

三叶青藤叶配方颗粒与饮片化学等量性及抗炎等效性研究

谢平^{1,2}, 陈丹^{1*}, 陈红^{2*}, 余文静¹, 熊朝栋¹, 黄庆德¹(1.福建中医药大学药学院, 福州 350122; 2.福建省立医院干部特诊科, 福州 350001)

摘要: **目的** 基于特征图谱探究三叶青藤叶配方颗粒与饮片汤剂间的相关性和等量性, 评价二者的抗炎药理等效性。 **方法** 建立三叶青藤叶饮片汤剂、中间体及配方颗粒的 HPLC 特征图谱共有模式; 基于特征图谱与主要效应组分含量, 建立等效比数学模型, 计算迁移率, 综合分析比较配方颗粒与饮片汤剂间的共有特征组分群的相似性及其含量的等量关联性。采用大鼠棉球肉芽增生炎症模型的抗炎抑制作用的药效实验, 考察三叶青藤叶配方颗粒与饮片汤剂的等同药效相关性。 **结果** 基于 HPLC 特征图谱共有模式, 辨识归属特征共有峰 10 个, 汤剂与配方颗粒的相似度>0.900; 由饮片煎煮对照汤剂各组平均迁移率仅 14.97%~23.89%, 由饮片经优化工艺制得配方颗粒各组平均迁移率为 54.61%~92.30%。3 批次配方颗粒与饮片平均等量等效比为 3.72, 以平均值的 80%计, 配方颗粒与饮片的等效比是 2.98 倍, 提示 1 g 三叶青藤叶配方颗粒相当于饮片 3 g。与模型组相比, 配方颗粒与饮片汤剂均能显著减少大鼠肉芽肿的质量($P<0.05$), 对大鼠棉球肉芽肿炎症组织增生的抑制率, 低、高剂量组的配方颗粒分别为 15.70%, 37.27%, 饮片汤剂分别为 14.59%, 35.73%, 二者均具有抗炎作用且呈剂量依赖性, 二者对肉芽肿炎症抑制率在统计学上无显著性差异, 提示配方颗粒与饮片汤剂(1:3)之间具有等同的药效相关性。 **结论** 三叶青藤叶配方颗粒与饮片汤剂的共有药效组分群相似, 配方颗粒与饮片的量效关联性为 1:3, 以此量效比例用药, 二者具有等同的药效相关性。

关键词: 三叶青藤叶; 配方颗粒; 高效液相色谱法; 特征图谱; 等量性; 抗炎; 等效性

中图分类号: R283.1

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2021)23-2945-010

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2021.23.006

引用本文: 谢平, 陈丹, 陈红, 等. 三叶青藤叶配方颗粒与饮片化学等量性及抗炎等效性研究[J]. 中国现代应用药学, 2021, 38(23): 2945-2954.

Study on Chemical Equivalence and Anti-inflammatory Equivalence of Aerial Parts of *Tetragymma Hemsleyanum* Dispensing Granules and Decoction Pieces

XIE Ping^{1,2}, CHEN Dan^{1*}, CHEN Hong^{2*}, YU Wenjing¹, XIONG Chaodong¹, HUANG Qingde¹(1.Department of Pharmacy, Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou 350122, China; 2.Cadre Special Department, Fujian Provincial Hospital, Fuzhou 350001, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To explore the correlation and equivalence between *Tetragymma hemsleyanum* dispensing granules and decoction pieces based on the characteristic spectrum, and evaluate the anti-inflammatory pharmacological equivalence. **METHODS** The common pattern of the HPLC characteristic spectra of the decoction pieces, decoction, intermediates, and dispensing granules of the aerial parts of *Tetragymma hemsleyanum* was established. Based on the common pattern and the content of the main active ingredients, an equivalent-ratio model was built. The migration rates were calculated. The similarity of the common active ingredient groups and the equivalent correlation between the dispensing granules and the decoction pieces were analyzed. A cotton-pellet-induced rat granuloma model was used to conduct a pharmacodynamic study on the anti-inflammatory effect. The pharmacological equivalence between the dispensing granules and the decoction pieces of the aerial parts of *Tetragymma Hemsleyanum* was evaluated. **RESULTS** The common pattern of the HPLC characteristic spectra was established. There were 10 characteristic common peaks. The similarity between the decoction and the dispensing granules was >0.900. The control decoction was prepared from decoction pieces with an average migration rate of 14.97%–23.89%. The dispensing granules were prepared from the decoction pieces, each the average mobility of the components was 54.61%–92.30%. The average equivalent ratio of the three batches of dispensing granules and decoction pieces was 3.72. Taking 80% of the average value as the result, the equivalent ratio between the dispensing granules and the decoction pieces was 2.98. This meant that 1 g dispensing granules was equivalent to 3 g decoction pieces. Compared with the model group, the dispensing granules and the decoction of the aerial parts of *Tetragymma hemsleyanum* could significantly reduce the weight of rat granuloma($P<0.05$).

基金项目: 福建省科技计划项目(2019Y0037, 2010Y2004); 福建省中医药科研项目(2017FJZYZY202); 福建中医药大学重点学科专项校管课题(X2014096—学科)

作者简介: 谢平, 男, 硕士生 Tel: 15259145375
E-mail: 2536282060@qq.com 陈红, 女, 主任医师

E-mail: 591850316@qq.com
Tel: 18950339443

*通信作者: 陈丹, 女, 博士, 教授 Tel: 13515026709
E-mail: chyed@sina.com

The inhibition rate on the proliferation of inflammatory tissue of cotton ball granuloma in rats was 15.70% and 37.27% in the low and high dose groups of dispensing granules, and 14.59% and 35.73% in the low and high dose groups of decoction. This implied that both the granules and the decoction had anti-inflammatory effect. Their inhibition rates had no significant difference, and were both dose-dependent. This implied that the dispensing granules and the decoction were pharmacological equivalent. **CONCLUSION** The common medicinal component groups of the aerial parts of *Tetrastigma hemsleyanum* dispensing granules and decoction pieces, decoction are similar, and the dose-effect correlation between dispensing granules and decoction pieces is 1 : 3. The dose-effect ratio of the medicine is equivalent to the same medicinal effect correlation.

