

LC-MS/MS法同时测定葛根药材中14种异黄酮类成分的含量^Δ

吴文杰^{1,2*}, 刘良红³, 黄莺^{1#}(1. 湖南中医药大学药学院, 长沙 410208; 2. 香港浸会大学化学学院, 香港; 3. 湖南医药学院药学院, 湖南怀化 418000)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2018)10-1320-05
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2018.10.06

摘要 目的:建立同时测定葛根药材中14种异黄酮类成分含量的方法。方法:采用液相色谱串联质谱法同时测定14批葛根药材(野葛:PL-1~PL-7,粉葛:PT-1~PT-7)中14种异黄酮类成分的含量。色谱柱为Extend C₁₈,流动相为甲醇-水(梯度洗脱),流速为0.8 mL/min,柱温为22℃,进样量为5 μL;离子源为电喷雾离子源,检测方式为负离子检测,扫描方式为多级反应监测模式,喷射电压为-4 500 V,离子源温度为600℃,雾化气为60 psi,辅助气为60 psi,碰撞气为7 psi,气帘气为30 psi。采用SIMCA 13.0软件对上述14批药材进行聚类分析。结果:14种待测异黄酮类成分在10~1 000 ng/mL(葛根素为10~5 000 ng/mL)范围内具有良好的线性关系(r 均大于0.990),精密性、稳定性和重复性试验的RSD均小于5%,加样回收率范围为95%~105%,RSD范围为0.8%~4.5%($n=6$)。野葛与粉葛中异黄酮类总含量差异较大,不同产地的葛根药材异黄酮含量差异较大;14种异黄酮类成分中,葛根素含量最高。聚类分析结果显示,14批葛根药材可聚为4类,PL-2为I类,PL-3、PL-4为II类,PL-5、PL-6、PL-7为III类,其余为IV类。结论:该方法操作简单、重复性良好,可用于检测葛根药材中14种异黄酮类成分的含量,适用于该药材的整体质量控制。
关键词 葛根;粉葛;异黄酮类;液相色谱-串联质谱法;含量测定

Simultaneous Determination of 14 Kinds of Isoflavones in *Pueraria radix* by LC-MS/MS

WU Wenjie^{1,2}, LIU Lianghong³, HUANG Ying¹(1. School of Pharmacy, Hunan University of TCM, Changsha 410208, China; 2. School of Chemistry, Hong Kong Baptist University, Hong Kong, China; 3. School of Pharmacy, Hunan Pharmaceutical University, Hunan Huaihua 418000, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish the method for simultaneous determination of 14 kinds of isoflavones in *Pueraria radix*. METHODS: LC-MS/MS was adopted to detect 14 kinds of isoflavones in 14 batches of *P. radix* (*P. radix*: PL-1 to PL-7, *P. thomsonii*: PT-1 to PT-7). The determination was performed on Extend C₁₈ with mobile phase consisted of methanol-water (gradient elution) at the flow rate of 0.8 mL/min. The column temperature was set at 22℃. The sample size was 5 μL. Ion source was ESI source. The detection mode was negative ion detection. Scanning mode was MRM with jet voltage of -4 500 V; ion source temperature was set at 600℃, and atomization gas was 60 psi. The auxiliary gas was 60 psi, collision gas was 7 psi, air curtain gas was 30 psi. SIMCA 13.0 software was used for cluster analysis of above batches. RESULTS: The linear range of 14 kinds of isoflavones ranged 10-1 000 ng/mL (puerarin of 10-5 000 ng/mL, $r > 0.990$). RSDs of precision, stability and reproducibility tests were all lower than 5%. The recoveries were 95% -105% (RSD were 0.8% -4.5%, $n=6$). The total content of isoflavones were different significantly between *P. radix* and *P. thomsonii*. The contents of isoflavones in *P. radix* from different origins were different significantly. Among 14 kinds of isoflavones, the content of puerarin was the highest. Results of cluster analysis showed that 14 batches of *P. radix* could be clustered into 4 categories, including PL-2 as I category, PL-3 and PL-4 as II category, PL-5, PL-6 and PL-7 as III category, other as IV category. CONCLUSIONS: The method is simple and reproducible. It can be used for content determination of 14 kinds of isoflavones in *P. radix* and quality control.

