

## UPLC 指纹图谱结合化学模式评价克比热提片的质量

王 萌, 张 鑫\*, 张德柱\*, 张 凡, 马瑞娟, 钟华美, 李 权, 王继强  
陕西盘龙药业集团股份有限公司, 陕西 商洛 711400

**摘要:**目的 建立克比热提片的 UPLC 指纹图谱, 结合化学模式识别技术评价其质量。方法 构建 16 批克比热提片样品的 UPLC 指纹图谱, 进行相似度分析, 结合层次聚类分析 (HCA)、主成分分析 (PCA)、正交偏最小二乘判别分析 (OPLS-DA) 开展化学模式识别。结果 共确定 26 个共有峰, 指出 10 个色谱峰, 分别为新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、3,4-*O*-二咖啡酰奎宁酸、3,5-*O*-二咖啡酰奎宁酸、4,5-*O*-二咖啡酰奎宁酸、墙草碱、猪苓酸 C、去氢茯苓酸和茯苓酸; HCA、PCA 将 16 批样品分为 4 类, 结果一致; OPLS-DA 模型无过度拟合, 筛选出 9 个差异性特征成分。结论 建立的 UPLC 指纹图谱结合化学模式识别的方法稳定可靠、专属性强, 可有效评价克比热提片质量。

**关键词:** 克比热提片; 指纹图谱; 新绿原酸; 绿原酸; 茯苓酸; 层次聚类分析; 主成分分析; 正交偏最小二乘判别分析

中图分类号: R286.02 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2026)06-1626-05

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2026.06.012

## Quality evaluation of Kebireti Tablets by UPLC fingerprint combined with chemical pattern recognition

WANG Meng, ZHANG Xin, ZHANG Dezhu, ZHANG Fan, MA Ruijuan, ZHONG Huamei, LI Quan, WANG Jiqiang  
Shaanxi Panlong Pharmaceutical Group Limited By Share Ltd., Shangluo 711400, China

**Abstract: Objective** To establish a UPLC fingerprint combined with chemical pattern recognition technology for the quality evaluation of Kebireti Tablets. **Methods** UPLC fingerprints of 16 batches of Kebireti Tablets samples were constructed, and the similarities were analyzed. Chemical pattern recognition research was conducted by combining HCA, PCA, and OPLS-DA analyses. **Results** A total of 26 common peaks were identified, and 10 chromatographic peaks were identified, namely neochlorogenic acid, chlorogenic acid, cryptochlorogenic acid, 3,4-*O*-dicaffeoylquinic acid, 3,5-*O*-dicaffeoylquinic acid, 4,5-*O*-dicaffeoylquinic acid, peltitorine, polyporenic acid C, dehydropachymic acid, and pachymic acid. 16 Batches of samples were divided into 4 categories by HCA and PCA, and the results were consistent. The OPLS-DA model had no overfitting and 9 differential feature components were screened out. **Conclusion** The UPLC fingerprint combined with chemical pattern recognition method established is stable, reliable, and highly specific, which can effectively evaluate the quality of Kebireti Tablets.

**Key words:** Kebireti Tablets; fingerprint; neochlorogenic acid; chlorogenic acid; pachymic acid; HCA; PCA; OPLS-DA

克比热提片是传承千年的维药经典名方, 由硫磺 (制)、阿拉伯胶、硼砂、阿纳其根、茯苓配伍制成, 采用天然硫磺“豆腐制”“水飞法”双古法制备, 具有杀虫止痒、清理血液的功效, 临床常用于疥疮、淋巴结核、肛瘘和各类皮肤癣症的治疗<sup>[1-2]</sup>。克比热提片的现行质量标准在全面、系统评价制剂质量方面存在局限性。中药指纹图谱技术作为一种综合性

的分析方法, 能够对中药复杂体系中的多种化学成分进行表征和评价, 在中药真伪鉴别、品种区分以及产品质量一致性、稳定性评估方面具有显著优势, 应用前景广阔<sup>[3]</sup>。化学模式识别是基于样本特征, 通过计算方法实现混合样本归类的技术, 其测得的化学数据大多是高维的, 借助计算机可深入挖掘数据间隐藏关系, 并进行判别分类, 主要包括层

