

经典名方苓甘五味姜辛汤基准样品的 HPLC 指纹图谱及量值传递规律研究

彭友飞¹, 陈怡名¹, 李媛媛¹, 王 洋¹, 朱秀波¹, 王 月¹, 刘 旭², 顾媛媛^{1*}

1. 黑龙江中医药大学 中医药研究院, 黑龙江 哈尔滨 150040

2. 黑龙江中医药大学 实验中心, 黑龙江 哈尔滨 150040

摘要: **目的** 建立苓甘五味姜辛汤基准样品的指纹图谱及其 5 个关键指标性成分定量测定方法, 研究其基准样品量值传递规律。 **方法** 采用 HPLC 法建立苓甘五味姜辛汤指纹图谱, 通过基准样品与各单味中药饮片的相关性分析进行共有峰归属, 以对照品进行共有峰指认, 通过各批次间相似度评价, 分析 15 批苓甘五味姜辛汤基准样品的质量差异。同时建立指标性成分甘草苷、甘草酸铵、6-姜酚、五味子醇甲和细辛脂素定量测定方法, 结合定量分析结果及各指标成分的转移率进行量值传递研究。 **结果** 建立了 15 批苓甘五味姜辛汤基准样品的 HPLC 指纹图谱, 共标定 28 个共有峰, 各批次间相似度均 ≥ 0.950 , 经与对照品比对, 确定峰 7 为甘草苷, 峰 17 为甘草酸铵, 峰 20 为 6-姜酚, 峰 22 为五味子醇甲, 峰 26 为细辛脂素。15 批苓甘五味姜辛汤基准样品中甘草苷、甘草酸铵、6-姜酚、五味子醇甲、细辛脂素的质量分数分别为 2.75~4.20、4.38~7.18、0.94~1.69、0.28~0.47、0.21~0.33 mg·g⁻¹; 中药饮片至基准样品的平均转移率分别为 21.57%~35.11%、16.83%~31.00%、7.45%~13.64%、3.13%~5.47%、3.15%~5.40%。 **结论** 建立的指纹图谱及多指标成分定量测定方法, 可用于经典名方苓甘五味姜辛汤基准样品的量值传递分析, 为该方剂基准样品的质量控制及复方制剂的开发提供了科学依据。

关键词: 苓甘五味姜辛汤; 基准样品; HPLC 指纹图谱; 量值传递; 甘草苷; 甘草酸铵; 6-姜酚; 五味子醇甲; 细辛脂素
中图分类号: R283.6 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376(2025)09-2556-09

DOI:10.7501/j.issn.1674-6376.2025.09.016

Establishment of HPLC fingerprint chromatogram and quantity-quality transmitting of benchmark samples of classical prescription Linggan Wuwei Jiangxin Decoction

PENG Youfei¹, CHEN Yiming¹, LI Yuanyuan¹, WANG Yang¹, ZHU Xiubo¹, WANG Yue¹, LIU Xu², GU Yuanyuan¹

1. Institute of Traditional Chinese Medicine, Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, China

2. Experimental Center, Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, China

Abstract: Objective To establish fingerprint chromatogram of the benchmark sample of Linggan Wuwei Jiangxin Decoction and the quantitative determination methods of five key index components, and to study the law of quantity and quality transfer of its benchmark sample. **Methods** The HPLC fingerprint chromatogram of Linggan Wuwei Jiangxin Decoction was established. The common peaks were attributed through the correlation analysis between the benchmark sample and each single Chinese herbal decoction piece, and identified by reference substances. The quality differences of 15 batches of benchmark samples of Linggan Wuwei Jiangxin Decoction were evaluated by similarity analysis among batches. Meanwhile, the quantitative determination methods of index components such as liquiritin, ammonium glycyrrhetate, 6-gingerol, schizandrin and asarinin were established. The quantity and quality transfer were studied based on the quantitative analysis results and the transfer rates of each index component. **Results** The HPLC fingerprint chromatograms of 15 batches of benchmark samples of Linggan Wuwei Jiangxin Decoction were established, with a total of 28 common peaks. The similarity among batches was all ≥ 0.950 . Through comparison with reference substances, peak 7 was identified as liquiritin, peak 17 as ammonium glycyrrhetate, peak 20 as 6-gingerol, peak 22 as schizandrin, and peak 26 as asarinin. The mass fractions of liquiritin, ammonium glycyrrhetate, 6-gingerol, schizandrin and asarinin in 15 batches of benchmark samples of Linggan

收稿日期: 2025-05-31

基金项目: 黑龙江省自然科学基金资助项目 (PL2024H246); 哈尔滨市科学技术局科技人才应用技术与开发 (青年储备 A 类) 项目 (2017RAQXJ127)

作者简介: 彭友飞 (2001—), 男, 硕士研究生, 研究方向为中药新药开发。E-mail: pyf131416@163.com

*通信作者: 顾媛媛 (1982—), 女, 副研究员, 硕士生导师, 研究方向为中药新药开发。E-mail: yuanwas@163.com

Wuwei Jiangxin Decoction were 2.75—4.20, 4.38—7.18, 0.94—1.69, 0.28—0.47, 0.21—0.33 mg·g⁻¹, respectively. The average transfer rates from Chinese herbal decoction pieces to benchmark samples were 21.57%—35.11%, 16.83%—31.00%, 7.45%—13.64%, 3.13%—5.47%, and 3.15%—5.40%, respectively. **Conclusion** The established fingerprint chromatogram and multi-index component quantitative determination methods can be used for the quantity and quality transfer analysis of the benchmark sample of the classic prescription Linggan Wuwei Jiangxin Decoction, providing a scientific basis for the quality control of the benchmark sample and the development of compound preparations of this prescription.

