



基于UPLC特征图谱和一测多评法的穿心莲标准汤剂质量标准研究

马智玲, 王晓亚, 杜微波, 张志强, 沈建梅, 刘艳

Study on quality standard of *Andrographis paniculata* standard decoction based on UPLC characteristic chromatogram and quantitative analysis of multi-components by single marker

MA Zhiling, WANG Xiaoya, DU Weibo, ZHANG Zhiqiang, SHEN Jianmei, LIU Yan

在线阅读 View online: <http://yxsj.smmu.edu.cn/cn/article/doi/10.12206/j.issn.2097-2024.202310021>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

复方颠茄合剂质量标准研究

Study on quality standard of Compound Belladonna Mixture

药学实践与服务. 2017, 35(3): 256-258 DOI: 10.3969/j.issn.1006-0111.2017.03.015

百部止咳糖浆的质量标准研究

Study on quality standard of Baibu Zhike syrup

药学实践与服务. 2018, 36(1): 71-74 DOI: 10.3969/j.issn.1006-0111.2018.01.015

三藤口服液的质量标准研究

Research on quality standard of Santeng oral solution

药学实践与服务. 2017, 35(4): 350-352,384 DOI: 10.3969/j.issn.1006-0111.2017.04.015

哮喘六味合剂质量标准提高研究

Study on improvement of quality standard for Kechuan Liuwei oral liquid

药学实践与服务. 2019, 37(1): 55-58,85 DOI: 10.3969/j.issn.1006-0111.2019.01.013

益视明目颗粒质量标准研究

The quality standard research for YI SHI MINGMU granules by HPLC method

药学实践与服务. 2017, 35(4): 355-358 DOI: 10.3969/j.issn.1006-0111.2017.04.017

红旱莲药材的质量标准研究

Study on quality standards of *Hypericum ascyron*

药学实践与服务. 2018, 36(5): 426-429,467 DOI: 10.3969/j.issn.1006-0111.2018.05.009



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

· 研究报告 ·

基于 UPLC 特征图谱和一测多评法的穿心莲标准汤剂质量标准研究

马智玲^{1,2,3,4,5}, 王晓亚^{3,4,5}, 杜微波^{3,4,5}, 张志强^{3,4,5}, 沈建梅^{3,4,5}, 刘艳¹ (1. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700; 2. 山西省太原市小店区人民医院, 山西 太原 030032; 3. 北京康仁堂药业有限公司, 北京 101301; 4. 中药配方颗粒关键技术国家地方联合工程研究中心, 北京 101301; 5. 北京市中药配方颗粒工程技术研究中心; 北京 101301)

[摘要] 目的 采用 UPLC 法建立穿心莲标准汤剂的质量评价方法。方法 依照中药饮片标准汤剂制备要求, 制备 21 批穿心莲饮片标准汤剂, 建立超高效液相特征图谱分析方法, 以穿心莲内酯为参照, 建立新穿心莲内酯、14-去氧穿心莲内酯和脱水穿心莲内酯的一测多评法, 并与外标法测定结果比较。结果 采用《中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012 版)》软件进行特征图谱分析, 共标定 7 个共有峰, 指认了木犀草素-7-O- β -D-葡萄糖醛酸苷、穿心莲内酯、新穿心莲内酯、14-去氧穿心莲内酯和脱水穿心莲内酯 5 个成分, 一测多评法与外标法测定各成分含量结果 RSD 均在 3% 以内。结论 所建立的特征图谱和一测多评方法准确、可靠, 可较全面地反映穿心莲标准汤剂的内在质量, 为穿心莲配方颗粒及其它制剂的质量评价提供依据。

[关键词] 穿心莲; 标准汤剂; UPLC; 一测多评法; 特征图谱; 质量标准

[文章编号] 2097-2024(2024)00-0001-07 **[DOI]** 10.12206/j.issn.2097-2024.202310021

Study on quality standard of *Andrographis paniculata* standard decoction based on UPLC characteristic chromatogram and quantitative analysis of multi-components by single marker

MA Zhiling^{1,2,3,4,5}, WANG Xiaoya^{3,4,5}, DU Weibo^{3,4,5}, ZHANG Zhiqiang^{3,4,5}, SHEN Jianmei^{3,4,5}, LIU Yan¹ (1. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China; 2. Taiyuan Xiaodian District People's Hospital, Taiyuan 030032, China; 3. Beijing Kangrentang Pharmaceutical Co., Ltd, Beijing 101301, China; 4. Traditional Chinese Medicine Formula Particles Key Technology National United Engineering Research Center, Beijing 101301, China; 5. Beijing Chinese Medicine Formula Particles Engineering Technology Research Center, Beijing 101301, China)

