

◇ 药物分析 ◇

# 一测多评法用于香加皮药材质量标准的研究

李瑞雪<sup>1</sup>, 吴飞<sup>1,2</sup>, 张继全<sup>1,2</sup>, 赵培<sup>3</sup>, 冯怡<sup>1,2</sup>, 阮克锋<sup>1,2</sup>

(1. 上海中医药大学中药现代制剂技术教育部工程研究中心, 上海 201203; 2. 上海张江中药现代制剂技术工程研究中心, 上海 201203; 3. 上海中医药大学基础医学院公共实验平台, 上海 201203)

**摘要:**目的 测定香加皮药材中  $C_{21}$  甾体皂苷类 7 种成分的含量, 初步建立香加皮药材质量标准。方法 采用一测多评法, 以杠柳苷 A 为内参物, 根据杠柳苷 K、杠柳苷 R、杠柳苷 E、杠柳苷 D、杠柳苷 Q、杠柳苷 O 与杠柳苷 A 相对校正因子, 计算 7 种  $C_{21}$  甾体皂苷类成分的含量, 同时监测杠柳毒苷的含量。结果 多数香加皮药材中总皂苷含量在  $2.0 \sim 3.5 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$  之间, 杠柳毒苷含量在  $0.4 \sim 0.8 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$  之间。不同产地的香加皮中山西、甘肃和河南的香加皮总皂苷含量较高, 四川、河北、安徽的香加皮总皂苷含量都较低, 而甘肃的香加皮含量差异较大。结论 该方法有效节约成本、操作简单、快捷高效, 可作为香加皮多指标成分测定的质量控制方法。

**关键词:** 香加皮; 一测多评法;  $C_{21}$  甾体皂苷; 杠柳毒苷; 高效液相色谱法

doi:10.3969/j.issn.1009-6469.2017.07.008

## Research on quality standards of *Cortex Periplocae* by quantitative analysis of multi-components with a single marker

LI Ruixue<sup>1</sup>, WU Fei<sup>1,2</sup>, ZHANG Jiquan<sup>1,2</sup>, ZHAO Pei<sup>3</sup>, FENG Yi<sup>1,2</sup>, RUAN Kefeng<sup>1,2</sup>

(1. Engineering Research Center of Modern Preparation Technology of Traditional Chinese Medicine, Ministry of Education, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China; 2. Engineering Research Center of Modern Preparation Technology of Traditional Chinese Medicine of Zhangjiang Shanghai, Shanghai 201203, China; 3. The Public Experiment Platform, School of Basic Medicine, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China)

**Abstract:** Objective To establish quality standards of *Cortex Periplocae* by determining the seven  $C_{21}$  steroidal saponins. **Methods** Periploside A was used as the internal marker to determine the seven  $C_{21}$  steroidal saponins and periplocin in *Cortex Periplocae* by relative correction factor between periploside A with other six  $C_{21}$  steroidal saponins. **Results** The contents of the seven  $C_{21}$  steroidal saponins in the most of *Cortex Periplocae* were from  $2.0 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$  to  $3.5 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ , and the contents of the periplocin were from  $0.4 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$  to  $0.8 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ . The contents of the seven  $C_{21}$  steroidal saponins in *Cortex Periplocae* from Shanxi, Gansu and Henan were higher than the contents of *Cortex Periplocae* from Sichuan, Hebei and Anhui. And there was a significant difference in contents between the samples collected from Gansu. **Conclusions** The QAMS method is feasible, accurate, simple and can be used as a method for the determination of multi-component of *Cortex Periplocae*.

**Key words:** *Cortex Periplocae*; Quantitative analysis on multi-components by single marker;  $C_{21}$  steroidal saponins; periplocin; HPLC

基金项目: 上海市卫计委项目资助(ZY3-CCCX-3-5001); 上海市科委平台资助(15DZ2292000)

