

栀子标准汤剂量值传递规律研究

窦志华^{1,3}, 许波^{2*}, 居宇峰^{1*}, 周荣荣¹, 戴莹³, 倪丽丽³, 周云中⁴

1. 南通大学附属南通第三医院, 江苏 南通 226006

2. 南通市妇幼保健院, 江苏 南通 226018

3. 南京中医药大学, 江苏 南京 210023

4. 精华制药集团股份有限公司, 江苏 南通 226005

摘要:目的 研究栀子饮片到标准汤剂的量值传递规律。方法 收集 23 批栀子饮片, 制备标准汤剂, 测定出膏率, 建立饮片和标准汤剂的 HPLC 指纹图谱, 采用三重四级杆飞行时间质谱 (triple quadrupole time-of-flight mass spectrometry, Triple-Q-TOF/MS) 技术对标定的共有峰进行成分鉴定, 对采用对照品比对确认的成分进行含量测定, 以出膏率、指纹图谱共有峰传递数及峰面积比值变化、成分转移率为指标, 分析栀子饮片到标准汤剂的量值传递规律。结果 栀子饮片指纹图谱标定共有峰 26 个, 其中 25 个传递到了标准汤剂, 共有峰个数传递率 96.15%, 26 个共有峰的成分均得到鉴定, 其中 7 个环烯醚萜类成分栀子苷、京尼平龙胆双糖苷、羟异栀子苷、山栀子苷、京尼平苷酸、去乙酰车叶草酸甲酯 (DAAME)、鸡矢藤次苷甲酯 (SME), 2 个西红花苷类成分西红花苷 I、II, 2 个黄酮类成分芦丁和异槲皮苷, 1 个单环单萜类成分 jasminoside B, 1 个有机酸类成分绿原酸共计 13 个成分采用对照品比对确认, 标准汤剂和饮片共有峰面积比值与成分转移率呈现较好的正向直线关系, 7 个环烯醚萜类成分合计平均转移率 70.90%, 其中主要成分栀子苷平均转移率 77.16%, 西红花苷 I、II、芦丁、异槲皮苷、jasminoside B、绿原酸平均转移率分别为 47.09%、39.56%、63.25%、51.95%、61.42%、75.70%, 标准汤剂平均出膏率为 28.91%。结论 阐明了栀子标准汤剂量值传递规律, 为栀子配方颗粒及含栀子经典名方制剂研究奠定了基础。

关键词: 栀子; 标准汤剂; 物质基准; 量值传递; 指纹图谱; 共有峰传递数; 转移率; 出膏率; 栀子苷; 京尼平龙胆双糖苷; 羟异栀子苷; 山栀子苷; 京尼平苷酸; 去乙酰车叶草酸甲酯; 鸡矢藤次苷甲酯; 西红花苷; 芦丁; 异槲皮苷; jasminoside B; 绿原酸

中图分类号: R283.6

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2021)23-7162-14

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2021.23.010

Study on law of quality value transmitting of *Gardeniae Fructus* standard decoction

DOU Zhi-hua^{1,3}, XU Bo², JU Yu-feng¹, ZHOU Rong-rong¹, DAI Ying³, NI Li-li³, ZHOU Yun-zhong⁴

1. Third Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226006, China

2. Nantong Maternal and Children Health Care Service Hospital, Nantong 226018, China

3. Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China

4. Jinghua Pharmaceutical Group Co., Ltd., Nantong 226005, China

Abstract: Objective To study the law of quality value transmitting from Zhizi (*Gardeniae Fructus*, GF) to GF standard decoction.

Methods Twenty-three batches of GF were collected and their standard decoction were prepared. HPLC fingerprint of GF and GF standard decoction were established and the components of common peaks in fingerprint were identified by triple quadrupole time-of-flight mass spectrometry (Triple-Q-TOF/MS). The contents of components confirmed by reference substance were determined. Taking the extraction ratio, common peaks transfer number, peak area ratio, and component transfer rate as indexes, the law of quality value

收稿日期: 2021-06-19

基金项目: 江苏省重点研发计划 (社会发展) 项目 (BE2018674); 江苏省中医药科技计划项目 (YB201836)

作者简介: 窦志华, 博士, 副教授, 主任中医师, 硕士生导师, 主要从事中药药效物质及质量评价研究。

Tel: (0513)85116018 E-mail: zhihuadou@163.com

*通信作者: 许波, 女, 硕士, 中医师, 主要从事中药药效物质及质量评价研究。Tel: 15895976127 E-mail: Xu15895976127@163.com

居宇峰, 女, 学士, 副主任药师, 主要从事中药检验与质量分析研究。Tel: 15996670800 E-mail: 245753038@qq.com

transmitting from GF to GF standard decoction was analyzed. **Results** There were 26 common peaks in the fingerprint of GF, 25 of which were transferred to the standard decoction. and the transfer rate of the common peaks number was 96.15%. The components of 26 common peaks were identified, among them, seven iridoids of geniposide, gentiobioside, gardenoside, shanzhiside, geniposidic acid, deacetyl asperulosidic acid methyl ester (DAAME), and scandoside methyl ester (SME), two crocins of crocin I and crocin II, two flavonoids of rutin and isoquercitrin, one monocyclic monoterpenoid of jasminoside B, and one organic acid of chlorogenic acid, a total of 13 components were confirmed by reference substance. The ratio of the common peaks area of GF standard decoction to that of GF showed a good positive linear relationship with the components transfer rate. The average transfer rate of seven iridoids was 70.90%, and that of geniposide was 77.16%. The average transfer rates of crocin I, crocin II, rutin, isoquercitrin, jasminoside B, chlorogenic acid were 47.09%, 39.56%, 63.25%, 51.95%, 61.42%, and 75.70%, respectively. The average extraction rate of standard decoction was 28.91 %. **Conclusion** The value transfer rule of GF standard decoction was clarified, this study laid a foundation for the research of GF dispensing granule formula granules and classic prescription containing GF.

Key words: *Gardeniae Fructus* (GF); standard decoction; material reference; quality value transmitting; fingerprint; transfer rate; extraction rate; geniposide; gentiobioside; gardenoside; shanzhiside; geniposidic acid; deacetyl asperulosidic acid methyl ester; scandoside methyl ester; crocin; rutin; isoquercitrin; jasminoside B; chlorogenic acid

标准汤剂同时是单味中药配方颗粒和古代经典名方复方制剂的物质基准^[1-2]。国家药品监督管理局发布的《中药配方颗粒质量控制与标准制定技术要求》中明确指出：标准汤剂是衡量中药配方颗粒是否与其相对应的中药饮片临床汤剂基本一致的物质基准；中药配方颗粒生产工艺及质量标准研究应以标准汤剂为对照，以出膏率、主要成分的含量及含量转移率、指纹图谱或特征图谱等关键质量属性的值为指标，对制备过程中的量质（量值）传递进行全面研究，说明各项质量指标设定的合理性^[3]。

梔子为茜草科梔子属植物梔子 *Gardenia jasminoides* Ellis 的成熟果实^[4]。梔子所含的成分主要包括以梔子苷为代表的环烯醚萜类和以西红花苷 I 为代表的西红花苷类以及单环单萜类、黄酮类、有机酸类等^[5]。胡坪等^[6]采用加热回流的方法制备了 15 批梔子标准汤剂，建立了标准汤剂特征图谱，标定了 6 个特征峰，采用液相色谱-质谱联用技术分别推测 3 个为环烯醚萜类、1 个为西红花苷类、2 个为有机酸类，测定了饮片和标准汤剂中梔子苷的含量，以梔子苷转移率、特征峰传递数、出膏率为指标考察了标准汤剂的量值传递规律。徐姣等^[7]也采用加热回流的方法制备了 15 批梔子标准汤剂，建立了 238、440 nm 2 个波长下标准汤剂 UPLC 指纹图谱，标定共有峰 13 个，采用液质联用技术鉴定了其中的 12 个，包括 7 个环烯醚萜类、3 个单环单萜类、2 个西红花苷类，其中梔子苷采用对照品比对确认，测定了饮片和标准汤剂中梔子苷的含量并计算了转移率。以上研究中指纹图谱标定的共有峰偏少，且仅测定并计算了其中 1 个成分的含量和转移率，没有揭示梔子标准汤剂中各类代表性成分的量值传递

规律。鉴于此，本研究收集了 23 批梔子饮片，制备了标准汤剂，建立了饮片和标准汤剂 HPLC 指纹图谱，饮片指纹图谱标定共有峰 26 个，采用三重四级杆飞行时间质谱（triple quadrupole time-of-flight mass spectrometry, Triple-Q-TOF/MS）技术对标定的共有峰进行了成分鉴定，对采用照品比对确认的环烯醚萜类成分梔子苷、京尼平龙胆双糖苷、羟异梔子苷、山梔苷、京尼平苷酸、去乙酰车叶草酸甲酯（DAAME）和鸡矢藤次苷甲酯（SME），西红花苷类成分西红花苷 I、II，黄酮类成分芦丁和异槲皮苷，单环单萜类成分 jasminoside B 及有机酸类成分绿原酸共计 13 个成分进行了含量测定并计算了转移率，计算了其他成分的峰面积比值，以此为基础进行了梔子饮片到标准汤剂的量值传递规律研究，为梔子配方颗粒及含梔子经典名方复方制剂研究奠定了基础。

1 仪器与试药

Waters Alliance 高效液相色谱系统，配有 e2695 分离单元、2998 PAD 检测器、Empower 色谱工作站，美国 Waters 公司。UFLC-Triple-Q-TOF/MS 系统，包括 Shimadzu Prominence UFLC 液相色谱仪和 AB SCIEX Triple TOF 4600 质谱仪，前者配有 SIL-20AC XR 自动进样器、LC-20AD XR 泵、SPD-M20A 二极管阵列检测器，日本岛津公司；后者配有配有电喷雾离子源、Q-TOF-MS/MS 检测器、1.6 版 PeakView 质谱分析软件，美国 AB SCIEX 公司。BT 25S 型电子天平，最大量程 21 g，德国 Sartorius 公司。SK5200H 超声波清洗器，功率 200 W，频率 53 kHz，上海科导超声仪器有限公司。

