

- 126-129.
- [23] 原丽容, 叶艺璐. 黄精多糖体外抗氧化作用研究 [J]. 海峡药学, 2020, 32(2): 18-21.
- [24] Zeng P J, Li J, Chen Y L, et al. The structures and biological functions of polysaccharides from traditional Chinese herbs [J]. *Prog Mol Biol Transl Sci*, 2019, 163: 423-444.
- [25] Xing Z, Gauldie J, Cox G, et al. IL-6 is an antiinflammatory cytokine required for controlling local or systemic acute inflammatory responses [J]. *J Clin Invest*, 1998, 101(2): 311-320.
- [26] 金磊, 杨柏灿. 养肺, 健脾, 补肾“三合一”的黄精 [J]. 家庭用药, 2008(3): 40.
- [27] 赵英华. 黄精汤及制剂治疗肺结核和耐药性肺结核的疗效观察 [J]. 健康大视野, 2018(7): 120-121.
- [28] 严生兵, 方安阳. 黄精多糖对哮喘患者血清总 IgE、IL-4、INF- $\gamma$  及肺功能的影响 [J]. 临床肺科杂志, 2012, 17(11): 1985-1986.
- [29] Wu Y X, Zeng S, Wan B B, et al. Sophoricoside attenuates lipopolysaccharide-induced acute lung injury by activating the AMPK/Nrf2 signaling axis [J]. *Int Immunopharmacol*, 2021, 90: 107187.
- [30] Abou Saleh L, Boyd A, Aragon I V, et al. Ablation of PDE4B protects from *Pseudomonas aeruginosa*-induced acute lung injury in mice by ameliorating the cytostorm and associated hypothermia [J]. *FASEB J*, 2021, 35(9): e21797.
- [31] 陈超, 吴立英, 冯劲松. 清胃泻火方联合西帕依固龈液对菌斑性牙龈炎牙周状况及唾液 SOD, MDA, IL-6 水平的影响 [J]. 四川中医, 2021, 39(5): 162-165.

## 白虎汤单煎、合煎化学成分差异研究

肖观林<sup>1</sup>, 钟惠娴<sup>2</sup>, 陈伟韬<sup>1</sup>, 邱锦燕<sup>2</sup>, 杨敏娟<sup>2</sup>, 毕晓黎<sup>1\*</sup>

(1. 广东省中医药工程技术研究院, 广东省中医药研究开发重点实验室, 广东广州 510095; 2. 广州中医药大学第五临床医学院, 广东广州 510405)

**摘要:** 目的 考察白虎汤单煎、合煎化学成分差异。方法 该药物冻干粉的超高效液相色谱-四极杆-飞行时间高分辨质谱 (UPLC-Q-TOF-MS/MS) 分析采用 Waters UPLC BEH C<sub>18</sub> 色谱柱 (2.1 mm×100 mm, 1.7 μm); 流动相乙腈 (含 0.1% 甲酸)-水 (含 0.1% 甲酸), 梯度洗脱; 体积流量 0.25 mL/min; 柱温 40 °C; 电喷雾离子源; 负离子模式。建立化学成分数据库, 采用主成分分析、正交偏最小二乘判别分析鉴定差异性成分。结果 合煎、单煎化学成分组成相同, 但含量存在差异, 新芒果苷、芒果苷、甘草苷、薤白苷 J、异甘草苷、知母皂苷 B II、甘草皂苷 A3、22-乙酰氨基-甘草皂苷、甘草皂苷 G2、羟基甘草酸、甘草酸异构体是差异性成分。结论 该方法可用于评价白虎汤传统汤剂、配方颗粒汤剂的化学一致性, 为其临床合理应用提供参考依据。

**关键词:** 白虎汤; 化学成分; 单煎; 合煎; 超高效液相色谱-四极杆-飞行时间高分辨质谱 (UPLC-Q-TOF-MS/MS); 主成分分析; 正交偏最小二乘判别分析

**中图分类号:** R284.1

**文献标志码:** B

**文章编号:** 1001-1528(2023)04-1372-06

**doi:** 10.3969/j.issn.1001-1528.2023.04.060

白虎汤最早记载于《伤寒论》, 由石膏、知母、甘草、粳米 4 味药材组成, 功效清热泻火、除烦生津, 是治疗阳明热证的经典方剂, 具有治疗败血症、感冒发热的功效, 在抗炎、镇痛等方面均有作用<sup>[1-2]</sup>。中药传统汤剂在我国是应用最早、最广泛的剂型, 可根据病症加减来更好地发挥效果。中药配方颗粒是单味中药材经提取、浓缩等现代制药技术制成的制剂, 在临床可配制汤剂<sup>[3-4]</sup>, 但关于其疗效的争论不断, 焦点是所含化学成分可能与传统汤剂的不同, 在煎煮组合方剂的过程中可能存在相互作用, 这也是两者

等效性的重要问题<sup>[5-6]</sup>。

课题组前期已建立白虎汤含量测定、制剂工艺、指纹图谱方法, 并采用 ICP-MS 法测定单煎、合煎样品中金属离子含量<sup>[7-9]</sup>, 但目前尚无关于该方传统汤剂、配方颗粒汤剂化学成分的比较。因此, 本研究采用超高效液相色谱-四极杆-飞行时间高分辨质谱 (UPLC-Q-TOF-MS/MS) 法快速评价白虎汤单煎、合煎的化学一致性, 结合主成分分析、正交偏最小二乘判别分析比较两者在化学成分方面的差异, 以期为其他传统汤剂改革及配方颗粒的科学合理应用提供

