

## 标准研讨

## 三七药酒 HPLC 指纹图谱研究及共有峰 LC-MS 鉴定\*

陈蓬<sup>3</sup>, 印晓红<sup>1,2,4</sup>, 王建方<sup>1,2</sup>, 徐斌<sup>1,2</sup>, 杨千千<sup>1</sup>,  
孔琼荣<sup>3</sup>, 普俊勇<sup>3</sup>, 胡江宁<sup>1,2\*\*</sup>

(1. 浙江康恩贝制药股份有限公司, 杭州 310052; 2. 浙江省中药制药技术重点实验室, 杭州 310052;  
3. 云南希陶绿色药业股份有限公司, 昆明 650217; 4. 浙江工业大学, 杭州 310014)

**摘要** 目的: 建立三七药酒 HPLC 指纹图谱, 为三七药酒质量评价提供检测方法。方法: 采用 HPLC 方法建立三七药酒的指纹图谱。采用 Welch Ultimate XB-C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5- $\mu$ m), 以乙腈(A) - 0.05% 乙酸溶液(B) 为流动相, 梯度洗脱(0~24 min, 14%A → 20%A; 24~40 min, 20%A → 45%A; 40~50 min, 45%A → 55%A; 50~70 min, 55%A → 65%A; 70~75 min, 65%A → 90%A; 75~90 min, 90%A), 流速 1 mL · min<sup>-1</sup>, 检测波长 240 nm, 柱温 25 °C。运用“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”对不同季节生产的 21 个批次的三七药酒进行相似度评价; 采用 LC-MS 对共有峰进行鉴定。结果: 建立了三七药酒 HPLC 指纹图谱, 标定了 18 个共有峰, 并结合 LC-MS 结果, 确定了 13 个峰对应的化合物: 原巴西苏木素 B、阿魏酸、淫羊藿苷、补骨脂素、异补骨脂素、新补骨脂异黄酮、补骨脂甲素、补骨脂定、藁本内酯、补骨脂乙素、补骨脂二氢黄酮甲醚、补骨脂酚、11- 羧基- $\beta$ - 乙酰乳香酸。21 批样品相似度在 0.994~0.999 之间。结论: 本文建立的三七药酒指纹图谱对三七药酒质量评价具有指导意义。

**关键词:** 三七药酒; 指纹图谱; 共有峰鉴定; 液相色谱-质谱联用

中图分类号: R 917 文献标识码: A 文章编号: 0254-1793(2019)11-2090-08

doi: 10.16155/j.0254-1793.2019.11.24

## HPLC fingerprint of Sanqi Yaojiu and identification of common peaks by LC-MS\*

CHEN Peng<sup>3</sup>, YIN Xiao-hong<sup>1,2,4</sup>, WANG Jian-fang<sup>1,2</sup>, XU Bin<sup>1,2</sup>,  
YANG Qian-qian<sup>1</sup>, KONG Qiong-rong<sup>3</sup>, PU Jun-yong<sup>3</sup>, HU Jiang-ning<sup>1,2\*\*</sup>

(1. Zhejiang CONBA Pharmaceutical Co., LTD, Hangzhou 310052, China; 2. Zhejiang Provincial Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine Pharmaceutical Technology, Hangzhou 310052, China; 3. Yunnan Xitao Green Pharmaceutical Co., Ltd., Kunming 650217, China; 4. Zhejiang University of Technology, Hangzhou 310014, China)

**Abstract Objective:** To establish the HPLC fingerprints of Sanqi Yaojiu and to provide a test method for the consistency of the quality. **Methods:** The fingerprints of Sanqi Yaojiu were established by HPLC. The analysis was

\* 浙江省中药制药技术重点实验室(2009E10009)

\*\* 通信作者 Tel:(0571)87774786; E-mail: hujn@conbagroup.com

第一作者 Tel:(0871)66118609; E-mail: chenp2@conbagroup.com

performed on a Welch Ultimate XB-C<sub>18</sub> column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) with gradient elution of acetonitrile (A)–0.05% acetic acid solution (B) (0–24 min, 14%A → 20%A; 24–40 min, 20%A → 45%A; 40–50 min, 45%A → 55%A; 50–70 min, 55%A → 65%A; 70–75 min, 65%A → 90%A; 75–90 min, 90%A). The flow rate was 1 mL · min<sup>-1</sup>, the detection wavelength was 240 nm and the column temperature was 25 °C. Similarities of 21 batches of Sanqi Yaojiu manufactured in different seasons were evaluated by fingerprint system of traditional Chinese medicine and the common peaks were identified by HPLC–DAD–Q–Tof (MS/MS). **Results:** HPLC fingerprints of Sanqi Yaojiu were established and 13 compounds from 18 common peaks were identified as protosappanin B, ferulic acid, icariin, psoralen, isopsoralen, neobavaisoflavone, bavachin, psoralidin, ligustilide, isobavachalcone, bavachinin A, bakuchiol and 11-keto-beta-boswellic acid, respectively. The similarities of 21 batches of Sanqi Yaojiu were between 0.994–0.999. **Conclusion:** The fingerprints of Sanqi Yaojiu established in this paper are instructive to the quality evaluation.

