

不同粉碎粒度对人参败毒标准汤物理指纹图谱和多指标成分含量的影响

张利恒, 陈新*, 邱智东

长春中医药大学 长白山道地药材药效物质重点实验室, 吉林 长春 130117

摘要:目的 建立人参败毒标准汤的物理指纹图谱和多指标成分含量测定方法, 考察不同粉碎粒度对人参败毒散煎出物的影响。方法 分别以过 10、24、50 目筛的人参败毒散制备标准汤, 测定盐度 (S)、溶解性总固体 (total dissolved solids, TDS)、电导率 (G)、电位 (V)、pH 值、动力黏度 (μ)、固含量 (SC)、表面张力 (γ)、折光率 (n) 9 个物理参数, 构建其物理指纹图谱, 并进行相似度分析 (similarity analysis, SA)、层次聚类分析 (hierarchical cluster analysis, HCA)、主成分分析 (principal component analysis, PCA); 通过 HPLC-DAD 对标准汤中蛇床子素、二氢欧山芹醇当归酸酯、甘草苷、柚皮苷、新橙皮苷的含量进行测定, 利用 HCA 法形成指标成分含量聚类分析图, 对物理指纹图谱分析结果进行验证, 并考察 9 个物理参数与 5 个指标成分的相关性。**结果** 15 批人参败毒标准汤未出现异常批次, 标准汤 S1~S5 (过 10 目筛)、S6~S10 (过 24 目筛)、S11~S15 (过 50 目筛) 各聚为一类, 不同粉碎粒度批次间的物理指纹图谱相似度均小于 0.95, 物理参数 TDS、 G 、 V 、pH、 μ 、SC、 γ 、 n 为人参败毒标准汤物理质量的差异性指标, 24 目煮散的 TDS、 G 、 μ 、SC、 γ 均相对较高; 指标成分含量 HCA 结果与物理指纹图谱分析结果一致, 过 24 目筛的标准汤指标成分含量均高于过 10、50 目筛的煮散; 物理指标 TDS、 G 、 V 、pH、 μ 、SC、 γ 、 n 与蛇床子素、二氢欧山芹醇当归酸酯、甘草苷、柚皮苷、新橙皮苷的含量之间显著相关。**结论** 粉碎粒度对人参败毒散煎出物的物理属性和指标成分含量具有明显影响, 人参败毒散的最佳粉碎粒度为过 24 目筛, 为其质量标准研究和制剂开发提供理论基础。

关键词: 人参败毒散; 粉碎粒度; 物理指纹图谱; HPLC-DAD; 相似度分析; 层次聚类分析; 主成分分析; 蛇床子素; 二氢欧山芹醇当归酸酯; 甘草苷; 柚皮苷; 新橙皮苷

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2023)05-1429-10

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2023.05.009

Effects of different particle sizes on physical fingerprints and contents of multi-index components in Renshen Baidu standard decoction

ZHANG Li-heng, CHEN Xin, QIU Zhi-dong

Key Laboratory for Effective Substances of Genuine Medicinal Material in Changbai Mountain, Changchun University of Chinese Medicine, Changchun 130117, China

Abstract: Objective To establish the physical fingerprints of Renshen Baidu standard decoction and the determination method of multi-index components, and investigate the effect of different crushing particle sizes on the decoction of Renshen Baidu powder. **Methods** The standard decoction was prepared with Renshen Baidu powder that passed through 10, 24, and 50 mesh sieve, and nine physical parameters including salinity (S), total dissolved solids (TDS), conductivity (G), potential (V), pH value, dynamic viscosity (μ), solid content (SC), surface tension (γ), refractive index (n) were measured. The physical fingerprints were established, and similarity analysis, hierarchical cluster analysis, and principal component analysis were performed; HPLC-DAD was used to determine the contents of osthol, dihydroeosanthinol-angelate, liquiritin, naringin and neohesperidin in the standard decoction, and the hierarchical cluster analysis method was used to form a cluster analysis chart of the content of the index components, and the results of physical fingerprint analysis were verified. The correlation between nine physical parameters and five index components was investigated. **Results** There were no abnormal batches of 15 batches of Renshen Baidu standard decoction. The standard decoctions

收稿日期: 2022-09-26

基金项目: 重大疫情防控中药方剂储备库建设项目 (吉中医药发 [2021] 11 号)

作者简介: 张利恒 (1996—), 女, 硕士研究生, 研究方向为中药及复方药效物质基础和质量标准。

Tel: 17710904859 E-mail: z2607530652@163.com

*通信作者: 陈新, 博士, 教授, 从事中药及复方药效物质基础和标准研究。Tel: 13596000134 E-mail: 1253068357@qq.com

S1—S5 (passed through 10 mesh sieve), S6—S10 (passed through 24 mesh sieve), and S11—S15 (passed through 50 mesh sieve) were grouped together. The similarity of physical fingerprints between batches of different crushed particle sizes is less than 0.95, and the physical parameters TDS, G , V , pH, μ , SC, γ , n are the differences in the physical quality of Renshen Baidu standard decoction, The TDS, G , μ , SC, and γ of Renshen Baidu powder through 24 mesh sieve are relatively high; The cluster analysis results of index component content were consistent with the results of physical fingerprint analysis. The index component content of the standard decoction through 24 mesh sieve was higher than the 10 mesh sieve and 50 mesh sieve; The physical indexes TDS, G , V , pH, μ , SC, γ , n were significantly correlated with the contents of osthol, dihydropicolin-angelate, liquiritin, naringin and neohesperidin. **Conclusion** The crushing particle size has obvious effect on the physical properties and the content of index component of the decoction of Renshen Baidu powder. The best crushing particle size of Renshen Baidu powder is the drug particle passing through the 24 mesh sieve, which provides a theoretical basis for its quality standard research and preparation development.