收稿日期: 2022-05-27

基金项目: 广东省中医药局科研项目 (20215001); 2021 年省属科研机构稳定性支持项目 (粤财科教〔2021〕113 号)

作者简介: 肖观林 (1994—), 男, 硕士, 助理研究员, 从事中药质量评价研究。Tel: (020) 83482098, E-mail: 164669079@qq.com

\*通信作者: 毕晓黎 (1979—), 女, 博士, 主任中药师, 博士生导师, 从事中药质量评价研究, Tel: (020) 83482098, E-mail: 13770635223@163.com

基础。

## 1 材料

Milli-Q Advantage A10 纯水系统（美国 Millipore 公司）；Sorvall Legend Micro 17R 型微量离心机（美国 Thermo Scientific 公司）；ExionLC AC 液相色谱仪、X500R 飞行时间质谱仪（美国 AB Sciex 公司）；XS205 型电子分析天平（十万分之一，瑞士 Metter-Toledo 公司）。

新甘草昔（批号 RFS-X03211804026，纯度≥98%）、芒柄花昔（批号 M-013-190402，纯度≥98%）、甘草酸（批号 G-003-180103，纯度≥98%）、知母皂昔 B II（批号 RFS-Z00402011066，纯度≥98%）、知母皂昔 A III（批号 RFS-Z201911812016，纯度≥98%）、对羟基苯甲酸（批号 D-063-161216，纯度≥98%）、异牡荆昔（批号 Y-116-120630，纯度≥98%）、芹糖异甘草昔（批号 Q-093-180324，纯度≥98%）、异甘草昔（批号 Y-1420-161216，纯度≥98%）、甘草素（批号 G-036-170228，纯度≥98%）、刺甘草查尔酮（批号 C-050-170426，纯度≥98%）、异甘草素（批号 Y-008-161216，纯度≥98%）、光甘草定（批号 G-006-171216，纯度≥98%）、柚皮素（批号 Y-030-150714，纯度≥98%）对照品均购自成都瑞芬思生物科技公司；甘草昔（批号 111610-201908，纯度 95.0%）、大豆昔（批号 111738-201904，纯度 93.4%）、夏佛塔昔（批号 111912-201703，纯度 95.6%）、知母皂昔 B II（批号 111839-202107，纯度 95.4%）、芒果昔（批号 111607-201704，纯度 98.1%）、芒柄花素（批号 111703-200603，纯度≥98%）对照品均购自中国食品药品检定研究院；芹糖基甘草昔（批号 17041004，纯度≥98%）、新甘草昔（批号 15101301，纯度≥98%）对照品均购自成都普菲德生物技术有限公司；羟基甘草酸（批号 AF20060101，纯度≥98%）对照品购自成都埃法生物科技有限公司。石膏（批号 HX21G01，产地安徽）购自广东和翔制药有限公司；知母（批号 21050105，产地河北）购自广东源生泰药业有限公司；炙甘草（批号 200202，产地内蒙古）购自广州至信中药饮片有限公司；粳米为市售，经广东省中医药工程技术研究院刘法锦研究员鉴定为正品，均符合 2020 年版《中国药典》一部的有关规定。甲醇、乙腈为质谱纯（美国 Fisher Chemical 公司）；甲酸为色谱纯；其余试剂均为分析纯；水为屈臣氏蒸馏水。

## 2 方法

2.1 色谱条件 Waters UPLC BEH C<sub>18</sub> 色谱柱（2.1 mm×100 mm, 1.7 μm）；流动相乙腈（含 0.1% 甲酸）（A）-水（含 0.1% 甲酸）（B），梯度洗脱（0~8 min, 5%~20% A；8~13 min, 20%~30% A；13~26 min, 30%~62% A；26~29 min, 62%~98% A）；体积流量 0.25 mL/min；柱温 40 °C；进样量 1 μL。

2.2 质谱条件 电喷雾离子源（ESI）；负离子模式；扫描范围 *m/z* 100~1 500；雾化气压力 55 psi（1 psi = 6.895 kPa）；气帘气压力 35 psi；辅助气压力 55 psi；雾化温度

500 °C；毛细管电压-4.5 kV；裂解电压-80 V；碰撞能量 35 eV。

2.3 对照品溶液制备 精密称取新芒果昔、芒果昔、甘草昔、芹糖甘草昔、知母皂昔 B II、新甘草昔、芒柄花昔、知母皂昔 A III、甘草酸铵、异甘草昔，新芒果昔对照品适量，置于 10 mL 量瓶中，甲醇超声溶解，室温静置至澄清，取上清液适量，过 0.22 μm 微孔滤膜，即得，置于样品瓶中。

### 2.4 冻干粉、供试品溶液制备

2.4.1 合煎冻干粉 根据课题组前期对相关炮制工艺的考察结果，并基于传统水煎煮的遵古理论，按处方比例精密称取石膏 30 g、知母 10 g、炙甘草 3 g、粳米 9 g，加 1 000 mL 水浸泡 30 min，加热至沸，保持微沸 30 min，放冷，滤过，滤液定容至 200 mL 量瓶中，冷冻干燥成粉末，即得。

2.4.2 单煎冻干粉 精密称取石膏 30 g、知母 10 g、炙甘草 3 g、粳米 9 g，按“2.4.1”项下煎煮工艺分别制成单味药的单煎冻干粉，再将四者混合均匀，即得。

