

羌活胜湿汤物质基准量值传递分析

祁庆瑞¹, 翟秉涛¹, 岳宝森², 赵锋^{2*}, 田欢^{2*} (1. 陕西中医药大学, 陕西省中药基础与新药研究重点实验室, 西安 712046; 2. 西安市中医医院药剂科, 西安 710021)

摘要:目的 建立羌活胜湿汤(Qianghuo Shengshi decoction, QSD)物质基准的指纹图谱及多指标成分含量测定方法, 研究 QSD 物质基准量值传递规律, 为 QSD 后续开发及质量控制评价提供依据。方法 依据古籍记载制备 15 批 QSD 物质基准样品溶液, 测定其出膏率, 建立指纹图谱并进行相似度评价, 明确特征峰及特征峰归属, 完成 QSD 物质基准中 8 个指标成分的含量测定及饮片-物质基准量值传递分析。结果 15 批 QSD 物质基准指纹图谱相似度处于 0.882 ~ 0.938 之间, 共确定 24 个共有峰, 并指出 8 个共有峰分别为绿原酸、升麻素苷、阿魏酸、洋川芎内脂 I、5-O-甲基维斯阿米醇苷、甘草酸铵、羌活醇、蛇床子素。15 批 QSD 物质基准的出膏率为 22.54% ~ 29.92%, 平均出膏转移率为 70.69%。各指标性成分的含量及饮片-基准样品的平均转移率分别为绿原酸 0.077 2% ~ 0.106 6% 和 128.05%; 升麻素苷 0.015 5% ~ 0.023 8% 和 120.26%; 阿魏酸 0.047 5% ~ 0.076 0% 和 114.49%; 洋川芎内脂 I 0.006 6% ~ 0.008 9% 和 132.93%; 5-O-甲基维斯阿米醇苷 0.007 2% ~ 0.009 9% 和 90.27%; 甘草酸铵 0.181 6% ~ 0.273 5% 和 80.53%; 羌活醇 0.000 7% ~ 0.001 3% 和 50.97%; 蛇床子素 0.000 9% ~ 0.002 2% 和 13.67%。结论 本实验采用指纹图谱、出膏率及多指标成分含量测定相结合的方法, 对 QSD 饮片-物质基准的全过程进行量值传递分析, 为该方的质量控制及复方制剂的开发提供参考。

关键词:羌活胜湿汤; 物质基准; 指纹图谱; 量值传递

doi: 10.11669/cpj.2024.02.004 中图分类号: R282 文献标志码: A 文章编号: 1001-2494(2024)02-0128-08

Quality Value Transfer of Substance Benchmarks in Qianghuo Shengshi Decoction

QI Qingrui¹, ZHAI Bingtao¹, YUE Baosen², ZHAO Feng^{2*}, TIAN Huan^{2*} (1. Shaanxi Key Laboratory of Chinese Medicine Fundamentals and New Drugs Research, Shaanxi University of Chinese Medicine, Xi'an 712046, China; 2. Department of Pharmacy, Xi'an Hospital of Traditional Chinese Medicine, Xi'an 710021, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish the fingerprint of the substance benchmark of Qianghuo shengshi decoction (QSD) and the determination method of multi-index composition content, study the transfer rule of the substance benchmark value of QSD, and provide a scientific basis for the subsequent development of QSD and quality control evaluation. **METHODS** Fifteen batches of QSD substance benchmark samples were prepared according to the method recorded in ancient medical books, and their fingerprint was established and evaluated, its characteristic peaks was clarified and assigned to the characteristic peaks, and we complete the content determination and transfer rate calculation of the 8 index components in the QSD substance benchmark. **RESULTS** The similarity of the fingerprint of 15 batches of QSD substance benchmark was between 0.882 and 0.938. A total of 24 common peaks were identified, and 8 common peaks were identified as chlorogenic acid, prim-O-glucosylcimifugin, ferulic acid, senkyunolide I, 5-O-methylvisammioid, ammonium glycyrrhizinate, notopterygol, osthole. The paste yield of 15 batches of QSD was 22.54% - 29.92%, and the average paste transfer rate was 70.69%. The content and average transfer rate of each index component from decoction pieces to substance benchmarks were 0.077 2% - 0.106 6% and 128.05% for chlorogenic acid, prim-O-glucosylcimifugin 0.015 5% - 0.023 8% and 120.26%, ferulic acid 0.047 5% - 0.076 0% and 114.49%, senkyunolide I 0.006 6% - 0.008 9% and 132.93%, 5-O-methylvisammioid 0.007 2% - 0.009 9% and 90.27%, ammonium glycyrrhizinate 0.181 6% - 0.273 5% and 80.53%, notopterygol 0.000 7% - 0.001 3% and 50.97%, osthole 0.000 9% - 0.002 2% and 13.67%. **CONCLUSION** In this experiment, a combination of fingerprint, paste yield and multi-index composition content determination could be used to analysis the transfer rate of QSD decoction pieces to substance benchmarks, and provide a method reference for the quality control and subsequent development of this prescription.

KEY WORDS: Qianghuo Shengshi decoction; substance benchmark; fingerprint; quantitative transmitting

基金项目: 陕西省中医药管理局重点科学研究项目资助(2021-02-22-010); 陕西省自然科学基金研究计划项目资助(2022JQ-932); 西安市科技计划项目资助(23YXYJ0042); 陕西省中药基础与新药研究重点实验室开放课题资助(KF202302)

作者简介: 祁庆瑞, 女, 硕士研究生 研究方向: 临床中药学及中药制剂新剂型研究 * **通讯作者:** 赵锋, 男, 主任中医师, 硕士生导师 研究方向: 临床中药学及中药复方物质基准研究 Tel: (029)89626683; 田欢, 女, 中医师 研究方向: 临床中药学及中药复方物质基准研究 Tel: (029)89626635

羌活胜湿汤(Qianghuo Shengshi decoction, QSD)为2018年由国家药品监督管理局发布的首批《古代经典名方目录》中的一方。由东代医家李东桓所创,收录于《内外伤辨惑论》^[1],全方由羌活、独活、防风、川芎、藁本、蔓荆子、炙甘草七味药组成,用于治疗湿邪痹阻手足太阳经脉等病证,随着后世医家对该方的不断实践应用,其主治病症逐渐衍变至关节酸楚疼痛,屈伸不利,微热昏倦,恶寒头身疼痛,寐之卧而多惊等病症^[2]。现代临床常用于治疗关节炎^[3]、颈椎病^[4]、偏头痛^[5]、腰痛^[6]等,应用广泛,疗效确切。

