

进展[J]. 中国中药杂志, 2015, 40(18): 3530-3533.

[16] 王曼笛. 艾草精油主要化合物桉叶油醇的抑菌机理及艾草精油 Pickering 乳液抑菌作用研究[D]. 郑州: 河南工业大学, 2022.

[17] Lu T L, Shi S M, Cai B C, *et al.* Advances in studies on multi-component determination of Chinese materia medica by QAMS[J]. *Chin Tradit Herbal Drugs*, 2012, 43 (12): 2525-2529.

[18] Gao X Y, Jiang Y, Lu J Q, *et al.* One single standard substance for the determination of multiple anthraquinone derivatives in rhubarb using high-performance liquid chromatography-diode array detection [J]. *J Chromatogr A*, 2009, 1216 (11): 2118-2123.

[19] 柳立伟, 乙 引, 潘 卫, 等. GC 法同时测定肤舒止痒膏中 5 个有效成分的含量[J]. 药物分析杂志, 2013, 33(11): 1882-1886.

[20] 王 博, 李秀杰, 张雪冰. 苦参碱气相色谱与高效液相色谱的分析方法[J]. 农药, 2018, 57(7): 497-499.

[21] 刘米艳, 陈 娜, 秦 苹, 等. 苦参药材及配方颗粒 HPLC 指纹图谱研究[J]. 壮瑶药研究, 2023(1): 126-131.

[22] 王鹏飞, 王京辉, 段秀梅, 等. HPLC 法同时测定复方苦参注射液 7 个成分含量及指纹图谱研究[J]. 药物分析杂志, 2022, 42(7): 1101-1109.

[23] Jung Y A, Wan X, Yan H, *et al.* Determination of matrine and oxymatrine in *Sophora flavescens* Ait. via high performance liquid chromatography [J]. *J Liq Chromatogr Relat Technol*, 2008, 31(18): 2752-2761.

[24] Hun-Su, Seo, Kyoung, *et al.* GC/MS analysis of high-performance liquid chromatography fractions from *Sophora flavescens* and *Torilis japonica* extracts and their *in vitro* anti-neopsporal effects on *Neospora caninum* [J]. *J Vet Sci*, 2013, 14(3): 241-248.

抗骨增生片 UPLC 指纹图谱建立及 8 种成分含量测定

严璐佳, 陈海滨, 胡 敏, 金 鸣, 陈在敏*, 李 沁*
(福建省食品药品质量检验研究院, 福建 福州 350012)

摘要: **目的** 建立抗骨增生片 UPLC 指纹图谱, 并测定松果菊苷、麦角甾苷、柚皮苷、朝藿定 A、朝藿定 B、朝藿定 C、淫羊藿苷、宝藿苷 I 的含量。**方法** 分析采用 Waters HSS T3 C₁₈ 色谱柱 (2.1 mm×100 mm, 1.8 μm); 流动相乙腈-水 (含 0.1% 磷酸), 梯度洗脱; 体积流量 0.3 mL/min; 柱温 30 ℃; 检测波长 270、283、330 nm。**结果** 18 批样品指纹图谱中有 19 个共有峰, 相似度大于 0.8。8 种成分在各自范围内线性关系良好 ($r>0.999\ 7$), 平均加样回收率 95.58%~106.55%, RSD 0.64%~1.12%。**结论** 该方法简便准确、重复性好, 可用于抗骨增生片的质量控制。

关键词: 抗骨增生片; UPLC 指纹图谱; 化学成分; 含量测定

中图分类号: R927.2 **文献标志码:** B **文章编号:** 1001-1528(2024)12-4098-05

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2024.12.031

抗骨增生片为骨科常用中成药, 方中君药熟地黄补血滋阴, 益精填髓; 鸡血藤舒筋活络; 肉苁蓉益精血, 补肾阳; 鹿衔草祛风湿, 强筋骨; 莱菔子为消食药^[1], 淫羊藿-骨碎补作为药对配伍, 既补肾又活血^[2-4], 诸药合用, 共奏止痛、补肾、活血之功。该制剂最早收载于《中华人民共和国卫生部药品标准》^[5], 但仅有显微和检查项, 缺少专属性指标成分的定量分析和整体评价。目前, 关于抗骨增生片质量控制的研究大多集中于淫羊藿苷含量测定、柚皮苷 TLC 鉴别等^[6-9], 难以实现全面评价。

