

古代经典名方济川煎物质基准 HPLC 特征指纹图谱研究

施崇精¹, 李希¹, 冯建安^{1*}, 黄嫣¹, 王玉¹, 陈娇娇¹, 李双双²

1. 四川省中医药科学院中医研究所, 四川 成都 610031

2. 成都中医药大学, 四川 成都 611137

摘要: **目的** 建立古代经典名方济川煎物质基准(标准煎液) HPLC 特征指纹图谱, 为济川煎物质基准质量研究提供参考依据。**方法** 依据古方记载方法制备济川煎标准煎液, 采用 HPLC 法测定 15 批济川煎标准煎液, 并使用“中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012 版)”软件对 15 批样品图谱进行相似度分析、特征峰分析。**结果** 自动匹配法筛选得出 18 个共有特征峰, 其中 1、3 号色谱峰归属于当归与升麻, 2、5~7、9、11、13 号色谱峰归属于肉苁蓉, 4、12、14、15、17 号色谱峰归属于升麻, 8、10、18 号色谱峰归属于枳壳, 16 号色谱峰归属于当归, 并通过对照品指认了 7 个特征峰成分, 分别为咖啡酸(1 号峰)、松果菊苷(2 号峰)、阿魏酸(3 号峰)、异阿魏酸(4 号峰)、毛蕊花糖苷(6 号峰)、柚皮苷(8 号峰)、新橙皮苷(10 号峰), 15 批样品与生成的济川煎物质基准对照指纹图谱相似度均大于 0.9。**结论** 建立的济川煎物质基准 HPLC 分析方法简便、准确、稳定、灵敏, 体现了济川煎的整体化学成分特征, 可用于济川煎物质基准质量研究, 也为济川煎转化开发为现代制剂提供了一定的参考依据。

关键词: 古代经典名方; 济川煎; 物质基准; 标准煎液; HPLC 特征指纹图谱; 咖啡酸; 松果菊苷; 阿魏酸; 异阿魏酸; 毛蕊花糖苷; 柚皮苷; 新橙皮苷

中图分类号: R286.02

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2020)15-3930-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2020.15.012

Study on HPLC characteristic fingerprint of substance benchmark of classical famous prescription of Jichuan Decoction

SHI Chong-jing¹, LI Xi¹, FENG Jian-an¹, HUANG Yan¹, WANG Yu¹, CHEN Jiao-jiao¹, LI Shuang-shuang²

1. Institute of Traditional Chinese Medicine, Sichuan Academy of Chinese Medical Sciences, Chengdu 610031, China

2. Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China

Abstract: **Objective** To establish an HPLC characteristic fingerprint of substance benchmark (standard decoction) of classical famous prescription of Jichuan Decoction (JD), and provide reference for the quality study of substance benchmark of JD. **Methods** JD standard decoction was prepared according to the ancient method, 15 batches JD standard decoction were determined by HPLC. The similarity analysis and characteristic peak analysis of 15 batches JD were carried out by the “Similarity Evaluation System for Chromatographic Fingerprint of Chinese Materia Medica 2012 version”. **Results** A total of 18 common characteristic peaks were screened by automatic matching method, peaks 1 and 3 were from *Angelicae Sinensis Radix* and *Cimicifugae Rhizoma*, peaks 2, 5, 6, 7, 9, 11 and 13 were from *Cistanches Herba*, peaks 4, 12, 14, 15 and 17 from were *Cimicifugae Rhizoma*, peaks 8, 10 and 18 from *Aurantii Fructus*, and peak 16 was from *Angelicae Sinensis Radix*. Seven characteristic components were identified by the reference substance, including caffeic acid (peak 1), echinacoside (peak 2), ferulic acid (peak 3), isoferulic acid (peak 4), mullein glycoside (peak 6), naringin (peak 8) and neohesperidin (peak 10). The similarities of 15 batches substance benchmark of JD were greater than 0.9. **Conclusion** The HPLC method established for substance benchmark of JD is simple, accurate, stable and sensitive. It can be used for the quality study for JD substance benchmark, and provides a reference for the transformation and development of JD for modern preparations.

Key words: classical famous prescription; Jichuan Decoction; substance benchmark; standard decoction; HPLC characteristic fingerprint; caffeic acid; echinacoside; ferulic acid; isoferulic acid; mullein glycoside; naringin; neohesperidin

收稿日期: 2019-11-28

基金项目: 四川省公益性科研院所基本科研课题项目(2018-4-502); 中央引导地方科技发展专项项目(2018TZYD0003)

作者简介: 施崇精(1995—), 男, 硕士研究生, 中药师, 主要从事中药药剂与炮制研究。E-mail: 1124758663@qq.com

*通信作者 冯建安(1981—), 男, 副研究员, 主要从事中药药剂研究。Tel: (028)66449601 E-mail: 153619086@qq.com