通信作者: 张继全, 男, 高级工程师, 硕士生导师, 研究方向: 中药新药研发, E-mail: 13816062506@139.com

- [10] SCHOEN J, HUSEMANN L, TIEMEYER C, et al. Cognitive function after sevoflurane- vs propofol-based anaesthesia for on-pump cardiac surgery: a randomized controlled trial [J]. Br J Anaesth, 2011, 106(6): 840-850.
- [11] 杨美华. 海马胶质细胞活化在七氟醚诱发老年大鼠认知功能损害中的作用[D]. 天津: 天津医科大学, 2014.
- [12] MANNIX R, BERGLASS J, BERKNER J, et al. Sex differences in the effect of progesterone after controlled cortical impact in adolescent mice: a preliminary study [J]. J Neurosurg, 2014, 121(6): 1337-1341.
- [13] CAO XZ, MA H, WANG JK, et al. Postoperative cognitive deficits and neuroinflammation in the hippocampus triggered by surgical trauma are exacerbated in aged rats [J]. Prog Neuropsychopharma-

col Biol Psychiatry, 2010, 34(8): 1426-1432.

- [14] 曲向东, 徐诚实, 曲智俊, 等. 异氟烷麻醉后老年大鼠学习/记忆功能改变与脑海马 CA1 区谷氨酸受体变化的关系 [J]. 中华实验外科杂志, 2016, 33(7): 1811-1813.
- [15] WARMUS BA, SEKAR DR, MCCUTCHEN E, et al. Tau-mediated NMDA receptor impairment underlies dysfunction of a selectively vulnerable network in a mouse model of frontotemporal dementia [J]. J Neurosci, 2014, 34(49): 16482-16495.
- [16] BHATTACHARYA M, BATTACHARYA M, NANDANOOR A, et al. NMDA glutamate receptor NR1, NR2A and NR2B expression and NR2B Tyr-1472 phosphorylation in the lens [J]. Neurochem Res, 2014, 39(9): 1825-1832.

(收稿日期: 2016-09-21, 修回日期: 2016-12-10)

香加皮 *Cortex Periplocae* 为萝藦科植物杠柳 *Periploca sepium Bunge* 的根皮,最早记载于古籍《神农本草经》中,《中国药典》自 1977 年起均有收载,功能主治为祛风湿、强筋骨,用于心悸气短、下肢浮肿、风寒湿痹、腰膝酸软。但香加皮具有毒副作用,主要表现为强心苷中毒。为改善香加皮的质量标准,应增加药材中杠柳毒苷含量的测定。

香加皮中 C<sub>21</sub> 甾体苷和强心苷的药理活性被广泛研究<sup>[14]</sup>,而 C<sub>21</sub> 甾体苷类成分杠柳苷 A (PSA) 是含量最高的此类成分,也是当前研究的热点,上海有机所于 2015 年完成了中药免疫抑制成分杠柳苷的首次全合成<sup>[5]</sup>。C<sub>21</sub> 甾体苷类成分作为当前新药开发研究中的研究目标成分,而在中国药典 2015 年版中仅以 4-甲氧基水杨醛作为药材的含量控制指标<sup>[6]</sup>。因此本研究通过一测多评法<sup>[7]</sup>,以杠柳苷 A (periploside C, PSA) 为内参物,通过其与杠柳苷 K (periploside K, PSK)、杠柳苷 R (periploside R, WJ53)、杠柳苷 E (periploside E, WJ521)、杠柳苷 D (periploside D, PSD)、杠柳苷 Q (periploside Q, WJ33)、杠柳苷 O (periploside O, WJ32) 的相对校正因子,计算 7 种 C<sub>21</sub> 甾体皂苷类成分的含量,考察香加皮药材的前处理方法和 HPLC 测定方法学,同时外标法测定杠柳毒苷含量,为香加皮药材的质量控制和相关制剂研究提供参考。

一测多评法计算公式为  $C_i = f_{si} \times C_s \times A_i / A_s$ , 其中 A<sub>i</sub> 为待测成分 i 的峰面积, C<sub>i</sub> 为待测成分 i 的浓度, A<sub>s</sub> 为内参物 s 的峰面积, C<sub>s</sub> 为内参物 s 的浓度, f<sub>si</sub> 为内参物 s 对待测成分 i 的校正因子。该方法适合应用于中药多成分同时检测的质量控制特点,且与外标法同时检测多种成分<sup>[8-11]</sup> 相比,具有节约成本,快捷高效的特点。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 Agilent 1200 高效液相色谱仪(四元泵、自动进样器、柱温箱、DAD 检测器,美国 Agilent 公司);Capcell pak C<sub>18</sub> 色谱柱[4.6 mm × 250 mm, 5 μm, 资生堂(中国)投资有限公司];TE-214S 型电子分析天平(0.1 mg, 赛多利斯科学仪器有限公司), XP205 型电子分析天平(0.01 mg, 梅特勒-托利多仪器有限公司), SK5200H 超声清洗仪(上海科导超声仪器有限公司), Milli-Q 型超纯水制备仪(密理博中国有限公司)。

