

高效液相色谱法同时测定软肝缩脾丸中 7 个成分的含量^{*}

华之卉¹, 刘栋^{2**}, 李明春³

(1. 郑州人民医院药学部, 郑州 450003; 2. 解放军第 153 中心医院制剂室, 郑州 450042;

3. 解放军第 401 医院药剂科, 青岛 266071)

摘要 目的: 建立高效液相色谱法同时测定软肝缩脾丸中芍药苷、丹酚酸 B、大黄酸、五味子醇甲、大黄素、大黄酚、丹参酮 II_A 7 个有效成分的含量。**方法:** 采用 Wondasil C₁₈ 色谱柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 以乙腈 (A) - 0.1% 磷酸水溶液 (B) 为流动相, 梯度洗脱, 流速 1.0 mL · min⁻¹, 柱温 30 °C, 检测波长 230 nm (0~34.0 min, 检测芍药苷、丹酚酸 B、大黄酸)、217 nm (34.0~37.0 min, 检测五味子醇甲)、225 nm (37.0~56.0 min, 检测大黄素、大黄酚)、270 nm (56.0~60.0 min, 检测丹参酮 II_A)。**结果:** 芍药苷、丹酚酸 B、大黄酸、五味子醇甲、大黄素、大黄酚、丹参酮 II_A 的线性范围分别为 10.04~250.95 μg · mL⁻¹ (*r*=0.999 5)、10.25~256.28 μg · mL⁻¹ (*r*=0.999 7)、0.84~21.07 μg · mL⁻¹ (*r*=0.999 5)、0.91~22.86 μg · mL⁻¹ (*r*=0.999 2)、0.67~16.72 μg · mL⁻¹ (*r*=0.999 1)、1.45~36.30 μg · mL⁻¹ (*r*=0.999 5)、0.38~9.40 μg · mL⁻¹ (*r*=0.999 3); 平均加样回收率 (*n*=9) 为 99.5%~101.6%, RSD 为 0.61%~1.1%。样品中上述 7 个有效成分的含量范围分别为 2.327~2.835、2.423~3.158、0.051~0.207、0.052~0.326、0.089~0.155、0.330~0.481、0.045~0.087 mg · g⁻¹。**结论:** 本法可用于软肝缩脾丸中芍药苷、丹酚酸 B、大黄酸、五味子醇甲、大黄素、大黄酚、丹参酮 II_A 7 个有效成分的含量测定。

关键词: 软肝缩脾丸; 赤芍; 丹参; 大黄; 五味子; 芍药苷; 丹酚酸 B; 大黄酸; 五味子醇甲; 大黄素; 大黄酚; 丹参酮 II_A; 高效液相色谱

中图分类号: R 917

文献标识码: A

文章编号: 0254-1793 (2018) 04-0703-07

doi: 10.16155/j.0254-1793.2018.04.20

Simultaneous determination of seven constituents in Ruangan Suopi pills by HPLC^{*}

HUA Zhi-hui¹, LIU Dong^{2**}, LI Ming-chun³

(1. Dept. of Pharmacy, Zhengzhou People's Hospital, Zhengzhou 450003, China; 2. Dept. of Preparation, No.153 Central Hospital of PLA, Zhengzhou 450042, China; 3. Dept. of Pharmacy, No. 401 Hospital of PLA, Qingdao 266071, China)

Abstract Objective: To establish an HPLC method for simultaneous determination of paeoniflorin, salvianolic acid B, rhein, schisandrin, emodin, chrysophanol, and tanshinone II_A in Ruangan Suopi pills. **Methods:** The chromatographic separation was performed on a Wondasil C₁₈ column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) at 30 °C with acetonitrile (A) - 0.1%

* 军队医疗机构制剂标准提高科研专项课题 (No.14ZJZ02)

