

基于物理指纹图谱与多指标成分定量测定构建升陷汤标准煎液质量评价方法

杨 婉, 邹海英, 邱智东, 杨 晶*, 陈 新*

长春中医药大学, 吉林省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** 建立升陷汤标准煎液的物理指纹图谱及 6 种指标成分(毛蕊异黄酮葡萄糖苷、刺芒柄花苷、毛蕊异黄酮、芒柄花黄素、芒果苷、异阿魏酸)含量测定方法, 为其质量评价奠定基础。**方法** 基于遵古理念制备 15 批升陷汤标准煎液, 以溶解性固体总量、pH 值、密度、动力黏度、电导率、表面张力、折光率及固含量 8 个物理参数构建升陷汤标准煎液物理指纹图谱; 采用相似度评价、主成分分析(principal component analysis, PCA)及层次聚类分析(hierarchical cluster analysis, HCA)对物理指纹图谱进行评价及异常样品判断。以 HPLC 法测定毛蕊异黄酮葡萄糖苷、刺芒柄花苷、毛蕊异黄酮、芒柄花黄素、芒果苷、异阿魏酸 6 种指标成分含量, 结合多元统计分析方法进行分析。**结果** 15 批升陷汤标准煎液的物理指纹图谱存在差异, 主要体现在溶解性固体总量、动力黏度及电导率 3 个指标上; 相似度分析与 PCA 结果显示, 15 批标准煎液相似度均大于 0.9, 15 批标准煎液聚为 2 类, A1、A2、A3、A8、A12、A13、A15 聚为一类, 其余标准煎液聚为一类。由 DMod X 控制图监测显示, 15 批标准煎液均为正常样品; 15 批标准煎液中 6 种指标成分质量浓度分别为毛蕊异黄酮葡萄糖苷 4.81~6.30 $\mu\text{g/mL}$ 、刺芒柄花苷 1.50~1.78 $\mu\text{g/mL}$ 、毛蕊异黄酮 3.50~4.65 $\mu\text{g/mL}$ 、芒柄花黄素 1.33~1.63 $\mu\text{g/mL}$ 、芒果苷 68.33~75.23 $\mu\text{g/mL}$ 、异阿魏酸 3.50~5.65 $\mu\text{g/mL}$, 15 批标准煎液指标成分含量 HCA 结果与物理指纹图谱 HCA 结果一致。**结论** 构建的升陷汤标准煎液物理指纹图谱与指标成分含量测定方法, 可用于其一致性评价、质量控制及其煎煮全过程的动态监控。**关键词:** 升陷汤; 标准煎液; 物理指纹图谱; 质量评价; 毛蕊异黄酮葡萄糖苷; 刺芒柄花苷; 毛蕊异黄酮; 芒柄花黄素; 芒果苷; 异阿魏酸; 主成分分析

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2023)06-1804-10

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2023.06.012

Construction of quality evaluation method for standard decoction of Shengxian Decoction based on physical fingerprint and multi index component content determination

YANG Wan, ZOU Hai-ying, QIU Zhi-dong, YANG Jing, CHEN Xin

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 fingerprint of the standard decoction of Shengxian Decoction (升陷汤), and to determine the contents of six index components (calycosin-7-O- β -D-glucoside, ononin, calycosin, formononetin, mangiferin and isoferulic acid), lay a foundation for its quality evaluation. **Methods** Fifteen batches of standard decoction of Shengxian Decoction were prepared based on the concept of abiding by the ancient times. The physical fingerprint of the standard decoction of Shengxian Decoction was constructed from eight physical parameters: Total dissolved solids (TDS), hydrogen ion concentration (pH), density (ρ), dynamic viscosity (μ), conductivity (σ), surface tension (γ), refractive index (n), and solid content (SC). The similarity evaluation, principal component analysis (PCA) and hierarchical cluster analysis (HCA) were used to evaluate the physical fingerprint and judge the abnormal samples. The content of six index components of calycosin-7-O- β -D-glucoside, ononin, calycosin, formononetin,

收稿日期: 2022-11-06

基金项目: 吉林省科技发展规划项目(20180201089YY); 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); 校企合作项目(2018-2200-02-000490)

作者简介: 杨 婉(1998—), 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: 13944496637 E-mail: 3391589859@qq.com

*通信作者: 陈 新(1965—), 女, 硕士生导师, 教授, 从事中药药效物质基础及质量标准研究。Tel: 13596000134 E-mail: 1253068357@qq.com

杨 晶(1979—), 女, 硕士生导师, 副教授, 从事中药制剂研究。Tel: 13500813952 E-mail: 764130589@qq.com

mangiferin and isoferulic acid were determined by HPLC. Combined with multivariate statistical analysis method. **Results** The physical fingerprints of 15 batches of standard decoction of Shengxian Decoction were different, mainly reflected in three indicators: TDS, μ and σ . The results of similarity analysis and PCA showed that the similarity of 15 batches of standard decoction was greater than 0.9, they were grouped into two categories, A1, A2, A3, A8, A12, A13 and A15 into one category, and the rest of the standard decoctions were grouped into one category. The monitoring of DMod X control chart showed that 15 batches of standard decoctions are all normal samples. The mass concentrations of six index components in 15 batches of standard decoctions were respectively 4.81—6.30 $\mu\text{g/mL}$ of calycosin-7-*O*- β -D-glucoside, 1.50—1.78 $\mu\text{g/mL}$ of ononin, 3.50—4.65 $\mu\text{g/mL}$ of calycosin, 1.33—1.63 $\mu\text{g/mL}$ of formononetin, 68.33—75.23 $\mu\text{g/mL}$ of mangiferin, 3.50—5.65 $\mu\text{g/mL}$ of isoferulic acid. The HCA results of 15 batches of standard decoctions were consistent with those of physical fingerprint. **Conclusion** The physical fingerprint and index component content determination method of Shengxian Decoction can be used for consistency evaluation, quality control and dynamic monitoring of the whole decoction process.