Key words: Renshen Baidu powder; particle size; physical fingerprint; HPLC-DAD; similarity analysis; hierarchical cluster analysis; principal component analysis; osthol; dihydrocosanthinol-angelate; iquiritin; naringin; neohesperidin

人参败毒散始载于《太平惠民和剂局方》，由羌活、独活、柴胡、川芎、桔梗、前胡、茯苓、枳壳、人参、甘草、生姜、薄荷组成^[1-2]，此方兼顾正邪，可补不滞邪，祛邪不伤正，为治疗疫病的经典古方之一^[3-4]。方中化学成分繁多复杂，主要有效成分为香豆素类、黄酮类、皂苷类等化合物。其中，香豆素类成分蛇床子素、二氢欧山芹醇当归酸酯具有较明显的抗炎、镇痛、平喘、抗病毒等药理作用^[5]；黄酮苷类成分新橙皮苷、柚皮苷具有抗氧化、抗炎等药效作用^[6-7]，甘草苷具有扩张外周血管、调节免疫功能等^[8]；皂苷类成分柴胡皂苷 a、b 具有抗炎、解热、抗病毒、增强免疫力的功效^[9-10]。课题组参考了《中国药典》2020 年版和相关文献报道^[11-12]，进行前期研究，发现人参败毒散中蛇床子素、二氢欧山芹醇当归酸酯、甘草苷、柚皮苷、新橙皮苷的含量较高且稳定。

物理指纹图谱法，可以直观反映中药方剂不同批次间各物理指标的相似及差异程度，同时能综合表征标准汤的物理属性，可用于中药方剂的质量评价^[13]。在物理指标中，盐度 (S) 为液体中盐类物质的质量分数，是与药物吸收相关的影响因素；溶解性总固体 (total dissolved solids, TDS) 值反映了水溶液中所有固体物质的总量，具体指水中钾、钠、钙等矿物质离子和有机物等；电导率 (G)、动力黏度 (μ) 的不同可导致制剂成型过程中产生差异^[14]；电位 (V) 反映了溶液中所有物质的宏观氧化还原性，与药液质量控制密切相关；pH 值为氢离子浓度指数，是溶液中氢离子活动的一种标志；标准汤中固体物质的含量 (solid content, SC) 是制剂研究和质量控制的重要参考指标，通常采用烘干法进行测定；表面张力 (γ) 反映了药液中药物的溶解性，折光率 (n) 反映了药液的澄明度，均对制剂质量产生

一定的影响^[15]。

煮散粉碎粒度的确定是“遵古”开发的关键步骤，而有关粒度的研究报道未形成统一标准。对于古方中“粗末”，范佳佳等^[16]提出为过 20 目筛至 50 目筛的药材颗粒，而焦其树等^[17]建议药材粉碎粒度为过 10 目筛。因此，本研究以 S 、TDS、 G 、 V 、pH、 μ 、SC、 γ 、 n 为物理参数构建人参败毒标准汤物理指纹图谱，并以蛇床子素、二氢欧山芹醇当归酸酯、甘草苷、柚皮苷、新橙皮苷为指标成分，对过 10、24、50 目筛的人参败毒散制备标准汤的质量进行考察，以期为该方制剂开发和质量标准建立提供依据。

1 仪器与材料

1.1 仪器

De-100g 型高速万能粉碎机，浙江红景天工贸有限公司；AB265-S 型十万分之一分析天平，瑞士梅特勒托利多公司；陶瓷煎药壶，潮州市潮安区康雅顺电器有限公司；便捷式电灶，佛山市顺德区金奇电器有限公司；KQ-250B 型数控超声波清洗器，昆山市超声仪器有限公司；实验室 PH 计，梅特勒托利多仪器有限公司；DDSJ-308A 型电导率仪，上海仪电科学仪器股份有限公司；接触角表面张力测量仪，丰度仪器科技有限公司；Agilent1260 型高效液相色谱仪，DAD 型检测器，美国 Agilent 公司。

1.2 试剂

蛇床子素 (批号 T08M8B30733)、二氢欧山芹醇当归酸酯 (批号 P13J9F65515)、新橙皮苷 (批号 Y28F11Y16982) 对照品购自上海源叶生物科技有限公司，质量分数均大于 98%；柚皮苷 (批号 110722-200309)、甘草苷 (批号 111610-200604) 对照品购自中国药品生物制品有限公司，质量分数均大于 98%；磷酸、乙腈均为色谱纯；其他试剂均为分析纯；纯化水为实验室自制。

1.3 药材

羌活(批号 20210125~20210130, 四川)、独活(批号 20201104~20201109, 湖北)、北柴胡(批号 20210103~20210111, 陕西)、川芎(批号 20201031、20201102~20201108, 四川)、前胡(批号 20200526~20200532, 浙江)、枳壳(批号 20210322~20210330, 湖南)、桔梗(批号 20210106~20210114, 河北)、茯苓(批号 20210121~20210129, 湖南)、人参(批号 20210316~20210323, 吉林)、甘草(批号 20210109~20210117, 甘肃)药材饮片均购于吉林省北药药材加工有限公司;羌活(批号 200402~200404, 青海)、独活(批号 210401~210409, 四川)、北柴胡(批号 210404~210409, 山西)、川芎(批号 02221010~02221016, 四川)、前胡(批号 24320006~24320013, 浙江)、枳壳(批号 202102~202107, 江西)、桔梗(批号 38620017~38620022, 安徽)、茯苓(批号 210504~210509, 安徽)、人参(批号 39021007~39021013, 吉林)、甘草(批号 210501~210506, 甘肃)药材饮片均购于吉林省宏检大药房有限公司;羌活(批号 201101~201106, 四川)药材饮片均购于豪州普润药业有限公司。羌活、独活、柴胡、川芎、前胡、枳壳、桔梗、茯苓、人参、甘草药材均经长春中医药大学肖井雷教授鉴定, 分别为伞形科羌活属植物羌活 *Notopterygium*

incisum Ting ex H. T. Chang 的干燥根茎和根、伞形科当归属植物重齿毛当归 *Angelica pubescens* Maxim. f. *biserrata* Shan et Yuan 的干燥根、伞形科柴胡属植物柴胡 *Bupleurum chinense* DC.的干燥根、伞形科川芎属植物川芎 *Ligusticum chuanxiong* Hort. 的干燥根茎、伞形科前胡属植物白花前胡 *Peucedanum praeruptorum* Dunn 的干燥根、芸香科柑橘属植物酸橙 *Citrus aurantium* L.及其栽培变种的干燥未成熟果实、桔梗科桔梗属植物桔梗 *Platycodon grandiflorum* (Jacq.) A. DC.的干燥根、多孔菌科茯苓属真菌茯苓 *Poria cocos* (Schw.) Wolf 的干燥菌核、五加科人参属植物人参 *Panax ginseng* C. A. Mey.的干燥根和根茎、豆科甘草属植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch.的干燥根和根茎的炮制加工品。

