DOI:10.13193/j.issn.1673-7717.2025.10.028

飞龙掌血茎饮片、标准汤剂量值传递规律研究

许松[1,2,3,4],朱志坤[5],金文彬[1],余金兰[1],朱屹韬[1],赵琼[1],邓晢[1],李军山[6],马云淑[1,3,4],柯瑾[1,2,3,4]
(1.云南中医药大学中药学院,云南 昆明 650500;2.云南省高校外用给药系统与制剂技术研究重点实验室,云南 昆明 650500;
3.云南省南药可持续利用研究重点实验室,云南 昆明 650500;4.云南省傣医药与彝医药重点实验室,云南 昆明 650500;
5.濮阳市中医医院,河南 濮阳 457000;6.云南神威施普瑞药业有限公司,云南 楚雄 675000)

摘要:目的 建立飞龙掌血茎标准汤剂的制备工艺、高效液相色谱法指纹图谱及其指标成分的含量测定方法,并结合化学模式识别方法对饮片质量进行分析与评价,为其质量控制提供参考;研究飞龙掌血茎饮片-标准汤剂指纹图谱的变化,并分析指标成分毛两面针素在饮片-标准汤剂的量值传递规律。方法 建立饮片高效液相色谱法指纹图谱,并进行聚类分析、主成分分析。采用响应面法结合主成分分析法,以8个共有峰的相对峰面积、转移率作为评价指标,优选出最佳煎煮工艺。高效液相色谱法测定饮片、标准汤剂中毛两面针素含量,计算转移率。结果 飞龙掌血茎饮片、标准汤剂与各自的对照指纹图谱相似度分别为0.719~0.996、0.992~1.000。饮片中的11个共有峰转移8个至标准汤剂,其中5个共有峰采用对照品比对确认,分别为绿原酸(峰1)、木兰花碱(峰2)、橙皮苷(峰4)、毛两面针素(峰6)、飞龙掌血素(峰11)。15批标准汤剂的平均出膏率为9.29%,毛两面针素从饮片-标准汤剂的平均转移率为58.98%。结论 建立的指纹图谱及含量测定方法稳定可靠,毛两面针素从饮片-标准汤剂的量值传递结果表明,其制备工艺科学可行,可为其质量控制提供参考。

关键词:飞龙掌血茎;标准汤剂;指纹图谱;量值传递
中图分类号:R285.5 **文献标志码**:A **文章编号**:1673-7717(2025)10-0148-10

Study on Transmission Law of Quantity Value Transfer of Stem of Feilongzhangxue [Toddalia asiatica (Linn) Lam] Decoction Pieces and Standard Decoction

XU Song[1,2,3,4],ZHU Zhikun[5],JIN Wenbin[1],YU Jinlan[1],ZHU Yitao[1],ZHAO Qiong[1],
DENG Xi[1],LI Junshan[6],MA Yunshu[1,3,4],KE Jin[1,2,3,4]
(1. School of Traditional Chinese Medicine, Yunnan University of Chinese Medicine, Kunming 650500, Yunnan, China;
2. The Key Laboratory for External Drug Delivery System and Preparation Technology in University of Yunnan Provincial, Kunming 650500, Yunnan, China;
3. Yunnan Provincial Key Laboratory of Sustainable Utilization of Southern Medicine, Kunming 650500, Yunnan, China;
4. Yunnan Provincial Key Laboratory of Dai Medicine and Yi Medicine, Kunming 650500, Yunnan, China;
5. Puyang Hospital of Traditional Chinese Medicine, Puyang 457000, Henan, China;
6. Yunnan Shenwei Sprey Pharmaceutical Co., Ltd., Chuxiong 675000, Yunnan, China)

Abstract: *Objective* To establish the preparation process, high performance liquid chromatography (HPLC) fingerprint and content determination method of the standard decoction of the stem of Feilongzhangxue [Toddalia asiatica (Linn) Lam], and to analyze and evaluate the quality of decoction pieces by chemical pattern recognition method, so as to provide a reference for its quality control. To study the changes of the fingerprint of the stem of Feilongzhangxue [Toddalia asiatica (Linn) Lam] decoction piece and standard decoction, and to analyze the transmission law of the Toddalolactone in the decoction pieces - standard decoction. *Methods* HPLC fingerprints were established, and cluster analysis and principal component analysis were performed. The response surface method combined with principal component analysis (PCA) was used to evaluate the relative peak area and transfer rate of the eight common peaks, and the optimal decoction process was selected. The content of Toddalolactone in decoction pieces and standard decoction was determined by HPLC, and the transfer rate was calculated. *Results* The similarity of the fingerprints of the stem of Feilongzhangxue [Toddalia asiatica (Linn) Lam] decoction pieces and the standard decoction was 0.719 - 0.996 and 0.992 - 1.000, respectively. Eight of the eleven common peaks in the decoction pieces were transferred to the stand-

基金项目:国家自然科学基金项目(82104067);云南省重大科技专项计划项目(202102AA310027);云南省高等学校重点实验室建设计划项目(2019YGZ03);云南省南药可持续利用研究重点实验室开放课题项目(202105AG070012XS23024)
作者简介:许松(1997-),男(彝族),云南建水人,硕士在读,研究方向:药剂学。
通讯作者:柯瑾(1980-),女,云南昆明人,副教授,硕士研究生导师,硕士,研究方向:中药药剂。E-mail:63918441@qq.com。

ard decoction, and five of the common peaks were confirmed by comparison with the control substance, which were chlorogenic acid (peak 1), magnolidine (peak 2), hesperidin (peak 4), toddalolactone (peak 6) and toddaculin (peak 11). The average ointment yield of 15 batches of standard decoction was 9.29%, and the average transfer rate of Toddalolactone from decoction piece to standard decoction was 58.98%. *Conclusion* The fingerprint and content determination methods are stable and reliable, and the results of the transmission of the amount of Toddalolactone from decoction pieces to standard decoction indicate that the preparation process is scientific and feasible, which can provide a reference for its quality control.

Keywords: stem of Feilongzhangxue [Toddalia asiatica (Linn) Lam]; standard decoction; fingerprinting; quantitative transmitting

飞龙掌血茎是芸香科植物飞龙掌血 *Toddalia asiatica*(L.) Lam. 的干燥茎，辣、微苦、涩，温。归肺、肝、胃经。有祛风止痛、散瘀止血功效[1]，常作为我国西南地区的传统民间药材。主要化学成分为香豆素、生物碱、萜类、黄酮、酚酸等[2-7]。药理研究表明[8-10]，飞龙掌血茎具有抗炎镇痛、抗菌、抗氧化和止血凝血等作用，其活性成分主要是香豆素类和生物碱类[11-12]。

目前尚未有飞龙掌血茎配方颗粒的研究报道，根据《中药配方颗粒质量控制与标准制定技术指导》中相关要求[13-14]：中药配方颗粒应以标准汤剂为物质基准，并明确与临床汤剂是否一致，以出膏率、含量及转移率、特征图谱/指纹图谱等指标为表征，对原料、中间体及成品制备过程中的量质传递和物料平衡进行全面研究。

本研究先建立了饮片的指纹图谱和含量测定方法，并以单因素实验为基础，运用响应面法并结合主成分分析，以多指标对飞龙掌血茎标准汤剂煎煮工艺参数进行优选，通过制备15批飞龙掌血茎物质基准，测定其指纹图谱、出膏率范围、指标性成分含量，分析饮片与物质基准间的量值传递及整体质量研究，为飞龙掌血茎配方颗粒的质量标准制定奠定基础，以加强对该颗粒的质量管理，并探讨其代替传统汤剂的可行性。

1 仪器与试药

1.1 仪器

1220高效液相色谱仪（美国 Agilent Technology 公司）；SCIENTZ-10N/A 冷冻干燥机（宁波新芝生物科技股份有限公司）；万分之一天平（常州奥豪斯仪器有限公司）；AB265-S 分析天平（瑞士梅特勒-托利多公司）；SK2200HP 超声波清洗器（上海科导超声仪器有限公司）。