** 通信作者 Tel: (0371) 60653569; E-mail: liudong13673546650@163.com

第一作者 Tel: (0371) 67079917; E-mail: zhihui19998@126.com

phosphoric acid solution (B) as mobile phase in a gradient elution. The flow rate was $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ and the UV detection wavelength was set at 230 nm (0–34.0 min for paeoniflorin, salvianolic acid B and rhein), at 217 nm (34.0–37.0 min for schisandrin), at 225 nm (37.0–56.0 min for emodin and chrysophanol), and at 270 nm (56.0–60.0 min for tanshinone II_A). **Results:** The linear ranges of paeoniflorin, salvianolic acid B, rhein, schisandrin, emodin, chrysophanol, and tanshinone II_A were $10.04\text{--}250.95 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ($r=0.999\ 5$), $10.25\text{--}256.28 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ($r=0.999\ 7$), $0.84\text{--}21.07 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ($r=0.999\ 5$), $0.91\text{--}22.86 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ($r=0.999\ 2$), $0.67\text{--}16.72 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ($r=0.999\ 1$), $1.45\text{--}36.30 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ($r=0.999\ 5$), $0.38\text{--}9.40 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ($r=0.999\ 3$), respectively. The average recoveries ($n=9$) were 99.5%–101.6% with RSD of 0.61%–1.1%. The contents of above-mentioned seven constituents in samples were $2.327\text{--}2.835 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, $2.423\text{--}3.158 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, $0.051\text{--}0.207 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, $0.052\text{--}0.326 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, $0.089\text{--}0.155 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, $0.330\text{--}0.481 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, $0.045\text{--}0.087 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, respectively. **Conclusion:** The method can be used to determine the content of paeoniflorin, salvianolic acid B, rhein, schisandrin, emodin, chrysophanol, and tanshinone II_A in Ruangan Suopi pills.

Keywords: Ruangan Suopi pills; *Paenoniae Radix Rubra*; *Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma*; *Rhei Radix et Rhizoma*; *Schisandrae Chinensis Fructus*; paeoniflorin; salvianolic acid B; rhein; schisandrin; emodin; chrysophanol; tanshinone II_A; HPLC

软肝缩脾丸为医院自主开发的中药复方制剂[批准文号:总制字(2016)F403005],由赤芍、丹参、大黄、五味子、黄芪、莪术、紫河车、鳖甲(炮)、水蛭(制)、桃仁(炒)、土鳖虫(制)、三七12味药材加工制成,具有益气活血破瘀及软坚散结消痞之功效,适用于各种病因引起的慢性肝炎、肝硬化或无症状病毒携带者^[1-3]。赤芍清热凉血,散瘀止痛,其指标成分芍药苷具有免疫调节,抗炎,保肝,防止肝纤维化等作用^[4];丹参活血祛瘀,通经止痛,清心除烦,凉血消痈,其指标成分是丹参酮类和丹酚酸B,具有抗肝损伤,抗肝纤维化等保肝护肝作用^[5-6];大黄泻下攻积,清热泻火,凉血解毒,逐瘀通经,利湿退黄,其指标成分大黄酸、大黄素、大黄酚等,有保肝利胆,降低肝脏纤维化之功效^[7];五味子收敛固涩,益气生津,补肾宁心,其指标成分五味子醇甲具有抗肝纤维化,降酶保肝的作用^[8]。

本课题组前期研究建立了HPLC法同时测定软肝缩脾丸中芍药苷和丹酚酸B含量^[9],并将其作为软肝缩脾丸质量标准的含量测定项^[3]。但是中药复方制剂的药味较多,化学成分复杂,各有效成分的含量及其比例均会影响其药效,故单一或者少数几个指标成分不能全面反映其内在质量^[10-11]。从多种有效成分同时监控的角度出发,根据《中华人民共和国药典》对于单味中药的质量标准^[12],本研究建立了HPLC法同时测定赤芍(芍药苷)、丹参(丹参酮II_A、丹酚酸B)、大黄(大黄酸、大黄素、大黄酚)、五味子(五味子醇甲)4味中药7个有效成分的方法,能更全

面反映软肝缩脾丸的内在质量。

1 仪器与试药

岛津公司SHIMADZU 10A高效液相色谱仪(配置SPD-10A紫外检测器、二元泵);岛津公司Wondasil C₁₈色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm;填料:十八烷基硅烷键合硅胶);Sartorius公司BT125D型1/10万分之一电子分析天平;天津Auto-science公司AS3120A型超声波清洗器。

