基于 HPLC-DAD 指纹图谱和 UPLC-Q-Exactive MS 技术的化滞柔肝颗粒 Q-Marker 预测分析

孙 颖[1,2]，梁红宝[1,2]，朱祥霞[2]，赵 云[2]，张永清[1*]，张贵民[2*]

（1. 山东中医药大学药学院，山东济南 250355；2. 鲁南制药集团股份有限公司，经方与现代中药融合创新全国重点实验室，山东临沂 276006）

摘要：对化滞柔肝颗粒中的化学成分及其质谱裂解规律进行分析，探索该颗粒保肝作用的质量标志物（Q-Marker）。采用 HPLC-DAD 技术建立指纹图谱并进行相似度评价，建立了 UPLC-Q-Exactive MS 法鉴别成分，基于 Q-Marker“五原则”预测化滞柔肝颗粒的 Q-Marker。结果显示，建立的 HPLC-DAD 指纹图谱中有 23 个共有峰，指认出对羟基肉桂酸、柚皮苷、橙皮苷、绿原酸、大黄素、大黄酚 6 个成分，12 批次的相似度≥ 0.97。通过 UPLC-Q-Exactive MS 法共鉴别出 73 个化合物，其中黄酮类 4 个，黄酮苷类 15 个，有机酸类 14 个，蒽醌类 9 个，糖苷类 15 个，三萜皂苷类 6 个，萜类 4 个，香豆素类 3 个，苯乙醇类 2 个，内酯类 1 个。基于 Q-Marker 判定的“五原则”，预测对羟基肉桂酸、绿原酸、柚皮苷、橙皮苷、蒙花苷、橙黄决明素、柴胡皂苷 A、大黄素、大黄酚 9 个化合物可作为化滞柔肝颗粒的 Q-Marker，为化滞柔肝颗粒工业化生产中质量控制水平的提升提供了理论依据。

关键词：指纹图谱；化滞柔肝颗粒；非酒精性脂肪肝；UPLC-Q-Exactive MS；Q-Marker

中图分类号：R917；R975+.5；R284.1 **文献标志码：**A **文章编号：**1001-8255(2025)03-0365-13

引用：孙 颖, 梁红宝, 朱祥霞, 等. 基于 HPLC-DAD 指纹图谱和 UPLC-Q-Exactive MS 技术的化滞柔肝颗粒 Q-Marker 预测分析［J］. 中国医药工业杂志, 2025, 56(3): 0365-0377. DOI：10.16522/j.cnki.cjph.2025.03.011

Prediction and Analysis of Q-Marker of *Huazhi Rougan* Based on HPLC-DAD Fingerprint and UPLC-Q-Exactive MS

SUN Ying[1,2], LIANG Hongbao[1,2], ZHU Xiangxia[2], ZHAO Yun[2], ZHANG Yongqing[1*], ZHANG Guimin[2*]

(*1. College of Pharmacy, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355; 2. State Key Lab. of Integration and Innovation of Classic Formula and Modern Chinese Medicine, Lunan Pharmaceutical Group Co., Ltd., Linyi 276006*)

ABSTRACT: The chemical composition and fragmentation pattern in mass spectra of *Huazhi Rougan* granules was analyzed, and the quality marker (Q-Marker) for their hepatoprotective effect was explored. An HPLC-DAD method was adopted to establish a fingerprint and evaluate similarity. A UPLC-Q-Exactive MS method was adopted for component identification, and the Q-marker of *Huazhi Rougan* granules was predicted based on the “Five Principles” of Q-marker. The results showed that there were 23 common peaks in the established HPLC fingerprint, and 6 components were identified, namely *p*-hydroxycinnamic acid, naringin, hesperidin, chlorogenic acid, emodin, and chrysophanol. The similarity of 12 batches was no less than 0.97. A total of 73 compounds were identified by UPLC-Q-Exactive MS, including 4 flavonoids, 15 flavonoid glycosides, 14 organic acids, 9 anthraquinones, 15 glycosides, 6 triterpenoid saponins, 4 terpenoids, 3 coumarins, 2 phenylethanols, 1 lactone. Based on the “Five Principles” of Q-Markers, it was predicted that 9 compounds, namely *p*-hydroxycinnamic acid, chlorogenic acid, naringin, hesperidin, buddleoside, aurantio-obtusin, saikosaponin A, emodin and chrysophanol can be used as Q-Markers for *Huazhi Rougan* granules, which provides a theoretical basis for the quality improvement in the industrial production of *Huazhi Rougan* granules.

Key Words: fingerprint; *Huazhi Rougan* granules; non-alcoholic fatty liver disease; UPLC-Q-Exactive MS; Q-Marker

化滞柔肝颗粒是一种治疗非酒精性脂肪肝的中成药，来源于一位名老中医的经验方，以中医理论为指导，按照清热利湿[1]、祛浊解毒、祛瘀柔肝的原则，由茵陈、决明子（清炒）、大黄（酒炖）、泽泻、猪苓、山楂、苍术（麸炒）、白术（麸炒）、陈皮、瓜蒌、女贞子（酒蒸）、墨旱莲、枸杞子、小蓟、柴胡（醋炙）、甘草十六味中药组方而成。化滞柔肝颗粒具有清热利湿，化浊解毒，祛瘀柔肝等功效，临床上主要适用于湿热中阻性的单纯性脂肪肝，保肝作用较好。

中药质量关乎中药产业发展的核心，但由于中药复方成分复杂、靶点多、通路多的特点，中药质量控制成为其研究的难点。目前尚未见关于化滞柔肝颗粒化学成分及质量控制的研究报道。中药质量标志物（quality marker，Q-Marker）的研究和基于有效、特有、传递与溯源、可测和处方配伍“五原则”的复方中药质量标志物发现，为提高复方中药产品质量和质量控制水平提供了新的方法[2]。

为了完善复方中药化滞柔肝颗粒的质量标准，本研究建立了化滞柔肝颗粒的 HPLC-DAD 指纹图谱，并采用 UPLC-Q-Exactive MS 方法系统鉴定其化学成分，再基于鉴定到的化学成分，结合“五原则”预测和分析化滞柔肝颗粒的 Q-Marker，以期为提升化滞柔肝颗粒工业化生产中的质量控制水平提供参考。

1　仪器与试药

2998 型高效液相色谱仪（美国 Waters 公司）；UPLC-Q-Exactive MS 四极杆 - 静电场轨道阱高分辨质谱（美国 Thermo Fisher Scientific 公司）；ME204 型电子天平（瑞士 Mettler Toledo 公司）。

化滞柔肝颗粒（山东新时代药业有限公司，批号 0052210001 ～ 0052210012，记作 S1 ～ S12）；对羟基肉桂酸对照品（上海源叶生物科技有限公司，含量 98.0%，批号 N11J12M136784）；橙皮苷对照品（含量 95.3%，批号 110721-202220）、绿原酸对照品（含量 96.1%，批号 110753-202018）、柚皮苷对照品（含量 93.5%，批号 110722-202116）、大黄素对照品（含量 99.2%，批号 110756-201913）和大黄酚对照品（含量 99.6%，批号 110796-201922）均购自中国食品药品检定研究院。

2　方法与结果

2.1　指纹图谱的建立及相似度评价

2.1.1　溶液制备

混合对照品溶液：分别称取对羟基肉桂酸、柚皮苷、橙皮苷、绿原酸、大黄素和大黄酚的对照品适量，精密称定，加甲醇溶解，制成每 1 mL 含对羟基肉桂酸 56 μg、柚皮苷 150 μg、橙皮苷 60 μg、绿原酸 45 μg、大黄素 10 μg、大黄酚 20 μg 的混合对照品溶液。

供试品溶液：精密称取化滞柔肝颗粒 1.5 g，置具塞锥形瓶中，精密加入无水甲醇 25 mL，超声 60 min，取出放凉，经 0.22 μm 滤膜滤过，即得。

2.1.2　色谱条件

色谱柱 GL Intersil ODS-SP C_{18} 柱（4.6 mm×250 mm，5 μm）；*流动相* A 为甲醇，B 为 0.1%磷酸溶液，梯度洗脱（0—5 min，B 100%；5—95 min，B 100%—14%）；*流速* 1.0 mL/min；*柱温* 30 ℃；*检测时间* 95 min；*进样量* 10 μL。在 190 ～ 400 nm 对样品进行全波长扫描，以检出峰数最多的波长为检测波长。

2.1.3　精密度试验

取“**2.1.1**”项下制备的供试品溶液（S1 样品）适量，按“**2.1.2**”项下色谱条件连续进样 6 次，记录色谱图。可见，图谱中的共有峰有 23 个，将其中保留时间适中且相对稳定的 13 号色谱峰作为参照峰（S），计算各共有峰的相对保留时间和相对峰面积。结果显示，各共有峰相对保留时间的 RSD（n=6）为 0.01%～0.24%，相对峰面积的 RSD（n=6）为 0.21%～2.50%，表明本法精密度良好。