根据随机数表法对每批人参败毒标准汤的各药材进行随机排序组合, 药材饮片批号信息见表 1。

2 方法与结果

2.1 人参败毒散的制备

根据《太平惠民和剂局方》记载, 人参败毒散的制法为“上十味, 各三十两, 为粗末, 每服二钱, 水一盏, 入生姜、薄荷各少许, 同煎七分, 去滓”^[18]。在“遵古”核心思想下, 经查阅文献报道^[19-20], 明确宋代的“一两”约为 40 g, “一钱”约为 4 g, “一

表 1 15 批人参败毒标准汤药材饮片批号信息

Table 1 Lot number information of 15 batches of Renshen Baidu standard decoction

编号	批号									
	羌活	独活	北柴胡	川芎	前胡	枳壳	桔梗	茯苓	人参	甘草
S1	20210125	20201104	210404	20201031	20200526	20210322	20210106	210504	20210316	20210109
S2	200402	20201105	210405	02221010	24320006	20210323	38620017	210505	39021007	20210110
S3	200403	210401	20210103	02221011	24320007	202102	38620018	20210121	39021008	20210111
S4	201101	210402	20210104	02221012	20200527	202103	20210107	20210122	20210317	210501
S5	20210126	210403	20210105	02221013	20200528	20210324	20210108	20210123	20210318	210502
S6	20210127	210404	210406	20201102	24320008	20210325	38620019	210506	39021009	210503
S7	201102	210405	210407	02221014	20200529	202104	20210109	20210124	39021010	210504
S8	201103	210406	20210106	02221015	20200530	20210326	38620020	20210125	20210319	20210112
S9	200404	20201107	20210107	02221016	24320009	202105	20210111	210507	20210320	20210113
S10	20210128	20201108	20210108	20201103	24320010	20210327	20210112	20210126	39021011	20210114
S11	20210129	210407	20210111	20201108	20200532	20210329	38620021	20210129	20210321	210506
S12	201104	20201106	20210109	20201105	20200531	20210328	38620022	20210128	20210322	20210117
S13	201106	210408	20210110	20201107	24320012	20210330	20210114	20210127	20210323	210505
S14	201105	210409	210408	20201104	24320013	202106	20210110	210508	39021012	20210115
S15	20210130	20201109	210409	20201106	24320011	202107	20210113	210509	39021013	20210116

盏”相当于 350 mL。生姜常用量为 2~5 片^[16]，“少许”生姜取 2 片。

为了避免因方剂药材用量不同导致的差异，根据宋代药用情况结合课题组前期试验结果，确定标

准汤剂中生姜用量为 1 g，薄荷用量为 0.5 g。选取过 10、24、50 目筛的人参败毒散制备其标准汤剂，考察不同粉碎粒度对人参败毒散煎出物的影响。结果见表 2，各批煮散的细粉含量均小于 20%^[21]。

表 2 人参败毒散的粒度

Table 2 Particle size of Renshen Baidu powder

编号	粒度	细粉含量/%	编号	粒度	细粉含量/%	编号	粒度	细粉含量/%
S1	全部过 10 目筛	8.9 (过 50 目筛)	S6	全部过 24 目筛	9.6 (过 65 目筛)	S11	全部过 50 目筛	9.1 (过 80 目筛)
S2	全部过 10 目筛	8.6 (过 50 目筛)	S7	全部过 24 目筛	9.9 (过 65 目筛)	S12	全部过 50 目筛	9.8 (过 80 目筛)
S3	全部过 10 目筛	8.3 (过 50 目筛)	S8	全部过 24 目筛	9.5 (过 65 目筛)	S13	全部过 50 目筛	9.3 (过 80 目筛)
S4	全部过 10 目筛	8.0 (过 50 目筛)	S9	全部过 24 目筛	10.2 (过 65 目筛)	S14	全部过 50 目筛	9.5 (过 80 目筛)
S5	全部过 10 目筛	8.1 (过 50 目筛)	S10	全部过 24 目筛	9.8 (过 65 目筛)	S15	全部过 50 目筛	9.6 (过 80 目筛)

2.2 人参败毒标准汤的制备

取羌活、独活、柴胡、川芎、桔梗、前胡、茯苓、枳壳(麸炒)、人参、甘草(炙) 10 味药材饮片各 40 g，粉碎，混匀。取混匀后的 10 味药材饮片粉末 16 g，生姜 1 g，薄荷 0.5 g，加入 700 mL 水，武火煮沸，文火煎至药液 490 mL，趁热滤过，即得人参败毒标准汤。按上述方法制备 15 批人参败毒标准汤(编号为 S1~S15)。

2.3 物理指纹图谱研究

2.3.1 物理指标的测定 将人参败毒标准汤冷却至室温，分别测定其 *S*、TDS、*G*、*V*、pH、 μ 、SC、 γ 、*n* 的值，结果见表 3。

2.3.2 物理参数标准化转换和相似度评价 由于物理指标的量纲之间存在差异，需将每个指标进行标准化至同一尺度，绘制指纹图谱。

根据药典标准以及文献报道^[22-23]，将测得的物理指标数值控制在 0~10，各物理指标转换公式见表 4。将测定的各物理指标按转换公式标准化(表 5)，运用 Origin 软件形成物理指纹图谱(图 1)，并对不同批次的标准汤进行相似度分析^[24]，结果见表 6。结果显示，标准汤 S1~S5 的物理指纹图谱相似度为 0.962~0.999，S6~S10 的物理指纹图谱相似度为 0.969~1.000，S11~S15 的物理指纹图谱相似度为 0.957~0.999，其他批次间的物理指纹图谱相

