

基于 UPLC 特征图谱和含量测定的白薇标准汤剂质量评价研究

李娇艳^{1,2}, 刘晓霞², 何民友², 谢文凯², 李振雨², 陈向东², 孙冬梅^{2*}

¹广州中医药大学, 广州 510006; ²广东一方制药有限公司 广东省中药配方颗粒企业重点实验室, 佛山 528244

摘要:建立白薇标准汤剂的特征图谱及对羟基苯乙酮和 2,4-二羟基苯乙酮的含量测定方法,并通过特征图谱对白薇、蔓生白薇及老瓜头标准汤剂进行区分,以期对其质量进行评价。采用超高效液相色谱法(ultra-high performance liquid chromatography, UPLC)建立特征图谱,并通过聚类分析、主成分分析和正交偏最小二乘判别分析对 15 批不同产地白薇饮片制备的标准汤剂进行化学模式识别分析。结果表明,不同产地白薇饮片制备的标准汤剂的 UPLC 特征图谱确定了 8 个共有峰,其中,峰 5 为对羟基苯乙酮、峰 7 为 4-甲氧基-3-羟基苯乙酮、峰 8 为 2,4-二羟基苯乙酮。聚类分析将 15 批样品按照产地分为 4 类,与主成分分析、正交偏最小二乘判别分析的分类结果一致;正交偏最小二乘判别分析共筛选出 3 个影响质量的共有特征峰,其中,2,4-二羟基苯乙酮和对羟基苯乙酮被确定为定量分析指标。与白薇标准汤剂特征图谱相比,蔓生白薇的峰 8 响应值接近基线,老瓜头则只有峰 2 和峰 3 两个色谱峰。建立的 UPLC 特征图谱和含量测定方法可用于不同产地白薇饮片制备的标准汤剂的质量控制,为白薇资源及其相关产品的质量评价提供了依据。

关键词:白薇;标准汤剂;超高效液相色谱法;特征图谱;含量测定;化学计量学

中图分类号:R284.1

文献标志码:A

文章编号:1001-6880(2026)9-1988-11

DOI:10.16333/j.1001-6880.2026.9.013

CSTR:32307.14.1001-6880.2026.9.013

Quality evaluation of *Cynanchum atratum* standard decoction based on UPLC characteristic spectrum and content determination

LI Jiao-yan^{1,2}, LIU Xiao-xia², HE Min-you²,

XIE Wen-kai², LI Zhen-yu², CHEN Xiang-dong², SUN Dong-mei^{2*}

¹Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China; ²Guangdong Provincial Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine Formula Granule, Guangdong Yifang Pharmaceutical Co., Ltd., Foshan 528244, China

Abstract: This study aims to establish a characteristic fingerprint of the standard decoction of *Cynanchum atratum* and a method for the determination of P-hydroxyacetophenone and 2,4-dihydroxyacetophenone, and to distinguish the standard decoctions of *C. atratum*, *C. versicolor*, and *C. komarovii* by characteristic fingerprinting, so as to evaluate its quality. A characteristic fingerprint was established by ultra-high performance liquid chromatography (UPLC). Chemical pattern recognition analysis was performed on standard decoctions prepared from 15 batches of *C. atratum* slices from different origins using hierarchical cluster analysis (HCA), principal component analysis (PCA) and orthogonal partial least squares discriminant analysis (OPLS-DA). The results showed that eight common peaks were identified in the UPLC characteristic fingerprints of standard decoctions prepared from *C. atratum* slices from different origins. Among them, peak 5 was P-hydroxyacetophenone, peak 7 was 4-methoxy-3-hydroxyacetophenone, and peak 8 was 2,4-dihydroxyacetophenone. HCA divided the 15 batches of samples into four clusters according to their geographical origins, which was consistent with the classification results of PCA and OPLS-DA. A total of three common characteristic peaks affecting quality were screened by OPLS-DA, among which 2,4-dihydroxyacetophenone and P-hydroxyacetophenone were determined as the quantitative markers. Compared with the characteristic fingerprint of *C. atratum* standard decoction, the response value of peak 8 of *C. versicolor* was close to the baseline, while only peak 2 and peak 3 were observed in *C. komarovii*. The established UPLC characteristic fingerprint and content determina-

收稿日期:2025-10-31 接受日期:2026-05-06

基金项目:2022 年佛山市南海区重点领域科技攻关专项(南科〔2023〕20 号-18)

* 通信作者 Tel:86-757-85128602; E-mail:jishusundm@163.com

tion method can be used for the quality control of standard decoctions prepared from *C. atratum* slices from different origins, providing a scientific basis for the quality evaluation of *C. atratum* resources and their related products.

Key words: *Cynanchum atratum*; standard decoction; UPLC; characteristic fingerprint; content determination; chemometrics

白薇为萝藦科植物白薇 *Cynanchum atratum* Bge. 或蔓生白薇 *C. versicolor* Bge. 的干燥根和根茎, 别称有“春草”、“婆婆针线包”、“龙胆白薇”等, 性寒, 味苦、咸, 有清热凉血, 利尿通淋, 解毒疗疮的功效, 用于温邪伤营发热, 阴虚发热, 骨蒸劳热, 产后血虚发热, 热淋, 血淋, 痈疽肿毒等^[1]。白薇中含有的活性化学成分种类较为丰富, 其中以 C21 甾体皂苷类、苯乙酮类化合物及生物碱类成分为主要类别^[2-4], 具有抗氧化^[5]、抗菌^[6]、抗炎^[7]、抗肿瘤^[8]等药理作用。白薇的产地主要包括山东、安徽、辽宁、陕西等。伴随白薇药材资源储量的逐步紧缩, 当前市场中白薇的混伪品呈现出层出不穷的态势, 其中较为主要的混伪品来源, 是白薇同属植物老瓜头 (*C. komarovii* Al. Iljinski) 和紫花合掌消 (*C. amplexicaule* (Sieb. et Zucc.) Hemsl. var. *castaneum* Makino) 的干燥根及根茎。在所有混淆品中, 又以老瓜头冒充正品的现象最为常见。在《中华人民共和国药典》2025 年版中, 在鉴别白薇不同基原品种及区分其伪品老瓜头方面, 现行白薇项下所规定的性状与显微鉴别方法存在一定局限性, 但可以通过薄层色谱技术与高效液相色谱技术实现^[9-11]。

