

中图分类号: R932; R284.1; R286.0 文献标志码: A 文章编号: 1006-4931(2026)05-0100-05  
doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2026.05.020



# 分散液液微萃取 - 高效液相色谱法测定固发洗剂中7种活性成分含量\*

谢寒<sup>1</sup>, 明荷<sup>2△</sup>, 张薇<sup>2</sup>, 方应权<sup>2</sup>, 汪方林<sup>1</sup>

(1. 重庆三峡医药高等专科学校附属人民医院, 重庆 404000; 2. 重庆三峡医药高等专科学校, 重庆 404120)  
**摘要:**目的 建立同时测定固发洗剂中7种成分含量的分散液液微萃取-高效液相色谱(DLLME-HPLC)法。方法 采用超声辅助的DLLME法对样品进行前处理, 萃取剂选择50 μL四氯甲烷, 分散剂选择0.8 mL乙腈, 加氯化钠使溶液浓度为2.5%(V/V)。采用HPLC法测定含量, 色谱柱为Diamonsil C<sub>18</sub>(2)柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 流动相为甲醇-0.1%甲酸溶液(梯度洗脱), 流速为1.0 mL/min, 检测波长分别为321 nm(阿魏酸)、355 nm(槲皮苷和槲皮素)、270 nm(藜芦内酯和牛蒡子苷)、434 nm(大黄素和大黄素甲醚), 柱温为30 °C, 进样量为10 mL。结果 固发洗剂中阿魏酸、槲皮苷、槲皮素、藜芦内酯、牛蒡子苷、大黄素、大黄素甲醚在各自质量浓度范围内与其峰面积线性关系均良好( $r \geq 0.999 5, n = 5$ ); 精密度、稳定性、重复性试验结果的RSD均小于4.0%( $n = 6$ ); 平均加样回收率分别为97.59%, 100.67%, 103.79%, 97.80%, 98.78%, 99.93%, 99.63%, RSD分别为1.79%, 4.42%, 2.71%, 1.53%, 3.63%, 3.25%, 3.38%( $n = 6$ )。固发洗剂中上述7种成分的平均含量分别为26.36, 33.10, 38.95, 37.25, 25.51, 61.12, 23.21 mg/mL( $n = 3$ )。结论 所建立的方法操作简便, 重复性和稳定性均良好, 结果准确, 可用于同时测定固发洗剂中7种成分的含量。

**关键词:** 固发洗剂; 分散液液微萃取法; 高效液相色谱法; 含量测定

## Cotent Determination of Seven Active Components in Gufa Lotion by DLLME - HPLC

XIE Han<sup>1</sup>, MING He<sup>2△</sup>, ZHANG Wei<sup>2</sup>, FANG Yingquan<sup>2</sup>, WANG Fanglin<sup>1</sup>

(1. People's Hospital Affiliated to Chongqing Three Gorges Medical College, Chongqing 404000, China; 2. Chongqing Three Gorges Medical College, Chongqing 404120, China)

**Abstract: Objective** To establish a dispersion liquid - liquid microextraction - high performance liquid chromatography (DLLME - HPLC) method for the simultaneous determination of seven components in Gufa Lotion. **Methods** The sample was pretreated by the DLLME method assisted by ultrasound, 50 μL of tetrachloromethane was selected as the extractant, 0.8 mL of acetonitrile was selected as the dispersant, and sodium chloride was added to the solution until the concentration reached 2.5% (V / V). The contents of seven components in Gufa Lotion were determined by the HPLC method, the chromatographic column was Diamonsil C<sub>18</sub> (2) column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), the mobile phase was methanol - 0.1% formic acid solution (gradient elution), the flow rate was 1.0 mL / min, and the detection wavelength was set at 321 nm for ferulic acid, 355 nm for quercetin and quercetin, 270 nm for ligustilide and arctiin, and 434 nm for emodin and emodin methyl ether, the column temperature was 30 °C, and the injection volume was 10 mL. **Results** The linear ranges of ferulic acid, quercitrin, quercetin, ligustilide, arctiin, emodin, and physcion in Gufa Lotion were good ( $r \geq 0.999 5, n = 5$ ). The RSDs of precision, stability, and repeatability test results were all lower than 4.0% ( $n = 6$ ). The average recoveries of the seven components were 97.59%, 100.67%, 103.79%, 97.80%, 98.78%, 99.93%, and 99.63%, with RSDs of 1.79%, 4.42%, 2.71%, 1.53%, 3.63%, 3.25%, and 3.38% ( $n = 6$ ), respectively. The average contents of the above seven components in Gufa Lotion were 26.36, 33.10, 38.95, 37.25, 25.51, 61.12, and 23.21 mg / mL ( $n = 3$ ), respectively. **Conclusion** The established method is simple, reproducible, stable, and accurate, which can be used for the simultaneous determination of seven components in Gufa Lotion.

