

# UPLC-MS/MS法同时测定苦黄注射液中7种成分的含量<sup>Δ</sup>

李 霄<sup>1,2\*</sup>, 吴 茵<sup>2</sup>, 支旭然<sup>2</sup>, 李 倩<sup>1</sup>, 李 颖<sup>1</sup>, 董占军<sup>1,2#</sup> (1.河北医科大学研究生学院, 石家庄 050017; 2.河北省人民医院, 石家庄 050051)

中图分类号 R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2017)15-2108-05  
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2017.15.26

**摘要** 目的:建立同时测定苦黄注射液中苦参碱、槐果碱、大黄素、大黄酸、绿原酸、柴胡皂苷a、芦荟大黄素含量的方法。方法:采用超高效液相色谱-串联质谱法。色谱柱为 Phenomenex Kinetex C<sub>18</sub>, 流动相为甲醇-0.1% 甲酸(梯度洗脱), 流速为 0.5 mL/min, 柱温为 20 ℃, 进样器温度为 10 ℃, 平衡时间为 4 min, 进样量为 5 μL。离子化模式为电喷雾电离, 源喷射电压分别为 5 500、-4 500 V, 雾化气压力为 4.14×10<sup>5</sup> Pa, 加热气压力为 4.48×10<sup>5</sup> Pa, 帘气压力为 1.72×10<sup>5</sup> Pa, 离子源温度为 600 ℃, 工作模式为多反应监测模式。结果:苦参碱、槐果碱、大黄素、大黄酸、绿原酸、柴胡皂苷a、芦荟大黄素检测质量浓度线性范围分别为 1.25~80.0 ng/mL ( $r=0.999\ 3$ )、1.10~70.0 ng/mL ( $r=0.999\ 5$ )、0.16~10.5 ng/mL ( $r=0.999\ 3$ )、2.61~168 ng/mL ( $r=0.999\ 3$ )、1.50~96.0 ng/mL ( $r=0.999\ 3$ )、1.48~94.5 ng/mL ( $r=0.999\ 6$ )、6.11~391 ng/mL ( $r=0.999\ 1$ ); 定量限分别为 0.061、0.109、0.041、1.313、0.500、0.492、3.055 ng/mL, 检测限分别为 0.025、0.054、0.016、0.656、0.150、0.148、1.528 ng/mL; 精密度、稳定性、重复性试验的 RSD≤3%; 加样回收率分别为 95.45%~99.45% (RSD=1.43%,  $n=6$ )、97.50%~101.00% (RSD=1.50%,  $n=6$ )、95.67%~101.73% (RSD=2.85%,  $n=6$ )、97.17%~100.57% (RSD=1.16%,  $n=6$ )、95.19%~98.90% (RSD=1.71%,  $n=6$ )、95.38%~103.85% (RSD=3.39%,  $n=6$ )、95.50%~101.17% (RSD=1.20%,  $n=6$ )。结论:该方法简便、高效、准确、可靠, 适用于同时测定苦黄注射液中7种有效成分的含量。