当前,《中华人民共和国药典》2025 年版对白薇两种基原的性状特征的描述较为简单, 其规定的质控指标局限于薄层定性鉴别, 以及水分、灰分、浸出物等; 由于缺乏与白薇功效直接关联的化学成分相关质控内容, 导致其临床疗效稳定性与用药安全性均受到一定影响。中药饮片标准汤剂是指以中医理论为指导、临床应用为基础, 参考现代提取方法, 经标准化工艺制备而成的单味中药饮片水煎剂, 用于标化临床用药, 保障用药的准确性和剂量的一致性, 以标准汤剂作为标准参照物的评价方法是中药整体质量控制的方法之一^[12]。中药特征图谱属于多指标整合的质量控制模式, 不仅可以实现中药材真伪鉴别, 还可以评价中药材质量是否均一与稳定, 而且能全面地对中药整体质量水平进行反映与控制^[13]。本研究根据国家药典委员会颁布的《中药配方颗粒管理办法》的原则, 按照根茎类中药饮片标准汤剂制备工艺, 进行由不同产地白薇饮片制备的标准汤剂的研究, 建立了不同产地白薇饮片制备的标准汤剂的 UPLC 特征图谱, 并结合聚类分析 (hierarchical

cluster analysis, HCA)、主成分分析 (principal component analysis, PCA) 和正交偏最小二乘判别分析 (orthogonal partial least squares discriminant analysis, OPLS-DA) 等化学计量学方法对不同产地白薇饮片制备的标准汤剂进行质量评价, 同时考察了不同产地白薇饮片制备的标准汤剂中 2 个成分的含量差异, 并对不同基原白薇及其混伪品进行了鉴别, 旨在为不同产地白薇饮片制备的标准汤剂质量控制体系的构建提供相应的理论支撑^[14-16]。

1 材料

1.1 药材

本研究共计收集 22 批白薇饮片, 这些饮片分别来源于辽宁、安徽、山东及广西, 经广东一方制药有限公司孙冬梅主任中药师鉴定, 15 批为白薇 *Cynanchum atratum* Bge. (S1 ~ S15), 3 批为蔓生白薇 *Cynanchum versicolor* Bge. (S16 ~ S18), 4 批为老瓜头 *Cynanchum komarovii* Al. Iljinski (S19 ~ S22), 产地信息见表 1。

1.2 试剂与仪器

对羟基苯乙酮 (批号: 111897-201602, 纯度: 99.9%, 中国食品药品检定研究院); 2,4-二羟基苯乙酮 (批号: DSTDE016401, 纯度: 99.77%, 成都乐美天医药科技有限公司); 4-甲氧基-3-羟基苯乙酮 (批号: wkq21102506, 纯度: 98%, 四川省维克奇生物科技有限公司); 甲醇 (色谱纯, 默克股份有限公司); 水为超纯水 (实验室自制); 其余试剂皆为分析纯。

Waters H-Class 超高效液相色谱仪 (沃特斯科科技 (中国) 有限公司); Vanquish 赛默飞超高效液相色谱仪 (赛默飞世尔科技 (中国) 有限公司); Waters HSS T3 色谱柱 (2.1 mm × 150 mm, 1.8 μm); ME204E 万分之一天平 (梅特勒-托利多公司); XP26 百万分之一天平 (梅特勒-托利多公司); Milli-Q Direct 超纯水系统 (默克股份有限公司)。

2 方法与结果

2.1 白薇、蔓生白薇及老瓜头标准汤剂的制备

取不同产地白薇、蔓生白薇及老瓜头饮片 100 g, 加水煎煮 2 次, 第 1 次煎煮加 9 倍量水, 浸泡 30 min, 武火 (500 W) 煮沸后文火 (200 W) 保持微沸 30 min, 用 200 目筛网趁热过滤, 滤液迅速用冷水冷却。第 2 次煎煮加 7 倍量水, 武火 (500 W) 煮沸后文火

表 1 样品信息

Table 1 Sample information

基源 Plant source	编号 No.	产地 Place of origin	基源 Plant source	编号 No.	产地 Place of origin
白薇 <i>C. atratum</i> Bge.	S1	山东省日照市	白薇	S12	辽宁省铁岭市
	S2	山东省日照市	<i>C. atratum</i> Bge.	S13	辽宁省鞍山市
	S3	山东省日照市		S14	辽宁省鞍山市
	S4	安徽省亳州市		S15	辽宁省鞍山市
	S5	安徽省亳州市	蔓生白薇	S16	山东省日照市
	S6	安徽省亳州市	<i>C. versicolor</i> Bge.	S17	山东省日照市
	S7	辽宁省鞍山市		S18	山东省日照市
	S8	辽宁省鞍山市	老瓜头	S19	广西壮族自治区玉林市
	S9	辽宁省鞍山市	<i>C. komarovii</i>	S20	安徽省亳州市
	S10	辽宁省铁岭市	Al. Iljinski	S21	安徽省亳州市
	S11	辽宁省铁岭市		S22	安徽省亳州市

(200 W)保持微沸 25 min,用 200 目筛网趁热过滤,滤液迅速用冷水冷却,合并两次滤液。煎液转移至 2 000 mL 圆底烧瓶中,采用旋转蒸发仪减压低温浓缩(水浴温度:65 ℃,转速:90 r/min,真空度:-0.08 ~ -0.1 MPa)至 150 mL 的浸膏,在磁力搅拌下,分装至 10 mL 西林瓶中,每瓶分装体积为 2 mL,半加塞,分装完后转移至真空冷冻干燥机中冻干,取出,轧上铝盖,即得。

2.2 色谱条件

以 Waters HSS T3(2.1 mm × 150 mm,1.8 μm)为色谱柱;以甲醇(A)-0.1% 磷酸溶液(B)为流动相,梯度洗脱(0 ~ 3 min,3% A→5% A;3 ~ 8 min,5% A→12% A;8 ~ 13 min,12% A→20% A;13 ~ 21 min,20% A→25% A;21 ~ 26 min,25% A;26 ~ 33 min,25% A→40% A;33 ~ 35 min,40% A);流速为每分钟 0.30 mL;柱温为 30 ℃;检测波长为 310 nm;进样量为 2 μL。

