

# 经典名方泽泻汤 UPLC 指纹图谱的建立

唐文强<sup>1,2</sup>, 高艳蓉<sup>1,2</sup>, 杨长花<sup>1,2</sup>, 刘斌<sup>1,2</sup>, 王艳娇<sup>1,2</sup>, 刘峰<sup>2,3</sup> (1.陕西国际商贸学院, 西安 712046; 2.陕西省中药绿色制造技术协同创新中心, 西安 712046; 3.陕西步长制药有限责任公司, 西安 710075)

**摘要:** 目的 建立泽泻汤的 UPLC 指纹图谱。方法 采用 ACQUITYUPLC®BEH C<sub>18</sub> 色谱柱(2.1 mm×50 mm, 1.7 μm), 以乙腈(A)-水(B)作为流动相进行梯度洗脱, 柱温 35 °C, 流速 0.3 mL·min<sup>-1</sup>, 全波长扫描, 以泽泻醇 B 为参照峰, 分析 15 批次泽泻汤的 UPLC 指纹图谱, 并使用中药色谱指纹图谱相似度评价系统结合主成分分析、正交偏最小二乘法判别分析(PLS-DA)评价泽泻汤的指纹图谱。结果 在泽泻汤指纹图谱中共标定 23 个共有峰, 其中 15 个化合物峰来自泽泻, 8 个化合物峰来自白术, 指认了白术内酯 I、白术内酯 II、白术内酯 III、泽泻醇 A、泽泻醇 B 和 23-乙酰泽泻醇 B 6 个共有峰, 其含量波动范围分别为 0.028 7~0.033 1, 0.029 5~0.036 6, 0.012 0~0.019 4, 0.102 2~0.143 9, 0.469 3~0.701 2, 0.425 5~0.730 8 mg·mL<sup>-1</sup>, 15 批样品指纹图谱相似度为 0.979~0.996。主成分分析和 PLS-DA 将 15 批样品按照泽泻的产地不同分为 3 类。结论 该方法快速简单、精密度高、稳定性强、重复性好, 基本体现了泽泻汤的整体化学成分特征, 可为泽泻汤开发和应用的质

量控制提供参考。

**关键词:** 泽泻汤; 超高效液相色谱; 指纹图谱; 主成分分析

中图分类号: R284.2

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2021)06-0680-08

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2021.06.008

引用本文: 唐文强, 高艳蓉, 杨长花, 等. 经典名方泽泻汤 UPLC 指纹图谱的建立[J]. 中国现代应用药学, 2021, 38(6): 680-687.

## Establishment of UPLC Fingerprint of Zexie Decoction Which is a Classical Herbal Formula

TANG Wenqiang<sup>1,2</sup>, GAO Yanrong<sup>1,2</sup>, YANG Changhua<sup>1,2</sup>, LIU Bin<sup>1,2</sup>, WANG Yanjiao<sup>1,2</sup>, LIU Feng<sup>2,3</sup> (1.Shaanxi Institute of International Trade & Commerce, Xi'an 712046, China; 2.Collaborative Innovation Center of Green Manufacturing Technology for Traditional Chinese Medicine in Shaanxi Province, Xi'an 712046, China; 3.Shaanxi Buchang Pharmaceutical Co., Ltd., Xi'an 710075, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To establish the chromatographic fingerprint of Zexie decoction by UPLC. **METHODS** The fingerprint was determined on ACQUITYUPLC®BEH C<sub>18</sub> column(2.1 mm×50 mm, 1.7 μm), with acetonitrile(A)-water(B) as mobile phase for gradient elution at a flow rate of 0.3 mL·min<sup>-1</sup>. The temperature of column was 35 °C. Full wavelength scanning was employed and alisma B was chosen as the reference peak. The UPLC fingerprints of 15 batches of Zexie decoction were studied and the similarity was analyzed with Similarity Evaluation System for Chromatographic Fingerprint of Traditional Chinese Medicine combined with principal component analysis and discriminant analysis of orthogonal partial least squares(PLS-DA). **RESULTS** There were 23 common peaks in the UPLC fingerprints of Zexie decoction. Among of them, 15 common peaks were assigned to Alismatis Rhizoma, 8 common peaks belong to Atractylodis macrocephalae Rhizoma. Atractylenolide I, atractylenolide II, atractylenolide III, alisol A, alisol B, alisol B monoacetate were determined by the relative time of the standard substance and the contents of these compounds were in range of 0.028 7~0.033 1, 0.029 5~0.036 6, 0.012 0~0.019 4, 0.102 2~0.143 9, 0.469 3~0.701 2, 0.425 5~0.730 8 mg·mL<sup>-1</sup> in 15 batches of Zexie decoction. The similarities of batches were 0.979~0.996. In principal component analysis and PLS-DA, 15 batches of samples were divided into 3 groups according to Alismatis Rhizoma that come from different provinces. **CONCLUSION** The established method is quick, easy, accurate, stable and repeatable, which can basically reflect the overall chemical composition characteristics of Zexie decoction and provide a reference to the exploitation and application of Zexie decoction.

**KEYWORDS:** Zexie decoction; UPLC; fingerprint; principal components analysis

泽泻汤最早出现于汉代张仲景的《金匱要略》, 由泽泻和白术 2 味药材组成, 具有消水利水、补脾健肾的功效<sup>[1]</sup>, 现代临床上主要用于治疗高脂

血症<sup>[2-3]</sup>、高血压<sup>[4]</sup>、供血不足性眩晕<sup>[5-6]</sup>等疾病。泽泻汤是国家中医药管理局发布的《古代经典名方目录(第一批)》中的品种, 对其的继承和开发具

**基金项目:** 陕西省高校科协青年人才托举计划项目(20180312); 生物医药创新制药技术研究院士专家工作站资助项目(陕科协发[2017]事企字 15 号); 陕西省创新能力支撑计划项目(2018PT-07); 陕西高校青年科技创新团队(陕教[2019]90 号); 陕西国际商贸学院科技创新团队建设项目(SSY18TD02)

**作者简介:** 唐文强, 男, 博士, 讲师 Tel: 18149104502 E-mail: twqscxq@163.com

有重要意义。

现代药理学研究表明, 中药在治疗疾病方面具有“多成分, 多靶标”协同作用的特点<sup>[7-9]</sup>, 泽泻汤含有多种有效活性成分, 其中白术内酯 I、白术内酯 II、泽泻醇 A、泽泻醇 B 和 23-乙酰泽泻醇 B 是已有报道的, 具有确切药理活性的药效成分<sup>[10-15]</sup>。但是, 若采用其中的一种或多种药效成分对泽泻汤进行质量控制和评价难免有失偏颇, 需建立全面的质量控制和评价方法。