[Abstract] **Objective** To establish quality evaluation method of *Andrographis paniculata* standard decoction by UPLC. **Methods** 21 batches of *Andrographis paniculata* standard decoctions were prepared according to the standardization method of TCM decoction pieces. The UPLC characteristic chromatograms analysis method was established. With andrographolide as a reference, quantitative analysis of multi-components by single marker (QAMS) was established for new neoandrographolide, 14 deoxyandrographolide and dehydrated andrographolide and the results were compared with the external standard method (ESM) to determine the accuracy of the method. **Results** Similarity Evaluation System for Chromatographic Fingerprint of TCM (2012 edition) was used to analyze and compare the characteristic chromatograms, and seven common peaks were determined and five were identified including luteolin-7-O- β -D-glucuronide, andrographolide, neoandrographolide, 14-deoxyandrographolide and dehydroandrographolide. The RSDs of content results of each component by QAMS and ESM were all within 3%. **Conclusion** The determination method is reliable and accurate, which can be used to reflect the intrinsic quality of *Andrographis paniculata* standard decoction more comprehensively and provide the basis for the quality evaluation of *Andrographis paniculata* formula granules and other preparations.

[Key words] *Andrographis paniculata*; standard decoction; UPLC; QAMS; characteristic chromatogram; quality standard

[作者简介] 马智玲, 中药制药工程师, 研究方向: 中药配方颗粒质量标准, Email: zhilingma@126.com

[通信作者] 沈建梅, 中药制药高级工程师, 研究方向: 中药配方颗粒质量标准, Email: 382941928@qq.com; 刘艳, 博士, 副研究员, 研究方向: 中药品质评价和经典名方开发研究, Email: yliu1980@icmm.ac.cn

穿心莲为爵床科植物穿心莲 *Andrographis paniculata* (Burm.f.) Nees 的干燥地上部分, 具有清热解毒、凉血、消肿的功效, 临床上用于感冒发热、咽喉肿痛、口舌生疮等症^[1]。穿心莲主要含二萜内酯类、黄酮类、苯丙素类、环烯醚萜类、生物碱、甾醇类、酚苷类、有机酸等成分^[2-5]。有研究表明其具有

广泛的药理作用,其中含有的二萜内酯类成分具有消炎抗菌、抗病毒感染、抗肿瘤、抗心血管疾病、保肝利胆等作用^[4-6];黄酮类成分具有抗血小板聚集,改善血液黏稠度,增加心肌血流量等作用^[6-8]。本研究将二萜内酯类及黄酮类成分作为穿心莲标准汤剂检测的指标成分,采用UPLC特征图谱结合一测多评法模式^[9-10],前者能够较全面展现中药成分的特点,后者能够解决对照品缺乏的难题和节约检测成本,从定量上阐明主要成分的相互关系,实现对穿心莲标准汤剂的多成分整体质量控制,并极大提高了检测效率。

1 材料

1.1 仪器

Waters ACQUITY UPLC® H-Class 超高效液相色谱仪、PDA Detector 紫外检测器、Empower 3 色谱工作站(沃特世科技有限公司);ME104E 电子天平、JY2002 电子天平(梅特勒·托利多);BSA124S 电子天平、BT25S 电子天平[赛多利斯科技仪器

(北京)有限公司];KQ-500DB 超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

1.2 试药及试剂

穿心莲对照药材(批号:121082-201706)、穿心莲内酯(批号:110797-201609,纯度99.6%)、脱水穿心莲内酯(批号:110854-201710,纯度99.4%)、木犀草素-7-O-β-D-葡萄糖醛酸苷对照品(批号:111968-201602,纯度98%)均购自中国食品药品检定研究院;新穿心莲内酯(批号:RFS-C04911808030,纯度98%)、14-去氧穿心莲内酯(批号RFS-Q09401906015,纯度97.7%)购自成都瑞芬思生物科技有限公司;21批穿心莲药材由北京康仁堂药业有限公司提供,经北京康仁堂药业有限公司质量检测中心鉴定为爵床科植物穿心莲 *Andrographis paniculata*(Burm.f.)Nees 的干燥地上部分,样品来源见表1,由北京康仁堂药业有限公司按《中国药典》2020年版穿心莲饮片项下的炮制方法加工制成穿心莲饮片。乙腈(MERCK)、磷酸(Fisher Scientific)为色谱纯,甲醇为分析纯,水为屈臣氏纯化水。

