

· 经典名方 ·

## 经典名方清心莲子饮特征图谱及TLC鉴别方法的建立

高文雅<sup>1</sup>, 马秀景<sup>2</sup>, 高畅<sup>1</sup>, 赵海誉<sup>1</sup>, 周严严<sup>1</sup>, 王宏洁<sup>1</sup>, 于睿鹏<sup>3</sup>, 赵依芃<sup>3</sup>, 闫翠娥<sup>2</sup>,  
高丽芳<sup>2</sup>, 司南<sup>1\*</sup>, 边宝林<sup>1\*</sup>

(1. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700;

2. 葵花药业集团(冀州)有限公司, 河北衡水 053200; 3. 北京市药品检验研究院, 北京 102206)

**[摘要]** 目的:建立清心莲子饮基准样品的特征图谱及薄层色谱法(TLC)鉴别方法,以阐明其关键质量属性,为该经典名方的质量评价提供参考。方法:建立清心莲子饮基准样品的高效液相色谱法(HPLC)特征图谱检测方法,采用YMC Hydrosphere C<sub>18</sub>色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm),流动相选择乙腈(A)-0.2%甲酸水溶液(B)进行梯度洗脱(0~10 min, 5%~20%A; 10~20 min, 20%A; 20~25 min, 20%~24%A; 25~40 min, 24%~30%A; 40~55 min, 30%~50%A; 55~65 min, 50%~100%A; 65~75 min, 100%A; 75~75.1 min, 100%~5%A; 75.1~90 min, 5%A),检测波长360 nm。采用超高效液相色谱-线性离子阱/静电场轨道阱质谱法(UHPLC-LTQ-Orbitrap MS),检测条件为电喷雾离子源,正、负离子模式检测,根据精确相对分子质量和多级MS碎片离子信息对清心莲子饮基准样品的化学成分进行鉴别。建立清心莲子饮基准样品中麦冬、地骨皮、莲子、茯苓、黄芪及人参的TLC鉴别方法。结果:特征图谱共标定15个特征峰,分别来自于甘草、车前子和黄芩,以8号峰(黄芩苷)为参照峰,15批清心莲子饮基准样品中特征峰1~15相对保留时间的相对标准偏差均≤3%。通过UHPLC-LTQ-Orbitrap MS分析,在清心莲子饮基准样品中共鉴定了100个化合物,包括黄酮、有机酸、皂苷、氨基酸等成分。建立的TLC分离度良好,适用于清心莲子饮中麦冬、地骨皮、莲子、茯苓、黄芪及人参的鉴别。结论:通过MS指认及来源归属,基本明确了清心莲子饮基准样品的物质基础。建立的清心莲子饮特征图谱及TLC简便稳定、重复性好,可为清心莲子饮的开发和质量控制提供参考。

**[关键词]** 经典名方; 清心莲子饮; 基准样品; 高效液相色谱法(HPLC)特征图谱; 质量控制; 薄层色谱法(TLC); 超高效液相色谱-线性离子阱/静电场轨道阱质谱法(UHPLC-LTQ-Orbitrap MS)

**[中图分类号]** R22;R28;R932;O657 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2023)11-0034-09

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.20221049 **[增强出版附件]** 内容详见<http://www.syfjxzz.com>或<http://cnki.net>

**[网络出版地址]** <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20220926.1633.003.html>

**[网络出版日期]** 2022-09-27 17:36:13

### Establishment of Specific Chromatogram and TLC Identification for Qingxin Lianziyin

GAO Wenyang<sup>1</sup>, MA Xiuqing<sup>2</sup>, GAO Chang<sup>1</sup>, ZHAO Haiyu<sup>1</sup>, ZHOU Yanyan<sup>1</sup>, WANG Hongjie<sup>1</sup>,  
YU Ruipeng<sup>3</sup>, ZHAO Yipeng<sup>3</sup>, YAN Cuie<sup>2</sup>, GAO Lifang<sup>2</sup>, SI Nan<sup>1\*</sup>, BIAN Baolin<sup>1\*</sup>

(1. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China;

2. Sunflower Pharmaceutical Group (Jizhou) Co. Ltd., Hengshui 053200, China;

3. Beijing Institute for Drug Control, Beijing 102206, China)

**[Abstract]** **Objective:** To establish the specific chromatogram and thin layer chromatography(TLC) of Qingxin Lianziyin(QXLZY) benchmark samples, in order to clarify the key quality attributes and provide a

**[收稿日期]** 2022-08-09

**[基金项目]** 中国中医科学院中药研究所横向课题(H2018030-1);中国中医科学院科技创新工程项目(CI2021A04405,CI2021A04502);  
国家中医药管理局中医药防治新型冠状病毒感染的肺炎应急研究专项课题(2020ZYLCYJ02-9);国家中医药管理局青年岐  
黄学者项目;杭州市钱江特聘专家项目(2020)

**[第一作者]** 高文雅,在读博士,从事中药活性物质基础及生物学表征研究,E-mail:gaowenya0215@163.com

**[通信作者]** \* 司南,副研究员,从事中药化学与分析研究,Tel:010-84041249,E-mail:nsi@icmm.ac.cn;

\* 边宝林,研究员,从事中药新药开发及活性成分研究,Tel:010-84041249,E-mail:blbian@icmm.ac.cn

reference for the quality evaluation of QXLZY. **Method:** High performance liquid chromatography (HPLC) specific chromatogram of QXLZY benchmark samples was developed by using a YMC Hydrosphere C<sub>18</sub> column (4.6 mm×250 mm, 5 μm) with the mobile phase of acetonitrile(A)-0.2% formic acid aqueous solution(B) for gradient elution(0-10 min, 5%-20%A; 10-20 min, 20%A; 20-25 min, 20%-24%A; 25-40 min, 24%-30%A; 40-55 min, 30%-50%A; 55-65 min, 50%-100%A; 65-75 min, 100%A; 75-75.1 min, 100%-5%A; 75.1-90 min, 5%A), and the detection wavelength was 360 nm. Ultra-high performance liquid chromatography-linear ion trap/orbitrap mass spectrometry(UHPLC-LTQ-Orbitrap MS) with electrospray ionization(ESI) was used to identify the components of QXLZY benchmark samples by accurate relative molecular weight and multilevel MS fragment ion information, the detection conditions were positive and negative ion modes and data dependency scanning mode. TLC identification methods for Ophiopogonis Radix, Lycii Cortex, Nelumbinis Semen, Poria, Astragali Radix and Ginseng Radix et Rhizoma in QXLZY were established. **Result:** A total of 15 characteristic peaks were identified from Glycyrrhizae Radix et Rhizoma, Plantaginis Semen and Scutellariae Radix, and the relative standard deviations of the retention times of 15 characteristic peaks in 15 batches of QXLZY benchmark samples were≤3% with peak 8(baicalin) as the reference peak. A total of 100 compounds, including flavonoids, organic acids, saponins, amino acids and others, were identified in the benchmark samples by UHPLC-LTQ-Orbitrap MS. The established TLC had good separation and was suitable for the identification of Ophiopogonis Radix, Lycii Cortex, Nelumbinis Semen, Poria, Astragali Radix and Ginseng Radix et Rhizoma in QXLZY. **Conclusion:** The material basis of QXLZY benchmark samples is basically determined by MS designation and source attribution. The established specific chromatogram and TLC of QXLZY are simple, stable and reproducible, which can provide a reference for the development and quality control of QXLZY.

