

炒紫苏子标准汤剂的质量标准研究^Δ

李燕^{1*}, 刘聪², 王丽军², 胡昌江², 李文兵², 许润春^{1#} (1. 成都中医药大学药学院, 成都 611137; 2. 四川新绿色药业科技发展有限公司, 成都 611900)

中图分类号 R283.6 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2019)05-0671-06

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2019.05.19

摘要 目的: 制备炒紫苏子标准汤剂, 并进行质量标准研究。方法: 依照标准汤剂的制备要求, 制备17批炒紫苏子标准汤剂, 计算出膏率。采用高效液相色谱(HPLC)法对炒紫苏子标准汤剂中迷迭香酸进行定量分析[色谱柱为Agilent 5 TC-C₁₈(2), 流动相为甲醇-0.1%甲酸溶液(40:60, V/V), 检测波长为330 nm, 流速为1.0 mL/min, 柱温为30 ℃, 进样量为5 μL], 并计算其转移率。建立17批炒紫苏子标准汤剂的HPLC指纹图谱, 利用中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012版)软件对指纹图谱进行分析, 并通过对比共有峰的保留时间对色谱峰进行指认。结果: 17批炒紫苏子标准汤剂的出膏率为5.55%~9.75%; 迷迭香酸的含量为0.44%~1.58%, 平均含量为1.08%; 迷迭香酸的转移率为18.31%~34.32%, 平均转移率为25.42%。在17批炒紫苏子标准汤剂HPLC指纹图谱中, 共确定了11个共有峰, 相似度均高于0.95; 并指认出了其中5个共有色谱峰, 分别为咖啡酸(峰3)、木犀草苷(峰5)、迷迭香酸(峰8)、木犀草素(峰9)和芹菜素(峰10)。结论: 建立了炒紫苏子标准汤剂的质量控制方法, 可为炒紫苏子配方颗粒及相关制剂质量标准的制订提供参考。

关键词 炒紫苏子; 标准汤剂; 高效液相色谱法; 指纹图谱; 迷迭香酸; 转移率; 出膏率

Study on Quality Standard of Fried *Perilla frutescens* Seed Standard Decoction

LI Yan¹, LIU Cong², WANG Lijun², HU Changjiang², LI Wenbing², XU Runchun¹ (1. College of Pharmacy, Chengdu University of TCM, Chengdu 611137, China; 2. Sichuan New Green Pharmaceutical Technology Development Co., Ltd, Chengdu 611900, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To prepare standard decoction of fried *Perilla frutescens* seed and study the quality standard. METHODS: According to the preparation requirements of standard decoction, 17 batches of standard decoction of fried *P. frutescens* seed were prepared, and the yield of paste was calculated. HPLC method was used for quantitative analysis of rosmarinic acid in standard decoction of fried *P. frutescens* seed. The determination was performed on Agilent 5 TC-C₁₈(2) column with mobile phase consisted of methanol-0.1% formic acid solution (40:60, V/V) at the flow rate of 1.0 mL/min. The detection wavelength was

面特征三个方面均存在差异, 可对其进行鉴别。

参考文献

- [1] 顾觀光. 神农本草经[M]. 3版. 杨鹏举, 校注. 北京: 学苑出版社, 2007: 47-48.
- [2] 谢明, 杨爽爽, 王亮亮. 中药车前子的研究进展[J]. 黑龙江医药, 2015, 28(3): 474-476.
- [3] 郑太坤, 田中俊弘, 康廷国. 中国车前研究[M]. 沈阳: 辽宁科学出版社, 1993: 140.
- [4] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 一部[S]. 2015年版. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 68-69.
- [5] 蔡少青, 王璇. 常用中药材品种整理和质量研究(北方编): 第6册[M]. 北京: 北京医科大学出版社, 2003: 307.
- [6] 李冲冲, 龚苏晓, 许浚, 等. 车前子化学成分与药理作用研究进展及质量标志物预测分析[J]. 中草药, 2018, 49(6):

1233-1246.

- [7] 郭丹, 陈娜娜. 高效毛细管电泳结合PCR法鉴别南葶苈子与车前子[J]. 中国药房, 2010, 21(3): 232-233.
- [8] 李映平, 贺清源, 文芳, 等. 平车前子及其伪品的比较鉴别[J]. 湖南中医学院学报, 2001, 21(2): 28-29.
- [9] 倪福祿, 赵艳, 霍旺. 车前子人工掺伪品的鉴别[J]. 长春中医药大学学报, 2008, 24(6): 667-668.
- [10] 塔娜, 营艳艳, 马亚琴. 车前子及其4种混淆品的鉴别[J]. 包头医学, 2000, 24(2): 31.
- [11] 马逾英, 卢晓琳, 翟萌. 几种中药材及其混伪品的微性状对比鉴别[J]. 中国中药杂志, 2012, 37(8): 1161-1164.
- [12] 梁瑞红, 秦淑英. 车前子真伪鉴别[J]. 实用中医药杂志, 2011, 27(8): 563-564.
- [13] 陈瑛, 孙昌高, 巫金华, 等. 植物药种子手册[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1989: 388, 434.
- [14] 中国科学院中国植物志编委会. 中国植物志: 第70卷[M]. 北京: 科学出版社, 2002: 324, 332.

