朱砂根、山豆根及其药对的HPLC指纹图谱建立及5种化学成分的含量测定Δ

陈　赟[1*]，石　慧[1,2]，俸婷婷[1,2]，张丽艳[1]，董　秀[3]，张金鹤[1]，黄　蓓[4]，周　英[1,2#]（1.贵州中医药大学药学院，贵阳　550025；2.贵州中医药大学药食两用资源应用与开发研究中心，贵阳　550025；3.贵州三力制药股份有限公司，贵州 安顺　561100；4.贵州省药品监督管理局检查中心，贵阳　550025）

中图分类号　R917；R284.1　　**文献标志码**　A　　**文章编号**　1001-0408（2023）16-1949-06
DOI　10.6039/j.issn.1001-0408.2023.16.06

摘　要　目的　建立朱砂根、山豆根及其药对的指纹图谱，同时测定其中5种成分的含量。**方法**　以水为溶剂，结合冷冻干燥技术制备朱砂根、山豆根单煎冻干粉和朱砂根-山豆根药对合煎冻干粉样品；采用高效液相色谱（HPLC）法建立3种冻干粉样品的指纹图谱，并同法测定没食子酸等5种成分的含量。**结果**　朱砂根、山豆根单煎冻干粉样品和朱砂根-山豆根药对合煎冻干粉样品分别有5、10、14个共有峰；与对照图谱的相似度均大于0.90；朱砂根-山豆根药对合煎冻干粉样品中，指认3号峰为没食子酸、4号峰为苦参碱、6号峰为氧化苦参碱、8号峰为岩白菜素、14号峰为三叶豆紫檀苷。朱砂根单煎冻干粉样品中，没食子酸、岩白菜素的平均含量分别为0.499 3、4.962 6 mg/g；山豆根单煎冻干粉样品中，苦参碱、氧化苦参碱、三叶豆紫檀苷的平均含量分别为3.046 0、2.336 6、0.278 6 mg/g；朱砂根-山豆根药对合煎冻干粉样品中，没食子酸、苦参碱、氧化苦参碱、岩白菜素、三叶豆紫檀苷的平均含量分别为0.560 6、2.548 7、1.382 2、5.960 7、0.279 1 mg/g，转移率为8.87%～513.19%。**结论**　所建立指纹图谱及含量测定方法稳定、可行，可用于朱砂根、山豆根及朱砂根-山豆根药对的质量控制；朱砂根-山豆根药对合煎冻干粉样品中苦参碱、氧化苦参碱的平均含量降低。

关键词　朱砂根；山豆根；药对；指纹图谱；含量测定；高效液相色谱法

Establishment of HPLC fingerprints for *Ardisia crenata*, *Sophora tonkinensis* and their couplet medicines and content determination of 5 chemical components

CHEN Yun[1], SHI Hui[1,2], FENG Tingting[1,2], ZHANG Liyan[1], DONG Xiu[3], ZHANG Jinhe[1], HUANG Bei[4], ZHOU Ying[1,2]（1. School of Pharmacy, Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550025, China; 2. Research Center for Application and Development of Medicine and Food Dual-use Resource, Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550025, China; 3. Guizhou Sanli Pharmaceutical Co., Ltd., Guizhou Anshun 561100, China; 4. Inspection Center of Guizhou Provincial Drug Administration, Guiyang 550025, China）

ABSTRACT　OBJECTIVE To establish the fingerprints of *Ardisia crenata*, *Sophora tonkinensis* and their couplet medicines, and to determine the contents of five components in them. **METHODS** Using water as solvent, single lyophilized powder of *A. crenata* and *S. tonkinensis* and combined lyophilized powder of their couplet medicines were prepared by combining lyophilization technology. The fingerprints of three lyophilized powder samples were established by using high-performance liquid chromatography (HPLC), and the contents of 5 kinds of components such as gallic acid were determined simultaneously. **RESULTS** There were 5, 10 and 14 common peaks in the fingerprints for single lyophilized powder of *A. crenata* and *S. tonkinensis* and combined lyophilized powder of their couplet medicines; the similarities of them with the control fingerprints were all greater than 0.90. For combined lyophilized powder of couplet medicines, peak 3 was identified as gallic acid, peak 4 as matrine, peak 6 as oxymatrine, peak 8 as bergenin, and peak 14 as trifolirhizin. In single lyophilized powder of *A. crenata*, the average contents of gallic acid and bergenin were 0.499 3 and 4.962 6 mg/g, respectively. In single lyophilized powder of *S. tonkinensis*, the average contents of matrine, oxymatrine and

