

经典名方薏苡附子败酱散的基准样品量值传递研究

马兴艳¹, 石 慧^{1,2}, 杨周洁¹, 刘 畅^{1,2}, 刘雄伟^{1,2}, 简兵兵¹, 俸婷婷^{1,2*}, 周 英^{1,2*}

1. 贵州中医药大学药学院, 贵州 贵阳 550025

2. 贵州中医药大学 药食两用资源应用与开发研究中心, 贵州 贵阳 550025

摘要: **目的** 建立经典名方薏苡附子败酱散 (Yiyi Fuzi Baijiang Powder, YFBP) 基准样品的 HPLC 指纹图谱, 对其指标性成分 (原儿茶酸、绿原酸、咖啡酸、异绿原酸 A、异绿原酸 C、苯甲酰新乌头原碱、亚油酸) 进行定量测定, 研究 YFBP 的量值传递规律, 并结合化学模式识别评价其质量。 **方法** 通过建立 15 批 YFBP 基准样品的 HPLC 指纹图谱, 明确其特征峰归属及出膏率范围, 并对指标性成分进行定量测定。同时采用层次聚类分析 (hierarchical cluster analysis, HCA)、主成分分析 (principal component analysis, PCA) 与正交偏最小二乘法-判别分析 (orthogonal partial least squares-discriminant analysis, OPLS-DA), 寻找影响 YFBP 质量的主要化学成分。 **结果** 15 批 YFBP 基准样品 HPLC 指纹图谱相似度 > 0.817; 共归属 30 个特征峰, 并指出 8 个特征峰信息, 其中 30 号峰 (亚油酸) 为薏苡仁专属峰; 2 (去甲猪毛菜碱)、9、22 (苯甲酰新乌头原碱) 号峰为附子专属峰; 3 (原儿茶酸)、4~6、7 (绿原酸)、8、10 (咖啡酸)、11、13、18、19、20 (异绿原酸 A)、21 (异绿原酸 C)、23~26 号峰为败酱草专属峰; 1、12、14~17、27~29 号峰为薏苡仁和败酱草共有特征峰; 15 批基准样品出膏率为 20.06%~33.22%; 指标性成分原儿茶酸、绿原酸、咖啡酸、异绿原酸 A、异绿原酸 C、苯甲酰新乌头原碱、亚油酸的质量分数分别为 0.012~0.076、0.025~0.308、0.011~0.047、0.011~0.049、0.014~0.044、0.031~0.111、0.031~0.067 mg/g, 转移率分别为 5.05%~30.86%、5.24%~21.31%、3.57%~43.22%、4.59%~18.69%、6.97%~23.13%、9.68%~62.32%、6.60%~19.95%; 化学模式识别分析将 15 批样品分为 2 类, OPLS-DA 筛选出了导致质量差异的 14 个特征峰, 其中包括已被识别的峰 3 (原儿茶酸)、10 (咖啡酸)、20 (异绿原酸 A)。 **结论** 结合化学模式识别, 建立了经典名方 YFBP 基准样品的 HPLC 指纹图谱及多指标性成分定量测定方法, 并对其量值传递过程进行分析, 为 YFBP 基准样品的质量控制及复方制剂开发提供了科学参考依据。

关键词: 经典名方; 薏苡附子败酱散; 基准样品; 量值传递; 化学模式识别; 去甲猪毛菜碱; 原儿茶酸; 绿原酸; 咖啡酸; 异绿原酸 A; 异绿原酸 C; 苯甲酰新乌头原碱; 亚油酸

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2025)01-0108-13

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.01.012

Quality value transfer of material benchmarks of classical prescription Yiyi Fuzi Baijiang Powder

MA Xingyan¹, SHI Hui^{1,2}, YANG Zhoujie¹, LIU Chang^{1,2}, LIU Xiongwei^{1,2}, JIAN Bingbing¹, FENG Tingting^{1,2}, ZHOU Ying^{1,2}

1. School of Pharmacy, Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550025, China

2. Research Center for Application and Development of Medicine and Food Dual-use Resources, Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550025, China

Abstract: Objective The HPLC fingerprints of the benchmark samples of the classic prescription Yiyi Fuzi Baijiang Powder (薏苡附子败酱散, YFBP) was established, and the contents of its index components (protocatechuic acid, chlorogenic acid, caffeic acid,

收稿日期: 2024-08-20

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (82260847); 贵州省科学技术厅科技创新人才团队 (黔科合平台人才-CXTD [2023] 020); 贵州省教育厅高校科技创新团队 (黔教技[2023]069 号); 贵州省科技计划项目 (黔科合基础-ZK [2023] 重点 046); 国家中医药管理局高水平中医药重点学科建设项目 (zyydxk-2023185); 贵州省基础研究自然科学基金项目 (黔科合基础-ZK [2022] 一般 483)

作者简介: 马兴艳 (2000—), 贵州省遵义市人, 硕士研究生, 研究方向为中药及民族药质量控制及新药研究。E-mail: 2515616506@qq.com

***通信作者:** 俸婷婷, 教授, 博士生导师, 从事中药民族药及食药资源基础研究与应用开发。E-mail: ftt0809@163.com

周 英, 教授, 博士生导师, 从事中药药效物质基础与质量控制、中药新药开发。E-mail: yingzhou71@sina.com

isochlorogenic acid A, isochlorogenic acid C, benzoylmesaconine and linoleic acid) were determined to study the quantitative value transfer pattern of YFBP and to evaluate its quality by combining with chemical pattern recognition to assess its quality. **Methods** By HPLC fingerprinting of 15 batches of YFBP benchmark samples, the common peaks and extraction yield range were identified, and the marker components were quantitatively determined. Simultaneously, hierarchical cluster analysis (HCA), principal component analysis (PCA), and orthogonal partial least squares-discriminant analysis (OPLS-DA) were employed to identify the key chemical components influencing the quality of YFBP. **Results** In 15 batches of YFBP benchmark samples, the HPLC fingerprint similarity was greater than 0.817. A total of 30 common peaks were identified, and eight common peaks were recognised, with specific attributions as follows: Peak 30 (linoleic acid) was specific to Yiyiren (*Coicis Semen*). Peaks 2 (salsolinol), 9, and 22 (benzoylmesaconine) were specific to Fuzi (*Aconiti Lateralis Radix Praeparata*). Peaks 3 (protocatechuic acid), 4—6, 7 (chlorogenic acid), 8, 10 (caffeic acid), 11, 13, 18, 19, 20 (isochlorogenic acid A), 21 (isochlorogenic acid C), 23—26 were specific to Baijiangcao (*Patriniae Herba*). Peaks 1, 12, 14—17, 27—29 were common to both *Coicis Semen* and *Patriniae Herba*. The extraction rate of the 15 batches ranged from 20.06% to 33.22%. The mass fraction of protocatechuic acid, chlorogenic acid, caffeic acid, isochlorogenic acid A, isochlorogenic acid C, benzoylmesaconine and linoleic acid were 0.012—0.076, 0.025—0.308, 0.011—0.047, 0.011—0.049, 0.014—0.044, 0.031—0.111, and 0.031—0.067 mg/g. Transfer rate were 5.05%—30.86%, 5.24%—21.31%, 3.57%—43.22%, 4.59%—18.69%, 6.97%—23.13%, 9.68%—62.32%, and 6.60%—19.95%. The chemometric analysis classified the 15 batches of samples into two groups, and OPLS-DA identified 14 common peaks responsible for quality differences. Among these, three peaks have been identified: peak 3 (protocatechuic acid), peak 10 (caffeic acid), and peak 20 (isochlorogenic acid A). **Conclusion** Based on chemical pattern recognition, an HPLC fingerprint and a multi-index component content determination method were established for the YFBP benchmark samples of a classical prescription. The process of quantitative transfer was analyzed, providing a scientific reference for quality control and the development of compound preparations based on YFBP standard samples.

Key word: classic prescription; Yiyi Fuzi Baijiang Powder; substance benchmark; quantitative value transfer; chemical pattern recognition; salsolinol; protocatechuic acid; chlorogenic acid; caffeic acid; isochlorogenic acid A; isochlorogenic acid C; benzoylmesaconine; linoleic acid

薏苡附子败酱散 (Yiyi Fuzi Baijiang Powder, YFBP) 源于东汉末年医家张仲景所著《金匮要略》卷十八, 由薏苡仁、附子、败酱草 3 味中药组成。此方具有排脓消肿、固护阳气之功效, 是治疗肠痈疾病的经典名方, 主治肠痈腐败成脓^[1]。方中薏苡仁用量最多, 为君药, 性凉, 主健脾祛湿、调和营卫, 且去湿而不伤正; 附子在方中用量最少, 但作用关键, 其属大辛大热之品, 不仅可振奋阳气, 助薏苡败酱祛邪排脓, 且可调和薏苡、败酱之性凉, 以免伤阳; 败酱草性微寒, 与薏苡仁相合, 可增清热解毒、逐瘀排脓之功效。三药并齐, 温寒并用, 能使湿邪外出, 以达到“温阳除湿, 清热化瘀”之功效^[2-4]。然而现代医家尊古而不泥古, 根据该方所治病机灵活拓展了 YFBP 的临床应用范围, 将其运用于肠道、泌尿、妇科、皮肤及肿瘤疾病等方面的治疗, 并取得了显著药物功效^[5]。

YFBP 的药效物质基础主要来源于薏苡仁中的薏苡仁油、附子中的生物碱及败酱草中的黄酮类、有机酸等。薏苡仁油中含有丰富的不饱和脂肪酸, 以油酸、亚油酸为主^[6]。现代研究表明, 亚油酸有明显的抗肿瘤、调节肠道菌群等作用^[7-8]。生物碱是附子中主要活性物质之一, 其中双酯型生物碱水解

成单酯型生物碱后可减毒增效, 活性不变, 是临床上主要的药用成分^[9]。有研究表明, 苯甲酰新乌头原碱在附子单酯型生物碱中含量最高, 具有明显抗肿瘤、强心、镇痛、抗炎作用^[10-14]。黄花败酱中主要药效成分为黄酮类、有机酸、三萜皂苷等^[15]。研究表明, 有机酸类是黄花败酱发挥抗炎作用的主要活性成分, 另外还具有抗病毒、抗菌、止血等药理作用^[16-19]。因此, 对该方进行经典名方的开发研究, 为满足其临床运用的需求意义重大。

