

金银花药材、标准汤剂、中间体、配方颗粒指纹图谱及过程质量评价研究

魏悦¹, 曹静亚², 张丽先^{1*}, 陈玲¹, 李晓¹, 宋梦娇¹, 范毅^{1*} (1.河南省纳普生物技术有限公司, 郑州 450002; 2.中国科学院西北高原生物研究所, 西宁 810001)

摘要: 目的 建立金银花药材、标准汤剂、中间体、配方颗粒的 HPLC 指纹图谱及多指标含量测定, 并对其相关性进行评价。方法 采用 Agilent Eclipse XDB C₁₈ 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm), 以乙腈-0.1%乙酸水溶液为流动相进行梯度洗脱, 流速为 1.0 mL·min⁻¹, 检测波长 266 nm, 进样体积 10 μL。结果 建立了金银花药材-标准汤剂-中间体及配方颗粒的多成分 HPLC 特征图谱, 10 批金银花药材、标准汤剂、中间体及配方颗粒指纹图谱均呈现 15 个共有特征峰, 呈良好的相关性, 在 15 个共有峰中识别出隐绿原酸、绿原酸、新绿原酸、断马钱子酸、咖啡酸、马钱苷、断氧化马钱子苷、芦丁、金丝桃苷、木犀草苷、异绿原酸 B、异绿原酸 A、异绿原酸 C 13 个成分, 并采用外标法对其含量进行测定。结论 金银花药材-标准汤剂-中间体及配方颗粒的 HPLC 特征图谱相关性良好, 13 个特征成分同时测定的方法准确可靠, 所建立质量评价模式能够反映金银花 4 种形态多成分的整体面貌, 为金银花配方颗粒质量控制提供数据支撑。

关键词: 金银花; 指纹图谱; 含量测定; 标准汤剂; 配方颗粒

中图分类号: R284.1

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2022)04-0495-05

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2022.04.010

引用本文: 魏悦, 曹静亚, 张丽先, 等. 金银花药材、标准汤剂、中间体、配方颗粒指纹图谱及过程质量评价研究[J]. 中国现代应用药学, 2022, 39(4): 495-499.

Fingerprint and Process Quality Assessment of Raw Herbs, Standard Decoction, Intermediates and Dispensing Granules of *Lonicerae Japonicae* Flos

WEI Yue¹, CAO Jingya², ZHANG Lixian^{1*}, CHEN Ling¹, LI Xiao¹, SONG Mengjiao¹, FAN Yi^{1*} (1. Henan Natural Product Biotechnology Co., Ltd., Zhengzhou 450002, China; 2. Northwest Institute of Plateau Biology, Chinese Academy of Sciences, Xining 810001, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish the HPLC fingerprint and multi-index content determination methods of the raw herbs, standard decoction, intermediates and dispensing granules of *Lonicerae Japonicae* Flos, and evaluate the correlations among them. **METHODS** The Agilent Eclipse XDB C₁₈ column(250 mm×4.6 mm, 5 μm) was adopted with acetonitrile-0.1% acetic acid solution as the mobile phase for conducting the gradient elution. The detection wavelength was set at 266 nm with a flow rate of 1.0 mL·min⁻¹. The injection volume was 10 μL. **RESULTS** HPLC characteristic spectrum was established for multi-component of raw herbs, standard decoction, intermediates and dispensing granules of *Lonicerae Japonicae* Flos. There were 15 common characteristic peaks in all fingerprint spectrum of 10 batches of raw herbs, standard decoction, intermediates and dispensing granules of *Lonicerae Japonicae* Flos, presenting a good correlation, 13 chemical compounds were identified including cryptochlorogenic acid, chlorogenic acid, neochlorogenic acid, secologanic acid, caffeic acid, loganin, secoxyloganin, rutin, hyperoside, cynaroside, isochlorogenic acid B, isochlorogenic acid A and isochlorogenic acid C, and external standard method was used to determine its content. **CONCLUSION** Correlation is good between fingerprint of raw herbs, standard decoction, intermediates and dispensing granules of *Lonicerae Japonicae* Flos. The method of simultaneous determination of 13 characteristic components is accurately and reliably. The established quality evaluation model can reflect the overall appearance of four forms of *Lonicerae Japonicae* Flos, provide data support for quality control of dispensing granules of *Lonicerae Japonicae* Flos.

