

# 赤芍、大黄药对不同比例配伍提取物指纹图谱研究

牛笑怡, 张振秋\*, 郑艳超

(辽宁中医药大学, 辽宁 大连 116600)

**[摘要]** 目的: 建立赤芍、大黄药对不同配伍比例的高效液相指纹图谱。方法: 采用 Agilent Eclipse XDB-C<sub>18</sub> (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) 色谱柱, 以乙腈 (A) - 0.1% 磷酸水 (B) 为流动相进行梯度洗脱, 流速 1.0 mL · min<sup>-1</sup>, 检测波长 267 nm (0 ~ 13 min), 258 nm (13 ~ 20 min), 230 nm (20 ~ 45 min), 254 nm (45 ~ 100 min), 柱温 30 °C。结果: 建立了赤芍、大黄药对不同配伍比例的高效液相指纹图谱。以芍药苷为参照峰, 标定 18 个共有峰, 指认了其中 9 个色谱峰。通过赤芍、大黄 5 个比例指纹图谱的研究, 初步确定了两药材主要成分的归属, 以芍药苷与大黄酸峰面积比值为指标确定其配伍比例。结论: 该方法准确可靠、重复性好, 可用于为赤芍、大黄药对提取物的成分鉴别及配伍和质量控制提供依据。

**[关键词]** 赤芍; 大黄; 指纹图谱; 高效液相色谱

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)07-0086-04

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfx.2014070086

## Fingerprint for the Different Compatibility Proportion in Radix Paeoniae Rubra and Rhei Radix et Rhizoma

NIU Xiao-yi, ZHANG Zhen-qiu\*, ZHENG Yan-chao

(College of Pharmacy, Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Dalian 116600, China)

**[Abstract]** **Objective:** To develop an HPLC fingerprint for the different compatibility proportion in Radix Paeoniae Rubra and Rhei Radix et Rhizoma. **Method:** Agilent Eclipse XDB-C<sub>18</sub> (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) was adopted; the mobile phase was acetonitrile (A) - 0.1% phosphoric acid solution (B) with gradient elution at a flow rate of 1.0 mL · min<sup>-1</sup>, and the detection wavelength was set at 267 nm (0-13 min), 258 nm (13-20 min), 230 nm (20-45 min), 254 nm (45-100 min). **Result:** An HPLC fingerprint for the different compatibility proportion in Radix Paeoniae Rubra and Rhei Radix et Rhizoma was developed. A total of 18 chromatographic peaks and 9 chromatographic peaks were identified. Through studying 5 proportion of fingerprint of Radix Paeoniae Rubra and Rhei Radix et Rhizoma, the main components of two herbs belonging were preliminary identified. **Conclusion:** This method is dependable, simple and practical, and it may be used to identify component and control quality of Radix Paeoniae Rubra and Rhei Radix et Rhizoma.

**[Key words]** Radix Paeoniae Rubra; Rhei Radix et Rhizoma; fingerprint; HPLC

赤芍、大黄药对始见于孙思邈《千金方》的神明

度命丸。赤芍苦, 微寒, 善入营血, 清热凉血、散瘀止痛。大黄苦寒, 清热泻火、凉血解毒、逐瘀通经。二药伍用, 大黄得赤芍直入血分, 而破血中之滞, 赤芍得大黄则祛瘀力宏<sup>[1-2]</sup>, 共奏泄热逐瘀, 和营止痛之功。本文通过建立赤芍、大黄药对不同配伍比例提取物的高效液相指纹图谱, 为赤芍、大黄药对提取物的质量控制和成分鉴别及配伍提供依据<sup>[3-6]</sup>。

