基于 UPLC 特征图谱和一测多评法的马鞭草质量评价及其标准汤剂量值传递规律研究

杨晓东,罗宇琴,吴文平,潘礼业,刘晓琳,庞　伟,邢菊玲,李国卫*

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:建立马鞭草 UPLC 特征图谱和 5-羟基马鞭草苷、马鞭草苷及毛蕊花糖苷含量的一测多评分析方法。对不同产地 18 批马鞭草进样分析,共确定 5 个特征共有峰,指认其中 3 种成分,18 批样品相似度均大于 0.830。一测多评法与外标法测定结果比较,误差均小于 3%,18 批标准汤剂中 5-羟基马鞭草苷、马鞭草苷及毛蕊花糖苷的含量范围分别为 17.36 ~ 51.34 mg/g、7.76 ~ 72.85 mg/g、1.15 ~ 15.44 mg/g;18 批马鞭草饮片到标准汤剂 5-羟基马鞭草苷、马鞭草苷及毛蕊花糖苷的转移率分别为 35.0% ~ 113.4%、52.1% ~ 109.2%、7.9% ~ 36.3%;所建立的特征图谱结合一测多评含量测定法简便可行,研究结果可为马鞭草及马鞭草中药制剂质量评价提供参考。

关键词:马鞭草;超高效液相色谱;特征图谱;一测多评法;量值传递

中图分类号:R282.4　　**文献标识码**:A　　**文章编号**:1001-6880(2023)8-1393-09

DOI:10.16333/j.1001-6880.2023.8.012

Quality evaluation of Verbenae Herba based on UPLC characteristic chromatogram and QAMS and the transmission law of quantity value of its standard decoction

YANG Xiao-dong, LUO Yu-qin, WU Wen-ping,
PAN Li-ye, LIU Xiao-lin, PANG Wei, XING Ju-lin, LI Guo-wei *

Guangdong Provincial Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine Formula Granule, Guangdong Yifang Pharmaceutical Co., Ltd., Foshan 528244, China

Abstract: To establish the UPLC characteristic chromatogram of Verbenae Herba and quantitative analysis of multi-components by single marker (QAMS) for the hastatoside, cornin and verbascoside, a total of five characteristic common peaks were identified and three components were identified for the analysis of 18 batches of Verbenae Herba from different habitats. The similarity of 18 batches of samples was greater than 0.830. The errors were all less than 3% when compared with the results measured by the external standard method. hastatoside, cornin and verbascoside in 18 batches of standard decoction were 17.36-51.34 mg/g, 7.76 -72.85 mg/g, 1.15-15.44 mg/g. The transfer rates of 18 batches of Verbenae Herba to standard decoction hastatoside, cornin and verbascoside were 35.0%-113.4%, 52.1%-109.2%, 7.9%-36.3%. The simple and feasible established characteristic chromatogram combined with QAMS can provide reference and basis for the overall quality control of Verbenae Herba.

Key words: Verbenae Herba; UPLC; characteristic chromatogram; QAMS; quantity value transmission

马鞭草为马鞭草科植物马鞭草 *Verbena officinatis* L. 的干燥地上部分[1],始载于《名医别录》,列为下品。马鞭草的化学成分主要为环烯醚萜苷类[2]、黄酮类[3]、甾醇类、三萜类、多酚类和挥发油[4]、鞣质、β-胡萝卜素,咖啡酸,糖类等。主要活性成分为环烯醚萜苷类成分[5]。其性凉,味苦,归肝、脾经。具有活血散瘀、解毒、利水、退黄、截疟的功效。临床用于癥瘕积聚,痛经经闭,喉痹,痈肿,水肿,黄疸,疟疾。马鞭草资源丰富[6],其中环烯醚萜苷类[7]成分具有抗氧化、保肝、保护神经[8]、保护心脏及脑缺

收稿日期:2022-09-15　　接受日期:2023-02-24

基金项目:佛山市应急科技攻关专项(2020001000206);国家工业和信息化部 2019 年产业技术基础公共服务平台项目(2019-00902-1-2)

* 通信作者 Tel:86-015017592618;E-mail:15017592618@163.com

血[9]、抗炎[10]等多种作用。中药汤剂(标准汤剂)是中医临床最常用的中药复方制剂,也是中医历史上应用最久和最广的制剂。无论是中药传统饮片,还是破壁饮片、中药配方颗粒等中药新型饮片,均是采用水煎服或者水冲服,因此,将标准汤剂研究作为其他中药制剂研究的首选对照具有十分重要的意义[11]。本研究通过阐明饮片到标准汤剂的量值传递规律,为马鞭草中药制剂工艺研究和质量评价奠定基础。

