

HPLC法同时测定桂枝加芍药汤中8种成分的含量^Δ

韩真真*, 邵长森, 张元元, 王绍花, 刘 莉, 林桂涛, 盛华刚[#](山东中医药大学药学院, 济南 250355)

中图分类号 R284.1;R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2019)06-0784-05

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2019.06.13

摘要 目的:建立同时测定桂枝加芍药汤中芍药内酯苷、芍药苷、甘草苷、甘草素、肉桂酸、桂皮醛、甘草酸铵、6-姜酚含量的方法。方法:采用高效液相色谱法。色谱柱为Kromasil C₁₈,流动相为乙腈-0.1%磷酸溶液(梯度洗脱),流速为1.0 mL/min,检测波长为235 nm(0~35 min,芍药内酯苷、芍药苷、甘草苷)、280 nm(35~65 min,甘草素、肉桂酸、桂皮醛、甘草酸铵、6-姜酚),柱温为25 ℃,进样量为20 μL。结果:芍药内酯苷、芍药苷、甘草苷、甘草素、肉桂酸、桂皮醛、甘草酸铵、6-姜酚检测质量浓度线性范围分别为2.125~34.000 μg/mL($r=0.999\ 9$)、28.700~459.200 μg/mL($r=0.999\ 7$)、3.675~58.800 μg/mL($r=0.999\ 7$)、1.235~19.760 μg/mL($r=0.999\ 8$)、2.300~36.800 μg/mL($r=0.999\ 8$)、0.955~15.280 μg/mL($r=0.999\ 7$)、36.000~576.000 μg/mL($r=0.999\ 7$)、1.500~24.000 μg/mL($r=0.999\ 7$);定量限分别为0.135、0.102、0.096、0.033、0.013、0.023、0.663、0.198 μg/mL,检测限分别为0.041、0.031、0.029、0.010、0.004、0.007、0.201、0.059 μg/mL;精密密度、稳定性、重复性试验的RSD均小于3%($n=6$);加样回收率分别为97.47%~100.76%(RSD=1.33%, $n=6$)、98.15%~103.50%(RSD=1.82%, $n=6$)、95.65%~100.84%(RSD=2.38%, $n=6$)、96.75%~100.32%(RSD=1.31%, $n=6$)、95.88%~102.75%(RSD=2.52%, $n=6$)、95.63%~100.63%(RSD=2.00%, $n=6$)、96.78%~100.45%(RSD=1.35%, $n=6$)、95.71%~100.48%(RSD=1.80%, $n=6$)。结论:该方法准确、可靠,专属性好,可用于同时测定桂枝加芍药汤中8种成分的含量。

关键词 桂枝加芍药汤;高效液相色谱法;含量测定;芍药内酯苷;芍药苷;甘草苷;甘草素;肉桂酸;桂皮醛;甘草酸铵;6-姜酚

Simultaneous Determination of 8 Ingredients in Guizhijiaoshao Yao Decoction by HPLC

HAN Zhenzhen, SHAO Changsen, ZHANG Yuanyuan, WANG Shaohua, LIU Li, LIN Guitao, SHENG Huagang (College of Pharmacy, Shandong University of TCM, Jinan 250355, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for simultaneous determination of albiflorin, paeoniflorin, liquiritin, liquiritigenin, cinnamic acid, cinnamaldehyde, ammonium glycyrrhetate and 6-ginger phenol in Guizhijiaoshao Yao decoction. METHODS: HPLC method was adopted. The determination was performed on Kromasil C₁₈ column with mobile phase consisted of acetonitrile-0.1% phosphoric acid solution (gradient elution) at the flow rate of 1.0 mL/min. The detection wavelengths were 235 nm (0-35 min, albiflorin, paeoniflorin, liquiritin), 280 nm (35-65 min, liquiritigenin, cinnamic acid, cinnamaldehyde, ammonium glycyrrhetate and 6-ginger phenol). The column temperature was 25 ℃, and the sample size was 20 μL. RESULTS: The linear range of albiflorin, paeoniflorin, liquiritin, liquiritigenin, cinnamic acid, cinnamaldehyde, ammonium glycyrrhetate and 6-ginger