Δ 基金项目: 四川省战略性新兴产业计划项目(No.12XXCP0010)

* 硕士研究生。研究方向: 中药炮制与制剂。电话: 028-83705888。

E-mail: 3205418910@qq.com

通信作者: 副教授, 博士。研究方向: 中药炮制与制剂。电话: 028-61800231。E-mail: 3205418910@qq.com

(收稿日期: 2018-11-14 修回日期: 2019-01-02)

(编辑: 林静)

set at 330 nm, and column temperature was 30 °C. The sample size was 5 μL. The transfer rate was calculated. HPLC fingerprint was established for 17 batches of standard decoction of fried *P. frutescens* seed, and analyzed by using TCM Chromatogram Fingerprint Similarity Evaluation System (2012 edition). The chromatogram peaks were identified by comparing retention time of common peak. RESULTS: The yield of paste were 5.55%-9.75% in 17 batches of standard decoction of fried *P. frutescens* seed. The contents of rosmarinic acid were 0.44%-1.58%, and average content was 1.08%. The transfer rates of rosmarinic acid were 18.31%-34.32%, and average transfer rate was 25.42%. In HPLC fingerprints for 17 batches of standard decoction of *P. frutescens* seed, a total of 11 common peaks were identified, and the similarity was higher than 0.95. Five common peaks were identified, namely caffeic acid (peak 3), luteolin (peak 5), rosmarinic acid (peak 8), luteolin (peak 9), apigenin (peak 10). CONCLUSIONS: The quality control method of standard decoction of fried *P. frutescens* seed is established, which can provide reference for the formulation of the quality standard of fried *P. frutescens* seed granules and related preparations.

KEYWORDS Fried *Perilla frutescens* seed; Standard decoction; HPLC; Fingerprint; Rosmarinic acid; Transfer rate; Yield of paste

紫苏子为唇形科植物紫苏[*Perilla frutescens* (L.) Britt.]的干燥成熟果实,始载于《名医别录》^[1]。紫苏子主产于河北、四川、甘肃、江苏等地,其味辛,性温,归肺经,具有降气化痰、止咳平喘、润肠通便的功效,用于痰壅气逆、咳嗽气喘、肠燥便秘等^[2]。临床上多用其炮制品炒紫苏子,因炒制后可降低其油脂含量^[3],增强其止咳平喘的功效^[4-5]。汤剂作为炒紫苏子的传统应用形式,存在服用、储存、携带不便等问题^[6]。中药配方颗粒和传统汤剂相比具有质量稳定、疗效可靠、便于携带、服用方便、便于保管等优势^[7],但中药配方颗粒也存在对其疗效认识不足、缺乏统一标准、研究基础薄弱等问题^[8]。因此,2016年8月国家药典委员会发布了《中药配方颗粒质量控制与标准制定技术要求(征求意见稿)》,将标准汤剂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^[9-10],以保障临床用药的准确性和剂量的一致性。

标准汤剂系由不少于15批原料分别制得,计算其指标成分含量、指标成分转移率和出膏率的平均值,并规定其变化可接受的范围。中药配方颗粒的所有药学研究均须与标准汤剂进行对比,以保证与标准汤剂质量的一致性,因此亟需进行标准汤剂的质量标准研究,从而为配方颗粒质量标准的研究提供准确可靠的可视化标尺。本研究遵循该文件中标准汤剂的制备方法,选用3个主产区的17批炒紫苏子饮片制备标准汤剂,参考2015年版《中国药典》(一部)炒紫苏子项下含量测定方法^[2],以主要有效成分迷迭香酸为指标成分,测定其含量,计算转移率和出膏率范围,并进行指纹图谱研究^[11],以期建立炒紫苏子标准汤剂质量评价方法,进而为炒紫苏子配方颗粒的质量控制提供依据。

1 材料

1.1 仪器

Waters e 2695型高效液相色谱(HPLC)仪(美国Waters科技有限公司);Agilent 1260型HPLC仪(美国Agilent科技有限公司);CT-C-3型热风循环烘箱(杭州金竺

机械有限公司);MS205DU型电子分析天平、ME204E/02型电子分析天平[梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司];Molcell 1820A型超纯水机(重庆摩水水处理设备有限公司);KQ5200DB型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);LGJ-100F型真空冷冻干燥机(北京松源华兴科技发展有限公司)。

1.2 药品与试剂

17批炒紫苏子饮片经成都中医药大学药学院胡昌江教授鉴定,均由唇形科植物紫苏[*Perilla frutescens* (L.) Britt.]的干燥成熟果实炮制加工而成,经检测均合格;17批炒紫苏子标准汤剂冻干粉均由四川新绿色药业科技发展有限公司制备;迷迭香酸对照品(批号:111871-201706,纯度:90.5%,供含量测定用)、木犀草苷对照品(批号:111720-201609,纯度:94.9%)、芹菜素对照品(批号:111901-201102,纯度:99.6%)、木犀草素对照品(批号:111520-201605,纯度:99.6%)、咖啡酸对照品(批号:110885-201703,纯度:99.7%)均来源于中国食品药品检定研究院;甲醇、乙腈、甲酸为色谱纯,水为超纯水,其余试剂均为分析纯。17批炒紫苏子饮片及标准汤剂冻干粉的信息见表1。

2 方法与结果

2.1 样品的制备

2.1.1 标准汤剂冻干粉的制备 取炒紫苏子饮片150g,捣碎,加水煎煮2次,第1次加8倍水,浸泡30min,煮沸,保持微沸煎煮30min,200目筛网过滤;第2次加6倍水,煮沸,保持微沸煎煮20min,200目筛网过滤。合并2次水煎液,冷却至室温,冷冻、干燥,即得炒紫苏子标准汤剂冻干粉。

2.1.2 对照品溶液的制备 (1)迷迭香酸对照品溶液:取迷迭香酸对照品适量,精密称定,加甲醇制备成浓度为80.00 μg/mL的对照品溶液,即得。(2)混合对照品溶液:精密称取咖啡酸、迷迭香酸、木犀草苷、木犀草素和芹菜素对照品适量,加甲醇制备成含咖啡酸为

