

## [质量控制]

# 基于 HPLC 指纹图谱及一测多评法评价苓桂术甘汤质量

林学玉<sup>1,2,3</sup>, 丁子涵<sup>1</sup>, 周嘉浩<sup>1</sup>, 龚佳龄<sup>1</sup>, 颜卉<sup>1</sup>, 凌菲菲<sup>3</sup>, 杨凤林<sup>3</sup>, 李玲<sup>1,4\*</sup>, 张彤<sup>1,4\*</sup>

[1. 上海中医药大学中药学院, 上海 201203; 2. 上海中医药大学国际教育学院, 上海 201203; 3. 上海同祺医药科技有限公司, 上海 201403; 4. 经方与现代中药融合创新全国重点实验室(上海中医药大学), 上海 201203]

**摘要:** 目的 评价苓桂术甘汤质量。方法 分析采用 BP C<sub>18</sub> Plus 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相 0.1% 磷酸-乙腈, 梯度洗脱; 体积流量 0.8 mL/min; 柱温 30 °C; 检测波长 220 nm。建立基准样品、现代制剂、传统高压锅代煎样品、智能代煎样品(各 3 批)HPLC 指纹图谱。以甘草苷为内标, 计算芹糖甘草苷、肉桂酸、桂皮醛、甘草酸、白术内酯Ⅲ、白术内酯Ⅱ相对校正因子, 一测多评法测定其含量。再进行主成分分析、聚类分析。结果 12 批样品指纹图谱中有 26 个共有峰, 相似度均大于 0.95, 其中智能代煎样品与基准样品的相似度最高。7 种成分在各自范围内线性关系良好 ( $r \geq 0.9996$ ), 平均加样回收率 90.72%~104.16%, RSD 0.48%~6.11%, 一测多评法所得结果与外标法接近。各批样品聚为 2 类, 现代制剂、智能代煎样品对基准样品的还原度较高。结论 该方法稳定可靠, 可用于苓桂术甘汤各用药形式的质量控制, 其智能代煎样品可最大程度还原基准样品的物质基础分布。

**关键词:** 苓桂术甘汤; 质量评价; HPLC 指纹图谱; 一测多评; 主成分分析; 聚类分析

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 1001-1528(2026)01-0001-09

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2026.01.001

## Quality evaluation of Linggui Zhugan Decoction based on HPLC fingerprints and QAMS

LIM Xue Yee<sup>1,2,3</sup>, DING Zi-han<sup>1</sup>, ZHOU Jia-hao<sup>1</sup>, GONG Jia-ling<sup>1</sup>, YAN Hui<sup>1</sup>, LING Fei-fei<sup>3</sup>, YANG Feng-lin<sup>3</sup>, LI Ling<sup>1,4\*</sup>, ZHANG Tong<sup>1,4\*</sup>

[1. School of Pharmacy, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China; 2. International Education College, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China; 3. Shanghai Tongqi Pharmaceutical Technology Co., Ltd., Shanghai 201403, China; 4. State Key Laboratory for Integration and Innovation of Classic Formulas and Modern Chinese Medicines (Shanghai University of Traditional Chinese Medicine), Shanghai 201203, China]

**ABSTRACT: AIM** To evaluate the quality of Linggui Zhugan Decoction. **METHODS** The analysis was performed on a 30 °C thermostatic BP C<sub>18</sub> Plus column (250 mm×4.6 mm, 5 μm), with the mobile phase comprising of 0.1% phosphoric acid-acetonitrile flowing at 0.8 mL/min in a gradient elution manner, and the detection wavelength was set at 220 nm. The HPLC fingerprints for reference samples, modern preparations, traditional pressure cooker-decocting samples and intelligent decocting samples (3 batches each) were established. Liquiritin was used as an internal standard to calculate the relative correction factors of liquiritin apioside, cinnamic acid, cinnamaldehyde, glycyrrhetic acid, atractylenolide III and atractylenolide II, after which the content determination was made by quantitative analysis of multi-components by single-marker (QAMS). Subsequently,

收稿日期: 2025-08-04

基金项目: 国家重点研发计划项目(2022YFC3501705); 国家自然科学基金面上项目(82274066); 上海市领军人才计划(SHLJ2019100); 上海中医药大学第十七批大学生创新创业活动计划(2023SHUTCM100)

作者简介: 林学玉(2000—), 女, 硕士, 从事中药制剂、分析研究。E-mail: limxy71700@163.com

\*通信作者: 李玲(1990—), 女, 博士, 高级实验师, 从事中药质量控制及其药效评价研究。E-mail: liling\_sh@163.com  
张彤(1972—), 男, 博士, 教授, 从事中药制药及其分析技术研究。E-mail: zhangtanjm@hotmail.com

principal component analysis and cluster analysis were performed. **RESULTS** There were 26 common peaks in the fingerprints for 12 batches of samples with the similarities of more than 0.95, among which the intelligent decocting samples demonstrated the highest similarity to the reference samples. Seven constituents showed good linear relationships within their own ranges ( $r \geq 0.9996$ ), whose average recoveries were 90.72%–104.16% with the RSDs of 0.48%–6.11%. The result obtained by QAMS approximated those obtained by external standard method. Various batches of samples were clustered into 2 types, the modern preparations and intelligent decocting samples exhibited high reducibilities to reference samples. **CONCLUSION** This stable and reliable method can be used for the quality control of various dosage forms of Linggui Zhugan Decoction, whose intelligent decocting samples can preserve the material composition of reference samples to the greatest extent.

