

基于一测多评及基准关联度研究经典名方旋覆代赭汤中酚酸类成分量值传递规律及影响因素

汪 怡¹, 徐倩菲³, 陆杰霖¹, 张泽鹏¹, 李青松^{1*}, 刘 菊^{2*}

1. 昆山市中医医院 制剂生产与研究中心, 江苏 昆山 215300

2. 昆山市中医医院 科技处, 江苏 昆山 215300

3. 昆山市中医医院 中医指导处, 江苏 昆山 215300

摘要: 目的 建立旋覆代赭汤(Xuanfu Daizhe Decoction, XDD)中9种酚酸类成分一测多评(quantitative analysis of multi-components by single marker, QAMS)定量测定方法, 研究酚酸类成分的传递规律, 结合基准关联度, 分析配伍的影响, 并探究“去渣再煎”的影响。方法 制备15批XDD基准样品, 以绿原酸为内标物, 确定其他8种成分的相对校正因子($f_{s/i}$)并计算含量, 同时采用外标法测定, 比较两者结果差异, 计算饮片-水煎液-基准样品的转移率, 分析传递规律; 制备不同配伍样品, 以9种酚酸类成分转移率和指纹图谱相似度为评价指标, 计算基准关联度; 制备不同煎煮条件样品, 检测9种酚酸类成分的转移率。结果 QAMS法定量测定结果与外标法无显著差异。新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、咖啡酸、1,3-二咖啡酰奎宁酸、异绿原酸B、异绿原酸A、1,5-二咖啡酰奎宁酸、异绿原酸C的平均转移率分别为147.34%、42.60%、321.53%、131.49%、419.76%、172.93%、18.47%、25.06%、74.68%, 酚酸类成分发生降解与异构化可能是部分成分转移率大于100%的主要原因; 配伍、煎煮时间、浓缩对9种酚酸类成分的传递均有影响, 其中旋覆花与半夏配伍后各指标成分和指纹图谱相似度的基准关联度均大于90%, 而“去渣再煎”可以进一步促进酚酸类成分的降解与异构化。结论 建立的QAMS法方便、稳定, 初步明确从饮片到XDD基准样品中酚酸类有效成分群之间的变化、量值传递规律和可能的影响因素, 为XDD的质量控制和制剂开发提供科学依据。

关键词: 旋覆代赭汤; 经典名方; 基准样品; 一测多评; 基准关联度; 酚酸类成分; 量值传递; 影响因素; 新绿原酸; 绿原酸; 隐绿原酸; 咖啡酸; 1,3-二咖啡酰奎宁酸; 异绿原酸B; 异绿原酸A; 1,5-二咖啡酰奎宁酸; 异绿原酸C

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2025)05-1596-11

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.05.011

Quantity transfer law and influencing factors of phenolic acids in classical prescription Xuanfu Daizhe Decoction based on QAMS and standard relation

WANG Yi¹, XU Qianfei³, LU Jielin¹, ZHANG Zepeng¹, LI Qingsong¹, LIU Ju²

1. Preparation Production and Research Center, Kunshan Hospital of Traditional Chinese Medicine, Kunshan 215300, China

2. Science and Technology Department, Kunshan Hospital of Traditional Chinese Medicine, Kunshan 215300, China

3. Guidance Office of Traditional Chinese Medicine, Kunshan Hospital of Traditional Chinese Medicine, Kunshan 215300, China

Abstract: Objective To establish QAMS for the determination of nine phenolic acids in Xuanfu Daizhe Decoction (XDD, 旋覆代赭汤), study the transfer rule of phenolic acids, analyze the influence of compatibility combined with the standard relation, and explore the influence of “remove the residue and concentrate again”. **Methods** A total of 15 batches of XDD samples were prepared, chlorogenic acid was used as the internal standard, the relative correction factor ($f_{s/i}$) of other eight components were determined and the content was calculated, and the external standard method was used to determine the difference between the two results, and the transfer rate of decoction slices, water decoction and reference sample was calculated and the transfer law was analyzed. Different

收稿日期: 2024-09-19

基金项目: 江苏省自然科学基金青年项目(BK20180265); 江苏省中药骨干人才高级研修项目; 江苏省中医药科技发展计划项目(QN202420); 苏州科技计划项目(SKY2022076); 苏州市应用基础研究科技创新项目(SYWD2024261); 昆山市社会发展项目(KS2234, KS2327)

作者简介: 汪 怡(1981—), 女, 主任中药师, 研究方向为中药复方及医院制剂基础研究。E-mail: yitcm@163.com

*通信作者: 刘 菊, 女, 副主任中医师, 硕士生导师, 研究方向为中医药治疗胃食管反流病的临床及基础研究。E-mail: liujupopo@126.com
李青松, 男, 主任中药师, 研究方向为医院制剂生产与开发。E-mail: liqingsong@126.com

compatible samples were prepared, the transfer rate of nine phenolic acids and the similarity of fingerprint were used as evaluation indexes, and the standard relation was calculated. The transfer rates of nine phenolic acids were determined by preparing samples under different cooking conditions. **Results** There was no significant difference between QAMS method and external standard method. The average transfer rates of neochlorogenic acid, chlorogenic acid, cryptochlorogenic acid, caffeic acid, 1,3-dicaffeoyl quinic acid, isochlorogenic acid B, isochlorogenic acid A, 1,5-dicaffeoyl quinic acid and isochlorogenic acid C were 147.34%, 42.60%, 321.53%, 131.49%, 419.76%, 172.93%, 18.47%, 25.06% and 74.68%, respectively. The degradation and isomerization of phenolic acids may be the main reason that the transfer rate of some components is greater than 100%. Compatibility, decocting time and concentration all had effects on the transfer of nine phenolic acids. The standard relation of each index component and fingerprint similarity between convulsion flower and pinellia were all greater than 90%, and “de-slugging and re-decocting” could further promote the degradation and isomerization of phenolic acids. **Conclusion** The established QAMS method is convenient and stable, and the changes of phenolic acid active component groups from XDD from decoction pieces to reference samples, the transfer rule of quantity value and possible influencing factors are preliminarily identified, which provides a scientific basis for the quality control and preparation development of XDD.

Key words: Xuanfu Daizhe Decoction; classic famous prescription; reference sample; QAMS; standard relation; phenolic acids; quantity value transfer; influencing factors; neochlorogenic acid; chlorogenic acid; cryptochlorogenic acid; caffeic acid; 1,3-dicaffeoyl quinic acid; isochlorogenic acid B; isochlorogenic acid A; 1,5-dicaffeoyl quinic acid; isochlorogenic acid C

旋覆代赭汤 (Xuanfu Daizhe Decoction, XDD) 出自张仲景《伤寒论》，2018 年被收录入《古代经典名方目录 (第一批)》^[1]，全方由旋覆花、赭石、半夏、生姜、人参、甘草、大枣 7 味中药组成，具有益气补虚、和胃降逆的功效，治疗胃虚气逆痰阻之“心下痞”的代表方。现代研究表明，XDD 具有抗炎、促胃动力、镇吐等药理作用，临床广泛用于治疗反流性食管炎、顽固性呃逆、胆汁反流性胃炎等，且疗效显著^[2-3]。

旋覆花是 XDD 的君药，为菊科旋覆花属植物旋覆花 *Inula japonica* Thunb. 或欧亚旋覆花 *I. britannica* L. 的干燥头状花序，含有酚酸类、黄酮类、倍半萜类等活性成分^[4]，前期实验和文献研究证实 XDD 煎液中含有多种酚酸类成分，且主要来源于旋覆花^[5-7]，酚酸类成分具有抗氧化、抗菌消炎、抗肿瘤等多种明确的生物活性^[8]，是 XDD 主要的有效成分群之一。前期本课题组利用外标法进行多成分定量测定^[5,9]，需要多个对照品，价格昂贵，操作复杂。一测多评法 (quantitative analysis of multi-components by single marker, QAMS) 是用其中某一价廉易得成分作为内标物，计算出其他指标成分的相对校正因子 ($f_{s/i}$)，再利用 $f_{s/i}$ 对多个成分进行定量分析，具有节省成本、操作简单的优点^[10-11]。

