

基于 UPLC 指纹图谱及多成分定量的清肝颗粒中间体量质传递研究

徐 丽^{1,2}, 邓丽华^{1,2}, 王丽苹^{1,2}, 万慧颖^{1,2}, 曹继祥^{1,2}, 邵 征^{1,2}, 李宝杰^{1*}, 范建伟^{1*}

1. 鲁南制药集团股份有限公司 经方与现代中药融合创新全国重点实验室, 山东 临沂 276006

2. 鲁南厚普制药有限公司 中药制药共性技术山东省工程研究中心, 山东 临沂 276006

摘 要: **目的** 建立清肝颗粒提取液、醇沉液、浓缩液的 UPLC 指纹图谱及 8 种指标成分含量测定方法, 研究其在提取、醇沉、浓缩关键工序中的量质传递规律。**方法** 采用 Waters CORTECS T₃ C₁₈ 色谱柱, 以 0.2% 磷酸水溶液-乙腈为流动相梯度洗脱, 分别建立 10 批清肝颗粒提取液、醇沉液、浓缩液的 UPLC 指纹图谱, 进行共有峰归属与相似度评价; 同步测定(*R,S*)-告依春、新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、异绿原酸 B、异绿原酸 A、异绿原酸 C、甘草酸铵 8 种指标成分的含量, 计算各成分在“提取液→醇沉液→浓缩液”工序间的转移率; 结合主成分分析 (PCA) 与正交偏最小二乘-判别分析 (OPLS-DA) 筛选影响中间体质量差异的成分。**结果** 10 批样品共标定 21 个共有峰, 各批次指纹图谱相似度均>0.925; 经与对照品比对指出 8 个色谱峰, 依次为(*R,S*)-告依春 (峰 1)、新绿原酸 (峰 3)、绿原酸 (峰 5)、隐绿原酸 (峰 6)、异绿原酸 B (峰 12)、异绿原酸 A (峰 13)、异绿原酸 C (峰 15)、甘草酸铵 (峰 20); 经主成分分析 (PCA), 提取出 3 个主成分, 累积方差贡献率为 90.470%; 以变量投影重要性 (VIP) 值>1 为阈值, 共筛选出峰 14、峰 4、新绿原酸、甘草酸铵、峰 16、绿原酸 6 个潜在质量差异成分。量质传递研究显示, 8 种指标成分工序间转移率均在平均值±30% 范围内, 均值水平上, 提取液→醇沉液步骤中新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸转移率低于异绿原酸 A/B/C; 而醇沉液→浓缩液步骤相反, 异绿原酸 A/B/C 转移率更低。**结论** 基于 UPLC 指纹图谱与多指标定量, 初步构建清肝颗粒生产中间体指标成分的质量控制体系, 为清肝颗粒关键生产工序的质量控制与评价体系构建提供科学依据。

关键词: 清肝颗粒; 量质传递; (*R,S*)-告依春; 新绿原酸; 绿原酸; 隐绿原酸; 异绿原酸 B; 异绿原酸 A; 异绿原酸 C; 甘草酸铵

中图分类号: R284.1

文献标志码: A

文章编号: 1674-6376(2026)10-3676-11

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2026.10.023

Study on quantity-quality transfer of Qinggan Granules intermediates based on UPLC fingerprint and multi-component quantification

XU Li^{1,2}, DENG Lihua^{1,2}, WANG Liping^{1,2}, WAN Huiying^{1,2}, CAO Jixiang^{1,2}, SHAO Zheng^{1,2}, LI Baojie¹, FAN Jianwei¹

1. Lunan Pharmaceutical Group Co., Ltd., & National Key Laboratory for Integration of Classical Prescriptions and Modern Chinese Medicine, Linyi 276006, China

2. Lunan Hope Pharmaceutical Co., Ltd., & Shandong Provincial Engineering Research Center for Generic Technology of Traditional Chinese Medicine Manufacturing, Linyi 276006, China

Abstract: Objective To establish UPLC fingerprint profiles and quantitative methods for eight marker compounds in the extract, alcohol-precipitated solution, and concentrated solution of Qinggan Granules, and to investigate the quantity-quality transfer patterns during key processing steps including extraction, alcohol precipitation, and concentration. **Methods** A Waters CORTECS T₃ C₁₈ column was used with a gradient elution system consisting of 0.2% phosphoric acid aqueous solution and acetonitrile. UPLC fingerprint profiles were established for ten batches of extract, alcohol-precipitated solution, and concentrated solution of Qinggan Granules, followed by identification of common peaks and similarity evaluation. The contents of eight marker compounds—(*R,S*)-goitrin, neo-

收稿日期: 2026-06-10

基金项目: 山东省重点研发计划 (竞争性创新平台) 项目 (2024CXPT074)

作者简介: 徐 丽, 硕士, 研究方向为中药分析。E-mail: 2735082947@qq.com

*通信作者: 李宝杰, 硕士, 研究方向为中药研发及其质量控制。E-mail: libaojieln@163.com

范建伟, 博士, 正高级工程师, 研究方向为中药研发及其质量控制。E-mail: lunanfanjianwei@163.com

chlorogenic acid, chlorogenic acid, cryptochlorogenic acid, isochlorogenic acid B, isochlorogenic acid A, isochlorogenic acid C, and ammonium glycyrrhizinate—were simultaneously determined, and transfer rates of each compound across the “extract→alcohol-precipitated solution→concentrated solution” process were calculated. Principal component analysis (PCA) and orthogonal partial least squares-discriminant analysis (OPLS-DA) were applied to identify components contributing to differences in intermediate product quality. **Results** A total of 21 common peaks were identified across the ten batches, with all fingerprint similarities exceeding 0.925. Eight peaks were confirmed by comparison with reference standards: (*R,S*)-goitrin (peak 1), neo-chlorogenic acid (peak 3), chlorogenic acid (peak 5), cryptochlorogenic acid (peak 6), isochlorogenic acid B (peak 12), isochlorogenic acid A (peak 13), isochlorogenic acid C (peak 15), and ammonium glycyrrhizinate (peak 20). PCA revealed three principal components accounting for 90.470% of the cumulative variance. Using variable importance in projection (VIP) values >1 as threshold, six potential quality-differentiating components were selected: peak 14, peak 4, neo-chlorogenic acid, ammonium glycyrrhizinate, peak 16, and chlorogenic acid. The mass transfer study showed that the inter-process transfer rates of the eight index components were all within $\pm 30\%$ of the mean. At the mean level, in the extract→alcohol precipitation liquid step, the transfer rates of neochlorogenic acid, chlorogenic acid, and cryptochlorogenic acid were lower than those of isochlorogenic acids A/B/C; whereas in the alcohol precipitation liquid→concentrated liquid step, the opposite was observed. **Conclusion** Based on UPLC fingerprinting and multi-index quantification, a quality control system for the key component indicators of the production intermediate of Qinggan Granules was established, providing a scientific basis for the construction of the quality control and evaluation system for the key production processes of Qinggan Granules.

