

基于量质传递及化学计量学的药食同源名方青龙白虎汤质量控制研究

陈 姣¹, 王继森^{2#}, 邓晶晶¹, 朱宗萍¹, 廖 婉^{1*}, 陈 意¹, 杨青松¹, 王 琳¹, 傅超美¹, 朱雅宁^{1,3*}

1. 成都中医药大学西南特色中药资源国家重点实验室, 药学院, 四川 成都 611137

2. 成都市食品药品检验研究院, 四川 成都 610045

3. 雅安三九药业有限公司, 四川 雅安 625000

摘要: **目的** 建立 HPLC 指纹图谱检测方法, 探寻青龙白虎汤冻干粉制备过程工艺和量质传递规律, 并结合化学计量学构建其质量控制体系。**方法** 制备 15 批次青龙白虎汤冻干粉, 采用 HPLC 法建立指纹图谱, 色谱结果导入《中药色谱指纹图谱相似度评价软件》(2012 版) 并计算各部分相似度。测定 15 批样品量质传递过程中没食子酸、原儿茶酸、绿原酸、表儿茶素和鞣花酸的含量, 计算转移率和出膏率。结合化学计量学方法进行分析, 以挖掘不同产地样品间对质量控制具有显著贡献的主要成分。**结果** 15 批样品指纹图谱相似度均大于 0.9, 满足规定要求, 并标定冻干粉指纹图谱 24 个共有峰, 对其其中 6 种成分进行了指认, 分别为没食子酸 (1 号峰)、原儿茶酸 (4 号峰)、绿原酸 (8 号峰)、表儿茶素 (14 号峰)、东莨菪内酯 (19 号峰)、鞣花酸 (23 号峰)。15 批冻干粉表儿茶素、没食子酸、鞣花酸、绿原酸、原儿茶酸的质量分数分别为 0.724%~1.301%、2.184%~2.840%、0.607%~0.760%、0.061%~0.141%、0.017%~0.079%, 转移率分别为 78.60%~89.38%、76.98%~89.88%、76.00%~89.78%、76.90%~90.49%、80.02%~90.25%, 出膏率为 12.87%~15.11%, 均未出现离散数据, 表明煎煮、浓缩和冻干过程有效成分转移率较稳定。通过化学计量学分析, 找到 10 个对模型贡献较大的成分, 其中包括指认的峰 14 (VIP=2.812)、峰 1 (VIP=2.804)、峰 23 (VIP=2.715)、峰 8 (VIP=1.053) 和峰 4 (VIP=0.887), 可进一步深化青龙白虎汤质量控制研究。**结论** 通过 HPLC 指纹图谱结合多指标成分含量测定, 首次建立了药食同源名方青龙白虎汤的质量控制方法, 此方法快速简单可行, 重复性、稳定性良好, 能同时适用于饮片、煎煮液、浓缩液和冻干粉量质传递规律的相关性考察; 进一步通过化学计量学为青龙白虎汤的质量控制研究提供了重要参考。

关键词: 青龙白虎汤; 量质传递; 指纹图谱; 化学计量学; 没食子酸; 原儿茶酸; 绿原酸; 表儿茶素; 鞣花酸; 质量控制

中图分类号: R283.6 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2021)13-3872-13

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2021.13.011

Research on quality control of famous prescription with medicine and food homology of Qinglong Baihu Decoction based on quantity-quality-correlation and chemometrics

CHEN Jiao¹, WANG Ji-sen², DENG Jing-jing¹, ZHU Zong-ping¹, LIAO Wan¹, CHEN Yi¹, YANG Qing-song¹, WANG Lin¹, FU Chao-mei¹, ZHU Ya-ning^{1,3}

1. State Key Laboratory of Southwestern Chinese Medicine Resources, School of Pharmacy, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China

2. Chengdu Institute of Food and Drug Inspection, Chengdu 610045, China

3. Ya'an Sanjiu Pharmaceutical Co., Ltd., Ya'an 625000, China

Abstract: Objective To explore the preparation process of lyophilized powder of Qinglong Baihu Decoction (青龙白虎汤, QBD) and the law of quantity-quality-correlation by establishing an HPLC fingerprint detection method, and build its quality control system

收稿日期: 2021-02-25

基金项目: 四川省中医药管理局中医药开发专项 (2018KF001); 四川省科技厅国际合作项目 (2018HH0122); 成都市科技局国际科技合作项目 (2017-GH02-00054-HZ); 成都中医药大学科技转化项目 (CGPY1605)

作者简介: 陈 姣, 女, 硕士研究生, 研究方向为中药新制剂和新剂型研究。Tel: 18428303508 E-mail: 1922702305@qq.com

***通信作者:** 廖 婉, 女, 博士, 教授, 硕士生导师, 主要从事新制剂、新剂型及中药炮制工艺与机制研究。E-mail: liaowan2011@126.com

朱雅宁, 高级工程师, 博士生导师, 研究方向为中药理论、制药技术与应用研究。E-mail: 676640058@qq.com

#共同第一作者: 王继森, 男, 主管药师, 硕士, 从事药品检验研究工作。E-mail: 93230623@qq.com

combined with chemometrics. **Methods** Fifteen batches of QBD lyophilized powder were prepared, the fingerprints were established by HPLC method, then imported the chromatographic results into *TCM Chromatographic Fingerprint Similarity Evaluation Software* (2012) and calculated the similarity of each part. The content of gallic acid, protocatechuic acid, chlorogenic acid, epicatechin, and ellagic acid were detected during the quantity-quality-correlation of 15 batches of samples, and the transfer rate and extractum rate were calculated. Combined with the chemometrics methods, the main components of samples from different producing areas which had significant contribution to the quality control were analyzed. **Results** The similarity of the fingerprints of 15 batches of samples was > 0.9 , which met the specified requirements, and the 24 common peaks of the fingerprints of the lyophilized powder were calibrated, and six of them were identified, they were gallic acid (peak 1), protocatechuic acid (peak 4), chlorogenic acid (peak 8), epicatechin (peak 14), scopoletin (peak 19), and ellagic acid (peak 23). The content range of these components in 15 batches of lyophilized powder were 0.724%—1.301% epicatechin, 2.184%—2.840% gallic acid, 0.607%—0.760% ellagic acid, 0.061%—0.141% chlorogenic acid, 0.017%—0.079% protocatechuic acid, the transfer rates of epicatechin, gallic acid, ellagic acid, chlorogenic acid and protocatechuic acid were 78.60%—89.38%, 76.98%—89.88%, 76.00%—89.78%, 76.90%—90.49%, 80.02%—90.25% respectively, the extractum rate was 12.87%—15.11%, and without discrete data. It showed that during the process of decoction, concentration and lyophilized powder, the transfer rates of effective components were stable. Through chemometrics analysis, it was found that 10 component contributed significantly to the model, including the designated peak 14 (VIP = 2.812), peak 1 (VIP = 2.804), peak 23 (VIP = 2.715), peak 8 (VIP = 1.053) and peak 4 (VIP = 0.887), which can further deepen the quality control research of QBD. **Conclusion** The quality control method of the famous prescription with medicine and food homology of QBD was established for the first time through the HPLC fingerprint combined with the content determination of multiple index components. This method is rapid, simple, feasible, reproducible, stable and it can be applied to the correlation investigation of the quantity-quality-correlation law of decoction pieces, decoction, concentrate and lyophilized powder at the same time; Further through the chemometrics, which provided an important reference for the quality control research of QBD.

