

## HPLC法测定十一方药酒中6种成分

施显怡, 王志萍\*, 黎芳, 蔡雪梅, 陈晓艺, 黄杰连

(广西中医药大学, 广西高校中药制剂共性技术研发重点实验室, 广西南宁 530001)

**摘要:** 目的 建立 HPLC 法测定十一方药酒(三七、续断、红花等)中 6 种成分的含有量。方法 三七皂苷 R<sub>1</sub>、人参皂苷 Rg<sub>1</sub>、人参皂苷 Rb<sub>1</sub>、川续断皂苷 VI 含有量的测定采用 Inertsil® ODS-3 C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 以乙腈-0.1% 磷酸为流动相, 梯度洗脱; 体积流量 1.0 mL/min; 柱温 30 °C; 检测波长 203 nm。马钱子碱、士的宁含有量的测定采用 Gemini® C<sub>18</sub> 110 Å 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 以乙腈-0.01 mol/L 庚烷磺酸钠与 0.02 mol/L 磷酸二氢钾的混合溶液为流动相, 等度洗脱; 体积流量 1.0 mL/min; 柱温 30 °C; 检测波长为 260 nm。结果 6 种成分在各自范围内线性关系良好 ( $r > 0.999 0$ ), 平均加样回收率 98.52% ~ 99.96%, RSD 2.0% ~ 2.3%。结论 该方法简便准确, 重复性好, 可用于十一方药酒的质量控制。

**关键词:** 十一方药酒; 三七皂苷 R<sub>1</sub>; 人参皂苷 Rg<sub>1</sub>; 人参皂苷 Rb<sub>1</sub>; 续断皂苷 VI; 马钱子碱; 士的宁; HPLC

中图分类号: R927.2

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2018)05-1088-06

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2018.05.016

## Determination of six constituents in Shiyifang Vinum by HPLC

SHI Xian-yi, WANG Zhi-ping\*, LI Fang, CAI Xue-mei, CHEN Xiao-yi, HUANG Jie-lian

(Key Laboratory for Common Technology Research and Development of Traditional Chinese Medicine Preparations of Universities in Guangxi, Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530001, China)

**ABSTRACT: AIM** To establish an HPLC method for the content determination of six constituents in Shiyifang Vinum (*Notoginseng Radix et Rhizoma*, *Dipsaci Radix*, *Carthami Flos*, etc.). **METHODS** The content determination of notoginsenoside R<sub>1</sub>, ginsenoside Rg<sub>1</sub>, ginsenoside Rb<sub>1</sub> and asperosaponin VI was performed on a 30 °C thermostatic Inertsil® ODS-3 C<sub>18</sub> column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), with the mobile phase comprising of acetonitrile-0.1% phosphoric acid flowing at 1.0 mL/min in a gradient manner, and the detection wavelength was set at 203 nm. The content determination of brucine and strychnine was conducted on a 30 °C thermostatic Gemini® C<sub>18</sub> 110 Å column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), with the mobile phase comprising of acetonitrile-mixed solution of 0.01 mol/L sodium heptanesulfonate and 0.02 mol/L potassium dihydrogen phosphate flowing at 1.0 mL/min in an isocratic elution manner, and the detection wavelength was set at 260 nm. **RESULTS** Six constituents showed good linear relationships within their own ranges ( $r > 0.999 0$ ), whose average recoveries were 98.52% - 99.96% with the RSDs of 2.0% - 2.3%. **CONCLUSION** This simple, accurate and reproducible method can be used for the quality control of Shiyifang Vinum.

