

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 1006-4931(2026)12-0077-06
doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2026.12.014



解郁温胆颗粒工艺中间体及制剂的高效液相色谱 指纹图谱建立与含量测定*

方红城^{1,2}, 黄月纯^{3,4}, 陈洁³, 谢纯珠³, 陈燕霞³, 丘振文^{3,4△}

(1. 广东省深圳市中西医结合医院, 广东 深圳 518014; 2. 国家中西医结合旗舰科室建设单位, 广东 深圳 518014; 3. 广州中医药大学第一附属医院, 广东 广州 510405; 4. 广东省中临床研究院·岭南特色医院制剂转化工程技术研究中心·医疗机构中药制剂与中药新药转化广东省工程研究中心, 广东 广州 510405)

摘要:目的 建立解郁温胆颗粒中间体及制剂的高效液相色谱(HPLC)指纹图谱与含量测定方法。方法 色谱柱为Kromasil 100-5 C₁₈柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 流动相为甲醇-0.1%甲酸溶液(梯度洗脱), 检测波长为318 nm(定性)和283 nm(定量), 流速为0.6 mL/min, 柱温为25 °C, 进样量为5 μL。采用中药色谱指纹图谱相似度评价软件(2012版)建立解郁温胆处方传统煎液、提取液、稠膏、干膏、制剂的HPLC指纹图谱, 确定共有峰, 指认共有成分, 并进行相似度评价, 测定制剂中柚皮苷及橙皮苷含量。结果 13批样品的HPLC指纹图谱共标定了23个共有峰, 通过与对照品比对指认了14个成分。除3批干膏相似度较低外, 其余样品的相似度均大于0.90。柚皮苷及橙皮苷的进样量分别在21.06~1 053 μg及20.78~1 039 μg范围内与峰面积线性关系良好($r > 0.999 9$); 精密度、稳定性、重复性试验结果的RSD均小于2%($n = 6$); 平均加样回收率分别为102.76%($RSD = 0.87%$)及96.80%($RSD = 0.82%$); 平均含量分别为5.437 mg/g及5.734 mg/g。结论 建立的HPLC指纹图谱稳定性良好; 所建含量测定方法操作简便、灵敏度高、重复性好、结果准确, 可用于解郁温胆颗粒的质量控制。

关键词: 解郁温胆颗粒; 指纹图谱; 柚皮苷; 橙皮苷; 含量测定; 高效液相色谱法

Establishment of HPLC Fingerprint and Content Determination of Intermediate and Preparation of Jieyu Wendan Granules

FANG Hongcheng^{1,2}, HUANG Yuechun^{3,4}, CHEN Jie³, XIE Chunzhu³, CHEN Yanxia³, QIU Zhenwen^{3,4△}

(1. Shenzhen Hospital of Traditional Chinese and Western Medicine, Shenzhen, Guangdong 518014, China; 2. National Flagship Department Construction Unit for Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Shenzhen, Guangdong 518014, China; 3. The First Affiliated Hospital of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou, Guangdong 510405, China; 4. Guangdong Clinical Research Academy of Chinese Medicine·Guangdong Province Lingnan Characteristic Hospital Preparation Transformation Engineering Technology Research Center·Guangdong Engineering Research Center for Traditional Chinese Medicine Preparations in Medical Institutions and New Drug Conversion of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou, Guangdong 510405, China)

Abstract: Objective To establish a high-performance liquid chromatography (HPLC) fingerprint and content determination method for intermediate and preparation of Jieyu Wendan Granules. **Methods** The chromatographic column was Kromasil 100-5 C₁₈ column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), the mobile phase was methanol-0.1% formic acid solution (gradient elution), the detection wavelengths were 318 nm (qualitative analysis) and 283 nm (quantitative analysis), the flow rate was 0.6 mL/min, the column temperature was 25 °C, and the injection volume was 5 μL. The Similarity Evaluation Software for Chromatographic Fingerprint of Traditional Chinese Medicine (2012 edition) was used to establish HPLC fingerprints of the traditional decoction, extract solution, thick paste, dry extract, and preparation of the Jieyu Wendan formula. Common peaks were identified, common components were identified, and similarity evaluation was performed. The contents of naringin and hesperidin in the granules were determined. **Results** A total of 23 common peaks were identified in the HPLC fingerprint of 13 batches of samples, and 14 components were identified by comparison with the reference substances. Except for three batches of dry extract showing relatively low similarity, the similarities of other samples were all above 0.90. The linear ranges of naringin and hesperidin were 21.06-1 053 μg and 20.78-1 039 μg, respectively ($r > 0.999 9$). The RSDs of precision, stability, and repeatability test results were all lower than 2% ($n = 6$). The average recovery rates were 102.76% ($RSD = 0.87%$) and 96.80% ($RSD = 0.82%$), respectively. The average contents were 5.437 mg/g and 5.734 mg/g, respectively. **Conclusion** The established HPLC

