

丁苯酞-磺丁基醚- β -环糊精包合物制备工艺优化*

修宪¹, 田伟², 王雪姣¹, 冯彩霞³, 相会欣⁴, 孟阳¹

(1. 石家庄市第二医院药剂科, 石家庄 050051; 2. 河北中医学院, 石家庄 050200; 3. 石家庄市第五医院制剂室, 石家庄 050021; 4. 河北化工医药职业技术学院, 石家庄 050026)

摘要 目的 优化丁苯酞-磺丁基醚- β -环糊精包合物的制备工艺。方法 采用冷冻干燥法制备丁苯酞-磺丁基醚- β -环糊精包合物, 将丁苯酞包合率作为指标, 采用星点设计法, 设定三因素五水平考察包合温度、包合时间、磺丁基醚- β -环糊精与丁苯酞投料比对包合工艺的影响, 并分别进行多元线性、二项式方程和三项式方程拟合, 建立模型, 效应面法选取最优工艺。结果 丁苯酞-磺丁基醚- β -环糊精包合工艺为: 包合温度 67 ℃、时间 2.09 h、磺丁基醚- β -环糊精与丁苯酞投料比 2.6 : 1, 丁苯酞的包合率预测值与实际值的偏差为 2.4%。结论 以星点设计-效应面法建立的数学模型预测效果良好, 该方法适用于丁苯酞-磺丁基醚- β -环糊精包合物的制备工艺优化。

关键词 丁苯酞; 磺丁基醚- β -环糊精; 包合物; 工艺优化; 星点设计-效应面法

中图分类号 R971; TQ460.6

文献标识码 B

文章编号 1004-0781(2018)06-0727-05

DOI 10.3870/j.issn.1004-0781.2018.06.018

Technology Optimization of Preparation Process of Butylphthalide Sulfobutyl Ether- β -cyclodextrin Inclusion Complex

XIU Xian¹, TIAN Wei², WANG Xuejiao¹, FENG Caixia³, XIANG Huixin⁴, MENG Yang¹ (1. Department of Pharmacy, the Second Hospital of Shijiazhuang City, Shijiazhuang 050051, China; 2. Hebei University of Chinese Medicine, Shijiazhuang 050200, China; 3. Preparation Room, the Fifth Hospital of Shijiazhuang City, Shijiazhuang 050021, China; 4. Hebei Chemical and Pharmaceutical Vocational Technology College, Shijiazhuang 050021, China)

ABSTRACT Objective To optimize preparation process of butylphthalide sulfobutyl ether- β -cyclodextrin inclusion complex. **Methods** Freeze-drying method was adopted to prepare butylphthalide sulfobutyl ether- β -cyclodextrin inclusion complex. Inclusion ratio was served as index, the effects of inclusion temperature, inclusion time and the ratio of sulfobutyl ether- β -cyclodextrin to butylphthalide on the inclusion process were investigated by using response surface method. The optimal inclusion process was predicted according to the formulation which was established and fitted by multi-linear equation, second-order polynomial equation and the third-order polynomial equation. **Results** The optimum inclusion technology of butylphthalide sulfobutyl ether- β -cyclodextrin inclusion complex was as follows: inclusion temperature was 67 ℃, inclusion time was 2.09 h, the input ratio of sulfobutyl ether- β -cyclodextrin to butylphthalide was 2.6 : 1. The deviation of inclusion ratio between actual value and predicted value was 2.4%. **Conclusion** Mathematical model established by central composite design and response surface method has a good prediction, which can be used to optimize the preparation process of butylphthalide sulfobutyl ether- β -cyclodextrin inclusion complex.

