

经典名方丁香柿蒂散的物质基准量值传递研究

李莹莹¹, 刘凯洋¹, 毕诗杰¹, 徐真真¹, 王泽文¹, 赵亚楠¹, 王梓安¹, 张嘉宁¹, 邹妍², 张燕玲^{1*}

1. 北京中医药大学中药学院 国家中医药管理局中药信息工程重点实验室, 北京 102488

2. 神威药业集团有限公司, 河北 廊坊 065201

摘要: **目的** 建立经典名方丁香柿蒂散(Dingxiang Shidi Powder, DSP)特征图谱并测定指标性成分含量及出膏率,明确关键质量属性的传递规律,指导丁香柿蒂复方制剂的开发。**方法** 制备 17 批 DSP 冻干粉作为物质基准样品,建立 HPLC 指纹图谱,并测定多指标性成分含量及干膏率,计算上述指标在饮片-水煎液-物质基准传递过程中的转移率。**结果** 17 批 DSP 物质基准的特征图谱相似度良好(均>0.90),标定了 9 个特征峰,对共有峰进行归属,1 号峰来自丁香与柿蒂,2~8 号峰来自丁香,9 号峰来自生姜;指标性成分丁香酚、没食子酸、6-姜辣素在 DSP 物质基准中质量分数为 2.09~3.88、0.60~1.11、0.05~0.10 mg/g;物质基准的出膏率在 9.42%~17.49%。饮片到物质基准丁香酚、6-姜辣素的转移率分别为 7.65%~14.29%、6.90%~32.90%,干膏率的传递率为 6.88%~25.13%。**结论** DSP 物质基准的关键质量属性可在饮片-水煎液-物质基准中稳定传递,初步建立了 DSP 物质基准的质量标准,为后续复方制剂的开发提供数据支撑。

关键词: 经典名方;丁香柿蒂散;物质基准;量值传递;关键质量属性;HPLC;转移率;丁香;柿蒂;生姜;丁香酚;没食子酸;6-姜辣素

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2023)21-7025-09

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2023.21.011

Research on quality value transfer of material benchmarks of classical prescription Dingxiang Shidi Powder

LI Ying-ying¹, LIU Kai-yang¹, BI Shi-jie¹, XU Zhen-zhen¹, WANG Ze-wen¹, ZHAO Ya-nan¹, WANG Zi-an¹, ZHANG Jia-ning¹, ZOU Yan², ZHANG Yan-ling¹

1. Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine Information Engineering, National Administration of Traditional Chinese Medicine, School of Chinese Materia Medica, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 102488, China

2. Shineway Pharmaceutical Group Ltd., Langfang 065201, China

Abstract: Objective Through establishing the the characteristic spectrum, as well as determining the paste yield and content of the index components of the classical prescription Dingxiang Shidi Powder (丁香柿蒂散, DSP), the transfer rule of the key quality attributes can be clarified and further guide the development of Dingxiang Shidi compound preparation. **Methods** A total of 17 batches of DSP freeze-dried powder were prepared as benchmark samples to establish characteristic spectrums; The content of index components and paste rate in the benchmark samples were determined, and the transfer rate of the above indicators in the process of pieces-decoction-material benchmark was calculated. **Results** The characteristic spectrum similarity of 17 batches of DSP was more than 0.90, and nine common peaks were calibrated. Peak 1 belonged to Dingxiang (*Caryophylli Flos*, CF) and Shidi (*Kaki Calyx*); Peaks 2—8 belonged to CF; Peak 9 belonged to Shengjiang (*Zingiberis Rhizoma Recens*). The mass fraction ranges of index components eugenol, gallic acid and 6-gingerol in DSP material benchmark were 2.09—3.88, 0.60—1.11, 0.05—0.10 mg/g, respectively; The paste rate range of the material benchmark was 9.42%—17.49%. The transfer rates of eugenol and 6-gingerol ranged from 7.65% to 14.29%, 6.90% to 32.90%, respectively; The transfer rate of paste rate ranged from 6.88% to 25.13%. **Conclusion** The key quality attributes of the material benchmark of DSP can be transferred stably in pieces-decoction-material benchmark, and the quality standard of material benchmark of DSP was preliminarily established, which provides data support for the subsequent

收稿日期: 2023-04-21

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(82073996); 经典名方丁香柿蒂颗粒剂的合作开发研究(2017110031015575)

作者简介: 李莹莹(1997—), 女, 硕士研究生, 研究方向为中药设计与优化。Tel: 18939286354 E-mail: lyy11022333@163.com

*通信作者: 张燕玲, 研究员, 博士生导师, 研究方向为中药药物设计与优化。Tel: 13810778920 E-mail: zhangyanling@bucm.edu.cn

development of compound preparations.

Key words: classical prescription; Dingxiang Shidi Powder; material benchmark; quality value transfer; critical quality attributes; HPLC; transfer rate; *Caryophylli Flos*; *Kaki Calyx*; *Zingiberis Rhizoma Recens*; eugenol; gallic acid; 6-gingerol