2.4.3 供试品溶液 称取单煎、合煎冻干粉各 0.1 g，置于 2 mL 量瓶中，加水完全溶解，甲醇定容至刻度，摇匀，13 000 r/min 离心 10 min，取上清液适量，过 0.22 μm 微孔滤膜，置于样品瓶中，即得。

2.5 数据处理 采用 UPLC-Q-TOF-MS/MS 法获取样品全扫描数据，MarkerView（Version1.2.1）软件对其进行峰提取、峰匹配、峰识别、归一化等预处理，再转换成包含保留时间、精确相对分子质量、峰强度的多元数据矩阵，导入 MetaboAnalyst 5.0、SIMCA-P 14.1 软件进行多元统计分析，主成分分析（PCA）考察聚集情况，正交偏最小二乘判别分析（OPLS-DA）作进一步分类，其中判别模型质量好坏的主要参数为 *R*<sup>2</sup>Y（模型解释率）、*Q*<sup>2</sup>（模型预测率），前者越接近 1，表示模型越稳定；后者大于 0.5，表示模型预测率较高，以变量投影重要性参数（VIP）大于 1 为标准来筛选差异性变量，通过 *t*-test 检验进行验证，选择同时满足 VIP>1、*P*<0.05 者作为差异性成分。

2.6 差异性成分鉴定 通过保留时间、一级质谱确定精确的相对分子质量，二级质谱获得裂解信息，与对照品、自建数据库比对，对筛选出的差异性变量进行解析，鉴定差异性成分。

## 3 结果

3.1 化学成分数据库建立 查阅文献[10-14]搜集白虎汤中已报道的化学成分信息，基于 Analyst TF 1.6.1 工作站的 Library View 数据库编辑程序，记录 CAS 号、中文名称、英文名称、分子式、结构式的 mol 文件、离子化模式、精确分子质量等基本信息，共有 56 种。同时，建立相关对照品的实物数据库，除了录入与理论数据库相同的信息外，还包括 MS 谱图、MS/MS 质谱图、保留时间、碎片质荷比 (*m/z*) 等。

3.2 化学成分种类、数量比较 建立自建数据库后，当给定参数 Mass Error、Difference Isotope Ratio、Library Hit

Score 同时为高可信度时给出综合打分，分值越高，可信度越高。同时，精确分子质量误差值 (ppm) 通常作为重要参考，用于判断测定结果与理论精确质量数的差异。当参数在多个打分均较高的平行结果中时，则可根据候选化合物的 MS/MS 裂解规律来确定或推断目标化合物的结构。结果显示，单煎、合煎化学成分种类、数量相同，但相同峰位的色谱峰峰面积有所差异，总离子流色谱图见图 1。