Key words: Qinggan Granules; quantity-quality transfer; (*R,S*)-goitrin; neochlorogenic acid; chlorogenic acid; cryptochlorogenic acid; isochlorogenic acid B; isochlorogenic acid A; isochlorogenic acid C; ammonium glycyrrhizinate

清肝颗粒（国药准字 Z20026162）是针对肝炎“湿热毒邪”病机制制的方剂。该方由板蓝根、茵陈、甘草 3 味药材组方。板蓝根味苦性寒，归心、胃经，具有清热解毒、凉血利咽的功效。擅长清解内里热毒^[1]，可针对肝胆湿热证的核心热毒病机、祛除致病本源，故为方中君药；茵陈味苦、辛，性微寒，为清热利湿、利胆退黄的经典要药，是中医临床治疗黄疸的核心药材^[2]，可辅助君药强化清热之功，故为臣药；甘草味甘性平，一方面可调和板蓝根、茵陈的寒凉之性，规避寒凉药物损伤脾胃，另一方面能补脾益气、顾护脾胃后天之本，同时兼具辅助解毒的作用，故为佐使药。3 药配伍合用，共奏清热解毒、疏肝退黄之效^[3]。全方药味精简、配伍严谨，契合肝炎“肝胆湿热”核心病机，体现中医方剂“方简力专”的组方特色，临床主要适用于热象显著、伴有黄疸倾向的急慢性肝炎肝胆湿热证患者。

中药复方成分体系复杂，药材中各类成分的含量差异及组分间的相互作用，均会影响复方制剂的整体疗效^[4]。清肝颗粒现行质量标准（YBZ00532023）仅以绿原酸作为含量测定指标，传统单一成分的质量控制模式仅能反映局部质控信息，无法全面反映中药复方的整体质量。中药指纹图谱技术适用于中药整体质量评价，结合多组分含量定量检测，可系统表征复方制剂的质量稳定性与差异性^[5-6]。目前，关于清肝颗粒制备过程的量质传递规律研究仍处于空白。基于此，本研究建立清肝颗粒提取液、醇

沉液、浓缩液的超高效液相色谱（UPLC）指纹图谱，同步测定(*R,S*)-告依春、新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、异绿原酸 B、异绿原酸 A、异绿原酸 C、甘草酸铵 8 种主要活性成分在提取、醇沉、浓缩各工艺阶段的含量，并计算各成分工序间的转移率^[7]。同时结合主成分分析（PCA）、正交偏最小二乘法-判别分析（OPLS-DA）开展质量评价^[8]，探究清肝颗粒关键质量属性在制备工艺过程中的动态传递规律，旨在为该制剂的关键生产工序的质量控制与评价体系提供参考。

1 材料

1.1 主要仪器

KDM 型可调控温电热套，山东鄄城华鲁电热仪器有限公司；JY-15 型数控超声清洗器，鼎泰（湖北）生化科技设备制造有限公司；Vanquish Flex 超高效液相色谱仪，赛默飞世尔科技公司；XS-105、XS-204 型分析天平，上海梅特勒-托利多仪器有限公司。

1.2 药品与主要试剂

乙腈（批号 F22MCG201）、甲醇（批号 F22MAJ201），色谱纯，美国 Fisher 公司；水为纯化水；其余试剂均为分析纯；磷酸（批号 251030898F），分析纯，南京化学试剂股份有限公司；对照品(*R,S*)-告依春（批号 111753-202408，质量分数 100.0%）、绿原酸（批号 110753-202520，质量分数 97.9%）、新绿原酸（批号 112110-202502，质量分数 98.6%）、

隐绿原酸（批号 112111-202502，质量分数 97.4%）、甘草酸铵（批号 110731-202423，质量分数 93.2%）均购自中国食品药品检定研究院；异绿原酸 A（批号 MUST-21102611，质量分数 98.46%）、异绿原酸 B（批号 MUST-21030602，质量分数 99.05%）、异绿原酸 C（批号 MUST-21081010，质量分数 99.77%）均购自成都德斯特生物科技有限公司。实验所用中

药材均经鲁南制药集团股份有限公司经方与现代中药融合创新全国重点实验室范建伟正高级工程师鉴定。板蓝根为十字花科植物菘蓝 *Isatis indigotica* Fort. 的干燥根；茵陈为菊科植物滨蒿 *Artemisia scoparia* Waldst. et Kit. 的干燥地上部分；甘草为豆科植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. 的干燥根和根茎，饮片来源信息见表 1。

表 1 10 批中药饮片来源信息
Table 1 Source information of 10 batches of Chinese herbal pieces

批号	板蓝根		茵陈		甘草	
	产地	批号	产地	批号	产地	批号
S1	安徽	200401	甘肃	YL-097-2101-001	新疆	2111045
S2	黑龙江	Y221205001	甘肃	YL-2306001	新疆	2305049
S3	内蒙古	20250420	甘肃	YL-2310002	新疆	24101601
S4	甘肃	20250903	甘肃	YL-2211001	甘肃	23020101
S5	山西	20201020001	甘肃	5240612	新疆	2111045
S6	甘肃	20250903	甘肃	202211011	新疆	250602
S7	内蒙古	20250420	甘肃	YL-2211001	甘肃	23020101
S8	黑龙江	Y221205001	甘肃	20251009	新疆	250301
S9	甘肃	20250903	甘肃	YL-2306001	新疆	24101601
S10	甘肃	20250903	甘肃	20251009	新疆	2305049

2 方法与结果

2.1 清肝颗粒提取液、醇沉液、浓缩液的制备

称取处方量饮片，加水煎煮 2 次，每次 2 h，合并煎液，滤过，即得提取液（AS1~AS10），滤液减压浓缩至相对密度为 1.25~1.30（20℃）的清膏，加入乙醇至含醇量 60%，静置 24 h，滤过，即得醇沉液（BS1~BS10），醇沉液减压浓缩至相对密度为 1.25~1.30（20℃）的清膏，即得浓缩液（CS1~CS10）。所有样品均由鲁南制药集团股份有限公司经方与现代中药融合创新全国重点实验室制备。

2.2 指纹图谱的研究

2.2.1 色谱条件 采用 Waters CORTECS T₃ C₁₈ 柱（100 mm×2.1 mm，1.6 μm）色谱柱；流动相为 0.2% 磷酸水溶液（A）-乙腈（B）；梯度洗脱，0~9 min，0→7% B；9~12 min，7%→10% B；12~19 min，10%→12% B；19~27 min，12%→13% B；27~42 min，13%→27% B；42~49 min，27%→32% B；49~53 min，32%→33% B；53~64 min，33%→39% B；64~68 min，39%→42% B；68~73 min，42%→60% B；73~74 min，60%→80% B；74~79 min，80%→0 B；体积流量 0.3 mL·min⁻¹；检测波长 0~

3 min，327 nm；3~8 min，245 nm；8~49 min，327 nm；49~73 min，245 nm；73~79 min，327 nm；柱温 30℃；进样量 2 μL。

2.2.2 对照品溶液的制备 精密称取对照品（*R,S*）-告依春、新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、异绿原酸 B、异绿原酸 A、异绿原酸 C、甘草酸铵适量，加甲醇配制成质量浓度分别为 60.487、230.89、633.33、248.40、203.60、155.52、225.50、920.80 μg·mL⁻¹ 的混合对照品储备液。

2.2.3 提取液、醇沉液、浓缩液供试品溶液的制备 精密称取“2.1”项下方法制备的清肝颗粒提取液 3 g，置 25 mL 量瓶中，加适量 50% 甲醇，超声处理（250 W、40 kHz）30 min，放冷，用 50% 甲醇定容，经 0.22 μm 微孔滤膜滤过，取续滤液，即得提取液供试品溶液。精密称取“2.1”项下制备的清肝颗粒醇沉液 0.6 g，置 25 mL 量瓶中，加适量 50% 甲醇，超声处理（250 W、40 kHz）30 min，放冷，用 50% 甲醇定容，经 0.22 μm 微孔滤膜滤过，取续滤液，即得醇沉液供试品溶液。精密称取“2.1”项下制备的清肝颗粒浓缩液 0.3 g，置 25 mL 量瓶中，加适量 50% 甲醇，超声处理（250 W、40 kHz）30 min，放