济川煎属国家公布的《古代经典名方目录（第一批）》，该方源于明代张景岳所著《景岳全书》，由肉苁蓉、当归、牛膝、枳壳、泽泻、升麻共 6 味药组成。古代经典名方（以下称经典名方）研发成古代经典名方中药复方制剂（以下称经典名方制剂）主要分“古代经典名方中药复方制剂物质基准（以下称物质基准，亦称标准煎液）”研制和“古代经典名方中药复方制剂”研制 2 个阶段^[1]。物质基准是经典名方研发成现代制剂间的重要桥梁，经典名方通过古籍方法制得物质基准并进行质量研究，再以物质基准为参照研制现代制剂，确保了传统制剂与现代制剂的关键质量一致性，从而实现两者有效性和安全性的一致^[2-6]。本研究的济川煎临床观察和药理实验报道较多^[7-8]，但其成分分析与制剂研究的报道甚少^[9]，也未见其物质基准研究报道。

本实验采用 HPLC 法建立了济川煎物质基准（标准煎液）的特征指纹图谱，共筛选得出 18 个共有特征峰，并对特征峰进行药味归属，同时也指认了咖啡酸、松果菊苷、阿魏酸、异阿魏酸、毛蕊花糖苷、柚皮苷、新橙皮苷共 7 个特征峰成分。本研究弥补了济川煎成分分析与质量研究的空缺，为济川煎物质基准质量研究提供了科学依据，也为该方研制成古代经典名方中药复方制剂——济川合剂提供了参考。

1 仪器与材料

1.1 仪器

Waters e2695 型高效液相色谱仪、Waters 2489 UV/Vis 紫外/可见光检测器，美国沃特世有限公司；BT-125D 型分析天平，十万分之一，赛多利斯科学仪器（北京）有限公司。

1.2 材料

对照品咖啡酸（批号 110885-200102，质量分数 100%）、松果菊苷（批号 111670-201706，质量分数 89.7%）、阿魏酸（批号 110773-201614，质量分数 99.0%）、异阿魏酸（批号 111698-201103，质量分数 99.2%）、毛蕊花糖苷（批号 111530-201713，质量分数 92.5%）、柚皮苷（批号 110722-201714，质量分数 93.4%）、新橙皮苷（批号 111857-201703，质量分数 99.2%）均购自中国食品药品检定研究院。肉苁蓉 *Cistanche deserticola* Y. C. Ma（产地：新疆）、当归 *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels（产地：甘肃）、牛膝 *Achyranthes bidentata* Bl.（产地：河南）、枳壳 *Citrus aurantium* L.（产地：四川）、泽泻 *Alisma*

orientale (Sam.) Juzep.（产地：四川）、升麻 *Cimicifuga heracleifolia* Kom.（产地：四川）均购自四川省中药饮片有限责任公司，经四川省中医药科学院中医研究所李希主任中药师鉴定，均符合《中国药典》2015 年版一部项下规定。乙腈、甲醇、磷酸均为色谱纯，其余试剂为分析纯。纯化水为实验室自制。

2 方法与结果

2.1 标准煎液制备

《景岳全书》记载济川煎原方为“当归三、五钱，牛膝二钱，肉苁蓉（酒洗去咸）二、三钱，泽泻一钱半，升麻五分、七分或一钱，枳壳一钱”（此为古籍原文，在临床实际中常根据病情需要进行调整。现代制剂剂量结合文献和本院老年科专家讨论得出，并采用一定范围的服用量）。经本院老年科专家讨论结合现代制剂技术要求，以明代一钱折算现代约 3 g 计^[10]，即得济川煎处方为当归 15 g、牛膝 6 g、肉苁蓉 9 g、泽泻 4.5 g、升麻 3 g、枳壳 3 g。参考相关要求^[11-13]得出济川煎标准煎液制备方法为按处方比例称取药味共约 121.5 g，加水约 1 000 mL，浸泡 30 min，用煎药罐武火煮沸后保持文火微沸约 60 min，滤过，药渣再加水约 700 mL 煮沸后保持微沸 40 min，滤过，合并 2 次滤液，适当煎煮至 250 mL。不同批号饮片随机组合 15 批济川煎的处方（表 1），

表 1 15 批济川煎处方饮片信息

Table 1 Fifteen batches of decoction pieces of Jichuan Decoction

编号	批号					
	当归	牛膝	肉苁蓉	泽泻	升麻	枳壳
P1	180421	180124	180411	180729	180118	180223
P2	181013	180123	181010	180824	180102	180817
P3	180823	180719	181208	180717	180703	180503
P4	180807	180914	180703	180502	180713	180915
P5	180711	180619	181109	181010	180907	181128
P6	180703	180619	180411	180109	180118	180223
P7	180703	180914	181010	180729	180118	180817
P8	180711	180719	181208	180824	180102	180223
P9	180807	180123	180703	180717	180703	180817
P10	180823	180124	181109	180502	180713	180503
P11	181013	180124	180411	181010	180907	180915
P12	180421	180123	181010	180109	180102	181128
P13	180823	180719	181208	180729	180703	180503
P14	180807	180914	180703	180824	180713	180915
P15	180711	180619	181109	180717	180907	181128

