

和 D[J]. 中草药, 2007, 38(11): 1732-1733; 1744.

[16] 贾玉梅, 段红福, 崔 瑛, 等. 怀鲜地黄 HPLC 指纹图谱研究[J]. 中成药, 2011, 33(5): 729-733.

[17] 谢彩侠, 李雅静, 张 苗, 等. 怀地黄中地黄苷 A, 地黄苷 D 及益母草苷含量快速分析方法的建立[J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(6): 47-54.

还阳参 UPLC 指纹图谱及化学计量学分析

苗雨露¹, 张雯霞², 张文智¹, 冯 敏², 李媛媛¹, 倪 艳^{1*}
(1. 山西省中医药研究院, 山西 太原 030045; 2. 山西中医药大学, 山西 太原 030619)

摘要: **目的** 建立还阳参 UPLC 指纹图谱及化学计量学分析。**方法** 还阳参 70% 甲醇提取物的分析采用 Zorbax SB-C₁₈ 色谱柱 (100 mm×2.1 mm, 1.8 μm); 流动相乙腈-0.1% 甲酸水溶液, 梯度洗脱; 柱温 30 ℃; 体积流量 0.3 mL/min; 检测波长 329 nm。通过相似度分析, 结合聚类分析和主成分分析, 对不同批还阳参药材进行质量评价。**结果** 10 批样品指纹图谱中有 18 个共有峰, 相似度 0.970~0.998; 聚类分析将还阳参分为 2 类。**结论** 该方法稳定可靠, 可用于还阳参的质量控制。

关键词: 还阳参; 指纹图谱; UPLC; 聚类分析; 主成分分析

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** B **文章编号:** 1001-1528(2020)09-2523-05

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2020.09.053

还阳参为菊科植物还阳参属屠还阳参 *Crepis crocea* (Lamk) Babc 的干燥全草, 最早收载于《内蒙古中草药》, 其味苦, 性微寒, 有益气、止咳平喘、清热解毒之功效, 主产于山西、内蒙古等北部地区, 别名为“驴打滚儿草”“屠还阳参”等^[1]。其使用历史悠久, 现已被《山西省中药材中药饮片标准》收录。民间常用还阳参煎汤医治喘息慢性支气管炎、无名肿毒等, 治疗效果明显。本课题组从 1998 年开始对还阳参进行资源调查, 并用科学的方法研究其药理作用和化学成分, 以期阐明其安全性和有效性。课题组针对还阳参药理作用及化学成分进行研究, 并确认其止咳平喘、益气作用的活性物质。药效实验结果表明, 还阳参醇提物石油醚部位通过减少小鼠咳嗽次数、延长小鼠咳嗽潜伏期发挥止咳作用^[2], 正丁醇部位通过抑制组胺和乙酰胆碱对豚鼠引起的哮喘发挥平喘作用^[3]。除此之外, 还研究了还阳参止咳平喘药效物质基础, 且从其活性部位分离出一些化学成分, 均为首次从中分离得到^[4]。《山西省中药材中药饮片标准》中以绿原酸的含量 (不少于 0.06%) 作为质控标准^[5]。

UPLC 指纹图谱能较全面地得到中药中的化学成分的

相对含量, 更好地评价药材质量^[6-13]。其作为中药研究领域使用较多且较有效的手段之一, 该方法操作简便、稳定、应用便捷。本实验建立还阳参 UPLC 指纹图谱, 结合化学计量学综合评价还阳参药材, 以期找到指标成分, 建立更合理的质量标准。

1 仪器与试药

1.1 仪器 Agilent 1290 infinity II 高效液相色谱仪、Agilent G4 212 A DAD 检测器、ChemStation 色谱数据工作站 (美国 Agilent 公司); FW-100 型高速万能粉碎机 (北京中兴伟业仪器有限公司); LC-300B 型数控超声波清洗机 (山东济宁鲁超声设备有限公司); SE402F 奥豪斯型电子分析天平 (奥豪斯仪器上海有限公司)。

1.2 试药 样品信息见表 1, 经山西省中医药研究院倪艳教授鉴定为菊科植物屠还阳参 *Crepis crocea* (Lamk) Babc 的干燥全草。绿原酸对照品 (批号 110753-201314, 含量大于 98%)、咖啡酸对照品 (批号 110885-200102, 含量大于 98%) 均购于中国食品药品检定研究院。甲醇、乙腈 (色谱纯, 西陇科学股份有限公司); 甲酸 (分析纯, 批号 20030602, 北京北化精细化学品有限责任公司); 水为超纯水。