指纹图谱是目前最常用的一种通过“模糊鉴别”反应方剂整体特征的方法<sup>[16]</sup>。因此, 本研究采用 UPLC 建立泽泻汤指纹图谱, 经中药色谱指纹图谱相似度评价系统判定和指认共有峰, 为泽泻汤的开发和应用的建立提供质量控制标准的建立提供参考和借鉴。

### 1 仪器与试剂

ACQUITY UPLC H-CLASS 超高效液相色谱仪(美国 Waters); KQ2200DA 型数控超声波清洗器(昆山舒美超声仪器); AE240 电子分析天平(瑞士梅特勒公司); TE124S 电子分析天平(德国 MAYZUN 公司); UPT-I-10T 反渗透超纯水机(四川优普)。

泽泻和白术药材均购自市售的各大药店, 符合中国药典 2015 年版标准, 样品留存于陕西国际商贸学院中药研究院科研实验室, 经陕西中医药大学杨新杰副教授鉴定分别为泽泻和白术的干燥块茎切片。将饮片随机组合用于制备 15 批次泽泻汤样品, 具体信息见表 1。对照品: 白术内酯 I (批号: 16052904; 纯度>98%)、白术内酯 II (批号: 17062701; 纯度>98%)、白术内酯 III (批号: 16092604; 纯度>98%)均购自四川省维克奇生物科技有限公司; 泽泻醇 A (批号: R02N6F5398; 纯度>99%)、泽泻醇 B (批号: M15A7S13161; 纯度>98%)均购自上海源叶生物有限公司; 23-乙酰泽泻醇 B (大连美仑生物有限公司, 批号: F0711AS; 纯度>99%)。乙腈(色谱纯, 美国天地公司); 其他试剂均为分析纯, 购自阿拉丁试剂(上海)有限公司; 实验用水为 UPT-I-10T 反渗透超纯水机过滤所得。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

ACQUITY UPLC® BEH C<sub>18</sub> 色谱柱 (2.1 mm×50 mm, 1.7 μm); 流动相为乙腈(A)-水(B), 梯度洗脱(0~1 min, 5%→10%A; 1~4 min, 10%→55%A; 4~6 min, 55%→64%A; 6~10 min, 64%→90%A;

10~15 min, 90%→5%A; 15~16 min, 5%A); 流速 0.3 mL·min<sup>-1</sup>; 柱温 35 °C; 全波长扫描(190~400 nm); 进样量 6 μL。

表 1 药材饮片信息

Tab. 1 Information of herbal medicine pieces

| 饮片名称 | 产地 | 批号       |
|------|----|----------|
| 泽泻   | 四川 | ZX180401 |
|      |    | ZX180701 |
|      | 广西 | ZX180402 |
|      |    | ZX180409 |
|      | 福建 | ZX180801 |
| 白术   | 安徽 | BZ190101 |
|      |    | BZ190302 |
|      | 四川 | BZ180409 |
|      | 浙江 | BZ190903 |
|      | 河北 | BZ190201 |

### 2.2 对照品溶液的制备

精确称取 0.004 4 g 白术内酯 I, 0.003 4 g 白术内酯 II, 0.003 6 g 白术内酯 III, 0.003 7 g 泽泻醇 A, 0.003 5 g 泽泻醇 B 和 0.002 4 g 23-乙酰泽泻醇 B 分别加入到 5 mL 量瓶中, 加入适量甲醇完全溶解, 然后用甲醇定容得单组分对照品溶液; 精确量取上述各单组分溶液 1 mL, 加入到 10 mL 量瓶中, 用甲醇定容得混合对照品溶液。

### 2.3 供试品溶液制备

《金匱要略》卷中痰饮咳嗽病脉证并治第十二中记载泽泻汤方为“泽泻五两、白术二两, 右二味, 以水二升, 煮取一升, 分温再服”。现代研究参考《经方本原剂量问题研究》(科学出版社)的古代度量衡考察<sup>[17]</sup>, 按照汉代一两为 15.5 g, 一升为 200 mL 计算, 称取泽泻 77.5 g, 白术 31 g, 加水 400 mL, 浸泡 30 min, 先大火煎煮至沸腾, 再小火煎煮至蒸出水分 200 mL, 纱布过滤并取 100 mL 滤液浓缩至 5 mL, 将浓缩液转移至 25 mL 容量瓶中甲醇超声提取 30 min, 冷却, 用甲醇定容至刻度, 离心, 取上清液经 0.45 μm 微孔滤膜过滤, 即得供试品溶液; 根据不同批号饮片随机组合, 按以上方法制备 15 批次泽泻汤水煎液样品(S1~S15), 具体组方信息见表 2。并按上述方法分别制备单味泽泻水煎液和白术水煎液。

### 2.4 方法学考察

2.4.1 仪器精密度试验 精密吸取泽泻汤(S1)供试品溶液, 按“2.1”项下色谱条件, 连续进样 6 次, 记录谱图。以 15 号峰泽泻醇 B 为参照峰, 各特征共有峰相对保留时间的 RSD 均<1%, 相对峰

面积的 RSD 均<5%，表明所用仪器精密度良好，符合指纹图谱的技术要求。

表 2 泽泻汤组方登记表

Tab. 2 Combinatorial information of Zexie decoction

| 编号  | 泽泻批号     | 白术批号     |
|-----|----------|----------|
| S1  | ZX180401 | BZ190101 |
| S2  | ZX180701 | BZ190302 |
| S3  | ZX180402 | BZ180409 |
| S4  | ZX180409 | BZ190903 |
| S5  | ZX180801 | BZ190201 |
| S6  | ZX180801 | BZ190101 |
| S7  | ZX180409 | BZ190302 |
| S8  | ZX180402 | BZ180409 |
| S9  | ZX180701 | BZ190903 |
| S10 | ZX180401 | BZ190201 |
| S11 | ZX180801 | BZ180409 |
| S12 | ZX180409 | BZ190101 |
| S13 | ZX180402 | BZ190302 |
| S14 | ZX180701 | BZ190903 |
| S15 | ZX180401 | BZ190201 |

