

· 经典名方 ·

经典名方二冬汤基准样品的指标成分含量测定及 量值传递规律探索

薛晓霞^{1,2}, 靳如娜², 王学圆², 石守刚³, 黄正军³, 代云桃^{1,2*}, 陈士林²

(1. 山西中医药大学, 山西 晋中 030619; 2. 中国中医科学院 中药研究所, 北京 100700;
3. 葵花药业集团(襄阳)隆中有限公司, 湖北 襄阳 441003)

[摘要] 目的:建立经典名方二冬汤基准样品的指标性成分含量测定方法,明确15批基准样品中指标成分的含量及转移率范围,探索其饮片与基准样品间指标成分的量值传递规律。方法:制备15批基准样品,采用高效液相色谱-二极管阵列检测器法(HPLC-DAD)对指标成分芒果苷、黄芩苷、甘草酸进行含量测定,以乙腈(A)-0.1%甲酸水溶液(B)为流动相进行梯度洗脱(0~10 min, 10%~17%A; 10~25 min, 17%~19%A; 25~28 min, 19%~25%A; 28~45 min, 25%~33%A; 45~46 min, 33%~45%A; 46~60 min, 45%~55%A),检测波长254 nm;采用HPLC-蒸发光散射检测器法(ELSD)对知母皂苷BⅡ、原新薯蓣皂苷与原薯蓣皂苷之和进行含量测定,以乙腈(A)-水(B)为流动相进行梯度洗脱(0~20 min, 24%A; 20~25 min, 24%~27%A; 25~33 min, 27%~28%A; 33~36 min, 28%~90%A; 36~41 min, 90%~24%A)。结果:所建立的指标成分含量测定方法的方法学验证均良好,能用于基准样品中5个指标成分的定量检测。15批基准样品中芒果苷、黄芩苷、甘草酸、知母皂苷BⅡ、原新薯蓣皂苷与原薯蓣皂苷之和的质量分数范围依次为0.14%~0.23%、2.40%~3.37%、0.07%~0.44%、0.43%~0.95%、0.15%~0.47%,转移率范围依次为33.90%~52.15%、84.46%~105.61%、22.59%~93.86%、38.07%~61.43%、53.28%~96.11%。结论:15批饮片与二冬汤基准样品间指标成分芒果苷、黄芩苷、知母皂苷BⅡ、原新薯蓣皂苷与原薯蓣皂苷之和(甘草酸除外)的转移率一致性较好,表明这4个指标成分在基准样品制备过程中转移情况稳定,可为该经典名方复方制剂的研发提供数据支撑。

[关键词] 经典名方; 二冬汤; 基准样品; 高效液相色谱法(HPLC); 量值传递规律; 含量测定; 转移率

[中图分类号] R22;R28;R289;O657 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2022)11-0001-07

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20220447

[网络出版地址] <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20220325.1448.006.html>

[网络出版日期] 2022-03-28 12:00

Exploration on Determination and Quantity Transfer of Index Components in Benchmark Samples of Erdongtang

XUE Xiao-xia^{1,2}, JIN Ru-na², WANG Xue-yuan², SHI Shou-gang³,
HUANG Zheng-jun³, DAI Yun-tao^{1,2*}, CHEN Shi-lin²

(1. Shanxi University of Chinese Medicine, Jinzhong 030619, China;

2. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China;

3. Sunflower Pharmaceutical Group (Xiangyang) Longzhong Co. Ltd., Xiangyang 441003, China)

[Abstract] **Objective:** To establish the determination for index components in benchmark samples of Erdongtang, and clarify the content and transfer rate ranges of index components in 15 batches of benchmark samples, and to explore the quantity transfer of index components of decoction pieces to benchmark samples.

Method: Fifteen batches of benchmark samples were prepared, the contents of mangiferin, baicalin and

[收稿日期] 2022-01-25

[基金项目] 中国中医科学院中药研究所古代经典名方的开发研究项目(H2018026)

