

HPLC 法同时测定双石通淋胶囊中 8 个成分的含量

唐蕾¹, 刘伟¹, 陆静娴^{2*}

(1. 上海市徐汇食品药品检验所, 上海 200237; 2. 浙江省食品药品检验研究院, 杭州 310053)

摘要 目的: 建立 HPLC 法同时测定双石通淋胶囊中丹参素钠、京尼平苷酸、黄柏碱、丹酚酸 B、巴马汀、小檗碱、苍术素、丹参酮 II_A 8 个成分的含量。方法: 采用 Capcell Pak MG II C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) 色谱柱, 流动相为乙腈 - 0.1% 磷酸水 - 水 (含 0.1% 磷酸和 0.2% 三乙胺, pH = 6.0), 梯度洗脱, 流速为 1.0 mL · min⁻¹, 柱温为 30 °C, 进样量为 10 μL, 检测波长分别为 280 nm (0 ~ 13.4 min, 丹参素钠)、238 nm (13.5 ~ 17.0 min, 京尼平苷酸)、280 nm (17.1 ~ 51.0 min, 黄柏碱和丹酚酸 B)、345 nm (51.1 ~ 70.0 min, 巴马汀和盐酸小檗碱)、336 nm (70.1 ~ 78.0 min, 苍术素) 和 268 nm (78.1 ~ 90.0 min, 丹参酮 II_A)。结果: 丹参素钠、京尼平苷酸、黄柏碱、丹酚酸 B、巴马汀、小檗碱、苍术素、丹参酮 II_A 8 个成分在各自线性范围内线性关系良好, 相关系数均 ≥ 0.999 5; 精密度、稳定性、重复性试验的 RSD 均小于 2.0%; 平均回收率分别为 101.3%、98.2%、97.3%、98.1%、96.6%、97.9%、98.7%、99.6%, RSD 均小于 2.0%。3 批样品中上述 8 个成分的含量范围分别为 4.47 ~ 5.51、0.93 ~ 1.44、1.00 ~ 1.07、5.72 ~ 8.67、0.64 ~ 0.69、1.62 ~ 1.90、0.055 ~ 0.088、0.29 ~ 0.44 mg · g⁻¹。结论: 该方法快速、灵敏, 专属性高, 可用于同时测定双石通淋胶囊中 8 个成分的含量。

关键词: 双石通淋胶囊; 高效液相色谱法; 丹参素钠; 京尼平苷酸; 盐酸黄柏碱; 丹酚酸 B; 巴马汀; 小檗碱; 苍术素; 丹参酮 II_A

中图分类号: R 917 文献标识码: A 文章编号: 0254 - 1793 (2024) 08 - 1303 - 07
doi: 10.16155/j.0254 - 1793.2023 - 0592

Simultaneous determination of eight components in Shuangshi Tonglin capsules by HPLC

TANG Lei¹, LIU Wei¹, LU Jing - xian^{2*}(1. Shanghai Xuhui Institute for Food and Drug Control, Shanghai 200237, China;
2. Zhejiang Institute for Food and Drug Control, Hangzhou, 310053, China)

Abstract Objective: To establish an HPLC method for the simultaneous determination of eight components including salvianic acid A sodium, geniposidic acid, phellodendrine, salvianolic acid B, palmatine, berberine, atracylodin, tanshinone II_A in Shuangshi Tonglin capsules. **Methods:** The determination was performed on a Capcell Pak MG II C₁₈ column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) with the mobile phase consisting of acetonitrile - water (containing 0.1% phosphoric acid) - water (containing 0.1% phosphoric acid and 0.2% triethylamine, pH 6.0) in a gradient mode at a flow rate of 1.0 mL · min⁻¹. The column temperature was set at 30 °C, the injection volume

