

## 经典名方竹叶石膏汤的物质基准量值传递分析

葛 威, 刘小康, 王康宇, 郭云龙, 蔡广知, 赵跃刚\*, 贡济宇\*  
长春中医药大学药学院, 吉林 长春 130117

**摘要:**目的 建立竹叶石膏汤(Zhuye Shigao Decoction, ZSD)物质基准的HPLC特征图谱及指标成分含量测定方法,并结合化学模式识别法进行评价,探寻其质量传递规律。方法 制备20批ZSD物质基准,建立HPLC特征图谱,明确共有峰归属,测定全方出膏率、指标成分异荛草苷、人参皂苷Rg<sub>1</sub>、人参皂苷Re、人参皂苷Rb<sub>1</sub>、甘草苷和甘草酸的含量及转移率,对物质基准进行量值传递分析。结果 20批ZSD物质基准特征图谱的相似度均大于0.90,共确定了21个特征峰,分别来自方中淡竹叶(6个峰)、麦冬(6个峰)、半夏(3个峰)、甘草(6个峰)4个药味;化学模式识别法将20批样品分为4类;各指标成分从饮片到物质基准的转移率分别为异荛草苷31.94%~50.91%,甘草苷35.77%~62.55%,甘草酸13.09%~22.63%,人参皂苷Rg<sub>1</sub>57.28%~83.95%,人参皂苷Re42.21%~72.27%,人参皂苷Rb<sub>1</sub>38.19%~64.57%;出膏率为16.99%~27.06%。结论 采用特征图谱、多指标含量测定以及化学模式识别法对ZSD物质基准进行量值传递分析,该方法科学合理,可为后续制剂开发提供参考。

**关键词:**经典名方;竹叶石膏汤;物质基准;量值传递;淡竹叶;主成分分析;偏最小二乘法判别分析;异荛草苷;人参皂苷Rg<sub>1</sub>;人参皂苷Re;人参皂苷Rb<sub>1</sub>;甘草苷;甘草酸

中图分类号:R286.02 文献标志码:A 文章编号:0253-2670(2021)11-3239-10

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2021.11.011

## Transfer analysis of substance benchmark of famous classical formulas of Zhuye Shigao Decoction

GE Wei, LIU Xiao-kang, WANG Kang-yu, GUO Yun-long, CAI Guang-zhi, ZHAO Yue-gang, GONG Ji-yu  
College of Pharmacy, Changchun University of Chinese Medicine, Changchun 130117, China

**Abstract: Objective** To establish the HPLC fingerprint and multi-component determination for substance benchmark of Zhuye Shigao Decoction (竹叶石膏汤, ZSD), evaluate its quality in combination with chemical pattern recognition method and explore the mass transfer law of substance benchmark. **Methods** The substance benchmark of 20 batches of ZSD was prepared based on ancient medical records, the HPLC fingerprint was established, the attribution of common peaks was clarified, and the ointment rate of the whole prescription was determined. The components content and transfer rate of isoorientin, ginsenoside Rg<sub>1</sub>, ginsenoside Re, ginsenoside Rb<sub>1</sub>, liquiritin and glycyrrhizic acid were measured and the transfer analysis of substance benchmark was performed. **Results** The similarity of the 20 batches of ZSD material benchmark fingerprint were all greater than 0.90, and a total of 21 characteristic peaks were identified, which came from *Lophatherum gracile* (six peaks), *Ophiopogon japonicus* (six peaks), *Pinellia ternata* (three peaks), and *Glycyrrhiza uralensis* (six peaks). The samples can be divided into four categories by chemical pattern recognition methods. The transfer rate of each index component from the decoction pieces to the substance benchmark was in the range of isoorientin: 31.94%—50.91%, glycyrrhizin: 35.77%—62.55%, licorice acid: 13.09%—22.63%, ginsenoside Rg<sub>1</sub>: 57.28%—83.95%, ginsenoside Re: 42.21%—72.27%, ginsenoside Rb<sub>1</sub>: 38.19—64.57%; The creaming rate ranges from 16.99% to 27.06%. **Conclusion** In this study, the fingerprint combined with multi-index content determination and chemical pattern recognition were used to carry out the quantity value transfer analysis of the substance benchmark of ZSD. This method is scientific and reasonable, and can provide a reference for subsequent formulation development.

收稿日期: 2020-12-09

基金项目: 吉林省重点研发项目(2017-SW-KF106); 国家中药标准化项目(ZYBZH-Y-JL-25)

作者简介: 葛 威(1997—), 男, 硕士研究生, 研究方向为中药药剂学。E-mail: 2550811499@qq.com

\*通信作者: 赵跃刚, 副教授, 硕士生导师, 主要从事中药药剂学研究。E-mail: cczyg@126.com

贡济宇, 教授, 博士生导师, 主要从事中药分析学研究。E-mail: gjy0431@126.com

**Key words:** classical prescription; Zhuye Shigao Decoction; substance benchmark; quality value transmitting; *Lophatherum gracile* Brongn.; principal component analysis; partial least squares discriminant analysis; isoorientin; ginsenoside Rg<sub>1</sub>; ginsenoside Re; ginsenoside Rb<sub>1</sub>; liquiritin; glycyrrhizic acid

竹叶石膏汤 (Zhuye Shigao Decoction, ZSD) 源自东汉·张仲景《伤寒论》，具有丰富的临床应用基础，是国家中医药管理局发布的《古代经典名方目录 (第一批)》所载方剂之一<sup>[1]</sup>，由淡竹叶、石膏、麦冬、人参、甘草、半夏及粳米 7 味中药组成，具有清气分热、清热生津、益气和胃之功效，主治伤寒、温病、暑病余热未清，气津两伤证。其中，淡竹叶、石膏清热除烦为君药，人参、麦冬益气养阴为臣药，半夏降逆止呕为佐药，甘草、粳米调养胃气为使药。现代临床常将其用于治疗各种传染病热病<sup>[2-7]</sup>。

经典名方是中医药数千年临床实践的结晶，具有组方合理、疗效确切、安全性高等特点，为中医药的精髓所在，然而研究成功的关键在于能否研制出符合质量要求的古代经典名方物质基准<sup>[8-12]</sup>。ZSD 中所含药味较多，化学成分复杂，在一些成分尚未明确的前提下，选择特征图谱、含量测定结合化学模式识别法能更好地评价其质量的一致性和优劣性<sup>[13-14]</sup>，本实验以 ZSD 为研究对象，基于饮片-物质基准之间的量值传递开展研究，探寻 ZSD 中的关键质量属性转移规律，初步确定物质基准出膏率的质量控制范围、定量指标及其转移率范围，以期为石膏汤物质基准的质量控制及后续制剂开发提供借鉴。

