

基于多指标结合多元统计分析研究藤茶药材贮藏稳定性及成分变化规律

石依姗, 万 青, 汪秋兰, 方建国, 王文清, 熊 微*

华中科技大学同济医学院附属同济医院 药学部 湖北 武汉 430030

摘 要: **目的** 研究不同产地藤茶药材(显齿蛇葡萄 *Ampelopsis grossedentata* 茎叶)贮藏期间有效成分的含量变化,为藤茶药材的贮藏条件和有效期的制定提供依据。**方法** 采用加速试验和长期试验法,以藤茶药材的性状、水分、二氢杨梅素含量和 HPLC-PDA 指纹图谱为考察指标,采用主成分分析法和相关性分析法考察成分变化之间的相关性,并采用紫外法、HPLC-MS 质谱及圆二色谱法对未知成分及转化机制进行解析。**结果** 在加速试验 9 个月过程中,藤茶中二氢杨梅素的含量基本稳定,水分有所增加,但仍符合标准要求;杨梅素含量呈升高趋势,未知峰呈下降趋势,二者变化具有显著的相关性,未知峰推测为二氢杨梅素的异构体。在 36 个月的长期试验过程中,藤茶水分、二氢杨梅素含量及各特征峰的单位质量峰面积均趋于稳定。**结论** 藤茶常温条件下,贮藏 3 年内质量稳定,其贮藏过程应避免高温高湿的环境。

关键词: 藤茶; 显齿蛇葡萄; 指纹图谱; 稳定性; 有效期; 二氢杨梅素; 杨梅素

中图分类号: R286.2 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2025)20-7556-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.20.025

Study on storage stability and component variation of vine tea medicinal materials based on multi-indicator combined with multivariate statistical analysis

SHI Yishan, WAN Qing, WANG Qiulan, FANG Jianguo, WANG Wenqing, XIONG Wei

Department of Pharmacy, Tongji Hospital Affiliated to Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, China

Abstract: Objective To study the changes in the content of active ingredients in vine tea (*Ampelopsis grossedentata*, using stems and leaves as medicinal parts) medicinal materials during storage from different origins, providing a basis for determining the storage conditions and shelf life of vine tea medicinal materials. **Methods** Accelerated testing and long-term testing methods were utilized, with the traits, moisture content, dihydromyricetin content, and HPLC-PDA fingerprints of vine tea, as well as the content of dihydromyricetin and HPLC-PDA fingerprint patterns as indicators. Principal component analysis and correlation analysis were employed to investigate the correlation between changes in components, and UV spectroscopy, HPLC-MS, and circular dichroism spectroscopy were used to analyze unknown components and conversion mechanisms. **Results** During the nine-month accelerated testing process, the content of dihydromyricetin in vine tea remained relatively stable, with a slight increase in moisture content, which still met standard requirements. The the area of unknown peaks showed an upward trend, there was a significant correlation between the two changes, and the unknown peaks were speculated to be isomers of dihydromyricetin. During the 36-month long-term testing process, moisture content, dihydromyricetin content, and the peak area per unit mass of each characteristic peak of vine tea all tended to stabilize. **Conclusion** Under normal temperature conditions, vine tea medicinal materials can maintain stable quality for up to three years. During the storage process, it is important to avoid environments with high temperature and humidity.

Key words: vine tea; *Ampelopsis grossedentata* (Handel-Mazzetti) W. T. Wang; fingerprint; stability; validity period; dihydromyricetin; myricetin

收稿日期: 2025-03-02

基金项目: 湖北省技术创新计划重点研发专项 (2023BCB063); 湖北省技术创新计划重点研发专项 (2023BCB130); 湖北省技术创新计划重点研发专项 (2024BCB034)

作者简介: 石依姗 (1995—), 女, 主管药师, 研究方向为中药资源及质量评价、新药研发。E-mail: 591501572@qq.com

*通信作者: 熊 微 (1980—), 男, 副主任药师, 生物制药工程博士, 研究方向为智能医药用材料的构建及新制剂的开发。

E-mail: xiongwei@tjh.tjmu.edu.cn

国家药品监督管理局 2024 年 8 月发布的《中药标准管理专门规定》中提出,加强中药监管科学研究,科学设置与安全性和有效性相关联的项目和指标。药品的有效期是指在规定贮藏条件下,其质量能够符合规定要求的时限,或药品有效成分含量下降到 90% 所需的时间,通过限制贮藏条件和时间可以有效保障药品质量^[1]。中药成分复杂,易受温度、湿度、光照及包材等贮藏条件 and 环境因素的影响,发生变色、潮解、泛油、腐败、虫蛀、气味散失及霉变等一系列质量问题,影响中药安全性以及疗效^[2]。目前多数中药的有效期及贮藏条件尚未有系统研究和明确规定,中药的安全性和疗效难以得到保障。因此,对中药进行稳定性研究,完善有关中药有效期的国家标准及我国中药质量管理制度,可促进中药产业高质量发展,加快实现中药现代化国际化进程^[3-4]。