1.2 试药

橙皮苷、飞龙掌血素、木兰花碱（成都德思特生物技术有限公司，批号：DSTDM004501、DSTDF008901、DSTDM000402）。毛两面针素、绿原酸（中国食品药品检定研究所，批号：111531-201603、110753-200413）。水为娃哈哈纯净水，乙腈、甲醇为色谱纯，其余试剂均为分析纯。

飞龙掌血茎饮片（云南神威施普瑞药业有限公司）经云南中医药大学陈凌云教授鉴定为芸香科植物飞龙掌血的干燥茎。饮片具体信息见表1。

2 方法与结果

2.1 飞龙掌血茎指纹图谱的建立及分析

2.1.1 色谱条件 Agilent ZORBAX，C_{18}（4.6 mm×250 mm，5.0 μm）色谱柱，以0.1%甲酸（A）-乙腈（B）为流动相（0~10 min，10%→15% A；10~15 min，15%→25% A；15~30 min，25%→60% A；30~65 min，60%→90% A）。流速1 mL·min^{-1}，柱温30 ℃，进样量10 μL，检测波长320 nm[15]。

表1 飞龙掌血茎饮片信息

产地	饮片批号	产地	饮片批号
云南寻甸	Fl2112201	云南禄丰	Fl2112231
	Fl2112202		Fl2112232
	Fl2112203		Fl2112233
云南双柏	Fl2112211	云南易门	Fl2112241
	Fl2112212		Fl2112242
	Fl2112213		Fl2112243
云南昆明	Fl2112221		
	Fl2112222		
	Fl2112223		

2.1.2 对照品溶液的制备 精密称取橙皮苷、飞龙掌血素、木兰花碱、绿原酸、毛两面针素对照品适量，置于棕色量瓶中，加甲醇制成每1 mL含0.17、0.21、0.14、0.18、67.0 μg的混合溶液，作为对照品溶液。

2.1.3 供试品溶液的制备 1）飞龙掌血茎饮片供试品溶液的制备：精密称取飞龙掌血茎饮片粉末（过2号筛）0.2 g，置具塞锥形瓶中，精密加入甲醇30 mL，称重，超声处理（功率250 W，频率40 kHz）20 min，放冷，称重，甲醇补足损失重量，摇匀，滤过，即得。

2）飞龙掌血茎标准汤剂供试品溶液的制备：精密称取标准汤剂干膏粉10 mg，置具塞锥形瓶中，精密加入甲醇5 mL，称重，超声处理（功率240 W，频率40 kHz）5 min，放冷，称重，用甲醇补足减失的重量，摇匀，滤过，即得。

2.1.4 方法学考察 1）精密度试验：取飞龙掌血茎样品，按照“2.1.3”项方法制备供试品溶液，按“2.1.1”项色谱条件重复进样6次，以取毛两面针素为参照峰，计算各共有峰相对保留时间及相对峰面积的RSD均<2%，表明仪器精密度良好。

2）重复性试验：取飞龙掌血茎样品，按照“2.1.3”项方法平行制备6份供试品溶液，按“2.1.1”项色谱条件进样，以取毛两面针素为参照峰，计算各共有峰相对保留时间及相对峰面积的RSD均<2%，表明方法重复性良好。

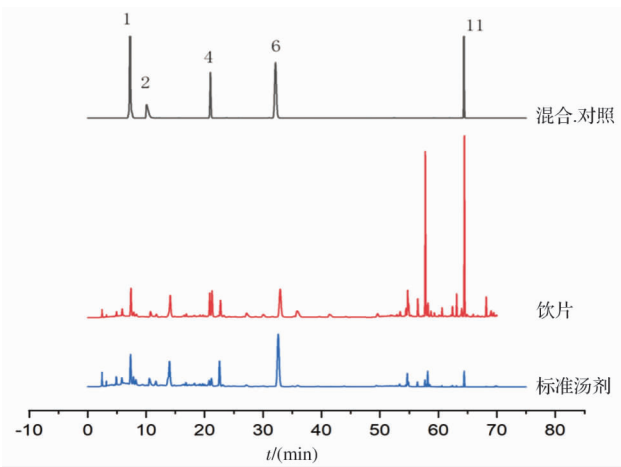
3）稳定性试验：取飞龙掌血茎样品，按照“2.1.3”项方法制备供试品溶液，分别在0、2、4、8、12、24 h时按“2.1.1”项色谱条件进样，以取毛两面针素为参照峰，计算各共有峰相对保留时间及相对峰面积的RSD均<2%，表明供试品溶液在24 h内稳定性良好。

2.1.5 飞龙掌血茎指纹图谱的建立及相似度评价 取15批飞龙掌血茎饮片、标准汤剂，按照“2.1.3”项方法制备供试品溶液，按“2.1.1”项色谱条件进样测定并记录色谱图，将其导入“国家药典委员会中药色谱指纹图谱相似度评价系统（2012

版)”软件[16-19],以 S1 号样品色谱图为参照图谱,采用中位数法生成共有模式,对样品进行多点校正和 Mark 峰匹配得到指纹图谱,并生成对照指纹图谱(R),计算相似度。结果见表 2、图 1、插页Ⅻ图 2 - 图 3。经相似度评价结果分析,15 批飞龙掌血茎饮片与对照指纹图谱的相似度在 0.719 ~ 0.996;标准汤剂的相似度在 0.992 ~ 1.000;表明除云南寻甸外,其他产地的飞龙掌血茎饮片整体质量稳定;而 15 批标准汤剂具有较好的一致性。

表 2 15 批飞龙掌血茎饮片和标准汤剂的相似度

编号	相似度		编号	相似度	
	饮片	标准汤剂		饮片	标准汤剂
S1	0.805	0.992	S9	0.996	0.999
S2	0.720	0.992	S10	0.991	0.998
S3	0.719	0.992	S11	0.995	0.997
S4	0.992	0.997	S12	0.995	0.996
S5	0.971	0.996	S13	0.995	0.998
S6	0.983	0.996	S14	0.993	0.999
S7	0.989	0.996	S15	0.996	0.998
S8	0.996	1.000			



注:1 - 绿原酸、2 - 木兰花碱、4 - 橙皮苷、6 - 毛两面针素、11 - 飞龙掌血素。

图 1 混合对照品、飞龙掌血茎饮片、标准汤剂指纹图谱

2.1.6 饮片、标准汤剂共有峰的标定及对比分析 将 15 批饮片、标准汤剂数据导入“国家药典委员会中药色谱指纹图谱相似度评价系统软件(2012 版)”,设置 S1 色谱图为参照图谱,采用中位数法生成共有模式,对样品进行多点校正和 Mark 峰(标记峰)匹配分别得到 15 批飞龙掌血茎饮片、标准汤剂指纹图谱共有峰的匹配数据,从而计算相对峰面积。以分离度高、峰形好、峰面积稳定为筛选条件确定共有峰。因此,饮片确定了 11 个共有峰,通过与对照品比对,指认其中 5 个共有峰,其中峰 1 为绿原酸、峰 2 为木兰花碱、峰 4 为橙皮苷、峰 6 为毛两面针素、峰 11 为飞龙掌血素[20]。

2.2 飞龙掌血茎标准汤剂煎煮工艺

2.2.1 基于响应面法优化飞龙掌血茎标准汤煎煮 称取飞龙掌血茎饮片 100 g,煎煮两次,第 1 次加饮片量 10 倍的水,浸泡 30 min,煎煮 30 min,过滤,滤液备用;第 2 次加饮片量 8 倍的水,煎煮 20 min,过滤,合并两次提取液,混匀;减压浓缩至相对密度为 1.02 ~ 1.04(65 ℃)的浸膏,冷冻干燥。

2.2.2 浸泡 称取飞龙掌血茎饮片 100 g,加水浸没,隔规定时间取出,沥干水分,称定重量,待重量增加趋于平衡后,以时间对药材吸水量作图。飞龙掌血茎吸水率为 90%,220 min 吸水基本达到平衡。结果见图 4。