- [2] 闫丽,岳崇兵,李厚明.保泰松的合成工艺研究[J].市场调研,2015,1(1):11-12.
- [3] 曹琳琳.保泰松的合成新工艺及其衍生物的合成研究[D].郑州:郑州大学,2007.
- [4] 姜建国,孙婷,郭永辉,等.顶空气相色谱法同时测定比沙可啶原料药中2种溶剂残留量[J].中国药房,2016,27(30):4297-4299.
- [5] 中华人民共和国卫生部药典委员会.中华人民共和国卫生部药品标准:二部:五册[S].1996:64-65.
- [6] 国家药典委员会.中国药典分析检测技术指南[S].北京:中国医药科技出版社,2017:410.
- [7] 李眉,马玉楠.简介 ICH 关于药品中溶剂残留的指导原

- 则[J].中国药师,1998,1(3):119-120.
- [8] 刘葵葵,邓玉晓,邢学敏,等.顶空气相色谱法同时测定法匹拉韦原料药中5种有机溶剂的残留量[J].中国药房,2017,28(24):3415-3418.
- [9] 孙悦,王卫,唐素芳.顶空气相色谱法测定盐酸帕罗西汀中残留的有机溶剂及基质效应考察[J].药物分析杂志,2010,30(5):963-967.
- [10] 汪斌,郑璐,姚仲青,等.顶空气相色谱法测定胡黄连苷Ⅱ原料药中7种有机溶剂残留量[J].中国药房,2015,26(27):3859-3861.
- [11] 吴朝华,王秀梅,顾保明.顶空毛细管气相色谱法测定盐酸丁卡因原料药中的残留溶剂[J].药物分析杂志,2011,31(6):1188-1192.
- [12] 张晶蓉.顶空气相色谱法测定富马酸喹硫平的残留溶剂[J].天津药学,2015,27(5):17-19.

(收稿日期:2018-04-19 修回日期:2019-02-02)

(编辑:余庆华)

^Δ 基金项目:山东省重点研发计划项目(No.2016CYJS08A01-10)
* 硕士研究生。研究方向:中药新制剂新技术。E-mail:18364168544@163.com

[#] 通信作者:副教授,博士。研究方向:中药新制剂新技术。E-mail:shenghuagang@sina.com

phenol were 2.125-34.000 $\mu\text{g/mL}$ ($r=0.999\ 9$), 28.700-459.200 $\mu\text{g/mL}$ ($r=0.999\ 7$), 3.675-58.800 $\mu\text{g/mL}$ ($r=0.999\ 7$), 1.235-19.760 $\mu\text{g/mL}$ ($r=0.999\ 8$), 2.300-36.800 $\mu\text{g/mL}$ ($r=0.999\ 8$), 0.955-15.280 $\mu\text{g/mL}$ ($r=0.999\ 7$), 36.000-576.000 $\mu\text{g/mL}$ ($r=0.999\ 7$) and 1.500-24.000 $\mu\text{g/mL}$ ($r=0.999\ 7$), respectively. The quantitative limits were 0.135, 0.102, 0.096, 0.033, 0.013, 0.023, 0.663, 0.198 $\mu\text{g/mL}$; the detection limits were 0.041, 0.031, 0.029, 0.010, 0.004, 0.007, 0.201, 0.059 $\mu\text{g/mL}$. RSDs of precision, stability and reproducibility tests were all lower than 3% ($n=6$). The recovery rates were 97.47%-100.76% (RSD=1.33%, $n=6$), 98.15%-103.50% (RSD=1.82%, $n=6$), 95.65%-100.84% (RSD=2.38%, $n=6$), 96.75%-100.32% (RSD=1.31%, $n=6$), 95.88%-102.75% (RSD=2.52%, $n=6$), 95.63%-100.63% (RSD=2.00%, $n=6$), 96.78%-100.45% (RSD=1.35%, $n=6$), 95.71%-100.48% (RSD=1.80%, $n=6$). CONCLUSIONS: The method is accurate, reliable and exclusive, and suitable for simultaneous determination of 8 ingredients in GuizhijiaShaoyao decoction.

