

· 经典名方 ·

泻白散的物质基准量值传递分析

王彦¹, 高艳¹, 罗菊元¹, 齐琪¹, 张晴¹, 周瑞¹, 胡海燕¹, 喻祥龙¹,
杜守颖¹, 陆洋^{1,2*}, 白洁^{1*}

(1. 北京中医药大学中药学院, 北京 102488; 2. 深圳北京中医药大学研究院, 广东 深圳 518000)

[摘要] 目的:以指纹图谱、指标性成分含量、出膏率为指标,建立泻白散物质基准质量评价方法,考察其关键质量属性,探索饮片-物质基准的量值传递关系,初步拟定该经典名方物质基准质量标准。方法:依据古方记载制备泻白散物质基准,通过高效液相色谱法(HPLC)对15批饮片和物质基准的指纹图谱、指标性成分含量进行测定,流动相采用乙腈-0.05%磷酸水溶液梯度洗脱;结合出膏率、指纹图谱相似度及指标成分转移率进行量值传递研究。结果:泻白散物质基准的指纹图谱中共归属了10个特征峰,其中2个来自炒桑白皮,4个来自焙地骨皮,4个来自炙甘草。以甘草苷、甘草酸及桑皮苷A作为指标性成分进行含量测定,泻白散物质基准中桑皮苷A的质量分数2.69%~4.26%,转移率(31.37±4.14)%;甘草苷质量分数0.09%~0.17%,转移率(36.12±4.03)%;甘草酸质量分数0.09%~0.16%,转移率(12.25±0.88)%。泻白散物质基准的指纹图谱相似度良好,14批物质基准与对照指纹图谱的相似度均>0.9;出膏率处于8.09%~11.29%。结论:建立的泻白散物质基准质量评价方法科学合理,饮片-物质基准量值传递过程稳定可控,拟定的物质基准质量标准可为后续泻白散现代制剂的开发提供实验依据与参考。

[关键词] 经典名方; 泻白散; 物质基准; 量值传递; 指纹图谱; 高效液相色谱法(HPLC); 出膏率

[中图分类号] R22;R94;R28;O657.7 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2021)21-0001-09

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20211346 **[增强出版附件]** 内容详见<http://www.syfjxzz.com>或<http://cnki.net>

[网络出版地址] <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20210401.0910.001.html>

[网络出版日期] 2021-04-01 9:29

Quality Value Transmitting of Substance Benchmark of Xiebaisan

WANG Yan¹, GAO Yan¹, LUO Ju-yuan¹, QI Qi¹, ZHANG Qing¹, ZHOU Rui¹, HU Hai-yan¹,
YU Xiang-long¹, DU Shou-ying¹, LU Yang^{1,2*}, BAI Jie^{1*}

(1. School of Chinese Materia Medica, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 102488, China;
2. Shenzhen Research Institute, Beijing University of Chinese Medicine, Shenzhen 518000, China)

[Abstract] **Objective:** Based on fingerprint, index component content and dry extract yield, a quality evaluation method for substance benchmark of Xiebaisan was established to study the key quality attributes, to explore the quantitative transfer relationship between decoction pieces and substance benchmark, and to preliminarily formulate the quality standard of substance benchmark of Xiebaisan. **Method:** The substance benchmark of Xiebaisan was prepared according to the records of ancient formulas, fingerprints of 15 batches of decoction pieces and substance benchmarks were collected by high performance liquid chromatography (HPLC) and the index components were determined with the mobile phase of acetonitrile-0.05% phosphoric acid solution for gradient elution. The dry extract yield, fingerprint similarity and transfer rate of index components were combined to study the quantity value transmitting. **Result:** Ten characteristic peaks were identified in fingerprint of the substance benchmark and two characteristic peaks from stir-fried Mori Cortex, four characteristic peaks

[收稿日期] 20210114(022)

[基金项目] 中央高校基本科研业务费专项(2020-JYB-ZDGG-50)

[第一作者] 王彦,在读硕士,从事中药新剂型与新技术研究,Tel:024-52818899,E-mail:2046610497@qq.com

[通信作者] *陆洋,博士,教授,从事中药新剂型与新技术研究,Tel:010-84738615,E-mail:landocean28@163.com;

*白洁,博士,副教授,从事中药新剂型与新技术研究,Tel:010-84738657,E-mail:baijie22811@163.com

from baked Lycii Cortex, four characteristic peaks from Glycyrrhizae Radix et Rhizoma Praeparata cum Melle. Mulberroside A, liquiritin and glycyrrhizic acid were used as index components for the determination, the contents of mulberroside A, liquiritin and glycyrrhizic acid in substance benchmark of Xiebaisan were 2.69%-4.26%, 0.09%-0.17% and 0.09%-0.16%, and their transfer rates were $(31.37\pm 4.14)\%$, $(36.12\pm 4.03)\%$ and $(12.25\pm 0.88)\%$, respectively. The similarity of fingerprint of substance benchmarks was good, the fingerprint similarities of 14 batches of substance benchmarks and control fingerprint were >0.9 . The dry extract yield of substance benchmark of Xiebaisan ranged from 8.09% to 11.29%. **Conclusion:** The established quality evaluation method of substance benchmark of Xiebaisan is scientific and reasonable, and the transfer process of decoction pieces to substance benchmarks is stable and controllable. The preliminary quality standard of the substance benchmark can provide basis and reference for the development of modern preparations of Xiebaisan in the future.