**关键词** 苦黄注射液; 超高效液相色谱-串联质谱法; 苦参碱; 槐果碱; 大黄素; 大黄酸; 绿原酸; 柴胡皂苷a; 芦荟大黄素

## Simultaneous Determination of 7 Components in Kuhuang Injection by UPLC-MS/MS

LI Xiao<sup>1,2</sup>, WU Yin<sup>2</sup>, ZHI Xuran<sup>2</sup>, LI Qian<sup>1</sup>, LI Ying<sup>1</sup>, DONG Zhanjun<sup>1,2</sup> (1.College of Graduate Studies, Hebei Medical University, Shijiazhuang 050017, China; 2.Hebei Provincial People's Hospital, Shijiazhuang 050051, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish a method for the content determination of matrine, sophocarpine, emodin, rhein, chlorogenic acid, sarkosaponin a, aloe-emodin in Kuhuang injection. METHODS: UPLC-MS/MS was adopted. The determination was performed on Phenomenex Kenetix C<sub>18</sub> column with mobile phase consisted of methanol-0.1% formic acid (gradient elution) at the flow rate of 0.5 mL/min. The column temperature was set at 20 ℃, and injector temperature was set at 10 ℃. The equilibrium time was 4 min and sample size was 5 μL. Ionization mode was electrospray ionization with spray voltage of 5 500 V and -4 500 V, atomizing air pressure of 4.14×10<sup>5</sup> Pa, heater pressure of 4.48×10<sup>5</sup> Pa, curtain air of 1.72×10<sup>5</sup> Pa and ion source temperature of 600 ℃. The work mode was multiple reaction monitoring mode. RESULTS: The linear range were 1.25-80.0 ng/mL for matrine ( $r=0.999\ 3$ ), 1.10-70.0 ng/mL for sophocarpine ( $r=0.999\ 5$ ), 0.16-10.5 ng/mL for emodin ( $r=0.999\ 3$ ), 2.61-168 ng/mL for rhein ( $r=0.999\ 3$ ), 1.50-96.0 ng/mL for chlorogenic acid ( $r=0.999\ 3$ ), 1.48-94.5 ng/mL for sarkosaponin a ( $r=0.999\ 6$ ) and 6.11-391 ng/mL for aloe-emodin ( $r=0.999\ 1$ ). The limits of quantification were 0.061, 0.109, 0.041, 1.313, 0.500, 0.492, 3.055 ng/mL, limits of detection were 0.025, 0.054, 0.016, 0.656, 0.150, 0.148, 1.528 ng/mL. RSDs of precision, stability and reproducibility tests were all no more than 3%. The recoveries of them were 95.45%-99.45% (RSD=1.43%,  $n=6$ ), 97.50%-101.00% (RSD=1.50%,  $n=6$ ), 95.67%-101.73% (RSD=2.85%,  $n=6$ ), 97.17%-100.57% (RSD=1.16%,  $n=6$ ), 95.19%-98.90% (RSD=1.71%,  $n=6$ ), 95.38%-103.85% (RSD=3.39%,  $n=6$ ), 95.50%-101.17% (RSD=1.20%,  $n=6$ ), respectively. CONCLUSIONS: The method is simple, effective, accurate, reliable and suitable for simultaneous determination for 7 components in Kuhuang injection.

**KEYWORDS** Kuhuang injection; UPLC-MS/MS; Matrine; Sophocarpine; Emodin; Rhein; Chlorogenic acid; Sarkosaponin a; Aloe-emodin

苦黄注射液源于《伤寒论》中的经典方药“茵陈蒿

<sup>Δ</sup> 基金项目:河北省医学科学重点课题计划(No.ZL20140340);政府资助临床医学优秀人才培养和基础课题研究项目

\* 硕士研究生。研究方向:中药学。电话:0311-85988998。  
E-mail:379346168@qq.com

# 通信作者:主任药师,博士。研究方向:中药学与药事管理学。  
E-mail:13313213656@126.com

汤”,是由苦参、大黄、茵陈、柴胡和大青叶组成的纯中药复方静脉注射液,具有清热利湿、疏肝退黄的功效,临床上主要用于治疗因湿热内蕴引起的黄疸型病毒性肝炎<sup>[1-2]</sup>。现有研究多采用高效液相色谱法测定该制剂中苦参和大黄的相关成分<sup>[3-6]</sup>,尚未有对其他中药组分进行测定的报道。为完善该制剂的质量标准,本课题组采

用超高效液相色谱-串联质谱法(UPLC-MS/MS)建立了同时测定该制剂中苦参主要活性成分(苦参碱和槐果碱)、大黄主要活性成分(大黄素、大黄酸和芦荟大黄素)、茵陈主要活性成分(绿原酸)、柴胡主要活性成分(柴胡皂苷a)的方法。

## 1 材料

### 1.1 仪器

AB Sciex Triple Quad 5500型串联四级杆线性离子阱质谱仪,包括电喷雾离子化源和三重四级杆线性离子阱串联质量分析器(美国Applied Biosystems公司);LC-30A型UPLC仪,配有30AD型二元高压梯度泵、CTO30A型柱温箱、SIL30AC型自动进样器(日本Shimadzu公司);Analyst1.6.1型数据采集软件(美国Applied Biosystems公司);AB204-S标准型电子分析天平(瑞士Mettler-Toledo公司);KQ3200E型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司,功率:120 W,频率:40 kHz);XW-80A型旋涡混合器(上海精科实业有限公司)。

