

基于UPLC指纹图谱和多指标成分定量的罗汉果标准汤剂质量评价



张芳平^{1,2}, 位翠杰^{1,2}, 刘晓霞^{1,2}, 谢文凯^{1,2}, 陈媛媛^{1,2}, 段志文^{1,2}, 冯涌微^{1,2}, 何民友^{1,2}, 陈柔珊^{1,2}, 孙冬梅^{1,2}, 周 林^{1,2}, 李振雨^{1,2}

1. 广东一方制药有限公司 (广东佛山 528244)
2. 广东省中药配方颗粒企业重点实验室 (广东佛山 528244)

【摘要】目的 建立罗汉果标准汤剂超高效液相色谱 (UPLC) 指纹图谱及多指标含量测定方法。**方法** 收集 15 批不同产地的罗汉果药材, 根据《中药配方颗粒质量控制与标准制定技术要求》制备罗汉果标准汤剂, 计算出膏率; 采用 UPLC 法建立 15 批罗汉果标准汤剂的指纹图谱并测定主要效用成分 11-O- 罗汉果皂苷 V、罗汉果皂苷 V 及山柰苷的含量。利用化学计量学分析评价罗汉果标准汤剂的质量并寻找可能的质量标志物。**结果** 15 批罗汉果标准汤剂的出膏率范围为 24.79%~34.95%, 指纹图谱共呈现 16 个共有峰, 指出其中 4 个成分; 化学计量学分析将罗汉果标准汤剂分为两类, 其中广西柳州样品为一类, 广西桂林样品为一类, 共筛选出 7 个差异性标志物, 按变量重要性投影排序, 峰 8>峰 7>峰 5>峰 12 (山柰苷)>峰 1>峰 13>峰 4; 广西桂林样品山柰苷、11-O- 罗汉果皂苷 V、罗汉果皂苷 V 指标成分含量略高于广西柳州样品。**结论** 本研究建立的 UPLC 指纹图谱方法和含量测定方法可行, 可为罗汉果标准汤剂质量评价提供依据, 结合化学计量学, 说明山柰苷很可能成为罗汉果的质量标志物。

【关键词】 罗汉果; 标准汤剂; 超高效液相色谱; 指纹图谱; 含量测定; 质量标志物; 山柰苷; 化学计量学; 质量评价

【中图分类号】 R284.1 **【文献标识码】** A

Quality evaluation of Siraitiae fructus standard decoction based on UPLC fingerprint and multi-index determination

ZHANG Fangping^{1,2}, WEI Cuijie^{1,2}, LIU Xiaoxia^{1,2}, XIE Wenkai^{1,2}, CHEN Yuanyuan^{1,2}, DUAN Zhiwen^{1,2}, FENG Yongwei^{1,2}, HE Minyou^{1,2}, CHEN Roushan^{1,2}, SUN Dongmei^{1,2}, ZHOU Lin^{1,2}, LI Zhenyu^{1,2}

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

Corresponding author: LI Zhenyu, Email: lzy1083656123@126.com

【Abstract】Objective To establish an ultra-high performance liquid chromatography

DOI: 10.12173/j.issn.2097-4922.202406102

基金项目: 产业技术基础公共服务平台项目 (2022-230-221); 佛山市南海区重点领域科技攻关项目 (南科 [2023] 20 号-18)

通信作者: 李振雨, 硕士, 副主任中药师, Email: lzy1083656123@126.com

<https://yxqy.whuzhmedj.com>

(UPLC) fingerprint and multi-index content determination method of *Siraitiae fructus* standard decoction. **Methods** 15 batches of *Siraitiae fructus* from different producing areas were collected, *Siraitiae fructus* standard decoction was prepared according to *Technical Requirements for Quality Control and Standardization of Traditional Chinese Medicine Formula Granules*, and the extract rate was calculated. UPLC was used to establish the fingerprint of 15 batches of *Siraitiae fructus* standard decoction and determine the contents of 11-*O*-mogroside V, kaempferitrin and mogroside V, which were the main effective components. The chemometrics analysis was used to evaluate the quality of *Siraitiae fructus* standard decoction and find possible quality markers. **Results** The extraction rate of 15 batches *Siraitiae fructus* standard decoction ranged from 24.79% to 34.95%. There were 16 common peaks in the fingerprint, and 4 components were identified. The *Siraitiae fructus* standard decoction was divided into 2 categories by chemometrics analysis, among which samples from Liuzhou, Guangxi were in one category and samples from Guilin, Guangxi were in another category. Seven differential markers were screened out under the condition of variable importance projection value, and the order was as follows: peak 8>peak 7>peak 5>peak 12 (kaempferitrin)>peak 1>peak 13>peak 4. The contents of kaempferitrin, 11-*O*-mogroside V and mogroside V in samples from Guilin, Guangxi were slightly higher than those in samples from Liuzhou, Guangxi. **Conclusion** The UPLC fingerprint and content determination method established in this study are feasible, which can provide a basis for the quality evaluation of *Siraitiae fructus*. The results of principal component analysis show that kaempferol is likely to become a quality marker of *Siraitiae fructus*.