[Keywords] famous classical formulas; Xiebaisan; substance benchmark; quality value transmitting; fingerprint; high performance liquid chromatography (HPLC); dry extract yield

泻白散首载于《小儿药证直诀·卷下诸方》，由桑白皮(炒)一两、地骨皮(焙)一两、炙甘草一钱、粳米一撮组成^[1]。四药合用，标本兼治以清肺中实热、滋阴润肺。经研究表明，泻白散具有解热、抗炎、抗病原微生物等药理作用^[2]。现代临床常用泻白散的加减方治疗各种肺热喘咳疾病^[3]，如管奕婷^[4]以泻白散为基础方，加入黄芩、芦根等中药治疗痰热蕴肺型社区获得性肺炎得到了很好的疗效。泻白散配伍严谨，用药精当，疗效显著，李时珍称其为“泻肺诸方之准绳”。

为了推动来源于古代经典名方的中药复方制剂稳步发展，为人民群众健康提供更好保障，国家中医药管理局会同国家药品监督管理局制定《古代经典名方目录(第一批)》^[5]，泻白散被收录其中。根据《古代经典名方中药复方制剂物质基准的申报资料要求(征求意见稿)》^[6]，制备经典名方复方制剂应先制备质量稳定的物质基准，也明确提出应以浸出物、含量测定、指纹图谱或特征图谱等为指标，进行量值传递分析，保证物质基准质量的均一性和可追溯性^[7]。

目前，关于经典名方泻白散的研究主要集中于文献考证或煎煮工艺方面，质量控制方面的研究较少，尚未见其量值传递方面的报道^[8-10]，物质基准的量值传递是经典名方制剂研发的关键一环。本研究在前期确定饮片锉散粒度及煎煮工艺的基础上^[9]，以指纹图谱、指标性成分含量、出膏率为指标，建立泻白散物质基准的质量评价方法，明确其关键质量属性，制备出稳定的泻白散物质基准，并通过指标性成分转移率、指纹图谱相似度、出膏率变化率等指标阐明饮片-物质基准的量值传递关系，初步

拟定泻白散物质基准的质量标准，为相关制剂的研发提供参考。

1 材料

1100型高效液相色谱仪[安捷伦科技(中国)有限公司，包含二极管阵列检测器(DAD)和LCSolution色谱工作站]，LC-20A型高效液相色谱仪[岛津(中国)有限公司，包含DAD和LCSolution色谱工作站]，UltiMate 3000型高效液相色谱仪[赛默飞世尔科技(中国)有限公司，包含DAD和Chromleon 7.2色谱工作站]，BSA224S型电子分析天平[赛多利斯科学仪器(北京)有限公司]，JM-B100002型电子天平(余姚市纪铭称重校验设备有限公司)，DZF-6051型真空干燥器(北京利康达圣科技发展有限公司)，DHG-9140A型电热恒温鼓风干燥箱(上海一恒科学仪器有限公司)，BY-400C-1型医用离心机(北京白洋医疗器械有限公司)，QE-200型高速万能粉碎机(浙江屹立工贸有限公司)，FD-2A型真空冷冻干燥机(北京博医康实验仪器有限公司)。

炒桑白皮、焙地骨皮、炙甘草饮片和粳米来源信息见表1，经北京中医药大学刘春生教授鉴定，分别为桑科植物桑 *Morus alba* 干燥根皮的炒制品、茄科植物枸杞 *Lycium chinense* 干燥根皮的焙制品、豆科植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* 干燥根和根茎的蜜炙品、禾本科植物稻 *Oryza sativa* 去壳的种仁；甘草苷、甘草酸铵对照品(中国食品药品检定研究院，批号分别为111610-201607，110731-201619，纯度均 $>93\%$)，桑皮苷A对照品(成都瑞芬思生物科技有限公司，批号102841-42-9，纯度 $>98\%$)，水为娃哈哈纯净水，乙腈、磷酸为色谱纯，其他试剂均为分析纯。

表1 泻白散饮片来源

Table 1 Source of decoction pieces in Xiebaisan

名称	产地	批次	来源
炒桑白皮	安徽省亳州市利辛县	SBP-201803-1~SBP-201803-5	亿帆医药股份有限公司
	安徽省阜阳市太和县	SBP-190601~SBP-190605, SBP-190715	
焙地骨皮	陕西省西安市临潼区	DGP-20181027-101~DGP-20181027-105	
	陕西省渭南市澄城县	DGP-20181027-201~DGP-20181027-205	
	陕西省渭南市蒲城县	DGP-20181027-301~DGP-20181027-305	
炙甘草	甘肃兰州榆中县	ZGC-201803-1~ZGC-201803-3, ZGC-201803-5, ZGC-201803-6	
	甘肃武威民勤县	ZGC-201804-1~ZGC-201804-5	
	新疆阿泰勒北屯镇	ZGC-201805-1~ZGC-201805-5	
粳米	江苏省苏州市	JM-20200520	中粮食品营销有限公司

2 方法与结果

2.1 泻白散物质基准的制备 对各单味药所用批次进行编号,并用随机数表法对3味饮片进行随机组合及排序,15批泻白散物质基准对应饮片的批号见表2。分别称取炒桑白皮40.0 g,地骨皮40.0 g,炙甘草4.0 g,粳米0.5 g,锉散至4.75~8.00 mm,于陶瓷锅中加水420 mL,武火(1 000 W)煮沸后转文火(200 W)煎煮至300 mL(沸腾后煎煮约20 min),经300目无纺布过滤,精密移取滤液10 mL于西林瓶中,-20℃预冷冻24 h,置于-80℃预冷2 h的真空冷冻干燥机中,冻干温度-80℃,干燥72 h,取出压盖密塞,即得泻白散物质基准冻干粉(每支含生药2.82 g)。

