

经典名方温胆汤基准样品标志性成分群质量评价体系构建

吴婉芬^{1,2}, 郑文烈^{1,2}, 池玉梅^{1,2}, 赵晓莉^{1,2}, 张 雯^{1,2}, 谢 辉^{1,2*}, 狄留庆^{1,2*}

1. 南京中医药大学药学院, 江苏 南京 210023

2. 江苏省中药高效给药系统工程研究技术中心, 江苏 南京 210023

摘要: **目的** 建立经典名方温胆汤基准样品特征图谱, 并采用一测多评 (quantitative analysis of multi-components by single marker, QAMS) 法同时测定 5 种标志性成分 (柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷、甘草酸、6-姜辣素) 的含量。**方法** 制备 15 批温胆汤基准样品, 以橙皮苷为参照峰确定共有峰, 建立温胆汤 HPLC 特征图谱; 以橙皮苷为内标参照物, 确定其他 4 种成分的相对校正因子 ($f_{s/i}$) 并计算含量, 同时采用外标法测定, 比较两者结果差异。**结果** 建立了温胆汤基准样品的 HPLC 特征图谱, 15 批基准样品的特征图谱相似度均大于 0.99; 以橙皮苷为内参的柚皮苷、新橙皮苷、甘草酸、6-姜辣素的 $f_{s/i}$ 分别为 0.940 1、0.932 9、0.413 6、0.607 3, QAMS 法含量测定结果与外标法无显著差异。**结论** 建立的 HPLC 特征图谱结合 QAMS 法方便、稳定, 能较好地对接温胆汤基准样品进行整体质量评价。

关键词: 温胆汤; 经典名方; 基准样品; HPLC; 特征图谱; 一测多评法; 质量评价; 柚皮苷; 橙皮苷; 新橙皮苷; 甘草酸; 6-姜辣素

中图分类号: R283.6

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2024)08-2553-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2024.08.006

Quality evaluation of indicative component group of classic prescription Wendan Decoction

WU Wanfen^{1,2}, ZHENG Wenlie^{1,2}, CHI Yumei^{1,2}, ZHAO Xiaoli^{1,2}, ZHANG Wen^{1,2}, XIE Hui^{1,2}, DI Liuqing^{1,2}

1. School of Pharmacy, Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210023, China

2. Jiangsu Engineering Research Center for Efficient Delivery System of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210023, China

Abstract: Objective To establish the characteristic chromatograms of classic prescription Wendan Decoction (温胆汤) and determine five index components (naringin, hesperidin, neohesperidin, glycyrrhizin and 6-gingerol) by quantitative analysis of multi-components by single marker (QAMS) methods. **Methods** A total of 15 batches of Wendan Decoction benchmark sample were prepared and the HPLC characteristic chromatograms of Wendan Decoction were established to determine common peaks with hesperidin as the reference peak. Hesperidin was used as the internal standard reference to calculate the relative correction factors of naringin, neohesperidin, glycyrrhizin, and 6-gingerol by HPLC and the content determination of five active ingredients were determined using the external standard method (ESM) and QAMS methods respectively. **Results** The similarity of characteristic chromatograms of the 15 batches of samples were all greater than 0.99. The relative correction factors of naringin, neohesperidin, glycyrrhizin acid and 6-gingerol using hesperidin as the internal reference were 0.940 1, 0.932 9, 0.413 6 and 0.607 3, respectively, and there was no significant difference between the contents of the components determined by the QAMS method and the ESM method. **Conclusion** The established HPLC characteristic chromatograms combined with QAMS method is convenient and stable, which provides a reference for the overall quality evaluation of Wendan Decoction benchmark sample.

Key words: Wendan Decoction; classic prescription; benchmark sample; HPLC; characteristic chromatograms; QAMS; quality evaluation; naringin; hesperidin; neohesperidin; glycyrrhizin; 6-gingerol

收稿日期: 2023-09-12

基金项目: 国家中医药管理局中药标准化项目 (ZYZH-C-JS-30); 江苏省研究生科研与实践创新计划项目 (KYCX19-1313)

作者简介: 吴婉芬 (1999—), 女, 硕士研究生, 研究方向为中药药剂学。E-mail: 20210890@njucm.edu.cn

*通信作者: 狄留庆, 男, 教授, 博士生导师, 研究方向为中药制剂研究与新产品研发。E-mail: diliuqing@126.com

谢 辉, 女, 副教授, 硕士生导师, 研究方向为中药制剂研究与新产品研发。E-mail: njxh66@njucm.edu.cn

经典名方温胆汤出自唐代孙思邈的《备急千金药方》，该方由半夏（清半夏）、竹茹、枳实（麸炒）、陈皮、生姜、甘草（炒）6 味药组成，具有理气化痰、和胃利胆之功效，主要治疗胆胃不和、胆虚痰热内扰所致的虚烦不得眠，现代临床也常应用于心血管、内分泌、神经系统等疾病治疗^[1-4]，因其应用广泛、疗效明确，收录于第一批《古代经典名方目录》^[5]。2016 年，刘昌孝院士^[6]首次提出中药质量标志物（quality markers, Q-Marker）这一概念，明确了 Q-Marker 的五大原则分别是特有性、有效性、传递与溯源、可测性和配伍环境，为建立全过程质量评价体系提供了新思路。因为中药多成分、多靶点的协同作用，目前特征图谱和多指标成分含量测定已被广泛应用于中药复方的质量评价中^[7-10]。多成分定量测定一般使用外标法，往往需要多个中药化学对照品，而对照品存在分离难度大、价格昂贵等缺点。一测多评法（quantitative analysis of multi-components by single marker, QAMS）是用其中某一成分作为内参物，通过计算其他待测成分的相对校正因子（ $f_{s/i}$ ），从而同时对多个成分进行定量分析，具有节省成本、操作简单的优点，已被用于中药单味药和中药复方的质量评价中^[11-14]。目前，针对经典名方温胆汤的质量控制研究较少，且包含的指标成分覆盖药味较少^[14-17]，为进一步提升温胆汤基准样品的质量控制，提高特征指标质和量的针对性，本研究建立 HPLC 特征图谱，并对 15 批温胆汤基准样品进行含量测定，采用 QAMS 法，以橙皮苷为内参物，通过内参对照品对温胆汤中多组分进行测定，以期为经典名方温胆汤全面质量控制提供实验依据。