丁香柿蒂散 (Dingxiang Shidi Powder, DSP) 来源于《伤寒瘟疫条辨》^[1], 由丁香、柿蒂、生姜和人参组成, 方中丁香、柿蒂温中散寒, 降逆止呃, 为治疗胃寒呃逆之要药; 生姜辛温, 为呕家圣药, 与丁香、柿蒂合用则温胃降逆之功尤著; 人参甘温益气, 补虚养胃^[2], 用于“治久病呃逆, 因下寒者”, 具有温中益气、降逆止呃的功效, 主治胃气虚寒、胃失和降、气逆之呃逆, 是治疗呃逆的经典方。现代研究表明, DSP 多应用于呃逆^[3-4]以及顽固性呃逆^[5-7]、延迟性呕吐^[8]等疾病。DSP 收录于《古代经典名方目录 (第一批)》^[9], 原文记载为“丁香、柿蒂各二钱, 人参一钱, 生姜三钱。水煎温服。”经典名方物质基准作为后续复方制剂的质量参照, 于经典名方复方制剂开发过程中具有核心地位^[10]。确定物质基准的质控指标, 对于实现经典名方的现代开发和广泛应用具有重要的意义。《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 (critical quality attribute, CQAs) 应包括特征图谱、指标成分含量及干膏率^[11]。综合利用高效液相色谱法和气相色谱法等技术手段, 明确药材-饮片-水煎液-物质基准传递过程中的 CQAs。

DSP 研究多集中于临床方面, 尚未有关于物质

基准的质量标准及量值传递关系等文献的报道。本研究通过制备 17 批 DSP 物质基准, 测定其特征图谱、出膏率范围、指标性成分含量, 分析饮片与物质基准间的量值传递及整体质量研究, 有利于 DSP 制剂的后续开发和研究。

1 仪器与试药

1.1 仪器

ACCHROM S6000 高效液相色谱仪, 北京华谱科仪科技有限公司; KQ-500D 型数控超声波清洗器, 昆山市超声仪器有限公司; Sartorius BT25S 型分析电子天平, 赛多利斯科学仪器有限公司; 色谱柱为 Shiseido Capcell Pak C₁₈ 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); JYH-A30A1 型小熊煎药壶, 广东小熊电器有限公司; MDJ-A01Y1 型小熊粉碎机, 广东小熊电器有限公司; FD-1A-50 型冷冻干燥机, 北京博医康实验仪器有限公司; HW.SY21-KP6 型水浴锅, 北京市长风仪器仪表公司; DHG-9140A 型电热鼓风干燥箱、DZF-6050 型真空干燥箱, 上海一恒科学仪器有限公司。

1.2 试剂与试药

1.2.1 样品 药材信息如表 1 所示, 由神威药业集团有限公司采购提供, 以上药材经北京中医药大学张媛教授鉴定, 分别为丁香为桃金娘科蒲桃属植物

表 1 DSP 组方药材来源信息

Table 1 Source information of DSP prescription medicinal materials

饮片名称	产地	批号
丁香	印度尼西亚	DX1711161、DX1711162、DX1711163、DX1711164、DX1711165
	越南	DX180311、DX180312、DX180313、DX180314、DX180315
	斯里兰卡	DX180321、DX180322、DX180323、DX180324、DX180325
	海南	DX180326
柿蒂	山东平邑	SD180321、SD180322、SD180323、SD180324、SD180325
	河南安阳	SD180311、SD180312、SD180313、SD180314、SD180315
	河北安国	SD1709061、SD1709062、SD1709063、SD1709064、SD1709065
	安徽	SD1709066
生姜	山东寒亭区	SJ180901、SJ180902、SJ180903、SJ180904、SJ180905、SJ180906
	云南罗平	SJ180911、SJ180912、SJ180913、SJ180914、SJ180915、SJ180916
	陕西固县	SJ180921、SJ180922、SJ180923、SJ180924、SJ180925、SJ180926
人参	黑龙江鸡西	RS180321、RS180322、RS180323、RS180324、RS180325
	吉林通化	RS180311、RS180312、RS180313、RS180314、RS180315、RS171007、RS170905
	吉林辑安县	RS170902、RS170907、RS170909、RS171013

丁香 *Eugenia caryophyllata* Thunb. 的干燥花蕾, 柿蒂为柿树科柿属植物柿 *Diospyros kaki* Thunb. 的干燥宿萼, 生姜为姜科姜属植物姜 *Zingiber officinale* Rose. 的新鲜根茎, 人参为五加科人参属植物人参 *Panax ginseng* C. A. Mey. 的干燥根和根茎。丁香、柿蒂和人参分别按照已考证的炮制工艺进行炮制, 经检验均合格。

1.2.2 试剂 乙腈、甲醇, 色谱级, Fisher 公司; 纯净水, 广州屈臣氏食品饮料有限公司; 磷酸, 质量分数 85%, 美国 Fisher 公司; 对照品丁香酚 (批号 110725-201716, 质量分数 99.6%)、没食子酸 (批号 110831-201605, 质量分数 90.8%)、6-姜辣素 (批号 111833-201806, 质量分数 99.9%), 中国食品药品鉴定研究院。

2 方法与结果

2.1 17 批 DSP 基准样品的制备

采用随机数法对表 1 中各批次药材组合成 17 批 DSP 基准样品 (S1~S17), 如表 2 所示。将丁香、柿蒂、人参分别捣碎成《中国药典》2020 年版规定下的最粗粉 (全部通过一号筛, 但混有能通过三号筛不超过 20%), 生姜切成《中国药典》2020 年版规定下的薄片 (1~2 mm)。经考证及度量衡换算,

