

# 基于 HPLC 波长切换联合梯度洗脱技术的双参龙胶囊中 10 种主要成分定量研究

张毅<sup>1\*</sup>, 周慧<sup>2</sup>

1. 天津市环湖医院, 天津市脑血管与神经变性重点实验室, 天津 300350

2. 天津医科大学药学院实验中心, 天津 300070

**摘要:** 目的 建立 HPLC 波长切换联合梯度洗脱法 (HPLC-DVD 法) 同时测定双参龙胶囊 (SSLC) 中毛蕊异黄酮葡萄糖苷、鲁斯可皂苷元、苦杏仁苷、人参皂苷 Rb<sub>1</sub>、人参皂苷 Re、阿魏酸、西红花苷-I、丹酚酸 B、11-羧基- $\beta$ -乙酰乳香酸和丹参酮 II<sub>A</sub> 10 种指标成分的方法。方法 采用 HPLC-DVD 法, Hypersil ODS C<sub>18</sub> (150 mm×4.0 mm, 3  $\mu$ m) 色谱柱; 甲醇-水 (8:2, A) - 0.1% 磷酸水溶液 (B) 为流动相, 梯度洗脱, 体积流量 0.6 mL/min; 毛蕊异黄酮葡萄糖苷的检测波长为 260 nm, 鲁斯可皂苷元的检测波长为 280 nm, 苦杏仁苷的检测波长为 210 nm, 人参皂苷 Rb<sub>1</sub> 和人参皂苷 Re 的检测波长为 203 nm, 阿魏酸的检测波长为 320 nm, 西红花苷 I 的检测波长为 440 nm, 丹酚酸 B 的检测波长为 286 nm, 11-羧基- $\beta$ -乙酰乳香酸的检测波长为 250 nm, 丹参酮 II<sub>A</sub> 的检测波长为 270 nm; 进样量为 10  $\mu$ L。结果 10 种指标成分毛蕊异黄酮葡萄糖苷在 3.88~69.86 mg/L ( $r=0.999\ 2$ )、鲁斯可皂苷元在 22.1~397.8 mg/L ( $r=0.999\ 1$ )、苦杏仁苷在 37.43~673.5 mg/L ( $r=0.999\ 4$ )、人参皂苷 Rb<sub>1</sub> 在 45.15~812.72 mg/L ( $r=0.999\ 6$ )、人参皂苷 Re 在 4.55~81.95 mg/L ( $r=0.999\ 5$ )、阿魏酸在 3.06~55.15 mg/L ( $r=0.999\ 4$ )、西红花苷-I 在 1.93~34.76 mg/L ( $r=0.999\ 5$ )、丹酚酸 B 在 15.68~282.15 mg/L ( $r=0.999\ 6$ )、11-羧基- $\beta$ -乙酰乳香酸在 11.31~203.58 mg/L ( $r=0.999\ 1$ )、丹参酮 II<sub>A</sub> 在 1.89~34.16 mg/L ( $r=0.999\ 6$ ) 质量浓度与峰面积具有较好的线性关系; 精密度良好, RSD $\leq$ 1.27%; 重复性良好, RSD $\leq$ 1.28%; 供试品溶液在室温条件下 8 h 内稳定, RSD $\leq$ 0.96%; 平均加样回收率和相应的 RSD 分别为 99.61%、1.21%, 100.11%、0.76%, 101.52%、0.62%, 101.22%、1.03%, 100.83%、1.14%, 98.94%、0.53%, 101.04%、1.09%, 100.05%、1.25%, 99.81%、0.68%, 101.94%、1.31%。9 批次供试品中毛蕊异黄酮葡萄糖苷、鲁斯可皂苷元、苦杏仁苷、人参皂苷 Rb<sub>1</sub>、人参皂苷 Re、阿魏酸、西红花苷-I、丹酚酸 B、11-羧基- $\beta$ -乙酰乳香酸和丹参酮 II<sub>A</sub> 量分别为 0.142~0.158、0.747~0.764、1.578~1.619、2.163~2.185、0.235~0.251、0.557~0.580、0.105~0.122、0.311~0.328、0.605~0.624、0.062~0.079 mg/粒。结论 建立的 HPLC-DVD 法同时测定 SSLC 中的 10 种成分, 方法操作简便、快速、准确, 可作为 SSLC 质量控制的分析方法。

**关键词:** HPLC-DVD 法; 双参龙胶囊; 毛蕊异黄酮葡萄糖苷; 鲁斯可皂苷元; 苦杏仁苷; 人参皂苷 Rb<sub>1</sub>; 人参皂苷 Re; 阿魏酸; 西红花苷-I; 丹酚酸 B; 11-羧基- $\beta$ -乙酰乳香酸; 丹参酮 II<sub>A</sub>

中图分类号: R286.02 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2018)05-1081-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2018.05.014

## Quantitative study of ten main components in Shuangshenlong Capsule by HPLC coupled with wavelength switching and gradient elution method