KEYWORDS: aerial parts of *Tetrastigma hemsleyanum*; dispensing granules; HPLC; characteristic spectrum; equivalence; anti-inflammatory; pharmacological equivalence

三叶青 (*Tetrastigma hemsleyanum* Diels et Gilg.) 是葡萄科崖爬藤属药用植物、民间常用药, 有清热解毒、活血止痛、祛风化痰等功效。《海南植物志》^[1]《中国植物志》^[2]及《湖南省中药饮片炮制规范》^[3]等记载三叶青的叶(或全株)可供药用。研究表明^[4-8], 三叶青地上部分具有辅助抗肿瘤、抗炎、解热镇痛以及免疫调节等药理作用。中药配方颗粒是近年来传统中药饮片应用形式的一种突破, 可用于临床辨证论治, 随证加减, 具有免煎易服、质量可控等优点, 已逐步得到广泛应用, 三叶青藤叶配方颗粒即是将饮片经现代技术水提、浓缩、喷雾干燥、制粒等工艺制备而成^[9-11]。为评价三叶青藤叶配方颗粒在化学成分和药效作用上与饮片汤剂的同一性及等量性, 研究基于可表征中药内在整体质量相似性的中药特征图谱分析法, 分别建立饮片汤剂、中间体和配方颗粒的 HPLC 特征图谱, 并运用数学模型, 分析特征图谱共有模式及其效应组分群相对含量, 考察比较饮片-对照汤剂-中间体-配方颗粒制备过程中三叶青藤叶 5 个效应组分新绿原酸、3-*O*-咖啡酰基奎宁酸、荜草苷、异荜草苷、异荜草苷-2'-*O*-鼠李糖苷的迁移率, 确定配方颗粒与饮片汤剂间的相关性及化学等量比例关系^[12-13]。同时, 以大鼠棉球肉芽肿增生炎症模型抗炎抑制作用的药效学试验, 比较三叶青藤叶配方颗粒与对照汤剂的抗炎药理作用, 考察配方颗粒与饮片汤剂的等效性及等同药效相关性^[14-15], 验证三叶青藤叶配方颗粒与水煎汤剂在化学组分等量性与药效作用上的同一性及量效关系, 为配方颗粒的实际生产及临床应用奠定实验基础。

1 材料

1.1 仪器

Waters 2695 高效液相色谱仪, Waters 2998 PDA 检测器, Empower 3 色谱工作站(美国 Waters 公司); XS205 十万分之一电子天平、AR2140 万分之一电子天平均购自梅特勒-托利多仪器上海有

限公司; TDL-40B 型低速离心机(上海安亭科学仪器厂)。

1.2 试药

三叶青藤叶饮片(福州集珍园生物科技有限公司提供, 福建中医药大学中药鉴定教研室范世明高级实验师鉴定, 批号为 20170710~20170715, 对应编号为 S₁~S₆); 三叶青藤叶饮片汤剂(自制, 编号为 J₁~J₆); 三叶青藤叶喷雾干燥中间体(自制, 编号为 Z₁~Z₆); 三叶青藤叶配方颗粒(自制, 编号为 P₁~P₆); 新绿原酸(批号: 111777-201401; 含量 ≥ 98%)、绿原酸(批号: 101527-201405; 含量 ≥ 98%)、隐绿原酸(批号: 111706-201309; 含量 ≥ 98%)、荜草苷(批号: 111711-201501; 含量 ≥ 98%)、异荜草苷(批号: 111761-201408; 含量 ≥ 98%)、牡荆苷(批号: 111678-201405; 含量 ≥ 98%)、异牡荆苷(批号: 111602-201311; 含量 ≥ 98%)、牡荆苷-2'-*O*-鼠李糖苷(批号: 111722-201309; 含量 ≥ 98%)对照品均购自中国食品药品检定研究院; 异荜草苷-2'-*O*-鼠李糖苷(含量 ≥ 98%)、异牡荆苷-2'-*O*-鼠李糖苷(含量 ≥ 98%)对照品为自制; 甲醇为色谱纯; 水为超纯水。

1.3 动物

SPF 级 SD 大鼠, ♂, 体质量 185~195 g, 购自上海斯莱克实验动物有限责任公司, 实验动物生产许可证号: SCXK(沪)2017-0005。饲养环境温度(22±2)℃, 环境湿度(55±5)%, 保持室内自然通风, 自由饮食、饮水。实验前置饲养环境中适应 7 d。SPF 级医学实验动物环境设施由福建中医药大学实验动物中心提供, 使用许可证号: SYXK(闽)2017-0005。实验动物处理方法符合中华人民共和国科学技术部颁发的《关于善待实验动物的指导性意见》。

2 方法与结果

2.1 溶液的制备

2.1.1 参照物溶液与混合对照品溶液 精密称取异荜草苷对照品适量, 加适量甲醇超声溶解, 放

至室温后,用甲醇稀释制成异荳草苷质量浓度为 $0.105\ 0\ \text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的对照品溶液,摇匀,即得参照物溶液。

分别精密称取各对照品适量,用甲醇超声溶解并稀释制成混合对照品储备液(每 $1\ \text{mL}$ 含新绿原酸 $0.069\ 0\ \text{mg}$ 、3-*O*-咖啡酰基奎宁酸 $0.089\ 4\ \text{mg}$ 、4-*O*-咖啡酰基奎宁酸 $0.023\ 1\ \text{mg}$ 、荳草苷 $0.026\ 5\ \text{mg}$ 、异荳草苷 $0.036\ 4\ \text{mg}$ 、异荳草苷-2'-*O*'-鼠李糖苷 $0.056\ 1\ \text{mg}$ 、牡荆苷 $0.018\ 3\ \text{mg}$ 、牡荆苷-2'-*O*'-鼠李糖苷 $0.017\ 5\ \text{mg}$ 、异牡荆苷 $0.016\ 6\ \text{mg}$ 、异牡荆苷-2'-*O*'-鼠李糖苷 $0.059\ 5\ \text{mg}$)。精密吸取混合对照品储备液 $1\ \text{mL}$ 至 $10\ \text{mL}$ 量瓶中,加50%甲醇稀释至刻度,摇匀,即得混合对照品溶液。

2.1.2 供试品溶液 三叶青藤叶饮片,将饮片粉碎,取粉末 $0.5\ \text{g}$,精密称定,加30%甲醇超声溶解,放至室温,定量转移至 $25\ \text{mL}$ 量瓶中,用30%甲醇稀释至刻度,摇匀, $0.45\ \mu\text{m}$ 滤膜滤过,取续滤液,即得。

三叶青藤叶对照汤剂,精密称取饮片 $25\ \text{g}$,加水煎煮2次。第1次加入10倍量饮用水,浸泡 $30\ \text{min}$,煮沸后再煎煮 $20\ \text{min}$,滤过;药渣再加入8倍量饮用水,煮沸后再煎煮 $20\ \text{min}$, 100 目筛网趁热滤过;合并2次滤液,浓缩至约 $90\ \text{mL}$,加水稀释至 $100\ \text{mL}$,摇匀。精密吸取 $2\ \text{mL}$,置 $10\ \text{mL}$ 量瓶中,用30%甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀, $3\ 000\ \text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 $10\ \text{min}$,上清液 $0.45\ \mu\text{m}$ 滤膜滤过,取续滤液,即得。