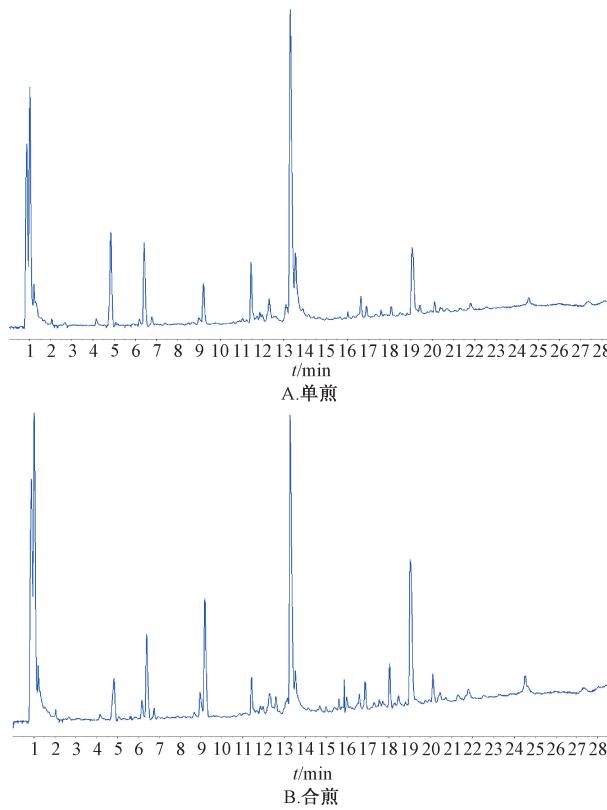


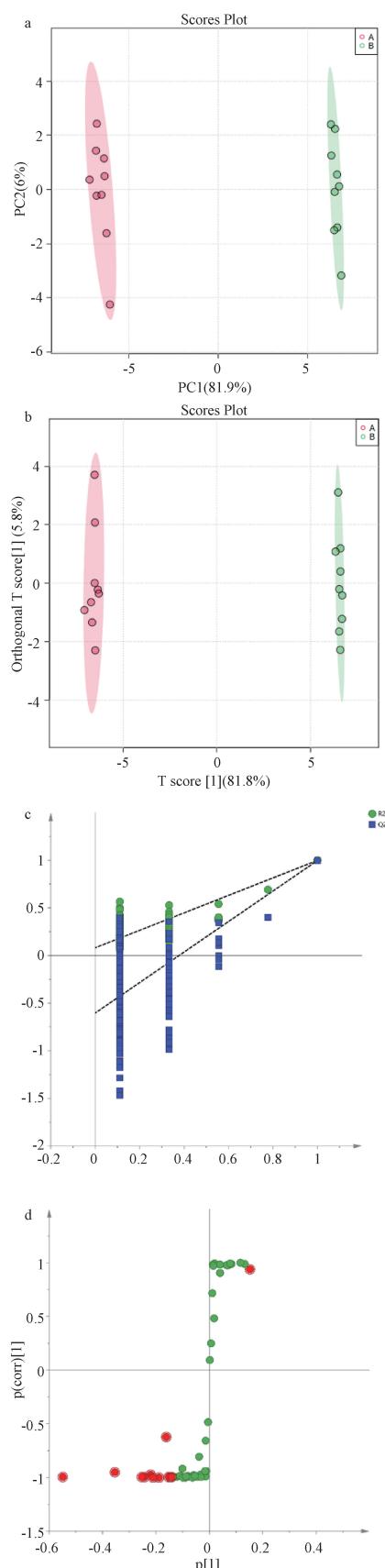
图 1 白虎汤总离子流色谱图

### 3.3 多元统计分析

3.3.1 PCA 得分散点图见图 2a，可知  $R^2X = 0.886$ ,  $Q^2 = 0.812$ ，表明单煎、合煎之间具有很好的区分度，两者所含成分存在明显差异。

3.3.2 OPLS-DA 得分散点图见图 2b，可知  $R^2X$  ( $X$  的变化分数) = 0.843,  $R^2Y$  ( $Y$  的变化分数) = 0.998,  $Q^2$  (整体交叉验证系数) = 0.997，表明单煎、合煎可显著分开，而且分类效果优于 PCA；组内差异降低，更有利于准确地确定组间差异。再对 OPLS-DA 模型进行 200 次迭代的置换检验，见图 2c，可知  $R^2$ 、 $Q^2$  均小于右端的原始值，表明模型没有过拟合，原始模型预测能力大于随机排列  $y$  变量的预测能力，可较好地解释两组样本之间的差异。S-plots 载荷图见图 2d，可知当  $VIP > 1$  时，存有潜在的差异性成分，每个点代表 1 种成分 (变量)，其距离中心区域越远，变量组间分离贡献越大。