**KEY WORDS:** Shiyifang Vinum; notoginsenoside R<sub>1</sub>; ginsenoside Rg<sub>1</sub>; ginsenoside Rb<sub>1</sub>; asperosaponin VI; brucine; strychnine; HPLC

收稿日期: 2017-09-21

基金项目: 广西高校科技创新能力提升工程专项项目(70-ZJGX2016001); 自治区级硕士研究生科研创新项目(YCSW2017170); 广西中医药大学校级项目(P2016001)

作者简介: 施显怡(1992—), 男, 硕士生, 从事中药、民族药新剂型、新制剂的研制与开发。Tel: 18577113763, E-mail: 871392949@qq.com

\* 通信作者: 王志萍(1965—), 女, 教授, 从事中药、民族药新剂型、新制剂的研制与开发。Tel: 13878818902, E-mail: 318007460@qq.com

十一方药酒是广西中医药大学第一附属医院的院内制剂,由三七、续断、红花、自然铜(煅)、马钱子等中药组成,具有活血止痛、消肿散瘀的功效。其前期质量控制仅采用薄层扫描法测定马钱子碱、土的宁的含有量<sup>[1]</sup>,但未涉及三七和续断。虽然之后补充了人参皂苷 R<sub>g1</sub> 含有量的测定<sup>[2]</sup>,但三七活性物质除了该成分外,还有三七皂苷 R<sub>1</sub> 和人参皂苷 Rb<sub>1</sub><sup>[3-4]</sup>,而且续断中的川续断皂苷 VI 具有镇痛、抗炎、诱导成骨细胞成熟等作用<sup>[5]</sup>,是药酒发挥药效的主要成分,同时马钱子中的马钱子碱和土的宁既是有效成分,又是毒性成分,应严格控制其质量<sup>[6]</sup>。考虑到多种指标成分的测定比单一指标成分更能表征中药复方制剂的质量<sup>[7]</sup>,本实验采用 HPLC 法测定十一方药酒中三七皂苷 R<sub>1</sub>、人参皂苷 R<sub>g1</sub>、人参皂苷 Rb<sub>1</sub>、川续断皂苷 VI、马钱子碱、土的宁的含有量,以期能更全面地控制该制剂质量,使其可控性进一步提升。

## 1 材料

1.1 仪器 Waters e2695 型高效液相色谱仪,配置 Waters 2489 检测器、Empower 色谱工作站(美国 Waters 公司);CPA225D 型电子分析天平(德国 Sartorius 公司);HWS-26 型电热恒温水浴锅(上海齐欣科学仪器有限公司)。

1.2 试药 十一方药酒(批号 20160713、20160818、20161214、20170206)购于广西中医药大学第一附属医院。三七皂苷 R<sub>1</sub>(110745-201318)、人参皂苷 R<sub>g1</sub>(110703-201530)、人参皂苷 Rb<sub>1</sub>(110704-201424)、川续断皂苷 VI(111685-201506)对照品均购于中国食品药品检定研究院;马钱子碱(B25064)、土的宁(B25079)对照品均购于上海源叶生物科技有限公司。乙腈为色谱纯;其他试剂均为分析纯;水为超纯水。

## 2 方法与结果

2.1 皂苷(三七皂苷 R<sub>1</sub>、人参皂苷 R<sub>g1</sub>、人参皂苷 Rb<sub>1</sub>、川续断皂苷 VI)含有量测定

2.1.1 色谱条件 Inertsil® ODS-3 C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm);流动相乙腈(A)-0.1%磷酸(B),梯度洗脱(0~5 min, 20% A; 5~10 min, 20%~23% A; 10~15 min, 23%~29% A; 15~20 min, 29% A; 20~30 min, 29%~36% A; 30~40 min, 36%~20% A);体积流量 1.0 mL/min;柱温 30℃;检测波长 203 nm;进样量 20 μL。

2.1.2 溶液制备

2.1.2.1 对照品溶液 精密称取三七皂苷 R<sub>1</sub>、人参皂苷 R<sub>g1</sub>、人参皂苷 Rb<sub>1</sub>、川续断皂苷 VI 对照品适量,加甲醇制成各成分质量浓度分别为 323.0、832.0、302.0、834.0 μg/mL,即得。

2.1.2.2 供试品溶液<sup>[8-9]</sup> 精密量取本品 5 mL,水浴蒸干,加 50 mL 热水分次溶解并转移至分液漏斗中,加 30 mL 乙醚萃取 1 次,静置后弃去乙醚层,水层用水饱和正丁醇萃取 6 次,每次 20 mL,合并正丁醇层,正丁醇饱和氨试液洗涤 2 次,每次 50 mL,正丁醇层水浴蒸干,残渣加甲醇溶解并定容至 5 mL 量瓶中,摇匀,即得。