同时，目前关于 XDD 的临床研究和机制研究较多，关于质量控制的报道较少，特别对于关键质量属性的量值传递未见有文献报道。为推进 XDD 的质量评价控制研究，本实验制备 15 批 XDD 基准样品，以绿原酸为内标物，建立 9 种酚酸类成分 QAMS

定量测定方法，对 9 种酚酸类成分从饮片到 XDD 基准样品的量值传递规律进行研究，并引入基准关联度 (standard relation, SR)^[12]来评价旋覆花与不同饮片配伍时，与 XDD 基准样品质量的一致性，探索配伍对 9 种酚酸类分量值传递的影响，同时还考察了煎煮时间、浓缩等条件的影响，从而明确 XDD 中酚酸类有效成分群内部的变化、量值传递的规律及影响因素，为以后开发 XDD 制剂，保证制剂与基准样品的质量一致性提供实验数据。

1 仪器与材料

1.1 仪器

Acquity UPLC H-Class 型超高效液相色谱仪，PDA 检测器，沃特世科技(上海)有限公司；BT 25S 型电子天平，十万分之一，德国赛多利斯科学仪器公司；TGL-16G 型台式高速离心机，上海安亭科学仪器厂；KQ2200E 型超声波清洗器，昆山市超声仪器有限公司；JYH-D30R1 型煎药壶，小熊电器公司；Milli-Q 型超纯水仪，美国默克公司。

1.2 试药

对照品新绿原酸 (批号 MUST-23120510，质量分数 99.99%)、绿原酸 (批号 MUST-22070918，质量分数 99.40%)、隐绿原酸 (批号 MUST-22082601，质量分数 99.88%)、咖啡酸 (批号 MUST-22062118，质量分数 99.82%)、1,3-二咖啡酰奎宁酸 (批号 MUST-23010807，质量分数 98.71%)、1,5-二咖啡酰奎宁酸 (批号 MUST-22072012，质量分数 99.46%)、异绿原酸 A (批号 MUST-21102611，质量分数 98.46%)、异绿原酸 B (批号 MUST-22010705，质

量分数 98.27%)、异绿原酸 C (批号 MUST-22081001, 质量分数 99.77%), 均购自成都曼斯特生物科技有限公司; 甲醇、乙腈, 色谱纯, 美国默克公司; 磷酸, 色谱纯, 阿拉丁试剂有限公司; 水为超纯水, 由 Milli-Q 型超纯水仪制得。

1.3 饮片

不同产地及批次饮片(表 1)经昆山市中医医院药学部李青松主任中药师鉴定, 旋覆花为菊科旋覆花属植物旋覆花 *I. japonica* Thunb. 的干燥头状花序, 生姜为姜科姜属植物姜 *Zingiber officinale* Rosc. 的新鲜根茎, 赭石为氧化物类矿物刚玉族赤铁矿(主含 Fe_2O_3), 半夏为天南星科半夏属植物半夏 *Pinellia ternata* (Thunb.) Breit. 的干燥块茎, 甘草为豆科甘草属植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. 的干燥根和根茎, 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, 以上饮片均符合《中国药典》2020 年版项下相关规定。

2 方法与结果

2.1 样品的制备

2.1.1 15 批 XDD 基准样品的制备 《伤寒论》中

表 1 饮片来源信息

Table 1 Source information of decoction pieces

饮片	产地	批号	供应商
旋覆花	江苏	231221、230314	苏州市天灵中药饮片有限公司
	安徽	240101	洪雅县瓦屋山药业有限公司
	河南	231260911	康美药业股份有限公司
	江西	2209003	江西樟树天齐堂中药饮片有限公司
赭石	四川	220723	苏州市天灵中药饮片有限公司
	河北	240102201	康美药业股份有限公司
	山西	240301	洪雅县瓦屋山药业有限公司
生姜	苏州	240515	盒马昆山昆城广场店
	河南	240522	怀府缘食品旗舰店
	云南	240521	罗平小黄姜老姜店
清半夏	湖北	231226	苏州市天灵中药饮片有限公司
	贵州	240219	苏州市博源药业有限公司
	山西	230701	湖南省松龄堂中药饮片有限公司
人参	吉林	231209	苏州市天灵中药饮片有限公司
	吉林	240401	洪雅县瓦屋山药业有限公司
	吉林	2310003	亳州市京皖中药饮片厂
大枣	山东	240111	苏州市天灵中药饮片有限公司
	新疆	2312045	四川新荷花中药饮片股份有限公司
炙甘草	山东	20220117	铜陵禾田中药饮片有限公司
	内蒙	240130	苏州市天灵中药饮片有限公司
	新疆	240402	洪雅县瓦屋山药业有限公司
	甘肃	240200051	康美药业股份有限公司

XDD 原文为“旋覆花三两, 人参二两, 生姜五两, 代赭一两, 甘草三两(炙), 半夏半升(洗), 大枣十二枚(擘), 上七味, 以水一斗, 煮取六升, 去滓, 再煎取三升, 温服一升, 日三服。”根据《古代经典名方关键信息表》^[13]中折算剂量和用法用量换算, 拟定 XDD 标准汤剂的制备方法。

称取旋覆花 20.7 g、赭石 6.9 g、生姜 34.5 g、清半夏 17.3 g、人参 13.8 g、大枣 18.0 g、炙甘草 20.7 g, 加水 1 000 mL, 浸泡 30 min, 武火(500 W, 20 min)煮沸后转文火 30 min, 120 目滤网趁热滤过, 得滤液约 600 mL, 再浓缩至适量, 放至室温后调整体积到 300 mL, 即得 XDD 基准样品。通过随机数表法对表 1 中各批次饮片进行随机组合(表 2), 制得 15 批 XDD 基准样品。同法制得旋覆花单味饮片水煎液和缺旋覆花的阴性样品水煎液。

2.1.2 XDD 不同配伍样品的制备 按表 3 称取与 S11 基准样品同一批次各饮片, 按“2.1.1”项下“加水 1 000 mL”起, 同法制备 XDD 不同配伍样品。

2.1.3 XDD 不同煎煮条件样品的制备 按“2.1.1”

表 2 XDD 饮片随机组合信息

Table 2 Random combinations of XDD decoction pieces

编号	饮片批号						
	旋覆花	赭石	生姜	清半夏	人参	大枣	炙甘草
S1	230314	240102201	240522	240219	2310003	240111	240130
S2	231260911	240102201	240522	230701	240401	20220117	240200051
S3	2209003	220723	240521	240219	231209	2312045	240130
S4	2209003	240301	240515	231226	240401	240111	240130
S5	231260911	240301	240515	231226	231209	240111	240130
S6	230314	240102201	240521	230701	2310003	20220117	240402
S7	231221	240301	240521	240219	231209	2312045	240200051
S8	231221	220723	240521	230701	240401	240111	240402
S9	240101	240102201	240515	231226	231209	20220117	240402
S10	230314	220723	240521	230701	2310003	2312045	240402
S11	231221	220723	240515	231226	231209	240111	240130
S12	2209003	220723	240522	230701	2310003	2312045	240200051
S13	240101	240301	240515	240219	240401	20220117	240200051
S14	240101	240301	240522	231226	240401	20220117	240200051
S15	231260911	240102201	240522	240219	2310003	2312045	240402

