

## 益胃汤物质基准的HPLC指纹图谱分析及多组分含量测定

王美华, 赵邗涛, 潘梦雪, 袁吕江\*, 黄洁瑶, 刘丹宁

(西南大学药学院, 重庆 400715)

**[摘要]** 目的:建立益胃汤物质基准的高效液相色谱法(HPLC)指纹图谱和多组分含量测定方法,并结合化学模式识别方法对其质量进行评价。方法:制备15批益胃汤物质基准,采用“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”(2012版)计算相似度,利用聚类分析、主成分分析和正交偏最小二乘法-判别分析对15批样品指纹图谱的共有峰进行处理,评价不同批次样品间的质量差异;对梓醇、毛蕊花糖苷和麦冬甲基黄烷酮A的含量进行测定,流动相系统为乙腈-磷酸水溶液,检测波长设定了210 nm和334 nm。结果:益胃汤物质基准的HPLC指纹图谱有22个共有峰,其中1,9,12,14~17,19和20号峰归属生地黄,3,4,6,7和21号峰归属于北沙参,5和22号峰归属于麦冬,2和18号峰归属于玉竹,8号峰为麦冬和生地黄共有峰,10号峰为麦冬,玉竹和生地黄共有峰,11号峰为4味药的共有峰,13号峰为玉竹和生地黄共有峰。15批益胃汤物质基准的HPLC指纹图谱与对照指纹图谱的相似度均>0.90;3种化学模式识别方法均可将15批样品分为四类。定量分析结果表明15批益胃汤物质基准中梓醇、毛蕊花糖苷及麦冬甲基黄烷酮A的质量分数范围分别为0.37%~1.14%,0.002%~0.054%,0.016%~0.079%。结论:建立的益胃汤物质基准指纹图谱和含量测定方法分离度好、准确度高,体现了益胃汤物质基准整体化学成分特征,可为该经典名方复方制剂的研发及质量控制提供实验依据。

**[关键词]** 益胃汤; 物质基准; 指纹图谱; 梓醇; 毛蕊花糖苷; 麦冬甲基黄烷酮A; 高效液相色谱法(HPLC)

**[中图分类号]** R22;R94;R28;O657.7 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2021)17-0009-07

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.20211246

**[网络出版地址]** <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20210323.1434.001.html>

**[网络出版日期]** 2021-03-24 16:15

### HPLC Fingerprint Analysis and Multi-component Determination of Substance Benchmark of Yiweitang

WANG Mei-hua, ZHAO Han-tao, PAN Meng-xue, YUAN Lyu-jiang\*, HUANG Jie-yao, LIU Dan-ning  
(College of Pharmaceutical Sciences, Southwest University, Chongqing 400715, China)

**[Abstract]** **Objective:** To establish high performance liquid chromatography (HPLC) fingerprint and multi-component determination for the substance benchmark of Yiweitang, and to evaluate its quality in combination with chemical pattern recognition method. **Method:** Fifteen batches of substance benchmark of Yiweitang were prepared, the "Chinese medicine chromatographic fingerprint similarity evaluation system" (2012 edition) was used to calculate similarity. Cluster analysis, principal component analysis and orthogonal partial least squares-discriminant analysis were employed to handle the common peaks for evaluating the quality difference among 15 batches of the substance benchmark. The contents of catalpol, verbascoside and methylophiopogonanone A were determined with mobile phase system of acetonitrile-phosphoric acid solution at detection wavelengths of 210 nm and 334 nm. **Result:** There were 22 common peaks in HPLC fingerprint of the substance benchmark, among them, peaks 1, 9, 12, 14-17, 19 and 20 belonged to *Rehmanniae Radix*, peaks 3, 4, 6, 7 and 21 belonged to *Glehniae Radix*, peaks 5 and 22 belonged to *Ophiopogonis Radix*, peaks 2 and 18

**[收稿日期]** 20201224(002)

**[基金项目]** 国家重点研发计划项目(2017YFC1702604)

**[第一作者]** 王美华,在读硕士,从事中药化学与中药质量评价研究,E-mail:wmh0211@126.com

**[通信作者]** \*袁吕江,博士,教授,从事药物化学与药物制剂研究,Tel:023-68251503,E-mail:523770372@qq.com

belonged to Polygonati Odorati Rhiaoma, peak 8 was the common peak of Ophiopogonis Radix and Rehmanniae Radix, peak 10 was shared by Ophiopogonis Radix, Polygonati Odorati Rhiaoma and Rehmanniae Radix, peak 11 was the common peak of these four herbs, and peak 13 was shared by Polygonati Odorati Rhiaoma and Rehmanniae Radix. The similarities between HPLC fingerprints of 15 batches of the substance benchmark and the control fingerprint were all >0.90, the samples could be divided into four categories by three chemical pattern recognition methods. Quantitative analysis showed that the contents of catalpol, verbascoside and methylophiopogonanone A among 15 batches of samples ranged from 0.37% to 1.14%, 0.002% to 0.054% and 0.016% to 0.079%, respectively. **Conclusion:** The established fingerprint and determination for the substance benchmark of Yiweitang have good separation and high accuracy, which reflect the overall chemical composition characteristics of Yiweitang, and can provide experimental basis for the further development and quality control of the compound preparations of this famous classical formula.

