

百蕊草药材与标准汤剂量值传递规律研究及分析

严露¹, 蒲靖哲^{2,3}, 管悦琴⁴, 郑卫兵⁴, 孙翼飞⁴, 张亚中^{2,3*}

1. 安徽中医药大学药学院, 安徽 合肥 230012

2. 安徽省食品药品检验研究院, 安徽 合肥 230051

3. 国家药品监督管理局中药质量研究与评价重点实验室, 安徽 合肥 230051

4. 安徽九华华源药业有限公司, 安徽 滁州 239000

摘要:目的 建立百蕊草 *Thesii Herba* 标准汤剂的 UPLC 特征图谱及其指标成分的含量测定方法; 研究百蕊草药材与标准汤剂特征图谱的变化, 并分析指标成分百蕊草素 I 在药材-标准汤剂的量值传递规律。方法 采用 Waters Acquity UPLC BEH Shield RP₁₈ 色谱柱 (150 mm×2.1 mm, 1.7 μm), 流动相为乙腈-0.2% 甲酸水溶液, 梯度洗脱, 体积流量 0.4 mL/min, 检测波长 330、270 nm, 柱温 30 °C, 建立特征图谱与含量测定方法。以出膏率、含量及转移率、特征图谱共有峰传递数为主要评价指标, 分析百蕊草标准汤剂的量值传递规律。结果 19 批百蕊草药材、标准汤剂与各自的对照特征图谱相似度分别为 0.986~1.000、0.989~1.000。百蕊草标准汤剂特征图谱标定 6 个共有峰, 药材中的 5 个共有峰全部转移至标准汤剂并被指认, 其中 4 个共有峰采用对照品比对确认, 分别为 5-*O*-阿魏酰奎宁酸 (峰 2)、4-*O*-阿魏酰奎宁酸 (峰 3)、百蕊草素 I (峰 5)、山柰酚-3-*O*-(2"-*O*-α-鼠李糖基-6"-*O*-丙二酰基)-β-葡萄糖苷 (峰 6)。19 批标准汤剂的平均出膏率为 27.45%, 百蕊草素 I 从药材-标准汤剂的平均转移率为 89.48%, 出膏率与转移率均未出现离散数据。结论 建立的标准汤剂特征图谱及含量测定方法稳定可靠, 百蕊草素 I 从药材到标准汤剂的量值传递结果表明, 百蕊草标准汤剂的质量得到了较好地控制, 其制备工艺具有科学性、可行性, 为百蕊草配方颗粒的质量标准制定奠定基础。

关键词:百蕊草; 药材; 标准汤剂; 特征图谱; 量值传递; 百蕊草素 I; 5-*O*-阿魏酰奎宁酸; 4-*O*-阿魏酰奎宁酸; 山柰酚-3-*O*-(2"-*O*-α-鼠李糖基-6"-*O*-丙二酰基)-β-葡萄糖苷

中图分类号: R283.6

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2023)04-1098-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2023.04.009

Study and analysis on transmission law of quantity value between *Thesii Herba* and standard decoction

YAN Lu¹, PU Jing-zhe^{2,3}, GUAN Yue-qin⁴, ZHENG Wei-bing⁴, SUN Yi-fei⁴, ZHANG Ya-zhong^{2,3}

1. School of Pharmacy, Anhui University of Traditional Chinese Medicine, Hefei 230012, China

2. Anhui Institute for Food and Drug Control, Hefei 230051, China

3. NMPA Key Laboratory for Quality Research and Evaluation of Traditional Chinese Medicine, Hefei 230051, China

4. Anhui Jiuhua Huayuan Pharmaceutical Co., Ltd., Chuzhou 239000, China

Abstract: Objective To establish the UPLC characteristic spectrum of the standard decoction of *Bairuicao* (*Thesii Herba*) and the content determination method of its index components, study the changes of the characteristic spectra of *Thesii Herba* and standard decoction, and analyze the quantity transfer law of the index component kaempferol-3-*O*-glucorhamnoside in the medicinal material standard decoction. **Methods** Analysis was performed on a Waters Acquity UPLC BEH Shield RP₁₈ (150 mm × 2.1 mm, 1.7 μm) column with acetonitrile-0.2% formic acid for gradient elution. The flow rate was 0.4 mL/min, the detection wavelength was 330 nm, and the column temperature was 30 °C. The characteristic spectrum and content determination method were established. The delivery rate, content and transfer rate, and the number of common peaks in the characteristic spectrum were used as the main

收稿日期: 2022-09-07

基金项目: 国家重点研发计划“中医药现代化研究”重点专项 (2019YFC1711505); 安徽省药品监督管理局监管科学研究重点项目 (AHYJ-KJ-202210)

作者简介: 严露 (1997—), 女, 硕士研究生, 从事药物分析新技术和新方法研究及中药、天然药物质量控制研究。E-mail: 791637318@qq.com