本研究以马鞭草饮片为研究对象,建立其 UPLC 特征图谱,结合化学模式分析图谱信息并采用超高效液相色谱法联合一测多评法同时测定马鞭草中毛蕊花糖苷、5-羟基马鞭草苷、马鞭草苷含量的方法,与外标法测定结果进行比较。并测定其标准汤剂出膏率、毛蕊花糖苷、5-羟基马鞭草苷及马鞭草苷含量,计算转移率,以此为基础进行马鞭草饮片到标准汤剂的量值传递研究,说明各项质量指标设定的合理性。

1 材料

1.1 仪器

Waters H-Class 型超高效液相色谱仪(沃特世公司);Thermo Vanquish 型超高效液相色谱仪(赛默飞科技有限公司);ME204E 型万分之一天平(梅特勒-托利多公司)。

1.2 试剂

甲醇(西陇科学股份有限公司)为分析纯;液相用磷酸(天津市科密欧化学试剂有限公司);乙腈(默克股份有限公司)为色谱纯;水为超纯水(实验室自制)。

1.3 试药

马鞭草苷(成都瑞芬思生物科技有限公司,批号:M-042-170613,含量:98.0%);5-羟基马鞭草苷(维克奇生物科技有限公司,批号:wkq18110104,含量:98.0%);毛蕊花糖苷(中国食品药品检定研究院,批号:111530-201713,含量:92.5%)。本次实验共收集 18 批马鞭草药材,产地信息(见表 1),经广东一方制药有限公司孙冬梅教授鉴定,均为马鞭草科植物马鞭草 *Verbena officinatis* L. 的干燥地上部分,并经广东一方制药有限公司质量中心鉴定合格,均符合 2020 版《中华人民共和国药典》(后文简称《中国药典》)马鞭草项下的各项规定,并按 2020 版《中国药典》马鞭草饮片项下炮制成饮片,具体炮制方法为:取马鞭草药材,挑去非药用部位和杂质,洗净,稍润,切成 5 ~ 15 mm 的段,60 ℃烘干。

表 1 样品信息

Table 1 Sample information

编号 No.	产地 Origin	编号 No.	产地 Origin
S1	河南省南阳市	S10	河南省南阳市
S2	河南省南阳市	S11	河南省南阳市
S3	湖南省邵东县	S12	河南省南阳市
S4	湖南省邵东县	S13	河南省南阳市
S5	湖南省邵东县	S14	江苏省淮安市
S6	湖南省凤凰县	S15	江苏省淮安市
S7	广西百色市	S16	贵州省遵义市
S8	河南省南阳市	S17	贵州省遵义市
S9	河南省南阳市	S18	贵州省遵义市

2 方法与结果

2.1 色谱条件

采用 Waters HSS T3(100 mm × 2.1 mm,1.8 μm)色谱柱;流动相为乙腈(A)-0.05% 磷酸水溶液(B),梯度洗脱(0 ~ 2 min,10% A;2 ~ 14 min,10% →18% A;14 ~ 16 min,18% A;16 ~ 25 min,18% →25% A;25 ~ 28 min,25% →95% A);流速为 0.3 mL/min;柱温为 35 ℃;检测波长为 230 nm;进样量为 1 μL。

2.2 对照品及供试品溶液制备

2.2.1 对照品溶液配制

取马鞭草苷对照品、5-羟基马鞭草苷对照品、毛蕊花糖苷对照品适量,精密称定,置量瓶中,加甲醇制成每 1 mL 含马鞭草苷 30 μg,5-羟基马鞭草苷 76 μg,毛蕊花糖苷 22 μg 的混合溶液,即得。

2.2.2 饮片供试品溶液制备

取马鞭草饮片粉末(过三号筛)约 1 g,精密称

定,置锥形瓶中,精密加入 80% 甲醇 50 mL,称定重量,加热回流 120 min,放冷,再称定重量,用 80% 甲醇补足减失的重量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.2.3　标准汤剂供试品溶液制备

取马鞭草标准汤剂约 0.1 g,精密称定,置锥形瓶中,精密加入 80% 甲醇 20 mL,称定重量,超声处理(功率 300 W,频率 40 kHz)30 min,放冷,再称定重量,用 80% 甲醇补足减失的重量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.3　马鞭草 UPLC 特征图谱建立

