

经典名方金水六君煎基准样品量值传递研究

李红亮^{1,2}, 原欢欢^{1,2*}, 安太勇^{1,2}, 李娟^{1,2}, 彭涛^{1,2}, 陈莎¹, 董自亮^{1*}, 禹奇男^{1,2}, 韦献果³, 綦奇⁴

1. 重庆太极实业(集团)股份有限公司, 重庆 401147

2. 太极集团重庆涪陵制药厂有限公司, 重庆 400800

3. 重庆市渝东南农业科学院, 重庆 408000

4. 太极集团重庆桐君阁药厂有限公司, 重庆 400072

摘要: **目的** 阐明金水六君煎(Jinshui Liuju Decoction, JLD)基准样品的关键质量属性, 建立其指纹图谱并测定其中甘草苷、甘草酸、芸香柚皮苷、橙皮苷、阿魏酸及地黄苷 D 等指标成分, 探究 JLD 饮片-基准样品的量值传递规律, 为评价其制剂质量奠定基础。**方法** 参考已公布的关键信息, 制备 20 批 JLD 基准样品, 采用 UHPLC 法建立指纹图谱, 计算其相似度并确定共有峰归属, 结合指标成分及干膏转移率对基准样品进行量值传递分析。**结果** 建立的 20 批 JLD 基准样品指纹图谱与对照指纹图谱(R)的相似度均大于 0.98; 共归属 21 个特征峰, 其中峰 4 (5-羟甲基糠醛)、5、6、15 (毛蕊花糖苷) 归属于熟地黄; 峰 13 (甘草苷)、19、20 (甘草酸) 归属于炙甘草; 峰 7~11、12 (阿魏酸)、16 (芸香柚皮苷)、17 (橙皮苷)、18、19 归属于陈皮; 峰 1、2 (腺苷)、3 (鸟苷)、9、12、14 (洋川芎内酯 I) 归属于当归; 峰 1、3 归属于清半夏; 峰 21 (6-姜辣素) 归属于生姜, 茯苓无归属峰; 20 批 JLD 基准样品中指标成分甘草苷、甘草酸、芸香柚皮苷、橙皮苷、阿魏酸、地黄苷 D 的质量分数分别为 0.251~0.366、0.282~0.552、0.291~0.390、0.700~0.967、0.040~0.062、0.059~0.155 mg/g, 饮片到基准样品的转移率分别为 41.30%~50.87%、24.65%~33.49%、37.78%~49.24%、16.84%~22.24%、43.10%~58.87%、43.44%~60.66%; 出膏率为 28.39%~34.56%, 传递率为 76.63%~90.78%。**结论** 采用指纹图谱结合多指标成分含量测定及出膏率等评价指标对经典名方 JLD 基准样品进行了量值传递综合考察, 为 JLD 质量控制和制剂开发提供了科学依据。

关键词: 经典名方; 金水六君煎; 基准样品; 指纹图谱; 量值传递; 甘草苷; 甘草酸; 芸香柚皮苷; 橙皮苷; 阿魏酸; 地黄苷 D; UHPLC; 熟地黄; 炙甘草; 陈皮; 当归; 清半夏; 生姜; 茯苓

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2025)22-8139-14

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.22.008

Quality value transfer of classical prescription Jinshui Liuju Decoction substance benchmark

LI Hongliang^{1,2}, YUAN Huanhuan^{1,2}, AN Taiyong^{1,2}, LI Juan^{1,2}, PENG Tao^{1,2}, CHEN Sha¹, DONG Ziliang¹, YU Qinan^{1,2}, WEI Xianguo³, QI Qi⁴

1. Chongqing Taiji Industrial (Group) Co., Ltd., Chongqing 401147, China

2. Taiji Group Chongqing Fuling Pharmaceutical Co., Ltd., Chongqing 400800, China

3. Chongqing Southeast Chongqing Academy of Agricultural Sciences, Chongqing 408000, China

4. Taiji Group Chongqing Tongjunge Pharmaceutical Co., Ltd., Chongqing 400072, China

Abstract: Objective To elucidate the key quality attributes of the substance benchmark of Jinshui Liuju Decoction (JLD, 金水六君煎), establish its fingerprints and determine the content of index components, including liquiritin, glycyrrhizic acid, narirutin, hesperidin, ferulic acid and rehmannioside D. The study explores the transfer rules from JLD decoction pieces to substance benchmark, laying a material foundation for the later evaluation of JLD formulations. **Methods** Through reference to the published key information, 20 batches of JLD substance benchmark were prepared. UHPLC was used to establish a fingerprint and calculate the

收稿日期: 2025-07-04

基金项目: 国家“重大新药创制”科技重大专项(2018ZX09721-005-003-006); 重庆市技术创新与应用发展专项(CSTB2024TIAD-STX0040)

作者简介: 李红亮(1990—), 副主任药师, 研究方向为中药新药开发。E-mail: taijihongliang@163.com

*通信作者: 原欢欢(1984—), 副主任药师, 研究方向为中药新药开发。E-mail: yuanhuanhuan_1984@163.com

董自亮(1985—), 主任药师, 研究方向为中药新药研究及大品种二次开发。E-mail: dzlcutcm@163.com

similarity, and the common peaks were identified. The transfer analysis of the substance benchmark was conducted through the content determination of the index components and the transfer rate of the dry paste. **Results** The 20 batches of the substance benchmark fingerprints had good similarities with the reference fingerprint (R), which were all higher than 0.98. 21 Common peaks were assigned, among which, peaks 4 (5-hydroxymethylfurfural), 5, 6, 15 (acteoside) originated from Shudihuang (*Rehmanniae Radix Praeparata*); Peaks 13 (liquiritin), 19, 20 (glycyrrhizic acid) came from Zhigancao (*Glycyrrhizae Radix et Rhizoma Praeparata cum Melle*); Peaks 7—11, 12 (ferulic acid), 16 (narirutin), 17 (hesperidin), 18, 19 came from Chenpi (*Citri Reticulatae Pericarpium*); Peaks 1, 2 (adenosine), 3 (guanosine), 9, 12, 14 (senkyunolide I) originated from Danggui (*Angelicae Sinensis Radix*); Peaks 1, 3 originated from Qingbanxia (*Pinelliae Rhizoma Praeparatum cum Alumine*); Peak 21 (6-gingerol) originated from Shengjiang (*Zingiberis Rhizoma Recens*), and no peaks originated from Fuling (*Poria*). The mass fraction ranges of liquiritin, glycyrrhizic acid, narirutin, hesperidin, ferulic acid and rehmannioside D were 0.251—0.366, 0.282—0.552, 0.291—0.390, 0.700—0.967, 0.040—0.062, 0.059—0.155 mg/g, respectively. The transfer rate of index component from the decoction pieces to the substance benchmark was in the range of 41.30%—50.87%, 24.65%—33.49%, 37.78%—49.24%, 16.84%—22.24%, 43.10%—58.87%, 43.44%—60.66%, respectively. The extract rate was in the range from 28.39%—34.56%, and the transmission rate was in the range from 76.63%—90.78%. **Conclusion** This study comprehensively investigated the transfer of the JLD substance benchmark using fingerprints combined with content determination of the index components and dry paste rate evaluation, providing a scientific basis for the quality control and subsequent formulation development of JLD.

Key words: classic prescription; Jinshui Liujun Decoction; benchmark sample; fingerprint; quality value transfer; liquiritin; glycyrrhizic acid; narirutin; hesperidin; ferulic acid; rehmannioside D; UHPLC; *Rehmanniae Radix Praeparata*; *Glycyrrhizae Radix et Rhizoma Praeparata cum Melle*; *Citri Reticulatae Pericarpium*; *Angelicae Sinensis Radix*; *Pinelliae Rhizoma Praeparatum cum Alumine*; *Zingiberis Rhizoma Recens*; *Poria*

金水六君煎 (Jinshui Liujun Decoction, JLD) 为国家中医药管理局 2018 年公布的《古代经典名方目录 (第一批)》中的第 58 首, 来源于明·张介宾《景岳全书》^[1-2]。全方由当归、熟地黄、陈皮、半夏、茯苓、炙甘草、生姜等 7 味中药组成, 方中半夏辛温, 能燥湿化痰、和中止呕; 陈皮芳香, 能理气运脾、燥湿化痰; 茯苓甘淡, 甘能补脾, 淡可渗湿, 使已聚之湿从小便渗利而去, 更添甘草和中益脾, 共奏理气健脾、燥湿化痰之效^[3]。张介宾在《景岳全书》中对 JLD 主治病症的论述共计 23 条, 可见《景岳全书》中 JLD 应用甚为广泛, 可用于治疗咳嗽、伤风、恶心嗳气、反胃、痰饮、声暗、头痛、呕吐、嘈杂、虚损、厥逆、非风等十余个病症^[2-4]。

近年来, 有关 JLD 的研究多集中于化学成分^[5]、含量测定^[6]、临床应用^[7-8]、药理活性^[9]、处方分析^[10]等方面, 尚未有对其量值传递的研究, 课题组前期也对 JLD 进行了多方面的研究, 包括文献考证^[4]、多指标含量测定^[11]、薄层研究^[12-13]、化学成分研究^[14]、工艺考察等。国家药品监督管理局发布《古代经典名方中药复方制剂简化注册审批管理规定》^[15]指出, 经典名方复方制剂开发必须首先进行基准样品研究, 为其后续的制剂开发提供依据。《按古代经典名方目录管理的中药复方制剂药学研究技术指导原则 (试行)》^[16]中明确指出, 经典名方基准样品的关

键质量属性的研究应包括指纹图谱、指标成分含量及干膏率等关键信息^[17-18]。本研究在已公布的关键信息结合煎煮工艺考察结果的基础上, 确定 JLD 的制备工艺, 并制备了 20 批基准样品煎液, 通过构建其指纹图谱并对指标性成分进行含量测定, 确定其含量及转移率范围, 并结合出膏率分析饮片-基准样品量值传递规律, 为其质量研究提供科学依据, 也为 JLD 中药复方制剂进一步研究提供参考。

