

大黄廑虫丸中17种质量标志物的含量测定^Δ

付传奎^{1*}, 许珂嘉¹, 张子蒙¹, 黄艳², 陈志鹏¹, 李伟东¹, 吴丽^{1#} (1. 南京中医药大学药学院, 南京 210023; 2. 安徽医科大学炎症免疫性疾病安徽省实验室, 合肥 230032)

中图分类号 R286.0; R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2021)19-2353-05
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2021.19.08



摘要 目的: 建立同时测定大黄廑虫丸中17种质量标志物含量的方法。方法: 采用高效液相色谱(HPLC)法测定10批市售大黄廑虫丸中尿囊素、次黄嘌呤、红景天苷、羟基芍药苷、甘草苷、异甘草苷、黄芩苷、对甲氧基苯乙酸、汉黄芩苷、肉桂酸、芹菜素、柚皮素、去甲汉黄芩素、芦荟大黄素、大黄酸、白杨素、大黄素等17种质量标志物的含量。色谱柱为Kromasil 100-5-C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为0.1%磷酸溶液-乙腈(梯度洗脱), 流速为1.0 mL/min, 柱温为30 ℃, 检测波长为210 nm, 进样量为20 μL。结果: 上述17种质量标志物的质量浓度依次在5.74~183.53、6.51~208.24、4.30~137.65、4.60~147.06、4.12~131.76、4.25~135.88、6.31~201.76、4.60~147.06、1.94~62.06、4.47~142.94、0.69~22.06、2.29~73.24、2.33~74.41、1.42~45.29、6.65~212.94、1.11~35.44、1.47~47.06 μg/mL范围内与各自峰面积呈良好的线性关系(R^2 均不小于0.999 0)。该方法精密度、重复性、稳定性、耐用性的RSD均小于2% ($n=6$); 17种质量标志物的平均加样回收率范围为96.31%~101.73%, RSD均小于3% ($n=6$)。结论: 本方法简便、快速, 专属性、精密度、重复性、稳定性、准确性和耐用性均良好, 可用于完善大黄廑虫丸的质量标准。

关键词 大黄廑虫丸; 质量标志物; 高效液相色谱法; 质量标准; 含量测定

Content Determination of 17 Quality Markers in Dahuang Zhechong Pills

FU Chuankui¹, XU Kejia¹, ZHANG Zimeng¹, HUANG Yan², CHEN Zhipeng¹, LI Weidong¹, WU Li¹ (1. School of Pharmacy, Nanjing University of TCM, Nanjing 210023, China; 2. Anhui Province Laboratory of Inflammation and Immune Mediated Diseases, Anhui Medical University, Hefei 230032, China)

- 性脑脊髓炎小鼠脊髓神经的作用途径[J]. 中国组织工程研究, 2021, 25(5): 695-700.
- [11] 吴鹏波, 宋琪, 俞媛洁, 等. 姜黄素激活自噬干预非酒精性脂肪肝病模型大鼠氧化应激及炎症反应[J]. 中国组织工程研究, 2020, 24(11): 1720-1725.
- [12] 宋莉平, 王宇. 姜黄素药理作用及机制研究进展[J]. 中国医药导报, 2020, 17(20): 29-34.
- [13] 吴英智, 杭丽玮, 傅强, 等. 新型心肾综合征大鼠动物模型建立与评价[J]. 中华高血压杂志, 2018, 26(5): 435-442.
- [14] DI LULLO L, BELLASI A, RUSSO D, et al. Cardiorenal acute kidney injury: epidemiology, presentation, causes, pathophysiology and treatment[J]. Int J Cardiol, 2017, 227: 143-150.
- [15] 范沐霞, 赵塔娜, 王丽敏, 等. 姜黄素抗纤维化研究进展[J]. 中医学报, 2019, 34(11): 2343-2348.
- [16] 郑甲林, 张新金, 郭涛, 等. 甲亢源性心房颤动与肾素-血管紧张素系统相关发病机制的研究[J]. 现代生物医学进展, 2021, 21(2): 228-232.
- [17] 黄钰. 甲状腺激素与肾脏病理生理在肾脏疾病中的作用[J]. 临床内科杂志, 2021, 38(2): 139-141.
- [18] 杜晓敏, 翟磊. 血液超滤对心肾综合征病人心肺功能及相关指标的影响[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2019, 17(11): 1744-1747.
- [19] 孙大伟, 索艳荣, 冯丽莎, 等. 基于自噬基因 Beclin-1 与 LC3 探讨丹参素对心肌缺血再灌注损伤大鼠心肌 ATP5G1 的影响[J]. 中华中医药杂志, 2019, 34(6): 2421-2425.
- [20] YUAN B, SUN M, BAO C, et al. Dynamic expression of autophagy-related factors in autoimmune encephalomyelitis and exploration of curcumin therapy[J]. J Neuroimmunol, 2019, 337: 577067.
- [21] DENG Q, LIANG L, LIU Q, et al. Autophagy is a major mechanism for the dual effects of curcumin on renal cell carcinoma cells[J]. Eur J Pharmacol, 2018, 826: 24-30.
- [22] 郜然然, 周慧, 吴也可, 等. 中药通过 mTOR 途径调节细胞凋亡与自噬的研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(4): 218-224.