KEYWORDS *Pueraria radix*; *Pueraria thomsonii*; Isoflavones; LC-MS/MS; Content determination

葛根和粉葛分别为豆科植物野葛 [*Pueraria lobata* (Willd.) Ohwi] 和甘葛藤 (*P. thomsonii* Benth.) 的干燥根, 在中医药史上二者均作为葛根 (*P. radix*) 药材使用, 具有解肌退热、透发麻疹、生津止渴、升阳止泻的作用^[1]。葛根和粉葛被收载于2015年版《中国药典》(一部)^[2]; 国

家卫生和计划生育委员会发布的国卫办食品函〔2014〕975号文件中, 在原有的85种药食同源产品名单(含葛根)的基础上新增了15种药食同源产品(含粉葛)^[3], 这说明二者需区别对待, 以保证葛根药材安全、合理使用。已有药理动物实验表明, 葛根药材中的有效成分具有改善心肌代谢及血管微循环、扩张冠状血管、缓解高血压、预防心律失常、改善脑血管循环、发挥雌激素样效果、保护肝肾、抗自由基、抗缺氧症状、抗肿瘤、调节机体免疫功能、解酒等作用^[4]。而异黄酮类成分是发挥药理活性的主要药效物质^[5], 因此可作为葛根药材质量分析

^Δ 基金项目:湖南省科技计划项目(No.2015JC3072); 湖南省高校科研第二批专项项目(No.湘财教指〔2014〕85号-14C0860)

* 博士研究生。研究方向:药物分析。E-mail: 15207497825@163.com

通信作者:教授, 硕士。研究方向:中药化学成分分析。E-mail: 1125218638@qq.com

的指标性成分。

目前,葛根药材质量分析的方法主要为高效液相色谱法(HPLC)^[6-7],但是考虑到葛根药材中含有多种化学成分,基质干扰较大,会影响检测的准确性;同时其含有的一些异黄酮类成分含量较低,以HPLC法测定会由于灵敏度不够而不易被检出。液相色谱-串联质谱法(LC-MS/MS)具有稳定性良好、不受杂质干扰、灵敏度高等优势^[8]。中药定量分析中常用的串联质谱是三重四级杆质谱(QqQ),其在多反应监测(MRM)模式下可得到准分子离子质量和二级碎片质荷比的信息,加之该方法操作方便,故常被用于中药有效成分检测和质量控制^[9-10]。但仍鲜见在MRM模式下测定葛根药材中异黄酮类成分的报道,也尚未见MRM模式结合主成分分析和聚类分析区分葛根药材的报道。

基于此,本试验采用LC-MS/MS法同时测定了葛根药材中14种异黄酮类成分的含量,用于药材的整体质量控制;同时,采用主成分分析和聚类分析法区分14批不同来源(产地或种类)的葛根药材,旨在为评价葛根药材质量提供依据。

1 材料

1.1 仪器

AB SCIEX 5500型质谱仪(美国Applied Biosystems公司);1260型HPLC仪,包括柱温箱、二元溶剂管理器、自动进样器(美国Agilent公司);AUW2200型十万分之一电子分析天平(日本Shimadzu公司);KQ3200型超声波清洗仪(昆山市超声仪器有限公司,功率:150 W,频率:40 kHz)。

1.2 试剂

葛根素对照品(批号:3681-99-0)、葛根素-6"-O-木糖苷对照品(批号:114240-18-5)、葛根素芹菜糖苷对照品(批号:103654-50-8)、4'-O-甲基葛根素对照品(批号:92117-94-7)、大豆苷元对照品(批号:486-66-8)、大豆苷对照品(批号:532-66-9)、芒柄花黄素对照品(批号:485-72-3)、刺芒柄花苷对照品(批号:486-62-4)、染料木苷对照品(批号:529-59-9)、染料木素对照品(批号:446-72-0)、黄豆黄苷对照品(批号:40246-10-4)、黄豆黄素对照品(批号:40957-83-3)、鸢尾苷对照品(批号:611-40-5)、鸢尾黄素对照品(批号:548-77-6)均购于上海源叶生物科技有限公司(纯度经HPLC法检测均不低于98%);甲醇为色谱纯,其余试剂均为分析纯,水为超纯水。

