

## 小柴胡颗粒制剂-药材谱峰匹配指纹图谱研究

陈文霞<sup>1</sup>, 武静莲<sup>2</sup>, 马东<sup>3</sup>, 张培<sup>1</sup>, 高霞<sup>1</sup>, 胡芳弟<sup>1\*</sup>

1. 兰州大学药学院, 甘肃 兰州 730000

2. 甘肃省第三人民医院 药剂科, 甘肃 兰州 730000

3. 甘肃省中医学校, 甘肃 兰州 730050

**摘要:** **目的** 建立小柴胡颗粒制剂的多波长指纹图谱并进行药材-制剂谱峰匹配研究, 进一步验证单一波长下指纹图谱质量评价的局限性。**方法** 采用 RP-HPLC 法对 3 个厂家各 3 个批次及实验室自制 3 批小柴胡颗粒 (共 12 批样品) 进行多波长指纹图谱相似性评价, 并与相同色谱条件下的实验室自制小柴胡颗粒时所用的原药材指纹图谱进行谱峰匹配; RP-HPLC 法测定不同来源的小柴胡颗粒中的指标成分的量。**结果** 在 210、254、280、323 nm 4 个波长下, 同一药厂 3 个批次小柴胡颗粒之间及实验室自制的 3 批制剂之间的指纹图谱相似度差别较小, 不同厂家的制剂之间, 仅 A 厂制剂与实验室自制的 3 批制剂在 4 个波长下相似度均在 0.9 以上, 其余二药厂除 280 nm 波长相似度在 0.9 以上外, 在 210、254、323 nm 的相似度均小于 0.9。在 210、254、280、323 nm 4 个波长, 柴胡、甘草、党参和黄芩与小柴胡颗粒模式指纹图谱分别有 5、5、2、18 个色谱峰匹配; 不同来源的小柴胡颗粒制剂中甘草酸和黄芩苷的量差异较大。在制剂中未能检测到柴胡皂苷 a 和 d、阿魏酸、苍术内酯 III、党参炔苷。**结论** 仅以 280 nm 波长指纹图谱相似度评价小柴胡颗粒制剂的质量存在很大的局限性。由于制剂过程及工艺的影响, 部分药材的指标成分并未在制剂中测得; 多波长相似度评价结合制剂用药材与制剂指纹图谱谱峰匹配及活性组分的定量测定相结合的方法, 可为较全面评价中药制剂质量提供参考。

**关键词:** 小柴胡颗粒; 多波长指纹图谱; 谱峰匹配; 质量控制; RP-HPLC

**中图分类号:** R286.02 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2013)22-3154-08

**DOI:** 10.7501/j.issn.0253-2670.2013.22.012

## Fingerprint study on Xiaochaihu Granules-medicinal materials based on peak pattern matching

CHEN Wen-xia<sup>1</sup>, WU Jing-lian<sup>2</sup>, MA Dong<sup>3</sup>, ZHANG Pei<sup>1</sup>, GAO Xia<sup>1</sup>, HU Fang-di<sup>1</sup>

1. School of Pharmacy, Lanzhou University, Lanzhou 730000, China

2. Pharmacy Department, Third People's Hospital of Gansu Province, Lanzhou 730000, China

3. Traditional Chinese Medicine School of Gansu Province, Lanzhou 730050, China

**Abstract: Objective** To establish Xiaochaihu Granules multi-wavelength fingerprints and conduct *Bupleuri Radix*-preparations peaks matching studies for further limitation validation of a single wavelength fingerprint quality evaluation. **Methods** RP-HPLC was adopted to estimate the similarity on three batches of Xiaochaihu Granules from three manufacturers and three batches of Xiaochaihu Granules by laboratory-made (total 12 batches), and make peaks match raw herbs under the same conditions; the contents of indicator ingredients in different batches of Xiaochaihu Granules were determined by RP-HPLC method. **Results** There was few differences of the fingerprint similarities among the three batches of Xiaochaihu Granules both from the same manufacture and laboratory-made at the wavelength of 210, 254, 280, and 323 nm. Among the fingerprints of Xiaochaihu Granules from different manufactures, the similarities of Xiaochaihu Granules only from manufacture A and of the three batches of Xiaochaihu Granules from the laboratory-made were over 0.9 under the four wavelengths. The similarities from the other two manufacturers were over 0.9 except 280 nm, but less than 0.9 at the wavelength of 210, 254, and 323 nm. At 210, 254, 280, and 323 nm wavelengths, peak pattern

收稿日期: 2013-04-27

基金项目: 甘肃省自然科学基金资助项目 (1208RTZA211); 兰州市科技计划项目 (2012-2-67); 甘肃省中医药科学技术研究基金项目 (GZK-2011-73); 教育部春晖计划项目 (Z2011031)

作者简介: 陈文霞 (1987—), 女, 硕士研究生。E-mail: cwx198712@163.com

\*通信作者 胡芳弟 Tel: 13919780068 E-mail: hufd@lzu.edu.cn

matching showed that Xiaochaihu Granules had 5, 5, 2, and 18 matching peaks with *Bupleuri Radix*, *Glycyrrhizae Radix et Rhizoma*, *Codonopsis Radix*, and *Scutellariae Radix*, respectively. The contents of glycyrrhizic acid and baicalin in Xiaochaihu Granules from different manufactures were significantly different. Saikosaponins a and d, ferulic acid, atractylenoide III, and lobetyolin were not detected in the formulations. **Conclusion** There are great limitations to estimate quality of Xiaochaihu Granules with the fingerprint similarity at 280 nm. Multi-wavelength similarity evaluation combined with the peak matching of fingerprint for medicinal materials and preparations and quantitative determination of active components could provide a reference for the comprehensive quality evaluation of preparations for Chinese materia medica.