Δ **基金项目**　国家重点研发计划项目（No.2018YFC1708100）；贵州省科技计划项目（No.黔科合基础-ZK〔2022〕一般483，No.黔科合成果〔2021〕一般137）；贵州省教育厅高等学校科学研究项目（青年项目）（No.黔教技〔2022〕216号）

＊**第一作者**　硕士研究生。研究方向：中药民族药质量控制及中药药理。E-mail：chen_yun1997@163.com

＃**通信作者**　教授，博士生导师，博士。研究方向：中药药效物质基础与质量控制、中药新药开发。E-mail：yingzhou71@sina.com

trifolirhizin were 3.046 0, 2.336 6 and 0.278 6 mg/g, respectively. In combined lyophilized powder of couplet medicines, the average contents of gallic acid, matrine, oxymatrine, bergenin and trifolirhizin were 0.560 6, 2.548 7, 1.382 2, 5.960 7 and 0.279 1 mg/g, respectively. The transfer rates were 8.87%-513.19%. **CONCLUSIONS** The established fingerprint and content determination methods are stable and feasible, and can be used for the quality control of *A. crenata* and *S. tonkinensis* and their couplet medicines. The average contents of matrine and oxymatrine in combined lyophilized powder of *A. crenata-S. tonkinensis* couplet medicines are decreased.

KEYWORDS *Ardisia crenata*; *Sophora tonkinensis*; couplet medicines; fingerprint; content determination; high-performance liquid chromatography

朱砂根为紫金牛科植物朱砂根 *Ardisia crenata* Sims 的干燥根，味微苦、辛，性平，长于解毒消肿、活血止痛、祛风除湿，用于治疗咽喉肿痛、风湿痹痛、跌打损伤；朱砂根含有香豆素类等成分，具有抗炎、抗菌、抗病毒等作用[1]。山豆根为豆科植物越南槐 *Sophora tonkinensis* Gagnep. 的干燥根和根茎，味苦，性寒，长于清热解毒、消肿利咽，用于治疗火毒蕴结、乳蛾喉痹、咽喉肿痛、齿龈肿痛、口舌生疮[2]；山豆根含有生物碱、黄酮类等成分，具有抗炎、抗肿瘤、抗病毒等作用[3—6]。两药合用，有增强利咽之效，如朱砂根-山豆根药对是苗药开喉剑喷雾剂的主要组成，两药用量超所用药材总量的70%。

2020年《中国药典》（一部）规定，以岩白菜素作为朱砂根的质控成分，以苦参碱、氧化苦参碱的总含量作为山豆根的质控评价指标[2]。没食子酸是一种天然多酚类化合物，具有抗氧化、抗菌、抗炎等多种生物活性；黄酮类成分被认为是山豆根发挥药效和产生毒性作用的物质基础之一[7]。同时，笔者通过文献查询发现，目前尚无朱砂根-山豆根药对的质量标准。考虑到中药成分复杂，单一成分难以全面反映药材质量，因此有必要对该药对进行质量控制。基于此，本研究拟采用高效液相色谱（HPLC）法建立朱砂根、山豆根及朱砂根-山豆根药对的指纹图谱，并同法测定没食子酸、苦参碱、氧化苦参碱、岩白菜素和三叶豆紫檀苷的含量，旨在为朱砂根-山豆根药对及其制剂的质量控制提供参考。

1 材料

1.1 主要仪器

本研究所用主要仪器包括 Agilent 1260 型 HPLC 仪（美国 Agilent 公司）、AG135 型电子天平（瑞士 Mettler Toledo 公司）、KQ-500DE 型数控超声波清洗器（昆山市超声仪器有限公司）等。

1.2 主要药品与试剂

没食子酸对照品（批号 PS000688，纯度≥98%）、苦参碱对照品（批号 PS011495，纯度≥98%）、氧化苦参碱对照品（批号 PS011495，纯度≥98%）、岩白菜素对照品（批号 PS000991，纯度≥98%）、三叶豆紫檀苷对照品（批号 PS012410，纯度≥98%）均购自成都普思生物科技股份有限公司；乙腈为色谱纯，磷酸为优级纯，其余试剂均为分析纯，水为超纯水。

10批朱砂根饮片（编号 Z1～Z10）、山豆根饮片（编号 S1～S10）中，Z1～Z5、S1～S5样品由贵州三力制药有限公司提供，Z6～Z10、S6～S10样品为本课题组野外采集后加工所得。所有饮片经贵州中医药大学药学院魏升华教授鉴定，分别为紫金牛科植物朱砂根 *A. crenata* Sims 的干燥根、豆科植物越南槐 *S. tonkinensis* Gagnep. 的干燥根和根茎。取10批朱砂根、山豆根饮片，粉碎，取粗粉（过二号筛）各 10 g，两者依次配对，得到10批朱砂根-山豆根药对（编号 YZS1～YZS10）。朱砂根、山豆根饮片来源信息见表1。