目前有关QSD的文献报道主要集中在临床疗效观察,有少量药理作用研究^[7-8]以及指纹图谱和化学成分分析的相关研究^[9-11],未见指纹图谱结合多指标成分含量测定的报道。由于指纹图谱和多指标成分含量测定是经典名方物质基准质量控制的两个重要手段,因此本研究结合《古代经典名方中药复方制剂简化注册审批管理规定》^[12],以古代医籍中记载的制备方法为依据制备QSD物质基准溶液并通过建立指纹图谱,完成绿原酸、升麻素苷、阿魏酸、洋川芎内脂I、5-O-甲基维斯阿米醇苷、甘草酸铵、羌活醇、蛇床子素多指标成分的含量测定,对QSD饮片至物质基准的传递过程进行质量控制,为后续QSD制剂的开发提供参考。

1 仪器与材料

1.1 仪器

LC-20A型高效液相色谱仪系统(日本岛津)、FW-100型高速万能粉碎机(北京市永光明医疗仪器有限公司)、SHZ-D型循环水式多用真空泵(河南省予华仪器有限公司)、LD2-4X型台式低速离心机(陕西德祥实验设备有限公司)、CQ-150A-DST型超声波清洗机(上海跃进医用光学器械厂)、电热恒温水浴锅(上海科恒实业发展有限公司),十万分之一分析天平、千分之一精密天平(上海赞维衡器有限公司)。

1.2 材料

绿原酸(批号110753-201817,纯度96.80%)、升麻素苷(批号111522-201913,纯度94.60%)、阿魏酸(批号110773-201915,纯度99.40%)、洋川芎内脂I(批号21012506,纯度99.68%)、5-O-甲基维斯阿米醇苷(批号111523-201811,纯度97.40%)、甘草酸铵(批号110731-202021,纯度96.20%)、羌活醇(批号111820-202106,纯度98.00%)、蛇床子素(批号110822-202111,纯度99.70%),以上对照

品均购于中国食品药品检定研究院。乙腈(色谱纯);甲醇、甲酸(分析纯);纯净水(娃哈哈集团有限公司)。各单味药材均购自主产区或道地产区,经西安市中医医院刘麦娥副主任药师鉴定,羌活为伞形科植物羌活(*Notopterygium incisum* Ting ex H. T. Chang.)的干燥根茎和根、独活为伞形科植物重齿毛当归(*Angelica pubescens* Maxim. f. *biserrata* Shan et Yuan.)的干燥根、防风为伞形科植物防风[*Saposhnikovia divaricata* (Turcz.) Schischk.]的干燥根、川芎为伞形科植物川芎(*Ligusticum chuanxiong* Hort.)的干燥根茎、藁本为伞形科植物藁本(*Ligusticum sinense* Oliv.)的干燥根茎和根、蔓荆子为马鞭草科植物蔓荆(*Vitex trifolia* L.)的干燥成熟果实、炙甘草为豆科植物胀果甘草(*Glycyrrhiza inflata* Batal)的干燥根和根茎的炮制品。

2 方法与结果

2.1 QSD基准样品的制备

根据《内外伤辨惑论》中记载的羌活胜湿汤处方原方“羌活、独活各一钱,藁本、防风、甘草(炙)、川芎各五分,蔓荆子三分。上咬咀,都作一服,水二盏,煎至一盏,去渣,大温服,空心食前,煮散”,通过古今计量折算及文献查阅^[13-14],确定QSD物质基准的制备方法为将上述药材粉碎,过1号筛,取羌活、独活各4.0g,藁本、防风、甘草(炙)、川芎各2.0g,蔓荆子1.2g,加水700mL,武火煮沸后,转文火煎至约350mL,趁热过滤,将滤液浓缩至100mL即得。

将羌活、独活、防风、川芎、藁本、蔓荆子、炙甘草各3批不同产地的饮片随机组合形成15批羌活胜湿汤物质基准样品,编号为S1~S15,具体信息见表1。

2.2 QSD基准样品指纹图谱的建立

2.2.1 色谱条件 Agilent 5 TC-C₁₈色谱柱(4.6mm×150mm,5μm),以乙腈-0.2%甲酸水溶液为流动相,梯度洗脱:0~5min,12%乙腈,5~30min,14%乙腈,30~45min,20%乙腈,45~60min,40%乙腈,60~65min,50%乙腈,65~75min,65%乙腈,75~77min,12%乙腈,77~80min,12%乙腈;柱温为31℃;进样量:20μL;检测波长:254nm。

2.2.2 对照品溶液的制备 取绿原酸、升麻素苷、阿魏酸、洋川芎内脂I、5-O-甲基维斯阿米醇苷、甘草酸铵、羌活醇、蛇床子素适量,精密称定,加甲醇溶解制成质量浓度分别为232.00、72.50、275.40、54.00、