对照品芍药苷(批号110736-201136,含量96.0%)、丹酚酸B(批号111562-201313,含量97.0%)、大黄酸(批号110757-201607,含量99.3%)、五味子醇甲(批号110857-201513,含量99.9%)、大黄素(批号110756-201512,含量98.7%)、大黄酚(批号110796-201319,含量99.6%)、丹参酮II_A(批号110766-201520,含量98.9%)均购自中国食品药品检定研究院。乙腈(天津市四友精细化学品有限公司)为色谱纯,甲醇(天津市富宇精细化工有限公司)和磷酸(青岛宝泽化工有限公司)为分析纯,水为自制重蒸水。软肝缩脾丸,批号160831、161124、161216,由解放军第一五三中心医院制剂室生产。

2 方法与结果

2.1 溶液的制备

2.1.1 混合对照品溶液 分别精密称取各对照品适量,加甲醇制成含芍药苷 $501.89 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$,丹酚酸B $512.55 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$,大黄酸 $42.14 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$,五味子醇甲 $45.71 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$,大黄素 $33.44 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$,大黄酚 72.59

$\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 丹参酮 II_A $18.80 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的混合对照品储备液。精密量取储备液 2 mL, 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 即得混合对照品溶液。

2.1.2 供试品溶液 取样品适量, 除去包衣, 研细, 取 1 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 80% 甲醇水溶液 25 mL, 称定质量, 超声处理 (功率 120 W, 频率 40 kHz) 30 min, 放冷, 再次称定质量, 用 80% 甲醇水溶液补足缺失的质量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 以 $0.45 \mu\text{m}$ 微孔滤膜滤过, 即得。

2.1.3 阴性样品溶液 按处方分别制备不含赤芍、不含丹参、不含大黄、不含五味子的阴性样品, 再按“2.1.2”项下方法制备各阴性样品溶液。

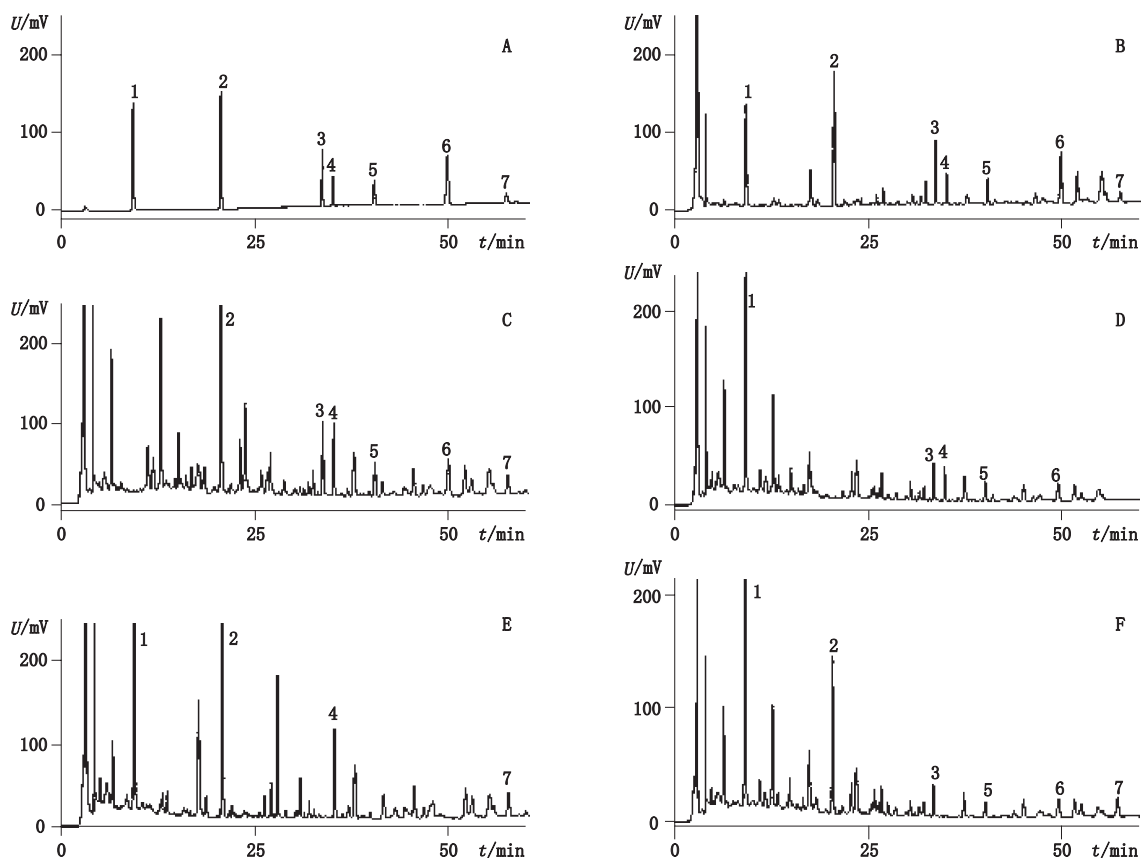
2.2 色谱条件

采用 Wondasil C₁₈ 色谱柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 流动相为乙腈 (A)–0.1% 磷酸水溶液 (B), 梯