Key words: Qinglong Baihu Decoction; quantity-quality-correlation; fingerprint; chemometrics; gallic acid; protocatechuic acid; chlorogenic acid; epicatechin; ellagic acid; quality control

青龙白虎汤 (Qinglong Baihu Decoction, QBD) 出自清代著名医家王孟英《王氏医案》卷二, 全方两味。方中青果为主药, 具清热解毒、利咽生津之效^[1-3]; 莱菔又名白萝卜, 被誉为“蔬中圣品”, 具有丰富的营养元素和药用价值, 能消食下气、利尿化痰^[4-6]、健脾宽中、清热解毒, 对于肺热痰火、咳嗽痰多、食停不化、脘腹胀满等有很好的疗效。此方为药食两用方, 高度契合中医药学自古就有的“药食同源”理论精髓, 集预防、保健与治疗等多种应用价值于一身, 充分体现了中医药的传统特色, 其以“药极简易, 性最平和, 味不恶劣, 易粉易服”等诸多优势而备受青睐。青果色青, 莱菔色白, 合而为剂, 可消经络留滞之痰, 解膏粱鱼面之毒, 喉病之可免^[7]。本方最大特点为善于清热利咽, 主治热毒内盛、上灼咽喉、津液损伤所致咽喉肿痛, 是预防及治疗呼吸道疾病的药食同源上佳良方。

中药质量评价标准欠完善、质量追溯性和均一性较差等问题一直是亟待解决的技术瓶颈, 已成为行业发展的重中之重^[8]。中药复方质量易受其组成药味多基原、多品种、多产地、药材来源不稳定、多成分及相互作用复杂等因素影响, 影响其质量一致性, 不利于有效控制疗效的稳定^[9-12]。课题组前

期围绕 QBD, 已完成青龙白虎饮及利咽含片的研究, 并初步建立相关质量标准体系^[13-14]。但 QBD 中的化学成分群在煎煮、浓缩、干燥过程中的动态变化亟待进一步研究, 以综合、全面的对 QBD 进行质量控制。因此, 本实验采用 15 批青果饮片和市售新鲜莱菔, 首次以古籍记载的煎煮方法为参考依据进行 QBD 的煎煮-浓缩-干燥工艺研究, 以有效成分转移率、出膏率等为质控指标, 运用化学指纹图谱分析技术和多指标成分含量测定方法, 初步构建 QBD 全过程质量标准评价体系, 再结合化学计量学手段分析 QBD 内在影响因素, 探寻 QBD 质控影响关键成分, 系统的、全方位的对工艺全过程进行质量评价分析, 探寻其量质传递规律, 以期后续相关制剂的研究研发提供可靠的技术保障。

1 仪器与材料

1.1 仪器

UltiMate 3000 型高效液相色谱仪, 美国 Thermo Fisher 公司; 色谱柱 Thermo Hypersil GOLD C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm) 和色谱柱 Acclaim™ 120 C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 赛默飞世尔科技(中国)有限公司; UPK-I-10T 型纯水机, 四川优普超纯科技有限公司; AR224CN 电子天平, 万分之一, 奥

豪斯仪器(常州)有限公司;CPA225D 型十万分之一电子分析天平,赛多利斯科学仪器(北京)有限公司;FTS-10A 全自动煎药壶,潮州市一壶百饮电器实业有限公司;SCIENTZ-10N 冷冻干燥机,宁波新芝生物科技股份有限公司;DL-720D 数控超声波清洗器,上海之信仪器有限公司。

1.2 试药

甲醇、乙腈为色谱纯,美国 Sigma-Aldrich 公司;色谱纯磷酸,成都市科隆化学品有限公司;水为超纯水,自制,其它试剂均为分析纯;对照品没食子酸(CAS 号 149-91-7,批号 wkq20010905)、原儿茶酸(CAS 号 99-50-3,批号 wkq20020706)、绿原酸(CAS 号 327-97-9,批号 wkq20042702)、表儿茶素(CAS 号 490-46-0,批号 wkq20012203)、东莨菪内酯(CAS 号 92-61-5,批号 wkq20011001)、

鞣花酸(CAS 号 476-66-4,批号 wkq20011002),质量分数均 $\geq 98\%$,均购自成都省维克奇生物科技有限公司。15 批青果药材分别购于四川省合江县、四川省广安市、广东省广州市和福建省闽侯县,包含道地药材产地及主产区,均于秋季采收,保证了样品的均一性和代表性,并根据《中国药典》2020 年版相关规定储存于干燥处,防蛀,饮片具体信息见表 1。经成都中医药大学药学院标本中心蒋桂华教授鉴定为橄榄科橄榄属植物橄榄 *Canarium album* Raeusch. 的干燥成熟果实,药材经炮制得到 15 批青果饮片,经检验药材和饮片均符合《中国药典》2020 年版一部项下的相关规定^[1];莱菔 *Raphanus sativus* 市售,产于温江无公害蔬菜基地农场,经标本中心蒋桂华教授定其基原为十字花科植物莱菔 *Raphanus sativus* L. 的新鲜根茎。

表 1 15 批青果饮片产地信息

Table 1 Origin information of 15 batches of *Canarii Fructus* pieces

编号	QBD 冻干粉 批号	青果饮片		编号	QBD 冻干粉 批号	青果饮片	
		批号	产地			批号	产地
S1	QBDDGF001	YP190501	四川合江	S9	QBDDGF009	YP200501	福建闽侯
S2	QBDDGF002	YP190502		S10	QBDDGF0010	YP200502	
S3	QBDDGF003	YP191201		S11	QBDDGF0011	YP190601	
S4	QBDDGF004	YP200501		S12	QBDDGF0012	YP190602	
S5	QBDDGF005	YP191001	四川广安	S13	QBDDGF0013	YP190701	广东广州
S6	QBDDGF006	YP191002		S14	QBDDGF0014	YP190702	
S7	QBDDGF007	YP191003		S15	QBDDGF0015	YP190703	
S8	QBDDGF008	YP191004					

