

[15] 段美华, 汪 静, 郭惠芳. 消炎止痛膏联合喜辽妥治疗小儿留置针静脉炎的临床效果观察[J]. 华夏医学, 2023, 36(5): 139-143.

[16] 邓国艳, 许芮豪, 呼格吉乐图, 等. 自拟行气活血消炎方治疗气滞血瘀型慢性前列腺炎的疗效观察[J]. 中国民族医药杂志, 2023, 29(6): 7-9.

[17] 贺琪珺, 王敏存, 陈定芳, 等. 中药复方配伍的整体定量药理学表征体系建立与实验验证[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2023, 37(S1): 36-37.

[18] 左池靖, 刘 艳, 汪 杰, 等. 牛黄及其代用品的化学成分及质量控制研究进展[J]. 中国中药杂志, 2024, 49(18): 4874-4884.

[19] 李素丽, 玄 敏, 杨 涛, 等. 鹿红方颗粒制备工艺优化及其质量评价[J]. 中成药, 2023, 45(8): 2477-2483.

[20] 张 宇, 包旭宏, 王 峰, 等. 中药凝胶贴膏的历史渊源与制备工艺研究进展[J]. 中华中医药杂志, 2023, 38(6): 2769-2774.

[21] 罗家敏, 高 雯, 李 萍. 指纹图谱结合一测多评法的栀子质量控制方法研究[J]. 中草药, 2022, 53(11): 3480-3486.

HPLC 法同时测定桂枝-甘草药对中 8 种成分的含量

王 鹤, 雷紫文, 王智超, 冯李乐, 邹俊波, 史亚军, 栾 飞*
(陕西中医药大学药学院/陕西省中药基础与新药研究重点实验室, 陕西 咸阳 712046)

摘要: **目的** 建立 HPLC 法同时测定桂枝-甘草药对中原儿茶酸、甘草苷、香豆素、肉桂醇、甘草素、肉桂酸、肉桂醛、甘草酸的含量。**方法** 分析采用 Inertsil ODS-3 C₁₈ 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相乙腈-0.1% 磷酸, 梯度洗脱; 体积流量 0.8 mL/min; 柱温 20 ℃; 检测波长 254 nm。**结果** 8 种成分在各自范围内线性关系良好 ($r > 0.999$), 平均加样回收率 94.01%~98.62%, RSD 1.21%~4.37%。**结论** 该方法简便可靠, 重复性、稳定性良好, 可用于桂枝-甘草药对的质量控制与评价。

关键词: 桂枝; 甘草; 药对; 化学成分; 含量测定; HPLC

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** B **文章编号:** 1001-1528(2025)08-2683-04
doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2025.08.032

桂枝-甘草是经典的“辛甘化阳”药对, 源于《伤寒论》中的桂枝甘草汤, 两者配伍, 具有温补心阳功效^[1]。临床上通常以桂枝-甘草药对为基础方剂, 经随证加减用于心系疾病的治疗, 疗效确切^[2]。研究表明, 桂枝的主要活性成分肉桂醇、肉桂酸、肉桂醛等^[3-5]具有抗炎抑菌、抗肿瘤、扩张血管等活性^[6-7], 其中肉桂酸和肉桂醛通过抑制 NLRP3 炎症小体介导的细胞焦亡, 进而减轻心肌细胞损伤^[8-10], 而甘草主要活性成分甘草苷、甘草素、甘草酸等具有抗氧化、抗真菌、抗癌等作用^[11-12], 其中甘草酸可增加 SOD、GSH 表达, 降低 LPO、IP 水平; 甘草素可通过抑制 Notch1/NF-κB、MAPK 通路减轻炎症, 进而发挥心肌保护作用^[13]。目前, 关于桂枝-甘草药对含量测定的研究较少^[14-15], 而且尚未见该药对配伍后的相关报道。本研究采用 HPLC 法同时测定桂枝-甘草药对中原儿茶酸、甘草苷、香豆素、肉桂醇、甘草素、肉桂酸、肉桂醛、甘草酸的含量, 以期为该药对的质量控制和临床应用提供参考。