吸水率(%) = (药渣湿重 - 药材干重)/药材干重 × 100%

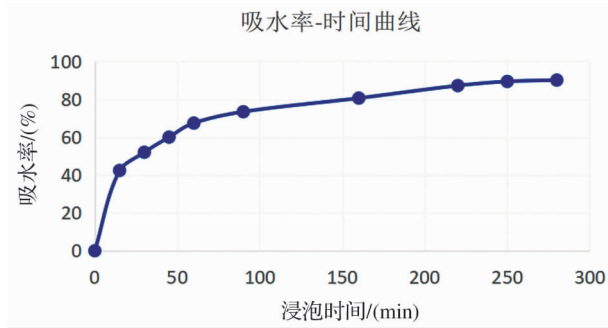


图 4 飞龙掌血茎吸水平衡曲线

2.2.3 响应面试验设计 在单因素实验的基础上,以 8 个特征峰的相对峰面积及毛两面针素转移率为评价指标,以头煎溶剂倍量(A)、二煎溶剂倍量(B)、头煎煎煮时间(C)、二煎煎煮时间(D)为影响因素,以 - 1、0、1 编码各因素的低、中、高水平[21]。采用 Design - Expert 8.0.6 软件设计 4 因素 3 水平的 Box - Behnken 响应面法进行实验。Box - Behnken 响应面法实验方案见表 3。

2.2.4 主成分分析 使用 SPSS 26.0 软件[21],将原始数据进行标准化(Z - Score)处理,然后通过 KOM 检验法和 Bartlett 球体检验法进行适用性检验,KOM = 0.767 > 0.6,Bartlett 球形度检验结果为 68.349,Sig = 0.000 < 0.01,说明各个指标之间具有关联性,适用主成分分析。将特征值 > 1 的因子作为提取标准,2 个主成分解释了全部方差的 88.3%(特征值分别为 6.751、1.37,比例分别为 74.1%、14.2%),进一步计算主成分的分数及规范化综合得分,以规范化综合得分值为响应面值做响应面分析,综合得分(Y)和规范化得分(Z)见表 3。

$$F = (FAC_1 \times \sqrt{X_1} \times W_1 + \cdots + FAC_2 \times \sqrt{X_2} \times W_2) \times W_{1+2} \quad (1)$$

$$Y = (F_1 \times W_1 + F_2 \times W_2)/(W_1 + W_2) \quad (2)$$

$$Z = (Y - Y_{min})/(Y_{max} - Y_{min}) \quad (3)$$

公式 1 表示主成分得分(F)的计算;FAC 表示主成分 SPSS 生成值,X 表示主成分对应的特征值,W 表示主成分对应的百分比;公式 2 表示综合评分值(Y)的计算;公式 3 表示综合评分规范化值(Z)的计算。

2.2.5 回归方程方差分析 将 Z 值录入 Design - Expert 13 软件[21],根据 fifth 模型进行分析,以 Z 为效应值,对各因素编码值进行拟合。

$$Z = 0.933\,3 - 0.084A + 0.116\,5B + 0.031\,8C - 0.099\,7D - 0.064\,7AB - 0.079\,2AC - 0.200\,9AD + 0.190\,1BC - 0.026\,5BD + 0.037\,6CD - 0.386\,1A^2 - 0.324\,5B^2 + 0.087\,1C^2 - 0.031\,9D^2$$

根据回归模型方差分析得出,方差模型 F 值 = 22.2,P < 0.01,具有统计学意义,失拟项不明显,表明该回归模型与实际试验具有较高的拟合度,因此可用该回归方程预测飞龙掌血茎的煎煮工艺最佳工艺参数。该回归模型决定系数 R^2 =

0.956 9 > 0.9，调整决定系数 R^2_{Adj} = 0.913 8 > 0.9，说明该模型可以解释 91% 响应值的变化，回归模型较为可靠，可用于飞龙掌血茎煎煮工艺优化的理论推测。在该模型中，一次项 B 具有明显影响，A、C、D 不明显；二次项 A^2、B^2、均呈明显影响，C^2、D^2 不明显；交互项中，AD、BC 具有明显差异，BD、CD 无明显差异。各因素的影响大小为二煎溶剂倍量（B）> 二煎煎煮时间（D）> 头煎溶剂倍量（A）> 头煎煎煮时间（C）。见表 4。

表 3 响应面设计方案及得分

编号	溶剂倍量/（倍）		煎煮时间/（min）		Y	Z
	头煎	二煎	头煎	二煎		
1	14	12	30	20	−1.482	0.349
2	12	8	40	20	2.139	0.826
3	10	10	20	20	2.768	0.909
4	12	10	30	20	−4.130	0.000
5	10	10	30	10	−3.410	0.095
6	10	10	40	20	1.170	0.698
7	12	12	30	10	3.010	0.941
8	12	12	20	20	0.653	0.630
9	12	8	30	10	−0.873	0.429
10	14	10	20	20	0.087	0.556
11	12	10	20	10	0.431	0.601
12	14	8	30	20	2.679	0.897
13	12	10	20	30	1.980	0.805
14	12	10	30	20	1.783	0.779
15	12	12	40	20	−0.235	0.513
16	12	10	30	20	2.895	0.926
17	12	10	40	30	3.460	1.000
18	12	10	30	20	0.687	0.635
19	12	10	40	10	−0.960	0.418
20	14	10	30	10	−2.132	0.263
21	10	10	30	30	−3.247	0.116
22	14	10	40	20	2.679	0.897
23	10	8	30	20	−1.850	0.300
24	14	10	30	30	−2.341	0.236
25	12	8	20	20	−0.970	0.416
26	10	12	30	20	1.710	0.769
27	12	12	30	30	2.966	0.935
28	12	8	30	30	−0.332	0.500
29	12	10	30	20	0.964	0.671

2.2.6 *两因素间交互分析* 两因素间的交互作用见插页Ⅻ图 5，AD、BC、BD 的响应面图最陡峭，且其等高线集呈椭圆形，这表明头煎溶剂倍量与头煎煎煮时间、二煎煎煮时间的交互作用显著（$P < 0.01$），而 AB、AC、CD 的响应面较陡峭，且其等高线呈椭圆形，则表明上述因素之间交互作用明显（$P < 0.05$）。根据模拟拟合结果，飞龙掌血茎的预测最佳煎煮工艺是头煎及二煎溶剂倍量为 11.990 及 10.418 1 倍，头煎及二煎煎煮时间为 30.842 及 13.424 min。

2.2.7 *煎煮工艺的验证* 根据以上结果，选择以头煎倍量及二煎倍量为 12 倍及 10 倍，头煎及二煎煎煮时间为 30 min 及 15 min，平行煎煮 3 批实验样品。结果显示，3 批水煎液的 8 个特征峰相对峰面积的相对标准偏差（RSD）在 1.5% ~4.3%，出膏率 RSD 为 2.3%，表明选择的工艺稳定性较好。

最终确定飞龙掌血茎最优煎煮工艺是头煎及二煎的溶剂倍量分别为 12 倍和 10 倍，头煎及二煎的煎煮时间分别为 30 min 和 15 min。

表 4 回归方程系数检验

方差来源	平方和	自由度	均方	*F* 值	*P* 值
模型	2.2	14	0.157 0	22.20	<0.000 1
A	0.093 8	1	0.093 8	13.26	0.002 7
B	0.162 9	1	0.162 9	23.03	0.000 3
C	0.012 2	1	0.012 2	1.72	0.210 8
D	0.119 4	1	0.119 4	16.88	0.001 1
AB	0.016 7	1	0.016 7	2.36	0.146 4
AC	0.025 1	1	0.025 1	3.55	0.080 8
AD	0.176 3	1	0.176 3	24.92	0.000 2
BC	0.144 5	1	0.144 5	20.43	0.000 5
BD	0.002 8	1	0.002 8	0.397 6	0.538 5
CD	0.005 6	1	0.005 6	0.798 7	0.386 6
A^2	0.967 0	1	0.967 0	136.71	<0.000 1
B^2	0.682 9	1	0.682 9	96.54	<0.000 1
C^2	0.049 2	1	0.049 2	6.96	0.019 5
D^2	0.006 6	1	0.006 6	0.931 4	0.350 9
残差	0.099 0	14	0.007 1		
失拟项	0.092 6	10	0.009 3	5.77	0.052 9
纯误差	0.006 4	4	0.001 6		
总和	2.3	28			