【Keywords】 *Siraitiae fructus*; Standard decoction; Ultra performance liquid chromatography; Fingerprint; Content determination; Quality markers; Kaempferol; Chemometrics; Quality evaluation

罗汉果为葫芦科植物罗汉果 *S. grosvenorii* (Swingle) C. Jeffrey ex Lu et Z. Y. Zhang 的干燥果实, 性凉、味甘, 归肺、大肠经, 有清热润肺、利咽开音、滑肠通便功效^[1]。罗汉果是广西的道地药材之一, 主产于广西桂林市等地。现代药理研究表明, 罗汉果含有葫芦烷型四环三萜类^[2]、黄酮类^[3]、多糖类^[4]、蛋白质及氨基酸类^[5]等活性成分, 有抗菌、抗炎、抗氧化等作用, 可用于治疗肿瘤、肝脏疾病, 具有丰富的营养价值与药用价值^[6-8]。

《中药配方颗粒质量控制与标准制定技术要求》提出标准汤剂的概念, 即标准汤剂是选取有代表性的合格原料模仿传统方法规范制备而成的汤剂或汤剂冻干粉。因此, 通过标准汤剂的桥接作用, 能有效控制中药配方颗粒产品质量, 确保临床用药安全^[9]。因此, 本研究通过建立罗汉果标准汤剂的指纹图谱并结合多指标成分含量测定, 为罗汉果标准汤剂的质量评价提供依据, 同时, 利用化学计量学分析寻找罗汉果可能的质量标志物。

1 材料

1.1 主要仪器

H-class 型 Waters 高效液相色谱仪 (美国沃特世公司); ME204E 型电子天平 (精度: 0.1 mg) 和 XRP 26 型电子天平 (精度: 0.001 mg) 购自瑞士梅特勒-托利多公司; JJ3000B 型电子天平 (精度: 10 mg, 常熟市双杰测试仪器厂); YRE-501 型旋转蒸发器 (巩义市予华仪器有限公司); TRL-0.5 型真空冷冻干燥机 (大连双瑞科技有限公司)。

1.2 主要药品与试剂

对照品罗汉果皂苷 V (批号: 111754-201703, 纯度 94.0%) 和对照品 5-羟甲基糠醛 (批号: 111626-202215, 纯度 99.5%) 购自中国食品药品检定研究院; 山柰苷 (成都普菲德生物技术有限公司, 批号: 20110503, 纯度 99.63%) 和 11-*O*-罗汉果皂苷 V (成都乐美天生物技术有限公司, 批号: DST200903-032, 纯度 99.39%);

乙腈和磷酸为色谱纯，乙醇和甲醇为分析纯，水为超纯水。

本研究所采用的15批罗汉果 *Siraitia grOsvenOrii* (Swingle) C. Jeffrey ex A. M. Lu et Z. Y. Zhang 经广东一方制药有限公司孙冬梅主任中药师鉴定，均为葫芦科罗汉果的干燥果实，LHG01~LHG05 (编号: L1~L5) 产地为广西柳州，LHG06~LHG15 (编号: L6~L15) 产地为广西桂林。

2 方法与结果

2.1 罗汉果标准汤剂的制备

取罗汉果药材，按照《中国药典(2020年版)》一部罗汉果项下炮制规定^[1]，及四部通则 0213^[10]制成罗汉果饮片。具体炮制方法：取罗汉果原药材，拣去杂质；掰成小块，共制得罗汉果饮片 15 批。

参考《医疗机构中药煎药室管理规范》^[11]和《中药配方颗粒质量控制与标准制定技术要求》^[12]的相关要求制备罗汉果标准汤剂。具体方法：取罗汉果饮片 100 g，加水煎煮两次，第 1 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，用 200 目筛趁热过滤，滤液迅速用冷水冷却；第 2 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，滤液迅速用冷水冷却；合并两次滤液，减压浓缩至 200 mL，分装至西林瓶中，每瓶分装 2 mL，真空冷冻干燥，取出，轧铝盖，即得。

2.2 标准汤剂出膏率的测定

罗汉果标准汤剂的出膏率含量以冻干粉量计，标准汤剂的出膏率 (%) = 冻干粉重量 / 制备标准汤剂所用的饮片重量 × 100%。15 批标准汤剂的出膏率测定结果见表 1，出膏率范围为 24.79%~34.95%。

表1 15批罗汉果标准汤剂的出膏率

Table 1. The extraction rate of 15 batches of *Siraitiae fructus* standard decoction