1 材料

1.1 仪器 LC-2030C 3D Plus 高效液相色谱仪、Inertsil ODS-3 C₁₈ 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm) (日本岛津公司); GMD1002-T 电子天平 (南京伯尼塔科学仪器有限公司); BT25S 电子天平 (十万分之一, 北京赛多利斯仪器系统有限公司); KS-400VDE/2 超声波清洗机 (昆山洁力美超声仪器有限公司)。

1.2 药物 桂枝饮片 (编号 S1~S3, 批号 20230901、20230903、20230905)、炙甘草饮片 (编号 S4~S6, 批号 20230702、20230704、20230706) 各 3 批, 均购自陕西兴盛德药业有限责任公司, 经陕西中医药大学中药鉴定教研室颜永刚教授鉴定分别为樟科植物肉桂 *Cinnamomum cassia* (L.) D. Don 的干燥嫩枝、豆科植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. 的干燥根及根茎。

1.3 试剂 原儿茶酸、桂皮醛、甘草酸、甘草素、香豆素、肉桂醇对照品 (批号 CHB231010、CHB230811、

收稿日期: 2024-10-25
基金项目: 陕西省中医药管理局中医药科研项目 (SZY-KJCYC-2025-JC-043); 陕西省科技厅重点研发计划项目 (2024CY-JJQ-36); 陕西中医药大学科技创新人才体系建设计划项目 (2024-CXTD-03)
作者简介: 王 鹤 (2000—), 女, 硕士生, 从事中药新制剂、新剂型研究。E-mail: 2815801426@qq.com
* 通信作者: 栾 飞 (1989—), 男, 博士, 讲师, 从事中药新制剂、新剂型研究。E-mail: luanfeiren@163.com

CHB231107、CHB231111、CHB231031、CHB230922，纯度 $\geq 98\%$ ，成都克洛玛生物科技有限公司)；肉桂酸(批号 110786-201604，纯度 $\geq 98.8\%$)、甘草苷(批号 111610-201908，纯度 $\geq 95\%$)对照品(中国食品药品检定研究院)。甲醇、乙腈[色谱纯，赛默飞世尔科技(中国)有限公司]；磷酸(色谱纯，天津市科密欧化学试剂有限公司)；其余试剂均为分析纯；水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 供试品溶液制备 按照《伤寒论》中原方比例 2：1，分别称取桂枝粉末(过 4 号筛) 1.0 g、甘草粉末(过 3 号筛) 0.50 g，置于具塞锥形瓶中，精密加入 10 mL 80% 甲醇，称定质量，超声处理 30 min，80% 甲醇补足减失的质量，过滤，取滤液，过 0.45 μm 微孔滤膜，即得。

2.2 对照品溶液制备 精密称取原儿茶酸、甘草苷、香豆素、肉桂醇、甘草素、肉桂酸、肉桂醛、甘草酸对照品适量，甲醇制成质量浓度分别为 3.58、1.646、1.358、4.82、3.22、2.325、31.38、7.37 mg/mL 的贮备液，分别精密吸取 100、1 000、800、40、150、180、200、1 000 μL ，置于 5 mL 量瓶中，甲醇定容至刻度，制成各成分质量浓度分别为 0.071 6、0.329 2、0.217 3、0.038 6、0.096 6、0.083 7、1.255 2、1.474 0 mg/mL 的溶液，即得。

2.3 色谱条件 Inertsil ODS-3 C_{18} 色谱柱(250 mm $\times$ 4.6 mm，5 μm)；流动相乙腈(A)-0.1% 磷酸(B)，梯度洗脱(0~10 min，15% A；10~11 min，15%~18% A；11~15 min，18%~23% A；15~20 min，23%~25% A；20~25 min，25%~30% A；25~26 min，30%~31% A；26~33 min，31%~32% A；33~35 min，32%~34% A；35~38.5 min，34%~36% A；38.5~39.5 min，36%~34% A；39.5~43 min，34%~32% A；43~45 min，32%~38% A；45~48 min，38%~42% A；48~55 min，42%~47% A)；体积流量 0.8 mL/min；柱温 20 $^{\circ}\text{C}$ ；检测波长 254 nm；进样量 10 μL 。