* 通信作者 Tel: 18067964207; E - mail: lujingxian1984@126.com
第一作者 Tel: (021) 54012622; E - mail: tanglei0530@126.com

was 10 μL , and the detection wavelength was 280 nm (0 – 13.4 min) for salvianic acid A sodium, 238 nm (13.5 – 17.0 min) for geniposidic acid, 280 nm (17.1 – 51.0 min) for phellodendrine, salvianolic acid B, 345 nm (51.1 – 70.0 min) for palmatine, berberine, 336 nm (70.1 – 78.0 min) for atracylodin and 268 nm (78.1 – 90.0 min) for tanshinone II_A. **Results:** Salvianic acid A sodium, geniposidic acid, phellodendrine, salvianolic acid B, palmatine, berberine, atracylodin, tanshinone II_A had good linearities in their respective linear ranges with all linear correlation coefficients ≥ 0.9995 and RSDs of the precision, repeatability and stability less than 2.0%. The average recoveries were 101.3%, 98.2%, 97.3%, 98.1%, 96.6%, 97.9%, 98.7%, 99.6%, with RSDs lower than 2.0%. The contents of the above eight components in three batches of samples was 4.47 – 5.51 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$, 0.93 – 1.44 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$, 1.00 – 1.07 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$, 5.72 – 8.67 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$, 0.64 – 0.69 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$, 1.62 – 1.90 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$, 0.055 – 0.088 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$, 0.29 – 0.44 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$, respectively. **Conclusion:** The proposed method is rapid, sensitive and specific, which can be used for determination the contents of eight components in Shuangshi Tonglin capsules.

Keywords: Shuangshi Tonglin capsules; HPLC; salvianic acid A sodium; geniposidic acid; phellodendrine; salvianolic acid B; palmatine; berberine; atracylodin; tanshinone II_A

双石通淋胶囊是在精研清代名医程钟龄“程氏草薺分清饮”处方的基础上,结合中药现代药理研究,利用现代制药技术和工艺研制而成,由粉萆薺、关黄柏、败酱草、青黛、滑石、车前子、石菖蒲、茯苓、苍术、丹参组成^[1],能够活血行气、清热解毒,具有消炎、镇痛和利尿的作用,有效缓解患者的热涩淋痛之症^[2]。方中关黄柏具有清热燥湿,泻火除蒸,解毒疗疮之功效^[3]¹⁵³,主要含有生物碱、内酯、酚酸、萜、苯丙素等化学成分^[4-5],其中生物碱类是关黄柏的主要活性成分,包含黄柏碱、巴马汀、小檗碱等^[6],具有明显的抗菌、抗炎、调节心血管系统疾病、免疫调节、降血糖等药理作用^[5];车前子具有清热利尿通淋、渗湿止泻、明目、祛痰之功效^[3]⁶⁹,主要含有多糖、苯乙醇苷、环烯醚萜、三萜、黄酮、甾醇及生物碱等类化学成分^[7],具有利尿、消炎、降血糖、降血压、调血脂、抗氧化和调节免疫等药理作用^[8];苍术具有燥湿健脾、祛风散寒、明目之功效^[3]¹⁶⁸,主要含有挥发油、糖、黄酮等类化学成分,具有抗炎、抗肿瘤、促进胃排空、抗胃溃疡等药理作用^[9-12];丹参具有活血祛瘀,通经止痛,清心除烦,凉血消痛之功效^[3]⁷⁷,主要含有丹参素、丹酚酸、丹酚酮等化学成分^[13-14],具有抗炎、抗氧化、抗凝血、抗纤维化、抗肿瘤和保护脏器药理作用^[15]。

双石通淋胶囊现行标准为国家食品药品监督管理局标准 YBZ00352008,该标准采用薄层扫描法测定盐酸小檗碱的含量,测定误差较大,不能很好地对

双石通淋胶囊中盐酸小檗碱的含量进行准确定量测定,目前未见双石通淋胶囊含量测定的其他报道。为有效控制该制剂的质量,本研究采用 HPLC 法同时测定制剂中丹参素钠、京尼平苷酸、黄柏碱、丹酚酸 B、小檗碱、巴马汀、苍术素、丹参酮 II_A 8 个成分的含量,为该制剂有效成分的测定及质量控制提供评价方法。

1 仪器与试药

1.1 仪器

Agilent 1260 型高效液相色谱仪 (Agilent Technologies 公司); CP224S 型万分之一、BP210D 型十万分之一电子分析天平 (赛多利斯科学仪器北京有限公司); SK7200HP 超声波清洗仪 (上海科导超声仪器有限公司)。