再按上述济川煎标准煎液制备方法进行煎煮,即得15批济川煎标准煎液,冷冻保存,并依次编号为P1~P15。

2.2 色谱条件

色谱柱为Agilent Zorbax SB-C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm)。流动相为乙腈-0.1%磷酸水溶液,梯度洗脱程序为0~20 min, 12%~13%乙腈; 20~30 min, 13%~15%乙腈; 30~50 min, 15%~21%乙腈; 50~60 min, 21%~30%乙腈; 60~70 min, 30%~70%乙腈; 70~75 min, 70%~12%乙腈; 检测波长 330 nm; 体积流量 1.0 mL/min; 进样体积 10 μL; 柱温 30 ℃。理论塔板数按毛蕊花糖苷峰计算应不低于 5 000。

2.3 溶液制备

2.3.1 混合对照品溶液 精密称取咖啡酸对照品 15.07 mg、松果菊苷对照品 14.48 mg、阿魏酸对照品 13.83 mg、异阿魏酸对照品 9.67 mg、毛蕊花糖苷对照品 20.91 mg、柚皮苷对照品 8.07 mg、新橙皮苷对照品 9.49 mg 分别置于 10 mL 量瓶中,加甲醇使溶解并定容,摇匀,即得相应对照品储备液。精密吸取上述对照品储备液各 1 mL,置 10 mL 量瓶中,加甲醇定容,摇匀,即得混合对照品溶液,含咖啡酸对照品 150.700 0 μg/mL、松果菊苷对照品

129.885 6 μg/mL、阿魏酸对照品 136.917 0 μg/mL、异阿魏酸对照品 95.926 4 μg/mL、毛蕊花糖苷对照品 193.417 5 μg/mL、柚皮苷对照品 75.373 8 μg/mL、新橙皮苷对照品 94.140 8 μg/mL。

2.3.2 供试品溶液 精密量取济川煎标准煎液 1 mL,置 10 mL 量瓶中,加 80%甲醇稀释至刻度,摇匀,经 0.45 μm 微孔滤膜滤过,即得供试品溶液。

2.3.3 阴性供试品溶液 以全处方比例药味共 121.5 g,称取相应质量的缺肉苁蓉、缺牛膝、缺当归、缺升麻、缺当归与升麻、缺泽泻、缺枳壳阴性处方,并按“2.1”项下标准煎液制备方法分别制得各阴性标准煎液,再按“2.3.2”项下方法制得相应的阴性供试品溶液。

2.4 方法学考察

2.4.1 专属性考察 取“2.3”项下混合对照品溶液、供试品溶液、各阴性供试品溶液适量,按“2.2”项下色谱条件进样测定,记录色谱图(图1)。由结果可知,各已知成分分离度良好,阴性无干扰,结果表明该方法专属性良好。

2.4.2 精密度考察 取“2.1”项下济川煎标准煎液(编号 P1),按“2.3.2”项下方法制备供试品溶液,按“2.2”项下色谱条件连续进样测定 6 次,以 6 号峰(毛蕊花糖苷)为参照峰,各共有色谱峰相对保