Key words: Linggan Wuwei Jiangxin Decoction; benchmark sample; HPLC fingerprint spectrum; quantitative value transfer; liquiritin; ammonium glycyrrhetate; 6-gingerol; schizandrin; asarinin

苓甘五味姜辛汤源自《金匱要略》^[1], 由甘草、干姜、五味子、茯苓、细辛 5 味药材组成。方中干姜、细辛辛温发散, 温肺化饮祛寒邪; 五味子酸敛, 防止细辛辛散耗伤肺气; 茯苓、甘草甘温补脾, 培土生金。诸药合用共奏温肺化饮、止咳平喘的功效^[2]。临床广泛用于寒饮咳喘、慢性支气管炎等呼吸系统疾病的治疗^[3]。

基准样品的质量控制和量值传递规律研究, 是经典名方制剂研制过程中的关键环节, 对复方制剂的开发具有重要支撑作用^[4]。目前, 关于苓甘五味姜辛汤的研究多聚焦于临床疗效评价^[5-6], 而针对基准样品的物质质量值传递及质量标准的系统研究相对欠缺。为此, 本实验收集了 15 批不同产地的苓甘五味姜辛汤原药材, 采用随机组合方式, 依据古籍记载的剂量制备 15 批苓甘五味姜辛汤基准样品。通过 HPLC 法构建该方指纹图谱, 分析其相似度并对特征峰进行归属, 同时结合指标性成分的含量和转移率等指标, 建立苓甘五味姜辛汤基准样品的质量评价方法, 阐明饮片至基准样品的量值传递关系, 初步拟定其基准样品的质量标准。本研究旨在为苓甘五味姜辛汤后续的药学研究奠定基础, 并为其相关制剂的开发与研究提供参考。

1 材料

1.1 仪器

PA2004 电子天平, 上海津平科学仪器有限公司; DZTW 恒温电热套, 北京市永光明医疗仪器有限公司; SYG-1-4 电热恒温水浴锅, 天津市泰斯特仪器有限公司; KH-300E 型超声波清洗器, 昆山禾创超声仪器有限公司; WGLL230BE 鼓风干燥箱, 河北菲斯福仪器有限公司; Waters2695 型高效液相色谱仪, 美国 Waters 公司; ME 155DU 电子天平, 瑞士 Mettler Toledo 公司。

1.2 药材与试剂

对照品甘草苷 (批号 DST211101-027, 质量分数 98%)、甘草酸铵 (批号 DSTDG000804, 质量分

数 98%)、细辛脂素 (批号 DSTDG000804, 质量分数 98%)、五味子醇甲 (批号 DSTDW001001, 质量分数 98%)、6-姜酚 (批号 DST211101-027, 质量分数 98%), 均购自成都德思特生物技术有限公司。色谱甲醇购自北京迪科马科技有限公司, 分析乙醇购自天津市天丽化学试剂有限公司, 水采用屈臣氏蒸馏水, 其余试剂均为分析纯。

处方中甘草、干姜、五味子、茯苓、细辛饮片经黑龙江中医药大学中医药研究院孙永慧副研究员鉴定, 甘草为豆科植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. 的干燥根和根茎, 干姜为姜科植物姜 *Zingiber officinale* Rosc. 的干燥根茎, 五味子为木兰科植物五味子 *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill. 的干燥成熟果实, 茯苓为多孔菌科真菌茯苓 *Poria cocos* (Schw.) Wolf 的干燥菌核, 细辛为马兜铃科植物北细辛 *Asarum heterotropoides* Fr. Schmidt var. *mandshuricum* (Maxim.) Kitag. 的干燥根和根茎, 符合《中国药典》2020 年版相关规定。根据随机数表法将苓甘五味姜辛汤中的 5 味中药饮片进行随机组合及排序, 组成 15 批苓甘五味姜辛汤组方基准样品, 15 批组方对应饮片产地及批次见表 1。

2 方法与结果

2.1 苓甘五味姜辛汤基准样品的制备

《金匱要略》记载, 苓甘五味姜辛汤制法为“茯苓四两, 甘草三两, 干姜三两, 细辛三两, 五味子半升。上五味, 以水八升, 煮取三升, 去滓, 温服半升, 日三服”。本课题组重构并优化了苓甘五味姜辛汤基准样品的现代制备流程^[7], 分别称取茯苓 12 g、甘草 9 g、干姜 9 g、细辛 3 g、五味子 6 g, 加 12 倍量水浸泡 60 min, 置于砂锅中煎煮 2 次, 纱布滤过, 合并 2 次提取液并文火浓缩至 300 mL, -80 °C 冰箱预冻 24 h, 冷冻干燥, 即得苓甘五味姜辛汤基准样品冻干粉。

2.2 指纹图谱研究

2.2.1 色谱条件 采用 Diamonsil C₁₈ (250 mm×

表 1 饮片信息

Table 1 Information on herbal pieces

编号	甘草		细辛		五味子		茯苓		干姜	
	批号	产地	批号	产地	批号	产地	批号	产地	批号	产地
S1	2302011	内蒙古	2303011	辽宁	2304011	黑龙江	2305011	安徽	2301011	广西
S2	2302012	内蒙古	2303012	辽宁	2304012	黑龙江	2305012	安徽	2301012	广西
S3	2302013	内蒙古	2303023	辽宁	2304013	黑龙江	2305013	安徽	2301013	广西
S4	2301014	甘肃	2208021	安徽	2307151	辽宁	2306011	云南	2301151	四川
S5	2301015	甘肃	2208022	安徽	2307152	辽宁	2306012	云南	2301152	四川
S6	2212011	内蒙	2208023	安徽	2307153	辽宁	2306013	云南	2301153	四川
S7	2303211	甘肃	2212201	浙江	2302011	内蒙古	2308011	贵州	2305011	云南
S8	2303212	甘肃	2212202	浙江	2302012	内蒙古	2308012	贵州	2305012	云南
S9	2303213	甘肃	2212203	浙江	2302013	内蒙古	2308013	贵州	2305013	云南
S10	2303214	甘肃	2302011	湖北	2303011	河北	2303151	福建	2306121	山东
S11	2301261	新疆	2302012	湖北	2303012	河北	2303152	福建	2306122	山东
S12	2301262	新疆	2302013	湖北	2303013	河北	2303153	福建	2306123	山东
S13	2301181	内蒙古	2301151	江西	2305011	辽宁	2307011	陕西	2302111	云南
S14	2301182	内蒙古	2301152	江西	2305012	辽宁	2307012	陕西	2302112	云南
S15	2303201	甘肃	2301153	江西	2302011	山西	2307013	陕西	2302101	四川