度洗脱 (0~15.0 min, 82%B → 70%B; 15.0~30.0 min, 70%B → 45%B; 30.0~35.0 min, 45%B; 35.0~60.0 min, 45%B → 28%B); 检测波长: 230 nm (0~34.0 min, 检测芍药苷、丹酚酸 B、大黄酸)、217 nm (34.0~37.0 min, 检测五味子醇甲)、225 nm (37.0~56.0 min, 检测大黄素、大黄酚)、270 nm (56.0~60.0 min, 检测丹参酮 II_A), 流速 $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 柱温 30°C , 进样量 $10 \mu\text{L}$ 。

2.3 方法学考察

2.3.1 系统适用性试验 分别取混合对照品溶液、供试品溶液及各阴性样品溶液, 按“2.2”项下色谱条件进样测定, 记录色谱图 (图 1)。结果显示, 混合对照品溶液与供试品溶液中各指标成分色谱峰的理论塔板数均大于 5 000, 分离度均大于 1.5。各阴性样品溶液的色谱图显示其他成分对各指标成分的测定均无干扰。



1. 芍药苷 (paeoniflorin) 2. 丹酚酸 B (salvianolic acid B) 3. 大黄酸 (rhein) 4. 五味子醇甲 (schisandrin) 5. 大黄素 (emodin) 6. 大黄酚 (chrysophanol) 7. 丹参酮 II_A (tanshinone II_A)

A. 混合对照品 (mixed reference substances) B. 样品 (sample) C. 不含赤芍的阴性样品 (negative sample without Paeoniae Radix Rubra) D. 不含丹参的阴性样品 (negative sample without Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma) E. 不含大黄的阴性样品 (negative sample without Rhei Radix et Rhizoma) F. 不含五味子的阴性样品 (negative sample without Schisandrae Chinensis Fructus)

图 1 对照品、样品及阴性样品色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of reference substances, sample and negative samples

2.3.2 线性关系考察 精密吸取“2.1.1”项下混合对照品储备液 0.2、0.5、1.0、2.0、3.0、5.0 mL, 分别置于 10 mL 量瓶中, 加甲醇定容, 摇匀, 即得系列浓度的混合对照品溶液。按“2.2”项下色谱条件

进样测定, 记录峰面积, 以峰面积积分值(Y)为纵坐标, 质量浓度(X)为横坐标, 进行线性回归, 得各成分的回归方程、相关系数(r)和线性范围, 见表 1。

表 1 7 个成分的线性关系

Tab. 1 Linearity correlations of seven constituents

成分 (constituent)	回归方程 (regression equation)	线性范围 (linear range) / ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	r
芍药苷 (paeoniflorin)	$Y=1.575 \times 10^4 X + 2.072 \times 10^3$	10.04~250.95	0.999 5
丹酚酸 B (salvianolic acid B)	$Y=1.668 \times 10^4 X + 2.444 \times 10^4$	10.25~256.28	0.999 7
大黄酸 (rhein)	$Y=8.454 \times 10^4 X + 1.350 \times 10^4$	0.84~21.07	0.999 5
五味子醇甲 (schisandrin)	$Y=4.226 \times 10^4 X + 3.621 \times 10^3$	0.91~22.86	0.999 2
大黄素 (emodin)	$Y=6.692 \times 10^4 X + 2.148 \times 10^4$	0.67~16.72	0.999 1
大黄酚 (chrysophanol)	$Y=8.512 \times 10^4 X + 7.502 \times 10^3$	1.45~36.30	0.999 5
丹参酮 II _A (tanshinone II _A)	$Y=6.083 \times 10^4 X - 2.323 \times 10^3$	0.38~9.40	0.999 3

