

经典名方身痛逐瘀汤基准样品量值传递研究

刘艳梅, 陶晨璐, 刘闪闪, 董 道, 李振雨, 陈向东, 张 军, 孙冬梅*

广东一方制药有限公司, 广东省中药配方颗粒企业重点实验室, 广东 佛山 528244

摘要:目的 建立经典名方身痛逐瘀汤 (Shentong Zhuyu Decoction, SZD) 基准样品的 UPLC 指纹图谱及 7 指标成分含量测定方法, 明确关键质量属性的传递规律。方法 通过制备 15 批 SZD 基准样品, 以指纹图谱、指标成分含量及出膏率为评价指标, 结合多批次含量转移率范围, 单味药与基准样品色谱峰相对峰面积和出膏率进行饮片-基准样品量值传递规律分析, 阐明 SZD 基准样品关键质量属性。结果 采用 UPLC 建立指纹图谱方法重现性良好, 15 批基准样品相似度均大于 0.90, 共确定 15 个特征峰, 通过与对照品比对指认了其中 9 个成分, 其中秦艽、川芎、桃仁、红花、甘草、羌活、没药、当归、醋五灵脂 9 味药在指纹图谱中均有体现; 基准样品中指标成分苦杏仁苷质量分数为 0.306%~0.548%, 甘草酸质量分数为 0.179%~0.429%, 马钱苷酸质量分数为 0.106%~0.349%, 龙胆苦苷质量分数为 0.283%~0.695%, 羟基红花黄色素 A 质量分数为 0.129%~0.592%, 阿魏酸质量分数为 0.036%~0.069%, 洋川芎内酯 I 质量分数为 0.024%~0.046%; 饮片至水煎液平均转移率分别为 36.49%、47.46%、83.34%、72.07%、66.02%、61.35%、62.74%, 水煎液-基准样品平均转移率分别为 88.26%、89.47%、88.28%、90.22%、84.22%、91.00%、87.84%; 15 批基准样品出膏率为 27.52%~32.26%。结论 初步构建 SZD 基准样品质量评价方法, 为 SZD 基准样品的质量控制和复方制剂开发提供科学依据。

关键词: 经典名方; 身痛逐瘀汤; 基准样品; 量值传递规律; UPLC; 指纹图谱; 关键质量属性; 出膏率; 秦艽; 川芎; 桃仁; 红花; 甘草; 羌活; 没药; 当归; 醋五灵脂; 苦杏仁苷; 甘草酸; 马钱苷酸; 龙胆苦苷; 羟基红花黄色素 A; 阿魏酸; 洋川芎内酯 I

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2025)13-4654-14

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.13.010

Research on quantitative transmitting of classical prescription Shentong Zhuyu Decoction substance benchmark

LIU Yanmei, TAO Chenlu, LIU Shanshan, DONG Xiao, LI Zhenyu, CHEN Xiangdong, ZHANG Jun, SUN Dongmei

Guangdong Yifang Pharmaceutical Co., Ltd., Guangdong Provincial Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine Formula Granule Enterprises, Foshan 528244, China

Abstract: Objective To establish the UPLC profiles and methods for detecting the index components in benchmark sample of the classical prescription Shentong Zhuyu Decoction (SZD, 身痛逐瘀汤), and clarify the transmission law of key quality attributes. **Methods** By preparing 15 batches of substance benchmarks for SZD, was established evaluation indexes of fingerprint, index component content and extraction rate, In conjunction with the range of multi-batch content transfer rate, the relative peak area of chromatographic peaks for single drugs and substance benchmarks samples, as well as their extract rates, these parameters were determined to define the key quality attributes of substance benchmarks of SZD. **Results** The results demonstrate that the method of UPLC fingerprint exhibits excellent reproducibility, with a similarity exceeding 0.90 among the fingerprints of 15 batches of substance benchmark samples. Fifteen characteristic peaks were identified, of which nine characteristic peaks were assigned by the reference substance. These fingerprints reflect the presence of nine herbal components: Qinjiao (*Gentianae Macrophyllae Radix*), Chuanxiong (*Chuanxiong Rhizoma*), Taoren (*Persicae Semen*), Honghua (*Carthami Flos*), Gancao (*Glycyrrhizae Radix et Rhizoma*), Qianghuo (*Notopterygii Rhizoma et Radix*), Moyao (*Myrrha*), Danggui (*Angelicae Sinensis Radix*), Cuwulingzhi (vinegar-processed *Trogopteron*

收稿日期: 2025-01-22

基金项目: 国家工信部 2022 年产业技术基础公共服务平台项目——中药全产业链质量技术服务平台 (2022-230-221)

作者简介: 刘艳梅, 女, 硕士研究生, 从事中药质量标准研究。E-mail: 947193632@qq.com

*通信作者: 孙冬梅, 硕士, 博士生导师, 研究方向为中药新药研发及中药质量评价研究。E-mail: 10268667@qq.com

Faeces). The mass fraction of the seven components in the benchmark samples were respectively: amygdalin 0.306%—0.548%, glycyrrhizic acid 0.179%—0.429%, loganic acid 0.106%—0.349%, gentiopicroin 0.283%—0.695%, hydroxysafflor yellow A 0.129%—0.592%, ferulic acid 0.036%—0.069%, senkyunolide I 0.024%—0.046%. The average transfer rates of decoction pieces to decoction were 36.49%, 47.46%, 83.34%, 72.07%, 66.02%, 61.35%, 62.74%. The average transfer rates from decoction pieces to benchmark sample were 88.26%, 89.47%, 88.28%, 90.22%, 84.22%, 91.00%, 87.84%. The extraction rate of the substance reference of the 15 batches were 27.52%—32.26%. **Conclusion** This study preliminarily established a quality evaluation method of SZD was preliminarily established to provide scientific basis for the quality control of substance standards and the development of compound preparations.

Key words: classical prescription; Shentong Zhuyu Decoction; substance benchmarks, quality value transfer, UPLC; fingerprint; key quality attributes; extraction rate; *Gentianae Macrophyllae Radix*; *Chuanxiong Rhizoma*; *Persicae Semen*; *Carthami Flos*; *Glycyrrhizae Radix et Rhizoma*; *Notopterygii Rhizoma et Radix*; *Myrrha*; *Angelicae Sinensis Radix*; vinegar-processed *Trogopteroni Faeces*; amygdalin; glycyrrhizic acid; loganic acid; gentiopicroin; hydroxysafflor yellow A; ferulic acid; senkyunolide I

身痛逐瘀汤 (Shentong Zhuyu Decoction, SZD) 出自清代著名中医学家王清任编撰的中医临证各科类著作《医林改错》下卷, 原方由秦艽、川芎、桃仁、红花、甘草、羌活、没药、当归、醋五灵脂、香附、牛膝、地龙 12 味中药组成, 方中君药红花、桃仁、川芎、当归均能活血祛瘀, 臣药羌活、秦艽善于祛风除湿, 五灵脂、没药、香附行气血和止疼痛, 佐药牛膝、地龙善于疏通经络以利关节, 甘草调和诸药^[1-2]。本方功效据古代医籍记载为活血行气、祛瘀通络、通痹止痛, 主治瘀血痹阻经络证, 例如肩痛、臂痛、腰痛、腿痛、或周身疼痛、痛如针刺、经久不愈^[3]。SZD 目前被广泛应用于治疗腰椎间盘突出症、膝关节骨性关节炎、风湿寒性关节痛、骨折及术后并发症、急性腰扭伤等多种骨伤科疾病^[4-6], 同时还被应用于血栓性静脉炎、软组织损伤、恶性肿瘤骨转移疼痛、糖尿病并发症及神经炎等疾病^[7-8]。

按照《按古代经典名方目录管理的中药复方制剂药学研究技术指导原则(试行)》要求, 经典名方应按照国家发布的古代经典名方关键信息及古籍记载, 研究、制备基准样品, 制剂的质量应与基准样品的质量基本一致, 以此确定商业规模的制剂生产工艺, 同时应明确基准样品的关键质量属性, 建立符合中药特色的全过程质量控制体系^[9]。关键质量属性应包括指纹图谱、指标成分含量及出膏率, 明晰关键指标在原料和基准样品中的质量传递规律。本研究通过构建 SZD 指纹图谱、指标性成分含量测定, 确定其含量及转移率范围, 并结合出膏率分析饮片-水煎液-基准样品量值传递规律及整体质量研究, 为复方制剂后续的开发研究和质量稳定性提供科学依据。

1 仪器与材料

1.1 仪器

Agilent 1290 型超高效液相色谱仪, 美国安捷伦公司; Waters Arc 型高效液相色谱仪, 美国 Waters 公司; ME204E 型万分之一天平、XP26 型百万分之一天平, 瑞士梅特勒-托利多公司; 安亭 TDL-4 型低速离心机, 上海安亭科学仪器厂; KQ500D 型数控超声波清洗器, 昆山市超声仪器有限公司; HWS28 型恒温水浴锅, 上海一恒科技有限公司; Milli-Q Direct 型超纯水系统, 默克股份有限公司; H22-X3 型九阳电陶炉, 杭州九阳生活电器有限公司; TRL-0.5 型真空冷冻干燥机, 大连双瑞科技有限公司。

1.2 试剂与试药

对照品苦杏仁苷(批号 110820-202109, 质量分数 93.1%)、马钱苷酸(批号 111865-202005, 质量分数 97.5%)、色氨酸(批号 140686-201904, 质量分数 99.9%)、龙胆苦苷(批号 110770-201918, 质量分数 97.1%)、羟基红花黄色素 A(批号 111637-201810, 质量分数 93.1%)、阿魏酸(批号 110773-201915, 质量分数 99.4%)、甘草苷(批号 111610-201908, 质量分数 95.0%)、芹糖甘草苷(批号 110730-201915, 质量分数 99.8%)、甘草酸铵(批号 110731-202021, 质量分数 96.2%)、羌活醇(批号 111820-201705, 质量分数 99.9%)、洋川芎内酯 I(批号 112071-202101, 质量分数 99.2%), 购自中国食品药品检定研究院; 分析纯乙醇(批号 220707)、甲醇(批号 220110) 购自西陇科学股份有限公司; 色谱纯磷酸(批号 20220710) 购自天津市科密欧化学试剂有限公司; 色谱纯乙腈(批号 205875)、甲醇(批号 217078) 购自赛默飞世尔科技公司; 实验