表 3 标准汤物理质量属性检测结果

Table 3 Detection results of physical parameters of standard decoction

编号	<i>S</i> /%	TDS/(mg·L ⁻¹)	<i>G</i> /(μ s·cm ⁻¹)	<i>V</i> /mV	pH	μ /(mPa·s)	SC/%	γ /(mN·m ⁻¹)	<i>n</i>
S1	0.07	706	1405	117	5.06	73.0	38.35	48.68	1.341
S2	0.07	703	1406	118	5.05	71.2	38.30	48.65	1.336
S3	0.07	704	1405	115	5.06	72.4	38.32	48.66	1.338
S4	0.07	701	1409	119	5.03	70.5	38.25	48.58	1.330
S5	0.07	700	1403	119	5.04	69.6	38.23	48.55	1.329
S6	0.07	728	1459	111	5.07	74.5	39.27	50.35	1.349
S7	0.07	726	1462	108	5.10	74.0	39.26	50.32	1.347
S8	0.07	721	1460	110	5.08	73.2	39.23	50.29	1.344
S9	0.07	722	1462	108	5.09	73.7	39.24	50.31	1.345
S10	0.07	732	1461	110	5.11	76.9	39.30	51.02	1.350
S11	0.07	694	1377	142	4.57	71.5	36.55	45.35	1.322
S12	0.07	688	1387	153	4.37	70.9	36.50	45.32	1.318
S13	0.07	691	1382	147	4.47	71.1	36.53	45.34	1.320
S14	0.07	690	1379	148	4.43	71.1	36.52	45.33	1.319
S15	0.07	697	1385	150	4.48	71.8	36.56	45.37	1.323

表4 标准汤物理质量指标的标准化转换方法

Table 4 Standardization conversion method of physical quality index of standard decoction

指标	单位	数值范围 (x)	转换公式	指标	单位	数值范围 (x)	转换公式	指标	单位	数值范围 (x)	转换公式
S	%	0~0.1	100x	V	mV	100~200	x/10-10	SC	%	30~40	x-30
TDS	mg·L ⁻¹	600~800	x/20-30	pH	-	1~6	2x-2	γ	mN·m ⁻¹	40~60	x/2-20
G	μs·cm ⁻¹	1300~1500	x/20-65	μ	mPa·s	60~80	x/2-30	n	-	0~2	5x

表5 标准汤物理质量的标准化数值

Table 5 Standard values of physical quality index of standard decoction

编号	S/%	TDS/(mg·L ⁻¹)	G/(μs·cm ⁻¹)	V/mV	pH	μ/(mPa·s)	SC/%	γ/(mN·m ⁻¹)	n
S1	7	5.30	5.25	1.7	8.12	6.50	8.35	4.340	6.705
S2	7	5.15	5.30	1.8	8.10	5.60	8.30	4.325	6.680
S3	7	5.20	5.25	1.5	8.12	6.20	8.32	4.330	6.690
S4	7	5.05	5.45	1.9	8.06	5.25	8.25	4.290	6.650
S5	7	5.00	5.15	1.9	8.08	4.80	8.23	4.275	6.645
S6	7	6.40	7.95	1.1	8.14	7.25	9.27	5.175	6.745
S7	7	6.30	8.10	0.8	8.20	7.00	9.26	5.160	6.735
S8	7	6.05	8.00	1.0	8.16	6.60	9.23	5.145	6.720
S9	7	6.10	8.10	0.8	8.18	6.85	9.24	5.155	6.725
S10	7	6.60	8.05	1.0	8.22	8.45	9.30	5.510	6.750
S11	7	4.70	3.85	4.2	7.14	5.75	6.55	2.675	6.610
S12	7	4.40	4.35	5.3	6.74	5.45	6.50	2.660	6.590
S13	7	4.55	4.10	4.7	6.94	5.55	6.53	2.670	6.600
S14	7	4.50	3.95	4.8	6.86	5.55	6.52	2.665	6.595
S15	7	4.85	4.25	5.0	6.96	5.90	6.56	2.685	6.615

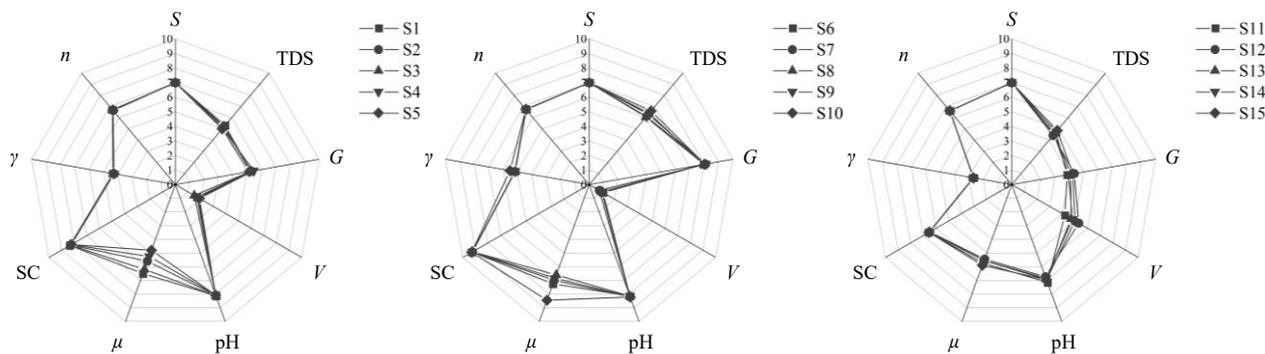


图1 15批人参败毒标准汤的物理指纹图谱

Fig. 1 Physical fingerprints of 15 batches of Renshen Baidu standard decoction

似度均小于 0.950。

2.3.3 物理指纹图谱聚类分析 以 15 批人参败毒标准汤的物理指纹图谱数据为变量,使用 SPSS 20.0 软件中的系统聚类法以平均欧氏距离为度量标准,进行层次聚类分析 (hierarchical cluster analysis, HCA),结果见图 2。结果可知,当距离为 5 时,15 批标准汤聚为 3 类,标准汤 S1~S5、S6~S10、S11~S15 各为一类,与相似度分析结果一致。

2.3.4 物理指纹图谱的主成分分析 (principal component analysis, PCA) 通过 SIMCA-P 11.5 软件对 15 批人参败毒标准汤的指纹图谱数据进行 PCA。结果显示,特征值 > 1 的主成分有 3 个,方差贡献率分别为 88.33%、9.32%、1.85%,累积方差贡献率为 99.50%,基本可以客观反映供试品信息。Hotelling's *T*² 和 DMod *X* 控制图 (图 3) 显示,15 批人参败毒标准汤均在 *T*² 临界值 (95%) 警戒限和 *D*

