

- metabolite of racecadotril in human serum by LC/MS/MS and its application to relative bioavailability of two domestic preparation [J]. Chin Pharm J(中国药学杂志), 2008, 46(13): 1018-1021.
- [12] ZHONG D F, LI X Q, WANG A M, et al. Determination of captopril plus its disulfide metabolites in human plasma [J]. Acta Pharm Sin(药学报), 1998, 33(8): 605-609.
- [13] ZHENG W, QIN Y P, YU Q, et al. Study on the relative bioavailability of racecadotril dispersed tablet in healthy volunteers [J]. Mod Prev Med(现代预防医学), 2007, 34(4): 875-878.
- [14] CHEN X, MA Y M, ZHONG J. Research progress in double peak phenomenon of concentration-time curve [J]. Chinese J New Drugs Clin Remed(中国新药与临床杂志), 2012, 31(8): 432-437.
- 收稿日期: 2014-08-25

UHPLC-MS/MS 同时测定人血浆中辛伐他汀及其代谢产物

黄娟, 冯仕银, 王蓝天, 李楠, 杜晓琳, 雍小兰^{*} (中国人民解放军成都军区总医院临床药学科, 成都 610083)

摘要: 目的 采用 UHPLC-MS/MS 同时测定人血浆中辛伐他汀及其代谢产物辛伐他汀酸, 并研究辛伐他汀、辛伐他汀酸在人体内的药动学特征。方法 血浆样品以乙醚萃取, 采用 UHPLC-MS/MS 进行分析。色谱柱: Agilent ZORBAX SB-C₁₈ (100 mm×2.1 mm, 3.5 μm); 乙腈-1 mmol·L⁻¹ 醋酸铵(甲酸调 pH 4.5)为流动相梯度洗脱, 流速: 0.2 mL·min⁻¹。采用电喷雾离子源(ESI), 以多反应监测方式(MRM)进行定量分析。辛伐他汀和内标洛伐他汀在正离子模式下定量分析, 离子对分别为 m/z 419.4→199.3 和 m/z 405.3→199.3; 辛伐他汀酸和内标洛伐他汀酸在负离子模式下定量分析, 离子对分别为 m/z 435.5→115.2 和 m/z 421.4→101.2。结果 辛伐他汀和辛伐他汀酸的线性范围均为 0.2~50 ng·mL⁻¹ ($r>0.99$), 最低定量限均为 0.2 ng·mL⁻¹, 日内和日间精密度(RSD)均≤11.10%, 提取回收率均≥63.71%。结论 该方法专属性强、灵敏度高、重现性好, 适用于辛伐他汀的药动学研究。

关键词: 辛伐他汀; 辛伐他汀酸; 液质联用; 药动学

中图分类号: R917.101

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2015)03-0330-06

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2015.03.018

Determination of Simvastatin and Simvastatin Acid in Human Plasma by UHPLC-MS/MS

HUANG Juan, FENG Shiyin, WANG Lantian, LI Nan, DU Xiaolin, YONG Xiaolan^{*} (Department of Clinical Pharmacy, Chengdu Military General Hospital, Chengdu 610083, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To develop a UHPLC-MS/MS method for the simultaneous determination of simvastatin and its metabolite simvastatin acid in human plasma. **METHODS** The sample was extracted with diethylether and then separated on an Agilent ZORBAX SB-C₁₈ (100 mm×2.1 mm, 3.5 μm), with acetonitrile and 1 mmol·L⁻¹ ammonium acetate (pH was adjusted to 4.5 by formic acid) as mobile phase eluted by a gradient program at a flow rate of 0.2 mL·min⁻¹. Detection was performed with multiple reactions monitoring (MRM) using electrospray ionization (ESI). The positive ion scan mode was used to detect simvastatin and lovastatin (IS) while the negative ion scan mode was used to detect simvastatin acid and lovastatin acid (IS). The MRM transitions of m/z 419.4/199.3 and m/z 405.3/199.3 were used to quantify simvastatin and lovastatin while m/z 435.5/115.2 and m/z 421.4/101.2 were used to quantify simvastatin acid and lovastatin acid. **RESULTS** The calibration curves were linear over the concentration range of 0.2–50 ng·mL⁻¹ ($r>0.99$) with the lower limit of quantitation 0.2 ng·mL⁻¹. Both inter- and intra-day relative standard deviations were ≤11.10%. The extraction recoveries of simvastatin and simvastatin acid were ≥63.71%. **CONCLUSION** The UHPLC-MS/MS method is selective, sensitive, reliable and suitable for pharmacokinetic study of simvastatin.