2.1.2.3 阴性对照溶液 取缺三七、续断的阴性对照样品适量,按“2.1.2.2”项下方法制备,即得。

2.1.3 系统适用性试验 取“2.1.2”项下对照品、供试品、阴性对照溶液适量,在“2.1.1”项色谱条件下进样测定,结果见图 1。由图可知,各成分色谱峰与相邻色谱峰的分度均大于 1.5,理论塔板数均大于 5 000,阴性无干扰。

2.1.4 线性关系考察 取“2.1.2”项下对照品溶液适量,稀释至 2、4、6、8、10 倍,在“2.1.1”项色谱条件下进样测定。以峰面积为纵坐标(Y),质量浓度为横坐标(X)进行线性回归,结果见表 1,可知 4 种皂苷在各自范围内线性关系良好。

表 1 4 种皂苷线性关系

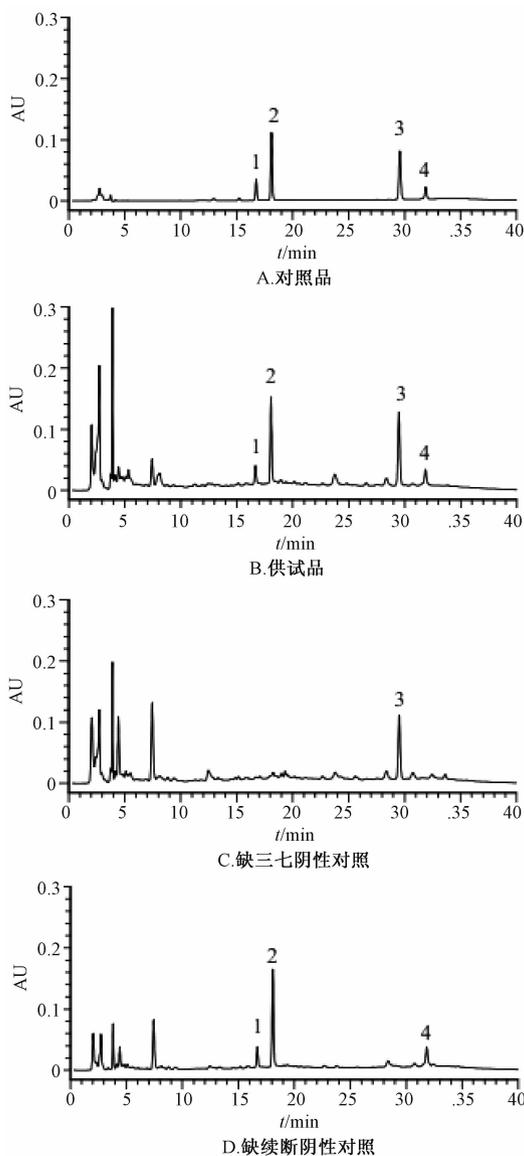
Tab. 1 Linear relationships of four saponins

成分	回归方程	r	线性范围/ (μg·mL <sup>-1</sup> )
三七皂苷 R <sub>1</sub>	$Y = 4.58 \times 10^6 X + 2.53 \times 10^4$	0.999 8	32.3 ~ 323.0
人参皂苷 R <sub>g1</sub>	$Y = 5.53 \times 10^6 X + 3.19 \times 10^4$	0.999 8	83.2 ~ 832.0
人参皂苷 Rb <sub>1</sub>	$Y = 3.53 \times 10^6 X - 1.19 \times 10^4$	0.999 8	30.2 ~ 302.0
川续断皂苷 VI	$Y = 5.68 \times 10^6 X + 3.87 \times 10^3$	0.999 8	83.4 ~ 834.0

2.1.5 精密度试验 取“2.1.2”项下对照品溶液,在“2.1.1”项色谱条件下进样测定 6 次,测得三七皂苷 R<sub>1</sub>、人参皂苷 R<sub>g1</sub>、人参皂苷 Rb<sub>1</sub>、川续断皂苷 VI 峰面积 RSD 分别为 0.54%、0.57%、0.50%、0.56%,表明仪器精密度良好。