表 6 相似度评价

Table 6 Similarity evaluation

批次	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13	S14	S15
S1	1.000														
S2	0.989	1.000													
S3	0.999	0.994	1.000												
S4	0.977	0.998	0.985	1.000											
S5	0.962	0.992	0.973	0.997	1.000										
S6	0.915	0.901	0.917	0.895	0.863	1.000									
S7	0.909	0.900	0.913	0.897	0.866	0.999	1.000								
S8	0.912	0.912	0.919	0.912	0.884	0.995	0.998	1.000							
S9	0.909	0.904	0.914	0.901	0.871	0.998	1.000	0.999	1.000						
S10	0.895	0.859	0.892	0.843	0.802	0.987	0.982	0.969	0.977	1.000					
S11	0.775	0.771	0.766	0.764	0.767	0.512	0.499	0.510	0.501	0.477	1.000				
S12	0.606	0.619	0.598	0.623	0.631	0.336	0.325	0.346	0.332	0.284	0.957	1.000			
S13	0.709	0.715	0.701	0.713	0.719	0.441	0.430	0.446	0.434	0.396	0.991	0.987	1.000		
S14	0.687	0.692	0.678	0.689	0.697	0.408	0.396	0.412	0.400	0.365	0.988	0.989	0.999	1.000	
S15	0.677	0.674	0.666	0.669	0.671	0.412	0.398	0.410	0.400	0.376	0.985	0.986	0.995	0.995	1.000

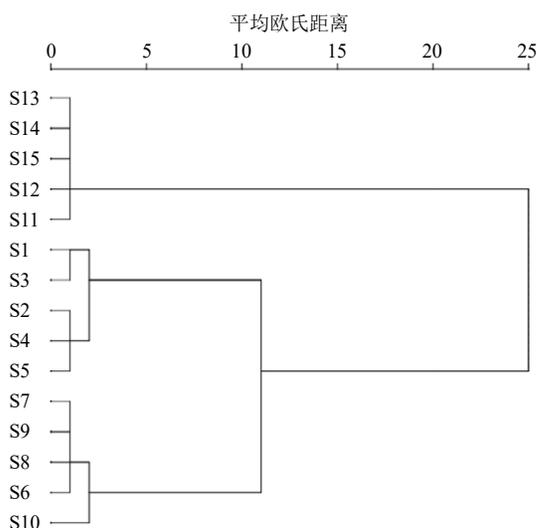


图 2 15 批人参败毒标准汤的物理指纹图谱聚类分析

Fig. 2 HCA of physical fingerprints of 15 batches of Renshen Baidu standard decoction

临界值(0.05)控制限内,表明未出现异常批次的标准汤^[15]。绘制 PCA 得分图(图 4),15 批标准汤可分为 3 类,S1~S5 位于中间、S6~S10 位于右侧、S11~S15 位于左侧,与 HCA 结果一致。

由载荷图(图 5)可知,物理指标 TDS、G、V、pH、μ、SC、γ、n 对主成分 1 的贡献较大;主成分 2 中 μ 具有较大载荷,与其关联性较强。表明人参败毒标准汤的物理指纹图谱中 TDS、G、V、pH、μ、SC、γ、n 是其物理质量的差异性指标。

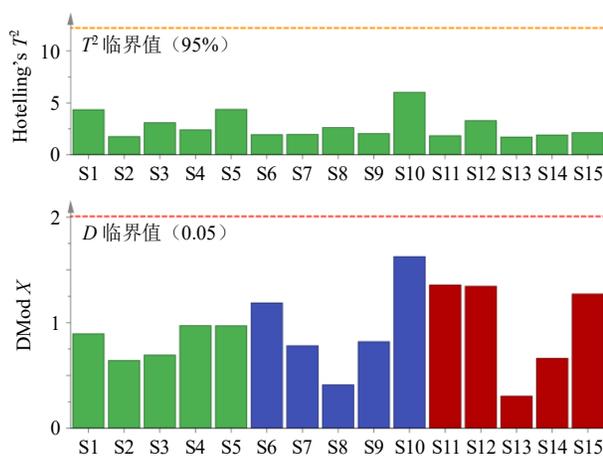


图 3 15 批人参败毒标准汤的 Hotelling's T^2 和 DMod X 控制图

Fig. 3 Hotelling's T^2 and DMod X control charts of 15 batches of Renshen Baidu standard decoction

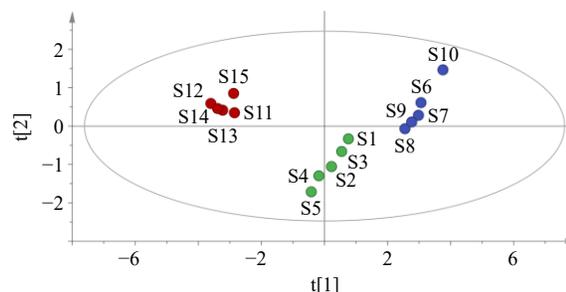


图 4 15 批人参败毒标准汤 PCA 得分图

Fig. 4 PCA score diagram of 15 batches of Renshen Baidu standard decoction

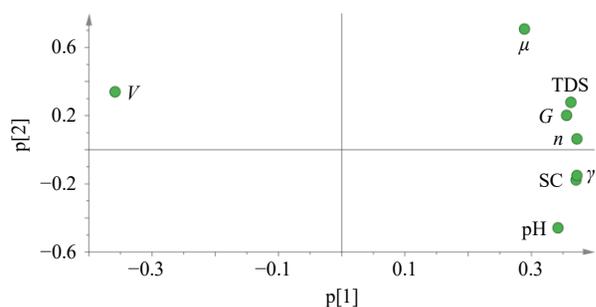


图5 15批人参败毒标准汤的载荷图

Fig. 5 Loading diagram of 15 batches of Renshen Baidu standard decoction

2.4 多指标成分的含量测定

2.4.1 蛇床子素、二氢欧山芹醇当归酸酯色谱条件 Agilent Zorbax Extend-C₁₈ (150 mm×4.6 mm, 5.0 μm) 色谱柱; 以乙腈-水 (49:51) 为流动相; 体积流量 1.0 mL/min; 检测波长为 330 nm; 柱温 25 °C; 进样量 10 μL。