(收稿日期: 2021-04-02 修回日期: 2021-08-09)

(编辑: 唐晓莲)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish the method for the content determination of 17 quality markers in Dahuang zhechong pills (DHZCP). METHODS: HPLC method was adopted to determine the contents of 17 quality markers in 10 batches of DHZCP, such as allantoin, hypoxanthine, salidroside, hydroxypaeoniflorin, glycyrrhizin, isoglycyrrhizin, baicalin, *p*-methoxyphenylacetic acid, wogonin, cinnamic acid, apigenin, naringin, norwogonin, aloe emodin, rhein, chrysin, emodin. The determination was performed on Kromasil 100-5-C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) column with mobile phase consisted of 0.1% phosphoric acid solution-acetonitrile (gradient elution) at the flow rate of 1.0 mL/min. The column temperature was 30 °C, the detection wavelength was 210 nm and the sample size was 20 μL. RESULTS: The linear range of above 17 quality markers were 5.74-183.53, 6.51-208.24, 4.30-137.65, 4.60-147.06, 4.12-131.76, 4.25-135.88, 6.31-201.76, 4.60-147.06, 1.94-62.06, 4.47-142.94, 0.69-22.06, 2.29-73.24, 2.33-74.41, 1.42-45.29, 6.65-212.94, 1.11-35.44 and 1.47-47.06 μg/mL, respectively (all $R^2 \geq 0.999$). RSDs of precision, repeatability, stability and durability tests were all less than 2% ($n=6$); average recovery of 17 quality markers ranged from 96.31% to 101.73%, and the RSDs were less than 3% ($n=6$). CONCLUSIONS: The method is simple, rapid, specific, precise, reproducible, stable, accurate and durable, and can be used for improving the quality standard of DHZCP. **KEYWORDS** Dahuang zhechong pills; Quality marker; HPLC; Quality standard; Content determination

大黄廬虫丸出自张仲景所著的《金匱要略》，收载于2020年版《中国药典》(一部)^[1]。全方由大黄、廬虫、水蛭、虻虫、蛭螭、桃仁、干漆、苦杏仁、白芍、黄芩、地黄、甘草等12味中药组成，具有活血破瘀、通经消癥等功效，临床常用于慢性肝病、肾病、妇科病、肿瘤的辅助治疗^[2]。虽然历版《中国药典》中大黄廬虫丸的质量标准在不断提高，但其含量测定项下始终仅关注大黄中的大黄素和大黄酚成分，缺少其他药效成分的测定内容，不能全面评价本药的内在质量。本课题组近年来一直从事大黄廬虫丸抗肝癌机制及药效物质基础的研究，前期根据药效学实验确定了17种与肝癌血管病变相关的质量标志物^[3]。在此基础上，本研究采用高效液相色谱(HPLC)法定量分析10批市售大黄廬虫丸中17种质量标志物的含量，旨在为本药质量标准的提升提供参考。

1 材料

1.1 主要仪器

本研究所用的主要仪器有E2695型HPLC仪(含Empower型色谱工作站,2998型紫外检测器,美国Waters公司)、ATY124型分析天平(日本Shimadzu公司,精度为0.0001g)、BT125D型分析天平(德国Sartorius公司,精度为0.00001g)、超纯水仪(美国Millipore公司)、KQ-500E型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

