

· 中药工业 ·

炮制-配伍对理中丸方水煎液指纹图谱影响研究[△]张姗姗^{1,2}, 姚梦雪^{1,2}, 洪燕¹, 韩燕全^{2*}, 汪小莉^{2*}

1. 安徽中医药大学, 安徽 合肥 230031;

2. 安徽中医药大学第一附属医院/国家中医药管理局中药制剂三级实验室, 安徽 合肥 230031

[摘要] 目的: 比较炮制-配伍前后理中丸方水煎液指纹图谱的差异。方法: 用生制饮片和炮制品饮片分别制备各10批理中丸, 以水煎煮法制备其水煎液。采用超高效液相色谱法(UPLC), 对炮制-配伍前后理中丸方水煎液指纹图谱差异进行研究。色谱条件: 色谱柱 Acquity BEH C₁₈(100 mm × 2.1 mm, 1.7 μm); 流动相: 乙腈-0.1% 磷酸水; 梯度洗脱; 流速: 0.2 mL·min⁻¹; 柱温: 30 °C; 检测波长: 237 nm。利用指纹图谱相似度软件分别对10批生品和10批炮制品指纹图谱进行比较, 又利用SIMCA 13.0.3软件对生品、炮制品各10批理中丸方水煎液进行聚类分析和主成分分析。结果: 分别建立了10批生品和10批炮制品理中丸方水煎液指纹图谱, 并计算其相似度, 10批生品的相似度大于0.98, 10批炮制品的相似度大于0.99。指纹图谱各色谱峰的保留时间基本一致, 差异较小, 但炮制前后相对峰面积变化较大。聚类和主成分可以清楚地将生品与炮制品聚为两大类。结论: 实验所建立的指纹图谱方法稳定、准确, 可用于比较生品与炮制品理中丸方的质量差异, 为其质量控制提供依据。

[关键词] 炮制-配伍; 理中丸; 超高效液相色谱法; 指纹图谱

[中图分类号] R283.1; R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1673-4890(2019)01-0104-07

doi:10.13313/j.issn.1673-4890.20180511001

Study on Influence of Processing and Compatibility on Fingerprinting of Lizhong Pills DecoctionZHANG Shan-shan^{1,2}, YAO Meng-xue^{1,2}, HONG Yan¹, HAN Yan-quan^{2*}, WANG Xiao-li^{2*}

1. Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230031, China;

2. The First Affiliated Hospital, Grade 3 Laboratory of TCM Preparation, State Administration of Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230031, China

[Abstract] **Objective:** To compare the difference of fingerprints about decoction of Lizhong Pills before and after processing and compatibility. **Methods:** 10 batches of Lizhong Pills were prepared respectively with raw decoction pieces and processed pieces, water decoction was prepared by water decocting method. UPLC was used to study the difference in fingerprints before and after processing. Chromatographic conditions were as follows: column Acquity BEH C₁₈(100 mm × 2.1 mm, 1.7 μm); mobile phase: acetonitrile-0.1% phosphoric acid; gradient elution; flow rate: 0.2 mL·min⁻¹; column temperature: 30 °C; detection wavelength: 237 nm. Fingerprint similarity software was used to compare the fingerprints of 10 batches raw products and 10 batches of processed products respectively, and the cluster analysis and principal component analysis of the decoctions of each of the 10 batches of raw and processed bolus were conducted using SIMCA 13.0.3 software. **Results:** The fingerprints of 10 batches of raw products and 10 batches of Lizhong Pills decoction were established and their similarities were calculated. The similarities between the raw and processed products were greater than 0.98. The retention time of each chromatographic peak of fingerprints was basically the same and consistent, the difference is small, but the relative peak area changes greatly before and after processing. Clustering and principal components can clearly combine raw and processed products into two categories. **Conclusion:** The fingerprint method established in this experiment is stable and accurate. It can be used to compare the quality difference between raw product and processed product Lizhong Wanfang, the study provides a reliable basis for its quality control.