冷, 用 50% 甲醇定容, 经 0.22 μm 微孔滤膜滤过, 取续滤液, 即得浓缩液供试品溶液。

2.2.4 各单味药材供试品溶液的制备 按照“2.1”项下的制备方法, 制备得到各单味药材样品溶液, 精密称取 0.3 g 各单味药样品溶液至 25 mL 量瓶中, 加 50% 甲醇适量, 超声处理 (250 W、40 kHz) 30 min, 放冷, 50% 甲醇定容, 经 0.22 μm 微孔滤膜滤过, 取续滤液, 即得。

2.2.5 阴性对照溶液的制备 分别称取缺板蓝根、缺茵陈、缺甘草的阴性对照饮片, 按照“2.1”项下的制备方法操作, 精密称取 0.3 g 置于 25 mL 量瓶内, 加 50% 甲醇适量, 超声处理 (250 W、40 kHz) 30 min, 放冷, 用 50% 甲醇定容, 经 0.22 μm 微孔滤膜滤过, 取续滤液, 即得阴性对照溶液。

2.2.6 精密度考察 取 AS1 供试品溶液 1 份, 按“2.2.1”项下色谱条件连续进样 6 次, 记录色谱图。以异绿原酸 B (12 号峰) 为参照峰, 计算各共有峰相对保留时间和相对峰面积的 RSD 值。结果表明, 各共有峰相对保留时间 RSD < 0.2%, 相对峰面积 RSD < 2.5%, 表明仪器精密度良好, 符合指纹图谱要求。

2.2.7 重复性考察 按照“2.2.3”项下的方法平行制备 6 份 AS1 供试品溶液, 按“2.2.1”项下色谱条件进行测定, 记录色谱图。以异绿原酸 B (12 号峰) 为参照峰, 计算其他各共有峰相对保留时间和相对

峰面积的 RSD 值。结果表明, 各共有峰相对保留时间 RSD 均 < 0.5%, 相对峰面积的 RSD 均 < 3%, 表明该方法重复性良好。

2.2.8 稳定性考察 取 AS1 供试品溶液 1 份, 按“2.2.1”项下色谱条件, 分别于 0、4、8、12、16、24 h 进行测定, 记录色谱图。以异绿原酸 B (12 号峰) 为参照峰, 计算各共有峰相对保留时间和相对峰面积 RSD 值。结果表明, 各共有峰相对保留时间 RSD 均 < 0.1%, 相对峰面积的 RSD 均 < 3%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.2.9 指纹图谱的建立与相似度评价 取对照品溶液, 各单味药供试品溶液, 阴性对照溶液, 提取液、醇沉液、浓缩液供试品溶液, 按“2.2.1”项下色谱条件进样, 记录色谱图。将所得数据导入《中药色谱指纹图谱相似度评价系统》(2012 版), 以 AS1 号样品图谱为参照图谱, 时间窗设置为 0.1 min, 进行多点校正和峰匹配, 共标定 21 个共有峰, 结果如图 1~3 所示。通过与混合对照品比对共指认出 8 个色谱峰 (图 4), 分别为 (*R,S*)-告依春 (1 号峰)、新绿原酸 (3 号峰)、绿原酸 (5 号峰)、隐绿原酸 (6 号峰)、异绿原酸 B (12 号峰)、异绿原酸 A (13 号峰)、异绿原酸 C (15 号峰)、甘草酸铵 (20 号峰)。采用平均数法分别计算 10 批提取液 (AS1~AS10)、醇沉液 (BS1~BS10)、浓缩液 (CS1~CS10) 的 UPLC 指纹图谱与各自对照指纹图谱的相似度, 各

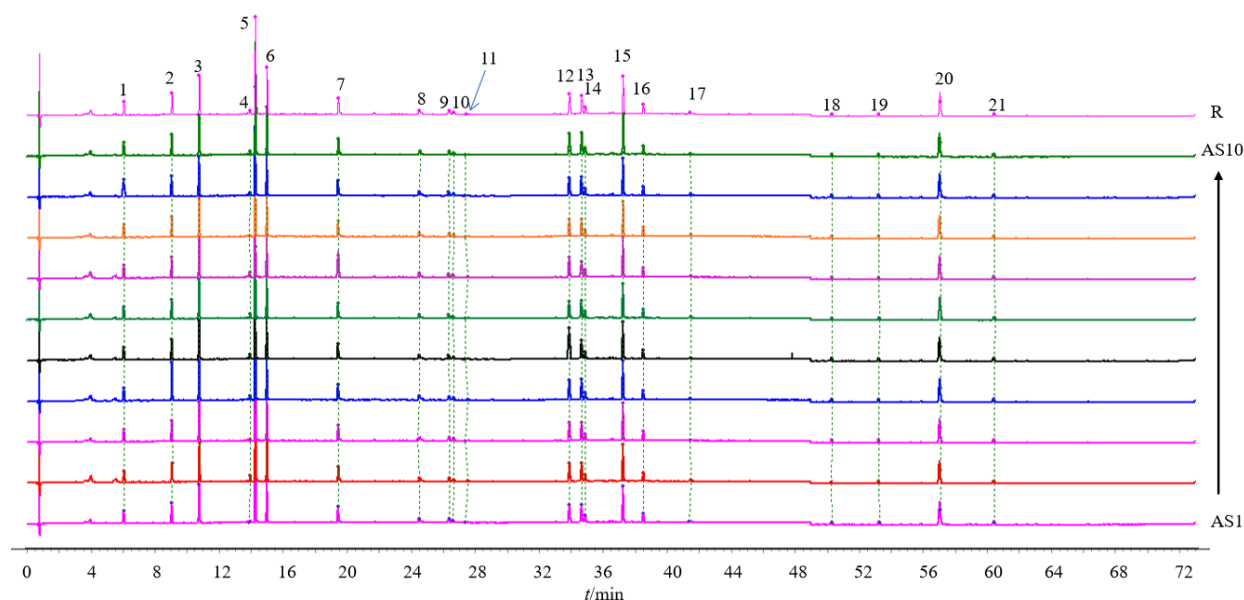


图 1 10 批提取液的 UPLC 指纹图谱及其对照指纹图谱 (R)

Fig. 1 UPLC fingerprint chromatograms of ten batches of extracted solution and their reference chromatograms (R)