收稿日期: 2019-04-08

基金项目: 山西省中药材中药饮片地方标准研究-还阳参 (2016004C)

作者简介: 苗雨露 (1993—), 女, 硕士生, 研究方向为方剂药效物质基础及制剂现代化。Tel: 18834164784, E-mail: 1121027457@qq.com

* 通信作者: 倪 艳 (1965—), 女, 教授, 研究方向为方剂药效物质基础及制剂现代化。Tel: (0351) 4668016, E-mail: niyan_01@hotmail.com

网络出版日期: 2019-07-10

网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.1368.r.20190706.1432.002.html>

表 1 样品信息

编号	产地	采收日期
S1	内蒙古乌兰察布市集宁	2016. 9
S2	山西省朔州市山阴县	2016. 9
S3	内蒙古乌兰察布市集宁	2017. 8
S4	山西省朔州市山阴县	2017. 8
S5	山西省朔州市山阴县	2017. 9
S6	山西省朔州市山阴县	2017. 9
S7	山西省朔州市山阴县	2018. 6
S8	山西省朔州市山阴县	2018. 7
S9	山西省朔州市山阴县	2018. 7
S10	山西省忻州市繁峙县	2018. 9

2 方法

2.1 色谱条件 Zorbax SB-C₁₈ 色谱柱 (100 mm×2.1 mm, 1.8 μm); 流动相乙腈 (A) -0.1% 甲酸水溶液 (B), 梯度洗脱 (0~20 min, 5%~10% A; 20~30 min, 10%~20% A; 30~40 min, 20%~50% A; 40~41 min, 50%~5% A; 41~45 min, 5% A); 体积流量 0.3 mL/min; 柱温 30 ℃; 进样量 1 μL; 检测波长 329 nm。

2.2 溶液制备

2.2.1 对照品溶液 精密称取绿原酸、咖啡酸对照品, 加入甲醇制备成含绿原酸 0.125 1 mg/mL、咖啡酸 0.141 2 mg/mL 的对照品溶液, 摇匀, 即得。

2.2.2 供试品溶液 精密称取还阳参药材粉末 (过 5 号筛) 1.5 g, 加 70% 甲醇 15 mL, 超声 (300 W、40 kHz) 提取 30 min, 静置冷却, 再用 70% 甲醇补足减失质量, 过滤, 用 0.22 μm 微孔滤膜过滤, 取续滤液, 即得。

2.3 方法学考察

2.3.1 精密度试验 取还阳参药材 (S1), 按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液, 在“2.1”项色谱条件下连续进样 6 次, 测得各色谱峰相对保留时间和峰面积 RSD 均小于 0.7%, 表明仪器精密度良好。

2.3.2 稳定性试验 取还阳参药材 (S1), 按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液, 在“2.1”项色谱条件下, 分别于 0、2、4、8、12、24 h 进样, 测得各色谱峰相对保留时间和峰面积 RSD 均小于 2.0%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.3.3 重复性试验 取还阳参药材 (S1) 6 份, 按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液, 在“2.1”项色谱条件下进样, 测得各峰的相对保留时间和峰面积的 RSD 均小于 3.0%, 表明该方法重复性良好。

2.4 指纹图谱建立

2.4.1 指纹图谱建立 绿原酸和咖啡酸对照品按“2.2.1”项下方法制备对照品溶液, 在“2.1”项色谱条件下进样, 得到绿原酸和咖啡酸对照品液相色谱图, 见图 1。按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液, 在“2.1”项色谱条件下进样, 得色谱图, 将 10 批样品色谱图导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统” (2008A 版), S6 为参照图谱, 采用中位数、时间窗为 0.2 的方法, 得到 10 批样品指纹图谱见图 2, 及对照指纹图谱, 见图 3, 确定 18 个共有峰。

