

HPLC-UV-ELSD 法研究经典名方泽泻汤的量值传递规律

蔡璐瑶^{1,3,6}, 柳思洋^{1,3,5,6}, 郑云枫^{1,2,3,6}, 张先文⁴, 金玉⁴, 彭国平^{1,2,3,6*}

1. 南京中医药大学药学院, 江苏 南京 210023
2. 江苏省中药资源产业化过程协同创新中心, 江苏 南京 210023
3. 江苏省经典名方工程研究中心, 江苏 南京 210023
4. 上海海虹实业(集团)巢湖金辰药业有限公司, 安徽 巢湖 238007
5. 中共泰州市海陵区委组织部, 江苏 泰州 225300
6. 中药制药过程控制与智能制造技术全国重点实验室, 江苏 南京 210023

摘要: **目的** 建立同时适用于泽泻汤药材、饮片与基准样品的 HPLC 特征图谱检测方法, 研究泽泻汤基准样品的物质群量值传递研究。**方法** 依据古代医籍记载的方法制备泽泻汤基准样品, 采用 HPLC-TOF/MS 飞行时间高分辨质谱技术对泽泻汤化学成分进行鉴定和推导, 初步阐述泽泻汤主要化学成分; 建立基于 HPLC-UV-ELSD 的基准样品特征图谱方法, 明确其特征图谱的相似性及峰归属, 结合指标性成分 23-乙酰泽泻醇 B、蔗果三糖的含量范围和转移率范围以及出膏率, 进行基准样品制备过程中物质群的量值传递相关性分析。**结果** 在基准样品特征图谱中, 泽泻汤的基准样品中共指认 18 个特征峰, 其中 10 个特征峰来自泽泻、5 个特征峰来自白术; 指标性成分 23-乙酰泽泻醇 B 质量分数为 0.06~0.11 mg/g, 平均转移率为 (5.11±1.53)%; 指标性成分蔗果三糖质量分数为 4.29~7.41 mg/g, 平均转移率为 (71.11±21.33)%; 15 批基准样品的出膏率控制在 13.00%~15.10%。**结论** 采用整体物质群控制的特征图谱方法、制备工艺过程中物质质量值传递研究思路与技术经济指标评价相结合的模式, 建立了科学合理的泽泻汤基准样品的评价方法, 且明确了药材-饮片-基准样品的传递规律, 为经典名方泽泻汤的进一步开发及相关制剂的质量控制提供依据。

关键词: 经典名方; 泽泻汤; 基准样品; 特征图谱; 23-乙酰泽泻醇 B; 蔗果三糖; 量值传递; 质量控制

中图分类号: R283.6 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2024)13-4373-13

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2024.13.010

HPLC-UV-ELSD method to study quantitative value transfer pattern of classical prescription Zexie Decoction

CAI Luyao^{1,3,6}, LIU Siyang^{1,3,5,6}, ZHENG Yunfeng^{1,2,3,6}, ZHANG Xianwen⁴, JIN Yu⁴, PENG Guoping^{1,2,3,6*}

1. School of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China
2. Jiangsu Provincial Collaborative Innovation Center for Industrialization Process of Traditional Chinese Medicine Resources, Nanjing 210023, China
3. Jiangsu Provincial Engineering Research Center for Classical Formulas, Nanjing 210023, China
4. Shanghai Haihong Industry (Group) Chaohu Jinchun Pharmaceutical Co., Ltd., Chaohu 238007, China
5. Organization Department of Taizhou Hailing District Committee of the Communist Party of China, Taizhou 225300, China
6. State Key Laboratory on Technologies for Chinese Medicine Pharmaceutical Process Control and Intelligent Manufacture, Nanjing 210023, China

Abstract: Objective To establish a high-performance liquid chromatography (HPLC) characteristic chromatographic pattern detection method applicable simultaneously to the herbal materials, decoction pieces, and material reference of Zexie Decoction (泽泻汤, ZD), aiming to study the transfer of quantitative values of material groups in ZD. **Methods** The material reference of ZD was prepared based on methods recorded in the ancient medical literature. ZD's chemical components were identified and deduced using

收稿日期: 2023-11-20

基金项目: 安徽省中央引导地方科技发展专项“泽泻颗粒的开发与产业化”项目(202007d06050008)

作者简介: 蔡璐瑶, 硕士研究生。E-mail: 15371027806@163.com

*通信作者: 彭国平(1963—), 教授, 博士生导师, 主要从事中药制剂精制及新药研究。E-mail: guopingpeng@126.com

HPLC time-of-flight high-resolution mass spectrometry (HPLC-TOF/MS) techniques. Additionally, a material reference characteristic chromatographic method based on HPLC-UV-ELSD was established to precisely determine its similarity range and peak attribution of its characteristic chromatographic pattern. This method, combined with an analysis of the quantitative transfer of material groups during the preparation of the material reference, involved considering the content range, transfer rate, and yield rate of marker components 23-acetyl alisol B and kestose. **Results** Within the material reference characteristic chromatographic pattern, 18 characteristic peaks were identified, with 10 peaks attributed to Zexie (*Alismatis Rhizoma*, AR) and five peaks to Baizhu (*Atractylodis Macrocephalae Rhizoma*, AMR). The marker component 23-acetyl alisol B ranged from 0.06 to 0.11 mg/g, with an average transfer rate of $(5.11 \pm 1.53)\%$. The mass fraction of the marker component kestose ranged from 4.29 to 7.41 mg/g, with an average transfer rate of $(71.11 \pm 21.33)\%$. The yield rate of 15 batches of reference samples was controlled from 13.00% to 15.10%. **Conclusion** By adopting a model that combines a characteristic chromatographic method for controlling the overall material group, along with the research approach focusing on the quantitative transfer of materials during the preparation process, and the evaluation of technological and economic indicators, a scientifically reasonable evaluation method for the material reference of ZD was established. Moreover, it delineated the transfer law among herbal materials, decoction pieces, and material references, thereby providing a basis for subsequent development and quality control of related formulations of the classic formula ZD.

Key words: classical famous prescription; Zexie Decoction; substance reference; characteristic chromatogram; 23-acetyl alisol B; kestose; quantitative value transferring; quality control

2018年4月,国家中医药管理局会同国家药品监督管理局公布了第一批《古代经典名方目录》,本实验研究的经典名方泽泻汤是第20号方剂。经典名方的提出,从很大程度上进行了药品的质量控制而简化了临床有效性的验证,这对于药品标准化生产有重大意义。经典名方制剂研究的关键在于全面、准确阐明其量值传递规律。量值传递规律通过构建科学、合理、可行的质量追溯体系,提高经典名方制剂药材-饮片-中间体-制剂供应链间的质量控制效率,促进质量评价体系的完善化,因此,本实验旨在研究经典名方泽泻汤的药材-饮片-基准样品的量值传递规律,初步建立泽泻汤基准样品的质量控制标准。泽泻汤全方由泽泻、白术2味药组成。具有健脾利水的功效,为历代医家治疗痰饮眩晕的有效方^[1],现代临床及实验研究表明本方还具有利水、扩张血管、调血脂、降压等药理作用^[2-6]。

目前,泽泻汤的相关文献多集中在药理作用方面以及药材、饮片及汤剂指纹图谱等方面^[7-9],主要集中于研究经典名方泽泻汤的有效成分含量检测而缺乏关于其系统的基准样品量值传递规律的研究。为进一步推进经典名方泽泻汤复方制剂的研究应用,本研究基于前期完成的文献考证和药材产地选定的基础,通过高分辨质谱明确泽泻汤基准样品的物质组成,并采用HPLC建立了紫外和蒸发光散射检测器联用的方法对共有峰进行归属,同时采用脂溶性成分和水溶性成分相结合的方法来分析泽泻汤的量值传递规律。本研究旨在弥补泽泻汤成分分析与质量研究的空缺,为泽泻汤基准样品质量研究提

供了科学依据,也为该方后续的复方制剂的制备工艺研究提供参考。

1 仪器与材料

1.1 仪器

Waters e2695型高效液相色谱仪,包括2998 PDA型二极管阵列检测器,美国Waters公司;ELSD 6000型蒸发光散射检测器,美国Alltech公司;MS-105DU型电子天平,十万分之一,梅特勒-托利多仪器有限公司;KH-250B型超声波清洗器,昆山禾创超声仪器有限公司;H3-20K型离心机(离心半径为90.74 mm),湖南可孚仪器设备有限公司;AF-04S型高速中药粉碎机,浙江奥力电机股份有限公司;AB Sciex Triple TOF™ 5600型质谱仪,美国AB Sciex公司;Scientz-10N型冷冻干燥机,宁波新芝生物科技股份有限公司;EPED-Z1-10T型超纯水机,南京汉隆实验器材有限公司。

