

经典名方桃核承气汤物质基准关键质量属性传递规律分析

刘雨涵, 关雅戈, 韩 晨, 史玉莲, 翟传佳, 李雪娇, 罗 赣, 高晓燕*

北京中医药大学中药学院, 北京 102488

摘要: 目的 探究桃核承气汤物质基准关键质量属性的传递规律。方法 制备 15 批桃核承气汤冻干粉作为物质基准, 测定其特征图谱、指标成分含量及干膏率, 并计算上述指标在药材-饮片-水煎液-物质基准传递过程中的转移率。结果 15 批桃核承气汤特征图谱选取的 48 个特征峰在传递过程中无丢失, 多数特征峰相对峰面积的转移率在均值的 70%~130%, 饮片-物质基准中苦杏仁苷、甘草酸、肉桂酸、大黄总游离蒽醌的平均转移率分别为 $(21.03 \pm 6.83)\%$ 、 $(21.16 \pm 2.60)\%$ 、 $(35.96 \pm 14.04)\%$ 和 $(6.01 \pm 2.05)\%$, 干膏率平均传递率为 78.68%。结论 桃核承气汤物质基准的关键质量属性均可在药材-饮片-水煎液-物质基准中稳定传递。初步构建桃核承气汤物质基准制备全过程质量控制体系, 为后续复方制剂的开发提供了方法参考。

关键词: 经典名方; 桃核承气汤; 物质基准; 特征图谱; 关键质量属性; 量质传递; 苦杏仁苷; 甘草酸; 肉桂酸; 蒽醌

中图分类号: R283.6 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2022)07-2011-11

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2022.07.010

Analysis on transmission law of critical quality attributes of classical prescription Taohe Chengqi Decoction substance benchmarks

LIU Yu-han, GUAN Ya-ge, HAN Chen, SHI Yu-lian, ZHAI Chuan-jia, LI Xue-jiao, LUO Gan, GAO Xiao-yan

School of Chinese Materia Medica, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 102488, China

Abstract: **Objective** To explore the transfer law of critical quality attributes of Taohe Chengqi Decoction (TCD, 桃核承气汤) substance benchmarks. **Methods** A total of 15 batches of TCD lyophilized powder samples were prepared as the substance benchmarks. Specific chromatograms, index component contents and dry extract rates were determined and the transfer rates of the above indexes in the process of medicinal material-decoction piece-decoction-substance benchmarks were calculated. **Results** The 48 characteristic peaks originated from the specific chromatogram did not lost across the whole process, and most of the transfer rates of relative areas of characteristic peaks were in the range of 70%—130% of the mean. The average transfer rates from decoction pieces to substance benchmarks of amygdalin, glycyrrhizic acid, cinnamic acid and rhubarb total free anthraquinone were $(21.03 \pm 6.83)\%$, $(21.16 \pm 2.60)\%$, $(35.96 \pm 14.04)\%$, $(6.01 \pm 2.05)\%$, respectively. The average transfer rate of dry extract rate of 15 batches of TCD was 78.68%. **Conclusion** The critical quality attributes of TCD substance benchmarks can be stably transferred from medicinal material to decoction piece to decoction finally to substance benchmarks. This study preliminarily constructs the quality control system of the whole process of substance benchmarks preparation of TCD, which provides a method reference for the development of subsequent compound preparations.

Key words: classical prescription; Taohe Chengqi Decoction; substance benchmarks; characteristic spectrum; critical quality attributes; quality value transmitting; amygdalin; glycyrrhizic acid; cinnamic acid; anthraquinone

经典名方物质基准是指以古代医籍中记载的经典名方制备方法为依据制备而得的中药药用物质的标准^[1]。按照《按古代经典名方目录管理的中药复方制剂药学研究技术指导原则(试行)》要求, 经典

名方物质基准的关键质量属性(CQAs)应包括特征图谱、指标成分含量及干膏率, 明晰 CQAs 在药材-饮片-水煎液-物质基准过程中的量质传变规律为药材选择、炮制工艺筛选、制备工艺优化提供了数

收稿日期: 2021-10-22

基金项目: 中央高校基本科研业务费专项资金资助(2020-JYB-ZDGG-033)

作者简介: 刘雨涵(1998—), 女, 硕士研究生, 研究方向为中药分析。Tel: 18811367715 E-mail: 670752348@qq.com

*通信作者: 高晓燕(1967—), 博士, 教授, 主要从事中药分析及药效物质研究。Tel: 13439727699 E-mail: gaoyaoyan@bucm.edu.cn

据支撑。

为推动经典名方开发研究,国家药品监督管理局发布《古代经典名方目录(第一批)》^[2],桃核承气汤居首位。桃核承气汤(Taohe Chengqi Decoction, TCD)始载于汉代张仲景《伤寒论》^[3],全方由桃仁、大黄、桂枝、甘草和芒硝组成,5药共奏泻热逐瘀之功。现代临床将其用于治疗急性盆腔炎^[4-5]、肠梗阻^[6]、子宫内膜异位症^[7-9]等。医家根据具体病症在TCD基础上衍生出许多加减方^[10-12],这表明TCD在临床应用广泛,具有很大的开发价值。本课题组前期初步探索了TCD物质基准特征图谱的分析方法和指标成分群的含量测定方法^[13],为表征处方所有药味在物质基准中尽量多的化学信息和实现对指标成分群准确的含量测定,本实验在前期工作基础上,对色谱条件进行了优化,在此基础上,测定了15批TCD物质基准特征图谱、指标成分含量以及出膏率,探究了这些CQAs指标在药材-饮片-水煎液-物质基准的传递规律,初步建立TCD的全程质控体系,为保证其质量的稳定均一提供数据支撑,为后续复方制剂的开发提供了参考。

1 材料

Thermo Fisher Ultimate 3000 高效液相色谱仪, DAD 检测器, CM7.2 色谱工作站、Sorvall ST 8R 高速冷冻离心机,赛默飞世尔科技(中国)有限公司; DZF-6051 型真空干燥器,北京利康达圣科技有限公司; FD-2A 型真空冷冻干燥机,北京博医康实验仪器有限公司。