**Keywords:** Sanqi Yaojiu; fingerprint; identification of common peaks; LC–MS

三七药酒(国药准字 Z53021182)含三七、淫羊藿、当归等 21 味中药材,具有舒筋活络、散瘀镇痛、祛风除湿、强筋健骨等功效,主要用于跌打损伤、风湿骨痛、四肢麻木等症<sup>[1]</sup>。该制剂处方中的三七,性温微苦,既能活血通络以止痛,又能益气养血以补虚<sup>[2-3]</sup>;四块瓦、叶下花、川芎、乳香、苏木亦有较强的散瘀通络、消肿止痛之功效<sup>[2-5]</sup>;淫羊藿、补骨脂是补益肝肾、强壮筋骨的代表;当归则可养血、和血<sup>[2-3]</sup>。三七药酒处方中的药材含有丰富的化学成分<sup>[2]</sup>,复方成分复杂,因此,指纹图谱研究、标志性化学成分研究非常重要。三七药酒现行标准收载于卫生部药品标准中药成方制剂第 11 册(WS<sub>3</sub>-B-2079-96)<sup>[1]</sup>,除性状、检查外,仅对三七、淫羊藿、补骨脂等特征进行鉴别,无特征图谱及指纹图谱,无含量测定项,不能反映产品的整体质量。

三七药酒具有悠久的历史,近年来应用日益广泛,但对三七药酒的研究报道很少,尤其是有关三七药酒中化学成分的研究<sup>[6]</sup>。为了探究三七药酒中的成分,本研究采用 HPLC 法对三七药酒进行测定,结合 21 批样品测定结果,建立了三七药酒 HPLC 指纹图谱,标定了 18 个共有峰;采用 LC–MS 对三七药酒进行了成分研究,根据 21 批样品测定结果,并结合 MS 分析结果,鉴定了其中 13 个化合物,为三七药酒的质量标准提升提供了实验依据和理论基础。

## 1 仪器与试剂

Agilent 1260 高效液相色谱仪, HPLC–Q–Tof 6530A 液质联用仪, Agilent 公司; Welch Ultimate XB–C<sub>18</sub> (4.6

mm × 250 mm, 5 μm), 月旭公司; MSA 225S–1CE–Du 型电子分析天平, 赛多利斯公司。

乙腈为色谱纯, 乙酸为分析纯, 水为超纯水。

对照品: 淫羊藿苷(批号 110737–201516)、补骨脂素(批号 110739–201416)、异补骨脂素(批号 110738–201614), 购自中国食品药品检定研究院; 原巴西苏木素 B(批号 Y–074–170427)、新补骨脂异黄酮(批号 X–057–171216)、补骨脂二氢黄酮甲醚(批号 B–076–170427)、补骨脂酚(批号 B–040–170426)、藁本内酯(批号 G–010–171216), 购自成都瑞芬思生物科技有限公司, HPLC 法测得含量均 >98%; 补骨脂甲素(批号 DST171117–095)、补骨脂定(批号 DST171117–094)、补骨脂乙素(批号 DST171129–097)、11-羰基-β-乙酰乳香酸(批号 DST180417–204), 购自成都德斯特生物技术有限公司, HPLC 法测得含量均 >98%。本实验收集了 34 批三七药酒(信息见表 1), S1~S21 为云南希陶绿色药业股份有限公司提供的市售样品, S22~S27 为自制三七药酒样品, S28~S33 为按三七药酒现行药品标准(WS<sub>3</sub>-B-2079-96)制备的单味药酒。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件及质谱条件

色谱条件: 采用 Welch Ultimate XB–C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 以乙腈(A)–0.05% 乙酸溶液(B)为流动相, 梯度洗脱(0~24 min, 14%A → 20%A; 24~40 min, 20%A → 45%A; 40~50 min, 45%A → 55%A; 50~70 min, 55%A → 65%A; 70~75 min, 65%A → 90%A; 75~90 min, 90%A), 流速