表1 21批穿心莲药材的来源信息

编号	批号	产地	编号	批号	产地
S1	190610-537000-01	广西壮族自治区玉林市玉州区	S12	190906-524300-12	广东省湛江市遂溪县
S2	190610-530400-02	广西壮族自治区南宁市宾阳县	S13	190906-537100-13	广西壮族自治区贵港市港南区
S3	190610-537600-03	广西壮族自治区玉林市博白县	S14	190906-537100-14	广西壮族自治区贵港市港南区
S4	190906-530300-04	广西壮族自治区南宁市横县	S15	190906-524300-15	广东省湛江市遂溪县
S5	190906-530300-05	广西壮族自治区南宁市横县	S16	190906-537100-16	广西壮族自治区贵港市港南区
S6	190906-530300-06	广西壮族自治区南宁市横县	S17	190906-524300-18	广东省湛江市遂溪县
S7	190906-530300-07	广西壮族自治区南宁市横县	S18	190125-537000-19	广西壮族自治区玉林市玉州区
S8	190906-530300-08	广西壮族自治区南宁市横县	S19	190125-476000-21	河南商丘
S9	190906-524300-09	广东省湛江市遂溪县	S20	190125-537000-22	广西玉林
S10	190906-524300-10	广东省湛江市遂溪县	S21	190125-530400-24	广西壮族自治区南宁市宾阳县
S11	190906-524300-11	广东省湛江市遂溪县			

2 方法与结果

2.1 穿心莲标准汤剂的制备

取穿心莲饮片200g,置于砂锅中,浸泡30min,一煎加入饮片量14倍水,武火(500W)煮沸后,文火(200W)煎煮20min,趁热用150目滤布过滤,迅速冷却,备用;二煎加饮片量11倍水,同法煎煮15min,趁热过滤,迅速冷却备用;合并滤液,浓缩(50℃以下,真空度-0.1MPa),浓缩至料液比约为1:1,相对密度为1.05~1.10(50℃),冷冻干燥,密封保存,即得。21批标准汤剂(编号D1~D21)由21批饮片一一对应制备(编号S1~S21)。

2.2 特征图谱的建立及分析

2.2.1 色谱条件

色谱柱:Waters ACQUITY UPLC® BEH C₁₈(2.1mm×100mm,1.7μm);流动相:乙腈(A)-0.1%磷酸(B),梯度洗脱(0~2min,10%A;2~5min,10%→20%A;5~8min,20%A;8~12min,20%→29%A;12~19min,29%→45%A;19~20min,45%→10%A);检测波长:211nm;柱温:35℃;流速:0.4ml/min;进样体积:2μl。

2.2.2 参照物溶液的制备

取穿心莲对照药材约0.5g,精密称定,置具塞

锥形瓶中,精密加入 70% 甲醇 25 ml, 密塞, 超声处理(功率 250 W, 频率 40 kHz) 20 min, 放冷, 补足减失的重量, 滤过, 取续滤液, 作为对照药材参照物溶液。另取木犀草素-7-O- β -D-葡萄糖醛酸苷、穿心莲内酯对照品适量, 精密称定, 加甲醇制成每 1 ml 含木犀草素-7-O- β -D-葡萄糖醛酸苷 50 μ g、穿心莲内酯 0.1 mg 的混合溶液, 作为对照品参照物溶液。

2.2.3 供试品溶液的制备

取本品适量, 研细, 取约 0.2 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 70% 甲醇 25 ml, 密塞, 称定重量, 超声处理(功率 250 W, 频率 40 kHz) 20 min, 放冷, 再称定重量, 用 70% 甲醇补足减失的重量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

2.2.4 方法学考察

2.2.4.1 精密度试验

取同一供试品溶液(D1)连续进样 6 次, 获得特征图谱, 以峰 1(木犀草素-7-O- β -D-葡萄糖醛酸苷)为 S1 峰, 计算峰 2、峰 3 的相对保留时间及相对峰面积, 以峰 4(穿心莲内酯)为 S2 峰, 计算峰 5、峰 6、峰 7 的相对保留时间及相对峰面积, 结果显示各特征峰的相对保留时间 RSD 在 0.0% ~ 0.1% 范围内, 相对峰面积 RSD 在 0.0% ~ 0.5% 范围内, 表明仪器精密度良好。

2.2.4.2 重复性试验

取供试品(D1)6 份, 按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液并测定, 结果显示各特征峰的相对保留时间 RSD 在 0.0% ~ 0.4% 范围内, 相对峰面积在 0.0% ~ 2.0% 范围内, 表明该特征图谱方法重复性较好。

2.2.4.3 稳定性试验

取同一供试品溶液(D1), 分别于 0、2、4、6、8、16、24 h 进样测定, 结果显示各特征峰的相对保留时间 RSD 在 0.0% ~ 0.4% 范围内, 相对峰面积在 0.0% ~ 1.1% 范围内, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.2.5 特征图谱的建立