## 1 仪器与材料

### 1.1 仪器

LC-2030 型高效液相色谱仪，包括 DGC-20A 型在线脱气系统，SIL-20A 型自动进样系统，UV 检测器，日本岛津公司；AB135-S 型十万分之一电子天平、AL204 型万分之一电子天平，瑞士梅特勒-托利多公司；KES-W22CS208H 型电陶炉，深圳市康佳智能电器科技有限公司；KQ-500E 型超声波清洗器，昆山市超声仪器有限公司；SCIENTZ-12N 型冷冻干燥机，宁波新芝生物科技股份有限公司；TGL16E 台式高速冷冻离心机，长沙英泰仪器有限公司。

### 1.2 试药

对照品异荜草苷、荜草苷、牡荆素，购自上海源叶生物科技有限公司，批号 B21528、B20509、

B20875，质量分数均大于 98%；对照品人参皂苷 Rg<sub>1</sub>、Re、Rb<sub>1</sub>，购自中国食品药品检定研究院，批号 110703-201731、110754-201626、110704-201726，质量分数依次为 98.4%、97.4%、98.2%；对照品甘草苷、甘草酸、异甘草苷、甘草素，购自上海源叶生物科技有限公司，批号 551-15-5、1405-86-8、578-86-9、961-29-5，质量分数均大于 98%；乙腈、磷酸、甲醇，Thermo Fisher，色谱级；屈臣氏蒸馏水，广州屈臣氏食品饮料有限公司。

淡竹叶、石膏、麦冬 (去心)、半夏、人参、甘草药材均来自神威药业集团有限公司，饮片均为实验室按照原方记载及相关法规炮制<sup>[15]</sup>。各药材经长春中医药大学中药鉴定教研室蔡广知副教授鉴定，淡竹叶为禾本科淡竹叶属植物淡竹叶 *Lophatherum gracile* Brongn. 的干燥茎叶，石膏为硫酸盐类矿物硬石膏族石膏 *Gypsum Fibrosum* (主含 CaSO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O)，麦冬为百合科沿阶草属植物麦冬 *Ophiopogon japonicus* (L. F) Ker-Gawl. 的干燥块根，人参为五加科人参属植物人参 *Panax ginseng* C. A. Mey. 干燥根及根茎，半夏为天南星科半夏属植物半夏 *Pinellia ternate* (Thunb.) Breit. 的干燥块根，甘草为豆科甘草属植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. 的干燥根及根茎，质量均符合《中国药典》2020 年版一部要求，粳米为河南大米；批号信息见表 1。

## 2 方法与结果

### 2.1 ZSD 物质基准的制备

采用随机数表法，分别对方中各药味饮片进行随机组合，见表 2。根据课题组前期考证<sup>[16-19]</sup>，确定 ZSD 剂量为淡竹叶 6 g，石膏 48 g，麦冬 31 g，半夏 12 g，人参 6 g，甘草 6 g。

称取 ZSD 中各药味饮片于砂锅中，加入 2000 mL 水，浸泡 30 min，电陶炉武火 (2200 W) 转文火 (600 W) 煎煮至 1200 mL，200 目绢布滤过，滤液加粳米 24 g，煎煮 70 min，滤去粳米，调整体积至 600 mL。滤液于真空冷冻干燥机中预冷冻后，冷冻干燥，即得 20 批 ZSD 物质基准样品。同法制备各单味药和阴性样品。

### 2.2 ZSD 物质基准特征图谱的建立

**2.2.1 色谱条件** Thermo C<sub>18</sub> 色谱柱 (250 mm×4.6

表1 ZSD各药味信息  
Table 1 Information of ZSD

名称	产地	批号	名称	产地	批号
淡竹叶	安徽岳西	DZY180311~DZY180315	半夏	甘肃清水	1710201~1710205
	四川达州	DZY180321~DZY180325		甘肃西和	BX201807091~BX201807095
	安徽亳州	20180321~20180325		四川西昌	BX180321~BX180325
	四川都江堰	17091311~17091315		河北安国	180321~180325
石膏	湖北应城	SG1807231~SG1807235	人参	吉林靖宇	20180901~20180905
	安徽萧县	1709271~1709275		黑龙江通北	20180901~20180905
	河南	SG180311~SG180315		吉林通化	RS20180311~RS20180315
	山西	SG180321~SG180325		吉林长白山	RS20190911~RS20190915
麦冬	四川三台	17110311~17110315	甘草	甘肃陇西	17111411~17111415
	浙江慈溪	20190601~20190605		内蒙古鄂尔多斯	GC180321~GC180325
	三台光明镇	MD180321~MD180325		新疆阿勒泰	GC180311~GC180315
	江西九江	1708251~1708255		吉林白城	20170521~20170525

表2 20批物质基准饮片组合  
Table 2 Information of 20 batches of substance benchmark

编号	处方药味					
	淡竹叶	石膏	麦冬	半夏	人参	甘草
S1	DZY180323	SG1807231	17110313	1710205	RS20180312	17111411
S2	DZY180322	SG1807232	17110314	1710204	RS20180313	17111413
S3	DZY180324	SG1807233	17110315	1710203	20180901	17111412
S4	17091315	SG1807234	17110311	1710202	20180902	17111415
S5	DZY180321	SG1807235	17110312	1710201	RS20180314	17111414
S6	DZY180313	1709271	MD180325	BX201807095	20180905	GC180315
S7	DZY180314	1709272	20190602	BX201807094	20180904	GC180314
S8	17091312	1709273	20190601	BX201807093	20180904	GC180311
S9	17091311	1709274	20190604	BX201807092	20180902	GC180312
S10	DZY180315	1709275	20190603	BX201807091	20180903	GC180313
S11	17091314	SG180311	MD180321	BX180324	20180903	GC180323
S12	17091313	SG180312	MD180322	BX180322	20180905	GC180324
S13	DZY180311	SG180313	MD180324	BX180321	RS20180311	GC180322
S14	DZY180312	SG180314	MD180323	BX180323	20180901	GC180321
S15	DZY180325	SG180324	1708252	BX180312	20180901	17111412
S16	20180321	SG180323	1708251	180324	RS20180913	20170524
S17	20180325	SG180324	17110315	180321	RS20190912	20170523
S18	20180323	SG1807235	1708253	180325	RS20190914	20170521
S19	DZY180314	SG180322	17110312	BX201807094	RS20190911	20170522
S20	20180322	SG180321	1708254	180323	RS20190915	GC180312

mm, 5 μm); 流动相为 0.05% 磷酸-乙腈, 梯度洗脱: 0~10 min, 5% 乙腈; 10~15 min, 5%~10% 乙腈; 15~25 min, 10%~19% 乙腈; 25~60 min, 19%~24% 乙腈; 60~65 min, 24%~30% 乙腈; 65~70

min, 30%~75% 乙腈; 体积流量 1.0 mL/min; 柱温 30 ℃; 检测波长 280 nm; 进样量 20 μL。

2.2.2 对照品溶液的制备 取异葑草苷、葑草苷、牡荆素、甘草苷、甘草素、异甘草苷、甘草酸对照

品适量,精密称定,加80%甲醇制成制成质量浓度分别0.312、0.202、0.204、0.322、0.205、0.211、0.385 mg/mL的混合对照品溶液。