2.3.1　特征图谱方法学考察

2.3.1.1　精密度考察

取马鞭草饮片粉末(过三号筛,编号:S1),按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件连续进样 6 次,以毛蕊花糖苷峰为参照峰,各特征峰相对保留时间和相对峰面积 RSD 均小于 2.0%,表明仪器精密度良好。

2.3.1.2　重复性考察

取马鞭草饮片粉末(过三号筛,编号:S1),按“2.2.2”项下方法平行制备 6 份供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件进样测定,以毛蕊花糖苷峰为参照峰,各特征峰相对保留时间和相对峰面积 RSD 均小于 2.5%,表明样品制备方法重复性良好。

2.3.1.3　稳定性考察

取马鞭草饮片粉末(过三号筛,编号:S1),按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件分别与 0、2、4、6、8、12 h 进样测定。以毛蕊花糖苷峰为参照峰,各特征峰相对保留时间和相对峰面积 RSD 均小于 2.1%,表明样品在 12 h 内稳定。

2.3.2　特征图谱的建立及相似度评价

取 18 批马鞭草饮片按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件进样检测。将色谱图导入《中药色谱指纹图谱相似度评价系统》(2012 年版),设定 S1 为参照图谱,自动匹配后多点校正,进行全谱峰匹配,得到 18 批样品叠加图,共确认 5 个特征峰(见图 1)。采用《中药色谱指纹图谱相似度评价系统》(2012 年版)计算 18 批马鞭草饮片特征图谱与对照指纹图谱的相似度。结果显示,18 批样品的相似度均不低于 0.83(见表 2)。

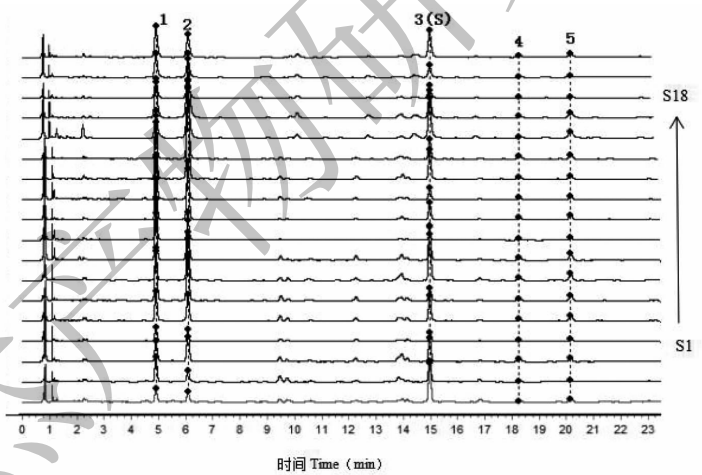

图 1　18 批马鞭草特征图谱

Fig. 1　Characteristic chromatogram of 18 batches of Verbenae Herba

表 2　相似度结果

Table 2　Results of the similarity

编号 No.	相似度 Similarity	编号 No.	相似度 Similarity	编号 No.	相似度 Similarity	编号 No.	相似度 Similarity
S1	0.830	S10	0.971	S6	0.956	S15	0.980
S2	0.911	S11	0.941	S7	0.944	S16	0.996
S3	0.982	S12	0.971	S8	0.998	S17	0.982
S4	0.859	S13	0.954	S9	0.868	S18	0.967
S5	0.983	S14	0.974				

天然药物研究与开发

2.3.3 共有峰指认

为考察特征图谱是否具有代表性及能否表征待测成分的专属性,通过与对照品对照,指认其中 3 个特征峰,峰 1 为 5-羟基马鞭草苷、峰 2 为马鞭草苷、峰 3 为毛蕊花糖苷(见图 2)。