1.2 试剂与试药

乙腈、甲醇,色谱级,美国默克公司;实验用水为超纯水,由超纯水机提供;无水乙醇、95%乙醇、甲醇,分析纯,国药集团化学试剂有限公司。

对照品白术内酯II(批号JBZ-0057)、白术内酯III(批号JBZ-0058)、23-乙酰泽泻醇C(批号JBZ-1666)、23-乙酰泽泻醇B(批号26575-95-1),质量分数均 $\geq 98\%$,中国食品药品检定研究院;16-氧代泽泻醇A,批号DST210924-346,质量分数 $\geq 98\%$,成都德思特生物技术有限公司;泽泻醇C,批号ST32970105,质量分数 $\geq 97\%$,上海诗丹德标准技术服务有限公司;泽泻醇G,批号Z-047-181008,

质量分数 $\geq 98\%$ ，成都瑞芬斯生物科技有限公司；泽泻醇 A（批号 JBZ-1648）、泽泻醇 B（批号 19052401）、蔗糖三糖（批号 JBZ-1643），质量分数均 $\geq 98\%$ ，南京金益柏生物科技有限公司。

1.3 泽泻药材和对应饮片

20 批次泽泻药材和饮片均由上海海虹实业（集团）巢湖今辰药业有限公司提供，经南京中医药大学严辉教授鉴定，为泽泻科泽泻属植物泽泻 *Alisma plantago-aquatica* Linn. 的干燥根，泽泻药材（批号 ZXYP21052201~21052215，编号 ZC1~ZC15），泽泻饮片（批号 ZXP21052201~21052215，编号 ZP1~ZP15）。饮片加工方法为按照《中国药典》2020 年版泽泻项下泽泻饮片炮制方法制备，取泽泻原药材，洗净，再注入清水至淹没药材，中间不换水，放置 12 h 后，捞起。将泡过的药材，采用“伏润法”，使其在基本密闭条件下闷润 12 h 至透心，切制为 3 mm 饮片，以 60 °C 烘干。

1.4 白术药材和对应饮片

15 批次白术药材和饮片均由上海海虹实业（集团）巢湖今辰药业有限公司提供，经南京中医药大学严辉教授鉴定，为菊科苍术属植物白术 *Atractylodes macrocephala* Koidz. 的干燥根茎，白术药材（批号 BZYC21052201~21052215，编号 BC1~BC15），白术饮片（批号 BZYP21052201~21052215，编号 BP1~BP15），饮片加工方法为按照《中国药典》2020 年版白术项下白术饮片炮制方法制备，取白术原药材，洗净，再注入清水至淹没药材，中间不换水，放置 32 h 后，捞起。将泡过的药材，采用“伏润法”，使其在基本密闭条件下闷润 12 h 至透心，切制为 3 mm 饮片，以 60 °C 烘干。

2 方法与结果

2.1 15 批泽泻汤基准样品的制备

15 批次标准煎液实验室自制，饮片由上海海虹实业（集团）巢湖今辰药业有限公司提供，各批次对应饮片制备标准煎液（批号 ZXT21052201~ZXT21052215，编号 S1~S15）。泽泻汤标准煎液煎制方法如下：取泽泻 69.0 g，白术 27.6 g，加水 400 mL，浸泡 30 min，以自动煎药壶加热，武火加热 12 min 沸腾，转文火再加热 30 min，中药过滤网（高分子塑料材质，直径 7 cm，孔径 20 目），浑浊滤液加蒸馏水精密定容至 200 mL。搅拌均匀，量取 5 mL 标准煎液分装于西林瓶中，预冻后冷冻干燥，即得泽泻汤基准样品^[10]。

2.2 经典名方泽泻汤的化学成分研究

2.2.1 色谱条件与质谱条件

(1) 色谱条件：采用 Hypersil ODS 色谱柱（250 mm \times 4.6 mm，5 μ m）；乙腈-0.1%甲酸水溶液，梯度洗脱：0~20 min，40%~45%乙腈；20~40 min，45%~60%乙腈；40~55 min，60%~65%乙腈；55~65 min，65%~70%乙腈；65~80 min，70%乙腈；80~82 min，70%~98%乙腈；82~100 min，98%乙腈；体积流量 1 mL/min；柱温 30 °C；进样量 10 μ L。

(2) 质谱条件：电喷雾离子源（ESI）；正/负离子模式检测；质量扫描范围为 m/z 50~2 000；喷雾电压为 5 500 V；解簇电压为 100 V；碰撞电压为 40 V；碰撞电压为 20 V；离子源温度为 600 °C；雾化器为 413.685 kPa（60 psi）；辅助加热器为 413.685 kPa（60 psi）；气帘气为 275.790 kPa（40 psi）。

2.2.2 供试品溶液的制备 称取泽泻 69.0 g、白术 27.6 g，加水 400 mL，浸泡 30 min，以自动煎药壶加热，武火加热 12 min 后沸腾，转文火再加热 30 min，中药过滤网（高分子塑料材质，直径 7 cm，孔径 20 目）滤过。搅拌均匀，取 20 mL 过 20 mL HP20 大孔树脂，水洗至无色后，80%乙醇 80 mL 洗脱，洗脱液水浴（70 °C）蒸干，甲醇复溶，定容至 1 mL 量瓶中，摇匀，8 000 r/min 离心（离心半径 90.74 mm）10 min，即得供试品溶液。

2.2.3 对照品溶液的制备 精密称取各对照品适量，加入甲醇配制成含 16-乙酰泽泻醇 A 270 μ g/mL、泽泻醇 C 260 μ g/mL、23-乙酰泽泻醇 C 220 μ g/mL、泽泻醇 A 210 μ g/mL、泽泻醇 G 270 μ g/mL、泽泻醇 B 410 μ g/mL、23-乙酰泽泻醇 B 329 μ g/mL、白术内酯 II 200 μ g/mL、白术内酯 III 294 μ g/mL 的混合对照品溶液。

2.2.4 泽泻汤中主要成分分析 将泽泻汤样品，按“2.2.1”项下的质谱条件进行质谱分析，泽泻汤的正离子模式总离子流图见图 1。依照文献数据及对照品比对^[11-15]，结合质谱数据鉴定，结果见表 1。对泽泻汤提取物进行系统的化学成分分析，共计鉴别了 28 个化合物。对其药味来源进行归属，其中 11 个来源于白术，18 个来源于泽泻，初步确定了泽泻汤中的主要有效成分，主要包括泽泻醇类成分、挥发油、内酯类成分和多糖类成分。