KEY WORDS: simvastatin; simvastatin acid; UHPLC-MS/MS; pharmacokinetics

辛伐他汀是 3-羟基-3-甲基戊二酰 CoA 还原酶 (HMG-CoA) 抑制剂, 为降血脂药。其属于前体药物, 口服吸收到达肝脏后, 大部分转化为活性代

谢物辛伐他汀酸而发挥作用。辛伐他汀口服剂量较小, 血浆中干扰物质多, 药物浓度低, 因此对分析方法的检测灵敏度和选择性要求较高。目前测

作者简介: 黄娟, 女, 药师 Tel: (028)86570439 E-mail: huangjuanchj@qq.com
(028)86571275 E-mail: yongxlan@163.com

^{*}通信作者: 雍小兰, 女, 副主任药师 Tel:

定血浆中辛伐他汀的方法主要为 LC-MS/MS^[1-7], 本实验采用 UHPLC-MS/MS 在同一分析周期进行正负离子切换, 同时测定人血浆中辛伐他汀和辛伐他汀酸的含量, 分析时间短, 方法灵敏, 内标稳定, 血样需要量少, 专属性强, 可用于人体药动学及生物等效性研究。

1 仪器与试药

1.1 仪器

API3200 型三重四级杆质谱联用仪(美国 AB 公司); LC-20AD 液相色谱系统(日本岛津公司); AB135-S 型十万分之一电子分析天平(瑞士梅特勒-托利多公司); -80 °C 低温冰箱(中国海尔公司); Thermo ST16R 型冷冻离心机(美国热电); Turbo Vap 洛伐他汀型浓缩仪(美国 Caliper 公司); Milli-Q 超纯水机(美国 Millipore 公司)。

1.2 药品与试剂

辛伐他汀对照品(中国药品生物制品检定所, 批号: 100601-201003, 纯度: 99.0%); 辛伐他汀酸铵盐对照品(江苏恒瑞医药股份有限公司, 批号: P1072631, 纯度: 98%); 洛伐他汀对照品(中国药品生物制品检定所, 批号: 100600-201003, 纯度: 99.4%); 洛伐他汀酸钠盐对照品(Toronto Research Chemicals Inc, 批号: 18-MVI-65-2, 纯度: 99.5%); 乙腈、甲醇、甲酸为色谱纯, 其他试剂为分析纯; 水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: Agilent ZORBAX SB-C₁₈(100 mm×2.1 mm, 3.5 μm); 流动相: A 泵为 1 mmol·L⁻¹ 醋酸铵(甲酸调 pH 4.5), B 泵为乙腈。线性梯度洗脱: 0~0.1 min, B 泵 78%; 0.1~0.8 min, B 泵 78%→95%; 0.8~2.2 min, B 泵 95%→98%; 2.2~2.3 min, B 泵 98%→60%; 2.3~2.8 min, B 泵 60%→60%; 2.8~3.0 min, B 泵 60%→90%; 3.0~3.1 min, B 泵 90%→90%; 3.1~3.2 min, B 泵 90%→78%; 3.2~3.3 min B 泵 78%, 停止。流速: 0.2 mL·min⁻¹; 柱温: 40 °C; 进样量: 15 μL。

2.2 质谱条件

离子源: 电喷雾离子源(ESI), 同一分析周期进行正负离子切换(0~2.8 min 为负离子方式检测; 2.8~5.8 min 为正离子方式检测)。

辛伐他汀酸及其内标洛伐他汀酸采用负离子

方式检测, 离子喷射电压: -4 500 V; 温度: 500 °C; 源内气体 1(GS1, N₂)压力: 179.31 kPa; 气体 2(GS2, N₂)压力: 344.83 kPa; 气帘气体(N₂)压力: 227.59 kPa; 扫描方式为多重反应监测(MRM); 用于定量分析的离子对质荷比(*m/z*)分别为 435.5→115.2(辛伐他汀酸), 421.4→101.2(洛伐他汀酸), 解簇电压(DP)分别为-30 V 和-20 V; 碰撞能量(CE)分别为-35 eV 和-26 eV。