1 仪器与材料

1.1 仪器

Waters e2695 型高效液相色谱仪，美国 Waters 公司；Agilent 1260 型高效液相色谱仪，美国安捷伦公司；XP-6 型百万分之一电子天平，瑞士 Mettler Toledo 公司；Sartorius CPA225D 型电子天平，德国 Sartorius 公司；KH-500DE 型超声波清洗器，昆山禾创超声仪器有限公司；RE-52AA 型旋转蒸发仪，上海亚荣生化仪器厂；Scientz-20F/A 型冷冻干燥机，宁波新芝生物科技股份有限公司；Milli-Q Synthesis 108 型超纯水仪，美国 Milli-Q 公司。

1.2 对照品与试剂

对照品甘草苷（批号 111610-201908，质量分数

95.0%）、柚皮苷（批号 110722-202116，质量分数 93.5%）、橙皮苷（批号 110721-202019，质量分数 95.3%）、新橙皮苷（批号 111857-201804，质量分数 99.4%）、甘草酸单铵盐（批号 110731-202122，质量分数 94.4%）、6-姜辣素（批号 111833-202007，质量分数 99.3%）购自中国食品药品检定研究院；对照品对香豆酸（批号 Y16O8C45561）、3,5,6,7,8,3',4'-七甲氧基黄酮（批号 C09O8Y45293）、芹糖异甘草苷（批号 P09J11L108063）、芸香柚皮苷（批号 P25J9L66554）、川陈皮素（批号 H22M8K32109），质量分数均在 98.0%以上，购自上海源叶生物科技有限公司；对照品新北美圣草苷（批号 DST201128-095），质量分数 98.0%以上，购自成都乐美天医药科技有限公司。乙腈、甲醇，色谱纯，美国 Tedia 公司；甲醇、冰醋酸，分析纯，国药集团化学试剂有限公司；甲酸，色谱纯，阿拉丁试剂（上海）有限公司；水由实验室 Milli-Q 超纯水系统制备。

1.3 药材

温胆汤由半夏、竹茹、枳实、陈皮、生姜和甘草 6 味药组成，药材均购自道地产区或主产区，经南京中医药大学药学院陈建伟教授鉴定，其中半夏来自甘肃陇南，为天南星科半夏属植物半夏 *Pinellia ternate* (Thunb.) Berit. 的干燥块茎；竹茹来自浙江嘉兴，为禾本科刚竹属植物淡竹 *Phyllostachys nigra* (Lodd.) Munro var. *henonis* (Mitf.) Stapf ex Rendle 的茎秆的干燥中间层；枳实来自重庆江津，为芸香科柑橘属植物酸橙 *Citrus aurantium* L. 的干燥幼果；陈皮来自浙江东阳，为芸香科柑橘属植物橘 *Citrus reticulata* Blanco 的干燥成熟果皮；生姜来自云南罗平，为姜科姜属植物姜 *Zingiber officinale* Rose. 的新鲜根茎；甘草来自内蒙古王爷地，为豆科甘草属植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. 的干燥根和根茎。药材按前期研究确定的各药材炮制方法炮制加工成对应的饮片，并按照《中国药典》2020 年版方法检测，均符合规定。根据 excel 随机数表法将温胆汤 6 味饮片随机组合成 15 批温胆汤基准样品，15 批基准样品编号及各饮片对应批号见表 1。

2 方法与结果

2.1 15 批温胆汤基准样品的制备

将组方中 6 味中药饮片粉碎成粗粒，按处方量称取清半夏 27.6 g，竹茹 27.6 g，麸炒枳实 27.6 g，陈皮 41.4 g，生姜 55.2 g，炒甘草 13.8 g 于陶瓷锅中，加 1 600 mL 水，先武火 2 200 W 加热煮沸后，

表 1 15 批温胆汤基准样品饮片批号
Table 1 Lot number of decoction pieces of 15 batches of Wendan Decoction benchmark sample

样品 编号	饮片批号					
	清半夏	竹茹	麸炒枳实	陈皮	生姜	炒甘草
S1	30302	111201	111503	301203	61401	101501
S2	30602	112603	112502	401703	61703	120902
S3	31001	41902	120503	301201	61402	120903
S4	30603	110602	112501	32503	61802	121302
S5	30301	112102	120502	32501	61702	121701
S6	30303	111202	120501	300101	61501	121303
S7	31003	112101	111502	300102	61801	101503
S8	30101	0418	111801	300103	61502	120602
S9	30803	112103	52501	301903	61701	120603
S10	30103	41901	111802	301902	61602	121301
S11	30801	112602	112503	401702	61403	121702
S12	30102	110603	111803	32502	61803	120601
S13	30802	111203	111501	301202	61503	121703
S14	30601	112601	52502	401701	61603	120901
S15	31002	110601	0524	301901	61601	101502

在调制文火 600 W 保持微沸状态继续煎煮 80 min, 趁热用 100 目筛网滤过, 滤液放置至室温后, 将体积调整至 400 mL, 煎液经 70 °C 减压浓缩并冷冻干燥 25 h, 即得。