ZHANG Yi<sup>1</sup>, ZHOU Hui<sup>2</sup>

1. Tianjin Huanhu Hospital, Tianjin Key Laboratory of Cerebral Vascular and Neurodegenerative Diseases, Tianjin 300350, China

2. School of Pharmacy, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China

**Abstract: Objective** To establish HPLC coupled with wavelength switching and gradient elution method (HPLC-DVD) for simultaneous determination of ten main components (calycosin-7-glucoside, ruscogenin, amygdalin, ginsenoside Rb<sub>1</sub>, ginsenoside Re, ferulic acid, crocin I, salvianolic acid B, acetyl-11-keto- $\beta$ -boswellic acid, and tanshinone II<sub>A</sub>) in Shuangshenlong Capsule (SSLC). **Methods** The chromatographic separation was achieved on Hypersil ODS C<sub>18</sub> (150 mm × 4.0 mm, 3  $\mu$ m) column with methanol-water (8:2) T (A)-0.1% phosphoric acid solution (B) as mobile phases for gradient elution, at the flow rate of 0.6 mL/min; The

收稿日期: 2017-10-30

作者简介: 张毅 (1977—), 男, 副主任药师, 主要从事药物临床试验管理及临床药学工作。Tel: 13920398707 E-mail: 103841540@qq.com

\*通信作者 张毅 (1977—), 男, 副主任药师, 主要从事药物临床试验管理及临床药学工作。Tel: 13920398707 E-mail: 103841540@qq.com

detection wavelength was set at 260 nm for  $\alpha$ -calycosin-7-glucoside, 280 nm for ruscogenin, 210 nm for amygdalin, 203 nm for ginsenoside Rb<sub>1</sub> and ginsenoside Re, 320 nm for ferulic acid, 440 nm for crocin I, 286 nm for salvianolic acid B, 250 nm for acetyl-11-keto- $\beta$ -boswellic acid, and 270 nm for tanshinone II<sub>A</sub>. The volume of sample injection was 10  $\mu$ L. **Results** The ten active components were well separated and showed good linearity between mass concentration and peak area, such as calycosin-7-glucoside 3.88—69.86 mg/L ( $r = 0.999\ 2$ ), ruscogenin 22.1—397.8 mg/L ( $r = 0.999\ 1$ ), amygdalin 37.43—673.5 mg/L ( $r = 0.999\ 4$ ), ginsenoside Rb<sub>1</sub> 45.15—812.72 mg/L ( $r = 0.999\ 6$ ), ginsenoside Re 4.55—81.95 mg/L ( $r = 0.999\ 5$ ), ferulic acid 3.06—55.15 mg/L ( $r = 0.999\ 4$ ), crocin I 1.93—34.76 mg/L ( $r = 0.999\ 5$ ), salvianolic acid B 15.68—282.15 mg/L ( $r = 0.999\ 6$ ), acetyl-11-keto- $\beta$ -boswellic acid 11.31—203.58 mg/L ( $r = 0.999\ 1$ ), and tanshinone II<sub>A</sub> 1.89—34.16 mg/L ( $r = 0.999\ 6$ ). The precision was good, and RSD was not more than 1.27%. The repeatability was good, and RSD was not more than 1.28%. The stability was good in 8 h, and RSD was not more than 0.96%. The average recoveries and corresponding RSD values were 99.61% (1.21%), 100.11% (0.76%), 101.52% (0.62%), 101.22% (1.03%), 100.83% (1.14%), 98.94% (0.53%), 101.04% (1.09%), 100.05% (1.25%), 99.81% (0.68%), and 101.94% (1.31%), respectively. The contents of nine batches of calycosin-7-glucoside, ruscogenin, amygdalin, ginsenoside Rb<sub>1</sub>, ginsenoside Re, ferulic acid, crocin I, salvianolic acid B, acetyl-11-keto- $\beta$ -boswellic acid, and tanshinone II<sub>A</sub> were 0.142—0.158, 0.747—0.764, 1.578—1.619, 2.163—2.185, 0.235—0.251, 0.557—0.580, 0.105—0.122, 0.311—0.328, 0.605—0.624, 0.062—0.079 mg/capsule, respectively. **Conclusion** HPLC coupled with wavelength switching and gradient elution method has been established for simultaneous determination of ten components in SSLC. The method is simple, quick, accurate, and it can be used for content determination and quality control of SSLC.