藤茶是由葡萄科蛇葡萄属植物显齿蛇葡萄 *Ampelopsis grossedentata* (Handel-Mazzetti) W. T. Wang 的嫩茎叶加工而成,由于干燥后其有效成分二氢杨梅素(dihydromyricetin, DMY)在叶表面析出,常见一层“白霜”,形似发霉,故藤茶又称“莓茶”或“霉茶”^[5],具有清热解毒、利湿消肿、泻火平肝、活血化浊的功效。本课题组在参与制订“藤茶”湖北省中药材质量标准的过程中,走访了全国各地藤茶主产区,发现藤茶药材质量参差不齐,性状差异较大,且随着贮藏年限变长,藤茶陈货表面“白霜”逐渐变黄^[6]。然而,目前有关藤茶的研究主要集中在药理学领域,药材稳定性的研究尚未见报道,对藤茶的流通、使用、监管及综合开发均造成了不利的影响。

本实验参考《中药、天然药物稳定性研究技术指导原则》的基本要求,结合藤茶药材特征,运用经典的加速试验和长期试验,以藤茶性状、水分和成分含量考察指标,通过 HPLC-PDA 指纹图谱反映藤茶贮藏期间各成分的变化趋势,采用主成分分析法和相关性分析阐述其变化规律,并采用紫外法、HPLC-MS 质谱及圆二色谱法对未知成分及转化机制进行解析,预测其有效期。为藤茶的科学贮藏和开发利用提供参考,为制定藤茶药材的有效期、保障临床用药安全提供科学依据。

1 仪器与材料

SHH-500SD-2T 型药品稳定性试验箱(重庆市永生实验仪器厂);Waters e2695 型高效液相色谱仪(美国沃特世公司);AUW220D 型双量程分析天平

(日本岛津公司);KQ-400DE 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

二氢杨梅素对照品(自制,质量分数 99.38%);杨梅素(批号 MUST-12013108,质量分数 99.8%)购于成都曼斯特生物科技有限公司;杨梅苷(批号 111860-201703,质量分数 95.2%)及花旗松素(批号 111816-201102,质量分数 98.9%)均购于中国食品药品检定研究院;甲醇、乙腈为色谱纯(美国天地公司);其他试剂均为分析纯,水为新制多效纯化水。

藤茶分别购于福建省龙岩市漳平市、福建省漳州市南靖县、广西省来宾市金秀瑶族自治县,批号分别为 ZP20181026、NJ20181026、JX20180805,由华中科技大学同济医学院附属同济医院药学部方建国教授鉴定为葡萄科植物显齿蛇葡萄 *A. grossedentata* (Handel-Mazzetti) W. T. Wang 的茎叶。

2 方法

2.1 样品的制备

2.1.1 加速试验样品的制备 取不同产地的 3 批藤茶,用中药饮片包装袋包装,放入药品稳定性试验箱,在温度 $(40 \pm 2)^\circ\text{C}$ 、相对湿度 $(75 \pm 5)\%$ 的条件下放置 9 个月,分别在取 1、2、3、6、9 个月末的样品作为待测样品,编号为 JSZP-1、JSZP-2、JSZP-3、JSZP-6、JSZP-9、JSNJ-1、JSNJ-2、JSNJ-3、JSNJ-6、JSNJ-9、JSJX-1、JSJX-2、JSJX-3、JSJX-6、JSJX-9。

2.1.2 长期试验样品的制备 取不同产地的 3 批藤茶(批号 ZP20181026、NJ20181026、JX20180805),用中药饮片包装袋包装,放入药品稳定性试验箱,在温度 $(25 \pm 2)^\circ\text{C}$ 、相对湿度 $(60 \pm 5)\%$ 的条件下放置 36 个月,分别在取 1、2、3、6、9、12、18、24、30、36 个月末的样品作为待测样品,编号为 CQZP-1、CQZP-2、CQZP-3、CQZP-6、CQZP-9、CQZP-12、CQZP-18、CQZP-24、CQZP-30、CQZP-36、CQNJ-1、CQNJ-2、CQNJ-3、CQNJ-6、CQNJ-9、CQNJ-12、CQNJ-18、CQNJ-24、CQNJ-30、CQNJ-36、CQJX-1、CQJX-2、CQJX-3、CQJX-6、CQJX-9、CQJX-12、CQJX-18、CQJX-24、CQJX-30、CQJX-36。

2.2 指纹图谱的建立

2.2.1 色谱条件^[7] 色谱柱为 Platisil ODS C_{18} 柱 $(250\text{ mm} \times 4.6\text{ mm}, 5\text{ }\mu\text{m})$,流动相为甲醇(A)-0.1%磷酸溶液(B),梯度洗脱 $(0 \sim 20\text{ min}, 80\% \sim 70\% \text{ B}; 20 \sim 40\text{ min}, 70\% \sim 55\% \text{ B}; 40 \sim 48\text{ min},$

55%~35% B; 48~50 min, 35%~80% B; 50~60 min, 80% B); 体积流量为 0.8 mL/min, 检测波长 230 nm; 柱温 30 ℃, 进样体积 10 μL。