表 3 XDD 不同配伍组合

Table 3 XDD different compatibility combinations

组别	配伍饮片剂量	组别	配伍饮片剂量
旋覆花+赭石	20.7 g+6.9 g	旋覆花+人参	20.7 g+13.8 g
旋覆花+生姜	20.7 g+34.5 g	旋覆花+大枣	20.7 g+18.0 g
旋覆花+清半夏	20.7 g+17.3 g	旋覆花+炙甘草	20.7 g+20.7 g

项下处方称取与 S11 基准样品同一批次各饮片，分别加水 1 000 mL，浸泡 30 min 后，按以下条件煎煮与浓缩。

条件 1：武火（500 W、20 min）煮沸后，120 目滤网趁热滤过，放至室温后调整体积为 800 mL，量取 400 mL 浓缩至 150 mL，为浓缩样品，另外 400 mL 作为未浓缩样品。

条件 2：武火（500 W、20 min）煮沸后文火 30 min，120 目滤网趁热滤过，放至室温后调整体积为 600 mL，量取 300 mL 浓缩至 150 mL，为浓缩样品，另外 300 mL 作为未浓缩样品。

条件 3：武火（500 W、20 min）煮沸后文火 60 min，其余同条件 2。

2.2 色谱条件

色谱柱为 Waters UPLC BEH C₁₈ 柱（150 mm×2.1 mm，1.7 μm）；流动相为乙腈-甲醇-0.1%磷酸水溶液，梯度洗脱：0~10 min，5%~12%乙腈，5%~8%甲醇；10~30 min，12%乙腈，8%甲醇；30~55 min，12%乙腈，8%~20%甲醇；55~60 min，12%~15%乙腈，20%~25%甲醇；体积流量 0.1 mL/min；柱温 40 °C；进样体积 1.0 μL；检测波长 327 nm。

2.3 定量测定方法的建立

2.3.1 基准样品供试品溶液及阴性样品供试品溶液的制备 精密吸取基准样品（S1~S15）5 mL，置具塞锥形瓶中，精密加入甲醇 5 mL，称定质量，超声处理（功率 250 W、频率 40 kHz）30 min，放至室温，用 50%甲醇补足缺失的质量，摇匀，10 000 r/min 离心（离心半径 6 cm）10 min，上清液滤过，取续滤液，即得 XDD 基准样品供试品溶液。

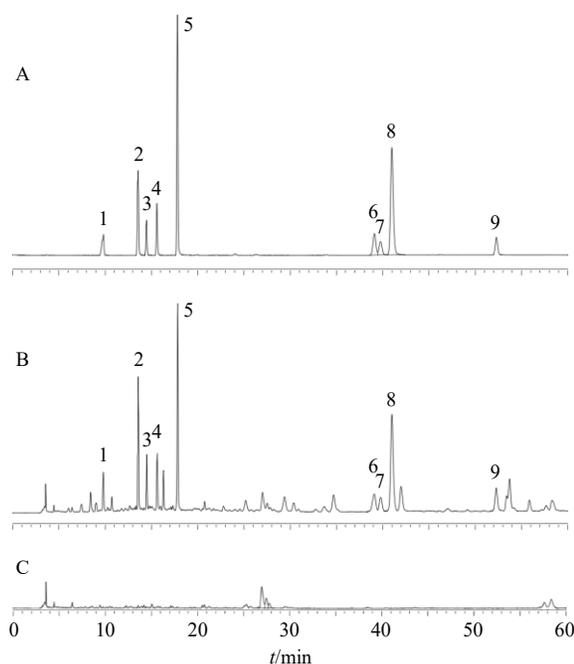
取缺旋覆花阴性水煎液，同法制得阴性样品供试品溶液。

2.3.2 混合对照品溶液的制备 分别取新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、咖啡酸、1,3-二咖啡酰奎宁酸、异绿原酸 B、异绿原酸 A、1,5-二咖啡酰奎宁酸、异绿原酸 C 对照品适量，精密称定，加甲醇配制成质量浓度分别为 76.80、182.40、66.00、61.40、416.00、98.80、57.20、421.00、66.60 μg/mL 的混合对照品溶液。

2.3.3 饮片供试品溶液的制备 取旋覆花粉末（过一号筛）约 0.5 g，精密称定，置具塞锥形瓶中，精密加入 50%甲醇 50 mL，称定质量，超声处理（功率 250 W、频率 40 kHz）30 min，放至室温，用 50%甲醇补足缺失的质量，摇匀，10 000 r/min 离心 10

min，上清液滤过，取续滤液，即得饮片供试品溶液。

2.3.4 专属性考察 分别精密吸取“2.3.1”项及“2.3.2”项下制备的混合对照品溶液、基准样品供试品溶液及阴性样品供试品溶液，按“2.2”项下色谱条件进样测定，记录色谱图，结果如图 1 所示。各指标成分色谱峰与其相邻色谱峰之间的分离度良好，阴性样品供试品溶液色谱图在待测成分出峰位置无干扰，表明该方法下各指标成分专属性良好。



1-新绿原酸；2-绿原酸；3-隐绿原酸；4-咖啡酸；5-1,3-二咖啡酰奎宁酸；6-异绿原酸 B；7-异绿原酸 A；8-1,5-二咖啡酰奎宁酸；9-异绿原酸 C。

1-neochlorogenic acid; 2-chlorogenic acid; 3-cryptochlorogenic acid; 4-caffeic acid; 5-1,3-dicaffeoylquinic acid; 6-isochlorogenic acid B; 7-isochlorogenic acid A; 8-1,5-dicaffeoylquinic acid; 9-isochlorogenic acid C.

图 1 混合对照品 (A)、XDD 基准样品 (B) 和阴性样品 (C) 的 UPLC 图

Fig. 1 UPLC of mixed reference substances (A), XDD benchmark sample (B) and negative sample (C)

2.3.5 线性关系考察 取不同质量浓度的混合对照品溶液，按照“2.2”项下色谱条件进样测定，以对照品质量浓度为横坐标(X)，峰面积为纵坐标(Y)绘制标准曲线并计算线性回归方程和相关系数，得回归方程分别为新绿原酸 $Y=25\ 706.98X+5\ 982.13$ ， $r=0.999\ 984$ ，线性范围 3.84~61.44 μg/mL；绿原酸 $Y=28\ 512.90X-755.29$ ， $r=0.999\ 995$ ，线性范围 9.12~145.92 μg/mL；隐绿原酸 $Y=29\ 617.40X-2\ 167.46$ ， $r=0.999\ 998$ ，线性范围 3.30~52.80 μg/mL；咖啡酸 $Y=47\ 127.59X-2\ 341.12$ ， $r=0.999\ 993$ ，

线性范围 3.07~49.12 μg/mL; 1,3-二咖啡酰奎宁酸 $Y=33\ 746.30 X+679.54$, $r=0.999\ 995$, 线性范围 20.80~332.80 μg/mL; 异绿原酸 B $Y=30\ 628.77 X-2\ 329.92$, $r=0.999\ 994$, 线性范围 4.94~79.04 μg/mL; 异绿原酸 A $Y=34\ 394.06 X-6\ 854.00$, $r=0.999\ 959$, 线性范围 2.86~45.76 μg/mL; 1,5-二咖啡酰奎宁酸 $Y=35\ 978.71 X-37\ 279.29$, $r=0.999\ 976$, 线性范围 21.05~336.80 μg/mL; 异绿原酸 C $Y=32\ 595.85 X-9\ 150.88$, $r=0.999\ 992$, 线性范围 3.33~53.28 μg/mL; 结果表明, 新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、咖啡酸、1,3-二咖啡酰奎宁酸、异绿原酸 B、异绿原酸 A、1,5-二咖啡酰奎宁酸、异绿原酸 C 在各自线性范围内线性关系良好。

