0.408 5	101.70		
丹酚酸B	0.500 8	0.543 4	0.538 0	1.071 5	98.15	100.48	2.09
	0.501 0	0.535 6	0.538 0	1.084 9	102.10		
	0.499 5	0.539 1	0.538 0	1.077 4	100.04		
	0.499 8	0.533 5	0.538 0	1.085 0	102.49		
	0.499 9	0.535 9	0.538 0	1.062 4	97.86		
	0.500 1	0.530 2	0.538 0	1.080 1	102.22		
丹酚酸A	0.500 8	0.418 2	0.416 0	0.838 8	101.10	100.43	2.36
	0.501 0	0.416 0	0.416 0	0.825 7	98.50		
	0.501 0	0.417 4	0.416 0	0.819 9	96.75		
	0.499 5	0.419 0	0.416 0	0.843 6	102.07		
	0.500 0	0.411 7	0.416 0	0.840 7	103.12		
	0.500 8	0.419 9	0.416 0	0.840 2	101.02		
丹参酮 I	0.500 7	0.289 4	0.291 0	0.576 2	98.56	99.57	1.25
	0.500 6	0.288 7	0.291 0	0.584 5	101.65		
	0.500 5	0.287 3	0.291 0	0.577 4	99.68		
	0.500 4	0.287 7	0.291 0	0.574 1	98.43		
	0.500 1	0.294 8	0.291 0	0.582 4	98.83		
	0.500 9	0.293 9	0.291 0	0.585 7	100.26		
隐丹参酮	0.500 5	0.210 7	0.209 0	0.418 6	99.46	99.79	1.50
	0.500 6	0.205 7	0.209 0	0.412 2	98.85		
	0.500 2	0.212 4	0.209 0	0.421 3	99.96		
	0.499 5	0.209 8	0.209 0	0.421 9	101.50		
	0.499 9	0.207 6	0.209 0	0.411 6	97.59		
	0.500 7	0.208 0	0.209 0	0.419 8	101.36		
丹参酮 II A	0.499 7	1.206 7	1.225 0	2.388 2	96.45	100.43	2.58
	0.500 1	1.209 4	1.225 0	2.458 8	101.99		
	0.500 2	1.206 0	1.225 0	2.423 4	99.38		
	0.500 7	1.229 1	1.225 0	2.489 5	102.88		
	0.499 6	1.221 5	1.225 0	2.434 1	98.98		
	0.500 0	1.244 4	1.225 0	2.504 8	102.88		
熊果酸	0.499 6	0.285 7	0.285 0	0.576 2	101.92	100.16	2.38
	0.500 5	0.282 7	0.285 0	0.572 4	101.63		
	0.499 6	0.279 5	0.285 0	0.560 6	98.61		
	0.500 4	0.280 3	0.285 0	0.574 1	103.11		
	0.500 7	0.285 2	0.285 0	0.561 7	97.02		
	0.500 0	0.283 3	0.285 0	0.564 5	98.66		

溶液,再按“2.1”项下试验条件进样测定,记录离子响应强度并计算样品含量,结果见表4。

表4 样品含量测定结果(n=3, mg/g)

Tab 4 Results of contents determination of samples (n=3, mg/g)

样品批号	丹参素	咖啡酸	迷迭香酸	丹酚酸B	丹酚酸A	丹参酮 I	隐丹参酮	丹参酮 II A	熊果酸
150410	1.170	0.013	0.403	1.076	0.832	0.581	0.418	2.450	0.569
150411	1.183	0.012	0.465	1.139	0.732	0.594	0.435	2.110	0.536
151012	1.231	0.012	0.397	1.033	0.757	0.596	0.420	2.192	0.565
151129	1.261	0.013	0.457	1.175	0.736	0.577	0.396	2.300	0.497
151203	1.322	0.015	0.411	1.265	0.770	0.581	0.359	2.406	0.573
160203	1.362	0.015	0.425	1.105	0.713	0.623	0.398	2.450	0.603
160208	1.378	0.014	0.366	1.104	0.761	0.480	0.393	2.357	0.583
160302	1.438	0.014	0.402	1.038	0.724	0.526	0.367	2.695	0.591
160414	1.409	0.014	0.353	1.161	0.794	0.576	0.369	2.277	0.588
160417	1.337	0.015	0.371	1.255	0.828	0.526	0.358	2.191	0.497
平均值	1.309	0.014	0.405	1.135	0.765	0.566	0.391	2.343	0.560
RSD, %	7.15	8.95	9.06	7.12	5.47	7.48	7.01	7.22	6.77