KEYWORDS: *Lonicerae Japonicae* Flos; fingerprint; content determination; standard decoction; dispensing granules

金银花 *Lonicera japonica* Thunb. 为忍冬科植物忍冬的干燥花蕾或初开的花, 具有清热解毒, 疏散风热等功效^[1], 主产于河南、山东、河北等地。金银花自古被誉为清热解毒的良药, 作为五味消毒饮、银黄注射液、金银花颗粒等的主要成分, 金银花被广泛应用于现代药物制剂中^[2-3]。

金银花配方颗粒是以金银花药材投料, 经规范提取、浓缩、干燥和制粒而成, 具有无须煎煮、储存方便、易于调剂等优点^[4]。中药配方颗粒已经失去了饮片的外观形态, 且经过高温提取, 化学成分可能发生变化, 因而需开展金银花配方颗粒的针对性研究。《中药配方颗粒质量控制与标准

基金项目: 中央引导地方科技发展专项(211213004); 河南省科学院预算项目(210913009)

作者简介: 魏悦, 男, 硕士, 副研究员 E-mail: 125186147@qq.com *通信作者: 张丽先, 女, 硕士, 助理研究员 E-mail: 704271895@qq.com 范毅, 男, 副研究员 E-mail: 420001839@qq.com

制定技术要求(征求意见稿)》中提出,将标准汤剂作为中药配方颗粒是否与临床汤剂基本一致的标准参照物,并指出中药材、饮片、中间体、配方颗粒特征或指纹图谱应具相关性。160 种中药配方颗粒国家标准的公布充分体现了中药质量的控制特点和质量全程管控理念,建立量值传递数据表与特征图谱控制指标,提高了中药质量整体控制水平,金银花配方颗粒位列其中。

目前有关金银花的研究多集中在含量测定及指纹图谱的研究^[5-7],金银花配方颗粒质量控制的文献报道较少,鲜见金银花药材、标准汤剂、中间体和配方颗粒指纹图谱相关性的研究报道。本研究建立金银花药材、标准汤剂、中间体、配方颗粒特征指纹图谱,对其相关性进行评价,对其中 13 个特征成分进行含量测定,为金银花配方颗粒制备全过程的质量控制提供依据,也为其他中药配方颗粒品种质量控制提供参考。

1 材料

LC-20AT 型高效液相色谱(配备 UV-VIS 检测器)、AUW220D 型十万分之一天平均来自日本岛津;ME204 型万分之一天平(梅特勒);LGJ-12 型低温冷冻干燥仪(北京松源华兴科技发展有限公司);KQ-250DB 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);HGJR-01 红外加热仪(河南中良科学仪器有限公司)。

绿原酸(批号:110753-201415;纯度:96.2%)、木犀草苷(批号:111720-201609;纯度:94.9%)、咖啡酸(批号:110885-201703;纯度:99.7%)、马钱苷(批号:111640-201707;纯度:99.2%)、芦丁(批号:100080-201610;纯度 91.9%)均购自中国食品药品检定研究院;新绿原酸(批号:wkq16050805)、隐绿原酸(批号:wkq16081903)、异绿原酸 C(批号:wkq16081905)、异绿原酸 B(批号:wkq16040902)、异绿原酸 A(批号:wkq16070203)均购自四川维克奇生物科技有限公司,纯度均>98%;断氧化马钱子苷(批号:19050905)、金丝桃苷(批号:140207)均购自成都普菲德公司,纯度均>98%;断马钱子酸(武汉中标科技有限公司,批号:CFS201802;纯度>98%)。