**[Keywords]** Yiweitang; substance benchmark; fingerprints; catalpol; verbascoside; methylophiopogonanone A; high performance liquid chromatography (HPLC)

益胃汤出自清代吴鞠通的《温病条辨》，由沙参三钱，麦冬五钱，冰糖一钱，生地黄五钱，玉竹一钱五分（炒香）组成，制法为水五杯，煮取二杯，分二次服，渣再煮一杯服。现代临床上用于治疗慢性胃炎、糖尿病、小儿厌食等证属胃阴亏损者<sup>[1-2]</sup>。

目前，益胃汤收录于《古代经典名方目录（第一批）》。通过文献检索发现，有关益胃汤的研究多侧重于临床方面，且使用原方较少，大多是采用加味益胃汤，用于治疗慢性萎缩性胃炎及小儿厌食症等疾病<sup>[1-2]</sup>，关于化学成分方面的研究尚未见报道。基于此，本实验拟对益胃汤物质基准的指纹图谱和多组分含量测定进行研究，以全面控制该复方的质量，并采用聚类分析（HCA），主成分分析（PCA）和正交偏最小二乘法-判别分析（OPLS-DA）对指纹图谱进行综合评价，以期对益胃汤复方制剂的研发和质量控制奠定基础。

## 1 材料

LC-20A型高效液相色谱仪（日本岛津公司），YP6000N型电子天平（上海精密仪器科技有限公司），QYSW-20A型超纯水仪（美国Millipore公司），TG16-WS型台式高速离心机（湘仪离心机仪器有限公司）。麦冬甲基黄烷酮A和梓醇对照品（成都曼思特生物科技有限公司，批号分别为 MUST-19042315，MUST-18103011，纯度依次为 98.42%，99.98%），毛蕊花糖苷对照品（上海麦克林生化科技有限公司，批号 C11105340，纯度 98%），异毛蕊花糖苷对照品（成都克洛玛生物科技有限公司，批号 CHB180927，纯度 98%），水为超纯水，甲醇、乙腈、磷酸为色谱纯，其他试剂均为分析纯。

药材均采自道地产区和主产区，均经西南大学

陈前锋副教授鉴定，生地黄为玄参科植物地黄 *Rehmannia glutinosa* 的新鲜或干燥块根，麦冬为百合科植物麦冬 *Ophiopogon japonicus* 的干燥块根，北沙参为伞形科植物珊瑚菜 *Glehnia littoralis* 的干燥根，玉竹为百合科植物玉竹 *Polygonatum odoratum* 的干燥根茎，按 2020 年版《中华人民共和国药典》（以下简称《中国药典》）要求炮制加工成饮片；冰糖为购自超市的单晶糖，各批药材和饮片经本课题组前期检测，均符合相关要求。饮片信息及随机组合见表 1。

## 2 方法与结果

**2.1 益胃汤物质基准的制备<sup>[3]</sup>** 按古方剂量折合现代剂量一钱 3.73 g，取生地黄 18.65 g，麦冬 18.65 g，北沙参 11.19 g，玉竹（炒香）5.60 g，冰糖 3.73 g，加水 1 L 浸泡 30 min，加热至沸腾，转为中火，保持沸腾 30 min，得煎液 400 mL，趁热过滤；滤渣再加入水 500 mL，煮沸并保持微沸 20 min，得煎液 200 mL，趁热过滤；合并 2 次滤液，减压浓缩至 200 mL。精密量取 150 mL 于 -80 °C 预冻 24 h，转移至真空冷冻干燥机中，冻干 72 h，得益胃汤物质基准冻干粉。

### 2.2 溶液的制备

**2.2.1 对照品溶液** 精密称取毛蕊花糖苷、麦冬甲基黄烷酮 A 和异毛蕊花糖苷对照品适量，置于量瓶中，分别加甲醇适量，超声 20 min（250 W，40 kHz，下同），加甲醇定容至刻度，摇匀，得质量浓度分别为 1.10，0.452，1.10 g·L<sup>-1</sup> 的对照品溶液；按所需质量浓度进行混合，得三者质量浓度分别为 11.00，4.52，22.00 mg·L<sup>-1</sup> 的混合对照品溶液。