分别制备 21 批穿心莲标准汤剂的供试品溶液, 按“2.2.1”项下色谱条件进样测定, 获得色谱图, 将所得数据导入《中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012 版)》软件, 采用多点校正将色谱峰自动匹配, 中位数法计算获得共有模式, 共确定 7 个共有峰, 以峰 1(木犀草素-7-O- β -D-葡萄糖醛酸苷)为 S1 峰, 计算峰 2、峰 3 与 S1 峰的相对保留时间; 以峰 4(穿心莲内酯)为 S2 峰, 计算峰 5、峰 6、峰 7 与 S2 峰的相对保留时间; 其相对保留时间应在规定值的 $\pm 10\%$ 范围内。规定值为: 1.19(峰 2)、1.23(峰 3)、1.43(峰 5)、1.48(峰 6)、1.51(峰 7), 见图 1 ~ 图 3; 相似度结果见表 2, 结果表明, 不同批次的穿心莲标准汤剂与对照图谱相似度大于 0.90。

2.2.6 药材-饮片-标准汤剂相关性研究

按供试品前处理方法, 进行穿心莲标准汤剂与药材、饮片的特征图谱相关性分析, 全部的特征峰均转移至标准汤剂中, 分别将不同批次的穿心莲药材、饮片、标准汤剂的对照指纹图谱进行相似度分析, 结果见表 3。穿心莲饮片的 7 个共有峰在穿心莲标准汤剂中有所体现, 三者的对照指纹图谱的相似度达到 0.90 以上, 表明穿心莲药材、饮片、标准汤剂指纹图谱非常相似, 在化学成分种类上具有一致性, 相关性良好, 见图 4。