收稿日期: 2025-12-10

基金项目: 中央引导地方科技发展资金项目 (2025ZY-XCZXZS-27); 陕西省科技厅中药制剂及新药研发中试基地项目 (2025ZY1-ZSJD-14); 秦创原“科学家+工程师”队伍项目 (2025QCY-KXJ-104)

作者简介: 王 萌, 女, 硕士, 主要从事中药制剂及中药材的质量标准研究。E-mail: 18291923712@163.com

\*通信作者: 张 鑫, 男, 副主任药师, 硕士, 主要从事中药质量标准及新药研发工作。E-mail: awoshizx@126.com

张德柱, 男, 主任药师, 主要从事中药新药开发及大品种转换研究。E-mail: zdz1978@126.com

次聚类分析 (HCA)、主成分分析 (PCA)、正交偏最小二乘判别分析 (OPLS-DA) 等<sup>[4-6]</sup>。本研究采用 UPLC 指纹图谱结合化学模式识别技术评价克比热提片质量, 剖析不同批次产品间的质量差异, 为该制剂的质量稳定性评估和控制提供科学支撑。

## 1 仪器与试药

Waters H-Class 超高效液相色谱仪 (美国 Waters 科技有限公司, Empower 色谱工作站); KQ-500KDE 超声波清洗器 (江苏昆山超声仪器公司); SECURA125-1CN 十万分之一天平 (北京赛多利斯公司)。

绿原酸 (批号 110753-202119, 质量分数以 96.3% 计)、隐绿原酸 (批号 112111-202401, 质量分数以 96.7% 计)、3,5-*O*-二咖啡酰奎宁酸 (批号 111782-202309, 质量分数以 95.0% 计)、4,5-*O*-二咖啡酰奎宁酸 (批号 111894-202104, 质量分数以 95.1% 计) 对照品均购自中国食品药品检定研究院; 3,4-*O*-二咖啡酰奎宁酸 (批号 BN903-01-02, 质量分数以 98.96% 计) 对照品购自佛山宝诺生物科技有限公司; 新绿原酸 (批号 PS021094, 质量分数以 98.49% 计) 对照品购自成都普思生物科技股份有限公司; 墙草碱 (批号 170265-202403, 质量分数以 99.84% 计)、茯苓酸 (批号 060001-202407, 质量分数以 99.74% 计)、猪苓酸 C (批号 260087-202304, 质量分数以 98.66% 计)、去氢茯苓酸 (批号 170130-202404, 质量分数以 99.96% 计) 对照品均购自上海鸿永生物科技有限公司。乙腈为色谱纯 (美国 Fisher 公司); 磷酸为 GR 级 (上海国药化学试剂公司); 水为实验室自制超纯水; 其他试剂均为分析纯。

克比热提片, 规格 0.50 g/片, 共 16 批次, 批号分别为 20230201、20230301、20230601、20230602、20230901、20230902、20231001、20231002、20240601、20240701、20240902、20250204、20250301、20250302、20250305、20250307, 均由陕西盘龙药业集团股份有限公司提供。阿纳其根 (批号 20250437)、硼砂 (批号 20240844)、硫磺 (制, 批号 20240840)、阿拉伯胶 (批号 20240839)、茯苓 (批号 20240947) 药材均由陕西盘龙药业集团股份有限公司提供。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

Waters Acquity BEH C<sub>18</sub> 色谱柱 (100 mm×2.1 mm, 1.7 μm); 流动相: 乙腈 (A) - 0.1% 磷酸 (B), 梯度洗脱 (0~10 min, 10%~17% A; 10~14 min,

17%~22% A; 14~22 min, 22%~30% A; 22~24 min, 30%~60% A; 24~40 min, 60%~62% A; 40~54 min, 62%~68% A; 54~56 min, 68%~70% A; 56~64 min, 70%~80% A; 64~65 min, 80%~10% A; 65~70 min, 10% A); 检测波长: 327 nm (0~18 min)、254 nm (18~28.5 min)、242 nm (28.5~37.6 min)、210 nm (37.6~70 min); 柱温为 30 °C; 体积流量为 0.3 mL/min, 进样量为 1 μL。理论塔板数按墙草碱峰计算应不低于 8 000。