室自制水为超纯水。

12 味药材均产自道地产地或主产区,均经过广州中医药大学药学院孙冬梅教授鉴定,秦艽为龙胆科龙胆属植物秦艽 *Gentiana macrophylla* Pall.的干燥根,川芎为伞形科藁本属植物川芎 *Ligusticum chuanxiong* Hort.的干燥根茎,桃仁为蔷薇科桃属植物山桃 *Prunus davidiana* (Carr.) Franch.的干燥成熟种子,红花为菊科红花属植物红花 *Carthamus tinctorius* L.的干燥花,甘草为豆科甘草属植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch.的干燥根和根茎,羌活为伞形科羌活属植物羌活 *Notopterygium incisum* Ting ex H. T. Chang 的干燥根和根茎,没药为橄榄科地丁树属植物地丁树 *Commiphora myrrha* Engl.的干燥树脂,当归为伞形科当归属植物当归 *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels 的干燥根,五灵脂为鼯鼠科复齿鼯鼠属动物复齿鼯鼠 *Trogopterus xanthipes* Milne-Edward 的干燥粪便,香附为莎草科莎草属植物莎草 *Cyperus rotundus* L.的干燥根茎,牛膝为苋科牛膝属植物牛膝 *Achyranthes bidentata* Bl.的干燥根,地龙为钜蚓科动物参环毛蚓 *Pheretima aspergillum* (E. Perrier)的干燥体。根据本实验室前期饮片炮制工艺研究结果制成饮片,经检验均符合《中国药典》2020年版相关项下规定。随机数表法对 12 味饮片进行随机组合及排序,15 批 SZD 基准样品对应饮片批次如表 1 所示。

2 方法与结果

2.1 15 批 SZD 基准样品的制备

通过对古今文献的分析,确定明清时期 1 钱等于现今 3.73 g,原文对制法无明确规定,本研究参考现代《医疗机构中药煎药室管理规范》的相关规定进行两煎,以出膏率、指标成分含量和指纹图谱为衡量指标,考察浸泡时间、加水量、煎煮时间、煎煮功率、滤过方式、浓缩温度和体积、干燥方式等关键工艺,确定全方的煎煮方法为称取秦艽 3.73 g、川芎 7.46 g、桃仁 11.19 g、红花 11.19 g、甘草 7.46 g、羌活 3.73 g、没药 7.46 g、当归 11.19 g、醋五灵脂 7.46 g、香附 3.73 g、牛膝 11.19 g、地龙 7.46 g,置于 3 L 电陶瓷煎药壶中,加 8 倍量水浸泡 30 min,加热煮沸 30 min,350 目筛趁热滤过,药渣再加 6 倍量水加热煮沸 25 min,合并 2 次滤液,水煎液于 65 °C 减压浓缩至 300 mL,浓缩液转移至真空冷冻干燥机(冻干温度-45 °C,真空度<80 Pa)冻干 72 h,得 SZD 基准样品冻干粉。按处方量称取各

单味饮片及缺相应饮片的阴性对照复方,同法制得单味饮片及阴性对照样品。

2.2 SZD 基准样品 UPLC 指纹图谱的建立

2.2.1 色谱条件 色谱柱为 Waters Cortecs T3 柱(150 mm×2.1 mm, 1.6 μm);流动相为乙腈-0.2%磷酸水溶液,梯度洗脱:0~5 min, 6%乙腈;5~12 min, 6%~10%乙腈;12~22 min, 10%~12%乙腈;22~24 min, 12%~16%乙腈;24~36 min, 16%~22%乙腈;36~46 min, 22%~32%乙腈;46~50 min, 32%~50%乙腈;50~58 min, 50%~65%乙腈;58~68 min, 65%~78%乙腈;体积流量 0.3 mL/min;柱温 30 °C;检测波长 235 nm;进样量 1 μL。

2.2.2 供试品溶液的制备方法 精密称取 SZD 基准样品冻干粉 0.5 g,置具塞锥形瓶中,加 70%甲醇 25 mL,超声(功率 250 W、频率 40 kHz) 30 min,取出,放冷,再称定质量,用 70%甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,即得供试品溶液。同法制成各单味饮片供试品溶液、阴性对照供试品溶液。

2.2.3 对照品溶液的制备 分别取苦杏仁苷、甘草酸铵、马钱苷酸、龙胆苦苷、羟基红花黄色素 A、阿魏酸、洋川芎内酯 I 适量,精密称定,用 70%甲醇分别制成含苦杏仁苷 321.61 μg/mL、甘草酸铵 259.34 μg/mL、马钱苷酸 217.28 μg/mL、龙胆苦苷 240.42 μg/mL、羟基红花黄色素 A 261.33 μg/mL、阿魏酸 103.52 μg/mL、洋川芎内酯 I 57.31 μg/mL 的对照品储备液。

2.2.4 精密度考察 取同一供试品溶液(S1),按“2.2.1”项下色谱条件,连续进样 6 次。指纹图谱相似度>0.90,以保留时间适中且峰形较好、分离度高的 7 号峰(阿魏酸)为参照峰,15 个共有峰相对保留时间的 RSD 均小于 0.20%,相对峰面积的 RSD 均小于 2.55%,表明该仪器精密度良好。

2.2.5 稳定性考察 取同一供试品溶液(S1),按“2.2.1”项下色谱条件,分别在 0、4、8、12、16、24 h 进样。指纹图谱相似度>0.90,以 7 号峰(阿魏酸)为参照峰,15 个共有峰相对保留时间的 RSD 均小于 1.31%,相对峰面积的 RSD 均小于 1.32%,表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.2.6 重复性考察 取同一批基准样品(S1),按“2.2.2”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。指纹图谱相似度>0.90,以 7 号峰(阿魏酸)为参照峰,15 个共有峰相对保

表 1 SZD 药材来源

Table 1 Source of medicinal materials for SZD

样品	秦艽		甘草		川芎		当归		桃仁		红花	
	批号	产地	批号	产地	批号	产地	批号	产地	批号	产地	批号	产地
S1	QJ011	云南丽江	GC007	内蒙古赤峰	CX011	四川德阳	DG004	甘肃定西	TR011	甘肃平凉	HH009	云南大理
S2	QJ010	云南大理	GC003	甘肃定西	CX010	四川眉山	DG010	甘肃陇南	TR007	陕西宝鸡	HH013	新疆伊宁
S3	QJ001	甘肃陇南	GC008	内蒙古赤峰	CX007	四川眉山	DG002	甘肃定西	TR005	辽宁阜新	HH012	新疆伊宁
S4	QJ008	云南大理	GC009	内蒙古赤峰	CX008	四川眉山	DG012	青海海东	TR012	甘肃平凉	HH003	云南丽江
S5	QJ005	甘肃陇南	GC010	内蒙古赤峰	CX013	四川德阳	DG001	甘肃定西	TR002	辽宁阜新	HH006	云南大理
S6	QJ003	甘肃陇南	GC006	内蒙古赤峰	CX012	四川德阳	DG009	甘肃陇南	TR003	辽宁阜新	HH007	云南大理
S7	QJ014	云南丽江	GC011	甘肃兰州	CX004	四川彭州	DG006	甘肃陇南	TR009	陕西宝鸡	HH002	云南丽江
S8	QJ012	云南丽江	GC002	甘肃定西	CX002	四川彭州	DG008	甘肃陇南	TR001	辽宁阜新	HH005	云南丽江
S9	QJ013	云南丽江	GC005	甘肃定西	CX015	四川德阳	DG013	青海海东	TR008	陕西宝鸡	HH011	新疆伊宁
S10	QJ015	云南丽江	GC004	甘肃定西	CX001	四川彭州	DG014	青海海东	TR013	甘肃平凉	HH015	新疆伊宁
S11	QJ004	甘肃陇南	GC014	甘肃兰州	CX003	四川彭州	DG015	青海海东	TR004	辽宁阜新	HH008	云南大理
S12	QJ002	甘肃陇南	GC001	甘肃定西	CX014	四川德阳	DG011	青海海东	TR015	甘肃平凉	HH014	新疆伊宁
S13	QJ009	云南大理	GC012	甘肃兰州	CX005	四川彭州	DG003	甘肃定西	TR006	陕西宝鸡	HH010	云南大理
S14	QJ006	云南大理	GC015	甘肃兰州	CX009	四川眉山	DG007	甘肃陇南	TR014	甘肃平凉	HH001	云南丽江
S15	QJ007	云南大理	GC013	甘肃兰州	CX006	四川眉山	DG005	甘肃定西	TR010	陕西宝鸡	HH004	云南丽江