2 方法与结果

2.1 QBD 冻干粉的制备

结合 QBD 相关文献报道^[13-14]参考其制备工艺参数,并通过单因素考察确定 QBD 最佳工艺为青果与莱菔比例为 1:1,6 倍量水提取 2 次,每次 60 min。称取青果饮片 60 g 加水浸泡 30 min,然后加入切制小块的新鲜莱菔 60 g,6 倍量水(720 mL)煎煮 2 次,每次 1 h,合并 2 次 QBD 煎煮液得 1200 mL。取煎煮液 1200 mL 减压浓缩至约 150 mL,得浓缩液;对浓缩液进行冷冻干燥,即得 QBD 冻干粉。

2.2 溶液的配制

2.2.1 对照品溶液的制备 称取没食子酸、原儿茶酸、绿原酸、表儿茶素、东莨菪内酯、鞣花酸对照品适量,精密称定,加甲醇制成分别含没食子酸、原儿茶酸、绿原酸、表儿茶素、东莨菪内酯、鞣花

酸 0.943、0.757、1.025、1.160、1.080、1.032 mg/mL 的对照品储备液 I,再各量取 0.5 mL 到 5 mL 量瓶中混匀,用甲醇稀释定容,得到混合对照品储备液 II。

2.2.2 供试品溶液的制备

(1) 单味饮片样品供试品溶液:按照“2.1”项下煎煮液制备方法,分别制备青果、莱菔的单煎样品溶液,过 0.22 μm 微孔滤膜,取续滤液,即得。

(2) QBD 煎煮液供试品溶液:取“2.1”项下所制备的 QBD 煎煮液,过 0.22 μm 微孔滤膜,取续滤液,即得。

(3) QBD 浓缩液供试品溶液:精密量取“2.1”项下所制备的 QBD 浓缩液 2 mL 置 10 mL 量瓶中,加水至刻度,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

(4) QBD 冻干粉供试品溶液:取“2.1”项下所制备的 QBD 冻干粉约 0.2 g,精密称定,置 10 mL

量瓶中,加水超声处理(功率 500 W、频率 40 kHz) 10 min 使溶解,取出,放冷,定容至刻度,摇匀,滤过,过 0.22 μm 微孔滤膜,取续滤液,即得。

2.3 HPLC 指纹图谱分析

2.3.1 色谱条件 Acclaim™ 120 C₁₈ 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 以乙腈-0.1%磷酸水溶液为流动相(流动相每天新鲜制备,通过 0.45 μm 滤膜,注射到色谱柱之前进行超声脱气),梯度洗脱: 0~25 min, 5%~12%乙腈; 25~50 min, 12%~15.4%乙腈; 50~75 min, 15.4%~22.5%乙腈; 体积流量 1.0 mL/min; 检测波长 237 nm; 柱温 30 $^{\circ}\text{C}$; 进样量 10 μL 。理论板数按没食子酸峰计算不低于 5000。

2.3.2 方法学考察

(1) 精密度试验: 取 QBD 冻干粉供试品溶液(S1), 按“2.3.1”项下色谱条件连续进样 6 次, 记录色谱图。以表儿茶素为参照峰, 计算各共有峰相对保留时间和相对峰面积 RSD, 结果各共有峰相对保留时间 RSD<1%, 相对峰面积 RSD<3%, 以《中药色谱指纹图谱相似度评价系统软件》(2012.130723 版) 评价, 6 次进样的相似度均为 1.00, 表明仪器精密度良好, 符合指纹图谱要求。

(2) 重复性试验: 按“2.1”及“2.2.2”项下方法平行制备 6 份 QBD 冻干粉供试品溶液(S1), 按“2.3.1”项下色谱条件进行测定, 记录色谱图。以表儿茶素为参照峰, 计算各共有峰相对保留时间和相对峰面积 RSD, 结果各峰相对保留时间 RSD<1%, 相对峰面积 RSD<2.5%, 以《中药色谱指纹图谱相似度评价系统软件》(2012.130723 版) 评价, 6 次进样的相似度均为 1.00, 结果表明该方法重复性良好, 符合指纹图谱要求。

(3) 稳定性试验: 取 QBD 冻干粉供试品溶液(S1), 分别于 0、2、4、8、12、24、48 h 按“2.3.1”项下色谱条件进行测定, 记录色谱图。以表儿茶素为参照峰, 计算各共有峰相对保留时间和相对峰面积 RSD, 结果各共有峰相对保留时间 RSD<1.5%, 相对峰面积 RSD<3%, 以《中药色谱指纹图谱相似度评价系统软件》(2012.130723 版) 评价, 7 次进样的相似度均为 1.00, 表明青果供试品溶液在 48 h 内稳定性良好, 符合指纹图谱要求。

2.3.3 化学指纹图谱建立及相似度评价与分析 根据“2.3.1”项下色谱条件对 15 批青果饮片及 QBD 煎煮液、浓缩液和冻干粉的供试品溶液进行检测, 记录各样品色谱图。采用国家药典委员会《中药色

谱指纹图谱相似度评价系统软件》(2012.130723 版) 对记录的色谱图进行分析。以 S1 号样品的特征图谱作为参照谱进行指纹匹配(中位数法, 时间窗为 0.1 min), 确定了 24 个共有峰。15 批青果饮片及 QBD 煎煮液、浓缩液和冻干粉指纹图谱见图 1; 进行相似度计算, 15 批供试品的相似度均 ≥ 0.9 , 表明各批样品的相似度较好, 化学成分稳定, 结果见表 2; 选取分离度较好的表儿茶素色谱峰(14 号峰) 作为参照峰, 各峰的相对保留时间和相对峰面积见表 3。

2.3.4 色谱峰的化学成分指认及归属 通过与对照品位置比较, 指认了其中 6 个共有峰, 分别为没食子酸(1 号峰)、原儿茶酸(4 号峰)、绿原酸(8 号峰)、表儿茶素(14 号峰)、东莨菪内酯(19 号峰)、鞣花酸(23 号峰)。24 个共有峰中, 其中 6 号峰归属于莱菔, 其余 23 个峰归属于青果饮片, 占青果饮片总峰面积 83.69%, 占冻干粉总峰面积 73.07%。结果表明, QBD 冻干粉的主要物质群均可清晰地追溯到饮片, 归属明确。

2.4 QBD 冻干粉制备过程中有效成分的含量及出膏率的测定

2.4.1 色谱条件 同“2.3.1”项下的色谱条件。

2.4.2 方法学考察^[12]

(1) 专属性试验: 分别精密吸取以上制备的混合对照品储备液 II、冻干粉供试品溶液(S1)、莱菔单煎样品溶液、青果单煎样品溶液(S1)、甲醇空白溶剂各 10 μL , 注入液相色谱仪, 按照“2.4.1”项下色谱条件测定, 结果供试品色谱中, 在与没食子酸、原儿茶酸、绿原酸、表儿茶素、东莨菪内酯、鞣花酸混合对照品色谱相应位置上有色谱峰, 甲醇空白样品色谱上没有相应峰, 结果表明样品溶液中各成分分离度($R>1.5$)和理论板数($N>5000$)均较好, 且阴性无干扰, 见图 2。

