

中图分类号: R917; R927 文献标志码: A 文章编号: 1006-4931(2023)14-0073-05  
doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2023.14.016



# 白英药材饮片质量标准及指纹图谱研究\*

万丽娟<sup>1,2</sup>, 黄茜茜<sup>1,2,Δ</sup>, 林露<sup>1,2</sup>, 胡辉<sup>1,2,3</sup>, 龙林<sup>1,2</sup>, 瞿彩丽<sup>1,2</sup>

(1. 劲牌持正堂药业有限公司, 湖北黄石 435000; 2. 湖北省中药配方颗粒工程技术研究中心, 湖北黄石 435000; 3. 中药保健食品质量与安全湖北省重点实验室, 湖北黄石 435000)

**摘要:**目的 建立白英药材饮片的质量标准及指纹图谱。方法 按2020年版《中国药典(四部)》浸出物测定法项下醇溶性浸出物测定法测定样品的浸出物含量。采用超高效液相色谱(UPLC)法测定样品中绿原酸的含量。以绿原酸峰为参照峰绘制15批样品的UPLC指纹图谱。采用中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012A版)进行相似度评价。结果 15批样品的浸出物含量为7.51%~13.37%, 平均9.63%。绿原酸质量浓度在1.6114~48.3421 mg/L范围内与峰面积线性关系良好( $R^2 = 0.9999, n = 6$ );精密度、稳定性、重复性试验结果的RSD均小于2.0%;平均加样回收率为100.01%, RSD为2.03%( $n = 9$ )。15批样品的指纹图谱有8个共有峰, 指认了其中3个化学成分, 分别为新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸, 有10批的指纹图谱相似度大于0.9。结论 初步拟订白英药材饮片的浸出物含量不得低于8%, 绿原酸含量不得低于0.040%, 指纹图谱相似度不得低于0.9。所建立的标准可用于白英药材饮片的质量控制。

**关键词:** 白英; 药材饮片; 质量标准; 绿原酸; 超高效液相色谱; 指纹图谱

## Quality Standard and Fingerprint of Herba Solani Lyrati Decoction Pieces

WAN Lijuan<sup>1,2</sup>, HUANG Qianqian<sup>1,2</sup>, LIN Lu<sup>1,2</sup>, HU Hui<sup>1,2,3</sup>, LONG Lin<sup>1,2</sup>, QU Caili<sup>1,2</sup>

(1. Jing Brand Chizhengtang Pharmaceutical Co., Ltd., Huangshi, Hubei, China 435000; 2. Hubei Traditional Chinese Medicine Formula Granule Engineering Technology Research Center, Huangshi, Hubei, China 435000; 3. Hubei Provincial Key Laboratory for Quality and Safety of Traditional Chinese Medicine Health Food, Huangshi, Hubei, China 435000)

**Abstract: Objective** To establish the quality standard and fingerprint of Herba Solani Lyrati Decoction Pieces. **Methods** The content of extract in samples was determined based on the determination of alcohol-soluble extract under the extract determination of the *Chinese Pharmacopoeia* (2020 Edition, volume IV). The content of chlorogenic acid in samples was determined by the ultra-high-performance liquid chromatography (UPLC) method. The UPLC fingerprint of 15 batches of samples was drawn with the peak of chlorogenic acid as the reference. The Similarity Evaluation System for Chromatographic Fingerprint of Traditional Chinese Medicine (Version 2012A) was used for similarity evaluation. **Results** The extract content of 15 batches of samples was in the range of 7.51% - 13.37%, with an average content of 9.63%. The linear range of chlorogenic acid was 1.6114 - 48.3421 mg/L ( $R^2 = 0.9999, n = 6$ ). The RSDs of precision, stability and repeatability tests were all lower than 2.0%. The average recovery rate of chlorogenic acid was 100.01% with an RSD of 2.03% ( $n = 9$ ). There were eight common peaks in the fingerprint of 15 batches of samples, of which three chemical components were identified, including neochlorogenic acid, chlorogenic acid and cryptochlorogenic acid. There were 10 batches of samples with the similarity of fingerprint greater than 0.9. **Conclusion** The proposed standard is as follows: the extract content of Herba Solani Lyrati Decoction Pieces should not be lower than 8%, the content of chlorogenic acid should not be lower than 0.040%, and the similarity of the fingerprint should not be lower than 0.9. The established standard can be used for the quality control of Herba Solani Lyrati Decoction Pieces.