经前期研究确定TCD炮制方法后,由北京康仁堂药业有限公司提供各批次药材和饮片,方中各药材经北京中医药大学中药鉴定教研室杨瑶珺教授鉴定,桃仁为蔷薇科植物山桃 *Prunus davidiana* (Carr.) Franch. 的干燥成熟种子,大黄为蓼科植物唐古特大黄 *Rheum tanguticum* Maxim. ex Balf. 的干燥根和根茎,甘草为豆科植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. 的干燥根和根茎,桂枝为樟科植物肉桂 *Cinnamomum cassia* Presl 的干燥嫩枝,芒硝为硫酸盐类矿物芒硝族芒硝,经加工精制而成的结晶体。

对照品苦杏仁苷(批号 DST190829-004)、甘草酸铵(批号 DST190702-008)购自成都德思特生物技术有限公司;桂皮醛(批号 110710-201418)、大黄酸(批号 110757-201607)、芦荟大黄素(批号 110795-201710)、大黄素(批号 110756-201913)、大黄酚(批号 110796-201621)、大黄素甲醚(批号

110758-201616) 购自中国食品药品检定研究院,上述对照品均为 HPLC 含量测定用,质量分数均大于 98%。

甲醇、乙腈,色谱级, Fisher 公司;实验室自制超纯水;其他试剂均为分析纯。

2 物质基准特征图谱物质群量质传递规律研究

2.1 TCD 物质基准制备

采用随机数表法对 15 批次各药味饮片进行随机组合及排序。称取处方剂量桃仁 50 枚、大黄 55.2 g、炙甘草 27.6 g、桂枝 27.6 g、芒硝 27.6 g,置 3 L 陶瓷锅中,加入 1400 mL 去离子水,武火(8 档)煮沸后,转文火(5 档)煎煮至约 500 mL,滤过,加入芒硝 27.6 g,文火煮至微沸,放冷后定容至 500 mL,即得标准煎液。取上述标准煎液适量,4 ℃、9000 r/min 离心 20 min 后,精密量取上清液 50 mL,冷冻干燥,即得 TCD 物质基准对应实物。

2.2 TCD 物质基准特征图谱建立

课题组前期针对 TCD 物质基准中高极性成分建立了特征图谱 2^[13]。本实验在此针对 TCD 物质基准中低极性成分建立特征图谱 1。

2.2.1 色谱条件 Diamonsil 钻石二代 C₁₈ 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相为甲醇-0.1%磷酸水溶液,梯度洗脱:0~3 min, 20%甲醇;3~30 min, 20%~45%甲醇;30~35 min, 45%甲醇;35~55 min, 45%~70%甲醇;55~80 min, 70%~80%甲醇;80~85 min, 80%甲醇;85~90 min, 80%~95%甲醇;90~95 min, 95%~100%甲醇;95~100 min, 100%甲醇;柱温 30 ℃;体积流量 1 mL/min;进样量 10 μL;检测波长 254 nm。

2.2.2 供试品溶液的制备

(1) TCD 物质基准供试品溶液制备:取适量物质基准冻干粉,加去离子水定容至 10 mL,4 ℃、13 000 r/min 离心 20 min,取上清液,即得。

(2) 各单味药及阴性样品供试品溶液制备:取处方剂量各单味药饮片及分别缺桃仁、大黄、甘草、桂枝、芒硝的处方量饮片,按“2.1”项下方法制备后,按上述 TCD 物质基准供试品溶液制备方法制备,即得。

2.2.3 对照品溶液的制备 精密称取苦杏仁苷对照品适量,加甲醇制得质量浓度为 1770 μg/mL 的苦杏仁苷对照品溶液;精密称取甘草酸铵(甘草酸含量=甘草酸铵含量/1.020 7)对照品适量,加甲醇制得质量浓度为 42.20 μg/mL 的甘草酸铵对照品溶液;精

密称取肉桂酸对照品适量,加甲醇制得质量浓度为 441 $\mu\text{g/mL}$ 的肉桂酸对照品溶液;取芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚对照品适量,加甲醇制得质量浓度分别为 213、660、205、209、244 $\mu\text{g/mL}$ 的大黄总游离蒽醌混合对照品溶液。

2.2.4 方法学考察

(1) 参照峰的选择:特征图谱 1 中,大黄酸含量较高,色谱峰较稳定,故选择大黄酸(31 号共有峰)作为特征图谱 1 的参照峰,计算特征图谱 1 中各共有峰的相对保留时间和相对峰面积;特征图谱 2 中,43 号共有峰含量较高,色谱峰较稳定,故选择 43 号共有峰作为特征图谱 2 的参照峰,计算特征图谱 2 中各共有峰的相对保留时间和相对峰面积。

(2) 精密度试验:取第 3 批物质基准供试品溶液,按“2.2.1”项下色谱条件连续依次进样 6 次。特征图谱 1 的 34 个特征峰峰的相对保留时间 $\text{RSD}<0.11\%$ 、相对峰面积 $\text{RSD}<2.81\%$,说明仪器的精密度良好。

(3) 重复性试验:取第 3 批物质基准供试品溶液 6 份,按“2.2.1”项下色谱条件进样。特征图谱 1 的 34 个特征峰峰的相对保留时间 $\text{RSD}<0.17\%$ 、相对峰面积 $\text{RSD}<2.91\%$,说明方法重复性良好。

(4) 稳定性试验:取第 3 批物质基准供试品溶液,按“2.2.1”项下色谱条件于 0、2、4、8、12、24 h 进样,特征图谱 1 的 34 个特征峰的相对保留时

间 $\text{RSD}<0.11\%$ 、相对峰面积 $\text{RSD}<2.90\%$,说明样品稳定性良好。

2.2.5 特征图谱 1 的建立 取 15 批物质基准、各单味药及阴性对照样品,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,按“2.2.1”项下色谱条件检测,将数据导入中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012 年版)软件,以第 1 批的 HPLC 图谱为参照,采用平均数法,进行多点校正和色谱峰匹配,自动匹配得到 15 批物质基准的特征图谱叠加图及共有模式,如图 1 所示,以生成的共有模式为参照,15 批物质基准特征图谱与对照图谱的相似度均大于 0.92。

根据特征图谱分析结果,将 TCD 物质基准与各单味药及其阴性样品 HPLC 谱图进行比对,确定出峰情况良好、无阴性干扰的色谱峰为各药味特征峰。特征图谱 1 共确定 34 个特征峰,特征峰 1~10、12、14~18、20~26、28、31、33~34 为大黄特征峰,特征峰 11、19、27、29、30、32 为甘草特征峰。特征 13 为桂枝特征峰。见图 2。前文所建立特征图谱 2 中共确定 14 个特征峰,特征峰 35~38、40~43、46~48 为大黄特征峰,特征峰 39 为桂枝特征峰,特征峰 44 为甘草特征峰,特征峰 45 为桃仁特征峰^[13]。