**2.4.2 重复性试验** 取泽泻汤(S1)供试品溶液 6 份，按“2.1”项下色谱条件依次进样，各特征共有峰相对保留时间的 RSD 均<1%，相对峰面积的 RSD 均<5%，表明本方法重复性良好，符合指纹图谱的技术要求。

**2.4.3 稳定性试验** 取室温下放置的泽泻汤(S1)供试品溶液，按“2.1”项下色谱条件，分别在 1, 3, 6, 9, 15, 18 h 测定 UPLC 色谱图，以 15 号峰泽泻醇 B 为参照峰。结果显示，各特征共有峰相对保留时间的 RSD 均<1%，相对峰面积的 RSD 均<5%，表明供试品溶液在 18 h 内稳定性良好。

**2.4.4 专属性考察** 按照“2.3”项下供试品溶液制备方法分别制备空白甲醇溶液、泽泻、白术的单味样品溶液，按“2.1”项下色谱条件进样，并记录色谱图，见图 1。

## 2.5 泽泻汤 UPLC 指纹图谱的建立及相似度评价

**2.5.1 泽泻汤 UPLC 指纹图谱的建立** 按“2.3”项方法制备 15 批泽泻汤供试品溶液，按“2.1”项下色谱条件分别进行测定，记录色谱图。

将 15 批泽泻汤的 UPLC 图谱导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”(2014A 版)软件，按照程序设置参数，经多点校正自动匹配生成泽泻汤共有模式对照指纹图谱，确认了 23 个共有峰，其中 1, 2, 4, 5, 6, 9, 10, 12, 14, 15, 16, 17, 18, 21 和 22 号峰来自泽泻，3, 7, 8, 11, 13, 19, 20 和 23 号峰来自白术。指认了 6 个共有峰，分别为 3 号为白术内酯Ⅲ，7 号为白术内酯Ⅱ、9

号为泽泻醇 A、11 号为白术内酯 I、15 号为泽泻醇 B、18 号为 23-乙酰泽泻醇 B。供试品溶液和对照品溶液的 UPLC 色谱图见图 1；15 批样品指纹图谱见图 2。

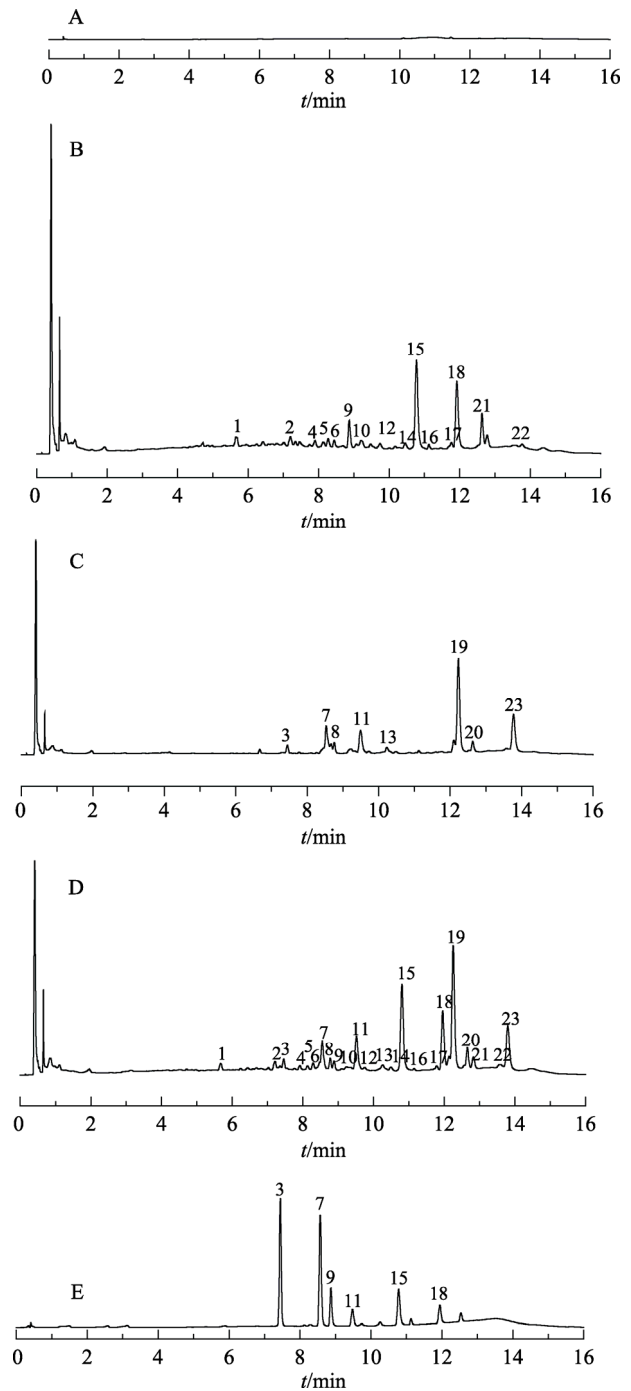


图 1 208 nm 下样品的 UPLC 色谱图

A-甲醇；B-单味泽泻水煎液；C-单味白术水煎液；D-泽泻汤；E-混合对照品；3-白术内酯Ⅲ；7-白术内酯Ⅱ；9-泽泻醇 A；11-白术内酯 I；15-泽泻醇 B；18-23-乙酰泽泻醇 B。

Fig. 1 UPLC chromatogram of samples in 208 nm

A-methanol; B-single Alismatis Rhizoma decoction; C-single Atractylodis macrocephalae Rhizoma decoction; D-Alismatis Rhizoma decoction; E-mixed reference; 3-atractylenolide III; 7-atractylenolide II; 9-alisol A; 11-atractylenolide I; 15-alisol B; 18-23-O-Acetylalisol B.