1.3 药材

葛根药材分别来自于我国不同地区,经昆明植物标本馆刘恩德博士鉴定为豆科葛属植物野葛[*P. lobata* (Willd.) Ohwi]或甘葛藤(粉葛)(*P. thomsonii* Benth.)的根。葛根药材来源见表1。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:Extend C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动

相:甲醇(A)-水(B),梯度洗脱(0~30 min, 20% A~70% A; 30~40 min, 70% A);流速:0.8 mL/min;柱温:22 ℃;进样量:5 μL。

表1 葛根药材来源

Tab 1 Sources of *P. radix*

编号	产地	药材种类
PL-1	云南西畴	野葛
PL-2	云南芒市	野葛
PL-3	陕西安康	野葛
PL-4	甘肃天水	野葛
PL-5	湖南张家界	野葛
PL-6	湖南长沙	野葛
PL-7	陕西汉中	野葛
PT-1	云南峨山	粉葛
PT-2	云南大关	粉葛
PT-3	广西桂林	粉葛
PT-4	云南玉溪澄江	粉葛
PT-5	云南昆明	粉葛
PT-6	云南腾冲	粉葛
PT-7	云南楚雄	粉葛

2.2 质谱条件

离子源:电喷雾离子源;检测方式:负离子检测;扫描模式:MRM;喷射电压:-4 500 V;离子源温度:600 ℃;雾化气:60 psi;辅助气:60 psi;碰撞气:7 psi;气帘气:30 psi。14种待测异黄酮类化学成分的液质法参数见表2。

表2 14种待测异黄酮类成分的液质法参数

Tab 2 LC-MS parameters of 14 kinds of isoflavones

待测成分	保留时间, min	母离子[M-H] ⁻ m/z	子离子 m/z	去簇电压, V	碰撞能量, eV	碰撞池出口电压, V
4-O-甲基葛根素	12.53	429.2	266.1	-40	-44	-10
葛根素	12.75	415.0	295.0	-47	-32	-8
葛根素-6"-O-木糖苷	12.78	547.2	295.1	-39	-38	-7
葛根素芹菜糖苷	13.62	547.2	295.1	-39	-38	-7
大豆苷	14.93	415.2	253.0	-33	-22	-8
黄豆黄苷	15.66	445.2	268.0	-41	-47	-12
染料木苷	18.32	431.2	268.0	-47	-39	-11
鸢尾苷	18.99	461.2	299.0	-47	-26	-8
刺芒柄花苷	23.73	429.1	267.1	-30	-19	-7
大豆苷元	26.35	253.1	224.0	-45	-38	-6
黄豆黄素	26.89	283.0	240.0	-47	-35	-11
鸢尾黄素	29.24	298.7	284.0	-40	-33	-8
染料木素	29.48	269.0	133.0	-45	-35	-6
芒柄花黄素	33.54	267.0	252.1	-50	-42	-12

2.3 溶液的制备

2.3.1 混合对照品溶液 分别取葛根素、葛根素-6"-O-木糖苷、葛根素芹菜糖苷、4'-O-甲基葛根素、大豆苷元、大豆苷、芒柄花黄素、刺芒柄花苷、染料木苷、染料木素、黄豆黄苷、黄豆黄素、鸢尾花苷、鸢尾黄素对照品适量,精密称定,加甲醇制成相应质量浓度的单一对照品贮备液。分别量取上述单一对照品贮备液适量,逐级稀释,得质量浓度分别为10、20、50、100、200、500、800、1 000、2 000、5 000 ng/mL的系列混合对照品溶液。

