

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

刘艳梅, 黄小丹, 彭致钺, 朱德全, 李振雨, 陈向东, 孙冬梅*

广东一方制药有限公司, 广东省中药配方颗粒企业重点实验室, 广东 佛山 528244

摘要: 目的 通过建立 UPLC 指纹图谱及多指标成分含量测定方法, 构建经典名方桃核承气汤 (Taohe Chengqi Decoction, TCD) 的质量体系, 研究 TCD 基准样品量值传递规律。方法 遵照古籍记载并结合工艺考察, 制备不同产地的 15 批次 TCD 基准样品, 采用 UPLC 法建立基准样品指纹图谱, 使用中药色谱指纹图谱相似度评价软件 (2012 版) 进行相似度评价, 结合 UPLC-Q-Exactive Orbitrap-MS 技术全面分析基准样品化学成分, 同时测定样品中指标成分 (苦杏仁苷、桂皮醛、肉桂酸、甘草酸、游离型蒽醌、总蒽醌、结合蒽醌) 的含量。结果 建立了 15 批 TCD 基准样品的 UPLC 指纹图谱, 与对照指纹图谱比较相似度 ≥ 0.90 , 通过对照品确认、高分辨质谱数据分析及文献比对, 共鉴定出 80 个化学成分, 共归属 26 个指纹峰, 鉴定了 17 个色谱峰。15 批 TCD 基准样品中苦杏仁苷、桂皮醛、肉桂酸、甘草酸、游离型蒽醌、总蒽醌、结合蒽醌的质量分数分别为 0.29%~0.58%、0.011%~0.032%、0.05%~0.13%、0.48%~1.04%、0.20%~0.30%、0.42%~0.66%、0.19%~0.37%, 饮片到基准样品的转移率分别为 31.49%~60.78%、0.43%~2.67%、51.61%~76.99%、26.79%~49.88%、16.01%~32.65%、9.66%~19.07%、6.97%~19.48%; 出膏率为 19.55%~22.92%, 传递率为 80.98%~99.34%。结论 所建立的 UPLC 指纹图谱及多指标成分含量测定分析方法快速简便, 结合基准样品的量值传递过程分析, 可为后续制剂的开发和质量控制提供理论依据。

关键词: 桃核承气汤; 经典名方; 指纹图谱; 量值传递; UPLC-Q-Exactive Orbitrap-MS; 苦杏仁苷; 桂皮醛; 肉桂酸; 甘草酸; 蒽醌

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2024)11-3689-16

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2024.11.012

UPLC fingerprint and multi-index component content determination of classical herbal prescription Taohe Chengqi Decoction

LIU Yanmei, HUANG Xiaodan, PENG Zhicheng, ZHU Dequan, LI Zhenyu, CHEN Xiangdong, SUN Dongmei
Guangdong Provincial Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine Formula Granule Enterprises, Guangdong Yifang Pharmaceutical Co., Ltd., Foshan 528244, China

Abstract: Objective The quality system of classical herbal prescription Taohe Chengqi Decoction (桃核承气汤, TCD) was established by establishing UPLC fingerprint and multi-index component content determination method, and the quantitative value transfer law of the benchmark samples of TCD was studied. **Methods** According to the records of ancient books and combined with technological investigation, 15 batches of benchmark samples of TCD from different areas were prepared. The fingerprint of the benchmark sample was established by UPLC method, and the similarity was evaluated by "Similarity Evaluation Software of Chromatographic Fingerprint of Traditional Chinese Medicine" (version 2012). Combined with UPLC-Q-ExactiveOrbitrap-MS technology, the chemical components of the benchmark samples were analyzed comprehensively, and the contents of index components (amygdalin, cinnamaldehyde, cinnamic acid, glycyrrhizic acid, free anthraquinone, total anthraquinone and bound anthraquinone) in the samples were determined at the same time. **Results** The UPLC fingerprints of 15 batches of TCD benchmark samples were established, and the similarity between them and the control fingerprints was ≥ 0.90 . A total of 80 chemical

收稿日期: 2023-11-13

基金项目: 国家工信部 2022 年产业技术基础公共服务平台项目-中药全产业链质量技术服务平台 (2022-230-221); 2022 年佛山市南海区重点领域科技攻关专项: 防治代谢性疾病中医药系列产品创新研发

作者简介: 刘艳梅, 女, 硕士研究生, 从事中药质量标准研究。E-mail: 947193632@qq.com

*通信作者: 孙冬梅, 女, 博士生导师。Tel: (0757)85128602 E-mail: 10268667@qq.com

constituents were identified, belonging to 26 fingerprint peaks of which 17 chromatographic peaks were identified through the confirmation of the reference substance, the analysis of high resolution mass spectrometry data and the comparison of literature. The mass fraction ranges of amygdalin, cinnamaldehyde, cinnamic acid, glycyrrhizic acid, free anthraquinone, total anthraquinone and bound anthraquinone were 0.29%—0.58%, 0.011%—0.032%, 0.05%—0.13%, 0.48%—1.04%, 0.20%—0.30%, 0.42%—0.66%, 0.19%—0.37%. The transfer rate of index component from the decoction pieces to the substance benchmark was in the range of amygdalin 31.49%—60.78%, cinnamaldehyde 0.43%—2.67%, cinnamic acid 51.61%—76.99%, glycyrrhizic acid 26.79%—49.88%, free anthraquinone 16.01%—32.65%, total anthraquinone 9.66%—19.07%, bound anthraquinone 6.97%—19.48%. The extract rate was in the range from 19.55%—22.92%, and the transmission rate was in the range from 80.98%—99.34%. **Conclusion** The established UPLC fingerprint and the determination and analysis method of multi-index component content are rapid and simple, combined with the quantitative value transfer process analysis of the benchmark sample, which can provide a theoretical basis for the development and quality control of follow-up preparations.

Key words: Taohe Chengqi Decoction; classic prescription; fingerprint; quantitative value transfer; UPLC-Q-Exactive Orbitrap-MS; amygdalin; cinnamaldehyde; cinnamic acid; glycyrrhizic acid; anthraquinone

桃核承气汤 (Taohe Chengqi Decoction, TCD) 出自汉代张仲景的《伤寒论》:“桃仁五十个 (去皮尖), 大黄四两, 桂枝二两 (去皮), 甘草二两 (炙), 芒硝二两。上五味, 以水七升, 煮取二升半, 去滓, 内芒硝, 更上火, 微沸下火, 先食温服五合, 日三服^[1]。”处方中桃仁辛、苦, 泄瘀血、活血散瘀、破血通经^[2], 大黄苦寒清泻热结, 共为君药, 可使互结之瘀热得以下行^[3]。芒硝咸以入血分, 配合大黄促进“瘀浊”从肠道排出, 3 药相使配伍, 共奏泄热逐瘀之功^[4]; 桂枝温通经脉、止痛, 既助桃仁活血祛瘀, 又防芒硝、大黄寒凉凝血之弊, 共为臣药^[5-6]。甘草补中益气、调和诸药, 为佐使药^[7], 与桃仁同用, 益气帅血行瘀, 又可使大黄、桃仁泻热逐瘀不致损伤脾胃。临床上常加减药味用于治疗“瘀热互结”的上、中、下焦病症, 也广泛运用于妇科的痛经、闭经, 以及肾系病证的癃闭, 前列腺炎或者前列腺增生导致的癃闭等^[8-9]。

基准样品的制备和质量控制是经典名方制剂申报的前提和基础, 为制剂的“标准对照物质”, 根据《古代经典名方中药复方制剂简化注册审批管理规定》规定, 经典名方制剂的研制分“经典名方物质基准”研制与制剂研制 2 个阶段。按照古代经典名方目录公布的处方、制法研制“经典名方物质基准”, 确定关键质量属性, 据此建立制剂的质量评价指标和评价方法。

全面、准确的基准样品质控体系对于经典名方复方制剂的质量保障具有重要意义。本研究采用超高效液相色谱建立了 TCD 的 UPLC 指纹图谱测定方法和基准样品中指标成分的含量方法, 并结合指标性成分含量、转移率以及出膏率, 进行饮片到基准样品的量值传递规律分析及整体质量研究, 综合

UPLC-Q-Exactive Orbitrap-MS 技术分析基准样品化学成分, 明确 TCD 药效物质基础, 为其复方制剂的关键质量属性研究、质量控制以及产品安全性、稳定性的评价提供数据参考。

1 仪器与材料

1.1 仪器

Waters H-Class 型超高效液相色谱仪、PDA 检测器, 美国沃特世公司; UPLC-Q-Exactive-Focus 型高分辨质谱仪、Ultimate 3000 型超高效液相色谱系统、Thermo Scientific mzVault™ 2.0 数据库软件、Xcalibur 4.1 型工作站, 美国赛默飞世尔科技公司; XP26 型百万分之一天平、ME204E 型十万分之一天平, 瑞士梅特勒-托利多公司; KQ-3000E 型超声波清洗器, 昆山市超声仪器有限公司; Direct-Q5 型超纯水机, 美国 Millipore 公司; H22-X3 型九阳电陶炉, 杭州九阳生活电器有限公司。

1.2 材料

1.2.1 对照品 没食子酸 (批号 110831-201906, 质量分数≥91.5%)、儿茶素 (批号 110877-202005, 质量分数≥95.1%)、甘草苷 (批号 111610-201908, 质量分数≥95.0%)、苦杏仁苷 (批号 110820-202109, 质量分数≥93.1%)、肉桂酸 (批号 110786-201604, 质量分数≥98.8%)、桂皮醛 (批号 110710-202022, 质量分数≥99.5%)、表儿茶素没食子酸酯 (批号 111987-201501, 质量分数≥98.1%)、甘草酸铵 (批号 110731-202122, 质量分数≥94.4%)、芦荟大黄素 (批号 110795-202011, 质量分数≥97.5%)、大黄酸 (批号 110757-201607, 质量分数≥99.3%)、大黄素 (批号 110756-201913, 质量分数≥96.0%)、大黄酚 (批号 110796-201922, 质量分数≥99.4%)、大黄素甲醚 (批号 110758-202218, 质量分数≥

98.9%), 以上对照品均购自中国食品药品检定研究院; 大黄酚-8-*O*-葡萄糖苷 (批号 CFS201801, 质量分数≥98.0%), ChemFaces®, 购自青岛君道生物技术有限公司; 大黄酚-1-*O*-葡萄糖苷 (批号 ST83090105, 质量分数≥98.0%) 购自武汉天植生物技术有限公司; 大黄素-8-*O*-葡萄糖苷 (批号 150719, 质量分数≥98.0%) 购自成都普菲德生物技术有限公司。水为超纯水, 甲醇、乙腈、磷酸为色谱纯, 甲酸为质谱纯。

1.2.2 药材 处方药材桃仁、桂枝、大黄、芒硝、甘草 5 味均购自主产区或道地产区, 各药材饮片均符合《中国药典》2020 年版一部相关项下的性状规定, 产地及批号具体见表 1, 经广州中医药大学药学院孙冬梅教授鉴定, 桃仁为蔷薇科李属植物桃 *Prunus davidiana* (Carr.) Franch. 的干燥成熟种子; 桂枝为樟科樟属植物肉桂 *Cinnamomum cassia* Presl 的