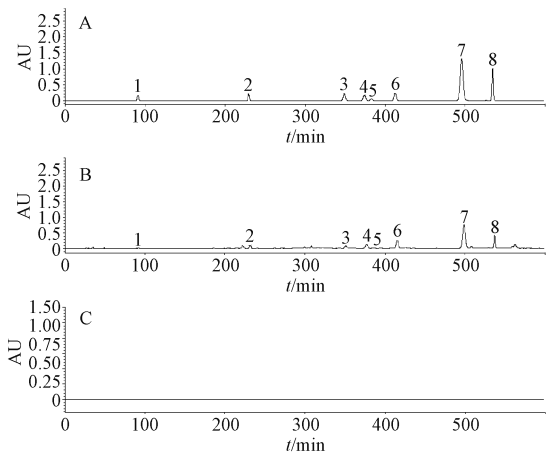
2.4 方法学考察

2.4.1 专属性试验 取“2.1”项下供试品溶液、“2.2”项下对照品溶液及空白溶液(80% 甲醇)适量，在“2.3”项色谱条件下进样测定，色谱图见图 1。由此可知，供试品溶液在与对照品溶液相应位置上均有保留时间相同的色谱峰，空白无干扰，表明该方法专属性良好。

2.4.2 线性关系考察 分别精密吸取“2.2”项下对照品溶液 1、2、4、5、15、20 μL ，在“2.3”项色谱条件下进样测定。以对照品进样量为横坐标(X)，峰面积为纵坐标(Y)进行回归，结果见表 1，可知各成分在各自范围内线性关系良好。

2.4.3 精密度试验 取“2.2”项下对照品溶液适量，在“2.3”项色谱条件下进样测定 6 次，测得原儿茶酸、甘草苷、香豆素、肉桂醇、甘草素、肉桂酸、肉桂醛、甘草酸峰面积 RSD 分别为 1.03%、1.03%、0.95%、1.00%、1.07%、0.99%、0.91%、1.06%。

2.4.4 稳定性试验 取桂枝-甘草药对适量，按“2.1”项



注：A 为对照品，B 为供试品，C 为空白样品。
1. 原儿茶酸 2. 甘草苷 3. 香豆素 4. 肉桂醇 5. 甘草素
6. 肉桂酸 7. 肉桂醛 8. 甘草酸

图 1 各成分 HPLC 色谱图

表 1 各成分线性关系

成分	回归方程	r	线性范围/ μg
原儿茶酸	$Y=2.990\times10^9X+2.853\times10^4$	0.999 9	0.071 6~1.432 0
甘草苷	$Y=7.823\times10^8X+4.765\times10^4$	0.999 9	0.329 2~6.584 0
香豆素	$Y=2.003\times10^9X+7.085\times10^4$	0.999 9	0.217 3~4.345 6
肉桂醇	$Y=9.549\times10^9X+3.237\times10^4$	0.999 9	0.038 6~0.771 2
甘草素	$Y=1.027\times10^9X+1.020\times10^4$	0.999 9	0.096 6~1.932 0
肉桂酸	$Y=5.656\times10^9X+6.650\times10^4$	0.999 9	0.083 7~1.674 0
肉桂醛	$Y=3.043\times10^9X-6.457\times10^4$	0.999 1	1.255 2~25.104 0
甘草酸	$Y=7.891\times10^8X+1.315\times10^5$	0.999 9	1.474 0~29.480 0

下方法制备供试品溶液，于 0、2、4、8、12、24 h 在“2.3”项色谱条件下进样测定，测得原儿茶酸、甘草苷、香豆素、肉桂醇、甘草素、肉桂酸、肉桂醛、甘草酸峰面积 RSD 分别为 4.71%、2.27%、0.35%、0.70%、3.86%、0.61%、0.30%、4.24%。

2.4.5 重复性试验 取桂枝-甘草药对适量，按“2.1”项下方法平行制备 6 份供试品溶液，在“2.3”项色谱条件下进样测定，测得原儿茶酸、甘草苷、香豆素、肉桂醇、甘草素、肉桂酸、肉桂醛、甘草酸含量 RSD 分别为 2.24%、1.09%、4.04%、4.74%、2.00%、3.06%、1.82%、3.75%，表明该方法重复性良好。