3.4 成分分析 共得到 56 种成分，其中差异性成分有 11 种，具体见表 1。



注：A 为单煎，B 为合煎。

图 2 白虎汤 PCA、OPLS-DA 图

表1 白虎汤化学成分 HR-MS-Database 数据库

峰号	化合物	分子式	m/z	误差( $\times 10^{-6}$ )	离子模式	类型	参考文献	差异性成分
1	对羟基苯基丙二酸	C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub>	209.045 3	-1.2	[M-H] <sup>-</sup>	有机酸	[8]	否
2	新芒果苷*	C <sub>25</sub> H <sub>28</sub> O <sub>16</sub>	583.130 5	-2.3	[M-H] <sup>-</sup>	黄酮	[8-9]	是
3	咖啡酸	C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> O <sub>4</sub>	179.034 6	-2.2	[M-H] <sup>-</sup>	有机酸	[9]	否
4	对羟基苯甲醛*	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub>	121.029 4	-0.8	[M-H] <sup>-</sup>	酚类	[10]	否
5	芒果苷*	C <sub>19</sub> H <sub>18</sub> O <sub>11</sub>	421.075 8	-4.3	[M-H] <sup>-</sup>	黄酮	[8-10]	是
6	异芒果苷	C <sub>19</sub> H <sub>18</sub> O <sub>11</sub>	421.076 9	1.3	[M-H] <sup>-</sup>	黄酮	[9]	否
7	维采宁-2	C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>15</sub>	593.150 8	-0.7	[M-H] <sup>-</sup>	黄酮	[9]	否
8	大豆苷*	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>9</sub>	461.109 4	1.0	[M+HCOO] <sup>-</sup>	黄酮	[9,12]	否
9	p-香豆酸	C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub>	163.040 1	-0.1	[M-H] <sup>-</sup>	有机酸	[11]	否
10	异荭草素	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>11</sub>	447.094 0	1.5	[M-H] <sup>-</sup>	黄酮	[13]	否
11	夏佛塔苷*	C <sub>26</sub> H <sub>28</sub> O <sub>14</sub>	563.139 4	-2.2	[M-H] <sup>-</sup>	黄酮	[11]	否
12	7-甲氨基-芒果苷	C <sub>20</sub> H <sub>20</sub> O <sub>11</sub>	435.093 5	0.6	[M-H] <sup>-</sup>	黄酮	[9]	否
13	新甘草苷*	C <sub>21</sub> H <sub>22</sub> O <sub>9</sub>	417.118 1	-2.4	[M-H] <sup>-</sup>	黄酮	[8-9,11]	否
14	甘草苷元 7-O-D-芹糖-4'-O-D-葡萄糖苷*	C <sub>26</sub> H <sub>30</sub> O <sub>13</sub>	549.160 1	-2.4	[M-H] <sup>-</sup>	黄酮	[11]	否
15	异佛菜心苷*	C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>14</sub>	577.156 3	0.9	[M-H] <sup>-</sup>	黄酮	[12]	否
16	异牡荆苷*	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>10</sub>	431.098 8	1.0	[M-H] <sup>-</sup>	黄酮	[9]	否
17	甘草苷*	C <sub>21</sub> H <sub>22</sub> O <sub>9</sub>	417.118 1	-2.5	[M-H] <sup>-</sup>	黄酮	[8-9,11]	是
18	芹糖甘草苷*	C <sub>26</sub> H <sub>30</sub> O <sub>13</sub>	549.160 1	-2.6	[M-H] <sup>-</sup>	黄酮	[8-9,11]	否
19	5-羟基甘草苷	C <sub>21</sub> H <sub>22</sub> O <sub>10</sub>	433.112 4	-3.7	[M-H] <sup>-</sup>	黄酮	[9]	否
20	知母皂苷 N	C <sub>45</sub> H <sub>76</sub> O <sub>20</sub>	981.487 6	-3.7	[M+HCOO] <sup>-</sup>	甾体皂苷	[8-9]	否
21	薤白苷 J	C <sub>45</sub> H <sub>76</sub> O <sub>20</sub>	981.490 2	-1.0	[M+HCOO] <sup>-</sup>	甾体皂苷	[9]	是
22	宽叶葱苷 C	C <sub>56</sub> H <sub>92</sub> O <sub>29</sub>	1 227.564 2	3.0	[M-H] <sup>-</sup>	甾体皂苷	[14]	否
23	芹糖异甘草苷*	C <sub>26</sub> H <sub>30</sub> O <sub>13</sub>	549.159 3	-3.7	[M-H] <sup>-</sup>	黄酮	[8-9,11]	否
24	知母皂苷 E <sub>1</sub> *	C <sub>45</sub> H <sub>76</sub> O <sub>20</sub>	981.488 5	-2.7	[M+HCOO] <sup>-</sup>	甾体皂苷	[8-9]	否
25	异甘草苷*	C <sub>21</sub> H <sub>22</sub> O <sub>9</sub>	417.117 9	-2.9	[M-H] <sup>-</sup>	黄酮	[8-9,11]	是
26	芒柄花苷*	C <sub>22</sub> H <sub>22</sub> O <sub>9</sub>	475.123 3	-2.8	[M+HCOO] <sup>-</sup>	黄酮	[12]	否
27	甘草素*	C <sub>15</sub> H <sub>12</sub> O <sub>4</sub>	255.065 6	-2.6	[M-H] <sup>-</sup>	黄酮	[8-9,11]	否