**Key words:** HPLC-DVD; Shuangshenlong Capsule; calycosin-7-glucoside; ruscogenin; amygdalin; ginsenoside Rb<sub>1</sub>; ginsenoside Re; ferulic acid; crocin I; salvianolic acid B; acetyl-11-keto- $\beta$ -boswellic acid; tanshinone II<sub>A</sub>

双参龙胶囊 (Shuangshenlong Capsule, SSLC) 收载于《国家中成药标准汇编》, 由黄芪、西洋参、桃仁、当归、地龙、丹参、川芎、全蝎、乳香、西红花、麦冬 11 味中药材加工而成, 具有益气活血、舒心通脉的作用, 临床上用于气虚血瘀所致的胸痹, 症见胸痛、胸闷、心悸、气短、乏力等; 冠心病、心绞痛及缺血性脑血管病属上述证候者<sup>[1]</sup>。现行的 SSLC 的质量标准 WS-10218 (ZD-0218)-2002 只对人参皂苷 Re 进行薄层色谱的定量测定, 无论是按照现代中药的研究理念<sup>[2-3]</sup>, 还是中药质量标志物 (Q-Marker) 的概念<sup>[4-5]</sup>, 都需要对其进行多指标成分控制。

按照中医药配伍原则, SSLC 君药为西洋参, 补气养阴、清热生津; 臣药为丹参与地龙, 丹参可以活血祛瘀、通经止痛、清心除烦、凉血消痈; 地龙可以通经活络; 佐药为黄芪、桃仁、当归、川芎、全蝎、乳香、西红花、麦冬, 结合相关的参考文献<sup>[6-7]</sup>和《中国药典》2015 年版标准<sup>[8]</sup>, 本实验对其中含有的 10 种指标成分进行定量控制, 包括黄芪中的毛蕊异黄酮葡萄糖苷, 西洋参中的人参皂苷 Rb<sub>1</sub> 和人参皂苷 Re<sup>[9-10]</sup>, 桃仁中的苦杏仁苷, 丹参中的丹酚酸 B 和丹参酮 II<sub>A</sub>, 当归和川芎中的阿魏酸, 乳香中的 11-羧基- $\beta$ -乙酰乳香酸<sup>[11]</sup>, 麦冬中的鲁斯可皂苷元<sup>[12]</sup>和西红花中的西红花苷-I。本实验建立了 HPLC 波长切换联合梯度洗脱法 (HPLC-DVD 法)

同时测定 SSLC 中 10 种指标成分毛蕊异黄酮葡萄糖苷、鲁斯可皂苷元、苦杏仁苷、人参皂苷 Rb<sub>1</sub>、人参皂苷 Re、阿魏酸、西红花苷-I、丹酚酸 B、11-羧基- $\beta$ -乙酰乳香酸和丹参酮 II<sub>A</sub> 的测定方法, 该方法高效、准确, 对于客观评价该中成药的质量具有一定的意义。

## 1 仪器与材料

Agilent1260 四元泵高效液相色谱仪, DAD 检测器, Chemstation 化学工作站, 美国安捷伦公司; XU205D 型电子天平, 0.01 mg, 瑞士梅特勒公司; KQ-2500 型超声波清洗器, 昆山超声仪器有限公司。

对照品毛蕊异黄酮葡萄糖苷 (批号 111920-201505, 质量分数 97.1%)、鲁斯可皂苷元 (批号 111909-201204, 质量分数 98.4%)、苦杏仁苷 (批号 110820-201506, 质量分数 93.4%)、阿魏酸 (批号 110773-201313, 质量分数以 99.6%计)、人参皂苷 Rb<sub>1</sub> (批号 110704-201625, 质量分数 95.0%)、人参皂苷 Re (批号 110754-201525, 质量分数 92.3%)、丹参酮 II<sub>A</sub> (批号 110766-201520, 质量分数 98.9%)、西红花苷-I (批号 111588-201303, 质量分数 92.6%)、丹酚酸 B (批号 111562-201615, 质量分数 96.2%)、11-羧基- $\beta$ -乙酰乳香酸 (批号 111760-201502, 质量分数 99.3%), 均购于中国食品药品检定研究院。甲醇为色谱纯, 水为屈臣氏纯净水, 其他试剂为分析纯。黄芪 *Astragali Radix*、

西洋参 *Panax quinquefolii Radix*、桃仁 *Persicae Semen*、当归 *Angelica Sinensis Radix*、地龙 *Pheretima*、丹参 *Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma*、川芎 *Chuanxiong Rhizoma*、全蝎 *Scorpio*、乳香 *Olibanum*、西红花 *Croci Stigma*、麦冬 *Ophiopogonis Radix* 经鉴定天津中医药大学李川副教授均为正品,其基原植物黄芪为豆科黄芪属植物膜荚黄芪 *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. 的干燥根,西洋参为五加科人参属植物西洋参 *Pawajc quinquefolium* L. 的干燥根,桃仁为蔷薇科樱桃属植物桃 *Prunus persica* (L.) Batsch 的干燥成熟种子,川芎为伞形科藁本属植物川芎 *Ligusticum chuamxiong* Hort. 的干燥根茎,当归为伞形科当归属植物当归 *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels 的干燥根,丹参为唇形科鼠尾草属植物丹参 *Salvia miltiorrhiza* Bge. 的干燥根和根茎,地龙为环节动物门钜蚓科动物参环毛蚓 *Pheretimaas pergilum* (E Perrier) 的干燥体,全蝎为钳蝎科动物东亚钳蝎 *Buthus martensii* Karsch 的干燥体,乳香为橄榄科乳香属植物乳香树 *Boswellia carterii* Birdw 树皮渗出的树脂,西红花为鸢尾科番红花属植物番红花 *Crocus sativus* L. 的干燥柱头,麦冬为百合科沿阶草属植物麦冬 *Ophiopogon japonicus* (L. f) Ker-Gawl 的干燥块根。SSLC, 每粒 0.3 g, 批号分别为 170106、170107、170108、170401、170402、170403、170721、170722、170723, 均来源于青海省格拉丹东药业有限公司。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