2.1.4　重复性试验

取“**2.1.1**”项下平行制备的 6 份供试品溶液（S1

收稿日期：2024-08-23
基金项目：山东省重大科技创新工程（2021CXGC010508）、山东省自然科学基金资助（ZR2021QH289）
作者简介：孙　颖（1982—），女，博士研究生，专业方向：中药质量控制。
通信作者：张永清（1962—），男，教授，从事中药质量控制研究。
E-mail：zyq622003@126.com
张贵民（1969—），男，研究员，从事新药的研究与开发。
E-mail：lunanzhangguimin@163.com

样品），按“**2.1.2**”项下色谱条件连续进样，记录色谱图。以 13 号色谱峰作为参照峰（S），计算 1 ～ 23 号共有峰的相对保留时间和相对峰面积。结果显示，各共有峰相对保留时间的 RSD（n=6）为 0.01％～ 0.38％，相对峰面积的 RSD（n=6）为 0.47％～ 2.74％，表明本法重复性良好。

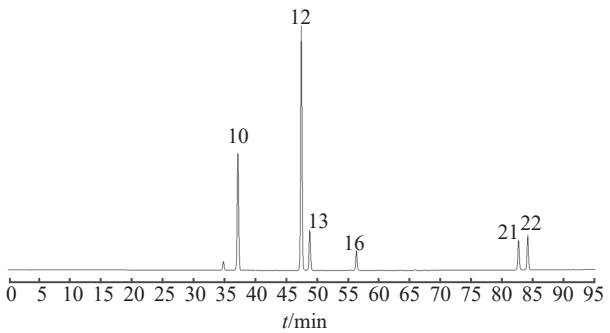
2.1.5 稳定性试验

取“**2.1.1**”项下制备的供试品溶液（S1 样品）适量，于室温放置 0、3、6、9、13、18、24 h 时取样，按“**2.1.2**”项下色谱条件连续进样 6 次，记录色谱图。以 13 号色谱峰为参照，计算各共有峰的相对保留时间和相对峰面积。结果显示，各共有峰相对保留时间的 RSD（n=6）为 0.01％～ 0.59％，相对峰面积的 RSD（n=6）为 1.16％～ 2.99％，表明供试品溶液在室温放置 24 h 内稳定性良好。

2.1.6 指纹图谱建立及相似度评价

取 12 批化滞柔肝颗粒，按“**2.1.1**”项下方法制备供试品溶液，再按“**2.1.2**”项下色谱条件测定，记录色谱图。将所得色谱图导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统（2012 版）”软件，采用中位数法，经多点校正后进行 MARK 峰匹配，建立化滞柔肝颗粒叠加指纹图谱。以 S1 样品作为参照图谱，生成对照指纹图谱。

结果如图 1 所示，共匹配出 23 个共有峰，对比样品色谱图（图 2）和紫外光谱图（图 3），指认出 10 号峰为对羟基肉桂酸、12 号峰为柚皮苷、13 号峰为橙皮苷、16 号峰为绿原酸、21 号峰为大黄素、22 号峰为大黄酚。以 13 号峰为参照峰，进行相似度评价，结果如表 1 所示，可见 12 批化滞柔肝颗粒



10—对羟基肉桂酸；12—柚皮苷；13—橙皮苷；16—绿原酸；21—大黄素；22—大黄酚。

图 2 混合对照品的 HPLC 图

Fig.2 HPLC Chromatogram of Mixed Reference Substance

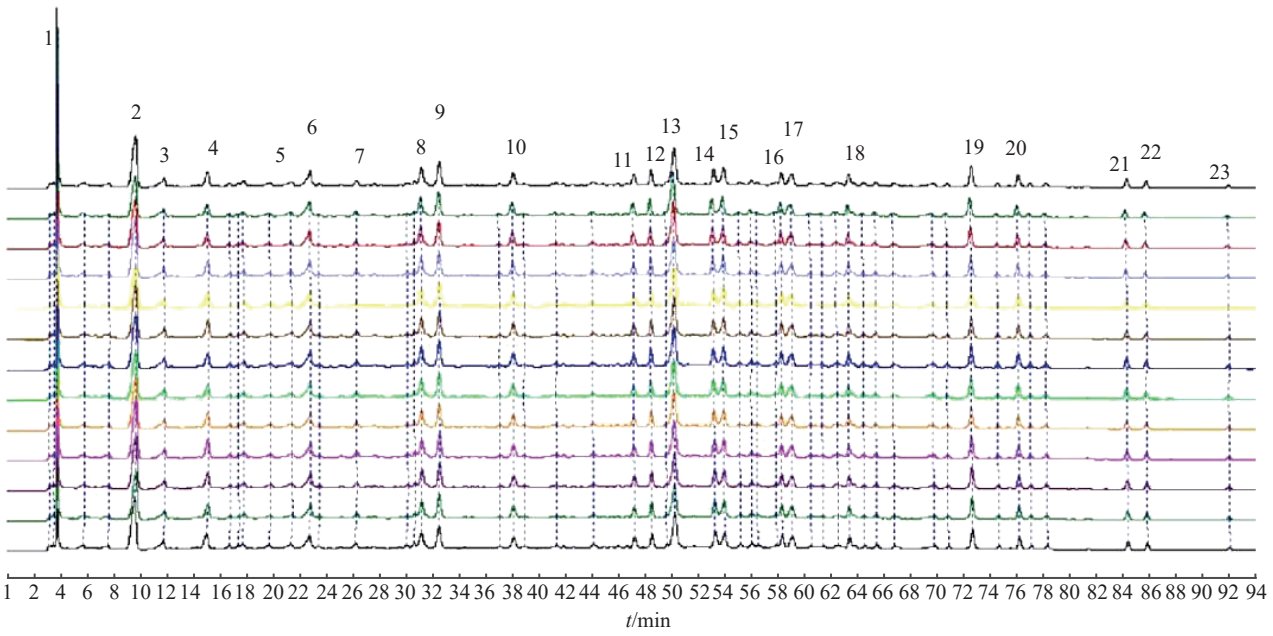
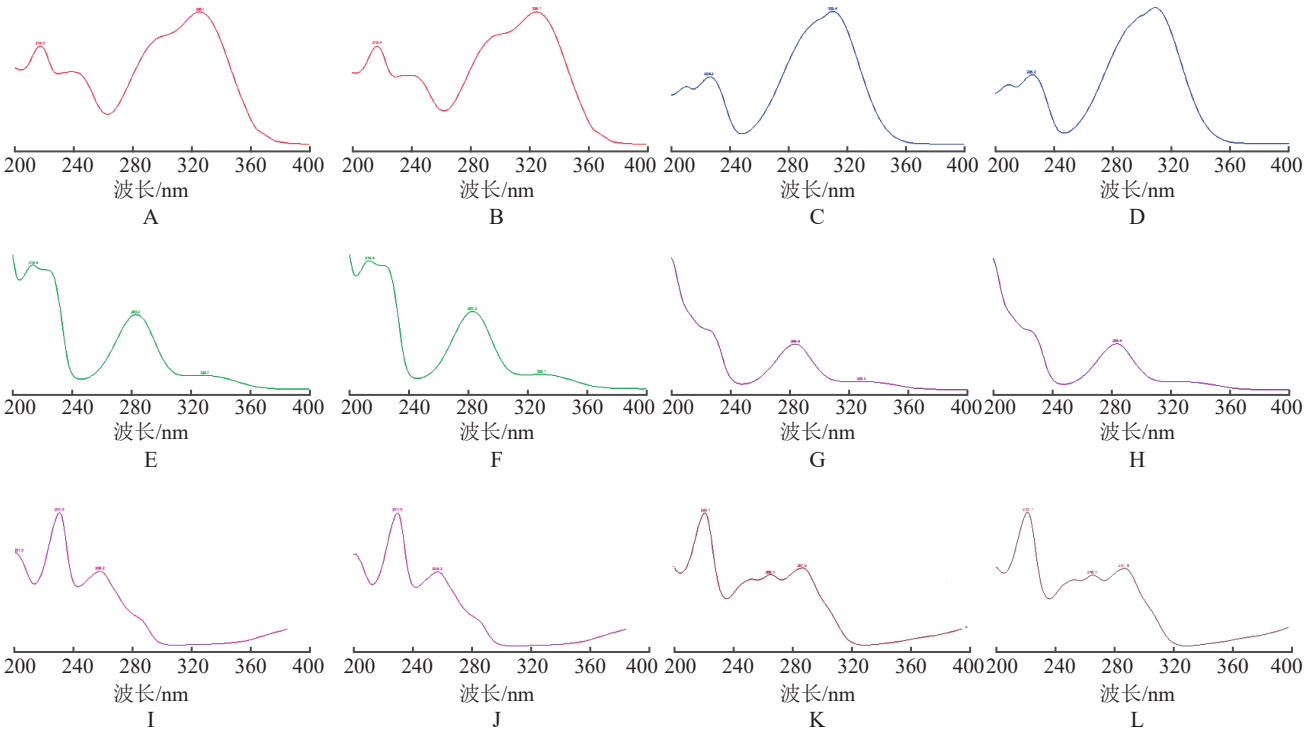