表1 朱砂根、山豆根饮片来源信息

药对编号	朱砂根			山豆根		
	编号	批号	产地/采集地	编号	批号	产地/采集地
YZS1	Z1	20210830	广西	S1	20210830	广西
YZS2	Z2	20220402	重庆	S2	20220402	重庆
YZS3	Z3	20201120	广西	S3	20201120	广西
YZS4	Z4	20210304	重庆	S4	20201101	广西
YZS5	Z5	20210622	广西	S5	20210601	广西
YZS6	Z6	20190601	贵州贵阳	S6	20200815	广东云浮
YZS7	Z7	20190701	贵州黔南州	S7	20210801	广西
YZS8	Z8	20210101	贵州龙里	S8	20190401	广西
YZS9	Z9	20190601	江西九江	S9	20210110	广西
YZS10	Z10	20210701	贵州安顺	S10	20210101	广西

2 方法与结果

2.1 色谱条件

以 Agilent InfinityLab Poroshell HPH C_{18}（250 mm×4.6 mm，4 μm）为色谱柱，以乙腈（A）-0.2%磷酸溶液（B）为流动相进行梯度洗脱（0～14 min，5%A；14～35 min，5%A→30%A；35～40 min，30%A→50%A；40～50 min，50%A→60%A）；流速为 0.7 mL/min；检测波长为 210 nm；柱温为 30 ℃；进样量为 10 μL。

2.2 单煎、合煎冻干粉样品的制备

2.2.1 朱砂根、山豆根的单煎冻干粉样品

分别取10批朱砂根、山豆根饮片，粉碎，精密称取粗粉（过二号筛）各 10 g，分别置于圆底烧瓶内，加入8倍量

水，浸泡4 h，煎煮2次（第1次煎煮2 h，第2次煎煮1 h）；合并2次煎煮液，用纱布（8层）滤过，置于70 ℃水浴中浓缩至近干，冷冻干燥，分别得朱砂根单煎冻干粉（编号为DZ1～DZ10）、山豆根单煎冻干粉（编号为DS1～DS10），每克冻干粉约相当于生药量5～7 g。

2.2.2　朱砂根-山豆根药对的合煎冻干粉样品

分别精密称取“1.2”项下10批朱砂根-山豆根药对，按“2.2.1”项下方法操作，即得朱砂根-山豆根药对的合煎冻干粉（编号为ZS1～ZS10），每克冻干粉约相当于生药量6～8 g。

2.3　溶液的制备

2.3.1　单一对照品溶液

称取没食子酸、苦参碱、氧化苦参碱、岩白菜素、三叶豆紫檀苷对照品适量，精密称定，加入10%甲醇，制成上述各成分质量浓度分别为2.358、2.056、1.020、1.083、1.010 mg/mL的单一对照品溶液。

2.3.2　混合对照品溶液

分别吸取“2.3.1”项下各单一对照品溶液适量，加入10%甲醇，制成上述各成分质量浓度分别为0.047、0.123、0.122、0.303、0.024 mg/mL的混合对照品溶液，于4 ℃冰箱中保存，备用。

2.3.3　供试品溶液

称取上述单煎冻干粉0.05 g、合煎冻干粉0.1 g，精密称定，分别置于具塞锥形瓶中，精密加入10%甲醇20 mL，密塞，称重，超声（功率500 W、频率40 kHz）处理30 min；放冷，再次称重，用10%甲醇补足减失的重量，摇匀；取上清液，经0.22 μm微孔滤膜滤过，取续滤液，即得各供试品溶液。