(2) 线性关系考察: 取以上原儿茶酸、绿原酸储备液 I 各 0.2 mL, 表儿茶素储备液 I 2 mL, 鞣花酸储备液 I 1 mL 定容到 5 mL, 四者配成混合对照品溶液 III 进行线性考察; 取以上没食子酸储备液 I 3 mL 定容到 5 mL 配成没食子酸对照品溶液 IV 进行线性考察。混合对照品溶液 III 和没食子酸对照品溶液 IV 分别稀释 0、2、4、8、16、32、64 倍后, 注入液相色谱仪, 按照“2.3.1”项下色谱条件测定, 以各成分对照品质量浓度为横坐标(X), 峰面积为纵坐标(Y), 绘制标准曲线, 进行线性回归, 得回

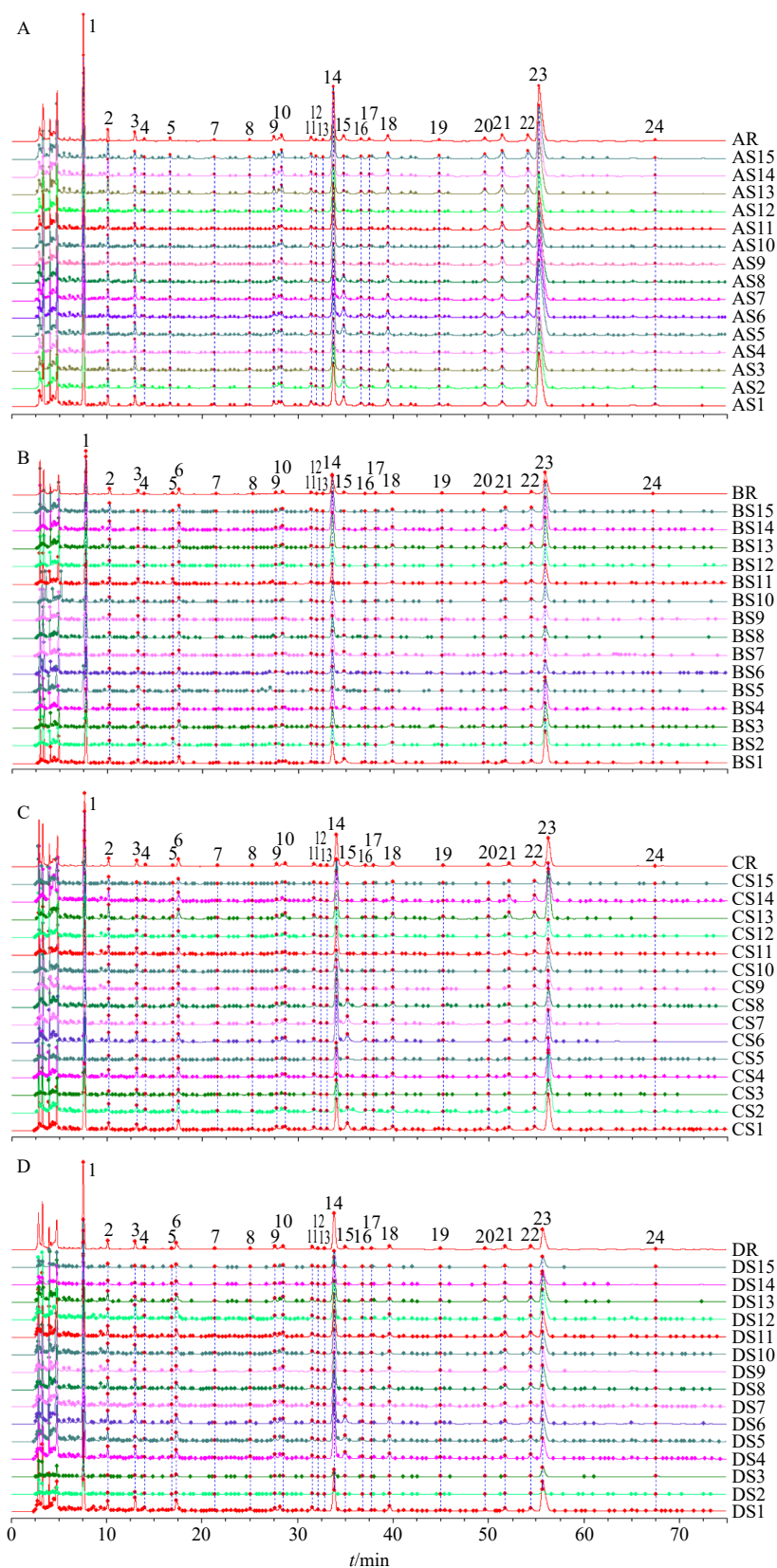


图 1 15 批 (S1~S15) 青果饮片 (A)、QBD 煎煮液 (B)、QBD 浓缩液 (C) 和 QBD 冻干粉 (D) 的 HPLC 指纹图谱及其对照指纹图谱(AR、BR、CR、DR)

Fig. 1 HPLC fingerprint of 15 batches (S1—S15) of *Canarii Fructus* (A), QBD decoction (B), QBD concentrate (C), QBD lyophilized powder (D), and their control fingerprints (AR, BR, CR, DR)

表 2 15 批青果饮片、QBD 煎煮液、QBD 浓缩液和 QBD 冻干粉与各自对照指纹图谱的相似度

Table 2 Similarities of 15 batches of *Canarii Fructus*, QBD decoction, QBD concentrate, and QBD lyophilized powder by comparing with their respective reference fingerprints

编号	相似度				编号	相似度				编号	相似度			
	青果饮片	煎煮液	浓缩液	冻干粉		青果饮片	煎煮液	浓缩液	冻干粉		青果饮片	煎煮液	浓缩液	冻干粉
S1	0.995	0.998	0.994	0.993	S6	0.989	0.981	0.989	0.989	S11	0.982	0.991	0.981	0.995
S2	0.987	0.998	0.998	0.997	S7	0.986	0.984	0.983	0.987	S12	0.999	0.991	0.979	0.995
S3	0.998	0.997	0.979	0.994	S8	0.986	0.980	0.987	0.988	S13	0.985	0.967	0.981	0.977
S4	0.994	0.993	0.996	0.996	S9	0.996	0.969	0.990	0.993	S14	0.984	0.971	0.981	0.977
S5	0.992	0.981	0.987	0.986	S10	0.989	0.989	0.988	0.995	S15	0.994	0.972	0.978	0.977

表 3 QBD 各单味药、煎煮液、浓缩液和冻干粉特征峰相对保留时间与相对峰面积

Table 3 Relative retention time and relative peak area of characteristic peaks in QBD single herb medicine, decoction, concentrate and lyophilized powder