**Key words:** Herba Solani Lyrati; decoction pieces; quality standard; chlorogenic acid; UPLC; fingerprint

白英为茄科植物白英 *Solanum lyratum* Thunb. 的干燥全草, 具有清湿热解毒、祛风利湿、化痰功效<sup>[1]</sup>, 常用于肝癌、肺癌、宫颈癌、胃癌等多种癌症的治疗<sup>[2-8]</sup>。白英药材主要含有机酸类、苷类、黄酮类、倍半萜类等多种化合物<sup>[9-13]</sup>, 含量测定多集中于绿原酸、咖啡酸、薯蓣皂苷元等<sup>[14-15]</sup>, 指纹图谱涉及较少。目前, 白英药材饮片及其配方颗粒质量标准中仅有薄层色谱鉴别, 无

含量控制指标, 质量标准单一, 本研究中进行了白英药材饮片含量测定及指纹图谱探讨<sup>[1]</sup>, 建立了完善的质量标准, 以为白英药材饮片、配方颗粒、相关制剂的质量控制提供参考。现报道如下。

### 1 仪器与试剂

#### 1.1 仪器

Agilent 1290系列超高效液相色谱仪(美国Agilent

\*基金项目: 湖北省科技重大专项课题[2020ACA007-03]。

第一作者: 万丽娟, 女, 硕士, 工程师, 研究方向为中药资源与制剂, (电子信箱)75963@jingpai.com。

Δ通信作者: 黄茜茜, 女, 博士, 工程师, 研究方向为中药资源与制剂, (电子信箱)59147@jingpai.com。

公司); Waters 2695型超高效液相色谱仪,包括G1211A型四元梯度泵、G1329B型自动进样器、G1316A型柱温箱、G1314BVWD型检测器(美国Waters公司); AB135-S型电子天平(瑞士Mettler Toledo公司,精度为0.01 mg); OQ015XXM型超纯水系统(英国Elga公司); SK8200LHC型超声波清洗仪(上海科导超声仪器有限公司)。

## 1.2 试药

绿原酸对照品(中国食品药品检定研究院,批号为110753-201018,含量为96.1%);新绿原酸对照品(批号为DSTDX001503),隐绿原酸对照品(批号为DST190908-035),均购自成都德思特生物技术有限公司,含量均为98.0%;甲醇、乙腈为色谱纯,其余试剂均为分析纯,水为纯化水。白英药材饮片样品分别购自安徽亳药千草中药饮片有限公司(批号分别为2004043, 2005047, 2005117,产地均为湖北省),河北康盛华药业有限公司(批号分别为22010921, 22020424, 22030231,产地均为河北省),成都吉安康药业有限公司(批号分别为22010921, 22020323, 22010745,产地均为四川省),湖北正光九资河药业有限公司(批号分别为201201, 201203, 201204,产地均为河南省),亳州市盛林药业有限责任公司(批号分别为202102, 202105, 202103,产地均为湖北省)。

## 2 方法与结果

### 2.1 浸出物含量

按2020年版《中国药典(四部)》浸出物测定法项下醇溶性浸出物测定法,测定15批样品的浸出物含量。结果浸出物含量为7.51%~13.37%,平均9.63%。限度按测定结果平均值的80%计算,初步拟订浸出物含量不得低于8%,结果有2批浸出物含量不合格。