Key words: Shengxian Decoction; standard decoction; physical fingerprint; quality evaluation; calycosin-7-*O*- β -D-glucoside; ononin; calycosin; formononetin; mangiferin; isoferulic acid; principal component analysis

中药主要含有多糖、皂苷类、黄酮类、醌类、生物碱、蛋白质及黏液质等化学成分,其中,多糖、皂苷类、生物碱盐、蛋白质及黏液质等成分易溶于水,在煎煮过程中,由于溶出的化学成分结构类型、分子大小及形态不同等原因,故中药水煎液中存在小分子、生物大分子以及无机盐等,形成复杂的溶液体系^[1]。水煎液是一种混悬液,其中存在大量形态和大小不同的微米级、纳米级颗粒体,导致水煎液质量存在一定的差异^[2-3]。目前,中药水煎液多从化学角度以指纹图谱、含量测定等方法进行研究,缺乏全面、综合的质量评价方法。中药物理指纹图谱已用于中药粉体学的研究,主要集中在中药破壁粉、中药浸膏粉、中药颗粒、药用辅料、制剂成型全过程质量评价及制剂处方设计中的应用^[4],在中药注射液的质量评价研究中也有所应用^[5]。

升陷汤的有效部位主要为皂苷类 and 黄酮类,前期课题组已完成升陷汤标准煎液皂苷类成分 HPLC-ELSD 特征指纹图谱建立及 3 种皂苷类成分的含量测定^[6]。因此,本研究根据中药水煎液体系的流变学、表面化学、电化学等物理化学特性^[7],选择溶解性固体总量 (total dissolved solids, TDS)、pH 值、密度 (ρ)、动力黏度 (μ)、电导率 (σ)、表面张力 (γ)、折光率 (n) 及固含量 (solid content, SC) 8 个参数构建物理指纹图谱;以毛蕊异黄酮葡萄糖苷、刺芒柄花苷、毛蕊异黄酮、芒柄花黄素、芒果苷、异阿魏酸 6 种指标成分进行化学表征,以期建立真正反映中药水煎液的内在、综合的质量及其一致性的评价方法。

1 仪器与试药

1.1 仪器

AB135-S 型十万分之一分析天平,上海天美天

平仪器有限公司;KQ-250B 型超声波清洗器,昆山市超声仪器有限公司;NDJ-1 型旋转式黏度计,上海力辰邦西仪器科技有限公司;WYA-2WAJ 型数字显示折光仪,力辰科技有限公司;DDSJ-308A 型电导率仪,上海仪电科学仪器股份有限公司;MC-1021 型表面张力仪,闽测仪器设备有限公司;Agilent 1260 Series 型高效液相色谱仪,美国安捷伦公司。

1.2 药品与试剂

对照品毛蕊异黄酮葡萄糖苷 (质量分数 $\geq 96.8\%$,批号 111920-201907)、芒果苷 (质量分数 $\geq 98.1\%$,批号 111607-201704)、异阿魏酸 (质量分数 $\geq 99.3\%$,批号 111698-201904),中国食品药品检定研究院;对照品刺芒柄花苷 (质量分数 $\geq 98.48\%$,批号 MUST-22080317)、芒柄花黄素 (质量分数 $\geq 99.03\%$,批号 MUST-22033005),成都曼思特生物科技有限公司;对照品毛蕊异黄酮 (质量分数 $\geq 98.0\%$,批号 ST08810120),上海诗丹德标准技术服务公司;乙腈,色谱纯,美国 Fisher 公司;甲醇,北京化工厂;水为屈臣氏蒸馏水。

升陷汤中 5 味药材均各收集 15 个批次,且每味药材饮片来源于 3 个产地,每个产地收集 5 个批次,产地信息见表 1。药材黄芪、柴胡、升麻、知母、桔梗均经长春中医药大学药学院肖井雷教授鉴定,分别为豆科植物蒙古黄芪 *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. var. *mongholicus* (Bge.) Hsiao 的干燥根、伞形科植物柴胡 *Bupleurum chinense* DC. 的干燥根、毛茛科植物兴安升麻 *Cimicifuga dahurica* (Turcz.) Maxim. 的干燥根茎、百合科植物知母 *Anemarrhena asphodeloides* Bge. 的干燥根茎、桔梗科植物桔梗 *Platycodon grandiflorum* (Jacq.) A. DC. 的干燥根。各味中药均符合《中国药典》2020 年版的规定品种。

2 方法与结果

2.1 升陷汤标准煎液的制备

取黄芪饮片 22.4 g、柴胡饮片 5.6 g、升麻饮片 3.7 g、桔梗饮片 5.6 g，加水 10 倍量，浸泡 30 min，煎煮 15 min 至沸，下入知母饮片 11.2 g，继续煎煮 10 min，滤过，药渣加水 8 倍量，煎煮 15 min，滤

过，滤液合并加水调整体积至 600 mL，即得升陷汤标准煎液。按照上述方法制备 15 批升陷汤标准煎液，编号为 A1~A15。饮片混批信息见表 2。

2.2 构建物理指纹图谱

2.2.1 升陷汤标准煎液物理参数的测定 参考《中国药典》2020 年版四部通则及文献报道^[8-10]，对升

表 1 15 批升陷汤各药味饮片产地信息

Table 1 Origin information of 15 batches of Shengxian Decoction

饮片	编号	产地	饮片	编号	产地	饮片	编号	产地
黄芪	HQ-01~HQ-05	甘肃	升麻	SM-01~SM-05	吉林	桔梗	JG-01~JG-05	吉林
	HQ-06~HQ-10	河北		SM-06~SM-10	辽宁		JG-06~JG-10	安徽
	HQ-11~HQ-15	吉林		SM-11~SM-15	内蒙古		JG-11~JG-15	河北
柴胡	CH-01~CH-05	河北	知母	ZM-01~ZM-05	安徽			
	CH-06~CH-10	吉林		ZM-06~ZM-10	河北			
	CH-11~CH-15	黑龙江		ZM-11~ZM-15	吉林			

表 2 15 批升陷汤标准煎液样品的饮片混批样品信息

Table 2 Information of mixed batch of 15 batches of standard decoction samples of Shengxian Decoction

样品	批号	样品	批号	样品	批号
编号	黄芪 知母 柴胡 升麻 桔梗	编号	黄芪 知母 柴胡 升麻 桔梗	编号	黄芪 知母 柴胡 升麻 桔梗
A1	HQ-05 ZM-09 CH-08 SM-03 JG-15	A6	HQ-15 ZM-03 CH-06 SM-05 JG-06	A11	HQ-12 ZM-01 CH-11 SM-10 JG-08
A2	HQ-07 ZM-05 CH-13 SM-09 JG-02	A7	HQ-08 ZM-07 CH-04 SM-12 JG-13	A12	HQ-01 ZM-14 CH-12 SM-01 JG-04
A3	HQ-06 ZM-04 CH-10 SM-11 JG-10	A8	HQ-03 ZM-08 CH-02 SM-15 JG-01	A13	HQ-13 ZM-13 CH-03 SM-13 JG-09
A4	HQ-09 ZM-06 CH-07 SM-14 JG-12	A9	HQ-04 ZM-02 CH-14 SM-04 JG-11	A14	HQ-02 ZM-12 CH-09 SM-02 JG-14
A5	HQ-11 ZM-15 CH-05 SM-06 JG-07	A10	HQ-10 ZM-10 CH-01 SM-08 JG-05	A15	HQ-14 ZM-11 CH-15 SM-07 JG-03