**2.2.3 供试品溶液的制备** 取ZSD冻干粉1.0 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入80%甲醇20 mL,密塞,称定质量,超声处理20 min,放冷,称定质量,用80%甲醇溶液补足减失的质量,摇匀,0.22 μm微孔滤膜滤过,取续滤液,即得。

**2.2.4 精密度考察** 取同一供试品溶液,按“2.2.1”项下色谱方法重复进样6次,记录色谱图,以16号峰(甘草苷)为参照峰,计算各共有峰与参照峰的相对保留时间均小于0.62%,相对峰面积RSD值均小于4.82%,表明仪器的精密度良好。

**2.2.5 重复性考察** 取同一批ZSD物质基准,按“2.2.3”项下方法平行制备6份供试品溶液,按“2.2.1”项下色谱条件进样检测,结果各共有峰与参照峰的相对保留时间的RSD值均小于1.28%,相对峰面积的RSD值均小于4.59%,表明该方法的重复性良好。

**2.2.6 稳定性考察** 取同一供试品溶液,分别于供试品溶液制备后0、4、8、12、24 h,按“2.2.1”项下色谱条件测定,记录色谱图,结果各共有峰与参照峰相对保留时间的RSD值均小于1.03%,相对峰面积的RSD值均小于4.70%,表明供试品溶液在室温下24 h内稳定性良好。

**2.2.7 特征图谱的建立及相似度评价** 取20批ZSD供试品溶液、混合对照品溶液、各单味药样品和阴性样品,按“2.2.1”项下色谱条件测定,记录56 min色谱图。使用“中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012版)”软件对20批物质基准进行图谱叠加得图1,并生成对照特征图谱,见图2。

将特征图谱进行特征峰归属,对应图谱见图3、4,全方共确定21个特征峰,经比对,其中峰5、9、12(异荜草苷)、13(荜草苷)、14(牡荆素)、17共6个共有峰属于君药淡竹叶;峰3、4、6、8、10、11属于臣药麦冬;峰1、2、7属于臣药半夏;峰15、16(甘草苷)、18、19(甘草素)、20(异甘草苷)、21(甘草酸)属于佐使药甘草。

20批ZSD物质基准(S1~S20)特征图谱与对照特征图谱相似度分别为0.986、0.989、0.992、0.993、0.981、0.997、0.977、0.950、0.961、0.952、0.989、0.979、0.946、0.980、0.964、0.993、0.976、0.956、0.989、0.966,均大于0.90,结果表明,20批ZSD物质基准整体相似性均较好,说明ZSD物质基准的制备工艺稳定,所建立的ZSD物质基准特征图谱可用于评价方中药味质量传递规律。

**2.2.8 饮片-物质基准特征图谱的传递分析** 将各物质基准与其对应批次的各单味饮片的特征图谱分别导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”(2012版),对相应特征峰进行标记峰匹配,计算相似度,