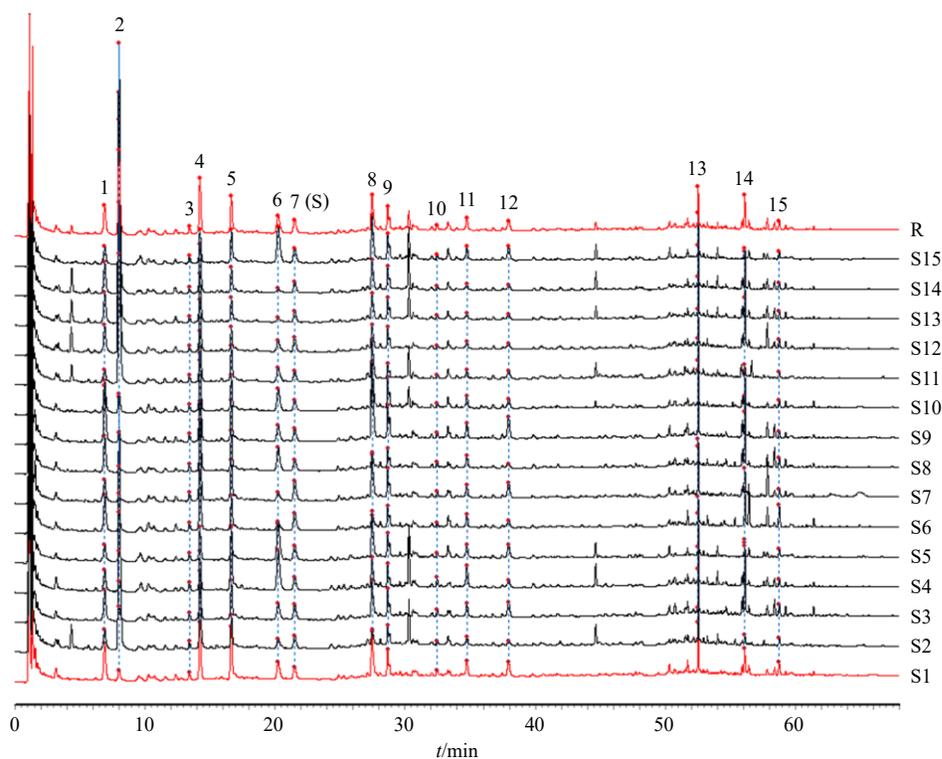
批号	羌活		没药		香附		醋五灵脂		牛膝		地龙	
	批号	产地	批号	产地	批号	产地	批号	产地	批号	产地	批号	产地
S1	QH012	青海海东	MY013	安徽亳州	XF001	湖北黄冈	CW014	青海西宁	NX010	内蒙古赤峰	DL003	广东茂名
S2	QH014	青海海东	MY007	河北保定	XF005	湖北黄冈	CW007	陕西商洛	NX009	内蒙古赤峰	DL012	广西玉林
S3	QH001	四川绵阳	MY014	安徽亳州	XF012	河南郑州	CW011	青海西宁	NX002	河北保定	DL013	广西玉林
S4	QH006	四川阿坝州	MY012	安徽亳州	XF008	广东湛江	CW010	陕西商洛	NX001	河北保定	DL008	广西北海
S5	QH010	四川阿坝州	MY001	山东菏泽	XF015	河南郑州	CW009	陕西商洛	NX007	内蒙古赤峰	DL002	广东茂名
S6	QH007	四川阿坝州	MY002	山东菏泽	XF010	广东湛江	CW005	甘肃张掖	NX012	河南焦作	DL011	广西玉林
S7	QH002	四川绵阳	MY011	安徽亳州	XF006	广东湛江	CW001	甘肃张掖	NX004	河北保定	DL007	广西北海
S8	QH015	青海海东	MY010	河北保定	XF007	广东湛江	CW015	青海西宁	NX015	河南焦作	DL005	广东茂名
S9	QH013	青海海东	MY005	山东菏泽	XF003	湖北黄冈	CW012	青海西宁	NX011	河南焦作	DL014	广西玉林
S10	QH005	四川绵阳	MY008	河北保定	XF002	湖北黄冈	CW004	甘肃张掖	NX005	河北保定	DL001	广东茂名
S11	QH008	四川绵阳	MY015	安徽亳州	XF013	河南郑州	CW006	陕西商洛	NX014	河南焦作	DL004	广东茂名
S12	QH009	四川绵阳	MY003	山东菏泽	XF009	广东湛江	CW013	青海西宁	NX006	内蒙古赤峰	DL010	广西北海
S13	QH011	青海海东	MY004	山东菏泽	XF014	河南郑州	CW002	甘肃张掖	NX013	河南焦作	DL006	广西北海
S14	QH004	四川绵阳	MY006	河北保定	XF004	湖北黄冈	CW008	陕西商洛	NX003	河北保定	DL009	广西北海
S15	QH003	四川绵阳	MY009	河北保定	XF011	河南郑州	CW003	甘肃张掖	NX008	内蒙古赤峰	DL015	广西玉林

留时间的 RSD 均小于 0.63%，相对峰面积的 RSD 均小于 2.04%，表明该分析方法重复性良好。

2.2.7 SZD 指纹图谱的建立及相似度评价 称取 15 批 SZD 基准样品（编号 S1~S15），按“2.2.2”项下确定的方法制备供试品溶液，按“2.2.1”项下色谱条件进样测定，将 15 批 SZD 样品指纹图谱以 AIA 格式导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统（2012 版）”软件，以 S1 为参照图谱，利用中位数法，时间窗宽度 0.1 s，全谱峰匹配，并生成对照指纹图谱（R）。15 批 SZD 基准样品指纹图谱见图 1，

共标定 15 个共有峰，相似度结果分别为 0.964、0.976、0.943、0.962、0.937、0.976、0.918、0.957、0.937、0.985、0.996、0.965、0.962、0.939、0.968，15 批 SZD 基准样品指纹图谱的相似度良好。表明不同产地、不同批次供试品之间的主要物质群差异较小，制备工艺稳定。

2.2.8 共有峰归属研究 取各单味药和阴性对照样品同法制得供试品溶液，将基准样品（S1）色谱图与各单味药和阴性对照样品色谱图进行比较，对各共有峰进行归属研究，通过质谱鉴别和对照品色谱



1-马钱苷酸; 2-色氨酸; 4-龙胆苦苷; 5-羟基红花黄色素 A; 7-阿魏酸; 8-甘草苷; 9-芹糖甘草苷; 13-甘草酸; 14-羌活醇; 图 2 同。
1-loganic acid; 2-tryptophan; 4-gentiopicroside; 5-hydroxysafflor yellow A; 7-ferulic acid; 8-liquiritin; 9-liquiritin apioside; 13-glycyrrhizic acid; 14-notopterol; same as figure 2.

图 1 15 批 SZD 基准样品 UPLC 指纹图谱及其对照指纹图谱 (R)

Fig. 1 UPLC fingerprint chromatograms of 15 batches of SZD benchmark samples and there reference fingerprint (R)

图 (图 2) 比对指认了 9 个色谱峰, 15 批基准样品色谱图对比结果如图 3、4 所示, 峰 1 (马钱苷酸)、4 (龙胆苦苷) 归属于秦艽; 峰 2 (色氨酸)、8 (甘草苷)、9 (芹糖甘草苷)、12、13 (甘草酸) 归属于甘草; 峰 3、5 (羟基红花黄色素 A)、10、11 归属于红花; 峰 6 为醋五灵脂、桃仁的共有特征峰; 峰 7 (阿魏酸) 归属于川芎和当归; 峰 7 (阿魏酸)、14 归属于羌活; 峰 15 归属于没药; 其中峰 7 为川芎、

当归、羌活中共有成分; 地龙、香附、牛膝中主要化学成分在此色谱条件下响应较低且色谱峰分离效果不佳, 易受背景干扰, 无特征峰归属。

2.3 SZD 指纹图谱量值传递关系分析

将 15 批基准样品生成的对照图谱与多批次的各药味的对照图谱进行对比, 由于 7 号峰属于川芎、当归、羌活 3 味中药共有, 色谱峰面积变化较大, 故以 13 号色谱峰为参照峰比较基准样品和饮片中共有峰峰面积的比值, 结果见表 2。各单味药饮片主要物质群均能以一定比例稳定传递到基准样品, 且物质群的归属关系清晰。分析各饮片不同批次样品对照指纹图谱与基准样品对照指纹图谱峰面积比值可知, 饮片在制备成基准样品后, 峰 1 (马钱苷酸)、2 (色氨酸)、3、8 (甘草苷)、12 相对峰面积增加, 推测可能与复方中多成分间相互作用有关, 且甘草和秦艽在复方中取样量少, 故各批次基准样品之间上述色谱峰面积差异较大; 峰 4 (龙胆苦苷)、6、7 (阿魏酸)、10、11、14 (羌活醇)、15 相对峰面积减少, 推测可能与指标成分稳定性有关, 其中峰 7、10、11 为共有成分, 单煎和共煎对

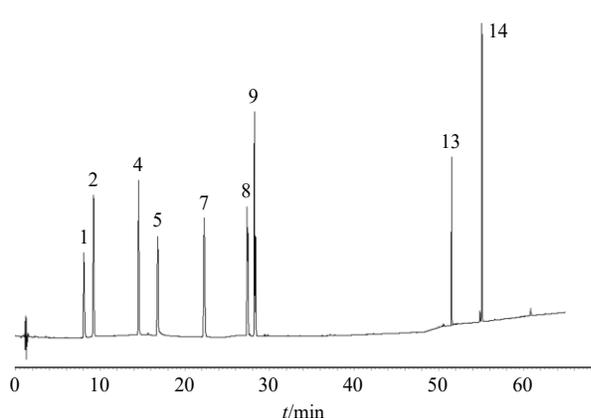


图 2 混合对照品 UPLC 图

Fig. 2 UPLC chromatogram of mixed reference substances

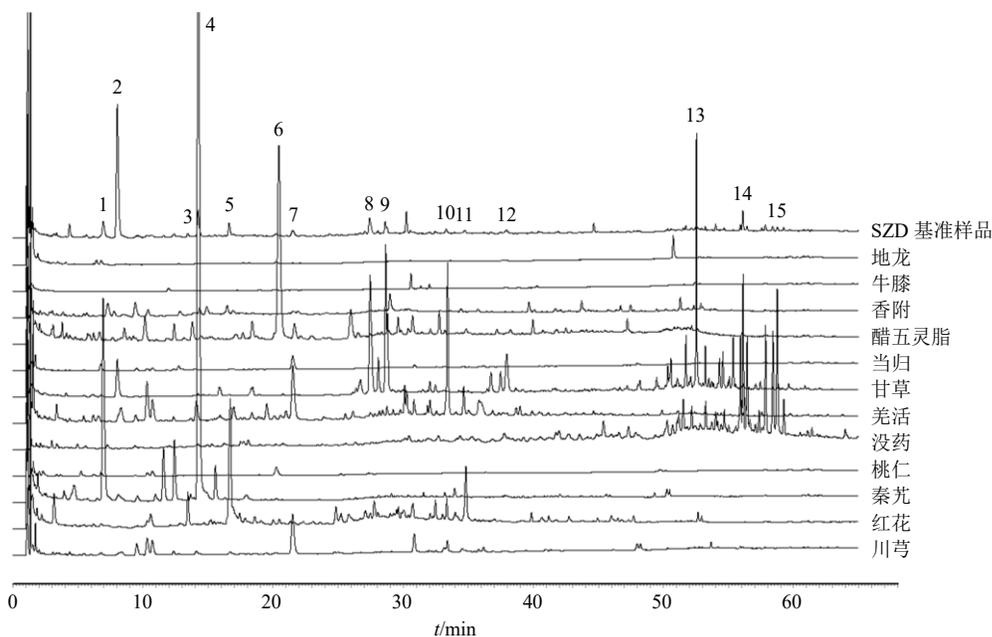


图3 单味中药样品与SZD基准样品对照图谱对比结果

Fig. 3 Comparison result of single-flavor medicine samples and SZD substance benchmark