2.4.2 甘草苷、柚皮苷、新橙皮苷色谱条件 Agilent Zorbax SB-C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5.0 μm) 色谱柱; 以乙腈-0.05%磷酸水溶液 (20:80) 为流动相; 体积流量 1.0 mL/min; 检测波长为 237 nm (甘草苷)、283 nm (柚皮苷、新橙皮苷); 柱温 25 °C; 进样量 10 μL。

2.4.3 蛇床子素、二氢欧山芹醇当归酸酯混合对照品溶液的制备 精密称取蛇床子素、二氢欧山芹醇当归酸酯对照品适量, 分别加甲醇制成含蛇床子素 38.5 μg/mL、二氢欧山芹醇当归酸酯 40.4 μg/mL 的混合对照品溶液, 滤过, 取续滤液, 即得。

2.4.4 甘草苷、柚皮苷、新橙皮苷混合对照品溶液的制备 精密称取甘草苷、柚皮苷、新橙皮苷对照品适量, 分别加甲醇制成含甘草苷 180 μg/mL、柚皮苷 1211 μg/mL、新橙皮苷 782 μg/mL 的混合对照品溶液, 滤过, 取续滤液, 即得。

2.4.5 供试品溶液的制备 精密量取标准汤 (相当于生药量 4 g), 蒸至近干, 硅藻土分散, 置 100 mL 圆底烧瓶中, 加甲醇 50 mL, 称定质量, 回流 1 h, 放冷后称定质量, 甲醇补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 精密量取续滤液 20 mL, 置于蒸发皿中, 蒸干, 残渣用甲醇溶解, 定容至 5 mL, 滤过, 取续滤液, 即得。

2.4.6 线性关系考察 分别精密称取蛇床子素、二氢欧山芹醇当归酸酯对照品适量, 加甲醇并分别稀释成蛇床子素质量浓度为 76.93、38.47、15.39、7.69、3.85、1.92 μg/mL 的对照品溶液, 二氢欧山芹醇当

归酸酯质量浓度为 101.82、50.91、25.45、12.72、6.36、3.18 μg/mL 的对照品溶液。分别精密量取混合对照品 (质量浓度为甘草苷 430 μg/mL、柚皮苷 3010 μg/mL、新橙皮苷 1946 μg/mL) 1、2、4、6、8、10 mL 置于 10 mL 量瓶中, 甲醇定容到刻度。分别按“2.4.1”“2.4.2”项下色谱条件, 重复进样 3 次, 以平均峰面积为纵坐标 (Y), 质量浓度为横坐标 (X) 进行线性回归, 计算线性回归方程, 结果分别为蛇床子素 $Y=34.542 X+42.92$, $r=0.999 4$, 线性范围 1.92~76.93 μg/mL; 二氢欧山芹醇当归酸酯 $Y=26.955 X+27.892$, $r=0.999 7$, 线性范围 3.18~101.82 μg/mL; 甘草苷 $Y=20 059 X-29.005$, $r=0.999 2$, 线性范围 43~430 μg/mL; 柚皮苷 $Y=16 263 X+74.471$, $r=0.999 3$, 线性范围 301~3010 μg/mL; 新橙皮苷 $Y=18 936 X-95.863$, $r=0.999 3$, 线性范围 194.6~1946.0 μg/mL。

2.4.7 精密度试验 取“2.4.3”“2.4.4”项下制备的混合对照品溶液各 1 份, 分别按“2.4.1”“2.4.2”项下色谱条件, 连续进样 6 次, 计算各对照品峰面积的 RSD 值, 结果蛇床子素、二氢欧山芹醇当归酸酯、甘草苷、柚皮苷、新橙皮苷的 RSD 分别为 0.77%、0.46%、1.32%、1.71%、1.33%, 表明该方法的精密度良好。

2.4.8 重复性试验 按“2.4.5”项下方法制备供试品溶液 6 份, 分别按“2.4.1”“2.4.2”项下色谱条件进样测定, 计算蛇床子素、二氢欧山芹醇当归酸酯、甘草苷、柚皮苷、新橙皮苷质量分数的 RSD 值, 结果 RSD 分别为 2.54%、2.09%、1.38%、1.07%、1.70%, 表明该方法的重复性良好。

2.4.9 稳定性试验 按“2.4.5”项下方法制备供试品溶液 1 份, 分别按“2.4.1”“2.4.2”项下色谱条件, 在制样后 0、2、4、6、8、10、12、24 h 进行测定, 通过计算得出蛇床子素、二氢欧山芹醇当归酸酯、甘草苷、柚皮苷、新橙皮苷峰面积的 RSD 值, 结果分别为 1.14%、1.53%、1.89%、0.51%、1.76%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.4.10 加样回收率试验 精密量取已知含量的标准汤适量 (相当于生药量 2 g), 分别精密加入各对照品溶液, 按“2.4.5”项下方法平均制备 6 份供试品溶液, 测得峰面积, 计算平均加样回收率, 结果蛇床子素、二氢欧山芹醇当归酸酯、甘草苷、柚皮苷、新橙皮苷的平均加样回收率分别为 98.20%、98.82%、100.37%、99.67%、99.51%, RSD 分别为

3.10%、2.90%、2.31%、2.49%、1.90%，结果表明该方法准确度良好。

2.4.11 含量测定 取“2.4.3”“2.4.4”项下制备的混合对照品溶液、“2.4.5”项下制备的供试品溶液，采用“2.4.1”“2.4.2”项下色谱条件，测定15批人参败毒标准汤中蛇床子素、二氢欧山芹醇当归酸酯、甘草苷、柚皮苷、新橙皮苷的含量，结果见表7。可知，标准汤S1~S5中蛇床子素、二氢欧山芹醇当归酸酯、甘草苷、柚皮苷、新橙皮苷的质量分数分别为0.063~0.072、0.109~0.116、0.436~0.451、2.861~2.971、1.839~1.888 mg/g，标准汤S6~S10中蛇床子素、二氢欧山芹醇当归酸酯、甘草苷、柚皮苷、新橙皮苷的质量分数分别为0.168~0.189、0.270~0.299、0.582~0.632、3.551~3.855、2.220~2.431 mg/g，标准汤S11~S15中蛇床子素、二氢欧山芹醇当归酸酯、甘草苷、柚皮苷、新橙皮苷的质量分数分别为0.058~0.066、0.108~0.126、0.420~0.444、2.427~2.522、1.492~1.525 mg/g。

