

连翘标准汤剂质量评价体系的建立

曹静亚^{1,2}, 李晓^{2,3}, 宋梦娇^{1,2}, 魏悦^{1,2}, 张丽先^{1,2},
李智宁^{1,2}, 李自红^{1,2}, 陈玲^{2,3*}

(1. 河南科高中标检测技术有限公司, 郑州 450002; 2. 河南省生物技术开发中心, 郑州 450002;
3. 河南省植物天然产物开发工程技术研究中心, 郑州 450002)

[摘要] **目的:**制备连翘标准汤剂并进行其质量标准研究。**方法:**根据标准汤剂的制备要求,制备16批连翘标准汤剂,以连翘苷、连翘酯苷A作为定量检测指标,计算指标成分转移率与出膏率,建立其HPLC指纹图谱分析方法。**结果:**通过对16批连翘标准汤剂进行测定,建议连翘标准汤剂出膏率范围13.61%~25.27%;连翘苷转移率范围58.61%~100.00%;连翘酯苷A转移率范围27.88%~51.78%。利用“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”(2012版)软件进行指纹图谱分析,标定了共有峰10个,分析确认了6个色谱峰,分别为forsythenside F(3号峰),连翘酯苷I(4号峰),(+)松脂醇-4-O-β-D-吡喃葡萄糖苷(5号峰),连翘酯苷A(6号峰),连翘苷(7号峰)和连翘脂素(10号峰)。采用特征峰评价模式,以峰7作为S峰,规定上述6个特征峰与S峰的相对保留时间分别为0.47,0.52,0.67,0.71,1.00,1.27。**结论:**本研究成功建立了连翘标准汤剂的质量评价方法,该方法准确、重复性好、特征性强,可为连翘配方颗粒的质量控制提供参考。

[关键词] 连翘; 标准汤剂; 指纹图谱; 质量标准; 转移率; 出膏率; 连翘苷

[中图分类号] R22;R289;R283.6;R284;R94 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2018)07-0007-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20180701

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20180110.1629.010.html>

[网络出版时间] 2018-01-11 15:59

Quality Evaluation of Standard Decoction of Forsythiae Fructus

CAO Jing-ya^{1,2}, LI Xiao^{2,3}, SONG Meng-jiao^{1,2}, WEI Yue^{1,2}, ZHANG Li-xian^{1,2},
LI Zhi-ning^{1,2}, LI Zi-hong^{1,2}, CHEN Ling^{2,3*}

(1. Henan Cogo Testing International Standardizing Technology Co. Ltd., Zhengzhou 450002, China;
2. Biological Developing Center of Henan Academy of Sciences, Zhengzhou 450002, China;
3. Henan Plant Natural Products Development Engineering Research Center, Zhengzhou 450002, China)

[Abstract] **Objective:** To prepare standard decoction of Forsythiae Fructus and establish its quality standard. **Method:** Sixteen batches of standard decoction of Forsythiae Fructus were prepared according to the standardization method. With forsythin and forsythoside A as detection indexes, the transfer rates of index components and extraction rates were calculated and the HPLC fingerprint analysis method was established. **Result:** Through the measurement of 16 batches of standard decoction of Forsythiae Fructus, the extraction rate was ruled from 13.61% to 25.27%, the transfer rates of forsythin and forsythoside A were defined as 58.61%-100.00% and 27.88%-51.78%, respectively. Besides, the similarity evaluation system for chromatographic fingerprint of traditional Chinese medicine (version 2012) was used to analyze the fingerprint, ten common peaks were determined and six were calibrated, including forsythenside F (peak 3), forsythoside I (peak 4), (+)

[收稿日期] 20170810(002)

[基金项目] 河南省科技攻关项目(162102310345,172102310345)

[第一作者] 曹静亚, 硕士, 实习研究员, 从事中药质量研究, Tel:0371-55935563, E-mail:caojingya1101@126.com

[通信作者] * 陈玲, 硕士, 助理研究员, 从事中药质量研究, Tel:0371-55935563, E-mail:10093095@qq.com

pinoselinol 4-*O*- β -*D*-glucopyranoside (peak 5), forsythoside A (peak 6), forsythin (peak 7) and phillygenin (peak 10); taking the characteristic peak evaluation model, the relative retention time of each characteristic peak were defined as 0.47, 0.52, 0.67, 0.71, 1.00, 1.27 with peak 7 as a reference. **Conclusion:** This study establishes a method for the quality evaluation of standard decoction of Forsythiae Fructus. The method is accurate, reproducible and characterized. Therefore, it can provide a reference for the quality control of Forsythiae Fructus dispensing granules.

