

# 基于指纹图谱、化学计量学分析及含量测定的炒蔓荆子标准汤剂质量评价

邓淙友, 王闽予, 徐文辉, 邱嘉俊, 刘轩霖, 陈向东, 何民友\*

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:** 本研究通过指纹图谱结合化学计量学分析以及多成分含量测定, 建立炒蔓荆子标准汤剂的质量评价体系。通过超高效液相色谱仪建立18批炒蔓荆子标准汤剂的指纹图谱, 并采用相似度评价及聚类分析、主成分分析和正交偏最小二乘法判别分析等统计方法进行评价。然后针对其中7个成分开展含量测定研究, 同时计算出膏率和转移率。18批样品炒蔓荆子标准汤剂指纹图谱中, 共标定了19个共有峰, 各批次样品与对照图谱的相似度均大于0.90。聚类分析结果显示, 18批样品被聚为3类, 其中, 不同产地各自归为一类, 主成分分析结果与之一致。正交偏最小二乘法判别分析进一步印证了分类结果, 并筛选出12个质量差异成分。18批炒蔓荆子标准汤剂出膏率范围在9.35%~15.76%之间, 原儿茶酸、4-羟基苯甲酸、绿原酸、香草酸、异荭草苷、穗花牡荆苷、蔓荆子黄素的含量分别为1.97~7.96、3.22~11.22、0.72~13.79、1.03~2.72、2.10~6.46、2.35~21.02、0.81~4.57 mg/g, 各化合物的转移率范围分别为66.20%~87.06%、51.76%~83.43%、20.85%~64.96%、51.44%~77.41%、29.22%~42.81%、54.03%~96.63%、11.48%~26.16%。本研究建立的指纹图谱及含量测定方法准确、稳定、可靠, 能够为炒蔓荆子标准汤剂的质量评价提供参考。

**关键词:** 炒蔓荆子; 标准汤剂; 指纹图谱; 含量测定; 化学计量学

中图分类号: R282.5 文献标识码: A

## Quality evaluation of fried *Viticis Fructus* standard decoction based on fingerprint, chemometrics and multi-component content determination

DENG Cong-you, WANG Min-yu, XU Wen-hui,

QIU Jia-jun, LIU Xuan-lin, CHEN Xiang-dong, HE Min-you\*

*Guangdong Provincial Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine Formula Granule, Guangdong Yifang*

*Pharmaceutical Co., Ltd., Foshan 528244, China*

**Abstract:** In this study, the quality evaluation system of fried *Viticis Fructus* standard decoction was established through fingerprinting combined with chemometric analysis and multi-component content determination. The fingerprints of 18 batches of fried *Viticis Fructus* standard decoctions were established by ultra-high performance liquid chromatography and evaluated by similarity evaluation and statistical methods such as cluster analysis,

principal component analysis and orthogonal partial least squares discriminant analysis. Then, a content determination study was carried out on seven components, and the paste rate and transfer rate were also calculated. A total of 19 common peaks were calibrated in the fingerprint profiles of 18 batches of samples of fried *Vitidis Fructus* standard decoctions, and the similarity between each batch of samples and the control profiles was greater than 0.90. The results of cluster analysis showed that the 18 batches of samples were clustered into three categories, in which the different origins were grouped into one category alone, and the results of principal component analysis were consistent with this. Orthogonal partial least squares discriminant analysis further corroborated the classification results and screened out 12 quality difference components. The established fingerprint of 18 batches of fried *Vitidis Fructus* standard decoction identified 19 common peaks, the similarity between the standard decoction samples and reference spectrum was greater than 0.90, the 18 batches of samples were divided into three categories by cluster analysis, all producing areas were grouped into one category, and the results of principal component analysis were consistent with cluster analysis, partial least square- discriminant analysis further confirmed the classification results and screened out 12 quality difference components. The paste yield of 18 batches of standardized broth of fried *Vitidis Fructus* ranged from 9.35% to 15.76%, and the contents of protocatechuic acid, 4-hydroxybenzoic acid, chlorogenic acid, vanillic acid, isoorientin, spirochrysin, vitexin ranged from 1.97 to 7.96 mg/g, 3.22 to 11.22 mg/g, 0.72 to 13.79 mg/g, 1.03 to 2.72 mg/g, 2.10 to 6.46 mg/g, 2.35 to 21.02 mg/g, 0.81 to 4.57 mg/g, and the range of the transfer rate of each compound was 66.20% to 87.06%, 51.76% to 83.43%, 20.85% to 64.96%, 51.44% to 77.41%, 29.22% to 42.81%, 54.03% to 96.63%, 11.48% to 26.16%. The fingerprint and content determination method established in this study is accurate, stable and reliable, and can be used for quality evaluation of fried *Vitidis Fructus* standard decoction.

**Key words:** fried *Vitidis Fructus*; standard decoction; fingerprint; content determination; chemometrics

中药标准汤剂是中药最常用的制剂形式，为商代伊尹首创，因其制备简便、吸收快、能迅速发挥药效等特点，被广泛应用于临床<sup>[1]</sup>。因此，通过建立重要标准汤剂的质量标准，能为其对应的中药配方颗粒等现代中药制剂质量标准的制定提供参考。

蔓荆子是马鞭草科牡荆属植物单叶蔓荆 *Vitex trifolia* L. var. *simplicifolia* Cham. 或蔓荆 *Vitex trifolia* L. 的干燥成熟果实<sup>[2]</sup>。蔓荆子最早记载于东汉《神农本草经》，名为蔓荆实，列为上品<sup>[3]</sup>，具有疏散风热、清利头目的作用，主治风热感冒，头痛头风，目赤肿痛，目昏多泪，风湿痹痛<sup>[4]</sup>。另外，蔓荆子临床上主要有生品和炒制品两种，炒蔓荆子最早用药记载于宋代《太平圣惠方》，其经过炒制之后，辛散之性相对缓和，有利于粉碎及有效物质的煎出，功效也侧重于升清阳之气，祛风止痛<sup>[5-6]</sup>。目前，除曹桂云<sup>[7]</sup>等通过特征图谱结合一测多评法建立了蔓

荆子标准汤剂的相关质量标准之外，暂未见到有关炒蔓荆子标准汤剂的质量标准研究的相关文献报道。因此，本研究通过建立炒蔓荆子UPLC指纹图谱，并结合化学计量学分析，同时测定标准汤剂的出膏率，原儿茶酸、4-羟基苯甲酸、绿原酸、香草酸、异荭草苷、穗花牡荆苷、蔓荆子黄素等7个特征成分含量，并计算各成分的转移率，为炒蔓荆子标准汤剂质量评价提供依据。