1.2 主要药品与试剂

本研究所用的主要药品与试剂有尿囊素(批号N-015)、次黄嘌呤(批号C-069-160412)、红景天苷(批号H-040)、羟基芍药苷(批号Q-019-180709)、甘草苷(批号G-009-161230)、黄芩苷(批号H-016-170613)、对甲氧基苯乙酸(批号D-063-161216)、汉黄芩苷(批号H-016-1703673)、肉桂酸(批号R-003)、芹菜素(批号Q-002)、柚皮素(批号Y-030-171216)、去甲汉黄芩素(批号Q-014-170378)、芦荟大黄素(批号L-014-161216)、大黄酸(批号D-010-160603)、白杨素(批号B-001-170427)、大黄素(批号D-029-161216)等16种对照品(纯度均大于98.0%)，均购自成都瑞芬思生物科技有限公司；异甘草苷对照品(批号DY0199,纯度>98.0%)购自南京良纬生物科技有限公司；甲醇(色谱纯)、乙腈(色谱纯)均购

自美国Tedia公司；磷酸(色谱纯)购自上海阿拉丁生化科技股份有限公司；水为超纯水。10批大黄廬虫丸来自不同生产商，其基本信息如表1所示。

表1 10批大黄廬虫丸的基本信息

Tab 1 Information of 10 batches of Dahuang zhechong pills

编号	剂型	批号	生产商
S1	大蜜丸	20111043	广盛原中医药有限公司
S2	大蜜丸	17013417	北京同仁堂股份有限公司
S3	大蜜丸	4110005	天津中新药业集团股份有限公司
S4	小蜜丸	200701	西安正大制药有限公司
S5	水丸	2007042No008	同药集团大同制药有限公司
S6	水丸	2004013	广盛原中医药有限公司
S7	水蜜丸	20030011	北京同仁堂股份有限公司
S8	水蜜丸	20191211	回春堂药业股份有限公司
S9	水蜜丸	20201004	广东恒诚制药股份有限公司
S10	水蜜丸	200802	江苏颐海药业有限责任公司

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱为Kromasil 100-5-C₁₈(250 mm × 4.6 mm, 5 μm)，流动相为0.1%磷酸溶液(A)-乙腈(B)，梯度洗脱(0~5 min, 2% B→6% B; 5~15 min, 6% B→25% B; 15~25 min, 25% B→38% B; 25~45 min, 38% B→65% B; 45~50 min, 65% B→80% B; 50~60 min, 80% B→98% B; 60~70 min, 98% B→2% B; 70~72 min, 2% B)，流速为1.0 mL/min，柱温为30 °C，检测波长为210 nm，进样量为20 μL。

2.2 供试品溶液的制备

称取大黄廬虫丸粉末约1 g，精密称定，置于50 mL离心管中，加入20 mL甲醇，静置24 h后超声(功率250 W, 频率40 kHz)1 h，冷却后用甲醇补足减失质量；抽滤，过0.45 μm有机相滤膜，取续滤液，即得。

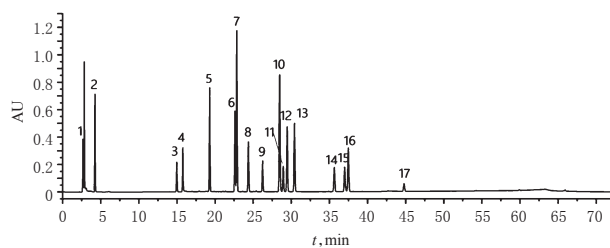
2.3 对照品溶液的制备

精密称取“1.2”项下17种对照品各适量，分别加入甲醇溶解，制成质量浓度分别为尿囊素3.12 mg/mL、次黄嘌呤3.54 mg/mL、红景天苷2.34 mg/mL、羟基芍药苷2.50 mg/mL、甘草苷2.24 mg/mL、异甘草苷2.31 mg/mL、黄芩苷3.43 mg/mL、对甲氧基苯乙酸2.50 mg/mL、汉黄

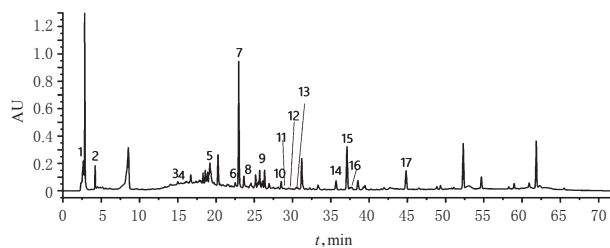
芩苷1.06 mg/mL、肉桂酸2.43 mg/mL、芹菜素0.38 mg/mL、柚皮素1.25 mg/mL、去甲汉黄芩素1.27 mg/mL、芦荟大黄素0.77 mg/mL、大黄酸3.62 mg/mL、白杨素0.60 mg/mL、大黄素0.80 mg/mL的单一对照品溶液。取上述单一对照品溶液各1 mL混匀,即得混合对照品溶液。