表1 炒紫苏子饮片及标准汤剂冻干粉信息

Tab 1 Information of fried *P. frutescens* seed and freeze-dried powder of standard decoction

| 编号 | 标准汤剂冻干粉批号 | 饮片批号 | 饮片产地 |
|-----|--------------|------------|--------------|
| S1 | CZSZBT180601 | CZSZ180601 | 甘肃省庆阳市宁县南义乡 |
| S2 | CZSZBT180602 | CZSZ180602 | 甘肃省庆阳市镇原县城关镇 |
| S3 | CZSZBT180603 | CZSZ180603 | 甘肃省庆阳市镇原县城关镇 |
| S4 | CZSZBT180604 | CZSZ180604 | 甘肃省庆阳市宁县焦村镇 |
| S5 | CZSZBT180605 | CZSZ180605 | 甘肃省庆阳市宁县南义乡 |
| S6 | CZSZBT180606 | CZSZ180606 | 甘肃省庆阳市宁县焦村镇 |
| S7 | CZSZBT180607 | CZSZ180607 | 河北省安国市 |
| S8 | CZSZBT180608 | CZSZ180608 | 河北省安国市 |
| S9 | CZSZBT180609 | CZSZ180609 | 河北省安国市 |
| S10 | CZSZBT180610 | CZSZ180610 | 河北省安国市 |
| S11 | CZSZBT180611 | CZSZ180611 | 河北省安国市 |
| S12 | CZSZBT180612 | CZSZ180612 | 江苏省徐州市 |
| S13 | CZSZBT180613 | CZSZ180613 | 江苏省徐州市 |
| S14 | CZSZBT180614 | CZSZ180614 | 江苏省徐州市 |
| S15 | CZSZBT180615 | CZSZ180615 | 江苏省徐州市 |
| S16 | CZSZBT180616 | CZSZ180616 | 江苏省徐州市 |
| S17 | CZSZBT180617 | CZSZ180617 | 江苏省徐州市 |

60.10 μg/mL、迷迭香酸为 80.70 μg/mL、木犀草苷为 60.72 μg/mL、木犀草素为 100.61 μg/mL、芹菜素为 100.20 μg/mL 的混合对照品溶液,即得。

2.1.3 供试品溶液的制备 取炒紫苏子标准汤剂冻干粉约 0.5 g,精密称定,置于具塞锥形瓶中,精密加 80% 甲醇 50 mL,密塞,称定质量;然后超声(功率:600 W、频率:40 kHz)处理 20 min,放冷,再次称定质量,用 80% 甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.2 炒紫苏子标准汤剂中迷迭香酸的含量测定

2.2.1 色谱条件与系统适用性试验 采用 Water e 2695 型 HPLC 仪进行分析。色谱柱:Agilent 5 TC-C₁₈(2) (250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:甲醇-0.1%甲酸溶液(40:60, V/V);检测波长:330 nm;流速:1.0 mL/min;柱温:30 ℃;进样量:5 μL。取“2.1”项下对照品溶液和供试品溶液(冻干粉批号:CZSZBT180605)按此条件进样测定。结果,在此色谱条件下,供试品溶液中待测指标成分迷迭香酸与相邻峰的分度均>1.5,理论板数按迷迭香酸计应不低于 3 000,色谱图见图 1。

2.2.2 线性关系考察 取迷迭香酸对照品适量,精密称定,加甲醇制备成质量浓度为 453.3 μg/mL 的对照品母液。然后取母液分别稀释得到质量浓度为 111.3、56.7、22.7、11.3 μg/mL 的系列对照品溶液。分别取上述对照品溶液和对照品母液 5 μL 注入液相色谱仪,按“2.2.1”项下条件分析,记录峰面积。以迷迭香酸质量浓度为横坐标(x, μg/mL)、峰面积为纵坐标(y)绘制标准曲线,得到线性回归方程:y=13.44x+177.4(R²=0.999 2),提示迷迭香酸检测质量浓度线性范围为 11.3~453.3 μg/mL。

2.2.3 精密度试验 取同一对照品溶液按“2.2.1”项下条件连续进样 6 次,记录峰面积。结果,迷迭香酸峰面积

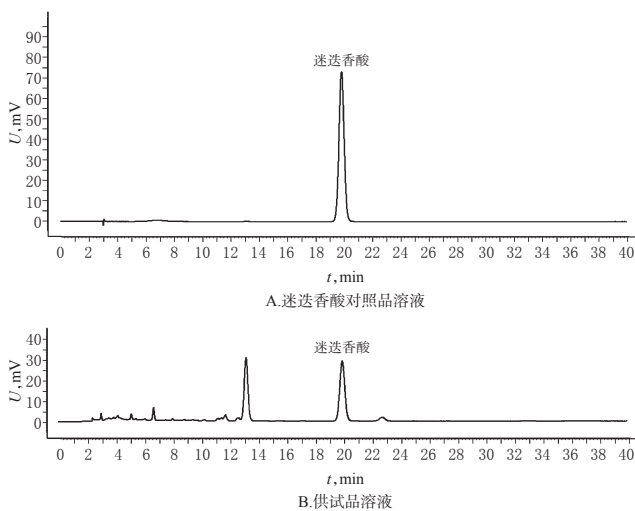


图1 高效液相色谱图

Fig 1 HPLC chromatograms

的RSD为0.83%(n=6),表明该仪器的精密度良好。

2.2.4 重复性试验 取同一批标准汤剂冻干粉(批号:CZSZBT180605)0.5 g,精密称定 6 份,由同一操作人员按照“2.1.3”项下方法制备供试品溶液,然后按“2.2.1”项下条件进样测定,记录峰面积。结果,迷迭香酸含量的RSD为1.70%(n=6),表明该方法的重复性良好。

2.2.5 稳定性试验 取同一批标准汤剂冻干粉(批号:CZSZBT180605)0.5 g,由同一操作人员按照“2.1.3”项下方法制备供试品溶液,分别在室温条件下放置 0、2、4、8、12、24 h 后,按“2.2.1”项下条件进样测定,记录峰面积。结果,迷迭香酸含量的RSD为0.38%(n=6),表明供试品溶液在室温下 24 h 内稳定性良好。

