

状动脉作用的研究[J].上海第一医学院学报,1982,9:13-15.
[3] 石琳,吴婵群,杨毓麟,等.原儿茶醛对血小板聚集性和血小板内 cAMP含量的影响[J].苏州医学院学报,1982,2:1-3.
[4] 王莉萍.高效液相色谱法测定复方丹参片中丹酚酸 B 和丹参酮 A 的含量[J].医药导报,2007,26(10):1215-1216.
[5] 韩桂茹,张少杰,姚振林,等.丹七片中 4 种成分的 HPLC 定量测定[J].中成药,2005,27(11):1259-1263.
[6] 孙棣,刘文英,梁彩. HPLC 法同时测定丹参片中 4 种有效成分的含量[J].中国药科大学学报,2007,38(1):51-54.
[7] 饶毅,魏惠珍,崔金国,等. HPLC 法同时测定心可舒制剂中葛根素和丹酚酸 B 的含量[J].药物分析杂志,2007,27(9):1431-1433.

HPLC/MS测定桂林西瓜霜喷剂中的 4种有效成分

许海棠¹, 黄丽涵¹, 徐远金^{1,2*}
(1. 广西大学糖业工程技术研究中心,广西 南宁 530004; 2 广西亚热带生物资源保护利用重点实验室,广西南宁 530004)

关键词:桂林西瓜霜喷剂;苦参碱;小檗碱;黄芩苷;靛玉红;HPLC/MS法
摘要:目的:建立一种快速灵敏的同时测定桂林西瓜霜喷剂(西瓜霜,黄连,黄芩等)中的有效成分苦参碱、小檗碱、黄芩苷和靛玉红的液相色谱/质谱(HPLC/MS)方法。方法:采用 Zorbax SB C₁₈(3.0 mm ×250 mm, 5 μm)色谱柱,以含 0.5% 甲酸的水(A) 甲醇(B)体系为流动相进行线性梯度洗脱,梯度洗脱程序为:0~2 min, 60%B; 2~5 min, 60%→90%B; 5 min至结束, 90%B;流速:0.40 mL/min;在 ESI正离子模式下,采用选择性离子监测方法:0~3 min, m/z 249; 3~6 min, m/z 336; 6~10 min, m/z 447; 10~16 min, m/z 263。苦参碱在 0.020~10.0 μg/mL,小檗碱在 0.010~40.0 μg/mL,黄芩苷在 0.036~50.0 μg/mL,靛玉红在 0.040~4.00 μg/mL 范围内峰面积与浓度呈良好的线性关系;检出限分别为 0.005, 0.001, 0.006, 0.010 μg/mL。4种成分的加样回收率均在 96%~101%之间,相对标准偏差 RSD 小于 3%。结论:方法快捷、准确、重现性好,可为桂林西瓜霜喷剂的质量控制提供参考依据。
中图分类号:R927.2 文献标识码:A 文章编号:1001-1528(2009)01-0068-03

Simultaneous determination of four effective components in Guilin Watermelon Frost by HPLC-MS

XU Hai-tang¹, HUANG Li-han¹, XU Yuan-jin^{1,2*}
(1. Engineering Center for Sugar Cane and Cane Sugar, Guangxi University, Nanning 530004, China; 2 Guangxi Key Laboratory of Subtropical Biore-source Conservation and Utilization, Guangxi University, Nanning 530004, China)

KEY WORDS: Guilin Watermelon Frost; matrine; berberine; baicalin; indirubin; HPLC/MS
ABSTRACT: A M: To establish an HPLC-MS method for simultaneously determining four effective components in Guilin Watermelon Frost (*Mirabilium Praeparatum*, *Rhizoma Coptidis*, *Radix Scutellariae*, etc.). METHODS: The sample was extracted with methanol containing 20% chloroform under ultrasonication. The HPLC separation was performed on Zorbax SB C₁₈(3.0 mm ×250 mm, 5 μm) column using water including 0.5% formic acid (A) methanol (B) as mobile phase, with the gradient elution (0-2 min, 60%B; 2-5 min, 60%→90%B; 5 min to the end, 90%B), at a flow rate of 0.40 mL/min. The compounds were analyzed by ESI-MS under ion monitoring mode (0-3 min, m/z 249; 3-6 min, m/z 336; 6-10 min, m/z 447; 10-16 min, m/z 263). RESULTS: The linear ranges were 0.020-10.0 μg/mL, 0.010-40.0 μg/mL, 0.036-50.0 μg/mL and 0.040-4.00 μg/mL for matrine, berberine, baicalin and indirubin, with detection limits of 0.005, 0.001, 0.006 and 0.010 μg/mL, re-