3 讨论

3.1 提取溶剂和超声时间的选择

本试验分别考察了不同提取溶剂[甲醇、甲醇-水(4:1, 1:1, 3:7, V/V)]和超声时间(20、30、45、60 min)对待测成分溶解性和提取效率的影响。结果发现,选择甲醇-水(1:1, V/V)为提取溶剂,超声处理时间为30 min时,待测成分的响应好,提取较为完全,无重复析出现象,且溶剂效应不明显,因此选择上述条件进行试验。

3.2 流动相的选择

本试验考察了不同比例的甲醇-水、甲醇-甲酸和乙腈-甲酸作为流动相系统,通过比较待测成分在不同流动相中的分离效果,选择合适的流动相。结果,乙腈-0.1%甲酸作为流动相进行梯度洗脱时,待测成分的分离效果最佳,色谱峰峰形较好,相邻峰之间均能达到基线分离,因此选择乙腈-0.1%甲酸作为本试验的流动相。

3.3 工作模式的选择

本试验在优化过程中发现,丹参酮 I、隐丹参酮、丹参酮 II A 在正离子模式下响应较好,其他成分在负离子模式下响应较好;另外,由于熊果酸的碰撞能过高,且不易得到特征离子,故通过比对熊果酸对照品的保留时间和检测离子,采用离子监测模式,从而实现对样品中熊果酸成分的定性和定量分析,其他成分采用多反应监测模式可满足检测要求。因此,本试验采用了正、负离子结合的多模式检测方式进行采集。

综上所述,本方法操作简单、结果准确,可用于复方血栓通胶囊中9种成分含量的同时测定。

参考文献

- [1] 李顺农. 成方药味中的传奇轶事[J]. 中国民族民间医药, 2011(1):72-73.
- [2] 张耀民. 复方血栓通胶囊治疗稳定型心绞痛的临床观察[J]. 陕西中医, 2011, 32(6):664-665.
- [3] 沈勇. 复方血栓通对于视网膜分支静脉阻塞患者的眼底形态学影响[J]. 国际眼科杂志, 2013, 13(8):1645-1647.
- [4] 王源. 复方血栓通胶囊主要有效成分的药代动力学研究[D]. 北京:北京中医药大学, 2014.

RP-HPLC法同时测定热感赛比斯坦颗粒中4种成分的含量^Δ

翟欣^{1*}, 庞克坚², 唐辉^{1#}, 刘新豫¹, 孙小雅¹, 王亚乔¹(1.石河子大学药学院/新疆植物药资源利用教育部重点实验室, 新疆石河子 832002; 2.和田维吾尔药业有限责任公司, 新疆和田 848200)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2017)21-2963-04
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2017.21.23

摘要 目的:建立同时测定热感赛比斯坦颗粒中没食子酸、迷迭香酸、甘草苷和甘草酸铵含量的方法。方法:采用反相高效液相色谱法。色谱柱为 Waters RP-C₁₈, 流动相为乙腈-0.2%磷酸溶液(梯度洗脱), 流速为 1.0 mL/min, 检测波长为 210 nm(没食子酸、迷迭香酸和甘草苷)、230 nm(甘草酸铵), 柱温为 28 ℃, 进样量为 20 μL。结果:没食子酸、迷迭香酸、甘草苷和甘草酸铵检测进样量线性范围分别为 0.274 4~7.546 μg ($r=0.999\ 8$)、0.187 0~5.143 μg ($r=0.999\ 6$)、0.130 0~3.575 μg ($r=0.999\ 9$)、0.254 0~6.985 μg ($r=0.999\ 8$); 定量限分别为 2.67、1.36、1.09、2.11 ng, 检测限分别为 1.03、0.62、0.87、0.91 ng; 精密度、稳定性、重复性试验的 RSD < 2.0%; 加样回收率分别为 97.26%~101.00% (RSD=1.1%, $n=9$)、97.66%~101.80% (RSD=1.3%, $n=9$)、97.45%~101.70% (RSD=1.4%, $n=9$)、97.74%~101.70% (RSD=1.4%, $n=9$)。结论:该方法简便、准确, 重复性好, 可用于热感赛比斯坦颗粒中没食子酸、迷迭香酸、甘草苷和甘草酸铵含量的同时测定。