[Keywords] processing and compatibility; Lizhong pill; UPLC; fingerprinting

[△] **[基金项目]** 安徽中医药大学科研基金自然重点项目(2018zrzd14); 安徽省自然科学基金项目(1708085MH196); 2015年中医药部门公共卫生专项资金项目

* **[通信作者]** 韩燕全, 副主任中药师, 研究方向: 中药炮制机理; E-mail: hyquan2003@163.com
汪小莉, 药师, 研究方向: 中药炮制机理; E-mail: wxl792511843@163.com

中药炮制是在中医药理论的基础上,根据用药的需求和药物本身的性质所采取的一项制药技术,是中医药学的一大特色。中药所含的有效成分是其治疗疾病的化学物质基础,经过炮制-配伍其内在的物质基础发生了一定的改变,复方的疗效也会受到影响,所以在复方中研究炮制更符合实际。

理中丸出自东汉张仲景所著汉医经典著作《伤寒论》,具有温中散寒、益气健脾之功能,临床应用广泛,是疗效确切的中医经典方剂。本实验所采用的理中丸按照2015版《中华人民共和国药典》^[1]所记载方法,分别采用4味生制饮片和4味炮制饮片(其中党参为米炒党参,甘草为蜜制甘草,白术为土白术,姜为炮姜)组成炮制-配伍的组方。实验前期发现,单味姜炮制前后指纹图谱差异明显,而本实验在此基础上拟从复方的角度研究以姜为君药的理中丸方炮制-配伍前后指纹图谱的差异^[2-4],以期对中药临床选择合适炮制品提供参考。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

超高效液相色谱仪(美国 Waters Acquity H-Class, UPLC),包括四元梯度泵自动进样器、柱温箱、二极管阵列检测器以及 Empower 2 工作站; ME55 型十万分之一分析天平 [梅特勒-托利(上海)有限公司]; KQ3200DB 型超声仪(江苏昆山超声仪器有限公司); 0.2 μm 微孔滤膜(上海陆纳生物科技有限公司)。

1.2 试剂

甘草苷(551-15-5)、甘草酸单铵盐(53956-04-0)、甘草素(578-86-9)、甘草次酸(471-53-4)、6-姜酚(13012303)、6-姜烯酚(12121803)、8-姜酚(13070101)、白术内酯Ⅲ(16032203)、党参炔苷(16062207)购于成都曼思特生物科技有限公司,经¹H-NMR、¹³C-NMR、UV、IR 和 MS 等光谱检测确认其结构; 甲醇、乙腈、磷酸为色谱纯; 水为屈臣氏纯净水。

党参、甘草、白术、姜由安徽省中医院中药房提供,经安徽中医药大学第一附属医院李立华主任中药师鉴定符合2015版《中华人民共和国药典》项下性状鉴别规定。

2 方法与结果

2.1 样品制备

2.1.1 炮制品制备 取姜、甘草、白术和党参分别

按照《中华人民共和国药典》2015版附录项下砂烫法、蜜制法、土炒法和米炒法,制备得到炮姜、炙甘草、土白术和米党参。

2.1.2 样品提取 按照《中华人民共和国药典》2015版理中丸组方比例,分别取党参7.5 g、甘草9 g、姜5 g和白术7.5 g进行配伍;将配好的理中丸方药材加入10倍量水浸泡30 min,武火煮开后,改之文火煎煮40 min,过滤;药渣再加8倍量水武火煮开后,文火煎煮30 min,过滤。合并滤液,浓缩,放冷后定容至20 mL,重复制备过程,共得10批理中丸(生品)水煎液 [下文均称理中丸(生)];将组方中的姜、甘草、白术和党参分别替换成等量的炮姜、炙甘草、土白术和米党参。重复以上制备过程,得到10批理中丸(炮制品)水煎液 [(下文均称理中丸(炮))]