4.6 mm, 5 μ m) 色谱柱; 流动相为乙腈 (A) -0.1%磷酸溶液 (B), 梯度洗脱 0~8 min, 9%~19% A; 8~18 min, 19%~30% A; 18~30 min, 30%~44% A, 30~44 min, 40%~55% A; 44~54 min, 55%~85% A; 54~64 min, 85%~9% A; 体积流量 1.0 mL $\cdot$ min⁻¹, 柱温 30 $^{\circ}$ C, 进样量 15 μ L, 检测波长 250 nm。

2.2.2 苓甘五味姜辛汤基准样品溶液的制备 精密称定苓甘五味姜辛汤标准汤剂冻干粉 1.0 g, 至 5 mL 量瓶中, 加甲醇定容至刻度线, 摇匀, 25 $^{\circ}$ C 超声 (300 W、40 kHz) 30 min, 取出, 冷却至室温, 经 0.22 μ m 微孔滤膜滤过, 即得。

2.2.3 单味饮片溶液及阴性样品溶液的制备 按处方量称取各单味药材饮片及缺相应饮片的阴性对照样品, 按“2.1”项方法制备单味药材饮片及阴性复方样品冻干粉, 按“2.2.2”项下方法制备各单味药和阴性对照溶液。

2.2.4 对照品溶液的制备 分别精密吸取甘草苷、甘草酸铵、6-姜酚、五味子醇甲、细辛脂素对照品适量, 加入甲醇定容, 配制成质量浓度为 10.00、12.50、2.50、0.75、1.25 mg $\cdot$ mL⁻¹ 的单一对照品贮备液。吸取各单一对照品贮备液适量, 加入甲醇稀释, 制备成质量浓度为 0.67、0.83、0.17、0.05、0.08 mg $\cdot$ mL⁻¹ 的混合对照品溶液。

2.2.5 精密度考察 取苓甘五味姜辛汤基准样品

溶液 (S1), 按“2.2.1”项下色谱条件连续测定 6 次, 以甘草酸铵为参照峰 (S), 分别计算各共有峰相对保留时间 (RRT) 及相对峰面积 (RPA)。各共有峰 RRT 和 RPA 的 RSD 分别为 0.32%~2.69%、0.01%~0.06%, 表明仪器精密度良好。

2.2.6 稳定性考察 取苓甘五味姜辛汤基准样品溶液 (S1), 按“2.2.1”项下色谱条件, 分别于 0、3、6、9、12、24 h 进样测定, 以甘草酸铵为参照峰 (S), 分别计算各共有峰 RRT 及 RPA。各共有峰 RRT 和 RPA 的 RSD 分别为 0.35%~2.26%、0.01%~0.84%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.2.7 重复性考察 按“2.2.2”项下方法平行制备 6 份苓甘五味姜辛汤基准样品 (S1) 溶液, 按“2.2.1”项下色谱条件进样, 以甘草酸铵为参照峰 (S), 计算各共有峰 RRT 及 RPA。各共有峰 RRT 和 RPA 的 RSD 分别为 0.26%~2.65%、0.01%~0.61%, 表明该方法重复性良好。

2.2.8 特征图谱的建立与相似度评价 取 15 批苓甘五味姜辛汤基准样品 (S1~S15), 按“2.2.2”项下制备基准样品溶液, 按“2.2.1”项下色谱条件进样测定。通过中药色谱指纹图谱相似度评价系统 (2012 版) 进行数据处理: 以 S1 为参考色谱, 通过中位数算法, 设置时间窗宽 0.1 min, 进行多点校正和峰匹配, 构建多批次色谱峰叠加图谱, 同步计算

各样本的相似度指标。15 批苓甘五味姜辛汤基准样品特征图谱中主要色谱峰分离良好,共标定了 28 个特征峰。各批苓甘五味姜辛汤基准样品特征图谱与对照图谱的相似度分别为 0.986、0.987、0.995、0.983、0.987、0.990、0.950、0.989、0.983、0.969、0.988、0.984、0.985、0.990、0.996,均大于 0.950,表明不同批次基准样品之间的差异较小,指纹图谱特征性良好,结果见图 1。S1~S15 批基准样品相

似度结果见表 2。

通过对照品比对验证,共指认了 5 个特征峰,分别为甘草苷(峰 7)、甘草酸铵(峰 17)、6-姜酚(峰 20)、五味子醇甲(峰 22)、细辛脂素(峰 26)。对照品溶液、供试品溶液、空白溶剂的 HPLC 图如图 2 所示。