关键词 热感赛比斯坦颗粒; 反相高效液相色谱法; 没食子酸; 迷迭香酸; 甘草苷; 甘草酸铵

Simultaneous Determination of 4 Components in Regan Saibisitan Granules by RP-HPLC

ZHAI Xin¹, PANG Kejian², TANG Hui¹, LIU Xinyu¹, SUN Xiaoya¹, WANG Yaqiao¹(1.School of Pharmacy, Shihezi University/Key Laboratory of Xinjiang Phytomedicine Recourses Utilization, Ministry of Education, Xinjiang Shihezi 832002, China; 2.Hotan Uygur Pharmaceuticals Co., Ltd., Xinjiang Hotan 848200, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish the method for simultaneous determination of gallic acid, rosmarinic acid, liquiritin and ammonium glycyrrhetate in Regan saibisitan granules. METHODS: RP-HPLC method was adopted. The determination was performed on Waters RP-C₁₈ column with mobile phase consisted of acetonitrile-0.2% phosphoric acid (gradient elution) at the flow rate of 1.0 mL/min. The detection wavelengths were 210 nm (gallic acid, rosmarinic acid and liquiritin), 230 nm (ammonium glycyrrhetate). The column temperature was 28 ℃, and sample size was 20 μL. RESULTS: The linear ranges were 0.274 4-7.546 μg for gallic acid ($r=0.999\ 8$), 0.187 0-5.143 μg for rosmarinic acid ($r=0.999\ 6$), 0.130 0-3.575 μg for liquiritin ($r=0.999\ 9$) and 0.254 0-6.985 μg for ammonium glycyrrhetate ($r=0.999\ 8$), respectively. The LOQ were 2.67, 1.36, 1.09 and 2.11 ng, respectively. The LOD were 1.03, 0.62, 0.87 and 0.91 ng, respectively. RSDs of precision, stability and repeatability tests were all less than 2.0%. The average recoveries were 97.26%-101.00% (RSD=1.1%, $n=9$), 97.66%-101.80% (RSD=1.3%, $n=9$), 97.45%-101.70% (RSD=1.4%, $n=9$), 97.74%-101.70% (RSD=1.4%, $n=9$). CONCLUSIONS: The method is simple, accurate and reproducible, and can be applied for simultaneous determination of gallic acid, rosmarinic acid, liquiritin and ammonium glycyrrhetate in Regan saibisitan granules.

KEYWORDS Regan saibisitan granules; RP-HPLC; Gallic acid; Rosmarinic acid; Liquiritin; Ammonium glycyrrhetate

- [5] 曾金, 张志荣, 廖萍, 等. 隐丹参酮的药理作用研究进展[J]. 中成药, 2015, 37(6): 1309-1313.
- [6] 王艳. 丹参酮 I 抗血管生成作用和机制研究[D]. 南昌: 南昌大学医学院, 2015.
- [7] 闫俊, 冯娟, 杨雪, 等. 丹参酮 II A 的药理作用及疾病治疗的最新进展[J]. 实用药物与临床, 2015, 18(8): 972-977.
- [8] 王冰瑶, 吴晓燕, 樊官伟. 丹参素保护心血管系统的药理作用机制研究进展[J]. 中草药, 2014, 45(17): 2571-2575.
- [9] 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: 1223-1224.
- [10] 杨九凌, 祝晓玲, 李成文, 等. 咖啡酸及其衍生物咖啡酸苯乙酯药理作用研究进展[J]. 中国药理学杂志, 2013, 48(8): 577-582.
- [11] 周丹, 刘艾林, 杜冠华. 迷迭香酸的药理学研究进展[J]. 中国新药杂志, 2011, 20(7): 594-598.
- [12] 林超, 刘兆国, 钱星, 等. 丹酚酸 B 在心血管疾病中药理作用研究进展[J]. 中国药理学通报, 2015, 31(4): 449-452.

(收稿日期: 2016-12-30 修回日期: 2017-04-22)

(编辑: 刘柳)

Δ 基金项目: 国家自然科学基金资助项目(No.81260627)

* 硕士研究生。研究方向: 药物分析。E-mail: 810347045@qq.com

通信作者: 教授, 博士。研究方向: 药物分析及新药研究。电话: 0993-2057878。E-mail: Tanghuishz@qq.com