### 1.2 药品与试剂

苦黄注射液(常熟雷允上制药有限公司,批号:1509251、1601291、1603221,规格:10 mL/支);苦参碱对照品(北京北纳创联生物技术研究院,批号:140729)、槐果碱对照品(北京北纳创联生物技术研究院,批号:14082711)、大黄素对照品(上海源叶生物科技有限公司,批号:SA0428XA14)、大黄酸对照品(上海源叶生物科技有限公司,批号:HS0905KA13)、绿原酸对照品(中国食品药品检定研究院,批号:110753-200413)、柴胡皂苷a对照品(南京春秋生物工程科技有限公司,批号:CHZA20151217)、芦荟大黄素对照品(南京春秋生物工程科技有限公司,批号:LHDH20140306)纯度均 $\geq 98\%$ ;甲醇和甲酸为色谱纯,水为娃哈哈纯净水。

## 2 方法与结果

### 2.1 试验条件

2.1.1 色谱条件 色谱柱:Phenomenex Kinetex C<sub>18</sub>(50 mm $\times$ 2.1 mm, 5  $\mu$ m);流动相:甲醇(A)-0.1%甲酸(B),梯度洗脱(0~3.5 min, 20%~50% A; 3.5~5 min, 50%~75% A; 5~8 min, 75%~95% A; 8~11 min, 95% A);流速:0.5 mL/min;柱温:20  $^{\circ}$ C;进样器温度:10  $^{\circ}$ C;平衡时间:4 min;进样量:5  $\mu$ L。

2.1.2 质谱条件 离子化模式:电喷雾电离;源喷射电压:5 500、-4 500 V;雾化气压力:4.14 $\times 10^5$  Pa;加热气压力:4.48 $\times 10^5$  Pa;帘气压力:1.72 $\times 10^5$  Pa;离子源温度:600  $^{\circ}$ C;工作模式:多反应监测模式(MRM),正负离子同时监测。苦参碱、槐果碱、芦荟大黄素采用正离子模式(ESI<sup>+</sup>)监测,大黄素、大黄酸、绿原酸、柴胡皂苷a采用负离子模式(ESI<sup>-</sup>)监测。各待测成分的保留时间( $t_R$ )与主要质谱参数见表1。

### 2.2 溶液的制备

表1 保留时间与主要质谱参数

Tab 1 Retention time and main mass parameters

待测成分	$t_R$ , min	电离模式	监测离子对, $m/z$	解簇电压, V	碰撞能, eV
苦参碱	2.86	[M+H] <sup>+</sup>	249.2/148.1	130	44
槐果碱	3.06	[M+H] <sup>+</sup>	247.2/136.1	100	42
大黄素	9.16	[M-H] <sup>-</sup>	269.0/225.0	-130	36
大黄酸	8.50	[M-H] <sup>-</sup>	283.1/239.0	-90	22
绿原酸	3.68	[M-H] <sup>-</sup>	353.2/190.9	-75	-23
柴胡皂苷a	7.03	[M-H] <sup>-</sup>	825.5/779.4	-12	30
芦荟大黄素	7.43	[M+H] <sup>+</sup>	271.1/225.0	80	32

2.2.1 混合对照品溶液 分别精密称取苦参碱、槐果碱、大黄素、大黄酸、绿原酸、柴胡皂苷a、芦荟大黄素对照品各适量,分别置于100 mL量瓶中,加甲醇溶解并定容,摇匀,得质量浓度分别为1.60、1.40、0.20、3.36、1.92、1.89、7.82  $\mu$ g/mL的单一对照品贮备液。精密量取上述单一对照品贮备液各适量,置于同一10 mL量瓶中,加50%甲醇溶液定容,摇匀,得含苦参碱、槐果碱、大黄素、大黄酸、绿原酸、柴胡皂苷a、芦荟大黄素质量浓度分别为80、70、10.5、168、96、94.5、391 ng/mL的混合对照品溶液,于4  $^{\circ}$ C下冷藏备用。

