

[质 量]

HPLC 法同时测定复方党参片中 9 种成分

孟秀杰¹, 刘媛媛¹, 胡久丽²
(1. 唐山职业技术学院, 河北 唐山 063000; 2. 承德医学院附属医院药剂科, 河北 承德 067000)

摘要: **目的** 建立 HPLC 法同时测定复方党参片(党参、丹参、北沙参等)中党参炔苷、丹参素、丹酚酸 B、丹参酮Ⅱ_A、补骨脂素、花椒毒素、佛手甘内酯、欧前胡素、藁本内酯的含有量。**方法** 该药物 75% 甲醇提取液的分析采用 Hypersil C₁₈ 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相乙腈-0.1% 甲酸, 梯度洗脱; 检测波长 269、280、310、323 nm; 体积流量 0.9 mL/min; 柱温 30 ℃。**结果** 9 种成分在各自范围内线性关系良好($r \geq 0.999\ 1$), 平均加样回收率 96.97%~100.23%, RSD 0.78%~1.59%。**结论** 该方法简便准确, 重复性好, 可用于复方党参片的质量控制。**关键词:** 复方党参片; 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)07-1502-04
doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2019.07.005

Simultaneous determination of nine constituents in Compound Dangshen Tablets by HPLC

MENG Xiu-jie¹, LIU Yuan-yuan¹, HU Jiu-li²
(1. Tangshan Vocational and Technical College, Tangshan 063000, China; 2. Department of Pharmacy, the Hospital Affiliated to Chengde Medical University, Chengde 067000, China)

ABSTRACT: **AIM** To establish an HPLC method for the simultaneous content determination of lobetyolin, danshensu, salvianolic acid B, tanshinone II_A, psoralen, 8-methoxypsoralen, bergapten, imperatorin and ligustilide in Compound Dangshen Tablets (*Codonopsis Radix*, *Salviae miltiorrhizae Radix et Rhizoma*, *Glehniae Radix*, etc.). **METHODS** The analysis of 75% methanol extract of this drug was performed on a 30 ℃ thermostatic Hypersil C₁₈ column (250 mm×4.6 mm, 5 μm), with the mobile phase comprising of acetonitrile-0.1% formic acid flowing at 0.9 mL/min in a gradient elution manner, and the detection wavelengths were set at 269, 280, 310, 323 nm. **RESULTS** Nine constituents showed good linear relationships within their own ranges ($r \geq 0.999\ 1$), whose average recoveries were 96.97%–100.23% with the RSDs of 0.78%–1.59%. **CONCLUSION** This simple, accurate and reproducible method can be used for the quality control of Compound Dangshen Tablets. **KEY WORDS:** Compound Dangshen Tablets; chemical constituents; HPLC

随着人民生活水平提高和社会节奏加快,心脑血管疾病已成为危害人类的第一杀手,其中心绞痛是由冠状动脉供血不足、心肌急剧暂时缺血缺氧所引起的,以发作性胸痛或胸部不适为主要表现的临床综合征。复方党参片源于国家食品药品监督管理局标准[编号 WS-11271 (ZD-1271)-2002-2012Z]^[1],是由党参、丹参、北沙参、当归、金果榄加工而成的中成药复方制剂,具有活血化瘀、益气宁心功效,主要用于心肌缺血所致心绞痛、胸

闷等病症的治疗,严善福等^[2]发现它对冠心病心绞痛的临床疗效显著,在改善气虚血瘀情况方面优于复方丹参片,但现行质量标准^[1]及前期报道^[3-5]仅对该制剂中丹参所含的丹酚酸 B、丹参酮Ⅱ_A进行定量研究。
中成药复方制剂成分复杂,其疗效往往是多种成分共同作用的结果,单一组分难以全面评价其内在质量,而多组分评价模式已成为发展趋势。因此,本实验建立 HPLC 法同时测定复方党参片中君

药党参特征成分党参炔苷，臣药丹参代表性成分丹参素、丹酚酸 B、丹参酮Ⅱ_A，臣药当归和佐药北沙参主要成分补骨脂素、花椒毒素、佛手苷内酯、欧前胡素、藁本内酯的含有量，为该制剂质量标准提高和完善提供数据支持。