2.3.3 精密度试验 精密吸取“2.1.1”项混合对照品溶液 10 μL , 按“2.2”项下色谱条件连续进样 6 次, 记录峰面积。结果芍药苷、丹酚酸 B、大黄酸、五味子醇甲、大黄素、大黄酚、丹参酮 II_A 峰面积的 RSD 分别为 1.1%、1.2%、0.79%、1.4%、1.6%、0.98%、1.2%, 表明仪器精密度良好。

2.3.4 重复性试验 取同一批样品 (批号 161216) 除去包衣后研细的粉末 6 份, 按“2.1.2”项下方法平行制备 6 份供试品溶液, 按“2.2”项下色谱条件测定。结果芍药苷、丹酚酸 B、大黄酸、五味子醇甲、大黄素、大黄酚、丹参酮 II_A 的平均含量分别为 2.765、3.072、0.202、0.219、0.151、0.326、0.086 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$, RSD 分别为 1.4%、0.69%、0.39%、1.1%、1.4%、0.87%、1.7%,

表明方法的重复性良好。

2.3.5 稳定性试验 取同一供试品溶液, 室温放置, 按“2.2”项下色谱条件分别于 0、2、4、8、12、24 h 进样测定。结果芍药苷、丹酚酸 B、大黄酸、五味子醇甲、大黄素、大黄酚、丹参酮 II_A 峰面积的 RSD 分别为 1.2%、0.75%、1.4%、1.2%、1.4%、0.83%、0.95%, 表明供试品溶液在室温下 24 h 内稳定。

2.3.6 加样回收率试验 取同一批已知含量的样品 (批号 161216) 9 份, 每份约 0.5 g, 精密称定, 平均分成 3 组, 分别按已知含量的 50%、100%、150% 3 个水平加入混合对照品溶液, 按“2.1.2”项下方法平行制备供试溶液, 依法测定, 计算各成分的回收率, 结果见表 2。

表 2 7 个成分的回收率试验结果

Tab. 2 Recoveries of seven constituents

成分 (constituent)	称样量 (sample mass) /g	样品含量 (sample amount) /mg	加入量 (added amount) /mg	测得量 (measured amount) /mg	回收率 (recovery) /%	平均回收率 (average recovery) /% ($n=9$)	RSD/%
芍药苷 (paeoniflorin)	0.483 8	1.337 7	0.711 9	2.041 6	98.9	99.5	0.70
	0.491 0	1.357 6	0.711 9	2.064 6	99.3		
	0.491 1	1.357 9	0.711 9	2.065 3	99.4		
	0.500 5	1.383 9	1.423 7	2.801 4	99.6		
	0.493 4	1.364 3	1.423 7	2.792 8	100.3		
	0.538 4	1.488 7	1.423 7	2.906 7	99.6		
	0.502 5	1.389 4	2.135 6	3.500 2	98.8		
	0.524 3	1.449 7	2.135 6	3.564 7	99.0		
	0.519 2	1.435 6	2.135 6	3.591 4	100.9		
丹酚酸 B (salvianolic acid B)	0.483 8	1.486 4	0.791 1	2.289 6	101.5	100.1	1.1
	0.491 0	1.508 5	0.791 1	2.293 9	99.3		

表 2(续)