2.2 色谱条件

Waters Acquity BEH C₁₈ 色谱柱(100 mm × 2.1 mm, 1.7 μm); 柱温: 30 $^{\circ}\text{C}$; 以乙腈为流动相 A, 0.1% 磷酸水溶液为流动相 B, 进行梯度洗脱, 程序为 0 ~ 1.5 min, 3% A; 1.5 ~ 10 min, 15% A; 10 ~ 14 min, 30% A; 14 ~ 16.5 min, 55% A; 16.5 ~ 19 min, 70% A; 19 ~ 20 min, 3% A; 检测波长: 237 nm; 流速: 0.2 mL · min⁻¹^[5]。

2.3 对照品溶液的制备

取甘草苷、党参炔苷、甘草素、甘草酸铵、甘草次酸、6-姜酚、白术内酯Ⅲ、8-姜酚、6-姜烯酚对照品适量,精密称定,配置成各对照品母液;再取一定量对照品母液,加甲醇制成每 mL 分别含甘草苷 0.021 mg、党参炔苷 0.023 mg、甘草素 0.002 17 mg、甘草酸铵 0.012 mg、甘草次酸 0.007 8 mg、6-姜酚 0.007 8 mg、白术内酯Ⅲ 0.006 68 mg、8-姜酚 0.000 552 8 mg、6-姜烯酚 0.001 6 mg 的混合对照品溶液。

2.4 供试品溶液的制备

分别取 10 批理中丸方生品与 10 批理中方炮制品水煎液各 1 mL, 水提液加甲醇定容至 10 mL, 震荡、混匀、静置。取上清液于 12 000 r · min⁻¹ 离心 10 min, 上清液过 0.2 μm 滤膜供 UPLC 分析用。

2.5 方法学考察

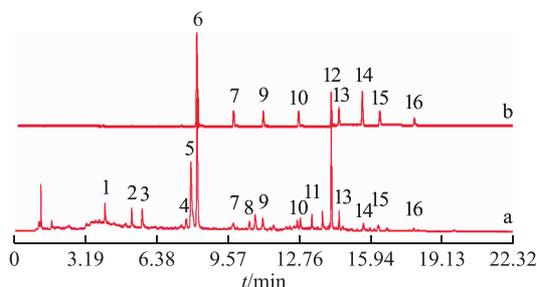
2.5.1 精密度试验 精密吸取混合对照品溶液 1 μL ,

在2.2色谱条件下重复进样6次。各主要色谱峰保留时间和峰面积基本一致,在同一台仪器测得的色谱指纹图谱与其共有模式图谱的相似度大于0.997,符合指纹图谱的要求,表明仪器精密度良好。

2.5.2 重复性试验 取6份理中丸(炮)处方生制饮片,按照2.4供试品的制备项下方法制备供试品溶液,按2.2项下色谱条件,分别进样,考察各份样品色谱峰保留时间的一致性,并采用“中药色谱指纹图谱相似度评价软件2004(A版)”计算其相似度,结果表明6份理中丸(炮)制品相似度均大于0.994,符合指纹图谱的要求。

2.5.3 稳定性试验 精密吸取理中丸方(炮)水煎液样品溶液1 μ L,在2.2项下色谱条件下,分别在0、4、8、12、16、24 h进样,以选定的色谱峰为观测指标,各主要色谱峰保留时间和峰面积基本一致,6个时间点的指纹图谱相似度大于0.997,表明在24 h内理中丸方(炮)水煎液的稳定性良好。

2.5.4 理中丸方水煎液指纹图谱中的共有峰 取20批理中丸水煎液供试品溶液,按2.2项方法下依次进样检测,根据指纹图谱的检测结果,利用“中药色谱指纹图谱相似度评价软件2004(A版)”,生成理中丸方水煎液共有峰指纹图谱,其中共有色谱峰16个;通过与混合对照品进行比对,指认了其中9个特征峰,分别为甘草苷(6)、党参炔苷(7)、甘草素(9)、甘草酸铵(10)、甘草次酸(12)、6-姜酚(13)、白术内酯Ⅲ(14)、8-姜酚(15)、6-姜烯酚(16),理中丸方水煎液共有峰指纹图谱和混合对照品图谱见图1。