图 1 12 批化滞柔肝颗粒的 HPLC 叠加指纹图谱和对照指纹图谱（R）

Fig.1 HPLC Overlay Chromatograms of 12 Batches of *Huazhi Rougan* Granules and the Control Fingerprint（R）



A—混合对照品溶液中的对羟基肉桂酸；B—供试品溶液中的对羟基肉桂酸；C—混合对照品溶液中的柚皮苷；D—供试品溶液中的柚皮苷；E—混合对照品溶液中的橙皮苷；F—供试品溶液中的橙皮苷；G—混合对照品溶液中的绿原酸；H—供试品溶液中的绿原酸；I—混合对照品溶液中的大黄素；J—供试品溶液中的大黄素；K—混合对照品溶液中的大黄酚；L—供试品溶液中的大黄酚。

图 3　紫外光谱图

Fig.3　Ultraviolet Spectrograms

表 1　12 批化滞柔肝颗粒样品 HPLC 指纹图谱的相似度评价结果

Tab.1　HPLC Fingerprint Similarity Evaluation Results of 12 Batches of *Huazhi Rougan* Granules

编号	相似度											
	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12
S1	1.000	0.997	0.992	0.996	0.995	0.996	0.996	0.987	0.993	0.989	0.984	0.984
S2	0.997	1.000	0.997	0.996	0.994	0.996	0.998	0.983	0.997	0.988	0.979	0.980
S3	0.992	0.997	1.000	0.995	0.989	0.992	0.996	0.978	0.997	0.985	0.972	0.972
S4	0.996	0.996	0.995	1.000	0.992	0.995	0.996	0.982	0.998	0.986	0.980	0.974
S5	0.995	0.994	0.989	0.992	1.000	0.999	0.996	0.996	0.991	0.997	0.989	0.990
S6	0.996	0.996	0.992	0.995	0.999	1.000	0.998	0.993	0.994	0.995	0.986	0.987
S7	0.996	0.998	0.996	0.996	0.996	0.998	1.000	0.990	0.996	0.994	0.985	0.985
S8	0.987	0.983	0.978	0.982	0.996	0.993	0.990	1.000	0.980	0.997	0.992	0.992
S9	0.993	0.997	0.997	0.998	0.991	0.994	0.996	0.980	1.000	0.986	0.977	0.973
S10	0.989	0.988	0.985	0.986	0.997	0.995	0.994	0.997	0.986	1.000	0.991	0.992
S11	0.984	0.979	0.972	0.980	0.989	0.986	0.985	0.992	0.977	0.991	1.000	0.989
S12	0.984	0.980	0.972	0.974	0.990	0.987	0.985	0.992	0.973	0.992	0.989	1.000

指纹图谱相似度均不低于 0.97，表明不同批次化滞柔肝颗粒的化学成分相似、质量稳定，对其化学成分进行定性分析可行。

2.1.7　共有峰归属

根据化滞柔肝颗粒生产工艺中 16 味药材的处理工艺，对各味药材分别醇提和水提后，按“**2.1.2**”

项下的色谱条件检测分析，并对特征图谱中的共有峰进行了归属。其中，9 个共有峰来自茵陈，8 个共有峰来自决明子，10 个共有峰来自大黄，3 个共有峰来自泽泻，2 个共有峰来自山楂，5 个共有峰来自陈皮，6 个共有峰来自苍术，4 个共有峰来自白术，4 个共有峰来自小蓟，5 个共有峰来自女贞子，2 个共有峰来自瓜蒌。11 味药材和对照指纹图谱的 HPLC 图如图 4 所示。

2.2 化学成分的分析与鉴定

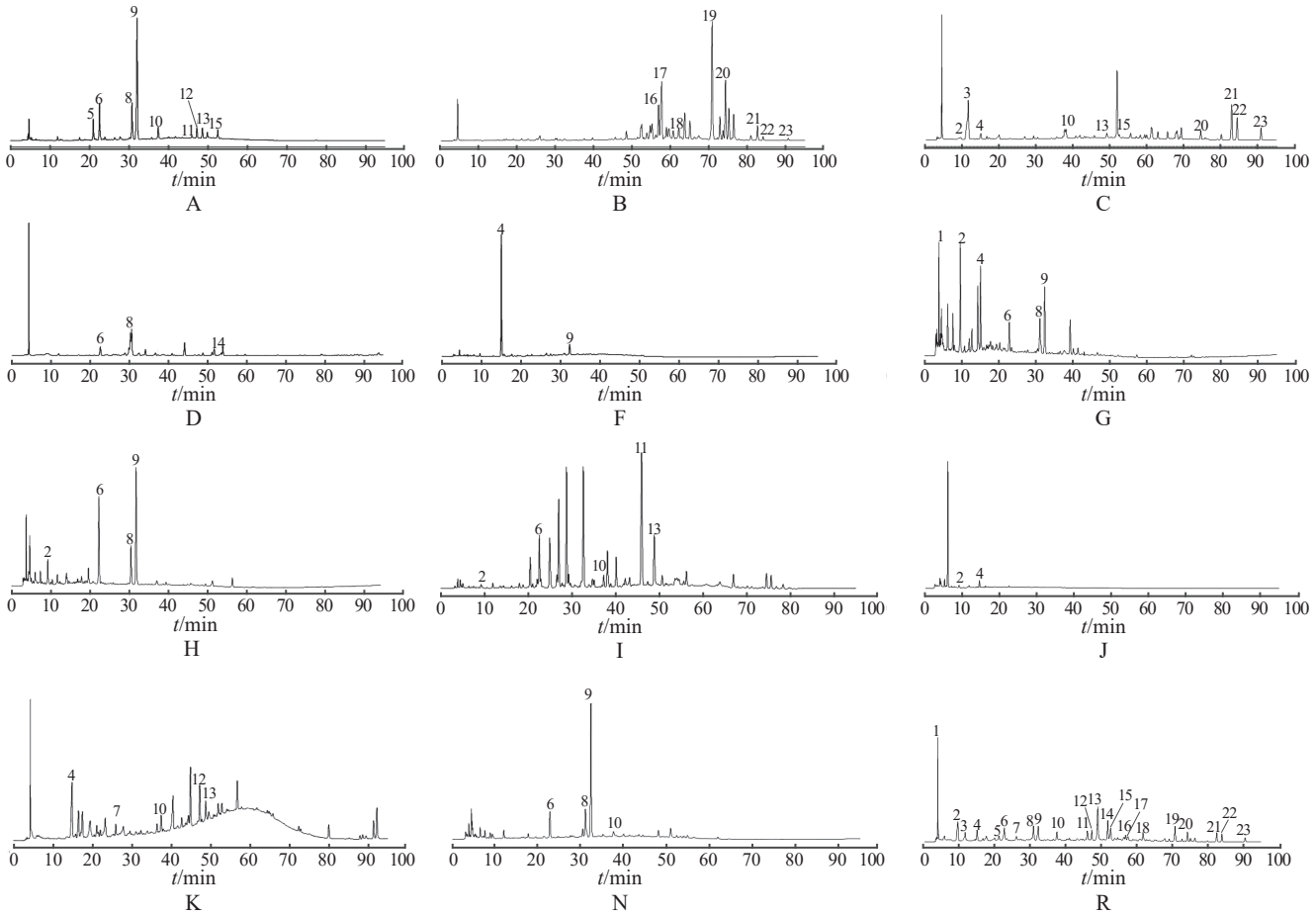
2.2.1 色谱质谱条件

色谱条件：色谱柱 ACQUITY UPLC HSS C_{18} 柱（2.1 mm×100 mm，1.8 μm）；流动相 A 为 0.1%甲酸溶液，B 为乙腈，梯度洗脱（0—10 min，B 5%—36%；10—23 min，B 36%—60%；23—27 min，B 60%—90 %；27—30 min，B 90 % —5 %；30—35 min，B 5%）；柱温 30 ℃；流速 0.2 mL/min；进样量 0.3 μL。

质谱条件：离子源 电喷雾离子源，正、负离子模式切换检测；鞘气 氮气，流速 10.5 L/min；辅助气 氮气，流速 3.0 L/min；毛细管温度 350 ℃；喷雾电压 3.5 kV。