多成分含量测定已成为中药复方制剂评价的有效手段^[10-12], 而中药指纹图谱可在此基础上综合评价其真实

性、稳定性和一致性的强有力、可量化方法^[13-15], 故近年来两者联用的研究呈逐年上升的趋势^[16-19]。本实验建立抗骨增生片 UPLC 指纹图谱, 并测定松果菊苷、麦角甾苷、柚皮苷、朝藿定 A、朝藿定 B、朝藿定 C、淫羊藿苷、宝藿苷 I 的含量, 旨在为该制剂质量控制提供分析方法和数据参考。

1 材料

1.1 仪器 Waters H-class 超高效液相色谱仪 (美国 Waters 公司); KQ-500VDE 超声波清洗机 (昆山市超声仪器有限公司); XS204 (万分之一)、XPR105 (十万分之一) 分析天平 (瑞士 Mettler-Toledo 公司); Milli-Q 超纯水

收稿日期: 2024-06-28

基金项目: 福建省药品监督管理局科技项目 (2023008)

作者简介: 严璐佳 (1987—), 女, 硕士, 主管药师, 从事药品质量研究。Tel: (0591) 87522890, E-mail: 654118836@qq.com

* 通信作者: 陈在敏 (1973—), 女, 主任药师, 从事药品质量和标准研究。Tel: (0591) 87671677, E-mail: yyhczm@sina.com

李 沁 (1985—), 女, 博士, 副主任药师, 从事药品质量研究。Tel: (0591) 87522890, E-mail: mumulql@163.com

仪（美国 Millipore 公司）。

1.2 试剂与药物 朝藿定 A（批号 1124-RD-0020，纯度 96.9%）、朝藿定 B（批号 1124-RD-0009，纯度 97.8%）对照品均购自广州佳途科技股份有限公司；朝藿定 C（批号 111780-201905，纯度 94.3%）、淫羊藿苷（批号 110737-202017，纯度 98.1%）、柚皮苷（批号 110722-202116，纯度 93.5%）、松果菊苷（批号 111670-201907，纯度 91.8%）、宝藿苷 I（批号 111852-202104，纯度 99.2%）、麦角甾苷（批号 111530-201914，纯度 95.2%）对照品均购自中国食品药品检定研究院。乙腈（色谱纯，德国 Merck 公司）；磷酸（色谱纯，上海阿拉丁生化科技股份有限公司）；甲醇（分析纯，国药集团化学试剂有限公司）；水为超纯水。

抗骨增生片共 18 批，来自 3 个厂家，分别为 A1~A6（批号 20221002、20220802、20220506、20221202、20220803、20221203）、B1~B6（批号 20220902、20230202、20230203、20230201、20211209、20230205）、C1~C6（批号 210031、210048、220004、210046、210060、210004）。阴性样品相关饮片均购自山西华康药业股份有限公司，经专家鉴定为正品。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 Waters Acquity UPLC HSS T3 C₁₈ 色谱柱（2.1 mm×100 mm，1.8 μm）；流动相乙腈（A）-水（含 0.1% 磷酸，B），梯度洗脱（0~5 min，5%~10% A；5~20 min，10%~29% A；20~25 min，29%~45% A；25~30 min，45% A）；体积流量 0.3 mL/min；柱温 30 ℃；检测波长 0~12 min 270 nm，12~14 min 330 nm，14~14.9 min 283 nm，14.9~15.8 min 330 nm，15.8~20 min 270 nm；进样量 1 μL。理论塔板数按淫羊藿苷色谱峰计，不得低于 10 000。