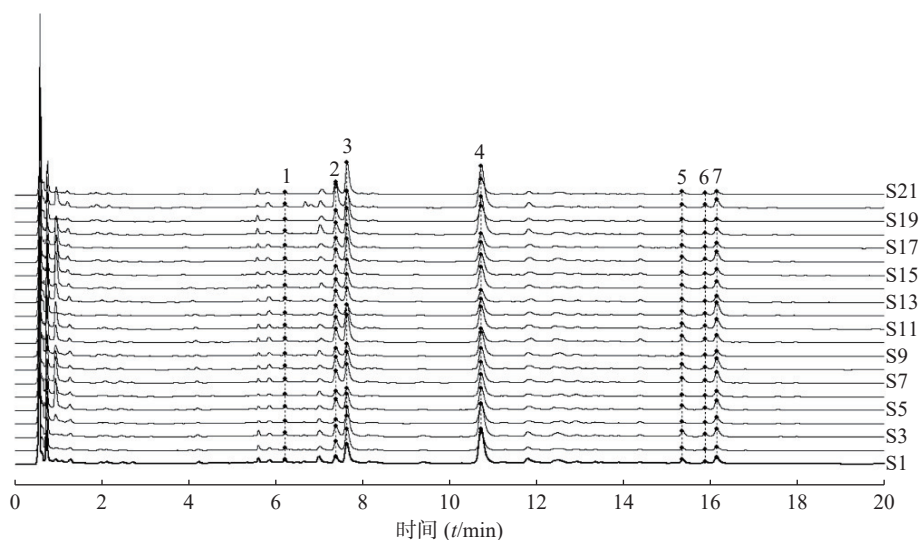


图 1 21 批穿心莲标准汤剂色谱图

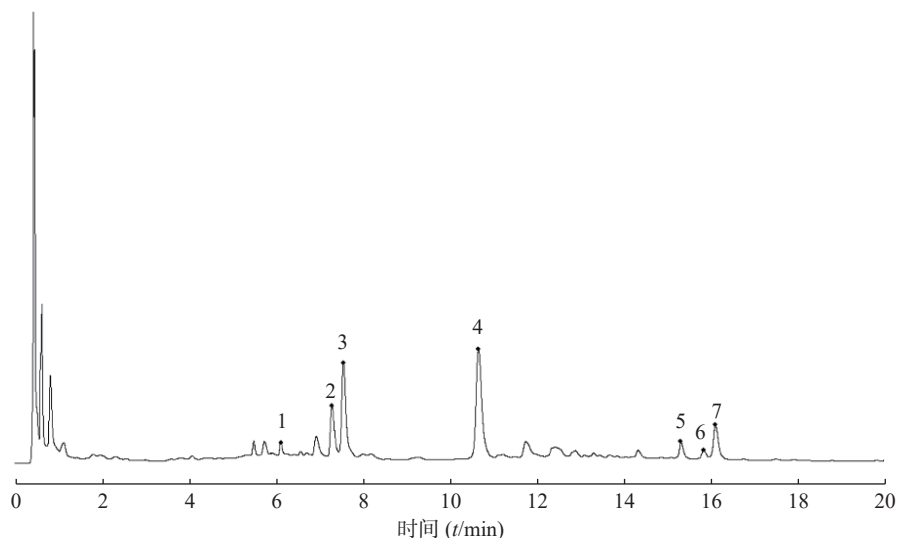


图2 穿心莲标准汤剂对照图谱

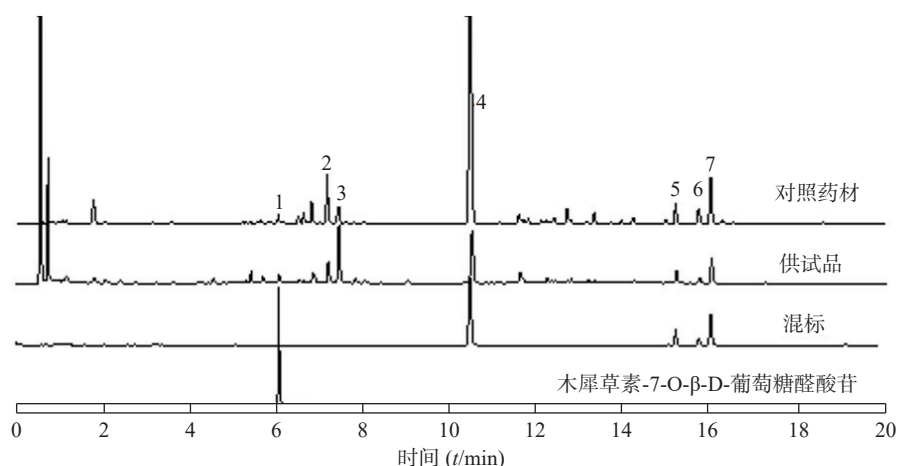


图3 穿心莲标准汤剂特征峰确认

峰1. 木犀草素-7-O-β-D-葡萄糖醛酸苷; 峰4. 穿心莲内酯; 峰5. 新穿心莲内酯; 峰6. 14-去氧穿心莲内酯; 峰7. 脱水穿心莲内酯

表2 21批穿心莲标准汤剂与对照图谱相似度结果

编号	相似度	编号	相似度	编号	相似度
D1	1.000	D8	0.950	D15	0.989
D2	0.937	D9	0.995	D16	0.935
D3	0.970	D10	0.988	D17	0.902
D4	0.987	D11	0.935	D18	0.994
D5	0.964	D12	0.976	D19	0.939
D6	0.989	D13	0.989	D20	0.970
D7	0.939	D14	0.988	D21	0.938

表3 穿心莲药材-饮片-标准汤剂对照指纹相似度结果

名称	相似度
药材对照	0.998
饮片对照	0.998
标准汤剂对照	0.912

2.3 一测多评法的建立

2.3.1 对照品溶液的制备

取穿心莲内酯、新穿心莲内酯、14-去氧穿心莲内酯、脱水穿心莲内酯对照品适量,精密称定,加甲醇制成每1 ml含穿心莲内酯0.1 mg、新穿心莲内酯0.1 mg、14-去氧穿心莲内酯0.04 mg、脱水穿心莲内酯0.06 mg的混合对照品溶液,即得。

2.3.2 方法学考察

2.3.2.1 线性关系考察

取穿心莲内酯、新穿心莲内酯、14-去氧穿心莲内酯、脱水穿心莲内酯对照品适量,精密称定,加甲醇制成每1 ml含穿心莲内酯1.036 mg、新穿心莲内酯0.4610 mg、14-去氧穿心莲内酯0.1750 mg、脱水穿心莲内酯0.3114 mg的对照品混合溶液,作为线性1;分别精密吸取线性1对照品溶液1 ml,置于2、5、10、20 ml容量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,依次作为线性2~5的对照品溶液。精密吸取上述线性1~5的续滤液2 μl,注入超高效液相色谱