表 2 17 批药材搭配

Table 2 Collocations of 17 batches of medicinal materials

编号	药材批号			
	丁香	柿蒂	生姜	人参
S1	DX1711165	SD180312	SJ180926	RS180324
S2	DX180322	SD1709064	SJ180915	RS180315
S3	DX180312	SD180321	SJ180911	RS180311
S4	DX1711161	SD180323	SJ180923	RS180321
S5	DX180311	SD1709065	SJ180902	RS180314
S6	DX180321	SD1709061	SJ180914	RS180323
S7	DX180314	SD180322	SJ180924	RS180325
S8	DX180324	SD180315	SJ180921	RS180313
S9	DX180326	SD1709062	SJ180922	RS180312
S10	DX1711163	SD180314	SJ180903	RS171007
S11	DX1711162	SD180324	SJ180905	RS170905
S12	DX180325	SD180313	SJ180904	RS170907
S13	DX180313	SD180311	SJ180906	RS171013
S14	DX1711164	SD180325	SJ180912	RS170909
S15	DX180315	SD180322	SJ180925	RS180322
S16	DX180323	SD180315	SJ180916	RS170902
S17	DX1711163	SD1709066	SJ180913	RS170905

清代 1 钱折算为今 3.73 g, 丁香、柿蒂折算为 7.46 g, 生姜 11.19 g, 人参 3.73 g, 最终确定每份称取丁香 7.46 g、柿蒂 7.46 g、人参 3.73 g、生姜 11.19 g, 加纯净水 300 mL, 浸泡 30 min, 武火 (500 W) 加热煮沸后, 文火 (250 W) 加盖煎煮 10 min, 用玻璃棒搅拌 3 次, 趁热滤过 100 目筛, 挤压滤渣, 量取煎液体积, 取滤液冻干, 得 DSP 物质基准对应的实物, 即 DSP 冻干粉。每组实验平行 2 次。

2.2 DSP 物质基准特征图谱的建立

2.2.1 色谱条件^[12] 色谱柱为 Shiseido Capcell Pak C₁₈ 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为乙腈-0.02%磷酸水溶液; 梯度洗脱程序: 0~5 min, 3%乙腈; 5~15 min, 3%~10%乙腈; 15~30 min, 10%~13%乙腈; 30~50 min, 13%~23%乙腈; 50~70 min, 23%~55%乙腈; 70~75 min, 55%~98%乙腈; 75~95 min, 98%乙腈。检测波长 203 nm; 柱温 25 ℃; 体积流量 1.0 mL/min; 进样量 10 μL。

2.2.2 对照品溶液的制备 精密称定丁香酚、没食子酸、6-姜辣素适量, 加 75%甲醇制成分别含丁香酚 1 221.20 μg/mL、没食子酸 341.40 μg/mL、6-姜辣素 41.72 μg/mL 的溶液, 即得混合对照品溶液。

2.2.3 供试品溶液的制备 取 DSP 冻干粉 200 mg, 精密称定, 置于 25 mL 量瓶内, 加入 5 mL 的 75%甲醇, 摇匀, 超声提取 30 min (频率 40 kHz、功率 300 W), 静置, 放冷, 用 75%甲醇定容至刻度线, 摇匀, 过 0.22 μm 微孔滤膜, 取续滤液, 即得供试品溶液。

2.2.4 单味药材/饮片供试品溶液 取药材/饮片丁香、柿蒂、人参打成最粗粉, 生姜切薄片。称取组方用量的丁香、柿蒂、生姜、人参饮片, 分别置于圆底烧瓶中, 加水 200 mL 回流 20 min, 恢复到室温, 摇匀后, 精密量取 2.5 mL 的汤液置 10 mL 量瓶中, 加入 2.5 mL 甲醇, 摇匀, 超声提取 30 min (功率 300 W、频率 40 kHz), 静置, 放冷, 用甲醇定容至刻度线, 摇匀, 过 0.22 μm 微孔滤膜, 取续滤液, 即得药材/饮片供试品溶液, 进样量为 10 μL。

2.2.5 单味饮片阴性供试品溶液的制备 按处方量称取缺丁香、缺柿蒂、缺生姜和缺人参阴性处方, 并按“2.1”项下 DSP 基准样品制法制得相应的阴性冻干粉末, 再按“2.2.3”项下方法制得相应的单味饮片阴性供试品溶液。

2.2.6 精密度试验 取编号为 S15 的冻干粉制备供试品溶液, 按“2.2.1”项特征图谱色谱条件进样检

测,连续进样 6 次进行测定,特征图谱相似度均大于 0.90,以丁香酚为对照峰(S),9 个特征峰相对保留时间和相对峰面积的 RSD 分别 $\leq 1.39\%$ 和 2.20%,表明仪器精密度良好。

2.2.7 重复性试验 取编号为 S15 的冻干粉 6 份,制备供试品溶液,按照“2.2.1”项特征图谱色谱条件进样检测,特征图谱相似度均大于 0.90,以丁香酚为 S 峰,9 个特征峰相对保留时间和相对峰面积的 RSD 分别 $\leq 0.48\%$ 和 4.28%,表明方法重复性良好。

2.2.8 稳定性试验 取编号为 S15 的冻干粉制备供试品溶液,按照“2.2.1”项特征图谱色谱条件,分别于供试样品溶液制备后 0、2、4、8、12、24 h 进样检测,特征图谱相似度均大于 0.90,以丁香酚为 S 峰,9 个特征峰相对保留时间和相对峰面积 RSD 分别 $\leq 0.31\%$ 和 2.74%,表明供试样品溶液于 24 h 稳定性良好。

2.2.9 特征图谱的建立及相似度评价 取 17 批 DSP 物质基准供试品溶液,按照“2.2.1”项下色谱

条件测定,记录色谱图,导入中药色谱指纹图谱相似度评价系统 2012 版,以样品图谱 1 为参照图谱,时间窗宽度设定为 0.2 min,采用中位数法,进行多点校正和全谱峰匹配,17 批 DSP 基准样品特征图谱见图 1,计算各批次特征图谱与对照指纹图谱(R)的相似度,17 批 DSP 物质基准(S1~S17)相似度结果分别为 0.992、0.997、0.997、0.991、0.985、0.998、0.998、0.997、0.996、0.997、0.995、0.994、0.993、0.996、0.990、0.992、0.997,均大于 0.90。

