

## RP-HPLC 法测定桂附地黄丸中芍药苷和丹皮酚

焦少珍<sup>1,2</sup>, 李 宇<sup>2</sup>, 韩凤梅<sup>2</sup>, 陈 勇<sup>2\*</sup>

(1. 肇庆学院 生物学系, 广东 肇庆 526041; 2. 湖北大学 中药生物技术省重点实验室, 湖北 武汉 430062)

桂附地黄丸收载于《中国药典》2005 年版一部, 由肉桂、附子(制)、熟地黄、山茱萸(制)、牡丹皮、山药、茯苓、泽泻 8 味中药组成, 具有温补肾阳之功效。牡丹皮是该方重要组成药材, 所含酚性成分有丹皮酚、牡丹酚苷、牡丹酚原苷, 所含萜类和苷类成分有芍药苷、羟基芍药苷、苯甲酰芍药苷等。桂附地黄丸中主要活性成分为芍药苷和丹皮酚。而《中国药典》2005 年版一部仅采用 HPLC 法测定其中丹皮酚的量。为了完善检测方法, 本实验采用 RP-HPLC 法同时测定了芍药苷和丹皮酚两种主要活性成分的量。

### 1 仪器和试剂

Agilent 1100 型 HPLC 仪。芍药苷和丹皮酚对照品购于中国药品生物制品检定所, 桂附地黄丸由北京同仁堂科技发展股份有限公司制药厂生产, 色谱纯乙腈和甲醇(美国 Fisher 公司), 二次蒸馏水。

### 2 方法和结果

2.1 对照品溶液的制备: 精密称取芍药苷和丹皮酚对照品适量, 置 10 mL 量瓶中, 各加色谱纯甲醇至刻度, 得对照品溶液储备液, 其中芍药苷的质量浓度为 1.075 mg/mL, 丹皮酚的质量浓度为 1.665 mg/mL。溶液放于 4 °C 冰箱中保存, 用时按需稀释。

2.2 供试品溶液的制备: 将桂附地黄丸剪碎混匀, 精密称取 1.0 g, 置 40 mL 离心管中, 加甲醇 10 mL 于冰水浴中超声提取 15 min(功率 300 W), 离心取上清液。同法再提取两次。将残渣用 5 mL 甲醇洗涤, 离心取上清液, 同法洗 3 次, 合并上清液, 置 50 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 即得。按药典的处方比例制备缺牡丹皮、芍药的阴性样品, 同法制备阴性对照溶液。

2.3 色谱条件: Inertsil ODS C<sub>18</sub> 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为乙腈-水系统, 使用前超声脱气 30 min, 采用梯度洗脱, 0~8 min, 16% 乙腈, 8~25 min, 25% 乙腈, 25 min 以后, 77% 乙腈; 体积流量: 1 mL/min; 柱温: 20 °C; 检测波长: 240 nm; 进样量: 5 μL。

2.4 方法专属性: 将芍药苷和丹皮酚对照品混合溶液和桂附地黄丸供试品溶液分别进样分析, 见图 1。可见芍药苷和丹皮酚峰达到基线分离, 无杂质干扰, 阴性也无干扰。

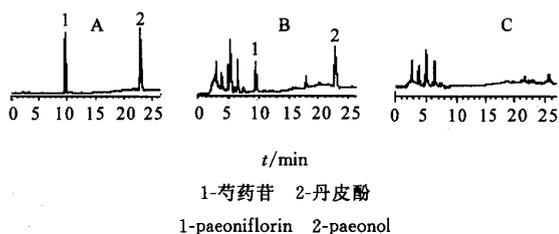


图 1 对照品溶液(A)、桂附地黄丸(B)和阴性对照(C)的 HPLC 图

Fig. 1 HPLC Chromatograms of mixed solution reference substances (A), Guifu Dihuang Pill (B), and negative sample (C)

2.5 标准曲线的制备: 在上述优化的色谱条件下进样分析, 以浓度质量为纵坐标、峰面积为横坐标, 采用 Excel 的散点图添加趋势线得到回归方程。芍药苷在 2.15~107.50 μg/mL 的线性回归方程为  $Y = 0.2173X + 0.3007$ ,  $r = 0.9998$ ; 丹皮酚在 2.50~99.90 μg/mL 的线性回归方程为  $Y = 0.1648X + 0.3684$ ,  $r = 0.9998$ 。