三叶青藤叶喷雾干燥中间体(饮片粉碎,水煎煮3次,煎煮液浓缩至相对密度 $1.05(60\ ^\circ\text{C})$,设置进风温度 $180\ ^\circ\text{C}$,雾化压力 $1.05\ \text{bar}$,泵数 11% ,喷雾干燥,制得),精密称取中间体约 $0.1\ \text{g}$,加30%甲醇超声溶解,放至室温,定量转移至 $25\ \text{mL}$ 量瓶中,用30%甲醇稀释至刻度,摇匀, $0.45\ \mu\text{m}$ 滤膜滤过,取续滤液,即得。

三叶青藤叶配方颗粒(按中间体:糊精=3:1,润湿剂乙醇浓度为80%,过 100 目筛混匀,制成软硬适中的软材,过 14 目筛, $60\ ^\circ\text{C}$ 烘干 $2\ \text{h}$,制得),精密称取配方颗粒约 $0.2\ \text{g}$,加30%甲醇超声溶解,放至室温,定量转移至 $25\ \text{mL}$ 量瓶中,用30%甲醇稀释至刻度,摇匀, $0.45\ \mu\text{m}$ 滤膜滤过,取续滤液,即得。

2.1.3 阴性对照溶液 精密称取缺三叶青藤叶的空白配方颗粒,按“2.1.2”项下同法操作,即得。

2.2 色谱条件与系统适用性试验

250-4 Lichrocart C_{18} 色谱柱($250\ \text{mm}\times 4\ \text{mm}$, $5\ \mu\text{m}$);流动相甲醇-0.5%甲酸水,梯度洗脱;流速 $1.0\ \text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$;检测波长 $340\ \text{nm}$;柱温 $35\ ^\circ\text{C}$;进样量 $10\ \mu\text{L}$ 。理论板数按3-*O*-咖啡酰基奎宁酸计 $\geq 3\ 000$ 。梯度洗脱程序见表1。

表1 梯度洗脱程序

Tab. 1 Gradient elution program

<i>t</i> /min	甲醇/%	0.5%甲酸水溶液/%
0	20.0	80.0
20.0	20.0	80.0
25.0	25.0	75.0
31.0	33.5	66.5
34.0	33.5	66.5
39.0	40.0	60.0
55.0	20.0	80.0
60.0	20.0	80.0

2.3 特征图谱数据处理方法

采用国家药典委员会“中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012版)”进行相似度评价;采用中位法,时间窗宽度为 $0.5\ \text{min}$ 生成对照特征图谱。

2.4 参照物峰的选择及专属性考察

记录HPLC特征图谱,其中,主成分异荳草苷在供试品色谱图上保留时间适中,与相邻峰分离良好,且对照品相对易得,故选择异荳草苷为参照物峰(S)。考察 $120\ \text{min}$ 表明 $60\ \text{min}$ 后无色谱峰出现,阴性对照无干扰。特征图谱见图1。

2.5 方法学考察

2.5.1 仪器精密度试验 分别取同一三叶青藤叶饮片、汤剂、喷雾干燥中间体、配方颗粒(批号:20170711)供试品溶液,按“2.2”项下方法操作,连续注入液相色谱仪6次,计算各共有峰的相对保留时间(relative retention time, RRT)和峰面积比值(peak-area ratio, PAR)。结果表明,各供试品溶液色谱峰RRT的RSD均 $<1\%$,PAR的RSD均 $<5\%$,符合规定。

2.5.2 重复性试验 取同一批(批号:20170711)三叶青藤叶饮片6份,分别制备饮片、汤剂、中间体、配方颗粒供试品溶液,按“2.2”项下方法测定,计算各共有峰的RRT和PAR。结果表明,各供试品溶液色谱峰RRT的RSD $<0.2\%$,PAR的RSD $<5\%$,符合规定。

2.5.3 稳定性试验 分别取同一份(批号:20170711)

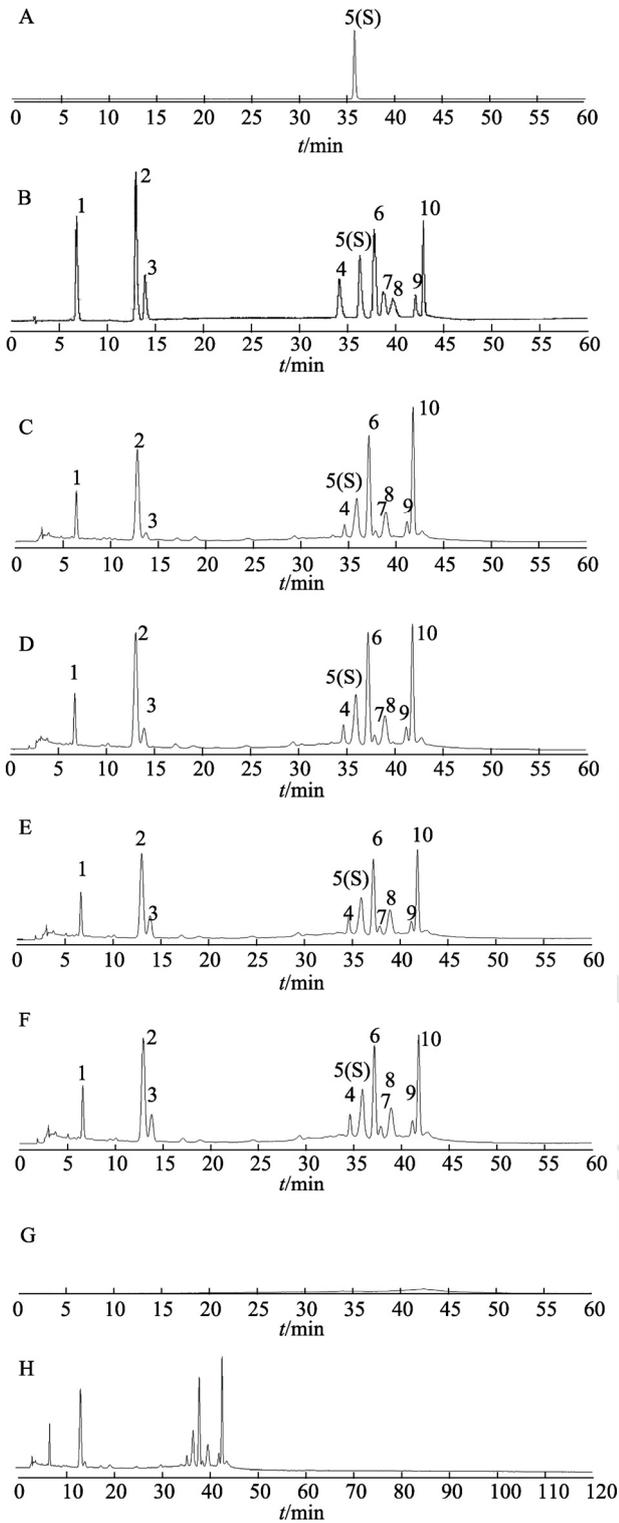


图 1 三叶青藤叶饮片、汤剂、喷雾干燥中间体、配方颗粒 HPLC 特征图谱
 A-参照物; B-混合对照品; C-饮片; D-汤剂; E-喷雾干燥中间体;
 F-配方颗粒; G-阴性对照; H-洗脱 120 min(饮片); 1~10-共有峰。
Fig. 1 HPLC specific chromatogram of aerial parts of *Tetrastigma hemsleyanum* decoction pieces, water decoction, spray drying intermediates, dispensing granules
 A-reference; B-mixed reference substance; C-decoction pieces; D-water decoction; E-spray drying intermediates; F-dispensing granules; G-negative; H-120 min(decoction pieces); 1-10-common peaks.