1.2 试剂 PSA 对照品(批号 20160316, 纯度为 98.16%, 由上海药物所赵维民课题组提供);杠柳毒苷对照品(批号 111793-200901, 纯度为 93.8%, 中国药品生物制品鉴定所)。甲醇、乙醇、甲酸(均

为分析纯,购自国药集团化学试剂有限公司);乙腈(色谱纯,上海星可高纯溶剂有限公司)。

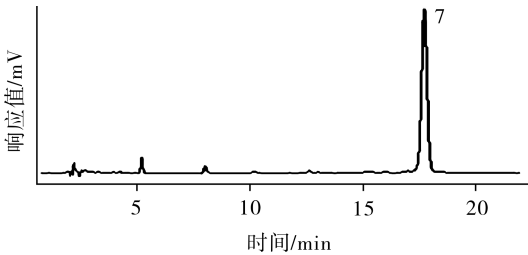
1.3 药材 15 批香加皮药材饮片购于饮片公司及药材市场,经中国科学院上海药物研究所赵维民研究员鉴定,15 批药材均为萝藦科植物杠柳的干燥根皮。药材详细信息见表 1。

2 方法与结果

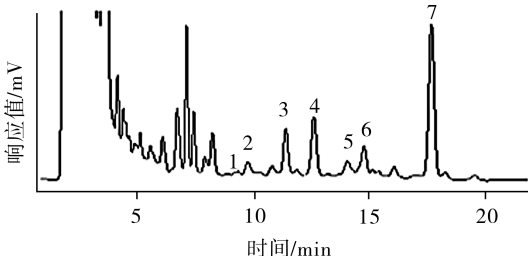
2.1 色谱条件 色谱柱:Capcell pak C<sub>18</sub> (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) 色谱柱;流动相:乙腈-0.1% 甲酸梯度洗脱:0 ~ 18 min (80:20 ~ 92:8);柱温 30 ℃;流速 1.0 mL · min<sup>-1</sup>;检测波长为 263, 200 nm。理论塔板数按 PSA 计算不低于 5 000。对照品和样品 HPLC 色谱见图 1 和图 2。

表 1 15 批香加皮药材产地及批号信息

| 序号 | 批号       | 产地 | 购买地点            |
|----|----------|----|-----------------|
| 1  | 1503097  | 山西 | 四川新荷花中药饮片股份有限公司 |
| 2  | 20150429 | 山西 | 药材市场            |
| 3  | 20150730 | 山西 | 四川新荷花中药饮片股份有限公司 |
| 4  | 140115   | 甘肃 | 上海养和堂中药饮片有限公司   |
| 5  | 150217   | 甘肃 | 上海养和堂中药饮片有限公司   |
| 6  | 130829   | 甘肃 | 上海养和堂中药饮片有限公司   |
| 7  | 150514   | 甘肃 | 上海养和堂中药饮片有限公司   |
| 8  | 150724   | 甘肃 | 上海养和堂中药饮片有限公司   |
| 9  | 20150909 | 甘肃 | 四川新荷花中药饮片股份有限公司 |
| 10 | 20150429 | 河南 | 河南药材市场          |
| 11 | 130101   | 河南 | 河南药材市场          |
| 12 | 20150909 | 河南 | 四川新荷花中药饮片股份有限公司 |
| 13 | 14022001 | 四川 | 四川药材市场          |
| 14 | 20150429 | 河北 | 河北药材市场          |
| 15 | 20131001 | 安徽 | 安徽药材市场          |



