

# 加味二妙颗粒剂与传统汤剂指纹图谱及指标成分含量的比较

邹静<sup>1</sup>, 李琳<sup>2</sup>, 任青玲<sup>1</sup>, 刘志辉<sup>1\*</sup>

(1. 南京中医药大学附属医院, 南京 210029; 2. 滁州市中西医结合医院, 安徽滁州 239000)

**[摘要]** 目的:比较加味二妙颗粒剂与传统汤剂中7个化学成分的含量,建立该颗粒剂与汤剂的指纹图谱并进行物质基础一致性评价。方法:在前期研究基础上,通过已建立的含量测定与指纹图谱方法对加味二妙颗粒剂与传统汤剂中黄柏碱、盐酸小檗碱、盐酸药根碱、(R,S)-告依春、落新妇苷、橙皮苷和白术内酯Ⅲ的含量进行测定,以盐酸小檗碱为参照峰,利用“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”(2012版)对加味二妙颗粒剂与传统汤剂进行相似度分析,采用主成分分析(PCA)对颗粒剂与汤剂的相对峰面积进行差异性分析并进行拆方煎煮,从定性角度考察拆方对加味二妙传统汤剂指纹图谱的影响。结果:加味二妙颗粒剂与传统汤剂中落新妇苷、盐酸药根碱、白术内酯Ⅲ的含量相差不大,且颗粒剂中黄柏碱、盐酸小檗碱、橙皮苷和(R,S)-告依春的含量高于传统汤剂。加味二妙颗粒剂确定了20个共有峰,传统汤剂确定了19个共有峰,颗粒剂与汤剂整体物质基础无明显变化,PCA结果表明加味二妙颗粒剂与传统汤剂的相对峰面积有一定差异,各拆方煎煮色谱图无新化合物产生。结论:建立的指纹图谱体现了加味二妙颗粒剂和传统汤剂的整体物质基础,颗粒剂与汤剂的物质基础基本一致,7个指标成分的含量结合指纹图谱能较为全面地体现加味二妙传统颗粒剂与汤剂的内在质量,可为二者的临床应用提供参考依据。

**[关键词]** 加味二妙方; 颗粒剂; 汤剂; 宫颈癌; 指纹图谱; 盐酸小檗碱; (R,S)-告依春

**[中图分类号]** R22;R289;R283.6;R284;R94 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2018)12-0014-07

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfx.20181102

**[网络出版地址]** <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20180315.0957.023.html>

**[网络出版时间]** 2018-03-15 10:47

## Comparison of Fingerprints and Index Components Contents of Jiawei Ermiao Traditional Decoction and Granules

ZOU Jing<sup>1</sup>, LI Lin<sup>2</sup>, REN Qing-ling<sup>1</sup>, LIU Zhi-hui<sup>1\*</sup>

(1. Affiliated Hospital of Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210029, China;

2. Chuzhou Hospital on Integration of Chinese and Western Medicine, Chuzhou 239000, China)

**[Abstract]** **Objective:** To compare the contents of seven chemical constituents in Jiawei Ermiao granules and traditional decoction, and to establish their fingerprints and evaluate the consistency of material basis. **Method:** Based on the established analysis method of determination and fingerprint in previous experiments, the contents of phellodendrine, berberine hydrochloride, jatrorrhizine hydrochloride, (R,S)-goitrin, astilbin, hesperidin, atracylenolide III in Jiawei Ermiao granules and traditional decoction were determined. Taking berberine hydrochloride as the reference peak, the similarity of the granules and traditional decoction was carried out by similarity evaluation system for chromatographic fingerprint of traditional Chinese medicine (2012 edition). The difference of relative peak area of the granules and decoction was analyzed by principal component analysis (PCA), and the decoction was decocted with decomposed recipes, the influence of decomposed recipes on fingerprint of Jiawei Ermiao decoction from the qualitative evaluation. **Result:** The contents of astilbin, jatrorrhizine hydrochloride, atracylenolide III in the granules and decoction had no significant difference, the

**[收稿日期]** 20171013(019)

**[基金项目]** 江苏省中医院2016年度院级课题(Y16021);江苏省高校优势学科项目(PATA2014)

**[第一作者]** 邹静,在读硕士,从事医院制剂质量标准研究,Tel:025-86529291,E-mail:1710322889@qq.com

**[通信作者]** \*刘志辉,主任中药师,从事医院制剂开发及中药质量标准研究,Tel:025-86529291,E-mail:liuzhi1008@126.com

contents of phellodendrine, berberine hydrochloride, hesperidin and (*R*, *S*) -goitrin in the granules was higher than those of the traditional decoction. Twenty common peaks were indicated in the granules and 19 common peaks were indicated in the traditional decoction. There were no significant changes in the overall material basis between the granules and decoction. PCA results showed that the relative peak area of the traditional decoction was significantly different from that of the granules. There was no new compound in HPLC fingerprints of decoction with decomposed recipes. **Conclusion:** The established fingerprint reflects the overall material basis of Jiawei Ermiao granules and traditional decoction, the material basis of the granules and decoction is basically the same. The contents of these seven components combined with the fingerprints can reflect the intrinsic quality of the granules and traditional decoction, and provide reference for their clinical application.