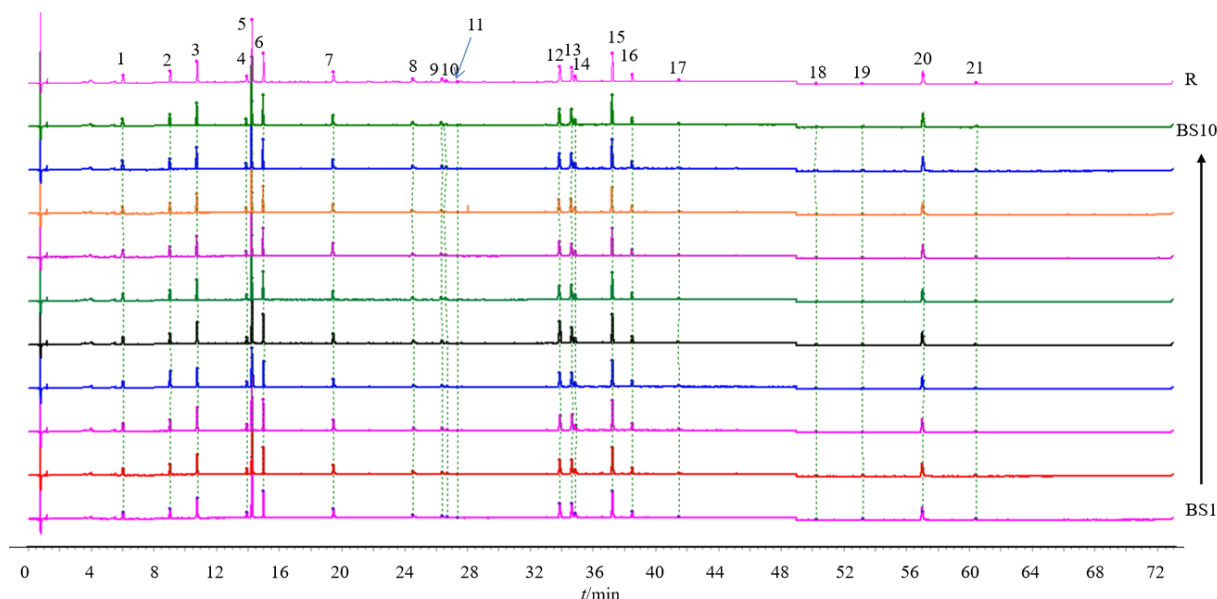


图 2 10 批醇沉液的 UPLC 指纹图谱及其对照指纹图谱 (R)

Fig. 2 UPLC fingerprint chromatograms of ten batches of alcohol precipitation solution and their reference chromatograms (R)

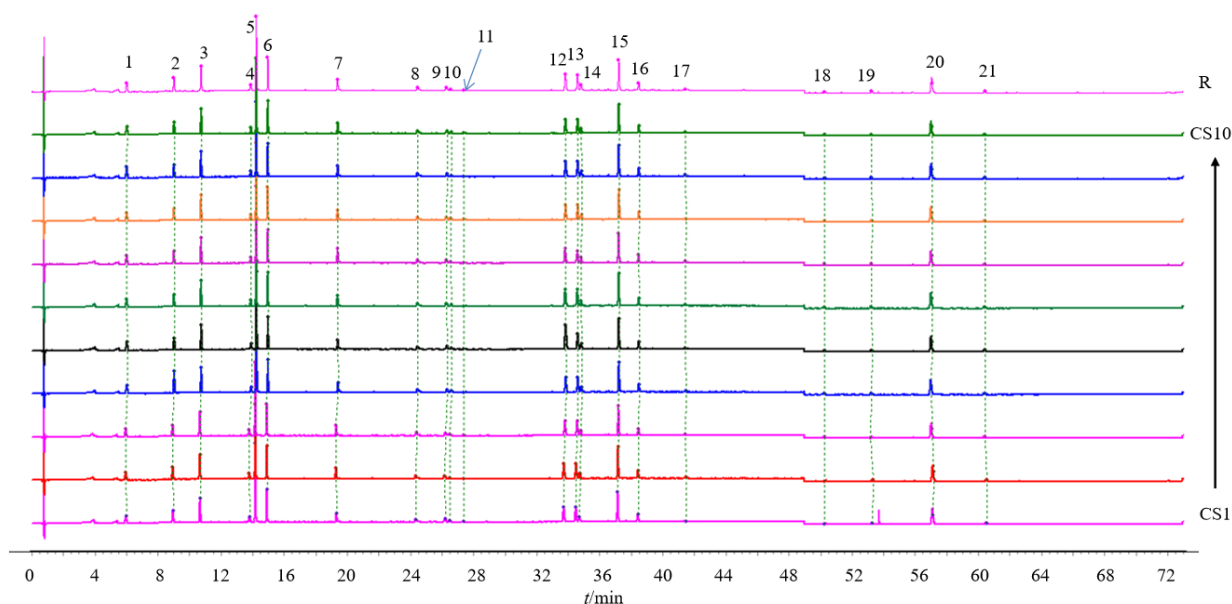


图 3 10 批浓缩液的 UPLC 指纹图谱及其对照指纹图谱 (R)

Fig. 3 UPLC fingerprints chromatograms of ten batches of concentrated solution and their reference chromatograms (R)

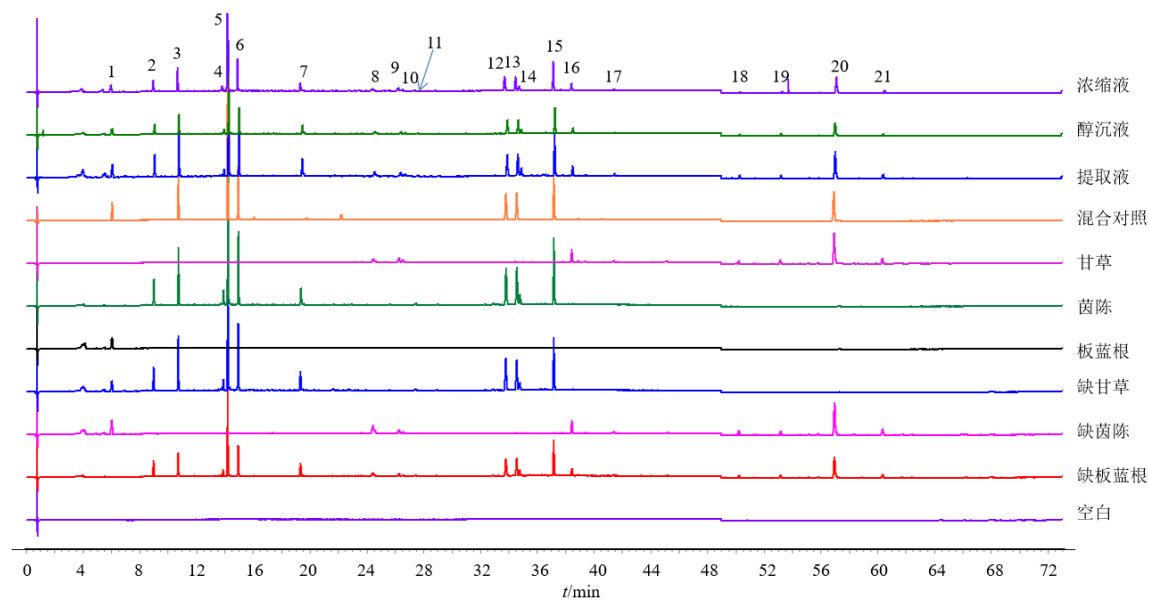
批次样品相似度均 >0.925 , 表明不同批次清肝颗粒提取液、醇沉液、浓缩液相似度良好。

2.2.10 特征峰量质传递分析 将各单味药材供试品溶液、缺单味药阴性对照溶液以及 AS1、BS1、CS1 供试品溶液按“2.2.1”项下色谱条件进样分析, 通过比较色谱峰的相对保留时间和相对峰面积, 对 21 个共有峰进行归属。结果表明 (图 4), 峰 1 来源于板蓝根, 峰 2~7、11~15 来源于茵陈, 峰 8~10、

16~21 来源于甘草。表明药材中的大部分信息都可传递到制剂中。

2.3 化学计量学分析

2.3.1 PCA 以 10 批清肝颗粒提取液、醇沉液、浓缩液 21 个共有峰的峰面积为变量, 采用 SIMCA14.1 软件进行 PCA, 共提取到 3 个主成分 (A1~A3), 累积方差贡献率为 90.470%, 说明 3 个主要成分可以代表 21 个共有峰中 90.470% 的信息, 结果见表 2。



1-(*R,S*)-告依春; 3-新绿原酸; 5-绿原酸; 6-隐绿原酸; 12-异绿原酸 B; 13-异绿原酸 A; 15-异绿原酸 C; 20-甘草酸铵。
1-(*R,S*)-goitrin; 3-neochlorogenic acid; 5-chlorogenic acid; 6-cryptochlorogenic acid; 12-isochlorogenic acid B; 13-isochlorogenic acid A; 15-isochlorogenic acid C; 20-ammonium glycyrrhizinate.

