

度, 计算含量, 结果见表 5。

表 5 不同产地蔓生白薇药材中 C21 甙体总皂苷的含量测定结果

Tab. 5 Results of determination of total C21-steroidal-glycoside in *Cynanchum versicolor* Bge. from different areas

编号	产地	C21 甙体总皂苷/mg·g <sup>-1</sup>
1	云南	0.120
2	辽宁	0.116
3	山东	0.133
4	河南	0.117

#### 4 讨论

本实验针对流动相的选择, 分别考察了甲醇-水、乙腈-水、甲醇-磷酸及其缓冲液和乙腈-磷酸及其缓冲液系统对蔓生白薇提取物的分离效果, 最终选择乙腈-水为流动相, 并采用梯度洗脱的方法分离分析蔓生白薇中的甙体皂苷类化合物, 使得蔓生白薇苷 A 与其他色谱峰分离效果最好。

采用高效液相色谱法和分光光度法对不同产地蔓生白薇中蔓生白薇苷 A 和白薇 C21 甙体总皂苷的含量进行了测定。结果表明, 不同产地的蔓生白薇中蔓生白薇苷 A 及白薇 C21 甙体总皂苷的含量相差较大, 蔓生白薇苷 A 高者, 总皂苷不一定高, 反之亦然。因此, 不能单用蔓生白薇苷 A

或白薇 C21 甙体总皂苷来评价蔓生白薇的质量, 而只有两者均高者才是质量最佳。

该方法简便灵敏、准确可靠, 可作为蔓生白薇中蔓生白薇苷 A 和白薇 C21 甙体总皂苷的含量测定方法。

#### REFERENCES

- [1] State Administration of Traditional Chinese Medicine of the People's Republic of China. Chinese Materia Medica(中华本草) [M]. Shanghai: Shanghai Science Press, 1999: 330-333.
- [2] QI X P, NIE J, HOU C. The simple identification of several easy-mislead Chinese herbal medicine [J]. Lishizhen Med Mater Med Res(时珍国医国药), 2005, 16(5): 399-400.
- [3] REN J M. Identification of Radix Gentianae and Radix Cynanchi Atrati [J]. Henan J Tradit Chin Med(河南中医药), 2002, 17(6): 27.
- [4] WANG X X. Identification of 5 groups easy-mislead Chinese herbal medicine [J]. Lishizhen Med Mater Med Res(时珍国医国药), 2002, 13(2): 107.
- [5] XUE F R, CHEN Y L. Ultraviolet spectrum identification of Cynanchii Shauntunii Rhizoma et Radix, Radix Cynanchi Atrati, Radix Cynanchi Paniculati and easy-mislead Chinese herbal medicine [J]. Shandong J Tradit Chin Med(山东中医药), 1994, 13(8): 362.
- [6] Ch.P(2010)Vol I (中国药典 2010 年版. 一部)[S]. 2010: 103.
- [7] WANG H J, SI N, BIAN B L. Content determination of cynanchumside A in *Cynanchum versicolor* Bge. [J]. Chin J Exp Tradit Med Form(中国实验方剂学), 2005, 11(10): 5-6.

收稿日期: 2013-11-18

## HPLC 测定参茸珍宝片中特女贞苷的含量

郭培果(贵阳济仁堂药业有限公司, 贵阳 550005)

摘要: 目的 建立测定参茸珍宝片中特女贞苷含量的方法。方法 采用反相高效液相色谱法, 色谱柱为 Ultimate XB-C<sub>18</sub>-H (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 流动相为甲醇-水(38 : 62), 流速为 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, 检测波长为 224 nm, 进样量为 10 μL。结果 特女贞苷进样量在 0.053 44~1.603 3 μg 内与峰面积积分值线性关系良好( $r=0.999 9$ ); 平均加样回收率为 96.90%, RSD 为 0.93%。结论 该方法快速简便、准确可靠、重复性好, 可用于参茸珍宝片中特女贞苷的含量测定。