特征图谱中共指认了 9 个特征峰,分离良好,通过与对照品比较,结果如图 2 所示,1 号峰为没食子酸、8 号峰为丁香酚、9 号峰为 6-姜辣素。以 8 号峰君药丁香内丁香酚作为 S 峰,计算 17 批 DSP 物质基准中特征峰的相对保留时间和相对峰面积,结果见表 3、4。结果各色谱峰相对保留时间的 RSD 均小于 2.00%,说明 DSP 基准样品批次间关键成分具有一致性,2 号峰相对峰面积波动明显高于其他色谱峰。

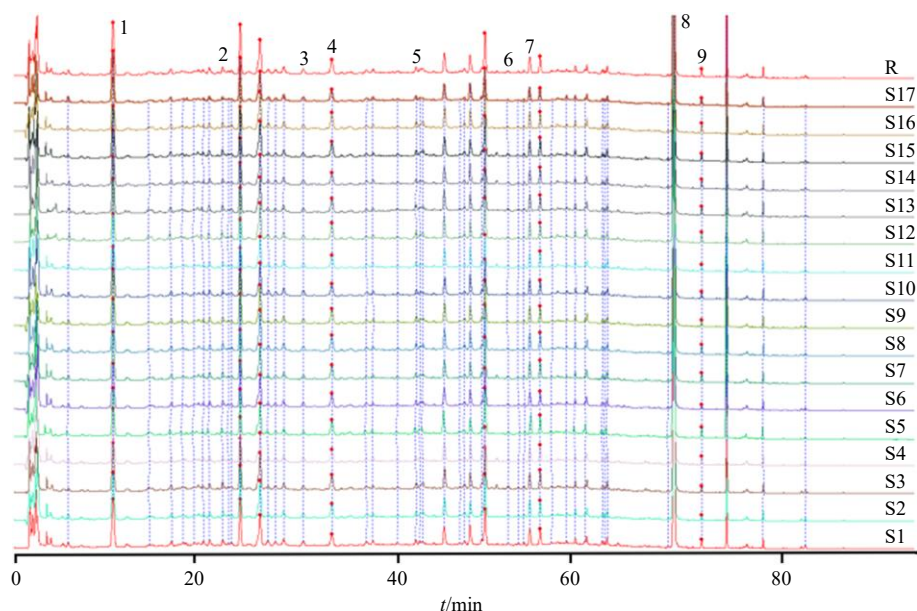


图 1 1~17 批 DSP 物质基准 HPLC 特征图谱和对照指纹图谱 (R)

Fig. 1 HPLC characteristic spectrums of 1—17 batches of DSP material benchmarks and control fingerprint (R)

2.2.10 饮片-基准样品特征图谱量值传递关系研究 如图 3 所示,峰 1 归属于丁香与柿蒂;峰 9 归属于生姜;峰 2~8 归属于丁香。以每味药中的一个特征峰为参照峰,丁香以丁香酚作为参照峰,生姜以 6-姜辣素为参照峰,柿蒂和人参不含专属特有峰,计算相对峰面积,比较基准样品和各单味饮片中特征峰峰面积的比值,结果见表 5。发现饮片和物质基准对应特征峰的比值存在差异。

2.3 DSP 指标性成分含量测定

2.3.1 色谱条件及溶液制备 同“2.2”项下色谱条件及供试品溶液和对照品溶液制备的方法,波长 203 nm (6-姜辣素)及 280 nm (丁香酚、没食子酸)。

2.3.2 线性关系考察 取不同质量浓度的丁香酚、没食子酸、6-姜辣素对照品溶液,按照“2.3.1”项下色谱条件进样分析,以进样量为横坐标(X),峰面积为纵坐标(Y),进行标准曲线的绘制,并计算回归方

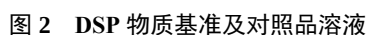


表 3 17 批 DSP 基准样品共有峰相对保留时间

编号	相对保留时间								
	峰 1	峰 2	峰 3	峰 4	峰 5	峰 6	峰 7	峰 8	峰 9
S1	0.15	0.32	0.44	0.49	0.61	0.75	0.78	1.00	1.04
S2	0.15	0.32	0.44	0.48	0.61	0.75	0.78	1.00	1.04
S3	0.16	0.32	0.44	0.48	0.61	0.75	0.78	1.00	1.04
S4	0.15	0.32	0.44	0.49	0.61	0.75	0.78	1.00	1.04
S5	0.16	0.33	0.45	0.50	0.62	0.76	0.79	1.00	1.04
S6	0.15	0.32	0.44	0.49	0.61	0.75	0.78	1.00	1.04
S7	0.15	0.32	0.44	0.49	0.61	0.75	0.78	1.00	1.04
S8	0.16	0.32	0.44	0.48	0.61	0.75	0.78	1.00	1.04
S9	0.15	0.32	0.44	0.48	0.61	0.75	0.78	1.00	1.04
S10	0.15	0.32	0.44	0.48	0.61	0.75	0.78	1.00	1.04

