

经典名方半夏泻心汤水煎液的 HPLC 指纹图谱及黄芩、黄连量值传递研究

洪婷婷, 张钰明, 杨琳洁, 毕嘉谣, 林 涛, 李鹏跃, 杜守颖*, 白 洁*

北京中医药大学中药学院, 北京 102488

摘要: 目的 建立半夏泻心汤水煎液的 HPLC 指纹图谱, 研究处方中黄芩、黄连药材-饮片-全方水煎液的量值传递关系。方法 以《伤寒论》中记载的煎煮方法制备半夏泻心汤水煎液, 建立半夏泻心汤 HPLC 指纹图谱, 对特征峰进行归属; 以转移率、出膏率、指纹图谱的相似度为指标, 对处方中黄芩、黄连药材-饮片-全方水煎液的量值传递关系进行分析。结果 黄芩中指标性成分黄芩苷从药材到饮片的转移率为 81.08%~119.82%; 饮片到全方水煎液的黄芩苷的转移率为 44.55%~59.05%, 黄连中指标性成分小檗碱从药材到饮片的转移率为 66.65%~97.51%; 饮片到全方水煎液的小檗碱的转移率为 7.83%~22.93%; 全方的出膏率为 12.99%~17.21%; 15 批全方指纹图谱的相似度为 0.978~0.999。结论 该指纹图谱所建立的质量评价方法适用于黄芩、黄连药材-饮片-全方水煎液质量控制, 可为经典名方等质量评价办法的制定提出一定的参考。

关键词: 经典名方; 半夏泻心汤; 水煎液; 黄芩; 黄连; 指纹图谱; 量值传递

中图分类号: R286.02 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2020)20-5166-11

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2020.20.008

HPLC fingerprint of famous classical formula Banxia Xiexin Decoction and quality value transmitting of *Scutellariae Radix* and *Coptidis Rhizoma*

HONG Ting-ting, ZHANG Yu-ming, YANG Lin-jie, BI Jia-yao, LIN Tao, LI Peng-yue, DU Shou-ying, BAI Jie
School of Chinese Materia Medica, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 102488, China

Abstract: Objective HPLC fingerprints of Banxia Xiexin Decoction (BXD) was established to analyze the quality value transmitting relationship between medical herbs-decoction pieces-whole decoction of *Scutellariae Radix* (SR) and *Coptidis Rhizoma* (CR). **Methods** BXD was prepared by the decoction method recorded in Treatise on Febrile Diseases. BXD HPLC fingerprints was established, and the characteristic peaks were analyzed; The transfer rate, the dry extract rate and the similarity of fingerprint were used as indicators to analyze the quality value transmitting relationship between medical herbs-decoction pieces-whole decoction of SR and CR. **Results** The transfer rate of baicalin from medical herbs to decoction pieces was between 81.08% and 119.82%; The transfer rate of baicalin from decoction pieces to BXD was between 44.55% and 59.05%; The transfer rate of berberine from medical herbs to decoction pieces was between 66.65% and 97.51%; The transfer rate of berberine from decoction pieces to BXD was between 7.83% and 22.93%; And the dry extract rate of the whole decoction was between 12.99% and 17.21%. The similarity of fingerprints of 15 batches of BXD ranged from 0.978 to 0.999. **Conclusion** The quality evaluation method established by the fingerprint is applicable to the quality control of medical herbs-decoction pieces-whole decoction of SR and CR, which provides some reference for the establishment of the quality evaluation method of famous classic formula.

Key words: famous classical formula; Banxia Xiexin Decoction; decoction; *Scutellariae Radix*; *Coptidis Rhizoma*; fingerprints; quality value transmitting

半夏泻心汤 (Banxia Xiexin Decoction, BXD) 出自东汉张仲景的《伤寒论》^[1]卷第四辨太阳病脉证并治下第七: “半夏半升 (洗), 黄芩、干姜、人参、甘草 (炙) 各三两, 黄连一两, 大枣十二枚 (擘)。上七味, 以水一斗, 煮取六升, 去滓, 再煎取三升, 温服一升, 日三服”。该方中黄芩、黄连苦降泄热;

收稿日期: 2020-05-21

基金项目: 中央高校基本科研业务费专项资金资助 (2020-JYB-ZDGG-031)

作者简介: 洪婷婷, 硕士研究生。E-mail: 1685653748@qq.com

*通信作者 杜守颖, 博士, 教授, 主要从事中药新剂型新技术研究。Tel: (010)84738615 E-mail: dushouying@263.net

白 洁, 博士, 副教授, 主要从事中药新剂型新技术研究。Tel: (010)84738657 E-mail: baijie22811@163.com

干姜、半夏辛开散痞；人参、甘草、大枣甘补脾胃；三者配伍有平调寒热、散结消痞之功，是治疗寒热互结、脾胃虚弱、升降失调所致的心烦、脘腹痞满、肠鸣下利、呕吐的代表方^[2]。

经典名方物质基准的制备开发，关键在于现代生产工艺与传统工艺保持“基本一致”，即投料用饮片质量一致，生产工艺条件一致。因此，需要对药材、饮片、中间体及物质基准进行质量控制，建立药材-饮片-中间体-物质基准的量值传递关系，反映经典名方物质基准的质量属性^[3]。而目前关于 BXD 的报道多集中于临床药效研究、HPLC 图谱构建及化学成分分析，尚未见水煎液量值传递研究的相关报道。在对 BXD 中化学成分的研究中发现^[4]，对全方化学贡献最大的 3 味药依次为黄芩、甘草、黄连。黄芩、黄连为臣药，苦降泄热，甘草为佐药，补益脾胃。对黄连、黄芩进行质量研究，对控制全方的质量具有重要意义。君药半夏含有多种化学成分，但目前尚无研究明确半夏中毒性成分与有效成分，因此，在本研究中未选择半夏进行质量研究。

本研究建立了 BXD 水煎液指纹图谱，以黄芩、黄连药材为例，研究药材-饮片-全方的量值传递关系，从而为经典名方 BXD 物质基准的制备开发以及质量标准的建立提供参考。

1 仪器与试药

1.1 仪器

JM-B100002 电子天平，余姚市纪铭称重校验设备有限公司；赛多利斯 BSA224S 电子分析天平，赛多利斯科学仪器（北京）有限公司；华美冠药煲，江西省华美冠瓷业有限公司；HH6-型电热恒温水浴锅，北京科伟永兴仪器有限公司；H22-X3 型九阳电陶炉，杭州九阳生活电器有限公司；屹立 QE-200 高速万能离心机；DZF-6051 型真空干燥器，北京利康达圣科技有限公司；QE-100 高速粉碎机，浙江屹立工贸有限公司；BY-400C-1 医用离心机；SHB-III 型循环水式多用真空泵，郑州长城科工贸有限公司；KQ5200DA 型数控超声波清洗器，昆山市超声仪器有限公司；Thermo Fisher U3000 高效液相色谱仪，DAD 检测器，CM7.2 色谱工作站。

1.2 试药

1.2.1 药材与饮片 清半夏饮片（批号 1-19030211，产地山西新绛县）、干姜饮片（批号 1-19022827，产地山东省郯城县）、人参饮片（批号 1-19012304，产地吉林长白县）、炒甘草饮片（批号 2-19031609，