2.2 溶液制备

2.2.1 对照品溶液 精密称取对照品适量，甲醇制成分别含朝藿定 A 0.103 8 mg/mL、朝藿定 B 0.142 0 mg/mL、朝藿定 C 0.141 3 mg/mL、淫羊藿苷 0.210 3 mg/mL、柚皮苷 0.114 5 mg/mL、松果菊苷 0.588 6 mg/mL、麦角甾苷 0.126 4 mg/mL、宝藿苷 I 0.067 2 mg/mL 的溶液，即得。

2.2.2 供试品溶液 取本品 20 片，除去包衣，研细，取约 1 g，精密称定，精密加入 25 mL 60% 乙醇，密塞，称定质量，超声处理 30 min，放冷，60% 乙醇补足减失的质量，摇匀，过滤，即得。

2.2.3 阴性样品溶液 按处方比例和工艺，分别制成缺熟地黄、缺鸡血藤、缺肉苁蓉、缺鹿衔草、缺莱菔子、缺淫羊藿、缺骨碎补的阴性样品，按“2.2.2”项下方法制备，即得。

2.3 UPLC 指纹图谱建立

2.3.1 精密度试验 精密称取本品（编号 A1）1 g，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定 6 次，以 15 号峰（淫羊藿苷）为参照，测得相对保留时间 RSD≤0.85%，相对峰面积 RSD≤1.63%。

将上述数据以 AIA 格式导入“中药指纹图谱相似度评价系统”，以全谱模式进行计算，测得指纹图谱相似度为 1.000（以第一次采集的色谱图作为参照图谱），表明仪器精密度良好。

2.3.2 重复性试验 精密称取本品（编号 A1）1 g，按“2.2.2”项下方法平行制备 6 份供试品溶液，在“2.1”项色谱条件下进样测定，测得相对保留时间 RSD≤0.41%，相对峰面积 RSD≤1.65%，指纹图谱相似度为 1.000，表明该方法重复性良好。

2.3.3 稳定性试验 取“2.2.2”项下供试品溶液适量，室温下于 0、4、8、12、16、19、24 h 在“2.1”项色谱条件下进样测定，测得相对保留时间 RSD≤0.55%，相对峰面积 RSD≤1.66%，指纹图谱相似度为 1.000，表明溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.3.4 图谱生成 取 18 批样品，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定，对其色谱图进行统一积分后以 AIA 格式导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”（2012 版），以 A1 图谱为参照，采用平均数法，设定时间窗宽度为 0.1，通过多点校正法确定 19 个共有峰，以 Mark 峰模式得到指纹图谱叠加图（图 1），并生成对照图谱（图 2），测得相似度均大于 0.80，表明不同厂家样品质量一致。再对同一厂家 6 批样品色谱图进行处理，分别生成 A、B、C 厂家对照图谱，测得相似度分别为 0.920~0.991、0.985~0.996、0.963~0.997，表明同一厂家不同批次样品之间相似度较高，工艺较稳定。