表 1 样品信息

Tab. 1 Sample information

编号 (No.)	名称 (name)	来源 (source)	批号 (lot No.)	备注 (remark)
S1	三七药酒 (Sanqi Yaojiu)	市售 (commercially available)	170406	/
S2	三七药酒 (Sanqi Yaojiu)	市售 (commercially available)	170501	/
S3	三七药酒 (Sanqi Yaojiu)	市售 (commercially available)	170502	/
S4	三七药酒 (Sanqi Yaojiu)	市售 (commercially available)	170503	/
S5	三七药酒 (Sanqi Yaojiu)	市售 (commercially available)	170601	/
S6	三七药酒 (Sanqi Yaojiu)	市售 (commercially available)	170602	/
S7	三七药酒 (Sanqi Yaojiu)	市售 (commercially available)	170603	/
S8	三七药酒 (Sanqi Yaojiu)	市售 (commercially available)	170604	/
S9	三七药酒 (Sanqi Yaojiu)	市售 (commercially available)	170605	/
S10	三七药酒 (Sanqi Yaojiu)	市售 (commercially available)	170606	/
S11	三七药酒 (Sanqi Yaojiu)	市售 (commercially available)	170703	/
S12	三七药酒 (Sanqi Yaojiu)	市售 (commercially available)	170805	/
S13	三七药酒 (Sanqi Yaojiu)	市售 (commercially available)	170905	/
S14	三七药酒 (Sanqi Yaojiu)	市售 (commercially available)	171018	/
S15	三七药酒 (Sanqi Yaojiu)	市售 (commercially available)	171112	/
S16	三七药酒 (Sanqi Yaojiu)	市售 (commercially available)	171215	/
S17	三七药酒 (Sanqi Yaojiu)	市售 (commercially available)	180102	/
S18	三七药酒 (Sanqi Yaojiu)	市售 (commercially available)	180213	/
S19	三七药酒 (Sanqi Yaojiu)	市售 (commercially available)	180304	/
S20	三七药酒 (Sanqi Yaojiu)	市售 (commercially available)	180404	/
S21	三七药酒 (Sanqi Yaojiu)	市售 (commercially available)	180405	/
S22	异常三七药酒 (exceptional Sanqi Yaojiu)	自制 (made by ourselves)	Q1801	苏木缺味三七药酒 (Sanqi Yaojiu without hematoxylon)
S23	异常三七药酒 (exceptional Sanqi Yaojiu)	自制 (made by ourselves)	Q1802	叶下花缺味三七药酒 (Sanqi Yaojiu without ainsliaea pertyoides)
S24	异常三七药酒 (exceptional Sanqi Yaojiu)	自制 (made by ourselves)	Q1803	川芎、当归缺味三七药酒 (Sanqi Yaojiu without ligusticum and agelica)
S25	异常三七药酒 (exceptional Sanqi Yaojiu)	自制 (made by ourselves)	Q1804	淫羊藿缺味三七药酒 (Sanqi Yaojiu without epimedium)
S26	异常三七药酒 (exceptional Sanqi Yaojiu)	自制 (made by ourselves)	Q1805	补骨脂缺味三七药酒 (Sanqi Yaojiu without psoralea)
S27	异常三七药酒 (exceptional Sanqi Yaojiu)	自制 (made by ourselves)	Q1806	乳香缺味三七药酒 (Sanqi Yaojiu without rankincense)
S28	单味三七药酒 (single-formula wine)	自制 (made by ourselves)	D1801	苏木单味药酒 (hematoxylon wine)
S29	单味三七药酒 (single-formula wine)	自制 (made by ourselves)	D1802	叶下花单味药酒 (ainsliaea pertyoides wine)
S30	单味三七药酒 (single-formula wine)	自制 (made by ourselves)	D1803	川芎单味药酒 (ligusticum wine)
S31	单味三七药酒 (single-formula wine)	自制 (made by ourselves)	D1804	当归单味药酒 (agelica wine)
S32	单味三七药酒 (single-formula wine)	自制 (made by ourselves)	D1805	淫羊藿单味药酒 (epimedium wine)
S33	单味三七药酒 (single-formula wine)	自制 (made by ourselves)	D1806	补骨脂单味药酒 (psoralea wine)
S34	单味三七药酒 (single-formula wine)	自制 (made by ourselves)	D1807	乳香单味药酒 (rankincense wine)

1 mL·min<sup>-1</sup>, 检测波长 240 nm, 柱温 25 °C。理论板数按补骨脂素峰计算应不低于 8 000。

质谱条件: 采用电喷雾正、负离子扫描模式, 扫描范围  $m/z$  100~3 000, 干燥气温度 350 °C, 干燥器流速 12 L·min<sup>-1</sup>, 雾化器压力 241 kPa, 毛细管电压 4 kV, 裂解电压 175 V, 锥孔电压 65 V, 碰撞能量 50 V。

## 2.2 供试品溶液的制备

取三七药酒, 经 0.22 μm 微孔滤膜滤过, 即得。

## 2.3 参照物溶液的制备

取补骨脂素对照品适量, 精密称定, 加乙醇制成每 1 mL 含补骨脂素 40 μg 的溶液, 即得。

## 2.4 方法学考察

**2.4.1 精密度试验** 取 S14 号样品的供试品溶液, 连续进样 6 次, 记录色谱图, 将图谱导入中药指纹图谱相似度评价系统 (2012 版) 软件, 进行相似度评价, 结果显示, 各次测定样品共有峰相似度大于 0.99, 说明本法精密度良好。

**2.4.2 重复性试验** 取 S14 号样品 6 份, 按“2.2”项下方法制成供试品溶液, 分别进样, 记录色谱图, 将图谱导入中药指纹图谱相似度评价系统 (2012 版) 软件, 进行相似度评价, 结果显示, 各次测定样品共有峰相似度大于 0.99, 说明本法重复性良好。

**2.4.3 中间精密度** 取 S14 号样品, 由 3 组人员, 在 3 个不同日期的时间点按“2.2”项下方法制备供试品溶液, 于不同液相色谱仪 (安捷伦 Agilent 1260 液相色谱仪二元泵、安捷伦 Agilent 1260 液相色谱仪四元泵) 上使用相同色谱柱进行检测, 记录色谱图, 将图谱导入中药指纹图谱相似度评价系统 (2012 版) 软件, 进行相似度评价, 结果显示, 各次测定样品共有峰相似度大于 0.99, 说明本法中间精密度良好。

**2.4.4 溶液稳定性试验** 取 S14 号样品的供试品溶液, 分别在 0、2、4、8、12、16、24、48 h 按“2.1”项下色谱条件进行测定, 记录色谱图, 将图谱导入中药指纹图谱相似度评价系统 (2012 版) 软件, 进行相似度评价, 结果显示, 各次测定样品共有峰相似度大于 0.99, 说明供试品溶液在 48 h 内稳定。