[**Key words**] Forsythiae Fructus; standard decoction; fingerprint; quality standard; transfer rate; extraction rate; forsythin

一直以来,中药的服用都是以煎剂为主,然而,由于其煎煮时间长、携带不方便等缺点,已很难适应现代的快节奏生活方式。为了满足临床用药性的便利和一致性需求,中药配方颗粒、微粉等新式中药剂型应运而生。但由于缺乏有效的质量标准和质量监控体系,这些剂型之间存在质量标准不明确、剂量不统一、质量不均一等问题。陈士林等^[1]首次提出采用中药标准汤剂来标准化不同用药形式,以提高临床用药的准确性和疗效的一致性。标准汤剂系遵循中医药理论,按照临床汤剂煎煮方法规范化煎煮,固液分离,经适宜干燥制得,作为衡量中药配方颗粒是否与临床汤剂基本一致的标准参照物^[2-5]。

连翘具有清热解毒、消肿散结、疏散风热等功效,分布于河北、山东、河南、山西、陕西等省^[6],主要化学成分为苯乙醇苷类、木脂素类、三萜类、挥发油类、黄酮类等^[7-8]。现代药理研究表明连翘具有抑菌、抗病毒、抗氧化、解热抗炎和抗肝损伤等作用^[9],其是双黄连口服液、清热解毒口服液、银翘解毒片等中药制剂的主要原料,临床应用广泛,是一味常用中药^[10]。因此,连翘标准汤剂的质量研究将为这些不同成方药物和连翘配方颗粒的质量标准制定奠定基础。

本实验根据《中药配方颗粒质量控制与标准制定技术要求(征求意见稿)》要求,选择 4 个连翘大宗产地共 16 批药材,制备连翘的标准汤剂。按照 2015 年版《中国药典》的方法对连翘标准汤剂中主要指标成分连翘苷和连翘酯苷 A 含量进行测定;对其主要工艺参数出膏率和转移率范围进行标定;建立该标准汤剂对照指纹图谱,采用高效液相色谱-二极管阵列-电喷雾质谱(HPLC-DAD-ESI/MS)技术,结合对照品比对,对指纹图谱的主要共有峰进行指认。本实验完成了从药材质量控制、中间过程参数制定和标准汤剂指纹图谱研究的整个质量控制过程,为连翘药材标准汤剂的研究提供参考。

1 材料

1260 型高效液相色谱仪和 6460 型三重串联四极杆质谱仪(美国安捷伦公司),ME204 型分析天平(瑞士梅特勒-托利多公司),AUW220D 型分析天平(日本岛津公司),HGJR-01 型红外加热仪(河南中良科学仪器有限公司),LGJ-12 型低温冷冻干燥机(北京松源华兴科技发展有限公司)。

16 批连翘药材购于河南、山西、河北等地,经河南大学药学院张保国教授鉴定为木犀科植物连翘 *Forsythia suspensa* 的干燥果实,均符合 2015 年版《中国药典》(一部)的要求;连翘苷、连翘酯苷 A 对照品(中国食品药品检定研究院,批号分别为 110821-201615, 111810-201606,纯度依次为 94.9%, 93.4%),(+)松脂醇-4-*O*- β -*D*-吡喃葡萄糖苷、连翘脂素对照品(成都普菲德生物技术有限公司,批号分别为 17041701, 17032905,纯度均 $\geq 98\%$), forsythenside F 和连翘酯苷 I 为实验室自制^[11],水为娃哈哈纯净水,甲醇为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 溶液的制备

2.1.1 连翘标准汤剂 连翘是果实类、清热解毒类药材,依据《中药配方颗粒质量控制与标准制定技术要求(征求意见稿)》制定连翘标准汤剂的提取方法。取连翘药材 100 g,破壳,煎煮 2 次,第 1 次加 8 倍量水浸泡 30 min,煮沸后煎煮 20 min;第 2 次加 6 倍量水,煮沸后煎煮 20 min;固液分离,趁热用 200 目滤布过滤,滤液迅速降温;两煎液合并后减压浓缩,浓缩温度设定 $< 50\text{ }^{\circ}\text{C}$,减压浓缩至约 80 mL,用冷冻干燥机干燥。