2.3 HPLC 特征图谱方法的建立

2.3.1 色谱条件

(1) 方法 1：选用色谱柱 Hedera OSD-2（250

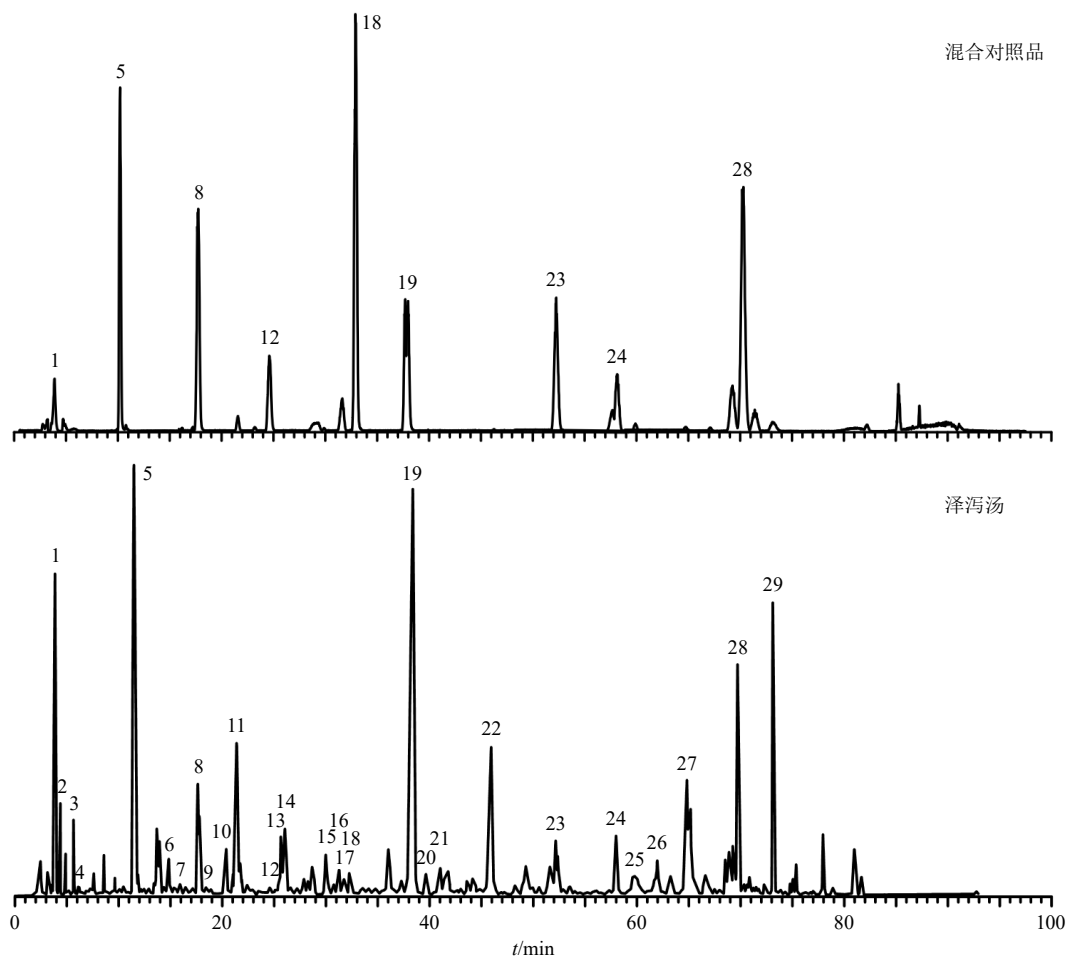


图1 混合对照品和泽泻汤正离子模式下的总离子流图

Fig. 1 Total ion flow diagram of mixed reference substances and Zexie Decoction in positive ion mode

mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为乙腈-水, 梯度洗脱: 0~5 min, 45%乙腈; 5~30 min, 45%~84%乙腈; 30~40 min, 84%乙腈; 检测波长 208 nm; 体积流量 1 mL/min; 进样体积 10 μL; 柱温 30 ℃。

(2) 方法 2: 选用 Alltech chrom Prevail Carbohydrate ES 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为乙腈-水, 梯度洗脱: 0~30 min, 85%~55%乙腈; 30~50 min, 55%~45%乙腈; 50~55 min, 45%~85%乙腈; 55~60 min, 85%乙腈; 体积流量 1 mL/min; 进样体积 10 μL; 柱温 30 ℃。

2.3.2 供试品溶液的制备

(1) 泽泻药材: 取泽泻粉末 (过五号筛) 约 0.5 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入乙腈 25 mL, 密塞, 称定质量, 超声处理 (功率 500 W、频率 40 kHz) 30 min, 放冷, 再称定质量, 用乙腈补足缺失的质量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得供试品溶液。泽泻饮片同药材。

(2) 白术药材: 取白术粉末 (过四号筛) 约 1

g, 精密称定, 精密量取水 25 mL, 称定质量, 超声 (功率 500 W、频率 40 kHz) 30 min, 再称定质量, 加水补足缺失的质量; 精密量取溶液 2 mL 于 10 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 1 200 r/min 离心 (离心半径 90.74 mm) 10 min, 滤过, 取续滤液过 0.45 μm 膜, 即得供试品溶液。白术饮片同药材。

(3) 方法 1: 取泽泻汤基准样品约 1 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 加 75%乙醇 70 mL, 称定质量, 超声 (功率 500 W、频率 40 kHz) 处理 30 min, 放冷, 再次称定质量, 用 75%乙醇补足缺失的质量, 摇匀, 3 000 r/min 离心 (离心半径 90.74 mm) 10 min。取上清液过 20 g 氧化铝柱, 弃去前 10 mL 滤液, 取续滤液 35 mL, 置干燥的蒸发皿中, 在水浴上蒸干后, 用 50%乙醇复溶, 定容至 1 mL, 即得供试品溶液。同法制备缺单味泽泻饮片的阴性样品, 并制备对应的阴性样品溶液。

(4) 方法 2: 取泽泻汤基准样品 0.5 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 加水 10 mL 溶解, 摇匀后 3 000

表 1 泽泻汤主要成分鉴定

Table 1 Identification of main components of Zexie Decoction

序号	<i>t_R</i> /min	化合物	分子式	实测值 (<i>m/z</i>)	理论值 (<i>m/z</i>)	误差 ($\times 10^{-6}$)	质谱碎片信息
1	3.641	白术内酯 III	C ₁₅ H ₂₀ O ₃	249.148 5	249.148 2	0.3	231, 213, 203, 185, 189, 175, 161, 145, 105
2	4.620	白术内酯 I	C ₁₅ H ₁₈ O ₂	231.138 0	231.130 7	-0.7	203, 185, 175, 161, 147, 133
3	7.349	苍术酮	C ₁₅ H ₂₀ O	217.158 7	217.157 9	-8.3	157, 143, 128, 91
4	7.753	脱氢香橙烯	C ₁₅ H ₂₂	203.179 4	203.178 7	0.8	161, 147, 133
5	10.528	16-氧代泽泻醇 A	C ₃₀ H ₄₈ O ₆	505.352 4	505.350 3	0.3	487, 469, 451, 415, 397
6	15.331	16-氧代 11-脱水泽泻醇 A	C ₃₀ H ₄₆ O ₅	487.344 2	487.343 8	2.9	469, 451, 433, 397
7	17.210	泽泻醇 H	C ₃₀ H ₄₆ O ₄	471.346 9	471.343 3	0.5	453, 435, 399, 381, 339
8	18.688	泽泻醇 C	C ₃₀ H ₄₆ O ₅	487.341 8	487.338 6	-0.8	469, 451, 415, 397, 353
9	18.965	泽泻醇 L	C ₃₀ H ₄₄ O ₄	469.331 2	469.330 3	-0.5	451, 397
10	22.283	23-乙酰泽泻醇 M	C ₃₂ H ₄₈ O ₇	545.347 3	545.341 1	-2.9	527, 485, 467, 431
11	22.707	16-氧代 11-去氧泽泻醇 A	C ₃₀ H ₄₈ O ₅	489.357 5	489.359 2	0.7	471, 453, 399, 381
12	22.998	白术内酯 II	C ₁₅ H ₂₀ O ₂	233.153 6	233.154 3	0.0	215, 187, 145, 131
13	27.405	苍术烯内酰胺	C ₁₅ H ₁₉ NO	203.153 9	230.153 9	-2.8	215, 187, 145, 132
14	27.788	8-β-甲氧基白术内酯 III	C ₁₇ H ₂₄ O ₂	259.161 7	259.168 2	-8.7	189, 189, 175, 136
15	31.557	11-去氧泽泻醇 C	C ₃₀ H ₄₆ O ₄	471.346 9	471.348 1	3.8	453, 435, 399, 383
16	32.220	泽泻醇 O	C ₃₂ H ₄₈ O ₅	513.357 5	513.357 1	-6.9	495, 453, 435, 381, 339
17	33.358	24-乙酰泽泻醇 A	C ₃₂ H ₅₂ O ₆	515.236 9	515.372 8	-5.7	497, 455, 437, 383, 365
18	33.865	23-乙酰泽泻醇 C	C ₃₂ H ₄₈ O ₆	529.352 4	529.350 7	-6.2	511, 469, 451, 433, 415, 397
19	38.977	泽泻醇 A	C ₃₀ H ₅₀ O ₅	473.362 1	473.363 5	8.1	455, 437, 383, 339
20	39.678	甲基化白术内酯 I	C ₁₆ H ₂₀ O ₂	245.153 6	245.153 6	9.4	185, 141, 131, 91
21	41.372	8-β-甲氧基白术内酯 I	C ₁₆ H ₂₂ O ₃	263.164 2	263.219 1	6.9	218, 160, 136, 111, 67
22	47.805	泽泻醇 I	C ₃₀ H ₄₆ O ₃	455.352 0	455.352 9	-1.0	437, 383, 341, 339
23	54.736	泽泻醇 G	C ₃₀ H ₄₈ O ₄	473.355 3	473.360 1	2.9	455, 437, 419, 383, 365
24	57.953	泽泻醇 B	C ₃₀ H ₄₈ O ₄	473.362 2	473.361 3	4.1	455, 437, 383, 365
25	60.706	苯乙酸对羟基乙酯	C ₁₆ H ₁₆ O ₃	257.117 2	257.117 2	-2.4	178, 153, 141
26	61.213	双白术内酯	C ₃₀ H ₃₈ O ₄	463.284 3	463.282 9	1.8	233, 199, 159, 145, 95
27	66.080	11-去氧泽泻醇 B	C ₃₀ H ₄₈ O ₃	457.367 6	457.364 4	3.9	439, 385, 367
28	70.717	23-乙酰泽泻醇 B	C ₃₂ H ₅₀ O ₅	515.376 8	515.372 4	0.0	497, 479, 455, 437, 419
29	72.970	11-去氧 23-乙酰泽泻醇 B	C ₃₂ H ₅₀ O ₄	499.378 2	499.379 6	3.0	481, 439, 421, 385

r/min 离心 (离心半径 90.74 mm) 10 min; 精密量取上清液 2 mL 于 10 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 8 000 r/min 离心 (离心半径 90.74 mm) 10 min, 滤过, 取续滤液, 过 0.45 μm 膜, 即得供试品溶液。同法制备单味白术饮片的阴性样品, 并制备对应的阴性样品溶液。