[第一作者] 薛晓霞,在读硕士,从事中药制剂与质量分析研究,E-mail:xxxue1003@163.com

[通信作者] *代云桃,博士,研究员,硕士生导师,从事中药药效物质基础和质量标准研究,E-mail:ytdai@icmm.ac.cn

glycyrrhizic acid were determined by high performance liquid chromatography (HPLC)-diode array detector (DAD), the mobile phase was acetonitrile (A)-0.1% formic acid aqueous solution (B) for gradient elution (0-10 min, 10%-17%A; 10-25 min, 17%-19%A; 25-28 min, 19%-25%A; 28-45 min, 25%-33%A; 45-46 min, 33%-45%A; 46-60 min, 45%-55%A), detection wavelength was set at 254 nm. Contents of timosaponin B II and the sum of protoneodioscin and protodioscin were determined by HPLC-evaporative light scattering detector (ELSD), the mobile phase was acetonitrile (A)-water (B) for gradient elution (0-20 min, 24%A; 20-25 min, 24%-27%A; 25-33 min, 27%-28%A; 33-36 min, 28%-90%A; 36-41 min, 90%-24%A). **Result:** The methodological verification of the established method was good, which could be used for determination of five index components in benchmark samples. The content ranges of mangiferin, baicalin, glycyrrhizic acid, timosaponin B II, and the sum of protoneodioscin and protodioscin in 15 batches of benchmark samples of Erdongtang were 0.14%-0.23%, 2.40%-3.37%, 0.07%-0.44%, 0.43%-0.95%, and 0.15%-0.47%, the transfer rate ranges of them were 33.90%-52.15%, 84.46%-105.61%, 22.59%-93.86%, 38.07%-61.43%, and 53.28%-96.11%, respectively. **Conclusion:** The consistencies of transfer rate of mangiferin, baicalin, timosaponin B II and the sum of protoneodioscin and protodioscin (except glycyrrhizic acid) between decoction pieces and benchmark samples of Erdongtang are good, indicates that the transfer rates of 4 index components are stable during the preparation process of benchmark samples, which can provide data support for research and development of the compound preparation of this formula.

[Keywords] classical famous formulas; Erdongtang; benchmark samples; high performance liquid chromatography (HPLC); quantity transfer law; determination; transfer rate

二冬汤出自清代程国彭所著的《医学心悟》^[1-3], 收录于《古代经典名方目录(第一批)》, 由天冬二钱(去心)、麦冬三钱(去心)、花粉一钱、黄芩一钱、知母一钱、甘草五分、人参五分、荷叶一钱组成, 具有益气养阴及生津止渴之功, 主治上消、口渴多饮。现代临床上对其进行加减或联合西药用于治疗上消、糖尿病前期、2型糖尿病、糖尿病并发症等^[4-12], 疗效显著, 具有很大的开发价值。经典名方是历代医家从大量临床实践中形成的中医药精华, 其研发受到国家大力支持。为了加快推动经典名方中药制剂简化注册审批, 国家中医药管理局与国家药品监督管理局联合制定并发布了《古代经典名方关键信息表(7首方剂)》, 该文件中明确了二冬汤的组方药味基原及药用部位、炮制规格、剂量折算、用法用量和功能主治^[13]。

目前, 有关二冬汤的文献报道多侧重于临床方面, 缺乏对其全方化学组成^[14]、质量评价等方面的报道。基准样品作为后续复方制剂生产及质量控制的参照, 是经典名方开发研究的重要一环。基于此, 本研究制备15批二冬汤基准样品, 拟建立其指标成分(芒果苷、黄芩苷、甘草酸、知母皂苷B II、原新薯蓣皂苷与原薯蓣皂苷之和)含量测定的高效液相色谱法(HPLC), 计算15批基准样品的指标性成分含量及转移率范围, 进而分析饮片与基准样品间

指标成分的量值传递规律, 为经典名方二冬汤复方的后续研究提供借鉴。

1 材料

1260型高效液相色谱仪、1200型高效液相色谱仪(美国安捷伦公司), 2000型蒸发光散射检测器(ELSD)[美国奥泰科技(中国)有限公司], H1650-W型医用离心机(湖南湘仪实验室开发有限公司), FD-1B-50型压盖型冷冻干燥机(北京博医康实验仪器有限公司), XSR105/A型1/10万电子天平[梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司]。

天冬、麦冬、天花粉、黄芩、知母、荷叶、甘草、人参饮片来源信息见表1, 经中国中医科学院中药研究所代云桃研究员鉴定, 饮片的基原分别为百合科植物天冬 *Asparagus cochinchinensis* 的干燥块根、百合科植物麦冬 *Ophiopogon japonicus* 的干燥块根、葫芦科植物栝楼 *Trichosanthes kirilowii* 的干燥根、唇形科植物黄芩 *Scutellaria baicalensis* 的干燥根、百合科植物知母 *Anemarrhena asphodeloides* 的干燥根茎、睡莲科植物莲 *Nelumbo nucifera* 的干燥叶、豆科植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* 的干燥根和根茎、五加科植物人参 *Panax ginseng* 的干燥根和根茎; 芒果苷、知母皂苷B II、黄芩苷、甘草酸铵及原薯蓣皂苷(原新薯蓣皂苷与原薯蓣皂苷的混合物)对照品(中国食品药品检定研究院, 批号分别为111607-

