

# 基于标准汤剂的鲜益母草配方颗粒质量标准研究

刘燎原<sup>1,2</sup>, 洪婉敏<sup>2</sup>, 张志鹏<sup>2</sup>,  
张正<sup>2</sup>, 程钰洁<sup>2</sup>, 黄瑶<sup>2</sup>, 徐杰<sup>2</sup>, 孙冬梅<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>广东省中医药研究开发重点实验室, 广州 510095;

<sup>2</sup>广东一方制药有限公司 广东省中药配方颗粒企业重点实验室, 佛山 528244

**摘要:** 建立基于标准汤剂的鲜益母草配方颗粒质量标准。采集 20 批鲜益母草药材, 依据《医疗机构中药煎药室管理规范》和《中药配方颗粒质量控制与标准制定技术要求》进行饮片炮制、煎煮、浓缩、冷冻干燥, 制备成鲜益母草标准汤剂, 测定 20 批鲜益母草标准汤剂的出膏率、盐酸益母草碱和盐酸水苏碱的含量, 并构建表征鲜益母草主要化学成分的特征图谱。同时, 以与鲜益母草标准汤剂出膏率、指标成分的含量及特征图谱的一致性为基准, 进行 3 批鲜益母草配方颗粒的放大生产, 验证制定的鲜益母草配方颗粒质量标准的合理性。结果表明 20 批鲜益母草标准汤剂出膏率范围为 4.43% ~ 8.02%; 盐酸益母草碱与盐酸水苏碱含量分别为 2.11 ~ 9.05、16.86 ~ 82.59 mg/g; 确定配方颗粒干浸膏范围为 5.0% ~ 8.5%, 盐酸益母草碱与盐酸水苏碱含量分别为 1.0 ~ 5.3、9.0 ~ 60.0 mg/g; 特征图谱标定 8 个特征峰, 配方颗粒图谱信息与标准汤剂一致。可知本研究基于标准汤剂的鲜益母草配方颗粒质量标准合理可行, 可为鲜益母草配方颗粒国家标准的制定提供参考。

**关键词:** 鲜益母草; 标准汤剂; 配方颗粒; 出膏率; 含量; 特征图谱

中图分类号: R284.1

文献标识码: A

文章编号: 1001-6880(2024)10-1761-16

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2024.10.013

## Study on the quality standard of fresh *Leonurus japonicus* Houtt. formula granules based on standard decoction

LIU Liao-yuan<sup>1,2</sup>, HONG Wan-min<sup>2</sup>, ZHANG Zhi-peng<sup>2</sup>,  
ZHANG Zheng<sup>2</sup>, CHENG Yu-jie<sup>2</sup>, HUANG Yao<sup>2</sup>, XU Jie<sup>2</sup>, SUN Dong-mei<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Guangdong Provincial Key Laboratory of Research and Development in Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510095, China;

<sup>2</sup>Guangdong Provincial Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine Formula Granule, Guangdong Yifang Pharmaceutical Co., Ltd., Foshan 528244, China

**Abstract:** This study aims to establish the quality standard of fresh *Leonurus japonicus* Houtt. formula granules based on the standard decoction. Twenty batches of fresh *L. japonicus* medicinal materials were collected, according to the management standard for traditional Chinese medicine decocting room in medical institutions and the technical requirements for quality control and standard formulation of traditional Chinese medicine formula granules, the decoction slices were processed, decocted, concentrated and freeze-dried to prepare *L. japonicus* standard decoction, the paste rate, the content of leonurine hydrochloride and stachydrine hydrochloride of 20 batches of *L. japonicus* standard decoction were determined, and the chromatogram which could characterize the main chemical components was constructed to characterize fresh *L. japonicus*. At the same time, based on the consistency with the paste rate, content of indicator components, and chromatogram with the standard decoction of fresh *L. japonicus*, three batches of fresh *L. japonicus* formula granules were produced in scale to verify the rationality of the formulated quality standards for fresh *L. japonicus* formula granules. The results showed that the extract rate of 20 batches of fresh *L. japonicus* standard decoction ranged from 4.43% to 8.02%, the contents of leonurine hydrochloride and

收稿日期: 2024-03-19 接受日期: 2024-08-21

基金项目: 广东省中医药研究开发重点实验室开放基金 (KFKT02-007); 2023 年度广东省中医药局中医药科研项目 (科研平台专项) (20233006); 国家工信部 2022 年产业技术基础公共服务平台项目-中药全产业链质量技术服务平台 (2022-230-221)

\* 通信作者 E-mail: jishusundm@163.com

stachydrine hydrochloride were 2.11-9.05 mg/g, 16.86-82.59 mg/g, respectively the range of dry extract was 5.0%-8.5%, and the contents of leonurine hydrochloride and stachydrine hydrochloride were 1.0-5.3 mg/g, 9.0-60.0 mg/g. And on the characteristic chromatogram 8 characteristic peaks were calibrated, respectively the information of formula granule pattern was consistent with standard decoction. So the quality standard of fresh *L. japonicus* formula granules based on standard decoction is reasonable and feasible, which can provide reference for the formulation of national standard of fresh *L. japonicus* formula granules.

**Key words:** fresh *Leonurus japonicus*; standard decoction; formula granules; paste rate; content; characteristic chromatogram

鲜益母草为唇形科植物益母草 *Leonurus japonicus* Houtt. 的新鲜地上部分, 春季幼苗期至初夏花前期采割。性微寒, 味苦、辛, 能活血调经、利尿消肿、清热解毒, 临床多用于治疗月经不调、痛经经闭、恶露不尽等病症<sup>[1]</sup>。中药鲜用历史悠久, 《中华人民共和国药典》1963年版、2000~2020年版均收录了鲜益母草。此外, 药典中收录鲜用中药如鲜石斛、鲜芦根、鲜地黄、鲜鱼腥草、牡荆叶及生姜<sup>[2]</sup>。鲜益母草在古今均有丰富的临床用药经验, 其现代应用如国家医保目录甲类产品鲜益母草胶囊, 已成为重点城市公立医院终端妇科用药产品前20中的首位; 林良国医生在《鲜益母草临床应用》一文记载鲜益母草在妇科疾病、心脑血管疾病以及泌尿系统疾病上的诸多临床应用<sup>[3]</sup>; 郝近大所著的《鲜药的研究与应用》一书中亦详细记载了鲜益母草的搭配煎煮入药等临床应用情况<sup>[4]</sup>。鲜益母草在《金匱要略论注》《证类本草》等24本古籍中均有相关处方入药的记载。鲜药能有效避免因经加工前处理造成的成分损失或改变的弊端, 保留“原生药材”的特性<sup>[5]</sup>, 由于传统鲜药长期存在贮藏困难、缺味频繁、临床调剂不便、剂型单一等问题, 且没有形成适应时代需求和中医药特色的规模化产业, 使鲜药难以在临床上广泛使用。

中药配方颗粒是在中医药理论指导下, 将原药材按炮制规范制成中药饮片进行投料, 以水作为溶媒进行煎煮、浓缩、干燥、制粒等生产工序, 最终制备

得到可供临床配方使用的颗粒制剂。与传统汤剂相比, 中药配方颗粒能与传统汤剂饮片的药味、药性及汤剂药效基本一致, 又具有携带方便、安全有效等特点, 是“源于饮片, 高于饮片”的现代中药新型汤剂。近年来, 作为传统饮片的另一种补充形式, 中药配方颗粒以其特有的优势逐渐覆盖各医疗机构, 并在临床中得到一定的使用效果<sup>[6]</sup>。通过规范化的生产工艺将鲜益母草制成中药配方颗粒, 不仅能有效保留鲜益母草鲜用的特性, 并且能解决运输储藏困难、调剂使用不便的问题。同时, 根据《关于结束中药配方颗粒试点工作的公告》指示, 为了保障鲜益母草配方颗粒的产品质量和市场供应, 需建立鲜益母草配方颗粒的法定标准。因此, 参照杨立伟等<sup>[7]</sup>提出“基于标准汤剂的中药整体质量控制模式”以及国家药典委员会发布的《中药配方颗粒质量控制与标准制定技术要求》<sup>[8]</sup>, 本研究收集了20批不同产地鲜益母草药材, 制备标准汤剂, 并以鲜益母草标准汤剂出膏率、指标成分含量、特征图谱三大指标为基准, 建立鲜益母草配方颗粒质量标准, 以期鲜益母草配方颗粒国家标准的制定提供参考。

## 1 仪器与材料

### 1.1 材料与试剂

20批鲜益母草药材经广东一方制药有限公司孙冬梅主任中药师鉴定为唇形科植物益母草 *Leonurus japonicus* Houtt. 的新鲜地上部分, 具体样品信息见表1。