2.6 精密度试验: 取同一份桂附地黄丸供试品溶液连续进样 5 次, 结果芍药苷和丹皮酚峰面积的 RSD 分别为 0.63% 和 0.70%。

2.7 稳定性试验: 取同一份桂附地黄丸供试品溶液, 分别放置 0、2、4、6、8 h 进样分析, 结果芍药苷和丹皮酚峰面积的 RSD 分别为 0.37% 和 0.57%。

2.8 重现性试验: 精密称取桂附地黄丸 5 份, 每份 1 g, 制备供试品溶液, 进样分析, 结果芍药苷和丹皮酚峰面积的 RSD 分别为 2.69% 和 2.83%。

2.9 加样回收率试验: 称取桂附地黄丸样品 0.5 g, 制备供试品溶液并进样分析, 测定值作为样品本底值。平行称取桂附地黄丸样品 2 份, 每份 0.5 g, 其中一份加入芍药苷 409.22 μg 和丹皮酚 466.2 μg, 另

收稿日期: 2006-12-12

基金项目: 湖北省青年杰出人才科学基金(2002AC004)

作者简介: 焦少珍(1969—), 女, 广东高要人, 讲师, 硕士, 主要从事食品和药品的安全检测研究及教学工作。

\* 通讯作者 陈 勇 E-mail: cy101610@npc.gov.cn

一份加入芍药苷 587.95  $\mu\text{g}$  和丹皮酚 699.3  $\mu\text{g}$ , 重复试验 3 次。进样测定, 计算得芍药苷和丹皮酚平均回收率分别为 98.18%、99.33%, RSD 分别为 0.63%、0.91%。

2.10 样品测定: 取桂附地黄丸样品 5 份, 制备供试品溶液, 进样测定, 按外标法计算芍药苷和丹皮酚的质量分数, 分别为 0.99、1.16 mg/g, RSD 为 1.59%、2.70%。

### 3 讨论

桂附地黄丸制备供试品溶液后所剩残渣用 10 mL 甲醇超声提取 15 min, 定容至 50 mL 并进样分

析, 结果没有发现芍药苷和丹皮酚色谱峰, 证明本实验采用的方法可以将桂附地黄丸中的芍药苷和丹皮酚提取完全。

芍药苷和丹皮酚在 240 nm 处都有较大吸收, 因此本实验采用 240 nm 为检测波长。

本实验还考察了甲醇-水、乙腈-水系统对桂附地黄丸中芍药苷和丹皮酚分离的影响, 结果由于该复方所含化学成分复杂, 杂质对目标物测定干扰严重, 经优化最后确定本实验采用的乙腈-水系统梯度洗脱。在该条件下, 供试品溶液中芍药苷和丹皮酚可达到基线分离。

## RP-HPLC 法测定知母黄柏药对中新芒果苷、芒果苷和盐酸小檗碱

易博<sup>1,3</sup>, 孙赫<sup>1,3</sup>, 原源<sup>3</sup>, 孙连娜<sup>1,3</sup>, 陈万生<sup>2,3\*</sup>

(1. 第二军医大学药学院, 上海 200433; 2. 第二军医大学附属长征医院药学部, 上海 200003;

3. 第二军医大学现代中药研究中心, 上海 200433)

知母与黄柏是临床常用药材, 等量伍用, 相互促进。滋阴、清热退烧、泻火解毒、除湿益彰, 出自李东垣《兰室秘藏》, 在经典方剂滋肾通关丸、知柏地黄丸、大补阴丸、杜仲丸、太极丸、参归益元汤、虎潜丸、保真汤、神龟滋阴丸、正气汤等中多有体现。芒果苷是知母清热作用的主要有效成分, 同时具有抗炎、抗病毒、抗氧化、利尿、预防肥胖等作用<sup>[1~4]</sup>。知母中含有另一种新双苯吡酮类化合物新芒果苷<sup>[5]</sup>。黄柏中的盐酸小檗碱既是该药材的指标成分又是活性成分<sup>[6]</sup>。本实验通过优化色谱条件和样品处理方法可以同时快速、准确测定知母黄柏药对中新芒果苷、芒果苷和盐酸小檗碱。