关键词: 参茸珍宝片; 特女贞苷; 高效液相色谱法; 含量测定

中图分类号: R917.101

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2014)10-1231-04

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2014.10.017

### Determination of Specnuezhenide in Shenrongzhenbao Tablets by HPLC

GUO Peiguo(Guiyang Jirentang Pharmaceutical Manufacture Co., Ltd., Guiyang 550005, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish an HPLC method of specnuezhenide content in Shenrongzhenbao tablets. METHODS Separation was performed on a Ultimate XB-C<sub>18</sub>-H column with methanol-water(38 : 62) as the mobile phase. The detection wavelength was 224 nm, the flow rate was 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, and the injection volume was 10 μL. RESULTS In the

作者简介: 郭培果, 男, 高级工程师 Tel: (0851)5400121-8804

E-mail: guozdq\_888@163.com

range of 0.053 44~1.603 3  $\mu\text{g}$ , the calibration curve showed good linearity( $r=0.999\ 9$ ). The average recovery of specnuezhenide was 96.90% and RSD was 0.93%. **CONCLUSION** The method is simple and reliable with good repeatability, which can be used for the determination of specnuezhenide in Shenrongzhenbao tablets.

**KEY WORDS:** Shenrongzhenbao tablets; specnuezhenide; HPLC; content determination

参茸珍宝片收载于《中成药成方制剂》第 15 册<sup>[1]</sup>, 全方由人参、鹿茸、珍珠、肉苁蓉、枸杞子、菟丝子、女贞子、褚实子等 12 味中药组成, 具有补肾壮阳, 益气益血, 安神明目, 乌发养颜, 强身健体, 延年益寿之功, 用于延缓衰老。宫玉柱等<sup>[2]</sup>曾以人参皂苷为指标报道过参茸珍宝片质量标准研究, 但由于人参打粉入药, 未能很好控制本品的提取工艺过程。方中女贞子为木犀科植物女贞 *Ligustrum Lucidum* Ait. 的干燥成熟果实, 具有滋补肝肾, 明目乌发之功, 用于肝肾阴虚, 眩晕耳鸣, 腰膝酸软, 须发早白, 目暗不明, 内热消渴, 骨蒸潮热<sup>[3]</sup>, 与本方功能主治相应, 故对女贞子建立含量测定指标具有重要意义。本实验建立了特女贞苷的 HPLC 含量测定方法, 方法学研究表明, 该法可操作性强, 检测灵敏度高、结果准确可靠、重复性好。

## 1 仪器与材料

### 1.1 仪器

LC-15C 高效液相色谱仪(日本岛津公司), 包括 LC-15C 输液泵, SPD-15C 检测器, CTO-15C 色谱柱温箱; WML-2010 威玛龙色谱数据工作站(南宁市威玛龙色谱科技有限公司); UV-1750 型紫外可见分光光度计(日本岛津公司); AUW120D 型电子天平(日本岛津公司); KQ-500VDB 双频数控超声波清洗机(昆山市超声仪器有限公司); 电热恒温水浴锅(天津市泰斯特仪器有限公司)。

### 1.2 试剂

特女贞苷对照品(中国食品药品检定研究院, 批号: 111926-201203, 供含量测定用, 以 96.4% 计); 参茸珍宝片(某公司, 批号: 20121101, 20121201, 20130101, 20130301, 20130401, 20130501, 20130502, 20130601, 20130701, 20130801); 甲醇、乙腈为色谱纯, 水为重蒸馏水; 其余试剂为分析纯。

## 2 方法与结果

### 2.1 对照品溶液的制备

取特女贞苷对照品 34.65 mg, 置 50 mL 量瓶中, 加 80% 甲醇溶解并定容至刻度, 摇匀, 制成对照品贮备液; 精密吸取 2 mL 贮备液, 置 25 mL

量瓶中, 加 80% 甲醇定容至刻度, 摇匀, 即得特女贞苷对照品溶液(每 1 mL 中含特女贞苷 53.44  $\mu\text{g}$ )。

### 2.2 供试品溶液的制备

取本品 20 片, 除去包衣, 精密称定, 研细, 取约 4 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 80% 甲醇 50 mL, 称定重量, 超声处理(功率 250 W, 频率 40 kHz)60 min, 取出, 放冷, 再称定重量, 用 80% 甲醇补足减失的重量, 摇匀, 滤过。精密量取续滤液 10 mL, 加在中性氧化铝柱(100~200 目, 4 g, 内径为 1 cm)上, 用 80% 甲醇 100 mL 洗脱, 收集流出液与洗脱液, 40  $^{\circ}\text{C}$  挥干, 残渣用 80% 甲醇适量使溶解, 并转移至 10 mL 量瓶中, 用 80% 甲醇定容至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

