

# 基于 HPLC 指纹图谱、化学计量学结合含量测定评价当归补血汤质量

刘倬伶<sup>1</sup>, 陈海明<sup>2</sup>, 陈小锐<sup>2\*</sup>, 甘国兴<sup>1,3\*</sup>, 邓桂珠<sup>1,3</sup>, 向燕芬<sup>1,3</sup>

(1. 广州中医药大学附属清远中医院, 广东 清远 511500; 2. 清远市食品药品检验所, 广东 清远 511520; 3. 广东省鲜药民族医药工程技术研究中心, 广东 清远 511500)

**摘要:** 目的 评价当归补血汤质量。方法 建立 HPLC 指纹图谱, 进行聚类分析、主成分分析、偏最小二乘-判别分析, 紫外-分光光度法测定总皂苷、总黄酮、总多糖含量。结果 9 批样品指纹图谱中有 9 个共有峰, 指出 6 个, 分别为毛蕊异黄酮苷、阿魏酸、洋川芎内酯 I、芒柄花苷、毛蕊异黄酮、芒柄花素, 相似度 0.968~0.996。各批样品聚为 2 类, 毛蕊异黄酮、毛蕊异黄酮苷、芒柄花素是主要质量差异成分。总皂苷、总黄酮、总多糖含量范围分别为 0.352 7~0.547 5、0.117 3~0.138 4、2.567 8~4.838 2 mg/mL。饮片当归补血汤综合评分最高。结论 不同方法制备的当归补血汤存在质量差异, 在临床实践中应合理应用。

**关键词:** 当归补血汤; 质量评价; HPLC 指纹图谱; 化学计量学; 含量测定

中图分类号: R283.6

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2026)02-0365-08

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2026.02.002

## Quality evaluation of Danggui Buxue Decoction based on HPLC fingerprints, chemometrics combined with content determination

LIU Zhuo-ling<sup>1</sup>, CHEN Hai-ming<sup>2</sup>, CHEN Xiao-rui<sup>2\*</sup>, GAN Guo-xing<sup>1,3\*</sup>, DENG Gui-zhu<sup>1,3</sup>, XIANG Yan-fen<sup>1,3</sup>

(1. Qingyuan Hospital of Traditional Chinese Medicine Affiliated to Guangzhou University of Chinese Medicine, Qingyuan 511500, China; 2. Qingyuan Municipal Institute of Food and Drug Inspection, Qingyuan 511520, China; 3. Guangdong Provincial Engineering and Technology Research Center for Fresh Medicines and National Medicines, Qingyuan 511500, China)

**ABSTRACT:** **AIM** To evaluate the quality of Danggui Buxue Decoction. **METHODS** The HPLC fingerprints were established, after which cluster analysis, principal component analysis and partial least squares discriminant analysis were performed, the content of total saponins, total flavonoids and total polysaccharides were determined by ultraviolet spectrophotometry method. **RESULTS** There were 9 common peaks in the fingerprints for 9 batches of samples with the similarities of between 0.968–0.996, 6 of which were identified, containing calycosin-7-*O*- $\beta$ -*D*-glucoside, ferulic acid, senkyunolide I, ononin, calycosin and formononetin. Various batches of samples were clustered into 2 categories, calycosin, calycosin-7-*O*- $\beta$ -*D*-glucoside and formononetin were taken as main quality differential components. The content ranges of total saponins, total flavonoids and total polysaccharide were 0.352 7–0.547 5, 0.117 3–0.138 4, 2.567 8–4.838 2 mg/mL, respectively. The highest comprehensive score was observable in decoction piece Danggui Buxue Decoction. **CONCLUSION** Danggui Buxue Decoction prepared by different preparation method exhibits quality differences, which should be reasonably applied in clinical practice.

**KEY WORDS:** Danggui Buxue Decoction; quality evaluation; HPLC fingerprints; chemometrics; content determination

收稿日期: 2025-07-29

基金项目: 清远市科技计划项目 (2021SJXM021)

作者简介: 刘倬伶 (2002—), 女, 硕士在读, 从事中药研究开发工作。E-mail: 1547985543@qq.com

\* 通信作者: 陈小锐 (1981—), 男, 主管中药师, 从事中药质量评价研究。E-mail: 379943030@qq.com

甘国兴 (1984—), 男, 硕士, 副主任中药师, 硕士生导师, 从事中药、民族药鲜药研究开发工作。E-mail: guoxinggan@126.com

当归补血汤始载于《内外伤辨惑论》，由黄芪一两、当归二钱组成，具有补气生血功效，入选第一批《古代经典名方目录》<sup>[1]</sup>。目前，当归补血汤制备方法有煮散和饮片煎煮，前者根据加水量不同又分为加400 mL水煮至200 mL<sup>[2]</sup>、加600 mL水煮至300 mL<sup>[3]</sup>，其差异是否会影响该方质量需加以阐明。

指纹图谱结合多指标含量测定为中药质量评价提供了新思路，被广泛应用于其不同基原、炮制品及经典名方的质量评价中<sup>[4]</sup>。本实验建立当归补血汤HPLC指纹图谱，紫外-分光光度法测定总皂苷、总黄酮、总多糖含量，再进行聚类分析、主成分分析、偏最小二乘-判别分析，以期评价该方质量，为其临床合理应用提供参考。

## 1 材料

Agilent 1260 高效液相色谱仪、Agilent Cary 60 紫外可见光光度计，均购自美国 Agilent 公司；TDZ5-WS 离心机，购自湖南平凡科技有限公司；Genie PURIST 超纯水机，购自上海乐枫生物科技有限公司；CP225D 电子分析天平（十万分之一），购自北京赛多利斯仪器系统有限公司；分体加热炉，购自汕头市蒙奇科技有限公司；R-1005 旋转蒸发仪，购自郑州长城科工贸有限公司。