2.2.9 基准样品的特征峰量值归属 通过比对苓甘五味姜辛汤基准样品(S1)与各单味饮片、阴性对照

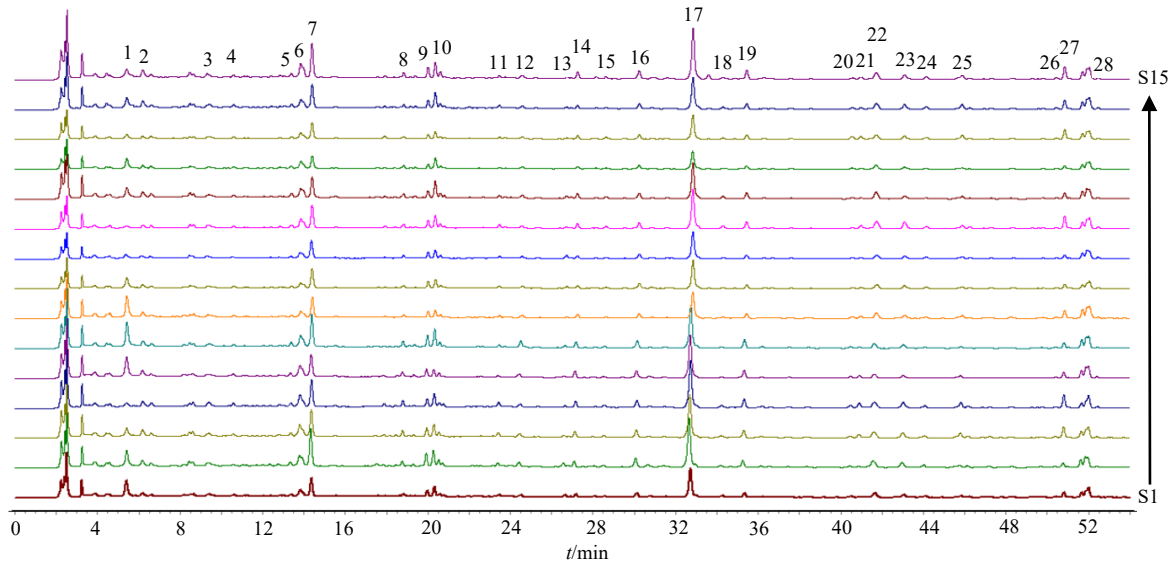


图 1 15 批苓甘五味姜辛汤的 HPLC 指纹图谱

Fig. 1 HPLC fingerprint spectra of 15 batches of Linggan Wuwei Jiangxin Decoction

表 2 基准样品相似度结果

Table 2 Benchmark sample similarity results

样 品	相似度															R
	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13	S14	S15	
S1	1.000	0.970	0.968	0.954	0.983	0.986	0.974	0.990	0.945	0.930	0.966	0.986	0.959	0.976	0.972	0.986
S2	0.970	1.000	0.976	0.961	0.967	0.981	0.932	0.989	0.984	0.954	0.973	0.960	0.961	0.967	0.982	0.987
S3	0.968	0.976	1.000	0.993	0.977	0.975	0.923	0.973	0.986	0.982	0.983	0.970	0.990	0.986	0.996	0.995
S4	0.954	0.961	0.993	1.000	0.956	0.953	0.896	0.964	0.978	0.991	0.959	0.948	0.991	0.971	0.983	0.983
S5	0.983	0.967	0.977	0.956	1.000	0.990	0.961	0.976	0.958	0.928	0.979	0.979	0.958	0.973	0.982	0.987
S6	0.986	0.981	0.975	0.953	0.990	1.000	0.959	0.983	0.964	0.932	0.987	0.988	0.957	0.978	0.983	0.990
S7	0.974	0.932	0.923	0.896	0.961	0.959	1.000	0.958	0.892	0.871	0.934	0.955	0.923	0.938	0.930	0.950
S8	0.990	0.989	0.973	0.964	0.976	0.983	0.958	1.000	0.968	0.949	0.964	0.970	0.966	0.970	0.979	0.989
S9	0.945	0.984	0.986	0.978	0.958	0.964	0.892	0.968	1.000	0.977	0.972	0.945	0.972	0.964	0.988	0.983
S10	0.930	0.954	0.982	0.991	0.928	0.932	0.871	0.949	0.977	1.000	0.945	0.926	0.986	0.957	0.972	0.969
S11	0.966	0.973	0.983	0.959	0.979	0.987	0.934	0.964	0.972	0.945	1.000	0.985	0.965	0.984	0.985	0.988
S12	0.986	0.960	0.970	0.948	0.979	0.988	0.955	0.970	0.945	0.926	0.985	1.000	0.957	0.982	0.974	0.984
S13	0.959	0.961	0.990	0.991	0.958	0.957	0.923	0.966	0.972	0.986	0.965	0.957	1.000	0.978	0.983	0.985
S14	0.976	0.967	0.986	0.971	0.973	0.978	0.938	0.970	0.964	0.957	0.984	0.982	0.978	1.000	0.984	0.990
S15	0.972	0.982	0.996	0.983	0.982	0.983	0.930	0.979	0.988	0.972	0.985	0.974	0.983	0.984	1.000	0.996
R	0.986	0.987	0.995	0.983	0.987	0.990	0.950	0.989	0.983	0.969	0.988	0.984	0.985	0.990	0.996	1.000

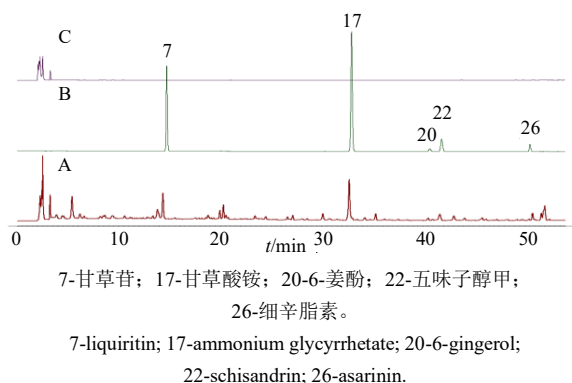


图 2 苓甘五味姜辛汤基准样品 (A)、混合对照品溶液 (B)、空白溶剂 (C) 的 HPLC 图

Fig. 2 HPLC chromatogram of Linggan Wuwei Jiangxin Decoction benchmark sample (A), mixed reference substance solution (B), and blank solvent (C)