### 2.2 含量测定

#### 2.2.1 色谱条件

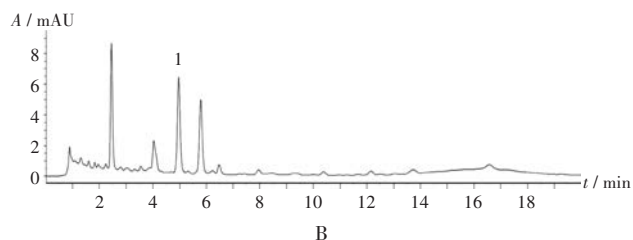
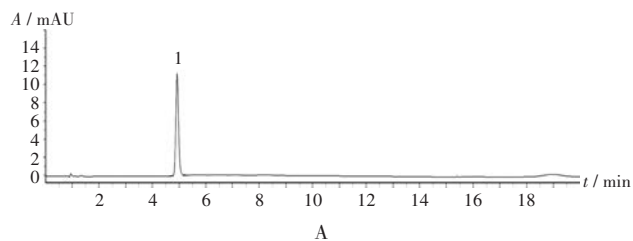
色谱柱: Waters HSS T3柱(100 mm×2.1 mm, 1.8 μm); 流动相: 甲醇-0.1%磷酸水溶液(20:80, V/V); 流速: 0.3 mL/min; 检测波长: 327 nm; 柱温: 35℃; 进样量: 1 μL。

#### 2.2.2 溶液制备

取绿原酸对照品适量,精密称定,加50%甲醇制成每1 mL含5 μg的对照品溶液。取药材饮片样品粉末(过四号筛)约0.5 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入50%甲醇25 mL,密塞,称定质量,超声(功率300 W,频率53 kHz)处理30 min,放冷,再次称定质量,用50%甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,即得供试品溶液。

#### 2.2.3 方法学考察

系统适用性试验:取2.2.2项下对照品溶液、供试



1. 绿原酸

A. 对照品溶液 B. 供试品溶液

图1 超高效液相色谱图

1. Chlorogenic acid

A. Reference solution B. Test solution

Fig. 1 UPLC chromatograms

品溶液各适量,按2.2.1项下色谱条件进样测定,记录色谱图。结果理论板数按绿原酸峰计应不低于4 000,分离度均大于1.5,基线分离良好。详见图1。

线性关系考察:称取绿原酸对照品10.48 mg,精密称定,置50 mL容量瓶中,加50%甲醇溶解并定容,摇匀,得质量浓度为201.425 6 mg/L的绿原酸对照品贮备液;分别取0.2, 0.5, 1, 2, 4, 6 mL,置25 mL容量瓶中,加50%甲醇定容;取1 μL,按2.2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以绿原酸质量浓度(X, mg/L)为横坐标、峰面积(Y)为纵坐标进行线性回归,得回归方程 $Y = 10\,006 X + 790.25$  ( $R^2 = 0.9999$ ,  $n = 6$ )。结果表明,绿原酸质量浓度在1.611 4~48.342 1 mg/L范围内与峰面积线性关系良好。

精密度试验:取2.2.2项下对照品溶液适量,按2.2.1项下色谱条件连续进样测定6次,记录峰面积。结果绿原酸峰面积的RSD为0.08% ( $n = 6$ ),表明仪器精密度良好。

稳定性试验:取2.2.2项下供试品溶液(样品批号为2004043)适量,分别于室温下放置0, 2, 4, 6, 8, 10, 12 h时按2.2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果绿原酸峰面积的RSD为0.68% ( $n = 7$ ),表明供试品溶液在室温放置12 h内基本稳定。

重复性试验:取样品(批号为2004043)适量,精密称定,各6份,按2.2.2项下方法制备供试品溶液,再按2.2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积,并计算含量。结果绿原酸平均含量为0.064%, RSD为1.65% ( $n = 6$ ),表明方法重复性良好。

加样回收试验:取已知含量的样品(批号为2004043)

适量,共9份,分别加入低、中、高质量浓度的绿原酸对照品溶液,按2.2.2项下方法制备供试品溶液,再按2.2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积,并计算加样回收率。结果见表1。