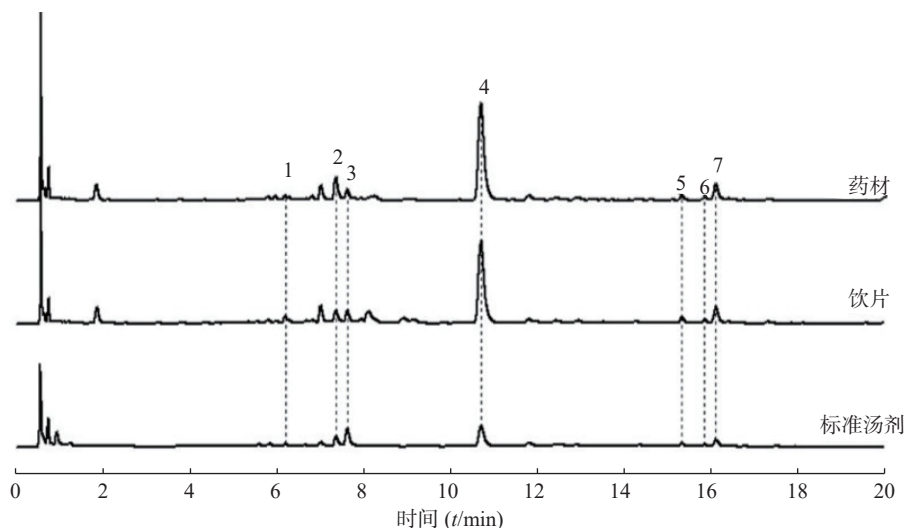


图4 穿心莲药材-饮片-标准汤剂的特征图谱相关性

谱仪测定。以峰面积为纵坐标,对照品浓度为横坐标,进行线性回归,求得回归方程,穿心莲内酯的回归方程为 $Y=7816583.3841X+66347.2209$, $r=0.9998$,线性范围为 $0.05180 \sim 1.036\text{mg/ml}$;新穿心莲内酯的回归方程为 $Y=7007653.8124X+21988.6319$, $r=0.9999$,线性范围为 $0.02300 \sim 0.4610 \text{mg/ml}$;14-去氧穿心莲内酯的回归方程为 $Y=9980196.7914X+2394.2039$, $r=0.9999$,线性范围为 $0.008700 \sim 0.1750 \text{mg/ml}$;脱水穿心莲内酯的回归方程为 $Y=12848993.2718X+9738.1400$, $r=0.9999$,线性范围为 $0.01560 \sim 0.3114 \text{mg/ml}$ 。

2.3.2.2 精密度试验

精密吸取“2.3.1”项混合对照品溶液,按“2.2.1”项下色谱条件连续进样6次,穿心莲内酯、新穿心莲内酯、14-去氧穿心莲内酯、脱水穿心莲内酯峰面积的RSD值均为0.1%,表明仪器精密度良好。

2.3.2.3 重复性试验

取同一供试品,按“2.2.3”项下方法平行制备6份供试品溶液(D1),按“2.2.1”项下色谱条件进样测定,穿心莲内酯、新穿心莲内酯、14-去氧穿心莲内酯、脱水穿心莲内酯平均含量的RSD分别为0.3%、0.3%、0.4%、0.4%,符合方法学验证重复性要求。

2.3.2.4 稳定性试验

取同一供试品溶液(D1),分别于0、2、4、6、8、16、24 h进样测定,记录穿心莲内酯、新穿心莲内酯、14-去氧穿心莲内酯和脱水穿心莲内酯峰面积,计算得峰面积RSD值分别为0.5%、0.9%、0.4%、0.5%,表明供试品溶液在24 h内稳定性良好。

2.3.2.5 加样回收率试验

取已知含量的供试品粉末(D1)9份,每份0.10g,精密称定,分别按含有量的50%、100%、150%加入对照品,按“2.3.3”项下方法制备供试品溶液9份,按“2.3.1”项下色谱条件进样测定,计算回收率。所测得穿心莲内酯、新穿心莲内酯、14-去氧穿心莲内酯和脱水穿心莲内酯平均回收率分别为102.8%、97.4%、97.5%、98.3%,RSD值分别为1.2%、0.9、1.7%、1.3%,符合方法学验证回收率要求。

2.3.3 相对校正因子F的计算及耐用性考察

2.3.3.1 相对校正因子F的计算

分别精密吸取不同体积对照品溶液进样5次测定,以穿心莲内酯为内标,按照相对校正因子计算公式,计算新穿心莲内酯、14-去氧穿心莲内酯和脱水穿心莲内酯与穿心莲内酯之间的相对校正因子,其均值分别为1.22、0.86、0.67(见表4)。

表4 相对校正因子测定结果表

进样量 (μl)	F新穿心莲内酯/ 穿心莲内酯	F14-去氧穿心莲内酯/ 穿心莲内酯	F脱水穿心莲内酯/ 穿心莲内酯
1	1.135	0.826	0.637
2	1.123	0.810	0.626
5	1.125	0.800	0.618
10	1.122	0.822	0.634
20	1.116	0.782	0.608
平均值	1.12	0.81	0.62
RSD/%	0.61	2.16	1.93