### 1 仪器与试剂

Agilent 1100 型高效液相色谱仪, 配置 VWD 检

**[收稿日期]** 20130722(013)

**[基金项目]** 辽宁省科技厅课题项目(2013020176)

**[第一作者]** 牛笑怡, 硕士研究生, 从事药物分析研究, Tel: 15504943401, E-mail: 826510788@qq.com

**[通讯作者]** \* 张振秋, 教授, 博士生导师, 从事中药质量标准研究, Tel: 0411-87586058, E-mail: zhangzhenqiu@sina.com

测器、在线脱气机、四元梯度泵, METTLER AB135-S型(1/10)万电子天平(瑞士),日立 U-3010 型紫外-可见双光束扫描分光光度计, AS3120A 型超声提取器, 2140 型电子分析天平。

对照品氧化芍药苷(批号 120920), 没食子酸(批号 120702)均由鼎瑞化工有限公司提供, 芍药苷(批号 121122), 芍药内酯苷(批号 120408)均由天津一方科技有限公司提供, 大黄素甲醚(批号 110758-201013), 大黄酚(批号 110796-201017), 芦荟大黄素(批号 110795-201007), 大黄素(批号 110756-200110), 大黄酸(批号 110757-200206)由中国食品药品检定研究院提供。

水为重蒸馏水, 乙腈、甲醇均为色谱纯, 其他试剂均为分析纯。大黄和赤芍饮片经辽宁中医药大学李峰教授鉴定为蓼科植物掌叶大黄 *Rheum palmatum* L. 的干燥根和根茎、毛茛科植物芍药 *Paeonia lactiflora* Pall. 的干燥根。

赤芍、大黄药对提取物自制(取赤芍、大黄饮片, 按 1:2, 1:1, 2:1, 3:1, 4:1 比例精密称定, 置圆底烧瓶中, 加 12 倍量的水, 回流提取 3 次, 每次 1 h, 滤过, 合并滤液, 蒸干, 于 70 °C 减压干燥, 粉碎成细粉, 即得)。

## 2 方法与结果

**2.1 色谱条件** 采用 Agilent Eclipse XDB-C<sub>18</sub> (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) 色谱柱, 以乙腈(A)-0.1% 磷酸水(B)为流动相, 梯度洗脱(0 ~ 20 min, 5% ~ 10% A, 20 ~ 40 min, 10% ~ 15% A, 40 ~ 50 min, 15% ~ 27% A, 50 ~ 85 min, 27% ~ 53% A), 流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, 检测波长 267 nm (0 ~ 13 min), 258 nm (13 ~ 20 min), 230 nm (20 ~ 45 min), 254 nm (45 ~ 100 min)。

### 2.2 溶液制备

**2.2.1 对照品溶液的制备** 精密称取芍药苷对照品适量, 加甲醇配成质量浓度为 0.823 6 g·L<sup>-1</sup> 的对照品溶液。

**2.2.2 混合对照品溶液的制备** 精密称取芍药苷、芍药内酯苷、氧化芍药苷、没食子酸对照品适量, 置同一量瓶中, 加甲醇制成每 1 mL 含芍药苷 721.5 μg, 芍药内酯苷 63.35 μg, 氧化芍药苷 67.60 μg, 没食子酸 114.8 μg, 即得混合对照品 I。精密称取大黄素、大黄素甲醚、芦荟大黄素、大黄酚、大黄酸对照品适量, 置同一量瓶中, 加甲醇制成每 1 mL 含大黄素 3.307 μg, 大黄素甲醚 3.861 μg, 芦荟大黄素 3.928 μg, 大黄酚 5.285 μg, 大黄酸 13.64 μg 的混

合溶液, 即得混合对照品 II。

**2.2.3 供试品溶液的制备** 取赤芍、大黄药对提取物 0.3 g, 精密称定, 置 100 mL 锥形瓶中, 加甲醇 40 mL, 超声处理(频率 25 kHz, 功率 300 W) 30 min, 放冷, 滤过, 滤液至 50 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 取续滤液, 即得。

