

基于UPLC法的定坤丹指纹图谱研究*

王楠^{1,2}, 高晓霞¹, 张爱荣³, 王佩义³, 秦雪梅^{1**}

(1. 山西大学中医药现代研究中心 太原 030006; 2. 山西大学化学化工学院 太原 030006;

3. 山西广誉远国药有限公司 太谷 030800)

摘要:目的 建立定坤丹的超高效液相色谱(ultra-high performance liquid chromatography, UPLC)指纹图谱,为其质量控制提供比较全面快速的评价方法。方法 采用Waters UPLC, Water Acquity UPLC® HSS T3 色谱柱(2.1 mm × 100 mm, 1.8 μm),以0.1%甲酸水-0.1%甲酸甲醇溶液为流动相梯度洗脱,流速0.2 mL·min⁻¹,检测波长280 nm,建立19批次定坤丹的UPLC指纹图谱。结果 建立了19批定坤丹样品的对照指纹图谱,确定了22个共有峰,经标准品化学对照及UPLC-MS确认共鉴别了其中8种成分,分别为没食子酸、5-羟甲基糠醛、芍药内酯苷、芍药苷、阿魏酸、甘草苷、黄芩苷和藁本内酯。19批供试品的指纹图谱全谱峰匹配的相似度均大于0.91,表明该复方总体质量较为稳定。结论 该指纹图谱方法科学、准确且简便,可以为定坤丹的内在质量控制提供科学依据。

关键词:定坤丹 UPLC 指纹图谱 质量控制

doi: 10.11842/wst.20181120001

中图分类号:R33

文献标识码: A

定坤丹是由红参、鹿茸、西红花、三七、白芍、熟地黄、当归、白术、枸杞子、黄芩、香附、菟藟子、川芎、鹿角霜、阿胶、延胡索等药味经加工制成的大蜜丸^[1]。可滋补气血,调经舒郁,用于气血两虚、气滞血瘀所致的月经不调、行经腹痛、崩漏下血、赤白带下、血晕血脱、产后诸虚、骨蒸潮热等症状,为治疗妇科疾病良方。相传定坤丹始创于清代乾隆四年,为乾隆帝所赐名,原为“宫闈专用圣药”,专供内廷使用。有学者认为定坤丹是据清时竹林寺僧《竹林女科证治》中的“补经汤”方加减而成,也有学者认为其是由《妇人大全良方》中的续嗣降生丹加减而成^[2],但其功用类似,现代研究中的临床观察实验也证明了定坤丹可用于改善常见的痛经^[3-5]、月经不调^[6-8]、多囊卵巢综合征^[9,10,14]、围绝经期综合征^[11](更年期综合征)、子宫内膜异位症^[12]等多种妇科疾病,还可以用于不孕不育^[13,14]、产后、术

后的疼痛缓解和身体调养^[15]以及活血化瘀等情况的改善。另外,通过对其药效指标和相关药理机制的探索研究还发现定坤丹的治疗作用可能与改善了卵巢和子宫器官中的性激素水平及部分生长因子的表达水平有关^[16],另外,定坤丹还可以增加子宫的血流灌注,从而改善其局部缺血情况,缓解患者的疼痛^[5]。

定坤丹的组方十分复杂,药味众多,现行2015版《中国药典》规定定坤丹的质量控制标准包括:对枸杞子、白术、甘草的显微性状鉴别;对当归、川芎、枸杞子、白芍、红参、三七对照药材以及芍药苷、人参皂苷Rb₁、人参皂苷Re、人参皂苷Rg₁、三七皂苷R₁对照品的薄层对照鉴别;含量测定项目中规定本品每丸含红参和三七以人参皂苷Rg₁计,不得少于3.0 mg^[1]。其中定性鉴别需要多次实验分别定性不同药材及对照品,步骤繁多复杂,显微鉴别对于蜜丸剂型也有一定的难

收稿日期:2018-11-20

修回日期:2019-10-10

* 山西省科技重点研发计划(201603D3113006):山西传统名优中成药龟龄集的二次开发,负责人:王佩义;地产中药功效物质研究与利用山西省重点实验室(201605D111004),负责人:秦雪梅;山西省科技创新重点团队(201605D131045-18):中药材品质评控与资源利用山西省科技创新团队,负责人:秦雪梅。