2.4 系统适用性试验

吸取“2.3”项下混合对照品溶液和“2.2”项下供试品溶液各20 μ L,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录色谱图(图1)。结果显示,尿囊素、次黄嘌呤、红景天苷、羟基芍药苷、甘草苷、异甘草苷、黄芩苷、对甲氧基苯乙酸、汉黄芩苷、肉桂酸、芹菜素、柚皮素、去甲汉黄芩素、芦荟大黄素、大黄酸、白杨素、大黄素的保留时间依次为2.63、4.20、15.00、15.91、19.19、22.50、22.96、24.44、26.34、28.51、28.90、29.31、30.42、35.67、37.11、37.51、44.83 min,各色谱峰之间分离度良好(均大于1.5),理论板数均不低于3 000,表明本方法的专属性良好。



A.混合对照品溶液



B.供试品溶液

注:1.尿囊素;2.次黄嘌呤;3.红景天苷;4.羟基芍药苷;5.甘草苷;6.异甘草苷;7.黄芩苷;8.对甲氧基苯乙酸;9.汉黄芩苷;10.肉桂酸;11.芹菜素;12.柚皮素;13.去甲汉黄芩素;14.芦荟大黄素;15.大黄酸;16.白杨素;17.大黄素

Note: 1. allantoin; 2. hypoxanthine; 3. salidroside; 4. hydroxypaeoniflorin; 5. liquiritin; 6. isoliquiritin; 7. baicalin; 8. *p*-methoxyphenylacetic acid; 9. wogonin; 10. cinnamic acid; 11. apigenin; 12. naringenin; 13. norwogonin; 14. aloe emodin; 15. rhein; 16. chrysin; 17. emodin

图1 17种质量标志物的HPLC图

Fig 1 HPLC chromatograms of 17 kinds of quality markers

2.5 线性关系考察

取“2.3”项下混合对照品溶液500 μ L,用甲醇以2倍逐级稀释得到系列混合对照品溶液。分别取上述各混合对照品溶液适量,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以对照品的质量浓度为横坐标(x)、峰面积为纵坐标(y)绘制标准曲线,计算回归方程。结果表明,各对照品在各自的质量浓度范围内与峰面积呈良好的

线性关系,如表2所示。

表2 17种质量标志物的线性关系考察结果

Tab 2 Linear relationship of 17 kinds of quality markers

质量标志物	回归方程	R^2	线性范围, μ g/mL
尿囊素	$y=19\ 108x+100\ 749$	0.999 2	5.74~183.53
次黄嘌呤	$y=30\ 208x+95\ 875$	0.999 6	6.51~208.24
红景天苷	$y=19\ 189x+65\ 277$	0.999 3	4.30~137.65
羟基芍药苷	$y=26\ 383x+94\ 882$	0.999 3	4.60~147.06
甘草苷	$y=63\ 943x+247\ 008$	0.999 0	4.12~131.76
异甘草苷	$y=56\ 320x+160\ 653$	0.999 8	4.25~135.88
黄芩苷	$y=82\ 567x+126\ 128$	0.999 2	6.31~201.76
对甲氧基苯乙酸	$y=37\ 919x+136\ 527$	0.999 4	4.60~147.06
汉黄芩苷	$y=50\ 503x+78\ 026$	0.999 3	1.94~62.06
肉桂酸	$y=96\ 914x+357\ 175$	0.999 1	4.47~142.94
芹菜素	$y=129\ 318x+69\ 214$	0.999 4	0.69~22.06
柚皮素	$y=102\ 530x+176\ 321$	0.999 4	2.29~73.24
去甲汉黄芩素	$y=109\ 730x+187\ 129$	0.999 4	2.33~74.41
芦荟大黄素	$y=71\ 521x+76\ 031$	0.999 4	1.42~45.29
大黄酸	$y=15\ 955x+73\ 413$	0.999 4	6.65~212.94
白杨素	$y=160\ 939x+181\ 347$	0.999 4	1.11~35.44
大黄素	$y=48\ 821x+52\ 512$	0.999 4	1.47~47.06

