

HPLC 法测定山药丸中甘草苷、甘草酸铵、川续断皂苷VI、士的宁和马钱子碱

赵庆林, 姚 晨, 宋忠强, 武红娜*

沧州市食品药品检验所, 河北 沧州 061000

摘 要: **目的** 建立高效液相色谱法同时测定山药丸中甘草苷、甘草酸铵、川续断皂苷VI、士的宁和马钱子碱。**方法** 使用 Agilent Zorbax SB-C₁₈ 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-0.1%磷酸水溶液, 梯度洗脱; 检测波长 297 nm; 体积流量 1.0 mL/min; 柱温 25 ℃; 进样量 10 μL。**结果** 甘草苷、甘草酸铵、川续断皂苷VI、士的宁和马钱子碱分别在 5.08~101.60、25.27~505.40、5.12~102.50、9.26~185.30、10.12~202.50 μg/mL 线性关系良好, 其平均回收率分别为 98.21%、96.90%、96.32%、97.43%、97.29%, RSD 值分别为 0.44%、0.58%、1.64%、0.86%、0.64%。**结论** 该方法专属性好, 操作简单, 可为山药丸的质量标准提升提供依据。

关键词: 山药丸; 甘草苷; 甘草酸铵; 川续断皂苷VI; 士的宁; 马钱子碱; 高效液相色谱

中图分类号: R284

文献标志码: A

文章编号: 1674-5515(2025)09-2233-04

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2025.09.012

Determination of liquiritin, ammonium glycyrrhetate, asperosaponin VI, strychnine, and brucine in Shanyao Pills by HPLC

ZHAO Qinglin, YAO Chen, SONG Zhongqiang, WU Hongna

Cangzhou Center for Food and Drug Control, Cangzhou 061000, China

Abstract: **Objective** To establish an HPLC method for liquiritin, ammonium glycyrrhizinate, asperosaponin VI, strychnine, and brucine in Shanyao Pills. **Methods** The Agilent Zorbax SB-C₁₈ chromatographic column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) was used, and the mobile phase was acetonitrile - 0.1% phosphoric acid solution with gradient elution. The detection wavelength was 297 nm, the flow rate was 1.0 μL/min, the injection volume was 10 μL, and the column temperature was 25 ℃. **Results** The linear ranges of liquiritin, ammonium glycyrrhizinate, asperosaponin VI, strychnine, and brucine were 5.08 — 101.60, 25.27 — 505.40, 5.12 — 102.50, 9.26 — 185.30, and 10.12 — 202.50 μg/mL, respectively. Their average recoveries were 98.21%, 96.90%, 96.32%, 97.43%, and 97.29%, with RSD values of 0.44%, 0.58%, 1.64%, 0.86%, and 0.64%, respectively. **Conclusion** This method has good specificity, simple operation, and can provide a basis for improving the quality standards of Shanyao Pills.

Key words: Shanyao Pills; liquiritin; ammonium glycyrrhizinate; asperosaponin VI; strychnine; brucine; HPLC

山药丸是由山药、杜仲(炒炭)、牛膝、甘草、
木香、乳香(醋制)、没药(醋制)、千年健、自然
铜(煅醋淬)、羌活、地枫皮、红花、防风、续断、
柴胡、狗脊(沙烫)、麻黄和马钱子粉 18 味中药组
成的复方制剂, 有强筋壮骨、祛风通络的功效, 用
于跌打损伤、瘀血作痛和筋骨痿软、关节不利、痹
症等疾病的治疗。山药丸现行标准收载于《卫生部
药品标准》中药成方制剂第一册 WS_{3-B-0018-19},

标准中只有甘草、当归、续断药材的显微鉴别, 而
关于山药丸质量标准提升的报道也仅有士的宁、马
钱子碱的测定^[1]和真菌毒素的检测^[2], 难以对山药
丸质量进行全面评价。马钱子粉和续断是君药, 马
钱子粉有剧毒, 甘草虽然是佐药, 但对马钱子粉有
减毒作用。马钱子有通络止痛、散结消肿的功效,
士的宁和马钱子碱是马钱子中主要的生物碱^[3-7], 川
续断皂苷VI是评价续断质量的重要指标^[8-9], 甘草苷