**KEY WORDS:** Linggui Zhugan Decoction; quality evaluation; HPLC fingerprints; quantitative analysis of multi-components by single-marker (QAMS); principal component analysis; cluster analysis

《中药注册管理补充规定》明确,对于来源于古代经典名方的中药复方制剂,符合文件规定条件者可将人用经验数据直接作为支持产品上市注册的关键性证据,有别于新药主流的“老鼠点头”研发模式<sup>[1-2]</sup>,但目前存在质量评价指标与方法单一、药效物质基础研究薄弱、分析方法难以反映临床实际疗效等困境。因此,随着中药监管科学的兴起,创制符合中药特点的评价新工具、新标准、新方法,促进中医药传承创新的新策略、新范式,完善中药复方制剂质量标准体系,助力中药产品转化,成为新的质量控制目标<sup>[3]</sup>。

HPLC法广泛用于中药定性、定量分析,成为其质量控制的主要技术<sup>[4-5]</sup>,其中定性分析以指纹图谱进行相似度评价,表征中药复方制剂化学成分分布,具有信息量大、专属性强、宏观规律的特点<sup>[6]</sup>;定量分析主要通过多个对照品来对中药多成分分别或同时进行含量测定,选择性量化具有指标意义的活性物质,有着准确度高、针对性强、操作方便等优势。一测多评法通过中药有效成分之间存在的内在函数关系和比例关系,先测定某一代表性成分(易得、低成本、有效)的含量,再根据相对校正因子计算其他成分的含量<sup>[7]</sup>,在化药、中药及其制剂中得到推广<sup>[8]</sup>。

苓桂术甘汤收录于《古代经典名方目录(第

一批)》,具有温阳化饮、健脾利湿功效<sup>[9-10]</sup>,在治疗心血管疾病、非酒精性脂肪性肝病、代谢性疾病、肾脏疾病、周围性眩晕、阿尔茨海默症等方面具有优势<sup>[11-15]</sup>,并存在多种用药形式,包括患者在家中自煎的汤剂、医院或代煎中心的代煎液及临方制剂、获批上市的复方制剂等<sup>[16]</sup>。目前,已有苓桂术甘汤HPLC指纹图谱的大量报道,但尚未涉及一测多评法<sup>[17-22]</sup>。本实验基于临床长期实践应用的汤剂(基准样品)、现代制剂,以及需求量激增的代煎服务中2种主要煎药方式——传统高压锅和智能代煎生产线所得代煎液,建立苓桂术甘汤HPLC指纹图谱,并通过一测多评法测定甘草苷、芹糖甘草苷、肉桂酸、桂皮醛、甘草酸、白术内酯Ⅲ、白术内酯Ⅱ的含量,以期进一步完善该方质量评价体系,为后续证明其多种用药形式临床应用的合理性提供依据。

## 1 材料

茯苓(批号231001,产地四川)、桂枝(批号230901-02,产地广西)、白术(批号231201,产地四川)、甘草(批号231301-06,产地甘肃)均购自上海九州通医药有限公司,经上海中医药大学张红梅副教授鉴定为正品。苓桂术甘汤共12批,具体见表1。

表1 苓桂术甘汤信息

Tab. 1 Information of Linggui Zhugan Decoction

编号	制备工艺	来源	编号	制备工艺	来源
S1	基准样品	实验室自制	S7	传统高压锅代煎	上海同祺医药科技有限公司
S2	基准样品	实验室自制	S8	传统高压锅代煎	上海同祺医药科技有限公司
S3	基准样品	实验室自制	S9	传统高压锅代煎	上海同祺医药科技有限公司
S4	现代制剂	实验室自制	S10	智能代煎	上海同祺医药科技有限公司
S5	现代制剂	实验室自制	S11	智能代煎	上海同祺医药科技有限公司
S6	现代制剂	实验室自制	S12	智能代煎	上海同祺医药科技有限公司

桂皮醛(批号110710-202223,纯度98.80%)、甘草苷(批号111610-202209,纯度95.20%)、肉桂酸(批号110786-202305,纯度98.80%)对照品均购自中国食品药品检定研究院;芹糖甘草苷(批号170108-202112,纯度98.32%)、白术内酯Ⅲ(批号020025-202311,纯度99.69%)对照品均购自上海鸿永生物科技有限公司;甘草酸铵(批号M04GB140062,纯度98.50%)、白术内酯Ⅱ(批号J03IB219057,纯度99.78%)对照品均购自上海源叶生物科技有限公司。

AUW220D电子分析天平(十万分之一,日本岛津公司);XS105电子分析天平(万分之一,瑞士梅特勒-托利多公司);SK8210HP超声波清洗器(上海科导超声仪器有限公司);SHB-ⅢA循环水真空泵(上海沪析实业有限公司);安捷伦1260 InfinityⅡ高效液相色谱仪(美国安捷伦公司);BP C<sub>18</sub>Plus色谱柱(250 μm×4.6 mm, 5 μm, 上海谱宁分析技术有限公司)。

乙腈(色谱纯,德国默克公司);无水乙醇、磷酸(分析纯,国药集团化学试剂有限公司);纯水(香港屈臣氏集团有限公司)。

## 2 方法和结果

2.1 色谱条件 BP C<sub>18</sub> Plus色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相0.1%磷酸(A)-乙腈(B),梯度洗脱(0~62 min, 6%~42% B; 62~65 min, 42%~58% B; 65~75 min, 58%~100% B; 75~81 min, 100%~6% B; 81~86 min, 6% B);体积流量0.8 mL/min;柱温30 °C;检测波长220 nm;进样量10 μL。之后再运行8 min。

## 2.2 样品制备

2.2.1 基准样品 按1 d的处方量,分别取茯苓55.20 g、桂枝41.40 g、白术41.40 g、甘草27.60 g,加入1200 mL水浸泡30 min,放入煎药壶,武火煮沸后煎煮30 min,转文火再煎煮20 min至约600 mL,200目筛网过滤,水提液冷冻干燥,真空避光保存,即得。

2.2.2 现代制剂 按1 d的处方量,分别取茯苓55.20 g、桂枝41.40 g、白术41.40 g、甘草27.60 g,加入8倍量水浸泡30 min,回流提取1 h,过滤,收集芳香水,药渣加6倍量水,回流提取0.5 h,过滤,收集芳香水,合并2次滤液,在60 °C下减压浓缩并干燥,粉碎,得浸膏粉,合并芳香水,加入适量β-环糊精包合,干燥,粉碎,得包合物,将浸膏粉与包合物混匀,即得<sup>[18]</sup>。另外,批号