峰号	相对保留时间					相对峰面积				
	青果	莱菔	煎煮液	浓缩液	冻干粉	青果	莱菔	煎煮液	浓缩液	冻干粉
1	0.221	—	0.221	0.222	0.221	1.467	—	1.430	1.627	1.457
2	0.298	—	0.298	0.298	0.298	0.126	—	0.132	0.134	0.121
3	0.382	—	0.382	0.382	0.382	0.124	—	0.125	0.145	0.122
4	0.412	—	0.412	0.412	0.412	0.018	—	0.022	0.024	0.024
5	0.491	—	0.492	0.492	0.492	0.039	—	0.024	0.024	0.024
6	—	0.497	0.504	0.507	0.506	—	0.776	0.182	0.191	0.188
7	0.629	—	0.628	0.627	0.628	0.022	—	0.019	0.017	0.017
8	0.739	—	0.739	0.739	0.739	0.023	—	0.019	0.019	0.018
9	0.815	—	0.815	0.815	0.816	0.065	—	0.039	0.030	0.040
10	0.839	—	0.840	0.839	0.841	0.055	—	0.052	0.042	0.067
11	0.931	—	0.931	0.931	0.932	0.066	—	0.061	0.062	0.063
12	0.947	—	0.948	0.948	0.949	0.021	—	0.021	0.021	0.021
13	0.968	—	0.969	0.968	0.969	0.021	—	0.013	0.012	0.016
14	1.000	—	1.000	1.000	1.000	1.000	—	1.000	1.000	1.000
15	1.032	—	1.032	1.032	1.033	0.120	—	0.074	0.077	0.095
16	1.087	—	1.087	1.087	1.087	0.047	—	0.041	0.059	0.038
17	1.112	—	1.112	1.113	1.114	0.048	—	0.037	0.035	0.035
18	1.170	—	1.170	1.169	1.170	0.137	—	0.123	0.122	0.119
19	1.330	—	1.329	1.329	1.330	0.033	—	0.030	0.025	0.027
20	1.472	—	1.471	1.471	1.469	0.105	—	0.072	0.057	0.058
21	1.527	—	1.527	1.527	1.528	0.190	—	0.171	0.151	0.183
22	1.607	—	1.607	1.608	1.608	0.178	—	0.178	0.170	0.177
23	1.641	—	1.641	1.647	1.641	2.121	—	2.052	1.976	1.800
24	2.002	—	2.003	2.002	2.004	0.043	—	0.061	0.068	0.057

归方程：没食子酸 $Y=0.162\ 2\ X+1.667\ 1$, $R^2=0.999\ 1$, 线性范围 8.841~565.8 $\mu\text{g/mL}$ ；原儿茶酸 $Y=0.237\ 8\ X+0.029\ 2$, $R^2=1.000\ 0$, 线性范围 0.473 1~30.28 $\mu\text{g/mL}$ ；绿原酸 $Y=0.298\ 6\ X+0.001\ 8$, $R^2=1.000\ 0$, 线性范围 0.640 6~41.00 $\mu\text{g/mL}$ ；表儿茶素 $Y=0.291\ 7\ X+0.989\ 1$, $R^2=0.999\ 9$, 线性范围 7.250~464.0 $\mu\text{g/mL}$ ；鞣花酸 $Y=0.978\ 4\ X-2.100\ 3$, $R^2=0.999\ 4$, 线性范围

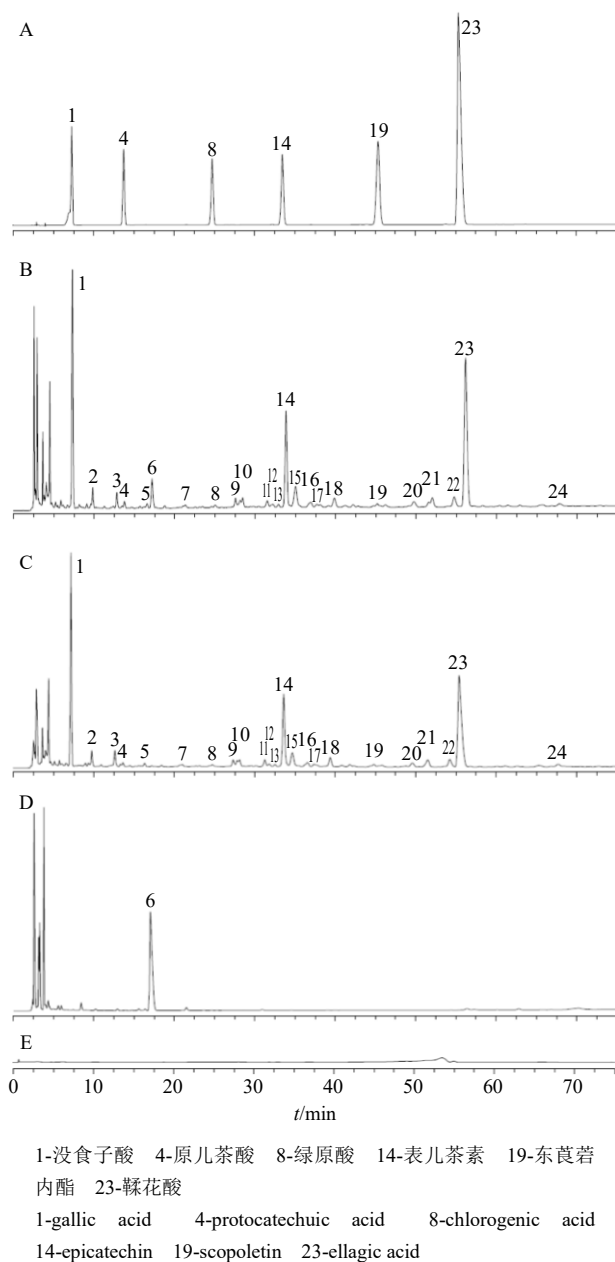


图 2 混合对照品 (A)、冻干粉样品 (B)、青果单煎样品 (C)、莱菔单煎样品 (D) 和空白溶剂 (E) 的 HPLC 图

Fig. 2 HPLC of mixed reference substances (A), lyophilized powder sample (B), negative sample without *Raphanus sativus* (C), negative sample without *Canarii Fructus* (D), and blank sample (E)

3.225~206.4 $\mu\text{g/mL}$; 结果表明各成分在相应的质量浓度范围内线性关系良好。

(3) 精密度试验: 取同一 QBD 冻干粉供试品溶液 (S1), 按照“2.3.1”项下色谱条件测定, 连续进样 6 次, 记录峰面积, 计算各成分色谱峰面积的 RSD。计算没食子酸、原儿茶酸、绿原酸、表儿茶素、鞣花酸峰面积的 RSD 分别为 0.1%、1.37%、