2.3 TCD 处方各药味特征峰在药材、饮片、水煎液、物质基准中相对峰面积的测定结果

按照上文所建立特征图谱 1 方法和课题组前文特征图谱 2 方法^[13]分别采集 15 批 TCD 处方中的药

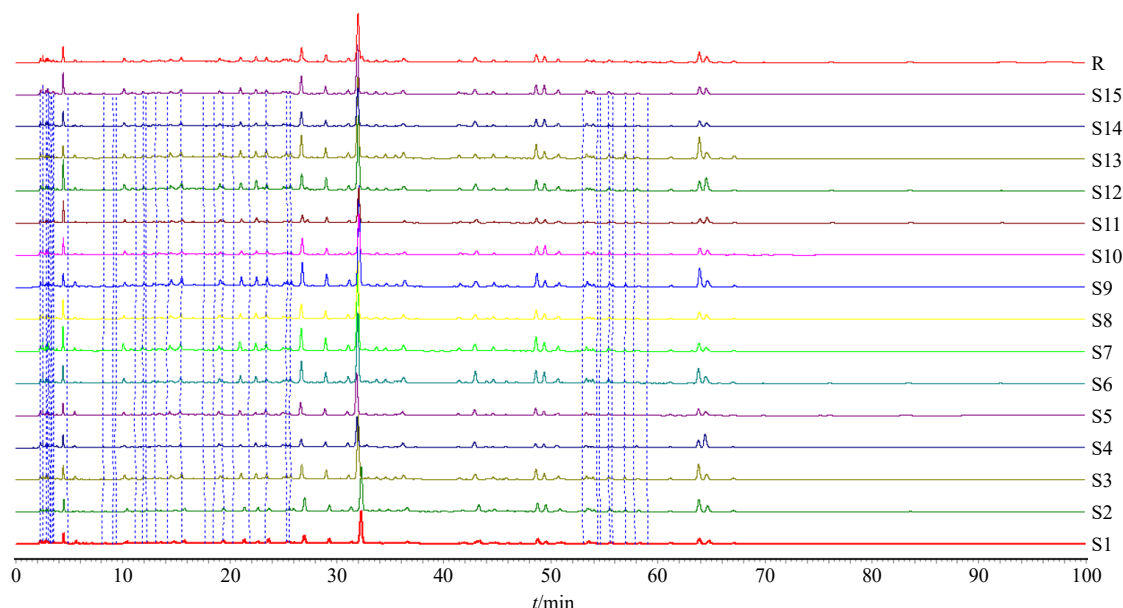


图 1 15 批 TCD 物质基准的 HPLC 特征图谱 1 (S1~S15)、对照图谱 1 (R)

Fig. 1 HPLC characteristic chromatogram 1 of 15 batches of TCD substance benchmarks (S1—S15), and reference chromatogram 1 (R)

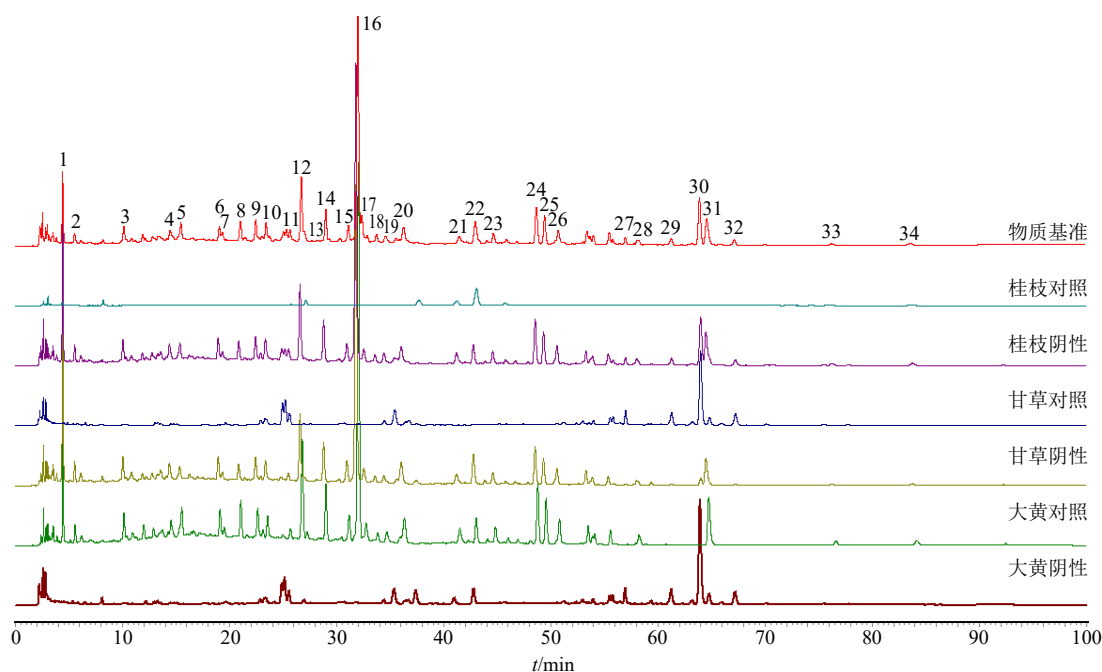


图 2 TCD 物质基准特征图谱 1 中 34 个特征峰及其归属

Fig. 2 Specific peaks and their assignments in characteristic chromatogram 1 of TCD substance benchmarks

材、饮片、水煎液和物质基准的特征图谱 1、2，以每个特征峰峰面积与该峰所属药味的特征峰面积总和的比值作为每个特征峰的相对峰面积，结果见表 1。可见物质基准特征图谱 1、2 选取的 48 个特征峰在传递过程中无丢失。

2.4 TCD 处方各药味特征峰相对峰面积在药材-饮片-水煎液-物质基准中的传递规律

以特征峰的相对峰面积计算其在药材-饮片-水煎液-物质基准的传递过程中的转移率，结果见表 2。多数特征峰相对峰面积的转移率在均值的 70%~130% 范围内波动，表明特征图谱能够在药材-饮片-水煎液-物质基准过程中稳定传递。

