

- [9] 陈如一, 史悦悦, 张晓熙, 等. 艾柱挥发油和燃烧产物成分 GC-MS 分析及抗氧化活性比较[J]. 中成药, 2021, 43(12): 3507-3512.
- [10] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2020年版一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 46.
- [11] 于艳, 贾天柱, 魏新智, 等. 麸炒前后茅苍术挥发油对缺氧/复氧损伤心肌细胞的抗氧化与抗凋亡作用[J]. 中药药理与临床, 2022, 38(1): 124-130.
- [12] 于艳, 贾天柱, 吴振起, 等. 麸炒茅苍术挥发油抗 LPS 诱导 HCoEpiC 炎症损伤的作用[J]. 时珍国医国药, 2021, 32(5): 1134-1139.
- [13] 李伟, 陈林林, 王振兴, 等. 白豆蔻精油的化学组成及清除亚硝酸钠能力[J]. 中国调味品, 2018, 43(7): 12-14.
- [14] 李晓花, 金玲钰, 岳建军, 等. 砂仁活性成分乙酸龙脑酯药理活性研究进展[J]. 中医药导报, 2021, 27(5): 131-134.
- [15] 李丽丽, 田文仓, 刘茵, 等. 砂仁中化学成分及其药理作用的研究进展[J]. 现代生物医学进展, 2018, 18(22): 4390-4396.
- [16] 侯明楮, 常聪, 陈林霖, 等. 桉油精的药理作用研究进展[J]. 中国现代应用药学, 2021, 38(16): 2023-2032.
- [17] 畅立圣, 陈红宇, 张莹瑄, 等. 中药活性成分百秋李醇在疾病防治中的实验研究进展[J]. 上海中医药大学学报, 2022, 36(S1): 272-276.

HPLC 法测定健肝灵胶囊中 6 种成分及五味子投料情况分析

邓映明¹, 宋增炫¹, 陈思婷², 陈媛¹

(1. 梅州市食品药品监督管理局, 广东 梅州 514000; 2. 嘉应学院医学院, 广东 梅州 514000)

摘要: 目的 建立 HPLC 法同时测定健肝灵胶囊中丹参素、丹酚酸 B、五味子醇甲、五味子酯甲、五味子甲素、五味子乙素的含量, 并探讨五味子投料情况。方法 该药物 70% 甲醇提取液的分析采用 Symmetry[®] C₁₈ 色谱柱 (4.6×150 mm, 5 μm); 流动相甲醇-乙腈-0.2% 磷酸, 梯度洗脱; 体积流量 1.0 mL/min; 柱温 40 ℃; 检测波长 220 nm。结果 6 种成分在各自范围内线性关系良好 ($r>0.9997$), 平均加样回收率 95.4%~105.9%, RSD 0.53%~1.95%。3 个厂家 4 批样品投料为五味子, 1 个厂家 3 批样品投料为南五味子。结论 该方法简便准确, 可用于健肝灵胶囊质量控制和五味子投料鉴别。

关键词: 健肝灵胶囊; 化学成分; 五味子; 南五味子; 投料; HPLC

中图分类号: R927.2

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2023)04-1264-04

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2023.04.038

健肝灵胶囊由五味子种子浸出物、灵芝浸膏、丹参浸膏组成, 具有益气健脾、活血化瘀、降低谷丙转氨酶的功效, 临床上用于保肝、治疗慢性肝炎等^[1-3], 方中丹参所含丹参素、丹酚酸 B 是重要活性成分, 具有抑制血栓形成、抗炎、慢性酒精性肝病保护等作用^[4-5], 并且五味子为规定投料。自 2000 年版《中国药典》开始, 对五味子、南五味子分别收载, 两者在形态、产地、成分有所差异, 功能主治各有侧重^[6-7], 而 2015 年版《中国药典》以五味子醇甲、五味子酯甲含量为指标对两者进行表征。但健肝灵胶囊现行质量标准只有五味子甲素的 TLC 鉴别, 无其他成分含量测定方法, 难以反映投料情况^[8]。