1.2 试药

对照品丹参素钠 (批号 110855 – 201915, 含量以 97.8% 计)、京尼平苷酸 (111828 – 201805, 含量以 98.1% 计)、盐酸黄柏碱 (111895 – 201805, 含量以 94.9% 计)、丹酚酸 B (111562 – 201917, 含量以 96.6% 计)、盐酸巴马汀 (110732 – 201812, 含量以 97.6% 计)、盐酸小檗碱 (110713 – 202015, 含量以 85.9% 计)、苍术素 (111924 – 201605, 含量以 99.8% 计)、丹参酮 II_A (110766 – 202022, 含量以 98.9% 计) 均购自中国食品药品检定研究院。乙腈为色谱纯,水为 Milli-Q 超纯水,其他所用试剂均为分析纯。3 批双石通淋胶囊样品批号依次为 221015、230207、

230305,生产厂家为陕西摩美得气血和制药有限公司。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

采用 Capcell Pak MGII_{C18} 色谱柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 流动相为乙腈(A) - 0.1% 磷酸水溶液(B) - 水(含 0.1% 磷酸、0.2% 三乙胺, pH 6.0)(C), 梯度洗脱, 洗脱程序见表 1, 流速为 1.0 mL · min⁻¹, 柱温为 30 °C, 进样量为 10 μL, 检测波长分别为 280 nm(0 ~ 13.4 min, 丹参素钠)、238 nm(13.5 ~ 17.0 min, 京尼平苷酸)、280 nm(17.1 ~ 51.0 min, 黄柏碱和丹酚酸 B)、345 nm(51.1 ~ 70.0 min, 巴马汀和小檗碱)、336 nm(70.1 ~ 78.0 min, 苍术素)和 268 nm(78.1 ~ 90.0 min, 丹参酮II_A)。

表 1 梯度洗脱程序

Tab. 1 Gradient elution procedure

时间 (time)/min	流动相比例(mobile phase ratio)/%		
	A	B	C
0 ~ 16	5 ~ 6.5	95 ~ 93.5	0
16 ~ 17	6.5	93.5 ~ 0	0 ~ 93.5
17 ~ 35	6.5 ~ 13	0	93.5 ~ 87
35 ~ 45	13 ~ 20	0	87 ~ 80
45 ~ 60	20 ~ 43	0	80 ~ 57
60 ~ 61	43 ~ 68	0	57 ~ 32
61 ~ 90	68 ~ 73	0	32 ~ 27

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液 精密称取丹参素钠、京尼平苷酸、盐酸黄柏碱、丹酚酸 B、盐酸巴马汀、盐酸小檗碱、苍术素、丹参酮 II_A 的对照品各适量, 分别加 75% 甲醇水溶液适量使溶解, 制成每 1 mL 含丹参素钠 5.526 mg、京尼平苷酸 1.452 mg、黄柏碱 1.255 mg、丹酚酸 B 9.902 mg、巴马汀 0.743 7 mg、小檗碱 2.565 mg、苍术素 0.056 99 mg、丹参酮 II_A 0.527 1 mg 的单一对照品储备液。精密吸取上述对照品储备液各 1.0 mL, 置同一 20 mL 量瓶中, 加 75% 甲醇水溶液稀释至刻度, 摇匀, 即得混合对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液 取 10 粒本品的内容物, 混匀, 研细, 取约 0.5 g, 精密称量, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 75% 甲醇水溶液 25 mL, 密塞, 称量, 超声(功率 360 W, 频率 28 kHz) 处理 30 min, 取出放冷, 再称

量, 用 75% 甲醇水溶液补足减失的量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

2.2.3 阴性样品溶液 按本品处方、制法, 分别制备缺少丹参、车前子、关黄柏及苍术的阴性样品, 按“2.2.2”项下方法制备各阴性样品溶液。

2.3 专属性试验

分别精密吸取“2.2”项下混合对照品溶液、供试品溶液及阴性样品溶液各 10 μL, 按“2.1”项色谱条件进行分析, 结果见图 1。供试品溶液色谱图中基线平稳, 8 个成分色谱峰峰形较好, 且与相邻峰的分度均 ≥ 1.5, 阴性样品溶液在 8 个成分相对应的保留时间位置无色谱峰出现。

2.4 线性关系考察

精密吸取“2.2.1”项的混合对照品溶液 0.2、0.5、1、2、3、5 mL, 分别置 5 mL 量瓶中, 加 75% 甲醇水溶液稀释至刻度, 摇匀, 按“2.1”项色谱条件进行分析。分别以各成分峰面积 A 为横坐标, 相应质量浓度 C (μg · mL⁻¹) 为纵坐标进行线性回归, 结果见表 2。