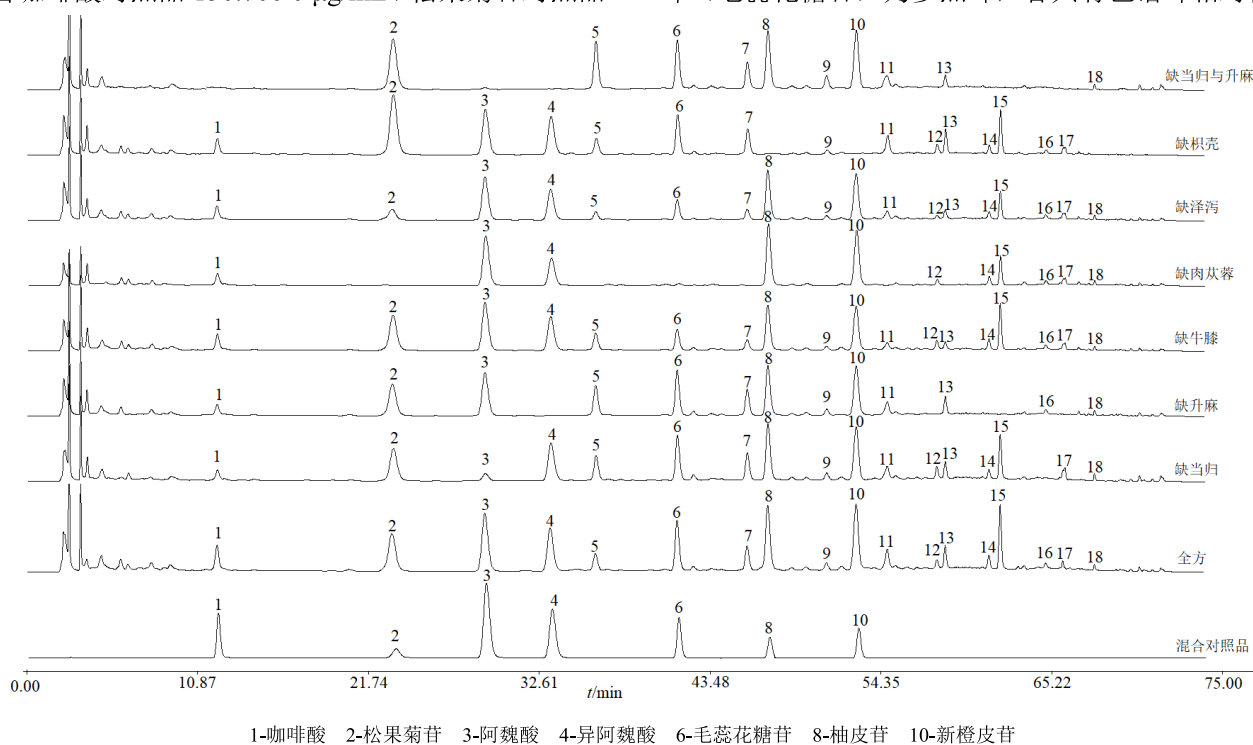


图1 混合对照品、济川煎全方、各阴性处方 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC of mixed control substance, Jichuan Decoction whole prescription and negative prescriptions

留时间、相对峰面积 RSD 值均依次小于 0.54%、1.65%，结果表明该仪器精密性良好。

2.4.3 稳定性考察 取“2.1”项下济川煎标准煎液（编号 P1），按“2.3.2”项下方法制备供试品溶液，在 0、1.5、3.0、4.5、9、12、18、24 h 后按“2.2”项下色谱条件进样测定，以 6 号峰（毛蕊花糖苷）为参照峰，各共有色谱峰相对保留时间、相对峰面积 RSD 值均依次小于 0.45%、2.56%，结果表明该供试品溶液在常温下 24 h 内稳定性良好。

2.4.4 重复性考察 取“2.1”项下济川煎标准煎液（编号 P1），按“2.3.2”项下方法制备供试品溶液 6 份，按“2.2”项下色谱条件进样测定，以 6 号峰（毛蕊花糖苷）为参照峰，各共有色谱峰相对保留时间、相对峰面积 RSD 值均依次小于 0.22%、1.74%，结

果表明该供试品制备方法重复性良好。

2.5 HPLC 特征指纹图谱测定

取“2.1”项下济川煎标准煎液 15 批，按“2.3.2”项下方法制备供试品溶液，按“2.2”项下色谱条件进样测定，记录色谱图（图 2）。导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统（2012 版）”软件中，采用自动匹配法生成共有模式对照图谱，确定的 18 个共有特征峰按保留时间先后依次编号为 1~18（图 2）。经与混合对照品溶液对比，标定了 1 号峰为咖啡酸、2 号峰为松果菊苷、3 号峰为阿魏酸、4 号峰为异阿魏酸、6 号峰为毛蕊花糖苷、8 号峰为柚皮苷、10 号峰为新橙皮苷。其中 6 号峰（毛蕊花糖苷）为君药肉苁蓉药效学成分，响应值较高、分离度好、保留时间相对稳定，拟选 6 号峰为参照峰。