表 1 15 批羌活胜湿汤(QSD)物质基准样品中各饮片的产地信息

Tab. 1 Origin information of 15 batches of decoction pieces of QSD

No.	Notopterygii Rhizoma Et Radix (in Chinese)	Angelicae Pubescentis Radix (in Chinese)	Saposhnikovia Radix (in Chinese)	Chuanxiong Rhizoma (in Chinese)	Ligustici Rhizoma Et Radix (in Chinese)	Viticeis Fructus (in Chinese)	Glycyrrhizae Radix Et Rhizoma Praeparata Cum Melle (in Chinese)
S1	Sichuan Aba Prefecture (四川阿坝州)	Sichuan Jinyang (四川绵阳)	Bayan Tuohai Banner (巴彦托海旗)	Sichuan Dujiangyan (四川都江堰)	Shanxi Shangluo (陕西商洛)	Zhejiang Jinhua (浙江金华)	Gansu Minqin (甘肃民勤)
S2	Gansu Wuwei (甘肃武威)	Sichuan Jinyang (四川绵阳)	Bayan Tuohai Banner (巴彦托海旗)	Sichuan Pengshan (四川彭山)	Hubei Hefeng (湖北鹤峰)	Zhejiang Pingyang (浙江平阳)	Shanxi Yulin (陕西榆林)
S3	Sichuan Aba Prefecture (四川阿坝州)	Hubei Badong (湖北巴东)	Xinbalhu Banner (新巴尔虎旗)	Sichuan Pengshan (四川彭山)	Liaoning Haizhou (辽宁海州)	Zhejiang Pingyang (浙江平阳)	Shanxi Yulin (陕西榆林)
S4	Gansu Wuwei (甘肃武威)	Hubei Badong (湖北巴东)	Bayan Tuohai Banner (巴彦托海旗)	Sichuan Shifang (四川什邡)	Shanxi Shangluo (陕西商洛)	Zhejiang Pingyang (浙江平阳)	Shanxi Yulin (陕西榆林)
S5	Gansu Wuwei (甘肃武威)	Gansu Pingliang (甘肃平凉)	Arun Banner (阿荣旗)	Sichuan Dujiangyan (四川都江堰)	Liaoning Haizhou (辽宁海州)	Zhejiang Jinhua (浙江金华)	Gansu Minqin (甘肃民勤)
S6	Sichuan Aba Prefecture (四川阿坝州)	Hubei Badong (湖北巴东)	Arun Banner (阿荣旗)	Sichuan Pengshan (四川彭山)	Liaoning Haizhou (辽宁海州)	Guangxi Guigang (广西贵港)	Xinjiang Bachu (新疆巴楚)
S7	Qinghai Qilian (青海祁连)	Sichuan Jinyang (四川绵阳)	Arun Banner (阿荣旗)	Sichuan Pengshan (四川彭山)	Liaoning Haizhou (辽宁海州)	Zhejiang Pingyang (浙江平阳)	Shanxi Yulin (陕西榆林)
S8	Sichuan Aba Prefecture (四川阿坝州)	Hubei Badong (湖北巴东)	Xinbalhu Banner (新巴尔虎旗)	Sichuan Dujiangyan (四川都江堰)	Liaoning Haizhou (辽宁海州)	Guangxi Guigang (广西贵港)	Xinjiang Bachu (新疆巴楚)
S9	Sichuan Aba Prefecture (四川阿坝州)	Hubei Badong (湖北巴东)	Bayan Tuohai Banner (巴彦托海旗)	Sichuan Dujiangyan (四川都江堰)	Liaoning Haizhou (辽宁海州)	Guangxi Guigang (广西贵港)	Shanxi Yulin (陕西榆林)
S10	Qinghai Qilian (青海祁连)	Gansu Pingliang (甘肃平凉)	Arun Banner (阿荣旗)	Sichuan Dujiangyan (四川都江堰)	Shanxi Shangluo (陕西商洛)	Guangxi Guigang (广西贵港)	Xinjiang Bachu (新疆巴楚)
S11	Gansu Wuwei (甘肃武威)	Sichuan Jinyang (四川绵阳)	Arun Banner (阿荣旗)	Sichuan Pengshan (四川彭山)	Hubei Hefeng (湖北鹤峰)	Guangxi Guigang (广西贵港)	Shanxi Yulin (陕西榆林)
S12	Sichuan Aba Prefecture (四川阿坝州)	Sichuan Jinyang (四川绵阳)	Arun Banner (阿荣旗)	Sichuan Pengshan (四川彭山)	Hubei Hefeng (湖北鹤峰)	Guangxi Guigang (广西贵港)	Xinjiang Bachu (新疆巴楚)
S13	Qinghai Qilian (青海祁连)	Sichuan Jinyang (四川绵阳)	Arun Banner (阿荣旗)	Sichuan Pengshan (四川彭山)	Hubei Hefeng (湖北鹤峰)	Guangxi Guigang (广西贵港)	Gansu Minqin (甘肃民勤)
S14	Sichuan Aba Prefecture (四川阿坝州)	Gansu Pingliang (甘肃平凉)	Xinbalhu Banner (新巴尔虎旗)	Sichuan Shifang (四川什邡)	Shanxi Shangluo (陕西商洛)	Zhejiang Jinhua (浙江金华)	Gansu Minqin (甘肃民勤)
S15	Gansu Wuwei (甘肃武威)	Hubei Badong (湖北巴东)	Bayan Tuohai Banner (巴彦托海旗)	Sichuan Shifang (四川什邡)	Liaoning Haizhou (辽宁海州)	Zhejiang Jinhua (浙江金华)	Xinjiang Bachu (新疆巴楚)

33.00、675.00、3.33、9.60 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的混合对照品溶液。

2.2.3 供试品溶液的制备 精密量取 QSD 物质基准溶液 4 mL, 置于 10 mL 量瓶中, 加甲醇 5 mL, 加蒸馏水至刻度, 定容, 称定质量, 超声 30 min, 放冷, 称重, 用体积分数 50% 甲醇补足失重, 离心 5 min ($2000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$), 取上清液, 过 0.22 μm 微孔滤膜, 取滤液, 即得。

取处方剂量的各单味药饮片及分别缺羌活、独活、防风、川芎、藁本、蔓荆子、炙甘草的处方量饮片, 按“2.1”项制备后, 同法制备各单味药及阴性样品的供试品溶液。

2.2.4 方法学考察 精密度试验: 取批号为 S1 的物质基准溶液, 按“2.2.3”项制备供试品, 按“2.2.1”项色谱条件连续进样 6 次, 以甘草酸铵为参照峰, 分别计算各特征峰相对保留时间和相对峰面积, 结果表明, 各特征峰的相对保留时间相对标准

差(RSD)均小于 0.36%, 相对峰面积 RSD 均小于 4.44%, 表明仪器精密度良好。

稳定性试验: 取批号为 S1 的物质基准溶液, 按“2.2.3”项制备供试品溶液, 按“2.2.1”项色谱条件分别于 0、2、4、8、12、24 h 进样, 以甘草酸铵为参照峰, 计算各特征峰相对保留时间和相对峰面积, 结果各特征峰的相对保留时间 RSD 均小于 0.17%, 相对峰面积 RSD 均小于 4.42%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

重复性试验: 取批号为 S1 的物质基准溶液, 按“2.2.3”项制备供试品溶液, 共 6 份, 按“2.2.1”项色谱条件连续进样, 以甘草酸铵为参照峰, 计算各特征峰相对保留时间和相对峰面积, 结果各特征峰的相对保留时间 RSD 均小于 1.75%, 相对峰面积 RSD 均小于 4.46%, 表明该方法重复性良好。

2.3 QSD 基准样品指纹图谱的考察

2.3.1 相似度评价 制备 15 批 QSD 物质基准供

样品溶液,采用“2.2.1”色谱条件进行测定,记录15批色谱图,导入2012版《中药色谱指纹图谱相似度评价系统》,以S1为对照图谱,以平均数法进行多点校正和色谱峰匹配,得到15批物质基准的指纹图谱叠加图谱,见图1,计算各批次指纹图谱与对照图