2.2 色谱条件

色谱柱为 Waters XBridge C₁₈ 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 保护柱为 Agilent Zorbax C₁₈ 柱 (12.5 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为乙腈-0.3%甲酸水溶液, 梯度洗脱: 0~28 min, 12%乙腈; 28~32 min, 12%~19%乙腈; 32~46 min, 19%乙腈; 46~65 min, 19%~42%乙腈; 65~75 min, 42%乙腈; 75~76 min, 42%~70%乙腈; 76~80 min, 70%乙腈; 80~82 min, 70%~12%乙腈; 82~90 min, 12%乙腈; 检测波长为 0~55 min, 310 nm; 55~69 min, 250 nm; 69~90 min, 280 nm; 柱温为 30 °C; 体积流量为 1.0 mL/min; 进样量为 10 μL。

2.3 温胆汤基准样品特征图谱的建立

2.3.1 供试品溶液制备 取温胆汤基准样品粉末约 0.1 g, 精密称定, 置 50 mL 具塞锥形瓶中, 精密加 80%甲醇 10 mL, 称定质量, 超声处理 (功率 250 W、频率 40 kHz) 20 min, 放冷, 用 80%甲醇补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得供试品溶液。

2.3.2 精密度考察 取 S1 号温胆汤基准样品粉末, 按“2.3.1”项下方法制备供试品溶液, 连续进样 6 次, 以橙皮苷色谱峰为参照峰, 各特征峰相对保留时间和相对峰面积的 RSD 分别为 0.01%~0.19%和 0.20%~3.30%, 结果表明仪器精密度良好。

2.3.3 重复性考察 取 S1 号温胆汤基准样品粉末, 按“2.3.1”项下方法制备供试品溶液, 平行制备 6 份, 并按“2.2”项下色谱条件进样测定。以橙皮苷色谱峰为参照峰, 各特征峰相对保留时间和相对峰面积的 RSD 分别为 0.03%~0.37%和 0.23%~4.72%, 结果表明该方法重复性良好。

2.3.4 稳定性考察 取 S1 号温胆汤基准样品粉末, 按“2.3.1”项下方法制备供试品溶液, 并按“2.2”项下色谱条件分别于制样后 0、2、4、8、12、24 h 进样测定, 以橙皮苷色谱峰为参照峰, 各特征峰相对保留时间和相对峰面积的 RSD 分别为 0.03%~0.47%和 0.09%~3.96%, 结果表明供试品溶液在制样后 24 h 稳定性良好。

2.3.5 15 批温胆汤特征图谱相似度评价 分别称取 15 批温胆汤基准样品 0.1 g, 按“2.3.2”项下方法制备供试品溶液, 按“2.2”项下色谱条件进行测定, 得到 15 批温胆汤基准样品的特征图谱, 将 S1~S15 特征图谱依次导入《中药色谱指纹图谱相似度评价系统》(2012 版) 软件进行分析, 以 S10 图谱作为参照, 采用中位数法, 时间窗宽度为 0.1 min, 进行多点校正和色谱峰匹配, 生成对照图谱并计算相似度, 确定了 17 个特征峰, 计算各批温胆汤基准样品与其对照图谱的相似度, 分别为 1.000、1.000、1.000、0.999、1.000、0.999、1.000、1.000、0.998、1.000、0.999、1.000、0.999、0.998、0.997。从指纹图谱相似度结果可以看出, 多批次的温胆汤基准样品具有较高的一致性, 表明样品质量稳定性和均一性良好。各批指纹图谱叠加图及其对照指纹图谱 (R) 见图 1。

2.3.6 温胆汤基准样品特征图谱共有峰的指认及归属 按“2.1”项下方法分别制备单味饮片供试品溶液、缺单味饮片供试品溶液, 将温胆汤特征图谱与混合对照品溶液及单味药、缺单味药供试品溶液进行对比, 对各共有峰进行指认和归属, 指认出其中 12 个共有峰, 分别为对香豆酸 (峰 1)、甘草苷 (峰 3)、新北美圣草苷 (峰 4)、芸香柚皮苷 (峰 5)、柚皮苷 (峰 6)、橙皮苷 (峰 7)、新橙皮苷 (峰 8)、芹糖异甘草苷 (峰 9)、甘草酸 (峰 14)、川陈皮素 (峰