2.2.6 加样回收率试验 取已知含量的标准汤剂冻干粉(批号:CZSZBT180605)约 0.25 g,共 6 份,精密称定,分别精密加入一定量的迷迭香酸对照品,按“2.1.3”项下方法制备供试品溶液,然后按“2.2.1”项下条件进样测定,记录峰面积。结果,迷迭香酸的回收率在 96.8%~99.5% 之间,平均值为 97.9%,RSD 为 1.0%(n=6),表明该方法准确度良好。回收率测定结果见表 2。

表2 回收率测定结果(n=6)

Tab 2 Results of recovery rate(n=6)

| 编号 | 取样量, g | 样品含量, mg | 加入量, mg | 测定量, mg | 加样回收率, % | 平均加样回收率, % | RSD, % |
|----|---------|----------|---------|---------|----------|------------|--------|
| 1 | 0.250 5 | 2.749 | 2.75 | 5.450 8 | 98.2 | 97.9 | 1.0 |
| 2 | 0.251 2 | 2.757 | 2.75 | 5.450 9 | 98.0 | | |
| 3 | 0.251 0 | 2.755 | 2.75 | 5.445 7 | 97.8 | | |
| 4 | 0.250 0 | 2.744 | 2.75 | 5.480 1 | 99.5 | | |
| 5 | 0.250 4 | 2.748 | 2.75 | 5.418 5 | 97.1 | | |
| 6 | 0.249 8 | 2.742 | 2.75 | 5.403 7 | 96.8 | | |

2.2.7 迷迭香酸含量测定 根据已建立的含量测定方法,对 17 批炒紫苏子饮片及其标准汤剂进行迷迭香酸含量测定,并计算其转移率{转移率(%)=[标准汤剂中迷迭香酸含量×标准汤剂收料量×(1-标准汤剂中水分含

量)/[饮片中医迷迭香酸含量×饮片投料量×(1-饮片中水分含量)]×100%];和出膏率[出膏率(%)=标准汤剂收粉

量/饮片投入量×100%],结果见表3。

结果显示,17批炒紫苏子标准汤剂的出膏率为

表3 迷迭香酸含量及其转移率和标准汤剂出膏率测定结果

Tab 3 Determination result of rosmarinic acid content and its transfer rate and yield of paste

| 标准汤剂冻干粉批号 | 饮片批号 | 饮片中水分, % | 饮片投料量, % | 饮片中迷迭香含量, % | 标准汤剂中水分, % | 标准汤剂收料量, % | 标准汤剂中迷迭香酸含量, % | 转移率, % | 出膏率, % |
|--------------|------------|----------|----------|-------------|------------|------------|----------------|--------|--------|
| CZSZBT180601 | CZSZ180601 | 0.80 | 150.11 | 0.33 | 2.30 | 11.50 | 1.20 | 27.44 | 7.66 |
| CZSZBT180602 | CZSZ180602 | 1.00 | 152.73 | 0.36 | 2.00 | 12.66 | 1.26 | 28.72 | 8.29 |
| CZSZBT180603 | CZSZ180603 | 1.40 | 150.99 | 0.36 | 2.40 | 11.58 | 1.55 | 32.69 | 7.67 |
| CZSZBT180604 | CZSZ180604 | 0.40 | 150.88 | 0.37 | 3.00 | 12.45 | 1.58 | 34.32 | 8.25 |
| CZSZBT180605 | CZSZ180605 | 0.60 | 200.84 | 0.31 | 2.00 | 18.01 | 1.12 | 31.94 | 8.97 |
| CZSZBT180606 | CZSZ180606 | 0.80 | 151.51 | 0.37 | 2.40 | 13.21 | 1.38 | 31.99 | 8.72 |
| CZSZBT180607 | CZSZ180607 | 1.50 | 150.56 | 0.29 | 3.30 | 14.68 | 0.59 | 19.47 | 9.75 |
| CZSZBT180608 | CZSZ180608 | 1.80 | 150.68 | 0.22 | 3.10 | 14.54 | 0.44 | 19.04 | 9.65 |
| CZSZBT180609 | CZSZ180609 | 1.60 | 150.29 | 0.26 | 2.50 | 9.88 | 1.25 | 31.32 | 6.57 |
| CZSZBT180610 | CZSZ180610 | 1.20 | 150.62 | 0.24 | 2.70 | 11.71 | 0.62 | 19.78 | 7.77 |
| CZSZBT180611 | CZSZ180611 | 1.50 | 150.35 | 0.24 | 2.80 | 11.28 | 0.64 | 19.74 | 7.50 |
| CZSZBT180612 | CZSZ180612 | 1.30 | 150.61 | 0.34 | 3.20 | 9.02 | 1.06 | 18.31 | 5.99 |
| CZSZBT180613 | CZSZ180613 | 1.40 | 150.41 | 0.32 | 3.60 | 10.76 | 1.07 | 23.39 | 7.15 |
| CZSZBT180614 | CZSZ180614 | 1.30 | 150.27 | 0.31 | 2.50 | 8.34 | 1.29 | 22.81 | 5.55 |
| CZSZBT180615 | CZSZ180615 | 1.70 | 150.41 | 0.35 | 4.00 | 12.00 | 1.29 | 28.72 | 7.98 |
| CZSZBT180616 | CZSZ180616 | 1.50 | 150.64 | 0.39 | 3.50 | 13.11 | 1.02 | 22.30 | 8.70 |
| CZSZBT180617 | CZSZ180617 | 1.60 | 150.55 | 0.35 | 3.10 | 9.65 | 1.12 | 20.20 | 6.41 |
| 平均值, % | | 1.26 | 153.67 | 0.32 | 2.85 | 12.02 | 1.09 | 25.42 | 7.80 |