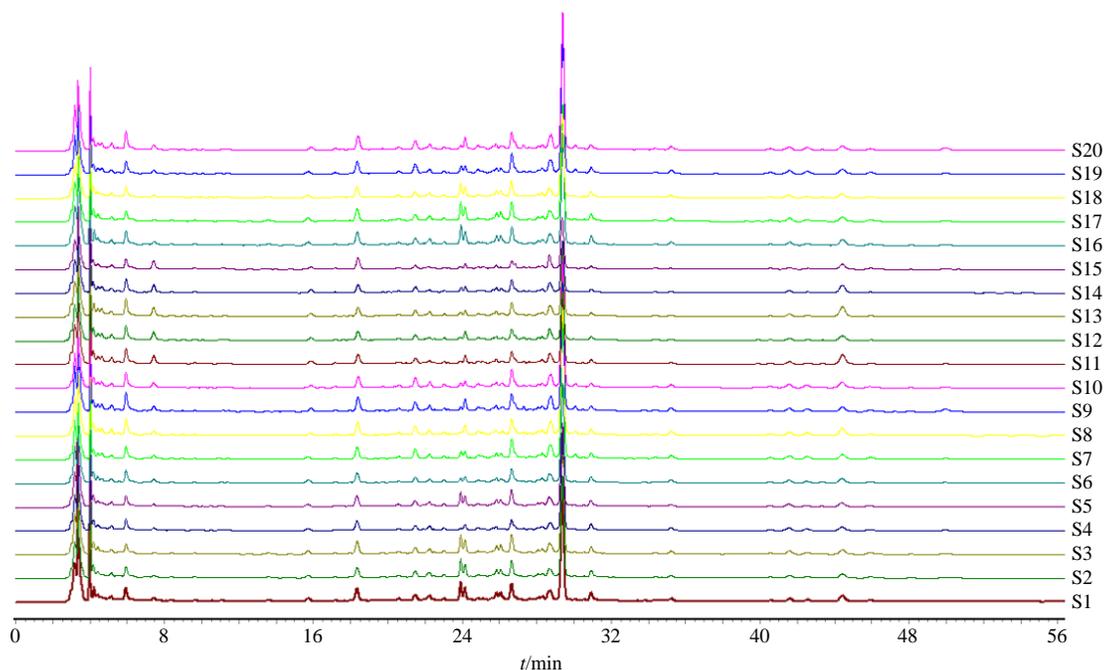


图1 20批ZSD物质基准特征图谱

Fig. 1 HPLC characteristic spectrum of substance benchmark of ZSD

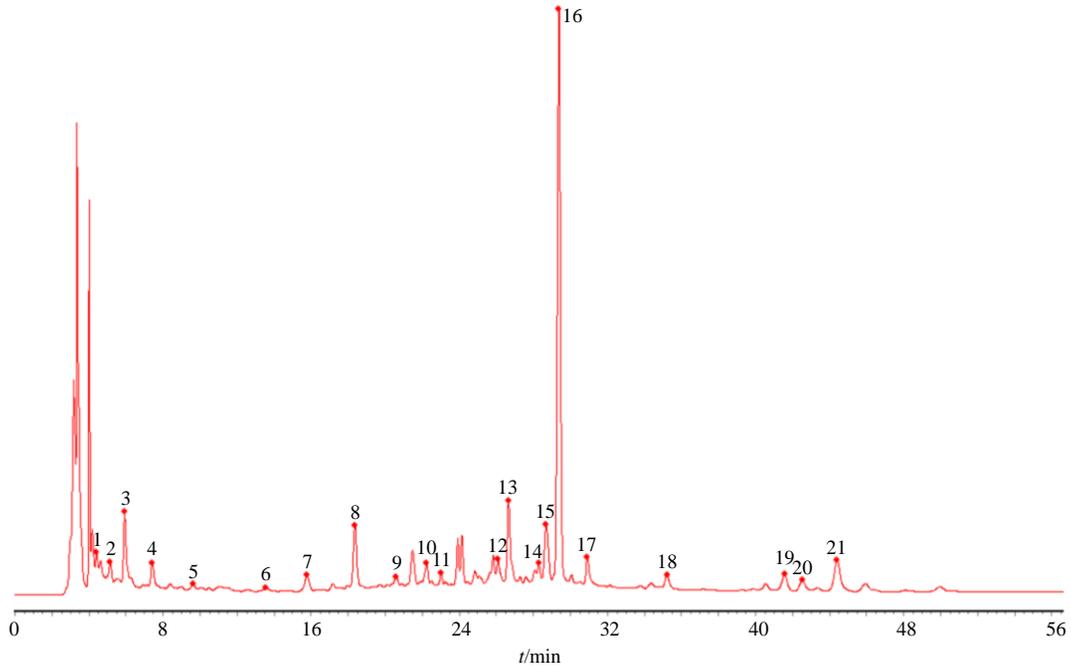


图2 ZSD 物质基准特征图谱

Fig. 2 Characteristic spectrum of substance benchmark of ZSD

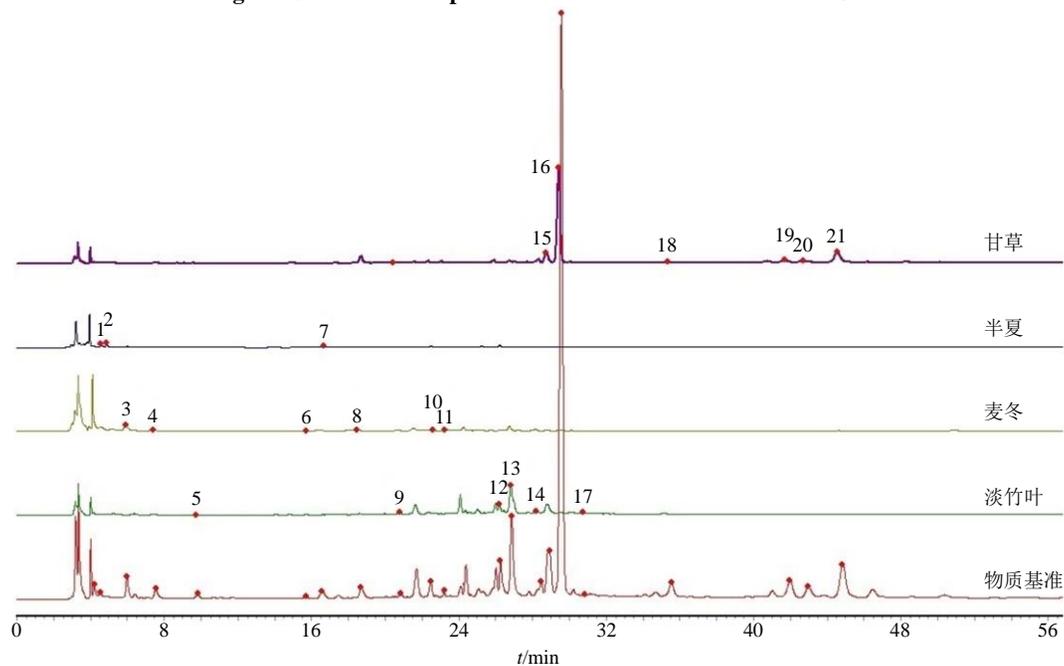


图3 ZSD 物质基准与单味药对照图谱

Fig. 3 Control spectrum of substance benchmark of ZSD and single-flavor drugs

结果淡竹叶和麦冬均大于 0.990, 麦冬和半夏均大于 0.900, 各单味药与物质基准中对应特征峰的相似度良好。结果表明, ZSD 物质基准与饮片指纹图谱间的整体相似度良好, 饮片中物质群向物质基准中传递较为稳定。

**2.2.9 主成分分析 (principal component analysis, PCA) 和偏最小二乘判别分析 (partial least squares-**

**discriminant analysis, PLS-DA)** 为分析不同批次 ZSD 物质基准间的质量差异, 以 20 批 ZSD 物质基准的 21 个共有峰面积为原始数据, 利用 SIMCA-P14.1 软件进行 PCA, 结果显示, 20 批样品可分为 4 类, 其中 S1、S3、S16、S17 为一类, S2、S15 为一类, S4~S6、S11~S14、S18 为一类, S7~S10、S19、S20 为一类, 见图 5。