KEY WORDS Butylphthalide; Sulfobutyl ether- β -cyclodextrin; Inclusion complex; Technology optimization; Central composite design-response surface methodology

丁苯酞 (butylphthalide, NBP) 为 *dl*-3-正丁基-1 (3H)-异苯并呋喃酮, 是人工合成的消旋体, 左旋体存在于芹菜籽中, 与天然的芹菜甲素结构相同^[1]。丁苯酞可提高脑血管内皮一氧化氮 (NO) 和前列腺素 (PGI₂) 的水平, 降低颈内动脉血管阻力, 增加其血流

量, 促进梗死灶周微血管数量增加, 显著改善脑缺血区的微循环和血流量; 此外还可提高线粒体膜流动性, 恢复线粒体膜电位, 提高线粒体 ATP 酶活性, 增加线粒体呼吸链复合酶 IV 活性, 提高抗氧化酶活性, 保护线粒体, 减少神经细胞凋亡。丁苯酞制剂临床上用于急性缺血性脑卒中, 但丁苯酞在水中几乎不溶, 且其溶解度会影响体内生物利用度^[2], 从而限制其临床上的应用。目前上市的丁苯酞注射剂为羟丙基- β -环糊精增溶产品。磺丁基醚- β -环糊精是水溶性比羟丙基- β -环糊精更强、肾脏毒性更小、注射用更安全的药用辅料^[2]。将丁苯酞包裹于磺丁基醚- β -环糊精中, 可有效提高丁苯酞溶解度^[3], 更好改善注射剂的安全性。为了得到稳定的丁苯

收稿日期 2017-02-27 修回日期 2017-07-16

基金项目 * 石家庄市科技支撑计划 (171461293)

作者简介 修宪 (1985-), 男, 辽宁凌源人, 主管药师, 硕士, 主要研究方向: 新型药物传递系统。电话: 0311-87023965, E-mail: lnxixian@126.com。

通信作者 冯彩霞 (1980-), 女, 内蒙古赤峰人, 高级工程师, 硕士, 主要研究方向: 新药开发。电话: 0311-85925636, E-mail: fern_yange@163.com。

酞-磺丁基醚- β -环糊精包合物的制备工艺,笔者采用星点设计-效应面法对包合工艺进行优化。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 高效液相色谱仪(Waters 公司);差示扫描量热仪(Perkin-Elmer 公司);恒温水浴振荡器(金坛市福华仪器有限公司);冷冻干燥机(上海东富龙科技股份有限公司)。

1.2 试剂 磺丁基醚- β -环糊精(石药集团,批号:160101,分子量:2 163);丁苯酞(石药集团,批号:D150711);丁苯酞对照品(中国食品药品检定研究院,批号:101035-201502);乙醇(天津光复科技发展有限公司,批号:20150806,分析纯)。

2 方法与结果

2.1 丁苯酞-磺丁基醚- β -环糊精包合物的制备 将一定量磺丁基醚- β -环糊精加入到水中,在一定温度下使磺丁基醚- β -环糊精溶解,依照各组实验设计,置规定温度的恒温振荡水浴中,将一定量的丁苯酞乙醇溶液滴入,振荡一定时间后取出,继续振荡至室温,用孔径 0.45 μm 微孔滤膜滤过,除去未被包裹的丁苯酞,将滤液进行冷冻干燥,制得丁苯酞-磺丁基醚- β -环糊精包合物。

2.2 包合率测定 以包合率(Y)作为考察包合效果的指标。称定包合物 20 mg,用体积比为 1:1 的乙醇水溶液溶解后定容 50 mL,用孔径 0.45 μm 微孔滤膜滤过,稀释至适宜浓度用 HPLC 检测丁苯酞的含量, $Y = \text{包合物中丁苯酞质量} / \text{丁苯酞投料总质量} \times 100\%$, Y 反映丁苯酞在磺丁基醚- β -环糊精中的包封效果。

2.3 测定法

2.3.1 色谱条件 仪器 Waters e2695-2998;色谱柱:Agilent ZORBAX Eclipse XDB- C_{18} (250 mm \times 4.6 mm, 5 μm);柱温:40 $^{\circ}\text{C}$;流动相:0.05 mol \cdot L $^{-1}$ 醋酸钠溶液(以醋酸调 pH 值至 4.5)-乙腈-(40:60);流速:1 mL \cdot min $^{-1}$;检测波长 228 nm;进样量 10 μL ^[4]。