2.2.2 混合对照品溶液的制备 精密称取二氢杨梅素、花旗松素、杨梅苷和杨梅素对照品 10.91、5.32、7.86、5.14 mg, 分别置 10 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 作为对照品贮备液。分别精密吸取上述对照品贮备液, 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇-0.1%磷酸水溶液 (60:40) 稀释至含二氢杨梅素 108.42 μg/mL、花旗松素 10.52 μg/mL、杨梅苷 14.97 μg/mL、杨梅素 10.26 μg/mL 的混合对照品溶液。

2.2.3 供试品溶液的制备 取各藤茶粉末 (过 3 号筛) 约 0.5 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇-0.1%磷酸溶液 (60:40) 50 mL, 称定质量, 超声处理 (功率 250 W, 频率 44 kHz) 30 min, 放冷, 再称定质量, 用上述溶剂补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

2.2.4 精密度试验 取藤茶样品粉末 0.5 g, 精密称定, 按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液, 精密吸取供试品溶液 10 μL 进样, 重复进样 6 次, 记录色谱图。以二氢杨梅素为参比峰, 各共有峰相对保留时间 RSD 均小于 1.0%, 相对峰面积 RSD 均小于 5.0%, 符合规定。

2.2.5 重复性试验 取藤茶样品粉末 0.5 g, 精密称定, 按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液 6 份, 精密吸取供试品溶液 10 μL 进样, 记录色谱图。以二氢杨梅素为参比峰, 共有峰相对保留时间 RSD 均小于 1.0%, 相对峰面积 RSD 均小于 5.0%, 符合规定。

2.2.6 稳定性试验 取藤茶样品粉末 0.5 g, 精密称定, 按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液, 按“2.2.1”项色谱条件分别在 0、2、4、6、10、18 h 测定, 结果显示, 供试品溶液中各共有峰相对保留时间的 RSD 均小于 1.0%, 各共有峰相对峰面积 RSD 均小于 5.0%, 各共有色谱峰分离度均大于 1.5, 符合规定。

2.2.7 HPLC 指纹图谱的建立及相似度评价 分别精密称取“2.1.1”及“2.1.2”项下藤茶药材样品, 按照“2.2.3”项下方法制成供试品溶液, 并按“2.2.1”项下色谱条件分别进样分析, 记录色谱图。将所得 48 批藤茶药材的图谱文件导入《中药色谱指纹图谱相似度评价系统》(2012 A 版), 以 JX20180805 为参照图谱, 设置时间窗宽度为 0.1, 并基于中位数法生成对照图谱,

运用多点校正进行 Mark 色谱峰匹配, 计算其相似度。结果表明, 所测 48 批藤茶药材与指纹图谱的相似度均大于 0.99, 说明加速和长期实验下的藤茶药材的化学组成具有一定的相似度, 未发生显著变化。相似度结果见表 1。共标定 5 个共有峰, 指纹图谱见图 1。按“2.2.2”项下方法制备混合对照品溶液, 得到对应的对照品溶液色谱图, 将其与供试品溶液色谱图进行比对, 根据保留时间确定共有峰。经过与对照品比对, 可知 1 号峰为二氢杨梅素, 3 号峰为花旗松素, 4 号峰为杨梅苷, 5 号峰为杨梅素。混合对照品溶液的色谱图见图 2-A, 3 批不同产地藤茶样品的特征色谱峰匹配图谱见图 2-B。

2.2.8 样品测定 取各贮藏期的藤茶药材, 按照“2.2.3”项下方法制备供试品溶液, 进样, 测定各色谱峰峰面积, 计算单位质量峰面积[单位质量峰面积=色谱峰面积/ W , W =称样量×(1-水分含量)]。

表 1 48 批藤茶药材样品的相似度评价结果

Table 1 Similarity evaluation results of 48 batches of vine tea medicinal material samples

样品编号	相似度	样品编号	相似度
ZP20181026	0.999	CQZP-3	0.998
NJ20181026	1.000	CQNJ-3	0.999
JX20180805	0.996	CQJX-3	0.996
JSZP-1	0.999	CQZP-6	0.997
JSNJ-1	0.999	CQNJ-6	0.999
JSJX-1	0.996	CQJX-6	0.997
JSZP-2	0.998	CQZP-9	0.997
JSNJ-2	0.999	CQNJ-9	0.997
JSJX-2	0.996	CQJX-9	0.996
JSZP-3	0.998	CQZP-12	0.997
JSNJ-3	0.998	CQNJ-12	0.997
JSJX-3	0.995	CQJX-12	0.998
JSZP-6	0.996	CQZP-18	0.997
JSNJ-6	0.996	CQNJ-18	0.998
JSJX-6	0.999	CQJX-18	0.994
JSZP-9	0.998	CQZP-24	0.997
JSNJ-9	0.998	CQNJ-24	0.997
JSJX-9	0.995	CQJX-24	0.995
CQZP-1	0.999	CQZP-30	0.996
CQNJ-1	0.999	CQNJ-30	0.997
CQJX-1	0.997	CQJX-30	0.995
CQZP-2	0.998	CQZP-36	0.995
CQNJ-2	0.999	CQNJ-36	0.996
CQJX-2	0.997	CQJX-36	0.994