## 1 仪器与材料

### 1.1 仪器

Waters H-Class 型超高效液相色谱仪（沃特世科技有限公司）；Waters CORTECS T3 C18（2.1 mm×150 mm，1.6 μm）色谱柱；ME 204 E 型万分之一分析天平，XP26 型百万分之一分析天平（瑞士梅特勒-托利多公司）；TRL-0.5 型真空冷冻干燥机（大连双瑞科技有限公司）；数控超声波清洗器（昆山市超声仪器有限公司，KQ 500 DE）。

### 1.2 材料

原儿茶酸对照品（批号：110809-201906，含量：97.7%）、4-羟基苯甲酸对照品（批号：101149-201903；含量：100%）、绿原酸对照品（批号：110753-202018，含量：96.1%）、香草酸对照品（批号：110776-201503，含量：99.8%）、异荭草苷对照品（批号：111974-201401，含量：94%）、蔓荆子黄素对照品（批号：11554-201705，含量：98.3%）由中国食品药品检定研究院提供；穗花牡荆苷对照品（批号：CFN99203；含量：98%）由 Chem Faces 公司提供；磷酸、乙腈为色谱纯，其他试剂均为分析纯。

本研究所用蔓荆子来源于马鞭草科植物单叶蔓荆 *Vitex trifolia* L. var. *simplicifolia* Cham. 的干燥成熟果实，经中国中医科学院中药研究所进行 DNA 鉴定，样品信息见表 1。

表 1 样品信息表

Table 1 Sources of samples

编号 No.	产地 Place of origin
S1~S3	福建省宁德市
S4~S9	江西省九江市
S10、S11	湖北省黄冈市
S12、S13	湖北省孝感市
S14~S18	江西省景德镇市

## 2 方法与结果

### 2.1 饮片的炮制

2020年版《中国药典》炒蔓荆子项下规定炮制工艺为“取净蔓荆子，照清炒法（通则2013）微炒，用时捣碎。”但没明确具体的关键参数和工艺标准。实验研究通过对炒制温度（80~120 °C、120~150 °C、150~180 °C）、炒制时间（5、8、10、15、20、25 min）进行了考察，并以炮制后饮片性状及化学成分含量为评价指标。确定了炒蔓荆子饮片的炮制参数为：取净蔓荆子，

于80~120 °C炒制10~15 min, 炒至表面颜色呈黑色或黑褐色, 气味特异而芳香。按照已确定的饮片炮制工艺参数对18批蔓荆子药材 (S1~S18) 进行炮制, 制得18批炒蔓荆子饮片 (CMJZ01~CMJZ18)。

## 2.2 标准汤剂冻干粉的制备

取18批炒蔓荆子饮片100 g, 捣碎, 加水煎煮2次, 第一次煎煮加8倍量水, 浸泡30 min, 武火煮沸后改文火再煎煮30 min, 第二次煎煮加6倍量水, 武火煮沸后改文火再煎煮25 min, 用200目筛趁热过滤, 合并滤液, 减压浓缩至约100 mL, 真空冷冻干燥, 即得标准汤剂冻干粉。

## 2.3 色谱条件

Waters CORTECS T3 C18 (2.1 mm×150 mm, 1.6 μm) 色谱柱, 以乙腈为流动相A, 以0.1% 磷酸水溶液为流动相B, 进行梯度洗脱; 洗脱程序为0~5 min, 5%→17% A; 5~14 min, 17%→25% A; 14~23 min, 25%→65% A; 23~30 min, 65%→90% A; 30~32 min, 90% A; 体积流量为0.30 mL/min; 柱温为35 °C; 检测波长210 nm; 进样量2 μL。理论板数按蔓荆子黄素峰计算应不低于10 000。

## 2.4 对照品溶液的制备

取原儿茶酸、4-羟基苯甲酸、绿原酸、香草酸、异荭草苷、穗花牡荆苷、蔓荆子黄素对照品适量, 精密称定, 加70%甲醇制成浓度分别为85.10、273.50、93.12、143.41、257.84、81.24、166.72 μg/mL的对照品储备液; 再精密吸取原儿茶酸3.0 mL、绿原酸2.0 mL、其余对照品各取1.0 mL于10 mL量瓶中, 混匀, 制得含原儿茶酸、4-羟基苯甲酸、绿原酸、香草酸、异荭草苷、穗花牡荆苷、蔓荆子黄素分别为25.53、27.35、18.62、14.34、25.78、8.12、16.67 μg/mL的混合对照品溶液。

## 2.5 供试品溶液的制备

取炒蔓荆子标准汤剂冻干粉适量, 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, 超声处理 (功率250 W, 频率40 kHz) 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。

## 2.6 UPLC指纹图谱研究

### 2.6.1 精密度试验

取炒蔓荆子标准汤剂冻干粉 (CMJZ03), 按“2.5”项下方法制备供试品溶液, 按“2.3”项下色谱条件连续进样测定6次, 以9号穗花牡荆苷色谱峰为参照峰, 计算得各共有峰的相对保留时间的相对标准偏差 (relative standard deviation, RSD) 为0.36%~1.4%, 相对峰面积的RSD为0.83%~2.7%, 表明仪器精密度良好。

### 2.6.2 稳定性试验

取“2.6.1”项炒蔓荆子标准汤剂冻干粉供试品溶液, 分别于0、2、4、6、8、12、24 h按“2.3”项下色谱条件进样测定, 以9号穗花牡荆苷色谱峰为参照峰, 计算得各共有峰的相对

保留时间RSD为0.35%~1.1%，相对峰面积的RSD为0.43%~2.3%，表明供试品溶液在24 h内稳定性良好。

### 2.6.3 重复性试验

取同一批炒蔓荆子标准汤剂冻干粉（CMJZ03）6份，按“2.5”项下方法平行制备6份供试品溶液，按“2.3”项下色谱条件进样测定，以9号穗花牡荆苷色谱峰为参照峰，计算得各共有峰的相对保留时间RSD为0.66%~1.8%，相对峰面积的RSD为0.83%~2.9%，表明该方法重复性良好。