表1 加样回收试验结果(n=9)

Tab.1 Results of the recovery test (n=9)

取样量(g)	样品含量(mg)	加入量(mg)	测得量(mg)	回收率(%)	$\bar{X}$ (%)	RSD(%)
0.2573	0.1647	0.0806	0.2476	102.85		
0.2518	0.1612	0.0806	0.2412	99.26		
0.2507	0.1604	0.0806	0.2397	98.39		
0.2511	0.1607	0.1531	0.3125	99.15		
0.2534	0.1622	0.1531	0.3167	100.91	100.01	2.03
0.2518	0.1612	0.1531	0.3094	96.80		
0.2527	0.1617	0.2417	0.4076	101.74		
0.2542	0.1627	0.2417	0.4012	98.68		
0.2531	0.1620	0.2417	0.4092	102.28		

#### 2.2.4 样品含量测定

取各批样品适量,分别按2.2.2项下方法制备供试品溶液,再按2.2.1项下色谱条件进样测定,平行测定3次,记录峰面积,并计算样品含量。结果15批样品中绿原酸含量为0.037%~0.080%,平均0.057%。含量限度按测定结果平均值的 $\pm 30\%$ 计算,故暂定白英药材饮片中绿原酸含量不得少于0.040%。

### 2.3 指纹图谱研究

#### 2.3.1 色谱条件

色谱柱:Agilent SB Aq C<sub>18</sub>柱(100 mm×2.1 mm, 1.8  $\mu$ m);流动相:乙腈(A)-0.1%磷酸水溶液(B),梯度洗脱(0~25 min时4%A→20%A,25~35 min时20%A→30%A);流速:0.3 mL/min;检测波长:327 nm;柱温:25℃;进样量:1  $\mu$ L。

#### 2.3.2 方法学考察

按相关规定进行精密度、稳定性、重复性试验,结果仪器响应值的RSD均小于2.0%,表明仪器精密度、供试品溶液稳定性、方法重复性均良好。

#### 2.3.3 指纹图谱建立

取15批样品,分别按2.2.2项下方法制备供试品溶液,按2.3.1项下色谱条件进样测定,15批样品UPLC叠加指纹图谱见图2。采用中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012A版)分析数据,设批号为2004043的样品的色谱图为参照图谱(编号S1),其他样品的色谱峰与参照图谱进行自动匹配,即得白英药材饮片共有模式的对照指纹图谱。详见图3。将15批样品的指纹图谱均导入前述相似度评价系统计算相似度,结果有10批样品指纹图谱与对照图谱的相似度大于0.9,故暂定白英药材饮片指纹图谱相似度不得低于0.9。详见表2。

#### 2.3.4 共有峰标定

根据15批样品的指纹图谱测定结果,共标定8个共有峰。经过与对照品比对并结合图谱,确认其中3个所对应的化学成分分别为新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸。

### 3 讨论

白英药材饮片的主要活性成分包括有机酸、生物碱等。预试验中考察了水、30%甲醇、50%甲醇、70%甲醇、甲醇等提取溶剂对样品共有成分的影响,最终确定提取溶剂为50%甲醇。同时考察了超声和回流提取方法,结果两者的提取效果无明显差异,主要色谱峰的峰面积均接近,采用超声提取制备供试品溶液,更快捷、方便,故选择前者。本研究中,15批样品浸出物含量平均值为9.63%,浸出物限度按测定结果平均值的80%计算,暂定浸出物含量不得低于8%。15批样品的绿原酸含量

