

基于指纹图谱及多指标成分定量分析的肿节风配方颗粒质量标准研究

黄 博, 姚 力, 林燕翔, 张 慧, 张颖婷, 罗 轶*, 张 涛*

广西壮族自治区食品药品检验所, 广西 南宁 530021

摘要: 目的 建立肿节风配方颗粒(SHDG) HPLC 指纹图谱及多指标成分定量分析方法, 比较不同厂家及批次 SHDG 的质量差异, 为 SHDG 的质量控制提供依据。方法 采用 HPLC-UV 法, 以乙腈-0.2%甲酸水溶液为流动相, 梯度洗脱, 建立 SHDG 指纹图谱, 并利用对照品和 HPLC-Q/TOF 法对其特征峰进行指认; 同时建立绿原酸、异嗪皮啶、迷迭香酸的含量测定方法。采用 Chempattern 化学计量学软件对结果进行处理分析。通过聚类分析和主成分分析, 将不同厂家及相同厂家不同批次的制剂进行分类, 并阐明造成差异的主要成分。结果 建立 SHDG 指纹图谱, 确证了 7 个特征峰并进行了指认, 分别是新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、咖啡酸、异嗪皮啶、迷迭香酸-4-O- β -D-葡萄糖苷、迷迭香酸。55 min 内 SHDG 的主要色谱峰能够达到完全分离; 绿原酸、异嗪皮啶、迷迭香酸分别在各自范围内峰面积与质量浓度呈良好的线性关系; 平均回收率分别为 98.92% (RSD 1.54%)、98.20% (RSD 1.12%)、99.58% (RSD 1.12%); 18 批样品绿原酸质量分数为 0.33~1.39 mg/g, 异嗪皮啶质量分数为 1.31~2.74 mg/g, 迷迭香酸质量分数为 1.11~4.54 mg/g; 18 批样品与共有模式的相似度为 0.688~0.992; 不同厂家及批次的 SHDG 中绿原酸、异嗪皮啶、迷迭香酸含量存在较大的差异。结论 根据所建立的指纹图谱, 结合 3 个主要成分含量测定能够为 SHDG 的质量控制提供更全面的参考。

关键词: 肿节风; 配方颗粒; 绿原酸; 异嗪皮啶; 迷迭香酸; 指纹图谱; 多组分含量测定; 质量标准

中图分类号: R286.02 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2019)13-3058-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.13.010

Quality standard study of *Sarcandrae Herba* Dispensing Granules based on specific chromatogram and multiple ingredients determination

HUANG Bo, YAO Li, LIN Yan-xiang, ZHANG Hui, ZHANG Ying-ting, LUO Yi, ZHANG Tao

Guangxi Institute for Food and Drug Control, Nanning 530021, China

Abstract: Objective To establish HPLC and multiple components determination method of *Sarcandrae Herba* Dispensing Granules (SHDG), in order to compare the difference of the quality in various SHDG samples and provide an effective method to ensure the quality of SHDG. **Methods** HPLC-UV method was used to establish the characteristic chromatogram of SHDG, and acetonitrile-0.2% formic acid solution was used as the mobile phase with the gradient elution. The common peaks were identified by comparison with the reference standards and HPLC-Q/TOF. At the same time, the method for simultaneous determination of chlorogenic acid, isofraxidin, and rosmarinic acid was established with the same approach. Chemometrics software Chempattern was employed to analyze the data. Through cluster analysis and principal component analysis, different preparations from different manufacturers and different batches from the same manufacturer were classified, and the main components causing the differences were clarified. **Results** The SHDG fingerprint was established to confirm and identify seven characteristic peaks, namely, neochlorogenic acid, chlorogenic acid, cryptochlorogenic acid, caffeic acid, isofraxidin, rosmarinic acid-4-O- β -D-glucoside, and rosmarinic acid. The main chromatographic peaks of SHDG can be completely separated within 55 min. There was a good linear relationship between the peak area and concentration of chlorogenic acid, isofraxidin, and rosmarinic acid. The average recovery rates were 98.92% (RSD 1.54%), 98.20% (RSD 1.12%), and 99.58% (RSD 1.12%), respectively. The chlorogenic acid content of 18 batches of samples was 0.33—1.39 mg/g, the content of isocyanidine was 1.31—2.74 mg/g, and the content of rosmarinic acid was 1.11—4.54 mg/g. The similarity between 18 batches of samples and the common mode was 0.688—0.992. There were certain

收稿日期: 2019-01-12

基金项目: 广西重点研发计划“广西常用壮瑶药药材质量标准研究”(桂科 AB17292069)

作者简介: 黄 博(1981—), 男, 主管药师, 主要从事中药质量控制及安全性研究。Tel: 13597179437 E-mail: 137968757@qq.com

*通信作者 罗 轶(1972—), 女, 主任药师。Tel: 13877171269 E-mail: luoyi20010211@163.com

张 涛(1962—), 女, 主任药师。Tel: (0771)5827098 E-mail: 1422539532@qq.com

differences in the content of chlorogenic acid, isofraxidin, rosmarinic acid in the SHDG of various batches and manufacturers.