### 2.6.4 指纹图谱的建立及峰指认

取18批炒蔓荆子标准汤剂冻干粉（CMJZ01~CMJZ18），按“2.5”项下方法制备供试品溶液，按“2.3”项下色谱条件进样测定，得到UPLC指纹图谱，采用“中药色谱指纹图谱相似度评价系统软件”（简称“相似度评价系统”）（2012年版），以CMJZ01样品图谱为参照，对照图谱生产方法采用平均数法，对18批炒蔓荆子标准汤剂的指纹图谱进行多点校正并经Mark峰匹配后，生产炒蔓荆子标准汤剂的对照指纹图谱（R），共标定19个共有峰（见图1）。通过与对照品比对并结合3D光谱分析，指认出7个成分（见图2），分别为原儿茶酸（峰1）、4-羟基苯甲酸（峰2）、绿原酸（峰3）、香草酸（峰4）、异荭草苷（峰7）、穗花牡荆苷（峰9）、蔓荆子黄素（峰17）。

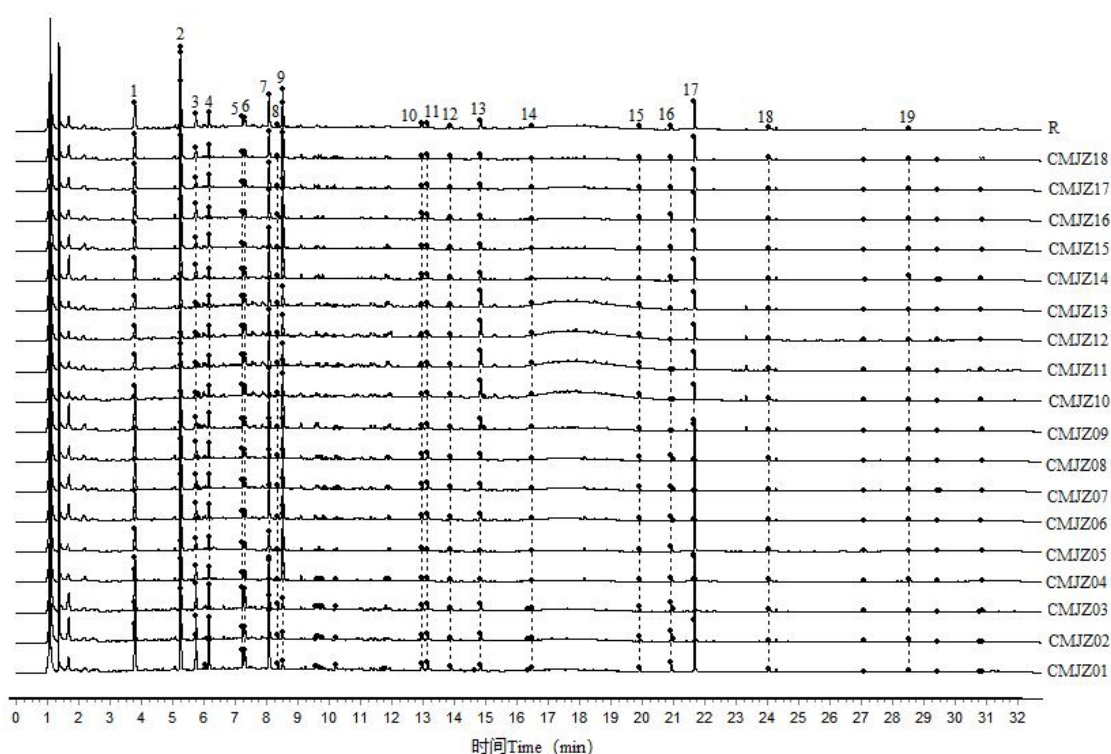


图1 炒蔓荆子标准汤剂（CMJZ01~CMJZ18）指纹图谱和对照指纹图谱（R）

Fig. 1 Fingerprint of fried Vitis Fructus standard decoction and reference fingerprint

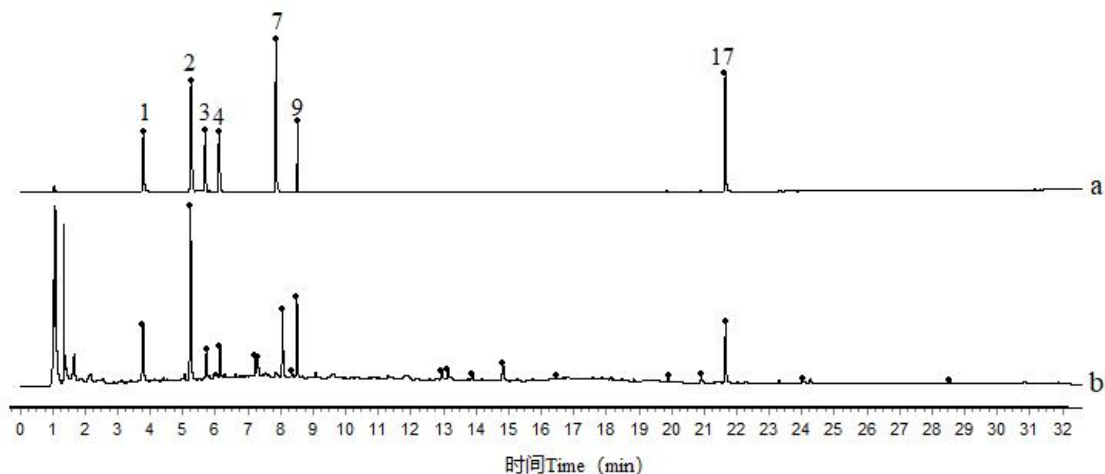


图 2 混合对照品溶液色谱图谱 (a) 及炒蔓荆子标准汤剂对照图谱 (b)

Fig. 2 Chromatogram of mixed reference solution (a) and reference chromatogram of fried *Vitis Fructus* standard decoction(b)

- 1.原儿茶酸; 2.4-羟基苯甲酸; 3.绿原酸; 4.香草酸; 7.异荭草苷; 9.穗花牡荆苷; 17.蔓荆子黄素。  
 1. Protocatechuic acid; 2. 4-Hydroxybenzoic acid; 3. Chlorogenic acid; 4. Vanillic acid; 7. Isoorientin; 9. Agnuside;  
 17. Casticin.