2.3.3 样品测定 取泽泻药材、泽泻饮片、基准样品及单味泽泻饮片阴性样品的供试品溶液, 按照“2.3.1”项下特征图谱色谱条件 1 进行。

取白术药材、白术饮片、基准样品及单味白术

饮片阴性样品的供试品溶液, 按照“2.3.1”项下特征图谱色谱条件 2 进行。

2.3.4 特征图谱方法学考察

(1) 精密度试验: 取泽泻汤物质基准 (S1), 分别按“2.3.2”项下方法 (3)、(4) 制备供试品溶液, 在“2.3.1”项下色谱条件重复进样 6 次, 分别以 23-乙酰泽泻醇 B 和蔗糖三糖为参照峰, 计算特征图谱 1 和特征图谱 2 中各共有峰相对保留时间和相对峰面积的一致性。结果表明, 共有峰相对保留时间及相对峰面积的 RSD 均小于 5.00%, 表明仪器精密

良好。

(2) 重复性试验: 取泽泻汤物质基准(S1), 分别按“2.3.2”项下方法(3)、(4)分别平行制备6份供试品溶液, 在“2.3.1”项下色谱条件进样测定, 以23-乙酰泽泻醇B和蔗糖三糖参照峰, 分别计算特征图谱1和特征图谱2各共有峰相对保留时间和相对峰面积的一致性。结果表明, 各共有峰相对保留时间及相对峰面积的RSD均小于5.00%, 表明方法重复性良好。

(3) 稳定性试验: 取泽泻汤物质基准(S1), 分别按“2.3.2”项下方法(3)、(4)制备供试品溶液, 在“2.3.1”项色谱条件下分别在供试品溶液制备后的0、4、8、12、16、24h进样测定, 以23-乙酰泽泻醇B和蔗糖三糖参照峰, 分别计算特征图谱1和特征图谱2各共有峰相对保留时间和相对峰面积的一致性。结果表明, 各共有峰相对保留时间及相对峰面积RSD均小于5.00%, 表明供试品溶液在24h内稳定性良好。

2.4 特征图谱检测及物质群量值传递相关性研究

2.4.1 特征图谱的检测及相似度评价 分别将泽泻药材、泽泻饮片、白术药材、白术饮片及泽泻汤基

准样品特征图谱以cdf格式导入《中药色谱指纹图谱相似度评价系统》, 以S1为参照图谱, 时间窗宽度为0.1 min, 采用中位数法, 进行全谱峰匹配, 生成特征图谱, 结果见图2~4。

在泽泻药材与饮片的特征图谱中, 以23-乙酰泽泻醇B(9号峰)为参比峰; 在白术药材、白术饮片的特征图谱中, 水溶性成分蔗糖三糖的色谱峰保留时间居中、分离度良好且具有较好的专属性, 故确定以蔗糖三糖(13号峰)为参比峰, 并分别计算相对保留时间(relative retention time, R_t)和相对峰面积(relative peak area, R_A)以及饮片炮制前后对应峰面积之比, 结果见表2。药材-饮片中各特征峰的相对峰面积较稳定, 变化幅度均不超过2倍, 变化幅度=(相对峰面积最大值-相对峰面积最小值)/均值。

采用自动匹配模式计算相似度, 结果见表3。结果发现, 15批泽泻饮片、白术饮片特征图谱与二者各自药材生成的对照特征图谱的相似度分别为0.94~0.99、0.91~0.98, 说明炮制方法对饮片物质群差异不会造成较大影响。15批泽泻汤基准样品特征图谱1、2与其生成的对照指纹图谱的相似度均

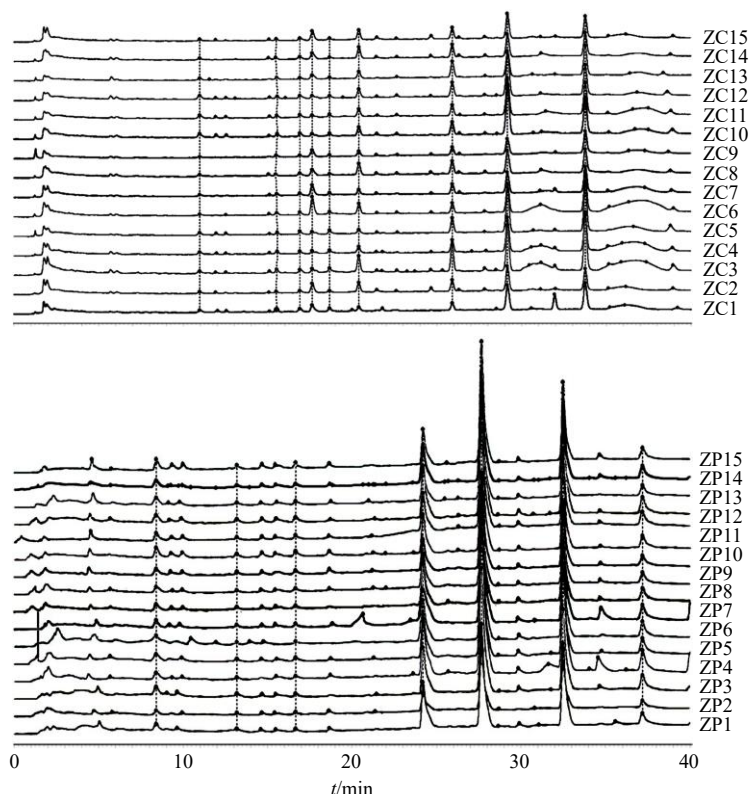


图2 15批泽泻药材(ZC1~ZC15)及饮片(ZP1~ZP15)的HPLC特征图谱

Fig. 2 HPLC characterization profiles of 15 batches of medicinal materials (ZC1—ZC15) and decoction pieces (ZP1—ZP15) of *A. plantago-aquatica*

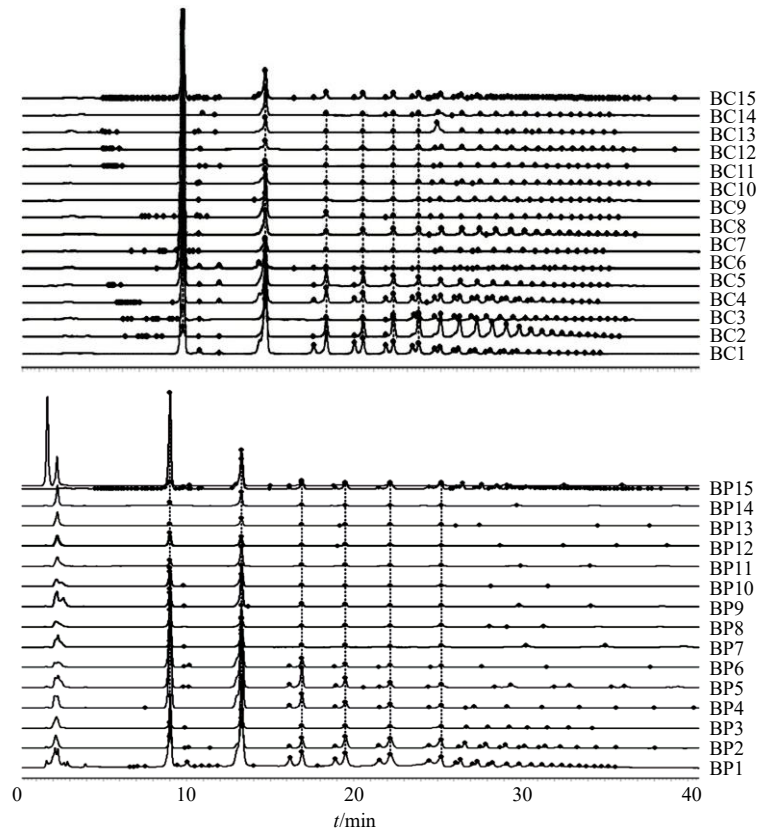


图3 15批白术药材 (BC1~BC15) 及饮片 (BP1~BP15) 的 HPLC 特征图谱

Fig. 3 HPLC characterization profiles of 15 batches of medicinal materials (BC1—BC15) and decoction pieces (BP1—BP15) of *A. macrocephala*