采用 Hypersil ODS  $C_{18}$  (150 mm×4.0 mm, 3  $\mu$ m) 色谱柱;流动相 A 为甲醇-水 (8:2), 流动相 B 为 0.1% 磷酸水溶液, 梯度洗脱: 0~5.0 min, 5% B; 5.0~7.0 min, 5%~10% B; 7.0~10.0 min, 10%~15% B; 10.0~16.0 min, 15%~18% B; 16.0~19.0 min, 20% B; 19.0~33.0 min, 20%~80% B; 33.0~40.0 min, 90% B; 检测波长: 0~6.0 min 为 260 nm, 6.0~10.0 min 为 280 nm, 10.0~13.0 min 为 210 nm, 13.0~16.0 min 为 203 nm, 16.0~19.0 min 为 320 nm, 19.0~21.0 min 为 440 nm, 21.0~25.0 min 为 286 nm, 25.0~30.0 min 为 250 nm, 30.0~40.0 min 为 270 nm; 体积流量 0.6 mL/min; 柱温 30  $^{\circ}$ C; 进样量 10  $\mu$ L。理论板数以人参皂苷  $Rb_1$  色谱峰计算均不低于 3 000, 供试品色谱图中, 其他杂质色谱峰与待测物质色谱峰的分离度均符合要求 (图 1)。

### 2.2 混合对照品溶液的制备

分别称取毛蕊异黄酮葡萄糖苷、鲁斯可皂苷元、苦杏仁苷、人参皂苷  $Rb_1$ 、人参皂苷 Re、阿魏酸、西红花苷-I、丹酚酸 B、11-羧基- $\beta$ -乙酰乳香酸和丹参酮  $II_A$  对照品适量, 精密称定, 加 70% 甲醇溶解并定容至 25 mL 量瓶中, 制成质量浓度分别为毛蕊异黄酮葡萄糖苷 1.035 mg/mL、鲁斯可皂苷元 1.105 mg/mL、苦杏仁苷 0.998 mg/mL、人参皂苷  $Rb_1$  1.204 mg/mL、人参皂苷 Re 1.214 mg/mL、阿魏酸 0.817 mg/mL、西红花苷-I 0.518 mg/mL、丹酚酸 B 1.045 mg/mL、11-羧基- $\beta$ -乙酰乳香酸 0.754 mg/mL 和丹参酮  $II_A$  0.506 mg/mL 单一成分的对照品储备液。再分别精密量取上述对照品储备液 5.0、25.0、50.0、50.0、5.0、5.0、5.0、20.0、20.0、5.0 mL 置于 100 mL 量瓶中, 加 70% 甲醇溶解并定容, 制成质量浓度分别为毛蕊异黄酮葡萄糖苷 51.75 mg/L、鲁斯可皂苷元 276.25 mg/L、苦杏仁苷 499.00 mg/L、人参皂苷  $Rb_1$  602.00 mg/L、人参皂苷 Re 60.70 mg/L、阿魏酸 40.85 mg/L、西红花苷-I 25.90 mg/L、丹酚酸 B 209.00 mg/L、11-羧基- $\beta$ -乙酰乳香酸 150.80 mg/L 和丹参酮  $II_A$  25.30 mg/L 的混合对照品溶液。