干燥嫩枝; 大黄为蓼科大黄属植物掌叶大黄 *Rheum palmatum* L. 的干燥根和根茎; 芒硝为硫酸盐类矿物芒硝族芒硝, 经加工精制而成的结晶体, 主含含水硫酸钠 ($\text{Na}_2\text{SO}_4 \cdot 10 \text{H}_2\text{O}$); 甘草为豆科甘草属植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. 的干燥根和根茎。按照国家公布的 TCD 关键信息, 甘草 (炙) 为炒甘草, 桃仁为燂桃仁, 参考《中国药典》2020 年版饮片炮制要求, 炮制成燂桃仁、大黄、炒甘草、桂枝、芒硝饮片, 由于《中国药典》2020 年版暂未收载炒甘草炮制方法, 本课题组对炒甘草的炮制工艺进行考察, 确定炮制工艺为取甘草药材, 除去杂质, 大小分档, 洗净, 喷淋适量清水, 置桶中闷润, 软化至易弯曲、不易折断、断面无硬心、无粉性, 切厚片, 投入炒锅中, 用文火炒至表面呈微黄色, 放凉备用。各单味药材、饮片经检验均符合《中国药典》2020 年版要求。

表 1 TCD 药材产地信息

Table 1 Origin information of TCD compatibility medicinal materials

序号	桃仁		桂枝		大黄		芒硝		甘草	
	批号	产地	批号	产地	批号	产地	批号	产地	批号	产地
1	T220801	辽宁阜新市	G221001	广西玉林市	D220701	甘肃礼县	M2209101	安徽亳州市	GC220301	甘肃陇西县
2	T220802	辽宁阜新市	G221002	广西玉林市	D220702	甘肃礼县	M2209102	安徽亳州市	GC220302	甘肃陇西县
3	T220803	辽宁阜新市	G221003	广西玉林市	D220703	甘肃礼县	M2209103	安徽亳州市	GC220303	甘肃陇西县
4	T220804	辽宁阜新市	G221004	广西玉林市	D220704	甘肃礼县	M2209104	安徽亳州市	GC220304	甘肃陇西县
5	T220805	辽宁阜新市	G221005	广西玉林市	D220705	甘肃礼县	M2209105	安徽亳州市	GC220305	甘肃定西市
6	T220806	甘肃平凉市	G221006	广西玉林市	D220706	甘肃礼县	M2209106	山东甄城县	GC220306	甘肃定西市
7	T220807	甘肃平凉市	G221007	广西玉林市	D220707	甘肃礼县	M2209107	山东甄城县	GC220307	甘肃定西市
8	T220808	甘肃平凉市	G221008	广西贵港市	D220708	甘肃礼县	M2209108	山东甄城县	GC220308	甘肃定西市
9	T220809	甘肃平凉市	G221009	广西贵港市	D220709	甘肃礼县	M2209109	山东甄城县	GC220309	甘肃民勤县
10	T220810	甘肃平凉市	G221010	广西贵港市	D220710	甘肃礼县	M2209110	山东甄城县	GC220310	甘肃民勤县
11	T220811	陕西陇县	G221011	广西容县	D220711	甘肃礼县	M2209111	河北保定市	GC220311	内蒙古赤峰市
12	T220812	陕西陇县	G221012	广西容县	D220712	甘肃礼县	M2209112	河北保定市	GC220312	内蒙古赤峰市
13	T220813	陕西陇县	G221013	广东郁南县	D220713	甘肃礼县	M2209113	河北保定市	GC220313	内蒙古赤峰市
14	T220814	陕西千阳县	G221014	广东云浮市	D220714	甘肃礼县	M2209114	河北保定市	GC220314	内蒙古赤峰市
15	T220815	陕西千阳县	G221015	广东肇庆市	D220715	甘肃宕昌县	M2209115	河北保定市	GC220315	内蒙古鄂尔多斯市

2 方法与结果

2.1 TCD 基准样品的制备

《伤寒杂病论》书中 TCD 原方记载为“桃仁五十个 (去皮尖), 大黄四两, 桂枝二两 (去皮), 甘草二两 (炙)。上四味, 以水七升, 煮取二升半, 去滓, 内芒硝, 更上火, 微沸下火。”按度量衡考证东汉时期 1 两为 13.8 g, 1 升约为 200 mL 进行换算, 即燂桃仁 13.5 g、大黄 55.2 g、桂枝 27.6 g、炒甘草

27.6 g, 上四味, 加水 1 400 mL, 煎煮至 500 mL, 去药渣后, 加入芒硝 27.6 g, 煮至微沸, 趁热滤过, 滤液冷冻干燥成冻干粉^[10]。15 批次基准样品组合由各单味药采用随机数表法组合, 具体组合信息见表 2。按照考证处方量同法制得缺桃仁、大黄、桂枝、炒甘草、芒硝的 5 个阴性样品和各单味药样品。

2.2 指纹图谱研究

2.2.1 液相条件 色谱柱为 Waters Cortecs T3 柱

表 2 15 批 TCD 基准样品随机组合信息
Table 2 Random combination information of 15 batches of TCD benchmark samples

编号	批号				
	燂桃仁	桂枝	大黄	芒硝	炒甘草
S1	T220808	G221014	D220702	M2209104	GC220307
S2	T220812	G221004	D220705	M2209107	GC220312
S3	T220804	G221011	D220712	M2209113	GC220301
S4	T220811	G221006	D220707	M2209108	GC220308
S5	T220806	G221005	D220713	M2209106	GC220309
S6	T220814	G221015	D220715	M2209110	GC220310
S7	T220809	G221002	D220708	M2209109	GC220303
S8	T220802	G221003	D220714	M2209103	GC220311
S9	T220803	G221012	D220710	M2209112	GC220306
S10	T220810	G221008	D220704	M2209101	GC220302
S11	T220805	G221013	D220711	M2209115	GC220315
S12	T220815	G221001	D220703	M2209102	GC220313
S13	T220813	G221009	D220701	M2209105	GC220305
S14	T220807	G221007	D220709	M2209114	GC220304
S15	T220801	G221010	D220706	M2209111	GC220314

(150 mm×2.1 mm, 1.6 μm); 流动相为甲醇-0.2%磷酸水溶液, 二元梯度洗脱: 0~5 min, 1%~8%甲醇; 5~21 min, 8%~23%甲醇; 21~35 min, 23%~31%甲醇; 35~45 min, 31%~55%甲醇; 45~51 min, 55%~65%甲醇; 51~56 min, 65%~83%甲醇; 56~65 min, 83%~100%甲醇; 柱温 38 ℃; 体积流量 0.3 mL/min; 进样量 1 μL; 检测波长分别为 220 nm(0~30 min, 检测苦杏仁苷)、290 nm(30~45 min, 检测桂皮醛、肉桂酸)、260 nm(45~65 min, 检测甘草酸、游离蒽醌)。

2.2.2 质谱条件 氮气作为质谱离子源的雾化、锥孔气; 电喷雾电离正离子模式; 毛细管电压 3.20 kV; 锥孔电压 50 V; 离子源温度 350 ℃; 脱溶剂气温度 450 ℃; 脱溶剂气体积流量 800 L/h; 鞘气体流速 35 μL/min, 辅助气流速 35 μL/min; 扫描时间 0.5 s; 扫描时间间隔 0.02 s; *m/z* 100~1 500; 扫描模式为正、负离子 Full MS/dd-MS² 模式全扫描; 正、负离子模式下的碰撞能均为 20 eV, 以亮氨酸脑啡肽为内标校正质量精度。

2.2.3 对照品溶液的制备

(1) 指纹图谱对照品溶液: 取没食子酸、儿茶素、*D*-苦杏仁苷、表儿茶素没食子酸酯、甘草苷、芹糖甘草苷、桂皮醛、肉桂酸、大黄酚-1-*O*-葡萄糖

苷、大黄酚-8-*O*-葡萄糖苷、大黄素-8-*O*-葡萄糖苷、芦荟大黄素、大黄酸、甘草酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚对照品适量, 精密称定, 加甲醇制成质量浓度分别为 15.82、101.48、30.13、52.04、30.89、73.72、12.33、10.80、30.61、41.44、55.33、21.24、25.64、11.74、12.78、10.92、9.81 μg/mL 的对照品溶液, 即得。

(2) 含量测定对照品溶液: 取苦杏仁苷、桂皮醛、肉桂酸、甘草酸、芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚对照品适量, 精密称定, 加甲醇制成质量浓度分别为 513.15、263.74、213.60、303.50、106.74、53.22、162.55、107.62、24.54 μg/mL 对照品储备液, 备用。

2.2.4 供试品溶液的制备

(1) TCD 基准样品供试品溶液: 精密称取 TCD 基准样品冻干粉 0.25 g, 研细, 置具塞锥形瓶中, 加 70%甲醇 10 mL, 密塞, 称定质量, 超声处理(功率 250 W、频率 40 kHz) 20 min, 放冷, 再称定质量, 用 70%甲醇补足减失的质量, 摇匀, 取上清液过 0.22 μm 微孔滤膜, 取续滤液, 即得。

(2) 阴性样品溶液: 取处方剂量的各单味药样品及分别缺桃仁、大黄、桂枝、炒甘草、芒硝阴性样品, 按上述供试品溶液制备方法制备, 即得。

2.2.5 精密度试验 精密吸取 S1 批 TCD 供试品溶液, 按“2.2.1”项下色谱条件连续进样 6 次, 记录 UPLC 图, 以表儿茶素没食子酸酯峰(7 号峰)为参照峰, 计算各共有峰相对保留时间和相对峰面积的 RSD 值, 结果各共有峰相对保留时间的 RSD 值为 0.04%~0.39%, 相对峰面积的 RSD 值为 0.12%~1.36%, 结果表明仪器精密度良好。

2.2.6 稳定性考察 取 S1 批 TCD 供试品溶液, 按“2.2.1”项下色谱条件分别在 0、3、6、9、12、15、18、21、24 h 进样分析, 记录 UPLC 图, 以表儿茶素没食子酸酯峰(7 号峰)为参照峰, 计算各共有峰相对保留时间和相对峰面积的 RSD 值, 结果各共有峰相对保留时间的 RSD 值为 0.05%~0.43%, 相对峰面积的 RSD 值为 0.80%~2.96%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.2.7 重复性试验 取 S1 批 TCD 样品, 按“2.2.4”项下方法平行制备 6 份供试品溶液, 按“2.2.1”项下色谱条件进样分析, 记录 UPLC 图, 以表儿茶素没食子酸酯峰(7 号峰)为参照峰, 计算各共有峰相对保留时间和相对峰面积的 RSD 值, 计算得到的

各共有峰相对保留时间的RSD值为0.05%~0.34%，相对峰面积的RSD值为1.06%~3.95%，表明该方法重复性良好。

2.2.8 指纹图谱建立与相似度评价 取 15 批 TCD 基准样品供试品溶液，按“2.2.1”项下色谱条件进行检测，记录 UPLC 图。将 15 批 TCD 基准样品指纹图谱的 AIA 数据，导入中药色谱指纹图谱相似度评价系统（2012 版）进行分析，选取 S1 为参照图谱，时间宽度设为 0.1 min，采用中位数法，进行多点校正和全峰匹配，生成 TCD 基准样品指纹图谱及

其对照指纹图谱（R），结果见图 1。共标定 26 个色谱峰，根据对照品指认出 17 个色谱峰（图 2），分别是 1 号峰没食子酸、4 号峰儿茶素、5 号峰苦杏仁苷、7 号峰表儿茶素没食子酸酯、8 号峰甘草苷、9 号峰芹糖甘草苷、10 号峰桂皮醛、11 号峰肉桂酸、13 号峰大黄酚-1-*O*-葡萄糖苷、14 号峰大黄酚-8-*O*-葡萄糖苷、16 号大黄素-8-*O*-葡萄糖苷、19 号峰芦荟大黄素、20 号峰大黄酸、22 号峰甘草酸、23 号峰大黄素、25 号峰大黄酚、26 号峰大黄素甲醚。