饮片、汤剂、中间体、配方颗粒供试品溶液, 分别于 0, 2, 4, 6, 8, 10 h 处, 按“2.2”项下方法测定, 计算各共有峰的 RRT 和 PAR。结果表明, 各供试品溶液色谱峰 RRT 的 RSD<1%, PAR 的 RSD<4%, 方法 10 h 内测定结果稳定性良好。

2.6 特征图谱共有模式的建立

分别各取 6 批三叶青藤叶饮片、汤剂、中间体、配方颗粒, 按“2.2”项下方法测定, 记录 60 min 的色谱图; 分别采用国家药典委员会“中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012 版)”评价相似度; 采用中位法, 时间窗宽度为 0.5 min 生成各对照特征图谱。结果三叶青藤叶饮片对照特征图谱见图 1C、汤剂对照特征图谱见图 1D、中间体对照特征图谱见图 1E、配方颗粒对照特征图谱见图 1F; 6 批特征图谱叠加图见图 2。

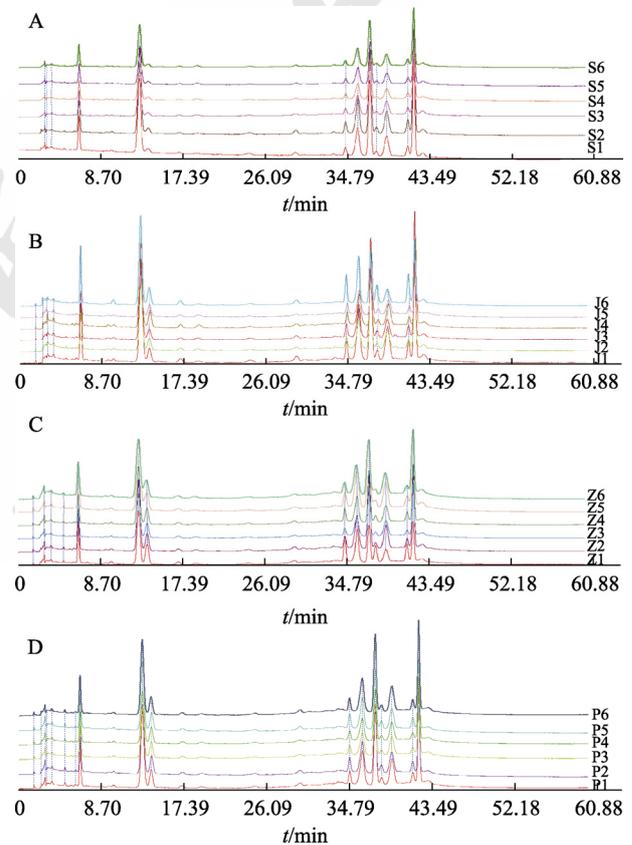


图 2 6 批 HPLC 特征图谱相似度评价叠加图
 A-饮片; B-汤剂; C-喷雾干燥中间体; D-配方颗粒。
Fig. 2 Overlapped HPLC specific chromatogram in 6 batches
 A-decoction pieces; B-water decoction; C-spray drying intermediates; D-dispensing granules.

2.7 共有峰的辨识和归属及相似度分析

分析各 6 批三叶青藤叶饮片、汤剂、中间体、配方颗粒特征图谱, 结果确定 10 个色谱峰为共有特征峰, 其 RRT 和 PAR 较稳定, 共有峰面积占总

峰面积>95%，符合特征图谱规定。按夹角余弦法，分析饮片、汤剂、中间体、配方颗粒各 6 批供试品特征图谱各批间以及各批与对照特征图谱的相似度均>0.990，符合特征图谱建立要求(0.900~1.000)。基于课题组前期已分离鉴定的化合物，并与对照品比对各批供试品色谱图及光谱图，辨识标定特征图谱的主要物质群及归属，结果见表 2~6。

2.8 三叶青藤叶饮片-汤剂及饮片-中间体-配方颗粒特征图谱相关性分析

采用“中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012 版)”，分析评价 6 批三叶青藤叶饮片、汤剂、中间体、配方颗粒 HPLC 对照特征图谱相似度，比较饮片与汤剂、饮片与中间体、中间体与配方

颗粒表征的主要化学成分的相似性。结果表明，三叶青藤叶饮片、汤剂、中间体、配方颗粒的 HPLC 特征图谱共有模式均表征出 10 个共有特征峰，配方颗粒表征出的 10 个共有峰在饮片、汤剂、中间体特征图谱中均得到追溯；分别比较 6 批饮片与汤剂、饮片与中间体、中间体与配方颗粒的 HPLC 特征图谱，表征出的相似度在 0.930~0.998，0.970~0.999，0.964~0.989。提示由饮片水煎煮汤剂、制备中间体、中间体制备配方颗粒过程，各制备工艺合理，产品保留了原饮片的整体药效组分群；饮片、汤剂、中间体、配方颗粒主要化学组成基本一致，相互间药效组分群整体表征相似度较高、质量均匀稳定。结果见表 7，图 3。

表 2 6 批三叶青藤叶饮片特征图谱各共有峰的峰面积比值

Tab. 2 PAR of public peak in 6 batches of aerial parts of *Tetragymna hemsleyanum* decoction pieces

峰号	峰面积比值						均值	均值范围
	批号: 20170710	批号: 20170711	批号: 20170712	批号: 20170713	批号: 20170714	批号: 20170715		
1	0.557	0.543	0.565	0.539	0.529	0.549	0.547	0.410~0.684
2	2.347	2.216	2.065	1.986	1.959	2.050	2.104	1.578~2.630
3	0.132	0.140	0.149	0.126	0.122	0.138	0.135	0.101~0.169
4	0.165	0.208	0.167	0.168	0.175	0.174	0.176	0.132~0.220
5(S)	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
6	2.042	1.842	1.985	1.893	1.894	1.917	1.929	1.447~2.411
7	0.120	0.128	0.107	0.112	0.125	0.115	0.118	0.089~0.148
8	0.785	0.702	0.732	0.640	0.696	0.657	0.702	0.527~0.878
9	0.234	0.261	0.216	0.219	0.233	0.216	0.230	0.173~0.288
10	2.111	1.896	2.028	1.937	1.905	1.911	1.965	1.474~2.456
非共有峰占总峰面积	3.49	3.93	2.31	3.04	2.82	2.70	3.05	
相似度	0.998	0.997	0.999	1.000	1.000	1.000		