色谱纯甲醇、乙腈(天津四友);实验室用水为娃哈哈纯净水;其他试剂均为分析纯。10 批金银花药材来源于河南、河北和山东等地,经河南大学药学院张保国教授鉴定为忍冬科植物忍冬 *Lonicera japonica* Thunb. 的干燥花蕾或初开的花。

本实验室根据《中药配方颗粒质量控制与标准制定技术要求(征求意见稿)》制备金银花的标准汤剂,根据标准汤剂的标准制备同批号的中间体和配方颗粒,药材来源及样品编号见表 1。

表 1 样品信息及编号

Tab. 1 Sample information and number

产地来源	药材	标准汤剂	中间体	配方颗粒
河南封丘黄德镇	A1	B1	C1	D1
河南封丘黄德镇	A2	B2	C2	D2
河南封丘城关乡	A3	B3	C3	D3
河南封丘应举镇	A4	B4	C4	D4
河北巨鹿小吕寨	A5	B5	C5	D5
河北巨鹿堤村乡	A6	B6	C6	D6
河北巨鹿	A7	B7	C7	D7
山东平邑	A8	B8	C8	D8
山东平邑	A9	B9	C9	D9
山东平邑	A10	B10	C10	D10

2 方法与结果

2.1 金银花药材、标准汤剂、中间体和配方颗粒中 13 个特征成分含量测定

2.1.1 色谱条件 Agilent Eclipse XDB-C₁₈ 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:乙腈(B)-0.1% 乙酸溶液(A),梯度洗脱(0~40 min, 5%→29%B);流速 1.0 mL·min⁻¹,进样体积 10 μL,柱温 35.0 °C,检测波长 266 nm。

2.1.2 溶液配制 混合对照品溶液:精密称取隐绿原酸、绿原酸、新绿原酸、断马钱子酸、咖啡酸、马钱苷、断氧化马钱子苷、芦丁、金丝桃苷、木犀草苷、异绿原酸 B、异绿原酸 A、异绿原酸 C 适量,用甲醇配制成单个对照品储备液,分别精密量取各储备液适量,配置成质量浓度分别为 0.196, 0.840, 0.209, 0.405, 0.047, 0.317, 0.640, 0.040, 0.040, 0.042, 0.189, 0.325, 0.410 g·L⁻¹ 的混合对照品溶液,4 °C 冰箱保存,备用。

供试品溶液:精密称取金银花药材、标准汤剂、中间体和配方颗粒粉末(过四号筛)适量(药材粉末 0.5 g,标准汤剂、中间体和配方颗粒粉末各 0.2 g 左右),置于 100 mL 具塞锥形瓶中,加入 25 mL 的 50%乙醇,密封,超声处理 30 min(超声频率 500 W,功率 40 kHz),放至室温,用 50%乙醇补足减失质量,混匀,用 0.45 μm 微孔滤膜过滤,取续滤液,即得。

2.1.3 仪器精密度试验 取混合对照品溶液,按“2.1.1”项下色谱条件连续进样 6 次,计算隐绿原酸、绿原酸、新绿原酸、断马钱子酸、咖啡酸、

马钱苷、断氧化马钱子苷、芦丁、金丝桃苷、木犀草苷、异绿原酸 B、异绿原酸 A、异绿原酸 C 峰面积的 RSD, 分别为 1.02%, 1.37%, 1.69%, 0.89%, 1.86%, 1.62%, 0.98%, 0.79%, 0.87%, 0.74%, 0.69%, 1.52%, 0.87%, 表明仪器精密度良好。