2.1.6 稳定性试验 取“2.1.2”项下供试品溶液(20160818)适量,于 0、4、8、12、16、24 h 在“2.1.1”项色谱条件下进样测定,测得三七皂苷 R<sub>1</sub>、人参皂苷 R<sub>g1</sub>、人参皂苷 Rb<sub>1</sub>、川续断皂苷 VI 峰面积 RSD 分别为 1.9%、0.26%、1.1%、0.30%,表明溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.1.7 重复性试验 精密量取药酒(20160818)



1. 三七皂苷 R<sub>1</sub> 2. 人参皂苷 R<sub>g1</sub> 3. 川续断皂苷 VI  
4. 人参皂苷 R<sub>b1</sub>  
1. notoginsenoside R<sub>1</sub> 2. ginsenoside R<sub>g1</sub> 3. asperosaponin VI 4. ginsenoside R<sub>b1</sub>

图1 4种皂苷 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of four saponins

5 mL, 共6份, 按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液, 在“2.1.1”项色谱条件下进样测定, 测得三七皂苷 R<sub>1</sub>、人参皂苷 R<sub>g1</sub>、人参皂苷 R<sub>b1</sub>、川续断皂苷 VI 含有量 RSD 分别为 1.9%、1.5%、2.2%、1.5%, 表明该方法重复性良好。

2.1.8 加样回收率试验 精密称取三七皂苷 R<sub>1</sub>、人参皂苷 R<sub>g1</sub>、人参皂苷 R<sub>b1</sub>、川续断皂苷 VI 对照品适量, 加 50% 乙醇制成各成分质量浓度分别为 64.4、255.2、100.8、360.8 μg/mL 的对照品溶液。精密量取含有量已知的药酒 (20160818) 2.5 mL,

共6份, 精密加入上述对照品溶液 2.5 mL, 按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液, 在“2.1.1”项色谱条件下进样测定, 计算回收率, 结果见表2。

表2 4种皂苷加样回收率试验结果 (n=6)

Tab. 2 Results of recovery tests for four saponins (n=6)

成分	原有量/	加入量/	测得量/	回收率/	平均回收	RSD/
	μg	μg	μg	%	率/%	%
三七皂苷 R <sub>1</sub>	157.5	161.0	313.5	96.89	99.69	2.3
	157.5	161.0	320.5	101.24		
	157.5	161.0	324.0	103.42		
	157.5	161.0	315.5	98.14		
	157.5	161.0	317.0	99.07		
人参皂苷 R <sub>g1</sub>	157.5	161.0	317.5	99.38	98.97	2.2
	675.0	638.0	1 292.1	96.72		
	675.0	638.0	1 323.2	101.60		
	675.0	638.0	1 323.6	101.66		
	675.0	638.0	1 305.6	98.84		
人参皂苷 R <sub>b1</sub>	675.0	638.0	1 294.5	97.10	99.44	2.2
	675.0	638.0	1 299.6	97.90		
	235.0	252.0	482.5	98.21		
	235.0	252.0	490.0	101.19		
	235.0	252.0	489.5	100.99		
川续断皂苷 VI	235.0	252.0	475.5	95.44	99.96	2.1
	235.0	252.0	488.5	100.60		
	235.0	252.0	487.5	100.20		
	887.5	902.0	1 765.5	97.34		
	887.5	902.0	1 808.0	102.05		
	887.5	902.0	1 811.1	102.39	98.02	
	887.5	902.0	1 771.6	98.02		
	887.5	902.0	1 795.1	100.62		
	887.5	902.0	1 783.3	99.31		

## 2.2 生物碱 (马钱子碱、土的宁) 含有量测定

2.2.1 色谱条件 Gemini<sup>®</sup> C<sub>18</sub> 110 Å 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 流动相乙腈-0.01 mol/L 庚烷磺酸钠与 0.02 mol/L 磷酸二氢钾的混合溶液 (10% 磷酸调节 pH 值至 2.8) (21 : 79); 体积流量 1.0 mL/min; 柱温 30 °C; 检测波长 260 nm; 进样量 10 μL。