2.5 精密度考察

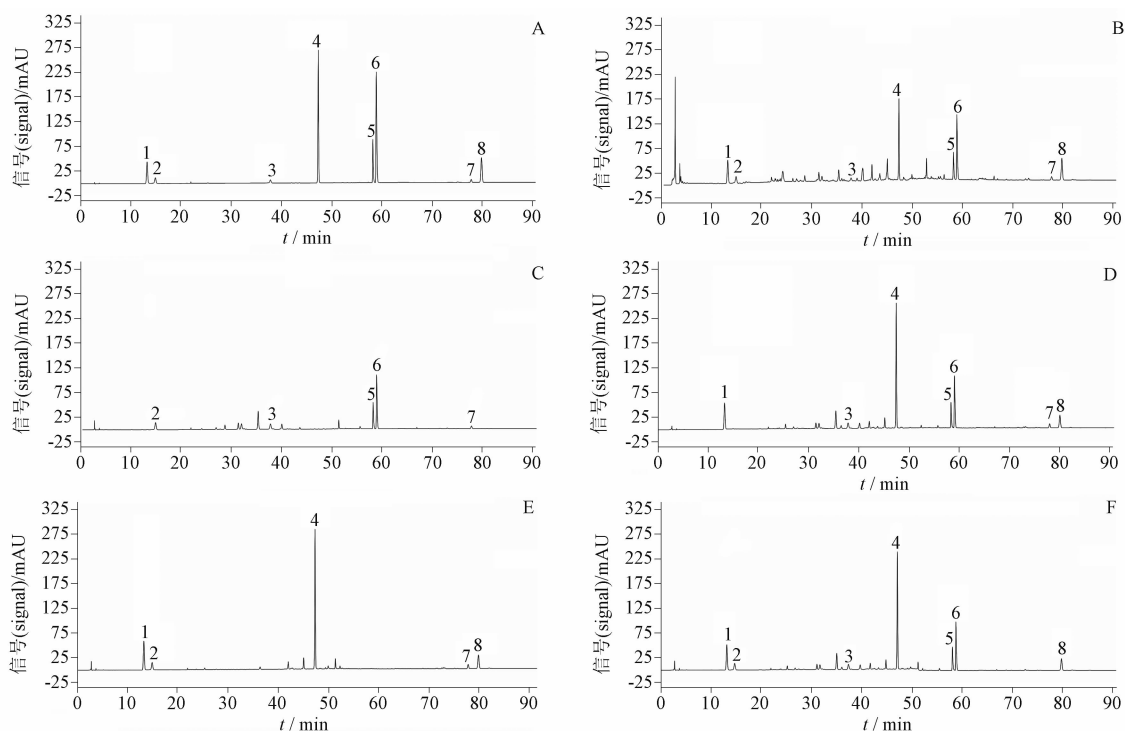
取“2.2.1”项下混合对照品溶液 3 mL, 置于 5 mL 量瓶中, 加 75% 甲醇水溶液稀释至刻度, 摇匀, 按“2.1”项色谱条件, 连续进样 6 次, 测定各成分的峰面积。结果丹参素钠、京尼平苷酸、黄柏碱、丹酚酸 B、巴马汀、小檗碱、苍术素、丹参酮 II_A 峰面积的 RSD 分别为 1.2%、1.7%、1.4%、0.56%、0.94%、0.70%、1.1%、0.74%, 表明仪器的精密度良好。

2.6 稳定性试验

取批号为 221015 样品的供试品溶液, 分别于制备后 0、6、12、18、24 h 进样分析, 记录色谱图的峰面积。结果丹参素钠、京尼平苷酸、黄柏碱、丹酚酸 B、巴马汀、小檗碱、苍术素、丹参酮 II_A 峰面积的 RSD 分别为 0.99%、1.8%、0.67%、1.3%、0.20%、0.26%、0.31%、0.74%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.7 重复性试验

取批号为 221015 的样品适量, 按“2.2.2”项下方法平行制备 6 份供试品溶液, 进样分析, 记录色谱图的峰面积, 按标准曲线计算样品中 8 个成分的含量及 RSD。结果样品中丹参素钠、京尼平苷酸、黄柏碱(按盐酸黄柏碱计)、丹酚酸 B、巴马汀(按盐酸巴马汀计)、小檗碱(按盐酸小檗碱计)、苍术素、丹参酮 II_A 的平均含量分别为 5.539、1.436、1.040、5.718、