2.3.6 精密度试验 取同一供试品溶液 (S7), 按“2.2”项下色谱条件, 连续进样 6 次, 记录新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、咖啡酸、1,3-二咖啡酰奎宁酸、异绿原酸 B、异绿原酸 A、1,5-二咖啡酰奎宁酸、异绿原酸 C 的峰面积, 计算其 RSD 分别为 1.30%、0.73%、1.32%、1.25%、1.15%、0.59%、0.76%、0.57%、1.54%, 结果表明该仪器精密度良好。

2.3.7 稳定性试验 取同一供试品溶液 (S7), 按“2.2”项下色谱条件, 于制备后 0、3、6、9、12、24 h 分别进样测定, 记录新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、咖啡酸、1,3-二咖啡酰奎宁酸、异绿原酸 B、异绿原酸 A、1,5-二咖啡酰奎宁酸、异绿原酸 C 的峰面积, 计算其 RSD 分别为 1.25%、0.68%、1.20%、1.14%、1.12%、0.61%、0.73%、0.57%、1.17%, 结果表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.3.8 重复性试验 取同一 XDD 基准样品 (S7), 按“2.3.1”项下方法制备 6 份供试品溶液, 按“2.2”项下色谱条件进样测定, 记录新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、咖啡酸、1,3-二咖啡酰奎宁酸、异绿原酸

B、异绿原酸 A、1,5-二咖啡酰奎宁酸、异绿原酸 C 的峰面积, 计算其质量分数的 RSD 分别为 0.67%、0.81%、0.73%、0.76%、0.77%、0.95%、0.97%、0.98%、1.27%, 结果表明该方法重复性良好。

2.3.9 加样回收率试验 取已测定指标成分含量的同一 XDD 基准样品 (S7) 共 6 份, 每份 2.5 mL, 分别加入与供试品溶液中相应成分含量约 1:1 的对照品溶液, 按“2.3.1”项下方法制备供试品溶液, 按“2.2”项下色谱条件进样测定, 记录各指标成分峰面积, 计算各成分的加样回收率及其 RSD 值, 结果新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、咖啡酸、1,3-二咖啡酰奎宁酸、异绿原酸 B、异绿原酸 A、1,5-二咖啡酰奎宁酸、异绿原酸 C 的平均加样回收率分别为 101.37%、97.05%、96.46%、99.63%、103.52%、101.11%、101.90%、103.14%、98.7%, 均在 95%~105%, RSD 分别为 1.44%、1.28%、1.41%、1.19%、0.74%、0.77%、0.69%、0.74%、1.26%, 结果表明该方法准确度良好。

2.4 QAMS 定量测定方法的建立

2.4.1 $f_{s/i}$ 的测定 取“2.3.2”项下混合对照品溶液, 按“2.2”项下色谱条件分别进样 0.7、0.8、0.9、1.0、1.1、1.2 μL 进行测定, 以绿原酸为内标物 (s), 分别计算新绿原酸、隐绿原酸、咖啡酸、1,3-二咖啡酰奎宁酸、异绿原酸 B、异绿原酸 A、1,5-二咖啡酰奎宁酸、异绿原酸 C 的 $f_{s/i}$ 和 RSD, 结果见表 4, 计算公式为 $f_{s/i}=f_s/f_i=A_s C_i/A_i C_s$, A_s 为内标物绿原酸的峰面积, C_s 为内标物绿原酸的质量浓度, A_i 为待测成分的峰面积, C_i 为待测成分的质量浓度。

2.4.2 $f_{s/i}$ 的耐用性考察 分别考察不同体积流量 (0.08、0.10、0.12 mL/min)、不同柱温 (38、40、42 °C)、不同色谱柱 (Waters UPLC BEH C₁₈、Capcell Pak C₁₈) 对 $f_{s/i}$ 的影响, 并计算 RSD, 结果见表 5,

表 4 各指标成分 $f_{s/i}$ 计算结果

Table 4 $f_{s/i}$ values of index component content

进样体积/μL	$f_{\text{绿原酸/新绿原酸}}$	$f_{\text{绿原酸/隐绿原酸}}$	$f_{\text{绿原酸/咖啡酸}}$	$f_{\text{绿原酸/1,3-二咖啡酰奎宁酸}}$	$f_{\text{绿原酸/异绿原酸B}}$	$f_{\text{绿原酸/异绿原酸A}}$	$f_{\text{绿原酸/1,5-二咖啡酰奎宁酸}}$	$f_{\text{绿原酸/异绿原酸C}}$
0.7	1.135 5	0.973 9	0.610 7	0.843 4	0.933 5	0.844 2	0.801 4	0.882 5
0.8	1.107 4	0.971 9	0.607 1	0.841 8	0.935 0	0.841 5	0.801 2	0.897 3
0.9	1.090 2	0.970 8	0.606 5	0.842 4	0.934 9	0.841 5	0.802 2	0.900 5
1.0	1.097 5	0.962 6	0.606 6	0.843 6	0.935 8	0.844 2	0.802 1	0.893 0
1.1	1.099 3	0.969 2	0.606 0	0.841 8	0.931 9	0.843 5	0.800 9	0.896 5
1.2	1.095 0	0.961 2	0.606 3	0.842 5	0.931 6	0.845 9	0.801 4	0.897 0
平均值	1.104 1	0.968 3	0.607 2	0.842 6	0.933 8	0.843 5	0.801 5	0.894 5
RSD/%	1.48	0.53	0.29	0.09	0.19	0.20	0.07	0.71

表5 $f_{s/i}$ 的耐用性考察
Table 5 Durability of $f_{s/i}$

考察项目	考察条件	$f_{\text{绿原酸/新绿原酸}}$	$f_{\text{绿原酸/隐绿原酸}}$	$f_{\text{绿原酸/咖啡酸}}$	$f_{\text{绿原酸/1,3-二咖啡酰奎宁酸}}$	$f_{\text{绿原酸/异绿原酸B}}$	$f_{\text{绿原酸/异绿原酸A}}$	$f_{\text{绿原酸/1,5-二咖啡酰奎宁酸}}$	$f_{\text{绿原酸/异绿原酸C}}$
体积流量/ (mL·min ⁻¹)	0.08	1.081 9	0.967 3	0.605 6	0.841 9	0.942 5	0.877 9	0.806 2	0.889 1
	0.10	1.088 9	0.962 5	0.606 8	0.843 1	0.951 7	0.868 7	0.804 5	0.889 3
	0.12	1.092 4	0.946 3	0.608 1	0.839 0	0.940 8	0.869 0	0.798 0	0.902 2
柱温/°C	38	1.107 9	0.960 5	0.605 8	0.843 9	0.937 8	0.844 2	0.805 3	0.912 5
	40	1.088 9	0.962 5	0.606 8	0.843 1	0.951 7	0.868 7	0.804 5	0.889 3
	42	1.081 8	0.969 6	0.608 8	0.842 4	0.935 0	0.842 8	0.803 2	0.913 6
色谱柱	Waters BEH	1.098 5	0.976 5	0.605 0	0.833 2	0.944 6	0.868 3	0.815 7	0.910 6
	Capcell Pak	1.127 0	0.916 7	0.571 8	0.796 4	1.013 0	0.822 9	0.758 5	0.923 9
RSD/%		1.39	1.96	2.06	1.93	2.65	2.21	2.16	1.48

结果表明不同体积流量、不同柱温对各成分 $f_{s/i}$ 无显著影响。

2.5 QAMS 和外标法测定 15 批 XDD 基准样品的比较

取“2.1.1”项下 15 批 XDD 基准样品,按“2.3.1”项下方法制备供试品溶液,按“2.2”项下色谱条件进样测定,记录峰面积,采用 QAMS 和外标法计算各指标成分的质量浓度,并计算相对误差(RE),结果见表 6,2 种方法所得结果无显著性差异,RE 值均小于 3%,表明所建立的 QAMS 准确性较高,可用于 XDD 基准样品中多指标成分的定量测定。