2.2.2 供试品溶液 精密量取样品5 mL,置于50 mL量瓶中,加甲醇-水(1:1, V/V)定容,经0.22  $\mu$ m微孔滤膜滤过,即得稀释10倍的供试品溶液1,用于柴胡皂苷a和芦荟大黄素的测定。将供试品溶液1继续用甲醇-水(1:1, V/V)稀释,得稀释4 000倍的供试品溶液2,用于苦参碱、槐果碱、大黄素、大黄酸、绿原酸的测定。

2.2.3 阴性对照溶液 按样品的制备工艺和处方比例,分别制备缺苦参的阴性样品、缺大黄的阴性样品、缺茵陈的阴性样品和缺柴胡的阴性样品,再按“2.2.2”项下方法分别制备阴性对照溶液。

### 2.3 专属性试验

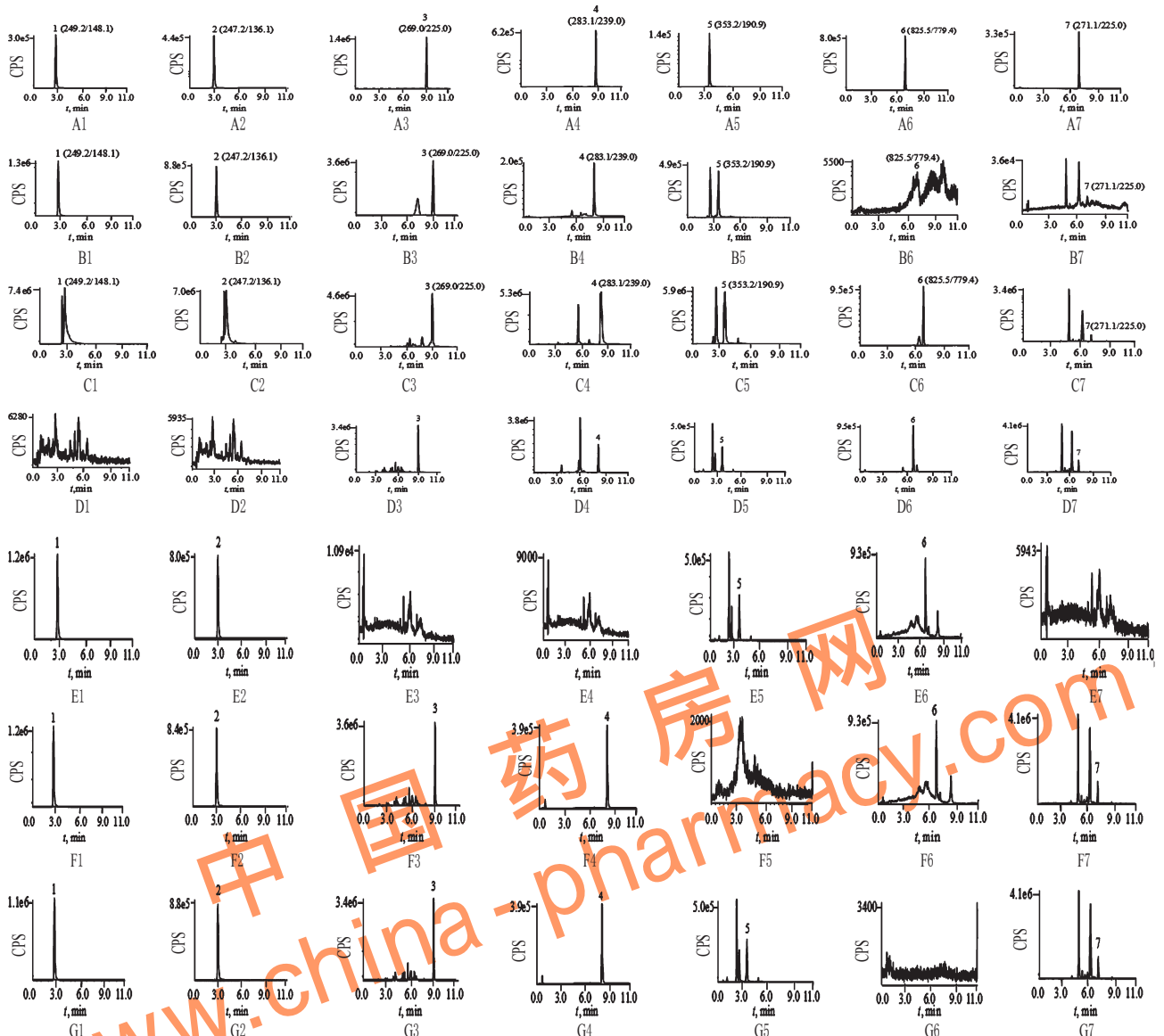
取“2.2”项下混合对照品溶液、供试品溶液1和2、缺苦参的阴性对照溶液、缺大黄的阴性对照溶液、缺茵陈的阴性对照溶液、缺柴胡的阴性对照溶液各适量,按“2.1”项下试验条件进样分析,记录色谱,详见图1。结果表明,4种阴性对照溶液均未在各待测成分相应出峰位置检测到干扰成分,专属性良好。