黄芪甲苷（批号 110781-202219）、芦丁（批号 100080-202012）、D-无水葡萄糖（批号 110833-202109）对照品均购自中国食品药品检定研究院；毛蕊异黄酮苷（批号 J19HB174062）、毛蕊异黄酮（批号 D16GB171624）、芒柄花苷（批号 M031B207498）、芒柄花素（批号 N081B231271）、阿魏酸（批号 G13S11L124423）、洋川芎内酯 I（批号 M21HB178706）对照品均购自上海源叶生物科技有限公司，纯度  $\geq 98\%$ 。当归（批号 230301）、黄芪（批号 240401）饮片均购自广州市志宁药业有限公司，产地甘肃，均经清远市中医院李润虹副主任中药师鉴定为正品。磷酸（批号 C14283900，纯度 85%~90%）购自上海麦克林生化科技股份有限公司；乙腈（批号 L33055，纯度 99.9%）购自美国赛默飞世尔科技公司；乙醇（批号 2020020213，纯度  $\geq 95.0\%$ ）、甲醇（批号 2024110112，纯度  $\geq 99.5\%$ ）、硫酸（批号 20170305-1，纯度 95%~98%）、正丁醇（批号 2023050106，纯度  $\geq 99.5\%$ ）、氨水（批号 2022070525，纯度 25%~28%）、氢氧化钠（批号 201201011，纯度  $\geq 96\%$ ）均购自广州化学试剂厂；

香草醛（批号 C10649651，纯度  $\geq 99\%$ ）购自上海麦克林生化科技股份有限公司；蒽酮（批号 20051015）购自上海化学试剂采购供应五联化工厂；亚硝酸钠（纯度  $\geq 99\%$ ）购自天津市北联精细化学品开发有限公司；硝酸铝（纯度  $\geq 98\%$ ）购自上海振兴试剂厂；水为超纯水。

## 2 方法与结果

### 2.1 样品制备

2.1.1 药材颗粒 将当归切成 3 mm 左右厚片，阴干至水分符合 2020 年版《中国药典》要求，粉碎，制成能过 4 目筛但不能过 10 目筛的颗粒；将黄芪粉碎，制成能过 4 目筛但不能过 10 目筛的颗粒，即得。

2.1.2 煮散当归补血汤 参照文献 [3] 报道，分别取“2.1.1”项下黄芪颗粒 40 g、当归颗粒 8 g，加入 600 mL 水浸泡 20 min，武火煮沸后文火煎煮 45 min，200 目筛过滤，60 °C 减压浓缩至 200 mL，即得，煎煮时间由预实验确定，平行 3 份，编号 S1~S3。

2.1.3 新煮散当归补血汤 参照文献 [2] 报道，分别取“2.1.1”项下黄芪颗粒 40 g、当归颗粒 8 g，加入 400 mL 水浸泡 20 min，武火煮沸后文火煎煮 20 min，200 目筛过滤，60 °C 减压浓缩至 200 mL，即得，煎煮时间由预实验确定，平行 3 份，编号 S4~S6。

2.1.4 饮片当归补血汤 根据《医疗机构煎药室管理规范》中的一般药煎煮方法，分别取黄芪 40 g、当归 8 g，加入 480 mL 水浸泡 30 min，武火煮沸后文火煎煮 30 min，200 目筛过滤，药渣加入 384 mL 水，武火煮沸后文火煎煮 20 min，200 目筛过滤，合并滤液，60 °C 减压浓缩至 200 mL，即得，平行 3 份，编号 S7~S9。

2.2 对照品溶液制备 精密称取毛蕊异黄酮苷、毛蕊异黄酮、阿魏酸、洋川芎内酯 I、芒柄花苷、芒柄花素对照品适量，甲醇溶解，制成质量浓度分别为 0.60、0.58、0.62、0.52、0.54、0.63 mg/mL 的溶液，即得。

2.3 供试品溶液制备 精密量取“2.1.2”至“2.1.4”项下药液各 1 mL，置于 10 mL 离心管中，加入 8 mL 甲醇，3 000 r/min 离心 12 min，吸取上清液，甲醇定容至 10 mL，摇匀，0.22  $\mu\text{m}$  微孔滤膜过滤，即得。

2.4 色谱条件  $\text{C}_{18}$  色谱柱（5  $\mu\text{m}$ ，250 mm $\times$ 4.6 mm）；流动相 0.1% 磷酸（A）-乙腈（B），梯度

洗脱 (0 ~ 16 min, 80% ~ 72% A; 16 ~ 25 min, 72% ~ 68% A; 25 ~ 34 min, 68% ~ 66% A; 34 ~ 45 min, 66% ~ 52% A; 45 ~ 60 min, 52% ~ 40% A); 体积流量 1.0 mL/min; 柱温 35 °C; 检测波长 280 nm; 进样量 10 μL。

## 2.5 HPLC 指纹图谱建立

2.5.1 精密度试验 取新煮散当归补血汤供试品溶液适量, 在“2.4”项色谱条件下进样测定 6 次, 以 3 号峰 (毛蕊异黄酮苷) 为参照, 测得各共有峰相对保留时间 RSD 均小于 0.29%, 相对峰面积 RSD 均小于 1.84%, 表明仪器精密度良好。