产地甘肃定西市）、大枣（批号 19072201，产地河北阜平县），以上饮片均由河北万岁药业有限公司提供，经北京中医药大学赵婷讲师依次鉴定为天南星科半夏属植物半夏 *Pinellia ternata* Breit. 的干燥块茎、姜科姜属植物姜 *Zingiber officinale* Rosc. 的干燥根茎、五加科人参属植物人参 *Panax ginseng* C. A. Mey. 的干燥根、豆科甘草属植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. 的干燥根和根茎、鼠李科植物枣 *Ziziphus jujuba* Mill. 的干燥成熟果实。黄芩药材及饮片均由河北万岁药业有限公司提供，经北京中医药大学赵婷讲师鉴定均为唇形科黄芩属植物黄芩 *Scutellaria baicalensis* Georgi. 的干燥根，见表 1；黄连药材及饮片经北京中医药大学赵婷讲师鉴定均为毛茛科黄连属植物黄连 *Coptis chinensis* Franch. 的干燥根茎，见表 2，除四川省绵阳县 3 个批次的黄连购自于亿帆医药股份有限公司，其余黄连药材、饮片均购于河北万岁药业有限公司。

1.2.2 对照品 对照品黄芩苷（批号 110715-201821，质量分数 95.4%）、盐酸小檗碱（批号 110713-201814，质量分数 86.7%）、盐酸巴马汀（批号 110732-201611，质量分数 86.80%）、盐酸黄连碱（批号 112026-201802，质量分数 94.0%）、盐酸药根碱（批号 110733-201609，质量分数 89.5%）、黄芩素（批号 111595-201808，质量分数 97.9%）、汉

表 1 黄芩药材及饮片来源

Table 1 Sources of *Scutellariae Radix* (SR) medicinal herbs and decoction pieces

序号	产地	药材批号	饮片批号
1	山西省陵川县	19030401	1-19030401
2		19030402	1-19030402
3		19030403	1-19030403
4		19030404	1-19030404
5		19030405	1-19030405
6	山西省闻喜县	19031301	1-19031301
7		19031302	1-19031302
8		19031303	1-19031303
9		19031304	1-19031304
10		19031305	1-19031305
11	陕西省商洛市商州区	19030206	1-19030206
12		19030207	1-19030207
13		19030208	1-19030208
14		19030209	1-19030209
15		19030210	1-19030210

表2 黄连药材及饮片来源

Table 2 Sources of *Coptidis Rhizoma* (CR) medicinal herbs and decoction pieces

序号	产地	药材批号	饮片批号
1	湖北省利川县	19031601	1-19031601
2		19031602	1-19031602
3		19031603	1-19031603
4		19031604	1-19031604
5		19031605	1-19031605
6		19012314	1-19012314
7	湖北省房县	19031906	1-19031906
8		19031907	1-19031907
9		19031908	1-19031908
10	重庆市石柱县	19031909	1-19031909
11		19012312	1-19012312
12		19012313	1-19012313
13		HL201801-1	1-HL201801-1
14		HL201801-2	1-HL201801-2
15		HL201801-4	1-HL201801-4

黄芩素(批号 111514-201706)、6-姜辣素(批号 111833-201705, 质量分数 96.8%)、人参皂苷 Rb₃(批号 111686- 201504, 质量分数 97.0%)、人参皂苷 Rg₃(批号 110804-201504, 质量分数 99.5%)、人参皂苷 Rb₂(批号 111715-201203, 质量分数 93.8%)、人参皂苷 Re(批号 110754-201827, 质量分数 93.4%)、人参皂苷 Rf(批号 111719-201806)、人参皂苷 Rb₁(批号 110704-201827, 质量分数 91.2%)、人参皂苷 Rg₁(批号 110703-201832, 质量分数 92.4%)、甘草苷(批号 111610-201607, 质量分数 93.1%)、甘草酸铵(批号 110731-201720, 质量分数 97.7%), 以上对照品均购自于中国食品药品检定研究院。

乙腈、甲醇、磷酸和三乙胺均为色谱纯, Fisher 公司; 无水甲醇和无水乙醇均为分析级, 北京化工厂; 纯净水, 杭州娃哈哈集团有限公司。

2 方法

2.1 BXD HPLC 指纹图谱的建立

2.1.1 BXD 全方供试品溶液的制备 按《伤寒论》中记载的处方量^[1], 以东汉时期 1 升为 200 mL, 1 两为 13.8 g 进行换算^[5], 特殊非衡量单位如半夏半升、大枣十二枚参考林轶群^[6]对非衡量单位药物质量实测文献中的实测质量均值与《方剂学》教材^[7-10]中全方各味药比例, 最终将 BXD 处方量定为清半

夏 55.2 g, 黄芩 41.4 g, 干姜 41.4 g, 人参 41.4 g, 炒甘草 41.4 g, 黄连 13.8 g, 大枣 36.0 g。

按表 3 中黄芩、黄连药材批次配对, 分别称取上述处方量的 BXD 各饮片于陶瓷锅中, 加水 2 000 mL, 武火煮沸后文火煎至药液为 1 200 mL, 趁热用 1 层 300 目的尼龙布滤过, 滤液维持在微沸状态继续煎至 600 mL, 即得 BXD 水煎液。取上述所得的 BXD 水煎液 5 mL 于离心管中, 10 000 r/min 离心 10 min, 取上清液, 过 0.45 μm 微孔滤膜, 即得 BXD 全方供试品溶液。

表3 15批黄芩、黄连与BXD全方的对应关系

Table 3 Corresponding relationship between 15 batches of SR, CR, and Banxia Xiexin Decoction (BXD)

全方编号	黄芩药材批号	黄连药材批号
S1	19030404	19031602
S2	19031303	19012313
S3	19030208	HL201801-1
S4	19030210	19012312
S5	19030405	19031908
S6	19030403	19031601
S7	19031304	19031909
S8	19030206	19012314
S9	19031305	19031603
S10	19031302	HL201801-4
S11	19031301	19031907
S12	19030207	19031604
S13	19030209	19031605
S14	19030401	19031906
S15	19030402	HL201801-2

2.1.2 单味药和阴性对照供试品溶液的制备 按照处方量, 分别称取单味药药量, 按照“2.1.1”项全方供试品溶液的制备方法进行处理, 即得单味药供试品溶液; 按照处方量称取除某味饮片的其他 6 味饮片, 同法制得缺清半夏、黄芩、干姜、人参、黄连、炒甘草、大枣的 7 个阴性对照供试品溶液。

2.1.3 对照品溶液的制备 分别称取适量的对照品黄芩苷、盐酸小檗碱、盐酸巴马汀、盐酸黄连碱、盐酸药根碱、黄芩素、汉黄芩素、6-姜辣素、人参皂苷 Rb₃、人参皂苷 Rg₃、人参皂苷 Rd₂、人参皂苷 Re、人参皂苷 Rf、人参皂苷 Rb₁、人参皂苷 Rg₁、甘草苷、甘草酸铵于 10 mL 量瓶中, 加入甲醇, 进行对照品溶液的制备。

2.1.4 BXD 水煎液指纹图谱色谱条件 色谱柱为 Thermo Hypersil Glod C₁₈ 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为甲醇-0.05%三乙胺水溶液 (磷酸调 pH 值 2.2), 梯度洗脱: 0~8 min, 3%甲醇; 8~15 min, 3%~10%甲醇; 15~28 min, 10%~23%甲醇; 28~53 min, 23%甲醇; 53~73 min, 23%~29%甲醇; 73~80 min, 29%~38%甲醇; 80~85 min, 38%甲醇; 85~107 min, 38%~53%甲醇; 107~120 min, 53%~71%甲醇; 120~130 min, 71%甲醇; 检测波长 270 nm; 体积流量 1 mL/min; 进样量 5 μL; 柱温 30 ℃。

2.1.5 精密度试验 按照“2.1.1”项下方法制备供试品溶液 1 份, 按照“2.1.4”项下的色谱条件, 连续进样 6 次进行测定, 按照“2.1.5”项下的指纹图谱相似度评价方法, 计算相似度; 小檗碱峰在全方中保留时间居中、相对峰面积适宜, 故以小檗碱峰为参照, 分别计算特征峰的相对保留时间 RSD 值及相对峰面积 RSD 值。