* 基金项目: 广东省中医药管理局中医药科研项目[20231297]; 广东省宝安市中医药发展基金会—中药制剂研发专项[2022KJCX-KTYJ-10]; 广东省深圳市引进中医药高层次医学团队立项项目[SZZYSM202106006]。

第一作者: 方红城, 男, 大学本科, 主任医师, 研究方向为心血管病中西医结合临床与基础, (电子信箱)1905872615@qq.com。

△通信作者: 丘振文, 男, 博士研究生, 主任中药师, 研究方向为药剂管理与中药新制剂研发, (电子信箱)qzhenwen@gzucm.edu.cn。

fingerprint method exhibits good stability. The established content determination method is simple, sensitive, reproducible, and accurate, which can be used for the quality control of Jieyu Wendan Granules.

Key words: Jieyu Wendan Granule; fingerprint; naringin; hesperidin; content determination; HPLC

解郁温胆方是在温胆汤基础上拟定的经验方,该方结合广东地处岭南的地域特点,以及由于当前人们工作生活压力大,生活节奏高度紧张,过食肥甘厚腻、久坐不动等,导致心血管疾病发病年轻化的特点,针对双心疾病(同时存在心脏疾病和心理障碍),不仅涉及“痰”与“热”,还兼杂“郁”与“瘀”的病机^[1-2],由法半夏、化橘红、枳实、姜竹茹、五指毛桃等组方,强调心肝脾同治、心神同治、痰瘀同治、郁痰同治,具有健脾化痰、疏肝解郁、清心安神之效。临床主要用于治疗心烦、失眠、胸胁胀满或疼痛、头晕、心悸、气短、纳差,舌质暗红,苔白腻,脉弦滑见上述证候之双心疾病者,且已取得良好疗效。为全面评价制剂工艺及其质量稳定性,本研究中根据组方主要药味所含主要化学成分的特点^[3-6],采用高效液相色谱(HPLC)指纹图谱结合含量测定,建立制剂的质量评价指标,同时通过指纹图谱色谱峰的指认及相似度评价,考察制剂各工艺步骤的稳定性,以期为后续多批次大生产工艺及质量评价提供参考。现报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Agilent 1200型高效液相色谱仪(配有四元泵、柱温箱、二极管阵列检测器和色谱工作站,美国 Agilent 公司);MS 204S、XPR-36型电子天平(瑞士 Mettler Toledo 公司,精度分别为0.1 mg、0.001 mg);LS2200CSCS型电子天平(上海天美仪器有限公司,精度为10 mg);KQ-500XDE型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

1.2 试剂

解郁温胆颗粒(广州中医药大学第一附属医院制剂中心,批号分别为20240301、20240302、20240303);绿原酸对照品(批号为110753-202119,含量99.3%),补骨脂素对照品(批号为110739-201918,含量99.6%),柚皮苷对照品(批号为110722-201815,含量91.7%),橙皮苷对照品(批号为110721-201115,含量95.3%),野漆树苷对照品(批号为111919-201804,含量95.5%),柚皮芸香苷对照品(批号为112080-202201,鉴别用),均购自中国食品药品检定研究院;新西兰牡荆苷Ⅱ对照品(上海诗丹德生物技术有限公司,批号为23666-13-9,含量≥98%);对香豆酸对照品(上海源叶生物科技有限公司,批号为Y1608C45561,含量≥98.0%);柚皮素对照品(批号为MUST-12041107,含量≥98%),异绿原酸B对照品(批号为PS001054,含量≥98%),异绿原酸C对照品(批号为PS011886,含量≥98.5%),川陈皮素对照品(批号为

PS000224,含量>98.0%),橘皮素对照品(批号为PS010637,含量>98%),均购自成都曼思特生物科技有限公司;异绿原酸A对照品(成都瑞芬思德丹生物科技有限公司,批号为RDD-Y06802201024,含量>98%);甲醇为色谱纯,其余试剂均为分析纯,水为纯化水。对照药材枳实(批号为2306601,产地江西),化橘红(批号为230501,产地广东),五指毛桃(批号为2221105,产地广东),均购自广州至信药业股份有限公司;姜竹茹(批号为230504521,产地广东),毛冬青(批号为2304404321,产地广东),均购自康美药业股份有限公司。

2 方法与结果

2.1 指纹图谱建立

2.1.1 色谱条件

色谱柱:Kromasil 100-5 C₁₈柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:甲醇(A)-0.1%甲酸溶液(B),梯度洗脱(0~3 min时30%A,3~10 min时30%A→33%A,10~15 min时33%A→43%A,15~30 min时43%A→44%A,30~35 min时44%A→63%A,35~40 min时63%A→65%A,40~44 min时65%A→73%A,44~54 min时73%A→96%A,54~60 min时96%A→100%A,60~65 min时100%A→30%A);流速:0.6 mL/min;检测波长:318 nm;柱温:25℃;进样量:5 μL。