研究表明, 五味子、南五味子中木脂素成分五味子醇甲、五味子酯甲、五味子甲素、五味子乙素存在明显差异^[9-10], 考察其含量差异成为鉴定两者的重要手段^[11-13]。因此, 本实验建立 HPLC 法同时测定健肝灵胶囊中丹参素、丹酚酸 B, 五味子所含五味子醇甲、五味子酯

甲、五味子甲素、五味子乙素的含量, 并通过计算五味子酯甲、五味子醇甲峰面积比值 (R_1) 及五味子甲素、五味子乙素峰面积比值 (R_2) 来判断五味子投料情况^[14], 以期更好地控制该制剂质量。

1 材料

1.1 仪器 Nexera X2 色谱仪 (日本岛津公司); PM4-1300TD 型超声波清洗器 [360 W、40 kHz, 普律玛仪器 (上海) 有限公司]; XS205Du 电子分析天平 (瑞士梅特勒-托利多公司); ACY-2001-U 超纯水机 (美国艾科浦国际有限公司)。

1.2 试剂与药物 丹参素钠 (批号 110855-201915, 纯度 97.8%)、丹酚酸 B (批号 111562-201917, 纯度 96.6%)、五味子醇甲 (批号 110857-201815, 纯度 99.7%)、五味子酯甲 (批号 111529-201706, 纯度 95.2%)、五味子甲素 (批号 110764-201915, 纯度 99.5%)、五味子乙素 (批号 110765-201813, 纯度 99.1%) 对照品均购于中国食品药品

收稿日期: 2021-09-27

作者简介: 邓映明 (1987—), 男, 硕士, 主管药师, 研究方向为药品、化妆品检验技术。E-mail: dengym13@163.com

检定研究院。健肝灵胶囊共7批，分别购于广州白云山光华制药股份有限公司（批号 T00004、T00005、T00009）、肇庆星湖制药有限公司（批号 200101、20200601）、山西仁源堂药业有限公司（批号 20200301）、郑州韩都药业集团有限公司（批号 200717）。五味子、南五味子各3批，均购自药店，经专家根据2015年版《中国药典》要求检验为合格药材。甲醇、乙腈为色谱纯；其他试剂均为分析纯；水为纯化水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 Symmetry® C₁₈ 色谱柱（4.6 mm×150 mm，5 μm）；流动相 甲醇（A）-乙腈（B）-0.2% 磷酸（C），梯度洗脱（0~10 min，5% A，10% B；10~20 min，5%~10% A，10%~50% B；20~30 min，10%~20% A，50% B；30~40 min，20% A，50%~70% B）；体积流量 1.0 mL/min；柱温 40℃；检测波长 220 nm；进样量 5 μL。

2.2 对照品溶液制备 取丹参素钠、丹酚酸 B、五味子醇甲、五味子酯甲、五味子甲素、五味子乙素对照品各约 10 mg，精密称定，置于同一 10 mL 量瓶中，甲醇溶解定容至