**Key words:** Xiaochaihu Granules; fingerprint of multi-wavelength; peak matching; quality control; RP-HPLC

传统中药因其高效、低毒等特点,成为国内外研究热点,但总体来说中药质控技术水平较低,急需建立一套整体、可靠、灵敏度较高的分析方法。指纹图谱技术因其在评价中药质量时具有整体性和模糊性的特点,被广泛用于中药材及其中药制剂的质量控制<sup>[1-2]</sup>。但中药指标性或生理活性成分信息并不都能在指纹图谱中完全反应,且传统的单波长指纹图谱技术,因并非所有成分在该波长下吸收,而使其在综合展示一些复杂中药产品(如复方制剂)的质量控制过程显得非常局限。

小柴胡颗粒是汉代医圣张仲景撰写的《伤寒论》中经典方小柴胡汤的现代制剂,由柴胡、黄芩、甘草、党参等7味中药组成,具有解表散热、疏肝和胃等功效,用于寒热往来、胸胁苦满、心烦喜吐、口苦咽干,临床应用非常广泛,现收载于《部颁标准》中药成方制剂第八册(中药成方制剂 WS3B 1498 93),原标准项下只有性状和检查,其标准只有颗粒剂的常规检验项目,而无控制其内在质量的标准。丁根英等<sup>[3]</sup>进行了小柴胡颗粒薄层鉴别及黄芩苷定量测定方法的研究,姜春玲等<sup>[4]</sup>、赵丽众等<sup>[5]</sup>和 Tian 等<sup>[6]</sup>用 RP-HPLC 法对主药黄芩中的黄芩苷进行了定量测定。

中药成分广泛且作用机制复杂,仅仅以某种活性组分的量作为质量控制的标准,存在着较大的局限性。本实验对3个制药企业生产及实验室自制的共12批小柴胡颗粒的 RP-HPLC 指纹图谱进行研究,根据制剂用药材特性分别选取了4个波长下的指纹图谱,并对制剂及其原药材指纹图谱的谱峰匹配,获得专属、宏观、整体的化学特征综合信息,并对样品化学组成的总体波动情况进行考察,验证单一波长指纹图谱质量评价的局限性,提出以制剂用药材和制剂指纹图谱匹配结合多指标成分定量测定的方法对中药制剂质量评价。

## 1 仪器与材料

美国 Waters 2695 型高效液相色谱仪, 2996 二

极管阵列检测器, M<sup>32</sup> 色谱管理站; 乙腈和甲醇为色谱纯(山东禹王实业有限公司禹城化工厂), 冰醋酸和磷酸为分析纯(北京化工厂), 超纯水(兰州医学院第一附属医院药剂科)。

柴胡、甘草、党参药材购自兰州黄河药材市场(批号分别为 100201、GY 1107020510、20090101), 由兰州大学药学院周印锁教授鉴定分别为伞形科柴胡属植物南柴胡 *Bupleurum scorzonrifolium* Willd 的干燥根, 豆科植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fish 的干燥根及根茎, 桔梗科植物党参 *Codonopsis pilosula* (Franch) Nannf 的干燥根; 黄芩对照药材系唇形科植物黄芩 *Scutellaria baicalensis* Georgi 的干燥根, 购自中国药品生物制品检定所(批号 74-29905), 以上药材各购买了 10 批, 用于实验室自制小柴胡颗粒制剂和建立药材模式指纹图谱。

小柴胡颗粒 1、2、3 购自苏州华葆药业有限公司, 在实验中以 A 厂表示, 批号分别为 20070204、20061006、20061205; 小柴胡颗粒 4、5、6 购自甘肃岷海制药有限责任公司, 在实验中以 B 厂表示, 批号分别为 20070502、20070810、20061101; 小柴胡颗粒 7、8、9 购自云南白药集团股份有限公司, 在实验中以 C 厂表示, 批号分别为 20070507、20070913、20061219; 小柴胡颗粒 10、11、12 为实验室自制制剂, 批号分别为 20071011、20071121、20071229; 柴胡皂苷 a (批号 110777-200507)、柴胡皂苷 d (批号 110778-200506)、黄芩苷(批号 110715-200514)、苍术内酯 III、甘草酸单铵盐(批号 110731-200615)、阿魏酸(批号 110773-200611)对照品均购自中国药品生物制品检定所, 党参炔苷(批号 11111901)对照品购自上海中药标准化研究中心(质量分数为 94%)。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

大连依利特 C<sub>18</sub> 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm), Kromasil ODS 保护柱(10 mm×4.6 mm, 5

μm), 乙腈~0.5%磷酸水溶液为流动相进行梯度洗脱, 梯度程序: 0~10 min, 10%~25%乙腈; 10~30 min, 25%~45%乙腈; 30~45 min, 45%~55%乙腈; 45~60 min, 55%~80%乙腈; 60~70 min, 80%~100%乙腈; 体积流量 0.8 mL/min, 柱温 25℃, 色谱图光谱采集范围: 210~400 nm。

## 2.2 小柴胡颗粒样品溶液的制备

精密称取小柴胡颗粒 10.0 g, 置 100 mL 具塞三角瓶中, 精密加入甲醇 50 mL, 精密称定质量, 超声处理 30 min, 放置至室温, 称定质量并用甲醇补足减失的质量, 摇匀, 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 取续滤液备用, 得小柴胡颗粒样品溶液, 每个样品平行处理 3 份。