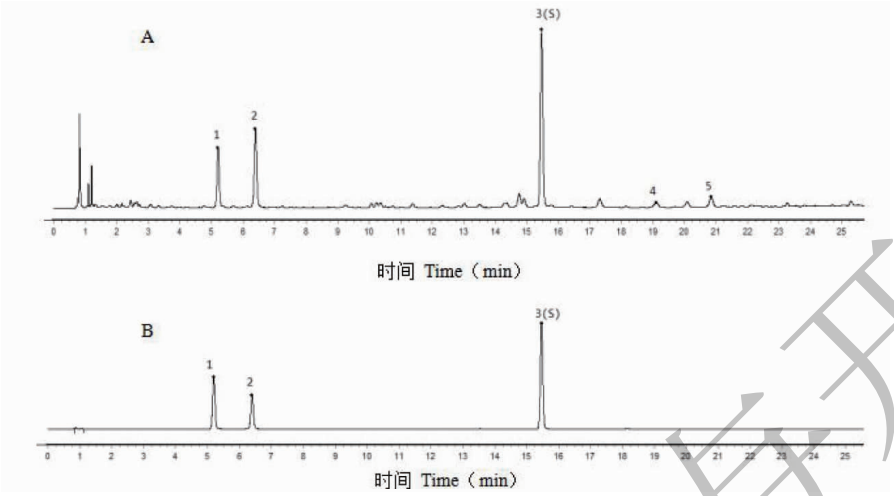

图 2 特征图谱共有峰的指认

Fig. 2 Identification of common peaks in characteristic chromatogram

注:A:供试品;B:混合对照品。1:5-羟基马鞭草苷;2:马鞭草苷;3:毛蕊花糖苷。

Note: A: Sample; B: Mixed reference substance. 1: Hastatoside; 2: Cornin; 3: Verbascoside.

2.3.4 主成分分析

以 18 批马鞭草饮片特征图谱中的 5 个共有峰峰面积为数据,用 SPSS 20.0 软件对其进行主成分分析,得出相关矩阵的特征值及其方差(见表 3),碎石图(见图 3),由表 3 可知,根据特征值大于 1,得到两个主成分,对总方差的累计贡献度达 80.766%,具有很好的代表性,可代表马鞭草特征图谱共有峰的大部分信息。成分矩阵(见表 4),由表 4 可知,第 1 主成分主要反应了峰 3(毛蕊花糖苷)和峰 5 的信息,第二主成分反映了峰 1(5-羟基马鞭草苷)、峰 2(马鞭草苷)的信息。

表 3 特征值及累积方差贡献率

Table 3 Eigenvalue and cumulative variance contribution rate

主成分 Principal component	特征值 Characteristic value	贡献率 Contribution rate(%)	累计贡献率 Cumulative contribution rate(%)
1	2.878	57.550	57.550
2	1.161	23.216	80.766
3	0.474	9.486	90.252
4	0.344	6.871	97.123
5	0.144	2.877	100.00

2.4 一测多评法建立

根据主成分分析结果,以峰 3(毛蕊花糖苷)、峰 1(5-羟基马鞭草苷)、峰 2(马鞭草苷)对马鞭草饮片整体质量影响较大。三者光谱特性基本一致且响应值比例接近,因此,以毛蕊花糖苷为内参物,马鞭草

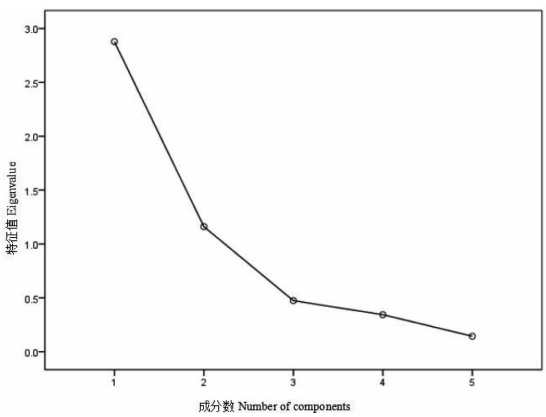

图 3 主成分分析碎石图

Fig. 3 Scree plot of principal component analysis

表 4 主成分分析矩阵

Table 4 Matrix of principal component analysis

峰号 Peak No.	成分 1 Component 1	成分 2 Component 2
1	-0.019	0.919
2	0.392	0.855
3	0.890	-0.010
4	0.691	0.514
5	0.854	0.217

苷和5-羟基马鞭草苷为待测成分,建立上述三种成分的一测多评定量表征方法。

2.4.1　一测多评法方法学考察

2.4.1.1　精密度考察

取马鞭草饮片粉末(过三号筛,编号:S1),按照“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件连续进样 6 次、5-羟基马鞭草苷、马鞭草苷、毛蕊花糖苷峰面积 RSD 分别为 0.27%、0.56%、0.70%,表明仪器精密度良好。

2.4.1.2　重复性考察

取马鞭草饮片粉末(过三号筛,编号:S1),按照“2.2.2”项下方法平行制备 6 份供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件进样测定,计算马鞭草中 5-羟基马鞭草苷、马鞭草苷、毛蕊花糖苷的含量,3 种成分含量 RSD 均小于3%,表明样品制备方法重复性良好。

2.4.1.3　稳定性考察

取马鞭草饮片粉末(过三号筛,编号:S1),按照“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件分别在 0、2、4、6、8、12 h 进样测定。5-羟基马鞭草苷、马鞭草苷、毛蕊花糖苷峰面积 RSD 均小于 1%。表明供试品溶液在 12 h 内稳定。