### 2.6.5 相似度评价

利用“相似度评价系统”生成18批炒蔓荆子标准汤剂样品与对照指纹图谱的相似度, 结果见表2。18批炒蔓荆子标准汤剂与对照指纹图谱的相似度均大于0.90, 说明不同批次蔓荆子药材经炒制后制成的标准汤剂主要物质成分差异较小, 制备工艺科学合理, 可用于炒蔓荆子标准汤剂的整体质量评价。另分析各产地间标准汤剂的相似度结果可知, 来自江西省样品CMJZ04~CMJZ09、CMJZ14~CMJZ18的相似度均大于0.95, 而福建省样品CMJZ01~CMJZ03和湖北省样品CMJZ10~CMJZ13的相似度为0.914~0.933, 表明江西省的2个产地间样品质量比较一致, 不同批次间质量较福建省和湖北省样品更为稳定。

表 2 18 批炒蔓荆子标准汤剂相似度评价结果

Table 2 Similarity evaluation results of 18 batches of fried *Vitis Fructus* standard decoction

编号 No.	相似度 Similarity	编号 No.	相似度 Similarity
CMJZ01	0.920	CMJZ10	0.919
CMJZ02	0.933	CMJZ11	0.918
CMJZ03	0.914	CMJZ12	0.920
CMJZ04	0.975	CMJZ13	0.926
CMJZ05	0.977	CMJZ14	0.977
CMJZ06	0.998	CMJZ15	0.972
CMJZ07	0.998	CMJZ16	0.994

编号 No.	相似度 Similarity	编号 No.	相似度 Similarity
CMJZ08	0.997	CMJZ17	0.981
CMJZ09	0.967	CMJZ18	0.983

### 2.6.6 聚类分析

将 18 批炒蔓荆子标准汤剂指纹图谱中的 19 个共有峰的峰面积导入 SPSS25.0 软件,采用系统聚类分析,以组间联接法,测量区间选择平方欧氏距离进行聚类分析,结果见图 3。聚类结果表明,当组间距离为 10 时,可将 18 批炒蔓荆子标准汤剂分为 3 类,其中 CMJZ01~CMJZ03 聚为第一类, CMJZ04~CMJZ09、CMJZ15~CMJZ18 聚为第二类, CMJZ10~CMJZ13 聚为第三类。结合产地分析发现,来自福建、江西、湖北 3 个产地样品单独归一类,表明不同产地间样品化学成分上存在一定差异,而相同产地间样品差异不显著。

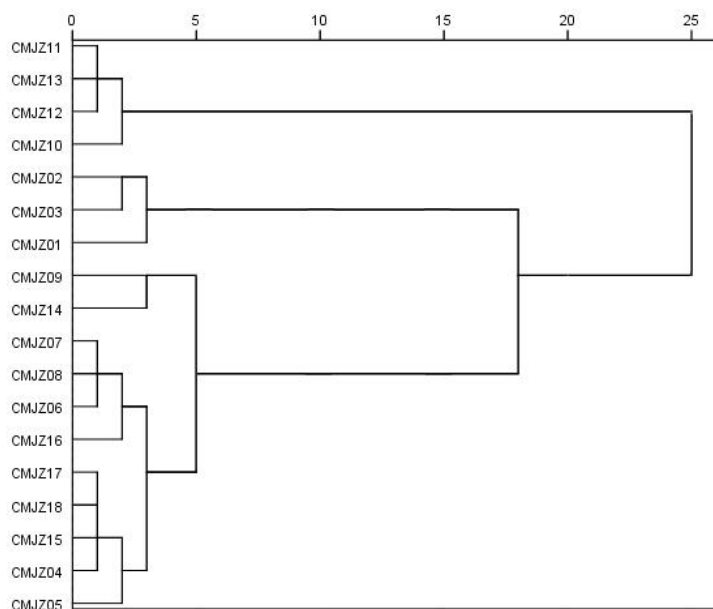


图 3 18 批炒蔓荆子标准汤剂指纹图谱聚类分析

Fig. 3 Cluster analysis of fingerprint of 18 batches of fried *Viticis Fructus* standard decoction

### 2.6.7 主成分分析

为进一步验证聚类分析结果,将 18 批炒蔓荆子标准汤剂指纹图谱中的 19 个共有峰的峰面积导入 SIMCA 14.1 软件进行无监督模式识别方法主成分分析 (principal component analysis, PCA),观察样品间的自然聚集<sup>[9]</sup>,生成 4 个主成分,累积贡献率为 89.0%, $Q^2$  为 0.624 ( $Q^2 > 0.5$ ),表明该模型具有良好的预测能力。主成分分析结果将 18 批样品分为 3 类 (见图 4), CMJZ01~CMJZ03 为一类, CMJZ04~CMJZ09、CMJZ15~CMJZ18 为二类, CMJZ10~CMJZ13 为三类,分类结果与聚类分析结果一致。

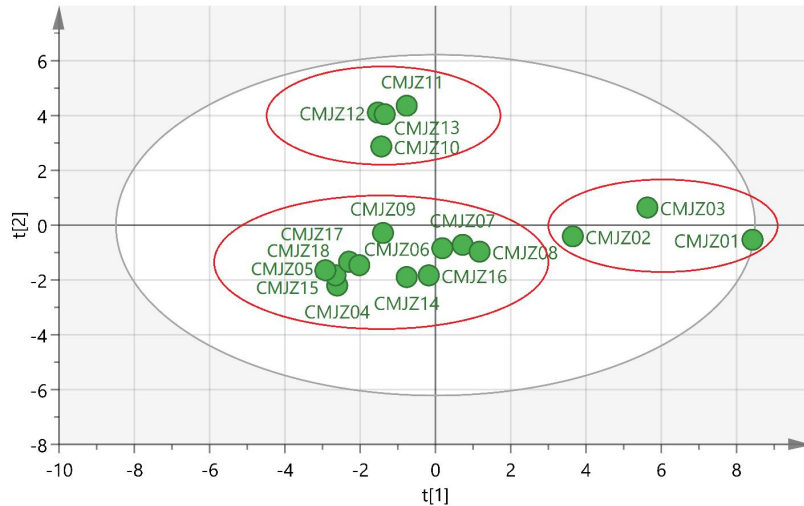


图 4 18 批炒蔓荆子标准汤剂指纹图谱主成分分析

Fig. 4 PCA of fingerprint of 18 batches of fried *Vitis Fructus* standard decoction