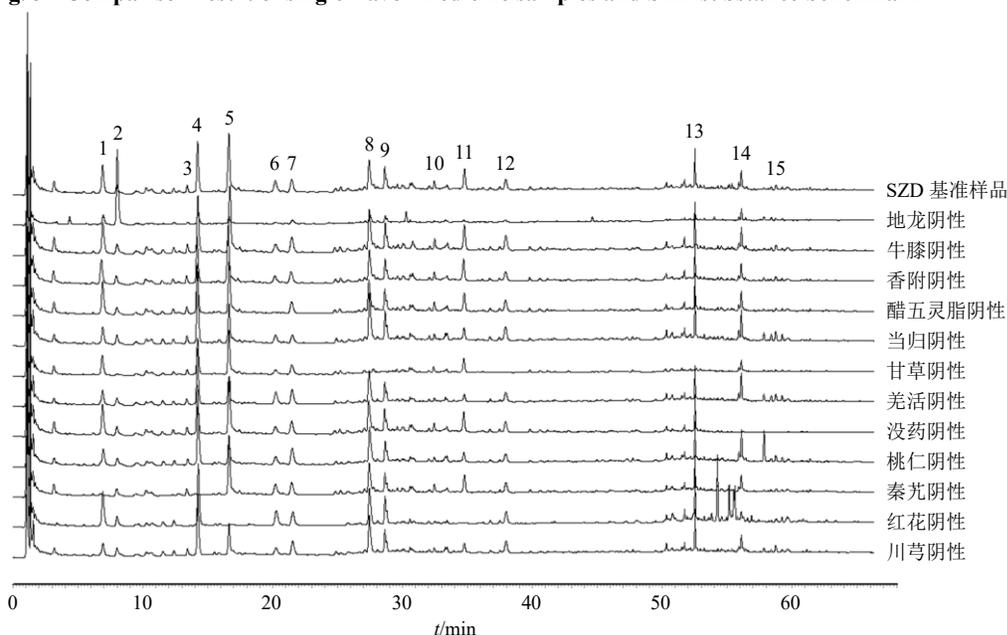


图4 阴性样品与SZD基准样品对照图谱对比结果

Fig. 4 Comparison result of negative sample and SZD substance benchmark

上述成分的转移率影响较大,峰14、15为热敏性成分,在水煎液中溶解度低,且受热易挥发。

2.4 SZD 基准样品指标成分含量测定方法的建立

2.4.1 色谱条件

(1)苦杏仁苷:色谱柱为 Waters HSS T3 柱(100 mm×2.1 mm, 1.8 μm);流动相为乙腈-0.2%磷酸水溶液,梯度洗脱:0~10 min, 3%乙腈;10~12 min, 3%~4%乙腈;12~40 min, 4%乙腈;40~45 min, 4%~100%乙腈;柱温 30 ℃;体积流量 0.40

mL/min;检测波长 210 nm;进样量 1 μL。

(2)甘草酸:色谱柱为 Waters XBridge C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相为乙腈-0.05%磷酸水溶液,梯度洗脱:0~8 min, 19%乙腈;8~35 min, 19%~50%乙腈;35~36 min, 50%~100%乙腈;36~40 min, 100%~19%乙腈;柱温为 30 ℃;体积流量为 0.80 mL/min;检测波长为 250 nm;进样量为 10 μL。

(3)马钱苷酸、龙胆苦苷、羟基红花黄色素 A、

表2 SZD 基准样品与单味药指纹图谱峰面积对比分析

Table 2 Comparative analysis of peak area of characteristic peaks in fingerprint chromatograms between SZD substance benchmark and single-flavor drugs

峰号	峰面积										相对峰面积	
	基准样品	红花	桃仁	当归	川芎	羌活	秦艽	没药	五灵脂	甘草	基准样品	饮片
1	85.577	-	-	-	-	-	932.407	-	-	-	2.850	2.348
2	564.090	-	-	-	-	-	-	-	-	176.077	18.783	0.443
3	11.527	111.139	-	-	-	-	-	-	-	-	0.384	0.280
4	95.924	-	-	-	-	-	3 565.356	-	-	-	3.194	8.977
5	41.695	528.044	-	-	-	-	-	-	-	-	1.388	1.329
6	12.736	-	46.841	-	-	-	-	-	677.394	-	0.424	1.823
7	34.265	-	-	71.148	219.297	302.649	-	-	-	-	1.141	1.493
8	67.032	-	-	-	-	-	-	-	-	525.589	2.232	1.323
9	44.409	-	-	-	-	-	-	-	-	574.317	1.479	1.446
10	18.231	509.134	-	-	-	-	-	-	-	-	0.607	1.282
11	9.793	281.642	-	-	-	-	-	-	-	-	0.326	0.709
12	17.205	-	-	-	-	-	-	-	-	185.475	0.573	0.467
13	30.032	-	-	-	-	-	-	-	-	397.186	1.000	1.000
14	7.783	-	-	-	-	113.262	-	-	-	-	0.285	0.259
15	11.343	-	-	-	-	-	-	361.765	-	-	0.378	0.911

阿魏酸：色谱柱为 Waters Cortecs T3 柱（150 mm×2.1 mm，1.6 μm）；流动相为乙腈-0.2%磷酸水溶液，梯度洗脱：0~5 min，5%乙腈；5~10 min，5%~8%乙腈；10~16 min，8%~10%乙腈；16~30 min，10%~15%乙腈；柱温 30 ℃；体积流量 0.28 mL/min；检测波长 235 nm（马钱苷酸、龙胆苦苷、羟基红花黄色素 A）和 316 nm（阿魏酸）；进样量 1 μL。

(4) 洋川芎内酯 I：色谱柱为 Agilent Zorbax SB-C₁₈ 柱（250 mm×4.6 mm，5 μm）；流动相为乙腈-0.1%磷酸水溶液，梯度洗脱：0~20 min，20%乙腈；20~35 min，20%~30%乙腈；35~40 min，30%~80%乙腈；柱温 30 ℃；体积流量 1.00 mL/min；检测波长 280 nm；进样量 10 μL。

2.4.2 对照品溶液的制备 吸取“2.2.3”项下对照品储备液，分别稀释成含苦杏仁苷 96.48 μg/mL、甘草酸铵 51.87 μg/mL、马钱苷酸 43.46 μg/mL、龙胆苦苷 72.13 μg/mL、羟基红花黄色素 A 78.40 μg/mL、阿魏酸 10.35 μg/mL、洋川芎内酯 I 11.46 μg/mL 的对照品溶液。

2.4.3 供试品溶液的制备

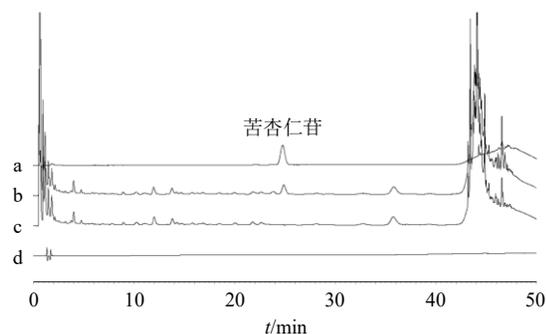
(1) 水煎液供试品溶液：精密吸取水煎液 9 mL 于 25 mL 量瓶中，加入甲醇至刻度，超声（功率 250 W、频率 40 kHz）30 min，取出，1 000 r/min 离心

5 min（离心半径 5 cm），取上清液过 0.45 μm 微孔滤膜，即得水煎液供试品溶液。

(2) 基准样品供试品溶液：同指纹图谱“2.2.2”项下方法。

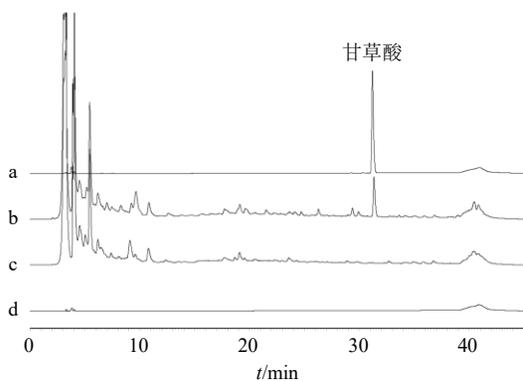
2.4.4 指标成分含量测定方法学考察

(1) 专属性考察：分别取供试品溶液、对照品溶液、阴性样品溶液、单味药供试品溶液，按照“2.4.1”项下色谱条件测定。结果（图 5~8）显示各指标成分分离度均大于 2.0，阴性无干扰，基线平稳，专属性强。



a-苦杏仁苷对照品；b-SZD 基准样品；c-缺桃仁阴性样品；d-空白溶剂。
a-amygdalin reference substance; b-SZD reference sample; c-negative sample without *Persicae Semen*; d-blank solvent.