201704、111839-202107、110715-201720、110731-202021、111937-201201, 纯度依次为 98.1%、95.4%、

93.5%、96.2%、94.9%), 水为娃哈哈纯净水, 甲醇、乙腈为色谱纯, 其他试剂均为分析纯。

表1 15批二冬汤基准样品的饮片信息

Table 1 Information of decoction pieces in 15 batches of benchmark samples of Erdongtang

编号	产地							
	天冬	麦冬	天花粉	黄芩	知母	荷叶	甘草	人参
S1	贵州	四川三台	山东肥城	山西陵川	山西万荣	江西南昌	新疆北屯镇	吉林抚松
S2	贵州	四川三台	山东肥城	山西陵川	山西万荣	江西南昌	新疆北屯镇	吉林抚松
S3	贵州遵义	四川三台	山东肥城	山西陵川	河北易县	江西南昌	新疆北屯镇	吉林抚松
S4	四川万源	四川三台	山东肥城	山西长治	山西万荣	江西南昌	新疆北屯镇	吉林抚松
S5	四川万源	四川三台	山东肥城	山西长治	内蒙古赤峰	湖南益阳	内蒙古	吉林抚松
S6	四川万源	四川三台	河南南阳	山西长治	内蒙古赤峰	湖南益阳	内蒙古	吉林抚松
S7	四川万源	四川三台	河南南阳	山西安泽	山西万荣	江西南昌	内蒙古	吉林抚松
S8	贵州贵阳	四川德阳	河南南阳	山西安泽	山西万荣	湖南益阳	内蒙古	吉林抚松
S9	四川万源	四川德阳	河南南阳	山西安泽	河北易县	湖南益阳	内蒙古	吉林抚松
S10	贵州贵阳	四川德阳	河南南阳	山西安泽	河北易县	湖南益阳	山西	吉林敦化
S11	贵州遵义	四川德阳	江苏苏州	河北承德	河北易县	湖南益阳	山西	吉林敦化
S12	贵州贵阳	四川德阳	江苏苏州	河北承德	河北易县	湖南益阳	山西	吉林长白山
S13	贵州贵阳	四川绵阳	江苏苏州	河北承德	内蒙古赤峰	湖南益阳	山西	吉林长白山
S14	贵州遵义	四川绵阳	江苏苏州	河北承德	内蒙古赤峰	山东微山湖	山西	吉林长白山
S15	贵州贵阳	四川绵阳	江苏苏州	河北承德	内蒙古赤峰	湖南益阳	山西	吉林长白山

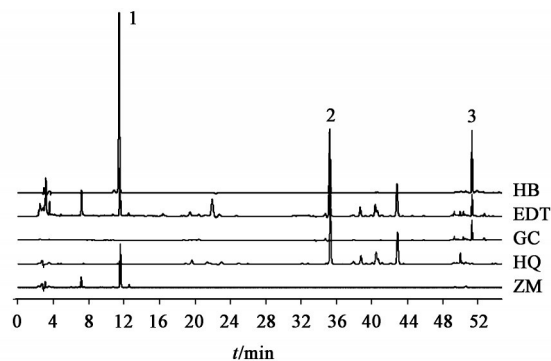
2 方法与结果

2.1 二冬汤基准样品的制备 二冬汤出自《医学心悟》, 原著给出了明确剂量, 但煎煮方式未给出。因此, 基准样品的煎煮方式依照 2009 年版《医疗机构中药煎药室管理规范》的相关规定进行^[15]。分别称取麦冬饮片 33.6 g, 天冬饮片 22.5 g, 天花粉饮片、黄芩饮片、知母饮片、荷叶饮片各 11.1 g, 甘草饮片、人参饮片各 5.7 g, 加 10 倍量水浸泡 30 min, 加热煮沸 40 min, 趁热 100 目筛过滤, 药渣再加 6 倍量水加热煮沸 30 min, 趁热 100 目筛过滤, 合并 2 次滤液, 60 °C 水浴浓缩至 560 mL, 冷冻干燥机中冻干, 得二冬汤基准样品(冻干粉)。

2.2 芒果苷、黄芩苷及甘草酸含测方法的建立

2.2.1 色谱条件 SilGreen C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm), 流动相乙腈(A)-0.1% 甲酸水溶液(B)梯度洗脱(0~10 min, 10%~17%A; 10~25 min, 17%~19%A; 25~28 min, 19%~25%A; 28~45 min, 25%~33%A; 45~46 min, 33%~45%A; 46~60 min, 45%~55%A), 柱温 30 °C, 流速 1 mL·min⁻¹, 检测波长 254 nm, 进样量 10 μL。见图 1。