以对照指纹图谱为参照，计算 15 批 TCD 基准

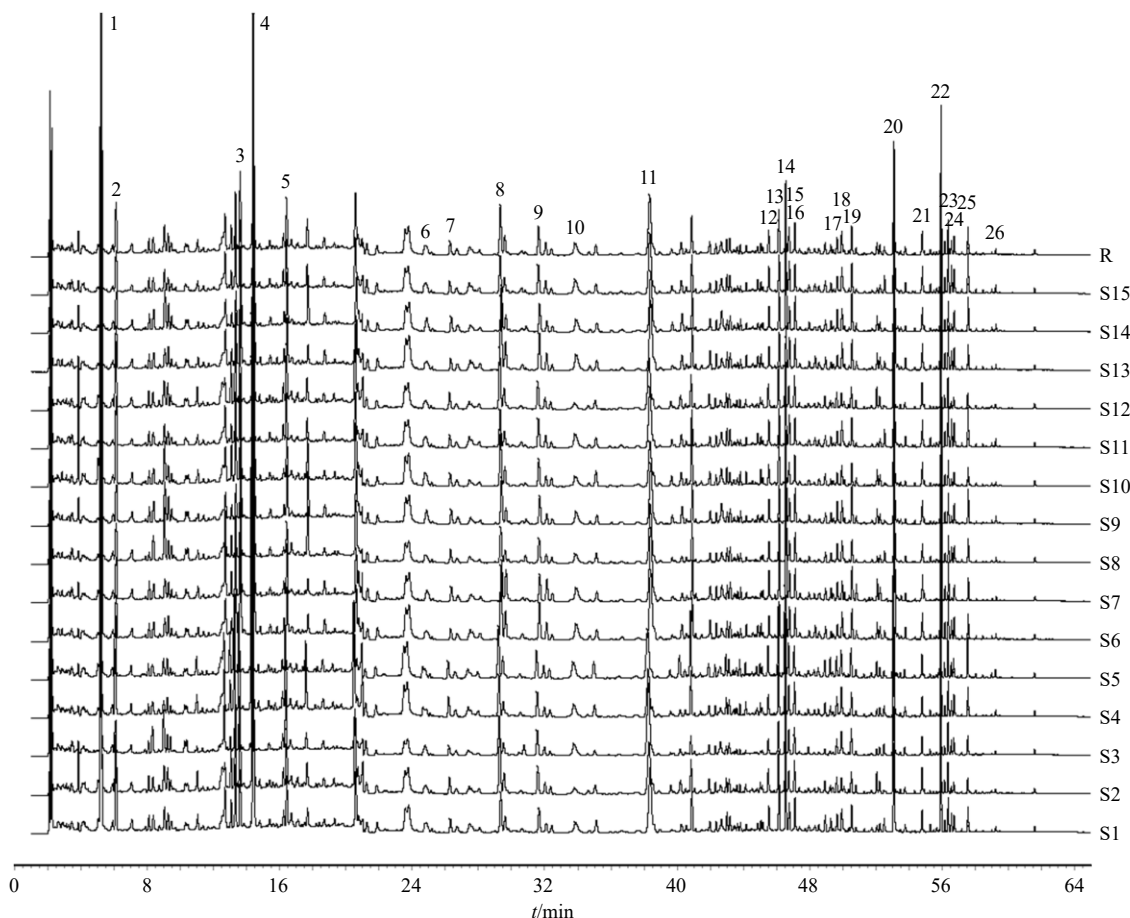


图 1 15 批 TCD 基准样品 (S1~S15) 的 UPLC 指纹图谱及其对照指纹图谱 (R)

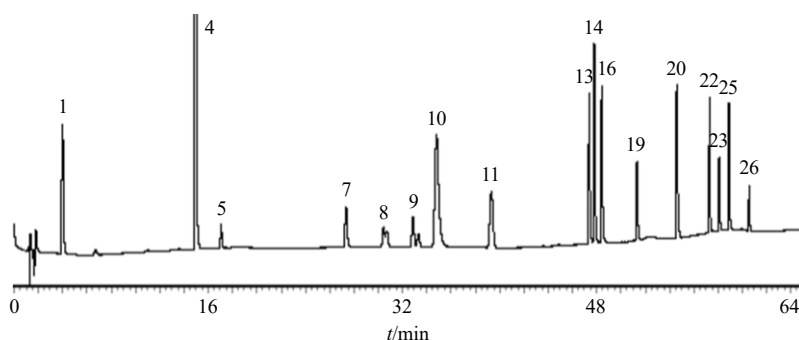
Fig. 1 UPLC fingerprints for 15 batches of TCD benchmark samples (S1—S15) and its reference fingerprint (R)

样品图谱相似度分别为 0.993、0.986、0.991、0.984、0.993、0.995、0.996、0.998、0.990、0.989、0.997、0.971、0.986、0.948、0.965，相似度均>0.90，表明 15 批 TCD 基准样品的制备工艺稳定，各主要物质群可以在饮片和标准煎液中稳定传递。

对比单味药、单味药阴性样品与 TCD 基准样品的 UPLC 指纹图谱（图 3），可见峰 1、2、7（表儿茶素没食子酸酯）、12、13（大黄酚-1-*O*-葡萄糖苷）、14（大黄酚-8-*O*-葡萄糖苷）、15、16（大黄素-8-*O*-

葡萄糖苷）、17、18、19（芦荟大黄素）、20（大黄酸）、23（大黄素）、24、25、26 归属于大黄，峰 3、8（甘草苷）、9（芹糖甘草苷）、21、22（甘草酸）归属于甘草，峰 10（桂皮醛）、11（肉桂酸）归属于桂枝，峰 5（苦杏仁苷）归属于蟠桃仁，其中峰 11（肉桂酸）为大黄和桂枝共有成分。

由此可知，TCD 基准样品的制备工艺，可以充分提取饮片中的主要物质群，大部分指纹图谱峰和主要物质群在饮片与 TCD 基准样品间传递较为稳



1-没食子酸; 4-儿茶素; 5-D-苦杏仁苷; 7-表儿茶素没食子酸酯; 8-甘草苷; 9-芹糖甘草苷; 10-桂皮醛; 11-肉桂酸; 13-大黄酚-1-O-葡萄糖苷; 14-大黄酚-8-O-葡萄糖苷; 16-大黄素-8-O-葡萄糖苷; 19-芦荟大黄素; 20-大黄酸; 22-甘草酸铵; 23-大黄素; 25-大黄酚; 26-大黄素甲醚。

1-gallic acid; 4-catechin; 5-D-amygdalin; 7-(+)-epicatechin 3-O-gallate; 8-liquiritin; 9-liquiritin apioside; 10-cinnamaldehyde; 11-cinnamic acid; 13-chrysophanol-1-O-glucoside; 14-chrysophanol-8-O-glucoside; 16-emodin-8-O-glucoside; 19-aloe-emodin; 20-rhein; 22-ammonium glycyrrhizinate; 23-emodin; 25-chrysophanol; 26-phycion.

图 2 混合对照品溶液的 UPLC 图

Fig. 2 UPLC of mixed reference substances solution

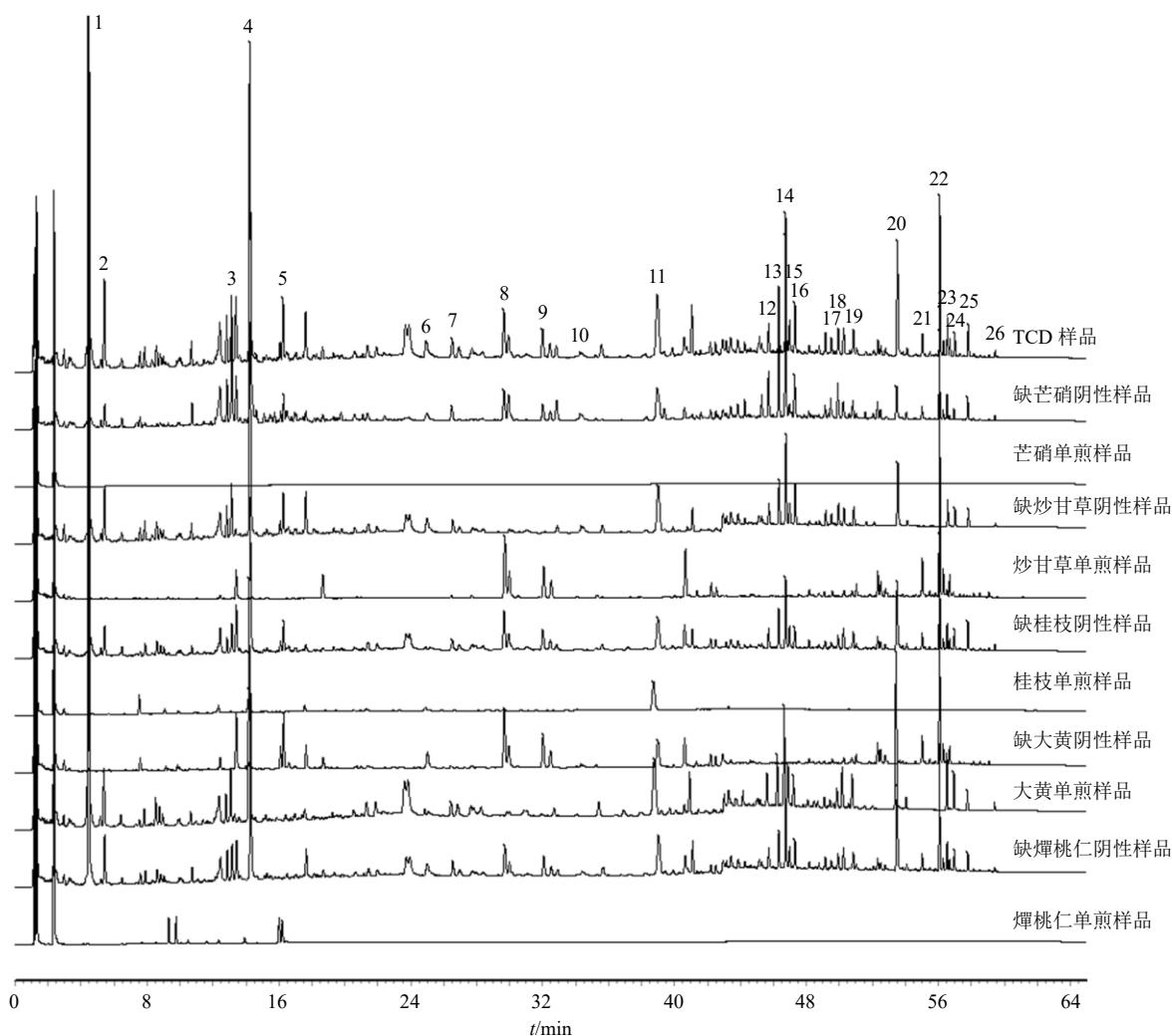


图 3 TCD 基准样品指纹图谱共有峰归属色谱图

Fig. 3 Attribution chromatogram of shared peaks in fingerprint of TCD benchmark samples

定, 少部分 TCD 基准样品指纹峰峰面积较小, 推测由于该物质在水中的溶解度较低、易挥发或紫外吸

收较弱导致响应较低。

2.2.9 共有峰鉴定^[11-14] 采用 OTCML 数据库, 以

及 HMDB、METLIN 等网络数据库，根据准分子离子信息推测可能的元素组成和分子式，并结合相关质谱裂解规律、文献数据、多级质谱碎片信息对 TCD 共有指纹峰进行成分鉴定。