**[Key words]** Jiawei Ermiao prescription; granules; decoction; cervical cancer; fingerprint; berberine hydrochloride; (*R*, *S*) -goitrin

加味二妙方是江苏省中医院的临床验方,方中黄柏和麸炒苍术为君药,白花蛇舌草、土茯苓和板蓝根为臣药,麸炒白术、薏苡仁和陈皮为佐使药,具有祛湿止带、清热解毒、健脾、祛邪的功效,临床主要用于预防及治疗宫颈癌。黄柏有清热燥湿、泻火除蒸、解毒疗疮<sup>[1]</sup>等功效,其主要有效成分为黄柏碱、盐酸小檗碱等<sup>[2]</sup>;土茯苓有解毒、除湿、通利关节<sup>[1]</sup>等功效,其主要有效成分为黄酮类和黄酮苷类等<sup>[3]</sup>,临床上使用土茯苓和其他药味配伍使用治疗肿瘤<sup>[4]</sup>;陈皮有理气健脾、燥湿化痰<sup>[1]</sup>等功效,其主要有效成分为橙皮苷、辛弗林等<sup>[5]</sup>。加味二妙传统汤剂以中医药理论为指导,开发成医疗机构中药制剂,以水为提取溶剂,运用一步制粒机制成加味二妙颗粒剂,颗粒剂吸收快,显效迅速,剂量小,服用、携带、储存、运输方便,克服了汤剂服用量大、煎煮不方便、易霉变等缺点<sup>[6]</sup>。本实验采用 HPLC 比较加味二妙颗粒剂和传统汤剂中黄柏碱、盐酸小檗碱、盐酸药根碱、落新妇苷、橙皮苷、白术内酯Ⅲ和(*R*,*S*)-告依春的含量,为加味二妙汤剂的临床用药与工业化生产提供参考依据。

中药复方的成分具有多样性和复杂性,医疗机构中药制剂应该用中药整体控制思维模式建立药物一致性评价方法,以保证临床用药的稳定性。本实验探讨了加味二妙颗粒剂与其传统汤剂质量的一致性问题。中药指纹图谱、生物活性检测、近红外光谱等技术手段可为中药质量一致性评价提供参考<sup>[7]</sup>。刘东方等<sup>[8]</sup>总结了近 3 年来应用中药指纹图谱技术的相关研究成果,提出中药指纹图谱技术是中药质量控制的有效方法,该技术已应用于银杏叶口服多剂型及温胆汤的质量一致性评价<sup>[9-10]</sup>。在本课题组前期对指纹图谱方法学考察的基础上,本实验采用指纹图谱比较加味二妙颗粒剂和传统汤剂的物质基

础一致性,并以这 2 种剂型中化学成分的相对峰面积进行主成分分析<sup>[11]</sup>,考察加味二妙颗粒剂与传统汤剂的差异。通过中药复方拆方研究,从定性角度考察各拆方配伍对传统汤剂指纹图谱的影响,并对加味二妙传统汤剂色谱峰进行归属,中药复方拆方方法有单味药研究法、撤药分析法、按君臣佐使的组方原则进行的分组研究法等<sup>[12]</sup>,本实验采用了按君臣佐使组方原则拆方的研究方法。

## 1 材料

1260 型高效液相色谱仪(美国安捷伦公司,含 G1322A 型脱气器,G1312C 型二元泵,G1316A 型柱温器,G1367E 型自动进样器,G1315D 型 DAD 检测器),BP-211D 型 1/10 万电子分析天平(德国赛多利斯公司),GQ 105 型管式分离机(上海戴宝机械设备有限公司)。

黄柏(批号 20170701-01,产地贵州),麸炒苍术(批号 170602,产地内蒙古自治区),板蓝根(批号 17051705,产地甘肃),土茯苓(批号 170801,产地广西),白花蛇舌草(批号 170801,产地江西),陈皮(批号 17062412,产地浙江),麸炒白术(批号 170801,产地安徽)和薏苡仁(批号 20170801-01,产地贵州)均购自安徽协和成药业饮片有限公司,均经江苏省中医院周琴妹主任中药师鉴定,均符合 2015 年版《中国药典》的相关项下要求;加味二妙颗粒(由江苏省中医院制剂部提供,各单味药的阴性制剂由实验室自制),黄柏碱、盐酸小檗碱(四川省维克奇生物科技有限公司,批号分别为 6873-13-8,633-65-8,纯度均 $\geq 98\%$ ),盐酸药根碱(上海源叶生物科技有限公司,批号 960383-96-4,纯度 $\geq 98\%$ ),橙皮苷、落新妇苷、白术内酯Ⅲ和(*R*,*S*)-告依春(南京聚康医药化工有限公司,批号分别为 520-26-3,29838-67-3,73030-71-4,1072-93-1,纯度均 $\geq 98\%$ ),

甜菊糖苷(深圳市民康食用化工有限公司),水为超纯水,甲醇与乙腈为色谱纯,其余试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

### 2.1 样品的制备

**2.1.1 加味二妙颗粒剂** 称取总处方量500倍的饮片,加12倍量水浸泡30 min,煎煮1 h,滤过,第2次加12倍量水煎煮1 h,滤过,合并滤液,高速离心约15 min,转鼓转速 $15\ 902\ \text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ ,夹层锅常压浓缩至相对密度约1.20(60℃),制粒,每1 g颗粒相当饮片2 g。