2.3.2 方法学结果 丁苯酞的进样浓度在 5~100 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 内线性关系良好, $r=0.9998$;连续进样 6 次,丁苯酞对照品峰面积的 RSD 值为 1.32%,表明仪器精密度高;同一样品平行制备供试品溶液 6 份,丁苯酞含量的 RSD 值为 1.68%,方法重复性良好;供试品溶液在 24 h 内保持稳定,RSD 值为 1.66% ($n=6$);低(80%)、中(100%)、高(120%)平均加样回收率分别为 98.9%,101.2%,102.3% ($n=9$)。对照品溶液、供试品溶液、阴性对照的色谱图见图 1。

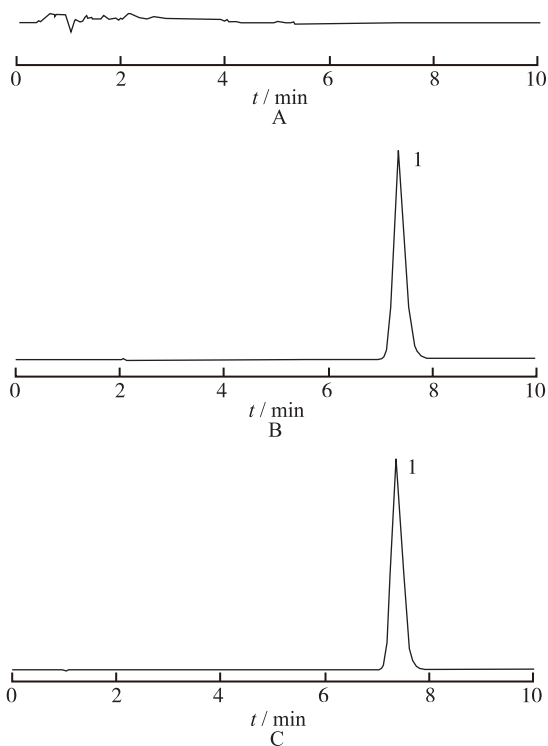
2.4 包合工艺的优化

2.4.1 单因素实验 对影响包合效果的包合温度、包合时间、磺丁基醚- β -环糊精与丁苯酞投料比 3 个因素

进行考察。以包合率为指标,进行单因素实验。

①包合温度:称取磺丁基醚- β -环糊精 6 份(每份 0.4 g),分别加入水 20 mL 中,制备丁苯酞-磺丁基醚- β -环糊精包合物,固定包合时间为 3 h、磺丁基醚- β -环糊精与丁苯酞投料摩尔比为 4:1,分别在 50,60,65,70,80 $^{\circ}\text{C}$ 下进行实验,计算 Y 值。结果表明当温度大于 60 $^{\circ}\text{C}$ 时,温度升高对包合效果基本无影响。

②包合时间:称取磺丁基醚- β -环糊精 6 份(每份 0.4 g),分别加入水 20 mL 中,制备丁苯酞-磺丁基醚- β -环糊精包合物,固定包合温度为 60 $^{\circ}\text{C}$ 、磺丁基醚- β -环糊精与丁苯酞投料摩尔比为 4:1,分别在 0.5,1,1.5,2,2.5,3 h 下进行实验,计算 Y 值。结果表明当包合时间大于 2 h 时,延长包合时间对包合效果基本无影响。



A. 空白辅料(SBE- β -CD);B. 对照品;C. 供试品;1. 丁苯酞

图 1 3 种溶液 HPLC 色谱图

A. blank excipient (SBE- β -CD); B. control; C. sample; 1. butylphthalide

Fig.1 HPLC Chromatograms of three kinds of solution

③磺丁基醚- β -环糊精与丁苯酞投料比:称取磺丁基醚- β -环糊精 5 份(每份 0.4 g),分别加入水 20 mL 中,制备丁苯酞-磺丁基醚- β -环糊精包合物,固定包合时间为 2 h、包合温度为 60 $^{\circ}\text{C}$,制备不同磺丁基醚- β -环糊精与丁苯酞投料比包合物,计算 Y 值。结果表明磺丁基醚- β -环糊精与丁苯酞摩尔比 $>2:1$ 时, Y 值保