5.55%~9.75%,平均出膏率为7.80%;其中迷迭香酸的含量为0.44%~1.58%,平均含量为1.09%;迷迭香酸的转移率为18.31%~34.32%,平均转移率为25.42%。

2.3 HPLC 指纹图谱分析

2.3.1 色谱条件 采用Agilent 1260型HPLC仪进行分析。色谱柱:Kromasil C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:以乙腈为流动相A、0.1%甲酸为流动相B,梯度洗脱(0~10 min, 3%→17% A; 10~35 min, 17%→22% A; 35~60 min, 22%→60% A);流速:1.0 mL/min;柱温:30℃;检测波长:330 nm;进样量:10 μL。

2.3.2 精密度试验 精密称取炒紫苏子标准汤剂冻干粉(批号:CZSZBT180605)1份,按“2.1.3”项下方法制备供试品溶液,按“2.3.1”项下条件连续进样6次,记录色谱图。以峰8为参照峰(S),对各共有色谱峰相对保留时间及相对峰面积进行统计。结果,各共有峰相对保留时间的RSD为0.05%~0.35%(n=6),相对峰面积的RSD为0.24%~0.92%(n=6),表明仪器精密度良好。

2.3.3 重复性试验 取同一批炒紫苏子标准汤剂冻干粉(批号:CZSZBT180605)0.5 g,精密称定6份,由同一操作人员按“2.1.3”项下方法制成供试品溶液,再按“2.3.1”项下条件进样测定,记录色谱图。以峰8为参照峰(S),对各共有色谱峰相对保留时间及相对峰面积进行统计。结果,各共有峰相对保留时间的RSD为0.03%~0.69%(n=6),相对峰面积的RSD为0.13%~2.03%(n=6),表明该方法重复性良好。

2.3.4 稳定性试验 取同一批炒紫苏子标准汤剂冻干粉(批号:CZSZBT180605)0.5 g,由同一操作人员按照

“2.1.3”项下方法制成供试品溶液,在室温条件下放置0、2、4、8、12、24 h后,再按“2.3.1”项下条件进样测定,记录色谱图。以峰8为参照峰(S),对各共有色谱峰相对保留时间及相对峰面积进行统计。结果,各共有峰相对保留时间的RSD为0.06%~0.40%(n=6),相对峰面积的RSD为0.16%~1.95%(n=6),表明样品在室温条件下24 h内稳定性良好。

2.3.5 指纹图谱的建立与分析 分别取17批炒紫苏子标准汤剂冻干粉,按“2.1.3”项下方法制得标准汤剂供试品溶液(S1~S17),并按“2.3.1”项下条件进样测定,记录色谱图。将所得色谱图导入中药指纹图谱相似度评价系统软件(2012版)中进行匹配,以样品S1的图谱为参照图谱R,建立HPLC指纹图谱,并计算各批次样品指纹图谱的相似度。结果,根据匹配结果确定了11个共有峰,各批次样品的指纹图谱相似度均大于0.95。17批样品的指纹图谱及其对照指纹图谱R见图2、图3,17批炒紫苏子标准汤剂中11个共有峰的相对保留时间见表4、共有峰的相对峰面积见表5、相似度评价结果见表6。

2.3.6 色谱峰的指认 分别取混合对照品溶液、炒紫苏子标准汤剂供试品溶液(冻干粉批号:CZSZBT180601),按“2.3.1”项下条件进样测定,记录色谱图。通过与各对照品色谱峰进行比对分析,指认了其中5个色谱峰,分别为咖啡酸(峰3)、木犀草苷(峰5)、迷迭香酸(峰8)、木犀草素(峰9)和芹菜素(峰10),色谱图见图4。

3 讨论

中药标准汤剂作为经典名方制剂的质量基准和衡量中药配方颗粒的标准参照物,已成为当前中医药界的

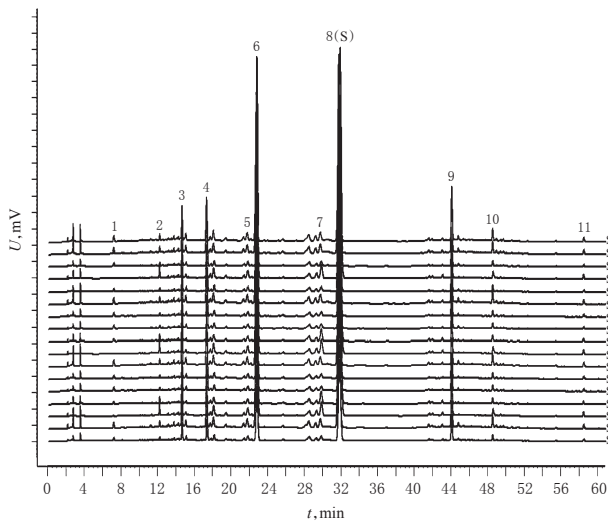


图2 17批炒紫苏子标准汤剂HPLC指纹图谱

Fig 2 HPLC fingerprints for 17 batches of fried *P. frutescens* seed standard decoction

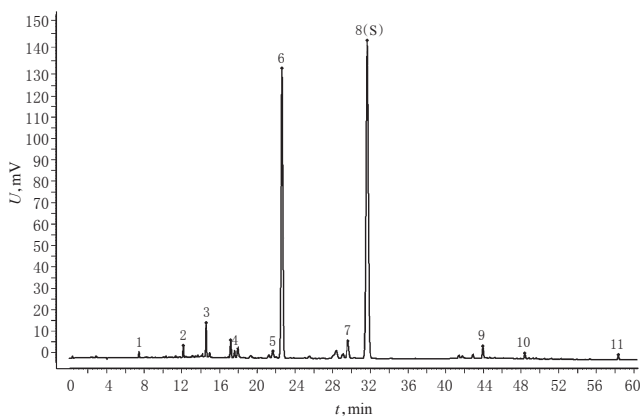


图3 炒紫苏子标准汤剂对照指纹图谱R

Fig 3 Reference fingerprint R of fried *P. frutescens* seed standard decoction

研究热点之一。标准汤剂的制备首先要求所用饮片来源具有道地性和代表性^[12]。本研究收集了3个主产区或规范化种植产区的紫苏子药材共17批次,具有代表性;其次,整个制备过程完全遵循标准化操作^[12],质量控制采用指纹图谱和指标成分迷迭香酸含量测定相结合,从整体定性和指标成分定量的角度为炒紫苏子相关制剂的制备和质量控制提供了参考。