### 2.2.2 溶液制备

2.2.2.1 对照品溶液 精密称取马钱子碱、土的宁对照品适量, 加甲醇制成各成分质量浓度分别为 106.4、124.2 μg/mL, 即得。

2.2.2.2 供试品溶液 精密吸取药酒 10 mL, 水浴蒸干, 加 0.5% 盐酸分 3 次溶解, 每次 25 mL, 过滤, 滤液加 2 mL 浓氨水调 pH 至 9~10, 再用三氯甲烷萃取 6 次, 每次 25 mL, 合并三氯甲烷液, 水浴蒸干, 残渣加甲醇溶解, 并转移至 5 mL 量瓶中, 定容, 摇匀, 即得。

2.2.2.3 阴性对照溶液 取缺马钱子的阴性对照样品, 按“2.2.2.2”项下方法制备, 即得。

2.2.3 系统适用性试验 取“2.2.2”项下对照品、供试品、阴性对照溶液适量，在“2.2.1”项色谱条件下进样测定，结果见图2。由图可知，各成分色谱峰与相邻色谱峰的分离度均大于1.5，理论塔板数均大于5 000，阴性无干扰。

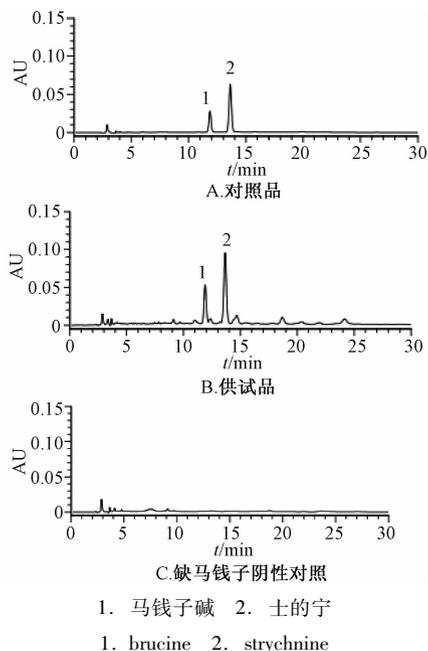


图2 2种生物碱HPLC色谱图

Fig. 2 HPLC chromatograms of two alkaloids

2.2.4 线性关系考察 取“2.2.2”项下对照品溶液适量，稀释至2、4、6、8、10倍，在“2.2.1”项色谱条件下进样测定。以峰面积为纵坐标(Y)，质量浓度为横坐标(X)进行线性回归，结果见表3，可知2种生物碱在各自范围内线性关系良好。

表3 2种生物碱线性关系

Tab. 3 Linear relationships of two alkaloids

成分	回归方程	r	线性范围/ ( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )
马钱子碱	$Y = 1.49 \times 10^4 X + 1.47 \times 10^4$	0.999 9	10.6 ~ 106.4
土的宁	$Y = 2.38 \times 10^4 X + 1.16 \times 10^4$	0.999 9	12.4 ~ 124.2

2.2.5 精密度试验 取“2.2.2”项下对照品溶液，在“2.2.1”项色谱条件下进样测定6次，测得马钱子碱、土的宁峰面积RSD分别为0.16%、

表5 各成分含有量测定结果 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ ,  $n=3$ )

Tab. 5 Results of content determination of various constituents ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ ,  $n=3$ )

批号	三七皂苷 $R_1$	人参皂苷 $R_{g1}$	人参皂苷 $R_{b1}$	川续断皂苷 VI	马钱子碱	土的宁
20160713	48.1	231.9	94.9	302.8	37.1	49.1
20160818	63.0	270.1	93.5	354.6	33.8	44.6
20161214	55.7	215.1	30.3	120.2	43.6	60.0
20170206	60.4	240.5	37.5	151.3	44.1	58.6

0.12%，表明仪器精密度良好。

2.2.6 稳定性试验 取“2.2.2”项下供试品溶液(20160818)适量，于0、4、8、12、16、24 h在“2.2.1”项色谱条件下进样测定，测得马钱子碱、土的宁峰面积RSD分别为1.1%、1.0%，表明溶液在24 h内稳定性良好。