1. 丹参素钠 (salvianic acid A sodium) 2. 京尼平昔酸(geniposidic acid) 3. 黄柏碱 (phellodendrine) 4. 丹酚酸 B(salvianolic acid B) 5. 巴马汀 (palmatine) 6. 小檗碱(berberine) 7. 苍术素 (atractylodin) 8. 丹参酮 II_A (tanshinone II_A)
 A. 混合对照品(mixed reference substances) B. 样品 (sample) C. 缺丹参的阴性样品 (negative sample without Salviae Mitiorrhizae Radix et Rhizoma)
 D. 缺车前子的阴性样品 (negative sample without Plantaginis Semen) E. 缺关黄柏的阴性样品 (negative sample without Phellodendri Amurensis Cortex) F. 缺苍术的阴性样品 (negative sample without Atractylodis Rhizoma)

图 1 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms

表 2 8 个成分的线性关系考察

Tab. 2 Results of liner relations for eight components

成分 (component)	回归方程 (regression equation)	<i>r</i>	线性范围 (linear range)/(μg · mL ⁻¹)
丹参素钠 (salvianic acid A sodium)	$C = 0.153\ 0A - 0.259\ 6$	0.999 5	11.05 ~ 276.3
京尼平昔酸 (geniposidic acid)	$C = 0.107\ 0A + 0.408\ 7$	0.999 7	2.904 ~ 72.60
盐酸黄柏碱 (phellodendrine hydrochloride)	$C = 0.142\ 3A - 0.667\ 4$	0.999 6	2.510 ~ 62.75
丹酚酸 B (salvianolic acid B)	$C = 0.081\ 94A - 0.558\ 5$	0.999 7	19.80 ~ 495.1
盐酸巴马汀 (palmatine hydrochloride)	$C = 0.025\ 69A - 0.080\ 23$	0.999 8	1.487 ~ 37.18
盐酸小檗碱 (berberine hydrochloride)	$C = 0.024\ 41A - 0.322\ 1$	0.999 7	5.130 ~ 128.2
苍术素 (atractylodin)	$C = 0.010\ 03A - 0.004\ 521$	0.999 9	0.114 0 ~ 2.850
丹参酮 II _A (tanshinone II _A)	$C = 0.010\ 97A - 0.155\ 4$	0.999 8	1.054 ~ 26.36

0.639 6、1.625、0.055 40、0.439 8 mg · g⁻¹, RSD 分别为 1.8%、0.81%、1.1%、1.6%、1.1%、1.3%、0.62%、0.81%，表明该方法的重复性良好。

2.8 加样回收率试验

取批号为 221015 的样品的内容物适量,混匀,研

细,精密称取 0.25 g,分别加入“2.2.1”项下的单一对照品储备液 0.26、0.26、0.20、0.15、0.22、0.16、0.25、0.21 mL,按“2.2.2”项下方法平行制备 6 份供试溶液,按“2.1”项下色谱条件进行测定,计算平均回收率和 RSD,结果见表 3。