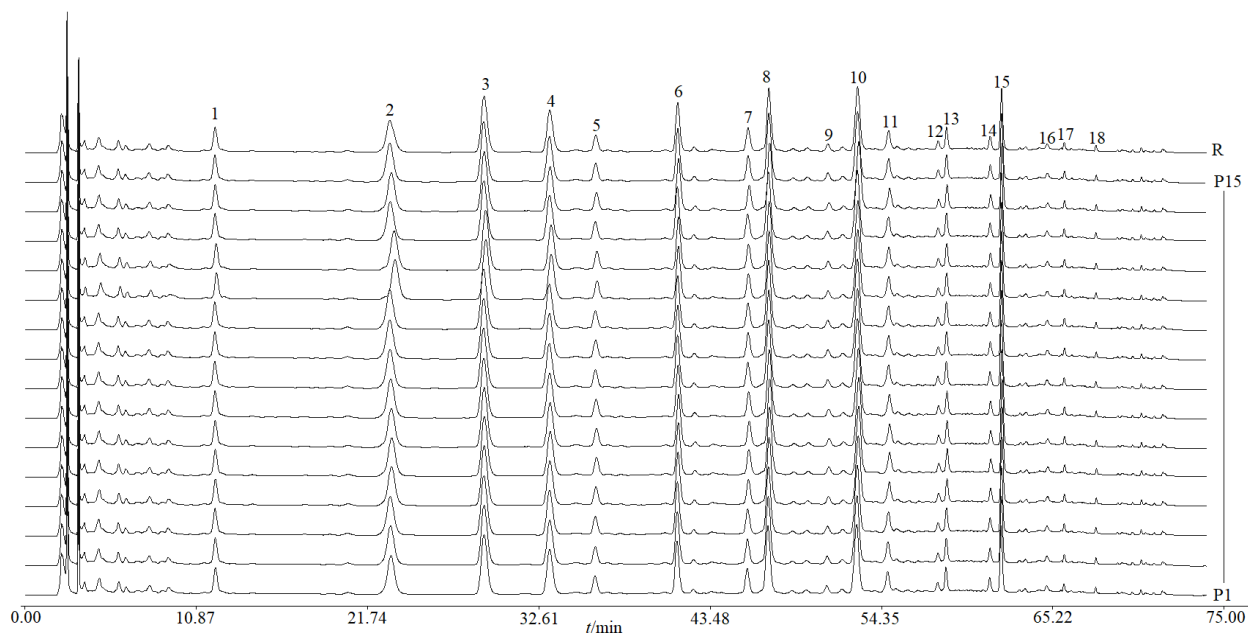


图 2 15 批济川煎标准煎液 HPLC 色谱图 (P1~P15) 及其对照特征指纹图谱 (R)

Fig. 2 HPLC of 15 batches of standard decoction of Jichuan Decoction (P1—P15) and its control characteristic fingerprint (R)

2.6 指纹图谱相似度评价

将 15 批济川煎标准煎液 HPLC 色谱图导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统（2012 版）”软件中，在保留时间窗口设定为 0.5 min 的平均数法下，采用多点校正后进行自动匹配，计算得到相似度。由结算结果可知，15 批样品与生成的对照指纹图谱相似度依次为 0.998、0.998、0.998、0.998、0.996、0.998、0.998、0.990、0.998、0.998、0.911、0.913、0.998、0.998、0.998，结果表明，15 批济川煎化学成分基本稳定，生成的对照指纹图谱具有很好的代表性。

2.7 特征图谱特征峰分析

由图 1 可知，1 号（咖啡酸）、3 号（阿魏酸）色谱峰归属于当归与升麻；2 号（松果菊苷）、5 号、6 号（毛蕊花糖苷）、7 号、9 号、11 号、13 号色谱峰归属于肉苁蓉；4 号（异阿魏酸）、12 号、14 号、15 号、17 号色谱峰归属于升麻；8 号（柚皮苷）、10 号（新橙皮苷）、18 号色谱峰归属于枳壳；16 号色谱峰归属于当归。以 6 号峰（毛蕊花糖苷）为参照峰，计算 15 批济川煎标准煎液 18 个共有特征峰相对峰面积（表 2），相对保留时间及其均值、RSD（表 3）。由结果可知，18 个特征峰相对保留时间 RSD

表2 15批济川煎标准煎液特征峰相对峰面积

Table 2 Relative peak area of characteristic chromatographic peaks of 15 batches of Jichuan Decoction

峰号	相对峰面积														
	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	P13	P14	P15
1	0.406 6	0.408 1	0.409 3	0.405 9	0.406 6	0.406 9	0.406 7	0.407 5	0.408 4	0.408 1	0.412 0	0.403 2	0.409 3	0.406 9	0.408 4
2	1.305 8	1.290 5	1.285 3	1.290 4	1.275 3	1.290 0	1.283 1	1.287 1	1.284 1	1.283 8	1.299 1	1.278 7	1.285 3	1.290 0	1.284 1
3	1.706 3	1.701 1	1.702 3	1.699 2	1.696 1	1.697 9	1.694 4	1.698 4	1.693 8	1.694 7	1.701 8	1.703 6	1.702 3	1.697 9	1.693 8
4	1.247 3	1.243 8	1.245 0	1.237 7	1.232 2	1.234 3	1.237 6	1.237 9	1.234 4	1.235 1	1.242 5	1.236 3	1.245 0	1.234 3	1.234 4
5	0.343 5	0.341 8	0.341 2	0.340 6	0.338 5	0.338 6	0.338 9	0.341 4	0.339 7	0.340 0	0.344 5	0.342 7	0.341 2	0.338 6	0.339 7
6	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0
7	0.468 0	0.464 3	0.467 0	0.433 1	0.432 6	0.433 0	0.432 9	0.432 8	0.432 4	0.462 5	0.463 8	0.430 4	0.467 0	0.433 0	0.432 4
8	1.391 5	1.387 0	1.391 6	1.392 1	1.395 5	1.394 9	1.390 3	1.393 8	1.391 7	1.387 9	1.389 1	1.389 4	1.391 6	1.394 9	1.391 7
9	0.126 4	0.129 3	0.128 7	0.129 2	0.128 5	0.129 2	0.126 3	0.126 7	0.128 9	0.126 5	0.128 6	0.124 9	0.128 7	0.129 2	0.128 9
10	1.473 0	1.471 7	1.474 2	1.473 2	1.477 7	1.477 9	1.472 0	1.476 7	1.471 9	1.469 2	1.474 7	1.477 4	1.474 2	1.477 9	1.471 9
11	0.366 2	0.366 7	0.367 4	0.363 6	0.367 1	0.367 6	0.377 5	0.368 3	0.366 5	0.366 5	0.362 4	0.362 4	0.367 4	0.367 6	0.366 5
12	0.118 3	0.119 0	0.118 2	0.117 3	0.118 0	0.118 5	0.116 2	0.117 8	0.119 0	0.116 7	0.118 8	0.118 5	0.118 2	0.118 5	0.119 0
13	0.277 0	0.277 6	0.276 4	0.274 4	0.274 8	0.276 2	0.273 9	0.275 4	0.275 8	0.274 2	0.274 4	0.276 0	0.276 4	0.276 2	0.275 8
14	0.163 8	0.163 8	0.165 0	0.165 2	0.163 9	0.166 0	0.164 6	0.164 6	0.164 4	0.164 9	0.165 3	0.165 1	0.165 0	0.166 0	0.164 4
15	0.741 6	0.735 2	0.734 0	0.733 3	0.735 9	0.732 8	0.731 5	0.734 4	0.735 1	0.731 3	0.740 1	0.739 4	0.734 0	0.732 8	0.735 1
16	0.060 4	0.062 6	0.062 1	0.062 6	0.061 6	0.062 2	0.063 8	0.063 1	0.063 6	0.061 4	0.060 9	0.063 5	0.062 1	0.062 2	0.063 6
17	0.070 2	0.068 3	0.068 3	0.067 3	0.067 4	0.067 6	0.068 7	0.067 6	0.067 8	0.067 7	0.069 1	0.067 8	0.068 3	0.067 6	0.067 8
18	0.041 5	0.041 7	0.041 7	0.041 9	0.042 0	0.042 0	0.041 7	0.041 8	0.041 8	0.041 7	0.041 7	0.041 6	0.041 7	0.042 0	0.041 8