表1 样品信息

Table 1 Sample information

编号 No.	产地 Place of origin	采收时间 Harvest time	编号 No.	产地信息 Place of origin	采收时间 Harvest time
S1	河南省驻马店市确山县	2021.04.10	S11	湖北省随州市随县	2021.05.18
S2	河南省驻马店市确山县	2021.04.10	S12	河南省信阳市浉河区	2021.05.18
S3	河南省驻马店市确山县	2021.04.10	S13	河南省信阳市浉河区	2021.05.18
S4	江苏省淮安市盱眙县	2021.05.17	S14	河南省驻马店市确山县	2021.05.18
S5	河南省驻马店市确山县	2021.05.18	S15	山东省临沂市蒙阴县	2021.05.25
S6	河南省驻马店市确山县	2021.05.18	S16	山东省临沂市蒙阴县	2021.05.25

续表 1 (Continued Tab. 1)

编号 No.	产地 Place of origin	采收时间 Harvest time	编号 No.	产地信息 Place of origin	采收时间 Harvest time
S7	河南省驻马店市确山县	2021.05.18	S17	山东省临沂市蒙阴县	2021.05.25
S8	河南省南阳市桐柏县	2021.05.18	S18	河南省驻马店市确山县	2021.05.29
S9	河南省南阳市桐柏县	2021.05.18	S19	河南省驻马店市确山县	2021.05.29
S10	湖北省随州市随县	2021.05.18	S20	河南省驻马店市确山县	2021.05.29

盐酸益母草碱(批号:111823-201704,含量以94.3%计)、盐酸水苏碱对照品(批号:110712-201916,含量以99.2%计)、绿原酸(批号:110753-202018,含量以96.1%计)对照品购自中国食品药品检定研究院;新绿原酸(批号:wkq1803107,含量以98%计,四川维克奇生物科技有限公司);麦芽糊精(批号:FH2105001,中粮生化能源(公主岭)有限公司);色谱级甲醇、乙腈(德国默克股份两合公司);色谱级冰醋酸、磷酸(天津市科密欧化学试剂有限公司);十二烷基磺酸钠(山东禹王和天下新材料有限公司,含量 $\geq 99.5\%$ );水为超纯水;其余试剂为分析纯。

## 1.2 仪器

Waters H-class 型超高效液相色谱仪(沃特世科

技(上海)有限公司);Thermo Vanquish 超高效液相色谱仪(赛默飞世尔科技(中国)有限公司);Waters Arc 型超高效液相色谱系统(沃特世科技(上海)有限公司);XP 26 型百万分之一天平(美国 Mettler Toledo 公司)。

## 2 方法与结果

### 2.1 鲜益母草饮片、标准汤剂及配方颗粒制备

#### 2.1.1 鲜益母草饮片

参考《山东省中药饮片炮制规范》2012 年版<sup>[9]</sup>鲜益母草饮片炮制方法,结合《中华人民共和国药典》2020 年版一部益母草炮制项下规定,确定鲜益母草饮片具体炮制方法为:取鲜益母草药材除去杂质,洗净沥干后,切成长段,得鲜益母草饮片。20 批鲜益母草饮片编号为 Y1 ~ Y20,如图 1 所示。

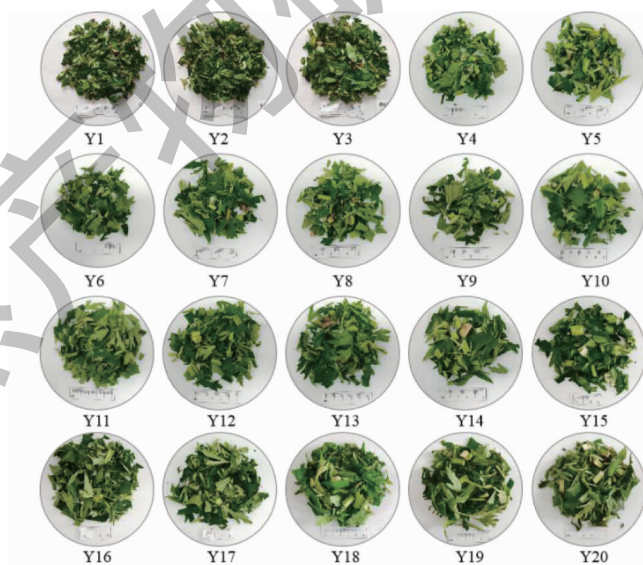


图 1 20 批次鲜益母草饮片图

Fig. 1 Pictures of 20 batches of fresh *L. japonicus* decoction slices

#### 2.1.2 鲜益母草标准汤剂

根据《中药配方颗粒质量控制与标准制定技术要求》<sup>[8]</sup>中“研究表征标准汤剂用汤剂的制备”项的指导原则,参考中药药性及入药部位的分类,并参照

卫生部、国家中医药管理局发布的《医疗机构中药煎药室管理规范》<sup>[10]</sup>进行煎煮提取、采用低温浓缩和冷冻干燥,最大限度保留中药有效成分群,制成鲜益母草标准汤剂的冻干粉,供质量标准实验研究。

即确定鲜益母草标准汤剂制备方法为:取鲜益母草饮片 200 g,加水煎煮两次,一煎加 12 倍量水,浸泡 30 min,武火煮沸后文火保持微沸 30 min,350 目筛网滤过,二煎加 10 倍量水,武火煮沸后文火保持微沸 25 min,350 目筛网滤过,合并两次滤液,减压浓缩(温度:65 ℃,真空度:-0.10 MPa)至 150 mL 流浸膏,分装于 10 mL 西林瓶中,每瓶分装体积为 2 mL,半加塞,分装完毕后转移至真空冷冻干燥机中冻干,压塞,取出,即得。20 批鲜益母草标准汤剂编号为 BT1 ~ BT20。

### 2.1.3 鲜益母草配方颗粒

取鲜益母草饮片 10 000 g,一煎加入加 12 倍量水煎煮 30 min,二煎加 10 倍量水煎煮 30 min,滤过,滤液浓缩成清膏(干浸膏出膏率为 5.0% ~ 8.5%),加入辅料适量,干燥(或干燥,粉碎),再加入麦芽糊精适量,混匀,制粒,制成 1 000 g,即得。3 批中试验证的鲜益母草配方颗粒批号为 KL18 ~ KL20。

## 2.2 鲜益母草标准汤剂及配方颗粒出膏率测定

20 批次鲜益母草标准汤剂出膏率以冻干粉重量/饮片重量计;3 批次鲜益母草配方颗粒出膏率以干浸膏粉重量(扣除辅料)/投料重量计。结果表明 20 批鲜益母草标准汤剂的出膏率为 4.43% ~ 8.02%,平均出膏率为 5.53%,标准偏差(standard deviation, SD)为 1.03%,出膏率均值的 70% ~ 130% 范围为 3.87% ~ 7.19%,出膏率均值  $\pm$  3 倍 SD 范围为 2.46% ~ 8.61%;3 批配方颗粒的出膏率分别为 5.17%、5.21%、5.26%。根据 20 批鲜益母草标准汤剂

参考国家药监局组织制订的《中药配方颗粒质量控制与标准制定技术要求》<sup>[8]</sup> 标准汤剂的表征与应用项下建议,若取均值  $\pm$  3 倍 SD 范围,即 2.46% ~ 8.61%,则上下限较宽;若取均值的 70% ~ 130% 范围,即 3.87% ~ 7.19%,则上限较窄;为保证鲜益母草配方颗粒的质量均一和稳定,需对大生产中鲜益母草配方颗粒的出膏率范围进行严格的把控,以 20 批鲜益母草标准汤剂出膏率波动范围为参考<sup>[11]</sup>,拟定标准汤剂出膏率范围取均值的 70% 为下限, +3 倍 SD 为上限,即 3.87% ~ 8.61%,修约为 4.0% ~ 8.5%,鲜益母草配方颗粒辅料的添加量不超出 1:1,即下限不低于 5.0%,出膏率的上限与标准汤剂保持一致,鲜益母草配方颗粒干浸膏的出膏率范围为 5.0% ~ 8.5%。

根据标准汤剂出膏率的浮动范围以及 3 批配方

颗粒出膏率的实际情况(见表 2、3),可拟定鲜益母草配方颗粒制成量(配方颗粒制成总重量/投料量)为 10.0%,即每 1 g 配方颗粒相当于饮片 10.0 g。

表 2 20 批次鲜益母草标准汤剂出膏率

Table 2 Paste rate of 20 batches of fresh *L. japonicus* standard decoction

编号 No.	出膏率 Paste rate(%)	编号 No.	出膏率 Paste rate(%)
BT1	7.31	BT11	4.47
BT2	7.28	BT12	5.27
BT3	8.02	BT13	5.80
BT4	5.69	BT14	5.74
BT5	5.12	BT15	4.48
BT6	5.44	BT16	5.45
BT7	5.05	BT17	6.46
BT8	4.51	BT18	4.79
BT9	4.43	BT19	5.38
BT10	4.54	BT20	5.40