2.6 XDD 基准样品中酚酸类成分量值传递规律研究

取“2.1.1”项下旋覆花单味饮片水煎液,按“2.3.1”项下方法制备供试品溶液,并取“2.3.3”项

下饮片供试品溶液,按“2.2”项下色谱条件进样测定,记录峰面积,计算各指标成分的含量,结合“2.5”项下 XDD 基准样品中各指标成分的含量,计算饮片-单味饮片水煎液转移率(转移率 1)、饮片-XDD 基准样品转移率(转移率 2),结果见表 7。

$$\text{转移率 1} = w_{\#}/W$$

$$\text{转移率 2} = w_{\#}/W$$

$w_{\#}$ 为饮片水煎液中指标成分的含量, $w_{\#}$ 为 XDD 基准样品中指标成分的含量, W 为对应批次饮片中指标成分的含量

2.7 XDD 基准样品出膏率测定

参照《中国药典》2020 版四部通则 2201 浸出物测定法中“热浸法”,精密量取“2.1.1”项下 15 批 XDD 基准样品 25 mL,置已干燥至恒定质量的蒸发皿中,在水浴上蒸干后,于 105 °C 干燥 3 h,置干燥

表 6 QAMS 和外标法测定 XDD 基准样品中 9 种酚酸类成分含量

Table 6 Determination of nine phenolic acids in XDD benchmark samples by QAMS and external standard method

基准 样品	新绿原酸/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)			隐绿原酸/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)			咖啡酸/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)			1,3-二咖啡酰奎宁酸/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)			绿原酸/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	
	外标法	QAMS	RE/%	外标法	QAMS	RE/%	外标法	QAMS	RE/%	外标法	QAMS	RE/%	外标法	QAMS
S1	27.79	28.14	-1.27	29.19	29.23	-0.14	23.76	23.76	0.00	100.24	100.06	0.18	90.31	
S2	26.38	26.74	-1.36	29.26	29.30	-0.14	29.02	29.04	-0.08	106.38	106.19	0.18	89.99	
S3	22.07	22.44	-1.71	24.97	24.99	-0.06	24.88	24.89	-0.02	86.48	86.34	0.16	82.23	
S4	27.86	28.22	-1.27	28.33	28.37	-0.12	25.86	25.87	-0.04	109.64	109.45	0.17	83.76	
S5	34.25	34.58	-0.97	32.23	32.29	-0.19	29.31	29.34	-0.09	145.88	145.62	0.18	76.54	
S6	33.71	34.04	-0.97	34.88	34.95	-0.21	27.19	27.21	-0.04	109.99	109.79	0.19	109.64	
S7	29.01	29.36	-1.21	29.79	29.83	-0.15	25.73	25.74	-0.04	99.09	98.92	0.17	82.41	
S8	30.62	30.97	-1.12	30.33	30.38	-0.16	25.52	25.53	-0.03	107.72	107.54	0.17	82.75	
S9	21.96	22.34	-1.73	22.49	22.49	0.00	20.44	20.43	0.05	92.59	92.45	0.15	68.76	
S10	31.69	32.03	-1.06	32.88	32.94	-0.19	27.22	27.23	-0.05	109.51	109.31	0.18	99.13	
S11	24.00	24.37	-1.54	35.22	35.30	-0.23	27.22	27.24	-0.06	76.89	76.77	0.15	78.42	
S12	28.27	28.62	-1.24	29.96	30.00	-0.15	27.33	27.34	-0.05	112.80	112.59	0.18	92.04	
S13	20.54	20.92	-1.87	22.38	22.38	0.01	21.44	21.44	0.04	88.51	88.37	0.16	77.45	
S14	25.18	25.55	-1.46	25.25	25.27	-0.07	21.32	21.31	0.03	112.17	111.98	0.16	71.31	
S15	28.40	28.75	-1.25	28.71	28.75	-0.14	28.55	28.57	-0.08	120.34	120.13	0.17	77.10	

表 6 (续)

基准 样品	异绿原酸B/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)			异绿原酸A/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)			1,5-二咖啡酰奎宁酸/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)			异绿原酸C/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)		
	外标法	QAMS	RE/%	外标法	QAMS	RE/%	外标法	QAMS	RE/%	外标法	QAMS	RE/%
S1	40.02	40.01	0.01	29.71	29.84	-0.44	204.05	204.40	-0.17	43.49	43.93	-1.00
S2	33.30	33.27	0.09	23.09	23.10	-0.05	221.89	222.45	-0.25	32.89	33.08	-0.57
S3	28.84	28.79	0.16	19.12	19.06	0.31	176.73	176.76	-0.02	27.60	27.67	-0.24
S4	32.23	32.19	0.10	19.49	19.43	0.27	170.10	170.04	0.03	29.71	29.82	-0.39
S5	39.78	39.78	0.00	23.94	23.97	-0.12	161.73	161.59	0.09	34.33	34.56	-0.66
S6	44.75	44.76	-0.02	32.90	33.09	-0.56	228.50	229.11	-0.27	46.53	47.03	-1.07
S7	35.39	35.37	0.06	22.04	22.03	0.03	156.52	156.30	0.14	33.04	33.24	-0.59
S8	34.60	34.58	0.07	21.20	21.18	0.10	163.62	163.49	0.08	31.81	31.98	-0.52
S9	33.12	33.10	0.07	18.92	18.86	0.32	164.58	164.49	0.06	30.24	30.37	-0.44
S10	40.89	40.89	0.01	29.05	29.17	-0.41	213.55	214.00	-0.21	41.72	42.11	-0.94
S11	42.68	42.69	-0.02	25.88	25.94	-0.25	139.09	138.67	0.30	39.49	39.83	-0.87
S12	35.84	35.82	0.06	21.82	21.81	0.05	193.93	194.15	-0.11	33.79	34.00	-0.62
S13	34.09	34.07	0.07	20.07	20.03	0.20	200.60	200.92	-0.16	30.74	30.88	-0.46
S14	34.32	34.30	0.06	19.04	18.98	0.31	169.46	169.41	0.03	29.31	29.42	-0.37
S15	34.35	34.33	0.07	22.83	22.84	-0.04	182.65	182.75	-0.06	31.66	31.83	-0.51

器中冷却 20 min, 迅速精密称定质量, 计算出膏率, 结果见表 7。15 批 XDD 基准样品出膏率为 12.09%~14.22%, 平均出膏率为 13.06%, RSD 为 5.29%。

2.8 XDD 不同配伍对转移率的影响

2.8.1 XDD 不同配伍样品的测定 取“2.1.2”项下不同配伍条件下制备的 XDD 样品, 按“2.3.1”项下方法制备供试品溶液, 按“2.2”项下色谱条件进

样测定, 记录峰面积, 采用 QAMS 法计算各指标成分的含量, 根据所用饮片产地批次计算转移率; 并将色谱结果以 cdf. 的格式导入《中药色谱指纹图谱相似度评价系统 (2012 版)》, 以同产地批次 XDD 基准样品的指纹图谱为参照图谱, 时间窗宽度为 0.1 s, 进行全谱峰匹配, 计算相似度, 结果见表 8。

2.8.2 基准关联度的计算 基准关联度是评价某样

表 7 XDD 饮片-水煎液-基准样品中 9 种酚酸类成分转移率

Table 7 Transfer rate of nine phenolic acids in XDD piece-aqueous decoction- reference sample