*通信作者: 张亚中, 主任药师, 硕士生导师, 从事药物分析新技术和新方法研究及中药、天然药物质量控制研究。E-mail: 282483507@qq.com

evaluation indexes to analyze the quantitative transmission law of the standard decoction of *Thesii Herba*. **Results** The similarity of 19 batches of *Thesii Herba* and standard decoction with their respective control characteristic maps was 0.986—1.000 and 0.989—1.000, respectively. There were six common peaks in the calibration of the characteristic spectrum of the standard decoction of Bairuicao (*Thesium chinense*). All the five common peaks of the medicinal materials were transferred to the standard decoction and identified. Among them, four chromatographic peaks were confirmed by comparison with the reference materials, namely 5-*O*-ferulic quinic acid (peak 2), 4-*O*-ferulic quinic acid (peak 3), kaempferol-3-*O*-glucorhamnoside (peak 5), kaempferol-3-*O*-(2"-*O*- α -rhamnose-6"-*O*-malonyl)- β -glucoside (peak 6). The average extraction rate of 19 batches of standard decoction was 27.45%, and the average transfer rate of kaempferol-3-*O*-glucorhamnoside from *Thesii Herba* to standard decoction was 89.48%. There was no discrete data of extraction rate and transfer rate. **Conclusion** The established characteristic map and content determination method of standard decoction are stable and reliable. The results of the transmission of the quantity of kaempferol-3-*O*-glucorhamnoside from *Thesii Herba* to the standard decoction show that the quality of the standard decoction of *Thesii Herba* has been better controlled, and the preparation process is scientific and feasible, which lays a solid foundation for the formulation of the quality standard of the prepared granules of *Thesii Herba*.

Key words: *Thesium chinense* Turcz.; medicinal materials; standard soup; characteristic chromatogram; magnitude transfer; kaempferol-3-*O*-glucorhamnoside; 5-*O*-ferulic quinic acid; 4-*O*-ferulic quinic acid; kaempferol-3-*O*-(2"-*O*- α -rhamnose-6"-*O*-malonyl)- β -glucoside

誉有“植物抗生素”之称的檀香科百蕊草属植物百蕊草 *Thesium chinense* Turcz. 属于多年生柔弱草本植物，又名百乳草、九仙草、九龙草等，其寄生体多达 24 科 70 种植物^[1]，具有抗炎、抗菌、抗氧化、抑制肿瘤细胞增殖等多种药理作用^[2]，现已被制成片剂、胶囊剂、颗粒剂等多种剂型，其中“百蕊片、百蕊胶囊”被列为国家中药保护品种^[3]。

目前，针对百蕊草的研究主要集中在成分分离及分析^[4-5]、人工栽培与半寄生特性^[6-7]、多糖^[8-9]、生物学^[10-11]、质量评价^[12-13]等方面。百蕊草配方颗粒相关研究尚未见报道，且当下各品种配方颗粒质量标准的制定及生产正如火如荼地开展，而标准汤剂是配方颗粒的物质基础，因此，百蕊草标准汤剂量值传递的研究具有重要意义。

《中药配方颗粒质量控制与标准制定技术要求》中指出，中药配方颗粒应以标准汤剂的特征图谱和含量限度范围为参照，以出膏率、含量及转移率、指纹图谱或特征图谱的一致性为考察指标，对原料、中间体及成品制备过程中的量质传递和物料平衡进行全面研究^[14]。

本课题组前期已研究并撰写了不同产地百蕊草药材质量评价的相关论文，建立了百蕊草药材的超高效液相色谱（ultra-high performance liquid chromatography, UPLC）特征图谱，研究中发现百蕊草饮片各项指标同药材，故本实验在前期药材研究的基础上展开对百蕊草标准汤剂的特征图谱、含量测定、量值传递研究，为百蕊草配方颗粒的质量标准制定奠定基础。

1 仪器与材料

1.1 仪器

LC3600 超高效液相色谱仪，安徽皖仪科技有限公司；Milli-Q 超纯水仪，美国 Millipore 公司；Mettler Toledo 万分之一电子天平、Mettler Toledo 十万分之一电子天平，托利多仪器（上海）有限公司；陶瓷药罐，配套电炉底座，功率武火 500 W、文火 300 W，深圳市正云科技有限公司；LGJ-103 真空冷冻干燥机，北京松源华兴科技发展有限公司；色谱柱为 Waters Acquity UPLC BEH Shield RP₁₈ (100 mm×2.1 mm, 1.7 μ m)。

1.2 试剂

LC/MS 级乙腈、乙醇、甲酸，美国 Fairfield 公司；其他分析纯试剂均购自国药集团化学试剂有限公司；对照品百蕊草素 I，批号 Z19J11L108586，质量分数 $\geq 98\%$ ，上海源叶生物科技有限公司；对照品 5-*O*-阿魏酰奎宁酸，批号 MUST-22053103，质量分数 $\geq 99.49\%$ ，成都曼斯特生物科技有限公司；对照品 4-*O*-阿魏酰奎宁酸（批号 DSTZ11110-646，质量分数 $\geq 98\%$ ）、山柰酚-3-*O*-(2"-*O*- α -鼠李糖基-6"-*O*-丙二酰基)- β -葡萄糖苷（批号 DSTZ20610-510，质量分数 $\geq 90\%$ ），乐美天医药/德斯特生物科技有限公司。

1.3 药材

19 批野生百蕊草药材，由安徽九华华源药业有限公司提供，经安徽省食品药品检验研究院张亚中主任中药师鉴定，均为檀香科百蕊草属植物百蕊草 *T. chinense* Turcz. 的干燥全草，药材及标准汤剂冻干