2.3.3.2 耐用性考察

按“2.2.1”项下色谱条件对“2.3.2”项下混合对照品溶液进行测定,分别考察不同流速、柱温、酸

浓度及色谱柱对新穿心莲内酯、14-去氧穿心莲内酯、脱水穿心莲内酯的相对校正因子影响,结果显示,当参照物为穿心莲内酯时,设置不同的柱温和流速,采用不同品牌的色谱柱、不同浓度的酸性条件时,各成分的相对校正因子的RSD值都低于3.0%,说明所建立的色谱分析方法的耐用性符合要求,见表5~表8。

表5 不同柱温对相对校正因子的影响

柱温	新穿心莲内酯	14-去氧穿心莲内酯	脱水穿心莲内酯
33 °C	1.222	0.871	0.666
35 °C	1.222	0.865	0.666
37 °C	1.220	0.869	0.665
平均值	1.22	0.87	0.67
RSD	0.09	0.35	0.09

表6 不同体积流量对相对校正因子的影响

流速	新穿心莲内酯	14-去氧穿心莲内酯	脱水穿心莲内酯
0.38 ml/min	1.206	0.856	0.662
0.40 ml/min	1.222	0.865	0.666
0.42 ml/min	1.205	0.854	0.660
平均值	1.21	0.86	0.66
RSD	0.79	0.68	0.46

表9 穿心莲标准汤剂含量测定结果

编号	批号	穿心莲内酯含量(mg/g)	新穿心莲内酯含量(mg/g)			14-去氧穿心莲内酯含量(mg/g)			脱水穿心莲内酯含量(mg/g)		
			外标法	一测多评	RSD(%)	外标法	一测多评	RSD(%)	外标法	一测多评	RSD(%)
S1	190610-537000-01	29.00	11.98	12.49	2.95	4.54	4.72	2.75	6.89	6.98	0.92
S2	190610-530400-02	14.51	7.04	7.33	2.85	2.59	2.68	2.42	3.90	3.95	0.90
S3	190610-537600-03	26.06	16.13	16.82	2.96	5.71	5.93	2.67	8.19	8.29	0.86
S4	190906-530300-04	15.96	3.62	3.77	2.87	2.13	2.21	2.61	6.00	6.08	0.94
S5	190906-530300-05	17.19	11.50	11.99	2.95	4.56	4.73	2.59	9.85	9.98	0.93
S6	190906-530300-06	18.27	4.23	4.41	2.95	2.57	2.67	2.70	6.08	6.16	0.92
S7	190906-530300-07	16.62	13.41	13.97	2.89	5.15	5.34	2.56	11.53	11.67	0.85
S8	190906-530300-08	17.51	13.69	14.27	2.93	4.93	5.11	2.54	11.83	11.98	0.89
S9	190906-524300-09	20.24	4.78	4.99	3.04	2.86	2.96	2.43	5.19	5.25	0.81
S10	190906-524300-10	11.48	17.02	17.74	2.93	6.97	7.23	2.59	7.72	7.82	0.91
S11	190906-524300-11	17.70	14.29	14.90	2.96	5.83	6.05	2.62	9.86	9.98	0.86
S12	190906-524300-12	13.87	13.04	13.60	2.97	4.93	5.12	2.67	14.72	14.91	0.91
S13	190906-537100-13	9.70	7.86	8.19	2.91	2.91	3.02	2.62	6.26	6.34	0.90
S14	190906-537100-14	18.42	8.97	9.35	2.93	3.90	4.05	2.67	8.63	8.74	0.90
S15	190906-524300-15	17.43	7.96	8.30	2.96	3.85	4.00	2.70	6.38	6.46	0.88
S16	190906-537100-16	16.88	14.41	15.02	2.93	5.79	6.01	2.64	10.48	10.62	0.94
S17	190906-524300-18	12.41	8.79	9.16	2.92	3.64	3.78	2.67	5.40	5.47	0.91

表7 不同色谱柱对相对校正因子的影响

色谱柱型号	新穿心莲内酯	14-去氧穿心莲内酯	脱水穿心莲内酯
BEH Shield	1.213	0.868	0.666
BEH C ₁₈	1.222	0.865	0.666
CORTECS T3	1.213	0.868	0.661
平均值	1.22	0.87	0.66
RSD	0.43	0.20	0.43

表8 不同酸度对相对校正因子的影响

酸浓度	新穿心莲内酯	14-去氧穿心莲内酯	脱水穿心莲内酯
0.05%磷酸	1.218	0.868	0.665
0.10%磷酸	1.222	0.865	0.666
0.15%磷酸	1.219	0.871	0.658
平均值	1.22	0.87	0.66
RSD	0.17	0.35	0.66