## 2.5 指纹图谱的建立

**2.5.1 共有峰标记** 以“2.2”项下方法制备的 21 批三七药酒的供试品溶液, 按“2.1”项下条件进行测定, 得到 21 批三七药酒的 HPLC 指纹图谱, 见图 1, 根据色谱图中各色谱峰的相对保留时间, 确定共有峰, 并选取了其中 18 个共有峰作为特征指纹峰, 建立了三七药酒的对照指纹图谱, 见图 2。

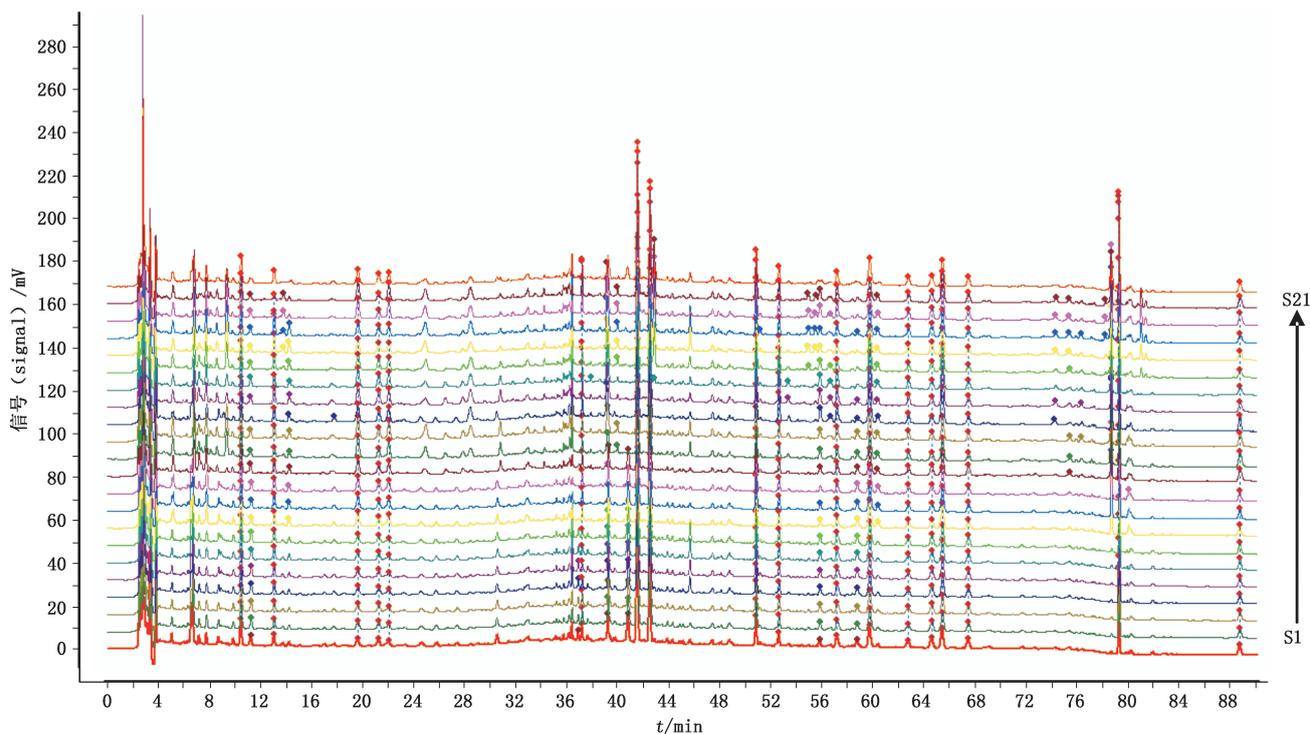
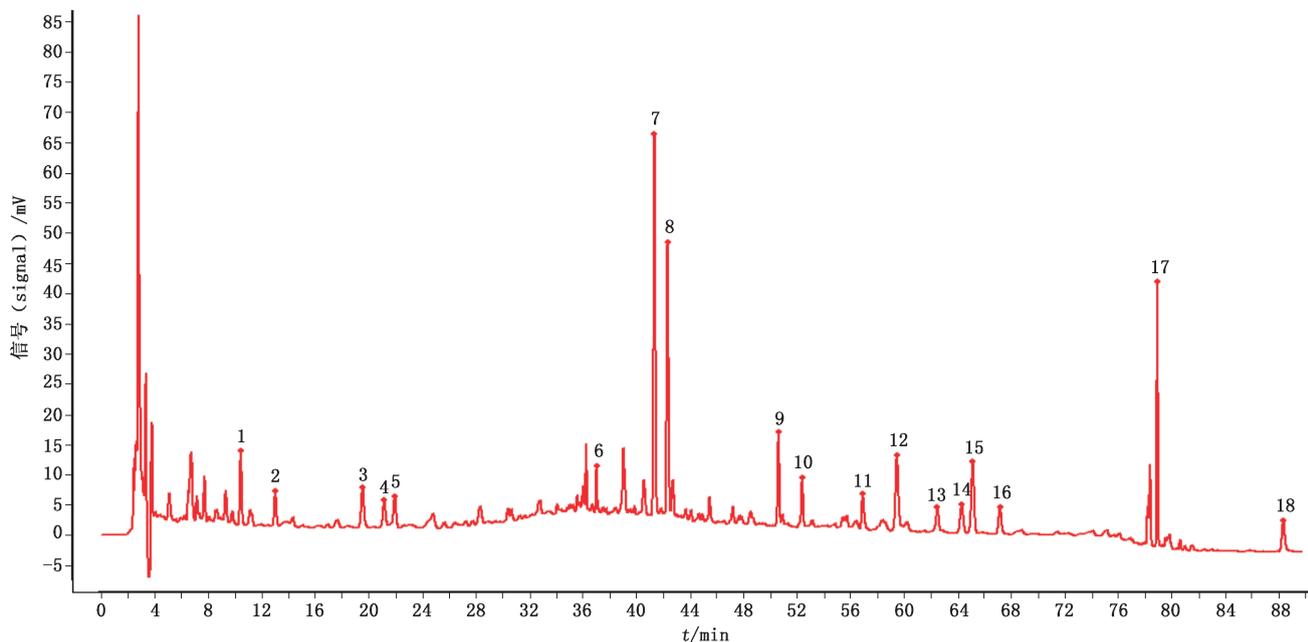