## 2.3 药材样品溶液的制备

取柴胡、甘草、黄芩、党参药材适量, 分别加 10 倍量水煎煮 2 次, 每次 1.5 h, 将 2 次滤液合并, 滤液浓缩, 分别精密称取相当于 10.0 g 制剂所含原药材量的浸膏, 置 100 mL 具塞三角瓶中, 按“2.2”项下方法进行处理, 得药材样品溶液备用。每个样品平行处理 3 份。

## 2.4 对照品溶液的制备

精密称取黄芩苷 4.42 mg, 甲醇定容至 10 mL, 得 0.442 mg/mL 黄芩苷对照品溶液; 精密称取甘草酸单胺盐 2.68 mg, 甲醇定容至 10 mL, 得 0.268 mg/mL 甘草酸单胺盐对照品溶液; 精密称取柴胡皂苷 a 9.20 mg, 柴胡皂苷 d 10.64 mg 分别用甲醇定容至 10 mL, 得 0.920 mg/mL 柴胡皂苷 a 对照品溶液和 1.064 mg/mL 柴胡皂苷 d 对照品溶液; 精密称取苍术内酯 III 13.8 mg, 甲醇定容至 10 mL, 得 1.38 mg/mL 苍术内酯 III 对照品溶液; 精密称取阿魏酸 23.5 mg, 甲醇定容至 10 mL, 得 2.35 mg/mL 阿魏酸对照品溶液; 精密称取党参炔苷 15.4 mg, 甲醇定容至 10 mL, 得 1.54 mg/mL 党参炔苷对照品溶液。

## 2.5 色谱图相似性分析

取上述 3 个药厂和实验室自制的共 12 批小柴胡颗粒样品溶液 10 μL 进样, 按“2.1”项下色谱条件建立小柴胡颗粒制剂的指纹图谱。提取 210、254、280、323 nm 4 个波长下的色谱图, 数据处理用中南大学开发的中药指纹图谱系统评价软件进行全谱相似度计算, 色谱峰的相似性可以通过相关系数( $r_1$ )和同一性参数( $r_2$ )来评价,  $r_1$ 和 $r_2$ 由指纹图谱中位数或平均值来计算, 计算公式如下:

$$r_1 = \frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{\sqrt{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2 \sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2}} \quad (i=1, 2, 3, \dots, n)$$

$$r_2 = \frac{\sum_{i=1}^n x_i y_i}{\sqrt{\sum_{i=1}^n x_i^2 \sum_{i=1}^n y_i^2}} \quad (i=1, 2, 3, \dots, n)$$

$x_i$ 和 $y_i$ 表示同一波长下不同色谱图上的谱峰面积,  $n$ 表示色谱图上谱峰数量,  $\bar{x}$ 和 $\bar{y}$ 表示所有的 $x$ 和 $y$ 的平均值。

对上述不同厂家和自制的 12 批小柴胡颗粒样品进行分析, 其指纹图谱相似度由中药指纹图谱系统评价软件进行计算, 导入 12 批制剂在 210、254、280、323 nm 波长的色谱图谱, 分别获得各制剂在 210、254、280、323 nm 波长的全谱平均数相似度和中位数相似度。结果见表 1, 模式指纹图谱见图 1。由表 1 可知在波长 280 nm, 12 批小柴胡颗粒的均值相似度和中位数相似度均在 0.9 以上, 而在其他 3 个波长 (210、254、323 nm), 仅 A 厂和实验室自制的小柴胡颗粒均在 0.9 以上, B、C 两厂的相似度均小于 0.9; 来自同一厂家 3 个批次的小柴胡颗粒在 4 个波长下相似度差异很小。

## 2.6 黄芩苷和甘草酸单氨盐的测定<sup>[7-8]</sup>

样品处理方法同“2.2”和“2.3”项, 按“2.1”项下色谱条件测定, 以峰面积( $Y$ )对质量浓度( $X$ )进行线性回归。甘草酸单氨盐的测定波长 254 nm, 回归方程为  $Y=3.13 \times 10^5 X - 4.20 \times 10^5$ ,  $r=0.9998$ , 线性范围为 0.268~5.36 μg; 黄芩苷的测定波长 280 nm, 回归方程为  $Y=2.23 \times 10^6 X - 1.19 \times 10^6$ ,  $r=0.9996$ , 线性范围分别为 0.442~8.84 μg。结果见表 2。由表 2 可知 3 个厂家和实验室自制制剂中黄芩苷的量差别不大, 但甘草酸的量差别较大。

## 2.7 制剂与药材谱峰匹配

谱峰匹配方法: 根据小柴胡颗粒样品指纹图谱参数, 比较各药材样品色谱峰相对保留时间, 在允许的波动范围内寻找匹配峰。紫外光谱特征相似度计算采用夹角余弦法, 取色谱峰半峰宽以上光谱的均值进行计算, 通过谱峰匹配后, 以相匹配峰的峰面积, 采用夹角余弦法, 计算相似度。如果药材与制剂的匹配相似度达到 90%以上, 认为制剂所用药材和原药材匹配, 否则认为不匹配<sup>[9-10]</sup>。