中药饮片-基准样品量值关系的研究, 是确保中药整体生产过程中质量和疗效一致性的关键^[20]。随着中医药国际化步伐的加快, 中药需要满足更加严格的国际质量控制标准, 而量值关系的研究有助于建立更加科学、严格的中药质量控制标准, 提高中药产品的国际竞争力, 促进其在全球范围内的认可和使用。因此, 对于饮片-基准样品量值关系的研究刻不容缓。但是迄今为止, YFBP 的报道仍主要集中于药理作用及临床应用上, 尚无对其复方基准样品量值传递分析的相关文献。

本研究旨在通过查询古籍文献确定 YFBP 的处方剂量, 制备 15 批 YFBP 基准样品, 开展对 YFBP 指纹图谱和 7 种指标性成分原儿茶酸、绿原酸、咖

啡酸、异绿原酸 A、异绿原酸 C、苯甲酰新乌头原碱、亚油酸的定量测定研究及其在饮片-基准样品量值传递关系分析, 以期为后续复方制剂的开发研究提供参考依据。

1 仪器与材料

1.1 仪器

Agilent 1260 型高效液相色谱仪、Zorbax Eclipse XDB-C₁₈ 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 安捷伦科技(中国)有限公司; UPT-I-20T 型超纯水机, 贵州星晟瑞科技有限公司; HX-YS0301 型液体加热器, 佛山市海迅电器有限公司; ME204E 型电子天平, 梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司; XS205 型电子天平, 瑞士 Mettler Toledo 集团公司; 力辰 LC-FD-06H 型真空干燥机, 上海力辰邦西仪器科技有限公司; SB-6000DT 型超声波清洗机, 宁波新芝生物科技股份有限公司; SHB-III 型循环水式多用真空泵, 郑州长城科工贸有限公司; RE-2000A 型旋转蒸发仪, 上海亚荣生化仪器厂; 800C 型多功能粉碎机, 永康市红太阳机电有限公司。

1.2 材料

对照品去甲猪毛菜碱(批号 AFBL1301)、苯甲酰新乌头原碱(批号 PS010469)、原儿茶酸(批号 PS012560)、绿原酸(批号 PS010694)、咖啡酸(批号 PS010522)、异绿原酸 A(批号 PS001052)、异绿原酸 C(批号 PS001057)、亚油酸(批号 PS231201-14)均购于成都普思生物科技股份有限公司, 质量分数均≥98%。纯净水, 杭州娃哈哈集团有限公司; 乙腈、甲醇, 色谱级, 安徽天地高纯溶剂有限公司; 磷酸, 色谱级, 天津市科密欧化学试剂有限公司。

笔者经前期文献考证, YFBP 中的败酱始载于《神农本草经》, 至宋朝苏颂在《图经本草》中收入该方并描述其形态为“花黄, 根紫色”, 可见宋以前本草记载的应为黄花败酱^[21-22]。处方药材饮片薏苡仁、附子(黑顺片)、败酱草购自药店(具体批次见表 1), 由贵州中医药大学谢军丽讲师鉴定, 分别为禾本科薏苡属植物薏苡 *Coix lacryma-jobi* L. var. *mayuen* (Roman.) Stapf 的干燥成熟种仁、毛茛科乌头属植物乌头 *Aconitum carmichaelii* Debx. 子根的加工品、败酱科败酱属多年生草本植物黄花败酱 *Patrinia scabiosaeifolia* Fisch. ex Trevir. 的带根全草。

2 方法与结果

2.1 15 批 YFBP 基准样品的制备

采用随机数表法对各批次药材饮片进行组合,

得到 15 批 YFBP 基准样品(S1~S15)的药材饮片组方, 结果如表 1 所示。

表 1 15 批 YFBP 基准样品(S1~S15)对应饮片来源信息

Table 1 Source information for 15 batches of YFBP benchmark samples (S1—S15) corresponding to decoction pieces

基准 样品	薏苡仁		附子		败酱草	
	批号	产地	批号	产地	批号	产地
S1	20221219-2	湖南	20221013-2	贵州	20220219-5	四川
S2	20230801-2	贵州	20221215-2	云南	20221028-3	云南
S3	20221101-1	云南	20221202-5	江西	20221221-1	广西
S4	20221219-5	湖南	20221202-2	江西	20220219-4	四川
S5	20230628-1	四川	20221215-3	云南	20221028-2	云南
S6	20230801-1	贵州	20230201-4	四川	20221221-5	广西
S7	20230628-3	四川	20230201-5	四川	20220219-3	四川
S8	20221219-1	湖南	20221202-3	江西	20220219-1	四川
S9	20221219-3	湖南	20230201-1	四川	20221221-4	广西
S10	20230628-4	四川	20230201-2	四川	20230601-1	贵州
S11	20230801-3	贵州	20221202-4	江西	20221221-3	广西
S12	20221219-4	湖南	20230201-3	四川	20220219-2	四川
S13	20221101-2	云南	20221215-1	云南	20221028-1	云南
S14	20230628-2	四川	20221013-1	贵州	20221221-2	广西
S15	20221101-3	云南	20221202-1	江西	20230601-2	贵州

本课题组通过前期文献考证及度量衡换算, 还原出 YFBP 基准样品的制备方法: 称取薏苡仁 30.0 g, 附子 6.0 g, 败酱 15.0 g, 均匀粉碎后过三号筛, 混合后称取 6 g 于陶瓷煎药壶中, 以水 400 mL 浸泡 30 min, 武火(500 W)煎煮至沸, 转文火(200 W)煎至 200 mL, 趁热用纱布滤过, 滤液经旋蒸浓缩后置于-80 ℃冰箱中预冻 24 h, 置于真空冷冻干燥机(冷冻温度-55 ℃, 真空度 6 Pa)中冷冻干燥 72 h, 即得 YFBP 基准样品冻干粉。按该方法将表 1 中 15 批对应药材饮片制备成基准样品冻干粉(S1~S15)。

2.2 YFBP 基准样品指纹图谱研究

2.2.1 色谱条件 色谱柱为 Zorbax Eclipse XDB-C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm) 柱; 流动相为乙腈-0.1%磷酸水溶液, 梯度洗脱: 0~3 min, 5%乙腈; 3~15 min, 5%~15%乙腈; 15~22 min, 15%~20%乙腈; 22~49 min, 20%~35%乙腈; 49~55 min, 35%~68%乙腈; 55~60 min, 68%~90%乙腈; 60~74 min, 90%乙腈; 体积流量 0.8 mL/min; 柱温 30 ℃; 检测波长 203、235 nm; 进样体积 10 μL。

2.2.2 对照品溶液的制备 精密称取去甲猪毛菜碱 10.00 mg、原儿茶酸 10.11 mg、绿原酸 10.68 mg、

咖啡酸 10.25 mg、异绿原酸 A 10.57 mg、异绿原酸 C 10.26 mg、苯甲酰新乌头原碱 10.55 mg、亚油酸 11.78 mg 对照品适量,加 50%甲醇配制成质量浓度分别为 16.00、12.13、12.82、16.40、6.34、11.29、42.22、9.42 $\mu\text{g/mL}$ 的混合对照品溶液,备用。

2.2.3 基准样品供试品溶液的制备 取 YFBP 基准样品冻干粉约 1 g,精密称定,置于具塞锥形瓶中,精密加入 50%甲醇 10 mL,称定质量,超声处理 30 min,放冷,再称定质量,用 50%甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,过 0.22 μm 微孔滤膜,即得 YFBP 基准样品供试品溶液。

2.2.4 单味药材饮片及阴性复方样品供试品溶液的制备 按处方量称取各单味药材饮片及缺相应饮片的缺味阴性复方样品,按“2.1”项下全方基准样品冻干粉制备方法,同法制得单味药材饮片及阴性复方样品冻干粉,并按“2.2.3”项方法制备对应的单味药材饮片及阴性复方样品供试品溶液。

2.2.5 精密度试验 取 YFBP 基准样品冻干粉(S15),按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液,按“2.2.1”项下色谱条件连续进样 6 次,记录色谱图。色谱图中 10 号峰(咖啡酸)保留时间适中,峰型较好,分离度较高,因此,选择 10 号峰为参照峰,计算各特征峰相对保留时间和相对峰面积的 RSD。结果各特征峰相对保留时间的 RSD 为 0.02%~0.11%,相对峰面积的 RSD 为 0.32%~3.73%,结果表明该仪器精密度良好。

2.2.6 稳定性试验 取 YFBP 基准样品(S15)供试品溶液,按“2.2.1”项下色谱条件,分别于制备后 0、3、6、9、12、24、36、48 h 进样分析。以 10 号峰(咖啡酸)为参照峰,计算各特征峰相对保留时间和相对峰面积的 RSD。结果各特征峰相对保留时间的 RSD 为 0.02%~0.14%,相对峰面积的 RSD 为 0.33%~3.92%,结果表明供试品溶液在 48 h 内稳定性良好。

2.2.7 重复性试验 取 YFBP 基准样品冻干粉(S15),按“2.2.3”项下方法平行制备 6 份供试品溶液,按“2.2.1”项下色谱条件进样分析。以 10 号峰(咖啡酸)为参照峰,计算各特征峰相对保留时间和相对峰面积的 RSD。结果各特征峰相对保留时间的 RSD 为 0.01%~0.09%,相对峰面积的 RSD 为 0.53%~3.75%,结果表明该方法重复性良好。

2.2.8 指纹图谱的建立及相似度评价 取 15 批 YFBP 基准样品冻干粉(S1~S15),按“2.2.3”项

下方法制备供试品溶液,按“2.2.1”项下色谱条件进样分析,将 S1~S15 的色谱图以 AIA 格式导入《中药色谱指纹图谱相似度评价系统》(2012 版),以 S1 作为参照图谱,采用中位数法,时间窗宽度设置为 0.1 min,进行色谱峰匹配,生成指纹图谱叠加图及对照指纹图谱,并计算各指纹图谱与对照指纹图谱的相似度。