收稿日期: 2025-07-22

基金项目: 河北省药品监督管理局科技计划项目 (2022ZC1005)

作者简介: 赵庆林 (1990—), 男, 工程师, 本科, 从事药物分析与质量标准研究。E-mail: 313196273@qq.com

*通信作者: 武红娜 (1985—), 女, 高级工程师, 硕士, 研究方向为中药质量分析。E-mail: 505982831@qq.com

和甘草酸是甘草中的主要指标成分^[10-11]。因此, 本实验对山药丸中甘草苷、甘草酸铵、川续断皂苷VI、士的宁和马钱子碱进行 HPLC 法测定, 为进一步完善山药丸的质量标准提供依据。

1 仪器与试药

LC-20AT 型高效液相色谱仪(日本岛津公司); KQ300VDE 超声波清洗器(昆山超声仪器有限公司); XS 105DU 电子天平(十万分之一, 瑞士梅特勒-托利多公司)。

甘草酸铵(批号 110731-202122, 质量分数以 94.4%计)、甘草苷(批号 111610-202209, 质量分数以 95.2%计)、川续断皂苷VI(批号 111685-201908, 质量分数以 94.3%计)、马钱子总生物碱(批号 112030-202202, 比例以马钱子碱 45.3%, 士的宁 49.5%计)对照品均购自中国食品药品检定研究院; 甲醇和乙腈均为色谱纯(默克公司); 水为实验室自制纯化水。

18 批山药丸由 4 家企业生产, 大蜜丸, 规格 3 g/丸。购于吉林济邦药业有限公司, 批号 20220701、20201002、20210503、20201002、20220501、20210611; 购于北京东升制药有限公司, 批号 21370902、22330806、22190705、220902、220309、220901; 购于吉林省抚松制药股份有限公司, 批号 191910、201809、202107; 购于吉林国药制药有限责任公司, 批号 200907、210908、211001。处方组成的中药材均购于沧州市中西医结合医院中药房。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

Agilent Zorbax SB-C₁₈ 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈(A)-0.1%磷酸水溶液(B), 梯度洗脱(0~13 min, 5%~31%A; 13~21 min, 31%A; 21~22 min, 31%~44%A; 22~29 min, 56%A; 29~30 min, 56%~5%A); 检测波长 297 nm; 体积流量 1.0 mL/min; 柱温 25 °C; 进样量 10 μL^[12-15]。

2.2 溶液的制备

2.2.1 混合对照品溶液 取各对照品适量, 精密称定, 加 70%甲醇制成含甘草苷、甘草酸铵、川续断皂苷VI、士的宁、马钱子碱 100、500、100、400、370 μg/mL 的对照品贮备液。分别精密量取对照品贮备液 0.5、1、2、5 mL 置 10 mL 量瓶中, 加 70%甲醇稀释至刻度, 摇匀, 滤过, 得到 5 个不同质量浓度的混合对照品溶液(含甘草苷 5.12、10.24、

20.48、51.20、102.40 μg/mL, 甘草酸铵 25.75、51.50、103.00、257.50、515.00 μg/mL, 川续断皂苷VI 5.02、10.03、20.06、50.15、100.30 μg/mL, 士的宁 20.25、40.50、81.00、202.50、405.00 μg/mL, 马钱子碱 18.53、37.06、74.12、185.30、370.60 μg/mL), 编号为 S1~S5。

2.2.2 供试品溶液 取山药丸样品适量, 剪碎, 取约 5 g, 精密称定, 置于具塞锥形瓶中, 精密加入 70%甲醇溶液 40 mL, 密塞, 称定质量, 超声 30 min, 放冷, 用 70%甲醇溶液补足减失质量, 摇匀, 用 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 取续滤液, 即得。