Z201101的现代制剂由江苏康缘药业股份有限公司提供,用于方法学考察。

2.2.3 传统高压锅代煎样品 按7 d的处方量,分别取茯苓386.40 g、桂枝289.80 g、白术289.80 g、甘草193.20 g,加入3000 mL水浸泡30 min,放入高压锅,武火煮沸后煎煮至约1800 mL,200目筛网过滤,得水提液,分装成袋,在4 °C下保存,用时冷冻干燥,真空避光保存,即得。

2.2.4 智能代煎样品 按7 d的处方量制备,分别取茯苓386.40 g、桂枝289.80 g、白术289.80 g、甘草193.20 g,系统根据智能算法自动加水,浸泡30 min,武火煮沸后文火煎煮30 min,系统根据智能算法自动加水,武火煮沸后文火煎煮20 min,200目筛网过滤,得水提液,分装成袋,在4 °C下保存,用时冷冻干燥,真空避光保存,即得。

## 2.3 溶液制备

2.3.1 对照品溶液 精密称取芹糖甘草苷、甘草苷、肉桂酸、桂皮醛、甘草酸铵、白术内酯Ⅲ、白术内酯Ⅱ对照品适量,70%乙醇定容,制成每1 mL分别含上述成分502、702、313、203、1 366、105、24 μg的储备液,精密量取1 mL,置于2 mL量瓶中,逐级稀释,即得。

2.3.2 供试品溶液 取本品1 g,精密加入25 mL 70%乙醇,超声(功率500 W,频率53 kHz)处理30 min,4 °C、12 000 r/min离心10 min,取上清液,即得。

## 2.4 HPLC指纹图谱建立

2.4.1 精密度试验 取同一批现代制剂(Z201101),按“2.3.2”项下方法制备供试品溶液,在“2.1”项色谱条件下进样测定6次,采用“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”(2012.130723版)处理,测得相似度均大于0.99,表明仪器精密度良好。

2.4.2 重复性试验 取同一批现代制剂(Z201101)6份,按“2.3.2”项下方法制备供试品溶液,在“2.1”项色谱条件下进样测定,采用“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”(2012.130723版)处理,测得相似度均大于0.90,表明方法重复性良好。

2.4.3 稳定性试验 取同一批现代制剂(Z201101),按“2.3.2”项下方法制备供试品溶液,于0、3、6、9、12、24 h在“2.1”项色谱条件下进样测定,采用“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”(2012.130723版)处理,测得相似度均大于0.98,表明溶液在24 h内稳定性良好。

2.4.4 图谱生成 按“2.3.2”项下方法制备基准样品、现代制剂、传统高压锅代煎样品、智能代煎样品各3批，在“2.1”项色谱条件下进样测定，采用“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”（2012.130723版）处理，以S1为参照，多点校正法进行匹配，时间窗宽度设定为0.1 min，平均数法建立对照指纹图谱，见图1，各批样品指纹图谱见图2，发现稳定性、峰型良好的共有峰共26个，

其峰面积占总峰面积的87%以上，分离度均大于1.2。与对照品比对后，指出出10种成分，分别为峰3（原儿茶酸）、峰6（新甘草昔）、峰7（芹糖甘草昔）、峰8（甘草昔）、峰12（甘草素）、峰13（肉桂酸）、峰14（桂皮醛）、峰15（甘草酸）、峰21（白术内酯Ⅲ）、峰24（白术内酯Ⅱ），其中峰8（甘草昔）峰面积较大，保留时间适中，因此确定其作为参照，其归属见表2。

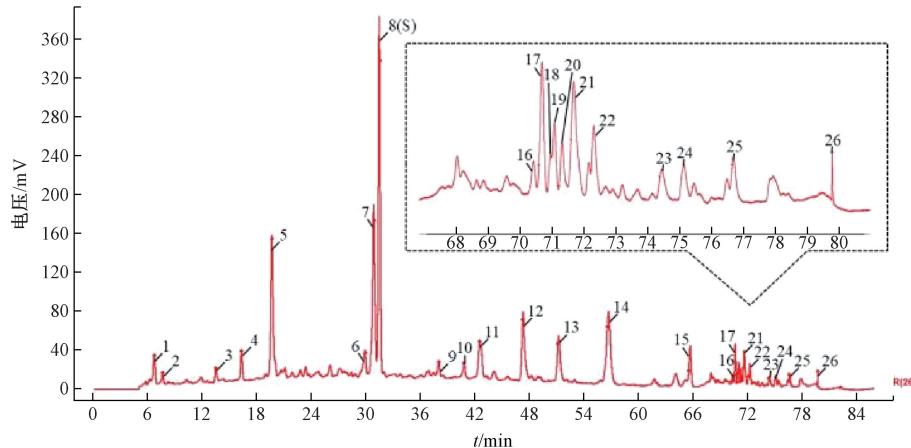
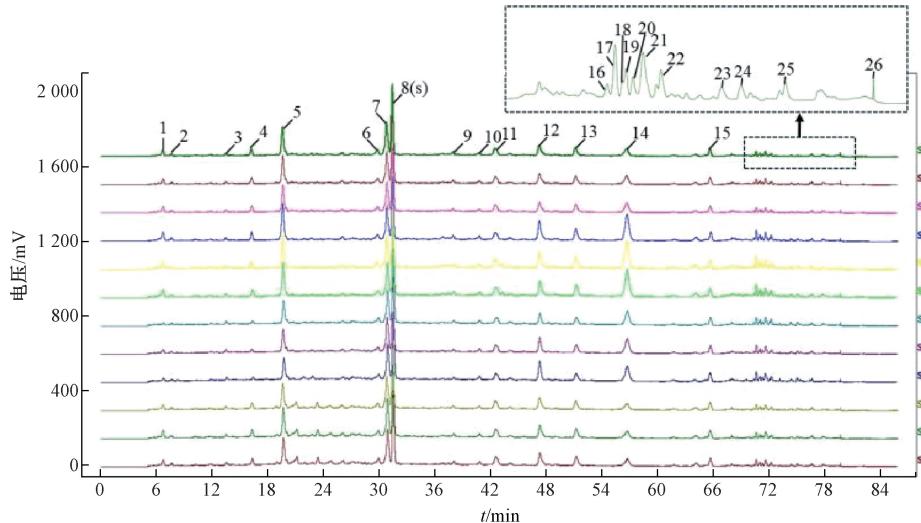