S1~S15 的 HPLC 指纹图谱见图 1,从中标定了 30 个特征峰,通过与对照品色谱图进行比对,指认其中 8 个特征峰,分别为 2 号峰去甲猪毛菜碱、3 号峰原儿茶酸、7 号峰绿原酸、10 号峰咖啡酸、20 号峰异绿原酸 A、21 号峰异绿原酸 C、22 号峰苯甲酰新乌头原碱、30 号峰亚油酸,YFBP 基准样品的对照指纹图谱及混合对照品 HPLC 图谱见图 2。

15 批 YFBP 基准样品(S1~S15)指纹图谱与对照指纹图谱的相似度见表 2。除 S7(203 nm)、S10(203、235 nm)、S15(203、235 nm)外,其余 12 批 YFBP 基准样品的相似度均在 0.900 以上,表明不同产地药材之间存在一定的差异。

2.2.9 单味药材饮片-基准样品指纹图谱特征峰归属关系分析与传递 分别取薏苡仁、附子、败酱草各单味药材饮片及缺味阴性复方样品供试品溶液,按“2.2.1”项下色谱条件进样分析。通过比对 YFBP 基准样品对照指纹图谱与单味饮片、缺味阴性复方样品的 HPLC 图谱,发现单味药材饮片的特征峰均可传递到基准样品的对照指纹图谱中,结果见图 3。结果表明,30 号峰(亚油酸)为薏苡仁专属峰,2(去甲猪毛菜碱)、9、22(苯甲酰新乌头原碱)号峰为附子专属峰,3(原儿茶酸)、4~6、7(绿原酸)、8、10(咖啡酸)、11、13、18、19、20(异绿原酸 A)、21(异绿原酸 C)、23~26 号峰为败酱草专属峰,1、12、14~17、27~29 号峰为薏苡仁和败酱草共有特征峰。以 10 号峰(咖啡酸)为参照峰(S),计算 15 批 YFBP 基准样品中各特征峰的相对保留时间和相对峰面积,结果见表 3、4。结果表明,各特征峰相对保留时间的 RSD 均小于 0.49%,说明 YFBP 基准样品各批次之间特征性成分具有一致性;相对峰面积的 RSD 较大,说明各批次之间特征性成分含量差距较大。

比较 15 批 YFBP 基准样品与各单味药材饮片特征峰峰面积均值,结果见表 5。结果表明特征峰面积在各单味药材饮片和基准样品中虽然存在差异,但各单味药材中主要物质群均可完整传递到基准样

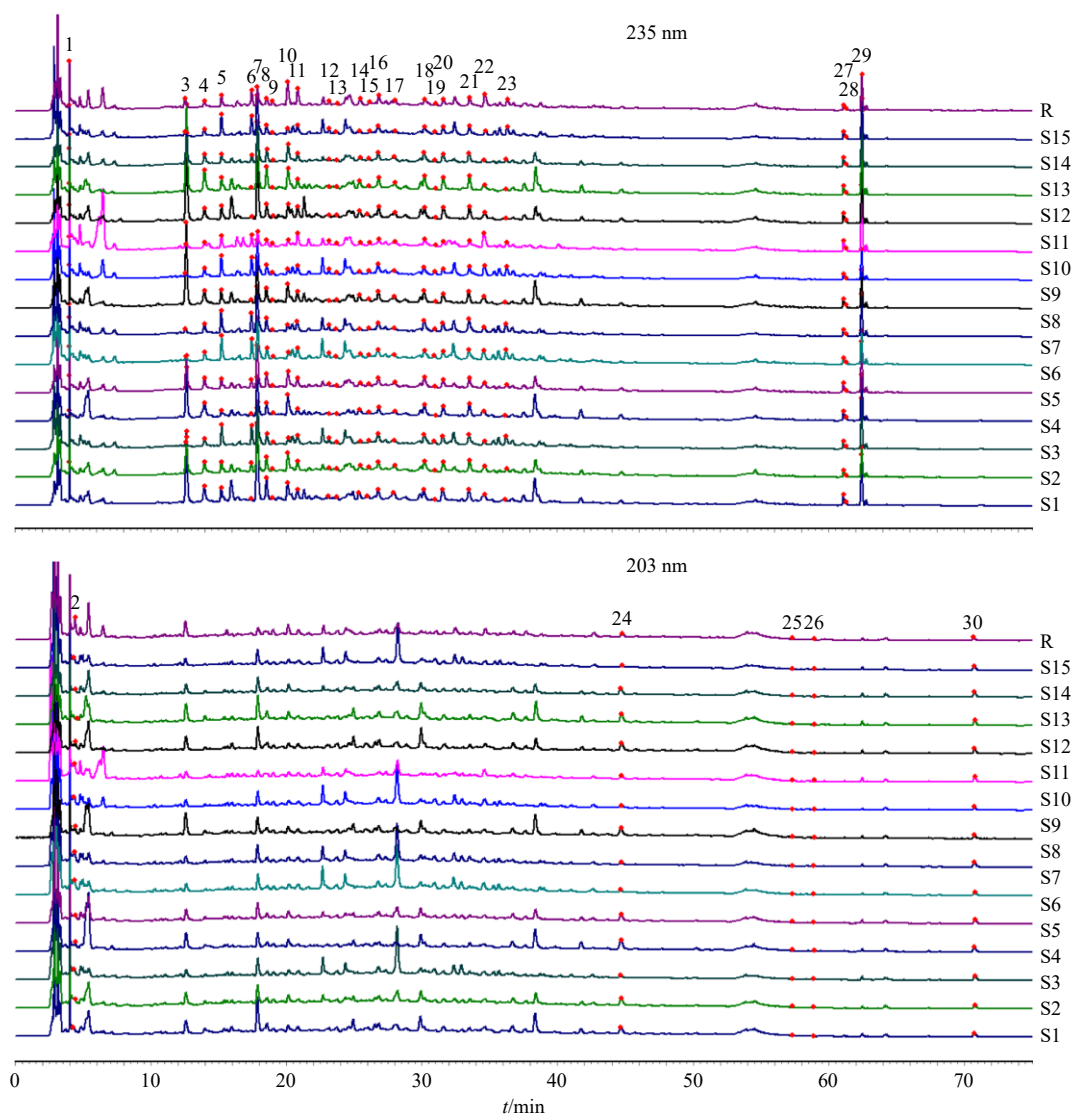
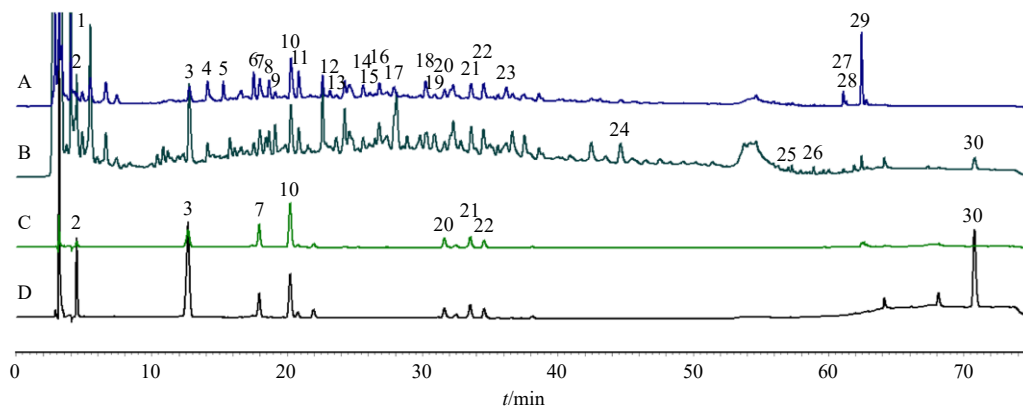


图 1 15 批 YFBP 样品的 HPLC 指纹图谱

Fig. 1 HPLC fingerprints for 15 batches of YFBP benchmark samples



2-去甲猪毛菜碱; 3-原儿茶酸; 7-绿原酸; 10-咖啡酸; 20-异绿原酸 A; 21-异绿原酸 C; 22-苯甲酰新乌头原碱; 30-亚油酸。

2-salsolinol; 3-protocatechuic acid; 7-chlorogenic acid; 10-caffeic acid; 20-isochlorogenic acid A; 21-isochlorogenic acid C; 22-benzoylmesaconine; 30-linoleic acid.

图 2 YFBP 基准样品对照指纹图谱 (235 nm, A; 203 nm, B) 和混合对照品 (235 nm, C; 203 nm, D) 的 HPLC 图谱

Fig. 2 HPLC profiles of YFBP benchmark samples (235 nm, A; 203 nm, B) and mixed reference substances (235 nm, C; 203 nm, D)

表 2 15 批 YFBP 基准样品指纹图谱相似度
Table 2 Fingerprint similarities for 15 batches of YFBP benchmark samples

编号	相似度		编号	相似度	
	203 nm	235 nm		203 nm	235 nm
S1	0.948	0.956	S9	0.975	0.904
S2	0.970	0.981	S10	0.837	0.817
S3	0.935	0.912	S11	0.977	0.942
S4	0.961	0.956	S12	0.914	0.951
S5	0.943	0.991	S13	0.944	0.981
S6	0.938	0.901	S14	0.901	0.917
S7	0.800	0.913	S15	0.789	0.873
S8	0.967	0.918	R	1.000	1.000

品中。说明“2.1”项下确定的 YFBP 制备工艺能很好地保留单味药材饮片中的主要物质群，不会造成成分种类损失。

2.3 YFBP 基准样品多成分定量测定及量值传递关系研究

由图 1~3 可以看出，2 号峰去甲猪毛菜碱出峰时间靠前，峰型和分离度较差，因此本实验未将其纳入定量测定指标。根据“2.2.9”项下研究结果，选择原儿茶酸、绿原酸、咖啡酸、异绿原酸 A、异绿原酸 C、苯甲酰新乌头原碱、亚油酸为指标性成分，建立 YFBP 基准样品定量测定方法。

