

黄蒲胃宁颗粒的质量标准提高研究^Δ

曾令军^{1*}, 宋洪涛^{1#}, 李蔚², 吴新安²(1.南京军区福州总医院药学科, 福州 350025; 2.解放军第105医院药学科, 合肥 230031)

中图分类号 R927 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)09-1236-05
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.09.27

摘要 目的:完善和提高黄蒲胃宁颗粒的质量标准。方法:采用薄层色谱(TLC)法对制剂中黄芪、蒲公英、黄连、白及、柴胡、陈皮、炙甘草进行定性鉴别。采用高效液相色谱法测定制剂中盐酸小檗碱的含量:色谱柱为Dikma Diamonsil C₁₈,流动相为乙腈-0.05 mol/L磷酸二氢钾(50:50, V/V)(每100 ml中含0.4 g十二烷基硫酸钠,磷酸调pH至4.0),流速为1.0 ml/min,检测波长为345 nm,柱温为30 ℃,进样量为10 μl。结果:黄芪、蒲公英、黄连、白及、柴胡、陈皮、炙甘草的TLC图斑点清晰,分离度好。盐酸小檗碱检测质量浓度线性范围为2.03~81.2 μg/ml($r=0.999\ 9$);精密度、稳定性、重复性试验的RSD<1%;加样回收率为99.67%~103.04%(RSD=1.14, $n=9$)。结论:完善和提高的标准有利于黄蒲胃宁颗粒的质量控制。

关键词 黄蒲胃宁颗粒;质量标准;盐酸小檗碱

Study on the Improvement of Quality Standard of Huangpu Weining Granule

ZENG Lingjun¹, SONG Hongtao¹, LI Wei², WU Xin'an²(1.Dept. of Pharmacy, Fuzhou General Hospital of Nanjing Military Region, Fuzhou 350025, China; 2.Dept. of Pharmacy, the 105th Hospital of PLA, Hefei 230031, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To optimize and improve the quality standards of Huangpu weining granule. METHODS: TLC was used for qualitative identification of *Coptis chinensis*, *Pericarpium citri*, *Leguminosae*, *Herba taraxaci*, *Bletilla striata*, *Bupleurum chinense* and *Radix glycyrrhizae*. HPLC was used for the content determination of berberine hydrochloride. Column was Dikma Diamonsil C₁₈ with mobile phase of acetonitrile-0.05 mol/L Potassium dihydrogen phosphate solution (50:50, V/V) (per 100 ml was added sodium lauryl sulfate 0.4 g, and then adjusted the pH to 4.0 with phosphoric acid) at a flow rate of 1.0 ml/min, the detection wavelength was 345 nm, the column temperature was 30 ℃, and the injection volume was 10 μl. RESULTS: The TLC of *C. chinensis*, *P. citri*, *Leguminosae*, *H. taraxaci*, *B. striata*, *B. chinense* and *R. glycyrrhizae* showed clear spots and good separation. The linear range of berberine hydrochloride was 2.03-81.2 μg/ml($r=0.999\ 9$); RSDs of precision, stability and reproducibility tests were lower than 1%; recovery was 99.67%-103.04% (RSS=1.14, $n=9$). CONCLUSIONS: The optimized and improved method is helpful for the quality control of Huangpu weining granule.

KEYWORDS Huangpu weining granule; Quality standard; Berberine hydrochloride

黄蒲胃宁颗粒(柴黄胃宁颗粒)为《解放军医疗机构制剂规范》收录品种,系由黄芪、蒲公英、黄连、白及、柴胡、陈皮、炙甘草等7味中药组成的复方制剂,具有疏肝理气、养胃和中之功效,临床常用于胃、十二指肠溃疡和胆汁返流性胃炎、慢性胃炎、顽固性返酸等症的治疗^[1]。完善、可靠的质量标准是检验生产工艺、保证药品质量和临床疗效的重要保障。黄蒲胃宁颗粒现行标准较为落后,只建立了方中黄连、陈皮的定性鉴别方法,样品前处理复杂,薄层色谱(TLC)展开使用到毒性大、致癌的试剂苯和氯仿,亦无含量测定项,故有必要对其质量标准进一步完善和提高。为此,本研究在对黄芪、蒲公英、黄连、白及、柴胡、陈皮、炙甘草的TLC进行定性鉴别的同时,采用高效液相色谱(HPLC)法测定了制剂中盐酸小檗碱的含量。