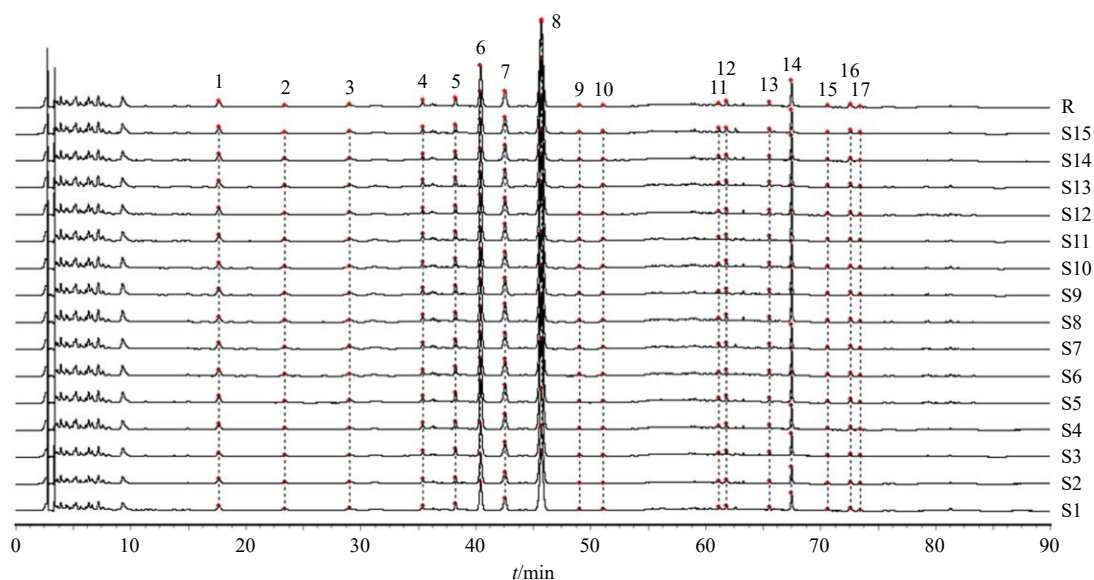


图 1 15 批温胆汤基准样品的特征图谱

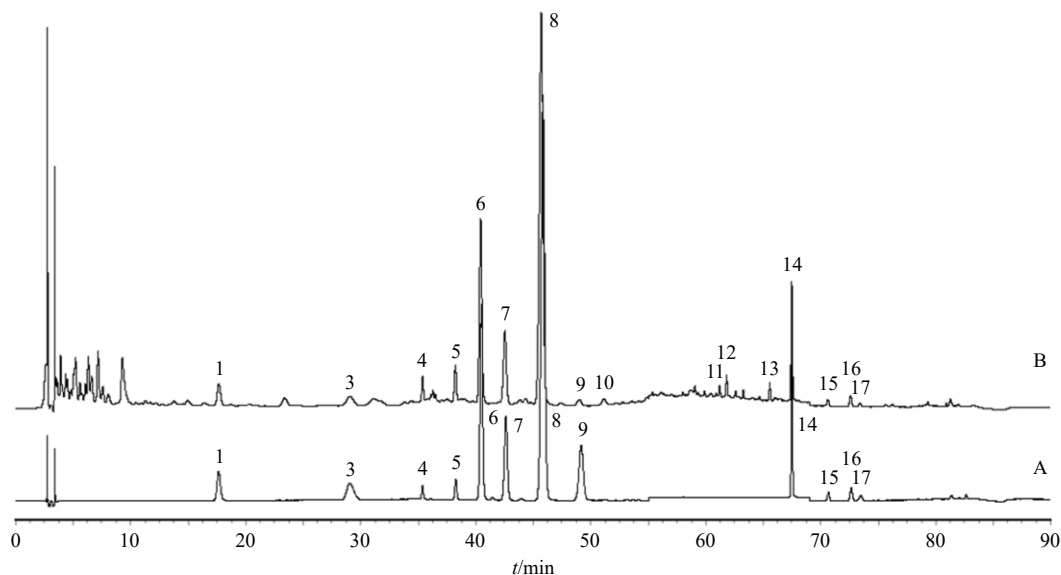
Fig. 1 Characteristic spectra of 15 batches of Wendan Decoction benchmark sample

15)、6-姜辣素 (峰 16)、3,5,6,7,8,3',4'-七甲氧基黄酮 (峰 17), 结果见图 2。其中, 1 号峰 (对香豆酸) 来自竹茹和枳实; 12、17 (3,5,6,7,8,3',4'-七甲氧基黄酮) 号峰来自陈皮; 4 (新北美圣草苷)、6 (柚皮苷)、8 (新橙皮苷) 号峰来自枳实; 2、5 (芸香柚皮苷)、7 (橙皮苷)、15 (川陈皮素) 号峰来自陈皮和枳实; 3 (甘草苷)、9 (芹糖异甘草苷)、10、11、13、14 (甘草酸) 号峰来自甘草; 16 号峰 (6-姜辣素) 来自

生姜。温胆汤及各单味药基准样品特征图谱见图 3。

2.4 含量测定方法的建立

2.4.1 供试品溶液的制备 取温胆汤基准样品粉末约 0.3 g, 精密称定, 置 50 mL 具塞锥形瓶中, 精密加 60%乙醇 10 mL, 称定质量, 超声处理 (功率 250 W、频率 40 kHz) 20 min, 放冷, 用 60%乙醇补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得供试品溶液。



1-对香豆酸; 3-甘草苷; 4-新北美圣草苷; 5-芸香柚皮苷; 6-柚皮苷; 7-橙皮苷; 8-新橙皮苷; 9-芹糖异甘草苷; 14-甘草酸; 15-川陈皮素; 16-6-姜辣素; 17-3,5,6,7,8,3',4'-七甲氧基黄酮。

1-*p*-coumaric acid; 3-liquiritin; 4-neoeriocitrin; 5-narirutin; 6-naringin; 7-hesperidin; 8-neohesperidin; 9-isoliquiritin apioside; 14-glycyrrhizic acid; 15-nobiletin; 16-6-gingerol; 17-3,5,6,7,8,3',4'-heptemthoxyflavone.

图 2 混合对照品溶液 (A) 及温胆汤供试品溶液 (B) 特征图谱

Fig. 2 Characteristic spectra of mixed reference substances solution (A) and Wendan Decoction test solution (B)