2.5.2 稳定性试验 取新煮散当归补血汤供试品溶液适量, 于 0、4、8、12、16、20、24 h 在“2.4”项色谱条件下进样测定, 以 3 号峰 (毛蕊异黄酮苷) 为参照, 测得各共有峰相对保留时间 RSD 均小于 0.35%, 相对峰面积 RSD 均小于 2.11%, 表明溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.5.3 重复性试验 取新煮散当归补血汤 6 份, 按“2.3”项下方法制备供试品溶液, 在“2.4”项色谱条件下进样测定, 以 3 号峰 (毛蕊异黄酮苷) 为参照, 测得各共有峰相对保留时间 RSD 均小于 0.08%, 相对峰面积 RSD 均小于 2.74%, 表明该方法重复性良好。

2.5.4 图谱生成及相似度评价 取 9 批样品, 按“2.3”项下方法制备供试品溶液, 在“2.4”项色谱条件下进样测定, 将色谱数据导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”(2012 版), 采用平均数法和多点校正法, 设定时间窗宽度 2 min, 结果见图 1, 可知共有 9 个共有峰。与对照品 (图 2) 比对后, 指出 3、4、6~9 号峰分别为毛蕊异黄酮苷、阿魏酸、洋川芎内酯 I、芒柄花苷、毛蕊异黄酮、芒柄花素。再测定相似度, 结果见表 1, 可知在 0.968~0.996 之间。

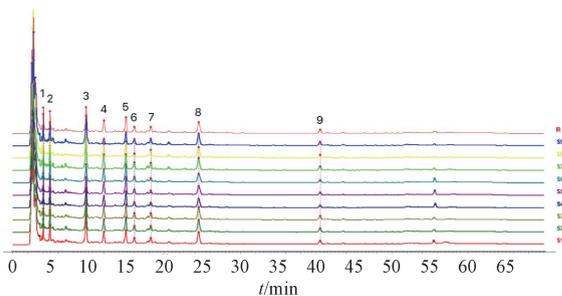
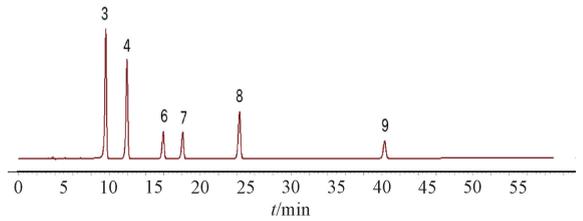


图 1 9 批当归补血汤 HPLC 指纹图谱

Fig. 1 HPLC fingerprints for 9 batches of Danggui Buxue Decoction



3. 毛蕊异黄酮苷 4. 阿魏酸 6. 洋川芎内酯 I 7. 芒柄花苷  
8. 毛蕊异黄酮 9. 芒柄花素  
3. calycosin-7-O-β-D-glucoside 4. ferulic acid 6. senkyunolide I  
7. ononin 8. calycosin 9. formononetin

图 2 对照品 HPLC 色谱图

Fig. 2 HPLC chromatogram of reference substances

表 1 9 批当归补血汤相似度

Tab. 1 Similarities of 9 batches of Danggui Buxue Decoction

编号	相似度	编号	相似度
S1	0.995	S6	0.968
S2	0.996	S7	0.990
S3	0.996	S8	0.994
S4	0.988	S9	0.975
S5	0.981		

## 2.6 化学计量学研究

2.6.1 聚类分析 以毛蕊异黄酮苷为参照, 将指认出的 6 个共有峰 (3、4、6~9 号峰) 峰面积导入 OriginPro 2024 软件进行分析, 生成聚类热图, 见图 3。由此可知, 9 批样品聚为 2 类, S1~S3、S7~S9 为第 1 类, 分别为煮散当归补血汤、饮片当归补血汤; S4~S6 为第 2 类, 均为新煮散当归补血汤。

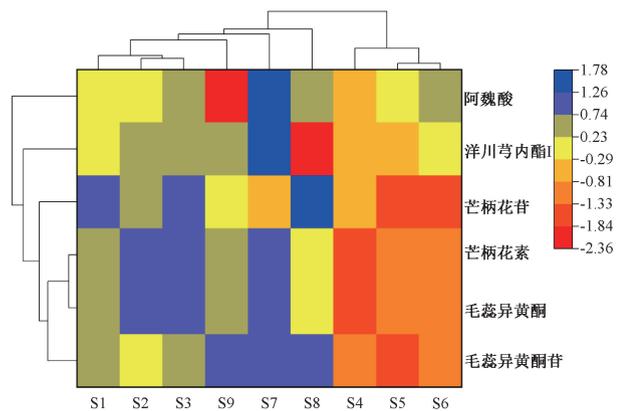


图 3 9 批当归补血汤聚类热图

Fig. 3 Cluster heatmap for 9 batches of Danggui Buxue Decoction

2.6.2 主成分分析 采用 SIMCA14.1 软件, 以指认出的 6 个共有峰 (3、4、6~9 号峰) 峰面积为变量进行分析, 结果见图 4。由此可知, 9 批样品

分为2类,其中S1~S3、S7~S9为第1类,分别为煮散当归补血汤、饮片当归补血汤;S4~S6为第2类,均为新煮散当归补血汤,与聚类分析一致。

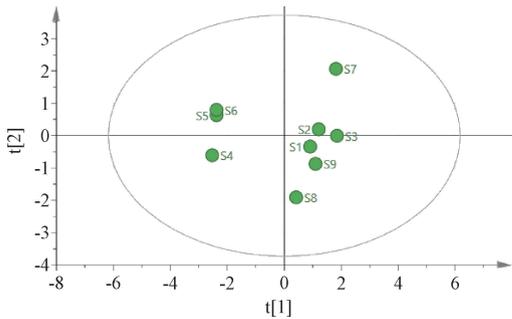


图4 9批当归补血汤主成分分析得分图

Fig. 4 Principal component analysis score plot for 9 batches of Danggui Buxue Decoction