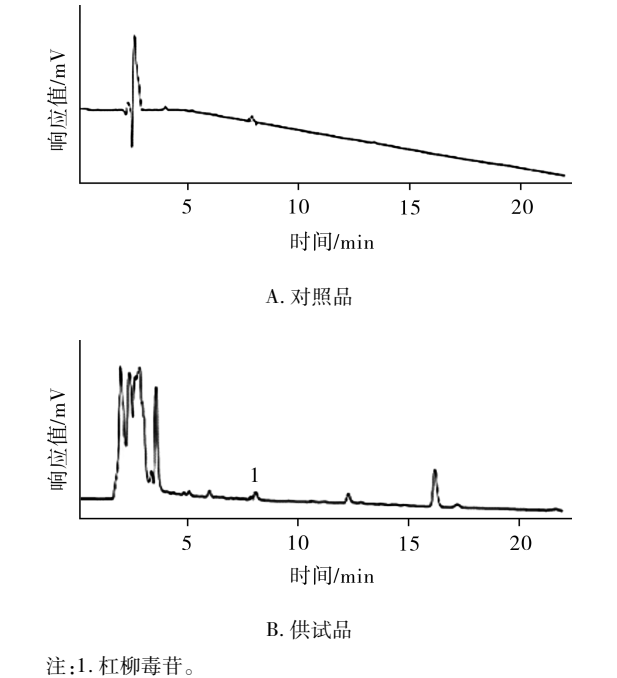
A. PSA 对照品



B. 供试品

注:1. PSK;2. WJ53;3. WJ521;4. PSD;5. WJ33;6. WJ32;7. PSA。

图 1 263 nm 波长下 PSA 对照品和供试品的 HPLC 图谱



注:1. 杠柳毒苷。  
图2 200 nm 波长下杠柳毒苷对照品和供试品 HPLC 图谱

**2.2 对照品溶液的制备** 精密称取 PSA 和杠柳毒苷对照品适量于 10 mL 量瓶中,加甲醇溶解并定容,摇匀,制得浓度分别为 1.002 g · L<sup>-1</sup>和 1.018 g · L<sup>-1</sup>的对照品贮备液。各精密吸取 1 mL 于 10 mL 容量瓶,加甲醇定容,得浓度分别为 0.100 2 g · L<sup>-1</sup>和 0.101 8 g · L<sup>-1</sup>的对照品溶液。

**2.3 供试品溶液的制备** 取香加皮最细粉 2.0 g,精密称定,置于圆底瓶中,加入 75 mL 75% 乙醇,加热回流提取 2 次,每次 2 h,提取液离心后转移至蒸发皿中,水浴蒸干,用甲醇溶解并转移至 10 mL 容量瓶中,以甲醇定容,摇匀,即得。

**2.4 一测多评法** 在一测多评法测定香加皮提取物中间体的 7 种 C<sub>21</sub> 甾体皂苷成分含量实验中<sup>[7]</sup>,确定 PSA 与 PSK、WJ53、WJ521、PSD、WJ33、WJ32 的相对校正因子分别为 0.867、0.867、0.847、0.994、0.922 和 1.029。采用校正因子计算的含量值与外标法实测值之间无明显差异。该方法准确可靠,简便可行,可作为香加皮提取物多指标成分测定的质量控制方法。

3 供试品溶液制备方法的参数考察

**3.1 药材粉碎度的考察** 取粉碎后香加皮药材(批号:150514)粉末颗粒(稍加粉碎且不能通过一号筛)、最粗粉、中粉、最细粉各 2.0 g,分别加入 50 mL 甲醇,回流提取 1 h,提取液离心(4 000 r · min<sup>-1</sup>,10 min,下同),溶液蒸干,残渣用甲醇溶解并定容至 10 mL。进行 HPLC 测定并用一测多评法计算,结果见表 2。

| 表 2 香加皮药材粉碎度的考察/mg · g <sup>-1</sup> |        |       |        |
|--------------------------------------|--------|-------|--------|
| 粉碎度                                  | PSA 含量 | 总皂苷含量 | 杠柳毒苷含量 |
| 颗粒                                   | 0.369  | 0.827 | 3.407  |
| 最粗粉                                  | 0.589  | 1.206 | 2.703  |
| 中粉                                   | 0.644  | 1.325 | 2.432  |
| 最细粉                                  | 0.682  | 1.384 | 2.720  |