2.2 泻白散物质基准指纹图谱检测方法的建立

2.2.1 色谱条件 资生堂CAPCELL PAK AQ-C₁₈色谱柱(4.6 mm×250 mm, 3 μm),流动相乙腈(A)-0.05%磷酸水溶液(B)梯度洗脱(0~2 min, 5%A; 2~8 min, 5%~8%A; 8~25 min, 8%~9%A; 25~35 min, 9%~14%A; 35~45 min, 14%A; 45~55 min, 14%~18%A; 55~67 min, 18%~30%A; 67~80 min, 30%~40%A; 80~83 min, 40%~50%A; 83~95 min, 50%~70%A; 95~110 min, 70%A),流速1.0 mL·min⁻¹,检测波长260 nm,柱温30℃,进样量40 μL。高效液相色谱法(HPLC)指纹图谱见图1,共归属了10个特征峰,涵盖泻白散处方中所有药味,其中特征峰3(桑皮苷A)和4归属于桑白皮,特征峰1,2,7,9归属于地骨皮,特征峰5(甘草苷),6,8,10(甘草酸)归属于甘草。

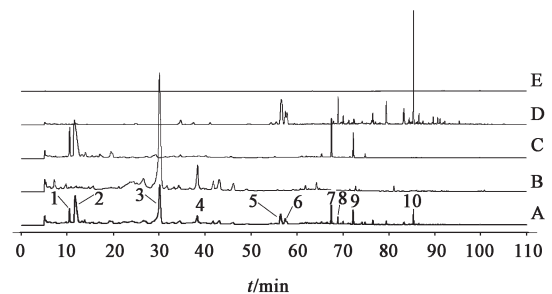
2.2.2 供试品溶液的制备 取2.1项下所得物质基准冻干粉样品1支,精密移取水10 mL复溶,加入等体积甲醇,混匀,离心(1万 r·min⁻¹, 10 min,离心半径

表2 15批泻白散物质基准对应饮片的批号

Table 2 Corresponding batch number of decoction pieces in 15 batches of substance benchmarks of Xiebaisan

物质基准	桑白皮(炒)	地骨皮	炙甘草
S1	SBP-190602	DGP-20181027-201	ZGC-201803-1
S2	SBP-190715	DGP-20181027-203	ZGC-201804-3
S3	SBP-201803-5	DGP-20181027-205	ZGC-201805-4
S4	SBP-201803-2	DGP-20181027-105	ZGC-201803-6
S5	SBP-190604	DGP-20181027-103	ZGC-201805-2
S6	SBP-190715	DGP-20181027-104	ZGC-201803-3
S7	SBP-201803-3	DGP-20181027-304	ZGC-201804-4
S8	SBP-190601	DGP-20181027-302	ZGC-201805-5
S9	SBP-190715	DGP-20181027-303	ZGC-201805-3
S10	SBP-201803-1	DGP-20181027-204	ZGC-201803-5
S11	SBP-190605	DGP-20181027-202	ZGC-201803-2
S12	SBP-190715	DGP-20181027-101	ZGC-201804-1
S13	SBP-201803-4	DGP-20181027-102	ZGC-201805-1
S14	SBP-190603	DGP-20181027-305	ZGC-201804-2
S15	SBP-190715	DGP-20181027-301	ZGC-201804-5

注:粳米的批号均为JM-20200520。



A. 全方; B. 桑白皮; C. 地骨皮; D. 甘草; E. 粳米; 3. 桑皮苷A; 5. 甘草苷; 10. 甘草酸

图1 泻白散物质基准的HPLC指纹谱

Fig. 1 HPLC fingerprint of substance benchmark of Xiebaisan

5.79 cm,下同),取上清液,过0.22 μm微孔滤膜,取续滤液,即得。

2.2.3 精密度考察 取泻白散物质基准S13冻干粉供试品溶液1份,按2.2.1项下条件连续进样6次,将图谱导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”(2012版),时间窗宽度0.1 min,进行全谱峰匹配,结果指纹图谱相似度>0.95,以3号峰(桑皮苷A)为参照,计算各特征峰相对保留时间及相对峰面积的RSD分别为<0.2%,<4.1%,说明仪器精密度良好。

2.2.4 重复性考察 取泻白散物质基准S13冻干粉的供试品溶液6份,按2.2.1项下色谱条件测定,结果指纹图谱相似度>0.90,以3号峰(桑皮苷A)为参照,计算各特征峰相对保留时间及相对峰面积的RSD分别为<0.4%,<4.4%,说明该方法重复性良好。

2.2.5 稳定性考察 取泻白散物质基准S13冻干粉1支,按2.2.2项下方法制备供试品溶液,分别于制样后0,2,4,6,12,24 h按2.2.1项下色谱条件测定。结果指纹图谱相似度>0.90,以3号峰(桑皮苷A)为参

照,计算各特征峰相对保留时间及相对峰面积的RSD分别为<1.2%,<5.0%,表明供试品溶液在24 h内稳定性良好。

2.3 样品指纹图谱检测 取15批泻白散物质基准冻干粉样品适量,按2.2.2项下方法制备供试品溶液,按2.2.1项下色谱条件测定,得HPLC指纹图谱,见图2,相似度结果见表3。

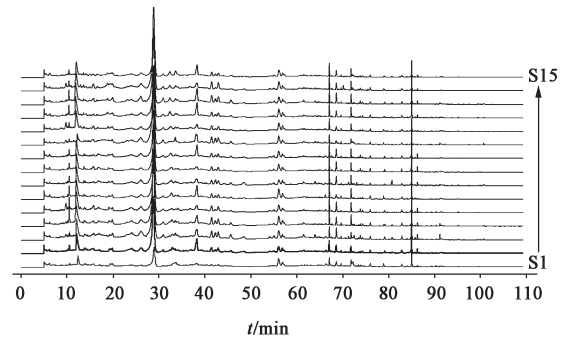


图2 15批泻白散物质基准的HPLC指纹谱

Fig. 2 HPLC fingerprints of 15 batches of substance benchmarks of Xiebaiban

表3 15批泻白散物质基准HPLC指纹谱的相似度

Table 3 Similarities of HPLC fingerprint of 15 batches of substance benchmarks of Xiebaiban