### 1 仪器与材料

Waters 高效液相色谱仪, 510 泵, PDA 检测器, Empower Pro 色谱工作站。

新芒果苷、芒果苷为自制, HPLC 色谱鉴定质量分数均大于 99.1%, 盐酸小檗碱(批号 110713-200208)购自中国药品生物制品检定所, 磷酸二氢钾(分析纯)、乙腈(色谱纯)、双蒸水, 不同批次知母、黄柏药材均购自安徽亳州药材市场, 由第二军医大学长征医院药学部陈万生副教授鉴定, 分别为百合科

植物知母 *Anemarrhena asphodeloides* Bunge 的根茎、芸香科植物黄檗 *Phellodendron amurense* Rupr. 的干燥树皮(即关黄柏); 知母黄柏药对为知母与黄柏药材粉末按 1:1 的配比自制。

### 2 方法与结果

2.1 色谱条件: 色谱柱: Diamonsil C<sub>18</sub> 反相柱 (250 mm × 4.6 mm, 5  $\mu\text{m}$ ); 柱温: 室温; 流动相: 乙腈(A)-33 mmol/L 磷酸二氢钾缓冲液(pH 3.45)(B), 采用梯度洗脱, 0~14 min, 8%A, 14~15 min, 20%A, 15~35 min, 30%A, 35 min 以后, 35%A; 体积流量: 1.0 mL/min; 检测波长: 265 nm。

2.2 对照品溶液制备: 精密称取新芒果苷对照品 5.00 mg、盐酸小檗碱对照品 9.98 mg, 分别置于 5 mL 量瓶中, 用甲醇-水(9:1)溶解并加至刻度, 即得 1 mg/mL 新芒果苷和 2 mg/mL 盐酸小檗碱对照品溶液。

精密称取芒果苷对照品 10.00 mg, 置于 5 mL 量瓶中, 用甲醇-二氧六环-水(5:5:1)溶解并加至刻度, 即得 2 mg/mL 芒果苷对照品溶液。

2.3 供试品溶液制备: 取知母药材、黄柏药材和知母黄柏药对粉末各 50 mg, 精密称定, 分别置 10 mL

收稿日期: 2006-09-11

作者简介: 易博(1978—), 男, 湖南省湘阴县人, 药师, 硕士研究生, 2001年毕业于第二军医大学药学专业, 工作于解放军第187中心医院药剂科, 2004年攻读第二军医大学生药学硕士学位, 主要从事中药材品质评价和药用植物的种质资源改良。

Tel: (021)25074402 E-mail: yibo@smmu.edu.cn

\* 通讯作者 陈万生 E-mail: chenws@vnet.citiz.net

# RP-HPLC法测定桂附地黄丸中芍药苷和丹皮酚

作者: 焦少珍, 李宇, 韩凤梅, 陈勇

作者单位: 焦少珍(肇庆学院, 生物学系, 广东, 肇庆, 526041; 湖北大学, 中药生物技术省重点实验室, 湖北, 武汉, 430062), 李宇, 韩凤梅, 陈勇(湖北大学, 中药生物技术省重点实验室, 湖北, 武汉, 430062)

刊名: 中草药 **ISTIC** **PKU**

英文刊名: CHINESE TRADITIONAL AND HERBAL DRUGS

年, 卷(期): 2007, 38(6)

被引用次数: 3次

## 引证文献(3条)

1. 车磊, 孙国祥, 李闫飞. 桂附地黄丸的毛细管电泳指纹图谱研究[期刊论文]-中南药学 2011(6)
2. 张得钧, 董凡晖. 同时测定浓缩桂附地黄丸中丹皮酚和马钱苷含量方法的建立[期刊论文]-青海医学院学报 2011(3)
3. 孙国祥, 车磊, 吴玉. 用双标定量指纹法定桂附地黄丸平行五波长高效液相色谱对照指纹图谱标准[期刊论文]-中南药学 2012(8)

本文链接: [http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical\\_zcy200706024.aspx](http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_zcy200706024.aspx)