粉信息见表 1。

2 方法与结果

2.1 百蕊草标准汤剂、供试品、对照品溶液的制备

2.1.1 标准汤剂的制备

取百蕊草 100 g，浸泡 30 min，加水煎煮 2 次，一煎加 12 倍量水浸泡 30 min，武火(500 W)煮沸后改文火(300 W)再煎煮 30 min，用 200 目筛网趁热滤过；药渣再加 9 倍量的水，武火煮沸后改文火再煎煮 25 min，用 200 目筛网趁热

表 1 百蕊草样品信息

Table 1 Sample information of *Thesii Herba*

编号	批号		采集地	采集时间	编号	批号		采集地	采集时间
	药材	冻干粉				药材	冻干粉		
S1	PF-2	BRC-DG-2	陕西省宝鸡市陇县	2021 年 4—5 月	S11	PF-12	BRC-DG-12	山西省临汾市大宁县	2021 年 5—6 月
S2	PF-3	BRC-DG-3	山西省长治市屯留县	2021 年 5—6 月	S12	PF-14	BRC-DG-14	陕西省西安市蓝田县	2021 年 4—5 月
S3	PF-4	BRC-DG-4	山西省临汾市安泽县	2021 年 5—6 月	S13	PF-15	BRC-DG-15	山西省临汾市洪洞县	2021 年 5—6 月
S4	PF-5	BRC-DG-5	陕西省宝鸡市陈仓区	2021 年 5—6 月	S14	PF-16	BRC-DG-16	山西省临汾市吉县	2021 年 5—6 月
S5	PF-6	BRC-DG-6	甘肃省天水市麦积区	2021 年 5—6 月	S15	PF-17	BRC-DG-17	甘肃省庆阳市镇原县	2021 年 5—6 月
S6	PF-7	BRC-DG-7	甘肃省平凉市灵台县	2021 年 5—6 月	S16	PF-19	BRC-DG-19	河南省洛阳市栾川县	2021 年 4—5 月
S7	PF-8	BRC-DG-8	山西省临汾市襄汾县	2021 年 5—6 月	S17	PF-20	BRC-DG-20	河南省三门峡市卢氏县	2021 年 4—5 月
S8	PF-9	BRC-DG-9	陕西省铜川市宜君县	2021 年 5—6 月	S18	PF-24	BRC-DG-24	滁州市琅琊区邓坝村	2021 年 7 月
S9	PF-10	BRC-DG-10	山西省长治市长子县	2021 年 5—6 月	S19	PF-26	BRC-DG-26	滁州市南谯区皇甫山	2021 年 7 月
S10	PF-11	BRC-DG-11	山西省太原市小店区	2021 年 5—6 月				林场	

滤过；合并 2 次滤液，减压浓缩至相对密度为 1.02～1.10 g/mL 的浓浸膏，真空冷冻干燥，取出，称定质量，粉碎，分装至西林瓶中，即得百蕊草标准汤剂(冻干粉)。

2.1.2 标准汤剂供试品溶液的制备 取百蕊草标准汤剂冻干粉，精密称定 0.5 g，置 100 mL 具塞锥形瓶中，精密加入 50%乙醇 25 mL，称定质量，超声(功率 500 W、频率 40 kHz)提取 30 min，取出，放冷，再称定质量，用 50%乙醇补足缺失的质量，摇匀，0.22 μm 微孔滤膜滤过，取续滤液，即得标准汤剂供试品溶液。

2.1.3 药材供试品溶液的制备 取百蕊草药材粉末过 4 号筛，精密称定 1.0 g，置 100 mL 具塞锥形瓶中，精密加入 50%乙醇 25 mL，称定质量，超声(功率 500 W、频率 40 kHz)提取 45 min，取出，放冷，再称定质量，用 50%乙醇补足缺失的质量，摇匀，0.22 μm 微孔滤膜滤过，取续滤液，即得药材供试品溶液。

2.1.4 药材与标准汤剂对照品溶液的制备 精密称取百蕊草素 I 对照品 1.770、4.494 mg，置 5 mL 量瓶中，加甲醇溶解并定容至刻度，分别制成质量浓度为 0.347、0.881 mg/mL 的溶液，即为百蕊草药材、标准汤剂的对照品溶液。

2.1.5 鉴定用混合对照品溶液的制备 精密称取

5-O-阿魏酰奎宁酸、4-O-阿魏酰奎宁酸、百蕊草素 I、山柰酚-3-O-(2"-O-α-鼠李糖基-6"-O-丙二酰基)-β-葡萄糖苷对照品 2.170、2.221、5.243、13.135 mg，置 10 mL 量瓶中，加甲醇溶解并定容至刻度，制成质量浓度为 0.216～1.182 mg/mL 的混合对照品溶液。

2.2 标准汤剂 UPLC 特征图谱的建立及分析

2.2.1 色谱条件 Waters Acquity UPLC BEH Shield RP₁₈ 色谱柱(150 mm×2.1 mm, 1.7 μm)，流动相为乙腈-0.2%甲酸水溶液，体积流量为 0.4 mL/min，梯度洗脱：0～7 min，10%～13%乙腈；7～15 min，13%～16%乙腈；15～20 min，16%～21%乙腈；20～25 min，21%乙腈；25～27 min，21%～10%乙腈；柱温为 30 ℃；检测波长为 330 nm；进样量为 2 μL。