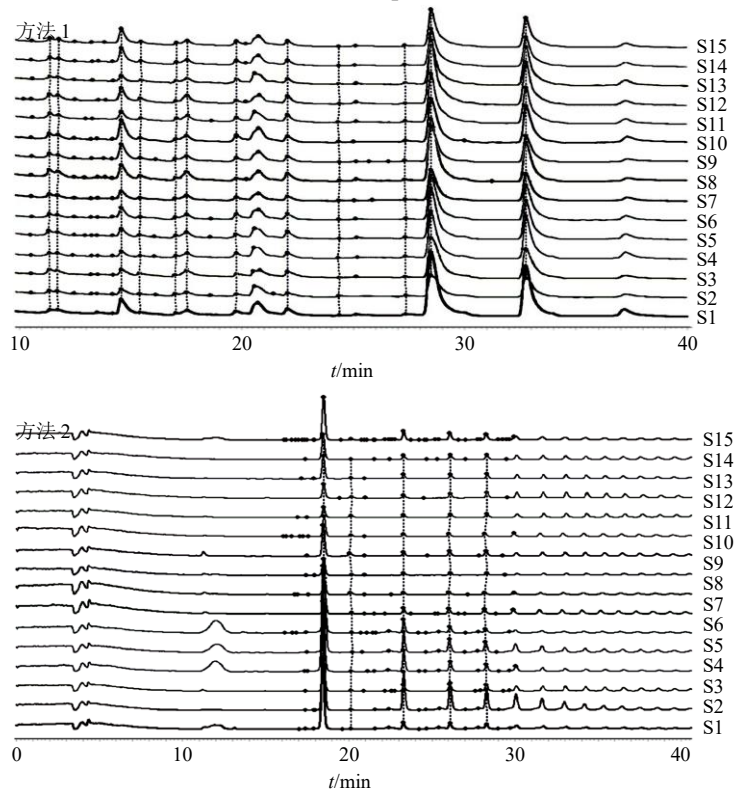


图4 15批泽泻汤基准样品 (S1~S15) 在方法1及2下的 HPLC 特征图谱

Fig. 4 HPLC characterization profiles of 15 batches of Zexie Decoction benchmark samples (S1—S15) under methods 1 and 2

表2 泽泻、白术的药材、饮片的相对保留时间和相对峰面积

Table 2 Relative retention time and relative peak area of medicinal materials and decoction pieces of *A. plantago-aquatica* and *A. macrocephala*

峰号	药材		饮片		饮片峰面积/对 应药材峰面积	变化 幅度	峰号	药材		饮片		饮片峰面积/对 应药材峰面积	变化 幅度
	R _t	R _A	R _t	R _A				R _t	R _A	R _t	R _A		
1	0.31	0.08	0.30	0.10	2.55	1.78	9	1.00	1.00	1.00	1.00	1.85	0.79
2	0.43	0.07	0.43	0.02	0.63	0.81	10	1.15	0.12	1.14	0.18	2.96	1.62
3	0.47	0.10	0.47	0.02	0.47	1.79	11	0.53	7.05	0.53	6.12	0.83	1.79
4	0.51	0.22	0.51	0.02	0.32	1.93	12	0.80	8.56	0.80	7.87	0.82	1.96
5	0.54	0.08	0.54	0.03	0.68	0.87	13	1.00	1.00	1.00	1.00	0.81	1.96
6	0.58	0.23	0.58	0.03	0.24	1.35	14	1.12	0.77	1.16	0.93	0.96	1.69
7	0.76	0.36	0.76	0.56	3.10	0.96	15	1.22	0.74	1.32	0.77	0.81	1.73
8	0.86	1.03	0.85	1.61	3.05	1.44	16	1.45	0.70	1.45	0.86	0.86	1.39

峰1~10为泽泻药材、饮片中特征峰；峰11~16为白术药材、饮片中特征峰。

Peaks 1—10 are the characteristic peaks in medicinal materials and decoction pieces of *A. plantago-aquatica*; Peaks 11—16 are the characteristic peaks in the herbs and tablets of *A. macrocephala*.

表3 泽泻汤药材、饮片与基准样品与各自对照特征图谱的相似度

Table 3 Similarity of medicinal materials, decoction pieces and benchmark samples of Zexie Decoction with their respective control characterization profiles

编号	相似度						编号	相似度					
	泽泻 药材	泽泻 饮片	白术 药材	白术 饮片	基准样品 特征图谱 1	基准样品 特征图谱 2		泽泻 药材	泽泻 饮片	白术 药材	白术 饮片	基准样品 特征图谱 1	基准样品 特征图谱 2
S1	0.981	0.980	0.994	0.982	0.997	0.974	S9	0.953	0.951	0.918	0.960	0.986	0.996
S2	0.941	0.937	0.948	0.961	0.968	0.998	S10	0.932	0.929	0.970	0.991	0.983	0.998
S3	0.988	0.987	0.993	0.910	0.994	0.983	S11	0.981	0.979	0.958	0.887	0.991	0.998
S4	0.975	0.971	0.985	0.979	0.987	0.990	S12	0.985	0.986	0.933	0.986	0.996	0.979
S5	0.976	0.974	0.994	0.993	0.989	0.968	S13	0.977	0.974	0.943	0.961	0.986	0.985
S6	0.966	0.963	0.904	0.982	0.995	0.971	S14	0.958	0.956	0.977	0.968	0.994	0.989
S7	0.956	0.951	0.958	0.989	0.992	0.987	S15	0.957	0.955	0.921	0.930	0.993	0.993
S8	0.977	0.979	0.915	0.958	0.991	0.993							

大于 0.90，说明制备工艺稳定，物质群间差异小。

2.4.2 基准样品特征图谱共有峰的归属研究 得到 15 批泽泻汤基准样品特征图谱叠加图见图 4，相似度表见表 3。直观分析 15 批基准样品特征图谱，批次间色谱峰的数量及响应值差异较小；15 批基准样品特征图谱与对照指纹图谱 (R) 的相似度均大于 0.900，相似性良好，且有 17 个共有峰。对泽泻汤基准样品中各共有峰进行药材归属分析，结果显示 1、2、4、5、6、7、9、10、11、12 号色谱峰属于泽泻药材及饮片；3、8、15、16、17 号色谱峰属于白术药材及饮片，并对色谱峰进行了指认，1、3、7、8、9、11、12、15 号色谱峰分别为泽泻醇 C、白术内酯 III、23-乙酰泽泻醇 C、泽泻醇 A、白术内酯

II、泽泻醇 G、泽泻醇 B、23-乙酰泽泻醇 B、蔗糖三糖，主要药效物质群的指认率 50%，说明泽泻汤基准样品的物质群可清晰地追溯到药材，色谱峰归属明确且指认率较高。

2.4.3 物质群量值传递的相关性分析 对泽泻汤药材、饮片与基准样品制备过程中物质群的量值传递进行相关性分析，见表 4，基准样品与单味饮片对照特征图谱见图 5。结果表明泽泻主要物质群 (10 个共有色谱峰) 和白术药材主要物质群 (5 个共有色谱峰) 均完整地传递到饮片，且各药材与其饮片的对照特征图谱相似度分别为 0.986 和 0.947，说明炮制方法未造成药材主要物质群丢失。泽泻汤基准样品共有特征峰 18 个，其中 10 个色谱峰来自于泽

表 4 15 批泽泻汤基准样品与对应单味饮片汤剂对照特征图谱中特征峰面积对比分析

Table 4 Comparative analysis of peak areas of 15 batches of Zexie Decoction benchmark samples and corresponding single-flavored decoction pieces control profiles

峰号	t_R / min	基准样品		峰面积			峰号	t_R / min	基准样品		峰面积		
		R_t	R_A	基准样品	泽泻饮片	白术饮片			R_t	R_A	基准样品	泽泻饮片	白术饮片
1	11.35	0.35	0.07	182 763	247 203	—	10	27.33	0.83	0.03	92 435	85 467	—
2	11.72	0.36	0.07	193 172	208 946	—	11	28.49	0.87	1.30	3 522 041	2 789 873	—
3	14.50	0.45	0.17	452 922	—	150 843	12	32.75	1.00	1.00	2 709 371	2 196 875	—
4	15.43	0.47	0.05	126 433	133 754	—	13	9.98	0.54	7.39	14 117 153	5 255 055	22 628 677
5	17.02	0.52	0.03	74 857	11 050	—	14	14.89	0.80	11.71	22 383 133	30 068 011	9 540 869
6	19.74	0.60	0.09	234 775	205 648	—	15	18.59	1.00	1.00	1 910 691	—	3 337 422
7	20.75	0.63	0.34	919 144	375 909	—	16	20.90	1.12	0.98	1 868 977	—	2 959 136
8	22.05	0.67	0.12	322 117	—	290 910	17	22.64	1.22	1.65	3 147 500	—	2 275 872
9	24.35	0.74	0.01	24 357	27 983	—							

峰 1~12 为特征图谱 1, 峰 13~17 为特征图谱 2。

Peaks 1—12 are characteristic profile 1, peaks 13—17 are characteristic profile 2.