表3 15批济川煎标准煎液特征峰相对保留时间

Table 3 Relative retention time of characteristic chromatographic peaks of 15 batches of Jichuan Decoction

峰号	相对保留时间															均值	RSD/%
	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	P13	P14	P15		
1	0.291 6	0.293 4	0.292 8	0.292 3	0.291 9	0.291 5	0.291 8	0.291 5	0.291 2	0.291 3	0.291 1	0.291 1	0.291 1	0.291 9	0.291 2	0.291 7	0.23
2	0.559 1	0.566 5	0.565 1	0.561 5	0.560 6	0.560 1	0.561 5	0.561 5	0.560 7	0.560 2	0.559 7	0.559 1	0.559 2	0.560 6	0.560 7	0.561 1	0.38
3	0.703 5	0.705 3	0.705 0	0.704 3	0.704 0	0.703 6	0.703 3	0.703 1	0.702 8	0.702 8	0.702 9	0.703 0	0.702 8	0.704 0	0.702 8	0.703 5	0.12
4	0.804 1	0.805 5	0.805 3	0.804 8	0.804 6	0.804 2	0.803 9	0.803 9	0.803 4	0.803 5	0.803 6	0.803 6	0.803 5	0.804 6	0.803 4	0.804 1	0.09
5	0.874 5	0.875 5	0.875 4	0.874 4	0.874 4	0.874 3	0.874 5	0.874 8	0.874 5	0.874 4	0.874 2	0.874 3	0.874 1	0.874 4	0.874 5	0.874 5	0.05
6	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	0.00
7	1.107 7	1.107 2	1.107 3	1.107 6	1.107 6	1.107 8	1.107 9	1.107 9	1.108 0	1.108 0	1.107 9	1.107 9	1.107 8	1.107 6	1.108 0	1.107 8	0.02
8	1.139 4	1.138 9	1.139 0	1.139 4	1.139 4	1.139 5	1.139 6	1.139 5	1.139 5	1.139 6	1.139 6	1.139 5	1.139 4	1.139 4	1.139 5	1.139 4	0.02
9	1.230 0	1.229 0	1.229 1	1.229 7	1.229 7	1.230 1	1.230 5	1.230 3	1.230 3	1.230 5	1.230 3	1.230 0	1.230 0	1.229 7	1.230 3	1.230 0	0.04
10	1.275 5	1.274 5	1.274 7	1.275 4	1.275 3	1.275 8	1.276 1	1.275 8	1.275 7	1.276 0	1.275 8	1.275 5	1.275 5	1.275 3	1.275 7	1.275 5	0.03
11	1.323 1	1.321 9	1.322 0	1.323 1	1.323 1	1.323 5	1.323 6	1.323 3	1.323 0	1.323 4	1.323 4	1.323 0	1.323 1	1.323 1	1.323 0	1.323 0	0.04
12	1.398 7	1.397 5	1.397 7	1.399 6	1.399 5	1.399 5	1.399 1	1.398 5	1.398 0	1.398 7	1.399 1	1.398 9	1.398 9	1.399 5	1.398 0	1.398 8	0.05
13	1.411 6	1.410 4	1.410 5	1.412 3	1.412 2	1.412 3	1.411 9	1.411 4	1.410 8	1.411 5	1.411 9	1.411 7	1.411 7	1.412 2	1.410 8	1.411 6	0.05
14	1.478 5	1.477 2	1.477 4	1.479 6	1.479 4	1.479 3	1.478 7	1.478 1	1.477 5	1.478 3	1.478 9	1.478 7	1.478 8	1.479 4	1.477 5	1.478 5	0.05
15	1.495 8	1.494 5	1.494 7	1.496 9	1.496 8	1.496 7	1.496 1	1.495 4	1.494 9	1.495 6	1.496 3	1.496 1	1.496 2	1.496 8	1.494 9	1.495 8	0.05
16	1.565 7	1.564 2	1.564 4	1.566 7	1.566 5	1.566 4	1.565 7	1.565 2	1.564 6	1.565 4	1.566 2	1.566 0	1.566 1	1.566 5	1.564 6	1.565 6	0.05
17	1.591 8	1.590 4	1.590 6	1.593 3	1.593 1	1.592 8	1.591 8	1.591 1	1.590 5	1.591 4	1.592 4	1.592 4	1.592 4	1.593 1	1.590 5	1.591 8	0.06
18	1.640 4	1.638 9	1.639 1	1.641 9	1.641 6	1.641 3	1.640 4	1.639 6	1.639 0	1.639 9	1.641 0	1.640 9	1.641 0	1.641 6	1.639 0	1.640 4	0.06