陷汤标准煎液物理参数 TDS、pH 值、 ρ 、 μ 、 σ 、 γ 、 n 及固含量进行测定，并构建升陷汤标准煎液物理指纹图谱。具体检测方法如下。

(1) TDS：采用电导率仪进行测定，测定前需进行校准。

(2) pH 值 (pH)：采用电极法进行测定，测定前使用标准缓冲液校正仪器。

(3) ρ ：采用比重计进行测定。

(4) μ ：采用黏度计进行测定，将 1 号转子完全浸入到待测液中，在 60 r/min 转速下，待黏度示数稳定后读数。

(5) σ ：采用电导率仪，对仪器校正后，将电导电极末端浸入待测液体液面以下测定 σ 。

(6) γ ：采用表面张力测量仪，对仪器进行满量程校准，将铂环浸入液体中进行测试。

(7) n ：采用折光率仪，测定时用蒸馏水对仪器进行校准，滴 2~3 滴水煎液于棱镜上，通过目镜观察明暗分界线，使分界线通过十字线焦点，在刻度

盘上读取 n 数值。

(8) 固含量 (SC)：采用烘干法进行测定。

(9) 样品测定结果：取 15 批升陷汤标准煎液，按上述方法对各项参数进行检测，重复测定 3 次，取平均值，结果见表 3。

2.2.2 物理参数的标准转换 由于各物理参数之间存在数值和量纲的差异，直接分析会影响评价结果的准确性，根据文献报道^[11-12]的物理性质指标数值范围及检测结果，对物理参数标准化至同一尺度，将转换后的数值控制在 0~10，各物理参数数值范围及转换公式见表 4，15 批升陷汤标准煎液的物理参数转换后的结果见表 5。

2.2.3 构建物理指纹图谱 采用 Origin 2019 将转换后的 15 批升陷汤标准煎液物理参数连接起来，构成不规则的八边形，即升陷汤标准煎液的物理指纹图谱，结果见图 1。以转换后的 15 批升陷汤标准煎液物理参数的平均值所构成的不规则八边形为对照物理指纹图谱，结果见图 2。构建的物理指纹图谱

表 3 升陷汤标准煎液物理参数检测结果

Table 3 Test results of physical parameters of standard decoction of Shengxian Decoction

编号	TDS/ (g·L ⁻¹)	pH	ρ / (g·mL ⁻¹)	μ / (mPa·s)	σ / (mS·cm ⁻¹)	γ / (mN·m ⁻¹)	n	SC/ %	编号	TDS/ (g·L ⁻¹)	pH	ρ / (g·mL ⁻¹)	μ / (mPa·s)	σ / (mS·cm ⁻¹)	γ / (mN·m ⁻¹)	n	SC/ %
A1	1.14	5.58	1.00	25.70	2.39	72.00	1.423 9	18.04	A9	1.16	5.63	1.00	29.00	2.41	72.64	1.421 8	18.20
A2	1.13	5.58	1.00	26.20	2.38	71.84	1.450 2	18.12	A10	1.19	5.65	1.01	28.30	2.49	72.72	1.463 8	18.20
A3	1.13	5.57	1.01	26.40	2.37	71.60	1.462 1	18.04	A11	1.13	5.55	1.00	27.90	2.34	71.20	1.444 4	17.84
A4	1.19	5.69	1.00	28.50	2.46	73.20	1.459 6	18.32	A12	1.13	5.52	1.00	26.00	2.38	71.04	1.450 2	17.80
A5	1.19	5.58	1.00	28.10	2.47	71.92	1.428 2	18.08	A13	1.13	5.59	1.00	26.50	2.36	71.68	1.460 3	18.08
A6	1.19	5.65	1.00	29.30	2.49	73.12	1.429 7	18.38	A14	1.16	5.55	1.00	27.20	2.41	71.44	1.451 7	18.00
A7	1.19	5.59	1.01	28.00	2.46	72.00	1.456 2	18.12	A15	1.14	5.61	1.01	26.90	2.37	72.48	1.463 6	18.12
A8	1.13	5.59	1.00	26.90	2.36	71.68	1.460 4	18.08									

表 4 物理参数标准化转换方法

Table 4 Standardized conversion method of physical parameters

物理参数	单位	数值范围 (x)	转换公式	物理参数	单位	数值范围 (x)	转换公式	物理参数	单位	数值范围 (x)	转换公式
TDS	g·L ⁻¹	0~1.5	20x/3	μ	mPa·s	10~40	x/4	n	—	1~2	5x
pH	—	1~6	2x-2	σ	ms·cm ⁻¹	1~3	10x/3	SC	%	0~30	x/3
ρ	g·mL ⁻¹	0~1.5	20x/3	γ	mN·m ⁻¹	0~100	x/10				

表 5 升陷汤标准煎液物理参数标准化数值

Table 5 Standardized values of physical parameters of standard decoction of Shengxian Decoction

编号	TDS/ (g·L ⁻¹)	pH	ρ / (g·mL ⁻¹)	μ / (mPa·s)	σ / (mS·cm ⁻¹)	γ / (mN·m ⁻¹)	n	SC/ %	编号	TDS/ (g·L ⁻¹)	pH	ρ / (g·mL ⁻¹)	μ / (mPa·s)	σ / (mS·cm ⁻¹)	γ / (mN·m ⁻¹)	n	SC/ %
A1	7.60	9.16	6.67	6.43	7.97	7.20	7.119 5	6.01	A9	7.73	9.26	6.67	7.25	8.03	7.26	7.109 0	6.07
A2	7.53	9.16	6.67	6.55	7.93	7.18	7.251 0	6.04	A10	7.73	9.30	6.73	7.08	8.30	7.27	7.319 0	6.07
A3	7.53	9.14	6.73	6.60	7.90	7.16	7.310 5	6.01	A11	7.53	9.10	6.67	6.98	7.80	7.12	7.222 0	6.01
A4	7.93	9.38	6.67	7.13	8.20	7.32	7.298 0	6.11	A12	7.53	9.04	6.67	6.50	7.93	7.10	7.251 0	6.06
A5	7.93	9.16	6.67	7.03	8.23	7.19	7.141 0	6.03	A13	7.53	9.18	6.67	6.63	7.87	7.17	7.301 5	6.03
A6	7.73	9.30	6.67	7.33	8.30	7.31	7.148 5	6.13	A14	7.73	9.10	6.67	6.80	8.03	7.14	7.258 5	6.04
A7	7.93	9.18	6.73	7.00	8.20	7.20	7.281 0	6.04	A15	7.60	9.22	6.73	6.73	7.90	7.25	7.318 0	6.04
A8	7.53	9.18	6.67	6.73	7.87	7.17	7.302 0	6.03	均值	7.67	9.19	6.69	6.85	8.03	7.20	7.242 0	6.05