持不变包合效果较理想。

2.4.2 星点设计-效应面法优化丁苯酞-磺丁基醚-β-环糊精包合物制备工艺 实验设计:采用星点设计,参照单因素实验结果,考察包合温度、包合时间、磺丁基醚-β-环糊精与丁苯酞投料比 3 个因素对包合效果的影响,并通过效应面法优化包合工艺。设定包合温度、包合时间、磺丁基醚-β-环糊精与丁苯酞投料比 3 个因素,根据星点设计原理,每个因素设置 5 个水平,见表 1,计算包合率(Y),见表 2。

表 1 丁苯酞-磺丁基醚-β-环糊精星点设计因素水平
Tab. 1 Levels and factors of central composite of butylphthalide sulfobutyl ether-β-cyclodextrin inclusion complex

水平	时间 (A)/h	温度 (B)/℃	磺丁基醚-β-环糊精与 丁苯酞投料比(C)/ (mol : mol)
1.68	2.50	80	4 : 1
1	2.09	73.92	3.39 : 1
0	1.50	65	2.5 : 1
-1	0.91	56.08	1.61 : 1
-1.68	0.50	50	1 : 1

表 2 丁苯酞-磺丁基醚-β-环糊精星点设计实验结果
Tab. 2 Results of central composite design of butylphthalide sulfobutyl ether-β-cyclodextrin inclusion complex

序号	时间 (A)/h	温度 (B)/℃	磺丁基醚-β-环糊精与 丁苯酞投料比(C)	包合率/ %
1	1.50	50.00	2.50	86.17
2	1.50	65.00	2.50	84.10
3	0.50	65.00	2.50	88.31
4	0.91	56.08	3.39	68.70
5	2.09	56.08	3.39	74.41
6	1.50	65.00	2.50	86.97
7	1.50	65.00	2.50	83.26
8	1.50	80.00	2.50	65.11
9	0.91	56.08	1.61	68.03
10	1.50	65.00	4.00	71.38
11	1.50	65.00	2.50	86.76
12	2.09	56.08	1.61	63.57
13	0.91	73.92	1.61	70.01
14	1.50	65.00	1.00	81.94
15	2.09	73.92	3.39	81.06
16	0.91	73.92	3.39	75.25
17	2.49	65.00	2.50	60.24
18	1.50	65.00	2.50	86.33
19	2.09	73.92	1.61	82.79
20	1.50	65.00	2.50	88.12

2.4.3 模型拟合与方差分析 利用 Design-Expert 软件对表 2 数据分别进行 Linear、Quadratic、Cubic 拟合,得到因变量 Y 对自变量 A、B、C 的多元线性回归、二项式和三项式拟合方程。

多元线性回归拟合方程: $Y=78.19+4.84A-0.16B-0.15C$,模型 $P=0.259\ 4$,失拟项 $P=0.001\ 2$, $R=0.201\ 2$ 。

二项式拟合方程: $Y=87.02+4.88A-0.16B-0.15C+1.86AB+0.025AC-1.36BC-4.82A^2-4.15B^2-3.97C^2$,模型 $P=0.131\ 9$,失拟项 $P=0.001\ 8$, $R=0.653\ 8$ 。

三项式拟合方程: $Y=87.02+8.13A-5.87B-2.95C+1.86AB+0.025AC-1.36BC-4.82A^2-4.15B^2-3.978C^2-1.93ABC+9.757A^2B+4.78A^2C-5.62AB^2$,模型 $P=0.000\ 3$,失拟项 $P=0.483\ 8$, $R=0.984\ 0$ 。

多元线性回归拟合方程 R 值较低,自变量与因变量的线性关系较差;多元二项式拟合方程不具有显著性, R 值较低;多元三项式拟合方程有显著性, R 值高,模型 P 值小,失拟项不显著,采用多元三项式拟合方程建立的模型拟合效果最好。采用 ANOVA 分析,方差分析结果见表 3。