2.1.2 溶液制备

分别取14种对照品适量,精密称定,加60%甲醇溶解,制成每1 mL分别含绿原酸54 μg、新西兰牡荆苷Ⅱ10 μg、对香豆酸56 μg、异绿原酸B51 μg、芸香柚皮苷56 μg、异绿原酸A56 μg、柚皮苷56 μg、橙皮苷55 μg、异绿原酸C53 μg、野漆树苷52 μg、补骨脂素51 μg、柚皮素51 μg、川陈皮素53 μg、橘皮素55 μg的混合对照品溶液。按处方比例,称取1剂处方,加8倍量水,静置30 min,武火煮沸后继续煎煮40 min,过滤,药渣加6倍量水,武火煮沸后继续煎煮30 min,过滤,合并滤液,浓缩至250 mL,即得传统煎液;取10 mL,置具塞锥形瓶中,加入甲醇15 mL,称定质量,超声(频率40 kHz,功率400 W)处理30 min,取出,加60%甲醇补足减失的质量,摇匀,过滤,取续滤液,即得传统煎液供试品溶液。按处方比例取枳实、化橘红、毛冬青、五指毛桃、姜竹茹各适量,同法制成单味药材对照品溶液。取制剂适量,研细,取1.8 g,精密称定,加50 mL甲醇溶解,称定质量,水浴加热,回流提取2 h,取出,放凉,加甲醇补足减失的质量,摇匀,过滤,取续滤液,即得制剂供试品溶液。称取1剂处方,加8倍量水,煎煮2次,每次1.5 h,过

滤, 滤液浓缩至 250 mL, 作为提取液; 取 10 mL, 按传统煎液供试品溶液制备方法制备提取液供试品溶液。取干膏中间品(为制剂过程中取样, 下同)适量, 研细, 取 0.64 g, 精密称定, 按制剂供试品溶液制备方法制备干膏供试品溶液。取稠膏 1.4 g, 精密称定, 按制剂供试品溶液制备方法制备稠膏供试品溶液。

2.1.3 方法学考察

精密度试验:精密吸取 2.1.2 项下制剂供试品溶液(批号为 20240301)适量, 按 2.1.1 项下色谱条件连续进样测定 6 次, 记录峰面积, 以峰 13 为参照峰, 计算各共有峰的相对保留时间(RRT)和相对峰面积(RPA)。结果的 RSD 均小于 3.0% ($n=6$), 表明方法精密度良好。

稳定性试验:精密吸取 2.1.2 项下制剂供试品溶液(批号为 20240301), 室温放置 0, 2, 4, 8, 12, 24 h 时按 2.1.1 项下色谱条件进样测定, 记录峰面积, 以峰 13 为参照峰, 计算各共有峰的 RRT 与 RPA。结果的 RSD 均小于 3.0% ($n=6$), 表明供试品溶液室温放置 24 h 内基本稳定。

重复性试验:取同一批样品(批号为 20240301), 按 2.1.2 项下制剂供试品溶液制备方法制备供试品溶液, 平行 6 份, 按 2.1.1 项下色谱条件进样测定, 记录峰面积, 以峰 13 为参照峰, 计算各共有峰的 RRT 与 RPA。结果的 RSD 均小于 3.0% ($n=6$), 表明方法重复性良好。

2.1.4 指纹图谱建立及相似度评价

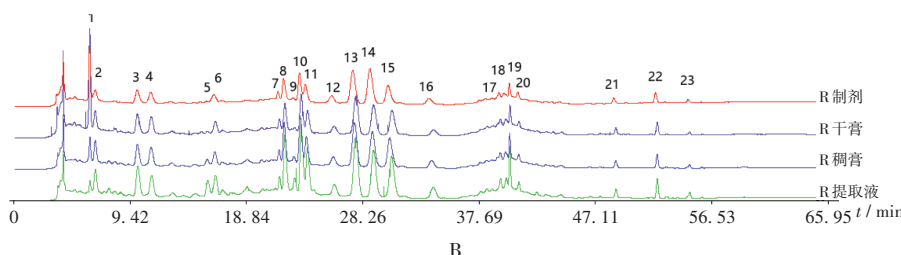
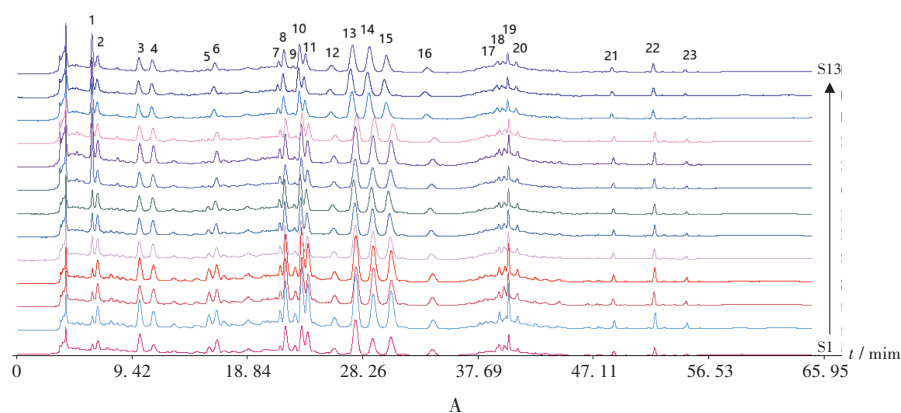
精密吸取 2.1.2 项下传统煎液(S1)、提取液(S2 -