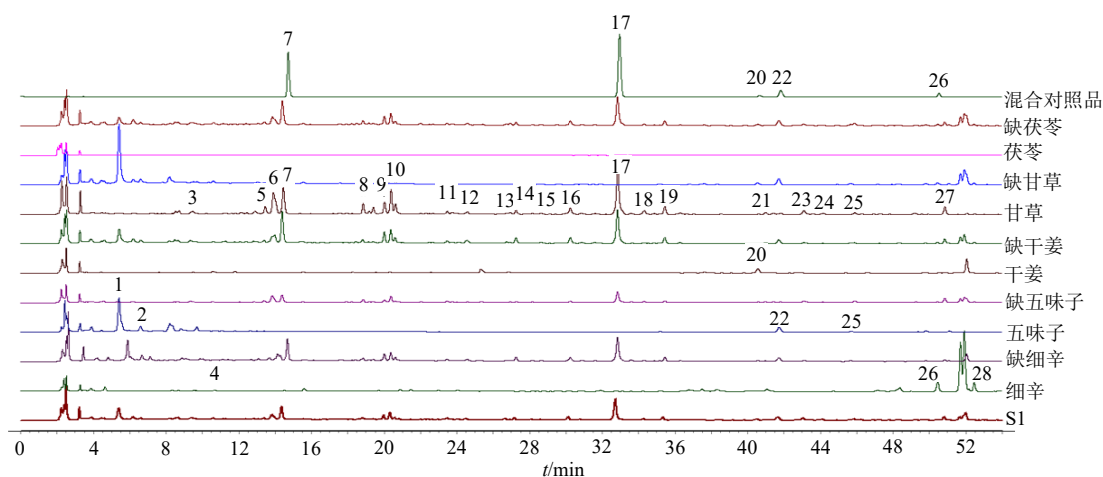


图 3 苓甘五味姜辛汤基准样品、单味饮片、缺单味饮片阴性样品及混合对照品溶液的 HPLC 指纹图谱

Fig. 3 HPLC fingerprint chromatogram of Linggan Wuwei Jiangxin Decoction benchmark sample, single herbal piece samples, negative samples without single herbal piece, and mixed reference substance solution

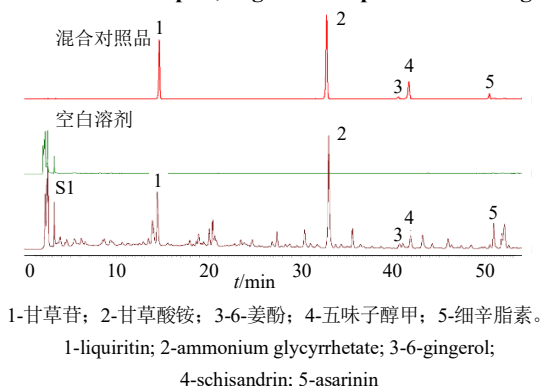


图 4 苓甘五味姜辛汤基准样品 (S1)、混合对照品溶液、空白溶剂的 HPLC 图

Fig. 4 HPLC chromatogram of Linggan Wuwei Jiangxin Decoction benchmark sample (S1), mixed reference substance solution, and blank solvent

品色谱图, 对 28 个共有峰进行归属。其中峰 3, 5~12、14~19、21、23、24、27 来源于药材甘草, 20 来源于药材干姜, 峰 1、2、22 来源于药材五味子, 峰 4、26、28 来源于细辛, 峰 13 来源于甘草和干姜, 峰 25 来源于甘草和五味子, 见图 3。

2.3 多成分定量分析及量值传递关系研究

2.3.1 色谱条件 同“2.2.1”项色谱条件。

2.3.2 供试品溶液的制备 同“2.2.2”项方法制备。

2.3.3 混合对照品溶液的制备 同“2.2.4”项方法制备。

2.3.4 专属性考察 精密吸取混合对照品溶液、供试品溶液 (S1) 和空白溶剂, 按“2.3.1”项下色谱条件分别进样测定, 记录色谱图 (图 4)。结果各待测成分与相邻成分分离较好, 阴性样品溶液无干扰。

2.3.5 线性关系的考察 吸取“2.2.4”项下混合对照品溶液, 加甲醇稀释, 制备成 6 个不同质量浓度的对照品稀释溶液, 按“2.3.1”项下色谱条件, 进样检测, 以对照品质量浓度为横坐标 (X), 峰面积为纵坐标 (Y), 绘制标准曲线, 进行线性回归分析。得回归方程为甘草苷 $Y=4\,700\,742X+224\,969$, $r=0.999\,2$, 线性范围 $0.062\,5\sim2.000\,0\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$; 甘草酸铵 $Y=7\,095\,220X-429\,96$, $r=0.999\,4$, 线性范围 $0.078\,1\sim2.500\,0\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$; 6-姜酚 $Y=980\,738X+112\,50$, $r=0.999\,0$, 线性范围 $0.015\,6\sim0.500\,0\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$; 五味子醇甲 $Y=15\,600\,897X+390\,14$, $r=0.999\,3$, 线性范围 $0.004\,7\sim0.150\,0\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$; 细辛脂素 $Y=3\,699\,771X+27\,437$, $r=0.999\,4$, 线性范围 $0.007\,8\sim0.250\,0\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。

2.3.6 精密度考察 取苓甘五味姜辛汤基准样品(S1)溶液,按“2.3.1”项下色谱条件,连续进样6次,计算甘草苷、甘草酸铵、6-姜酚、五味子醇甲、细辛脂素峰面积的RSD值分别为0.72%、0.16%、0.25%、0.57%、0.45%,表明仪器精密度良好。

2.3.7 重复性考察 取苓甘五味姜辛汤基准样品S1,按“2.3.2”项下平行制备6份供试品溶液,按“2.3.1”项下色谱条件进样,计算甘草苷、甘草酸铵、6-姜酚、五味子醇甲、细辛脂素质量浓度的RSD值分别为0.91%、0.38%、0.53%、0.16%、0.72%,表明该法重复性较好。

2.3.8 稳定性考察 取苓甘五味姜辛汤基准样品S1,按“2.3.2”项下制备成供试品溶液,按“2.3.1”项下色谱条件,在配制后0、2、4、8、12、24h分别进样,计算甘草苷、甘草酸铵、6-姜酚、五味子醇甲、细辛脂素峰面积的RSD值分别为1.13%、0.40%、0.59%、1.14%、0.77%,表明供试品溶液在24h内稳定性良好。

2.3.9 加样回收率考察 称定6份已知指标性成分含量的苓甘五味姜辛汤基准样品0.5g,分别加入基准样品含量100%的甘草苷、甘草酸铵、6-姜酚、五味子醇甲、细辛脂素对照品,按“2.3.2”项下方法制备供试品溶液,按照“2.3.1”项下色谱条件进样。结果显示,甘草苷、甘草酸铵、6-姜酚、五味子醇