**2.2.4 药材溶液的制备** 各取赤芍、大黄药材提取物 0.3 g, 精密称定, 按 2.2.3 项下同法制备药材溶液。

**2.3 测定方法** 分别取不同比例提取物制备的供试品溶液、药材溶液、对照品溶液及混合对照品溶液 I, II 各 20 μL 注入高效液相色谱仪, 按 2.1 项下色谱条件, 记录 100 min 色谱峰。供试品色谱中以芍药苷的色谱峰的峰面积及保留时间为 1, 用“中药指纹图谱相似度计算软件”计算, 计算共有峰的相对保留时间及相对峰面积。

## 3 方法学考察

**3.1 精密度考察** 取赤芍、大黄(3:1)供试品溶液连续进样 5 次, 考察各主要色谱峰的相对峰面积和相对保留时间的一致性, 各共有峰相对峰面积的 RSD 分别为 0.47% ~ 2.8%, 各共有峰相对保留时间的 RSD 0.29% ~ 1.5%, 表明仪器精密度良好。

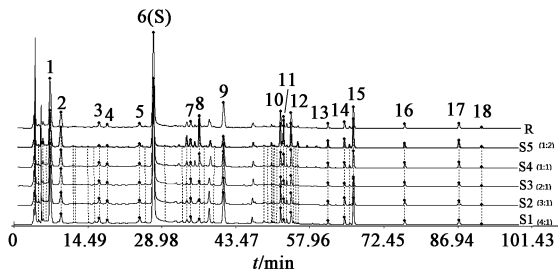
**3.2 稳定性考察** 取赤芍、大黄(3:1)的供试品溶液, 分别在 0, 2, 4, 8, 24 h 进样分析, 考察各主要色谱峰的相对峰面积和相对保留时间的一致性, 各共有峰的相对峰面积的 RSD 0.23% ~ 2.0%, 各共有峰的相对保留时间的 RSD 0.078% ~ 1.2%, 表明 24 h 内色谱峰稳定。

**3.3 重复性考察** 取赤芍、大黄(3:1)药对提取物 5 份, 按 2.2.3 项下制备, 考察各主要色谱峰的相对峰面积和相对保留时间的一致性, 各共有峰的相对峰面积的 RSD 0.10% ~ 2.9%, 各共有峰的相对保留时间的 RSD 0.12% ~ 0.31%, 表明方法重复性良好。

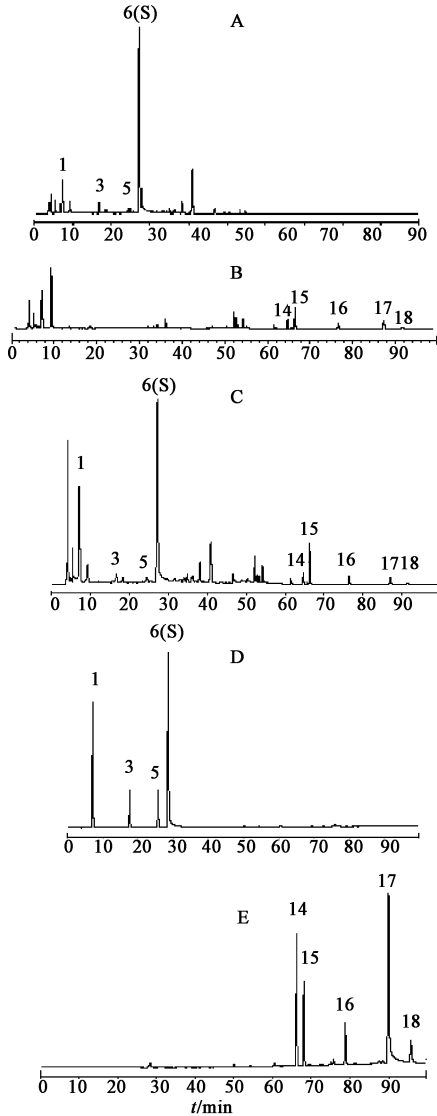
## 4 赤芍、大黄药对的指纹图谱及技术参数

**4.1 共有峰的标定** 根据 5 个不同比例供试品 HPLC 指纹图谱检测结果(图 1, 2), 共有特征峰 18 个, 其中保留时间为 (28.5 ± 1) min 的峰为芍药苷的指纹峰, 与相邻峰分离度较好, 选定芍药苷色谱峰为参照峰 S, 以其保留时间和峰面积为 1, 计算各峰的相对保留时间和峰面积比值。