取 5 批柴胡、甘草、黄芩、党参进行分析, 其指纹图谱平均数和中位数相似度由中药指纹图谱系

表1 12个小柴胡颗粒样品在210、254、280、323 nm波长下全谱比较相似度

Table 1 Comparison on similarities of twelve Xiaochaihu Granule samples at wavelengths of 210, 254, 280, and 323 nm

| 样品来源 | 批号       | 210 nm |       | 254 nm |       | 280 nm |       | 323 nm |       |
|------|----------|--------|-------|--------|-------|--------|-------|--------|-------|
|      |          | $r_1$  | $r_2$ | $r_1$  | $r_2$ | $r_1$  | $r_2$ | $r_1$  | $r_2$ |
| A厂   | 20070204 | 0.972  | 0.961 | 0.953  | 0.988 | 0.945  | 0.932 | 0.938  | 0.911 |
|      | 20061006 | 0.947  | 0.911 | 0.940  | 0.961 | 0.992  | 0.962 | 0.993  | 0.941 |
|      | 20061205 | 0.993  | 0.982 | 0.988  | 0.992 | 0.962  | 0.982 | 0.964  | 0.966 |
|      | 平均值      | 0.970  | 0.952 | 0.958  | 0.916 | 0.977  | 0.959 | 0.964  | 0.936 |
| B厂   | 20070502 | 0.777  | 0.781 | 0.785  | 0.721 | 0.983  | 0.987 | 0.856  | 0.838 |
|      | 20070810 | 0.765  | 0.752 | 0.791  | 0.806 | 0.965  | 0.962 | 0.844  | 0.892 |
|      | 20061101 | 0.792  | 0.781 | 0.809  | 0.759 | 0.976  | 0.998 | 0.857  | 0.866 |
|      | 平均值      | 0.778  | 0.786 | 0.852  | 0.762 | 0.973  | 0.938 | 0.852  | 0.865 |
| C厂   | 20070507 | 0.886  | 0.901 | 0.852  | 0.882 | 0.997  | 0.998 | 0.898  | 0.882 |
|      | 20070913 | 0.875  | 0.871 | 0.826  | 0.831 | 0.955  | 0.969 | 0.878  | 0.791 |
|      | 20061219 | 0.826  | 0.832 | 0.819  | 0.859 | 0.998  | 0.999 | 0.869  | 0.842 |
|      | 平均值      | 0.863  | 0.868 | 0.832  | 0.858 | 0.984  | 0.988 | 0.882  | 0.838 |
| 自制   | 20071011 | 0.897  | 0.887 | 0.895  | 0.918 | 0.952  | 0.921 | 0.961  | 0.929 |
|      | 20071121 | 0.919  | 0.904 | 0.905  | 0.920 | 0.982  | 0.932 | 0.956  | 0.932 |
|      | 20071229 | 0.901  | 0.918 | 0.947  | 0.902 | 0.938  | 0.918 | 0.961  | 0.920 |
|      | 平均值      | 0.906  | 0.903 | 0.915  | 0.913 | 0.957  | 0.923 | 0.959  | 0.927 |

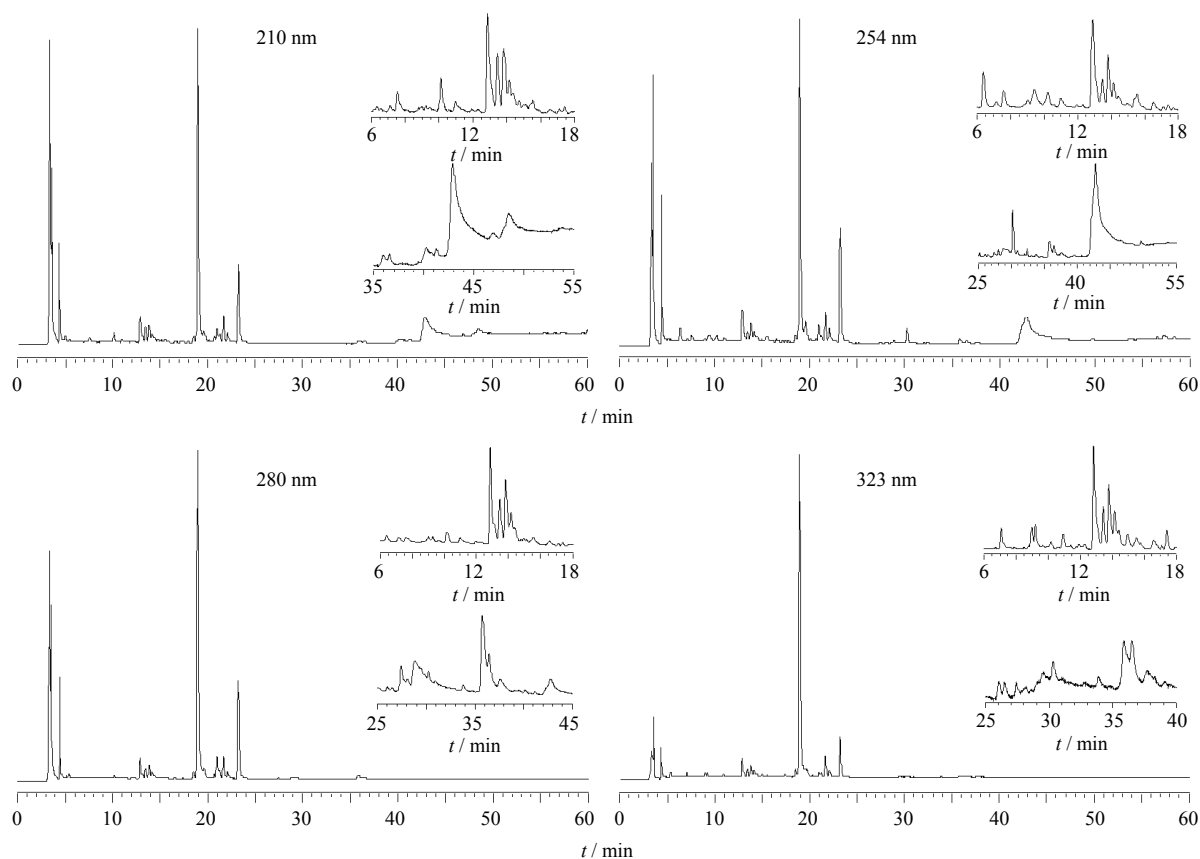


图1 小柴胡颗粒210、254、280、323 nm波长下的模式指纹图谱

Fig. 1 Pattern fingerprint of Xiaochaihu Granules at wavelengths of 210, 254, 280, and 323 nm