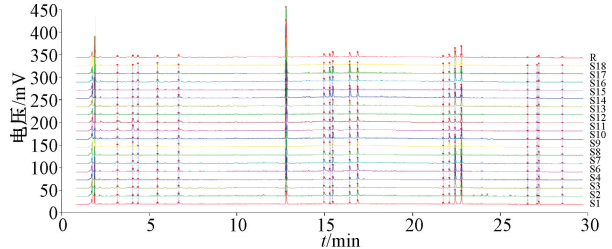


图 1 18 批抗骨增生片 UPLC 指纹图谱

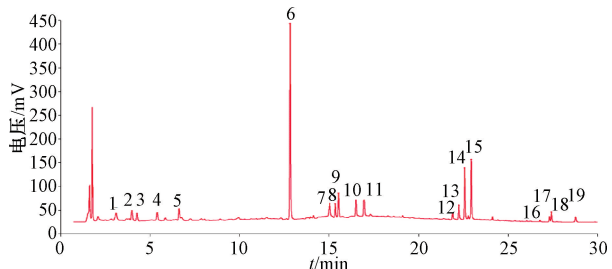


图 2 抗骨增生片对照指纹图谱

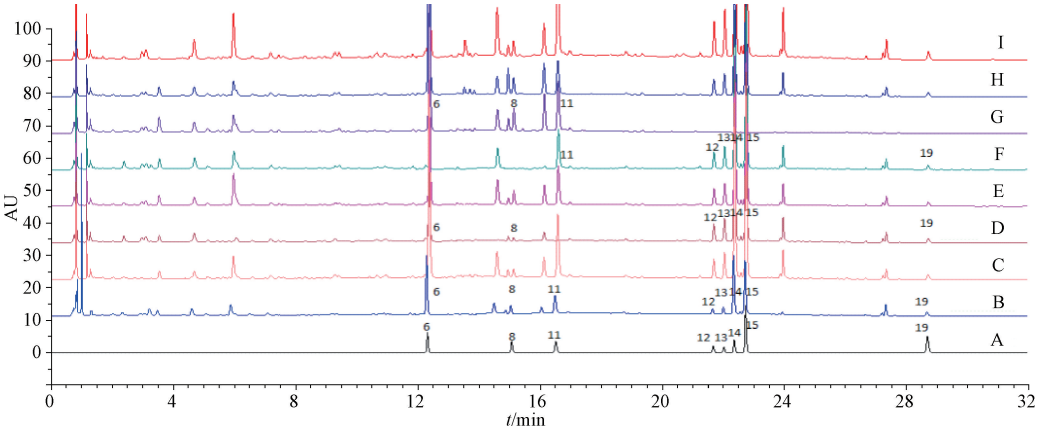
2.3.5 共有峰指认 取“2.2.1”项下对照品溶液适量，在“2.1”项色谱条件下进样测定，经对照品对比后指认出 10 个峰，分别为松果菊苷（峰 6）、新北美圣草苷（峰 7）、麦角甾苷（峰 8）、管花苷 A（峰 9）、柚皮苷（峰 11）、朝藿定 A（峰 12）、朝藿定 B（峰 13）、朝藿定 C（峰 14）、淫羊藿苷（峰 15）、宝藿苷 I（峰 19），但部分

样品中新北美圣草苷和管花苷 A 未达到基线分离, 故仅对
其余 8 种成分进行含量测定。

2.4 含量测定

2.4.1 专属性试验 取“2.2.1”项下对照品溶液、

“2.2.2”项下供试品溶液、“2.2.3”项下阴性样品溶液适
量, 在“2.1”项色谱条件下进样测定, 结果见图 3。由此
可知, 各成分分离度理想 (均大于 1.5), 阴性样品无干
扰, 表明该方法专属性良好。



6. 松果菊苷 8. 麦角甾苷 11. 柚皮苷 12. 朝藿定 A 13. 朝藿定 B 14. 朝藿定 C 15. 淫羊藿苷 16. 宝藿苷 I
注: A 为对照品, B 为供试品, C~I 分别为缺鹿衔草、缺烫骨碎补、缺鸡血藤、缺肉苁蓉、缺淫羊藿、缺炒莱菔子、缺熟地黄阴性样品。

图 3 各成分 UPLC 色谱图

2.4.2 线性关系考察 精密量取“2.2.1”项下对照品溶
液适量, 甲醇依次稀释 1、2、5、10、20、50 倍, 在
“2.1”项色谱条件下进样测定。以对照品质量浓度为横坐
标 (X), 峰面积为纵坐标 (Y) 进行回归, 结果见表 1, 可
知各成分在各自范围内线性关系良好。