辛伐他汀及其内标洛伐他汀采用正离子方式检测, 离子喷射电压: 4 500 V; 温度: 500 °C; 源内气体 1(GS1, N₂)压力: 379.31 kPa; 气体 2(GS2, N₂)压力: 379.31 kPa; 气帘气体(N₂)压力: 275.86 kPa; 扫描方式为多重反应监测(MRM); 用于定量分析的离子对质荷比(*m/z*)分别为 419.4→199.3(辛伐他汀), 405.3→199.3(洛伐他汀), DP 均为 30 V; CE 均为 15 eV。此条件下, 对照品的二级全扫描质谱图见图 1。

2.3 溶液的配制

2.3.1 对照品储备液 分别精密称取辛伐他汀、辛伐他汀酸铵盐对照品适量, 甲醇溶解, 50%甲醇水定容, 分别得到浓度为 200 μg·mL⁻¹ 的辛伐他汀和辛伐他汀酸储备液。以 50%乙腈水稀释储备液制备混合标准工作储备液(含辛伐他汀: 2 500 ng·mL⁻¹, 辛伐他汀酸: 2 500 ng·mL⁻¹); 试验前按所需配制系列标准曲线混合工作液, 4 °C 保存备用。

2.3.2 内标溶液 分别精密称取洛伐他汀、洛伐他汀酸钠盐对照品适量, 甲醇溶解, 50%甲醇水定容, 分别得到浓度为 200 μg·mL⁻¹ 的洛伐他汀储备液和 600 μg·mL⁻¹ 的洛伐他汀酸储备液。以 50%乙腈水稀释储备液制备混合内标工作溶液(含洛伐他汀: 80 ng·mL⁻¹, 洛伐他汀酸: 400 ng·mL⁻¹), 4 °C 保存备用。

2.4 血浆样品处理

取血浆样品 200 μL, 加 50%乙腈水溶液 100 μL, 加入混合内标工作液 100 μL, 加入 0.1 mol·L⁻¹ HCl 100 μL, 充分混匀, 加入乙醚 4 mL, 漩涡混匀 5 min, 4 °C 低温离心 10 min(3 200 r·min⁻¹), 上层有机溶剂转至尖底玻璃试管, 40 °C 水浴通氮气流挥干, 残渣以复溶剂[乙腈: 1 mmol·L⁻¹ 醋酸铵(甲酸调 pH 4.5)]=1: 1]100 μL 复溶, 进样 15 μL, 用 UHPLC-MS/MS 进行分析。