### 2.4 线性关系考察

取“2.2.1”项下混合对照品溶液1、2、4、6、8、10 mL,各置于10 mL量瓶中,加50%甲醇溶液定容,摇匀,即得系列混合对照品溶液。取上述系列混合对照品溶液各适量,按“2.1”项下试验条件进样测定,记录峰面积。以待测成分质量浓度( $x$ , ng/mL)为横坐标、离子响应强度( $y$ )为纵坐标进行线性回归,回归方程与线性范围见表2。

### 2.5 定量限与检测限考察

取“2.2.1”项下混合对照品溶液适量,等倍逐步稀释,按“2.1”项下试验条件连续进样测定6次,记录离子响应强度。当信噪比为10:1时,得定量限(LOQ);当信噪比为3:1时,得检测限(LOD)。结果,苦参碱、槐果



A1~A7. 混合对照品; B1~B7. 供试品(稀释4 000倍); C1~C7. 供试品(稀释10倍); D1~D7. 缺苦参的阴性对照; E1~E7. 缺大黄的阴性对照; F1~F7. 缺茵陈的阴性对照; G1~G7. 缺柴胡的阴性对照; 1. 苦参碱; 2. 槐果碱; 3. 大黄素; 4. 大黄酸; 5. 绿原酸; 6. 柴胡皂苷 a; 7. 芦荟大黄素  
A1~A7. mixed control; B1~B7. test samples(diluted 4 000 times); C1~C7. test samples(diluted 10 times); D1~D7. negative control without *Sophora flavescens*; E1~E7. negative control without *Rhei Radix et Rhizome*; F1~F7. negative control without *Artemisiae Scopariae Herba*; G1~G7. negative control without *Bupleuri Radix*; 1. matrine; 2. sophocarpine; 3. emodin; 4. rhein; 5. chlorogenic acid; 6. sarkosaponin a; 7. aloe-emodin

图1 提取离子流色谱图

Fig 1 Extracted ion chromatogram

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	r	线性范围, ng/mL
苦参碱	$y=3.89 \times 10^5 x + 7.51 \times 10^4$	0.999 3	1.25~80.0
槐果碱	$y=2.20 \times 10^5 x + 2.58 \times 10^4$	0.999 5	1.10~70.0
大黄素	$y=1.19 \times 10^5 x + 4.55 \times 10^4$	0.999 3	0.16~10.5
大黄酸	$y=4.39 \times 10^5 x + 2.57 \times 10^5$	0.999 3	2.61~168
绿原酸	$y=3.59 \times 10^5 x + 8.02 \times 10^3$	0.999 3	1.50~96.0
柴胡皂苷 a	$y=4.36 \times 10^5 x + 1.17 \times 10^4$	0.999 6	1.48~94.5
芦荟大黄素	$y=1.93 \times 10^5 x + 2.52 \times 10^4$	0.999 1	6.11~391

碱、大黄素、大黄酸、绿原酸、柴胡皂苷 a、芦荟大黄素的 LOQ 分别为 0.061、0.109、0.041、1.313、0.500、0.492、3.055 ng/mL; LOD 分别为 0.025、0.054、0.016、0.656、

0.150、0.148、1.528 ng/mL。

## 2.6 精密度试验

取“2.2.1”项下混合对照品溶液适量,按“2.1”项下试验条件连续进样测定6次,记录离子响应强度。结果,苦参碱、槐果碱、大黄素、大黄酸、绿原酸、柴胡皂苷 a、芦荟大黄素离子响应强度的 RSD 均 < 2.0% (n=6),表明仪器精密度良好。