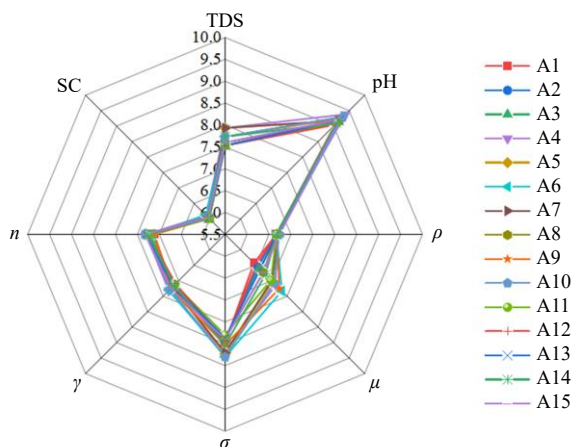


图 1 15 批升陷汤标准煎液叠加物理指纹图谱

Fig. 1 15 physical fingerprints of standard decoction of Shengxian Decoction

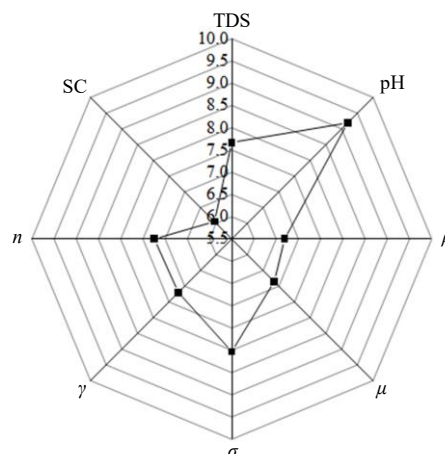


图 2 升陷汤标准煎液对照物理指纹图谱

Fig. 2 Physical fingerprint of standard decoction of Shengxian Decoction

可直接表现升陷汤标准煎液各物理参数之间差异。

2.2.4 物理指纹图谱的应用评价 物理指纹图谱作为中药水煎液质量评价方法，不仅能综合表征其物理属性，还能直观展示出不同批次间物理参数的相似或差异程度。主要评价方法包括直观评价法和相似度评价法^[13]。直观评价法即观察 15 批升陷汤标准煎液的叠加物理指纹图谱，见图 1，15 批升陷汤

标准煎液的 pH、 γ 、SC、 n 、 ρ 参数较为集中，而 TDS、 μ 、 σ 参数存在差异。

对转换后的 15 批升陷汤标准煎液物理参数进行相似度评价，采用 SPSS 21 软件计算升陷汤标准煎液各批次间 Pearson 相关系数，相似度绝对值越接近 1 表明标准煎液间物理性质越相近。结果表明，15 批升陷汤标准煎液相似度均大于 0.9，见表 6。

表 6 15 批升陷汤标准煎液的相似度评价
Table 6 Similarity evaluation of 15 batches of standard decoction of Shengxian Decoction

标准煎液	相似度															对照指纹图谱
	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8	A9	A10	A11	A12	A13	A14	A15	
A1	1.000															
A2	0.998	1.000														
A3	0.995	0.999	1.000													
A4	0.977	0.981	0.980	1.000												
A5	0.974	0.974	0.973	0.996	1.000											
A6	0.956	0.961	0.960	0.992	0.989	1.000										
A7	0.980	0.981	0.982	0.997	0.998	0.985	1.000									
A8	0.991	0.997	0.998	0.987	0.977	0.970	0.985	1.000								
A9	0.961	0.966	0.966	0.995	0.989	0.996	0.987	0.977	1.000							
A10	0.979	0.984	0.984	0.996	0.993	0.993	0.995	0.989	0.991	1.000						
A11	0.976	0.985	0.987	0.993	0.983	0.984	0.988	0.994	0.992	0.992	1.000					
A12	0.998	0.999	0.998	0.978	0.973	0.956	0.982	0.999	0.961	0.982	0.980	1.000				
A13	0.994	0.999	0.999	0.983	0.974	0.963	0.982	0.995	0.970	0.985	0.990	0.997	1.000			
A14	0.991	0.993	0.993	0.995	0.993	0.979	0.997	0.994	0.983	0.995	0.991	0.993	0.993	1.000		
A15	0.993	0.998	0.999	0.986	0.977	0.967	0.984	1.000	0.976	0.987	0.992	0.995	0.999	0.994	1.000	
对照指纹图谱	0.991	0.994	0.994	0.996	0.991	0.983	0.995	0.997	0.987	0.996	0.995	0.992	0.995	0.999	0.996	1.000

2.2.5 升陷汤标准煎液物理参数的多变量数据分析

(1) 层次聚类分析 (hierarchical cluster analysis, HCA): 以 15 批升陷汤标准煎液物理参数转化后数值为变量，使用 SPSS 21 软件进行系统聚类分析，结果见图 3，当聚类距离 $d=15$ 时，15 批标准煎液聚为 2 类，A1、A2、A3、A8、A12、A13、A15 聚为一类，其余标准煎液聚为一类。

(2) 主成分分析 (principal component analysis, PCA): PCA 是一种多元统计分析方法，用于对中药中各种理化指标进行分析，可简化复杂的多指标问题^[14]。采用 SIMCA 14.1 进行 PCA，绘制 15 批升陷汤标准煎液的 PCA 图，结果见图 4。同时应用 Hotelling's T^2 和 DMod X 控制图对 15 批升陷汤标准煎液进行质量监测。PCA 提取 2 个主成分，第 1 主成分 (PC1)、第 2 主成分 (PC2) 分别提取 74.70%、

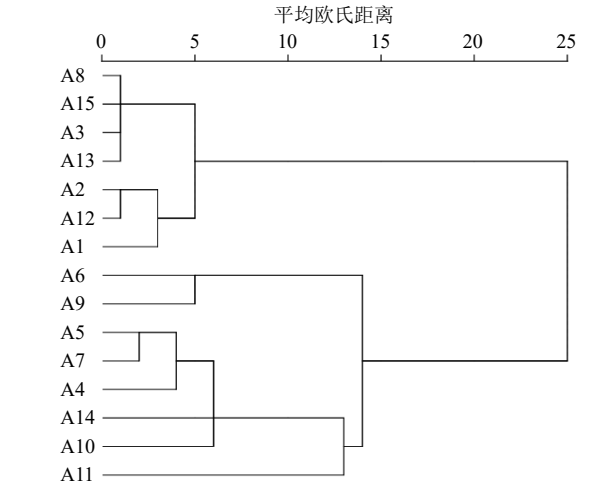


图 3 15 批升陷汤标准煎液的物理指纹图谱聚类分析图
Fig. 3 Cluster analysis of physical fingerprint of 15 batches of standard decoction of Shengxian Decoction

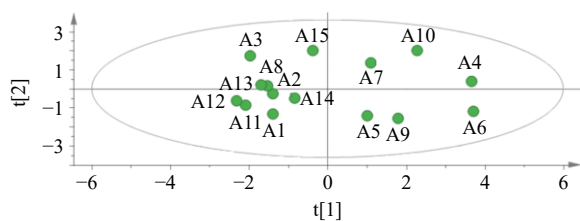


图 4 15 批升陷汤标准煎液的 PCA 图

Fig. 4 PCA diagram of 15 batches of standard decoction of Shengxian Decoction

34.30%的数据信息。由 PCA 图可知, A1、A2、A3、A8、A12、A13、A15 聚分布较为密集, 其他样品分布较为分散, 其结果与 HCA 结果一致, 说明 15 批升陷汤标准煎液物理参数之间存在波动; 由主成分荷载图 (图 5) 可知, 物理参数 TDS、 ρ 、pH、 μ 、SC、 γ 、 σ 对主成分 1 的贡献较大, 主成分 2 中 n 具有较大载荷, 与其关联性较强。表明 TDS、 ρ 、pH、 μ 、SC、 γ 、 σ 、 n 是升陷汤标准煎液物理指纹图谱中物理质量的差异性指标。