图1 苓桂术甘汤对照指纹图谱

Fig.1 Reference fingerprint for Linggui Zhugan Decoction



注：S1~S3为基准样品，S4~S6为现代制剂，S7~S9为传统高压锅代煎样品，S10~S11为智能代煎样品。

图2 不同制备工艺苓桂术甘汤HPLC指纹图谱

Fig.2 HPLC fingerprints for Linggui Zhugan Decoction with various preparation processes

2.4.5 相似度分析 12批样品指纹图谱相似度分别为0.976、0.984、0.983、0.987、0.992、0.986、0.966、0.969、0.951、0.996、0.991、0.987，均大于0.95。另外，各制备工艺所得样品批间比较，相似度均大于0.98，其中智能代煎工艺样品最大，达0.99，表明其质量稳定，测定方法准确可靠；与基准样品比较，其他样品相似程度依次为智能代

煎样品>现代制剂>传统代煎样品，相似度分别大于0.98、大于0.95、大于0.87，即智能代煎工艺还原度最高。

## 2.5 一测多评法含量测定

2.5.1 线性关系考察 取“2.3.1”项下对照品溶液适量，70%乙醇稀释，制成系列质量浓度，在“2.1”项色谱条件下进样测定。以对照品质量浓

表2 共有峰归属

Tab. 2 Assignment of common peaks

峰号	t <sub>R</sub> /min	归属	峰号	t <sub>R</sub> /min	归属
1	6.667	全部药材	14(桂皮醛)	56.609	桂枝
2	7.590	白术	15(甘草酸)	65.565	甘草
3(原儿茶酸)	13.466	全部药材	16	70.316	甘草
4	16.305	白术	17	70.593	甘草
5	19.660	茯苓、白术	18	70.861	甘草
6(新甘草苷)	29.931	甘草	19	70.980	甘草
7(芹糖甘草苷)	30.888	甘草	20	71.227	甘草
8[甘草苷(参照峰)]	31.526	甘草	21(白术内酯Ⅲ)	71.598	白术
9	38.019	甘草	22	72.227	甘草
10	40.802	甘草	23	74.380	白术
11	42.516	全部药材	24(白术内酯Ⅱ)	75.406	白术
12(甘草素)	47.243	甘草	25	76.651	白术
13(肉桂酸)	51.150	桂枝	26	79.779	全部药材

度为横坐标(*X*)，峰面积为纵坐标(*Y*)进行回归，结果见表3，可知各成分在各自范围内线性关系良好。

表3 各成分线性关系

Tab. 3 Linear relationships of various constituents

成分	回归方程	r	线性范围/(μg·mL <sup>-1</sup> )
芹糖甘草苷	$Y=26.58X-79.570$	0.999 6	3.929~502.907
甘草苷	$Y=38.1X-167.13$	0.999 6	5.481~701.624
肉桂酸	$Y=51.995X-211.66$	0.999 6	4.627~592.313
桂皮醛	$Y=62.589X-104.470$	0.999 6	1.585~202.836
甘草酸	$Y=1.7516X-24.983$	0.999 8	34.637~1366.392
白术内酯Ⅲ	$Y=31.981X-16.95$	0.999 6	0.821~105.073
白术内酯Ⅱ	$Y=49.965X+1.2405$	0.999 9	0.747~23.898

2.5.2 精密度试验 精密吸取对照品、供试品(Z201101)溶液各10 μL，在“2.1”项色谱条件下进样测定6次，测得前者中芹糖苷草苷、甘草苷、肉桂酸、桂皮醛、甘草酸、白术内酯Ⅲ、白术内酯Ⅱ峰面积RSD分别为0.61%、0.52%、0.56%、1.00%、1.10%、1.70%、0.75%，后者中分别为0.91%、1.44%、0.66%、1.21%、1.49、2.08%、1.71%，表明仪器精密度良好。

表4 各成分加样回收率试验结果(n=3)

Tab. 4 Results for recovery tests for various constituents (n=3)

成分	平均回收率/%			RSD/%		
	50%水平	100%水平	150%水平	50%水平	100%水平	150%水平
芹糖甘草苷	99.95	100.98	96.50	1.46	2.08	1.42
甘草苷	101.03	103.24	102.50	0.48	0.48	3.89
肉桂酸	92.47	104.15	104.16	2.71	0.69	1.31
桂皮醛	102.52	95.23	90.72	1.45	2.74	1.99
甘草酸	93.06	103.44	102.17	0.93	1.63	2.79
白术内酯Ⅲ	99.34	102.45	96.11	3.20	3.55	4.40
白术内酯Ⅱ	95.06	102.33	98.95	5.37	6.11	1.78

2.5.3 重复性试验 取同一批现代制剂(Z201101)6份，按“2.3.2”项下方法制备供试品溶液，在“2.1”项色谱条件下进样测定，测得芹糖苷草苷、甘草苷、肉桂酸、桂皮醛、甘草酸、白术内酯Ⅲ、白术内酯Ⅱ含量RSD分别为0.92%、0.50%、0.90%、2.35%、1.23%、1.00%、1.33%，表明该方法重复性良好。

