

人参饮片标准汤剂的评价及应用探讨

张鹏¹, 邬兰¹, 李西文¹, 沈亮¹, 王瑀², 徐江¹, 陈士林^{1*}

(1. 中国中医科学院 中药研究所, 北京 100700; 2. 中国医学科学院 药用植物研究所, 北京 100193)

[摘要] **目的:** 对人参饮片标准汤剂进行研究, 探讨相关参数阈值, 以建立人参饮片不同用药形式的标准, 为生产实践提供参考。**方法:** 选择具代表性的12批次人参饮片经标准工艺制备汤剂, 对出膏率、指标成分含量及转移率、指纹图谱相似度等进行考察, 利用液质联用技术对共有峰进行指认; 对饮片、标准汤剂和由标准汤剂制得的颗粒进行比较, 探讨颗粒制备过程中的质量传递规律。**结果:** 人参标准汤剂中人参皂苷 $R_{g_1} + R_e$ 和人参皂苷 R_{b_1} 的质量浓度应分别不低于 $0.529, 0.282 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, 出膏率应不低于40%, 批次间指纹图谱相似度不得低于0.905, 与对照指纹图谱相比相似度不得低于0.966, 指认了12个共有峰中的10种皂苷类成分; 由饮片制成标准汤剂是“质的转移”, 而由标准汤剂制成颗粒只是“量变”过程。**结论:** 标准汤剂可作为配方颗粒生产过程中的标准参照物, 以调整投料方案、优化工艺设计, 保证与传统饮片煎液质量一致, 稳定终产品的生产; 鉴于不同形式的饮片临床应用多以水溶(煎煮或冲服)为主, 与其药效物质基础一致的标准汤剂及其煎膏可作为质量控制标准物质, 解决鉴别和质量控制难题。

[关键词] 人参; 标准汤剂; 煎膏; 标准参照物; 配方颗粒; 质量控制; 皂苷类

[中图分类号] R283.6; R284.1; R944.6+1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2017)07-0002-10

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2017070002

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20170113.1622.004.html>

[网络出版时间] 2017-01-13 16:22:00

Evaluation and Application of Standard Decoction of Ginseng Radix Et Rhizoma

ZHANG Peng¹, WU Lan¹, LI Xi-wen¹, SHEN Liang¹, WANG Yu², XU Jiang¹, CHEN Shi-lin^{1*}

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

2. Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100193, China)

[Abstract] **Objective:** To establish a standard for different dosage forms of Ginseng Radix et Rhizoma and provide reference for production practice, based on the study of some threshold values of standard decoction of Ginseng Radix et Rhizoma (SDRG). **Method:** Twelve batches of SDRG were prepared from representative samples through standard process, then the paste-forming rate, index components content along with their transfer rate, and high performance liquid chromatographic (HPLC) fingerprints similarity were analyzed, compound identification of the common peaks was employed UPLC-Q-TOF/MS; the difference among the slices, the standard decoction and the granule, all from the same batch, were comparatively analyzed to reveal the mass transfer rule in the process. **Result:** The content of ginsenoside R_{b_1} and the total amount of ginsenoside R_{g_1}, R_e should be not less than $0.282 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ and $0.529 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, respectively. Extract rate should be not less than 40%, the fingerprint similarity between batches should be not less than 0.905, and it should be not less than 0.966 when compared with the reference fingerprint R. Ten kinds of saponins were identified in 12 common peaks, the process from slices to standard decoction was the qualitative transfer, while standard decoction to granule was the quantitative change. **Conclusion:** The standard decoction can act as standard reference object in the production process of

[收稿日期] 20161222(008)

[基金项目] 国家“重大新药创制”科技重大专项(2014ZX09304307001); 港澳台科技合作专项(2015DFM30030)

[第一作者] 张鹏, 在读博士, 从事中药资源与鉴定研究, Tel:010-84084107, E-mail:pzhang@icmm.ac.cn

[通讯作者] * 陈士林, 博士, 研究员, 从事中药资源与鉴定研究, Tel:010-64032658, E-mail:slchen@icmm.ac.cn

formula granule, to guarantee the consistent of final productions through batch charging and process optimization. As to the different forms of Chinese herbal pieces, whether traditional forms or modern ones such as ultramicro piece and formula granule, are almost all dispersed in water in clinical practice; in consideration of the same material basis between the water liquid used and the standard decoction, the standard decoction and its concentration can act as reference material in the aspect of identification and quality control.

[Key words] Ginseng Radix et Rhizoma; standard decoction; condensed decoction; standard reference object; formula granules; quality control; saponins

人参为名贵中药,2015 年版《中国药典》规定其用法为“另煎兑服、也可研粉吞服”^[1]。从 3 世纪《肘后备急方》记载的人参散——“人参;上为末,每服方寸匕,一日五六次”,到 12 世纪《是斋百一选方》中收录的破证夺命丹——“人参一两(去芦,薄切);水一大升,银石器内煎至一盞,以新水沉之,取冷一服而尽”,14 世纪《十药神书》收录的丙字号独参汤——“大栋人参十两;上咀,水二盞,枣五枚,煎一盞,不拘时细细服之”^[2-3],再到 16 世纪《本草纲目》所载人参膏——“随病做汤使”^[4],古代医家对人参的用药形式进行了许多探索,以期取得简、便、易、廉的临床应用效果。

近几十年来,中药饮片出现了许多新的用药形式,用药形式的多元化有利于满足临床用药的不同需求,然而部分用药形式会导致饮片失去原有的性状特征,使得鉴别和质量控制更加困难。同时,现代检测手段和质量控制体系是中药走向世界的必备条件。因此,参考临床应用汤剂制备方法,兼顾质量控制,以标准化为目的的中药饮片标准汤剂^[5]理念被

提出,其理念的融入有望为不同用药形式的鉴别和质量控制提供参考。本实验以人参饮片标准汤剂为例进行研究,同时进行不同饮片形式间的比较,探讨标准汤剂在饮片质量控制和临床应用中的预期作用。

1 材料

1260 型高效液相色谱仪(美国安捷伦公司), ACQUITY UPLC H-Class 型超高效液相系统和 Xevo G2-XS 型 Q-TOF 高分辨质谱仪(美国 Waters 公司), BP211D 型 1/10 万电子天平和 BS210S 型 1/1 万电子天平(德国赛多利斯公司), UV-III 型暗箱式三用紫外分析仪(北京恒诚基业科贸有限公司), Classic 型纯水机(PureLab 公司), DGG-9070B 型电热恒温鼓风干燥箱(上海森信实验仪器有限公司)。