28	2,6,4'-三羟基-4-甲氧基二苯甲酮	C <sub>14</sub> H <sub>12</sub> O <sub>5</sub>	259.060 6	-2.3	[M-H] <sup>-</sup>	酚类	[9]	否
29	矮牵牛花苷 N	C <sub>51</sub> H <sub>86</sub> O <sub>24</sub>	1 081.543 7	0.1	[M-H] <sup>-</sup>	甾体皂苷	[9]	否
30	知母皂苷 B II*	C <sub>45</sub> H <sub>76</sub> O <sub>19</sub>	965.492 8	-3.6	[M+HCOO] <sup>-</sup>	甾体皂苷	[8-9]	是
31	知母皂苷 H1	C <sub>56</sub> H <sub>92</sub> O <sub>28</sub>	1 257.571 4	-3.4	[M+HCOO] <sup>-</sup>	甾体皂苷	[8]	否
32	柚皮素*	C <sub>15</sub> H <sub>12</sub> O <sub>5</sub>	271.061 0	-0.8	[M-H] <sup>-</sup>	黄酮	[9,12]	否
33	22-乙酰氧基甘草皂苷 G2	C <sub>44</sub> H <sub>64</sub> O <sub>19</sub>	895.395 4	-1.7	[M-H] <sup>-</sup>	三萜	[8]	否
34	刺甘草查尔酮*	C <sub>16</sub> H <sub>14</sub> O <sub>4</sub>	269.081 2	-2.8	[M-H] <sup>-</sup>	黄酮	[12]	否
35	22-羟基-甘草皂苷 G <sub>2</sub>	C <sub>42</sub> H <sub>62</sub> O <sub>18</sub>	853.383 1	-3.8	[M-H] <sup>-</sup>	三萜	[8]	否
36	甘草皂苷 A <sub>3</sub>	C <sub>48</sub> H <sub>72</sub> O <sub>21</sub>	983.445 5	-3.9	[M-H] <sup>-</sup>	三萜	[8]	是
37	22-乙酰氧基-甘草皂苷	C <sub>44</sub> H <sub>64</sub> O <sub>18</sub>	879.400 4	-1.8	[M-H] <sup>-</sup>	三萜	[15]	是
38	知母皂苷 C/薤白苷 F 及异构体	C <sub>45</sub> H <sub>74</sub> O <sub>18</sub>	947.482 7	-3.2	[M+HCOO] <sup>-</sup>	甾体皂苷	[8]	否
39	甘草皂苷 G <sub>2</sub>	C <sub>42</sub> H <sub>62</sub> O <sub>17</sub>	837.389 0	-2.9	[M-H] <sup>-</sup>	三萜	[9,11]	是
40	异甘草素*	C <sub>15</sub> H <sub>12</sub> O <sub>4</sub>	255.066 1	-0.9	[M-H] <sup>-</sup>	黄酮	[9,11]	否
41	芒柄花素*	C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> O <sub>4</sub>	267.066 2	-0.3	[M-H] <sup>-</sup>	黄酮	[12]	否
42	羟基甘草酸*	C <sub>42</sub> H <sub>62</sub> O <sub>17</sub>	837.389 2	-2.7	[M-H] <sup>-</sup>	三萜	[8,11]	是
43	知母皂苷 G	C <sub>39</sub> H <sub>64</sub> O <sub>14</sub>	801.428 2	0.5	[M+HCOO] <sup>-</sup>	甾体皂苷	[9]	否
44	甘草皂苷 G <sub>2</sub> 或羟基甘草酸及异构体	C <sub>42</sub> H <sub>62</sub> O <sub>17</sub>	837.393 3	2.2	[M-H] <sup>-</sup>	三萜	[9,11]	否
45	甘草酸*	C <sub>42</sub> H <sub>62</sub> O <sub>16</sub>	821.394 7	-2.2	[M-H] <sup>-</sup>	三萜	[8-9,11]	否
46	甘草皂苷 B <sub>2</sub>	C <sub>42</sub> H <sub>64</sub> O <sub>15</sub>	807.416 8	-0.6	[M-H] <sup>-</sup>	三萜	[11]	否
47	甘草酸异构体	C <sub>42</sub> H <sub>62</sub> O <sub>16</sub>	821.395 5	-1.2	[M-H] <sup>-</sup>	三萜	[8,11]	是
48	知母皂苷 III	C <sub>39</sub> H <sub>64</sub> O <sub>14</sub>	801.426 3	-1.9	[M+HCOO] <sup>-</sup>	甾体皂苷	[9]	否
49	甘草皂苷 J2	C <sub>42</sub> H <sub>64</sub> O <sub>16</sub>	823.411 1	-1.3	[M-H] <sup>-</sup>	三萜	[11]	否
50	甘草香豆素	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>6</sub>	367.117 8	-2.5	[M-H] <sup>-</sup>	黄酮	[9]	否
51	知母皂苷 AII*	C <sub>39</sub> H <sub>64</sub> O <sub>14</sub>	801.427 7	-0.1	[M+HCOO] <sup>-</sup>	甾体皂苷	[9-10]	否
52	甘草异黄烷酮	C <sub>20</sub> H <sub>18</sub> O <sub>6</sub>	353.102 8	2.4	[M-H] <sup>-</sup>	黄酮	[9,11]	否
53	光甘草定*	C <sub>20</sub> H <sub>20</sub> O <sub>4</sub>	323.128 6	-0.8	[M-H] <sup>-</sup>	黄酮	[11-12]	否
54	知母皂苷 A III*	C <sub>39</sub> H <sub>64</sub> O <sub>13</sub>	785.432 2	-0.9	[M+HCOO] <sup>-</sup>	甾体皂苷	[8-9]	否
55	甘草异黄酮 B	C <sub>20</sub> H <sub>16</sub> O <sub>6</sub>	351.087 7	0.8	[M-H] <sup>-</sup>	黄酮	[11]	否
56	甘草次酸*	C <sub>30</sub> H <sub>46</sub> O <sub>4</sub>	469.333 9	3.3	[M-H] <sup>-</sup>	三萜	[9]	否