通过对 4 种粉碎度的比较,可以看出粉碎粒度越小,提取出的总皂苷含量越多,但杠柳毒苷含量却不是最高,所以选用最细粉。

**3.2 提取溶剂种类的考察** 取粉碎后香加皮药材(批号:150514)最细粉 2.0 g,分别加水、25% 乙醇、50% 乙醇、70% 乙醇、95% 乙醇、50% 甲醇、75% 甲醇和甲醇各 50 mL,超声提取 1 h。提取液离心,溶液蒸干,残渣用甲醇溶解并定容至 10 mL。进行 HPLC 测定并用一侧多评法计算,结果见表 3。

| 表 3 香加皮药材提取溶剂的比较/mg · g <sup>-1</sup> |        |       |        |
|---------------------------------------|--------|-------|--------|
| 提取溶剂                                  | PSA 含量 | 总皂苷含量 | 杠柳毒苷含量 |
| 水                                     | 0.460  | 1.035 | 0.493  |
| 25% 乙醇                                | 0.037  | 0.091 | 0.583  |
| 50% 乙醇                                | 0.798  | 1.689 | 0.609  |
| 75% 乙醇                                | 0.794  | 1.672 | 0.576  |
| 95% 乙醇                                | 0.617  | 1.367 | 0.648  |
| 50% 甲醇                                | 0.342  | 0.809 | 0.735  |
| 75% 甲醇                                | 0.788  | 1.678 | 1.675  |
| 甲醇                                    | 0.749  | 1.587 | 2.569  |

通过对 8 种提取溶剂的比较,可以看出 75% 乙醇提取的总皂苷含量相对较高,且杠柳毒苷含量较低,因此选用 75% 乙醇作为提取溶剂。

**3.3 提取方式的考察** 取粉碎后香加皮药材(批号:150514,产地:甘肃,上海养和堂中药饮片有限公司)最细粉 2.0 g,每份加 75% 乙醇 50 mL,分别采用超声提取 1 h、回流提取 1 h 和索氏提取 3 h。提取液离心,溶液蒸干,残渣用甲醇溶解并定容至 10 mL。进行 HPLC 测定并用一测多评法计算,结果见表 4。

| 表 4 香加皮药材提取方式的比较/mg · g <sup>-1</sup> |        |       |        |
|---------------------------------------|--------|-------|--------|
| 提取                                    | PSA 含量 | 总皂苷含量 | 杠柳毒苷含量 |
| 超声提取 1 h                              | 0.796  | 1.694 | 0.652  |
| 回流提取 1 h                              | 0.980  | 2.074 | 0.638  |
| 索氏提取 3 h                              | 0.949  | 2.187 | 0.591  |

通过对 3 种提取方式的比较,可以看出回流提取 1 h 和索氏提取 3 h 的总皂苷含量相近,而回流时间相对较短,因此选用回流作为提取方法。

**3.4 提取溶剂体积的考察** 取粉碎后香加皮药材(批号:150514,产地:甘肃,上海养和堂中药饮片有限公司)最细粉 2.0 g,分别加 75% 乙醇 25、50、75 和 100 mL,采用回流提取 1 h,平行处理 2 份。提取液离心,溶液蒸干,残渣用甲醇溶解并定容至 10 mL。进行 HPLC 测定并用一测多评法计算,结果见表 5。

| 表 5 提取溶剂体积的比较/ $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ |        |       |        |
|------------------------------------------------|--------|-------|--------|
| 提取溶剂体积/mL                                      | PSA 含量 | 总皂苷含量 | 杠柳毒苷含量 |
| 25                                             | 1.026  | 2.085 | 0.056  |
| 50                                             | 0.977  | 2.073 | 0.584  |
| 75                                             | 1.259  | 2.579 | 0.074  |
| 100                                            | 1.201  | 2.468 | 0.061  |

通过对 4 种提取溶剂体积的比较,可以看出溶剂体积在 75 mL 提取的总皂苷含量最高,继续增加体积时 PSA 的提取不再增加,且杠柳毒苷含量较低,因此选用 75 mL 作为提取溶剂体积。