人参药材及饮片共计 12 批次,均经中国中医科学院中药研究所生药中心李西文副研究员鉴定为五加科植物人参 *Panax ginseng* 的干燥根和根茎(或其切片),经核糖体 DNA (rDNA) 内转录间隔区 2 (ITS2) 序列进行 DNA 条形码验证,来源、规格等级及炮制方法见表 1 和图 1。人参皂苷 Rg₁, Re, Rb₁

表 1 人参饮片来源、规格等级及加工炮制

Table 1 Sample sources, grade and processing of Ginseng Radix et Rhizoma

批号	产地或来源	规格与等级 ^[6]	炮制方法	含水量 /%	出膏率 (以干膏计) /%	出膏率 (物料衡算) /%
PG-01	吉林省长白县人参种植基地	光支生晒参,三等	润透,切 1.5~2.0 mm 薄片,干燥	4.8	44.4	47.2
PG-02	黑龙江省七台河	四年生,全须生晒参,四等	润透,切 1.5~2.0 mm 薄片,干燥	13.0	51.1	48.2
PG-03	吉林省敦化市	光支生晒参,一等	润透,切 1.5~2.0 mm 薄片,干燥	8.7	43.6	47.9
PG-04	黑龙江省黑河市	光支生晒参,一等	润透,切 1.5~2.0 mm 薄片,干燥	9.3	45.5	48.5
PG-05	吉林省延边州汪清县	光支生晒参,一等	润透,切 1.5~2.0 mm 薄片,干燥	7.7	56.5	55.2
PG-06	吉林省白山市靖宇县	光支生晒参,二等	润透,切 1.5~2.0 mm 薄片,干燥; 切 0.8 mm 左右薄片,干燥,编号 PG-6B	7.6	45.5	44.3
PG-07	吉林省白山市靖宇县花园	三年生,全须生晒参,三等	润透,切 1.5~2.0 mm 薄片,干燥	4.9	58.8	53.8
PG-08	口镇松江村	四年生,全须生晒参,一等	润透,切 1.5~2.0 mm 薄片,干燥	5.8	42.0	42.4
PG-09		五年生,全须生晒参,一等	润透,切 1.5~2.0 mm 薄片,干燥	9.0	47.8	48.4
PG-10	广州市岭南中药饮片公司 (产地吉林 批次 1511001)	斜切片,中选,片厚约 1.3 mm	-	13.2	47.3	44.3
PG-11	成都荷花池药市	圆片,小选,片厚约 0.9 mm	-	13.9	43.5	46.0
PG-12	成都荷花池药市	圆片,大选,片厚约 0.9 mm	-	12.2	40.5	43.3



图 1 人参药材、人参饮片样品及经标准汤剂制得的颗粒

Fig. 1 Original crude drugs, decoction pieces and formula granules prepared through standard decoction of Ginseng Radix et Rhizoma

对照品(上海雅吉生物科技有限公司,批号分别为 16022407, 16012707, 16021907, 纯度依次为 98.10%, 99.52%, 98.62%);人参对照药材(中国食品药品检定研究院,批号 120917-201110),水为超纯水,乙腈为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 基原鉴定 各样本依照中药材 DNA 条形码分子鉴定指导原则^[7]进行鉴定。按标准流程,经 DNA 提取、聚合酶链式反应(PCR)扩增、电泳检测、测序、数据处理后进行基原鉴定。ITS2 序列 PCR 扩增为正向引物 P3 (5'-YGA CTCTCGGCAACGGATA-3'),反向引物 E4 (5'-RGT TTTCTTTCTCCGCTTA-3');反应体系总体积 25 μ L,包括 2 \times Taq PCR Master Mix 12.5 μ L,正反向引物各 1 μ L,DNA 模板 2 μ L,其余体积以双蒸水补充;扩增条件为 95 $^{\circ}$ C, 4 min;94 $^{\circ}$ C, 30 s,55 $^{\circ}$ C, 1 min,72 $^{\circ}$ C, 1 min,35 个循环;72 $^{\circ}$ C, 10

min。测序峰图使用 CodonCode Aligner V5.1.5 进行质量校对与拼接并进行注释,注释后序列于中药材 DNA 条形码鉴定系统网站 (<http://www.tcmbarcode.cn/china/?optionid=174>) 中应用 BLAST 进行鉴定。例如 PG-11 的鉴定见图 2。经鉴定,以上人参样本基原均为五加科植物人参 *Panax ginseng*,属于 2015 年版《中国药典》规定的来源。

2.2 人参饮片的水分检查及含量测定 按 2015 年版《中国药典》(0831 干燥失重测定法)测定各批次人参饮片水分,并按规定的含量测定方法^[1]测定各批次人参饮片中人参皂苷 Rg₁, Re, Rb₁ 的含量。市售人参饮片含水量约 13%,若含水量 < 10%,则饮片脆而易碎。

2.3 样本的制备 人参能大补元气、补脾益肺,为滋补药。滋补药物先用武火煮沸后,改用文火慢煎约 40~60 min;第 2 煎的煎煮时间应当比第 1 煎的

序列比对信息				
编号/登录号	物种	序列相似性(%)	分值	E值
U41682	Panax ginseng	100.0	456.0	e-128
U41680	Panax ginseng	100.0	456.0	e-128
KF727974	Panax ginseng	100.0	456.0	e-128
KF727973	Panax ginseng	100.0	456.0	e-128

图 2 药材市场人参饮片 PG-11 样品的鉴定
Fig. 2 Identification of slices PG-11 which came from Chinese herbal medicine market

时间略缩短^[8],也与《本草纲目》所载人参膏的制法相近。

2.3.1 标准汤剂及其供试品溶液的制备 取人参饮片各 100 g,加水 700 mL 浸泡 30 min,以浸透、掰开无白心为度。电热套加热,回流提取,武火(最大功率 350 W)加热至沸腾,调整功率以保持微沸 60 min,经 150 目滤布滤过;药渣加水 600 mL 同法煎煮 40 min,滤过,合并 2 次滤液,适当浓缩,用水定容至 500 mL,摇匀,得标准汤剂^[5,9]。精密量取标准汤剂 5 mL 至 10 mL 量瓶中,加甲醇定容至刻度,摇匀,滤过,取续滤液,得标准汤剂的供试品溶液。