2.4.6 加样回收率试验 取各成分含量已知的桂枝(批号 20230901)、甘草(批号 20230702)饮片粉末，按 2：1 比例混合，平行制备 6 份，每份约 0.75 g，精密称定，精密加入对照品溶液，按“2.1”项下方法制备供试品溶液，在“2.3”项色谱条件下进样测定，计算回收率。根据 2020 年版《中国药典》规定，待测成分含量为 1 mg/g 时，回收率限度为 90%~108%；待测成分含量为 10 mg/g 时，回收率限度为 92%~105%。结果，原儿茶酸、甘草苷、香豆素、肉桂醇、甘草素、肉桂酸、肉桂醛、甘草酸平均加样回收率分别为 95.24%、95.86%、98.46%、98.62%、94.01%、98.15%、97.34%、97.35%，RSD 分别为 2.28%、

2.08%、4.19%、3.03%、2.61%、2.76%、1.21%、4.37%。

2.5 样品含量测定 取桂枝、甘草饮片各 3 批，按“2.1”

项下方法制备供试品溶液，在“2.3”项色谱条件下进样测定，结果见表 2。

表 2 各成分含量测定结果 (mg/g, n=3)

批号	样品	原儿茶酸	甘草苷	香豆素	肉桂醇	甘草素	肉桂酸	肉桂醛	甘草酸
S1~S4	桂枝-甘草药对	0.146 1	3.569 7	1.360 6	0.442 8	0.456 0	1.587 7	10.031 7	13.739 8
S1	桂枝	0.100 5	—	1.083 9	0.257 3	—	1.254 8	10.654 0	—
S4	甘草	—	3.570 2	—	—	0.521 9	—	—	12.576 9
S2~S5	桂枝-甘草药对	0.128 5	3.351 8	1.361 4	0.434 2	0.457 3	1.545 5	11.205 9	13.316 6
S2	桂枝	0.100 1	—	1.080 9	0.256 9	—	1.280 8	10.730 6	—
S5	甘草	—	3.552 6	—	—	0.551 8	—	—	12.540 4
S3~S6	桂枝-甘草药对	0.125 2	3.455 1	1.373 6	0.432 2	0.445 4	1.533 2	11.148 3	11.926 5
S3	桂枝	0.100 6	—	1.090 3	0.255 6	—	1.258 5	10.729 9	—
S6	甘草	—	3.513 3	—	—	0.536 5	—	—	12.500 8

注：—表示未检出该成分。

然后，通过数据统计分析对比桂枝、甘草及其配伍前后有效成分含量的变化，发现香豆素、肉桂醇明显增加，其他有效成分基本不变，可能与其配伍后抗炎、抗氧化等药理活性增加有关。

3 讨论

本实验根据前期报道^[14,16-18]，对桂枝-甘草药对中可能含有的成分进行预实验考察，2020 年版《中国药典》四部规定，肉桂醛为桂枝的指标性成分，原儿茶酸、香豆素、肉桂醇、肉桂酸为其主要有效成分；甘草苷、甘草酸为甘草的指标性成分，甘草素为其主要有效成分，因此，本研究确定上述 8 种成分作为质量控制指标。再采用全波长扫描法，发现各有效成分在不同波长下有不同吸收峰，为了涵盖所有成分，选择检测波长为 254 nm。此外，还考察了不同柱温、流动相及体积流量，结果在流动相乙腈-0.1%磷酸水、体积流量 0.8 mL/min、柱温 20 ℃时，各成分吸收良好，基线平稳，分离度理想。

另外，本实验测定了不同批次桂枝及甘草中的有效成分，结果久置的桂枝中肉桂醛含量及甘草中甘草酸含量明显降低，推测可能是因为挥发性成分的前者不稳定，三萜类成分的后者易水解，两者容易转化为其他物质。同时，肉桂醛、甘草酸分别作为桂枝、甘草主要有效成分，对心脏保护作用至关重要^[19-21]，其含量降低可能会导致药物疗效降低，因此，为保证药物的有效性和安全性，其贮藏方式需要合理设置，防止受到温度、湿度、光照等因素的影响而失效。

4 结论

本实验以桂枝-甘草药对为研究对象，建立了 HPLC 法同时测定原儿茶酸、甘草苷、香豆素、肉桂醇、甘草素、肉桂酸、肉桂醛、甘草酸的含量，该方法操作简便，结果可靠，可为该药对的质量控制提供参考。

参考文献：

[1] 刘 宾. 对桂枝甘草汤作用的认识[J]. 医学争鸣, 2018, 9 (5): 45-47.