2.2.2 精密度试验 取百蕊草标准汤剂冻干粉(批号 BRC-DG-15)，按“2.1.2”项方法制备供试品溶液，照“2.2.1”项色谱条件连续进样测定 6 次，以 5 号色谱峰(百蕊草素 I)为参照峰(S)，计算得到各共有峰相对保留时间的 RSD 为 0.07%～0.29%，相对峰面积的 RSD 为 0.47%～1.63%，表明仪器精密度良好。

2.2.3 重复性试验 取百蕊草标准汤剂冻干粉(批号 BRC-DG-15)，按“2.1.2”项方法平行制备 6 份供试品溶液，照“2.2.1”项色谱条件进样测定，以

5 号色谱峰 (百蕊草素 I) 为参照峰 (S), 计算得到各共有峰相对保留时间的 RSD 为 0.12%~0.29%, 相对峰面积的 RSD 为 0.52%~1.58%, 表明该方法重复性较好。

2.2.4 稳定性试验 取百蕊草标准汤剂冻干粉 (批号 BRC-DG-15), 按“2.1.2”项方法制备供试品溶液, 照“2.2.1”项色谱条件进样测定, 分别于配制后的 0、2、4、8、10、14、16 h 进样测定, 以 5 号色谱峰 (百蕊草素 I) 为参照峰 (S), 计算得到各共有峰相对保留时间的 RSD 为 0.18%~0.48%, 相

对峰面积的 RSD 为 0.77%~1.79%, 表明供试品溶液在 16 h 内稳定性良好。

2.2.5 标准汤剂和饮片特征图谱的建立及相似度评价 取 19 批百蕊草药材、标准汤剂供试品溶液, 按“2.2.1”项色谱条件进样测定并记录色谱图, 将其导入“国家药典委员会中药色谱指纹图谱相似度评价系统 (2012 版)”软件, 以 S1 号样品色谱图为参照图谱, 采用中位数法生成共有模式, 对样品进行多点校正和 Mark 峰匹配得到百蕊草药材和标准汤剂特征图谱 (图 1、2), 并对其进行相似度分析, 结

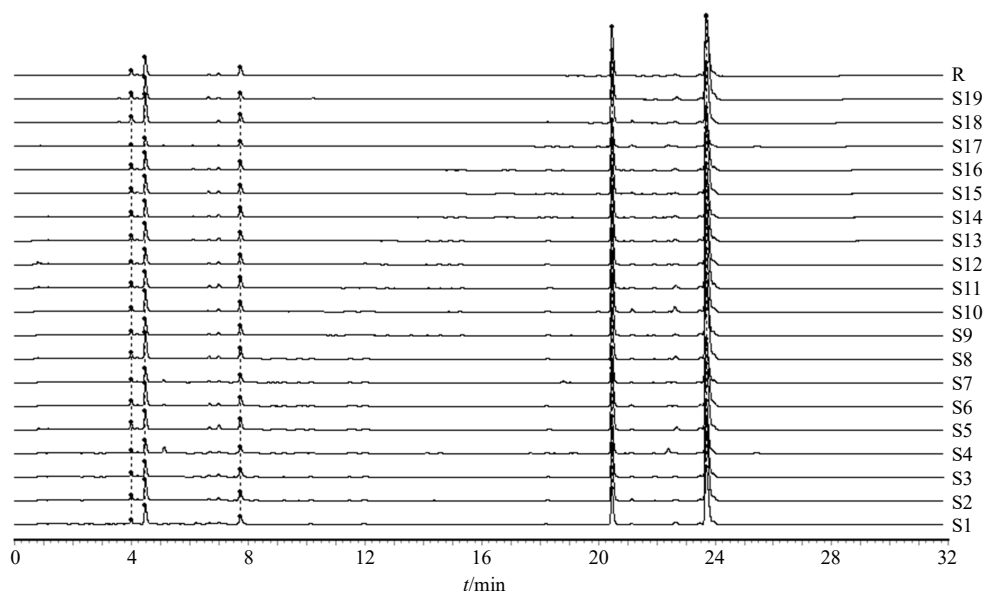


图 1 19 批百蕊草药材 UPLC 特征图谱及其对照特征图谱

Fig. 1 UPLC characteristic spectras and its control characteristic spectrum of 19 batches of *Thesii Herba*