2.2.2 供试品溶液制备 取二冬汤基准样品 0.5 g, 加 30% 乙醇使溶解, 定容于 50 mL 量瓶中, 混匀, 离



注: HB. 混合对照品; EDT. 二冬汤; GC. 甘草; HQ. 黄芩; ZM. 知母; 1. 芒果苷; 2. 黄芩苷; 3. 甘草酸

图1 二冬汤基准样品及其部分饮片的 HPLC

Fig. 1 HPLC chromatograms of benchmark sample of Erdongtang and some decoction pieces

心(13 000 r·min⁻¹, 5 min, 离心半径 5.79 cm, 下同), 取上清液, 过 0.22 μm 微孔滤膜, 即得。

2.2.3 对照品溶液制备 精密称取芒果苷、黄芩苷、甘草酸铵对照品适量, 分别加甲醇稀释, 制得每 1 mL 含芒果苷 0.97 mg、黄芩苷 1.01 mg、甘草酸铵 0.97 mg 的对照品母液。

2.2.4 线性关系考察 取 2.2.3 项下对照品溶液, 加甲醇稀释, 得芒果苷质量浓度为 0.10、0.05、0.025、0.012 5、0.006 3 g·L⁻¹, 黄芩苷质量浓度为 0.5、0.25、

0.125、0.062 5、0.031 3、0.015 6 g·L⁻¹,甘草酸铵质量浓度为0.05、0.025、0.012 5、0.006 3、0.003 1 g·L⁻¹的对照品溶液,按2.2.1项下条件测定,以质量浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,得芒果苷、黄芩苷、甘草酸回归方程分别为 $Y=10\ 547X+13.245(r=0.999\ 9)$ 、 $Y=4\ 026.2X-62.693(r=0.999\ 7)$ 、 $Y=2\ 452.9X+1.414\ 9(r=0.999\ 2)$,线性范围分别为0.006 3~0.10、0.015 6~0.5、0.003 1~0.05 g·L⁻¹。

2.2.5 精密度考察 取二冬汤基准样品S5适量,按2.2.2项下方法制备供试品溶液,按2.2.1项下条件连续进样6次,计算芒果苷、黄芩苷、甘草酸峰面积的相对标准偏差(RSD)分别为0.2%、2.4%、1.1%,表明仪器精密度良好。

2.2.6 重复性考察 取二冬汤基准样品S5共6份,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,计算芒果苷、黄芩苷、甘草酸平均质量分数分别为0.18%、2.70%、0.08%,RSD分别为1.5%、1.2%、1.3%,表明该方法重复性良好。

2.2.7 稳定性考察 取二冬汤基准样品S5适量,按2.2.2项下方法制备供试品溶液,分别于制备后0、4、6、10、12、24 h按2.2.1项下色谱条件测定,计算芒果苷、黄芩苷、甘草酸峰面积的RSD分别为0.2%、2.4%、1.2%,表明基准样品供试液在24 h内稳定。

2.2.8 加样回收率试验 取已知芒果苷、黄芩苷、甘草酸含量的二冬汤基准样品S5适量,共6份,分别加入等量对照品,按2.2.2项下方法平行制备供试品溶液,按2.2.1项下色谱条件测定,计算芒果苷、黄芩苷、甘草酸的加样回收率分别为99.30%、100.04%、97.82%,RSD分别为3.2%、3.3%、2.9%,说明该方法准确可靠。见表2。

表2 二冬汤基准样品中芒果苷、黄芩苷及甘草酸含量测定的加样回收试验

Table 2 Recovery test of mangiferin, baicalin and glycyrrhizic acid in benchmark sample of Erdongtang

成分	称样量/g	样品中量/mg	加入量/mg	测得量/mg	回收率/%	平均值/%	RSD/%
芒果苷	1.001 11	1.80	1.75	3.59	102.38	99.30	3.2
	1.000 11	1.80	1.75	3.45	94.05		
	1.002 30	1.80	1.76	3.54	98.80		
	1.003 12	1.81	1.79	3.60	100.19		
	1.002 10	1.80	1.72	3.49	98.00		
	1.002 41	1.80	1.71	3.56	102.38		
黄芩苷	0.201 21	5.43	5.44	11.12	104.50	100.04	3.3
	0.200 21	5.41	5.43	10.60	95.70		
	0.202 22	5.46	5.54	10.97	99.53		
	0.201 23	5.43	5.54	11.15	103.14		
	0.201 22	5.43	5.53	10.92	99.29		
	0.203 20	5.49	5.54	10.92	98.07		
甘草酸	1.000 13	0.80	0.74	1.55	101.79	97.82	2.9
	1.000 73	0.80	0.75	1.50	93.89		
	1.001 64	0.80	0.75	1.54	98.10		
	1.001 11	0.80	0.76	1.56	99.94		
	1.001 11	0.80	0.73	1.51	97.58		
	1.000 93	0.80	0.74	1.51	95.60		