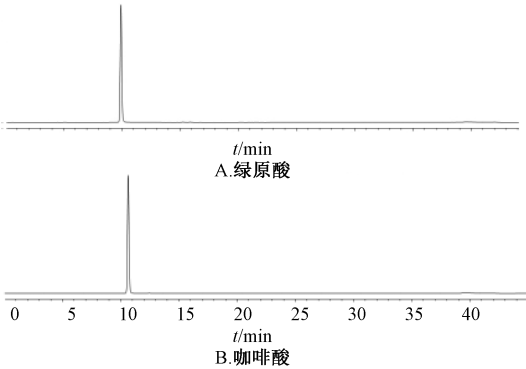


图 1 各对照品色谱图谱

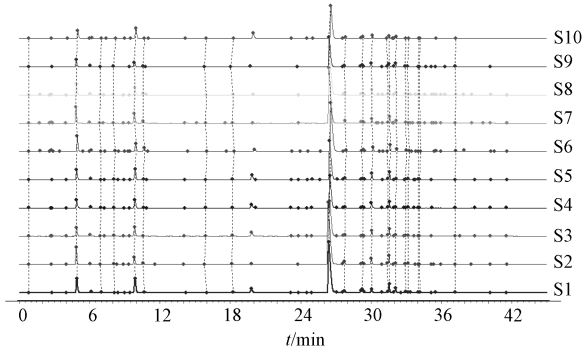
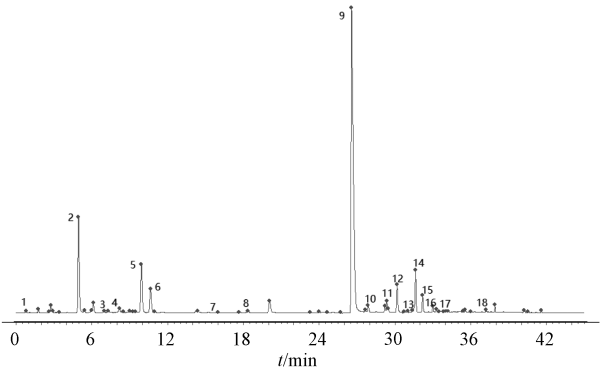


图 2 10 批样品 UPLC 指纹图谱



5. 绿原酸 6. 咖啡酸

图 3 还阳参对照指纹图谱

2.4.2 相似度分析 通过与对照品溶液色谱图比对, 确认 5 号峰为绿原酸, 6 号峰为咖啡酸。因 5 号峰在各样品中均存在, 且含量较高, 分离度较好, 故选取其为参照峰 (S), 计算得到 18 个共有色谱峰的相对保留时间和相对峰面积见表 2~3。采用“色谱指纹图谱相似度评价系统 2008A 版”软件计算 10 批样品和对照指纹图谱之间的相似度, 分别为 0.970、0.996、0.996、0.995、0.996、0.997、0.998、0.998、0.998、0.988, 均在 0.970 以上, 表明 10 批还阳参质量相对稳定。