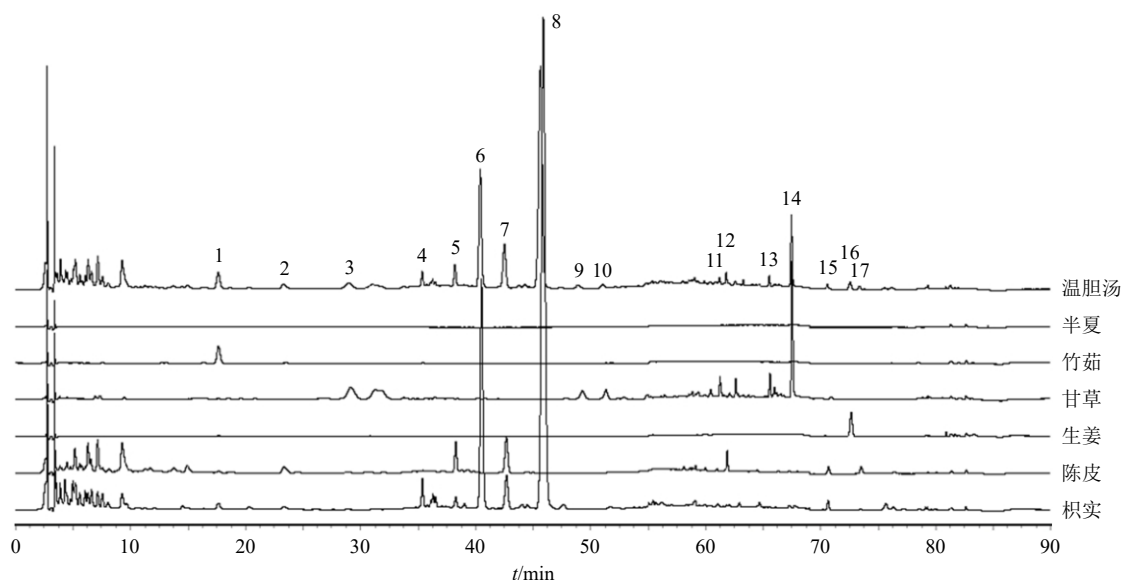


图 3 温胆汤及各单味药制得基准样品特征图谱

Fig. 3 Characteristic spectrums of benchmark sample of Wendan Decoction and single herb

2.4.2 对照品溶液的制备 精密称取柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷、甘草酸铵、6-姜辣素对照品适量，加甲醇制得质量浓度分别为 923.69、524.34、2961.72、133.29、40.60 $\mu\text{g/mL}$ 的混合对照品溶液。

2.4.3 线性关系考察 精密吸取“2.4.2”项下的混合对照品溶液，用甲醇稀释成不同质量浓度的系列混合对照品溶液。按“2.2”项下色谱条件进行测定，以对照品质量浓度为横坐标 (X)，峰面积积分值为纵坐标 (Y) 绘制标准曲线，计算回归方程分别为柚皮苷 $Y=3903.3X-2467.2$, $R^2=0.9999$, 线性范围 92.37~923.69 $\mu\text{g/mL}$; 橙皮苷 $Y=3707.1X-2201.8$, $R^2=0.9999$, 线性范围 52.43~524.34 $\mu\text{g/mL}$; 新橙皮苷 $Y=3927.7X-6980.5$, $R^2=0.9998$, 线性范围 296.17~2961.72 $\mu\text{g/mL}$; 甘草酸 $Y=8761.0X+1777.3$, $R^2=0.9997$, 线性范围 13.33~133.29 $\mu\text{g/mL}$; 6-姜辣素 $Y=6071.5X-2445.9$, $R^2=0.9998$, 线性范围 4.06~40.60 $\mu\text{g/mL}$, 结果表明，各成分在各质量浓度范围内呈良好的线性关系。

2.4.4 精密度试验 精密吸取混合对照品溶液，按“2.2”项下色谱条件连续进样 6 次，测得柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷、甘草酸、6-姜辣素峰面积的 RSD 分别为 0.33%、0.31%、0.34%、1.49%、0.43%，结果表明仪器的精密度良好。

2.4.5 稳定性试验 取 S1 号温胆汤基准样品粉末，按“2.4.1”项下方法制备供试品溶液，并按“2.2”项下色谱条件分别于制样后 0、2、8、12、18、24 h 进行测定，测得柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷、甘草

酸、6-姜辣素峰面积的 RSD 分别为 0.54%、0.59%、0.51%、0.96%、1.03%，结果表明供试品溶液在制样后 24 h 稳定性良好。

2.4.6 重复性试验 取 S1 号温胆汤基准样品粉末，按“2.4.1”项下方法平行制备 6 份供试品溶液，并按“2.2”项下色谱条件进行测定，测得柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷、甘草酸、6-姜辣素质量分数的 RSD 分别为 0.13%、0.31%、0.23%、0.52%、0.54%，结果表明该方法的重复性良好。

2.4.7 加样回收试验 称取已测定指标成分含量的温胆汤基准样品粉末 S1 约 0.15 g 共 6 份，精密称定，置具塞量瓶中，分别精密加入与供试品溶液含量相当的对照品，加 60%乙醇至 10 mL，密塞，称定质量，超声处理（功率 250 W、频率 40 kHz）20 min，放冷，用 60%乙醇补足减失的质量，摇匀，滤过，取续滤液，即得加样回收试验供试品溶液。按“2.2”项下色谱条件进行测定，计算得到加样回收率和 RSD。结果柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷、甘草酸、6-姜辣素的平均加样回收率分别为 97.18%、97.90%、102.24%、101.79%、96.81%，RSD 分别为 0.74%、0.96%、0.77%、1.56%、1.38%，结果表明该方法的准确度良好。

2.5 QAMS 建立

2.5.1 $f_{s/i}$ 的测定 按照“2.2”项下色谱条件，将混合对照品溶液分别进样 4、8、10、12、15、20 μL ，计录各成分峰面积，以橙皮苷为内标参照物，按照公式 $f_{s/i}=f_s/f_i=A_sC_i/A_iC_s$ 计算，其中 A_s 为内标参照

物橙皮苷的峰面积, C_s 为对照品橙皮苷的质量浓度, A_i 为待测成分的峰面积, C_i 为待测成分的质量浓度。分别计算内参物橙皮苷与 4 个待测成分柚皮苷 (a)、新橙皮苷 (b)、甘草酸 (c)、6-姜辣素 (d) 的 $f_{s/i}$ 和 RSD, 结果见表 2。

2.5.2 不同仪器和色谱柱考察 考察了 Waterse e2695 和 Agilent 1260 高效液相色谱仪及 Waters XBridge C₁₈

(250 mm×4.6 mm, 5 μm)、Thermo BDS Hypersil™ C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm) 2 种色谱柱对 $f_{s/i}$ 的影响, 并计算 RSD, 结果均小于 2%, 表明不同仪器和色谱柱适用性良好。结果见表 3。