Conclusion The proposed specific HPLC characteristic chromatogram and quantitation method of three components for SHDG offered more comprehensive reference for quality control of the crude drug.

Key words: *Sarcandrae Herba*; dispensing granules; chlorogenic acid; isofraxidin; rosmarinic acid; characteristic chromatogram; determination of multi-components; quality standard

肿节风为《中国药典》2015 年版一部收录品种，为金粟兰科植物草珊瑚 *Sarcandra glabra* (Thunb.) Nakai 的干燥全草，全草入药，具有清热凉血、活血消斑、祛风通络的功效^[1]，用于血热发斑发疹、风湿痹痛、跌打损伤。据文献报道^[2-4]，肿节风中含咖啡酰类、香豆素类、黄酮类、倍半萜类、有机酸类和挥发油类等化学成分。现代药理与临床研究表明，肿节风具有抗菌、抗炎、抗病毒、抗肿瘤等作用^[5-7]。肿节风中咖啡酰类成分如绿原酸、迷迭香酸等具有抗炎、抗菌和抗病毒等多种生物活性^[8-9]，而香豆素类成分异嗪皮啶具有抗肿瘤活性^[10]。因此，有必要建立涵盖肿节风配方颗粒(*Sarcandrae Herba* Dispensing Granules, SHDG) 多个指标和活性成分的快速灵敏的总体评价方法。SHDG 为肿节风饮片经水煎提取、浓缩、干燥、制粒等工序制成，具有免煎易服和携带方便等优点。由于原药材质量和生产工艺不同，不同生产厂家和批次间 SHDG 质量可能存在差异，而目前国家对其质量标准尚未进行统一规定。现行的《中国药典》2015 年版标准肿节风项下的含量测定指标为异嗪皮啶和迷迭香酸，缺乏指纹图谱的整体控制。本研究在参考相关文献报道^[11-13]的基础上，采用 HPLC-UV 法对不同厂家及不同批次的 18 批 SHDG 进行研究，建立 SHDG 的特征指纹图谱，采用 HPLC-MS/MS 联用技术对 7 个主要共有峰进行指认^[14-16]，并对其中 6 个共有峰采用对照品比对的方式进行确认；并在此基础上同时测定绿原酸、异嗪皮啶、迷迭香酸的含量，探索建立 SHDG 含量测定项目的指标性成分，同时采用主成分分析(PCA)及聚类分析等化学计量学方法^[17-19]，评价不同企业样品的相似性和稳定性，为 SHDG 质量总体评价和标准制定提供科学依据。

1 仪器与材料

1.1 仪器

Agilent 1200 高效液相色谱仪，Agilent 紫外检测器，Agilent 公司；MILLI-Q 纯水处理器，默克密理博公司；QUINTIX313-1CN 型万分之一电子天平、MSE125S 型十万分之一电子天平，Sartorius 公司；KQ-300DV 型超声波清洗器，江苏昆山市超声

仪器有限公司；Chempattern 化学计量学软件，北京科迈恩科技有限公司。

1.2 试药

对照品绿原酸(批号 110753-201314，质量分数 96.6%)、异嗪皮啶(批号 110837-200304，质量分数 100%)、迷迭香酸(批号 111871-201203，质量分数 98.8%)，含量测定用，中国食品药品检定研究院；乙腈、无水乙醇为色谱纯；水为 MILLI-Q 纯水，默克密理博公司；其他试剂均为分析纯。

1.3 样品

全国 6 家配方颗粒试点生产企业分别提供 3 批 SHDG 样品共 18 批，分别以 A、B、C、D、E 和 F 代表 6 家试点生产企业。批号 G1306004、G1306005、G1306006，即 S1~S3 代表企业 A 样品，批号 1304313、1304314、1304315，即 S4~S6 代表企业 B 样品，批号 130701、130702、130703，即 S7~S9 代表企业 C 样品，批号 A1300550、A1300765、A1300766，即 S10~S12 代表企业 D 样品(方法学考察的样品 A1300568 也来自于企业 D)，批号 1308001S、1308002S、1308003S，即 S13~S15 代表企业 E 样品，批号 1303094、1303106、1303118，即 S16~S18 代表企业 F 样品。

2 方法与结果

2.1 HPLC-UV 条件

色谱柱为 Kromasil C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm，5 μm)；流动相为乙腈-0.2%甲酸水溶液，梯度洗脱：0~25 min，8%乙腈；25~30 min，8%~14%乙腈；30~35 min，14%~18%乙腈；35~55 min，18%~30%乙腈；检测波长为 330 nm，柱温 35 ℃，体积流量 1.0 mL/min，进样量 10 μL。理论塔板数以异嗪皮啶峰计算应不低于 4 000。