**2.2.2 物质基准供试品溶液** 精密称取益胃汤物质基准冻干粉约 0.5 g，加甲醇 10 mL，称定质量，超

表1 15批益胃汤物质基准的饮片信息

Table 1 Information of decoction pieces in 15 batches of substance benchmark of Yiweitang

| 编号  | 北沙参        |       | 生地黄        |      | 麦冬         |      | 玉竹         |      |
|-----|------------|-------|------------|------|------------|------|------------|------|
|     | 批号         | 产地    | 批号         | 产地   | 批号         | 产地   | 批号         | 产地   |
| S1  | CF20180917 | 内蒙古赤峰 | WX20181004 | 河南温县 | SF20190402 | 四川什邡 | LN20180909 | 甘肃陇南 |
| S2  | CF20180926 | 内蒙古赤峰 | WX20181009 | 河南温县 | ST20190406 | 四川三台 | LN20180904 | 甘肃陇南 |
| S3  | AG20180917 | 河北安国  | WX20181102 | 河南温县 | JY20190317 | 四川江油 | LN20181115 | 甘肃陇南 |
| S4  | AG20180920 | 河北安国  | WX20181129 | 河南温县 | JY20190320 | 四川江油 | SD20180926 | 湖南邵东 |
| S5  | AG20181006 | 河北安国  | WX20181215 | 河南温县 | JY20190402 | 四川江油 | SD20181015 | 湖南邵东 |
| S6  | LY20181004 | 山东莱阳  | WZ20180915 | 河南武陟 | ST20190401 | 四川三台 | FS20180920 | 辽宁抚顺 |
| S7  | LY20181006 | 山东莱阳  | WZ20180916 | 河南武陟 | SF20190406 | 四川什邡 | FS20180924 | 辽宁抚顺 |
| S8  | CF20180918 | 内蒙古赤峰 | WZ20180920 | 河南武陟 | SF20190326 | 四川什邡 | SD20180920 | 湖南邵东 |
| S9  | CF20180924 | 内蒙古赤峰 | WZ20180922 | 河南武陟 | JY20190314 | 四川江油 | SD20180916 | 湖南邵东 |
| S10 | CF20181008 | 内蒙古赤峰 | WZ20180926 | 河南武陟 | JY20190316 | 四川江油 | FS20180925 | 辽宁抚顺 |
| S11 | LY20180924 | 山东莱阳  | XF20181022 | 山西襄汾 | ST20190319 | 四川三台 | LN20181106 | 甘肃陇南 |
| S12 | LY20180926 | 山东莱阳  | XF20181024 | 山西襄汾 | ST20190320 | 四川三台 | LN20181003 | 甘肃陇南 |
| S13 | LY20180927 | 山东莱阳  | XF20181103 | 山西襄汾 | ST20190324 | 四川三台 | SD20180914 | 湖南邵东 |
| S14 | AG20180914 | 河北安国  | XF20181105 | 山西襄汾 | SF20190318 | 四川什邡 | FS20180928 | 辽宁抚顺 |
| S15 | AG20181016 | 河北安国  | XF20181118 | 山西襄汾 | SF20190320 | 四川什邡 | FS20181010 | 辽宁抚顺 |

声 20 min, 称定质量, 加甲醇补足减失的质量, 经 0.45 μm 微孔滤膜过滤, 取续滤液, 即得。

**2.2.3 阴性供试品溶液** 按处方分别称取缺少生地黄、麦冬、北沙参、玉竹(炒香)共4个阴性样品, 按 2.1 项下方法进行煎煮并冻干, 得阴性样品冻干粉, 按 2.2.2 项下方法制备, 即得。

**2.2.4 单味饮片供试品溶液** 按处方量分别称取生地黄、麦冬、北沙参、玉竹(炒香)共4个单味饮片, 按 2.1 项下方法进行煎煮并冻干, 得单味饮片冻干粉, 按 2.2.2 项下方法制备, 得单味饮片供试品溶液。

### 2.3 高效液相色谱法(HPLC)指纹图谱测定

**2.3.1 色谱条件** Agilent ZORBAX Eclipse Plus C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm), 流动相 0.05% 磷酸水溶液(A)-乙腈(B)梯度洗脱(0~8 min, 5%~12%B; 8~12 min, 12%~15%B; 12~16 min, 15%~17%B; 16~35 min, 17%~24%B; 35~45 min, 24%~35%B; 45~53 min, 35%~50%B; 53~60 min, 50%~5%B; 60~63 min, 5%B), 检测波长 334 nm, 流速设定 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, 柱温 25 °C, 进样量 20 μL。