1 材料

1.1 仪器

1200型HPLC仪,包括二极管阵列检测器(美国Agilent公司);AL204型分析天平[梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司];

Δ基金项目:军队医疗机构制剂标准提高科研专项课题(No.14ZJZ17)

*药师,硕士。研究方向:中药活性成分。电话:0591-22859169。E-mail:875276534@qq.com

#通信作者:主任药师,教授,博士生导师,博士。研究方向:中药活性成分。电话:0591-22859459。E-mail:sohoto@vip.163.com

KQ-800KDE型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

1.2 药品与试剂

黄蒲胃宁颗粒(解放军第105医院自制,批号:141106、141120、140922,规格:10 g/袋);黄芪甲苷对照品(批号:110781-201314,纯度>98%)、橙皮苷对照品(批号:110721-201316,纯度>98%)、盐酸小檗碱对照品(批号:110713-201007,纯度>98%)、黄芪对照药材(批号:120974-201311)、蒲公英对照药材(批号:121195-201213)、黄连对照药材(批号:121073-201216)、白及对照药材(批号:121262-201001)、柴胡对照药材(批号:120992-201108)、甘草对照药材(批号:121303-201202)、陈皮对照药材(批号:120969-201109)均购自中国食品药品检定研究院;硅胶G薄层板(青岛海洋化工厂);乙腈为色谱纯,其余试剂均为分析纯,水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 定性鉴别

2.1.1 黄芪^[2] 取样品5 g,加水50 ml,超声(功率:250 W,频率:40 kHz,下同)处理20 min,用水饱和正丁醇振荡提取3次,每次50 ml,合并正丁醇提取液,用氨液洗涤3次,每次50 ml,氨液弃去,再用正丁醇饱和的水洗涤3次,每次50 ml,弃去水液,正丁醇液蒸干,残渣加甲醇1 ml使溶解,作为供试品溶液。另取黄芪甲苷对照品适量,加甲醇使溶解,制成质量浓度为1 mg/ml的对照品溶液。再取黄芪对照药材0.5 g,加水100

ml,煎煮1 h,滤过,滤液浓缩至50 ml,按供试品溶液制备方法制成对照药材溶液。按黄蒲胃宁颗粒处方和制备工艺制备缺黄芪的阴性样品,按供试品溶液制备方法制成阴性对照溶液。按TLC法[2015年版《中国药典》(一部)]^[9]试验,吸取上述供试品溶液、阴性对照溶液各10 μl和对照品溶液、对照药材溶液各5 μl,分别点于同一硅胶G薄层板上,以二氯甲烷-甲醇-水(20:5:1, V/V/V)(4℃放置过夜的下层溶液)为展开剂,置于氨蒸气饱和的展开缸内,展开,取出,晾干,喷以10%硫酸乙醇溶液,于105℃加热至斑点显色清晰,日光下检视。结果显示,供试品色谱中,在与对照药材和对照品色谱相应位置上显相同颜色的斑点,且阴性对照无干扰,详见图1。

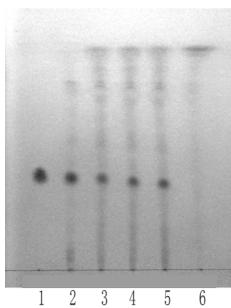


图1 黄芪的薄层色谱图

1.对照品;2.对照药材;3~5.供试品;6.阴性对照

Fig 1 TLC chromatograms of Leguminosae

1.reference substance; 2.medical material reference substance; 3-5.test samples; 6.negative control