2.2 HPLC-Q/TOF 条件

2.2.1 色谱条件 色谱柱为 Agilent Eclipseplus C₁₈ 柱(150 mm×2.1 mm，1.8 μm)；流动相为乙腈-0.1%甲酸水溶液，梯度洗脱：0~10.42 min，8%乙腈；10.42~12.50 min，8%~14%乙腈；12.50~14.59 min，14%~18%乙腈；14.59~22.92 min，18%~30%乙腈；检测波长为 330 nm，柱温 35 ℃，体积流量

0.3 mL/min, 进样量 1 μ L。

2.2.2 质谱条件 ESI 源; 终板补偿电压 500 V; 毛细管电压 4 500 V (正离子模式) / 3 000 V (负离子模式); 喷嘴压力 200 kPa (2 bar); 干燥气体积流量 8 L/min; 干燥气温度 200 $^{\circ}$ C; 正离子模式和负离子模式分别进样, 分次采集一级和二级离子。

2.3 混合对照品溶液的制备

取绿原酸、异嗪皮啶、迷迭香酸对照品适量, 精密称定, 加 60% 甲醇制成含绿原酸 20 μ g/mL, 异嗪皮啶 30 μ g/mL、迷迭香酸 50 μ g/mL 的混合溶液, 即得混合对照品溶液。

2.4 供试品溶液的制备

取本品适量, 研细, 取约 0.4 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 60% 甲醇 25 mL, 密塞, 称定质量, 超声处理 (功率 250 W, 频率 40 kHz) 45 min, 取出, 放冷, 再称定质量, 用 60% 甲醇溶液补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得供试品溶液。

2.5 方法学考察

2.5.1 精密度试验 精密吸取同一份 SHDG 供试品溶液 (企业 D, 批号 A1300568) 10 μ L, 按上述色谱条件连续进样测定 6 次, 记录色谱图。以异嗪皮啶为参照峰, 计算特征峰的相对保留时间和相对峰面积, 结果各特征峰相对保留时间的 RSD < 1.0%, 相对峰面积的 RSD < 1.6%, 采用科迈恩 (北京) 科技有限公司 Chempattern 化学计量学软件进行评价, 相似度为 0.942, 结果表明仪器精密度良好。

2.5.2 稳定性试验 精密吸取同一份 SHDG 供试品溶液 (企业 D, 批号 A1300568) 10 μ L, 分别于 0、3、6、12、24 h 按上述色谱条件连续进样测定, 记录色谱图。以异嗪皮啶为参照峰, 计算特征峰的相对保留时间和相对峰面积, 结果各特征峰相对保留时间的 RSD < 0.7%, 各特征峰相对峰面积的 RSD < 1.5%, 采用科迈恩 (北京) 科技有限公司 Chempattern 化学计量学软件进行评价, 相似度为 0.99, 结果表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.5.3 重复性试验 精密吸取同一批 SHDG 供试品 (企业 D, 批号 A1300568) 6 份, 精密称定, 按“2.4”项方法分别制备供试品溶液, 精密吸取供试品溶液 10 μ L, 分别进样测定, 记录色谱图。以异嗪皮啶为参照峰, 计算特征峰的相对保留时间和相对峰面积, 结果各特征峰相对保留时间的 RSD < 0.8%, 各特征峰相对峰面积的 RSD < 1.9%, 采用科迈恩 (北京)

科技有限公司 Chempattern 化学计量学软件进行评价, 相似度为 0.942, 结果表明仪器精密度良好。

2.6 指纹图谱的建立

取 6 家生产企业的 18 批 SHDG 样品, 分别按“2.4”项方法制备供试品溶液, 精密吸取 10 μ L, 按“2.1”项色谱条件进样测定, 记录色谱图, 将各样品色谱图导入国家药典委员会“中药色谱指纹图谱相似度评价系统 (2012A 版)”, 设定 7 个响应较高的色谱峰, 选择 MARK 峰匹配方式, 生成 SHDG 的对照指纹图谱 (图 1)。

2.7 特征峰的标定

根据 18 批 SHDG 的指纹图谱检测结果, 共标定 7 个特征峰。经与对照品比对, 可知 2 号峰为绿原酸, 5 号峰为异嗪皮啶, 7 号峰为迷迭香酸 (表 1)。同时取按“2.4”项下方法制备的供试品溶液, 按照“2.2”项下条件进行检测, 记录总离子流图 (图 2), 根据保留时间、精确相对分子质量 (正离子谱中常出现的 $[M+H]^+$ 、 $[M+Na]^+$ 、 $[M+NH_4]^+$, 负离子谱中常出现 $[M-H]^-$ 、 $[M+Cl]^-$ 等准分子离子峰), 二级质谱裂解碎片信息, 对 1、3、4、6 号峰进行鉴定。其中峰 1、3、4 经与对照品色谱图 (图 3) 比对, 分别鉴定为新绿原酸、隐绿原酸和咖啡酸; 峰 6 推测为迷迭香酸-4-O- β -D-葡萄糖苷。