值均小于 0.38%，结果表明建立的对照特征图谱稳定可靠，能反映济川煎标准煎液的整体化学特征，具有一定的代表性。

3 讨论

3.1 经典名方物质基准 HPLC 特征指纹图谱

经典名方是中药方剂的杰出代表，是历代医家临床经验的总结，是中医药宝库中最精华的部分。在《中医药法》实施背景下，陆续发布了关于“古代经典名方中药复方制剂及其物质基准”等相关文件，为进一步传承发展中医药事业，发挥中医药独特优势作出了明确指示和重要保障^[14]。《物质基准申报资料要求（征求意见稿）》一文中，在以汤剂为例时提出物质基准对应实物的研制过程包括煎煮、滤过、浓缩、干燥，对于汤剂研制成固体制剂的对应实物应干燥成浸膏粉或冻干粉，但对于本研究中济川煎拟制成液体制剂而言，其对应实物应采用标准煎液的形式，才能反映最终制剂的表现形式和质量要求^[15-17]。

经典名方物质基准研发是经典名方制剂开发的重要组成部分，是制剂研发过程的基准参照，物质基准的质量研究应尽可能地全面反映该经典名方的整体化学成分信息，而不能仅通过个别成分或指标进行评价。HPLC 特征指纹图谱能反映丰富的化学图谱信息，且该方法技术成熟、精密度高、稳定性好、科学可靠，现常用于中药材、中药饮片、中药制剂等真伪鉴别与质量分析^[18-19]。本研究采用 HPLC 法建立特征指纹图谱，将济川煎中大多数成分进行分离分析，共筛选得出共有特征峰 18 个，并指认了其中 7 个药效成分，通过专属性分析得出了肉苁蓉、当归、升麻、枳壳 4 味药归属的化学信息。而本条件下牛膝、泽泻未能有专属性特征峰，但可通过 TLC 或浸出物等方法进行鉴别。本研究建立的济川煎物质基准特征指纹图谱较全面地反映了该方的整体化学信息，为经典名方制剂研发提供了详实的参考。

3.2 济川煎指标选择与药效分析

济川煎君药肉苁蓉含有苯乙醇苷类药效成分松果菊苷、毛蕊花糖苷，具有护肝、抗骨质疏松等药效作用；臣药当归含有阿魏酸、咖啡酸等有机酸类成分，具有改善血液循环、抗血小板聚集、抗动脉粥样硬化等作用；佐药枳壳含有柚皮苷、新橙皮苷等黄酮类成分，能加速胃肠蠕动、调节胃肠功能等；使药升麻除阿魏酸、咖啡酸外，还含有咖

啡酸等^[20-23]。方中当归、升麻、枳壳还含有多种挥发油类成分，能促进胃肠道蠕动、调节胃肠功能、加速排便，而挥发油类成分多采用 GC 法测定，本研究条件暂未涉及。方中肉苁蓉、当归、牛膝还含有多种多糖类成分，具有活血补血、延缓衰老、提高免疫、抗肿瘤等药理作用，多糖类成分常需衍生化后采用紫外分光光度法或 NP-HPLC 法测定，本研究条件暂未涉及。方中牛膝含有的蜕皮激素类成分 β -蜕皮甾酮，泽泻含有的萜类成分 23-乙酰泽泻醇 B 等药效成分在本研究条件下难以检测，其余成分尚不明确，暂未进行特征峰归属指认^[24-25]。本研究指认了济川煎中苯乙醇类、黄酮类、有机酸类共 7 个成分，其药理功效与济川煎温肾益精、润肠通便基本相符，能反映济川煎的药效物质基础。