2.1.4 重复性试验 取同一批次(编号:D1)金银花配方颗粒样品 6 份, 按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液, 平行测定, 以绿原酸峰的保留时间和峰面积为参照, 结果隐绿原酸、绿原酸、新绿原酸、断马钱子酸、咖啡酸、马钱苷、断氧化马钱子苷、芦丁、金丝桃苷、木犀草苷、异绿原酸 B、异绿原酸 A、异绿原酸 C 百分含量的 RSD 依次为 1.55%, 1.63%, 1.47%, 1.05%, 2.01%, 2.26%, 1.62%, 1.38%, 0.87%, 1.68%, 1.75%, 1.36%, 1.67%, 表明该方法重复性良好。

2.1.5 稳定性试验 取同一批次(编号:D1)金银花配方颗粒样品, 分别于制备后 0, 2, 4, 8, 12, 24 h 进样分析, 结果隐绿原酸、绿原酸、新绿原酸、断马钱子酸、咖啡酸、马钱苷、断氧化马钱子苷、芦丁、金丝桃苷、木犀草苷、异绿原酸 B、异绿原酸 A、异绿原酸 C 峰面积的 RSD 分别为 1.02%, 1.23%, 0.99%, 1.52%, 1.37%, 0.81%, 0.59%, 1.02%, 1.79%, 2.16%, 1.52%, 1.69%, 1.75%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.1.6 加样回收率试验 取同一批次(编号: D1)金银花配方颗粒样品 6 份, 分别精密称取 0.1 g, 置 25 mL 量瓶中, 分别加入与已知含量等量的 13 种对照品, 水定容, 超声 10 min, 过膜, 上机分析, 计算各指标成分的回收率。结果隐绿原酸、绿原酸、新绿原酸、断马钱子酸、咖啡酸、马钱苷、断氧化马钱子苷、芦丁、金丝桃苷、木犀草苷、异绿原酸 B、异绿原酸 A、异绿原酸 C 平均回收率分别为 96.75%, 99.21%, 96.34%, 100.05%, 101.36%, 96.87%, 98.81%, 97.69%, 102.36%, 101.03%, 95.25%, 95.92%, 98.64%, RSD 分别为 1.54%, 2.36%, 2.73%, 1.29%, 2.55%, 2.74%, 1.57%, 2.65%, 2.79%, 2.03%, 2.41%, 2.09%, 2.82%, 表明该方法准确可靠。

2.1.7 样品含量测定 分别精密吸取“2.1.2”项下混合对照品溶液和供试品溶液 10 μ L, 按“2.1.1”项下色谱条件测定, 记录色谱图。10 批金银花药材、标准汤剂、中间体和配方颗粒中 13 个特征成分含量测定结果见表 2。

2.2 金银花药材、标准汤剂、中间体和配方颗粒 HPLC 指纹图谱的建立

2.2.1 仪器精密度试验 取混合对照品溶液, 按照“2.1.1”项下条件连续进样 6 次, 以绿原酸峰的保留时间和峰面积为参照, 各共有峰相对峰面积和相对保留时间 RSD 均<3.0%, 表明仪器精密度良好。

2.2.2 重复性试验 取同一批次(编号:D1)金银花配方颗粒样品 6 份, 按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液, 平行测定, 以绿原酸峰的保留时间和峰面积为参照, 各共有峰相对峰面积和相对保留时间 RSD 均<3.0%, 表明方法重复性良好。

2.2.3 稳定性试验 取同一批次(编号:D1)金银花配方颗粒样品, 按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液, 分别在 0, 3, 6, 9, 24, 48 h 进样, 结果以绿原酸峰的保留时间和峰面积为参照, 各共有峰相对峰面积和相对保留时间 RSD 均<3.0%, 表明供试品溶液在 48 h 内稳定性良好。

2.2.4 样品的测定 取 10 批金银花药材、标准汤剂、中间体、配方颗粒供试品溶液和混合对照品溶液 10 μ L, 按“2.1.1”项下色谱条件测定, 记录色谱图。

2.3 共有峰的标定

将 10 批金银花药材、标准汤剂、中间体和配方颗粒的 HPLC 指纹图谱数据导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”(2012 版), 中位数法生成对照指纹图谱, 经比较分析后确定共有峰 15 个, 结合对照品色谱图比对, 分析确认了 13 个色谱峰, 共有峰指认色谱图见图 1。