2.4.1.4　线性关系考察

取马鞭草苷对照品、5-羟基马鞭草苷对照品、毛蕊花糖苷对照品适量,精密称定,置量瓶中,加甲醇制成 5-羟基马鞭草苷、马鞭草苷、毛蕊花糖苷浓度分别为 757.305、463.932、1038.220 μg/mL 的混合对照品储备溶液。

精密吸取上述混合储备液 1 mL 至 2、5、10、20、50、100 mL 量瓶,加甲醇定容至刻度,同上述对照品储备液分别按照“2.1”项下色谱条件依次进样测定,记录色谱峰峰面积。以峰面积为纵坐标(y),对照品浓度为横坐标(x),并绘制标准曲线(见表 5)。结果表明,3 种成分在线性范围内线性关系良好。

表 5　回归方程及相关系数

Table 5　Linear equation and correlation coefficient

成分 Component	回归方程 Regression equation	相关系数 R^2	线性范围 Linear range(μg/mL)
马鞭草苷 Cornin	y=4 155.031 4x-6 064.046 8	0.999 8	4.639 ~ 463.932
5-羟基马鞭草苷 Hastatoside	y=4 329.280 3x-3 078.207 4	0.999 8	3.402 ~ 340.158
毛蕊花糖苷 Verbascoside	y=10.382x-1 038.220	0.999 8	2.901 ~ 290.110

2.4.1.5　加样回收率考察

取已测定含量马鞭草(S1)饮片粉末约 0.5 g,精密称定,平行 3 组,每组 3 份,分别按 1∶0.5、1∶1、1∶1.5 加入 5-羟基马鞭草苷、马鞭草苷、毛蕊花糖苷对照品;按照“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件进样测定,计算加样回收率,3 种成分平均加样回收率在 94.4% ~ 102.04% 范围内。RSD 均小于 3.0%,均符合 2020 年版《中国药典》四部通则9101 的规定。表明该测定方法准确度良好。

2.4.2　一测多评法建立

2.4.2.1　相对校正因子计算

因毛蕊花糖苷含量相对较高,且其对照品较易获得,本研究以毛蕊花糖苷为内参物(s)与其他待测成分为(i)的相对校正因子的计算公示为

$$\mathrm{RCF}=\frac{f_s}{f_i}=\frac{A_s/C_s}{A_iC_i} \qquad (1)$$

其中,RCF 代表相对校正因子、s 代表内参物、i 代表其他待测成分、A 为峰面积、C 为相应对照品浓度。

2.4.2.2　耐用性考察

利用相对保留时间法,以毛蕊花糖苷峰为参照峰,计算 5-羟基马鞭草苷、马鞭草苷的相对保留时间 $r_{is}=t_{Ri}/t_{Rs}$(式中,t_{Rs} 为参照峰的保留时间,t_{Ri} 为待测成分的保留时间)。对各色谱峰进行定位。精密吸取“2.4.1.1”项下样品溶液,分别考察不同柱温(33、35、37 ℃)、流速(0.28、0.30、0.32 mL/min)、色谱柱(YMC Triart、Waters HSS T3)、色谱仪(Waters H-Class、Thermo Vanquish)对相对保留时间的影响(见表 6),RSD 小于 2%。

2.4.2.3　相对校正因子重现性考察

分别对柱温(33、35、37 ℃)、流速(0.28、0.30、0.32 mL/min)、色谱柱(YMC Triart、Waters HSS T3)、色谱仪(Waters H-Class、Thermo Vanquish)进行耐用性考察,取“2.4.1.1”项下样品,按“2.1”项下色谱条件进样测定,计算 5-羟基马鞭草苷、马鞭草

天然产物研究与开发

表 6 耐用性考察(相对保留时间)

Table 6 Durability investigation(relative retention time)

考察项目 Inspection item	考察条件 Examining condition	5-羟基马鞭草苷 Hastatoside	马鞭草苷 Cornin
色谱柱 Chromatographic column	YMC Triart C_{18}	0.339	0.410
	Waters HSS T3	0.341	0.419
色谱仪 Chromatograph	Waters H-Class	0.342	0.419
	Thermo Vanquish	0.348	0.427
柱温 Column temperature(℃)	33	0.342	0.420
	35	0.341	0.419
	37	0.34	0.418
流速 Flow rate(mL/min)	0.28	0.352	0.431
	0.3	0.341	0.419
	0.32	0.331	0.408
均值 Mean	0.34	0.42	–
RSD(%)	1.61	1.61	–