表 3 3 批配方颗粒出膏率

Table 3 The paste rate of three batches of formula granules

编号 No.	出膏率 Paste rate(%)
KL18	5.17
KL19	5.12
KL20	5.26

## 2.3 盐酸益母草碱含量测定

### 2.3.1 供试品溶液的制备

取鲜益母草饮片适量,切碎,取约 3.0 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入 70% 乙醇 50 mL,称定重量,加热回流 60 min,取出,放冷,再称定重量,用 70% 乙醇补足减失的重量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

取鲜益母草标准汤剂适量,研细,取约 0.1 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入 70% 乙醇 25 mL,称定重量,超声提取 30 min,放冷,再称定重量,用 70% 乙醇补足减失的重量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

取鲜益母草配方颗粒适量,研细,取约 0.2 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入 70% 甲醇 25 mL,称定重量,超声提取 30 min,放冷,再称定重量,用 70% 甲醇补足减失的重量,摇匀,滤过,取续滤

液,即得。

### 2.3.2 对照品溶液的制备

取盐酸益母草碱对照品适量,精密称定,加70%乙醇制成每1 mL含20  $\mu\text{g}$ 的溶液,即得。

### 2.3.3 色谱条件

以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂(Agilent

ZORBAX SB-C<sub>18</sub>(2.1 mm × 100 mm, 1.8  $\mu\text{m}$ );以乙腈-0.4%辛烷磺酸钠的0.1%磷酸溶液(24:76)为流动相;流速为每分钟0.2 mL;柱温为30  $^{\circ}\text{C}$ ;检测波长为277 nm;进样量为1  $\mu\text{L}$ 。盐酸益母草碱溶液及供试品溶液色谱图如图2所示。

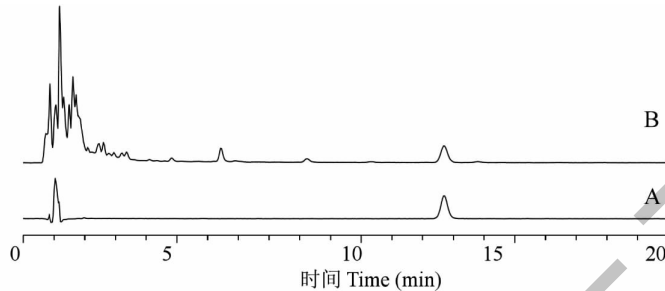


图2 盐酸益母草碱对照品溶液(A)和鲜益母草供试品溶液(B)的色谱图

Fig. 2 Chromatograms of leonurine hydrochloride control solution(A) and sample solution(B) of fresh *L. japonicus*

### 2.3.4 线性关系考察

精密吸取盐酸益母草碱对照品储备液(取对照品适量,加70%乙醇配制浓度为155.124  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的储备液)0.2、0.5、1.0、2.0、5.0 mL,分别制成每1 mL含盐酸益母草碱3.102、7.756、15.512、31.025、77.562  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的对照品溶液。精密吸取各质量浓度的对照品溶液,按“2.3.3”项下色谱条件分别进样测定,记录峰面积。以对照品质量浓度为横坐标( $X$ ),峰面积为纵坐标( $Y$ ),绘制标准曲线,得回归方程 $Y=0.095X-0.036$ , $R^2=0.9999$ ,结果表明盐酸益母草碱的质量浓度在3.10~77.56  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 与峰面积线性关系良好。

### 2.3.5 精密度考察

取鲜益母草饮片供试品溶液、鲜益母草标准汤剂供试品溶液、鲜益母草配方颗粒供试品溶液,按“2.3.3”项下色谱条件连续进样6次,计算得到盐酸益母草碱峰面积的RSD分别为0.99%、0.32%、0.75%,表明仪器精密度良好。

### 2.3.6 稳定性考察

取鲜益母草饮片供试品溶液、鲜益母草标准汤剂供试品溶液、鲜益母草配方颗粒供试品溶液,按“2.3.3”项下色谱条件,分别在制备后0、2、4、6、12、18、24 h进样测定,计算得到盐酸益母草碱的峰面积的RSD分别为0.91%、0.58%、0.69%,表明供试品溶液在24 h内稳定性良好。

### 2.3.7 重复性考察

取鲜益母草饮片供试品、鲜益母草标准汤剂供

试品、鲜益母草配方颗粒供试品各6份,按“2.3.1”项、“2.3.3”项下方法及色谱条件制样与测定,计算得到盐酸益母草碱的质量分数RSD分别为1.3%、0.41%、0.71%,表明方法重复性良好。

### 2.3.8 加样回收率考察

取已知含量的鲜益母草饮片供试品、鲜益母草标准汤剂供试品、鲜益母草配方颗粒供试品各9份,每份取样量减半,精密称定,置于锥形瓶中,平均分为3组。分别向3组锥形瓶中精密加入盐酸益母草碱对照品(盐酸益母草碱对照品加入量与所取供试品中盐酸益母草碱成分含量之比控制在0.5:1、1:1、1.5:1),按“2.3.1”项、“2.3.3”项下方法及色谱条件制样与测定,计算得鲜益母草饮片的盐酸益母草碱的平均加样回收率为102.18%,RSD为2.7%,鲜益母草标准汤剂的盐酸益母草碱的平均加样回收率为97.99%,RSD为2.7%,鲜益母草配方颗粒的盐酸益母草碱的平均加样回收率为99.23%,RSD为2.7%,表明该方法的准确度良好。

### 2.3.9 盐酸益母草碱含量测定及分析

取20批鲜益母草饮片、标准汤剂及3批配方颗粒,按“2.3.1”项、“2.3.3”项下方法及色谱条件制样与测定,结果见表4、5。可见,20批鲜益母草饮片中盐酸益母草碱的含量为0.17~0.78 mg/g,平均值为0.39 mg/g,标准汤剂中盐酸益母草碱的含量为2.11~9.05 mg/g,平均值为4.96 mg/g,3批配方颗粒中盐酸益母草碱的含量分别为1.7、1.8、1.9 mg/g。

根据 20 批鲜益母草标准汤剂盐酸益母草碱平均含量 4.93 mg/g, SD 为 1.86 mg/g。取盐酸益母草碱含量范围均值的 70% ~ 130%, 即 3.45 ~ 6.41 mg/g, 此范围较窄; 取均值加减 3 倍 SD, 即 0.491 ~ 10.493 mg/g, 则范围太宽, 不合理。为保证鲜益母草配方颗粒的质量稳定和大生产质量的控制, 盐酸益母草碱含量范围取实测值的最小值 ~ 实测值的最大值较为合理, 即 2.11 ~ 9.05 mg/g。相应的鲜益母草配方颗粒盐酸益母草碱的含量范围取折算后最小值 ~ 最大值, 即 0.94 ~ 5.30 mg/g, 修正值为 1.0 ~ 5.3 mg/g, 20 批数据仅一批不在此范围内, 故此范围较为合理。即鲜益母草配方颗粒盐酸益母草碱的标准范围: 每克含盐酸益母草碱应为 1.0 ~ 5.3 mg。

## 2.4 盐酸水苏碱含量测定

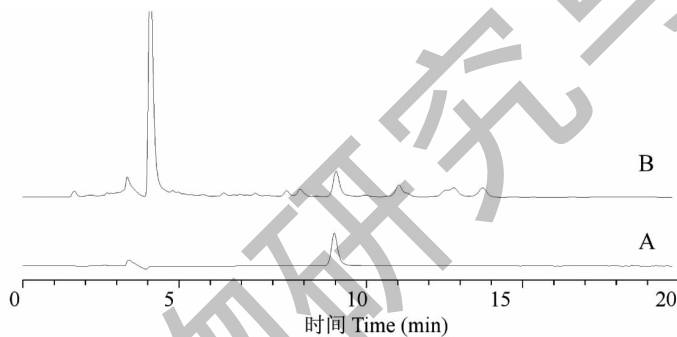


图3 盐酸水苏碱对照品溶液(A)和鲜益母草供试品溶液(B)的色谱图

Fig. 3 Chromatograms of stachydrine hydrochloride control solution (A) and the sample solution (B) of fresh *L. japonicus*

### 2.4.4 线性关系考察

分别精密吸取盐酸水苏碱对照品储备液(取对照品适量,加 70% 乙醇配制浓度为 312.758  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的储备液)0.5、1.0、2.0、5.0、10.0 mL, 分别制成每 1 mL 含盐酸水苏碱 15.638、31.276、62.552、156.379、312.758  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的对照品溶液。精密吸取各质量浓度的对照品溶液,按“2.4.3”项下色谱条件分别进样测定,记录峰面积。以对照品进样质量对数为横坐标( $X$ ),峰面积对数为纵坐标( $Y$ ),绘制标准曲线,得回归方程  $Y = 1.2567X - 14.4029$ ,  $R^2 = 0.9990$ ,结果表明盐酸水苏碱在 15.638 ~ 312.758  $\mu\text{g}/\text{mL}$  时,对照品进样质量对数与峰面积对数线性关系良好。