### 2.3 供试品溶液的制备

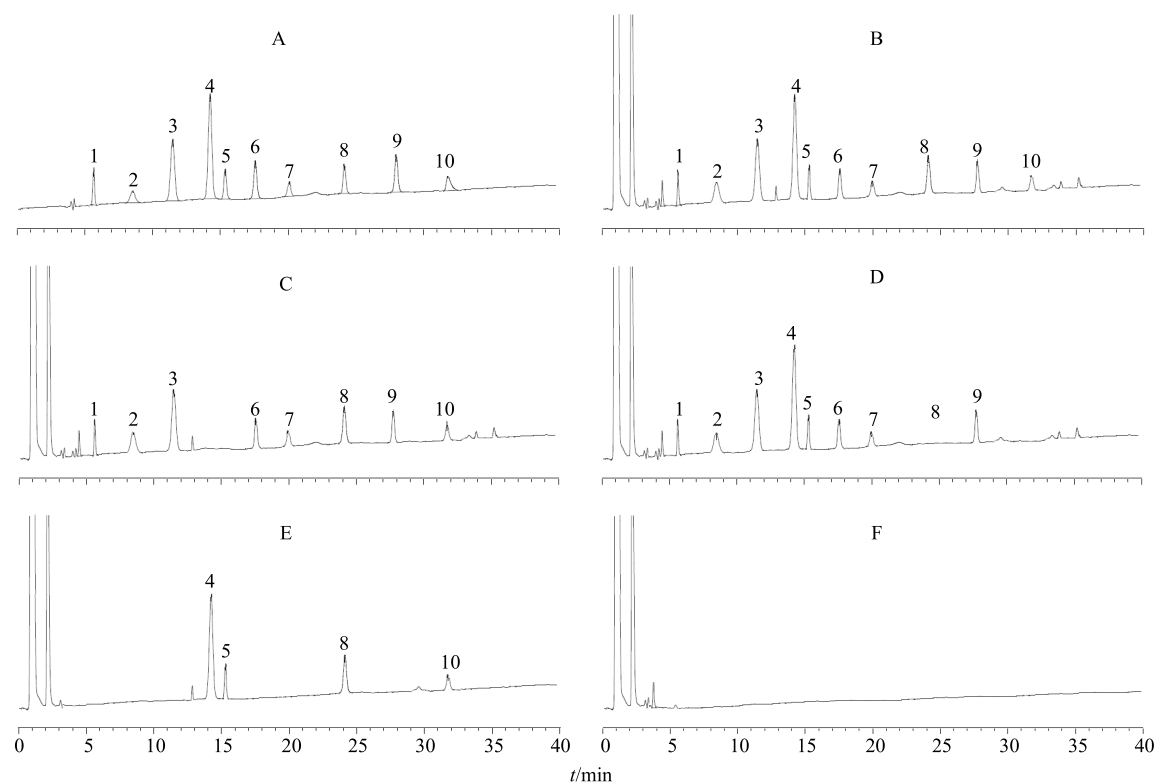
取 SSLC 70 粒内容物, 研细, 混匀, 取 10 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加甲醇 50 mL, 称定质量, 加热回流 1 h, 立即冷却, 再称定质量, 用甲醇补足减失的质量, 摇匀, 用干燥滤纸滤过, 弃去初滤液, 量取续滤液, 蒸干, 残渣加水 40 mL 使溶解。用乙醚振摇提取 3 次, 每次 30 mL, 弃去乙醚液, 水液用水饱和的正丁醇振摇提取 4 次 (30、30、30、20 mL), 合并正丁醇液, 用 1% 碳酸氢钠溶液洗涤 4 次 (30、30、30、20 mL), 弃去碱液, 用正丁醇饱和的水洗涤 4 次 (30、30、30、20 mL), 分取正丁醇液, 蒸干, 残渣用甲醇适量溶解, 转移至 100 mL 具塞瓶中, 蒸干, 精密加入甲醇使溶解, 摇匀, 作为供试品溶液。

### 2.4 阴性样品溶液的制备

按 SSLC 处方比例和制备工艺分别制备缺西洋参、缺丹参、缺黄芪、桃仁、当归、川芎、乳香、西红花、麦冬的阴性样品, 再按“2.3”项下制备方法, 制备缺西洋参、缺丹参和缺黄芪、桃仁、当归、川芎、乳香、西红花、麦冬的阴性样品溶液。

### 2.5 专属性试验

移取上述“2.2~2.4”项下的各溶液适量, 依法



1-毛蕊异黄酮葡萄糖苷 2-鲁斯可皂苷元 3-苦杏仁苷 4-人参皂苷 Rb<sub>1</sub> 5-人参皂苷 Re 6-阿魏酸 7-西红花苷-I 8-丹酚酸 B  
9-11-羧基-β-乙酰乳香酸 10-丹参酮 II<sub>A</sub>  
1-calycosin-7-glucoside 2-ruscogenin 3-amygdalin 4-ginsenoside Rb<sub>1</sub> 5-ginsenoside Re 6-ferulic acid 7-crocin I 8-salvianolic  
acid B 9-acetyl-11-keto-β-boswellic acid 10-tanshinone II<sub>A</sub>

图1 混合对照品 (A)、样品 (B)、缺西洋参 (C)、缺丹参 (D)、缺黄芪、桃仁、当归、川芎、乳香、西红花、麦冬 (E) 阴性样品及空白 (F) 的 HPLC 图

Fig. 1 HPLC of mixed reference substances (A), samples (B), blank sample without *Panacis Quinquefolii Radix* (C), blank sample without *Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma* (D), blank sample without *Astragali Radix*, *Persicae Semen*, *Chuanxiong Rhizoma*, *Angelica Sinensis Radix*, *Olibanum*, *Croci Stigma*, *Ophiopogonis Radix* (E), and blank (F)

