

• 方药研究 •

不同提取方法的桃红四物汤特征图谱研究*

王雅丽^{1,3}, 吴德玲^{1,2,3}, 张伟^{1,2,3△}, 李培培^{1,3}, 许凤清^{1,2,3}, 彭代银¹

(1. 安徽中医药大学药学院, 安徽 合肥 230012; 2. 安徽省高校科研创新平台团队(中药饮片产地加工与炮制一体化关键技术研究创新团队), 安徽 合肥 230012; 3. 安徽省中医药科学院药物化学研究所, 安徽 合肥 230012)

摘要: **目的** 对比不同提取方法提取的桃红四物汤 HPLC 特征图谱的差异及不同提取方法对其化学成分变化的影响。**方法** 采用色谱柱 Welch Materials C₁₈(4.6nm×250nm, 5μm), 流动相乙腈(A)—0.05%磷酸水溶液(B)梯度洗脱, 流速 1.0mL·min⁻¹, 柱温 40℃, 进样量 20μL, 波长切换法检测。**结果** 分别建立了传统煎煮提取法和 90%乙醇—水提法的特征图谱, 通过比较两者的特征图谱发现两者的共有峰数目和面积存在较大差异。**结论** 建立的特征图谱可操作性强, 重复性好, 为桃红四物汤的质量控制、工艺研究和成分与药效的相关性提供了有益信息。

关键词: 桃红四物汤; HPLC; 特征图谱; 波长切换

中图分类号: R284

文献标志码: A

文章编号: 1000-2723(2017)03-0073-05

DOI: 10.19288/j.cnki.issn.1000-2723.2017.03.018

桃红四物汤最早出自清代吴谦所著的《医宗金鉴》, 是由唐代林蔺道人《仙授理伤续断秘方》中的四物汤衍生而来^[1], 即在四物汤的基础上, 加桃仁、红花组方而成^[2], 具有活血化瘀、养血补血的双重功效^[3-4], 主治妇女月经先期属瘀血者^[5-10]。现代药理学研究表明, 桃红四物汤具有抗炎、抗疲劳、抗休克、降脂、抗过敏、抗肝纤维化、抗氧化和补充微量元素等作用^[11-15]。桃红四物汤作为传统活血化瘀名方, 一般采用传统的水煎煮法提取, 考虑到复方化学成分复杂, 为兼顾其中的脂溶性成分及水溶性成分, 采用传统的水煎煮提取法和探索优化出的 90%乙醇—水提取方法, 同时采用波长切换法对桃红四物汤的不同提取方法做图谱研究, 建立了桃红四物汤的 HPLC 特征图谱, 并采用分离度较好和含量相对较大的阿魏酸、芍药苷、羟基红花黄色素 A、5-羟甲基糠醛以及没食子酸 5 种成分对特征图谱中的成分进行指认^[16], 比较两种提取方法中成分的差异, 为进一步扩大其临床应用提供理论依据。

1 仪器与试药

1.1 仪器

Agilent 1260 型高效液相色谱仪(G1312C 二元泵,

G1316A 柱温箱, G1329B 自动进样器, 二极管阵列检测器 G4212B, ChemStation 色谱工作站); Milli-Q Advantage A10 一体式超纯水机; KQ-250B 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司); RE-52A 旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂); BS210S 型电子天平(北京塞多利斯天平有限公司)。

1.2 试药

自安徽省协和成药业有限公司购买的桃仁, 红花, 当归, 川芎, 白芍, 熟地等 6 味药材, 经安徽中医药大学刘守金教授鉴定均为 2015 版《中国药典》收载品种。

羟基红花黄色素 A(批号: 111637-200905); 没食子酸(批号: 110831-201204); 芍药苷(批号: 110736-201337); 5-羟甲基糠醛(批号: 111626-201308); 阿魏酸(批号: 110773-201313)均购自中国食品药品检定研究院。乙腈(色谱纯, 美国 Fisher 公司); 水为超纯水; 其余均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱分析条件

色谱柱 Welch Materials C₁₈(4.6nm×250nm, 5μm), 流动相乙腈(A)—0.05%磷酸水溶液(B)梯度洗脱,

* 基金项目: 国家自然科学基金(81473387)