收稿日期:2008-03-24
基金项目:广西自然科学基金资助项目(桂科自 0832034)
作者简介:许海棠(1975-),女,硕士研究生,从事中药分析研究。
*通讯作者:徐远金 Tel: (0771) 3272232 E-mail: yjxu@gxu.edu.cn

spectively. The average recoveries ranged from 96% to 101% with all relative standard deviations less than 3%.
CONCLUSION: The method is rapid, accurate and suitable for the quality control of the four effective components in Guilin Watermelon Frost

桂林西瓜霜喷剂是由西瓜霜、黄连、黄芩、贝母、木汉果等十四味中药研制而成的复方制剂,具有清热解毒、消炎止痛的功效。临床用于治疗口腔炎、口唇溃疡和急、慢性咽喉炎等疾病。目前,已有报道采用薄层扫描法测定该制剂中的靛玉红和苦参碱的含量^[1];采用气相色谱法测定冰片、薄荷脑的含量^[2]。还有文献采用了高效液相色谱法单独测定了该制剂中盐酸小檗碱的含量^[3]和黄芩苷的含量^[4],但同时测定该制剂中的苦参碱、小檗碱、黄芩苷和靛玉红含量的方法尚未见报道。为了快速、可靠地控制该制剂的质量,本试验建立了 HPLC/MS同时测定桂林西瓜霜喷剂中的这 4 种有效成分的方法。该法快捷、准确,适于该制剂的质量控制。

1 仪器与试剂

Agilent 1100 LC/MSD Trap SL 高效液相色谱-质谱联用仪(德国); Zorbax SB C₁₈ (3.0 mm × 250 mm, 5 μm) 色谱柱(美国 Agilent); Sartorius ME 215S 电子分析天平(德国); Waters pro plus 超纯水仪(美国 Labconco)。

甲醇(色谱纯, Fisher 公司), 其它试剂均为分析纯, 所有用水均为超纯水; 对照品苦参碱、盐酸小檗碱(含两个结晶水)、黄芩苷、靛玉红均购自中国药品生物制品检定所; 样品桂林西瓜霜喷剂为桂林三金药业股份有限公司生产, 规格: 2.5 g/每支, 批号分别为 061009, 061105, 061218。

2 方法与结果

2.1 溶液制备

2.1.1 对照品溶液 准确称取苦参碱、盐酸小檗碱、黄芩苷和靛玉红对照品适量, 用甲醇溶解苦参碱和黄芩苷, 配成浓度为 1.00 mg/mL 的对照品储备液; 用含 1% 盐酸的甲醇溶液溶解盐酸小檗碱, 配成以小檗碱计浓度为 1.00 mg/mL 的对照品储备液; 另外用含 20% 氯仿的甲醇溶液溶解靛玉红, 配成浓度为 0.040 mg/mL 对照品储备液。其他不同质量浓度的对照品溶液由储备液稀释得到。

2.1.2 供试样品溶液 准确称取桂林西瓜霜喷剂 0.200 g 置锥形瓶中, 加入 90 mL 含 20% 氯仿的甲醇溶液超声提取 30 min, 移入 100 mL 量瓶并定容。用时摇匀, 静置, 吸取上清液经 0.45 μm 的微孔滤膜过滤后作为供试品溶液。

2.2 色谱和质谱条件 采用 Zorbax SB C₁₈ (3.0 mm × 250 mm, 5 μm) 色谱柱, 以含 0.5% 甲酸的水(A) 甲醇(B) 为流动相进行线性梯度洗脱, 梯度洗脱程序为: 0 ~ 2 min, 60% B; 2 ~ 5 min, 60% → 90% B; 5 min 至结束, 90% B。流速为 0.40 mL/min; 柱温: 25 °C; 进样量: 5 μL。

电离源为电喷雾电离源, 采用正离子模式, 选择性离子监测程序: 0 ~ 3 min, m/z 249; 3 ~ 6 min, m/z 336; 6 ~ 10 min, m/z 447; 10 ~ 16 min, m/z 263。毛细管电喷雾电压: 4.5 kV; 雾化气(N₂): 34.8 kPa; 干燥气(N₂): 流速 10 L/min; 温度 325 °C。