刻度，摇匀，甲醇依次稀释至 10、20、40、60、100、200 μg/mL，即得。

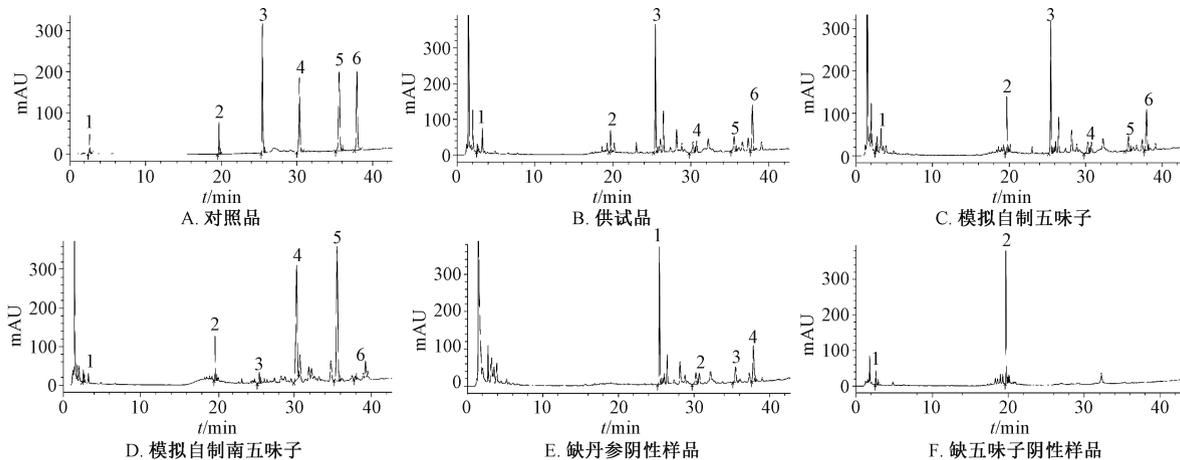
2.3 供试品溶液制备 取本品 20 粒，混匀，研细，取粉末约 1.0 g，精密称定，置于具塞锥形瓶中，加入 50 mL 75% 甲醇，称定质量，在超声仪上超声处理 30 min，冷却至室温，75% 甲醇补足减失的质量，摇匀，滤过，取续滤液，即得。

2.4 模拟自制样品溶液制备 取五味子、南五味子各 3 批，按处方比例、制备工艺制成模拟自制样品，再各取 3 批，按“2.3”项下方法制备，即得。

2.5 阴性样品溶液 按处方比例、制备工艺，分别制成缺五味子、缺丹参的阴性样品，按“2.3”项下方法制备，即得。

2.6 方法学考察

2.6.1 专属性试验 精密量取对照品、供试品、模拟自制样品、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。由此可知，各成分均达到基线分离，分离度均大于 1.5，阴性无干扰，表明该方法专属性良好。



1. 丹参素 2. 丹酚酸 B 3. 五味子醇甲 4. 五味子酯甲 5. 五味子甲素 6. 五味子乙素

图 1 各成分 HPLC 色谱图

2.6.2 线性关系考察 精密量取“2.2”项下对照品溶液 5 μL，在“2.1”项色谱条件下进样测定。以对照品质量浓度为横坐标（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

成分	回归方程	r	线性范围/ (μg·mL ⁻¹)
丹参素	Y=3 912.85X+9 393.39	0.999 7	10.3~206.8
丹酚酸 B	Y=5 868.00X+9 100.60	0.999 8	10.2~204.6
五味子醇甲	Y=31 865.8X-2 165.27	0.999 9	10.4~207.2
五味子酯甲	Y=27 694.2X+72.714 5	0.999 9	10.8~216.4
五味子甲素	Y=34 406.8X-63 057.5	0.999 9	11.5~229.2
五味子乙素	Y=33 181.6X-4 453.86	0.999 9	10.5~209.2

2.6.3 精密度试验 精密量取 40 μg/mL 对照品溶液适量，在“2.1”项色谱条件下进样测定 6 次，测得丹参素、丹酚酸 B、五味子醇甲、五味子酯甲、五味子甲素、五味子乙

素峰面积 RSD 分别为 0.37%、0.37%、0.26%、0.23%、0.18%、0.19%，表明仪器精密度良好。

2.6.4 稳定性试验 取本品（批号 200101）适量，按“2.3”项下方法制备供试品溶液，室温下于 0、2、4、8、12、24 h 在“2.1”项色谱条件下进样测定，测得丹参素、丹酚酸 B、五味子醇甲、五味子酯甲、五味子甲素、五味子乙素峰面积 RSD 分别 1.27%、0.72%、0.33%、1.74%、0.55%、0.12%，表明溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.6.5 重复性试验 取同一份本品（批号 200717），按“2.3”项下方法制备供试品溶液 6 份，在“2.1”项色谱条件下进样测定，测得丹参素、丹酚酸 B、五味子醇甲、五味子酯甲、五味子甲素、五味子乙素峰面积 RSD 分别 0.95%、0.46%、0.14%、1.69%、0.51%、0.07%，表明该方法重复性良好。