图 4 S1 样品中间品溶液与单味药材、阴性样品、混合对照品溶液及空白溶剂的 UPLC 指纹图谱
Fig. 4 UPLC fingerprint chromatograms of intermediate solution of sample S1, single medicinal herbs, negative samples, mixed reference solution and blank solvent

表 2 PCA 结果
Table 2 PCA results

主成分	特征值	方差贡献率/%	累积方差贡献率/%
A1	15.609	74.331	74.331
A2	1.730	8.237	82.568
A3	1.659	7.902	90.470

表 3 显示的主成分荷载矩阵,明确各主成分具有较大荷载量的共有峰,A1 反映(*R,S*)-告依春、峰 2、绿原酸、隐绿原酸、峰 7、峰 10、异绿原酸 B、异绿原酸 A、峰 14、异绿原酸 C、峰 16、峰 17、峰 21 的信息;A2 反映新绿原酸、峰 4、峰 8、峰 9、峰 18、甘草酸铵的信息;A3 反映峰 11、峰 19 的信息。

表 3 10 批清肝颗粒提取液、醇沉液、浓缩液指纹图谱共有峰主成分载荷矩阵

Table 3 PCA loading matrix of common peaks in UPLC fingerprints of extracted solution, alcohol precipitation solution, and concentrated solution from ten batches of Qinggan Granules

共有峰/成分	载荷矩阵			共有峰/成分	载荷矩阵		
	A1	A2	A3		A1	A2	A3
(<i>R,S</i>)-告依春	0.797	0.513	0.205	异绿原酸B	0.790	0.528	0.111
峰2	0.855	0.480	0.138	异绿原酸A	0.688	0.625	0.164
新绿原酸	0.474	0.814	0.025	峰14	0.938	-0.134	0.220
峰4	0.089	0.791	0.558	异绿原酸C	0.741	0.595	0.007
绿原酸	0.908	0.282	-0.020	峰16	0.890	0.340	0.242
隐绿原酸	0.812	0.551	0.168	峰17	0.839	0.512	0.099
峰7	0.815	0.540	0.169	峰18	-0.162	-0.730	-0.160
峰8	0.640	0.677	0.328	峰19	0.515	-0.051	0.722
峰9	0.645	0.659	0.360	甘草酸铵	-0.364	-0.743	0.268
峰10	0.828	0.514	0.182	峰21	0.618	0.601	0.346
峰11	0.037	0.188	0.895				

2.3.2 OPLS-DA 将 10 批清肝颗粒提取液、醇沉液、浓缩液共有峰的峰面积导入 SIMCA14.1 软件进行 OPLS-DA 处理。结果表明, 10 批清肝颗粒提取液、醇沉液、浓缩液被分为 3 类, 结果见图 5。该模型自变量拟合指数 (R_X^2) = 0.883、因变量拟合指数 (R_Y^2) = 0.980、模型预测系数 (Q^2) = 0.981, 稳定性及预测性良好。

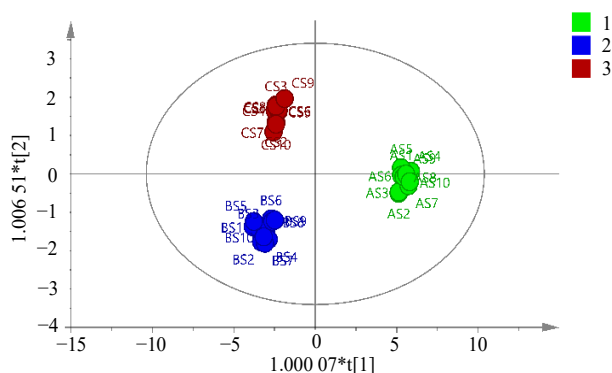


图 5 OPLS-DA 得分图
Fig. 5 OPLS-DA score plot

为防止模型过度拟合造成假阳性, 采用置换检验 ($n=200$) 对各分组分别进行验证^[9], 结果见图 6, 结果显示 Q^2 纵坐标截距 < 0 , R^2 纵轴截距趋近于 0, 提示模型不存在过拟合。结合变量投影重要性 (VIP) 值 > 1 的筛选标准, 共筛选到 6 个成分, 结果见图 7, 按 VIP 值由大到小排序分别为峰 14、峰 4、新绿原酸、甘草酸铵、峰 16、绿原酸, 可能是 10 批清肝颗粒中间体质量差异的关键成分。

2.4 清肝颗粒关键步骤量质传递规律分析

2.4.1 色谱条件 同“2.2.1”项。

2.4.2 对照品溶液的配制 同“2.2.2”项。

2.4.3 提取液、醇沉液、浓缩液供试品溶液的制备 同“2.2.3”项。

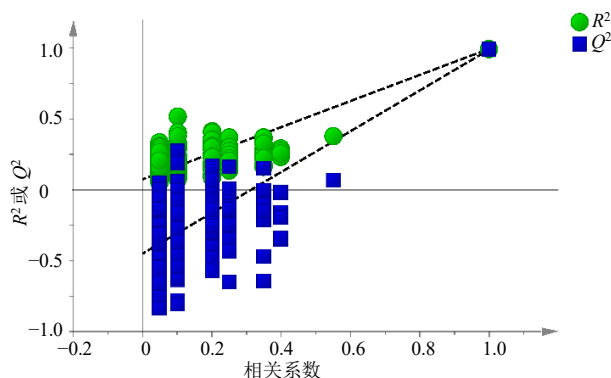


图 6 置换检验图
Fig. 6 Permutation test plot

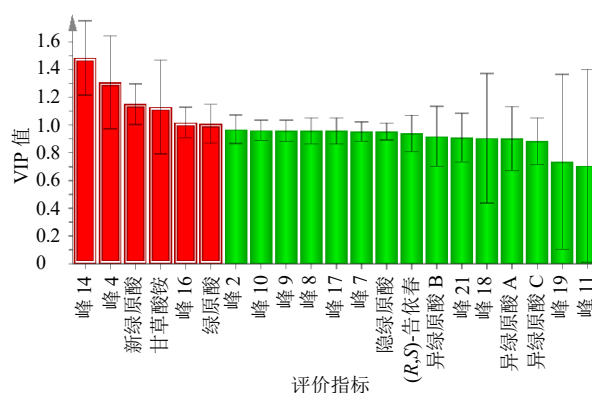


图 7 VIP 得分图
Fig. 7 VIP value plot

2.4.4 线性关系考察 取“2.2.2”项下对照品母液, 用 50% 甲醇稀释得到一系列对照品溶液, 按“2.2.1”项下色谱条件进样测定, 以各成分对照品质量浓度为横坐标 (X), 峰面积为纵坐标 (Y), 拟合标准曲线, 结果见表 4, 结果表明, 这 8 个成分在相应的质量浓度范围内线性关系良好。