基准 样品	新绿原酸				绿原酸				隐绿原酸				出膏率/ %
	饮片/ %	水煎液/ ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	转移率 1/%	转移率 2/%	饮片/ %	水煎液/ ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	转移率 1/%	转移率 2/%	饮片/ %	水煎液/ ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	转移率 1/%	转移率 2/%	
S1	0.029	18.99	313.06	139.14	0.289	25.45	42.56	45.30	0.014	16.26	581.34	313.60	12.64
S2	0.029	16.62	280.86	135.60	0.275	22.88	40.18	47.40	0.013	14.48	538.41	326.92	12.75
S3	0.023	17.38	360.81	139.76	0.290	23.55	39.16	41.03	0.015	14.89	481.61	242.48	14.17
S4	0.023	17.38	360.81	175.70	0.290	23.55	39.16	41.80	0.015	14.89	481.61	275.30	12.87
S5	0.029	16.62	280.86	175.34	0.275	22.88	40.18	40.31	0.013	14.48	538.41	360.22	13.39
S6	0.029	18.99	313.06	168.32	0.289	25.45	42.56	55.00	0.014	16.26	581.34	375.03	12.27
S7	0.029	18.51	313.47	149.18	0.283	22.69	38.78	42.25	0.014	15.41	536.06	311.41	14.22
S8	0.029	18.51	313.47	157.32	0.283	22.69	38.78	42.42	0.014	15.41	536.06	317.16	12.73
S9	0.027	15.38	270.88	118.06	0.295	19.33	31.69	33.82	0.011	12.89	592.22	310.10	13.78
S10	0.029	18.99	313.06	158.38	0.289	25.45	42.56	49.73	0.014	16.26	581.34	353.41	12.09
S11	0.029	18.51	313.47	123.79	0.283	22.69	38.78	40.20	0.014	15.41	536.06	368.53	12.20
S12	0.023	17.38	360.81	178.22	0.290	23.55	39.16	45.93	0.015	14.89	481.61	291.12	12.95
S13	0.027	15.38	270.88	110.55	0.295	19.33	31.69	38.09	0.011	12.89	592.22	308.60	13.38
S14	0.027	15.38	270.88	134.99	0.295	19.33	31.69	35.07	0.011	12.89	592.22	348.36	12.74
S15	0.029	16.62	280.86	145.77	0.275	22.88	40.18	40.61	0.013	14.48	538.41	320.74	13.81
平均值			307.82	147.34			38.47	42.60			545.93	321.53	13.06

表 7 (续)

基准样品	咖啡酸				1,3-二咖啡酰奎宁酸				异绿原酸B			
	饮片/ %	水煎液/ ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	转移率 1/%	转移率 2/%	饮片/ %	水煎液/ ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	转移率 1/%	转移率 2/%	饮片/ %	水煎液/ ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	转移率 1/%	转移率 2/%
S1	0.024	10.85	218.23	143.35	0.033	84.99	1247.17	440.50	0.029	19.64	323.83	197.90
S2	0.030	12.54	202.41	140.69	0.036	93.00	1240.72	425.04	0.026	16.66	310.70	186.08
S3	0.037	11.47	148.94	96.90	0.045	84.71	904.59	276.59	0.035	16.52	227.37	118.93
S4	0.037	11.47	148.94	100.73	0.045	84.71	904.59	350.63	0.035	16.52	227.37	132.97
S5	0.030	12.54	202.41	142.12	0.036	93.00	1240.72	582.84	0.026	16.66	310.70	222.51
S6	0.024	10.85	218.23	164.16	0.033	84.99	1247.17	483.29	0.029	19.64	323.83	221.40
S7	0.026	10.43	191.59	141.84	0.031	80.23	1233.46	456.27	0.029	16.99	280.40	175.14
S8	0.026	10.43	191.59	140.66	0.031	80.23	1233.46	495.99	0.029	16.99	280.40	171.21
S9	0.027	9.18	165.83	110.76	0.038	88.07	1111.35	350.00	0.035	16.00	217.85	135.14
S10	0.024	10.85	218.23	164.32	0.033	84.99	1247.17	481.21	0.029	19.64	323.83	202.25
S11	0.026	10.43	191.59	150.10	0.031	80.23	1233.46	354.07	0.029	16.99	280.40	211.35
S12	0.037	11.47	148.94	106.46	0.045	84.71	904.59	360.72	0.035	16.52	227.37	147.94
S13	0.027	9.18	165.83	116.22	0.038	88.07	1111.35	334.54	0.035	16.00	217.85	139.11
S14	0.027	9.18	165.83	115.56	0.038	88.07	1111.35	423.94	0.035	16.00	217.85	140.05
S15	0.030	12.54	202.41	138.40	0.036	93.00	1240.72	480.82	0.026	16.66	310.70	192.04
平均值			185.40	131.49			1147.46	419.76			272.03	172.93

基准样品	异绿原酸A				1,5-二咖啡酰奎宁酸				异绿原酸C			
	饮片/ %	水煎液/ ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	转移率 1/%	转移率 2/%	饮片/ %	水煎液/ ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	转移率 1/%	转移率 2/%	饮片/ %	水煎液/ ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	转移率 1/%	转移率 2/%
S1	0.232	11.82	24.63	18.66	1.104	35.60	15.58	26.83	0.071	14.53	98.25	89.10
S2	0.195	9.23	22.82	17.14	1.105	39.29	17.18	29.18	0.063	12.39	95.47	76.47
S3	0.114	8.85	37.53	24.26	0.969	32.54	16.22	26.43	0.067	12.51	90.64	60.13
S4	0.114	8.85	37.53	24.74	0.969	32.54	16.22	25.43	0.067	12.51	90.64	64.81
S5	0.195	9.23	22.82	17.78	1.105	39.29	17.18	21.19	0.063	12.39	95.47	79.88
S6	0.232	11.82	24.63	20.69	1.104	35.60	15.58	30.08	0.071	14.53	98.25	95.39
S7	0.183	8.85	23.38	17.46	0.983	25.88	12.72	23.04	0.073	12.20	81.12	66.29
S8	0.183	8.85	23.38	16.79	0.983	25.88	12.72	24.10	0.073	12.20	81.12	63.78
S9	0.233	8.09	16.78	11.73	1.139	29.05	12.32	20.93	0.062	11.19	87.21	71.02
S10	0.232	11.82	24.63	18.24	1.104	35.60	15.58	28.09	0.071	14.53	98.25	85.42
S11	0.183	8.85	23.38	20.57	0.983	25.88	12.72	20.44	0.073	12.20	81.12	79.45
S12	0.114	8.85	37.53	27.76	0.969	32.54	16.22	29.03	0.067	12.51	90.64	73.88
S13	0.233	8.09	16.78	12.46	1.139	29.05	12.32	25.57	0.062	11.19	87.21	72.22
S14	0.233	8.09	16.78	11.81	1.139	29.05	12.32	21.56	0.062	11.19	87.21	68.80
S15	0.195	9.23	22.82	16.94	1.105	39.29	17.18	23.97	0.063	12.39	95.47	73.57
平均值			25.03	18.47			14.80	25.06			90.54	74.68

品与基准样品的相似度的关键参数。将 XDD 不同配伍样品与基准样品相比，以各指标成分转移率和指纹图谱相似度为评价指标，根据以下公式计算基准关联度 (SR_{ij})，结果见表 9。 SR_{ij} 越接近 100%，说明在该指标下的样品与基准样品相似度越高。结果表明，旋覆花与半夏配伍组各指标成分转移率和指纹图谱相似度的基准关联度都大于 90%，说明

旋覆花和半夏配伍的效果最接近基准样品。

$$SR_{ij} = 1 - |X_{ij} - S_j| / S_j$$

SR_{ij} 表示第 i ($i=1, 2, \dots, m$) 个样本的第 j ($j=1, 2, \dots, n$) 个指标下的基准关联度； X_{ij} 表示不同配伍的第 i ($i=1, 2, \dots, m$) 个样本的第 j ($j=1, 2, \dots, n$) 个指标下的测量值； S_j 表示基准样品的第 j ($j=1, 2, \dots, n$) 个指标下的测量值