收稿日期: 2017-04-26

作者简介: 王雅丽(1991-), 女, 安徽宿州人, 在读硕士研究生, 主要从事中药活性成分研究。

△通信作者: 张伟, E-mail: zhangwei05515125@163.com

流速 $1.0\text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 检测波长 $0 \sim 11\text{ min}$, 290 nm ; $11 \sim 27\text{ min}$, 320 nm ; $27 \sim 45\text{ min}$, 230 nm , 柱温 40°C , 进样量 $20\mu\text{L}$ 。梯度洗脱系统见表 1。

表 1 梯度洗脱系统

时间/min	乙腈/%	0.05%磷酸水/%
0~7	5	95
7~20	5~13	95~87
20~28	13~15	87~85
28~45	15~17	85~83
45~60	17~33	83~67
60~70	33~95	67~5
70~80	95~5	5~95

2.2 对照品溶液的制备

精密称取芍药苷、阿魏酸、羟基红花黄色素 A、没食子酸、5-羟甲基糠醛适量,加 50%色谱甲醇制成对照品溶液,备用。

2.3 供试品溶液的制备

2.3.1 A 液的制备

精密称定 0.5 倍处方量川芎,红花,当归,桃仁药材,加 10 倍量的 90%乙醇回流提取(3 次,每次 1.5h),滤过,药渣与白芍、熟地再用 8 倍水煎煮(2 次,每次 2h),滤过,合并浓缩滤液,转移至 100mL 量瓶中,用水定容至刻度,摇匀,精密吸取溶液 5mL,水

浴蒸干,残渣以 50%甲醇溶解,转移至 10mL 量瓶中,再用 50%甲醇稀释至刻度,摇匀,滤过,取续滤液,得供试液 A。

2.3.2 B 液的制备

精密称定 0.5 倍处方量加水煎煮两次(第 1 次 10 倍量水,煎煮 2h;第 2 次 8 倍量水,煎煮 40min),合并两次水提液,浓缩,转移至 100mL 量瓶中加水定容至刻度,摇匀,精密吸取溶液 5mL,水浴蒸干,残渣以 50%甲醇溶解,转移至 10mL 量瓶中,再用 50%甲醇稀释至刻度,摇匀,滤过,取续滤液,得供试液 B。

2.3.3 供试液的制备

分别精密吸取两种样品溶液 A 液、B 液各 5mL,挥干溶剂,残渣加 50%甲醇溶解,转移至 10mL 量瓶中,用 50%甲醇稀释至刻度,摇匀,滤过,取续滤液,分别制得供试液 A、供试液 B。

2.4 方法学考察

2.4.1 精密度试验

按“2.3.2、2.3.3”项方法制备供试液 B,按上述色谱条件连续平行进样 6 次。结果表明,以芍药苷为参照峰,特征图谱中共有峰的相对保留时间(Relative retention time, RRT)的 RSD 值均小于 1%,相对峰面积(relative peak area, RPA)的 RSD 值均小于 5%,仪器精密度良好。

表 2 精密度试验(相对保留时间)

峰号	相对保留时间						RSD /%
	1	2	3	4	5	6	
1	0.210	0.210	0.210	0.210	0.210	0.210	0
2	0.230	0.229	0.229	0.229	0.229	0.229	0.18
3	0.303	0.303	0.303	0.303	0.303	0.303	0
4	0.704	0.689	0.689	0.689	0.689	0.689	0.89
5	0.719	0.716	0.716	0.716	0.716	0.716	0.17
6	0.754	0.753	0.753	0.753	0.753	0.750	0.18
7	0.772	0.773	0.773	0.773	0.773	0.773	0.05
8	0.806	0.806	0.806	0.807	0.806	0.806	0.05
9	0.913	0.912	0.913	0.913	0.913	0.913	0.04
10	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0
11	1.163	1.163	1.163	1.163	1.163	1.163	0
12	1.336	1.336	1.335	1.336	1.336	1.336	0.03
13	1.374	1.373	1.374	1.374	1.374	1.374	0.03
14	1.762	1.762	1.762	1.762	1.762	1.762	0
15	1.848	1.848	1.848	1.849	1.848	1.849	0.03