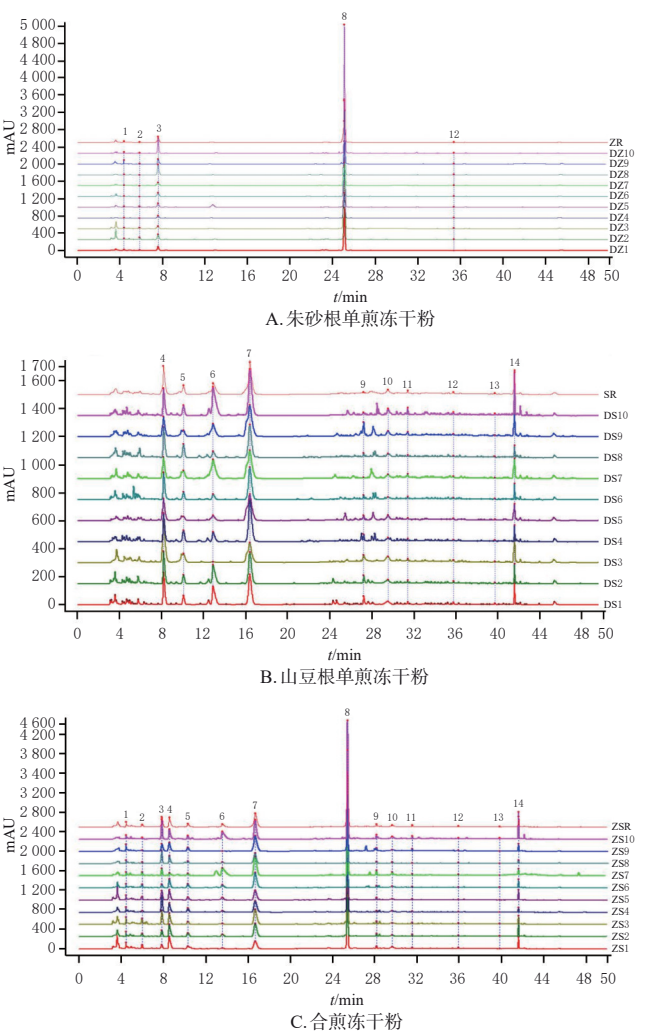
2.4　HPLC指纹图谱的建立

2.4.1　方法学考察

（1）取“2.3.3”项下合煎冻干粉供试品溶液（编号ZS8），按“2.1”项下色谱条件连续进样6次，以岩白菜素峰为参照，计算得各共有峰相对保留时间的RSD为0.23%～1.02%（n=6），相对峰面积的RSD为0.19%～1.75%（n=6），表明方法精密度良好。（2）取“2.2.2”项下合煎冻干粉样品（编号ZS8），共6份，按“2.3.3”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，以岩白菜素峰为参照，计算得各共有峰相对保留时间的RSD为0.04%～0.33%（n=6），相对峰面积的RSD为0.99%～2.90%（n=6），表明方法重复性良好。（3）取“2.3.3”项下合煎冻干粉供试品溶液（编号ZS8），分别于室温下放置0、3、6、12、24、48 h时按“2.1”项下色谱条件进样测定，以岩白菜素峰为参照，计算得各共有峰相对保留时间的RSD为0.12%～0.63%（n=6），相对峰面积的RSD为0.24%～2.77%（n=6），表明供试品溶液在室温下放置48 h内稳定性良好。

2.4.2　指纹图谱建立

（1）分别取10批朱砂根、山豆根单煎冻干粉供试品溶液和合煎冻干粉供试品溶液，按“2.1”项下色谱条件进样测定，记录色谱图。将图谱数据导入《中药色谱指纹图谱相似度评价系统（2012版）》，分别以DZ1、DS1、ZS1为参照图谱，采用中位数法，以多点校正进行色谱峰自动匹配，生成对应的叠加指纹图谱和对照图谱（ZR、SR、ZSR）。结果显示，10批朱砂根单煎冻干粉样品图谱中有5个共有峰，10批山豆根单煎冻干粉样品图谱中有10个共有峰，10批合煎冻干粉样品图谱中有14个共有峰。结果见图1。



A. 朱砂根单煎冻干粉

B. 山豆根单煎冻干粉

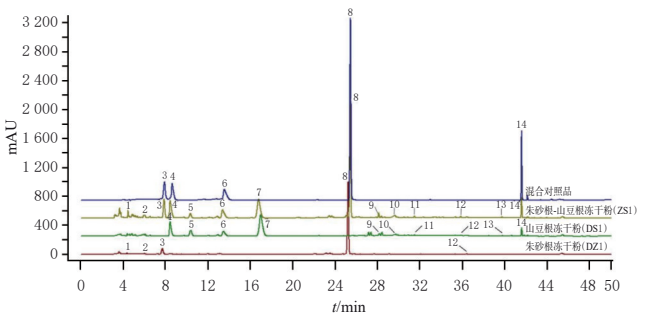
C. 合煎冻干粉

图1　单煎冻干粉、合煎冻干粉样品的HPLC叠加指纹图谱及对照图谱

（2）采用《中药色谱指纹图谱相似度评价系统（2012版）》对朱砂根、山豆根单煎冻干粉和合煎冻干粉样品的指纹图谱进行相似度评价。结果显示，朱砂根单煎冻干粉、山豆根单煎冻干粉、合煎冻干粉样品色谱图与对照