批号	出膏率 (%)	批号	出膏率 (%)
LHG01	29.35	LHG09	29.40
LHG02	29.29	LHG10	31.00
LHG03	29.33	LHG11	34.95
LHG04	27.30	LHG12	32.95
LHG05	24.79	LHG13	30.22
LHG06	29.99	LHG14	30.64
LHG07	33.35	LHG15	26.33
LHG08	28.96		

2.3 指纹图谱的建立

2.3.1 色谱条件

采用 Waters Cortecs T3 色谱柱 (100 mm × 2.1 mm, 1.6 μm)，以乙腈 (A) -0.1% 磷酸溶液 (B) 为流动相进行梯度洗脱 (0~6 min, 2%~7% A; 6~17 min, 7%~15% A; 17~19 min, 15%~19% A; 19~28 min, 19%~22% A; 28~35 min, 22%~27% A; 35~40 min, 27%~90% A)；流速为 0.30 mL/min；检测波长为 300 nm (0~25 min) 和 203 nm (25.1~40 min)；柱温为 43 °C；进样量为 1 μL。

2.3.2 混合对照品溶液的制备

精密称定 5-羟甲基糠醛、山柰苷、11-O-罗汉果皂苷 V、罗汉果皂苷 V 适量，置于 25 mL 棕色量瓶中，加甲醇制成每 5-羟甲基糠醛、山柰苷、11-O-罗汉果皂苷 V、罗汉果皂苷 V 浓度分别为 51.614、22.914、31.656、52.230 μg/mL 的混合对照品溶液。

2.3.3 供试品溶液的制备

取罗汉果标准汤剂适量，研细，约 0.5 g，精密称定，置具塞锥形瓶中，精密加入甲醇 50 mL，称定重量，超声处理 (功率: 500 W, 频率: 40 kHz) 45 min，放冷，再称定重量，用甲醇补足减失的重量，摇匀，滤过，取续滤液，即得。

2.3.4 精密度试验

取罗汉果标准汤剂冻干粉 (编号: L4)，按“2.3.3”项下方法制备供试品溶液，再按“2.3.1”项下色谱条件连续进样 6 次，以峰 15 罗汉果皂苷 V 为参照 (S) 峰，计算得峰 1~峰 16 与 S 峰相对保留时间的 RSD 范围为 0.02%~0.18% (n=6)，相对峰面积的 RSD 范围为 0.32%~1.84% (n=6)，均小于 3.00%，表明该仪器精密度良好。

2.3.5 重复性试验

取罗汉果标准汤剂冻干粉 (编号: L4)，约 0.5 g，平行 6 份，按“2.3.3”项下方法制备供试品溶液，再按“2.3.1”项下色谱条件进样测定，以峰 15 罗汉果皂苷 V 为 S 峰，计算得峰 1~峰 16 与 S 峰相对保留时间的 RSD 范围为 0.02%~0.28% (n=6)，相对峰面积的 RSD 范围为 0.88%~2.39% (n=6)，均小于 3.00%，表明该方法重复性良好。

2.3.6 稳定性试验

取罗汉果标准汤剂供试品溶液 (编号: L4)，按“2.3.3”项下方法制备供试品溶液，再

按“2.3.1”项下色谱条件分别在0、2、4、6、8、13、24 h进样测定,以峰15罗汉果皂苷V为S峰,计算得峰1~峰16与S峰相对保留时间的RSD范围为0.05%~0.18% ($n=7$),相对峰面积的RSD范围为0.56~2.15% ($n=7$),均小于3.00%,表明供试品溶液在24 h内稳定性良好。

2.3.7 共有峰的确定及相似度评价

按照已建立的指纹图谱方法对15批罗汉果标准汤剂依次进行测定,记录色谱图,分别将罗汉果样品指纹图谱导入中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2014版)进行处理,以L1为参照指纹图谱,进行多点校正和峰匹配,同时生成对照指纹图谱,15批罗汉果标准汤剂指纹图谱叠加图见图1,对照指纹图谱见图2。分别计算各批样品指纹图谱和对照指纹图谱的相似度,结果见表2。15批罗汉果标准汤剂指纹图谱相似度均大于0.900,表明指纹图谱能作为共性特征用于罗汉果标准汤剂的质量控制。采用对照品比对结合紫外-可见光3D光谱分

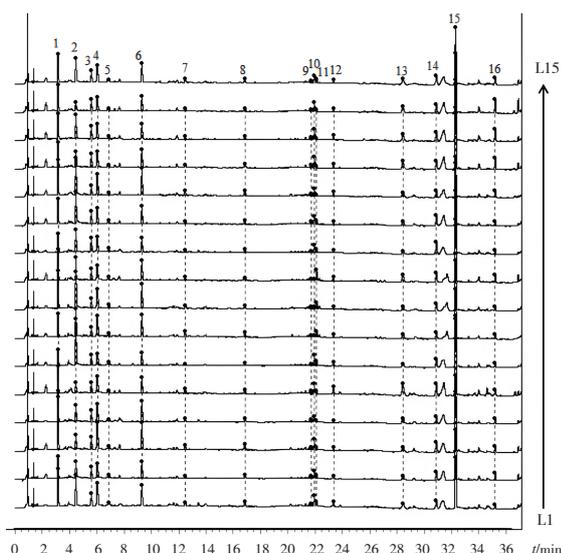


图1 15批罗汉果标准汤剂指纹图谱叠加图

Figure 1. Fingerprint overlay diagram of 15 batches of Siraitiae fructus standard decoction