在指纹图谱研究中,笔者前期对提取溶剂(乙醇、80%甲醇、水、甲醇)、提取方法(回流提取和超声提取)、提取时间(20、30、40 min)等进行了考察。结果表明,在相同的色谱条件下,80%甲醇作为提取溶剂得到的色谱峰较多、峰面积较大,且分离度良好;回流和超声提取效果一致,因此采用操作简便的超声提取;提取时间对其提取效率无显著影响,故选择提取时间为20 min。采用二极管阵列检测器(DAD)进行全波长扫描,结果发现在波长为330 nm时,色谱峰个数最多、且各峰峰形较好,

表4 17批炒紫苏子标准汤剂中11个共有峰的相对保留时间

Tab 4 Relative retention time of 11 common chromatographic peaks for 17 batches of fried *P. frutescens* seed standard decoction

| 样品编号 | 峰1 | 峰2 | 峰3 | 峰4 | 峰5 | 峰6 | 峰7 | 峰8(S) | 峰9 | 峰10 | 峰11 |
|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| S1 | 0.225 | 0.385 | 0.461 | 0.544 | 0.684 | 0.715 | 0.936 | 1.000 | 1.388 | 1.529 | 1.842 |
| S2 | 0.224 | 0.382 | 0.459 | 0.544 | 0.684 | 0.715 | 0.937 | 1.000 | 1.385 | 1.526 | 1.838 |
| S3 | 0.224 | 0.383 | 0.460 | 0.544 | 0.685 | 0.716 | 0.936 | 1.000 | 1.387 | 1.527 | 1.839 |
| S4 | 0.224 | 0.382 | 0.459 | 0.545 | 0.684 | 0.716 | 0.936 | 1.000 | 1.386 | 1.526 | 1.839 |
| S5 | 0.225 | 0.383 | 0.460 | 0.545 | 0.685 | 0.717 | 0.937 | 1.000 | 1.386 | 1.526 | 1.838 |
| S6 | 0.224 | 0.381 | 0.458 | 0.544 | 0.684 | 0.715 | 0.937 | 1.000 | 1.383 | 1.523 | 1.835 |
| S7 | 0.223 | 0.382 | 0.459 | 0.543 | 0.684 | 0.714 | 0.935 | 1.000 | 1.384 | 1.525 | 1.836 |
| S8 | 0.221 | 0.382 | 0.459 | 0.543 | 0.685 | 0.715 | 0.935 | 1.000 | 1.386 | 1.526 | 1.838 |
| S9 | 0.223 | 0.381 | 0.458 | 0.543 | 0.683 | 0.715 | 0.936 | 1.000 | 1.384 | 1.524 | 1.834 |
| S10 | 0.223 | 0.381 | 0.459 | 0.544 | 0.685 | 0.716 | 0.936 | 1.000 | 1.383 | 1.524 | 1.836 |
| S11 | 0.223 | 0.382 | 0.459 | 0.542 | 0.685 | 0.715 | 0.935 | 1.000 | 1.385 | 1.526 | 1.838 |
| S12 | 0.224 | 0.382 | 0.459 | 0.543 | 0.683 | 0.715 | 0.936 | 1.000 | 1.384 | 1.524 | 1.835 |
| S13 | 0.224 | 0.382 | 0.459 | 0.544 | 0.685 | 0.716 | 0.935 | 1.000 | 1.386 | 1.526 | 1.838 |
| S14 | 0.224 | 0.382 | 0.459 | 0.544 | 0.685 | 0.716 | 0.936 | 1.000 | 1.385 | 1.526 | 1.837 |
| S15 | 0.225 | 0.383 | 0.460 | 0.544 | 0.684 | 0.715 | 0.935 | 1.000 | 1.388 | 1.529 | 1.841 |
| S16 | 0.225 | 0.383 | 0.460 | 0.544 | 0.684 | 0.716 | 0.936 | 1.000 | 1.389 | 1.530 | 1.843 |
| S17 | 0.224 | 0.382 | 0.459 | 0.544 | 0.684 | 0.716 | 0.936 | 1.000 | 1.386 | 1.526 | 1.838 |

表5 17批炒紫苏子标准汤剂中11个共有峰的相对峰面积

Tab 5 Relative peak areas of 11 common chromatographic peaks for 17 batches of fried *P. frutescens* seed standard decoction