表 8 XDD 不同配伍条件下饮片-样品 9 种酚酸类成分转移率和相似度

Table 8 Transfer rates of nine phenolic acids in XDD pieces-sample under different compatibility conditions and fingerprint similarity

组别	转移率/%									相似度
	新绿原酸	绿原酸	隐绿原酸	咖啡酸	1,3-二咖啡酰奎宁酸	异绿原酸B	异绿原酸A	1,5-二咖啡酰奎宁酸	异绿原酸C	
XDD基准样品	178.42	39.73	359.59	145.38	632.05	204.98	19.95	19.99	79.53	1.000
旋覆花+赭石	294.05	35.17	506.83	199.91	1 180.07	275.03	22.80	11.58	81.48	0.896
旋覆花+生姜	298.78	34.12	516.62	200.22	1 212.49	271.01	22.51	10.21	80.80	0.879
旋覆花+清半夏	172.28	37.49	325.73	146.05	577.58	187.94	19.53	21.91	73.90	0.987
旋覆花+人参	274.08	39.58	492.72	183.04	1 074.27	267.55	23.53	16.27	83.20	0.945
旋覆花+大枣	240.26	40.04	436.37	173.97	914.26	250.82	23.36	20.03	81.16	0.977
旋覆花+炙甘草	280.56	38.40	482.66	191.08	1 061.24	264.65	21.26	15.92	81.35	0.953
旋覆花	314.36	38.77	538.73	192.02	1 231.94	280.68	23.49	12.56	81.87	0.899

表 9 XDD 不同配伍样品 9 种酚酸类成分和相似度的 SR_{ij} 值

Table 9 SR_{ij} values of nine phenolic acids and fingerprint similarity in different compatible samples of XDD

组别	SR _{ij} %									
	新绿原酸	绿原酸	隐绿原酸	咖啡酸	1,3-二咖啡酰奎宁酸	异绿原酸B	异绿原酸A	1,5-二咖啡酰奎宁酸	异绿原酸C	指纹图谱相似度
旋覆花+赭石	35.19	88.52	59.05	62.49	13.29	65.83	85.71	57.93	97.55	89.60
旋覆花+生姜	32.54	85.88	56.33	62.28	8.17	67.79	87.17	51.08	98.40	87.90
旋覆花+清半夏	96.56	94.36	90.58	99.54	91.38	91.69	97.89	90.40	92.92	98.70
旋覆花+人参	46.38	99.62	62.98	74.10	30.03	69.48	82.06	81.39	95.39	94.50
旋覆花+大枣	65.34	99.22	78.65	80.33	55.35	77.64	82.91	99.80	97.95	97.70
旋覆花+炙甘草	42.75	96.65	65.77	68.57	32.10	70.89	93.43	79.64	97.71	95.30
旋覆花	23.81	97.58	50.18	67.92	5.09	63.07	82.26	62.83	97.06	89.90

2.9 煎煮条件对转移率的影响

取“2.1.3”项下不同煎煮条件制备的 XDD 样品，按“2.3.1”项下方法制备供试品溶液，按“2.2”项下色谱条件进样测定，记录峰面积，采用 QAMS 法计算各指标成分的含量，根据所用饮片产地批次计算转移率，结果见表 10。结果表明，新绿原酸、隐绿原酸、咖啡酸、1,3-二咖啡酰奎宁酸、异绿原酸 B

随煎煮时间增长转移率均增加；绿原酸、异绿原酸 A、1,5-二咖啡酰奎宁酸、异绿原酸 C 随煎煮时间增长转移率先升高后降低；绿原酸、异绿原酸 A、1,5-二咖啡酰奎宁酸浓缩后转移率降低；异绿原酸 C 条件 1 下浓缩后转移率升高，条件 2 和 3 下转移率差异不大，略有下降趋势，而其他 5 种酚酸类成分浓缩后转移率都有所升高。

表 10 XDD 不同煎煮条件下饮片-样品 9 种酚酸类成分转移率

Table 10 Transfer rates of nine phenolic acids in XDD pieces-sample under different decocting conditions

组别	转移率/%									
	新绿原酸	绿原酸	隐绿原酸	咖啡酸	1,3-二咖啡酰奎宁酸	异绿原酸B	异绿原酸A	1,5-二咖啡酰奎宁酸	异绿原酸C	
条件1	未浓缩	44.00	33.46	94.10	63.57	51.48	49.42	16.86	21.77	28.84
	浓缩	96.88	24.35	190.42	85.38	265.27	97.23	9.02	11.88	37.69
条件2	未浓缩	89.95	51.08	219.84	106.41	195.58	117.66	20.83	35.52	73.46
	浓缩	170.38	41.48	338.01	149.51	528.67	187.32	18.21	22.24	71.04
条件3	未浓缩	100.15	45.95	242.27	116.31	260.28	135.81	18.46	30.33	66.12
	浓缩	157.77	39.94	317.05	149.76	477.87	170.28	17.02	21.60	65.13

3 讨论

3.1 QAMS 方法的建立

本实验建立了 XDD 中 9 种酚酸类成分的 QAMS 定量测定方法，实现了 9 种酚酸类成分的同

步测定。9 种酚酸类成分可分为咖啡酸和咖啡酰奎宁酸类成分，利用 PDA 检测器进行全波长扫描，发现 9 种成分均在 320~330 nm 处有特征吸收峰，结合《中国药典》2020 年版金银花^[14]项下对酚酸类成

分定量测定方法,选择 327 nm 为本实验检测波长。

在建立色谱条件时,考察了不同流动相体系对色谱峰的影响,包括乙腈-水、甲醇-水、乙腈-0.1%磷酸水溶液、甲醇-0.1%磷酸水溶液、乙腈-甲醇-0.1%磷酸水溶液,由于酚酸类成分都有一定的酸性,乙腈-水、甲醇-水体系下的各成分色谱峰都有较严重的拖尾,甲醇洗脱能力较乙腈弱,但乙腈-0.1%磷酸水溶液体系下,异绿原酸 A 和 1,5-二咖啡酰奎宁酸无法分离,故最终选择乙腈-甲醇-0.1%磷酸水溶液体系。

在供试品溶液的制备过程中,考察了水和不同体积分数的甲醇超声以及超声时间对各成分含量的影响,结果发现对各成分含量影响不大,但考虑到水煎液不易保存,且有较大分子杂质,如多糖等,容易引起色谱柱堵塞,故最终选择 50%甲醇超声 30 min 为供试品溶液的制备条件。

采用 QAMS 法进行定量分析时,内标物的选择一般为含量较高、价廉易得、保留时间合适的成分。目前,已有多项 QAMS 研究中选用绿原酸作为内标物^[15-16]。根据前期预实验结果,绿原酸在 XDD 中含量高,性质稳定,分离度好,且其对照品价格低廉,故本实验选择其作为内标物。

3.2 量值传递的研究^[17-19]

9 种酚酸类成分中除咖啡酸外,其余 8 种均为咖啡酰奎宁酸结构,是由咖啡酸和奎宁酸酯化而成,属于植物体内重要的次生代谢产物^[20]。其中绿原酸(3-O-咖啡酰奎宁酸)、隐绿原酸(4-O-咖啡酰奎宁酸)、新绿原酸(5-O-咖啡酰奎宁酸)为单咖啡酰奎宁酸;异绿原酸 A(3,5-二咖啡酰奎宁酸)、异绿原酸 B(3,4-二咖啡酰奎宁酸)、异绿原酸 C(4,5-二咖啡酰奎宁酸)、1,3-二咖啡酰奎宁酸和 1,5-二咖啡酰奎宁酸是双咖啡酰奎宁酸,这些化合物结构中含有酯键、不饱和双键、多元酚和邻二酚羟基等,易受温度、pH 值等影响发生降解和异构化^[21-22],这可能是本实验量值传递研究中新绿原酸、隐绿原酸、咖啡酸、1,3-二咖啡酰奎宁酸和异绿原酸 B 这 5 种酚酸类成分饮片-水煎液-基准样品的转移率大于 100%的主要原因之一。