样品	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13	S14	S15	R
S1	1.000															
S2	0.884	1.000														
S3	0.870	0.969	1.000													
S4	0.849	0.943	0.962	1.000												
S5	0.854	0.943	0.965	0.974	1.000											
S6	0.884	0.958	0.968	0.949	0.955	1.000										
S7	0.878	0.957	0.968	0.944	0.956	0.977	1.000									
S8	0.882	0.945	0.956	0.938	0.950	0.975	0.978	1.000								
S9	0.879	0.958	0.955	0.928	0.938	0.966	0.974	0.962	1.000							
S10	0.847	0.942	0.971	0.948	0.953	0.951	0.951	0.938	0.938	1.000						
S11	0.838	0.908	0.919	0.932	0.949	0.923	0.936	0.924	0.941	0.915	1.000					
S12	0.839	0.922	0.923	0.930	0.939	0.920	0.932	0.913	0.929	0.929	0.945	1.000				
S13	0.843	0.946	0.963	0.960	0.963	0.944	0.952	0.938	0.946	0.956	0.947	0.969	1.000			
S14	0.826	0.935	0.960	0.954	0.963	0.943	0.950	0.937	0.938	0.966	0.945	0.959	0.972	1.000		
S15	0.867	0.944	0.942	0.926	0.930	0.944	0.943	0.936	0.943	0.935	0.912	0.923	0.932	0.933	1.000	
R	0.885	0.972	0.985	0.976	0.981	0.979	0.982	0.972	0.974	0.977	0.958	0.963	0.982	0.980	0.962	1.000

注:R为对照指纹图谱。

由表3可知,除样品S1外,其余14批泻白散物质基准指纹图谱的相似度均>0.900,原因可能与样品S1中3号峰(桑皮苷A)的峰面积较小有关,但样品S1与R的相似度>0.880,说明整体相似度较高。以特征峰中峰面积最大且稳定的3号峰作为参照峰

(S峰),计算15批物质基准中各特征峰的相对峰面积,见表4。由于样品S1中S峰的峰面积较小,导致各特征峰的相对峰面积较为离散,进而影响分析结果的准确性,故将样品S1去除,分析其他14批样品各特征峰的相对峰面积变化。结果发现14批物质

基准中各特征峰与S峰的峰面积比值相对固定,大多数特征峰相对峰面积的变化范围不会超过2倍,

计算公式为变化幅度=(比值最大值-比值最小值)/比值平均值×100%。

表4 15批泻白散物质基准特征峰比值分析

Table 4 Characteristic peak ratios of 15 batches of substance benchmarks of Xiebaisan

峰号	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13	S14	S15	变化幅度/%
1	0.08	0.05	0.03	0.08	0.08	0.07	0.06	0.07	0.07	0.03	0.08	0.09	0.06	0.04	0.06	88.42
2	0.30	0.25	0.16	0.16	0.18	0.23	0.22	0.21	0.25	0.06	0.23	0.16	0.11	0.09	0.20	103.71
3	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	-
4	0.11	0.13	0.06	0.07	0.06	0.12	0.05	0.06	0.12	0.06	0.07	0.13	0.09	0.04	0.12	104.53
5	0.30	0.08	0.07	0.08	0.07	0.13	0.07	0.11	0.09	0.07	0.13	0.10	0.06	0.06	0.10	79.17
6	0.13	0.04	0.03	0.05	0.03	0.06	0.06	0.05	0.04	0.03	0.08	0.04	0.04	0.02	0.04	140.29
7	0.17	0.06	0.03	0.05	0.07	0.08	0.08	0.08	0.08	0.03	0.09	0.06	0.05	0.04	0.07	94.01
8	0.08	0.04	0.04	0.04	0.05	0.03	0.05	0.07	0.06	0.01	0.04	0.03	0.04	0.02	0.04	140.23
9	0.11	0.03	0.02	0.03	0.04	0.05	0.04	0.04	0.04	0.02	0.04	0.04	0.03	0.02	0.04	87.24
10	0.20	0.09	0.06	0.06	0.07	0.07	0.06	0.11	0.09	0.03	0.06	0.07	0.05	0.04	0.07	124.21

注:3号峰为桑皮苷A。

2.4 泻白散饮片-物质基准特征图谱相关性分析

2.4.1 色谱条件 同2.2.1项。

2.4.2 溶液的制备 单味饮片水煎液同2.1项下全方水煎液制备方法,取水煎液适量,加入等体积甲醇,离心,取上清液过0.22 μm微孔滤膜,即得单味饮片的供试品溶液。泻白散物质基准供试品溶液的制备同2.2.2项。

2.4.3 相关性分析 将每批物质基准的指纹图谱与其对应批次的桑白皮饮片的指纹图谱逐对导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”(2012版),时间窗宽度设置0.1 min,以各批物质基准的指纹图谱为参照,将物质基准中桑白皮的特征峰(3,4号)与对应饮片中的相应特征峰进行Mark峰匹配,计算相似度,地骨皮、甘草饮片与物质基准指纹图谱的相关性分析同桑白皮。结果桑白皮、地骨皮、甘草饮片与物质基准中对应特征峰的相似度良好,桑白皮均为1.00,地骨皮和甘草均>0.90。说明泻白散物质基准与饮片指纹图谱间的整体相似度良好,饮片特征峰物质群向物质基准中传递较为稳定。

为具体研究泻白散饮片-物质基准间指纹图谱信息的传递情况,分析泻白散中归属的10个特征峰的峰面积变化。将各批次饮片和15批物质基准的指纹图谱分别导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”(2012版),生成各自的对照图谱,摘取对照图谱中的特征峰峰面积信息,将各单味药中最稳定的特征峰选为S峰,计算其他特征峰的相对峰面积,见表5。结果显示,对于桑白皮,4号峰在物质基准中