2.5 化学计量学分析 相似度评价难以看出 10 批药材之间的差异, 需要进一步采用聚类分析和主成分分析明确药材的差异, 更好的评价 10 批还阳参药材质量。

2.5.1 聚类分析 将 10 批样品 18 个共有峰面积导入 SPSS

表 2 10 批样品共有峰相对保留时间

峰号	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	RSD/%
1	0.081 8	0.082 4	0.082 1	0.081 8	0.081 8	0.081 6	0.082 4	0.082 0	0.082 4	0.080 9	0.56
2	0.497 8	0.494 9	0.497 2	0.496 8	0.495 3	0.498 8	0.492 3	0.494 5	0.494 4	0.502 2	0.56
3	0.707 1	0.701 3	0.703 0	0.703 1	0.702 5	0.702 8	0.698 7	0.700 5	0.701 1	0.705 2	0.34
4	0.822 1	0.820 2	0.819 9	0.818 8	0.817 4	0.823 4	0.817 0	0.816 7	0.816 4	0.824 9	0.36
5	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	0.00
6	1.079 7	1.076 7	1.075 8	1.074 6	1.074 0	1.072 9	1.076 2	1.074 7	1.073 0	1.073 2	0.20
7	1.614 9	1.610 6	1.615 4	1.608 3	1.608 7	1.610 7	1.620 6	1.617 9	1.606 4	1.601 3	0.36
8	1.844 4	1.846 9	1.848 5	1.840 4	1.840 9	1.847 8	1.854 0	1.850 5	1.834 5	1.837 3	0.33
9	2.669 0	2.681 6	2.692 0	2.683 0	2.678 3	2.675 5	2.689 2	2.683 6	2.689 2	2.670 8	0.29
10	2.804 1	2.823 2	2.823 5	2.812 7	2.810 6	2.807 8	2.827 9	2.820 1	2.820 1	2.795 7	0.36
11	2.958 1	2.982 0	2.978 2	2.966 5	2.965 1	2.941 8	2.984 8	2.975 2	2.975 4	2.944 0	0.51
12	3.036 8	3.057 5	3.055 0	3.043 0	3.040 6	3.038 2	3.061 6	3.051 4	3.051 7	3.025 6	0.37
13	3.176 1	3.198 1	3.195 6	3.183 3	3.181 1	3.161 4	3.202 4	3.191 7	3.191 2	3.147 0	0.55
14	3.189 8	3.212 3	3.209 7	3.197 6	3.195 3	3.185 4	3.217 8	3.205 9	3.209 3	3.171 5	0.45
15	3.245 0	3.268 4	3.265 8	3.253 5	3.251 1	3.241 7	3.273 5	3.261 4	3.265 5	3.228 7	0.43
16	3.328 6	3.352 6	3.349 1	3.336 8	3.334 0	3.322 6	3.357 0	3.344 7	3.351 0	3.311 2	0.44
17	3.352 8	3.376 3	3.372 6	3.359 9	3.357 0	3.349 7	3.379 7	3.367 6	3.372 1	3.338 5	0.39
18	3.757 4	3.787 0	3.779 7	3.766 1	3.762 9	3.749 0	3.788 1	3.776 6	3.784 3	3.739 4	0.45

表 3 10 批样品共有峰相对峰面积

峰号	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	RSD/%
1	0.005 5	0.020 6	0.011 2	0.011 7	0.010 4	0.022 0	0.013 9	0.012 8	0.014 7	0.008 1	39.07
2	0.863 4	1.929 2	0.791 8	0.852 9	0.846 7	1.643 3	1.314 9	1.258 5	1.357 3	0.711 2	35.47
3	0.023 6	0.017 6	0.022 5	0.023 0	0.021 5	0.028 7	0.011 6	0.023 3	0.044 4	0.027 0	34.91
4	0.017 3	0.104 6	0.083 1	0.089 3	0.071 0	0.087 2	0.065 5	0.077 6	0.128 1	0.036 7	41.61
5	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	0.00
6	0.082 5	0.207 7	0.045 6	0.054 9	0.057 3	0.548 5	0.258 2	0.226 5	0.123 1	0.052 3	94.51
7	0.011 8	0.027 4	0.029 1	0.030 2	0.027 6	0.021 4	0.015 9	0.019 8	0.045 3	0.021 9	37.13
8	0.064 8	0.089 8	0.109 7	0.113 3	0.112 1	0.058 5	0.036 3	0.057 9	0.060 3	0.068 9	35.23
9	5.289 3	14.548 4	4.878 6	5.005 8	5.054 5	8.978 9	8.842 1	9.381 5	8.282 7	3.921 1	43.69
10	0.106 8	0.346 0	0.129 0	0.120 5	0.132 4	0.126 7	0.229 8	0.219 4	0.211 6	0.127 1	43.34
11	0.163 5	0.106 1	0.061 2	0.064 5	0.062 1	0.083 9	0.104 0	0.116 0	0.228 5	0.156 5	47.22
12	0.180 5	0.677 2	0.476 3	0.496 4	0.484 8	0.450 6	0.331 5	0.546 1	0.629 8	0.232 9	35.56
13	0.053 7	0.124 3	0.078 6	0.093 5	0.082 3	0.025 6	0.083 8	0.113 2	0.165 0	0.009 3	55.47
14	0.365 9	0.792 8	0.488 2	0.477 2	0.472 4	0.615 5	0.407 1	0.731 3	0.392 9	0.214 3	35.17
15	0.189 3	0.132 8	0.075 9	0.080 9	0.074 5	0.232 5	0.148 0	0.207 4	0.466 6	0.122 8	67.70
16	0.042 0	0.050 9	0.034 0	0.032 3	0.033 8	0.077 8	0.034 9	0.068 1	0.063 2	0.020 5	40.48
17	0.012 7	0.111 3	0.066 8	0.070 2	0.062 1	0.041 8	0.028 5	0.047 1	0.127 4	0.023 4	62.74
18	0.009 1	0.009 1	0.011 9	0.011 5	0.009 1	0.035 2	0.011 4	0.030 4	0.049 9	0.011 1	76.42