进样测定，供试品溶液中测定成分毛蕊异黄酮葡萄糖苷、鲁斯可皂苷元、苦杏仁苷、人参皂苷 Rb<sub>1</sub>、人参皂苷 Re、阿魏酸、西红花苷-I、丹酚酸 B、11-羧基-β-乙酰乳香酸和丹参酮 II<sub>A</sub> 分离度良好，均符合《中国药典》2015 年版四部的要求，各阴性样品溶液在所测成分相应的位置处未见色谱峰，说明阴性样品溶液对测定没有干扰。

## 2.6 线性关系考察

分别精密量取“2.2”项下的毛蕊异黄酮葡萄糖苷、鲁斯可皂苷元、苦杏仁苷、人参皂苷 Rb<sub>1</sub>、人参皂苷 Re、阿魏酸、西红花苷-I、丹酚酸 B、11-羧基-β-乙酰乳香酸和丹参酮 II<sub>A</sub> 混合对照品储备液 7.5、40、75、75、7.5、7.5、7.5、30、30、7.5 mL 置于 100 mL 量瓶中，加 70% 甲醇溶解并定容，作为线性关系考察储备液，再取该溶液适量，用 70% 甲醇稀释至 90%、70%、50%、30%、10%、5%，

摇匀，即得到 6 个质量浓度的混合对照品溶液，按照上述测定方法进行测定，以质量浓度作为横坐标 (X)，测得的峰面积作为纵坐标 (Y)，绘制标准曲线，计算得线性回归方程、相关系数 (r)、线性范围、定量限及检测限，结果分别为毛蕊异黄酮葡萄糖苷  $Y=45.34 X+467.2$ ,  $r=0.999 2$ , 线性范围 3.88~69.86 mg/L; 鲁斯可皂苷元  $Y=72.44 X+11.72$ ,  $r=0.999 1$ , 线性范围 22.1~397.8 mg/L; 苦杏仁苷  $Y=7.428 X+2381$ ,  $r=0.999 4$ , 线性范围 37.43~673.50 mg/L; 人参皂苷 Rb<sub>1</sub>  $Y=22.64 X+6.823$ ,  $r=0.999 6$ , 线性范围 45.15~812.72 mg/L; 人参皂苷 Re  $Y=782.2 X-6.921$ ,  $r=0.999 5$ , 线性范围 4.55~81.95 mg/L; 阿魏酸  $Y=231.8 X-33.81$ ,  $r=0.999 4$ , 线性范围 3.06~55.15 mg/L; 西红花苷-I  $Y=9.573 X+445.8$ ,  $r=0.999 5$ , 线性范围 1.93~34.76 mg/L; 11-羧基-β-乙酰乳香酸  $Y=4.345 X+$

2.412,  $r=0.999\ 1$ , 线性范围 11.31~203.58 mg/L; 丹酚酸 B  $Y=3\ 421\ X+532.5$ ,  $r=0.999\ 6$ , 线性范围 15.68~282.15 mg/L; 丹参酮 II<sub>A</sub>  $Y=832.6\ X-248.5$ ,  $r=0.999\ 6$ , 线性范围 1.89~34.16 mg/L。

## 2.7 精密度试验

取“2.2”项下混合对照品溶液,连续进样 6 次,依法测定各成分的峰面积,结果显示毛蕊异黄酮葡萄糖苷、鲁斯可皂苷元、苦杏仁苷、人参皂苷 Rb<sub>1</sub>、人参皂苷 Re、阿魏酸、西红花苷-I、丹酚酸 B、11-羧基-β-乙酰乳香酸和丹参酮 II<sub>A</sub> 峰面积的 RSD 分别为 0.56%、0.99%、0.63%、0.84%、1.11%、1.06%、1.01%、0.93%、1.27%、0.59%。

## 2.8 重复性试验

取同一批 SSLC (批号 170106) 6 份,按“2.3”项下方法制备供试品溶液,依法测定,结果显示毛蕊异黄酮葡萄糖苷、鲁斯可皂苷元、苦杏仁苷、人参皂苷 Rb<sub>1</sub>、人参皂苷 Re、阿魏酸、西红花苷-I、丹酚酸 B、11-羧基-β-乙酰乳香酸和丹参酮 II<sub>A</sub> 峰面积的 RSD 分别为 0.73%、1.24%、1.13%、0.76%、1.04%、1.28%、0.71%、0.98%、1.16%、0.62%。

## 2.9 稳定性试验

取 SSLC (批号 170106) 1 份,按“2.3”项下方法制备供试品溶液,在室温下于 0、2、4、6、8、12、18、24 h 依法测定,结果显示供试品溶液 8 h 稳定,毛蕊异黄酮葡萄糖苷、鲁斯可皂苷元、苦杏仁苷、人参皂苷 Rb<sub>1</sub>、人参皂苷 Re、阿魏酸、西红花苷-I、丹酚酸 B、11-羧基-β-乙酰乳香酸和丹参酮 II<sub>A</sub> 峰面积的 RSD 分别为 0.87%、0.55%、0.95%、0.61%、0.84%、0.49%、0.75%、0.89%、0.77%、0.96%。