2.1.6 重复性试验 分别取 6 份同批次的 BXD 水煎液 5 mL, 按照“2.1.1”项下方法制备全方供试品溶液, 按照“2.1.4”项下的色谱条件进行测定, 按照“2.1.5”项下的指纹图谱相似度评价方法, 计算相似度; 以小檗碱峰为参照, 分别计算特征峰的相对保留时间 RSD 值及相对峰面积 RSD 值。

2.1.7 稳定性试验 按照“2.1.1”项下方法制备供试品溶液 1 份, 按照“2.1.4”项下的色谱条件, 分别在制备样品后的 0、3、6、9、12、24 h 进样测定, 按照“2.1.5”项下的指纹图谱相似度评价方法, 计算相似度; 以小檗碱峰为参照, 以分别计算特征峰的相对保留时间 RSD 值及相对峰面积 RSD 值。

2.1.8 BXD 水煎液指纹图谱的建立 分别制备全方、各单味药、各阴性对照水煎液和对照品供试品溶液, 按照“2.1.4”项下的色谱条件测定, 对指纹图谱的特征峰进行归属。

2.1.9 BXD 指纹图谱相似度评价方法 将色谱数据以 cdf. 的格式导入 2012 年版《中药色谱指纹图谱相似度评价系统》进行评价, 在导入色谱图前剔除黄芩苷峰积分, 以中位数法, 时间窗宽度为 0.1 s 的模式进行全谱峰匹配, 计算指纹图谱的相似度。

2.2 BXD 中黄芩苷、小檗碱含量测定方法的建立

2.2.1 全方供试品溶液的制备 按照“2.1.1”项下方法制备 15 批 BXD 水煎液。

2.2.2 对照品溶液的制备 精密称定黄芩苷、盐酸

小檗碱适量, 加甲醇溶解制成质量浓度黄芩苷为 1.49 mg/mL、小檗碱为 59.82 μg/mL 的混合对照品溶液。

2.2.3 黄芩、黄连单味药水煎液的制备 按照处方量, 分别称取 15 批黄芩药材、15 批黄芩饮片、15 批黄连药材、15 批黄连饮片单味药药量, 按照“2.1.1”项下进行处理, 分别制得黄芩药材、黄芩饮片、黄连药材、黄连饮片各 15 批水煎液。

2.2.4 色谱条件 按照“2.1.4”项下的色谱条件进行测定, 设定检测波长为 345 nm, 对小檗碱、黄芩苷进行测定。

2.2.5 线性关系考察 取“2.2.2”项下的对照品溶液, 按照“2.2.4”项下的色谱条件分别测定不同进样量下小檗碱、黄芩苷的色谱峰面积, 以对照品溶液质量浓度为横坐标 (X), 峰面积为纵坐标 (Y), 分别对小檗碱、黄芩苷进行线性回归。

2.2.6 精密度试验 取供试品溶液 1 份, 按照“2.2.4”项下的色谱条件连续进样 6 次, 每次 5 μL, 分别计算小檗碱、黄芩苷的峰面积 RSD 值。

2.2.7 稳定性试验 取供试品溶液 1 份, 按照“2.2.4”项下的色谱条件分别在制备后 0、3、6、9、12、24 h 进样测定, 每次 5 μL, 分别计算小檗碱、黄芩苷的峰面积 RSD 值。

2.2.8 重复性试验 分别取 6 份同批次的 BXD 水煎液 5 mL, 按照“2.1.1”项下方法制备全方供试品溶液, 按照“2.2.4”项下的色谱条件进行测定, 分别计算小檗碱、黄芩苷峰面积 RSD 值。

2.2.9 回收率试验 按照“2.2.1”项下方法制备已知小檗碱、黄芩苷含量的同一批 BXD 水煎液 6 份, 分别精密移取 2.5 mL 于 10 mL 离心管, 依次加入相同浓度的盐酸小檗碱、黄芩苷混合水溶液 2.5 mL, 混合均匀, 10 000 r/min 离心 10 min, 取上清液, 过 0.45 μm 微孔滤膜, 即得供试品溶液, 按照“2.2.4”项下的色谱条件分别进样, 分别计算小檗碱、黄芩苷的回收率及 RSD。

2.2.10 小檗碱、黄芩苷含量测定 按《中国药典》2015 年版一部黄连项下的含量测定方法^[11]分别测定黄连药材、饮片中小檗碱、巴马汀、表小檗碱、黄连碱的含量; 按黄芩项下的含量测定^[11]方法分别测定黄芩药材、饮片中黄芩苷的含量。

按照“2.2.1”项下方法制备 15 批 BXD 全方供试品溶液, 按照“2.2.4”项下的色谱条件进样测定, 计算 15 批全方中小檗碱、黄芩苷的含量。

2.3 黄芩量值传递研究方法

2.3.1 黄芩苷的转移率 根据“2.2.10”项下黄芩药材、饮片以及 BXD 全方中黄芩苷的含量测定结果,分别计算黄芩药材-饮片以及饮片-全方中黄芩苷的转移率。

药材-饮片中黄芩苷转移率=饮片中黄芩苷的含量/药材中黄芩苷的含量

饮片-全方中黄芩苷转移率=全方中黄芩苷的质量/饮片-全方中黄芩苷的质量

2.3.2 出膏率 分别取 15 批黄芩药材水煎液、15 批黄芩饮片水煎液及 15 批全方供试品溶液 300 mL,加热浓缩到 50 mL,置于蒸发皿上水浴蒸干,在真空干燥箱中 60 ℃烘至干燥,称定干膏质量,计算出膏率。

出膏率=2 E/F

E 为 300 mL 药液所得的干膏质量, F 为生药质量

2.3.3 指纹图谱及相似度测定 分别取 15 批黄芩药材水煎液、15 批黄芩饮片水煎液及 15 批全方供试品溶液,按照“2.2.4”项下的色谱条件进样测定,按照“2.1.5”项下的指纹图谱相似度评价方法,计算相似度。

2.4 黄连量值传递研究方法

2.4.1 小檗碱的转移率 根据“2.2.10”项下黄连药材、饮片以及 BXD 全方中小檗碱的含量测定结果,分别计算黄连药材-饮片以及饮片-全方中小檗碱的转移率。

药材-饮片中小檗碱转移率=饮片中小檗碱的含量/药材中小檗碱的含量

饮片-全方中小檗碱转移率=全方中小檗碱的质量/饮片-全方中小檗碱的质量

2.4.2 出膏率 分别取 15 批黄连药材水煎液、15 批黄连饮片水煎液及 15 批全方供试品溶液各 300 mL 加热浓缩到 50 mL,置于蒸发皿上水浴蒸干,在真空干燥箱中 60 ℃烘至干燥,称定干膏质量,计算出膏率。计算方法同“2.3.2”项。

2.4.3 指纹图谱及相似度测定 分别取 15 批黄连药材水煎液、15 批黄连饮片水煎液及 15 批全方供试品溶液,按照“2.2.4”项下的色谱条件进样测定,按照“2.1.9”项下的指纹图谱相似度评价方法计算相似度。

3 结果

3.1 BXD 水煎液指纹图谱

3.1.1 BXD 水煎液指纹图谱方法学考察 精密度

试验中,指纹图谱的相似度在 0.9 以上,26 个特征峰的相对保留时间 RSD 均小于 1.0%,相对峰面积 RSD 均小于 3.0%,表明仪器精密度良好;重复性试验中,指纹图谱的相似度在 0.9 以上,26 个特征峰的相对保留时间 RSD 均小于 1.2%,相对峰面积 RSD 均小于 3.2%,表明方法重复性良好;稳定性试验中,指纹图谱的相似度在 0.9 以上,26 个特征峰的相对保留时间 RSD 均小于 0.8%,相对峰面积 RSD 均小于 2.5%,表明样品在 24 h 内稳定性良好。