2.6.6 加样回收率试验 取各成分含量已知的本品（批号

200101) 6份, 每份约0.50 g, 精密称定, 精密加入对照品溶液适量, 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, 计算平均回收率。结果, 丹参素、丹酚酸 B、五味子醇甲、五味子酯甲、五味子甲素、五味子乙素峰平均加样回收率分别为 104.9%、96.7%、95.8%、97.4%、105.9%、95.4%, RSD 分别为 1.15%、

1.95%、1.47%、0.53%、0.98%、0.68%。

2.7 样品含量及 R_1 、 R_2 测定 取7批本品及2种模拟自制样品各3批, 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, 外标法计算含量及五味子酯甲/五味子醇甲峰面积比值 (R_1)、五味子甲素/五味子乙素峰面积比值 (R_2), 结果见表2。

表2 各成分含量及 R_1 、 R_2 测定结果

批号	含量/(mg·g ⁻¹)						R_1	R_2
	丹参素	丹酚酸 B	五味子醇甲	五味子酯甲	五味子甲素	五味子乙素		
T00004	1.7	0.5	0.05	3.4	2.4	0.06	63.2	48.7
T00005	1.4	0.6	0.06	3.7	2.6	0.05	57.9	55.5
T00009	1.6	0.7	0.04	2.8	2.1	0.06	63.4	40.1
200101	1.2	2.3	2.8	0.5	0.6	1.3	0.158	0.407
20200601	1.4	2.0	2.1	0.4	0.4	0.7	0.148	0.497
200717	1.0	2.5	3.5	0.7	0.8	1.9	0.169	0.378
20200301	1.6	11.1	2.8	0.5	0.6	1.0	0.166	0.532
模拟自制五味子	0.8	5.5	1.6	0.3	0.4	0.7	0.162	0.474
	1.0	4.2	2.2	0.4	0.6	1.1	0.165	0.428
	0.7	2.8	2.8	0.5	0.7	1.4	0.166	0.430
模拟自制南五味子	0.9	6.0	0.4	7.4	6.9	0.2	16.4	44.1
	1.5	3.5	0.2	4.9	4.4	0.1	19.5	48.1
	1.9	4.5	0.3	6.5	5.8	0.1	18.9	50.9

3 讨论

3.1 提取方法选择 本实验首先考察了回流提取、超声提取, 发现各成分峰面积差异不明显, 但后者操作更简便。再考察了甲醇、75%甲醇, 发现各成分提取率无明显差异, 但后者提取时杂质更少。然后, 考察了提取时间 20、30、60 min, 发现 30 min 后各成分已提取完全。最终确定, 提取方法为 75% 甲醇超声提取 30 min。

3.2 含量测定分析 在不同批次样品中, 丹参素含量为 0.10%~0.17%, 丹酚酸 B 含量为 0.05%~1.1%, 不同厂家存在一定差异, 其中批号 20200301 的样品中丹酚酸 B 含量明显更高。丹参酮 II A 是丹参常用定量指标, 但本实验只在 1 批样品中检出该成分, 其原因可能为它在丹参浸膏制备过程中高温加热发生降解, 故未选择其进行含量测定。另外, 五味子中五味子醇甲含量高于五味子酯甲, 五味子乙素含量高于五味子甲素, 而南五味子恰好相反。

3.3 投料情况分析 3 个厂家 4 批样品与模拟自制五味子的 R_1 为 0.148~0.169, R_2 为 0.378~0.532, 即均小于 0.6 而且波动较小, 即投料为五味子; 1 个厂家 3 批样品与模拟自制南五味子的 R_1 、 R_2 均大于 15, 即投料为南五味子。

4 结论

本实验建立 HPLC 法同时测定健肝宁胶囊中丹参素、丹酚酸 B、五味子醇甲、五味子酯甲、五味子甲素、五味子乙素的含量, 并考察五味子投料情况, 该方法简便可靠, 可用于该制剂的质量控制。

参考文献:

[1] 吴育龙, 庄见齐, 陈晓锋, 等. 健肝灵胶囊联合替比夫定治

疗慢性乙型肝炎的临床研究[J]. 现代药物与临床, 2018, 33(10): 2620-2624.