表 1 各成分线性关系

成分	回归方程	r	线性范围/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)
松果菊苷	$Y=4\,842.8X-3\,598.1$	1.000 0	11.77~588.6
麦角甾苷	$Y=5\,907.4X-4\,393.4$	0.999 9	2.529~126.4
柚皮苷	$Y=5\,711.8X-2\,491.4$	0.999 9	2.291~114.5
朝藿定 A	$Y=5\,828.3X-3\,776.8$	0.999 7	2.076~103.8
朝藿定 B	$Y=5\,490.4X+675.92$	0.999 8	2.840~142.0
朝藿定 C	$Y=6\,922X-16\,129$	0.999 7	2.825~141.3
淫羊藿苷	$Y=8\,329.7X-31\,632$	0.999 8	4.207~210.3
宝藿苷 I	$Y=9\,530.1X-4\,163.3$	0.999 7	1.344~67.22

2.4.3 精密度试验 精密量取“2.2.1”项下对照品溶液
适量, 在“2.1”项色谱条件下进样测定 6 次, 测得朝藿定
A、朝藿定 B、朝藿定 C、淫羊藿苷、柚皮苷、松果菊苷、
麦角甾苷、宝藿苷 I 峰面积 RSD 分别为 0.96%、0.77%、
0.23%、0.24%、0.85%、0.39%、0.51%、0.78%, 表明
仪器精密度良好。

2.4.4 重复性试验 精密称取本品 (编号 A1) 1 g, 按
“2.2.2”项下方法平行制备 6 份供试品溶液, 在“2.1”项
色谱条件下进样测定, 测得朝藿定 A、朝藿定 B、朝藿定
C、淫羊藿苷、柚皮苷、松果菊苷、麦角甾苷、宝藿苷 I 含
量 RSD 分别为 1.50%、0.85%、0.42%、0.19%、1.02%、
0.58%、0.42%、0.84%, 表明该方法重复性良好。

2.4.5 稳定性试验 取“2.2.2”项下供试品溶液 (编号
A1) 适量, 于 0、4、8、12、16、20、24 h 在“2.1”项色
谱条件下进样测定, 测得朝藿定 A、朝藿定 B、朝藿定 C、淫

羊藿苷、柚皮苷、松果菊苷、麦角甾苷、宝藿苷 I 的峰面积
RSD 分别为 1.39%、0.71%、0.21%、0.23%、0.56%、
0.76%、0.63%、0.81%, 表明溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.4.6 加样回收率试验 取各成分含量已知的本品 (编号
A1) 6 份, 每份约 0.5 g, 精密称定, 按 100% 水平精密加
入对照品溶液 (朝藿定 A、朝藿定 B、朝藿定 C、淫羊藿
苷、柚皮苷、松果菊苷、麦角甾苷、宝藿苷 I 质量浓度分
别为 37.67、48.31、284.94、224.85、102.44、470.90、
58.72、16.80 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 5 mL, 在“2.1”项色谱条件下进样
测定, 计算回收率。结果, 朝藿定 A、朝藿定 B、朝藿定
C、淫羊藿苷、柚皮苷、松果菊苷、麦角甾苷、宝藿苷 I 平
均加样回收率 (RSD) 分别为 99.01% (0.64%)、103.95%
(0.74%)、104.68% (0.67%)、104.96% (0.64%)、99.07%
(0.89%)、103.73% (1.12%)、106.55% (0.61%)、95.58%
(0.83%)。

2.4.7 样品含量测定 取 18 批样品, 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定, 并
计算相似度, 结果见表 2。

3 讨论

3.1 检测波长选择 2020 年版《中国药典》显示, 抗骨
增生片中淫羊藿以朝藿定 A、朝藿定 B、朝藿定 C、淫羊藿
苷总含量为指标, 在 270 nm 波长处有最大吸收; 骨碎补以
柚皮苷为指标, 在 283 nm 波长处有最大吸收; 肉苁蓉以松
果菊苷和麦角甾苷总含量为指标, 在 330 nm 波长处有最大
吸收。本实验通过 DAD 检测器进行全波段扫描验证, 再对
已指认 8 种成分的出峰时间进行调整, 最终确定波长切换
方法, 可确保其色谱峰在最大吸收波长下响应最高。

3.2 提取条件选择 本实验分别对不同提取溶剂 (50%、
60%、70%、100% 甲醇和乙醇)、提取方式 (超声 30 min、

表 2 各成分含量、相似度测定结果 (mg/g, n=3)