2.3.1 色谱条件 同“2.2.1”项，但补充了检测波

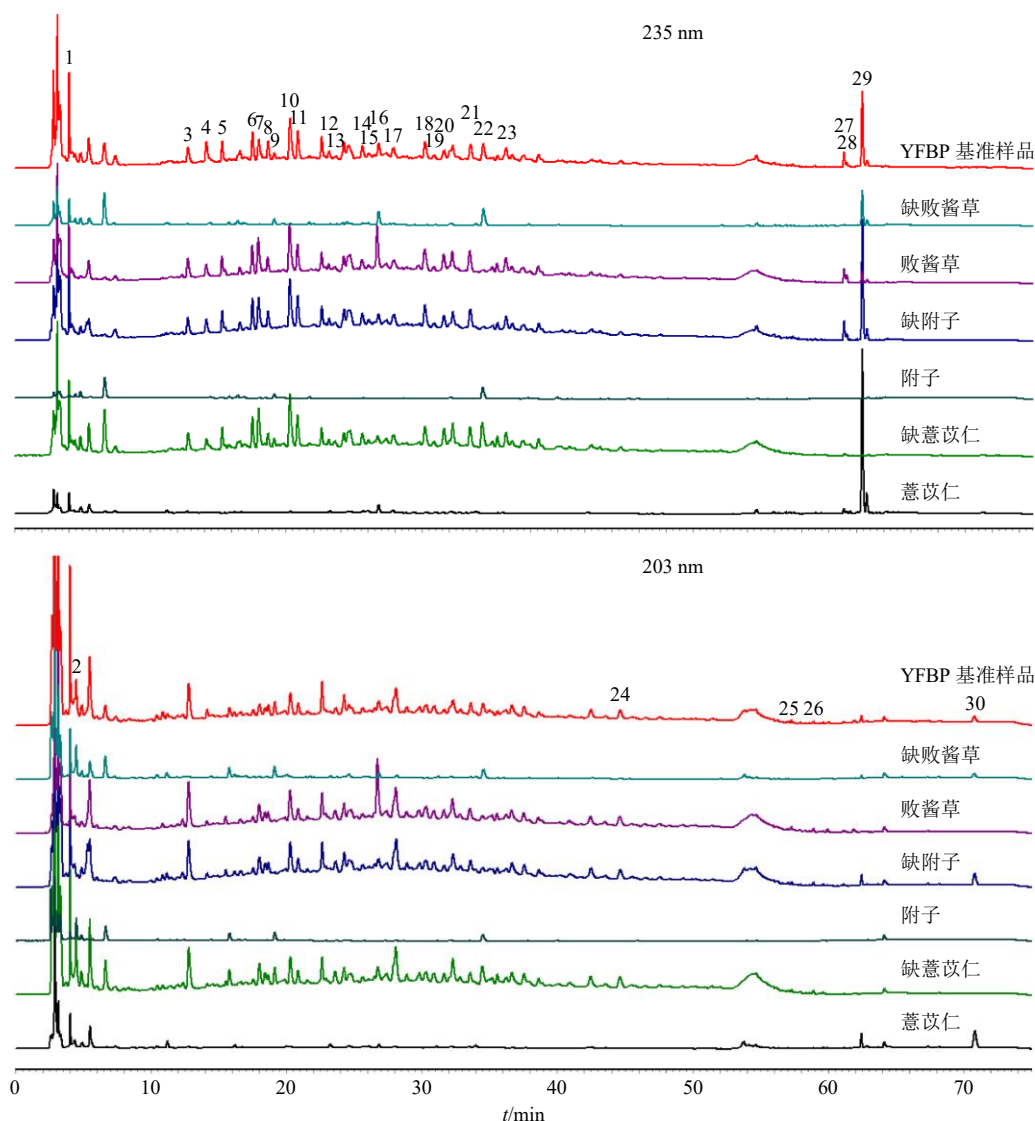


图 3 YFBP 基准样品的特征峰归属

Fig. 3 Attribution of characteristic peaks in YFBP benchmark samples

长，波长 203 nm（亚油酸）、220 nm（原儿茶酸）、235 nm（苯甲酰新乌头原碱）、325 nm（绿原酸、咖

啡酸、异绿原酸 A、异绿原酸 C）。

2.3.2 对照品溶液的制备 同“2.2.2”项。

表 3 15 批 YFBP 基准样品特征峰相对保留时间

Table 3 Relative retention times of characteristic peaks for 15 batches of YFBP benchmark samples

样品	相对保留时间																													
	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	F9	F10	F11	F12	F13	F14	F15	F16	F17	F18	F19	F20	F21	F22	F23	F24	F25	F26	F27	F28	F29	F30
S1	0.20	0.22	0.63	0.69	0.76	0.87	0.89	0.92	0.94	1.00	1.04	1.15	1.18	1.26	1.29	1.33	1.39	1.50	1.54	1.57	1.66	1.72	1.80	2.22	2.85	2.93	3.04	3.05	3.10	3.52
S2	0.20	0.22	0.63	0.69	0.76	0.87	0.89	0.92	0.94	1.00	1.04	1.15	1.18	1.26	1.30	1.33	1.39	1.50	1.54	1.57	1.67	1.72	1.80	2.22	2.85	2.93	3.04	3.05	3.10	3.52
S3	0.20	0.22	0.63	0.69	0.76	0.87	0.89	0.92	0.94	1.00	1.03	1.15	1.18	1.26	1.30	1.33	1.39	1.50	1.53	1.57	1.66	1.72	1.80	2.22	2.84	2.92	3.03	3.04	3.10	3.51
S4	0.20	0.22	0.63	0.69	0.76	0.87	0.89	0.92	0.94	1.00	1.03	1.15	1.18	1.26	1.30	1.33	1.39	1.50	1.54	1.57	1.66	1.72	1.79	2.22	2.85	2.93	3.03	3.05	3.10	3.51
S5	0.20	0.22	0.63	0.69	0.76	0.87	0.89	0.92	0.94	1.00	1.03	1.15	1.18	1.26	1.30	1.33	1.39	1.50	1.54	1.57	1.66	1.72	1.80	2.22	2.85	2.93	3.03	3.04	3.10	3.52
S6	0.20	0.22	0.62	0.69	0.76	0.87	0.89	0.92	0.94	1.00	1.03	1.15	1.17	1.26	1.29	1.33	1.39	1.50	1.53	1.57	1.66	1.71	1.80	2.22	2.84	2.92	3.03	3.04	3.10	3.51
S7	0.20	0.22	0.62	0.69	0.76	0.87	0.89	0.92	0.94	1.00	1.03	1.15	1.18	1.26	1.30	1.33	1.39	1.50	1.54	1.57	1.66	1.72	1.80	2.22	2.85	2.93	3.04	3.05	3.10	3.52
S8	0.20	0.22	0.63	0.69	0.76	0.87	0.89	0.92	0.94	1.00	1.04	1.15	1.18	1.26	1.30	1.33	1.39	1.50	1.54	1.57	1.66	1.72	1.80	2.22	2.85	2.93	3.04	3.05	3.10	3.52
S9	0.20	0.22	0.62	0.69	0.76	0.87	0.89	0.92	0.94	1.00	1.04	1.15	1.18	1.26	1.30	1.33	1.39	1.50	1.54	1.57	1.67	1.72	1.80	2.22	2.85	2.93	3.04	3.05	3.10	3.51
S10	0.20	0.22	0.63	0.69	0.76	0.87	0.89	0.92	0.94	1.00	1.04	1.15	1.18	1.26	1.30	1.33	1.39	1.50	1.54	1.57	1.66	1.72	1.80	2.22	2.85	2.93	3.03	3.04	3.10	3.51
S11	0.20	0.22	0.62	0.69	0.75	0.86	0.88	0.91	0.93	1.00	1.02	1.14	1.16	1.25	1.27	1.32	1.37	1.48	1.52	1.55	1.64	1.70	1.77	2.19	2.81	2.89	3.00	3.01	3.06	3.47
S12	0.20	0.22	0.63	0.69	0.76	0.87	0.89	0.92	0.94	1.00	1.04	1.15	1.18	1.26	1.30	1.33	1.39	1.50	1.54	1.57	1.66	1.72	1.80	2.22	2.85	2.93	3.03	3.05	3.10	3.51
S13	0.20	0.22	0.63	0.69	0.76	0.87	0.89	0.92	0.94	1.00	1.03	1.15	1.18	1.26	1.30	1.33	1.39	1.50	1.54	1.57	1.66	1.72	1.80	2.22	2.85	2.93	3.03	3.04	3.10	3.51
S14	0.20	0.22	0.62	0.69	0.76	0.87	0.89	0.92	0.95	1.00	1.04	1.15	1.18	1.26	1.30	1.33	1.39	1.50	1.54	1.57	1.67	1.73	1.81	2.22	2.85	2.93	3.04	3.05	3.11	3.52
S15	0.20	0.22	0.62	0.69	0.76	0.87	0.89	0.92	0.94	1.00	1.04	1.15	1.18	1.27	1.30	1.33	1.39	1.50	1.54	1.57	1.67	1.72	1.80	2.22	2.85	2.93	3.04	3.05	3.10	3.51
RSD/%	0.33	0.31	0.41	0.32	0.32	0.32	0.31	0.31	0.31	0.00	0.32	0.34	0.33	0.37	0.48	0.32	0.34	0.32	0.31	0.32	0.32	0.33	0.40	0.33	0.33	0.33	0.33	0.33	0.33	0.33

F1~F30 为特征峰序号; 表 4 同。

F1—F30 are characteristic peak numbers; same as table 4.