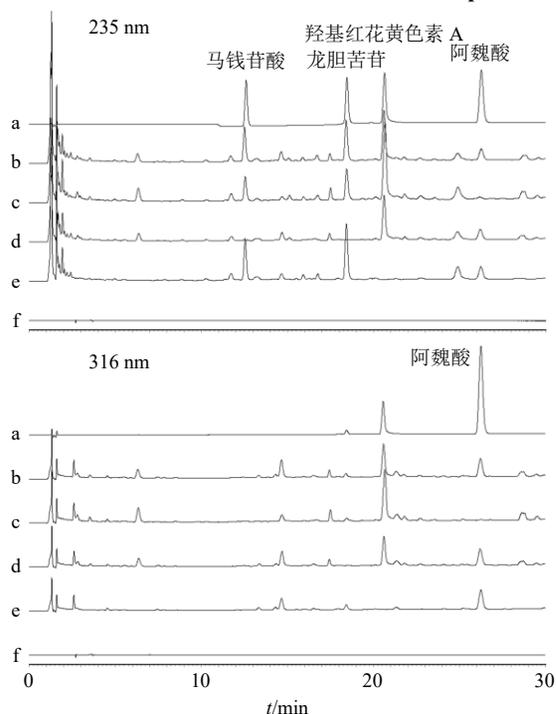
图5 SZD 基准样品中苦杏仁苷含量测定色谱图
Fig. 5 Chromatogram of amygdalin content determination in SZD benchmark sample



a-甘草酸对照品; b-SZD 基准样品; c-缺甘草阴性样品; d-空白溶剂。
a-glycyrrhizic acid reference substance; b-SZD reference sample; c-negative sample without *Glycyrrhizae Radix et Rhizoma*; d-blank solvent.

图6 SZD 基准样品中甘草酸含量测定色谱图

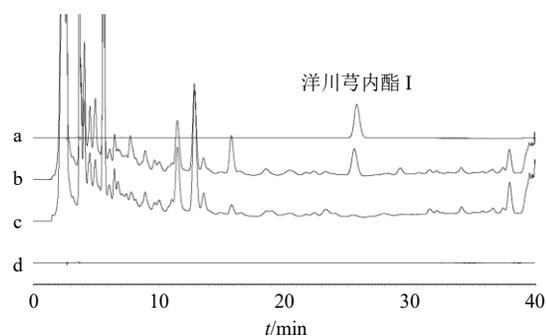
Fig. 6 Chromatogram of glycyrrhizic acid content determination in SZD benchmark sample



a-马钱苷酸、龙胆苦苷、羟基红花黄色素 A、阿魏酸混合对照品; b-SZD 基准样品; c-缺当归、川芎、羌活阴性样品; d-缺秦艽阴性样品; e-缺红花阴性样品; f-空白溶剂。
a-loganine acid, gentiopicrin, hydroxysafflor yellow A, and ferulic acid mixed reference substances; b-SZD reference sample; c-negative sample without *Angelicae Sinensis Radix, Chuanxiong Rhizoma, Notopterygii Rhizoma et Radix*; d-negative sample without *Gentianae Macrophyllae Radix*; e-negative sample without *Carthami Flos*; f-blank solvent.

图7 SZD 基准样品中马钱苷酸、龙胆苦苷、羟基红花黄色素 A、阿魏酸含量测定色谱图 (235、316 nm)

Fig. 7 Chromatogram of loganic acid, gentiopicrin, hydroxysafflor yellow A and ferulic acid content determination in SZD benchmark sample (235, 316 nm)



a-洋川芎内酯 I 对照品; b-SZD 基准样品; c-缺当归、川芎阴性样品; d-空白溶剂。

a-senkyunolide I reference substance; b-SZD reference sample; c-negative sample without *Angelicae Sinensis Radix, Chuanxiong Rhizoma*; d-blank solvent.

图8 SZD 基准样品中洋川芎内酯 I 含量测定色谱图

Fig. 8 Chromatogram of senkyunolide I content determination in SZD benchmark sample

(2) 定量限与检测限考察: 取“2.4.2”项下对照品溶液, 用70%甲醇逐级稀释, 按照“2.4.1”项下色谱条件进样测定, 记录峰面积, 以信噪比3:1和10:1分别确定检测限和定量限苦杏仁苷、甘草酸、马钱苷酸、龙胆苦苷、羟基红花黄色素 A、阿魏酸、洋川芎内酯 I 检测限分别为 0.032、0.021、0.022、0.059、0.042、0.051、0.057 $\mu\text{g/mL}$, 定量限分别为 0.105、0.073、0.076、0.176、0.146、0.168、0.190 $\mu\text{g/mL}$ 。

(3) 线性关系考察: 分别精密吸取“2.2.3”项下对照品储备液, 稀释配制成 6 个不同质量浓度的系列对照品溶液。按照“2.4.1”项下色谱条件测定, 以峰面积为纵坐标(Y), 对照品质量浓度为横坐标(X), 绘制各指标成分标准曲线, 进行线性回归, 得回归方程及线性范围分别为苦杏仁苷 $Y=4.9438X-3.77$, $r=0.9999$, 线性范围 1.29~321.61 $\mu\text{g/mL}$; 甘草酸 $Y=10.816X-5.70$, $r=0.9997$, 线性范围 1.04~259.34 $\mu\text{g/mL}$; 马钱苷酸 $Y=5.7306X+2.42$, $r=0.9998$, 线性范围 1.09~217.28 $\mu\text{g/mL}$; 龙胆苦苷 $Y=3.6639X+1.83$, $r=0.9999$, 线性范围 4.81~240.42 $\mu\text{g/mL}$; 羟基红花黄色素 A $Y=5.1354X-0.20$, $r=0.9998$, 线性范围 1.05~261.33 $\mu\text{g/mL}$; 阿魏酸 $Y=19.012X-3.41$, $r=0.9999$, 线性范围 1.02~103.52 $\mu\text{g/mL}$; 洋川芎内酯 I $Y=510.97X+131.64$, $r=0.9996$, 线性范围 1.15~57.31 $\mu\text{g/mL}$ 。

(4) 精密度考察: 取 S1 基准样品, 按照“2.4.3”项下方法制备供试品溶液 1 份, 按照“2.4.1”项下色谱条件连续进样 6 次, 苦杏仁苷、甘草酸、马钱

苷酸、龙胆苦苷、羟基红花黄色素 A、阿魏酸、洋川芎内酯 I 峰面积的 RSD 分别为 0.22%、1.16%、0.47%、0.42%、0.98%、0.93%、0.22%，表明该仪器精密度良好。

(5) 稳定性考察：取 S1 基准样品，按照“2.4.3”项下方法制备供试品溶液 1 份，按照“2.4.1”项下色谱条件，分别在 0、3、6、9、12、15、18、24 h 进样测定，结果显示苦杏仁苷、甘草酸、马钱苷酸、龙胆苦苷、羟基红花黄色素 A、阿魏酸、洋川芎内酯 I 峰面积的 RSD 分别为 1.03%、1.55%、0.17%、0.73%、0.96%、0.34%、0.87%，表明供试品溶液在 24 h 内基本稳定。

(6) 重复性考察：取 S1 基准样品 6 份，按照“2.4.3”项下制备供试品溶液 1 份，按照“2.4.1”项下色谱条件测定，结果显示苦杏仁苷、甘草酸、马钱苷酸、龙胆苦苷、羟基红花黄色素 A、阿魏酸、洋川芎内酯 I 质量分数的 RSD 分别为 1.00%、1.15%、0.87%、0.61%、1.09%、0.50%、0.76%，表明该分析方法重复性良好。

(7) 加样回收率考察：精密称取 6 份已知指标成分含量的基准样品 (S1) 0.25 g，分别按样品中各指标成分的含量的 100% 水平加入对照品，按照“2.4.3”项下方法制备供试品溶液，按照“2.4.1”项下色谱条件测定，分别计算加样回收率，结果苦杏仁苷、甘草酸、马钱苷酸、龙胆苦苷、羟基红花黄色素 A、阿魏酸、洋川芎内酯 I 的平均加样回收率分别为 101.79%、100.10%、98.85%、97.96%、93.96%、92.47%、101.30%，RSD 分别为 2.97%、1.23%、1.09%、1.33%、2.69%、3.54%、2.78%，均符合《中国药典》2020 版相关规定，表明该方法准确度良好。

2.4.5 SZD 指标成分在饮片-基准样品之间的量值传递分析 取 SZD 基准样品 (S1~S15)，分别按照“2.4.3”项下方法制备水煎液和 SZD 基准样品供试品溶液，按照“2.4.1”项下色谱条件进样分析，计算 SZD 各指标成分的含量。各单味中药饮片的含量测定方法参考《中国药典》2020 年版，其中洋川芎内酯 I 为当归、川芎共有成分，阿魏酸为当归、川芎、羌活共有成分，饮片阿魏酸含量以各单味药总含量之和计，结果见表 3。15 批 SZD 水煎液和基准样品中苦杏仁苷质量分数分别在 0.328%~0.660%、0.306%~0.548%，甘草酸质量分数在 0.207%~0.430%、0.179%~0.429%，马钱苷酸质量分数在

0.134%~0.383%、0.106%~0.349%，龙胆苦苷质量分数在 0.310%~0.752%、0.283%~0.695%，羟基红花黄色素 A 质量分数在 0.179%~0.575%、0.129%~0.592%，阿魏酸质量分数在 0.040%~0.075%、0.036%~0.069%，洋川芎内酯 I 质量分数为 0.030%~0.052%、0.024%~0.046%。根据《古代经典名方中药复方制剂基准样品的申报资料要求（征求意见稿）》规定，基准样品指标成分含量应在均值±30%内，15 批基准样品中指标成分含量 S3 批苦杏仁苷，S8 和 S9 批甘草酸含量，S7、S9、S11 批马钱苷酸，S5、S7、S9 批龙胆苦苷，S1、S4、S12、S13、S14 批羟基红花黄色素 A 含量，S7 批阿魏酸，S1 批洋川芎内酯 I 均不在均值的 70%~130%。