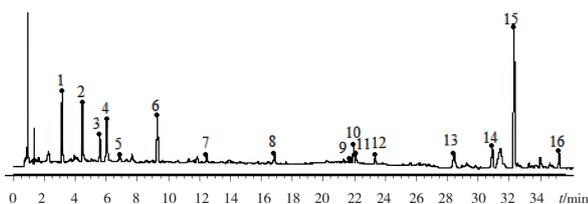


图2 罗汉果标准汤剂对照指纹图谱

Figure 2. Reference fingerprint of Siraitiae fructus standard decoction

表2 15批罗汉果标准汤剂相似度结果

Table 2. Similarity results of 15 batches of Siraitiae fructus standard decoction

序号	相似度	序号	相似度
L1	0.997	L9	0.964
L2	0.943	L10	0.970
L3	0.941	L11	0.955
L4	0.985	L12	0.986
L5	0.973	L13	0.954
L6	0.985	L14	0.986
L7	0.968	L15	0.992
L8	0.990	对照指纹图谱	1.000

析对共有峰进行指认,结果见图3。15批罗汉果标准汤剂指纹图谱共有16个共有峰,峰2为5-羟甲基糠醛,峰12为山柰苷,峰14为11-O-罗汉果皂苷V,峰15为罗汉果皂苷V。

2.4 基于罗汉果标准汤剂的化学计量学分析

2.4.1 主成分分析

采用SIMCA 14.1软件,以15批罗汉果标准汤剂16个共有峰的峰面积为变量进行主成分分析(principal component analysis, PCA),建立罗汉果标准汤剂指纹图谱PCA得分图,见图4。

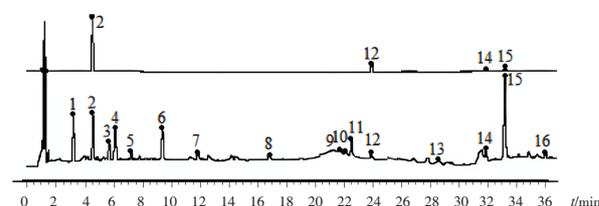


图3 罗汉果标准汤剂共有色谱峰指认

Figure 3. Identification of common chromatographic peaks in Siraitiae fructus standard decoction

注:峰2:5-羟甲基糠醛;峰12:山柰苷;峰14:11-O-罗汉果皂苷V;峰15:罗汉果皂苷V。

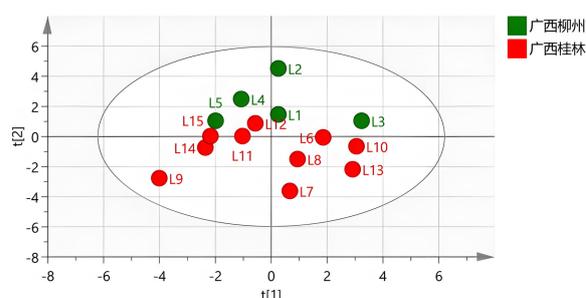


图4 15批罗汉果标准汤剂PCA得分图

Figure 4. PCA score chart of 15 batches of Siraitiae fructus standard decoction

15 批标准汤剂基本分为两类，其中广西柳州样品为一类 (L1~L5)，广西桂林样品 (L6~L15) 为另一类，其中 L12 数据异常可能与罗汉果饮片炮制及标准汤剂煎煮过程相关。

2.4.2 正交偏最小二乘-判别分析

采用 SIMCA 14.1 软件，以罗汉果标准汤剂 16 个共有峰的峰面积为变量进行正交偏最小二乘-判别分析 (orthogonal partial least squares-discriminant analysis, OPLS-DA)，结果模型 $R^2X=0.456$ ， $R^2Y=0.826$ ， $Q^2=0.523$ ，其中 $Q^2 > 0.5$ 表明模型有效 (R^2X 和 R^2Y 分别表示所建模型对 X 和 Y 矩阵的解释率， Q^2 表示模型的预测能力)，15 批罗汉果标准汤剂 OPLS-DA 得分图见图 5。以变量重要性投影 (variable importance in projection, VIP) > 1.0 为条件对差异成分进行筛选，共得到 7 个差异标志物，按 VIP 值排序为峰 8 > 峰 7 > 峰 5 > 峰 12 (山柰苷) > 峰 1 > 峰 13 > 峰 4，见图 6。