2.8 含量测定

2.8.1 系统适用性试验 按“2.1”项色谱条件进行检测, 以异嗪皮啶峰计算理论板数大于 4 000, 分离度大于 1.5, 对照品及供试品溶液的色谱图见图 4。

2.8.2 线性关系考察 精密称取绿原酸对照品 9.98 mg, 置 20 mL 量瓶中, 异嗪皮啶对照品 10.77 mg, 置 20 mL 量瓶中, 迷迭香酸对照品 10.03 mg, 置 20 mL 量瓶中, 分别加 60% 甲醇使溶解并稀释至刻度, 摇匀, 作为对照品贮备液。分别精密吸取绿原酸对照品贮备溶液 0.2 mL、异嗪皮啶对照品贮备溶液 0.5 mL、迷迭香酸对照品贮备溶液 0.2 mL, 置同一 10 mL 量瓶中, 加 60% 甲醇稀释至刻度, 摇匀, 作为标准曲线溶液①; 分别精密吸取绿原酸对照品贮备溶液 1.0 mL、异嗪皮啶对照品贮备溶液 2.0 mL、迷迭香酸对照品贮备溶液 2.0 mL, 置同一 10 mL 量瓶中, 加 60% 甲醇稀释至刻度, 摇匀, 作为标准曲线溶液②。取标准曲线溶液①, 分别进样 3、5、10 μ L, 取标准曲线溶液②, 分别进样 5、10、20、30 μ L, 测定。以对照品进样量为横坐标, 对照品峰面积为纵坐标, 绘制标准曲线, 进行线性回归, 得回归方

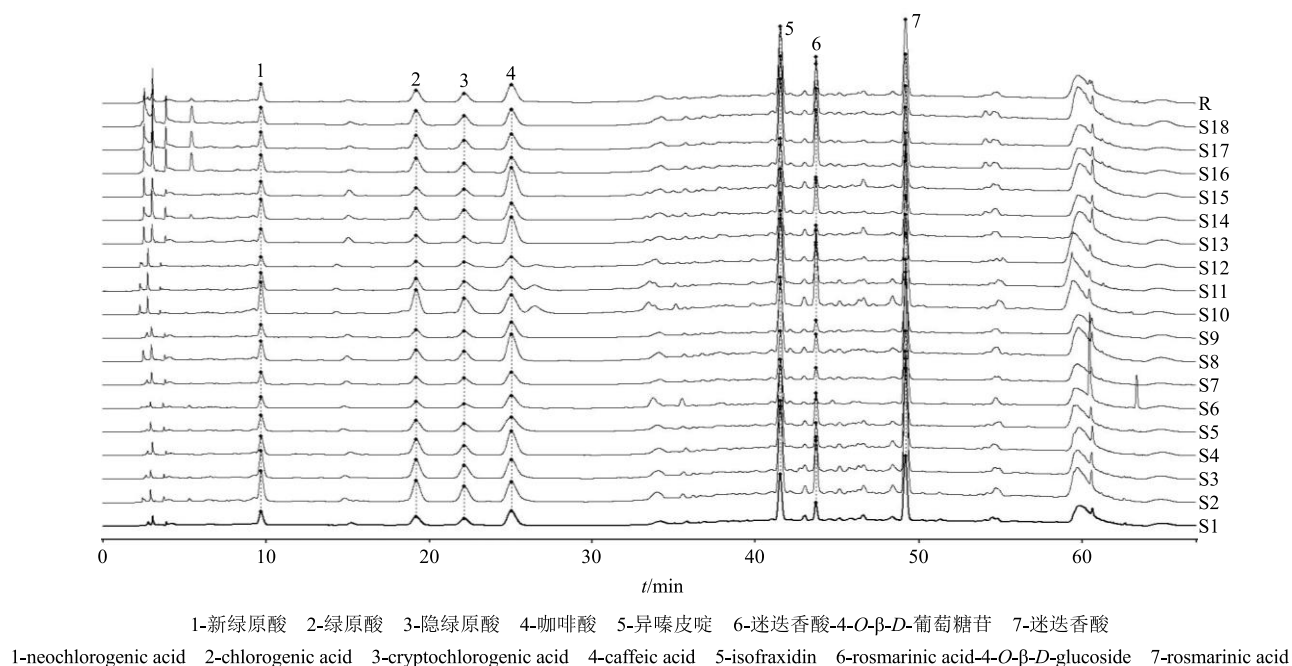


图1 18批SHDG的HPLC指纹图谱和对照指纹图谱(R)

Fig. 1 HPLC fingerprint of 18 batches of SHDG samples and its reference chromatograms (R)