2.2.2 化合物分析与鉴定

取“**2.1.1**”项下制备的供试品溶液（S1 样品）适量，按“**2.2.1**”项下色谱质谱条件测定，正、负离子模式总离子流图如图 5、6 所示。通过质谱所得的化合物精确相对分子质量推断分子式，结合文献、中药系统药理学数据库与分析平台（Traditional



A—茵陈；B—决明子；C—大黄；D—泽泻；F—山楂；G—苍术；H—白术；I—陈皮；J—瓜蒌；K—女贞子；N—小蓟；R—对照指纹图谱。

图 4 共有峰药材归属色谱图

Fig.4 Chromatograms of Common Peak Medicinal Materials Attribution

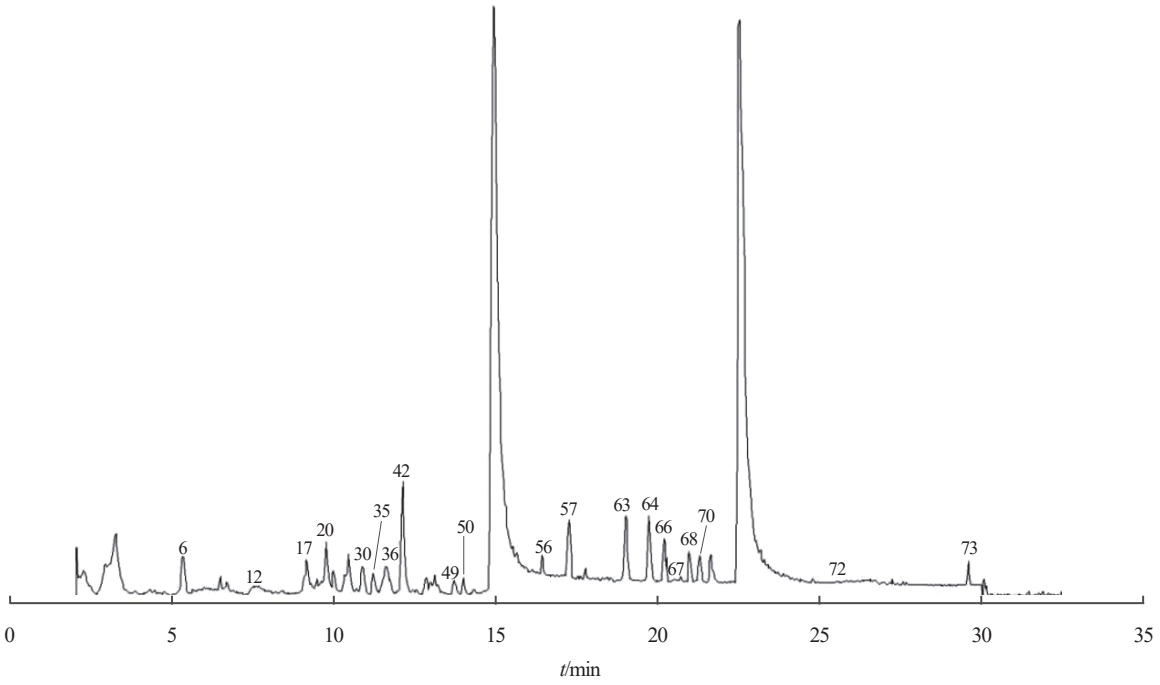


图 5　化滞柔肝颗粒正离子模式总离子流图

Fig.5　Total Ion Chromatogram of *Huazhi Rougan* Granules in Positive Ion Mode

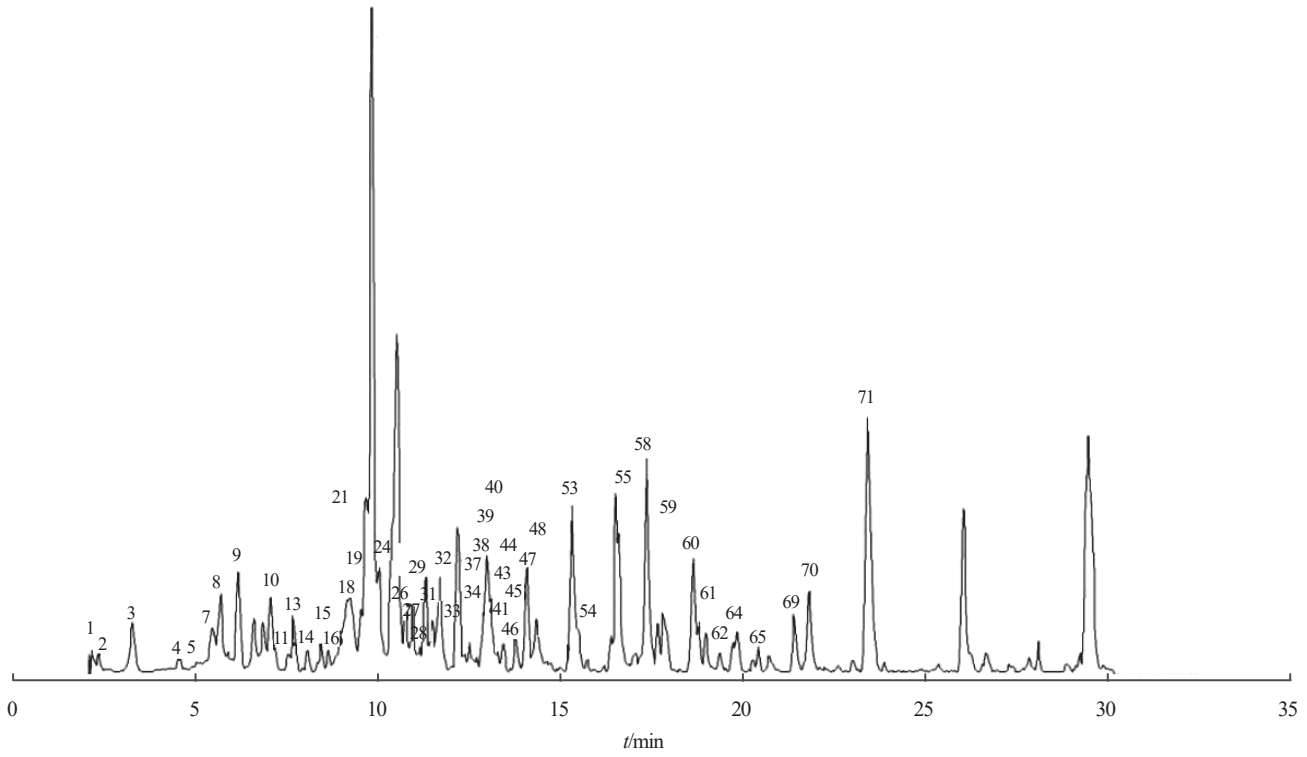


图 6　化滞柔肝颗粒负离子模式总离子流图

Fig.6　Total Ion Chromatogram of *Huazhi Rougan* Granules in Negative Ion Mode

Chinese Medicine Systems Pharmacology，TCMSP）数据库、对照品和特征性质谱裂解碎片、相对丰度等信息，分析化合物裂解规律，确认化学成分，并进行化合物归属。结果表明，从化滞柔肝颗粒中共鉴定出化学成分 73 个，包括黄酮类 4 个、黄酮苷类 15 个、有机酸类 14 个、蒽醌类 9 个、糖苷类 15 个、三萜皂苷类 6 个、萜类 4 个、香豆素类 3 个、苯乙醇类 2 个、内酯类 1 个，结果如表 2 所示。

2.2.3 化合物裂解规律分析

（1）黄酮及黄酮苷类

该类化合物在化滞柔肝颗粒中数量较多，主要来自陈皮，以化合物 25、化合物 50 为例阐述。负离子模式下，化合物 25 的准分子离子峰为 *m/z* 609.18[M－H]⁻，二级扫描裂解产生橙皮苷苷元碎片离子 *m/z* 301.07[M－H－Glc－Rha]⁻，进一步裂解丢失 CH_3 产生碎片离子 *m/z* 286.05[M－H－Glc－Rha－CH_3]⁻，推测该化合物可能为橙皮苷（$C_{28}H_{34}O_{15}$，610.189 8），可能的质谱裂解途径如图 7A 所示。负离子模式下，化合物 50 的准分子离子峰为 *m/z* 301.04[M－H]⁻，二级扫描裂解产生了 *m/z* 273.04[M－H－CO]⁻、*m/z* 229.05[M－H－CO－CO_2]⁻，由裂解碎片信息推测该化合物可能为槲皮素（$C_{15}H_{10}O_7$，302.042 7），裂解途径如图 7B 所示。