2.1.2 供试品溶液 精密称取连翘标准汤剂 0.1 g,置 100 mL 锥形瓶中,加入甲醇 20 mL,称定质量,超声处理 30 min,放冷,用甲醇补足减失的质量,摇匀,过 0.45 μm 微孔滤膜,取续滤液,即得。

2.1.3 对照品溶液 精密称取连翘苷、连翘酯苷 A

对照品适量,置棕色量瓶中,加甲醇制成质量浓度分别为 0.52, 1.08 g·L⁻¹ 的混合对照品溶液,摇匀,作为储备液,于 <4 ℃ 保存。

2.2 指标成分的含量测定

2.2.1 色谱条件 采用 Agilent Eclipse XDB-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相甲醇(A)-水(B)梯度洗脱(0 ~ 10 min, 10% ~ 25% A; 10 ~ 40 min, 25% ~ 40% A; 40 ~ 60 min, 40% ~ 60% A),流速 1.0 mL·min⁻¹,柱温 35 ℃,进样量 10 μL,检测波长 235 nm。理论板数按连翘酯苷 A 峰计 ≥ 4 000。

2.2.2 线性关系考察 取 2.1.3 项下混合对照品溶液,分别加甲醇稀释 2, 5, 10, 20, 50, 100 倍,按 2.2.1 项下色谱条件测定,以进样量为横坐标,峰面积为纵坐标,得连翘苷和连翘酯苷 A 的回归方程分别为 $Y = 1\ 435.90X - 2.06$ ($r = 0.999\ 0$), $Y = 860.98X + 2.91$ ($r = 0.998\ 0$),线性范围依次为 5.2 ~ 260, 10.8 ~ 540 mg·L⁻¹。

2.2.3 精密度试验 取 2.1.3 项下混合对照品溶液,分别稀释 2, 10, 50 倍,每个平行制定 3 份,按 2.2.1 项下色谱条件测定,计算 3 个质量浓度下连翘苷峰面积的 RSD 分别为 0.8%, 0.6% 和 0.6%,连翘酯苷 A 峰面积的 RSD 分别为 1.0%, 0.7% 和 0.6%,表明日内精密度良好。同法平行操作 3 d,计算 3 个质量浓度下连翘苷峰面积的 RSD 分别为 2.0%, 1.1% 和 1.0%,连翘酯苷 A 峰面积的 RSD 分别为 2.0%, 1.9% 和 1.5%,表明日间精密度良好。

2.2.4 稳定性试验 取河南产地 S1 号连翘标准汤剂样品,按 2.1.2 项下制备供试品溶液,分别于 0, 2, 4, 8, 12, 24 h 按 2.2.1 项下色谱条件测定,计算连翘苷、连翘酯苷 A 峰面积的 RSD 分别为 1.1% 和 2.1%,说明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.2.5 重复性试验 取河南产地 S1 号连翘标准汤剂样品 6 份,按 2.1.2 项下方法制备供试品溶液,按 2.2.1 项下色谱条件测定,结果连翘苷、连翘酯苷 A 平均质量分数分别为 1.22% 和 2.06%,RSD 依次为 1.3% 和 1.9%,表明该方法重复性良好。

2.2.6 加样回收试验 分别称取河南产地 S1 号连翘标准汤剂样品 9 份,每份 0.05 g,精密称定,分别精密加入不同质量浓度水平的混合对照品溶液,按 2.1.2 项下方法制备供试品溶液,按 2.2.1 项下色谱条件测定,结果连翘苷和连翘酯苷 A 的平均加样回收率分别为 97.54% (RSD 1.2%) 和 96.50% (RSD 1.0%),表明该方法准确可靠。见表 1。

表 1 连翘标准汤剂中连翘苷和连翘酯苷 A 的加样回收试验 ($n=3$)

Table 1 Recovery test of forsythin and forsythoside A in standard decoction of Forsythiae Fructus ($n=3$)

成分	样品中量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
连翘苷	0.61	0.78	1.36	96.15	97.54	1.2
	0.61	0.62	1.22	98.39		
	0.61	0.52	1.12	98.08		
连翘酯苷 A	1.03	1.30	2.29	96.92	96.50	1.0
	1.03	1.08	2.08	97.22		
	1.03	0.86	1.85	95.35		