2.3.2 人参饮片颗粒^[10]及其供试品溶液的制备 取 PG-02 制得的标准汤剂 450 mL,减压浓缩成相对密度 1.27 g·mL⁻¹的稠膏,称取稠膏 65 g(干膏约 36 g),加入可溶性淀粉 58 g 和羧甲基纤维素钠 2 g,混合研匀,60℃烘干,得干膏块约 95 g,粉碎,过 70 目筛,药粉以 75% 乙醇制软材,过 1 号筛(10 目)挤压制粒,60℃干燥,8~50 目筛整粒,得人参饮片颗粒(PG02-KL,收得 67.50 g;当量相当于 36 g 浸膏粉对应的 85.85 g 药材至 95 g 制粒药粉,即 1 g 颗粒相当于 0.904 g 人参饮片)。精密称取人参饮片颗粒 1.0 g,加水 5 mL 超声使溶解,加甲醇定容至 10 mL,滤过,取续滤液,得颗粒的液相供试品溶液。

2.4 出膏率、转移率的测定 精密量取各批标准汤剂 25 mL,水浴蒸干并于 105℃烘干,以干膏重计算出膏率;经提取后的饮片残渣 105℃烘干,称重,结合饮片的含水量通过物料衡算计算出膏率。分析各批人参饮片和标准汤剂中人参皂苷 Rg₁, Re, Rb₁ 的含量,结合饮片的含水量,按转移率 = 100 g 饮片制得的标准汤剂中指标成分的质量/100 g 饮片中指标成分的质量 × 100% (饮片皆为含水分的原饮片)计算转移率。

2.5 HPLC 含量测定和指纹图谱分析

2.5.1 对照品溶液的制备 精密称取人参皂苷

Rg₁, Re, Rb₁ 对照品适量,分别制成各成分质量浓度约 2 g·L⁻¹的对照品溶液及各皂苷类成分质量浓度均为 0.05, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.6 g·L⁻¹的系列混合对照品溶液,其中 0.2 g·L⁻¹混合对照品溶液中人参皂苷 Rg₁, Re, Rb₁ 的质量浓度分别为 199.0, 201.4, 204.6 mg·L⁻¹。

2.5.2 色谱条件 ZORBAX Eclipse XDB-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相水(A)-乙腈(B)梯度洗脱(0~35 min, 81% A; 35~55 min, 81%~71% A; 55~70 min, 71% A; 70~100 min, 71%~60% A),检测波长 203 nm,柱温 30℃,进样量 10 μL。

2.5.3 方法学考察 取 2.5.1 项下系列混合对照品溶液,按 2.5.2 项下色谱条件测定,结果人参皂苷 Rg₁, Re, Rb₁ 的回归方程分别为 Y = 3 688.6X + 15.3 (R² = 0.999 5), Y = 2 786X - 8.7 (R² = 0.998 9), Y = 2 581.2X + 65.1 (R² = 0.999 1),线性范围均为 0.05~0.6 g·L⁻¹。取人参饮片(批号 PG-04),按 2.3 项下方法制备标准汤剂供试品溶液(PGbt-04)和含量测定供试品溶液(PGhc-04),分别连续进样 6 次(进样间隔期间,样品溶液冷藏)。结果表明 2 份供试品溶液中人参皂苷 Rg₁, Re, Rb₁ 保留时间的 RSD 均 < 0.5%,峰面积的 RSD 均 < 2.0%,表明仪器精密度良好。

取同一供试品溶液,按 2.5.2 项下色谱条件测定 6 次,结果人参皂苷 Rg₁, Re, Rb₁ 保留时间的 RSD 均 < 0.5%,峰面积的 RSD 均 < 2.5%,表明该方法重复性良好。PGhc-04 和 PGbt-04 分别于 4℃冷藏、室温放置,分别于 0, 2, 4, 6, 12, 24, 48 h 按 2.5.2 项下色谱条件测定。结果表明在冷藏条件下 2 份样品都较稳定;而在室温条件下,PGhc-04 的人参皂苷 Rb₁ 峰面积会随着时间显著增加,在 48 h 和 72 h 时峰面积分别达到 0 h 时的 1.26 倍和 1.34 倍,用重复性考察的另外 2 份样本进行试验,结果相近。同时,对其他样品室温稳定性考察结果发现,各批次含量测定样品中人参皂苷 Rb₁ 峰面积都有所增加,但 48 h 内的变化都在 5% 范围内。提示含量测定样品应冷藏并尽快测定。

2.5.4 指纹图谱相似度 分析 12 批次人参标准汤剂供试品溶液的 HPLC 指纹图谱相似度(“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”2012.130723 版),生成对照色谱图,计算各批标准汤剂及对照色谱图间的指纹图谱相似度,并分析共有峰占比及共有峰在样本间的差异。以生成的对照色谱图对 PGbt-02 和

PG02-KL 含量测定供试品溶液进行分析,包括指纹图谱相似度分析等。

2.5.5 标准汤剂特征峰成分的鉴定 色谱条件为 CORTECS C₁₈ 色谱柱(2.1 mm × 100 mm, 1.8 μm), 流动相水(A)-乙腈(B)梯度洗脱(0~6.5 min, 20% B; 6.5~10 min, 20%~30% B; 10~19.5 min, 30%~32.5% B; 19.5~22.5 min, 32.5%~100% B), 检测波长 203 nm, 柱温 30 ℃, 流速 0.4 mL·min⁻¹, 进样量 1 μL。质谱条件为采用正、负离子模式进行鉴定, 采集模式为全信息串联质谱, 低能量 6 V, 高能量 25~80 V(二级能量), 椎孔电压 2.5 kV, 离子源温度 120 ℃, 脱溶剂气流量 800 L·h⁻¹, 脱溶剂温度 500 ℃, 扫描范围 *m/z* 50~1 500。数据分析采用 UNIFI 1.8.1 软件。

2.6 饮片、标准汤剂和颗粒的 TLC 取人参对照药材, PG-02 人参饮片及 2.3.2 项下人参饮片颗粒各适量, 参照 2015 年版《中国药典》^[1] 制得 TLC 供试品溶液。照薄层色谱法(2015 年版《中国药典》通则 0502) 试验, 吸取上述 3 种溶液及由 PG-02 人参饮片制成的含量测定供试品溶液(PGhc-02), 标准汤剂供试品溶液(PGbt-02), 颗粒液相供试品溶液(PG02-KL), 人参皂苷 Rb₁, Re, Rg₁ 对照品溶液及