2.3 对照品溶液的制备

精密称取对羟基苯乙酮、2,4-二羟基苯乙酮、4-甲氧基-3-羟基苯乙酮对照品适量,置 10 mL 量瓶中,加甲醇制成每 1 mL 含对羟基苯乙酮、2,4-二羟基苯乙酮、4-甲氧基-3-羟基苯乙酮 315.18、206.82、205.11 μg 的对照品溶液,摇匀,即得。分别精密吸取上述对照品溶液 1 mL 于 10 mL 量瓶中,加甲醇制成每 1 mL 含对羟基苯乙酮 31.52 μg、2,4-二羟基苯乙酮 20.68 μg、4-甲氧基-3-羟基苯乙酮 20.51 μg 的混合对照品溶液。

2.4 供试品溶液的制备

取白薇饮片(S3)制备的标准汤剂适量,研细,

取约 0.2 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,加 10% 乙醇 25 mL,超声处理(功率 300 W,频率 50 kHz)30 min,放冷,离心,上清液蒸干,残渣加 10% 乙醇溶解至 10 mL 量瓶中,加 10% 乙醇定容至刻度,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.5 特征图谱方法学考察

2.5.1 精密度考察

称取适量白薇饮片(S3)制备的标准汤剂,经研磨粉碎处理后,精密称取约 0.2 g 样品,按“2.4”项下制备供试品溶液,按“2.2”项下进行 6 次重复进样,以对羟基苯乙酮峰为参照峰(S),分别计算各特征峰与 S 峰的相对保留时间及相对峰面积,并进一步计算相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)值。结果显示,各共有峰相对保留时间的 RSD 为 0.080% ~ 0.10%,相对峰面积的 RSD 为 1.7% ~ 3.1%,表明本实验所采用仪器的精密度符合实验要求。

2.5.2 稳定性考察

称取适量白薇饮片(S3)制备的标准汤剂,经研磨粉碎处理后,精密称取约 0.2 g 样品,按“2.4”项下制备供试品溶液,按照“2.2”项下分别在 0、2、4、8、12、24 h 进行进样检测,以对羟基苯乙酮峰为 S 峰,计算各特征峰与 S 峰的相对保留时间及相对峰面积,并计算 RSD 值。结果显示,各特征峰与 S 峰的相对保留时间 RSD 值为 0.12% ~ 0.20%,相对峰面积 RSD 值为 1.1% ~ 3.3%,表明供试品溶液在 24 h 内具有良好的稳定性。

2.5.3 重复性考察

精密称取同一批由白薇饮片(S3)制备的标准汤剂粉末约0.2 g,平行设置6组实验,按“2.4”项下制备供试品溶液,按“2.2”项下进行测定,以对羟基苯乙酮峰为参照峰S,计算各特征峰与S峰的相对保留时间及相对峰面积,并计算RSD值,结果显示,各特征峰与S峰的相对保留时间RSD值为0.030%~0.070%,相对峰面积RSD值为0.73%~3.9%,说明本研究采用的供试品制备与检测方法具有良好的重复性。

2.6 不同产地白薇饮片制备的标准汤剂指纹图谱的建立

取15批不同产地白薇饮片制备的标准汤剂样品,照“2.4”项下制备供试品溶液,随后再依据“2.2”项下进样检测。随后使用《中药色谱指纹图谱相似度评价软件》对所有检测结果开展共有峰的识别与标注工作,如图1所示。经与对照品比对,峰5为对羟基苯乙酮、峰7为4-甲氧基-3-羟基苯乙酮、峰8为2,4-二羟基苯乙酮,如图2所示。

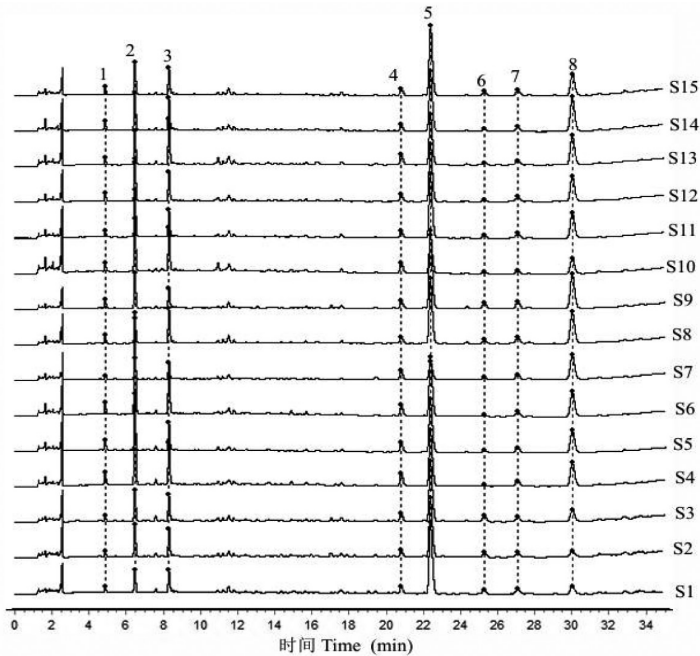


图1 15批白薇标准汤剂特征图谱叠加图

Fig. 1 Overlay chart of characteristic spectra for 15 batches of *C. atratum* standard decoction

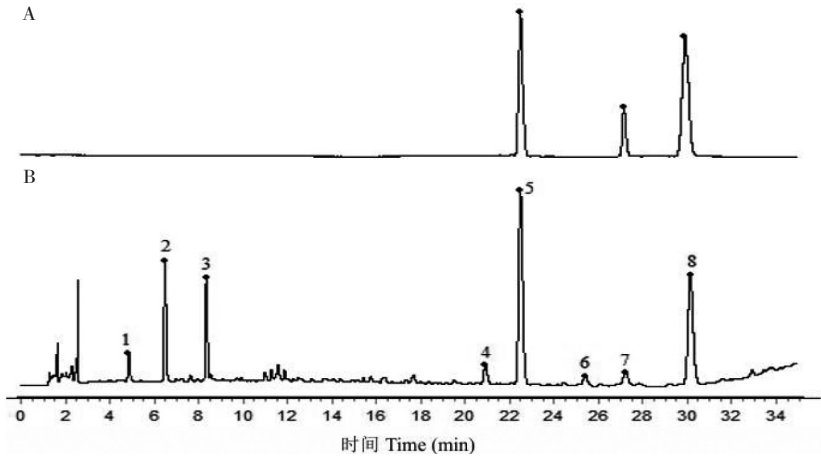


图2 混合对照品(A)和白薇标准汤剂(B)UPLC图

Fig. 2 UPLC chromatograms of mixed reference substances (A) and standard decoction of *C. atratum* (B)

注:5. 对羟基苯乙酮;7. 4-甲氧基-3-羟基苯乙酮;8. 2,4-二羟基苯乙酮。Note:5. p-Hydroxyacetophenone;7. 4-Methoxy-3-hydroxyacetophenone;8. 2,4-Dihydroxyacetophenone.