编号	相对峰面积								
	峰 1	峰 2	峰 3	峰 4	峰 5	峰 6	峰 7	峰 8	峰 9
S1	0.17	0.01	0.02	0.05	0.01	0.01	0.04	1.00	0.02
S2	0.16	0.02	0.01	0.05	0.02	0.01	0.04	1.00	0.01
S3	0.15	0.02	0.01	0.05	0.02	0.01	0.04	1.00	0.01
S4	0.17	0.01	0.02	0.04	0.01	0.01	0.03	1.00	0.01
S5	0.14	0.02	0.01	0.05	0.02	0.01	0.04	1.00	0.02
S6	0.13	0.02	0.01	0.04	0.01	0.00	0.03	1.00	0.01
S7	0.15	0.02	0.01	0.05	0.01	0.01	0.04	1.00	0.01
S8	0.16	0.01	0.02	0.06	0.02	0.01	0.04	1.00	0.02
S9	0.14	0.01	0.01	0.04	0.01	0.01	0.03	1.00	0.01
S10	0.16	0.01	0.02	0.04	0.01	0.00	0.04	1.00	0.01

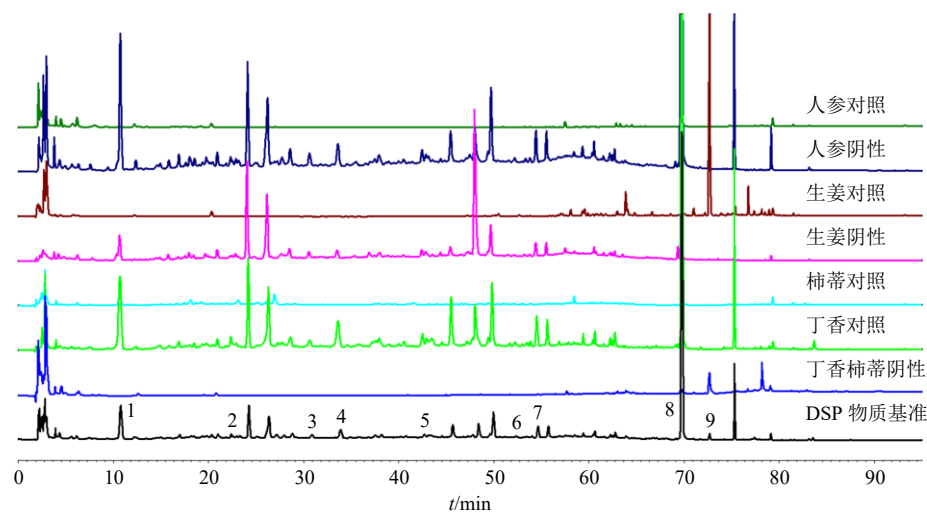


图 3 DSP 物质基准的特征峰归属

Fig. 3 Attribution of characteristic peaks in material benchmark of DSP

表 5 各单味饮片对照图谱与基准样品对照图谱中特征峰峰面积对比

Table 5 Comparisons of characteristic peak areas in reference spectrum of each medicinal decoction piece with that of benchmark samples

峰号	峰面积					相对峰面积	
	丁香	柿蒂	生姜	人参	基准样品	单味药	基准样品
1	1 449 334.00	197 165.80	—	—	3 130 479.00	—	—
2	323 589.19	—	—	—	431 894.09	0.05	0.02
3	105 295.30	—	—	—	309 264.81	0.02	0.02
4	570 089.63	—	—	—	1 006 471.00	0.09	0.05
5	138 058.59	—	—	—	362 722.41	0.02	0.02
6	18 369.21	—	—	—	142 383.91	0.00	0.01
7	212 867.09	—	—	—	771 355.31	0.03	0.04
8	6 111 840.00	—	—	—	19 616 760.00	1.00	1.00
9	—	—	195 472.91	—	316 422.13	1.00	1.00

程, 结果分别为丁香酚 $Y=9\,834.89X+31\,810.36$, $r=0.999\,9$, 线性范围 $61.06\sim610.60\,\mu\text{g/mL}$; 没食子酸 $Y=29\,529.26X-32\,341.34$, $r=1.000\,0$, 线性范围 $17.07\sim170.70\,\mu\text{g/mL}$; 6-姜辣素 $Y=62\,817.47X-16\,286.77$, $r=0.999\,9$, 线性范围 $2.09\sim20.86\,\mu\text{g/mL}$ 。

2.3.3 精密度考察 取编号为 S15 的 DSP 冻干粉制备供试品溶液, 按照“2.3.1”项色谱条件连续进样 6 次, 记录色谱图, 计算丁香酚、没食子酸、6-姜辣素峰面积的 RSD 分别为 0.12%、0.47%、0.73%。

2.3.4 稳定性考察 取编号为 S15 的 DSP 冻干粉制备供试品溶液, 分别在制备后 0、2、4、6、8、10、12、14、24 h 按照“2.3.1”项色谱条件, 进样分析, 计算丁香酚、没食子酸、6-姜辣素峰面积的 RSD 分别为 0.70%、2.50%、0.78%。

2.3.5 重复性考察 取编号为 S15 的 DSP 冻干粉制备供试品溶液, 平行操作 6 次, 制备 6 份供试品溶液, 按照“2.3.1”项色谱条件, 分别进样分析, 计算丁香酚、没食子酸、6-姜辣素质量分数的 RSD 分别为 1.60%、2.60%、1.20%。

2.3.6 加样回收率考察 取已测定指标成分的样品 (S15) 的 DSP 冻干粉 6 份, 每份 100 mg, 分别加入丁香酚、没食子酸、6-姜辣素对照品, 制备为供试品溶液, 按照“2.3.1”项色谱条件进行分析测定, 计算加样回收率, 结果丁香酚、没食子酸、6-姜辣素的平均加样回收率分别为 97.05%、100.41%、97.44%, RSD 分别为 1.33%、0.93%、1.23%。