S4)、稠膏(S5 - S7)、干膏(S8 - S10)、制剂(S11 - S13) 5 种共 13 批供试品溶液各适量, 按 2.1.1 项下色谱条件进样测定, 记录色谱图。采用中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012 版)处理色谱图(叠加指纹图谱见图 1 A), 以编号 S1 样品为参照, 采用均值法, 设定时间宽度为 0.1 min, 经多点校正进行匹配, 生成对照指纹图谱(R, 见图 1 B), 共标定出 23 个共有峰。以上述系统评价 13 批样品图谱的相似度(见表 1)。结果各批样品相似度为

表 1 解郁温胆传统煎液、制剂各工艺步骤样品指纹图谱的相似度

Tab. 1 Similarity of fingerprint of samples from traditional decoction and various process steps of preparation of Jieyu Wendan formula

| | S1 | S2 | S3 | S4 | S5 | S6 | S7 | S8 | S9 | S10 | S11 | S12 | S13 |
|-----|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| S1 | 1.000 | | | | | | | | | | | | |
| S2 | 0.985 | 1.000 | | | | | | | | | | | |
| S3 | 0.959 | 0.982 | 1.000 | | | | | | | | | | |
| S4 | 0.977 | 0.996 | 0.995 | 1.000 | | | | | | | | | |
| S5 | 0.963 | 0.984 | 0.990 | 0.991 | 1.000 | | | | | | | | |
| S6 | 0.964 | 0.984 | 0.989 | 0.991 | 1.000 | 1.000 | | | | | | | |
| S7 | 0.966 | 0.986 | 0.988 | 0.991 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | | | | | | |
| S8 | 0.878 | 0.888 | 0.887 | 0.891 | 0.934 | 0.935 | 0.935 | 1.000 | | | | | |
| S9 | 0.874 | 0.885 | 0.888 | 0.890 | 0.934 | 0.934 | 0.935 | 1.000 | 1.000 | | | | |
| S10 | 0.874 | 0.888 | 0.896 | 0.896 | 0.939 | 0.940 | 0.939 | 0.998 | 0.999 | 1.000 | | | |
| S11 | 0.928 | 0.944 | 0.959 | 0.955 | 0.982 | 0.982 | 0.980 | 0.969 | 0.971 | 0.977 | 1.000 | | |
| S12 | 0.933 | 0.948 | 0.958 | 0.956 | 0.983 | 0.983 | 0.981 | 0.971 | 0.972 | 0.978 | 1.000 | 1.000 | |
| S13 | 0.927 | 0.944 | 0.959 | 0.955 | 0.982 | 0.982 | 0.980 | 0.968 | 0.970 | 0.977 | 1.000 | 0.999 | 1.000 |

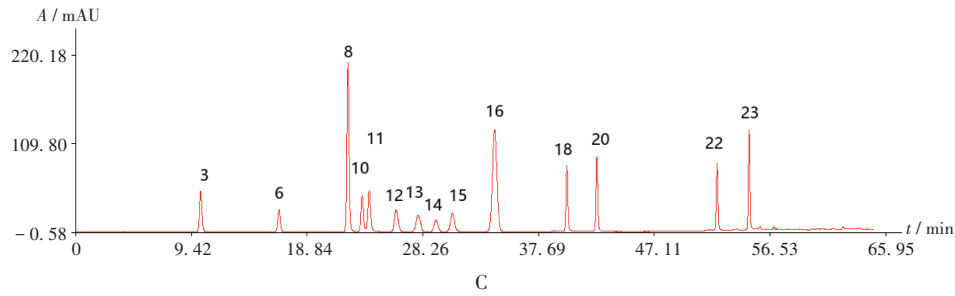


A. 叠加指纹图谱 B. 对照指纹图谱

图 1 高效液相色谱指纹图谱

A. Superimposed fingerprints B. Reference fingerprints

Fig. 1 HPLC fingerprints



3. 绿原酸 6. 新西兰牡荆苷 II 8. 对香豆酸 10. 异绿原酸 B 11. 异绿原酸 A 12. 芸香柚皮苷 13. 柚皮苷 14. 橙皮苷
15. 异绿原酸 C 16. 野漆树苷 18. 补骨脂素 20. 柚皮素 22. 川陈皮素 23. 橘皮素