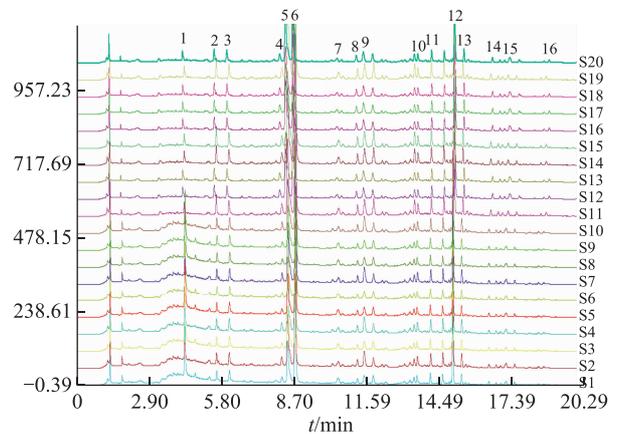


注: a. 理中丸方水煎液共有峰指纹图谱; b. 混合对照品图谱。

图1 理中丸方水煎液对照图谱和混合对照品图谱

2.5.5 理中丸方水煎液指纹图谱相似度评价 将所得的20批理中丸方水煎液UPLC图以AIA格式依次

导入“中药色谱指纹图谱相似度评价软件2004(A版)”,得到指纹图谱叠加图,见图2,分别比较了20批理中丸方水煎液样品的色谱图,并计算得到20批样品的相似度^[6-7],见表1。



注: S1~S10. 理中丸(生); S11~S20. 理中丸(炮)。

图2 理中丸(生)液与理中丸(炮)各10批叠加指纹图谱

表1 理中丸方水煎液相似度

样品编号	相似度	样品编号	相似度		
理中丸(生)	S1	0.996	理中丸(炮)	S11	0.996
	S2	0.995		S12	0.995
	S3	0.989		S13	0.991
	S4	0.996		S14	0.997
	S5	0.996		S15	0.998
	S6	0.991		S16	0.995
	S7	0.996		S17	0.994
	S8	0.993		S18	0.994
	S9	0.998		S19	0.998
	S10	0.996		S20	0.997

2.5.6 理中丸方(生、炮)水煎液指纹图谱相对保留时间与相对峰面积 对10批理中丸方(生)和10批理中丸方(炮)水煎液进行指纹图谱分析,生品与炮制品水煎液指纹图谱的相对保留时间基本一致,符合程度好,而相对峰面积变化较大,可见炮制-配伍对理中丸方指纹图谱影响较大,结果见表2~5。从图2可见,6号峰的峰面积较大,保留时间居中,是含量较高的主要指标成分甘草苷,所以选择6号峰为参照峰,进行相对保留时间和峰面积计算。