1 材料

Agilent 1100 型高效液相色谱仪（美国 Agilent 公司）；AE240 型分析天平（十万分之一，瑞士 Mettler-Toledo 公司）；KQ-400DB 型数控超声波清洗器（昆山市超声仪器有限公司）。复方党参片 3 批（片芯 0.32 g，批号 170501、171101、180401）购于桂林红会药业有限公司。补骨脂素（110739-201617，含有量 99.7%）、丹酚酸 B（111562-201716，含有量 94.1%）、欧前胡素（110826-201616，含有量 99.6%）对照品均购于中国食品药品检定研究院；党参炔苷（136085-37-5，含有量 95.0%）、丹参素（22681-72-7，含有量 98.0%）、丹参酮Ⅱ_A（568-72-9，含有量 98.0%）、花椒毒素（298-81-7，含有量 98.0%）、佛手苷内酯（484-20-8，含有量 98.0%）、藁本内酯（81944-09-4，含有量 98.0%）对照品均购于上海纯优生物科技有限公司。乙腈为色谱纯；其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 Hypersil C₁₈ 色谱柱(250 mm×4.6 mm，5 μm)；流动相乙腈-0.1% 甲酸，梯度洗脱（0~14.5 min，24.0% A；14.5~19.0 min，24.0%→30.0% A；19.0~32.5 min，30.0%→48.0% A；32.5~52.0 min，48.0%→72.0% A；52.0~60.0 min，72.0%→24.0% A）；0~19.0 min 时在 269 nm 波长下检测党参炔苷^[6-7]，19.0~32.5 min 时在 280 nm 波长下检测丹参素、丹酚酸 B、丹参酮Ⅱ_A^[8-9]，32.5~46.5 min 时在 310 nm 波长下检测补骨脂素、花椒毒素、佛手苷内酯、欧前胡素^[10]，46.5~60.0 min 时在 323 nm 波长下检测藁本内酯^[11]；体积流量 0.9 mL/min；柱温 30℃；进样量 10 μL。

2.2 对照品溶液 精密称取各对照品适量，75% 甲醇分别制成含党参炔苷 4.992 mg/mL、丹参素 0.936 mg/mL、丹酚酸 B 9.894 mg/mL、丹参酮Ⅱ_A 1.482 mg/mL、补骨脂素 0.518 mg/mL、花椒毒素 1.104 mg/mL、佛手苷内酯 0.392 mg/mL、欧前胡素 0.276 mg/mL、藁本内酯 6.212 mg/mL 的贮备液，各精密吸取 2.5 mL 置于 50 mL 量瓶中，75% 甲醇定容，即得（质量浓度分别为 0.249 6、

0.046 8、0.494 7、0.074 1、0.025 9、0.055 2、0.019 6、0.013 8、0.310 6 mg/mL）。

2.3 供试品溶液 取片剂适量，除去糖衣后研成细粉，混匀，精密称取约 2.0 g，置于 25 mL 具塞锥形瓶中，精密加入 75% 甲醇 20 mL，超声（400 W、40 kHz）提取 30 min，放冷，75% 甲醇定容至刻度，摇匀，滤过，即得。

2.4 阴性样品溶液 按照片剂质量标准项下的处方和制法，分别制备缺党参、丹参、北沙参、当归的阴性样品，按“2.3”项下方法制备，即得。

2.5 系统适应性试验 精密吸取对照品、供试品、阴性样品溶液适量，在“2.1”项色谱条件下进样测定，结果见图 1。由图可知，各成分色谱峰峰形对称，与相邻峰分离度均大于 1.5，理论塔板数按各成分计均大于 3 500。