2.5.3 不同柱温对 $f_{s/i}$ 的影响 采用 Waters e2695 色谱仪和 Waters XBridge C₁₈ 色谱柱考察了不同柱温 25、30、35 °C 对 $f_{s/i}$ 的影响, 并计算 RSD, 结果均小于 2%, 表明不同柱温对各成分 $f_{s/i}$ 无显著影响, 结果见表 4。

2.5.4 不同体积流量对 $f_{s/i}$ 的影响 采用 Waters e2695 色谱仪和 Waters XBridge C₁₈ 色谱柱考察了不同体积流量 0.8、1.0、1.2 mL/min 对 $f_{s/i}$ 的影响, 并计算 RSD, 结果均小于 1%, 表明不同体积流量对各成分 $f_{s/i}$ 无显著影响, 结果见表 5。

2.5.5 待测组分色谱峰定位 以橙皮苷色谱峰为参照峰, 采用相对保留时间法 (待测成分与对照物保留时间的比值) 定位其他 4 种成分色谱峰。考察不同液相色谱仪及不同色谱柱时, 柚皮苷、新橙皮苷、

表 2 各成分 $f_{s/i}$ 计算结果

Table 2 $f_{s/i}$ values of each component

进样体积/μL	$f_{\text{橙皮苷/柚皮苷}}$	$f_{\text{橙皮苷/新橙皮苷}}$	$f_{\text{橙皮苷/甘草酸}}$	$f_{\text{橙皮苷/6-姜辣素}}$
4	0.939 3	0.930 5	0.403 4	0.610 0
8	0.939 2	0.931 6	0.408 1	0.607 9
10	0.941 0	0.933 3	0.414 3	0.605 9
12	0.941 0	0.934 2	0.417 8	0.607 7
15	0.940 9	0.934 2	0.418 4	0.606 9
20	0.939 6	0.933 3	0.419 4	0.605 6
平均值	0.940 1	0.932 9	0.413 6	0.607 3
RSD/%	0.10	0.16	1.56	0.26

表 3 不同仪器和色谱柱对 $f_{s/i}$ 的影响

Table 3 Effect of different instruments and chromatographic columns on $f_{s/i}$

仪器	色谱柱	$f_{\text{橙皮苷/柚皮苷}}$	$f_{\text{橙皮苷/新橙皮苷}}$	$f_{\text{橙皮苷/甘草酸}}$	$f_{\text{橙皮苷/6-姜辣素}}$
Waters	Waters XBridge C ₁₈	0.941 1	0.933 0	0.413 6	0.603 8
	Thermo BDS Hypersil™ C ₁₈	0.961 4	0.932 6	0.417 0	0.605 1
Agilent 1260	Waters XBridge C ₁₈	0.946 5	0.938 7	0.421 1	0.606 5
	Thermo BDS Hypersil™ C ₁₈	0.939 4	0.933 1	0.418 7	0.605 6
平均值		0.947 1	0.934 3	0.417 6	0.605 3
RSD/%		1.05	0.31	0.76	0.18

表 4 不同柱温对 $f_{s/i}$ 的影响

Table 4 Effect of different column temperature on $f_{s/i}$

柱温/°C	$f_{\text{橙皮苷/柚皮苷}}$	$f_{\text{橙皮苷/新橙皮苷}}$	$f_{\text{橙皮苷/甘草酸}}$	$f_{\text{橙皮苷/6-姜辣素}}$
25	0.959 8	0.935 0	0.415 6	0.599 6
30	0.941 1	0.933 0	0.413 6	0.603 8
35	0.941 0	0.935 6	0.421 0	0.605 6
平均值	0.947 3	0.934 6	0.416 7	0.603 0
RSD/%	1.15	0.15	0.92	0.51

表 5 不同体积流量对 $f_{s/i}$ 的影响

Table 5 Effect of different volume flow on $f_{s/i}$

体积流量/(mL·min ⁻¹)	$f_{\text{橙皮苷/柚皮苷}}$	$f_{\text{橙皮苷/新橙皮苷}}$	$f_{\text{橙皮苷/甘草酸}}$	$f_{\text{橙皮苷/6-姜辣素}}$
0.8	0.950 9	0.935 9	0.417 0	0.602 8
1.0	0.942 3	0.933 3	0.414 1	0.602 2
1.2	0.940 9	0.935 6	0.421 6	0.602 8
平均值	0.944 7	0.934 9	0.417 5	0.602 6
RSD/%	0.57	0.15	0.90	0.06

甘草酸、6-姜辣素的相对保留时间 (RRT), 各待测成分 RRT 的 RSD 均小于 2.0%, 结果表明相对保留时间稳定, 各色谱峰可使用 RRT 法进行定位, 结果见表 6。

2.6 外标法与 QAMS 测定的比较

取 15 批温胆汤基准样品, 按“2.4.1”项下方法制备供试品溶液, 按“2.2”项下色谱条件进行测定, 记录峰面积, 采用 QAMS 法建立内参物橙皮苷与柚皮苷、新橙皮苷、甘草酸铵、6-姜辣素的 $f_{s/i}$, 对温胆汤样品中的各成分进行含量测定, 同时采用外标法对其进行含量测定, 用相对偏差 (relative deviation, RD) 验证一测多评法的合理性及可行性, 结果见表 7, 2 种测定方法结果无显著性差异, RD 值均小于 1.00%, 表明所建立的 QAMS 测定结果准确性较高, 在温胆汤基准样品多指标成分质量评价中应用是可行的。