2.6.3 偏最小二乘-判别分析 在主成分分析基础上,采用SIMCA14.1软件进行分析,结果见图5。由此可知,  $R^2X$  为  $0.725 > 0.5$ ,表明模型具有较好的稳定性;9批样品分为2类,与聚类分析、主成分分析一致。

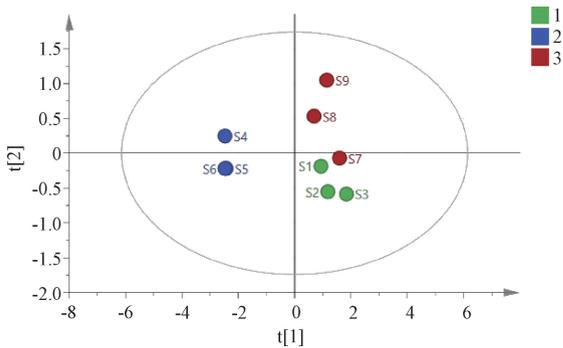


图5 9批当归补血汤偏最小二乘-判别分析得分图

Fig. 5 Partial least squares-discriminant analysis score plot for 9 batches of Danggui Buxue Decoction

再采用SIMCA14.1软件进行200次置换检验以验证是否过度拟合,结果见图6。由此可知,左边随机排列的  $R^2$  和  $Q^2$  均小于右边的,后者回归线与纵轴(左侧)相交点低于零刻度,表明模型可靠,未出现过度拟合现象。

变量重要性投影值(VIP值)是筛选质量差异标志物的重要指标<sup>[5]</sup>,可直观反映共有峰引起的组间差异权重。本实验以VIP值 $>1$ 为标准,筛选出3个质量差异标志物,分别为3号峰(毛蕊异黄酮苷, VIP值1.59)、9号峰(芒柄花素, VIP值1.11)和8号峰(毛蕊异黄酮, VIP值1.02),见图7。

2.7 总皂苷含量测定 采用紫外-分光光度法。

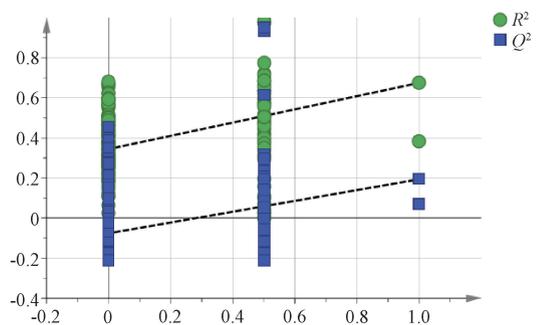


图6 置换检验图

Fig. 6 Plot for replacement tests

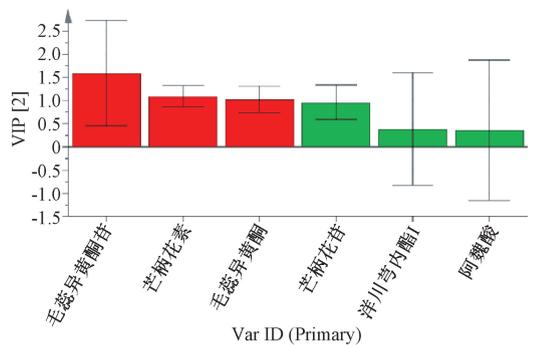


图7 偏最小二乘-判别分析模型VIP值

Fig. 7 VIP values of partial least squares-discriminant analysis models

2.7.1 对照品溶液制备 精密称取黄芪甲苷对照品适量,甲醇制成每1 mL含0.49 mg该成分的溶液,即得。

2.7.2 供试品溶液制备 取本品约10 mL,精密称定,置于具塞锥形瓶中,精密加入甲醇、水饱和和正丁醇各25 mL,转移至分液漏斗中,15 mL氨水洗涤,弃去氨液,正丁醇液蒸干,残渣用甲醇溶解后转移至25 mL量瓶中,甲醇定容至刻度,摇匀,即得。

2.7.3 线性关系考察 分别精密量取对照品溶液1.0、2.0、4.0、8.0、10.0 mL,置于10 mL量瓶中,甲醇定容至刻度,摇匀,参照文献[6]报道在564 nm波长处测定吸光度。以吸光度为纵坐标(A),对照品质量浓度为横坐标(X)进行回归,得方程为  $A = 1.5746X - 0.0751$  ( $R^2 = 0.9995$ ),在0.05~0.49 mg/mL范围内线性关系良好。

2.7.4 方法学考察 参照文献[7]报道进行精密度、重复性、稳定性(1 h内)、加样回收率试验。结果,精密度试验中峰面积RSD为0.78%,表明仪器精密度良好;重复性试验中峰面积RSD为0.79%,表明该方法重复性良好;稳定性试验中峰面积RSD为1.58%,表明溶液在1 h内稳定性良好;

平均加样回收率为 94.86%，RSD 为 1.03%。

2.7.5 样品含量测定 取 9 批样品，按“2.7.2”项下方法制备供试品溶液，按“2.7.3”项下方法测定吸光度，计算含量，并通过 SPSS 27.0 软件进

表 2 总皂苷、总黄酮、总多糖含量测定结果 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=3$ )

Tab. 2 Results for content determination of total saponins, total flavonoids and total polysaccharides ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=3$ )

样品	总皂苷/(mg·mL <sup>-1</sup> )	总黄酮/(mg·mL <sup>-1</sup> )	总多糖/(mg·mL <sup>-1</sup> )
煮散当归补血汤	0.460 2±0.027 1 <sup>###</sup>	0.129 8±0.002 5 <sup>###</sup>	3.731 5±0.006 8 <sup>###</sup>
新煮散当归补血汤	0.352 7±0.001 6 <sup>##</sup>	0.117 3±0.001 0 <sup>##</sup>	2.567 8±0.026 3 <sup>##</sup>
饮片当归补血汤	0.547 5±0.007 5	0.138 4±0.001 7	4.838 2±0.008 0