**2.3.2 精密度考察** 取益胃汤物质基准冻干粉(样品 S6)适量, 按 2.2.2 项下方法制备供试品溶液, 按 2.3.1 项下色谱条件连续进样 6 次, 记录色谱图, 以异毛蕊花糖苷为参照峰, 结果各共有峰相对保留时间的相对标准偏差(RSD)均<1.0%, 相对峰面积的

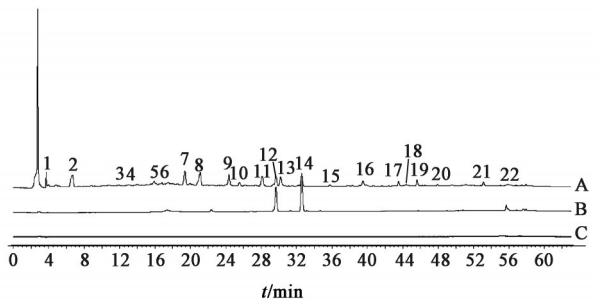
RSD均<5.0%, 表明仪器精密度良好。

**2.3.3 重复性考察** 取同批益胃汤物质基准冻干粉(样品 S6)6份, 按 2.2.2 项下方法制备供试品溶液, 按 2.3.1 项下色谱条件测定, 记录色谱图, 以异毛蕊花糖苷为参照峰, 结果各共有峰相对保留时间的 RSD 均<1.0%, 相对峰面积的 RSD 均<5.0%, 表明该方法重复性良好。

**2.3.4 稳定性考察** 取益胃汤物质基准冻干粉(样品 S6)适量, 按 2.2.2 项下方法制备供试品溶液, 分别于制备后 0, 2, 4, 8, 12, 24 h 按 2.3.1 项下色谱条件测定, 以异毛蕊花糖苷为参照峰, 结果各共有峰相对保留时间的 RSD 均<1.0%, 相对峰面积的 RSD 均<5.0%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

**2.3.5 专属性考察** 取益胃汤物质基准冻干粉(样品 S6)的供试品溶液、混合对照品溶液及甲醇(空白试剂)适量, 按 2.3.1 项下色谱条件测定, 见图 1。

**2.3.6 指纹图谱检测及共有峰归属** 将 2.2.1 和 2.2.2 项下溶液分别注入高效液相色谱仪进行检测, 记录指纹图谱, 见图 1, 2。采用“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”(2012 版), 以样品 S6 为参照图谱, 采用中位数法, 时间窗宽度 0.1 min, 对结果进行评价, 结果发现 15 批样品(S1~S15)与对照指纹图谱的相似度分别为 0.940, 0.982, 0.982, 0.980, 0.978, 0.994, 0.995, 0.969, 0.986, 0.994, 0.973, 0.981,

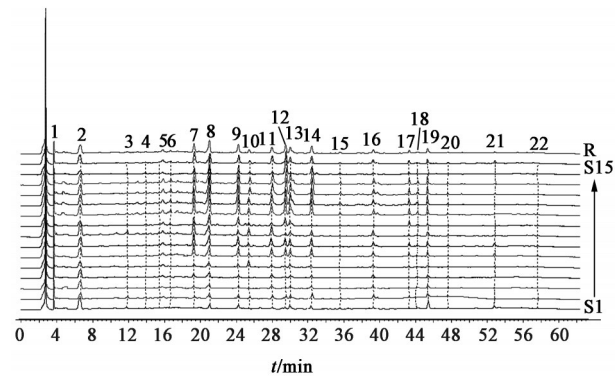


A. 供试品; B. 混合对照品; C. 空白试剂; 12. 毛蕊花糖苷; 14. 异毛蕊花糖苷; 22. 麦冬甲基黄烷酮 A

图1 益胃汤物质基准的HPLC专属性考察

Fig. 1 Investigation of HPLC specificity of substance benchmark of Yiweitang

0.994, 0.929, 0.993, 均>0.900。



R. 对照指纹图谱

图2 15批益胃汤物质基准的HPLC指纹谱

Fig. 2 HPLC fingerprints of 15 batches of substance benchmark of Yiweitang

取益胃汤物质基准样品S6的供试品溶液及2.2.3, 2.2.4项下溶液适量,按2.3.1项下色谱条件测定,记录色谱图,见图3。结果在益胃汤全方中共标定22个共有峰,指出了其中3个成分。结合色谱峰的保留时间及峰面积,通过对比分析,将22个色谱峰进行归属,即1, 9, 12, 14~17, 19和20号峰归属生地黄, 3, 4, 6, 7和21号峰归属于北沙参, 5和22号峰归属于麦冬, 2和18号峰归属于玉竹, 8号峰为麦冬和生地黄共有峰, 10号峰为麦冬, 玉竹和生地黄共有峰, 11号峰为4味药的共有峰, 13号峰为玉竹和生地黄共有峰。