3.1.2 BXD 水煎液指纹图谱色谱峰归属 按照“2.1.4”项下指纹图谱的方法,根据全方、各单味药、各阴性对照水煎液、对照品供试品溶液的指纹图谱信息的对比,对 BXD 的特征峰进行归属,归属信息见图 1。BXD 指纹图谱一共归属 26 个特征峰,其中峰 5、6、11~13、14 (黄芩苷)、15~19、20 (汉黄芩苷)、21、22、23 (黄芩素)、24、25 归属于黄芩;峰 1~4、7 (黄连碱)、8、9 (小檗碱)、10 (巴马汀) 归属于黄连;峰 26 (甘草酸) 归属于甘草;峰 a 为大枣与炒甘草共有峰;峰 b 为干姜与黄芩共有峰;半夏、人参在此未能归属特征峰。

3.2 黄芩苷、小檗碱含量测定

3.2.1 黄芩苷含量测定的方法学考察 黄芩苷的线性方程为 $Y=61.907 X-0.168 2$, $r=0.999 4$,表明黄芩苷在 0.745~5.960 mg/mL 线性关系良好;黄芩苷精密度峰面积 RSD 为 0.63%,表明仪器精密度良好;黄芩苷在 0、3、6、9、12、24 h 进样的峰面积 RSD 为 0.31%,表明样品在 24 h 内稳定性良好;黄芩苷重复性峰面积 RSD 为 0.64%,表明该方法重复性良好;回收率试验结果表明黄芩苷回收率在 95.42%~100.81%,平均回收率为 98.84%,RSD 为 2.00%,表明该方法准确度良好。

3.2.2 小檗碱含量测定的方法学考察 小檗碱的线性方程为 $Y=330.97 X-0.335 5$, $r=0.999 1$,表明小檗碱在 0.029 9~0.239 3 mg/mL 线性关系良好;小檗碱精密度峰面积 RSD 为 0.06%,表明仪器精密度良好;小檗碱在 0、3、6、9、12、24 h 进样峰面积 RSD 为 0.15%,表明样品在 24 h 内稳定性良好;小檗碱重复性峰面积 RSD 为 0.66%,表明该方法重复性良好;回收率试验结果表明小檗碱回收率 94.84%~99.91%,平均回收率为 97.46%,RSD 为 2.68%,表明该方法准确度良好。

3.2.3 黄芩苷含量测定结果 15 批黄芩药材、饮片及全方中黄芩苷的含量测定结果见表 4。黄芩药材

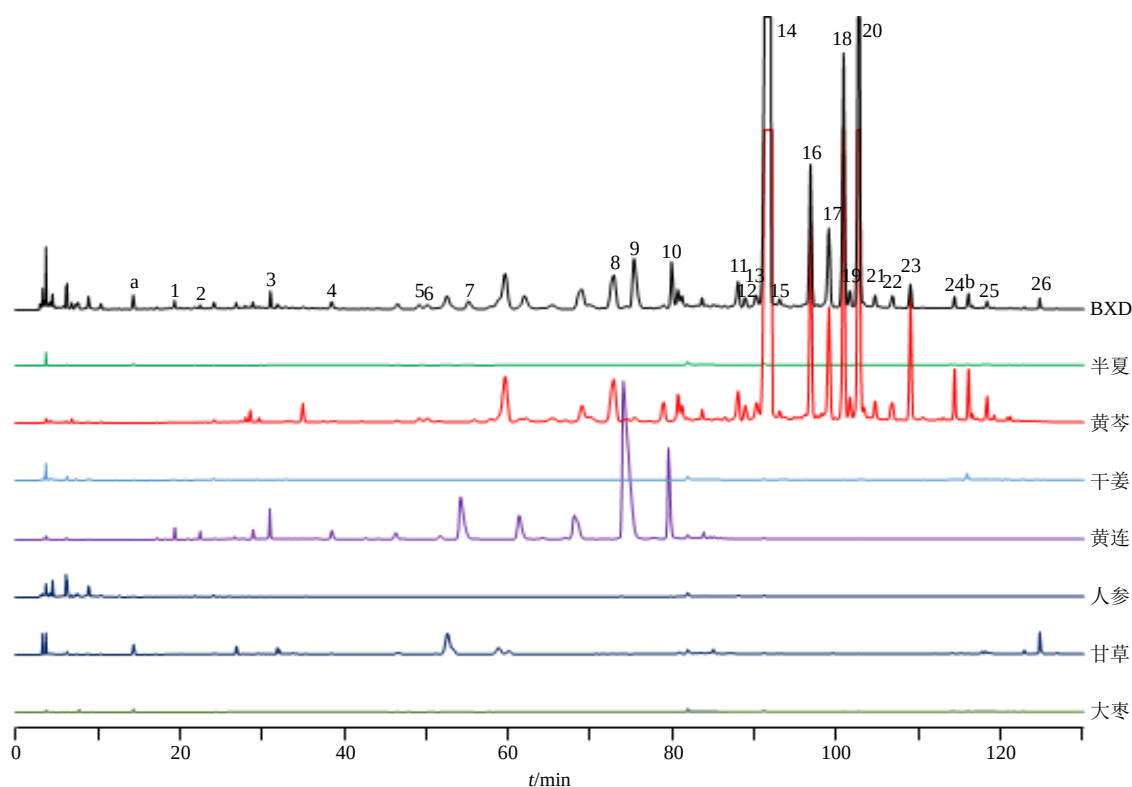


图 1 BXD 及单味药材 HPLC 指纹图谱

Fig. 1 HPLC fingerprint of BXD and its single herbs

表 4 15 批黄芩和黄连药材、饮片及 BXD 全方中黄芩苷和小檗碱含量测定结果

Table 4 Content of baicalin and berberine from 15 batches of SR and CR medicinal herbs, decoction pieces and BXD

编号	黄芩苷/%		小檗碱/%		BXD 全方水煎液中 质量浓度/(g·L ⁻¹)	
	药材	饮片	药材	饮片	黄芩苷	小檗碱
S1	12.41	12.86	8.01	5.34	5.24	0.12
S2	12.00	12.04	6.75	6.24	4.72	0.18
S3	13.09	11.42	6.03	5.88	3.60	0.31
S4	12.96	11.42	6.90	5.74	3.60	0.13
S5	15.06	12.40	6.40	5.48	4.64	0.15
S6	12.78	12.48	7.33	5.48	4.53	0.17
S7	10.14	12.15	7.17	5.45	4.45	0.14
S8	11.00	10.86	6.96	5.56	3.74	0.10
S9	14.55	13.17	8.02	6.26	4.10	0.15
S10	11.98	12.31	7.62	6.91	4.38	0.35
S11	10.65	10.83	6.52	5.39	3.33	0.11
S12	13.31	13.36	7.40	5.81	4.44	0.11
S13	12.55	12.86	6.43	5.43	4.60	0.13
S14	15.76	12.78	6.76	5.05	5.05	0.13
S15	13.86	11.69	6.35	6.09	4.58	0.31

中黄芩苷的质量分数在 10.14%~15.76%，平均质量分数 12.81%；黄芩饮片中黄芩苷的质量分数在 10.83%~13.36%，平均质量分数 12.18%；BXD 全方水煎液中黄芩苷质量浓度在 3.33~5.24 g/L，平均质量浓度 4.33 g/L。