### 2.4.5 精密度考察

取鲜益母草饮片供试品溶液、鲜益母草标准汤剂供试品溶液、鲜益母草配方颗粒供试品溶液,按“2.4.3”项下色谱条件连续进样 6 次,计算得到盐

### 2.4.1 供试品溶液的制备

同“2.3.1”项。

### 2.4.2 对照品溶液的制备

取盐酸水苏碱对照品适量,精密称定,加 70% 乙醇制成每 1 mL 含 160  $\mu\text{g}$  的溶液,即得。

### 2.4.3 色谱条件

以丙基酰胺键合硅胶为填充剂(Venusil hilic Column (4.6 mm  $\times$  250 mm, 5.0  $\mu\text{m}$ ));以乙腈-0.2% 冰醋酸溶液(80:20)为流动相;流速为每分钟 1.0 mL;柱温为 30  $^{\circ}\text{C}$ ;用蒸发光散射检测器检测。分别精密吸取对照品溶液 5、10  $\mu\text{L}$ 、供试品溶液 5 ~ 10  $\mu\text{L}$ ,注入液相色谱仪,测定,用外标两点法对数方程计算,即得。盐酸水苏碱溶液及鲜益母草供试品色谱图如图 3 所示。

酸水苏碱峰面积的 RSD 分别为 1.0%、0.30%、0.76%,表明仪器精密度良好。

### 2.4.6 稳定性考察

取鲜益母草饮片供试品溶液、鲜益母草标准汤剂供试品溶液、鲜益母草配方颗粒供试品溶液,按“2.4.3”项下色谱条件,分别在制备后 0、2、4、6、12、18、24 h 进样测定,计算得到盐酸水苏碱的峰面积的 RSD 分别为 0.99%、2.2%、2.8%,表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

### 2.4.7 重复性考察

取鲜益母草饮片供试品、鲜益母草标准汤剂供试品、鲜益母草配方颗粒供试品各 6 份,按“2.4.1”项、“2.4.3”项下方法及色谱条件制样与测定,计算得到盐酸水苏碱的质量分数 RSD 分别为 1.1%、0.75%、3.0%,表明方法重复性良好。

### 2.4.8 加样回收率考察

取已知含量的鲜益母草饮片供试品、鲜益母草

标准汤剂供试品、鲜益母草配方颗粒供试品各9份,每份取样量减半,精密称定,置于锥形瓶中,平均分为3组。分别向3组锥形瓶中精密加入盐酸水苏碱对照品(盐酸益母草碱对照品加入量与所取供试品中盐酸水苏碱成分含量之比控制在0.5:1、1:1、1.5:1),按“2.4.1”项、“2.4.3”项下方法及色谱条件制样与测定,计算得鲜益母草饮片的盐酸水苏碱的平均加样回收率为98.1%,RSD为4.1%,鲜益母草标准汤剂供试品的盐酸水苏碱的平均加样回收率为99.77%,RSD为2.3%,鲜益母草配方颗粒供试品的盐酸水苏碱的平均加样回收率为99.80%,RSD为1.4%,表明该方法的准确度良好。

#### 2.4.9 盐酸水苏碱含量测定及分析

取20批鲜益母草饮片、标准汤剂及3批配方颗粒,按“2.4.1”项、“2.4.3”项下方法及色谱条件制样与测定,结果见表4、5。可见,20批鲜益母草饮片中盐酸水苏碱的含量为0.95~6.36 mg/g,平均值

为2.73 mg/g,标准汤剂中盐酸水苏碱的含量为16.86~82.59 mg/g,平均值为40.58 mg/g,3批配方颗粒中盐酸水苏碱的含量分别为15.34、17.49、18.53 mg/g。

20批鲜益母草标准汤剂盐酸水苏碱平均含量为40.58 mg/g,SD为18.91 mg/g。取盐酸水苏碱含量范围均值的70%~130%,即28.40~52.75 mg/g,此范围较窄;取均值加减3倍SD的范围,即为-16.15~97.30 mg/g,范围太宽,不合理。为保证鲜益母草配方颗粒的质量稳定和大生产质量的控制,盐酸水苏碱含量范围取实测值的最小值~实测值的最大值较为合理,即16.86~82.59 mg/g。相应的鲜益母草配方颗粒盐酸水苏碱的含量范围取折算后最小值~最大值,即8.88~60.37 mg/g,修正数据为9.0~60.0 mg/g,20批数据仅一批不此范围内,故此范围较为合理;即鲜益母草配方颗粒盐酸水苏碱的标准范围:每克含盐酸水苏碱应为9.0~60.0 mg。

表4 20批次标准汤剂饮片、标准汤剂及按配方颗粒制成量10%折算后含量测定数据

Table 4 Content data of 20 batches of decoction slices, standard decoction and content converted by 10% amount of formula granules

编号 No.	饮片中的含量 Content in decoction slices (mg/g)		标准汤剂中的含量 Content in standard decoction (mg/g)		折算含量 Converted content (mg/g)	
	盐酸益母草碱 Leonurine hydrochloride	盐酸水苏碱 Stachydrine hydrochloride	盐酸益母草碱 Leonurine hydrochloride	盐酸水苏碱 Stachydrine hydrochloride	盐酸益母草碱 Leonurine hydrochloride	盐酸水苏碱 Stachydrine hydrochloride
	BT1	0.36	6.36	3.85	82.59	2.82
BT2	0.44	6.36	4.41	77.66	3.21	56.54
BT3	0.43	5.78	3.96	66.31	3.17	53.18
BT4	0.42	2.76	4.93	44.33	2.81	25.24
BT5	0.34	1.58	5.46	30.71	2.79	15.71
BT6	0.50	4.12	6.95	51.74	3.78	28.14
BT7	0.38	1.30	5.51	20.35	2.78	10.28
BT8	0.24	2.00	3.58	35.10	1.61	15.84
BT9	0.45	2.06	7.32	39.49	3.24	17.49
BT10	0.31	1.71	3.83	35.96	1.74	16.31
BT11	0.17	1.03	2.11	21.22	0.94	9.48
BT12	0.20	0.95	2.69	16.86	1.41	8.88
BT13	0.28	1.37	3.84	22.84	2.23	13.26
BT14	0.39	1.82	4.80	27.95	2.75	16.04
BT15	0.53	2.11	6.88	39.81	3.08	17.84
BT16	0.67	2.99	9.05	51.83	4.94	28.27
BT17	0.78	4.57	8.21	58.92	5.30	38.05
BT18	0.28	1.74	3.56	24.87	1.70	11.91
BT19	0.28	1.75	3.92	29.69	2.11	15.97
BT20	0.34	2.27	3.78	33.30	2.04	17.99

注:标准汤剂指标成分含量折算公式=(指标成分含量×出膏率)/制成量。

Note: The conversion formula of index component content of standard decoction = (index component content × paste rate)/amount of preparation.



表5 3批配方颗粒含量测定数据

Table 5 The content determination data of three batches of formula granule

编号 No.	盐酸益母草碱含量 Leonurine hydrochloride content (mg/g)	盐酸水苏碱含量 Stachydrine hydrochloride content (mg/g)
KL18	1.70	15.34
KL19	1.99	17.49
KL20	1.93	18.53

## 2.5 鲜益母草特征图谱建立

### 2.5.1 供试品溶液的制备

同“2.3.1”。

### 2.5.2 对照品溶液的制备

取新绿原酸、绿原酸、盐酸益母草碱、芦丁对照品适量,精密称定,加70%甲醇制成每1 mL含新绿原酸10 μg、绿原酸15 μg、盐酸益母草碱25 μg、芦丁40 μg的混合溶液,作为对照品参照物溶液。

### 2.5.3 色谱条件

采用Waters ACQUITY HSS T3色谱柱(2.1 mm × 100 mm, 1.8 μm);以乙腈(A)-0.1%磷酸水溶液(B)为流动相,梯度洗脱:0~11 min, 3%→10% A; 11~15 min, 10%→11% A; 15~22 min, 11%→12% A; 22~28 min, 12%→16% A; 28~30 min, 16%→20% A; 30~34 min, 20%→22% A; 34~40 min, 22%→60% A。流速为每分钟0.25 mL;柱温为30℃;检测波长为277 nm;进样量为1 μL。

### 2.5.4 精密度考察

取鲜益母草各供试品溶液,按“2.5.3”项下色谱条件连续进样6次,与绿原酸参照物峰相对应的峰为S1峰,计算特征峰2与S1峰的相对保留时间和相对峰面积;与盐酸益母草碱参照物峰相对应的峰为S2峰,计算特征峰4、峰5、峰7与S2峰的相对保留时间和相对峰面积,各共有峰的相对保留时间和相对峰面积RSD分别为0.021%~0.084%和0.53%~1.9%,表明该特征图谱的精密度较好。