谱相似度,15批QSD指纹图谱的相似度分别为0.919、0.905、0.896、0.892、0.886、0.899、0.878、0.922、0.938、0.934、0.934、0.933、0.917、0.882、0.930,表明各批次间稳定性较好,符合指纹图谱要求。

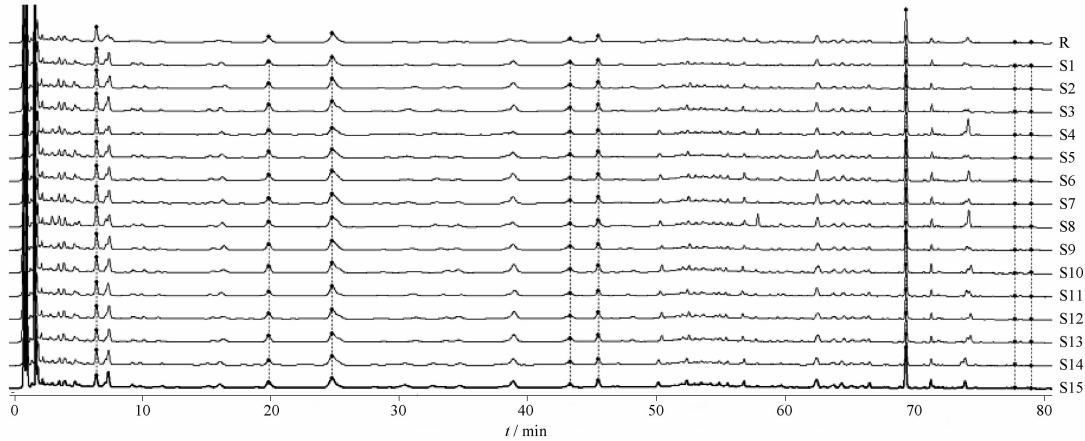
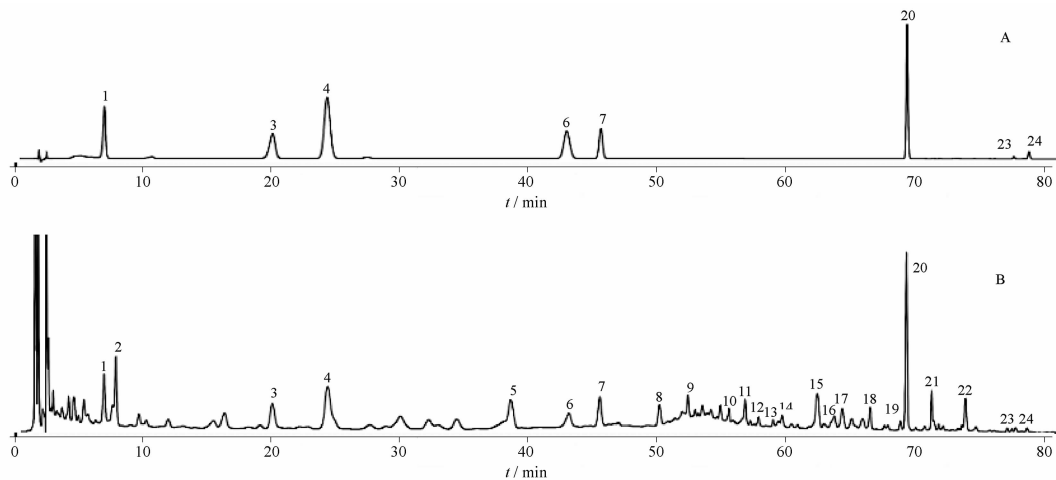


图1 15批(S1~S15)QSD物质基准指纹图谱

Fig. 1 15 batches (S1 - S15) of QSD substance reference fingerprints

2.3.2 指纹图谱峰归属 15批QSD物质基准样品中共确定出24个共有峰;通过与对照品色谱峰对比,指出8个特征峰,其中1号峰为绿原酸、3号峰为升麻素苷、4号峰为阿魏酸、6号峰为洋川芎内酯I、7号峰为5-O-甲基维斯阿米醇苷、20号峰为甘草酸铵、23号峰为羌活醇、24号峰为蛇床子素,见图2;根据各单味药材及阴性药材图谱对各特征峰进行

归属研究,见图3、4,其中5、8、11、12、22、23号峰来源于羌活,15~17、24号峰来源于独活,3、7、10号峰来源于防风,9、13、14、19~21号峰来源于炙甘草,其中1号峰为羌活,独活,川芎,藁本共有,2号峰为羌活,独活,川芎,蔓荆子共有,4号峰为羌活,川芎,藁本,蔓荆子共有,6号峰为独活,藁本共有,18号峰为独活,炙甘草共有。



1 - 绿原酸; 3 - 升麻素苷; 4 - 阿魏酸; 6 - 洋川芎内酯 I; 7 - 5-O-甲基维斯阿米醇苷; 20 - 甘草酸铵; 23 - 羌活醇; 24 - 蛇床子素; 2, 5, 8 - 19, 21 - 22 - 未知峰。

1 - chlorogenic acid; 3 - prim-O-glucosylcimifugin; 4 - ferulic acid; 6 - serotonin I; 7 - 5-O-methylvisammioid; 20 - ammonium glycyrrhetate; 23 - notopteron; 24 - osthol; 2, 5, 8 - 19, 21 - 22 - unknown peaks.

图2 混合对照品(A)及QSD基准样品(B)的HPLC指纹图谱

Fig. 2 HPLC characteristic chromatograms of mixed reference substance and QSD reference sample