表 3 精密度试验(相对峰面积)

峰号	相对峰面积						RSD /%
	1	2	3	4	5	6	
1	0.152	0.149	0.151	0.152	0.155	0.149	1.49
2	0.098	0.097	0.098	0.099	0.099	0.099	0.83
3	0.065	0.066	0.066	0.068	0.068	0.067	1.82
4	0.014	0.014	0.014	0.014	0.014	0.015	2.90
5	0.036	0.036	0.036	0.036	0.036	0.036	0
6	0.017	0.017	0.017	0.017	0.017	0.018	2.38
7	0.016	0.016	0.016	0.015	0.016	0.016	2.60
8	0.100	0.095	0.096	0.097	0.100	0.096	2.22
9	0.104	0.107	0.107	0.109	0.110	0.110	2.15
10	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0
11	0.057	0.058	0.060	0.059	0.060	0.059	1.99
12	0.107	0.106	0.110	0.109	0.110	0.108	1.51
13	0.018	0.017	0.018	0.018	0.018	0.017	2.92
14	0.126	0.125	0.127	0.129	0.127	0.127	1.04
15	0.030	0.029	0.030	0.031	0.030	0.030	2.11

2.4.2 重复性试验

按“2.3.2、2.3.3”项方法制备供试液B 6份,每份按上述色谱条件连续平行进样1次,结果表

表4 重复性试验(相对保留时间)

峰号	相对峰面积						RSD /%
	1	2	3	4	5	6	
1	0.152	0.149	0.151	0.152	0.155	0.149	1.49
2	0.098	0.097	0.098	0.099	0.099	0.099	0.83
3	0.065	0.066	0.066	0.068	0.068	0.067	1.82
4	0.014	0.014	0.014	0.014	0.014	0.015	2.90
5	0.036	0.036	0.036	0.036	0.036	0.036	0
6	0.017	0.017	0.017	0.017	0.017	0.018	2.38
7	0.016	0.016	0.016	0.015	0.016	0.016	2.60
8	0.100	0.095	0.096	0.097	0.100	0.096	2.22
9	0.104	0.107	0.107	0.109	0.110	0.110	2.15
10	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0
11	0.057	0.058	0.060	0.059	0.060	0.059	1.99
12	0.107	0.106	0.110	0.109	0.110	0.108	1.51
13	0.018	0.017	0.018	0.018	0.018	0.017	2.92
14	0.126	0.125	0.127	0.129	0.127	0.127	1.04
15	0.030	0.029	0.030	0.031	0.030	0.030	2.11

2.4.3 稳定性试验

按“2.3.2、2.3.3”项方法制备供试液B,分别于0、3、6、10、16、24h进样测定,结果表明,供试液B

表6 稳定性试验(相对保留时间)

峰号	相对保留时间						RSD /%
	0 h	3 h	6 h	10 h	16 h	24 h	
1	0.210	0.211	0.210	0.211	0.211	0.211	0.25
2	0.198	0.198	0.202	0.198	0.198	0.198	0.82
3	0.304	0.304	0.309	0.304	0.304	0.304	0.67
4	0.689	0.690	0.690	0.690	0.690	0.690	0.06
5	0.716	0.716	0.717	0.716	0.716	0.717	0.07
6	0.753	0.753	0.753	0.753	0.753	0.753	0
7	0.773	0.774	0.774	0.774	0.774	0.774	0.05
8	0.803	0.804	0.806	0.806	0.806	0.806	0.17
9	0.913	0.913	0.914	0.913	0.913	0.913	0.04
10	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0
11	1.164	1.164	1.164	1.164	1.165	1.165	0.04
12	1.336	1.337	1.336	1.337	1.338	1.338	0.07
13	1.372	1.373	1.373	1.374	1.374	1.374	0.06
14	1.764	1.765	1.765	1.764	1.764	1.764	0.03
15	1.851	1.853	1.852	1.851	1.85	1.850	0.06