15 批 SZD 基准样品指标成分变化趋势与饮片含量整体呈现正相关性，即饮片含量越高，基准样品指标成分越高，上述相关性可指导药材采购、饮片炮制工艺标准的制定。同时，经典名方基准样品质量的相关性研究涉及药材、饮片炮制和基准样品制备工艺，取样的均一性、炮炙规格、饮片性质也会影响基准样品质量。各药味指标成分从饮片-水煎液-基准样品转移率结果如表 4 所示，苦杏仁苷、甘草酸、马钱苷酸、龙胆苦苷、羟基红花黄色素 A、阿魏酸、洋川芎内酯 I 从饮片-水煎液平均转移率分别为 36.49%、47.46%、83.34%、72.07%、66.02%、61.35%、62.74%，水煎液-基准样品平均转移率分别为 88.26%、89.47%、88.28%、90.22%、84.22%、91.00%、87.84%，除 S5 批苦杏仁苷饮片-水煎液转移率略高于均值的 70%~130%，其余指标成分转移率均在均值±30%，说明 SZD 基准样品制备工艺稳定，上述指标在不同批次间饮片-水煎液-基准样品中可稳定传递。

$$\text{饮片-水煎液转移率} = w_1/W$$

$$\text{水煎液-基准样品转移率} = w_2/w_1$$

W 为对应饮片中指标成分的质量， w_1 为水煎液中指标成分的质量， w_2 为基准样品中指标成分的质量

2.5 出膏率测定

按照“2.1”项下方法制备 15 批 SZD 基准样品，精密移取 25 mL 水煎液，置于恒定质量后的蒸发皿中，水浴蒸干后，105 °C 干燥 3 h 至恒定质量，记录质量。测定其出膏率，结果见表 5。结果表明 15 批基准样品的出膏率在 27.52%~32.26%，平均出膏率为 29.49%，均在均值±10%，未出现离散数据，符合经典名方研究技术指导原则的规定。各单味药

表3 饮片、水煎液、基准样品中指标成分含量

Table 3 Content of index components in decoction pieces, decoctions and benchmark samples

编号	苦杏仁苷/%			甘草酸/%			马钱苷酸/%			龙胆苦苷/%		
	饮片	水煎液	基准样品	饮片	水煎液	基准样品	饮片	水煎液	基准样品	饮片	水煎液	基准样品
S1	2.431	0.455	0.396	2.450	0.397	0.339	2.365	0.278	0.278	4.973	0.508	0.480
S2	2.658	0.351	0.306	2.192	0.278	0.224	1.740	0.175	0.169	5.917	0.553	0.484
S3	3.805	0.660	0.548	2.654	0.340	0.277	2.221	0.252	0.231	4.053	0.437	0.393
S4	3.714	0.560	0.468	2.089	0.297	0.247	1.609	0.209	0.183	4.431	0.363	0.326
S5	2.646	0.536	0.434	2.471	0.339	0.279	1.334	0.188	0.158	2.574	0.310	0.283
S6	3.189	0.499	0.417	1.884	0.249	0.201	1.941	0.291	0.237	4.430	0.539	0.477
S7	3.570	0.470	0.432	2.704	0.335	0.314	1.360	0.155	0.138	6.353	0.703	0.650
S8	2.839	0.462	0.417	1.816	0.210	0.179	2.499	0.256	0.223	7.479	0.618	0.554
S9	3.247	0.442	0.400	3.170	0.430	0.429	3.364	0.383	0.349	7.551	0.752	0.695
S10	4.040	0.608	0.512	3.393	0.345	0.310	1.913	0.245	0.199	4.472	0.464	0.401
S11	2.333	0.330	0.307	1.844	0.244	0.228	1.150	0.134	0.106	5.970	0.471	0.428
S12	2.821	0.334	0.310	2.140	0.274	0.261	2.084	0.195	0.169	5.163	0.455	0.409
S13	2.770	0.361	0.328	1.762	0.207	0.200	2.046	0.195	0.176	4.486	0.430	0.394
S14	2.630	0.328	0.306	2.155	0.258	0.256	2.611	0.210	0.190	5.352	0.437	0.396
S15	3.117	0.369	0.340	2.974	0.316	0.302	2.534	0.252	0.221	6.122	0.573	0.503
均值	3.054	0.451	0.395	2.380	0.301	0.270	2.051	0.228	0.202	5.288	0.508	0.458

编号	羟基红花黄色素A/%			阿魏酸/%			洋川芎内酯I/%		
	饮片	水煎液	基准样品	饮片	水煎液	基准样品	饮片	水煎液	基准样品
S1	1.353	0.436	0.433	0.225	0.041	0.039	0.232	0.052	0.046
S2	1.271	0.275	0.271	0.267	0.042	0.040	0.227	0.046	0.038
S3	1.245	0.332	0.304	0.331	0.054	0.048	0.211	0.039	0.034
S4	2.002	0.575	0.592	0.282	0.040	0.039	0.172	0.035	0.031
S5	1.050	0.283	0.262	0.290	0.048	0.046	0.231	0.049	0.042
S6	1.009	0.336	0.295	0.351	0.060	0.054	0.155	0.030	0.024
S7	1.084	0.341	0.289	0.342	0.075	0.069	0.181	0.040	0.037
S8	1.044	0.353	0.274	0.277	0.042	0.037	0.210	0.037	0.032
S9	1.073	0.337	0.281	0.269	0.043	0.038	0.211	0.038	0.033
S10	1.005	0.326	0.246	0.297	0.042	0.036	0.191	0.036	0.031
S11	1.130	0.303	0.241	0.271	0.042	0.037	0.195	0.033	0.029
S12	1.094	0.214	0.175	0.340	0.051	0.045	0.163	0.031	0.028
S13	1.062	0.220	0.131	0.281	0.043	0.039	0.200	0.032	0.029
S14	1.053	0.179	0.129	0.275	0.040	0.037	0.212	0.034	0.031
S15	1.321	0.265	0.203	0.323	0.045	0.041	0.206	0.033	0.030
均值	1.186	0.318	0.275	0.295	0.047	0.043	0.200	0.038	0.033

理论出膏率在 29.16%~32.90%，略大于实际出膏率，可能与全方药味组合之后吸水量比单味药大有关，导致实际煎煮水量小于单味药的加水量，故实际出膏率偏低。15 批基准样品出膏率转移率均在 90% 以上，说明基准样品制备工艺相对稳定可行，故饮片到基准样品出膏率的传递比较稳定。

$$\text{出膏率} = mv/MV$$

理论出膏率 = \sum 单味中药出膏率 \times 单味中药生药量 / 全

方总生药量

m 表示干膏的质量， V 表示取样体积 (mL)， M 表示饮片投料量 (g)， v 表示水煎液体积 (mL)

3 讨论

3.1 指标成分的选择及色谱条件分析

SZD 在桃红四物汤基础上加减，以桃仁、红花、当归、川芎为君药，红花主要含黄酮类、生物碱类、烷基二醇及多炔类、亚精胺类和木脂素类，具有抗

表 4 饮片-水煎液-基准样品中指标成分转移率

Table 4 Transfer rates of index components in decoction pieces, decoctions and benchmark samples

编号	苦杏仁苷/%		甘草酸/%		马钱苷酸/%		龙胆苦苷/%		羟基红花黄色素A/%		阿魏酸/%		洋川芎内酯I/%	
	饮片- 水煎液	水煎液- 基准样品												
S1	43.51	86.95	56.97	85.29	82.15	100.09	71.40	94.56	75.44	99.36	59.78	95.19	69.60	88.36
S2	34.69	87.06	50.05	80.53	79.86	96.53	74.15	87.56	57.02	98.37	64.07	95.26	71.86	82.41
S3	40.16	83.03	44.62	81.47	78.34	91.82	74.50	90.01	62.25	91.59	56.47	88.87	60.77	86.39
S4	36.57	83.60	51.88	83.03	94.54	87.59	59.65	89.80	69.67	102.91	54.62	96.85	64.92	88.65
S5	47.28	80.92	47.89	82.20	98.89	83.92	84.24	91.26	62.93	92.67	60.69	95.89	66.83	85.52
S6	34.70	83.49	44.04	80.74	99.71	81.40	80.82	88.56	73.92	87.72	58.09	90.34	55.23	81.27
S7	31.53	91.94	44.78	93.59	81.70	89.23	79.45	92.52	75.30	84.77	77.75	91.86	79.47	91.78
S8	38.05	90.32	40.50	85.23	71.90	86.99	57.95	89.59	79.13	77.56	54.44	87.54	56.43	86.53
S9	33.04	90.48	49.15	99.78	82.39	91.13	72.09	92.40	75.73	83.46	57.14	89.32	58.43	87.88
S10	35.15	84.15	35.49	89.91	88.81	81.37	72.14	86.35	76.11	75.41	53.56	84.91	57.21	85.91
S11	38.18	92.96	53.46	93.35	92.93	79.22	63.00	90.89	72.16	79.61	64.39	87.80	61.40	87.51
S12	31.79	92.78	51.40	95.35	75.52	86.71	71.16	89.89	52.69	81.60	68.06	88.04	64.19	91.32
S13	36.20	90.81	48.81	96.73	78.75	90.09	79.09	91.59	57.46	59.55	68.36	91.39	61.10	91.44
S14	36.84	93.29	53.02	99.18	70.81	90.44	71.89	90.59	50.37	72.13	68.16	91.27	61.15	90.77
S15	29.60	92.11	39.79	95.61	73.87	87.72	69.58	87.73	50.19	76.64	54.61	90.40	52.55	91.90
均值	36.49	88.26	47.46	89.47	83.34	88.28	72.07	90.22	66.02	84.22	61.35	91.00	62.74	87.84