2.6 方法学考察

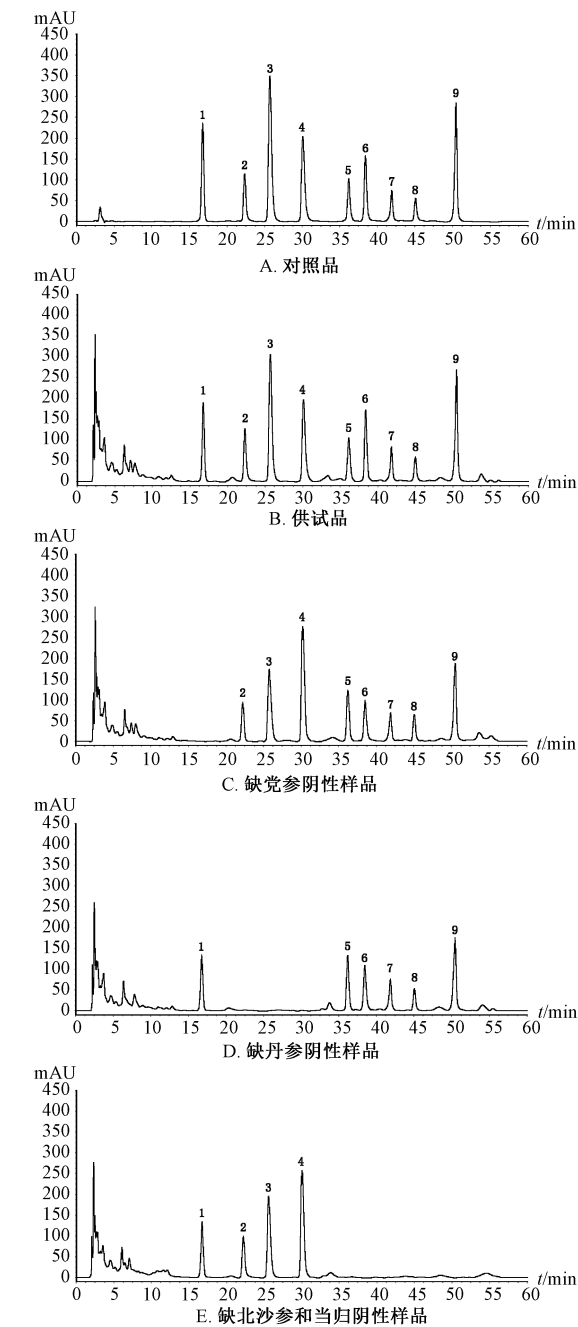
2.6.1 线性关系考察 精密吸取“2.2”项下贮备液适量，75% 甲醇稀释 20 倍，在“2.1”项色谱条件下进样测定。以溶液质量浓度为横坐标（X），峰面积为纵坐标（Y）进行回归，结果见表 1，可知各成分在各自范围内线性关系良好。

表 1 各成分线性关系

Tab. 1 Linear relationships of various constituents				
成分	回归方程	r	线性范围/ (μg·mL ⁻¹)	
党参炔苷	Y=2.971 4×10 ⁵ X+258.3	0.999 7	24.96~499.2	
丹参素	Y=6.054 3×10 ⁵ X+493.6	0.999 1	4.680~93.60	
丹酚酸 B	Y=3.120 1×10 ⁵ X-159.0	0.999 5	49.47~989.4	
丹参酮Ⅱ _A	Y=9.319 5×10 ⁵ X+400.8	0.999 6	7.410~148.2	
补骨脂素	Y=8.984 7×10 ⁵ X-325.3	0.999 3	2.590~51.80	
花椒毒素	Y=7.959 6×10 ⁵ X+247.7	0.999 1	5.520~110.4	
佛手苷内酯	Y=9.271 9×10 ⁵ X+268.4	0.999 9	1.960~39.20	
欧前胡素	Y=7.167 2×10 ⁵ X-440.4	0.999 7	1.380~27.60	
藁本内酯	Y=2.956 4×10 ⁵ X+391.5	0.999 4	31.06~621.2	

2.6.2 精密度试验 精密吸取“2.2”项下对照品溶液，在“2.1”项色谱条件下进样测定 6 次，测得党参炔苷、丹参素、丹酚酸 B、丹参酮Ⅱ_A、补骨脂素、花椒毒素、佛手苷内酯、欧前胡素、藁本内酯峰面积 RSD 分别为 0.71%、1.10%、0.56%、0.72%、1.04%、0.95%、1.12%、1.25%、0.62%，表明仪器精密度良好。

2.6.3 重复性试验 取同一批片剂 6 份，按“2.3”项下方法制备供试品溶液，在“2.1”项色谱条件下进样测定，测得党参炔苷、丹参素、丹酚酸 B、丹参酮Ⅱ_A、补骨脂素、花椒毒素、佛手苷内酯、欧前胡素、藁本内酯含有量 RSD 分别为