**4.2 相似度评价** 对 5 个不同配伍比例赤芍、大黄药对的指纹图谱进行匹配, 并以生成的对照图谱作为对照模板, 计算其相似度。结果见表 2。



(图中R为共有模式,即对照图谱;R上的编号1~18为共有峰编号)  
图1 5个不同比例供试品HPLC指纹图色谱和总共有模式图



A. 赤芍药材; B. 大黄药材; C. 样品; D, E. 混合对照品;  
1. 没食子酸; 3. 氧化芍药苷; 5. 芍药内酯苷; 6(S). 芍药苷;  
14. 芦荟大黄素; 15. 大黄酸; 16. 大黄素;  
17. 大黄酚; 18. 大黄素甲醚

图2 赤芍、大黄药对提取物HPLC

4.3 不同配伍比例的确定 以各供试品溶液中芍药苷和大黄酸的峰高比值为指标确定其配伍的比例。色谱图见图1,结果如表3。

表1 5个不同比例赤芍、大黄药对共有峰相对保留时间

No.	4:1	3:1	2:1	1:1	1:2
1	0.260 7	0.260 1	0.259 1	0.256 9	0.256 8
2	0.341 8	0.339 8	0.337 8	0.334 9	0.334 4
3	0.610 9	0.613 0	0.612 0	0.631 7	0.634 0
4	0.672 7	0.671 9	0.669 4	0.667 8	0.665 0
5	0.901 5	0.940 8	0.940 4	0.904 0	0.907 3
6(S)	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
7	1.254	1.251	1.247	1.222	1.222
8	1.246	1.282	1.290	1.285	1.321
9	1.407	1.403	1.402	1.407	1.402
10	1.510	1.506	1.504	1.501	1.496
11	1.935	1.920	1.918	1.897	1.894
12	2.008	1.999	1.993	1.975	1.969
13	2.280	2.262	2.258	2.234	2.230
14	2.400	2.380	2.376	2.353	2.347
15	2.464	2.442	2.440	2.416	2.410
16	2.836	2.814	2.805	2.786	2.808
17	3.226	3.205	3.200	3.170	3.158
18	3.380	3.368	3.359	3.334	3.321

表2 5个供试品指纹图谱的相似度

比例	1:2	1:1	2:1	3:1	4:1	对照指纹图谱
1:2	1.00	0.927	0.821	0.858	0.828	0.896
1:1	0.927	1.00	0.956	0.965	0.952	0.985
2:1	0.821	0.956	1.00	0.983	0.989	0.986
3:1	0.858	0.965	0.983	1.00	0.993	0.993
4:1	0.828	0.952	0.989	0.993	1.00	0.988
对照指纹图谱	0.896	0.985	0.986	0.993	0.988	1.000

表3 芍药苷、大黄酸峰高比值

组别	芍药苷峰高	大黄酸峰高	芍药苷峰高/大黄酸峰高
1:2	174.8	116.4	1.502
1:1	319.9	67.3	4.753
2:1	427.3	36.8	11.61
3:1	460.8	33.6	13.71
4:1	512	29.8	17.18

## 5 讨论

由图1可见,共有18个共有峰,根据图2其中3,5,6,8,9,10号峰为赤芍单味药材的特征峰,12,13,14,15,16,17,18号峰为大黄单味药材的特征峰,1,2,4,7,11号峰为两味药中共有。没食子酸(1号峰)、氧化芍药苷(3号峰)、芍药内酯苷(5号峰)、芍药苷(6号峰)、芦荟大黄素(14号峰)、大黄酸(15

# 虎掌南星总有机酸含量测定

王琴霞, 池玉梅\*

(南京中医药大学药学院, 南京 210023)