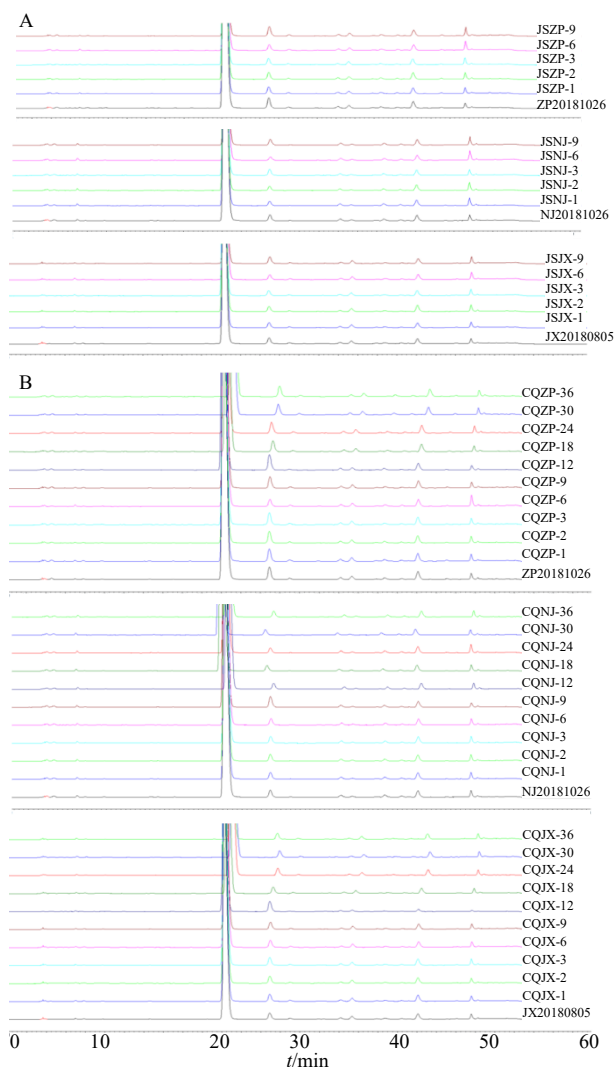
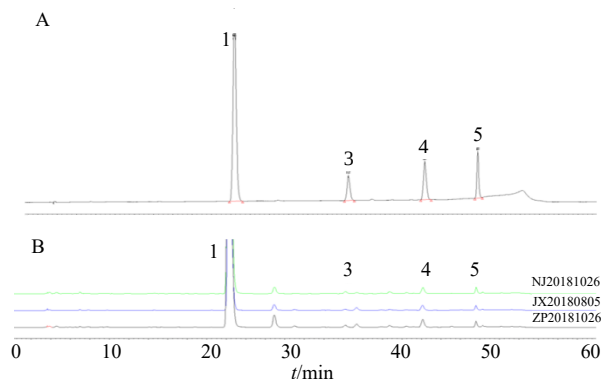


图 1 加速 (A) 及长期 (B) 实验的 HPLC 指纹图谱
Fig. 1 HPLC fingerprints of accelerated (A) and long term (B) experiments



1-二氢杨梅素; 3-花旗松素; 4-杨梅苷; 5-杨梅素。
1-dihydromyricetin; 3-taxifolin; 4-myricitrin; 5-myricetin.

图 2 混合对照品 (A) 和藤茶对照指纹图谱 (B)
Fig. 2 Mixed reference substance chromatogram (A) and reference fingerprints of vine tea (B)

2.3 二氢杨梅素含量测定

2.3.1 色谱条件^[7-8] 流动相为甲醇-0.1%磷酸 (32:68), 检测波长 290 nm, 其他同“2.2.1”项下。

2.3.2 对照品溶液的制备 精密吸取“2.2.2”项下二氢杨梅素对照品贮备液 0.5 mL, 置 10 mL 量瓶中, 加流动相稀释至刻度, 即得。

2.3.3 供试品溶液的制备 精密吸取“2.2.3”项下供试品溶液 1 mL, 置 50 mL 量瓶中, 加流动相稀释至刻度, 即得。

2.3.4 线性方程的绘制 精密吸取“2.2.2”项下二氢杨梅素对照品储备液 0.2、0.5、1、2、3、5 mL, 分别置于 6 个 10 mL 量瓶中, 加甲醇-0.1%磷酸溶液 (60:40) 定容至刻度, 摇匀, 即得各系列浓度的混标溶液。分别精密吸取各系列对照品溶液 10 μ L, 注入液相色谱仪测定。以峰面积 (A) 对质量浓度 (C) 作线性回归, 得回归方程: $A=26\ 743\ C+20\ 918$, $r=0.999\ 5$, 结果表明在 8.931 4~223.285 0 μ g/mL 内线性关系良好。