统评价软件分别在 210、254、280、323 nm 下计算产生, 4 种原药材的指纹图谱见图 2。

取柴胡药材样品溶液、柴胡皂苷 a 和柴胡皂苷 d 对照品溶液各 10  $\mu\text{L}$  进样, 按“2.1”项下色谱条件获得柴胡药材色谱图, 提取 210 nm 色谱图, 见

表 2 制剂中黄芩苷和甘草酸单铵盐的量  
Table 2 Content of baicalin and glycyrrhizic acid in preparations

| 样品来源 | 批号       | 质量分数 / ( $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ) |                  |
|------|----------|------------------------------------------|------------------|
|      |          | 黄芩苷                                      | 甘草酸单铵盐           |
| A 厂  | 20070204 | $0.97\pm 0.07$                           | $0.113\pm 0.005$ |
|      | 20061006 | $0.81\pm 0.01$                           | $0.095\pm 0.004$ |
|      | 20061205 | $0.84\pm 0.00$                           | $0.093\pm 0.004$ |
| B 厂  | 20070502 | $1.22\pm 0.02$                           | $0.670\pm 0.012$ |
|      | 20070810 | $1.19\pm 0.01$                           | $0.623\pm 0.011$ |
|      | 20061101 | $0.92\pm 0.03$                           | $0.656\pm 0.019$ |
| C 厂  | 20070507 | $0.71\pm 0.01$                           | $0.154\pm 0.003$ |
|      | 20070913 | $0.64\pm 0.03$                           | $0.148\pm 0.011$ |
|      | 20061219 | $0.69\pm 0.04$                           | $0.139\pm 0.004$ |
| 自制   | 20071011 | $1.17\pm 0.02$                           | $0.103\pm 0.004$ |
|      | 20071121 | $1.01\pm 0.05$                           | $0.099\pm 0.007$ |
|      | 20071229 | $1.04\pm 0.00$                           | $0.098\pm 0.000$ |

图 2, 按谱峰匹配方法与小柴胡颗粒模式进行匹配, 以 1 号峰匹配峰为参照峰, 匹配峰的相对保留时间和峰面积见表 3, 共有 5 个匹配峰, 未见柴胡皂苷 a、柴胡皂苷 d 的匹配峰。一个重要的原因是柴胡在水提时, 柴胡皂苷 a 和 d 发生水解。以水提取为制备工艺的小柴胡颗粒中也不含有柴胡皂苷 a 和 d, 该研究结果和本课题组前期的研究结果一致<sup>[11]</sup>。A、B、C 及实验室自制制剂与柴胡药材的匹配相似度分别为 0.900、0.844、0.555、0.930。除 A 厂与实验室自制制剂外, B 和 C 厂匹配峰相似度均小于 0.900。

取甘草药材样品溶液、甘草酸单铵盐对照品溶液各 10  $\mu\text{L}$  进样, 按“2.1”项下色谱条件获得甘草药材色谱图, 提取 254 nm 色谱图, 见图 2, 按谱峰匹配方法与小柴胡颗粒模式指纹图谱进行匹配以 5 号峰匹配峰 (甘草酸) 为参照峰, 匹配峰的相对保留时间和峰面积见表 4, 在 254 nm 下, 共有 5 个匹配峰, 匹配峰相似度分别为 0.991、0.942、0.954、0.966。

取黄芩药材样品溶液、黄芩苷对照品溶液各 10  $\mu\text{L}$  进样, 按“2.1”项下色谱条件获得黄芩药材色谱图, 提取 280 nm 色谱图, 见图 2, 按谱峰匹配方法与小柴胡颗粒模式指纹图谱进行匹配, 以 8 号匹