KEYWORDS GuizhijiaShaoyao decoction; HPLC; Content determination; Albiflorin; Paeoniflorin; Liquiritin; Liquiritigenin; Cinnamic acid; Cinnamaldehyde; Ammonium glycyrrhetate; 6-ginger phenol

桂枝加芍药汤出自《伤寒论》：“本太阳病，医反下之，因尔腹满时痛者，属太阴也”。桂枝加芍药汤由桂枝、赤芍、炙甘草、生姜、大枣等5味中药组成，具有调和营卫、理脾和中、缓急止痛的功效^[1]，临床常用于治疗月经痛、胃痛、腹痛、胃肠痉挛、慢性痢疾等症^[2-5]。有研究发现，桂枝汤中的桂皮醛、肉桂酸、芍药苷、甘草酸等均具有抗炎、抗菌、抗病毒、镇痛的作用^[6-7]。桂皮醛是桂枝中主要的挥发油成分，具有镇痛、抗炎、抗菌、抗肿瘤等作用；肉桂酸是桂枝中主要的有机酸类成分，具有杀菌、止血、抗肿瘤等作用^[8]。芍药苷为赤芍的主要成分，芍药内酯苷为芍药苷的同分异构体，均具有镇痛、镇静、解痉及免疫调节的作用^[9]。炙甘草中的甘草苷可用于治疗咽炎、急、慢性咳嗽，具有抗抑郁、神经保护等作用；甘草素是炙甘草中含量较高的黄酮类成分之一，为甘草苷的苷元，具有保肝的作用；甘草酸是炙甘草的主要成分，可在体内转化为甘草次酸，进而发挥抗炎、抗免疫、镇痛等作用^[10]，其以甘草酸铵为指标成分进行含量测定。6-姜酚是生姜中主要的挥发油成分，具有抗炎、止痛、强心、抗血小板聚集、抗氧化、抗肿瘤等作用^[11]。目前，关于桂枝加芍药汤的研究多为在中医辨证论治方面，而对于化学成分的含量分析鲜有报道。为此，本研究建立了同时测定桂枝加芍药汤中芍药内酯苷、芍药苷、甘草苷、甘草素、肉桂酸、桂皮醛、甘草酸铵、6-姜酚含量的高效液相色谱法(HPLC)，旨在为其质量控制提供参考。

1 材料

1.1 仪器

1260型HPLC仪，包括G1311C型四元梯度泵、G1315D型可变波长扫描紫外检测器、G1316A型柱温箱、OpenLABC.01.07[27]色谱工作站(美国Agilent公司)；MS105DU型十万分之一电子天平(瑞士Mettler-Toledo公司)；KQ5200型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

1.2 试剂

芍药苷对照品(批号：110736-201741，纯度：95.7%)、甘草苷对照品(批号：111610-201607，纯度：93.1%)、肉桂酸对照品(批号：110786-201604，纯度：98.8%)、桂皮醛对照品(批号：110710-201720，纯度：

98.0%)、甘草酸铵对照品(批号：110731-201619，纯度：93.0%)、6-姜酚对照品(批号：111833-201303，纯度：98.0%)均购自中国食品药品检定研究院；芍药内酯苷对照品(批号：713A022，纯度：98.0%)购自北京索莱宝科技有限公司；甘草素对照品(批号：Z20J8X40265，纯度：98.0%)购自上海源叶生物科技有限公司；甲醇、乙腈为色谱纯，其余试剂均为分析纯，水为纯净水。

1.3 药材

桂枝饮片(批号：17050502)、赤芍饮片(批号：170201)、炙甘草饮片(批号：170507)均购自山东省中医院，大枣饮片(批号：E2017100901)购自济南东方大药店，生姜购自济南市某超市；经山东中医药大学徐凌川教授鉴定分别为樟科植物肉桂(*Cinnamomum cassia* Presl)的干燥嫩枝、毛茛科植物芍药(*Paeonia lactiflora* Pall.)的干燥根、豆科植物甘草(*Glycyrrhiza uralensis* Fisch.)的干燥根(经蜜炙后得到)、鼠李科植物枣(*Ziziphus jujuba* Mill.)的干燥成熟果实、姜科植物姜(*Zingiber officinale* Rosc.)的新鲜根茎。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱：Kromasil C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm)；流动相：乙腈(A)-0.1%磷酸溶液(B)(洗脱程序见表1)；流速：1.0 mL/min；检测波长：235 nm(0~35 min, 芍药内酯苷、芍药苷、甘草苷)、280 nm(35~65 min, 甘草素、肉桂酸、桂皮醛、甘草酸铵、6-姜酚)；柱温：25 $^{\circ}\text{C}$ ；进样量：20 μL 。