表 4 15 批 YFBP 基准样品特征峰相对峰面积

Table 4 Relative peak areas of characteristic peaks for 15 batches of YFBP benchmark samples

样品	相对峰面积																													
	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	F9	F10	F11	F12	F13	F14	F15	F16	F17	F18	F19	F20	F21	F22	F23	F24	F25	F26	F27	F28	F29	F30
S1	0.88	0.02	3.69	1.19	0.76	0.15	5.06	1.34	0.23	1.00	0.65	0.18	0.20	0.42	0.20	0.62	0.81	0.73	0.09	0.91	0.79	0.58	0.19	0.23	0.03	0.04	0.43	0.12	2.13	0.81
S2	1.22	0.04	2.29	0.92	0.55	0.50	2.83	0.75	0.17	1.00	0.60	0.09	0.14	0.38	0.14	0.59	0.63	0.81	0.11	0.61	0.75	0.52	0.30	0.27	0.08	0.04	0.28	0.09	1.42	0.89
S3	2.27	0.07	0.87	1.25	3.06	2.64	7.06	1.70	0.49	1.00	1.38	0.66	0.45	0.48	0.31	1.72	1.16	2.35	0.68	1.41	2.66	0.78	1.72	0.31	0.16	0.09	0.86	0.29	6.08	2.91
S4	0.65	0.03	2.00	1.06	0.19	0.10	1.53	0.46	0.13	1.00	0.30	0.03	0.09	0.28	0.07	0.37	0.28	0.63	0.04	0.42	0.57	0.36	0.18	0.23	0.05	0.03	0.28	0.10	1.46	0.82
S5	0.76	0.03	1.62	0.69	0.39	0.37	1.95	0.57	0.12	1.00	0.49	0.08	0.10	0.28	0.12	0.44	0.42	0.62	0.09	0.41	0.52	0.35	0.25	0.23	0.04	0.03	0.33	0.08	1.80	0.73
S6	2.68	0.11	0.76	1.14	3.36	2.81	6.88	1.60	0.44	1.00	1.70	0.83	0.60	0.90	0.33	1.65	1.22	1.96	0.59	1.15	2.76	1.99	1.90	0.32	0.20	0.11	0.76	0.26	4.33	2.08
S7	1.78	0.14	0.91	1.75	3.08	2.56	7.35	1.89	0.35	1.00	1.50	0.95	0.57	0.41	0.31	1.50	0.53	2.53	0.62	1.46	3.12	1.10	1.72	0.28	0.04	0.11	0.75	0.22	5.13	3.12
S8	0.83	0.06	4.15	0.92	0.68	0.18	2.31	0.80	0.14	1.00	0.56	0.06	0.14	0.45	0.22	0.61	0.54	0.75	0.08	0.53	0.74	0.55	0.17	0.23	0.05	0.04	0.36	0.12	1.58	0.73
S9	2.39	0.11	0.69	1.32	2.80	2.34	5.98	1.72	0.57	1.00	1.80	0.56	0.42	0.64	0.53	2.33	1.40	1.42	0.62	0.93	1.75	2.08	1.67	0.29	0.19	0.09	0.63	0.21	3.69	2.06
S10	2.72	1.17	1.07	1.09	1.63	1.48	2.53	1.24	0.52	1.00	1.96	0.69	0.47	0.70	0.31	0.97	0.81	1.78	0.39	0.89	0.63	2.75	0.91	0.32	0.07	0.11	1.12	0.35	7.31	3.20
S11	0.99	0.07	5.68	1.17	0.97	0.28	4.11	1.10	0.20	1.00	0.79	0.15	0.25	0.54	0.24	0.86	0.51	0.99	0.09	1.11	1.00	0.61	0.25	0.38	0.05	0.05	0.51	0.15	2.88	1.45
S12	0.64	0.02	3.20	1.01	0.51	0.10	2.46	0.78	0.07	1.00	0.41	0.07	0.10	0.39	0.14	0.52	0.48	0.67	0.06	0.56	0.56	0.31	0.11	0.19	0.04	0.03	0.25	0.07	1.67	0.81
S13	0.54	0.02	1.42	0.54	0.32	0.34	1.80	0.57	0.12	1.00	0.41	0.06	0.09	0.21	0.08	0.42	0.44	0.62	0.13	0.39	0.45	0.20	0.20	0.17	0.03	0.03	0.29	0.07	1.85	0.93
S14	1.95	0.07	0.83	0.97	2.94	2.40	6.50	1.61	0.45	1.00	1.80	0.60	0.36	0.54	0.50	1.93	0.63	1.79	0.52	1.70	1.79	0.99	1.68	0.22	0.04	0.08	0.86	0.21	4.92	2.58
S15	0.71	0.07	0.40	0.32	0.44	0.56	0.76	0.27	0.18	1.00	0.70	0.17	0.12	0.36	0.15	0.49	0.21	0.45	0.13	0.32	0.57	0.61	0.32	0.11	0.06	0.03	0.16	0.05	1.10	0.47
RSD/%	57.64	212.62	78.51	33.05	84.76	98.39	58.51	48.53	61.84	0.00	60.49	94.98	67.14	38.33	57.21	64.46	51.71	57.87	88.71	51.16	74.55	82.39	94.99	26.84	78.29	54.63	54.56	57.70	62.16	62.66

2.3.3 供试品溶液的制备 同“2.2.3”项。

2.3.4 线性关系考察 取“2.2.2”项下制备的混合对照品溶液,按“2.3.1”项下色谱条件进样分析,进样体积分别为2、5、10、15、20、25 μL。以各对照品进样量为横坐标 (X),峰面积为纵坐标 (Y),

绘制标准曲线,进行线性回归,计算线性回归方程,结果分别为原儿茶酸 $Y=8\ 802.2\ X+2.192\ 5$, $R^2=1.000\ 0$,线性范围 $0.03\sim0.33\ \mu\text{g}$; 绿原酸 $Y=3\ 160.0\ X+0.282\ 8$, $R^2=1.000\ 0$,线性范围 $0.03\sim0.32\ \mu\text{g}$; 咖啡酸 $Y=6\ 323.2\ X-1.009\ 9$, $R^2=1.000\ 0$,线性

表 5 15 批 YFBP 基准样品与各单味药材饮片特征峰相对峰面积

Table 5 Relative peak areas of characteristic peak in 15 batches of YFBP benchmark samples and decoction pieces of various medicinal materials

峰号	峰面积				相对峰面积		峰号	峰面积				相对峰面积	
	薏苡	附子	败酱	基准样品	各单味饮片	基准样品		薏苡	附子	败酱	基准样品	各单味饮片	基准样品
1	163.31	—	358.04	396.05	1.64	1.43	16	144.25	—	174.32	277.34	1.00	1.00
2	—	206.28	—	346.89	1.21	1.41	17	35.80	—	225.10	209.13	0.82	0.75
3	—	—	1 438.46	861.70	8.25	3.11	18	—	—	683.65	343.27	3.92	1.24
4	—	—	595.97	350.07	3.42	1.26	19	—	—	111.52	65.49	0.64	0.24
5	—	—	661.56	342.09	3.80	1.23	20	—	—	664.20	257.19	3.81	0.93
6	—	—	476.92	243.22	2.74	0.88	21	—	—	700.02	339.19	4.02	1.22
7	—	—	2 339.86	1 146.32	13.42	4.13	22	—	170.81	—	246.48	1.00	1.00
8	—	—	636.27	328.60	3.65	1.18	23	—	—	332.79	171.87	1.91	0.62
9	—	45.04	—	77.31	0.26	0.31	24	—	—	153.15	88.09	0.88	0.32
10	—	—	778.04	383.65	4.46	1.38	25	—	—	15.48	22.16	0.09	0.08
11	—	—	525.71	278.28	3.02	1.00	26	—	—	11.99	17.21	0.07	0.06
12	15.24	—	141.56	76.91	0.49	0.28	27	19.73	—	91.44	152.31	0.35	0.55
13	—	—	144.23	73.16	0.83	0.26	28	9.78	—	47.82	45.74	0.18	0.16
14	12.85	—	249.07	154.08	0.82	0.56	29	700.73	—	73.21	886.26	2.43	3.20
15	20.53	—	123.61	71.05	0.45	0.26	30	857.64	—	—	434.28	5.95	1.57

范围 0.03~0.41 μg ; 异绿原酸 A $Y=4\ 179.5\ X-0.239\ 5$, $R^2=1.000\ 0$, 线性范围 0.01~0.16 μg ; 异绿原酸 C $Y=3\ 261.1\ X-0.494\ 7$, $R^2=1.000\ 0$, 线性范围 0.02~0.28 μg ; 苯甲酰新乌头原碱 $Y=1\ 095.6\ X+1.884\ 0$, $R^2=1.000\ 0$, 线性范围 0.08~1.06 μg ; 亚油酸 $Y=2\ 847.1\ X+6.279\ 6$, $R^2=0.999\ 9$, 线性范围 0.02~0.24 μg ; 结果表明各成分在各自进样量范围内线性关系良好。

2.3.5 精密度考察 取 YFBP 基准样品 (S15) 供试品溶液 1 份, 按“2.3.1”项下色谱条件, 连续进样 6 次, 计算各指标性成分峰面积的 RSD 值, 结果原儿茶酸、绿原酸、咖啡酸、异绿原酸 A、异绿原酸 C、苯甲酰新乌头原碱、亚油酸峰面积的 RSD 分别为 0.14%、0.08%、0.19%、0.80%、0.31%、0.79%、1.21%, 表明该仪器精密度良好。

2.3.6 稳定性考察 取 YFBP 基准样品 (S15) 供试品溶液 1 份, 按“2.3.1”项下色谱条件, 分别于制备后 0、3、6、9、12、24、36、48 h 进样分析, 计算各指标性成分峰面积的 RSD 值, 结果原儿茶酸、绿原酸、咖啡酸、异绿原酸 A、异绿原酸 C、苯甲酰新乌头原碱、亚油酸峰面积的 RSD 分别为 0.22%、0.44%、0.19%、1.00%、0.40%、0.84%、0.85%, 结果表明供试品溶液在 48 h 内稳定性良好。

2.3.7 重复性考察 取 YFBP 基准样品 (S15), 按

“2.2.3”项下方法平行制备 6 份供试品溶液, 按“2.3.1”项下色谱条件进样分析。计算各指标性成分质量分数的 RSD 值, 结果原儿茶酸、绿原酸、咖啡酸、异绿原酸 A、异绿原酸 C、苯甲酰新乌头原碱、亚油酸质量分数的 RSD 分别为 2.59%、2.63%、2.59%、2.38%、2.85%、2.44%、2.07%, 结果表明该方法重复性良好。

2.3.8 加样回收率考察 精密称定已测知指标性成分含量的 YFBP 基准样品冻干粉 (S15) 0.5 g, 共 6 份, 按照样品中各成分含量与对照品含量比值 1:1 加入各指标成分, 按“2.3.3”项下方法制备供试品溶液, 按“2.3.1”项下色谱条件分别进样, 进行含量测定, 计算 7 种指标性成分的加样回收率及其 RSD 值, 结果原儿茶酸、绿原酸、咖啡酸、异绿原酸 A、异绿原酸 C、苯甲酰新乌头原碱、亚油酸的平均加样回收率分别为 99.17%、90.95%、86.24%、104.62%、104.28%、89.26%、85.29%, RSD 分别为 2.11%、2.03%、1.99%、2.04%、1.54%、2.73%、2.91%, 结果表明该方法准确度较高, 满足定量测定要求。