通过化合物的色谱峰保留行为、精确相对分子质量和 MS² 碎片信息（图 4）及对照品进行比对，

共鉴定 80 个化合物（表 3），其中归属于大黄 37 个，炒甘草 26 个，桂枝 16 个，桃仁 2 个，桂枝和甘草共有 1 个化合物。与 UPLC 指纹图谱单味药对比，结果显示指纹图谱色谱峰质谱测定数据与各单味药传递的色谱峰基本一致，饮片中物质群向基准样品中传递较为稳定。

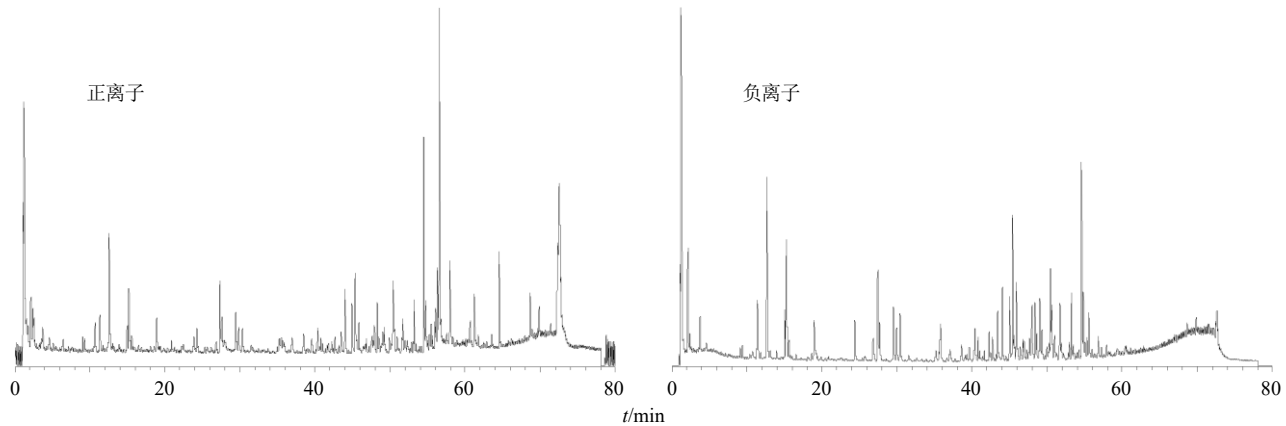


图 4 TCD 基准样品 UPLC-Q-Exactive MS 的正离子和负离子总离子流图

Fig. 4 Total ion chromatogras of UPLC-Q-Exactive MS of TCD benchmark samples in positive and negative modes

表 3 TCD 指纹图谱成分指认

Table 3 Identification of components in TCD fingerprint

序号	<i>t_R</i> / min	分子式	名称	离子模式	质荷比 (<i>m/z</i>)	误差 ($\times 10^{-6}$)	碎片离子 MS/MS (<i>m/z</i>)	药味
1	5.61	C ₁₃ H ₁₆ O ₁₀	没食子酸-4- <i>O</i> -β- <i>D</i> -葡萄糖苷	[M-H] ⁻	331.067 43	4.401	169.013 16, 125.023 22	大黄
2	6.55	C ₇ H ₆ O ₄	原儿茶酸	[M-H] ⁻	153.018 06	-1.145	109.028 18	桂枝
3	7.62	C ₁₃ H ₁₆ O ₁₀	没食子酸-3- <i>O</i> -β- <i>D</i> -葡萄糖苷	[M-H] ⁻	331.067 33	4.099	169.013 13, 125.023 06	大黄
4	8.80	C ₈ H ₈ O ₄	香草酸	[M-H] ⁻	167.033 72	-0.989	137.023 08, 108.020 28	桂枝
5	8.94	C ₇ H ₆ O ₃	对羟基苯甲酸	[M-H] ⁻	137.023 27	-0.369	119.012 79, 109.028 18	桂枝
6	10.72	C ₁₁ H ₁₃ O ₂ N ₂	色氨酸	[M+H] ⁺	205.097 12	-0.167	188.070 33, 146.059 86, 118.065 34	桃仁
7	11.49	C ₃₀ H ₂₆ O ₁₂	原花青素 B2	[M-H] ⁻	577.135 69	2.837	425.088 34, 407.078 48, 255.030 45, 161.023 15, 125.022 96, 109.028 17	大黄
8	12.53	C ₉ H ₈ O ₃	羟基肉桂酸	[M+H] ⁺	165.054 61	-0.065	147.043 87, 119.049 20, 91.054 73	桂枝
9	12.55	C ₇ H ₆ O ₃	水杨酸	[M+H] ⁺	139.038 70	-1.946	111.044 19, 93.033 90	大黄
10	12.64	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	儿茶素*	[M-H] ⁻	289.071 40	2.544	245.081 90, 203.071 84, 151.039 02, 125.023 06, 109.028 11	大黄
11	13.80	C ₇ H ₆ O ₅	没食子酸*	[M-H] ⁻	169.013 58	2.546	125.023 15, 99.924 44	大黄
12	14.30	C ₉ H ₈ O ₄	咖啡酸	[M-H] ⁻	179.034 19	1.702	135.043 87, 117.927 27	桂枝
13	15.23	C ₂₀ H ₂₇ O ₁₁ N	苦杏仁苷*	[M+H] ⁺	458.164 24	-3.158	296.112 37, 163.060 09, 145.049 27, 127.038 78	桂枝
14	18.94	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	表儿茶素	[M-H] ⁻	289.071 36	2.406	245.925 53, 235.925 53, 123.007 45, 109.028 85	大黄
15	19.29	C ₁₅ H ₂₀ O ₈	二氢肉桂苷	[M-H] ⁻	327.108 24	2.434	165.054 83, 121.064 57	桂枝
16	19.48	C ₉ H ₈ O ₃	对香豆酸	[M-H] ⁻	163.038 86	-0.678	119.048 84, 117.927 25	桂枝
17	20.36	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	芹菜素-7- <i>O</i> -葡萄糖苷	[M+H] ⁺	433.112 73	-0.446	271.059 40, 225.054 29, 197.059 33, 153.070 46	大黄
18	20.86	C ₁₇ H ₂₀ O ₈	2,5-二甲基-7-羟基色原酮-7- <i>O</i> -β- <i>D</i> -吡喃葡萄糖苷	[M+H] ⁺	353.121 61	-4.203	191.069 96	大黄

表 3 (续)

序号	t_R / min	分子式	名称	离子模式	质荷比 (m/z)	误差 ($\times 10^{-6}$)	碎片离子 MS/MS	药味
19	23.86	C ₉ H ₆ O ₂	香豆素	[M+H] ⁺	147.044 20	0.979	103.939 68, 91.054 78	桂枝
20	24.38	C ₂₂ H ₁₈ O ₁₀	表儿茶素没食子酸酯*	[M-H] ⁻	441.082 28	1.489	289.071 32, 245.092 56, 235.925 60, 169.014 25	大黄
21	25.17	C ₁₀ H ₁₀ O ₃	4-甲氧基肉桂酸	[M+H] ⁺	179.070 20	-0.395	161.059 46, 147.043 93, 119.049 18, 103.939 74	桂枝
22	25.17	C ₁₀ H ₁₀ O ₃	松柏醛	[M+H] ⁺	179.070 20	-0.395	147.043 93, 119.049 18, 107.951 18	桂枝
23	25.74	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	染料木苷	[M+H] ⁺	433.112 60	-0.746	271.059 38, 227.069 38, 215.032 95, 153.016 68	甘草
24	27.43	C ₂₁ H ₂₂ O ₉	甘草苷*	[M-H] ⁻	417.118 38	0.890	255.063 33, 135.007 46, 119.048 93	甘草
25	27.66	C ₂₁ H ₂₂ O ₉	异甘草苷	[M-H] ⁻	417.119 05	2.497	255.065 32, 135.009 29, 119.050 43	甘草
26	27.68	C ₂₀ H ₃₀ O ₇	肉桂萜醇 A	[M-H] ⁻	381.191 48	1.837	333.019 55, 271.171 40, 167.106 91	桂枝
27	28.19	C ₂₆ H ₂₈ O ₁₄	异夏佛塔苷	[M+H] ⁺	565.154 47	-1.260	547.144 29, 529.131 66, 325.069 66, 295.059 44, 203.033 90, 121.028 47	甘草
28	28.52	C ₂₃ H ₂₆ O ₁₁	莲花掌苷	[M-H] ⁻	477.141 03	3.965	313.053 81, 169.013 33, 125.023 14	大黄
29	29.26	C ₂₆ H ₂₈ O ₁₄	夏佛塔苷	[M+H] ⁺	565.155 96	1.377	547.143 95, 529.131 65, 325.069 67, 295.059 35, 203.034 16, 121.028 42	甘草
30	29.55	C ₂₆ H ₃₀ O ₁₃	甘草苷元-7- <i>O</i> -芹糖-4'- <i>O</i> -葡萄糖苷	[M-H] ⁻	549.160 72	0.824	255.066 56, 135.007 44, 119.048 94	甘草
31	29.96	C ₂₆ H ₃₀ O ₁₃	芹糖甘草苷	[M-H] ⁻	549.160 96	1.261	255.065 59, 135.007 46, 119.048 92	甘草
32	30.43	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	芦荟大黄素*	[M+H] ⁺	433.112 60	0.991	271.059 38, 227.054 22, 197.059 55, 127.038 92	大黄
33	30.43	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	芦荟大黄素-3-羟甲基- <i>O</i> -β- <i>D</i> -葡萄糖苷	[M-H] ⁻	431.097 79	1.199	311.055 98, 269.045 29, 240.042 62, 183.044 15	大黄
34	32.62	C ₂₁ H ₂₂ O ₁₀	4,5-二羟基-7-葡萄糖氧基黄烷酮	[M-H] ⁻	433.113 75	1.932	271.061 25, 151.002 44, 119.048 91	甘草
35	33.00	C ₉ H ₈ O	桂皮醛*	[M+H] ⁺	133.064 73	-0.462	115.054 36, 105.070 10	桂枝
36	34.44	C ₂₆ H ₃₀ O ₁₄	决明子苷 B	[M+H] ⁺	565.156 18	1.766	271.061 34, 151.002 67, 119.048 93, 107.012 49	桂枝
37	35.81	C ₁₄ H ₈ O ₄	丹蒾醌	[M-H] ⁻	239.034 79	3.785	211.039 25, 167.048 84	大黄
38	37.32	C ₂₇ H ₂₆ O ₁₂	白藜芦醇-4'- <i>O</i> -β- <i>D</i> -(6"- <i>O</i> -没食子酰)- 葡萄糖苷	[M-H] ⁻	541.135 07	1.880	393.119 24, 227.071 21, 169.013 26, 125.023 13	大黄
39	38.39	C ₁₅ H ₈ O ₆	大黄酸*	[M+H] ⁺	285.039 37	0.019	267.028 61, 241.049 87, 213.054 65, 185.060 07, 121.028 75	大黄
40	38.41	C ₁₅ H ₁₂ O ₁₄	甘草素	[M+H] ⁺	257.080 69	-0.566	147.043 92, 137.023 17, 119.049 29	甘草
41	39.59	C ₄₂ H ₃₈ O ₂₀	番泻苷 B	[M-H] ⁻	861.190 54	3.797	447.073 78, 430.082 81, 419.093 63, 401.080 47, 227.034 25, 195.044 02, 167.048 91	大黄
42	40.39	C ₂₁ H ₂₂ O ₉	新甘草苷	[M-H] ⁻	417.119 07	2.545	255.065 84, 135.007 59, 119.048 77	甘草
43	40.93	C ₂₀ H ₃₀ O ₆	无水桂二萜醇	[M-H] ⁻	365.196 62	2.067	285.076 71, 215.009 08	桂枝
44	42.26	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	大黄素-1- <i>O</i> -葡萄糖苷	[M-H] ⁻	431.097 57	0.689	269.045 70, 240.042 63, 225.054 83	大黄
45	42.50	C ₂₉ H ₂₆ O ₁₅	1,2-二- <i>O</i> -没食子酰-6- <i>O</i> -肉桂酰-β- <i>D</i> - 葡萄糖苷	[M-H] ⁻	613.119 58	1.278	169.013 18, 125.023 04	大黄
46	42.78	C ₄₂ H ₃₈ O ₂₀	番泻苷 A	[M-H] ⁻	861.190 76	4.053	447.085 90, 430.084 45, 419.075 79, 401.081 88, 227.034 47, 195.044 24, 167.048 93	大黄
47	42.80	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	山萘酚	[M+H] ⁺	287.054 53	-1.688	258.051 41, 213.054 28, 165.017 68, 153.018 02, 121.044 03	桂枝
48	43.17	C ₁₅ H ₁₀ O ₄	大豆苷元	[M+H] ⁺	255.064 70	-1.903	225.042 21, 181.064 50, 137.023 10	甘草
49	43.22	C ₃₅ H ₃₆ O ₁₅	甘草糖苷 D1	[M-H] ⁻	695.199 52	-1.491	255.065 77	甘草
50	43.40	C ₃₆ H ₃₈ O ₁₆	甘草糖苷 C1	[M-H] ⁻	725.209 11	2.067	355.951 29, 255.065 95	甘草
51	43.55	C ₂₃ H ₂₀ O ₁₂	大黄酸- <i>O</i> -乙酰基-葡萄糖苷	[M-H] ⁻	487.088 56	2.993	325.037 29, 283.023 77, 239.034 68, 211.039 12	大黄