表 3 6 批三叶青藤叶汤剂特征图谱各共有峰的峰面积比值

Tab. 3 PAR of public peaks in 6 batches of aerial parts of *Tetragymna hemsleyanum* water decoction

峰号	峰面积比值						均值	均值范围
	批号: 20170710	批号: 20170711	批号: 20170712	批号: 20170713	批号: 20170714	批号: 20170715		
1	0.463	0.497	0.505	0.531	0.449	0.453	0.483	0.362~0.604
2	1.145	2.006	1.447	2.255	1.699	2.034	1.765	1.324~2.206
3	0.279	0.323	0.294	0.293	0.364	0.339	0.315	0.236~0.394
4	0.517	0.186	0.475	0.168	0.228	0.208	0.297	0.223~0.371
5(S)	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
6	0.747	1.836	0.853	1.895	1.847	1.698	1.479	1.109~1.849
7	0.438	0.130	0.397	0.125	0.134	0.145	0.228	0.171~0.285
8	0.240	0.740	0.302	0.760	0.684	0.645	0.562	0.422~0.703
9	0.561	0.180	0.526	0.189	0.187	0.209	0.309	0.232~0.386
10	0.596	1.670	0.739	1.783	1.708	1.451	1.325	0.994~1.656
非共有峰占总峰面积	2.78	2.92	3.51	2.46	3.27	1.98	2.82	
相似度	0.995	0.998	0.999	0.995	0.992	0.996		

表 4 6 批三叶青藤叶中间体特征图谱各共有峰的峰面积比值

Tab. 4 PAR of public peaks in 6 batches of aerial parts of *Tetragium hemsleyanum* spray drying intermediates

峰号	峰面积比值						均值	均值范围
	批号: 20170710	批号: 20170711	批号: 20170712	批号: 20170713	批号: 20170714	批号: 20170715		
1	0.508	0.495	0.510	0.507	0.495	0.493	0.501	0.376~0.626
2	2.016	1.905	1.984	1.956	1.905	1.879	1.941	1.456~2.426
3	0.526	0.524	0.539	0.535	0.526	0.515	0.527	0.395~0.659
4	0.280	0.271	0.266	0.261	0.268	0.267	0.269	0.202~0.336
5(S)	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
6	1.553	1.449	1.485	1.479	1.453	1.417	1.473	1.105~1.841
7	0.179	0.188	0.186	0.187	0.188	0.170	0.183	0.137~0.229
8	0.736	0.697	0.723	0.717	0.700	0.684	0.710	0.533~0.888
9	0.204	0.218	0.202	0.215	0.208	0.197	0.207	0.155~0.259
10	1.419	1.289	1.332	1.325	1.299	1.268	1.322	0.992~1.653
非共有峰占总峰面积	4.36	3.28	4.76	4.55	3.92	3.7	4.10	
相似度	0.995	0.998	0.997	0.998	0.999	0.999		

表 5 6 批三叶青藤叶配方颗粒特征图谱各共有峰的峰面积比值

Tab. 5 PAR of public peaks in 6 batches of aerial parts of *Tetragium hemsleyanum* dispensing granules

峰号	峰面积比值						均值	均值范围
	批号: 20170710	批号: 20170711	批号: 20170712	批号: 20170713	批号: 20170714	批号: 20170715		
1	0.606	0.654	0.654	0.482	0.617	0.474	0.551	0.413~0.689
2	1.617	1.729	1.729	1.855	1.952	1.834	1.802	1.352~2.253
3	0.591	0.629	0.629	0.451	0.640	0.501	0.542	0.407~0.678
4	0.550	0.513	0.513	0.206	0.215	0.289	0.329	0.247~0.411
5(S)	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
6	0.928	0.991	0.991	1.642	1.651	1.382	1.370	1.028~1.713
7	0.431	0.407	0.407	0.136	0.146	0.175	0.238	0.179~0.298
8	0.446	0.475	0.475	0.762	0.840	0.666	0.657	0.493~0.821
9	0.389	0.372	0.372	0.180	0.157	0.205	0.246	0.185~0.308
10	0.828	0.890	0.890	1.473	1.577	1.231	1.242	0.932~1.553
非共有峰占总峰面积	4.28	4.26	4.21	4.35	4.24	4.53	4.31	
相似度	0.998	0.999	0.999	0.999	0.999	0.998		

表 6 三叶青藤叶配方颗粒 HPLC 特征图谱中共有特征峰归属分析结果

Tab. 6 Analysis results of characteristics peaks of aerial parts of *Tetragium hemsleyanum* dispensing granules

特征峰号	峰归属	饮片		汤剂		中间体		配方颗粒	
		占总峰面积/%	平均峰面积比值/%	占总峰面积/%	平均峰面积比值/%	占总峰面积/%	平均峰面积比值/%	占总峰面积/%	平均峰面积比值/%
1	新绿原酸	5.97	0.547	6.24	0.350	6.46	0.378	6.43	0.553
2	绿原酸	22.91	2.098	21.85	1.225	21.89	1.280	21.55	1.851
3	隐绿原酸	1.34	0.122	3.91	0.219	6.62	0.387	6.42	0.552
4	荜草苷	1.92	0.176	4.14	0.232	3.33	0.195	3.41	0.293
5(S)	异荜草苷	10.92	1.000	12.85	0.720	11.65	0.681	11.64	1.000
6	异荜草苷-2'-O-鼠李糖苷	21.04	1.926	17.84	1.000	17.10	1.000	16.80	1.443
7	牡荆苷	1.29	0.118	3.22	0.181	2.40	0.140	2.45	0.211
8	牡荆苷-2'-O-鼠李糖苷	7.65	0.700	6.79	0.381	8.34	0.488	8.18	0.703
9	异牡荆苷	2.51	0.230	4.32	0.242	2.50	0.146	2.59	0.223
10	异牡荆苷-2'-O-鼠李糖苷	21.42	1.962	16.02	0.898	15.63	0.914	15.40	1.323

表 7 三叶青藤叶饮片、汤剂、中间体、配方颗粒特征图谱的相似度比较结果

Tab. 7 Similarity comparison between characteristic chromatogram of aerial parts of *Tetrastigma hemsleyanum* decoction pieces, water decoction, spray drying intermediates and dispensing granules

批号	相似度		
	饮片-汤剂	饮片-中间体	中间体-配方颗粒
20170710	0.930	0.999	0.980
20170711	0.998	0.999	0.982
20170712	0.984	0.970	0.987
20170713	0.989	0.972	0.964
20170714	0.987	0.998	0.989
20170715	0.978	0.986	0.988