23.0 版软件，然后标准化处理进行聚类分析，得到10×18 阶数据矩阵，以组间平均链锁距离及欧氏距离平方作为样品测度。结果见图 4。

结果显示，当判别条件距离为 15 时，10 批样品被分为 4 大类，第 1 类包括 S2、S3、S4、S5、S7、S8；第 2 类包括 S9、S10；第 3 类包括 S6；第 4 类包括 S1。当判别条件距离为 20 时，10 批样品被分为 2 大类，1 类包括 S1；剩下的为另 1 类。结果表明，分类情况与产地无关，可能是由于化学成分含有量差异导致。结果与相似度分析结果基本一致。

2.5.2 主成分分析 将 18 个共有峰峰面积导入 SPSS 23.0 软件，然后对其进行标准化处理，将处理后的共有峰峰面积进行主成分分析，相关矩阵的特征值及其方差见表 4，结果见图 5 ~ 6，前 4 个主成分的累计方差贡献率

为 89.614%。

表 4 主成分的初始特征值和累积贡献率

成分	初始特征值			提取平方和载入		
	总计	方差百分比	累积贡献率/%	总计	方差百分比	累积贡献率/%
1	5.833	32.407	32.407	5.833	32.407	32.407
2	5.107	28.371	60.779	5.107	28.371	60.779
3	3.416	18.977	79.756	3.416	18.977	79.756
4	1.774	9.858	89.614	1.774	9.858	89.614
5	1.193	6.63	96.244			
6	0.37	2.055	98.299			
7	0.236	1.309	99.608			
8	0.057	0.319	99.927			
9	0.013	0.073	100			

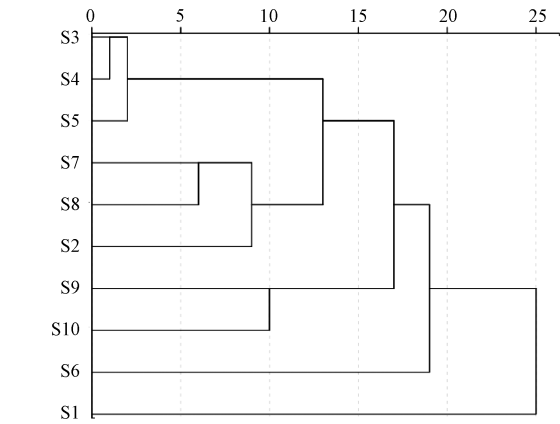


图 4 10 批样品聚类树状图

由表 5 可得，中药化学成分众多，多成分相互作用才是影响还阳参药材质量差异的重要原因。4、7、11、12、15、17 号色谱峰对第一主成分的作用在 0.7 以上，是影响第一主成分的主要来源；1、2、9、10、14 号色谱峰对第二主成分的作用在 0.7 以上，是影响第二主成分的主要来源；5、8 号色谱峰对第三主成分的作用在 0.8 以上，是影响第三主成分的主要来源；第 4 主成分主要来自色色谱峰 10 的信息。

表 5 初始因子载荷矩阵

峰号	成分			
	1	2	3	4
1	-0.085	0.828	-0.215	0.298
2	0.402	0.862	0.201	-0.026
3	0.531	-0.506	0.528	0.389
4	-0.841	0.396	-0.245	0.213
5	0.404	0.003	0.842	0.134
6	0.458	0.654	-0.44	0.333
7	-0.736	-0.416	0.401	0.266
8	-0.370	-0.178	0.824	0.381
9	0.248	0.909	0.187	-0.248
10	0.011	0.723	0.275	-0.597
11	0.789	-0.236	0.492	-0.255
12	-0.771	0.488	0.222	0.242
13	-0.362	0.360	0.388	-0.347
14	-0.016	0.760	0.479	0.305
15	0.905	-0.034	0.016	-0.05
16	0.631	0.502	0.158	0.466
17	-0.871	0.170	0.036	-0.027
18	0.488	-0.026	-0.663	0.411

将 10 批还阳参药材中 18 个共有峰的峰面积导入 SIM-CA-P13.0 统计软件进行 PCA 分析，得到 PCA 得分图（图 5）、各成分柱状图（图 6）。

图 5 可直观看到 10 批还阳参药材质量的差异，药材 1 与其他样本距离较远，3、4、5 距离较近，6、7、8 距离较近，分类结果与 HCA 结果基本一致。PCA 结果与 HCA 的结果可以相互验证。