**[摘要]** 目的:研究专属、灵敏的总有机酸含量测定方法。方法:利用羧基在 *N,N*-二环己基碳酰亚胺(DDC)体系中与高氯酸羟胺(HAP)形成羟肟酸,产物在酸性条件下与高氯酸铁显色的原理,以虎掌南星为载体,柠檬酸为指标,采用分光光度法测定。结果:经显色条件优化,建立了测定方法。方法学考察结果显示,符合含量测定要求。对照品柠檬酸在 0.078 ~ 0.390 g·L<sup>-1</sup>,吸光度值与浓度呈现良好的线性关系( $r=0.9998$ ),平均加样回收率为 99.91% (RSD 1.32%,  $n=9$ )。结论:该方法简便灵敏,具有可操作性,可用于测定药材中总有机酸的含量。

**[关键词]** 虎掌南星; 有机酸; 含量测定; 分光光度法; 羟肟酸铁

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)07-0089-04

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2014070089

**[网络出版地址]** <http://www.cnki.net/kcms/doi/10.13422/j.cnki.syfjx.000022.html>

**[网络出版时间]** 2014-01-21 9:24

## Determination of Total Organic Acids in *Pinellia pedatisecta*

WANG Qin-xia, CHI Yu-mei\*

**[收稿日期]** 20131105(014)

**[基金项目]** 国家自然科学基金项目(30973939);南京中医药大学中药学一级学科开放课题(2011zyx2-007)

**[第一作者]** 王琴霞,硕士研究生,从事中药制剂分析研究, Tel:025-85811053, E-mail:wangqinxia1988@163.com

**[通讯作者]** \*池玉梅,硕士,教授,从事药物分析研究, Tel:025-85811053, E-mail:ymchii@njutcm.edu.cn

号峰)、大黄素(16号峰)、大黄酚(17号峰)、大黄素甲醚(18号峰)均为赤芍、大黄药对中的指标性成分,但芍药苷在指纹图谱中峰位适中,峰形对称性好,且相对稳定,因此选其作为参照峰。

不同比例赤芍、大黄药对的指纹图谱虽然都出现了相应的特征性成分峰,但峰高比值不尽相同,图谱差异较大。选择芍药苷和大黄酸作为特征峰,根据保留时间,确定药对的配伍,根据峰高比值,确定配伍比例。

### [参考文献]

- [1] 胥庆华. 中药药对大全[M]. 北京:中国中医药出版社,1996:364.
- [2] 高学敏. 中药学[M]. 北京:中国中医药出版社,2002:170,181.
- [3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010:147.
- [4] 尤春雪,张振秋,李峰,等. HPLC 波长切换技术对葛

根中 8 种成分的测定及指纹图谱研究[J]. 中草药, 2013,44(5):616.

- [5] 谢剑琳,张振秋,梁朔,等. HPLC 波长切换法同时测定大黄、牡丹皮药对提取物中 11 个成分的含量[J]. 药物分析杂志,2013,33(1):103.
- [6] 刘峰,张振秋,赵金明,等. 黄连及炮制品 HPLC 指纹图谱研究[J]. 中药材,2010,33(9):1382.
- [7] 李妍,杨燕云,张振秋,等. HPLC 法同时测定白芍、甘草药对提取物中 9 种有效成分[J]. 中成药,2013,35(1):100
- [8] 李伟铭,赵月然,杨燕云,等. HPLC 波长切换法同时测定白芍饮片中 9 个成分的含量[J]. 药物分析杂志,2011,31(12):2208.
- [9] 陈斌,蔡宝昌,潘杨,等. 不同产地掌叶大黄 HPLC 指纹图谱的比较[J]. 中草药,2013,34(5):457.
- [10] 高明,赵镭,赵光树,等. 白芍和赤芍 HPLC 指纹图谱比较研究[J]. 中草药,2010,41(11):1904.

[责任编辑 蔡仲德]