2.4 HCA<sup>[4]</sup> 为了进一步研究15批益胃汤物质基准的差异性,利用SPSS 25.0软件,以22个共有峰的峰面积为变量,采用组间连接法,以平方欧氏距离为测度对样品进行聚类分析,见图4。结果发现当欧氏距离为20时,可将15批样品分为两类,其中样品S10~S13聚为一类,其余样品聚为另一类;当欧氏

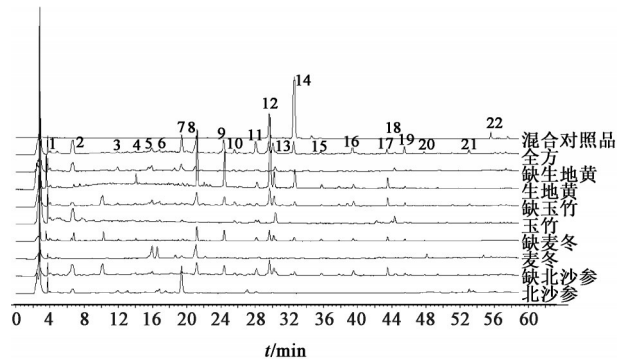


图3 益胃汤物质基准共有峰的归属

Fig. 3 Attribution of common peaks in substance benchmark of Yiweitang

距离为10时,15批样品可分为四类,即样品S1~S7, S9, S15为第一类,样品S14为第二类,样品S8为第三类,样品S10~S13为第四类,该结果可与指纹图谱相似度评价结果相互印证。表明不同批次样品之间相同成分的含量仍存在一定差异,对物质基准的质量控制会产生一定影响。

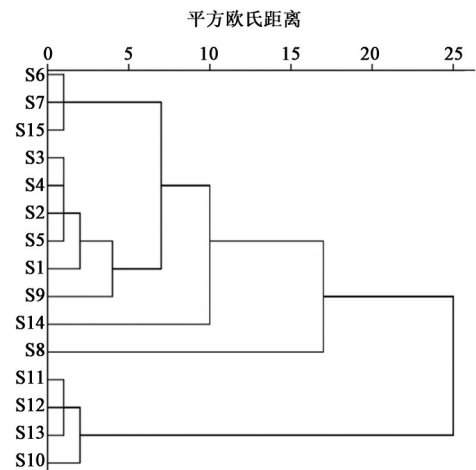


图4 15批益胃汤物质基准的HCA

Fig. 4 HCA of 15 batches of substance benchmark of Yiweitang

2.5 PCA 以15批益胃汤物质基准的22个共有峰的峰面积为变量,导入SIMCA-P 14.1软件进行PCA处理,见图5。结果发现15批益胃汤物质基准可分为四类,其中样品S1~S7, S9, S15为一类,样品S14为一类,样品S8为一类,样品S10~S13为一类,此分类结果与HCA结果一致。

2.6 OPLS-DA 为更好地分析不同批次益胃汤物质基准的组间差异,找到造成差异的主要化学成分,将15批样品的22个共有峰的峰面积导入SIMCA-P 14.1进行OPLS-DA处理,见图6。结果发现15批样品聚为四类,其中样品S1~S7, S9, S15为一类,样品S14为一类,样品S8为一类,样品

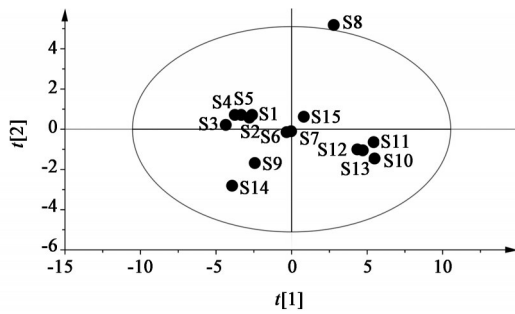


图5 15批益胃汤物质基准的PCA得分  
Fig. 5 PCA scoring of 15 batches of substance benchmark of Yiweitang

S10~S13为一类,此分类结果与PCA,HCA结果一致。以变量投影重要性(VIP)值>1为判定标准,筛选差异组分,见图7。结果共找到9个峰,按VIP值大小排序分别为12号峰(毛蕊花糖苷),8号峰,9号峰,7号峰,3号峰,14号峰(异毛蕊花糖苷),2号峰,13号峰,11号峰。上述9个峰主要来源于生地黄和北沙参,说明全方中生地黄和北沙参的饮片质量优劣对益胃汤物质基准指纹图谱影响较大。