图 6 代表各个色谱峰对还阳参药材质量差异的贡献值，其中 9 号峰贡献值最大、依次类推 2、14、10、6、5 号色谱峰贡献值较大。可以认为这 6 个色谱峰是影响还阳参药

材质量差异的主要色谱峰，经对照品指认，5、6 号峰分别为绿原酸和咖啡酸，剩余色谱峰还需结合核磁、液质联用等技术手段进一步鉴别确认。

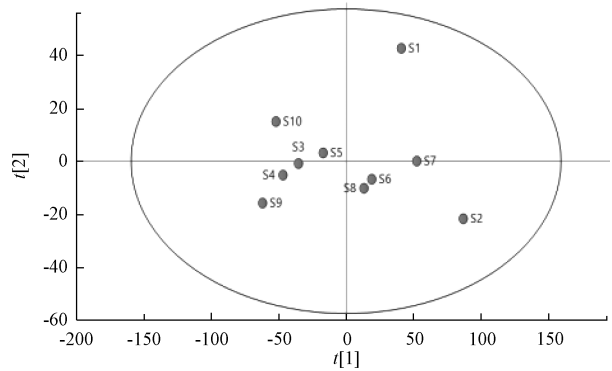


图 5 10 批样品主成分分析图

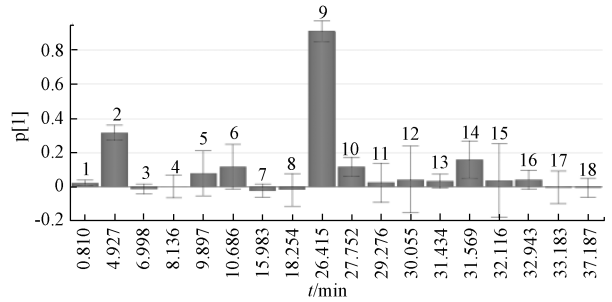


图 6 各成分柱状图

3 讨论

3.1 提取方法和色谱条件考察 参考文献[14]，本实验对提取溶剂、提取方法、提取次数及提取时间进行考察，以色谱峰数目、分离度、基线平稳程度为主要考虑因素，发现 70% 甲醇超声提取 30 min，提取 1 次，提取率较好，杂质干扰少。

考察了流动相乙腈、甲醇、0.1% 甲酸、0.1% 乙酸、0.1% 磷酸，柱温 25、26、27、28、29、30 ℃，波长 210、254、329 nm，最终确定“2.1”项下条件，此条件下基线平稳，色谱峰出峰时间合适，色谱峰个数较多，分离效果较好。

3.2 指纹图谱建立 建立了 10 批样品 UPLC 指纹图谱，共标定了 18 个共有峰，以对照指纹图谱为参照，计算相似度，结果显示 10 批还阳参药材相似度均大于 0.970，表明 10 批样品质量相对稳定。且共有峰保留时间相差较小，但峰面积相差较大，表明不同批还阳参化学成分含有量差异较大^[15-16]。

3.3 化学模式识别 以 5 号峰绿原酸为参照峰，对其进行标准化处理，进行聚类分析和主成分分析。当判别条件距离为 20 时，10 批样品被分为 2 类，结果表明，分类情况与产地无关，可能是由于化学成分含有量差异导致。主成分分析图显示 S1 与其他批次样品相距较远，图 6 显示，影响还阳参药材质量差异的主要有 6 个色谱峰。聚类分析、主成分分析及相似度结果基本一致，表明本实验建立的还阳参药材指纹图谱具有可靠性。

本实验首次建立了还阳参 UPLC 指纹图谱,较全面地反映了还阳参药材化学成分的数目和含有量情况。结合相似度评价、聚类分析和主成分分析共同区分 10 批样品,综合评价其指纹图谱,试图找到影响其质量差异的指标成分,为建立更加合理的还阳参质量标准提供科学依据。

参考文献:

[1] 江苏新医学院. 中药大辞典[M]. 上册. 上海: 上海人民出版社, 1977: 1222.

[2] 刘振权. 还阳参有效部位部位化学成分止咳平喘作用的研究[D]. 太原: 山西省中医药研究院, 2002.

[3] 卢方晋. 还阳参有效部位化学成分的研究[D]. 太原: 山西省中医药研究院, 2004.