表 3 三项式拟合模型方差分析
Tab.3 Variance analysis on trinomial fitting model

变异来源	平方和	自由度	均方	F	P
模型	1 565.60	13	120.43	28.20	0.000 3
时间(A)	373.74	1	373.74	87.84	<0.000 1
温度(B)	194.83	1	194.83	45.79	0.000 5
磺丁基醚-β-环糊精与 丁苯酞投料比(C)	49.30	1	49.30	11.59	0.014 4
AB	27.75	1	27.75	6.52	0.043 3
AC	5.0×10^{-3}	1	5.0×10^{-3}	1.175×10^{-4}	0.973 8
BC	14.91	1	14.91	3.50	0.110 4
A ²	335.33	1	335.33	78.81	0.000 1
B ²	248.02	1	248.02	58.29	0.000 3
C ²	226.72	1	226.72	53.28	0.000 3
ABC	29.72	1	29.72	6.99	0.038 4
A ² B	315.25	1	315.25	74.09	0.000 1
A ² C	75.70	1	75.70	17.79	0.005 6
AB ²	104.60	1	104.60	24.58	0.002 6
AC ²	0.00	0			
B ² C	0.00	0			
BC ²	0.00	0			
A ³	0.00	0			
B ³	0.00	0			
C ³	0.00	0			
残差	25.53	6	4.25		
失拟项	2.62	1	2.62	0.57	0.483 8
纯误差	22.91	5	4.58		
总和	1 591.13	19			

结果显示,该模型 F 为 28.20, 概率 P 为 0.000 3, 表明模型极显著;模型复相关系数为 0.984 0, 说明该方程的因变量与全体自变量间关系显著;模型变异系数为 2.64%, 说明该模型精度良好;失拟项 F 值为 0.57, 概率 P 为 0.483 8, 说明失拟项不显著, 回归方程拟合良好。

2.4.4 最佳包合工艺 由 Design-Expert 软件可得出最佳包合工艺参数, 最佳包合工艺为: 包合温度 67.44 $^{\circ}\text{C}$, 包合时间 2.09 h, 磺丁基醚- β -环糊精与丁苯酞投料比 2.61 : 1。预测在此工艺下制备丁苯酞-磺丁基醚- β -环糊精包合物的包合率为 91.23%。

结合实际生产, 对理论参数进行取整, 确定丁苯酞-磺丁基醚- β -环糊精包合物制备工艺为包合温度 67 $^{\circ}\text{C}$, 包合时间 2.09 h, 磺丁基醚- β -环糊精与丁苯酞投料摩尔比 2.6 : 1。

2.5 验证实验 采用选取的最佳包合工艺, 进行验证性实验。验证实验结果显示, 3 次实验包合率平均值为 93.66%, RSD 为 0.66%, 包合率平均值与预测值相差 2.4%。验证实验结果说明星点设计-效应面法得到的拟合方程可以较好地评价包合工艺各影响因素与评价指标的关系, 得到的工艺条件稳定、数据准确可靠。

差示扫描量热法对包合物进行鉴定。对磺丁基醚- β -环糊精、丁苯酞和磺丁基醚- β -环糊精物理混合物及包合物进行 DSC 测定, 见图 2。DSC 结果显示磺丁基醚- β -环糊精及物理混合物均有 2 个锐吸热峰, 而采用最佳包合工艺制备的包合物在第 2 处为钝吸热峰, 呈现全新的热力学特征, 说明形成了新的物系。