在选定的色谱质谱条件下, 被测组分间可获得良好的分离, 对照品及样品色谱图见图 1。根据峰的保留时间及质谱信息进行定性, 其质谱特征离子图谱见图 2。从图 2 中, 可以看出苦参碱主要为 m/z 为 249 的 $[M + H]^+$ 峰, 小檗碱主要为 m/z 336 的 $[M + H]^+$ 峰; 黄芩苷主要为 m/z 447 的 $[M + H]^+$ 峰; 靛玉红主要为 m/z 263 的 $[M + H]^+$ 峰。因此, 分别选择 m/z 为 249, 336, 447 和 263 的离子进行分段监测。

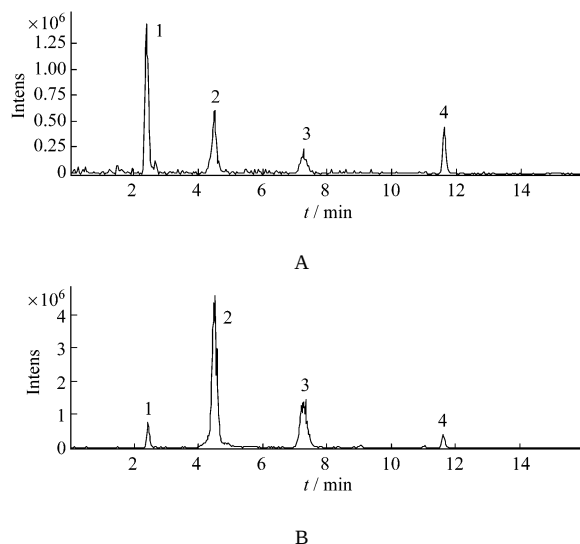


图 1 对照品(A)及样品(B)的选择性离子扫描色谱图
1 苦参碱 2 小檗碱 3 黄芩苷 4 靛玉红

2.3 线性关系考察 分别吸取对照品储备液适量, 以甲醇稀释配制成浓度为 0.020, 0.100, 0.500, 2.00, 5.00, 10.0 μg/mL 的苦参碱系列溶液; 浓度为 0.010, 0.050, 0.100, 1.00, 2.00, 10.0, 20.0, 30.0, 40.0 μg/mL 的小檗碱系列溶液; 浓度为 0.036,

0.360, 1.00, 10.0, 20.0, 30.0, 40.0, 50.0 $\mu\text{g/mL}$ 的黄芩苷系列溶液;浓度为 0.040, 0.100, 0.500, 1.00, 2.00, 4.00 $\mu\text{g/mL}$ 的靛玉红系列溶液。

取系列标准溶液各 5 μL 进样分析,记录各色谱

峰的峰面积。以各标准品的峰面积 (3次平均值)对其质量浓度 ($\mu\text{g/mL}$)进行线性回归,得到回归方程和相关系数。以信噪比等于 3 计,得到上述 4 种组分的检出限,均列于表 1。