2.7 相似度计算

采用“中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012 版)”,计算 15 批不同产地白薇饮片制备的标准汤剂特征图谱的相似度,实验结果显示(见表 2),

15 批样品特征图谱的相似度介于 0.934 ~ 0.999 之间,该数据提示,不同产地白薇饮片制备的标准汤剂特征图谱具有较高的一致性。

表 2 白薇标准汤剂相似度计算结果

Table 2 Similarity calculation results of standard decoction of *C. atratum*

编号 No.	相似度 Similarity	编号 No.	相似度 Similarity
S1	0.934	S9	0.984
S2	0.946	S10	0.961
S3	0.972	S11	0.998
S4	0.961	S12	0.999
S5	0.999	S13	0.982
S6	0.958	S14	0.987
S7	0.951	S15	0.989
S8	0.989		

2.8 不同产地白薇饮片制备的标准汤剂化学模式识别分析

2.8.1 聚类分析

以 8 个共有峰的峰面积为变量,将该变量数据集导入至 SPSS 24.0 统计分析软件中,在聚类分析过程中,采用瓦尔德法作为核心分析方法,并选用欧氏距离来计算变量间的相似度,结果如图 3 所示。当欧氏距离在 22 ~ 25 之间时,样品可分为 2 个大类,安徽产地的样品聚为一类(S4 ~ S6);辽宁产地(S7 ~ S15)和山东产地(S1 ~ S3)的样品聚为一类。

当欧氏距离为 13 ~ 22 时,样品分为 3 类,安徽产地的样品聚为一类(S4 ~ S6);山东产地的样品聚为一类(S1 ~ S3);辽宁产地样品的样品聚为一类(S7 ~ S15)。当欧氏距离为 9 ~ 13 时,样品分为 4 类,安徽产地的样品聚为一类(S4 ~ S6);辽宁省铁岭市产地的样品聚为一类(S10 ~ S12);山东产地的样品聚为一类(S1 ~ S3);辽宁省鞍山市产地的样品聚为一类(S7 ~ S9、S13 ~ S15)。从聚类分析结果可知,辽宁产地的样品与山东产地的样品质量较为接近。

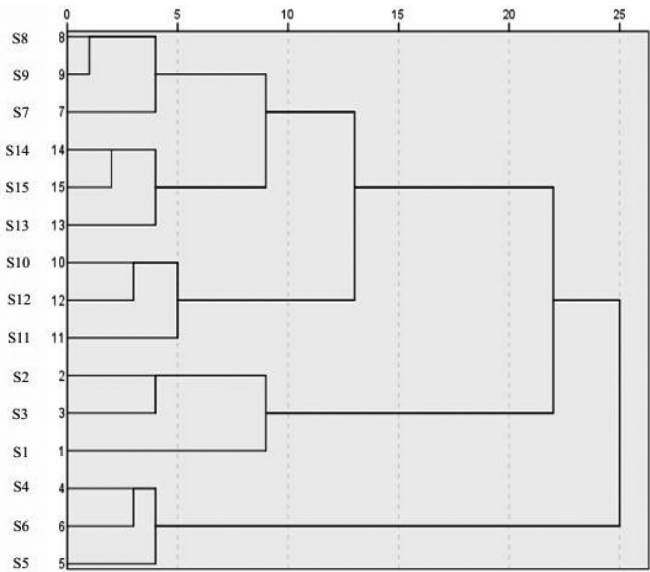


图 3 白薇标准汤剂聚类分析结果

Fig. 3 Cluster analysis results of standard decoction of *C. atratum*

2.8.2 主成分分析

提取 15 批不同产地白薇饮片制备的标准汤剂中 8 个共有色谱峰对应的峰面积数据,再将该批数据导入至 SIMCA 14.1 数据分析软件内进行分析,建立 PCA 模型,主成分模型累计贡献率(R^2X)达到 83.3%, Q^2 值为 0.605 > 0.5,说明模型有效。结果如图 4 所示,15 批样品可划分为 4 个大类,第 1 类

样品(S1 ~ S3)来源于山东省,第 2 类样品(S4 ~ S6)来源于安徽省,第 3 类样品(S7 ~ S9、S13 ~ S15)来源于辽宁省鞍山市,第 4 类样品(S10 ~ S12)来源于辽宁省铁岭市。因此,在本研究中采用 CA 与 PCA 相结合的方法,可对不同产地白薇饮片制备的标准汤剂样本实现较为准确的分类与区分。

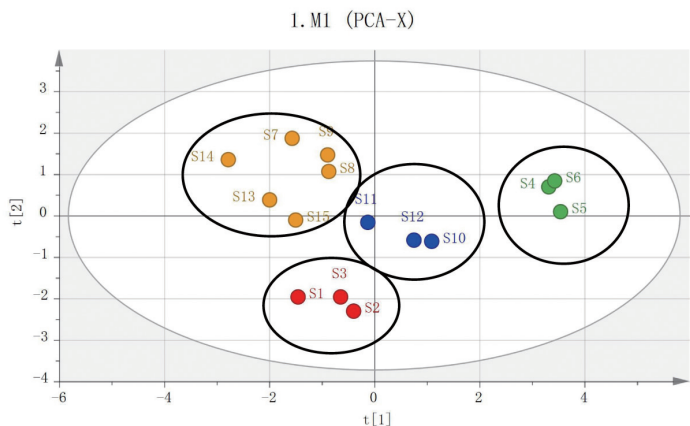


图 4 白薇标准汤剂 PCA 得分图

Fig. 4 PCA score plot of standard decoction of *C. atratum*

2.8.3 正交偏最小二乘判别分析

采用 SIMCA 14.1 软件作为分析工具,针对前期确定的 8 个共有特征峰,提取各峰对应的峰面积数据后,对这些数据进行 OPLS-DA 分析,经软件自动化处理后,得到的结果如图 5 所示,15 批样品在此分析中被分为 4 大类,该结果与 PCA、CA 的分析结果一致。OPLS-DA 模型中 R^2X 为 0.947、 R^2Y 为 0.865、 Q^2 为 0.743,均大于 0.5,表明模型基本有效。以投影变量重要性(variable Importance in the