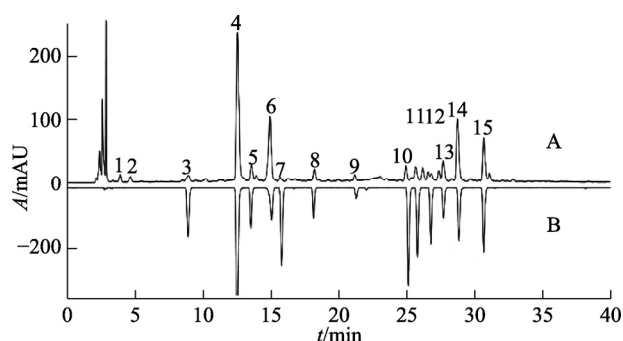


图 1 配方颗粒指纹图谱(A)及混合对照品(B)色谱图
3-隐绿原酸; 4-绿原酸; 5-新绿原酸; 6-断马钱子酸; 7-咖啡酸; 8-马钱苷; 9-断氧化马钱子苷; 10-芦丁; 11-金丝桃苷; 12-木犀草苷; 13-异绿原酸 B; 14-异绿原酸 A; 15-异绿原酸 C。

Fig. 1 Fingerprint of formula granule(A) and chromatogram of mixed reference substance(B)
3-crypto chlorogenic acid; 4-chlorogenic acid; 5-neochlorogenic acid; 6-secochlorogenic acid; 7-caffeic acid; 8-loganin; 9-secoxyloganin; 10-rutin; 11-hyperoside; 12-cynaroside; 13-iso-chlorogenic acid B; 14-iso-chlorogenic acid A; 15-iso-chlorogenic acid C.

表 2 金银花药材、标准汤剂、中间体和配方颗粒中 13 个特征成分的含量(n=3)

Tab. 2 Content of 13 characteristic constituents in raw herbs, standard decoction, intermediates and dispensing granules of *Lonicerae Japonicae* Flos(n=3)