3.2.4 小檗碱含量测定结果 15 批黄连药材、饮片中小檗碱、巴马汀、表小檗碱、黄连碱含量测定结果均符合《中国药典》2015 年版标准，其中 15 批黄连药材、饮片及全方中小檗碱的含量测定结果见表 4。黄连药材中小檗碱的质量分数在 6.03%~8.02%，平均质量分数 6.98%；黄连饮片中小檗碱的质量分数在 5.05%~6.91%，平均质量分数 5.74%；BXD 全方水煎液中小檗碱质量浓度 0.10~0.35 g/L，平均质量浓度 0.17 g/L；其中 S3、S10、S15 对应的全方中小檗碱含量偏高。

3.3 黄芩量值传递研究

3.3.1 黄芩苷转移率 黄芩苷的转移率结果见表 5。黄芩苷在药材-饮片的转移率在 81.08%~119.82%，平均转移率为 96.07%；在饮片-全方的转移率在 44.55%~59.05%，平均转移率为 51.49%。

3.3.2 黄芩药材-饮片-全方水煎液出膏率 黄芩药材水煎液、饮片水煎液、全方水煎液の出膏率结果

见表6。黄芩药材水煎液出膏率在13.07%~26.19%，平均出膏率19.67%，除批号19030209的出膏率略低，批号19030404的出膏率略高，各产地之间出膏

表5 黄芩苷转移率

Table 5 Calculation results of baicalin transfer rate

编号	黄芩苷转移率/%		小檗碱转移率/%	
	药材-饮片	饮片-全方	药材-饮片	饮片-全方
S1	103.61	59.05	66.65	9.77
S2	100.36	56.79	92.36	12.55
S3	87.27	45.67	97.51	22.93
S4	88.11	45.68	83.23	9.84
S5	82.34	54.22	85.61	11.89
S6	97.66	52.60	74.67	13.49
S7	119.82	53.07	75.95	11.16
S8	98.69	49.93	79.87	7.83
S9	90.55	45.09	77.99	10.41
S10	102.75	51.57	90.68	21.99
S11	101.70	44.55	82.63	8.87
S12	100.39	48.15	78.55	8.22
S13	102.44	51.85	84.37	10.41
S14	81.08	57.27	74.79	11.18
S15	84.31	56.80	95.91	22.13

表6 15批黄芩、黄连药材、饮片、全方水煎液の出膏率

Table 6 Calculation results of dry extract rate of 15 batches of SR and CR medicinal herbs, decoction pieces and the whole decoction

编号	黄芩出膏率/%			黄连出膏率/%		
	药材	饮片	BXD 全方	药材	饮片	BXD 全方
S1	26.19	45.91	14.90	7.34	6.36	14.90
S2	18.36	31.85	15.48	10.03	7.28	15.48
S3	15.81	29.30	14.69	5.22	11.98	14.69
S4	16.60	32.51	12.99	10.64	10.10	12.99
S5	24.37	44.61	14.97	8.57	8.18	14.97
S6	23.04	47.33	15.07	6.84	7.65	15.07
S7	21.32	38.78	17.21	8.25	8.73	17.21
S8	18.34	31.36	15.15	6.99	6.55	15.15
S9	17.86	36.81	14.93	8.14	8.91	14.93
S10	18.66	34.31	14.21	8.05	13.81	14.21
S11	20.92	31.22	15.06	8.16	6.80	15.06
S12	14.92	33.61	15.87	9.67	8.34	15.87
S14	21.96	46.12	15.29	7.18	7.13	16.32
S13	13.07	32.36	16.32	8.43	7.81	15.29
S15	23.63	45.47	16.12	9.22	16.30	16.12

率差异不大；黄芩饮片水煎液出膏率在29.30%~47.33%，平均出膏率37.44%，各产地之间出膏率差异不大；BXD全方水煎液出膏率在12.99%~17.21%，平均出膏率15.22%；黄芩饮片水煎液の出膏率远大于药材水煎液の出膏率。

3.4 黄连量值传递研究

3.4.1 小檗碱转移率 小檗碱的转移率结果见表5。小檗碱药材-饮片的转移率在66.65%~97.51%，平均转移率为82.72%；饮片-全方的转移率在7.83%~22.93%，平均转移率为12.85%。

3.4.2 黄连药材-饮片-全方水煎液出膏率 黄连药材水煎液、饮片水煎液、全方水煎液の出膏率结果见表6。黄连药材水煎液出膏率在5.22%~10.64%，平均出膏率8.18%；黄连饮片水煎液出膏率在6.36%~16.30%，平均出膏率9.06%，批号1-HL201801-1、1-HL201801-2、1-HL201801-4的产地为四川省绵阳市的黄连饮片，出膏率高于其他3个产地；全方水煎液出膏率12.99%~17.21%，平均出膏率15.22%。

3.5 指纹图谱相似度评价

15批黄芩、黄连药材、饮片及全方的指纹图谱相似度结果见表7~11。15批黄芩药材及15批黄芩饮片指纹图谱相似度结果较高依次在0.993~0.998、0.997~0.999；15批黄连药材指纹图谱相似度较高在0.995~1.000，15批黄连饮片指纹图谱相似度在0.888~0.972；15批全方水煎液指纹图谱相似度在0.978~0.999。

4 讨论

4.1 特殊炮制品选择

BXD中原文记载半夏“洗”，甘草“炙”。东汉时期半夏“洗”仅为简单的“洗”法，而现今半夏“洗”已不流通于市场与临床，取而代之的是主流品种“姜半夏”“清半夏”“法半夏”等。从炮制工艺的角度分析，清半夏是取净半夏，大小分开，采用8%白矾水浸泡至内无白心，口尝微有麻口感，取出，洗净^[11]。

该炮制方法更为接近古法的半夏“洗”^[12]。因此，采用清半夏替代半夏“洗”。东汉时期无蜜炙甘草，可断定BXD中甘草“炙”非蜜炙甘草，为火烤甘草，而现今无此炮制品种流通，与火烤甘草更加接近的为炒甘草^[13]。河南、浙江、上海中药炮制规范中均收录炒甘草，因此，将BXD中炙甘草定为炒甘草。

表 7 黄芩药材指纹图谱相似度
Table 7 Fingerprint similarity of SR medicinal herbs

批次	相似度															对照
	19030401	19030402	19030403	19030404	19030405	19031301	19031302	19031303	19031304	19031305	19030206	19030207	19030208	19030209	19030210	
19030401	1.000	0.995	0.998	0.994	0.996	0.987	0.984	0.982	0.989	0.981	0.983	0.979	0.979	0.985	0.977	0.993
19030402	0.995	1.000	0.998	0.992	0.992	0.993	0.993	0.992	0.993	0.992	0.991	0.991	0.989	0.992	0.988	0.998
19030403	0.998	0.998	1.000	0.993	0.995	0.991	0.990	0.989	0.993	0.987	0.986	0.985	0.985	0.988	0.982	0.996
19030404	0.994	0.992	0.993	1.000	0.997	0.988	0.985	0.981	0.985	0.984	0.987	0.979	0.983	0.992	0.985	0.994
19030405	0.996	0.992	0.995	0.997	1.000	0.988	0.985	0.981	0.987	0.981	0.979	0.975	0.979	0.987	0.978	0.992
19031301	0.987	0.993	0.991	0.988	0.988	1.000	0.997	0.996	0.995	0.995	0.987	0.989	0.993	0.993	0.992	0.997
19031302	0.984	0.993	0.990	0.985	0.985	0.997	1.000	0.999	0.996	0.997	0.986	0.991	0.995	0.993	0.993	0.997
19031303	0.982	0.992	0.989	0.981	0.981	0.996	0.999	1.000	0.997	0.998	0.985	0.991	0.995	0.992	0.992	0.996
19031304	0.989	0.993	0.993	0.985	0.987	0.995	0.996	0.997	1.000	0.995	0.982	0.987	0.993	0.990	0.987	0.996
19031305	0.981	0.992	0.987	0.984	0.981	0.995	0.997	0.998	0.995	1.000	0.991	0.994	0.998	0.996	0.997	0.997
19030206	0.983	0.991	0.986	0.987	0.979	0.987	0.986	0.985	0.982	0.991	1.000	0.995	0.991	0.995	0.995	0.993
19030207	0.979	0.991	0.985	0.979	0.975	0.989	0.991	0.991	0.987	0.994	0.995	1.000	0.995	0.992	0.994	0.993
19030208	0.979	0.989	0.985	0.983	0.979	0.993	0.995	0.995	0.993	0.998	0.991	0.995	1.000	0.996	0.997	0.995
19030209	0.985	0.992	0.988	0.992	0.987	0.993	0.993	0.992	0.990	0.996	0.995	0.992	0.996	1.000	0.998	0.997
19030210	0.977	0.988	0.982	0.985	0.978	0.992	0.993	0.992	0.987	0.997	0.995	0.994	0.997	0.998	1.000	0.994
对照	0.993	0.998	0.996	0.994	0.992	0.997	0.997	0.996	0.996	0.997	0.993	0.993	0.995	0.997	0.994	1.000