1 仪器与材料

1.1 仪器

Agilent 1290-UHPLC DAD 检测器, 美国 Agilent 公司; XSE205DU 型电子天平, 精密密度 0.01 mg/0.1 mg, 瑞士 Mettler Toledo 公司; KQ-500DE 型超声波仪, 昆山市超声仪器有限公司; HH-8 型数显恒温水浴锅, 常州市金坛华特实验仪器有限公司; DHG-9240 型电热恒温鼓风干燥箱, 上海一恒科学仪器有限公司; 陶瓷锅、45U2 型液体加热器, 潮州市潮安区康雅顺电器有限公司。

1.2 试药

对照品 5-羟甲基糠醛 (批号 111626-202417, 质量分数 99.8%)、腺苷 (批号 110879-202204, 质量分数 99.4%)、鸟苷 (批号 111977-202202, 质量分数 88.6%)、阿魏酸 (批号 110773-202316, 质量分数 99.3%)、甘草苷 (批号 111610-202209, 质量分

数 95.2%)、毛蕊花糖苷(批号 111530-202315, 质量分数 97.6%)、橙皮苷(批号 110721-202220, 质量分数 97.2%)、洋川芎内酯 I(批号 112071-202302, 质量分数 98.5%)、甘草酸铵(批号 110731-202423, 质量分数 93.2%)、6-姜辣素(批号 111833-202408, 质量分数 99.3%)均购于中国食品药品检定研究院;对照品芸香柚皮苷,批号 14259,质量分数≥98.0%,购自上海诗丹德标准技术服务有限公司。乙腈、磷酸均为色谱纯,北京化标源科技有限公司;实验用水均为二次蒸馏水。

JLD 中各药味分别采自 4 个产地,按《中国药典》2025 年版一部项下检测,均合格。产地、批次、饮片规格等具体信息见表 1。经重庆市中药研究院

罗维早研究员鉴定,各药味均符合《中国药典》2025 年版一部项下的性状规定,鉴定结果地黄为玄参科地黄属植物地黄 *Rehmannia glutinosa* Libosch 的干燥块根,当归为伞形科当归属植物当归 *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels 的干燥根,陈皮为芸香科柑橘属植物橘 *Citrus reticulata* Blanco 的干燥成熟果皮,半夏为天南星科半夏属植物半夏 *Pinellia ternata* (Thunb.) Breit.的干燥块茎,茯苓为多孔菌科茯苓属真菌茯苓 *Poria cocos* (Schw.) Wolf 的干燥菌核,甘草为豆科甘草属植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch.的干燥根和根茎,生姜为姜科姜属植物姜 *Zingiber officinale* Rose.的新鲜根茎。各批饮片组合成的 JLD 批号见表 2。

表 1 JLD 饮片来源信息
Table 1 Source information of JLD decoction pieces

药味	饮片规格	产地及药材采集时间			
		Y01~Y05	Y06~Y10	Y11~Y15	Y16~Y20
当归	薄片(1~2 mm)	甘肃岷县, 11月	甘肃陇西, 11月	甘肃渭源, 11月	甘肃临洮, 11月
熟地黄	厚片(2~4 mm)	河南温县, 10月	河南沁阳, 10月	河北邯郸, 10月	河北安国, 10月
陈皮	细丝(2~3 mm)	湖北枝江, 10月	湖北枣阳, 10月	湖南沅江, 10月	湖南邵东, 10月
清半夏	厚片(2~4 mm)	甘肃西和, 10月	重庆大足, 10月	贵州威宁, 10月	河北安国, 8月
茯苓	厚片(2~4 mm)	云南永平, 9月	云南腾冲, 9月	云南昌宁, 9月	云南双柏, 9月
炙甘草	厚片(2~4 mm)	内蒙古杭锦旗, 9月	宁夏盐池, 9月	宁夏红寺堡, 9月	甘肃张掖, 9月
生姜	厚片(2~4 mm)	山东沂水, 11月	云南罗平, 11月	贵州长顺, 11月	贵州保甸, 11月

表 2 JLD 批号组合
Table 2 Batch number combination of JLD

批号	当归	熟地黄	陈皮	清半夏	茯苓	炙甘草	生姜	批号	当归	熟地黄	陈皮	清半夏	茯苓	炙甘草	生姜
S1	Y01	Y01	Y01	Y01	Y01	Y01	Y01	S11	Y11	Y11	Y11	Y11	Y11	Y11	Y11
S2	Y02	Y02	Y02	Y02	Y02	Y02	Y02	S12	Y12	Y12	Y12	Y12	Y12	Y12	Y12
S3	Y03	Y03	Y03	Y03	Y03	Y03	Y03	S13	Y13	Y13	Y13	Y13	Y13	Y13	Y13
S4	Y04	Y04	Y04	Y04	Y04	Y04	Y04	S14	Y14	Y14	Y14	Y14	Y14	Y14	Y14
S5	Y05	Y05	Y05	Y05	Y05	Y05	Y05	S15	Y15	Y15	Y15	Y15	Y15	Y15	Y15
S6	Y06	Y06	Y06	Y06	Y06	Y06	Y06	S16	Y16	Y16	Y16	Y16	Y16	Y16	Y16
S7	Y07	Y07	Y07	Y07	Y07	Y07	Y07	S17	Y17	Y17	Y17	Y17	Y17	Y17	Y17
S8	Y08	Y08	Y08	Y08	Y08	Y08	Y08	S18	Y18	Y18	Y18	Y18	Y18	Y18	Y18
S9	Y09	Y09	Y09	Y09	Y09	Y09	Y09	S19	Y19	Y19	Y19	Y19	Y19	Y19	Y19
S10	Y10	Y10	Y10	Y10	Y10	Y10	Y10	S20	Y20	Y20	Y20	Y20	Y20	Y20	Y20

2 方法与结果

2.1 JLD 基准样品的制备

JLD 原文记载:“当归二钱,熟地三、五钱,陈皮一钱半,半夏二钱,茯苓二钱,炙甘草一钱,水二盅,生姜三、五、七片,煎七、八分,食远温服”。根据国家中医药管理局发布的《古代经典名方关键信息表(25 首方剂)》(第十九首)记载“1. 剂量为区间者,取中间值。方中熟地取四钱,生姜取五片。

2. 专家共识意见:生姜 1 片约为 1~3 g,可根据不同方剂的剂量确定生姜用量。本方建议生姜 5 g”,同时关键信息中也明确了处方中各药味的折算剂量以及饮片炮制规格。结合前期工艺考察结果,确定 JLD 基准样品的制备方法:当归(生品)7.46 g、熟地黄(蒸制法)14.92 g、陈皮(生品)5.60 g、半夏(清半夏)7.46 g、茯苓(生品)7.46 g、甘草(炙甘草)3.73 g、生姜(鲜品)5.00 g,加水 400 mL,浸

泡 0.5 h, 加盖武火 (1 500 W) 煮沸后, 保持文火 (500 W) 微沸状态煎煮 60 min, 滤过, 滤液体积为 140~150 mL, 加水定容至 150 mL, 即得 JLD 基准样品煎液。同法制备 JLD 各单味饮片煎液及缺生姜、缺炙甘草、缺清半夏、缺熟地黄、缺当归、缺茯苓、缺陈皮等的阴性样品煎液。

2.2 JLD 基准样品指纹图谱的建立

2.2.1 对照品溶液的制备 分别称取腺苷、鸟苷、5-羟甲基糠醛、阿魏酸、甘草苷、洋川芎内酯 I、毛蕊花糖苷、芸香柚皮苷、橙皮苷、甘草酸铵、6-姜辣素对照品适量, 精密称定, 甲醇定容, 制成质量浓度分别为 20.12、29.16、38.80、4.94、29.88、18.80、28.75、24.60、49.80、28.90、14.90 $\mu\text{g/mL}$ 的混合对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液的制备 精密吸取按照“2.1”项下方法制备的各煎液 3 mL, 置于 10 mL 量瓶中, 加甲醇至适量, 放冷, 再加甲醇定容至刻度, 摇匀, 静置, 取上清液, 0.22 μm 微孔滤膜滤过, 即得供试品溶液。

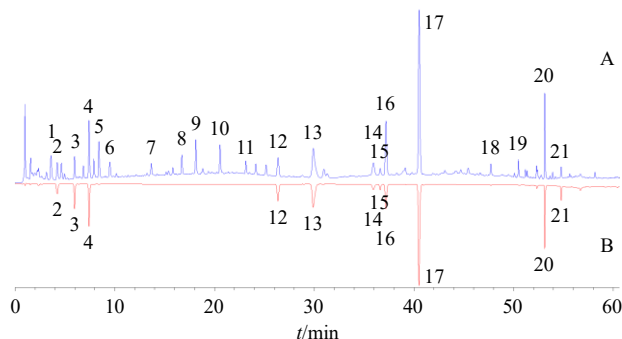
2.2.3 色谱条件 色谱柱为 Acquity UHPLC[®] HSS T3 柱 (100 mm $\times$ 2.1 mm, 1.8 μm) 柱; 柱温为 25 $^{\circ}\text{C}$; 体积流量为 0.3 mL/min; 进样体积为 1 μL ; 流动相为乙腈-0.1%磷酸水溶液, 梯度洗脱: 0~8 min, 1.0%~5.5%乙腈; 8~20 min, 5.5%~14.0%乙腈; 20~28 min, 14.0%乙腈; 28~39 min, 14.0%~20.5%乙腈; 39~45 min, 20.5%~28.0%乙腈; 45~57 min, 28.0%~65.0%乙腈; 57~58 min, 65.0%~95.0%乙腈; 58~59 min, 95.0%乙腈; 59~60 min, 95.0%~1.0%乙腈; 检测波长按表 3 的规定进行波长转换。JLD 基准样品和混合对照品的 UHPLC 图见图 1。

2.2.4 精密度考察 取 JLD 基准样品 (S1), 按照“2.2.2”项下方法制备供试品溶液, 按照“2.2.3”项下色谱条件连续进样测定 6 次, 供试品溶液色谱图中橙皮苷 (17 号峰) 保留时间适中且峰形较好、峰面积大、分离度高, 因此, 确定以橙皮苷为参照峰

表 3 JLD 指纹图谱检测波长及波长切换时间

Table 3 Detection wavelengths and wavelength switching time for characteristic chromatogram of JLD

t/min	检测波长/nm	对应的共有峰
0~12.0	248	1~6
12.0~28.5	330	7~12
28.5~50.0	281	13~18
50.0~54.7	248	19~20
54.7~60.0	281	21



2-腺苷; 3-鸟苷; 4-5-羟甲基糠醛; 12-阿魏酸; 13-甘草苷; 14-洋川芎内酯 I; 15-毛蕊花糖苷; 16-芸香柚皮苷; 17-橙皮苷; 20-甘草酸; 21-6-姜辣素; 图 3 同。
2-adenosine; 3-guanosine; 4-5-hydroxymethylfurfural; 12-ferulic acid; 13-liquiritin; 14-senkyunolide I; 15-acteoside; 16-narirutin; 17-hesperidin; 20-glycyrrhizic acid; 21-6-gingerol; same as Fig. 3.