**2.1.2 加味二妙传统汤剂** 称取处方量的黄柏、麸炒苍术、土茯苓、板蓝根、白花蛇舌草、麸炒白术、陈皮、薏苡仁饮片,加8倍量水浸泡30 min,煎煮2次,每次煎煮30 min,滤过,合并滤液,利用电磁炉常压浓缩至100 mL,平行9份,得传统汤剂样品,备用。

**2.1.3 各拆方供试品溶液的制备** 按设计的拆方方法称取各味饮片(根据君、臣、佐使组方原则,以君、臣、佐使为单位拆,a:君+臣+陈皮;b:苍术+臣+佐使;c:君+板蓝根+佐使;d:君+臣+白术;e:臣+佐使;f:君+臣+薏苡仁;g:君+白花蛇舌草+佐使;h:君+臣+白术+薏苡仁;i:黄柏+臣+佐使;j:君+白花蛇舌草+土茯苓+佐使;k:君+臣+白术+陈皮;l:君+臣+陈皮+薏苡仁;m:君+土茯苓+佐使;n:君+土茯苓+板蓝根+佐使;o:君+板蓝根+白花蛇舌草+佐使;p:君+佐使;q:君+臣),按2.1.2项下方法制备,即得。

### 2.2 指标成分的含量测定

**2.2.1 色谱条件与系统适用性试验** 采用Amethyst C<sub>18</sub>-H色谱柱(4.6 mm×250 mm,5 μm),流动相0.05 mol·L<sup>-1</sup>磷酸二氢钾水溶液(A,磷酸调pH 3)-乙腈(B)梯度洗脱(0~4 min,5% B;4~20 min,5%~10% B;20~40 min,10%~18% B;40~55 min,18%~28% B;55~63 min,28%~36% B;63~68 min,36%~45% B;68~82 min,45%~50% B;82~85 min,50%~5% B),流速1 mL·min<sup>-1</sup>,柱温35℃,进样量10 μL;黄柏碱,(R,S)-告依春和白术内酯Ⅲ的检测波长237 nm,落新妇苷、橙皮苷、盐酸药根碱和盐酸小檗碱的检测波长291 nm。

**2.2.2 对照品溶液的制备** 精密称取黄柏碱,盐酸小檗碱,盐酸药根碱,(R,S)-告依春,落新妇苷,橙皮苷,白术内酯Ⅲ对照品适量,加甲醇稀释成质量浓度分别为0.908,0.940,0.995,0.979,0.991,0.400 8,0.982 g·L<sup>-1</sup>的对照品溶液。分别精密量取

上述对照品溶液适量,制成各成分质量浓度分别为99.9,206.8,10.3,4.4,11.2,244.5,11.7 mg·L<sup>-1</sup>的混合对照品溶液,即得。

**2.2.3 供试品溶液的制备** 取颗粒约0.6 g,精密称定,置25 mL量瓶中,加70%甲醇稀释至刻度,超声25 min(53 kHz,280 W),放冷,加70%甲醇稀释至刻度,摇匀,过0.45 μm微孔滤膜,即得加味二妙颗粒剂供试品溶液。精密量取加味二妙传统汤剂1 mL,置于25 mL量瓶中,加70%甲醇稀释至刻度,超声25 min,放冷,加70%甲醇定容至刻度,摇匀,过0.45 μm微孔滤膜,即得加味二妙传统汤剂供试品溶液。同法制备各拆方供试品溶液。

**2.2.4 线性关系考察** 取2.2.2项下混合对照品溶液,依次稀释,得6个不同质量浓度的系列混合对照品溶液,按2.2.1项下色谱条件测定,以质量浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,得黄柏碱,盐酸小檗碱,盐酸药根碱,(R,S)-告依春,落新妇苷,橙皮苷,白术内酯Ⅲ的回归方程分别为 $Y = 5\ 703X + 3.300$ , $Y = 14\ 672X - 2.917$ , $Y = 16\ 503X - 0.251$ , $Y = 51\ 490X + 2.439$ , $Y = 19\ 122X - 1.437$ , $Y = 13\ 139X + 4.569$ , $Y = 11\ 337X + 2.183$ ,计算相关系数(*r*)均为1,线性范围分别为6.2~99.9,9.4~206.8,0.5~10.3,0.3~4.4,0.7~11.2,11.1~244.5,0.5~11.7 g·L<sup>-1</sup>。

**2.2.5 加样回收率考察** 取批号1608023的加味二妙颗粒约0.5 g,精密称定,平行6份,分别置于25 mL量瓶中,加入黄柏碱,盐酸小檗碱,盐酸药根碱,(R,S)-告依春,落新妇苷,橙皮苷,白术内酯Ⅲ适量,按2.2.3项下方法制备供试品溶液,按2.2.1项下色谱条件测定,结果见表1。