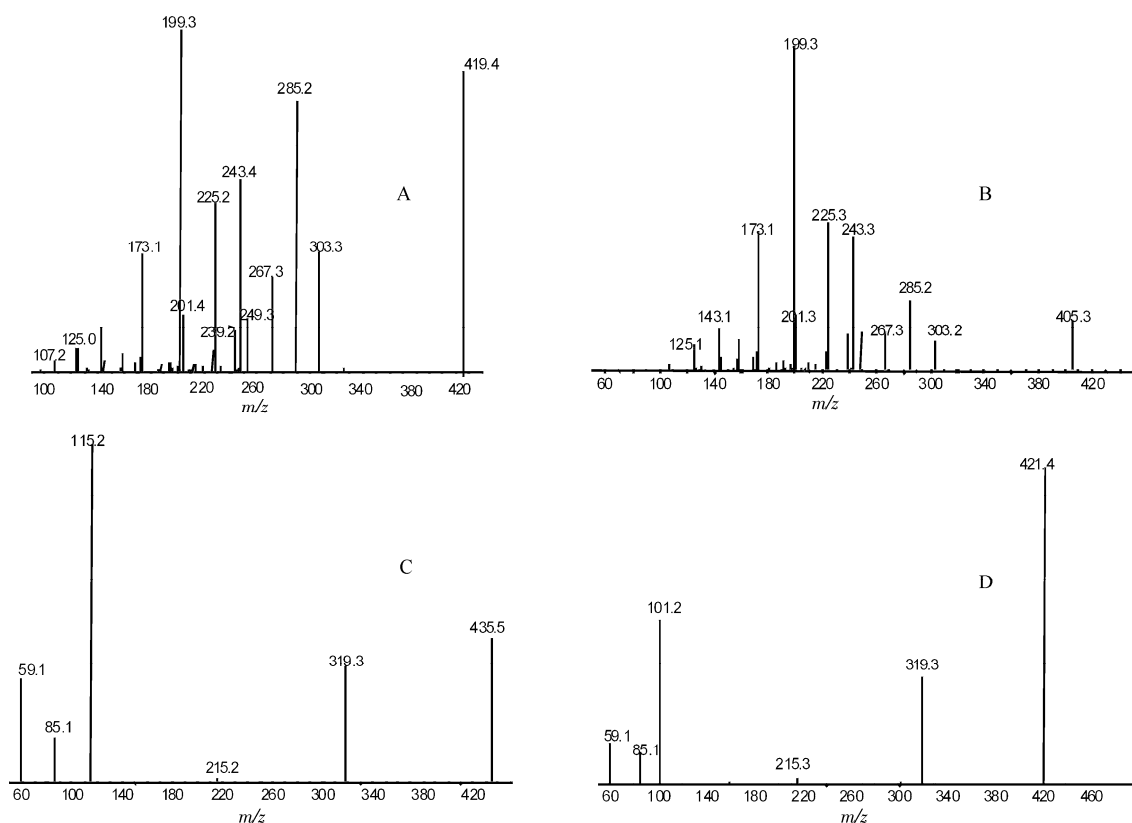


图1 辛伐他汀(A)、洛伐他汀(B)、辛伐他汀酸(C)和洛伐他汀酸(D)的二级全扫描质谱图

Fig. 1 Full-scan product ion spectra of simvastatin(A), lovastatin(B), simvastatin acid(C) and lovastatin acid(D)

2.5 标准曲线及最低定量限

于8份200 μL 空白血浆中分别加入100 μL 系列浓度的标准曲线混合工作液,配制成浓度分别为0.2, 1, 2.5, 5, 10, 20, 40, 50 $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的系列混合血浆标样(辛伐他汀、辛伐他汀酸浓度相同),按“2.4”项下方法处理。分别以辛伐他汀、辛伐他汀酸与相对应内标的峰面积比(Y)对血浆浓度(X)进行加权线性回归,求得辛伐他汀、辛伐他汀酸的线性回归方程分别为: $Y=0.014\ 8X+0.002\ 5$ ($r=0.997\ 5$), $Y=0.030\ 4X+0.003\ 2$ ($r=0.998\ 4$)。结果表明,辛伐他汀、辛伐他汀酸浓度在0.2~50 $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ 内线性关系良好,定量下限均为0.2 $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。辛伐他汀、辛伐他汀酸最低定量限的精密度的分别为4.88%和3.06%;准确度分别为:101.90%和91.08% ($n=6$)。

2.6 专属性

按“2.1”及“2.2”项下条件,辛伐他汀、内标洛伐他汀、辛伐他汀酸、内标洛伐他汀酸峰形良好,保留时间分别是:3.59, 3.03, 1.99, 1.76 min,血浆中无内源性杂质干扰测定,其色谱图见图2。

2.7 精密度和方法回收率

配制0.5, 10, 40 $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ 3种浓度的混合质控血浆样本,各6份,按“2.4”项下方法处理,根据当日标准曲线计算日内精密度和方法回收率;连续测定3 d,计算日间精密度。精密度结果见表1,方法回收率结果见表2。

表1 精密度试验结果

Tab. 1 Results of precisions

组 分	浓度/ $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$	日内精密度($n=6$)		日间精密度($n=3$)	
		测得浓度/ $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$	RSD/ %	测得浓度/ $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$	RSD/ %
辛伐他汀	0.5	0.48 $\pm$ 0.03	6.62	0.49 $\pm$ 0.05	11.10
	10	10.74 $\pm$ 0.44	4.07	9.99 $\pm$ 0.68	6.84
	40	40.85 $\pm$ 1.32	3.23	39.29 $\pm$ 2.24	5.70
辛伐他汀酸	0.5	0.49 $\pm$ 0.02	5.05	0.51 $\pm$ 0.05	9.95
	10	10.16 $\pm$ 0.48	4.73	10.46 $\pm$ 0.66	6.27
	40	41.49 $\pm$ 0.69	1.66	42.00 $\pm$ 2.17	5.17