**[Keywords]** famous classical formulas; Qingxin Lianziyin; benchmark samples; high performance liquid chromatography(HPLC) specific chromatogram; quality control; thin layer chromatography(TLC); ultra-high performance liquid chromatography-linear ion trap/orbitrap mass spectrometry(UHPLC-LTQ-Orbitrap MS)

清心莲子饮收录于《古代经典名方目录(第一批)》,出自《太平惠民和剂局方》,由黄芩、麦冬、地骨皮、车前子、甘草(炙)、石莲肉、茯苓、黄芪(炙)、人参配伍而成,可清心火、交心肾、益气阴、止淋浊,用于治疗小便白浊、遗精涩沥、便赤如血、五淋滞下、烦热消渴等证,适用于偏虚性慢性泌尿系统疾病,在神经衰弱、早期糖尿病肾病等方面也有显著疗效<sup>[1]</sup>。

清心莲子饮基准样品经水提、浓缩、干燥制成,可能含有黄酮<sup>[2]</sup>、高异黄酮<sup>[3]</sup>、生物碱<sup>[4]</sup>、苯乙醇苷、环烯醚萜<sup>[5]</sup>、水溶性多糖<sup>[6-7]</sup>、氨基酸<sup>[8]</sup>、三萜皂苷等化学成分<sup>[9]</sup>。通过文献检索发现,有关清心莲子饮的研究目前多集中于临床药效及其加减方的应用,缺乏系统性的物质基础研究。有研究人员采用高效液相色谱法(HPLC)分别测定清心莲子饮中人参皂苷 Re、Rg<sub>1</sub>、Rb<sub>1</sub><sup>[10]</sup>,黄芩苷<sup>[11]</sup>,甘草酸铵<sup>[11]</sup>,京尼平苷酸<sup>[12]</sup>的含量,但单一控制1~2味药材的特征成分显然是不太符合中药复方的整体观,因此,亟待加强该方的整体质量评价研究。因此,笔者立足于经典名方开发,采用 HPLC 建立清心莲子饮基准样品

的特征图谱,运用超高效液相色谱-线性离子阱/静电场轨道阱质谱法(UHPLC-LTQ-Orbitrap MS)对其化学成分进行定性分析,并建立其组方药味麦冬、地骨皮、莲子、茯苓、黄芪及人参鉴别的薄层色谱法(TLC),为该经典名方的开发和质量控制提供参考依据。

## 1 材料

LC-2030C 3D、LC-20AT型高效液相色谱仪(日本岛津公司),1260型高效液相色谱仪(美国安捷伦公司),UltiMate 3000型超高效液相色谱仪(美国戴安公司),LTQ Orbitrap velos pro型质谱仪(美国Thermo Fisher公司),XA105、ML-104/02型电子分析天平[梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司],CP423C型电子天平[奥豪斯仪器(上海)有限公司],WHLL-45BE型电热恒温干燥箱(天津市泰斯特仪器有限公司),ZF-90型多功能暗箱式紫外透视仪(上海宝山顾村电光仪器厂)。

毛蕊异黄酮葡萄糖苷、甘草酸铵、黄芩苷、毛蕊花糖苷、人参皂苷 Rb<sub>1</sub>、人参皂苷 Re 对照品(批号分别为 111920-201606、110731-200615、715-200010、

111530-201713、110704-201223、110754-200319, 纯度均>98%), 麦冬、地骨皮、莲子、茯苓、黄芪及人参对照药材(批号分别为121013-201711、121087-201707、121121-201205、121117-201509、120974-201612、120917-201712)均购自中国食品药品检定研究院, 人参皂苷Rg<sub>1</sub>对照品(中国计量科学研究院, 批号GBW09204, 纯度99%), 硅胶60薄层色谱板(德国Merck公司), 水为娃哈哈纯净水, 乙腈、甲醇为色谱纯, 甲酸为质谱纯, 其他试剂均为分析纯。黄芩、麦冬、地骨皮、车前子、甘草、莲子、茯苓、黄芪和人参饮片均由葵花药业集团(冀州)有限公司提供。各饮片经中国中医科学院中药研究所赵海誉研究员鉴定, 基原分别为唇形科植物黄芩 *Scutellaria baicalensis* 的干燥根, 百合科植物麦冬 *Ophiopogon japonicus* 的干燥块根, 茄科植物枸杞 *Lycium chinense* 的干燥根皮, 车前科植物车前 *Plantago asiatica* 的干燥成熟种子, 豆科植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* 的干燥根和根茎, 睡莲科植物莲 *Nelumbo nucifera* 的干燥成熟种子, 多孔菌科真菌茯苓 *Poria cocos* 的干燥菌核, 豆科植物蒙古黄芪 *Astragalus membranaceus* var. *mongholicus* 的干燥根, 五加科植物人参 *Panax ginseng* 的干燥根和根茎, 均符合2020年版《中华人民共和国药典》(以下简称《中国药典》)的相关规定, 饮片具体信息见增强出版附加材料。

## 2 方法与结果

**2.1 清心莲子饮基准样品的制备** 参照文献[1]中确定的方法制备15批清心莲子饮基准样品, 编号JZYP-01~JZYP-15。

### 2.2 特征图谱方法的建立

**2.2.1 色谱条件** YMC Hydrosphere C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm), 流动相乙腈(A)-0.2%甲酸水溶液(B)梯度洗脱(0~10 min, 5%~20%A; 10~20 min, 20%A; 20~25 min, 20%~24%A; 25~40 min, 24%~30%A; 40~55 min, 30%~50%A; 55~65 min, 50%~100%A; 65~75 min, 100%A; 75~75.1 min, 100%~5%A; 75.1~90 min, 5%A), 柱温35 °C, 检测波长360 nm, 流速1 mL·min<sup>-1</sup>, 进样量20 μL。

**2.2.2 供试品溶液的制备** 精密称取清心莲子饮基准样品粉末(过80目筛)0.1 g, 置具塞锥形瓶中, 精密加入含0.5%冰乙酸的50%甲醇50 mL, 称定质量, 密塞, 超声提取40 min(250 W, 40 kHz), 放凉, 加入含0.5%冰乙酸的50%甲醇补足减失的质量, 摇匀, 经0.22 μm微孔滤膜滤过, 即得。

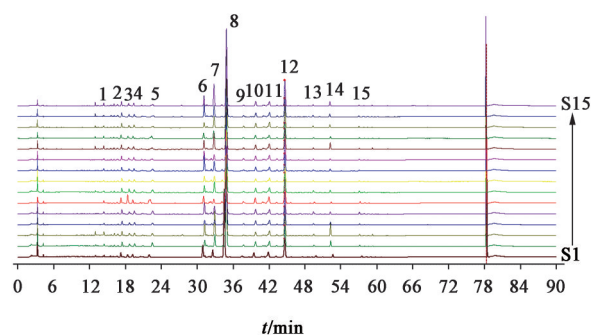
**2.2.3 对照品溶液的制备** 精密称取对照品毛蕊异黄酮葡萄糖苷、甘草酸铵、黄芩苷及毛蕊花糖苷对照品适量, 加含0.5%冰乙酸的50%甲醇制成每100 mL含毛蕊异黄酮葡萄糖苷0.3 mg、甘草酸铵1 mg、黄芩苷7.5 mg及毛蕊花糖苷0.6 mg的混合对照品溶液, 摇匀, 即得。

**2.2.4 精密度试验** 称取清心莲子饮基准样品JZYP-06约0.1 g, 按2.2.2项下方法制备供试品溶液。按2.2.1项下色谱条件测定, 连续测定6次, 计算特征峰1~15相对保留时间( $t_R$ )的相对标准偏差(RSD)均<0.1%, 相对峰面积的RSD均<1.0%, 表明仪器精密度良好。

**2.2.5 重复性试验** 称取清心莲子饮基准样品JZYP-06共6份, 按2.2.2项下方法平行制备供试品溶液, 按2.2.1项下条件测定, 计算特征峰1~15相对 $t_R$ 的RSD均<0.1%, 相对峰面积的RSD均<2.0%, 表明该方法重复性良好。

**2.2.6 稳定性试验** 取同一基准样品的供试品溶液, 室温放置, 分别于制备后0、4、8、12、20、24 h按2.2.1项下条件测定, 计算特征峰1~15相对 $t_R$ 的RSD均<0.2%, 相对峰面积的RSD均<1.2%, 说明供试品溶液至少在24 h内稳定性良好。