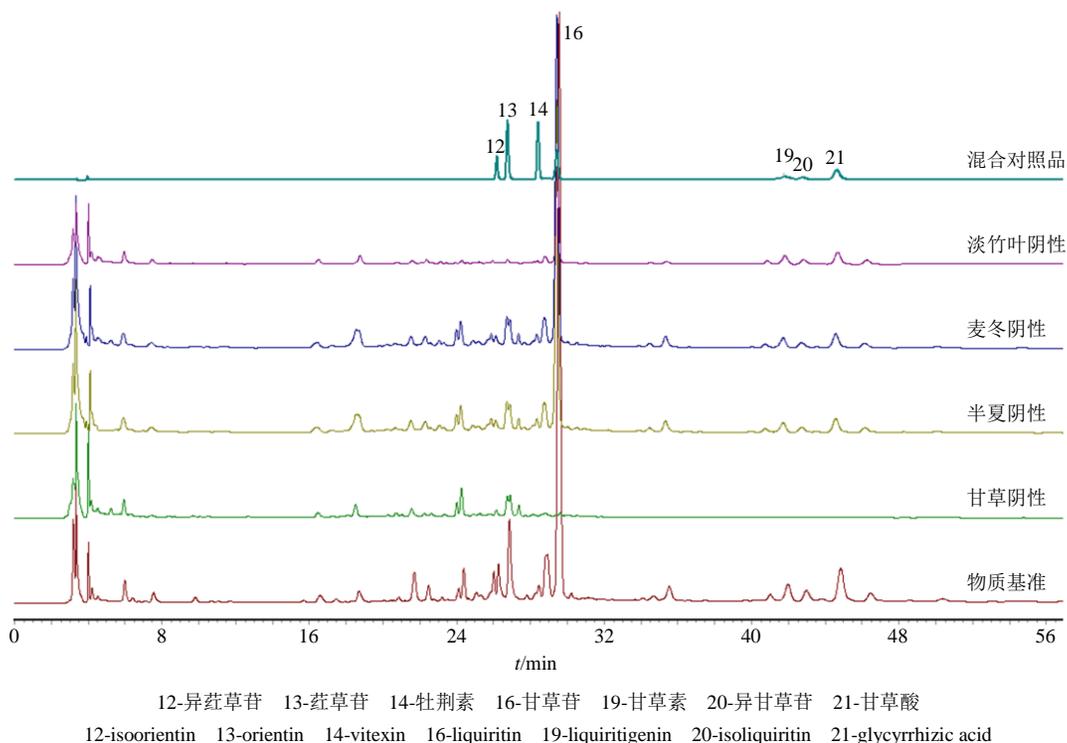


图 4 ZSD 物质基准与各单味药阴性样品对照图谱

Fig. 4 Comparison of substance benchmark of ZSD and negative samples of each single-flavor drugs

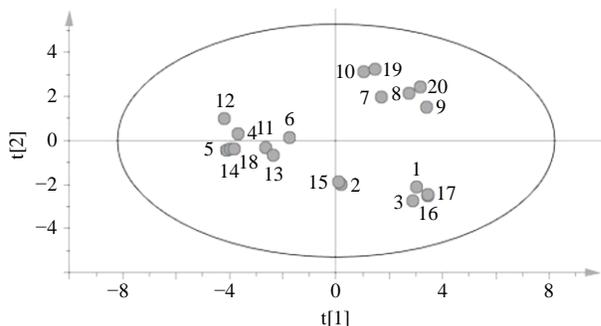


图 5 ZSD 物质基准 PCA 得分图

Fig. 5 PCA scoring of substance benchmark of ZSD

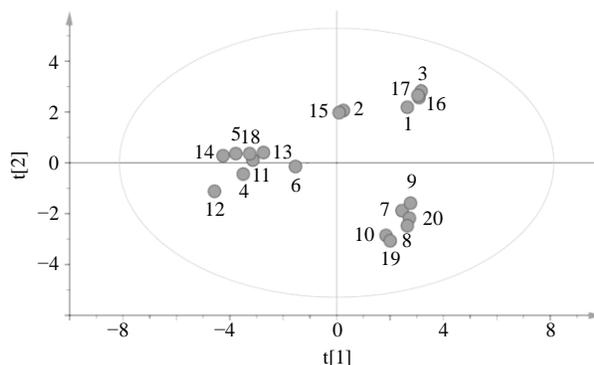


图 6 ZSD 物质基准的 PLS-DA 的得分矩阵

Fig. 6 PLS-DA score matrix of 15 batches of substance benchmark of ZSD

为进一步分析各组间差异，并找出各组间差异成分，建立 PLS-DA 模型，得分矩阵见图 6，以 PLS-DA 模型的可变投影重要度指数 (VIP) 大于 1.0 和  $t$  检验  $P$  值小于 0.05 为标准，筛选出 11 个对分组贡献较高的峰，按 VIP 大小顺序，分别为峰 17、6、7、20 (异甘草苷)、12 (异荭草苷)、16 (甘草苷)、10、19 (甘草素)、15、8、18，结果见图 7。

### 2.3 6 种指标成分含量测定

**2.3.1 指标选择** 木犀草素黄酮苷类成分为淡竹叶中主要药效成分，具有解热、抗炎、利尿、保护 DNA 免受氧化损伤的作用<sup>[20-21]</sup>。其中异荭草苷含量较高、分离度良好、转移率稳定、无阴性干扰；实验中发现半夏中主要成分在复方中存在阴性干扰，麦冬药

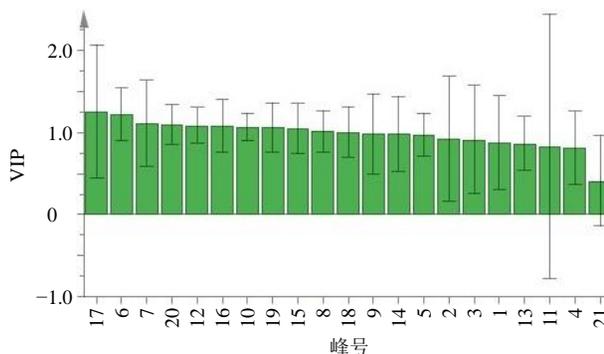


图 7 ZSD 物质基准 PLS-DA 的 VIP 值

Fig. 7 VIP values of substance benchmark of ZSD by PLS-DA

材、饮片中含量较高的皂苷类成分在方中煎煮后出现不同程度的转化,转移率偏差较大,不适合作为含量测定指标。因此,最终选择异荛草苷、甘草苷、甘草酸和人参皂苷 Rg<sub>1</sub>、Re、Rb<sub>1</sub> 为定量指标。

### 2.3.2 色谱条件

(1)异荛草苷: Thermo C<sub>18</sub> 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为 0.05%磷酸水溶液-乙腈, 梯度洗脱: 0~10 min, 5%~10%乙腈; 10~20 min, 10%乙腈; 20~30 min, 10%~13%乙腈; 30~40 min, 13%~15%乙腈; 40~60 min, 15%~16%乙腈; 60~65 min, 16%~5%乙腈; 体积流量 1.0 mL/min; 柱温 30 °C; 检测波长 360 nm; 进样量 20 μL。

(2)甘草苷、甘草酸: Thermo C<sub>18</sub> 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为 0.05%磷酸水溶液-乙腈, 梯度洗脱: 0~8 min, 19%乙腈; 8~35 min, 19%~50%乙腈; 35~36 min, 50%~100%乙腈; 36~40 min, 100%乙腈; 40~45 min, 100%~19%乙腈; 45~50 min, 19%乙腈; 检测波长 237 nm; 体积流量 1.0 mL/min; 柱温 30 °C; 进样量 10 μL。