（2）有机酸类

该类化合物在化滞柔肝颗粒中主要来自决明子，以化合物 10 为例，负离子模式下其准分子离子峰为 *m/z* 353.09[M－H]⁻，二级扫描裂解产生了 *m/z* 191.06[M－H－$C_9H_7O_3$]⁻、*m/z* 179.03[M－H－$C_7H_{11}O_5$]⁻、*m/z* 135.04[M－H－$C_7H_{11}O_5$－CO_2]⁻，由裂解碎片信息推测可能为绿原酸（$C_{16}H_{18}O_9$，354.095 1），裂解途径如图 8 所示。

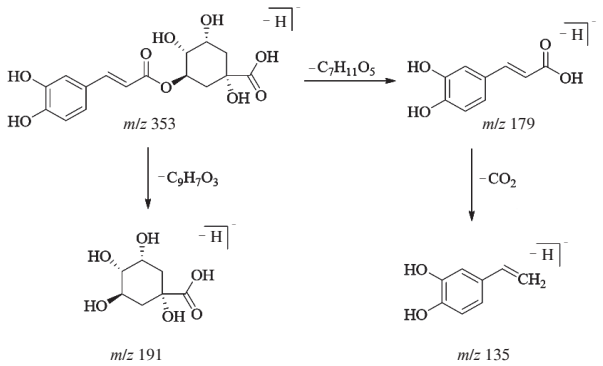
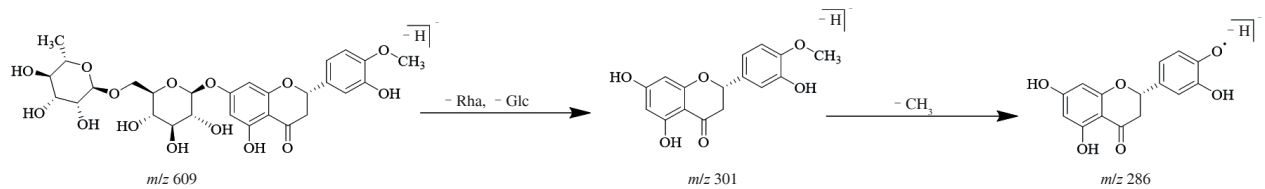
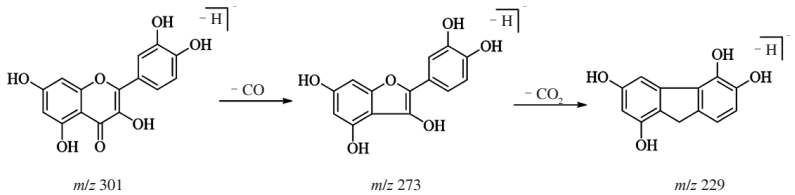


图 8 绿原酸（化合物 10）裂解途径

Fig.8 Fragment Pathways of Chlorogenic Acid (Compound 10)



A



B

A—橙皮苷；B—槲皮素。

图 7 橙皮苷（化合物 25）和槲皮素（化合物 50）的裂解途径

Fig.7 Fragment pathways of Hesperidin (Compound 25) and Quercetin (Compound 50)

表 2　化滞柔肝颗粒化学成分的 UPLC-Q-Exactive MS 鉴定

Tab.2　Identification of Chemical Components in Huazhirougan Granules by UPLC-Q-Exactive MS

序号	t_R/min	化合物	实测值	理论值	偏差 /×10^{-6}	分子式	化合物名称	碎片离子 (*m/z*)	所属药材[1)]	分类
1	2.15	M－H	133.013 3	133.014 3	7.5	$C_4H_6O_5$	苹果酸	133.01，115.00，89.02，71.01	g/n	有机酸
2	2.59	M－H	331.067 7	331.066 5	3.6	$C_{13}H_{16}O_{10}$	没食子酸葡萄糖苷	331.07，271.05，211.02，169.01，125.02	c	糖苷
3	3.22	M－H	169.013 5	169.013 7	1.2	$C_7H_6O_5$	没食子酸	169.01，125.02	c/f	有机酸
4	4.52	M－H	315.072 7	315.072 5	6.4	$C_{13}H_{16}O_9$	原儿茶酸 -3-*O*- 葡萄糖苷	315.07，154.02，153.02，152.01，109.03，108.02	a/m	糖苷
5	4.65	M－H	167.034 4	167.034 4	0.0	$C_8H_8O_4$	4- 羟基 -2- 甲氧基 - 苯甲酸	167.03，152.01，123.04，93.03，65.04，	j	有机酸
6	5.60	M+H	163.039 1	163.039 5	－2.5	$C_9H_6O_3$	7- 羟基香豆素	163.04，135.04	h	香豆素
7	5.62	M－H	353.088 0	353.087 8	0.6	$C_{16}H_{18}O_9$	新绿原酸	353.09，191.06，179.03，161.02，135.04，71.01	a/f/g/l/m/n	有机酸
8	5.79	M－H	493.229 7	493.228 7	2.0	$C_{22}H_{38}O_{12}$	(1*R*,4*S*,6*R*)-1,3,3-trimethyl-2-oxabicyclo[2.2.2]oct-6-yl-6-*O*-*β*-D-glucopyranosyl-*β*-D-glucopyranoside	493.23，447.22，338.20，285.17，267.16，249.15，209.05，179.06，161.04，143.03	g	糖苷
9	5.96	M－H	191.055 5	191.056 1	－3.1	$C_7H_{12}O_6$	奎宁酸	191.06，173.05，155.03，111.01，93.03，59.01	g/n	有机酸
10	7.05	M－H	353.088 3	353.087 8	1.4	$C_{16}H_{18}O_9$	绿原酸	191.06，179.03，173.04	a/b/n	有机酸
11	7.53	M－H	593.151 7	593.151 2	0.2	$C_{27}H_{30}O_{15}$	维采宁 -2	593.15，503.12，473.11，383.08，353.07	p/i	黄酮苷
12	7.56 7.56	M+H M－H	595.166 2 593.152 0	595.166 3 593.150 7	－0.2 2.2	$C_{27}H_{30}O_{15}$	忍冬苷	449.11，287.05 593.15、285.04	i	黄酮苷
13	7.66	M－H	353.088 1	353.087 8	0.9	$C_{16}H_{18}O_9$	隐绿原酸	353.09，191.06，179.03，173.04，135.04	a/f/g/m/n/	有机酸
14	7.93	M－H	785.252 7	785.251 0	0.5	$C_{35}H_{46}O_{20}$	松果菊苷	623.29，515.12，241.12，215.01	k	苯乙醇
15	8.04	M－H	515.120 5	515.119 0	2.9	$C_{25}H_{24}O_{12}$	异绿原酸 B	353.09，191.06，179.03，161.02，135.04	g/o	有机酸
16	8.59	M－H	341.124 6	341.123 6	2.9	$C_{16}H_{22}O_8$	松柏苷	341.12，180.07，179.07，161.07	k	苯乙醇
17	9.32	M+H	257.080 9	257.081 4	－1.9	$C_{15}H_{12}O_4$	大黄素蒽酮	137.02，257.08	c	蒽醌
18	9.40	M－H	623.199 1	623.198 1	1.6	$C_{29}H_{36}O_{15}$	毛蕊花糖苷	623.20，461.17，161.02	k	糖苷
19	9.44	M－H	417.119 6	417.119 1	1.2	$C_{21}H_{22}O_9$	甘草苷	417.12，255.07，153.02，135.01，119.05	p	黄酮苷
20	9.76	M+H	165.054 5	165.055 2	－4.2	$C_9H_8O_3$	对羟基肉桂酸	165.05，119.05	a/c/i/k/n	有机酸
21	9.88	M－H	579.172 2	579.171 9	0.5	$C_{27}H_{32}O_{14}$	芸香柚皮苷	579.17，515.12，378.98，215.01	i	黄酮苷
22	9.97	M－H	579.172 2	579.171 9	0.5	$C_{27}H_{32}O_{14}$	柚皮苷	579.17，313.07，295.06，151.00，119.05	b/c	黄酮苷
23	10.01	M－H	515.119 9	515.119 0	1.7	$C_{25}H_{24}O_{12}$	异绿原酸 A	434.20，353.09，161.02	g/o	有机酸
24	10.31	M－H	901.261 9	901.261 9	0.2	$C_{39}H_{50}O_{24}$	chrysophanol-1-*O*-*β*-D-glucopyranosyl-(1→3)-*O*-*β*-D-glucopyranosyl-(1→6)-*O*-*β*-D-glucopyranosyl-(1→6)-*O*-*β*-D-glucopyranoside	901.26，647.20，545.17，253.05	b	糖苷
25	10.32	M－H	609.183 0	609.182 5	0.8	$C_{28}H_{34}O_{15}$	橙皮苷	301.07，286.05，242.06	a/c/i/k	黄酮苷
26	10.45	M－H	609.182 9	609.182 5	0.7	$C_{28}H_{34}O_{15}$	新橙皮苷	301.07，286.05	i	黄酮苷
27	10.65	M－H	515.120 1	515.119 5	1.2	$C_{25}H_{24}O_{12}$	异绿原酸 C	353.09，191.06，179.03，173.04，135.04	g/o	有机酸
28	10.82	M－H	595.168 0	595.166 3	2.9	$C_{27}H_{32}O_{15}$	红镰霉素 -6-*O*-*β*-D- 龙胆二糖苷	595.17，561.16，271.06，256.04	b	糖苷
29	10.86	M－H	595.167 8	595.166 3	2.5	$C_{27}H_{32}O_{15}$	圣草次苷	595.17，287.06	i	黄酮苷
30	10.97 10.97	M－H M+H	595.167 8 597.181 6	595.166 8 597.182 0	1.7 －0.7	$C_{27}H_{32}O_{15}$ $C_{27}H_{32}O_{15}$	决明子苷 C	545.17，315.15，272.06，271.06，256.04 255.07，245.08，217.02	b	糖苷
31	11.10	M－H	477.104 4	477.103 8	1.3	$C_{22}H_{22}O_{12}$	1- 去甲基橙钝叶决明素 -2-*O*-*β*-D- 吡喃葡萄糖苷	477.10，462.08，315.05，271.02	b	糖苷