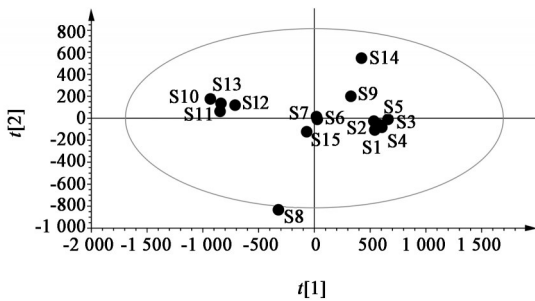


图6 15批益胃汤物质基准的OPLS-DA得分矩阵  
Fig. 6 OPLS-DA score matrix of 15 batches of substance benchmark of Yiweitang

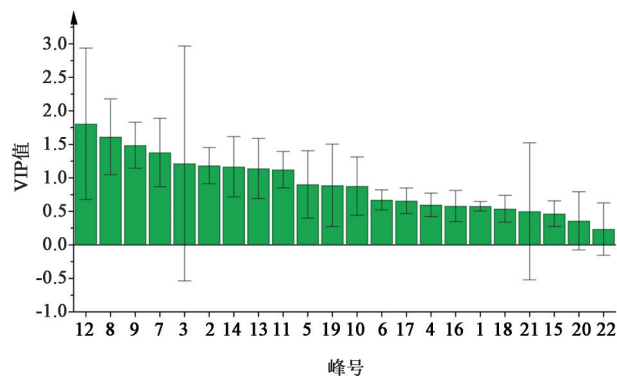


图7 益胃汤物质基准 OPLS-DA 的VIP值  
Fig. 7 VIP values of substance benchmark of Yiweitang by OPLS-DA

## 2.7 益胃汤物质基准的多组分含量测定

### 2.7.1 梓醇含量测定的色谱条件 采用 Agilent

ZORBAX Eclipse Plus C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm),流动相乙腈-0.1%磷酸水溶液(1:99),进样量 20 μL,检测波长 210 nm,柱温 30 °C。理论板数按梓醇计不低于 5 000。毛蕊花糖苷和麦冬甲基黄烷酮 A 含量测定的色谱条件同 2.3.1 项。

2.7.2 对照品溶液的制备 取梓醇对照品适量,精密称定,加 2.7.1 项下流动相制成梓醇质量浓度为 15.30 mg·L<sup>-1</sup>的对照品溶液。精密称取麦冬甲基黄烷酮 A 和毛蕊花糖苷对照品适量,置于 100 mL 量瓶中,分别加甲醇适量,超声 10 min,加甲醇定容至刻度,摇匀,按所需浓度进行混合,得质量浓度分别为 67.80, 15.00 mg·L<sup>-1</sup>的混合对照品溶液。

2.7.3 供试品溶液的制备 精密称取益胃汤物质基准冻干粉 0.1 g,加 2.7.1 项下流动相 10 mL,超声 20 min,经 0.45 μm 微孔滤膜过滤,即得用于梓醇含量测定的供试品溶液。精密称取益胃汤物质基准冻干粉约 0.5 g,按 2.2.2 项下方法制备,即得用于毛蕊花糖苷和麦冬甲基黄烷酮 A 含量测定的供试品溶液。

2.7.4 线性范围考察 精密称取梓醇、毛蕊花糖苷和麦冬甲基黄烷酮 A 对照品适量,加甲醇稀释至所需质量浓度,梓醇质量浓度分别为 2.60, 5.19, 10.38, 15.57, 20.76 g·L<sup>-1</sup>,毛蕊花糖苷质量浓度依次为 1.41, 18.85, 28.28, 56.56, 70.70 mg·L<sup>-1</sup>,麦冬甲基黄烷酮 A 质量浓度依次为 12.64, 25.29, 50.57, 75.86, 101.14 mg·L<sup>-1</sup>。分别按 2.3.1 和 2.7.1 项下条件测定,以质量浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,得三者的回归方程分别为  $Y=56\ 990X+22\ 989$  ( $r=0.999\ 1$ ),  $Y=2\ 552.0X-258.6$  ( $r=0.999\ 2$ ),  $Y=1\ 025.4X-3\ 502.6$  ( $r=0.999\ 9$ ),线性范围依次为 2.60~20.76 g·L<sup>-1</sup>, 1.41~70.70 mg·L<sup>-1</sup>和 12.64~101.14 mg·L<sup>-1</sup>。

2.7.5 精密度试验 取益胃汤物质基准冻干粉样品 S6 适量,按 2.7.3 项方法制备供试品溶液,按 2.3.1 和 2.7.1 项下条件连续测定 6 次,记录色谱图,结果梓醇、毛蕊花糖苷和麦冬甲基黄烷酮 A 峰面积的 RSD 分别为 1.9%, 4.4%, 4.4%,说明仪器精密度良好。