混合对照品溶液适量, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以三氯甲烷-乙酸乙酯-甲醇-水(15:40:22:10) 冰水浴中放置的下层溶液为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以 10% 硫酸乙醇溶液, 在 105 ℃ 加热至斑点显色清晰, 分别置日光和紫外光灯(365 nm) 下检视。

3 结果

3.1 人参标准汤剂的出膏率 人参标准汤剂为黄褐色至褐色液体, 底部有胶絮状沉淀, 香气特异。因制成的标准汤剂底部有沉淀, 采用取部分液体制干膏后称重计算出膏率会有较大误差, 故同时通过物料衡算计算出膏率。见表 1。以部分干膏重计算出膏率(47.2 ± 5.6)%; 以物料衡算计算出膏率(47.5 ± 3.9)%。说明以物料衡算计算更为准确, 批次间出膏率的波动较小。

3.2 人参皂苷类成分的含量测定与转移率 见表 2。结果发现各批人参饮片中人参皂苷 Rg₁ 和人参皂苷 Re 的总质量分数均 > 0.27%, 人参皂苷 Rb₁ 质量分数均 ≥ 0.18%, 符合 2015 年版《中国药典》的规定。另外, 人参皂苷类成分含量较高的人参饮片一般其对应标准汤剂中指标成分的含量也较高。

表 2 12 批次人参饮片、标准汤剂中人参皂苷类成分的含量及转移率

Table 2 Contents of index components and their transfer rates between 12 batches of decoction pieces and standard decoction of Ginseng Radix et Rhizoma (SDRG)

批号	饮片中质量分数/% (以干燥品计)			标准汤剂中质量浓度/g·L ⁻¹ (100 g 含水饮片至 500 mL 标准汤剂)			转移率/%	
	人参皂苷 Rg ₁	人参皂苷 Re	人参皂苷 Rb ₁	人参皂苷 Rg ₁	人参皂苷 Re	人参皂苷 Rb ₁	人参皂苷 Rg ₁ + 人参皂苷 Re	人参皂苷 Rb ₁
PG-01	0.356	0.228	0.319	0.378	0.261	0.431	57.5	71.0
PG-02	0.208	0.282	0.273	0.284	0.349	0.329	74.3	69.1
PG-03	0.223	0.183	0.200	0.291	0.237	0.282	71.3	77.5
PG-04	0.210	0.212	0.240	0.332	0.346	0.557	88.5	127.8 ¹⁾
PG-05	0.293	0.197	0.222	0.453	0.339	0.385	87.6	93.6
PG-06	0.368	0.180	0.280	0.492	0.333	0.394	81.6	76.1
PG-07	0.256	0.379	0.367	0.331	0.450	0.521	64.7	74.2
PG-08	0.304	0.362	0.426	0.439	0.465	0.677	72.0	84.1
PG-09	0.277	0.270	0.387	0.356	0.372	0.606	73.1	85.9
PG-10	0.213	0.227	0.301	0.301	0.319	0.361	81.2	68.7
PG-11	0.405	0.365	0.497	0.569	0.444	0.814	76.4	94.8
PG-12	0.319	0.141	0.252	0.455	0.221	0.392	83.6	88.6

注: 转移率计算以 100 g 含水饮片至 500 mL 标准汤剂过程中指标成分的转移率为准;¹⁾ PGbt-04 样品中人参皂苷 Rb₁ 可能存在转化生成, 因此该数值未纳入均值等参数计算。

3.3 标准汤剂的指纹图谱相似度 见图 3, 经 12 个标记峰匹配校正获得对照指纹图谱(R), 12 个共

有峰中 2, 3, 6 号共有峰分别为人参皂苷 Rg₁, Re, Rb₁。指纹图谱相似度计算见表 3, 结果批次间

相似度 0.905 ~ 0.997, 与对照指纹图谱相比相似度 0.966 ~ 0.996。指纹图谱共有峰占比见表 4, 其中

占比 > 10% 的 3 个共有峰分别为人参皂苷 Rg_1 , Re , Rb_1 。

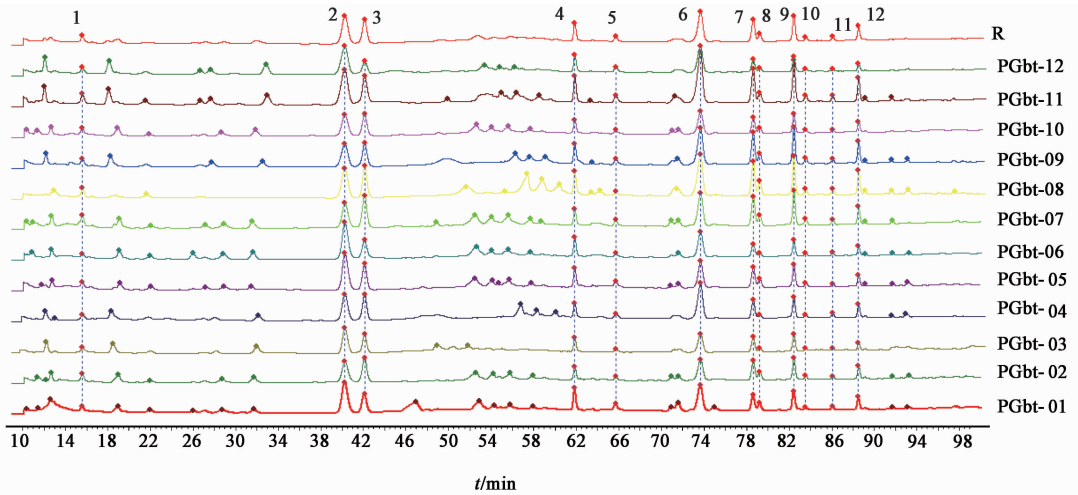


图 3 12 批人参标准汤剂的指纹谱和对照指纹谱

Fig. 3 HPLC fingerprint chromatograms of 12 batches of SDRG and reference fingerprint

表 3 12 批人参标准汤剂及对照指纹图谱的相似度

Table 3 Fingerprint similarities between 12 batches of SDRG and reference fingerprint