**Key words:** Gufa Lotion; DLLME; HPLC; content determination

\* 基金项目: 重庆市教育委员会科学技术研究项目[KJQN202102706]。

第一作者: 谢寒, 男, 大学本科, 主治医师, 研究方向为针药结合防治疾病, (电子信箱)65553764@qq.com。

△通信作者: 明荷, 女, 硕士, 副教授, 研究方向为针药结合防治疾病, (电子信箱)33604948@qq.com。

[9] 周美丽, 韩妮萍. 当归的有效成分及药理作用研究进展[J]. 环球中医药, 2024, 17(7): 1420 - 1427. 波长切换法同时测定当归饮子中6种成分[J]. 中华中医药杂志, 2024, 39(9): 4915 - 4922.

[10] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(四部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 59 - 60. [14] 李萍, 曾金, 欧人豪, 等. 参芪益气口服液质量标准研究[J]. 中国药业, 2022, 31(1): 80 - 84.

[11] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020. [15] 赖岳晓, 刘佩沂, 郑雪青, 等. 肺热清解煎煮质量标准研究[J]. 中国药业, 2024, 33(21): 80 - 84.

[12] 上海市药品监督管理局. 上海市中药饮片炮制规范(2018年版)[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2019: 160 - 234. [16] 田欢, 祁庆瑞, 王可欣, 等. 定眩饮颗粒质量标准研究[J]. 中国药业, 2023, 32(5): 88 - 92.

[13] 李晓雨, 于海涛, 宋景, 等. 基于特征图谱及高效液相色谱

(收稿日期: 2025 - 03 - 19; 修回日期: 2025 - 12 - 27)

固发洗剂是根据湖南省名老中医龚景林教授的经验方“祛脂生发方”加减而成,由制首乌、藁本、侧柏叶、牛蒡子、白芷、王不留行6味中药材组方,用于治疗脂溢性脱发,经现代工艺制作成易于储存、方便使用的洗剂。方中,制首乌、藁本共为君药,制首乌提取物中的大黄素、大黄素甲醚等成分可抑制限制性马拉色菌活性<sup>[1]</sup>,而马拉色菌感染被认为是脂溢性皮炎的重要原因<sup>[1-2]</sup>;藁本中的阿魏酸可增强人毛乳头细胞的增殖活性,从而促进毛发生长<sup>[3]</sup>,其挥发油成分藁本内酯具有透皮促进作用,有助于促进活性物质经皮吸收<sup>[4]</sup>。牛蒡子、侧柏叶共为臣药,牛蒡子中的牛蒡子苷可改善小鼠特应性皮炎,对人毛乳头细胞具有抗氧化作用,进而预防和治疗脱发<sup>[5]</sup>。侧柏叶中的槲皮苷、槲皮素等成分在治疗脱发过程中可能发挥了主导作用<sup>[6]</sup>。目前,固发洗剂的研究和应用仅限于临床,尚未开展制剂质量标准研究,也未对其有效成分进行含量测定。高效液相色谱(HPLC)法是药物含量测定最常用的方法,但通常需对样品进行前处理,以富集待测物质,并降低或消除基质的干扰。中药色谱分析常用的前处理技术有索氏提取法、超声或微波辅助的液液萃取法、固相萃取法等,但均存在消耗有毒有害溶剂多、费用高、操作烦琐等缺点<sup>[7]</sup>。分散液液微萃取(DLLME)法是近年来应用广泛的一种样品前处理方法,其原理是通过在待测溶液中快速加入微量萃取剂和分散剂的混合溶剂,并以超声、微波等辅助手段促进分散,从而快速形成大量极微小乳滴分散于样品溶液中,实现快速、高效萃取的目的<sup>[7-8]</sup>。故本研究中建立了测定固发洗剂中阿魏酸、槲皮苷、藁本内酯、牛蒡子苷、槲皮素、大黄素、大黄素甲醚7种成分含量的DLLME-HPLC法。现报道如下。