样品	编号	隐绿原酸	绿原酸	新绿原酸	断马钱子酸	咖啡酸	马钱苷	断氧化马钱子苷	芦丁	金丝桃苷	木犀草苷	异绿原酸 B	异绿原酸 A	异绿原酸 C
药材	A1	0.066	3.353	0.065	2.074	0.023	1.103	0.448	0.123	0.037	0.051	0.046	1.313	0.406
	A2	0.093	3.481	0.099	1.894	0.044	1.956	0.579	0.131	0.030	0.052	0.059	1.488	0.587
	A3	0.064	3.227	0.052	2.381	0.023	1.115	0.377	0.161	0.047	0.051	0.037	1.274	0.355
	A4	0.065	3.495	0.054	1.840	0.035	1.278	0.482	0.127	0.035	0.071	0.043	1.416	0.474
	A5	0.062	3.858	0.051	1.496	0.030	1.256	0.615	0.088	0.033	0.061	0.043	1.294	0.405
	A6	0.063	3.152	0.044	2.270	0.024	1.185	0.408	0.101	0.052	0.060	0.037	1.228	0.334
	A7	0.092	3.632	0.062	1.647	0.037	1.303	0.568	0.119	0.036	0.054	0.056	1.877	0.524
	A8	0.099	3.141	0.058	1.840	0.028	2.013	0.518	0.112	0.042	0.053	0.053	1.480	0.523
	A9	0.051	3.374	0.061	2.081	0.057	1.101	0.421	0.105	0.062	0.065	0.040	1.097	0.491
	A10	0.062	3.752	0.059	2.534	0.054	1.119	0.463	0.116	0.075	0.069	0.041	1.263	0.546
标准汤剂	B1	0.272	4.489	0.575	4.670	0.032	3.264	1.281	0.221	0.175	0.077	0.375	1.375	1.241
	B2	0.231	5.340	0.502	5.212	0.058	3.778	1.094	0.216	0.112	0.060	0.399	1.312	1.613
	B3	0.299	3.926	0.508	4.913	0.040	3.329	0.979	0.196	0.090	0.054	0.459	0.971	1.671
	B4	0.229	4.358	0.468	6.142	0.062	1.749	1.329	0.198	0.109	0.055	0.513	1.033	1.998
	B5	0.215	4.016	0.491	5.392	0.056	2.971	0.956	0.119	0.216	0.051	0.300	0.913	1.422
	B6	0.324	4.620	0.629	6.282	0.075	2.615	0.771	0.322	0.191	0.088	0.308	1.188	1.688
	B7	0.248	4.591	0.578	5.246	0.060	3.641	0.882	0.149	0.105	0.063	0.659	1.030	2.086
	B8	0.276	3.908	0.580	5.829	0.075	2.095	0.792	0.142	0.114	0.079	0.440	0.973	2.061
	B9	0.240	6.091	0.559	4.243	0.062	2.012	1.422	0.149	0.084	0.080	0.634	1.290	1.958
	B10	0.311	4.455	0.606	6.084	0.073	1.834	0.917	0.143	0.091	0.072	0.501	1.231	1.760
中间体	C1	0.257	5.718	0.549	4.738	0.056	3.607	1.099	0.272	0.124	0.086	0.382	1.406	1.501
	C2	0.245	5.559	0.552	4.924	0.062	3.074	0.966	0.212	0.147	0.072	0.429	1.493	1.619
	C3	0.311	5.525	0.624	6.017	0.042	2.650	0.953	0.225	0.171	0.061	0.512	1.177	1.810
	C4	0.213	5.132	0.561	5.371	0.064	2.399	1.156	0.233	0.163	0.065	0.520	1.507	2.068
	C5	0.219	4.552	0.474	7.091	0.067	2.905	0.902	0.139	0.223	0.068	0.326	1.269	1.586
	C6	0.346	5.913	0.696	6.308	0.078	2.716	0.756	0.332	0.204	0.072	0.380	1.251	1.795
	C7	0.305	5.244	0.659	5.838	0.063	4.576	1.270	0.195	0.177	0.073	0.645	1.734	2.252
	C8	0.214	5.903	0.530	6.664	0.087	2.293	0.828	0.029	0.175	0.080	0.355	1.079	1.656
	C9	0.269	5.505	0.627	4.678	0.079	2.506	0.935	0.077	0.138	0.072	0.601	1.276	2.017
	C10	0.305	6.674	0.650	6.542	0.088	2.738	1.016	0.091	0.171	0.075	0.566	1.291	1.824
配方颗粒	D1	0.235	5.042	0.513	4.465	0.052	3.415	0.923	0.195	0.099	0.057	0.425	1.223	1.611
	D2	0.225	5.038	0.535	4.141	0.041	2.034	0.603	0.135	0.091	0.050	0.321	0.855	1.084
	D3	0.264	4.912	0.603	4.966	0.033	1.873	0.907	0.172	0.099	0.058	0.486	1.115	1.563
	D4	0.160	4.709	0.388	3.377	0.039	1.894	0.847	0.131	0.078	0.050	0.285	1.039	1.078
	D5	0.199	3.888	0.456	4.960	0.031	2.159	0.667	0.117	0.100	0.045	0.344	0.860	1.096
	D6	0.322	5.560	0.674	6.102	0.043	2.652	0.810	0.236	0.144	0.066	0.525	1.109	1.810
	D7	0.258	5.143	0.464	4.612	0.043	3.841	1.056	0.189	0.143	0.059	0.434	1.342	1.655
	D8	0.177	4.866	0.381	6.310	0.061	1.695	0.805	0.026	0.174	0.060	0.281	1.121	1.404
	D9	0.183	4.881	0.451	4.506	0.076	1.969	0.710	0.025	0.126	0.069	0.302	0.937	1.413
	D10	0.221	6.264	0.536	6.398	0.080	2.169	0.764	0.032	0.160	0.072	0.365	1.196	1.756