图 1 21 批三七药酒的 HPLC 指纹图谱

Fig. 1 HPLC fingerprints of 21 batches of Sanqi Yaojiu



1~18. 共有峰 (common peak)

图 2 对照指纹图谱

Fig. 2 Reference HPLC fingerprint of Sanqi Yaojiu

**2.5.2 共有峰与药材的相关性** 取 S22~S33 号样品 保留时间,可以得到三七药酒指纹图谱中的 18 个特征峰在 7 味药材中的归属,见表 2。

表 2 三七药酒指纹图谱中共有色谱峰在药材中的归属

Tab. 2 Ascription of common peaks with medicinal materials in Sanqi Yaojiu HPLC fingerprint

峰号 (peak No.)	苏木 (hematoxylon)	叶下花 (ainsliaea pertyoides)	川芎 (ligusticum)	当归 (agelica)	淫羊藿 (epimedium)	补骨脂 (psoralea)	乳香 (rankincense)
1	✓						
2		✓					
3	✓						
4			✓	✓			
5	✓						
6					✓		
7						✓	
8						✓	
9						✓	
10						✓	
11						✓	
12			✓	✓			
13						✓	
14						✓	
15						✓	
16							
17						✓	
18							✓

注 (note): 峰号同图 2 (the peak number is the same as Fig. 2)

**2.5.3 共有峰鉴定** 为进一步阐述三七药酒的化学成分组成,通过 HPLC-Q-ToF 正离子及负离子扫描获得了三七药酒指纹图谱中部分色谱峰对应化合物的结构信息,并采用相应对照品对色谱峰进行指认,同时结合相关文献报道,确定了 13 个共有峰对应的化合物,分别为原巴西苏木素 B<sup>[7]</sup>(峰 1)、阿魏酸<sup>[2,8-9]</sup>

(峰 4)、淫羊藿苷<sup>[2,10]</sup>(峰 6)、补骨脂素<sup>[2,11]</sup>(峰 7)、异补骨脂素<sup>[2,11]</sup>(峰 8)、新补骨脂异黄酮<sup>[2,11]</sup>(峰 9)、补骨脂甲素<sup>[11]</sup>(峰 10)、补骨脂定<sup>[11]</sup>(峰 11)、藁本内酯<sup>[8-9]</sup>(峰 12)、补骨脂乙素<sup>[11]</sup>(峰 13)、补骨脂二氢黄酮甲醚<sup>[11]</sup>(峰 15)、补骨脂酚<sup>[11]</sup>(峰 17)、11- 羧基-β-乙酰乳香酸<sup>[12]</sup>(峰 18)。见图 3 及表 3。