**3.5 提取时间和次数的考察** 取粉碎后香加皮药材(批号:150514,产地:甘肃,上海养和堂中药饮片有限公司)最细粉 2.0 g,加 75% 乙醇 75 mL,采用回流分别提取 1.0、1.5、2.0 和 3.0 h,每种时间提取 3 次,不合并。提取液离心,溶液蒸干,残渣用甲醇溶解并定容至 10 mL。进行 HPLC 测定并用一测多评法计算,结果见表 6。

| 表 6 提取时间的比较/ $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ |       |        |       |        |
|----------------------------------------------|-------|--------|-------|--------|
| 提取时间/h                                       | 提取次数  | PSA 含量 | 总皂苷含量 | 杠柳毒苷含量 |
| 1                                            | 第 1 次 | 0.889  | 1.906 | 0.598  |
|                                              | 第 2 次 | 0.093  | 0.174 | 0.320  |
|                                              | 第 3 次 | 0.010  | 0.010 | 0.174  |
| 1.5                                          | 第 1 次 | 0.983  | 2.094 | 0.321  |
|                                              | 第 2 次 | 0.095  | 0.189 | 0.079  |
|                                              | 第 3 次 | 0.009  | 0.009 | 0.025  |
| 2                                            | 第 1 次 | 1.026  | 2.202 | 0.588  |
|                                              | 第 2 次 | 0.111  | 0.213 | 0.345  |
|                                              | 第 3 次 | 0.010  | 0.010 | 0.165  |
| 3                                            | 第 1 次 | 1.129  | 2.383 | 0.307  |
|                                              | 第 2 次 | 0.120  | 0.229 | 0.076  |
|                                              | 第 3 次 | 0.010  | 0.010 | 0.042  |

通过以上比较,可以看出第 2 次的 PSA 提取量为第一次的 10% 左右,而第 3 次几乎不再有皂苷被提取出来,所以选择提取 2 次。根据 2 次的皂苷总提取量和提取时间比较,选定提取时间为 2 h,提取 2 次。

综合上述参数考察,最终确定供试品溶液的制备方法为:取香加皮最细粉 2.0 g,精密称定,置于

150 mL 圆底瓶中,加入 75 mL 75% 乙醇,加热回流提取 2 次,每次 2 h,提取液离心后转移至蒸发皿中,水浴蒸干,用甲醇溶解并转移至 10 mL 容量瓶中,以甲醇定容,摇匀,即得。

4 方法学验证

**4.1 线性关系的考察** 分别取 PSA 对照品稀释液 1、2、5、10 和 20  $\mu\text{L}$  和 PSA 对照品贮备液 5、10 和 20  $\mu\text{L}$ ,注入液相色谱仪,记录峰面积。以峰面积对对照品进样质量( $\mu\text{g}$ )进行线性回归,得回归方程为  $Y=222.76X-8.2054$ , $r=0.9999$ 。表明:进样质量在 0.10~20.04  $\mu\text{g}$  范围内,PSA 峰面积与进样质量呈良好的线性关系。

**4.2 精密度试验** 精密吸取同一 PSA 对照品溶液(浓度:0.100  $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ ),按上述“2.1”色谱条件进行分析,重复进样 6 次,测定峰面积,计算峰面积的 RSD 为 0.57%,表明仪器精密度良好。

**4.3 重复性实验** 取香加皮药材(批号:150514)最细粉 6 份,按上述“2.3”制备方法制备供试品溶液,按上述“2.1”色谱条件测定,结果样品中 PSA 含量分别为 1.223、1.204、1.274、1.257、1.244、1.192  $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ,样品测定重复性良好,样品中 PSA 的平均含量为 1.232  $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ,RSD 为 2.6%。