2.8 提取回收率

配制0.5, 10, 40 $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ 3种浓度的混合质控血浆样本,各3份,按“2.4”项下方法处理,进样后记录峰面积 A_2 ,另取空白血浆样品9份,

按“2.4”项下方法操作提取空白基质，至通氮气流挥干后分别用低、中、高浓度的辛伐他汀/辛伐他汀酸混合标准工作液 100 μ L 各 3 份溶解进样，

记录色谱峰面积为 A_1 ；按公式提取回收率= $A_2/A_1\times 100\%$ ，分别计算 3 个浓度血浆质控样品的提取回收率，结果见表 2。

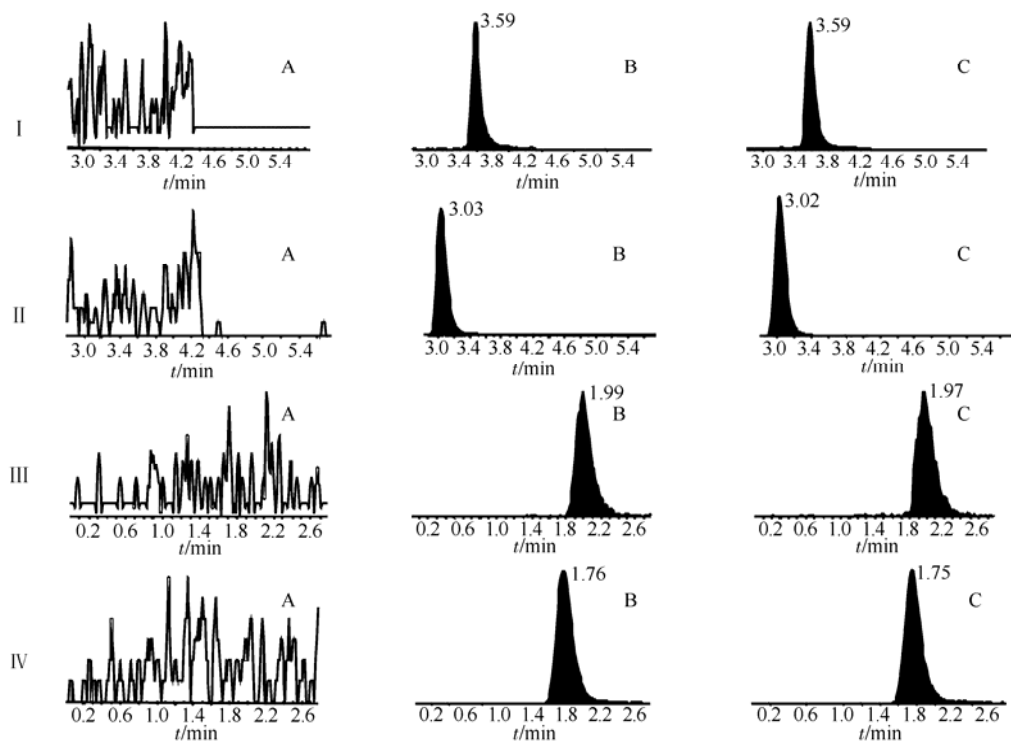


图 2 辛伐他汀(I)、洛伐他汀(II)、辛伐他汀酸(III)和洛伐他汀酸(IV)的典型色谱图

A-空白血浆；B-空白血浆加入对照品；C-血浆样品。

Fig. 2 Chromatograms of simvastatin(I), lovastatin (II), simvastatin acid(III) and lovastatin acid(IV)

A-blank plasma; B-blank plasma spiked with control; C-plasma sample.

表 2 提取回收率试验结果($n=3$)

Tab. 2 Results of recovery rate($n=3$)

组 分	浓度/ $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$	提取回 收率/%	RSD/ %	方法回 收率/%	RSD/ %
辛伐他汀	0.5	68.54 ± 1.93	2.77	96.33 ± 5.95	6.18
	10	67.03 ± 1.69	2.51	107.35 ± 4.37	4.07
	40	66.73 ± 1.80	2.70	102.13 ± 3.29	3.22
辛伐他汀酸	0.5	63.71 ± 4.66	7.31	98.27 ± 4.76	4.84
	10	66.60 ± 7.23	10.86	101.63 ± 4.80	4.73
	40	74.27 ± 5.99	8.07	103.73 ± 1.17	1.65
洛伐他汀	80	76.14 ± 1.15	1.51	/	/
洛伐他汀酸	400	66.22 ± 1.69	2.56	/	/