甲及细辛脂素含量的加样回收率分别为103.14%、100.82%、102.28%、102.34%、99.80%,RSD值分别为0.47%、0.32%、0.46%、0.46%、0.60%。表明该方法准确度良好。

2.3.10 指标成分的含量测定和量值传递分析 参照《中国药典》2020年版对干姜、甘草、细辛、五味子单味中药饮片指标性成分进行含量测定(表3),取苓甘五味姜辛汤基准样品(S1~S15),并按“2.3.1”项下色谱条件进样,对指标性成分进行含量测定(表3),并计算其从中药饮片-苓甘五味姜辛汤基准样品的转移率^[8],结果见表4。不同批次基准样品中5个指标成分的转移率在其均值±30%的范围之内,说明从饮片到基准样品物质群量值传递良好。

转移率=(基准样品中该指标性成分含量×该处方基准样品质量)/(饮片中该指标性成分含量×饮片投料量)

3 讨论

3.1 色谱条件的选择

本研究围绕苓甘五味姜辛汤标准汤剂冻干粉的气相色谱分析方法,系统优化了色谱分离条件,主要考察了流动相组成、体积流量及柱温对色谱分离效果的影响。在流动相筛选方面,分别考察了乙腈-0.1%磷酸与乙腈-0.5%磷酸2种流动相。结果表明,乙腈-0.1%磷酸下色谱基线更为平稳,峰间分离度良好,

表 3 15 批中药饮片和基准样品的指标性成分含量

Table 3 Content of indicator components in 15 batches of Chinese herbal medicine slices and benchmark samples

批次	甘草苷/(mg·g ⁻¹)		甘草酸铵/(mg·g ⁻¹)		6-姜酚/(mg·g ⁻¹)		五味子醇甲/(mg·g ⁻¹)		细辛脂素/(mg·g ⁻¹)	
	饮片	基准样品	饮片	基准样品	饮片	基准样品	饮片	基准样品	饮片	基准样品
S1	6.72	3.17	10.96	4.53	7.34	1.43	3.91	0.32	3.01	0.28
S2	8.34	4.10	16.17	7.12	6.45	1.47	4.90	0.47	3.40	0.26
S3	8.52	3.49	14.06	6.84	6.23	1.22	4.84	0.45	3.46	0.31
S4	7.90	3.56	12.82	6.73	8.63	1.65	4.94	0.43	3.32	0.21
S5	6.86	3.08	12.11	5.62	6.41	1.33	4.83	0.30	4.72	0.27
S6	5.95	2.92	12.84	5.18	7.22	1.46	5.46	0.30	3.53	0.26
S7	5.31	2.75	13.00	5.37	8.98	1.48	5.42	0.35	3.40	0.21
S8	5.62	2.85	12.04	4.93	6.22	1.25	3.97	0.28	3.34	0.27
S9	6.90	3.23	12.81	4.88	7.00	0.94	4.87	0.28	4.68	0.28
S10	6.45	3.08	13.06	5.79	6.42	1.17	4.65	0.43	3.53	0.22
S11	5.43	3.25	12.86	5.31	7.25	1.20	4.96	0.44	3.39	0.25
S12	5.37	3.07	13.71	4.38	7.56	1.07	4.86	0.33	2.97	0.29
S13	5.05	2.94	11.64	4.50	7.27	1.69	5.40	0.30	3.67	0.27
S14	6.56	3.13	15.23	6.02	6.42	1.43	5.27	0.42	3.61	0.33
S15	8.56	4.20	13.22	7.18	6.45	1.25	4.85	0.46	4.52	0.33
均值	6.64	3.25	13.10	5.63	7.06	1.34	4.88	0.37	3.64	0.27

表 4 15 批苓甘五味姜辛汤基准样品的转移率

Table 4 15 Transfer rate of 15 batches Linggan Wuwei Jiangxin Decoction benchmark samples

批次	转移率/%				
	甘草苷	甘草酸铵	6-姜酚	五味子醇甲	细辛脂素
S1	24.53	21.49	10.13	4.26	4.84
S2	28.02	25.10	12.99	5.47	4.36
S3	21.57	25.62	10.31	4.90	4.72
S4	24.11	28.09	10.23	4.66	3.38
S5	24.69	25.52	11.41	3.42	3.15
S6	27.97	23.00	11.53	3.13	4.20
S7	27.53	21.96	8.76	3.43	3.28
S8	26.62	21.50	10.55	3.70	4.24
S9	26.21	21.33	7.52	3.22	3.35
S10	27.86	25.86	10.63	5.39	3.64
S11	35.11	24.22	9.71	5.20	4.33
S12	30.11	16.83	7.45	3.58	5.14
S13	34.15	22.68	13.64	3.26	4.32
S14	28.17	23.34	13.15	4.71	5.40
S15	28.01	31.00	11.06	5.41	4.17
均值	27.64	23.84	10.60	4.25	4.17

且较低浓度的磷酸可减少对色谱柱的腐蚀,有利于延长柱寿命,故最终选用该体系作为流动相。在体积流量优化中比较了 0.5、1.0 mL·min⁻¹ 2 种条件。实验发现,1.0 mL·min⁻¹ 时,供试品与混合对照品中的色谱峰均呈现较好的对称性与分离度,且整体洗脱时间适中;而在 0.5 mL·min⁻¹ 条件下,虽分离度略有提升,但洗脱时间显著延长,不利于样品检测效率,故确定 1.0 mL·min⁻¹ 为最佳体积流量。柱温方面,分别考察了 30、35、40 °C 对分离效果的影响。结果显示,不同温度下色谱图未见明显峰展宽或基线漂移。考虑到节能与操作稳定性,最终选定 30 °C 作为柱温控制条件。