### 2.3 阴性对照溶液的制备

除女贞子药材外, 其余 11 味药材, 按 0.1 倍处方剂量及制法和工艺要求制备缺女贞子的阴性样品, 精密称取约 4 g, 置具塞锥形瓶中, 按“2.2”项下方法操作, 得阴性样品溶液。

### 2.4 色谱条件

以 Ultimate XB-C<sub>18</sub>-H(250 mm $\times$ 4.6 mm, 5  $\mu\text{m}$ ) 为色谱柱, 柱温为 30  $^{\circ}\text{C}$ ; 以甲醇-水(38:62)为流动相; 检测波长为 224 nm; 流速为 1.0 mL $\cdot$ min<sup>-1</sup>; 进样量 10  $\mu\text{L}$ 。

### 2.5 方法学考察

**2.5.1 系统适应性** 分别吸取对照品溶液、供试品溶液、阴性样品溶液各 10  $\mu\text{L}$ , 注入液相色谱仪, 按“2.4”项下色谱条件进行试验。结果特女贞苷保留时间约为 20.7 min; 特女贞苷理论板数 >5 000; 特女贞苷与其他组分的分离度 >1.5; 阴性溶液对测定无干扰。结果见图 1。

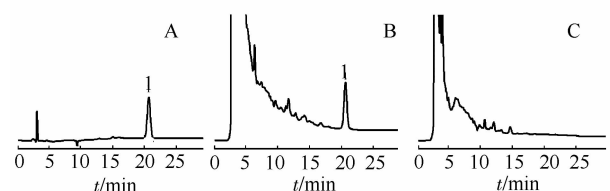


图 1 高效液相色谱图

A-对照品溶液; B-供试品溶液; C-空白样品溶液; 1-特女贞苷。

Fig. 1 HPLC chromatograms

A-sample solution; B-standard solution; C-blank solution; 1-specnuezhenide.

**2.5.2 线性关系考察** 分别精密吸取特女贞苷对照品贮备液 0.2, 0.5, 1, 2, 3, 6 mL 置 25 mL 量瓶中, 加 80% 甲醇定容至刻度, 吸取上述对照溶液各 10  $\mu$ L, 注入液相色谱仪, 按“2.4”项下色谱条件进行试验, 以峰面积为纵坐标, 进样量( $\mu$ g)为横坐标, 绘制标准曲线, 特女贞苷回归方程为:  $Y=1\ 278\ 603.975X+2\ 808.714(r=0.999\ 9)$ 。结果表明, 特女贞苷在 0.053 44~1.603 3  $\mu$ g 内具有良好的线性关系。

**2.5.3 仪器精密度试验** 精密吸取特女贞苷对照品溶液适量, 每次 10  $\mu$ L, 重复进样测定 6 次, 记录峰面积, 峰面积 RSD 为 0.89%, 表明仪器精密度良好。

**2.5.4 稳定性试验** 取样品适量, 按“2.2”项下方法制备供试品溶液, 室温下分别放置 0, 1, 2, 4, 6, 8, 10 h 进样测定, 记录峰面积, 结果峰面积的 RSD 为 0.73%, 表明在室温下 10 h 内具有良好稳定性。

**2.5.5 重复性试验** 取样品 6 份, 按“2.2”项下方法制备供试品溶液进行测定, 样品中特女贞苷的平均含量为 0.659 7  $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ , RSD 为 0.58%, 说明有良好的重复性。

**2.5.6 加样回收率试验** 精密吸取特女贞苷对照品贮备溶液 20 mL, 置于 500 mL 量瓶中, 用 80% 甲醇溶解并定容至刻度, 摇匀, 即得浓度为 0.026 72  $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$  的溶液。

取样品适量(含量为 0.659 7  $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ), 除去包衣, 精密称定, 研细, 混匀, 取样品 6 份, 每份约 2 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入浓度为 0.026 72  $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$  的特女贞苷对照品溶液 50 mL, 称定重量, 按“2.2”项下方法制备供试品溶液, 进样测定, 计算加样回收率, 结果见表 1。