** 通讯作者:秦雪梅,教授,博士研究生导师,主要研究方向:中药质量控制与活性成分及中医药代谢组学。

点,另外现有的含量测定成分单一,仅限制了其中红参及三七药材的质量,对于药味众多的定坤丹复方并不能反映其质量全貌,因此目前药典中收录的标准可控性较低。经文献调研发现关于定坤丹质量的研究较少,多为薄层鉴别^[17-18]和显微鉴别^[19],且实验研究的年限相对久远,其中,较新的报道为张荣^[18]对定坤丹中西红花的薄层色谱研究,但也仅对其中一味西红花药材进行了限制。因此,目前定坤丹的质量研究还处于较为局限的现状,仍有待进一步发展和探索。

中药指纹图谱技术是借由现代的分析手段如色谱、光谱等技术,对中药进行较全面的表征,该手段得到的图谱中多个成分的含量、比例和化合物出现的先后顺序都是相对固定的,因此指纹图谱的标准具有整体性和全面性的特点^[20],可以相对全面地表征复杂组分的质量。目前,药典中已有三七总皂苷、丹参总酚酸提取物等中药提取物以及清开灵注射液、夏桑菊颗粒、桂枝茯苓胶囊等中药复方制剂收录了对照指纹图谱标准作为其质量控制的项目之一。

因此,为了从整体上综合分析评价定坤丹,可利用指纹图谱技术,综合反映不同生产批次定坤丹的稳定成分及主要成分差异,为其内在质量特征评价和等级分类提供科学依据。本文选用了应用广泛的超高效液相色谱技术建立了一种适用于定坤丹质量控制的指纹图谱检测方法,以期更完整地表征定坤丹的整体质量。

1 仪器与试剂

Waters Acquity UPLC H-Class 超高效液相色谱系统、Empower 工作站含四元梯度泵、自动进样器、PDA 检测器(Waters 公司),超高效液相色谱与质谱联用仪(Thermo Scientific Q Exactive UPLC-MS),美国 Thermo 公司 Water Acquity UPLC[®] HSS T3 色谱柱,超声清洗仪(KQ2200DB 型数控超声波清洗器,昆山市超声仪器有限公司),万分之一天平(CPA225D 电子分析天平,赛多利斯科学仪器有限公司)

定坤丹(批号:139170643、139170644、139170645、139170647、139170648、139170649、139170650、139170651、139170652、139170653、139170654、139170655、139170656、139170657、139170658、139170659、139170661、139170662、139170663,由山西广誉远国药集团有限公司提供);没食子酸(批号:20161220)、5-羟甲基糠醛(批号:

20170322)、芍药内酯苷(批号:20170110)、芍药苷(批号:20170115)、阿魏酸(批号:20170401)、甘草苷(批号:20161201)、黄芩苷(批号:20170515)、藁本内酯(批号:20170312)标准品,均购于江苏永健医药科技有限公司,超纯水由 Milli-Q Integral Water Purification System(美国 Millipore 公司)制备;甲醇、乙腈为色谱纯(美国 Fisher 公司);其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 供试品溶液制备

称取定坤丹大蜜丸约 1.00 g,精密称定,加等量硅藻土研磨成粉末后,转移至锥形瓶中加甲醇 50 mL 超声提取 30 min,提取液过滤,旋转蒸发仪蒸干溶剂后,加入甲醇定容至 10 mL,过 0.22 μm 微孔滤膜滤过,转移至液相小瓶,作为供试品溶液备用。

2.2 对照品溶液制备

取没食子酸、5-羟甲基糠醛、芍药内酯苷、芍药苷、阿魏酸、甘草苷、黄芩苷、藁本内酯对照品适量,精密称定,分别置容量瓶中,加甲醇制成浓度分别为 1 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ (没食子酸),0.1 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ (5-羟甲基糠醛),0.596 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ (芍药内酯苷),0.629 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ (芍药苷),0.118 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ (阿魏酸),1.002 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ (甘草苷),1.001 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ (黄芩苷),4 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ (藁本内酯)的对照品溶液。

2.3 色谱条件

Water Acquity UPLC[®] HSS T3 色谱柱(2.1 mm $\times$ 100 mm, 1.8 μm),流动相:A-0.1% 甲酸水;B-0.1% 甲酸甲醇,梯度洗脱:0-5 min,2%-7%B;5-16 min,7%-44%B;16-17.5 min,44%B;17.5-38 min,44%-85%B;38-41 min,85%-95%B,41-45 min,95%-2%B。检测波长:全波长扫描,流速:0.2 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$,柱温:30 $^{\circ}\text{C}$,进样量:5 μL 。