表1 梯度洗脱程序

Tab 1 Gradient elution procedure

t, min	A, %	B, %
0	14	86
16	17	83
25	17	83
65	50	50

2.2 桂枝加芍药汤标准煎液的制备

称取桂枝9 g、赤芍18 g、炙甘草6 g、生姜9 g、大枣12枚，加水1 400 mL，武火煎煮，煮沸后调文火保持微沸煎煮，煎煮至药液约600 mL，8层纱布滤过，滤液加水定容至600 mL，即得。

2.3 溶液的制备

2.3.1 混合对照品溶液 取芍药内酯苷、芍药苷、甘草苷、甘草素、肉桂酸、桂皮醛、甘草酸铵、6-姜酚对照品适量,分别置于10 mL量瓶中,加75%甲醇溶解并定容,摇匀,得芍药内酯苷、芍药苷、甘草苷、甘草素、肉桂酸、桂皮醛、甘草酸铵、6-姜酚质量浓度分别为340、1 148、98、494、610、382、1 400、800 $\mu\text{g/mL}$ 的单一对照品储备液。分别精密吸取上述各单一对照品储备液适量,置于5 mL量瓶中,加75%甲醇定容,摇匀,得芍药内酯苷、芍药苷、甘草苷、甘草素、肉桂酸、桂皮醛、甘草酸铵、6-姜酚质量浓度分别为42.5、574.0、73.5、24.7、46.0、19.1、720.0、30.0 $\mu\text{g/mL}$ 的混合对照品溶液。

2.3.2 供试品溶液 取“2.2”项下标准煎液25 mL,置于100 mL量瓶中,加甲醇定容,摇匀,密闭,称定质量,超声(功率:200 W,频率:40 kHz)处理10 min,再次称定质量,用甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.3.3 阴性样品溶液 按“2.2”项下方法分别制备缺桂枝、赤芍、炙甘草、生姜、大枣的阴性标准煎液,再按“2.3.2”项下方法制备缺桂枝、缺赤芍、缺甘草、缺生姜、缺大枣的阴性样品溶液。

2.4 系统适用性试验

取“2.3”项下混合对照品溶液、供试品溶液、阴性样品溶液各适量,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录色谱图,详见图1。由图1可知,在该色谱条件下,理论板数按芍药内酯苷峰计应不低于7 000,分离度均大于1.5,阴性样品对测定无干扰。

2.5 线性关系考察

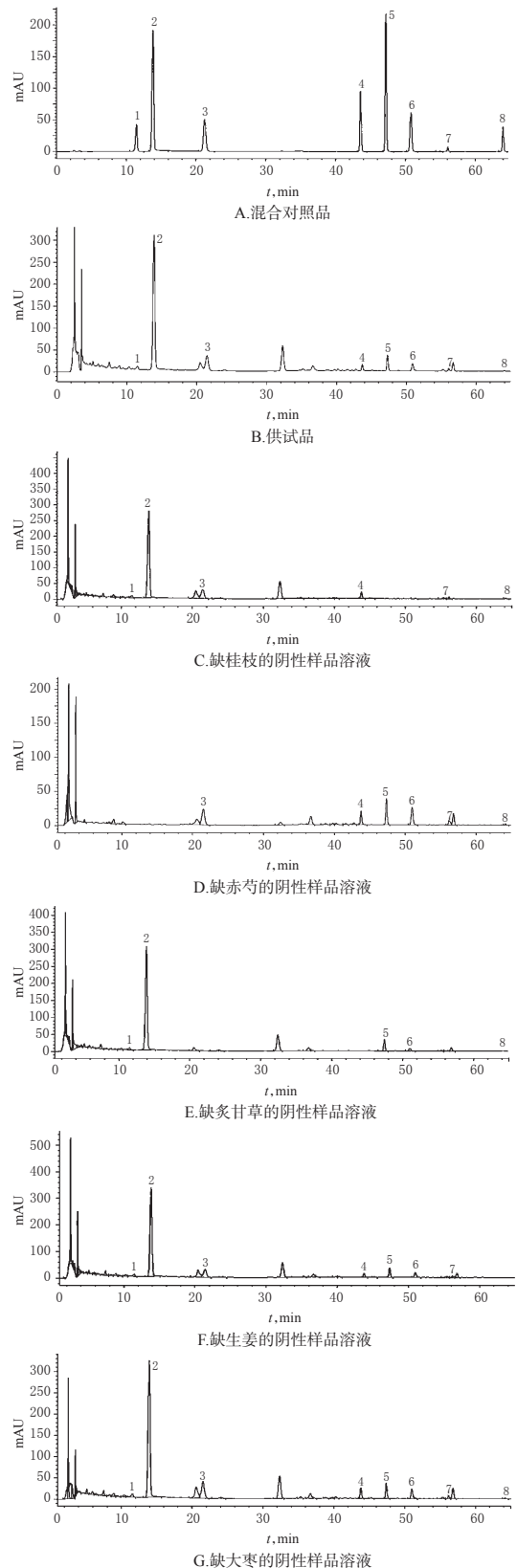
精密量取“2.3.1”项下混合对照品溶液0.25、0.50、1.0、2.0、4.0 mL,分别置于5 mL量瓶中,加75%甲醇定容,摇匀,得系列线性关系工作溶液。精密量取上述系列线性关系工作溶液适量,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以各待测成分质量浓度($x, \mu\text{g/mL}$)为横坐标、峰面积(y)为纵坐标进行线性回归,各待测成分回归方程与线性范围见表2。