**2.2.6 样品测定** 精密量取加味二妙传统汤剂1 mL,精密称定其颗粒剂0.6 g,按2.2.3项下制备供试品溶液,按2.2.1项下色谱条件进样,记录峰面积,计算指标成分的含量(折算成每1 g饮片中指标成分的质量分数),见表2。结果表明加味二妙颗粒剂中黄柏碱,盐酸小檗碱,盐酸药根碱,(R,S)-告依春,落新妇苷,橙皮苷,白术内酯Ⅲ的质量分数分别是传统汤剂的1.66,2.06,1.29,1.90,1.02,2.39,1.33倍。

### 2.3 HPLC 指纹图谱分析

**2.3.1 色谱条件** 同2.2.1项。

**2.3.2 供试品溶液的制备** 同2.2.3项。

**2.3.3 指纹图谱的建立** 前期采用符合2015年版《中国药典》相关项下要求的各单味饮片制备颗粒

表 1 加味二妙颗粒中各指标成分的加样回收试验

Table 1 Recovery test of each indicator component of Jiawei Ermiao granules

成分	样品中量	加入量	测得量	回收率	平均值	RSD	成分	样品中量	加入量	测得量	回收率	平均值	RSD
	/mg	/mg	/mg	/%	/%	/%		/mg	/mg	/mg	/%	/%	/%
黄柏碱	0.873 7	0.885 3	1.764 9	100.67	101.48	2.6	落新妇苷	0.031 7	0.031 8	0.066 1	108.10	102.72	1.7
	0.828 9	0.885 3	1.704 9	98.94				0.031 0	0.031 8	0.065 1	107.05		
	0.805 3	0.885 3	1.731 9	104.67				0.031 1	0.031 8	0.065 8	109.04		
	0.860 1	0.885 3	1.730 1	98.27				0.106 9	0.111 5	0.223 5	104.58		
	0.845 2	0.885 3	1.754 1	102.67				0.105 4	0.111 5	0.220 2	102.98		
	0.838 2	0.885 3	1.755 9	103.66				0.106 6	0.111 5	0.222 0	103.53		
盐酸小檗碱	2.004 4	1.974 0	4.052 7	103.76	103.46	0.4	橙皮苷	0.109 6	0.111 5	0.220 6	99.55	100.57	2.1
	2.007 8	1.974 0	4.056 9	103.80				0.106 1	0.111 5	0.221 3	103.35		
	2.003 0	1.974 0	4.040 1	103.20				0.112 7	0.111 5	0.226 8	102.35		
	2.007 9	1.974 0	4.044 7	103.18				1.663 0	1.643 3	3.290 7	99.05		
	1.998 4	1.974 0	4.049 6	103.91				1.586 9	1.643 3	3.271 2	102.49		
	2.022 1	1.974 0	4.053 6	102.91				1.585 4	1.643 3	3.270 9	102.57		
盐酸药根碱	0.019 5	0.017 4	0.038 9	111.36	110.36	1.6	白术内酯Ⅲ	1.645 7	1.643 3	3.279 8	99.44	95.77	2.9
	0.019 6	0.017 4	0.039 3	112.87				1.665 5	1.643 3	3.272 2	97.77		
	0.019 9	0.017 4	0.039 1	109.94				1.628 8	1.643 3	3.306 1	102.07		
	0.019 8	0.017 4	0.038 7	108.43				0.038 2	0.039 3	0.076 7	97.98		
	0.018 7	0.017 4	0.037 6	108.57				0.040 6	0.039 3	0.077 9	94.88		
	0.018 7	0.017 4	0.038 0	110.95				0.040 2	0.039 3	0.077 0	93.70		
(R,S)-告依春	0.032 0	0.031 8	0.066 5	108.23	107.85	1.1		0.041 3	0.039 3	0.080 0	98.57		
	0.032 2	0.031 8	0.066 9	108.87			0.040 4	0.039 3	0.076 4	91.60			
	0.031 2	0.031 8	0.064 9	105.81			0.039 7	0.039 3	0.078 2	97.89			

表 2 加味二妙颗粒剂与传统汤剂中 7 种成分的质量分数

Table 2 Contents of seven compounds in Jiawei Ermiao granules and traditional decoction

mg·g<sup>-1</sup>

样品	黄柏碱		盐酸小檗碱		盐酸药根碱		(R,S)-告依春		落新妇苷		橙皮苷		白术内酯Ⅲ	
	汤剂	颗粒剂	汤剂	颗粒剂	汤剂	颗粒剂	汤剂	颗粒剂	汤剂	颗粒剂	汤剂	颗粒剂	汤剂	颗粒剂
1	0.152 8	0.339 7	0.571 8	1.072 8	0.013 4	0.014 2	0.038 6	0.046 2	0.393 2	0.380 1	0.759 1	1.589 0	0.017 3	0.026 7
2	0.095 3	0.204 3	0.411 8	0.922 8	0.014 3	0.034 7	0.021 8	0.060 2	0.323 9	0.473 4	0.707 9	1.983 5	0.014 2	0.027 4
3	0.150 0	0.219 6	0.410 5	0.893 3	0.015 0	0.013 7	0.027 2	0.054 6	0.546 4	0.482 5	0.781 0	1.612 1	0.016 8	0.021 5
4	0.117 4	0.256 8	0.414 4	1.209 1	0.015 6	0.016 5	0.022 5	0.060 0	2.175 7	0.386 9	0.704 1	1.651 3	0.019 9	0.020 2
5	0.156 7	0.200 7	0.508 6	1.059 7	0.014 2	0.021 7	0.026 9	0.057 4	0.207 3	0.600 7	0.663 5	1.943 2	0.016 8	0.014 5
6	0.128 2	0.222 1	0.423 6	0.903 1	0.014 6	0.014 5	0.029 6	0.058 3	0.384 3	0.533 5	0.647 3	1.910 6	0.023 9	0.031 8
7	0.157 8	0.260 7	0.559 3	0.951 7	0.013 1	0.018 9	0.028 2	0.059 6	0.330 0	0.780 8	0.867 7	1.798 6	0.018 4	0.020 2
8	0.128 9	0.223 2	0.529 1	0.978 5	0.013 6	0.018 2	0.038 7	0.051 0	0.375 9	0.685 7	0.918 9	1.855 1	0.021 0	0.025 9
9	0.225 7	0.251 1	0.511 3	0.968 4	0.015 0	0.014 0	0.031 2	0.055 5	0.107 5	0.620 5	0.710 9	1.813 0	0.013 8	0.026 7