对照品西红花苷 I（批号 111588-201202，质量

分数 $\geq 91.1\%$)、西红花苷 II (批号 111589-201103, 质量分数 $\geq 91.9\%$)、栀子苷 (批号 110749-201919, 质量分数 $\geq 97.1\%$)、绿原酸 (批号 110753-101817, 质量分数 $\geq 96.8\%$)、DAAME (批号 111786-201602, 质量分数 $\geq 94.3\%$)、异槲皮苷 (批号 111809-201804, 质量分数 $\geq 97.2\%$) 购自中国食品药品检定研究院; 对照品山栀子苷 (批号 CHB161228, 质量分数 $\geq 98\%$)、京尼平苷酸 (批号 CHB161101, 质量分数 $\geq 98\%$)、京尼平龙胆双糖苷 (批号 CHB190130, 质量分数 $\geq 98\%$)、羟异栀子苷 (批号 CHB180124, 质量分数 $\geq 98\%$)、SME (批号 CHB160931, 质量分数 $\geq 98\%$)、芦丁 (批号 CHB170303, 质量分数 $\geq 98\%$)、jasminoside B (批号 CHB180326, 质量分数 $\geq 98\%$) 购自成都克洛玛生物科技有限公司。甲醇, 色谱纯, 购自国药集团化学试剂有限公司; 乙腈, 色谱纯, 美国 TEDIA 公司; 娃哈哈饮用纯净水购自杭州娃哈哈集团有限公司。

23 批栀子饮片中, 除 YP1 和 YP23 直接购自中

药饮片生产企业外, 其余 21 批购自国内不同大中型中医院, 其中 7 批 (YP10~YP16) 为小包装, 其余 16 批为普通包装, 样品来源具有一定市场流通代表性, 所有饮片均有质量检验合格报告, 经南通市食品药品监督检验中心龚旭东主任中药师鉴定, 为茜草科栀子属植物栀子 *G. jasminoides* Ellis 的成熟果实, 具体信息见表 1。

2 方法与结果

2.1 标准汤剂及溶液制备

2.1.1 标准汤剂制备 称取栀子饮片 100 g, 置 2000 mL 烧杯内, 煎煮 2 次, 第 1 次煎煮前加 1600 mL 水浸泡 30 min, 煮沸后保持微沸 30 min, 趁热用 4 层纱布滤出药液, 药渣加 1200 mL 水, 煮沸后微沸保持 20 min, 趁热用 4 层纱布滤出药液, 合并 2 次煎煮药液, 50 °C 真空浓缩至 500 mL, 即得栀子标准汤剂, 与表 1 中饮片编号对应, 23 批标准汤剂编号为 TJ1~TJ23。

2.1.2 饮片供试品溶液制备 将栀子饮片粉碎成细

表 1 栀子饮片信息

Table 1 Information of GF

编号	药材产地	饮片生产企业	饮片批号	饮片供货医院
YP1	江西	南通三越中药饮片有限公司	171122	—
YP2	湖南	盐城市中药饮片有限公司	2018011502	盐城市中医院
YP3	江西	亳州市佰世信中药饮片有限公司	170601	徐州市中医院
YP4	江西	亳州市永刚饮片厂有限公司	171117	张家港市中医医院
YP5	江西	安徽广和中药股份有限公司	170808	宿迁市中医院
YP6	江西	亳州市谯城区万事祥中药饮片有限公司	180101	淮安市中医院
YP7	江西	苏州市天灵中药饮片有限公司	171222	苏州市中医医院
YP8	江西	安徽协和成药业饮片有限公司	17110403	连云港市中医院
YP9	江西	亳州市永刚饮片厂有限公司	171021	南京浦口中医院
YP10	江西	安徽普仁中药饮片有限公司	1709063	辽宁中医药大学附属医院
YP11	江西	安徽惠隆中药饮片有限公司	20170901	扬州市中医院
YP12	江西	安徽普仁中药饮片有限公司	1711073	河南中医药大学第一附属医院
YP13	江西	南通三越中药饮片有限公司	180131	泰州市中医院
YP14	江西	苏州市天灵中药饮片有限公司	171005010	常熟市中医院
YP15	浙江	铜陵禾田中药饮片股份有限公司	20170413	昆山市中医院
YP16	江西	南通三越中药饮片有限公司	180115	南通市中医院
YP17	江西	杭州振德中药饮片有限公司	20170701	江苏省中西医结合医院
YP18	江西	河北仁心药业有限公司	22417008	烟台中医医院
YP19	江西	安徽美誉中药饮片有限公司	111611027	长春中医药大学附属医院
YP20	江西	马鞍山井泉中药饮片有限公司	180301	南京中医药大学附属医院
YP21	江西	江西江中中药饮片有限公司	171016	江西中医药大学附属医院
YP22	湖南	湖南省南国药都中药饮片有限公司	170801	湖南中医药大学第一附属医院
YP23	江西	南通三越中药饮片有限公司	180402	—

粉, 过四号药筛, 精密称定 0.1 g 左右, 置 50 mL 量瓶内, 加 48 mL 50% 甲醇, 置超声波清洗器内超声 30 min, 放冷后加 50% 甲醇至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液即得。液相和液质进样前分别用 0.45、0.22 μm 微孔滤膜滤过。

2.1.3 标准汤剂供试品溶液制备 精密量取“2.1.1”项下制备的标准汤剂 1 mL, 其余同“2.1.2”项下方法操作。

2.1.4 含量测定用混合对照品溶液制备 精密称取栀子苷 38.06 mg、京尼平龙胆双糖苷 15.02 mg、西红花苷 I 8.10 mg、山梔苷 5.15 mg, 分别置 10 mL 量瓶中, 羟异栀子苷 7.02 mg、jasminoside B 5.50 mg、西红花苷 II 5.00 mg, 分别置 25 mL 量瓶中, DAAME 5.18 mg、SME 5.14 mg、芦丁 5.05 mg、京尼平苷酸 5.00 mg, 分别置 50 mL 量瓶中, 异槲皮苷 5.80 mg 置 100 mL 量瓶中, 分别加 50% 甲醇至刻度, 摇匀, 分别配成对照品贮备液; 精密称取绿原酸 19.23 mg 置 5 mL 量瓶中, 加 50% 甲醇至刻度, 摇匀, 精密吸取 2 mL 置 200 mL 量瓶中, 加 50% 甲醇至刻度, 摇匀, 配成绿原酸贮备液。分别精密吸取以上 13 种对照品贮备液适量, 置 20 mL 量瓶中, 加 50% 甲醇至刻度, 配制成栀子苷、京尼平龙胆双糖苷、羟异栀子苷、山梔苷、京尼平苷酸、DAAME、SME、西红花苷 I、II、芦丁、异槲皮苷、jasminoside B、绿原酸质量浓度为 380.6、187.75、16.848、25.75、6.0、8.806、7.196、20.25、15.0、6.565、2.9、12.1、3.0768 $\mu\text{g/mL}$ 含量测定用混合对照品溶液, 取该混合对照品溶液用 50% 的甲醇分别稀释 2、2.5、5 倍, 配制系列质量浓度含量测定用混合对照品溶液。

2.1.5 成分鉴定用混合对照品溶液制备 分别精密吸取“2.1.4”项下配制的 13 个对照品贮备液适量, 加 50% 甲醇配制成质量浓度为 1.02~133.21 $\mu\text{g/mL}$ 的成分鉴定用混合对照品溶液。

2.2 指纹图谱的建立及分析

2.2.1 色谱条件^[8] Symmetry C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm) 色谱柱; 流动相为乙腈-0.1% 磷酸水溶液, 梯度洗脱: 0~5 min, 2% 乙腈; 5~10 min, 2%~5% 乙腈; 10~45 min, 5%~15% 乙腈; 45~80 min, 15%~40% 乙腈; 80~82 min, 40%~98% 乙腈; 体积流量 1 mL/min; 柱温 30 $^{\circ}\text{C}$; 检测波长 254 nm。

2.2.2 质谱条件^[8] 流动相为甲醇-0.1% 甲酸水溶液, 梯度条件同“2.2.1”项。DuoSpray 离子源, ESI 电离方式, 负离子模式检测。气帘气 (CUR) 241.316

kPa (35 psi), 雾化气 (Gas 1) 448.159 kPa (65 psi), 加热气 (Gas 2) 413.685 kPa (60 psi), 离子源喷射电压 4500 V, 离子源温度 550 $^{\circ}\text{C}$ 。采用 TOFMS-IDA-10MS/MS 信息采集方式获取质谱信息, 参数设置如下: 碰撞能量 (CE) -10 eV, 一级质谱解簇电压 (DP) -80 V, TOF-MS 累计时间 250 ms, 母离子扫描范围 m/z 115~2000; 二级质谱碰撞能量 (CE) -35 eV, 碰撞能量扩展 (CES) 15 eV, TOF-MS 累计时间 100 ms, 扫描范围 m/z 50~2000。

2.2.3 精密度试验 取 TJ1 供试品溶液, 按样品测定方法连续测定 6 次, 记录各共有峰峰面积及保留时间, 以 10 号峰 (栀子苷) 为参照峰, 计算其他共有峰与参照峰的相对峰面积 (RPA) 和相对保留时间 (RRT) 的 RSD, 结果显示, RPA 的 RSD $\leq$ 4.09%, RRT 的 RSD $\leq$ 0.09%, 说明仪器精密度良好。

2.2.4 稳定性试验 取 TJ1 供试品溶液 30 μL , 分别于制备后 0、6、12、18、24、36 h 测定, 同“2.2.3”项下方法分析。结果显示, RPA 的 RSD $\leq$ 4.93%, RRT 的 RSD $\leq$ 0.45%, 说明供试品溶液在制备后 36 h 内稳定。

2.2.5 重复性试验 精密量取 1 mL TJ1 样品, 按“2.1.3”项下方法平行制备 6 份供试品溶液, 按照“2.2.3”项下方法测定并分析。结果显示, RPA 的 RSD $\leq$ 4.32%, RRT 的 RSD $\leq$ 0.65%, 说明样品的处理方法重复性较好。

2.2.6 指纹图谱测定及对照指纹图谱的建立 取 YP1~YP23、TJ1~TJ23 供试品溶液, 按“2.2.1”项下色谱条件用 Waters Alliance 高效液相色谱系统自动进样测定, 进样量均为 30 μL , 将 YP1~YP23 的图谱以 AIA 格式依次导入国家药典委员会颁布的《中药色谱指纹图谱相似度评价系统软件 (2012 版)》, 以 YP1 图谱为参照谱, 使用中位数进行自动匹配, 加以多点校正, 生成饮片的对照指纹图谱, 标定共有峰 26 个, 采用同样方法, 以 TJ1 图谱为参照谱, 生成标准汤剂的对照指纹图谱, 标定共有峰 25 个。见图 1。