2.6 定量限与检测限考察

精密量取“2.3.1”项下混合对照品溶液适量,倍比稀释,按“2.1”项下色谱条件进样测定,以信噪比10:1、3:1分别计算定量限、检测限。结果,芍药内酯苷、芍药苷、甘草苷、甘草素、肉桂酸、桂皮醛、甘草酸铵、6-姜酚的定量限分别为0.135、0.102、0.096、0.033、0.013、0.023、0.663、0.198 $\mu\text{g/mL}$,检测限分别为0.041、0.031、0.029、0.010、0.004、0.007、0.201、0.059 $\mu\text{g/mL}$ 。

2.7 精密度试验

取“2.3.1”项下混合对照品溶液1 mL,置于5 mL量瓶中,加75%甲醇稀释至刻度,摇匀,按“2.1”项下色谱条件连续进样测定6次,记录峰面积。结果,芍药内酯苷、芍药苷、甘草苷、甘草素、肉桂酸、桂皮醛、甘草酸铵、6-姜酚峰面积的RSD分别为0.25%、0.45%、1.43%、



注:1.芍药内酯苷;2.芍药苷;3.甘草苷;4.甘草素;5.肉桂酸;6.桂皮醛;7.甘草酸铵;8.6-姜酚

Note: 1. albiflorin; 2. paeoniflorin; 3. liquiritin; 4. liquiritigenin; 5. cinnamic acid; 6. cinnamaldehyde; 7. ammonium glycyrrhetate; 8. 6-ginger phenol

图1 高效液相色谱图

Fig 1 HPLC chromatograms

表2 回归方程与线性范围

Tab 2 Regression equations and linear ranges

待测成分	回归方程	线性范围, $\mu\text{g/mL}$	r
芍药内酯苷	$y=23.003x-4.8373$	2.125~34.000	0.9999
芍药苷	$y=30.478x-74.324$	28.700~459.200	0.9997
甘草苷	$y=43.24x-18.911$	3.675~58.800	0.9997
甘草素	$y=63.521x-4.7763$	1.235~19.760	0.9998
肉桂酸	$y=163.55x-32.483$	2.300~36.800	0.9998
桂皮醛	$y=150.11x-22.319$	0.955~15.280	0.9997
甘草酸铵	$y=1.024x+3.1278$	36.000~576.000	0.9997
6-姜酚	$y=10.329x+1.2472$	1.500~24.000	0.9997

0.64%、0.32%、1.34%、2.01%、0.32% ($n=6$), 表明仪器精密度高。

2.8 稳定性试验

取“2.3.2”项下供试品溶液适量, 分别于室温下放置0、2、4、6、8、12、24 h时按“2.1”项下色谱条件进样测定, 记录峰面积。结果, 芍药内酯苷、芍药苷、甘草苷、甘草素、肉桂酸、桂皮醛、甘草酸铵、6-姜酚峰面积的RSD分别为0.45%、0.87%、1.22%、0.65%、1.34%、2.65%、1.43%、0.69% ($n=7$), 表明供试品溶液于室温下放置24 h内基本稳定。