2.5 含量测定

2.5.1 线性关系考察

取山柰苷、11-*O*-罗汉果皂苷 V 和罗汉果皂苷 V 对照品适量，加甲醇制成每毫升含山柰苷 80.494 μg 、11-*O*-罗汉果皂苷 V 1 001.25 μg 、罗汉果皂苷 V 2 832.22 μg 的混合对照品母液。分别精密量取混合对照品母液 5、3、2、1.5、1、0.5 mL，转移至 10 mL 量瓶中，加甲醇定容至刻度，摇匀，即得系列混合对照品溶液。分别取上述对照品溶液，按“2.3.1”项下色谱条件进样，记录色谱峰

面积，以峰面积为纵坐标 (Y)、对照品浓度为横坐标 (X , $\mu\text{g/mL}$) 绘制标准曲线，结果见表 3。山柰苷、11-*O*-罗汉果皂苷 V 和罗汉果皂苷 V 的相关系数均大于 0.999 0，表明峰面积与对照品浓度在相应范围内线性关系良好。

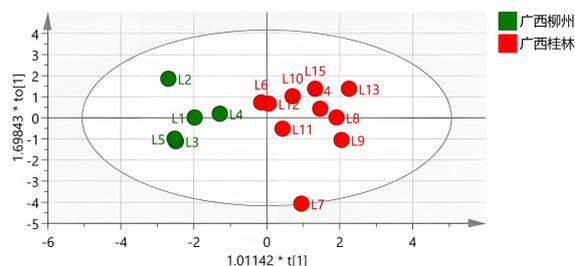


图5 15批罗汉果标准汤剂的OPLS-DA得分图
Figure 5. OPLS-DA score plot of 15 batches of Siraitiae fructus standard decoction

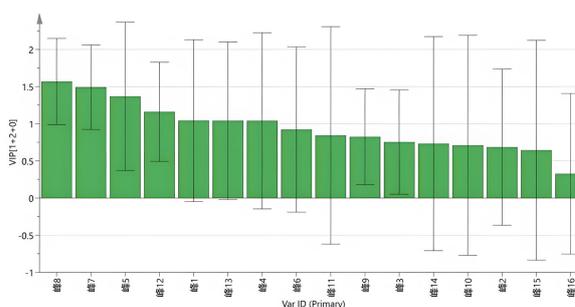


图6 15批罗汉果标准汤剂指纹图谱共有峰VIP图
Figure 6. VIP diagram of common peaks in fingerprints of 15 batches of Siraitiae fructus standard decoction

表3 罗汉果中3种成分线性关系考察结果

Table 3. The results of linear relationship of three components in Siraitiae fructus

指标成分	回归方程	r	线性范围 ($\mu\text{g/mL}$)
山柰苷	$Y=3\ 243.90X-668.12$	0.999 5	4.025~40.247
11- <i>O</i> -罗汉果皂苷V	$Y=586.64X+347.09$	0.999 9	50.063~500.625
罗汉果皂苷V	$Y=693.08X-2\ 149.90$	0.999 8	141.611~1 416.110

2.5.2 精密度试验

取“2.3.2”项下混合对照品溶液，按“2.3.1”项下色谱条件连续进样 6 次，记录山柰苷、11-*O*-罗汉果皂苷 V 和罗汉果皂苷 V 对照品峰面积，并计算得峰面积的 RSD 为 0.10%~1.23% ($n=6$)，均小于 3.00%，表明仪器精密度良好。

2.5.3 重复性试验

取罗汉果标准汤剂 0.5 g (编号: L4)，按“2.3.3”项下方法平行制备 6 份供试品溶液，

再按“2.3.1”项下色谱条件进样测定。结果显示，罗汉果标准汤剂中山柰苷、11-*O*-罗汉果皂苷 V 和罗汉果皂苷 V 的平均含量分别为 0.371、13.050、50.945 mg/g， RSD 为 0.18%~2.01% ($n=6$)，均小于 3.00%，表明该方法重复性良好。

2.5.4 稳定性试验

取罗汉果标准汤剂 0.5 g (编号: L4)，按“2.3.3”项下方法制备供试品溶液，分别于制备后 0、3、6、10、16、24 h，按“2.3.1”项下色

谱条件测定, 结果表明, 罗汉果标准汤剂中山柰苷、11-*O*-罗汉果皂苷 V 和罗汉果皂苷 V 峰面积的 *RSD* 为 0.26%~1.87% ($n=6$), 均小于 3.00%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.5.5 加样回收率试验

精密称取已知含量的罗汉果标准汤剂 0.25 g (编号: L4), 共 9 份, 分为 3 组, 每组平行 3 份, 按对照品与样品中待测成分含量比为 0.5:1、1:1、1.5:1 分别加入山柰苷、11-*O*-罗汉果皂苷 V 和罗汉果皂苷 V 对照品, 按“2.3.3”项下方法制备 9 份供试品溶液, 并按“2.3.1”项下色谱条件进样测定, 结果见表 4, 山柰苷、11-*O*-罗汉果皂苷 V 和罗汉果皂苷 V 回收率的 *RSD* 均小于 3.00%, 表明加样回收率良好。