#### 2.6.8 正交偏最小二乘法判别分析

为对聚类分析和主成分分析结果做进一步印证,以 18 批炒蔓荆子标准汤剂指纹图谱中的 19 个共有峰的峰面积为变量导入 SIMCA 14.1 软件进行正交偏最小二乘法判别分析 (orthogonal partial least squares discriminant analysis, OPLS-DA) [8,9], 并进一步分析 18 批炒蔓荆子的差异性。结果获得的得分模型中 (见图 5), 数据矩阵的结实率参数  $R^2X$  为 0.865, 模型区分参数  $R^2Y$  为 0.976, 模型预测参数  $Q^2$  为 0.854, 均大于 0.5 且接近 1, 表明拟合模型的准确度、稳定性及预测能力均较好[10]。正交偏最小二乘法判别分析得分模型中, 3 组样品聚类较好, 与聚类分析和主成分分析结果一致, 进一步印证了分析的合理性。同时, 根据变量重要性投影值 (variable influence on projection, VIP) 筛选出影响差异的标志成分,  $VIP > 1$  说明该类指标成分贡献率较大及相关性较高, 结果共筛选得到 12 个质量差异标志成分 (见图 6), 按 VIP 值大小排列依次为峰 2 (4-羟基苯甲酸)、峰 1 (原儿茶酸)、峰 16、峰 17、峰 15、峰 4 (香草酸)、峰 14、峰 9 (穗花牡荆苷)、峰 5、峰 6、峰 3、峰 7 (异荭草苷), 这些成分为引起不同产地炒蔓荆子标准汤剂成分差异的主要标志性成分。



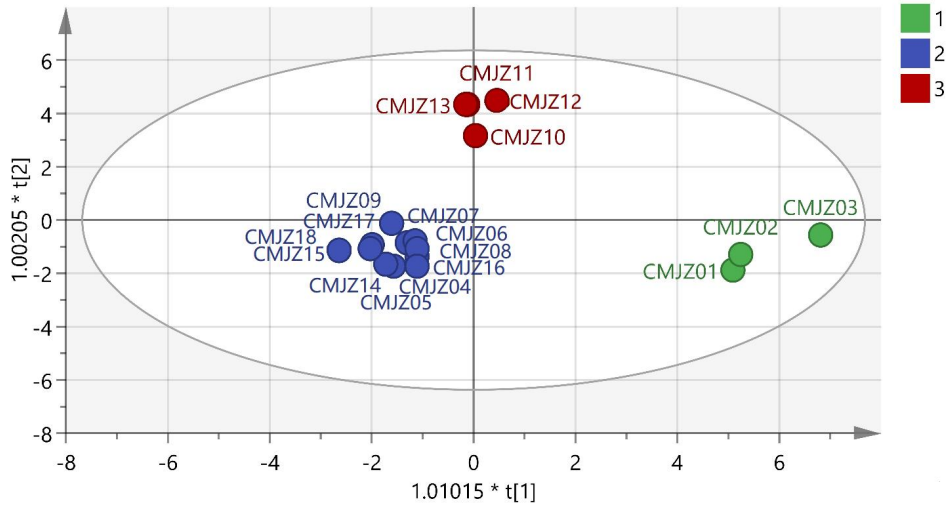


图 5 18 批炒蔓荆子标准汤剂指纹图谱 OPLS-DA 得分图

Fig. 5 OPLS-DA score plot of fingerprint of 18 batches of fried *Vitis Fructus* standard decoction

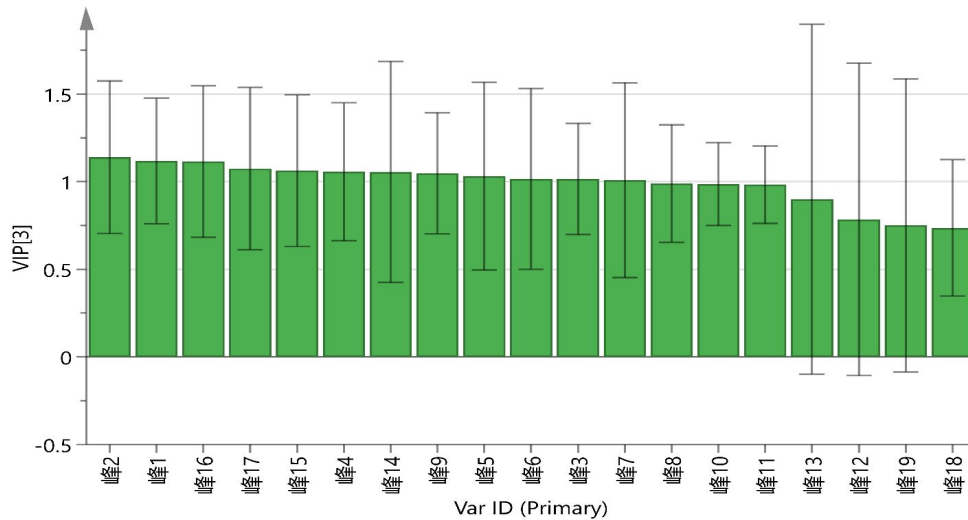


图 6 OPLS-DA 模型 VIP 分布图

Fig. 6 VIP distribution map of OPLS-DA model

## 2.7 含量测定

### 2.7.1 线性关系考察

分别精密吸取原儿茶酸、4-羟基苯甲酸、绿原酸、香草酸、异荭草苷、穗花牡荆苷、蔓荆子黄素对照品储备液适量，采用逐级稀释法，得到系列浓度的对照品溶液，按“2.3”项下色谱条件进样测定，记录峰面积。以峰面积为纵坐标 ( $y$ )，浓度为横坐标 ( $x$ )，进行线性回归，得回归方程见表 3，结果表明各成分浓度与峰面积均呈良好线性关系。

表 3 7 个成分的线性关系考察结果

Table 3 Investigation results of linear relationship of seven components.