Projection, VIP) 值 > 1.0 为差异性筛选标准,筛选得到了 3 个差异性标志物,如图 6 所示,分别为峰 3、峰 5(对羟基苯乙酮)、峰 8(2,4-二羟基苯乙酮)。因此,提示它们是造成不同产地白薇饮片制备的标准汤剂样品质量差异的主要标志性物质,对区分不同产地白薇饮片制备的标准汤剂的贡献较大。

2.8.4 白薇不同基原及其伪品 UPLC 特征图谱的对比

取用 3 批蔓生白薇饮片(S16 ~ S18)与 4 批老

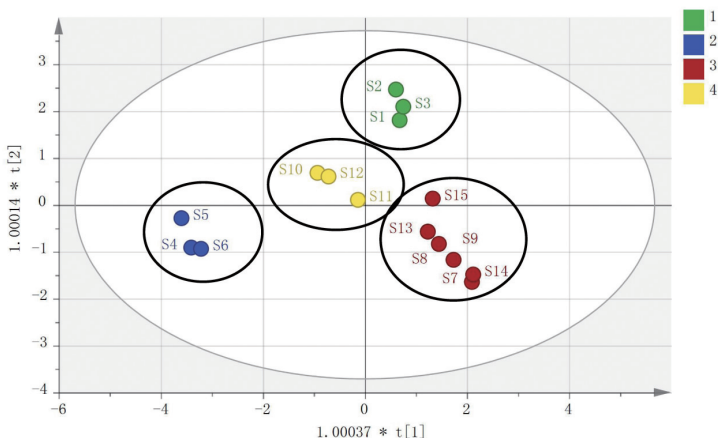


图 5 白薇标准汤剂 OPLS-DA 得分图

Fig. 5 OPLS-DA score plot of standard decoction of *C. atratum*

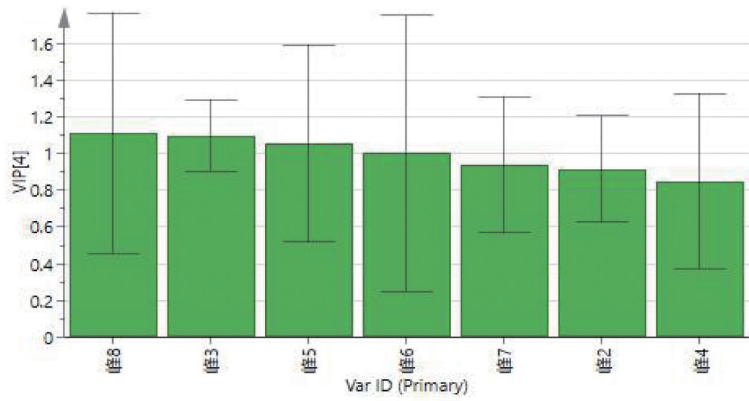


图 6 白薇标准汤剂 VIP 值图

Fig. 6 VIP value plot of standard decoction of *C. atratum*

瓜头饮片 (S19 ~ S22) 制备的标准汤剂样品, 按“2.4”项下制备供试品溶液, 再按“2.2”项下进样测定, 运用“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”对所测定的结果开展共有峰的标识工作, 如图 7 所示。用蔓生白薇及伪品老瓜头的标准汤剂的对照特征图谱和由白薇饮片制备的标准汤剂的对照特征图谱进

行比较, 如图 8 所示。结果显示, 白薇的 2 个基原色谱信号基本一致, 但从二者的对比图可发现, 二者的主要区别在特征峰 8, 由白薇饮片制备的标准汤剂中, 特征峰 8 响应值较高, 而由蔓生白薇饮片制备的标准汤剂中, 特征峰 8 基本上与接近于基线, 色谱峰不明显, 因此可以通过规定色谱峰 8 的响应大小来

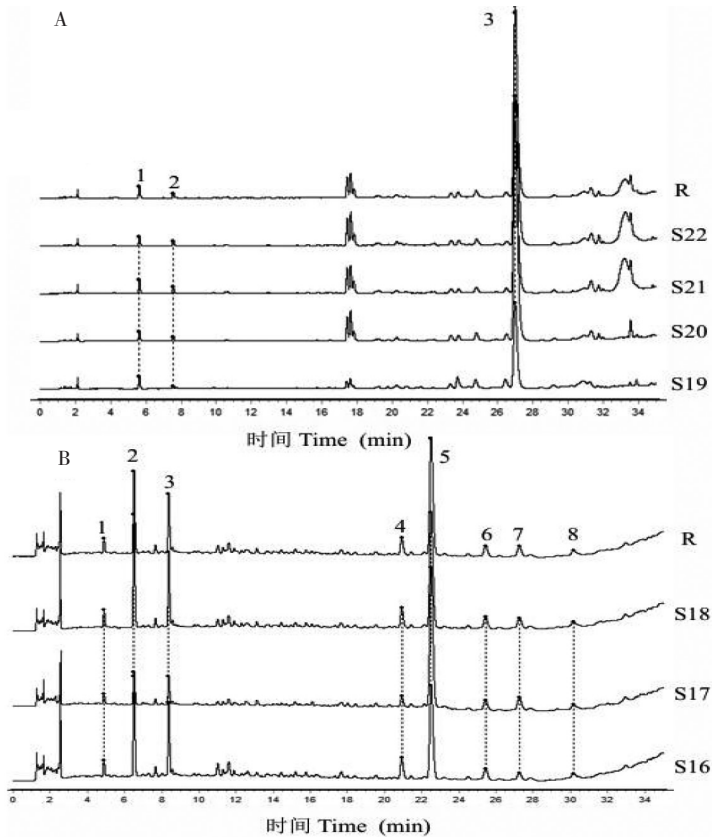


图 7 4 批老瓜头标准汤剂 (A) 和 3 批蔓生白薇标准汤剂 (B) 特征图谱叠加图

Fig. 7 Overlaid characteristic chromatograms of four batches of *C. komarovii* standard decoction (A) and three batches of *C. versicolor* standard decoction (B)