2.9 基质效应^[8]

取 6 个不同来源的空白血浆各 3 份共 18 份，按“2.4”项下方法提取空白基质，至通氮气流挥干后，分别用低浓度的辛伐他汀/辛伐他汀酸混合

标准对照液 100 μ L 溶解进样，记录色谱峰面积为 A ；相同浓度标准工作液和内标工作液分别直接进样所得峰面积为 B 。按公式 $A/B\times 100\%$ ，分别计算药物和内标的基质效应因子 MF_1 和 MF_2 ，按 MF_1/MF_2 计算内标归一化基质效应因子。辛伐他汀、辛伐他汀酸所得 6 个内标归一化基质效应因子的平均值分别为 1.06 和 1.33，变异系数分别为 5.15 %和 5.10 %，符合欧盟指导原则^[9]要求的 $\leq \pm 15\%$ 。

2.10 稳定性试验

配制 0.5, 10, 0 $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ 3 种浓度的混合质控血浆样本，本试验条件下，分别考察血浆样本反复冻融 3 次，室温放置 7 h，进样室放置(10 $^{\circ}\text{C}$)7 h 及-80 $^{\circ}\text{C}$ 放置 70 d 稳定性，数据结果见表 3。结果表明，辛伐他汀、辛伐他汀酸的混合血浆样品在上述考察条件下稳定，符合测定要求。

表 3 稳定性试验结果($n=3$, $\bar{x} \pm s$)

Tab. 3 Results of stability($n=3$, $\bar{x} \pm s$)

组 分	浓度/ $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$	反复冻融 3 次		室温 7 h		进样室放置(10 $^{\circ}\text{C}$) 7 h		-80 $^{\circ}\text{C}$, 70 d	
		浓度/ $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$	RSD/%	浓度/ $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$	RSD/%	浓度/ $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$	RSD/%	浓度/ $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$	RSD/%
辛伐他汀	0.5	0.48 $\pm$ 0.02	3.58	0.49 $\pm$ 0.05	10.00	0.46 $\pm$ 0.04	7.80	0.49 $\pm$ 0.03	6.83
	10	10.09 $\pm$ 0.22	2.16	10.56 $\pm$ 0.68	6.41	10.03 $\pm$ 0.48	4.79	10.16 $\pm$ 0.73	7.20
	40	38.26 $\pm$ 1.87	4.89	39.43 $\pm$ 1.53	3.89	38.86 $\pm$ 0.86	2.22	40.17 $\pm$ 2.91	7.25
辛伐他汀酸	0.5	0.51 $\pm$ 0.02	4.02	0.48 $\pm$ 0.03	5.83	0.48 $\pm$ 0.06	11.62	0.51 $\pm$ 0.04	8.33
	10	10.54 $\pm$ 0.25	2.36	10.04 $\pm$ 0.41	4.04	9.92 $\pm$ 0.56	5.59	10.16 $\pm$ 0.58	5.67
	40	40.99 $\pm$ 1.66	4.06	40.65 $\pm$ 1.60	3.94	39.40 $\pm$ 1.93	4.89	41.15 $\pm$ 1.63	3.95

3 方法应用

用本法测定 16 例健康志愿受试者辛伐他汀药物相互作用试验(试验经成都军区总医院伦理委员会批准)的辛伐他汀血浆样品。取受试者血浆 200 μL 按“2.4”项下方法操作,记录药物和内标的色谱峰面积,以药物与内标的峰面积比由当日标准曲线计算出血浆样品浓度。16 名健康志愿者单独口服辛伐他汀片后辛伐他汀和辛伐他汀酸的平均血药浓度-时间曲线见图 3。