2.2.3 阴性样品溶液 按山药丸处方和工艺制备缺甘草、缺续断和缺马钱子粉的阴性样品, 按 2.2.2 项下方法制备阴性样品溶液。

2.3 系统适用性试验

将混合对照品溶液、山药丸供试品溶液和各阴性样品溶液分别进样测定, 结果见图 1。结果各成分峰型好, 理论板数均大于 5 000, 阴性样品在混合对照品相应保留时间处无干扰。

2.4 线性关系考察

分别量取不同质量浓度的混合对照品溶液 10 μL, 注入液相色谱仪, 测定。以峰面积为纵坐标, 进样质量浓度为横坐标, 绘制标准曲线, 建立各成分的线性方程, 结果见表 1, 结果表明各成分在各自线性范围内线性关系良好。

2.5 检测限和定量限

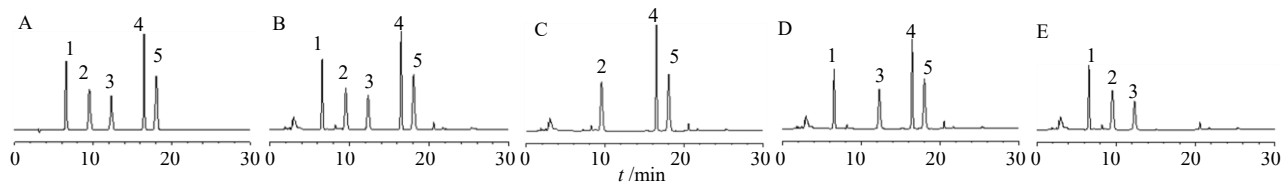
取混合对照品溶液适量, 逐级稀释, 以信噪比(S/N)为 3:1 和 10:1 时各成分质量浓度为检测限和定量限, 结果甘草苷、甘草酸铵、川续断皂苷VI、士的宁和马钱子碱检出限分别为 0.508、0.758、0.512、0.926、0.506 μg/mL, 定量限分别为 1.524、3.032、2.048、1.852、2.024 μg/mL。

2.6 重复性试验

取批号 20220701 山药丸样品, 剪碎, 分别称取 5 g, 共 6 份, 制备供试品溶液, 进样测定, 记录峰面积, 计算得甘草苷、甘草酸铵、川续断皂苷VI、士的宁和马钱子碱质量分数的 RSD 值分别为 1.96%、1.31%、1.26%、1.55%、1.37%。

2.7 精密度试验

取混合对照品溶液 S3, 进样测定 6 次, 记录峰面积, 结果甘草苷、甘草酸铵、川续断皂苷VI、士的宁和马钱子碱峰面积的 RSD 值分别为 1.06%、1.16%、1.05%、1.24%、1.32%。



1-甘草苷, 2-川续断皂苷 VI, 3-甘草酸铵, 4-马钱子碱, 5-土的宁。
1-liquiritin, 2-asperosaponin VI, 3-ammonium glycyrrhetate, 4-strychnine, 5-brucine.

图 1 混合对照品 (A)、山药丸供试品 (B)、缺甘草阴性样品 (C)、缺续断阴性样品 (D)、缺马钱子阴性样品 (E) 的 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC Chromatograms of mixed reference substances (A), Shanyao Pills (B), negative sample without *Glycyrrhizae Radix* (C), negative sample without *Dipsaci Radix* (D), and negative sample without *Strychni Semen* (E)

表 1 线性关系与范围
Table 1 Linear relation and range

成分	线性范围/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	线性方程	<i>r</i>
甘草苷	5.08~101.60	$Y=168\,132\,X-1\,946$	0.999 0
甘草酸铵	25.27~505.40	$Y=319\,491\,X-1\,712$	0.999 0
川续断皂苷VI	5.12~102.50	$Y=57\,678\,X-6\,712$	0.998 0
土的宁	9.26~185.30	$Y=59\,372\,X-4\,182$	0.999 0
马钱子碱	10.12~202.50	$Y=39\,254\,X-547$	0.999 0