的相对峰面积与饮片相比略有升高,可能与药物合煎有关,但相对峰面积变化幅度较小,说明炒桑白皮的特征峰能较好地传递到物质基准。对于地骨皮,1,9号峰在物质基准中的相对峰面积与饮片相比略有降低,但降低幅度较小,且比例相当;2号峰降低的幅度较大,可能是在煎煮时,该成分受到方中其他饮片的影响。对于甘草,6,10号(甘草酸)峰在物质基准中的相对峰面积与饮片相比均有不同程度的降低,其中10号峰降低的幅度较大,后续进行含量传递分析时发现,甘草酸的含量转移率也偏低,可能是由于药物合煎的相互作用,加之单味药与物质基准在煎煮时加水量相同而药量不同,导致物质基准中的成分不及单味药中的成分溶出完全;相较于饮片,8号峰的相对峰面积在物质基准中有所升高。

2.5 泻白散物质基准中指标成分含量测定方法的建立 2020年版《中华人民共和国药典》(以下简称《中国药典》)对甘草中甘草苷和甘草酸有含测要求,地骨皮和桑白皮均无含量测定要求;但桑白皮作为泻白散中的君药,对其质量的控制十分必要,故选择其有效成分桑皮苷A建立含量测定方法。

2.5.1 色谱条件 桑皮苷A含量测定色谱条件设为资生堂CAPCELL PAK AQ-C₁₈色谱柱(4.6 mm×250 mm, 3 μm),流动相选择乙腈(A)-0.05%磷酸水溶液(B)梯度洗脱(0~5 min, 9%A; 5~15 min, 9%~14%A; 15~20 min, 14%A; 20~25 min, 14%~70%A; 25~30 min, 70%A),流速1.0 mL·min⁻¹,检测波长

表5 泻白散物质基准与各组方饮片中特征峰的峰面积比较

Table 5 Comparison of peak area of characteristic peaks between substance benchmarks of Xiebaisan and each decoction piece

饮片	峰号	相对峰面积	
		饮片	物质基准
桑白皮(3号峰为参照)	3	1.00	1.00
	4	0.05	0.08
地骨皮(7号峰为参照)	1	1.24	1.00
	2	6.60	2.81
	7	1.00	1.00
	9	0.67	0.55
	10	1.44	0.73
甘草(5号峰为参照)	5	1.00	1.00
	6	0.60	0.49
	8	0.48	0.68

注:不同特征峰峰面积与其所属单味药中的S峰的峰面积相除得到相对峰面积值。

320 nm,柱温 30 °C,进样量 6 μL,见增强出版附件材料。甘草苷、甘草酸含量测定的色谱条件为资生堂 CAPCELL PAK AQ-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×250 mm, 3 μm),流动相选择乙腈(A)-0.05%磷酸水溶液(B)梯度洗脱(0~8 min, 19%A; 8~35 min, 19%~50%A; 35~36 min, 50%~100%A; 36~40 min, 100%~19%A),柱温 35 °C,流速 1.0 mL·min⁻¹,检测波长 237 nm,进样量 20 μL,见增强出版附件材料。

2.5.2 对照品溶液的制备 精密称定适量桑皮苷A对照品,加70%甲醇制成0.573 2 g·L⁻¹对照品溶液。精密称定适量甘草苷、甘草酸铵对照品,加70%乙醇配制成质量浓度分别为0.040 8, 0.051 3 g·L⁻¹的混合对照品溶液。

2.5.3 供试品溶液的制备 泻白散物质基准供试品溶液制备同2.2.2项。取桑白皮粉末(过3号筛)0.2 g,精密称定,转移至150 mL具塞锥形瓶中,精密移取70%甲醇50 mL,精密称定,超声处理(250 W, 40 kHz)40 min,冷却后称重,用70%甲醇补足减失的质量,经0.22 μm微孔滤膜滤过,得桑白皮饮片供试品溶液。甘草饮片供试品溶液的制备采用2020年版《中国药典》(一部)“甘草”项下供试品溶液制备方法。

2.5.4 线性关系考察 取0.573 2 g·L⁻¹桑皮苷A对照品溶液2, 4, 6, 8, 10, 12 μL;取0.040 8 g·L⁻¹甘草苷对照品溶液4, 6, 8, 10, 12, 14 μL;取0.051 3 g·L⁻¹甘草酸铵对照品溶液5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 μL;分别按2.5.1项下色谱条件测定,以进样量(μg)为横坐

标,峰面积为纵坐标,绘制标准曲线,回归方程及线性范围见表6。

表6 泻白散物质基准中指标成分含量测定的方法学考察

Table 6 Methodological study on determination of index components in substance benchmark of Xiebaisan

成分	线性关系	线性范围/μg
桑皮苷A	$Y=41.856X-0.2951 (R^2=1.0000)$	1.146 4~6.878 4
甘草苷	$Y=30.794X+0.1059 (R^2=0.9993)$	0.163 2~0.571 2
甘草酸	$Y=9.4262X+0.0525 (R^2=0.9998)$	0.256 5~1.795 5

2.5.5 精密度考察 取2.5.2项下制备的对照品溶液,分别按照2.5.1项下色谱条件连续进样6次,计算甘草苷、甘草酸及桑皮苷A峰面积的RSD分别为1.0%, 0.3%, 0.6%,说明仪器精密度良好。

2.5.6 重复性考察 取泻白散物质基准冻干粉样品6份,按2.2.2项下方法制备溶液,照2.5.1项下条件测定,计算样品中甘草苷、甘草酸及桑皮苷A的平均质量分数分别为0.25%, 0.06%, 2.66%(甘草苷、甘草酸所用样品不是表2中提及的15批物质基准,桑皮苷A所用样品则为物质基准S12),RSD分别为0.6%, 1.1%, 1.6%,说明该方法重复性良好。

2.5.7 稳定性考察 取泻白散物质基准S12冻干粉的供试品溶液,分别于制样后0, 2, 4, 6, 12, 24 h按2.5.1项下色谱条件测定,计算甘草苷、甘草酸及桑皮苷A峰面积的RSD分别为2.8%, 2.4%, 1.2%,说明供试品溶液在24 h内稳定性良好。