表 8 黄芩饮片指纹图谱相似度
Table 8 Fingerprint similarity of SR decoction pieces

批次	相似度															对照
	1-19030401	1-19030402	1-19030403	1-19030404	1-19030405	1-19031301	1-19031302	1-19031303	1-19031304	1-19031305	1-19030206	1-19030207	1-19030208	1-19030209	1-19030210	
1-19030401	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.995	0.993	0.991	0.990	0.992	0.990	0.990	0.992	0.995	0.990	0.997
1-19030402	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.995	0.992	0.990	0.989	0.991	0.989	0.989	0.990	0.994	0.989	0.997
1-19030403	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.996	0.994	0.992	0.991	0.992	0.991	0.990	0.992	0.995	0.991	0.998
1-19030404	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.996	0.994	0.992	0.991	0.992	0.991	0.990	0.992	0.995	0.991	0.998
1-19030405	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.996	0.993	0.991	0.990	0.991	0.990	0.990	0.991	0.994	0.990	0.997
1-19031301	0.995	0.995	0.996	0.996	0.996	1.000	0.996	0.995	0.993	0.994	0.992	0.992	0.993	0.995	0.992	0.997
1-19031302	0.993	0.992	0.994	0.994	0.993	0.996	1.000	0.999	0.999	0.998	0.998	0.997	0.998	0.998	0.997	0.999
1-19031303	0.991	0.990	0.992	0.992	0.991	0.995	0.999	1.000	0.999	0.997	0.996	0.995	0.996	0.995	0.995	0.997
1-19031304	0.990	0.989	0.991	0.991	0.990	0.993	0.999	0.999	1.000	0.998	0.997	0.996	0.997	0.996	0.996	0.997
1-19031305	0.992	0.991	0.992	0.992	0.991	0.994	0.998	0.997	0.998	1.000	0.998	0.998	0.998	0.998	0.998	0.998
1-19030206	0.990	0.989	0.991	0.991	0.990	0.992	0.998	0.996	0.997	0.998	1.000	0.999	0.999	0.999	0.999	0.997
1-19030207	0.990	0.989	0.990	0.990	0.990	0.992	0.997	0.995	0.996	0.998	0.999	1.000	0.999	0.999	0.999	0.997
1-19030208	0.992	0.990	0.992	0.992	0.991	0.993	0.998	0.996	0.997	0.998	0.999	0.999	1.000	0.999	0.999	0.998
1-19030209	0.995	0.994	0.995	0.995	0.994	0.995	0.998	0.995	0.996	0.998	0.999	0.999	0.999	1.000	0.999	0.999
1-19030210	0.990	0.989	0.991	0.991	0.990	0.992	0.997	0.995	0.996	0.998	0.999	0.999	0.999	0.999	1.000	0.997
对照	0.997	0.997	0.998	0.998	0.997	0.997	0.999	0.997	0.997	0.998	0.997	0.997	0.998	0.999	0.997	1.000

4.2 色谱条件优化、指标性成分确定、相似度计算方法选择

在建立 BXD 水煎液指纹图谱初期,考察了甲

醇-水、乙腈-水、甲醇-0.1%磷酸水溶液、乙腈-0.1%磷酸水溶液、甲醇-0.05%磷酸水溶液、乙腈-0.05%磷酸水溶液、甲醇-0.5%甲酸水溶液、乙腈-0.5%甲

表 9 黄连药材指纹图谱相似度
Table 9 Fingerprint similarity of CR medicinal herbs

批次	相似度															
	19031601	19031602	19031603	19031604	19031605	19031906	19031907	19031908	19031909	19012312	19012313	19012314	HL201801-1	HL201801-2	HL201801-4	对照
19031601	1.000	0.994	0.997	0.998	0.995	0.998	0.996	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.996	0.996	0.997	1.000
19031602	0.994	1.000	0.995	0.996	0.998	0.994	0.993	0.993	0.993	0.994	0.991	0.991	0.992	0.988	0.992	0.996
19031603	0.997	0.995	1.000	0.999	0.991	0.996	0.992	0.998	0.995	0.998	0.995	0.995	0.995	0.992	0.994	0.998
19031604	0.998	0.996	0.999	1.000	0.993	0.999	0.992	0.999	0.996	0.999	0.997	0.997	0.996	0.993	0.995	0.999
19031605	0.995	0.998	0.991	0.993	1.000	0.995	0.994	0.993	0.994	0.994	0.993	0.992	0.990	0.990	0.992	0.996
19031906	0.998	0.994	0.996	0.999	0.995	1.000	0.994	0.998	0.997	0.999	0.998	0.998	0.994	0.995	0.994	0.999
19031907	0.996	0.993	0.992	0.992	0.994	0.994	1.000	0.993	0.995	0.994	0.992	0.992	0.990	0.990	0.991	0.995
19031908	0.999	0.993	0.998	0.999	0.993	0.998	0.993	1.000	0.998	1.000	0.999	0.999	0.996	0.996	0.995	0.999
19031909	0.999	0.993	0.995	0.996	0.994	0.997	0.995	0.998	1.000	0.998	0.998	0.998	0.994	0.995	0.997	0.999
19012312	0.999	0.994	0.998	0.999	0.994	0.999	0.994	1.000	0.998	1.000	0.999	0.999	0.996	0.997	0.996	1.000
19012313	0.999	0.991	0.995	0.997	0.993	0.998	0.992	0.999	0.998	0.999	1.000	1.000	0.995	0.997	0.995	0.999
19012314	0.999	0.991	0.995	0.997	0.992	0.998	0.992	0.999	0.998	0.999	1.000	1.000	0.995	0.998	0.995	0.999
HL201801-1	0.996	0.992	0.995	0.996	0.990	0.994	0.990	0.996	0.994	0.996	0.995	0.995	1.000	0.998	0.998	0.997
HL201801-2	0.996	0.988	0.992	0.993	0.990	0.995	0.990	0.996	0.995	0.997	0.997	0.998	0.998	1.000	0.997	0.997
HL201801-4	0.997	0.992	0.994	0.995	0.992	0.994	0.991	0.995	0.997	0.996	0.995	0.995	0.998	0.997	1.000	0.997
对照	1.000	0.996	0.998	0.999	0.996	0.999	0.995	0.999	0.999	1.000	0.999	0.999	0.997	0.997	0.997	1.000