图 1 JLD 基准样品 (A) 和混合对照品 (B) 的 UHPLC 图
Fig. 1 UHPLC chromatograms of JLD substance benchmarks (A) and mixed reference substances (B)

(S), 计算各共有峰的相对保留时间和相对峰面积, 结果显示, 各共有峰相对保留时间的 RSD 均 $<1.6\%$, 相对峰面积的 RSD 均 $<2.3\%$, 结果表明该仪器精密度良好。

2.2.5 稳定性考察 取 JLD 基准样品 (S1), 按照“2.2.2”项下方法制备供试品溶液, 分别于制样后 0、4、8、12、20、28、36、48、60 h 进样测定, 供试品溶液色谱图中以橙皮苷 (17 号峰) 为参照峰 (S), 计算各共有峰的相对保留时间和相对峰面积, 结果显示, 各共有峰相对保留时间的 RSD 均 $<1.5\%$, 相对峰面积的 RSD 均 $<2.4\%$, 结果表明供试品溶液在 60 h 内稳定性良好。

2.2.6 重复性考察 取 JLD 基准样品 (S1), 按照“2.2.2”项下方法平行制备 6 份供试品溶液, 按照“2.2.3”项下色谱条件进样测定, 供试品溶液色谱图中以橙皮苷 (17 号峰) 为参照峰 (S), 计算各共有峰的相对保留时间和相对峰面积, 结果显示, 各共有峰相对保留时间的 RSD 均 $<0.5\%$, 相对峰面积的 RSD 均 $<3.6\%$, 结果表明该方法重复性良好。

2.3 JLD 指纹图谱评价及饮片-基准样品量值传递关系研究

2.3.1 基准样品相似度评价 将 20 批 JLD 基准样品, 按照“2.2.2”项下制备方法分别制备成供试品溶液, 按照“2.2.3”项下色谱条件进样测定, 记录色谱图。将 S1~S20 批 JLD 基准样品指纹图谱导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统 (2012 版)”生成叠加图 (图 2), 以 S1 为参照图谱, 时间窗宽度

0.2 min, 按平均值计算, 全谱匹配, 并生成对照指纹图谱(图 3), S1~S20 批 JLD 基准样品与对照指纹图谱的相似度结果分别为 0.998、0.997、0.996、0.996、0.998、0.989、0.983、0.998、0.998、0.995、

0.992、0.998、0.996、0.998、0.997、0.997、0.997、0.995、0.993、0.997, 可见, 各批次 JLD 基准样品指纹图谱相似度均大于 0.98。

2.3.2 特征峰归属 按照“2.2.2”项下方法制备各

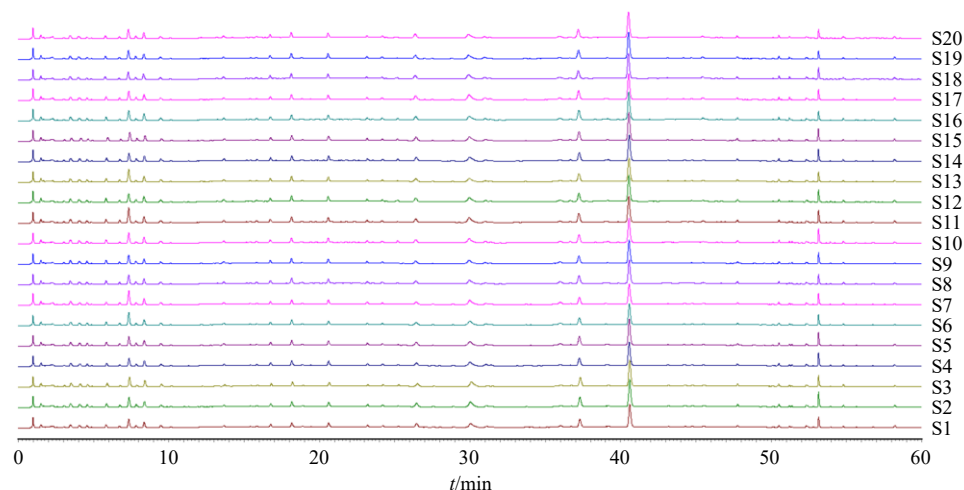


图 2 20 批 JLD 基准样品 UHPLC 指纹图谱

Fig. 2 UHPLC fingerprints of 20 batches of JLD substance benchmarks

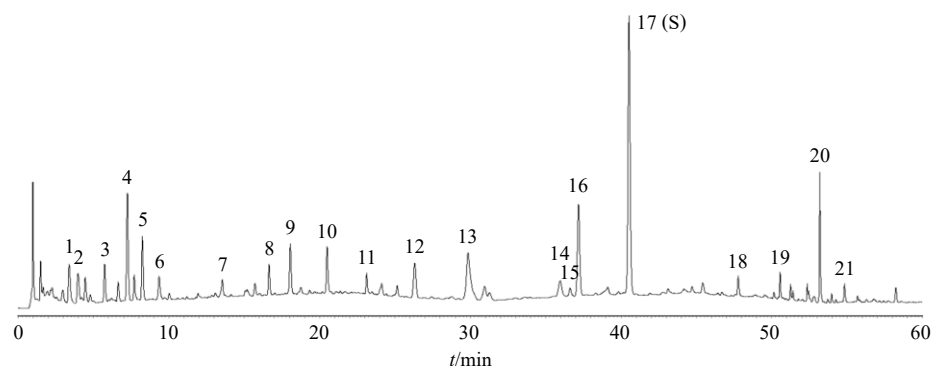


图 3 JLD 基准样品对照指纹图谱

Fig. 3 Control fingerprint of JLD substance benchmark

单味饮片供试品溶液和阴性样品供试品溶液, 按照“2.2.3”项下色谱条件进样测定, 记录色谱图。通过 JLD 基准样品图谱与各单味饮片图谱(图 4)及阴性样品图谱(图 5)比对, 将各共有峰进行归属, JLD 全处方共归属 21 个共有峰, 其中峰 4 (5-羟甲基糠醛)、5、6、15 (毛蕊花糖苷) 归属于熟地黄; 峰 13 (甘草苷)、19、20 (甘草酸) 归属于炙甘草; 峰 7~11、12 (阿魏酸)、16 (芸香柚皮苷)、17 (橙皮苷)、18、19 归属于陈皮; 峰 1、2 (腺苷)、3 (鸟苷)、9、12、14 (洋川芎内酯 I) 归属于当归; 峰 1、3 归属于清半夏; 峰 21 (6-姜辣素) 归属于生姜, 茯苓无归属峰。

2.3.3 量值传递关系研究 对 JLD 基准样品与各单味饮片共有峰峰面积比值作分析, 结果见表 4。

单味饮片特征峰面积与全方基准样品共有峰面积的差异以比值表示, 范围多在 0.7~1.9。各单味饮片中特征峰与基准样品中对应共有峰峰面积虽存在差异, 但各单味饮片特征峰相对峰面积与 JLD 基准样品中共有峰相对峰面积相似, 说明单煎和合煎时不同特征峰间比例关系相似, 不同成分间含量比例关系较为稳定, 各药味中的特征峰成分可较为稳定地成比例向基准样品中转移, 且各物质成分归属关系清晰。

2.4 JLD 基准样品及各单味饮片中指标成分含量测定方法的建立

2.4.1 对照品溶液的制备

(1) 阿魏酸、甘草苷、芸香柚皮苷、橙皮苷、甘草酸铵混合对照品溶液: 称取阿魏酸、甘草苷、

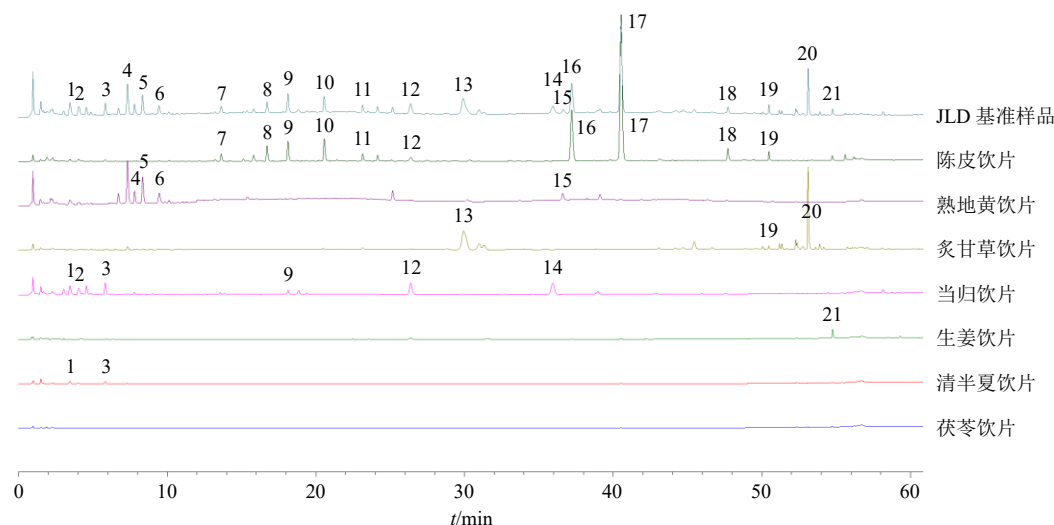


图4 JLD 基准样品与单味饮片的 UHPLC 图谱

Fig. 4 UHPLC chromatograms of JLD substance benchmark and single herbal decoction pieces