2.6 精密度试验

取“2.3”项下混合对照品溶液适量,按“2.1”项下色谱条件连续进样测定6次,记录峰面积。结果显示,各质量标志物峰面积的RSD均小于2% ($n=6$),表明仪器的精密度良好。

2.7 重复性试验

取大黄虻虫丸(编号S1)粉末适量,共6份,分别按“2.2”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,代入标准曲线计算样品中17种质量标志物的含量。结果显示,各质量标志物含量的RSD均小于2% ($n=6$),表明本方法的重复性良好。

2.8 稳定性试验

取同一供试品溶液(编号S1)适量,分别于制备后室温下放置0、2、4、8、12、24 h时按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果显示,各质量标志物峰面积的RSD均小于2% ($n=6$),表明供试品溶液在制备后室温下放置24 h内稳定性良好。

2.9 加样回收率试验

取大黄虻虫丸(编号S1)粉末约0.5 g,共6份,精密称定,分别按1:1的质量比精密加入各对照品溶液,按“2.2”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,计算加样回收率,结果如表3所示。由表3可知,17种质量标志物的平均加样回收率范围为96.31%~101.73%,RSD均小于3% ($n=6$),表明本方法的准确度良好。

2.10 耐用性试验

取“2.3”项下混合对照品溶液,按“2.1”项下色谱条件在不同柱温(25、30、35 $^{\circ}$ C)、流速(0.8、1.0、1.2 mL/min)、检测波长(210、240、270 nm)下进样测定,记录峰面积,各条件均平行测定3次。结果显示,不同柱温、流速和检

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

质量标志物	序号	取样量, g	样品含量, mg	加入量, mg	测得量, mg	回收率, %	平均加样回收率, %	RSD, %
尿囊素	1	0.500 0	0.957 1	0.957 0	1.879 2	96.35	98.94	1.66
	2	0.500 1	0.957 3	0.957 0	1.900 1	98.52		
	3	0.499 9	0.956 9	0.957 0	1.926 8	101.35		
	4	0.500 1	0.957 3	0.957 0	1.909 8	99.53		
	5	0.499 4	0.956 0	0.957 0	1.898 4	98.47		
	6	0.500 2	0.957 5	0.957 0	1.908 7	99.39		
次黄嘌呤	1	0.500 0	0.290 6	0.290 0	0.578 9	99.41	98.69	1.57
	2	0.500 1	0.290 7	0.290 0	0.575 0	98.03		
	3	0.499 9	0.290 6	0.290 0	0.569 2	96.07		
	4	0.500 1	0.290 7	0.290 0	0.576 1	98.41		
	5	0.499 4	0.290 3	0.290 0	0.580 0	99.90		
	6	0.500 2	0.290 7	0.290 0	0.581 6	100.31		
红景天苷	1	0.500 0	0.651 2	0.651 0	1.275 4	95.88	97.58	1.32
	2	0.500 1	0.651 3	0.651 0	1.296 7	99.14		
	3	0.499 9	0.651 0	0.651 0	1.283 8	97.20		
	4	0.500 1	0.651 3	0.651 0	1.289 5	98.03		
	5	0.499 4	0.650 4	0.651 0	1.293 3	98.76		
	6	0.500 2	0.651 4	0.651 0	1.279 4	96.47		
羟基芍药苷	1	0.500 0	0.465 8	0.466 0	0.938 9	101.52	101.64	0.87
	2	0.500 1	0.465 9	0.466 0	0.933 1	100.26		
	3	0.499 9	0.465 7	0.466 0	0.942 9	102.40		
	4	0.500 1	0.465 9	0.466 0	0.944 7	102.75		
	5	0.499 4	0.465 3	0.466 0	0.936 9	101.20		
	6	0.500 2	0.466 0	0.466 0	0.939 9	101.70		
甘草苷	1	0.500 0	0.469 2	0.469 0	0.947 3	101.94	98.69	1.67
	2	0.500 1	0.469 3	0.469 0	0.930 5	98.34		
	3	0.499 9	0.469 1	0.469 0	0.926 4	97.51		
	4	0.500 1	0.469 3	0.469 0	0.928 2	97.85		
	5	0.499 4	0.468 6	0.469 0	0.927 3	97.80		
	6	0.500 2	0.469 4	0.469 0	0.932 3	98.70		
异甘草苷	1	0.500 0	0.114 6	0.114 0	0.228 3	99.74	99.01	1.57
	2	0.500 1	0.114 6	0.114 0	0.227 0	98.60		
	3	0.499 9	0.114 6	0.114 0	0.227 9	99.39		
	4	0.500 1	0.114 6	0.114 0	0.224 8	96.67		
	5	0.499 4	0.114 5	0.114 0	0.230 0	101.32		
	6	0.500 2	0.114 6	0.114 0	0.226 7	98.33		
黄芩苷	1	0.500 0	0.995 1	0.995 0	2.007 2	101.72	99.31	1.88
	2	0.500 1	0.995 3	0.995 0	1.979 7	98.93		
	3	0.499 9	0.994 9	0.995 0	1.997 7	100.78		
	4	0.500 1	0.995 3	0.995 0	1.966 9	97.65		
	5	0.499 4	0.993 9	0.995 0	1.988 3	99.94		
	6	0.500 2	0.995 5	0.995 0	1.959 1	96.84		
对甲氧基苯乙酸	1	0.500 0	0.151 8	0.152 0	0.305 1	100.86	101.73	1.51
	2	0.500 1	0.151 8	0.152 0	0.309 2	103.55		
	3	0.499 9	0.151 8	0.152 0	0.306 8	101.97		
	4	0.500 1	0.151 8	0.152 0	0.305 1	100.86		
	5	0.499 4	0.151 6	0.152 0	0.303 2	99.74		
	6	0.500 2	0.151 9	0.152 0	0.309 1	103.42		
汉黄芩苷	1	0.500 0	0.060 2	0.060 2	0.119 7	98.84	98.62	1.76
	2	0.500 1	0.060 2	0.060 2	0.119 4	98.34		
	3	0.499 9	0.060 2	0.060 2	0.118 9	97.51		
	4	0.500 1	0.060 2	0.060 2	0.119 7	98.84		
	5	0.499 4	0.060 2	0.060 2	0.118 3	96.51		
	6	0.500 2	0.060 2	0.060 2	0.121 4	101.66		
肉桂酸	1	0.500 0	0.084 2	0.084 2	0.167 3	98.69	96.75	1.01
	2	0.500 1	0.084 2	0.084 2	0.165 5	96.56		
	3	0.499 9	0.084 2	0.084 2	0.165 2	96.20		