表1 SHDG指纹图谱共有峰鉴定信息

Table 1 Identifications of fingerprint chromatograms of SHDG

峰号	t_R/min	离子模式	准分子离子 (m/z)	分子式	鉴定结果
1	4.0	+/-	355.102 4/353.087 8	$\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{O}_9$	新绿原酸
2	7.4	+/-	355.102 4/353.087 8	$\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{O}_9$	绿原酸
3	9.0	+/-	355.102 4/353.087 8	$\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{O}_9$	隐绿原酸
4	9.5	-	179.035 0	$\text{C}_9\text{H}_8\text{O}_4$	咖啡酸
5	17.9	+/-	223.060 1/221.045 5	$\text{C}_{11}\text{H}_{10}\text{O}_5$	异嗪皮啶
6	18.9	-	521.130 1	$\text{C}_{24}\text{H}_{26}\text{O}_{13}$	迷迭香酸-4-O-β-D-葡萄糖苷
7	21.0	-	359.077 2	$\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{O}_8$	迷迭香酸

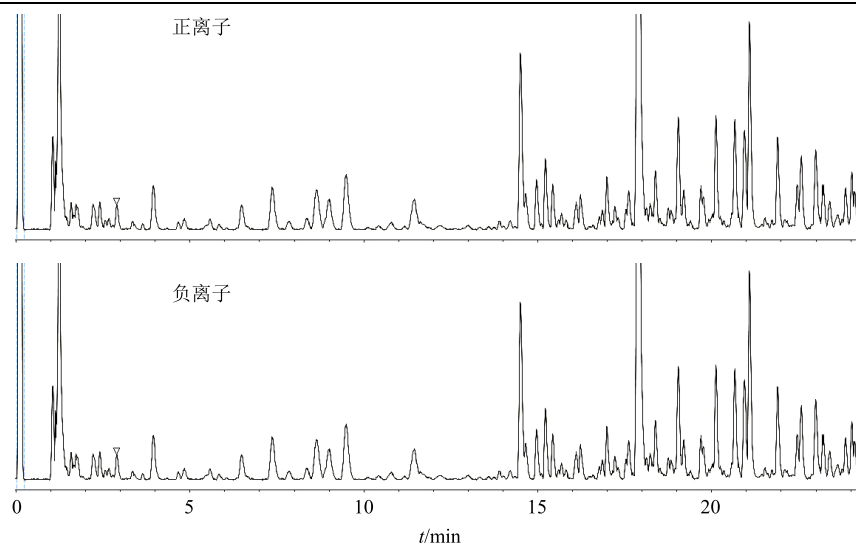


图2 正、负离子模式基峰离子流图

Fig. 2 BPC of positive and negative ion mode

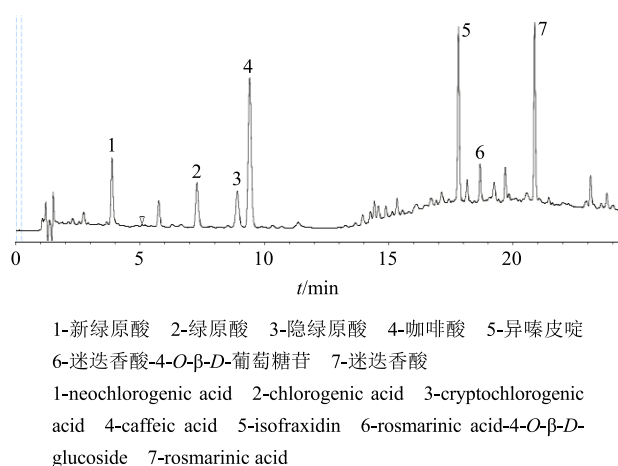


图3 330 nm 紫外色谱图

Fig. 3 330 nm Ultraviolet chromatogram

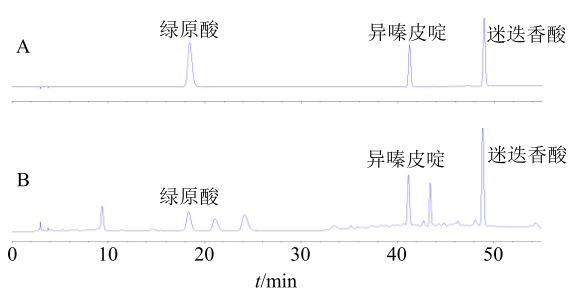


图4 混合对照品 (A) 和代表性样品 (B) 的 HPLC 图

Fig. 4 HPLC of mixed reference substances (A) and representative sample (B)

程分别为绿原酸 $Y=2.9495X+35.158$, $r=0.9997$, 线性范围 28.92~1 446.1 ng; 异嗪皮啉 $Y=2.7798X+14.294$, $r=1.0000$, 线性范围 80.37~3 214.84 ng; 迷迭香酸 $Y=2.9262X+8.1764$, $r=1.0000$, 线性范围 29.73~2 972.89 ng; 表明各化合物在相应线性范围内线性关系良好。

2.8.3 精密度试验 精密吸取“2.4”项供试品溶液 10 μ L, 连续进样 6 次, 记录峰面积。结果绿原酸、异嗪皮啉和迷迭香酸峰面积的 RSD 分别为 0.25%、0.17%、0.23%, 表明仪器精密度良好。