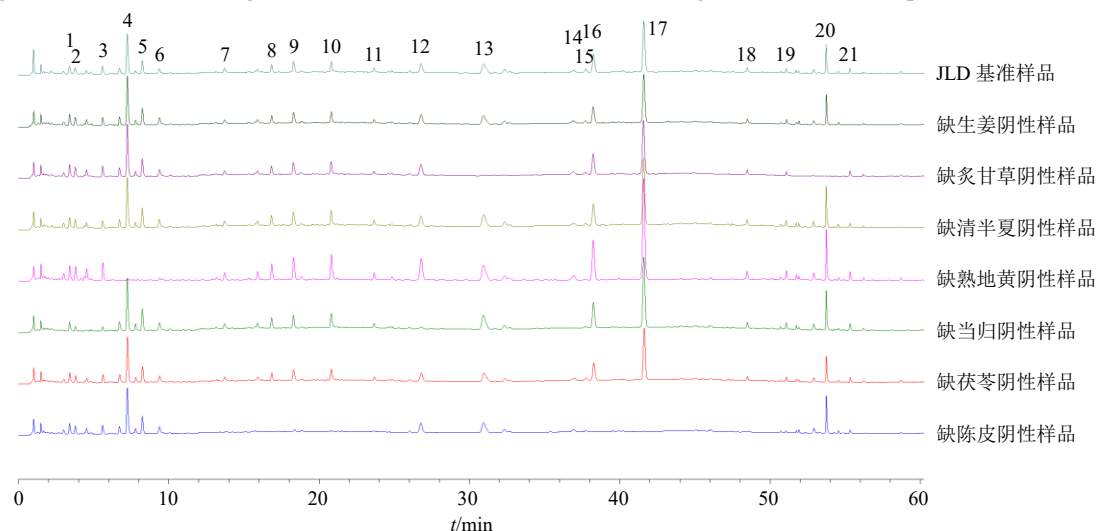


图5 JLD 基准样品与各阴性样品的 UHPLC 图谱

Fig. 5 UHPLC chromatograms of JLD substance benchmark and each negative control

表 4 JLD 基准样品指纹图谱中特征峰峰面积对比分析

Table 4 Comparative analysis of characteristic peak areas of characteristic spectrum of JLD substance benchmark

峰号	峰面积								饮片/基准样
	熟地黄	当归	陈皮	清半夏	茯苓	炙甘草	生姜	基准样品煎液	品峰面积比
1	-	150.6	-	72.1	-	-	-	324.9	0.7
2	-	165.6	-	-	-	-	-	232.7	0.7
3	-	220.8	-	74.1	-	-	-	278.2	1.1
4	930.5	-	-	-	-	-	-	777.1	1.2
5	545.4	-	-	-	-	-	-	466.3	1.2
6	213.2	-	-	-	-	-	-	239.0	0.9
7	-	-	127.2	-	-	-	-	142.9	0.9
8	-	-	328.9	-	-	-	-	247.8	1.3
9	-	62.2	408.7	-	-	-	-	393.9	1.2
10	-	-	464.5	-	-	-	-	396.6	1.2
11	-	-	124.4	-	-	-	-	151.2	0.8

峰号	峰面积								饮片/基准样
	熟地黄	当归	陈皮	清半夏	茯苓	炙甘草	生姜	基准样品煎液	品峰面积比
12	-	519.1	144.0	-	-	-	-	478.7	1.4
13	-	-	-	-	-	1 404.3	-	942.5	1.5
14	-	328.4	-	-	-	-	-	221.7	1.5
15	134.2	-	-	-	-	-	-	31.3	4.3
16	-	-	1 339.7	-	-	-	-	984.7	1.4
17(S)	-	-	4 051.9	-	-	-	-	3 095.6	1.3
18	-	-	204.7	-	-	-	-	162.3	1.3
19	-	-	115.1	-	-	38.5	-	122.6	1.3
20	-	-	-	-	-	1 202.0	-	643.9	1.9
21	-	-	-	-	-	-	135.5	110.9	1.2

芸香柚皮苷、橙皮苷、甘草酸铵对照品适量，精密称定，加甲醇制成分别含阿魏酸 7.06 μg/mL、甘草苷 48.75 μg/mL、芸香柚皮苷 34.81 μg/mL、橙皮苷 81.58 μg/mL、甘草酸铵 39.30 μg/mL 的混合对照品溶液，即得。

(2) 地黄苷 D 对照品溶液：称取地黄苷 D 对照品适量，精密称定，加 25% 甲醇制成含地黄苷 D 20 μg/mL 的对照品溶液，即得。

2.4.2 JLD 基准样品含量测定供试品溶液的制备

(1) 阿魏酸、甘草苷、芸香柚皮苷、橙皮苷、甘草酸：同“2.2.2”项下制法制备供试品溶液。

(2) 地黄苷 D：精密量取 JLD 基准样品煎液 3 mL，置于 10 mL 量瓶中，加 25% 甲醇定容至刻度，摇匀，静置，取上清液，0.22 μm 微孔滤膜滤过，取续滤液，即得。

2.4.3 各单味饮片含量测定溶液的制备

(1) 陈皮：取陈皮饮片粉末约 0.2 g(过三号筛)，精密称定，置具塞锥形瓶中，精密加入甲醇 25 mL，超声处理(功率 300 W、频率 40 kHz) 45 min，放冷，再称定质量，用甲醇补足减失的质量，摇匀，0.22 μm 微孔滤膜滤过，取续滤液，即得。

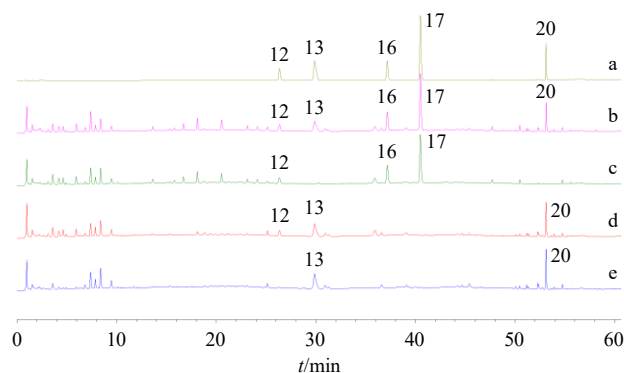
(2) 当归、炙甘草、熟地黄：含量测定供试品溶液的制备参照《中国药典》2025 年版一部。

2.4.4 色谱条件

(1) 当归饮片、炙甘草饮片、陈皮饮片、基准样品(阿魏酸、甘草苷、芸香柚皮苷、橙皮苷、甘草酸)UHPLC 定量色谱条件：同指纹图谱色谱条件，混合对照品、JLD 基准样品及阴性样品的 UHPLC 图谱见图 6。

(2) 熟地黄饮片、基准样品(地黄苷 D)UHPLC 定量色谱条件：采用 Agilent Poroshell SB-Aq 柱(150 mm×3.0 mm, 2.7 μm)为色谱柱；以甲醇-水(1:99)为流动相；体积流量为 0.2 mL/min；柱温 30 °C；检测波长为 203 nm；进样体积为 5 μL。地黄苷 D 对照品、JLD 基准样品及缺熟地黄阴性样品的 UHPLC 图谱见图 7。

2.4.5 线性关系考察 取不同质量浓度的指标性成分对照品溶液，采用“2.4.4”项下色谱条件进样测定，以进样量为横坐标(X)，峰面积为纵坐标(Y)，绘制标准曲线，按最小二乘法原理计算各成分回归方程，结果分别为阿魏酸 $Y=86.832X-10.718$, $r=0.9998$, 线性范围 0.9776~19.5500 ng；甘草苷 $Y=34.565X-23.445$, $r=0.9998$, 线性范围 6.680~



12-阿魏酸；13-甘草苷；16-芸香柚皮苷；17-橙皮苷；20-甘草酸。
12-ferulic acid; 13-liquiritin; 16-narirutin; 17-hesperidin; 20-glycyrrhizic acid.

图 6 混合对照品 (a)、JLD 基准样品 (b)、缺炙甘草阴性样品 (c)、缺陈皮阴性样品 (d)、缺当归和陈皮双阴性样品 (e) 的 UHPLC 图

Fig. 6 UHPLC of mixed reference substances (a), JLD substance benchmark (b), negative control without *Glycyrrhizae Radix et Rhizoma Praeparata cum Melle* (c), negative control without *Citri Reticulatae Pericarpium* (d), double negative control without *Angelicae Sinensis Radix* and *Citri Reticulatae Pericarpium* (e)

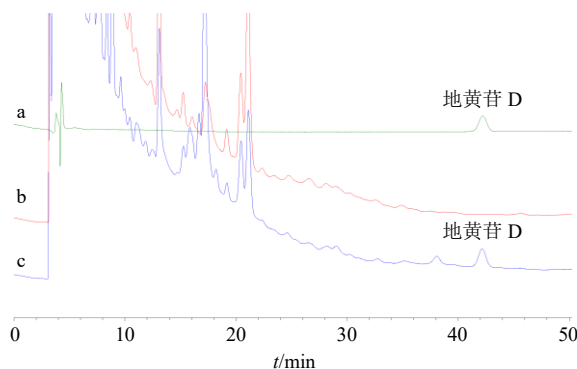


图 7 地黄苷 D 对照品 (a)、缺熟地黄阴性样品 (b) 和 JLD 基准样品 (c) 的 UHPLC 图

Fig. 7 UHPLC of rehmanniosid D reference substance (a), negative control without *Rehmanniae Radix Praeparata* (b) and JLD substance benchmark(c)