表 4 线性关系考察结果

Table 4 Linearity test results of reference substances

指标成分	回归方程	r	线性范围/ $(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$
(<i>R,S</i>)-告依春	$Y=0.387\ 4\ X-0.037\ 09$	0.999 4	0.393~16.090
新绿原酸	$Y=0.182\ 4\ X-0.013\ 78$	0.999 8	1.501~61.417
绿原酸	$Y=0.189\ 8\ X-0.015\ 65$	0.999 8	4.117~168.466
隐绿原酸	$Y=0.161\ 4\ X-0.013\ 91$	0.999 8	1.615~66.075
异绿原酸 B	$Y=0.180\ 2\ X-0.017\ 42$	0.999 8	1.323~54.158
异绿原酸 A	$Y=0.232\ 3\ X-0.012\ 28$	0.999 8	1.011~41.368
异绿原酸 C	$Y=0.220\ 4\ X-0.022\ 15$	0.999 8	1.466~59.986
甘草酸铵	$Y=0.048\ 39\ X-0.019\ 37$	0.999 8	5.985~244.933

2.4.5 精密度考察 精密称取 AS1 样品,按“2.2.3”项下方法制备 AS1 供试品溶液,按照“2.2.1”项下色谱条件连续进样 6 次,记录峰面积,计算各成分峰面积的 RSD 值。结果显示(*R,S*)-告依春、新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、异绿原酸 B、异绿原酸 A、异绿原酸 C、甘草酸铵峰面积的 RSD 分别为 1.24%、1.57%、1.56%、0.62%、1.44%、0.33%、1.05%、0.85%,表明该仪器精密度良好。

2.4.6 重复性考察 精密称取 AS1 样品,按“2.2.3”项下方法平行制备 6 份 AS1 供试品溶液,按照“2.2.1”项下色谱条件测定,依次进样分析,记录峰面积,计算各成分含量 RSD。结果表明(*R,S*)-告依春、新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、异绿原酸 B、异绿原酸 A、异绿原酸 C、甘草酸铵含量的 RSD 分别为 1.17%、0.86%、0.87%、1.08%、1.94%、0.63%、2.10%、1.65%,表明该方法重复性良好。

2.4.7 稳定性考察 精密称取 AS1 样品,按“2.2.3”项下方法制备 AS1 供试品溶液,分别于制备 0、4、8、12、16、24 h 进行测定,按“2.2.1”项下色谱条件,记录峰面积,计算各成分色谱峰面积的 RSD。结果表明(*R,S*)-告依春、新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、异绿原酸 B、异绿原酸 A、异绿原酸 C、甘草酸铵峰面积的 RSD 分别为 1.36%、1.46%、0.55%、1.56%、1.40%、0.73%、1.07%、0.65%,表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.4.8 加样回收率考察 精密称取已知含量的 AS1 1.5 g,按供试品中各成分含量的 100%加入对照品,按“2.2.3”项方法制备加样供试品溶液,平行制备 6 份,按“2.2.1”项下色谱条件测定,记录峰面积,分别计算 8 个指标成分的平均加样回收率。结果表明(*R,S*)-告依春、新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、异绿原酸 B、异绿原酸 A、异绿原酸 C、甘草酸铵的平均加样回收率分别为 99.86%、99.36%、99.43%、98.96%、101.45%、100.60%、100.66%、99.20%,RSD 分别为 1.14%、2.65%、1.22%、2.31%、1.02%、1.45%、0.87%、2.50%,结果表明该方法准确可靠。

2.4.9 定量测定结果 按“2.2.1”项下方法分别测定 10 批清肝颗粒提取液、醇沉液、浓缩液中(*R,S*)-告依春、新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、异绿原酸 B、异绿原酸 A、异绿原酸 C、甘草酸铵共 8 个指标成分的质量分数,各批次实测结果见表 5。各指标成分质量分数统计结果见表 6。结合表 5 数据可

见,提取液阶段各成分批间含量差异较小;经过醇沉、浓缩工序之后各成分质量分数明显升高。其中绿原酸、甘草酸铵在醇沉液及浓缩液中标准差值偏大,提示二者批间绝对波动更为显著,说明醇沉、浓缩操作参数微小偏移易带来中间体质量差异,为工艺需要重点管控的节点。

2.4.10 各指标成分含量在提取液-醇沉液及醇沉液-浓缩液步骤间的传递规律 研究清肝颗粒关键步骤中板蓝根、茵陈、甘草“提取液→醇沉液”“醇沉液→浓缩液”步骤间指标成分的转移情况,为量质传递规律提供依据,结果见表 7(该转移率为相邻步骤间独立计算值,非累积转移率),转移率统计及工艺控制范围见表 8。结果显示,8 种指标性成分转移率均在平均值的±30%控制范围内,表明 2 道工序可稳定传递,制备工艺整体稳定。其中“提取液→醇沉液”工序转移率整体偏低,是成分损耗主要发生环节;而醇沉液到浓缩液转移率各成分均值均≥78%,多数批次高于 78%。

转移率=后一步骤目标成分总质量/前一步骤目标成分总质量

3 讨论

3.1 指标性成分确定

10 批清肝颗粒的提取液、醇沉液与浓缩液指纹图谱共得到 21 个可溯源共有峰;其中归属于板蓝根、茵陈、甘草的特征峰依次有 1、11、9 个,表明板蓝根、茵陈、甘草 3 味药均对制剂指纹图谱存在贡献。板蓝根富含以(*R,S*)-告依春为代表的硫代葡萄糖苷类及其代谢产物,发挥抗炎、抗病毒作用^[10];茵陈主要活性成分为新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、异绿原酸 A、异绿原酸 B、异绿原酸 C 等酚酸类物质,具有保肝利胆、抗氧化活性^[11];甘草以甘草酸及其衍生物等三萜皂苷类成分为核心,可产生抗炎药效。上述 8 种成分覆盖清肝颗粒全部药味,既可反映各单味药及制剂中间体整体质量特征,又与各药味药理活性密切相关,能够较为全面、客观地表征清肝颗粒关键生产工序中间体的质量水平,因此本研究选取该 8 种成分作为含量测定指标。

3.2 成分与制剂疗效及配伍的关联性分析

借助化学计量学筛选得到峰 14、峰 4、新绿原酸、甘草酸铵、峰 16、绿原酸共 6 个清肝颗粒潜在质量差异成分;结合 UPLC 对照品保留时间比对,从中指认新绿原酸、绿原酸、甘草酸铵 3 种成分,其药效作用

表 5 10 批样品 8 个指标成分的质量分数
Table 5 Contents of eight marker components in ten batches of samples