2.3.2 供试品溶液 取药材样品粉碎,过40目筛,于40 ℃干燥箱中烘干至质量恒定。烘干后取0.1 g,置于

50 mL具塞锥形瓶中,精密加入30%甲醇50 mL,称定质量,超声处理20 min,室温条件下放冷,用30%甲醇补足减失的质量,摇匀,经0.45 μm滤膜滤过后,取续滤液并稀释至一定质量浓度(在线性范围内),即得。

2.4 专属性试验

取“2.3”项下系列混合对照品溶液、供试品溶液各5 μL,分别按“2.1”“2.2”项下条件进样测定,各待测成分在样品中的提取离子流图见图1。由图1可知,各待测成分均未检测到干扰成分,表明方法专属性良好。

2.5 线性关系考察

吸取“2.3.1”项下各质量浓度的系列混合对照品溶液各5 μL,按“2.1”“2.2”项下条件进样测定,记录峰面积。以各待测成分质量浓度(x , ng/mL)为横坐标、峰面积(y)为纵坐标进行线性回归。回归方程与线性范围见表3(注:考虑到葛根素含量最高,故采用的质量浓度上限为5 000 ng/mL进行回归分析,其余13种成分则采用1 000 ng/mL进行回归分析)。

2.6 精密度试验

取“2.3.1”项下混合对照品溶液(100 ng/mL)5 μL,按“2.1”“2.2”项下条件连续进样测定6次,记录峰面积。结果,14种待测成分峰面积的RSD均小于3.47% ($n=6$),表明仪器精密度良好。

2.7 稳定性试验

称取药材样品(编号:PL-5)粉末0.1 g,按“2.3.2”项下方法制备供试品溶液,分别于室温下放置12、24、36、48、60、72 h时按“2.1”“2.2”项下条件进样测定,记录峰面积。结果,14种待测成分峰面积的RSD均小于5.00% ($n=6$),表明供试品溶液于室温下放置72 h内较稳定。

2.8 重复性试验

称取药材样品(编号:PL-5)粉末0.1 g,共6份,按“2.3.2”项下方法制备供试品溶液,按“2.1”“2.2”项下条件进样测定,记录峰面积。结果,14种待测成分含量的RSD均小于3.93% ($n=6$),表明本方法重复性良好。

2.9 加样回收率试验

称取药材样品(编号:PL-5)粉末0.1 g,共6份,分别精密加入一定量的混合对照品溶液,按“2.3.2”项下方法制备供试品溶液,按“2.1”“2.2”项下条件进样测定,记录峰面积并计算加样回收率。结果,14种待测成分的平均加样回收率为95%~105%,RSD为0.80%~4.50% ($n=6$)。

2.10 含量测定

分别取各批药材样品适量,按“2.3.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”“2.2”项下条件进样测定,计算样品含量,结果见表4。

2.11 主成分分析与聚类分析

采用SIMCA 13.0软件对14批不同来源的葛根药材进行主成分投影分析,把14个成分转化为第一主成分和第二主成分两个综合性指标,详见图2。由图2可知,两个主成分的贡献率分别为71.4%和15.9%。采用SIMCA