### 2.2 对照品溶液的制备

精密称取新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、3,4-*O*-二咖啡酰奎宁酸、3,5-*O*-二咖啡酰奎宁酸、4,5-*O*-二咖啡酰奎宁酸、墙草碱、猪苓酸 C、去氢茯苓酸、茯苓酸对照品适量, 加 75% 甲醇溶解, 得质量浓度分别为 4.98、29.18、6.10、9.10、27.62、16.16、13.76、7.16、13.62、13.00 μg/mL 的混合对照品溶液。

### 2.3 供试品溶液的制备

取克比热提片适量, 研细, 精密称定样品粉末 5 g, 置具塞锥形瓶中, 量取 75% 甲醇溶液 25 mL, 称定质量, 超声处理 (频率 45 kHz、功率 500 W) 40 min, 取出放凉, 用 75% 甲醇溶液补足减失质量, 摇匀, 用 0.22 μm 微孔滤膜滤过, 取续滤液, 即得。

### 2.4 阴性样品溶液的制备

按照克比热提片处方工艺分别制备缺各药材的阴性样品, 按照供试品溶液的制备项下方法制备各阴性样品溶液。

### 2.5 方法学考察

**2.5.1 参照峰的选择** 在标准色谱图中, 16 号峰 (墙草碱) 分离度好、峰面积大、峰形好且稳定, 故作为参照峰 (S), 计算 16 批克比热提片指纹图谱中各色谱峰共有峰的相对保留时间、相对峰面积。

**2.5.2 精密度试验** 取克比热提片样品 (批号 20240902), 制备供试品溶液, 连续进样 6 次, 计算各共有峰的相对保留时间和相对峰面积。结果显示, 各共有峰相对保留时间的 RSD 值为 0~0.60%, 相对峰面积的 RSD 值为 0.05%~2.32%。

**2.5.3 重复性试验** 取克比热提片样品 (批号 20240902) 6 份, 平行制备供试品溶液, 进行检测, 计算各共有峰的相对保留时间和相对峰面积。结果显示, 各共有峰相对保留时间的 RSD 值为 0~1.95%, 相对峰面积的 RSD 值为 0.24%~2.93%。

**2.5.4 稳定性试验** 取批号 20240902 克比热提片样品, 制备供试品溶液, 分别于 0、1、2、4、8、

12、16、20、24 h 进行测定，计算各共有峰的相对保留时间和相对峰面积。结果显示，各共有峰相对保留时间的 RSD 值为 0.11~2.38%，相对峰面积的 RSD 值为 0.23%~2.57%。

## 2.6 指纹图谱的建立

**2.6.1 指纹图谱的生成** 取 16 批克比热提片（编号 S1~S16），制备供试品溶液，进行测定，将得到 16 批样品色谱图导入中国药典委员会“中药色谱指纹图谱相似度评价系统（2004A）”软件<sup>[7]</sup>，采用中位数法，设定时间窗宽度为 0.1，经多点校正、峰匹配后，生成 16 批克比热提片指纹图谱叠加图（图 1）和对照图谱 R（图 2）。