剂,药材信息分别为黄柏(批号 15081203,产地四川),麸炒苍术(批号 16022410,产地内蒙古自治区),板蓝根(批号 15110403,产地江苏),土茯苓(批号 15080504,产地浙江),白花蛇舌草(批号 14121701,产地江苏),陈皮(批号 15081906,产地浙江),麸炒白术(批号 15102102,产地浙江),薏苡仁(批号 15100603,产地湖北),建立了同 2.2.1 项的指纹图谱色谱条件,并进行了色谱条件方法学考察,

采用前期建立的指纹图谱色谱条件构建了 9 批加味二妙颗粒剂和传统汤剂的指纹图谱,结果加味二妙颗粒剂有 20 个共有峰,传统汤剂有 19 个共有峰,并指出 5 个色谱峰,3 号峰为 5-羟甲基糠醛(5-HMF),7 号峰为黄柏碱,15 号峰为落新妇苷,18 号峰为橙皮苷,19 号峰为盐酸小檗碱。9 批加味二妙颗粒剂的对照指纹图谱见图 1,9 批加味二妙颗粒剂的指纹图谱见图 2,加味二妙传统汤剂的对照指纹

图谱见图 3, 9 批加味二妙传统汤剂的指纹图谱见图 4。结果显示颗粒剂有 20 个共有峰, 传统汤剂有 19 个共有峰。

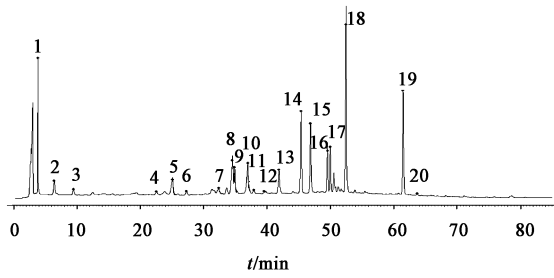


图 1 加味二妙颗粒剂的对照 HPLC 指纹谱  
Fig. 1 Reference HPLC fingerprint of Jiawei Ermiao granules

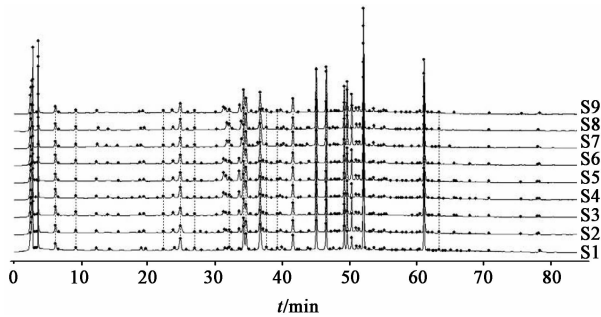


图 2 9 批加味二妙颗粒剂的 HPLC 指纹谱  
Fig. 2 HPLC fingerprints of 9 batches of Jiawei Ermiao granules

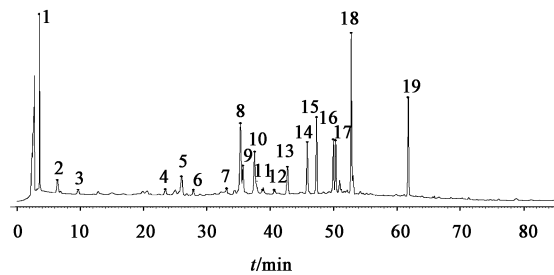


图 3 加味二妙传统汤剂的对照 HPLC 指纹谱  
Fig. 3 Reference HPLC fingerprint of Jiawei Ermiao traditional decoction

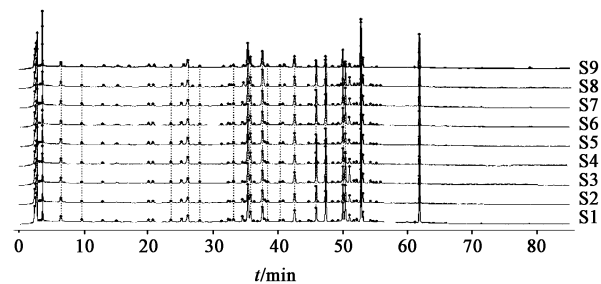


图 4 9 批加味二妙传统汤剂的 HPLC 指纹谱  
Fig. 4 HPLC fingerprints of 9 batches of Jiawei Ermiao traditional decoction