**2.2.7 样品测定** 取15批清心莲子饮基准样品, 按2.2.2项下方法制备供试品溶液, 按2.2.1项下条件测定, 特征图谱见图1, 各特征峰的相对 $t_R$ 见增强出版附加材料。结果发现15批清心莲子饮基准样品中特征峰1~15相对 $t_R$ 的平均值分别为0.414、0.499、0.533、0.558、0.648、0.888、0.943、1.000、1.082、1.143、1.209、1.284、1.421、1.502、1.641, RSD均≤3.0%。



注: S1~S15. JZYP-01~JZYP-15

图1 15批清心莲子饮基准样品的HPLC特征谱

Fig. 1 HPLC specific chromatograms of 15 batches of Qingxin Lianziyin benchmark samples

**2.2.8 特征峰的标定及归属** 在清心莲子饮基准样品的特征图谱中标定了15个特征峰, 以8号峰为参照峰, 特征峰1~15的相对 $t_R$ 分别为0.412、0.493、

0.526、0.550、0.639、0.889、0.938、1.000、1.085、1.143、1.207、1.283、1.423、1.506、1.647。通过比对对照品的紫外吸收波长及 $t_R$ ,确定3号峰为毛蕊花糖苷,8号峰为黄芩苷。通过与单味饮片样品比对,确定1、6、7、14号峰来自于甘草;3号峰来自于车前子和黄芩;2、4、5、8~13、15号峰来自于黄芩,特征图谱见图2。

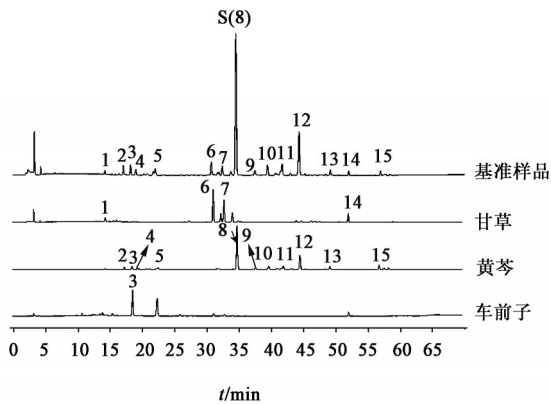


图2 清心莲子饮基准样品及单味饮片的特征谱  
Fig. 2 Specific chromatograms of Qingxin Lianziyin benchmark samples and its decoction pieces

**2.2.9 特征图谱的相似度检测** 采用“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”(2012版),选择中位数法,时间窗宽度0.10 min,对色谱峰进行多点校正、自动匹配,生成对照图谱,计算样品JZYP-01~JZYP-15的特征图谱相似度分别为0.996、0.999、0.986、0.996、0.998、0.989、0.999、0.998、0.995、0.997、0.998、1.000、0.998、0.998、0.994,说明15批基准样品的化学成分基本稳定,符合特征图谱研究要求。

表1 清心莲子饮基准样品中化学成分的UHPLC-LTQ-Orbitrap MS鉴定

Table 1 Identification of chemical components in Qingxin Lianziyin benchmark samples by UHPLC-LTQ-Orbitrap MS

No.	离子模式	$t_R$ /min	$m/z$ 实测值	$m/z$ 理论值	$\delta$ /ppm	化合物	分子式	碎片离子
1	ESI <sup>+</sup>	2.56	175.119 1	175.119 0	0.62	精氨酸 <sup>[13-14]</sup>	C <sub>6</sub> H <sub>14</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub>	158、116、60
2	ESI <sup>+</sup>	3.22	76.039 1	76.039 3	-2.83	甘氨酸 <sup>[13,15]</sup>	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> NO <sub>2</sub>	
3	ESI <sup>+</sup>	3.26	90.054 8	90.055 0	-1.50	丙氨酸 <sup>[13,15]</sup>	C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> NO <sub>2</sub>	
4	ESI <sup>+</sup>	3.30	106.049 8	106.049 9	-0.37	丝氨酸 <sup>[13,15]</sup>	C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> NO <sub>3</sub>	88、60
5	ESI <sup>+</sup>	3.33	120.065 6	120.065 5	0.50	苏氨酸 <sup>[13,15]</sup>	C <sub>4</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>3</sub>	102、74
6	ESI <sup>+</sup>	3.43	148.060 5	148.060 4	0.65	谷氨酸 <sup>[13,15]</sup>	C <sub>5</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>4</sub>	
7	ESI <sup>+</sup>	3.57	134.044 9	134.044 8	0.71	天冬氨酸 <sup>[13]</sup>	C <sub>4</sub> H <sub>7</sub> NO <sub>4</sub>	102、74
8	ESI <sup>-</sup>	3.58	711.215 4	711.213 1	3.23	芹糖甘草苷 <sup>[16]</sup>	C <sub>32</sub> H <sub>40</sub> O <sub>18</sub>	549、417、255、135、119
9	ESI <sup>+</sup>	3.60	118.086 2	118.086 3	-0.47	缬氨酸/甜菜碱 <sup>[13,15]</sup>	C <sub>5</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>2</sub>	70
10	ESI <sup>+</sup>	3.63	116.070 7	116.070 6	0.39	脯氨酸 <sup>[13,15]</sup>	C <sub>5</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>2</sub>	70
11	ESI <sup>-</sup>	3.79	341.106 9	341.107 8	-2.84	蔗糖 <sup>[17]</sup>	C <sub>12</sub> H <sub>22</sub> O <sub>11</sub>	179、161
12	ESI <sup>-</sup>	5.12	133.013 6	133.013 1	3.39	苹果酸	C <sub>4</sub> H <sub>6</sub> O <sub>5</sub>	115、71
13	ESI <sup>+</sup>	5.16	132.101 9	132.101 9	-0.04	异亮氨酸	C <sub>6</sub> H <sub>13</sub> NO <sub>2</sub>	86

**2.2.10 系统适应性考察** 在LC-20AT型和1260型高效液相色谱仪上分别使用YMC Hydrosphere、YMC Triart、SilGreen、Phenomenex Gemini、SB-C<sub>18</sub>等十八烷基键合硅胶色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm)进行检测,结果显示,各共有峰间分离度均>1.5,其他成分对待测成分的结果无干扰,说明建立的色谱条件系统适应性良好。其中偏水性的YMC Hydrosphere C<sub>18</sub>色谱柱的分离效果最佳,采用3根YMC Hydrosphere C<sub>18</sub>色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm, 序列号分别为112YA80198、123HA80197、110EA80222)进行检测,谱图结果表明重复性良好。

### 2.3 清心莲子饮基准样品的化学成分解析

**2.3.1 检测条件** 色谱条件为采用柱后分液(分流比3:1),进样量2 μL,其余色谱条件同2.2.1项。质谱条件为电喷雾离子源(ESI),正、负离子模式下扫描,毛细管温度350 °C,喷雾电压3.4 kV,鞘气(N<sub>2</sub>)流速35 arb,辅助气(N<sub>2</sub>)流速10 arb,一级质谱进行全扫描(分辨率30 000,扫描范围 $m/z$  50~1 500),二级及三级质谱采用数据依赖性扫描。数据采集和分析采用Xcalibur 4.1、Mass Frontier 7.0软件。

**2.3.2 供试品溶液的制备** 同2.2.2项。

**2.3.3 UHPLC-LTQ-Orbitrap MS成分分析** 采用UHPLC-LTQ-Orbitrap MS技术,在正、负离子模式下对清心莲子饮基准样品进行分析,总离子流图见增强出版附加材料,根据质谱提供的离子信息结合化合物裂解规律,共鉴定了100个成分,包括黄酮类、有机酸类、皂苷类、氨基酸类,初步明确了清心莲子饮基准样品的物质基础,见表1。