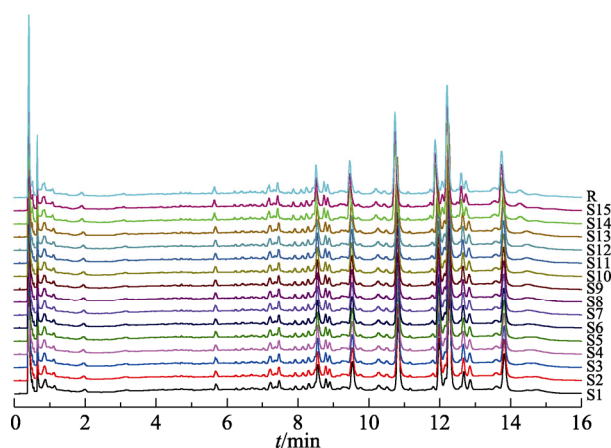


图2 15批泽泻汤UPLC指纹图谱  
Fig. 2 UPLC fingerprint of 15 batches of Zexie decoction

**2.5.2 相似度评价** 用“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”(2004A版)软件计算分析,结果见表3。15批泽泻汤样品与共有模式对照指纹图谱的相似度在0.979~0.996,各批样品的相似度较好。15号峰(泽泻醇B)谱峰分离度较好,响应值较高且为共有峰,故确定15号泽泻醇B色谱峰为参照峰。

以15号峰为参照峰计算各共有峰的相对保留时间和相对峰面积,各共有峰的相对保留时间的RSD均>1%,各共有峰相对峰面积的差异较大,表明泽泻汤的化学组成相似,但各批次间共有峰

成分质量分数存在差异。

**2.5.3 主成分分析** 选择15号色谱峰(泽泻醇B)作为参照峰,计算各个共有峰相对参照峰泽泻醇B的相对峰面积,得到23×15阶数据矩阵,结果见表4。

将15批次泽泻汤样品23个共有峰相对峰面积作为变量,采用SIMCA-P 11.5软件进行无监督模式识别(PCA-X),观察样品的自然聚散情况。15批泽泻汤的PCA得分矩阵图[ $R^2x(\text{cum})=0.921$ ,  $Q^2(\text{cum})=0.558$ ],见图3。

在PCA模型中, $R^2x(\text{cum})$ 和 $Q^2(\text{cum})$ 是评价模型是否可行的评价指标,两者数值越趋近于1,说明模型的解释能力与预测能力越强,本研究建立的PCA模型 $R^2x(\text{cum})>0.9$ , $Q^2(\text{cum})>0.5$ ,其结果可信。15批样品按照泽泻的产地不同分为3组,S1,S2,S9,S10,S14和S15聚为第1组(四川),S3,S4,S7,S8,S12和S13聚为第2组(广西),S5,S6和S11聚为第3组(福建)。

**2.5.4 正交最小二乘法判别分析(OPLS-DA)** 采用有监督模式识别的OPLS-DA研究样品间差异,此模式下15批泽泻汤样品的得分图[ $R^2x(\text{cum})=0.85$ ,  $R^2y(\text{cum})=0.759$ ,  $Q^2(\text{cum})=0.699$ ],结果见图4。PCA-X得分图结果一致,分为3组。

表3 15批泽泻汤供试品与对照指纹图谱的相似度

Tab. 3 Similarity of 15 batches samples and contrast chromatographic fingerprint

| 样品     | S1    | S2    | S3    | S4    | S5    | S6    | S7    | S8    | S9    | S10   | S11   | S12   | S13   | S14   | S15   | 对照指纹图谱 |
|--------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|--------|
| S1     | 1     | 0.997 | 0.995 | 0.990 | 0.997 | 0.980 | 0.978 | 0.980 | 0.979 | 0.978 | 0.974 | 0.977 | 0.974 | 0.974 | 0.972 | 0.991  |
| S2     | 0.997 | 1     | 0.997 | 0.992 | 1     | 0.984 | 0.980 | 0.981 | 0.981 | 0.981 | 0.976 | 0.979 | 0.974 | 0.973 | 0.971 | 0.992  |
| S3     | 0.995 | 0.997 | 1     | 0.993 | 0.997 | 0.985 | 0.983 | 0.984 | 0.984 | 0.983 | 0.979 | 0.982 | 0.977 | 0.970 | 0.968 | 0.993  |
| S4     | 0.990 | 0.992 | 0.993 | 1     | 0.992 | 0.986 | 0.986 | 0.986 | 0.986 | 0.986 | 0.982 | 0.986 | 0.980 | 0.977 | 0.975 | 0.994  |
| S5     | 0.997 | 1     | 0.997 | 0.992 | 1     | 0.984 | 0.980 | 0.981 | 0.981 | 0.981 | 0.976 | 0.979 | 0.974 | 0.973 | 0.971 | 0.992  |
| S6     | 0.980 | 0.984 | 0.985 | 0.986 | 0.984 | 1     | 0.995 | 0.996 | 0.992 | 0.992 | 0.989 | 0.992 | 0.987 | 0.967 | 0.964 | 0.994  |
| S7     | 0.978 | 0.980 | 0.983 | 0.986 | 0.980 | 0.995 | 1     | 0.998 | 0.997 | 0.997 | 0.992 | 0.995 | 0.991 | 0.968 | 0.966 | 0.995  |
| S8     | 0.980 | 0.981 | 0.984 | 0.986 | 0.981 | 0.996 | 0.998 | 1     | 0.997 | 0.997 | 0.993 | 0.996 | 0.993 | 0.966 | 0.964 | 0.995  |
| S9     | 0.979 | 0.981 | 0.984 | 0.986 | 0.981 | 0.992 | 0.997 | 0.997 | 1     | 1     | 0.995 | 0.998 | 0.994 | 0.968 | 0.966 | 0.996  |
| S10    | 0.978 | 0.981 | 0.983 | 0.986 | 0.981 | 0.992 | 0.997 | 0.997 | 1     | 1     | 0.995 | 0.998 | 0.994 | 0.968 | 0.966 | 0.996  |
| S11    | 0.974 | 0.976 | 0.979 | 0.982 | 0.976 | 0.989 | 0.992 | 0.993 | 0.995 | 0.995 | 1     | 0.997 | 0.998 | 0.969 | 0.967 | 0.994  |
| S12    | 0.977 | 0.979 | 0.982 | 0.986 | 0.979 | 0.992 | 0.995 | 0.996 | 0.998 | 0.998 | 0.997 | 1     | 0.994 | 0.967 | 0.965 | 0.995  |
| S13    | 0.974 | 0.974 | 0.977 | 0.980 | 0.974 | 0.987 | 0.991 | 0.993 | 0.994 | 0.994 | 0.998 | 0.994 | 1     | 0.967 | 0.965 | 0.992  |
| S14    | 0.974 | 0.973 | 0.970 | 0.977 | 0.973 | 0.967 | 0.968 | 0.966 | 0.968 | 0.968 | 0.969 | 0.967 | 0.967 | 1     | 0.997 | 0.981  |
| S15    | 0.972 | 0.971 | 0.968 | 0.975 | 0.971 | 0.964 | 0.966 | 0.964 | 0.966 | 0.966 | 0.967 | 0.965 | 0.965 | 0.997 | 1     | 0.979  |
| 对照指纹图谱 | 0.991 | 0.992 | 0.993 | 0.994 | 0.992 | 0.994 | 0.995 | 0.995 | 0.996 | 0.996 | 0.994 | 0.995 | 0.992 | 0.981 | 0.979 | 1      |