2.2.7 样品测定 精密称取连翘标准汤剂样品适量,按 2.1.2 项下方法制备供试品溶液 ($n=3$),分别按 2.2.1 项下色谱条件测定,采用外标法计算连翘苷和连翘酯苷 A 含量,见表 2。

表 2 连翘标准汤剂的出膏率及其指标成分的含量测定 ($n=3$)

Table 2 Extraction rates and contents of forsythin and forsythoside A in standard decoction of Forsythiae Fructus ($n=3$) %

编号	产地	浸膏得率	连翘苷			连翘酯苷 A		
			饮片	标准汤剂	转移率	饮片	标准汤剂	转移率
S1 ¹⁾	河南 1	13.15	0.17	1.22	94.37	1.19	2.06	22.76
S2	河南 2	16.10	0.39	2.37	97.84	5.32	15.05	45.55
S3	河南 3	25.60	0.66	2.26	87.66	8.42	17.97	54.64
S4	河南 4	19.85	0.78	2.94	74.82	4.90	10.36	41.97
S5	河南 5	16.45	0.58	2.55	72.32	5.90	12.84	35.80
S6	山西 1	23.00	0.55	1.96	81.96	7.23	17.48	55.61
S7	山西 2	26.10	0.74	2.20	77.59	12.78	20.66	42.19
S8	山西 3	25.30	0.64	2.05	81.04	10.37	21.63	52.77
S9	山西 4	24.80	0.71	2.20	76.85	11.35	20.88	45.62
S10	山西 5	18.25	0.43	2.20	93.37	5.90	11.05	34.18
S11 ¹⁾	河北 1	12.55	0.31	1.55	62.75	1.85	4.18	28.36
S12 ¹⁾	河北 2	12.50	0.29	1.92	82.76	1.90	3.83	25.20
S13	河北 3	17.65	0.32	1.62	89.35	6.53	14.30	38.65
S14	陕西 1	20.40	0.54	2.57	97.09	5.59	13.72	50.07
S15	陕西 2	19.55	0.61	2.24	71.79	9.81	12.65	25.21
S16	陕西 3	19.75	0.53	2.63	98.00	7.01	13.75	38.74

注: ¹⁾ 表示老翘药材,其余均为青翘药材。转移率 = 标准汤剂中指标成分含量 × 浸膏得率 / 药材中指标成分含量 × 100%。

根据以上数据计算得出,连翘标准汤剂出膏率范围 12.50% ~ 26.10%,平均值 19.44%;标准汤剂中连翘苷转移率范围 62.75% ~ 98.00%,平均值

83.72%。连翘酯苷 A 转移率范围 22.76% ~ 55.61%，平均值 39.83%。《中药配方颗粒质量控制与标准制定技术要求(征求意见稿)》规定：“浸膏得率、转移率平均值的 70% ~ 130% 为出膏率、转移率的允许范围”。因此，建议设定连翘标准汤剂出膏率范围 13.61% ~ 25.27%，连翘苷转移率范围 58.61% ~ 108.84%，考虑到实际实验中转移率不可能超过 100%，因此规定连翘苷转移率范围为 58.61% ~ 100.00%，连翘酯苷 A 转移率范围为 27.88% ~ 51.78%。

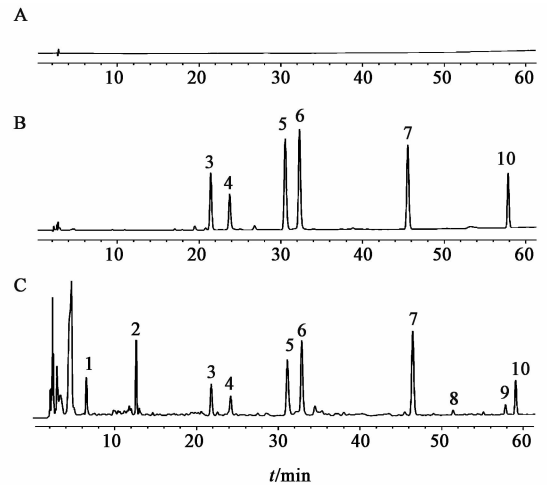
2.3 HPLC 指纹图谱分析

2.3.1 供试品溶液的制备 精密称取连翘标准汤剂 0.1 g，置 100 mL 锥形瓶中，加入 10% 甲醇 20 mL，称定质量，超声处理 30 min，放冷，用甲醇补足减失的质量，摇匀，过 0.45 μm 微孔滤膜，取续滤液，即得。