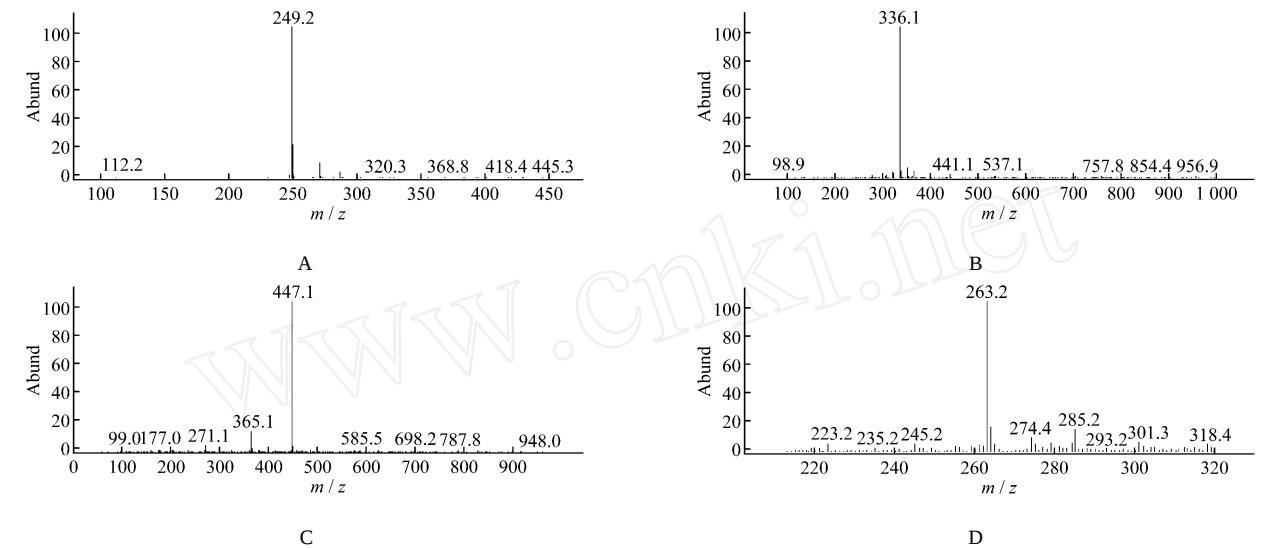


图 2 4种标准品的一级质谱图

A. 苦参碱 B. 小檗碱 C. 黄芩苷 D. 靛玉红

表 1 4种标准品的线性方程、相关系数及检出限 (n = 6)

化合物	线性回归方程	线性范围 / $(\mu\text{g/mL})$	相关系数 r	检出限 / $(\mu\text{g/mL})$
苦参碱	$Y = 3.87 \times 10^6 X + 3.44 \times 10^5$	0.020 ~ 10.0	0.999 1	0.005
小檗碱	$Y = 2.89 \times 10^6 X + 1.90 \times 10^7$	0.010 ~ 40.0	0.998 8	0.001
黄芩苷	$Y = 9.21 \times 10^5 X + 8.76 \times 10^5$	0.036 ~ 50.0	0.998 6	0.006
靛玉红	$Y = 8.70 \times 10^5 X - 5.56 \times 10^3$	0.040 ~ 4.00	0.998 6	0.010

2.4 精密度试验 取同一批样品 6 份,按 2.1.2 项下供试样品溶液的方法制备样品溶液,分别进样 5 μL ,测得苦参碱、小檗碱、黄芩苷和靛玉红含量的 RSD 分别为 2.7%, 2.1%, 1.0% 和 1.5%。表明方法精密度良好。

2.5 稳定性试验 取同一供试品溶液,分别于 0, 2, 4, 6, 8, 10 h 测定,记录色谱图。结果 4 种成分的含量的 RSD 均小于 2.5%,表明供试品溶液在 10 h 内稳定。

2.6 回收率试验 精密称取已知含量 (苦参碱 0.761 mg/g,小檗碱 7.06 mg/g,黄芩苷 14.1 mg/g,靛玉红 0.249 mg/g) 的桂林西瓜霜喷剂 0.100 g 共 9 份,3 份为一组,按低、中、高 3 个浓度分别加入标准品溶液,依 2.1.2 项下供试样品溶液的方法制备样品溶液进行测定,分别计算 4 种成分的平均回收率,结果见表 2。

表 2 回收率试验结果 (n = 3)

成分	样品含 量 /mg	对照品加 入量 /mg	测得总 量 /mg	平均回 收率 /%	RSD /%
苦参碱	0.076 1	0.060 0	0.136	99.8	1.9
		0.080 0	0.156	99.9	2.3
		0.100	0.176	99.9	2.3
小檗碱	0.706	0.500	1.20	98.8	1.7
		0.700	1.40	99.2	1.5
		0.900	1.59	98.2	2.6
黄芩苷	1.41	1.20	2.60	99.2	2.8
		1.40	2.82	100.7	2.6
		1.60	3.01	100.0	2.5
靛玉红	0.024 9	0.020 0	0.044 2	96.5	2.1
		0.025 0	0.049 3	97.6	1.8
		0.030 0	0.054 0	97.0	2.9

2.7 样品测定 分别精密吸取不同批号样品,按 2.1.2 项下供试样品溶液的方法制备样品溶液,每批样品进样 3 次,分别代入回归方程计算 3 批桂林西瓜霜喷剂样品中的 4 种有效成分的含量,结果见表 3。

表 3 样品含量测定结果 (n =3)

组分 批号	苦参碱		小檗碱		黄芩苷		靛玉红	
	含量	RSD	含量	RSD	含量	RSD	含量	RSD
	/ (mg/g)	/%	/ (mg/g)	/%	/ (mg/g)	/%	/ (mg/g)	/%
1	0. 761	2. 7	7. 06	2. 1	14. 1	2. 0	0. 249	2. 5
2	0. 748	2. 3	6. 75	1. 9	14. 0	1. 8	0. 268	2. 7
3	0. 782	2. 1	7. 28	2. 3	14. 3	2. 2	0. 239	2. 3