3 TCD 物质基准指标成分含量在药材-饮片-水煎液-物质基准传递规律

3.1 TCD 处方中各指标成分的含量测定方法的建立

本课题组前期已确定 TCD 物质基准指标性成分为苦杏仁苷、甘草酸、肉桂酸、芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚。除桂枝以外，桃仁、大黄、甘草药材、饮片指标成分含量测定参照《中国药典》2020 年版，水煎液和物质基准中苦杏仁苷的含量测定方法课题组前期已建立^[13]。本实验建立了桂枝中的肉桂酸、水煎液和物质基准中的大黄总游离蒽醌及甘草酸的含量测定方法。

3.1.1 色谱条件

(1) 大黄总游离蒽醌、甘草酸含量测定：

Diamonsil 钻石二代 C₁₈ 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm)；流动相为甲醇-0.1%磷酸水溶液，梯度洗脱：0~3 min, 20%甲醇；3~30 min, 20%~45%甲醇；30~35 min, 45%甲醇；35~55 min, 45%~65%甲醇；55~80 min, 65%~75%甲醇；80~90 min, 75%~95%甲醇；90~95 min, 95%~100%甲醇；95~100 min, 100%甲醇；柱温 30 ℃；体积流量 1 mL/min；进样量 10 μL；检测波长 254 nm。理论塔板数大于 9900；分离度大于 1.5。

(2) 肉桂酸含量测定：Diamonsil 钻石二代 C₁₈ 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm)；流动相为乙腈-0.1%磷酸水溶液，梯度洗脱：0~10 min, 20%~29%乙腈；30~32 min, 29%~32%乙腈；32~40 min, 32%乙腈；柱温 30 ℃；体积流量 1 mL/min；进样量 10 μL；检测波长 275 nm；理论塔板数大于 9900；分离度大于 1.5。

3.1.2 供试品溶液的制备 同“2.2.2”项下供试品溶液的制备。

3.1.3 对照品溶液的制备 同“2.2.3”项下对照品溶液的制备。

3.1.4 方法学考察

(1) 线性关系考察：精密吸取“2.2.3”项下各指标成分对照品储备液，分别用倍比稀释法配制成系列对照品溶液，按“3.1.1”项下各色谱条件分析，记录色谱图及峰面积。以峰面积为纵坐标 (Y)，质

表 1 TCD 处方各药味特征峰在药材、饮片、水煎液及其物质基准中的相对峰面积

Table 1 Relative peak area of each characteristic peaks in TCD prescription in medicinal material, decoction piece, decoction and substance benchmarks

峰号	相对峰面积				所属药味	峰号	相对峰面积				所属药味
	药材	饮片	水煎液	物质基准			药材	饮片	水煎液	物质基准	
1	0.065 8	0.048 7	0.048 9	0.048 5	大黄	25	0.039 6	0.040 3	0.039 8	0.041 9	大黄
2	0.016 8	0.012 9	0.014 2	0.013 1	大黄	26	0.020 9	0.023 8	0.030 7	0.031 4	大黄
3	0.028 0	0.024 0	0.024 3	0.024 8	大黄	27	0.069 8	0.074 2	0.067 0	0.055 3	甘草
4	0.006 2	0.009 5	0.007 9	0.007 9	大黄	28	0.006 8	0.007 9	0.009 7	0.014 1	大黄
5	0.031 1	0.036 9	0.038 1	0.035 5	大黄	29	0.077 1	0.090 3	0.065 3	0.054 2	甘草
6	0.024 1	0.019 5	0.025 3	0.027 1	大黄	30	0.548 3	0.495 2	0.597 8	0.638 3	甘草
7	0.036 1	0.037 9	0.048 1	0.047 6	大黄	31	0.047 8	0.050 5	0.048 1	0.047 9	大黄
8	0.036 8	0.042 5	0.039 7	0.036 7	大黄	32	0.089 1	0.089 3	0.065 9	0.054 9	甘草
9	0.009 7	0.008 3	0.009 2	0.008 9	大黄	33	0.003 7	0.004 8	0.006 3	0.006 9	大黄
10	0.035 4	0.028 9	0.036 8	0.035 4	大黄	34	0.004 4	0.006 5	0.004 5	0.004 2	大黄
11	0.122 8	0.132 7	0.127 8	0.123 1	甘草	35	0.017 9	0.015 5	0.015 5	0.015 2	大黄
12	0.089 7	0.091 3	0.083 0	0.085 8	大黄	36	0.015 9	0.013 2	0.013 5	0.015 8	大黄
13	/	0.379 4	0.228 0	0.177 3	桂枝	37	0.170 0	0.161 0	0.233 2	0.254 0	大黄
14	0.085 0	0.070 3	0.051 3	0.045 1	大黄	38	0.022 1	0.015 9	0.016 2	0.018 0	大黄
15	0.676 6	0.686 2	0.574 3	0.552 2	大黄	39	/	0.620 6	0.772 0	0.822 7	桂枝
16	0.119 4	0.129 7	0.244 6	0.298 7	大黄	40	0.009 8	0.012 5	0.020 2	0.017 9	大黄
17	0.0139	0.0152	0.0197	0.020 4	大黄	41	0.081 7	0.077 8	0.068 8	0.065 1	大黄
18	0.0041	0.003 6	0.002 5	0.002 2	大黄	42	0.002 0	0.001 6	0.001 2	0.001 2	大黄
19	0.092 9	0.118 2	0.076 2	0.074 2	甘草	43	0.599 8	0.615 6	0.526 4	0.514 5	大黄
20	0.032 3	0.034 7	0.027 6	0.026 4	大黄	44	0.006 0	0.007 7	0.011 5	0.010 0	甘草
21	0.018 3	0.022 1	0.033 2	0.031 0	大黄	45	0.041 7	0.03 80	0.049 9	0.046 7	桃仁
22	0.018 4	0.019 2	0.021 9	0.022 6	大黄	46	0.061 2	0.049 5	0.072 6	0.068 5	大黄
23	0.005 7	0.006 6	0.011 8	0.014 3	大黄	47	0.010 4	0.018 5	0.012 5	0.011 3	大黄
24	0.052 0	0.053 2	0.049 6	0.057 4	大黄	48	0.009 2	0.018 8	0.020 1	0.018 5	大黄

桂枝自药厂购入时已炮制成饮片，故归属至桂枝的 13、39 号峰药材数据空缺，用“/”表示，表 2 同

Guizhi has been processed into decoction pieces when purchased from the pharmaceutical factory, so the data of No. 13 and No. 39 peaks belonging to Guizhi medicinal materials are vacant, expressed in “/”, same as table 2