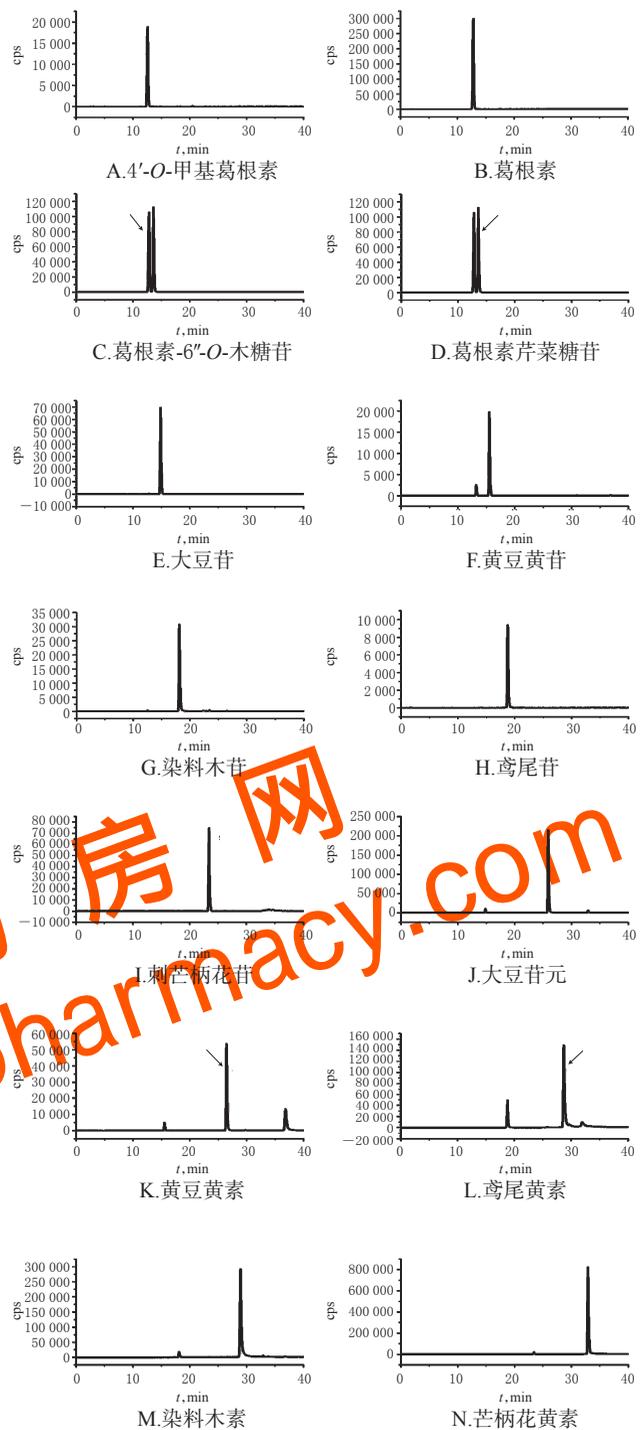


图1 各待测成分的提取离子流图

Fig 1 Extraction ion chromatograms of components to be measured

13.0软件对14批不同来源的葛根药材进行聚类分析,详见图3。由图3可知,14批葛根药材可聚为4类:PL-2为I类;PL-3、PL-4为II类;PL-5~PL-7为III类;PL-1、PT-1~PT-7为IV类。

3 讨论

3.1 色谱条件的选择

本试验分别考察了乙腈和甲醇作为流动相中的有机相,发现乙腈和甲醇作为有机相时具有相似的色谱分

表3 回归方程与线性范围

Tab 3 Regression equations and linear ranges

待测成分	回归方程	r	线性范围,ng/mL
4'-O-甲基葛根素	y=5 670x+13 100	0.997 9	10~1 000
葛根素	y=74 500x+57 000	0.997 8	10~5 000
葛根素-6"-O-木糖苷	y=32 600x+8 970	0.992 3	10~1 000
葛根素芹菜糖苷	y=30 700x+13 300	0.990 4	10~1 000
大豆苷	y=18 500x+19 200	0.998 6	10~1 000
黄豆苷	y=48 000x+20 100	0.992 7	10~1 000
染料木苷	y=11 100x-16 600	0.998 8	10~1 000
鸢尾苷	y=3 770x-14 100	0.998 7	10~1 000
刺芒柄花苷	y=19 200x+74 800	0.992 6	10~1 000
大豆苷元	y=52 400x+348 000	0.991 2	10~1 000
黄豆黄素	y=112 000x+1 640 000	0.990 3	10~1 000
鸢尾黄素	y=47 400x+334 000	0.992 2	10~1 000
染料木素	y=98 100x+576 000	0.992 4	10~1 000
芒柄花黄素	y=123 000x+3 860 000	0.993 7	10~1 000