续表3
Continued tab 3

质量标志物	序号	取样量, g	样品含量, mg	加入量, mg	测得量, mg	回收率, %	平均加样回收率, %	RSD, %
芹菜素	4	0.500 1	0.084 2	0.084 2	0.165 3	96.32	100.00	2.15
	5	0.499 4	0.084 1	0.084 2	0.165 5	96.67		
	6	0.500 2	0.084 2	0.084 2	0.165 1	96.08		
	1	0.500 0	0.015 0	0.015 0	0.029 7	98.00		
	2	0.500 1	0.015 0	0.015 0	0.029 8	98.67		
	3	0.499 9	0.015 0	0.015 0	0.029 7	98.00		
柚皮素	4	0.500 1	0.015 0	0.015 0	0.030 1	100.67	99.60	1.78
	5	0.499 4	0.014 9	0.015 0	0.030 4	103.33		
	6	0.500 2	0.015 0	0.015 0	0.030 2	101.33		
	1	0.500 0	0.029 1	0.029 1	0.058 0	99.31		
	2	0.500 1	0.029 1	0.029 1	0.057 8	98.63		
	3	0.499 9	0.029 1	0.029 1	0.058 0	99.31		
去甲汉黄芩素	4	0.500 1	0.029 1	0.029 1	0.057 4	97.25	100.47	0.85
	5	0.499 4	0.029 1	0.029 1	0.058 4	100.69		
	6	0.500 2	0.029 1	0.029 1	0.058 9	102.41		
	1	0.500 0	0.031 9	0.031 9	0.063 8	100.00		
	2	0.500 1	0.031 9	0.031 9	0.063 8	100.00		
	3	0.499 9	0.031 9	0.031 9	0.063 7	99.69		
芦荟大黄素	4	0.500 1	0.031 9	0.031 9	0.063 8	100.00	98.59	1.22
	5	0.499 4	0.031 8	0.031 9	0.064 2	101.57		
	6	0.500 2	0.031 9	0.031 9	0.064 3	101.57		
	1	0.500 0	0.099 5	0.099 5	0.196 4	97.39		
	2	0.500 1	0.099 5	0.099 5	0.197 2	98.19		
	3	0.499 9	0.099 5	0.099 5	0.197 0	97.99		
大黄酸	4	0.500 1	0.099 5	0.099 5	0.198 0	98.99	100.08	1.18
	5	0.499 4	0.099 4	0.099 5	0.197 1	98.19		
	6	0.500 2	0.099 5	0.099 5	0.199 8	100.80		
	1	0.500 0	0.617 6	0.617 0	1.247 0	102.01		
	2	0.500 1	0.617 7	0.617 0	1.228 4	98.98		
	3	0.499 9	0.617 4	0.617 0	1.230 5	99.37		
白杨素	4	0.500 1	0.617 7	0.617 0	1.237 1	100.39	96.31	0.21
	5	0.499 4	0.616 8	0.617 0	1.238 1	100.70		
	6	0.500 2	0.617 8	0.617 0	1.228 9	99.04		
	1	0.500 0	0.025 3	0.025 3	0.049 7	96.44		
	2	0.500 1	0.025 3	0.025 3	0.049 7	96.44		
	3	0.499 9	0.025 3	0.025 3	0.049 6	96.05		
大黄素	4	0.500 1	0.025 3	0.025 3	0.049 7	96.44	97.20	1.14
	5	0.499 4	0.025 3	0.025 3	0.049 6	96.05		
	6	0.500 2	0.025 3	0.025 3	0.049 7	96.44		
	1	0.500 0	0.347 6	0.347 0	0.681 7	96.28		
	2	0.500 1	0.347 7	0.347 0	0.688 1	98.10		
	3	0.499 9	0.347 5	0.347 0	0.685 0	97.26		
续表3	4	0.500 1	0.347 7	0.347 0	0.682 0	96.34	98.90	
	5	0.499 4	0.347 2	0.347 0	0.681 3	96.28		
	6	0.500 2	0.347 7	0.347 0	0.690 9	98.90		