区别二者。

由白薇饮片制备的标准汤剂与由老瓜头饮片制备的标准汤剂的色谱图中具有明显的区别,老瓜头除了具有与白薇一致的特征峰 2 和峰 3 外,其他色谱峰在老瓜头中均未检出,而且已知的色谱峰 5(对

羟基苯乙酮)和色谱峰 8(2,4-二羟基苯乙酮)在老瓜头中也均未检出,因此可通过该色谱条件鉴别由白薇饮片制备的标准汤剂和由老瓜头饮片制备的标准汤剂。

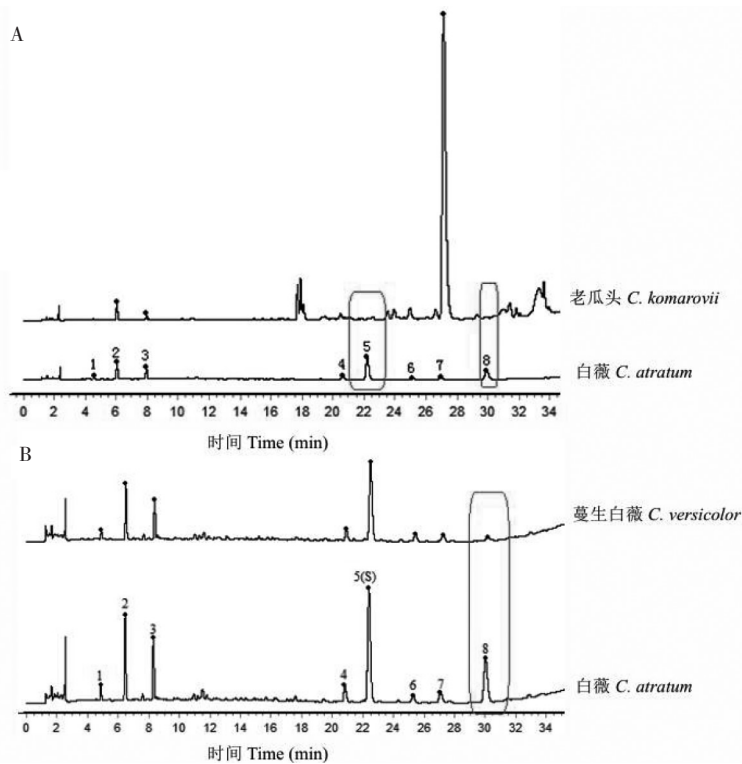


图 8 老瓜头和白薇标准汤剂 (A)、蔓生白薇和白薇标准汤剂 (B) 特征图谱对比图

Fig. 8 Comparison of characteristic chromatograms; standard decoction of *C. komarovii* vs *C. atratum* (A) and *C. versicolor* vs *C. atratum* (B)

注:图中红框标识区别峰。Note: The red boxes in the figure indicate the distinguishing peaks.

2.9 含量测定

2.9.1 线性考察

精密称定对羟基苯乙酮 7.95 mg, 置于 10 mL 量瓶中, 加甲醇制成每 1 mL 含对羟基苯乙酮 794.71 μg 的对照品母液; 精密称定 2,4-二羟基苯乙酮 2.65 mg, 置于 25 mL 量瓶中, 加甲醇制成每 1 mL 含 2,4-二羟基苯乙酮 106.00 μg 的对照品母液。精密量取上述对羟基苯乙酮对照品母液 0.4、0.5、0.5、1.0、0.8、2.0 mL, 精密量取 2,4-二羟基苯乙酮对照品母液 1.3、1.4、2.3、2.5、1.4、2.0 mL, 分别置 25、10、5、5、2、2 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 制成每 1 mL 含对羟基苯乙酮 13.25、39.74、79.47、158.94、317.88、794.71 μg 的对照品应用液; 每 1 mL 含 2,4-二羟基苯乙酮 5.46、15.02、49.14、53.00、75.10、106.00 μg 的对照品应用液。精密量

取上述不同浓度梯度的对照品应用液适量, 按“2.2”项下规定的色谱条件, 依次进样 1 μL , 同步记录各次进样对应的色谱峰面积。以峰面积为纵坐标 (Y), 对照品浓度为横坐标 (X), 绘制标准曲线。结果表明, 两者在各自浓度范围内的线性关系良好 (见表 3)。

2.9.2 精密度考察

精密吸取“2.4”项下供试品溶液, 按照“2.2”项下色谱条件重复进样 6 次, 并计算二者的峰面积 RSD。结果显示, 对羟基苯乙酮、2,4-二羟基苯乙酮峰面积 RSD 值分别为 0.35%、0.86%, 该结果证实所用仪器的精密度符合实验要求。

2.9.3 稳定性考察

精密吸取“2.4”项下供试品溶液, 按照“2.2”项下色谱条件, 分别在 0、2、4、8、12、24 h 这 6 个时间

表 3 线性考察结果

Table 3 Results of linear investigation results

对照品 Reference standard	标准曲线 Standard curve	<i>r</i>	线性范围 Linear range (μg/mL)
对羟基苯乙酮 p-Hydroxyacetophenone	$Y = 17\ 681X - 92\ 082$	0.999 5	13.25 ~ 794.71
2,4-二羟基苯乙酮 2,4-Dihydroxyacetophenone	$Y = 16\ 173X - 20\ 416$	0.999 7	5.46 ~ 106.00

点进行进样测定,并计算二者的峰面积 RSD。结果显示,对羟基苯乙酮和 2,4-二羟基苯乙酮的峰面积 RSD 值分别为 1.0%、2.7%,说明供试品溶液在 24 h 内具有良好的稳定性。