样品	PGbt-01	PGbt-02	PGbt-03	PGbt-04	PGbt-05	PGbt-06	PGbt-07	PGbt-08	PGbt-09	PGbt-10	PGbt-11	PGbt-12
PGbt-01	-											
PGbt-02	0.965	-										
PGbt-03	0.990	0.979	-									
PGbt-04	0.971	0.968	0.972	-								
PGbt-05	0.990	0.976	0.995	0.958	-							
PGbt-06	0.982	0.945	0.985	0.944	0.990	-						
PGbt-07	0.954	0.992	0.966	0.977	0.955	0.917	-					
PGbt-08	0.970	0.986	0.971	0.983	0.963	0.930	0.994	-				
PGbt-09	0.965	0.975	0.961	0.981	0.952	0.916	0.990	0.997	-			
PGbt-10	0.983	0.994	0.992	0.983	0.986	0.968	0.987	0.986	0.976	-		
PGbt-11	0.985	0.974	0.981	0.990	0.974	0.952	0.981	0.992	0.990	0.986	-	
PGbt-12	0.984	0.925	0.978	0.944	0.980	0.990	0.905	0.925	0.915	0.955	0.958	-
R	0.991	0.987	0.993	0.988	0.988	0.970	0.983	0.990	0.984	0.996	0.995	0.966

表 4 各批次标准汤剂共有峰的峰面积及其差异分析

Table 4 Common peak ratio of reference fingerprint and its variation analysis of 12 batches of SDRG

共有峰	t_R /min	PGbt-01	PGbt-02	PGbt-03	PGbt-04	PGbt-05	PGbt-06	PGbt-07	PGbt-08	PGbt-09	PGbt-10	PGbt-11	PGbt-12	R	对照峰占共有峰总峰面积比率/%	峰面积 RSD /%
1	15.6	74.8	105.2	80.2	76.2	64.5	38.9	151.2	129.7	69.2	107.2	151.5	87.7	94.7	2.9	37.1
2	40.1	772.0	542.0	556.1	633.6	864.5	938.9	631.4	837.6	678.4	574.8	1085.1	856.7	747.6	22.9	23.0
3	42.0	366.0	489.9	332.0	484.9	474.5	466.0	629.2	650.2	520.0	446.4	622.1	291.5	481.1	14.8	23.9
4	61.7	261.1	141.4	158.8	165.6	198.2	226.3	196.7	267.4	272.0	160.9	295.1	189.4	211.1	6.5	24.6
5	65.5	107.6	55.5	51.9	72.5	99.3	64.2	100.1	53.9	98.0	65.9	112.1	79.7	80.1	2.5	27.9
6	73.4	614.2	468.5	401.7	793.5	548.4	560.8	741.6	963.6	863.5	513.7	1159.0	563.1	682.6	20.9	33.0
7	78.4	224.2	272.8	191.7	239.5	283.4	184.4	420.8	511.4	455.8	236.1	507.6	167.5	307.9	9.4	41.9
8	79.0	106.4	112.1	30.6	28.9	115.0	52.9	142.0	208.2	150.9	81.7	145.9	33.4	100.7	3.1	56.4
9	82.2	259.1	268.4	205.9	289.3	279.8	183.4	400.6	473.0	445.5	220.1	505.9	183.9	309.6	9.5	37.5
10	83.3	33.0	40.8	24.2	39.5	42.4	28.8	71.3	75.4	69.0	33.9	81.2	34.0	47.8	1.5	42.5
11	85.8	40.9	31.0	21.1	48.6	31.7	38.0	55.4	66.0	61.4	26.5	68.9	27.5	43.1	1.3	38.5
12	88.2	163.8	163.9	69.8	132.1	126.7	98.9	189.2	256.3	222.8	120.1	241.0	75.0	155.0	4.8	40.3

3.4 颗粒分析检验 以生成的对照指纹图谱对标准汤剂 PGbt-02 和 PG02-KL 进行分析检验, 见图 4。标准汤剂 PGbt-02, PG02-KL 与对照指纹图谱的共有峰占比分析见表 5。结果表明颗粒中各共有峰占比与标准汤剂相比变化不大, 在占比 $\geq 9.9\%$ 的 5 个共有峰中, 只有 6 号色谱峰(人参皂苷 Rb_1) 占比变化 $> 10\%$, 结合 2.5.3 项下样品稳定性考察中 PG-04

供试品溶液室温下人参皂苷 Rb_1 峰面积增加, 表明该成分在制粒过程中可能有新的转化或生成; 在颗粒中某些成分含量相对增加, 非共有峰面积占比较标准汤剂有所增加(PGbt-02 和 PG02-KL 的非共有峰面积占比分别为 35.5% 和 42.1%), 与对照指纹图谱相似度(0.989) 也较标准汤剂的(0.993) 有所下降。但就整体情况而言变化不大, 在一个可控范围内。

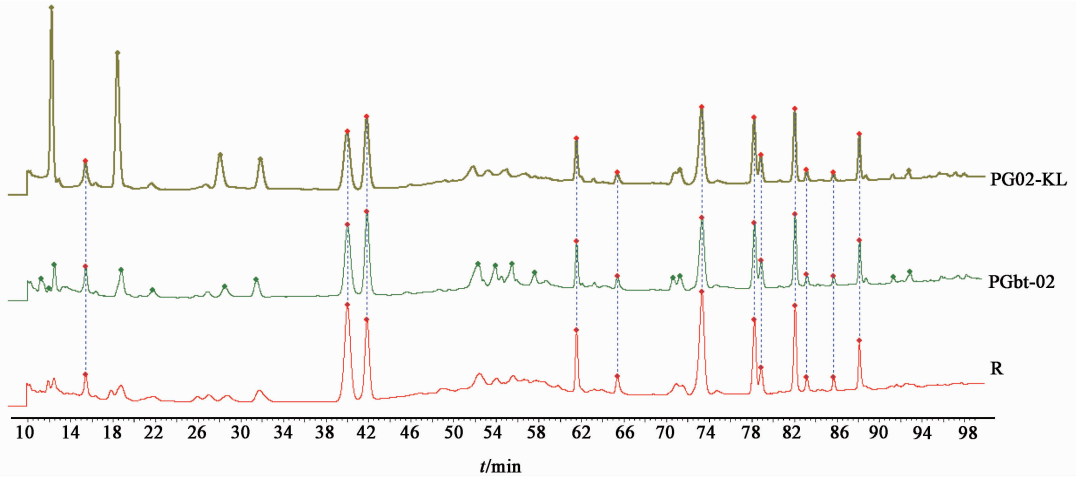


图 4 PG-02 人参样品标准汤剂、颗粒的指纹谱

Fig. 4 Fingerprint of formula granules, compared with the same batch of SDRG and reference fingerprint