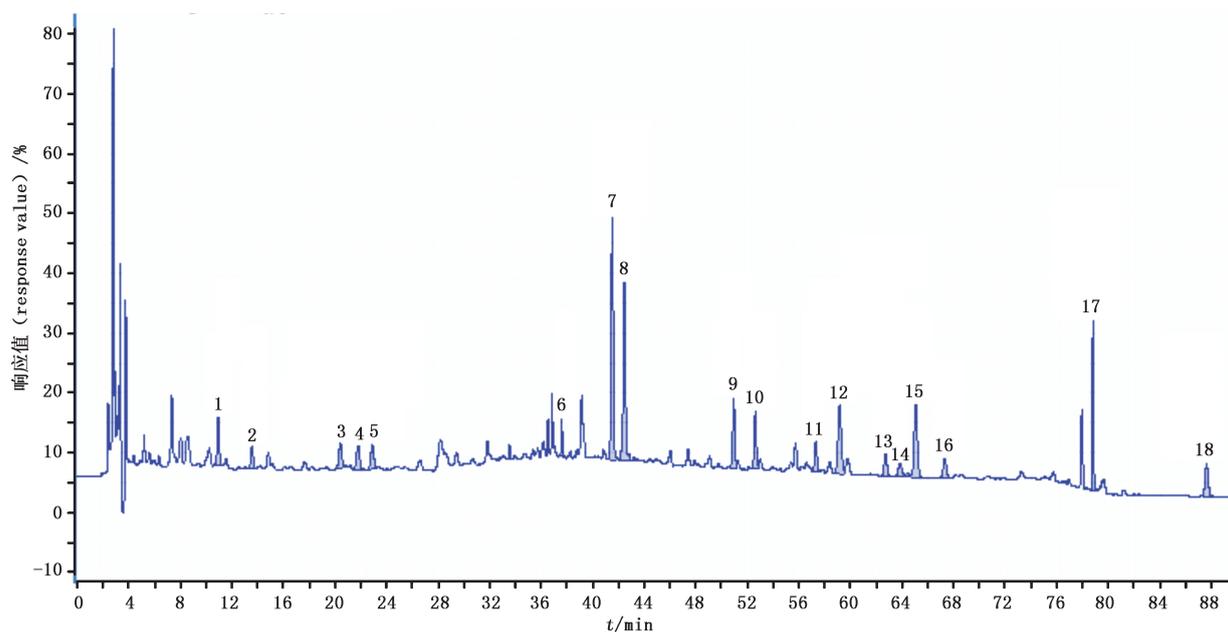


图 3 共有峰鉴定 (均已用对照品进行验证)

Fig. 3 Identification of common peaks ( have been verified with reference substances )

表 3 共有峰鉴定表

Tab. 4 Identification of common peaks

峰号 (peak No.)	成分 (component)	CAS	分子式 (molecular formula)	质谱信息 (information of MS)	
				正离子 (ESI <sup>+</sup> )	负离子 (ESI <sup>-</sup> )
1	原巴西苏木素 B (protosappanin B)	102036-29-3	C <sub>16</sub> H <sub>16</sub> O <sub>6</sub>	631 ( 2M+Na ), 327 ( M+Na ), 305 ( M+H ), 287 ( M+H-H <sub>2</sub> O )	607 ( 2M-H ), 303 ( M-H )
4	阿魏酸 (ferulic acid)	1135-24-6	C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> O <sub>4</sub>	/	193 ( M-H )
6	淫羊藿苷 (icariin)	489-32-7	C <sub>33</sub> H <sub>40</sub> O <sub>15</sub>	677 ( M+H ), 369 ( M+H-Hexose-Deoxyhexose )	735 ( M+CH <sub>3</sub> CO <sub>2</sub> ), 513 ( M-H-Hexose ), 367 ( M-H-Hexose-Deoxyhexose )
7	补骨脂素 (psoralen)	66-97-7	C <sub>11</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>	187 ( M+H )	/
8	异补骨脂素 (isopsoralene)	523-50-2	C <sub>11</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>	187 ( M+H )	/
9	新补骨脂异黄酮 (neobavaisoflavone)	41060-15-5	C <sub>20</sub> H <sub>18</sub> O <sub>4</sub>	323 ( M+H )	321 ( M-H )
10	补骨脂甲素 (bavachin)	19879-32-4	C <sub>20</sub> H <sub>20</sub> O <sub>4</sub>	325 ( M+H )	/
11	补骨脂定 (psoralidin)	18642-23-4	C <sub>20</sub> H <sub>16</sub> O <sub>5</sub>	/	335 ( M-H )
12	藁本内酯 (ligustilide)	4431-01-0	C <sub>12</sub> H <sub>14</sub> O <sub>2</sub>	213 ( M+Na ), 191 ( M+H )	/
13	补骨脂乙素 (isobavachalcone)	20784-50-3	C <sub>20</sub> H <sub>20</sub> O <sub>4</sub>	/	323 ( M-H )
15	补骨脂二氢黄酮甲醚 (bavachinin A)	19879-30-2	C <sub>21</sub> H <sub>22</sub> O <sub>4</sub>	669 ( 2M+H ), 361 ( M+Na ), 339 ( M+H )	/
17	补骨脂酚 ((+)-bakuchiol)	10309-37-2	C <sub>18</sub> H <sub>24</sub> O	/	255 ( M-H )
18	11- 羧基 -β-乙酰乳香酸 (acetyl-11-keto-beta- boswellic acid)	67416-61-9	C <sub>32</sub> H <sub>48</sub> O <sub>5</sub>	557 ( M+COOH ), 535 ( M+Na ), 513 ( M+H )	/

**2.5.4 不同批次三七药酒指纹图谱相似度评价** 21批三七药酒,按“2.2”项下方法制备供试品溶液,按“2.1”项下条件进行检测,记录色谱图,将图谱导入中药指纹图谱相似度评价系统(2012年版)软件,以特征图谱共有模式为对照,计算各批次样品相似度(见表3)。21批三七药酒与对照指纹图谱相似度分别为0.995、0.995、0.995、0.995、0.995、0.996、0.996、0.999、0.999、0.997、0.998、0.995、0.997、0.987、0.995、0.988、0.996、0.998、0.995、0.995、0.994,均大于0.99,表明各批三七药酒质量稳定。