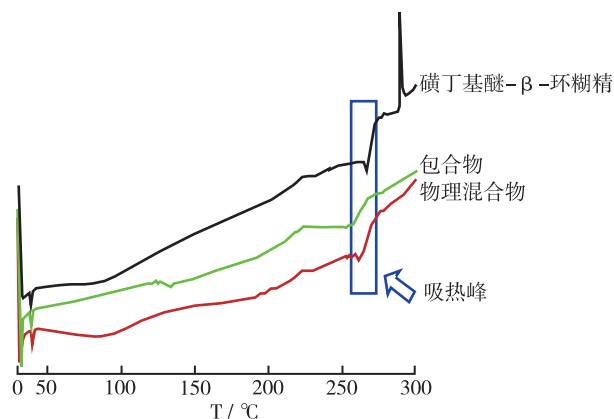


图2 丁苯酞-磺丁基醚- β -环糊精体系差示扫描量热分析曲线

Fig.2 DSC curves of butylphthalide sulfobutyl ether- β -cyclodextrin system

3 讨论

作为一种新型药用辅料, 磺丁基醚- β -环糊精具有其他环糊精衍生物无可比拟的优点^[5]: 良好的水溶性, 血浆蛋白结合率低, 体内无缔合, 可快速以原型清除; 溶血作用减小, 肾毒性很低, 对粘膜的刺激性也小。磺丁基醚- β -环糊精应用于注射给药, 主要是能够提高药物溶解度, 使药物在注射时快速达到所需药量, 降低注射对给药部位的刺激性, 提高溶液状态下药物的稳定性, 缓和溶血作用, 提高用药安全性。运用磺丁基醚- β -环糊精包合技术, 已有 6 种药物注射剂被 FDA 批准上市, 应用该技术进行药物开发也成为国内外研究的热点^[7-8]。

研究表明^[9], 环糊精能够增加胆固醇的溶解度, 使其从动脉粥样硬化病变位置被移除, 并且在小鼠模型中成功治疗动脉粥样硬化。若结果得以证实, 可预测磺丁基醚- β -环糊精与丁苯酞在临床治疗上会有协同作用, 这有待于进一步研究探索。

丁苯酞分子量 190, 3 位为手性碳原子, 其分子结构进入环糊精的空腔内, 因范德华力形成稳定的包合物, 而环糊精的磺丁基部位极性较大, 易溶于水, 可提高包合物的水溶性。温度、时间以及投料比均会对范德华力产生影响, 故影响其包合率。

基于上述, 本研究中考察丁苯酞-磺丁基醚- β -环糊精包合物制备工艺中包合温度、包合时间和丁苯酞与磺丁基醚- β -环糊精投料比, 3 个因素的影响顺序为包合时间 > 包合温度 > 投料比, 三者对包合率的影响显著, 其中交互项包合时间和包合温度对包合率影响显著, 其他交互项对包合率的影响不显著, 表明丁苯酞-磺丁基醚- β -环糊精包合物制备中各自变量与包合率间并非简单线性关系。

在丁苯酞-磺丁基醚- β -环糊精包合工艺优化时, 需要同时考察包合温度、包合时间和丁苯酞与磺丁基醚- β -环糊精投料比 3 个因素的影响。通过星点设计-效应面法对包合工艺进行优化, 实验次数少、实验精度高、预测值与实际值更接近, 所以本研究使用这种方法进行包合物工艺优化^[10]。本研究采用星点设计-效应面法得到丁苯酞-磺丁基醚- β -环糊精包合物制备的最优工艺, 并成功制备出丁苯酞-磺丁基醚- β -环糊精包合物, 为丁苯酞制剂的开发提供基础。

参考文献

- [1] 方洪巨, 杨峻山, 胡秋. 挥发油成分的研究/ V. 芹菜子挥发油的化学成分研究[J]. 药物分析杂志, 1984, 4(4): 205-208.
- [2] 林瑞来. 难溶性药物溶解度的提高方法[J]. 中国医药指

- 南,2010,8(3):32-33.
- [3] 赵孝先,高玲,梁园园,等.丁苯酞-磺丁基- β -环糊精包合物的制备与表征[J].中国现代应用药学,2016,33(6):762-767.
- [4] 赵春顺,崔升森,刘晓红,等.3-正丁基苯酞含量及有关物质测定的方法学研究[J].沈阳药科大学学报,2004(1):24-27.
- [5] STELLA V J, HE Q. Cyclodextrins [J]. Toxicol Pathol, 2008,36(1):30-42.
- [6] DEVASARI N, DORA C P, SINGH C, et al. Inclusion complex of erlotinib with sulfobutyl ether- β -cyclodextrin: preparation, characterization, in silico, in vitro and in vivo evaluation[J]. Carbohydr Polym, 2015, 134:547-556.
- [7] XU C, TANG Y, HU W, et al. Investigation of inclusion complex of honokiol with sulfobutyl ether- β -cyclodextrin [J]. Carbohydr Polym, 2014, 113:9-15.
- [8] REN L, ZHOU Y, WEI P, et al. Preparation and pharmacokinetic study of aprepitant-sulfobutyl ether- β -cyclodextrin complex [J]. AAPS Pharm Sci Tech, 2014, 15(1):121-130.
- [9] ZIMMER S, GREBE A, BAKKE S S, et al. Cyclodextrin promotes atherosclerosis regression via macrophage reprogramming[J]. Sci Transl Med, 2016, 8(333):333.
- [10] 刘艳杰,项荣武.星点设计效应面法在药学实验设计中的应用[J].中国现代应用药学,2007,24(6):455-457.