续表 1

No.	离子模式	$t_R$ /min	$m/z$ 实测值	$m/z$ 理论值	$\delta$ /ppm	化合物	分子式	碎片离子
14	ESI <sup>+</sup>	5.28	268.104 1	268.104 0	0.26	腺苷 <sup>[18]</sup>	C <sub>10</sub> H <sub>13</sub> N <sub>5</sub> O <sub>4</sub>	136
15	ESI <sup>-</sup>	6.40	191.018 7	191.018 6	0.27	柠檬酸	C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>7</sub>	111
16	ESI <sup>+</sup>	7.37	166.086 2	166.086 3	-0.15	苯丙氨酸 <sup>[13,17]</sup>	C <sub>9</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>2</sub>	120
17	ESI <sup>-</sup>	9.15	373.111 8	373.112 9	-1.13	京尼平苷酸 <sup>[19]</sup>	C <sub>16</sub> H <sub>22</sub> O <sub>10</sub>	221、167、149、123
18	ESI <sup>-</sup>	10.21	359.095 6	359.097 3	-4.55	丁香酸葡萄糖苷 <sup>[14]</sup>	C <sub>15</sub> H <sub>20</sub> O <sub>10</sub>	
19	ESI <sup>-</sup>	11.19	487.144 8	487.144 6	0.46	肉苁蓉苷F <sup>[20]</sup>	C <sub>21</sub> H <sub>28</sub> O <sub>13</sub>	
20	ESI <sup>+</sup>	15.74	565.154 2	565.155 2	-1.67	夏佛塔苷 <sup>[16]</sup>	C <sub>26</sub> H <sub>28</sub> O <sub>14</sub>	547、475、445、385、355
21	ESI <sup>+</sup>	17.95	581.185 2	581.186 5	-2.14	liquiritigenin-7,4'-diglucoside <sup>[16]</sup>	C <sub>27</sub> H <sub>32</sub> O <sub>14</sub>	419、257、239
22	ESI <sup>+</sup>	19.49	549.159 5	549.160 3	-1.43	白杨素-6-C-阿拉伯糖-8-C-葡萄糖苷 <sup>[21]</sup>	C <sub>26</sub> H <sub>28</sub> O <sub>13</sub>	255
23	ESI <sup>+</sup>	19.71	447.128 1	447.128 6	-1.17	毛蕊异黄酮葡萄糖苷 <sup>[22]</sup>	C <sub>22</sub> H <sub>22</sub> O <sub>10</sub>	285、270
24	ESI <sup>-</sup>	20.06	339.086 8	339.086 3	1.40	甲基麦冬高黄酮A <sup>[23]</sup>	C <sub>19</sub> H <sub>16</sub> O <sub>6</sub>	
25	ESI <sup>-</sup>	20.15	549.157 2	549.160 3	-5.53	芹糖甘草苷 <sup>[24]</sup>	C <sub>26</sub> H <sub>30</sub> O <sub>13</sub>	417、255、153、135
26	ESI <sup>-</sup>	20.18	417.116 1	417.118 0	-4.60	甘草苷 <sup>[25]</sup>	C <sub>21</sub> H <sub>22</sub> O <sub>9</sub>	255、153、135、119、91
27	ESI <sup>+</sup>	20.30	433.112 2	433.112 9	-1.65	芹菜素葡萄糖苷 <sup>[17]</sup>	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>10</sub>	215、243、153
28	ESI <sup>-</sup>	20.48	433.111 0	433.112 9	-4.46	南酸枣苷 <sup>[16]</sup>	C <sub>21</sub> H <sub>22</sub> O <sub>10</sub>	271、151
29	ESI <sup>-</sup>	21.11	623.193 7	623.197 0	-5.43	毛蕊花糖苷 <sup>[26]</sup>	C <sub>29</sub> H <sub>36</sub> O <sub>15</sub>	477、461、315、251
30	ESI <sup>-</sup>	21.19	417.117 2	417.118 0	-2.04	异甘草苷 <sup>[16,25]</sup>	C <sub>21</sub> H <sub>22</sub> O <sub>9</sub>	297、135、119、91
31	ESI <sup>+</sup>	22.28	549.159 6	549.160 3	-1.31	白杨素-6-C-葡萄糖-8-C-阿拉伯糖苷 <sup>[21]</sup>	C <sub>26</sub> H <sub>28</sub> O <sub>13</sub>	255
32	ESI <sup>-</sup>	24.34	561.161 3	561.160 3	1.88	黄甘草苷 <sup>[16]</sup>	C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>13</sub>	267、252
33	ESI <sup>+</sup>	27.79	463.086 4	463.087 1	-1.60	5,7-二羟基-2'-甲氧基黄酮-7-O-葡萄糖醛酸苷 <sup>[21]</sup>	C <sub>21</sub> H <sub>18</sub> O <sub>12</sub>	315
34	ESI <sup>+</sup>	34.78	431.132 9	431.133 7	-1.76	芒柄花苷 <sup>[17]</sup>	C <sub>22</sub> H <sub>22</sub> O <sub>9</sub>	269
35	ESI <sup>+</sup>	34.99	489.137 6	489.139 1	-3.08	毛蕊异黄酮-7-O-β-D-(6"-乙酰基)-葡萄糖苷 <sup>[17]</sup>	C <sub>24</sub> H <sub>24</sub> O <sub>11</sub>	285、270、253、225、137
36	ESI <sup>-</sup>	35.02	329.101 0	329.102 0	-3.08	麦冬二氢高异黄酮A	C <sub>18</sub> H <sub>18</sub> O <sub>6</sub>	
37	ESI <sup>+</sup>	35.12	433.112 0	433.112 9	-2.13	大波斯菊苷或其异构体 <sup>[26]</sup>	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>10</sub>	271
38	ESI <sup>-</sup>	35.81	623.193 2	623.197 0	-6.11	异毛蕊花糖苷 <sup>[26]</sup>	C <sub>29</sub> H <sub>36</sub> O <sub>15</sub>	477、461、315、251
39	ESI <sup>+</sup>	35.87	347.075 6	347.076 1	-1.60	5,7,2',5'-四羟基-8,6'-二甲氧基黄酮 <sup>[21]</sup>	C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>8</sub>	332、317、314
40	ESI <sup>-</sup>	39.36	267.028 7	267.028 8	-0.41	考迈斯托醇 <sup>[25]</sup>	C <sub>15</sub> H <sub>8</sub> O <sub>5</sub>	
41	ESI <sup>+</sup>	39.61	463.087 1	463.087 1	-0.07	5,7-二羟基-2'-甲氧基黄酮-7-O-葡萄糖醛酸苷 <sup>[21]</sup>	C <sub>21</sub> H <sub>18</sub> O <sub>12</sub>	315
42	ESI <sup>+</sup>	39.61	447.092 7	447.092 2	1.24	黄芩苷	C <sub>21</sub> H <sub>18</sub> O <sub>11</sub>	271
43	ESI <sup>-</sup>	39.72	353.100 7	353.102 0	-1.32	甘草黄酮醇/甘草异黄酮醇 <sup>[25]</sup>	C <sub>20</sub> H <sub>18</sub> O <sub>6</sub>	
44	ESI <sup>+</sup>	40.35	449.107 5	449.107 8	-0.80	木犀草苷 <sup>[20]</sup>	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>11</sub>	287
45	ESI <sup>-</sup>	40.88	463.158 3	463.159 9	-3.48	2'-羟基-3',4'-二甲氧基异黄酮-7-O-β-D-葡萄糖苷 <sup>[17]</sup>	C <sub>23</sub> H <sub>28</sub> O <sub>10</sub>	301
46	ESI <sup>-</sup>	43.01	461.106 2	461.107 8	-3.55	红车轴草素-7-O-β-D-葡萄糖苷 <sup>[17]</sup>	C <sub>22</sub> H <sub>22</sub> O <sub>11</sub>	
47	ESI <sup>+</sup>	43.02	477.101 9	477.102 8	-1.85	5,7,8-三羟基-6-甲氧基黄酮-7-O-葡萄糖醛酸苷 <sup>[27]</sup>	C <sub>22</sub> H <sub>20</sub> O <sub>12</sub>	301
48	ESI <sup>+</sup>	44.31	433.112 6	433.112 9	-0.65	大波斯菊苷或其异构体 <sup>[26]</sup>	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>10</sub>	
49	ESI <sup>+</sup>	45.22	447.092 5	447.092 2	0.63	黄芩苷异构体 <sup>[21]</sup>	C <sub>21</sub> H <sub>18</sub> O <sub>11</sub>	271
50	ESI <sup>-</sup>	46.17	299.055 9	299.055 0	3.10	金圣草素 <sup>[20]</sup>	C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>	
51	ESI <sup>+</sup>	46.18	315.085 9	315.086 3	-1.38	二羟基二甲氧基异黄酮 <sup>[16]</sup>	C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub>	300、283、255
52	ESI <sup>+</sup>	46.33	477.102 3	477.102 8	-1.03	5,7,2'-三羟基-6-甲氧基黄酮-7-O-葡萄糖醛酸苷 <sup>[21]</sup>	C <sub>22</sub> H <sub>20</sub> O <sub>12</sub>	301
53	ESI <sup>+</sup>	46.33	301.070 3	301.070 7	-1.08	三羟基甲氧基黄酮 <sup>[21]</sup>	C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>	286
54	ESI <sup>+</sup>	46.59	431.096 9	431.097 3	-0.82	白杨素-7-O-葡萄糖醛酸苷 <sup>[21]</sup>	C <sub>21</sub> H <sub>18</sub> O <sub>10</sub>	269
55	ESI <sup>+</sup>	46.66	461.108 0	461.107 8	0.29	千层纸素A-7-O-葡萄糖醛酸苷 <sup>[21]</sup>	C <sub>22</sub> H <sub>20</sub> O <sub>11</sub>	285、270
56	ESI <sup>+</sup>	48.38	477.102 0	477.102 8	-1.66	5,6,7-三羟基-8-甲氧基黄酮-7-O-葡萄糖醛酸苷 <sup>[21]</sup>	C <sub>22</sub> H <sub>20</sub> O <sub>12</sub>	301
57	ESI <sup>+</sup>	48.41	301.070 4	301.070 7	-0.88	切黄芩素II <sup>[21]</sup>	C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>	286
58	ESI <sup>-</sup>	48.55	505.169 4	505.170 4	-2.00	2'-羟基-3',4'-二甲氧基异黄酮-7-O-β-D-(6"-乙酰基)-葡萄糖苷 <sup>[17]</sup>	C <sub>25</sub> H <sub>30</sub> O <sub>11</sub>	301