2.3.5 精密度试验 精密量取 5 份“2.2.2”项下二氢杨梅素对照品溶液 10 μ L, 连续进样 5 次, 记录相对峰面积。二氢杨梅素相对峰面积的 RSD 为 0.30%, 表明仪器精密度良好。

2.3.6 重复性试验 取藤茶样品粉末 0.5 g, 精密称定, 按“2.2.3”项下方法平行制备 6 份供试品溶液, 测定峰面积, 计算二氢杨梅素的质量分数。结果显示, 各份供试品溶液的二氢杨梅素质量分数的 RSD 为 0.63%, 说明该方法重复性良好。

2.3.7 稳定性试验 取“2.2.3”项下供试品溶液, 于室温 (20~25 $^{\circ}$ C) 条件下放置, 分别于 0、2、4、6、8、10、14、18、24 h 精密量取 10 μ L 进样, 测定供试品溶液中二氢杨梅素的峰面积。结果显示, 供试品溶液于室温 (20~25 $^{\circ}$ C) 条件下放置 24 h, 二氢杨梅素峰面积的 RSD 为 1.50%, 说明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.3.8 样品测定 取各贮藏期的藤茶药材, 按照“2.2.3”项下方法制备供试品溶液, 进样, 测定峰面积, 按标准方程计算二氢杨梅素的含量。

2.4 水分测定

按照《中国药典》2020 年版四部通则 0832“水分测定法第二法 (烘干法)”进行测定。

3 结果与分析

3.1 加速试验

结果显示, 不同产地藤茶药材在加速试验条件

下放置 9 个月后, 二氢杨梅素含量相对稳定, 水分略有增加, 但仍符合标准规定。指纹图谱显示, 未知峰单位质量峰面积呈现下降趋势, 杨梅素单位质量峰面积则呈上升趋势, 具体数据见表 2。

3.2 长期试验

结果显示, 不同产地藤茶药材在长期试验条件下放置 36 个月后, 二氢杨梅素含量、水分及各成分单位质量峰面积均无明显变化趋势, 具体数据见表 3。

表 2 不同产地藤茶加速试验结果

Table 2 Accelerated test results of vine tea from different origins

样品编号	单位质量峰面积				二氢杨梅素/%	水分/%
	未知峰	花旗松素	杨梅苷	杨梅素		
ZP20181026	7 325 219.42	1 109 339.67	4 602 743.39	2 364 716.86	41.42	8.60
NJ20181026	4 193 817.68	1 312 719.20	3 857 546.36	2 480 643.53	41.93	9.54
JX20180805	4 049 616.34	788 669.77	3 143 699.88	1 918 120.82	24.31	10.03
JSZP-1	5 279 152.58	991 807.23	4 277 795.34	2 801 373.62	40.32	9.19
JSNJ-1	3 030 012.33	1 290 508.36	3 827 815.14	3 192 009.76	39.69	9.36
JSJX-1	3 393 113.33	692 138.87	2 994 112.78	2 077 304.79	25.01	10.97
JSZP-2	5 060 374.94	1 036 219.65	4 629 874.50	2 907 928.97	39.66	9.68
JSNJ-2	2 864 985.78	1 283 961.04	3 823 356.53	3 400 373.44	39.83	9.85
JSJX-2	3 179 282.25	747 730.80	3 090 555.91	2 405 673.91	24.37	11.40
JSZP-3	4 949 684.05	1 021 929.68	4 310 076.29	3 243 364.33	39.13	9.38
JSNJ-3	2 724 910.72	1 313 767.13	3 806 308.00	3 413 145.42	39.04	9.65
JSJX-3	3 140 778.58	746 830.46	3 069 398.13	2 616 638.98	24.41	10.23
JSZP-6	4 312 018.62	1 033 086.91	4 054 485.37	4 105 058.01	40.53	9.62
JSNJ-6	2 428 873.42	1 340 730.59	3 538 725.82	4 147 573.02	40.46	9.51
JSJX-6	3 003 581.97	772 794.66	3 072 899.30	2 738 233.18	23.81	11.46
JSZP-9	3 756 382.57	1 055 693.57	4 254 642.28	4 959 732.24	39.64	9.57
JSNJ-9	2 098 465.28	1 325 859.86	3 756 244.42	5 067 921.18	40.05	9.89
JSJX-9	2 896 423.76	752 146.19	2 898 718.45	2 864 225.38	22.74	11.39