2.5 指标成分 HCA

以15批人参败毒标准汤中蛇床子素、二氢欧山芹醇当归酸酯、甘草苷、柚皮苷、新橙皮苷的质量分数为变量，使用SPSS 20.0软件进行HCA，结果

表7 15批人参败毒标准汤中指标成分的含量测定结果

Table 7 Determination results of index components in 15 batches of Renshen Baidu standard decoction

批号	质量分数/(mg·g ⁻¹)				
	蛇床子素	二氢欧山芹醇当归酸酯	甘草苷	柚皮苷	新橙皮苷
S1	0.064	0.109	0.436	2.923	1.868
S2	0.066	0.116	0.442	2.883	1.839
S3	0.072	0.111	0.451	2.971	1.888
S4	0.063	0.109	0.439	2.861	1.856
S5	0.065	0.116	0.445	2.862	1.860
S6	0.168	0.270	0.582	3.551	2.220
S7	0.174	0.291	0.619	3.808	2.400
S8	0.179	0.294	0.630	3.855	2.431
S9	0.186	0.294	0.632	3.826	2.408
S10	0.189	0.299	0.625	3.840	2.411
S11	0.058	0.112	0.437	2.493	1.512
S12	0.059	0.108	0.425	2.476	1.494
S13	0.060	0.126	0.434	2.522	1.492
S14	0.061	0.109	0.444	2.508	1.525
S15	0.066	0.115	0.420	2.427	1.494

见图6。结果可知，当距离为5时，15批标准汤中S1~S5、S6~S10、S11~S15各聚为一类，与物理指纹图谱HCA结果一致。

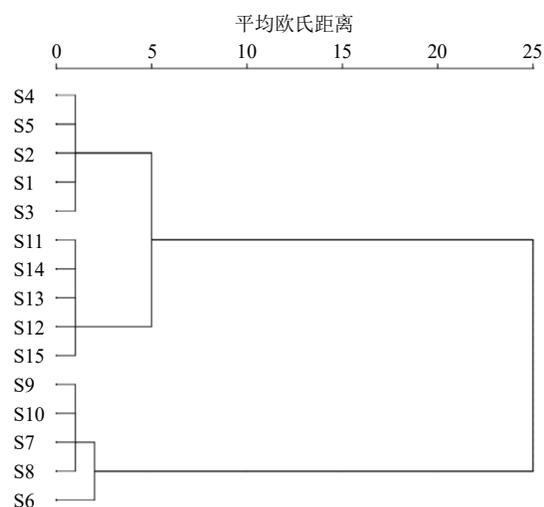


图6 15批人参败毒标准汤的指标成分含量 HCA 图

Fig. 6 HCA of index component content of 15 batches of Renshen Baidu standard decoction

2.6 相关性分析

采用SPSS 20.0软件对物理指纹图谱中S、TDS、G、V、pH、μ、SC、γ、n与蛇床子素、二氢欧山芹醇当归酸酯、甘草苷、柚皮苷、新橙皮苷的含量之间进行相关性分析。由表8可知，物理指标TDS、G、V、pH、μ、SC、γ、n与蛇床子素、二氢欧山芹醇当归酸酯、甘草苷、柚皮苷、新橙皮苷的含量之间存在相关关系。其中，蛇床子素、二氢欧山芹醇当归酸酯、甘草苷与TDS、G、V、μ、SC、γ、n极显著相关(P<0.01)，柚皮苷、新橙皮苷与TDS、G、V、pH、μ、SC、γ、n极显著相关(P<0.01)；蛇床子素、二氢欧山芹醇当归酸酯、甘草苷、柚皮苷、新橙皮苷的含量与物理指标TDS、G、pH、μ、SC、γ、n呈显著正相关，与V呈显著负相关。

3 讨论

标准汤剂是经典名方复方制剂的工艺优化和质量控制的物质基准^[25]，而制备标准汤的散剂粒度是影响其质量的关键因素。本研究对人参败毒标准汤的S、TDS、G、V、pH、μ、SC、γ、n进行测定，构建其物理指纹图谱。由图谱可知，不同粉碎粒度煮散的物理参数之间有明显的差异，过24目筛的各批次人参败毒标准汤的TDS、G、μ、SC、γ均相对较高。图谱相似度分析结果表明，过10、24、50目筛的人参败毒散制备标准汤的物理质量属性之间存在差异，HCA结果进一步验证了不同粉碎粒度的

表 8 物理指标与指标成分含量的相关性

Table 8 Correlation analysis of physical indexes and content of index components

指标	S	TDS	G	V	pH	μ	SC	γ	n	蛇床子素	二氢欧山芹醇当归酸酯	甘草苷	柚皮苷	新橙皮苷
S	1.000													
TDS	0.000	1.000												
G	0.000	0.970**	1.000											
V	0.000	-0.841**	-0.836**	1.000										
pH	0.000	0.773**	0.755**	-0.987**	1.000									
μ	0.000	0.867**	0.782**	-0.562*	0.481	1.000								
SC	0.000	0.914**	0.921**	-0.979**	0.948**	0.654**	1.000							
γ	0.000	0.919**	0.920**	-0.974**	0.945**	0.675**	0.998**	1.000						
n	0.000	0.957**	0.918**	-0.928**	0.886**	0.807**	0.961**	0.961**	1.000					
蛇床子素	0.000	0.937**	0.961**	-0.684**	0.577*	0.834**	0.793**	0.796**	0.827**	1.000				
二氢欧山芹醇当归酸酯	0.000	0.919**	0.948**	-0.651**	0.540*	0.815**	0.763**	0.765**	0.797**	0.996**	1.000			
甘草苷	0.000	0.920**	0.956**	-0.696**	0.585*	0.800**	0.794**	0.796**	0.815**	0.994**	0.993**	1.000		
柚皮苷	0.000	0.961**	0.988**	-0.856**	0.775**	0.784**	0.924**	0.925**	0.922**	0.956**	0.943**	0.963**	1.000	
新橙皮苷	0.000	0.956**	0.981**	-0.901**	0.833**	0.747**	0.956**	0.956**	0.937**	0.923**	0.905**	0.931**	0.994**	1.000