2.3 *毛两面针素含量测定研究*

2.3.1 *线性关系考察* 取对照品溶液，依次稀释得到 200、120、72、36、18、9 μg · mL^{-1} 的对照品溶液，按照“2.1.1”项下色谱条件进样分析，以进样量为横坐标（X），峰面积为纵坐标（Y），进行标准曲线的绘制，并计算回归方程，结果为 Y = 26.388X − 3.866 3（r = 0.999 9）[22]。线性范围 9 ~ 200 μg · mL^{-1}。线性关系图见图 6。

2.3.2 *精密度试验* 取飞龙掌血茎样品，按照“2.1.3”项方法制备供试品溶液，按“2.1.1”项色谱条件重复进样 6 次，测得饮片、标准汤剂毛两面针素含量 RSD 分别为 1.27%、0.18%，表明仪器精密度良好。

2.3.3 *重复性试验* 取飞龙掌血茎样品，按照“2.1.3”项方法平行制备 6 份供试品溶液，按“2.1.1”项色谱条件进样，测得饮片、标准汤剂毛两面针素含量 RSD 分别为 1.03%、0.36%，表明方法重复性良好。

2.3.4 *稳定性试验* 取飞龙掌血茎样品，按照“2.1.3”项方法制备供试品溶液，分别在 0、2、4、8、12、24 h 时按“2.1.1”项色谱条件进样，测得饮片、标准汤剂毛两面针素含量 RSD 分别为 1.25%、0.97%，表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.3.5 *加样回收率试验* 取已测定指标成分的 6 份，精密称定，置具塞锥形瓶中，分别按样品含量 100% 加入毛两面针素对照品，按“2.1.3”项下方法制备供试品溶液，在“2.1.2”项色谱条件下进样测定，计算回收率。结果示饮片、标准汤剂毛两面针素的加样回收率分别为 96.31% ~97.92%、98.50% ~101.45%，RSD 分别为 0.61%、1.14%。

2.3.6 *含量测定及转移率计算* 取 15 批飞龙掌血茎饮片和标准汤剂供试品溶液，根据已建立的含量测定方法进行定量测定，并按公式计算饮片到标准汤剂的转移率，结果见表 5。

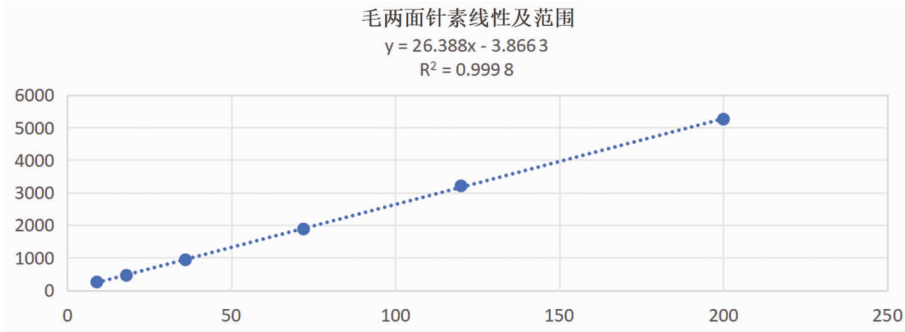


图 6 毛两面针素线性关系考察

表 5 15 批飞龙掌血茎饮片和标准汤剂测定结果

编号	标准汤剂出膏率/(%)	毛两面针素含量/(%)		指标成分转移率/(%)	编号	标准汤剂出膏率/(%)	毛两面针素含量/(%)		指标成分转移率/(%)
		饮片	标准汤剂				饮片	标准汤剂	
S1	11.76	0.75	3.46	54.19	S11	9.35	0.64	4.18	60.87
S2	11.54	0.84	3.21	44.30	S12	9.41	0.63	4.18	62.86
S3	11.29	0.87	3.30	43.08	S13	8.94	0.66	6.05	82.56
S4	7.40	0.49	2.15	32.32	S14	9.00	0.67	5.57	75.20
S5	8.74	0.43	2.70	54.39	S15	8.96	0.63	4.50	63.93
S6	7.85	0.44	2.42	43.64	最大值	11.76	0.87	6.05	82.58
S7	9.11	0.44	3.95	82.58	最小值	7.40	0.43	2.15	32.32
S8	8.59	0.52	4.39	71.85	均值	9.29	0.61	3.85	58.98
S9	9.00	0.60	3.88	57.81	SD 值	1.28	0.14	1.06	14.78
S10	8.40	0.61	3.98	55.15	均值 ±30%	6.05 ~ 12.08	0.43 ~ 0.80	2.70 ~ 5.02	41.29 ~ 76.68
					均值 ±3 × SD	5.46 ~ 13.12	0.21 ~ 1.02	0.67 ~ 7.06	14.63 ~ 103.33

可知飞龙掌血茎标准汤剂中毛两面针素含量的实测值在 2.15% ~6.05%，虽然其实测值不在均值 ±30% 范围内，但所有结果仍在均值 ±3 × SD 范围内；表明该制备方法较合理准确。

2.4 化学模式识别分析

2.4.1 聚类分析 对 15 批飞龙掌血茎饮片中共有峰峰面积进行量化处理，运用 SPSS 软件[23]，采用系统聚类法，对 15 批飞龙掌血茎饮片进行聚类分析，当分类距离 5 时，显示 15 批样品可共聚为两类，其中前 7 个产地饮片聚为一类，其余产地可聚为一类。结果见图 7。

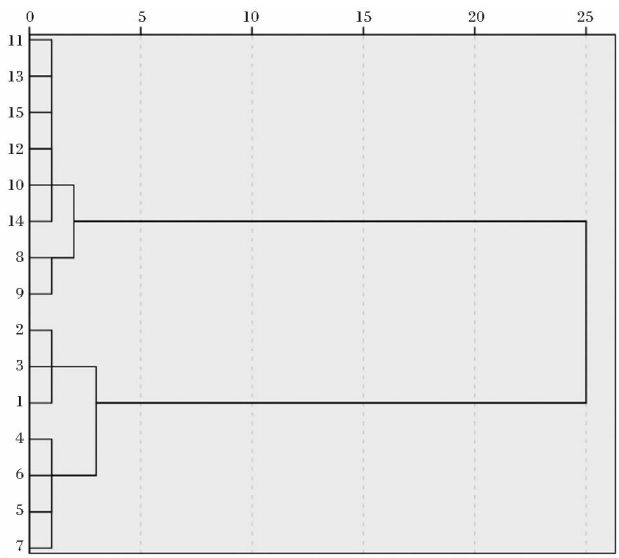


图 7 15 批飞龙掌血茎饮片聚类分析树状图

2.4.2 主成分分析(principal component analysis，PCA) 运用 SPSS 软件[24]对 15 批飞龙掌血茎饮片中共有峰峰面积进行量化处理。首先，进行降维因子分析，结果显示 KMO 值为 0.714，大于 0.5，表明各变量相关性较好。以特征值大于 1 提取主成分，得到 2 个主要成分，累积方差贡献率为 94.944%，结果见表 6。结果显示特征值较高的 2 个主成分因子的斜率更大，说明所提取的 2 个主成分可以最大程度地代表飞龙掌血茎饮片的整体质量特征。其次，用碎石图转折点检验保留主成分个数，进一步说明可提取前 2 个主成分，得分矩阵图见图 8。