2.3.9 7 种指标性成分定量测定与量值传递分析 取 15 批 YFBP 基准样品 (S1~S15) 及薏苡仁、附子、败酱单味药材饮片冻干粉, 按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液, 并按“2.3.1”项下色谱条件进样, 对指标性成分进行含量测定, 并计算指标性成

分从单味药材饮片-YFBP 基准样品的转移率, 结果见表 6。结果表明, 15 批 YFBP 基准样品(S1~S15) 中原儿茶酸质量分数为 0.012~0.076 mg/g, 转移率为 5.05%~30.86%, 平均质量分数为 0.034 mg/g, 平均转移率为 16.06%; 绿原酸质量分数为 0.025~0.308 mg/g, 转移率为 5.24%~21.31%, 平均质量分数为 0.137 mg/g, 平均转移率为 12.70%; 咖啡酸质量分数为 0.011~0.047 mg/g, 转移率为 3.57%~43.22%, 平均质量分数为 0.026 mg/g, 平均转移率为 20.39%; 异绿原酸 A 质量分数为 0.011~0.049 mg/g, 转移率为 4.59%~18.69%, 平均质量分数为 0.030 mg/g, 平均转移率为 11.15%; 异绿原酸 C 质量分数为 0.014~0.044 mg/g, 转移率为 6.97%~23.13%, 平均质量分数为 0.032 mg/g, 平均转移率为 13.76%; 苯甲酰新

表 6 YFBP 基准样品指标性成分含量、出膏率测定及其转移率

Table 6 Contents and transfer rate of index components, extraction rate in YFBP benchmark sample															
编号	原儿茶酸/(mg·g ⁻¹)			绿原酸/(mg·g ⁻¹)			咖啡酸/(mg·g ⁻¹)			异绿原酸 A/(mg·g ⁻¹)			异绿原酸 C/(mg·g ⁻¹)		
	饮片	基准样品	转移率/%	饮片	基准样品	转移率/%	饮片	基准样品	转移率/%	饮片	基准样品	转移率/%	饮片	基准样品	转移率/%
S1	0.351	0.052	15.06	2.391	0.308	13.01	0.165	0.036	21.88	0.400	0.047	11.87	0.281	0.039	13.98
S2	0.225	0.042	19.31	1.126	0.172	15.64	0.189	0.040	21.89	0.273	0.038	14.14	0.228	0.038	17.16
S3	0.109	0.017	16.27	1.039	0.134	13.28	0.077	0.013	17.17	0.263	0.030	11.84	0.260	0.035	13.88
S4	0.383	0.045	11.42	1.118	0.117	10.09	0.247	0.038	15.02	0.339	0.033	9.33	0.295	0.034	11.26
S5	0.195	0.035	17.96	0.919	0.136	14.90	0.155	0.032	20.94	0.216	0.029	13.43	0.185	0.030	16.59
S6	0.088	0.015	14.96	0.757	0.105	11.87	0.055	0.011	16.52	0.189	0.022	9.95	0.175	0.028	13.49
S7	0.196	0.017	8.17	0.744	0.133	17.27	0.065	0.012	18.01	0.203	0.030	14.10	0.152	0.036	23.13
S8	0.382	0.063	14.69	0.893	0.124	12.35	0.139	0.032	20.48	0.289	0.032	9.87	0.228	0.032	12.58
S9	0.122	0.018	13.98	1.022	0.117	10.98	0.072	0.012	16.07	0.263	0.024	8.78	0.230	0.032	13.32
S10	0.166	0.012	5.05	0.319	0.025	5.24	0.167	0.009	3.57	0.158	0.011	4.59	0.137	0.014	6.97
S11	0.086	0.039	30.86	0.826	0.133	10.90	0.052	0.019	25.07	0.211	0.033	10.51	0.211	0.026	8.29
S12	0.346	0.076	24.49	1.311	0.251	21.31	0.159	0.047	33.03	0.293	0.049	18.69	0.249	0.044	19.86
S13	0.242	0.030	12.07	1.239	0.122	9.44	0.211	0.034	15.25	0.291	0.027	9.07	0.254	0.028	10.75
S14	0.108	0.017	15.93	0.885	0.128	14.65	0.066	0.012	17.78	0.215	0.028	13.39	0.212	0.031	15.04
S15	0.149	0.033	20.68	0.538	0.055	9.60	0.097	0.044	43.22	0.275	0.022	7.64	0.229	0.024	10.06
均值	0.210	0.034	16.06	1.008	0.137	12.70	0.128	0.026	20.39	0.259	0.030	11.15	0.222	0.032	13.76

编号	苯甲酰新乌头原碱/(mg·g ⁻¹)			亚油酸/(mg·g ⁻¹)			出膏率/%					
	饮片	基准样品	转移率/%	饮片	基准样品	转移率/%	薏苡仁	附子	败酱草	理论值	实际值	传递率
S1	0.411	0.080	49.05	0.194	0.041	10.64	34.03	41.50	33.07	34.63	30.03	86.72
S2	0.569	0.072	32.26	0.134	0.045	17.16	32.60	35.55	30.03	32.19	30.33	94.22
S3	0.276	0.038	35.21	0.269	0.052	9.95	35.87	51.20	32.06	36.55	30.43	83.26
S4	0.455	0.057	30.42	0.175	0.053	14.71	29.20	39.55	33.87	31.79	28.68	90.22
S5	0.732	0.055	18.83	0.204	0.043	10.58	38.40	51.55	23.43	35.54	29.14	81.99
S6	0.706	0.076	22.79	0.199	0.031	6.60	33.17	42.25	23.07	31.27	23.36	74.70
S7	0.781	0.048	14.96	0.213	0.054	12.35	33.73	44.60	23.10	31.88	28.68	89.96
S8	0.491	0.068	30.64	0.194	0.036	8.22	29.40	37.20	30.80	30.25	26.27	86.84
S9	1.164	0.105	21.66	0.162	0.037	11.05	33.03	36.60	32.87	33.40	28.50	85.33
S10	1.597	0.091	9.68	0.177	0.042	8.00	34.07	47.25	17.80	30.84	20.06	65.05
S11	0.506	0.044	14.79	0.214	0.041	6.42	39.60	38.05	26.07	35.44	33.22	93.74
S12	0.382	0.070	50.94	0.190	0.067	19.95	37.93	35.70	31.13	35.67	32.89	92.21
S13	0.187	0.031	40.36	0.172	0.058	16.08	31.80	52.00	30.60	33.82	28.43	84.06
S14	0.490	0.050	25.74	0.194	0.047	12.31	34.70	50.55	34.70	36.56	30.01	82.08
S15	0.420	0.111	62.32	0.131	0.033	11.88	32.73	37.50	28.63	32.09	29.30	91.31
均值	0.611	0.066	30.64	0.188	0.045	11.73	34.02	42.74	28.75	33.46	28.62	85.45

乌头原碱质量分数为 0.031~0.111 mg/g，转移率为 9.68%~62.32%，平均质量分数为 0.066 mg/g，平均转移率为 30.64%；亚油酸质量分数为 0.031~0.067 mg/g，转移率为 6.42%~19.95%，平均质量分数为 0.045%，平均转移率为 11.73%。

饮片-基准样品转移率=基准样品中该指标性成分含量×该处方基准样品质量/(饮片中该指标性成分含量×饮片投料量)^[23]

2.3.10 YFBP 基准样品及各单味药材干膏率的测定及传递规律研究 按“2.1”项下方法制备 15 批 YFBP 基准样品及各单味药材饮片样品，冻干后称定，记录质量，计算实际出膏率（实际出膏率=冻干粉干膏质量/复方中组方饮片投药量，理论出膏率=Σ(单味药材饮片干膏率×单味药材饮片投药量)/复方中组方饮片投药量^[24]），结果见表 6。结果表明，15 批基准样品冻干粉出膏率为 20.06%~33.22%，

平均出膏率为 28.62%，均值±30%的范围为 20.03%~37.21%，可见 S1~S15 的出膏率均在均值的±30%范围内，出膏传递率均值为 85.45%，未出现离散数据，表明“2.1”项下确定的经典名方 YFBP 煎煮工艺稳定可行。

2.4 化学模式识别研究

2.4.1 层次聚类分析（hierarchical cluster analysis, HCA） 以 15 批 YFBP 基准样品 HPLC 指纹图谱中 30 个特征峰的峰面积作为原始数据，导入迈维云平台，标准化处理后进行高级聚类热图分析，结果见图 4。结果发现，15 批 YFBP 基准样品被聚为 2 类，S3、S6、S7、S9、S10、S14、S15 聚为一类，S1、S2、S4、S5、S8、S11~S13 聚为另一类，表明 15 批基准样品不完全相同，不同产地药材的质量及成分含量存在一定差异。

2.4.2 主成分分析（principal component analysis,

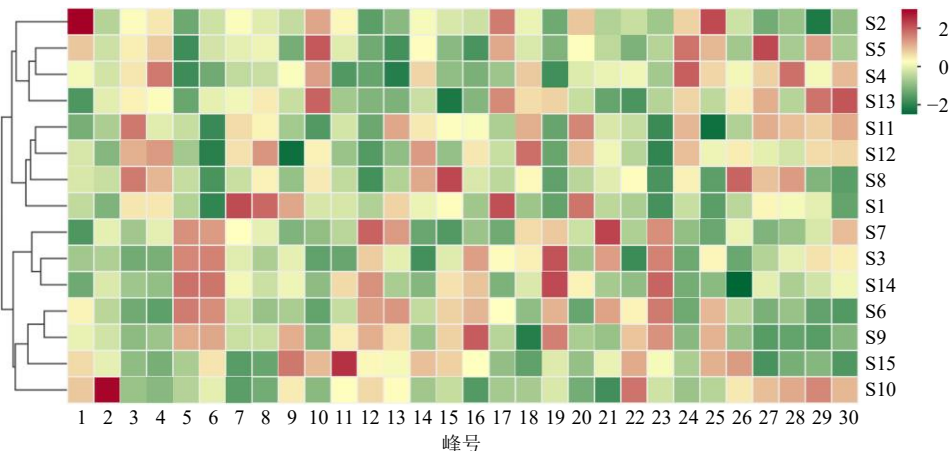


图 4 15 批 YFBP 基准样品的聚类热图分析

Fig. 4 Cluster heatmap analysis for 15 batches of YFBP benchmark samples

PCA）将 15 批 YFBP 基准样品 HPLC 指纹图谱中 30 个特征峰的峰面积导入 IBM SPSS 26.0 软件，标准化处理后进行 PCA，结果见表 7。以特征值和方差贡献率作为选择主成分的依据，分析结果得到