样本检测后首先得到全波长 3D 指纹图谱(见图 1),经过色谱峰对比以及峰个数、响应值的分析,发现 280 nm 处图谱(见图 2)基线平稳,峰个数较多,因此选择 280 nm 作为指纹图谱的检测波长,其中出峰稳定、峰面积较大且相应较高的 S 峰(见图 2)可以作为基准参照峰,以进行指纹图谱的分析。

2.4 方法学考察

2.4.1 精密度考察

取 S4 号样品按照 2.1 项下方法制备供试品溶液,连续进样 6 次,以 S 峰(见图 2)作为基准峰,测得各共

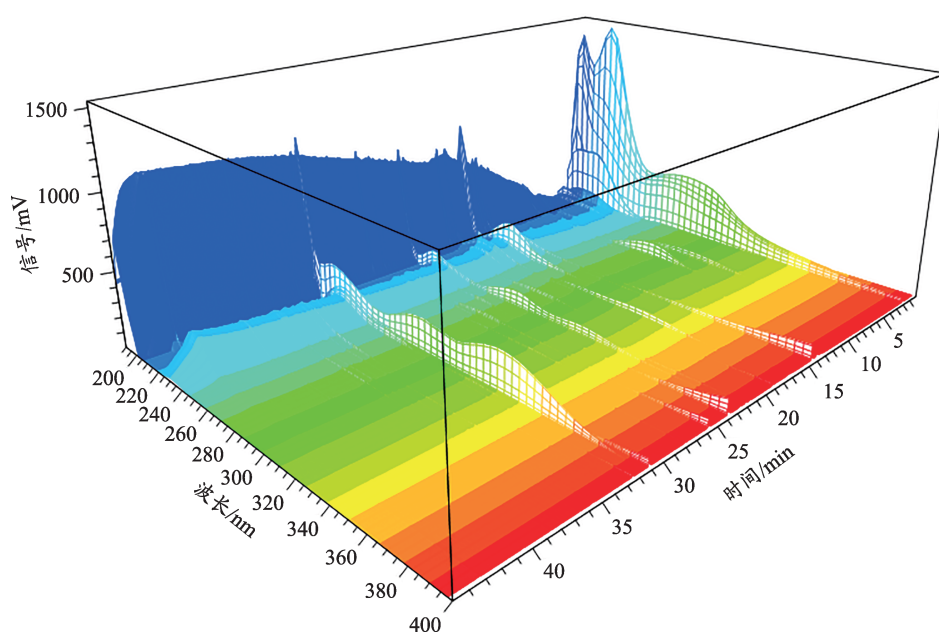


图1 定坤丹全波长3D指纹图谱(批号:139170647)

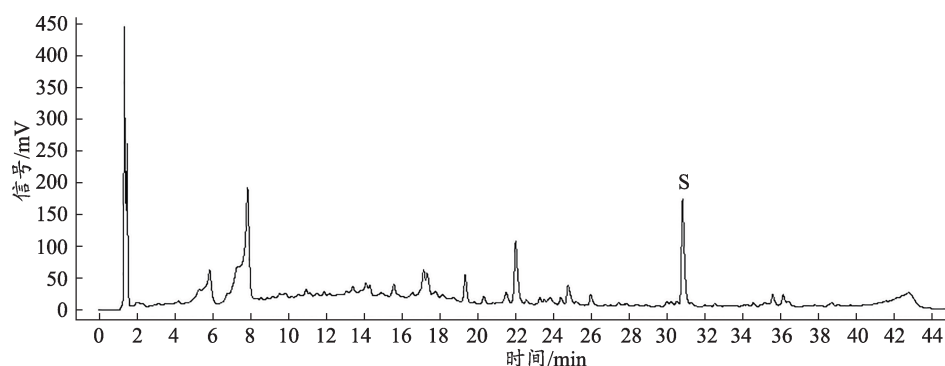


图2 定坤丹280 nm紫外波长下的指纹图谱(批号:139170647)

有峰相对峰面积相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)在3%以内且各共有峰相对保留时间的RSD均<0.5%;将6次进样图谱导入国家药典委员会推荐的《中药色谱指纹图谱相似度评价系统》(2008版)软件进行处理,与对照图谱相似度均>0.99,表明精密度良好。