| 样品编号 | 峰1 | 峰2 | 峰3 | 峰4 | 峰5 | 峰6 | 峰7 | 峰8(S) | 峰9 | 峰10 | 峰11 |
|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| S1 | 0.007 | 0.012 | 0.041 | 0.027 | 0.018 | 0.675 | 0.050 | 1.000 | 0.021 | 0.008 | 0.008 |
| S2 | 0.005 | 0.014 | 0.041 | 0.033 | 0.008 | 0.615 | 0.060 | 1.000 | 0.042 | 0.015 | 0.010 |
| S3 | 0.003 | 0.013 | 0.039 | 0.030 | 0.003 | 0.546 | 0.057 | 1.000 | 0.023 | 0.009 | 0.011 |
| S4 | 0.006 | 0.012 | 0.037 | 0.023 | 0.006 | 0.605 | 0.060 | 1.000 | 0.041 | 0.012 | 0.009 |
| S5 | 0.018 | 0.016 | 0.078 | 0.115 | 0.036 | 0.606 | 0.049 | 1.000 | 0.151 | 0.029 | 0.014 |
| S6 | 0.004 | 0.014 | 0.042 | 0.032 | 0.007 | 0.610 | 0.061 | 1.000 | 0.051 | 0.017 | 0.012 |
| S7 | 0.005 | 0.011 | 0.049 | 0.027 | 0.010 | 0.262 | 0.022 | 1.000 | 0.122 | 0.068 | 0.015 |
| S8 | 0.004 | 0.012 | 0.057 | 0.020 | 0.009 | 0.295 | 0.028 | 1.000 | 0.103 | 0.060 | 0.017 |
| S9 | 0.001 | 0.005 | 0.058 | 0.032 | 0.026 | 0.732 | 0.057 | 1.000 | 0.033 | 0.018 | 0.011 |
| S10 | 0.005 | 0.012 | 0.050 | 0.027 | 0.007 | 0.275 | 0.023 | 1.000 | 0.112 | 0.063 | 0.015 |
| S11 | 0.005 | 0.010 | 0.049 | 0.027 | 0.010 | 0.265 | 0.022 | 1.000 | 0.113 | 0.063 | 0.014 |
| S12 | 0.006 | 0.012 | 0.042 | 0.025 | 0.017 | 0.661 | 0.050 | 1.000 | 0.038 | 0.013 | 0.008 |
| S13 | 0.004 | 0.014 | 0.041 | 0.033 | 0.003 | 0.616 | 0.060 | 1.000 | 0.041 | 0.015 | 0.010 |
| S14 | 0.002 | 0.013 | 0.040 | 0.028 | 0.006 | 0.543 | 0.057 | 1.000 | 0.025 | 0.012 | 0.007 |
| S15 | 0.005 | 0.012 | 0.037 | 0.022 | 0.007 | 0.603 | 0.060 | 1.000 | 0.043 | 0.014 | 0.009 |
| S16 | 0.015 | 0.013 | 0.072 | 0.115 | 0.035 | 0.600 | 0.039 | 1.000 | 0.149 | 0.030 | 0.014 |
| S17 | 0.004 | 0.016 | 0.042 | 0.030 | 0.009 | 0.604 | 0.062 | 1.000 | 0.050 | 0.017 | 0.012 |

故确定检测波长为330 nm;以流动相乙腈-0.1%甲酸水溶液进行梯度洗脱,将检测时间延长至120 min,结果表明,60 min后没有明显的色谱峰,故梯度洗脱时间和记录色谱图的时间定为60 min。

综上所述,本研究初步建立了炒紫苏子标准汤剂的质量评价方法,可用于解决因原料差异、生产工艺差异造成的配方颗粒质量差异问题,保障炒紫苏子配方颗粒

表6 17批炒紫苏子标准汤剂的相似度评价结果

Tab 6 Similarity evaluation of 17 batches of fried *P. frutescens* seed standard decoction

| 样品编号 | S1 | S2 | S3 | S4 | S5 | S6 | S7 | S8 | S9 | S10 | S11 | S12 | S13 | S14 | S15 | S16 | S17 |
|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| S1 | 1.000 | 0.981 | 0.994 | 0.995 | 0.994 | 0.999 | 0.996 | 0.995 | 0.995 | 0.995 | 0.998 | 0.994 | 0.993 | 0.995 | 0.999 | 0.993 | 0.997 |
| S2 | 0.981 | 1.000 | 0.994 | 0.993 | 0.969 | 0.976 | 0.958 | 0.962 | 0.989 | 0.964 | 0.973 | 0.982 | 0.991 | 0.991 | 0.993 | 0.992 | 0.992 |
| S3 | 0.994 | 0.994 | 1.000 | 0.999 | 0.980 | 0.980 | 0.996 | 0.996 | 0.997 | 0.989 | 0.989 | 0.995 | 0.995 | 0.995 | 0.996 | 0.996 | 0.971 |
| S4 | 0.995 | 0.993 | 0.999 | 1.000 | 0.985 | 0.982 | 0.982 | 0.991 | 0.991 | 0.999 | 0.999 | 0.996 | 0.996 | 0.984 | 0.983 | 0.991 | 0.991 |
| S5 | 0.994 | 0.969 | 0.980 | 0.985 | 1.000 | 0.995 | 0.995 | 0.994 | 0.986 | 0.992 | 0.992 | 0.992 | 0.985 | 0.974 | 0.961 | 0.980 | 0.910 |
| S6 | 0.999 | 0.976 | 0.980 | 0.982 | 0.995 | 1.000 | 0.997 | 0.981 | 0.996 | 0.996 | 0.997 | 0.993 | 0.994 | 0.985 | 0.985 | 0.992 | 0.992 |
| S7 | 0.996 | 0.958 | 0.996 | 0.982 | 0.995 | 0.997 | 1.000 | 0.997 | 0.997 | 0.997 | 0.969 | 0.962 | 0.981 | 0.958 | 0.978 | 0.995 | 0.995 |
| S8 | 0.995 | 0.962 | 0.996 | 0.991 | 0.994 | 0.981 | 0.997 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 0.998 | 0.998 | 0.996 | 0.994 | 0.997 |
| S9 | 0.995 | 0.989 | 0.997 | 0.991 | 0.986 | 0.996 | 0.997 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 0.997 | 0.995 | 0.995 | 0.999 | 0.991 | 0.991 | 0.992 |
| S10 | 0.995 | 0.964 | 0.989 | 0.999 | 0.992 | 0.996 | 0.997 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 0.999 | 0.999 | 0.996 | 0.989 | 0.983 | 0.996 | 0.996 |
| S11 | 0.998 | 0.973 | 0.989 | 0.999 | 0.992 | 0.997 | 0.969 | 1.000 | 0.997 | 0.999 | 1.000 | 0.995 | 0.994 | 0.999 | 0.991 | 0.993 | 0.993 |
| S12 | 0.994 | 0.982 | 0.995 | 0.996 | 0.992 | 0.993 | 0.962 | 1.000 | 0.995 | 0.999 | 0.995 | 1.000 | 0.998 | 0.985 | 0.988 | 0.995 | 0.995 |
| S13 | 0.993 | 0.991 | 0.995 | 0.996 | 0.985 | 0.994 | 0.981 | 0.998 | 0.995 | 0.996 | 0.994 | 0.998 | 1.000 | 0.996 | 0.996 | 0.996 | 0.992 |
| S14 | 0.995 | 0.991 | 0.995 | 0.984 | 0.974 | 0.985 | 0.958 | 0.998 | 0.999 | 0.989 | 0.999 | 0.985 | 0.996 | 1.000 | 0.999 | 0.999 | 0.997 |
| S15 | 0.999 | 0.993 | 0.996 | 0.983 | 0.961 | 0.985 | 0.978 | 0.996 | 0.991 | 0.983 | 0.991 | 0.988 | 0.996 | 0.999 | 1.000 | 0.995 | 0.995 |
| S16 | 0.993 | 0.992 | 0.996 | 0.991 | 0.980 | 0.992 | 0.995 | 0.994 | 0.991 | 0.996 | 0.993 | 0.995 | 0.996 | 0.999 | 0.995 | 1.000 | 0.997 |
| S17 | 0.997 | 0.992 | 0.971 | 0.991 | 0.910 | 0.992 | 0.995 | 0.997 | 0.992 | 0.996 | 0.993 | 0.995 | 0.992 | 0.997 | 0.995 | 0.997 | 1.000 |
| R | 0.996 | 0.999 | 0.998 | 0.999 | 0.998 | 0.999 | 0.996 | 0.995 | 0.998 | 0.996 | 0.999 | 0.983 | 0.995 | 0.998 | 0.995 | 0.995 | 0.995 |