## 2.10 加样回收率试验

取同一批 SSLC (批号 170106) 9 份,3 份 1 组,分别精密加入毛蕊异黄酮葡萄糖苷 51.75 mg/L、鲁斯可皂苷元 276.25 mg/L、苦杏仁苷 499 mg/L、人参皂苷 Rb<sub>1</sub> 602 mg/L、人参皂苷 Re 60.7 mg/L、阿魏酸 40.85 mg/L、西红花苷-I 25.9 mg/L、丹酚酸 B 209 mg/L、11-羧基-β-乙酰乳香酸 150.8 mg/L 和丹参酮 II<sub>A</sub> 25.3 mg/L 的溶液 0.5、1.0、1.5 mL,按“2.3”项下方法制备供试品溶液,作为加样回收样品试液。依法测定,计算毛蕊异黄酮葡萄糖苷、鲁斯可皂苷元、苦杏仁苷、人参皂苷 Rb<sub>1</sub>、人参皂苷 Re、阿魏酸、西红花苷-I、丹酚酸 B、11-羧基-β-乙酰乳香酸和丹参酮 II<sub>A</sub> 的回收率及 RSD 分别为 99.61% (1.21%)、100.11% (0.76%)、101.52% (0.62%)、101.22% (1.03%)、100.83% (1.14%)、98.94% (0.53%)、101.04% (1.09%)、100.05% (1.25%)、99.81% (0.68%)、101.94% (1.31%)。

## 2.11 样品定量测定

取 9 个批次的 SSLC,按“2.3”项下方法制备供试品溶液,依法测定,外标法计算,结果见表 1。9 批 SSLC 中毛蕊异黄酮葡萄糖苷、鲁斯可皂苷元、苦杏仁苷、人参皂苷 Rb<sub>1</sub>、人参皂苷 Re、阿魏酸、西红花苷-I、丹酚酸 B、11-羧基-β-乙酰乳香酸和丹参酮 II<sub>A</sub> 的量分别为 0.142~0.158、0.747~0.764、1.578~1.619、2.163~2.185、0.235~0.251、0.557~0.580、0.105~0.122、0.311~0.328、0.605~0.624、0.062~0.079 mg/粒。其中人参皂苷 Rb<sub>1</sub> 与苦杏仁苷的量较高,毛蕊异黄酮葡萄糖苷、阿魏酸与丹参酮 II<sub>A</sub> 的量较低,人参皂苷 Re 符合 SSLC 的质量标准

表 1 9 批样品中 10 个成分的定量测定结果 ( $n=3$ )

Table 1 Quantitative determination results of ten components in nine batches of sample ( $n=3$ )

| 批号     | 含量/(mg·粒 <sup>-1</sup> ) |        |       |                      |         |               |       |        |       |                     |
|--------|--------------------------|--------|-------|----------------------|---------|---------------|-------|--------|-------|---------------------|
|        | 毛蕊异黄酮葡萄糖苷                | 鲁斯可皂苷元 | 苦杏仁苷  | 人参皂苷 Rb <sub>1</sub> | 人参皂苷 Re | 11-羧基-β-乙酰乳香酸 | 阿魏酸   | 西红花苷-I | 丹酚酸 B | 丹参酮 II <sub>A</sub> |
| 170106 | 0.154                    | 0.758  | 1.588 | 2.175                | 0.241   | 0.572         | 0.113 | 0.321  | 0.611 | 0.076               |
| 170107 | 0.144                    | 0.748  | 1.601 | 2.179                | 0.235   | 0.568         | 0.109 | 0.328  | 0.615 | 0.072               |
| 170108 | 0.151                    | 0.751  | 1.593 | 2.171                | 0.237   | 0.566         | 0.105 | 0.325  | 0.618 | 0.070               |
| 170401 | 0.150                    | 0.755  | 1.578 | 2.163                | 0.246   | 0.558         | 0.116 | 0.318  | 0.605 | 0.071               |
| 170402 | 0.147                    | 0.750  | 1.582 | 2.169                | 0.243   | 0.559         | 0.114 | 0.315  | 0.610 | 0.075               |
| 170403 | 0.158                    | 0.747  | 1.591 | 2.171                | 0.249   | 0.563         | 0.119 | 0.311  | 0.612 | 0.079               |
| 170721 | 0.146                    | 0.764  | 1.595 | 2.183                | 0.251   | 0.557         | 0.122 | 0.324  | 0.622 | 0.062               |
| 170722 | 0.147                    | 0.762  | 1.606 | 2.185                | 0.242   | 0.571         | 0.112 | 0.322  | 0.624 | 0.066               |
| 170723 | 0.142                    | 0.759  | 1.619 | 2.180                | 0.250   | 0.580         | 0.111 | 0.327  | 0.616 | 0.069               |