续表 1

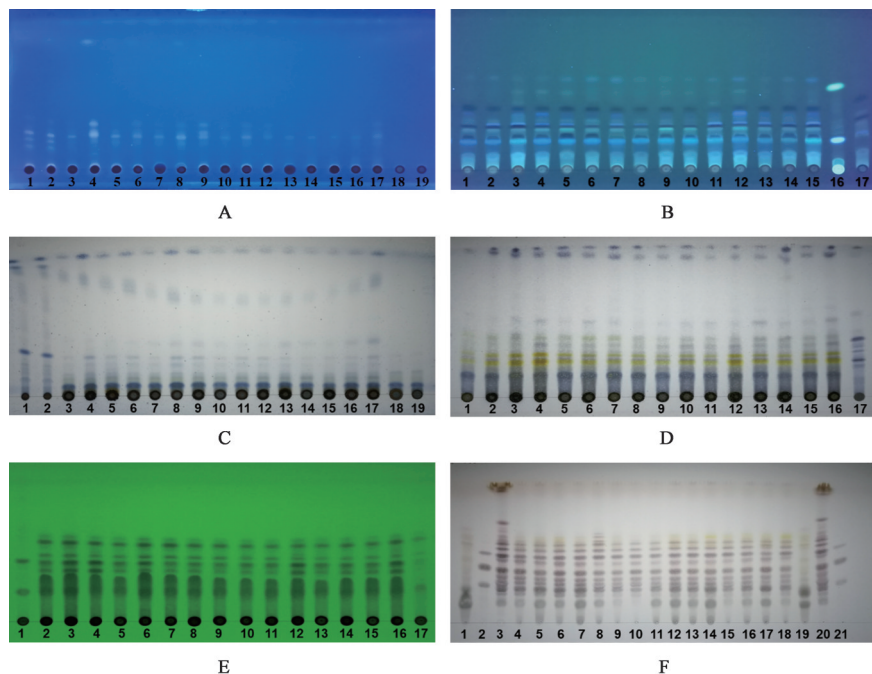
No.	离子模式	$t_R$ /min	$m/z$ 实测值	$m/z$ 理论值	$\delta$ /ppm	化合物	分子式	碎片离子
59	ESI <sup>+</sup>	48.79	461.107 9	461.107 8	0.16	汉黄芩苷 <sup>[21]</sup>	C <sub>22</sub> H <sub>20</sub> O <sub>11</sub>	285、270
60	ESI <sup>+</sup>	48.96	473.144 0	473.144 2	-0.51	formononetin-7-O-glc-6"-O-acetate <sup>[16]</sup>	C <sub>24</sub> H <sub>24</sub> O <sub>10</sub>	269、254、213
61	ESI <sup>+</sup>	49.18	491.117 6	491.118 4	-1.68	5,7-二羟基-6,8-二甲氧基黄酮-7-O-葡萄糖醛酸苷 <sup>[21]</sup>	C <sub>23</sub> H <sub>22</sub> O <sub>12</sub>	
62	ESI <sup>+</sup>	49.18	315.085 9	315.086 3	-1.38	二羟基二甲氧基黄酮 <sup>[21]</sup>	C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub>	300、285、282
63	ESI <sup>-</sup>	49.72	799.478 7	799.483 8	0.93	人参皂苷 Rf或其异构体 <sup>[28]</sup>	C <sub>42</sub> H <sub>72</sub> O <sub>14</sub>	
64	ESI <sup>+</sup>	49.89	287.055 4	287.055 0	1.20	木犀草素 <sup>[20]</sup>	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>6</sub>	153
65	ESI <sup>-</sup>	50.16	461.105 6	461.107 8	-4.88	高车前苷 <sup>[20]</sup>	C <sub>22</sub> H <sub>22</sub> O <sub>11</sub>	
66	ESI <sup>+</sup>	50.38	317.101 6	317.102 0	-1.28	二羟基二甲氧基二氢黄酮 <sup>[16]</sup>	C <sub>17</sub> H <sub>16</sub> O <sub>6</sub>	299、289、183、163、135
67	ESI <sup>-</sup>	51.91	1 077.584 5	1 077.584 0	0.44	人参皂苷 Rb <sub>3</sub> 或其异构体 <sup>[28]</sup>	C <sub>53</sub> H <sub>90</sub> O <sub>22</sub>	945、783、459
68	ESI <sup>+</sup>	52.03	331.080 8	331.081 2	-1.18	三羟基二甲氧基黄酮 <sup>[21]</sup>	C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>7</sub>	316、301
69	ESI <sup>-</sup>	52.24	269.044 0	269.044 4	-1.52	芹菜素 <sup>[15]</sup>	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub>	251、223、169、153
70	ESI <sup>+</sup>	52.34	271.059 9	271.060 1	-0.81	黄芩素 <sup>[21]</sup>	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub>	253、242、225、169
71	ESI <sup>-</sup>	53.12	945.543 8	945.541 7	2.13	人参皂苷 Rd或其异构体 <sup>[28]</sup>	C <sub>48</sub> H <sub>82</sub> O <sub>18</sub>	
72	ESI <sup>-</sup>	54.75	255.065 1	255.065 2	-0.30	甘草素 <sup>[25]</sup>	C <sub>15</sub> H <sub>12</sub> O <sub>4</sub>	135、119、91
73	ESI <sup>-</sup>	55.12	267.064 8	267.065 2	-1.37	芒柄花素 <sup>[17]</sup>	C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> O <sub>4</sub>	252
74	ESI <sup>+</sup>	56.98	303.122 0	303.122 7	-2.48	二羟基二甲氧基异黄酮 <sup>[16]</sup>	C <sub>17</sub> H <sub>18</sub> O <sub>5</sub>	193、181、167、149
75	ESI <sup>+</sup>	58.06	301.106 7	301.107 1	-1.30	黄芪紫檀烷 <sup>[16]</sup>	C <sub>17</sub> H <sub>16</sub> O <sub>5</sub>	167
76	ESI <sup>-</sup>	59.42	821.389 4	821.395 4	-7.32	甘草皂苷 H <sub>2</sub> /K <sub>2</sub> <sup>[16,25]</sup>	C <sub>42</sub> H <sub>62</sub> O <sub>16</sub>	
77	ESI <sup>-</sup>	59.53	283.059 4	283.060 1	-2.51	毛蕊异黄酮 <sup>[17]</sup>	C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> O <sub>5</sub>	268
78	ESI <sup>+</sup>	59.56	823.407 4	823.411 1	-4.51	甘草酸或甘草皂苷 H <sub>2</sub> /K <sub>2</sub> <sup>[16]</sup>	C <sub>42</sub> H <sub>62</sub> O <sub>16</sub>	647、453
79	ESI <sup>+</sup>	59.6	285.075 6	285.075 8	-0.46	汉黄芩素或千层纸素 A <sup>[21]</sup>	C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> O <sub>5</sub>	270