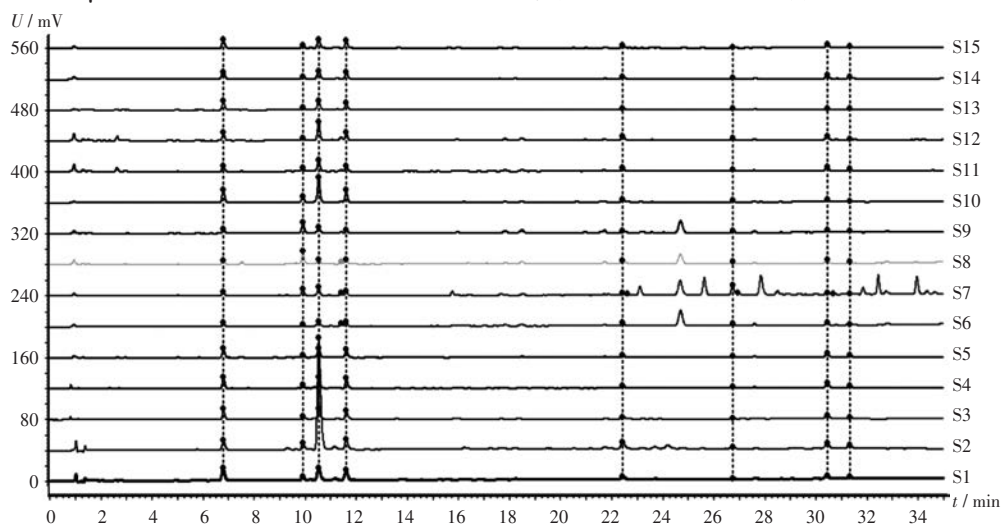


图2 15批白英药材饮片超高效液相色谱叠加指纹图谱

Fig.2 UPLC chromatogram superimposed fingerprint of 15 batches of Herba Solani Lyrati Decoction Pieces

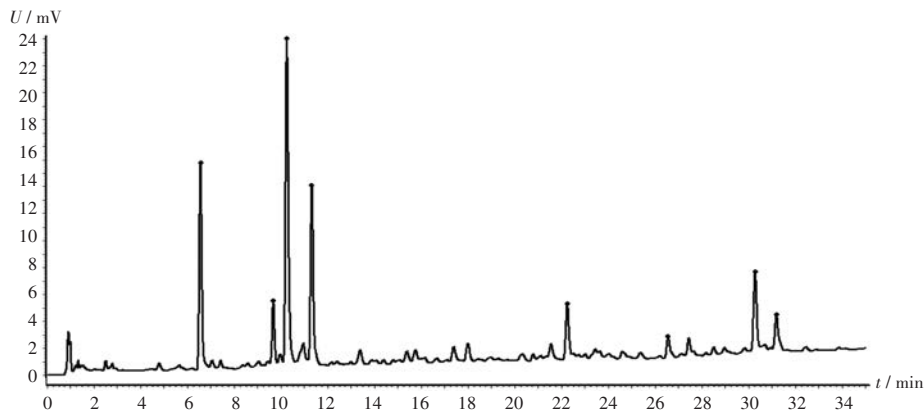


图3 白英药材饮片超高效液相色谱对照指纹图谱

Fig. 3 Reference fingerprint of UPLC chromatograms of Herba Solani Lyrati Decoction Pieces

表2 15批白英药材饮片相似度评价结果

Tab. 2 Results of similarity evaluation of 15 batches of Herba Solani Lyrati Decoction Pieces