表 4 15 批样品共有峰相对峰面积

Tab. 4 Relative peak area of common peaks of 15 batches samples

| 峰号 | S1    | S2    | S3    | S4    | S5    | S6    | S7    | S8    | S9    | S10   | S11   | S12   | S13   | S14   | S15   |
|----|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 1  | 0.140 | 0.142 | 0.148 | 0.145 | 0.142 | 0.140 | 0.149 | 0.141 | 0.141 | 0.142 | 0.142 | 0.143 | 0.144 | 0.141 | 0.140 |
| 2  | 0.163 | 0.164 | 0.163 | 0.165 | 0.164 | 0.169 | 0.167 | 0.166 | 0.166 | 0.166 | 0.167 | 0.168 | 0.169 | 0.167 | 0.650 |
| 3  | 0.230 | 0.233 | 0.189 | 0.234 | 0.223 | 0.227 | 0.230 | 0.230 | 0.233 | 0.234 | 0.224 | 0.234 | 0.233 | 0.234 | 0.232 |
| 4  | 0.115 | 0.116 | 0.117 | 0.117 | 0.108 | 0.109 | 0.116 | 0.117 | 0.116 | 0.116 | 0.106 | 0.116 | 0.116 | 0.115 | 0.117 |
| 5  | 0.300 | 0.132 | 0.132 | 0.132 | 0.118 | 0.116 | 0.132 | 0.131 | 0.130 | 0.130 | 0.119 | 0.128 | 0.129 | 0.129 | 0.131 |
| 6  | 0.119 | 0.120 | 0.122 | 0.120 | 0.113 | 0.114 | 0.120 | 0.118 | 0.119 | 0.119 | 0.118 | 0.119 | 0.119 | 0.119 | 0.117 |
| 7  | 0.464 | 0.465 | 0.472 | 0.470 | 0.457 | 0.451 | 0.471 | 0.471 | 0.463 | 0.462 | 0.451 | 0.477 | 0.477 | 0.465 | 0.461 |
| 8  | 0.138 | 0.135 | 0.134 | 0.133 | 0.125 | 0.127 | 0.135 | 0.130 | 0.132 | 0.132 | 0.128 | 0.134 | 0.134 | 0.131 | 0.139 |
| 9  | 0.137 | 0.136 | 0.143 | 0.140 | 0.131 | 0.132 | 0.145 | 0.145 | 0.136 | 0.136 | 0.134 | 0.147 | 0.148 | 0.132 | 0.131 |
| 10 | 0.177 | 0.176 | 0.178 | 0.170 | 0.166 | 0.162 | 0.176 | 0.173 | 0.171 | 0.172 | 0.165 | 0.173 | 0.174 | 0.168 | 0.169 |
| 11 | 0.443 | 0.446 | 0.451 | 0.449 | 0.442 | 0.440 | 0.450 | 0.445 | 0.447 | 0.447 | 0.446 | 0.446 | 0.445 | 0.445 | 0.448 |
| 12 | 0.132 | 0.132 | 0.132 | 0.132 | 0.122 | 0.124 | 0.131 | 0.131 | 0.131 | 0.131 | 0.121 | 0.131 | 0.131 | 0.130 | 0.132 |
| 13 | 0.227 | 0.229 | 0.229 | 0.230 | 0.229 | 0.225 | 0.229 | 0.230 | 0.231 | 0.230 | 0.260 | 0.230 | 0.230 | 0.232 | 0.230 |
| 14 | 0.119 | 0.119 | 0.119 | 0.119 | 0.119 | 0.118 | 0.118 | 0.118 | 0.118 | 0.118 | 0.118 | 0.118 | 0.118 | 0.117 | 0.119 |
| 15 | 1     | 1     | 1     | 1     | 1     | 1     | 1     | 1     | 1     | 1     | 1     | 1     | 1     | 1     | 1     |
| 16 | 0.078 | 0.078 | 0.078 | 0.079 | 0.078 | 0.072 | 0.079 | 0.078 | 0.078 | 0.078 | 0.078 | 0.078 | 0.078 | 0.077 | 0.079 |
| 17 | 0.132 | 0.134 | 0.147 | 0.149 | 0.128 | 0.128 | 0.148 | 0.142 | 0.130 | 0.130 | 0.260 | 0.146 | 0.145 | 0.131 | 0.130 |
| 18 | 0.588 | 0.581 | 0.624 | 0.626 | 0.612 | 0.615 | 0.627 | 0.628 | 0.589 | 0.581 | 0.611 | 0.624 | 0.623 | 0.580 | 0.586 |
| 19 | 1.209 | 1.252 | 1.411 | 1.415 | 1.246 | 1.246 | 1.413 | 1.411 | 1.212 | 1.262 | 1.262 | 1.412 | 1.417 | 1.215 | 1.240 |
| 20 | 0.342 | 0.343 | 0.330 | 0.329 | 0.333 | 0.330 | 0.327 | 0.331 | 0.343 | 0.345 | 0.335 | 0.338 | 0.331 | 0.341 | 0.345 |
| 21 | 0.264 | 0.263 | 0.237 | 0.236 | 0.217 | 0.219 | 0.234 | 0.231 | 0.260 | 0.262 | 0.220 | 0.231 | 0.310 | 0.259 | 0.258 |
| 22 | 0.199 | 0.175 | 0.181 | 0.186 | 0.195 | 0.202 | 0.187 | 0.183 | 0.199 | 0.204 | 0.206 | 0.187 | 0.183 | 0.204 | 0.206 |
| 23 | 0.673 | 0.675 | 0.657 | 0.665 | 0.685 | 0.698 | 0.654 | 0.660 | 0.678 | 0.681 | 0.682 | 0.655 | 0.659 | 0.679 | 0.681 |