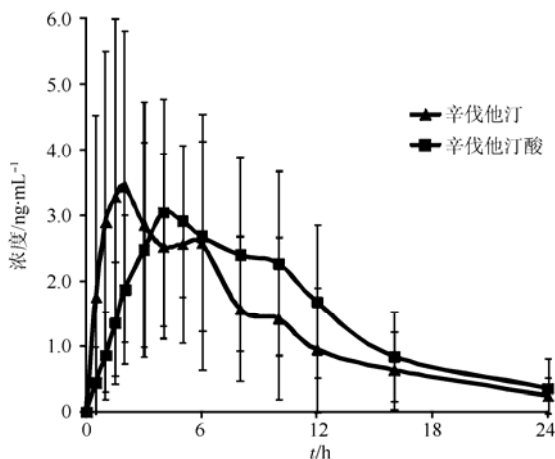


图 3 16 名健康志愿者口服辛伐他汀片后辛伐他汀和辛伐他汀酸的平均血药浓度-时间曲线

Fig. 3 Mean plasma concentration-time curves of simvastatin and simvastatin acid in 16 healthy volunteers after oral administration of simvastatin tablets

4 讨论

辛伐他汀在体内经肝脏代谢后,95%代谢为辛伐他汀酸发挥作用,血药浓度较低,采用一般的 HPLC 难以达到理想的测定结果,故本实验选择 UHPLC-MS/MS 同时测定血浆中的辛伐他汀及其活性代谢产物辛伐他汀酸的浓度。

本实验的最大特点是在同一分析周期内进行正负离子模式切换,进样一针即同时测得了辛伐他汀和辛伐他汀酸的浓度,检测时间短,检

测效率高。洛伐他汀和洛伐他汀酸分别作为辛伐他汀和辛伐他汀酸的内标,分别用正、负离子模式检测。在上述色谱条件下,药物与内标的色谱峰能达到完全分离,不受正负离子模式转换的影响,能确保定量的准确性。文献[5]也采用了正负离子模式,却是在 2 个模式下分别进样检测,与其相比,本实验方法更有优势。

血浆样品的预处理方法主要为液液萃取法,本实验筛选了多种萃取剂,最后选择酸化后用乙醚提取,药物和内标的提取回收率稳定且重现性好,能达到实验要求。与文献^[1,2,6]中使用的样本量相比,本实验所用的血浆量少,从 0.5~0.8 mL 减少到 0.2 mL,能满足检测的要求。

本实验建立了 UHPLC-MS/MS 同时测定人血浆中辛伐他汀和辛伐他汀酸。该方法分析时间短、灵敏、准确、专属性强,可用于辛伐他汀的人体药动学及生物等效性研究。

REFERENCES

- [1] TAO C L, XU F, XU Y, et al. Determination of simvastatin in human plasma by LC-MS/MS [J]. J Chin Mass Spec Soc(质谱学报), 2012, 33(2): 87-93.
- [2] LIU S J, CHU J H, JU W Z, et al. Pharmacokinetic and bioequivalence studies of simvastatin tablet in healthy volunteers by LC-MS/MS [J]. Chin J Clin Pharmacol Ther(中国临床药理学与治疗学), 2006, 11(7): 833-836.
- [3] WANG J, LIU S J, JU W Z. Determination of simvastatin in human plasma by LC/MS/MS [J]. China Pharm(中国药房), 2007, 18(5): 347-349.
- [4] GONG W W, LIU Y P, SHEN W J, et al. Determination of simvastatin in human plasma by LC-MS-MS and its application to pharmacokinetic study [J]. Chin J Pharm(中国药理学杂志), 2010, 8(1): 39-45.
- [5] ZHAI X J, LIU J M, SHI F, et al. Determination of simvastatin and its active metabolite simvastatin acid in rat plasma by HPLC-MS/MS [J]. Chin J Hosp Pharm(中国医院药学杂志), 2013, 33(2):121-125.
- [6] LIU M, HE J, WANG X L, et al. LC-MS/MS method for simultaneous determination of simvastatin and simvastatin

- acid in human plasma [J]. Chin J Pharm Anal(药物分析杂志), 2012, 32(8): 1339-1345.
- [7] YU X, ZHOU Z H, YUAN H Y, et al. Simultaneous determination of two constituents in Ezetimibe and Simvastatin tablets by HPLC [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2013, 30(9): 1008-1011.
- [8] WANG P, JIANG X H, WANG L. Assessment of matrix

effect in quantitative bioanalytical methods based on LC-MSⁿ [J]. Chin J New Drugs(中国新药杂志), 2011, 20(20): 1953-1956.

[9] European Medicines Agency(EMA), Committee for Medicinal Products for Human Use, Guideline on validation of bioanalytical methods [S]. 2009.