2.5.6 样品测定

分别取 15 批罗汉果标准汤剂 0.5 g, 按“2.3.3”项下方法制备供试品溶液, 平行 2 份, 并按“2.3.1”项下色谱条件测定, 采用外标法计算山柰苷、11-*O*-罗汉果皂苷 V 和罗汉果皂苷 V 含量, 结果见表 5。广西柳州样品山柰苷含量 (0.391 mg/g) 略低于广西桂林样品 (0.536 mg/g), 11-*O*-罗汉果皂苷 V 含量 (9.962 mg/g) 略低于广西桂林样品 (10.198 mg/g), 罗汉果皂苷 V 含量 (44.135 mg/g) 略低于广西桂林样品 (46.055 mg/g), 结果表明广西柳州和广西桂林产地的罗汉果标准汤剂质量存在一定差异, 其中广西桂林标准汤剂 3 个指标成分含量略高于广西柳州样品。

表4 罗汉果标准汤剂中3种成分加样回收率试验结果 ($n=9$)

Table 4. Test results of recovery rates of three components in *Siraitiae fructus* standard decoction ($n=9$)

成分	取样量 (g)	测得量 (mg)	加入量 (mg)	已知量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	<i>RSD</i> (%)
山柰苷	0.251 0	0.138 5	0.046 3	0.092 9	98.56	96.58	2.56
	0.253 0	0.139 6	0.046 3	0.093 6	99.23		
	0.251 3	0.138 0	0.046 3	0.093 0	97.32		
	0.215 0	0.167 8	0.092 5	0.079 6	95.41		
	0.261 0	0.187 8	0.092 5	0.096 6	98.56		
	0.254 1	0.181 2	0.092 5	0.094 0	94.15		
	0.258 6	0.223 5	0.138 8	0.095 7	92.13		
	0.254 7	0.2263	0.138 8	0.094 3	95.14		
	0.256 1	0.231 7	0.138 8	0.094 8	98.70		
11- <i>O</i> -罗汉果皂苷V	0.251 0	4.834 8	1.631 0	3.275 0	95.63	94.63	1.39
	0.253 0	4.810 3	1.631 0	2.648 7	92.53		
	0.251 3	4.802 6	1.631 0	3.279 0	93.42		
	0.215 0	5.924 1	3.262 0	2.805 3	95.61		
	0.261 0	6.520 1	3.262 0	3.405 5	95.48		
	0.254 1	6.454 5	3.262 0	3.315 5	96.23		
	0.258 6	7.979 5	4.893 0	3.374 2	94.12		
	0.254 7	7.886 0	4.893 0	3.323 3	93.25		
	0.256 1	8.010 0	4.893 0	3.341 6	95.41		
罗汉果皂苷V	0.251 0	18.918 9	6.231 0	12.786 9	98.41	96.66	1.43
	0.253 0	18.856 9	6.231 0	12.888 8	95.78		
	0.251 3	18.798 3	6.231 0	12.802 2	96.23		
	0.215 0	22.975 1	12.462 0	10.953 0	96.47		
	0.261 0	25.031 8	12.462 0	13.296 4	94.17		
	0.254 1	25.138 9	12.462 0	12.944 9	97.85		
	0.258 6	31.577 4	18.693 0	13.174 1	98.45		
	0.254 7	31.004 8	18.693 0	12.975 4	96.45		
	0.256 1	31.020 1	18.693 0	13.046 8	96.15		

表5 15批罗汉果标准汤剂中3种成分含量测定结果 (mg/g, $n=2$)
Table 5. Content determination results of three components in 15 batches of Siraitiae fructus standard decoction (mg/g, $n=2$)

编号	山柰苷	11-O-罗汉果皂苷V	罗汉果皂苷V
L1	0.412	9.314	40.444
L2	0.448	8.875	41.542
L3	0.322	8.192	39.581
L4	0.370	13.048	50.944
L5	0.401	10.379	48.164
L6	0.346	7.451	38.166
L7	0.379	11.664	48.278
L8	0.800	9.083	41.105
L9	0.957	13.665	62.115
L10	0.345	7.779	39.254
L11	0.485	11.001	51.214
L12	0.456	11.778	49.558
L13	0.549	8.242	32.113
L14	0.483	10.539	48.984
L15	0.562	10.780	49.761
均值	0.488	10.119	45.415

3 讨论

3.1 罗汉果饮片炮制

饮片是标准汤剂制备的直接原料,而《中国药典(2020年版)》罗汉果药材项下无饮片项。因此,根据《中国药典(2020年版)》四部饮片炮制通则的要求,除去杂质即可,另外,根据《中药配方颗粒质量控制与标准制定技术要求》中“研究表征标准汤剂用汤剂的制备”项下建议“逢壳必捣,逢籽必破”的传统用药习惯,将罗汉果药材用时破壳处理得罗汉果饮片^[12]。