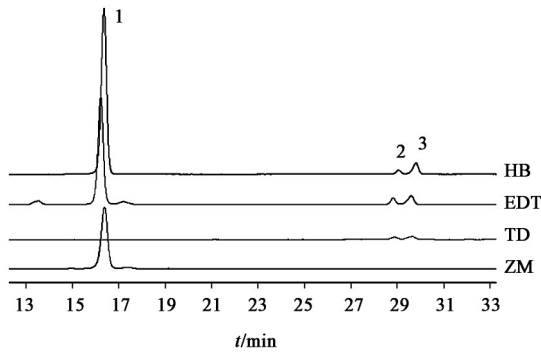
2.3 知母皂苷B II、原新薯蓣皂苷与原薯蓣皂苷之和含量测定方法的建立

2.3.1 色谱条件 Waters XSelect[®] HSS T3 色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm),流动相乙腈(A)-水(B)梯度洗脱(0~20 min, 24%A; 20~25 min, 24%~27%A; 25~33 min, 27%~28%A; 33~36 min, 28%~90%A; 36~41 min, 90%~24%A),流速 0.8 mL·min⁻¹,柱温

30 °C;利用ELSD检测,漂移管温度 104 °C,载气流速 2.8 L·min⁻¹,进样量 10 μL。见图2。

2.3.2 供试品溶液制备 取二冬汤基准样品 0.5 g,加 30% 乙醇使溶解并定容于 5 mL 量瓶中,混匀,离心,取上清液,过 0.45 μm 微孔滤膜,即得。

2.3.3 对照品溶液制备 精密称取知母皂苷B II、原薯蓣皂苷对照品适量,加甲醇分别制得每 1 mL 含



注:HB. 混合对照品;EDT. 二冬汤;TD. 天冬;ZM. 知母;1. 知母皂苷B II;2. 原新薯蓣皂苷;3. 原薯蓣皂苷

图2 二冬汤基准样品、天冬及知母的HPLC

Fig. 2 HPLC chromatograms of benchmark sample of Erdongtang, Asparagi Radix and Anemarrhenae Rhizoma

知母皂苷B II 1.49 mg、原薯蓣皂苷1.24 mg的对照品母液。

2.3.4 线性关系考察 取2.3.3项下对照品溶液,加甲醇稀释,得知母皂苷B II质量浓度分别为1.49、1.192、0.745、0.298、0.149 g·L⁻¹,原新薯蓣皂苷与原薯蓣皂苷之和的质量浓度依次为1.488、1.24、0.992、0.62、0.248、0.124 g·L⁻¹的对照品溶液。按2.3.1项下条件测定,以质量浓度的对数为横坐标,峰面积对数为纵坐标,得知母皂苷B II、原薯蓣皂苷的线性回归方程分别为lnY=1.615 1lnX+8.768 5(r=1.000 0)、lnY=1.610 4lnX+8.709 9(r=1.000 0),线性范围分别

为0.149~1.49、0.124~1.488 g·L⁻¹。

2.3.5 精密度考察 取二冬汤基准样品S5适量,按2.3.2项下方法制备供试品溶液,按2.3.1项下条件连续进样6次,计算知母皂苷B II和原薯蓣皂苷峰面积的RSD分别为3.5%、2.6%,表明仪器精密度良好。

2.3.6 重复性考察 取二冬汤基准样品S5共6份,按2.3.2项下方法制备供试品溶液,按2.3.1项下色谱条件测定,计算知母皂苷B II和原薯蓣皂苷平均质量分数分别为0.52%、0.17%,RSD分别为1.0%、1.5%,表明该方法重复性良好。

2.3.7 稳定性考察 取二冬汤基准样品S5适量,按2.3.2项下方法制备供试品溶液,分别于制备后0、2、4、8、10、12、24 h按2.3.1项下色谱条件测定,计算知母皂苷B II和原薯蓣皂苷峰面积的RSD分别为3.9%、2.4%,表明基准样品的供试品溶液在24 h内稳定。

2.3.8 加样回收率试验 精密量取已知成分知母皂苷B II和原薯蓣皂苷含量的二冬汤基准样品S5适量,加入等量对照品,按照2.3.2项下方法平行制备6份供试品溶液,按2.3.1项下色谱条件测定,计算知母皂苷B II和原薯蓣皂苷的平均加样回收率分别为104.06%、97.02%,RSD分别为3.2%、1.6%,说明该方法准确可靠。见表3。