序号	朝藿定 A	朝藿定 B	朝藿定 C	淫羊藿苷	宝藿苷 I	柚皮苷	松果菊苷	麦角甾苷	相似度
A1	0.362	0.415	2.652	2.041	0.171	1.189	5.038	0.681	0.976
A2	0.246	0.375	2.388	1.821	0.166	0.808	2.620	0.464	0.828
A3	0.336	0.393	2.457	1.941	0.209	1.059	2.710	0.269	0.820
A4	0.354	0.399	2.459	1.904	0.176	1.367	7.224	0.438	0.987
A5	0.327	0.358	2.322	1.777	0.163	0.785	2.553	0.424	0.829
A6	0.302	0.357	2.174	1.681	0.164	1.213	6.308	0.379	0.986
B1	0.249	0.725	0.450	0.987	0.052	0.846	6.340	0.402	0.981
B2	0.105	0.615	0.396	0.886	0.052	0.861	6.000	0.675	0.962
B3	0.384	0.609	0.375	0.832	0.051	0.721	5.407	0.331	0.935
B4	0.114	0.940	0.604	1.329	0.093	1.296	9.173	1.049	0.981
B5	0.267	0.731	0.447	1.018	0.057	0.962	6.633	0.433	0.979
B6	0.192	0.564	0.361	0.807	0.056	0.689	5.518	0.629	0.977
C1	0.274	1.186	0.797	1.708	0.133	1.639	11.713	1.853	0.991
C2	0.127	1.271	0.839	1.837	0.142	1.490	10.999	1.572	0.986
C3	0.234	0.363	1.969	1.331	0.091	0.537	8.325	0.550	0.962
C4	0.248	0.249	0.965	0.715	0.059	0.643	6.429	0.421	0.987
C5	0.270	0.600	0.811	1.133	0.087	1.702	13.924	1.360	0.987
C6	0.265	0.381	0.792	0.910	0.104	0.836	12.727	1.166	0.979

回流 1 h)、超声时间 (15、30、45、60 min)、提取溶剂体积 (10、25、50 mL) 进行考察。结果, 以 60% 乙醇为提取溶剂时各成分色谱峰峰面积较高, 超声提取 30 min、回流提取 1 h 时提取率相当, 60% 乙醇超声提取 30、45、60 min 时提取率也相当, 25 mL 60% 乙醇超声提取 30 min 时各成分色谱峰峰面积适中。综合考虑环保和提取率, 确定提取条件为 25 mL 60% 乙醇超声处理 30 min。

3.3 色谱条件选择 本实验分别对不同流动相 (乙腈-水、乙腈-0.1% 磷酸、乙腈-0.1% 甲酸)、柱温 (25、30、35 ℃) 进行考察, 发现流动相为乙腈-0.1% 磷酸、柱温为 30 ℃ 时各成分色谱峰基线平稳, 供试品溶液中色谱峰较多, 可满足指纹图谱要求, 并且峰形和分离度较好。

4 结论

本实验建立抗骨增生片 UPLC 指纹图谱, 并测定松果菊苷、麦角甾苷、柚皮苷、朝藿定 A、朝藿定 B、朝藿定 C、淫羊藿苷、宝藿苷 I 的含量, 发现上述成分归属于淫羊藿、骨碎补、肉苁蓉, 并且该方法准确可行, 指纹图谱具有有效性和一致性的双重评价作用^[20-22], 可为该制剂质量标准提升和控制提供科学依据。

参考文献:

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2020 年版一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020.

[2] 赖满香, 林基伟, 廖利平, 等. 基于中医传承辅助系统的治疗原发性骨质疏松症方剂组方规律分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(9): 202-207.

[3] 肖亚平, 曾 杰, 焦琳娜, 等. 补肾中药对骨质疏松症的治疗及其信号通路调节作用的研究进展[J]. 中国中药杂志, 2018, 43(1): 21-30.