2.3.7 含量测定 对 17 批基准样品的丁香酚、没食子酸、6-姜辣素进行含量测定, 结果见表 6。17 批

表 6 17 批 DSP 基准样品含量测定

Table 6 Content determinations of 17 batches of DSP benchmark samples

编号	质量分数/(mg·g ⁻¹)			编号	质量分数/(mg·g ⁻¹)			编号	质量分数/(mg·g ⁻¹)		
	丁香酚	没食子酸	6-姜辣素		丁香酚	没食子酸	6-姜辣素		丁香酚	没食子酸	6-姜辣素
S1	2.60	0.82	0.08	S8	3.48	0.82	0.08	S15	2.93	0.86	0.06
S2	2.52	0.79	0.05	S9	3.01	0.98	0.07	S16	2.97	0.83	0.08
S3	2.33	0.69	0.05	S10	2.81	0.88	0.07	S17	2.96	0.94	0.07
S4	2.87	0.91	0.07	S11	2.87	0.91	0.07	均值	2.98	0.88	0.07
S5	2.70	0.75	0.09	S12	3.00	0.84	0.09	70%均值	2.09	0.61	0.05
S6	3.81	0.94	0.05	S13	3.71	0.88	0.10	130%均值	3.88	1.14	0.10
S7	3.08	0.85	0.08	S14	2.72	1.19	0.10				

DSP 冻干粉中丁香酚质量分数均值为 2.98 mg/g, 其均值的 70%~130%为 2.09~3.88 mg/g; 没食子酸质量分数均值为 0.88 mg/g, 其均值的 70%~130%为 0.61~1.14 mg/g, 发现第 14 批 DSP 冻干粉没食子酸质量分数不在其均值的 70%~130%, 可能是该批次柿蒂内没食子酸质量分数较高, 去除离散值后, 没食子酸的质量分数均值为 0.85 mg/g, 其均值的 70%~130%为 0.60~1.11 mg/g; 6-姜辣素质量分数均值为 0.07 mg/g, 其均值的 70%~130%为 0.05~0.10 mg/g; 因此, 除了第 14 批 DSP 冻干粉外, 剩下 16 批 DSP 含量测定数据均在其均值的 70%~130%, 结果较稳定。

2.3.8 量值传递研究 统计 17 批次基准样品指标成分的含量、标准煎液(中间体)指标性成分含量其对应批次饮片的成分含量, 计算指标成分从饮片→基准样品转移率和中间体→基准样品转移率。

$$\text{转移率} = W/M$$

W 、 M 均表示所含指标性成分质量

从表 7 可知, 丁香酚、没食子酸和 6-姜辣素 3 个成分从水煎液到物质基准所基准样品之间的转移率均值分别为 66.55%、96.60%、95.10%, 在冻干的过程中没食子酸和 6-姜辣素较稳定, 几乎全部转移, 并且批间转移率都在其均值的 70%~130%, 说明整个冻干过程工艺稳定, 可以实现没食子酸和 6-姜辣素的稳定转移; 丁香酚不稳定, 在冻干的过程中损失 1/3 左右, 然而有大于 15 批次的从饮片到冻干粉, 水煎液到冻干粉的转移率在其均值的 70%~130%, 说明从整个制备过程工艺稳定, 可以实现丁香酚的稳定传递。

2.4 出膏率及其传递关系

分别称取丁香粗粉 7.46 g 或柿蒂粗粉 7.46 g 或

表 7 指标性成分转移率

Table 7 Transfer rates of index components

基准样品 品编号	丁香酚转移率/%		没食子酸 转移率/%		6-姜辣素转移率/%	
	中间体→	饮片→	中间体→	中间体→	饮片→	饮片→
	基准样品	基准样品	基准样品	基准样品	基准样品	基准样品
S1	62.43	8.29	91.09	85.11	24.56	
S2	60.36	8.16	92.50	94.67	10.85	
S3	57.21	7.65	84.49	87.22	6.90	
S4	60.83	9.17	93.48	90.58	25.52	
S5	66.30	9.68	94.45	94.53	27.39	
S6	63.09	14.29	103.88	104.79	12.01	
S7	64.80	13.10	95.25	91.62	28.89	
S8	62.06	9.94	92.23	86.30	24.77	
S9	68.40	10.90	101.44	101.09	23.06	
S10	67.22	10.39	96.57	96.44	25.16	
S11	67.84	9.30	93.14	90.36	19.79	
S12	67.76	8.80	93.31	92.23	32.90	
S13	66.30	9.52	96.51	94.16	31.65	
S14	87.62	11.98	124.00	122.22	19.91	
S15	69.61	8.49	96.08	92.90	19.33	
S16	68.96	9.10	95.43	95.06	14.41	
S17	70.63	10.24	98.33	97.49	13.80	
均值	66.55	9.94	96.60	95.10	21.23	
70%均值	46.59	6.96	67.62	66.57	14.86	
130%均值	86.52	12.93	125.58	123.64	27.60	

生姜薄片 11.19 g 或人参粗粉 3.73 g 于煎药锅中, 加 300 mL 去离子水, 按照“2.1”项下煎煮方法得到滤液。移取“2.1”项下全方滤液和单味饮片滤液各 70 mL 转移至 100 mL 蒸发皿中浓缩至稠膏, 60 ℃真空干燥 72 h, 按比例换算后即得 DSP 物质基准干膏