高效液相色谱法同时测定 通脉滴丸中葛根素和阿魏酸及丹酚酸 B 的含量*

王萍¹, 王宇鹤², 高洁¹, 赖普辉¹, 刘亚倩¹

(1. 陕西国际商贸学院医药学院, 西安 712046; 2. 西藏民族大学, 咸阳 712082)

摘要 目的 建立高效液相色谱(HPLC)法同时测定通脉滴丸中葛根素、阿魏酸及丹酚酸 B 的含量。方法 采用 Kromasil C₁₈ 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μ m); 以甲醇-0.1%磷酸溶液为流动相, 梯度洗脱; 流速: 1.1 mL·min⁻¹; 进样量: 20 μ L; 柱温: 30 $^{\circ}$ C; 检测波长: 250, 321, 286 nm。结果 葛根素、阿魏酸、丹酚酸 B 的线性范围分别为 41.6~416 μ g·mL⁻¹ ($r=0.999\ 9$)、3.84~38.4 μ g·mL⁻¹ ($r=0.999\ 8$)、36.8~368.0 μ g·mL⁻¹ ($r=0.999\ 8$); 平均加样回收率分别为 99.49%, 99.73%, 100.18%; RSD 分别为 1.11%, 1.22%, 0.94%。结论 该法操作简单、结果准确, 重复性高, 可用于通脉滴丸中葛根素、阿魏酸和丹酚酸 B 的含量测定。

关键词 通脉滴丸; 葛根素; 阿魏酸; 丹酚酸 B; 色谱法, 高效液相; 含量测定

中图分类号 R286; R927.2 文献标识码 B 文章编号 1004-0781(2018)06-0731-04

DOI 10.3870/j.issn.1004-0781.2018.06.019

Simultaneous Determination of Puerarin, Ferulic Acid and Salvianolic Acid B in Tongmai Dropping Pills by HPLC

WANG Ping¹, WANG Yuhe², GAO Jie¹, LAI Puhui¹, LIU Yaqian¹ (1. College of Medicine, Shaanxi Institute of International Trade & Commerce, Xi'an 712046, China; 2. Xizang Minzu University, Xianyang 712082, China)

ABSTRACT Objective To establish a HPLC method for simultaneous determination of puerarin, ferulic acid and salvianolic acid B in Tongmai dropping pills. **Methods** The Kromasil C₁₈ chromatographic column (250 mm×4.6 mm, 5 μ m) was used, and the Column temperature was set at 30 $^{\circ}$ C. The mobile phase was methanol-0.1% phosphoric acid with a gradient elution. The flow rate was 1.1 mL·min⁻¹. The injection volume was 20 μ L. The UV detection wavelength was set at 250 nm, 321 nm and 286 nm. **Results** The linear ranges of puerarin, ferulic acid and salvianolic acid B were 41.6~416 μ g·mL⁻¹ ($r=0.999\ 9$), 3.84~38.4 μ g·mL⁻¹ ($r=0.999\ 8$), 36.8~368 μ g·mL⁻¹ ($r=0.999\ 8$), respectively. The average recovery rates were 99.49%, 99.73% and 100.18%, and RSDs were 1.11%, 1.22% and 0.94%, respectively. **Conclusion** The method is simple, accurate, reproducible, and proper for simultaneous determination of puerarin, ferulic acid and salvianolic acid B in Tongmai dropping pills.

KEY WORDS Tongmai dropping pills; Puerarin; Ferulic acid; Salvianolic acid B; Chromatography, high performance liquid; Content determination

通脉滴丸由葛根、川芎及丹参 3 味药物组成, 在《中华人民共和国卫生部药品标准》中收录的中成药