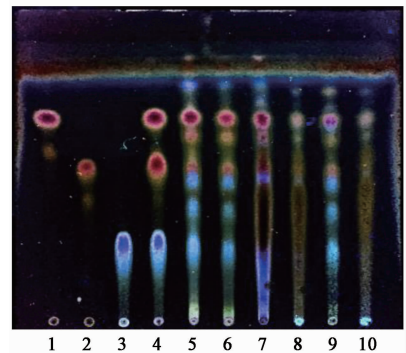
表 5 PG-02 人参样品标准汤剂、颗粒的各共有峰峰面积及占比分析

Table 5 Common peak ratio analysis of formula granules

共有峰	t_R / min	对照指纹 图谱峰 面积	PGbt-02 峰面积	PGbt-02 共有峰 占比/%	PG02-KL 峰面积	PG02-KL 共有峰 占比/%	共有峰 占比相对 变化率 /%
1	15.6	83.9	105.2	3.9	122.8	4.7	19.7
2	40.1	656.0	542.0	20.1	478.9	18.3	-9.3
3	42.0	479.7	489.9	18.2	458.8	17.5	-3.9
4	61.7	193.0	141.4	5.3	126.7	4.8	-8.1
5	65.5	69.2	55.5	2.1	54.2	2.1	0.1
6	73.4	562.0	468.5	17.4	518.0	19.7	13.4
7	78.4	256.1	272.8	10.1	280.9	10.7	5.6
8	79.0	96.9	112.1	4.2	117.6	4.5	7.6
9	82.2	274.1	268.4	10.0	258.6	9.9	-1.1
10	83.3	40.2	40.8	1.5	40.9	1.6	3.0
11	85.8	34.9	31.0	1.2	28.1	1.1	-7.0
12	88.2	129.4	163.9	6.1	137.8	5.3	-13.7

3.5 标准汤剂特征峰的鉴定^[11] 共指认出了 10 种皂苷类成分, 见表 6。

3.6 TLC 鉴别 见图 5。结果显示颗粒、药材薄层鉴别溶液在与对照药材色谱和对照品色谱相应位置上, 均显有相同颜色的斑点或荧光斑点。PGhc-02, PGbt-02 及 PG02-KL 液相供试品溶液中, 由于有其他物质的干扰, 部分斑点被掩盖。



1. 人参皂苷 Rg_1 对照品; 2. 人参皂苷 Re 对照品; 3. 人参皂苷 Rb_1 对照品; 4. 混合对照品; 5. 对照药材; 6. PG-02; 9. PG02-KL 颗粒薄层鉴别; 7. PGhc-02; 8. PGbt-02; 10. PG02-KL 颗粒液相

图 5 颗粒和原饮片等样品的 TLC

Fig. 5 TLC analysis of formula granules and original slices of Ginseng Radix et Rhizoma

4 讨论

4.1 标准汤剂作为中间体用以质量控制的可行性 汤剂是我国应用最早、最广泛的一种剂型, 至今仍被广为应用。参考汤剂临床应用制法制得的标准汤剂(或煎膏), 与饮片质量和临床应用物质基础密切相关。

由表 7 可知, 传统饮片经标准汤剂到配方颗粒过程中的质量传递分析表明, 标准汤剂是质量变化

表 6 人参标准汤剂指纹图谱中共有峰的鉴定

Table 6 Compound identification of common peaks through UPLC-Q-TOF/MS

共有峰	t_R /min	分子式	m/z	相对分子质量/Da	成分	相对分子质量误差 /mDa	MS/MS
1	2.60	-	409.207 5 [M - H]	-	-	-	-
2	5.31	C ₄₂ H ₇₂ O ₁₄	845.490 3 [M + HCOO]	800.492 2	人参皂苷 Rg ₁	-0.1	637.431 4, 475.378 1, 391.284 2
3	5.62	C ₄₈ H ₈₂ O ₁₈	991.547 9 [M + HCOO]	946.550 1	人参皂苷 Re	-0.4	799.484 1, 783.489 1, 637.431 7, 475.378 3, 391.284 4
4	11.60	C ₄₂ H ₇₂ O ₁₄	799.484 6 [M - H]	800.492 2	人参皂苷 Rf	-0.4	637.431 2, 475.378 4, 391.283 9
5	12.24	C ₄₁ H ₇₀ O ₁₃	815.479 1 [M + HCOO]	770.481 6	三七皂苷 R ₂	-0.7	637.431 4, 475.378 4, 391.284 4
6	14.25	C ₅₄ H ₉₂ O ₂₃	1 107.595 0 [M - H]	1 108.602 9	人参皂苷 Rb ₁	-0.6	945.541 9, 783.489 3, 459.383 6
7	15.29	C ₅₃ H ₉₀ O ₂₂	1 077.584 2 [M - H]	1 078.592 4	人参皂苷 Rc	-0.9	945.541 9, 783.489 3, 621.436 3, 459.383 6
8	15.56	C ₅₈ H ₉₈ O ₂₆	1 209.626 9 [M - H]	1 210.634 6	人参皂苷 Ra ₁ /Ra ₂	-0.4	1 077.584 4, 783.489 3, 323.097 5
9	16.62	C ₅₃ H ₉₀ O ₂₂	1 077.584 0 [M - H]	1 078.592 4	人参皂苷 Rb ₂	-1.1	945.541 9, 915.530 7, 783.489 3, 765.477 6, 621.436 3, 459.383 6
10	17.15	C ₅₃ H ₉₀ O ₂₂	1 077.583 1 [M - H]	1 078.592 0	人参皂苷 Rb ₃	-2.0	945.541 9, 915.530 7, 783.489 3, 765.477 6, 621.436 3, 459.383 6
12	19.58	C ₄₈ H ₈₂ O ₁₈	945.542 4 [M - H]	946.550 1	人参皂苷 Rd	-0.5	783.489 3, 765.477 6, 621.436 3, 459.383 6

的分水岭,提取过程是由传统饮片到标准汤剂的质的转移(即有效成分的溶出),而由标准汤剂到配方颗粒只是量变过程(包括浓缩、加辅料、制粒等),标准汤剂的质量决定了终产品的质量。其他诸如中药颗粒饮片、破壁饮片等饮片应用形式,临床应用以煎煮或冲服为主(也是以水为溶媒的液体形式),与