表 10 黄连饮片指纹图谱相似度
Table 10 Fingerprint similarity of CR medicinal herbs decoction pieces

批次	相似度															
	1-19031601	1-19031602	1-19031603	1-19031604	1-19031605	1-19031906	1-19031907	1-19031908	1-19031909	1-19012312	1-19012313	1-19012314	1-HL201801-1	1-HL201801-2	1-HL201801-4	对照
1-19031601	1.000	0.866	0.870	0.866	0.868	0.861	0.998	0.856	0.866	0.861	0.869	0.870	0.987	0.990	0.976	0.960
1-19031602	0.866	1.000	0.999	1.000	1.000	0.999	0.851	0.995	0.998	0.999	0.999	0.999	0.801	0.838	0.751	0.970
1-19031603	0.870	0.999	1.000	1.000	1.000	0.998	0.855	0.994	0.997	0.998	0.999	0.999	0.803	0.840	0.756	0.971
1-19031604	0.866	1.000	1.000	1.000	1.000	0.998	0.851	0.995	0.998	0.999	0.998	0.998	0.799	0.836	0.751	0.970
1-19031605	0.868	1.000	1.000	1.000	1.000	0.998	0.853	0.995	0.998	0.998	0.998	0.998	0.802	0.838	0.754	0.971
1-19031906	0.861	0.999	0.998	0.998	0.998	1.000	0.847	0.995	0.998	0.999	0.998	0.998	0.798	0.837	0.746	0.968
1-19031907	0.998	0.851	0.855	0.851	0.853	0.847	1.000	0.843	0.852	0.845	0.854	0.854	0.990	0.990	0.982	0.951
1-19031908	0.856	0.995	0.994	0.995	0.995	0.995	0.843	1.000	0.994	0.995	0.993	0.992	0.790	0.828	0.740	0.964
1-19031909	0.866	0.998	0.997	0.998	0.998	0.998	0.852	0.994	1.000	0.997	0.998	0.998	0.801	0.839	0.753	0.970
1-19012312	0.861	0.999	0.998	0.999	0.998	0.999	0.845	0.995	0.997	1.000	0.999	0.999	0.795	0.834	0.743	0.968
1-19012313	0.869	0.999	0.999	0.998	0.998	0.998	0.854	0.993	0.998	0.999	1.000	1.000	0.804	0.842	0.754	0.971
1-19012314	0.870	0.999	0.999	0.998	0.998	0.998	0.854	0.992	0.998	0.999	1.000	1.000	0.805	0.843	0.755	0.972
1-HL201801-1	0.987	0.801	0.803	0.799	0.802	0.798	0.990	0.790	0.801	0.795	0.804	0.805	1.000	0.997	0.993	0.921
1-HL201801-2	0.990	0.838	0.840	0.836	0.838	0.837	0.990	0.828	0.839	0.834	0.842	0.843	0.997	1.000	0.982	0.944
1-HL201801-4	0.976	0.751	0.756	0.751	0.754	0.746	0.982	0.740	0.753	0.743	0.754	0.755	0.993	0.982	1.000	0.888
对照	0.960	0.970	0.971	0.970	0.971	0.968	0.951	0.964	0.970	0.968	0.971	0.972	0.921	0.944	0.888	1.000

酸水溶液、甲醇-0.1%甲酸水溶液、乙腈-0.1%甲酸水溶液对指纹图谱的分离情况的影响,结果表明,在相同条件下乙腈-0.5%甲酸水溶液分离情况优于

其他流动相,但经过多次改变洗脱梯度,无法将黄芩苷与小檗碱分离开,而黄芩苷在色谱图中响应值最高,参考童荣生等^[14]建立 BXD HPLC 图中的流

表 11 全方指纹图谱相似度

Table 11 Fingerprint similarity of whole decoction

样品	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13	S14	S15	对照
S1	1.000	0.991	0.958	0.990	0.995	0.996	0.996	0.994	0.995	0.963	0.994	0.996	0.997	0.996	0.976	0.995
S2	0.991	1.000	0.973	0.995	0.995	0.992	0.993	0.994	0.993	0.976	0.992	0.993	0.992	0.993	0.981	0.996
S3	0.958	0.973	1.000	0.968	0.970	0.971	0.970	0.963	0.973	0.987	0.969	0.965	0.964	0.966	0.983	0.978
S4	0.990	0.995	0.968	1.000	0.994	0.991	0.994	0.994	0.993	0.974	0.994	0.991	0.990	0.995	0.979	0.995
S5	0.995	0.995	0.970	0.994	1.000	0.997	0.996	0.992	0.996	0.972	0.995	0.994	0.995	0.999	0.982	0.998
S6	0.996	0.992	0.971	0.991	0.997	1.000	0.999	0.994	0.999	0.973	0.997	0.997	0.998	0.997	0.983	0.998
S7	0.996	0.993	0.970	0.994	0.996	0.999	1.000	0.997	0.999	0.972	0.999	0.998	0.998	0.998	0.980	0.998
S8	0.994	0.994	0.963	0.994	0.992	0.994	0.997	1.000	0.996	0.967	0.995	0.998	0.997	0.994	0.974	0.996
S9	0.995	0.993	0.973	0.993	0.996	0.999	0.999	0.996	1.000	0.974	0.998	0.998	0.998	0.997	0.982	0.999
S10	0.963	0.976	0.987	0.974	0.972	0.973	0.972	0.967	0.974	1.000	0.972	0.967	0.967	0.969	0.996	0.981
S11	0.994	0.992	0.969	0.994	0.995	0.997	0.999	0.995	0.998	0.972	1.000	0.997	0.997	0.996	0.979	0.997
S12	0.996	0.993	0.965	0.991	0.994	0.997	0.998	0.998	0.998	0.967	0.997	1.000	0.999	0.996	0.975	0.997
S13	0.997	0.992	0.964	0.990	0.995	0.998	0.998	0.997	0.998	0.967	0.997	0.999	1.000	0.996	0.977	0.997
S14	0.996	0.993	0.966	0.995	0.999	0.997	0.998	0.994	0.997	0.969	0.996	0.996	0.996	1.000	0.980	0.997
S15	0.976	0.981	0.983	0.979	0.982	0.983	0.980	0.974	0.982	0.996	0.979	0.975	0.977	0.980	1.000	0.988
对照	0.995	0.996	0.978	0.995	0.998	0.998	0.998	0.996	0.999	0.981	0.997	0.997	0.997	0.997	0.988	1.000

动相为乙腈-0.05%三乙胺水溶液(加入磷酸调节 pH 值至 3), 最终将流动相定为甲醇-0.05%三乙胺水溶液(磷酸调 pH 值至 2.2), 使黄芩苷与小檗碱得到较好分离。对于检测波长的选择, 采用 DAD 全波长检测, 波长在 200~230 nm 下时基线明显漂移, 综合全方的出峰个数和出峰形态, 选择 270 nm 作为 BXD 水煎液指纹图谱检测波长。

全方共归属 26 个特征峰, 其中包括黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、黄连碱、小檗碱、巴马汀、甘草酸; 指纹图谱中分离度满足含量测定要求的有黄芩苷、小檗碱、甘草酸, 因此, 在本研究中选择黄芩苷、小檗碱作为黄芩、黄连药材-饮片-全方的量值传递含量测定指标性成分。清半夏在全方中无特征峰, 清半夏主要含有生物碱、核苷、有机酸等成分, 由于全方加水量约为清半夏处方量的 36 倍, 使其成分在图谱中不出峰; 干姜中主要成分 6-姜辣素, 在全方中与黄芩中某一成分存在干扰, 前期实验利用《中国药典》2015 年版^[11]干姜含量测定方法, 对全方进行分离, 结果发现 6-姜辣素存在阴性干扰, 因此不指认 6-姜辣素作为特征峰; 药典中人参皂苷类成分在波长 203 nm 下进行检测, 而在 203 nm 下全方色谱图的基线发生漂移, 同时利用人参皂苷类成分的对照品进行比对, 发现人参皂苷类成分的色谱峰响应值远小于其他特征峰及溶剂峰; 大枣在图谱