表 1 回收率试验结果( $n=6$ )

Tab. 1 Results of recovery test( $n=6$ )

取样量/ g	样品含量/ mg	加入量/ mg	测得量/ mg	回收率/ %	平均回 收率/%	RSD/ %
1.985 9	1.310 1	1.336	2.595 6	96.22		
2.056 2	1.356 5	1.336	2.006 1	97.62		
2.045 1	1.349 2	1.336	2.642 5	96.81		
2.039 8	1.345 7	1.336	2.643 0	97.12	96.90	0.93
1.996 8	1.317 3	1.336	2.594 2	95.58		
2.032 5	1.340 8	1.336	2.650 6	98.03		

## 2.6 含量测定

按“2.2”项下方法制备供试品溶液, 按“2.4”项下色谱条件, 精密吸取对照品溶液和供试品溶液各 10  $\mu$ L, 注入液相色谱仪, 测定峰面积, 计算样品中特女贞苷的含量, 10 批样品中特女贞苷测定结果见表 2。

表 2 样品含量测定结果

Tab. 2 Results of content determination of samples

批号	特女贞苷 含量/ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$	RSD/ %	批号	特女贞苷 含量/ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$	RSD/ %
20121101	0.693 6	0.69	20130501	0.602 1	0.82
20121201	0.358 5	0.78	20130502	0.560 3	0.79
20130101	0.606 7	0.96	20130601	0.538 8	0.65
20130301	0.613 3	0.57	20130701	0.657 3	0.97
20130401	0.593 9	1.02	20130801	0.659 7	0.86

## 3 讨论

根据女贞子中化学成分性质<sup>[4]</sup>, 参考药典<sup>[3]</sup>及文献<sup>[5]</sup>, 对本品的提取方法进行考察。初步实验表明, 单纯的超声、回流提取, 供试品溶液基线不稳, 色谱峰分离不佳, 干扰大; 经反复实验, 在超声、回流等方法基础上, 利用中性氧化铝柱对提取液进行纯化处理后, 特女贞苷与杂质峰能较好的分离, 理论板数高、峰形好。故本实验供试品溶液的制备方法采用先超声提取, 再用中性氧化铝柱进行纯化的方法。

本研究曾考察了 4 种品牌色谱柱(Hypersil C<sub>18</sub>(250 mm $\times$ 4.6 mm, 5  $\mu$ m)、Diamosil C<sub>18</sub>(250 mm $\times$ 4.6 mm, 5  $\mu$ m)、Thermo C<sub>18</sub>(250 mm $\times$ 4.6 mm, 5  $\mu$ m)、Ultimate XB-C<sub>18</sub>-H(250 mm $\times$ 4.6 mm, 5  $\mu$ m))对特女贞苷的分离情况。结果各种不同品牌的色谱柱分离效果都好, 峰形完整, 峰对称性好, 经综合考虑后最终选择了 Ultimate XB-C<sub>18</sub>-H 色谱柱。

根据特女贞苷的性质<sup>[4]</sup>, 易溶于水、甲醇、乙醇等溶剂, 提取溶液的考察实验采用了不同浓度的含水甲醇和乙醇为提取溶媒, 结果 80% 甲醇溶液提取含量最高、效果最好, 故以 80% 甲醇溶液为本品的提取溶剂; 在洗脱溶剂的考察中, 试用了不同浓度的甲醇和乙醇, 结果 80% 甲醇溶液的洗脱效果最好, 故选择以 80% 甲醇溶液作为洗脱溶剂。

由文献<sup>[3,5]</sup>可知, 温度对特女贞苷有影响, 在干燥温度的选择中, 考察了自然挥干(室温), 40, 50, 60, 80  $^{\circ}\text{C}$  等不同的温度, 结果自然挥干与 40  $^{\circ}\text{C}$  挥干特女贞苷含量最高, 且两者相差不大, 为节

省时间, 将干燥温度定为 40 °C。同时, 本实验对甲醇-水、乙腈-水、甲醇-0.5%磷酸溶液等多个流动相系统进行考察, 发现相对于文献[5], 参茸珍宝片选择甲醇-水(38:62)的流动相, 理论板数高, 峰形好, 保留时间适中, 主峰与杂质峰完全分离。本实验所建立的检测方法可操作性强, 结果准确可靠、重复性好, 可作为参茸珍宝片质量控制方法。