2.3.2 混合对照品溶液的制备 精密称取 forsythenside F，连翘酯苷 I，(+) 松脂醇-4-O-β-D-吡喃葡萄糖苷，连翘酯苷 A，连翘苷和连翘脂素对照品适量，加甲醇溶解并稀释至刻度，摇匀，配成质量浓度分别为 76.82, 54.71, 101.23, 158.90, 74.21, 29.66 mg·L⁻¹ 的混合对照品溶液。

2.3.3 分析条件 色谱条件为采用 Agilent Eclipse XDB-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm)，流动相甲醇(A)-水(B)梯度洗脱(0 ~ 10 min, 10% ~

25% A; 10 ~ 26 min, 25% ~ 33% A; 26 ~ 36 min, 33% A; 36 ~ 60 min, 33% ~ 60% A)，流速 1.0 mL·min⁻¹，柱温 35 °C，进样量 10 μL，检测波长 235 nm。见图 1。质谱条件为电喷雾离子源(ESI)，采用多反应监测(MRM)方式进行负离子检测，干燥气温度 350 °C，干燥气流量 10 L·min⁻¹，雾化气压力 275.8 kPa，毛细管出口电压、碰撞能量和相应的碎片信息见表 3。



A. 空白样品; B. 混合对照品; C. 供试品; 3. forsythenside F; 4. 连翘酯苷 I; 5. (+) 松脂醇-4-O-β-D-吡喃葡萄糖苷; 6. 连翘酯苷 A; 7. 连翘苷; 10. 连翘脂素

图 1 连翘标准汤剂的 HPLC 指纹谱

Fig. 1 HPLC fingerprint chromatograms of standard decoction of Forsythiae Fructus

表 3 连翘标准汤剂中 6 种成分检测的相关质谱信息

Table 3 Relevant MS information about six components in standard decoction of Forsythiae Fructus

化合物	λ_{\max}/nm	相对分子质量 /Da	MS ¹ (m/z)	MS ² (m/z)	碰撞能量 /eV	毛细管出口电压/V
forsythenside F	227	450	449.1	175.1, 315.1	18, 14	174
连翘酯苷 I	290, 332	624	623.2	161.1, 133.0	40, 70	183
(+) 松脂醇-4-O-β-D-吡喃葡萄糖苷	227, 280	520	519.2	357.1, 151.1	10, 38	114
连翘酯苷 A	290, 332	624	623.2	161.0, 133.0	40, 70	207
连翘苷	227, 280	534	533.2	371.2, 356.1	20, 36	128
连翘脂素	230, 276	372	371.2	356.1, 121.0	18, 40	148

2.3.4 重复性试验 取河南产地 S1 号连翘标准汤剂样品 6 份，按 2.3.1 项下方法制备供试品溶液，按 2.3.3 项下条件测定，结果各共有峰相对保留时间和相对峰面积的 RSD 均 < 3.0%，表明该方法重复性良好。

2.3.5 精密度试验 取河南产地 S1 号连翘标准汤剂样品，按 2.3.1 项下方法制备供试品溶液，按

2.3.3 项下条件连续进样 6 次，结果各共有峰相对保留时间和相对峰面积的 RSD 均 < 3.0%，表明仪器精密度良好。

2.3.6 稳定性试验 取河南产地 S1 号连翘标准汤剂样品，按 2.3.1 项下方法制备供试品溶液，分别在 0, 2, 4, 8, 12, 24 h 按 2.3.3 项下条件测定，结果各共有峰相对保留时间和相对峰面积的 RSD 均 <

3.0%,表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.3.7 特征峰指认 结合 HPLC-DAD-ESI/MS 技术,采用 MRM 方式进行负离子检测,获得相应的一级、二级碎片信息,结合文献[11-13]和对照品、紫外光谱信息,对该 6 个化合物进行指认,见表 3。

2.3.8 样品检测与分析 利用“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”(2012 版)软件,采用中位数法,自动匹配 16 批连翘标准汤剂的 HPLC 图谱,生成 16 批连翘标准汤剂的特征图谱及其对照指纹图谱,见图 2。标定了 10 个共有峰,其中 7 号峰(S 峰)为连翘苷(连翘主要指标成分之一),将其作为内参比峰。计算各共有峰(峰 1~10)的相对保留时间分别约为 0.142, 0.273, 0.470, 0.521, 0.670, 0.708, 1.000, 1.106, 1.244, 1.271;相对峰面积见表 4。