[2] 武志强, 何 敏, 史玉荣, 等. 桂枝甘草汤的药理作用与临床应用研究进展[J]. 中药与临床, 2014, 5 (3): 50-

52; 55.

[3] 李 雪, 赵婧含, 吴文轩, 等. 桂枝的化学成分和药理作用研究进展[J]. 中医药学报, 2023, 51(5): 111-114.

[4] 谢 彬, 李龙妹, 陈 蒙, 等. 桂枝饮片质量评价和分级标准探讨[J]. 中国中药杂志, 2024, 49(11): 2920-2929.

[5] Ngoc T M, Nhiem N X, Khoi N M, *et al.* A new coumarin and cytotoxic activities of constituents from *Cinnamomum cassia*[J]. *Nat Prod Commun*, 2014, 9(4): 487-488.

[6] Singh N, Rao A S, Nandal A, *et al.* Phytochemical and pharmacological review of *Cinnamomum verum* J. Presl-a versatile spice used in food and nutrition[J]. *Food Chem*, 2021, 338: 127773.

[7] Liu J, Zhang Q, Li R L, *et al.* The traditional uses, phytochemistry, pharmacology and toxicology of *Cinnamomi ramulus*; a review[J]. *J Pharm Pharmacol*, 2020, 72 (3): 319-342.

[8] Luan F, Lei Z Q, Peng X, *et al.* Cardioprotective effect of cinnamaldehyde pretreatment on ischemia/ reperfusion injury *via* inhibiting NLRP3 inflammasome activation and gasdermin D mediated cardiomyocyte pyroptosis[J]. *Chem Biol Interact*, 2022, 368: 110245.

[9] Luan F, Rao Z L, Peng L X, *et al.* Cinnamic acid preserves against myocardial ischemia/reperfusion injury *via* suppression of NLRP3/Caspase-1/GSDMD signaling pathway[J]. *Phytomedicine*, 2022, 100: 154047.

[10] Peng L X, Lei Z Q, Rao Z L, *et al.* Cardioprotective activity of ethyl acetate extract of *Cinnamomi Ramulus* against myocardial ischemia/reperfusion injury in rats *via* inhibiting NLRP3 inflammasome activation and pyroptosis[J]. *Phytomedicine*, 2021, 93: 153798.

[11] El-saber Batiha G, Magdy Beshbishy A, El-Mleeh A, *et al.* Traditional uses, bioactive chemical constituents, and pharmacological and toxicological activities of *Glycyrrhiza glabra* L. (*Fabaceae*) [J]. *Biomolecules*, 2020, 10(3): 352.

[12] Ni Q Q, Gao Y X, Yang X Z, *et al.* Analysis of the network pharmacology and the structure-activity relationship of glycyrrhizic acid and glycyrrhetic acid[J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 1001018.

[13] 党玲玲, 靳亚静, 袁 也, 等. 甘草：全方位探究其化学成

分、药效学与潜在价值（英文）[J]. 针灸和草药, 2024, 4(1): 136-150.

[14] 曹英杰, 原双星, 李 彬, 等. 桂枝甘草汤 HPLC 指纹图谱[J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(14): 100-103.

[15] 向 丽, 张贵君, 王佳琳, 等. 桂枝甘草汤中 10 种成分在不同煎煮时间的变化研究[J]. 现代药物与临床, 2017, 32(2): 183-187.

[16] 宁 雪, 杨振泳, 王凤文, 等. HPLC 同时测定甘草及其炮制品中 7 种成分的含量[J]. 中药材, 2020, 43(9): 2146-2150.

[17] 何 海, 张小荣, 赵沙沙, 等. 牛蒡子-甘草药对抗咽喉炎的网络药理学研究及其 13 个活性成分同时测定的 HPLC 方法建立[J]. 药物分析杂志, 2022, 42(9): 1522-1536.

[18] 管咏梅, 万鑫浩, 吴文婷, 等. 经典名方桂枝加葛根汤标准汤剂 HPLC 指纹图谱研究[J]. 中草药, 2021, 52(18): 5535-5542.

[19] Lan H W, Zheng Q, Wang K, et al. Cinnamaldehyde protects donor heart from cold ischemia-reperfusion injury via the PI3K/AKT/mTOR pathway[J]. *Biomed Pharmacother*, 2023, 165: 114867.