表3 二冬汤基准样品中知母皂苷B II和原薯蓣皂苷含量测定的加样回收试验

Table 3 Recovery test of timosaponin B II and protodioscin in benchmark sample of Erdongtang

成分	称样量/g	样品中量/mg	加入量/mg	测得量/mg	回收率/%	平均值/%	RSD/%
知母皂苷B II	0.500 32	2.60	2.61	5.41	107.70	104.06	3.2
	0.501 42	2.61	2.69	5.36	102.23		
	0.503 33	2.62	2.70	5.53	107.89		
	0.503 12	2.62	2.74	5.46	103.91		
	0.502 34	2.61	2.63	5.24	99.90		
	0.501 12	2.61	2.61	5.29	102.73		
原薯蓣皂苷	1.000 54	1.70	1.57	3.23	97.48	97.02	1.6
	1.001 23	1.70	1.65	3.34	99.46		
	1.001 34	1.70	1.64	3.31	97.73		
	1.002 11	1.70	1.64	3.29	96.80		
	1.001 24	1.70	1.64	3.27	95.61		
	1.000 92	1.70	1.65	3.27	95.02		

2.4 基准样品指标成分的含量测定及量值传递规律分析 知母、黄芩、甘草饮片中芒果苷、知母皂苷B II、黄芩苷、甘草酸的含量测定依照2020年版《中华人民共和国药典》记载的方法,天冬饮片中原新薯蓣皂苷与原薯蓣皂苷之和的含量测定方法依照

本课题组前期建立的方法^[16]。依据公式转移率=(w×m)/(W×M)×100%计算指标成分的转移率^[17-18],式中w表示基准样品中有效成分的质量分数,m表示基准样品的质量,W表示饮片中指标成分的质量分数,M表示处方中饮片的质量,见表4。

表4 二冬汤基准样品中指标成分的质量分数及转移率

Table 4 Contents and transfer rates of index components in benchmark samples of Erdongtang

%

编号	芒果苷			黄芩苷			甘草酸			知母皂苷B II			原新薯蓣皂苷+原薯蓣皂苷		
	饮片	基准样品	转移率	饮片	基准样品	转移率	饮片	基准样品	转移率	饮片	基准样品	转移率	饮片	基准样品	转移率
S1	1.77	0.22	52.15	11.57	2.52	93.20	3.80	0.30	66.06	7.08	0.95	57.14	0.45	0.16	75.28
S2	1.69	0.19	48.98	10.69	2.56	103.39	3.84	0.24	52.56	6.89	0.91	57.01	0.41	0.15	77.97
S3	1.81	0.14	37.16	11.53	2.40	101.81	2.71	0.27	93.86	5.87	0.46	38.07	0.54	0.21	94.45
S4	1.56	0.15	40.37	10.57	2.69	104.93	4.61	0.21	35.72	6.25	0.82	54.21	0.47	0.21	93.07
S5	2.16	0.18	33.90	10.56	2.72	105.61	2.64	0.08	23.14	5.28	0.52	40.63	0.52	0.17	65.51
S6	2.13	0.20	39.29	12.44	2.90	97.27	2.44	0.16	51.71	4.45	0.43	40.10	0.54	0.22	84.72
S7	1.63	0.22	47.01	11.29	3.37	105.15	2.69	0.10	24.77	7.33	0.86	41.35	0.50	0.19	64.79
S8	1.66	0.20	47.85	11.00	2.87	103.39	2.48	0.07	22.59	6.99	0.87	49.27	1.00	0.43	84.58
S9	2.04	0.19	37.09	11.61	2.49	84.46	2.64	0.18	51.95	5.64	0.64	44.69	0.49	0.17	67.24
S10	1.71	0.18	42.40	13.36	3.06	94.09	6.37	0.37	46.78	4.42	0.60	55.79	1.43	0.46	64.84
S11	1.98	0.18	34.30	11.74	3.13	103.29	6.00	0.43	54.33	6.28	0.65	40.29	0.72	0.36	96.11
S12	2.04	0.16	34.14	10.76	2.62	105.23	6.05	0.40	55.16	6.68	0.64	41.61	0.65	0.16	53.28
S13	2.16	0.23	37.32	12.07	3.00	88.13	6.06	0.44	50.21	4.51	0.78	61.43	1.20	0.47	67.81
S14	1.99	0.20	35.83	12.22	2.91	86.65	3.28	0.25	54.76	4.88	0.72	53.90	0.60	0.31	93.74
S15	2.11	0.19	39.24	11.86	2.81	103.59	3.34	0.27	68.61	4.99	0.48	42.33	0.73	0.18	54.33