图2 混合对照品高效液相色谱图

3. Chlorogenic acid 6. Vicenin II 8. P-Hydroxycinnamic acid 10. Isochlorogenic acid B 11. Isochlorogenic acid A 12. Narirutin 13. Naringin
14. Hesperidin 15. Isochlorogenic acid C 16. Rhoifolin 18. Psoralen 20. Naringenin 22. Nobiletin 23. Tangeretin

Fig. 2 HPLC chromatogram of mixed reference standard

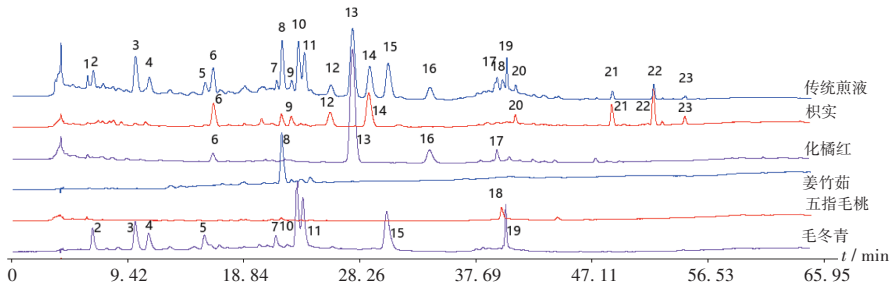


图3 各单味药材高效液相色谱图

Fig. 3 HPLC chromatograms of each herbal medicine

0.874 ~ 0.999。

2.1.5 共有峰指认与归属

将对照指纹图谱与混合对照品图谱(见图2)比对,初步指认了14个共有峰,按保留时间前后顺序依次为峰3(绿原酸)、峰6(新西兰牡荆苷II)、峰8(对香豆酸)、峰10(异绿原酸B)、峰11(异绿原酸A)、峰12(芸香柚皮苷)、峰13(柚皮苷)、峰14(橙皮苷)、峰15(异绿原酸C)、峰16(野漆树苷)、峰18(补骨脂素)、峰20(柚皮素)、峰22(川陈皮素)、峰23(橘皮素)。进一步对比分析各单味药材图谱(见图3),共确认22个共有峰的来源归属,其中峰9,12,14,20,21,22,23源自甜橙、枳实,峰13,16,17源自化橘红,峰6源自甜橙、枳实、化橘红,峰2,3,4,5,7,10,11,15,19源自毛冬青,峰8源自姜竹茹,峰18源自五指毛桃。

2.2 含量测定

2.2.1 色谱条件

梯度洗脱程序共40 min,前35 min同2.1.1项,35~40 min时63%A→30%A;检测波长:283 nm。其余色谱条件均同2.1.1项。

2.2.2 溶液制备

取柚皮苷、橙皮苷对照品各适量,精密称定,加甲醇溶解,制成每1 mL含柚皮苷210.6 μg、橙皮苷207.8 μg的对照品贮备液;各取适量,加甲醇稀释成每1 mL含柚