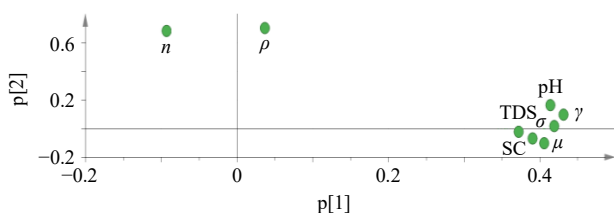


图 5 升陷汤标准煎液载荷图

Fig. 5 Load diagram of standard decoction of Shengxian Decoction

建立 Hotelling's T^2 和 DMod X 控制图对 15 批升陷汤标准煎液质量进行监控, Hotelling's T^2 和 DMod X 是 2 个互补的多变量分析手段。Hotelling's T^2 表示的是每个选定观察点与模型平面中原点的距离, 为模型的内部变化度量; DMod X 表示数据在变量 X 空间到主成分模型的距离, 为模型的外部变化度量, 反映出采样点偏离模型的程度。通常情况下, 在控制线之内的样品为正常样品, 超出控制线的样品为异常样品^[15]。

15 批升陷汤标准煎液的 Hotelling's T^2 和 DMod X 控制图见图 6, 图中的 T^2 临界值 (95%) 和 D 临界值 (0.05) 为控制限, 其控制上限分别为 8.196 6 和 1.899, 控制图显示, 15 批升陷汤标准煎液均在 Hotelling's T^2 和 DMod X 的警戒限内。

2.3 6 种指标成分含量测定

2.3.1 色谱条件

(1) 毛蕊异黄酮葡萄糖苷、刺芒柄花苷、毛蕊

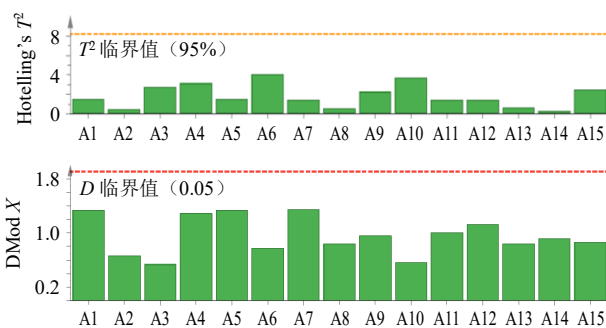


图 6 15 批升陷汤标准煎液的 Hotelling's T^2 和 DMod X 的控制图

Fig. 6 Control chart of Hotelling's T^2 and DMod X of 15 batches of standard decoction of Shengxian Decoction

异黄酮、芒柄花黄素: 色谱柱为 Zorbax SB-C₁₈ 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μ m); 流动相为乙腈-0.2%甲酸水溶液; 柱温 25 $^{\circ}$ C; 体积流量 1.0 mL/min; 进样量 10 μ L; 梯度洗脱: 0~25 min, 15%~18%乙腈; 25~55 min, 18%~23%乙腈; 55~75 min, 23%~27%乙腈; 27~90 min, 27%~40%乙腈; 90~100 min, 40%~15%乙腈。

(2) 芒果苷: 色谱柱为 Zorbax Eclipse Plus C₁₈ 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μ m); 流动相为乙腈-0.2%冰醋酸水溶液 (15:85); 柱温 25 $^{\circ}$ C; 检测波长 258 nm; 体积流量 1.0 mL/min; 进样量 10 μ L。

(3) 异阿魏酸: 色谱柱为 Zorbax SB-C₁₈ 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μ m); 流动相为乙腈-0.1%磷酸水溶液 (13:87); 柱温 25 $^{\circ}$ C; 检测波长 316 nm; 体积流量 1.0 mL/min; 进样量 10 μ L。

2.3.2 对照品溶液制备

(1) 毛蕊异黄酮葡萄糖苷、刺芒柄花苷、毛蕊异黄酮、芒柄花黄素: 精密称定毛蕊异黄酮葡萄糖苷、毛蕊异黄酮、刺芒柄花苷、芒柄花黄素对照品适量, 加甲醇制成含毛蕊异黄酮葡萄糖苷 98.47 μ g/mL、刺芒柄花苷 25.15 μ g/mL、毛蕊异黄酮 98.23 μ g/mL、芒柄花黄素 49.23 μ g/mL 的混合对照品溶液。

(2) 芒果苷: 精密称定芒果苷对照品适量, 加稀乙醇制成含芒果苷 497.25 μ g/mL 的对照品溶液。

(3) 异阿魏酸: 精密称定异阿魏酸对照品适量, 加甲醇制成含异阿魏酸 135.55 μ g/mL 的对照品溶液。

2.3.3 供试品溶液的制备

(1) 毛蕊异黄酮葡萄糖苷、刺芒柄花苷、毛蕊异黄酮、芒柄花黄素: 精密量取升陷汤标准煎液 100.00 mL, 浓缩至浸膏状, 加 5 g 硅藻土分散均匀, 精密加入甲醇 50 mL, 超声 (400 W、40 kHz) 10

min, 滤过, 滤液蒸干, 用甲醇溶解定容至 5 mL, 经 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 即得。

(2) 芒果苷: 精密量取升陷汤标准煎液 6.50 mL, 浓缩至浸膏状, 加 2 g 硅藻土分散均匀, 精密加入稀乙醇 25 mL, 超声 (400 W、40 kHz) 10 min, 滤过, 取续滤液, 经 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 即得。

(3) 异阿魏酸: 精密量取升陷汤标准煎液 110.00 mL, 浓缩至浸膏状, 加 5 g 硅藻土分散均匀, 精密加入甲醇 25 mL, 超声 (400 W、40 kHz) 10 min, 滤过, 取续滤液, 经 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 即得。

2.3.4 阴性供试品溶液的制备 按升陷汤处方比例与制备工艺, 制备缺黄芪、缺知母、缺升麻的阴性样品, 并按相应的供试品溶液制备方法, 分别制备缺黄芪、缺知母及缺升麻的阴性供试品溶液。

2.3.5 专属性试验 精密吸取对照品溶液、供试品溶液、黄芪阴性供试品溶液、知母阴性供试品溶液及升麻阴性供试品溶液, 分别按“2.3.1 (1)、(2)、(3)”项下色谱条件进样分析, 记录色谱图, 结果见图 7~9。