2.1.2 蒲公英 取样品3 g,加水30 ml,超声处理20 min,用乙醚振荡提取3次,每次30 ml,合并乙醚提取液,乙醚液蒸干,残渣加乙酸乙酯1 ml使溶解,作为供试品溶液。另取蒲公英对照药材0.5 g,加水100 ml,煎煮1 h,滤过,滤液浓缩至30 ml,按供试品溶液制备方法制成对照药材溶液。按黄蒲胃宁颗粒处方和制备工艺制备缺蒲公英的阴性样品,按供试品溶液制备方法制成阴性对照溶液。按TLC法[2015年版《中国药典》(一部)]^[9]试验,吸取上述3种溶液各20 μl,分别点于同一硅胶G薄层板上,以乙油醚(30~60℃)-乙酸乙酯(4:1, V/V)为展开剂,置于氨蒸气饱和的展开缸内,展开,取出,晾干,置紫外光灯(365 nm)下检视。结果显示,供试品色谱中,在与对照药材色谱相应位置上显相同颜色的斑点,且阴性对照无干扰,详见图2。

2.1.3 黄连^[3] 取样品1 g,加甲醇20 ml,超声处理10 min,滤过,取续滤液作为供试品溶液。另取盐酸小檗碱对照品,加甲醇制成质量浓度为0.5 mg/ml的对照品溶液。再取黄连对照药材0.5 g,加水100 ml,煎煮1 h,滤过,滤液浓缩至30 ml,按供试品溶液制备方法制成对照药材溶液。按黄蒲胃宁颗粒处方和制备工艺制备缺黄连的阴性样品,按供试品溶液制备方法制成阴性对照溶液。按TLC法[2015年版《中国药典》(一部)]^[9]试验,吸取上述4种溶液各10 μl,分别点于同一硅胶G薄层板上,以乙酸异戊酯-无水乙醇-甲酸(7:2:1, V/V/V)为展开剂,置于氨蒸气饱和的展开缸内,展开,取出,晾干,置紫外光灯(365 nm)下检视。结果显示,供试品色谱中,在与对照药材和对照品色谱相应位置上显相同颜色的斑点,且阴性对照无干扰,详见图3。

2.1.4 白及^[4] 取“2.1.2”项下供试品溶液作为供试品溶液。另取白及对照药材0.5 g,加水100 ml,煎煮1 h,滤过,滤液浓缩至30 ml,按供试品溶液制备方法制成对照药材溶液。按黄蒲

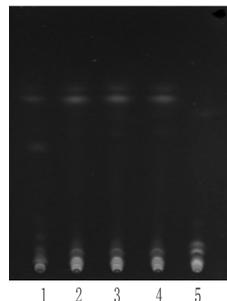


图2 蒲公英的薄层色谱图

1.对照药材;2~4.供试品;5.阴性对照

Fig 2 TLC chromatograms of *H. taraxaci*

1.medical material reference substance; 2-4.test samples; 5.negative control

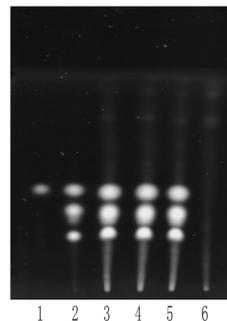


图3 黄连的薄层色谱图

1.对照品;2.对照药材;3~5.供试品;6.阴性对照

Fig 3 TLC chromatograms of *C. chinensis*

1.reference substance; 2.medical material reference substance; 3-5.test samples; 6.negative control

胃宁颗粒处方和制备工艺制备缺白及的阴性样品,按供试品溶液制备方法制成阴性对照溶液。按TLC法[2015年版《中国药典》(一部)]^[9]试验,吸取上述3种溶液各10 μl,分别点于同一硅胶G薄层板上,以石油醚(60~90℃)-甲酸甲酯-甲酸(15:5:1, V/V/V)的上层溶液为展开剂,置于氨蒸气饱和的展开缸内,展开,取出,晾干,置紫外光灯(365 nm)下检视。结果显示,供试品色谱中,在与对照药材色谱相应位置上显相同颜色的斑点,且阴性对照无干扰,详见图4。