测波长对混合对照品溶液中17种质量标志物含量测定结果的影响不大,其RSD均小于2%(n=3),表明本方法的耐用性良好。

2.11 样品含量测定

取10批大黄廑虫丸粉末各约1g,精密称定,分别按“2.2”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,代入标准曲线计算样品中17种质量标志物的含量。每批样品平行操作6次,取平均值,结果如表4所示。

表4 10批大黄廬虫丸中17种质量标志物的含量测定结果($n=6, \mu\text{g/g}$)Tab 4 Results of content determination of 17 kinds of quality markers in 10 batches of Dahuang zhechong pills ($n=6, \mu\text{g/g}$)

编号	尿囊素	次黄嘌呤	红景天苷	羟基芍药苷	甘草苷	异甘草苷	黄芩苷	对甲氧基苯乙酸	汉黄芩苷	肉桂酸	芹菜素	柚皮素	去甲汉黄芩素	芦荟大黄素	大黄酸	白杨素	大黄素
S1	1 914.22	581.32	1 302.42	931.67	938.34	229.01	1 990.19	303.60	120.45	168.34	29.91	58.22	63.76	198.95	1 235.10	50.63	695.22
S2	2 046.66	667.70	1 300.66	881.34	943.96	226.82	1 981.51	300.97	119.00	164.75	33.24	61.49	72.45	207.00	1 275.46	47.28	678.25
S3	2 033.46	535.26	1 435.21	899.46	987.41	236.24	2 010.30	325.66	125.39	169.45	28.65	58.32	69.54	215.36	1 546.32	54.32	754.36
S4	1 821.35	516.31	1 375.35	798.56	899.36	185.32	1 974.25	299.65	108.32	147.45	30.54	55.02	70.36	187.69	1 236.23	43.21	574.36
S5	1 924.58	458.29	1 230.19	923.14	887.55	191.00	1 899.36	305.21	114.25	139.54	27.14	60.09	69.01	195.35	1 293.65	44.35	674.25
S6	1 937.21	436.91	1 500.25	936.28	966.22	199.52	1 874.52	295.21	119.34	175.36	29.00	56.89	57.06	203.64	1 485.23	35.21	652.34
S7	1 845.37	506.31	1 135.23	874.25	799.14	187.50	1 900.35	275.36	122.47	146.36	33.65	57.46	65.04	178.56	1 326.05	37.54	554.36
S8	1 809.25	498.93	1 495.36	856.36	846.97	183.03	1 845.21	342.36	102.36	187.36	22.41	59.34	70.12	198.34	1 102.36	32.58	489.36
S9	2 013.27	521.04	1 325.36	987.32	957.28	216.81	2 021.69	266.35	126.31	155.24	27.45	61.66	69.35	176.45	1 465.23	56.31	789.32
S10	1 942.36	499.26	1 256.41	854.35	945.23	200.12	1 889.45	306.25	109.85	169.28	29.36	58.96	72.13	199.54	1 245.89	49.78	687.24