表2 理中丸(生)水煎液相对保留时间

峰号	10批理中丸(生)水煎液指纹图谱相对保留时间										RRT	RSD/%
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
1	0.153	0.154	0.153	0.153	0.153	0.153	0.153	0.153	0.154	0.154	0.153	0.003
2	0.418	0.416	0.420	0.420	0.420	0.418	0.417	0.419	0.420	0.417	0.419	0.003
3	0.640	0.636	0.638	0.637	0.640	0.639	0.636	0.637	0.639	0.637	0.638	0.003
4	0.940	0.938	0.939	0.940	0.940	0.939	0.937	0.939	0.942	0.942	0.940	0.002
5	0.966	0.958	0.962	0.964	0.966	0.964	0.964	0.965	0.964	0.964	0.963	0.002
6	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.000
7	1.084	1.077	1.085	1.085	1.085	1.086	1.085	1.085	1.083	1.081	1.084	0.002
8	8.000	1.211	1.215	1.215	1.217	1.215	1.214	1.215	1.215	1.214	1.893	1.134
9	1.524	1.519	1.526	1.526	1.524	1.521	1.522	1.522	1.524	1.518	1.523	0.002
10	1.719	1.714	1.719	1.718	1.719	1.717	1.715	1.719	1.721	1.717	1.718	0.001
11	1.759	1.747	1.756	1.758	1.758	1.758	1.751	1.757	1.758	1.751	1.755	0.002
12	1.883	1.872	1.882	1.881	1.882	1.878	1.879	1.880	1.881	1.880	1.880	0.002
13	1.916	1.907	1.913	1.915	1.914	1.915	1.909	1.917	1.916	1.910	1.913	0.002
14	1.962	1.950	1.959	1.962	1.964	1.961	1.959	1.962	1.959	1.958	1.960	0.002
15	2.150	2.134	2.143	2.147	2.146	2.142	2.141	2.145	2.143	2.141	2.143	0.002
16	2.252	2.238	2.250	2.249	2.252	2.247	2.244	2.248	2.248	2.248	2.248	0.002

注: RRT 为平均相对保留时间。

表3 理中丸(炮)水煎液相对保留时间

峰号	10批理中丸(炮)水煎液相对保留时间										RRT	RSD/%
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
1	0.153	0.154	0.153	0.153	0.155	0.153	0.155	0.153	0.154	0.154	0.154	1.659
2	0.418	0.420	0.420	0.420	0.422	0.419	0.418	0.419	0.419	0.417	0.420	1.136
3	0.640	0.639	0.635	0.637	0.640	0.639	0.636	0.635	0.638	0.637	0.637	1.117
4	0.940	0.940	0.939	0.940	0.942	0.939	0.936	0.939	0.939	0.942	0.940	0.982
5	0.965	0.964	0.962	0.964	0.966	0.964	0.962	0.965	0.960	0.964	0.963	1.263
6	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.508
7	1.084	1.085	1.085	1.081	1.085	1.085	1.084	1.085	1.081	1.081	1.084	1.646
8	1.217	1.215	1.215	1.215	1.217	1.215	1.212	1.215	1.212	1.214	1.214	1.685
9	1.526	1.525	1.522	1.526	1.524	1.521	1.521	1.522	1.520	1.522	1.523	1.480
10	1.721	1.721	1.719	1.717	1.719	1.717	1.714	1.719	1.713	1.717	1.717	1.454
11	1.754	1.753	1.756	1.758	1.757	1.757	1.749	1.757	1.752	1.751	1.754	1.589
12	1.883	1.880	1.878	1.881	1.882	1.878	1.876	1.880	1.876	1.876	1.879	1.624
13	1.914	1.913	1.914	1.916	1.912	1.914	1.907	1.917	1.912	1.910	1.913	1.748
14	1.962	1.960	1.959	1.961	1.962	1.962	1.956	1.962	1.954	1.958	1.959	1.853
15	2.147	2.145	2.143	2.148	2.146	2.142	2.138	2.146	2.137	2.141	2.143	1.809
16	2.255	2.250	2.250	2.252	2.254	2.252	2.242	2.248	2.242	2.248	2.249	1.844