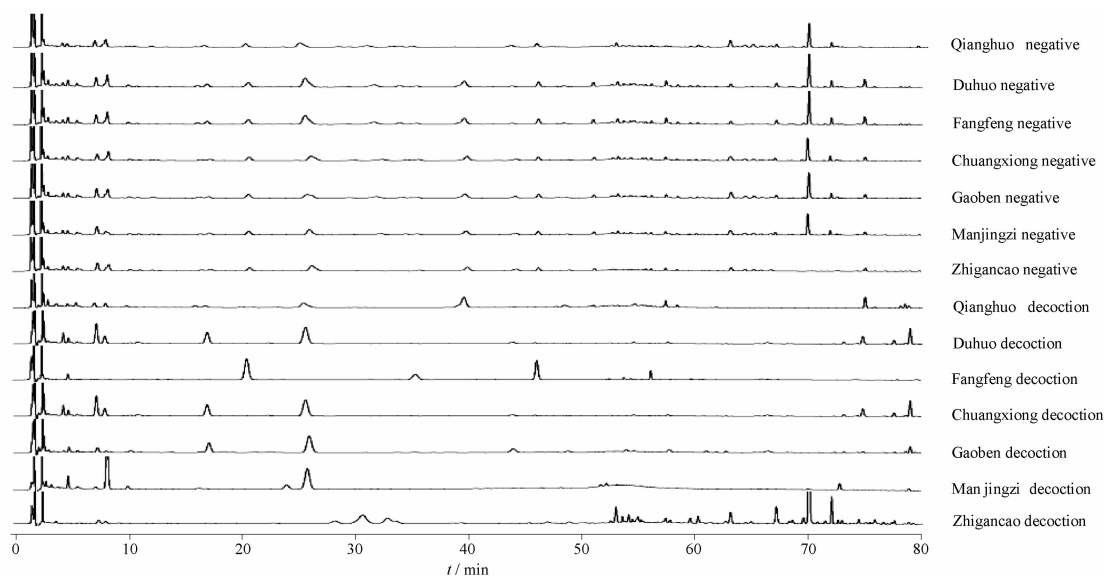


图3 QSD物质基准单味药材及阴性药材HPLC指纹图谱

Fig. 3 HPLC characteristic chromatograms of single medicinal materials and negative medicinal materials for QSD substances

2.4 15批QSD基准样品出膏率及出膏转移率的考察

按“2.1”项下方法制备QSD物质基准溶液,精密量取40 mL转移至蒸发皿中,浓缩至稠膏后,转移至真空干燥箱,60℃真空干燥至恒重,即得15批QSD物质基准干膏粉。取处方剂量的各单味药饮片,按“2.1”项制备后,同法制备即得各单味药饮片的干膏粉。

计算15批QSD物质基准、对应各单味药饮片的出膏率及出膏转移率,结果见表2。15批QSD物质基准的实际出膏率(公式1)为22.54%~29.92%,平均出膏率为26.36%,各批次出膏率均处于均值的±30%范围内,理论出膏率(公式2)为35.89%~38.32%,各批次的实际出膏率低于理论出膏率。出膏转移率(公式3)均值为70.69%。

表2 QSD基准样品和单味药出膏率及出膏转移率

Tab. 2 Paste yield rate and transfer rate of the substance benchmark of QSD

No.	Dry extract rate/%							Theoretical Value	Actual value	Transfer rate /%
	Notopterygii Rhizoma Et Radix	Angelicae Pubescentis Radix	Saposhnikovia Radix	Chuanxiang Rhizoma	Ligustici Rhizoma Et Radix	Vitidis Fructus	Glycyrrhizae Radix Et Rhizoma Praeparata Cum Melle			
S1	30.71	35.22	43.58	42.87	41.57	14.54	37.40	35.89	22.54	62.81
S2	33.87	35.22	43.58	47.63	40.70	16.87	35.91	37.04	25.44	68.70
S3	30.71	39.65	46.36	47.63	43.66	16.87	35.91	38.02	29.08	76.48
S4	33.87	39.65	43.58	43.45	41.57	16.87	35.91	37.66	28.65	76.06
S5	33.87	36.72	46.36	42.87	43.66	14.54	37.40	37.55	28.28	75.33
S6	30.71	39.65	46.36	47.63	43.66	15.35	39.16	38.32	29.92	78.07
S7	31.62	35.22	46.36	47.63	43.66	16.87	35.91	37.21	26.27	70.60
S8	30.71	39.65	44.03	42.87	43.66	13.10	39.16	37.34	27.78	74.39
S9	30.71	39.65	43.58	42.87	43.66	15.35	35.91	37.03	25.14	67.90
S10	31.62	36.72	46.36	42.87	41.57	15.35	39.16	37.04	25.37	68.50
S11	33.87	35.22	46.36	47.63	40.70	15.35	35.91	37.28	26.45	70.94
S12	30.71	35.22	46.36	47.63	40.70	15.35	39.16	36.95	24.94	67.51
S13	31.62	35.22	46.36	47.63	40.70	15.35	37.40	36.94	23.13	62.62
S14	30.71	36.72	44.03	43.45	41.57	14.54	37.40	36.36	22.92	63.05
S15	33.87	39.65	43.58	43.45	43.66	14.54	39.16	38.16	29.53	77.39

实际出膏率(%) = QSD物质基准干膏粉的质量/全方总质量 × 100% 公式(1)

理论出膏率(%) = (0.23 × 对应批次羌活出膏率 + 0.23 × 对应批次独活出膏率 + 0.12 × 对应批次

防风出膏率 + 0.12 × 对应批次川芎出膏率 + 0.12 × 对应批次藁本出膏率 + 0.12 × 对应批次炙甘草出膏率 + 0.06 × 对应批次蔓荆子出膏率) × 100%

公式(2)

出膏转移率(%) = 实际出膏率/理论出膏率 × 100% 公式(3)

2.5 QSD 基准样品指标成分含量测定及传递规律考察

2.5.1 方法学考察 线性关系考察:

精密量取“2.2.2”项下对照品溶液,按“2.2.1”项下色谱条件分别进样 1、2、6、10、14、18、20 μL,记录各指标成分峰面积,以各指标成分的峰面积为纵坐标(Y),质量浓度为横坐标(X),分别绘制标准曲线,结果见表3。

表3 QSD 中各指标成分线性回归方程

Tab.3 Regression equation, correlation coefficient and linear range of index components in QSD

Index components	Regression equation	r ²	linear range /μg · mL ⁻¹
Chlorogenic acid	y = 12 718x + 105 699	0.999 4	11.60-232.00
Prim-O-glucosylcimifugin	y = 38 844x + 60 304	0.999 4	3.63-72.50
Ferulic acid	y = 34 695x + 46 100	0.999 0	13.77-275.40
Senkyunolide I	y = 82 668x - 34 195	0.999 9	2.70-54.00
5-O-methylvisammoside	y = 83 416x - 10 464	0.999 8	1.65-33.00
Ammonium glycyrrhizinate	y = 9 334x - 35 273	0.999 9	33.75-675.00
Notopterygol	y = 35 615x + 1 201	0.999 6	0.17-3.33
Osthole	y = 40 239x - 1 731	0.999 1	0.48-9.60