## 2.7 稳定性试验

取“2.2.2”项下供试品溶液 1 和 2(批号:1509251)适量,分别于室温下放置 0、2、4、8、12 h 时按“2.1”项下试验条件进样测定,记录离子响应强度。结果,苦参碱、槐果

碱、大黄素、大黄酸、绿原酸、柴胡皂苷 a、芦荟大黄素离子响应强度的 RSD 均 < 3.0% (n=5), 表明不同稀释倍数的供试品溶液在室温下放置 12 h 内稳定性良好。

### 2.8 重复性试验

取“2.2.2”项下供试品溶液 1 和 2(批号:1509251)适量,分别按“2.1”项下试验条件进样测定,记录离子响应强度。结果,苦参碱、槐果碱、大黄素、大黄酸、绿原酸、柴胡皂苷 a、芦荟大黄素离子响应强度的 RSD 均 ≤ 3.0% (n=6),表明本方法重复性良好。

### 2.9 加样回收率试验

精密量取样品(批号:1509251)0.5 mL,共 6 份,分别加入一定质量的待测成分对照品,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液 1 和 2,再按“2.1”项下试验条件进样测定,记录离子响应强度并计算加样回收率,结果见表 3。

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, μg	加入量, μg	测得量, μg	加样回收率, %	平均加样回收率, %	RSD, %
苦参碱	110.6	110.0	215.6	95.45	97.06	1.43
	110.6	110.0	220.0	99.45		
	110.6	110.0	217.6	97.27		
	110.6	110.0	216.9	96.64		
	110.6	110.0	216.3	96.09		
	110.6	110.0	217.8	97.45		
槐果碱	60.80	60.00	121.3	100.83	99.39	1.50
	60.80	60.00	120.1	98.83		
	60.80	60.00	120.9	100.17		
	60.80	60.00	119.3	97.50		
	60.80	60.00	119.6	98.00		
	60.80	60.00	121.4	101.00		
大黄素	1.494	1.500	2.929	95.67	98.81	2.85
	1.494	1.500	3.015	101.40		
	1.494	1.500	2.935	96.07		
	1.494	1.500	2.951	97.13		
	1.494	1.500	3.007	100.87		
	1.494	1.500	3.020	101.73		
大黄酸	52.60	53.00	105.1	99.06	98.65	1.16
	52.60	53.00	104.8	98.49		
	52.60	53.00	104.9	98.68		
	52.60	53.00	104.5	97.92		
	52.60	53.00	105.9	100.57		
	52.60	53.00	104.1	97.17		
绿原酸	21.20	21.00	41.76	97.90	96.99	1.71
	21.20	21.00	41.21	95.29		
	21.20	21.00	41.39	96.14		
	21.20	21.00	41.89	98.52		
	21.20	21.00	41.19	95.19		
	21.20	21.00	41.97	98.90		
柴胡皂苷 a	0.012 5	0.013 0	0.024 9	95.38	98.46	3.39
	0.012 5	0.013 0	0.025 6	100.77		
	0.012 5	0.013 0	0.026 0	103.85		
	0.012 5	0.013 0	0.025 1	96.92		
	0.012 5	0.013 0	0.025 3	98.46		
	0.012 5	0.013 0	0.024 9	95.38		
芦荟大黄素	1.275	1.200	2.439	97.00	98.04	1.20
	1.275	1.200	2.421	95.50		
	1.275	1.200	2.460	98.75		

续表 3

Continued tab 3

待测成分	样品含量, μg	加入量, μg	测得量, μg	加样回收率, %	平均加样回收率, %	RSD, %
	1.275	1.200	2.459	98.67		
	1.275	1.200	2.489	101.17		
	1.275	1.200	2.441	97.17		

### 2.10 样品含量测定

取 3 批样品各适量,分别按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液 1 和 2,再按“2.1”项下试验条件进样测定,记录离子响应强度并计算样品含量,结果见表 4。

表 4 样品含量测定结果 (n=3, μg/mL)

Tab 4 Results of content determination of samples (n=3, μg/mL)