编号	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13	S14	S15
S1	1.000	0.703	0.993	0.993	0.997	0.929	0.701	0.678	0.761	0.932	0.931	0.920	0.981	0.979	0.986
S2	0.703	1.000	0.628	0.631	0.744	0.717	0.637	0.448	0.617	0.893	0.842	0.912	0.711	0.695	0.701
S3	0.993	0.628	1.000	0.998	0.987	0.915	0.670	0.680	0.741	0.903	0.902	0.900	0.967	0.995	0.994
S4	0.993	0.631	0.998	1.000	0.987	0.917	0.670	0.669	0.732	0.904	0.903	0.903	0.968	0.995	0.994
S5	0.997	0.744	0.987	0.987	1.000	0.930	0.712	0.675	0.765	0.950	0.944	0.940	0.979	0.997	0.998
S6	0.929	0.717	0.915	0.917	0.930	1.000	0.837	0.767	0.814	0.909	0.957	0.916	0.885	0.928	0.928
S7	0.701	0.637	0.670	0.670	0.712	0.837	1.000	0.722	0.799	0.739	0.770	0.738	0.697	0.702	0.705
S8	0.678	0.448	0.680	0.669	0.675	0.767	0.722	1.000	0.964	0.638	0.751	0.620	0.616	0.670	0.670
S9	0.761	0.617	0.741	0.732	0.765	0.814	0.799	0.964	1.000	0.775	0.828	0.743	0.730	0.751	0.754
S10	0.932	0.893	0.903	0.904	0.950	0.909	0.739	0.638	0.775	1.000	0.944	0.983	0.946	0.929	0.932
S11	0.931	0.842	0.902	0.903	0.944	0.957	0.770	0.751	0.828	0.944	1.000	0.973	0.903	0.927	0.928
S12	0.920	0.912	0.900	0.903	0.940	0.916	0.738	0.620	0.743	0.983	0.973	1.000	0.907	0.917	0.920
S13	0.981	0.711	0.967	0.968	0.979	0.885	0.697	0.616	0.730	0.946	0.903	0.907	1.000	0.981	0.982
S14	0.979	0.695	0.995	0.995	0.997	0.928	0.702	0.670	0.751	0.929	0.927	0.917	0.981	1.000	0.996
S15	0.986	0.701	0.994	0.994	0.998	0.928	0.705	0.670	0.754	0.932	0.928	0.920	0.982	0.996	1.000

均值为0.057%，含量限度按测定结果均值的 $\pm 30\%$ 计算，暂定绿原酸含量不得少于0.040%。并确定了指纹图谱中的8个共有峰，其中，3个对应的化学成分分别为新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸，另外5个共有峰的成分有待进一步确认。并确定了相似度不低于0.9作为白英药材饮片的质量标准之一。

综上所述，本研究中所建立的质量标准，浸出物含量限度设置合理，主要有效成分绿原酸含量测定方法重复性好，专属性强，含量限度设置合理，指纹图谱专属性强、特征性好，可为白英药材饮片及其制剂的质量控制提供参考。

#### 参考文献

- [1] 湖北省药品监督管理局. 湖北省中药材质量标准[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2018: 70.
- [2] 卜 璟, 王建农, 臧雅丽, 等. 白英甾体总生物碱抑制小鼠肝癌细胞 H22 移植瘤生长药效学研究[J]. 时珍国医国药, 2013, 24(7): 1593 - 1595.
- [3] 韩 林, 卓越, 孙彩霞, 等. 白英总碱对小鼠 Lewis 肺癌细胞移植生长的抑制作用[J]. 中药新药与临床药理, 2015, 26(5): 573 - 576.
- [4] 韩 林, 孙彩霞, 王建农. 白英总碱通过 VEGF 相关信号通路调控 A549 细胞的凋亡与周期[J]. 中药新药与临床药理, 2016, 27(4): 509 - 513.
- [5] 韩 林. 白英生物碱对非小细胞肺癌的抑制作用及凝集脂按胆固醇抑制血管新生的抗肿瘤机制研究[D]. 北京: 中国中医科学院, 2017.
- [6] 齐 伟. 抗肿瘤中药白英化学成分及药物动力学研究[D]. 沈阳: 沈阳药科大学, 2009.
- [7] 余乐涵, 许宝华, 吴 剑, 等. 白英水提取物对胃癌 SGC - 7901 细胞凋亡与基因 bcl - xl / bid 表达的影响[J]. 中成药, 2008, 30(12): 1744 - 1748.
- [8] 万福生, 吴 剑, 李 华, 等. 白英水提取物诱导人胃癌 SGC - 7901 细胞凋亡的实验研究[J]. 中药材, 2009, 32(2):