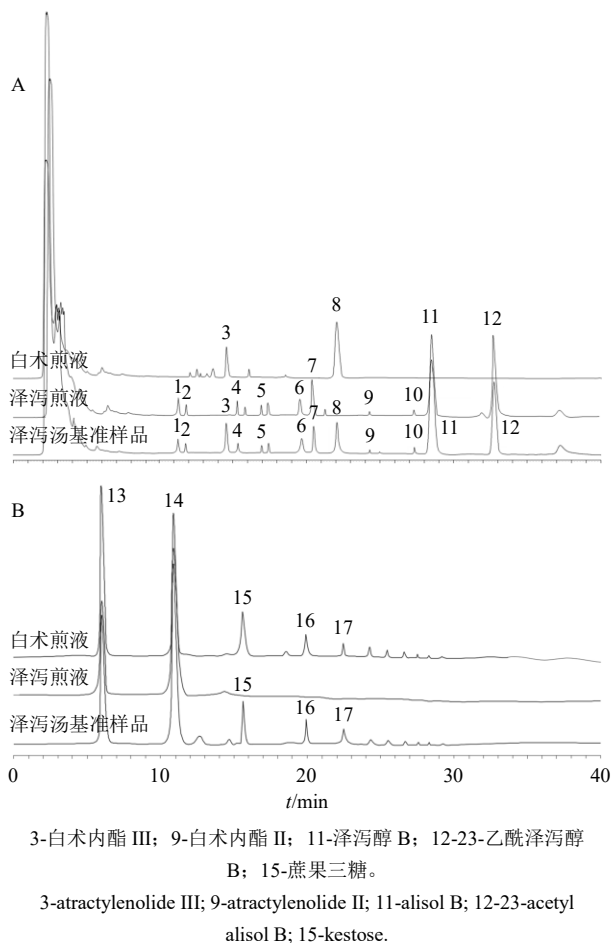


图 5 泽泻汤基准样品与单味饮片对照特征图谱 1 (A) 和对照特征图谱 2 (B)

Fig. 5 Characteristic profile 1 (A) and control profile 2 (B) of benchmark samples of Zexie Decoction and control of single-flavored decoction pieces

泻, 5 个色谱峰来自于白术, 表明泽泻汤基准样品制备过程中泽泻的主要药效物质群为主要成分, 为君药, 从药材-饮片-基准样品逐级完整传递, 几乎无损失, 且归属关系清晰; 而白术的主要药效成分占比较小, 为臣药。

2.5 泽泻汤基准样品中指标性成分 23-乙酰泽泻醇 B、蔗糖三糖的含量测定方法的建立

2.5.1 色谱条件

(1)23-乙酰泽泻醇 B: 选用色谱柱 Hedera OSD-2 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为乙腈-水; 梯度洗脱: 0~5 min, 45%乙腈; 5~30 min, 45%~84%乙腈; 30~40 min, 84%乙腈; 体积流量 1 mL/min; 柱温 30 °C; 检测波长 208 nm; 进样体积 10 μL。

(2) 蔗糖三糖: 选用 Alltech chrom Prevail Carbohydrate ES 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为乙腈-水, 梯度洗脱: 0~30 min, 85%~55%乙腈; 30~50 min, 55%~45%乙腈; 50~55 min, 45%~85%乙腈; 55~60 min, 85%乙腈; 体积流量 1 mL/min; 柱温 30 °C; 蒸发光散射器检测, 漂移管温度 110 °C, 载气体积流量 2.8 L/min; 响应值 4; 进样量 10 μL。

2.5.2 对照品溶液的制备 取 23-乙酰泽泻醇 B 对照品适量, 精密称定, 用甲醇溶解, 制成含 23-乙酰泽泻醇 B 417 μg/mL 的对照品溶液, 摇匀, 即得。

取蔗糖三糖对照品适量, 精密称定, 用水溶解, 制成含蔗糖三糖 303 μg/mL 的对照品溶液, 即得。

2.5.3 供试品溶液的制备 按照“2.3.2”项下方法,

分别制备泽泻汤基准样品、各饮片及阴性水煎液供试品溶液。

2.5.4 指标性成分含量测定方法学的考察 建立泽泻汤基准样品指标性成分 23-乙酰泽泻醇 B 和蔗糖三糖的含量测定方法,其方法学考察内容及结果如下。实验结果表明建立的泽泻汤基准样品多成分含量测定方法稳定可行、准确度良好。

(1) 精密度试验、重复性试验、稳定性试验:试验方法同“2.3.4”项,结果 23-乙酰泽泻醇 B 和蔗糖三糖精密度、稳定性、重复性试验的 RSD 分别为 0.56%、1.67%、2.92%和 2.49%、3.56%、3.13%,结果表明建立的泽泻汤基准样品多成分含量测定方法仪器精密良好、方法重复性好,样品稳定。

(2) 线性关系考察:分别精密量取“2.6.2”项下 23-乙酰泽泻醇 B 对照品溶液和蔗糖三糖对照品溶液,用甲醇分别稀释 2、5、10、50 倍 23-乙酰泽泻醇 B,用甲醇分别稀释 1.5、2、2.5、5 倍蔗糖三糖,分别以甲醇和水为溶剂制成系列对照品溶液。按照“2.6.1”项下色谱条件进样分析,记录各指标成分峰面积,以进样质量浓度为横坐标(X),峰面积为纵坐标(Y)进行线性回归分析,得到回归方程及线性范围分别为 23-乙酰泽泻醇 B $Y=17\ 778 X+8\ 247.2$, $R^2=0.999\ 9$,线性范围 8.34~417.00 $\mu\text{g/mL}$;蔗糖三糖 $Y=1.924\ 2 X+4.670\ 3$, $R^2=0.999\ 1$,线性范围 60.60~303.00 $\mu\text{g/mL}$;结果表明,2 种指标性成分在各自线性范围内线性关系较好。

(3) 准确度试验:分别取泻汤物质基准(S1)粉末约 0.5 g,精密称定,加入样品含量 100%的 23-乙酰泽泻醇 B 对照品溶液,按“2.3.2”项下方法制备供试品溶液,平行制备 6 份样品溶液,按照“2.6.1”项下色谱条件进样,经计算 23-乙酰泽泻醇 B 的平均加样回收率为 100.34%,RSD 为 0.89%,结果表明该方法回收率符合要求。

分别取泽泻汤物质基准(S1)粉末 0.25 g,精密称定,加入样品含量 100%的蔗糖三糖对照品溶液,按“2.3.2”项下方法制备供试品溶液,平行制备 6 份样品溶液,按照“2.6.1”项下色谱条件进样,经计算蔗糖三糖的平均加样回收率为 103.78%,RSD 为 3.49%,结果表明该方法回收率符合要求。

2.6 15 批泽泻汤基准样品指标性成分含量测定及转移率考察

按照“2.6.3”项下方法制备基准样品供试品溶液,以对应的对照品溶液作为对照,采用对应色谱

条件进行 15 批基准样品中指标性成分的含量测定,泽泻饮片按照《中国药典》2020 年版进行含量检测,白术饮片按“2.3.2”下方法制备进行含量测定,结果见表 5。计算饮片-基准样品中指标性成分含量的转移率,考察其间的传递规律。由表 5 结果可知,泽泻汤基准样品中 23-乙酰泽泻醇 B 质量分数为 0.06~0.11 mg/g,蔗糖三糖质量分数为 4.29~7.41 mg/g;23-乙酰泽泻醇 B、蔗糖三糖的药材到饮片的转移率均值为 94.88%和 78.52%,转移率皆在均值的 $\pm 30\%$,未出现离散值,符合经典名方技术指导,表明了药材在炮制工艺稳定。饮片到基准样品的平均转移率为 5.11%、71.11%,15 批基准样品中饮片-泽泻汤基准样品的转移率基本在均值的 $\pm 30\%$ 内,即泽泻汤中有效成分在饮片及煎煮过程中转移率较一致,说明泽泻汤基准样品制备工艺较为稳定。