2.4 相似度计算

分别计算 10 批次金银花药材、标准汤剂、中间体和配方颗粒指纹图谱与各自对照指纹图谱的相似度,结果见表 3。结果显示,10 批饮片指纹图谱相似度均>0.98,说明 10 批不同来源的金银花化学成分具有良好的相似性;10 批标准汤剂、中间体、配方颗粒指纹图谱相似度均>0.98,说明配方颗粒相似度很高,生产工艺稳定。

2.5 相关性分析

依据《中药配方颗粒质量控制与标准制定技术要求(征求意见稿)》开展药材、标准汤剂、中间体、配方颗粒之间的相关性分析,15 个特征峰在药材、标准汤剂、中间体、配方颗粒中均有存在,较好地保留了药材的特征成分,对照指纹图谱见

图 2。金银花药材、标准汤剂、中间体、配方颗粒 HPLC 对照指纹图谱之间相似度计算结果>0.91,表明配方颗粒制备工艺稳定、可靠,且金银花药材、标准汤剂、中间体、配方颗粒之间呈现良好的相关性。

表 3 相似度结果

Tab. 3 Results of similarity

编号	药材	标准汤剂	中间体	配方颗粒
1	0.999	0.992	0.993	0.993
2	0.998	0.997	0.997	0.995
3	0.996	0.991	0.995	0.998
4	0.998	0.993	0.995	0.994
5	0.994	0.986	0.982	0.989
6	0.991	0.997	0.995	0.995
7	0.997	0.992	0.992	0.996
8	0.987	0.998	0.997	0.995
9	0.993	0.989	0.997	0.994
10	0.996	0.993	0.992	0.993

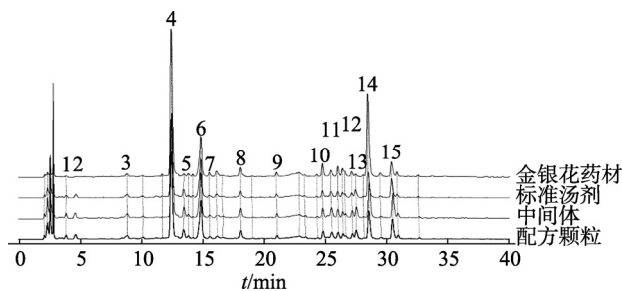


图 2 金银花药材、标准汤剂、中间体、配方颗粒 HPLC 对照指纹图谱

3-隐绿原酸; 4-绿原酸; 5-新绿原酸; 6-断马钱子酸; 7-咖啡酸; 8-马钱苷; 9-断氧化马钱子苷; 10-芦丁; 11-金丝桃苷; 12-木犀草苷; 13-异绿原酸 B; 14-异绿原酸 A; 15-异绿原酸 C。

Fig. 2 HPLC control fingerprints of raw herbs, standard decoction, intermediates and dispensing granules of Lonicerae Japonicae Flos

3-cryptochlorogenic acid; 4-chlorogenic acid; 5-neochlorogenic acid; 6-secochlorogenic acid; 7-caffeic acid; 8-loganin; 9-secoxyloganin; 10-rutin; 11-hyperoside; 12-cynaroside; 13-isochlorogenic acid B; 14-isochlorogenic acid A; 15-isochlorogenic acid C.