2.2.7 指纹图谱的相似度评价 采用《中药色谱指纹图谱相似度评价系统软件 (2012 版)》分别对栀子饮片和标准汤剂指纹图谱进行相似度计算, 结果饮片 YP1~YP23 的相似度分别为 0.999、0.994、0.999、0.995、0.999、0.992、0.998、0.999、0.999、0.997、0.990、0.998、0.998、0.997、0.995、0.993、0.984、0.999、0.994、0.998、0.999、0.998、0.974,

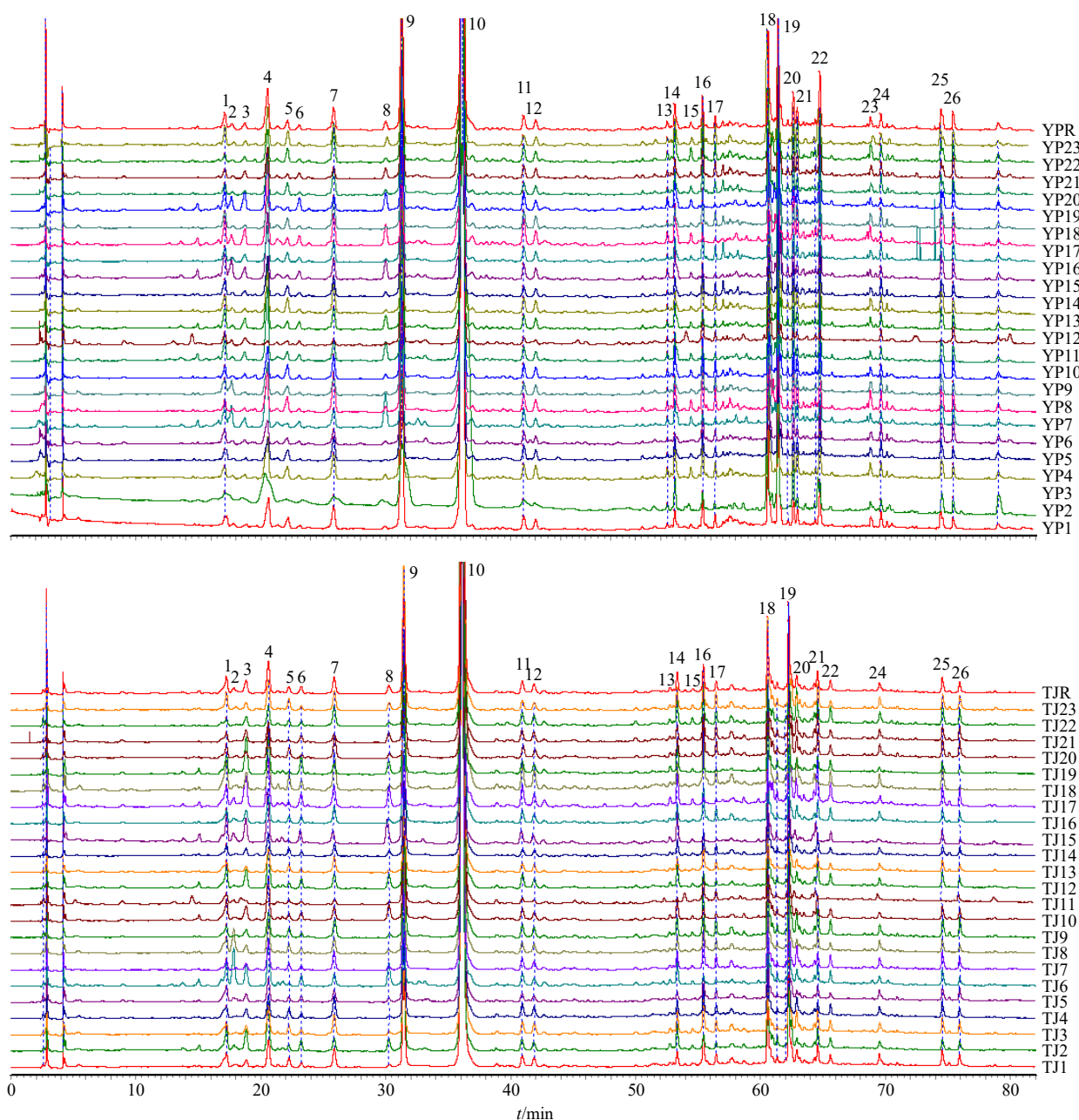


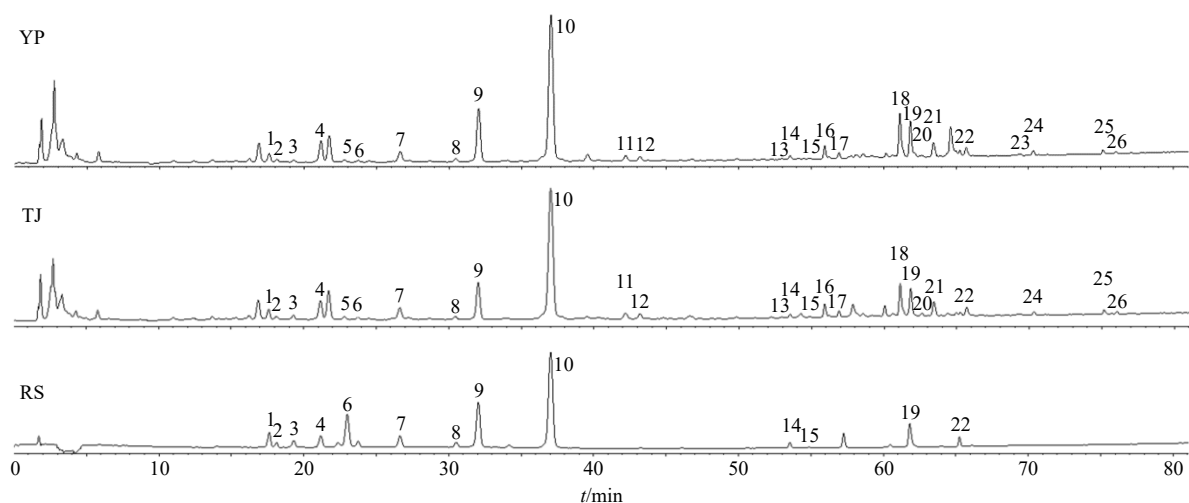
图 1 栀子饮片 (YP)、标准汤剂 (TJ) 的 HPLC 指纹图谱及对照指纹图谱 (R)

Fig. 1 HPLC fingerprint of GF (YP), GF standard decoction (TJ) and reference fingerprint (R)

标准汤剂 TJ1~TJ23 的相似度分别为 1.000、0.999、0.999、1.000、0.999、0.995、0.999、0.999、0.999、0.999、0.996、1.000、1.000、0.999、0.997、0.999、0.992、0.999、0.994、1.000、0.999、0.998、0.999，饮片和标准汤剂的相似度均>0.9，提示标准汤剂的制备工艺稳定、可行，饮片质量较好地传递到了标准汤剂。

2.2.8 共有峰的鉴定 分别取 YP1、TJ1 供试品溶液及成分鉴定用混合对照品溶液，按“2.2.2”项下条件用 UFLC-Triple-Q-TOF/MS 系统测定，进样量

均为 20 μ L，PeakView1.6 质谱分析软件提取总离子流图（图 2），首先根据 13 个对照品的质谱数据总结裂解规律，发现一级质谱主要为准分子离子[M-H]⁻和/或加合离子[M+Cl]⁻，根据一级质谱数据得到精确的化合物相对分子质量，根据二级质谱碎片离子信息，通过与对照品或文献数据比对，结合在线检索化合物数据库 PubChem (<http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>)，对饮片和标准汤剂共有峰进行成分鉴定，结果见表 2、3。由表 2 可知，栀子饮片指纹图谱 26 个共有峰的成分均得到鉴定或推测，包括环烯



1-山柽苷 2-京尼平苷酸 3-DAAME 4-羟异梔子苷 6-SME 7-jasminoside B 8-绿原酸 9-京尼平龙胆双糖苷 10-梔子苷 14-芦丁 15-异槲皮苷 19-西红花苷 I 22-西红花苷 II, 图 3 同

1-shanzhiside 2-geniposidic acid 3-DAAME 4-gardenoside 6-SME 7-jasminoside B 8-chlorogenic acid 9-gentiobioside 10-geniposide 14-rutin 15-isoquercitrin 19-crocin I 22-crocin II, same as figure 3

图 2 梔子饮片 (YP)、标准汤剂 (TJ) 及混合对照品 (RS) 总离子流图 (负离子模式)

Fig. 2 TIC of GF (YP), GF standard decoction (TJ) and mixed reference substances (RS) (negative ion mode)