图谱的相似度均大于0.90，表明各样品质量稳定。

（3）将朱砂根、山豆根单煎冻干粉供试品溶液和合煎冻干粉供试品溶液（编号DZ1、DS1、ZS1）的图谱与混合对照品溶液（按“2.1”项下色谱条件进样测定所得）进行对比，结果显示，1～3、8、12号峰来源于朱砂根，4～7、9～14号峰来源于山豆根；通过保留时间结合紫外光谱特征，指认3号峰为没食子酸、4号峰为苦参碱、6号峰为氧化苦参碱、8号峰为岩白菜素、14号峰为三叶豆紫檀苷。结果见图2。



3：没食子酸；4：苦参碱；6：氧化苦参碱；8：岩白菜素；14：三叶豆紫檀苷。

图2　单煎冻干粉、合煎冻干粉供试品溶液和混合对照品溶液的HPLC图

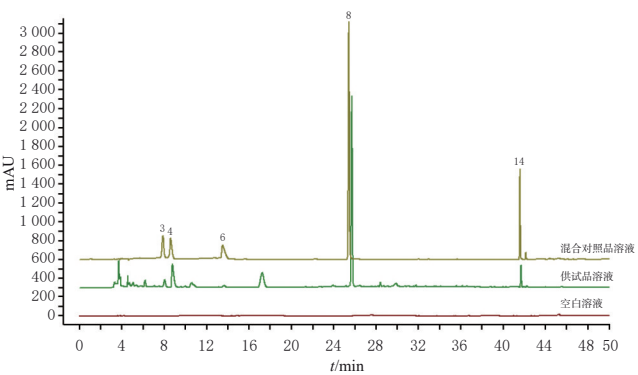
2.4.3　单煎及合煎冻干粉样品中各化学成分峰面积的变化

采用SPSS 26软件，将朱砂根、山豆根单煎冻干粉和合煎冻干粉样品指纹图谱共有峰的峰面积进行对比。数据以$\bar{x}\pm s$表示，两组间比较采用t检验，检验水准$\alpha=0.05$。结果显示，相较于朱砂根单煎冻干粉样品，合煎冻干粉样品中1～2号峰显著升高（$P<0.05$）；3、8号峰的峰面积虽有所升高，但组间比较差异无统计学意义（$P>0.05$）。相较于山豆根单煎冻干粉样本，合煎冻干粉样品中4～7、9、11号峰的峰面积均有所降低，其中6号峰显著降低（$P<0.05$），10、13～14号峰的峰面积虽有所升高，但组间比较差异均无统计学意义（$P>0.05$）；朱砂根、山豆根共有的12号峰的峰面积均较单煎冻干粉样品显著升高（$P<0.05$）。结果见表2。

表2　单煎及合煎冻干粉样品中各化学成分峰面积的变化（$\bar{x}\pm s$，$n=10$）

峰号	成分	峰归属	朱砂根单煎冻干粉样品	山豆根单煎冻干粉样品	合煎冻干粉样品
1		朱砂根	128.45±61.22		339.11±23.57[a]
2		朱砂根	100.65±11.34		467.70±38.66[a]
3	没食子酸	朱砂根	1 740.46±65.45		1 960.16±48.47
4	苦参碱	山豆根		2 715.23±28.95	2 262.67±34.17
5		山豆根		891.48±28.91	844.04±31.11
6	氧化苦参碱	山豆根		1 937.68±71.37	1 117.72±102.64[a]
7		山豆根		5 659.06±19.31	5 609.31±21.63
8	岩白菜素	朱砂根	10 497.14±44.37		12 668.95±36.52
9		山豆根		433.88±61.47	411.34±43.02
10		山豆根		499.29±36.71	587.55±30.26
11		山豆根		144.26±51.13	133.93±45.57
12		朱砂根、山豆根	58.78±41.93	88.59±25.27	107.50±20.36[a]
13		山豆根		58.01±30.96	71.43±41.15
14	三叶豆紫檀苷	山豆根		973.21±40.87	974.77±60.01

a：与单煎冻干粉比较，$P<0.05$。



3：没食子酸；4：苦参碱；6：氧化苦参碱；8：岩白菜素；14：三叶豆紫檀苷。

图3　混合对照品溶液、合煎冻干粉供试品溶液和空白溶液的专属性HPLC图

2.5.2　线性关系考察

分别精密吸取“2.3.1”项下各单一对照品溶液适量，置于同一容量瓶中，加10%甲醇稀释，得不同质量浓度的系列线性溶液。取上述溶液按“2.1”项下色谱条件进样测定，以各成分质量浓度为横坐标（X）、峰面积为纵坐标（Y）进行线性回归，结果见表3。

表3　没食子酸等5种成分的回归方程与线性范围

待测成分	回归方程	r	线性范围/（μg/mL）
没食子酸	$Y=95\,585X-49.241$	0.999 9	5.90～70.74
苦参碱	$Y=24\,268X-56.776$	0.999 1	20.56～246.72
氧化苦参碱	$Y=22\,911X-69.800$	0.999 5	5.10～244.80
岩白菜素	$Y=58\,029X-302.020$	0.999 3	37.91～379.05
三叶豆紫檀苷	$Y=82\,928X+106.880$	0.999 1	3.03～36.36