批次	(R,S)-告依春/(mg·g ⁻¹)			新绿原酸/(mg·g ⁻¹)			绿原酸/(mg·g ⁻¹)			隐绿原酸/(mg·g ⁻¹)		
	提取液	醇沉液	浓缩液	提取液	醇沉液	浓缩液	提取液	醇沉液	浓缩液	提取液	醇沉液	浓缩液
S1	2.64	7.98	19.03	9.78	18.61	53.57	24.05	49.53	137.10	11.46	23.80	67.13
S2	3.01	7.34	16.56	9.20	22.11	54.81	23.58	60.15	130.24	11.23	30.86	64.11
S3	2.96	6.88	17.21	9.39	22.20	53.95	23.37	64.00	127.89	11.24	31.51	63.89
S4	3.21	7.63	19.37	9.63	23.93	57.34	24.51	52.75	147.25	11.70	28.13	69.10
S5	2.59	7.95	18.72	9.77	17.24	53.48	23.79	45.94	137.75	11.44	25.65	66.93
S6	2.97	6.99	16.95	9.24	22.42	53.82	23.70	60.58	128.77	11.27	31.66	66.03
S7	3.23	7.88	19.32	9.67	25.57	56.23	24.53	55.93	143.79	11.68	27.73	69.07
S8	2.92	7.08	17.31	9.41	22.50	54.13	23.71	62.51	125.09	11.23	29.81	62.54
S9	2.98	7.29	17.06	9.44	21.96	54.40	23.28	59.97	127.45	11.16	29.81	64.79
S10	3.22	8.20	19.18	9.63	24.47	56.33	24.60	54.16	145.47	11.75	27.32	68.60

批次	异绿原酸B/(mg·g ⁻¹)			异绿原酸A/(mg·g ⁻¹)			异绿原酸C/(mg·g ⁻¹)			甘草酸铵/(mg·g ⁻¹)		
	提取液	醇沉液	浓缩液	提取液	醇沉液	浓缩液	提取液	醇沉液	浓缩液	提取液	醇沉液	浓缩液
S1	7.80	17.73	51.31	5.35	12.86	33.29	9.49	22.49	64.68	38.87	93.67	228.57
S2	7.23	27.09	54.76	4.81	19.31	33.71	9.13	36.83	67.69	42.02	107.25	238.50
S3	7.22	26.17	53.66	4.88	18.56	33.37	9.30	35.11	67.04	41.48	103.11	240.48
S4	8.67	23.52	48.52	6.06	16.94	35.67	10.35	28.39	64.26	40.61	116.50	230.02
S5	7.82	19.00	53.52	5.34	12.87	32.85	9.61	22.49	64.41	38.20	92.98	225.82
S6	7.12	24.28	54.06	4.85	18.74	33.58	9.27	34.77	67.75	41.46	107.00	236.17
S7	8.55	21.75	49.27	5.93	17.24	36.30	10.24	30.05	63.07	41.01	121.18	228.98
S8	7.05	25.12	53.63	4.81	14.98	33.39	9.08	35.13	67.77	41.80	99.55	245.41
S9	7.21	25.85	54.19	4.86	18.35	33.63	9.19	34.18	67.11	42.04	102.12	243.42
S10	8.78	22.86	48.94	6.14	16.34	37.17	10.40	31.64	63.13	40.63	116.72	232.65

表 6 8 种指标成分在不同工艺中间体中的统计结果 ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)
Table 6 Statistical results of eight marker components in different process intermediates ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

成分	提取液/(mg·g ⁻¹)	醇沉液/(mg·g ⁻¹)	浓缩液/(mg·g ⁻¹)
(R,S)-告依春	2.97±0.22	7.52±0.47	18.07±1.14
新绿原酸	9.52±0.21	22.10±2.52	54.81±1.35
绿原酸	23.91±0.49	56.55±5.91	135.08±8.27
隐绿原酸	11.42±0.22	28.63±2.59	66.22±2.33
异绿原酸B	7.75±0.69	23.34±3.08	52.19±2.43
异绿原酸A	5.30±0.55	16.62±2.36	34.30±1.50
异绿原酸C	9.61±0.52	31.11±5.22	65.69±1.96
甘草酸铵	40.81±1.31	106.01±9.69	235.00±6.79

与复方清热利湿、退黄保肝的传统功效相契合。

分子机制层面, 绿原酸类成分可激活胆汁酸核受体法尼醇 X 受体 (FXR), 上调胆汁酸盐输出泵 (BSEP)、钠离子-牛磺胆酸共转运多肽 (NTCP) 等关键转运蛋白, 实现利胆退黄的药理效应^[12]; 甘草酸铵则通过抑制氧化应激、阻断 Toll 样受体 4 (TLR4) 信号通路激活、缓解炎症损伤、抑制细胞

凋亡等多靶点途径发挥保肝作用^[13]。2 者在作用靶点上形成“促进胆汁排泄-抑制微环境损伤”的协同效应; 药性配伍角度体现茵陈“苦寒清利”与甘草“甘缓调和”相反相成的组方思想: 甘草酸铵兼具直接保肝与“调性解毒”作用, 既补充抗损伤作用通路, 又可缓和方剂寒凉药性, 体现“祛邪而不伤正”的组方内涵。综上, 绿原酸类成分与甘草酸铵可作

表 7 10 批样品各步骤间 8 个指标成分的转移率

Table 7 Transfer rates of 8 components indicators for each step of 10 batches of samples

批次	提取液→醇沉液转移率/%							
	(R,S)-告依春	新绿原酸	绿原酸	隐绿原酸	异绿原酸B	异绿原酸A	异绿原酸C	甘草酸铵
S1	60.53	38.06	41.19	41.53	45.46	48.10	47.41	48.20
S2	40.65	40.07	42.52	45.80	62.47	66.86	67.23	42.54
S3	41.11	41.79	48.40	49.55	64.07	67.24	66.72	43.94
S4	47.45	49.67	43.05	48.10	54.22	55.91	54.88	57.37
S5	61.40	35.28	38.62	44.82	48.59	48.18	46.80	48.68
S6	40.18	41.36	43.57	47.88	58.10	65.82	63.91	43.99
S7	48.79	52.89	45.61	47.50	50.90	58.15	58.70	59.09
S8	41.50	40.98	45.20	45.50	61.08	53.42	66.33	40.83
S9	41.53	39.49	43.73	45.34	60.86	64.13	63.13	41.24
S10	50.95	50.80	44.03	46.49	52.08	53.23	60.85	57.45

批次	醇沉液→浓缩液转移率/%							
	(R,S)-告依春	新绿原酸	绿原酸	隐绿原酸	异绿原酸B	异绿原酸A	异绿原酸C	甘草酸铵
S1	80.47	97.13	93.42	95.21	97.66	87.37	97.06	82.35
S2	90.18	99.14	86.62	83.10	80.85	69.84	73.51	88.95
S3	98.81	95.93	78.88	80.05	80.93	70.97	75.37	92.07
S4	90.49	85.38	99.44	87.49	73.50	75.01	80.64	70.34
S5	73.56	96.94	93.71	81.55	88.04	79.73	89.50	75.90
S6	97.75	96.83	85.74	84.11	89.79	72.26	78.59	89.02
S7	91.93	82.45	96.41	93.40	84.94	78.93	78.71	70.86
S8	98.71	97.14	80.79	84.70	86.18	90.01	77.90	99.53
S9	93.59	99.08	85.01	86.95	83.86	73.34	78.53	95.35
S10	85.10	83.72	97.71	91.34	77.89	82.73	72.57	72.50

表 8 8 种指标成分工序间转移率控制范围 (n=10)
Table 8 Control ranges of step-to-step transfer rates of eight components between processing stages (n=10)

成分	转移率(均值±30)/%	
	提取液→醇沉液	醇沉液→浓缩液
(R,S)-告依春	33.19~61.63	63.04~117.08
新绿原酸	30.13~55.95	65.36~121.38
绿原酸	30.51~56.67	62.84~116.70
隐绿原酸	32.38~60.13	60.75~112.83
异绿原酸B	39.05~72.51	59.05~109.67
异绿原酸A	40.67~75.53	54.61~101.42
异绿原酸C	41.72~77.48	56.17~104.31
甘草酸铵	33.83~62.83	58.58~108.80