[20] Li M Y, Wen Z S, Xue Y R, et al. Cardioprotective effects of glycyrrhizic acid involve inhibition of calcium influx via L-type calcium channels and myocardial contraction in rats[J]. *N-S Arch Pharmacol*, 2020, 393(6): 979-989.

[21] Zhou J C, Liu Y Y, Wei X L, et al. Glycensisitn A: a promising bicyclic peptide against heart failure that facilitates TFRC-mediated uptake of iron in cardiomyocytes[J]. *Acta Pharma Sin B*, 2024, 14(7): 3125-3139.

一测多评法同时测定地锦草胶囊中 7 种成分的含量

戴鹏宇¹, 黄锦豪¹, 张凯惠¹, 彭 鹏¹, 刘方乐², 王美琪¹, 祝晨蓀¹, 林朝展^{1*}
(1. 广州中医药大学中药学院, 广东 广州 510006; 2. 广州中医药大学第一附属医院, 广东 广州 510405)

摘要: **目的** 建立一测多评法同时测定地锦草胶囊中没食子酸、柯里拉京、鞣花酸、木犀草苷、异槲皮苷、紫云英苷、槲皮素的含量。**方法** 分析采用 Kromasil C₁₈ 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相甲醇-0.1% 甲酸, 梯度洗脱; 体积流量 1.0 mL/min; 柱温 25 ℃; 检测波长 254 nm。以没食子酸和槲皮素为内标, 计算其他 5 种成分的相对校正因子, 测定其含量。**结果** 7 种成分在各自范围内线性关系良好 ($r \geq 0.999\ 2$), 平均加样回收率 96.47% ~ 106.00%, RSD 0.84% ~ 2.57%。一测多评法所得结果与外标法无显著差异。**结论** 该方法稳定可靠, 可用于地锦草胶囊的质量控制。

关键词: 地锦草胶囊; 化学成分; 含量测定; 一测多评

中图分类号: R927.2 **文献标志码:** B **文章编号:** 1001-1528(2025)08-2686-05

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2025.08.033

地锦草为大戟科植物地锦 *Euphorbia humifusa* Willd. 或斑地锦 *Euphorbia maculata* L. 的干燥全草, 其味辛, 性平, 归肝、大肠经, 具有清热解毒、凉血止血、利湿退黄功效^[1]。地锦草含有黄酮类、酚酸类、萜类、生物碱类等化合物, 其中黄酮类、酚酸类为主要活性成分, 具有抗菌、抗炎、抗氧化、抗肿瘤、降血糖、镇痛及提高免疫力等作用^[2-4]。

地锦草胶囊是以地锦草为原料制成的中药单方制剂^[5], 临床上主要用于治疗痢疾泄泻、咯血、尿血便血、痈肿疮疗等疾病。目前, 关于地锦草胶囊整体质量控制研究较少, 现行方法仅以槲皮素进行定量分析^[6], 但该制剂化学成分复杂, 仅以单一成分为检测指标难以全面准确地

评价其内在质量。一测多评法 (QAMS) 是一种利用价廉易得的对照品作为内标, 同时实现多个同类型化合物含量测定的质量控制方法, 为中药多指标检测提供了有利手段^[7-9]。因此, 本实验首次采用一测多评法^[10], 分别以地锦草胶囊中含量较高且价廉易得的没食子酸和槲皮素为内标, 测定地锦草胶囊中 2 个酚酸类化合物柯里拉京、鞣花酸, 以及 3 个黄酮类化合物木犀草苷、异槲皮苷、紫云英苷的含量, 以期为该制剂质量标准提升提供参考。

1 材料

1.1 仪器 Waters e2695 高效液相色谱仪 (美国 Waters 公司); Agilent 1260 高效液相色谱仪 (美国 Agilent 公司); Kromasil C₁₈ 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm) (瑞典 Akzo

收稿日期: 2024-11-07
基金项目: 国家自然科学基金项目 (82374616); 广东省自然科学基金项目 (2023A1515011027)
作者简介: 戴鹏宇 (1998—), 男, 博士生, 从事中药药效物质基础研究。Tel: 18899532739, E-mail: 20201110630@stu.gzucm.edu.cn
*通信作者: 林朝展 (1979—), 男, 博士, 研究员, 从事中药药效物质基础及其作用机制研究。Tel: 13424124752, E-mail: linchaozhan@gzucm.edu.cn