中有显示, 但与甘草中某一成分有阴性干扰; 因此, 本研究所建立的指纹图谱未能单独归属这 4 味药的特征峰。

在中药的质量控制中, 针对不同的指纹图谱, 应制定相应的评价方法与评价指标。在全方指纹图谱中黄芩苷峰面积约占总峰面积的 50%, 但特征峰峰面积大小不能完全反映其所含信息的大小, 将黄芩苷纳入相似度软件中评价, 一定程度上影响了全方指纹图谱的相似度结果。

全方 15 批指纹图谱剔除黄芩苷前后的相似度分别 0.951~0.994、0.978~0.999。剔除黄芩苷后指纹图谱可更加充分反映其余色谱峰所含信息, 同时黄芩苷作为指标性成分在含量测定中可体现批间差异, 一定程度上弥补了剔除黄芩苷后指纹图谱相似度评价方法的不足。

4.3 测定结果分析

本研究中 15 批 BXD 水煎液的出膏率、黄芩苷含量均在其均值的 70%~130%, 而对小檗碱含量测定结果进行分析时, 全方水煎液小檗碱质量的 70%~130%为 0.12~0.22 g/L, S3、S10、S15 全方水煎液中小檗碱含量高于其他批次, 远高于均值的 130%, 同时该 3 批黄连饮片水煎液出膏率高于药材水煎液出膏率。分析原因, 本方中选用的黄连为味连, 其形似倒鸡爪状, 易黏附泥沙、非药用部位等,

饮片一般斜切厚度在 1~2 mm; 考虑到该 3 批黄连药材与其余 12 批采购于不同的公司, 二者饮片性状有些许不同, 该 3 批黄连饮片相比于其余 12 批饮片斜切厚度较薄, 斜切面积较大, 相同质量下在煎煮过程中更易煎出有效成分, 导致其全方水煎液中小檗碱含量略高, 其饮片水煎液出膏率高于药材水煎液出膏率。因此, 在后续实验中, 需严格控制批与批之间投料用黄连饮片的规格, 降低批与批之间黄连饮片性状差异, 同时加大取样量, 保证取样的均匀性。

对黄芩药材-饮片-全方水煎液出膏率进行测定, 发现黄芩饮片水煎液出膏率远大于其药材出膏率, 约为其 2 倍, 而黄芩药材-饮片黄芩苷的含量测定中, 黄芩药材与饮片相差不大, 平均传递率为 95.89%; 分析原因, 推测黄芩药材经过加热软化切制成黄芩饮片, 饮片中黄芩酶活性相对较弱^[15]; 在水煎液出膏率的测定中, 黄芩药材切成饮片大小投料煎煮, 在冷水中黄芩酶活性较高, 可将黄芩苷、汉黄芩苷水解成黄芩素、汉黄芩素, 水解后的成分水溶性差, 导致黄芩药材水煎液出膏率低。在后续实验中建议应选用符合《中国药典》2015 年版炮制规范的黄芩饮片进行投料, 确保黄芩中黄芩苷等易酶解成分可在水中较好煎出。

2018 年 4 月 13 日国家中医药管理局会同国家药品监督管理局制定发布《古代经典名方目录 (第一批)》, 同年 5 月发布《古代经典名方中药复方制剂简化注册审批管理规定》, 为进一步规范古代经典名方中药复方制剂的研究, 2019 年 3 月起草了经典名方复方制剂物质基准及古代经典名方中药复方制剂的申报资料要求 (修订稿)^[16-18]。由此可见, 经典名方物质基准的研究开发日趋完善。有效的质控方法可打造高品质的经典名方制剂^[19]。药材-饮片-中间体-物质基准的量值传递关系为经典名方物质基准研究中的关键一环。本研究以黄芩、黄连为例, 分析 BXD 中黄芩、黄连药材-饮片-水煎液的量值传递关系, 环环相扣, 拟为 BXD 物质基准制剂的开发研究提供一定参考。因此, 根据上述研究结果建议控制 15 批水煎液指纹图谱相似度在 0.9 以上, 同时控制 15 批水煎液的出膏率、指标性成分的含量测定在其均值的 70%~130%, 作为 BXD 水煎液质量控制的方法, 为最终环节物质基准的质量控制提供保障。

参考文献

- [1] 张仲景. 伤寒论 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2005.
- [2] 周淑华, 石宜明. 《伤寒论》半夏泻心汤方证浅析 [J]. 内蒙古中医药, 2010, 29(23): 40-41.
- [3] 樊启猛, 贺 鹏, 李海英, 等. 经典名方物质基准研制的关键技术分析 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(15): 202-209.
- [4] 闫利利, 史家文, 王金芳, 等. 基于 UPLC/Q-TOF-MSE 方法分析半夏泻心汤的化学成分 [J]. 药学学报, 2013, 48(4): 526-531.
- [5] 程先宽. 《伤寒杂病论》方剂剂量折算标准研究 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2006.
- [6] 林轶群. 非衡量单位药物重量实测文献汇总分析 [J]. 中华中医药杂志, 2018(33): 740-743.
- [7] 邓中甲. 方剂学 [M]. 第 7 版. 北京: 中国中医药出版社, 2003.
- [8] 邓中甲. 方剂学 [M]. 第 8 版. 北京: 中国中医药出版社, 2017.
- [9] 李 冀. 方剂学 [M]. 第 9 版. 北京: 中国中医药出版社, 2017.
- [10] 李 冀. 方剂学 [M]. 第 10 版. 北京: 中国中医药出版社, 2016.
- [11] 中国药典. 一部 [S]. 2015.
- [12] 张小斌. 浅析半夏的炮制方法 [J]. 商洛师范专科学校学报, 2005(2): 37-39.
- [13] 吴世强, 种月荣, 石勇强. 甘草的多法炮制及历史考证 [J]. 时珍国医国药, 2005, 16(1): 36.
- [14] 童荣生, 李晋奇, 彭 成, 等. 半夏泻心汤及其苦降药组 HPLC 指纹图谱的比较研究 [J]. 中华中医药学刊, 2011, 29(7): 1578-1581.
- [15] 秦书芝, 李 凤, 张 瑶, 等. 不同软化处理方法对黄芩饮片中黄芩苷含量影响 [J]. 海峡药学, 2017, 29(10): 30-31.
- [16] 国家中医药管理局. 关于发布《古代经典名方目录 (第一批)》的通知 [EB/OL]. <http://kjs.satcm.gov.cn/zhengcwenjian/2018-04-16/7107.html>. 2018-04-13/2018-09-18.
- [17] 国家药品监督管理局. 关于发布古代经典名方中药复方制剂简化注册审批管理的规定的公告 [EB/OL]. <http://www.nmpa.gov.cn/WS04/CL2093/228247.html>. 2018-05-29.
- [18] 国家药品监督管理局. 公开征求古代经典名方中药复方制剂及其物质基准申报资料要求 (征求意见稿) 意见 [EB/OL]. <http://www.nmpa.gov.cn/WS04/CL2101/335926.html>. 2019-03-22.
- [19] 代云桃, 靳如娜, 吴治丽, 等. 基于标准汤剂 (物质基准) 的经典名方制备工艺和质量标准研究 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2020, 26(2): 164-174.