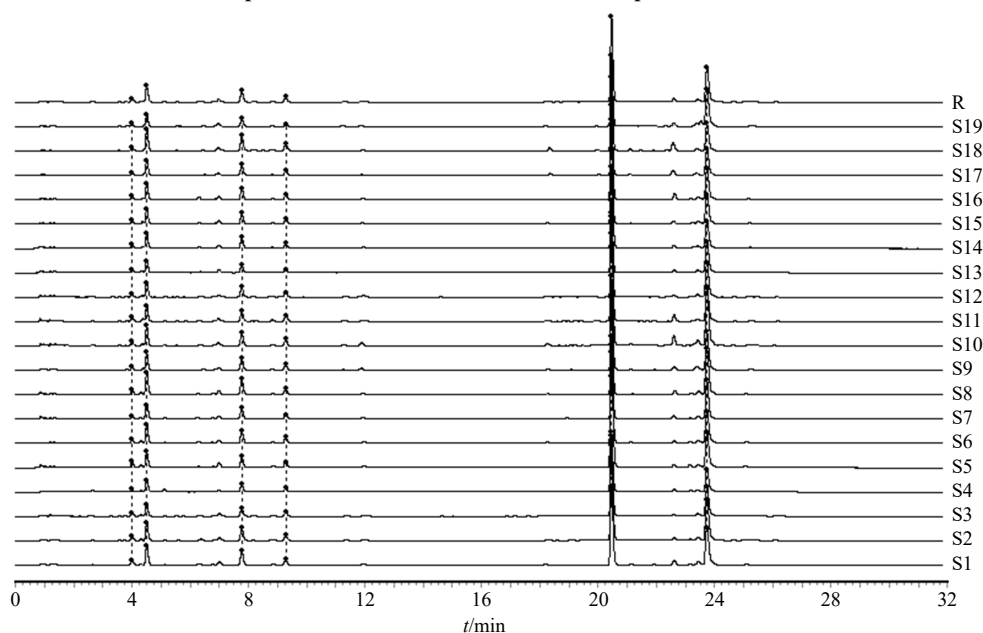


图 2 19 批百蕊草标准汤剂 UPLC 特征图谱及其对照特征图谱

Fig. 2 UPLC characteristic spectras and its control characteristic spectrum of 19 batches of *Thesii Herba* standard decoction

果见表 2。经相似度评价结果分析, 19 批百蕊草药材与对照特征图谱的相似度在 0.986~1.000, 标准汤剂的相似度在 0.989~1.000, 表明 19 批不同产地的百蕊草药材和标准汤剂整体质量相对稳定, 具有较好的一致性。

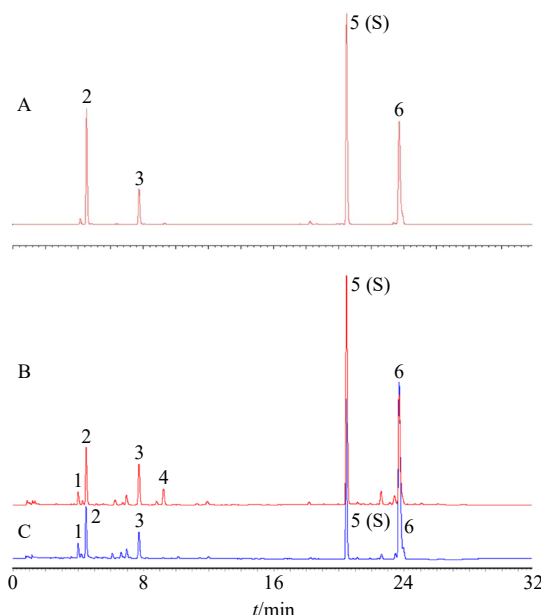
表 2 19 批百蕊草药材和标准汤剂的相似度

Table 2 Similarity of 19 batches of *Thesii Herba* and standard decoction

编号	相似度		编号	相似度	
	药材	标准汤剂		药材	标准汤剂
S1	0.996	0.997	S11	0.999	0.999
S2	1.000	1.000	S12	0.999	0.999
S3	1.000	0.997	S13	1.000	0.998
S4	1.000	0.999	S14	0.996	0.998
S5	0.997	0.996	S15	0.999	0.995
S6	0.997	0.999	S16	1.000	0.999
S7	1.000	0.998	S17	0.993	0.998
S8	0.998	0.998	S18	0.995	0.990
S9	0.994	1.000	S19	0.986	0.989
S10	0.998	0.998			

2.2.6 标准汤剂和药材共有峰的标定及对比分析
将 19 批药材、标准汤剂数据导入“国家药典委员会中药色谱指纹图谱相似度评价系统软件 (2012 版)”, 以 S1 号样品色谱图为参照图谱, 采用中位数法生成共有模式, 对样品进行多点校正和 Mark 峰 (标记峰) 匹配分别得到 19 批百蕊草药材、标准汤剂特征图谱共有峰的匹配数据, 从而计算相对峰面积。以分离度高、峰形好、峰面积稳定为筛选条件确定共有峰, 因此, 药材确定 5 个共有峰, 标准汤剂确定 6 个共有峰 (图 3)。通过对照品指认了 4 个共有峰, 药材和标准汤剂中的峰 2、3、5、6 分别为 5-*O*-阿魏酰奎宁酸、4-*O*-阿魏酰奎宁酸、百蕊草素 I、山柰酚-3-*O*-(2''-*O*- α -鼠李糖基-6''-*O*-丙二酰基)- β -葡萄糖苷。由于百蕊草素 I 具有较好的峰形, 且为特征性成分, 故药材和标准汤剂均以 5 号峰为参照峰 (S), 计算各特征峰与 S 峰的相对保留时间及相对峰面积, 取 19 批数据均值, 见表 3。

经过多批次样品验证, 药材各批次主成分均可在标准汤剂特征图谱中得到追踪, 表明百蕊草从药材-标准汤剂的过程中各成分的到了有效的转移, 标准汤剂的制备工艺稳定, 不同批次之间的差异较小, 为百蕊草配方颗粒标准的制定奠定了坚实的基础。



2-5-*O*-阿魏酰奎宁酸 3-4-*O*-阿魏酰奎宁酸 5-百蕊草素 I 6-山柰酚-3-*O*-(2''-*O*- α -鼠李糖基-6''-*O*-丙二酰基)- β -葡萄糖苷
2-5-*O*-ferulic quinic acid 3-4-*O*-ferulic quinic acid 5-kaempferol-3-*O*-glucorhamnoside
6-kaempferol-3-*O*-(2''-*O*- α -rhamnosyl-6''-*O*-malonyl)- β -glucoside