3.2 罗汉果标准汤剂制备

标准汤剂是选取有代表性的合格原料模仿传统方法规范制备而成的汤剂或汤剂冻干粉,标准汤剂的质量直接影响中药配方颗粒的质量。基于此,本课题组以特征图谱总峰面积和罗汉果皂苷V含量为评价指标,对煎煮器具、罗汉果饮片用量、捣碎程度考察、加水量、浸泡时间、煎煮时间、固液分离条件进行了单因素考察,最终确定了罗汉果标准汤剂的制备方法。

3.3 特征图谱

本研究利用UPLC建立了15批标准汤剂的特征图谱,结果表明,其特征图谱共呈现16个共有峰,其相似度 >0.900 ,表明来自广西产地罗汉果原料制备的15批标准汤剂质量较为一致。

3.4 化学计量学分析

本研究利用PCA罗汉果标准汤剂的质量,结果表明,广西柳州样品聚为一类,广西桂林产地样品聚为一类,表现出产地相关性,以VIP >1 为筛选条件,筛选出峰8、峰7、峰5、峰12(山柰苷)、峰1、峰13、峰4共7个活性成分。山柰苷是一种具有降糖作用的强效抗氧化剂,有多种药理作用^[13-15],其水解后可得到黄酮类原型成分山柰酚,山柰酚又称为百蕊草素,在多种中药内广泛存在,具有抗过敏、抗肿瘤、镇痛、抗氧化、抗焦虑等多种药理作用^[16],该结果表明山柰苷很可能成为控制罗汉果质量的质量标志物。

3.5 多指标成分含量测定

罗汉果富含多种效用成分,多指标成分含量测定对中药的质量控制有着重要的意义,结合前期罗汉果药材研究结果^[17]及PCA分析结果共选择山柰苷、11-O-罗汉果皂苷V、罗汉果皂苷V作为罗汉果标准汤剂的含量测定指标。结果表明,广西柳州与广西桂林罗汉果标准汤剂质量存在一定差异,广西桂林标准汤剂山柰苷、11-O-罗汉果皂苷V、罗汉果皂苷V指标成分含量略高于广西柳州样品,该结果表明,广西桂林药材质量略优于广西柳州药材,可能与产地地理因素及加工方式有关,具体原因有待进一步研究。

综上所述,罗汉果作为首批药食两用的中草

药, 制成配方颗粒剂型是必然趋势, 其质量标准体系的建立极为重要。本研究建立了罗汉果标准汤剂的指纹图谱, 并测定了罗汉果中 3 种效用成分的含量, 其中黄酮类成分山柰苷可能成为罗汉果的质量标志物, 为罗汉果原料药材及配方颗粒质量评价提供参考。