注: RRT 为平均相对保留时间。

表4 10批理中丸(生)水煎液指纹图谱相对峰面积

峰号	理中丸(生)水煎液相对峰面积										RPA	RSD/%
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
1	0.265	0.252	0.257	0.275	0.233	0.235	0.257	0.269	0.263	0.262	0.257	0.05
2	0.611	0.586	0.579	0.568	0.581	0.570	0.586	0.625	0.587	0.585	0.588	0.03
3	0.221	0.214	0.197	0.197	0.190	0.218	0.208	0.207	0.212	0.199	0.206	0.05
4	0.195	0.196	0.199	0.189	0.193	0.209	0.201	0.198	0.191	0.196	0.197	0.03
5	0.535	0.513	0.566	0.542	0.499	0.525	0.544	0.544	0.514	0.505	0.529	0.04
6	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.00
7	0.041	0.036	0.037	0.038	0.038	0.037	0.039	0.042	0.041	0.037	0.038	0.05
8	0.081	0.087	0.089	0.080	0.086	0.088	0.079	0.087	0.093	0.088	0.086	0.05
9	0.076	0.073	0.075	0.082	0.078	0.071	0.076	0.069	0.079	0.071	0.075	0.05
10	0.653	0.612	0.644	0.505	0.601	0.567	0.651	0.588	0.629	0.600	0.605	0.07
11	0.032	0.030	0.032	0.026	0.030	0.029	0.029	0.029	0.032	0.030	0.030	0.07
12	0.031	0.031	0.027	0.030	0.032	0.029	0.032	0.033	0.033	0.028	0.031	0.06
13	0.028	0.026	0.030	0.027	0.024	0.025	0.028	0.022	0.026	0.028	0.026	0.09
14	0.045	0.049	0.046	0.046	0.042	0.043	0.048	0.056	0.050	0.047	0.047	0.08
15	0.023	0.021	0.020	0.019	0.020	0.020	0.019	0.021	0.021	0.020	0.020	0.06
16	0.009	0.008	0.009	0.008	0.008	0.008	0.008	0.009	0.008	0.008	0.008	0.06

注: RPA 为平均相对保留峰面积。

表5 10批理中丸(炮)水煎液指纹图谱相对峰面积

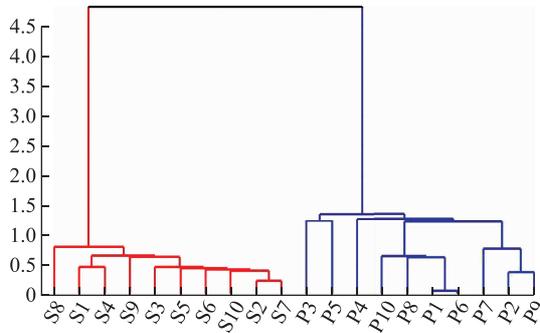
峰号	理中丸(炮)水煎液相对峰面积										RPA	RSD/%
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
1	0.428	0.417	0.563	0.495	0.499	0.438	0.485	0.462	0.453	0.502	0.474	0.09
2	0.731	0.758	0.939	0.833	0.809	0.723	0.783	0.796	0.727	0.901	0.800	0.09
3	0.375	0.379	0.470	0.413	0.416	0.371	0.398	0.412	0.374	0.444	0.405	0.08
4	0.200	0.207	2.307	0.218	0.230	0.192	0.215	0.236	0.209	0.248	0.426	1.55
5	0.738	0.717	0.903	0.784	0.792	0.736	0.796	0.817	0.753	0.911	0.795	0.08
6	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.00
7	0.040	0.039	0.050	0.043	0.041	0.040	0.044	0.042	0.040	0.052	0.043	0.10
8	0.065	0.084	0.092	0.089	0.083	0.065	0.083	0.081	0.082	0.094	0.082	0.12
9	0.051	0.050	0.054	0.052	0.049	0.051	0.078	0.052	0.046	0.064	0.055	0.17
10	0.613	0.555	0.705	0.615	0.567	0.613	0.655	0.504	0.528	0.596	0.595	0.10
11	0.022	0.026	0.028	0.027	0.023	0.022	0.033	0.029	0.027	0.029	0.027	0.14
12	0.023	0.038	0.040	0.026	0.025	0.023	0.035	0.032	0.030	0.038	0.031	0.21
13	0.020	0.018	0.019	0.028	0.020	0.020	0.029	0.022	0.022	0.027	0.023	0.18