（续表 2）

序号	t_R/min	化合物	实测值	理论值	偏差 /×10^{-6}	分子式	化合物名称	碎片离子 (*m/z*)	所属药材[1)]	分类
32	11.12	M－H	477.104 6	477.102 5	4.4	$C_{22}H_{21}O_{12}$	异鼠李素 3-*O*- 半乳糖苷	477.10，300.03，271.02	a	糖苷
33	11.13	M－H	577.157 1	577.155 7	2.4	$C_{27}H_{30}O_{14}$	山柰酚 -3,7- 二 -*O*- 鼠李糖苷	577.16，269.05，253.05，145.03，101.02，89.02，	o	糖苷
34	11.17	M－H	447.093 9	447.092 7	2.7	$C_{21}H_{20}O_{11}$	异荭草苷	447.09，327.06	i	黄酮苷
35	11.24	M+H	493.134 5	493.134 6	－0.2	$C_{23}H_{24}O_{12}$	橙黄决明素 -6-*O*-*β*-D- 葡萄糖苷	493.13，298.03	b	糖苷
		M－H	491.120 1	491.119 5	1.1			476.10、461.11、329.07、313.03、298.13、285.04		
36	11.51	M+H	447.089 8	447.092 7	－6.5	$C_{21}H_{18}O_{11}$	黄芩苷	447.09，271.05	o	黄酮苷
	11.51	M－H	445.077 9	445.077 1	1.8	$C_{21}H_{18}O_{11}$		445.08、270.05、175.02、113.02、85.03		
37	11.61	M－H	515.119 6	515.118 4	2.3	$C_{25}H_{24}O_{12}$	3,5- 二咖啡酰奎尼酸	515.12，353.09，191.06，179.03，135.04	a	有机酸
38	11.62	M－H	1071.355 8	1 071.356 2	－0.4	$C_{48}H_{64}O_{27}$	oleonuezhenide	1071.36，839.26，453.14，421.15，223.06	k	糖苷
39	11.75	M－H	565.157 2	565.156 3	1.6	$C_{26}H_{30}O_{14}$	决明子苷 B	565.16，273.07，272.06，256.04，221.05	b	糖苷
40	11.76	M－H	463.089 3	463.088 2	2.4	$C_{21}H_{20}O_{12}$	金丝桃苷	463.09，302.04，301.04，271.05	f/o/n	黄酮苷
41	11.78	M－H	463.089 3	463.086 1	6.9	$C_{21}H_{19}O_{12}$	槲皮素 -7-*O*- 葡萄糖苷	463.09，341.07，301.04，285.04，211.02	a	黄酮苷
42	12.09	M+H	593.185 4	593.186 4	－1.7	$C_{28}H_{32}O_{14}$	蒙花苷	593.19，447.13，285.07	l/n	黄酮苷
43	12.35	M－H	607.168 0	607.166 3	2.8	$C_{28}H_{32}O_{15}$	大黄素甲醚 -8-*O*-*β*-D- 龙胆二糖苷	301.07，283.06，268.04，240.04	c	糖苷
44	12.49	M－H	593.188 5	593.186 4	3.5	$C_{28}H_{34}O_{14}$	枸橘苷	593.19，327.09，285.08	i	黄酮苷
45	12.91	M－H	431.098 5	431.098 4	0.2	$C_{21}H_{20}O_{10}$	大黄素 -8-*O*- 葡萄糖苷	282.05，271.05，268.04，240.04，225.06	c	糖苷
46	13.05	M－H	253.050 5	253.050 1	1.6	$C_{15}H_{10}O_4$	大黄酚	253.05，225.063	b/c	蒽醌
47	13.12	M－H	459.093 7	459.092 7	2.2	$C_{22}H_{20}O_{11}$	汉黄芩苷	283.06，268.04，175.02，113.02，85.03	g/o	黄酮苷
48	13.72	M－H	313.035 7	313.035 4	1.0	$C_{16}H_{10}O_7$	蜕皮菊内酯	313.04，300.03，269.05	l	香豆素
49	13.77	M+H	177.054 5	177.055 2	－3.9	$C_{10}H_8O_3$	羟甲香豆素	159.08，149.05，134.03	g	香豆素
50	13.86	M+H	303.049 9	303.050 4	－1.6	$C_{15}H_{10}O_7$	槲皮素	303.50，257.04	f/k/l/n/p/o	黄酮
	13.86	M－H	301.035 8	301.034 8	3.3	$C_{15}H_{10}O_7$		301.04，273.04，229.05		
51	14.61	M－H	269.045 8	269.045 0	3.0	$C_{15}H_{10}O_5$	芦荟大黄素	270.05，269.05，241.05，225.05，201.05，177.02	c	蒽醌
52	14.68	M－H	875.411 3	875.410 4	1.0	$C_{42}H_{68}O_{17}S$	旱莲苷Ⅵ	875.41，715.36，713.36，241.00	l	三萜皂苷
53	15.22	M－H	329.232 1	329.233 3	－3.6	$C_{18}H_{34}O_5$	三棱酸	329.23，230.15，211.13，193.12，139.11，127.11	g	有机酸
54	15.36	M－H	837.391 3	837.391 4	0.1	$C_{42}H_{62}O_{17}$	甘草皂苷 G2	837.39，351.06，193.03，113.02	p	三萜皂苷
55	16.54	M－H	821.396 1	821.396 5	－0.5	$C_{42}H_{62}O_{16}$	甘草酸	821.40，351.06，193.03，113.02	p	三萜皂苷
56	16.42	M+H	505.352 0	505.353 7	－3.4	$C_{30}H_{48}O_6$	泽泻醇 M	505.35，487.34，415.28，397.27	d	三萜
57	17.32	M+H	331.080 7	331.081 8	－3.3	$C_{17}H_{14}O_7$	橙黄决明素	331.08，316.06，299.05，253.05	b	蒽醌
	17.32	M－H	329.066 8	329.066 7	0.3	$C_{17}H_{14}O_7$		329.07，314.04，313.04，285.04，271.02，243.03		
58	17.57	M－H	825.463 8	825.463 7	0.1	$C_{42}H_{68}O_{13}$	柴胡皂苷 A	779.46，617.41，471.35	o	三萜皂苷
59	17.74	M－H	315.050 2	315.050 5	－0.9	$C_{16}H_{12O}7$	2',4',5',5,7- 五羟基黄酮 -5'- 甲醚	315.05，285.04，269.05	j	黄酮
60	18.53	M－H	283.024 8	283.022 5	8.1	$C_{15}H_8O_6$	大黄酸	283.06，277.04，241.05，240.04，183.04	b/c	蒽醌
61	18.63	M－H	633.400 9	633.400 8	0.2	$C_{36}H_{58}O_9$	旱莲苷 D	633.40，587.40，396.19，161.04	l	三萜皂苷
62	18.77	M－H	825.464 1	825.463 7	0.5	$C_{42}H_{68}O_{13}$	柴胡皂苷 B2	779.46，617.41	o	三萜皂苷
63	18.99	M+H	403.138 1	403.138 7	－1.5	$C_{21}H_{22}O_8$	川陈皮素	403.14，388.11，374.09，327.09	i	黄酮
64	19.73	M+H	359.111 9	359.113 1	－3.3	$C_{19}H_{18}O_7$	黄决明素	327.08，326.08	b	蒽醌
	19.73	M－H	357.098 3	357.098 0	0.8	$C_{19}H_{18}O_7$		357.14，342.11，219.07，175.08，160.05		
65	20.18	M－H	367.119 0	367.103 5	0.8	$C_{17}H_{20}O_9$	3-*O*- 阿魏酰奎宁酸	367.12，309.04，297.04，284.03，203.0	m	有机酸