2.9 重复性试验

取“2.2”项下标准煎液适量, 按“2.3.2”项下方法制备供试品溶液, 共6份, 再按“2.1”项下色谱条件进样测定, 记录峰面积并计算样品含量。结果, 芍药内酯苷、芍药苷、甘草苷、甘草素、肉桂酸、桂皮醛、甘草酸铵、6-姜酚的平均含量分别为0.24、7.35、0.74、0.10、0.15、0.05、1.97、0.07 mg/g, RSD分别为0.62%、0.31%、1.28%、1.12%、1.56%、1.98%、2.73%、0.34% ($n=6$), 表明本方法重复性良好。

2.10 加样回收率试验

精密吸取已知含量的标准煎液, 共6份, 每份2.5 mL, 分别加入一定量的单一对照品贮备液, 按“2.3.2”项下方法制备供试品溶液, 再按“2.1”项下色谱条件进样测定, 记录峰面积并计算加样回收率, 结果见表3。

2.11 耐用性试验

2.11.1 流动相考察 取“2.2”项下标准煎液适量, 按“2.3.2”项下方法制备供试品溶液, 再按“2.1”项下色谱条件(流动相中磷酸溶液体积分数分别为0.15%、0.10%、0.05%)进样测定, 记录峰面积并计算样品含量, 结果见表4。结果表明, 当流动相发生一定程度波动时, 本法能满足试验要求, 提示其耐用性良好。

2.11.2 流速考察 取“2.2”项下标准煎液适量, 按“2.3.2”项下方法制备供试品溶液, 再按“2.1”项下色谱条件(流速分别为0.9、1.0、1.1 mL/min)进样测定, 记录峰面积并计算样品含量, 结果见表4。结果表明, 当流速发生一定程度波动时, 本法能满足试验要求, 提示其耐用性良好。

2.11.3 柱温考察 取“2.2”项下标准煎液适量, 按“2.3.2”项下方法制备供试品溶液, 再按“2.1”项下色谱条

表3 加样回收率试验结果($n=6$)Tab 3 Results of recovery tests($n=6$)

待测成分	样品含量, mg	加入量, mg	测得量, mg	加样回收率, %	平均加样回收率, %	RSD, %			
芍药内酯苷	0.079 7	0.079 0	0.159 3	100.76	99.47	1.33			
	0.079 7	0.079 0	0.156 7	97.47					
	0.079 7	0.079 0	0.157 3	98.23					
	0.079 7	0.079 0	0.158 9	100.25					
	0.079 7	0.079 0	0.159 0	100.38					
	0.079 7	0.079 0	0.158 5	99.75					
	芍药苷	2.262 2	2.260 0	4.601 2			103.50	100.33	1.82
		2.262 2	2.260 0	4.535 4			100.58		
		2.262 2	2.260 0	4.480 5			98.15		
		2.262 2	2.260 0	4.500 4			99.04		
		2.262 2	2.260 0	4.525 2			100.13		
		2.262 2	2.260 0	4.500 4			99.04		
甘草苷	0.238 6	0.239 0	0.479 6	100.84	98.12	2.38			
	0.238 6	0.239 0	0.467 2	95.65					
	0.238 6	0.239 0	0.467 6	95.82					
	0.238 6	0.239 0	0.478 9	100.54					
	0.238 6	0.239 0	0.478 0	96.82					
	0.238 6	0.239 0	0.475 3	99.04					
	甘草素	0.030 9	0.030 8	0.060 9			97.40	98.48	1.31
		0.030 9	0.030 8	0.061 8			100.32		
		0.030 9	0.030 8	0.061 3			98.70		
		0.030 9	0.030 8	0.061 2			98.38		
		0.030 9	0.030 8	0.060 7			96.75		
		0.030 9	0.030 8	0.061 5			99.35		
肉桂酸	0.050 9	0.051 0	0.102 8	101.76	100.03	2.52			
	0.050 9	0.051 0	0.103 3	102.75					
	0.050 9	0.051 0	0.099 8	95.88					
	0.050 9	0.051 0	0.101 6	99.41					
	0.050 9	0.051 0	0.102 7	101.57					
	0.050 9	0.051 0	0.101 3	98.82					
桂皮醛	0.016 2	0.016 0	0.031 6	96.25	97.92	2.00			
	0.016 2	0.016 0	0.032 3	100.63					
	0.016 2	0.016 0	0.032 1	99.38					
	0.016 2	0.016 0	0.031 7	96.88					
	0.016 2	0.016 0	0.031 5	95.63					
	0.016 2	0.016 0	0.032 0	98.75					
甘草酸铵	0.640 8	0.640 0	1.271 2	98.50	98.75	1.35			
	0.640 8	0.640 0	1.283 7	100.45					
	0.640 8	0.640 0	1.270 8	98.44					
	0.640 8	0.640 0	1.260 2	96.78					
	0.640 8	0.640 0	1.269 8	98.28					
	0.640 8	0.640 0	1.281 2	100.06					
6-姜酚	0.021 6	0.021 0	0.041 7	95.71	98.02	1.80			
	0.021 6	0.021 0	0.042 7	100.48					
	0.021 6	0.021 0	0.042 1	97.62					
	0.021 6	0.021 0	0.042 5	99.52					
	0.021 6	0.021 0	0.041 9	96.67					
	0.021 6	0.021 0	0.042 2	98.10					