续表 5

峰号	理中丸(炮)水煎液相对峰面积										RPA	RSD/%
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
14	0.053	0.053	0.065	0.062	0.053	0.053	0.056	0.049	0.049	0.072	0.056	0.13
15	0.012	0.016	0.020	0.014	0.013	0.012	0.014	0.011	0.013	0.015	0.014	0.18
16	0.010	0.012	0.015	0.014	0.012	0.010	0.013	0.013	0.012	0.019	0.013	0.19

注：RPA 为平均相对保留峰面积。

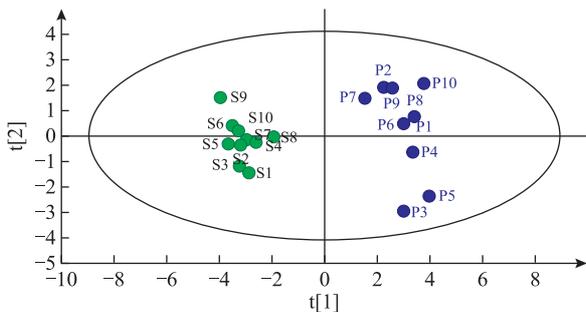
2.5.7 样品的聚类分析 以峰面积为变量，采用 SIMCA 13.0.3 软件对 20 批理中丸水煎液进行聚类分析，理中丸方生品水煎液 S(1~10) 聚为一类，理中丸方炮制品 P(1~10) 聚为一类，表明炮制-配伍前后理中丸内在质量差异明显。结果见图 3。



注：S. 理中丸(生)；P. 理中丸(炮)。

图 3 20 批理中丸水煎液聚类分析结果树状图

2.5.8 样品的主成分分析 采用 SIMCA 13.0.3 软件对 20 批理中丸水煎液进行主成分分析，分析结果见图 4，PCA 二维投影图可见 S1~S10 距离相近，P1~P10 距离相近，分别相聚成群，图中每个点代表一个理中丸水煎剂样品，20 批样品的 PCA 图可分明显为 2 类，结果与聚类分析相互印证，表明炮制-配伍前后理中丸内在质量差异明显。



注：S. 理中丸(生)；P. 理中丸(炮)。

图 4 20 批理中丸水煎液主成分分析图

如图 5 所示，PLS-DA 分析各色谱峰的 VIP 得分图表明，色谱峰变量对样品分类的影响大小排序为 F3 > F1 > F15 > F2 > F5 > F9 > F16 > F11 > F8 > F13 > F10 > F6 > F12 > F7 > F14 > F4，其中 VIP 值大于 1 的色谱峰有 7 个，分别为 F3、F1、F15、F2、F5、F9、F16，其中 F9(甘草素)、F15(8-姜酚)、F16(6-姜稀酚)为指认的共有峰，也进一步说明炮制-配伍对理中丸水煎液的质量有影响，其他成分色谱峰对其影响有待进一步探索。