[4] 洪雅丹, 张凌风, 潘娉婷, 等. HPLC 法同时测定淫羊藿-骨碎补药对中 7 种成分[J]. 中成药, 2019, 41(6): 1316-1321.

[5] 中华人民共和国卫生部. 中华人民共和国卫生部药品标准 (中药成方制剂第 7 册) [S]. 北京: 化学工业出版社, 1993: 74.

[6] 陈 希, 万林春, 张文婷, 等. 抗骨增生片的质量标准提高研究[J]. 中国药房, 2017, 28(6): 838-841.

[7] 刘淑娟, 张妮瑜, 辛 秀, 等. 抗骨增生片定性定量方法研究[J]. 中南药学, 2014, 12(6): 574-576.

[8] 刘湘豫, 彭词艳, 胡 焰, 等. 抗骨增生片制备工艺及质量标准研究[J]. 中南药学, 2013, 11(8): 572-576.

[9] 霍艳萍, 丁 岗. 抗骨增生胶囊指纹图谱研究[J]. 亚太传统医药, 2017, 13(19): 27-28.

[10] 马双成, 王 莹, 魏 锋. 中药质量控制未来发展方向思考[J]. 中国药学杂志, 2021, 56(16): 1273-1281.

[11] 伍振峰, 郑 琴, 杨 明, 等. 中药制剂质量控制的方法模式分析与研究[J]. 中国中药杂志, 2012, 37(9): 1332-1336.

[12] 阳长明, 陈 霞, 赵 巍, 等. 基于源头控制的中药制剂质量研究[J]. 中草药, 2021, 52(2): 321-326.

[13] 刘东方, 赵丽娜, 李银峰, 等. 中药指纹图谱技术的研究进展及应用[J]. 中草药, 2016, 47(22): 4085-4094.

[14] 符海郊, 张倩睿, 熊 蕊, 等. 指纹图谱结合一测多评模式在中药质量评价中的应用进展[J]. 中国药师, 2022, 25(5): 861-867.

[15] 曹雨晴, 楚尧娟, 刘克锋, 等. 我国中药指纹图谱研究的可视化分析[J]. 世界科学技术 (中医药现代化), 2020, 22(9) : 3073-3081.

[16] 栾永福, 解盈盈, 周广涛, 等. 人参健脾丸多指标含量测定及化学计量学分析[J]. 中草药, 2023, 54(21): 7044-7054.

[17] 岳 超, 徐 普, 张文婷, 等. 基于 HPLC 指纹图谱和多指标成分含量测定及化学模式分析的玉屏风丸的质量评价[J]. 药物分析杂志, 2023, 42(11): 2019-2028.

[18] 赵昱玮, 南敏伦, 司英奇, 等. 藤黄健骨丸 HPLC 指纹图谱

的建立及 7 种成分的含量测定[J]. 中国处方药, 2023, 21(7): 18-22.

[19] 金辉辉, 钱 正, 姚建标, 等. 基于多成分测定及特征图谱评价不同批次肠炎宁片质量[J]. 药物分析杂志, 2020, 40(12): 2174-2185.

[20] 蒋鑫铨, 吴样明, 刘紫璇, 等. 基于 QbD 理念优化抗骨增生片喷雾干燥工艺及其物理指纹图谱研究[J]. 中南药学, 2021, 19(6): 1062-1066.

[21] 韩忠耀, 向 军, 陈建宇, 等. 不同产地水冬瓜叶 HPLC 指纹图谱建立、化学模式识别分析及含量测定[J]. 中国药房, 2021, 32(10): 1224-1229.

[22] 魏龙吟, 毛 民, 沙皓淳, 等. 基于 UPLC 指纹图谱、含量测定及化学计量学的乳香质量评价[J]. 中南药学, 2021, 19(5): 947-953.