件(柱温分别为20、25、30 $^{\circ}\text{C}$)进样测定, 记录峰面积并计算样品含量, 结果见表4。结果表明, 当柱温发生一定程度波动时, 本法能满足试验要求, 提示其耐用性良好。

2.12 样品含量测定

取“2.2”项下标准煎液25 mL, 按“2.3.2”项下方法制备供试品溶液, 再按“2.1”项下色谱条件进样测定, 平行测定3次, 记录峰面积并计算样品含量, 结果见表5。

表4 耐用性试验结果

Tab 4 Results of durability tests

试验条件	芍药内酯苷		芍药苷		甘草苷		甘草素		肉桂酸		桂皮醛		甘草酸铵		6-姜酚		
	含量,mg/g	RSD,%	含量,mg/g	RSD,%	含量,mg/g	RSD,%	含量,mg/g	RSD,%	含量,mg/g	RSD,%	含量,mg/g	RSD,%	含量,mg/g	RSD,%	含量,mg/g	RSD,%	
流动相	乙腈-0.05%磷酸溶液	0.24	0.67	7.31	0.60	0.73	1.66	0.10	1.41	0.16	1.52	0.05	1.62	1.97	0.81	0.07	0.46
	乙腈-0.10%磷酸溶液	0.24		7.39		0.75		0.10		0.15		0.05		1.98		0.07	
	乙腈-0.15%磷酸溶液	0.24		7.34		0.74		0.10		0.15		0.05		2.00		0.07	
流速,mL/min	0.9	0.24	0.65	7.35	0.25	0.73	2.37	0.10	2.26	0.15	1.74	0.05	2.32	1.99	0.75	0.07	0.96
	1.0	0.24		7.39		0.76		0.10		0.16		0.05		1.98		0.07	
	1.1	0.24		7.36		0.73		0.10		0.15		0.05		2.01		0.07	
柱温,℃	20	0.24	0.39	7.42	0.59	0.78	1.84	0.10	2.22	0.15	1.72	0.05	2.63	1.97	1.15	0.07	1.17
	25	0.24		7.34		0.75		0.10		0.16		0.05		1.96		0.07	
	30	0.24		7.41		0.75		0.10		0.15		0.05		2.01		0.07	

表5 样品含量测定结果(n=3,mg/g)

Tab 5 Results of content determination of samples (n=3,mg/g)

批号	芍药内酯苷	芍药苷	甘草苷	甘草素	肉桂酸	桂皮醛	甘草酸铵	6-姜酚
1	0.25	7.23	0.73	0.10	0.15	0.05	1.96	0.07
2	0.24	7.37	0.74	0.10	0.15	0.05	1.99	0.07
3	0.25	7.46	0.75	0.10	0.15	0.05	1.98	0.07
平均	0.24	7.35	0.74	0.10	0.15	0.05	1.97	0.07