（续表 2）

序号	t_R/min	化合物	实测值	理论值	偏差 /×10^{-6}	分子式	化合物名称	碎片离子 (*m/z*)	所属药材 [1)]	分类
66	20.58	M+H	487.341 6	487.342 4	－1.6	$C_{30}H_{46}O_5$	泽泻醇 C	469.33，451.32，397.27，353.25	d	三萜
	20.58		487.341 6	487.342 4	－1.6	$C_{30}H_{46}O_5$		469.33，451.32，397.27，353.25	d	三萜
67	20.79	M+H	231.137 8	231.138 5	－3.0	$C_{15}H_{18}O_2$	白术内酯 I	231.14，185.13，157.10，105.07	h	内酯
68	20.97	M+H	373.127 8	373.128 2	－1.1	$C_{20}H_{20}O_7$	橘皮素	373.13，358.10，343.08	i	黄酮
69	21.24	M－H	343.082 4	343.081 8	1.7	$C_{18}H_{16}O_7$	决明素	343.08，329.06，328.06，313.04，298.01，285.04	b	蒽醌
70	21.74	M+H	285.075 7	285.076 3	－2.1	$C_{16}H_{12}O_5$	美决明子素	285.08，270.05	b	蒽醌
	21.74	M－H	283.061 3	283.060 7	2.1	$C_{16}H_{12}O_5$		284.06，283.06，268.04，241.05，240.04，239.03		
71	23.31	M－H	269.045 5	269.045 0	1.9	$C_{15}H_{10}O_5$	大黄素	269.05，240.05，225.06	b/c	蒽醌
72	25.89	M+H	473.362 3	473.363 1	－1.7	$C_{30}H_{48}O_4$	泽泻醇 G	473.36，455.35，383.29，365.28	d	三萜
73	29.58	M+H	469.331 2	469.331 3	－0.2	$C_{30}H_{44}O_4$	泽泻醇 L	469.33，451.32，433.31，353.25	d	三萜

注：[1)] 字母 a ～ p 分别表示茵陈、决明子、大黄、泽泻、猪苓、山楂、苍术、白术、陈皮、瓜蒌、女贞子、墨旱莲、枸杞子、小蓟、柴胡、甘草。

（3）蒽醌类

该类化合物在化滞柔肝颗粒中主要来自决明子和大黄，以化合物 71 为例，负离子模式下其准分子离子峰为 *m/z* 269.05[M－H]⁻，二级扫描裂解产生了 *m/z* 241.05[M－H－CO]⁻、*m/z* 225.05[M－H－CO_2]⁻，由裂解碎片信息推测该化合物可能为大黄素（$C_{15}H_{10}O_5$，270.052 8），裂解途径如图 9 所示[3]。

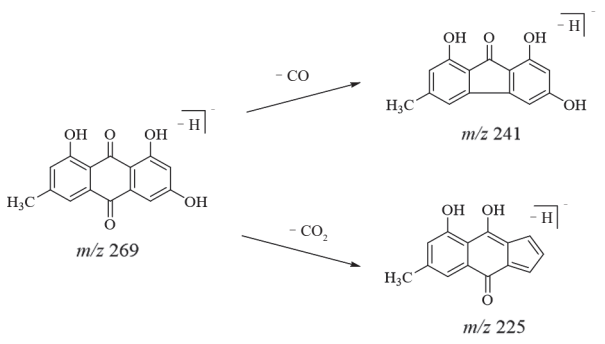


图 9 大黄素（化合物 71）裂解途径

Fig.9 Fragment Pathways of Emodin (Compound 71)

以化合物 35 为例，负离子模式下准分子离子峰为 *m/z* 491.12[M－H]⁻，二级扫描裂解产生了 *m/z* 461.11[M－H－OCH3]⁻、*m/z* 476.10[M－H－CH_3]⁻、*m/z* 329.07[M－H－Glc]⁻、*m/z* 313.07[M－H－Glc－OH]⁻、*m/z* 298.13[M－H－Glc－OH－CH_3]⁻、*m/z* 285.08[M－H－Glc－OH－CO]⁻，由裂解碎片信息推测该化合物可能为橙黄决明素-6-*O*-*β*-D-葡萄糖苷（$C_{23}H_{24}O_{12}$，492.126 8），裂解途径如图 10 所示[4]。

3 Q-Marker 预测

Q-Marker 对中药质量控制具有重要的指导作用。本研究基于 UPLC-Q-Exactive MS 技术分析到的成分，结合传递与溯源、特有性、有效性、可测性和复方配伍的 Q-Marker“五原则”，预测化滞柔肝颗粒的 Q-Marker，为进一步提升该药物的质量控制水平提供参考。

3.1 基于质量传递与溯源的 Q-Marker 预测分析

化滞柔肝颗粒中共鉴定出 73 个化合物，包括黄酮类 4 个、黄酮苷类 15 个、有机酸类 14 个、蒽醌类 9 个、糖苷类 15 个、三萜皂苷类 6 个、萜类 4 个、香豆素类 3 个、苯乙醇类 2 个、内酯类 1 个，所有化合物都找到了具体归属，其中茵陈、决明子共鉴定出 23 个成分，大黄、泽泻和山楂共鉴定出 20 个成分，苍术、白术和陈皮共鉴定出 24 个成分，女贞子、墨旱莲、枸杞子共鉴定出 15 个成分，瓜蒌、小蓟和柴胡共鉴定出 19 个成分，甘草鉴定出 5 个成分。

3.2 基于复方配伍的 Q-Marker 预测分析

化滞柔肝颗粒组方以茵陈和决明子为君药，大黄、泽泻、猪苓、山楂共为臣药[5]，方中苍术、白术、

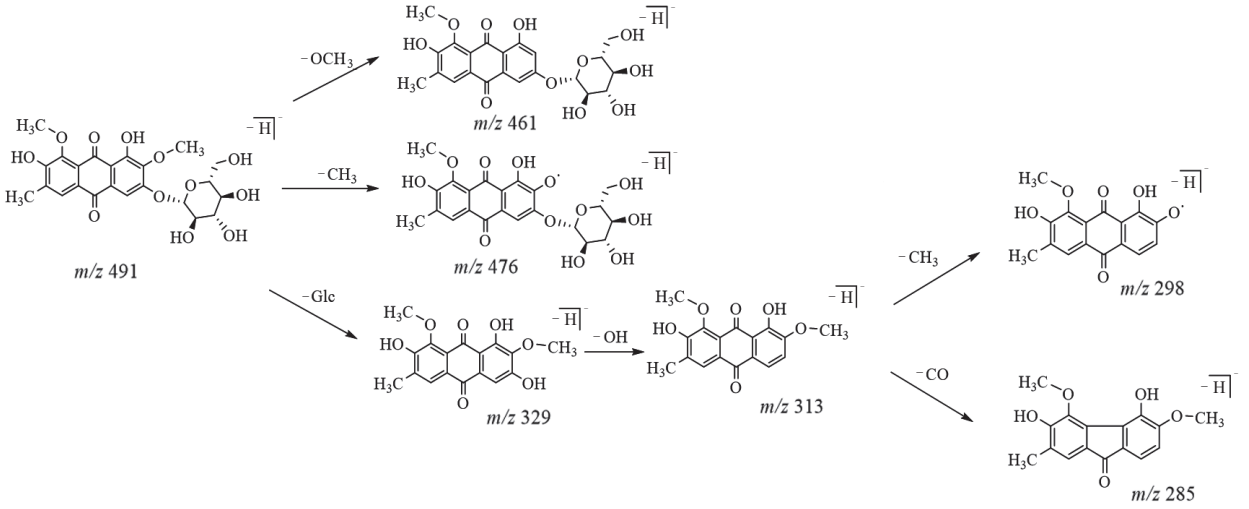


图 10 橙黄决明素-6-*O*-*β*-D-葡萄糖苷（化合物 35）裂解途径

Fig.10 Fragment Pathways of Aurantio-obtusin-6-*O*-*β*-D-glucoside (Compound 35)

陈皮具有理气调中、燥湿健脾、养胃功效，可使君药、臣药更好地发挥清热利湿、泄浊解毒的功效，为佐药；女贞子、墨旱莲、枸杞子可补肾滋阴、养肝明目，亦为佐药[6]。醋柴胡可条达肝气，瓜蒌疏肝郁、平肝逆[7]，小蓟凉血止血、散瘀解毒消痈，甘草可调和诸药、缓急和中[8]。全方配伍严谨，使化滞柔肝颗粒治疗脂肪肝清热利湿而不伤阴，活血化瘀而不伤血。