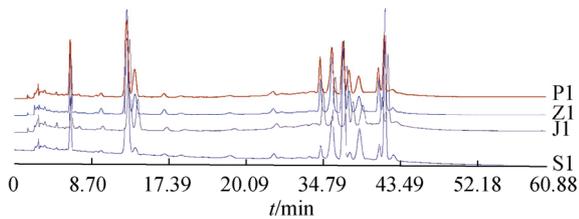


图 3 三叶青藤叶饮片(S1)、汤剂(J1)、中间体(Z1)、配方颗粒(P1)HPLC 特征图谱相似度评价叠加图

Fig. 3 Overlapped HPLC specific chromatogram of aerial parts of *Tetrastigma hemsleyanum* decoction pieces(S1), water decoction(J1), spray drying intermediates(Z1), dispensing granules(P1)

2.9 三叶青藤叶配方颗粒等量性研究

2.9.1 饮片-模拟家庭煎煮汤剂及饮片-配方颗粒

表 8 三叶青藤叶配方颗粒制备过程 5 个效应组分迁移率共有峰面积折算结果(n=3)

Tab. 8 Translated effect of composition public peaks and mobility of aerial parts of *Tetrastigma Hemsleyanum* dispensing granules on preparation(n=3)

批号	5 个效应组分峰号	折算峰面积				基于特征图谱计算得 5 个效应组分制备过程迁移率/%		
		饮片	对照汤剂	中间体	配方颗粒	饮片→对照汤剂	饮片→中间体	中间体→配方颗粒
20170710	1	15 509	3 693	14 689	14 416	23.81	94.71	98.14
	2	36 791	9 131	36 581	36 477	24.82	99.43	99.72
	4	15 015	4 122	13 566	13 089	27.45	90.35	96.48
	5	62 965	7 972	24 307	23 793	12.66	38.60	97.88
	6	24 792	5 954	23 035	22 079	24.01	92.91	95.85
	20170711	1	10 428	2 462	10 287	8 949	23.61	98.65
2		41 008	9 933	40 586	34 375	24.22	98.97	84.70
4		4 862	920	4 613	3 750	18.92	94.87	81.30
5		30 096	4 950	2 350	18 859	16.45	74.26	84.38
6		37 245	9 087	35 741	30 621	24.40	95.96	85.67
20170712		1	10 087	2 260	10 054	9 897	22.40	99.67
	2	37 926	8 579	3 888	31 020	22.62	89.35	91.54
	4	3 560	871	3 535	3 531	24.47	99.30	99.05
	5	25 625	4 048	17 492	16 239	15.80	68.26	92.84
	6	35 181	7 307	28 759	26 440	20.77	81.75	91.94

注：平行按中间体在供试品溶液浓度为 0.1 mg·mL⁻¹ 计，折算峰面积。

Note: Calculate the peak area based on the concentration of the intermediate in the test solution of 0.1 mg·mL⁻¹.

制备过程效应组分迁移率考察 基于 HPLC 特征图谱共有模式，以三叶青藤叶饮片、汤剂、中间体、配方颗粒中 5 个效应组分新绿原酸、绿原酸、荜草苷、异荜草苷、异荜草苷-2'-O-鼠李糖苷为代表，测定对应的共有峰(1~2, 4~6 号峰)峰面积，并进行相对量化分析(相当于中间体供试品溶液总黄酮含量为 0.1 mg·mL⁻¹)，分别评价计算三叶青藤叶汤剂、配方颗粒制备过程各效应组分的迁移率。

汤剂效应组分迁移率=(汤剂效应组分折算峰面积/饮片效应组分折算峰面积)×100%；

中间体效应组分迁移率=(中间体效应组分折算峰面积/饮片效应组分折算峰面积)×100%；

配方颗粒效应组分迁移率=(配方颗粒效应组分折算峰面积/中间体效应组分折算峰面积)×100%。

结果表明，由饮片模拟家庭煎煮汤剂(对照汤剂)，各组分平均迁移率在 14.97%~23.89%；由饮片经优化工艺制得水提取液喷雾干燥制备中间体，各组分平均迁移率在 60.37%~97.68%；由中间体制备配方颗粒，各组分平均迁移率为 91.15%~94.52%。提示由最佳工艺经饮片制备中间体再经成型工艺制成配方颗粒的迁移率稳定，配方颗粒制备工艺稳定可行。同时提示可将计算的迁移率用于饮片与配方颗粒的等效比计算。结果见表 8。

2.9.2 配方颗粒等效比数学模型的建立 评价确定配方颗粒与汤剂间的等效比例关系。以效应组分新绿原酸、绿原酸、荭草苷、异荭草苷、异荭草苷-2'-*O*-鼠李糖苷含量为评价指标,分别平行制备 3 批配方颗粒,以迁移率的平均值为评价标准,考察配方颗粒与饮片间的等效比例关系。计算模型如下:

$$\xi = \sum k_i (z_p / z_j)$$

其中, ξ -等效比; k_i -各指标的权重; Z_p -三叶青藤叶饮片制备配方颗粒效应组分新绿原酸、绿原酸、荭草苷、异荭草苷和异荭草苷-2'-*O*-鼠李糖苷的迁移率; Z_j -三叶青藤叶饮片制备汤剂新绿原酸、绿原酸、荭草苷、异荭草苷和异荭草苷-2'-*O*-鼠李糖苷的迁移率。以各效应组分整体抗炎作用评价,故设立各指标的权重 $k_i=0.2$,经上式计算得到等效比,并折算出等效剂量。

计算结果表明,三叶青藤叶配方颗粒平均等效比为 3.72,以等效比平均值的 80%计,配方颗粒与饮片的等效比是 2.98 倍,提示 1 g 三叶青藤叶配方颗粒相当于饮片 3 g。结果见表 9。

表 9 三叶青藤叶配方颗粒等效比计算结果
Tab. 9 Results of equivalent ratio calculation of aerial parts of *Tetragymna hemsleyanum* dispensing granules

效应组分	基于特征图谱的效应组分迁移率/%					
	20170710		20170711		20170712	
	饮片→ 汤剂	饮片→ 配方颗 粒	饮片→ 汤剂	饮片→ 配方颗 粒	饮片→ 汤剂	饮片→ 配方颗 粒
新绿原酸	23.81	92.95	23.61	85.82	22.40	98.12
绿原酸	24.82	99.14	24.22	83.82	22.62	81.79
荭草苷	27.45	87.17	18.92	77.13	24.47	99.19
异荭草苷	12.66	37.79	16.45	62.66	15.80	63.37
异荭草苷-2'- <i>O</i> - 鼠李糖苷	24.01	89.06	24.40	82.22	20.77	75.15
不同批次等效比	3.55		3.67		3.94	
平均等效比			3.72			
等效比(平均等效 比×80%)			2.98			

2.10 三叶青藤叶配方颗粒与汤剂对大鼠棉球肉芽肿增生抑制的抗炎药理等效性

2.10.1 动物分组及给药 称取适量三叶青藤叶饮片,按“2.1.2”项下方法操作,分别制备含饮片 0.36, 1.44 g·mL⁻¹ 三叶青藤叶对照汤剂。分别精密称取三叶青藤叶配方颗粒适量,加生理盐水分别制成 0.48 g·mL⁻¹ 高剂量组、0.12 g·mL⁻¹ 低剂