## 1 仪器与试剂

### 1.1 仪器

Agilent 1200型HPLC系统(美国Agilent公司);5430R型离心机(德国Eppendorf公司);AS3120型超声波清洗器(天津奥特赛恩斯仪器有限公司,功率为120 W,频率为40 kHz);AL204型电子分析天平(梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司,精度为万分之一)。

### 1.2 试剂

阿魏酸对照品(批号为110773-201914),槲皮苷对照品(批号为111538-202104),槲皮素对照品(批号为100081-201610),藁本内酯对照品(批号为111737-201910),大黄素对照品(批号为110756-202019),大黄素甲醚对照品(批号为110758-201817),均购自中国食品药品检定研究院,纯度均大于99.0%;牛蒡子苷对照品(上海源叶生物科技有限公司,批号为

R1208F45507,纯度不低于98%);固发洗剂(深圳水木生物科技有限公司,批号分别为20230306,20230512,20230513,20230515,20230821,20230822,20240105,20240108,20240311,20240315,编号分别为GF1-GF10);中药饮片制首乌(批号为20230612),牛蒡子(批号为20231210),白芷(批号为20230521),藁本(批号为20240105),王不留行(批号为20231109),侧柏叶(批号为20230625),均购自重庆中药材有限公司;甲醇(色谱纯,美国Fisher公司);氯化钠、乙腈(分析纯,上海凌峰化学试剂有限公司);水为饮用纯净水(杭州娃哈哈集团有限公司)。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

色谱柱:Diamonsil C<sub>18</sub>(2)柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm);流动相:甲醇(A)-0.1%甲酸溶液(B),梯度洗脱(0~12 min时30%A→42%A,12~27 min时42%A→84%A);流速:1.0 mL/min;检测波长:321 nm(0~12 min,阿魏酸),355 nm(12~15 min,槲皮苷),270 nm(15~20 min,藁本内酯和牛蒡子苷),355 nm(20~21 min,槲皮素),434 nm(21~27 min,大黄素和大黄素甲醚);柱温:30℃;进样量:10 μL。

### 2.2 溶液制备

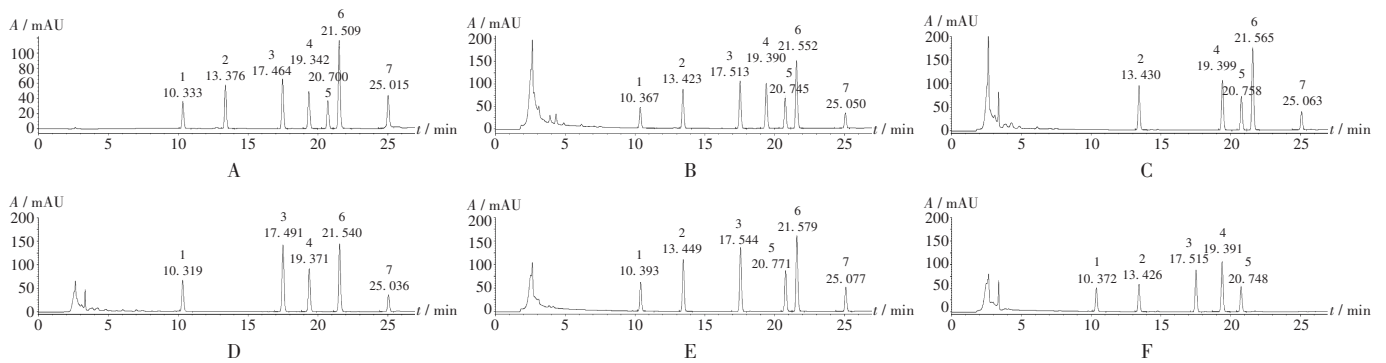
混合对照品溶液:取7种待测成分对照品各适量,精密称定,分别置容量瓶中,加甲醇溶解并定容,即得对照品贮备液。精密吸取各对照品贮备液适量,置同一容量瓶中,加甲醇定容,即得阿魏酸、槲皮苷、藁本内酯、牛蒡子苷、槲皮素、大黄素、大黄素甲醚质量浓度分别为276.2,401.6,358.5,565.2,260.5,626.8,229.5 μg/mL的混合对照品溶液。