2.4.2 重复性考察

分别取S4号样品6份,按照2.1项下方法平行制备6份供试品溶液,分别进样分析,以S峰(见图2)作为基准峰,测得各共有峰相对峰面积RSD在3%以内且各共有峰相对保留时间的RSD均<0.5%;将6份样品图谱导入国家药典委员会推荐的《中药色谱指纹图谱相似度评价系统》(2008版)软件进行处理,与对照图谱相似度均>0.99,表明重复性良好。

2.4.3 稳定性考察

取S4号样品按照2.1项下方法制备供试品溶液1份,分别在制备后0,2,4,6,8,10,12,24 h进样检测,以S峰(图2)作为基准峰,测得各共有峰相对峰面积RSD在3%以内,且各共有峰相对保留时间的RSD均<0.5%;将6次进样图谱导入国家药典委员会推荐的《中药色谱指纹图谱相似度评价系统》(2008版)软件进行处理,与对照图谱相似度均>0.99,表明稳定性良好。

2.5 样品测定与指纹图谱结果

2.5.1 样品测定与共有峰的标定

取19批定坤丹样品按照2.1项下方法制备成供试品溶液,于2.2项色谱条件下进行分析,得到19批次复方的UPLC指纹图谱叠加图(图3)。以上述19批次样品的色谱谱图为基础,使用药典委员会推荐的《中药