表 3 不同产地藤茶长期试验结果

Table 3 Long term experimental results of vine tea from different origins

样品编号	单位质量峰面积				二氢杨梅素/%	水分/%
	未知峰	花旗松素	杨梅苷	杨梅素		
ZP20181026	7 325 219.42	1 109 339.67	4 602 743.39	2 364 716.86	41.42	8.60
NJ20181026	4 193 817.68	1 312 719.20	3 857 546.36	2 480 643.53	41.93	9.54
JX20180805	4 049 616.34	788 669.77	3 143 699.88	1 918 120.82	24.31	10.03
CQZP-1	7 317 739.09	1 227 137.52	4 450 830.45	2 406 870.91	41.26	8.79
CQNJ-1	4 144 795.04	1 295 953.51	3 936 593.21	2 563 647.67	40.13	9.13
CQJX-1	3 972 097.97	809 741.81	3 105 069.48	1 869 596.52	23.11	10.29
CQZP-2	7 253 387.06	1 147 465.53	4 401 148.11	2 440 469.58	42.36	8.64
CQNJ-2	4 094 887.49	1 271 791.19	3 817 640.42	2 496 777.80	41.84	9.10
CQJX-2	4 016 132.07	791 029.87	3 214 963.95	1 823 440.38	24.24	10.15
CQZP-3	7 222 957.30	1 119 253.91	4 477 142.06	2 328 747.58	39.06	8.61
CQNJ-3	4 224 710.96	1 320 898.49	3 717 569.85	2 383 841.47	39.66	8.97
CQJX-3	4 135 655.78	812 068.70	3 100 971.12	1 909 511.36	22.91	10.03
CQZP-6	7 257 830.64	1 144 594.03	4 544 694.62	2 266 351.80	40.04	8.84
CQNJ-6	4 114 140.05	1 360 883.93	3 849 384.21	2 516 104.75	41.46	8.93
CQJX-6	4 129 006.97	809 227.10	3 081 207.59	1 912 354.25	23.27	10.00
CQZP-9	7 119 435.50	1 149 563.41	4 514 680.87	2 215 732.36	41.16	8.55
CQNJ-9	4 076 661.70	1 313 751.89	3 889 440.16	2 377 393.72	41.65	8.82
CQJX-9	3 962 110.78	834 909.79	3 009 551.74	1 839 236.26	23.71	10.08
CQZP-12	6 838 273.87	1 106 040.48	4 572 844.13	2 299 605.60	41.42	8.82
CQNJ-12	4 037 463.46	1 362 747.93	3 774 101.44	2 441 496.21	39.88	9.05
CQJX-12	3 921 285.97	819 870.49	2 973 413.72	1 814 734.07	23.09	9.98
CQZP-18	6 721 518.14	1 156 925.04	4 651 540.07	2 250 763.96	41.05	8.90
CQNJ-18	3 821 399.07	1 334 111.88	3 748 650.27	2 418 557.18	40.23	9.09
CQJX-18	3 811 191.86	830 976.77	2 899 850.73	1 729 011.05	22.19	10.04
CQZP-24	6 655 493.13	1 107 925.69	4 580 099.12	2 149 297.59	41.63	8.53
CQNJ-24	3 520 288.10	1 327 174.29	3 737 563.56	2 328 709.38	39.35	8.62
CQJX-24	3 721 332.89	788 614.51	2 920 351.44	1 701 813.35	22.98	9.50
CQZP-30	6 256 432.88	1 074 948.98	4 315 266.82	2 268 469.65	40.29	8.76
CQNJ-30	3 612 923.53	1 307 009.12	3 725 202.23	2 386 933.19	39.31	8.86
CQJX-30	3 599 313.21	737 651.71	3 166 029.22	1 798 873.43	22.86	9.55
CQZP-36	6 248 354.28	1 116 107.50	4 293 880.31	2 242 585.82	42.66	8.80
CQNJ-36	3 590 669.83	1 327 604.13	3 811 110.63	2 402 385.69	40.99	8.97
CQJX-36	3 550 784.26	742 580.25	3 018 728.11	1 857 132.86	22.55	9.60

3.3 主成分分析

将加速试验和长期试验的 3 批藤茶 4 个特征峰单位质量峰面积和二氢杨梅素含量导入 SPSS 24 软件中, 进行主成分分析, 结果见图 3。结果显示, 长期实验中样品点高度重叠表明, 特征峰信息无法有效地区分来自南靖、漳平和金秀 3 个产地的藤茶。加速试验中, 二氢杨梅素的含量变化是导致产地间差异的关键化学指标, 能直接反映不同产地藤茶在加速和长期储存条件下, 化学稳定性的差异。在藤茶稳定性研究中, 应将二氢杨梅素的含量变化作为核心评价指标之一。

3.4 相关性分析

应用 SPSS 24 软件对加速试验和长期试验结果进

行回归拟合, 结果见图 4。结果显示, 藤茶的主要活性成分二氢杨梅素在加速与长期条件下均表现出极佳的稳定性, 是理想的质控指标。加速试验中, 藤茶中杨梅素含量呈升高趋势, 一未知峰含量呈下降趋势, 二者变化具有显著的相关性。整体来看, 藤茶的生产与储存应重点关注对热、湿敏感的成分的控制应用 Origin 2020 软件绘制相关性热图, 结果见图 5。发现在加速试验条件下, 3 个产地藤茶中未知峰与杨梅素含量均呈显著负相关 ($P < 0.05$), 说明这是藤茶在湿热应力下的一个普遍存在的、固有的化学降解规律。因此在制定藤茶稳定性考察标准时, 不应仅监控二氢杨梅素的含量, 还应关注关键成分对(未知峰与杨梅素)的比例变化。