供试品溶液:精密量取固发洗剂5 mL,置10 mL尖底玻璃试管中,加氯化钠使溶液浓度为2.5%(V/V),用1 mL玻璃注射器快速注入0.8 mL乙腈(分散剂)和50 μL四氯甲烷(萃取剂)的混合溶剂,室温超声处理(功率为100 W,频率为30 kHz),室温离心(转速为4 000 r/min)5 min,用50 μL微量进样针吸取下层萃取液约20 μL,即得。

阴性对照品溶液:按固发洗剂的处方和制备工艺,分别制备缺藁本、侧柏叶、牛蒡子、制首乌的阴性样品,按供试品溶液制备方法制备,即得。

### 2.3 方法学考察<sup>[9]</sup>

专属性试验:分别取2.2项下混合对照品溶液、供试品溶液和阴性对照品溶液各适量,按2.1项下色谱条件进样测定,记录色谱图。结果供试品溶液色谱中,在与混合对照品溶液色谱相同保留时间处有对应色谱峰出现,7种待测成分的色谱峰均分离良好,理论板数按



1. 阿魏酸 2. 槲皮苷 3. 藜本内酯 4. 牛蒡子苷 5. 槲皮素 6. 大黄素 7. 大黄素甲醚  
A. 混合对照品溶液 B. 供试品溶液 C - F. 阴性对照品溶液(分别缺藜本、侧柏叶、牛蒡子、制首乌)

图1 高效液相色谱图

1. Ferulic acid 2. Quercitrin 3. Ligustilide 4. Arctiin 5. Quercetin 6. Emodin 7. Physcion

A. Mixed reference solution B. Test solution C - F. Negative reference solution (lacking Ligustici Rhizoma et Radix, Platycladi Cacumen, Arctii Fructus, and Polygoni Multiflori Radix Praeparata, respectively)

Fig. 1 HPLC chromatograms

各成分计均大于2 700,杂质无干扰,表明方法专属性良好。详见图1。

线性关系考察:分别精密吸取2.2项下混合对照品溶液0.1,0.5,1.0,1.5,2.0 mL,分别置10 mL容量瓶中,加水定容,混匀,得各待测成分的系列质量浓度溶液,精密吸取5 mL,按2.2项下供试品溶液制备方法萃取,萃取液按2.1项下色谱条件进样测定,以待测成分的质量浓度( $X, \mu\text{g}/\text{mL}$ )为横坐标、峰面积( $Y$ )为纵坐标进行线性回归。结果见表1,表明各待测成分在各自质量浓度范围内与其峰面积线性关系良好。

表1 线性关系考察与精密度、稳定性、重复性试验结果

Tab. 1 Results of the linear relation, precision, stability, and repeatability tests

成分	回归方程	线性范围 (mg/mL)	$r$ ( $n=5$ )	RSD(% , $n=6$ )		
				精密度试验	稳定性试验	重复性试验
阿魏酸	$Y=4.028X+105.9$	2.76~55.24	0.9996	3.19	3.21	2.82
槲皮苷	$Y=3.608X+201.5$	4.02~80.32	0.9997	2.13	2.52	1.44
藜本内酯	$Y=2.931X+59.2$	3.58~71.70	0.9995	3.07	3.48	3.65
牛蒡子苷	$Y=3.306X+108.6$	5.65~113.04	0.9998	2.68	2.87	2.23
槲皮素	$Y=2.018X+138.7$	2.60~52.10	0.9998	3.34	2.72	3.09
大黄素	$Y=3.281X+172.1$	6.27~125.36	0.9999	2.67	1.68	1.58
大黄素甲醚	$Y=3.859X+94.1$	2.30~45.90	0.9997	1.18	3.30	2.92