中盐酸小檗碱分离度较好, 峰面积大, 是君药黄柏中的活性成分, 有抗病原微生物、抗肿瘤、降血糖等活性<sup>[13-14]</sup>, 故选择盐酸小檗碱为参照峰, 计算加味二妙颗粒剂及传统汤剂的相对峰面积。分别将 9 批加味二妙颗粒剂、传统汤剂的相对峰面积导入 SIMCA 13.0 DEMO 进行主成分分析 (PCA), 见图 5。结果发现加味二妙颗粒剂与传统汤剂在 2 个不同区域, 表明加味二妙颗粒剂与传统汤剂的相对峰面积存在一定差异, 见表 3, 4。利用“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”(2012 版) 分析颗粒剂与传统汤剂的相似度达 0.996。

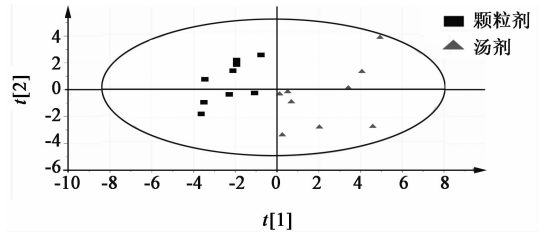


图 5 加味二妙颗粒剂与传统汤剂 HPLC 指纹谱的 PCA  
Fig. 5 PCA of HPLC fingerprint of Jiawei Ermiao granules and traditional decoction

表 3 各色谱峰在 9 批加味二妙颗粒剂中的相对峰面积

Table 3 Relative peak area of each peak in 9 batches of Jiawei Ermiao granules

峰号	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9
1	0.33	0.46	0.44	0.33	0.33	0.41	0.45	0.41	0.38
2	0.13	0.20	0.23	0.16	0.16	0.22	0.16	0.19	0.16
3	0.07	0.07	0.11	0.06	0.05	0.10	0.07	0.08	0.07
4	0.07	0.08	0.08	0.10	0.08	0.10	0.06	0.06	0.08
5	0.36	0.28	0.29	0.33	0.29	0.36	0.32	0.35	0.33
6	0.07	0.07	0.06	0.08	0.08	0.07	0.06	0.07	0.07
7	0.09	0.10	0.09	0.10	0.09	0.10	0.18	0.21	0.13
8	0.53	0.49	0.53	0.58	0.56	0.62	0.56	0.56	0.60
9	0.34	0.30	0.30	0.33	0.31	0.37	0.37	0.39	0.34
10	0.66	0.68	0.64	0.50	0.53	0.65	0.60	0.72	0.56
11	0.15	0.15	0.08	0.13	0.13	0.14	0.11	0.16	0.13
12	0.11	0.08	0.04	0.07	0.08	0.08	0.12	0.09	0.10
13	0.38	0.41	0.36	0.35	0.39	0.38	0.40	0.35	0.42
14	0.68	1.16	0.96	0.69	1.05	0.87	1.08	1.34	0.97
15	0.52	0.74	0.68	0.47	0.78	0.56	0.97	1.13	0.89
16	0.45	0.57	0.42	0.40	0.45	0.51	0.55	0.56	0.51
17	0.33	0.45	0.42	0.30	0.47	0.35	0.60	0.70	0.56
18	1.32	1.96	1.63	1.25	1.68	1.93	1.81	1.81	1.85
19	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
20	0.06	0.05	0.04	0.07	0.04	0.04	0.05	0.04	0.07

2.3.4 参照峰的选择 加味二妙颗粒剂指纹图谱

表 4 各色谱峰在 9 批加味二妙传统汤剂中的相对峰面积

Table 4 Relative peak area of each peak in 9 batches of Jiawei Ermiao traditional decoction

峰号	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9
1	0.56	0.68	0.71	0.63	0.60	0.68	0.54	0.55	0.51
2	0.21	0.25	0.26	0.25	0.22	0.21	0.18	0.18	0.19
3	0.09	0.09	0.07	0.09	0.08	0.09	0.10	0.08	0.08
4	0.09	0.11	0.13	0.14	0.11	0.11	0.10	0.09	0.09
5	0.35	0.38	0.39	0.53	0.44	0.43	0.35	0.32	0.36
6	0.09	0.10	0.10	0.09	0.09	0.09	0.08	0.09	0.09
7	0.12	0.13	0.15	0.15	0.19	0.20	0.16	0.12	0.17
8	0.97	1.04	1.06	1.59	1.09	1.13	1.00	0.88	1.00
9	0.36	0.38	0.36	0.53	0.43	0.44	0.36	0.34	0.40
10	0.66	0.75	0.77	0.79	0.67	0.86	0.73	0.75	0.76
11	0.09	0.07	0.07	0.08	0.09	0.21	0.16	0.07	0.09
12	0.09	0.06	0.06	0.07	0.05	0.11	0.09	0.05	0.06
13	0.48	0.47	0.61	0.47	0.51	0.61	0.44	0.39	0.46
14	0.51	0.74	1.80	0.50	0.37	0.84	0.59	0.69	0.28
15	0.93	1.07	1.78	0.73	0.56	1.26	0.82	0.93	0.28
16	0.54	0.70	0.67	0.60	0.56	0.67	0.60	0.52	0.52
17	0.59	0.69	1.13	0.49	0.38	0.81	0.53	0.59	0.18
18	1.34	1.79	1.97	1.76	1.38	1.62	1.59	1.64	1.32
19	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00