收稿日期: 2014-10-21

HPLC 测定枳术宽中胶囊中 4 种有效成分

胡冰, 王鼎峰(莆田市药品检验所, 福建 莆田 351100)

摘要: 目的 建立 HPLC 测定枳术宽中胶囊中 4 种有效成分的测定方法。方法 采用高效液相色谱仪, 色谱柱为 C₁₈ 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流速: 1 mL·min⁻¹, 柱温: 25 ℃, 应用梯度洗脱、双波长检测等方法, 对该制剂的 4 种有效成分(白术内酯 I、橙皮苷、柴胡皂苷 a、柴胡皂苷 d)进行定量分析。结果 白术内酯 I、橙皮苷、柴胡皂苷 a 和柴胡皂苷 d 的浓度分别在 33.75~540 μg·mL⁻¹($r=0.999\ 7$), 194.5~311.2 μg·mL⁻¹($r=0.999\ 5$), 131.68~2 106.84 μg·mL⁻¹($r=0.999\ 7$)和 17.08~273.32 μg·mL⁻¹($r=0.999\ 8$)内与峰面积呈良好的线性关系, 平均回收率分别为 99.58%, 99.41%, 99.77%, 99.86%。结论 本方法操作简便, 结果准确, 重现性好, 可用于枳术宽中胶囊的质量控制。

关键词: 枳术宽中胶囊; 白术内酯 I; 橙皮苷; 柴胡皂苷 a; 柴胡皂苷 d; 高效液相色谱法

中图分类号: R917.101

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2015)03-0335-05

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2015.03.019

Determination of Four Effective Ingredients in Zhizhukuanzhong Capsule by HPLC

HU Bing, WANG Dingfeng(Putian Institute for Drug Control, Putian 351100, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish a method for four effective ingredients in Zhizhukuanzhong capsule by HPLC.

METHODS The analysis was performed with C₁₈ column(250 mm×4.6 mm, 5 μm), the flow rate was 1.0 mL·min⁻¹, column temperature was maintained at 25 ℃, the methods using gradient elution, dual wavelength detection and so on, quantitatively determined the four components of the preparation. **RESULTS** Atractylenolide I, hesperidin, saikosaponin a and saikosaponin d showed the good linear relationship in the ranges of 33.75~540 μg·mL⁻¹($r=0.999\ 7$), 194.5~311.2 μg·mL⁻¹($r=0.999\ 5$), 131.68~2 106.84 μg·mL⁻¹($r=0.999\ 7$) and 17.08~273.32 μg·mL⁻¹($r=0.999\ 8$), and the average recoveries were 99.58%, 99.41%, 99.77% and 99.86%, respectively. **CONCLUSION** The method is simple, accurate, and reproducible. It can be used to control the quality of Zhizhukuanzhong capsule.

KEY WORDS: Zhizhukuanzhong capsule; atractylenolide I; hesperidin; saikosaponin a; saikosaponin d; HPLC

枳术宽中胶囊系由白术、枳实、柴胡、山楂 4 味中药经加工提取制成的复方制剂, 具有健脾和胃、理气消痞之功效, 用于胃痞(脾虚气滞), 症见呕吐、反胃、纳呆、返酸等, 以及功能性消化不良见上述症状者。方中白术健脾益气, 燥湿利水, 为君药; 枳实破气消积, 化痰散痞, 为臣药; 柴胡疏肝解郁, 升阳举气, 为佐使药^[1]。为更好控制该药品质量, 本实验以处方中 3 味药材各自的有效成分白术内酯 I、橙皮苷、柴胡皂苷 a、柴胡皂苷 d 为定量控制指标, 建立高效液相色谱测定方

法, 为该复方制剂提供更全面、有效的质量控制方法。

1 仪器、试剂与试药

1.1 仪器

LC-2010AHT 型高效液相色谱仪(日本岛津), UV-VIS 检测器, LC solution 色谱工作站; UV-2450 型紫外分光光度计(日本岛津); CPA 224S 型分析天平[赛多利斯科学仪器(北京)有限公司]; Elmasonic S150 实验室应用型超声波清洗器(德国 Elma 公司); 80-2 型离心沉淀器(上海手术器械厂)。

作者简介: 胡冰, 女, 主管药师 Tel: (0594)2601058 E-mail: bingbing0594@163.com