注:知母、黄芩、甘草、天冬饮片的质量分别为11.1、11.1、5.7、22.5 g;50 mL水煎液所得基准样品S1~S15的质量分别为4.241 2、4.282 2、4.839 7、4.080 7、4.063 2、4.140 6、3.489 3、3.923 0、3.905 5、4.066 9、3.840 4、4.291 5、3.510 0、3.607 6、4.328 9 g

由表4可知,结果发现15批基准样品中芒果苷、黄芩苷的质量分数范围分别为0.14%~0.23%、2.40%~3.37%,平均值分别为0.19%、2.80%,均在均值的±30%范围内。芒果苷、黄芩苷从饮片到基准样品的转移率范围分别为33.90%~52.15%、84.46%~105.61%,平均值分别为40.47%、98.68%,均在其均值的±30%范围内,表明芒果苷、黄芩苷在基准样品制备过程中转移情况稳定。15批基准样品中甘草酸的质量分数范围为0.07%~0.44%,平均值0.25%,8批基准样品(S5~S8、S10~S13)中甘草酸的质量分数不在其均值的±30%范围内。15批基准样品中甘草酸的转移率范围22.59%~93.86%,平均值50.15%,6批基准样品(S1、S3、S5、S7、S8、S15)中甘草酸的转移率均不在其均值的±30%范围内,表明甘草酸在基准样品制备过程中转移情况不太稳定。15批基准样品中知母皂苷B II、原新薯蓣皂苷与原薯蓣皂苷之和的质量分数范围分别为0.43%~0.95%、0.15%~0.47%,平均值分别为0.69%、0.26%,4批基准样品(S1~S3、S6)中知母皂苷B II的质量分数不在其均值的±30%范围内,9批基准样品(S1、S2、S5、S8~S13)中原新薯蓣皂苷与原薯蓣皂苷之和的质量分数不在其均值的±30%范围内。15批基准样品中知母皂苷B II、原新薯蓣皂苷与原薯蓣皂苷

之和的转移率范围分别为38.07%~61.43%、53.28%~96.11%,平均值分别为47.85%、75.85%,均在其均值的±30%范围内,表明这2个指标成分在基准样品制备过程中转移情况较为稳定。

3 讨论

查阅文献发现,与二冬汤临床降糖作用^[4-12]相关的成分主要为来自麦冬的麦冬多糖^[19],天冬的原薯蓣皂苷^[20],天花粉的总皂苷、多糖、瓜氨酸^[21],知母的芒果苷、知母皂苷B II、知母多糖^[22-24],人参的人参皂苷Re^[25]。本课题组前期对二冬汤的化学成分进行网络药理学分析,发现与降糖作用相关的化学成分主要是来自知母的异芒果苷,黄芩的汉黄芩苷,荷叶的槲皮素-3-O-葡萄糖醛酸苷、金丝桃苷,人参的人参皂苷Ro,甘草的甘草苷、异甘草苷。笔者曾利用HPLC对荷叶中具有降糖作用的槲皮素-3-O-葡萄糖醛酸苷进行定量研究,但此成分的色谱峰始终与黄芩饮片中的1个色谱峰重叠,故未将其列为基准样品的定量评价指标,而是将其作为定性指标。笔者还曾用HPLC对麦冬、人参中的有效成分(皂苷类成分)进行定量研究,但由于麦冬皂苷D、人参皂苷Re在基准样品中含量过低,故未将这些成分列为基准样品的定量指标。综合考虑,确定选择芒果苷、黄芩苷、甘草酸、知母皂苷B II、原新薯蓣皂苷

与原薯蓣皂苷之和作为基准样品的定量指标。

本实验计算了15批二冬汤基准样品的指标性成分含量及转移率范围,进而研究饮片与基准样品间指标成分的量值传递规律。结果发现芒果苷、黄芩苷的质量分数、转移率范围均在其均值的 $\pm 30\%$ 范围内,表明芒果苷、黄芩苷在基准样品制备过程中转移情况稳定。15批基准样品中8批样品的甘草酸质量分数不在其均值的 $\pm 30\%$ 范围内,6批样品的甘草酸转移率不在其均值的 $\pm 30\%$ 范围内;15批基准样品中4批样品的知母皂苷BⅡ质量分数不在其均值的 $\pm 30\%$ 范围内,9批样品的原新薯蓣皂苷与原薯蓣皂苷之和的质量分数不在其均值的 $\pm 30\%$ 范围内,但15批基准样品中知母皂苷BⅡ、原新薯蓣皂苷与原薯蓣皂苷之和的转移率均在其均值的 $\pm 30\%$ 范围内,导致上述结果的可能原因是不同批次饮片的指标成分含量变化范围大、饮片取样不均一等引起。在后续二冬汤复方制剂的开发研究中,建议对甘草、知母、天冬饮片中的指标成分含量进行范围限定或者进行混批操作,以缩小原料引起的制剂质量波动。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