133.600 ng；芸香柚皮苷 $Y=32.115X-19.063$, $r=0.9999$, 线性范围 7.000~140.000 ng；橙皮苷 $Y=35.623X-45.210$, $r=0.9997$, 线性范围 17.86~357.20 ng；甘草酸 $Y=16.122X-7.261$, $r=0.9999$, 线性范围 9.681~193.600 ng；地黄苷 D $Y=2.696X+0.164$, $r=0.9999$, 线性范围 9.883~158.100 ng；结果表明，阿魏酸、甘草苷、芸香柚皮苷、橙皮苷、甘草酸、地黄苷 D 均在各自的进样量范围内线性关系良好。

2.4.6 精密度考察 取 JLD 基准样品 (S1)，参照

“2.4.2”项下方法制备供试品溶液 1 份,按照“2.4.4”项下色谱条件,连续进样测定 6 次,结果阿魏酸、甘草苷、芸香柚皮苷、橙皮苷、甘草酸、地黄苷 D 峰面积的 RSD 值分别为 0.7%、0.5%、0.6%、0.4%、0.4%、0.6%,均小于 2.0%,表明该仪器精密度良好。

2.4.7 稳定性考察 取 JLD 基准样品 (S1),参照“2.4.2”项下方法制备供试品溶液 1 份,按照“2.4.4”项下色谱条件,分别在制样后 0、2、4、8、12、24、36、48 h 进行测定,结果阿魏酸、甘草苷、芸香柚皮苷、橙皮苷、甘草酸、地黄苷 D 峰面积的 RSD 值分别为 0.2%、0.5%、0.2%、0.2%、1.0%、0.9%,均小于 2.0%,结果表明供试品溶液在 48 h 内稳定。

2.4.8 重复性考察 取 JLD 基准样品 (S1),按照“2.4.2”项下方法平行制备 6 份供试品溶液,按照“2.4.4”项下色谱条件进样检测,结果阿魏酸、甘草苷、芸香柚皮苷、橙皮苷、甘草酸、地黄苷 D 质量分数的 RSD 值分别为 0.2%、0.2%、0.3%、0.2%、0.2%、1.4%,均小于 2.0%,结果表明该方法的重复性良好。

2.4.9 加样回收率考察 精密量取已测定指标成分含量的 JLD 基准样品 (S1) 共 9 份,分别按已知质量浓度的 50%、100%和 150%加入含量测定指标成分对照品,采用“2.4.2”项下方法制备供试品溶液,测定 JLD 基准样品中各指标成分含量,计算加样回收率,结果阿魏酸、甘草苷、芸香柚皮苷、橙皮苷、甘草酸、地黄苷 D 的平均加样回收率分别为 95.9%、98.0%、96.4%、95.2%、97.5%、96.6%,均在 95%~105%,RSD 值分别为 0.9%、0.8%、0.9%、0.7%、1.7%、1.9%,均小于 2.0%,表明方法准确度良好。

2.4.10 样品测定 取 JLD 基准样品 (S1~S20)、各单味药材饮片及单味饮片煎液,分别按照“2.4.2”和“2.4.3”项下方法制备供试品溶液,按照“2.4.4”项下色谱条件进样分析,计算 JLD 基准样品和单味饮片中各指标成分的含量。

2.5 JLD 饮片-基准样品相似度评价

JLD 基准样品的指纹图谱(图 2、3)中,橙皮苷色谱峰的保留时间居中、分离度良好、峰面积较大且为陈皮的主要活性成分之一,故确定以橙皮苷(17 号峰)为参比峰,并标定了共有峰,采用自动匹配模式计算相似度。20 批茯苓、清半夏、陈皮、炙甘草、当归、熟地黄、生姜饮片煎液及 JLD 基准样品煎液的指纹图谱与其各自生成的对照指纹图

谱的相似度分别为 1.000, 0.979~0.995, 0.999~1.000, 0.977~0.999, 0.943~0.998, 0.973~0.997, 0.967~0.999, 0.983~0.998, 结果见表 5;除清半夏煎液及茯苓煎液几乎无特征峰,且峰面积过低,其他饮片煎液相似度均普遍较高,说明产地对药材主要物质群的影响较小,也说明煎煮对饮片物质群差异不会造成较大的影响。综上,整体制备工艺稳定,物质群批间差异小,工艺可靠。

表 5 JLD 饮片煎液、基准样品与各自对照指纹图谱的相似度

Table 5 Similarities between decoction of JLD decoction pieces, benchmark control and their respective control fingerprints

编号	相似度							
	茯苓	清半夏	陈皮	炙甘草	当归	熟地黄	生姜	JLD
Y01	1.000	0.983	1.000	0.990	0.989	0.996	0.993	0.998
Y02	1.000	0.987	1.000	0.997	0.985	0.996	0.993	0.997
Y03	1.000	0.988	1.000	0.999	0.992	0.985	0.991	0.996
Y04	1.000	0.989	0.999	0.998	0.991	0.983	0.992	0.996
Y05	1.000	0.989	1.000	0.999	0.998	0.995	0.986	0.998
Y06	1.000	0.994	0.999	0.992	0.971	0.984	0.990	0.989
Y07	1.000	0.995	0.999	0.989	0.943	0.980	0.993	0.983
Y08	1.000	0.993	1.000	0.998	0.980	0.997	0.994	0.998
Y09	1.000	0.994	0.999	0.998	0.967	0.995	0.997	0.998
Y10	1.000	0.994	1.000	0.988	0.968	0.989	0.999	0.995
Y11	1.000	0.980	1.000	0.999	0.992	0.973	0.990	0.992
Y12	1.000	0.979	1.000	0.994	0.994	0.994	0.989	0.998
Y13	1.000	0.979	1.000	0.993	0.987	0.983	0.980	0.996
Y14	1.000	0.982	1.000	0.991	0.988	0.992	0.982	0.998
Y15	1.000	0.979	1.000	0.999	0.995	0.990	0.967	0.997
Y16	1.000	0.989	1.000	0.979	0.989	0.994	0.999	0.997
Y17	1.000	0.989	1.000	0.986	0.989	0.979	0.999	0.997
Y18	1.000	0.986	1.000	0.983	0.981	0.977	0.994	0.995
Y19	1.000	0.982	1.000	0.988	0.972	0.996	0.984	0.993
Y20	1.000	0.986	1.000	0.977	0.981	0.996	0.998	0.997
均值	1.000	0.987	1.000	0.992	0.983	0.989	0.991	0.995
RSD/%	0.00	0.56	0.04	0.69	1.33	0.76	0.79	0.38

为分析饮片-基准样品指纹图谱的传递关系,分别将 20 批茯苓、清半夏、陈皮、炙甘草、当归、熟地黄、生姜饮片单煎液色谱图数据,导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”(2012 版)软件,均设置第 1 批为参照图谱,自动匹配,采用均值法生成指纹图谱与对照指纹图谱,与 JLD 20 批基准样品的对照指纹图谱进行比对分析,结果见图 8。将各批次 JLD 基准样品与各单味中药所用批次的对照指纹图

谱作对比，进行特征峰的相似度比对。指纹图谱以.cdf 格式导入中药色谱指纹图谱相似度评价系统（2012 版），时间窗宽度设置为 0.2 min，以 JLD 基

准样品相似度为参照（R=1），基准样品中对应批次饮片与指纹图谱特征峰进行标志峰匹配，计算相似度，结果见表 6，相似度结果在 0.912~1.000。

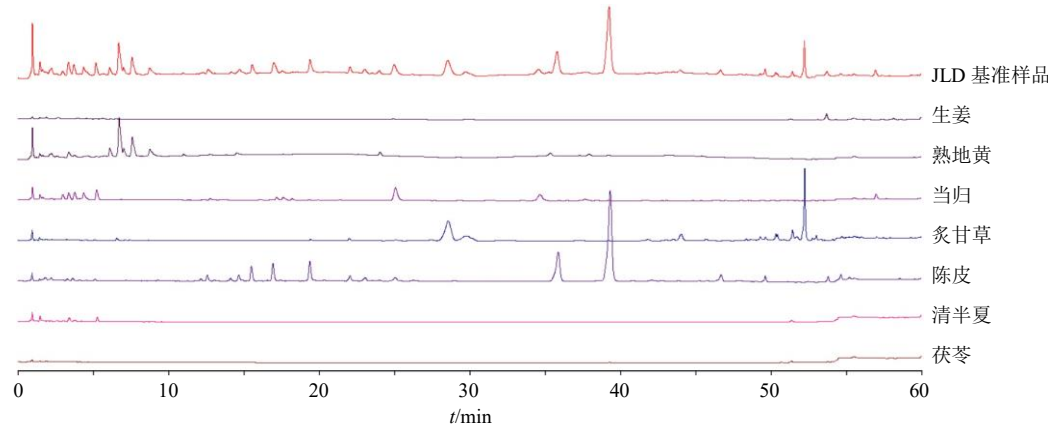


图 8 单味饮片煎液的对照图谱与基准样品的对照图谱的叠加图

Fig. 8 Overlay chart of reference spectras of single herbal decoction pieces and reference chromatogram of substance benchmark

表 6 JLD 基准样品（煎液）与对应批次饮片的特征峰相似度

Table 6 Similarity of characteristic peaks between JLD substance benchmark sample (decoction) and corresponding batches of decoction pieces