成分 (constituent)	称样量 (sample mass)/g	样品含量 (sample amount) /mg	加入量 (added amount) /mg	测得量 (measured amount)/mg	回收率 (recovery)/%	平均回收率 (average recovery)/ %(n=9)	RSD/%
丹 酚 酸 B (salvianolic acid B)	0.491 1	1.508 8	0.791 1	2.294 6	99.3	99.6	0.61
	0.500 5	1.537 7	1.582 1	3.107 5	99.2		
	0.493 4	1.515 9	1.582 1	3.080 1	98.9		
	0.538 4	1.654 1	1.582 1	3.265 3	101.8		
	0.502 5	1.543 8	2.373 2	3.939 1	100.9		
	0.524 3	1.610 8	2.373 2	3.977 3	99.7		
	0.519 2	1.595 1	2.373 2	3.980 3	100.5		
大黄酸 (rhein)	0.483 8	0.098 0	0.053 1	0.150 8	99.4	99.8	1.1
	0.491 0	0.099 5	0.053 1	0.152 4	99.7		
	0.491 1	0.099 5	0.053 1	0.152 0	98.9		
	0.500 5	0.101 4	0.106 1	0.206 8	99.3		
	0.493 4	0.100 0	0.106 1	0.205 1	99.1		
	0.538 4	0.109 1	0.106 1	0.215 0	99.8		
	0.502 5	0.101 8	0.159 2	0.261 5	100.3		
五味子醇甲 (schisandrin)	0.524 3	0.106 2	0.159 2	0.266 7	100.8	101.6	0.65
	0.519 2	0.105 2	0.159 2	0.263 3	99.3		
	0.483 8	0.105 8	0.056 3	0.161 4	98.7		
	0.491 0	0.107 4	0.056 3	0.163 8	100.2		
	0.491 1	0.107 4	0.056 3	0.163 1	98.9		
	0.500 5	0.109 5	0.112 6	0.222 8	100.7		
	0.493 4	0.107 9	0.112 6	0.220 1	99.6		
大黄素 (emodin)	0.538 4	0.117 7	0.112 6	0.229 3	99.1	100.0	1.1
	0.502 5	0.109 9	0.168 9	0.281 6	101.7		
	0.524 3	0.114 7	0.168 9	0.285 1	100.9		
	0.519 2	0.113 5	0.168 9	0.280 5	98.8		
	0.483 8	0.073 2	0.039 0	0.112 5	100.8		
	0.491 0	0.074 3	0.039 0	0.113 9	101.7		
	0.491 1	0.074 3	0.039 0	0.113 5	100.6		
大黄酚 (chrysophanol)	0.500 5	0.075 7	0.077 9	0.155 4	102.3	99.8	1.0
	0.493 4	0.074 7	0.077 9	0.154 2	102.1		
	0.538 4	0.081 5	0.077 9	0.160 4	101.3		
	0.502 5	0.076 0	0.116 9	0.195 7	102.4		
	0.524 3	0.079 3	0.116 9	0.198 6	102.0		
	0.519 2	0.078 6	0.116 9	0.197 4	101.7		
	0.483 8	0.157 7	0.083 9	0.241 5	99.9		
丹 参 酮 II _A (tanshinone II _A)	0.491 0	0.160 0	0.083 9	0.243 2	99.1	99.8	1.0
	0.491 1	0.160 0	0.083 9	0.242 3	98.0		
	0.500 5	0.163 1	0.167 8	0.333 6	101.6		
	0.493 4	0.160 8	0.167 8	0.326 8	98.9		
	0.538 4	0.175 5	0.167 8	0.345 0	101.0		
	0.502 5	0.163 8	0.251 7	0.417 6	100.8		
	0.524 3	0.170 9	0.251 7	0.422 8	100.1		
丹 参 酮 II _A (tanshinone II _A)	0.519 2	0.169 2	0.251 7	0.420 8	100.0	99.8	1.0
	0.483 8	0.041 7	0.022 2	0.063 9	100.2		
	0.491 0	0.042 3	0.022 2	0.064 5	100.1		
	0.491 1	0.042 3	0.022 2	0.064 1	98.3		
	0.500 5	0.043 1	0.044 3	0.086 9	98.9		
	0.493 4	0.042 5	0.044 3	0.086 2	98.7		
	0.538 4	0.046 4	0.044 3	0.090 9	100.6		
丹 参 酮 II _A (tanshinone II _A)	0.502 5	0.043 3	0.066 5	0.110 3	100.8	99.7	
	0.524 3	0.045 1	0.066 5	0.112 5	101.3		
	0.519 2	0.044 7	0.066 5	0.111 0	99.7		

2.4 样品测定

取3批样品各3份,分别按“2.1.2”项下方法制

备供试品溶液,按“2.2”项下色谱条件进样测定,以外标法计算样品中7个成分的含量,结果见表3。

表3 样品含量测定结果 ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$, $n=3$)

Tab. 3 Assay results of samples

批号 (lot No.)	芍药苷 (paeoniflorin)	丹酚酸 B (salvianolic acid B)	大黄酸 (rhein)	五味子醇甲 (schisandrin)	大黄素 (emodin)	大黄酚 (chrysophanol)	丹参酮 II _A (tanshinone II _A)
160831	2.327	2.801	0.091	0.052	0.089	0.481	0.045
161124	2.437	2.423	0.051	0.326	0.127	0.330	0.054
161216	2.835	3.158	0.207	0.226	0.155	0.335	0.087