2.8 稳定性试验

批号 22190705 山药丸样品, 制备供试品溶液, 分别在 0、2、4、8、12、24 h 测定峰面积, 结果甘草苷、甘草酸铵、川续断皂苷VI、土的宁和马钱子碱峰面积的 RSD 值分别为 1.33%、1.28%、1.39%、2.01%、2.18%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.9 回收率试验

取批号 22190705 山药丸, 剪碎, 称取 2.5 g, 共 6 份, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 分别加入甘草苷、甘草酸铵、川续断皂苷VI、土的宁和马钱子碱对照品 0.436 8、1.415 0、0.266 5、0.537 3、0.587 2 mg, 制备供试品溶液, 进样测定峰面积值, 计算回收率。结果甘草苷、甘草酸铵、川续断皂苷VI、土的宁和马钱子碱的平均回收率分别为 98.21%、96.90%、96.32%、97.43%、97.29%, RSD 值分别为 0.44%、0.58%、1.64%、0.86%、0.64%。

2.10 样品测定

取山药丸制备供试品溶液, 进行测定, 采用标准曲线法计算甘草苷、甘草酸铵、川续断皂苷VI、土的宁和马钱子碱的质量分数, 结果见表 3。山药丸样品中甘草苷、甘草酸铵、川续断皂苷VI、土的宁和马钱子碱的质量分数分别为 0.35~0.64、1.42~2.66、0.29~0.53、0.60~0.70、0.42~0.66 mg/丸。

表 3 山药丸中甘草苷、甘草酸铵、川续断皂苷VI、土的宁和马钱子碱 (*n* = 3)

Table 3 Determination of liquiritin, ammonium glycyrrhetate, asperosaponin VI, strychnine, and brucine in Shanyao Pills (*n* = 3)

批号	质量分数/(mg·丸 ⁻¹)				
	甘草苷	甘草酸铵	川续断皂苷VI	土的宁	马钱子碱
20220701	0.436 3	2.582 6	0.406 6	0.604 4	0.477 3
20201002	0.438 0	2.261 6	0.487 6	0.642 6	0.483 3
20210503	0.546 6	1.700 6	0.528 0	0.661 3	0.585 1
21370902	0.531 6	1.567 0	0.414 6	0.676 3	0.453 2
22330806	0.455 3	1.420 6	0.499 0	0.649 3	0.651 3
22190705	0.512 6	1.636 0	0.313 3	0.639 0	0.686 3
191910	0.362 6	2.169 6	0.329 3	0.693 3	0.603 2
201809	0.482 0	1.564 6	0.415 0	0.626 1	0.593 5
202107	0.414 3	2.650 0	0.491 1	0.630 6	0.658 4
200907	0.620 0	2.090 6	0.508 3	0.672 2	0.533 2
210908	0.411 3	2.432 3	0.441 3	0.624 3	0.576 5
211001	0.640 0	2.376 6	0.428 3	0.688 3	0.518 6
20201002	0.598 6	2.655 3	0.451 3	0.699 3	0.574 4
20220501	0.388 3	2.076 0	0.323 1	0.698 8	0.569 3
20210611	0.453 3	2.094 0	0.510 3	0.626 1	0.416 5
220902	0.596 3	2.121 3	0.490 1	0.646 4	0.657 3
220309	0.630 3	2.615 3	0.289 4	0.671 1	0.559 9
220901	0.350 6	2.561 3	0.413 3	0.632 8	0.601 1

3 讨论

3.1 提取方法的选择

供试品溶液的制备过程中,提取溶剂选择甲醇、50%甲醇和 70%甲醇,结果 70%甲醇提取效果最好,各组分提取效率均在 95%以上。且超声 30 min 基本提取完全,70℃回流 30 min 和超声 30 min 效果相差不大,所以采用超声提取的方法。

3.2 色谱条件的选择

甘草苷、甘草酸铵、川续断皂苷VI、土的宁和马钱子碱 5 种成分紫外最大吸收不在同一波长,查看混合对照品溶液 PDA 图,选择了在 5 种成分响应相对较大的 297 nm 进行检测。流动相考察了乙腈、甲醇、乙腈-0.1%磷酸水溶液、甲醇-0.1%磷酸水溶液,结果选择乙腈-0.1%磷酸水溶液作为流动相时,甘草苷、甘草酸铵、川续断皂苷VI、土的宁和马钱子碱的色谱峰峰形和分离度均较好。