0.98%、0.31%、0.38%, 表明仪器精密度良好。

(4) 重复性试验: 按“2.3.2”项下方法平行制备 6 份 QBD 冻干粉供试品溶液 (S1), 按照“2.3.1”项下色谱条件测定, 依次进样分析, 记录峰面积, 计算各成分质量分数的 RSD。结果没食子酸、原儿茶酸、绿原酸、表儿茶素、鞣花酸质量分数的 RSD 分别为 0.78%、0.89%、1.32%、0.74%、1.13%, 表明该方法重复性良好。

(5) 稳定性试验: 取同一 QBD 冻干粉供试品溶液 (S1), 分别于制备后 0、2、4、8、12、24、48 h 按照“2.3.1”项下色谱条件测定, 记录峰面积, 计算各成分色谱峰面积的 RSD。没食子酸、原儿茶酸、绿原酸、表儿茶素、鞣花酸峰面积的 RSD 分别为 0.73%、0.85%、1.02%、1.12%、0.40%, 表明供试品溶液在 48 h 内稳定。

(6) 加样回收率试验: 精密量取已知含量的 QBD 冻干粉 0.2 g, 平行 6 份, 每份都分别加入对照品没食子酸 2.828 mg、原儿茶酸 0.046 mg、绿原酸 0.017 3 mg、表儿茶素 1.080 mg、鞣花酸 0.801 mg, 按“2.2.2”项下方法平行制备各供试品溶液 (S1), 进样量 10 μL 注入液相色谱仪, 按照“2.3.1”项下色谱条件测定, 记录峰面积, 分别计算各指标成分的实际测得量和回收率, 再计算各指标成分的平均加样回收率。结果没食子酸、原儿茶酸、绿原酸、表儿茶素、鞣花酸峰面积的平均加样回收率分别为 99.5%、96.1%、97.0%、97.7%、99.4%, RSD 分别为 0.25%、0.49%、0.62%、0.62%、0.71%, 结果表明该方法准确可靠。

2.4.3 含量测定^[16-18] 取 15 批 QBD 样品, 按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液, 按“2.3.1”项下色谱条件对供试品溶液进行指标成分含量测定。以 QBD 冻干粉制备过程稳定性成分为评价指标, 分别计算没食子酸、原儿茶酸、绿原酸、表儿茶素、鞣花酸的得率及转移率, 得率=总体样品 (指煎煮液、浓缩液和冻干粉) 中指标成分质量/饮片投料量, 转移率=总体样品 (指煎煮液、浓缩液和冻干粉) 中指标成分质量/总体饮片 (指煎煮液、浓缩液和冻干粉) 中指标成分质量, 结果见表 4~6。结果显示, 15 批青果饮片没食子酸、原儿茶酸、绿原酸、表儿茶素、鞣花酸平均质量分数分别为 3.78、0.033、0.039 1、1.23、0.949 mg/g, RSD 分别为 18.18%、21.71%、14.81%、12.11%、25.83%。15 批冻干粉中没食子酸、原儿茶酸、绿原酸、表儿茶素、鞣花酸质量分数分别为 2.184%~2.84%、

表 4 15 批青果饮片、QBD 煎煮液、QBD 浓缩液和 QBD 冻干粉中有效成分含量

Table 4 Content of effective components in 15 batches of *Canarii Fructus*, QBD decoction, QBD concentrate, and QBD lyophilized powder

样品	青果饮片/(mg·g ⁻¹)					QBD 煎煮液/(μg·mL ⁻¹)				
	没食子酸	原儿茶酸	绿原酸	表儿茶素	鞣花酸	没食子酸	原儿茶酸	绿原酸	表儿茶素	鞣花酸
S1	3.725	0.049	0.051	1.296	0.901	171.2	2.148	2.240	60.75	42.34
S2	3.759	0.050	0.049	1.397	1.029	151.3	2.285	2.090	60.53	41.93
S3	3.391	0.038	0.044	1.221	0.901	158.8	1.683	2.110	53.90	41.09
S4	3.387	0.037	0.041	1.132	0.716	154.9	1.559	1.910	51.27	31.62
S5	4.861	0.031	0.038	1.129	1.290	209.1	1.445	1.664	53.38	57.74
S6	4.852	0.031	0.038	1.135	1.309	221.0	1.414	1.671	52.39	56.83
S7	4.804	0.030	0.034	1.099	1.341	203.9	1.336	1.377	48.17	59.64
S8	4.840	0.031	0.034	1.061	1.300	227.8	1.384	1.573	47.62	56.13
S9	3.474	0.030	0.031	1.452	0.752	154.8	1.428	1.457	65.19	31.62
S10	3.438	0.030	0.037	1.472	0.753	156.2	1.360	1.585	66.94	33.54
S11	3.443	0.031	0.032	1.388	0.653	158.2	1.341	1.330	60.48	25.80
S12	3.410	0.030	0.035	1.367	0.685	152.8	1.359	1.573	55.85	29.59
S13	3.104	0.028	0.040	1.104	0.875	124.9	1.222	1.794	51.98	41.05
S14	3.106	0.027	0.040	1.097	0.863	131.1	1.223	1.843	47.62	38.81
S15	3.114	0.027	0.042	1.095	0.870	137.8	1.251	1.796	48.80	40.09

样品	QBD 浓缩液/(mg·mL ⁻¹)					QBD 冻干粉/%				
	没食子酸	原儿茶酸	绿原酸	表儿茶素	鞣花酸	没食子酸	原儿茶酸	绿原酸	表儿茶素	鞣花酸
S1	1.287	0.016	0.018	0.316	0.177	2.250	0.022	0.111	0.724	0.657
S2	1.159	0.017	0.016	0.398	0.163	2.184	0.026	0.117	0.807	0.668
S3	1.205	0.012	0.016	0.376	0.175	2.250	0.028	0.141	0.750	0.690
S4	1.172	0.012	0.015	0.300	0.191	2.220	0.017	0.117	0.727	0.633
S5	1.596	0.011	0.013	0.462	0.139	2.770	0.051	0.118	0.828	0.646
S6	1.729	0.011	0.013	0.459	0.153	2.840	0.049	0.120	0.823	0.634
S7	1.566	0.010	0.011	0.451	0.132	2.730	0.048	0.121	0.822	0.638
S8	1.758	0.011	0.012	0.415	0.133	2.780	0.049	0.112	0.819	0.652
S9	1.200	0.011	0.011	0.314	0.095	2.790	0.058	0.061	1.301	0.607
S10	1.200	0.011	0.013	0.300	0.095	2.650	0.059	0.064	1.211	0.745
S11	1.250	0.010	0.010	0.287	0.078	2.670	0.058	0.083	1.183	0.695
S12	1.173	0.010	0.012	0.302	0.087	2.670	0.058	0.077	1.266	0.711
S13	0.958	0.009	0.013	0.293	0.232	2.360	0.079	0.090	0.999	0.747
S14	1.011	0.009	0.014	0.319	0.222	2.340	0.075	0.086	0.885	0.760
S15	1.072	0.010	0.014	0.260	0.226	2.410	0.073	0.093	1.002	0.718