标准汤剂本质相近,见图 6。依照配方颗粒生产过程中煎液与标准汤剂的同质性,考虑到汤液易分析、调配而煎膏易储存、运输的特点,可将标准汤剂调配、浓缩成浸膏或干膏粉(即标准煎膏)作为中间体对照品使用,用以针对批次间饮片质量差异设计合理的投料方案,达到中间体和终产品批次间的质量一致。

表 7 人参饮片经标准煎煮到颗粒过程中的质量传递

Table 7 Mass transfer process from decoction pieces to formula granules through SDRS

样品	以 100 g 饮片计指标成分质量/g(较上一节点转移率/%)			与对照指纹图谱的相似度	当量(干物质相当于原饮片)
	人参皂苷 Rg ₁	人参皂苷 Re	人参皂苷 Rb ₁		
PG-02	0.181(-)	0.245(-)	0.238(-)	-	1.000
PGbt-02	0.142(78.5)	0.175(71.4)	0.165(69.3)	0.993	2.385
PG-02KL	0.138(97.2)	0.179(102.3)	0.199(120.6)	0.989	0.904

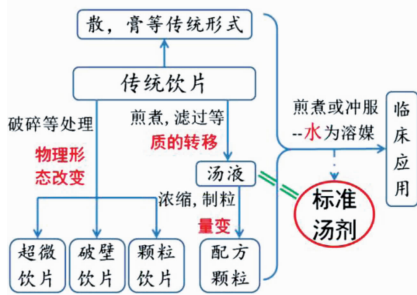


图 6 标准汤剂与不同饮片形式及临床应用之间的关系

Fig. 6 Relationships among standard decoction, other forms of decoction pieces and usage of clinical practice

4.2 标准汤剂标准体系影响因素的探讨

4.2.1 样本来源的代表性决定了标准体系的覆盖度 人参主产于吉林、黑龙江、辽宁等地,其中吉林

产量占东北三省总量的 84.6%^[12]。本实验所收集的样本包括主产区及种植基地、产区及非产区批发企业、药市等来源的样品,包括不同年限、不同规格等级,具有一定的代表性,且经 DNA 条形码鉴定、指标成分含量测定等检测均符合 2015 年版《中国药典》标准,结果能反映人参饮片产业的真实差异水平。

4.2.2 依法炮制是饮片质量控制和疗效稳定的前提 炮制是中医用药的特点之一,中药材一般需经炮制成饮片后方能临床应用,而部分炮制方法甚至能够改变中药的性味归经。人参饮片应为薄片(厚度 1~2 mm),而部分市场药材过薄或过厚。故本文以较常见薄片更薄的 PG-6B 与 PG-06 进行比较,PG-6B 水分含量(3.7%)更低,吸水能力强,煎煮时

头煎加 7 倍量水未能完全浸没药面,这是其汤剂 PGbt-6B 指标成分转移率(人参皂苷 $R_{g_1} + R_e$ 和人参皂苷 R_{b_1} 转移率分别为 67.5% 和 72.7%) 较 PGbt-06 低的原因。

4.2.3 提取工艺的改进促进饮片的高效利用 标准汤剂的制备过程实际上就是饮片的质转移至汤液的过程,除饮片的炮制外,煎煮、滤过等工艺也会对质的转移造成影响,包括物料比、提取次数、煎煮功率、浓缩方式等。对经 2 次提取后的 PG-06 人参饮片药渣进行第 3 次提取,第 3 次提取后出膏约 6.5 g (约为前 2 次提取出膏总量的 15%)。另外,100 g 人参饮片经提取后的鲜渣质量在 316 ~ 390 g (达到干药渣质量的 6 ~ 9 倍),表明经常规滤过的药渣中仍含有大量药液,采用合适的固液分离技术(离心、压榨药渣等)能有效提高出膏率,促进饮片的高效利用。与此同时,工艺调整也会影响标准汤剂的整体参数水平,标准的制定应以相对固化的工艺流程(标准工艺)为前提。

4.2.4 标准汤剂供试品溶液制备的代表性 因制成的人参标准汤剂底部有沉淀,故考察了沉淀对指标成分含量的测定和指纹图谱相似度的影响,结果发现取汤剂上层清液及下层液体(含较多沉淀,加甲醇定容、超声)制得的供试品溶液(PGbt-8A, PGbt-8D),与标准汤剂混匀后取样制得的供试品溶液(PGbt-08)相比,三者指标成分峰面积基本一致(3 种指标成分峰面积的 RSD 分别为 1.1%, 2.5%, 1.0%),指纹图谱相似度 1.000。

4.2.5 稳定的原料来源是终产品质量一致的关键 标准汤剂作为标化临床用药的标准体系,对其进行质量控制显得尤为重要。经 12 批不同饮片所得标准汤剂的分析中可知,不同批次间指纹图谱相似度 0.905 ~ 0.997,而厚薄相差 1 倍、头煎未能完全浸没药面制得的 PGbt-6B 与 PGbt-06 相似度即达 0.997,说明在工艺条件大致确定的条件下,饮片质量对标准汤剂指纹图谱相似度的影响权重高于工艺对其的影响。因此,为了保证批次间产品质量一致,稳定的原料来源(特别是对于多基原的中药品种)显得极为关键。同时,完善的工艺流程设计也是合格终产品的必要条件,包括通过批次间的调配来提高终产品的一致性。

因此,标准汤剂标准体系应建立在具代表性、经由标准工艺制备的样本上,反映此工艺条件下该品种行业内的真实差异水平。另外,在实际生产中应结合生产实践,控制原料质量,并对炮制、提取、浓缩

等工艺进行优化调整,形成较高水平的工艺标准体系,保证中间体和终产品的质量,即质量源于设计^[13]。

4.3 标准汤剂参数因子阈值设定的探讨 通过对人参饮片标准汤剂的研究,以 2015 年版《中国药典》规定的含量限度为基准,结合实际研究结果,可为标准汤剂设置准入标准,以控制市场不同用药形式饮片之间的质量,还能为企业的内控标准提供参考。若参考 2015 年版《中国药典》人参饮片含量的规定,结合人参皂苷 R_{g_1} , R_e 总转移率与人参皂苷 R_{b_1} 转移率分别不低于 55.6%, 62.1% 的标准(置信度以 95% 计),即标准汤剂中人参皂苷 $R_{g_1} + R_e$ 和人参皂苷 R_{b_1} 的质量浓度分别不低于 0.300, 0.224 $g \cdot L^{-1}$;若仅以本实验的数据,参考实验极值,则人参皂苷 $R_{g_1} + R_e$ 和人参皂苷 R_{b_1} 的质量浓度分别不低于 0.529, 0.282 $g \cdot L^{-1}$;出膏率不低于 40%,即经标准汤剂制得的终产品当量(每 1 g 固体相当于饮片量)应不超过 2.5;批次间指纹图谱相似度不得低于 0.905,与对照指纹图谱相比相似度不得低于 0.966。