表 2 梔子饮片指纹图谱共有峰 Triple-Q-TOF/MS 鉴定结果

Table 2 Identification of common peaks in GF fingerprint by Triple-Q-TOF/MS

峰号	t_R/min	分子式	MS			MS/MS ^c	化合物名称	化合物种类	文献
			实际值	理论值	误差/($\times 10^{-6}$)				
1	17.542	C ₁₆ H ₂₄ O ₁₁	427.101 7 ^a	427.101 3	1.0	391.127 3, 89.026 1, 167.072 1, 185.082 5	山柽苷 ^d	环烯醚萜类	
2	18.078	C ₁₆ H ₂₂ O ₁₀	409.091 1 ^a	409.090 7	1.0	373.116 3, 149.061 9, 211.061 7, 123.046 6	京尼平苷酸 ^d	环烯醚萜类	
3	19.248	C ₁₇ H ₂₄ O ₁₁	439.102 3 ^a	439.101 3	2.4	439.103 3, 241.068 4, 101.024 0	DAAME ^d	环烯醚萜类	
4	21.181	C ₁₇ H ₂₄ O ₁₁	439.102 3 ^a	439.101 3	2.4	439.108 8, 241.073 3, 403.129 5	羟异梔子苷 ^d	环烯醚萜类	
5	22.668	C ₁₆ H ₂₄ O ₉	395.111 4 ^a	395.111 4	-0.1	359.135 3, 197.082 2	ixoroside	环烯醚萜类	5,9-10
6	23.743	C ₁₇ H ₂₄ O ₁₁	439.102 5 ^a	439.101 3	2.8	439.105 6, 403.133 2, 241.070 4	SME ^d	环烯醚萜类	
7	26.666	C ₁₆ H ₂₆ O ₈	381.133 2 ^a	381.132 2	2.7	381.133 2	jasminoside B ^d	单环单萜类	
8	30.424	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	389.064 8 ^a	389.064 5	0.5	191.056 4, 353.088 5	绿原酸 ^d	有机酸类	
9	31.971	C ₂₃ H ₃₄ O ₁₅	585.161 9 ^a	585.159 2	4.7	585.164 4, 225.077 8, 549.186 7, 123.046 2	京尼平龙胆双糖苷 ^d	环烯醚萜类	
10	36.838	C ₁₇ H ₂₄ O ₁₀	423.107 6 ^a	423.106 3	3.0	423.109 5, 225.076 0, 387.128 8	梔子苷 ^d	环烯醚萜类	
11	42.163	C ₁₆ H ₂₆ O ₇	365.138 7 ^a	365.137 3	4.0	365.140 5	jasminoside A	单环单萜类	10
12	43.103	C ₁₆ H ₂₆ O ₇	365.138 6 ^a	365.137 3	3.7	365.138 5	epijasminoside A	单环单萜类	5,10
13	52.969	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	609.147 9 ^b	609.146 1	2.9	609.184 8, 301.037 2	芦丁的同分异构体	黄酮类	
14	53.572	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	609.148 2 ^b	609.146 1	3.4	609.152 5, 301.035 9	芦丁 ^d	黄酮类	
15	54.842	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	463.089 3 ^b	463.088 2	2.4	463.096 7, 301.039 1, 271.026 0	异槲皮苷 ^d	黄酮类	
16	55.917	C ₂₇ H ₃₄ O ₁₅	597.185 5 ^b	597.182 5	5.0	597.192 3, 391.128 5, 223.063 3, 185.082 2	6'-反式芥子酰基山柽苷	环烯醚萜类	
17	56.908	C ₂₇ H ₃₂ O ₁₄	615.151 1 ^a	615.148 6	4.1	579.177 0, 325.092 7, 223.061 2, 123.045 1	6'-反式芥子酰基梔子新苷	环烯醚萜类	5,9-10
18	61.039	C ₃₂ H ₄₀ O ₁₇	695.220 8 ^b	695.219 3	2.2	695.226 1, 469.138 7, 163.039 1, 367.106 9	6"-O-对香豆酰基京尼平龙胆双糖苷	环烯醚萜类	5,9-10
19	61.814	C ₄₄ H ₆₄ O ₂₄	1 011.351 9 ^a	1 011.348 2	3.7	1 011.358 5, 651.272 6, 327.162 1, 283.172 2	西红花苷 I ^d	西红花苷类	
20	62.671	C ₄₄ H ₆₄ O ₂₄	1 011.354 9 ^a	1 011.348 2	6.7	1 011.359 7, 651.268 7, 327.157 2	cis-西红花苷 I	西红花苷类	11
21	63.359	C ₃₁ H ₃₂ O ₁₆	659.164 7 ^b	659.161 8	4.5	497.1325, 659.1672, 335.0767, 191.0555	3,4-二咖啡酰-5-O-(3-羟基-3-甲基戊二酰)奎宁酸	有机酸类	5,9-10
22	65.278	C ₃₈ H ₅₄ O ₁₉	849.297 8 ^a	849.295 3	2.9	327.1615, 283.1723, 651.2701, 849.3028	西红花苷 II ^d	西红花苷类	
23	69.310	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	301.035 5 ^b	301.035 4	0.4	-	槲皮素	黄酮类	5,10

续表 2

峰号	<i>t_R</i> /min	分子式	MS			MS/MS ^c	化合物名称	化合物种类	文献
			实际值	理论值	误差/($\times 10^{-6}$)				
24	70.334	C ₃₂ H ₄₀ O ₁₆	715.202 4 ^a	715.202 0	1.9	715.2062, 679.2266, 225.0769	6"- <i>O</i> - <i>trans</i> -cinnamoylgenipin gentiobioside	环烯醚萜类	5,9
25	75.160	C ₄₄ H ₆₄ O ₂₄	1 011.350 9 ^a	1 011.348 2	2.7	1 011.3556, 651.2711, 327.1611, 975.3767	13- <i>cis</i> -crocin I	西红花苷类	5,9
26	76.016	C ₃₂ H ₄₄ O ₁₄	687.244 1 ^a	687.242 5	2.3	327.1610, 651.2703, 283.1707, 239.1816	西红花苷 III	西红花苷类	5,9

a-准分子离子为[M+Cl]⁻ b-准分子离子为[M-H]⁻ c-根据丰度排列前 4 个 d-通过对照品比对确认, 表 3 同
a-quasi-molecular ion is [M+Cl]⁻ b-quasi-molecular ion is [M-H]⁻ c-the first four are arranged according to abundance d-confirmed by comparison with reference substances, same as table 3

表 3 栀子标准汤剂指纹图谱共有峰 Triple-Q-TOF/MS 鉴定结果

Table 3 Identification of common peaks in GF standard decoction fingerprint by Triple-Q-TOF/MS

峰号	<i>t_R</i> /min	分子式	MS			MS/MS ^c	化合物名称	化合物种类	文献
			实际值	理论值	误差/($\times 10^{-6}$)				
1	17.498	C ₁₆ H ₂₄ O ₁₁	427.103 0 ^a	427.101 3	4.1	391.128 3, 167.073 6, 485.083 8, 229.047 2	山梔苷 ^d	环烯醚萜类	
2	18.078	C ₁₆ H ₂₂ O ₁₀	409.092 0 ^a	409.090 7	3.2	373.115 9, 211.062 3, 149.061 6, 167.073 9	京尼平苷酸 ^d	环烯醚萜类	
3	19.248	C ₁₇ H ₂₄ O ₁₁	439.102 5 ^a	439.101 3	2.8	439.104 7, 241.072 3, 403.145 8	DAAME ^d	环烯醚萜类	
4	21.011	C ₁₇ H ₂₄ O ₁₁	439.102 4 ^a	439.101 3	2.6	439.1061, 403.1257, 241.0732	羟异梔子苷 ^d	环烯醚萜类	
5	22.780	C ₁₆ H ₂₄ O ₉	395.112 6 ^a	395.111 4	3.0	197.0829, 359.1369	ixoroside	环烯醚萜类	5,9-10
6	23.579	C ₁₇ H ₂₄ O ₁₁	439.102 6 ^a	439.101 3	3.0	439.1046	SME ^d	环烯醚萜类	
7	26.613	C ₁₆ H ₂₆ O ₈	381.133 3 ^a	381.132 2	3.0	381.1361, 179.0559	jasminoside B ^d	单环单萜类	
8	30.424	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	353.088 9 ^b	353.087 8	3.1	191.0580	绿原酸 ^d	有机酸类	
9	31.666	C ₂₃ H ₃₄ O ₁₅	585.162 0 ^a	585.159 2	4.8	585.1650, 549.1875, 225.0779, 387.1317	京尼平龙胆双糖苷 ^d	环烯醚萜类	
10	36.469	C ₁₇ H ₂₄ O ₁₀	423.108 2 ^a	423.106 3	4.4	205.0525 223.0637 387.1265, 101.0261	梔子苷 ^d	环烯醚萜类	
11	42.034	C ₁₆ H ₂₆ O ₇	365.139 1 ^a	365.137 3	5.1	365.1403	jasminoside A	单环单萜类	10
12	42.947	C ₁₆ H ₂₆ O ₇	365.139 3 ^a	365.137 3	5.6	365.1414	jasminoside E	单环单萜类	5,10
13	52.898	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	609.150 7 ^b	609.146 1	7.9	609.1529, 301.0380	芦丁的同分异构体	黄酮类	
14	53.420	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	609.151 0 ^b	609.146 1	8.0	609.1551, 301.0381	芦丁 ^d	黄酮类	
15	54.767	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	463.091 0 ^b	463.088 2	6.0	301.0370, 463.0926, 271.0244	异槲皮苷 ^d	黄酮类	
16	55.763	C ₂₇ H ₃₄ O ₁₅	597.186 5 ^b	597.182 5	6.7	597.1920, 265.0756, 391.1287	6'-反式芥子酰基山梔苷	环烯醚萜类	
17	56.756	C ₂₇ H ₃₂ O ₁₄	615.153 3 ^a	615.148 6	7.6	579.1790, 223.0635, 367.1064, 325.0943	6'-反式芥子酰基梔子新苷	环烯醚萜类	5,9-10
18	61.107	C ₃₂ H ₄₀ O ₁₇	695.224 7 ^b	695.219 3	7.8	695.2302, 469.1403, 123.0465, 225.0786	6"- <i>O</i> -对香豆酰基京尼平龙胆双糖苷	环烯醚萜类	5,9-10
19	61.805	C ₄₄ H ₆₄ O ₂₄	1 011.360 1 ^a	1 011.348 2	11.6	327.1641, 283.1740, 651.2768, 239.1822	西红花苷 I ^d	西红花苷类	
20	62.648	C ₄₄ H ₆₄ O ₂₄	1 011.359 3 ^a	1 011.348 2	11.0	1 011.3653, 651.2756, 327.1644, 283.1728	<i>cis</i> -西红花苷 I	西红花苷类	11
21	63.219	C ₃₁ H ₃₂ O ₁₆	659.168 0 ^b	659.161 8	9.5	497.1360, 191.0577, 659.1705, 335.0831	3,4-二咖啡酰-5- <i>O</i> -(3-羟基-3-甲基戊二酰)奎宁酸	有机酸类	5,9-10
22	65.246	C ₃₈ H ₅₄ O ₁₉	849.300 8 ^a	849.295 3	6.4	849.3040, 651.2719, 327.1621, 489.2170	西红花苷 II ^d	西红花苷类	
24	70.263	C ₃₂ H ₄₀ O ₁₆	715.207 7 ^a	715.202 0	9.3	715.2114, 225.0778, 679.2348	6"- <i>O</i> - <i>trans</i> -cinnamoylgenipin gentiobioside	环烯醚萜类	5,9
25	75.117	C ₄₄ H ₆₄ O ₂₄	1 011.358 7 ^a	1 011.348 2	10.4	1 011.3635, 651.2761, 327.1638, 975.3867	13- <i>cis</i> -crocin I	西红花苷类	5,9
26	76.133	C ₃₂ H ₄₄ O ₁₄	687.249 0 ^a	687.242 5	9.4	327.1632, 651.2747, 283.1732, 239.1820	西红花苷 III	西红花苷类	5,9