注: \*为对照品比对。

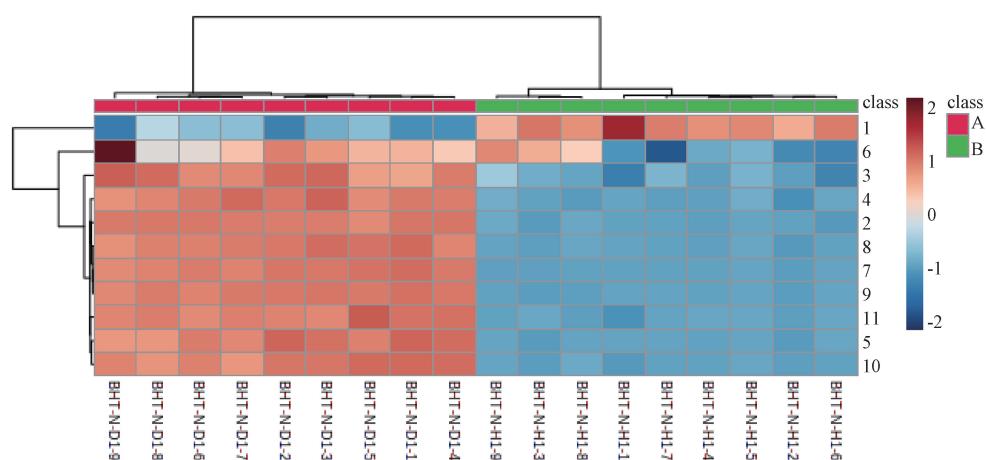
## 3.5 差异性成分结构鉴定

3.5.1 黄酮类 2号峰(差异性成分1)的准分子离子峰为 $m/z$  583.130 4 [ $M-H^-$ ]，推测其分子式为 $C_{25}H_{28}O_{16}$ ，其二级碎片离子有 $m/z$  565.120 2 [ $M-H-H_2O^-$ ]、421.077 8 [ $M-H-Glc^-$ ]、403.067 7 [ $M-H-Glc-H_2O^-$ ]、331.045 7 [ $M-H-Glc-C_3H_6O_3^-$ ]、301.035 1 [ $M-H-Glc-C_4H_8O_3^-$ ]，结合质谱裂解规律、文献[14-15]、对照品比对，确认为新芒果苷。5号峰(差异性成分2)的准分子离子峰为 $m/z$  421.077 3 [ $M-H^-$ ]，其二级碎片离子有 $m/z$  331.045 5 [ $M-H-Glc-C_3H_6O_3^-$ ]、313.035 8 [ $M-H-Glc-C_3H_6O_3-H_2O^-$ ]、301.034 9 [ $M-H-Glc-C_4H_8O_4^-$ ]、259.022 3 [ $M-H-Glc-C_6H_{10}O_5^-$ ]碎片离子，结合质谱裂解规律、文献[14-16]、对照品比对，确认为芒果苷。17号峰(差异性成分3)的准分子离子峰为 $m/z$  417.119 1 [ $M-H^-$ ]，其二级碎片离子有 $m/z$  255.065 9 [ $M-H-Glc^-$ ]、135.008 4 [ $M-H-Glc-C_8H_8O^-$ ]、119.050 0 [ $M-H-Glc-C_7H_4O_3^-$ ]、91.018 8 [ $M-H-Glc-C_8H_8O-CO_2^-$ ]，结合质谱裂解规律、文献[8, 11]、对照品比对，确认为甘草苷。25号峰(差异性成分5)与17号峰有相同的质谱裂解规律，结合文献[10, 13-14]，确认为异甘草苷。

3.5.2 留体皂苷类 30号峰(差异性成分6)的准分子离子峰为 $m/z$  965.496 1 [ $M+HCOO^-$ ]，其二级碎片离子有 $m/z$  920.494 2 [ $M-H^-$ ]、757.439 1 [ $M-H-Glc^-$ ]、595.387 0 [ $M-H-Gal-Glc^-$ ]，结合质谱裂解规律、文献[15-16]、对照品比对，确认为知母皂苷BⅡ。

3.5.3 三萜类 47号峰(差异性成分11)的分子离子峰为 $m/z$  821.397 4 [ $M-H^-$ ]，其二级碎片离子有 $m/z$  803.341 9 [ $M-H-H_2O^-$ ]、759.398 5 [ $M-H-H_2O-CO_2^-$ ]、645.365 9 [ $M-H-C_6H_8O_6^-$ ]、351.057 0 [ $M-H-C_{30}H_{46}O_4^-$ ]，结合质谱裂解规律、文献[13-14]比对，确认为甘草酸的同分异构体。

3.6 差异性成分变化趋势分析 将表1中11种差异性成分(编号1~11)的相对离子响应强度导入Metaboanalyst 5.0软件中绘制热图，距离度量方法为皮尔森积矩相关系数，聚类方法为平均连接法，结果见图3。由此可知，单煎、合煎各聚为一类，两者组间成分差异远大于组内差异；虽然各差异性成分可区分单煎、合煎，但它们均为两者共有成分，而且含量存在差异，其中新芒果苷在合煎中的含量显著高于单煎中，而其他10种在单煎中的含量均显著高于合煎中。



注：A为单煎，B为合煎。  
图3 白虎汤单煎、合煎差异性成分热图

## 4 讨论

本实验基于UPLC-Q-TOF-MS的非靶向代谢组学的数据采集方法，再采用PCA、OPLS-DA从整体上判断白虎汤冻干粉合煎、单煎化学成分的差异，鉴定其差异性成分，与传统的指纹图谱或多成分含量测定比较，上述方法可全面揭示中药组合方煎煮过程中可能的化学相互作用，并快速评价传统煎剂与配方煎剂的化学一致性。结果显示，白虎汤单煎、合煎化学成分的种类、数量相同，但含量存在差异，差异性成分为新芒果苷、芒果苷、甘草苷、薤白苷J、异甘草苷、知母皂苷BⅡ、甘草皂苷A3、22-乙酰氨基-甘草皂苷、甘草皂苷G2、羟基甘草酸、甘草酸异构体，其中新芒果苷在合煎中的含量显著高于单煎中，表明石膏与知母在特定配伍比例下合煎时该成分溶出最大<sup>[17]</sup>，而其余10

种成分在单煎中的含量均明显更高，表明此时上述成分溶解度升高<sup>[18]</sup>。

根据含量差异对中药配方颗粒的临床建议用量进行校正时，不仅可促进其合理应用，也能为国家制定相关统一质量标准提供新思路。基于传统汤剂、配方颗粒汤剂在化学成分上存在的显著差异，白虎汤合煎能否被单煎所替代还有待后续药理学、毒理学、药效、临床的深入探讨，以获取更全面的差异规律。

## 参考文献：

- [1] 吕邵娃，苏红，郭玉岩，等.白虎汤的临床应用及药理作用研究进展[J].河北中医药学报，2017, 32(1): 55-59.