3 讨论

3.1 流动相的选择 曾选用甲醇-水及乙腈-水为流动相,试验结果表明使用甲醇-水体系作流动相时灵敏度明显高于乙腈-水体系。考察了将 0%~1.0%的甲酸溶液加入到流动相进行试验,发现酸度对黄芩苷、靛玉红的灵敏度影响较大;对苦参碱、小檗碱的灵敏度影响不大但对其色谱峰的对称性有明显改善,根据酸度试验结果确定流动相为含有 0.5%甲酸的甲醇-水溶液。

3.2 提取剂的选择 分别采用 50%、70%、100%甲醇超声提取 30 min,结果表明 100%甲醇对苦参碱、小檗碱和黄芩苷的提取率均较高,但靛玉红的提取率偏低。参考文献^[5,6],采用甲醇-氯仿(8/2)溶液,可增加靛玉红的提取率,因此,本试验在制备供试液时,采用含 20%氯仿的甲醇溶液进行超声提取,以保证靛玉红的提取率。

3.3 本试验采用液质联用技术建立了同时测定桂

林西瓜霜喷剂中的苦参碱、小檗碱、黄芩苷和靛玉红的含量的新分析方法,方法简便、快速、准确,可以为桂林西瓜霜喷剂的质量控制提供依据。

参考文献:

[1] 陈 勇,甄汉深,石勇新,等.薄层扫描法测定桂林西瓜霜喷剂中靛玉红和苦参碱的含量[J].中成药,1998,20(7):13-14.

[2] 邹节明,刘江林,伍德久,等.气相色谱法测定桂林西瓜霜中冰片及薄荷脑的含量[J].中草药,1997,28(6):343-345.

[3] 金 阳. HPLC法测定桂林西瓜霜喷雾剂中盐酸小檗碱的含量[J].现代中药研究与实践,2004,18(2):34-35.

[4] 路 玫. RP-HPLC法测定桂林西瓜霜喷剂中黄芩苷的含量[J].广西医学,2000,22(3):477-478.

[5] 周永梅,冯 鑫,王巨存,等. HPLC法测定结肠炎散 号中靛玉红的含量[J].天津药学,2007,19(5):22-23.

[6] 侯惠婵,梁少珍. HPLC法测定马蓝根、茎、叶中靛玉红、靛蓝的含量[J].中药材,2006,29(7):681-682.

HPLC测定不同厂家复方丹参片中三七皂苷 R₁ 和人参皂苷 Re、Rg、Rb₁ 含量

冯 中, 李晓燕, 刘 波, 霍务贞, 朱盛山, 吴燕红^{*}
(广东药学院,广东 广州 510006)

关键词:复方丹参片;三七皂苷 R₁;人参皂苷 Re;人参皂苷 Rg;人参皂苷 Rb₁;HPLC

摘要:目的:建立复方丹参片(丹参、三七、冰片)中三七有效成分的高效液相色谱测定方法。方法:采用 Kromasil C₁₈ (5 μm, 250 mm ×4.60 mm)色谱柱;流动相:乙腈-0.05%磷酸水溶液梯度洗脱(0~12 min:乙腈浓度为 22%;12~20 min:乙腈的浓度由 22%递升至 28%;20~60 min:乙腈的浓度由 28%递升至 43%);流速为 1 mL/min,检测波长为 203 nm。结果:三七皂苷 R₁ 和人参皂苷 Rg、Re、Rb₁ 的线性范围分别为 0.326~3.260 μg (r=0.999 7), 0.890~8.900 μg (r=0.999 8), 0.144~1.440 μg (r=0.999 6), 0.940~9.400 μg (r=0.999 8);平均加样回收率 (n=6) 分别为 99.08%, 98.36%, 97.54%, 96.07%, RSD 分别为 4.41%, 1.64%, 2.77%, 1.12%。结论:本测定方法简便可行、重复性好,可用于本制剂中三七多种有效成分的含量测定。

中图分类号:R927.2 文献标识码:A 文章编号:1001-1528(2009)01-0071-03

收稿日期:2008-04-02
基金项目:国家自然科学基金(30672670);国家科技部“十一五”支撑项目(2006BA D P B 08-02)
作者简介:冯 中(1983-),男,硕士研究生,从事中药新剂型新技术研究。Tel: (020) 393352541 E-mail: fengzhong22@163.com
^{*}通讯作者:吴燕红(1969-),高级工程师,从事中药新药研究和开发。Tel: (020) 39352541