注：与饮片当归补血汤比较，<sup>##</sup> $P<0.01$ ；与新煮散当归补血汤比较，<sup>###</sup> $P<0.01$ 。

2.8 总黄酮含量测定 采用紫外-分光光度法。

2.8.1 对照品溶液制备 精密称取芦丁对照品 10.2 mg，75%乙醇制成每 1 mL 含 0.38 mg 该成分的溶液，即得。

2.8.2 供试品溶液制备 精密称取本品 10 mL，置于具塞锥形瓶中，精密加入 50 mL 75%乙醇，超声提取 30 min，放冷，75%乙醇补足减失的质量，过滤，收集续滤液，即得。

2.8.3 线性关系考察 分别精密量取芦丁对照品溶液 0.4、1.3、2.2、3.1、4.0 mL，置于 10 mL 量瓶中，75%乙醇定容，取 5 mL，置于 10 mL 量瓶中，先加入 0.3 mL 5%亚硝酸钠溶液，静置 6 min，再加入 0.3 mL 10%硝酸铝溶液，静置 6 min，最后加入 4 mL 1 mol/L 氢氧化钠溶液，75%乙醇定容至 10 mL，静置 10 min，在 510 nm 波长处测定吸光度。以吸光度为纵坐标 ( $A$ )，对照品质量浓度为横坐标 ( $X$ ) 进行回归，得方程为  $A = 5.556 3X - 0.005 2$  ( $R^2 = 0.999 0$ )，在 0.015 ~ 0.150 mg/mL 范围内线性关系良好。

2.8.4 方法学考察 参照文献 [7] 报道进行精密度、重复性、稳定性 (1 h 内)、加样回收率试验。结果，精密度试验中峰面积 RSD 为 0.67%，表明仪器精密度良好；重复性试验中峰面积 RSD 为 1.75%，表明该方法重复性良好；稳定性试验中峰面积 RSD 为 0.71%，表明溶液在 1 h 内稳定性良好；平均加样回收率为 100.39%，RSD 为 0.24%。

2.8.5 样品含量测定 取 9 批样品，按“2.8.2”项下方法制备供试品溶液，按“2.8.3”项下方法测定吸光度，计算含量，并通过 SPSS 27.0 软件进行独立样本  $t$  检验，结果见表 2。由此可知，饮片当归补血汤总黄酮含量高于煮散当归补血汤、新煮散当归补血汤 ( $P<0.01$ )，煮散当归补血汤总黄酮含量高于新煮散当归补血汤 ( $P<0.01$ )。

行独立样本  $t$  检验，结果见表 2。由此可知，饮片当归补血汤总皂苷含量高于煮散当归补血汤、新煮散当归补血汤 ( $P<0.01$ )，煮散当归补血汤总皂苷含量高于新煮散当归补血汤 ( $P<0.01$ )。

2.9 总多糖含量测定 采用紫外-分光光度法。

2.9.1 对照品溶液制备 精密称取无水葡萄糖对照品 16.10 mg，超纯水制成每 1 mL 含 0.32 mg 该成分的溶液，即得。

2.9.2 供试品溶液制备 精密量取本品 5 mL，加 50 mL 乙醇沉淀完全，过滤，残渣挥干，超纯水定容至 50 mL，即得。

2.9.3 线性关系考察 分别精密量取对照品溶液 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 mL，置于 10 mL 具塞刻度试管中，参照文献 [6] 报道在 580 nm 波长处测定吸光度。以吸光度为纵坐标 ( $A$ )，对照品质量浓度为横坐标 ( $X$ ) 进行回归，得方程为  $A = 24.14X + 0.059 8$  ( $R^2 = 0.999 7$ )，在 0.016 1 ~ 0.080 5 mg/mL 范围内线性关系良好。

2.9.4 方法学考察 参照文献 [7] 报道进行精密度、重复性、稳定性 (1 h 内)、加样回收率试验。结果，精密度试验中峰面积 RSD 为 0.28%，表明仪器精密度良好；重复性试验中峰面积 RSD 为 1.11%，表明该方法重复性良好；稳定性试验中峰面积 RSD 为 0.16%，表明溶液在 1 h 内稳定性良好；平均加样回收率为 96.05%，RSD 为 0.33%。

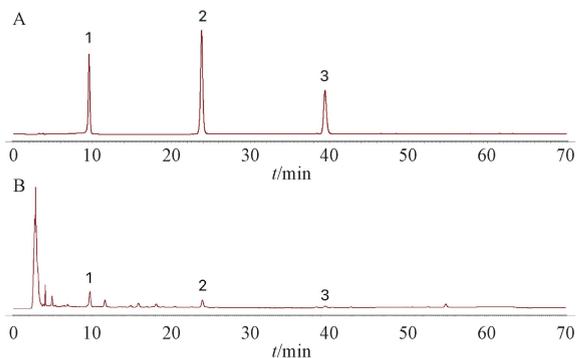
2.9.5 样品含量测定 取 9 批样品，按“2.9.2”项下方法制备供试品溶液，按“2.9.3”项下方法测定吸光度，计算含量，并通过 SPSS 27.0 软件进行独立样本  $t$  检验，结果见表 2。由此可知，饮片当归补血汤总多糖含量高于煮散当归补血汤、新煮散当归补血汤 ( $P<0.01$ )，煮散当归补血汤总多糖含量高于新煮散当归补血汤 ( $P<0.01$ )。