(3)人参皂苷 Rg<sub>1</sub>、Re、Rb<sub>1</sub>: Thermo C<sub>18</sub> 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为 0.05%磷酸水溶液-乙腈, 梯度洗脱: 0~35 min, 19%乙腈; 35~55 min, 19%~29%乙腈; 55~70 min, 29%乙腈; 70~100 min, 29%~40%乙腈; 100~115 min, 40%~19%乙腈; 115~120 min, 19%乙腈; 检测波长为 203 nm; 体积流量为 1.0 mL/min; 柱温为 35 °C; 进样量 10 μL。

色谱图见图 8~10。

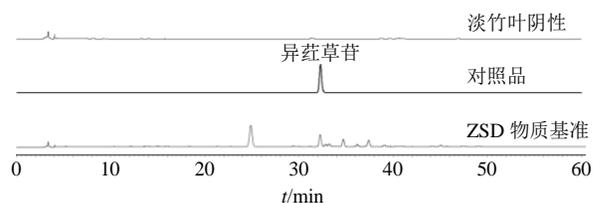


图 8 异荛草苷含量测定 HPLC 图

Fig. 8 HPLC of isorientin determination

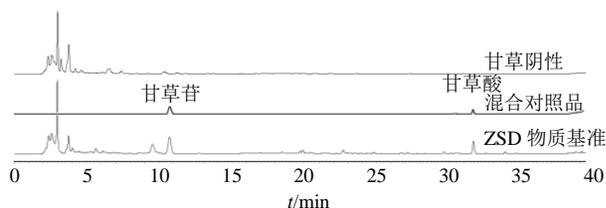


图 9 甘草苷和甘草酸含量测定 HPLC 图

Fig. 9 HPLC of liquiritin and glycyrrhizic acid determination

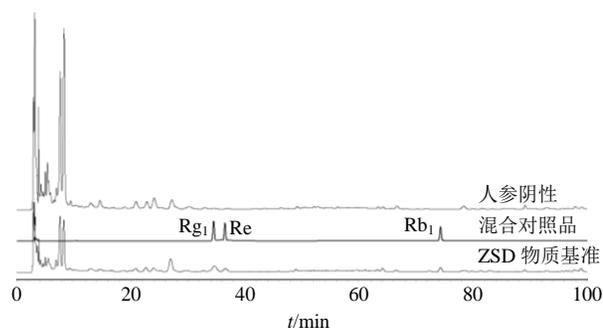


图 10 人参皂苷 Rg<sub>1</sub>、Re、Rb<sub>1</sub> 含量测定 HPLC 图

Fig. 10 HPLC of ginsenoside Rg<sub>1</sub>, Re and Rb<sub>1</sub> determination

### 2.3.3 供试品溶液的制备

(1)异荛草苷: 取 ZSD 冻干粉 1.0 g, 精密称定, 加 30% 甲醇 20 mL, 称定质量, 超声处理 20 min, 放冷, 称定质量, 加 30% 甲醇补足缺失的质量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 经 0.22 μm 微孔滤膜滤过, 即得。

(2)甘草苷、甘草酸: 取冻干粉 0.5 g, 精密称定, 精密加入 70% 乙醇 25 mL, 称定质量, 超声 20 min, 放冷, 称定质量, 加 70% 乙醇补足缺失的质量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 经 0.22 μm 微孔滤膜滤过, 即得。

(3)人参皂苷 Rg<sub>1</sub>、Re、Rb<sub>1</sub>: 取冻干粉 1.5 g, 精密称定, 加蒸馏水 20 mL, 超声处理 20 min, 加水饱和正丁醇 20 mL 萃取 2 次, 合并上层, 滤过, 精密量取续滤液 10 mL, 至蒸发皿中蒸干, 残渣加甲醇溶解至 5 mL 量瓶中, 加甲醇定容至刻度, 摇匀, 0.22 μm 微孔滤膜滤过, 即得。

**2.3.4 阴性样品的制备** 按 ZSD 制备工艺, 制备缺淡竹叶、缺人参、缺甘草的阴性样品, 并制备各阴性样品供试品溶液。

**2.3.5 对照品溶液的制备** 取异荛草苷、甘草苷、甘草酸和人参皂苷 Rg<sub>1</sub>、Re、Rb<sub>1</sub> 对照品适量, 精密称定, 加 30% 甲醇、70% 乙醇、甲醇溶解, 制得质量浓度分别为 0.271、0.072、0.079、0.057、0.046、0.049 mg/mL 的各对照品溶液。

**2.3.6 方法学考察** 对含量测定方法进行方法学考察, 结果见表 3。结果显示本实验异荛草苷、甘草苷、甘草酸和人参皂苷 Rg<sub>1</sub>、Re、Rb<sub>1</sub> 含量测定专属性、线性、精密度、重复性、稳定性及准确度均良好。

### 2.4 指标成分的转移率测定

根据公式转移率 = (物质基准中各成分含量 ×

表3 含量测定方法学考察

Table 3 Investigation on assay methodology

指标成分	线性关系			RSD/%			平均回收率/%
	回归方程	R <sup>2</sup>	线性范围/( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )	精密度	重复性	稳定性	
异荛草苷	$Y=36\ 129.424 X-6\ 824.542$	0.999 6	0.8~12.8	1.88	2.15	2.17	104.29
甘草苷	$Y=19\ 017 X+4\ 406.4$	0.999 3	28.8~86.4	3.12	1.29	1.88	101.81
甘草酸	$Y=5\ 219.1 X-10\ 108$	0.999 7	55.2~149.7	1.21	0.20	1.86	99.60
人参皂苷 Rg <sub>1</sub>	$Y=6\ 612.9 X-52\ 227.5$	0.999 2	28.4~589.0	4.07	4.50	2.61	99.48
人参皂苷 Re	$Y=6\ 501.0 X-13\ 150$	0.999 4	23.5~469.0	3.51	2.59	2.91	98.39
人参皂苷 Rb <sub>1</sub>	$Y=5\ 251.8 X-8\ 157.5$	0.999 9	24.3~485.0	2.66	2.62	3.85	98.89

物质基准质量)/(饮片中各成分含量×饮片投料量), 计算各成分转移率, 结果见表4, 结果显示, 20批物质基准异荛草苷转移率为31.94%~50.91%, 甘草苷转移率为35.77%~62.55%, 甘草酸转移率为13.09%~22.63%, 人参皂苷 Rg<sub>1</sub>转移率为57.28%~83.95%, 人参皂苷 Re转移率为42.21%~72.27%, 人参皂苷 Rb<sub>1</sub>转移率为38.19%~64.57%, 均符合相关规定(平均值的70%~130%)。