### 2.5.5 稳定性考察

取鲜益母草各供试品溶液,按“2.5.3”项下色谱条件,分别在制备后0、2、4、8、12、18、24 h进样测定,与绿原酸参照物峰相对应的峰为S1峰,特征峰2与S1峰的相对保留时间和相对峰面积;与盐酸益母草碱参照物峰相对应的峰为S2峰,计算特征峰4、峰5、峰7与S2峰的相对保留时间和相对峰面积,各共有峰的相对保留时间和相对峰面积RSD分别为0.059%~0.213%和0.36%~2.1%,均小于

3.0%,表明供试品溶液在24 h内稳定。

### 2.5.6 重复性考察

取鲜益母草各供试品6份,按照“2.5.1”项、“2.5.3”项下方法及色谱条件制样与检测,与绿原酸参照物峰相对应的峰为S1峰,计算特征峰2与S1峰的相对保留时间和相对峰面积;与盐酸益母草碱参照物峰相对应的峰为S2峰,计算特征峰4、峰5、峰7与S2峰的相对保留时间和相对峰面积,各共有峰的相对保留时间和相对峰面积RSD分别为0.025%~0.54%和0.34%~2.9%,表明该特征图谱方法的重复性良好。

### 2.5.7 特征图谱的建立及共有峰的确定

取20批鲜益母草饮片(Y1~Y20)、标准汤剂(BT1~BT20),按照“2.5.1”项、“2.5.3”项下方法及色谱条件制样与检测,记录各特征峰相对保留时间和相对峰面积,计算平均值,结果见表6。将各批次标准汤剂饮片、标准汤剂特征图谱数据导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012版)”软件进行处理,建立鲜益母草饮片( $R_Y$ )、标准汤剂的对照特征图谱( $R_{BT}$ ),结果如图4、图5所示。计算相似度,20批鲜益母草标准汤剂制备用饮片(Y1~Y20)与 $R_Y$ 的相似度分别为0.967、0.979、0.979、0.961、0.938、0.936、0.982、0.955、0.927、0.960、0.945、0.953、0.976、0.974、0.914、0.916、0.960、0.959、0.926、0.948,均大于0.91,表明该方法适应性良好,符合标准汤剂制备用饮片的要求。20批鲜益母草标准汤剂(BT1~BT20)与 $R_{BT}$ 的相似度分别为0.966、0.974、0.979、0.977、0.988、0.968、0.987、0.958、0.978、0.994、0.956、0.968、0.959、0.998、0.910、0.908、0.953、0.976、0.982、0.966,均大于0.90,表明该方法适应性良好,符合标准汤剂的要求。鲜益母草标准汤剂制备用饮片、标准汤剂特征图谱共标定了8个共有峰,通过与相应的对照品进行比对,共指出4个特征峰,分别为峰1(新绿原酸)、3(绿原酸)、6(盐酸益母草碱)、8(芦丁),结果如图6所示。

三批鲜益母草配方颗粒的特征图谱具有与其标准汤剂、饮片相同的8个特征峰,其中4个峰与相应对照品参照物峰的保留时间相对应,相对保留时间均在规定的范围内,表明大生产样品与标准汤剂质量的一致性。参照标准汤剂特征图谱的研究结果,确定鲜益母草配方颗粒特征图谱标准为:供试品色谱中应呈现8个特征峰,其中4个峰应分别与相对应



照品参照物峰的保留时间相对应;与绿原酸参照物峰相对应的峰为 S1 峰,计算特征峰 2 与 S1 峰的相对保留时间,其相对保留时间应该在规定值的  $\pm 10\%$  之内,规定值为:0.90(峰 2);与盐酸益母草碱

参照物峰相对应的峰为 S2 峰,计算特征峰 4、峰 5、峰 7 与 S2 峰的相对保留时间,其相对保留时间应该在规定值的  $\pm 10\%$  之内,规定值为:0.94(峰 4)、0.97(峰 5)、1.19(峰 7)。

表 6 共有峰相对保留时间与相对峰面积均值

Table 6 The mean relative retention time and relative peak area of common peaks

峰号 Peak No.	相对保留时间 Relative retention time				相对峰面积 Relative peak area			
	饮片 Decoction slices	标准汤剂 Standard decoction	RSD <sub>Y</sub> (%)	RSD <sub>BT</sub> (%)	饮片 Decoction slices	标准汤剂 Standard decoction	RSD <sub>Y</sub> (%)	RSD <sub>BT</sub> (%)
1	0.71	0.71	0.09	0.07	0.27	0.33	12.56	15.54
2	0.90	0.90	0.05	0.07	0.67	0.65	8.67	7.98
3	1.00	1.00	0.00	0.00	1.00	1.00	0.00	0.00
4	0.94	0.94	0.13	0.11	0.81	0.89	48.05	42.87
5	0.97	0.97	0.12	0.10	0.82	0.98	51.61	42.59
6	1.00	1.00	0.00	0.00	1.00	1.00	0.00	0.00
7	1.19	1.19	0.13	0.10	0.40	0.50	69.47	58.23
8	1.21	1.21	0.13	0.10	0.71	0.79	61.08	47.53

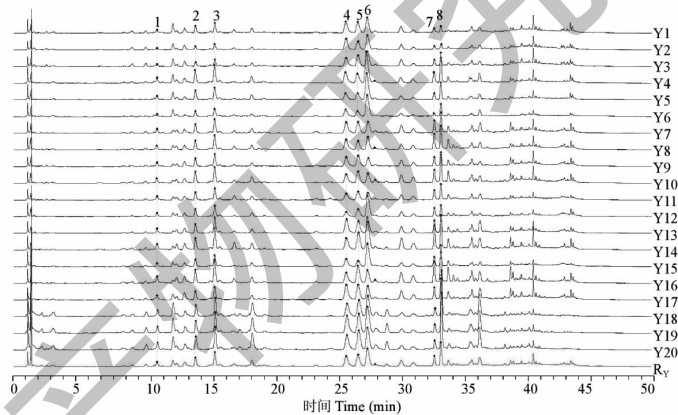


图 4 20 批鲜益母草饮片 UPLC 特征图谱

Fig. 4 UPLC characteristic chromatogram of 20 batches of fresh *L. japonicus* decoction slices

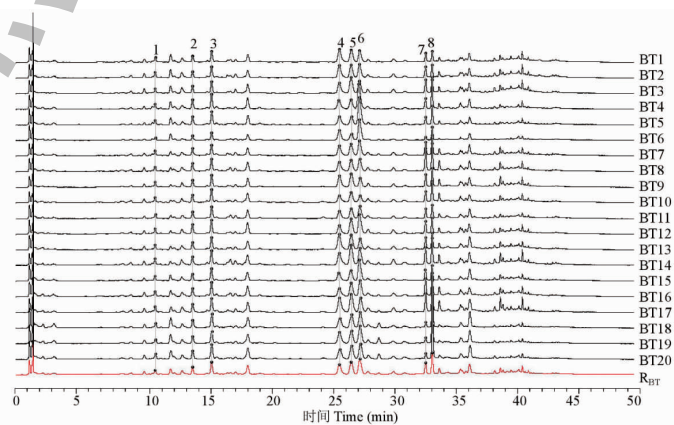


图 5 20 批鲜益母草标准汤剂 UPLC 特征图谱

Fig. 5 UPLC characteristic chromatogram of 20 batches of fresh *L. japonicus* standard decoction

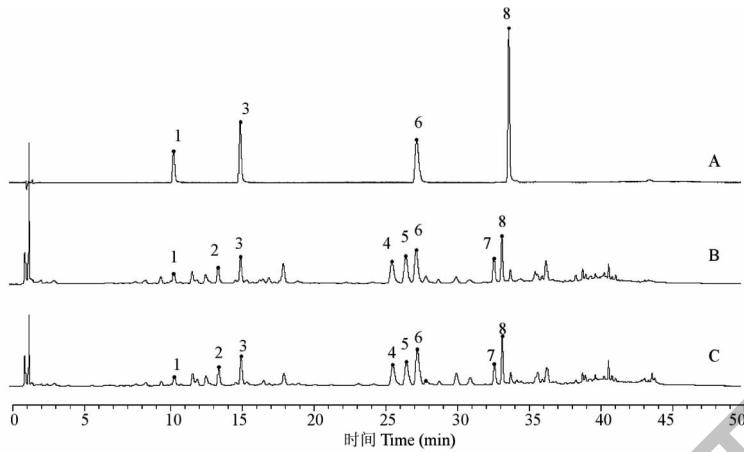


图6 鲜益母草混合对照品(A)、标准汤剂供试品(B)、饮片供试品(C)的UPLC图

Fig. 6 UPLC of fresh *L. japonicus* mixed reference (A), standard decoction (B) and standard decoction slices (C)

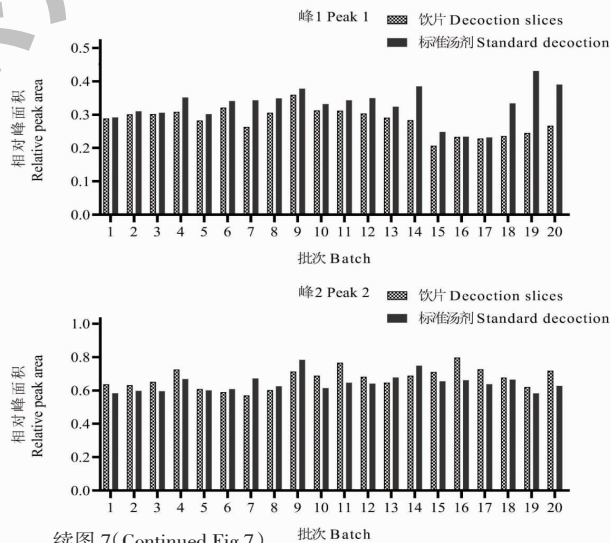
注:1:新绿原酸;3:绿原酸;6:盐酸益母草碱;8:芦丁。Note:1:Neochlorogenic acid;3:Chlorogenic acid;6:Leonurine hydrochloride;8:Rutin.