2.1.5 柴胡^[5] 取“2.1.1”项下供试品溶液作为供试品溶液。另取柴胡对照药材2 g,加水100 ml,煎煮1 h,滤过,滤液浓缩至30 ml,按供试品溶液制备方法制成对照药材溶液。按黄蒲胃宁颗粒处方和制备工艺制备缺柴胡的阴性样品,按供试品溶液制备方法制成阴性对照溶液。按TLC法[2015年版《中国药典》(一部)附录VIB]^[9]试验,吸取上述3种溶液各10 μl,分别点于同一硅胶G薄层板上,以乙酸丁酯-乙醇-水(8:2:1, V/V/V)为展开剂,置于氨蒸气饱和的展开缸内,展开,取出,晾干,喷以含2%对二甲苯甲醛的40%硫酸溶液,于105℃加热至斑点显色清晰,日光下检视。结果显示,供试品色谱中,在与对照药材色谱相应位置上显相同颜色的斑点,且阴性对照无干扰,详见图5。

2.1.6 陈皮^[6] 取样品2 g,加甲醇10 ml,超声处理10 min,滤过,取续滤液作为供试品溶液。另取橙皮苷对照品适量,加甲醇制成饱和溶液,作为对照品溶液。再取陈皮对照药材1 g,加甲醇10 ml,超声处理30 min,滤过,取续滤液作为对照药材溶

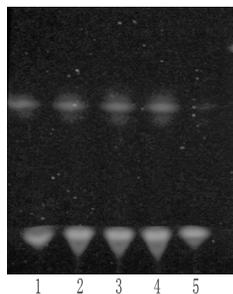


图4 白及的薄层色谱图

1.对照药材;2~4.供试品;5.阴性对照

Fig 4 TLC chromatograms of *B. striata*

1.medical material reference substance; 2-4.test samples; 5.negative control

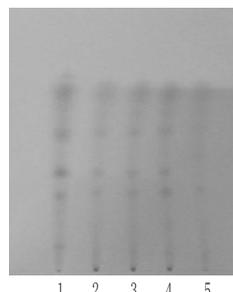


图5 柴胡的薄层色谱图

1.对照药材;2~4.供试品;5.阴性对照

Fig 5 TLC chromatograms of *B. chinense*

1.medical material reference substance; 2-4.test samples; 5.negative control

液。按黄蒲胃宁颗粒处方和制备工艺制备缺陈皮的阴性样品,按供试品溶液制备方法制成阴性对照溶液。按TLC法[2015年版《中国药典》(一部)附录VIB]^[9]试验,吸取上述4种溶液各10 μl,分别点于同一硅胶G薄层板上,以乙酸乙酯-甲醇-水(100:17:13, V/V/V)为展开剂,置于氨蒸气饱和的展开缸内,展至约18 cm,取出,晾干,喷以三氯化铝溶液,置紫外光灯(365 nm)下检视。结果显示,供试品色谱中,在与对照药材和对照品色谱相应位置上显相同颜色的斑点,且阴性对照无干扰,详见图6。

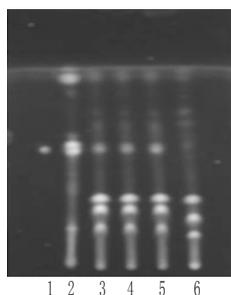


图6 陈皮的薄层色谱图

1.对照品;2.对照药材;3~5.供试品;6.阴性对照

Fig 6 TLC chromatograms of *P. citri*

1.medical material reference substance; 2-4.test samples; 5.negative control

2.1.7 炙甘草^[7] 取本品5 g,加水50 ml,超声处理30 min,以半径为13.5 cm,3 000/min离心10 min,取上清液,用乙酸乙酯振摇提取3次,每次50 ml,合并乙酸乙酯提取液,蒸干,残渣

加甲醇1 ml使溶解,作为供试品溶液。另取甘草对照药材1 g,加水100 ml,煎煮1 h,滤过,滤液浓缩至50 ml,按供试品溶液制备方法制成对照药材溶液。按黄蒲胃宁颗粒处方和制备工艺制备缺炙甘草的阴性样品,按供试品溶液制备方法制成阴性对照溶液。按TLC法[2015年版《中国药典》(一部)]试验^[9],吸取上述3种溶液各5 μl,分别点于同一硅胶G薄层板上,以乙酸乙酯-甲酸-冰乙酸-水(15:1:1:2, V/V/V)为展开剂,置于氨蒸气饱和的展开缸内,展开,取出,晾干,喷以10%硫酸乙醇溶液,于105 ℃加热至斑点显色清晰,日光下检视。结果显示,供试品色谱中,在与对照药材色谱相应位置上显相同颜色的斑点,且阴性对照无干扰,详见图7。