苷的相对校正因子(见表 7),RSD 小于 2%。

2.4.2.4 样品测定

取 18 批马鞭草饮片样品,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,平行两份,按照“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以毛蕊花糖苷为参照物,按照一测多评法计算 5-羟基马鞭草苷、马鞭草苷的含量。并与外标法测定结果(毛蕊花糖苷除外)进行比较,计算相对误差 RE = (WQAMS-WESM)/WESM × 100%(式中,除 WESM 为外标法测得的成分含量,WQAMS 为一测多评法测得的成分含量)[12]。结果显示,18 批样品两种方法测定结果的 RE% 均小于 3% 范围内,表明两者无明显差异(见表 8),所建立的一测多评法可以用于马鞭草质量评价研究。

表 7 不同条件对相对校正因子的影响

Table 7 Effects of different conditions on relative correction factors (RCF)

考察项目 Inspection item	考察条件 Examining condition	RCF(A/B)	RCF(A/C)
色谱柱 Chromatographic column	YMC Triart C_{18}	0.991	1.044
	Waters HSS T3	0.989	1.049
色谱仪 Chromatograph	Waters H-Class	0.989	1.049
	Thermo Vanquish	0.994	1.052
柱温 Column temperature(℃)	33	0.985	1.049
	35	0.989	1.049
	37	0.989	1.049
流速 Flow rate(mL/min)	0.28	0.99	1.048
	0.3	0.989	1.049
	0.32	0.989	1.051
均值 Mean	–	0.99	1.05
RSD(%)	–	0.16	0.20

表 8　各成分含量测定结果

Table 8　Results of content determination of various constituents

编号 No.	毛蕊花糖苷 Verbascoside (mg/g)	5-羟基马鞭草苷 Hastatoside			马鞭草苷 Cornin		
		WESM (mg/g)	WQAMS (mg/g)	RE(%)	WESM (mg/g)	WQAMS (mg/g)	RE(%)
S1	5.11	1.926	1.913	-0.7	1.123	1.147	2.14
S2	5.359	5.61	5.736	2.2	3.079	3.097	0.58
S3	6.522	4.76	4.727	-0.7	8.665	8.856	2.20
S4	2.208	3.32	3.394	2.2	1.258	1.226	-2.54
S5	6.737	6.837	6.791	-0.7	7.192	7.351	2.21
S6	3.185	12.229	12.146	-0.7	12.382	12.655	2.20
S7	14.154	6.836	6.79	-0.7	13.066	13.354	2.20
S8	8.366	10.845	10.77	-0.7	12.624	12.901	2.19
S9	1.38	9.387	9.326	-0.6	5.213	5.33	2.24
S10	4.127	9.215	9.153	-0.7	15.162	15.497	2.21
S11	2.806	10.3	10.231	0.7	7.997	8.174	2.21
S12	1.625	9.891	9.824	-0.7	4.074	4.164	2.21
S13	5.093	9.915	9.847	-0.7	21.02	21.483	2.20
S14	13.658	8.087	8.158	0.88	16.739	16.566	-1.03
S15	9.245	10.22	10.067	-1.50	21.049	21.519	2.23
S16	4.338	5.435	5.486	0.94	6.107	6.193	1.41
S17	4.188	6.879	6.849	-0.44	6.258	6.254	-0.06
S18	9.174	8.999	9.045	0.51	7.798	7.717	-1.04

2.5　标准汤剂量值传递研究

2.5.1　马鞭草标准汤剂制备

按《中药配方颗粒质量控制与标准制定技术要求》制备 18 批马鞭草标准汤剂,取马鞭草饮片各 100 g,煎煮 2 次,一煎加水 12 倍,浸泡 30 min,武火煮沸,文火保持微沸 30 min,用 350 目筛网趁热过滤;二煎加水 10 倍,武火煮沸,文火保持微沸 25 min,用 350 目筛网趁热过滤;合并 2 次煎液,65 ℃真空减压浓缩至 100 mL,冷冻干燥即得。

2.5.2　马鞭草标准汤剂含量、出膏率测定及转移率计算

马鞭草标准汤剂批号对应饮片批号分别为 B1 ~B18,计算出膏率(出膏率 = 冻干粉重量/饮片重量 ×100%),18 批马鞭草标准汤剂出膏率波动范围为 10.94% ~22.25%,平均出膏率为 16.68%;测定毛蕊花糖苷、5-羟基马鞭草苷、马鞭草苷含量,并计算转移率(外标法)[13](见表 9)。毛蕊花糖苷转移率的波动范围为 7.9% ~36.3%;5-羟基马鞭草苷转移率的波动范围为 35.0% ~113.4%;马鞭草苷转移率的波动范围为 52.1% ~109.2%。