### 2.5.8 鲜益母草饮片与标准汤剂相对峰面积趋势及 *t* 检验分析

将20批次的鲜益母草饮片及标准汤剂绘制柱状图进行分析,结果如图7所示。由图可知,从饮片煎煮到标准汤剂过程中,峰1的相对峰面积整体增加;峰2中第6、7、8、9、13、14批次的相对峰面积呈现上升趋势,其余批次则为下降趋势;峰4在第4、5、10、14批次相对峰面积呈下降趋势,其余批次则为上升趋势;峰5在第5、10、14批次相对峰面积呈下降趋势,其余批次则为上升趋势;峰7在第5、10、14批次相对峰面积呈下降趋势,其余批次则为上升趋势;峰8在第5、10、14批次相对峰面积呈下降趋势,其余批次则为上升趋势。由此可知,鲜益母草经过水煎煮得到的标准汤剂,不同产地之间,峰1表现

的相对峰面积整体上升,峰2相对峰面积无明显规律,峰4中有四批产地的标准汤剂相对饮片而言,相对峰面积呈下降趋势,其余整体则表现为上升趋势;5、7、8号峰有三批产地对应河南省驻马店市确山县、湖北省随州市随县、河南省驻马店市确山县的相对峰面积均表现为下降趋势,其余批次整体表现为上升趋势,提示鲜益母草相对峰面积在同一产地不同地点间采收的,相对峰面积呈现的趋势也可能不一致,除了产地之外,还可能与所处环境的气候、土壤肥沃程度、煎煮的工艺及人为因素等有关。

进一步将20批次的鲜益母草饮片与标准汤剂的相对峰面积进行分析,经正态性及方差齐性检验,可知1、4、5、8号峰符合以上条件,采用两独立样本 *t* 检验,2、7号峰不符合正态性检验,采用非参数秩和



续图7(Continued Fig.7)

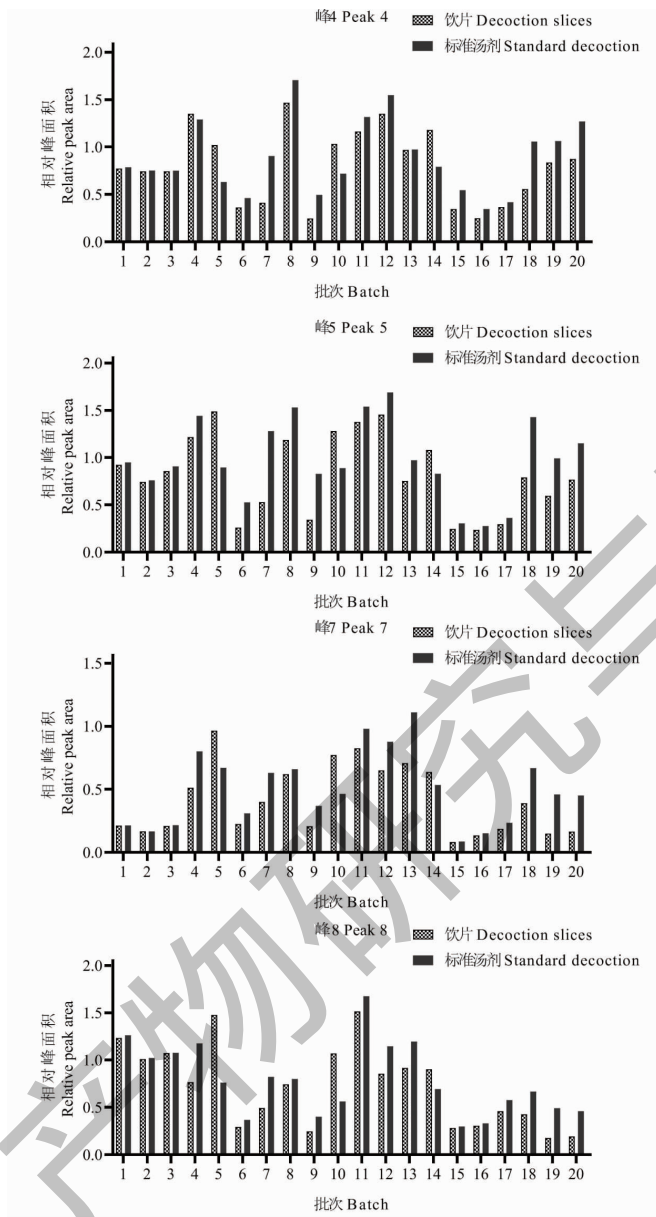


图7 鲜益母草饮片与标准汤剂相对峰面积柱状图

Fig. 7 Histogram of relative peak area between decoction slices and standard decoction of fresh *L. japonicus*

注:横坐标1~20依次代表饮片和标准汤剂的编号。Note:1-20 in the horizontal axis represents the numbers of decoction slice and standard decoction.

检验。另外其中峰3(绿原酸)及峰6(盐酸益母草碱)的色谱峰作为参照峰,相对峰面积均为1不纳入两独立样本 $t$ 检验,检验结果见表7~10。 $t$ 检验及非参数秩和检验结果表明,对于20批次的鲜益母草饮片及标准汤剂的两组相对峰面积数据而言,峰1中饮片与标准汤剂的相对峰面积具有显著性( $P < 0.01$ ),2、4、5、7、8号峰均不具有显著性。结合相对峰面积的变化趋势,可知,峰1(新绿原酸)的相对峰面积从饮片到标准汤剂的过程中,整体呈现上升的

趋势,标准汤剂峰1的相对峰面积整体高于饮片中的相对峰面积,提示峰1为鲜益母草经过水煮之后所产生的差异性成分。

#### 2.5.9 三批标准汤剂及配方颗粒一致性研究

取3批鲜益母草配方颗粒(KL18~KL20),按照“2.5.1”“2.5.3”项下方法及色谱条件制备样品与检测,记录3批鲜益母草配方颗粒的特征峰相对保留时间和相对峰面积,结果见图8~10及表11~13。结果表明,3批配方颗粒特征图谱均呈现与鲜

表 7 Shapro-Wilk 正态性检验  
Table 7 Shapro-Wilk normality test

检验变量 Test variable	分类 Classify	统计 Statistic	自由度 <i>df</i>	<i>P</i>
峰 1 Peak 1	饮片 Decoction slices	0.953	20	0.41
	标准汤剂 Standard decoction	0.954	20	0.427
峰 2 Peak 2	饮片 Decoction slices	0.979	20	0.926
	标准汤剂 Standard decoction	0.886	20	0.023
峰 4 Peak 4	饮片 Decoction slices	0.942	20	0.265
	标准汤剂 Standard decoction	0.953	20	0.409
峰 5 Peak 5	饮片 Decoction slices	0.932	20	0.166
	标准汤剂 Standard decoction	0.950	20	0.366
峰 7 Peak 7	饮片 Decoction slices	0.884	20	0.021
	标准汤剂 Standard decoction	0.954	20	0.425
峰 8 Peak 8	饮片 Decoction slices	0.927	20	0.133
	标准汤剂 Standard decoction	0.940	20	0.239

表 8 Levene 方差齐性检验  
Table 8 Levene homogeneity of variance test

检验变量 Test variable	Levene 统计 Levene statistic	自由度 1 <i>df</i> 1	自由度 2 <i>df</i> 2	<i>P</i>
峰 1 Peak 1	0.809	1	38	0.374
峰 2 Peak 2	1.272	1	38	0.267
峰 4 Peak 4	0.032	1	38	0.859
峰 5 Peak 5	0.104	1	38	0.749
峰 7 Peak 7	0.000	1	38	0.996
峰 8 Peak 8	0.722	1	38	0.401