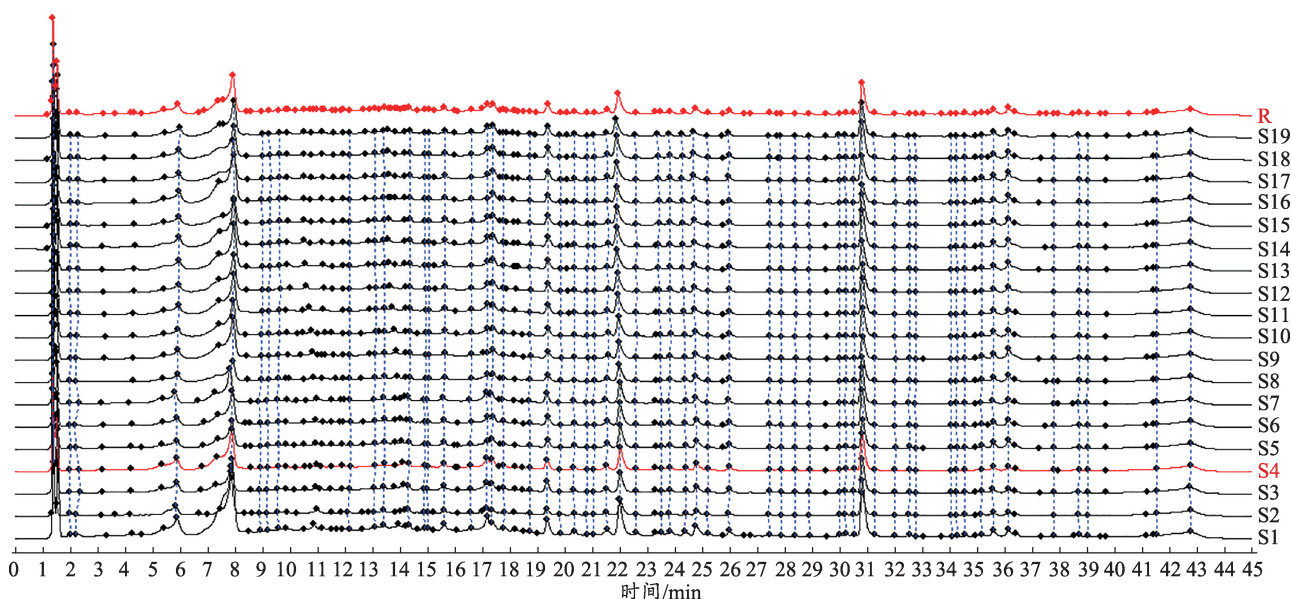


图3 19批定坤丹UPLC指纹图谱

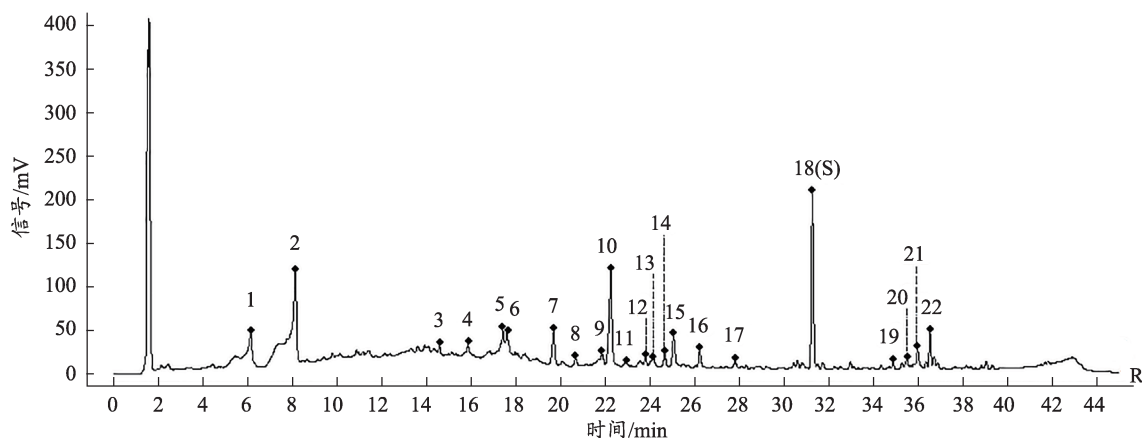


图4 定坤丹UPLC对照指纹图谱

色谱指纹图谱相似度评价系统》(2008版)进行数据处理,其中S4(139170647)批次样品的色谱峰分离度和峰形较好,基线平整,因此选择该样品图谱作为参照指纹图谱。为防止极端数据对分析结果的影响,选择平均数法作为对照指纹图谱的生成方法,使用多点校正的方法对色谱峰进行全谱峰匹配,处理得到共有模式特征图谱,即为定坤丹对照特征图谱R(见图4)。

根据得到的指纹图谱结果,选择图谱中含量较高且分离度较好的色谱峰作为共有峰,共标定出22个共有峰并将其作为定坤丹的指纹图谱共有峰。

2.5.2 相似度的计算

将得到的19批复方的UPLC指纹图谱全部导入《中药色谱指纹图谱相似度评价系统》(2008版),生成

对照指纹图谱,并计算各批次样品与标准对照图谱之间的相似度,相似度结果见表2,全谱峰匹配结果表明19批次定坤丹与对照图谱间的相似度均大于0.91,表明这19批次定坤丹质量较为均一稳定。

2.5.3 化学成分的指认

本研究采用对照品和液质联用技术对各共有色谱峰进行了化学成分的指认,经过保留时间、紫外光谱及质谱碎片信息进行比对,最终确认了其中8个色谱峰,其中1号峰为没食子酸,2号峰为5-羟甲基糠醛,3号峰为芍药内酯苷,4号峰为芍药苷,5号峰为阿魏酸,6号峰为甘草苷,10号峰为黄芩苷,基准峰S即18号峰为藁本内酯,对照品图谱见图4,其质谱碎片信息结果见表1。

表1 定坤丹指纹图谱相似度评价结果

样品批次	编号	相似度	样品批次	编号	相似度
139170643	S1	0.978	139170654	S11	0.991
139170644	S2	0.926	139170655	S12	0.991
139170645	S3	0.964	139170656	S13	0.987
139170647	S4	0.994	139170657	S14	0.987
139170648	S5	0.976	139170658	S15	0.918
139170649	S6	0.988	139170659	S16	0.948
139170650	S7	0.989	139170661	S17	0.973
139170651	S8	0.913	139170662	S18	0.976
139170652	S9	0.978	139170663	S19	0.981
139170653	S10	0.991			

3 讨论

在考察定坤丹备样条件时,对比了超声及回流提取2种提取方法,发现色谱结果基本无差异,因此选择操作相对简便的超声提取法;同时还考察了不同提取溶剂(甲醇,50%甲醇,水)对其成分检测的影响,各提取物检测后以色谱峰个数及峰面积等因素作比较,最

终选择了峰个数较多、整体响应较高的甲醇提取物作为供试品溶液;另外在检测波长的选择方面,采用紫外检测器在190–400 nm范围内全波长扫描供试品溶液,经对比发现在280 nm下样品溶液色谱峰相对较多且基线平稳,峰型良好,故最终选择了280 nm作为检测波长。