2.8.4 重复性试验 取样品粉末 (企业 D, 批号 A1300568) 6 份, 分别按“2.4”项方法制备供试品溶液, 按“2.1”项色谱方法测定, 记录峰面积, 计算含量。结果各份供试品溶液中绿原酸、异嗪皮啉和迷迭香酸的测定结果 RSD 分别为 0.53%、0.22%、1.22%, 结果表明该方法重复性良好。

2.8.5 溶液的稳定性试验 取同一供试品溶液 (企业 D, 批号 A1300568), 分别于 0、3、6、12、24 h 进样测定, 结果绿原酸、异嗪皮啉和迷迭香酸峰面

积的 RSD 分别为 0.36%、0.37%、0.28%, 结果表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.8.6 加样回收率试验 取已测定的供试品粉末 (企业 D, 批号 A1300568) 6 份, 每份约 0.5 g, 置具塞锥形瓶中, 精密加入对照品溶液 (精密称取绿原酸对照品 20.39 mg, 置 20 mL 量瓶中, 异嗪皮啉对照品 20.18 mg, 置 20 mL 量瓶中, 迷迭香酸对照品 21.00 mg, 置 20 mL 量瓶中, 分别加 60% 甲醇使溶解并稀释至刻度, 摇匀, 作为对照品贮备液; 分别精密吸取绿原酸对照品贮备溶液 2 mL、异嗪皮啉对照品贮备溶液 3 mL、迷迭香酸对照品贮备溶液 5 mL, 置同一 200 mL 量瓶中, 加 60% 甲醇稀释至刻度, 摇匀) 25 mL, 分别按“2.4”项方法制备供试品溶液, 按“2.1”项色谱条件测定, 记录峰面积, 计算回收率。结果绿原酸、异嗪皮啉和迷迭香酸平均加样回收率分别为 98.92%、98.20%、99.58%, RSD 分别为 1.54%、1.12%、1.05%。

2.8.7 样品含量测定 分别取 6 家企业 18 批样品, 按“2.4”项方法制备供试品溶液, 再按“2.1”项色谱条件测定, 用外标法计算样品含量。结果见表 2。

表2 6家企业18批样品含量测定结果 ($n=2$)Table 2 Content determination results of 18 batches of samples in six companies ($n=2$)

企业名称	批号	质量分数/(mg·g ⁻¹)		
		绿原酸	异嗪皮啉	迷迭香酸
企业 A	G1306004	0.43	1.51	1.81
企业 A	G1306005	1.30	2.69	3.54
企业 A	G1306006	1.14	2.21	2.70
企业 B	1304313	0.90	2.74	2.55
企业 B	1304314	0.71	2.07	1.53
企业 B	1304315	0.55	2.01	5.72
企业 C	130701	0.44	1.48	1.29
企业 C	130702	0.55	2.33	2.15
企业 C	130703	0.44	1.48	1.39
企业 D	A1300550	1.39	2.55	4.54
企业 D	A1300765	0.68	2.04	1.70
企业 D	A1300766	0.33	2.72	0.72
企业 E	1308001S	0.47	1.30	1.11
企业 E	1308002S	0.58	2.29	1.52
企业 E	1308003S	0.47	1.31	1.13
企业 F	1303094	0.72	2.64	1.54
企业 F	1303106	0.75	2.63	1.52
企业 F	1303118	0.73	2.63	1.54

2.9 计量学分析

2.9.1 相似度分析 利用 Chempattern 软件,以液相图谱共有模式为参照图谱,将样品测定数据自动标度化后,采用夹角余弦法计算各样品的相似度,见表 3。所有样品与共有模式的相似度为 0.688~0.992,表明不同企业样品差异较大。其中企业 D 和 E 各有一批样品相似度低于 0.7,经分析,企业 D 样品主要由于异嗪皮啉峰占比异常偏大导致,而企业 E 主要由于咖啡酸峰占比异常偏大导致。

2.9.2 PCA 利用 Chempattern 软件将样品测定数据自动标度化后(针对观测)进行 PCA,见图 5。第 1 主成分(PC1)的贡献率为 49.41%,第 2 主成分(PC2)的贡献率为 41.10%,累积达到 90.51%,说明其能较全面地反映样品间的差异。PCA 得分载荷图显示,不同企业差异较大,其中企业 A、C、F 的样品基本可以各自聚为一类,而企业 B、D、E 样品批间差异较大,不能聚为一类。从得分载荷图可看出,企业 B 有一批样品离共有模式较远,主要是对 PC1 正相关贡献较大迷迭香酸峰面积百分比较大导致的,同理,企业 D 离共有模式较远的一批样品主要是由于对 PC1 负相关贡献较大的异嗪皮啉峰面积百分比较大导致的,而企业 E 离共有模式较远的 2 批样品主要由于对 PC2 负相关贡献较大的咖啡酸峰面积百分比较大导致的。