表 3 (续)

序号	t_R / min	分子式	名称	离子模式	质荷比 (m/z)	误差 ($\times 10^{-6}$)	碎片离子 MS/MS	药味
52	43.97	C ₂₂ H ₂₂ O ₉	7-甲氧基甘草苷	[M+H] ⁺	431.130 78	-6.677	269.078 67	甘草
53	44.03	C ₂₀ H ₂₄ O ₉	决明柯酮-8- <i>O</i> -葡萄糖苷	[M-H] ⁻	407.134 07	1.010	245.081 87, 230.058 00, 215.034 19	大黄
54	44.99	C ₂₁ H ₂₀ O ₉	大黄酚-1- <i>O</i> -葡萄糖苷*	[M-H] ⁻	415.103 30	2.268	253.050 47, 225.055 21	大黄
55	45.37	C ₂₁ H ₂₀ O ₉	大黄酚-8- <i>O</i> -葡萄糖苷*	[M-H] ⁻	415.102 86	1.208	253.050 49, 225.055 54	大黄
56	45.38	C ₁₅ H ₁₀ O ₄	大黄酚	[M-H] ⁻	253.050 46	3.654	225.055 29, 210.032 08, 181.064 83	大黄
57	45.84	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	木犀草素	[M+H] ⁺	287.054 81	-0.713	258.052 36, 241.049 34, 213.054 81, 157.064 23, 153.018 06	桂枝
58	45.85	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	大黄素-8- <i>O</i> -葡萄糖苷*	[M-H] ⁻	431.097 41	0.317	269.045 32, 241.049 62, 225.055 26, 197.059 87	大黄
59	46.60	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	大黄素*	[M+H] ⁺	271.059 96	-0.516	253.049 54, 241.049 85, 225.054 82, 197.059 95	大黄
60	46.69	C ₁₅ H ₁₂ O ₁₄	异甘草素	[M+H] ⁺	257.080 69	-0.566	147.043 99, 137.023 18, 119.049 21	甘草
61	46.90	C ₂₂ H ₂₆ O ₁₀	决明柯酮- <i>O</i> -乙酰基-葡萄糖苷	[M-H] ⁻	449.144 85	1.395	245.081 87, 230.058 20, 215.034 40	大黄
62	47.58	C ₂₄ H ₂₂ O ₁₃	大黄素- <i>O</i> -丙二酰基-葡萄糖苷	[M-H] ⁻	517.098 04	0.721	473.108 50, 253.050 13	大黄
63	47.74	C ₁₆ H ₁₂ O ₄	刺芒柄花素	[M-H] ⁻	267.065 91	2.713	253.050 04, 174.955 09	大黄
64	47.97	C ₂₃ H ₂₂ O ₁₀	大黄酚- <i>O</i> -乙酰基-葡萄糖苷	[M-H] ⁻	457.113 59	1.459	277.051 15, 253.050 75, 225.055 13	大黄
65	48.04	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	6-羟基芦荟大黄素	[M-H] ⁻	285.039 99	2.195	257.045 25, 241.049 93, 211.039 57, 183.043 78	大黄
66	48.58	C ₄₄ H ₆₄ O ₁₉	乌拉尔甘草皂苷 F	[M-H] ⁻	895.396 53	0.809	351.001 61	甘草
67	49.38	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₀	大黄素甲醚-8- <i>O</i> -葡萄糖苷	[M-H] ⁻	445.113 98	2.374	283.061 36, 240.042 28	大黄
68	50.32	C ₂₄ H ₂₄ O ₁₁	大黄素甲醚- <i>O</i> -乙酰基-葡萄糖苷	[M-H] ⁻	487.125 33	3.782	283.061 84, 240.042 51	大黄
69	50.62	C ₄₈ H ₇₂ O ₂₁	甘草皂苷 A3	[M-H] ⁻	983.448 46	1.937	821.398 65, 671.244 40, 351.059 35	甘草
70	53.15	C ₄₂ H ₆₂ O ₁₇	羟基甘草酸	[M+H] ⁺	839.405 08	-1.068	487.341 40, 469.330 62, 451.319 83	甘草
71	53.54	C ₂₀ H ₁₈ O ₆	甘草黄酮醇	[M-H] ⁻	353.103 08	3.159	269.045 65, 218.094 20, 203.070 38, 177.054 67, 151.002 46	甘草
72	54.50	C ₄₂ H ₆₂ O ₁₆	甘草酸*	[M+H] ⁺	823.409 10	-2.383	647.374 41, 471.345 82, 304.299 62, 303.195 76, 262.186 09, 208.045 97, 175.148 02, 135.116 82	甘草
73	54.69	C ₂₀ H ₁₆ O ₆	异黄酮 B	[M-H] ⁻	351.086 27	-0.127	241.085 81, 199.075 51, 107.048 83, 83.012 43, 65.001 83	甘草
74	54.74	C ₄₂ H ₆₂ O ₁₇	乌拉尔皂苷 B	[M+H] ⁺	823.409 64	-1.727	647.373 60, 471.346 68, 453.335 88, 435.326 23, 357.240 91	甘草
75	54.87	C ₃₁ H ₂₆ O ₁₂	1-甲基-8-羟基-9,10-蒽醌-3- <i>O</i> - (6'- <i>O</i> -肉桂酰基)葡萄糖苷	[M-H] ⁻	589.135 21	1.965	408.981 51, 266.058 80, 253.050 42, 225.054 96	大黄
76	55.02	C ₄₂ H ₆₄ O ₁₅	22-去羟基乌拉尔皂苷 C	[M-H] ⁻	807.414 11	-2.523	758.534 86, 581.806 99, 498.474 01	甘草
77	55.55	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	大黄素	[M-H] ⁻	269.045 59	4.238	241.050 68, 225.055 31, 210.031 37, 197.060 17, 181.064 46	大黄
78	56.16	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	大黄素甲醚*	[M+H] ⁺	285.075 72	-0.105	270.051 57, 242.057 32, 211.075 37, 197.059 03, 169.064 14, 118.197 47	大黄
79	56.77	C ₄₂ H ₆₂ O ₁₇	甘草皂苷 H2	[M+H] ⁺	823.409 60	-1.776	611.355 81, 453.335 75, 435.324 81, 407.329 26	甘草
80	56.90	C ₂₅ H ₂₈ O ₄	光甘草酚	[M-H] ⁻	391.191 48	2.797	263.691 74, 187.112 03, 159.080 20, 132.056 96	甘草

*为对照品比对。

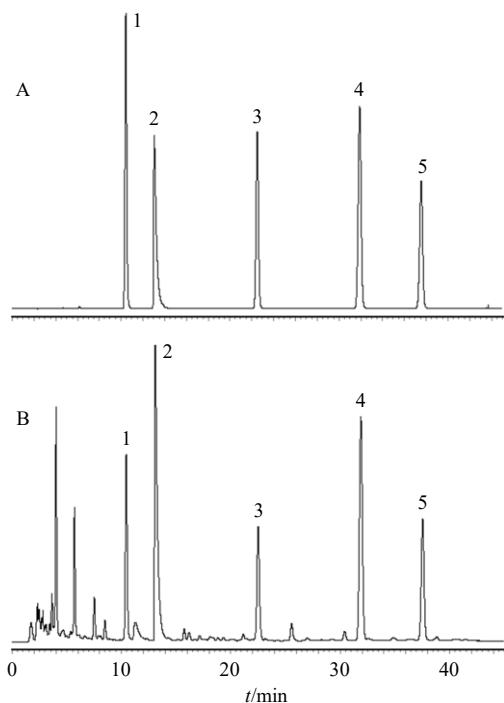
* compared with reference substance.

2.3 含量测定研究

2.3.1 色谱条件

(1) 总蒽醌类成分含量测定: 色谱柱为 Waters BEH C₁₈ 柱 (150 mm×3 mm, 5 μm); 流动相为乙

腈-0.1%磷酸水溶液, 二元梯度洗脱: 0~10 min, 35%~40%乙腈; 10~38 min, 40%~60%乙腈; 柱温 30 ℃; 体积流量 0.8 mL/min; 进样量 10 μ L; 检测波长为 254 nm; 理论塔板数按大黄素峰计算应不低于 3 000。色谱图见图 5。



1-芦荟大黄素; 2-大黄酸; 3-大黄素; 4-大黄酚; 5-大黄素甲醚。
1-aloe-emodin; 2-rhein; 3-emodin; 4-chrysophanol; 5-phycion.