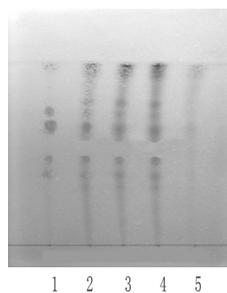


图7 炙甘草的薄层色谱图

1.对照药材;2~4.供试品;5.阴性对照

Fig 7 TLC chromatograms of *R. glycyrrhizae*

1.medical material reference substance; 2-4.test samples; 5.negative control

2.2 盐酸小檗碱含量测定

2.2.1 色谱条件 色谱柱:Dikma Diamonsil C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:乙腈-0.05 mol/L 磷酸二氢钾(50:50, V/V)(每100 ml中含0.4 g 十二烷基硫酸钠,磷酸调pH至4.0);流速:1.0 ml/min;检测波长:345 nm;柱温:30 ℃;进样量:10 μl。

2.2.2 对照品溶液的制备 取盐酸小檗碱对照品适量,精密称定,加80%甲醇制成每1 ml含812.0 μg的对照品贮备液。精密吸取上述对照品贮备液2.5 ml,置于50 ml量瓶中,加80%甲醇定容,摇匀,即得每1 ml含盐酸小檗碱40.6 μg的对照品溶液。

2.2.3 供试品溶液的制备 精密称取样品约1 g,置于25 ml量瓶中,加80%甲醇适量,超声处理30 min,放冷,用80%甲醇定容,摇匀,滤过,即得。

2.2.4 阴性对照溶液的制备 按黄蒲胃宁颗粒处方和制备工艺制备缺黄连的阴性样品,并按“2.2.3”项下方法制成阴性对照溶液。

2.2.5 系统适用性试验与专属性试验 分别取“2.2.2”“2.2.3”“2.2.4”项下对照品溶液、供试品溶液、阴性对照溶液各适量,按“2.2.1”项下色谱条件进样,记录色谱图,详见图8。由图8可知,盐酸小檗碱与相邻峰分离良好($R=2.85$),理论板数为9 014,对称因子为0.96,且阴性对照溶液无干扰。

2.2.6 线性关系考察 分别精密量取“2.2.2”项下对照品溶液0.5、1.0、2.0、3.0、5.0、10.0 ml,分别置于10 ml量瓶中,用80%甲醇定容;再精密吸取“2.2.2”项下对照品贮备液2.5 ml,置于25 ml量瓶中,用80%甲醇定容,制成系列对照品溶液。精密

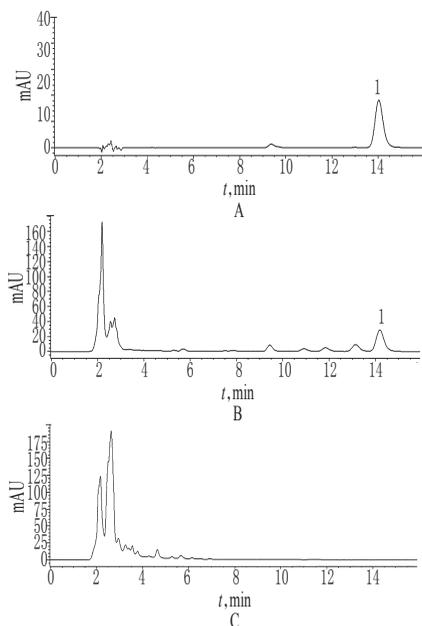


图8 高效液相色谱图

A.对照品;B.供试品;C.阴性对照;1.盐酸小檗碱

Fig 8 HPLC chromatograms

A.reference substance; B.test sample; C.negative control; 1.berberine hydrochloride