量组的三叶青藤叶配方颗粒供试品药液。

SD 大鼠 60 只,♂,随机分为 6 组,每组 10 只,即空白对照组生理盐水(10 mL·kg⁻¹),阳性对照组醋酸地塞米松(0.5 mg·kg⁻¹),三叶青藤叶汤剂高剂量组(14.4 g·kg⁻¹),三叶青藤叶汤剂低剂量组(3.6 g·kg⁻¹);三叶青藤叶配方颗粒高剂量组(4.8 g·kg⁻¹),三叶青藤叶配方颗粒低剂量组(1.2 g·kg⁻¹)。

2.10.2 阳性药溶液制备 取醋酸地塞米松片 10 片,精密称定,研细。精密称取适量粉末(约相当于地塞米松 5 mg),置 100 mL 量瓶中,加生理盐水溶解并稀释至刻度,即得浓度约为 0.05 mg·mL⁻¹ 的醋酸地塞米松药液。

2.10.3 统计学分析 数据资料采用 SPSS 20.0 统计分析软件,结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,以单因素方差分析对多组数据进行比较,组间比较采用 *t* 检验,以 $P < 0.05$ 为统计学上有显著性差异, $P < 0.01$ 为统计学上有极显著性差异。

2.10.4 棉球处理 将脱脂棉制成约(20±1)mg 的紧致棉球,直径约 0.4 cm,经高压灭菌预处理后,60 °C 干燥 3 h,取出无菌条件下称重,干燥保存。

2.10.5 肉芽肿模型形成和测定 实验前 1 d,大鼠正常饮水,禁食过夜,称重,2%戊巴比妥钠 2.0 mL·kg⁻¹ 腹腔麻醉后固定,脱毛器脱去大鼠两侧腹股沟及背部的毛,碘伏消毒,在无菌条件下,切开大鼠右侧皮肤约 0.4 cm 的小口,以止血钳扩充皮下组织,将灭菌棉球植入大鼠背部皮肤,缝合,碘伏消毒。

次日开始给药,各组大鼠分别灌胃给药 10 mL·kg⁻¹,即空白对照组(生理盐水,1 mL·100 g⁻¹),阳性对照组(醋酸地塞米松,0.005 g·kg⁻¹),三叶青藤叶配方颗粒高剂量组(4.8 g·kg⁻¹),三叶青藤叶配方颗粒低剂量组(1.2 g·kg⁻¹),三叶青藤叶汤剂高剂量组(14.4 g·kg⁻¹),三叶青藤叶汤剂低剂量组(3.6 g·kg⁻¹)。分别连续灌胃 7 d。第 8 天,各组大鼠灌胃 2 h 后,颈椎脱臼处死,在原缝合处剪开皮肤,剥离并取出棉球及周围肉芽组织,恒温 60 °C 干燥至恒重,放置室温后称重,按下列公式计算棉球肉芽肿净量 Δm 及肉芽肿增生抑制率 $I(\%)$ 。

棉球肉芽肿净重 $\Delta m[\text{mg}/(100 \text{ g})^{-1}] = \text{干燥后棉球肉芽肿质量} [\text{mg}/(100 \text{ g})^{-1}] - \text{原棉球质量} [\text{mg}/(100 \text{ g})^{-1}]$;

棉球肉芽肿炎症抑制率 $I(\%) = [(\Delta m \text{ 模型组平}$

均肉芽肿净量- Δm 给药组平均肉芽肿净量)/ Δm 模型组平均肉芽肿净量] $\times 100\%$ 。

2.10.6 大鼠棉球肉芽肿炎症实验结果及等效性评价 实验结果表明,模型组大鼠干燥后棉球肉芽肿与原棉球质量有显著差异($P<0.05$),提示大鼠棉球肉芽肿慢性炎症模型成立。与模型组比较,阳性药醋酸地塞米松组对大鼠肉芽肿炎症造成增生有明显的抑制作用,其抑制率为 50.42%;三叶青藤叶配方颗粒、三叶青藤叶汤剂均能显著减少大鼠肉芽肿的重量($P<0.05$),提示配方颗粒与饮片汤剂均对大鼠肉芽肿炎症造成增生有明显的抑制作用;其中,对大鼠棉球肉芽肿炎症造成组织增生的抑制率,配方颗粒低、高剂量组分别为 15.70%,37.27%,汤剂低、高剂量组分别为 14.59%,35.73%,提示三叶青藤叶配方颗粒与汤剂均具有抗炎作用,且对大鼠肉芽肿组织增生的抑制作用呈剂量依赖性;分别比较配方颗粒低、高剂量组与对照汤剂低、高剂量组肉芽肿炎症抑制率,其在统计学上无显著性差异,提示在三叶青藤叶配方颗粒与三叶青藤叶饮片(1:3)的等量等效比下,经大鼠棉球肉芽肿增生炎症抑制药效学试验验证,1 g 三叶青藤叶配方颗粒与三叶青藤叶饮片 3 g 药效基本一致。结果见表 10。

表 10 大鼠棉球肉芽肿炎症的抑制作用($\bar{x}\pm s, n=10$)
Tab. 10 Inhibition of aerial parts of *Tetragymna hemsleyana* dispensing granules on rat granuloma hyperplasia($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	肉芽肿净重/(100 g) ⁻¹	抑制率/%
模型组	-	16.26±2.53	-
醋酸地塞米松组	0.000 5	8.06±1.21 ²⁾	50.42
汤剂低剂量组	3.6	13.89±1.85 ¹⁾	14.59
汤剂高剂量组	14.4	10.45±1.97 ¹⁾	35.73
配方颗粒低剂量组	1.20	13.71±1.85 ¹⁾	15.70
配方颗粒高剂量组	4.80	10.20±3.19 ¹⁾	37.27

注:与模型组比较,¹⁾ $P<0.05$,²⁾ $P<0.01$ 。

Note: Compared with model group, ¹⁾ $P<0.05$, ²⁾ $P<0.01$.