3 讨论

3.1 流动相的考察

本实验采用梯度洗脱的方式来保证各个成分的有效分离,同时考察筛选了不同的流动相系统^[13-16],包括甲醇-磷酸水溶液、甲醇-乙腈-磷酸水溶液、甲醇-乙腈-甲酸水溶液、乙腈-磷酸水溶液,最终选择乙腈-磷酸水溶液体系;同时考察了磷酸溶液浓度(0.05%、0.1%、0.2%)对分离的影响,确定了0.1%磷酸水溶液。

3.2 检测波长的选择

考虑到所测成分较多,扫描了各成分在200~400 nm波长范围的紫外吸收图谱,发现芍药苷、丹酚酸B、大黄酸在230 nm波长处均有较大的吸收;大黄素和大黄酚在225 nm波长附近有最大吸收;五味子醇甲和丹参酮 II_A的最大吸收波长分别为217 nm、270 nm。故本实验采用分段变波长法检测上述7个成分,提高了测定的灵敏度和准确性。

3.3 样品提取方法的考察

本实验分别考察了提取溶剂(50%甲醇、50%乙醇、80%甲醇、75%乙醇水溶液)、提取方式(超声、回流)、提取溶剂用量(15、25、40 mL)、提取时间(20、30、45 min)对测定结果的影响。最终确定为取样品1 g,加入80%甲醇水溶液25 mL,超声(功率120 W,频率40 kHz)处理30 min。

3.4 其他

样品的测定结果显示,芍药苷、丹酚酸B、大黄酸、五味子醇甲、大黄素、大黄酚、丹参酮 II_A的含量均较高,特别是芍药苷、丹酚酸B、五味子醇甲、大黄酚的量特别高,但大黄酸、五味子醇甲、大黄素含量有一定的差异,可能与不同的原药材供货商和不同的药材产地有关。下一步研究开展软肝缩脾丸的长期试

验,考察7个成分在制剂中的稳定性,同时,也要对原药材的产地和质量进行严格控制。

3.5 小结

本实验建立了采用高效液相色谱法同时测定软肝缩脾丸中上述7个指标成分的方法。该方法前处理简单,所测成分分离度好,测定结果稳定可靠,重复性好,能更全面地反映软肝缩脾丸的内在质量。

参考文献

- [1] 张成道,王全楚,申德林,等. 拉米夫定联合软肝缩脾丸对肝炎患者肝纤维化及肝细胞损伤的作用[J]. 实用医药杂志, 2005, 22(11): 973
ZHANG CD, WANG QC, SHEN DL, *et al.* The effects of lamivudine combined with Ruangan Suopi pellet on post-hepatitis cirrhosis and hepatocytes injuries[J]. Pract J Med Pharm, 2005, 22(11): 973
- [2] 王全楚,申德林,张燕,等. 重型肝炎恢复期干扰素联合软肝缩脾丸抗肝纤维化的研究[J]. 胃肠病学和肝病学杂志, 2008, 17(9): 741
WANG QC, SHEN DL, ZHANG Y, *et al.* The anti-fibrosis effects of interferon and Ruangan Suopi Wan in treating severe hepatitis recovery patients[J]. Chin J Gastroenterol Hepatol, 2008, 17(9): 741
- [3] 刘栋,宋晓红,汤长明,等. 软肝缩脾丸的质量标准研究[J]. 中国现代应用药学, 2017, 34(4): 542
LIU D, SONG XH, TANG CM, *et al.* Study on quality standard for Ruangan Suopi pills[J]. Chin J Mod Appl Pharm, 2017, 34(4): 542
- [4] 胡宗涛,高世乐,秦峰,等. 芍药苷对大鼠放射性肝纤维化的保护作用 and 机制研究[J]. 解放军药学报, 2012, 28(4): 283
HU ZT, GAO SL, QIN F, *et al.* Effect of paeoniflorin on TGF- β /smad signal transduction pathway in rats with radioaction-induced hepatic fibrosis[J]. Pharm J Chin PLA, 2012, 28(4): 283
- [5] 袁媛,吴芹,石京山,等. 丹参及其主要成分保肝作用的研究进展[J]. 中国中药杂志, 2015, 40(4): 588
YUAN Y, WU Q, SHI JS, *et al.* Advance in studies on hepatoprotective effect of *Salvia miltiorrhiza* and its main components[J]. China J Chin Mater Med, 2015, 40(4): 588