3.3 特征指纹图谱波长选择

本研究指认的咖啡酸、松果菊苷、阿魏酸、异阿魏酸、毛蕊花糖苷、柚皮苷、新橙皮苷最大光谱吸收值依次为 323、330、316、316、330、283、283 nm。采用多波长切换技术能整合不同波长下最佳色谱信息，为中药材、中药饮片、中药制剂质量分析中是一种较为常见的方法，但存在耐用性较差等缺陷，无法满足不同实验条件下特征峰保留时间前后波动带来的影响。济川煎特征图谱所示的 18 个特征峰在 330 nm 附近下均有较大的光谱吸收，单一波长下有较强的紫外吸收，可有效反映出济川煎的化学信息特征。

参考文献

- [1] 徐男, 孙蓉, 黄欣, 等. 基于“效-毒”相关的经典名方复方制剂质量及制药过程一致性评价的研究思路探讨 [J]. 中国医院药学杂志, 2019, 39(20): 2118-2125.
- [2] 张倩, 韩星星, 毛春芹, 等. 中药复方制剂开发的机遇与挑战: 古代经典名方研究开发的问题分析 [J]. 中国中药杂志, 2019, 44(19): 4300-4308.
- [3] 孙昱. 经典名方研发的现存问题及相关考虑 [J]. 药物评价研究, 2020, 43(5): 969-972.
- [4] 刘艳, 章军, 陈士林, 等. 经典名方复方制剂研发策略 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(24): 166-172.
- [5] 梁爱华, 韩佳寅, 陈士林, 等. 中药经典名方的质量与安全性考量 [J]. 中国食品药品监管, 2018, 16(6): 4-10.
- [6] 周菲, 林美斯, 王琳, 等. 经典名方百合地黄汤物质基准制备及过程质量控制研究 [J]. 中草药, 2019, 50(16): 3824-3832.
- [7] 张双喜, 张相安, 安永康. 济川煎对老年慢性功能性便

- 秘患者胃肠功能、血清肠神经递质及肠道菌群的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(22): 169-174.
- [8] 岳奇. 阳虚便秘动物模型的建立及济川煎治疗作用研究 [D]. 太原: 山西省中医药研究院, 2017.
- [9] 李文军, 杨波. 济川煎颗粒质量标准的研究 [J]. 中医药信息, 2012, 29(1): 55-57.
- [10] 李冀. 方剂学 [M]. 北京: 中国中医药出版社, 2012.
- [11] 国家药品监督管理局. 古代经典名方中药复方制剂简化注册审批管理规定 [S/OL]. 2018-05-29. <http://www.nmpa.gov.cn/>.
- [12] 中药配方颗粒质量控制与标准制定技术要求 (征求意见稿) [S]. 2019.
- [13] 医疗机构中药煎药室管理规范 [S]. 2009.
- [14] 程建明, 颜媛媛, 王琪, 等. 经典名方产品开发政策及制备工艺探析 [J]. 南京中医药大学学报, 2019, 35(4): 370-372.
- [15] 李兵, 侯西娟, 刘思鸿, 等. 经典名方复方制剂研发的文献考证要点与策略 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(21): 1-5.
- [16] 倪丽丽, 戴莹, 窦志华, 等. 茵陈标准汤剂量值传递规律研究 [J]. 中草药, 2020, 51(11): 2954-2966.
- [17] 樊启猛, 贺鹏, 李海英, 等. 经典名方物质基准研制的
- 关键技术分析 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(15): 202-209.
- [18] 陈蒙, 林龙飞, 刘宇灵, 等. 经典名方苓桂术甘汤 HPLC 指纹图谱的建立及 3 种成分含量测定 [J]. 中草药, 2019, 50(17): 4152-4157.
- [19] 施崇精, 王姗姗, 程中琴, 等. HPLC 特征指纹图谱结合化学计量学比较川牛膝及其混淆品、掺混品化学成分差异 [J]. 中国中药杂志, 2018, 43(11): 2313-2320.
- [20] 毕萃萃, 刘银路, 魏芬芬, 等. 肉苁蓉的主要化学成分及生物活性研究进展 [J]. 药物评价研究, 2019, 42(9): 1896-1900.
- [21] 李曦, 张丽宏, 王晓晓, 等. 当归化学成分及药理作用研究进展 [J]. 中药材, 2013, 36(6): 1023-1028.
- [22] 李陈雪, 杨玉赫, 冷德生, 等. 枳壳化学成分及药理作用研究进展 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2019, 21(2): 158-161.
- [23] 吴德松, 卿晨. 升麻药理学活性研究进展 [J]. 医学综述, 2009, 15(6): 918-920.
- [24] 田硕, 苗明三. 牛膝的化学、药理及应用特点探讨 [J]. 中医学报, 2014, 29(8): 1186-1188.
- [25] 田婷, 陈华, 冯亚龙, 等. 泽泻药理与毒理作用的研究进展 [J]. 中药材, 2014, 37(11): 2103-2108.