表 6 特征值和方差贡献率

主成分	初始特征值	方差贡献率/(%)	累计贡献率/(%)
PC1	7.964	72.403	72.403
PC2	2.480	94.944	94.944

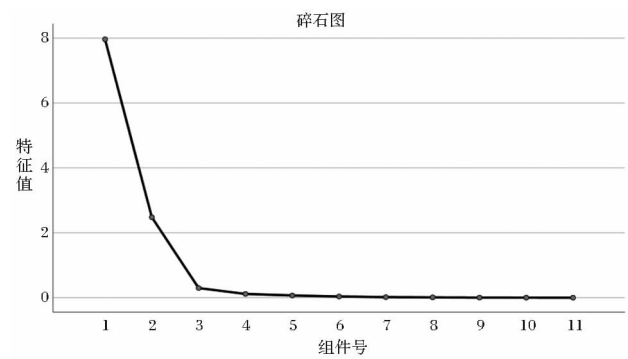


图 8 主成分分析碎石图

表 7 成分矩阵

峰号	成分		峰号	成分	
	1	2		1	2
1	0.932	-0.201	7	0.991	-0.020
2	0.885	0.326	8	-0.528	0.836
3	0.962	0.113	9	0.932	0.301
4	-0.626	0.686	10	0.973	0.145
5	0.977	0.158	11	0.980	0.173
6	-0.068	0.992			

初始因子载荷矩阵见表 7，第一主成分主要反映峰 1、峰 2、峰 3、峰 5、峰 7、峰 9～峰 11 的信息，第二主成分主要反映峰 4、峰 6、峰 8 的信息。其中峰 1 为绿原酸、峰 2 为木兰花碱、峰 4 为橙皮苷、峰 6 为毛两面针素、峰 11 为飞龙掌血素。

用 SIMAC 14.1 软件对 15 批飞龙掌血茎饮片进行主成分分析[25-26]，以指纹图谱中的 11 个共有峰峰面积为变量，绘制 15 批不同产地飞龙掌血茎样品的 PCA 得分图，见插页ⅩⅩⅢ图 9，结果显示 2 个主成分能反映不同产地飞龙掌血茎的主要特征，说明不同产地飞龙掌血茎在化学成分含量上存在一定差异。

2.4.3 正交偏最小二乘-判别分析（Orthogonal Partial Least Squares Discriminant Analysis，OPLS-DA） 为了进一步区分不同产地的飞龙掌血茎组内质量差异，将 15 批样品 11 个共有峰峰面积导入 SIMAC 14.1 软件进行 OPLS-DA 方法分析[27]，建立 OPLS-DA 模型，见插页ⅩⅩⅢ图 10，结果显示 15 批飞龙掌血茎样品被分为 2 类，与聚类分析和主成分分析结果一致，结合 OPLS-DA 模型中变量重要性投影值（Variable Importance Projection，VIP）（图 11）进行分析，以 VIP＞1 为条件筛选出差异标志物，筛选出 5 个差异标志物，对飞龙掌血茎样品的影响程度依次为 4 号峰（橙皮苷）＞6 号峰（毛两面针素）＞8 号峰（未知）＞1 号峰（绿原酸）＞2 号峰（木兰花碱）。说明橙皮苷、毛两面针素、绿原酸、木兰花碱可作为不同产地的飞龙掌血茎饮片的差异标志物。

3 结论与讨论

3.1 结论

飞龙掌血茎饮片中的 11 个共有峰有 8 个在标准汤剂指纹图谱中得到了有效转移，表明本研究建立的高效液相色谱法指纹图谱能准确地反映饮片-标准汤剂之间的真实性、优良性、稳定性和主要化学成分的可追溯性。建立的指标成分含量测定方法可同时用于饮片、标准汤剂的分析测定，量值传递结果表明飞龙掌血茎标准汤剂的质量得到了较好的控制，其制备工艺科学可行。标准汤剂作为配方颗粒系列研究的参考，与饮片、中间体、配方颗粒既有区别又有联系，本研究建立了飞龙掌血茎标准汤剂质量标准，可全面反映其质量，为相关质量控制和临床应用提供依据。

3.2 讨论

飞龙掌血茎含量及指纹图谱研究以毛两面针素含量为评价指标，对提取方式（加热回流提取、超声提取）、提取溶剂（甲醇、70% 甲醇、50% 甲醇）、提取时间（10、20、30 min）、溶剂用量（10、20、30 mL）进行考察，确定飞龙掌血茎饮片的供试品溶液制备方法；对提取时间（5、10、15 min）、溶剂用量（5、10、15 mL）进行考察，确定飞龙掌血茎标准汤剂的供试品溶液制备方法。以对称因子及分离度为评价指标对流动相系统（甲醇-水溶液、乙腈-水溶液、乙腈-0.1% 甲酸溶液、乙腈-0.1% 醋酸溶液、乙腈-0.1% 磷酸溶液、乙腈-0.05% 磷酸溶液、乙腈-0.2% 磷酸溶液）、柱温（25、30、35 ℃）、流速（0.9、1.0、1.1 mL·min^{-1}）进行考察，确定测定色谱条件。经研究结果分析，标准汤剂仅有取样量、提取时间和溶剂用量较饮片稍有改动，其余条件与饮片相同。

在响应面考察中，飞龙掌血茎标准汤剂影响因素的主次顺序为：二煎溶剂倍量（B）＞二煎煎煮时间（D）＞头煎溶剂倍量（A）＞头煎煎煮时间（C）。二煎影响因素大于头煎，其原因可能是头煎过程中，成分已达到最大溶出水平，饮片内外的成分含量在水中达到动态平衡，滤除头煎溶液，重新加水后，由于浓度差，大部分成分都能转移到水中，而且随着煎煮时间的延长，成分更容易分解。因此，二煎影响因素较大。

云南省中药材标准中并没有飞龙掌血茎含量测定相关标准[1]，本课题组前期运用超高效液相色谱四极杆飞行时间质谱联用技术，对飞龙掌血茎饮片进行了化学成分鉴定，多为生物碱类和香豆素类。各文献也报道了飞龙掌血中主要含有香豆素、生物碱、萜类、黄酮、酚酸等[2]，其中香豆素和生物碱是飞龙掌血中含量最多的化学物质，同时也是其发挥药理作用的重要部分。飞龙掌血中的香豆素类成分毛两面针素对骨关节炎有很好的抗炎作用，其能够改善Ranklin诱导的破骨细胞生

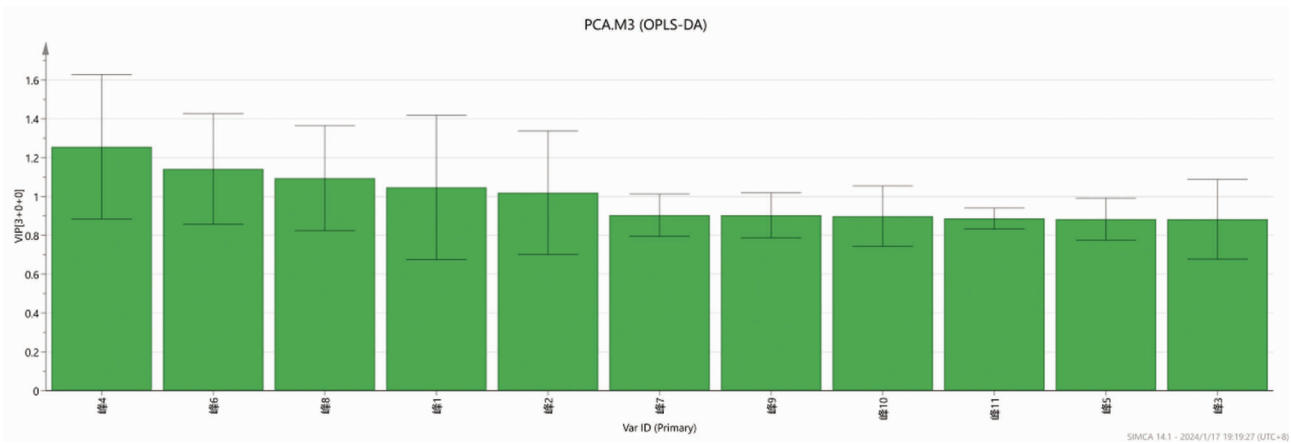


图 11 飞龙掌血茎样品 OPLS-DA 的 VIP 图

成,延缓关节软骨的侵蚀,能预防和改善骨关节炎[28-29]。毛两面针素在飞龙掌血中含量较高,水溶性较好[30];且性质稳定,故本研究选择毛两面针素评价和反映饮片-标准汤剂的量值传递情况以及相关工艺的优化。