2.9.4 重复性考察

精密称取白薇饮片(S3)制备的标准汤剂,约 0.2 g,平行称定 6 份,按“2.4”项下制备供试品溶液,按“2.2”项下进行测定,结果显示,对羟基苯乙酮的平均含量为 7.05 mg/g、2,4-二羟基苯乙酮含量的平均含量为 0.55 mg/g。二者含量的 RSD 值分别为 1.3%、1.5%,因此,该分析方法的重复性良好。

2.9.5 加样回收率试验

精密称定对羟基苯乙酮 7.24 mg,置于 10 mL

量瓶中,加甲醇至刻度,即得浓度为 723.20 μg/mL 的对羟基苯乙酮母液。精密称定 2,4-二羟基苯乙酮 2.78 mg,置于 50 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,即得浓度为 55.49 μg/mL 的 2,4-二羟基苯乙酮母液。取 50 mL 锥形瓶,分别加入对羟基苯乙酮、2,4-二羟基苯乙酮对照品溶液 0.5、1.0、1.5 mL,挥干后称取白薇饮片(S3)制备的标准汤剂约 0.1 g,精密称定,平行 3 组,每组 3 份,按“2.4”项下方法制备,按“2.2”项下进样测定,计算得到对羟基苯乙酮和 2,4-二羟基苯乙酮的平均加样回收率分别为 96.51%、97.84%,RSD 分别为 3.1%、2.9%,该测定结果表明本实验的加样回收率符合要求(见表 4)。

表 4 加样回收率考察结果

Table 4 Results of the investigation of the sample recovery rate

成分 Component	样品量 Sample weight (mg)	加入量 Added amount (mg)	测得量 Measured amount (mg)	回收率 Recovery rate (%)	平均回收率 Average recovery rate (%)	RSD (%)
对羟基苯乙酮 p-Hydroxyacetophenone	0.767 0	0.361 6	1.127 8	99.90	96.51	3.1
	0.764 9	0.361 6	1.119 9	99.14		
	0.768 5	0.361 6	1.124 9	99.32		
	0.706 4	0.723 2	1.375 5	92.34		
	0.707 8	0.723 2	1.384 0	93.36		
	0.711 3	0.723 2	1.391 1	93.90		
	0.761 4	1.084 8	1.823 5	97.02		
	0.766 3	1.084 8	1.842 6	98.89		
2,4-二羟基苯乙酮 2,4-Dihydroxyacetophenone	0.769 9	1.084 8	1.814 0	94.71	97.84	2.9
	0.059 8	0.027 8	0.086 1	94.70		
	0.059 7	0.027 8	0.088 0	102.07		
	0.060 0	0.027 8	0.087 4	98.91		
	0.055 1	0.055 5	0.109 0	97.11		
	0.055 2	0.055 5	0.109 9	98.54		
	0.055 5	0.055 5	0.110 2	98.59		
	0.059 4	0.083 3	0.136 2	92.25		
	0.059 8	0.083 3	0.142 1	98.88		
	0.060 1	0.083 3	0.142 9	99.51		

2.9.6 样品测定

取 15 批不同产地白薇饮片制备的标准汤剂样品,按“2.4”项下制备供试品溶液,按“2.2”项下进样测定并同步记录色谱图。本研究采用外标法,对不同产地白薇饮片制备的标准汤剂样品中的对羟基苯乙酮与 2,4-二羟基苯乙酮这两种成分的含量进行定量计算(见表 5)。15 批不同产地白薇饮片制备的标准汤剂中,对羟基苯乙酮含量介于 2.72 ~ 10.94 mg/g 之间,2,4-二羟基苯乙酮的含量介于 0.30 ~ 1.75 mg/g 之间。结果显示,由山东省日照市白薇饮片(S1 ~ S3)制备的标准汤剂中对羟基苯乙酮的含量较高、2,4-二羟基苯乙酮的含量较低。另外,由辽宁省鞍山市白薇饮片(S7 ~ S9、S13 ~ S15)制备的标准汤剂中对羟基苯乙酮和 2,4-二羟基苯乙酮的含量均处于较高水平,后续可购买该产地的饮片进行进一步研究。

表 5 样品含量测定结果

编号 No.	含量 Content(mg/g)	
	对羟基苯乙酮 p-Hydroxyacetophenone	2,4-二羟基苯乙酮 2,4-Dihydroxyacetophenone
S1	10.94	0.40
S2	8.14	0.30
S3	7.10	0.57
S4	4.86	1.21
S5	5.17	1.13
S6	9.00	1.25
S7	2.72	1.23
S8	10.55	1.58
S9	10.76	1.75
S10	5.88	0.78
S11	9.54	1.27
S12	8.90	1.23
S13	7.53	1.43
S14	8.32	1.66
S15	8.08	1.05

3 讨论与结论

本实验对 UPLC 色谱条件中的流动相(甲醇-0.1%磷酸、甲醇-0.1%甲酸、甲醇-0.1%冰醋酸)、色谱柱(Waters BEH C18、Waters HSS T3、Agilent ZORBAX SB C18)、柱温(28、30、32℃)、流速(0.28、0.30、0.32mL/min)、检测波长(276、310、

330 nm)等进行了系统性的考察,最终筛选出了最佳的色谱条件。在供试品溶液制备方面,采用单因素分析方法,以色谱峰“总峰面积/称样量”及两个苯乙酮类成分的含量为指标,对样品提取过程中使用的溶剂、提取的方式、使用溶剂的量和提取时间等因素进行深入考察,最终确定的供试品溶液制备方法中提取溶剂为 10%乙醇,溶剂的量为 25 mL,超声提取的时间为 30 min。