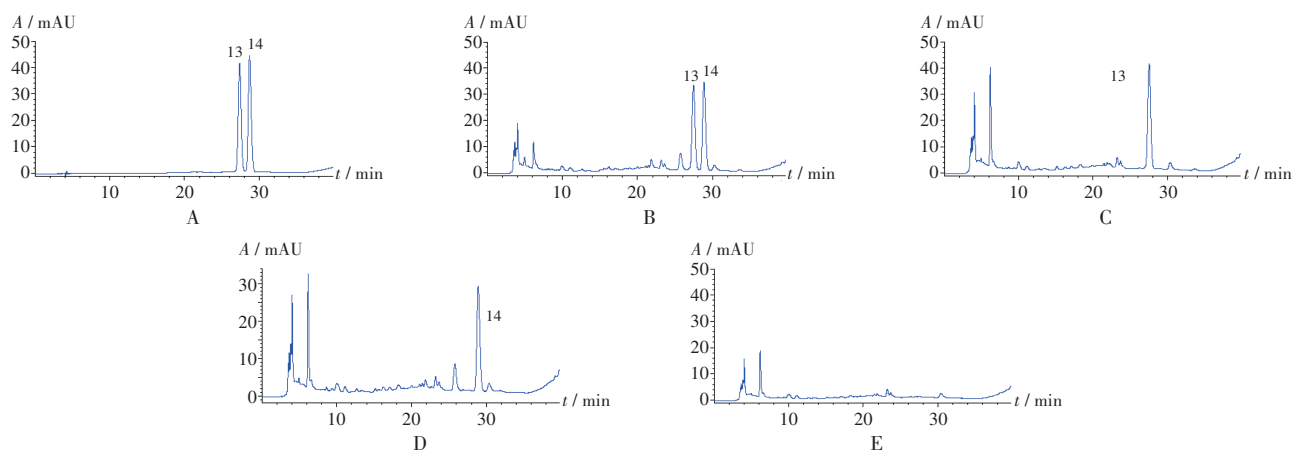
皮苷84.24 μg、橙皮苷83.12 μg的混合对照品溶液。以2.1.2项下制剂供试品溶液作为供试品溶液。按解郁温胆颗粒处方和工艺制备缺枳实、化橘红、枳实及化橘红的单一阴性样品,按2.1.2项下制剂供试品溶液制备方法制备阴性对照品溶液。

2.2.3 方法学考察

专属性试验:分别取2.2.2项下混合对照品溶液、供试品溶液和阴性对照品溶液适量,按2.2.1项下色谱条件进样测定,记录色谱图。结果供试品溶液色谱中,在与混合对照品溶液色谱相同保留时间处有相应色谱峰出现,且阴性对照无干扰,表明方法专属性良好。详见图4。

线性关系考察:精密吸取柚皮苷及橙皮苷对照品贮备液各适量,分别加甲醇制成系列对照品溶液,按2.2.1项下色谱条件进样测定,以进样量($X, \mu\text{g}$)为横坐标、峰面积(Y)为纵坐标进行线性回归,得柚皮苷、橙皮苷回归方程分别为 $Y_1 = 2.770X_1 - 8.734 (r > 0.9999)$ 和 $Y_2 = 2.988X_2 - 7.080 (r > 0.9999)$ 。结果表明,柚皮苷、橙皮苷进样量分别在21.06~1053 μg及20.78~1039 μg范围时与峰面积线性关系良好。

精密度试验:精密吸取供试品溶液(批号为20240301)5 μL,按2.2.1项下色谱条件连续进样测定6次,记录峰面积。结果柚皮苷及橙皮苷峰面积的RSD



13. 柚皮苷 14. 橙皮苷
A. 混合对照品溶液 B. 供试品溶液 C - E. 阴性对照品溶液(分别缺枳实、化橘红、枳实和化橘红)

图4 含量测定高效液相色谱图

13. Naringin 14. Hesperidin

A. Mixed reference solution B. Test solution C - E. Negative control solution (lacking Aurantii Fructus Immaturus, Citri Grandis Exocarpium, Aurantii Fructus Immaturus and Citri Grandis Exocarpium, respectively)

Fig. 4 HPLC chromatograms of the content determination

分别为0.50%和0.17% ($n=6$), 表明方法精密度良好。

稳定性试验: 精密吸取供试品溶液(批号为20240301) 5 μ L, 分别于室温放置0, 3, 6, 12, 18, 24 h时按2.2.1项下色谱条件进样测定, 记录峰面积。结果柚皮苷及橙皮苷峰面积的RSD分别为0.45%及0.97% ($n=6$), 表明供试品溶液室温放置24 h内基本稳定。

重复性试验: 取样品(批号为20240301)适量, 精密称定, 按2.2.2项下方法制备供试品溶液(共6份), 按2.2.1项下色谱条件进样测定, 记录峰面积, 以外标法计算含量。结果柚皮苷及橙皮苷的平均含量分别为5.491 mg/g及5.807 mg/g, RSD分别为0.94%及1.20% ($n=6$), 表明方法重复性良好。

加样回收试验: 取已知含量样品(批号为20240301) 0.3 g, 精密称定, 平行6份, 置具塞锥形瓶中, 分别精密加入柚皮苷对照品溶液(质量浓度为88.0 μ g/mL)、橙皮苷对照品溶液(质量浓度为84.5 μ g/mL)各20 mL, 再精密加入甲醇30 mL, 按2.2.2项下方法制备供试品溶液, 并按2.2.1项下色谱条件进样测定, 记录峰面积, 并计算加样回收率。结果见表2。

2.2.4 样品含量测定

取3批样品各适量, 精密称定, 按2.2.2项下方法制备供试品溶液, 按2.2.1项下色谱条件进样测定, 记录峰面积, 按外标法计算柚皮苷和橙皮苷的含量(以干燥品计)。结果见表3。