2.5.8 加样回收试验 取泻白散物质基准S13冻干粉适量,加入一定量桑皮苷A对照品溶液(加入量3.58 mg),充分溶解后转移至10 mL量瓶中,用少量水多次润洗西林瓶,将润洗液转移至量瓶中,加水定容至刻度,取适量按2.2.2项下方法溶液。同法制备甘草苷、甘草酸加样回收率供试品溶液(甘草苷、甘草酸铵对照品加入量分别为0.18, 0.04 mg)。按2.5.1项下色谱条件测定,计算甘草苷、甘草酸及桑皮苷A加样回收率分别为99.62%, 102.13%, 102.10%,RSD依次为1.9%, 0.8%, 1.9%,表明该方法准确可靠。

2.5.9 泻白散饮片-物质基准指标性成分含量的相关性分析 分析饮片-物质基准的甘草苷、甘草酸、桑皮苷A含量转移率,计算公式为转移率= $m/M \times 100%$,式中m表示物质基准中指标性成分的质量,M表示饮片中指标性成分的质量,见表7。在15批物质基准中,样品S1, S3, S14的桑皮苷A含量不在均值的±30%范围内,不符合相关法规规定,故将这

3批剔除后分析饮片-物质基准转移率的变化。计算桑皮苷A转移率(31.37±4.14)%,其±30%的范围为21.96%~40.78%;甘草苷转移率(36.12±4.03)%,其±30%的范围为25.29%~46.96%;甘草酸转移率

(12.25±0.88)%,其±30%的范围为8.57%~15.92%,12批物质基准各指标成分的转移率均在相应均值的±30%范围内,认为饮片-物质基准中桑皮苷A,甘草苷和甘草酸的转移情况稳定。

表7 泻白散物质基准中指标性成分的转移率

Table 7 Transfer rate of index components in substance benchmark of Xiebaisan %

物质基准	桑皮苷A含量		桑皮苷A转移率	甘草苷含量		甘草苷转移率	甘草酸含量		甘草酸转移率
	饮片	物质基准		饮片	物质基准		饮片	物质基准	
S1	1.18	1.30	21.05	0.81	0.16	38.11	1.68	0.13	15.33
S2	2.10	2.98	34.67	0.76	0.10	32.43	2.55	0.13	12.77
S3	2.90	4.98	39.41	0.90	0.14	36.82	2.44	0.15	13.75
S4	2.84	4.00	31.83	1.01	0.16	36.32	2.49	0.14	12.63
S5	2.53	4.00	32.26	0.69	0.12	35.99	2.57	0.15	11.99
S6	2.10	2.83	29.71	1.24	0.17	30.54	1.71	0.10	13.38
S7	2.14	3.27	33.02	0.56	0.09	35.63	1.93	0.10	11.04
S8	2.14	2.72	27.42	0.72	0.13	38.47	2.59	0.16	13.21
S9	2.10	2.90	30.49	0.84	0.12	31.06	2.65	0.14	12.03
S10	2.76	4.26	34.79	0.76	0.14	42.97	1.52	0.09	12.68
S11	2.23	2.72	23.94	0.84	0.15	35.35	1.62	0.10	11.63
S12	2.10	2.69	32.11	0.87	0.13	36.64	2.25	0.12	12.94
S13	2.37	4.19	39.47	0.72	0.11	34.71	2.43	0.11	10.47
S14	3.01	5.27	37.66	0.95	0.15	34.81	2.31	0.11	10.40
S15	2.10	2.78	26.71	0.63	0.14	43.36	1.79	0.11	12.20

注:炒桑白皮、炙甘草质量分别为40,4g;S1~S15的质量分别为255.3,325.5,305.5,300.8,271.7,293.5,288.8,287.3,294.3,300.7,261.7,333.5,298.0,286.5,268.6mg。

2.6 泻白散饮片-物质基准出膏率相关性分析 按2.4.2项下饮片水煎液的制备方法制备泻白散全方、炒桑白皮、焙地骨皮、炙甘草及粳米的水煎液,移取水煎液50 mL于蒸发皿中,水浴加热挥干成稠膏状,减压真空干燥箱(60℃)中干燥至恒重,即得各饮片及15批泻白散物质基准的干膏粉。计算15批物质基准的实际出膏率及其对应饮片的出膏率,计算公式为出膏率= $m_1/M_1 \times 100\%$,式中 m_1 表示泻白散物质基准干膏粉的质量/各饮片干膏粉质量, M_1 表示泻白散全方饮片质量/各饮片质量。15批物质基准出膏率在8.09%~11.29%,平均值9.79%,±30%范围为6.86%~12.73%,15批物质基准出膏率均在该范围内,表明不同批次物质基准之间的出膏率较为稳定。为了解饮片-物质基准传递过程中出膏率的变化,根据单味药剂量在全方中的占比及各单味药饮片的出膏率,计算全方中各单味药折算加和后的理论出膏率,计算公式为理论出膏率= \sum 单味药出膏率 \times (单味药生药量/全方生药量) $\times 100\%$,对比理论出膏率与实际出膏率,计算变化率,见表8,具体计

算公式为变化率=(理论出膏率-实际出膏率)/理论出膏率 $\times 100\%$ 。由表8可知,15批泻白散物质基准的实际出膏率均小于理论出膏率,原因可能是因为全方与单味药加水量相同,但全方的药量多,相较于单味药,在水中能溶解的物质较少,而单味药药量较少,其中成分可以充分溶出,故实际出膏率会小于理论出膏率,计算平均变化率39.70%,变化率的范围21.76%~50.22%。