3　讨论与结论

马鞭草样品特征图谱等度洗脱无法实现基线分离,故采用梯度洗脱,在前期预实验中,本研究对比了甲醇-水、乙腈-水、乙腈-0.1% 磷酸溶液、乙腈-0.05% 磷酸溶液等流动相,最终选定乙腈-0.05% 磷酸溶液为流动相,在上述色谱条件下,色谱峰分离度、理论板数及峰型等参数均较好。本研究借助单因素实验系统考察了提取溶剂、提取方法及时间、料液比对提取效率的影响,结果显示,当提取溶剂为 80% 甲醇、料液比为 1∶50(g/mL)、回流提取 120 分钟时,提取效率最高,故以上述方法为马鞭草饮片的提取方法。

中药多指标成分整体质量控制已成为中药质量控制必然发展趋势[14],特征/指纹图谱是一种有效

天然产物研究与开发

表 9 马鞭草标准汤剂出膏率、含量及转移率

Table 9 Dry extract rate, content and transfer rate of Verbenae Herba standard decoction

编号 No.	标准汤剂含量 Standard decoction content(mg/g)			出膏率 Dry extract rate (%)	标准汤剂转移率 Standard decoction transfer rate(%)		
	毛蕊花糖苷 Verbascoside	5-羟基马鞭草苷 Hastatoside	马鞭草苷 Cornin		毛蕊花糖苷 Verbascoside	5-羟基马鞭草苷 Hastatoside	马鞭草苷 Cornin
B1	5.34	17.36	7.94	10.94	11.4	98.6	77.4
B2	5.75	27.88	18.32	12.33	13.2	61.3	73.4
B3	8.92	21.21	33.61	16.19	22.1	72.1	62.8
B4	2.26	17.77	7.76	11.34	11.6	60.7	70.0
B5	12.41	33.56	34.19	13.3	24.5	65.3	63.2
B6	4.08	33.93	44.37	20.95	26.9	58.1	75.1
B7	9.42	28.37	49.47	18.5	12.3	76.8	70.0
B8	7.59	38.89	39.99	18.29	16.6	65.6	57.9
B9	1.15	43.47	20.54	16.97	14.1	78.6	66.9
B10	2.36	37.67	62.28	22.25	12.7	91.0	91.4
B11	5.29	30.17	39.10	19.25	36.3	56.4	94.1
B12	1.73	22.70	29.17	15.25	16.2	35.0	109.2
B13	2.56	43.39	72.85	21.78	10.9	95.3	75.5
B14	6.05	51.34	48.77	17.87	7.9	113.4	52.1
B15	9.88	39.26	69.56	18.71	20.0	71.9	61.8
B16	7.74	27.13	35.01	15.97	28.5	79.7	91.6
B17	7.82	32.26	28.32	14.34	26.8	67.3	64.9
B18	15.44	38.99	48.21	15.94	26.8	69.1	98.6

的质量评价方法,将其与一测多评分析方法相结合可实现质量评价的整体性和准确性。本研究建立了马鞭草饮片 UPLC 特征图谱,确定了 5 个特征共有峰并指认了其中 3 个成分,分析时间比 HPLC 有明显缩短,且色谱条件可用于 5-羟基马鞭草苷、马鞭草苷及毛蕊花糖苷含量测定。对特征峰峰面积进行主成分分析,该主成分综合评价模型进一步完善了马鞭草质量评价分析方法。

2020 年《中国药典》中马鞭草的含量测定指标为齐墩果酸和熊果酸总量,均为三萜类化合物,极性小,水溶性较低,前期实验研究结果显示,马鞭草标准汤剂中齐墩果酸和熊果酸的总含量低于 2.0 mg/g,转移率低于 6%。因此,基于特征图谱,建立了 5-羟基马鞭草苷、马鞭草苷及毛蕊花糖苷 3 种成分含量一测多评测定方法。马鞭草的极性成分以环烯醚萜类物质为主,其中马鞭草苷和 5-羟基马鞭草苷为含量最高的主要成分,标准汤剂转移率较高。部分批次转移率超 100%,而 5-羟基马鞭草苷、马鞭草苷总量的总转移范围在 56.6% ~91.2%。可能原因为同类成分在加热煎煮等过程中发生结构转化。18 批马鞭草标准汤剂中毛蕊花糖苷、5-羟基马鞭草苷和马鞭草苷含量和转移率批间存在差异,可能与饮片含量、饮片的质地有关,部分饮片颜色较浅,存放时间较久,炮制时,碎屑较多,可能是导致其含量和转移率波动较大的原因。所选的 3 种成分在马鞭草中含量较高,在抗氧化、保肝、保护神经、保护心脏及脑缺血、抗炎等方面具有较好的药理活性,是马鞭草发挥药效的主要物质基础之一。