2.3.4 样品含量测定

取21批穿心莲标准汤剂,按“2.3.3”项下方法制备供试品溶液,按“2.3.1”项下色谱条件进样测定,分别采用一测多评法和外标法计算穿心莲内酯、新穿心莲内酯、14-去氧穿心莲内酯和脱水穿心莲内酯的含量,RSD均小于3%,结果见表9。说明该一测多评法可用于穿心莲标准汤剂的多成分质量评价。

(续表 9)

编号	批号	穿心莲内酯含量(mg/g)	新穿心莲内酯含量(mg/g)			14-去氧穿心莲内酯含量(mg/g)			脱水穿心莲内酯含量(mg/g)		
			外标法	一测多评	RSD(%)	外标法	一测多评	RSD(%)	外标法	一测多评	RSD(%)
S18	190125-537000-19	34.92	9.49	9.90	2.99	4.98	5.17	2.65	6.82	6.90	0.82
S19	190125-476000-21	12.71	6.94	7.23	2.89	1.96	2.03	2.48	2.49	2.52	0.85
S20	190125-537000-22	34.75	8.91	9.29	2.95	6.70	6.95	2.59	8.66	8.77	0.89
S21	190125-530400-24	12.92	7.92	8.25	2.89	2.36	2.45	2.65	3.34	3.38	0.84

3 讨论

根据穿心莲各道地产区或主产区质量、道地性及资源可持续性供应等多方面因素,选取广西、广东等两个生产较为集中的产区进行 21 批次研究用药材样品采集,保证收集的样品规格符合市场常见规格要求,产地年产量不少于 5 吨。关于穿心莲的药用部位,药典规定为其干燥地上部分,有学者通过比较二萜内酯类成分在穿心莲药材不同部位的分布情况,发现叶中含量最高,其次是茎^[11]。因此药用穿心莲的采集应以叶多的为佳。

利用二极管阵列检测器对对照品溶液和供试品溶液进行全程扫描,确定穿心莲内酯、新穿心莲内酯、14-去氧穿心莲内酯和脱水穿心莲内酯的最大吸收波长均在 205 ~ 252 nm 范围内,综合考虑为使各成分均能有较大吸收,减少溶剂峰影响,提高方法对于不同检测器的适用性,最终选择 211 nm 作为检测波长,该波长条件下图谱信息丰富,可达到特征图谱及含量测定的检测需求。

本研究采用 UPLC 建立了穿心莲标准汤剂的特征图谱及一测多评方法,可有效表征其二萜内酯、黄酮类等主要有效成分,极大缩短了检测时间,可为该制剂质量控制及评价提供参考。穿心莲标准汤剂 7 个特征峰在药材、饮片中均能得到追踪,表明穿心莲标准汤剂与药材、饮片中有效成分的一致性,为该汤剂药效物质研究提供依据。

【参考文献】

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 一部: 2020 年版 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 280-281.
- [2] 张晓, 唐力英, 吴宏伟, 等. 穿心莲现代研究进展 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(18): 222-234.
- [3] 周凯岚. 穿心莲和早芹的化学成分研究 [D]. 沈阳: 沈阳药科大学, 2008.
- [4] 温赛群, 姜涛, 温春秀, 等. 穿心莲药材质量控制研究进展 [J]. 河北农业科学, 2022, 26(3): 85-89.
- [5] 韩光, 杜钢军, 许启泰. 穿心莲二萜内酯类化合物的合成及抗肿瘤构效关系研究 [J]. 中国药学杂志, 2008, 43(10): 790-794.
- [6] 朱艳玲. 穿心莲化学成分和药理作用的研究进展 [J]. 中国现代药物应用, 2013, 7(14): 238-239.
- [7] 陈丽霞, 曲戈霞, 邱峰. 穿心莲黄酮类化学成分的研究 [J]. 中国中药杂志, 2006, 31(5): 391-395.
- [8] 黄嘉玲. 穿心莲黄酮类成分研究 [D]. 广州: 广东药科大学, 2021.
- [9] 符海郟, 张倩睿, 熊蕊, 等. 指纹图谱结合一测多评模式在中药质量评价中的应用进展 [J]. 中国药师, 2022, 25(5): 861-867.
- [10] 李振雨, 赵书运, 刘晓霞, 等. 基于 UPLC 特征图谱和一测多评法的穿心莲药材质量研究 [J]. 中国中医药信息杂志, 2023, 30(06): 141-147.
- [11] 肖传学, 孙玉侠, 耿晓梅, 等. 不同药用部位及产地穿心莲药材中 4 个二萜内酯类成分的研究 [J]. 中国现代中药, 2017, 19(5): 675-678.

【收稿日期】 2023-10-13 【修回日期】 2024-03-15

【本文编辑】 陈盛新