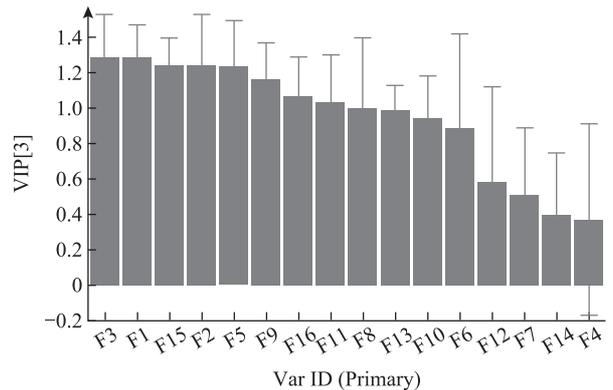


图 5 各色谱峰变量投影重要性分析得分图

3 讨论

中药指纹图谱能够较好地体现中药成分的复杂性和相关性，是研究中药整体特征的一种有效方法，在国内外应用越来越多^[8-9]。本实验采用水煎煮法分别制备 10 批理中丸(生品)水煎液和 10 批理中丸(炮制品)水煎液，采用 UPLC 法对炮制-配伍前后理中丸方水煎液指纹图谱进行分析，寻找生品和炮制品组方前后的总体化学成分差异^[13]。因为理中丸方最初以汤剂的形式应用于临床，为了使样品的提取方法与传统煎剂相符，所以在实验中采用水煎剂法进行样品提取；由于水煎剂中的杂质较多，所以选择甲醇为溶剂进行沉淀以精制样品。实验对样品的指纹图谱进行了全

波长扫描,分别比较了波长为237、254、267、280 nm的色谱图,发现在237 nm波长处检测出图谱信息量较多,且峰形较好,最终确定了此波长。同时,实验考察了不同流动相系统、梯度洗脱条件、柱温条件和不同型号色谱柱对指纹图谱的影响,经过优化,最终以乙腈-0.1%磷酸水作为流动相,柱温为30℃,色谱柱为Acquity BEH C₁₈(100 mm×2.1 mm, 1.7 μm),此条件下各色谱峰的分度度较好,且基线平稳,峰形较好,有利于样品的测定和分析。

本实验对炮制-配伍前后理中丸指纹图谱进行了初步的研究,通过比较炮制配伍前后理中丸生品与炮制品的色谱峰的峰面积和色谱图的直观观察可知,炮制-配伍前后各色谱峰大小差异明显。经炮制后,色谱峰1、2、3等7个色谱峰的峰面积增加,可能是炮制后这些成分容易煎出;而色谱峰6、7、8等9个色谱峰的峰面积减少,推测理中丸生品经炮制后部分成分含量减少。理中丸生品经炮制后其成分含量有增有减,说明炮制-配伍对理中丸水煎液指标成分产生了影响,实验结果表明,炮制-配伍对复方的物质基础有影响,而复方的物质基础可以直接影响方剂的临床疗效,但是,要阐明炮制-配伍前后复方成分的变化机理还需要结合质谱分析和药效学等手段进行进一步的研究。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[M]. 北京:中国中医药科技出版社,2015.
- [2] HAN Y Q, LI Y X, WANH Y Z, et al. Comparison of fresh, dried and stir-frying gingersin decoction with blood-stasis syndrome in rats based on a GC-TOF/MS metabolomics approach[J]. *Pharmaceut Biomed*, 2016, 129(10): 339-349.
- [3] LI Y X, HONG Y, HAN Y Q, et al. Chemical characterization and antioxidant activities comparison in fresh, dried, stir-frying and carbonized ginger[J]. *J Chromatogr B*, 2016, 10(11):223-232.
- [4] 韩燕全,洪燕,桂洁,等. 不同产地生、干炮、姜的UPLC指纹图谱比较研究[J]. *中成药*, 2013, 35(2): 356-359.
- [5] 范世明,徐惠龙,谢心月,等. 三叶青叶指纹图谱研究及8种酚类成分含量测定[J]. *中国中药杂志*, 2016, 41(21):3975-3981.
- [6] 刘川,文检,苏永文,等. HPLC测定藏药“巴尔达尔”黄酮类成分含量及指纹图谱的研究[J]. *中国中药杂志*, 2016, 41(4):586-591.
- [7] 曾鸿莲,刘振丽,宋志前,等. 不同品种枳实 HPLC 指纹图谱及成分含量差异性研究[J]. *中国中药杂志*, 2016, 41(17):3272-3278.
- [8] 康馨元,刘睿,李春楠,等. 山羊角药材的 HPLC 指纹图谱研究[J]. *中国现代中药*, 2015, 17(5):453-457.
- [9] 龙凤,谢镇山,高新开,等. 山楂 HPLC 指纹图谱研究[J]. *中国现代中药*, 2016, 18(12):1598-1601.

(收稿日期:2018-05-11 编辑:王笑辉)