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

煮散之间的差异性。经 PCA 可知，15 批人参败毒标准汤未出现异常批次，不同粉碎粒度的人参败毒标准汤物理质量属性的差异性指标主要有 TDS、G、V、pH、 μ 、SC、 γ 、n。15 批人参败毒标准汤中蛇床子素、二氢欧山芹醇当归酸酯、甘草苷、柚皮苷、新橙皮苷的含量测定结果表明，过 24 目的煮散中各指标成分含量均高于过 10、50 目的煮散。经 HCA 发现不同粉碎粒度的煮散各聚为一类，与物理指纹图谱分析结果一致。分析其原因，可能是过 10 目筛的人参败毒散粉碎粒度过大，不利于有效成分的浸出，使其溶出率较低；而过 50 目筛的人参败毒散粉碎粒度较小，易聚集成块，在煎煮过程中容易产生糊化，导致有效成分损失。因此，过 24 目筛是人参败毒散最佳的粉碎粒度。物理指标 S、TDS、G、V、pH、 μ 、SC、 γ 、n 与蛇床子素、二氢欧山芹醇当归酸酯、甘草苷、柚皮苷、新橙皮苷的含量之间相关性分析结果显示，TDS、G、V、pH、 μ 、SC、 γ 、n 与各指标成分的含量之间有显著相关性，表明标准汤的物理指标的变化与有效成分含量的增减之间存在密切关系。

本研究以物理指纹图谱、多指标成分含量结合多元统计分析的模式，从粉体学性质和化学成分两方面对不同粉碎粒度的人参败毒标准汤关键质量属

性进行评价，为人参败毒散现代剂型开发及质量标准研究提供理论依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 刘源, 刘金豹, 彭伟. 人参败毒散治疗新型冠状病毒肺炎(COVID-19)作用机制的网络药理学探讨 [J]. 中药材, 2020, 43(6): 1531-1539.
- [2] 周洪立, 桑天庆, 陈海彬, 等. 中医“正气为本、顺势疗疾”思想在新型冠状病毒肺炎治疗中的应用探讨 [J]. 陕西中医, 2020, 41(4): 415-418.
- [3] 张海鹏. “人参败毒散”源出小考 [J]. 中华医史杂志, 2014, 44(5): 298.
- [4] 王辉, 孔玉琴, 王猛. 人参败毒散在治疗新型冠状病毒肺炎中的运用 [J]. 中国中医急症, 2020, 29(8): 1325-1326.
- [5] 柳江华, 徐绥绪, 姚新生. 独活的化学成分与药理研究进展 [J]. 沈阳药学院学报, 1994, 11(2): 143-150.
- [6] 龚斌, 李琴, 胡小红, 等. 枳壳化学成分及药理作用研究进展 [J]. 南方林业科学, 2019, 47(3): 40-45.
- [7] 李陈雪, 杨玉赫, 冷德生, 等. 枳壳化学成分及药理作用研究进展 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2019, 21(2): 158-161.
- [8] 王波, 王丽, 刘晓峰, 等. 中药甘草成分和药理作用及其现代临床应用的研究进展 [J]. 中国医药, 2022, 17(2): 316-320.

- [9] 辛国, 赵昕彤, 黄晓巍. 柴胡化学成分及药理作用研究进展 [J]. 吉林中医药, 2018, 38(10): 1196-1198.
- [10] 颜美玲, 杨柳, 侯阿娇, 等. 柴胡化学成分及药理作用研究进展 [J]. 中医药信息, 2018, 35(5): 103-109.
- [11] 孟珈同, 李军鸽, 王永春, 等. 古方荆防败毒散物质基准质量标准研究 [J]. 人参研究, 2021, 33(6): 25-28.
- [12] 胡小祥, 何艳, 刘冠琼, 等. HPLC 法同时测定银花感冒颗粒中 8 种成分 [J]. 中成药, 2022, 44(4): 1070-1074.
- [13] 余欣彤, 黎桃敏, 施文婷, 等. 干燥方式对板蓝根浸膏粉 HPLC 及物理指纹图谱的影响 [J]. 现代中药研究与实践, 2022, 36(1): 66-71.
- [14] 周云珍, 田冰. 影响流化床制粒设备的相关因素 [J]. 医药工程设计, 2011, 32(4): 43-53.
- [15] 滕凯旋, 傅豪, 王中昌, 等. 基于物理指纹图谱的养胃颗粒浸膏质量一致性评价方法 [J]. 中草药, 2022, 53(3): 712-719.
- [16] 范佳佳, 刘阳, 刘旒, 等. 《太平惠民和剂局方》中煮散剂的使用特点 [J]. 中医杂志, 2019, 60(4): 291-294.
- [17] 焦其树, 郝丽霞, 吴治丽, 等. 经典名方中煮散和散剂粒度探讨 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(1): 1-6.
- [18] 宋·太平惠民和剂局编. 刘景源点校. 太平惠民和剂局方 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1985: 153.
- [19] 苑祯, 马然, 张林. 宋代方剂煎服法中“盏”的量值研究 [J]. 北京中医药大学学报, 2019, 42(9): 738-741.
- [20] 邢丹, 贺莹, 郑虎占. 从《太平惠民和剂局方》论中药煮散技术规范 [J]. 中国临床医生, 2012, 40(11): 73-75.
- [21] 孙玉雯, 刘起华, 陈弘东, 等. 粒度和加水量对厚朴煮散煎出物的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(7): 6-9.
- [22] 梁悦, 刘涛, 蒋天宇, 等. 生脉注射液物理指纹图谱的建立及其质量评价 [J]. 中草药, 2018, 49(11): 2571-2576.
- [23] 伍蕊嗣, 刘涛, 覃盼盼, 等. 热毒宁注射液物理指纹谱研究及应用 [J]. 中国中药杂志, 2017, 42(3): 505-509.
- [24] 唐玉, 张爱军, 李帅, 等. 基于 QbD 理念的七味蟾参颗粒制备工艺及物理指纹图谱研究 [J]. 中药材, 2021, 44(1): 146-152.
- [25] 周蔚昕, 刘涛, 刘钱, 等. 川芎饮片标准汤剂的 HPLC 及物理指纹图谱研究 [J]. 中草药, 2018, 49(21): 5107-5115.

[责任编辑 郑礼胜]