3 讨论

3.1 色谱条件优选

本研究中对流动相系统进行了筛选, 比较了甲醇-

表2 加样回收试验结果 ($n=6$)

Tab. 2 Results of the recovery test ($n=6$)

| 待测成分 | 取样量(g) | 样品含量(mg) | 加入量(mg) | 测得量(mg) | 回收率(%) | \bar{X} (%) | RSD(%) |
|------|---------|----------|---------|---------|--------|---------------|--------|
| 柚皮苷 | 0.299 1 | 1.642 4 | 1.760 0 | 3.429 0 | 101.51 | 102.76 | 0.87 |
| | 0.306 1 | 1.680 8 | 1.760 0 | 3.498 3 | 103.27 | | |
| | 0.305 1 | 1.675 3 | 1.760 0 | 3.469 4 | 101.94 | | |
| | 0.297 8 | 1.635 2 | 1.760 0 | 3.465 1 | 103.97 | | |
| | 0.304 8 | 1.673 7 | 1.760 0 | 3.485 0 | 102.91 | | |
| | 0.305 7 | 1.678 6 | 1.760 0 | 3.490 5 | 102.95 | | |
| 橙皮苷 | 0.299 1 | 1.736 9 | 1.690 0 | 3.369 4 | 96.60 | 96.80 | 0.82 |
| | 0.306 1 | 1.777 5 | 1.690 0 | 3.414 6 | 96.87 | | |
| | 0.305 1 | 1.771 7 | 1.690 0 | 3.396 2 | 96.12 | | |
| | 0.297 8 | 1.729 3 | 1.690 0 | 3.348 1 | 95.79 | | |
| | 0.304 8 | 1.770 0 | 1.690 0 | 3.420 1 | 97.64 | | |
| | 0.305 7 | 1.775 2 | 1.690 0 | 3.427 6 | 97.78 | | |

表3 3批样品含量测定结果 ($n=2$)

Tab. 3 Content determination results of three batches of sample ($n=2$)

| 待测成分 | 样品(mg/g) | | | \bar{X} (mg/g) | RSD (%) |
|------|----------|----------|----------|---------------------|------------|
| | 20240301 | 20240302 | 20240303 | | |
| 柚皮苷 | 5.466 | 5.436 | 5.410 | 5.437 | 0.52 |
| 橙皮苷 | 5.787 | 5.706 | 5.710 | 5.734 | 0.80 |

0.1% 甲酸溶液、乙腈 - 0.1% 甲酸溶液、乙腈 - 0.05% 磷酸溶液和甲醇 - 0.05% 磷酸溶液。结果表明, 以甲醇 - 0.1% 甲酸溶液为流动相时, 各色谱峰分离度较好。在283 nm检测波长处, 柚皮苷、橙皮苷等二氢黄酮类成分的色谱峰响应显著, 且其余色谱峰面积相对较小, 故选择为含量测定波长条件^[3-7]; 而在318 nm检测波长处,

指纹峰更丰富,故选择为指纹图谱分析波长条件。此外,指纹图谱需兼顾其他极性小的色谱峰,因此梯度洗脱时间较长,而含量测定仅针对这两个成分,故选用较短梯度洗脱时间。

3.2 含量测定溶液制备条件优选

以甲醇、90%甲醇、80%甲醇为溶剂进行提取,结果显示,不同体积分数的甲醇对柚皮苷及酚酸类等多数色谱峰的提取效果无显著差异,但对橙皮苷的提取效果明显,其中以甲醇为溶剂时提取效果最佳,故选择;传统煎液、提取液等液体样品经浓缩后,加入甲醇进行超声处理,可有效除去其中高分子的水溶性杂质,提取效率较高,结合补重操作可实现定量目的,是目前汤剂研究中常用的样品溶液制备方法,避免了将药液全部蒸干后再经回流、转移、定容等烦琐步骤。而制剂、干膏及稠膏均为经工艺加工处理后的样品,质地较致密,比较了超声提取45 min与回流提取1,2,3 h的效果,结果显示,回流提取对橙皮苷的提取效果显著优于超声提取方法,故对上述固体样品采用甲醇回流提取法,液体样品采用超声提取法。