2.5.3　精密度试验

取“2.3.3”项下合煎冻干粉供试品溶液（编号ZS8），按“2.1”项下色谱条件连续进样6次，记录峰面积。结果显示，没食子酸、苦参碱、氧化苦参碱、岩白菜素、三叶豆紫檀苷峰面积的RSD分别为0.19%、0.37%、1.08%、0.18%、0.75%（$n=6$），表明方法精密度较好。

2.5　目标化学成分的含量测定

2.5.1　专属性试验

精密吸取“2.3.2”项下混合对照品溶液、“2.3.3”项下供试品溶液（编号ZS1）和10%甲醇（空白溶液），按“2.1”项下色谱条件进样测定，记录色谱图。结果显示，在供试品溶液色谱图中，在与混合对照品色谱图相对应的位置上均有相同保留时间的色谱峰，空白溶液无干扰。结果见图3。

2.5.4　重复性试验

取合煎冻干粉样品（编号ZS8）适量，共6份，按“2.3.3”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，记录峰面积并代入标准曲线计算含量。结果显示，没食子酸、苦参碱、氧化苦参碱、岩白菜素、三叶豆紫檀苷含量的RSD分别为2.10%、2.36%、1.93%、2.90%、2.24%（n=6），表明方法重复性良好。

2.5.5　稳定性试验

取“2.3.3”项下合煎冻干粉供试品溶液（编号ZS8），分别于室温下放置0、3、6、12、24、48 h时按“2.1”项下色谱条件进样测定，记录峰面积。结果显示，没食子酸、苦参碱、氧化苦参碱、岩白菜素、三叶豆紫檀苷峰面积的RSD分别为0.13%、1.18%、2.10%、0.18%、2.33%（n=6），表明供试品溶液在室温下放置48 h内稳定性良好。

2.5.6　加样回收率试验

取合煎冻干粉样品（编号ZS8），共6份，每份1.0 g，精密称定，分别精密加入等量的对照品，按“2.3.3”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，记录峰面积并计算加样回收率。结果显示，没食子酸、苦参碱、氧化苦参碱、岩白菜素、三叶豆紫檀苷的平均加样回收率分别为102.46%、101.75%、99.56%、99.66%、100.68%，RSD分别为2.21%、2.42%、1.97%、2.46%、2.78%（n=6），表明方法准确度良好。

2.5.7　样品含量测定及转移率计算

取朱砂根、山豆根单煎冻干粉和合煎冻干粉样品，按“2.3.3”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，记录峰面积并代入标准曲线计算各成分含量，每样品平行测定2次。按下式计算转移率：转移率＝每批合煎冻干粉含量/每批单煎冻干粉含量×100%。结果显示，10批合煎冻干粉样品中没食子酸、苦参碱、氧化苦参碱、岩白菜素和三叶豆紫檀苷的含量分别为0.217 6～0.941 7、0.661 3～3.618 9、0.251 8～3.968 7、3.017 0～8.730 3、0.103 4～0.740 7 mg/g，平均含量分别为0.560 6、2.547 8、1.382 2、5.960 7、0.279 1 mg/g；朱砂根单煎冻干粉样品中没食子酸、岩白菜素的含量分别为0.183 5～1.136 1、1.710 4～9.195 3 mg/g，平均含量分别为0.499 3、4.962 6 mg/g；山豆根单煎冻干粉样品中苦参碱、氧化苦参碱、三叶豆紫檀苷的含量分别为2.401 2～5.334 6、0.201 5～4.890 3、0.098 8～0.480 6 mg/g，平均含量分别为3.046 0、2.336 6、0.278 6 mg/g；没食子酸、苦参碱、氧化苦参碱、岩白菜素和三叶豆紫檀苷的转移率分别为39.52%～513.19%、25.82%～117.26%、8.87%～198.26%、53.38%～233.83%、47.18%～225.33%。除三叶豆紫檀苷外，合煎后其余成分的平均含量都有不同程度的变化，苦参碱、氧化苦参碱的平均含量均有所降低，其中氧化苦参碱降幅最大。结果见表4。

3　讨论

3.1　色谱条件的选择

本课题组前期考察了乙腈-0.2%磷酸溶液、甲醇-0.2%磷酸溶液、乙腈-甲酸-水、甲醇-甲酸-水等流动相体系对各待测成分色谱峰的影响，结果发现，以乙腈-0.2%磷酸溶液为流动相时，所得色谱峰信息较为丰富且数量较多，峰形良好，故选择乙腈-0.2%磷酸溶液作为流动相进行梯度洗脱；同时，本课题组进行了200～800 nm全波长扫描，结果显示，以210 nm为检测波长时，所得色谱信息丰富且基线相对平稳，故选择检测波长为210 nm。