## 2.5 出膏率测定

按公式出膏率=饮片投料量/物质基准质量计算出膏率, 结果见表4。结果表明, 20批物质基准的出膏率为16.99%~27.06%, 平均出膏率为21.77%, 符合相关规定(平均值的70%~130%)。

## 3 讨论

### 3.1 物质基准的制备方法及其来源

《伤寒论》中记载 ZSD 制备方法为上七味, 以

表4 ZSD 物质基准中指标成分的含量、转移率和出膏率

Table 4 Content, transfer rate and extraction amount of index components in substance standard of ZSD

批号	异荛草苷/( $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ )		转移率/%	甘草苷/( $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ )		转移率/%	甘草酸/( $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ )		转移率/%	出膏率/%
	饮片	物质基准		饮片	物质基准		饮片	物质基准		
S1	1.883	0.167	34.97	10.101	1.263	53.17	27.153	1.260	19.73	23.40
S2	1.842	0.151	32.49	10.033	1.132	41.76	26.047	1.279	18.18	20.38
S3	1.172	0.148	49.83	10.109	1.377	50.51	26.644	1.583	22.03	20.41
S4	0.312	0.041	49.43	10.028	1.085	43.32	25.426	1.186	18.67	22.03
S5	1.452	0.128	34.78	9.964	0.959	35.77	25.615	1.074	15.59	20.46
S6	0.571	0.071	49.35	8.926	1.104	41.44	31.387	1.520	16.23	18.44
S7	0.610	0.079	50.91	8.170	1.596	61.85	30.779	1.900	19.54	17.43
S8	0.448	0.052	45.58	8.169	1.655	62.55	32.152	1.877	19.94	16.99
S9	0.604	0.052	34.20	8.940	1.504	54.80	32.185	1.876	18.98	17.93
S10	0.648	0.073	44.27	8.907	1.328	57.63	31.629	1.638	20.02	21.28
S11	0.390	0.042	38.70	15.129	1.402	40.04	32.848	1.331	17.51	23.79
S12	0.369	0.046	31.94	14.954	1.296	39.58	32.704	1.338	13.09	25.14
S13	0.520	0.056	42.65	14.833	1.634	49.33	31.929	1.390	19.50	24.65
S14	0.617	0.056	36.11	14.895	1.190	38.97	32.079	1.191	18.11	26.84
S15	1.913	0.188	38.81	10.109	1.058	51.44	26.644	1.564	15.95	27.06
S16	1.131	0.136	46.09	10.236	1.364	58.85	26.887	1.249	20.52	24.31
S17	0.653	0.052	32.25	10.092	1.291	51.81	28.865	1.613	22.63	22.29
S18	0.933	0.086	34.78	9.556	1.362	53.78	25.614	1.100	16.20	20.77
S19	0.524	0.053	38.97	8.334	1.324	61.22	32.801	1.833	21.53	21.21
S20	0.655	0.070	39.86	9.071	1.433	58.93	32.976	1.898	21.47	20.53

续表 4

批号	人参皂苷 Rg <sub>1</sub> /(mg·g <sup>-1</sup> )			人参皂苷 Re/(mg·g <sup>-1</sup> )			人参皂苷 Rb <sub>1</sub> /(mg·g <sup>-1</sup> )		
	饮片	物质基准	转移率/%	饮片	物质基准	转移率/%	饮片	物质基准	转移率/%
S1	2.498	0.470	74.30	2.104	0.281	52.74	1.593	0.167	41.47
S2	2.252	0.416	72.93	2.258	0.365	70.91	1.600	0.214	52.78
S3	2.415	0.467	76.40	1.354	0.223	64.95	1.400	0.185	49.50
S4	2.878	0.479	65.80	2.233	0.285	50.41	1.954	0.196	39.68
S5	2.902	0.472	64.25	2.275	0.296	51.48	1.964	0.190	38.19
S6	3.227	0.468	57.28	2.261	0.297	51.96	2.424	0.263	42.85
S7	3.748	0.616	64.90	2.753	0.294	42.21	2.089	0.280	45.33
S8	2.869	0.463	63.78	3.347	0.377	44.45	2.017	0.222	43.47
S9	3.225	0.602	77.41	2.278	0.324	56.18	2.380	0.385	63.96
S10	2.763	0.399	57.02	2.523	0.343	53.64	2.003	0.264	52.06
S11	2.531	0.407	63.46	1.949	0.262	53.02	2.314	0.275	46.89
S12	2.742	0.561	80.84	2.313	0.257	43.87	2.602	0.330	50.18
S13	2.553	0.521	80.64	1.944	0.356	72.27	1.894	0.335	50.36
S14	2.223	0.439	78.01	1.345	0.226	66.48	1.931	0.313	63.95
S15	2.276	0.439	76.15	1.472	0.226	60.72	1.913	0.313	64.57
S16	2.503	0.476	72.90	2.089	0.285	52.30	1.576	0.168	40.86
S17	2.439	0.470	78.04	1.361	0.226	67.25	1.399	0.191	55.29
S18	3.004	0.481	60.42	2.306	0.304	49.74	2.021	0.215	40.14
S19	2.855	0.622	83.95	2.679	0.325	46.75	2.137	0.283	51.03
S20	3.243	0.589	67.74	2.315	0.330	53.17	2.406	0.394	61.08

水一斗，煮取六升，去滓，内粳米，煮米熟，汤成去米<sup>[1]</sup>。本研究根据 ZSD 的处方剂量和煎煮方法，严格按原方描述进行煎煮，制备相应的物质基准对应实物，并参考了《中药配方颗粒质量控制与标准制定技术要求（征求意见稿）》对物质基准进行冷冻干燥，冷冻干燥过程，保证质量的稳定，对方中各药味的有效成分影响相对较少，保证化学成分的稳定性，亦方便储存。根据《申报资料（征求意见稿）》指导原则，收集各药味不少于 3 个产地（包含道地药材产地、主产区）的 20 批次药材进行研究，并炮制为对应饮片，结合复方物质基准质量研究，探索药材-饮片-物质基准的一致性传递规律。

### 3.2 特征图谱样品制备方法的考察

本实验对物质基准复溶溶剂、提取方式、提取时间和料液比进行了大量试验考察，结果显示，以 80% 甲醇为溶剂时，特征图谱各色谱峰分离效果较好；提取时间在 20 min 以上时、提取率随时间延长无明显变化；料液比为 1:20 时提取率较高；不同提取方式对物质基准特征图谱无显著影响。因此最终确定样品制备方法为取 ZSD 物质基准冻干粉 1.0 g，加入 80% 甲醇 20 mL，超声提取 20 min，放冷，