表4 药材样品含量测定结果(mg/g)

Tab 4 Results of content determination of samples(mg/g)

编号	4'-O-甲基葛根素	葛根素	葛根素-6"-O-木糖苷	葛根素芹菜糖苷	大豆苷	黄豆苷	染料木苷	鸢尾苷	刺芒柄花苷	大豆苷元	黄豆黄素	鸢尾黄素	染料木素	芒柄花黄素	合计
PL-1	未检出	26.683	0.241	5.045	3.522	0.124	1.439	0.008	0.100	0.171	0.004	未检出	未检出	未检出	37.337
PL-2	0.008	43.735	0.712	8.835	16.155	1.482	3.251	0.091	0.144	0.129	0.015	未检出	0.011	未检出	74.568
PL-3	未检出	38.156	2.663	10.632	12.646	1.213	3.685	0.045	0.560	0.486	0.030	0.018	未检出	0.017	70.151
PL-4	0.003	40.998	2.706	10.517	13.705	1.572	3.969	0.049	0.584	0.733	0.036	0.006	0.006	0.027	74.911
PL-5	0.004	26.658	1.201	9.503	11.917	1.251	1.840	0.014	0.543	0.379	0.016	0.001	0.001	0.011	53.339
PL-6	未检出	25.447	1.070	8.801	12.910	1.046	1.874	0.013	0.600	0.419	0.016	0.001	0.004	0.012	52.295
PL-7	未检出	28.447	2.226	10.125	10.990	1.148	2.650	0.034	0.470	0.054	0.008	未检出	未检出	未检出	50.152
PT-1	未检出	9.816	0.328	3.962	1.662	0.033	0.939	0.004	0.005	0.015	未检出	未检出	未检出	未检出	16.764
PT-2	未检出	12.079	0.114	2.061	3.814	0.020	0.914	0.006	0.023	0.005	未检出	未检出	未检出	未检出	19.036
PT-3	未检出	5.921	0.049	1.958	1.410	0.002	0.220	0.003	0.059	0.001	未检出	未检出	未检出	未检出	9.623
PT-4	未检出	2.874	0.138	1.197	0.953	0.023	0.375	0.002	0.042	未检出	未检出	未检出	未检出	未检出	5.904
PT-5	未检出	3.674	0.001	0.442	0.808	0.001	0.187	0.003	0.033	0.262	未检出	未检出	未检出	未检出	5.411
PT-6	未检出	4.874	0.001	0.596	1.238	0.015	0.246	0.002	0.008	未检出	未检出	未检出	未检出	未检出	6.980
PT-7	未检出	3.042	0.019	0.740	1.006	0.020	0.263	0.001	0.023	0.013	未检出	未检出	未检出	未检出	5.127

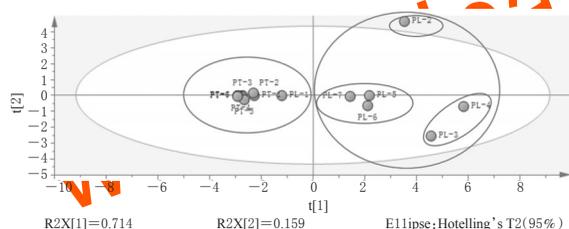


图2 主成分投影图

Fig 2 Principal component projection drawing

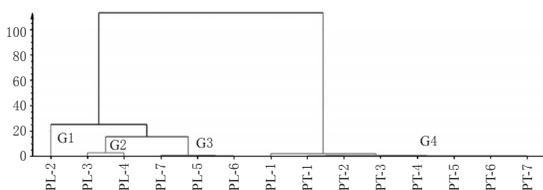


图3 聚类分析树状图

Fig 3 Hierarchical cluster analysis diagram

3.3 异黄酮总含量分析

由表4可知,葛根药材中14种待测异黄酮类成分的总含量范围为37.337~74.911 mg/g(PL-1~PL-7)、5.127~19.036 mg/g(PT-1~PT-7),表明野葛和粉葛中异黄酮类成分总含量存在明显差异。在14批药材中,产地为云南