图 3 混合对照品溶液的 UPLC 图谱 (A) 及百蕊草标准汤剂 (B) 和药材 (C) 对照特征图谱

Fig. 3 UPLC spectrum of mixed reference substances solution (A) and standard decoction (B) and *Thesii Herba* (C) of comparison characteristic atlas

表 3 药材和标准汤剂的 UPLC 特征图谱分析

Table 3 UPLC characteristic atlas analysis of *Thesii Herba* and standard decoction

峰号	药材		标准汤剂	
	相对保留时间	相对峰面积	相对保留时间	相对峰面积
1	0.195	0.079	0.195	0.042
2	0.219	0.374	0.220	0.193
3	0.378	0.198	0.380	0.148
4			0.454	0.070
5	1.000	1.000	1.000	1.000
6	1.158	1.991	1.160	0.558

2.3 百蕊草标准汤剂的出膏率测定及分析

移取 19 批百蕊草煎煮 2 次合并后的滤液 30 g 至恒定质量的蒸发皿中, 水浴蒸干后于 105 °C 烘箱中干燥至固体状态, 冷却, 称定质量, 记录蒸发皿与干膏的总质量, 按公式计算出膏率, 结果见表 4。可知百蕊草出膏率的实测范围在 24.00%~29.63%, 波动范围较窄, 无论出膏率范围值取均值 $\pm$ 30%或均值 $\pm$ 3SD, 19 批测定结果均在此范围内。

含固率 $= (m_3 - m_1) / m_2$

出膏率 $= (\text{含固率} \times \text{滤液净质量}) / \text{饮片质量}$

m_1 为蒸发皿恒定质量, m_2 为移液量, m_3 为蒸发皿与干膏总质量

2.4 百蕊草药材和标准汤剂中指标成分的量值传递关系研究

《中国药典》2020 年版并未收录百蕊草, 故并无百蕊草的含量测定标准。本研究采用 UPLC 同时建立了百蕊草药材和标准汤剂中百蕊草素 I 的含量测定方法, 可为制定百蕊草配方颗粒的质量控制标准提供参考。

2.4.1 色谱条件 检测波长为 270 nm, 其余条件同“2.2.1”项。

2.4.2 线性关系考察 分别精密吸取“2.1.4”项中百蕊草药材与标准汤剂的对照品溶液 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0、3.5 μL , 按照“2.4.1”项色谱条件进样分析, 以百蕊草素 I 对照品质量为横坐标 (X), 峰面积为纵坐标 (Y), 绘制标准曲线, 进行线性回归, 得回归方程: 药材中百蕊草素 I $Y = 3\,637.8 X + 83.708$, $r = 0.999\,8$, 线性范围 0.173~1.214 μg ; 标准汤剂中百蕊草素 I $Y = 3\,258.0 X + 226.61$, $r = 0.999\,6$, 线性范围 0.440~3.082 μg 。

2.4.3 精密度试验 分别取百蕊草药材与标准汤剂的对照品溶液, 按照“2.4.1”项色谱条件连续进样测定 6 次, 记录峰面积, 并计算连续 6 次进样结果的 RSD 值。药材对照品中百蕊草素 I 峰面积的 RSD

为 0.18%, 标准汤剂对照品中峰面积的 RSD 为 2.05%, 仪器精密度良好。

2.4.4 重复性试验 分别取百蕊草药材 (批号 PF-12)、标准汤剂冻干粉 (批号 BRC-DG-15), 平行 6 份, 按“2.1.3”项和“2.1.2”项方法制备 6 份供试品溶液, 照“2.4.1”项色谱条件进样测定, 记录峰面积, 并计算 6 份供试品溶液进样结果的 RSD 值。药材供试品溶液中百蕊草素 I 含量的 RSD 为 0.57%, 标准汤剂供试品溶液中百蕊草素 I 含量的 RSD 为 1.04%, 重复性良好。

2.4.5 稳定性试验 分别取百蕊草药材 (批号 PF-12)、标准汤剂冻干粉 (批号 BRC-DG-15), 按“2.1.3”项和“2.1.2”项方法制备供试品溶液, 照“2.4.1”项色谱条件进样测定, 于配制后的 0、2、4、8、10、14、16 h 进样测定, 记录峰面积, 并计算不同时间点进样结果的 RSD 值。药材供试品溶液中百蕊草素 I 峰面积的 RSD 为 0.43%, 标准汤剂供试品溶液中百蕊草素 I 峰面积的 RSD 为 0.46%, 稳定性良好。

2.4.6 含量测定及转移率计算 取 19 批百蕊草药材和标准汤剂供试品溶液, 根据已建立的含量测定方法进行定量测定, 并按公式计算药材到标准汤剂的转移率, 结果见表 4。可知百蕊草药材中百蕊草素 I 含量的实测值在 6.02~10.89 mg/g, 波动范围较窄, 无论取均值 $\pm 3\text{SD}$ 范围还是均值 $\pm 30\%$ 范围, 实验结果均在范围内; 标准汤剂中百蕊草素 I 含量