3 讨论

3.1 泻白散的剂量考证 宋太宗端拱元年(公元988年)至淳化三年(公元992年)期间,宋朝政府对其权衡制度进行了改定秤法活动,“每斤以16两计”。学者经文物考证、权衡标准器分析后认为,宋代每斤约为当今640g,“一两”折合为40g。粳米以“一撮”计量,考证一撮=四圭=2mL,实测2mL粳米约0.5g^[11]。故处方中桑白皮、地骨皮40g,甘草4g,粳米0.5g。郭正忠^[12]根据《宋会要》和《皇佑新乐图记》记载认为,宋代一升在600~700mL,又云“一小盞者,约三合也”,泻白散中的加“水二小盞”换算至

表8 15批泻白散物质基准及其组成药味的出膏率

Table 8 Dry extract yield of 15 batches of substance benchmark of Xiebaisan and their raw medicinal materials %

物质基准	桑白皮	地骨皮	甘草	粳米	理论值	实际值	变化率
S1	17.85	7.65	45.00	58.68	14.55	8.88	38.96
S2	22.20	10.80	46.50	58.68	18.17	11.22	38.25
S3	22.05	7.35	45.00	58.68	16.39	10.58	35.47
S4	22.80	7.05	46.50	58.68	16.68	10.08	39.56
S5	15.90	7.50	48.00	58.68	13.70	9.44	31.08
S6	22.20	7.50	45.00	58.68	16.54	9.51	42.49
S7	25.20	10.20	43.50	58.68	19.16	10.51	45.16
S8	20.55	9.30	48.00	58.68	16.75	8.88	46.98
S9	22.20	10.50	49.50	58.68	18.17	9.66	46.83
S10	21.75	7.50	43.50	58.68	16.25	8.09	50.22
S11	16.35	10.50	49.50	58.68	15.40	8.95	41.88
S12	22.20	8.10	49.50	58.68	17.03	11.29	33.72
S13	22.20	7.65	48.00	58.68	16.75	10.44	37.67
S14	13.65	7.05	46.50	58.68	12.35	9.66	21.76
S15	22.20	10.05	46.50	58.68	17.81	9.73	45.38

注:炒桑白皮生药量40g,焙地骨皮40g,炙甘草4g,粳米0.5g,全方84.5g。

现代剂量认为是360 mL或420 mL,后期经实验确定选用420 mL。

3.2 泻白散饮片炮制方法 依据相关法规及实验研究进行泻白散中饮片炮制方法的确定。《小儿药证直诀》中记载桑白皮需清炒,《古代经典名方目录(第一批)》中描述桑白皮为“细锉炒黄”,但在中药的传统工艺中,一般先炮制再粉碎^[13]。参考2020年版《中国药典》(四部)炮制通则的清炒工艺进行桑白皮饮片的炮制,最终确定炒桑白皮工艺为取桑白皮药材,180℃预热炒锅,放入药材后,炒至桑白皮微黄且有香味溢出时,取出。地骨皮饮片炮制为除去杂质及残余木心,洗净,晒干或低温干燥至体轻质脆、易折断,晾凉。甘草饮片炮制为取甘草片,照蜜炙法炒至黄色至深黄色,不粘手时取出,晾凉。

3.3 粳米的选择 前期文献考证对粳米进行了考察,《农书·卷二》^[14]云:“南方水稻……晚熟而香润者曰粳。”《神农本草经疏》谓:“粳米……即人所常食米。”《本草纲目》^[15]记载:“北粳:凉,南粳:温。”泻白散是针对小儿咳喘者,宜用温品,故认为可采用南方粳米入药。粳米主产地为东北、华北、江苏,故选择了位于南方的苏北(江苏背部地区)粳米。在本实验研究中考察了粳米的指纹图谱,发现其没有可以纳入参考的特征峰,对于此类没有明显化学成

分特征的物质,一方面可以控制其产地及基原,即在后续研究中,可以只使用苏北粳米;另一方面可以从粳米的性状、密度、商品等级方面入手,对其进行质量控制。

3.4 泻白散供试品溶液的制备 在饮片的相关测定中,参照古方确定煎煮方法,其指纹图谱采用饮片水煎液进行供试品溶液的制备;在指标性成分含量的测定中,甘草参照2020年版《中国药典》进行供试品溶液的制备,桑白皮无相关标准,故建立了桑白皮的含量测定方法;出膏率测定的对象为饮片水煎液。在经典名方的相关法规中明确指出,物质基准应以干膏粉或冻干粉等较为稳定的形式存在,在前期研究中,考察了全方水煎液与冻干粉复溶后溶液的差异,结果显示,指标性成分没有明显变化,指纹图谱相似度均>0.90,特征峰峰高均在原药液峰高相对偏差的20%内,认为泻白散物质基准可以冻干粉形式存在。故在物质基准指纹图谱和含量测定中,采用冻干粉复溶后的溶液进行供试品溶液制备;物质基准出膏率则采用全方水煎液进行制备。

3.5 桑白皮含量测定方法的建立 经前期文献考察,桑白皮的主产区为河南省和安徽省。本研究前期考察了河南省、安徽省共7个产地36批次的桑白皮药材,对不同产地的指纹图谱进行分析,发现河南省同产地不同批次间指纹图谱差异较大,故选择了更为稳定的安徽产地,对安徽省3个产地16批次的药材进行研究,并对其中共有峰进行质谱解析,确定泻白散中的指标性成分为桑皮苷A,其分子式为C₂₆H₃₂O₁₄,属于二苯乙烯苷类化合物,具有抗氧化、镇咳平喘、抗炎镇痛等作用,与泻白散的药理作用一致,还有学者研究发现,桑皮苷A是桑白皮中的入血成分^[16],故选择桑皮苷A为泻白散的指标成分。本文建立了桑皮苷A的含量测定方法,发现安徽省3个产地亳州中谯区药材中的桑皮苷A含量过低,故将该产地剔除,用利辛县及太和县的11批饮片进行物质基准的制备。