2.10 质量差异标志物含量测定 采用 HPLC 法。

2.10.1 对照品溶液制备 精密称取毛蕊异黄酮苷、毛蕊异黄酮、芒柄花素对照品适量，甲醇溶解，制成质量浓度分别为 0.005 6、0.005 5、0.001 2 mg/mL 的溶液，即得。

2.10.2 供试品溶液制备 精密量取本品 1 mL, 置于 10 mL 离心管中, 加 8 mL 甲醇, 混合, 3 000 r/min 离心 12 min, 吸取上清液, 甲醇定容至 10 mL, 摇匀, 0.22 μm 微孔滤膜过滤, 即得。

2.10.3 色谱条件 同“2.4”项, 色谱图见图 8。



1. 毛蕊异黄酮苷 2. 毛蕊异黄酮 3. 芒柄花素

1. calycosin-7-O-β-D-glucoside 2. calycosin 3. formononetin

图 8 对照品(A)、新煮散当归补血汤(B) HPLC 色谱图  
Fig. 8 HPLC chromatograms of reference substances (A) and new boiling powder of Danggui Buxue Decoction (B)

2.10.4 线性关系考察 取“2.10.1”项下对照品溶液适量, 在“2.10.3”项色谱条件下分别进样 1.0、2.0、4.0、6.0、8.0、10.0 μL 测定。以对照品质量浓度为横坐标 (X), 峰面积为纵坐标 (Y) 进行回归, 得方程分别为毛蕊异黄酮苷  $Y=2\,081.8X+2.779\,7$  ( $R^2=0.999\,1$ )、毛蕊异黄酮  $Y=3\,377.6X+0.018\,3$  ( $R^2=1.000\,0$ )、芒柄花素  $Y=2\,513.1X+0.346\,8$  ( $R^2=0.999\,7$ ), 分别在 0.005 6~0.055 8、0.005 5~0.054 6、0.001 2~0.012 5 mg/mL 范围内线性关系良好。

2.10.5 精密度试验 取“2.10.1”项下对照品溶液适量, 在“2.10.3”项色谱条件下进样测定 6 次, 测得毛蕊异黄酮苷、毛蕊异黄酮、芒柄花素峰面积 RSD 分别为 0.36%、0.39%、0.38%, 相对保留时间 RSD 分别为 0.22%、0.09%、0.07%, 表明仪器精密度良好。

2.10.6 稳定性试验 取新煮散当归补血汤适量,

按“2.10.2”项下方法制备供试品溶液, 于 0、4、8、12、16、20、24 h 在“2.10.3”项色谱条件下进样测定, 测得毛蕊异黄酮苷、毛蕊异黄酮、芒柄花素峰面积 RSD 分别为 1.65%、0.73%、0.79%, 相对保留时间 RSD 分别为 0.29%、0.10%、0.07%, 表明溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.10.7 重复性试验 取新煮散当归补血汤 6 份, 按“2.10.2”项下方法制备供试品溶液, 在“2.10.3”项色谱条件下进样测定, 测得毛蕊异黄酮苷、毛蕊异黄酮、芒柄花素峰面积 RSD 分别为 1.06%、0.95%、1.70%, 相对保留时间 RSD 分别为 0.65%、0.24%、0.18%, 表明该方法重复性良好。

2.10.8 加样回收率试验 取各质量差异标志物含量已知的新煮散当归补血汤 0.5 mL, 分别按 80%、100%、120% 水平加入对照品溶液, 每个水平平行 3 份, 按“2.10.2”项下方法制备供试品溶液, 在“2.10.3”项色谱条件下进样测定, 计算回收率。结果, 毛蕊异黄酮苷、毛蕊异黄酮、芒柄花素平均加样回收率分别为 101.36%、101.12%、100.77%, RSD 分别为 1.11%、1.40%、0.82%。

2.10.9 样品含量测定 按“2.1”项下方法制备煮散当归补血汤、新煮散当归补血汤、饮片当归补血汤各 3 份, 按“2.10.2”项下方法制备供试品溶液, 在“2.10.3”项色谱条件下进样测定, 计算含量, 并通过 SPSS 27.0 软件进行独立样本 *t* 检验, 结果见表 3。由此可知, 饮片当归补血汤毛蕊异黄酮苷含量高于煮散当归补血汤、新煮散当归补血汤 ( $P<0.01$ ), 煮散当归补血汤毛蕊异黄酮苷含量高于新煮散当归补血汤 ( $P<0.01$ ); 饮片当归补血汤毛蕊异黄酮含量高于新煮散当归补血汤 ( $P<0.01$ ), 并与煮散当归补血汤相比无显著差异 ( $P>0.05$ ), 煮散当归补血汤毛蕊异黄酮含量高于新煮散当归补血汤 ( $P<0.01$ ); 饮片当归补血汤中芒柄花素含量高于新煮散当归补血汤 ( $P<0.01$ ), 并与煮散当归补血汤相比无显著差异 ( $P>0.05$ ), 煮散当归补血汤芒柄花素含量高于新煮散当归补血汤 ( $P<0.01$ )。

表 3 各质量差异标志物含量测定结果 ( $\bar{x}\pm s$ ,  $n=3$ )

Tab. 3 Results for content determination of quality differential components ( $\bar{x}\pm s$ ,  $n=3$ )