样品批号	苦参碱	槐果碱	大黄素	大黄酸	绿原酸	柴胡皂苷 a	芦荟大黄素
1509251	221.2	121.6	2.988	105.2	42.40	0.024 9	2.55
1601291	224.0	124.4	2.136	130.8	44.00	0.023 6	2.04
1603221	229.2	116.8	2.784	113.6	39.72	0.023 0	2.60

### 3 讨论

本试验中苦参碱、槐果碱、芦荟大黄素在正离子模式下响应较好,大黄素、大黄酸、绿原酸、柴胡皂苷 a 在负离子模式下响应值较好<sup>[7-8]</sup>,故采用正负离子同时监测模式,可在同一分析周期内同时测定 7 种成分,大大缩短分析时间,提高分析效率。

柴胡皂苷 a、芦荟大黄素响应较小,故在供试品溶液稀释 10 倍时进行测定,以使测定结果更为准确、可靠<sup>[9]</sup>;而其他成分在此稀释倍数下进行测定响应过大,测定结果不准确<sup>[10-11]</sup>,故在稀释 4 000 倍时进行测定。

综上所述,本方法简便、高效、准确、可靠,适用于同时测定苦黄注射液中 7 种有效成分的含量<sup>[10-11]</sup>。

### 参考文献

- [1] 陈慧芝,包海鹰,诺敏,等.苦参的化学成分和药理作用及临床研究概况[J].人参研究,2010(3):31-37.
- [2] 张宁,陶晨,杜建霞,等.苦黄注射液不同剂量联合西药常规治疗病毒性肝炎高胆红素血症的临床研究[J].中医药学报,2016,44(4):91-93.
- [3] 吴飞跃,俞松林.HPLC 同时测定苦黄注射液中生物碱和大黄蒽醌类成分的含量[J].中国现代应用药学,2016,33(1):79-83.
- [4] 吴永江,陈建军,程翼宇.RP-HPLC 同时测定苦黄注射液中 4 种大黄蒽醌类成分含量[J].中国中药杂志,2004,29(11):1041-1044.
- [5] 顾蔚华,许奇.HPLC 测定苦黄注射液中 2 种蒽醌类成分的含量[J].中成药,2006,28(7):1075-1076.
- [6] 毛春芳,施忠,罗琳,等.HPLC 法同时测定大黄中芦荟大黄素等 11 种成分的含量[J].中草药,2014,45(16):2400-2403.
- [7] 姜丽,余兰彬,张启云,等.基于 UPLC-MS/MS 大承气汤多种活性成分大鼠体内药动学研究[J].中草药,2015,46(19):2908-2915.
- [8] 王嘉林,王斯坦.HPLC-MS/MS 测定小柴胡颗粒中柴胡

# 金银花炒炭前后6种成分的含量变化研究<sup>△</sup>

吴明侠\*,李 会,崔永霞#,侯珊珊,丁亚慧(河南中医药大学分析测试中心,郑州 450046)

中图分类号 R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2017)15-2112-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2017.15.27

**摘要** 目的:建立同时测定金银花中6种成分含量的方法,并研究金银花炒炭前后上述成分含量的变化。方法:采用超高效液相色谱法。色谱柱为Agilent Eclipse Plus C<sub>18</sub> RRHD,流动相为0.1%磷酸溶液-乙腈(梯度洗脱),流速为0.2 mL/min,检测波长为350 nm,柱温为25 ℃,进样量为1 μL。结果:绿原酸、芦丁、木犀草苷、异绿原酸A、异绿原酸B、异绿原酸C检测进样量线性范围分别为21.2~424 μg( $r=0.999\ 3$ )、1.17~23 μg( $r=0.999\ 5$ )、2.18~43 μg( $r=0.999\ 8$ )、5.10~102 μg( $r=0.999\ 3$ )、2.60~52 μg( $r=0.999\ 1$ )、4.95~99 μg( $r=0.999\ 8$ );精密性、稳定性、重复性试验的RSD<2.0%;加样回收率分别为97.11%~99.76%(RSD=1.20%, $n=6$ )、95.20%~99.90%(RSD=2.20%, $n=6$ )、95.71%~100.30%(RSD=2.20%, $n=6$ )、95.00%~96.98%(RSD=0.88%, $n=6$ )、96.47%~103.00%(RSD=2.40%, $n=6$ )、95.78%~103.80%(RSD=3.20%, $n=6$ )。与炮制前比较,炮制后的金银花中芦丁、异绿原酸B、异绿原酸C的含量增加,绿原酸、异绿原酸A的含量明显下降,而木犀草苷的含量无明显变化。结论:该方法操作简便,精密度、稳定性、重复性好,可用于金银花中6种成分含量的同时测定;金银花炒炭前后化学成分有一定变化。