明,B液的特征图谱中共有峰的RRT的RSD值均小于1%,RPA的RSD值均小于5%,试验重复性良好。

表5 重复性试验(相对峰面积)

峰号	相对峰面积						RSD /%
	1	2	3	4	5	6	
1	0.165	0.157	0.156	0.160	0.155	0.159	2.28
2	0.091	0.09	0.094	0.095	0.095	0.096	2.60
3	0.077	0.074	0.072	0.077	0.074	0.075	2.60
4	0.015	0.015	0.015	0.015	0.014	0.016	4.22
5	0.040	0.038	0.038	0.038	0.037	0.039	2.69
6	0.017	0.017	0.017	0.017	0.017	0.018	2.38
7	0.017	0.016	0.017	0.016	0.016	0.016	3.16
8	0.105	0.107	0.103	0.103	0.103	0.107	1.88
9	0.086	0.084	0.083	0.083	0.084	0.085	1.39
10	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0
11	0.060	0.060	0.058	0.059	0.057	0.059	1.99
12	0.108	0.107	0.105	0.106	0.103	0.105	1.67
13	0.017	0.017	0.018	0.017	0.017	0.017	2.38
14	0.134	0.131	0.130	0.128	0.133	0.130	1.67
15	0.030	0.029	0.028	0.029	0.027	0.029	3.60

特征图谱中共有峰的RRT的RSD值均小于1%,RPA的RSD值均小于5%,供试液B在24h内稳定性良好。

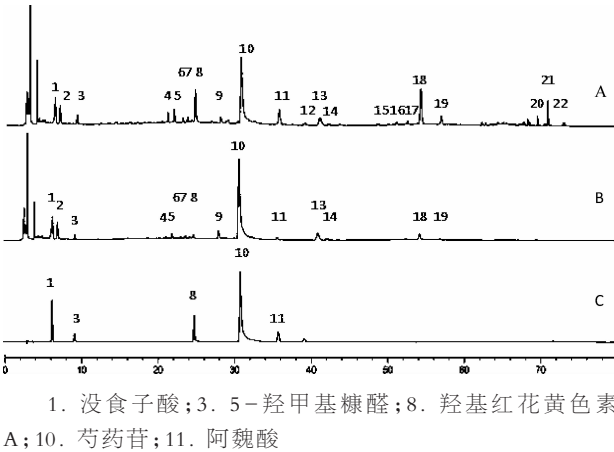
表7 稳定性试验(相对峰面积)

峰号	相对峰面积						RSD /%
	0 h	3 h	6 h	10 h	16 h	24 h	
1	0.152	0.156	0.153	0.159	0.157	0.158	1.79
2	0.098	0.099	0.100	0.100	0.101	0.102	1.41
3	0.066	0.066	0.066	0.068	0.066	0.065	1.49
4	0.014	0.014	0.014	0.013	0.014	0.014	2.95
5	0.036	0.036	0.036	0.037	0.037	0.036	1.42
6	0.017	0.017	0.017	0.017	0.017	0.017	0
7	0.016	0.016	0.016	0.016	0.016	0.016	0
8	0.100	0.098	0.100	0.102	0.100	0.100	1.27
9	0.104	0.104	0.104	0.107	0.106	0.105	1.20
10	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0
11	0.057	0.056	0.055	0.058	0.055	0.055	2.26
12	0.107	0.109	0.108	0.113	0.109	0.110	1.89
13	0.018	0.018	0.019	0.018	0.019	0.018	2.82
14	0.126	0.127	0.128	0.130	0.128	0.129	1.11
15	0.030	0.029	0.030	0.030	0.030	0.029	1.74

2.5 桃红四物汤不同方法提取液特征图谱的建立与比较

2.5.1 特征图谱的建立

按“2.3.1、2.3.2”项下方法，分别制备 A 液、B 液，按“2.3.3”项下方法，分别制备两种供试液，按“2.1”项下色谱条件，分别进样 20μL，记录色谱图，供试品溶液及混合标准品溶液色谱图见图 1。