80	ESI <sup>+</sup>	60.06	375.107 2	375.107 4	-0.54	黄芩黄酮 II <sup>[21]</sup>	C <sub>19</sub> H <sub>18</sub> O <sub>8</sub>	360、345、327
81	ESI <sup>+</sup>	60.06	315.086 0	315.086 3	-1.09	2',7-dihydroxy-4',5'-dimethoxyisoflavone 或其异构体 <sup>[16]</sup>	C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub>	300、283、255
82	ESI <sup>+</sup>	60.29	255.064 9	255.065 2	-1.32	白杨素 <sup>[21]</sup>	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>4</sub>	
83	ESI <sup>+</sup>	60.45	839.405 2	839.406 0	-0.91	甘草皂苷 G <sub>2</sub> <sup>[16]</sup>	C <sub>42</sub> H <sub>62</sub> O <sub>17</sub>	469
84	ESI <sup>+</sup>	60.60	315.085 8	315.086 3	-1.79	2',7-dihydroxy-4',5'-dimethoxyisoflavone 或其异构体 <sup>[16]</sup>	C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub>	300、283、255
85	ESI <sup>-</sup>	60.66	353.100 5	353.102 0	-1.45	甘草黄酮醇 <sup>[25]</sup>	C <sub>20</sub> H <sub>18</sub> O <sub>6</sub>	
86	ESI <sup>-</sup>	61.22	821.390 6	821.395 4	-5.91	甘草酸或甘草皂苷 H <sub>2</sub> /K <sub>2</sub> <sup>[16,25]</sup>	C <sub>42</sub> H <sub>62</sub> O <sub>16</sub>	
87	ESI <sup>+</sup>	61.38	345.096 0	345.096 9	-2.52	二羟基-三甲氧基黄酮 <sup>[21]</sup>	C <sub>18</sub> H <sub>16</sub> O <sub>7</sub>	330
88	ESI <sup>-</sup>	61.41	513.317 8	513.321 1	-6.46	茯苓新酸 D <sup>[29]</sup>	C <sub>31</sub> H <sub>46</sub> O <sub>6</sub>	481
89	ESI <sup>-</sup>	61.51	367.11 7	367.117 6	-1.68	甘草香豆素 <sup>[16]</sup>	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>6</sub>	352、309
90	ESI <sup>-</sup>	62.22	353.100 4	353.102 0	-1.57	甘草黄酮醇/甘草宁 L/甘草异黄酮醇 <sup>[25]</sup>	C <sub>20</sub> H <sub>18</sub> O <sub>6</sub>	
91	ESI <sup>-</sup>	64.12	351.084 6	351.086 3	-1.69	甘草异黄酮 B <sup>[25]</sup>	C <sub>20</sub> H <sub>16</sub> O <sub>6</sub>	
92	ESI <sup>-</sup>	64.22	485.323 5	485.326 2	-5.55	茯苓酸 G <sup>[30]</sup>	C <sub>30</sub> H <sub>46</sub> O <sub>5</sub>	441、423、467、353
93	ESI <sup>-</sup>	64.95	341.101 8	341.102 0	-0.63	甲基麦冬黄烷酮 A <sup>[31]</sup>	C <sub>19</sub> H <sub>18</sub> O <sub>6</sub>	
94	ESI <sup>-</sup>	65.17	481.329 6	481.331 2	-3.36	多孔菌酸 C <sup>[32]</sup>	C <sub>31</sub> H <sub>46</sub> O <sub>4</sub>	421、311、435、403
95	ESI <sup>-</sup>	65.22	471.344 7	471.346 9	-4.64	16 $\alpha$ -hydroxytrametenolic acid <sup>[32]</sup>	C <sub>30</sub> H <sub>48</sub> O <sub>4</sub>	409、337、425
96	ESI <sup>-</sup>	65.26	327.121 8	327.122 7	-2.66	甲基麦冬黄烷酮 B <sup>[31]</sup>	C <sub>19</sub> H <sub>20</sub> O <sub>5</sub>	206、178、163
97	ESI <sup>-</sup>	65.75	497.322 5	497.326 2	-7.38	茯苓新酸 A <sup>[30]</sup>	C <sub>31</sub> H <sub>46</sub> O <sub>5</sub>	419、479、351
98	ESI <sup>-</sup>	65.75	483.343 8	483.346 9	-6.30	3-表去氢土莫酸/去氢土莫酸 <sup>[30]</sup>	C <sub>31</sub> H <sub>48</sub> O <sub>4</sub>	373
99	ESI <sup>-</sup>	68.67	513.355 9	513.357 5	-3.02	poricoic acid HM <sup>[30]</sup>	C <sub>32</sub> H <sub>50</sub> O <sub>5</sub>	451、467、495
100	ESI <sup>-</sup>	69.38	527.374 2	527.373 1	2.10	茯苓酸 <sup>[30]</sup>	C <sub>33</sub> H <sub>52</sub> O <sub>5</sub>	465、481、449

## 2.4 TLC鉴别

**2.4.1 供试品溶液的制备** 取清心莲子饮基准样品粉末 1.0 g, 加甲醇 25 mL 使溶解, 超声 40 min, 定性滤纸滤过, 滤液蒸干, 残渣加水 10 mL 使溶解, 加入乙酸乙酯 40 mL, 充分振摇, 放置分层。乙酸乙酯层蒸干后取残渣, 加甲醇 1 mL 使溶解, 作为供试品溶液 A; 水层加入水饱和正丁醇 30 mL, 充分振摇后放置分层, 取正丁醇部分加入氨试液 60 mL, 充分振摇, 放置分层, 分离正丁醇部分, 蒸干, 残渣加入甲醇 1 mL 使溶解, 作为供试品溶液 B。