离效果及质谱响应强度,但是因乙腈比甲醇昂贵且毒性更大,故选择甲醇作为流动相中的有机相。笔者又以甲醇-水进行梯度洗脱,比较了不同比例甲酸(0.1%、0.5%、1%)和乙酸(0.1%、0.2%、0.5%)对分离效果的影响,结果发现上述酸溶液对各待测异黄酮类成分的峰形、响应强度和分离效果并无明显影响。为使操作方法简便易行,故选择甲醇-水作为流动相。

3.2 质谱条件的优化

由于异黄酮类成分中含有1个或多个酚羟基结构,该结构容易失去氢,因此选用负离子模式进行监测,分子离子峰(监测母离子)均为[M-H]。笔者又通过改变碰撞能量选择具有较高响应的碎片离子作为监测子离子,并使母离子和监测子离子的响应比接近1:3,以使MRM模式效果较好。

芒市(PL-2)和甘肃天水(PL-4)的野葛比其他产地野葛的异黄酮类总含量明显更高,产地为云南峨山(PT-1)和云南大关(PT-2)的粉葛比其他产地粉葛的异黄酮类总含量明显更高,这说明不同产地的葛根药材质量可能存在明显差异。同时,葛根素在14种异黄酮类成分中含量最高,在云南芒市(PL-2)和甘肃天水(PL-4)产野葛中其含量分别为43.735、40.998 mg/g,比其他产地野葛中的葛根素含量明显更高;在云南峨山(PT-1)和云南大关(PT-2)产粉葛中其含量分别为9.816、12.079 mg/g,比其他产地粉葛中的葛根素含量明显更高,提示葛根素可以作为反映葛根药材质量的重要指标。

综上所述,本研究所建立的LC-MS/MS法操作简单、重复性良好,可用于检测葛根药材中14种异黄酮类成分的含量,适用于该药材的整体质量控制。

参考文献

[1] 李天星,李新民. 中药葛根的研究进展[J]. 湖南中医杂志,2013,29(8): 151-153.
 [2] 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,2015:289、333.
 [3] 国家卫生计生委办公厅. 国家卫生计生委办公厅关于征

HPLC 切换波长法同时测定健脾止泻宁颗粒中盐酸小檗碱和黄芩苷的含量^Δ

黄传俊^{1,2*}, 杨莉³, 梅勇^{3#}, 罗磊³, 吕珊珊³, 曾博程³, 龙涛³, 王凤³, 左娟³, 袁开超³, 唐攀³, 朱锋³, 陈波³, 谯志文³(1.湖北省中医院药事部, 武汉 430061; 2.湖北省中医药研究院, 武汉 430074; 3.重庆思科药物研究所有限公司, 重庆 401520)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2018)10-1324-04

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2018.10.07

摘要 目的:建立同时测定健脾止泻宁颗粒中盐酸小檗碱和黄芩苷含量的方法。方法:采用高效液相色谱切换波长法。色谱柱为 Hypersil BDS C₁₈, 流动相为甲醇-0.45%磷酸溶液-三乙胺(50:49:1, V/V/V), 流速为 1.0 mL/min, 检测波长为 265 nm(盐酸小檗碱)、280 nm(黄芩苷), 柱温为 30 ℃, 进样量为 10 μL。结果:盐酸小檗碱和黄芩苷检测进样量线性范围分别为 60.3~312.8 ng($r=0.9997$)、81.5~368.9 ng($r=0.9999$); 定量限分别为 0.666 8、0.774 0 ng, 检测限分别为 0.222 6、0.258 0 ng; 中间精密密度、稳定性、重复性试验的 RSD 均小于 1.0%; 加样回收率分别为 96.48%~99.30% (RSD=1.06%, $n=6$)、95.20%~99.39% (RSD=1.66%, $n=6$); 耐用性试验的 RSD 均小于 2.0%。结论:该方法操作简便, 精密密度、稳定性、重复性、准确度、耐用性均较好, 可用于健脾止泻宁颗粒中盐酸小檗碱和黄芩苷含量的同时测定。