量浓度为横坐标 (X)，分别绘制标准曲线，进行线性回归，得回归方程分别为甘草酸 $Y=0.133\ 5\ X+0.757$, $r=1.000\ 0$ ，线性范围 $9.007\ 5\sim3\ 603\ \mu\text{g/mL}$ ；肉桂酸 $Y=1.348\ X+6.247\ 3$, $r=0.999\ 5$ ，线性范围 $0.984\sim492.0\ \mu\text{g/mL}$ ；芦荟大黄素 $Y=0.770\ 1\ X+0.123\ 2$, $r=1.000\ 0$ ，线性范围 $0.206\sim206.0\ \mu\text{g/mL}$ ；大黄酸 $Y=0.650\ 4\ X+0.000\ 2$, $r=1.000\ 0$ ，线性范围 $0.283\sim283.0\ \mu\text{g/mL}$ ；大黄素 $Y=0.520\ 9\ X+0.195\ 6$, $r=1.000\ 0$ ，线性范围 $0.125\sim125.0\ \mu\text{g/mL}$ ；大黄酚 $Y=0.798\ 4\ X+0.367\ 9$, $r=1.000\ 0$ ，线性范围 $0.152\sim152.0\ \mu\text{g/mL}$ ；结果表明，甘草酸、肉桂酸、芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚在各自

的线性范围内线性关系良好。

(2) 精密性试验：取适量混合对照品溶液，按“3.1.1”项下色谱条件进样检测，连续进样 6 次，甘草酸、肉桂酸、芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚质量分数的 RSD 分别为 1.21%、0.13%、0.03%、0.08%、0.03%、2.82%，表明仪器精密性良好。

(3) 重复性试验：取适量供试品溶液 (S1) 6 份，按“3.1.1”项下色谱条件进样检测，测得甘草酸、肉桂酸、芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚质量分数的 RSD 分别为 1.22%、0.70%、0.09%、0.76%、0.03%、0.09%，表明方法的重复性良好。

(4) 稳定性试验：取适量供试品溶液 (S1)，

表 2 特征图谱特征峰相对峰面积在药材-饮片-水煎液-物质基准的传递转移率

Table 2 Transfer rates of relative peak area of characteristic chromatogram in the process of medicinal materials-decoction pieces-decoction-substance benchmarks

峰号	转移率/%			所属药味	峰号	转移率/%			所属药味
	药材-饮片	饮片-水煎液	水煎液-物质基准			药材-饮片	饮片-水煎液	水煎液-物质基准	
1	73.97	100.35	99.18	大黄	25	101.89	98.67	105.19	大黄
2	76.87	109.39	92.59	大黄	26	113.93	128.72	102.33	大黄
3	85.82	101.34	101.91	大黄	27	106.32	90.23	82.52	甘草
4	154.64	82.42	100.35	大黄	28	115.93	123.00	144.60	大黄
5	118.63	103.33	93.04	大黄	29	117.17	72.28	83.06	甘草
6	80.91	129.74	107.12	大黄	30	90.31	120.72	106.78	甘草
7	104.84	127.15	98.90	大黄	31	105.83	95.20	99.45	大黄
8	115.50	93.36	92.33	大黄	32	100.30	73.80	83.34	甘草
9	85.57	110.01	96.70	大黄	33	130.75	130.93	109.33	大黄
10	81.71	127.26	96.25	大黄	34	148.58	69.29	93.92	大黄
11	108.06	96.31	96.27	甘草	35	86.81	99.56	98.45	大黄
12	101.72	90.96	103.29	大黄	36	82.88	101.87	117.59	大黄
13	/	82.61	68.42	桂枝	37	94.73	144.85	108.92	大黄
14	131.75	207.13	108.98	大黄	38	71.70	102.24	110.74	大黄
15	107.94	85.06	115.18	大黄	39	/	170.93	93.80	桂枝
16	98.55	90.18	94.48	大黄	40	127.60	161.31	88.70	大黄
17	109.76	129.14	103.57	大黄	41	95.24	88.45	94.67	大黄
18	87.52	69.49	87.39	大黄	42	83.07	71.86	99.24	大黄
19	127.24	64.44	97.39	甘草	43	102.64	85.50	97.75	大黄
20	107.32	79.67	95.62	大黄	44	128.33	149.35	86.96	甘草
21	120.78	150.28	93.33	大黄	45	91.13	131.32	93.59	桃仁
22	104.32	114.08	102.98	大黄	46	80.92	146.52	94.42	大黄
23	114.92	179.57	121.42	大黄	47	178.21	67.24	90.36	大黄
24	102.30	93.34	115.72	大黄	48	203.09	107.08	91.95	大黄

按“3.1.1”项下色谱条件进样检测,分别将样品置于室温下,于0、2、4、8、12、24 h进样,甘草酸、肉桂酸、芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚质量分数的RSD分别为1.53%、2.54%、2.52%、2.72%、2.71%、2.90%,表明样品溶液在24 h内稳定。

(5) 加样回收率试验:取 TCD 物质基准适量(S1),精密称定,分别以指标成分含量的50%、100%、150%分别加入各指标成分对照品储备液各3份,按“3.1.1”项下色谱条件进样,计算个指标成分含量及其回收率。测得甘草酸、肉桂酸、芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚的平均加样回收率分别为99.37%、100.82%、100.36%、100.76%、96.81%、96.55%,RSD分别为2.72%、3.71%、3.23%、2.24%、1.60%、1.72%,表明该方法的准确度较好。

3.2 TCD 处方药味各指标成分在药材、饮片、水煎液和物质基准中的含量测定结果

以随行对照品溶液为对照,按“3.1”项下方法分别测定15批TCD药材、饮片、水煎液、冻干粉中6个指标成分的含量。苦杏仁苷的含量按照文献方法^[13]测定。

3.3 TCD 处方药味各指标成分含量在药材-饮片-水煎液-物质基准之间的传递规律

计算药材-饮片-水煎液-物质基准中指标成分含量的转移率,考察过程中的传递规律。

$$\text{转移率} = (w \times m \times 10) / (W \times M)$$

w 表示物质基准中指标成分的质量分数, m 表示物质基准样品质量, W 表示饮片中有有效成分的质量分数, M 表示处方中饮片质量

各药味指标成分含量测定结果及转移率结果如表 3~6 及图 3 所示。苦杏仁苷、甘草酸、肉桂酸、大黄总游离蒽醌的质量分数范围分别在 0.265%~0.732%、0.365%~1.060%、0.015 4%~0.050 5%、