3.3 指纹图谱分析及工艺稳定性评价

传统煎液、提取液、稠膏、干膏及制剂的指纹图谱中共标定了23个共有峰,除3批干膏与其余样品间的相似度低于0.90外,其余样品的相似度均大于0.90,表明指纹图谱所对应的23个共有峰稳定性较好。从色谱峰形及峰面积分析可知,提取液因提取时间较长,其峰面积显著高于传统煎液,而在后续浓缩、干燥和成型等环节中,各成分均存在一定程度的损失。其中,峰1受工艺过程影响较大,其峰面积呈增加趋势,即干膏中峰1的百分比显著高于传统煎液、提取液及稠膏,但低于制剂,这也是其相似度低于0.90的主要原因。指认的14个成分中,主要为枳实及化橘红中的黄酮类成分、毛冬青及姜竹茹中的酚酸类成分,以及五指毛桃的香豆素类成分,与文献^[3-6,8-11]报道的各单味药材主要质量标志物一致,可作为本复方制剂的质量标志物。方中法半夏^[12]、茯神^[13]、合欢皮^[14]、醋郁金^[15]等药味虽含有萜类、木脂素类和挥发性成分,但由于方中枳实与化橘红中所含黄酮类成分含量极高,这些成分的色谱峰难有效检出,或因受干扰较大而未能纳入指纹图谱共有峰,后续需采用适宜的分析方法进一步评价质量。

3.4 含量测定

柚皮苷与橙皮苷同属二氢黄酮苷类成分,极性相近,需选择合适的流动相系统以实现良好的分离,本研究中在文献基础上优化确定了甲醇-0.1%甲酸梯度洗脱系统,在流速为0.6 mL/min、柱温为25℃的条件下,柚皮苷及橙皮苷分离效果较好。精密密度、稳定

性、重复性及加样回收试验结果均表明该方法可行,且在线性范围内线性关系良好。但以甲醇为溶剂时,进样量超过10 μL会明显影响色谱峰峰形,产生前沿峰并导致峰面积显著下降,因此,确定进样量为5 μL。3批样品中柚皮苷与橙皮苷含量测定结果差异较小(RSD < 1%),除原料来源较单一外,也表明制剂工艺过程中二者保留率较稳定,可作为定量指标。但因制剂批次较少,暂无法拟定其含量限度,后续扩大样本量进行含量测定。

参考文献

- [1] 吕双宏. 温胆汤临床应用研究进展[J]. 中医药导报, 2018, 24(20): 123-125.
- [2] 马 蕾, 王伟杰, 蔡梅超. 经典名方温胆汤化学成分和临床应用研究进展[J]. 西安文理学院学报(自然科学版), 2022, 25(4): 71-82.
- [3] 曾鸿莲, 刘振丽, 宋志前, 等. 不同品种枳实 HPLC 指纹图谱及成分含量差异性研究[J]. 中国中药杂志, 2016, 41(17): 3272-3278.
- [4] 陆超颖, 王佳丽, 王洪兰, 等. 不同基原枳实药材的质量差异评价研究[J]. 中草药, 2022, 53(14): 4493-4503.
- [5] 张靖年, 胥爱丽, 李养学, 等. 不同基原的化橘红 UPLC 指纹图谱、化学模式识别及含量测定研究[J]. 中药新药与临床药理, 2023, 34(1): 103-109.
- [6] 黄凯伟, 任应宗, 张 辉, 等. 化橘红(柚)饮片、标准汤剂和配方颗粒相关性研究[J]. 中国药业, 2023, 32(17): 57-62.
- [7] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 258.
- [8] 赵淑淑, 俞 杰, 姚俊霞, 等. 姜竹茹配方颗粒质量标准研究[J]. 中国医药导刊, 2022, 24(7): 702-706.
- [9] 刘子琛, 冼绍祥, 王陵军. 毛冬青根中4个绿原酸类及4个皂苷类成分的含量测定[J]. 药物分析杂志, 2017, 37(10): 1865-1870.
- [10] 农新维, 梁冰丽, 李 颖, 等. 壮毛冬青配方颗粒一测多评的定量研究[J]. 中国现代应用药学, 2017, 34(8): 1118-1121.
- [11] 黄春燕, 何 敏, 何秋云, 等. 基于 HPLC 指纹图谱及 UPLC-MS/MS 多指标成分含量测定的广西不同产地五指毛桃质量评价[J]. 天然产物研究与开发, 2025, 37(4): 678-686.
- [12] 魏淑婕, 张蒙蒙, 贾晓华, 等. 不同产地半夏指纹图谱的建立及化学模式识别研究[J]. 天津中医药大学学报, 2023, 42(5): 624-629.
- [13] 王 娜, 程 璐, 王 浩, 等. 茯神指纹图谱结合化学模式识别和多指标成分定量研究[J]. 中草药, 2024, 55(1): 279-286.
- [14] 刘俊红, 李隼华, 吕沅珊. 合欢皮高效液相指纹图谱研究[J]. 武警后勤学院学报(医学版), 2019, 28(6): 16-20.
- [15] 王 梦, 于梦婷, 彭梅梅, 等. 基于 UPLC 特征图谱、多成分含量测定结合化学计量学的不同基原郁金质量评价研究[J]. 中国中药杂志, 2022, 47(11): 2964-2974.

(收稿日期: 2025-07-14; 修回日期: 2026-03-12)