醚萜类成分 12 个、西红花苷类成分 5 个、单环单萜类成分 3 个、黄酮类成分 4 个、有机酸类成分 2 个, 其中 7 个环烯醚萜类成分山梔苷(峰 1)、京尼平苷酸(峰 2)、DAAME(峰 3)、羟异梔子苷(峰 4)、SME(峰 6)、京尼平龙胆双糖苷(峰 9)和梔子苷(峰 10), 1 个单环单萜类成分 jasminoside B(峰 7), 1 个有机酸类成分绿原酸(峰 8), 2 个黄酮类成分

芦丁(峰 14)和异槲皮苷(峰 15)及 2 个西红花苷类成分西红花苷 I(峰 19)和西红花苷 II(峰 22)共计 13 个成分采用对照品比对确认, 11 个成分(峰 5、11、12、17、18、20、21、23~26)的质谱数据基本与文献记载一致。

峰 13 的质谱数据与峰 14(芦丁)相同, 故推测为其同分异构体。峰 16 的一级质谱给出 *m/z*

597.182 5, 根据精确相对分子质量, 为准分子离子 $[M-H]^-$, 分子式为 $C_{27}H_{34}O_{15}$ 。Li 等^[10]最近也采用 Triple-Q-TOF/MS 技术检测到梔子中存在分子式与此一致的成分, 并推测其结构为五乙酰梔子苷 (penta-acetyl geniposide), 但五乙酰梔子苷是以梔子苷为母体衍生化的化合物, 并不存在于自然界中^[12-13]。峰 16 的二级质谱中出现 m/z 为 597.192 3、391.128 5、229.073 4、223.063 3、205.052 1、185.082 5、167.071 7 的碎片离子, m/z 223.063 3、205.052 1 分别对应芥子酸的准分子离子 $[M-H]^-$ 和该碎片丢失 1 分子水, 均为芥子酰基的特征碎片^[14], 提示结构中存在芥子酰基。主要碎片 m/z 391.128 5 对应准分子离子 m/z 597.192 3 丢失芥子酰基, 与山梔苷的准分子离子一致。 m/z 229.073 4、185.082 5、167.071 7 分别为 m/z 391.128 5 连续丢失 1 分子葡萄糖基、1 分子 CO_2 、1 分子 H_2O 水产生的碎片, 其裂解方式与山梔苷基

本相同, 基本证实了峰 16 的主要骨架为山梔苷, 参照峰 17 暂时将其命名为 6'-反式芥子酰基山梔苷, 在 PubChem 也检索到了自然界存在该化合物。

2.2.9 指纹图谱量值传递分析 由表 2、3 可见, 标准汤剂指纹图谱与饮片指纹图谱对应编号的共有峰为同一成分, 即饮片指纹图谱 26 个共有峰中除 23 号峰外的 25 个传递到了标准汤剂, 共有峰个数传递率为 96.15%。记录“2.2.6”项下测定的各批次饮片和标准汤剂指纹图谱共有峰峰面积, 将峰面积按进样的供试液中含生药量进行量化 (峰面积/生药量), 得量化峰面积, 计算标准汤剂与饮片相应批次 12 个 (13 个进行含量测定成分除外) 量化峰面积比值 (标准汤剂量化峰面积/饮片量化峰面积), 结果见表 4。

2.3 13 个成分含量测定方法的建立及转移率分析

2.3.1 色谱条件 梔子苷、京尼平龙胆双糖苷、羟

表 4 梔子标准汤剂与饮片的量化共有峰面积比值

Table 4 Ratio of quantitative common peaks area of GF standard decoction to that of GF

TJ/YP	共有峰峰面积比值/%											
编号	峰 5	峰 11	峰 12	峰 13	峰 16	峰 17	峰 18	峰 20	峰 21	峰 24	峰 25	峰 26
1	61.54	71.00	80.34	116.70	73.51	73.13	59.60	53.51	99.23	63.75	95.67	92.16
2	76.13	91.44	79.04	72.86	62.41	63.68	50.48	41.86	91.71	40.14	78.30	43.65
3	47.69	73.55	73.26	52.77	82.29	78.55	35.79	53.62	69.94	70.85	63.68	76.05
4	63.19	87.04	94.71	88.91	98.10	84.92	39.30	105.93	69.76	63.23	69.70	73.34
5	54.84	56.56	59.29	43.09	59.39	65.55	62.44	32.24	98.33	59.21	41.93	40.78
6	48.74	54.33	76.11	45.91	61.21	61.10	48.09	17.28	79.57	73.38	47.31	26.90
7	36.72	79.23	73.32	52.07	59.40	56.02	35.21	54.45	36.14	39.11	97.33	61.98
8	66.40	73.95	84.69	120.55	61.15	65.40	64.67	35.42	106.02	61.29	45.88	51.43
9	53.32	86.90	78.60	76.37	108.65	98.40	48.85	76.77	119.69	89.76	81.04	81.78
10	58.36	69.45	71.76	73.75	82.66	71.53	54.91	18.63	161.71	47.15	43.63	51.17
11	56.38	85.50	53.09	55.28	82.70	106.99	50.26	88.27	104.57	46.81	47.86	28.02
12	47.56	89.86	81.83	89.16	71.80	68.14	50.24	36.09	103.69	52.57	53.81	49.39
13	39.93	51.69	55.16	61.04	50.20	48.76	47.51	35.21	66.83	37.91	30.35	45.41
14	59.02	61.71	64.78	99.74	78.03	68.66	51.29	29.41	157.40	38.01	40.86	42.86
15	62.20	68.29	62.50	68.69	56.86	81.26	76.36	35.32	115.34	21.59	36.49	20.45
16	58.39	78.00	86.38	84.88	103.47	106.28	69.46	55.73	104.69	64.37	48.98	46.06
17	50.85	63.85	80.76	79.68	77.84	63.82	67.11	43.26	91.47	74.15	53.27	36.15
18	61.61	62.88	66.82	121.09	74.45	65.86	60.80	89.96	33.38	24.46	44.74	15.41
19	45.43	59.25	83.57	73.18	46.63	37.23	59.74	19.36	81.68	88.59	73.89	23.06
20	74.96	86.07	91.86	104.22	119.21	128.85	57.58	68.14	129.78	66.43	121.60	91.78
21	49.59	84.09	91.44	53.86	100.92	94.20	41.39	59.74	115.42	61.35	99.02	48.22
22	29.16	73.02	84.32	60.34	86.18	76.07	29.23	115.59	46.67	90.75	110.04	69.14
23	60.82	74.92	74.41	78.31	74.77	68.73	69.31	33.20	127.07	234.68	64.69	74.29
平均值	54.91	73.16	76.00	77.06	77.03	75.35	53.46	52.13	96.09	65.63	64.79	51.72

异槲子苷、山柰苷、京尼平苷酸、DAAME、SME、芦丁、异槲皮苷、jasminoside B 检测波长 254 nm, 绿原酸检测波长 324 nm, 西红花苷 I、II 检测波长

430 nm, 其余条件同“2.2.1”项。该条件下的栀子饮片、标准汤剂及混合对照品色谱图见图 3。

2.3.2 线性关系考察 分别自动吸取系列质量浓度

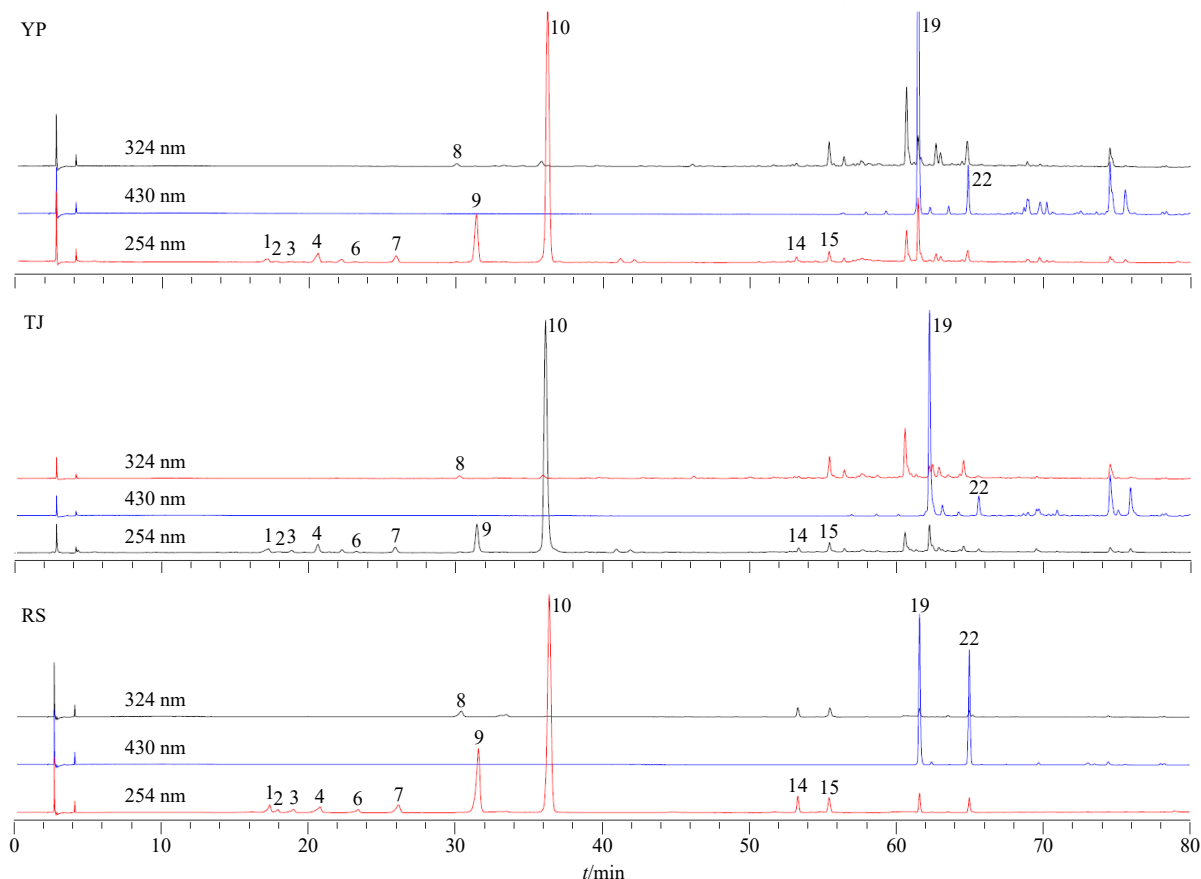


图 3 栀子饮片 (YP)、标准汤剂 (TJ) 及混合对照品 (RS) 的 HPLC 图

Fig. 3 HPLC of GF (YP), GF standard decoction (TJ), and mixed reference substances (RS)