3 讨论

在前期实验中,笔者参考2020年版《中国药典》和已发表的文献分别对提取溶剂(甲醇、水)、流动相(乙腈-0.1%磷酸溶液、甲醇-0.1%磷酸溶液)等进行了考察,并对供试品溶液进行紫外全波长扫描以选择合适的检测波长。结果发现,选用甲醇作为提取溶剂、乙腈-0.1%磷酸溶液作为流动相(梯度洗脱)且检测波长为210 nm时,所得色谱图中的色谱峰分离度好、响应值高。

“中药质量标志物”是刘昌孝院士针对中药生物属性、制药过程及配伍理论,于2016年提出的概念^[4]。中药质量标志物研究旨在以中医药理论为基础,利用现代生物学研究方法,整合分析中药内在化学质量,选择适宜的质量控制指标,建立全程质量评价标准^[5],以便更全面地评价中药质量。

本研究建立了一种能同时检测大黄廬虫丸中17种质量标志物的HPLC法,并利用此方法测定了10批不同来源、不同剂型大黄廬虫丸中各质量标志物的含量。这些质量标志物包括君药大黄中的大黄酸、大黄素、芦荟大黄素和土鳖虫中的尿囊素;臣药水蛭、虻虫、蛭蟥、桃仁中的次黄嘌呤、对甲氧基苯乙酸、肉桂酸、柚皮素;佐药地黄中的红景天苷,白芍中的羟基芍药苷和黄芩中的黄芩苷、汉黄芩苷、去甲汉黄芩素、白杨素、芹菜素;使药甘草中的甘草苷、异甘草苷^[6-10]。研究表明,本方法简便、快速,专属性、精密度、重复性、稳定性、准确度和耐用性均良好。与前期研究相比^[11],本研究所检测的成分更为全面,能更系统地反映大黄廬虫丸的质量,是之前大黄廬虫丸质量控制指标的有益补充。

参考文献

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[S]. 2020年版. 北京:中国医药科技出版社, 2020:523.
 [2] 郑文利,郑祎,李慧杰,等. 大黄廬虫丸抗肿瘤作用机制及临床应用研究进展[J]. 国际中医中药杂志, 2020, 42(6):

609-611.

[3] 张希琼,吴丽,陈德,等. 大黄廬虫丸全方及君药药对中主要药效成分的定性定量研究[J]. 南京中医药大学学报, 2019, 35(1):90-94.
 [4] 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.
 [5] 张铁军,白钢,刘昌孝. 中药质量标志物的概念、核心理论与研究方法[J]. 药学学报, 2019, 54(2):187-196.
 [6] 孙攀兴,邱春光. 大黄素通过调控TLR4/NF- κ B通路对脂多糖诱导血管内皮细胞氧化损伤的保护作用研究[J]. 药物评价研究, 2020, 43(6):1040-1045.
 [7] WU J, KE X, WANG W, et al. Aloe-emodin suppresses hypoxia-induced retinal angiogenesis via inhibition of HIF-1 α /VEGF pathway[J]. Int J Biol Sci, 2016, 12(11): 1363-1371.
 [8] LI Y H, PHAM V, BUI M, et al. Rhodiola rosea L.: an herb with anti-stress, anti-aging, and immunostimulating properties for cancer chemoprevention[J]. Curr Pharmacol Rep, 2017, 3(6):384-395.
 [9] JIANG W, SUN C, WANG J, et al. Protective effect of baicalin on experimental pulmonary arterial hypertension through inhibition of pulmonary vascular remodeling[J]. J Chin Pharm Sci, 2020, 29(10):719-728.
 [10] HUANG Y J, FANG J S, LU W Q, et al. A systems pharmacology approach uncovers wogonoside as an angiogenesis inhibitor of triple-negative breast cancer by targeting hedgehog signaling[J]. Cell Chem Biol, 2019, 26(8):1143-1158.
 [11] 张桂平,王东旭. HPLC-PDA法同时测定大黄廬虫丸中6种成分的含量[J]. 中国药房, 2019, 30(1):54-58.

(收稿日期:2021-03-23 修回日期:2021-08-23)

(编辑:胡晓霖)