3 讨论

对中药复方制剂进行质量控制时需要同时测定多个成分,而各成分的紫外吸收最大波长不同,因此采用多波长含量测定方法^[12]。袁鹏飞等^[13]采用HPLC法测定桂枝汤中9种成分的含量,在230 nm波长处检测芍药内酯苷、芍药苷、甘草苷,在254 nm波长处检测桂皮醛和甘草酸,在280 nm波长处检测没食子酸、香豆素、桂皮酸及2-甲氧基桂皮醛。采用紫外检测器进行含量测定时,一般会选择某种成分的最大吸收波长。在前期试验中,笔者采用二极管阵列检测器在190~400 nm波长范围内对8个待测成分进行光谱扫描,结果发现芍药内酯苷、芍药苷、甘草苷、甘草素、肉桂酸、桂皮醛、甘草酸铵、6-姜酚的最大吸收波长分别为230、230、240、275、285、290、255、282 nm;研究各成分的光谱图,结果发现芍药内酯苷、芍药苷、甘草苷在235 nm波长处均有较大吸收,甘草素、肉桂酸、桂皮醛、甘草酸铵、6-姜酚在280 nm波长处均有较大吸收;综合考虑各成分峰的出峰时间,选择于235 nm(0~35 min)波长处检测芍药内酯苷、芍药苷、甘草苷,于280 nm(35~65 min)波长处检测甘草素、肉桂酸、桂皮醛、甘草酸铵、6-姜酚。

本试验对甲醇-水、甲醇-磷酸、乙腈-水、乙腈-磷酸等不同流动相进行了考察。结果发现,以甲醇-水、甲醇-磷酸为流动相时,20 min附近有2个峰分不开,以乙腈-水为流动相时,峰形不好,故选择以乙腈-磷酸为流动相;在此基础上,对流动相的浓度和比例进行优化,结果发现乙腈-0.1%磷酸溶液为流动相行梯度洗脱时分离效果最好,出峰稳定且峰形尖锐,故选择乙腈-0.1%磷酸溶液为流动相进行梯度洗脱。

桂皮醛和6-姜酚分别为桂枝和生姜中的主要成分,

但二者均为挥发性成分,在煎煮过程中易挥发,故标准煎液中的含量相对较低,但考虑到二者对汤剂整体药效的发挥具有促进作用^[14],故将二者作为指标成分。

综上所述,本研究建方法准确、可靠,专属性好,可用于同时测定桂枝加芍药汤中8种成分的含量。

参考文献

- [1] 王海强.基于活性指数和液质联用技术的桂枝加芍药汤抗炎活性成分快速发现研究[D].杭州:浙江大学,2017.
- [2] 彭程,刘建和.刘建和运用桂枝加芍药汤加减治疗腹痛经验[J].湖南中医杂志,2016,32(5):28-29,35.
- [3] 危美红,张喜奎.张喜奎教授运用桂枝加芍药汤治疗脾阴虚腹痛的经验[J].国医论坛,2015,30(6):17-19.
- [4] 吴雪,段国相.桂枝加芍药汤治疗胃肠神经官能症临床观察[J].世界最新医学信息文摘,2014,14(7):205-206.
- [5] 许爱丽,苏晓兰,郭宇,等.桂枝汤类方在脾胃疾病中的应用[J].上海中医药杂志,2018,52(7):34-36.
- [6] 袁海建,李卫,金建明,等.桂枝汤化学成分、药理作用机制与临床应用研究进展[J].中国中药杂志,2017,42(23):4556-4564.
- [7] 冯博,房玉涛,徐瑞山.桂枝汤的现代临床应用及作用机制研究进展[J].中国中药杂志,2018,43(12):2442-2447.
- [8] 张利青,张占刚,付岩,等.桂皮醛药理作用的研究进展[J].中国中药杂志,2015,40(23):4568-4572.
- [9] 马骁.赤芍治疗淤胆型肝炎的物质基础与作用机制研究[D].成都:成都中医药大学,2016.
- [10] 王兵,王亚新,赵红燕,等.甘草的主要成分及其药理作用的研究进展[J].吉林医药学院学报,2013,34(3):215-218.
- [11] 赵文竹,张瑞雪,于志鹏,等.生姜的化学成分及生物活性研究进展[J].食品工业科技,2016,37(11):383-389.
- [12] 邵长森,张国青,韩真真,等.HPLC法同时测定温经汤中10种活性成分的含量[J].中国药房,2018,29(19):2640-2643.
- [13] 袁鹏飞,刘焕,尚明英,等.桂枝汤中9种主要成分含量的测定和不同煎煮方式的比较研究[J].中国药房,2016,27(6):801-805.
- [14] 严优芍,钟伟健,郭丽冰.GC-MS分析桂枝汤不同配伍对桂枝挥发油成分的影响[J].中药材,2012,35(3):410-415.

(收稿日期:2018-08-20 修回日期:2018-12-09)

(编辑:陈宏)