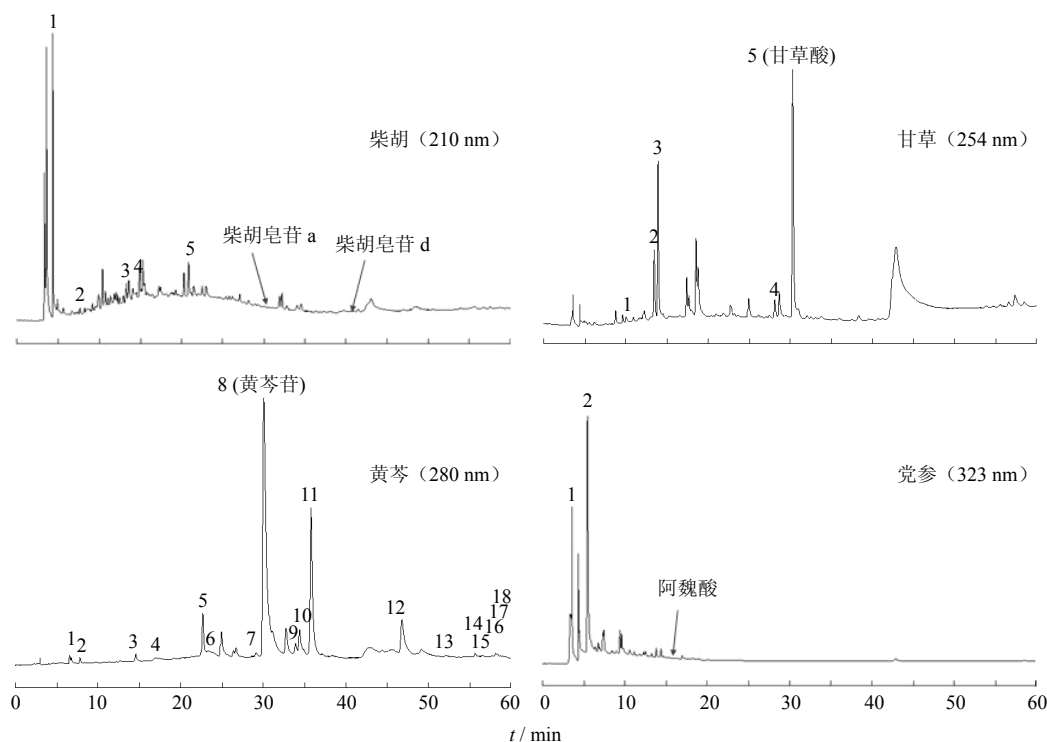


图 2 柴胡、甘草、黄芩和党参在相应波长下的色谱图

Fig. 2 Fingerprints of *Bupleuri Radix*, *Glycyrrhizae Radix et Rhizoma*, *Scutellariae Radix*, and *Codonopsis Radix* at corresponding wavelength

配峰（黄芩苷）作为参照峰，匹配峰的相对保留时间和峰面积见表 5，在 280 nm 下黄芩药材与小柴胡颗粒模式指纹图谱有 18 个匹配峰，平均相似度分别为 0.993、0.931、0.951、0.998。

取党参药材样品溶液、阿魏酸、党参炔苷、苍术内酯 III 对照品溶液各 10 μL 进样，按“2.1”项下色谱条件获得党参药材色谱图，提取 323 nm 色

谱图，见图 2，按谱峰匹配方法与小柴胡颗粒模式指纹图谱进行匹配，以 2 号匹配峰作为参照峰，匹配峰的相对保留时间及相对峰面积见表 6，未见阿魏酸、党参炔苷、苍术内酯 III 的匹配峰，在 323 nm 波长仅有 2 个匹配峰，除实验室自制制剂的匹配相似度在 0.9 以上外，3 个药厂制剂的匹配相似度均较小。

表 3 柴胡药材与制剂谱峰匹配结果及相似度  
Table 3 Peak pattern matching and similarities between *Bupleuri Radix* and *Xiaochaihu Granules*

| 样品来源 | 相对峰面积 |       |       |       |       | 相对保留时间 |       |       |       |       | 平均相似度 |
|------|-------|-------|-------|-------|-------|--------|-------|-------|-------|-------|-------|
|      | 峰 1   | 峰 2   | 峰 3   | 峰 4   | 峰 5   | 峰 1    | 峰 2   | 峰 3   | 峰 4   | 峰 5   |       |
| A 厂  | 1.000 | 0.078 | 0.255 | 0.178 | 0.204 | 1.000  | 1.688 | 3.018 | 3.175 | 4.708 | 0.900 |
| B 厂  | 1.000 | 0.146 | 1.373 | 0.219 | 0.282 | 1.000  | 1.733 | 3.011 | 3.184 | 4.557 | 0.844 |
| C 厂  | 1.000 | 0.102 | 0.658 | —     | —     | 1.000  | 1.735 | 3.016 | —     | —     | 0.555 |
| 自制   | 1.000 | 0.075 | 0.256 | 0.168 | 0.218 | 1.000  | 1.694 | 3.002 | 3.145 | 4.569 | 0.930 |

表 4 甘草药材与制剂谱峰匹配结果及相似度  
Table 4 Peak pattern matching and similarities between *Glycyrrhizae Radix et Rhizoma* and *Xiaochaihu Granules*

| 样品来源 | 相对峰面积 |       |       |       |       | 相对保留时间 |       |       |       |       | 平均相似度 |
|------|-------|-------|-------|-------|-------|--------|-------|-------|-------|-------|-------|
|      | 峰 1   | 峰 2   | 峰 3   | 峰 4   | 峰 5   | 峰 1    | 峰 2   | 峰 3   | 峰 4   | 峰 5   |       |
| A 厂  | 0.540 | 0.589 | 1.241 | 1.206 | 1.000 | 0.337  | 0.445 | 0.456 | 0.926 | 1.000 | 0.991 |
| B 厂  | 0.093 | 0.126 | 0.090 | 0.051 | 1.000 | 0.336  | 0.443 | 0.459 | 0.926 | 1.000 | 0.942 |
| C 厂  | 0.282 | 0.316 | 0.126 | 0.050 | 1.000 | 0.339  | 0.447 | 0.463 | 0.935 | 1.000 | 0.954 |
| 自制   | 0.459 | 0.399 | 0.135 | 0.296 | 1.000 | 0.338  | 0.445 | 0.460 | 0.936 | 1.000 | 0.966 |