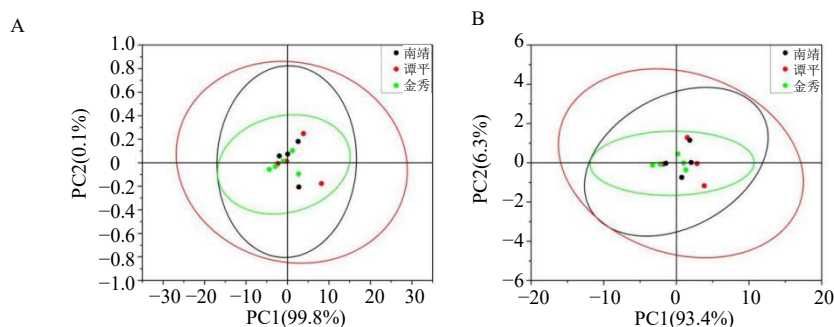


图 3 加速试验 (A) 和长期试验 (B) 主成分分析图

Fig. 3 Principal component analysis plots of accelerated test (A) and long term experimental (B)

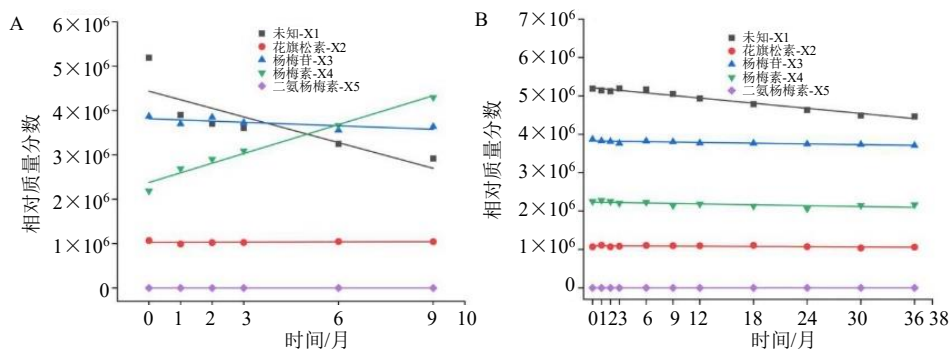


图 4 加速试验 (A) 和长期试验 (B) 回归拟合图

Fig. 4 Regression fitting plots of accelerated test (A) and long term experimental (B)

3.5 未知峰解析

在考察指纹图谱供试品溶液制备方法时, 发现加热条件下, 未知峰相对峰面积增加, 二氢杨梅素相对峰面积减少, 放冷则变化趋势相反, 表明二者存在相互转化的现象。指纹图谱色谱峰全波长扫描结果表明, 未知峰与二氢杨梅素最大吸收波长一致。为进一步明确未知峰的结构, 将 HPLC 串联质