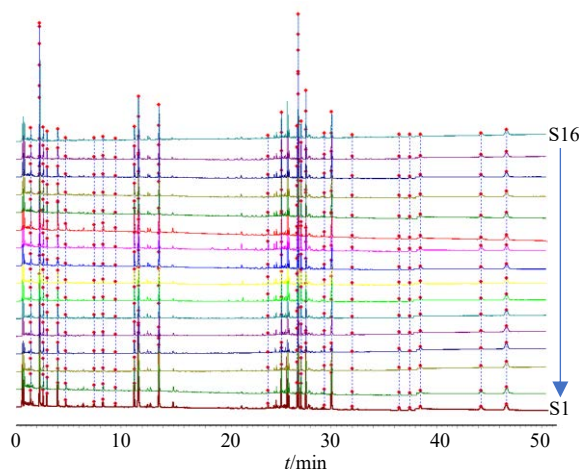


图 1 克比热提片 UPLC 指纹图谱叠加图

Fig. 1 UPLC fingerprint stacking diagram of Kebireti Tablets

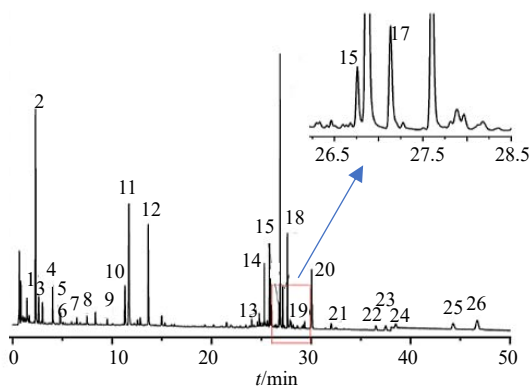


图 2 克比热提片对照图谱

Fig. 2 Reference spectrum of Kebireti Tables

**2.6.2 相似度评价** 对 16 批克比热提片样品指纹图谱分析，共确定 26 个共有峰，且 16 批供试品色谱图与对照图谱的相似度均大于 0.90。样品指纹图谱相似度良好，提示样品稳定性佳，主要物质群

差异性小，所建立的样品指纹图谱可作为克比热提片质量评价的标准参照。

**2.6.3 色谱峰归属和指认** 分别取混合对照品溶液、各阴性供试品溶液进行检测，结果见图 3。通过对比对照品与供试品溶液特征峰的保留时间和紫外光谱分析结果，指认出 10 个色谱峰，分别为峰 1（新绿原酸）、峰 2（绿原酸）、峰 3（隐绿原酸）、峰 10（3,4-*O*-二咖啡酰奎宁酸）、峰 11（3,5-*O*-二咖啡酰奎宁酸）、峰 12（4,5-*O*-二咖啡酰奎宁酸）、峰 16（墙草碱）、峰 19（猪苓酸 C）、峰 22（去氢茯苓酸）和峰 24（茯苓酸）。对克比热提片指纹图谱中 26 个共有峰的归属结果进行指认，结果发现克比热提片样品中峰 1~12、峰 14~18、峰 20、峰 21、峰 23、峰 25 来源于阿纳其根，峰 19、峰 22、峰 24 来源于茯苓，峰 13 来源于阿拉伯胶。

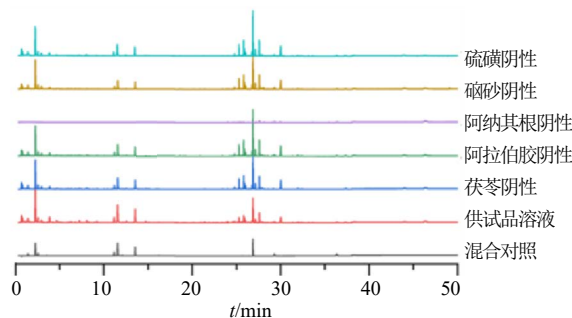


图 3 阴性样品和克比热提片样品的图谱

Fig. 3 Chromatograms of Kebireti Tablets and negative sample

## 2.7 化学模式识别

**2.7.1 HCA** 以 16 批克比热提片的 26 个共有峰峰面积为变量，采用在线数据分析软件，通过组间连接法、平方欧式距离进行 HCA 分析<sup>[8]</sup>。结果显示，当平方欧式距离为 8 时，16 批样品可分为 4 类：S3、S5、S6、S7、S8、S9、S12、S13、S14、S15、S16 样品聚为一类，S1、S2、S10 聚为一类，S4、S11 分别单独聚为一类。见图 4。