批次	相似度								批次	相似度							
	JLD 全方	茯苓	清半夏	陈皮	炙甘草	当归	熟地黄	生姜		JLD 全方	茯苓	清半夏	陈皮	炙甘草	当归	熟地黄	生姜
S1	0.998	1.000	0.999	0.989	0.996	0.958	0.994	1.000	S12	0.998	1.000	0.998	0.991	0.981	0.960	0.983	1.000
S2	0.997	1.000	0.999	0.993	0.997	0.953	0.990	1.000	S13	0.996	1.000	0.994	0.993	0.990	0.954	0.996	1.000
S3	0.996	1.000	1.000	0.995	0.983	0.946	0.993	1.000	S14	0.998	1.000	0.996	0.991	0.994	0.967	0.992	1.000
S4	0.996	1.000	1.000	0.992	0.996	0.957	0.990	1.000	S15	0.997	1.000	0.997	0.994	0.992	0.962	0.988	1.000
S5	0.998	1.000	1.000	0.993	0.995	0.946	0.986	1.000	S16	0.997	1.000	0.992	0.994	0.970	0.930	0.994	1.000
S6	0.989	1.000	1.000	0.991	0.992	0.953	0.998	1.000	S17	0.997	1.000	0.995	0.991	0.983	0.959	0.972	1.000
S7	0.983	1.000	0.992	0.994	0.960	0.950	0.999	1.000	S18	0.995	1.000	0.990	0.993	0.996	0.922	0.995	1.000
S8	0.998	1.000	1.000	0.993	0.993	0.959	0.992	1.000	S19	0.993	1.000	0.993	0.993	0.989	0.935	0.991	1.000
S9	0.998	1.000	0.999	0.995	0.996	0.939	0.992	1.000	S20	0.997	1.000	0.992	0.992	0.976	0.939	0.995	1.000
S10	0.995	1.000	1.000	0.992	0.986	0.912	0.996	1.000	均值	0.995	1.000	0.997	0.993	0.987	0.947	0.992	1.000
S11	0.992	1.000	0.998	0.993	0.984	0.940	0.997	1.000	RSD/%	0.38	0	0.34	0.15	1.00	1.51	0.62	0

2.6 JLD 饮片-基准样品中指标成分转移率考察

为了更为直观地比较饮片到基准样品的量值传递情况，对单味饮片-单味饮片煎液-JLD 基准样品中的指标成分进行分析，按照公式计算转移率。

单味饮片-单煎液转移率 = W_2/W_1

单煎液-基准样品转移率 = W_3/W_2

单味饮片-基准样品转移率 = W_3/W_1

W_1 为饮片中指标性成分的含量， W_2 为饮片单煎液中指标性成分的含量， W_3 为基准样品中指标成分的含量

由表 7、8 结果可知，当归中指标成分阿魏酸单味饮片-单煎液转移率为 81.43%~103.79%，平均转移率为 92.97%，RSD 为 7.07%；陈皮中指标成分阿

魏酸单味饮片-单煎液转移率为 81.30%~98.02%，平均转移率为 89.32%，RSD 为 4.11%；指标成分阿魏酸单煎液-基准样品转移率为 48.03%~66.79%，平均转移率为 56.41%，RSD 为 9.08%；指标成分阿魏酸单味饮片-基准样品转移率为 43.10%~58.87%，平均转移率为 51.86%，RSD 为 8.86%。炙甘草中指标成分甘草苷单味饮片-单煎液转移率为 69.06%~90.13%，平均转移率为 81.03%，RSD 为 7.97%；单煎液-基准样品转移率为 50.37%~65.26%，平均转移率为 56.76%，RSD 为 8.78%；单味饮片-基准样品转移率为 41.30%~50.87%，平均转移率为 45.78%，RSD 为 6.70%。炙甘草中指标成

表 7 单味饮片、单煎液、JLD 基准样品中各指标成分含量 (以 JLD 处方量为计算基准)

Table 7 Contents of each index component in single herb decoction pieces, decoctions and substance benchmark (based on JLD prescribed dosage)

样品	甘草苷/(mg·g ⁻¹)			甘草酸/(mg·g ⁻¹)			阿魏酸/(mg·g ⁻¹)				
	甘草饮片	单煎液	基准样品	甘草饮片	单煎液	基准样品	当归饮片	陈皮饮片	当归单煎液	陈皮单煎液	基准样品
S1	9.550	8.054	0.304	18.949	12.796	0.381	0.590	0.243	0.586	0.216	0.062
S2	10.182	9.177	0.366	22.815	16.287	0.552	0.630	0.241	0.536	0.214	0.062
S3	9.440	7.668	0.338	21.000	13.244	0.394	0.531	0.252	0.449	0.213	0.046
S4	9.316	8.070	0.294	21.040	14.019	0.474	0.560	0.238	0.497	0.221	0.046
S5	8.201	7.078	0.301	22.681	15.657	0.471	0.531	0.202	0.523	0.198	0.056
S6	9.273	8.257	0.301	20.000	14.676	0.384	0.441	0.205	0.430	0.189	0.043
S7	10.260	7.239	0.313	22.040	14.102	0.394	0.460	0.209	0.393	0.186	0.040
S8	8.000	6.863	0.263	19.319	12.869	0.344	0.471	0.239	0.456	0.221	0.046
S9	8.512	6.917	0.254	20.027	14.949	0.394	0.420	0.246	0.418	0.200	0.043
S10	9.997	7.416	0.325	22.391	17.343	0.518	0.480	0.227	0.408	0.198	0.053
S11	9.442	7.791	0.347	21.005	13.357	0.434	0.590	0.195	0.535	0.173	0.056
S12	9.783	7.936	0.328	21.759	16.568	0.437	0.560	0.229	0.456	0.207	0.059
S13	7.847	6.788	0.251	19.027	12.887	0.341	0.590	0.223	0.535	0.200	0.050
S14	8.812	7.584	0.316	22.029	14.477	0.412	0.610	0.225	0.570	0.200	0.062
S15	9.638	8.024	0.307	20.995	14.456	0.425	0.560	0.225	0.560	0.198	0.062
S16	9.054	6.582	0.298	17.362	11.212	0.316	0.621	0.227	0.550	0.191	0.059
S17	10.343	7.614	0.359	18.861	11.153	0.369	0.610	0.223	0.574	0.204	0.062
S18	9.217	6.748	0.307	20.236	12.327	0.406	0.580	0.229	0.602	0.198	0.056
S19	8.606	7.145	0.260	14.654	10.247	0.282	0.570	0.225	0.575	0.209	0.059
S20	8.912	6.155	0.270	17.346	11.268	0.313	0.631	0.229	0.602	0.207	0.062
均值	9.219	7.455	0.305	20.177	13.695	0.402	0.552	0.227	0.513	0.202	0.054
RSD/%	7.93	9.45	10.99	10.30	14.10	16.89	11.78	6.57	13.37	5.95	14.15

样品	地黄苷D/(mg·g ⁻¹)			橙皮苷/(mg·g ⁻¹)			芸香柚皮苷/(mg·g ⁻¹)		
	熟地黄饮片	单煎液	基准样品	陈皮饮片	单煎液	基准样品	陈皮饮片	单煎液	基准样品
S1	0.660	0.566	0.105	40.007	14.716	0.781	7.702	5.271	0.328
S2	0.781	0.531	0.112	38.807	13.500	0.936	7.302	4.988	0.390
S3	0.700	0.563	0.118	40.214	14.588	0.908	7.704	5.513	0.359
S4	0.880	0.688	0.152	38.727	14.330	0.809	7.205	4.405	0.313
S5	0.686	0.613	0.108	37.527	14.436	0.899	7.105	5.030	0.372
S6	0.491	0.357	0.068	38.748	13.200	0.716	6.909	4.591	0.291
S7	0.470	0.336	0.059	38.314	11.934	0.700	7.102	4.979	0.291
S8	0.818	0.658	0.143	39.421	14.475	0.793	7.504	5.588	0.322
S9	0.751	0.550	0.105	40.766	13.807	0.803	7.111	4.755	0.307
S10	0.674	0.588	0.102	44.407	14.214	0.840	7.602	5.179	0.328
S11	0.568	0.449	0.099	40.607	12.714	0.883	6.902	5.000	0.366
S12	0.850	0.710	0.149	39.243	14.173	0.902	7.400	5.582	0.335
S13	0.550	0.405	0.090	41.229	14.168	0.818	7.105	4.943	0.325
S14	1.045	0.734	0.155	37.734	14.971	0.896	7.041	5.655	0.347
S15	0.760	0.677	0.133	40.214	14.070	0.967	7.604	5.188	0.375
S16	0.670	0.523	0.115	40.564	13.875	0.954	7.513	5.163	0.390
S17	0.708	0.555	0.118	40.729	13.857	0.883	7.705	5.107	0.359
S18	0.910	0.831	0.146	43.523	14.346	0.852	7.704	5.113	0.332
S19	0.806	0.643	0.112	43.007	14.021	0.902	7.502	4.943	0.344
S20	0.807	0.660	0.136	42.307	13.950	0.883	7.702	4.838	0.335
均值	0.729	0.582	0.116	40.305	13.967	0.856	7.371	5.092	0.340
RSD/%	19.65	21.84	22.75	4.67	5.04	8.52	3.90	6.40	8.60

表 8 单味饮片-单煎液-JLD 基准样品中各指标成分转移率

Table 8 Transfer rates of each index component in single herbal decoction pieces, decoctions and substance benchmark										
样品	甘草苷转移率/%			甘草酸转移率/%			阿魏酸转移率/%			
	饮片-煎液	单煎液-基准样品	单味饮片-基准样品	饮片-煎液	单煎液-基准样品	单味饮片-基准样品	当归饮片-煎液	陈皮饮片-煎液	单煎液-基准样品	单味饮片-基准样品
S1	84.34	52.25	44.06	67.53	41.21	27.83	99.32	88.89	57.35	55.55
S2	90.13	55.20	49.76	71.39	46.91	33.49	85.08	88.80	61.59	52.92
S3	81.23	61.01	49.56	63.07	41.18	25.97	84.56	84.52	52.29	44.21
S4	86.63	50.43	43.68	66.63	46.80	31.18	88.75	92.86	48.03	43.10
S5	86.31	58.86	50.80	69.03	41.64	28.74	98.49	98.02	57.71	56.78
S6	89.04	50.46	44.93	73.38	36.22	26.58	97.51	92.20	52.04	50.03
S7	70.56	59.85	42.23	63.98	38.67	24.74	85.43	89.00	51.98	44.88
S8	85.79	53.04	45.50	66.61	37.00	24.65	96.82	92.47	51.19	48.95
S9	81.26	50.83	41.30	74.64	36.48	27.23	99.52	81.30	52.38	49.22
S10	74.18	60.66	45.00	77.46	41.34	32.02	85.00	87.22	65.90	56.40
S11	82.51	61.65	50.87	63.59	44.98	28.60	90.68	88.72	58.29	52.63
S12	81.12	57.21	46.41	76.14	36.51	27.80	81.43	90.39	66.79	55.79
S13	86.50	51.18	44.28	67.73	36.63	24.81	90.68	89.69	50.51	45.69
S14	86.06	57.67	49.64	65.72	39.39	25.89	93.44	88.89	59.59	55.09
S15	83.25	52.96	44.09	68.85	40.69	28.02	100.00	88.00	60.55	58.87
S16	72.70	62.67	45.56	64.58	39.01	25.19	88.57	84.14	58.89	51.60
S17	73.62	65.26	48.04	59.13	45.80	27.08	94.10	91.48	59.01	55.20
S18	73.21	62.97	46.10	60.92	45.59	27.77	103.79	86.46	51.63	51.55
S19	83.02	50.37	41.82	69.93	38.09	26.64	100.88	92.89	55.79	55.26
S20	69.06	60.72	41.94	64.96	38.45	24.98	95.40	90.39	56.65	53.44
均值	81.03	56.76	45.78	67.76	40.63	27.46	92.97	89.32	56.41	51.86
RSD/%	7.97	8.78	6.70	7.29	8.96	8.94	7.07	4.11	9.08	8.86