2.5.4 稳定性试验 取现代制剂(Z201101)适量，按“2.3.2”项下方法制备供试品溶液，于0、3、6、9、12、24 h在“2.1”项色谱条件下进样测定，测得芹糖苷草苷、甘草苷、肉桂酸、桂皮醛、甘草酸、白术内酯Ⅲ、白术内酯Ⅱ含量RSD分别为0.57%、0.68%、0.82%、2.34%、1.22%、0.77%、1.86%，表明溶液在24 h内稳定性良好。

2.5.5 加样回收率试验 取各成分已知含量的同一批现代制剂(Z201101)0.5 g，分别按50%、100%、150%水平加入对照品，按“2.3.2”项下方法平行制备3份供试品溶液，在“2.1”项色谱条件下进样测定，计算回收率，结果见表4。

2.5.6 耐用性试验 取3批样品(S4~S6),分别在Pntulips BP C<sub>18</sub> Plus、Agilent Eclipse XDB C<sub>18</sub>、Welch Ultimate XB C<sub>18</sub>色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm)及“2.1”项色谱条件下进样测定,发现Welch Ultimate XB C<sub>18</sub>色谱柱上所测各成分含量与其他色谱柱上的差异较大,而其余2根色谱柱上其RSD均小于10%,表明该方法耐用性良好。

2.5.7 相对校正因子计算 分别采用校准曲线相对斜率法(过原点、不过原点线性斜率)及浓度法,以甘草昔为内标,计算其他6种成分相对校正因子 $f_{k/s} = f_k/f_s = (C_k A_s) / (C_s A_k)$ ,其中 $C_k$ 为其他成分含量, $A_k$ 为其他成分峰面积, $C_s$ 为内标含量, $A_s$ 为内标峰面积,结果见表5。

表5 各成分相对校正因子

Tab. 5 Relative correction factors of various constituents

成分	不过原点线性斜率	过原点线性斜率	浓度法	平均值	RSD/%
芹糖甘草昔	1.433 4	1.432 8	1.415 1	1.427 1	0.73
甘草昔	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	0
肉桂酸	0.711 6	0.711 3	0.696 8	0.706 6	1.20
桂皮醛	0.608 7	0.610 6	0.599 6	0.606 3	0.97
甘草酸	21.751 5	21.886 6	21.927 8	21.855 3	0.42
白术内酯Ⅲ	1.191 3	1.189 2	1.171 5	1.184 0	0.92
白术内酯Ⅱ	0.762 5	0.754 1	0.744 2	0.753 6	1.22

2.5.8 样品含量测定 取12批样品,按“2.3.2”项下方法制备供试品溶液,在“2.1”项色谱条件下进样测定,分别采用外标法(标准曲线、单点

校正)、一测多评法计算含量,结果见表6,可知所得结果无显著差异( $P>0.05$ ),表明一测多评法可用于含量测定。

表6 各成分含量测定结果( $\bar{x}\pm s$ , n=3)Tab. 6 Result for content determination of various constituents ( $\bar{x}\pm s$ , n=3)

成分	样品	含量/(mg·g <sup>-1</sup> )		
		标准曲线	单点校正	一测多评
芹糖甘草昔	基准样品	2.872±0.221	2.932±0.227	2.949±0.229
	现代制剂	2.820±0.064	2.878±0.066	2.894±0.066
	传统高压锅代煎样品	2.528±0.070	2.578±0.072	2.592±0.072
	智能代煎样品	2.594±0.147	2.645±0.151	2.660±0.152
甘草昔	基准样品	3.297±0.113	3.230±0.110	3.467±0.118
	现代制剂	3.386±0.202	3.317±0.198	3.562±0.212
	传统高压锅代煎样品	3.150±0.253	3.086±0.248	3.313±0.266
	智能代煎样品	3.219±0.208	3.154±0.204	3.386±0.219
肉桂酸	基准样品	0.503±0.011	0.500±0.011	0.499±0.012
	现代制剂	0.420±0.033	0.415±0.034	0.414±0.034
	传统高压锅代煎样品	0.645±0.009	0.646±0.009	0.646±0.009
	智能代煎样品	0.466±0.007	0.462±0.007	0.461±0.008
桂皮醛	基准样品	0.385±0.027	0.379±0.027	0.380±0.027
	现代制剂	0.870±0.041	0.867±0.041	0.869±0.041
	传统高压锅代煎样品	1.608±0.024	1.610±0.024	1.613±0.024
	智能代煎样品	0.503±0.069	0.498±0.069	0.499±0.069
甘草酸铵	基准样品	8.881±0.499	8.772±0.497	8.786±0.497
	现代制剂	9.548±0.594	9.436±0.591	9.450±0.592
	传统高压锅代煎样品	9.561±0.404	9.449±0.402	9.463±0.403
	智能代煎样品	7.779±0.267	7.677±0.265	7.688±0.266
白术内酯Ⅲ	基准样品	0.292±0.023	0.289±0.023	0.307±0.025
	现代制剂	0.366±0.020	0.361±0.019	0.383±0.021
	传统高压锅代煎样品	0.408±0.003	0.402±0.003	0.427±0.003
	智能代煎样品	0.231±0.021	0.229±0.020	0.243±0.022
白术内酯Ⅱ	基准样品	0.018±0.002	0.020±0.002	0.020±0.002
	现代制剂	0.029±0.001	0.031±0.002	0.030±0.001
	传统高压锅代煎样品	0.011±0.001	0.013±0.001	0.012±0.001
	智能代煎样品	0.008±0.001	0.010±0.0005	0.010±0.0005

### 2.5.9 化学计量学

2.5.9.1 主成分分析 将各成分含量导入 SIMCA 14.1 软件中进行无监督分析, 结果见图 3A。由此可知, 基准样品、现代制剂与智能代煎样品分布于同一侧, 传统高压锅代煎样品分布在另一侧, 表明现代工艺、智能代煎工艺均可较好地还原基准样品物质基础, 而传统高压锅代煎工艺质量与后者存在较大差异。