表 3 桃仁药味药材-饮片-水煎液-物质基准苦杏仁苷含量及转移率

Table 3 Content and transfer rate of amygdalin in the process of medicinal materials-decoction pieces-decoction-substance benchmarks

物质基准 批次	苦杏仁苷含量				苦杏仁苷转移率/%			
	药材/%	饮片/%	水煎液/(mg·mL ⁻¹)	物质基准/%	药材-饮片	饮片-水煎液	水煎液-物质基准	饮片-物质基准
1	3.01	2.23	0.306	0.327	76.36	36.37	39.12	14.23
2	3.18	4.15	0.696	0.408	65.71	30.63	63.74	19.52
3	2.99	3.97	0.437	0.491	98.90	24.71	67.09	16.58
4	3.40	2.04	0.271	0.410	94.30	15.18	84.26	12.79
5	3.02	2.17	0.304	0.554	103.91	18.02	97.91	17.64
6	2.73	4.30	0.653	0.497	108.95	25.65	65.29	16.75
7	3.40	2.27	0.251	0.557	100.85	16.34	99.39	16.24
8	3.97	2.29	0.243	0.550	69.12	21.23	94.40	20.04
9	2.95	4.32	0.534	0.265	54.66	21.72	75.64	16.43
10	3.53	2.31	0.247	0.510	90.18	23.55	68.03	16.02
11	2.03	2.13	0.234	0.676	117.96	27.47	102.61	28.19
12	2.62	2.21	0.218	0.713	86.22	23.85	132.44	31.59
13	3.96	4.11	0.647	0.642	59.82	25.63	105.59	27.06
14	2.40	1.87	0.286	0.598	96.56	28.17	91.86	25.87
15	2.29	2.46	0.252	0.732	87.60	20.65	176.89	36.53
均值	3.03	2.86	0.372	0.529	87.41	23.94	90.95	21.03

表 4 甘草药味药材-饮片-水煎液-物质基准甘草酸含量及转移率

Table 4 Content and transfer rate of glycyrrhizic acid in the process of medicinal materials-decoction pieces-decoction-substance benchmarks

物质基准 批次	甘草酸含量				甘草酸转移率/%			
	药材/%	饮片/%	水煎液/(mg·mL ⁻¹)	物质基准/%	药材-饮片	饮片-水煎液	水煎液-物质基准	饮片-物质基准
1	2.83	2.28	0.312	0.536	78.91	20.03	120.00	24.04
2	5.15	4.24	0.710	1.060	80.56	27.30	93.03	25.40
3	6.98	4.05	0.446	0.828	56.95	18.88	110.44	20.85
4	3.04	2.08	0.277	0.444	66.77	22.47	97.03	21.80
5	3.96	2.21	0.310	0.532	54.81	24.05	102.07	24.55
6	4.22	4.39	0.667	0.973	102.05	25.28	89.37	22.59
7	3.22	2.32	0.256	0.414	70.50	18.81	97.09	18.26
8	3.43	2.34	0.248	0.436	66.81	18.45	103.23	19.05
9	5.25	4.41	0.545	0.950	82.42	28.59	76.83	21.97
10	2.72	2.36	0.252	0.464	84.95	22.87	87.70	20.06
11	2.66	2.17	0.239	0.382	79.95	19.17	93.60	17.95
12	3.14	2.26	0.223	0.392	70.47	17.58	100.59	17.68
13	5.47	4.20	0.660	1.030	75.22	25.39	98.48	25.00
14	3.79	1.91	0.292	0.365	49.25	20.99	93.20	19.57
15	3.52	2.51	0.257	0.459	69.84	16.56	112.43	18.62
均值	3.96	2.92	0.380	0.617	72.63	21.76	98.34	21.16

表 5 桂枝药味饮片-水煎液-物质基准肉桂酸含量及转移率

Table 5 Content and transfer rate of cinnamic acid in the process of medicinal materials-decoction pieces-decoction-substance benchmarks

物质基准 批次	肉桂酸含量			肉桂酸转移率/%		
	饮片/%	水煎液/(mg·mL ⁻¹)	物质基准/%	饮片-水煎液	水煎液-物质基准	饮片-物质基准
1	0.097	0.032 6	0.050 5	49.05	106.03	52.01
2	0.125	0.018 9	0.026 7	24.61	86.56	21.31
3	0.125	0.018 7	0.036 1	25.67	112.46	28.87
4	0.044	0.016 0	0.023 8	61.57	88.50	54.49
5	0.059	0.008 9	0.015 4	26.01	100.57	26.16
6	0.032	0.017 9	0.023 0	92.55	77.21	71.46
7	0.185	0.024 2	0.036 8	22.23	89.26	19.84
8	0.076	0.013 2	0.024 8	30.10	108.24	32.59
9	0.134	0.024 2	0.041 5	41.76	73.99	30.90
10	0.062	0.013 9	0.025 8	48.08	86.54	41.61
11	0.144	0.025 2	0.036 4	30.55	82.89	25.32
12	0.074	0.011 4	0.024 8	27.78	121.42	33.73
13	0.086	0.013 2	0.021 4	24.74	100.05	24.76
14	0.143	0.031 4	0.032 9	30.21	76.35	23.06
15	0.075	0.017 1	0.029 2	36.75	105.53	38.78
均值	0.097	0.019 1	0.029 9	38.11	94.37	35.96

表 6 大黄药味药材-饮片-水煎液-物质基准大黄总游离蒽醌含量及转移率

Table 6 Content and transfer rate of rhubarb total free anthraquinone in the process of medicinal materials-decoction pieces-decoction-substance benchmarks