表 5 SZD 基准样品理论出膏率与实际出膏率对比

Table 5 Comparison of theoretical and actual paste rate of SZD benchmark sample

编号	中药饮片出膏率/%												SZD出膏率/%		转移率/ %
	红花	桃仁	当归	川芎	羌活	秦艽	香附	没药	醋五灵脂	甘草	地龙	牛膝	理论	实际	
1	39.01	17.81	48.56	30.55	21.83	20.33	13.22	17.72	18.70	26.33	19.36	47.06	29.52	27.99	94.81
2	42.06	18.34	51.20	28.10	25.30	19.65	16.50	15.21	11.27	28.15	16.00	45.36	29.19	28.89	98.96
3	40.91	21.98	53.62	29.13	27.07	25.82	18.23	20.77	16.86	35.22	20.19	46.69	32.20	29.60	91.92
4	43.02	16.44	48.77	31.44	28.68	24.19	15.89	18.23	19.95	32.15	14.36	45.04	30.43	30.07	98.81
5	35.49	19.67	50.33	27.86	22.00	22.18	17.85	22.36	15.49	30.18	22.23	44.89	29.98	29.58	98.69
6	32.18	20.77	53.44	30.13	23.73	19.68	15.84	17.79	12.13	28.62	19.62	46.24	29.35	29.05	98.99
7	37.91	24.58	49.31	34.45	26.11	25.62	16.44	18.42	14.41	30.14	16.93	45.48	30.75	30.10	97.89
8	38.53	19.13	54.11	25.69	29.12	20.64	14.24	20.19	14.96	31.17	17.91	43.22	29.95	28.61	95.53
9	41.98	22.03	55.23	30.02	26.29	19.48	16.87	22.90	19.46	33.56	19.14	50.64	32.90	32.12	97.64
10	39.32	22.74	45.16	28.68	22.79	24.17	15.51	15.22	18.69	28.74	16.72	42.89	29.16	28.02	96.11
11	43.38	17.33	51.17	26.70	27.61	20.14	16.09	17.80	17.64	34.08	22.72	46.68	31.10	30.54	98.23
12	41.46	20.76	52.25	26.88	22.11	19.43	14.65	22.26	13.03	30.46	22.00	39.22	29.86	28.84	96.58
13	48.13	17.88	55.08	30.40	29.41	21.66	17.83	20.03	14.98	33.16	21.03	46.41	32.42	32.26	99.51
14	39.00	15.36	47.82	26.80	24.98	22.80	14.36	19.42	18.11	28.76	20.75	47.53	29.56	27.52	93.09
15	42.50	15.77	52.13	25.63	23.44	24.06	15.40	17.11	17.94	31.28	22.68	42.30	30.01	29.18	97.23

心肌缺血、调节血流动力学、抗炎、镇痛、抗氧化作用^[10]，羟基红花黄色素 A 作为代表性成分，临床上与其他药物配伍或单独使用可改善心肌缺血、神经功能损伤、抗氧化应激和镇痛^[11]；与桃仁配伍可用于骨质疏松症、高脂血症、心肌缺血再灌注损伤等^[12]。桃仁的特征性成分苦杏仁苷能降低血清总胆

固醇、血清三酰甘油和低密度脂蛋白胆固醇，对动脉粥样硬化有一定抑制作用^[13]。当归、川芎同为伞形科植物，化学成分具有高度的相似性，苯酐类化合物是伞形科药用植物的特征性成分之一，能调节中枢神经和心脑血管系统，抑制平滑肌细胞增殖，降低血液黏度，抗血小板聚集和抗血栓形成，代表

性成分为洋川芎内酯系列化合物^[14-15]；阿魏酸是当归和川芎药味中含量较高的有机酸成分，具有抗动脉粥样硬化、清除自由基等药理活性^[16]。处方中臣药、佐使药大多以挥发性成分为主，在组方中占比少，且专属性成分含量较低，水溶性好且稳定的成分主要来源于秦艽和甘草，化学成分以环烯醚萜类和黄酮类为主。参考《中国药典》2020年版各单味药的含量测定指标，选取代表性成分苦杏仁苷、甘草酸、马钱苷酸、龙胆苦苷、羟基红花黄色素 A、阿魏酸为定量指标，由于当归、川芎、羌活药味中均含有阿魏酸，故选取性质稳定且含量较高的洋川芎内酯 I 作为当归和川芎的定量指标。本研究根据 SZD 处方药味的主要药理作用筛选定量指标，建立指纹图谱与多指标成分分析方法，探讨与药效相关联的关键成分在饮片-水煎液-基准样品中的量值传递规律。

本研究在指纹图谱和含量测定色谱条件优化过程中考察了不同流动相体系（乙腈-水、乙腈-磷酸、甲醇-水、甲醇-磷酸）对色谱峰的分离效果，除苦杏仁苷外，其余成分在乙腈-磷酸溶液体系中分离度良好，基线平稳，柱温和流速的微小变化对指纹峰和含量指标成分分离度无显著影响。参考《中国药典》2020年版筛选指纹图谱 4 种测定波长，显示在 235 nm 时黄酮类、环烯醚萜类、有机酸类、香豆素类、三萜类响应较好，色谱峰信息丰富且杂峰干扰少。在供试品溶液制备过程中考察了不同比例甲醇、乙醇，不同提取方式超声处理、回流加热，以及不同极性溶剂正丁醇、乙酸乙酯、氯仿分级萃取对指纹图谱色谱峰的影响，以 70% 甲醇超声处理各色谱峰响应最高，各指纹峰和定量指标成分提取率最高，且操作简单。

3.2 基准样品指纹图谱分析

通过指纹图谱量值传递研究发现，大部分指纹峰均能在饮片-基准样品中较为完整的传递，从色谱峰个数和峰强度分析，秦艽、红花、甘草对指纹图谱的贡献最大，其主要成分为环烯醚萜类和黄酮类易溶于水，紫外吸收强易检测，在 C₁₈ 柱分离过程中具有良好的保留作用。处方中含挥发油的药味较多，如当归、川芎、羌活、没药、香附占处方总量 36%，具有活血行气、逐瘀通络功效，基准样品采用水煎煮的制备方法，未进行挥发油或芳香水的收集，挥发油在浓缩和干燥过程中损失较大。经典名方由水溶性和脂溶性成分共同发挥功效，采用传统

水煎服，对水溶性成分提取效率较高，但挥发性成分在汤剂中的保留一直是经典名方面临的共性问题，因此，后续应针对 SZD 中挥发性成分建立 GC 或 GC-MS 指纹图谱，进一步研究挥发性成分在饮片-水煎液-基准样品传递规律，优化和调整基准样品制备工艺。本研究尚有不足之处，方中香附、地龙、牛膝未指出特征峰，香附主要含有挥发油难溶于水，地龙主要成分为核苷和氨基酸，牛膝中的成分以皂苷类和多糖为主，由于 3 味中药处方占比少且主要成分含量低且紫外吸收为低波长，不具备 UV 检测的结构特点，致使专属性成分在此色谱条件下未能检出。桃仁、川芎、当归中的代表性成分苦杏仁苷和洋川芎内酯 I 在 235nm 波长下紫外吸收较弱，在指纹图谱中未有体现，仅作为定量指标单独分析，后续可通过优化供试品制备方法或采用多波长兼顾各单味药的特征性成分。从单味药与基准样品相对峰面积比值可知，不同批次饮片-基准样品指纹图谱峰面积的传递较为稳定，部分色谱峰饮片单煎与全方合煎峰面积传递规律略有差异，推测可能与饮片合煎后各化学成分间相互反应，化学物质群发生变化有关。

3.3 指标分量值传递结果分析

分析指标性成分在 15 批饮片-水煎液-基准样品中量值传递规律，结果显示各指标转移率与对应批次饮片含量呈正相关，7 个指标成分从饮片到水煎液的转移率皆在均值±30%，水煎液至基准样品冻干粉除羟基红花黄色素 A 平均转移率为 84.22%，其余 6 个指标转移率均大于 87%，结合前期的基准样品制备工艺考察结果，对比不同浓缩温度和冻干参数对基准样品质量的影响，指标成分受浓缩温度的影响较大，特别是热敏性成分浓缩后会略有下降，冻干对各指标成分含量的影响较少。基准样品中有 1 批苦杏仁苷、阿魏酸、洋川芎内酯 I 含量高于均值±30%，三者均受温度影响较大，含量变化规律与受热温度及受热时间有关^[17]，苦杏仁苷在煎煮过程中有 L-型和 D-型 2 种异构化形态，煎煮温度上升，L-苦杏仁苷的转化加快，加热时间越长 L-型含量越高^[18-19]。王升菊等^[20]对比经典名方桃红四物汤古今炮制工艺对饮片质量的影响，结果显示羟基红花黄色素 A 和阿魏酸在受热后含量均下降，阿魏酸会随着温度的升高，含量降低，羟基红花黄色素 A 为查耳酮葡萄糖苷类成分，遇热易分解^[21]。另有 3 批马钱苷酸 (S7、S9、S11)、3 批龙胆苦苷 (S5、