2.9.3 聚类分析 与 PCA 类似,企业 A、C、F 的样品能聚在一起,而企业 B、D、E 样品批间差异较大,不能聚为一类。见图 6。

3 讨论

3.1 色谱条件的选择

本研究采用梯度洗脱法建立 SHDG 指纹图谱和

表 3 6 家企业 18 批样品相似度结果

Table 3 Similarity of 18 batches of samples

企业名称	批号	相似度	企业名称	批号	相似度
企业 A	G1306004	0.983	企业 D	A1300550	0.829
企业 A	G1306005	0.943	企业 D	A1300765	0.942
企业 A	G1306006	0.963	企业 D	A1300766	0.691
企业 B	1304313	0.992	企业 E	1308001S	0.704
企业 B	1304314	0.961	企业 E	1308002S	0.943
企业 B	1304315	0.837	企业 E	1308003S	0.688
企业 C	130701	0.984	企业 F	1303094	0.851
企业 C	130702	0.955	企业 F	1303106	0.848
企业 C	130703	0.973	企业 F	1303118	0.852

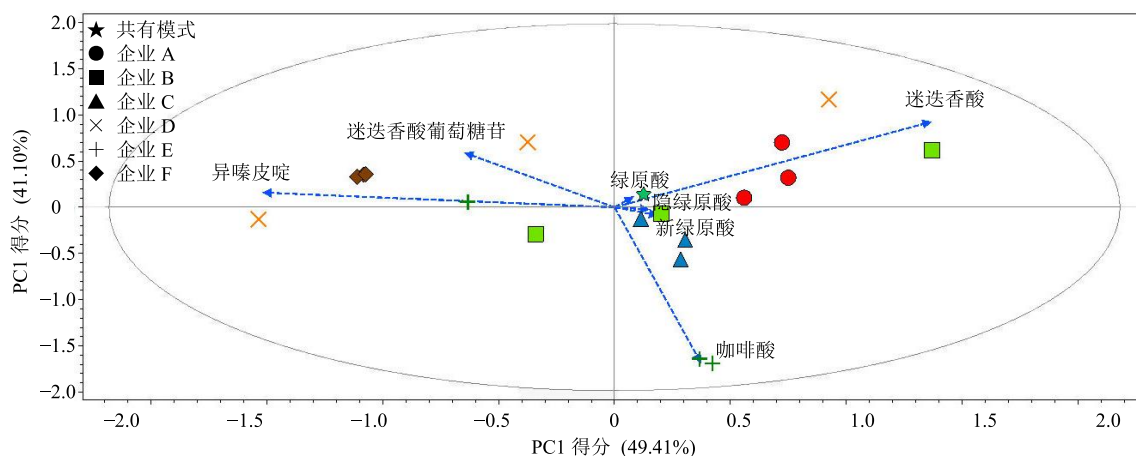


图 5 SHDG 样品 PCA

Fig. 5 PCA figure of SHDG

含量测定方法,55 min 内完成分离,绿原酸、异嗪皮啉和迷迭香酸分离效果良好,符合含量测定要求。通过二极管阵列检测器考察所测成分紫外吸收,选取测定成分均有较大吸收、杂质成分干扰小且所得色谱峰的信息量最多的 330 nm 作为检测波长。流动相比较了乙腈-水和乙腈-0.2%甲酸水溶液系统,乙腈-0.2%甲酸水溶液梯度洗脱各成分均实现基线分离,达到定量分析要求。

3.2 提取条件的优化

本研究对不同提取方式(加热回流和超声)、提取溶剂(30%、60%甲醇,甲醇,30%、60%乙醇,乙醇)及提取时间(20、45、60 min)和提取溶剂用量(25、50 mL)进行考察,最终确定,取样后加 60%甲醇 25 mL,超声 45 min 为最佳条件。

本研究在同一色谱条件下,建立了 SHDG 的指纹图谱,指认了 55 min 内的 7 个共有特征峰,表征了 SHDG 的特征成分,并同时测定不同企业不同批次样品中绿原酸、异嗪皮啉和迷迭香酸含量,方法