2.3.6 线性关系考察 取毛蕊异黄酮葡萄糖苷对照品适量, 加甲醇制成质量浓度为 49.24、24.62、9.85、4.92、3.28 $\mu\text{g/mL}$ 的对照品溶液; 取刺芒柄花苷对照品适量, 加甲醇制成质量浓度为 25.15、12.56、5.03、2.52、1.26 $\mu\text{g/mL}$ 的对照品溶液; 取毛蕊异黄酮对照品适量, 加甲醇制成质量浓度为 24.56、12.28、6.55、4.91、2.46 $\mu\text{g/mL}$ 的对照品溶液; 取芒柄花黄素对照品适量, 加甲醇制成质量浓度为 12.31、6.15、3.28、2.46、1.23 $\mu\text{g/mL}$ 的对照品溶液; 按“2.3.1 (1)”项下色谱条件进样分析, 以峰面积为纵坐标 (Y), 质量浓度为横坐标 (X), 绘制标准曲线, 进行线性回归, 得回归方程分别为毛蕊异黄酮葡萄糖苷 $Y=24.26X+212.38$, $r=0.9995$, 线性范围 3.28~49.24 $\mu\text{g/mL}$; 刺芒柄花苷 $Y=36.35X+9.52$, $r=1.0000$, 线性范围 1.26~25.15 $\mu\text{g/mL}$; 毛蕊异黄酮 $Y=24.44X+165.39$, $r=0.9995$, 线性范围 2.46~24.56 $\mu\text{g/mL}$; 芒柄花黄素 $Y=37.13X+9.52$, $r=1.0000$, 线性范围 1.23~12.33 $\mu\text{g/mL}$ 。

取芒果苷对照品适量, 加稀乙醇溶液制成质量

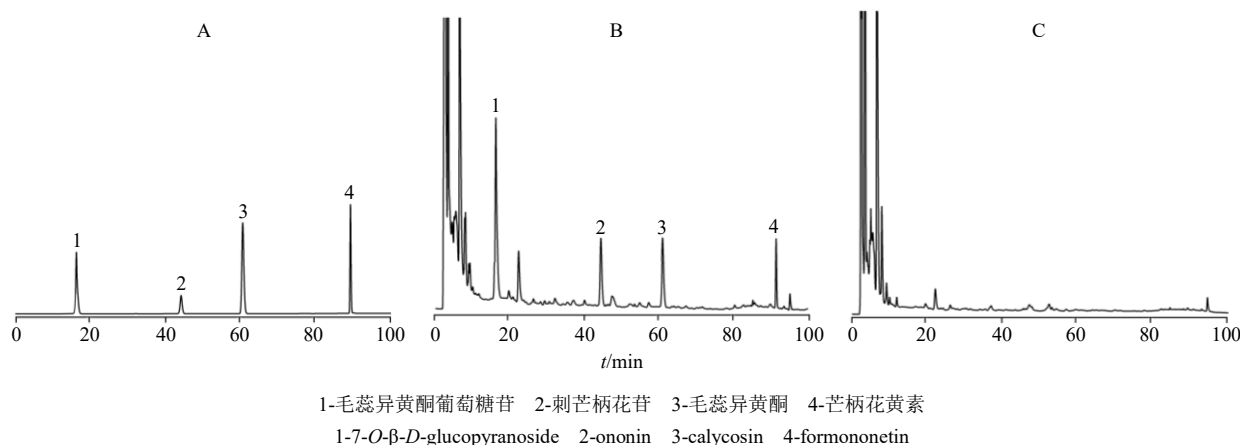


图 7 混合对照品溶液 (A)、升陷汤标准煎液供试品溶液 (B) 和缺黄芪阴性供试品溶液 (C) 的 HPLC 图
Fig. 7 HPLC of mixed reference substances (A), test solution of Shengxian Decoction standard decoction (B), and negative sample solution lacking *Astragali Radix* (C)

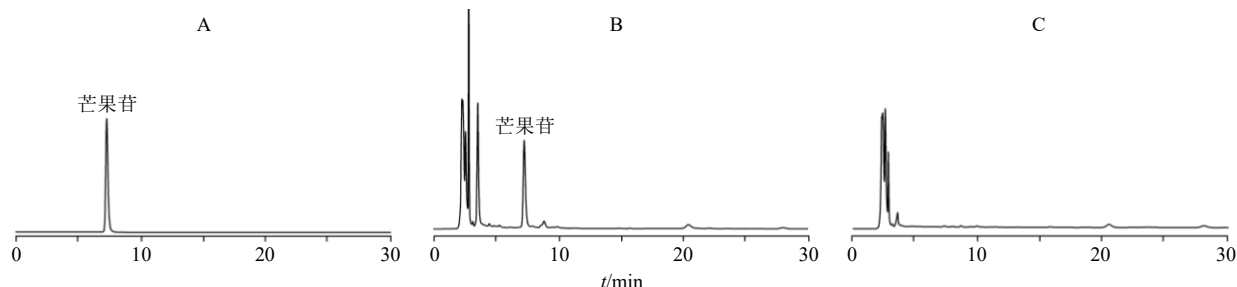


图 8 芒果苷对照品溶液 (A)、升陷汤标准煎液供试品溶液 (B) 和缺知母阴性供试品溶液 (C) 的 HPLC 图
Fig. 8 HPLC of mangiferin reference substance (A), test solution of Shengxian Decoction standard decoction (B), and negative sample solution lacking *Anemarrhena Asphodeloides* (C)

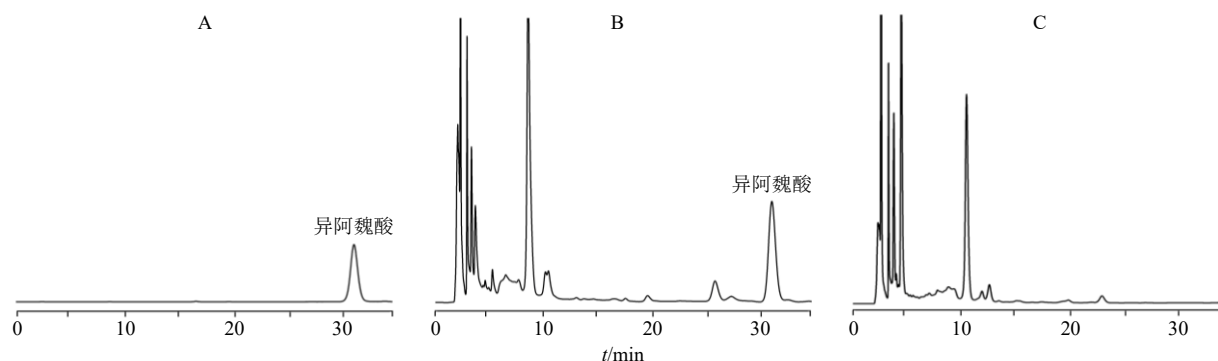


图 9 异阿魏酸对照品溶液 (A)、升陷汤标准煎液供试品溶液 (B) 和缺升麻阴性供试品溶液 (C) 的 HPLC 图
Fig. 9 HPLC of isoferulic acid reference substances (A), test solution of Shengxian Decoction standard decoction (B), and negative sample solution lacking *Cimicifugae Rhizoma* (C)