2.2.7 重复性试验 精密量取药酒(20160818)10 mL，共6份，按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液，在“2.2.1”项色谱条件下进样测定，测得马钱子碱、土的宁含有量RSD分别为1.5%、1.7%，表明该方法重复性良好，符合含有量测定要求。

2.2.8 加样回收率试验 精密称取马钱子碱、土的宁对照品适量，加50%乙醇制成各成分质量浓度分别为17.2、23.4  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的对照品溶液。精密量取含有量已知的药酒(20160818)5 mL，共6份，精密加入上述对照品溶液5 mL，按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液，在“2.2.1”项色谱条件下进样测定，计算回收率，结果见表4。

表4 2种生物碱加样回收试验结果 ( $n=6$ )

Tab. 4 Results of recovery tests for two alkaloids ( $n=6$ )

成分	原有量/	加入量/	测得量/	回收率/	平均回收	RSD/
	$\mu\text{g}$	$\mu\text{g}$	$\mu\text{g}$	%	率/%	%
马钱子碱	84.6	86.0	168.7	97.79	99.28	2.0
	84.6	86.0	171.8	101.40		
	84.6	86.0	172.4	102.09		
	84.6	86.0	168.9	98.02		
	84.6	86.0	169.5	98.72		
	84.6	86.0	168.6	97.67		
土的宁	111.5	117.0	224.6	96.67	98.52	2.0
	111.5	117.0	229.2	100.60		
	111.5	117.0	230.1	101.37		
	111.5	117.0	226.2	98.03		
	111.5	117.0	225.7	97.61		
	111.5	117.0	224.8	96.84		

2.3 样品含有量测定 取4批药酒(20160713、20160818、20161214、20170206)，每批3份，按“2.1.2”、“2.2.2”项下方法制备供试品溶液，在“2.1.1”、“2.2.1”项色谱条件下进样测定，计算含有量，结果见表5。

### 3 讨论

3.1 检测波长选择 预实验采用 PDA 检测器分别在线采集三七皂苷  $R_1$ 、人参皂苷  $R_{g_1}$ 、人参皂苷  $R_{b_1}$  和川续断皂苷 VI 在 200 ~ 400 nm 处的吸收光谱,发现四者在此波长范围内均无最大紫外吸收,但在 203 nm 处均有较大吸收,而且基线平稳,色谱峰峰形和分离度良好,故选择其作为检测波长。同时,马钱子碱、土的宁参考 2015 年版《中国药典》一部<sup>[10]</sup>马钱子项下的色谱条件,选择 260 nm 作为检测波长。

3.2 色谱条件选择 预实验分别以乙腈-水、乙腈-0.1% 磷酸、乙腈-缓冲盐<sup>[10]</sup>作为流动相进行考察,发现 4 种皂苷以乙腈-0.1% 磷酸为流动相进行梯度洗脱时,色谱峰分离效果最佳,而用乙腈-缓冲盐进行洗脱时色谱峰不能实现分离;2 种生物碱用乙腈-水、乙腈-0.1% 磷酸进行洗脱时,色谱峰均不能实现分离,而且拖尾、漂移现象严重,而用添加有离子对试剂(庚烷磺酸钠)的乙腈-缓冲盐进行洗脱时色谱峰分离效果较好,这是因为添加该类试剂的流动相 pH 越低,电离越完全,分离效果越好<sup>[11]</sup>。另外,测定过生物碱的色谱柱再用于测定其他成分时,会出现柱效降低的现象,故本实验分别采用不同色谱条件测定 2 类成分,而且测定生物碱的色谱柱建议专柱专用。

3.3 样品前处理方法考察 十一方药酒药味繁多,成分复杂,不经处理而直接测定时指标成分与杂质不能实现分离,而且基线波动较大,难以达到含有量测定的要求。故需要对其进行提取纯化。