表 6 各成分相对保留时间

Table 6 Relative retention time of each component

仪器	色谱柱	RRT 橙皮苷/柚皮苷	RRT 橙皮苷/新橙皮苷	RRT 橙皮苷/甘草酸	RRT 橙皮苷/6-姜辣素
Waters	Waters XBridge C ₁₈	0.949 2	1.075 0	1.580 8	1.702 5
	Thermo BDS Hypersil™ C ₁₈	0.948 5	1.075 2	1.583 0	1.671 7
Agilent 1260	Waters XBridge C ₁₈	0.950 6	1.076 9	1.565 0	1.689 4
	Thermo BDS Hypersil™ C ₁₈	0.948 9	1.071 9	1.609 0	1.727 6
平均值		0.949 3	1.074 8	1.584 4	1.697 8
RSD/%		0.10	0.19	1.15	1.39

表 7 外标法和 QAMS 法测定温胆汤基准样品中 5 种成分含量

Table 7 Five components determination of Wendan Decoction benchmark sample by external standard and QAMS method

样品	橙皮苷/ (mg·g ⁻¹)	柚皮苷/(mg·g ⁻¹)			新橙皮苷/(mg·g ⁻¹)			甘草酸/(mg·g ⁻¹)			6-姜辣素/(mg·g ⁻¹)		
		外标法	QAMS 法	RD/%	外标法	QAMS 法	RD/%	外标法	QAMS 法	RD/%	外标法	QAMS 法	RD/%
S1	1.372	3.067	3.073	0.18	10.639	10.663	0.23	0.362	0.361	-0.32	0.090	0.089	-0.62
S2	1.575	3.504	3.505	0.02	12.285	12.291	0.05	0.409	0.407	-0.58	0.103	0.103	-0.60
S3	1.526	3.461	3.463	0.07	12.223	12.236	0.11	0.365	0.363	-0.54	0.099	0.099	-0.62
S4	1.702	3.545	3.541	-0.12	14.377	14.378	0.01	0.399	0.396	-0.73	0.116	0.115	-0.53
S5	1.838	3.832	3.825	-0.19	15.354	15.341	-0.08	0.428	0.425	-0.85	0.126	0.125	-0.52
S6	1.723	3.551	3.546	-0.14	14.261	14.258	-0.02	0.408	0.405	-0.75	0.121	0.120	-0.48
S7	1.651	3.629	3.627	-0.04	12.636	12.634	-0.02	0.461	0.458	-0.64	0.130	0.129	-0.28
S8	1.337	3.015	3.022	0.22	10.325	10.352	0.26	0.363	0.362	-0.26	0.101	0.100	-0.30
S9	1.333	3.122	3.130	0.26	10.499	10.529	0.28	0.354	0.353	-0.25	0.098	0.097	-0.36
S10	1.723	3.851	3.848	-0.07	13.157	13.148	-0.07	0.449	0.446	-0.72	0.129	0.129	-0.36
S11	1.676	3.690	3.688	-0.05	12.105	12.095	-0.08	0.437	0.434	-0.68	0.130	0.129	-0.30
S12	1.786	3.976	3.971	-0.10	13.318	13.301	-0.13	0.494	0.490	-0.77	0.137	0.136	-0.34
S13	1.732	3.809	3.805	-0.09	13.257	13.247	-0.08	0.438	0.435	-0.74	0.106	0.105	-0.74
S14	1.764	3.891	3.887	-0.10	13.654	13.642	-0.09	0.449	0.445	-0.77	0.106	0.105	-0.76
S15	1.716	3.906	3.904	-0.05	13.165	13.157	-0.06	0.426	0.423	-0.73	0.100	0.099	-0.83
P		0.994			0.998			0.862			0.869		

3 讨论

Q-Marker 的“五原则”有利于提升中药复方制剂的整体质量，并为本实验中经典名方温胆汤质控成分的选择提供依据。本实验选取柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷、甘草酸和 6-姜辣素作为经典名方温胆汤的标志性成分群，柚皮苷和新橙皮苷在方中含量极高，是枳实的主要有效特征成分；橙皮苷为陈皮和麸炒枳实共有成分，但主要来源于陈皮，为《中国药典》2020 年版中陈皮的质量控制指标；甘草酸的含量亦较高，归属于炒甘草；生姜在方中用量最大，通过对照品比对，指认方中含有生姜指标成分 6-姜辣素，以上体现了 5 个成分作为经典名方温胆汤 Q-Marker 的化学成分特有性及中药质量的可测性。实验室前期对各药材、饮片进行含量测定，发现指标

性成分在药材-饮片-温胆汤基准样品中稳定转移，满足质量传递及溯源的要求。

研究表明，柚皮苷、新橙皮苷具有胃排空和小肠推进作用^[18]；甘草酸具有良好的抗炎和抗抑郁作用^[19]；6-姜辣素是生姜发挥抗炎的主要有效成分^[20]，并且能够改善大鼠的海马脑源性神经营养因子（brain-derived neurotrophic factor, BDNF）和神经生长因子（nerve growth factor, NGF）水平，是潜在的神经保护剂^[21]；橙皮苷具有抗氧化、清除自由基活性的作用，能通过保肝辅助抵抗抑郁症^[22]。以上体现了柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷、甘草酸和 6-姜辣素作为温胆汤 Q-Marker 的有效性，本实验选择的 5 个指标成分参考了 Q-Marker 的“五原则”，覆盖方中 4 味药味，与温胆汤疏肝理气、和胃利胆的功