3.2 指标性成分的选择

本研究选取的 5 个指标性成分,系根据配伍药材在《中国药典》2020 年版中记载的含量测定成分,同时结合各药味的配伍地位、药效物质基础及其在色谱图中的表现进行筛选,并综合考虑其在制剂中转移率与临床药理作用,确保其具备代表性与可测性。苓甘五味姜辛汤方中以干姜为君药,经前期研究表明,其中 6-姜酚的分离度较好,尽管在制剂中含量偏低,但在干姜原药材中含量丰富、稳定性高,因其制备过程中易受温度、pH 等条件影响,可能发生部分氧化或异构化反应,导致转移率下降^[9-11]。细

辛脂素作为细辛在《中国药典》2020 年版中的定量测定指标成分,具有抗炎镇痛、抗氧化等药理作用,考虑其为易挥发或易降解成分,且含量本身有限,其作为特征成分可反映细辛组分是否有效传递至制剂中^[12-14]。茯苓为臣药,药典中茯苓项下只有性状、鉴别、检查和浸出物,并未记载茯苓药材的含量测定方法,又因其化学成分复杂,难以准确定量,故不做指标成分考虑^[15-16]。五味子醇甲为《中国药典》2020 年版中五味子的定量测定指标成分,具有保护肝脏、抗炎、调节免疫等药理作用,其稳定性较好,但在复方中受制于配伍比例及提取效率,含量偏低。尽管转移率有限,其特征性与专属性强,仍具一定质控价值,尤其可作为五味子药味的指示性成分^[17-19]。甘草为使药,《中国药典》2020 年版规定定量测定指标成分为甘草苷、甘草酸铵,具有止咳、抗氧化、抗肿瘤、护肝^[20-22]。综上,本研究结合药材归属、药理作用、药典标准、色谱行为及含量与转移率等因素,选定 6-姜酚、细辛脂素、五味子醇甲、甘草苷与甘草酸铵为定量指标成分。甘草苷和甘草酸铵为主要质控指标,另 3 种成分为特征性补充指标,可在一定程度上反映复方中君、臣、佐、使药效物质的传递与稳定性,整体上为质量评价提供多维度参考。

3.3 基准样品含量波动及控制标准

在本研究中,采用 HPLC 建立了苓甘五味姜辛汤基准样品的指纹图谱,共确定共有峰 28 个,通过与单味饮片比对,明确了甘草苷、甘草酸铵、6-姜酚、五味子醇甲、细辛脂素等 5 个成分的来源归属。不同批次基准样品的化学成分差异较小,表明苓甘五味姜辛汤在制备过程中物质基础传递较为稳定;各指标成分由饮片向基准样品的转移率其均值 $\pm 30\%$ 的范围之内,表明批间煎煮工艺能有效实现主要活性成分的保留,具备作为质量标准整体性评价指标的可行性,基于此,建议将这 5 种成分在苓甘五味姜辛汤基准样品的含量实测范围作为控制标准。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 张仲景,何任,何若苹.金匱要略[M].北京:人民卫生出版社,2017:110.
Zhang Z J, He R, He R P. *Synopsis of Golden Chamber* [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2017: 110.
- [2] 戴全武,刘毅,曾格格,等.苓甘五味姜辛汤治疗急性肺损伤的作用机制[J].中国实验方剂学杂志,2023,29(24):95-103.
Dai Q W, Liu Y, Zeng G G, et al. Study on mechanism of linggan Wuwei Jiangxin Decoction in treating acute lung injury [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form*, 2023, 29(24): 95-103.
- [3] 白夏芬,卢林,孙琳林.苓甘五味姜辛汤治疗肺部疾病的研究进展[J].中国老年学杂志,2019,39(18):4616-4618.
Bai X F, Lu L, Sun L L. Research progress of Linggan Wuwei Jiangxin Decoction in treating lung diseases [J]. *Chin J Gerontol*, 2019, 39(18): 4616-4618.
- [4] 刘艳梅,黄小丹,彭致铖,等.经典名方桃核承气汤的 UPLC 指纹图谱及多指标成分含量测定研究[J].中草药,2024,55(11):3689-3704.
Liu Y M, Huang X D, Peng Z C, et al. UPLC fingerprint and multi-index component content determination of classical herbal prescription Taohe Chengqi Decoction [J]. *Chin Tradit Herb Drugs*, 2024, 55(11): 3689-3704.
- [5] 方翔宇,吉贞利,王高岸.苓甘五味姜辛汤对老年急性加重期慢性阻塞性肺疾病肺功能及炎症因子的影响分析[J].中华中医药学刊,2022,40(5):88-90.
Fang X Y, Ji Z L, Wang G A. Effect of linggan Wuwei Jiangxin decoction(苓甘五味姜辛汤) on pulmonary function and inflammatory factors in elderly patients with acute exacerbation of COPD [J]. *Chin Arch Tradit Chin Med*, 2022, 40(5): 88-90.
- [6] 崔正昱,李燕宁.李燕宁用苓甘五味姜辛汤治疗儿童肺寒伏饮咳嗽经验[J].时珍国医国药,2014,25(3):730.
Cui Z Y, Li Y N. Li yanning's experience in treating children's cough caused by lung-cold and fu-Yin with Linggan Wuwei Jiangxin Decoction [J]. *Lishizhen Med Mater Med Res*, 2014, 25(3): 730.
- [7] 卞晓霞,陈怡名,佟玲,等.基于变异系数法结合 Box-Behnken 设计响应面法优化经典名方苓甘五味姜辛汤的提取工艺[J/OL].中药材,2025:1-5.(2025-07-24)[2020-08-12].
<https://link.cnki.net/doi/10.13863/j.issn1001-4454.2025.07.027>.
Bian X X, Chen Y M, Tong L, et al. Optimization of the extraction process of Linggan Wuwei Jiangxin Decoction based on variation coefficient method combined with Box-Behnken design response surface method [J/OL]. *J Chin Med Mater*, 2025: 1-5. (2025-07-24) [2020-08-12].
<https://link.cnki.net/doi/10.13863/j.issn1001-4454.2025.07.027>.
- [8] 钱瑞瑞,郭辉,李挥,等.经典名方小续命汤质量控制及量质传递规律研究[J].药物评价研究,2025,48(6):1568-1586.
Qian R R, Guo H, Li H, et al. Study on quality controlling and quantity-quality transfer of transmitting of benchmark samples of classical prescription Xiaoxuming Decoction [J]. *Drug Eval Res*, 2025, 48(6): 1568-1586.
- [9] 施丽君,杨韧强,严秋兰,等.干姜中 3 种姜酚类成分提取工艺研究[J].中医药导报,2023,29(9):47-50.
Shi L J, Yang R Q, Yan Q L, et al. Study on extraction process of three gingerol components in Ganjiang (*Zingiberis rhizoma*) [J]. *Guid J Tradit Chin Med Pharm*, 2023, 29(9): 47-50.
- [10] 孙凤娇,李振麟,钱士辉,等.干姜化学成分和药理作用研究进展[J].中国野生植物资源,2015,34(3):34-37.
Sun F J, Li Z L, Qian S H, et al. Research advances on the *Zingiberis Rhizoma* [J]. *Chin Wild Plant Resour*, 2015, 34(3): 34-37.
- [11] 华新振,刘丛颖,贺梦媛,等.细辛化学成分和药理作用研究进展及其质量标志物(Q-Marker)预测分析[J].中草药,2023,54(12):4019-4035.
Hua X Z, Liu C Y, He M Y, et al. Research progress on chemical composition and pharmacological effects of *Asari Radix et Rhizoma* and predictive analysis on quality