2.5.9.2 聚类分析 将各成分含量导入 IBM SPSS Statistics R26.0.0.0 (64 位) 软件, 采用组间联接-余弦法进行分析, 结果见图 3B。由此可知, 类间距为 15 时, 12 批样品聚为 2 类, S17~S9 为一类, 其余批次为一类, 表明除了传统高压锅代煎工艺外其他工艺均可较好地还原基准样品物质基础分布, 与主成分分析一致。

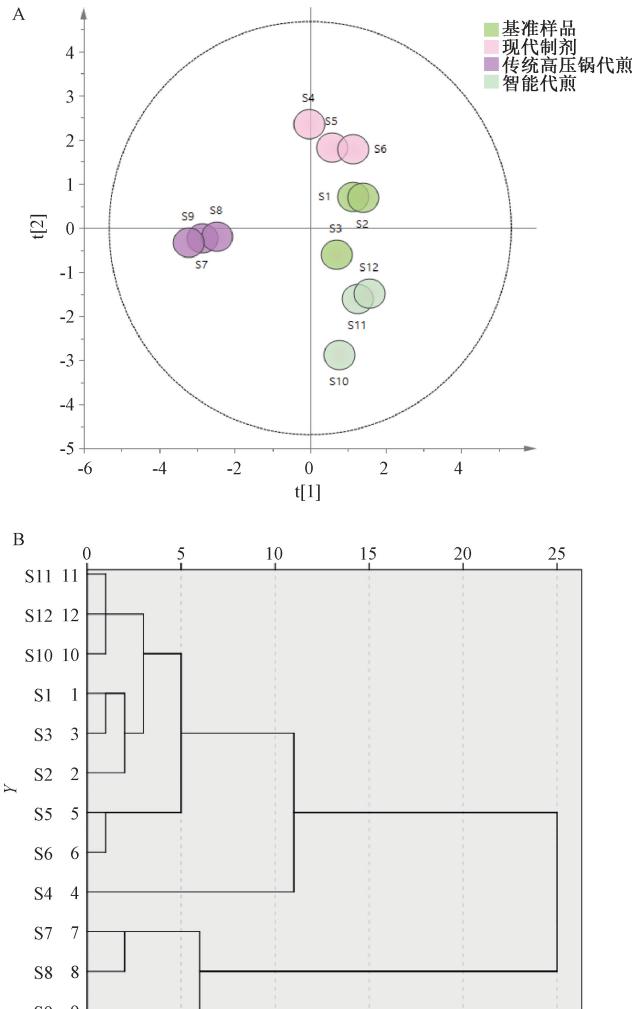


图 3 化学计量学结果

Fig. 3 Results for chemometrics

### 3 讨论

3.1 色谱条件优化 课题组前期发现, 甘草苷、

芹糖甘草苷、白术内酯Ⅲ、白术内酯Ⅱ最大吸收波长均介于 208~220 nm 之间, 而桂皮醛、肉桂酸、甘草酸的均介于 252~290 nm 之间, 故多通道设置为 203~290 nm, 再比较各成分分离度和定量峰总峰面积对所有峰总峰面积的占比, 最终确定为 220 nm。同法分别考察了不同流动相种类 (0.1% 甲酸、0.05% 磷酸、0.1% 磷酸等水相, 以及乙腈、甲醇等有机相) 与始末梯度 (4%、6%、8%)、柱温 (25、30、35 °C)、进样量 (5、10、20 μL)、体积流量 (0.8、0.9、1.0、1.1 mL/min), 以分离度高、定量峰总峰面积占比大者为标准, 最终确定为“2.1”项色谱条件。

3.2 供试品制备方法优化 课题组前期分别考察了不同提取方法 (回流法、超声法)、提取时间 (15、30、45 min)、提取溶剂种类 (甲醇、50% 甲醇、无水乙醇、70% 乙醇、50% 乙醇、30% 乙醇) 与用量 (5、10、25、50 mL), 以分离度高、定量峰总峰面积占比大者为标准, 最终确定为“2.3.2”项下方法。

3.3 HPLC 指纹图谱分析 在苓桂术甘汤 HPLC 指纹图谱的现有研究中, 分离度较好、峰面积较大、通过对照品指认的共有峰在 3~15 个之间, 其中归属于甘草的成分最多, 包括新甘草苷、芹糖甘草苷、甘草苷、甘草素、甘草酸、新甘草苷等, 而归属于桂枝与白术的有桂皮醛、肉桂酸、白术内酯Ⅲ、白术内酯Ⅱ<sup>[17-22]</sup>。本实验采用同一批药材、不同制备工艺平行制备 4 批样品各 3 份, 共 12 批, 建立其指纹图谱, 结果所指认的特征成分与相关文献基本一致, 但共有峰数量更多。同时, 采用阴性样品考察色谱峰专属性, 使其峰归属覆盖所有药材, 所反映的化学指纹兼顾了特征性与整体性, 图谱稳定可靠, 具有普适性。

然而, 相似度评价结果显示, 苓桂术甘汤不同用药形式物质基础的组成及其相对比例存在一定差异; 以基准样品为参照, 传统高压锅代煎样品、基准样品相似度为 0.873~0.895, 提示了高压、加热程度等工艺条件对成分溶出和药效可能存在显著影响。因此, 经典名方需建立药材-饮片-中间体-制剂全过程、多维度的质量控制体系, 有利于充分呈现其基准样品的整体化学指纹。

3.4 一测多评法含量测定分析 研究表明, 苓桂术甘汤不同用药形式之间的化学成分种类差异较小, 但在含量上存在明显变化<sup>[20]</sup>, 同时在血浆、胆汁、尿液、粪便中均以原型成分为主要 ADME