吸取上述系列对照品溶液各 10 μl,按“2.2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以盐酸小檗碱质量浓度($x, \mu\text{g/ml}$)为横坐标、峰面积(y)为纵坐标进行线性回归,得回归方程为 $y=37.43x-1.339$ ($r=0.9999$)。结果表明,盐酸小檗碱检测质量浓度线性范围为 2.03~81.2 μg/ml。

2.2.7 精密度试验 取“2.2.2”项下对照品溶液适量,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,盐酸小檗碱峰面积的 RSD=0.35% ($n=6$),表明仪器精密度良好。

2.2.8 稳定性试验 取“2.2.3”项下供试品溶液(批号:140922)适量,分别于放置 0、2、4、6、10、12 h 时进样测定,记录峰面积。结果,盐酸小檗碱峰面积的 RSD=0.82% ($n=6$),表明供试品溶液在 12 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:140922)适量,按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液,共 6 份,再按“2.2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果,盐酸小檗碱含量为 455.37 μg/g, RSD=0.52% ($n=6$),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:140922)适量,共 6 份,分别加一定量的盐酸小檗碱对照品,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,计算样品含量,并计算加样回收率,结果见表 1。

2.2.11 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,计算样品含量,结果见表 2。

3 讨论

黄蒲胃宁颗粒处方中黄芪为君药,蒲公英、黄连为臣药,白及、柴胡、陈皮、炙甘草为佐药。2010 年版《中国药典》关于黄芪药材的 TLC 鉴别前处理方法较为复杂,需经甲醇回流提取、中性氧化铝柱纯化及正丁醇萃取 3 个步骤,操作烦琐^[9]。经查阅文献及试验验证发现,样品水溶液经正丁醇萃取后氨洗、水洗可直接进行 TLC 鉴别,指标线成分黄芪甲苷的斑点更为清晰,同时采用毒性更小的二氯甲烷-甲醇-水展开系统^[1]。

复方中药含量测定方法的建立首选君臣药、贵重药、毒性

表 1 加样回收率试验结果($n=9$)

Tab 1 Results of recovery tests($n=9$)

取样量, g	样品含量, μg	加入量, μg	测得量, μg	加样回收率, %	平均加样回收率, %	RSD, %
0.5078	231.24	186.76	423.68	103.04		
0.5052	230.05	186.76	418.47	100.89		
0.5055	230.19	186.76	420.61	101.96		
0.5112	232.79	227.36	465.69	102.44		
0.5116	232.97	227.36	466.56	102.74	101.48	1.14
0.5108	232.60	227.36	459.21	99.67		
0.5041	229.55	276.08	509.70	101.47		
0.5046	229.78	276.08	508.23	100.86		
0.5045	229.73	276.08	506.49	100.25		

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	盐酸小檗碱, μg/g
141106	427.28
141120	425.49
140922	455.37

药,且不建议选取含量较低成分^[5]。黄芪药材指标性成分黄芪甲苷和毛蕊异黄酮葡萄糖苷的含量要求分别为不低于 0.04% 和 0.02%,且黄芪甲苷测定需使用蒸发光散射检测器,故舍弃了黄芪甲苷和毛蕊异黄酮葡萄糖苷作为含量测定控制性成分;蒲公英药材指标性成分咖啡酸含量太低($\geq 0.02\%$)亦不合作为控制性成分;而黄连药材中指标性成分盐酸小檗碱含量较高($\geq 5.5\%$),且盐酸小檗碱常作为《中国药典》收载相似品种的含量测定成分,故选择盐酸小檗碱作为本方含量测定的控制性成分。

《中国药典》收载的中药复方中关于盐酸小檗碱的含量测定方法有 TLC 法和 HPLC 法,由于 TLC 法重复性较差,干扰较大,故本试验选择了 HPLC 法。而 HPLC 法测定盐酸小檗碱含量的流动相组成主要有乙腈-0.05 mol/L 磷酸二氢钾溶液、乙腈-0.05 mol/L 磷酸二氢钾溶液(每 100 ml 中加十二烷基硫酸钠 0.4 g,再以磷酸调 pH 至 4.0)、乙腈-0.4% 磷酸、乙腈-0.05 mol/L 磷酸二氢钾溶液(用磷酸调 pH 至 3.0),研究发现加入离子对试剂十二烷基硫酸钠对改善峰形和提高分离度有较好效果,故选择了乙腈-0.05 mol/L 磷酸二氢钾溶液(每 100 ml 中加十二烷基硫酸钠 0.4 g,再以磷酸调 pH 至 4.0)作为流动相系统^[6]。