**4.4 稳定性试验** 取同一供试品溶液适量,分别于 0、2、8、10、12、18 和 24 h 进样,测定峰面积,PSA 的 RSD 为 1.35%,表明供试品溶液在 24 h 内保持稳定。

**4.5 加样回收率试验** 取已测定 PSA 含量的供试品 0.5 g(PSA 含量 1.232  $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ )9 份,精密称定置圆底烧瓶中,分为 3 组,以 50%、100%、150% 3 个水平分别精密加入 PSA 对照品溶液( $1.002 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ )适量(低浓度 0.6 mL、中浓度 0.7 mL、高浓度 0.8 mL),按上述供试品溶液的制备方法制备和测定。回收率试验结果表明,此测定方法中 PSA 的平均回收率为 96.26%,RSD 为 0.92%,合格。结果见表 7。

| 表 7 PSA 加样回收率试验结果 |           |               |               |          |             |           |
|-------------------|-----------|---------------|---------------|----------|-------------|-----------|
| 编号                | 取样量<br>/g | 样品中的<br>含量/mg | 对照品<br>加入量/mg | 峰面积<br>A | 测得总量<br>/mg | 回收率<br>/% |
| 1                 | 0.501 6   | 0.618 2       | 0.601 2       | 257.6    | 1.174 6     | 96.33     |
| 2                 | 0.503 1   | 0.620 0       | 0.601 2       | 261.5    | 1.192 4     | 97.64     |
| 3                 | 0.500 5   | 0.616 8       | 0.601 2       | 259.3    | 1.182 4     | 97.08     |
| 4                 | 0.500 2   | 0.616 4       | 0.701 4       | 278.4    | 1.269 5     | 96.33     |
| 5                 | 0.507 8   | 0.625 8       | 0.701 4       | 275.6    | 1.256 7     | 94.69     |
| 6                 | 0.502 4   | 0.619 2       | 0.701 4       | 276.3    | 1.259 9     | 95.41     |
| 7                 | 0.500 1   | 0.616 3       | 0.801 6       | 299.4    | 1.365 3     | 96.29     |
| 8                 | 0.501 2   | 0.617 7       | 0.801 6       | 301.3    | 1.373 9     | 96.80     |
| 9                 | 0.500 8   | 0.617 2       | 0.801 6       | 298.0    | 1.358 9     | 95.78     |

表 8  15 批香加皮药材总皂苷和杠柳毒苷含量/mg · g<sup>-1</sup>

| 编号 | PSA   | PSK   | WJ53  | WJ521 | PSD   | WJ33  | WJ32  | 总皂苷   | 杠柳毒苷  |
|----|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 1  | 1.467 | 0.219 | 0.186 | 0.265 | 0.525 | 0.430 | 0.248 | 3.340 | 0.783 |
| 2  | 1.409 | 0.203 | 0.098 | 0.249 | 0.406 | 0.189 | 0.244 | 2.799 | 0.558 |
| 3  | 1.055 | 0.243 | 0.102 | 0.266 | 0.401 | 0.238 | 0.196 | 2.501 | 0.565 |
| 4  | 0.622 | 0.215 | 0.092 | 0.173 | 0.320 | 0.271 | 0.402 | 2.096 | 0.557 |
| 5  | 0.646 | 0.120 | 0.069 | 0.218 | 0.218 | 0.119 | 0.094 | 1.484 | 0.488 |
| 6  | 2.555 | 0.265 | 0.220 | 0.330 | 0.741 | 0.455 | 0.229 | 4.796 | 0.560 |
| 7  | 1.269 | 0.193 | 0.103 | 0.234 | 0.435 | 0.138 | 0.259 | 2.631 | 0.538 |
| 8  | 1.126 | 0.206 | 0.090 | 0.251 | 0.401 | 0.129 | 0.315 | 2.517 | 0.499 |
| 9  | 2.278 | 0.339 | 0.262 | 0.400 | 0.770 | 0.345 | 0.252 | 4.646 | 0.522 |
| 10 | 1.707 | 0.240 | 0.101 | 0.350 | 0.494 | 0.149 | 0.292 | 3.332 | 0.526 |
| 11 | 1.302 | 0.259 | 0.148 | 0.275 | 0.514 | 0.353 | 0.156 | 3.008 | 0.461 |
| 12 | 1.251 | 0.244 | 0.118 | 0.246 | 0.593 | 0.101 | 0.220 | 2.773 | 0.630 |
| 13 | 0.785 | 0.238 | 0.115 | 0.207 | 0.319 | 0.204 | 0.167 | 2.036 | 0.531 |
| 14 | 0.868 | 0.125 | 0.062 | 0.145 | 0.278 | 0.141 | 0.151 | 1.769 | 0.616 |
| 15 | 0.649 | 0.184 | 0.088 | 0.209 | 0.287 | 0.117 | 0.196 | 1.731 | 0.536 |