表 5 黄芩药材与制剂的谱峰匹配结果  
Table 5 Peak pattern matching between *Scutellariae Radix* and *Xiaochaihu Granules*

| 样品来源 | 相对峰面积 |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |
|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
|      | 峰 1   | 峰 2   | 峰 3   | 峰 4   | 峰 5   | 峰 6   | 峰 7   | 峰 8   | 峰 9   | 峰 10  | 峰 11  | 峰 12  | 峰 13  | 峰 14  | 峰 15  | 峰 16  | 峰 17  | 峰 18  |
| A 厂  | 0.019 | 0.007 | 0.003 | 0.004 | 0.049 | 0.014 | 0.018 | 1.000 | 0.025 | 0.074 | 0.319 | 0.045 | 0.003 | 0.006 | 0.002 | 0.002 | 0.007 | 0.003 |
| B 厂  | 0.003 | 0.003 | 0.007 | 0.014 | 0.025 | 0.005 | 0.005 | 1.000 | 0.013 | 0.061 | 0.038 | 0.013 | 0.004 | 0.004 | 0.002 | 0.001 | 0.013 | 0.003 |
| C 厂  | 0.002 | 0.009 | 0.002 | 0.040 | 0.019 | 0.003 | 0.003 | 1.000 | 0.011 | 0.052 | 0.118 | 0.008 | 0.004 | 0.006 | 0.003 | 0.002 | 0.008 | 0.004 |
| 自制   | 0.004 | 0.003 | 0.008 | 0.014 | 0.025 | 0.177 | 0.005 | 1.000 | 0.015 | 0.062 | 0.044 | 0.034 | 0.004 | 0.005 | 0.002 | 0.002 | 0.011 | 0.003 |

| 样品来源 | 相对保留时间 |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |
|------|--------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
|      | 峰 1    | 峰 2   | 峰 3   | 峰 4   | 峰 5   | 峰 6   | 峰 7   | 峰 8   | 峰 9   | 峰 10  | 峰 11  | 峰 12  | 峰 13  | 峰 14  | 峰 15  | 峰 16  | 峰 17  | 峰 18  |
| A 厂  | 0.218  | 0.265 | 0.484 | 0.560 | 0.754 | 0.776 | 0.968 | 1.000 | 1.126 | 1.143 | 1.190 | 1.555 | 1.732 | 1.850 | 1.878 | 1.918 | 1.938 | 1.962 |
| B 厂  | 0.219  | 0.260 | 0.468 | 0.560 | 0.740 | 0.787 | 0.967 | 1.000 | 1.126 | 1.143 | 1.192 | 1.555 | 1.734 | 1.850 | 1.877 | 1.918 | 1.937 | 1.963 |
| C 厂  | 0.220  | 0.260 | 0.477 | 0.560 | 0.741 | 0.787 | 0.970 | 1.000 | 1.127 | 1.143 | 1.191 | 1.560 | 1.737 | 1.857 | 1.883 | 1.924 | 1.940 | 1.970 |
| 自制   | 0.219  | 0.260 | 0.477 | 0.559 | 0.737 | 2.318 | 0.970 | 1.000 | 1.123 | 1.143 | 1.186 | 1.655 | 1.732 | 1.851 | 1.877 | 1.918 | 1.933 | 1.960 |

3 讨论

柴胡、黄芩、甘草、党参等为小柴胡颗粒中的主要组成部分，《中国药典》2010 版柴胡有北柴胡 *Bupleurum chinese* DC. 和南柴胡 *B. scorzonrifolium* Willd. 2 个种，党参有党参 *Codonopsis pilosula* (Franch.) Nannf.、素花党参 *Codonopsis pilosula*

表6 党参药材与制剂谱峰匹配结果及相似度  
Table 6 Peak pattern matching and similarities between  
*Codonopsis Radix* and Xiaochaihu Granules

| 样品来源 | 相对峰面积  |       | 相对保留时间 |       | 平均相似度 |
|------|--------|-------|--------|-------|-------|
|      | 峰1     | 峰2    | 峰1     | 峰2    |       |
| A厂   | 13.039 | 1.000 | 0.627  | 1.000 | 0.575 |
| B厂   | 1.310  | 1.000 | 0.625  | 1.000 | 0.232 |
| C厂   | —      | 1.000 | 0.626  | 1.000 | 0.231 |
| 自制   | 15.842 | 1.000 | 0.621  | 1.000 | 0.913 |

Nannf. var. *modesia* (Nannf.) L. T. Shen 和川党参 *Codonopsis tangshen* Oliv. 3个种, 黄芩仅有黄芩 *Scutellaria baicalensis* Georgi 1个品种, 甘草有甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch.、胀果甘草 *Glycyrrhiza inflata* Bat. 和光果甘草 *Glycyrrhiza glabra* L. 3个种。其中柴胡活性组分柴胡皂苷的最大紫外吸收波长约为 210 nm, 甘草活性组分甘草酸的最大紫外吸收波长约为 254 nm, 黄芩活性组分黄芩苷的最大紫外吸收波长约为 280 nm, 党参中活性组分党参炔苷、苍术内酯 III、阿魏酸等在 210、254、280、323 nm 有吸收, 因此选择 210、254、280、323 nm 4个波长进行制剂指纹图谱研究, 并与相应药材活性成分对应的最大吸收波长下进行进行谱峰匹配。

由表1可知, 同一药厂生产的不同批次小柴胡颗粒的指纹图谱相似度差别较小, 不同药厂生产的小柴胡颗粒指纹图谱平均相似度仅在 280 nm 相差较小且均达到了 0.9 以上, 而在 210、254、323 nm 波长下除了 A 厂和实验室自制制剂外, 其余制剂的指纹图谱与模式指纹图谱的相似度差别很大, 说明以单一波长指纹图谱评价制剂质量时存在很大的局限性。