1. 党参炔苷 2. 丹参素 3. 丹酚酸 B 4. 丹参酮Ⅱ_A 5. 补骨脂素 6. 花椒毒素 7. 佛手苷内酯 8. 欧前胡素 9. 藁本内酯

1. lobetyolin 2. danshensu 3. salvianolic acid B 4. tanshinoneⅡ_A 5. psoralen 6. 8-methoxypsoralen 7. bergapten 8. imperatorin 9. ligustilide

图 1 各成分 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of various constituents

1. 63%、1. 70%、0. 47%、1. 69%、0. 54%、1. 71%、1. 80%、0. 85%、1. 55%，表明该方法重复性良好。

2. 6. 4 稳定性试验 取同一份供试品溶液，于 0、2、4、8、12、24 h 在“2. 1”项色谱条件下进样

1504

测定，测得党参炔苷、丹参素、丹酚酸 B、丹参酮Ⅱ_A、补骨脂素、花椒毒素、佛手苷内酯、欧前胡素、藁本内酯峰面积 RSD 分别为 0. 65%、1. 09%、0. 60%、0. 76%、1. 07%、1. 01%、1. 15%、1. 20%、0. 66%，表明溶液在 24 h 内稳定性良好。

2. 6. 5 加样回收率试验 取含有量已知的片剂 6 份，除去糖衣后研成细粉，混匀，精密称取约 1. 0 g，置于 25 mL 具塞锥形瓶中，精密加入 0. 931 mg/mL 党参炔苷对照品溶液 4. 0 mL、0. 541 mg/mL 丹参素对照品溶液 1. 0 mL、1. 431 mg/mL 丹酚酸 B 对照品溶液 5. 0 mL、0. 962 mg/mL 丹参酮Ⅱ_A 对照品溶液 1. 0 mL、0. 329 mg/mL 补骨脂素对照品溶液 1. 0 mL、0. 648 mg/mL 花椒毒素对照品溶液 1. 0 mL、0. 216 mg/mL 佛手苷内酯对照品溶液 1. 0 mL、0. 155 mg/mL 欧前胡素对照品溶液 1. 0 mL、0. 877 mg/mL 藁本内酯对照品溶液 5. 0 mL，按“2. 3”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，党参炔苷、丹参素、丹酚酸 B、丹参酮Ⅱ_A、补骨脂素、花椒毒素、佛手苷内酯、欧前胡素、藁本内酯平均加样回收率（RSD）分别为 98. 33%（1. 12%）、97. 70%（0. 95%）、100. 23%（0. 78%）、99. 45%（1. 40%）、98. 49%（1. 32%）、98. 79%（0. 84%）、97. 86%（1. 26%）、96. 97%（1. 59%）、99. 12%（0. 87%）。

2. 7 样品含有量测定 取 3 批片剂，按“2. 3”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 2。

表 2 各成分含有量测定结果（mg/片，n=3）

Tab. 2 Results of content determination of various constituents（mg/tablet，n=3）

成分	批号		
	170501	171101	180401
党参炔苷	1. 188	1. 072	1. 363
丹参素	0. 172	0. 180	0. 146
丹酚酸 B	2. 292	2. 401	2. 061
丹参酮Ⅱ _A	0. 306	0. 320	0. 277
补骨脂素	0. 105	0. 090	0. 120
花椒毒素	0. 209	0. 188	0. 228
佛手苷内酯	0. 069	0. 060	0. 079
欧前胡素	0. 049	0. 044	0. 054
藁本内酯	1. 405	1. 474	1. 242

3 讨论

3. 1 供试品溶液制备方法选择 本实验以待测成分提取率为评价指标，考察了提取溶剂（甲

醇^[6,11]、75% 甲醇^[8,12]、50% 甲醇、乙醇)、提取方式(超声提取、回流提取)、提取时间(15、30、60 min)对供试品溶液的影响,最终确定其制备方法为75% 甲醇超声提取30 min。

3.2 色谱条件选择 本实验以待测成分峰形、分离度、色谱峰基线平稳状况为评价指标,考察了流动相(乙腈-水^[6,10]、乙腈-0.1% 甲酸^[7,9]、乙腈-0.1% 磷酸^[4,12])对测定结果的影响,最终确定乙腈-0.1% 甲酸作为流动相进行梯度洗脱,此时待测成分与其他杂质的分离度符合《中国药典》要求,而且色谱峰基线平稳,峰形对称。

4 结论

本实验采用 HPLC 法同时测定了复方党参片中党参炔苷、丹参素、丹酚酸 B、丹参酮Ⅱ_A、补骨脂素、花椒毒素、佛手苷内酯、欧前胡素、藁本内酯的含有量,该方法准确度高,重复性好,可用于该制剂质量标准的提高和完善。

参考文献:

[1] WS-11271 (ZD-1271) -2002-2012Z, 国家食品药品监督管理局标准[S].
[2] 严善福, 吴 敏. 复方党参片对胸痹的临床疗效[J]. 职业卫生与应急救援, 2004, 22(2): 110-111.