2.7.6 重复性试验 取益胃汤物质基准冻干粉样品 S6 适量,按 2.7.3 项方法制备供试品溶液 6 份,按 2.3.1 和 2.7.1 项下条件测定,记录色谱图,计算梓醇、毛蕊花糖苷和麦冬甲基黄烷酮 A 平均质量分数分别为 0.80%, 0.021%, 0.082%, RSD 依次为 1.7%, 1.0%, 4.4%,说明该方法重复性良好。

2.7.7 稳定性试验 称取益胃汤物质基准冻干粉

样品S6适量,按2.7.3项下方法制备供试品溶液,分别在制备后0,2,4,6,12,18,24 h按2.3.1和2.7.1项下条件测定,记录色谱图,结果梓醇、毛蕊花糖苷和麦冬甲基黄烷酮A峰面积的RSD为3.2%,1.0%,4.6%,说明该方法稳定性良好。

**2.7.8 加样回收率试验** 取益胃汤物质基准冻干粉样品S6适量,按2.7.3项下方法制备供试品溶液,精密加入一定比例(80%,100%,120%)的梓醇、毛蕊花糖苷和麦冬甲基黄烷酮A对照品溶液,按2.3.1和2.7.1项下条件测定,计算梓醇、毛蕊花糖苷和麦冬甲基黄烷酮A平均加样回收率分别为100.30%,99.95%,97.97%,RSD分别为0.5%,0.6%,1.2%,表明该方法准确度良好。

**2.7.9 样品测定** 取15批益胃汤物质基准冻干粉样品适量,按2.7.3项下方法制备供试品溶液,按2.3.1和2.7.1项下条件测定,见表2。

表2 益胃汤物质基准的多组分含量测定

Table 2 Determination of ingredients in substance benchmark of Yiweitang %

| 样品编号 | 梓醇   | 毛蕊花糖苷 | 麦冬甲基黄烷酮A |
|------|------|-------|----------|
| S1   | 0.37 | 0.003 | 0.055    |
| S2   | 0.77 | 0.006 | 0.018    |
| S3   | 0.78 | 0.003 | 0.026    |
| S4   | 0.42 | 0.002 | 0.041    |
| S5   | 0.80 | 0.003 | 0.018    |
| S6   | 0.81 | 0.019 | 0.079    |
| S7   | 0.94 | 0.007 | 0.020    |
| S8   | 0.94 | 0.022 | 0.028    |
| S9   | 0.80 | 0.019 | 0.061    |
| S10  | 1.07 | 0.044 | 0.016    |
| S11  | 0.89 | 0.037 | 0.034    |
| S12  | 0.98 | 0.039 | 0.018    |
| S13  | 0.94 | 0.039 | 0.022    |
| S14  | 1.14 | 0.054 | 0.074    |
| S15  | 0.90 | 0.020 | 0.058    |

### 3 讨论与总结

**3.1 供试品溶液的制备** 预试验选用了固液萃取、液液萃取、水提醇沉方法对益胃汤水提液进行处理,通过HPLC检测,发现结果不稳定、分离度不高、出峰效果不好。而对该水提液真空冷冻干燥脱水后,物质基准粉末加甲醇进行超声处理,此方法制得的供试品溶液提取的小分子物质较全面,HPLC出峰效果较好。

**3.2 色谱条件的优化** 在指纹图谱检测的流动相选择过程时,比较了甲醇-水、甲醇-0.1%磷酸水、乙腈-水和乙腈-0.05%磷酸水等流动相系统,经HPLC-二极管阵列检测器(DAD)(190~400 nm)全波长扫描,以分离度、峰数、峰形、基线是否平稳等因素为评价标准,最终选定乙腈-0.05%磷酸水溶液作为流动相,334 nm作为检测波长。

**3.3 指标成分的选定** 中药复方制剂含有的化学成分较为复杂,且化学成分之间存在相互作用,但选择具有代表性的化学成分进行含量测定,能在一定程度上反映出中药复方制剂的内在质量<sup>[5]</sup>。目前,关于益胃汤质量评价的研究尚未见报道。该复方中生地黄和麦冬为君药,配伍北沙参、玉竹为臣药,冰糖濡养肺胃,调和诸药,为使药。现代研究表明,高异黄酮类和甾体皂苷类是麦冬的主要活性成分,高异黄酮类具有清除氧自由基、心肌保护、抗非小细胞肺癌等药理作用<sup>[6]</sup>;而麦冬甲基黄烷酮A是麦冬中含量较高的高异黄酮类成分,虽2020年版《中国药典》还未设定该指标成分,但已有研究选择其作为药材和复方的指标成分<sup>[7-8]</sup>,故本文将麦冬甲基黄烷酮A作为益胃汤物质基准的指标成分之一。梓醇和毛蕊花糖苷为地黄的重要活性成分,梓醇具有降血糖、抗炎和抗氧化应激等作用<sup>[9]</sup>,毛蕊花糖苷具有免疫调节、肝脏保护和增强记忆力等药理作用<sup>[10]</sup>。有研究表明生地黄中梓醇的含量不会随煎煮的时间而全部丢失,但影响较大<sup>[11]</sup>,本研究发现益胃汤物质基准中的梓醇含量均>0.20%。因此,综合不同批次物质基准指纹图谱共有峰的OPLS-DA结果考虑,最终选定梓醇、毛蕊花糖苷和麦冬甲基黄烷酮A作为益胃汤物质基准的指标成分。2020年版《中国药典》中,梓醇和地黄苷D为地黄含量质控指标,麦冬和玉竹则分别选择麦冬总皂苷和玉竹多糖为质控指标,北沙参则尚无化学质控指标。本课题组后续将尝试增加皂苷类和多糖类的指标成分,并对地黄苷D进一步研究,将其列为指标成分之一。