含量测定用混合对照品溶液各 10 μ L, 含量测定用混合对照品溶液工作液 10、20、30、40 μ L 进样测定, 以峰面积 Y 对进样量 X (μ g) 进行回归处理, 得 13 个成分的回归方程、线性范围及相关系数: 栀子苷回归方程 $Y=747\,003X-87\,595$, $r=0.999\,9$, 线性范围 380.6~15 224 ng; 京尼平龙胆双糖苷回归方程 $Y=460\,903X-29\,690$, $r=0.999\,9$, 线性范围 187.75~7 510 ng; 羟异栀子苷回归方程 $Y=505\,911X-4\,023$, $r=0.999\,9$, 线性范围 16.848~673.92 ng; 山柰苷回归方程 $Y=410\,648X-1\,693$, $r=0.999\,9$, 线性范围 25.75~1 030 ng; 京尼平苷酸回归方程 $Y=677\,529X+70$, $r=0.999\,0$, 线性范围 6~240 ng; DAAME 回归方程 $Y=604\,646X-2641$, $r=0.999\,9$, 线性范围 8.806~352.24 ng; SME 回归方程 $Y=615\,319X-1\,754$, $r=0.999\,9$, 线性范围 7.196~287.84 ng; 西红花苷 I 回归方程 $Y=4\,453\,939X-28\,830$, $r=0.999\,9$, 线性范围 20.25~810 ng; 西红花

苷 II 回归方程 $Y=4\,595\,457X-22\,267$, $r=0.999\,9$, 线性范围 15~600 ng; 芦丁回归方程 $Y=1\,072\,984X-3\,309$, $r=0.999\,9$, 线性范围 6.57~262.6 ng; 异槲皮苷回归方程 $Y=1\,973\,154X-1826$, $r=0.999\,9$, 线性范围 2.9~116 ng; jasminoside B 回归方程 $Y=990\,194X-7\,393$, $r=0.999\,8$, 线性范围 12.1~484 ng; 绿原酸回归方程 $Y=2\,758\,041X-4\,090$, $r=0.999\,9$, 线性范围 3.076 8~123.072 ng。

2.3.3 精密度试验 自动吸取含量测定用混合对照品溶液 30 μ L, 连续测定 6 次, 记录栀子苷、京尼平龙胆双糖苷、羟异栀子苷、山柰苷、京尼平苷酸、DAAME、SME、西红花苷 I、II、芦丁、异槲皮苷、jasminoside B、绿原酸的峰面积积分值, 计算 RSD, 结果分别为 0.06%、0.15%、0.34%、0.59%、0.77%、0.36%、0.45%、0.21%、0.14%、0.12%、0.55%、0.96%、1.14%, 表明仪器精密度良好。

2.3.4 稳定性试验 提取“2.2.4”项下测定的 254、

324、430 nm 色谱图,按“2.3.1”项下设定的波长记录“2.3.3”项中 13 个成分的峰面积积分值,计算 RSD,结果分别为 0.13%、1.44%、0.99%、1.48%、1.10%、1.33%、3.66%、0.13%、4.11%、1.00%、4.06%、1.18%、0.65%,表明供试品溶液在 36 h 内稳定。

2.3.5 重复性试验 按“2.3.4”项下方法提取“2.2.5”项下测定的色谱图,记录测定波长下各成分的峰面积积分值,代入回归方程计算 6 次测定的各成分的平均质量分数及其 RSD,结果“2.3.3”项中 13 个成分的平均质量分数分别为 9.502、1.657、0.437、0.368、0.034、0.095、0.053、0.811、0.075、0.080、0.011、0.156、0.028 mg/mL, RSD 分别为 3.91%、2.84%、4.20%、3.69%、3.25%、3.54%、4.26%、3.87%、4.04%、3.17%、4.76%、4.53%、4.41%,表明样品处理方法的重复性较好。

2.3.6 加样回收率试验 精密量取每份 0.5 mL TJ1,

置 50 mL 量瓶内,分别精密添加适量体积的 13 个对照品贮备液(各成分添加量约等于样品中的量),其余按“2.1.3”项下方法操作,平行制备 6 份供试品溶液,按样品测定方法测定,计算“2.3.3”项中 13 个成分的加样回收率及其 RSD。结果平均回收率分别为 101.84%、96.67%、101.61%、98.27%、97.16%、103.75%、103.12%、95.22%、103.89%、95.30%、95.66%、96.46%、98.48%, RSD 分别为 2.44%、1.57%、2.28%、3.36%、4.62%、3.55%、4.32%、1.39%、3.15%、4.67%、4.75%、3.47%、2.80%。

2.3.7 样品含量测定、转移率计算及分析 分别提取“2.2.6”项下测定的 YP1~YP23 和 TJ1~TJ23 的 254、324、430 nm 色谱图,同“2.3.4”项下方法记录 13 个成分的峰面积积分值,代入回归方程计算饮片和标准汤剂中各成分的含量,并计算转移率^[1-2]。结果见表 5~7。

表 5 栀子饮片中 13 个成分含量测定结果

Table 5 Results of determination of 13 components in GF

样品 编号	质量分数/(mg·g ⁻¹)												
	栀子苷	京尼平龙胆双糖苷	羟异栀子苷	山栀子苷	京尼平苷酸	DAAME	SME	西红花苷 I	西红花苷 II	芦丁	异槲皮苷	jasminoside B	绿原酸
YP1	56.213	17.265	3.324	1.623	0.278	0.276	0.241	7.730	0.876	0.399	0.062	1.185	0.180
YP2	53.582	15.117	6.823	2.192	0.531	0.919	0.444	6.707	1.154	1.093	0.094	0.974	0.878
YP3	55.566	15.954	4.705	1.451	0.163	0.404	0.343	7.798	1.134	1.258	0.167	1.391	0.288
YP4	42.836	19.188	2.524	1.518	0.096	0.280	0.206	6.935	0.969	0.685	0.070	1.248	0.094
YP5	58.444	15.464	2.739	1.670	0.179	0.422	0.305	7.106	0.730	0.419	0.071	0.775	0.222
YP6	45.269	8.864	6.436	2.494	1.466	0.800	0.554	9.035	1.575	0.904	0.135	0.949	1.898
YP7	53.429	21.570	3.991	0.863	0.193	0.383	0.212	10.025	1.566	0.993	0.165	1.738	0.272
YP8	63.487	16.387	3.654	1.918	1.032	0.332	0.285	8.183	0.813	0.624	0.096	0.949	0.228
YP9	57.635	18.977	3.111	1.223	0.154	0.363	0.284	6.869	1.246	0.966	0.125	1.166	0.265
YP10	50.785	16.027	6.849	2.625	0.252	0.711	0.434	7.544	1.164	0.969	0.106	0.972	0.987
YP11	47.976	18.225	0.416	1.324	0.366	0.456	0.198	0.530	0.109	0.168	0.031	0.330	0.112
YP12	47.623	16.360	6.314	2.264	0.241	0.869	0.552	7.435	1.052	0.898	0.099	1.087	0.737
YP13	67.086	14.212	3.720	2.027	0.326	0.322	0.203	9.575	1.084	0.769	0.064	1.386	0.197
YP14	56.682	20.954	3.687	1.744	0.235	0.274	0.184	5.583	0.906	0.668	0.052	0.948	0.280
YP15	46.781	13.002	6.431	3.403	1.461	0.913	0.622	9.230	1.302	1.142	0.104	0.958	1.060
YP16	57.206	20.168	3.294	1.412	0.400	0.619	0.391	6.058	1.249	0.762	0.074	1.024	0.192
YP17	46.643	6.320	8.066	2.661	0.696	1.294	0.677	11.148	1.980	1.417	0.164	1.361	1.109
YP18	57.531	14.736	2.874	1.861	0.159	0.332	0.260	10.129	1.197	0.678	0.057	1.378	0.142
YP19	37.989	10.044	5.793	2.637	0.990	1.631	0.914	6.905	1.294	1.273	0.139	0.677	0.948
YP20	53.069	20.918	3.387	1.155	0.170	0.307	0.288	6.894	0.869	0.768	0.109	1.303	0.301
YP21	50.723	16.744	2.694	0.944	0.125	0.562	0.405	5.732	0.774	0.672	0.084	0.563	0.569
YP22	53.559	16.816	2.984	0.841	0.126	0.339	0.306	9.502	1.363	1.188	0.220	1.598	0.267
YP23	63.556	17.384	3.446	1.906	0.224	0.362	0.197	6.981	0.764	0.862	0.123	1.166	0.497
平均值	53.203	16.117	4.229	1.816	0.429	0.573	0.370	7.549	1.094	0.851	0.105	1.092	0.510