参考文献

- 1 中国药典 2020 版 . 一部 [S]. 2020: 221–222.
- 2 唐昀彤, 侯小涛, 杜正彩, 等 . 罗汉果化学成分与药理作用的研究进展及其质量标志物 (Q-Marker) 预测分析[J]. 中草药, 2021, 52(9): 2843–2850. [Tang YT, Hou XT, Du ZC, et al. Research progress on chemical constituents and pharmacological effects of *Siraitia grosvenorii* and its quality marker (Q-marker) prediction analysis[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2021, 52(9): 2843–2850.] DOI: 10.7501/j.issn.0253–2670.2021.09.031.
- 3 张维, 王斌, 周丽, 等 . 罗汉果成分及药理研究进展 [J]. 食品工业科技, 2014, 35(12): 393–397. [Zhang W, Wang B, Zhou L, et al. Research progress in chemical composition and pharmacology of *Siraitia grosvenorii* swingle[J]. Science and Technology of Food Industry, 2014, 35(12): 393–397.] DOI: 10.13386/j.issn1002–0306.2014.12.077.
- 4 陈全斌, 陈海燕, 李俊, 等 . HPLC 法测定罗汉果多糖的相对分子量 [J]. 中草药, 2003, (12): 23–24. DOI: 10.3321/j.issn:0253–2670.2003.12.008.
- 5 张燕钊, 徐广平, 周龙武, 等 . 桂北中高海拔丘陵山区罗汉果营养成分分析 [J]. 湖北农业科学 2020, 59(21): 151–154. [Zhang YZ, Xu GP, Zhou LW, et al. Analysis the nutrient compositions of *Siraitia grosvenorii* in the hilly region at north Guangxi[J]. Hubei Agricultural Sciences, 2020, 59(21): 151–154.] DOI: 10.14088/j.cnki.issn0439–8114.2020.21.032.
- 6 韦栋, 杨林杰, 杨玉丹, 等 . 罗汉果醇及其衍生物的药理作用研究进展 [J]. 现代药物与临床, 2022, 37(11): 2659–2664. [Wei D, Yang LJ, Yang YD, et al. Research progress on pharmacological action of mogrol and its derivatives[J]. Drugs & Clinic, 2022, 37(11): 2659–2664.] DOI: 10.7501/j.issn.1674–5515.2022.11.041.
- 7 王苗苗, 娄华勇, 张妮, 等 . 罗汉果化学成分及药理研究进展 [J]. 贵州中医药大学学报, 2021, 43(5): 80–84. [Wang MM, Lou HY, Zhang N, et al. Research progress on chemical constituents and pharmacological activities of *Siraitia grosvenorii* Swingle[J]. Journal of Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, 2021, 43(5): 80–84.] DOI: 10.16588/j.cnki.issn2096–8426.2021.05.018.
- 8 唐燕萍, 张淑丽, 张书泰, 等 . 罗汉果生物活性成分, 药理作用及产品加工研究进展 [J]. 饮料工业, 2020, 23(6): 67–70. [Tang YP, Zhang SL, Zhang ST, et al. Research progress on bioactive components, pharmacological action and processing of *Siraitia grosvenorii*[J]. The Beverage Industry, 2020, 23(6): 67–70.] DOI: 10.3969/j.issn.1007–7871.2020.06.022.
- 9 魏梅, 李振雨, 陈向东, 等 . 中药配方颗粒国家标准研究技术关注点探讨 [J]. 中国现代中药, 2022, 24(3): 419–426. [Wei M, Li ZY, Chen XD, et al. Technical concerns of national standard research of traditional Chinese medicine formula granules[J]. Modern Chinese Medicine, 2022, 24(3): 419–426.] DOI: 10.13313/j.issn.1673–4890.20210510002.
- 10 中国药典 2020 版 . 四部 [S]. 2020: 31–32.
- 11 国家中医药管理局 . 《医疗机构中药煎药室管理规范》(国中医药发 [2009] 3 号) [EB/OL]. (2009–03–16) [2024–08–01]. <http://www.natcm.gov.cn/yizhengsi/gongzuodongtai/2018–03–25/6577.html>.
- 12 国家食品药品监督管理局 . 《中药配方颗粒质量控制与标准制定技术要求》(2021 年第 16 号) (2021 年第 16 号) [EB/OL]. (2021–01–26) [2024–08–01]. <https://www.nmpa.gov.cn/xxgk/ggtg/ypqgtg/ypqgtg/20210210145453181.html>.
- 13 杨焯, 徐兴军, 李浩雨, 等 . 罗汉果山柰苷对慢性睡眠剥夺小鼠抗氧化能力的影响 [J]. 动物营养学报, 2023, 35(12): 8083–8096. [Yang, Y, Xu XJ, Li HY, et al. Effects of kaempferitrin from *Siraitia grosvenorii* on antioxidant capacity of chronic sleep deprived mice[J]. 2023, 35(12): 8083–8096.] DOI: 10.12418/CJAN2023.732.
- 14 Jiang W, Wang R, Liu D, et al. Protective effects of kaempferitrin on advanced glycation end products induce mesangial cell apoptosis and oxidative stress[J]. Int J Mol Sci, 2018, 19(11): 3334. DOI: 10.3390/ijms19113334.
- 15 Da Silva D, Casanova LM, Marcondes MC, et al. Antidiabetic activity of *Sedum dendroideum*: metabolic enzymes as putative targets for the bioactive flavonoid kaempferitrin[J]. IUBMB Life, 2014, 66(5): 361–370. DOI: 10.1002/iub.1270.
- 16 吴骞, 丁榆德, 程刚 . 山柰酚通过 PI3K/Akt 信号通路对口腔癌细胞增殖、侵袭及迁移的影响 [J]. 中药

- 材, 2020, 43(12): 3045–3049. [Wu, Q, Ding YD, Chen G, The effect of kaempferol on the proliferation, invasion and migration of oral cancer cells through PI3K/Akt signaling pathway[J]. Journal of Chinese Medicinal Materials, 2020, 43(12): 3045–3049.] DOI: [10.13863/j.issn1001.4454.2020.12.037](https://doi.org/10.13863/j.issn1001.4454.2020.12.037).
- 17 张芳平, 刘晓霞, 位翠杰, 等. 基于 UPLC 指纹图谱及多指标成分含量的罗汉果质量分析 [J]. 中国中医药信息杂志, 2023, 30(10): 139–144. [Zhang, FP, Liu XX, Wei CJ, et al. Quality analysis on Siraitiae fructus based on UPLC fingerprint and multi-index component content[J]. Chinese Journal of Information on Traditional Chinese Medicine, 2023, 30(10): 139–144.] DOI: [10.19879/j.cnki.1005-5304.202304005](https://doi.org/10.19879/j.cnki.1005-5304.202304005).
- 收稿日期: 2024 年 06 月 19 日 修回日期: 2024 年 08 月 02 日
本文编辑: 钟巧妮 李 阳