精密度试验:取批号为 S1 的物质基准溶液,按“2.2.3”项制备供试品溶液,按“2.2.1”项色谱条件,重复进样 6 次,记录各指标成分的峰面积,计算绿原酸、升麻素苷、阿魏酸、洋川芎内脂 I、5-O-甲基维斯阿米醇苷、甘草酸铵、羌活醇、蛇床子素含量的 RSD 值分别为 2.14%、3.69%、1.19%、3.03%、4.42%、0.44%、4.69%、4.15%,表明仪器精密度良好。

稳定性试验:取批号为 S1 的物质基准溶液,按“2.2.3”项制备供试品溶液,按“2.2.1”项色谱条件分别于制备后 0、2、4、6、8、12、24 h 进样,记录各指标成分的峰面积,计算绿原酸、升麻素苷、阿魏酸、洋川芎内脂 I、5-O-甲基维斯阿米醇苷、甘草酸铵、羌活醇、蛇床子素含量的 RSD 值分别为 0.89%、4.70%、0.52%、1.25%、4.07%、0.18%、4.54%、3.94%,表明 QSD 供试品溶液在 24 h 内能够保持稳定。

重复性试验:取批号为 S1 的物质基准溶液,按“2.2.3”项制备供试品溶液,共 6 份,按“2.2.1”项色谱条件连续进样,记录各指标成分的峰面积,计算绿原酸、升麻素苷、阿魏酸、洋川芎内

脂 I、5-O-甲基维斯阿米醇苷、甘草酸铵、羌活醇、蛇床子素含量的 RSD 值分别为 1.00%、3.66%、1.07%、2.71%、2.60%、0.17%、3.27%、4.24%,表明该方法重复性良好。

加样回收率试验:取 6 份已知含量的 QSD 物质基准样品溶液,分别加入与各成分含量相近的对照品溶液适量(绿原酸 0.616 0 mg、升麻素苷 0.150 8 mg、阿魏酸 0.474 3 mg、洋川芎内脂 I 0.043 2 mg、5-O-甲基维斯阿米醇苷 0.052 8 mg、甘草酸铵 1.696 5 mg、羌活醇 0.009 15 mg、蛇床子素 0.005 28 mg),按“2.2.3”项制备供试品溶液,按“2.2.1”项色谱条件连续进样,记录各指标成分峰面积,计算绿原酸、升麻素苷、阿魏酸、洋川芎内脂 I、5-O-甲基维斯阿米醇苷、甘草酸铵、羌活醇、蛇床子素含量的 RSD 值分别为 1.15%、0.56%、0.62%、2.15%、1.05%、0.20%、1.23%、0.86%,各成分的平均加样回收率分别为 101.16%、103.18%、97.84%、100.93%、101.31%、104.76%、102.64%、99.86%,表明方法准确度良好。

2.5.2 多指标成分含量测定及量值传递关系

取 15 批 QSD 物质基准溶液,按“2.2.3”项下制备供试品溶液,按“2.2.1”项下色谱条件分别测定 15 个批次中指标成分的含量,计算饮片-物质基准指标成分的转移率(公式4),结果见表4。

转移率(%) = (物质基准中指标成分的含量 / 饮片中指标成分的含量) × 100% 公式(4)

15 批 QSD 基准样品中绿原酸质量分数 0.077 2% ~ 0.106 6%,平均转移率 128.05%;升麻素苷质量分数 0.015 5% ~ 0.023 8%,平均转移率 120.26%;阿魏酸 0.047 5% ~ 0.076 0%,平均转移率 114.49%;洋川芎内酯 I 质量分数 0.006 6% ~ 0.008 9%,平均转移率 132.93%;5-O-甲基维斯阿米醇苷质量分数 0.007 2% ~ 0.009 9%,平均转移率 90.27%;甘草酸铵质量分数 0.181 6% ~ 0.273 5%,平均转移率 80.53%;羌活醇质量分数 0.000 7% ~ 0.001 3%,平均转移率 50.97%;蛇床子素质量分数 0.000 9% ~ 0.002 2%,平均转移率 13.67%。根据相关规定,物质基准中指标成分的含量及转移率均应在其均值的 ±30% 范围内,在本研究中绿原酸、升麻素苷、阿魏酸、洋川芎内酯 I、甘草酸铵、羌活醇的含量及转移率在其均值的 ±30% 内,部分蛇床子素的含量及转移率未在其均值的 ±30% 内。说明 QSD 物质基准制备工艺基本能够实现饮片-物质基准的稳定传递。

表4 QSD物质基准指标成分含量及转移率. $n=3$

Tab.4 index component content and transfer rate of the substance benchmark of QSD. $n=3$

No.	Chlorogenic acid/%			Prim-O-glucosylcimifugin/%			Ferulic acid/%			Senkyunolide I/%		
	Substance Benchmark	Herbal Pieces	Transfer Rate	Substance Benchmark	Herbal Pieces	Transfer Rate	Substance Benchmark	Herbal Pieces	Transfer Rate	Substance Benchmark	Herbal Pieces	Transfer Rate
S1	0.095 6	0.352 8	136.42	0.020 7	0.142 8	125.59	0.061 6	0.434 0	112.42	0.008 6	0.036 1	137.65
S2	0.074 9	0.316 6	121.51	0.016 3	0.141 5	99.03	0.059 4	0.470 0	103.88	0.008 1	0.037 6	121.01
S3	0.086 3	0.384 2	112.22	0.022 1	0.247 5	134.52	0.054 7	0.457 2	98.19	0.007 6	0.031 2	131.87
S4	0.086 2	0.380 7	117.59	0.017 4	0.142 8	106.05	0.053 9	0.473 0	93.70	0.008 5	0.036 1	135.94
S5	0.103 6	0.412 6	124.44	0.018 7	0.247 5	113.37	0.060 5	0.414 7	115.04	0.006 6	0.027 1	136.18
S6	0.104 2	0.384 2	135.51	0.019 5	0.247 5	118.25	0.066 2	0.364 8	134.28	0.007 6	0.031 2	131.60
S7	0.102 6	0.355 6	145.64	0.020 3	0.247 3	123.59	0.069 9	0.457 7	125.46	0.007 1	0.030 6	126.97
S8	0.097 4	0.377 5	129.46	0.019 8	0.208 2	120.07	0.072 4	0.426 2	113.22	0.008 1	0.030 6	143.91
S9	0.077 2	0.319 5	125.24	0.019 8	0.141 5	120.31	0.058 8	0.361 2	120.36	0.007 7	0.032 6	126.56
S10	0.106 6	0.414 9	127.58	0.021 3	0.247 3	129.48	0.073 7	0.381 3	144.02	0.007 7	0.033 0	138.66
S11	0.099 1	0.386 6	128.39	0.021 5	0.247 5	130.47	0.058 6	0.376 8	115.57	0.008 1	0.036 1	126.74
S12	0.083 5	0.326 1	132.32	0.023 8	0.247 5	144.45	0.056 1	0.335 7	136.48	0.008 5	0.036 1	133.24
S13	0.101 2	0.386 6	131.17	0.021 4	0.247 5	130.07	0.076 0	0.376 8	107.36	0.008 0	0.036 1	125.95
S14	0.103 7	0.417 9	128.30	0.018 8	0.207 4	114.49	0.059 1	0.436 0	107.36	0.008 9	0.037 1	136.78
S15	0.100 7	0.415 6	124.98	0.015 5	0.141 5	94.13	0.047 5	0.416 2	90.07	0.008 2	0.031 2	140.93
Average	0.094 9	0.375 4	128.05	0.019 8	0.207 0	120.26	0.061 9	0.412 1	114.49	0.008 0	0.033 5	132.93