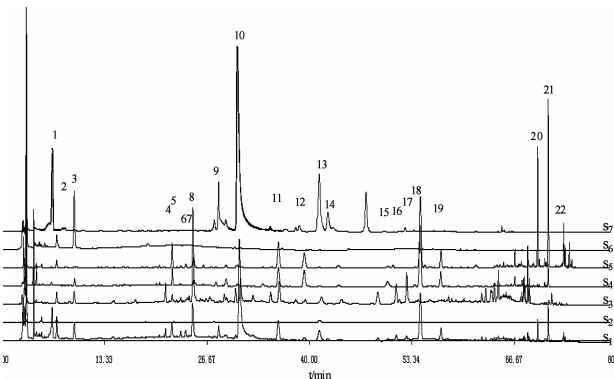


1. 没食子酸;3. 5-羟甲基糠醛;8. 羟基红花黄色素 A;10. 芍药苷;11. 阿魏酸

图 1 HPLC 特征图谱[A 液(A)、B 液(B)、混合标准品(C)]

2.5.2 特征图谱的分析

对测定的两种提取液的特征图谱进行分析，以芍药苷为参照峰(S 峰)，发现一批 90%乙醇-水提取液样品中共有峰为 22 个，一批传统水煎煮提取液样品中共有峰为 15 个。经与对照品比对确定 1 号峰为没食子酸，3 号峰为 5-羟甲基糠醛，8 号峰为羟基红花黄色素 A，10 号峰为芍药苷，11 号峰为阿魏酸。在相同色谱条件下，经与各单味煎剂及缺味煎剂对比，确定桃红四物汤各色谱峰的来源，色谱图见下图 2，归属结果如下表 8。



S₁. 桃红四物汤;S₂. 桃仁药材;S₃. 红花药材;S₄. 当归药材;S₅. 川芎药材;S₆. 熟地黄药材;S₇. 白芍药材

图 2 桃红四物汤及单味药材提取液色谱图

表 8 共有峰的药材归属

峰归属	峰编号
桃仁	2、13
红花	4、6、7、8、11、13、15、16、17
当归	1、5、6、11、12、18、19
川芎	2、5、6、7、11、12、18、19、20、21、22
白芍	1、9、10、13、14
熟地	2、3

2.5.3 两种提取液特征峰的比较

以 B 液图谱为标准图谱，共有 15 个指纹峰；A 液特征图谱与 B 液图谱比较，可检出的峰数较多，除了标准图谱中的 15 个共有峰以外，多出 7 个色谱峰，即 12、15、16、17、20、21、22 号色谱峰。另与标准图谱所共有的 15 个色谱峰峰面积也不相同。以参照峰的保留时间和峰面积为基准，计算各峰的相对保留时间和相对峰面积，结果见表 9。

表 9 两种方法提取液特征图谱的相对保留时间及相对峰面积

峰号	相对保留时间		相对峰面积	
	B 液	A 液	B 液	A 液
1	0.211	0.211	0.156	0.114
2	0.230	0.230	0.091	0.061
3	0.304	0.304	0.074	0.069
4	0.689	0.689	0.015	0.018
5	0.716	0.716	0.037	0.059
6	0.753	0.752	0.017	0.015
7	0.773	0.773	0.017	0.022
8	0.803	0.803	0.109	0.148
9	0.912	0.912	0.082	0.051
10	1.000	1.000	1.000	1.000
11	1.164	1.164	0.057	0.107
12	—	1.272	—	0.021
13	1.337	1.337	0.106	0.104
14	1.374	1.373	0.018	0.022
15	—	1.583	—	0.021
16	—	1.662	—	0.035
17	—	1.705	—	0.037
18	1.763	1.763	0.127	0.245
19	1.849	1.849	0.028	0.053
20	—	2.257	—	0.034
21	—	2.302	—	0.065
22	—	2.367	—	0.034

注：“—”为未检出

按照下面的公式分别计算不同方法提取液的共有峰重叠率、总差异率,结果见表10。

检出率(%)=待测样品峰数/标准样品峰数×100%

共有峰重叠率(%)=特征峰数×2/(待测样品峰数+标准样品峰数)

总差异率(%)= $\sum(|A_k - A_j|/A_k) \times 100\% / n$

式中: A_k —B液中某个特征峰的面积;