物质基准 批次	大黄总游离蒽醌含量				大黄总游离蒽醌转移率/%			
	药材/%	饮片/%	水煎液/(mg·mL ⁻¹)	物质基准/%	药材-饮片	饮片-水煎液	水煎液-物质基准	饮片-物质基准
1	2.40	2.50	0.043 2	0.088	104.17	2.53	146.20	3.69
2	2.40	3.09	0.085 1	0.141	128.75	4.49	111.25	5.00
3	2.60	2.57	0.048 9	0.107	98.85	3.26	132.75	4.33
4	1.90	2.60	0.113 6	0.207	136.84	7.36	112.50	8.28
5	1.90	2.45	0.046 1	0.098	128.95	3.23	122.87	3.96
6	2.50	2.95	0.078 2	0.131	118.00	4.42	103.68	4.58
7	1.80	2.95	0.036 7	0.074	163.89	2.12	112.07	2.38
8	1.80	2.90	0.041 3	0.090	161.11	2.47	119.55	2.96
9	2.40	2.88	0.052 0	0.115	120.00	4.19	94.05	3.94
10	2.40	2.70	0.059 2	0.129	112.50	4.71	107.38	5.06
11	2.10	1.80	0.075 7	0.149	85.71	7.32	113.60	8.32
12	1.90	2.59	0.081 0	0.164	136.32	5.58	116.32	6.49
13	2.70	3.69	0.065 0	0.127	136.67	2.85	114.03	3.25
14	3.30	2.00	0.054 0	0.093	60.61	3.70	114.41	4.23
15	2.00	1.50	0.069 1	0.143	75.00	7.46	126.83	9.46
均值	2.27	2.61	0.063 3	0.124	117.82	4.38	116.50	5.06

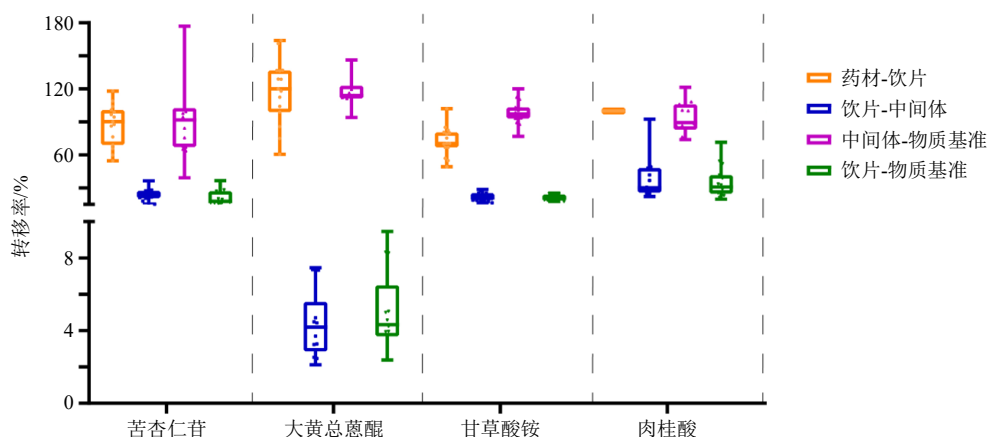


图 3 TCD 物质基准指标成分转移率

Fig. 3 Index component transfer rate of TCD substance benchmarks

0.074%~0.207%, 饮片-物质基准平均转移率分别为 21.03%、21.16%、35.96%、5.06%。

4 TCD 物质基准制备过程中各药味干膏率传递规律研究

按“2.1”项下方法制备 15 批物质基准样品, 测定其干膏率。计算公式为干膏率= m/M , 式中 m 表示物质基准样品的质量, M 表示饮片投料量。结果见表 7。

为了解饮片-物质基准传递过程中干膏率的变化, 根据单味药剂量在全方中的占比以及各单味药

饮片的干膏率, 计算全方中各单味药折算加和后的理论干膏率, 计算公式为理论干膏率= $\sum$ 单味药干膏率 $\times$ (单味药生药量/全方生药量)。

由表 7 及图 4 所示, 15 批全方物质基准的理论干膏率范围为 21.98%~29.41%, 实际干膏率范围在 14.02%~23.21%, 干膏率的传递率均值为 78.68%。

5 讨论

本研究从指标成分含量、特征图谱和干膏率 3 方面对药材-饮片-水煎液-物质基准开展质量相关性研究^[14-17], 由点到面地阐明经典名方关键质量属性

表 7 15 批 TCD 单味药饮片、物质基准的干膏率及传递率结果

Table 7 Results of dry extract rate and transfer rate of substance benchmarks of TCD and each decoction pieces

物质基准批号	干膏率/%						传递率/%
	桃仁	大黄	甘草	桂枝	芒硝	全方理论	
S1	9.84	19.88	34.30	5.72	47.23	23.80	93.26
S2	9.53	27.25	39.52	4.10	42.31	26.39	76.49
S3	6.37	20.87	30.85	5.58	44.75	22.88	83.63
S4	8.42	27.61	26.58	3.55	44.84	24.46	79.80
S5	7.99	18.86	29.13	3.09	48.17	22.22	86.42
S6	8.20	30.84	32.69	4.53	46.31	26.69	72.29
S7	8.69	18.33	36.54	4.18	45.74	22.81	82.54
S8	7.78	20.51	27.80	4.11	44.79	21.98	85.38
S9	8.04	22.83	32.98	3.89	44.68	23.66	59.27
S10	8.19	25.43	31.28	4.16	44.73	24.53	62.38
S11	7.07	20.70	31.29	3.64	55.95	23.95	75.61
S12	7.95	22.92	27.33	3.26	44.78	22.60	80.74
S13	8.08	24.66	31.00	2.84	47.40	24.25	82.94
S14	5.23	28.46	33.96	7.24	65.67	29.41	78.92
S15	10.84	23.94	28.04	4.35	53.20	25.26	80.50
均值	8.15	23.54	31.55	4.28	48.04	24.33	78.68

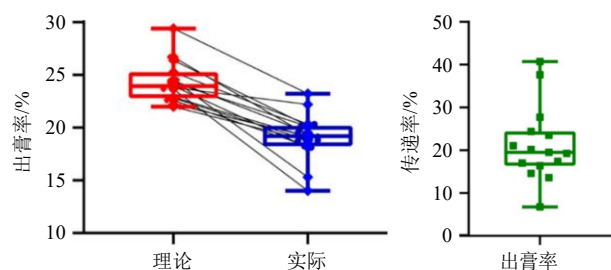


图 4 TCD 物质基准出膏率及其传递率分析

Fig. 4 Analysis of rate of change of dry extract of TCD substance benchmarks

从饮片炮制到水煎煮再到浓缩冻干的长流程制备过程中的传变规律,为构建全过程质量控制体系提供数据支撑,为 TCD 复方制剂的开发提供科学依据。

在建立特征图谱和含量测定方法时,课题组前期已考察了不同色谱柱、体积流量、流动相、柱温对建立方法的耐用性;采用 DAD 检测器对供试品溶液在 200~400 nm 波长下进行扫描。针对小极性成分,检测波长在 210~260 nm 时,出峰信息较多,选择君药大黄的指标成分游离蒽醌类的药典检测波长 254 nm 为特征图谱 1 检测波长,该波长下色谱峰信息较多,基线较平稳,分离度良好;针对大极性成分,检测波长在 210~230 nm 时,出峰信息较多,选择君药桃仁的指标成分苦杏仁苷的药典检测波长 210 nm 为特征图谱 2 检测波长,该波长下各色谱峰信息较多,响应强度高,分离度良好。建立含量测定方法时,以最大响应强度及分离度为评价指标,选择各药味的检测波长。