WS-10218 (ZD-0218)-2002; 西红花苷-I 的量偏低是由于该中成药中西红花的用量最少。

### 3 讨论

#### 3.1 供试品制备条件选择

首先对加热回流时间进行了考察, 分别考察了 20、30、40、60、80 min, 根据测定结果优选 60 min, 结果表明加热回流 60 min 提取效率最高; 其次对提取溶剂进行了考察, 参考文献<sup>[6-7]</sup>优选乙醚和正丁醇; 最后对提取次数 (1、2、3、4、5、6 次) 进行了优化, 当提取 4 次时各成分达到峰值。

#### 3.2 色谱条件的选择

检测波长是根据文献和药典中各个成分的最大吸收波长确定, 分别确定了毛蕊异黄酮葡萄糖苷的检测波长为 260 nm<sup>[13]</sup>, 鲁斯可皂苷元的检测波长为 280 nm, 苦杏仁苷的检测波长为 210 nm, 人参皂苷 Rb<sub>1</sub> 和人参皂苷 Re 的检测波长为 203 nm, 阿魏酸的检测波长为 320 nm, 西红花苷 I 的检测波长为 440 nm<sup>[14]</sup>, 丹酚酸 B 的检测波长为 286 nm<sup>[15]</sup>, 11-羰基-β-乙酰乳香酸的检测波长为 250 nm, 丹参酮 II<sub>A</sub> 的检测波长为 270 nm。流动相重点考察了磷酸体系, 对有机相比比例, 磷酸浓度, 梯度洗脱程序进行了优化, 最终确定流动相 A 为甲醇-水 (8:2), 流动相 B 为 0.1% 磷酸水溶液。

在本实验的色谱条件下, 10 种指标成分毛蕊异黄酮葡萄糖苷、鲁斯可皂苷元、苦杏仁苷、人参皂苷 Rb<sub>1</sub>、人参皂苷 Re、阿魏酸、西红花苷-I、丹酚酸 B、11-羰基-β-乙酰乳香酸和丹参酮 II<sub>A</sub> 都得到了良好的分离, 空白也无干扰, 方法学验证符合要求, 建立的 HPLC-DVD 的方法操作简单、测定准确, 对于 SSLC 质量控制具有一定的意义。

#### 参考文献

- [1] 国家中成药标准汇编. 内科心系分册 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2002.
- [2] 高 森, 白 雪, 文柳静, 等. HPLC-DAD 变波长法同

时测定跌打止痛散中 6 种指标成分 [J]. 中草药, 2016, 47(16): 2863-2867.

- [3] 姜红宇, 刘焱琳, 蒋荣娜, 等. 基于 HPLC 波长切换联合梯度洗脱技术的越鞠片中 9 种主要成分定量研究 [J]. 中草药, 2017, 48(15): 3092-3097.
- [4] 刘昌孝, 陈士林, 肖小河, 等. 中药质量标志物 (Q-Marker): 中药产品质量控制的新概念 [J]. 中草药, 2016, 47(9): 1443-1457.
- [5] 张铁军, 许 浚, 韩彦琪, 等. 中药质量标志物 (Q-marker) 研究: 延胡索质量评价及质量标准研究 [J]. 中草药, 2016, 47(9): 1458-1467.
- [6] 李普衍, 韩晓萍. HPLC 法测定双参龙胶囊中人参皂苷 Rb<sub>1</sub> 的含量 [J]. 药物分析杂志, 2007, 27(3): 429-430.
- [7] 易延遂, 邓虹珠, 李跃辉, 等. 高效液相色谱法测定双参龙胶囊中人参皂苷 Re 含量的研究 [J]. 时珍国医国药, 2008, 19(4): 987-989.
- [8] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [9] 陈军辉, 谢明勇, 王慧琴, 等. 西洋参中人参皂苷类 HPLC 测定及其指纹图谱研究 [J]. 食品科学, 2005, 26(11): 200-206.
- [10] 尹春梅, 李秀昌, 孙佳明, 等. 西洋参中人参总皂苷含量的聚类分析 [J]. 吉林农业大学学报, 2010, 32(3): 289-292.
- [11] 孔 静, 于海云, 耿桂霞, 等. HPLC 法测定乳香药材中 11-羰基-B-乙酰乳香酸的含量 [J]. 齐鲁药事, 2007, 26(7): 403-404.
- [12] 陆 钺, 周盛会, 李 炜, 等. HPLC-DAD 同时测定黄芪生脉饮中 4 种成分含量 [J]. 中国中医药信息杂志, 2015, 22(7): 96-99.
- [13] 宋成英, 封加福. HPLC 同时测定黄芪药材中毛蕊异黄酮葡萄糖苷和黄芪甲苷 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(11): 115-117.
- [14] 杨博涵, 朱旭江. HPLC 法测定藏药仁青芒觉胶囊中西红花苷-I 和西红花苷-II 的含量 [J]. 中国民族民间医药, 2015, 24(20): 16-18.
- [15] 刘 栋, 宋晓红, 汤长明, 等. HPLC 法同时测定软肝缩脾丸中芍药苷和丹酚酸 B 的含量 [J]. 中国药房, 2017, 28(3): 416-418.