表 7 15 批 YFBP 基准样品的特征值和累积方差贡献率
Table 7 Eigenvalues and cumulative variance contribution for 15 batches of YFBP benchmark samples

主成分	特征值	方差贡献率/%	累积方差贡献率/%
1	11.137	37.123	37.123
2	5.053	16.842	53.964
3	4.538	15.128	69.092
4	3.045	10.151	79.243
5	1.712	5.708	84.951
6	1.057	3.522	88.473

6 个特征值>1 的主成分，分别为 11.137、5.053、4.538、3.045、1.712、1.057，方差贡献率分别为 37.123%、16.842%、15.128%、10.151%、5.708%、3.522%，累积方差贡献率为 88.473%（>85%）。表明这 6 个主成分可以比较全面地表征 YFBP 样品的大部分信息。

使用 SPSS 26.0 软件对 15 批 YFBP 基准样品中 30 个特征峰的峰面积标准化处理后的数据为变量，运用 SIMCA 14.1 软件得到 15 批 YFBP 基准样品 PCA 得分图，结果见图 5。15 批基准样品均在 95% 置信区间内分为 2 类，其中 S3、S6、S7、S9、S10、S14、S15 聚为一类，S1、S2、S4、S5、S8、S11~S13 聚为另一类，与 HCA 结果一致。

2.4.3 正交偏最小二乘法-判别分析(orthogonal partial

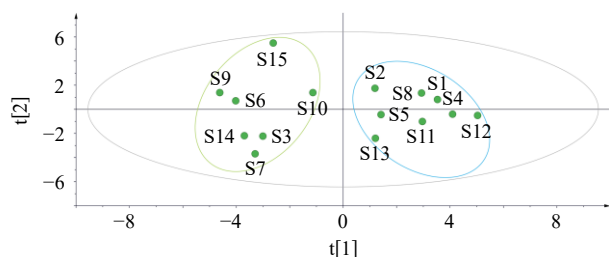


图 5 15 批 YFBP 基准样品的 PCA 得分图

Fig. 5 PCA score chart for 15 batches of YFBP benchmark samples

least squares-discriminant analysis, OPLS-DA) 使用 SPSS 26.0 软件对 15 批 YFBP 基准样品特征峰峰面积进行标准化处理, 将标准化处理后的数据导入 SIMCA 14.1 软件, 使用具有监督模式的 OPLS-DA 进行分析, 建立 OPLS-DA 模型。该模型 $R_x^2=0.577$, $R_y^2=0.975$, $Q^2=0.874$, 模型预测参数均大于 0.5, 表明所建立的模型稳定可靠, 有较强的预测能力。

OPLS-DA 得分图见图 6。以变量重要性投影 (variable importance projection, VIP) > 1 作为标准筛选差异性成分。结果见图 7。结果显示 VIP 值 > 1 的特征峰有 14 个, 以贡献值由大到小排列分别为峰 6、23、12、24、4、19、3 (原儿茶酸)、5、10 (咖啡酸)、18、27、8、20、14, 表明这 14 个特征峰是影响 YFBP 15 批次分类的关键因素。

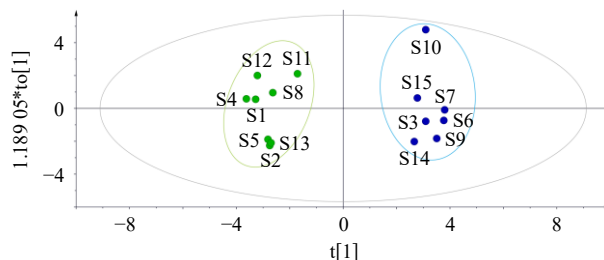


图 6 15 批 YFBP 基准样品的 OPLS-DA 得分图

Fig. 6 OPLS-DA scores chart for 15 batches of YFBP benchmark samples

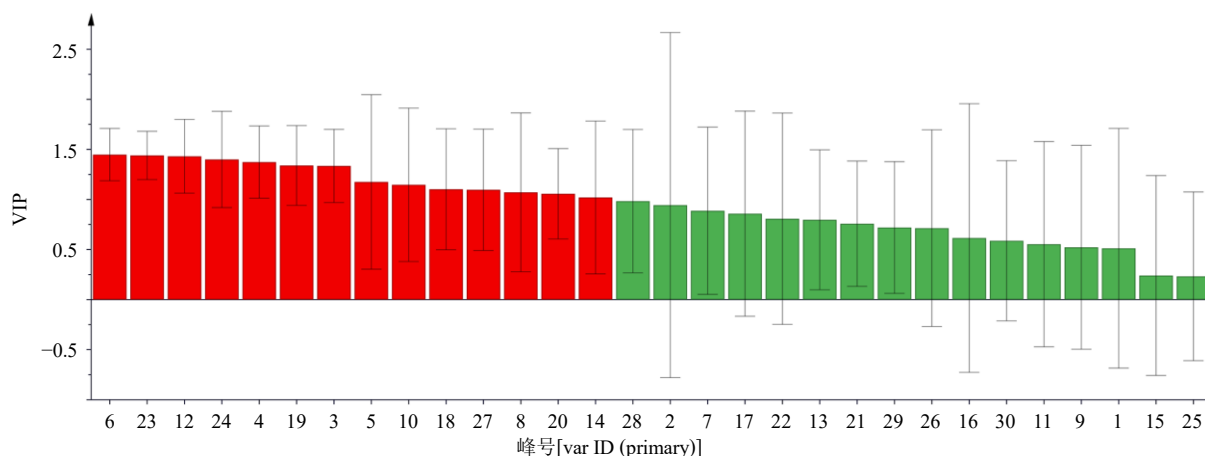


图 7 30 个特征峰的 VIP 值

Fig. 7 VIP value chart of 30 characteristic peaks

3 讨论

3.1 YFBP 剂量考证

《金匱要略》原文记载 YFBP 处方为“薏苡十分, 附子二分, 败酱五分。上三味, 杵为末, 取方寸匕, 以水二升, 煎减半, 顿服”。经笔者前期文献考证, 《金匱要略》中全方若均以“分”表示, 这里的“分”并非指计量单位, 而是各药之间剂量关系的比例, 即: 10 份薏苡、2 份附子、5 份败酱^[25-27]。我国古代医家在散剂中常以“方寸匕”作为度量单位, “匕”在古时指饭勺, 也用做量取药末的器具, 方寸匕即为一寸正方之匕, 抄药末不落为度, 合 6~9 g^[25]。《太平惠民和剂局方》中对有关中药煮散规范做了技术要求, 粉碎粒度规范中“末”约介于粗末与细末之间, 过三号筛 (50 目)^[28]。东汉单位量值

“升”, 折合现代每升单位量值在 196~204 mL, 用算术平均法求得单位量值为 199.4 mL, 与 200 mL 相比, 应是由于当时制造不精而产生的示值误差, 因此东汉 1 升量值应当为 200 mL^[29]。再结合《中国药典》2020 年版所给出的各单味药用法用量及现代临床用量^[30], 最终确定了 YFBP 基准样品的制备方法。

3.2 指标性成分含量测定及色谱条件的优化

本实验分别考察了 YFBP 基准样品在不同流动相体系 (乙腈-水、乙腈-0.05%磷酸水溶液、乙腈-0.1%磷酸水溶液、甲醇-0.1%磷酸水溶液)、不同提取剂 (纯化水及 25%、50%、75%、100% 甲醇)、不同柱温 (25、30、35、40 °C) 中色谱峰的分离情况, 结果显示当提取剂为 50% 甲醇、流动相为乙腈-0.1% 磷酸水溶液、柱温 30 °C 时色谱峰峰型较好、分离

度较高。另外, 本实验分别考察了不同波长下的色谱峰, 发现亚油酸只在 203 nm 下有吸收, 原儿茶酸、苯甲酰新乌头原碱、绿原酸、咖啡酸、原儿茶酸、异绿原酸 A、异绿原酸 C 在 235 nm 下均有吸收, 因此在指纹图谱中选择了 203、235 nm 2 个波长。在定量测定中原儿茶酸在 220 nm 下有最大吸收, 苯甲酰新乌头原碱在 235 nm 下有最大吸收, 绿原酸、咖啡酸、异绿原酸 A、异绿原酸 C 在 325 nm 下有最大吸收, 亚油酸只在 203 nm 下有吸收, 因此在指标性成分定量测定中选择了 203、220、235、325 nm 4 个波长进行测定。薏苡仁中主要活性成分为甘油三酯类^[31], 《中国药典》2020 年版^[32]规定了薏苡仁定量测定标准中的成分为甘油三油酸酯, 检测器为蒸发光散射检测器, 本实验考虑到复方的成分复杂, 选择二极管阵列检测器进行检测, 因此, 在本实验中未能检测出此类成分。故根据“2.2.9”项特征峰归属结果, 选择测定其专属性成分亚油酸。

3.3 指纹图谱、化学模式识别分析

中医临床中通常以多味中药配伍使用达到治疗效果, 但中药化学成分复杂, 以至于中药成分及质量无法得到全面监控。中药指纹图谱技术可以反映中药多成分的特点, 通过指纹图谱信息能够整体控制及评价中药质量^[33-34]。本研究建立了 15 批 YFBP 基准样品的 HPLC 指纹图谱, 共归属了 30 个特征峰; 相似度计算结果显示, 除 S7 (203 nm)、S10 (203、235 nm)、S15 (203、235 nm) 外, 其余 12 批次的相似度均在 0.900 以上, 且 HCA 和 PCA 结果均将 15 批 YFBP 基准样品分为 2 类, 说明 15 批基准样品的化学成分类型一致, 但其含量存在一定差异。OPLS-DA 投影分析中 VIP 值越大, 表明该成分在分类组别中的贡献越大, 当 VIP 值 > 1 时, 说明该成分在各分类组别中差异显著^[35]。通过分析找到了 VIP 值 > 1 的 14 个特征峰成分, 其中包括已被指认出来的原儿茶酸和咖啡酸, 这些特征峰是导致分类差异的主要因素, 且均为败酱草中所含成分峰, 分析原因可能为败酱草在该方中占比最重, 且成分易被提取检测, 故这些特征峰在评价 YFBP 质量中应重点关注。