若以来源相对稳定或者同一来源不同投料批次的样本进行试验,各参数的阈值应更为严格。例如同产地 PG-07, PG-08, PG-09,虽然种植年限不一样且商品等级不完全相同,但是三者相互间指纹图谱相似度均 ≥ 0.990 。因此,为了保证标准汤剂及终产品质量的稳定,需控制饮片的原料来源,最好能采用固定产地同一品种的原料;除产地因素外,同一种饮片不同基原之间的差异可能更大,不宜混用,需严格区分。

4.4 优质优价可能性的探讨 在现今中药材市场中,优质药材一般制成饮片供给医院、药店,而部分企业用较差等药材作为中成药的原料进行投料生产。由本实验分析的不同批次人参样本可以发现,指标成分人参皂苷 R_{g_1} , R_e , R_{b_1} 的含量与人参的生长年限(PG-07 ~ 09)不成正比,三年生的人参皂苷 R_e 含量较高,四年生的人参皂苷 R_{g_1} , R_{b_1} 含量较高;而同一来源经炮制分选的人参饮片,小选饮片(PG-11)的各指标成分含量、出膏率均高于大选饮片(PG-12)。因此,如何从检测手段方面甄别饮片原料质量优劣有待进一步研究。

人参煎膏的单用或参与调配已有近 700 年的临床应用实践。《本草纲目》【人参】项下附方首方即为人参膏(用人参十两切细,以活水二十盞浸透,入银石器内,桑柴火缓缓煎取十盞,滤汁,再以水十盞,

煎取五盏,与前汁合煎成膏,瓶收,随病作汤使),“丹溪云‘肺肾虚极者,独参膏主之’,‘用生姜、橘皮煎汤化膏服之’;”“急煎大料人参膏,仍与炙气海十八壮”,“遂与大料人参膏,入竹沥饮之”,“急作参膏,以芎、归、橘皮作汤,如竹沥、姜汁饮之”^[4]。与人参膏制法相近的人参饮片标准汤剂及标准煎膏的研究,能够为不同形式人参饮片的开发、生产、质量控制提供参考,确保安全、有效。

近几十年来,配方颗粒、超微饮片等现代新型饮片参与处方调配使中药临床应用形式更加丰富,而“饮片标准汤剂(标准煎液,及其煎膏)”的出现,不仅可作为中间体对照品对生产过程进行控制,保证终产品质量稳定、一致,同时能以标准参照物的形式对这些不同的用药形式进行标化以期进行鉴别和质量控制,保障临床用药效果。随着配方颗粒市场的逐步放开,作为中药饮片最传统、最广泛的用药形式,同时作为配方颗粒制剂中间体的汤剂的标准具有极其重要的意义。标准汤剂与中药饮片临床应用基本属性一致,同时能解决配方颗粒等用药形式性状缺失条件下的质量控制难题。以指标成分含量、指纹图谱相似度^[14]、出膏率构成的“点线面”一体的标准汤剂中间体质控标准^[5],有利于工艺的优化设计和终产品的质量控制。同时,各生产企业也应加强标准汤剂的研究,从源头保障稳定原料药材的供应^[15],建立高水平的中间体及成品内控标准,形成从原药材到中间体再到终产品产业链的全过程追溯体系^[16],保障优质、稳定饮片的供应,以满足临床用药需求。

[致谢]感谢中药研究所刘安老师、代云桃老师对实验整体设计方面的指导,感谢盛实百草药业有限公司提供人参药材样本,感谢沃特世科技(上海)有限公司范自全工程师协助进行质谱分析。

[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,2015:8-9.
[2] 宋承吉. 单味人参药用考[J]. 人参研究,2005,17

(1):2-3.
[3] 宋承吉.《十药神书》与独参汤[J]. 人参研究,2005(2):2-3.
[4] 李时珍. 本草纲目[M]. 刘衡如,刘山永,校. 4版. 北京:华夏出版社,2011:489-496.
[5] 陈士林,刘安,李琦,等. 中药饮片标准汤剂研究策略[J]. 中国中药杂志,2016,41(8):1367-1375.
[6] 卫生部,国家中医药管理局. 76种药材商品规格标准[S]. 1984:21.
[7] 陈士林,姚辉,韩建萍,等. 中药材DNA条形码分子鉴定指导原则[J]. 中国中药杂志,2013,38(2):141-148.
[8] 国家中医药管理局,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.
[9] 朱广伟,李西文,陈士林. 白芍饮片标准汤剂质量标准研究[J]. 世界中医药,2016,11(5):753-757.
[10] 朱琳,周家明,赵爱,等. 三七新型饮片(三七配方颗粒)的成型工艺研究[J]. 人参研究,2010,22(2):26-27.
[11] XIE G, Plumb R, SU M, et al. Ultra-performance LC/TOF MS analysis of medicinal Panax herbs for metabolomic research[J]. J Sep Sci, 2008, 31(6/7):1015-1026.
[12] 王勇,高阳. 吉林省人参产业发展现状、问题及建议[J]. 中国食物与营养,2013,19(11):28-29.
[13] 崔雅华,王茜,徐冰,等. 质量源于设计:基于知识组织的中药生产潜在关键工艺参数的辨识[J]. 中国实验方剂学杂志,2016,22(15):1-8.
[14] 祝明,陈碧莲,石上梅. 中药指纹图谱技术在中国药典2015年版一部中的应用[J]. 中国现代应用药学,2016,33(5):611-614.
[15] 沈亮,吴杰,李西文,等. 人参全球产地生态适宜性分析及农田栽培选地规范[J]. 中国中药杂志,2016,41(18):3314-3322.
[16] 蔡勇,李西文,倪静云,等. 基于二维码的中药质量可追溯系统[J]. 中药材,2016,39(2):275-280.

[责任编辑 刘德文]