图 5 混合对照品 (A) 和 TCD 基准样品 (B) 的 HPLC 图
Fig. 5 HPLC of mixed reference substances (A) and TCD benchmark sample (B)

(2) 非总蒽醌类成分含量测定: 同指纹图谱色谱条件“2.2.1”项。

2.3.2 对照品溶液的制备 同指纹图谱色谱条件“2.2.3”项下对照品溶液 (2)。

2.3.3 供试品制备方法

(1) 总蒽醌类成分含量测定: 精密称取 TCD 基准样品冻干粉 0.5 g, 研细, 置具塞锥形瓶中, 加入甲醇 25 mL, 称定质量, 加热回流提取 30 min, 取出, 放冷, 再称定质量, 用甲醇补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 取续滤液 10 mL, 减压回收溶剂至干, 加 8% 盐酸溶液 10 mL, 超声处理 2 min, 再加三氯甲烷 10 mL, 加热回流 1 h, 放冷, 置分液漏斗中, 用少量三氯甲烷洗涤容器, 并入分液漏斗中, 分取三氯甲烷层, 酸液再用三氯甲烷提取 4 次, 每次 10 mL, 合并三氯甲烷液, 减压回收溶剂至干, 残渣加甲醇使溶解, 转移至 10 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度,

摇匀, 0.22 μ m 微孔滤膜滤过, 取续滤液, 即得总蒽醌供试品溶液。

(2) 非总蒽醌类成分含量测定: 同指纹图谱“2.2.1”项下供试品溶液制备。

2.3.4 线性关系考察 精密吸取“2.4.2”项下含量测定各对照品储备液, 用倍比稀释法配制系列混合对照品溶液, 按“2.4.1”项下色谱条件分别进样测定, 记录峰面积, 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, 得非总蒽醌类成分的回归方程: 苦杏仁苷 $Y=2\,437.35 X-0.58$, $R^2=0.999\,8$, 线性范围 25.66~307.86 μ g/mL; 桂皮醛 $Y=13\,700.25 X-4.22$, $R^2=0.999\,9$, 线性范围 2.64~15.82 μ g/mL; 肉桂酸 $Y=9\,337.65 X+17.52$, $R^2=0.999\,9$, 线性范围 2.14~25.63 μ g/mL; 甘草酸 $Y=1\,052.41 X-6.03$, $R^2=1.000\,0$, 线性范围 23.79~237.88 μ g/mL; 芦荟大黄素 $Y=6\,528.35 X+17.90$, $R^2=0.999\,8$, 线性范围 2.13~21.34 μ g/mL; 大黄酸 $Y=5\,171.41 X-9.19$, $R^2=0.999\,8$, 线性范围 2.66~53.22 μ g/mL; 大黄素 $Y=4\,589.02 X-11.48$, $R^2=0.999\,8$, 线性范围 1.63~19.50 μ g/mL; 大黄酚 $Y=6\,491.94 X+17.10$, $R^2=0.999\,9$, 线性范围 1.07~53.80 μ g/mL; 大黄素甲醚 $Y=4\,396.44 X+1.76$, $R^2=0.999\,9$, 线性范围 1.23~9.80 μ g/mL; 总蒽醌类成分的回归方程: 芦荟大黄素 $Y=49\,073 X+16\,704$, $R^2=1.000\,0$, 线性范围 1.59~106.72 μ g/mL; 大黄酸 $Y=30\,187 X+5\,329.3$, $R^2=0.999\,8$, 线性范围 1.66~153.21 μ g/mL; 大黄素 $Y=2\,260.1 X+5\,385.3$, $R^2=0.999\,8$, 线性范围 1.63~162.55 μ g/mL; 大黄酚 $Y=66\,825 X-2\,087.6$, $R^2=0.999\,9$, 线性范围 1.07~107.63 μ g/mL; 大黄素甲醚 $Y=2\,260.1 X+5\,385.3$, $R^2=0.999\,9$, 线性范围 1.23~25.44 μ g/mL。结果表明, 各成分在各自质量浓度范围内线性关系良好。

2.3.5 精密度考察 精密吸取 TCD 供试品溶液 (S1), 按“2.4.1”项下色谱条件测定, 连续进样 6 次, 记录色谱图, 计算得 *D*-苦杏仁苷、桂皮醛、肉桂酸、甘草酸、芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚峰面积的 RSD 值分别为 0.23%、0.34%、0.11%、0.26%、0.23%、0.41%、0.45%、0.13%、1.97%, 总蒽醌类成分芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚峰面积的 RSD 值分别为 0.84%、0.38%、0.45%、2.03%、2.16%, RSD 值均小于 3%, 说明仪器精密度良好。

2.3.6 稳定性考察 取 TCD 供试品溶液 (S1), 按“2.4.1”项下色谱条件测定, 分别在 0、3、6、9、12、15、18、21、24 h 进样分析, 记录色谱图, 计算 *D*-苦杏仁苷、桂皮醛、肉桂酸、甘草酸、芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚峰面积的 RSD 值分别为 0.40%、0.75%、0.36%、0.28%、0.45%、0.39%、0.48%、0.51%、1.92%, 总蒽醌类成分芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚峰面积的 RSD 值分别为 0.56%、0.22%、0.83%、1.12%、1.59%, 结果表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.3.7 重复性考察 取 TCD 基准样品 (S1) 6 份, 按“2.4.3”项下方法平行制备供试品溶液, 以“2.4.1”项下色谱条件测定, 记录色谱图, 计算各组分峰面积的 RSD 值, 结果 *D*-苦杏仁苷、桂皮醛、肉桂酸、芦荟大黄素、大黄酸、甘草酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚质量分数的 RSD 值分别为 0.26%、1.20%、0.59%、0.57%、1.09%、0.83%、0.33%、1.03%、1.42%, 总蒽醌类成分芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚质量分数的 RSD 值分别为 0.36%、0.52%、0.70%、0.52%、0.23%, 表明该仪

器方法及分析条件重复性良好。

2.3.8 加样回收率考察 取已知指标成分含量的 TCD 基准样品 (S1) 9 份, 按“2.4.3”项下方法制备供试品溶液, 分别添加比例为 1:1.5、1:1、1:0.5 的 *D*-苦杏仁苷、桂皮醛、肉桂酸、芦荟大黄素、大黄酸、甘草酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚对照品, 以“2.4.1”项下色谱条件进样测定, 记录色谱图, 计算 TCD 供试品溶液中 *D*-苦杏仁苷、桂皮醛、肉桂酸、甘草酸、游离蒽醌 (芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚) 的平均加样回收率分别为 94.07%、100.25%、98.76%、99.87%、100.60%、103.72%、101.41%、92.18、99.84%, RSD 值分别为 2.61%、1.55%、2.18%、0.94%、1.16%、1.35%、2.53%、3.00%、2.19%, 总蒽醌的平均加样回收率分别 101.65%、99.59%、105.42%、101.24%、103.24%, RSD 值分别为 1.09%、1.89%、1.98%、2.19%、1.23%, 表明此方法准确度良好。

2.3.9 基准样品含量测定及量值传递研究 取上述 15 批 TCD 基准样品, 按“2.4.3”项下方法制备供试品溶液, 以“2.4.1”项下色谱条件测定各基准样品指标成分含量, 结果见表 4~6。

表 4 TCD 药材、饮片、基准样品中 *D*-苦杏仁苷、桂皮醛、肉桂酸含量

Table 4 Content of *D*-amygdalin, cinnamaldehyde, cinnamic acid in TCD medicinal materials, decoction pieces and benchmark samples

编号	<i>D</i> -苦杏仁苷/%			桂皮醛/%			肉桂酸/%				
	药材	饮片	基准样品	药材	饮片	基准样品	大黄药材	大黄饮片	桂枝药材	桂枝饮片	基准样品
S1	4.33	3.72	0.46	1.23	1.20	0.020	0.049	0.044	0.16	0.18	0.11
S2	4.32	3.59	0.53	1.68	1.50	0.011	0.030	0.030	0.11	0.15	0.08
S3	4.10	3.62	0.54	1.88	1.50	0.021	0.092	0.086	0.14	0.13	0.13
S4	4.56	3.71	0.58	1.58	1.40	0.023	0.044	0.040	0.06	0.07	0.08
S5	2.65	2.52	0.40	2.25	1.70	0.032	0.036	0.036	0.11	0.12	0.09
S6	3.30	2.98	0.40	1.82	1.60	0.031	0.041	0.043	0.15	0.15	0.12
S7	3.45	2.90	0.46	1.47	1.30	0.025	0.069	0.058	0.17	0.18	0.13
S8	3.30	2.71	0.29	1.55	1.30	0.017	0.067	0.065	0.09	0.09	0.11
S9	3.07	3.15	0.47	1.82	1.50	0.022	0.058	0.059	0.09	0.08	0.11
S10	2.84	2.93	0.37	2.01	1.60	0.019	0.043	0.045	0.10	0.09	0.08
S11	3.20	3.01	0.43	1.81	1.40	0.026	0.051	0.048	0.11	0.10	0.11
S12	3.30	2.65	0.35	3.87	4.07	0.031	0.016	0.015	0.08	0.07	0.06
S13	3.07	3.16	0.37	5.31	4.24	0.013	0.038	0.038	0.09	0.07	0.08
S14	3.89	3.72	0.57	3.36	3.02	0.024	0.025	0.024	0.06	0.06	0.06
S15	2.14	2.02	0.48	2.92	2.23	0.014	0.011	0.010	0.06	0.07	0.05
$\bar{x} \pm s$	3.43±0.68	3.09±0.51	0.45±0.08	2.30±1.11	1.97±1.00	0.022±0.010	0.045±0.020	0.043±0.020	0.11±0.04	0.11±0.04	0.09±0.03
范围	2.14~4.56	2.02~3.72	0.29~0.58	1.23~5.31	1.20~4.24	0.011~0.032	0.011~0.092	0.010~0.086	0.06~0.17	0.06~0.18	0.05~0.13

表 5 TCD 药材、饮片、基准样品中甘草酸、游离蒽醌、总蒽醌、结合蒽醌含量

Table 5 Content of glycyrrhetic acid, free anthraquinone, total anthraquinone, bound anthraquinone in TCD medicinal materials, decoction pieces and benchmark samples

编号	甘草酸/%			游离蒽醌/%			总蒽醌/%			结合蒽醌/%		
	药材	饮片	基准样品	药材	饮片	基准样品	药材	饮片	基准样品	药材	饮片	基准样品
S1	2.27	2.15	0.60	0.55	0.80	0.23	2.08	2.30	0.53	1.53	1.50	0.30
S2	2.93	2.60	0.77	0.24	0.50	0.22	1.96	1.80	0.49	1.72	1.30	0.27
S3	2.16	2.07	0.48	0.33	0.40	0.23	1.86	1.80	0.59	1.53	1.40	0.37
S4	2.05	2.22	0.56	0.84	0.81	0.24	2.96	2.90	0.50	2.12	2.09	0.26
S5	2.73	2.83	0.84	0.41	0.58	0.24	2.36	2.20	0.55	1.95	1.62	0.31
S6	3.50	3.13	1.04	0.42	0.68	0.23	1.95	1.90	0.50	1.53	1.22	0.27
S7	2.57	2.48	0.86	0.52	0.82	0.23	1.60	1.80	0.49	1.08	0.98	0.25
S8	2.15	1.85	0.55	0.41	0.64	0.30	2.40	2.60	0.66	1.99	1.96	0.36
S9	2.50	2.50	0.72	0.36	0.62	0.20	1.64	1.60	0.54	1.28	0.98	0.34
S10	2.29	2.39	0.72	0.67	0.87	0.29	2.58	2.50	0.50	1.90	1.63	0.22
S11	2.36	2.36	0.88	0.51	0.68	0.23	1.60	1.60	0.42	1.09	0.92	0.19
S12	3.05	3.05	0.70	0.69	0.66	0.27	2.30	2.30	0.59	1.61	1.64	0.32
S13	2.09	2.09	0.67	0.23	0.38	0.20	2.10	2.00	0.53	1.87	1.62	0.34
S14	2.53	2.40	1.00	0.48	0.73	0.29	2.60	2.50	0.64	2.12	1.77	0.35
S15	3.16	3.11	0.99	0.26	0.42	0.24	2.70	1.80	0.61	2.44	1.38	0.36
$\bar{x} \pm s$	2.56±0.44	2.48±0.40	0.76±0.17	0.46±0.18	0.64±0.16	0.24±0.03	2.18±0.42	2.11±0.40	0.54±0.06	1.72±0.39	1.47±0.35	0.30±0.06
范围	2.05~3.50	1.85~3.13	0.48~1.04	0.23~0.84	0.38~0.87	0.20~0.30	1.60~2.96	1.60~2.90	0.42~0.66	1.08~2.44	0.92~2.09	0.19~0.37