3.4 量值传递研究

15 批 YFBP 基准样品的出膏率为 20.06%~33.22%, 平均出膏率为 28.62%, 均在均值的±30%范围内, 未出现离散数据, 表明按“2.1”项下确定的该方制备工艺稳定可行。以基准样品指标性成分

转移率均值的±30%为度量标准, 15 批 YFBP 基准样品中原儿茶酸、绿原酸、咖啡酸、异绿原酸 A、异绿原酸 C、亚油酸的转移率仅少部分批次的转移率未在均值的±30%范围内, 而苯甲酰新乌头原碱的转移率较高且离散程度较大。有研究表明, 附子与败酱草合煎后会导致苯甲酰新乌头原碱的含量降低, 并促进原儿茶酸和绿原酸的溶出^[36], 且在煎煮过程中苯甲酰新乌头原碱与各有机酸之间可能发生反应, 导致不同程度的损失差异。亚油酸的热稳定性相对较差, 在加热条件下, 亚油酸容易发生氧化反应, 随着温度升高和加热时间的延长, 亚油酸会与空气中的氧气发生反应, 产生过氧化物等氧化产物, 从而造成饮片到基准样品的转移率低。进一步分析原因发现, 附子质地较重, 败酱草质地较轻, 两者的质地悬殊可能导致粉碎混合时未能充分混合均匀, 从而导致各批次之间取样不均。在混合后转移进行煎煮的过程中败酱草由于质地轻易产生粉尘飞扬, 从而可能导致合煎过程中单味药材质量不均一, 煎煮时成分溶出不一致而产生差异, 且本实验所购入的 15 批附子饮片颜色形态不一, 推测可能由于地域差异, 其炮制加工过程也存在一定差异, 导致苯甲酰新乌头原碱的转移率差异较大^[37]。后期实验将充分考虑所用饮片的质量稳态性和均一性问题^[38], 从而避免人为失误及偶然误差。

4 结论

经典名方中药复方制剂的研制核心是基准样品的研究和确定, 相关指标包括指纹图谱、出膏率、指标性成分含量及转移率等^[39]。本实验建立了 YFBP 基准样品的 HPLC 指纹图谱及指标性成分定量测定方法, 并结合出膏率及化学模式识别研究, 对 YFBP 从单味药材饮片-基准样品量值传递过程进行分析, 初步建立了该方的基准样品质量评价方法, 填补了该方面的研究空白, 以期为后续经典名方 YFBP 的质量控制及制剂开发研究提供参考依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 李娟, 杨柱, 龙奉玺, 等. 国医大师刘尚义教授薏苡附子败酱散医案举隅 [J]. 成都中医药大学学报, 2017, 40(4): 66-68.
- [2] 刘璟铭, 陆为民. 陆为民运用薏苡附子败酱散经验拾萃 [J]. 世界最新医学信息文摘, 2019, 19(30): 254-255.
- [3] 魏艳婷, 王萌, 李佳佳, 等. 薏苡附子败酱散文献分析与考证 [J]. 中国药业, 2024, 33(16): 254-263.
- [4] 刘婷, 孙月婷, 陆为民. 国医大师徐景藩运用薏苡附子

- 败酱散经验 [J]. 吉林中医药, 2022, 42(7): 774-777.
- [5] 马兴艳, 石慧, 周英, 等. 薏苡附子败酱散化学成分、药理作用和临床应用研究进展及其潜在质量标志物预测分析 [J/OL]. 中华中医药学刊, (2024-06-28) [2024-08-06]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/21.1546.r.20240625.1058.002.html>.
- [6] 沈佳奇, 李志, 周棱波, 等. 薏苡仁油主要成分及其功能性研究进展 [J]. 中国油脂, 2020, 45(8): 90-95.
- [7] 韩珊珊, 路洋, 刘寨东. 薏苡仁化学成分及抗肿瘤作用研究进展 [J]. 中华中医药学刊, 2024, 42(9): 210-219.
- [8] 李宗恒, 张雪芳, 陈延华, 等. 基于 16S RNA 测序分析亚油酸对小鼠肠道菌群的影响 [J]. 安徽医科大学学报, 2024, 59(7): 1116-1122.
- [9] 王菲, 张其锵, 于丹, 等. 参附汤配伍人参对附子中单酯型生物碱类成分药代动力学的影响 [J]. 山东中医药大学学报, 2023, 47(2): 207-213.
- [10] 赵茜茜, 王坤, 卢相琴, 等. 单酯型生物碱类对 CHF 大鼠心肌细胞的保护作用及机制 [J]. 实验动物科学, 2024, 41(3): 1-8.
- [11] 马凤鸣, 于天启. 苯甲酰新乌头原碱对骨髓瘤细胞 RPMI8226 增殖及凋亡的影响 [J]. 暨南大学学报: 自然科学与医学版, 2018, 39(6): 481-487.
- [12] Wu J J, Guo Z Z, Zhu Y F, *et al.* A systematic review of pharmacokinetic studies on herbal drug Fuzi: Implications for Fuzi as personalized medicine [J]. *Phytomedicine*, 2018, 44: 187-203.
- [13] 张祖康, 徐文, 周长凯, 等. LC-MS/MS 法测定大鼠血浆苯甲酰新乌头原碱浓度 [J]. 青岛大学学报: 医学版, 2022, 58(4): 523-528.
- [14] 左慧琳, 李小翠, 区晓君, 等. 多药耐药蛋白 1a 对苯甲酰新乌头原碱的效-毒-体内暴露的调控研究 [J]. 中药新药与临床药理, 2023, 34(7): 959-969.
- [15] 张旋, 俞桂新. 黄花败酱化学成分研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2020, 32(5): 783-791.
- [16] 陈燕, 李旭, 郝迪, 等. 消炎汤调节肠道微生态改善大鼠慢性盆腔炎的研究 [J]. 现代药物与临床, 2020, 35(5): 849-853.
- [17] Loeper N, Graspeuntner S, Rupp J. Microbiota changes impact on sexually transmitted infections and the development of pelvic inflammatory disease [J]. *Microbes Infect*, 2018, 20(9/10): 505-511.
- [18] 覃倩, 李彤, 尤剑鹏, 等. 盆腔炎鼠类模型构建与评价 [J]. 上海交通大学学报: 医学版, 2019, 39(10): 1218-1222.
- [19] Skive B, Rohde M, Molinari G, *et al.* *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus* invades and survives in epithelial cells [J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2017, 7: 465.
- [20] 庄重, 侯文成, 刘伟锐, 等. 中药制剂量值传递研究进展 [J]. 中草药, 2024, 55(18): 6448-6454.
- [21] 王立军, 李运景. 败酱草的本草考证 [J]. 中草药, 2004, 35(6): 101-102.
- [22] 秦金山, 齐亚瑞, 陈文乐, 等. 败酱草多来源品种研究 [J]. 实用中医药杂志, 2017, 33(6): 737-739.
- [23] 李明明, 朱志军, 党晓月, 等. 经典名方温胆汤物质基准量值传递分析 [J]. 中国医院药学杂志, 2022, 42(12): 1225-1231.
- [24] 储烟阁, 匡艳辉, 严曾豪, 等. 经典名方当归四逆汤物质基准指纹图谱及关键质量属性量值传递规律研究 [J]. 中草药, 2023, 54(3): 746-755.
- [25] 邓鑫, 胡久略, 梁健. 临床仲景方剂学 [M]. 北京: 中医古籍出版社, 2012: 516.
- [26] 范吉平, 程先宽. 经方剂量揭秘 [M]. 北京: 中国中医药出版社, 2009: 95.
- [27] 吕志杰. 张仲景方剂学 [M]. 2 版. 北京: 中国医药科技出版社, 2012: 16.
- [28] 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.
- [29] 杨小欣, 张桂芳. 仲景药物学 [M]. 郑州: 河南科学技术出版社, 2015: 27-28.
- [30] 冯世纶, 张长恩主编. 闫志安等编著. 张仲景用方解析 [M]. 北京: 人民军医出版社, 2004: 318-319.
- [31] 高童, 张晓丹, 冯庭辉, 等. 基于多模式识别结合 UPLC 指纹图谱及多指标成分定量测定的薏苡仁质量评价研究 [J]. 中草药, 2024, 55(8): 2755-2763.
- [32] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 393.
- [33] 姚令文, 刘燕, 郑笑为, 等. 指纹图谱、特征图谱技术在中药材和中成药中的应用 [J]. 中国新药杂志, 2018, 27(8): 934-939.
- [34] 陈静. 新型指纹图谱技术在中药分析中的应用进展 [J]. 黑龙江科学, 2021, 12(6): 38-39.
- [35] 李杰, 杨育儒, 祝珊珊, 等. 基于 UPLC 指纹图谱及化学识别模式的防暑清热饮质量评价 [J]. 中国药师, 2023, 26(11): 204-212.
- [36] 周政, 刘丽萍, 刘海涛, 等. 附子与败酱草配伍药效成分变化规律研究 [J]. 中药新药与临床药理, 2016, 27(5): 697-701.
- [37] 屈凌芸, 薛蓉, 宫静雯, 等. 指纹图谱结合网络药理学及分子对接的黑顺片质量标志物预测 [J]. 世界中医药, 2023, 18(19): 2719-2726.
- [38] 庄重, 侯文成, 刘伟锐, 等. 中药制剂量值传递研究进展 [J]. 中草药, 2024, 55(18): 6448-6454.
- [39] 孙新茹, 邓秀平, 彭辉, 等. 经典名方物质基准的质量相关性研究进展 [J]. 天津中医药大学学报, 2022, 41(5): 653-660.

[责任编辑 郑礼胜]