- marker [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2023, 54(12): 4019-4035.
- [12] 滕坤, 沈鹏, 孙健, 等. 响应面法优化超声波辅助提取细辛中抗氧化活性成分的工艺基础研究 [J]. 中国药学杂志, 2020, 55(18): 1499-1504.
- Teng K, Shen P, Sun J, et al. Optimization of ultrasonic-assisted extraction of antioxidant compounds from *Asari Radix et Rhizoma* using response surface methodology [J]. Chin Pharm J, 2020, 55(18): 1499-1504.
- [13] Freise C, Trowitzsch-Kienast W, Erben U, et al. (+)-Episesamin inhibits adipogenesis and exerts anti-inflammatory effects in 3T3-L1 (pre)adipocytes by sustained Wnt signaling, down-regulation of PPAR γ and induction of iNOS [J]. J Nutr Biochem, 2013, 24(3): 550-555.
- [14] Zhao M Y, Wen Y Q, Yang Y, et al. (-)-Asarinin alleviates gastric precancerous lesions by promoting mitochondrial ROS accumulation and inhibiting the STAT3 signaling pathway [J]. Phytomedicine, 2024, 126: 155348.
- [15] Nie A Z, Chao Y H, Zhang X C, et al. Phytochemistry and pharmacological activities of *Wolfiporia cocos* (F.A. wolf) ryvarden & gilb [J]. Front Pharmacol, 2020, 11: 505249.
- [16] 刘云, 李婷, 李玲, 等. 甘姜苓术汤基准样品量值传递规律研究 [J]. 中成药, 2025, 47(5): 1413-1420.
- Liu Y, Li T, Li L, et al. Quantitative transmitting rules of benchmark samples of Ganjiang Lingzhu Decoction [J]. Chin Tradit Pat Med, 2025, 47(5): 1413-1420.
- [17] 崔悦, 周新新, 李雨轩, 等. 超声辅助法与闪式提取法提取五味子醇甲的工艺对比研究 [J]. 食品研究与开发, 2021, 42(22): 78-83.
- Cui Y, Zhou X X, Li Y X, et al. Comparison of ultrasonic-assisted extraction and flash extraction process of schizandrin [J]. Food Res Dev, 2021, 42(22): 78-83.
- [18] Luo W, Lin K, Hua J Y, et al. Schisandrin B attenuates diabetic cardiomyopathy by targeting MyD88 and inhibiting MyD88-dependent inflammation [J]. Adv Sci (Weinh), 2022, 9(31): e2202590.
- [19] Fu K, Zhou H L, Wang C, et al. A review: Pharmacology and pharmacokinetics of schisandrin A [J]. Phytother Res, 2022, 36(6): 2375-2393.
- [20] 陈千, 熊富良, 张雪琼, 等. 甘草苷对感染后咳嗽(肺阴虚证)小鼠的止咳作用机制及抗氧化作用的研究 [J]. 华中师范大学学报(自然科学版), 2020, 54(5): 841-848, 873.
- Chen Q, Xiong F L, Zhang X Q, et al. Studies on the antitussive mechanism and antioxidative effect of glycyrrhizin on post-infection cough (pulmonary Yin deficiency syndrome) mice [J]. J Cent China Norm Univ Nat Sci, 2020, 54(5): 841-848, 873.
- [21] 邓溪川, 刘璐, 王占利, 等. 甘草苷调控 PI3K/Akt/mTOR 信号通路对口腔鳞状细胞癌细胞及裸鼠移植瘤小鼠的作用研究 [J]. 实用口腔医学杂志, 2021, 37(1): 10-14.
- Deng X C, Liu L, Wang Z L, et al. The effects of liquiritin on PI3K/Akt/m-TOR signaling pathway in oral squamous cell carcinoma cells and in tumor bearing nude mice [J]. J Pract Stomatol, 2021, 37(1): 10-14.
- [22] 刘小平, 胡建, 伍丽芳, 等. 茵栀黄颗粒联合复方甘草酸二铵治疗黄疸型肝炎疗效及肝功能指标、TBIL、ALT 的变化 [J]. 辽宁中医杂志, 2024, 51(9): 88-90.
- Liu X P, Hu J, Wu L F, et al. Yinzhihuang Ranules (茵栀黄颗粒) combined with compound diammonium glycyrrhizinate in treatment of jaundice hepatitis and changes of liver function indexes, TBIL and ALT [J]. Liaoning J Tradit Chin Med, 2024, 51(9): 88-90.

[责任编辑 孙英杰]