以柴胡药材和制剂模式指纹图谱匹配时, 发现在 210 nm 柴胡药材和制剂共有 5 个匹配峰, 其中 A 厂和自制制剂的匹配峰相似度均达到 0.9 以上, 说明 A 厂和自制制剂所用柴胡药材基源一致。我国柴胡属植物品种众多, 除海南外, 全国各地均有分布<sup>[12-13]</sup>, 普遍存在以当地所产柴胡作为习惯用药的现象, 这就导致了柴胡及其制剂质量的不稳定性, 从而影响其疗效<sup>[14]</sup>。柴胡作为小柴胡颗粒制剂处方中的君药, 约占处方量的三分之一。柴胡药材的品种、质量及处理工艺对制剂质量的影响很大。

以甘草药材和制剂模式指纹图谱匹配时, 发现在 254 nm 甘草药材和制剂共有 5 个匹配峰, A、B、C 三厂和自制制剂的匹配峰相似度均达到 0.9 以

上, 说明 3 厂制剂用甘草药材和匹配时所用药材的基源基本一致。

以黄芩药材和制剂模式指纹图谱匹配时, 发现在 280 nm 黄芩药材和制剂共有 18 个匹配峰, A、B、C 3 厂和自制制剂的匹配峰相似度均达到 0.9 以上, 说明 3 厂制剂用黄芩药材和匹配时所用药材的基源基本一致。

以党参药材和制剂模式指纹图谱匹配时, 发现在 323 nm 党参药材和制剂仅有 2 个匹配峰, 仅自制制剂的匹配峰相似度均达到 0.9 以上, 这说明 3 个不同药厂所用的党参药材与匹配用原药材基源存在差异; 有文献记载小柴胡汤处方中, 用人参而非党参, 可能也是造成这一差异的原因之一, 另外在实验过程中所提取量偏低也可能是造成谱峰匹配相似度有差别的原因。

药材和制剂匹配时除黄芩药材匹配峰较多(18个)外, 其余 3 种药材柴胡、党参、甘草的匹配峰均较少, 究其原因可能是制剂时各药材组分相互作用的结果。另外 12 批制剂中, 均未检测到柴胡皂苷 a、柴胡皂苷 d 以及党参炔苷、苍术内酯 III、阿魏酸, 可能的原因是在制剂过程中皂苷的水解及药物相互作用或提取率较低。

要实现对中成药的全面质量控制, 必需把握好中药生产的各个环节。制剂用原药材的品种和质量是决定中成药质量的重要因素。单一波长指纹图谱在评价中药制剂质量的过程中存在很大的局限性, 本实验采用多波长下相似度评价结合药材与制剂指纹图谱谱峰匹配及活性组分的测定等多指标评价的方法, 可以用于中药制剂的质量考察。该法为以指纹图谱进行中药制剂质量控制提供了一种新的思路。

#### 参考文献

- [1] 刘欢, 何忠俊, 梁社往, 等. 滇重楼高效液相色谱指纹图谱研究 [J]. 中草药, 2012, 43(9): 1846-1851.
- [2] 李家春, 孙兰, 李红娟, 等. 桂枝茯苓胶囊 HPLC 指纹图谱研究 [J]. 中草药, 2012, 43(7): 1333-1335.
- [3] 丁根英, 于春辉, 徐风云. 小柴胡颗粒质量标准研究 [J]. 中外医疗, 2009, 28(23): 70.
- [4] 姜春玲, 李大伟. 小柴胡颗粒中黄芩苷的含量测定 [J]. 黑龙江科技信息, 2011(14): 26.
- [5] 赵丽众, 杨雁. HPLC 法测定小柴胡颗粒剂黄芩苷的含量 [J]. 齐鲁药事, 2005, 8(24): 470-472.
- [6] Tian R T, Xie P S, Liu H P, et al. Evaluation of tradition Chinese herbal medicine: Chaihu by both high-performance liquid chromatographic and high-performance

- thin-layer chromatography fingerprint and chemometric analysis [J]. *J Chromatogr A*, 2009, 1216(11): 2150-2155.
- [7] 宋双红, 王喆之, 张媛, 等. 黄芩药材 HPLC 指纹图谱的研究 [J]. 中国药学杂志, 2006, 41(6): 413-417.
- [8] 伏秦超, 王钢, 赵乐. HPLC 检测蜜炙甘草中主要成分含量的研究 [J]. 长春中医药大学学报, 2010, 26(4): 587-589.
- [9] 倪力军, 王国东, 郭佳, 等. 基于图论的色谱指纹图谱谱峰的全局匹配 [J]. 分析化学, 2006, 34(10): 1454-1458.
- [10] 乔善磊. 中药色谱指纹图谱相似度评价研究 [D]. 上海: 第二军医大学, 2004.
- [11] Wu Y Q, Gou Y Q, Han J, *et al.* Evaluation preparation technology of Xiaochaihu granules using fingerprint-peak pattern matching [J]. *J Pharm Anal*, 2011, 1(2): 119-124.
- [12] 马梅芳, 李洁. 对中药质量控制的思考 [J]. 中医药导报, 2007, 12(13): 15-17.
- [13] 杨洋. 北方常用柴胡类药材的研究 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2007.
- [14] 肖蓉, 张志斐, 韩学静, 等. 不同产地柴胡药材 GC-MS 指纹图谱研究 [J]. 中草药, 2006, 37(8): 1248-1252.