表 6 栀子标准汤剂中 13 个成分含量测定结果

Table 6 Results of determination of 13 components in GF standard decoction

样品 编号	质量浓度/(mg·mL ⁻¹)												
	栀子苷	京尼平龙 胆双糖苷	羟异 栀子苷	山栀子 苷	京尼平 苷酸	DAAME	SME	西红花 苷 I	西红花 苷 II	芦丁	异槲 皮苷	jasminoside B	绿原酸
TJ1	9.176	1.617	0.418	0.353	0.033	0.091	0.050	0.790	0.073	0.079	0.010	0.156	0.027
TJ2	8.262	1.808	0.777	0.504	0.028	0.260	0.125	0.537	0.077	0.136	0.012	0.113	0.113
TJ3	8.893	1.101	0.485	0.331	0.021	0.114	0.059	0.821	0.095	0.119	0.016	0.175	0.033
TJ4	8.144	1.472	0.385	0.342	0.021	0.113	0.060	0.819	0.089	0.082	0.005	0.181	0.019
TJ5	8.786	1.829	0.366	0.397	0.020	0.098	0.060	0.592	0.045	0.048	0.007	0.100	0.034
TJ6	6.197	1.082	0.724	0.481	0.491	0.289	0.125	0.760	0.104	0.143	0.009	0.094	0.216
TJ7	7.293	1.484	0.466	0.144	0.019	0.089	0.045	0.910	0.110	0.093	0.009	0.156	0.034
TJ8	9.833	1.819	0.511	0.451	0.324	0.121	0.061	0.661	0.057	0.086	0.013	0.132	0.037
TJ9	9.966	1.628	0.447	0.253	0.023	0.102	0.054	0.900	0.127	0.106	0.012	0.160	0.033
TJ10	7.755	1.492	0.754	0.479	0.029	0.207	0.098	0.636	0.078	0.116	0.010	0.115	0.143
TJ11	8.260	2.032	0.051	0.261	0.037	0.079	0.037	0.053	0.013	0.018	0.006	0.051	0.019
TJ12	8.214	1.489	0.672	0.436	0.033	0.243	0.115	0.768	0.100	0.124	0.009	0.122	0.131
TJ13	7.420	1.182	0.375	0.262	0.029	0.070	0.039	0.592	0.055	0.069	0.008	0.131	0.023
TJ14	6.858	1.584	0.353	0.199	0.022	0.096	0.046	0.427	0.054	0.080	0.006	0.098	0.047
TJ15	6.585	1.530	0.766	0.481	0.124	0.336	0.138	0.688	0.091	0.166	0.012	0.090	0.212
TJ16	9.152	2.015	0.417	0.248	0.052	0.160	0.079	0.642	0.111	0.092	0.009	0.140	0.033
TJ17	7.168	0.748	0.851	0.447	0.137	0.521	0.177	0.965	0.150	0.182	0.015	0.174	0.181
TJ18	9.010	1.363	0.405	0.256	0.051	0.126	0.063	0.767	0.072	0.100	0.006	0.170	0.024
TJ19	5.080	1.344	0.650	0.393	0.031	0.478	0.212	0.550	0.093	0.167	0.011	0.091	0.124
TJ20	9.604	1.775	0.488	0.250	0.022	0.086	0.047	0.909	0.083	0.098	0.010	0.187	0.046
TJ21	8.711	1.477	0.328	0.192	0.011	0.161	0.089	0.630	0.070	0.086	0.007	0.072	0.091
TJ22	7.707	1.114	0.321	0.152	0.013	0.118	0.054	1.011	0.134	0.138	0.019	0.163	0.036
TJ23	10.176	2.383	0.491	0.306	0.026	0.091	0.047	0.650	0.063	0.118	0.012	0.163	0.071
平均值	8.185	1.538	0.500	0.331	0.069	0.176	0.082	0.699	0.085	0.106	0.010	0.132	0.075

2.4 标准汤剂出膏率检测及分析

各量取 23 批标准汤剂 50 mL, 置蒸发皿中(事先恒定质量), 水浴蒸干后置烘箱内 105 ℃干燥, 质量恒定后取出, 置干燥器内冷却, 称定质量, 计算出膏率, 重复 3 次取平均值。结果显示, 标准汤剂出膏率在 18.76%~38.01%, 均值为 28.91%, 与文献报道的基本一致^[6-7]。标准汤剂的出膏率指标类似于饮片质量标准中的水溶性浸出物, 考察的是饮片加水煎煮过程可溶出的物质, 考察出膏率允许的范围也是作为衡量饮片的质量稳定程度的指标。出膏率允许的范围为均值加减 3 倍标准偏差(或均值的 70%~130%)^[3], 均值加减 3 倍标准偏差为 14.35%~43.47%, 均值的 70%~130%为 20.24%~37.58%, 23 批标准汤剂的出膏率均在均值加减 3 倍

标准偏差范围内, 但 TJ5 和 TJ10 低于均值的 70%, TJ19 高于均值的 130%。见表 8。

3 讨论

3.1 关于栀子饮片提取溶剂和标准汤剂供试品溶液制备方法

本课题组前期考察了栀子不同提取方法(超声和浸泡后超声)、提取溶剂(水、30%甲醇、50%甲醇、70%甲醇、100%甲醇、30%乙醇、50%乙醇、70%乙醇、100%乙醇)、料液比(1:125、1:250、1:500、1:1000、1:2000)、提取时间(20、30、40、50、60 min)对实验结果的影响。结果表明, 直接超声和浸泡后超声无明显区别, 500 倍量 50%甲醇超声 30 min 及更长时间可将栀子中 13 种成分提取完全^[15], 因此最终确定了“2.1.2”项下的栀子饮

表 7 栀子标准汤剂中 13 个成分转移率及出膏率

Table 7 Transfer rate of 13 components and extraction rate of GF standard decoction

样品 编号	转移率/%													出膏 率/%
	栀子苷	京尼平龙 胆双糖苷	羟异 栀子苷	山栀子 苷	京尼平 苷酸	DAAME	SME	西红花 苷 I	西红花 苷 II	芦丁	异槲 皮苷	jasminoside B	绿原酸	
TJ1	81.62	46.81	62.92	108.73	59.04	165.57	103.62	51.08	41.90	98.68	81.87	65.85	75.49	24.67
TJ2	77.09	59.79	56.95	114.98	26.34	141.34	140.32	40.03	33.29	62.46	62.44	57.79	64.29	35.39
TJ3	80.02	34.51	51.57	114.16	65.67	141.35	85.58	52.65	42.01	47.29	48.16	62.95	57.59	28.94
TJ4	95.06	38.35	76.22	112.70	109.07	202.04	146.03	59.07	45.79	59.56	36.25	72.49	102.59	27.31
TJ5	75.17	59.15	66.75	118.84	54.67	116.09	98.43	41.65	31.04	57.43	45.93	64.27	76.39	18.76
TJ6	68.45	61.05	56.26	96.47	167.31	180.67	112.63	42.04	33.09	79.19	33.40	49.44	56.77	22.46
TJ7	68.25	34.40	58.38	83.55	49.83	115.57	105.74	45.40	35.09	46.94	26.02	44.89	62.38	23.16
TJ8	77.44	55.50	69.89	117.67	156.88	182.67	106.74	40.42	35.08	68.88	67.36	69.81	80.98	28.58
TJ9	86.46	42.90	71.81	103.24	73.73	140.99	95.30	65.53	51.08	55.04	47.67	68.43	62.96	28.87
TJ10	76.35	46.54	55.08	91.15	58.20	145.32	112.73	42.14	33.55	59.97	46.13	59.35	72.58	20.08
TJ11	86.09	55.75	61.96	98.52	51.03	86.26	93.77	50.40	57.51	53.96	93.74	77.42	84.06	31.86
TJ12	86.23	45.49	53.18	96.28	68.09	139.61	104.41	51.62	47.59	68.96	45.49	56.08	89.24	31.42
TJ13	55.30	41.59	50.44	64.65	45.27	107.95	96.28	30.93	25.24	45.09	63.68	47.34	59.41	25.69
TJ14	60.49	37.81	47.84	57.08	46.37	175.85	125.54	38.27	29.99	60.18	55.02	51.65	83.82	29.85
TJ15	70.38	58.82	59.55	70.66	42.32	184.09	111.10	37.25	34.83	72.82	59.63	46.88	99.95	32.21
TJ16	80.00	49.96	63.35	87.87	64.53	128.86	100.74	52.99	44.60	60.23	61.34	68.18	86.60	29.96
TJ17	76.84	59.17	52.77	84.00	98.60	201.18	130.51	43.28	37.77	64.21	44.16	64.03	81.49	28.48
TJ18	78.31	46.24	70.45	68.69	161.89	190.15	120.35	37.84	30.13	73.92	55.32	61.69	83.87	29.17
TJ19	66.86	66.91	56.07	74.52	15.47	146.65	116.21	39.82	36.11	65.46	38.60	67.11	65.57	38.01
TJ20	90.48	42.43	72.10	108.17	63.74	140.44	82.11	65.89	47.91	64.08	45.81	71.93	76.58	30.15
TJ21	85.87	44.11	60.89	101.93	45.10	143.32	109.32	54.96	45.40	64.29	44.05	64.02	79.98	36.81
TJ22	71.95	33.13	53.81	90.35	49.83	174.79	88.09	53.21	49.27	57.95	44.34	50.90	67.23	31.96
TJ23	80.06	68.55	71.28	80.24	57.38	125.15	117.98	46.54	41.54	68.18	48.40	70.06	71.26	31.12
平均值	77.16	49.09	60.85	93.24	70.89	151.13	108.85	47.09	39.56	63.25	51.95	61.42	75.70	28.91
标准偏差	9.45	10.57	8.12	18.10	41.10	31.15	16.40	9.08	8.12	11.52	15.24	9.25	12.65	4.85

片提取方法。胡坪等^[6]采用未在文献中说明栀子标准汤剂供试品溶液制备方法，徐姣等^[7]等采用高速离心取上清液的方法制备栀子标准汤剂供试品溶液，该方法可能会导致本来混悬于标准汤剂中的成分流失，测出的成分含量与临床用药实际不符^[2]。本课题组在预实验中比较了 50%、70%、100% 甲醇制备标准汤剂供试品溶液的效果，发现加入 70% 和 100% 甲醇会产生沉淀造成成分损失，加入 50% 甲醇则溶液基本澄清，因此采用该法制备标准汤剂供试品溶液。

3.2 关于检测波长

实验中提取了 210~800 nm 三维扫描图，发现 254 nm 色谱峰最丰富，因此将其作为指纹图谱测定

波长；但是绿原酸等有机酸类成分在 324 nm 左右吸收较强，而西红花苷 I、II 等西红花苷类成分在 430 nm 左右吸收较强，以上可以从图 2 看出。为了提高检测灵敏度，所以选择 324、430 nm 分别作为绿原酸、西红花苷 I、II 的含量测定波长。同时，为了尽可能简化方法，其余成分的含量测定选择与指纹图谱测定相同的波长 254 nm。