一测多评法测定结果与外标法测定结果无明显差异,可用于马鞭草中多种成分定量分析。UPLC 特征图谱结合多指标成分一测多评定量分析法可为马鞭草及马鞭草中药制剂工艺研究和质量评价提供参考

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,2020:53-54.

2 Wang H,Ren F,Duan KF,et al. Simultaneous determination of five glycosides in *Verbena officinalis* L. by HPLC-MS/MS [J]. Mode J Integr Tradit Chin West Med(现代中西医结合杂志),2015,24:235-237.

3 Tian J,Zhao YM,Luan XH. chemical constituents of *Verbena officinalis* L.(Ⅱ)[J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发),2007,19:247-249.

4 Yang ZB. Head-space extraction-GC/MS determination of chemical components of volatile oil from *Verbena*[J]. Physl Test Chem Anal(Part B:Chem Anal)(理化检验-化学分册),2008,44:514-516.

5 Xu W,Xin F,Liu M,et al. Isolation and identification of iridoid glycosides from *Verbena officinalis*[J]. J Shenyang Pharm Univ(沈阳药科大学学报),2010,27:793-796.

6 Wang MY,Jia MR,Overview of medicinal *Verbena* in 25 nationalities[J]. Chin J Ethnic Med(中国民族医药杂志),2002,8:20-21.

7 Duan KF. Studies on quality control and pharmacokinetics of traditional chinese medicine *Verbena officinalis* L.[D]. Shijiazhuang:Hebei Medical University(河北医科大学),2010.

8 Lan TC,Li SC. Advances in modern pharmacology and bioactivities of cornin[J]. J Binzhou Med Univ(滨州医学院学报),2020,43:144-148.

9 Ma JH. Modern research progress of verbena glycosides[J]. Asia-Pac Tradit Med(亚太传统医药),2017,13:69-71.

10 Dong L,Lv N. Research progress on anti-inflammatory effect of Chinese herb *Verbena*[J]. Technol Econ Guide(科技经济导刊),2020,28:101-102.

11 Chen SL,Liu XC,Zhang TJ,et al. Ideas and suggestions on CMM decoction inheritance based on CMM quality markers and traditional usage[J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药),2019,50:4519-4528.

12 Wang LL,Cui QY,Zhang SZ,et al Determination of four iridoids in *Morinda officinalis* How. from different producing areas by quantitative analysis of multi-components via single marker method[J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发),2021,33:784-790.

13 Dai Y,Shi K,Dou ZH,et al. Study on law of quality value transmitting of Rhei Radix et Rhizoma standard decoction [J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药),2021,52:2938-2950.

14 Ma SC,Wang Y,Wei F. Ideas on future development direction of quality control of traditional Chinese medicine[J]. Chin Pharm J(中国药学杂志),2021,56:1273-1281.

(上接第 1430 页)

16 Zhang M,Lian B,Zhang R,et al. Emodin ameliorates intestinal dysfunction by maintaining intestinal barrier integrity and modulating the microbiota in septic mice[J]. Mediators Inflamm,2022,2022:5026103.

17 Liu FJ,Gu TJ,Wei DY. Emodin alleviates sepsis-mediated lung injury via inhibition and reduction of NF-κB and HMGB1 pathways mediated by SIRT1[J]. Kaohsiung J Med Sci,2022,38:253-260.

18 Dong Y,Zhang L,Jiang Y,et al. Emodin reactivated autophagy and alleviated inflammatory lung injury in mice with lethal endotoxemia[J]. Exp Anim,2019,68:559-568.

19 Guo R,Li Y,Han M,et al. Emodin attenuates acute lung injury in cecal-ligation and puncture rats[J]. Int Immunopharmacol,2020,85:106626.

20 Zhou Q,Xiang H,Liu H,et al. Emodin alleviates intestinal barrier dysfunction by inhibiting apoptosis and regulating the immune response in severe acute pancreatitis[J]. Pancreas,2021,50:1202-1211.

天然产物研究与开发