### 3 讨论

#### 3.1 色谱条件优化

三七药酒由三七、苏木、补骨脂、淫羊藿等21味中药配伍而成,化学成分种类较多,极性差异较大,因此考虑使用梯度洗脱。由于类似组方的成分分析报道较少,在流动相梯度摸索过程中考察乙腈-水(5:95)及甲醇-水(10:90)为初始条件,随时间变化逐渐调高有机相比至乙腈-水(90:10)及甲醇-水(90:10),结果显示,采用乙腈-水作为流动相时大部分色谱峰峰形较好,分离度更佳,分布均匀。针对部分色谱峰的前延、拖尾等峰形较差的现象,进一步考察了流动相中加入适量弱酸对各整体色谱行为的影响,结果表明,水中加入0.05%乙酸及水中加入0.05%甲酸时各色谱峰峰形尖锐,分离度均较好,各峰保留时间基本一致,但水中加入0.05%乙酸时,低波长检测条件下基线更稳定,本研究选择乙腈-0.05%乙酸为流动相,优化后获得最终色谱条件。

#### 3.2 检测波长的选择

三七药酒处方中的药材含有黄酮、香豆素、有机酸等成分<sup>[2]</sup>,种类较多,光谱吸收特点各异。用二极管阵列检测器考察样品在不同波长(190~400 nm)下的色谱图,结果表明,240 nm时,HPLC色谱峰较多,各色谱峰面积差异较小,基线稳定,因此选择240 nm作为指纹图谱检测波长。

#### 3.3 参照峰的确

对多批三七药酒进行检测,记录色谱图。发现该条件下,三七药酒中补骨脂素响应较高,分离度良好,保留时间稳定,所以选择补骨脂素为参照峰。

#### 3.4 色谱柱考察

取同一供试品溶液,比较6种不同型号色谱柱[色谱柱1:Agilent Zorbax Eclipse XDB-C<sub>18</sub>(Analytical 4.6 mm × 250 mm, 5 μm);色谱柱2:GL Science Inertsil

ODS-3(4.6 mm × 250 mm, 5 μm);色谱柱3:Thermo(4.6 mm × 250 mm, 5 μm);色谱柱4:Welch Ultimate XB-C<sub>18</sub>(4.6 mm × 250 mm, 5 μm);色谱柱5:Welch Xtimate C<sub>18</sub>(4.6 mm × 250 mm, 5 μm);色谱柱6:Achrom Unitary C<sub>18</sub>(4.6 mm × 150 mm, 5 μm)]对色谱峰分离情况及相似度影响,结果显示,不同厂家色谱柱对色谱峰分离影响较大。其中,色谱柱1与色谱柱4对色谱峰分离情况相似,共有峰均能达到良好分离,但色谱柱4分离效果更佳。比较色谱柱4搭配不同型号保护柱[Welch XB-C<sub>18</sub>(4.6 mm × 1 mm, 5 μm), Phenomenex C<sub>18</sub>(4 mm × 3.0 mm, 5 μm)]对色谱峰分离情况及相似度影响,各共有峰保留时间略有延后,但分离均良好,各共有峰之间相似度均大于0.99。使用不同损耗程度的色谱柱4对色谱峰分离情况及相似度影响,各共有峰保留时间及峰形有细微差异,但分离均良好,各共有峰之间相似度均大于0.99。

#### 3.5 柱温考察

取同一供试品溶液,考察不同检测柱温(23、25、27 °C)下,各共有峰的分离及相似度变化情况。结果显示,随柱温升高,各共有峰保留时间整体略有提前,但分离度良好,各共有峰之间相似度均大于0.99。说明该方法柱温耐用性良好。

#### 3.6 柱流速考察

取同一供试品溶液,考察不同柱流速(0.98、1.00、1.02 mL·min<sup>-1</sup>)下,各共有峰的分离及相似度变化情况。结果显示,随着流速升高,各共有峰保留时间整体略有提前,但分离度良好,各共有峰之间相似度均大于0.99。说明该方法柱流速耐用性良好。

#### 3.7 检测波长考察

取同一供试品溶液,考察不同检测波长(238、240、242 nm)下,各共有峰的相似度变化情况。结果显示,检测波长微小调整,各共有峰之间相似度均大于0.99。说明该方法检测波长耐用性良好。

#### 3.8 分析及结论

本研究共标定了三七药酒中18个共有峰,并对其共有峰化合物进行结构鉴定,共鉴定了13个成分,实现了叶下花、川芎、当归、乳香、苏木、淫羊藿、补骨脂等7味药材的整体控制,结合现行标准(WS<sub>3</sub>-B-2079-96),能够有效控制三七药酒中大多数主要成分,另外,由于三七中特征成分为皂苷类成分<sup>[13-15]</sup>,其在紫外条件下为末端吸收,吸收波长较低,加上供试品溶液中成分复杂干扰。因此,该类成

分在文中的色谱条件下,不能指认。随着研究的不断深入,可考虑针对三七中的皂苷类成分,建立指纹图谱或多成分含量测定方法。

三七药酒应用广泛,但其相关的质量研究报道较少,本研究对三七药酒的指纹图谱进行了研究,并对相应目标峰进行了鉴定,通过方法学验证,表明该法耐用性良好,可操作性强,具有重要意义,为三七药酒生产工艺研究提供了更多评价指标,同时,也为三七药酒内在质量的评价和控制提供依据。