3.3 基于成分特有性的 Q-Marker 预测分析

君药茵陈中主要存在黄酮类、有机酸类化合物等特有成分[9]，决明子中的主要特征性成分有橙黄决明素、决明素及决明子苷等[10]。臣药，大黄中的化学成分以大黄素型蒽醌居多，泽泻多以三萜类化合物为其特征性成分，猪苓中以氨基酸为其特征性成分，山楂中的化学成分以类酮类及其衍生物为主。陈皮中的主要特征性成分为橙皮苷。女贞子、墨旱莲和小蓟主要含有三萜类、黄酮类等特征性成分。

3.4 基于成分与有效性关联的 Q-Marker 预测分析

茵陈中的对羟基肉桂酸具有抗氧化、调节细胞糖脂的作用。茵陈、决明子和小蓟中的绿原酸可通过调节线粒体能量，预防脂多糖诱导的慢性肝损伤，并可预防甲氨蝶呤诱导的肝毒性。决明子、大黄中的大黄素、大黄酚、橙黄决明素等蒽醌类化合物具有泻下、润肠、通便的作用，还可改善肝功能、防止肝细胞坏死和促进肝细胞再生。陈皮、山楂、甘草和女贞子中黄酮类化合物橙皮苷、柚皮苷等具有抑菌、抗炎、抗氧化、促消化、降低血液黏度、抑制血小板聚集等作用。墨旱莲和小蓟中的蒙花苷可抗炎、抗氧化，对肝、肾等有保护作用。柴胡中柴胡皂苷 A 可通过肝脏代谢和肝细胞微粒体乙醇氧化代谢等途径，改善酒精饮食诱导下小鼠酒精性脂肪肝。

3.5 基于成分可测性的 Q-Marker 预测分析

化学成分可测性对于研究药效至关重要，Q-Marker 应可检测。根据 ChP 2020 年版规定的多个药材含量测定的指标成分的指导原则，本研究建立了 12 批化滞柔肝颗粒的指纹图谱，表明成分可测，并对对羟基肉桂酸、柚皮苷、橙皮苷、绿原酸、大黄素、大黄酚等 6 个主要成分进行了定性分析，专属性高、可测性好。杨洋等[11]采用 HPLC 一测多评法测定菊明降压丸中的橙黄决明素、蒙花苷等 7 种成分。毕映燕等[12]采用 HPLC 法同时测定舒肝利胆丸中橙皮苷、柴胡皂苷 A 等 5 种成分的含量。

综上所述，在传递与溯源、特有性、有效性、可测性和复方配伍的 Q-Marker“五原则”基础上，确定对羟基肉桂酸、绿原酸、柚皮苷、橙皮苷、蒙花苷、橙黄决明素、柴胡皂苷 A、大黄素、大黄酚 9 个化合物可作为化滞柔肝颗粒的 Q-Marker。

4 讨论

4.1 样品处理

本研究在样品处理方面，结合化滞柔肝颗粒生产工艺中用到的提取方法，筛选以水、30％甲醇、50％甲醇、70％甲醇、90％甲醇、无水甲醇作溶剂溶解供试品的效果；溶解方法则筛选了超声 30 和 60 min 的效果。最终发现供试品最佳处理方法为加无水甲醇 25 mL，超声 60 min。

4.2 指纹图谱色谱条件优化

化滞柔肝颗粒中化学成分复杂，主要含有机酸类、蒽醌类、黄酮类等成分。本研究在 190 ～ 400 nm 进行全波长扫描，结果显示在 290 nm 下色谱峰数量较多，并且分离效果较好，因此选择 290 nm 作为检测波长。同时，对流动相、柱温、洗脱程序等进行优化，结果显示，以甲醇和 0.1％磷酸溶液组成流动相体系，梯度洗脱，柱温为 30 ℃时，色谱峰峰形和分离较好。

4.3 指纹图谱共有峰来源药味的指认

本研究按“**2.1.2**”项下色谱条件对化滞柔肝颗粒中 16 味药材进行了检测，通过与对照品对比，观察到样品及药材中对羟基肉桂酸、柚皮苷、橙皮苷、绿原酸、大黄素和大黄酚的紫外图谱和保留时间与对照品基本一致。对检测到的 23 个共有峰进行了归属，共归属到 11 味药材。臣药猪苓中主要含有极性大的小分子化合物如氨基酸、维生素等，这类成分不易被常规色谱柱分离，因此本研究中没有鉴定出来。佐药墨旱莲和枸杞子、使药柴胡、调和药甘草，这 4 味药材出峰较少，可能是由于检测波长选择、药材本身含量比较少等原因，导致未检出。

本研究建立的12批化滞柔肝颗粒HPLC-DAD指纹图谱，相似度≥0.97，说明化滞柔肝颗粒质量稳定，化学成分的定性分析可行。指认的6种化学成分均来自组方配伍中的君药和臣药，由此说明Q-Marker预测分析可行。

参考文献：

[1] 于 洋, 钱丽旗, 侯 鹏, 等. 化滞柔肝颗粒治疗非酒精性脂肪性肝病疗效观察 [J]. 现代中西医结合杂志, 2014, **23**(21): 2302-2304.

[2] 张铁军, 白 钢, 陈常青, 等. 基于“五原则”的复方中药质量标志物 (Q-marker) 研究路径 [J]. 中草药, 2018, **49**(1): 1-13.

[3] 马小红, 沈少林, 韩凤梅, 等. 大黄蒽醌类化合物电喷雾质谱研究 [J]. 湖北大学学报 (自然科学版), 2006, (4): 403-406.

[4] 骆 宜. 决明子化学成分分离制备及对照提取物研究 [D]. 北京: 北京中医药大学硕士学位论文, 2022.

[5] 刘珊珊, 郭 杰, 李宗艾, 等. 泽泻化学成分及药理作用研究进展 [J]. 中国中药杂志, 2020, **45**(7): 1578-1595.

[6] 李 艳, 王 省, 张 瑞. 瓜蒌薤白白酒汤的研究进展及其质量标志物的预测分析 [J]. 中药新药与临床药理, 2023, **34**(5): 707-712.

[7] 钟询龙, 王若伦, 段 炼, 等. 基于UPLC/Q-TOF-MS技术分析女贞子与墨旱莲配伍协同增效的物质基础 [J]. 中国医院药学杂志, 2017, **37**(19): 1887-1891.

[8] 肖垚垚, 朱 菁, 刘心雨, 等. 芍药甘草汤化学成分、药理作用、临床应用的研究进展及其质量标志物 (Q-Marker) 的预测分析 [J]. 中草药, 2022, **53**(24): 7960-7969.

[9] 黄丽平, 许远航, 邓敏贞, 等. 茵陈的化学成分、药理作用机制与临床应用研究进展 [J]. 天然产物研究与开发, 2021, **33**(4): 676-690.

[10] 董玉洁, 蒋沅岐, 刘 毅, 等. 决明子的化学成分、药理作用及质量标志物预测分析 [J]. 中草药, 2021, **52**(9): 2719-2732.

[11] 杨 洋, 韦 杏. HPLC一测多评法测定菊明降压丸中的7种成分 [J]. 华西药学杂志, 2021, **36**(4): 439-443.

[12] 毕映燕, 李季文, 徐志伟, 等. HPLC法同时测定舒肝利胆丸中5种成分的含量 [J]. 中成药, 2024, **46**(2): 549-551.

(上接第359页)

Langmuir, 2012, **28**(28): 10551-10557.

[11] SEEM T C, ROWSON N A, INGRAM A, *et al*. Twin screw granulation — a literature review [J]. *Powder Technol*, 2015, **276**: 89-102.

[12] ZIDAN A, KOTAMARTHY L, RAMACHANDRAN R, *et al*. Optimization of screw design for continuous wet granulation: a case study of metoprolol succinate ER tablets [J]. *Int J Pharm*, 2022, **623**: 121964.

[13] LIU Y, THOMPSON M R, O'DONNELL K P, *et al*. Effect of temperature on the wetting behavior of hydroxypropyl methylcel- lulose in a twin-screw granulator [J]. *Powder Technol*, 2016, **302**: 63-74.

[14] ISMAIL H Y, SINGH M, DARWISH S, *et al*. Developing ANN-Kriging hybrid model based on process parameters for prediction of mean residence time distribution in twin-screw wet granulation [J]. *Powder Technol*, 2019, **343**: 568-577.

[15] KOTAMARTHY L, RAMACHANDRAN R. Mechanistic understanding of the effects of process and design parameters on the mixing dynamics in continuous twin-screw granulation [J]. *Powder Technol*, 2021, **390**: 73-85.

[16] HE W, Li Y J, ZHANG R, *et al*. Gastro-floating bilayer tablets for the sustained release of metformin and immediate release of pioglitazone: preparation and *in vitro*/*in vivo* evaluation [J]. *Int J Pharm*, 2014, **476**(1/2): 223-231.