**关键词** 金银花;炒炭;超高效液相色谱法;含量;变化

## Study on Content Changes of 6 Components in *Lonicera japonica* before and after Carbonized

WU Mingxia, LI Hui, CUI Yongxia, HOU Shanshan, DING Yahui (Center of Analysis and Testing Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish the method for simultaneous determination of 6 components in *Lonicera japonica*, and to study the content changes of them before and after before and after carbonized. METHODS: UPLC method was adopted. The determination was performed on Agilent Eclipse Plus C<sub>18</sub> RRHD column with mobile phase consisting of 0.1% phosphoric acid solution-acetonitrile (gradient elution) at the flow rate of 0.2 mL/min. The detection wavelength was set at 350 nm, and column temperature was 25 ℃. The sample size was 1 μL. RESULTS: The linear ranges of chlorogenic acid, rutin, galuteolin, isochlorogenic acid A, isochlorogenic acid B and isochlorogenic acid C were 21.2-424 μg( $r=0.999\ 3$ ), 1.17-23 μg( $r=0.999\ 5$ ), 2.18-43 μg( $r=0.999\ 8$ ), 5.10-102 μg( $r=0.999\ 3$ ), 2.60-52 μg( $r=0.999\ 1$ ), 4.95-99 μg( $r=0.999\ 8$ ), respectively. RSDs of precision, stability and repeatability tests were all lower than 2.0%. Recoveries were 97.11%-99.76%(RSD=1.20%, $n=6$ ), 95.20%-99.90%(RSD=2.20%, $n=6$ ), 95.71%-100.30%(RSD=2.20%, $n=6$ ), 95.00%-96.98%(RSD=0.88%, $n=6$ ), 96.47%-103.00%(RSD=2.40%, $n=6$ ), 95.78%-103.80%(RSD=3.20%, $n=6$ ). Compared with before processing, the contents of rutin, isochlorogenic acid B and isochlorogenic acid C in *L. japonica* were increased along with processing, the contents of chlorogenic acid and isochlorogenic acid A were decreased significantly, while the content of galuteolin had no significant change. CONCLUSIONS: The method is simple, precise, stable and repeatable, and can be used for simultaneous determination of 6 components in *L. japonica*. Those chemical components have certain changes before and after carbonized.

**KEYWORDS** *Lonicera japonica*; Carbonize; UPLC; Content; Change

金银花炭收载于1990年版《中国药典》、1988年版《全国中药炮制规范》及各省炮制规范。金银花炒炭后

寒性减弱,并具涩性,有止血作用,多用于血痢、崩漏,亦可用于吐血、衄血<sup>[1]</sup>。目前,国内外对金银花药材的化学

皂苷a与柴胡皂苷d[J].安徽医药,2015,19(3):453-456.

[9] 靳淑敏,王宏侠,田玉路,等.三黄糖敏汤中9种化学成分 LC-MS/MS法测定[J].中国医药工业杂志,2014,45

△基金项目:河南省高等学校重点科研项目(No.17A360022);河南中医药大学科研苗圃工程项目(No.MP2016-17)

\*副教授。研究方向:中药质量控制和新药研发。E-mail: mxwu711@163.com

#通信作者:副教授。研究方向:中药质量控制和新药研发。E-mail: 1020076356@qq.com

(9):876-879.

[10] 吴茵,王蕊,任炳楠,等.UPLC-MS/MS法同时测定沙参麦冬汤中9种成分的含量[J].中国药房,2016,27(9):1240-1244.

[11] 吴茵,穆华,刘勇,等.UPLC-MS/MS法同时测定玄麦甘桔颗粒中8种有效成分[J].中草药,2015,46(20):3034-3038.

(收稿日期:2016-11-02 修回日期:2017-03-21)

(编辑:刘 柳)