广誉远国药有限公司为本实验提供了19批次定坤丹,通过对样本的检测和相似度等结果分析,表明这19批次定坤丹大蜜丸相似度较高,没有明显差异,反映了广誉远公司在生产定坤丹时的原料投入、制作工艺及厂房条件等方面都比较稳定,可以保证所生产药品的稳定和均一。

经前期文献调研发现,目前对于定坤丹的研究主要集中在临床观察实验和药效实验部分,但对于定坤丹的成分和质量研究方面还处于相对空白的状态。对药效及临床作用的深入探索可以作为指导定坤丹临床应用的科学依据,但无法对定坤丹复方本身的质量进行良好的控制,因此,建立适用于定坤丹复方的

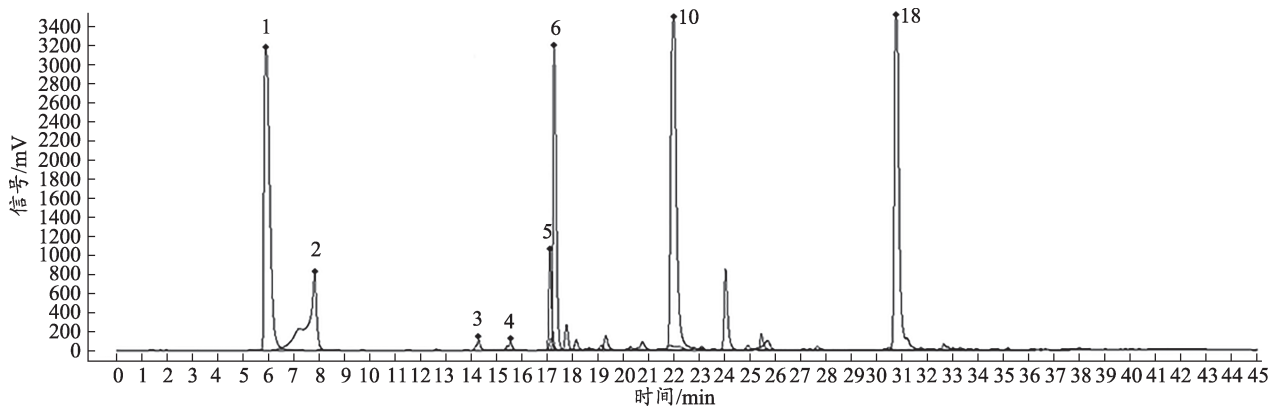


图5 对照品图谱

注:1号峰为没食子酸,2号峰为5-羟甲基糠醛,3号峰为芍药内酯苷,4号峰为芍药苷,5号峰为阿魏酸,6号峰为甘草苷,10号峰为黄芩苷,18号峰为蒙本内酯

表2 定坤丹中鉴定出的8个化合物的UPLC-MS精确相对分子量测定结果

序号	出峰时间/min	分子式	相对分子质量	m/z		鉴定成分
				一级质谱	二级质谱	
1	5.50	C ₇ H ₆ O ₅	170.119 54	169.013 76	125.023 73	没食子酸
2	7.30	C ₆ H ₆ O ₃	126.120 04	127.039 24	109.028 82, 81.034 05	5-羟甲基糠醛
3	14.97	C ₂₃ H ₂₈ O ₁₁	480.461 82	503.153 20	341.099 88, 219.062 84, 185.042 25	芍药内酯苷
4	16.05	C ₂₃ H ₂₈ O ₁₁	480.461 82	503.152 83	341.099 55, 219.062 85, 185.042 37	芍药苷
5	17.06	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	194.184 00	193.050 35	178.026 79	阿魏酸
6	17.40	C ₂₁ H ₂₂ O ₉	418.393 98	417.119 57	255.066 47, 135.008 12, 119.049 42	甘草苷
10	21.53	C ₂₁ H ₁₈ O ₁₁	446.361 02	447.092 74	271.060 33	黄芩苷
18	31.16	C ₁₂ H ₁₄ O ₂	190.238 36	191.106 84	173.096 27, 145.101 41	蒙本内酯

质量控制标准,可以进一步保证其药效和临床作用的发挥。因此,本研究从质量控制方面出发,首次采用UPLC的技术建立了定坤丹指纹图谱,该方法可行性强,且能较为全面地反映定坤丹的化学组成,为其内在的质量评价提供了高效和简便的方法。本实验还对定坤丹中的22个共有峰进行了指认,经过与对照品对比及UPLC-MS联用的分析,鉴定了其中8个共有峰,为其进一步的体内化学成分研究提供了参考。