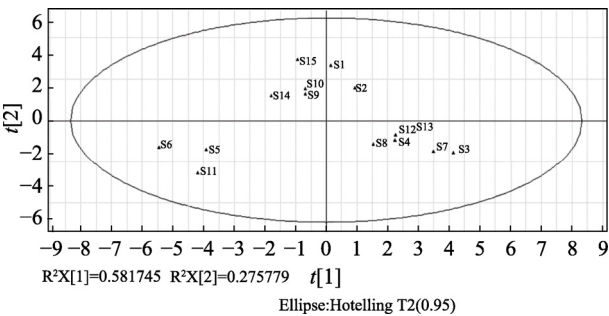


图 3 15 批样品的 PCA 得分图  
Fig. 3 Plot of PCA of 15 batches of samples

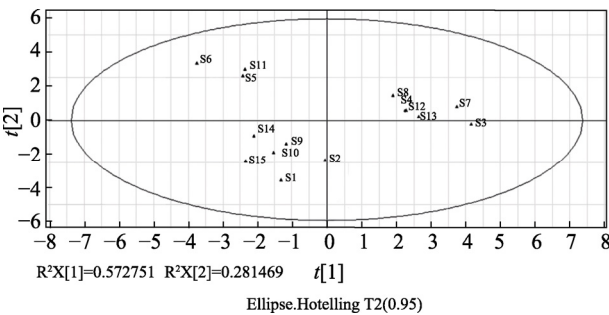


图 4 15 批样品的 OPLS-DA 得分图  
Fig. 4 Plot of OPLS-DA score for 15 batches of samples

在 OPLS-DA 模型下形成载荷图,结果见图 5。  
15 批泽泻汤仍按不同的组方信息分成 3 组。载荷  
图中共有峰的位置表明其对各组样品分组相应的

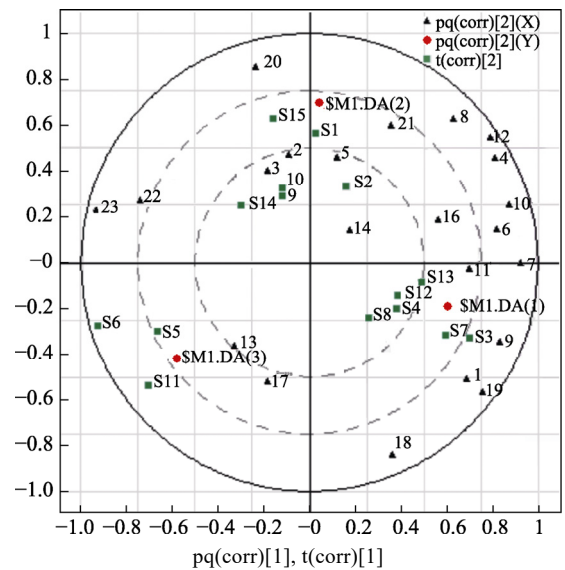


图 5 15 批样品的 OPLS-DA 载荷图  
Fig. 5 OPLS-DA load diagram of 15 batch samples



贡献率。其中大部分组分点集中在第 2 组(广西)的附近,说明大部分组分在第 2 组(广西)样品中的相对峰面积变化较大。

为了更加清晰地观察各个组分对分组的贡献率,在 OPLS-DA 模式下进行 S-plot 分析,结果见图 6。18 号峰(23-乙酰泽泻醇 B)、23 号峰、2 号峰和 22 号峰等对组分均成正相关,且 18 号峰(23-乙酰泽泻醇 B)对于分组贡献率最大。

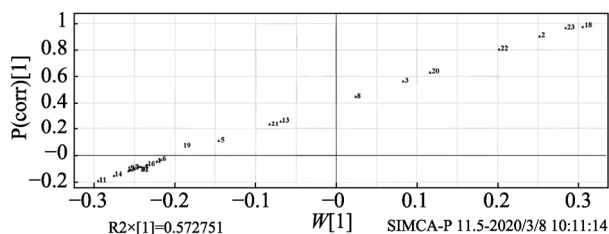


图 6 共有峰相对面积 S-plot 分析图

Fig. 6 S-plot analysis diagram of the relative area of the common peaks

## 2.6 泽泻汤中化学成分含量测定

**2.6.1 线性关系考察** 分别精密称取“2.2”项下的单组分对照品溶液适量,加入甲醇稀释成 6 个质量浓度,按“2.1”色谱条件,记录色谱图及峰面积,以峰面积( $A$ )为纵坐标,质量浓度( $C$ )为横坐标。白术内酯 I 的回归方程为  $C=3.026 \times 10^{-5}A+0.0021$ ,  $R^2=0.9988$ , 线性范围  $0.0205 \sim 0.0421 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ ; 白术内酯 II 回归方程为  $C=2.843 \times 10^{-5}A+0.0038$ ,  $R^2=0.9905$ , 线性范围  $0.0213 \sim 0.0425 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ ; 白术内酯 III 回归方程为  $C=2.804 \times 10^{-5}A+0.0015$ ,  $R^2=0.9978$ , 线性范围  $0.0081 \sim 0.0251 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ ; 泽泻醇 A 回归方程为  $C=3.495 \times 10^{-4}A+0.0091$ ,  $R^2=0.9946$ , 线性范围  $0.0814 \sim 0.1675 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ ; 泽泻醇 B 回归方程  $C=2.329 \times 10^{-4}A+0.0115$ ,  $R^2=0.9986$ , 线性范围  $0.3501 \sim 0.8512 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ ; 23-乙酰泽泻醇 B 回归方程  $C=3.799 \times 10^{-4}A+0.0046$ ,  $R^2=0.9984$ , 线性范围  $0.3508 \sim 0.8527 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ , 表明各成分在配制的质量浓度范围内线性关系良好。

**2.6.2 加样回收率试验** 按“2.3”项方法制备泽泻汤供试品溶液,并添加比例为 1:1 的白术内酯 I、白术内酯 II、白术内酯 III、泽泻醇 A、泽泻醇 B 和 23-乙酰泽泻醇 B 对照品,按“2.1”项色谱条件进样,计算泽泻汤供试品中白术内酯 I、白术内酯 II、白术内酯 III、泽泻醇 A、泽泻醇 B 和 23-乙酰泽泻醇 B 的加样回收率,分别为 100.3%, 101.6%, 99.1%, 98.7%, 103.2%, 102.3%,