特征，并且各活性成分群主导的功效不同<sup>[23-24]</sup>，故含量测定是苓桂术甘汤临床用药形式质量控制的另一关键所在。结果显示，甘草所含成分（如芹糖甘草昔、甘草昔、甘草素、甘草酸等）在不同用药形式样品中的含量基本一致，提示其水溶性较好，在水煎液中基本能稳定传递；桂枝所含的苯丙素类、白术萜类成分含量差异较大，其挥发油类成分桂皮醛及转化产物肉桂酸，以及白术脂溶性成分（如白术内酯Ⅱ、Ⅲ等）对全方质量起到重要作用。主成分分析、聚类分析显示，传统高压锅代煎样品、基准样品中各指标成分含量分布差异较大，现代制剂、智能代煎样品则与基准样品物质属性相对接近，与相似度评价一致，表明一测多评法指标成分的选择具有代表性，可基本反映苓桂术甘汤整体指纹图谱，并且不同用药形式对基准样品的还原程度依次为现代制剂、智能代煎样品>传统高压锅代煎样品。

**3.5 苓桂术甘汤质量评价体系优化浅析** 《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）》中的药学研究除了指标成分含量、指纹图谱外，还应至少采用干膏率、浸出物/总固体等指标，评价商业规模生产制剂的质量与基准样品质量的一致性。由此提示，苓桂术甘汤临床用药形式也应以基准样品为标杆，原则上应尊重经典名方物质基础与配伍意义，达到以关键信息为质控基础目标，以期更好地将苓桂术甘汤等经典名方在守正创新中传承发展。

此外，苓桂术甘汤作为经典名方，属中药3.1类中药新药研究范畴，需多指标综合评价，并具有研发周期长、样品检测量大的特点，故应解决对照品消耗量大，其有效期考察所带来的繁琐、昂贵、费时等问题。本实验所建立的一测多评法对于苓桂术甘汤等3.1类新药研发而言，可大幅节约研发成本，促进研究效率，同时有利于简化有关复方的质量标准，对后续生产和监管形成良性循环。然而，本实验未检测到君药茯苓所含的水溶性成分，可能与其溶出较少有关，故后续还应结合其萜类及多糖类的富集纯化、检测分析方法，使评价结果更具全面性<sup>[25]</sup>。

#### 4 结论

本实验建立苓桂术甘汤多种用药形式样品的HPLC指纹图谱与一测多评法，其中在指纹图谱中标定26个共有峰，指认出11种成分，包括2种桂枝所属（肉桂酸、桂皮醛）、2种白术所属（白术

内酯Ⅱ、Ⅲ）、5种甘草所属（新甘草昔、芹糖甘草昔、甘草昔、甘草素、甘草酸）、1种共有（原儿茶酸）；一测多评法进行含量测定时，以易得、性质稳定、含量高并具有法定来源的甘草昔为内标，确定220 nm波长处芹糖甘草昔、肉桂酸、桂皮醛、甘草酸、白术内酯Ⅲ、白术内酯Ⅱ相对校正因子分别为1.427 1、0.706 6、0.606 3、21.855 3、1.184 0、0.753 6。结果显示，智能代煎液与基准样品相似度最高，各成分含量水平最接近，可最大程度还原苓桂术甘汤化学属性，为该方临床应用的质量评价提供依据。

#### 参考文献：

- [1] 李月, 高敏洁, 高静. 基于政策梳理的古代经典名方中药复方制剂转化探讨[J]. 上海医药, 2023, 44(13): 16-20.
- [2] 宋菊, 阳长明, 于江泳, 等. 古代经典名方中药复方制剂的转化研究与审评决策思路[J]. 中药药理与临床, 2024, 40(3): 2-7.
- [3] 曾瑾, 陈平, 刘阳, 等. 中药复方制剂质量控制与评价的监管科学[J]. 中药药理与临床, 2024, 40(2): 17-22.
- [4] 王锦轩, 姚霞, 李耿. 基于化学特征的中药鉴定技术进展及趋势[J]. 中国中药杂志, 2024, 49(17): 4617-4629.
- [5] Luo Y D, Yang H B, Tao G C. Systematic review on fingerprinting development to determine adulteration of Chinese herbal medicines[J]. *Phytomedicine*, 2024, 129: 155667.
- [6] 连益纯, 林静, 李知瑾, 等. HPLC特征图谱技术在中药制剂质量控制中的应用进展[J]. 海峡药学, 2024, 36(2): 1-5.
- [7] 梁生旺, 张彤. 中药分析学[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2021: 127.
- [8] 方宝霞, 李湘, 滚代芬, 等. 一测多评法应用于化学药及中药的化学药成分质量控制研究进展[J]. 药物评价研究, 2023, 46(6): 1382-1388.
- [9] 国家中医药管理局, 国家药品监督管理局. 古代经典名方目录(第一批)[Z]. 2018-04-13.
- [10] 李玲, 季光, 张彤, 等. 经典名方苓桂术甘汤复方制剂的研制[J]. 中成药, 2023, 45(10): 3165-3172.
- [11] 张晟安, 刘志栋, 戴亮, 等. 苓桂术甘汤的临床应用: 1项系统性评价与Meta分析[J]. 中草药, 2023, 54(14): 4599-4614.
- [12] Lv J Y, Fu Z Y, Wang Y X, et al. Lingguizhugan decoction ameliorates renal injury secondary to heart failure by improving pyroptosis through TLR4/NF-KB/IRE1α pathway[J]. *Phytomedicine*, 2025, 2025, 143: 156862.
- [13] Chen X, Huang W X, Lü H M, et al. Identification of Cald1 as a novel regulator of Linggui Zhugan decoction for improving insulin resistance *in vivo* and *in vitro*[J]. *J Tradit Chin Med*, 2021, 41(5): 706-716.
- [14] Chen X, Tian Q, Gao M, et al. Lingguizhugan decoction enhances autophagy of Alzheimer's disease via regulating the mTOR/p70s6K pathway *in vivo* and *in vitro*[J]. *Front Aging Neurosci*, 2025, 17: 1478199.
- [15] Ma H M, Guo L, Chen Y, et al. Linggui Zhugan Decoction for