[4] 倪 艳, 卢方晋, 郝旭亮, 等. 还阳参化学成分的研究[J]. 中国中医药信息杂志, 2007, 14(4): 51-52.

[5] 李小贝, 贺士麟, 彭照琪, 等. HPLC 法测定还阳参药材中绿原酸[J]. 药物评价研究, 2012, 35(3): 194-196.

[6] 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[J]. 中草药, 2016, 47(9): 1443-1457.

[7] 李彤彤, 韩红园, 王宝丽, 等. 红花 UPLC 法特征指纹图谱研究[J]. 中草药, 2017, 48(5) 997-1004.

[8] 何 丹, 张舒涵, 王佳凤, 等. 千年健 HPLC 指纹图谱研

究[J]. 中草药, 2018, 49(5): 1165-1168.

[9] 吴亿晗, 王 迪, 杨晓琴, 等. 葛根芩连丸 UPLC 指纹图谱建立及 7 种成分测定[J]. 中成药, 2018, 40(5): 1083-1087.

[10] 吕燕男, 夏忠庭, 李 响, 等. 三黄睛视明丸 UPLC 指纹图谱[J]. 中成药, 2018, 40(4): 880-885.

[11] 胡玉珍, 唐 洁, 熊苏慧, 等. 不同产地山楂与野山楂果实 UPLC 指纹图谱的建立及模式识别[J]. 中成药, 2018, 40(4): 982-987.

[12] 孙立丽, 任晓亮, 张慧杰, 等. 基于超高效液相色谱指纹图谱和化学计量学相结合的何首乌炮制研究[J]. 中华中医药杂志, 2017, 32(5): 2194-2197.

[13] 王领弟, 徐宝欣, 李艳荣, 等. 韩信草 UPLC 指纹图谱及 LC-MS 化学成分分析[J]. 中药材, 2017, 40(8): 1870-1875.

[14] 白关亚, 何 盼, 李媛媛, 等. 青翘不同极性部位抗炎作用的谱效关系分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(11): 1-6.

[15] 皮胜玲, 胡玉珍, 彭 曦, 等. 野生与栽培夏枯草 HPLC 指纹图谱研究及模式识别分析[J]. 中国药学杂志, 2017, 52(5): 367-371.

[16] 周琳琳, 郝 敏, 白 雁, 等. 河南连翘不同极性部位的 HPLC 指纹图谱[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(7): 52-59.

对 2015 年版《中国药典》中茜草定量测定方法的改进

杨 丽
(白银市药品检验检测中心, 甘肃 白银 730900)

摘要: **目的** 改进 2015 年版《中国药典》中茜草含有量测定方法。**方法** 将《中国药典》供试品溶液制备项下的“…放置过夜, 超声处理…”改为“…超声处理…”, “…精密加入甲醇-25% 盐酸 (4 : 1) 20 mL…转移至 25 mL 量瓶中…”改为“…精密加入甲醇-25% 盐酸 (4 : 1) 20 mL, 70 ℃ 加热回流 30 min, 取出, 立即冷却, 精密加入三乙胺 3 mL, 立即盖上瓶盖, 匀速振摇, 静置 30 min, 转移至 25 mL 量瓶中…”。HPLC 法测定 10 个来源茜草中羟基茜草素、大叶茜草素含有量及其总量。**结果** 在本实验建立的供试品溶液制备方法下, 不同样品中羟基茜草素、大叶茜草素含有量及其总量均高于《中国药典》方法。**结论** 在 2015 年版《中国药典》茜草含有量测定方法中的供试品溶液制备项下, 建议应对一次提取方法、滤液收集装置、二次化学反应条件、加三乙胺后的混匀时间、反应液转移至量瓶是否需要冲洗等内容进行修订, 并将羟基茜草素、大叶茜草素的总含有量作为检测指标, 以使相关标准更准确、可靠、完善。

关键词: 2015 年版《中国药典》; 茜草; 羟基茜草素; 大叶茜草素; HPLC

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** B **文章编号:** 1001-1528(2020)09-2527-03

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2020.09.054

茜草系茜草科植物茜草 *Rubia cordifolia* L. 的干燥根和根茎, 随着人们对中医药事业的关注度日益提高, 其药用价值也日益显现^[1-4]。2010、2015 年版《中国药典》茜草中羟基茜草素、大叶茜草素的含有量测定方法采用一次过