成分 Component	线性回归方程 Regression equation	$r$	线性范围 Linearity range ( $\mu\text{g/mL}$ )
-----------------	-------------------------------	-----	--

成分 Component	线性回归方程 Regression equation	<i>r</i>	线性范围 Linearity range (μg/mL)
原儿茶酸 Protocatechuic acid	$y=23\ 859.34\ x-6\ 064.80$	0.999 9	4.26~85.10
4-羟基苯甲酸 4-Hydroxybenzoic acid	$y=34\ 991.23\ x+23\ 202.38$	0.999 8	5.47~136.75
绿原酸 Chlorogenic acid	$y=7\ 075.28\ x-1\ 873.52$	0.999 8	1.86~93.12
香草酸 Vanillic acid	$y=31\ 537.71\ x+6\ 731.93$	0.999 7	1.43~43.02
异荭草苷 Isoorientin	$y=28\ 410.08\ x-5\ 545.03$	0.999 8	5.16~51.57
穗花牡荆苷 Agnuside	$y=9\ 542.78\ x-2\ 553.05$	0.999 8	4.06~81.24
蔓荆子黄素 Casticin	$y=35\ 173.44\ x+5\ 031.62$	0.999 9	1.67~50.02

### 2.7.2 精密度试验

取炒蔓荆子标准汤剂冻干粉 (CMJZ03), 按“2.5”项下方法制备供试品溶液, 按“2.3”项下色谱条件连续进样测定 6 次, 记录峰面积, 计算得到原儿茶酸、4-羟基苯甲酸、绿原酸、香草酸、异荭草苷、穗花牡荆苷、蔓荆子黄素峰面积的 RSD 值分别为 0.18%、0.35%、0.27%、0.84%、0.62%、0.39%、0.41%, 结果表明仪器精密度较好。

### 2.7.3 稳定性试验

取炒蔓荆子标准汤剂冻干粉 (CMJZ03), 按“2.5”项下方法平行制备供试品溶液, 分别于 0、2、4、6、8、12、24 h 按“2.3”项下色谱条件进样测定, 记录峰面积, 计算得到原儿茶酸、4-羟基苯甲酸、绿原酸、香草酸、异荭草苷、穗花牡荆苷、蔓荆子黄素峰面积的 RSD 值分别为 0.43%、0.82%、1.2%、1.0%、1.6%、0.97%、1.3%, 结果表明供试品溶液在 24 h 内稳定性较好。

### 2.7.4 重复性试验

取同一批炒蔓荆子标准汤剂冻干粉 (CMJZ03) 6 份, 按“2.5”项下方法平行制备 6 份供试品溶液, 按“2.3”项下色谱条件进样测定, 记录峰面积, 计算得到原儿茶酸、4-羟基苯甲酸、绿原酸、香草酸、异荭草苷、穗花牡荆苷、蔓荆子黄素的平均含量分别为 7.20、6.70、10.28、2.35、5.30、3.22、4.41 mg/g, RSD 值分别为 1.6%、0.87%、2.1%、1.5%、0.66%、1.2%、2.1%, 结果表明该方法重复性较好。

### 2.7.5 加样回收率试验

取同一批炒蔓荆子标准汤剂冻干粉 (CMJZ03) 0.1 g, 分别加入原儿茶酸、4-羟基苯甲酸、绿原酸、香草酸、异荭草苷、穗花牡荆苷、蔓荆子黄素对照品储备液 8.5、2.5、11.0、1.5、2.0、4.0、2.5 mL, 按“2.5”项下方法平行制备供试品溶液, 平行制备 6 份, 按“2.3”项下色谱条件进样测定, 记录峰面积, 计算得到原儿茶酸、4-羟基苯甲酸、绿原酸、香草酸、异荭草苷、穗花牡荆苷、蔓荆子黄素的平均加样回收率分别为 96.13%、98.42%、101.19%、95.68%、98.05%、96.71%、97.47%, RSD 值分别为 2.3%、2.0%、2.6%、1.6%、2.0%、1.8%、2.4%,

结果表明加样回收率符合要求。

#### 2.7.6 样品含量测定

分别取 18 批炒蔓荆子饮片 0.5 g 和相对应的 18 批炒蔓荆子标准汤剂冻干粉 (CMJZ01~CMJZ18) 0.2 g, 精密称定, 按“2.5”项下方法制备供试品溶液, 按“2.3”项下色谱条件进样测定, 记录峰面积, 计算得到原儿茶酸、4-羟基苯甲酸、绿原酸、香草酸、异荭草苷、穗花牡荆苷、蔓荆子黄素的含量, 结果见表 4。结果显示, 来自湖北的 4 批样品 (CMJZ10~CMJZ13) 的含量整体较其他产地低。

表4 炒蔓荆子饮片及炒蔓荆子标准汤剂中成分含量测定结果 (n=3)

Table 4 Content determination results of components in fried Vitis Fructus and fried Vitis Fructus standard decoction (n=3)

编号 No.	饮片中的成分含量 Components content in decoction pieces (mg/g)								标准汤剂中的成分含量 Components content in standard decoction (mg/g)							
	原儿茶 酸 Protocha techuic acid	4-羟基苯 甲酸 4-Hydrox ybenzoic acid	绿原酸 Chloro genic acid	香草酸 Vanillic acid	异荭 草苷 Isoori entin	穗花牡 荆苷 Agnusid e	蔓荆子 黄素 Casticin	总量 Total	原儿茶 酸 Protocate chuic acid	4-羟基 苯甲酸 4-Hydro xybenzoi c acid	绿原酸 Chloro genic acid	香草酸 Vanillic acid	异荭 草苷 Isoorie ntin	穗花牡荆 苷 Agnuside	蔓荆子 黄素 Casticin	总量 Total
CMJZ01	1.27	1.31	2.94	0.48	1.69	0.48	2.49	10.65	7.96	7.86	13.79	2.72	6.46	2.93	4.14	45.87
CMJZ02	0.93	1.14	1.54	0.28	1.46	0.31	2.79	8.45	6.93	7.74	9.71	2.14	4.46	2.35	4.57	37.90
CMJZ03	0.88	0.93	1.66	0.34	1.27	0.56	2.26	7.90	7.18	6.67	10.21	2.37	5.33	3.20	4.38	39.34
CMJZ04	0.99	2.71	1.65	0.29	1.10	4.81	2.95	14.50	4.24	9.98	5.35	1.14	2.28	20.12	2.16	45.28
CMJZ05	0.99	2.68	1.55	0.28	1.04	4.16	2.71	13.41	4.27	10.93	4.93	1.23	2.10	14.65	2.53	40.64
CMJZ06	0.87	1.63	0.42	0.25	1.21	1.96	2.03	8.36	5.30	9.43	0.77	1.46	3.51	13.05	2.47	36.00
CMJZ07	0.71	1.48	0.31	0.22	1.11	1.35	1.60	6.78	5.43	9.75	0.72	1.47	4.06	12.36	2.55	36.33
CMJZ08	0.82	1.56	0.42	0.24	1.16	1.70	1.88	7.78	5.43	9.84	0.86	1.47	3.91	11.92	2.70	36.13
CMJZ09	0.67	1.48	0.36	0.19	1.05	2.75	0.66	7.15	5.66	8.16	1.06	1.50	3.31	21.02	0.81	41.53