表 3 加样回收率试验结果 ($n=6$)
Tab. 3 The results of recovery test

成分 (component)	称样量 (weight)/g	样品含量 (content)/mg	加入量 (added)/mg	测得量 (measured)/mg	回收率 (recover)/%	平均回收率 (average recovery)/%	RSD/ %
丹参素钠(salvianic acid A sodium)	0.251 3	1.392 0	1.436 8	2.851 9	101.6	101.3	0.42
	0.251 2	1.391 4	1.436 8	2.851 9	101.6		
	0.253 1	1.401 9	1.436 8	2.862 9	101.7		
	0.253 3	1.403 0	1.436 8	2.852 2	100.9		
	0.254 5	1.409 7	1.436 8	2.856 3	100.7		
	0.254 1	1.407 5	1.436 8	2.863 5	101.3		
京尼平苷酸(geniposidic acid)	0.251 3	0.360 9	0.377 5	0.724 2	96.1	98.2	1.8
	0.251 2	0.360 7	0.377 5	0.732 0	98.3		
	0.253 1	0.363 5	0.377 5	0.726 8	96.1		
	0.253 3	0.363 7	0.377 5	0.741 7	100.1		
	0.254 5	0.365 5	0.377 5	0.742 4	99.8		
	0.254 1	0.364 9	0.377 5	0.737 1	98.6		
黄柏碱(phellodendrine)	0.251 3	0.261 4	0.251 0	0.500 6	95.5	97.3	1.8
	0.251 2	0.261 2	0.251 0	0.504 3	97.0		
	0.253 1	0.263 2	0.251 0	0.507 9	97.6		
	0.253 3	0.263 4	0.251 0	0.512 9	99.4		
	0.254 5	0.264 7	0.251 0	0.513 7	99.3		
	0.254 1	0.264 3	0.251 0	0.502 9	95.3		
丹酚酸 B(salvianolic acid B)	0.251 3	1.436 9	1.485 3	2.886 2	97.5	98.1	0.81
	0.251 2	1.436 4	1.485 3	2.891 0	97.9		
	0.253 1	1.447 2	1.485 3	2.924 7	99.5		
	0.253 3	1.448 4	1.485 3	2.913 7	98.6		
	0.254 5	1.455 2	1.485 3	2.901 2	97.3		
	0.254 1	1.452 9	1.485 3	2.910 3	98.1		
巴马汀(palmatine)	0.251 3	0.160 7	0.163 6	0.317 2	95.6	96.6	1.7
	0.251 2	0.160 7	0.163 6	0.317 0	95.5		
	0.253 1	0.161 9	0.163 6	0.322 4	98.1		
	0.253 3	0.162 0	0.163 6	0.318 0	95.3		
	0.254 5	0.162 8	0.163 6	0.320 3	96.3		
	0.254 1	0.162 5	0.163 6	0.324 7	99.1		
小檗碱(berberine)	0.251 3	0.408 4	0.410 4	0.807 5	97.2	97.9	1.0
	0.251 2	0.408 2	0.410 4	0.809 7	97.8		
	0.253 1	0.411 3	0.410 4	0.812 3	97.7		
	0.253 3	0.411 6	0.410 4	0.807 9	96.6		
	0.254 5	0.413 6	0.410 4	0.819 8	99.0		
	0.254 1	0.412 9	0.410 4	0.820 1	99.2		
苍术素(atractylodin)	0.251 3	0.013 92	0.014 25	0.028 32	101.1	98.7	1.6
	0.251 2	0.013 92	0.014 25	0.028 01	98.9		
	0.253 1	0.014 02	0.014 25	0.027 93	97.6		
	0.253 3	0.014 03	0.014 25	0.028 19	99.4		
	0.254 5	0.014 10	0.014 25	0.028 23	99.2		
	0.254 1	0.014 08	0.014 25	0.027 82	96.4		
丹参酮II _A (tanshinoneII _A)	0.251 3	0.110 5	0.110 7	0.220 7	99.5	99.6	1.3
	0.251 2	0.110 5	0.110 7	0.218 9	97.9		
	0.253 1	0.111 3	0.110 7	0.220 3	98.5		
	0.253 3	0.111 4	0.110 7	0.221 4	99.4		
	0.254 5	0.111 9	0.110 7	0.224 2	101.4		
	0.254 1	0.111 8	0.110 7	0.223 1	100.6		

2.9 样品测定

取 3 批样品 (批号分别为 221015、230207、230305), 分别按“2.2.2”项下方法平行制备 2 份供试品溶液, 按“2.1”项下色谱条件测定各成分峰面

积, 根据回归方程计算各成分的含量 (其中本品每 1 g 含黄柏、小檗碱、巴马汀分别以盐酸黄柏碱、盐酸小檗碱、盐酸巴马汀计), 结果见表 4。

表 4 样品中含量测定结果
Tab. 4 Determination results of samples

批号 (lot No.)	含量 (content)/(mg · g ⁻¹ , n = 2)							
	丹参素钠 (salvianic acid A sodium)	京尼平苷酸 (geniposidic acid)	盐酸黄柏碱 (phellodendrine hydrochloride)	丹酚酸 B (salvianolic acid B)	盐酸巴马汀 (palmatine hydrochloride)	盐酸小檗碱 (berberine hydrochloride)	苍术素 (atractylodin)	丹参酮 II _A (tanshinone II _A)
221015	5.51	1.44	1.04	5.72	0.64	1.62	0.055	0.44
230207	4.58	0.93	1.00	6.78	0.61	1.63	0.074	0.29
230305	4.47	0.98	1.07	8.67	0.69	1.90	0.088	0.39