转移率=基准样品中指标成分含量/对应批次饮片中指标性成分含量

2.7 出膏率及其传递关系考察

2.7.1 出膏率测定 精密移取 15 批泽泻汤标准煎液 10 mL,于恒定质量后的蒸发皿中,水浴蒸干后 105 $^{\circ}\text{C}$ 干燥 3 h 至恒定质量,并记录。称取处方量的 15 批泽泻、白术,按“2.1”项下方法制备 15 批泽泻汤各单味饮片水煎液,精密移取 10 mL 于恒定质量后的蒸发皿,水浴蒸干后 105 $^{\circ}\text{C}$ 干燥 3 h 至恒定质量,记录,结果见表 6。

$$\text{出膏率} = mv/MV$$

m 表示干膏的质量, V 表示取样体积, M 表示饮片初始质量, v 表示水煎液体积

2.7.2 出膏率、转移率结果分析^[16] 结合单味药饮片的出膏率以及单味药在全方中的占比,进一步分析单味药饮片出膏率与基准样品出膏率之间的关系。在全方的组成中,泽泻为 69.00 g,白术为 27.60 g,全方共 96.60 g。全方的理论出膏率为各单味药折算,即理论出膏率=69.00/96.60 \times 对应批次泽泻饮片的出膏率+27.60/96.60 \times 对应批次白术饮片的出膏率。计算得到 15 批泽泻汤基准样品的出膏率为 13.00%~15.10%,整理实际出膏率高于理论值,均在均值的 $\pm 10\%$ ^[17],满足经典名方研究技术指导原则。

$$\text{转移率} = \text{全方实际}/\text{全方理论}$$

3 讨论

3.1 前处理条件考察

本实验前期对特征图谱 1 方法中对基准样品的

表 5 药材-饮片-基准样品中 23-乙酰泽泻醇 B、蔗果三糖的质量分数和转移率

Table 5 Mass fraction and transfer rate of 23-acetyl alisol B and kestose in medicinal materials, decoction pieces and benchmark samples

编号	23-乙酰泽泻醇 B/(mg·g ⁻¹)			转移率/%		蔗果三糖/(mg·g ⁻¹)			转移率/%	
	药材	饮片	基准样品	药材-饮片	饮片-基准样品	药材	饮片	基准样品	药材-饮片	饮片-基准样品
S1	1.43	1.46	0.10	102.10	7.00	11.40	10.33	7.41	90.61	71.73
S2	1.84	1.24	0.06	67.39	4.84	9.30	6.84	5.52	73.55	80.70
S3	2.38	2.08	0.11	87.48	5.29	11.60	9.80	5.17	84.48	52.77
S4	2.27	2.01	0.10	88.39	4.76	13.40	10.55	7.36	78.73	69.76
S5	1.86	2.10	0.09	112.84	4.23	12.40	9.50	5.26	76.61	55.37
S6	1.53	1.75	0.08	114.88	4.60	11.51	7.00	6.87	60.82	98.14
S7	1.86	1.65	0.06	88.76	3.68	10.10	9.30	5.08	92.08	54.57
S8	1.36	1.68	0.10	123.16	5.84	8.90	6.37	5.07	71.57	79.59
S9	2.21	1.94	0.06	87.62	3.28	10.40	8.20	7.01	78.85	85.52
S10	2.04	1.86	0.08	90.82	4.53	8.60	7.21	5.58	83.84	77.40
S11	1.39	1.42	0.09	102.05	6.05	8.00	6.50	4.29	81.25	66.00
S12	1.74	1.72	0.10	99.08	5.85	9.70	7.90	5.02	81.44	63.51
S13	2.20	1.53	0.11	69.51	7.36	8.10	5.80	4.37	71.60	75.34
S14	1.56	1.65	0.08	105.78	4.74	13.51	9.84	5.88	72.83	59.76
S15	2.39	1.99	0.09	83.26	4.52	9.30	7.40	5.66	79.57	76.49
平均值	1.87	1.74	0.09	94.88	5.11	10.41	8.17	5.70	78.52	71.11

表 6 泽泻汤基准样品出膏率及转移率

Table 6 Yield rate and transfer rate of benchmark samples of Zexie Decoction

批次	出膏率/%				转移率/ %	批次	出膏率/%				转移率/ %
	泽泻饮片	白术饮片	全方理论	全方实际			泽泻饮片	白术饮片	全方理论	全方实际	
S1	10.37	16.74	12.19	14.87	121.95	S9	10.23	17.97	12.44	14.54	116.90
S2	9.09	16.27	11.14	13.15	118.07	S10	9.87	14.63	11.23	14.70	130.86
S3	10.75	14.92	11.94	14.74	123.43	S11	11.37	16.45	12.82	13.76	107.31
S4	11.60	15.94	12.84	14.13	110.04	S12	10.67	15.84	12.15	14.47	119.14
S5	10.94	16.97	12.66	14.24	112.42	S13	9.32	16.06	11.25	15.10	134.29
S6	10.77	16.90	12.52	13.66	109.11	S14	7.14	16.67	9.86	14.58	147.81
S7	8.61	15.15	10.48	13.85	132.19	S15	10.14	17.85	12.34	13.00	105.35
S8	11.22	17.03	12.88	13.31	103.37	平均值	10.14	16.36	11.92	14.14	118.66

超声提取的提取溶剂（50%甲醇、100%甲醇、75%乙醇、95%乙醇）、氧化铝用量（20、30、40 g）等影响因素进行考察，从提取有效成分的含量、方法稳定性等方面考虑，最终确定基准样品特征图谱 1 的供试品溶液最佳制备方法为 75%乙醇超声 30 min；分别考察乙腈-水（73：27）和乙腈-水（梯度洗脱：0~5 min，45%乙腈；5~30 min，45%~84%乙腈；30~40 min，84%乙腈）2 种流动相方法，结果表明梯度洗脱时分离效果较好，特征峰明显，整体基线平稳。同时，考察柱温（25、30、35 ℃）对

色谱峰分离度的影响，结果发现峰面积 RSD 值均 < 5%，表明该方法耐用性良好，最后选定 30 ℃作为运行柱温。

3.2 特征图谱的量值传递规律研究

据报道，泽泻醇类成分具有利尿、抗结石及肾脏保护、调血脂及保肝、降血糖、抗癌、抗氧化损伤、抗炎等药理作用，挥发油类成分有调节肠道、抑菌以及抗肿瘤的作用，内酯类成分有抗癌、抗炎镇痛、免疫调节和抗抑郁等多种药理作用，多糖类成分具有调节免疫、抗氧化、抗衰老、降血糖、抗

肿瘤等药理作用,采用特征图谱方法表征上述成分为进一步深入研究泽泻汤的化学成分含量及开发应用提供一定的参考^[18-20]。

中药的标准汤剂由于煎煮时间短,导致物质传递规律相对于传统的制药方式。脂溶性成分转移率会偏低,而水溶性成分如糖等往往为重要的物质传递内容,因此传统的脂溶性成分采用紫外的方法进行定性、定量分析,针对不具备紫外吸收而又在标准汤剂中占据一定比例的糖则采用蒸发光散射的方法进行检测,从而保证检测的完整性。按上述特征图谱条件,得到 15 批泽泻汤基准样品特征图谱相似度均大于 0.90,有 17 个特征峰分别归属于泽泻和白术。从单味药与基准样品的相对峰面积结果可知,饮片特征峰面积小于基准样品中特征峰面积。大部分特征峰的比值在饮片与基准样品之间变化小,这表明饮片单煎与全方合煎时各特征峰间比例关系相似,不同成分间的含量比例关系较稳定,各药味饮片特征图谱中主要物质群可以从饮片-基准样品较为完整地传递,且物质群的归属关系清晰。从色谱峰个数和峰强度分析,泽泻对特征图谱的贡献最大,其主要成分在紫外光谱中分离度好,易检测;白术主要含苍术酮、内酯类成分和寡糖,考虑到苍术酮、内酯类成分易挥发、不稳定的特性,缺乏比较好的富集方法,而蔗果三糖作为寡糖的代表,具有较好的专属性,且不随着形态的变化而发生转变,在一众寡糖中具有较高的占比,因此选定蔗果三糖作为蒸发光散射特征图谱的指标峰。个别特征峰的比值存在明显差异,如以 13 号峰(23-乙酰泽泻醇 B)为参照峰时的 3 号峰(白术内酯 III),推测可能与复方中的多成分间相互作用有关。

3.3 指标性成分结合出膏率的量值传递关系研究

对指标性成分含量及转移率结果进行分析,指标性成分 23-乙酰泽泻醇 B 和蔗果三糖转移率均有离散程度较大的值(均值的 70%~130%以外)。指标性成分 23-乙酰泽泻醇 B 转移率中 S9 批次和蔗果三糖 S6 批次超出均值±30%范围,不符合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,其余批次均在范围内。