RSD 值分别为 0.89%, 1.21%, 2.24%, 2.56%, 2.71%, 2.35%, 准确度好,符合检测要求。

**2.6.3 泽泻汤中化学成分含量测定** 按“2.3”项方法制备 15 批泽泻汤的供试品溶液,按“2.1”项色谱条件进行测定,计算泽泻汤中化学成分的含量。

15 批泽泻汤中白术内酯 I、白术内酯 II、白术内酯 III、泽泻醇 A、泽泻醇 B 和 23-乙酰泽泻醇 B 的含量测试结果见表 5。

表 5 15 批泽泻汤样品中白术内酯 I、白术内酯 II、白术内酯 III、泽泻醇 A、泽泻醇 B 和 23-乙酰泽泻醇 B 的含量  
Tab. 5 Contents of atractylenolide I, atractylenolide II, atractylenolide III, alisol A, alisol B, 23-*O*-Acetylalisol B of 15 batches of Zexie decoction  $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$

| 样品  | 白术内酯 I | 白术内酯 II | 白术内酯 III | 泽泻醇 A  | 泽泻醇 B  | 23-乙酰泽泻醇 B |
|-----|--------|---------|----------|--------|--------|------------|
| S1  | 0.0308 | 0.0301  | 0.0194   | 0.1022 | 0.6934 | 0.4255     |
| S2  | 0.0317 | 0.0297  | 0.0192   | 0.1034 | 0.6836 | 0.4367     |
| S3  | 0.0291 | 0.0321  | 0.0126   | 0.1258 | 0.4756 | 0.6321     |
| S4  | 0.0319 | 0.0366  | 0.0174   | 0.1311 | 0.4862 | 0.6534     |
| S5  | 0.0321 | 0.0344  | 0.0176   | 0.1421 | 0.5032 | 0.7308     |
| S6  | 0.0313 | 0.0312  | 0.0192   | 0.1029 | 0.5108 | 0.7194     |
| S7  | 0.0319 | 0.0309  | 0.0192   | 0.1033 | 0.4901 | 0.6723     |
| S8  | 0.0301 | 0.0319  | 0.0124   | 0.1234 | 0.4832 | 0.6491     |
| S9  | 0.0308 | 0.0358  | 0.0171   | 0.1359 | 0.6879 | 0.4401     |
| S10 | 0.0331 | 0.0338  | 0.0180   | 0.1378 | 0.7012 | 0.4319     |
| S11 | 0.0287 | 0.0326  | 0.0120   | 0.1227 | 0.6902 | 0.7231     |
| S12 | 0.0316 | 0.0295  | 0.0192   | 0.1045 | 0.4796 | 0.6519     |
| S13 | 0.0309 | 0.0303  | 0.0192   | 0.1038 | 0.4693 | 0.6438     |
| S14 | 0.0315 | 0.0361  | 0.0175   | 0.1367 | 0.6712 | 0.4297     |
| S15 | 0.0329 | 0.0342  | 0.0178   | 0.1439 | 0.6893 | 0.4268     |

## 3 讨论

### 3.1 检测波长的选择

在 190~400 nm 内,采用 3D 通道,对泽泻汤进行全波长扫描测试,结果表明 208 nm 为最佳测试波长,采用 2D 通道分别采集 200, 208, 210, 220, 260, 280, 300 nm 下样品的 UPLC 谱图进行对比,结果表明,208 nm 下基线平稳,共有峰数量最多,且分离度符合检测要求,部分峰具有较高响应值,因此选择 208 nm 作为泽泻汤后续检测波长。

### 3.2 流动相的选择

泽泻汤是由泽泻和白术 2 味药材组成,主要化学成分为三萜类、二萜类、倍半萜类、聚炔类等化合物<sup>[18-19]</sup>、本研究考察了乙腈-0.1%磷酸溶液、乙腈-水、乙腈-0.02%三乙胺溶液作为流动相进行

泽泻汤的 UPLC 检测, 结果上述各流动相系统所得 UPLC 图谱中乙腈-水系统分离情况和峰形较好, 因此选择乙腈-水作为流动相, 并采用梯度洗脱的方法对泽泻汤进行分析。

### 3.3 指标性成分的选择

白术内酯 I、白术内酯 II 和白术内酯 III 是白术的主要有效成分, 是白术质量控制的关键指标, 而且具有明确的生物活性<sup>[11-15]</sup>, 泽泻醇 A、泽泻醇 B 和 23-乙酰泽泻醇 B 是泽泻的主要化学成分, 也是泽泻汤现代研究中重点关注的成分<sup>[20]</sup>, 而且这 6 种化学成分在本实验的 UPLC 测试谱图中分离度高。15 批泽泻汤中白术内酯 I、白术内酯 II、白术内酯 III、泽泻醇 A、泽泻醇 B 和 23-乙酰泽泻醇 B 的含量平均值分别为 0.031 2, 0.032 6, 0.017 2, 0.121 3, 0.581 0, 0.577 8 mg·mL<sup>-1</sup>, 含量波动范围为 0.028 7~0.033 1, 0.029 5~0.036 6, 0.012 0~0.019 4, 0.102 2~0.143 9, 0.469 3~0.701 2, 0.425 5~0.730 8 mg·mL<sup>-1</sup>, 其中 23-乙酰泽泻醇 B 的波动范围最大, 但是含量测定结果皆在其均值的 70%~130% 内, 表明不同批次泽泻汤样品中各成分含量存在差异, 但可以对泽泻汤质量的波动差异性进行控制。

### 3.4 相似度和多元统计分析

不同产地和不同批号泽泻和白术制备的 15 批泽泻汤样品 UPLC 指纹图谱相似度为 0.979~0.996, 表明泽泻汤样品的一致性较好。PCA 分析中, 15 批次泽泻汤样品按泽泻产地的不同分为 3 组, 说明在泽泻汤中泽泻产地的变化会使其在质量上存在一定差异。在 OPLS-DA 模式下, 对 15 批泽泻汤样品进行了 S-plot 分析, 18 号峰(23-乙酰泽泻醇 B)、23 号峰、2 号峰和 22 号峰对于样品的分组贡献率较大, 可作为分组的差异性物质, 其中 18 号峰(23-乙酰泽泻醇 B)对 15 批样品分组模式贡献率最大, 提示不同批次的泽泻汤样品中 23-乙酰泽泻醇 B 含量的差异性最大, 这与含量测定的结果一致。23-乙酰泽泻醇 B 来自于泽泻, 其含量的差异主要是因为药材泽泻的产地和批次不同造成的。23-乙酰泽泻醇 B 具有利尿、消肿和降血脂等药用价值, 是泽泻的指标性成分<sup>[21]</sup>。产地和炮制方法的不同是影响泽泻中 23-乙酰泽泻醇 B 含量的主要因素<sup>[22-23]</sup>。