3 讨论

3.1 检测波长的选择

应用二极管阵列检测器在 200 ~ 400 nm 对丹参素钠、京尼平苷酸、黄柏碱、丹酚酸 B、巴马汀、小檗碱、苍术素、丹参酮 II_A 进行光谱扫描, 结果表明丹参素钠等 8 个成分最大吸收波长从 238 ~ 345 nm 相差极大, 因此, 本文采用相关成分的最大吸收波长作为检测波长: 丹参素钠 280 nm、京尼平苷酸 238 nm、黄柏碱和丹酚酸 B 280 nm、巴马汀和小檗碱 345 nm、苍术素 336 nm、丹参酮 II_A 268 nm。同时, 经二极管阵列检测器分析, 样品中的上述 8 个成分色谱峰均为纯的色谱峰。

3.2 色谱柱的选择

考察了 Kromasil C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm)、Capcell Pak MG II C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) 和 Agilent C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) 色谱柱对 8 个待测成分的影响, 以各成分与相邻色谱峰的分离度和峰形作为指标, 最终选择 Capcell Pak MG II C₁₈ 色谱柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm)。

3.3 流动相的选择

本试验对多种流动相系统进行了考察, 以乙腈 - 0.1% 磷酸进行梯度洗脱, 结果样品中巴马汀色谱峰与小檗碱色谱峰分离度较差; 以乙腈 - 0.2% 三乙胺进行梯度洗脱, 结果样品中巴马汀色谱峰与小檗碱色谱峰分离度大大增加, 但丹参素钠、京尼平苷酸、丹酚酸 B 与相邻杂峰的分离较差。最终, 采用乙腈 - 水 (含 0.1% 磷酸) - 水 (含 0.1% 磷酸、0.2% 三乙胺, pH 6.0) 作为流动相, 结果样品中 8 个待测成分与杂质峰

分离较好, 分离度均 ≥ 1.5。

3.4 提取方法与提取溶剂的选择

考察了不同提取溶剂 (乙醇、甲醇、75% 甲醇水、50% 甲醇水)、不同提取方法 (超声、回流)、不同提取时间 (20、30、45 min) 以及不同溶剂量 (20、25、50 mL) 对成分提取的影响, 发现 75% 甲醇水超声提取 30 min 时, 各成分基本能被提取完全, 故选择此条件作为供试品溶液的制备方法。

3.5 结论

本实验建立了 HPLC 法同时测定双石通淋胶囊中 8 个成分的含量, 方法准确, 重复性高, 3 批次样品测定结果详见表 4。但由于该制剂为独家品种, 样本量较少, 后期将继续收集样本积累数据, 为双石通淋胶囊质量标准的制修订提供技术支持。

参考文献

- [1] 方艳, 王保安, 赵争胜, 等. 双石通淋胶囊对大鼠细菌性前列腺炎的影响[J]. 中成药, 2016, 38(11): 2472
FANG Y, WANG BA, ZHAO ZS, *et al.* Effect of Shuangshi Tonglin capsules on bacterial prostatitis in rats[J]. *Chin Tradit Pat Med*, 2016, 38(11): 2472
- [2] 刘文洲, 焦曙民, 王保安. 双石通淋胶囊对非细菌性前列腺炎的作用[J]. 临床医学研究与实践, 2019, 4(13): 5
LIU WZ, JIAO SM, WANG BA. Effect of Shuangshi Tonglin capsules on non-bacterial prostatitis[J]. *Clin Res Pract*, 2019, 4(13): 5
- [3] 中华人民共和国药典 2020 年版. 一部[S]. 2020: 153, 69, 168, 77
ChP 2020. Vol I [S]. 2020: 153, 69, 168, 77
- [4] 刘江亭, 李慧芬, 崔伟亮. 川黄柏、关黄柏饮片和水煎液中 3