表 6 TCD 药材、饮片、基准样品中指标成分转移率

Table 6 Transfer rate of index components in TCD medicinal materials, decoction pieces and benchmark samples

批号	甘草酸转移率/%		游离蒽醌转移率/%		总蒽醌转移率/%		结合蒽醌转移率/%	
	药材-饮片	饮片-基准样品	药材-饮片	饮片-基准样品	药材-饮片	饮片-基准样品	药材-饮片	饮片-基准样品
S1	94.76	34.82	146.05	16.01	110.50	12.99	97.84	11.37
S2	88.46	36.17	208.33	22.79	91.90	14.19	75.62	10.88
S3	95.66	29.12	121.21	32.03	96.80	18.61	91.55	14.78
S4	108.00	29.17	97.00	16.60	98.10	9.66	98.53	6.97
S5	103.45	39.90	141.46	24.37	93.30	14.86	83.20	11.46
S6	89.47	42.77	161.90	18.70	97.50	14.59	79.78	12.30
S7	96.67	41.98	156.25	16.99	112.50	16.09	91.15	15.33
S8	85.71	38.32	156.00	26.92	108.20	14.78	98.34	10.81
S9	100.00	32.51	172.22	18.30	97.60	19.03	76.63	19.48
S10	104.35	39.79	128.95	19.43	97.10	11.80	85.74	7.73
S11	100.00	46.21	133.33	21.31	100.00	16.45	84.40	12.86
S12	100.00	26.79	96.00	23.56	100.00	14.91	101.71	11.43
S13	100.00	40.72	165.22	26.47	95.20	13.59	86.63	10.57
S14	94.84	49.88	151.72	23.77	96.20	15.11	83.54	11.54
S15	98.46	35.57	161.54	32.65	98.70	19.07	56.56	14.94
$\bar{x} \pm s$	97.32±6.11	37.58±6.50	146.48±28.86	22.66±5.25	99.57±6.06	15.05±2.60	86.08±11.56	12.16±3.09
范围	85.71~104.35	26.79~49.88	96.00~208.33	16.01~32.65	91.90~112.50	9.66~19.07	56.56~101.71	6.97~19.48

表 6 (续)

批号	D-苦杏仁苷/%		桂皮醛/%		肉桂酸/%		
	药材-饮片	饮片-基准样品	药材-饮片	饮片-基准样品	大黄药材-饮片	桂枝药材-饮片	饮片-基准样品
S1	85.96	35.09	97.79	2.23	90.32	112.67	55.44
S2	83.08	39.44	89.52	0.98	101.26	132.24	51.61
S3	88.39	41.10	79.61	1.89	93.67	95.56	55.91
S4	81.37	39.85	88.59	1.98	91.37	106.38	69.77
S5	95.16	46.54	75.67	2.67	99.70	108.93	64.51
S6	90.15	39.38	88.07	2.62	105.15	96.43	72.32
S7	84.08	44.30	88.72	2.59	84.08	104.93	59.01
S8	81.92	31.49	83.89	1.74	96.92	97.04	68.37
S9	102.59	38.70	82.29	1.83	102.59	96.14	65.70
S10	103.48	37.78	79.61	1.69	103.48	89.45	65.14
S11	94.04	40.38	77.56	2.43	94.04	97.91	74.15
S12	88.22	34.52	105.09	0.96	96.21	88.18	69.94
S13	102.82	32.97	79.70	0.43	100.82	86.98	76.99
S14	95.64	40.69	89.89	1.04	95.64	96.74	70.31
S15	94.47	60.78	76.61	0.76	93.54	109.02	73.29
$\bar{x} \pm s$	91.42±7.62	40.20±6.96	85.51±8.24	1.72±0.73	96.59±5.70	101.24±11.63	66.16±7.59
范围	81.37~103.48	31.49~60.78	75.67~105.09	0.43~2.67	84.08~103.48	86.98~132.24	51.61~76.99

15 批 TCD 基准样品中苦杏仁苷、桂皮醛、肉桂酸、甘草酸、游离蒽醌、总蒽醌、结合蒽醌（结合蒽醌=总蒽醌-游离蒽醌）的质量分数分别为 0.29%~0.58%、0.011%~0.032%、0.05%~0.13%、0.48%~1.04%、0.20%~0.30%、0.42%~0.66%、0.19%~0.37%，指标成分大部分都在其均值±30%范围内，说明基准样品的制备工艺相对稳定可行。但 D-苦杏仁苷有 1 批次、桂皮醛有 6 批次、肉桂酸有 5 批次、甘草酸有 3 批次、结合蒽醌有 1 批含量超出均值±30%范围，也在范围附近浮动。

推测 D-苦杏仁苷在高温水中容易异构化为 L-苦杏仁苷，随着提取时间延长，转化率越高，煎煮过程中由于煎药壶性能差异，导致升温时间也存在较大差异^[15]，从而影响基准样品中 D-苦杏仁苷含量。根据本项目组前期研究结果，桂枝中的桂皮醛和肉桂酸含量受药材直径、生长年限影响较大，桂枝的药用部位为肉桂的嫩枝，直径在 0.7 cm，生长年限越短的嫩枝桂皮醛和肉桂酸的含量越高。S3 批次甘草酸低于其均值±30%范围，炒甘草饮片中甘草苷和甘草酸含量与炒制温度、炒制时间成反比，炒制后含量均有所下降，可能导致该批次基准样品低于下限^[16]。

按照公式计算指标成分在药材-饮片-基准样品

转移率，药材-饮片中苦杏仁苷、桂皮醛、肉桂酸、甘草酸、游离蒽醌、总蒽醌、结合蒽醌转移率分别为 81.37%~103.48%、75.67%~105.09%、84.08%~105.15%（大黄肉桂酸）、86.98%~132.24%（桂枝肉桂酸）、85.71%~108.00%、96.00%~208.33%、91.90%~112.50%、56.56%~101.71%，转移率皆在其均值±30%范围内，除饮片中桂皮醛和结合蒽醌平均转移率在 85%左右，其余成分均大于 90%，说明药材炮制工艺稳定，指标成分得到充分保留。

桂皮醛由于本身性质受温度影响较大，干燥温度和干燥时间均影响该成分含量^[17]；游离蒽醌转移率超 100%，由此推测大黄在炮制过程中游离蒽醌含量升高，在双相水解过程中导致结合蒽醌水解为游离蒽醌^[18]。15 批基准样品指标成分饮片-基准样品转移率分别为 31.49%~60.78%、0.43%~2.67%、51.61%~76.99%、26.79%~49.88%、16.01%~32.65%、9.66%~19.07%、6.97%~19.48%，除桂皮醛外，大部分批次指标成分含量均在均值±30%以内，各指标成分从煎液转移到基准样品时，1 批苦杏仁苷、8 批桂皮醛、1 批甘草酸、2 批游离蒽醌、1 批总蒽醌、2 批结合蒽醌的转移率超出其均值±30%范围内，桂皮醛具挥发性，煎煮过程中火力的大小容易影响桂皮醛的挥发速率，上述结果也提示

基准样品质量受制备工艺的稳定性较大，制剂生产时应重点关注上述异常指标。

药材-饮片转移率=饮片中指标成分含量/对应批次药材中指标成分含量

饮片-基准样品转移率=基准样品中指标成分含量×基准样品质量/(饮片中指标成分含量×饮片投料量)

2.4 出膏率测定及传递关系分析

按“2.1”项下制备方法制备 15 批 TCD 标准煎液和各单味药饮片标准煎液，精密吸取 25 mL 于蒸发皿中，水浴蒸干，真空干燥 24 h 后，置干燥器中至恒定质量，称定质量，计算得到各批次 TCD 基准样品和单味药饮片出膏率，结果见表 7。可见 15 批

TCD 基准样品的出膏率为 19.55%~22.92%，理论出膏率为 21.39%~25.98%，出膏率转移率为 80.98%~99.34%，基本在均值±10%范围内，表明饮片中成分可稳定传递至基准样品。其中大黄、甘草出膏率占比最高，约占总体出膏率 68%，与指纹图谱和基准样品成分分析结果较为一致，基准样品中主要成分群来自大黄和甘草。

实际出膏率=干膏质量×标准煎液总体积/(取样体积×饮片质量)

理论出膏率=Σ(单味饮片×单味饮片质量/全方饮片总质量)

出膏率转移率=实际出膏率/理论出膏率

表 7 TCD 基准样品出膏率
Table 7 Extract rate of TCD benchmark samples

批号	药材出膏率/%					TCD 出膏率/%		出膏率转移率/%
	燀桃仁	桂枝	大黄	甘草	芒硝	理论	实际	
S1	17.81	13.10	32.11	28.15	3.22	21.39	21.12	98.72
S2	18.34	6.89	44.19	32.05	3.09	25.39	21.05	82.89
S3	17.98	14.33	33.07	25.88	4.01	21.72	21.58	99.34
S4	22.44	15.05	30.13	31.99	3.20	22.11	21.41	96.84
S5	17.67	12.22	40.16	36.14	2.10	25.41	22.37	88.03
S6	18.77	18.50	34.15	44.11	2.10	25.89	22.10	85.35
S7	16.58	10.55	35.56	33.09	2.90	22.91	21.35	93.19
S8	20.35	16.23	30.12	31.95	4.44	22.38	21.84	97.58
S9	16.03	11.00	37.05	24.18	3.72	22.01	20.98	95.33
S10	20.39	18.52	32.31	30.76	2.65	23.05	22.92	99.42
S11	17.33	15.28	40.86	34.99	2.11	25.98	21.66	83.38
S12	13.76	10.04	31.46	45.12	3.20	23.32	20.00	85.77
S13	12.88	9.52	36.80	27.93	2.88	21.89	20.70	94.55
S14	15.36	8.99	37.43	35.44	2.94	23.64	19.93	84.32
S15	15.77	11.47	35.41	39.60	2.82	24.15	19.55	80.98
$\bar{x} \pm s$	17.43±2.53	12.78±3.47	35.39±4.12	33.43±6.08	3.03±0.67	23.42±1.60	21.24±0.93	91.05±6.82
范围	12.88~22.44	6.89~18.52	30.13~44.19	25.88~45.12	2.10~4.44	21.39~25.98	19.55~22.92	80.98~99.34

3 讨论

3.1 色谱条件分析

中药复方化学成分复杂，化学成分的结构差异性导致成分间波长差异较大，较难在单一波长反映全方成分信息，为最大化获取指纹图谱信息，实现多成分含量同时测定，在综合考察峰形、峰个数、基线、吸收差异等多项干扰因素下，选择多波长切换法，建立 TCD 指纹图谱分析方法。本实验采用 PDA 检测器在 190~400 nm 进行全波长扫描，结果

供试品色谱在 220~260 nm 各色谱峰比例协调，响应值较高，提供的信息量大，但桂皮醛、肉桂酸色谱峰在 290 nm 有最大吸收，综合考虑，选取 220、260、290 nm 作为检测波长，在检测过程中进行波长切换。