HPLC 法测定不同产地何首乌中蒽醌类、二苯乙烯苷、没食子酸的含量

许江红, 张若良, 黄礼福, 杨民荣
(赣州市综合检验检测院, 江西 赣州 341000)

摘要: **目的** 建立 HPLC 法测定不同产地何首乌中大黄素、大黄素葡萄糖苷、大黄素甲醚、大黄酸、大黄酚、二苯乙烯苷、没食子酸的含量。**方法** 分析采用 Aglient 1290 Extend-C₁₈ 色谱柱 (4.6 mm×250 mm, 5 μm); 流动相甲醇-水 (含 0.1% 磷酸), 梯度洗脱; 体积流量 0.3 mL/min; 柱温 30 ℃; 检测波长 280 nm; 进样量 5 μL。**结果** 7 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 96.28% ~ 99.44%, RSD 0.87% ~ 2.91%。广西靖西地区产何首乌中蒽醌类、二苯乙烯苷、没食子酸含量最高, 广东德庆产者次之, 而重庆缙云山、江西井冈山、四川攀枝花、贵州施秉、河南济源产者含量较低。**结论** 该方法稳定可靠, 可用于何首乌质量控制。不同产地药材中蒽醌类、二苯乙烯苷、没食子酸含量存在较大差异,

关键词: 何首乌; 产地; 蒽醌类; 二苯乙烯苷; 没食子酸; 含量测定; HPLC

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** B **文章编号:** 1001-1528(2024)12-4102-04

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2024.12.032

何首乌为蓼科植物何首乌 *Polygonum multiflorum* Thunb. 的干燥块根, 是我国传统中药, 生品具有解毒散结、防治疟疾、润肠通便的功效^[1-2]; 2020 年版《中国药典》^[3] 规定, 制何首乌是将生品与黑豆煎煮或蒸制而成, 具有补肝、补肾、益血、强筋骨、乌发、解浊、调脂功效^[4]。虽然两者成分种类变化不大, 但含量差异明显, 这也是其功效、适应症不同的主要原因^[5-7]。

报道指出, 含何首乌的煎剂、制剂和膳食补充剂可能会导致肝损伤^[8-9], 可能与游离型、结合型蒽醌类化合物含量有关^[10], 而与生品相比, 炮制品中肝毒性成分含量明显降低^[11-13], 并且产地是影响其肝毒性的另一个重要因素^[14]。近年来, HPLC 法作为一种分离度高、分析速度快、选择性好、应用范围广的分析手段, 已被广泛应用于中药有效成分的含量测定^[15]。因此, 本实验采用 HPLC 法测定不同产地何首乌中蒽醌类 (大黄素、大黄素葡萄糖苷、大黄素甲醚、大黄酸、大黄酚)、二苯乙烯苷、没食子酸的含量, 以为该药材质量评价提供参考依据。

1 材料

1.1 仪器 Aglient 1290 高效液相色谱仪 (美国 Aglient 公司); BSM2204 电子分析天平 (万分之一, 北京中慧天诚科技有限公司)。

1.2 试剂与药物 大黄素、大黄素葡萄糖苷、大黄素甲醚、大黄酸、大黄酚、二苯乙烯苷、没食子酸对照品 (纯度>98%, 成都普思生物科技股份有限公司)。甲醇 (色谱纯, 德国默克公司); 其他试剂均为分析纯; 水为纯净水 (杭州娃哈哈集团有限公司)。何首乌共 10 批, 经北京中医药大学教授于立伟教授鉴定为蓼科植物何首乌 *Polygonum multiflorum* Thunb. 的干燥块根, 信息见表 1。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 Aglient 1290 Extend-C₁₈ 色谱柱, 4.6 mm×250 mm, 5 μm; 流动相甲醇 (A) -水 (含 0.1% 磷酸, B), 梯度洗脱, 程序见表 2; 体积流量 0.3 mL/min; 柱温 30 ℃; 检测波长 280 nm; 进样量 5 μL。色谱图见图 1。

收稿日期: 2024-09-25
基金项目: 江西省药品监督管理局科研项目 (2022JS18)
作者简介: 许江红 (1975—), 副主任医师, 研究方向为食品、药品检验检测与质量安全控制。Tel: 13576686219, E-mail: xujh2024@163.com