- 种生物碱含量的比较研究[J]. 山东中医药大学学报, 2013, 37(5): 437
- LIU JT, LI HF, CUI WL. Comparison of three kinds of alkaloid in decocting pieces and decoction of *Phellodendri Chinensis* Cortex and *Phellosendri Amurensis* Cortex[J]. *J Shandong Univ TCM*, 2013, 37(5): 437
- [5] 贾艾玲, 王仁广, 重雪莲, 等. 不同生长年限黄檗树枝与关黄柏中生物碱类成分相关性研究[J]. 中国兽药杂志, 2019, 53(4): 45
- JIA AL, WANG RG, ZHONG XL, *et al.* Study on the relationship between the alkaloids in the branches of *Phellodendron amurense* Rupr. and *Phellodendri Amurensis* Cortex in different growth years[J]. *Chin J Veterin Drug*, 2019, 53(4): 45
- [6] 李先宽, 冯杉, 郑艳超, 等. 黄柏与关黄柏的化学成分及生物活性研究进展[J]. 药物评价研究, 2019, 42(5): 1033
- LI XK, FENG S, ZHENG YC, *et al.* Research progress on chemical constituents and bioactivity of *Phellodendri Chinensis* Cortex and *Phellodendri Amurensis* Cortex[J]. *Drug Eval Res*, 2019, 42(5): 1033
- [7] 郑秀棉, 杨莉, 王峥涛. 车前子的化学成分与药理活性研究进展[J]. 中药材, 2013, 36(7): 1190
- ZHENG XM, YANG L, WANG ZT. Research progress on chemical composition and pharmacological activity of *Semen Plantaginis* [J]. *J Chin Med Mater*, 2013, 36(7): 1190
- [8] 李冲冲, 龚苏晓, 许浚, 等. 车前子化学成分与药理作用研究进展及质量标志物预测分析[J]. 中草药, 2018, 49(6): 1233
- LI CC, GONG SX, XU J, *et al.* Research progress on chemical composition and pharmacological effects of *Semen Plantaginis* and predictive analysis on Q - marker[J]. *Chin Tradit Herb Drugs*, 2018, 49(6): 1233
- [9] 邓爱平, 李颖, 吴志涛, 等. 苍术化学成分和药理的研究进展[J]. 中国中药杂志, 2016, 41(21): 3904
- DENG AP, LI Y, WU ZT, *et al.* Research progress on chemical composition and pharmacological effects of *Atractylodis Rhizoma* [J]. *China J Chin Mater Med*, 2016, 41(21): 3904
- [10] 于艳, 袁媛, 贾天柱, 等. 苍术炮制前后化学成分及药理作用研究近况[J]. 时珍国医国药, 2016, 27(1): 189
- YU Y, YUAN Y, JIA TZ, *et al.* Study on the changes of chemical components and pharmacological effects of raw and processed *Atractylodis Rhizoma* [J]. *Lishizhen Med Mater Med Res*, 2016, 27(1): 189
- [11] 毛坤, 向丽娟, 张虎, 等. 湖北茅苍术挥发性化学成分的研究[J]. 时珍国医国药, 2014, 25(11): 2622
- MAO K, XIANG LJ, ZHANG H, *et al.* Identification of involatile chemical components from *Atractylodes lancea* in Hubei Province [J]. *Lishizhen Med Mater Med Res*, 2014, 25(11): 2622
- [12] 刘利利, 刘颖新, 毛群芳, 等. HPLC法同时测定苍术-玄参药对中4种活性成分的含量[J]. 药物分析杂志, 2016, 36(1): 81
- LIU LL, LIU YX, MAO QF, *et al.* Simultaneous determination of four effective components in herbal pair rhizome of *Atractylodes lancea* - *Radix Scrophulariae* by HPLC [J]. *Chin J Pharm Anal*, 2016, 36(1): 81
- [13] 马晓晶, 杨健, 马桂荣, 等. 中药丹参的现代化研究进展[J]. 中国中药杂志, 2022, 47(19): 5131
- MA XJ, YANG J, MA GR, *et al.* Modernization of Chinese medicine *Radix Salviae Miltiorrhizae*: a review [J]. *China J Chin Mater Med*, 2022, 47(19): 5131
- [14] 纪国力, 周伟, 巴然然, 等. 双标多测法测定丹参配方颗粒中6个酚酸类成分[J]. 药物分析杂志, 2023, 43(8): 1326
- JI GL, ZHOU W, BA RR, *et al.* Determination of 6 phenolacids in *Danshen* formula granules by two reference substances for determination of multiple components method [J]. *Chin J Pharm Anal*, 2023, 43(8): 1326
- [15] 冯科冉, 李伟霞, 王晓艳, 等. 丹参化学成分、药理作用及其质量标志物(Q - Marker)的预测分析[J]. 中草药, 2022, 53(20): 609
- FENG KR, LI WX, WANG XY, *et al.* Chemical components and pharmacological action for *Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma* and predictive analysis on quality markers [J]. *Chin Tradit Herb Drugs*, 2022, 53(20): 609

(本文于2023年9月13日收到)