S7、S9) 波动较大, 上述成分均来源于秦艽, 环烯醚萜类化合物特殊的半缩醛羟基结构性性质活泼, 其氢键极易被水解断裂, pH 值、温度、水分、酶是影响其稳定性的关键因素, 当温度高于 45 °C、相对湿度高于 45%, 会促使环烯醚萜类化合物发生开环反应并进一步转化, 在基准样品制备过程中煎煮和浓缩均会影响马钱苷酸和龙胆苦苷含量^[22]。因此, 复方在煎煮和浓缩过程中应严格控制加热温度和时长。指标成分在水煎液-基准样品中的含量不仅受制备工艺的影响, 同样产地也会影响质量的离散程度, 本研究对比 3 个不同产地制备的基准样品中 7 种成分含量差异, 其中羟基红花黄色素 A 以新疆伊宁产地质量较为集中, 云南大理和丽江质量离散程度较大。4 批基准样品中马钱苷酸和龙胆苦苷超出均值 ± 30% 的秦艽主要来源于云南丽江和甘肃陇南, 云南大理产区秦艽指标成分含量较为居中。由于收集到的产地批次较少, 后续将进一步收集多批次药材验证上述结论。

此外, 15 批基准样品中有 2 批 (S8、S9) 甘草酸超出范围, 甘草酸易溶于水, 受温度的影响较小, 推测原因可能与甘草酸在不同部位分布差异有关, 调查发现这 2 批甘草药材规格大小不一, 主根和支根占比差异较大。有研究证明甘草木质部和韧皮部中甘草酸占比总质量分数的 90% 以上^[23], 甘草主根中甘草苷和甘草酸含量最高, 甘草支根稍次之, 甘草尾最低^[24]。为了减少不同批次基准样品的质量差异, 饮片炮制时应按规格及部位分档, 确保饮片质量的均一性, 基准样品制备过程中还可以通过对不同产地、不同批次饮片混批投料方式控制饮片质量波动, 同时应严格控制各项影响质量属性的关键工艺参数, 确保基准样品制备工艺稳定可重现, 以保证基准样品和制剂质量的稳定。

经典名方基准样品的研究是经典名方制剂开发的关键环节, 制剂的关键质量特征应与基准样品确定的关键质量特征相一致, 基准样品质量稳定的前提是对处方所用药材的基原、药用部位、产地、加工方式、生长年限、采收期, 以及饮片的炮制进行充分研究, 最终确定限度范围及质量要求, 才能确保药材及饮片的质量均一、稳定。本研究采用指纹图谱、7 个指标成分含量和出膏率阐明处方指标成分在饮片-水煎液-基准样品中的量值传递规律, 部分批次离散较大, 后续将剔除并增加基准样品研究批次, 严格控制饮片质量, 降低离散值的影响,

建立从药材、饮片、中间体、制剂全链条的质量控制体系, 为制剂与基准样品质量一致性和稳定性提供科学依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 王清任 清. 医林改错 [M]. 新一版. 上海: 上海科学技术出版社, 1966.
- [2] 易腾达, 李玉丽, 梁宇, 等. 经典名方身痛逐瘀汤的古今文献分析 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(2): 28-36.
- [3] 朱志飞, 樊启猛, 刘有志, 等. 身痛逐瘀汤方证释义及其现代研究进展 [J]. 中国中医药信息杂志, 2020, 27(8): 136-140.
- [4] 杨小强, 任玉军, 马红炜. 身痛逐瘀汤治疗瘀血阻络型腰椎间盘突出症临床观察 [J]. 光明中医, 2023, 38(12): 2303-2306.
- [5] 李继超, 赵娟, 张延杰, 等. 身痛逐瘀汤对痰瘀互结型膝关节关节炎患者血清 IL-1 β 的调节作用 [J]. 中医药学报, 2018, 46(2): 90-93.
- [6] 阮洪生, 刘树民. 身痛逐瘀汤治疗骨伤科疾病临床研究进展 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(9): 275-277.
- [7] 漆利军, 谢韦君, 周晋华. “加减身痛逐瘀汤”经神阙穴贴敷联合三阶梯止痛药疗法治疗癌性疼痛的临床效果观察 [J]. 临床和实验医学杂志, 2022, 21(18): 1937-1940.
- [8] 倪国勇, 钮雪松, 张凤霞, 等. 身痛逐瘀汤治疗气滞血瘀型带状疱疹后遗神经痛临床观察 [J]. 光明中医, 2023, 38(13): 2562-2565.
- [9] 国家药品监督管理局·按古代经典名方目录管理的中药复方制剂药学研究技术指导原则 (试行[EB/OL]. (2021-08-27) [2024-03-10] <https://www.cde.org.cn/main/news/viewInfoCommon/1c18dd163e7c9221786e5469889367d0>.
- [10] Luo Z R, Li H, Xiao Z X, *et al.* Taohong Siwu Decoction exerts a beneficial effect on cardiac function by possibly improving the microenvironment and decreasing mitochondrial fission after myocardial infarction [J]. *Cardiol Res Pract*, 2019, 2019: 5198278.
- [11] Gong Z, Pan J R, Li X P, *et al.* Hydroxysafflor yellow A reprograms TLR9 signalling pathway in ischaemic cortex after cerebral ischaemia and reperfusion [J]. *CNS Neurol Disord Drug Targets*, 2018, 17(5): 370-382.
- [12] 赵家乐, 洪诗涵, 唐宏宇. 基于网络药理学与分子对接技术探讨桃仁-红花抗骨质疏松机制 [J]. 现代中西医结合杂志, 2024, 33(10): 1413-1421.
- [13] Zhang X Q, Hu J G, Zhuo Y Z, *et al.* Amygdalin improves

- microcirculatory disturbance and attenuates pancreatic fibrosis by regulating the expression of endothelin-1 and calcitonin gene-related peptide in rats [J]. *J Chin Med Assoc*, 2018, 81(5): 437-443.
- [14] 韩炜. 川芎的化学成分与药理作用研究进展 [J]. 中国现代中药, 2017, 19(9): 1341-1349.
- [15] 张来宾, 吕洁丽, 陈红丽, 等. 当归中苯酞类成分及其药理作用研究进展 [J]. 中国中药杂志, 2016, 41(2): 167-176.
- [16] 李晓雨, 李双凤, 刘晓美, 等. 当归-川芎药对的化学成分、药理作用及临床应用研究进展 [J]. 中草药, 2024, 55(4): 1415-1426.
- [17] 陈倩洁, 孙明, 梁瑞雪, 等. 煎煮时间对川芎中阿魏酸稳定性影响的研究 [J]. 中药新药与临床药理, 2002, 13(4): 249-250.
- [18] 柴玉霞. 苦杏仁中苦杏仁苷的提取纯化、功能性质及异构化研究 [D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2023.
- [19] Bai Y J, Kong M, Xu J D, *et al*. Effect of different drying methods on the quality of *Angelicae Sinensis Radix* evaluated through simultaneously determining four types of major bioactive components by high performance liquid chromatography photodiode array detector and ultra-high performance liquid chromatography quadrupole time-of-flight mass spectrometry [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2014, 94: 77-83.
- [20] 王升菊, 郑雨, 段赟, 等. 基于组方药味古今炮制工艺的经典名方桃红四物汤质量差异性研究 [J]. 中草药, 2021, 52(14): 4201-4209.
- [21] 陈虹, 杨礼聪, 赖芸, 等. 温度对注射用红花黄色素与6种溶剂配伍稳定性的影响 [J]. 中国药业, 2022, 31(8): 61-64.
- [22] 杜亚朋, 王美, 李璐遥, 等. 基于化合物稳定性探讨炮制对含环烯醚萜类成分中药药性及功效影响的研究进展 [J]. 中草药, 2021, 52(16): 5039-5051.
- [23] 王汉卿, 雍婧姣, 肖东, 等. 宁夏产甘草不同组织部位成分差异比较 [J]. 中华中医药杂志, 2019, 34(6): 2672-2675.
- [24] 程芳, 吴志成, 韩静, 等. 甘草不同药用部位甘草酸及甘草苷含量比较研究 [J]. 甘肃中医药大学学报, 2024, 41(1): 57-60.

[责任编辑 郑礼胜]

• 封面图片介绍 •

博落回花



博落回为罂粟科博落回属多年生真双子叶直立草本植物博落回 *Macleaya cordata* (Willd.) R. Br., 高可达4 m, 基部木质化, 具乳黄色浆汁。茎高1~4 m, 绿色, 光滑, 多白粉, 中空, 上部多分枝。叶片宽卵形或近圆形, 背面多白粉, 常呈淡红色, 长5~27 cm, 宽5~25 cm, 先端急尖、渐尖、钝或圆形, 通常7或9深裂或浅裂, 裂片半圆形、方形、三角形或其他, 边缘波状、缺刻状、粗齿或多细齿, 表面绿色, 无毛, 背面多白粉, 被易脱落的细绒毛, 基出脉通常5, 侧脉2对, 稀3对, 细脉网状, 常呈淡红色; 叶柄长1~12 cm, 上面具浅沟槽。大型圆锥

花序多花, 长15~40 cm, 顶生和腋生; 花梗长2~7 mm; 苞片狭披针形。花芽棒状, 近白色, 长约1 cm; 萼片倒卵状长圆形, 长约1 cm, 舟状, 黄白色; 花瓣无; 雄蕊24~30个, 花丝丝状, 长约5 mm, 花药条形, 与花丝等长; 子房倒卵形至狭倒卵形, 长2~4 mm, 先端圆, 基部渐狭, 花柱长约1 mm, 柱头2裂, 下延于花柱上。蒴果狭倒卵形或倒披针形, 长1.3~3.0 cm, 粗5~7 mm, 先端圆或钝, 基部渐狭, 无毛。种子4~8枚, 卵珠形, 长1.5~2.0 mm, 生于缝线两侧, 无柄, 种皮具排成行的整齐的蜂窝状孔穴, 有狭的种阜。花果期6~11月。生于海拔150~830 m的丘陵或低山林中、灌丛中或草丛间, 长江以南、南岭以北的大部分省区均有分布, 南至广东, 西至贵州, 西北达甘肃南部。

全草有大毒, 不可内服, 入药治跌打损伤、关节炎、汗斑、恶疮、蜂螫伤及麻醉镇痛、消肿; 作农药可防治稻椿象、稻苞虫、钉螺等。

(封面图片 由广州白云山和记黄埔中药有限公司 夏静 提供)