为连接传统配伍理论与现代药理研究、表征复方“清泄与固护”动态平衡关系的核心指标。

3.3 量质传递规律分析

10 批清肝颗粒在提取、醇沉、浓缩关键工艺过程中,8 种指标成分整体转移情况稳定。醇沉工序中,

异绿原酸 A、异绿原酸 B、异绿原酸 C 的转移率高于新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸 3 种单咖啡酰奎宁酸类成分,推测原因为单咖啡酰奎宁酸极性、水溶性更强,易被沉淀吸附造成损失;二咖啡酰奎宁酸多一个咖啡酰基,疏水性及乙醇溶解性更优,更倾向于保留在上清液中,故醇沉过程损失少。浓缩过程以热效应为主,成分热稳定性成为影响转移率的主导因素;已有研究表明,二咖啡酰奎宁酸存在两个咖啡酰酯键,空间位阻大,结构稳定性较差,受热易发生水解、异构化及氧化降解^[14],热损失更为突出,因此浓缩阶段异绿原酸 A、异绿原酸 B、异绿原酸 C 转移率低于单咖啡酰奎宁酸类成分。本研究结合指纹图谱与含量测定结果,证实 8 种指标成分在各工序间可稳定传递,工艺稳定;同时从指纹图谱、多成分定量维度阐明“提取液→醇沉液→浓缩液”的量质传递规律,结合化学计量学手段,为清肝颗粒关键生产工序的质量控制与评价体系构建提供实验依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 马旭, 卫若楠, 赵林华. 板蓝根的临床应用及其量效探究 [J]. 长春中医药大学学报, 2022, 38(2): 145-148.
Ma X, Wei R N, Zhao L H. Study on the clinical application and dose-effect relationship of Isatis root [J]. J Changchun Univ Tradit Chin Med, 2022, 38(2): 145-148.
- [2] 高荣荣, 贺扬, 郝锦, 等. 黄疸茵陈颗粒联合益生菌对新生儿高胆红素血症患儿的临床疗效 [J]. 中成药, 2025, 47(8): 2808-2811.
Gao R R, He Y, Hao J, et al. Clinical effect of jaundice Yinchen Granule combined with probiotics on neonatal hyperbilirubinemia [J]. Chin Tradit Pat Med, 2025, 47(8): 2808-2811.
- [3] 庄会芳, 谢智军, 金凤, 等. 清肝颗粒(无糖型)质量标准的建立 [J]. 中国药师, 2022, 25(4): 709-713.
Zhuang H F, Xie Z J, Jin F, et al. Study on the quality standard for Qinggan Granules (sugar-free type) [J]. China Pharm, 2022, 25(4): 709-713.
- [4] 吕昀, 程文倩, 牛可敬, 等. 基于多维整合策略的中药复方制剂质量评价研究 [J]. 中草药, 2024, 55(22): 7847-7856.
Lyu Y, Cheng W Q, Niu K J, et al. Research review on quality evaluation of traditional Chinese medicine compound preparations based on multidimensional integration strategy [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2024, 55(22): 7847-7856.
- [5] 郎天琼, 封云倩, 简进珍, 等. 复方胃痛胶囊 HPLC 指纹图谱建立及 5 种成分含量测定 [J]. 中药材, 2023, 46(3): 682-686.
Lang T Q, Feng Y Q, Jian J Z, et al. Establishment of HPLC fingerprint of compound Weitong Capsule and determination of five components [J]. J Chin Med Mater, 2023, 46(3): 682-686.
- [6] Zhao J, Tian G, Qu H B. Research on comprehensive quality consistency evaluation strategy for TCM Granules: A case study with sugar-free Yangwei Granules produced by fluid-bed granulation [J]. Chin Herb Med, 2025, 17(3): 575-583.
- [7] 雷璇, 汪芸兰, 魏玄, 等. 基于特征图谱的小儿消积止咳口服液量质传递相关性研究 [J]. 中草药, 2023, 54(16): 5182-5195.
Lei X, Wang Y L, Wei X, et al. Correlation between quantity and quality transfer of Xiaoe Xiaoji Zhike Oral Liquid for children based on characteristic chromatogram [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2023, 54(16): 5182-5195.
- [8] 陈亚楠, 王孟聪, 肖春萍, 等. 神解散指纹图谱及关键质量属性量质传递规律的研究 [J]. 华西药科学志, 2025, 40(3): 301-306.
Chen Y N, Wang M C, Xiao C P, et al. Study on the fingerprint of Shenjiesan and the transfer law of key quality attributes [J]. West China J Pharm Sci, 2025, 40(3): 301-306.
- [9] 石国丽, 马云, 申凤霞, 等. HPLC 指纹图谱、特征图谱和多指标定量结合化学模式识别的不同基原鬼针草药材质量评价研究 [J]. 中国中药杂志, 2025, 50(15): 4284-4292.
Shi G L, Ma Y, Shen F X, et al. Quality evaluation of *Bidentis Herba* derived from different original plants based on HPLC fingerprints, characteristic chromatograms, multi-component content determination combined with chemical pattern recognition [J]. China J Chin Mater Med, 2025, 50(15): 4284-4292.
- [10] 尤素文, 王连睿, 东红阳, 等. 板蓝根的研究进展及其质量标志物预测分析 [J]. 中药新药与临床药理, 2026, 37(2): 377-384.
You S W, Wang L R, Dong H Y, et al. Research progress in *Isatidis Radix* and predictive analysis of its quality markers [J]. Tradit Chin Drug Res Clin Pharmacol, 2026, 37(2): 377-384.
- [11] 闫雅婕, 王亚亚, 梁轩, 等. 茵陈化学成分、药理作用及在肝胆疾病中的临床应用研究进展 [J]. 中华中医药学刊, 2024, 42(11): 237-248.
Yan Y J, Wang Y Y, Liang X, et al. Research progress on chemical constituents, pharmacological effects and clinical application of Yinchen (*Artemisiae scopariae herba*) in hepatobiliary diseases [J]. Chin Arch Tradit Chin Med, 2024, 42(11): 237-248.
- [12] Zhu L L, Wang L, Cao F, et al. Modulation of transport and metabolism of bile acids and bilirubin by chlorogenic acid against hepatotoxicity and cholestasis in bile duct ligation rats: Involvement of SIRT1-mediated deacetylation of FXR and PGC-1 α [J]. J Hepato Biliary Pancreat Sci, 2018, 25(3): 195-205.
- [13] Zakaria S, Hasan R A, Mahmoud M F, et al. The concurrent exposure to aluminium and fructose induces liver injury in rats: Protection by monoammonium glycyrrhizinate [J]. Clin Exp Pharmacol Physiol, 2020, 47(5): 809-820.
- [14] 吴吉, 喻叶楠, 张心怡, 等. 3, 5-O-二咖啡酰基奎宁酸的稳定性和抗氧化活性研究 [J]. 中国现代应用药学, 2017, 34(10): 1397-1400.
Wu J, Yu Y N, Zhang X Y, et al. Study on the stability and antioxidant activity of 3, 5-O-dicaffeoylquinic acid [J]. Chin J Mod Appl Pharm, 2017, 34(10): 1397-1400.

[责任编辑 孙英杰]