表 9 两独立样本 *t* 检验  
Table 9 Two independent sample *t* tests

检验变量 Test variable	分类 Classify	个案数 Number	平均值 Average value	<i>t</i>	<i>P</i>
峰 1 Peak 1	饮片 Decoction slices	20	0.283	-3.196	0.003
	标准汤剂 Standard decoction	20	0.329		
峰 4 Peak 4	饮片 Decoction slices	20	0.803	-0.732	0.469
	标准汤剂 Standard decoction	20	0.892		
峰 5 Peak 5	饮片 Decoction slices	20	0.822	-1.185	0.243
	标准汤剂 Standard decoction	20	0.979		
峰 8 Peak 8	饮片 Decoction slices	20	0.722	-0.538	0.594
	标准汤剂 Standard decoction	20	0.791		

表 10 非参数秩和检验  
Table 10 Nonparametric rank sum test

检验变量 Test variable	分类 Classify	个案数 Number	秩平均值 Rank mean	Z	P
峰 2 Peak 2	饮片 Decoction slices	20	0.674	1.608	0.116
	标准汤剂 Standard decoction	20	0.645		
峰 7 Peak 7	饮片 Decoction slices	20	0.411	-1.022	0.313
	标准汤剂 Standard decoction	20	0.503		

益母草饮片对照特征图谱( $R_Y$ )、标准汤剂对照特征图谱( $R_{BT}$ )相同的 8 个特征峰,鲜益母草特征成分能有效地从饮片传递到标准汤剂,从饮片传递到配方颗粒,且配方颗粒能达到与随行标准汤剂基本一致的要求,呈现一定的量值传递规律,8 个特征峰的色谱信息与随行标准汤剂基本一致。以标准汤剂作

为参照峰时, Y18-KL18 的相似度为 0.950、0.993, Y19-KL19 的相似度为 0.954、0.994, Y19-KL19 的相似度为 0.973、0.993, 饮片相似度均大于 0.95, 配方颗粒相似度均大于 0.99, 即鲜益母草标准汤剂图谱作为基准时,能相对准确衡量鲜益母草饮片与最终配方颗粒的色谱峰的信息。

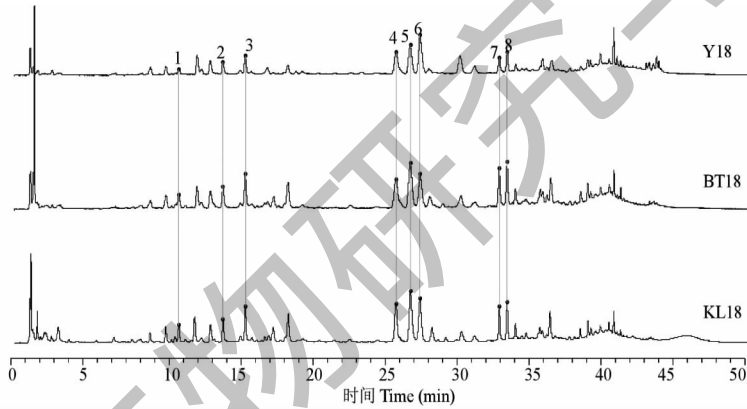


图 8 鲜益母草饮片-标准汤剂-配方颗粒 (Y18-BT18-KL18) 特征图谱

Fig. 8 Characteristic chromatogram of fresh *L. japonicus* decoction slices-standard decoction-formula granule (Y18-BT18-KL18)

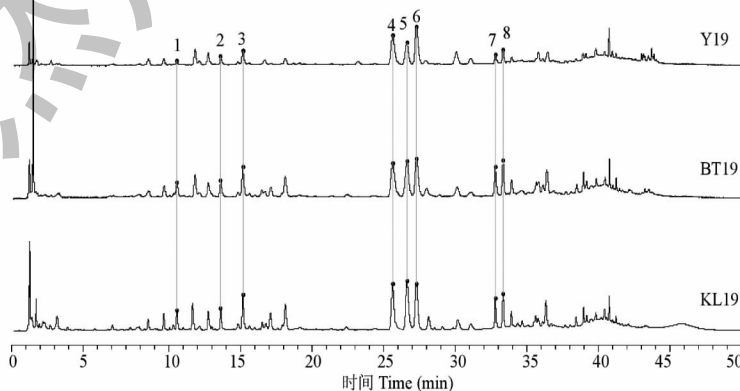


图 9 鲜益母草饮片-标准汤剂-配方颗粒 (Y19-BT19-KL19) 特征图谱

Fig. 9 Characteristic chromatogram of fresh *L. japonicus* decoction slices-standard decoction-formula granule (Y19-BT19-KL19)

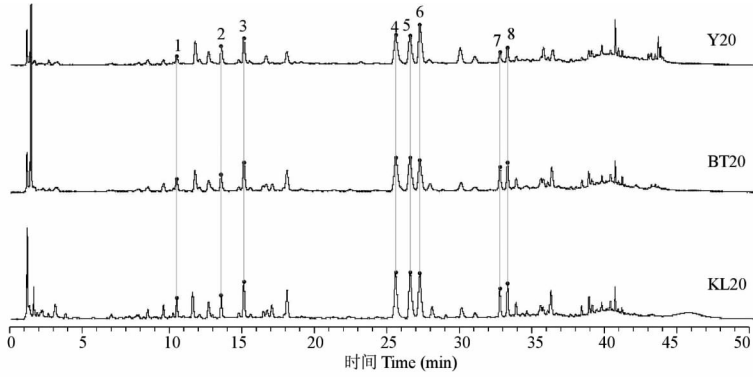


图 10 鲜益母草饮片-标准汤剂-配方颗粒 (Y20-BT20-KL20) 特征图谱

Fig. 10 Characteristic chromatogram of fresh *L. japonicus* decoction slices-standard decoction-formula granule (Y20-BT20-KL20)

表 11 3 批饮片-标准汤剂-配方颗粒相对保留时间

Table 11 The relative retention time of three batches of decoction slices-standard decoction-formula granules

编号 No.	相对保留时间 Relative retention time							
	峰 1 Peak 1	峰 2 Peak 2	峰 3 Peak 3	峰 4 Peak 4	峰 5 Peak 5	峰 6 Peak 6	峰 7 Peak 7	峰 8 Peak 8
Y18	0.713	0.904	1.000	0.939	0.973	1.000	1.188	1.207
BT18	0.712	0.904	1.000	0.941	0.975	1.000	1.192	1.211
KL18	0.713	0.903	1.000	0.940	0.977	1.000	1.194	1.214
Y19	0.714	0.904	1.000	0.939	0.973	1.000	1.188	1.208
BT19	0.712	0.904	1.000	0.941	0.975	1.000	1.192	1.211
KL19	0.713	0.904	1.000	0.940	0.978	1.000	1.195	1.214
Y20	0.713	0.903	1.000	0.940	0.973	1.000	1.189	1.208
BT20	0.713	0.904	1.000	0.941	0.975	1.000	1.191	1.211
KL20	0.712	0.903	1.000	0.940	0.977	1.000	1.194	1.213

表 12 3 批饮片-标准汤剂-配方颗粒共有峰相对峰面积

Table 12 The relative peak area of three batches of decoction slices-standard decoction-formula granules

编号 No.	相对峰面积 Relative peak area							
	峰 1 Peak 1	峰 2 Peak 2	峰 3 Peak 3	峰 4 Peak 4	峰 5 Peak 5	峰 6 Peak 6	峰 7 Peak 7	峰 8 Peak 8
Y18	0.264	0.693	1.000	0.661	0.780	1.000	0.238	0.264
BT18	0.334	0.665	1.000	1.059	1.429	1.000	0.668	0.668
KL18	0.436	0.641	1.000	0.804	1.224	1.000	0.463	0.470
Y19	0.236	0.588	1.000	0.826	0.586	1.000	0.147	0.175
BT19	0.431	0.583	1.000	1.064	0.993	1.000	0.461	0.492
KL19	0.497	0.616	1.000	0.919	1.112	1.000	0.393	0.408
Y20	0.257	0.701	1.000	0.859	0.761	1.000	0.154	0.193
BT20	0.390	0.628	1.000	1.270	1.152	1.000	0.452	0.461
KL20	0.498	0.587	1.000	0.946	1.032	1.000	0.363	0.386

表 13 3 批标准汤剂-饮片-配方颗粒相似度比较

Table 13 Comparison of similarity of three batches of standard decoction-decoction slices-formula granules

配方颗粒编号 Formula granules No.	分类 Classify	相似度 Similarity
KL18	标准汤剂 Standard decoction	1.000
	饮片 Decoction slices	0.950
	成品 Formula granules	0.993
KL19	标准汤剂 Standard decoction	1.000
	饮片 Decoction slices	0.954
	成品 Formula granules	0.994
KL20	标准汤剂 Standard decoction	1.000
	饮片 Decoction slices	0.973
	成品 Formula granules	0.993