精密度试验:取线性范围中间浓度的混合对照品溶液适量,按2.1项下色谱条件进样测定6次,记录峰面积。结果见表1,表明仪器精密度良好。

稳定性试验:取固发洗剂(编号为GF10)适量,按2.2项下方法制备供试品溶液,平行6份,分别于室温放置0,2,4,8,12,24 h时按2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果见表1,表明供试品溶液室温放置

24 h内稳定性良好。

重复性试验:取固发洗剂(编号为GF10)适量,按2.2项下方法制备供试品溶液,平行6份,按2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积,并计算含量。结果见表1,表明方法重复性良好。

加样回收试验:精密吸取固发洗剂(编号为GF10)2.5 mL,置10 mL尖底玻璃试管中,另取2.2项下混合对照品溶液,按1:10( $V/V$ )稀释,精密吸取2.5 mL(对应100%水平),加入上述试管中,混匀,按2.2项下方法制备供试品溶液,平行6份,按2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积,并计算回收率。结果见表2,表明方法准确度良好。

## 2.4 样品含量测定

取10批(编号为GF1 - GF10)固发洗剂,按2.2项下方法制备供试品溶液,按2.1项下色谱条件重复进样测定3次,记录峰面积,按外标法计算含量。结果见表3。

## 3 讨论

### 3.1 指标性成分选择

固发洗剂系根据传统中医经验方研制而成,结合中医外治法的理论和实践治疗脂溢性脱发<sup>[10]</sup>,临床疗效良好。方中,制首乌、藜本为君药,补肝肾、乌须发、祛风胜湿<sup>[11-13]</sup>;侧柏叶、牛蒡子为臣药,疏散风热<sup>[14-17]</sup>。本研究中基于传统中医辨证论治和现代医学的病因病理研究,结合DLLME-HPLC法的特点,选择方中的君药和臣药,以及药材中有药理学活性且含量较高的成分阿魏酸、槲皮苷、藜本内酯、牛蒡子苷、槲皮素、大黄素、大黄素甲醚作为指标性成分。

### 3.2 DLLME 条件优化

DLLME的萃取效率受溶剂体系、离子强度、萃取条

表2 加样回收试验结果 ( $n = 6$ )  
Tab. 2 Results of the recovery test ( $n = 6$ )

成分	样品含量 ( $\mu\text{g}$ )	加入量 ( $\mu\text{g}$ )	测得量 ( $\mu\text{g}$ )	回收率 (%)	$\bar{X}$ (%)	RSD (%)
阿魏酸	133.00	138.12	265.12	95.66	97.59	1.79
	133.00	138.12	268.12	97.83		
	133.00	138.12	270.32	99.42		
	133.00	138.12	264.58	95.26		
	133.00	138.12	268.74	98.28		
	133.00	138.12	269.85	99.08		
槲皮苷	198.48	200.81	412.25	106.45	100.67	4.42
	198.48	200.81	398.67	99.69		
	198.48	200.81	389.59	95.17		
	198.48	200.81	408.59	104.63		
	198.48	200.81	402.56	101.63		
	198.48	200.81	392.17	96.45		
藜本内酯	182.40	179.25	361.25	99.78	103.79	2.71
	182.40	179.25	371.98	105.76		
	182.40	179.25	373.62	106.68		
	182.40	179.25	371.20	105.33		
	182.40	179.25	369.47	104.36		
	182.40	179.25	363.18	100.85		
牛蒡子苷	288.40	282.59	565.69	98.12	97.80	1.53
	288.40	282.59	571.39	100.14		
	288.40	282.59	567.19	98.66		
	288.40	282.59	563.32	97.29		
	288.40	282.59	559.81	96.04		
	288.40	282.59	561.29	96.57		
槲皮素	131.76	130.27	269.56	105.78	98.78	3.63
	131.76	130.27	256.91	96.07		
	131.76	130.27	260.51	98.83		
	131.76	130.27	257.39	96.44		
	131.76	130.27	258.63	97.39		
	131.76	130.27	259.63	98.16		
大黄素	318.24	313.41	646.91	104.87	99.93	3.25
	318.24	313.41	639.24	102.42		
	318.24	313.41	631.87	100.07		
	318.24	313.41	621.69	96.82		
	318.24	313.41	620.94	96.58		
	318.24	313.41	627.89	98.80		
大黄素甲醚	115.92	114.74	229.85	99.29	99.63	3.38
	115.92	114.74	226.48	96.36		
	115.92	114.74	235.69	104.38		
	115.92	114.74	233.41	102.40		
	115.92	114.74	230.28	99.67		
	115.92	114.74	225.69	95.67		