pH 的考察中^[7],取同一份供试品溶液,色谱柱、柱温、流动相比比例等其他条件不变,改变流动相 pH(pH 3.5、4.0、4.5),结果均能满足系统适用性试验要求。柱温的考察中,取同一份供试品溶液,色谱柱、流动相比比例、pH 等其他条件不变,改变柱温(25、30、35 °C),结果均能满足系统适用性试验要求。流动相比比例的考察中,取同一份供试品溶液,色谱柱、柱温、pH 等其他条件不变,改变流动相中乙腈-0.05 mol/L 磷酸二氢钾溶液比例(45:55、50:50、55:45),结果均能满足系统适用性试验要求。色谱柱的考察中,取同一份供试品溶液,柱温、流动相比比例、pH 等其他条件不变,使用不同色谱柱[Welch Ultimate XB-C₁₈(200 mm×4.6 mm, 5 μm)、依利特 Hypersil ODS2(200 mm×4.6 mm, 5 μm)、Dikma Diamonsil C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm)、Kromasil 100-5 C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm)],结果均能满足系统适用性试验要求。

综上所述,完善和提高的标准有利于黄蒲胃宁颗粒的质量控制。

参考文献

- [1] 中国人民解放军总后勤部卫生部.中国人民解放军军医疗机构制剂规范[S].北京:人民军医出版社,2002:298.

UPLC-MS/MS法同时测定沙参麦冬汤中9种成分的含量^Δ

吴茵^{1*},王蕊²,任炳楠¹,孙源¹,刘勇¹,张黎媛¹(1.河北省人民医院药学部,石家庄 050051;2.河北中
医学院中医诊断教研室,石家庄 050071)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)09-1240-05

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.09.28

摘要 目的:建立同时测定沙参麦冬汤中芦丁、甘草苷、补骨脂素、花椒毒素、佛手苷内酯、甘草酸铵、麦冬皂苷D、甲基麦冬二氢高异黄酮A、甲基麦冬二氢高异黄酮B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Phenomenex Kinetex C₁₈,流动相为乙腈-0.1%甲酸(梯度洗脱),流速为0.3 ml/min,柱温为25℃,进样器温度为10℃,平衡时间为2 min,进样量为5 μl。离子化模式为电喷雾电离,源喷射电压分别为5 500 V、-4 500 V,雾化气压力为4.14×10⁵ Pa,加热气压力为4.48×10⁵ Pa,帘气压力为1.72×10⁵ Pa,离子源温度为650℃,工作模式为多反应监测模式。结果:芦丁、甘草苷、补骨脂素、花椒毒素、佛手苷内酯、甘草酸铵、麦冬皂苷D、甲基麦冬二氢高异黄酮A和甲基麦冬二氢高异黄酮B的检测质量浓度线性范围分别为1.75~700、5.00~1 997、0.95~380、1.75~700、2.00~800、7.00~2 799、2.38~950、0.38~151、0.43~171 ng/ml(*r*为0.999 2、0.999 7、0.999 0、0.999 1、0.999 8、0.999 3、0.999 5、0.999 7、0.999 0);精密性、稳定性、重复性试验的RSD≤3.0%;加样回收率分别为98.76%~107.60%、92.57%~105.80%、92.30%~103.10%、93.20%~108.10%、94.62%~99.20%、95.08%~104.80%、95.71%~104.80%、94.54%~105.50%、94.50%~103.00%,RSD分别为1.7%、2.9%、2.1%、3.0%、1.2%、2.6%、1.9%、2.3%、1.6%(*n*=6)。结论:该方法快速、简便、准确可靠,适用于同时测定沙参麦冬汤中9种成分的含量。

关键词 超高效液相色谱-串联质谱法;沙参麦冬汤;定量;多反应监测模式

Simultaneous Determination of 9 Ingredients in Shasheng Maidong Decoction by UPLC-MS/MS