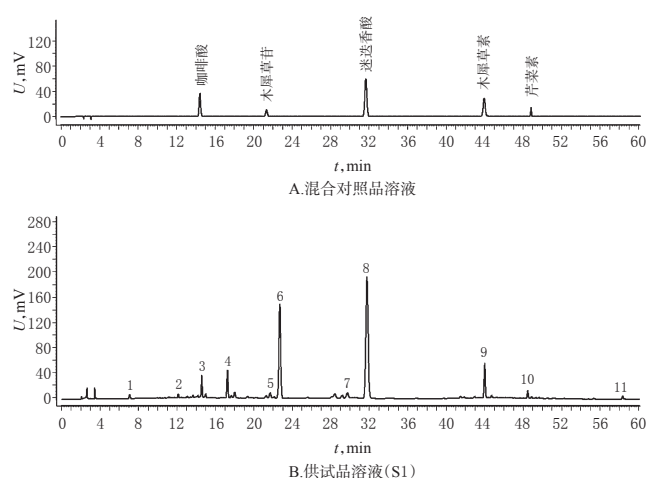


图4 炒紫苏子标准汤剂和对照品的HPLC图

Fig 4 HPLC chromatograms of fried *P. frutescens* seed standard decoction and substance control

质量的稳定可控。本研究立足于现代标准汤剂,提供了指纹图谱及其指标成分含量共同控制中药标准汤剂质量的一种新思路,能有效体现炒紫苏子标准汤剂的化学成分信息,为炒紫苏子配方颗粒及炒紫苏子相关经典名方的质量控制提供了参考。但是,仍需对标准汤剂与传统汤剂临床疗效的一致性等关键问题进行深入研究。

参考文献

[1] 唐雪阳,安琪,孙道涵,等.基于药物体系的紫苏子特征图谱质量表征关联分析研究[J].北京中医药大学报,2015,38(4):241-246,290.
 [2] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S].2015年版.北京:中国医药科技出版社,2015:338-339.

[3] 王远,郭萍,李晖,等. RP-HPLC法同时测定紫苏子中 α -亚麻酸和亚油酸的含量[J].药物分析杂志,2012,32(2):252-254.
 [4] 马屏南.紫苏子镇咳、祛痰、平喘作用的药理研究[J].中南药学,2015,10(10):135-138.
 [5] 董敏,吕丽,陆继辉,等.炒紫苏子醇提取物对血小板聚集活性的影响[J].中国误诊学杂志,2007,7(26):6218-6219.
 [6] 殷佳,潘晔,蔡雪朦,等.中药传统汤剂、浸膏剂和配方颗粒剂的比较[J].中草药,2017,48(18):3871-3875.
 [7] 杨喜乐,黄世敬.中药配方颗粒剂的发展及现状[J].辽宁中医杂志,2018,45(8):1771-1773.
 [8] 严丹,陶兴宝,张超,等.采用SWOT分析法探讨中药配方颗粒的发展趋势[J].中国药房,2017,28(1):1-5.
 [9] 陈玲,李晓,魏悦,等.黄芩饮片、标准汤剂、中间体、配方颗粒的HPLC指纹图谱相关性研究[J].天然产物研究与开发,2018,30(1):56-60,154.
 [10] 郝亚冬,李东辉,王建农.杭白菊标准汤剂质量标准研究及应用[J].中国中药杂志,2018,43(13):2720-2725.
 [11] 何育佩,郝二伟,谢金玲,等.紫苏药理作用及其化学物质基础研究进展[J].中草药,2018,49(16):3957-3968.
 [12] 张慧,陈燕,汪佳楠,等.指纹图谱技术在中药配方颗粒质量评价及过程控制中的应用[J].中国中药杂志,2018,43(19):3822-3827.
 [13] 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.

(收稿日期:2018-12-16 修回日期:2019-01-05)

(编辑:林静)