浓度分别为 497.25、248.63、124.31、99.45、49.73 $\mu\text{g/mL}$ 的对照品溶液，按“2.3.1 (2)”项下色谱条件进样分析，以峰面积为纵坐标 (Y)，质量浓度为横坐标 (X)，绘制标准曲线，进行线性回归，得回归方程为芒果苷 $Y=3.6278X-0.968$ ， $r=0.9998$ ，线性范围 49.73~497.25 $\mu\text{g/mL}$ 。

取异阿魏酸对照品适量，加甲醇制成质量浓度分别为 21.77、10.89、5.44、4.35、2.72 $\mu\text{g/mL}$ 的对照品溶液，按“2.3.1 (3)”项下色谱条件进样分析，以峰面积为纵坐标 (Y)，质量浓度为横坐标 (X)，绘制标准曲线，进行线性回归，得回归方程为异阿魏酸 $Y=50.245X-7.5972$ ， $r=0.9997$ ，线性范围 2.72~21.77 $\mu\text{g/mL}$ 。

2.3.7 精密度试验 精密量取升陷汤标准煎液 (A1)，按“2.3.3 (1)、(2)、(3)”项下方法制备供试品溶液，再按“2.3.1 (1)、(2)、(3)”项下色谱条件，连续重复进样 6 次，记录峰面积，计算各指标成分峰面积的 RSD 分别为毛蕊异黄酮葡萄糖苷 1.25%、刺芒柄花苷 1.06%、毛蕊异黄酮 1.18%、芒柄花黄素 1.11%、芒果苷 1.76%、异阿魏酸 1.29%。

2.3.8 重复性试验 精密量取升陷汤标准煎液 (A1)，按“2.3.3 (1)、(2)、(3)”项下方法分别平行制备 6 份供试品溶液，按“2.3.1 (1)、(2)、(3)”项下色谱条件，依次进样分析，记录峰面积，计算各成分质量浓度的 RSD 分别为毛蕊异黄酮葡萄糖苷 0.73%、刺芒柄花苷 0.65%、毛蕊异黄酮 0.82%、芒柄花黄素 0.78%、芒果苷 0.84%、异阿魏酸 0.79%。

2.3.9 稳定性考察 精密量取升陷汤标准煎液 (A1)，按“2.3.3 (1)、(2)、(3)”项下方法制备供试品溶液，分别在制备后 1、3、6、9、12、18、24 h，按“2.3.1 (1)、(2)、(3)”项下色谱条件进样分析，

记录峰面积，计算各成分色谱峰峰面积的 RSD 分别为毛蕊异黄酮葡萄糖苷 1.06%、刺芒柄花苷 1.08%、毛蕊异黄酮 1.10%、芒柄花黄素 1.02%、芒果苷 1.25%、异阿魏酸 1.12%。

2.3.10 加样回收率考察 精密量取已测定指标成分含量的 6 份升陷汤标准煎液 (A1) 各 50.00 mL，分别精密加入等量的毛蕊异黄酮葡萄糖苷、刺芒柄花苷、毛蕊异黄酮、芒柄花黄素对照品，按“2.3.3 (1)”项下方法制备供试品溶液，再按“2.3.1 (1)”项下色谱条件进样分析，记录峰面积，计算各成分加样回收率和 RSD，结果毛蕊异黄酮葡萄糖苷、刺芒柄花苷、毛蕊异黄酮、芒柄花黄素的平均加样回收率分别为 99.86%、98.47%、100.25%、99.52%，RSD 分别为 1.84%、1.69%、2.01%、1.92%。

精密量取已知含量的 6 份升陷汤标准煎液 (A1) 3.30 mL，精密加入等量的芒果苷对照品，按“2.3.3 (2)”项下方法制备供试品溶液，再按“2.3.1 (2)”项下色谱条件进样分析，记录峰面积，计算得芒果苷的平均加样回收率和 RSD 分别为 98.72% 和 1.16%。

精密量取已知含量的 6 份升陷汤标准煎液 (A1) 55.00 mL，精密加入等量的异阿魏酸对照品，按“2.3.3 (3)”项下方法制备供试品溶液，再按“2.3.1 (3)”项下色谱条件进样分析，记录峰面积，计算得异阿魏酸的加样回收率和 RSD 分别为 98.99% 和 1.08%。

2.3.11 样品测定 取 15 批升陷汤标准煎液，分别按“2.3.3 (1)、(2)、(3)”项下方法制备供试品溶液，按“2.3.1 (1)、(2)、(3)”项下色谱条件进样分析，记录色谱峰，计算 15 批升陷汤标准煎液中毛蕊异黄酮葡萄糖苷、刺芒柄花苷、毛蕊异黄酮、芒

柄花黄素、芒果苷、异阿魏酸含量,结果见表 7。结果表明,不同产地药材会造成指标成分含量差异,在经典名方研发过程中,尽可能选择道地药材进行投料。以 15 批升陷汤标准煎液指标成分含量为变量,采用 SPSS 21 软件进行聚类分析,结果见图 10,当平均欧式距离为 15 时,15 批样品聚为 2 类,A1、A2、A3、A8、A12、A13、A15 聚为一类,其余样

表 7 15 批升陷汤标准煎液中 6 种指标成分含量测定结果
Table 7 Determination results of six index components in 15 batches of standard decoction of Shengxian Decoction

批次	质量浓度/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)					异阿魏酸
	毛蕊异黄酮葡萄糖苷	刺芒柄花苷	毛蕊异黄酮	芒柄花黄素	芒果苷	
A1	6.26	1.73	4.12	1.54	72.35	5.61
A2	6.30	1.51	3.94	1.55	71.00	4.92
A3	6.03	1.54	3.89	1.52	70.23	4.96
A4	5.61	1.50	4.38	1.43	74.53	3.50
A5	6.25	1.64	4.65	1.54	69.99	4.23
A6	5.82	1.65	4.60	1.33	75.23	4.10
A7	4.81	1.62	3.59	1.51	68.33	3.65
A8	6.07	1.70	4.59	1.52	71.36	5.64
A9	4.90	1.74	3.97	1.63	68.40	4.09
A10	5.94	1.70	3.97	1.57	73.22	3.55
A11	4.81	1.71	3.50	1.40	69.87	3.81
A12	5.41	1.78	4.08	1.52	72.60	5.39
A13	6.07	1.71	4.58	1.52	71.35	5.65
A14	5.00	1.51	3.90	1.50	70.06	4.17
A15	6.01	1.55	3.91	1.52	70.25	4.99