WU Yin¹, WANG Rui², REN Bingnan¹, SUN Yuan¹, LIU Yong¹, ZHANG Liyuan¹ (1.Dept. of Pharmacy, Hebei People's Hospital, Shijiazhuang 050051, China; 2.Dept. of TCM Diagnosis, Hebei University of Chinese Medicine, Shijiazhuang 050071, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for the contents determination of rutin, liquiritin, psoralen, xanthotoxin, bergapten, ammonium glycyrrhetate, ophiopogonin D, methylophiopogonanone A and methylophiopogonanone B in Shasheng maidong decoction. METHODS: UPLC-MS/MS was conducted. The column of UPLC was Phenomenex Kenetix C₁₈ with mobile phase of acetonitrile solution -0.1% formic acid (gradient elution) at a flow rate of 0.3 ml/min, the column temperature was 25℃, injector temperature was 10℃, equilibrium time was 2 min and the injection volume was 5 μl. Ionization mode was electrospray ionization with spray voltage of 5 500 V and -4 500 V, atomizing air pressure was 4.14×10⁵ Pa, heater pressure was 4.48×10⁵ Pa, curtain air was 1.72×10⁵ Pa, and the ion source temperature was 650℃, the work mode was multiple reaction monitoring mode. RESULTS: The linear range was 1.75-700 ng/ml (*r*=0.999 2) for rutin, 5.00-1 997 ng/ml (*r*=0.999 7) for liquiritin, 0.95-380 ng/ml (*r*=0.999 0) for psoralen, 1.75-700 ng/ml (*r*=0.999 1) for xanthotoxin, 2.00-800 ng/ml (*r*=0.999 8) for bergapten, 7.00-2 799 ng/ml (*r*=0.999 3) for ammonium glycyrrhetate, 2.38-950 ng/ml (*r*=0.999 5) for ophiopogonin D, 0.38-151 ng/ml (*r*=0.999 7) for methylophiopogonanone A, and 0.43-171 ng/ml (*r*=0.999 0) for methylophiopogonanone B; RSDs of precision, stability and reproducibility tests were no more than 3.0%; recoveries were 98.76%-107.60% (RSD=1.7%), 92.57%-105.80% (RSD=2.9%), 92.30%-103.10% (RSD=2.1%), 93.20%-108.10% (RSD=3.0%), 94.62%-99.20% (RSD=1.2%), 95.08%-104.80% (RSD=2.6%), 95.71%-104.80% (RSD=1.9%), 94.54%-105.50% (RSD=2.3%) and 94.50%-103.00% (RSD=1.6%), respectively (*n*=6). CONCLUSIONS: The method is rapid, simple, accurate and reliable, and suitable for 9 ingredients in Shasheng maidong decoction.

KEYWORDS UPLC-MS/MS; Shasheng maidong decoction; Quantification; Multiple reaction monitoring model

- [2] 陆超,吴磊,钱芳,等.胃癌安合剂的质量标准研究[J].中国药房,2015,26(3):396.
[3] 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,2015:103、302、303、352.
[4] 朱田密,胡晓雪,陈树和,等.痔科消炎止痛洗剂质量标准

的建立[J].中国药师杂志,2015,18(8):1391.

- [5] 胡娟,吴志生,黄美霞,等.中药复方制剂质量控制中含量测定指标的选择思路[J].福建中医学院学报,2008,18(3):71.
[6] 钱芳,周晓雯.HPLC法测定清肠化湿颗粒中盐酸小檗碱的含量[J].中医药导报,2015,21(6):51.
[7] 金丽,周建丽,张晓丹,等.复方呋喃西林滴鼻液质量标准提高研究[J].解放军药学学报,2015,31(1):61.

^Δ基金项目:河北省医学科学研究重点课题计划(No.ZL20140340);河北省中医药类科研计划课题(No.2014152)

*主管药师,博士。研究方向:中药质量控制及体内药动学。电话:0311-85988998。E-mail:wuyin82@163.com

(收稿日期:2015-08-05 修回日期:2015-10-19)

(编辑:张静)