质量, 计算全方物质基准的实际出膏率。

按公式 (理论出膏率 = $\sum$ 单味药出膏率 $\times$ 单味药生药量/全方总生药量) 计算 DSP 理论出膏率, 以实际出膏率与理论出膏率的比值作为饮片-物质基准的出膏传递率。17 批物质基准的物质基准出膏率及饮片-物质基准的出膏率传递结果如表 8 所示。由表可知, 17 批物质基准的出膏率平均值为 13.45%, $\pm 30\%$ 范围为 9.42%~17.49%, 均在其均值的 $\pm 30\%$ 范围内; 实际出膏率整体低于理论出膏率, 出膏率变化幅度整体范围为 6.88%~25.13%。

表 8 DSP 物质基准出膏率

Table 8 Extract rates of material benchmark of DSP

基准样品编号	单味饮片出膏率/%				DSP 出膏率/%		变化幅度/%
	丁香	柿蒂	生姜	人参	理论	实际	
S1	23.83	10.19	1.77	58.75	16.51	14.09	14.65
S2	26.88	18.92	2.70	32.60	15.86	13.04	17.80
S3	31.72	15.27	1.43	27.02	15.66	12.21	22.03
S4	24.66	15.60	1.45	44.50	16.17	13.37	17.34
S5	27.25	11.96	1.64	36.68	15.00	13.97	6.88
S6	28.63	18.34	0.75	39.40	16.95	14.45	14.75
S7	23.43	14.41	1.57	37.96	14.80	13.43	9.23
S8	26.60	14.26	2.23	32.90	15.16	13.34	12.03
S9	26.49	15.27	3.12	48.39	17.66	13.26	24.91
S10	29.22	7.17	1.41	48.60	15.70	13.74	12.49
S11	25.05	18.62	4.10	32.49	16.52	13.31	19.41
S12	23.59	6.05	2.93	62.71	16.35	12.24	25.13
S13	27.97	10.42	3.12	44.27	16.30	14.57	10.62
S14	32.58	10.04	2.65	46.91	17.51	13.38	23.60
S15	29.17	8.24	1.94	36.80	14.68	13.01	11.38
S16	24.91	14.26	4.10	24.19	14.36	12.27	14.52
S17	29.22	20.38	1.55	32.49	16.46	15.01	8.82

3 讨论

3.1 指标性成分的选择

丁香在 DSP 中为君药, 性味辛温, 归脾、胃、肺、肾经, 并有温中散寒, 降逆止呃、补肾助阳之功效。内含挥发油 15%~20%, 油中主要成分丁香酚含量排名第一^[13], 达到 84%~95%^[14], 煎煮过程挥发油可定量保留于水煎液内, 能够应用高效液相色谱法测定煎液内丁香酚的含量^[15]。丁香酚具有抗菌消炎、解热镇痛、抗氧化等药理作用^[16-18]; 与丁香药材整体药理作用类似^[19], 并且丁香酚为《中国药典》2020 年版中丁香药材的指标性成分。柿蒂在 DSP 中同为君药, 具有降逆止呃的功效。柿蒂水提

液对大鼠膈肌收缩会产生抑制的效应, 此药理作用可能与其治疗呃逆的功效相关^[20]。HPLC 测定柿蒂含量较高的活性成分为没食子酸、齐墩果酸、乌索酸, 而且基于整合网络药理学分析香草酸、没食子酸、槲皮素等成分, 与柿蒂治疗顽固性呃逆密切相关^[21], 《中国药典》2020 年版以水溶性成分没食子酸为柿蒂药材薄层鉴别的指标成分。生姜在 DSP 中为臣药, 具有温胃散寒、降逆止呃的功效。生姜所含姜辣素类具有抗氧化、抗肿瘤、抑菌、保肝等药理作用^[22], 具有很好的药理活性, 与生姜的传统功效相符, 且姜辣素是姜属植物的特有成分, 其中 6-姜辣素含量最高^[23], 且《中国药典》2020 年版中 6-姜辣素为生姜药材和饮片的指标性成分。故选择以上 3 个成分为量值传递研究指标性成分。

3.2 特征图谱分析

本研究建立的 17 批样品相似度均 >0.90 , 表明该制备工艺稳定。对 DSP 物质基准特征图谱共指认 9 个特征峰, 1 号峰 (没食子酸) 归属于丁香与柿蒂; 9 号峰 (6-姜辣素) 为药典中生姜指标性成分之一, 归属于生姜; 其余色谱峰归属于丁香。本实验尚存在不足之处, 未于此色谱条件下获得的特征图谱内归属到人参药味的特征峰, 可能是由于全方中人参药味剂量较低, 皂苷成分含量低, 峰面积不稳定, 变化大, 将对 DSP 物质基准内人参皂苷类成分进行含量测定或薄层定性鉴别, 表征全方中人参药味。

3.3 量值传递结果分析

从中间体到冻干粉丁香酚整体转移率偏低, 考虑到冻干过程中挥发性成分丁香酚的损失, 于复方制剂过程中采用包合技术添加挥发油以此保持质量的一致性。由于丁香与柿蒂均含有没食子酸, 且药典内尚无丁香和柿蒂药材内的没食子酸含量测定的方法, 本研究未对药材/饮片内没食子酸进行含量测定, 故无法进行没食子酸从饮片到物质基准量值传递的分析研究。丁香酚和 6-姜辣素从饮片到冻干粉的转移率偏低, 分析因该 2 种成分为热不稳定成分, 加热煎煮造成损失。且生姜中成分 6-姜辣素, 从饮片到冻干粉之间的转移率仅有的 9 批转移率在其均值的 70%~130%, 其余的 8 批中有 5 批产地是云南, 并且转移率均低于均值的 70%, 考虑和其产地有关, 云南的生姜质地比较坚硬, 《中国药典》中测生姜内姜辣素含量需将生姜切成 1~2 mm 大小的丁, 再用甲醇提取, 但在 DSP 物质基准的制备过程中, 提取对象为生姜薄片 (1~2 mm) 使接触面积