A_j —待测样品中某个特征峰的面积;

n —特征峰的总数

表10 共有峰重叠率、总差异率

提取液	检出率/%	重叠率/%	总差异率/%
B液	100.0	100.0	0
A液	146.7	115.8	26.75

3 讨论与小结

通过比较桃红四物汤A、B液的特征图谱发现,A液可检测出的色谱峰数比B液多7个峰,且这7个峰主要集中在色谱图中小极性部分,其原因可能是由于A液是90%的乙醇提取,一些极性相对低的成分溶出,致使A液含有的一些小极性物质多于传统提取的B液。而多出的7个峰中,20、21、22号峰归属于川芎,15、16、17号峰归属于红花,12号峰归属于当归、川芎。A、B液色谱图中主峰的峰面积亦存在着差异。含量测定结果表明,在A液中羟基红花黄色素A和阿魏酸含量较多;B液中没食子酸和5-羟甲基糖醛含量多于A液;证明不同提取方法对该方的成分溶出有一定的影响,得到的化学成分种类和含量具有差异。在后期桃红四物汤的化学成分研究中,将对特征图谱中出现差异的色谱峰进行进一步指认,明确提取方式对复方化学成分的影响。

鉴于桃红四物汤中不同有效成分在同一紫外条件下吸收强度不一,故采用多波长切换技术全面分析该复方特征图谱,通过不断的摸索,最终得到的特征图谱共有峰数目多,各峰高比例适宜,干扰少,灵敏度较高。由于两种提取方法中均含有芍药苷,且峰面积较大,分离度较好,故选用芍药苷作为参照峰。

本实验在对流动相系统筛选过程中,曾采用甲醇—水,甲醇—0.05%磷酸水溶液,乙腈—水进行流动相预试,但保留时间较长,分离度不佳;最终确定乙腈—0.05%磷酸水溶液系统洗脱,色谱峰基线稳定,峰高适宜,分离度较好。

参考文献:

- [1] 彭怀仁. 中医方剂大辞典 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1994: 413.
- [2] 刘立, 段金廛, 宿树兰, 等. 用于妇科血瘀证痛经的四物汤类方——桃红四物汤的研究进展[J]. 中国中药杂志, 2015, 40(5): 814-821.
- [3] 霍学慧. 四物汤及其类方的研究[D]. 济南: 山东中医药大学, 2004.
- [4] 陈少明, 黄镇华. 桃红四物汤新解[J]. 新医学, 1974, 9(10): 524-525.
- [5] 石学魁, 阮殿清, 陶冀, 等. 红花多糖对人PBMC增殖活性剂分泌细胞因子的影响[J]. 天津中医药, 2010, 27(4): 337-339.
- [6] 任爱农, 邹义芳, 陆颖, 等. 红花多糖的分离纯化与单糖组成分析 [J]. 药物分析杂志, 2013, 33(7): 1190-1196.
- [7] 李翊, 彭代银. 桃红四物汤的药理学研究进展[J]. 安徽医药, 2011, 15(5): 529-531.
- [8] 张晓莉, 程翔, 刘洋, 等. 红花多糖对人肝癌 SMMC-7721 细胞 Bcl-2 与 Bax 基因转录及蛋白表达的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(14): 239-244.
- [9] 任国辉, 叶任高, 李幼姬, 等. 桃红四物汤对实验性肾炎肾内血小板活化因子、血栓素 B2 的影响[J]. 中国中西医结合杂志, 1996(51): 91-93.
- [10] 贺晓菊. 桃红四物汤对月经病血瘀证临床效果观察 [J]. 深圳中西医结合杂志, 2016, 26(16): 52-53.
- [11] 罗利琼, 陈东波. 桃红四物汤对肝纤维化大鼠肝组织星状细胞增殖的影响 [J]. 宜春学院学报, 2014, 36(3): 69-71.
- [12] 许贞爱, 张红英, 朴惠顺, 等. 桃仁提取物对急性肝损伤的保护作用 [J]. 中国医院药学杂志, 2011, 31(2): 120-123.
- [13] 史萌萌, 奚胜艳, 王彦晖, 等. 桃红四物汤对肝纤维化小鼠病理性血管生成相关因子 VEGF、KDR 与 Flt-1 表达的影响[J]. 中华中医药杂志, 2016, 31(2): 487-491.
- [14] 储霞, 董怡, 苗英. 桃红四物汤在临床应用中的研究进展[J]. 当代护士, 2016(5): 3-4.
- [15] 刘立, 段金廛, 唐于平, 等. 桃红四物汤抗氧化效应物质基础研究[J]. 中国中药杂志, 2011, 36(12): 1591-1595.
- [16] 王辰雯, 彭代银. 超高压液相色谱法同时测定桃红四物汤中四种主要有效成分的含量 [J]. 安徽医药, 2013, 17(7): 1110-1112.