3 讨论

经 HPLC-PDA 紫外检测器全波长扫描,比较三叶青藤叶各供试品紫外吸收光谱图,在波长 340 nm 处,各供试品的 HPLC 色谱峰较大,且数量较多,各色谱峰分离良好,基线平稳,故选择 340 nm 为 HPLC 特征图谱检测波长。实验曾考察了甲醇-0.1%甲酸水溶液、甲醇-0.1%磷酸水溶液、甲醇-0.5%甲酸水溶液,以及乙腈-0.1%甲酸水溶

液、乙腈-0.1%磷酸水溶液、乙腈-0.5%甲酸水溶液等梯度洗脱。结果表明以甲醇-0.5%甲酸水溶液为流动相、梯度洗脱,表征出 10 个明显的共有峰,峰形较好且分离效果较理想。经方法学考察提示,建立的 HPLC 特征图谱共有模式可靠且重复性良好,可用于三叶青藤叶配方颗粒的等量性评价。

由于配方颗粒是传统汤剂的改良及可替代剂型,以饮片、汤剂、中间体、配方颗粒的相关性为基础建立的 HPLC 特征图谱,可以较为准确地反映其整体特征的追溯性,表征其间的关联性,评价它们的相似性。三叶青藤叶饮片、汤剂、中间体、配方颗粒的 HPLC 特征图谱共有模式体现其共有特征峰基本一致,相似度均 >0.990 ,各共有特征峰辨识归属表明它们之间主要化学成分组成基本一致,提示具有相同的药效组分群基础,饮片汤剂、配方颗粒具备关联性,配方颗粒保留了原饮片的药效组分群;饮片经现代工艺制成配方颗粒后,主成分群基本无变化,整体表征相似度高、质量均匀稳定。提示三叶青藤叶配方颗粒制备工艺可行,具备替代传统饮片的可靠性。

中药制剂制备工艺过程有效组分的迁移率是指提取溶液中有效组分含量与原饮片中有有效组分含量的比值,是新药工艺研究中一项重要指标。基于 HPLC 特征图谱共有特征峰面积,比较三叶青藤叶饮片、汤剂、中间体、配方颗粒 HPLC 特征图谱中 5 个效应组分相对含量,追踪三叶青藤叶配方颗粒制备过程药效组分群的迁移率,评价其制备工艺。结果由三叶青藤叶饮片制备配方颗粒中效应组分群的平均迁移率为 54.61%~92.30%,提示优化的配方颗粒制备工艺稳定可行。而由三叶青藤叶饮片模拟一般家庭方式煎煮汤剂,效应组分群的平均迁移率仅为 14.97%~23.89%的较低范围,提示由三叶青藤叶饮片制备配方颗粒较煎煮汤剂而言,配方颗粒获得的效应组分群含量较高,临床应用配方颗粒质量较优且可控。

对照汤剂煎煮制备参照国家卫生部、中医药管理局发布的《医疗机构中药煎药室管理规范》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(征求意见稿)》方法,模拟家庭煎煮汤剂方式。根据建立的等效比数学模型及制备工艺过程中的转移率计算,3 批次配方颗粒与饮片汤剂的平均等效比为 3.72,以 3 批次样品平均等效比的 80%折损计算,配方颗粒的等效

比是饮片的 2.98 倍, 故暂设定 1 g 三叶青藤叶配方颗粒相当于饮片 3 g, 初步反映了饮片汤剂和配方颗粒之间的量效关系。

本研究基于课题组前期抗炎药效学试验, 选择大鼠棉球肉芽肿模型为慢性炎症模型, 依据已建立的化学等量等效比, 考察配方颗粒与饮片汤剂对大鼠棉球肉芽肿炎症的抑制率, 验证等效比的正确性, 多指标综合评价两者的等同药效相关性。试验参考饮片的临床成人用药剂量 $15 \text{ g} \cdot \text{d}^{-1}$, 换算作为药理实验的中剂量组生药量, 再按 1 g 三叶青藤叶配方颗粒相当于 3 g 饮片的等效比折算出对应的配方颗粒组中剂量及高、低剂量组的剂量。药效学试验结果提示, 配方颗粒与汤剂药效作用无显著性差异, 两者之间具有等同的药效相关性; 在换算时所建立的等效比计算模型以及考察时所确定的各自的权重, 可作为后续临床运用验证和修订研究的参考依据。

REFERENCES

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志: 2 册[M]. 北京: 科学出版社, 1998: 48, 122-123.
- [2] 广东省植物研究所. 海南植物志[M]. 北京: 科学出版社, 1974: 3-23.
- [3] 汪文涛, 李文莉. 湖南省中药饮片炮制规范(2010 年版)[M]. 长沙: 湖南科学技术出版社, 2010.
- [4] CAI W W, CHEN D, FAN S M, et al. Research review on chemical components and pharmacological effects of *Tetrastigmatis hemsleyanum*[J]. Tianjin Pharm(天津药学), 2014, 26(1): 38-41.
- [5] LIN J, JI M M, HUANG Z H, et al. Chemical constituents of whole plants of *Tetrastigma hemsleyanum* and their antitumor activities[J]. Chin Pharm J(中国药学杂志), 2015, 50(8): 658-663.
- [6] LIAO S B, CAI W W, CHEN D, et al. Anti-inflammatory and analgesic effects of the extracts of *tetrastigmatis hemsleyanum*'s aerial parts from Fujian *in vivo*[J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2017, 34(3): 319-324.
- [7] CHEN H, LIAO S B, CHEN D, et al. Acute toxicity tests of anti-inflammatory extracts of *Tetrastigmatis hemsleyanum*'s aerial part[J]. J Fujian Med Univ(福建医科大学学报), 2017, 51(5): 287-290.
- [8] LIAO S B, CHEN D, LIU X M, et al. Studies on quality control of anti-inflammatory extracts of *Tetrastigma hemsleyanum* Diels et Gilg's aerial part[J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2020, 37(13): 1590-1596.
- [9] 陈丹, 蔡韦炜, 范世明. 三叶青地上部分总黄酮的提纯方法: 中国, CN104435401A[P]. 2015-03-25.
- [10] XIE P, CHEN D, HUANG J, et al. Studies on the quality control of the aerial parts of *Tetrastigma hemsleyanum* herbal pieces[J]. J Fujian Med Univ(福建医科大学学报), 2017, 51(5): 291-297, 302.
- [11] 谢平, 余文静, 陈丹, 等. 三叶青藤叶配方颗粒急性毒性试验[J]. 福建中医药, 2019, 50(5): 63-65.
- [12] XIE P, CHEN D, HONG L T, et al. Study on the quality standard of *Tetrastigma hemsleyanum* stem and leaves dispensing granules and content determination of 5 active ingredients[J]. China Pharmacy(中国药房), 2020, 31(8): 939-944.
- [13] SHI Z Q, MENG H, CHEN G S, et al. HPLC fingerprint analysis of wine-fried *Ligustri Lucidi Fructus* formula granules based on standard decoction[J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2019, 36(15): 1882-1886.
- [14] GUO M X, WU C, TONG W H. Research progress in equivalence study of TCM dispensing granule and traditional herbal decoction[J]. Mod Chin Med(中国现代中药), 2016, 18(9): 1107-1110.
- [15] DU T L, ZHAO Z M, CHEN Y X, et al. Experimental study on pharmacological equivalence of *Salvia* granules and standard decoction on the anti-platelet aggregation of rabbits *in vivo*[J]. China Pharm(中国药师), 2011, 14(11): 1563-1567.

收稿日期: 2020-11-28
(本文责编: 曹粤锋)