特征图谱从整体的角度模糊辨识待测成分的特征性,不适合精确定量。因此,将 15 批 TCD 物质基准的特征图谱拟合出共有模式,以每个特征峰峰面积与该峰所属药材在该特征图谱中所有特征峰的总面积的比值作为此特征峰的相对峰面积进行后续计算,以期半量化地呈现各药味中化学成分在长流程制剂过程中的整体变化趋势。在指标性成分量质传递规律研究中,发现苦杏仁苷在药材-饮片的过程中含量有所降低,可能是由于桃仁在饮片炮制过程中为实现“杀酶保苷”而燀制,高温煎煮使苦杏仁苷含量降低^[18]。大黄游离蒽醌类成分在药材-饮片传递过程中含量升高,原因可能在于大黄药材炮制成药片的过程中经净制除去杂质,使得饮片中游离蒽醌类成分纯度提高。在煎煮过程中转移率较低,这可能由于蒽醌类成分极性偏小,在水中溶解度较低所致;在水煎液-物质基准的过程中含量升高,这很

可能与含量测定时提取溶剂不同有关,蒽醌类成分在 30% 甲醇中的溶解度高于水,使得提取率升高。甘草酸在 15 批 TCD 物质基准中含量差异较大,调查文献发现,甘草酸在甘草的不同部位含量差异大,进而导致不同批次甘草中甘草酸含量差异较大^[19]。建议在今后进行含有甘草方剂物质基准的制备时将甘草混批投料,并严格将饮片按部位及大小分等,以确保物质基准质量的稳定。

在分析 15 批 TCD 物质基准干膏率时,发现全方的实际干膏率低于理论值,且有 4 批物质基准干膏率在均值±10% 范围以外。分析原因可能为第 14 批 TCD 中芒硝的干膏率远高于其他批次,导致第 14 批全方的干膏率偏高,对 15 批干膏率均值产生影响。此外,不同产地饮片的质量差异也会导致干膏率有所不同。与单味药相比,全方药味、药量更多,吸水量更大^[20],故导致全方的实际干膏率低于理论值。

6 结论

本实验通过对各单味药材、饮片关键质量属性研究,以药材投入配方的处理过程为序逐级进行药材-饮片-水煎液-物质基准量质传递规律研究,证实 TCD 物质基准制备过程中特征峰相对峰面积、各指标性成分及干膏率均可稳定传递。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 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]. [2018-05-29]. <http://www.nmpa.gov.cn/WS04/CL2093/228247.html>.
- [2] 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]. (2018-04-16) [2018-04-16]. 2018. <http://kjs.satcm.gov.cn/zhengcewenjian/2018-04-16/7107.html>.
- [3] 汉·张仲景述. 晋·王叔和撰次. 钱超尘, 郝万山整理. 伤寒论 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2005: 95.
- [4] 杨伟娜, 杨军娜, 姚伊. 桃核承气汤通过 JAK2/STAT1 信号通路干预急性盆腔炎模型大鼠的研究 [J]. 中国医院用药评价与分析, 2019, 19(9): 1075-1078, 1082.
- [5] 李秀明. 桃核承气汤治疗热郁血瘀型盆腔炎大鼠的实验研究 [D]. 哈尔滨: 黑龙江中医药大学, 2008.
- [6] 朱小刚. 桃核承气汤治疗黏连性肠梗阻患者的效果 [J]. 黑龙江医药科学, 2021, 44(1): 130-131.
- [7] 张成玲, 谭艺, 魏庆骅, 等. 基于网络药理学的桃核承气汤治疗子宫内膜异位症的作用机制研究 [J]. 世界中医药, 2021, 16(23): 3472-3477.

- [8] 王红宇, 冀成玉, 常娜. 桃核承气汤对子宫内膜异位症患者临床疗效及可能作用机制研究 [J]. 世界中医药, 2020, 15(11): 1598-1602.
- [9] 郑秋霞, 应翩, 张洁, 等. 桃核承气汤加减治疗血瘀型子宫内膜异位症的疗效及对患者肿瘤标志物水平的影响 [J]. 中国妇幼保健, 2021, 36(6): 1257-1259.
- [10] 潘泓. 桃核承气汤加减治疗异位妊娠 3 例 [J]. 中国乡村医药, 2020, 27(19): 16-17.
- [11] 田同儒, 张福文, 李柏, 等. 加味桃核承气汤治疗非酒精性脂肪肝痰阻血瘀证临床观察 [J]. 中国中医药现代远程教育, 2021, 19(9): 112-113.
- [12] 陈羽, 申建国, 张亮, 等. 加味桃核承气汤对脓毒症胃肠功能障碍患者肠胃动力、免疫指标及肝肾功能的影响 [J]. 湖南师范大学学报: 医学版, 2021, 18(2): 65-68.
- [13] 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.
- [14] 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.
- [15] 王青云. 《按古代经典名方目录管理的中药复方制剂有关指导原则 (征求意见稿)》发布 [J]. 中医药管理杂志, 2021, 29(9): 121.
- [16] 黄仕文, 颜媛媛, 嵇晶, 等. 经典名方质量研究及其量值传递关键技术 [J]. 南京中医药大学学报, 2021, 37(3): 446-449.
- [17] 苗家燕, 罗赣, 高晓燕, 等. 经典名方当归四逆汤物质基准的关键质量属性研究 [J]. 分析测试学报, 2021, 40(5): 740-746.
- [18] 汤庆发, 谢颖, 陈飞龙, 等. 苦杏仁中苦杏仁苷的存在形式及其影响因素 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(8): 107-109.
- [19] 王汉卿, 雍婧姣, 肖东, 等. 宁夏产甘草不同组织部位成分差异比较 [J]. 中华中医药杂志, 2019, 34(6): 2672-2675.
- [20] 齐琪, 赵玥瑛, 张晴, 等. 经典名方小承气汤的物质基准量值传递研究 [J]. 中草药, 2021, 52(10): 2927-2937.

[责任编辑 郑礼胜]