3.6 物质基准的质量及质量传递研究 在桑白皮饮片中,除批次SBP-190602外,其他10批桑白皮饮片中的桑皮苷A含量均在均值的±30%内,批次SBP-190602样品中的桑皮苷A含量较低可能受到采收期、取样部位、加工方式等影响,但在前期单味药饮片的研究中,不宜将药材的含量范围限定过窄,应根据所得物质基准的实际含量范围去考察前期饮片的范围,故在制备物质基准过程中未将批次SBP-190602剔除。分析15批泻白散物质基准特征

图谱,其中样品S1与其他批次样品的相似度在0.8以上,但均<0.9,分析原因后发现,主要是样品S1中3号峰峰面积较小所致,样品S1所用桑白皮饮片的批次正是SBP-190602。

分析物质基准指纹图谱中特征峰的比值,其中6号峰的变化幅度为140.29%,8号峰的变化幅度为140.23%,10号峰的变化幅度为124.21%,变化幅度相对其他特征峰较大,发现均是由于某批次中该峰的峰面积较为离散所致:6号峰由于样品S11中峰面积偏大,8号峰由于样品S10中的峰面积偏小,10号峰由于样品S8中的峰面积较大。三者皆为甘草的特征峰,有研究发现不同部位甘草中有效成分含量存在一定差异,不同粗细甘草中有效成分差异也较大^[17-18],在实验室小试操作时取样不均一难以避免,推测这可能是导致变化幅度相对较大的原因,建议将饮片大小、不同部位分档,投料均匀,以改善此问题。同时,研究中较多批次物质基准中特征峰峰面积比值离散程度并不大,整体质量较为稳定。

在饮片-物质基准指标性成分含量考察中,甘草酸整体转移率较低,但转移较为稳定,故认为不是操作所致,分析原因可能是参照2020年版《中国药典》中方法^[19]进行含量测定,饮片粉碎的粒度小,提取溶剂为70%乙醇,成分溶出较多,而全方物质基准中粉碎的粒度较大,且提取溶剂为水,故成分溶出相对较少,且复方中成分之间也会有相互作用,以上原因可能导致了泻白散饮片-物质基准中甘草酸的整体转移率偏低。

15批泻白散物质基准中桑皮苷A,甘草苷及甘草酸质量分数范围分别为1.30%~5.27%,0.09%~0.17%,0.09%~0.16%。根据《古代经典名方中药复方制剂物质基准的申报资料要求(征求意见稿)》^[6],物质基准中指标性成分的含量范围需控制在均值的70%~130%。在本研究中,3批物质基准中桑皮苷A含量超出该范围,分别为样品S1,S3,S14。探究其原因,发现其在对应批次桑白皮饮片中离散趋势与物质基准一致,进一步说明指标成分含量在饮片-物质基准中传递稳定,应剔除这3批样品后建立物质基准的质量标准,即物质基准中桑皮苷A质量分数2.69%~4.26%,通过物质基准的含量范围,限定桑白皮饮片中桑皮苷A质量分数在2.10%~2.84%。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

[参考文献]

[1] 钱乙. 小儿药证直诀[M]. 王霞,校注. 北京:人民军

医出版社,2008:42.

- [2] 梁雨虹. 泻白散的临床应用探讨[J]. 中国医药科学, 2013,3(10):95-96.
- [3] 林倩,于帅,董丹华,等. 泻白散及其加减方的临床应用研究进展[J]. 中国药房,2019,30(18):2589-2592.
- [4] 管奕婷. 泻白散加减治疗痰热蕴肺型社区获得性肺炎疗效观察[J]. 吉林医学,2014,35(12):2565.
- [5] 国家中医药管理局. 古代经典名方目录(第一批)[EB/OL]. (2018-04-16) [2020-12-24]. <http://kjs.satcm.gov.cn/zhengcewenjian/2018-04-16/7107.html>.
- [6] 国家药品监督管理局. 国家药监局综合司公开征求古代经典名方中药复方制剂及其物质基准申报资料要求(征求意见稿)意见[EB/OL]. (2019-03-22) [2020-12-24]. <http://www.nmpa.gov.cn/WS04/CL2101/335926.html>.
- [7] 孙昱. 经典名方研发的现存问题及相关考虑[J]. 药物评价研究,2020,43(5):969-972.
- [8] 方妍. 经典名方泻白散标准汤剂的研究[D]. 长春:长春中医药大学,2020.
- [9] 张琦,高艳,王彦,等. 以泻白散为例探讨经典名方中锉散粒度及煎煮工艺的研究[J]. 中国中药杂志, 2020,45(4):878-883.
- [10] 李玉丽,蒋屏,孙梦林,等. 基于古代文献考究经典名方泻白散[J]. 中国实验方剂学杂志,2020,26(3):8-14.
- [11] 倪文婷,程磐基. 宋元时期药物剂量探讨[J]. 上海中医药大学学报,2014,28(1):23-25.
- [12] 郭正忠. 三至十四世纪中国的权衡度量[M]. 北京:中国社会科学出版社,1993.
- [13] 文旺,李莉,李德坤,等. 经典名方的“遵古”研发思路探讨——以泻白散为例[J]. 中国实验方剂学杂志, 2019,25(23):196-201.
- [14] 王祯. 农书[M]. 北京:中华书局,1956:241.
- [15] 李时珍. 本草纲目[M]. 太原:山西科学技术出版社, 2014:667.
- [16] 付燕伟,陀扬凌,代良萍,等. 桑白皮中一种原型入血成分的含量测定[J]. 世界科学技术—中医药现代化,2015,17(1):134-137.
- [17] 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.
- [18] 王栋,夏占坤,卜子元,等. 甘草根不同部位甘草酸的分布规律[J]. 中医药信息,1992(5):41.
- [19] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2020:88-89.

[责任编辑 刘德文]