**2.4.2 麦冬** 取麦冬对照药材 1.0 g, 加甲醇 25 mL

超声提取 40 min, 定性滤纸滤过, 滤液蒸干, 加甲醇 1 mL 使溶解, 制成对照药材溶液。制备缺麦冬的麦冬阴性基准样品, 同供试品溶液 A 的制备方法制成阴性样品溶液。吸取对照药材溶液 5  $\mu$ L、供试品溶液 A 20  $\mu$ L、阴性样品溶液 20  $\mu$ L 分别点于同一硅胶 GF254 薄层板上, 以正己烷-三氯甲烷(7:3)为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以 10% 硫酸乙醇溶液, 105  $^{\circ}$ C 加热 5 min, 置紫外光灯(365 nm)下检视, 见图 3A。结果发现阴性对上述鉴别无干扰, 供试品色谱中在与对照药材色谱相应的位置上, 显相同颜色的斑点。



注:A.麦冬(1,2.对照药材;3~17.基准样品;18,19.阴性样品);B.地骨皮(1~15.基准样品;16.阴性样品;17.对照药材);C.莲子(1,2.对照药材;3~17.基准样品;18,19.阴性样品);D.茯苓(1.阴性样品;2~16.基准样品;17.对照药材);E.黄芪(1.对照药材;2~16.基准样品;17.阴性样品);F.人参(1,19.阴性样品;2,21.混合对照品从下往上分别为人参皂苷 Rb<sub>1</sub>、Re、Rg<sub>1</sub>;3,20.对照药材;4~18.基准样品)

图3 清心莲子饮基准样品的TLC鉴别

Fig. 3 TLC identification of Qingxin Lianziyin benchmark samples

**2.4.3 地骨皮** 取地骨皮对照药材 1.0 g, 加甲醇 25 mL 超声提取 40 min, 定性滤纸滤过, 滤液蒸干, 加甲醇 1 mL 使溶解, 制成对照药材溶液。制备缺地骨皮的地骨皮阴性基准样品, 同供试品溶液 A 的制备方法制成阴性样品溶液。吸取对照药材溶液 5  $\mu$ L、供试品溶液 A 20  $\mu$ L、阴性样品溶液 20  $\mu$ L 分别点于同一硅胶 GF254 薄层板上, 以正己烷-丙酮(7:2)为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 立即喷以磷钼酸硫酸溶液(磷钼酸 2 g, 加水 20 mL 使溶解, 缓缓加入硫酸 30 mL 混匀), 在 105  $^{\circ}$ C 加热至斑点显色清晰, 见图 3C。结果发现阴性对上述鉴别无干扰, 供试品色谱中在与对照药材色谱相应的位置上, 显相同颜色的斑点。

**2.4.4 莲子** 取莲子对照药材 1.0 g, 加甲醇 25 mL

超声提取 40 min, 定性滤纸滤过, 滤液蒸干, 加甲醇 1 mL 使溶解, 制成对照药材溶液。制备缺莲子的莲子阴性基准样品, 同供试品溶液 A 的制备方法制成阴性样品溶液。吸取对照药材溶液 5  $\mu$ L、供试品溶液 A 20  $\mu$ L、阴性样品溶液 20  $\mu$ L 分别点于同一硅胶 GF254 薄层板上, 以正己烷-丙酮(7:2)为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 立即喷以磷钼酸硫酸溶液(磷钼酸 2 g, 加水 20 mL 使溶解, 缓缓加入硫酸 30 mL 混匀), 在 105  $^{\circ}$ C 加热至斑点显色清晰, 见图 3C。结果发现阴性对上述鉴别无干扰, 供试品色谱中在与对照药材色谱相应的位置上, 显相同颜色的斑点。

**2.4.5 茯苓** 取茯苓对照药材 1.0 g, 加甲醇 25 mL

超声提取 40 min,定性滤纸滤过,滤液蒸干,加甲醇 1 mL 使溶解,制成对照药材溶液。制备缺茯苓的茯苓阴性基准样品,同供试品溶液 A 的制备方法制成阴性样品溶液。吸取对照药材溶液 5  $\mu\text{L}$ 、供试品溶液 A 10  $\mu\text{L}$ 、阴性样品溶液 10  $\mu\text{L}$  分别点于同一硅胶 GF254 薄层板上,以甲苯-乙酸乙酯-甲酸(20:5:0.5)为展开剂,展开,取出,晾干,立即喷以磷钼酸硫酸溶液,在 105  $^{\circ}\text{C}$  加热至斑点显色清晰,见图 3D。结果发现阴性对上述鉴别无干扰,供试品色谱中在与对照药材色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点。

**2.4.6 黄芪** 取黄芪对照药材 1 g,加甲醇 25 mL 超声提取 40 min,定性滤纸滤过,滤液蒸干,加甲醇 1 mL 使溶解,制成对照药材溶液。制备缺黄芪的黄芪阴性基准样品,同供试品溶液 A 的制备方法制成阴性样品溶液。吸取对照药材溶液 5  $\mu\text{L}$ 、供试品溶液 A 5  $\mu\text{L}$ 、阴性样品溶液 20  $\mu\text{L}$  分别点于同一硅胶 GF254 薄层板上,以环己烷-二氯甲烷-乙酸乙酯-甲酸(4:1:2:0.1)为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外光灯(254 nm)下检视,见图 3E。结果发现阴性对上述鉴别无干扰,供试品色谱中在与对照药材色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点。

**2.4.7 人参** 取人参对照药材 1.0 g,加水 3 mL 搅拌湿润,加水饱和正丁醇 25 mL,超声处理 30 min,定性滤纸滤过,向滤液中加入氨试液 60 mL,摇匀,放置分层,取上层液蒸干,残渣加甲醇 1 mL 使溶解,制成对照药材溶液。制备缺人参的人参阴性基准样品,同供试品溶液 B 的制备方法制成阴性样品溶液。取人参皂苷  $\text{Rb}_1$ 、人参皂苷  $\text{Re}$  及人参皂苷  $\text{Rg}_1$  对照品适量,分别加甲醇制成每 1 mL 含 1 mg 的溶液,作为对照品溶液。吸取对照品及对照药材溶液各 2  $\mu\text{L}$ 、供试品溶液 B 3  $\mu\text{L}$ 、阴性样品溶液 3  $\mu\text{L}$  分别点于同一硅胶 G 薄层板上,参照 2020 年版《中国药典》(一部)“人参”项下 TLC 鉴别方法展开、显色<sup>[33]</sup>,见图 3F。结果发现阴性对上述鉴别无干扰,供试品色谱中在与对照药材色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点。

### 3 讨论与总结

**3.1 特征图谱供试品溶液制备方法的确定** 采用单因素试验考察了提取溶剂(甲醇、含 0.5% 冰乙酸的甲醇)、供试品溶液质量浓度(2、4、10  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )、超声时间(20、40、60 min)及甲醇体积分数(50%、80%、100%)对特征成分峰面积的影响。结果显示,甲醇和含 0.5% 冰乙酸的甲醇对特征成分的提取率基本相同,由于苯乙醇苷类成分在酸性溶液中更加稳

定,故选择含 0.5% 冰乙酸的甲醇;甲醇体积分数为 50% 和供试品溶液质量浓度为 2  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  时,提取更加充分;超声 40 min 和 60 min 的提取率基本相同,为节约时间,选择超声时间 40 min。

**3.2 色谱条件的确定** 采用十八烷基键合硅胶色谱柱,考察了乙腈-水、乙腈-0.5% 磷酸水溶液、乙腈-0.2% 甲酸水溶液等流动相系统,经过反复摸索,最终选择乙腈-0.2% 甲酸水溶液。柱温对特征图谱影响不大。在基准样品特征图谱中能够明显发现毛蕊异黄酮葡萄糖苷、毛蕊花糖苷、黄芩苷、甘草酸、黄芩素、汉黄芩素等成分,由于这些成分紫外吸收值相差较大,经过筛选发现 252、280、360 nm 波长下清心莲子饮基准样品的特征图谱较好,但同一检测波长下最多能够指认 3 味药材。通过综合考量,选定特征图谱检测波长 360 nm。