3.2　样品的选择

本研究以主要产区和企业所用原料主要产地的朱砂根-山豆根饮片所配伍的药对为对象，建立了指纹图谱并进行了定量分析。从含量测定结果来看，不同批次样品中各待测成分的含量波动较大，可能与样品产地批次及饮片的产地来源、加工方式、干燥方式、贮藏方式等不同有关，建议可对后续生产过程中的以上因素进行控制。

表4　没食子酸等5种成分的含量测定结果（n=2，mg/g）

序号	没食子酸			苦参碱			氧化苦参碱			岩白菜素			三叶豆紫檀苷		
	单煎[a]	合煎	转移率/%	单煎[b]	合煎	转移率/%	单煎[b]	合煎	转移率/%	单煎[a]	合煎	转移率/%	单煎[b]	合煎	转移率/%
1	0.271 3	0.271 1	99.93	3.086 1	3.618 9	117.26	3.066 5	0.424 0	13.83	3.754 3	7.010 3	186.73	0.233 7	0.312 3	133.63
2	0.394 8	0.372 8	94.43	3.073 1	3.500 7	113.91	3.173 6	1.132 6	35.69	6.287 3	3.356 4	53.38	0.186 7	0.420 7	225.33
3	0.258 3	0.793 3	307.12	5.334 6	3.184 4	59.69	0.201 5	0.399 5	198.26	6.265 9	8.061 9	128.66	0.457 8	0.216 0	47.18
4	0.183 5	0.941 7	513.19	2.660 0	2.432 1	91.43	1.489 6	0.816 7	54.83	2.840 6	6.642 3	233.83	0.145 4	0.104 2	71.66
5	0.299 8	0.556 2	185.52	2.591 4	2.806 6	108.30	1.095 0	1.379 1	125.95	5.969 7	6.937 6	116.21	0.251 8	0.276 6	109.85
6	0.285 2	0.217 6	76.30	3.415 4	2.393 1	70.07	1.115 0	1.281 5	114.93	3.466 3	3.017 0	87.04	0.230 0	0.229 1	99.61
7	0.545 4	0.392 6	71.98	2.560 9	0.661 3	25.82	4.572 6	3.968 7	86.79	5.210 3	7.485 0	143.66	0.337 4	0.163 7	48.52
8	0.772 2	0.673 3	87.19	2.823 0	1.957 8	69.35	0.921 7	0.531 7	57.69	4.926 4	5.182 7	105.20	0.098 8	0.103 4	104.66
9	1.136 1	0.449 0	39.52	2.401 2	2.532 4	105.46	2.839 7	0.251 8	8.87	1.710 4	3.183 4	186.12	0.363 6	0.224 1	61.63
10	0.846 5	0.938 3	110.84	2.514 2	2.399 7	95.45	4.890 3	3.636 2	74.36	9.195 3	8.730 3	94.94	0.480 6	0.740 7	154.12

a：朱砂根单煎冻干粉样品；b：山豆根单煎冻干粉样品。

3.3 指标成分的选择

经查阅文献发现，生物碱是山豆根的主要活性成分，以苦参碱和氧化苦参碱为主，具有抗病毒、抗炎、抗菌及抗肿瘤等作用；此外，黄酮类成分也是山豆根的活性成分之一，其主要成分三叶豆紫檀苷具有抗肿瘤、抗炎、抗氧化、抗菌、抗病毒、抗心脑血管疾病等作用[7-8]；朱砂根中岩白菜素、没食子酸具有抗炎、抗菌、抗病毒等作用[9]。因此，本研究以没食子酸、苦参碱、氧化苦参碱、岩白菜素、三叶豆紫檀苷为指标成分进行定量分析。