- [6] 黄世超,瞿海斌. 丹酚酸 B 稳定性研究进展[J]. 中国现代应用药学, 2015, 32(5): 644
HUANG SC, QU HB. Advances of stability of salvianolic acid B[J]. Chin J Mod Appl Pharm, 2015, 32(5): 644
- [7] 傅兴圣,陈菲,刘训红,等. 大黄化学成分与药理作用研究新进展[J]. 中国新药杂志, 2011, 20(16): 1534
FU XS, CHEN F, LIU XH, *et al.* Progress in the research of chemical constituents and pharmacological actions of rhubarb[J]. Chin J New Drugs, 2011, 20(16): 1534
- [8] 朱春雾,吕靖,赵志敏,等. 五味子酯甲抑制肝窦内皮细胞功能及血管新生的活性评价[J]. 中国中药杂志, 2016, 41(2): 279
ZHU CW, LÜ J, ZHAO ZM, *et al.* Evaluation of schisantherin A inhibiting liver sinusoid endothelial cell function and action against liver fibrosis relating to angiogenesis[J]. China J Chin Mater Med, 2016, 41(2): 279
- [9] 刘栋,宋晓红,汤长明,等. HPLC 法同时测定软肝缩脾丸中芍药苷和丹酚酸 B 的含量[J]. 中国药房, 2017, 28(3): 416
LIU D, SONG XH, TANG CM, *et al.* Simultaneous determination of paeoniflorin and salvianolic acid B in Ruangan Suopi pills by HPLC[J]. China Pharm, 2017, 28(3): 416
- [10] 郭琪,王海波,李向阳,等. HPLC 法同时测定利胆排石片中 14 个成分的含量[J]. 药物分析杂志, 2017, 37(4): 631
GUO Q, WANG HB, LI XY, *et al.* Simultaneous determination of 14 components in Lidanpaishi tablets by HPLC[J]. Chin J Pharm Anal, 2017, 37(4): 631
- [11] 夏林丽,王协和,盛蓉. 波长切换高效液相色谱法同时测定青翘抗毒颗粒中 7 个成分的含量[J]. 中国医院药学杂志, 2016, 36(23): 2065
XIA LL, WANG XH, SHENG R. Simultaneous determination of seven constituents in Qingqiaokangdu granules by HPLC with switching wavelengths[J]. Chin J Hosp Pharm, 2016, 36(23): 2065
- [12] 中华人民共和国药典 2015 年版. 一部[S]. 2015: 23, 66, 76, 158
ChP 2015. Vol I [S]. 2015: 23, 66, 76, 158
- [13] 周军,张蕾,王杰. HPLC-DAD 法测定脑血栓片中苦杏仁苷、羟基红花黄色素 A、芍药苷、阿魏酸、丹酚酸 B 和丹参酮 II_A[J]. 现代药物与临床, 2015, 30(3): 262
ZHOU J, ZHANG L, WANG J. Determination of amygdalin, hydroxysafflor yellow A, paeoniflorin, ferulic acid, salvianolic acid B, and tanshinone II_A in Naoxueshuan tablets by HPLC-DAD[J]. Drugs Clin, 2015, 30(3): 262
- [14] 闫涛,周慧. HPLC 法同时测定心脑康片中 11 种成分[J]. 中草药, 2016, 47(9): 1531
YAN T, ZHOU H. Simultaneous determination of eleven ingredients in Xinnaokang tablets by HPLC[J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2016, 47(9): 1531
- [15] 张玲艳,雷勇胜,葛强. HPLC-DAD 法同时测定精制冠心病片中 7 种指标成分[J]. 中草药, 2015, 46(14): 2092
ZHANG LY, LEI YS, GE Q. Simultaneous determination of seven index components in refined coronary tablets by HPLC[J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2015, 46(14): 2092
- [16] 叶隽,陈斌,余岳林,等. 高效液相色谱法同时测定清肺抑火片中 8 个成分的含量[J]. 药物分析杂志, 2017, 37(6): 968
YE J, CHEN B, YU YL, *et al.* Simultaneous determination of eight compounds in Qingfei Yihuo tablets by HPLC[J]. Chin J Pharm Anal, 2017, 37(6): 968

(本文于 2017 年 8 月 30 日收到)