**2.7.2 PCA** 以 16 批克比热提片的 26 个共有峰的峰面积为变量，生成 16×26 数据矩阵，采用 SPSS 26 软件进行主成分分析，共提取 4 个主成分因子，累积方差贡献率为 93.801%，可代表克比热提片指纹图谱共有峰的大部分信息，得分系数矩阵见表 1<sup>[9]</sup>。将上述数据导入 Simca 14.1 软件，得到克比热提片 PCA 得分图（图 5）。结果显示，16 批克比热提片样品可分为 4 大类，与 HCA 分析结果基本一致，进一步验证了 HCA 的可靠性。

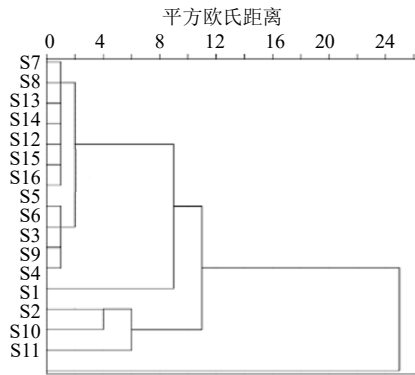


图 4 克比热提片的层次聚类分析

Fig. 4 HCA of Kebireti Tablets

表 1 特征值和累积方差贡献率

Table 1 Eigenvalue and total variance

成分	初始特征值		
	特征值	方差贡献率/%	累积方差贡献率/%
1	13.905	53.481	53.481
2	6.918	26.609	80.090
3	2.117	8.141	88.231
4	1.448	5.570	93.801

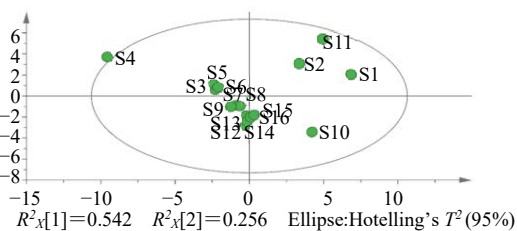


图 5 克比热提片的主成分得分图

Fig. 5 PCA score plot of Kebireti Tablets

**2.7.3 OPLS-DA** 为筛选克比热提片不同批次间质量的差异性成分, 将 16 批克比热提片样品的 26 个共有峰峰面积导入 Simca 14.1 软件进行 OPLS-DA 有监督的模型分析 (图 6)。结果显示, 不同年份样品各自聚成一类, 模型中  $R^2_x$  为 0.988,  $R^2_y$  为 0.920,  $Q^2$  为 0.691, 三者均大于 0.5, 表明模型预测能力良好。经过 200 次置换检验 (图 7),  $R^2=0.56$ ,  $Q^2=-1.32$ , 且左侧随机排列值均小于右侧原始值, 提示模型有效且无过度拟合, 可用于指纹图谱样品中差异性成分的筛选。通过提取 OPLS-DA 模型中 26 个变量的重要性投影 (VIP) 值, 以 VIP 大于 1 为标准, 筛选出 9 个主要峰, 分别为 6、13、4、15、21、17、23、8、7 号峰 (图 8)。其中大部分化合物源于阿纳其根, 提示生产过程中严格控制阿纳其根