表 4 百蕊草药材和标准汤剂测定结果

Table 4 Determination results of *Thesii Herba* and standard decoction

编号	标准汤剂 出膏率/%	百蕊草素 I/(mg·g ⁻¹)		指标成分 转移率/%	编号	标准汤剂 出膏率/%	百蕊草素 I/(mg·g ⁻¹)		指标成分 转移率/%
		药材	标准汤剂				药材	标准汤剂	
S1	26.66	6.33	26.33	96.21	S14	28.70	8.74	30.81	92.75
S2	26.14	9.23	36.92	98.89	S15	28.57	9.75	35.89	95.42
S3	27.57	7.65	30.28	98.54	S16	27.01	8.53	30.92	84.86
S4	25.96	6.05	21.75	94.16	S17	29.63	6.02	22.44	95.41
S5	29.57	10.89	38.15	97.82	S18	25.90	8.64	25.60	72.92
S6	24.00	7.86	28.26	82.50	S19	26.46	7.74	24.43	79.95
S7	28.87	7.28	28.11	93.83	最小值	24.00	6.02	21.75	72.92
S8	28.44	8.51	29.50	92.46	最大值	29.63	10.89	39.37	98.89
S9	25.74	10.35	32.40	79.84	均值	27.45	8.52	29.79	89.48
S10	29.41	10.38	39.37	97.63	SD	1.56	1.45	5.12	8.16
S11	26.50	10.14	31.88	77.60	均值 $\pm 30\%$	19.22~36.69	5.96~11.08	20.85~38.73	62.64~116.34
S12	28.11	8.88	28.06	85.08	均值 $\pm 3\text{SD}$	22.77~32.13	4.17~12.87	14.43~45.15	65.00~113.96
S13	28.37	8.82	24.92	84.33					

的实测值在 21.75~39.37 mg/g, 虽然其最大值超过了均值 $\pm 30\%$ 上限, 但所有结果仍在均值 $\pm 3SD$ 范围内; 百蕊草素 I 转移率的实测转移率在 72.92%~98.89%, 无论转移率范围是取均值 $\pm 3SD$ 范围, 还是均值 $\pm 30\%$ 范围, 结果均在此范围内, 转移率较为稳定。

转移率=冻干粉中待测成分含量 $\times$ 冻干粉净质量/(药材待测成分含量 $\times$ 饮片用量)

3 讨论

3.1 关于供试品处理及色谱条件的优化

经文献查阅, 相关百蕊草药材的研究主要使用甲醇^[15]、乙醇^[16]、甲醇-盐酸^[17]等提取溶剂采用回流或者超声提取的方式进行供试品处理。本研究前期已建立了百蕊草的相关方法, 故直接使用药材供试品处理、色谱条件方法针对标准汤剂开展方法优化研究, 以色谱峰总峰面积与称样量之比为评价指标确定百蕊草标准汤剂的最佳供试品制备方法和色谱条件。经研究结果分析, 标准汤剂仅有取样量和处理时间较药材有些许改动, 其余条件与药材相同。

3.2 关于原料的代表性

根据《中药配方颗粒标准质量控制与标准制定要求》的要求, 所使用的药材要具有代表性, 且批次最少为 15 批。本次研究总共收集 26 批野生百蕊草样品, 其中陕西省 6 批, 山西省 9 批, 甘肃省 3 批, 河南省 3 批, 内蒙古自治区 1 批, 河北 2 批, 安徽 2 批, 基本覆盖百蕊草配方颗粒上市拟采用药材的主产区。经分子鉴定, 2 批河北产地药材为变种长梗百蕊草, 1 批内蒙产地药材为伪品急折百蕊草, 故舍去。经农残、重金属检验, 2 批陕西百蕊草药材, 1 批山西百蕊草药材、1 批河南百蕊草药材不符合药典要求, 故不纳入研究。最终, 将 19 批合格药材制成百蕊草标准汤剂, 符合《中药配方颗粒标准质量控制与标准制定要求》的要求。

3.3 关于标准汤剂工艺的评价指标选择及考察

本课题组前期运用超高效液相色谱四级杆飞行时间质谱联用 (ultra-high performance liquid chromatography-quadrupole time-of-flight mass spectrometry, UPLC-Q-TOF/MS) 技术, 对百蕊草药材进行了化学成分鉴定, 多为酚酸类和黄酮类, 各文献也报道了百蕊草中含有黄酮、有机酸、生物碱、甾醇、挥发油、萜类等多种化学成分^[5], 其中黄酮类化合物是百蕊草抗菌消炎作用的主要成分之一, 含量最高且抑菌效果最好^[18], 可作为评价其质

量的指标性成分, 故本研究选择百蕊草素 I 评价和反映药材-标准汤剂的量值传递情况以及相关工艺的优化。

根据《中药配方颗粒质量控制与标准制定技术要求》, 参照《医疗机构中药煎药室管理规范》, 在取样量 100 g、浸泡时间 30 min、二煎的条件下, 对加水量、煎煮时间、分离工艺、浓缩温度进行了考察, 以出膏率、含量及转移率、特征图谱为评价指标开展条件优化。考察结果显示, 一煎 12 倍水, 二煎 9 倍水; 一煎 30 min, 二煎 25 min; 200 目滤过; 50~65 °C 浓缩时, 出膏率、含量、转移率为最高值, 因此确定了最佳标准汤剂制备工艺。研究结果分析发现, 百蕊草素 I 的出膏率、含量和特征图谱在正常范围之内, 转移率有几批超过 98%, 经异常值分析, 可能是在提取过程中由于操作因素控制不当导致其他成分向指标成分转化。