## 2.8 出膏率及转移率

精密吸取减压浓缩后的炒蔓荆子标准汤剂 10 mL，置于已干燥至恒重的蒸发皿中，水浴蒸干，于 105 °C 烘箱中干燥 3 h，移至硅胶干燥器中，冷却至室温，迅速称重，至连续 2 次质量相差少于 5 mg。计算得到炒蔓荆子标准汤剂的出膏率。并根据炒蔓荆子饮片和标准汤剂中各成分的含量，计算得到原儿茶酸、4-羟基苯甲酸、绿原酸、香草酸、异荛草苷、穗花牡荆苷、蔓荆子黄素的转移率，结果见表 5。结果显示，18 批炒蔓荆子标准汤剂出膏率为 9.35%~15.76%，均值为 11.42%；18 批炒蔓荆子原儿茶酸、4-羟基苯甲酸、绿原酸、香草酸、异荛草苷、穗花牡荆苷、蔓荆子黄素的转移率分别为 66.20%~87.06%、51.76%~83.43%、20.85%~64.96%、51.44%~77.41%、29.22%~42.81%、54.03%~96.63%、11.48%~26.16%，均值分别为 74.20%、70.49%、42.56%、65.09%、34.87%、74.64%、16.83%。

表 5 18 批炒蔓荆子标准汤剂的出膏率和转移率

Table 5 Extract yield and transfer rate of 18 batches of fried *Viticis Fructus* standard decoction

编号 No.	出膏率 Paste yield (%)	转移率 Transfer rate (%)						
		原儿茶酸 Protocatechuic acid	4-羟基苯甲酸 4-Hydroxybenzoic acid	绿原酸 Chlorogenic acid	香草酸 Vanillic acid	异荛草苷 Isoorientin	穗花牡荆苷 Agnuside	蔓荆子黄素 Casticin
CMJZ01	11.07	69.40	66.32	51.98	63.05	42.42	67.00	18.44
CMJZ02	10.26	76.76	69.52	64.57	77.41	31.40	76.65	16.85
CMJZ03	10.21	83.31	72.83	62.85	71.83	42.81	57.97	19.83
CMJZ04	15.76	67.42	58.07	51.20	61.98	32.80	65.89	11.53
CMJZ05	15.34	66.20	62.58	48.72	68.15	31.03	54.03	14.31
CMJZ06	11.40	69.76	65.86	20.85	66.88	33.13	76.12	13.90
CMJZ07	10.28	78.64	67.75	24.13	67.99	37.69	93.87	16.38
CMJZ08	11.51	75.94	72.57	23.66	71.34	38.85	80.92	16.48
CMJZ09	9.36	78.72	51.76	27.89	75.90	29.53	71.61	11.48
CMJZ10	9.35	76.03	81.81	34.04	53.81	29.22	89.13	20.17
CMJZ11	9.57	77.46	83.43	29.81	53.56	36.46	88.54	26.16
CMJZ12	9.50	69.52	77.38	29.06	52.59	29.85	96.63	19.45

CMJZ13	9.57	76.17	80.79	25.82	51.44	35.63	91.67	25.98
CMJZ14	11.94	70.49	77.29	46.58	57.41	41.54	84.60	19.40
CMJZ15	11.71	70.59	66.71	54.33	63.89	32.85	66.65	12.75
CMJZ16	14.77	75.70	70.84	56.90	71.42	35.66	65.07	12.06
CMJZ17	11.07	87.06	78.97	64.96	76.23	36.32	58.66	15.84
CMJZ18	12.97	66.47	64.41	48.71	66.72	30.43	58.55	12.00
平均值								
Average	11.42	74.20	70.49	42.56	65.09	34.87	74.64	16.83

### 3 讨论与结论

根据《技术要求》标准汤剂制备中的规定，参照卫生部、国家中医药管理局《医疗机构中药煎药室管理规范》的前处理方法，并对饮片用量（100、200、300 g）、捣碎程度（50%、60%、70%、80%、90%、100%）、煎煮次数（一煎、二煎）、加水量（一煎 8 倍/二煎 6 倍、一煎 10 倍/二煎 8 倍）及固液分离（100、200、350 目筛）等进行相关工艺考察，确定提取工艺参数为：取饮片 100g，捣碎（捣碎程度为 70%以上），加水煎煮两次，一煎加 8 倍量水，煎煮时间为 30 min；二煎加 6 倍量水，煎煮时间为 25 min，用 350 目筛过滤，合并两次滤液；同时，根据工艺考察确定了浓缩工艺参数为：采用旋转蒸发器减压低温浓缩（温度为 65℃；真空度为-0.08 MPa~-0.1 MPa），转速为 50~90 r/min，浓缩至 100 mL；冷冻干燥工艺参数为：浓缩液预冻温度为-50℃，预冻时间为 120 min，升华干燥温度为-45℃~0℃，升华干燥时间为 4460 min，真空度为-0.2 mbar；解析干燥温度为 10℃~30℃，解析干燥时间为 430 min，真空度为 0 mbar。并根据已确定的工艺参数，制备 3 批工艺验证，结合出膏率、水分、化学成分含量及指纹图谱等，评价标准汤剂制备工艺的稳定性与合理性。经验证，炒蔓荆子标准汤剂制备工艺稳定可重复，可用于炒蔓荆子标准汤剂工艺合理性判断及质量标准制定。

本研究在色谱条件优化过程中，采用 PDA 检测器对炒蔓荆子的供试品溶液在 200~400 nm 范围内进行全波段扫描，对比不同波长（210 nm、254 nm、275 nm、290 nm、330 nm）下的峰信号及各峰的响应值，最终选择信息量大，峰响应高且分离效果好的波长（210 nm）为测定波长。对比不同流动相体系（乙腈-0.05%磷酸溶液、乙腈-0.1%磷酸溶液、乙腈-0.1%磷酸溶液、乙腈-0.1%甲酸溶液、乙腈-0.1%乙酸溶液），不同品牌色谱柱 Waters CORTECS T3 C18（150 mm×2.1 mm, 1.6 μm）、Agilent ZORBAX SB C18（150 mm×2.1 mm, 1.8 μm）、Phenomenex Titan C18（150 mm×2.1 mm, 1.7 μm）、YMC Triart C18（150 mm×2.1 mm, 1.9 μm），以及