飞龙掌血茎饮片指纹图谱中应呈现 11 个共有峰,标准汤剂指纹图谱中应呈现 8 个共有峰,通过对照品指认了饮片、标准汤剂中的峰 1、2、4、6、11。饮片中的 8 个共有峰在标准汤剂指纹图谱中得到了有效的转移,其余 3 个峰可能是含量较低或在煎煮过程中高温分解或水解未转移到标准汤剂中。

15 批标准煎液出膏率的范围为 7.40% ~11.76%,均值为 9.29%,以均值加减 3 倍 SD 来规定出膏率的范围为 5.46% ~13.12%;以均值上下浮动 30% 来规定出膏率的范围为 6.05% ~12.08%。无论取均值 ±3×SD 范围还是均值 ±30% 范围,实验结果均在范围内;标准汤剂中毛两面针素含量的实测值在 2.15% ~6.05%,虽然其最大值不在均值 ±30% 范围内,但所有结果仍在均值 ±3×SD 范围内;毛两面针素实测转移率在 32.32% ~82.58%,虽然其最大值超过了均值 ±30% 上限,但所有结果仍在均值 ±3×SD 范围内,转移率较为稳定。标准汤剂定量测定和转移率结果揭示,毛两面针素从饮片-标准汤剂得到了有效的转移。

参考文献

[1] 云南省食品药品监督管理局. 云南省中药材标准-第三册-傣族药:2005 年版[M]. 昆明:云南科技出版社,2007.
[2] 房士明,方刚,刘睿,等. 飞龙掌血化学成分的研究进展[J]. 国际药学研究杂志,2016,43(2):239-248.
[3] 何文星,徐灿丽,罗淑娟,等. 飞龙掌血化学成分及药理作用研究进展及其 Q-Marker 预测分析[J]. 中成药,2024,46(2):507-517.
[4] 张璐,杨常泉,诸燕飞,等. 飞龙掌血根的香豆素类成分研究[J]. 中药材,2017,40(10):2335-2338.
[5] 陈小雪,热合曼·司马义,龙盛京. 飞龙掌血茎的化学成分研究[J]. 西北药学杂志,2013,28(4):337-339.
[6] IRUDAYARAJ S S,JINCY J,SUNIL C,et al. Antidiabetic with antilipidemic and antioxidant effects of flindersine by enhanced glucose uptake through GLUT4 translocation and PPARγ agonism in type 2 diabetic rats[J]. J Ethnopharmacol,2022,285:114883.
[7] 朱勤凤,聂莉,陈倩,等. 飞龙掌血根的化学成分研究[J]. 中南药学,2021,19(9):1800-1805.
[8] 房士明,方刚,刘睿,等. 飞龙掌血化学成分的研究进展[J]. 国际药学研究杂志,2016,43(2):239-248.
[9] 王先坤,李溥,任一,等. 飞龙掌血醇提物对佐剂性关节炎模型大鼠炎症相关因子的影响[J]. 中国药房,2016,27(25):3524-3527.
[10] 端木彦涛,管松滨,胥骞,等. 飞龙掌血的化学成分、药理活性及质量评价研究进展[J]. 中医药导报,2022,28(11):203-209.
[11] 周威,孙文博,曾庆芳,等. 飞龙掌血的药学研究进展[J]. 中华中医药杂志,2018,33(8):3515-3522.
[12] 童玲. 飞龙掌血镇痛抗炎活性成分及其作用机制研究[D]. 武汉:华中科技大学,2015.
[13] 胡坪,桑情妮,牛丽源,等. 栀子标准汤剂的量值传递规律[J]. 中成药,2019,41(12):2863-2868.
[14] 国家药品监督管理局. 关于发布《中药配方颗粒质量控制与标准制定技术要求》的通告[EB/OL]. [2021-01-26]. https://www.nmpa.gov.cn/xxgk/ggtg/gtggtg/20210210145453181.html.
[15] 刘志刚,谢晓林,余磊,等. RP-HPLC 法同时测定飞龙掌血中 6 种成分的含量[J]. 中药材,2019,42(9):2100-2103.
[16] ZHANG X F,H Y,JlN J,et al. Based on SQL Server 2005 data mining technology in traditional Chinese medicine fingerprint data analysis[J]. Journal of Shenyang Pharmaceutical University,2010,27(3):205-212.
[17] LI X H,DENG M F,XIAO W,et al. Study on HPLC fingerprint of Yaobitong Capsules[J]. Journal of Shenyang Pharmaceutical University,2020,37(5):429-432.
[18] 袁晋,王秋月,刘树民. 黄芪赤风汤指纹图谱建立及主要成分含量测定[J]. 辽宁中医药大学学报,2024,26(1):69-73.
[19] 蒋云秀,曹马怡洁,吴杰,等. 基于 HPLC 指纹图谱结合多元统计分析九制女贞子炮制过程中成分变化[J]. 中华中医药学刊,2024,42(7):250-254,285-286.
[20] 籍学伟,陈备尧,白妍,等. 基于 HPLC 指纹图谱和多成分含量测定结合化学计量学的暖宫七味丸质量评价研究[J]. 中草药,2024,55(2):470-478.
[21] 宋亚南,王云,杨洪军,等. 辣木叶标准汤剂的煎煮工艺优化及质量标准建立[J]. 中国实验方剂学杂志,2024,30(6):151-159.
[22] 李海娇,李琪,方刚,等. 壮药八味龙钻颗粒中 4 种有效成分的 HPLC 法测定[J]. 中国医药工业杂志,2018,49(11):1586-1590.
[23] 孙涵珠,杨琬卿,刘嘉灏,等. 基于一测多评与化学计量分析的滇重楼及其近缘种质量评价方法[J]. 中华中医药学刊,2024,42(3):160-168,276.
[24] 周芳丽,张丽艳,李军. 基于指纹图谱结合化学计量分析南板蓝根质量评价研究[J]. 辽宁中医药大学学报,2022,24(11):45-49.
[25] 韩兆丰,于艳,韩宇,等. 基于化学计量学和指纹图谱的辽宁道地药材北五味子质量评价研究[J]. 中华中医药学刊,2024,42(9):69-73,268.
[26] 张晓云,崔小兵,何瑞欣,等. 基于指纹图谱及化学模式识别方法优选经典名方温经汤中莪术药材产地[J]. 辽宁中医药大学学报,2021,23(1):35-39.
[27] 李宗民,朱浩东,于丹,等. 基于多元统计学分析葛根指纹图谱研究[J]. 辽宁中医药大学学报,2020,22(11):50-53.
[28] XU Y,XUE S,ZHANG T,et al. Toddalolactone protects against osteoarthritis by ameliorating chondrocyte inflammation and suppressing osteoclastogenesis[J]. Chin Med,2022,17(1):18.
[29] NI J,ZHAO Y,SU J,et al. Toddalolactone protects lipopolysaccharide-induced sepsis and attenuates lipopolysaccharide-induced inflammatory response by modulating HMGB1-NF-κB translocation[J]. Front Pharmacol,2020,11:109.
[30] 冉勇华,周强,周英,等. 高效液相色谱法同时测定飞龙掌血中橙皮苷等 4 种化学成分的含量[J]. 中国药学杂志,2014,49(3):240-243.