**3.3 TLC 供试品溶液制备方法的确定** 预试验发现麦冬、地骨皮、莲子、黄芪、茯苓按 2020 年版《中国药典》(一部)记载的方法制备成样品后分离效果不佳,故分别对清心莲子饮基准样品粉末进行甲醇超声、水溶解后有机溶剂萃取等处理,并对浓缩后的上述溶液进行预试。结果发现甲醇超声提取的溶液挥干后用水溶解,再经乙酸乙酯萃取后的乙酸乙酯层,能完成上述 5 味药材的 TLC 鉴别。为尽量节约样品、简化操作,笔者将乙酸乙酯萃取后的水层用水饱和正丁醇萃取,萃取后的正丁醇部分再经氨试液碱化后能够完成人参的 TLC 鉴别。

**3.4 总结** 本研究建立了清心莲子饮基准样品的特征图谱,并对其化学成分进行了指认及来源归属,还建立了清心莲子饮基准样品中部分药味的 TLC 鉴别方法,可为该复方的质量控制提供参考。然而,目前的研究还局限于小规模实验,尚需根据实际生产情况进行适当调整<sup>[34]</sup>。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

### [参考文献]

- [1] 高文雅,赵海誉,周严严,等. 经典名方清心莲子饮的历史沿革与现代临床应用研究概况[J]. 中国实验方剂学杂志,2021,27(9):224-232.
- [2] 李堆淑. 中药黄芩化学成分的研究进展[J]. 江西农业学报,2013,25(8):51-54.
- [3] 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.
- [4] 郑军义,赵万洲. 地骨皮的化学与药理研究进展[J]. 海峡药学,2008,20(5):62-65.
- [5] 郑秀棉,杨莉,王峥涛. 车前子的化学成分与药理活

- 性研究进展[J]. 中药材, 2013, 36(7): 1190-1196.
- [6] 郑宝东, 郑金贵, 曾绍校. 我国主要莲子品种中三种功效成分的研究[J]. 营养学报, 2004, 26(2): 158-160.
- [7] 张年, 李兆星, 李娟, 等. 茯苓的化学成分与生物活性研究进展[J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2019, 21(2): 220-233.
- [8] 林红强, 杨娜, 王涵, 等. 黄芪的化学成分、药理活性及临床应用研究进展[J]. 世界最新医学信息文摘, 2018, 18(38): 45-47.
- [9] 宋齐. 人参化学成分和药理作用研究进展[J]. 人参研究, 2017, 29(2): 47-54.
- [10] 苟鑫宇, 季宏与, 刘玉婷, 等. RP-HPLC-UV法测定清心莲子饮中人参皂苷Re、Rg<sub>1</sub>、Rb<sub>1</sub>的含量[J]. 化学工程师, 2019, 33(12): 21-24.
- [11] 陈忠新, 苟鑫宇, 李强, 等. HPLC法同时测定清心莲子饮中黄芩苷及甘草酸铵两种成分的含量[J]. 化学工程师, 2021, 35(2): 14-16.
- [12] 陈忠新, 苟鑫宇, 牟景龙, 等. HPLC法测定清心莲子饮中京尼平苷酸的含量[J]. 化学工程师, 2021, 35(4): 23-24.
- [13] 陈向明, 索有瑞. 高效液相色谱法测定地骨皮中18种氨基酸[J]. 理化检验: 化学分册, 2015, 51(10): 1444-1447.
- [14] 张静娴. 中药地骨皮的化学成分与质量控制方法研究[D]. 沈阳: 沈阳药科大学, 2013.
- [15] 马晓云. 五味降压方化学成分研究及基于代谢的药效物质基础研究方法初探[D]. 北京: 北京中医药大学, 2017.
- [16] 胡英还, 许文倩, 秦雪梅, 等. UHPLC-Q Exactive轨道阱高分辨质谱在线快速识别黄芪建中汤的化学成分[J]. 药学学报, 2017, 52(6): 964-970.
- [17] 谷雨龙, 刘斌, 姜艳艳. LCMS-IT-TOF法分析黄芪赤风汤提取物的化学成分[J]. 中华中医药学刊, 2018, 36(3): 630-637.
- [18] 赵利娟, 高文雅, 顾欣如, 等. 蒲地蓝消炎口服液化学成分鉴定及归属研究[J]. 中国中药杂志, 2019, 44(8): 1573-1587.
- [19] ZOU D X, WANG J F, ZHANG B, et al. Analysis of chemical constituents in Wuzi-Yanzong-Wan by UPLC-ESI-LTQ-Orbitrap-MS [J]. Molecules, 2015, 20(12): 21373-21404.
- [20] 郑秀棉, 杨莉, 王峥涛. 车前子的化学成分与药理活性研究进展[J]. 中药材, 2013, 36(7): 1190-1196.
- [21] 刘大伟, 闫广利, 方圆, 等. UPLC-ESI-TOF/MS应用于黄芩化学成分的快速分析[J]. 中医药信息, 2012, 29(4): 20-24.
- [22] WANG X L, LIU X, XU X Y, et al. Screening and identification of multiple constituents and their metabolites of Fangji Huangqi Tang in rats by ultra-high performance liquid chromatography coupled with quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry basing on coupling data processing techniques [J]. J Chromatogr B, 2015, 985: 14-28.
- [23] 吴茵, 邱志宏, 白万军, 等. 玄麦甘桔颗粒化学成分的UPLC-Q-TOF-MS快速分析方法[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(22): 70-76.
- [24] ZHANG Q Y, YE M. Chemical analysis of the Chinese herbal medicine Gan-Cao (licorice) [J]. J Chromatogr A, 2009, 1216(11): 1954-1969.
- [25] 马海娟, 高简, 张亚丽, 等. 基于HPLC-MS<sup>n</sup>的甘草成分快速鉴定及质谱裂解途径研究[J]. 中华中医药杂志, 2018, 33(3): 1120-1123.
- [26] 万茵, 谢明勇, 曾小星. 车前子总黄酮的纯化及其成分的液相质谱联用分析[J]. 食品科学, 2008, 29(2): 328-332.
- [27] QIAO X, LI R, SONG W, et al. A targeted strategy to analyze untargeted mass spectral data: Rapid chemical profiling of *Scutellaria baicalensis* using ultra-high performance liquid chromatography coupled with hybrid quadrupole orbitrap mass spectrometry and key ion filtering [J]. J Chromatogr A, 2016, 1441: 83-95.
- [28] 周思思, 马增春, 梁乾德, 等. 基于UPLC-TOF-MS分析人参麦冬配伍后皂苷类成分的变化[J]. 质谱学报, 2013, 34(2): 88-95.
- [29] AKIHISA T, UCHIYAMA E, KIKUCHI T, et al. Anti-tumor-promoting effects of 25-methoxyporicolic acid A and other triterpene acids from *Poria cocos* [J]. J Nat Prod, 2009, 72(10): 1786-1792.
- [30] WANG W, DONG H, YAN R, et al. Comparative study of lanostane-type triterpene acids in different parts of *Poria cocos* (Schw.) Wolf by UHPLC-Fourier transform MS and UHPLC-triple quadrupole MS [J]. J Pharm Biomed Anal, 2015, 102: 203-214.
- [31] 褚衍涛, 魏文峰, 霍金海, 等. UPLC-Q-TOF-MS法分析芩百清肺浓缩丸中的化学成分[J]. 中成药, 2016, 38(6): 1303-1310.
- [32] 邹叶廷, 徐金娣, 龙芳, 等. 整合UPLC-QTOF-MS/MS全扫描和模拟MRM方法综合评价茯苓乙醇提取物与后续乙酸乙酯萃取物三萜酸类组分化学一致性[J]. 药学学报, 2019, 54(1): 130-137.
- [33] 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: 8-9.
- [34] 王延涛, 王春艳, 齐晓丹, 等. 经典名方两地汤基准样品的质量标准建立[J]. 中国实验方剂学杂志, 2022, 28(20): 27-36.

[责任编辑 刘德文]