样品	毛蕊异黄酮苷/(mg·mL <sup>-1</sup> )	毛蕊异黄酮/(mg·mL <sup>-1</sup> )	芒柄花素/(mg·mL <sup>-1</sup> )
煮散当归补血汤	0.298 0±0.004 4 <sup>###</sup>	0.190 8±0.012 3 <sup>**</sup>	0.065 9±0.005 1 <sup>**</sup>
新煮散当归补血汤	0.203 6±0.020 5 <sup>##</sup>	0.160 2±0.008 9 <sup>##</sup>	0.049 3±0.003 4 <sup>##</sup>
饮片当归补血汤	0.385 9±0.043 5	0.182 6±0.015 0	0.063 0±0.007 0

注: 与饮片当归补血汤比较, <sup>##</sup> $P<0.01$ ; 与新煮散当归补血汤比较, <sup>\*\*</sup> $P<0.01$ 。

2.11 综合评价 以总皂苷、总黄酮、总多糖含量为评价指标,通过 SPSS AU 软件中的熵值法进行指标赋权,得到三者权重系数分别为 35.8%、28.3%、35.9%,再计算综合评分,公式为综合评分=总皂苷隶属度×35.8%+总黄酮隶属度×28.3%+总多糖隶属度×35.9%,隶属度=(指标值-指标最小值)/(指标最大值-指标最小值),结果见表4。由此可知,饮片当归补血汤综合评分最高,其次是煮散当归补血汤,新煮散当归补血汤最低。

表4 综合评分计算结果

Tab.4 Results for comprehensive score calculation

编号	隶属度			综合评分	平均值
	总皂苷	总黄酮	总多糖		
S1	0.135 2	0.188 1	0.185 3	0.508 6	0.540 5
S2	0.190 5	0.182 2	0.185 3	0.558 0	
S3	0.243 1	0.128 5	0.183 4	0.555 0	
S4	0.001 2	0.021 6	0.001 8	0.024 5	
S5	0.005 1	0.015 1	0.003 2	0.023 4	
S6	0.007 2	0.022 0	0.006 0	0.035 2	
S7	0.330 3	0.278 6	0.357 0	0.965 9	
S8	0.332 2	0.243 5	0.357 0	0.932 6	
S9	0.357 1	0.281 3	0.356 4	0.994 7	

### 3 讨论

黄芪活性成分包括皂苷、黄酮、多糖等<sup>[8]</sup>,当归活性成分包括挥发油、黄酮、多糖等<sup>[9]</sup>,其中皂苷具有抗炎、抗氧化、调节免疫等药理作用<sup>[10]</sup>,黄酮具有抗炎、抗氧化等药理作用<sup>[11]</sup>,多糖具有抗肿瘤、调节免疫、保护心脑血管等药理作用<sup>[11]</sup>,毛蕊异黄酮具有抗氧化、抗肿瘤、免疫调节等药理作用<sup>[12]</sup>,毛蕊异黄酮苷具有抗菌、抗病毒、抗肿瘤等药理作用<sup>[13]</sup>,芒柄花素具有抗氧化、抗病毒等药理作用<sup>[14]</sup>,阿魏酸具有抗氧化、抗血栓、降血脂等药理作用<sup>[15]</sup>,洋川芎内酯 I 具有抗氧化损伤、抗炎、镇痛、抗凝等药理作用<sup>[16]</sup>,并且前期报道,黄芪甲苷、毛蕊异黄酮、毛蕊异黄酮苷、芒柄花素、芒柄花苷、阿魏酸为当归补血汤质量标志物<sup>[17]</sup>。因此,本实验选择总皂苷、总黄酮、总多糖、毛蕊异黄酮、毛蕊异黄酮苷、芒柄花素、芒柄花苷、阿魏酸、洋川芎内酯 I 为作为检测指标。

本实验参照文献 [18-20] 报道,考察色谱柱、检测波长、流动相等参数,发现在“2.4”项色谱条件下各成分色谱峰分离度均大于 1.5,基线平稳。HPLC 指纹图谱结合化学计量学研究结果显

示,新煮散当归补血汤质量与煮散当归补血汤、饮片当归补血汤存在差异,毛蕊异黄酮苷、芒柄花素、毛蕊异黄酮可能是主要差异成分。含量测定结果显示,饮片当归补血汤总皂苷、总黄酮、总多糖含量高于煮散当归补血汤、新煮散当归补血汤,并且煮散当归补血汤上述成分含量高于新煮散当归补血汤,其原因可能与加水量和煎煮时间有关,需进一步研究阐明。

### 参考文献:

[1] 李兵,刘思鸿,张楚楚,等.古代经典名方功能主治考证原则与建议[J].中国中药杂志,2021,46(7):1846-1850.

[2] 庄欣雅,张倩,亓雅丽,等.经典名方当归补血汤物质基准量值传递分析[J].中国中药杂志,2022,47(2):324-333.

[3] 李心蕾,张雪艳,赵涵,等.经典名方当归补血汤古代文献分析与考证[J].中国实验方剂学杂志,2023,29(12):38-45.

[4] 鄢海燕,邹纯才.《中国药典》(2010年版~2020年版)中药指纹(特征)图谱应用进展与展望[J].南方医科大学学报,2022,42(1):150-155.

[5] 郭焕滢,胡思萌,关永霞,等.HPLC-ABTS-DAD-ESI-TOF/MS在线筛选紫银颗粒抗氧化成分及指纹图谱研究[J].中草药,2024,55(16):5484-5493.

[6] 张婕,董安东,谢允东,等.产地加工炮制一体化对黄芪质量的影响研究[J].时珍国医国药,2024,35(15):3397-3404.

[7] 孙宇,陈雪,唐守祥,等.黄芪中主要成分含量测定及其抗氧化活性研究[J].化学试剂,2023,45(12):90-97.

[8] 张婕,董安东,谢允东,等.产地加工炮制一体化对黄芪质量的影响研究[J].时珍国医国药,2024,35(15):3397-3404.