15 批 XDD 基准样品的出膏率均在其均值的 $\pm 10\%$ 范围内,未出现离散数据,说明 XDD 基准样品制备工艺整体较稳定。以基准样品指标成分转移率在均值的 $\pm 30\%$ 为度量标准,新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、咖啡酸、1,5-二咖啡酰奎宁酸和异绿原酸

C,离散程度较低,均在 30%以内;而异绿原酸 B、异绿原酸 A 和 1,3-二咖啡酰奎宁酸有个别批次转移率高于 30%,转移率的差异说明各成分在基准样品制备过程中不仅受自身水溶性的影响,同时由于相互间存在转化及降解,因此可能受煎煮温度、煎煮时间等条件影响,也可能还受到其他药物成分的相互作用的影响。

3.3 配伍和煎煮条件的影响

在量值传递研究中,各成分从饮片到饮片水煎液的转移率和饮片到基准样品的转移率都有很大的差异,说明配伍合煎对指标成分的量值传递也有着重要的影响。

为进一步了解不同配伍对 9 种酚酸类成分转移率的影响,本实验引入基准关联度^[23],来评价旋覆花分别与处方其他饮片配伍的样品与基准样品间质量的一致性。该值越接近 100,则该样品质量与基准样品相似度越高,结果显示旋覆花和半夏配伍的各成分转移率及指纹图谱相似度的基准关联度均大于 90%,说明在配伍合煎时,这 9 种酚酸类成分可能受半夏中化学成分的影响较大。

此外,还考察了煎煮时间、浓缩等煎煮条件对 9 种酚酸类成分转移率的影响。《伤寒论》原文的煎煮方法“以水一斗,煮取六升,去滓,再煎取三升”,其中“去渣再煎”即对应现代煎煮过程中的浓缩过程,从实验结果可以看出,无论前期煎煮时间多长,浓缩仍可以继续促进新绿原酸、隐绿原酸、咖啡酸、1,3-二咖啡酰奎宁酸和异绿原酸 B 这 5 种酚酸类成分转移率大幅增加,即继续促进其他酚酸类成分向这 5 种成分的降解或转化;而绿原酸、异绿原酸 A、1,5-二咖啡酰奎宁酸和异绿原酸 C 浓缩后大部分转移率呈下降趋势,提示这 4 种成分可能发生了降解或转化,酚酸类成分之间浓缩时存在的降解与转化可能是古法需要“去渣再煎”的原因之一。

综上,本研究建立了 XDD 中 9 种酚酸类成分 QAMS 测定方法,全面分析从旋覆花饮片到旋覆花水煎液到基准样品的量值传递规律以及配伍、煎煮、浓缩的影响,初步明确从饮片到基准样品中酚酸类有效成分群之间的变化、量值传递规律和可能的影响因素,为以后开发制剂,找出生产过程中的关键影响因素,建立全产业链质量控制体系,打造优质产品提供数据支撑。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 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) [2023-11-25]. <http://kjs.satcm.gov.cn/zhengcewenjian/2018-04-16/7107.html>.
- [2] 翟冬妍, 吕冠华, 范颖. 旋覆代赭汤现代临床应用概述 [J]. 中医药临床杂志, 2024, 36(2): 382-386.
- [3] 崔亚, 姜礼双, 卜平. 旋覆代赭汤实验研究及临床应用进展 [J]. 江苏中医药, 2018, 50(1): 82-85.
- [4] 牛峥, 马丽萍, 姚铁, 等. 旋覆花化学成分及药理作用研究进展 [J]. 药物评价研究, 2022, 45(12): 2591-2601.
- [5] 汪怡, 郭曼曼, 徐倩菲, 等. 基于组方配伍理论探索旋覆代赭汤中多酚类成分含量变化规律及其与抗氧化活性的相关性分析 [J]. 中药药理与临床, 2024, 40(3): 59-64.
- [6] 申屠银洪, 李欢欢, 赵晓莉, 等. 经典名方旋覆代赭汤的指纹图谱及功效关联物质预测分析 [J]. 中草药, 2021, 52(16): 4825-4836.
- [7] 陈巧华, 邓怡芳, 文珊, 等. 旋覆花-赭石药对酚酸类成分 UPLC 指纹图谱及多指标成分含量测定 [J]. 中国现代中药, 2023, 25(1): 157-164.
- [8] 熊乐文, 金莹, 王彦予, 等. 金银花酚酸类化学成分、药理活性及体内代谢研究进展 [J]. 中成药, 2022, 44(3): 864-871.
- [9] 郭曼曼, 刘菊, 汪怡, 等. 主成分分析结合 Box-Behnken 响应面法优选旋覆代赭汤中酚酸类及黄酮类成分纯化工艺 [J]. 中国药业, 2024, 33(20): 46-51.
- [10] 王智民, 高慧敏, 付雪涛, 等. “一测多评”法中药质量评价模式方法学研究 [J]. 中国中药杂志, 2006, 31(23): 1925-1928.
- [11] 吴婉芬, 郑文烈, 池玉梅, 等. 经典名方温胆汤基准样品标志性成分群质量评价体系构建 [J]. 中草药, 2024, 55(8): 2553-2560.
- [12] 代珊, 李帅, 张爱军, 等. 基于基准关联度和 AHP-熵权法综合评价经典名方小续命汤古今提取工艺 [J]. 中草药, 2022, 53(3): 726-734.
- [13] 国家中医药管理局. 关于发布《古代经典名方关键信息表(25 首方剂)》的通知 [EB/OL]. (2022-09-16) [2023-11-25]. <http://www.natcm.gov.cn/kejisi/gongzuodongtai/2022-09-27/27803.html>.
- [14] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 230.
- [15] 杨海玲, 李雲妃, 刘振杰, 等. 一测多评法同时测定丁公藤不同炮制品中 7 个活性成分含量 [J]. 药物分析杂志, 2024, 44(3): 395-404.
- [16] 曹桂云, 宁波, 余彩娟, 等. 指纹图谱、一测多评与模式识别相结合的忍冬藤配方颗粒质量评价 [J]. 中草药, 2024, 55(4): 1202-1214.
- [17] 耿赛龙, 周琴, 孙水根, 等. 巴芪柔肝方基准样品 HPLC 特征图谱建立及其量值传递规律研究 [J]. 中成药, 2024, 46(2): 370-378.
- [18] 姜艳雯, 邹恺平, 陈梦娇, 等. 加味柴胡疏肝散基准样品 HPLC 指纹图谱及关键质量属性量值传递规律研究 [J]. 中草药, 2024, 55(1): 85-100.
- [19] 张荣华, 靳梓微, 张腾月, 等. 经典名方达原饮基准样品关键质量属性量值传递研究 [J]. 中草药, 2024, 55(6): 1977-1987.
- [20] 朱文卿, 任汉书, 徐美霞, 等. 咖啡酰奎宁酸类化合物的生物学活性及提高其生物利用度技术研究进展 [J]. 食品科学, 2021, 42(3): 321-329.
- [21] 求少平. 超声效应对双咖啡酰奎宁酸降解和异构化的影响及其机理研究 [D]. 杭州: 浙江科技学院, 2022.
- [22] Kamiyama M, Moon J K, Jang H W, *et al.* Role of degradation products of chlorogenic acid in the antioxidant activity of roasted coffee [J]. *J Agr Food Chem*, 2015, 63(7): 1996-2005.
- [23] 张荣华, 靳梓微, 邱智东, 等. 基于基准关联度和 AHP-熵权法优化经典名方达原饮的提取工艺 [J]. 时珍国医国药, 2024, 35(3): 612-615.

[责任编辑 郑礼胜]