的质量是保证该制剂质量稳定的关键。

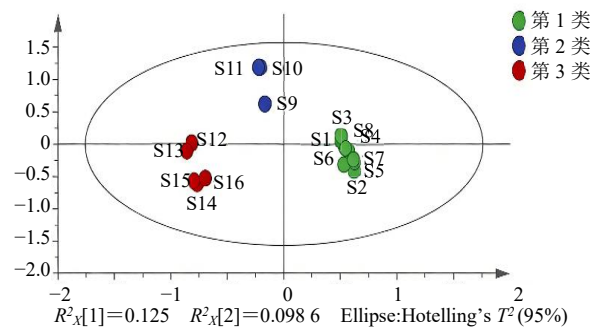


图 6 克比热提片的 OPLS-DA 的得分图

Fig. 6 OPLS-DA score plot for Kebireti Tablets

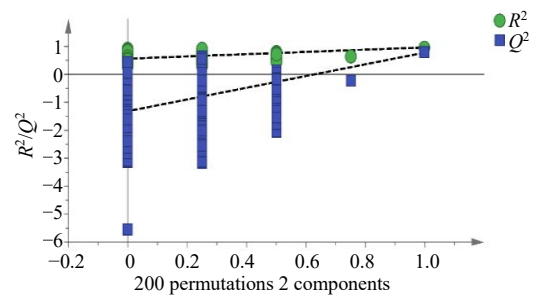


图 7 克比热提片 OPLS-DA 模型置换检验图

Fig. 7 OPLS-DA model permutation tests for Kebireti Tablets

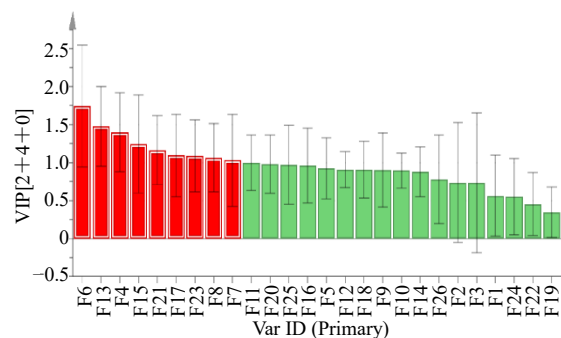


图 8 克比热提片的 OPLS-DA 的 VIP 值图

Fig. 8 VIP plot of OPLS-DA for Kebireti Tablets

### 3 讨论

#### 3.1 耐用性考察

为保证该方法的可靠性和适用性, 取克比热提片样品 (批号 20240902), 在既定色谱条件基础上调整体积流量 (0.25~0.35 mL/min)、流动相梯度 ( $\pm 1.5\%$ )、柱温 (20~40 °C)、检测波长 ( $327 \pm 4$ ) nm, 并选用 5 种不同型号色谱柱, 以共有峰分离度、对称因子为评价指标开展耐用性考察。结果显示, 各种条件下 26 个共有峰均能有效分离, 分离度均大于 1.5, 对称因子符合要求, 无异常波动。表明本研

究建立的 UPLC 指纹图谱分析方法耐用性良好，可有效规避色谱条件微小波动对检测结果的影响。

### 3.2 共有峰的归属和指认

按处方工艺制得硫磺、阿拉伯胶、阿纳其根、茯苓、硃砂的阴性样品，并制备相应溶液，经色谱检测对共有峰进行归属分析。结果发现峰 18、20 在阿纳其根和茯苓药材中均有检出，结合光谱图，对比色谱峰最大吸收波长，确定峰 18、20 均来源于阿纳其根。本研究建立克比热提片的 UPLC 指纹图谱，标定 26 个共有峰，指认新绿原酸、绿原酸、墙草碱、茯苓酸等 10 个已知特征成分；26 个共有峰主要来源于阿纳其根、茯苓和阿拉伯胶，硃砂和硫磺仅检出 26 号色谱峰。

### 3.3 特征成分药效关联和质量控制关键

本研究指认的 10 个特征成分中，茯苓酸、去氢茯苓酸、墙草碱与克比热提片杀虫止痒、治疗皮肤癣症的临床功效高度相关<sup>[10-11]</sup>。茯苓酸是茯苓中主要的羊毛甾烷型三萜类化合物，具有抗炎、抗菌等特性，可抑制小鼠皮肤炎症<sup>[12-13]</sup>。去氢茯苓酸能通过调节 TH1/TH2 平衡影响机体免疫功能，明显改善二硝基氯苯诱导的湿疹大鼠皮肤病理形态，并减少皮损病变<sup>[14]</sup>。墙草碱是阿纳其根中主要的生物碱类化合物，具有辣椒素受体拮抗作用，而辣椒素受体是非组胺依赖性和组胺依赖性瘙痒的关键下游信号分子，是治疗皮炎、缓解瘙痒的潜在靶点<sup>[15]</sup>。墙草碱能抑制多种炎症性疾病初期促炎因子白细胞介素-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) 的分泌，发挥免疫调节作用，对接触性皮炎动物模型具有减少皮肤厚度的治疗作用<sup>[16]</sup>。成分溯源显示，阿纳其根特征成分是造成质量差异的主要原因<sup>[17]</sup>，因此需规范其原药材管控，并将 9 个特征峰纳入指纹图谱定量指标，构建多指标定量与指纹图谱定性相结合的质控模式，实现全链条质量监管，保障临床用药安全有效。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