- [2] 周涛, 沙婷. 白虎汤临床应用研究进展[J]. 贵阳医学院学报, 2016, 38(2): 92-94.
- [3] 谢谭芳. 中药配方颗粒与标准汤剂等效性的研究概况[J]. 广东化工, 2021, 48(15): 142-143.
- [4] 何军, 朱旭江, 杨平荣, 等. 中药配方颗粒的现状与发展趋势[J]. 中草药, 2018, 49(20): 4717-4725.
- [5] 成颜芬, 杜克群, 吴亿晗, 等. 基于化学特征与核心功效分析经典名方桃红四物汤复方合煎与单煎差异研究[J]. 中草药, 2021, 52(19): 5879-5890.
- [6] Li S L, Song J Z, Qiao C F, et al. UPLC-PDA-TOFMS based chemical profiling approach to rapidly evaluate chemical consistency between traditional and dispensing granule decoctions of traditional medicine combinatorial formulae [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2010, 52(4): 468-478.
- [7] 李养学, 钟惠娴, 李素梅, 等. 白虎汤配方颗粒单煎与合煎成分研究[J]. 药品评价, 2020, 17(24): 18-22; 26.
- [8] 景梦晓, 吕邵娃, 付婷婷, 等. UPLC 法同时测定白虎汤中 4 种成分[J]. 中成药, 2021, 43(9): 2314-2317.
- [9] 王娅, 冯芳, 孙丽丽. 白虎汤配伍谱效关系研究[J]. 药学与临床研究, 2010, 18(3): 226-230.
- [10] 郭敏群, 严曾豪, 吴灏, 等. 基于 UFLC-Triple-TOF-MS/MS 技术的白虎加桂枝汤化学物质基础[J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(10): 134-141.
- [11] 刘佳星, 魏洁, 武锦春, 等. 基于 UPLC-Q-TOF-MS/MS 技术的酸枣仁汤颗粒化学成分分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(12): 1-12.
- [12] 方前波, 秦昆明, 潘扬, 等. 百合知母汤的化学成分研究(I)[J]. 中草药, 2010, 41(4): 517-520.
- [13] 赵艳敏, 刘素香, 张晨曦, 等. 基于 HPLC-Q-TOF-MS 技术的甘草化学成分分析[J]. 中草药, 2016, 47(12): 2061-2068.
- [14] 常冠华, 薄颖异, 崔洁, 等. 基于 UPLC-Q-Exactive Orbitrap-MS 分析甘草地上部分主要化学成分[J]. 中国中药杂志, 2021, 46(6): 1449-1459.
- [15] 屠燕, 孙连娜, 董志颖, 等. 基于 UPLC-QTOF-MS 技术分析不同产地丹参药材化学成分的差异[J]. 中药材, 2021, 44(6): 1337-1342.
- [16] 管立峰, 范宇光, 包海鹰, 等. 基于 UPLC-QTOF-MS 技术分析野生与栽培杨树桑黄的化学成分[J]. 天然产物研究与开发, 2021, 33(11): 1818-1828; 1886.
- [17] 杨素德, 孙洪胜, 傅春升. 石膏-知母药对不同配伍比例中新芒果苷含量变化研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(23): 48-50.
- [18] 彭平, 田瑞华, 杜菁, 等. 白虎加桂枝汤单煎与合煎提取物质量表征特性分析[J]. 中国中药杂志, 2018, 43(16): 3263-3269.

## 影响川射干总灰分超标的因素探析

孟杰<sup>1</sup>, 宋英<sup>2\*</sup>, 张高菊<sup>1</sup>, 刘渠<sup>1</sup>, 邓时建<sup>1</sup>, 胡娟<sup>1</sup>, 朱忠铠<sup>1</sup>

(1. 四川省中药饮片有限责任公司, 四川成都 611732; 2. 成都中医药大学, 四川成都 611137)

**摘要:** 目的 探究影响川射干总灰分超标的因素。方法 采用灰分测定法、显微鉴别法、HPLC 法对 6 个主产区及 3 批市售川射干样品及其肉质茎和外皮进行总灰分、酸不溶性灰分检查, 草酸钙含量测定, 显微特征观察。结果 饮片总灰分为 4.06%~6.31%, 肉质茎总灰分为 3.11%~3.86%, 外皮总灰分为 4.77%~5.29%; 饮片各部位均纵向排列有草酸钙柱晶, 数量很多, 长 10~180 μm, 最长可达 300 μm, 直径 20~50 μm; 饮片酸不溶性灰分为 0.57%~0.96%, 肉质茎酸不溶性灰分为 0.55%~0.70%, 外皮酸不溶性灰分为 0.70%~0.86%; 饮片草酸钙含量为 2.76%~3.90%, 肉质茎草酸钙含量为 2.56%~3.26%, 外皮草酸钙含量为 3.17%~3.57%。结论 川射干因含有大量的草酸钙, 导致饮片均不符合 2020 年版《中国药典》总灰分不得超过 2.0% 的要求。因此, 建议调整川射干总灰分限度至合理范围, 或是以酸不溶性灰分代替现行的总灰分检查项。

**关键词:** 川射干; 总灰分; 酸不溶性灰分; 显微; 草酸钙; HPLC

**中图分类号:** R282      **文献标志码:** B      **文章编号:** 1001-1528(2023)04-1377-05

**doi:** 10.3969/j.issn.1001-1528.2023.04.061

射干始载于《神农本草经》, 被称为“治疗喉痹咽痛之要药”, 陈藏器谓“射干、鸢尾二物相似, 人多不分”, 随着用药变革, 今分射干与川射干, 分别入药。川射干为

鸢尾科植物鸢尾 *Iris tectorum* Maxim. 的干燥根茎, 为有名的川产道地药材<sup>[1]</sup>, 味苦, 性寒, 归肺经, 具有清热解毒、祛痰利咽的功效, 用于热毒痰火郁结, 咽喉肿痛、痰涎壅

收稿日期: 2022-02-13

基金项目: 国家中药标准化项目 (ZYBZH-Y-SC-41)

作者简介: 孟杰 (1987—), 男, 助理研究员, 研究方向为中药资源学。Tel: (028) 87910951, E-mail: mengjie2009@126.com

\*通信作者: 宋英 (1959—), 男, 主任中药师, 研究方向为中药质量标准。Tel: (028) 87867807, E-mail: songying624@163.com