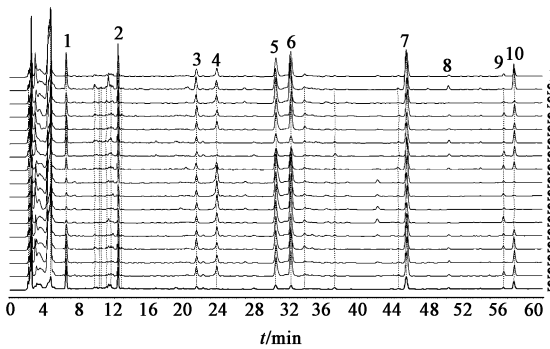


图 2 16 批连翘标准汤剂的指纹谱和对照指纹谱(R)
Fig.2 HPLC fingerprint chromatograms of 16 batches of standard decoction of Forsythiae Fructus and reference fingerprint(R)

结果发现在 16 批连翘标准汤剂样品中,以 7 号峰连翘苷作为内参比峰,允许范围按 $\pm 5\%$ 计算,各色谱峰相对保留时间均在规定范围内。因此,确定连翘标准汤剂供试品特征图谱中应有 6 个特征峰,以连翘苷峰作为内参比峰,计算各特征峰与内参比峰的相对保留时间,其相对保留时间均在规定值的 $\pm 5\%$ 之内。由表 4 可知,16 批连翘标准汤剂特征峰的相对峰面积 RSD 22.3%~71.8%,原因可能是由于样品中有青翘和老翘,虽然含量都能满足 2015 年版《中国药典》的要求,但药材中化学成分含量差异较大,故选择相对保留时间作为质控指标,以保证不同标准汤剂样品之间的一致性。

3 讨论

为了使样品更具代表性,本研究选择了青翘和老翘样品,检测发现青翘中连翘苷含量基本能符合 2015 年版《中国药典》的要求,但是老翘中 90% 以上样品中连翘苷含量不合格,所以建议后续《中国药典》应该分别规定青翘和老翘中连翘苷的含量,

表 4 16 批连翘标准汤剂样品中特征峰的相对峰面积

Table 4 Relative peak area of common peaks in 16 batches of standard decoction of Forsythiae Fructus

样品	峰 1	峰 2	峰 3	峰 4	峰 5	峰 6	峰 8	峰 9	峰 10
S1	1.029	0.808	0.189	0.022	0.321	0.276	0.116	0.082	0.471
S2	0.398	0.499	0.303	0.374	0.797	1.082	0.061	0.136	0.310
S3	0.484	0.388	0.215	0.269	0.690	1.246	0.059	0.014	0.338
S4	0.332	0.512	0.330	0.223	0.710	0.903	0.052	0.081	0.331
S5	0.342	0.305	0.212	0.381	0.934	1.093	0.055	0.081	0.212
S6	0.084	0.349	0.261	0.486	1.173	1.674	0.016	0.237	0.020
S7	0.083	0.324	0.253	0.574	1.201	1.553	0.008	0.049	0.023
S8	0.099	0.245	0.217	0.621	1.157	1.772	0.009	0.075	0.023
S9	0.109	0.293	0.241	0.602	1.210	1.440	0.011	0.056	0.033
S10	0.206	0.367	0.174	0.201	0.662	0.598	0.038	0.093	0.177
S11	0.644	0.691	0.230	0.077	0.448	0.514	0.116	0.205	0.430
S12	0.717	0.853	0.241	0.050	0.451	0.289	0.114	0.056	0.452
S13	0.472	0.653	0.387	0.424	1.047	1.471	0.070	0.059	0.282
S14	0.351	0.561	0.338	0.213	0.689	0.976	0.054	0.098	0.332
S15	0.237	0.433	0.279	0.298	0.995	1.552	0.014	0.037	0.064
S16	0.550	0.545	0.256	0.206	0.526	0.913	0.079	0.013	0.479

注:峰 7 的相对峰面积均为 1.000。

同时适当降低老翘中连翘苷含量的标准。实验最终选择检测合格的 3 批老翘和 13 批青翘药材作为研究对象,在对连翘标准汤剂样品进行相似度考察时,发现 16 批样品相似度范围处于 0.510~0.997,而 13 批青翘样品间相似度 ≥ 0.927 ,3 批老翘样品间相似度 ≥ 0.906 。原因可能是因为老翘和青翘中峰面积 $> 10\%$ 的特征成分含量差别大,其中老翘中含量偏低,青翘中含量较高。但是单独老翘或青翘样品之间有较高的相似度,表明如果提前规定样品选择青翘或老翘,使用相似度评价模式仍然可行,并且从指纹图谱相似度值也可对老翘和青翘进行一个较明显的区分。