**4.6 药材含量测定**  取 15 批药材按“2.3”制备供试品溶液,按“2.1”方法测定 PSA 和杠柳毒苷并用一测多评法计算总皂苷含量,结果见表 8。结果显示香加皮药材中总皂苷含量多数在 2 ~ 3.5 mg · g<sup>-1</sup>之间,130829 批(甘肃、养和堂)和 20150909 批(甘肃、新荷花)含量最高,分别为 4.796 mg · g<sup>-1</sup>和 4.646 mg · g<sup>-1</sup>;杠柳毒苷含量在 0.4 ~ 0.8 mg · g<sup>-1</sup>之间。不同产地的香加皮中山西、甘肃和河南的香加皮总皂苷含量较高,而四川、河北、安徽的香加皮总皂苷含量都较低,而甘肃的香加皮含量差异较大。

5 讨论

在检测香加皮药材含量时,以 PSA 为指标,根据 PSA 与 PSK、WJ53、WJ521、PSD、WJ33、WJ32 的相对校正因子,计算 7 种皂苷的含量。经过方法学和系统适用性验证符合要求。本研究建立的一测多评法用于香加皮药材质量标准的建立,有效节约成本、操作简单、快捷高效,适合应用于中药多成分同时检测的质量控制特点,已经用于准确评价制剂中间体的质量,将为后续制剂工艺研究和制剂质量标准等相关研究奠定重要基础。

参考文献

[1]  FENG J,ZHANG R,ZHOU Y,et al. Immunosuppressive pregnane glycosides from *Periploca sepium* and *Periploca forrestii*[J]. *Phytochemistry*,2008,69(15):2716-2723.

[2]  ZHU YN,ZHAO WM,YANG YF,et al. Periplocoside E,an effec-

tive compound from *periploca sepium* bge,inhibited T cell activation in vitro and in vivo[J]. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*,2006,316(2):662-669.

[3]  ZHANG J,NI J,CHEN Z,et al. Periplocoside A prevents experimental autoimmune encephalomyelitis by suppressing IL-17 production and inhibits differentiation of Th17 cells[J]. *Acta Pharmacologica Sinica*,2009,30(8):1144-1152.

[4]  FENG M,SHI B,ZHAO Y,et al. Histopathological effects and immunolocalization of periplocoside NW from *periploca sepium* bunge on the midgut epithelium of *mythimna separata* walker larvae[J]. *Pesticide biochemistry and physiology*,2014,115:67-72.

[5]  ZHANG X,ZHOU Y,ZUO J,et al. Total synthesis of periploside A,a unique pregnane hexasaccharide with potent immunosuppressive effects[J]. *Nature Communications*,2015,6:5879-5888.

[6]  国家药典委员会. 中国药典(一部)[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010;240-241.

[7]  李瑞雪,吴飞,张继全,等. 一测多评法测定香加皮提取物中间体的 7 种 C21 甾体皂苷成分含量[C]. 2016 中国中药制剂大会,桂林,2016;571-577.

[8]  赵祎武,仲艳,徐振秋,等. 高效液相色谱法测定中药香加皮中 7 种孕甾烷糖苷类成分的含量[J]. *世界科学技术(中医药现代化)*,2015,17(1):138-141.

[9]  刘虹,王萌,杨虹,等. HPLC 法测定香加皮提取物中杠柳毒苷和杠柳苷元[J]. *中草药*,2006,37(9):1355-1356.

[10]  任晓亮,刘虹,戚爱棣,等. HPLC 法同时测定香加皮中杠柳毒苷和 4-甲氧基水杨醛的方法改进[J]. *天津中医药*,2007,24(3):252-254.

[11]  佟玲,谭晓杰,林景瑞,等. RP-HPLC 法测定香加皮中异香草醛、杠柳毒苷和 4 甲氧基水杨醛的含量[J]. *药物分析杂志*,2009,29(6):961-963.

(收稿日期:2016-12-28,修回日期:2017-01-23)