表 5 加味二妙传统汤剂拆方煎煮液中共有峰的相对峰面积

Table 5 Relative peak area of common peaks in Jiawei Ermiao traditional decoction with decomposed recipes

拆方	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
a	0.43	0.13	-	0.09	0.35	0.07	0.12	1.01	0.43	0.74	0.14	0.11	0.53	0.40	0.41	0.50	0.27	1.31	1.00
b	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
c	0.17	0.06	0.02	0.06	0.16	0.02	0.08	0.41	0.17	-	0.03	0.03	0.21	-	0.21	-	0.44	1.00	
d	0.63	0.16	0.09	0.11	0.59	0.11	0.14	1.24	0.58	0.96	0.16	0.14	0.84	0.6	0.63	-	0.42	1.00	
e	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
f	0.52	0.14	-	0.08	0.51	0.12	0.31	1.20	0.57	0.81	0.12	0.12	0.70	1.33	2.12	-	0.48	1.00	
g	0.43	0.17	0.07	0.10	0.44	0.07	0.12	1.04	0.46	0.61	0.06	0.06	0.40	-	0.52	-	1.43	1.00	
h	0.89	0.29	0.11	0.13	0.62	0.12	0.11	1.44	0.62	0.87	0.20	0.21	0.74	1.05	0.93	-	0.41	1.00	
i	0.44	0.15	0.06	0.10	0.40	0.07	0.15	1.07	0.45	0.68	0.12	0.06	0.56	0.84	0.85	0.55	0.54	1.47	1.00
j	0.65	0.21	0.16	0.17	0.46	0.11	0.15	1.40	0.50	0.90	0.09	0.08	0.75	0.80	0.82	0.58	0.55	1.27	1.00
k	0.58	0.20	0.12	0.16	0.38	0.08	0.10	1.02	0.38	0.72	0.16	0.09	0.46	0.70	0.76	0.49	0.50	1.18	1.00
l	0.59	0.16	-	0.09	0.41	0.12	0.08	1.14	0.47	0.83	0.16	0.15	0.62	0.94	1.24	0.63	0.75	1.87	1.00
m	0.16	0.07	0.04	0.04	0.20	0.02	0.07	0.65	0.23	-	0.04	0.03	0.18	0.25	0.44	0.23	0.25	0.63	1.00
n	0.21	0.10	0.05	0.05	0.16	0.02	0.08	0.54	0.19	-	0.05	0.04	0.22	0.49	0.68	0.22	0.40	0.65	1.00
o	0.75	0.30	0.11	0.14	0.52	0.10	0.10	1.34	0.56	0.93	0.07	0.11	0.64	-	0.68	-	1.73	1.00	
p	0.30	0.17	0.09	0.06	0.39	0.03	0.14	1.00	0.44	-	0.07	0.05	0.40	-	0.42	-	2.13	1.00	
q	0.50	0.15	0.10	0.09	0.65	0.11	0.18	1.32	0.73	0.89	0.10	0.11	0.60	0.89	0.95	-	0.66	1.00	

注：“-”表示有这个色谱峰，但是无法计算。

2.3.5 各拆方的指纹图谱分析 取各拆方供试品溶液，依法测定，从定性角度，考察加味二妙传统汤剂各拆方色谱图与加味二妙传统汤剂指纹图谱的差异，并进行色谱峰的归属，见图 6；共有峰相对峰面积见表 5。结果表明各拆方供试品溶液的色谱图无新化合物产生，各拆方煎煮色谱图中 3~4, 11, 12 号峰相对峰面积差异不大，缺白术时 14, 15 号峰相对峰面积较高，缺土茯苓时 18 号峰相对峰面积较大。加味二妙传统汤剂指纹图谱中 3 号峰为土茯苓、白术与苍术中共有的成分；5, 7, 8, 9, 13, 19 号峰为黄柏饮片中的成分；16, 18 号峰为陈皮中的成分；14, 15, 17 号峰为土茯苓中的成分；10 号峰为白花蛇舌草中的成分。

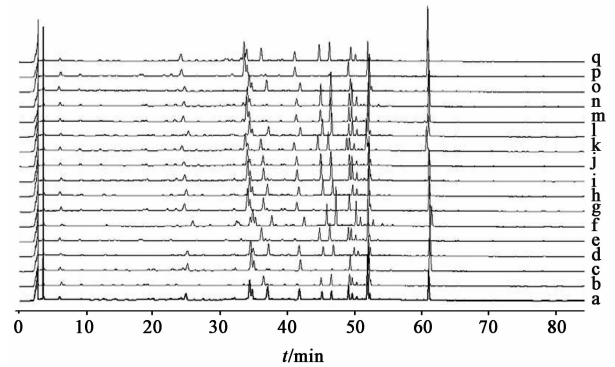


图 6 加味二妙传统汤剂拆方煎煮液的 HPLC 指纹谱叠加  
Fig. 6 Overlapping images of HPLC fingerprints of Jiawei Ermiao traditional decoction with decomposed recipes