称定质量，用 80% 甲醇溶液补足缺失的质量，滤过。

### 3.3 ZSD 物质基准特征峰归属

20 批 ZSD 物质基准共确定了 21 特征峰，分别归属于淡竹叶、半夏、麦冬和甘草。本实验尚存在不足之处，方中石膏、粳米、人参 3 味药未指出特征峰。石膏中主要成分为 Ca<sup>2+</sup>和微量元素<sup>[22]</sup>，粳米中主要成分为淀粉，人参中主要成分最佳吸收波长为 203 nm，但在 203 nm 下检测时，仍未能检测出特征峰。对于色谱无法分离和因灵敏度不足而未检出的成分，课题组将采用其他方法进一步研究。

### 3.4 指标成分含量测定分析

经典名方物质基准是经典名方复方制剂的化学基准和生物效应基准。本研究在充分考虑药材来源、饮片炮制、制备工艺等影响质量的因素，系统开展药材、饮片及名方物质基准所对应实物质量研究，综合考虑并确定关键质量属性，据此建立相应的评价指标和评价方法，确定科学合理的物质基准质量标准。选择含量测定指标均建立在课题组大量实验的基础上。如 ZSD 中君药石膏，《中国药典》2020 年版中以含水硫酸钙为指标，无法采用色谱技术，研究组后期采用光谱方法对其进行质量控制。

ZSD 全方共 133 g, 其中淡竹叶、甘草、人参各 6 g, 在方中仅占 4.5%, 因此指标成分含量普遍较低。该研究测定的 20 批 ZSD 物质基准中异苾草苷为 0.041~0.188 mg/g, 甘草苷为 0.959~1.655 mg/g, 甘草酸为 1.074~1.900 mg/g, 人参皂苷 Rg<sub>1</sub> 为 0.399~0.622 mg/g, 人参皂苷 Re 为 0.223~0.377 mg/g, 人参皂苷 Rb<sub>1</sub> 为 0.167~0.394 mg/g。

#### 4 结论

物质基准作为经典名方制剂的质量基准和衡量其质量的标准参照物, 在经典名方开发中至关重要。本研究根据文献研究的结果及相关指导原则确定了 ZSD 的处方组成、煎煮方法, 按照现代研究方法, 制备了 ZSD 物质基准对应实物, 20 批 ZSD 物质基准特征图谱相似度较高, 6 个指标成分转移率、出膏率在均值±30%之间, 表明该制备工艺稳定。在含量测定和特征图谱中体现出了处方各药味的信息, 并初步确定了指标成分转移率、对应实物出膏率的要求限度, 为经典名方 ZSD 复方制剂的研究奠定基础。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

#### 参考文献

- [1] 莫雨佳, 王彦, 齐琪, 等. 经典名方散偏汤 HPLC 指纹图谱的建立及川芎的量值传递研究 [J]. 中国中药杂志, 2020, 45(3): 572-578.
- [2] 李龙生. 方剂辨证论治方法体系之建立 [D]. 哈尔滨: 黑龙江中医药大学, 2015.
- [3] 蒋甦. 竹叶石膏汤加味治疗小儿外感热病后低热不退 43 例 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2008, 10(2): 112.
- [4] 韩知. 竹叶石膏汤加减治疗流行性出血热疗效观察 [J]. 河南中医, 2003, (7): 9.
- [5] 钟仁华. 竹叶石膏汤在儿科的运用 [J]. 四川中医, 2002(11): 66.
- [6] 唐小儒. 竹叶石膏汤加减治疗发热 81 例 [J]. 中医临床研究, 2020, 12(21): 129-130.
- [7] 苗青, 曹庆, 丛晓东, 等. 竹叶石膏汤再认识 [J]. 中医学报, 2020, 35(9): 1866-1869.
- [8] 关雅戈, 罗赣, 高晓燕, 等. 经典名方桃核承气汤物质基准关键质量属性研究 [J]. 中草药, 2021, 52(8): 2267-2275.
- [9] 张倩, 韩星星, 毛春芹, 等. 中药复方制剂开发的机遇与挑战: 古代经典名方研究开发的问题分析 [J]. 中国中药杂志, 2019, 44(19): 4300-4308.
- [10] 聂欣, 庞兰, 江华娟, 等. 经典名方化肝煎物质基准特征图谱及多指标成分含量测定研究 [J]. 中草药, 2020, 51(20): 5177-5186.
- [11] 杨平, 林丹, 宋菊, 等. 日本汉方制剂及其特点与中药新药研究的思考 [J]. 中草药, 2018, 49(9): 1985-1989.
- [12] 施崇精, 李希, 冯建安, 等. 古代经典名方济川煎物质基准 HPLC 特征指纹图谱研究 [J]. 中草药, 2020, 51(15): 3930-3936.
- [13] 王彦帅, 丁浩强, 郑鑫杰, 等. 经典名方泻白散物质基准 HPLC 指纹图谱的建立及 3 种指标成分含量测定 [J]. 中草药, 2020, 51(11): 2946-2953.
- [14] 孟岩, 李焯仪, 单家明, 等. 经典名方小承气汤物质基准的 HPLC 指纹图谱分析 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(4): 130-136.
- [15] 中国药典 [M]. 一部. 2020: 9, 89, 342.
- [16] 柯雪帆, 赵章忠, 张玉萍, 等. 《伤寒论》和《金匮要略》中的药物剂量问题 [J]. 上海中医药杂志, 1983(12): 36-38.
- [17] 丁沛, 袁红霞. 从桂枝汤推测经方之剂量 [J]. 中医杂志, 2011, 52(10): 892-894.
- [18] 吴承洛. 中国度量衡史 [M]. 上海: 商务印书馆, 1957: 37, 46, 164.
- [19] 丘光明, 邱隆, 杨平. 中国科学技术史度量衡卷 [M]. 北京: 科学出版社, 2001: 249-250.
- [20] 袁珂, 薛月芹, 殷明文, 等. RP-HPLC 同时测定淡竹叶中 4 种黄酮苷的含量 [J]. 中国中药杂志, 2008, 33(19): 2215-2218.
- [21] Fan J S, Lee I J, Lin Y L. Flavone glycosides from commercially available *Lophatheri Herba* and their chromatographic fingerprinting and quantitation [J]. *J Food Drug Anal*, 2015, 23(4): 821-827.
- [22] 杨柳, 张义生, 徐惠芳, 等. 矿物类中药石膏清热作用研究进展 [J]. 中国药师, 2016, 19(10): 1943-1945.

[责任编辑 郑礼胜]