## REFERENCES

[1] The Traditional Chinese Medicine Criterion of Ministry of

- Health Volumn 15(卫生部药品标准《中药成方制剂》第 15 册) [S]. 1998: 118.
- [2] GONG Y Z, PEI J Q. Study on quality standard of Shenrongzhenbao tablets [J]. Hebei J Tradit Chin Med(河北中医), 2010, 32(10): 1547-1550.
- [3] Ch.P(2010)Vol I (中国药典 2010 年版. 一部) [S]. 2010: 43.
- [4] HUANG X P, WANG W C. Chemical constituents of *Ligustrum lucidum* fruits: research advances [J]. J Int Pharm Res(国际药学研究杂志), 2011, 38(1): 47-51.
- [5] ZHU J, GU J Q. Determination of specnuezhenide in Qiyeling granules by HPLC [J]. China Pharm(中国药师), 2012, 15(9): 1272-1274.

收稿日期: 2014-01-14

# UPLC-MS/MS 测定抗风湿中成药中非法添加布洛芬、双氯芬酸钠和吲哚美辛

励炯, 朱健, 沈国芳, 裘一婧(杭州市食品药品检验研究院, 杭州 310017)

**摘要:** 目的 建立抗风湿中成药中非法添加布洛芬、双氯芬酸钠和吲哚美辛 3 种化学成分的 UPLC-MS/MS 检测方法。方法 以 BEH-C<sub>18</sub>(2.1 mm×100 mm, 1.7 μm) 色谱柱分离, 串联四级杆质谱仪检测, MRM 模式进行定性定量分析, 样品以甲醇为溶剂超声提取, 检测添加在中成药中的布洛芬、双氯芬酸钠、吲哚美辛 3 种化学成分。结果 3 种抗风湿性化学成分质谱检测的线性范围宽, 相关性好,  $r^2 \geq 0.9967$ ; 重复性 RSD 为 1.7%~4.7%; 方法回收率为 95.1%~104.2%; 定量限为 4.0~11 μg·mL<sup>-1</sup>; 日间精密度的 RSD( $n=9$ ) 为 1.7%~4.1%。结论 本方法专属性强, 操作简单, 快捷, 可作为中成药中非法添加布洛芬、双氯芬酸钠和吲哚美辛 3 种抗风湿性化学成分的有效检测方法。

**关键词:** 超高效液相色谱; 质谱; 中成药; 抗风湿; 非法添加

中图分类号: R917.101

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2014)10-1234-05

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2014.10.018

## Detection of Ibuprofen, Didofenac Sodium and Indometacin Illegally Added in Traditional Chinese Medicine Preparation by UPLC-MS/MS

LI Jiong, ZHU Jian, SHEN Guofang, QIU Yijing(Hangzhou Institute for Food and Drug Control, Hangzhou 310017, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To develop a UPLC-MS/MS method to determine ibuprofen, didofenac sodium and indometacin illegally added in traditional Chinese medicine preparation. **METHODS** The analysis was performed by a UPLC-MS/MS system of Waters ACQUITY UPLC/Quattro Premier, with BEH-C<sub>18</sub>(2.1 mm×100 mm, 1.7 μm) column. Multiple-reaction monitoring(MRM) was performed to identify and quantify ibuprofen, didofenac sodium and indometacin, which were extracted with methanol by ultrasonic. **RESULTS** Three linear calibration curves were obtained with  $r^2 \geq 0.9967$ . The precision of the method were showed by RSD ( $n=6$ ) ranged from 1.7% to 4.7%. The recoveries were determinated at three concentrations and ranged from 95.1% to 104.2%. The ranges of LOQ were from 4.0 μg·mL<sup>-1</sup> to 11 μg·mL<sup>-1</sup> and the RSDs ( $n=9$ ) of inter-day precision were from 1.7% to 4.1%. **CONCLUSION** The method is specific, simple and fast to detect ibuprofen, didofenac sodium and indometacin illegally added in traditional Chinese medicine preparation.

**KEY WORDS:** UPLC; MS; Chinese medicine preparation; anti-inflammatory; illegally added