分析 15 批次基准样品中指标性成分 23-乙酰泽泻醇 B 的转移率较低,推测原因是 23-乙酰泽泻醇 B 在炮制过程中受温度影响通过环氧环的开环转化成 24-乙酰泽泻醇 A、泽泻醇 A 等有关成分以及传统汤剂煎煮中煎煮时间较短导致 23-乙酰泽泻醇 B

等脂溶性成分溶出较少^[21]。有研究表明,23-乙酰泽泻醇 B 具有利尿、调脂、抗肿瘤等药理作用,且 23-乙酰泽泻醇 B 会发生生物转化成其他更具有生物活性的三萜类化合物^[22]。因此考虑到该批次在特征图谱的相似度合格,后期可考虑将饮片大小及位置严格分等、取样均匀的投料方式,以保证投料饮片的质量均匀性和一致性^[23]。有研究表明,蔗果三糖等低聚果糖具有免疫增强的生物活性^[24],但在加热过程中均会发生水解反应分解成单糖^[25],因此后续泽泻汤的制备中必须严格控制温度和时间的影响。同时考虑后续建立基准样品相关质量标准时,去除离散程度较大的批次数并增加基准样品研究批次,以降低离散值的影响,建立更具有代表性的质量标准。

分析泽泻汤基准样品的出膏率及传递率结果显示,整体上指标性成分从饮片到基准样品出膏的转移效率较为稳定,未出现离散数据。全方实际出膏率高于全放理论,推测是在基准样品煎煮过程中饮片之间发生相互影响导致出膏率增加。

经典名方复方制剂研发成功的关键在于如何突破中药经典名方基准样品的质量控制技术及全面、准确阐明药材-饮片基准样品的成分群量值的传递规律^[26]。因此,进行经典名方制剂研发时应注意以下几点:①选取经道地产区或中药材生产质量管理规范(GAP)认证的生产地区的药材,以确保药材的来源和质量稳定;②为保证制剂的关键质量属性与基准样品一致,可在制剂投料时采取饮片均匀、混批的方法投料;③中药特征图谱能够较为全面地反映中药化学成分的种类和数量,进而反映其质量,因此需建立具有加合性、抗干扰性、统计性、易表征峰值量变传递关系的指纹图谱分析方法;④经典名方制剂的研发需采用整体质量控制的思路和方法,保证制剂研发过程中质量疗效一致,需建立药材-饮片-中间体-制剂全链条的质量控制体系,严格把控制备过程中的质量情况。本研究已对经典名方泽泻汤中药材-饮片-基准样品进行系统研究,全面阐明泽泻汤基准样品的关键质量属性,以为后续制剂与基准样品的一致性和稳定性提供保障。

4 结论

经典名方基准样品的研究是经典名方制剂成功开发的关键环节。制备过程中,除成型工艺外,其余制备方法应当与古代医籍记载基本一致,经典名方制剂的关键质量特征应与该基准所确定的关键质量特征相一致,这种基准的作用与标准物质相似。

经典名方作为中药复方,传统的采用1、2种化学成分表征中药质量的质控方法既不能体现中医药学的整体理念和思维体系,也无法表征中药饮片与制剂的药用物质基础和化学成分群的整体性和复杂性,因此本研究采用特征图谱、指标性成分含量、出膏率结合的方式研究药材-饮片-基准样品的量值传递规律研究,全面阐明方中成分的量值传递规律,从而为建立科学、合理、可行的中药有效性、安全性、稳定性与生物等效性评价体系提供依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 谭峰, 陈学习, 阮时宝. 《金匱要略》泽泻汤研究概况 [J]. 中华中医药学刊, 2007, 25(10): 2039-2041.
- [2] Wu J S, Zhang F Q, Ruan H N, *et al.* Integrating network pharmacology and RT-qPCR analysis to investigate the mechanisms underlying ZeXie Decoction-mediated treatment of non-alcoholic fatty liver disease [J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12: 722016.
- [3] Xie Z S, Li E W, Gao G, *et al.* Zexie Tang targeting FKBP38/mTOR/SREBPs pathway improves hyperlipidemia [J]. *J Ethnopharmacol*, 2022, 290: 115101.
- [4] 吴嘉朔, 常晓燕, 李壮壮, 等. 泽泻汤降脂及抗炎作用分子机制研究进展 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(2): 224-232.
- [5] 都万卿. 中西医结合治疗椎-基底动脉供血不足致眩晕的临床观察 [J]. 中国民族民间医药, 2018, 27(13): 105-106.
- [6] 周域, 刘志强, 张小丁, 等. 泽泻汤治疗高血压药理机制的网络分析 [J]. 中国医院药学杂志, 2019, 39(1): 47-52.
- [7] 曹宁宁, 杨文静, 林映仙, 等. 经典名方泽泻汤的HPLC指纹图谱及多指标含量测定研究 [J]. 中草药, 2020, 51(10): 2773-2780.
- [8] 陈向东, 张光大, 兰小勇, 等. HPLC指纹图谱对白术药材的质量评价研究 [J]. 中药材, 2013, 36(2): 208-212.
- [9] 林龙, 先蕊, 赵璐璐, 等. 基于响应面法结合总归一法优化泽泻趁鲜切制加工工艺 [J]. 天然产物研究与开发, 2023, 35(10): 1755-1765.
- [10] 王雅琴, 林颖, 邵艳妮, 等. 加工过程中烘烤温度对泽泻性状、浸出物和成分含量的影响 [J]. 中药材, 2022, 45(12): 2850-2855.
- [11] 孟永海, 马智超, 张振朋, 等. 基于UPLC/Q-TOF-MS分析白术炮制前后差异性成分 [J]. 中国食品添加剂, 2019, 30(4): 145-153.
- [12] Zhao W L, Huang X Q, Li X Y, *et al.* Qualitative and quantitative analysis of major triterpenoids in *Alismatis Rhizoma* by high performance liquid chromatography/diode-array detector/quadrupole-time-of-flight mass spectrometry and ultra-performance liquid chromatography/triple quadrupole mass spectrometry [J]. *Molecules*, 2015, 20(8): 13958-13981.
- [13] 谭丽盈, 胡国辉. UPLC-MS/MS同时测定经典名方泽泻汤中6个成分的含量 [J]. 中国现代中药, 2022, 24(4): 696-700.
- [14] 常晓燕. 泽泻汤化学成分及抗非酒精性脂肪肝谱效关系研究 [D]. 北京: 北京协和医学院, .
- [15] 邓岳, 刘阿娜, 王小明, 等. HPLC-TOF-MS分析泽泻提取物中三萜类化合物 [J]. 化学分析计量, 2015, 24(6): 11-14.
- [16] 彭梅梅, 郭爽, 王璐, 等. 经典名方黄连汤的基准样品量值传递分析 [J]. 中国中药杂志, 2022, 47(2): 313-323.
- [17] 赵丹. 国家食药监总局发布经典名方简化注册审批管理规定征求意见稿 [J]. 中医药管理杂志, 2017, 25(20): 190.
- [18] 戴梦翔, 金姝娜, 宋成武, 等. 泽泻及其炮制品化学成分和药理作用的研究进展 [J]. 中草药, 2023, 54(5): 1620-1635.
- [19] 杨颖, 魏梦昕, 伍耀业, 等. 白术多糖提取分离、化学组成和药理作用的研究进展 [J]. 中草药, 2021, 52(2): 578-584.
- [20] Yan P, Wei Y Y, Wang M Q, *et al.* Network pharmacology combined with metabolomics and lipidomics to reveal the hypolipidemic mechanism of *Alismatis Rhizoma* in hyperlipidemic mice [J]. *Food Funct*, 2022, 13(8): 4714-4733.
- [21] 郑云枫, 朱玉岚, 彭国平. 泽泻炮制过程中23-乙酰泽泻醇B的转化 [J]. 中草药, 2006, 37(10): 1479-1482.
- [22] Li S, Wang L, Du Z F, *et al.* Identification of the lipid-lowering component of triterpenes from *Alismatis Rhizoma* based on the MRM-based characteristic chemical profiles and support vector machine model [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2019, 411(15): 3257-3268.
- [23] 唐晓章, 林美斯, 周菲, 等. 经典名方芍药甘草汤的基准样品量值传递分析 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(14): 62-69.
- [24] Liu N, Shu Y, Yan Y Y, *et al.* Oligosaccharide profile analysis and quality control of *Atractylodes macrocephala* Koidz. using HPLC-HRMS/MS and a simple HPLC-ELSD method [J]. *Chromatographia*, 2022, 85(1): 47-54.
- [25] 章龙, 林琳, 董毅, 等. 超(亚)临界水水解制还原糖的研究进展 [J]. 材料导报, 2015, 29(23): 68-73.
- [26] 樊启猛, 贺鹏, 李海英, 等. 经典名方基准样品研制的关键技术分析 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(15): 202-209.

[责任编辑 郑礼胜]