#### 参考文献

[1] 国家食品药品监督管理总局标准 [S]. 克比热提片 YBZ00272014. 2014.  
 [2] 党晓月, 朱志军, 王永祥, 等. 生脉饮 HPLC 指纹图谱与化学模式识别研究 [J]. 中药材, 2020, 43(12): 2988-2991.  
 [3] 吴春兴, 杨杨, 孟梅, 等. 近十年中药指纹图谱领域的

研究现状及趋势分析 [J]. 中央民族大学学报: 自然科学版, 2024, 33(4): 63-73.

[4] 张鑫, 陈衍斌, 许刚, 等. 龙生蛭胶囊的 HPLC 指纹图谱及其化学模式识别研究 [J]. 现代药物与临床, 2023, 38(3): 553-558.  
 [5] 张鑫, 马瑞娟, 钟华美, 等. HPLC 指纹图谱结合化学模式识别评价生脉颗粒质量 [J]. 现代药物与临床, 2025, 40(3): 618-623.  
 [6] 龚秀娟, 彭亮, 陈晓颖, 等. HPLC 指纹图谱和多成分定量结合化学模式识别评价蜜款冬花质量 [J]. 中草药, 2024, 55(18): 6344-6354.  
 [7] 曹杰, 唐婷婷, 李秋桐, 等. 石南藤 HPLC 特征图谱研究和酰胺类成分含量测定 [J]. 中药材, 2022, 45(4): 922-926.  
 [8] 常道潇, 耿小秀, 李辉, 等. 固精麦斯哈片的 HPLC 特征图谱与化学模式识别研究 [J]. 药物分析杂志, 2024, 44(11): 1875-1884.  
 [9] 张宇, 郭晓晗, 王献瑞, 等. 基于化学计量和多组分定量的不同产地鸡血藤差异分析 [J]. 药物分析杂志, 2025, 45(10): 1730-1741.  
 [10] 田双双, 刘晓谦, 冯伟红, 等. 基于特征图谱和多成分含量测定的茯苓质量评价研究 [J]. 中国中药杂志, 2019, 44(7): 1371-1380.  
 [11] 冯雪, 郭晓松, 谢菲, 等. 茯苓化学成分及药理作用的研究进展 [J]. 中草药, 2026, 57(5): 1947-1957.  
 [12] Wei C Y, Wang H Z, Sun X, *et al.* Pharmacological profiles and therapeutic applications of pachymic acid (Review) [J]. *Exp Ther Med*, 2022, 24(3): 547.  
 [13] Kaminaga T, Yasukawa K, Kanno H, *et al.* Inhibitory effects of lanostane-type triterpene acids, the components of *Poria cocos*, on tumor promotion by 12-*O*-tetradecanoylphorbol-13-acetate in two-stage carcinogenesis in mouse skin [J]. *Oncology*, 1996, 53(5): 382-385.  
 [14] 何红梅, 程雁, 马如龙, 等. 去氢茯苓酸对湿疹大鼠的治疗作用及对免疫反应的影响 [J]. 现代免疫学, 2024, 44(2): 104-111.  
 [15] Naik G G, Uniyal A, Chouhan D, *et al.* Natural products and some semi-synthetic analogues as potential TRPV1 ligands for attenuating neuropathic pain [J]. *Current Pharm Biotechnol*, 2022, 23(6): 766-786.  
 [16] 中央大学校产学协力团. 以墙草碱作为有效成份含有的接触性皮炎改善用组合物: 201410069540.5 [P]. 2015-03-25.  
 [17] 董洁. 维吾尔族药阿纳其根中绿原酸的含量测定 [J]. 世界中医药, 2016, 11(12): 2782-2784.

[责任编辑 解学星]