飞龙掌血茎饮片、标准汤剂量值传递规律研究

（正文见 148－154 页）

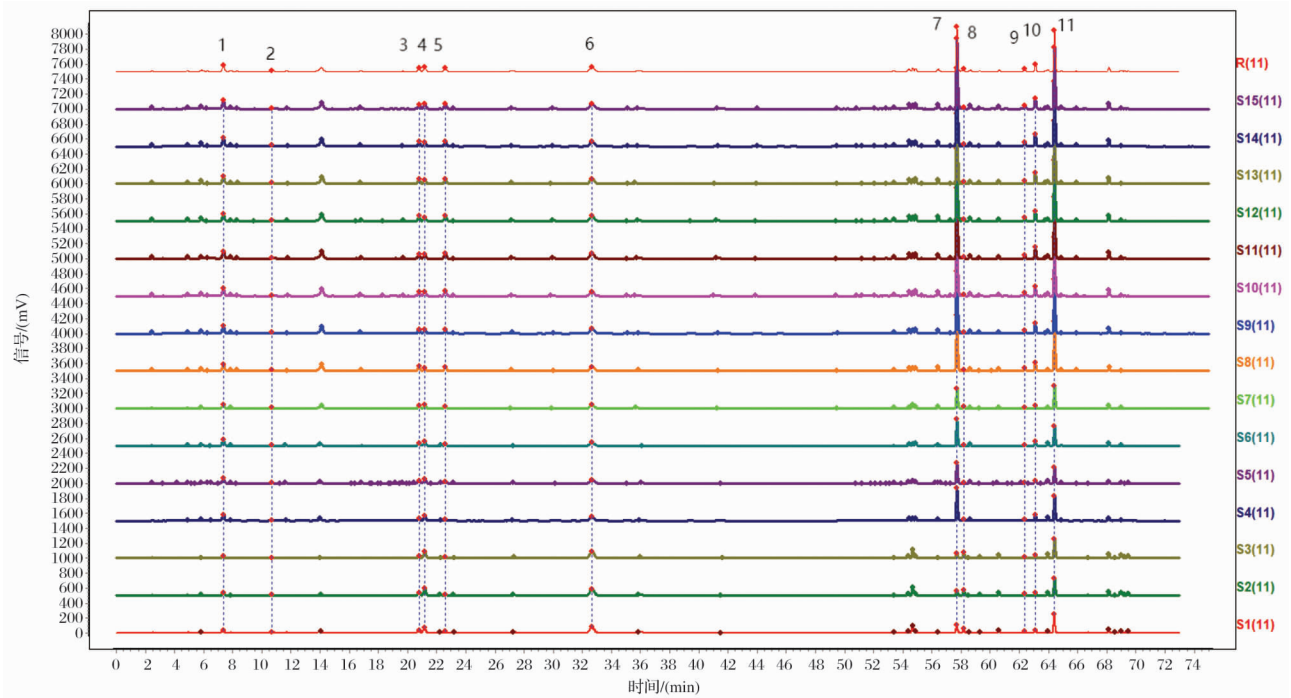


图 2　混合对照和 15 批饮片指纹图谱

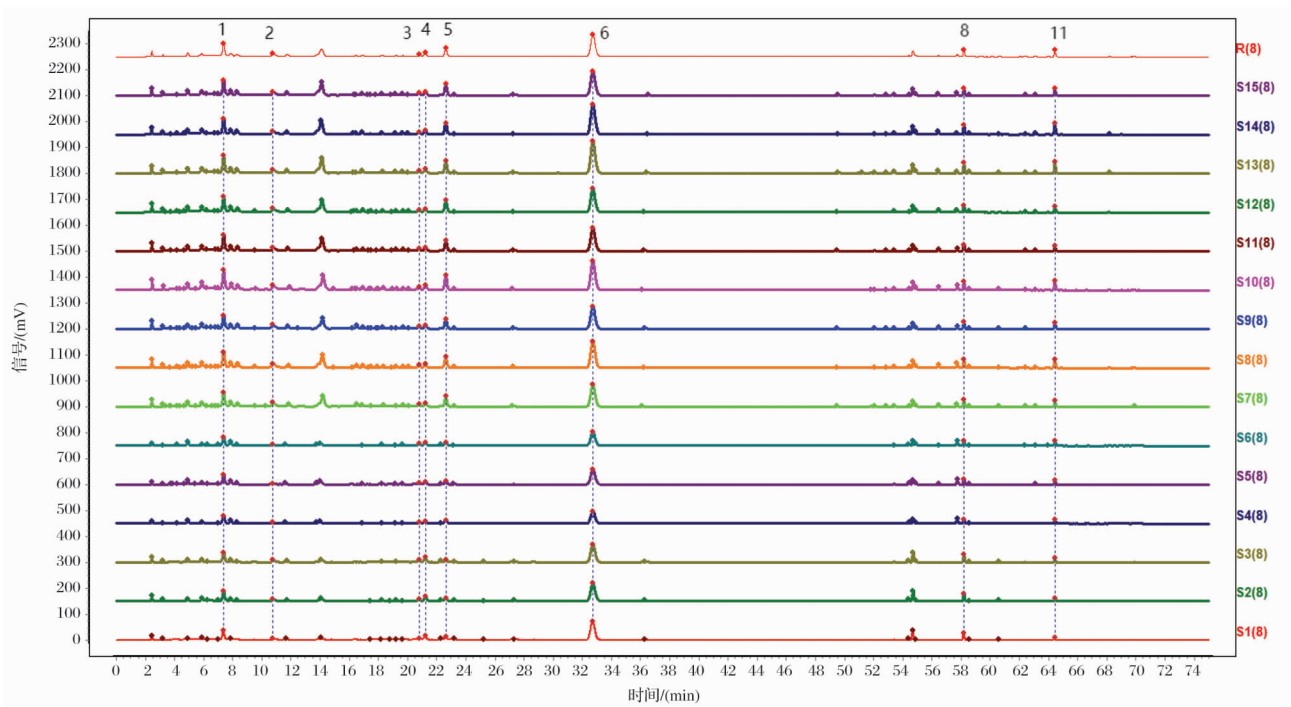


图 3　混合对照和 15 批标准汤剂指纹图谱

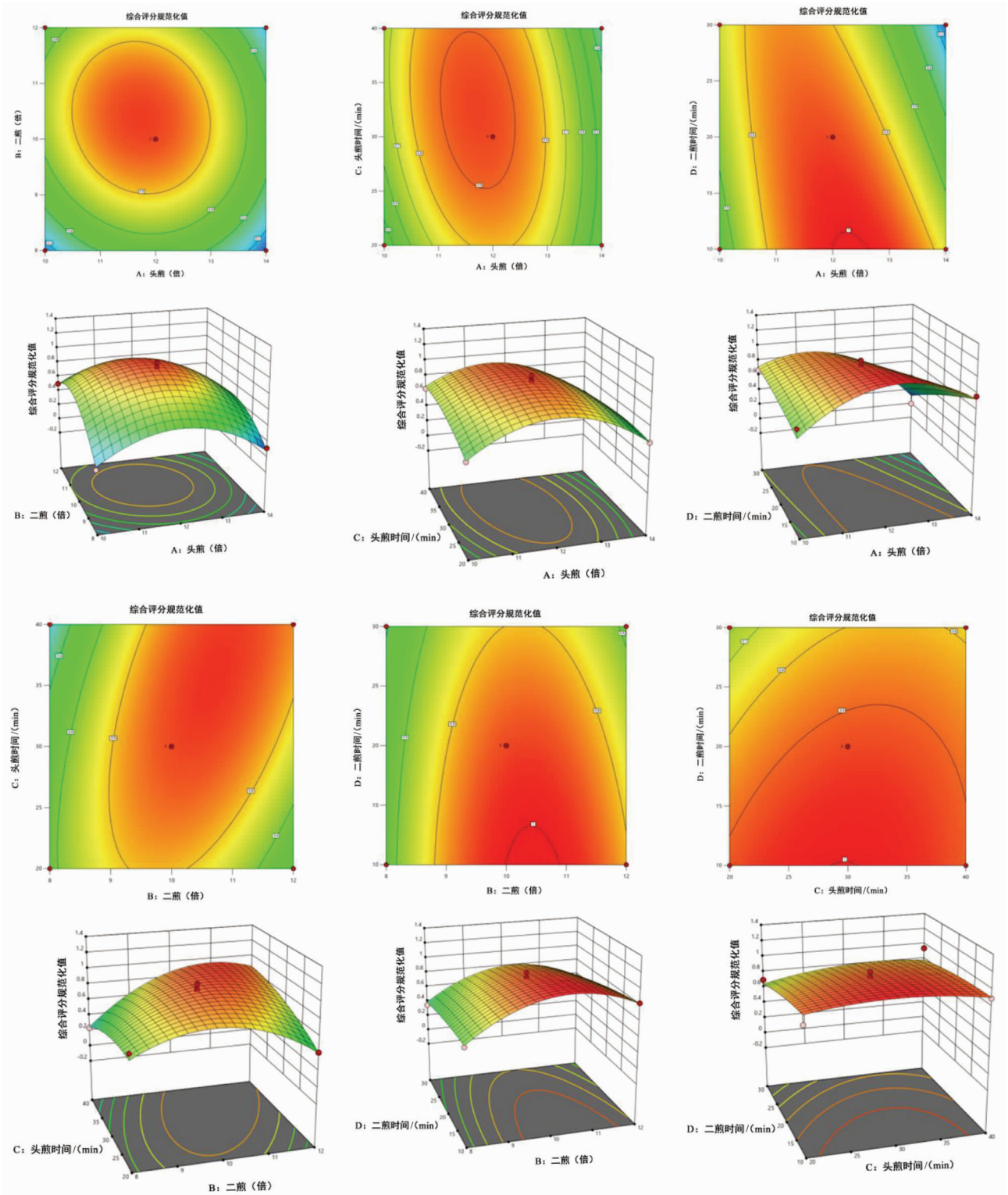


图 5 煎煮时间与溶剂倍量交互项的响应面