### 3 讨论

加味二妙颗粒剂是依据加味二妙传统汤剂开发的医疗机构中药制剂,以指标成分含量和整体药理学基础为标准评价加味二妙颗粒剂和传统汤剂质量的一致性,适应中药复杂性的特点,为加味二妙颗粒生产提供了参考依据<sup>[15]</sup>。制备加味二妙颗粒剂与汤剂的各单味饮片均为同一批次,以排除饮片批次不同对加味二妙颗粒剂与汤剂中7个化学成分含量比较的影响。结果发现加味二妙颗粒剂与传统汤剂中落新妇苷,盐酸药根碱,白术内酯Ⅲ的含量无明显差异,加味二妙颗粒剂中黄柏碱,盐酸小檗碱,橙皮苷,(*R,S*)-告依春的含量高于加味二妙传统汤剂,表明黄柏碱、盐酸小檗碱、橙皮苷和(*R,S*)-告依春含量的差异与制备工艺不同有关,颗粒剂煎煮时间大于传统汤剂,更有利于有效成分的溶出。

通过比较加味二妙颗粒剂与传统汤剂的指纹图谱后发现,二者在所建立的色谱条件基础上相差1个色谱峰,可能与颗粒剂和传统汤剂不同制备工艺有关。比较加味二妙颗粒剂与传统汤剂保留时间为53.163 min的色谱峰,结果发现加味二妙颗粒剂53.163 min的色谱峰峰面积明显小于传统汤剂,比较白花蛇舌草、全方减薏苡仁、全方减白花蛇舌草、薏苡仁+白花蛇舌草的色谱图,发现53.163 min的色谱峰是白花蛇舌草中的有效成分,且会与薏苡仁中某一或系列成分发生反应,且随着煎煮时间的延长,53.163 min色谱峰的含量减少越多。

本研究建立了9批加味二妙颗粒剂与9批传统汤剂的指纹图谱,确定了颗粒剂中20个共有峰,传统汤剂中19个共有峰,运用“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”(2012版)进行颗粒剂与传统汤剂的相似度分析,结果相似度0.996,表明颗粒剂与传统汤剂物质基础相对一致。通过PCA考察加味二妙颗粒剂与传统汤剂中共有峰的相对峰面积,结果表明2种剂型共有峰相对峰面积存在一定差异。本研究为加味二妙颗粒的生产和临床用药提供了参考依据,但关于加味二妙颗粒剂与传统汤剂的质量差异,还须结合药理药效学实验和临床应用研究才能进行

全面、系统地比较。

#### [参考文献]

- [1] 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,2015:18,191,305-306.
- [2] 姚世英. 中药汤剂与中药颗粒剂比较分析[J]. 现代医药卫生,2012,28(21):3299-3300.
- [3] 王建平,张海燕,傅旭春. 土茯苓的化学成分和药理作用研究进展[J]. 海峡药学,2013,25(1):42-44.
- [4] 邱光清,许连好,林洁娜,等. 土茯苓总皂甙的抗肿瘤作用研究[J]. 中药药理与临床,2001,17(5):14-15.
- [5] 张志海,王彩云,杨天鸣,等. 陈皮的化学成分及药理作用研究进展[J]. 西北药学杂志,2005,20(1):47-48.
- [6] 高建德,朱晓玉,宋开蓉,等. 5种常用药用辅料对党参颗粒吸湿性及成型性的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2017,23(23):13-17.
- [7] 侯湘梅,岳洪水,张磊,等. 中药质量一致性评价探讨[J]. 药物评价研究,2016,39(1):38-45.
- [8] 刘东方,赵丽娜,李银峰,等. 中药指纹图谱技术的研究进展及应用[J]. 中草药,2016,47(22):4085-4094.
- [9] 钟媛媛,王京辉,陈晶,等. 银杏叶口服多剂型指纹图谱及黄酮成分质量评价研究[J]. 药物分析,2016,18(12):1284-1286.
- [10] 邵珠德,刘元涛,李敏,等. 温胆汤两种现代制剂与传统汤剂化学指纹图谱的对比研究[J]. 中国医院药学杂志,2016,36(2):102-106.
- [11] 杨龙,杨帆,杨欣莹,等. 血府逐瘀汤不同剂型数字化指纹图谱的构建[J]. 天津中医药,2016,33(9):559-563.
- [12] 王丽静,贾晓斌,陈彦,等. 中药复方拆方研究的思路与方法[J]. 中成药,2008,30(9):1343-1346.
- [13] 李萍,王国祥. 小檗碱对心血管系统的药理作用[J]. 中国药理学通报,1991,7(5):324-328.
- [14] 黄林清,徐传福,周世文,等. 小檗碱抗肿瘤作用实验研究[J]. 中国药理学通报,1997,13(2):189.
- [15] 林伟雄,乐智勇,车海燕,等. 吴茱萸汤颗粒剂、配方颗粒剂及传统汤剂中指标成分的含量比较[J]. 中国实验方剂学杂志,2017,23(13):30-34.

[责任编辑 刘德文]