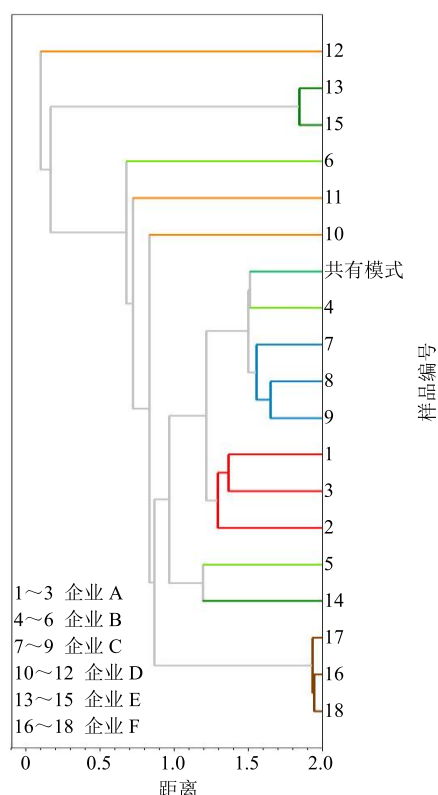


图6 SHDG 样品聚类分析

Fig. 6 Hierarchical cluster analysis figure of SHDG

简便、快速、准确，此外采用化学计量学方法评价各企业样品的质量相似度，结果显示企业间、企业内各批次样品各成分有较大差异，提示在原药材质量、生产工艺方面差异较大。本研究具备了定性和定量双重指标，为有效控制 SHDG 的质量提供了科学依据。

3.3 小结

中药配方颗粒因保持了传统中药汤剂水煎提取的物质基础，具调配方便、服用方便和携带方便等优点，受到广大患者的青睐。研究表明，不同企业在药材来源、具体生产工艺参数和设备等方面存在较大差异，导致各企业 SHDG 质量的不一性。为了更好地控制产品质量，保证广大患者的用药安全有效，建立统一的国家标准势在必行。

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [2] 王刚力, 陈道峰, 林瑞超. 肿节风的化学成分及其制剂质量控制研究进展 [J]. 中草药, 2003, 34(8): 12-14.
- [3] 王冰岚, 童胜强, 颜继忠. 肿节风注射液研究进展及临床应用 [J]. 中成药, 2007, 29(3): 426-429.
- [4] 邹小燕, 高慧媛, 吴斌, 等. 肿节风化学成分的研究 [J]. 中草药, 2007, 38(3): 354-356.
- [5] 宋朝阳. 肿节风注射液联合阿帕替尼治疗晚期胃癌的

临床研究 [J]. 现代药物与临床, 2017, 32(6): 1114-1117.

- [6] 易洁梅. 肿节风的药理研究及临床应用新进展 [J]. 实用药物与临床, 2011, 14(6): 523-525.
- [7] 王力福, 沈美勤, 赵金花. 肿节风分散片联合洛美沙星治疗急性化脓性中耳炎的疗效观察 [J]. 现代药物与临床, 2016, 31(8): 1260-1263.
- [8] Swarup V, Ghosh J, Ghosh S, *et al.* Antiviral and neuroprotective role of Octaguanidinium dendrimer-conjugated morpholino oligomers in Japanese encephalitis [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2007, 51(9): 3367-3370.
- [9] Prasad N R, Jeyanthimala K, Ramachandran S. Caffeic acid modulates ultraviolet radiation-B induced oxidative damage in human blood lymphocytes [J]. *J Photochem Photobiol B*, 2009, 95(3): 196-203.
- [10] 程会, 汤庆发, 陈飞龙, 等. UPLC 测定不同粒度肿节风有效成分的含量 [J]. 中药新药与临床药理, 2014, 25(4): 480-483.
- [11] 邓伟麟, 吴莹莹, 毕丹, 等. 肿节风药材的 HPLC 指纹图谱研究及其异嗪皮啶与迷迭香酸的含量测定 [J]. 中国药房, 2013, 24(47): 4472-4474.
- [12] 姚志红, 潘宇明, 戴毅, 等. 肿节风水提物及其市售制剂的 HPLC 指纹图谱研究 [J]. 中草药, 2010, 41(9): 1457-1460.
- [13] 郭焱, 吴安明, 何杨虎, 等. 不同产地不同采收期肿节风药材主要活性成分含量比较 [J]. 江西中医药, 2019(1): 65-67.
- [14] 宋晓虹, 李小艳, 李成仁, 等. 肿节风药材 HPLC 指纹图谱研究 [J]. 天然药物研究与开发, 2009, 21(1): 111-113.
- [15] 姚志红, 王其意, 韦卓纯, 等. 超高效液相色谱法同时测定肿节风中 6 个成分的含量 [J]. 分析测试学报, 2016, 35(6): 641-647.
- [16] 罗永东, 林培玲, 吴水生, 等. 应用 ASE-LC-ESI-MS 法快速筛选肿节风的化学成分 [J]. 亚太传统医药, 2011, 7(12): 29-31.
- [17] Yan D H, Liu X D, Deng X M, *et al.* Quality assessment of crude and processed *Leonuri Fructus* by chemical and color analysis combined with chemometric method [J]. *Chin Herb Med*, 2018, 10(4): 388-395.
- [18] 周霖, 周珮珮, 王肖辉, 等. UPLC-Q-Orbitrap HRMS 结合主成分分析的丹灯通脑软胶囊质量评价研究 [J]. 中草药, 2018, 49(18): 4311-4318.
- [19] Shen J, Li P, He C N, *et al.* Simultaneous determination of 15 flavonoids from different parts of *Scutellaria baicalensis* and its chemometrics analysis [J]. *Chin Herb Med*, 2019, 11(1): 20-27.