减小,提取溶剂为水,造成了不同产地转移率不均匀的结果,但冻干粉中 6-姜辣素含量均在其均值的 70%~130%,说明虽然产地不同,但提取量基本一致,物质基准制备过程工艺稳定,可实现从中间体到物质基准 6-姜辣素的稳定转移。

4 结论

本研究使用不同批次饮片制备 17 批 DSP 物质基准,建立了 DSP 的 HPLC 特征图谱,共确定了 9 个特征峰,指认出丁香酚、没食子酸、6-姜辣素 3 个色谱峰,并采用“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”(2012 版)进行相似度分析,相似度均大于 0.90;以丁香酚、没食子酸、6-姜辣素为指标性成分建立 DSP 中多成分 HPLC 含量测定方法,以不超过质量均值的 70%~130%为界限设定各含量指标的量值范围,结果表明,DSP 物质基准中丁香酚质量分数为 2.09~3.88 mg/g,没食子酸质量分数为 0.60~1.11 mg/g;6-姜辣素质量分数为 0.05~0.10 mg/g;物质基准的出膏率在 9.42%~17.49%,表明了 DSP 的 CQAs 可在药材-饮片-水煎液-物质基准内稳定传递。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 杨栗山. 伤寒瘟疫条辨 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1986: 168.
- [2] 陈士林, 刘安. 经典名方开发指引 [M]. 北京: 科学出版社, 2020: 664.
- [3] 梁占虎. 加味丁香柿蒂汤治疗中风后呃逆 60 例 [J]. 光明中医, 2011, 26(6): 1134-1135.
- [4] 李俊. 丁香柿蒂汤临床治疗呃逆 22 例 [J]. 中国中医药现代远程教育, 2013, 11(21): 26-27.
- [5] 耿明. 丁香柿蒂汤治疗肿瘤致顽固性呃逆的临床效果分析 [J]. 中国医药指南, 2017, 15(5): 195-196.
- [6] 王政. 丁香柿蒂汤治疗肿瘤致顽固性呃逆 48 例 [J]. 浙江中医杂志, 2019, 54(4): 251.
- [7] 刘洁, 王宝亮, 徐晓妍. 汤药联合穴位按压治疗顽固性呃逆的应用价值 [J]. 深圳中西医结合杂志, 2020, 30(1): 41-42.
- [8] 沈礼平, 张卉, 沈金根, 等. 丁香柿蒂汤加味防治化疗致延迟性呕吐 51 例临床观察 [J]. 中国中医药科技, 2014, 21(2): 198-199.
- [9] 国家中医药管理局. 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]. [2018-04-13]. <http://kjs.satcm.gov.cn/zhengcewenjian/2018-04-16/7107.html>.
- [10] 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.
- [11] 刘雨涵, 关雅戈, 韩晨, 等. 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 [J]. 中草药, 2022, 53(7): 2011-2021.
- [12] 张燕玲, 李寅庆, 侯金才, 等. 丁香柿蒂散指纹图谱的构建方法及其标准指纹图谱和应用: 中国, CN114113392B [P]. 2023-04-14.
- [13] 蔡君龙, 卢金清, 黎强, 等. 不同产地丁香挥发性成分分析 [J]. 植物科学学报, 2015, 33(2): 251-258.
- [14] 胡洪波, 钱长苏. 丁香柿蒂在呃逆中的应用 [J]. 实用中医内科杂志, 2007, 21(1): 84.
- [15] 刘永刚, 白俊杰, 翟双庆. 丁香、郁金单煎及共煎液中有效成分含量的变化 [J]. 吉林中医药, 2011, 31(4): 365-367.
- [16] 朱瑞瑜, 吴迪, 蔡成岗, 等. 丁香花蕾精油乳液的制备及其抗菌作用的研究 [J]. 科技通报, 2018, 34(4): 99-103.
- [17] 翟华强, 王双艳, 张硕峰, 等. 黄连、丁香外用药理作用研究 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(11): 192-195.
- [18] 张慧芸, 申云翔, 任国艳. 丁香多酚细胞抗氧化活性的研究 [J]. 食品工业科技, 2012, 33(19): 147-149.
- [19] 美丽, 朱懿敏, 罗晶, 等. 丁香化学成分、药效及临床应用研究进展 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(15): 222-227.
- [20] 赵庆华. 柿蒂提取物抑制大鼠离体膈肌收缩的作用机制及其有效部位的研究 [D]. 石家庄: 河北医科大学, 2005.
- [21] 刘方, 陈宽, 段灿灿, 等. 基于整合网络分析柿蒂治疗顽固性呃逆的药效物质基础及作用机制 [J]. 中药材, 2019, 42(9): 2133-2141.
- [22] 刘琳琪, 刘玉环, 赵晨曦, 等. 不同产地生姜主要活性成分的比较分析 [J]. 天然产物研究与开发, 2015, 27(6): 1016-1021.
- [23] 刘怡妙, 凌悦, 徐旭, 等. 生姜的研究进展及其质量标志物的预测分析 [J]. 中草药, 2022, 53(9): 2912-2928.

[责任编辑 郑礼胜]