样品	地黄苷D转移率/%			橙皮苷转移率/%			芸香柚皮苷转移率/%		
	饮片-煎液	单煎液-基准样品	单味饮片-基准样品	饮片-煎液	单煎液-基准样品	单味饮片-基准样品	饮片-煎液	单煎液-基准样品	单味饮片-基准样品
S1	85.76	64.20	55.05	36.78	48.93	18.00	68.44	57.37	39.26
S2	67.99	72.99	49.62	34.79	63.92	22.24	68.31	72.09	49.24
S3	80.43	72.53	58.33	36.28	57.39	20.82	71.56	60.04	42.96
S4	78.18	76.45	59.77	37.00	52.05	19.26	61.14	65.51	40.05
S5	89.36	60.97	54.48	38.47	57.42	22.09	70.80	68.19	48.27
S6	72.71	65.91	47.92	34.07	50.01	17.04	66.45	58.44	38.83
S7	71.49	60.76	43.44	31.15	54.08	16.84	70.11	53.88	37.78
S8	80.44	75.20	60.49	36.72	50.51	18.55	74.47	53.13	39.56
S9	73.24	66.06	48.38	33.87	53.62	18.16	66.87	59.53	39.80
S10	87.24	60.03	52.37	32.01	54.49	17.44	68.13	58.39	39.78
S11	79.05	76.30	60.31	31.31	64.03	20.05	72.44	67.49	48.89
S12	83.53	72.62	60.66	36.12	58.68	21.19	75.43	55.33	41.74
S13	73.64	76.90	56.63	34.36	53.23	18.29	69.57	60.62	42.17
S14	70.24	73.08	51.33	39.68	55.18	21.89	80.32	56.57	45.44
S15	89.08	67.98	60.56	34.99	63.36	22.17	68.23	66.64	45.47
S16	78.06	76.09	59.40	34.21	63.39	21.68	68.72	69.64	47.86
S17	78.39	73.57	57.67	34.02	58.75	19.99	66.28	64.81	42.96
S18	91.32	60.80	55.52	32.96	54.75	18.05	66.37	59.87	39.73
S19	79.78	60.28	48.09	32.60	59.31	19.34	65.89	64.16	42.28
S20	81.78	71.31	58.32	32.97	58.36	19.24	62.81	63.84	40.10
均值	79.58	69.20	54.92	34.72	56.57	19.62	69.12	61.78	42.61
RSD/%	8.44	9.03	9.53	6.64	8.29	9.26	6.29	8.78	8.61

分甘草酸单味饮片-单煎液转移率为 59.13%~77.46%，平均转移率为 67.76%，RSD 为 7.29%；单煎液-基准样品转移率为 36.22%~46.91%，平均转移率为 40.63%，RSD 为 8.96%；单味饮片-基准样品转移率为 24.65%~33.49%，平均转移率为 27.46%，RSD 为 8.94%。熟地黄中指标成分地黄苷 D 单味饮片-单煎液转移率为 67.99%~91.32%，平均转移率为 79.58%，RSD 为 8.44%；单煎液-基准样品转移率为 60.03%~76.90%，平均转移率为 69.20%，RSD 为 9.03%；单味饮片-基准样品转移率为 43.44%~60.66%，平均转移率为 54.92%，RSD 为 9.53%。陈皮中指标成分橙皮苷单味饮片-单煎液转移率为 31.15%~39.68%，平均转移率为 34.72%，RSD 为 6.64%；单煎液-基准样品转移率为 48.93%~64.03%，平均转移率为 56.57%，RSD 为 8.29%；单味饮片-基准样品转移率为 16.84%~22.24%，平均转移率为 19.62%，RSD 为 9.26%。陈皮中指标成分芸香柚皮苷单味饮片-单煎液转移率为 61.14%~80.32%，平均转移率为 69.12%，RSD 为 6.29%；单煎液-基准样品转移率为 53.13%~72.09%，平均转移率为 61.78%，RSD 为 8.78%；单味饮片-基准样品转移率为 37.78%~49.24%，平均转移率为 42.61%，RSD 为 8.61%。

2.7 出膏率测定

分别取 20 批 JLD 基准样品煎液和各饮片 20 批单煎液，精密吸取 50 mL 置于蒸发皿中，水浴蒸干，105 °C 烘箱中干燥 5 h 后，置干燥器中至恒定质量，称定质量，计算得到各批次 JLD 基准样品出膏率。

$$\text{出膏率} = mV/Mv$$

m 表示干膏质量， M 表示饮片质量， v 代表取样体积， V 代表煎液总体积

全处方共计 51.63 g，在全方组成中，熟地黄占比 24.21%、当归占比 12.10%、陈皮占比 9.09%、清半夏占比 12.10%、茯苓占比 12.10%、炙甘草占比 6.05%、生姜占比 24.34%，全方的理论出膏率应为各单味中药通过折算而来，理论出膏率=熟地黄出膏率×24.21%+当归出膏率×12.10%+陈皮出膏率×9.09%+清半夏出膏率×12.10%+茯苓出膏率×12.10%+炙甘草出膏率×6.05%+生姜出膏率×24.34%，结果见表 9。20 批 JLD 基准样品的出膏率均值为 31.48%，RSD 为 5.28%，全方的理论出膏率应在 36.56%~40.33%，以实际出膏率与理论出膏率的比值作为该 7 味中药饮片总出膏到基准样品出膏

的传递率，其平均传递率为 83.09%，RSD 为 5.22%。

3 讨论

3.1 基准样品制备工艺及评价指标

在《按古代经典名方目录管理的中药复方制剂药学研究技术指导原则（试行）》等的指导之下，结合文献考证，对 JLD 基准样品的制备工艺进行了考察，包括饮片吸水率、浸泡时间、煎煮时间、是否加盖、煎煮方式/器具、滤过方式/滤材等，评价指标为阿魏酸、甘草苷、芸香柚皮苷、橙皮苷、甘草酸、地黄苷 D 6 个指标成分、指纹图谱相似度以及出膏率。形成了对 JLD 全方信息、指标成分定量、出膏情况的综合评价系统，确定了经典名方 JLD 的制备工艺的各项参数，为物质基准、现代制剂等后续研究奠定了实验基础。

3.2 指标成分选择

JLD 中 7 味药中有当归、熟地黄、陈皮、甘草、生姜等 5 味药在《中国药典》2025 年版中规定了指标成分的含量测定，故为了更加全面的评价物质基准的质量，除指纹图谱相似度外，还选择了其中分离度达到 1.5 以上，且无阴性干扰的阿魏酸、甘草苷、地黄苷 D、芸香柚皮苷、橙皮苷、甘草酸等指标成分进行定量分析，且该 6 个特征峰峰面积占有所有峰面积的 43% 以上，故测定该 6 种成分可更为直接的反映出 JLD 物质基准的中有效成分的高低，再通过结合指纹图谱相似度反映的全方信息和出膏率反映的全方煎出量，可以实现对 JLD 质量进行多方面整体评价。

3.3 色谱条件优化

采用 UHPLC 法建立 JLD 指纹图谱，在前期色谱条件实验过程中，分别采用乙腈和甲醇作有机相比较，发现乙腈条件下基线整体较好；分别采用不同浓度磷酸水溶液、甲酸水溶液和乙酸水溶液作水相比较，发现 0.1% 磷酸的基线平稳，色谱峰分离最好，最终确定采用乙腈-0.1% 磷酸水溶液进行梯度洗脱。另外考察不同检测波长时，因指纹图谱出峰较多，各成分指标吸收波长差异较大，既要保证整体成分信息较为全面，还要保证含量测定指标成分有较大吸收，综合考虑色谱峰峰形、色谱图基线、分离情况等多因素，最终确定用最佳的波长切换法对多成分进行含量测定。