**3.4 指纹图谱分析** 本研究建立了15批益胃汤物质基准的HPLC指纹图谱,共标定了22个共有峰,并将22个共有峰的峰面积进行化学模式识别分析。结果发现3种化学模式识别分析的结果相一致,可将15批益胃汤物质基准分为四类。同时结合15批指纹图谱共有峰的响应强度可知,在同样条件下,有些批次样品中共有峰的峰面积很低,有些相对较高,说明该峰在不同批次样品间存有一定的差异。

毛蕊花糖苷和麦冬甲基黄烷酮A采用该指纹图谱方法进行测定,虽有些批次样品的含量很低,但结果可靠,不存在未检出情况。指纹图谱标定的22个共有峰只识别出了其中3个成分,后续将采用液质联用技术等方法对未识别的成分进行鉴定。

在对22个共有峰进行归属时,本文将21号峰归属于北沙参,其在北沙参样品图谱中响应值很高,但在缺生地黄和缺麦冬的阴性样品图谱中,未见有明显的色谱峰出现,推测可能在煎煮过程中不同饮片化学成分间发生了相关反应或其他原因,后续会进一步对其进行确认。

**3.5 总结** 经典名方在我国有着悠久、丰富的人用历史,是中医药宝库中最精华的部分,经典名方物质基准的研究对中药复方制剂的开发起着关键作用<sup>[12]</sup>。本文依据古代医籍记载的方法,对益胃汤物质基准进行研究,并从定性和定量2个角度展开分析,较为全面地反映了该复方的化学成分信息,可为益胃汤物质基准及其复方制剂质量控制标准的完善提供实验依据。

**[利益冲突]** 本文不存在任何利益冲突。

**[参考文献]**

[1] 郭丽媛,李会丰,徐秀萍,等. 益胃汤加减治疗小儿厌食脾胃阴虚型的临床观察[J]. 现代养生, 2014, 14(24):226-227.  
[2] 李秋建. 益胃汤治疗2型糖尿病胃轻瘫临床研究[J]. 医学信息, 2018, 31(18):137-139.

[3] 陈士林,刘安,李琦,等. 中药饮片标准汤剂研究策略[J]. 中国中药杂志, 2016, 41(8):1367-1375.  
[4] 孟岩,李焜仪,单家明,等. 经典名方小承气汤物质基准的HPLC指纹图谱分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(4):130-136.  
[5] 吴安,张誉晴,赵志峰,等. 经典名方枇杷清肺饮的UPLC指纹图谱及多指标成分含量分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(14):12-20.  
[6] 彭婉,马骁,王建,等. 麦冬化学成分及药理作用研究进展[J]. 中草药, 2018, 49(2):477-488.  
[7] 陈有根,戴俊东,古海峰. 麦冬药材及其提取物中甲基麦冬黄烷酮A和B的HPLC法测定[J]. 中草药, 2007, 38(11):1640-1643.  
[8] 杜中英,戚进,余伯阳. HPLC同时测定增液汤中多种指标性成分的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(10):76-79.  
[9] LIU J Y, ZHENG C Z, HAO X P, et al. Catalpol ameliorates diabetic atherosclerosis in diabetic rabbits [J]. Am J Transl Res, 2016, 8(10):4278-4288.  
[10] 王维刚,王芑,阳志强,等. 毛蕊花糖苷药理作用研究进展[J]. 国际药学研究杂志, 2020, 47(12):1078-1087.  
[11] 郭东艳,王梅,唐志书,等. 生地黄煎煮过程中梓醇含量的动态变化规律及止血作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(12):144-145.  
[12] 邓哲,刘德文,杜杰,等. 经典名方研发建议的梳理和探讨[J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(17):181-186.

[责任编辑 刘德文]