0.017%~0.079%、0.061%~0.141%、0.724%~1.301%、0.607%~0.760%，以没食子酸、表儿茶素、鞣花酸等成分含量较高。

煎煮液、浓缩液和冻干粉中，没食子酸平均得率分别为 0.327%、0.322%、0.320%；原儿茶酸平均得率分别为 0.002 93%、0.002 86%、0.002 84%，

绿原酸平均得率分别为 0.003 38%、0.003 35%、0.003 31%，表儿茶素平均得率分别为 0.107%、0.105%、0.104%，鞣花酸平均得率分别为 0.081 6%、0.076 2%、0.079 9%。没食子酸平均转移率分别为 86.35%、85.15%、84.60%，RSD 分别为 4.94%、5.14%、4.95%；原儿茶酸平均转移率分别为 87.81%、

表 5 15 批 QBD 煎煮液、浓缩液和冻干粉中有效成分得率

Table 5 Yield of effective components in 15 batches of QBD decoction, QBD concentrate and QBD lyophilized powder

样品	QBD 煎煮液中有效成分得率/%					QBD 浓缩液中有效成分得率/%					QBD 冻干粉中有效成分得率/%				
	没食子酸	原儿茶酸	绿原酸	表儿茶素	鞣花酸	没食子酸	原儿茶酸	绿原酸	表儿茶素	鞣花酸	没食子酸	原儿茶酸	绿原酸	表儿茶素	鞣花酸
S1	0.333	0.004 18	0.004 37	0.118 0	0.082 6	0.322	0.003 97	0.004 40	0.116 0	0.081 7	0.319	0.003 94	0.004 43	0.115 0	0.080 7
S2	0.295	0.004 56	0.004 08	0.118 0	0.081 8	0.290	0.004 36	0.004 05	0.117 0	0.081 2	0.289	0.004 35	0.004 03	0.116 0	0.080 5
S3	0.310	0.003 28	0.004 12	0.105 0	0.080 1	0.301	0.003 06	0.004 05	0.104 0	0.079 8	0.300	0.003 06	0.004 00	0.103 0	0.079 3
S4	0.302	0.003 04	0.003 73	0.100 0	0.061 7	0.293	0.003 00	0.003 68	0.100 0	0.061 4	0.290	0.002 99	0.003 64	0.099 0	0.061 1
S5	0.408	0.002 82	0.003 25	0.104 0	0.113 0	0.399	0.002 78	0.003 23	0.090 5	0.112 0	0.398	0.002 75	0.003 21	0.090 0	0.109 0
S6	0.431	0.002 76	0.003 26	0.102 0	0.111 0	0.432	0.002 78	0.003 25	0.098 8	0.111 0	0.430	0.002 77	0.003 21	0.099 0	0.110 0
S7	0.398	0.002 61	0.002 69	0.093 9	0.116 0	0.391	0.002 57	0.002 68	0.093 2	0.115 0	0.385	0.002 56	0.002 65	0.093 4	0.112 0
S8	0.444	0.002 70	0.003 07	0.092 9	0.109 0	0.440	0.002 68	0.002 98	0.092 7	0.110 0	0.435	0.002 64	0.002 93	0.092 4	0.109 0
S9	0.302	0.002 79	0.002 84	0.127 0	0.061 7	0.300	0.002 78	0.002 83	0.126 0	0.061 1	0.298	0.002 75	0.002 79	0.125 0	0.060 5
S10	0.305	0.002 65	0.003 09	0.131 0	0.065 4	0.301	0.002 65	0.003 09	0.129 0	0.064 7	0.298	0.002 65	0.003 07	0.128 0	0.063 9
S11	0.308	0.002 62	0.002 59	0.118 0	0.050 3	0.312	0.002 61	0.002 57	0.116 0	0.050 0	0.309	0.002 61	0.002 57	0.114 0	0.049 6
S12	0.298	0.002 65	0.003 07	0.109 0	0.057 7	0.293	0.002 58	0.003 06	0.108 0	0.057 3	0.290	0.002 57	0.003 05	0.107 0	0.056 9
S13	0.244	0.002 38	0.003 50	0.101 0	0.080 1	0.240	0.002 34	0.003 29	0.099 4	0.079 0	0.239	0.002 31	0.003 27	0.098 7	0.078 6
S14	0.256	0.002 39	0.003 59	0.092 9	0.075 7	0.253	0.002 33	0.003 55	0.092 5	0.075 1	0.254	0.002 31	0.003 30	0.092 3	0.075 3
S15	0.269	0.002 44	0.003 50	0.095 2	0.078 2	0.268	0.002 40	0.003 48	0.094 2	0.074 6	0.266	0.002 36	0.003 44	0.093 8	0.072 5
平均值	0.327	0.002 93	0.003 38	0.107 0	0.081 6	0.322	0.002 86	0.003 35	0.105 0	0.076 2	0.320	0.002 84	0.003 31	0.104 0	0.079 9
RSD%	0.063 1	0.000 64	0.000 53	0.012 5	0.021 5	0.062 9	0.000 57	0.005 3	0.012 8	0.028 7	0.061 9	0.000 58	0.000 53	0.012 4	0.020 9

表 6 QBD 冻干粉制备过程中有效成分转移率及出膏率

Table 6 Extractum rates and transfer rates of effective components in preparation process of lyophilized powder