[2] 张明晓, 黄国英, 白羽琦, 等. 南、北五味子的化学成分及其保肝作用的研究进展[J]. 中国中药杂志, 2021, 46(5): 1017-1025.

[3] 周新明, 周小平. 护肝透毒汤、健肝灵联合西药治疗慢性乙型肝炎随机平行对照研究[J]. 实用中医内科杂志, 2015, 29(12): 75-78.

[4] 霍苏, 崔鹤蓉, 顾昱昊, 等. 基于网络药理学探究丹参治疗慢性肝炎的作用机制[J]. 世界中医药, 2021, 16(20): 2992-2998.

[5] 张富勇, 余彬, 陈昆, 等. 复方丹参滴丸/片对慢性乙型肝炎肝纤维化作用的系统评价[J]. 中国药房, 2017, 28(27): 3817-3820.

[6] 刘宇灵, 付赛, 樊丽姣, 等. 南北五味子化学成分、药理作用等方面差异的研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(12): 228-234.

[7] 杨钰潇, 张明晓, 白羽琦, 等. 南北五味子古今功效的考证[J]. 中国现代中药, 2020, 22(5): 800-804.

[8] 詹云丽, 黄丹莹, 李惠敏. 健肝灵胶囊质量标准研究[J]. 中成药, 2009, 31(6): 890-893.

[9] 柯华香, 李化, 苏建春, 等. 南北五味子中木脂素类成分含量的比较[J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(17): 40-43.

[10] 李洁, 金玲. 高效液相色谱法测定健肝灵胶囊中五味子甲素的含量[J]. 实用中医内科杂志, 2006, 20(3): 253-254.

[11] 郭丽, 杨忠杰, 于晓涛, 等. 南、北五味子药材的 HPLC 指纹图谱建立及化学模式识别分析[J]. 中国药房, 2020, 31(18): 2224-2229.

- [12] 孙强, 何召允, 王传杰, 等. RP-HPLC法测定健肝灵胶囊中五味子醇甲的含量[J]. 辽宁中医药大学学报, 2010, 12(11): 224-225.
- [13] 杨孝容, 向清祥, 熊俊如, 等. HPLC测定柏子养心丸中五味子酯甲、五味子甲素和五味子乙素的含量[J]. 药物分析杂志, 2006, 26(11): 1558-1561.
- [14] 张永萍, 李永鹏. 高效液相色谱法筛查利肺片中南五味子代替五味子[J]. 中国药业, 2020, 29(11): 62-65.

UPLC-MS/MS法同时测定岩鹿乳康胶囊中6种成分

李伟, 郝晶晶*

(北京卫生职业学院药学系, 北京 101101)

摘要:目的 建立 UPLC-MS/MS 法同时测定岩鹿乳康胶囊中岩白菜素、没食子酸、儿茶素、金丝桃苷、2''-O-没食子酰基金丝桃苷、大黄素的含量。方法 该药物甲醇提取液的分析采用 Phenomenex Kinetex C₈ 100A 色谱柱 (100 mm×2.1 mm, 2.6 μm); 流动相 0.01% 甲酸-甲醇, 梯度洗脱; 体积流量 0.4 mL/min; 柱温 40 ℃; 电喷雾离子源; 负离子模式; 多反应监测 (MRM) 模式。结果 6 种成分在各自范围内线性关系良好 ($r \geq 0.9959$), 平均加样回收率 97.0%~106.1%, RSD 2.78%~7.50%。结论 该方法简便准确, 可用于岩鹿乳康胶囊的质量控制。