经典名方煎煮工艺主要为水煎，提取的药效成分多为水溶性成分，供试品溶液制备对比不同比例甲醇水与乙醇水溶液，以指纹图谱总峰面积与称样量比值为指标，结合 9 种成分含量测定结果优选最

佳提取溶剂, 最终选择 70% 甲醇为提取溶剂。流动相系统分别考察了甲醇-水、乙腈-水、甲醇-磷酸水溶液、甲醇-甲酸水溶液、乙腈-磷酸水溶液等, 结果表明在相同条件下甲醇-0.2% 磷酸水溶液在色谱峰峰形、分离度及出峰数量等优于其他流动相。另外, 本实验考察不同体积流量 (0.2、0.3、0.4 mL/min)、不同柱温 (35、38、40 °C)、不同进样量 (1、2、3 μ L) 对色谱峰的影响, 体积流量和柱温越高会导致主要成分色谱峰分离度降低, 进样量大于 2 μ L 时响应较高的没食子酸、儿茶素、甘草酸铵峰拖尾或色谱柱过载, 当采用 Waters Cortecs T3 色谱柱, 体积流量控制在 0.3 mL/min, 柱温为 38 °C, 进样量为 1 μ L 时, 各色谱峰分离效果较好, 峰形最佳, 色谱峰个数最多。

3.2 指标成分的确定

《古代经典名方中药复方制剂物质基准的申报资料要求(征求意见稿)》指出经典名方应提供化学成份研究的试验资料, 为经典名方物质基准研究提供基础。因此, 本研究采用 UPLC-Q-Exactive Orbitrap MS, 基于化合物的一级、二级质谱, 结合对照品比对确认等方法, 从 TCD 基准样品中鉴定出 80 种化学成分, 其中黄酮类 23 个、蒽醌及蒽酮类 22 个、有机酸类 8 个、萜类 9 个、鞣质类 9 个、苯丙素类 4 个、含氮类 2 个、其他 3 个, 上述分析方法简单快速, 研究结果全面地分析 TCD 的化学成分信息, 为深入研究其药理作用及药效物质基础提供了科研依据。

现代药理学研究表明, 桃仁中主要有效成分含氮类苦杏仁苷具有血管保护、神经保护、抗动脉粥样硬化、抗肾间质纤维化、抗肺纤维化、免疫调节、抗肿瘤、镇痛消炎等作用^[19]。大黄中游离蒽醌类成分与其“清热解毒”功效相关, 结合蒽醌类成分和二蒽酮类成分与其“泻下攻积”功效相关^[20], 总蒽醌可抑制 P-p38MAPK、P-ERK1/2 蛋白表达实现抑制肝纤维化作用^[21]。桂枝中的肉桂酸具有抗菌、抗癌、发汗等作用, 桂皮醛则具有抗炎、解热镇痛、抗菌、抗肿瘤等多种药理作用^[5-6]。甘草中的三萜皂苷类(甘草酸)和黄酮类(甘草苷)为主要活性成分, 甘草酸具有抗病毒、抗炎、抗肿瘤、抗氧化、抗凝血、保肝、调节免疫等多种药理活性, 甘草苷则兼具抗抑郁、保肝、神经保护等药理活性, 并对心肌缺血具有较好的治疗作用^[7,22]。

综合考虑各药味主要药理活性成分与 TCD 临

床功效的相关性, 参考《中国药典》2020 年版中桃仁、大黄、桂枝、甘草含量测定指标, 首选含量较高、性质稳定, 且具有明确药理作用的成分作为定量指标, 故选择苦杏仁苷、游离蒽醌、总蒽醌、结合蒽醌、肉桂酸、桂皮醛、甘草酸作为含量测定指标, 对于评价 TCD 物质基准批次间的一致性具有重要的参考价值, 有利于控制其质量稳定性。

3.3 测定结果与量值传递分析

15 批 TCD 基准样品 UPLC 指纹图谱相似度在 0.937~0.998, 共匹配 26 个指纹图谱共有峰, 占全方总峰面积 90% 以上, 主要色谱峰来源于大黄和甘草, 出膏率约占总处方 2/3, 由于仅采集到甘肃礼县大黄、甘肃和内蒙古产甘草, 同一产地质量差异性不大, 因此 15 批次 TCD 基准样品主要物质群无显著区别, 故相似度均大于 0.90; 含量测定选取的指标成分能较为全面表征 TCD 中各饮片的化学信息, 测定结果显示 15 批 TCD 中 *D*-苦杏仁苷、桂皮醛、肉桂酸、甘草酸、游离蒽醌、总蒽醌、结合蒽醌的质量平均值分别为 0.45%、1.97%、0.09%、0.76%、0.24%、0.54%、0.30%; 转移率平均值为 40.20%、1.72%、66.16%、37.58%、22.66%、12.16%、15.05%, 除桂皮醛理化性质不稳定, 其余指标成分从饮片到基准样品的传递规律较为一致, 饮片含量越高, 整体转移率越大。以饮片-基准样品的指标成分转移率应在均值 $\pm$ 30% 内为衡量标准, 15 批基准样品转移率基本在范围内, 仅 1 批 *D*-苦杏仁苷、8 批桂皮醛、1 批甘草酸、2 批游离蒽醌、1 批总蒽醌、2 批结合蒽醌超出范围。其中 *D*-苦杏仁苷和桂皮醛受煎煮温度的影响较大, 桃仁中苦杏仁苷存在 *D* 型和 *L* 型 2 种差向异构体, 煎煮初期, 主要以 *D*-苦杏仁苷形式存在, 随煎煮温度升高, 苦杏仁酶失活, 开始异构化, 煎煮时间越长, 异构化速率越快, 当达到临界值, 煎液中的 *L*-苦杏仁苷高于 *D*-苦杏仁苷。桂皮醛属于热敏性成分, 容易随水蒸气蒸发导致含量降低。

大黄总蒽醌包含游离蒽醌和结合蒽醌, 结合态蒽醌口服吸收较少, 主要经大肠内生菌代谢后生成刺激性产物引起腹泻作用, 结合型蒽醌易水解。本研究通过分别测定水解后 5 种总蒽醌及游离的 5 种蒽醌含量, 做差求出结合蒽醌含量, 结合蒽醌作为泻下主要成分, 同时具有一定肝肾毒性, 有必要对其质量进行控制。饮片中游离蒽醌转移率超 100%, 推测由于大黄药材在炮制过程中结合蒽醌水解为游

离蒽醌, 基准样品转移率受饮片性状影响, 片状、较薄、质地疏松的大黄饮片中的蒽醌转移率越高, 且随着提取时间增加, 部分游离蒽醌并不稳定, 产生氧化分解, 导致部分批次基准样品游离蒽醌转移率接近下限。

基于复方煎煮过程中产生的化学反应较为复杂, 影响因素众多, 在经典名方研发过程中应注重原料的均一性和代表性, 以及制备工艺的稳定性 and 重现性, 才能保证制剂质量与基准样品的一致性。

采用指纹图谱结合多指标成分含量测定是目前既兼顾“质量概貌”, 又体现“质量属性”的中药复方制剂质量控制的有效方法。本研究选用的指标成分和制备工艺与企业生产工艺精密衔接, 基准样品的量值传递规律研究对 TCD 制剂的质量标准建立、药材采购和饮片炮制均具有参考依据, 同时结合质谱技术对基准样品的化学成分进行分析, 为 TCD 的药理药效研究奠定物质基础。由于采集的大黄和甘草产地较为单一, 代表性不明显, 故后续还需收集不同产地原料开展物质基准研究。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 汉·张仲景著. 何丽春校注. 伤寒论 [M]. 北京: 科学技术文献出版社, 2010: 43.
- [2] 许筱凰, 李婷, 王一涛, 等. 桃仁的研究进展 [J]. 中草药, 2015, 46(17): 2649-2655.
- [3] 傅兴圣, 陈菲, 刘训红, 等. 大黄化学成分与药理作用研究新进展 [J]. 中国新药杂志, 2011, 20(16): 1534-1538.
- [4] 杨萌, 李超英. 芒硝的炮制历史沿革、炮制方法及临床应用研究进展 [J]. 中药材, 2020, 43(12): 3069-3074.
- [5] 胡少平. 肉桂多酚的药理作用研究进展 [J]. 云南中医中药杂志, 2014, 35(5): 79-81.
- [6] 张利青, 张占刚, 付岩, 等. 桂皮醛药理作用的研究进展 [J]. 中国中药杂志, 2015, 40(23): 4568-4572.
- [7] 张耀峰. 甘草及其活性成分的药理活性研究进展 [J]. 中医临床研究, 2019, 11(9): 141-142.
- [8] 周冉冉, 付春梅, 李冉, 等. 桃核承气汤的临床应用研究进展 [J]. 现代中医临床, 2020, 27(1): 71-76.
- [9] 张玉鑫, 周冉冉, 陶晓华, 等. 谈桃核承气汤的方证要义与临床应用 [J]. 世界中医药, 2020, 15(14): 2175-2177.
- [10] 李宇航, 郭明章, 孙燕, 等. 仲景方用药度量衡古今折算标准研究 [J]. 北京中医药大学学报, 2010, 33(9): 597-600.
- [11] 赵艳敏, 刘素香, 张晨曦, 等. 基于 HPLC-Q-TOF-MS 技术的甘草化学成分分析 [J]. 中草药, 2016, 47(12): 2061-2068.
- [12] 李丹丹, 张慧, 李思雨, 等. 基于 HPLC 指纹图谱及 UPLC-Q-TOF-MS 法的 3 种不同来源大黄差异成分研究 [J]. 中国药房, 2019, 30(23): 3240-3245.
- [13] 罗思妮, 彭致铖, 范倩, 等. 经典名方小承气汤中化学成分的分析 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(23): 1-10.
- [14] 许如玲, 范君婷, 董惠敏, 等. 经典名方黄芪桂枝五物汤标准煎液化学成分的 UPLC-Q-TOF-MS 分析 [J]. 中国中药杂志, 2020, 45(23): 5614-5630.
- [15] 张克清, 陈燕, 汪佳楠, 等. 基于特征图谱及 D-苦杏仁苷转移率评价燀桃仁配方颗粒的关键生产环节 [J]. 中国中药杂志, 2019, 44(21): 4641-4647.
- [16] 方妍, 孙志远, 高原, 等. 甘草炮制前后甘草苷及甘草酸含量的比较 [J]. 长春中医药大学, 2020, 36(3): 485-487.
- [17] 卞晓坤, 赵秋龙, 卜凡淑, 等. 不同干燥方法对桂枝药材中苯丙素类成分的影响及评价 [J]. 中国现代中药, 2020, 22(2): 219-223.
- [18] 王敏, 韩婷, 李春帅, 等. 大黄炮制前后的化学成分变化及其减毒研究 [J]. 世界中医药, 2022, 17(22): 3131-3138.
- [19] 王仁芳, 范令刚, 高文远, 等. 桃仁化学成分与药理活性研究进展 [J]. 现代药物与临床, 2010, 25(6): 426-429.
- [20] 王亦君, 冯舒涵, 程锦堂, 等. 大黄蒽醌类化学成分和药理作用研究进展 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(13): 227-234.
- [21] 江慧, 陈晶, 曾超. 大黄总蒽醌抑制肝纤维化的作用与机制 [J]. 中西医结合肝病杂志, 2023, 33(11): 989-995.
- [22] 王晓艳, 李伟霞, 张辉, 等. 基于网络药理学的甘草黄酮类成分药效作用研究 [J]. 中医学报, 2020, 35(1): 155-163.

[责任编辑 郑礼胜]