[9] 马艳春,吴文轩,胡建辉,等.当归的化学成分及药理作用研究进展[J].中医学报,2022,50(1):111-114.

[10] 张霞.黄芪化学成分及药理作用概述[J].实用中医药杂志,2013,29(7):608-609.

[11] 张瑞华,张静文,刘玲,等.黄芪及其有效组分药理作用与临床应用现状[J].陕西中医,2021,42(8):1138-1141;1146.

[12] 张冬青,王海宝,王淑芳,等.毛蕊异黄酮生物活性的研究进展[J].中国中药杂志,2015,40(22):4339-4345.

[13] 李亮亮,黄金智.毛蕊异黄酮葡萄糖苷药理作用的研究进展[J].海南医学院学报,2020,26(2):156-160.

[14] 王茹月,叶雨.芒柄花黄素应用于抗癌药物开发的研究进展[J].肿瘤防治研究,2019,46(2):183-187.

[15] 唐潇潇,温伟炬,李佳乐,等.阿魏酸药理活性研究进展[J].广州化工,2024,52(6):22-25.

[16] 徐兰兰,车仙花,李宁,等.洋川芎内酯类化合物药理

- 作用研究进展[J]. 现代中药研究与实践, 2022, 36(2): 98-102.
- [17] 杨飞霞, 王玉, 夏鹏飞, 等. 当归补血汤化学成分、药理作用、临床应用的研究进展及质量标志物的预测分析[J]. 中国中药杂志, 2021, 46(11): 2677-2685.
- [18] 姚静, 施钧瀚, 桂新景, 等. 基于HPLC指纹图谱评价的当归补血汤传统汤剂与配方颗粒汤剂的成分差异分析[J]. 中草药, 2019, 50(11): 2567-2574.
- [19] 毛文点, 鹿玲玲, 齐文续, 等. 黄芪-当归不同配伍对其6种主要有效成分溶出的影响[J]. 湖南中医药大学学报, 2021, 41(3): 350-354.
- [20] 杨连升, 张丽芬, 陈烁, 等. HPLC-UV法测定经典名方当归补血汤中5种化学成分含量[J]. 特产研究, 2024, 46(2): 110-114.

## UPLC-MS/MS法同时测定乳康胶囊中14种成分的含量

宿曼筠, 傅超, 郑玉玲, 杨晓云, 陈安珍, 卢京光\*

(青岛市食品药品检验研究院, 国家药品监督管理局海洋中药质量研究与评价重点实验室, 山东青岛266071)

**摘要:** 目的 建立UPLC-MS/MS法同时测定乳康胶囊中芒柄花素、哈巴苷、黄芪皂苷I、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、薯蓣皂苷、迷迭香酸、丹酚酸B、白术内酯II、芒柄花苷、哈巴俄苷、毛蕊异黄酮、黄芪皂苷IV、丹参酮II<sub>A</sub>、黄芪皂苷II的含量。方法 分析采用Waters Acquity UPLC HSS T<sub>3</sub> C<sub>18</sub>色谱柱(2.1 mm×100 mm, 1.8 μm); 流动相0.1%甲酸-乙腈, 梯度洗脱; 体积流量0.2 mL/min; 柱温40℃; 电喷雾离子源; 正负离子扫描; 多反应监测模式。结果 14种成分在各自范围内线性关系良好( $r \geq 0.998$ ), 平均加样回收率91.71%~111.36%, RSD 1.97%~6.07%。结论 该方法稳定可靠, 可用于乳康胶囊的质量控制。

**关键词:** 乳康胶囊; 化学成分; 含量测定; UPLC-MS/MS

中图分类号: R927.2

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2026)02-0372-05

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2026.02.003

## Simultaneous content determination of fourteen constituents in Rukang Capsules by UPLC-MS/MS

SU Man-yun, FU Chao, ZHENG Yu-ling, YANG Xiao-yun, CHEN An-zhen, LU Jing-guang\*

(National Medical Products Administration Key Laboratory for Quality Research and Evaluation of Traditional Marine Chinese Medicines, Qingdao Municipal Research Institute of Food and Drug Control, Qingdao 266071, China)

**ABSTRACT:** **AIM** To establish a UPLC-MS/MS method for the simultaneous content determination of formononetin, harpagide, astragaloside I, calycosin 7-O-β-D-glucopyranoside, dioscin, rosmarinic acid, atracylenolide II, salvianolic acid B, ononin, harpagoside, calycosin, astragaloside IV, tanshinone II<sub>A</sub>, and astragaloside II in Rukang Capsules. **METHODS** The analysis was performed on a 40℃ thermostatic Waters Acquity UPLC HSS T<sub>3</sub> C<sub>18</sub> column (2.1 mm×100 mm, 1.8 μm), with the mobile phase comprising of 0.1% formic acid-acetonitrile flowing at 0.2 mL/min in a gradient elution manner, and electron spray ionization source was adopted in positive and negative ion scanning with multiple reaction monitoring mode. **RESULTS** Fourteen constituents showed good linear relationships within their own ranges ( $r \geq 0.998$ ), whose average recoveries were 91.71%–111.36% with the RSDs of 1.97%–6.07%. **CONCLUSION** This stable and reliable method can be used for the quality control of Rukang Capsules.

收稿日期: 2025-06-20

基金项目: 中国药品监管科学行动计划第二批重点项目(NMPAJGKX-2023-061)

作者简介: 宿曼筠(1990—), 女, 硕士, 主管药师, 从事药品质量标准研究。E-mail: Su\_manyun@163.com

\*通信作者: 卢京光(1968—), 女, 硕士, 主任药师, 从事药物制剂及其质量分析研究。E-mail: lujingguang68@126.com