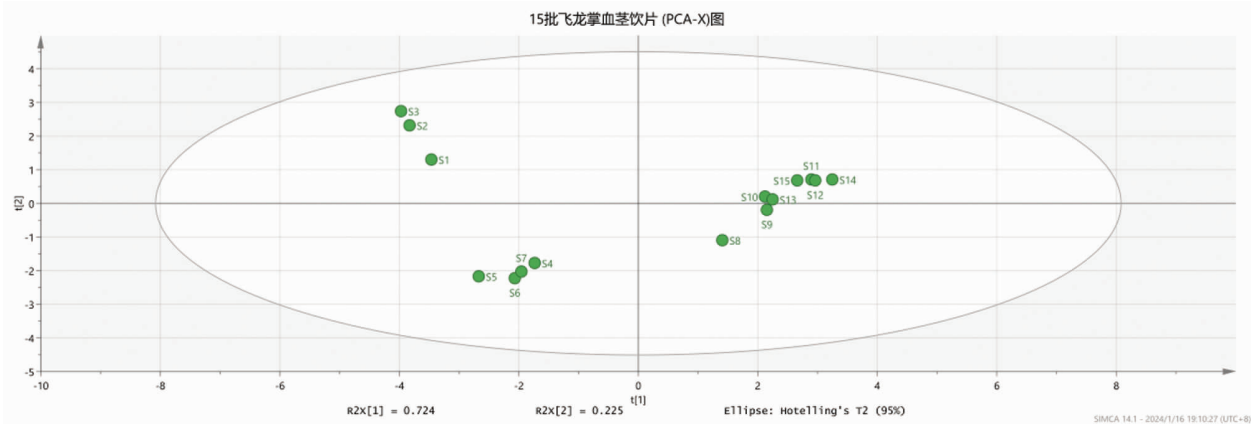


图 9　飞龙掌血茎 PCA 得分图

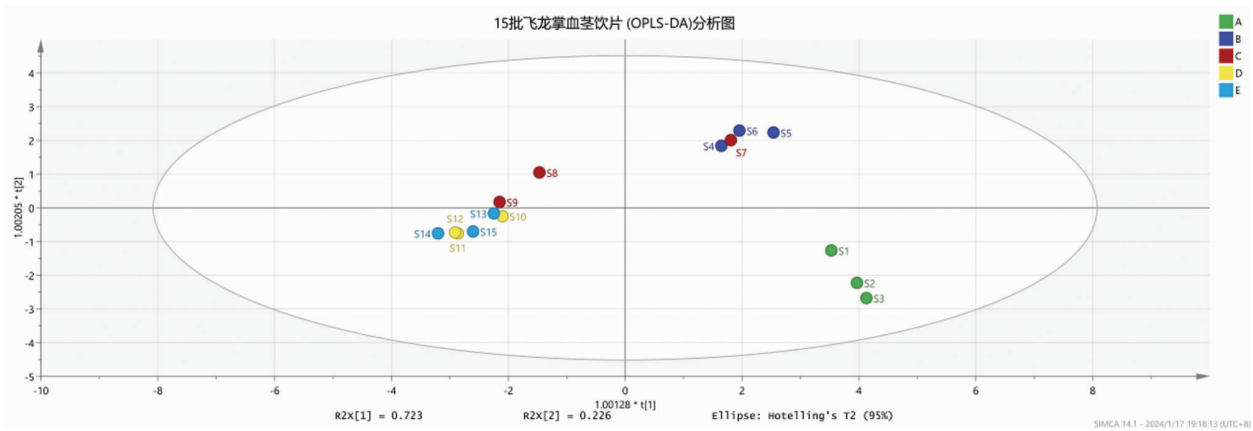


图 10　飞龙掌血茎样品 OPLS－DA 得分图

小檗碱防治阿尔茨海默病作用机制研究进展

（正文见 195－201 页）

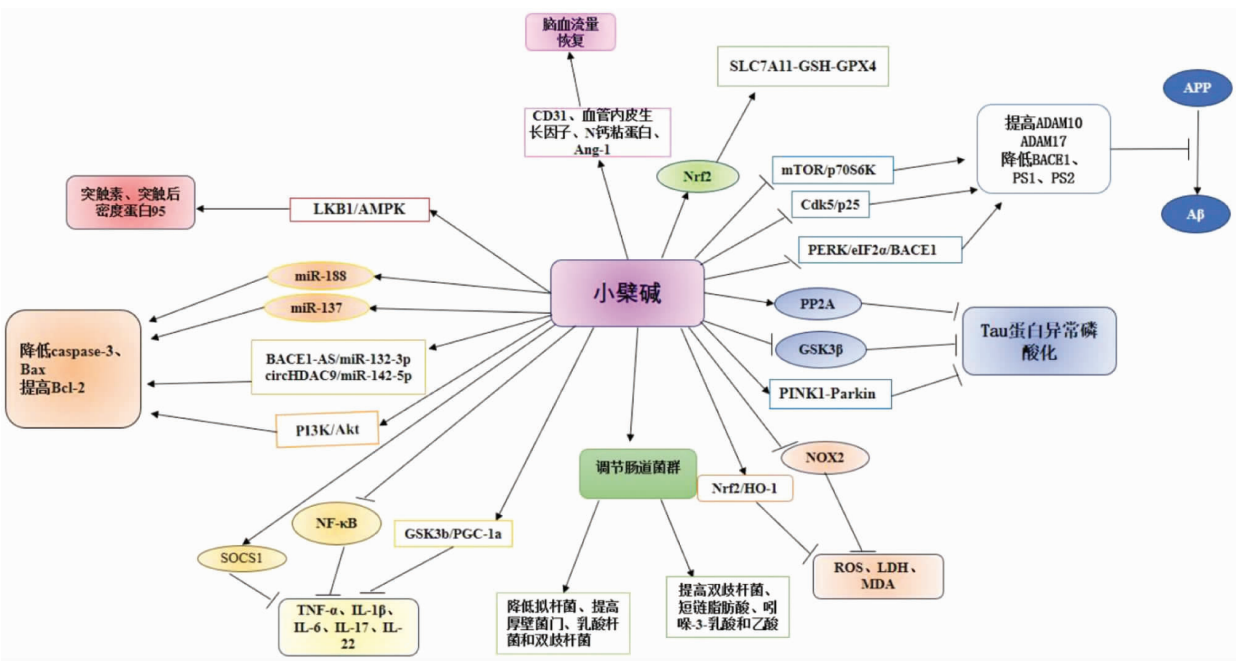


图 2　小檗碱治疗 AD 作用机制