关键词: 岩鹿乳康胶囊; 化学成分; UPLC-MS/MS

中图分类号: R927.2

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2023)04-1267-04

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2023.04.039

岩鹿乳康胶囊为彝族传统药物, 主要由岩陀、鹿衔草、鹿角霜等中药组成, 用于治疗肾阳不足、气滞血瘀所致的乳腺增生^[1-2], 方中岩陀主要成分为岩白菜素、槲皮素、没食子酸^[3-4], 具有抗炎、镇痛、抗肿瘤作用^[5-8]; 鹿衔草主要成分为没食子酸、儿茶素、金丝桃苷、2''-O-没食子酰基金丝桃苷等, 具有抗炎、抗氧化作用^[9-14]; 鹿角霜主要成分为碳酸钙和磷酸钙, 但目前仅采用 HPLC 法测定该制剂中岩白菜素含量^[15], 故建立多成分含量同时测定的方法对评价其质量具有重要意义。课题组前期通过高分辨质谱对岩鹿乳康胶囊化学成分进行定性分析, 发现岩白菜素、大黄素、2''-O-没食子酰基金丝桃苷含量较高; 本实验结合相关文献报道, 建立 UPLC-MS/MS 法同时测定岩白菜素、没食子酸、儿茶素、金丝桃苷、2''-O-没食子酰基金丝桃苷、大黄素含量, 有助于保证该制剂的质量可控。

1 材料

Exion LC AD 型超高效液相色谱仪、QTRAP 6500+ 型质谱仪 (美国 AB Sciex 公司); NewClassic MS 型电子天平 (瑞士 Mettler-Toledo 公司)。岩白菜素 (批号 111532-202005, 纯度 94.4%)、没食子酸 (批号 110831-201906, 纯度 91.5%)、金丝桃苷 (批号 111521-201809, 纯度

94.9%)、儿茶素 (批号 110877-202005, 纯度 95.1%)、2''-O-没食子酰基金丝桃苷 (批号 111629-201002, 纯度 88.3%)、大黄素 (批号 110756-201913, 纯度 96.0%) 对照品均购自中国食品药品检定研究院。岩鹿乳康胶囊 (批号 20200602、20200702、20200801、20200903、20201001、20201102) 购自常宁仁和堂大药房有限公司。甲醇、乙腈、甲酸、蒸馏水均为色谱纯, 购自美国 Thermo Fisher Scientific 公司。

2 方法与结果

2.1 分析条件

2.1.1 色谱 Phenomenex Kinetex C₈ 100A 色谱柱 (100 mm×2.1 mm, 2.6 μm); 流动相 0.01% 甲酸 (A)-甲醇 (B), 梯度洗脱 (0 min, 5% B; 0~5 min, 5%~95% B; 5~7 min, 95% B; 7~7.1 min, 95%~5% B; 7.1~10 min, 5% B); 体积流量 0.4 mL/min; 柱温 40 ℃; 进样量 1 μL。

2.1.2 质谱 电喷雾离子源; 负离子模式; 多反应监测 (MRM) 模式; 气帘气 N₂, 体积流量 30 L/min; 雾化气 N₂, 体积流量 50 L/min; 辅助气 N₂, 体积流量 55 L/min; 离子源喷雾电压 -4 500 V, 温度 550 ℃, 主要质谱参数^[16-18]见表 1, 总离子流图、MRM 色谱图分别见图 1~2。

收稿日期: 2021-07-26

基金项目: 2018 年北京市职业教育教学改革项目 (2018-108)

作者简介: 李伟 (1986—), 女, 硕士, 副教授, 研究方向为药物分析。Tel: (010) 63209176, E-mail: lijing_0317001@163.com

* 通信作者: 郝晶晶 (1981—), 男, 硕士, 教授, 研究方向为药物制剂新技术与质量控制。Tel: (010) 63209013, E-mail: haojingjing@sina.com

网络出版日期: 2022-02-16

网络出版地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/31.1368.R.20220216.1421.006.html>