在同时测定 4 种皂苷含有量时,采用乙醚萃取可除去小极性及不溶于水的杂质,再采用水饱和正丁醇萃取可使皂苷与亲水性杂质分离。预实验考察水饱和正丁醇萃取次数对其含有量的影响时发现,萃取 5 次明显高于萃取 4 次,而萃取 6 次与萃取 5 次相比几乎相等,而且萃取 6 次后残留液中难以检测到该类成分色谱峰,故本实验选择萃取 6 次,每次 20 mL。

在同时测定 2 种生物碱含有量时,采用三氯甲烷萃取<sup>[12]</sup>,对萃取次数进行考察时发现,萃取 6 次与萃取 5 次的含有量几乎相等,萃取 6 次后残留液中已经难以检出成分色谱峰。为了确保实验结果不因操作人员的差异造成偏差,本实验选择萃取 6 次,每次 25 mL。

3.4 含有量分析 表 5 显示,不同批次十一方药

$R_{b_1}$  和川续断皂苷 VI 更明显,可能会影响其临床疗效。推测可能是三七、续断、马钱子产地及产地加工工艺的不同,以及与其配伍使用的药材变化导致了不同批次产品之间的质量差异,这与已有的文献报道一致<sup>[13-19]</sup>。因此,从原料来源抓起、严格控制生产工艺、建立并健全多指标成分同时测定的质量控制标准是保证十一方药酒质量的关键。

#### 参考文献:

- [1] 陈勇,黄敏,陆中海,等.十一方药酒的质量控制研究[J].广西中医药,2002,25(2):57-59.
- [2] 莫小林,黄小鸥,龚敏阳,等.HPLC测定十一方药酒中人参皂苷  $R_{g_1}$  的含量[J].江西中医学院学报,2013,25(2):43-44.
- [3] 王莹,褚扬,李伟,等.三七中皂苷成分及其药理作用的研究进展[J].中草药,2015,46(9):1381-1392.
- [4] 周家明,叶祖光,崔秀明,等.三七皂苷  $R_1$ 、 $R_2$  和人参皂苷  $R_{b_1}$  药效学研究[J].中成药,2010,32(9):1494-1497.
- [5] 李广润,宫丽丽,吕亚丽,等.川续断皂苷 VI 药理作用研究进展[J].中国新药与临床杂志,2014,33(7):477-480.
- [6] 张文平,朱培芳,马雅鸽,等.马钱子的毒理学及安全性研究进展[J].中国民族民间医药,2012,21(8):53-54.
- [7] 刘荣霞,叶敏,果德安.中药质量控制研究的思路与方法[J].中国天然药物,2006,4(5):332-337.
- [8] 高杨,陈林伟,陈丹妮,等.HPLC法测定气血双补酒中人参皂苷  $R_{g_1}$ 、 $R_e$  和  $R_{b_1}$  的含量[J].中华中医药学刊,2015,33(9):2095-2097.
- [9] 黄玉英.HPLC法同时测定三七伤药胶囊中三七皂苷  $R_1$ 、人参皂苷  $R_{g_1}$ 、人参皂苷  $R_{b_1}$  的含量[J].中国药房,2015,26(12):1706-1708.
- [10] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:2015年版一部[S].北京:中国医药科技出版社,2015:50-51.
- [11] 薛晓,王爱明,刘颖,等.HPLC法同时测定复方甘草酸苷注射液中甘氨酸与盐酸半胱氨酸的含量[J].中国新药杂志,2012,21(23):2804-2807.
- [12] 汤淮波,张令君,李湘玲,等.不同溶剂提取马钱子中土的宁与马钱子碱的实验研究[J].中医药导报,2009,15(11):52-53.
- [13] 卫莹芳,刘永,谢达温,等.不同产地续断的质量比较[J].华西药学杂志,2010,25(2):173-174.
- [14] 高明菊,冯光泉,曾鸿超,等.三七产地加工方法研究[J].时珍国医国药,2011,22(1):198-199.
- [15] 刘艳,李玮,王建科,等.综合评分法优选川续断产地加工方法[J].中药材,2012,35(12):1922-1924.
- [16] 梁晓东,唐迎雪.HPLC测定马钱子配伍苏木主要生物碱含量变化[J].中华中医药杂志,2014,29(4):1101-1104.
- [17] 赵羽,耿珠峰,邓志威.不同产地三七的<sup>1</sup>HNMR指纹图

- 谱对比分析[J]. 分析实验室, 2016, 35(11): 1326-1329.
- [18] 任佳佳, 张学顺, 褚志杰. 马钱子减毒增效研究进展[J]. 辽宁中医药大学学报, 2016, 18(1): 221-224.
- [19] 李峻宽, 丁 盛, 何昌国. 中药杜仲炮制方法及与续断不同配伍的化学反应[J]. 中国生化药物杂志, 2016, 36(12): 189-191.