3.4 关于特征图谱及百蕊草素 I 的量值传递分析

百蕊草药材特征图谱中应呈现 5 个特征峰, 标准汤剂特征图谱中应呈现 6 个特征峰, 通过对照品指认了药材和标准汤剂中的峰 2、3、5、6。从相对保留时间及对照品的指认结果分析, 药材中的 5 个共有峰在标准汤剂特征图谱中得到了有效的转移。多批次标准汤剂特征图谱实验结果显示, 峰 4 稳定存在, 峰型好, 响应高, 故增加为标准汤剂特征峰。

19 批标准汤剂中, 百蕊草素 I 质量分数的实测值在 21.75~39.37 mg/g, 虽然其最大值超过了均值 $\pm 30\%$ 上限, 但所有结果仍在均值 $\pm 3SD$ 范围内; 转移率的实测转移率在 72.92%~98.89%, 无论出膏率范围值取均值的 70%~130%或均值的 $\pm 3SD$, 结果均在此范围内, 转移率较为稳定, 未出现离群值。标准汤剂定量测定和转移率结果揭示, 百蕊草素 I 从药材-标准汤剂得到了有效的转移。

4 结论

百蕊草药材中的 5 个共有峰在标准汤剂特征图谱中得到了有效转移, 表明本研究建立的 UPLC 特征图谱能准确地反映药材-标准汤剂之间的真实性、优良性、稳定性和主要化学成分的可追溯性。建立的指标成分含量测定方法可同时用于药材和标准汤剂的分析测定, 量值传递结果表明百蕊草标准汤剂的质量得到了较好的控制, 其制备工艺具有科学性、可行性。标准汤剂作为配方颗粒系列研究的参考, 与药材、中间体、配方颗粒既有区别又有联系, 本研究结果可为百蕊草配方颗粒的质量标准制定及后

期大生产提供参考。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 郭巧生, 罗夫来. 百蕊草群落物种多样性与寄主调查研究 [J]. 中国中药杂志, 2011, 36(3): 268-271.
- [2] 刘永松, 罗曼, 潘玲, 等. 抗菌中草药百蕊草的研究进展 [J]. 药学进展, 2006, 30(6): 252-256.
- [3] 张晓明. 半寄生植物百蕊草在长江下游地区适应特性研究 [D]. 南京: 南京农业大学, 2015.
- [4] 周思倩, 方艳, 谭金桃, 等. [J]. 天然产物研究与开发, 2022, 34(10): 1633-1646.
- [5] 邹懿, 洪敏, 杨笑芳. 百蕊草化学成分分离 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(7): 74-77.
- [6] 张成才, 向增旭. 百蕊草种子破除休眠及设施栽培条件的优化研究 [J]. 中药材, 2020, 43(2): 274-279.
- [7] 张晓明. 半寄生植物百蕊草在长江下游地区适应特性研究 [D]. 南京: 南京农业大学, 2015.
- [8] 邵丽君, 琚飞龙, 钟杨, 等. 脱色对百蕊草多糖的结构及应用特性的影响: H₂O₂ 脱色和活性炭脱色的比较 [J/OL]. 食品科学. [2022-10-28]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2206.TS.20220928.1656.037.html>.
- [9] 赵晓丽. 百蕊草多糖复配卡拉胶的凝胶特性及其应用研究 [D]. 合肥: 安徽农业大学, 2019.
- [10] 张文香, 常子丽, 李芳, 等. 百蕊草 LRR-RLKs 基因的

鉴定与生物信息学分析 [J]. 南方农业, 2022, 16(9): 1-6.

- [11] 张湄, 张丽杰, 谭维群, 等. 百蕊草有效成分提取工艺优化及生物活性检测 [J]. 重庆理工大学学报: 自然科学, 2022, 36(10): 293-304.
- [12] 王小东, 陈羽, 杨辉灿, 等. 黔产百蕊草药材质量标准初步研究 [J]. 甘肃中医药大学学报, 2021, 38(2): 33-36.
- [13] 王雨朦. 百蕊草药材质量标准研究 [D]. 合肥: 安徽中医药大学, 2016.
- [14] 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(2021 年第 16 号) [EB/OL]. (2021-02-10) [2022-03-03]. http://www.gov.cn/zhengce/zhengceku/2021-02/11/content_5586817.html.
- [15] 周思倩, 方艳, 谭金桃, 等. 基于 UPLC-Q-TOF-MS/MS 分析百蕊草醇提物的化学成分 [J]. 天然产物研究与开发, 2022, 34(10): 1633-1646.
- [16] 宣伟东, 成熙, 叶曙娜, 等. 用 HPLC 法测定百蕊草中 3 个黄酮苷的含量 [J]. 药学实践杂志, 2019, 37(5): 460-463.
- [17] 吴兆喜, 王黔阳, 朱克松, 等. 不同干燥方式对百蕊草中两种黄酮醇苷含量影响 [J]. 云南农业大学学报: 自然科学, 2016, 31(4): 696-699.
- [18] 吴兆喜. 百蕊草中山奈素醇苷的提取纯化工艺及活性测试研究 [D]. 贵阳: 贵州大学, 2016.

[责任编辑 郑礼胜]