3 讨论

3.1 药材的收集

本研究收集了河南、河北、山东产地的金银花药材, 涵盖了金银花的道地产区和主产区, 每个产区 ≥ 3 批, 按照中国药典 2020 年版一部检测合格, 所选药材在产地和品质上具有代表性。

3.2 提取溶剂的选择

供试品制备过程是影响指纹图谱建立的重要因素之一, 由于配方颗粒由原药材水煎提取得到, 超声提取即可将有效成分溶出, 因此试验考察了不同提取溶剂(50%甲醇、70%甲醇、甲醇、50%乙醇、70%乙醇、乙醇)对色谱峰的影响, 结果发现甲醇提取效率最低, 其余溶剂提取效率相近, 从环保角度考虑, 选择 50%乙醇为提取溶剂。

3.3 色谱条件的选择

本实验考察了乙腈-水、乙腈-0.1%乙酸、甲醇-0.1%乙酸为流动相的梯度洗脱结果, 并对洗脱比例进行优化, 其中乙腈-0.1%乙酸为流动相时, 基线平稳, 色谱峰分离良好。同时, 采用 DAD 检测器进行全波谱检测, 发现在 266 nm 处, 色谱峰数较多且分离度较好。最终选择乙腈-0.1%乙酸为流动相, 266 nm 为检测波长。

3.4 指纹图谱相关性

金银花药材、中间体、标准汤剂、配方颗粒指纹图谱相似度 >0.91 , 表明化学成分相关性较好。其中金银花标准汤剂、中间体和配方颗粒指纹图谱的相似度 >0.99 , 说明金银花配方颗粒与水煎剂

成分基本一致, 二者具有相同的药用物质基础。虽然金银花药材中主要色谱峰在中间体及配方颗粒产品中都能得到追溯, 但金银花药材在高温提取、浓缩等过程中, 仍然有一些成分的相对含量发生变化, 其中 14 号异绿原酸 A 组分在金银花药材提取中相对含量降低, 而在中间体及配方颗粒制备过程中趋于稳定, 分析原因, 这可能与异绿原酸 A 组分的高温稳定性相关。该研究结果反映了金银花配方颗粒生产全过程的量值传递规律, 为特征图谱用于中药配方颗粒全过程监控提供可行性试验依据。

本实验建立的 HPLC 特征图谱分析方法准确、可行、重复性良好, 能较全面地反映金银花配方颗粒的化学组成, 可用于金银花配方颗粒的质量控制。此外, 实验对金银花药材、中间体、标准汤剂、配方颗粒指纹图谱进行相关性研究, 建立金银花药材、中间体、标准汤剂、配方颗粒中 13 种特征成分含量同时测定的方法准确可靠, 可以准确地表达主要特征峰的追溯性, 对金银花配方颗粒全过程质量控制提供方法学参考, 也为其替代传统饮片的可行性研究提供数据支撑。

REFERENCES

- [1] 中国药典. 一部[S]. 2020: 230.
- [2] SHEN H, HUANG Y Y, SHEN X K, et al. Establishment of HPLC fingerprints for Wuwei Xiaodu Drink and simultaneous determination of ten constituents[J]. Chin Tradit Pat Med(中成药), 2021, 43(1): 22-28.
- [3] LU J X, CHEN Y, HUANG Q W, et al. Research on normalization feeding of Lonicerae Japonicae Flos in Yinqiao Jiedu granules[J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2019, 36(13): 1669-1672.
- [4] XIE L. PDCA circle management mode of intelligent dispensing quality of traditional Chinese medicine formula granules[J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2020, 37(21): 2664-2668.
- [5] NING E J, LI Z H, CHEN L, et al. Determination of seven components in Lonicerae Japonicae Flos standard decoction by QAMS[J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2019, 36(17): 2154-2159.
- [6] ZHU F J, YANG J, YUAN Y, et al. Chemical fingerprinting and similarity analysis of Lonicera japonica resources[J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2018, 43(12): 2575-2579.
- [7] AI G L, ZENG Z, WANG W, et al. Evaluation of quality analysis method of Lonicerae Japonicae Flos extract[J]. Chin J Exp Tradit Med Form(中国实验方剂学杂志), 2017, 23(5): 22-26.

收稿日期: 2020-12-07

(本文责编: 沈倩)