本研究建立了同时测定山药丸中 5 种成分甘草苷、甘草酸铵、川续断皂苷VI、土的宁和马钱子碱的高效液相色谱方法,专属性好,操作简单。结果表明,不同厂家山药丸样品中各成分含量差异较大,除土的宁外,其他 4 种成分最高和最低含量均相差 1.5 倍以上,且即使是同一厂家,不同包装、不同批号间也存在差异。由于样品数量有限,样品生产日期跨度较大,可能造成含量差异较大,也可能与厂家工艺和原料品质有关。建议各企业完善质控方法,同时提升山药丸质量标准,保障产品质量,确保临床用药安全有效。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 姜涛,滕统华,韩松涛. HPLC 法测定山药丸中土的宁和马钱子碱的含量 [J]. 中国药品标准, 2016, 17(1): 34-37.
- [2] 赵庆林,王孟阳,姚晨,等. 超高效液相色谱串联质谱

法检测山药丸中 4 种黄曲霉毒素 [J]. 中国药业, 2024, 33(23): 67-70.

- [3] 吴攀锋,方居正. 马钱子药理毒理作用及减毒机理研究进展 [J]. 江苏中医药, 2024, 56(3): 81-85.
- [4] 李艳,高粉粉,谈利红,等. 马钱子减毒增效途径及机制研究进展 [J]. 中国医药科学, 2024, 14(6): 39-42.
- [5] 张皓月,陈岩,潘斯涵,等. 基于实时直接分析质谱技术快速鉴别及测定制马钱子及其制剂中马钱子生物碱类成分 [J]. 药物分析杂志, 2023, 43(10): 1692-1701.
- [6] 王璇,叶先文,任洪民,等. 基于斑马鱼幼鱼模型土的宁肝毒性评价及机制探讨 [J]. 中草药, 2025, 56(15): 5452-5462.
- [7] 秦贝贝,贾泽菲,王佳莉,等. 马钱子化学成分和药理作用的研究进展及其质量标志物(Q-Marker)预测分析 [J]. 中草药, 2022, 53(18): 5920-5933.
- [8] 李蕴喆,牛泽蕃,王紫琛,等. 川续断皂苷VI促进低氧环境下 MC3T3-E1 细胞的成骨分化 [J]. 中国组织工程研究, 2025, 29(35): 7481-7489.
- [9] 邱琼华,李隽永,韦倩,等. 热痹痛合剂 HPLC 指纹图谱的建立和芍药苷、柚皮苷、黄芩苷、川续断皂苷VI的测定 [J]. 现代药物与临床, 2022, 37(4): 737-745.
- [10] 李敏,曾庆准,张太华,等. HPLC 法测定冠脉康片多成分含量及其指纹图谱研究 [J]. 中药材, 2025(6): 1496-1501.
- [11] 周晶晶,周洁,窦霞,等. 不同炮制方法对甘草化学成分及药理作用的影响研究 [J]. 中华中医药学刊, 2024, 42(5): 244-249.
- [12] 许庆,肖植国,钱洲,等. 高效液相色谱法同时测定归芍舒肝散中 6 种成分含量 [J]. 中国药业, 2025, 34(2): 81-84.
- [13] 米振清,胡小凤. 高效液相色谱法同时测定启脾丸中 9 种成分含量 [J]. 中国药业, 2024, 33(11): 66-70.
- [14] 晏堂,邱远望,陈涛,等. 一测多评法测定甘草浸膏中 5 种有效成分的方法评价 [J]. 福建中医药, 2023, 54(12): 15-20.
- [15] 孙桐. 高效液相色谱法同时测定骨松宝丸中 5 种成分含量 [J]. 中国药业, 2023, 32(8): 69-73.

【责任编辑 解学星】