3.4 指纹图谱与含量测定结果分析

本研究结果显示，10批朱砂根、山豆根单煎冻干粉和合煎冻干粉样品图谱中分别有5、10、14个共有峰，从合煎冻干粉样品指纹图谱中指认了没食子酸、苦参碱、氧化苦参碱、岩白菜素、三叶豆紫檀苷5个共有峰；从朱砂根单煎冻干粉样品指纹图谱中指认了没食子酸、岩白菜素2个共有峰；从山豆根单煎冻干粉样品指纹图谱中指认了苦参碱、氧化苦参碱、三叶豆紫檀苷3个共有峰；三者的相似度均大于0.90，表明不同产地药材的整体质量相对稳定。含量测定结果显示，10批合煎冻干粉样品中没食子酸、苦参碱、氧化苦参碱、岩白菜素和三叶豆紫檀苷的含量分别为0.217 6～0.941 7、0.661 3～3.618 9、0.251 8～3.968 7、3.017 0～8.730 3、0.103 4～0.740 7 mg/g；朱砂根单煎冻干粉样品中没食子酸、岩白菜素的含量分别为0.183 5～1.136 1、1.710 4～9.195 3 mg/g；山豆根单煎冻干粉样品中苦参碱、氧化苦参碱、三叶豆紫檀苷的含量分别为2.401 2～5.334 6、0.201 5～4.890 3、0.098 8～0.480 6 mg/g，提示不同批次样品中各成分含量存在一定差异；合煎冻干粉中苦参碱、氧化苦参碱的总含量较单煎样品明显降低，可能受原药材产地不同和药材相互作用的影响。苦参碱、氧化苦参碱的转移率分别为25.82%～117.26%、8.87%～198.26%，转移率相对较低，其原因可能为煎煮时间较长，导致成分发生了氧化还原反应；没食子酸、岩白菜素、三叶豆紫檀苷的转移率分别为39.52%～513.19%、53.38%～233.83%、47.18%～225.33%，转移率相对较高，其原因可能与合煎过程中各成分的溶解性发生了变化有关[10]。有研究表明，生物碱类成分的功效、毒性之间存在一定的量效、量毒关系[11]，结合本文结果提示以生物碱类成分作为质控标准，可为朱砂根-山豆根药对及其制剂的质量控制及相关研究奠定基础，为质量标准建立提供参考依据。

3.5 配伍前后目标化学成分的变化及其意义

本研究发现，药对配伍后指纹图谱发生明显变化，多数化学成分含量增加，个别成分含量降低，可能是因为含生物碱类成分的药材与含有机酸的药材共煎时，提高了合煎样品的转移率，从而影响了没食子酸的含量；与此同时，合煎冻干粉样品中苦参碱、氧化苦参碱的平均含量下降，可能与配伍合煎时主要有效成分的溶出相互影响有关[12]。

综上所述，所建指纹图谱及含量测定方法稳定、可行，可用于朱砂根、山豆根及朱砂根-山豆根药对的质量控制；朱砂根-山豆根药对合煎冻干粉样品中苦参碱、氧化苦参碱的平均含量降低。

参考文献

[1] 叶晴，陈金鹏，凌悦，等. 朱砂根化学成分和药理作用的研究进展[J]. 中草药，2022，53(9)：2851-2860.

[2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典：一部[M].2020年版. 北京：中国医药科技出版社，2020：28，143-144.

[3] HAN C C，GUO J Y. Antibacterial and anti-inflammatory activity of traditional Chinese herb pairs，*Angelica sinensis* and *Sophora flavescens*[J]. Inflammation，2012，35(3)：913-919.

[4] CHAN B C L，YU H，WONG C W，et al.Quick identification of kuraridin，a noncytotoxic anti-MRSA（methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*）agent from *Sophora flavescens* using high-speed counter-current chromatography[J]. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci，2012，880(1)：157-162.

[5] ZHOU Y H，WU Y，DENG L，et al. The alkaloid matrine of the root of *Sophora flavescens* prevents arrhythmogenic effect of ouabain[J]. Phytomedicine，2014，21（7）：931-935.

[6] 潘其明，黄日镇，潘英明，等. 山豆根的化学成分研究[J]. 中国中药杂志，2016，41(1)：96-100.

[7] 傅月朦，余登香，王淑娜，等. 山豆根黄酮类成分药理作用及机制研究进展[J]. 中草药，2022，53(19)：6234-6244.

[8] 高佩佩，王珍，刘静，等. 氧化苦参碱的药代动力学、毒理学及药理作用[J]. 中国药理学通报，2019，35(7)：898-902.

[9] 夏晓旦，普天磊，黄婷，等. 岩白菜的化学成分、含量考察与药理作用研究概况[J]. 中国药房，2017，28(16)：2270-2273.

[10] 艾芸. 苦参配伍后化学成分变化的研究及丹参素衍生物的合成[D]. 西安：西北大学，2006.

[11] 郑丽娜，孙虎，谢元璋，等. 山豆根化学成分与功效、毒性相互关系的研究进展[J]. 食品与药品，2011，13(5)：205-209.

[12] 韩馥蔓. 山豆根单煎汤剂及其复方汤剂的化学成分、急性毒性及抗炎活性比较[D]. 北京：中国中医科学院，2017.

（收稿日期：2023-03-15　修回日期：2023-07-12）

（编辑：陈　宏）