另外,对上述指认得到的8个成分进行调研发现,其中5-羟甲基糠醛可能是熟地黄中具有治疗贫血作用的药效物质基础成分之一^[21],Hideale等^[22]还发现了5-羟甲基糠醛在临床试验中可以提高大鼠红细胞的变形能力,同时还可以改善其血液流变学的指标。另外,来源于白芍药材中的芍药内酯苷和芍药苷对血虚模型的小鼠进行给药,试验发现它们对血液中的红细胞和血红蛋白均具有显著的提升作用,表明芍药苷和芍药内酯苷良好的补血作用^[23]。当归、川芍药材中的阿魏酸,在体内试验中均表现出了对各种诱导剂引

起的血小板聚集与释放的抑制作用^[24]。而藁本内酯对平滑肌有显著的松弛作用^[25],还可以非特异性地抑制子宫的自发节律性收缩^[26],这提示了藁本内酯可能具有改善痛经的生物活性,通过抑制子宫收缩缓解患者的疼痛症状。这些已有实验研究报道的活性成分可能对定坤丹整方的“补气血”作用有一定的贡献,这提示了这些成分可以作为定坤丹进一步的药效物质基础研究的科学参考。

另外,从本研究中可以发现,上述成分便于检测,含量也相对较高,并且有良好的生物活性的报道,这些特点也为定坤丹的质量控制提供了进一步的研究思路。可以结合Q-markers^[27]的研究理念,从检测、鉴定成分出发,进一步对这些稳定存在且含量较高的成分进行分析,并对其中具有的药理作用进行实验研究和文献调研,筛选后得到潜在的药效成分,进而选择同时稳定存在、便于检测且具有良好药效贡献的成分作为质量标志物,并进一步控制其含量,以期更科学、全面地对定坤丹进行质量控制。

参考文献

- 1 中华人民共和国药典编委会. 中国药典(一部). 北京:中国医药科技出版社, 2015: 1120-1121
- 2 刘丹卓, 赵新广, 尤昭玲. 定坤丹组方研究及临床应用现状分析. 世界中医药, 2014, 9(8): 1108-1110.
- 3 赵卫萍, 范树军, 高云秀. 定坤丹治疗青春期原发性痛经30例. 中医杂志, 2005, 46(8): 609-610.
- 4 王燕. 定坤丹治疗原发性痛经300例. 陕西中医, 2010, 31(3): 278-280.
- 5 马堃, 陈燕霞, 王艳英. 定坤丹对寒凝血瘀型痛经患者血清GPF2 α 、ET、PAF及子宫动脉血流动力学的影响. 中国中药杂志, 2017, 42(23): 4474-4480.
- 6 易星星, 林洁. 定坤丹治疗肾虚肝郁证月经少患者30例临床观察. 中国中西医结合杂志, 2016, 36(5): 629-631.
- 7 程芳, 郭晓青. 定坤丹治疗月经过少50例. 西部中医药, 2018, 31(10): 69-71.
- 8 李嘉慧, 欧妍. 定坤丹结合激素治疗肾虚肝郁证月经少患者的临床疗效及对子宫内膜厚度的影响. 世界中医药, 2018, 13(3): 669-671+675.
- 9 江敏. 补肾活血汤联合定坤丹序贯治疗育龄期肾虚血瘀型PCOS的临床观察. 武汉: 湖北中医药大学硕士研究生论文, 2017.
- 10 马莉. 定坤丹联合来曲唑对PCOS患者促排卵周期中的临床疗效分析. 黑龙江医药, 2018, 31(5): 1035-1037.
- 11 王玉雯. 定坤丹治疗妇科疾病应用体会. 中医药信息杂志, 2007, 14(9): 78.
- 12 张西芝. 定坤丹为主治疗子宫内膜异位症37例. 中医杂志, 2005, 46(4): 286.
- 13 刘颖. 定坤丹治疗女性不孕不育的疗效分析. 中外女性健康研究, 2018, 2: 67+92.
- 14 卫爱武, 肖惠冬子, 宋艳丽. 定坤丹联合氯米芬治疗多囊卵巢综合征伴不孕疗效观察. 中国实用妇科与产科杂志, 2018, 34(4): 444-447.
- 15 曾莉, 曹俊岩, 华绍召, 等. 定坤丹促进剖宫产术后虚寒证患者子宫复旧的临床观察. 海峡药学, 2018, 30(5): 102-104.
- 16 陈兰, 谈勇, 陈淑萍. 定坤丹对PCOS模型大鼠TGF- β 1、CTGF和AR表达的影响. 中国免疫学杂志, 2018, 34(2): 218-222.
- 17 王常铭, 王天玲, 高凤福. 大蜜丸中当归成分阿魏酸的薄层鉴别. 中成药, 1989, (12): 13.
- 18 张荣. 对定坤丹质量标准的商榷. 中国药事, 2002, 16(6): 56.
- 19 康廷国, 李刚, 冯夏红, 等. 定坤丹的显微鉴定研究. 中成药, 1992, 14(10): 13-15+50.
- 20 谢培山. 中药色谱指纹图谱. 北京: 人民卫生出版社, 2005: 2.
- 21 Lin AS, Qian KD, Yoshihide U, et al. 5-Hydroxymethyl-2-furfural, a clinical trials agent for sickle cell anemia, and its mono/di-glucosides from classically processed steamed Rehmanniae Radix. J Nat Med, 2008, 62(2): 164-167.
- 22 Hideale M, Yasuyuke T, Kenzo M, et al. Studies on Rehmanniae radix. V. 5-hydroxymethyl-2-furfural, active constituent of the steamed root of rehmannia glutinosa having increasing activity of erythrocyte