#### 参考文献

- [1] WS<sub>3</sub>-B-2079-96 国家食品药品监督管理局. 国家药品标准[S]. 1996  
WS<sub>3</sub>-B-2079-96 State Food and Drug Administration. National Drug Standards[S].
- [2] 中华人民共和国药典 2015 年版. 一部[S]. 2015 10, 40, 133, 164, 223, 327  
ChP 2015. Vol I [S]. 2015 10, 40, 133, 164, 223, 327
- [3] 邓中甲. 方剂学[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2003: 2  
DENG ZJ. Teaching Essentials of Prescription[M]. Beijing: China Press of Traditional Chinese Medicine, 2003: 2
- [4] YNZYC-0071-2007 云南省食品药品监督管理局. 云南省药品标准[S]. 2007  
YNZYC-0071-2007 Yunnan Province Food and Drug Administration. Drug Standards of Yunnan Province[S]. 2007
- [5] YNZYC-0070-2007 云南省食品药品监督管理局. 云南省药品标准[S]. 2007  
YNZYC-0070-2007 Yunnan Province Food and Drug Administration. Drug Standards of Yunnan Province[S]. 2007
- [6] 崔庆德, 业艳芬, 方慧祥, 等. HPLC 法直接测定三七药酒中补骨脂素与异补骨脂素的含量[J]. 中国药品标准, 2017, 188(3): 202  
CUI QD, YE YF, FANG HX, *et al.* Determination of psoralen and isopsoralen in Panax Notoginseng wine by HPLC[J]. Drug Stand China, 2017, 188(3): 202
- [7] 李争春. 苏木有效成分筛选及其化学组成分析[D]. 太原: 山西大学, 2014  
LI ZC. Screening of Effective Components and Chemical Composition Analysis of *Sappan L.* [D]. Taiyuan: Shanxi University, 2014
- [8] 吴国霞, 杨秀娟, 邓毅, 等. 当归不同药用部位水煎液指纹图谱及成分分析[J]. 中成药, 2018, 40(4): 890  
WU GX, YANG XJ, DENG Y, *et al.* Fingerprints and component analysis of aqueous decoction from different medical parts of *Angelica sinensis* [J]. Chin Tradit Pat Med, 2018, 40(4): 890
- [9] 蔡皓, 乔凤仙, 裴科, 等. UHPLC-Q-TOFMS 和化学计量学方法分析川芎硫磺熏蒸前后化学成分的变化[J]. 质谱学报, 2017, 38(1): 127  
CAI H, QIAO FX, PEI K, *et al.* Investigation on differences of chemical constituents between sun-dried and sulfur-fumigated *Chuanxiong Rhizoma* based on UHPLC-Q-TOF MS and chemometric analysis[J]. J Chin Mass Spectr Soc, 2017, 38(1): 127
- [10] 杨宗林, 赵静. UPLC-Q-TOFMS 定性定量分析淫羊藿中淫羊藿苷类似物[J]. 质谱学报, 2017, 38(1): 19  
YANG ZL, ZHAO J. Qualitative and quantitative analysis of icariin analogues in *Epimedium koreanum* by UPLC-Q-TOF MS[J]. J Chin Mass Spectr Soc, 2017, 38(1): 19
- [11] 王增绘, 付娟, 武拉斌, 等. 基于 UPLC-Q-TOF/MS 技术的补骨脂盐炙前后化学成分变化研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(16): 51  
WANG ZH, FU J, WU LB, *et al.* Study on chemical composition changes of psoralen before and after salt processing based on UPLC-Q-TOF/MS Technology. [J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2014, 20(16): 51
- [12] 陈婷, 宿树兰, 钱叶飞, 等. 乳香-没药配伍前后汤液理化参数变化与化学成分的相关分析[J]. 中成药, 2012, 34(8): 1529  
CHEN T, SU SL, QIAN YF, *et al.* Association analysis between the physicochemical parameters and the chemical constituents in olibanum and myrrh decoction before and after combination[J]. Chin Tradit Pat Med, 2012, 34(8): 1529
- [13] 赵静, 秦振娟, 彭冰, 等. 基于 UPLC-Q-TOFMS 技术的三七中皂苷类成分质谱裂解规律研究[J]. 质谱学报, 2017, 38(1): 97  
ZHAO J, QIN ZX, PENG B, *et al.* Fragmentation pathway of ginsenosides in panaxnotoginseng using electrospray ionization-quadrupole/time-of-flight mass spectrometer[J]. J Chin Mass Spectr Soc, 2017, 38(1): 97
- [14] 孙英英, 郭玉海, 林华庆, 等. UPLC 测定丹七片中三七皂苷 R<sub>1</sub>、人参皂苷 R<sub>g1</sub> 和人参皂苷 R<sub>b1</sub> 的含量[J]. 中国生化药物杂志, 2015, 35(1): 148  
SUN YY, GUO YH, LIN HQ, *et al.* Content determination of notoginsenoside R<sub>1</sub>, ginsenoside R<sub>g1</sub> and ginsenoside R<sub>b1</sub> in Danqi tablets by UPLC[J]. Chin J Biochem Pharm, 2015, 35(1): 148
- [15] 林庆新. HPLC 法测定人参三七颗粒中人参皂苷 R<sub>g1</sub>、R<sub>e</sub>、R<sub>b1</sub> 和三七皂苷 R<sub>1</sub> 的含量[J]. 中国药师, 2013, 16(10): 1527  
LIN QX. Determination of ginsenoside R<sub>g1</sub>, R<sub>e</sub>, R<sub>b1</sub> and notoginsenoside R<sub>1</sub> in Renshen Sanqi granules by HPLC[J]. China Pharm, 2013, 16(10): 1527

(本文于 2018 年 10 月 25 日收到)