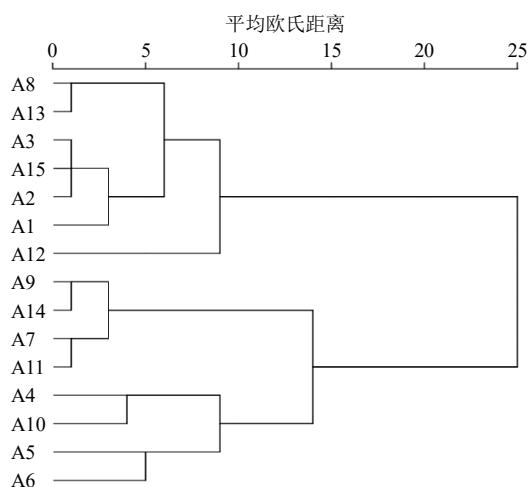


图 10 15 批升陷汤标准煎液指标成分含量 HCA 图

Fig. 10 HCA of index component content of 15 batches of standard decoction of Shengxian Decoction

品聚为另一类^[16],其结果与物理指纹图谱 HCA 结果一致。

3 讨论

中药水煎液是中药制剂研发的基础。中药在煎煮过程中其物理化学参数与中药的成分、药效之间存在着必然联系,本研究选择 8 个物理参数构建水煎液的物理指纹图谱,更全面地对中药水煎液进行评价。中药在煎煮过程中,水煎液中脂肪酸类、酚酸类及黄酮类等电离出的氢离子量会影响其 pH 值,进而反映其质量。在提取过程中细胞中生物碱和无机盐等成分透过细胞壁和细胞间质向水中扩散,并以盐的形式分散在水中,使得水煎液显示电信号,导致溶液的 σ 值呈范围性波动,水煎液 σ 的大小可反映细胞内的物质扩散到水中的多少,进而反应化学成分扩散和提取规律^[17-18]。水煎液中皂苷类及黄酮类等成分与水作用,使其具有一定的表面活性可反映水煎液的物理化学性质及组成。有研究表明,当温度一定时, n 与溶液中分子结构、分子间作用力有密切关系^[19], n 可作为水煎液质量评价的一项重要指标。TDS 及固含量能反应出水煎液中可溶物和不溶物的提取总量,在一定程度上表征着水煎液的质量。因此,选择 TDS、 μ 、 σ 、pH、 γ 、 n 、 ρ 、SC 构建升陷汤标准煎液物理指纹图谱。

对 15 批升陷汤标准煎液的物理指纹图谱进行叠加,结果表明,物理参数 pH、 γ 、SC、 n 、 ρ 指标较为集中,而 TDS、 μ 、 σ 指标之间存在差异。15 批升陷汤标准煎液的 σ 值均大于纯水 σ 值且有一定差异,其原因可能是标准煎液中的黄芪甲苷、知母皂苷、桔梗皂苷等多种皂苷类成分中的苷元具有不同程度的亲脂性,糖链具有较强的亲水性,进而影响 σ 值^[20]。由于 μ 与中药水煎液中淀粉、果胶等高分子物质的含量密切相关^[21],因此,15 批升陷汤标准煎液的 μ 存在差异的主要原因可能是煎煮过程中高分子物质溶出差异造成的。TDS 与水煎液内的化学成分溶出密切相关,15 批升陷汤标准煎液化学成分溶出不同,从而对物理参数 TDS 有影响。

选择毛蕊异黄酮葡萄糖苷、刺芒柄花苷、毛蕊异黄酮、芒柄花黄素、芒果苷、异阿魏酸 6 种指标成分进行含量测定,并对质量浓度进行聚类分析,分类结果与物理指纹图谱的分类结果相一致,说明物理指纹图谱可以表征煎液体系的内在质量变化,可用于标准煎液质量控制及其一致性评价。该方法操作简单,所需时间短,成本低,可动态监控中药

煎煮的全过程,为中药水煎液质量研究提供科学依据。本课题组将继续深入研究指标成分与物理化学参数的传变规律,以构建更全面、系统的中药水煎液质量评价体系。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 杜克群,成颜芬,李敏敏,等. 基于特征图谱与 5 种成分含量的经典名方桃红四物汤量值传递分析 [J]. 中草药, 2022, 53(22): 7058-7069.
- [2] 陈秋薇,章津铭,季宁平,等. 附子-甘草药对配伍前后汤液相态对比 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(2): 92-95.
- [3] 文谨,刘起华,柯李晶,等. 表征中药煮散的粉体特征参数及水煎液中的分散溶出行为研究 [J]. 中草药, 2015, 46(23): 3489-3494.
- [4] Nofrerias I, Nardi A, Suñé-Pou M, *et al.* Comparison between microcrystalline celluloses of different grades made by four manufacturers using the SeDeM diagram expert system as a pharmaceutical characterization tool [J]. *Powder Technol*, 2018, 342: 780-788.
- [5] 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.
- [6] 常丽静,李明月,韦花花,等. 升陷汤标准煎液 HPLC-ELSD 特征指纹图谱建立及 3 种成分测定 [J]. 中成药, 2021, 43(8): 2010-2016.
- [7] 马家骅,李霞,谭承佳,等. 基于药效理化表征的当归补血汤质量控制模式初探 [J]. 中草药, 2012, 43(5): 901-905.
- [8] 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.
- [9] 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.
- [10] 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.
- [11] 马家骅,谭承佳,李霞,等. 基于有效组分检测与理化表征相结合的当归补血汤制备工艺与质量控制研究 [J]. 中草药, 2012, 43(3): 482-486.
- [12] 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.
- [13] 刘涛,付春梅,唐玉,等. 不同干燥方式对桑枝提取物物理指纹图谱及其总黄酮含量的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(3): 34-38.
- [14] 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.
- [15] 侯一哲,黎翩,肖红敏,等. 血塞通滴丸皂苷类成分含量测定及批次一致性评价研究 [J]. 中草药, 2019, 50(11): 2552-2559.
- [16] 李明月,常丽静,韦花花,等. 不同干燥方式黄芪提取物理化性质及 HPLC-ELSD 指纹图谱的比较 [J]. 中成药, 2022, 44(9): 3068-3075.
- [17] 莫平莉,王洛临,卢泳,等. 黄芪配方颗粒提取过程中 3 种指标成分的传质规律 [J]. 中成药, 2019, 41(5): 979-982.
- [18] 孙冬梅,陈卉,王洛临,等. 电导率测定法在中药有效成分提取过程中的应用研究 [J]. 中成药, 2015, 37(12): 2686-2690.
- [19] 范加金,张晓杰,王立增,等. 折射仪法测定氯化钙注射液含量 [J]. 中国药品标准, 2022, 23(3): 326-329.
- [20] 罗石任,郑旭霞,殷娜,等. 平乐正骨活血灵汤的制备工艺优化及电导率用于汤剂的质量控制研究 [J]. 中国处方药, 2022, 20(5): 15-18.
- [21] 单东杰,罗秀明,常艳丽,等. 基于化学计量学研究莪术-三棱药对水煎液物理参数与化学成分的相关性 [J]. 中草药, 2022, 53(17): 5363-5378.

[责任编辑 郑礼胜]