- deformability in rats. *Nat Med*, 2004, 58(1): 34–37.
- 23 张建军, 黄银峰, 王丽丽, 等. 白芍、赤芍及芍药苷、芍药内酯苷对综合放血法致血虚小鼠补血作用的比较研究. 2013, 38(19): 3358–3362.
- 24 项耀祖, 商洪才, 张伯礼, 等. 抗血小板中药研究进展. 中草药, 2008, 39(2): 290.
- 25 Chan S, Cheng T, Lin G. Relaxation effects of ligustilide and senkyunolide A, two main constituents of *Ligusticum chuanxiong*, in rat isolated aorta. *J Ethnopharmacol*, 2007, 111(3): 677–680.
- 26 Du J, Bai B, Kuang X, *et al.* Ligustilide inhibits spontaneous and agonist-induced K^+ depolarization-induced contraction of rat uterus. *J Ethnopharmacol*, 2006, 108(1): 54–58.
- 27 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. 中草药, 2016, 47(9): 1443–1457.

Fingerprints research of Dingkun Dan Based on UPLC Method

Wang Nan^{1,2}, Gao Xiaoxia¹, Zhang Airong³, Wang Peiyi³, Qin Xuemei^{1**}

(1. Modern Research Center for Traditional Chinese Medicine, Shanxi University, Taiyuan 030006, China;

2. College of Chemistry and Chemical Engineering, Shanxi University, Taiyuan 030006, China;

3. Shanxi Guangyuyuan Traditional Chinese Medicine Co., Ltd., Taigu 030800, China)

Abstract: Objective To establish the method for ultra-high performance liquid chromatography (UPLC) fingerprints of Dingkun Dan (DKD) and to be used as a comprehensive and efficient method of quality evaluation. Methods UPLC instrument was employed to establish the UPLC fingerprint of 19 batches of DKD. The separation was performed with the mobile phase consisting of 0.1% formic acid methanol and 0.1% formic acid aqueous solution with Acquity UPLC® HSS T3 chromatographic column (2.1 mm × 100 mm, 1.8 μm) at flow rate of 0.2 mL·min⁻¹, and the detection wavelength was set at 280 nm. Results In this research, 22 peaks were recognized as common peaks in the fingerprints. Among them, 8 peaks were identified by using standard references, including gallic acid, 5-hydroxymethyl-2-furaldehyde, albiflorin, paeoniflorin, ferulic acid, liquiritin, baicalin and ligustilide. The similarity values of the different lots of drugs were all above 0.91, indicating the relatively stable quality of the drugs. Conclusion The UPLC analysis method established in this study is scientific, accurate, reliable, and simple, and it is suitable for quality control of DKD.

Keywords: Dingkun Dan, fingerprint, quality control

(责任编辑: 闫 群, 责任译审: 钱灵姝)