效有关,能够较为全面的反应温胆汤的整体质量。

温胆汤中清半夏为君药,在炮制工序中,其主要成分核苷类成分损失较多;竹茹中的主要成分为多糖类成分,因此,在目前的含量测定中没有相应的指标性成分。后续将对清半夏、竹茹的特征信息进行深入研究,并通过薄层鉴别、特征图谱等手段进行补充。本研究首次建立了 QAMS 法结合特征图谱技术同时测定经典名方温胆汤中的标志性成分群含量,以色谱图中保留时间和峰面积适中、对照品性质稳定的橙皮苷为内参物,同时测定温胆汤中柚皮苷、新橙皮苷、甘草酸和 6-姜辣素含量,确定其 f_{rel} 分别为 0.940 1、0.932 9、0.413 6、0.607 3, QAMS 法和外标法分别测定结果无显著差异,具有较高的准确性和稳定性。特征图谱和 QAMS 联用能够反映整个复方的整体质量,经典名方温胆汤基准样品质量评价研究,也为温胆汤颗粒剂的后续研究提供了参考。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 吕双宏. 温胆汤临床应用研究进展 [J]. 中医药导报, 2018, 24(20): 123-125.
- [2] 马蕾, 王伟杰, 蔡梅超. 经典名方温胆汤化学成分和临床应用研究进展 [J]. 西安文理学院学报: 自然科学版, 2022, 25(4): 71-82.
- [3] 张思佳, 周颖靓, 王茹, 等. 温胆汤及其类方治疗失眠的研究进展 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2023, 25(10): 192-198.
- [4] 祁祥, 卢健棋, 温志浩, 等. 基于网络药理学与分子对接的温胆汤治疗冠心病合并抑郁作用机制探讨 [J]. 药物评价研究, 2022, 45(8): 1540-1548.
- [5] 国家中医药管理局. 关于发布《古代经典名方目录(第一批)的通知》[EB/OL]. [2018-04-16]. <http://www.natcm.gov.cn/kejisi/zhengcewenjian/2018-04-16/7107.html>.
- [6] 刘昌孝, 陈士林, 肖小河, 等. 中药质量标志物 (Q-Marker): 中药产品质量控制的新概念 [J]. 中草药, 2016, 47(9): 1443-1457.
- [7] 任逸飞, 马永霖, 田宇柔, 等. 石楠叶药材-饮片-标准汤剂-配方颗粒量值传递规律研究 [J]. 药物评价研究, 2024, 47(2): 360-368.
- [8] 杜克群, 成颜芬, 李敏敏, 等. 基于特征图谱与 5 种成分含量的经典名方桃红四物汤量值传递分析 [J]. 中草药, 2022, 53(22): 7058-7069.
- [9] 程钰洁, 邱彩月, 洪婉敏, 等. 车前子及其炮制品色度值、UPLC 指纹图谱及体外抗氧化活性的差异研究 [J]. 中草药, 2023, 54(20): 6657-6670.
- [10] 徐瑞杰, 薛蓉, 梅茜, 等. 经典名方枳实薤白桂枝汤物质基准的量值传递研究 [J]. 中草药, 2022, 53(9): 2650-2658.
- [11] 王智民, 高慧敏, 付雪涛, 等. “一测多评”法中药质量评价模式方法学研究 [J]. 中国中药杂志, 2006, 31(23): 1925-1928.
- [12] 孙越鹏, 王梦雪, 宋丹, 等. 基于一测多评多组分定量质控联合主成分分析、正交偏最小二乘法-判别分析及熵权逼近理想排序法的盐沙苑子饮片综合质量评价 [J]. 中草药, 2023, 54(24): 8077-8085.
- [13] 何天雨, 梅茜, 王晓丽, 等. 基于一测多评法含量测定及薄层鉴别的经典名方竹茹汤颗粒剂的质量评价研究 [J]. 中草药, 2023, 54(14): 4511-4519.
- [14] 林丽, 杨雯晴, 商和儒. 基于一测多评定量控制联合灰色关联度分析的颈痛颗粒综合质量评价 [J]. 药物评价研究, 2023, 46(6): 1254-1263.
- [15] 张琴, 王佳丽, 高喜梅, 等. 经典名方温胆汤水煎液 HPLC 指纹图谱与多成分含量测定研究 [J]. 南京中医药大学学报, 2021, 37(6): 930-937.
- [16] 李明明, 朱志军, 党晓月, 等. 经典名方温胆汤物质基准量值传递分析 [J]. 中国医院药学杂志, 2022, 42(12): 1225-1231.
- [17] 李娜, 王岩, 王长福, 等. 基于指纹图谱和网络药理学的温胆汤质量标志物 (Q-Marker) 预测 [J]. 中草药, 2023, 54(19): 6241-6252.
- [18] 周丽, 时海燕, 时银萍, 等. 指纹图谱结合化学计量学优选经典名方温胆汤的提取工艺 [J]. 中国医院药学杂志, 2020, 40(21): 2214-2219.
- [19] 何英杰, 刘东波, 唐其, 等. 酸橙类中药材枳实和枳壳化学成分研究进展 [J]. 中药材, 2017, 40(6): 1488-1494.
- [20] Cao Z Y, Liu Y Z, Li J M, et al. Glycyrrhizic acid as an adjunctive treatment for depression through anti-inflammation: A randomized placebo-controlled clinical trial [J]. *J Affect Disord*, 2020, 265: 247-254.
- [21] 李冰. 生姜挥发油成分分析及其主要活性成分 6-姜酚的抗炎机制初步探究 [D]. 沈阳: 中国医科大学, 2020.
- [22] Adetuyi B O, Farombi E O. 6-Gingerol, an active constituent of ginger, attenuates lipopolysaccharide-induced oxidation, inflammation, cognitive deficits, neuroplasticity, and amyloidogenesis in rat [J]. *J Food Biochem*, 2021, 45(4): e13660.
- [23] 李广兰, 谭梅英, 卢浩扬, 等. HPLC 法同时测定疏肝解郁片中两种抗抑郁成分 [J]. 按摩与康复医学, 2019, 10(14): 57-59.

[责任编辑 郑礼胜]