关键词 健脾止泻宁颗粒; 高效液相色谱切换波长法; 盐酸小檗碱; 黄芩苷; 含量测定

Simultaneous Determination of Berberine Hydrochloride and Baicalin in Jianpi Zhixiening Granules by HPLC-switching Wavelength Method

HUANG Chuanjun^{1,2}, YANG Li³, MEI Yong³, LUO Lei³, LYU Shanshan³, ZENG Bocheng³, LONG Tao³, WANG Feng³, ZUO Juan³, YUAN Kaichao³, TANG Pan³, ZHU Feng³, CHEN Bo³, QIAO Zhiwen³(1. Dept. of Pharmaceutical Affair, Hubei Provincial Hospital of TCM, Wuhan 430061, China; 2. Hubei Institute of TCM, Wuhan 430074, China; 3. Chongqing CISCO Pharmaceutical Research Institute Co., Ltd., Chongqing 401520, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish the method for simultaneous determination of berberine hydrochloride and baicalin in Jianpi zhixiening granules. METHODS: HPLC switching wavelength method was adopted. The determination was performed on Hypersil BDS C₁₈ column with mobile phase consisted of methanol-0.45% phosphoric acid solution-triethylamine (50:49:1, V/V/V) at the flow rate of 1.0 mL/min. The detection wavelength was set at 265 nm (berberine hydrochloride) and 280 nm (baicalin). The column temperature was set at 30 ℃, and sample size was 10 μL. RESULTS: The linear range of berberine hydrochloride and baicalin were 60.3-312.8 ng ($r=0.9997$) and 81.5-368.9 ng ($r=0.9999$). The limits of quantitation were 0.666 8, 0.774 0 ng, and

- 求《按照传统既是食品又是中药材物质目录管理办法》(征求意见稿)意见的函(国卫办食品函[2014]975号)[EB/OL]. (2014-10-28)[2016-02-02]. <http://www.cnfood.com/news/33/160479.html>.
- [4] 楚纪明, 马树运, 李海峰. 葛根有效成分及其药理作用研究进展[J]. 食品与药品, 2015, 17(2): 142-146.
- [5] DU G, ZHAO H, SONG Y, et al. Rapid simultaneous determination of isoflavones in radix puerariae using high-performance liquid chromatography-triple quadrupole mass spectrometry with novel shell-type column[J]. *J Sep Sci*, 2011, 34(19): 2576-2585.
- [6] 尤春雪, 张振秋, 李峰, 等. HPLC 波长切换技术对葛根中 8 种成分的测定及指纹图谱研究[J]. 中草药, 2013, 44(5): 616-621.
- [7] 吴文杰, 邓阳, 谭桂林, 等. 一测多评法测定葛根药材中 5 种异黄酮类成分[J]. 中草药, 2017, 48(4): 777-781.
- [8] LI M, HOU XF, ZHANG J, et al. Applications of HPLC/MS in the analysis of traditional Chinese medicines[J]. *J Pharm Anal*, 2011, 1(2): 81-91.
- [9] ZHAO J, GE LY, XIONG W, et al. Advanced development in phytochemicals analysis of medicine and food dual purposes plants used in China: 2011-2014[J]. *J Chromatogr A*, 2016. DOI: 10.1016/j.chroma.2015.09.006.
- [10] 吴文杰, 周伟娥, 张元, 等. LC-MS/MS 技术在中药化学成分分析中的应用[J]. 时珍国医国药, 2016, 27(11): 2735-2737.

Δ 基金项目:重庆市社会民生科技创新专项项目(No.cstc2016shmszx130065)

* 副主任药师, 硕士。研究方向:药物分析。电话:027-87748135。E-mail:574884273@qq.com

通信作者:高级工程师。研究方向:药物分析、药理学。电话:023-81660346。E-mail:631760046@qq.com

(收稿日期:2017-10-23 修回日期:2018-03-28)
(编辑:陈宏)