本实验中地黄苷 D 的含量测定，其色谱条件在前期分别采用不同比例的甲醇-0.1% 磷酸水溶液、甲醇-水做流动相，经过对比发现，采用甲醇-水进行等

表9 JLD 基准样品煎液出膏率
Table 9 Extraction rate of JLD reference benchmark decoction

序号	饮片出膏率/%							全方理论 出膏率/%	实际出 膏率/%	转移 率/%
	熟地黄	当归	陈皮	清半夏	茯苓	炙甘草	生姜			
1	68.12	51.50	49.43	48.62	5.19	33.70	5.63	37.14	30.48	82.07
2	73.66	50.02	51.59	50.88	4.87	32.19	5.07	38.50	33.91	88.08
3	68.69	51.86	50.64	48.62	4.90	28.38	5.62	37.07	32.67	88.13
4	74.34	50.13	48.77	42.48	5.21	29.14	5.36	37.34	31.04	83.13
5	76.76	53.69	50.00	46.83	4.98	27.80	6.16	39.08	31.70	81.12
6	68.78	50.19	48.97	47.30	5.42	29.35	5.05	36.56	28.44	77.79
7	70.72	45.78	46.47	48.48	5.20	29.26	6.20	36.66	29.40	80.20
8	73.92	51.76	50.12	49.75	5.54	28.38	5.22	38.39	31.12	81.06
9	80.78	49.39	49.02	46.88	5.87	31.81	5.49	39.63	31.13	78.55
10	67.90	50.59	49.26	48.86	5.46	30.57	6.23	36.98	33.57	90.78
11	71.71	50.76	44.66	50.53	4.99	28.51	5.75	37.41	31.12	83.19
12	70.87	50.31	50.01	48.21	5.55	29.50	6.23	37.60	32.06	85.27
13	67.70	53.08	46.62	49.82	5.53	31.02	5.84	37.05	28.39	76.63
14	69.74	51.17	51.33	46.81	4.74	31.76	5.12	37.14	32.02	86.21
15	80.79	53.74	51.83	42.50	5.74	28.78	5.02	39.57	34.56	87.34
16	67.86	50.34	49.84	49.05	4.90	30.67	5.19	36.70	32.01	87.22
17	70.96	54.50	50.72	50.46	5.55	27.00	5.70	38.18	33.54	87.85
18	68.81	51.67	49.81	49.48	5.09	29.34	5.94	37.26	30.82	82.72
19	77.77	59.11	49.24	50.59	5.16	28.69	5.73	40.33	31.02	76.92
20	75.03	51.71	51.82	54.31	4.99	28.43	5.56	39.38	30.57	77.63
均值	72.25	51.56	49.51	48.52	5.24	29.71	5.60	37.90	31.48	83.09
RSD/%	5.84	5.01	3.72	5.56	6.10	5.70	7.36	3.04	5.28	5.22

度洗脱时,供试品色谱图基线平稳,地黄苷 D 峰分离度好,阴性无干扰;考察了不同体积流量,发现当体积流量升高时,地黄苷 D 色谱峰分离度较低,基线较差,体积流量 0.2 mL/min 时分离效果最好,基线平稳。

3.4 量值传递研究

相似度以不低于 0.9 为衡量标准,20 批基准样品中对应批次饮片与指纹图谱特征峰的相似度结果在 0.912~1.000,均符合规定。以出膏转移率在均值的±10%为衡量标准,20 批饮片到基准样品的出膏转移率均符合规定。以指标成分转移率在均值的±30%为衡量标准,20 批 JLD 基准样品中的 6 个指标成分不管是饮片到单煎液、单煎液到基准样品,还是饮片到基准样品,均符合规定。从饮片到基准样品的转移率较高的为地黄苷 D (54.92%) 和阿魏酸 (51.86%),其次为甘草苷 (45.78%) 和芸香柚皮苷 (42.61%),最低的为橙皮苷 (19.62%)。橙皮苷属于黄酮类化合物,分子内存在较多的共轭体系,在水中的溶解度仅为 (6.32±0.12) μg/mL^[19];

陈皮药材的细胞结构较为复杂,橙皮苷存在于细胞内部,即使在加热条件下,水分子也极难将其溶解带出;在水煎煮过程中,橙皮苷分子中的糖苷键可能会发生水解反应,酚羟基也容易被氧化,转化为其他化学成分^[20]。处方中清半夏和茯苓在煎煮过程中,有效成分均无法得到很好的溶出效果,致使清半夏和茯苓的指标性成分在指纹图谱中难以体现,《中国药典》至今亦无半夏和茯苓单一的特征性指标性成分的质控,这也是本研究乃至多数含有半夏和茯苓药味的经典名方研究面临的共性问题。

4 结论

经典名方基准样品是以古代医籍中记载的古代经典名方制备方法为依据制备而得的中药药用物质的标准,应与古代医籍记载基本一致。经典名方制剂的关键质量属性应与经典名方基准样品确定的关键质量属性一致^[21],其作用近乎于标准物质,而阐明方中关键分量值传递规律,可以保证基准样品的均一、稳定^[22-25]。因此,经典名方基准样品的研究,除采用质量源于设计 (quality by design,

QbD) 的理念外, 应该以古代医籍记载的制备方法为依据, 以主要药效物质群研究为基础, 以药材-饮片-物质基准主要物质群量值传递研究为核心, 以基准样品制备过程的有效成分转移率、出膏率及指纹图谱等技术指标评价为支撑, 进行系统设计、深入研究、科学评价。本研究在前期基础上, 阐明 JLD 基准样品的关键质量属性, 建立其指纹图谱并测定其甘草苷、甘草酸、芸香柚皮苷、橙皮苷、阿魏酸及地黄苷 D 6 个指标成分, 探究 JLD-基准样品量值传递规律, 研究结果表明基准样品制备工艺及处方转移率较为稳定, 可为后续 JLD 制剂的进一步开发提供参考。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 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) [2025-06-02]. <http://kjs.satcm.gov.cn/zhengcewenjian/2018-04-16/7107.html>.
- [2] 明·张介宾. 景岳全书 [M]. 新 1 版. 上海: 上海科学技术出版社, 1959: 986-988.
- [3] 马向梅, 丁元庆. 张介宾金水六君煎释义 [J]. 山东中医杂志, 2013, 32(6): 436.
- [4] 董自亮, 李红亮, 罗维早, 等. 经典名方金水六君煎的古代文献分析 [J]. 中国中药杂志, 2020, 45(23): 5639-5644.
- [5] 杨新跃, 李慧宇, 姜亚琪, 等. 基于 UPLC-Q-TOF-MS/MS 的经典名方金水六君煎基准样品体内外化学成分分析 [J/OL]. 中国实验方剂学杂志, (2025-05-21) [2025-06-02]. <https://doi.org/10.13422/j.cnki.syfjx.20251664>.
- [6] 宋小雪, 陈忠新, 闫丽莉, 等. RP-HPLC-UV 法测定经典名方金水六君煎中橙皮苷的含量 [J]. 化学工程师, 2021, 35(10): 23-26.
- [7] 夏霜, 姚红艳. 加味金水六君煎结合穴位贴敷治疗肺肾气虚型肺胀 22 例 [J]. 湖南中医杂志, 2023, 39(3): 13-15.
- [8] 徐峰圣, 吴润华, 杨萍, 等. 金水六君煎加减联合西药治疗支气管哮喘慢性持续期肺肾两虚证 30 例 [J]. 福建中医药, 2022, 53(4): 4-6.
- [9] 柏正平, 刘雨, 谭小宁, 等. 金水六君煎对慢性阻塞性肺疾病气道黏液高分泌大鼠肺组织黏蛋白 5A_C 及水通道蛋白 5 表达的影响 [J]. 中国中医药信息杂志, 2019, 26(8): 54-59.
- [10] 倪凤燕, 陈莎, 郭丛, 等. 金水六君煎历史沿革和处方考证 [J]. 中国现代中药, 2021, 23(5): 890-898.
- [11] 董自亮, 李红亮, 原欢欢, 等. UPLC 测定经典名方金水六君煎中 11 种成分 [J]. 中草药, 2021, 52(3): 711-717.
- [12] 王欣, 董自亮, 李红亮, 等. 金水六君煎物质基准中半夏和陈皮的薄层鉴别研究 [J]. 中国民族民间医药, 2024, 33(6): 47-52.
- [13] 王欣, 董自亮, 禹奇男, 等. 经典名方金水六君煎物质基准的薄层鉴别方法学研究 [J]. 亚太传统医药, 2022, 18(12): 58-67.
- [14] 李红亮, 金思岑. 超高效液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱法分析金水六君煎化学成分 [J]. 中国药业, 2022, 31(18): 30-36.
- [15] 国家药品监督管理局. 关于发布《古代经典名方中药复方制剂简化注册审批管理规定》的公告 [EB/OL]. (2018-05-29) [2025-06-02]. <http://www.nmpa.gov.cn/WS04/CL2093/228247.html>.
- [16] 国家药监局药审中心. 按《古代经典名方目录管理的中药复方制剂药学申报资料撰写指导原则 (试行)》 [EB/OL]. (2024-04-22) [2025-06-02]. <https://www.cde.org.cn/main/news/viewInfoCommon/2cc60f7849641d2b9c19bbbff124973d>.
- [17] 刘雨涵, 关雅戈, 韩晨, 等. 经典名方桃核承气汤物质基准关键质量属性传递规律分析 [J]. 中草药, 2022, 53(7): 2011-2021.
- [18] 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.
- [19] 杨萍, 黄清杰, 李喜香, 等. 橙皮苷药理作用及机制的研究进展 [J]. 中草药, 2023, 54(21): 7222-7231.
- [20] Rajabi M, Amiri S, Rezazadeh-Bari M. Optimization of hesperidin extraction using hot methanol method assisted with ultrasound waves from the peel wastes of bitter orange (*Citrus aurantium*) and Persian orange (*Citrus reticulata*) [J]. *J Food Meas Charact*, 2023, 17(6): 5582-5593.
- [21] 张荣华, 靳梓微, 张腾月, 等. 经典名方达原饮基准样品关键质量属性量值传递研究 [J]. 中草药, 2024, 55(6): 1977-1987.
- [22] 李军鸽, 赵莹, 王永春, 等. 黄连解毒汤物质基准量值传递分析 [J]. 中草药, 2022, 53(11): 3348-3356.
- [23] 汪欣怡, 孙国祥, 孙万阳, 等. 经典名方质控策略-基于“等位等价”理论和定量指纹一致性的控制技术 [J]. 药学研究, 2023, 42(1): 1-9.
- [24] 王延涛, 孔令梅, 程杰, 等. 经典名方猪苓汤基准样品质量评价方法研究 [J]. 中草药, 2022, 53(12): 3643-3652.
- [25] 刘明松, 邓亚伟, 忻晓东, 等. 经典名方三化汤基准样品量值传递研究 [J]. 中草药, 2023, 54(11): 3501-3511.

[责任编辑 郑礼胜]