## HPLC 法同时测定退银合剂中 6 种成分

鲁 静, 牛晓静, 段晓颖\*

(河南中医药大学第一附属医院, 河南 郑州 450000)

**摘要:** **目的** 建立 HPLC 法同时测定退银合剂(牡丹皮、赤芍、忍冬藤等)中绿原酸、马钱苷、芍药苷、黄芩苷、丹酚酸 B、丹皮酚的含有量。**方法** 该药物甲醇提取液的分析采用 ZORBAX SB-Aq 色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm); 以乙腈-0.1% 磷酸为流动相, 梯度洗脱; 体积流量 1.0 mL/min; 检测波长 235 nm; 柱温 30 °C。**结果** 6 种成分在各自范围内线性关系良好( $r \geq 0.9997$ ), 平均加样回收率 97.1% ~ 100.6%, RSD 1.35% ~ 2.28%。**结论** 该方法简便准确, 重复性好, 可用于退银合剂的质量控制。

**关键词:** 退银合剂; 绿原酸; 马钱苷; 芍药苷; 黄芩苷; 丹酚酸 B; 丹皮酚; HPLC

中图分类号: R927.2

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2018)05-1093-04

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2018.05.017

## Simultaneous determination of six constituents in Tuiyin Mixture by HPLC

LU Jing, NIU Xiao-jing, DUAN Xiao-ying\*

(The First Affiliated Hospital of Henan University of CM, Zhengzhou 450000, China)

**ABSTRACT:** **AIM** To establish an HPLC method for the simultaneous content determination of chlorogenic acid, loganin, paeoniflorin, baicalin, salvianolic acid B and paeonol in Tuiyin Mixture (*Moutan Cortex*, *Paeoniae Radix Rubra*, *Lonicerae japonicae Caulis*, etc.). **METHODS** The analysis of methanol extract of this drug was performed on a 30 °C thermostatic ZORBAX SB-Aq column (4.6 mm×250 mm, 5 μm), with the mobile phase comprising of acetonitrile - 0.1% phosphoric acid flowing at 1.0 mL/min in a gradient elution manner, and the detection wavelength was set at 235 nm. **RESULTS** Six constituents showed good linear relationships within their own ranges ( $r \geq 0.9997$ ), whose average recoveries were 97.1% - 100.6% with the RSDs of 1.35% - 2.28%. **CONCLUSION** This simple, accurate and reproducible method can be used for the quality control of Tuiyin Mixture.

**KEY WORDS:** Tuiyin Mixture; chlorogenic acid; loganin; paeoniflorin; baicalin; salvianolic acid B; paeonol; HPLC

银屑病俗称牛皮癣, 中医名“白疔”, 是一种常见易发的慢性顽固性皮肤病, 为皮肤科领域重点研究和防治的疾病之一, 目前对该病尚无理想疗

法, 而中医药治疗有其独到之处<sup>[1]</sup>。退银合剂是在归纳分析传统中药治疗银屑病用药特点的基础上<sup>[2-4]</sup>, 结合河南中医药大学第一附属医院长期治

收稿日期: 2017-08-23

基金项目: 2014 年河南省中医药科学研究专项课题(2014ZY02041)

作者简介: 鲁 静(1984—), 女, 博士, 主管药师, 从事药物分析和药物制剂研究。Tel: (0371) 66251204, E-mail: lujing1@msn.com

\* 通信作者: 段晓颖(1966—), 女, 硕士, 主任药师, 从事中药检验分析和中药制剂研究。Tel: (0371) 66233639, E-mail: dxy1378@163.com