- peripheral vertigo: A protocol for systematic review and meta-analysis[J]. *Medicine (Baltimore)*, 2021, 100(16): e25563.
- [16] China Association of Chinese Medicine. Top 10 academic progress on traditional Chinese medicine in 2022[J]. *Sci Tradit Chin Med*, 2023, 1(2): 73-89.
- [17] 顾思浩. 经典名方苓桂术甘汤物质基准与复方制剂研究[D]. 上海: 上海中医药大学, 2020.
- [18] Li L, Wang N, Fan X L, et al. A preparation technology of volatile components in Linggui Zhugan decoction based on the transfer of cinnamaldehyde and its anti-gastric ulcer effect[J]. *Saudi Pharm J*, 2023, 31(12): 101833.
- [19] Chen L P, Zhang L F, Liu S, et al. Ling-Gui-Zhu-Gan decoction ameliorates nonalcoholic fatty liver disease via modulating the gut microbiota[J]. *Microbiol Spectr*, 2024, 12(6): e0197923.
- [20] 罗珊. 苓桂术甘汤药效物质基础及质量控制方法研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2020.
- [21] 廖正根, 李龚龙, 温佳豪, 等. 基于质量源于设计理念与基准关联度的经典名方苓桂术甘汤的提取工艺研究[J]. 江西中医药, 2024, 55(7): 64-69.
- [22] 闵会, 徐斌, 郑亚纯, 等. 经典名方苓桂术甘汤物质基准质量控制标准研究[J]. 中国药品标准, 2022, 23(6): 587-595.
- [23] Li S Y, Gao Y T, Wang X, et al. Qualitative and quantitative studies on chemical constituents of Ling-gui-zhu-gan decoction: *In vitro* and *in vivo*[J]. *J Sep Sci*, 2023, 46(19): e2300465.
- [24] Li S Y, Sun Y F, Gao Y T, et al. Spectrum-effect relationship analysis based on HPLC-FT-ICR-MS and multivariate statistical analysis to reveal the pharmacodynamic substances of Ling-Gui-Zhu-Gan decoction on Alzheimer's disease[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2024, 237: 115765.
- [25] 上海中医药大学. 一种茯苓水溶性成分的分离鉴定方法及其在含茯苓复方中的应用: 中国, CN202410950055.2[P], 2024-11-29.

## UPLC-Q-Orbitrap-MS 法同时测定夏枯草配方颗粒中 16 种成分的含量

华杰凯<sup>1,2</sup>, 张灿<sup>1</sup>, 沈杰<sup>1</sup>, 庄俊嵘<sup>1</sup>, 王琴<sup>1</sup>, 常昕楠<sup>1</sup>, 刘伟<sup>1,2\*</sup>, 张建伟<sup>1\*</sup>  
(1. 上海中医药大学附属曙光医院药学部, 国家中医药管理局中药制剂三级实验室, 上海 201203;  
2. 杭州师范大学药学院, 浙江杭州 311121)

**摘要:** 目的 建立超高效液相色谱-四极杆-静电场轨道阱高分辨质谱 (UPLC-Q-Orbitrap-MS) 法同时测定夏枯草配方颗粒中奎宁酸、丹参素、原儿茶酸、原儿茶醛、咖啡酸、异迷迭香酸苷、迷迭香酸、新绿原酸、秦皮乙素、绿原酸、隐绿原酸、阿魏酸、水杨酸、异槲皮苷、金丝桃苷、芦丁的含量。方法 分析采用 ACQUITY UPLC® BEH C<sub>18</sub> 色谱柱 (2.1 mm×100 mm, 1.7 μm); 流动相 0.1% 甲酸-甲醇, 梯度洗脱; 体积流量 0.3 mL/min; 柱温 40 °C; 电喷雾离子源; 正负离子扫描。再进行主成分分析、正交偏最小二乘判别分析。结果 16 种成分在各自范围内线性关系良好 ( $R^2 \geq 0.9977$ ), 平均加样回收率 87.72% ~ 111.52%, RSD 0.61% ~ 11.99%。16 批样品聚为 4 类, 4 个主成分累积方差贡献率为 87.74%, 丹参素、咖啡酸、异迷迭香酸苷、迷迭香酸、奎宁酸、金丝桃苷、芦丁、异槲皮苷、原儿茶醛、原儿茶酸为潜在质量标志物。结论 该方法简便准确, 稳定性好, 可用于夏枯草饮片、配方颗粒的质量控制。

**关键词:** 夏枯草配方颗粒; 化学成分; 含量测定; 超高效液相色谱-四极杆-静电场轨道阱高分辨质谱 (UPLC-Q-Orbitrap-MS); 主成分分析; 正交偏最小二乘判别分析

中图分类号: R927.2

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2026)01-0009-09

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2026.01.002

## Simultaneous content determination of sixteen constituents in Xiakucao Formula Granules by UPLC-Q-Orbitrap-MS

HUA Jie-kai<sup>1,2</sup>, ZHANG Can<sup>1</sup>, SHEN Jie<sup>1</sup>, ZHUANG Jun-rong<sup>1</sup>, WANG Qin<sup>1</sup>, CHANG Xin-nan<sup>1</sup>, LIU Wei<sup>1,2\*</sup>, ZHANG Jian-wei<sup>1\*</sup>

收稿日期: 2025-05-27

基金项目: 中国科协青年托举工程项目 (2020QNRC001); 上海中医药大学附属曙光医院信息化建设专项 (SGYYXX-201905)

作者简介: 华杰凯 (1999—), 男, 从事中药药效物质基础及其体内过程研究。E-mail: huajk1024@163.com

\*通信作者: 刘伟 (1990—), 男, 博士, 副研究员, 从事中药药效物质基础及其体内过程研究。E-mail: lwhzayl@163.com

张建伟 (1984—), 女, 硕士, 副主任药师, 从事中药新药及其药效物质基础研究。E-mail: Greenjianwei@163.com