件等多因素的影响。溶剂体系涉及萃取剂和分散剂,分散剂如甲醇、乙腈等可促进萃取剂的均匀分散;萃取剂多为低极性溶剂,如含氯溶剂或密度小于水的溶

表3 固发洗剂中7种成分含量测定结果 ( $\text{mg} / \text{mL}, n = 3$ )  
Tab. 3 Results of the content determination of seven components in Gufa Lotion ( $\text{mg} / \text{mL}, n = 3$ )

编号	阿魏酸	槲皮苷	藜本内酯	牛蒡子苷	槲皮素	大黄素	大黄素甲醚
GF1	25.91	33.91	36.48	37.68	26.35	63.65	23.18
GF2	26.16	38.95	35.31	32.65	25.39	59.14	20.91
GF3	28.69	32.91	40.92	41.36	22.51	54.85	20.48
GF4	27.12	28.61	32.93	38.51	23.51	61.95	25.61
GF5	27.48	31.95	38.16	39.75	29.24	62.59	22.18
GF6	23.86	32.51	41.14	32.64	25.68	54.84	21.34
GF7	27.21	34.94	37.69	39.48	28.34	59.61	26.61
GF8	24.57	37.28	44.21	33.61	27.61	56.39	25.37
GF9	26.94	31.28	43.18	40.28	21.74	69.84	21.56
GF10	25.64	28.61	39.49	36.50	24.72	68.34	24.87
$\bar{X}$	26.36	33.10	38.95	37.25	25.51	61.12	23.21

剂<sup>[7-8]</sup>。溶剂用量显著影响富集因子(EF)。萃取剂过少难以充分萃取,过多会降低待测物在萃取液中的浓度;分散剂不足会影响萃取剂分散,过多则导致待测物易溶于水相。

预试验中,考察了不同分散剂(乙腈、甲醇、丙酮)对萃取效率的影响。结果乙腈为分散剂时易形成乳浊液,且经离心可形成清晰、稳定的两相,易于吸取。故分散剂选择乙腈。在此基础上,进一步考察了不同萃取剂(二氯甲烷、三氯甲烷、四氯甲烷、四氯乙烷),不同萃取剂用量(30, 40, 50, 60, 70, 80  $\mu\text{L}$ ),不同分散剂用量(0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9, 1.0 mL),加氯化钠不同溶液浓度(1.0%, 1.5%, 2.0%, 2.5%, 3.0%, 3.5%,  $m / V$ )对萃取效率的影响。综合考虑EF、气味等因素,最终确定萃取条件为0.8 mL乙腈(分散剂)、50  $\mu\text{L}$ 四氯甲烷(萃取剂)、加氯化钠使溶液浓度为2.5% ( $V / V$ )。

此外,考察了溶液pH、超声条件(时间、温度)、离心条件(时间、转速、温度)对EF的影响,结果上述条件对EF的影响均较小。故不调整溶液的pH,选择室温超声处理(功率为100 W,频率为30 kHz)5 min形成均匀乳浊液,室温离心(转速为4 000  $\text{r} / \text{min}$ )5 min实现两相分离。

### 3.3 检测方法选择

方法学考察时,曾尝试采用中性氧化铝柱层析法对样品进行前处理,虽然该方法可测定7种目标成分的初始浓度( $C_0$ ),但存在操作烦琐、有机溶剂消耗量大、分析周期较长等不足。故先采用DLLME法对样品进行前处理,再采用HPLC法测定含量,操作简便、快速,目标成分能高效富集,显著减少有机溶剂的用量。通过优化流动相梯度和多波长切换检测,实现了7种成分的良好分离,梯度洗脱有效解决了成分极性差异大的问题,多