No.	5-O-Methylvisammioside/%			Ammonium glycyrrhizinate/%			Notopterygol/%			Osthole/%		
	Substance Benchmark	Herbal Pieces	Transfer Rate	Substance Benchmark	Herbal Pieces	Transfer Rate	Substance Benchmark	Herbal Pieces	Transfer Rate	Substance Benchmark	Herbal Pieces	Transfer Rate
S1	0.008 3	0.066 5	107.00	0.273 5	3.025 7	77.75	0.001 2	0.008 0	65.66	0.001 6	0.046 3	14.93
S2	0.007 8	0.066 5	100.84	0.191 4	2.016 9	81.62	0.001 0	0.008 0	51.88	0.001 0	0.049 2	8.43
S3	0.008 2	0.066 3	107.03	0.204 0	2.009 7	87.28	0.001 3	0.009 0	62.03	0.001 9	0.046 2	17.48
S4	0.008 5	0.066 5	109.81	0.184 9	2.016 9	78.83	0.000 8	0.008 0	44.66	0.001 6	0.046 2	14.87
S5	0.007 7	0.089 8	73.69	0.213 6	3.022 6	60.78	0.001 1	0.009 0	54.64	0.001 1	0.029 4	15.64
S6	0.009 2	0.089 9	88.51	0.266 4	2.265 0	101.14	0.001 2	0.009 0	56.73	0.002 2	0.046 2	20.89
S7	0.008 8	0.089 8	84.61	0.203 5	2.016 9	86.77	0.001 3	0.009 0	64.08	0.001 3	0.046 3	12.33
S8	0.009 9	0.107 8	78.60	0.247 6	2.265 0	94.00	0.000 8	0.007 5	42.85	0.001 8	0.046 3	16.38
S9	0.007 8	0.066 3	101.71	0.196 6	2.009 7	84.13	0.001 0	0.009 0	47.88	0.000 9	0.048 5	8.26
S10	0.009 6	0.089 9	92.07	0.266 0	2.265 0	100.99	0.001 1	0.009 0	56.80	0.001 3	0.029 4	19.26
S11	0.009 1	0.089 9	87.35	0.182 7	2.009 7	78.17	0.000 8	0.009 0	44.69	0.000 9	0.046 2	8.81
S12	0.007 4	0.089 9	71.05	0.232 7	2.265 0	88.34	0.000 7	0.007 4	39.95	0.001 5	0.033 7	19.49
S13	0.009 8	0.089 9	94.09	0.232 9	3.022 6	66.28	0.000 9	0.009 0	49.32	0.000 8	0.046 2	7.67
S14	0.008 1	0.107 5	64.65	0.186 3	3.022 6	53.00	0.001 0	0.009 0	47.72	0.001 3	0.046 2	11.83
S15	0.007 2	0.066 3	93.13	0.181 6	2.265 0	68.94	0.000 7	0.008 0	35.71	0.000 9	0.046 2	8.76
Average	0.008 5	0.082 8	90.27	0.217 6	2.366 6	80.53	0.001 0	0.008 5	50.97	0.001 3	0.043 5	13.67

3 讨论

指标成分的选择依据《中国药典》(2020年版一部)及各成分的药理作用。方中羌活、独活共为君药,二者均为辛苦温燥之品,其中羌活善祛头项脊背之风湿,独活善祛腰膝之风湿,两药合用能散上一身之风湿,发挥祛风胜湿、通痹止痛的功效。羌活醇和蛇床子素分别为羌活和独活的主要活性成分之一,二者均有抗炎镇痛、解热抗氧化的药理作用^[15];防风、藁本共为臣药,能够祛风胜湿,止头痛。升麻素昔、5-O-甲基维斯阿米醇昔均为防风中的质量标志物^[16],二者均有较好的抗炎药理活性作用,其中升麻素昔能抗炎镇痛、解热以及抗血小板聚集,可以通过抑制炎症反应以及基质金属蛋白酶的表达,治

疗关节炎^[17]。藁本中主要检测出洋川芎内酯 I,药理研究表明洋川芎内酯 I 具有抗炎镇痛、抗氧化、抗血小板聚集、舒张血管等多种活性^[18];川芎、蔓荆子共为佐药,能发挥活血行气,祛风止痛的功效,川芎和蔓荆子中均含有阿魏酸,阿魏酸能够抗氧化、抗血栓、降血脂、抗菌^[19]。使药为甘草,甘草中所含的甘草酸铵能抗炎、抗过敏,在复方中起到益气和中,调和诸药的作用。指标成分的选择包括了方中的君臣佐使,能够较为全面地对 QSD 进行质量控制。

指纹图谱及指标成分含量测定的特征峰归属涵盖了全方 7 味药,其中绿原酸和阿魏酸分别归属于方中多个药材,绿原酸归属于羌活、独活、川芎、藁本,阿魏酸归属于羌活、藁本、川芎、蔓荆子,除此以

外,未从川芎和蔓荆子中检测出其他特征峰,川芎和蔓荆子的信息未能很好地体现,这可能与川芎和蔓荆子中其他成分含量较低、提取或洗脱条件局限,在该色谱条件下响应值较低导致出峰不明显有关。后续研究可以针对川芎和蔓荆子建立单独的特征图谱或结合其他的检测仪器手段,从而对 QSD 进行更全面的质​​量控制。