(编辑:徐建平)

(英文摘要见第93页)

- [M]. 南京:江苏人民出版社,2005:33.
- [3] 史业骞,初杰.从“象思维”谈药说方[J].中国中医基础医学杂志,2015,21(4):451-453.
- [4] 谢惠迪.“象”思维之我见[J].中医药文化,2014,13(2):60-61.
- [5] 赵中国.象思维局限性特征研究——兼从思维方法的角度答李约瑟难题[J].周易研究,2014,10(3):25-32.
- [6] 张其成.中医哲学基础[M].北京:中国中医药出版社,2004:290.
- [7] 邢玉瑞.中医象思维研究述评[J].现代中医药,2015,35(3):53-57.
- [8] 李梦漪,张瑞贤.《本草纲目》象思维研究概况[J].江西中医学院学报,2011,23(1):9-11.
- [9] 潘发明.医学统计方法及其spss软件实现[M].合肥:中国科学技术大学出版社,2013:123.
- [10] 李喜春,王志和,王文林.生物统计学[M].2版.北京:科学出版社,2000:287.
- [11] 胡良平.医学统计应用错误的诊断与释疑[M].北京:军事医学科学出版社,1999,30-31.
- [12] 钟羽云,周昕,卢显,等.t检验方法在评价水库地震中的应用[J].华南地震,2012,32(4):10-19.
- [13] 董振飞,王均宁.法象用药临床治验举隅[J].检验医学与临床,2016,13(16):2407-2408.
- [14] 唐仕欢,杨洪军,黄璐琦.论自然环境因子变化对中药药性形成的影响[J].中国中药杂志,2010,35(1):126-128.
- (编辑:徐建平)

(原文见第73页)

Study on the Characteristic Chromatogram of Taohong Siwu Decoction by Different Extraction Methods

WANG Yali^{1,3}, WU Deling^{1,2,3}, ZHANG Wei^{1,2,3}, LI Peipei^{1,3}, XU Fengqing^{1,2,3}, PENG Daiyin¹

(1. School of Pharmacy, Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230012, China;

2. Anhui Innovative Team from Colleges for Scientific Research's Platform—The Innovative Team in Researching the Key Technologies concerning the Integration of Processing Chinese Medicine Decoction Pieces in Producing Area, Hefei 230012, China;

3. Institute of Pharmaceutical Chemistry, Anhui Academy of Chinese Medicine, Hefei 230012, China)

ABSTRACT: **Objective** Differences in the effects of Taohong Siwu Decoction HPLC characteristics of different extraction method and the comparison of different extraction methods on the chemical composition change. **Methods** The characteristic chromatogram was obtained on a Welch Materials C18 (4.6 nm×250nm, 5μm) eluted with a gradient of acetonitrile and water (include 0.05% phosphoric acid), at a flow rate of 1 mL·min⁻¹, with wavelength switching detection, the column temperature was 40°C and sample volume was 25μL. **Results** The characteristic spectrum of traditional water extraction and 90% ethanol-water extraction of Taohong Siwu Decoction were established respectively, and the common peaks areas and numbers were quite different. **Conclusion** The characteristic chromatogram established were workable with remarkable repeatability, and can be used as the reference for quality control, process research and correlation of composition and efficacy of Taohong Siwu Decoction.

KEY WORDS: Taohong Siwu Decoction; HPLC; characteristic chromatogram; wavelength switching