### 3 讨论与结论

本研究采用检测波长 320、277、254 nm, 色谱峰峰型、分离度均无明显差异, 277 nm 色谱峰吸收强度高, 因此波长选择 277 nm。比较 3 种不同流动相; 采用乙腈-0.1% 醋酸水为流动相, 峰型较差, 采用乙腈-0.1% 甲酸水溶液, 盐酸益母草碱峰不对称, 峰型较差, 采用乙腈-0.1% 磷酸水为流动相的洗脱效果较好, 色谱图基线平稳, 峰型较好, 确定 0.1% 磷酸水为流动相。耐用性考察在不同的流速下, 各特征峰与 S 峰的相对保留时间 RSD 值 < 2.5%, 部分色谱峰相对峰面积 RSD 值为 1.8% ~ 12%, 表明流速  $\pm 0.02$  ml/min 的改变对相对峰面积影响较大, 建议固定流速为 0.25 ml/min; 在不同的柱温下, 各特征峰与 S 峰的相对保留时间 RSD 值 < 1.62%, 相对峰面积 RSD 值为 1.5% ~ 8.6%, 表明当柱温  $\pm 2$  °C 的改变对相对峰面积影响较大, 建议控制柱温为 30 °C。不同类型色谱柱各特征峰差异较大, 其中 Agilent SB C<sub>18</sub> 虽然对峰 4 ~ 6 的分离度较好, 但其余色谱峰分离度差, Waters CORTECS UPLC T3 Column 对峰 5、6 (盐酸益母草碱) 分离度差, Waters ACQUITY HSS T3 对各色谱峰的分离效果均较好, 因此特征图谱的色谱柱固定为 ACQUITY UPLC HSS T3 Column (2.1 mm  $\times$  100 mm, 1.8  $\mu$ m)。

20 批鲜益母草标准汤剂波动范围在 4.43% ~ 8.02%, 平均出膏率为 5.53%, SD 为 1.03%, 出膏率范围应在 4.0% ~ 8.5%。鲜益母草配方颗粒干浸膏的出膏率范围为 5.0% ~ 8.5%。鲜益母草配方颗粒的质量标准在标准汤剂的基础上, 分别建立

鲜益母草中盐酸益母草碱和盐酸水苏碱含量测定的方法。鲜益母草的化学成分包括生物碱类、萜类、黄酮类、苯乙醇苷和挥发油类成分等<sup>[12]</sup>, 其中生物碱类是其主要的活性成分, 研究最多的是生物碱类成分中的盐酸益母草碱、盐酸水苏碱等, 具有双向调节子宫<sup>[13,14]</sup>、利尿<sup>[15]</sup>、活血止血<sup>[16,17]</sup>、抗炎镇痛<sup>[18]</sup>等作用, 与鲜益母草临床功效“活血调经、利尿消肿、清热解毒”相一致。其中, 20 批鲜益母草标准汤剂盐酸益母草碱含量波动范围 2.11 ~ 9.05 mg/g, 平均含量为 4.93 mg/g, SD 为 1.86 mg/g, 对应的鲜益母草配方颗粒盐酸益母草碱的标准范围: 每克含盐酸益母草碱应为 1.0 ~ 5.3 mg。20 批鲜益母草标准汤剂盐酸水苏碱含量波动范围 16.86 ~ 82.59 mg/g, 平均含量为 40.58 mg/g, SD 为 18.91 mg/g, 对应的鲜益母草配方颗粒盐酸水苏碱的标准范围: 每克含盐酸水苏碱应为 9.0 ~ 60.0 mg。通过对 20 批不同产地样品分别建立了鲜益母草饮片、标准汤剂的特征图谱, 选取了 8 个共有峰, 并对放大生产的三批次鲜益母草饮片、标准汤剂、配方颗粒特征图谱的相对保留时间及相对峰面积进行量值传递分析, 确保对鲜益母草配方颗粒的整体性质量控制。20 批次鲜益母草的峰 1 相对峰面积中的具有一定规律性, 可对峰 1 的差异成分进行相应的规定, 20 批次标准汤剂峰 1 相对峰面积的均值为 0.329, 以均值的 70% 即 0.230 作为下限, 可进一步规定鲜益母草配方颗粒中峰 1 的相对峰面积应不得低于 0.23。

在此基础上, 本课题组前期也对鲜益母草和益母草配方颗粒药效学开展相关的研究, 发现鲜益母



草配方颗粒对降低热毒血瘀证大鼠的 TXB<sub>2</sub>、6-keto-PGF<sub>1</sub>α 含量的活血功效优于益母草配方颗粒,两者均能增加水负荷大鼠的尿液量,提高心钠素含量,鲜益母草配方颗粒还能降低抗利尿激素含量,利尿作用相对更优。综上,本研究中鲜益母草配方颗粒的制备工艺基本可行,所建立的鲜益母草配方颗粒质量标准合理,可为鲜益母草配方颗粒国家标准的制定提供数据支撑。

#### 参考文献

- 1 Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China: Vol I (中华人民共和国药典:第一部) [M]. Beijing: China Medical Science Press, 2020; 302-303.
- 2 Xu J, Zhang ZP, Chen DY, et al. Fresh herbs of chinese medicine; a review of modern application [J]. Mod Chin Med (中国现代中药), 2022, 24: 160-168.
- 3 Lin LG. Clinical application of fresh *Leonurus japonicus* Houtt. [C]//Special Issue of Grass-Roots Conference on Traditional Chinese medicine, China Association of Traditional Chinese medicine (中国中医药学会基层中医药会议专刊), 1997: 2.
- 4 Hao JD. Research and Application of Fresh Medicine (Second edition) (鲜药的研究与应用: 第二版) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2017: 342-344.
- 5 Li Y, Guo H, Miao M. Pharmacological effects and clinical application analysis of fresh Chinese medicine [J]. China J Tradit Chin Med Pharm (中华中医药杂志), 2019, 34: 5691-5695.
- 6 He J, Zhu XJ, Yang PR, et al. Current situation and new ideas on future trends of Chinese materia medica granules for prescriptions [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2018, 49: 4717-4725.
- 7 Yang LW, Wang HN, Lian G, et al. Discussion on whole quality control mode of traditional Chinese medicine based on standard decoction [J]. Chin J Exp Tradit Med Form (中国实验方剂学药), 2018, 24: 1-6.
- 8 National Medical Products Administration. Technical requirements for quality control and standard setting of traditional Chinese medicine formula granules (中药配方颗粒质量控制与标准制定技术要求) [EB/OL]. (2021-01-26) [2024-06-15]. <https://www.nmpa.gov.cn/directory/web/nmpa/images/1612940089755035178.doc>.
- 9 Shandong Academy of Traditional Chinese Medicine. Shandong Province Standard for Traditional Chinese Medicine Processing (山东省中药炮制规范) [M]. Jinan: Shandong Science and Technology Press, 2012: 547-550.
- 10 State Administration of Traditional Chinese Medicine. Management Standards for Traditional Chinese Medicine Decoction Rooms in Medical Institutions (医疗机构中药煎药室管理规范) [EB/OL]. (2009-03-16) [2024-06-15]. <http://www.natcm.gov.cn/yizhengsi/gongzuodongtai/2018-03-25/6577.html>.
- 11 Li ZY, He MY, Liu XX, et al. Study on the quantity value transfer of microctis folium decoction pieces and standard decoction based on UPLC fingerprint and multi-component quantification [J]. Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发), 2023, 35: 1505-1517.
- 12 Qiao JJ, Wu QN, Xue M, et al. Research progress on chemical components and pharmacological effects of *Leonurus japonicas* [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2018, 49: 5691-5704.
- 13 Xie XF, Chen JR, Li GM, et al. Research progress in the pharmacological effects of Herba Leonuri on uterus [J]. World Chin Med (世界中医药), 2020, 15: 1263-1266.
- 14 Qin MR, Wang P, Wang XW, et al. Effects of leonurine hydrochloride and stachydrine hydrochloride on rat uterine contraction *in vitro* [J]. Pharm Today (今日药学), 2013, 2: 410-412.
- 15 Chao Z, Ma L, Zhou XJ. The diuretic effect of alkaloids from Yimu Cao (Herba Leonuri) on rat [J]. Lishizhen Med Mater Med Res (时珍国医国药), 2005, 16: 11-12.
- 16 Ye Z, Wang RG. Endometrial hemostasis repair of motherwort in postpartum endometritis rats [J]. Drug Eval Res (药物评价研究), 2012, 35: 246-249.
- 17 Sun GJ. Effects of leonuriue on anticoagulant and immune function in rats [D]. Shihezi: Shihezi University (石河子大学), 2023.
- 18 Liu L, Yu C, Xu L. Anti-inflammatory analgesic effects studies of total alkaloids from *Leonurus heterophyllus* [J]. Proceed Clin Med (临床医药实践), 2008, 1: 934-935.