指标成分的含量测定及转移率结果显示,绿原酸、升麻素苷、阿魏酸、洋川芎内酯 I、甘草酸铵、羌活醇的含量及转移率均在其均值的 70% ~ 130% 的范围内,符合相关要求。其中部分蛇床子素的含量和转移率未能达到要求。蛇床子素本身为热不稳定成分,当加热温度较高,煎煮时间较长时,蛇床子素易被破坏分解^[20],因此蛇床子素含量测定值较低,其均值的 $\pm 30\%$ 波动范围较小,更容易出现离散数据。转移率低表明从饮片-物质基准传递过程中的含量损失较高,推测可能是共煎过程中,溶出的部分杂质对蛇床子素溶出有抑制作用。

在建立 QSD 指纹图谱和含量测定方法时,采用了 PDA 检测器对供试品溶液进行全波段扫描,结合 3D 图像分析发现,当检测波长小于 250 nm 时色谱图基线不平稳,检测波长大于 280 nm 时甘草酸铵无响应值,进一步在该范围内考察,当波长为 254 nm 时,特征峰峰形较好,响应值较高,能够较全面地获得 QSD 物质基准中的成分信息,故选定 254 nm 为检测波长。此外,分别考察了甲醇-水、乙腈-水、乙腈-0.1% 甲酸水、乙腈-0.2% 甲酸水等不同的流动相系统,结果表明,以乙腈-0.2% 磷酸水为流动相洗脱效果最优。

本研究通过指纹图谱、出膏率及多指标成分含量测定相结合的方式,对 QSD 饮片-物质基准的量值传递过程进行了分析,实现了对 QSD 物质基准质量较为全面的控制,同时本研究所建立的方法稳定性强,准确度高,能够为经典名方 QSD 后续制剂开发提供参考。

REFERENCES

[1] WANG Y Z, CHEN Z S. Dose evolution laws of Qianghuo in classical famous formulas in past dynasties [J]. *Henan Tradit Chin Med* (河南中医), 2022, 42(7): 1003-1010.

[2] TAN Z Q, XIONG H P, YI T D, et al. Textual research of correlation between indications and dosage of Qianghuo Shengshi Decoction [J]. *Acta Chin Med* (中医学报), 2021, 36(6): 1350-1356.

[3] HOU F, LIU L. Efficacy of modified Qianghuo Shengshi decoction combined with acupoint massage on knee osteoarthritis and its influence on related indexes of joint fluid [J]. *J Sichuan Tra-*

dit Chin Med (四川中医), 2020, 38(3): 150-153.

[4] LI X W, TAN K P, DU J, et al. Clinical observation on cervical type of cervical spondylosis treated by decoction of notopterygium for rheumatism combined with traditional acupuncture [J]. *Chin J Mod Appl Pharm* (中国现代应用药理学), 2017, 34(6): 894-897.

[5] ZHANG A T, ZHAO S X, LIU W J, et al. Therapeutic effect analysis of Qianghuo Shengshi Decoction on patients with wind-damp headache [J]. *Guangzhou Med J* (广州医药), 2022, 53(4): 65-68.

[6] YAO S F. Clinical observation of improved Qianghuo Shengshi decoction in the treatment of cold-dampness lumbar disc herniation [D]. Harbin: Heilongjiang University of Chinese Medicine, 2019.

[7] HU N, WANG C, WANG B, et al. Qianghuo Shengshi decoction exerts anti-inflammatory and analgesic via MAPKs/CREB signaling pathway [J]. *J Ethnopharmacol*, 2022, 284: 114776.

[8] ZENG Z, HU J, JIANG J, et al. Network pharmacology and molecular docking-based prediction of the mechanism of Qianghuo Shengshi Decoction against rheumatoid arthritis [J]. *Biomed Res Int*, 2021, 2021: 6623912.

[9] QIAO P, WANG J L, XIE H, et al. Fingerprint of classical prescription Qianghuo Shengshi decoction and predictive analysis of efficacy-related substances [J]. *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志), 2022, 42(4): 618-629.

[10] CAI X F, XU Y, LIU H P, et al. Chemical analysis of classical prescription Qianghuo Shengshi Standard Decoction by UHPLC-Q Exactive Orbitrap MS [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2022, 47(2): 343-357.

[11] LIANG H H, WEN W, YU G, et al. Study on quality stability and transmission law of Qianghuo Shengshitang [J]. *Lishizhen Med Mater Med Res* (时珍国医国药), 2020, 31(1): 75-78.

[12] Classical ancient Chinese medicine compound prescriptions to simplify the registration and approval of management regulations [N]. *China News of Traditional Chinese Medicine* (中国中医药报), 2018-06-04.

[13] TAN Z Q. Discussion on the derivation and clinical application of Qianghuo Shengshi Decoction formula based on ancient and modern literature [D]. Changsha: Hunan University of Chinese Medicine, 2021.

[14] DONG Y, HOU Y J, LI S S, et al. Analysis of Qianghuo Shengshitang based on ancient literatures [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form* (中国实验方剂学杂志), 2018, 24(17): 1-5.

[15] TAN X Y, HU Z, ZHANG H M, et al. Study on the pharmacological effects and related mechanisms of osthole [J]. *Tianjin J Tradit Chin Med* (天津中医药), 2018, 35(11): 877-880.

[16] CHANG L, JING W G, CHENG X L, et al. Research progress on chemical constituents and pharmacological effects of Saposhnikovia Radix and predictive analysis on quality marker (Q-Marker) [J]. *Mod Chin Med* (中国现代中药), 2022, 24(10): 2026-2039.

[17] JIN L L, ZHU W D, ZHONG W H, et al. On the mechanism of cimicifugin in the treatment of knee osteoarthritis [J]. *Rheum Arthritis* (风湿病与关节炎), 2021, 10(12): 45-48.

[18] ZHANG L J, LIU J Y, YAO C, et al. Research progress in pharmacological activities of senkyunolides [J]. *Chin Pharm J* (中国药理学杂志), 2015, 50(13): 1081-1084.

[19] ZHANG X, GAO Z P. Research progress in ferulic acid [J]. *Mod Chin Med* (中国现代中药), 2020, 22(1): 138-147.

[20] ZHAO M R, LI X H, YAO H C, et al. Optimization of microwave-assisted extraction of osthole from root of Radix Angelica Pubescens using response surface methodology [J]. *Lishizhen Med Mater Med Res* (时珍国医国药), 2014, 25(5): 1117-1119.

(收稿日期:2022-09-08)