[3] 程显隆, 马双成, 肖新月, 等. 复方党参片的质量标准研究[J]. 药物分析杂志, 2007, 27(1): 56-59.
[4] 刘茹丽. 高效液相色谱法测定复方党参片中丹酚酸 B 含量[J]. 中国药业, 2016, 25(8): 67-68.
[5] 蒋珍藕, 陈荣光, 孙宁梧. 复方党参片的质量标准研究[J]. 中药新药与临床药理, 2004, 15(3): 184-186.
[6] 刘书斌, 张樱山, 李 硕, 等. 甘肃不同产地党参中表征成分党参炔苷的含量分析[J]. 甘肃中医学院学报, 2014, 31(5): 15-19.
[7] 李 颖, 张 宽, 叶 华, 等. 高效液相色谱法测定两种不同来源党参中党参炔苷的含量[J]. 海峡药学, 2014, 26(6): 47-49.
[8] 程 沛, 韩东岐, 胡伟慧, 等. 高效液相色谱法同时测定丹参中 10 种水溶性和 4 种脂溶性成分的含量[J]. 药物分析杂志, 2015, 35(6): 991-996.
[9] 翟学佳, 徐锦凤. 高效液相色谱法同时测定丹参药材水溶性和脂溶性成分的含量[J]. 医药导报, 2009, 28(10): 1345-1348.
[10] 李德强, 肖媛媛, 戴荣源, 等. 加压溶剂提取-HPLC 法测定北沙参中 6 种香豆素类化合物[J]. 中国临床药理学杂志, 2015, 31(24): 2433-2436.
[11] 王 婕, 赵建邦, 宋平顺. 30 批当归中阿魏酸、藁本内酯含量测定[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(16): 70-73.
[12] 牛 韬. HPLC 法测定硫磺熏蒸与未熏蒸北沙参中 5 种香豆素类成分的含量[J]. 中国药房, 2015, 26(27): 3836-3838.

一测多评法同时测定苏黄止咳胶囊中 7 种成分

王加良, 张艳丽, 范景辉, 李海燕*
(牡丹江医学院附属红旗医院, 黑龙江 牡丹江 157011)

摘要: 目的 建立一测多评法同时测定苏黄止咳胶囊(牛蒡子、紫苏叶、紫苏子等)中牛蒡子苷、牛蒡子苷元、迷迭香酸、白花前胡甲素、白花前胡乙素、白花前胡 E 素、五味子醇甲的含有量。方法 该药物甲醇提取液的分析采用 Hypersil ODS C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm); 流动相甲醇-0.1% 冰醋酸, 梯度洗脱; 体积流量 1.0 mL/min; 柱温 25 ℃; 检测波长 250、280、321 nm。以迷迭香酸为内标, 计算其他 6 种成分的相对校正因子, 测定其含有量。结果 7 种成分在各自范围内线性关系良好($r>0.999\ 0$), 平均加样回收率 96.91%~100.1%, RSD 0.61%~1.40%。一测多评法所得结果与外标法接近。结论 该方法稳定可靠, 可用于苏黄止咳胶囊的质量控制。

关键词: 苏黄止咳胶囊; 化学成分; 一测多评

中图分类号: R927.2 文献标志码: A 文章编号: 1001-1528(2019)07-1505-06

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2019.07.006

收稿日期: 2018-10-09

基金项目: 牡丹江市科学技术计划项目(z2015s0023)

作者简介: 王加良(1978—), 男, 硕士, 副教授, 副主任药师, 从事药物分析、质量控制等医院药学研究工作。Tel: 15145392888, E-mail: 1454492066@qq.com

* 通信作者: 李海燕(1986—), 女(朝鲜族), 硕士, 讲师, 从事药学领域研究工作。Tel: 13684536066