本研究在建立连翘标准汤剂指纹图谱的方法学时,对检测波长、提取条件和流动相组成等进行了考察。选择 DAD 检测器进行全波段检测,发现 235 nm 处可以显示最多的色谱信息,且色谱峰形较好,故选择检测波长 235 nm;考察了水和体积分数为 10%, 30%, 50%, 70%, 100% 的甲醇为提取溶剂时的提取效果,结果显示选用 10% 甲醇作为提取溶剂时,峰形较好,溶剂效应最小;考察了甲醇-水、甲醇-0.1% 甲酸、甲醇-0.1% 乙酸作为流动相时的分离效果,结果表明各色谱峰分离度较好、峰形差别不大,考虑到对柱子耐用性的保护,最终选用甲醇-水作为流

动相。

本研究主要从3个方面对连翘标准汤剂的质量控制进行把关:①药材的选择涵盖了连翘的道地产区和主产区,经检测均符合2015年版《中国药典》(一部)的相关项下要求,所选样品从产地、质量水平等方面均具有代表性。②标准汤剂参照国家药典委员会制定的《中药配方颗粒质量控制与标准制定技术要求(征求意见稿)》和国家中医药管理局制定的《医疗机构中药煎药室管理规范》进行制备,与传统汤药在药效和成分上保持一致。③中药是由多成分、多靶点协同发挥作用的,采用指标成分结合指纹图谱方法控制连翘标准汤剂的质量,克服了传统采用1~2种成分含量控制中药质量的不合理性。

通过对道地产区或主产区的16批连翘标准汤剂的研究,制定出了连翘标准汤剂的质量标准。连翘标准汤剂出膏率范围13.61%~25.27%;连翘苷转移率范围58.61%~100.00%;连翘酯苷A转移率范围27.88%~51.78%;指纹图谱共有10个共有峰,对其中6个峰进行指认,以连翘苷峰作为内参比峰,计算峰3~7,10与内参比峰的相对保留时间分别为0.47,0.52,0.67,0.71,1.00,1.27。

[参考文献]

[1] 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.
[2] 刘安. 中药饮片标准汤剂制备与质量标准研究方法概述[J]. 中国实验方剂学杂志,2017,23(7):1.
[3] 张鹏,邬兰,李西文,等. 人参饮片标准汤剂的评价及应用探讨[J]. 中国实验方剂学杂志,2017,23(7):

2-11.

[4] 全家羽,赵嵘,代云桃,等. 当归标准汤剂质量评价体系的建立[J]. 中国实验方剂学杂志,2017,23(7):18-23.
[5] 李琦,章军,崔文金,等. 黄芩饮片标准汤剂的制备和质量标准评价[J]. 中国实验方剂学杂志,2017,23(7):36-40.
[6] 中国科学院植物研究所. 中国高等植物图鉴. 第三册[M]. 北京:科学出版社,1983:347.
[7] 杨雪艳,刘成伦. 连翘的研究现状与展望[J]. 贵州农业科学,2012,40(9):33-36.
[8] 郭强,王智民,林丽美,等. 连翘属药用植物化学成分研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志,2009,15(5):74-78.
[9] LI H B, CHEN F. Preparative isolation and purification of phillyrin from the medicinal plant *Forsythia suspensa* by high-speed counter-current chromatography [J]. J Chromatogr A, 2005, 1083(1/2): 102-105.
[10] 白雁,段小彦,雷敬卫,等. 近红外漫反射光谱法在青翘含量测定中的应用[J]. 中国实验方剂学杂志,2013,19(23):111-114.
[11] 范毅,陈玲,朱杰,等. 连翘叶化学成分[J]. 中国实验方剂学杂志,2015,21(24):22-25.
[12] 张晨曦,刘素香,赵艳敏,等. 基于液质联用技术的连翘化学成分分析[J]. 中草药,2016,47(12):2053-2060.
[13] 支旭然,苑霖,生宁,等. HPLC-MS/MS法测定不同采收期连翘叶中9种成分[J]. 中草药,2013,44(22):3231-3235.

[责任编辑 刘德文]