[参考文献]

- [1] 程国彭. 医学心悟[M]. 清乾隆56年辛亥聚金堂刻本,1791.
- [2] 程国彭. 医学心悟[M]. 清嘉庆24年己卯上海扫叶山房刻本,1819.
- [3] 程国彭. 医学心悟[M]. 清宣统3年辛亥上海会文堂石印本,1911.
- [4] 任天戈. 消渴治验[J]. 湖南中医杂志,1989,5(2):36-38.
- [5] 师美凤. 二冬汤对糖尿病前期患者胰腺 β 细胞功能的影响[J]. 云南中医中药杂志,2016,37(5):39-40.
- [6] 田锦鹰,马祖等,陈国姿. 二冬汤对糖尿病前期胰岛素敏感性的影响[J]. 中国中医急症,2013,22(3):386-387.
- [7] 胡成玉,张红霞. 二冬汤对糖尿病前期胰岛素敏感性影响随机平行对照研究[J]. 实用中医内科杂志,2013,27(17):14-15.
- [8] 谢振东. 二冬汤加减方对阴虚质糖耐量异常糖脂代谢指标的影响[J]. 新中医,2014,46(1):117-119.
- [9] 张艳丽,裴瑞霞. 裴瑞霞加味二冬汤联合西药治疗肺肾气阴亏虚型2型糖尿病随机平行对照研究[J]. 实用中医内科杂志,2012,26(10):48-49.
- [10] 袁新国,谢梦洲,杨英,等. 二冬汤和有氧运动对2型糖尿病大鼠糖代谢和脂代谢的影响[J]. 重庆医学,

2018,47(28):3610-3613.

- [11] 李越,陈国姿,田锦鹰. 二冬汤加减联合西药治疗糖尿病视网膜病变45例临床观察[J]. 河北中医,2013,35(4):574-575.
- [12] 邹晓慧,张菊香,刘书珍,等. 二冬汤合逐风通痹汤配合西药治疗糖尿病周围神经病变临床研究[J]. 中华中医药学刊,2012,30(6):1430-1432.
- [13] 国家中医药管理局,国家药品监督管理局. 关于发布《古代经典名方关键信息考证原则》《古代经典名方关键信息表(7首方剂)》的通知[EB/OL]. (2020-11-10) [2022-01-16]. <http://kjs.satcm.gov.cn/zhengcewenjian/2020-11-10/18132.html>.
- [14] XUE X, JIAO Q, JIN R, et al. The combination of UHPLC-HRMS and molecular networking improving discovery efficiency of chemical components in Chinese classical formula [J]. Chin Med, 2021, 16(1):50.
- [15] 国家中医药管理局,中华人民共和国卫生部. 关于印发医疗机构中药煎药室管理规范的通知(国中医药发[2009]3号)[J]. 中华人民共和国卫生部公报,2009(6):29-31.
- [16] 靳如娜,郝丽霞,王涛,等. 天冬饮片与标准汤剂的质量评价方法探索[J]. 中国实验方剂学杂志,2020,26(17):111-118.
- [17] 王彦,高艳,罗菊元,等. 泻白散的物质基准量值传递分析[J]. 中国实验方剂学杂志,2021,27(21):1-9.
- [18] 毕嘉谣,田湾湾,张翼,等. 经典名方易黄汤物质基准的量值传递分析[J]. 中国实验方剂学杂志,2021,27(16):24-31.
- [19] 范明明,张嘉裕,张湘龙,等. 麦冬的化学成分和药理作用研究进展[J]. 中医药信息,2020,37(4):130-134.
- [20] GUO C, DONG Y, ZHU H, et al. Ameliorative effects of protodioscin on experimental diabetic nephropathy [J]. Phytomedicine,2018,51:77-83.
- [21] 冯果,陈娟,刘文,等. 天花粉有效成分及药理活性研究进展[J]. 微量元素与健康研究,2015,32(6):59-62.
- [22] 陈煜,张雪映,王烁今,等. 芒果苷的药理作用研究进展[J]. 海峡药学,2019,31(6):31-33.
- [23] 刘艳平. 知母皂苷成分的药理活性及作用机制研究进展[J]. 药学实践杂志,2018,36(1):24-29.
- [24] 翁丽丽,陈丽,宿莹,等. 知母化学成分和药理作用[J]. 吉林中医药,2018,38(1):90-92.
- [25] 姚梦杰,吕金朋,张乔,等. 人参化学成分及药理作用研究[J]. 吉林中医药,2017,37(12):1261-1263.

[责任编辑 刘德文]