3.3 关于色谱峰保留时间

图 1 和图 3 显示，饮片和标准汤剂色谱图中共有峰 19~22 的保留时间不完全一致，但经过添加西红花苷 I、II 对照品试验和提取紫外吸收光谱图比对，图 1 中标示的饮片和标准汤剂色谱图中 19~22 号峰一一对应是一成分。其原因可能与饮片和

标准汤剂指纹图谱检测时间间隔较长、中间也更换了色谱柱有关。但近期再次测定栀子饮片和标准汤剂指纹图谱的结果表明,两者相应编号的色谱峰保留时间均基本一致(类似图 2 Triple-Q-TOF/MS 检测的总离子流图中相应编号离子峰的保留时间)。

3.4 关于峰面积比值与成分转移率

为了尽可能多地掌握各个成分的转移规律,本课题组建立了计算共有峰定量峰面积并比较标准汤剂与饮片峰面积比值的方法^[1,8]。本次实验首先采用 SPSS Statistics 20 统计软件包软件分别将通过对照品比对并进行了含量测定的 13 个成分的相应量化峰面积比值和转移率进行了双变量相关分析,结果表明,除绿原酸(8 号峰)、异槲皮素(15 号峰)、西红花苷 II(22 号峰)、西红花苷 I(19 号峰)、SME(6 号峰)、芦丁(14 号峰)的 Pearson 相关系数分别为 0.559、0.679、0.679、0.743、0.889、0.894 外,其余 7 个成分的 Pearson 相关系数均在 0.9 以上,且所有 13 个成分的峰面积比值和转移率均在 $P < 0.01$ 水平上显著相关,提示峰面积比值和成分转移率呈现较好的正向直线关系。

根据表 6、7 数据可以计算得出,23 批栀子标准汤剂 7 个环烯醚萜类成分平均含量之和的转移率为 70.90%,表 8 显示,其中主要成分栀子苷(饮片和标准汤剂中平均含量分别占 7 个环烯醚萜类成分含量总和的 69.33%和 75.22%)的平均转移率为 77.16%,与徐姣等^[7]报道的 77.7%基本一致,低于胡坪等^[6]报道的 82.4%,其他 6 个环烯醚萜类成分中,平均转移率最低的为京尼平龙胆双糖苷的 49.09%,而 SME 和 DAAME 的平均转移率则分别高达 108.85%和 151.13%,推测前者是因为加热煎煮及浓缩过程中该成分容易丢失分子中的 1 个葡萄糖,后者是因为加热煎煮及浓缩过程中结构类似的成分转化而来^[16]。

山栀子苷、京尼平苷酸、羟异栀子苷平均转移率分别为 93.24%、70.89%、60.85%。表 5 显示,其他 5 个环烯醚萜类成分(5、16~18、24 号峰)峰面积比值在 53.46%~77.03%,与该类成分含量转移率类似。西红花苷类成分西红花苷 I、II 的平均转移率均偏低,分别为 47.09%和 39.56%,其他 3 个该类成分(20、25、26 号峰)峰面积比值分别为 52.13%、64.79%和 51.72%,西红花苷类成分转移率偏低可能是因为该类成分遇热、遇光不稳定而发生降解所致^[17]。单环单萜类成分 jasminoside B 平均转移率为

61.42%, jasminoside A(11 号峰)、jasminoside E(12 号峰)峰面积比值分别为 73.16%和 76.00%。黄酮类成分芦丁和异槲皮素的平均转移率分别为 63.25%、51.95%,芦丁的同分异构体(13 号峰)峰面积比值为 77.06%。有机酸成分绿原酸的平均转移率为 75.70%,3,4-二咖啡酰-5-*O*-(3-羟基-3-甲基戊二酰)奎宁酸(21 号峰)峰面积比值高达 96.09%。

成分转移率可接受的范围为均值加减 3 倍标准偏差(或均值的 70%~130%)^[3],根据表 8 的计算结果显示,13 个含量测定成分中所有批次标准汤剂转移率都符合“均值加减 3 倍标准偏差”,但只有所有批次的栀子苷、羟异栀子苷、jasminoside B 转移率符合“均值的 70%~130%”,提示前者范围设定可能过宽(标准偏差越大越容易符合要求),而后者范围设定可能过严。

3.5 关于标准汤剂量值传递规律研究方法

通过前期基于茵陈^[1,8]、大黄^[2,8] 2 个单味药和茵陈蒿汤^[9] 1 个复方的研究,本课题组发现,标准汤剂量值传递规律研究应该在采用指纹图谱方法进行整体质量评价及液质联用技术对共有峰成分进行鉴定基础上,尽可能选择多个成分进行含量测定及转移率计算,只有通过对多个成分,特别是结构类似的成分的转移率分析才能总结标准汤剂制备过程中各成分的变化规律,仅测定个别成分仅是管中窥豹,无法进行规律总结,指纹图谱、液质联用技术、多成分含量测定,三者缺一不可。另外,应关注同一成分在不同煎煮环境(不同单味药、由单味药组成的复方)中的传递规律分析和总结。例如,本研究显示栀子标准汤剂中绿原酸的平均转移率为 75.70%,考虑 2 次煎煮提取不完全等因素,该成分转移率基本正常,但在茵陈标准汤中则绿原酸的平均转移率只有 47.59%,其原因是加热煎煮及浓缩过程中结构类似的有机酸类成分发生了相互转化^[1,8],而栀子中该类成分较少、含量也较低,在茵陈蒿汤(由茵陈、栀子、大黄组成)标准汤剂中绿原酸的平均转移率为 59.45%,提示虽然茵陈中结构类似的有机酸类成分发生了相互转化,但在复方环境中转化率又不一样。

3.6 栀子标准汤剂量值传递规律总结

栀子饮片指纹图谱分析结果显示,栀子中能检测到并且含量较高的成分有 5 大类约 26 个,从定性角度来看,这些成分基本均能传递到标准汤剂;各类成分的转移率不尽一致,仅测定某类或某个成

分不能充分揭示标准汤剂量值传递规律；以栀子苷为代表的环烯醚萜类极性较大，标准汤剂转移率较高，但同类成分在加热煎煮等过程中可能会发生结构转化，应引起注意；以西红花苷 I、II 为代表的西红花苷类成分，被称为天然水溶性色素，但这类成分在加热煎煮过程中会发生降解，应注意标准汤剂煎煮时间和浓缩温度。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 倪丽丽, 戴莹, 窦志华, 等. 茵陈标准汤剂量值传递规律研究 [J]. 中草药, 2020, 51(11): 2954-2966.
- [2] 戴莹, 施凯, 窦志华, 等. 大黄标准汤剂量值传递规律研究 [J]. 中草药, 2021, 52(10): 2938-2950.
- [3] 国家药品监督管理局. 关于发布《中药配方颗粒质量控制与标准制定技术要求》的通告 [EB/OL]. [2021-01-26]. <https://www.nmpa.gov.cn/xxgk/ggtg/qtggtg/20210210145453181.html>.
- [4] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 259-260.
- [5] Chen L, Li M, Yang Z, et al. *Gardenia jasminoides* Ellis: Ethnopharmacology, phytochemistry, and pharmacological and industrial applications of an important traditional Chinese medicine [J]. *J Ethnopharmacol*, 2020, 257: 112829.
- [6] 胡坪, 桑情妮, 牛丽源, 等. 栀子标准汤剂的量值传递规律 [J]. 中成药, 2019, 41(12): 2863-2868.
- [7] 徐姣, 赵嵘, 代云桃, 等. 栀子标准汤剂的质量评价方法考察 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(7): 30-35.
- [8] 倪丽丽. 基于标准汤剂的茵陈蒿汤组方药味配方颗粒质量评价研究 [D]. 南京: 南京中医药大学, 2020.
- [9] Wang L, Liu S, Zhang X J, et al. A strategy for identification and structural characterization of compounds from *Gardenia jasminoides* by integrating macroporous resin column chromatography and liquid chromatography-

tandem mass spectrometry combined with ion-mobility spectrometry [J]. *J Chromatogr A*, 2016, 1452: 47-57.

- [10] Li W, Ren C, Fei C, et al. Analysis of the chemical composition changes of *Gardeniae Fructus* before and after processing based on ultra-high-performance liquid chromatography quadrupole time-of-flight mass spectrometry [J]. *J Sep Sci*, 2021, 44(5): 981-991.
- [11] Ni Y, Li L, Zhang W, et al. Discovery and LC-MS characterization of new crocins in *Gardeniae Fructus* and their neuroprotective potential [J]. *J Agric Food Chem*, 2017, 65(14): 2936-2946.
- [12] 赵霞, 蔡莉, 李荣, 等. 五乙酰栀子苷对 CUMS 大鼠抑郁行为及其对 HPA 轴的影响 [J]. 安徽医科大学学报, 2017, 52(8): 1164-1168.
- [13] Peng C H, Huang C N, Wang C J. The anti-tumor effect and mechanisms of action of penta-acetyl geniposide [J]. *Curr Cancer Drug Targets*, 2005, 5(4): 299-305.
- [14] Fu Z W, Xue R, Li Z X, et al. Fragmentation patterns study of iridoid glycosides in *Fructus Gardeniae* by HPLC-Q/TOF-MS/MS [J]. *Biomed Chromatogr*, 2014, 28(12): 1795-1807.
- [15] 曹瑞. 茵陈蒿汤成分分析及组方药味质量评价研究 [D]. 南京: 南京中医药大学, 2019.
- [16] 杜亚朋, 王美, 李璐遥, 等. 基于化合物稳定性探讨炮制对含环烯醚萜类成分中药药性及功效影响的研究进展 [J]. 中草药, 2021, 52(16): 5039-5051.
- [17] Li N, Fan M, Li Y, et al. Stability assessment of crocetin and crocetin derivatives in *Gardenia* yellow pigment and *Gardenia* fruit pomace in presence of different cooking methods [J]. *Food Chem*, 2020, 312: 126031.
- [18] 王怡龄, 赵云蛟, 吴昊天, 等. 多种水溶性天然色素的热稳定性研究 [J]. 中国食品添加剂, 2015(10): 88-92.
- [19] 戴莹. 基于标准汤剂的茵陈蒿汤颗粒研制 [D]. 南京: 南京中医药大学, 2021.

[责任编辑 郑礼胜]