谱, 结果表明未知峰的相对分子质量为 320, 且正、负离子模式下, 未知峰与二氢杨梅素的裂解方式完全一致, 推测未知峰可能为二氢杨梅素的同分异构体。

为进一步明确该同分异构体的立体构型, 本研究在加热及酸性条件下, 迅速分离得到少量未知峰单体, 立即进行圆二光谱分析, 结果显示无 CD 值 (图 6),

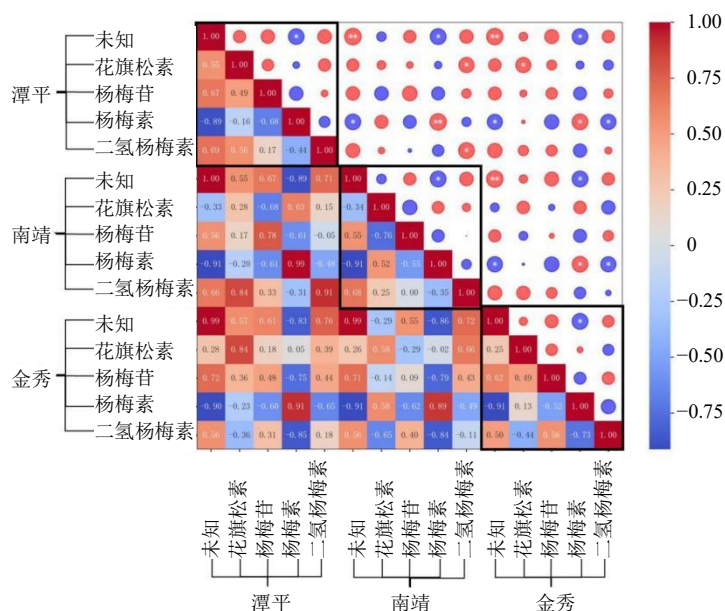


图 5 加速试验相关性热图

Fig. 5 Correlation heatmap of accelerated test

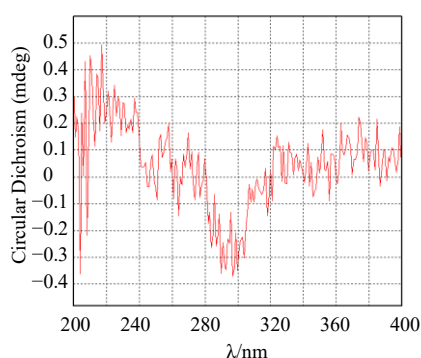


图 6 未知峰圆二光谱图

Fig. 6 Circular dichroism spectrum of unknown peak

推测未知峰可能为消旋体。

二氢杨梅素有 2 个手性碳，4 个异构体，自提的二氢杨梅素对照品经结构鉴定确定为 2R,3R 构型，未知峰可在普通 C₁₈ 色谱柱上与二氢杨梅素分离，推断其不是 2S,3S 构型，加之其无旋光性，故未知峰可能为 2R,3S 和 2S,3R 的外消旋体。

4 讨论

4.1 重视藤茶药材稳定性

药材、中药饮片是中药制剂和中成药质量的首道保障，也是中药产业链的源头环节。其中，中药贮藏条件和有效期直接关系到临床用药的稳定性和安全性，是中药质量研究的关键环节。目前，市场对于中药稳定性往往采用感官评价或个别含量指标评判，系统研究相对较少，存在严重的使用和监管安全风险。

藤茶因其口感独特，回甘快而持久，“似茶而非茶”，又被誉为中国“药茶两用”的第七大茶品类。近几年，随着人民健康意识的提升以及藤茶在疾病防治、养生保健方面的价值不断被挖掘，越来越多藤茶相关的大健康产品被开发和应用，藤茶产业也成为我国多地经济发展的支柱产业。由于消费者对于传统茶叶存放越久，其疗效越好、价值越高的认知，为保障藤茶作为“别样茶”的安全性和有效性，开展其稳定性和有效期保质期的研究迫在眉睫。

4.2 多指标、多技术结合的藤茶稳定性研究

科学合理的实验设计是中药有效期研究的关键。2024 年 8 月，国家药监局发布的《中药标准管理专门规定》明确提出，应当围绕中药的关键质量属性，综合考虑其质量相关性、稳定性、生物活性、含量等因素，建立反映中药质量的整体评价。因此，中药稳定性研究需要根据药材专属性，科学设计多控制项目、多方法和多指标手段的实验方案。

作者在申报《湖北省中药材质量标准》中构建的藤茶宏观-微观及优劣-药效的质量评价体系基础上，参考《中药、天然药物稳定性研究技术指导原则》的基本要求，重视传统鉴别和检查项，同时结合指纹图谱，在可行性的基础上全面地选择考察指标，并采用主成分分析法和相关性分析法等科学的理化分析方法，以提高预测结果的准确性。结果显

示,藤茶在常温常湿下,藤茶水分、二氢杨梅素含量及各特征峰的单位质量峰面积在 36 个月均趋于稳定,在高温高湿下存在有效成分转化的现象,因此,藤茶常温条件下,贮藏 3 年内质量稳定,贮藏时应避免高温高湿的环境。

4.3 揭示藤茶贮藏过程中成分变化规律

中药在贮藏期间各成分易于变化,因此客观揭示药物的有效物质在各种因素的影响下的变化规律,是中药稳定性研究的值得关注的重点和难点问题。本实验发现,在藤茶药材加速试验 9 个月过程中,藤茶中杨梅素含量呈升高趋势,一未知峰含量呈下降趋势,二者变化具有显著的相关性,对此实验结合紫外全波长扫描、HPLC-MS 质谱分析、圆二色谱分析等多分析手段,推测未知峰可能为二氢杨梅素的同分异构体,且为其 2*R*,3*S* 和 2*S*,3*R* 构型的外消旋体,其中的转化规律及成分转化后的活性测评还需进一步探索。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 邓丽,方建国,贾少谦.论中药材和饮片有效期的制定[J].中国药物经济学,2011,6(6):41-45.
- [2] 沈芳雪,谢瑞芳,周昕.中药饮片有效期的研究现状及研究方法[J].中国医院用药评价与分析,2019,19(6):765-768.
- [3] 宋广大,袁燕芳,孙玉雯.浅谈制定中药有效期的重要性及策略[J].内蒙古中医药,2015,34(11):111-112.
- [4] 郭涛,刘媛媛.对目前中药饮片标准的几点思考[J].中医药导报,2016,22(8):62-63.
- [5] 冉京燕,方建国,谢雪佳,等.藤茶的本草资源学研究概况[J].中草药,2016,47(20):3728-3735.
- [6] 石依姗,万青,汪秋兰,等.基于熵权 TOPSIS 法和灰色关联度分析的藤茶药材等级研究[J].中草药,2022,53(17):5504-5512.
- [7] 汪秋兰,王文清,万青,等.基于 HPLC-PDA 指纹图谱、化学模式识别及多成分定量分析评价藤茶药材的质量[J].中国药师,2021,24(8):558-565.
- [8] 石依姗.特色民族药材藤茶质量评价及其袋泡茶工艺研究[D].武汉:华中科技大学,2020.

[责任编辑 时圣明]