本研究建立了经典名方泽泻汤的 UPLC 指纹图谱, 确定了 23 个共有峰, 并指出白术内酯 I、

白术内酯 II、白术内酯 III、泽泻醇 A、泽泻醇 B 和 23-乙酰泽泻醇 B 6 个化学成分, 并对其含量进行了测定。15 批泽泻汤的 UPLC 指纹图谱的相似度为 0.979~0.996, 相似度均>0.900, 白术内酯 I、白术内酯 II、白术内酯 III、泽泻醇 A、泽泻醇 B 和 23-乙酰泽泻醇 B 的含量平均值分别为 0.031 2, 0.032 6, 0.017 2, 0.121 3, 0.581 0, 0.577 8 mg·mL<sup>-1</sup>。初步反映了泽泻汤中整体化学特征, 检测方法快速简单, 重复性高, 稳定性好, 为泽泻汤及其物质基准的质量控制提供了新的借鉴, 对泽泻汤的进一步利用和开发提供了物质基础数据。

### REFERENCES

- [1] 汉. 张仲景. 金匮要略[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1963.
- [2] 李爱珍. 泽泻汤治疗高脂血症的临床疗效[J]. 临床合理用药杂志, 2018, 11(36): 114-115.
- [3] YUAN Y, GAO H J, WANG J H, et al. Separated prescription research on black currant seed and Zexie decoction, Crataegi Fructus combination about depressurization and adjusting blood lipid[J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2016, 33(4): 414-419.
- [4] WANG R X, LIU Y, ZHANG S F. Clinical efficacy and mechanism research of Zexie decoction in the treatment of essential hypertension[J]. Shanghai J Tradit Chin Med(上海中医药杂志), 2017, 51(8): 103-105, 112.
- [5] LI F. Randomized parallel controlled study on the treatment of vertebral basilar artery insufficiency vertigo by Gastrodin injection and Changchun western medicine[J]. J Pract Tradit Chin Inter Med(实用中医内科杂志), 2016, 30(7): 65-67.
- [6] 郝明. 中医泽泻汤治疗慢性脑供血不足眩晕的临床分析[J]. 中国实用医药, 2016, 11(1): 185-186.
- [7] SHENG K S, ZHU J F, KONG S S, et al. Study on the mechanisms of Qingfei mixture in lung cancer treatment based on network pharmacology[J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2020, 37(8): 926-934.
- [8] ZHANG D S. The mechanism of action and the material basis of the effective components of traditional Chinese medicine[J]. Chin J Pharmacol Toxicol(中国药理学与毒理学杂志), 2019, 33(9): 656.
- [9] SHEN H B, ZHOU Y N, ZHENG J, et al. "Multi-component-multi-target-multi-pathway" mechanism of Kuihua Hupan Tablets based on network pharmacology[J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2019, 44(7): 1464-1474.
- [10] DING C R. Study on the immune modulatory function and the molecular mechanism of Radix Atractylodes and Atractylodis polysaccharides and Atractylenolide[D]. Kaifeng: University of Henan(河南大学), 2016.
- [11] ZHANG C X, ZHANG Y J, JIANG B, et al. Effect of atractylenolide II in promoting apoptosis of Lovo cells and its impact on expression of PARP1 and Caspase-3[J]. Chin J Exp Tradit Med Form(中国实验方剂学杂志), 2017, 23(5):

- 157-161.
- [12] CHEN Y Z, YANG W L, GUO L Y, et al. Inhibitory effects of atractylenolide 3 on platelet and its mechanism[J]. J Int Pharm Res(国际药理学研究杂志), 2016, 43(3): 514-517.
- [13] LI J X, CHEN S Q, WU X Y, et al. Study on modern pharmacology of *Alisma orientalis*[J]. J Liaoning Univ TCM(辽宁中医药大学学报), 2020, 22(2): 143-146.
- [14] ZHAO L. Overview of the study on reducing blood lipid in *Alisma orientalis*[J]. J Pract Tradit Chin Inter Med(实用中医内科杂志), 2019, 33(3): 71-73, 77.
- [15] ZHANG A F, SHENG Y Q, et al. Investigation on the Anti-metastatic effect of alisol B isolated from *Alismorientale* on 4T1 breast cancer cells *in vitro*[J]. J Nanjing Univ Tradit Chin Med Vol(南京中医药大学学报), 2018, 34(2): 178-180.
- [16] ZHU M, CHEN B L, SHI S M. Application of fingerprint technology on traditional Chinese medicine in Chinese Pharmacopoeia(2015 Edition) Volume I[J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2016, 33(5): 611-614.
- [17] FU Y L, SONG J, ZHANG L. Origin of primitive dosage of classical formulas[J]. J Beijing Univ Tradit Chin Med(北京中医药大学学报), 2013, 36(5): 293-296.
- [18] ZHANG H J, GONG S X, XU J, et al. Research progress of *Alismatis Rhizoma* and prediction analysis on its Q-marker[J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2019, 50(19): 4741-4751.
- [19] YAO Z M, CHEN W D, YANG Z H, et al. Research progress in *Atractylodes macrocephala* and predictive analysis on Q-marker[J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2019, 50(19): 4796-4807.
- [20] HU C, CHEN L, JIANG Y Y, et al. Determination of alisol A, alisol B and 23-*O*-acetylalisol B in Zexie decoction based on HPLC[J]. Acta Univ Tradit Med Sinen Pharmacol Shanghai(上海中医药大学学报), 2019, 33(5): 73-77.
- [21] 中国药典. 一部[S]. 2015: 附录 107-125.
- [22] LIU D W, QIU Q F, LIU Q, et al. Overview of research on harvest, processing in production place, processing and quality evaluation of *Alismatis Rhizoma*[J]. Chin J Exp Tradit Med Form(中国实验方剂学杂志), 2018, 24(16): 203-211.
- [23] YAN G J, LAN M L, QIU J F, et al. Study on changes of chemical composition and diuretic effect in *Alismatis Rhizoma* after processing[J]. Chin J Inf Tradit Chin Med(中国中医药信息杂志), 2020, 27(4): 59-65.

收稿日期: 2020-03-16  
(本文责编: 沈倩)