白薇含有 C₂₁甾体皂苷、苯乙酮、生物碱等类成分。其中,C₂₁甾体苷类化合物结构相似,紫外吸收弱,HPLC 含量测定时分离度较差且干扰较多,被准确测定的难度较高^[11]。陈楚英从白薇活性部位分离出的 5 个生物碱均为非吡啶哌里西丁类生物碱,是目前所有已知种类,具有良好的抑菌活性,但其提取分离的方式较为复杂^[17]。而苯乙酮类化合物已被证实具有利胆、降低肺动脉高压及保护心肌等生物活性。对羟基苯乙酮是白薇的主要有效成分,有抗炎、抗肿瘤等药理作用;2,4-二羟基苯乙酮有抗菌、抗炎、改善心肌供血等药理作用^[18]。同时,以对羟基苯乙酮和 2,4-二羟基苯乙酮作为对照品进行含量测定时,其分离度好,干扰少,且对不同产地不同采集时期的白薇进行含量测定时发现其含量均较稳定^[19]。因此,本研究选用对羟基苯乙酮和 2,4-二羟基苯乙酮为不同产地白薇饮片制备的标准汤剂的含测指标,同时测定这两个成分,可更科学地实现对不同产地白薇饮片制备的标准汤剂的质量评价。结果表明,不同地域采集的白薇饮片,在由其制备的标准汤剂中,该类成分的含量呈现出一定程度的差异,由辽宁省鞍山市白薇饮片制备的标准汤剂中,对羟基苯乙酮和 2,4-二羟基苯乙酮的含量均处于较高水平,后续可购买该产地的饮片进行进一步研究。

综上所述,本研究构建的由白薇饮片制备的标准汤剂的 UPLC 特征图谱,不仅可以有效区分不同产地白薇饮片制备的标准汤剂,还可以鉴别白薇不同基原样品及其混伪品,同时,也建立了 2 个有效成分的含量测定方法,为白薇饮片制备的标准汤剂的质量控制提供了依据^[20,21]。

数据可用性声明: 本篇论文的关联数据可在 ScienceDB 数据库 (<https://doi.org/10.57760/sciencedb.nprd.00026>) 中访问获取。

参考文献

1 Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the

- People's Republic of China; Vol I(中华人民共和国药典; 第一部) [M]. Beijing: China Medical Science Press, 2025: 115-116.
- 2 Zhang YQ, Yang YQ, Yan CZ, et al. A review of the ethnopharmacology, phytochemistry and pharmacology of *Cynanchum atratum* [J]. J Ethnopharmacol (民族药理学杂志), 2022, 284: 114748.
 - 3 Bian BL, Wang HJ, Si N, et al. Study on chemical constituents of *Cynanchum atratum* [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2005, 36: 990-991.
 - 4 Zheng ZG, Zhang WD, Liu RH, et al. Study on chemical constituents of *Cynanchum versicolor* [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2006, 37: 987-989.
 - 5 Shu PH, Yu MZ, Li YM, et al. Research progress on chemical constituents and pharmacological effects of *Cynanchum atratum* [J]. J China Pharm (中国药房), 2021, 32: 253-256.
 - 6 Peng X. Study on extraction, identification and mechanism of action of antibacterial substances from *Cynanchum atratum* [D]. Nanchang: Jiangxi Agricultural University (江西农业大学), 2017.
 - 7 Kim YY, Lee S, Jang HJ, et al. *Cynanchum atratum* ameliorates airway inflammation via maintaining alveolar barrier and regulating mast cell-mediated inflammatory responses [J]. Am J Chin Med (美国中医杂志), 2019, 47: 1795-1814.
 - 8 Son SW, Kim HG, Han JM, et al. Anti-melanoma activity of *Cynanchi Atrati Radix* is mediated by regulation of NF kappa B activity and pro-apoptotic proteins [J]. J Ethnopharmacol (民族药理学杂志), 2014, 153: 250-257.
 - 9 Li XP, Li J, Cui LJ, et al. Physicochemical identification of *Cynanchum atratum* and its adulterants [J]. Chin J Ethnomed Ethnopharm (中国民族民间医药), 2024, 33: 38-42.
 - 10 Hong WW, Yang QS, Zhou JL. Identification of *Cynanchum atratum* and its adulterants [J]. J Anhui Univ Chin Med (安徽中医药大学学报), 2019, 38: 73-76.
 - 11 Wang YQ. Identification and quality evaluation of *Cynanchum atratum* [D]. Jinan: Shandong University of Traditional Chinese Medicine (山东中医药大学), 2022.
 - 12 Chen SL, Liu A, Li Q, et al. Research strategy for standard decoction of traditional Chinese medicine decoction pieces [J]. China J Chin Mater Med (中国中药杂志), 2016, 41: 1367-1375.
 - 13 Liu XY, Jiang WW, Su M, et al. Quality evaluation of traditional Chinese medicines based on fingerprinting [J]. J Sep Sci (分离科学杂志), 2020, 43: 6-17.
 - 14 Li R, Zhang ZQ, Gao Y. Identification study on different origins and adulterants of *Sinomenium acutum* based on fingerprint [J]. Guangxi J Tradit Chin Med (广西中医药), 2024, 47: 57-60.
 - 15 He YQ, Chen SJ, Zhou HQ, et al. Establishment of characteristic chromatogram, chemometric pattern recognition analysis of *Uncaria rhynchophylla* and its identification from different origins and adulterants [J]. J China Pharm (中国药房), 2024, 35: 566-571.
 - 16 Yin HL, Zhang R, Fan Q, et al. Quality evaluation of *Cleidio-carpon cavaleriei* based on HPLC characteristic chromatogram and multi-component content determination [J]. J Chin Med Mater (中药材), 2023, 46: 675-681.
 - 17 Chen CY, Peng X, Chen JY, et al. Antifungal activity of alkaloid components from *Cynanchum atratum* Bge. against post-harvest blue mold pathogen of citrus [J]. J Fruit Sci (果树学报), 2019, 36: 94-102.
 - 18 Gong J, Yao F, Li X, et al. Quality evaluation of *Cynanchum atratum* based on HPLC fingerprint, multi-component quantification combined with chemometric pattern recognition [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2025, 56: 5578-5585.
 - 19 Wang YS, Zhao XC, Bai H, et al. Determination of *p*-hydroxyacetophenone and 2, 4-dihydroxyacetophenone in *Cynanchum atratum* var. *erectum* by HPLC [J]. Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发), 2010, 22: 1073-1076.
 - 20 Liu W, Huang LY, Zhu JS, et al. Identification of *Vernonia patula* Merr. and its similar varieties based on a combination of HPLC fingerprinting and chemical pattern recognition [J]. Molecules, 2024, 29: 1517.
 - 21 Li ZY, Liang YY, Lu XY, et al. Establishment of UPLC fingerprint and quantitative analysis of multi-index components for standard decoction of *Vladimiria souliei* [J]. Mod Chin Med (中国现代中药), 2024, 26: 862-868.