不同柱温（32、35、38 °C）、不同流速（0.28、0.30、0.32 mL/min）的影响，优选最佳色谱条件。以指纹图谱峰响应及指标成分含量为评价指标对炒蔓荆子饮片和标准汤剂冻干粉供试品溶液制备方法进行了考察，分别考察了提取溶剂（乙醇、70%乙醇、50%乙醇、甲醇、70%甲醇、50%甲醇）、提取方式（加热回流、超声处理）及提取时间（15、30、45、60 min）的影响，确定供试品溶液的最佳工艺。

本研究共收集来自不同省份的 18 批蔓荆子药材经炮制并按《技术要求》制备的标准汤剂，18 批炒蔓荆子标准汤剂指纹图谱与对照指纹图谱的相似度均大于 0.90，说明不同产区的炒蔓荆子标准汤剂的一致性和整体性较高，能较好地反映其共有特征性成分，可用于炒蔓荆子标准汤剂的质量控制及评价。采用化学模式识别技术对不同产地炒蔓荆子标准汤剂指纹图谱进行分析，结果显示，聚类分析可将 18 批炒蔓荆子标准汤剂样品分为 3 类，各省份样品各自归为一类，并通过主成分分析进一步印证聚类结果；正交偏最小二乘法判别分析筛选出影响不同产地样品间差异的 12 个标志成分。蔓荆子化学成分包含黄酮类、酚酸类、萜类、甾体类、木脂素类等成分，其中个以黄酮类、酚酸类和萜类为主，具有抗炎、抗菌、镇痛、抗氧化等生物活性<sup>[11-13]</sup>。目前，2020 年版中国药典蔓荆子项下仅以蔓荆子黄素为含量评价指标，单一成分含量测定不能全面反映中药的质量，且从研究结果看，蔓荆子黄素在炒蔓荆子标准汤剂中的转移率较低。因此，本研究针对黄酮类和酚酸类成分，建立了原儿茶酸、4-羟基苯甲酸、绿原酸、香草酸、异荭草苷、穗花牡荆苷、蔓荆子黄素共 7 个成分的含量测定方法，测定了 18 批炒蔓荆子饮片及其对应标准汤剂，并计算各成分的转移率。结果显示，除绿原酸转移率波动较大外，其余各指标性成分的转移率均较为稳定，原儿茶酸、4-羟基苯甲酸、香草酸和穗花牡荆苷在炒蔓荆子标准汤剂中的转移率较高，在 18 批炒蔓荆子标准汤剂中均超过 50%。通过多指标成分的含量测定及转移率研究，可为炒蔓荆子配方颗粒的指标成分选择提供依据。

综上所述，本研究建立了炒蔓荆子标准汤剂的 UPLC 指纹图谱方法，并对原儿茶酸等 7 个成分进行含量测定，采用相似度并结合多元统计分析等方法对炒蔓荆子标准汤剂质量全面评价，为炒蔓荆子标准汤剂、饮片及中药配方颗粒等相关制剂的质量标准建立提供参考。

#### 参考文献

- 1 Li JF, Yin GQ. Yi Yin Statue, A representative figure in the development history of Chinese traditional medicine(中国中医药发展史代表人物·伊尹像)[M]. Beijing: China Medical Science Press, 2016.
- 2 Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China: Vol I(中华人民共和国药典)[M]. Beijing: China Medical Science Press, 2020: 379.
- 3 Qu HY, Chen GY, She YY, et al. Comparative study on fingerprints of Vitex Fructus and fried Vitex Fructus[J]. Asia



- Pac Tradit Med(亚太传统医药),2021,17:34-37.
- 4 Zhang RZ.Studies on chemical constituents of Chinese herb *Vitidis fructus*[D].Nanchang:Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine(江西中医药大学),2020.
  - 5 Li GW,Wu WP,Suo CX,et al.Study on the HPLC fingerprint of *Vitidis Fructus* before and after processing[J].J Guangd Pharm(广东药科大学学报),2020,36(2):200-209.
  - 6 Wang T.Studies on the Chemical Constituents from *Vitidis Fructus* and the Influence of Processing[D].Beijing:China Academy of Chinese Medical Sciences(中国中医科学院),2017.
  - 7 Cao GY,Ning B,Zhuang XS,et al.Quality standard for Manjingzi formula granules based on standard decoction[J].Chin Tradit Pat Med(中成药),2023,45:2484-2493.
  - 8 Cao GY,Ning B,Yu CJ,et al.Quality evaluation of *Lonicerae Japonicae Caulis* dispensing granules by combination of fingerprint,quantitative analysis of multi-components by single marker and chemical pattern recognition analysis[J].Chin Tradit Herb Drugs(中草药),2024,55:1202-1214.
  - 9 He MY,Wang LY,Zhou XY,et al.Fingerprint and multi-components content determination of standard decoction of *Rosae Chinensis Flos*[J].Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发),2024,36:423-432.
  - 10 Liu H,Zhong LY,Deng YW,et al.Analysis on chemical constituents and toxicity of Sini Decoction of different *Aconiti Lateralis Radix Praeparata* processed products[J].Chin Tradit Herb Drugs(中草药),2023,54:1397-1410.
  - 11 Zhang ZP,Huang YL,Guo Y,et al.Chemical constituents from the Fruits of *Vitex trifolia* var. *simplicifolia* by UHPLC-Q-Orbitrap HRMS[J].J Chin Med Mater(中药材),2021,44:1142-1148.
  - 12 Li GW,He JY,Liu XH,et al.Study on characteristic chromatogram and content determination of phenols and flavonoids of *Vitidis Negundo Fructus* and *Vitidis Fructus*[J].Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发),2023,35:379-386,396.
  - 13 Ding WX,Liu YX,Wang LL,et al.Research progress in study on chemical constituents and pharmacological effects of chinese medicine *Vitidis Fructus*[J].Chin Wild Plant Res(中国野生植物资源),2024,43:86-94.

收稿日期: 2024-09-09                      接受日期:

基金项目: 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); 2022 年佛山市南海区重点领域科技攻关专项(南科(2023)20号-18)

\*通信作者 E-mail: miyouyoo@163.com