样品	QBD 煎煮液中有效成分得率/%					QBD 浓缩液中有效成分得率/%					QBD 冻干粉中有效成分得率/%					出膏率/%
	没食子酸	原儿茶酸	绿原酸	表儿茶素	鞣花酸	没食子酸	原儿茶酸	绿原酸	表儿茶素	鞣花酸	没食子酸	原儿茶酸	绿原酸	表儿茶素	鞣花酸	
S1	89.59	85.51	85.54	91.43	91.63	86.38	81.12	86.16	89.76	90.67	85.73	80.46	86.76	88.91	89.54	14.33
S2	78.51	88.98	82.77	84.49	79.47	77.11	87.15	82.26	83.91	78.94	77.01	86.88	81.83	82.68	78.24	13.87
S3	91.31	87.05	93.06	86.10	88.88	88.80	81.12	91.59	85.41	88.56	88.48	81.07	90.49	84.54	87.92	15.11
S4	89.19	81.39	91.56	88.28	86.15	86.52	80.50	90.54	88.98	85.79	85.67	80.02	89.48	87.84	85.41	13.37
S5	83.91	92.05	85.99	80.71	87.30	82.08	90.91	85.69	80.17	86.87	81.88	89.73	84.93	79.51	84.69	13.52
S6	88.83	89.50	85.04	89.99	84.64	89.08	90.10	84.82	87.04	84.55	88.58	89.87	83.78	87.45	83.70	13.46
S7	82.75	86.35	77.98	85.46	86.77	81.47	85.08	77.69	84.76	86.03	80.13	84.68	76.90	84.93	83.60	13.75
S8	91.76	87.32	89.32	87.54	84.19	90.81	86.57	86.89	87.41	84.34	89.88	85.43	85.25	87.14	83.47	13.98
S9	86.87	91.46	90.36	87.55	82.04	86.34	91.13	89.83	86.75	81.31	85.68	90.25	88.69	85.98	80.52	14.33
S10	88.61	87.95	84.46	88.69	86.90	87.26	87.89	84.42	87.44	85.96	86.79	87.98	83.83	86.85	84.94	12.87
S11	89.58	85.64	82.24	84.96	77.06	90.74	85.59	81.40	83.59	76.64	89.78	85.48	81.62	82.38	76.00	13.58
S12	87.40	88.58	86.67	79.64	84.25	86.01	86.35	86.48	79.05	83.71	85.12	85.76	86.19	78.60	83.11	12.97
S13	78.44	86.09	87.50	91.84	91.47	77.18	84.47	82.21	89.95	90.29	76.98	83.24	81.63	89.38	89.78	14.67
S14	82.28	88.50	90.28	84.62	87.68	81.44	86.27	89.20	84.25	87.05	81.86	85.74	83.01	84.11	87.28	13.71
S15	86.26	90.82	84.04	86.94	89.92	86.07	89.33	83.60	86.02	85.75	85.41	87.89	82.61	85.67	83.35	12.98
平均值	86.35	87.81	86.45	86.55	85.89	85.15	86.24	85.52	85.63	85.10	84.60	85.63	84.47	85.06	84.10	13.77
RSD%	4.94	3.09	4.64	3.99	4.80	5.14	3.97	4.45	3.69	4.51	4.95	3.87	4.19	3.74	4.54	4.64

86.24%、85.63%，RSD 分别为 3.09%、3.97%、3.87%；绿原酸平均转移率分别为 86.45%、85.52%、84.47%，RSD 分别为 4.64%、4.45%、4.19%；表儿茶素平均转移率分别为 86.55%、85.63%、84.10%，RSD 分别为 3.99%、3.69%、4.54%；鞣花酸平均转移率分别为 85.89%、85.10%、84.10%，RSD 分别为 4.80%、4.51%、4.54%。

2.4.4 出膏率的测定^[10] 测定 15 批冻干粉の出膏率（出膏率=冻干粉干膏质量/饮片投料量），结果见表 6。15 批冻干粉平均出膏率为 13.77%，RSD 为 4.64%，未出现离散数据，说明该制备工艺较合理，未造成明显的批间差异。

2.5 基于化学计量学的 QBD 质量分析

2.5.1 主成分分析（principal component analysis, PCA）^[19-22] 将 15 批样品峰面积信息经 Z-Score 标准化后获得的数据矩阵导入 SIMCA 14.1 软件中，进行 PCA。15 个样品的二维 PCA 得分图见图 3，从 PCA 得分图可以清楚地看出，15 批样品被分成了 3 类，S1~S8 属于四川产地，S9~S12 属于福建产地，S13~S15 属于广东产地。PCA 结果驳斥了指纹图谱的高相似性，纵然指纹图谱显示 15 批次样品的相似度很高，但是它们仍旧被分成了 3 类。此外，分成的 3 类正好和样品的产地有着密不可分的关系，而同一产地几个批次的样品都很好的聚集在一起，说明产地影响着这些样品的质量。

2.5.2 聚类分析^[19,23-24] 从 PCA 评分图来看，不同产地样品是有差异的。聚类分析被用来再次验证这一结果，因为聚类分析提供了不同产地样品之间的相似性和变化的明确度量，显示了复杂的数据相互

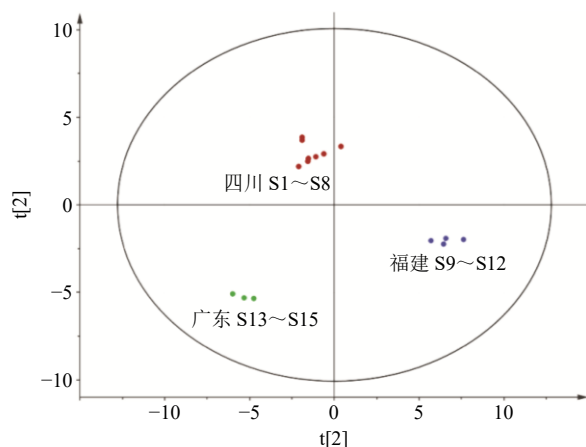


图 3 15 批 QBD 冻干粉 PCA 评分图

Fig. 3 PCA score chart of 15 batches of QBD lyophilized powder

关系。将不同产地的 15 批冻干粉指纹图谱数据中的 24 个共有峰的峰面积导入 SIMCA 14.1 软件中，进行聚类分析。聚类结果见图 4，以纵轴为参考依据，左边 3 批样品在数值小于 1 的时候已经聚拢，中间几批样品在数值约等于 1 的时候聚拢，右边几批样品在数值明显大于 1 的时候才聚拢，表明不同产地样品属不同类别，饮片的产地归属和内在质量差异有待进一步考察分析。

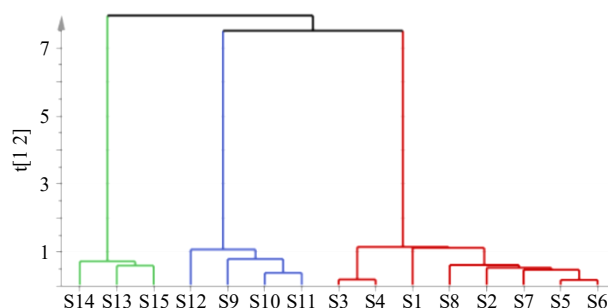


图 4 15 批 QBD 冻干粉聚类分析

Fig. 4 Cluster analysis result of 15 batches of QBD lyophilized powder

2.5.3 正交偏最小二乘-判别分析（orthogonal partial least squares-discriminant analysis, OPLS-DA）^[25-27] 采用有监督的 OPLS-DA 模型进行建模分析，筛选出对上述样本分类贡献较大的成分，为了确定每个变量对于辨别和获得化学标记的重要性，以变量重要性投影值（variable importance in project, VIP，即该变量对整体模型的贡献度高于平均水平）为有意义变量进行搜寻。VIP>1.0 通常被用作衡量某个成分对差异的贡献的共同阈值^[28]。本实验中，发现 VIP>1 的有 9 个峰，按照 VIP 值大小依次为峰 14（表儿茶素）、1（没食子酸）、23（鞣花酸）、9、16、24、22、8（绿原酸）、21，见图 5。同时峰 4（原儿茶酸）的 VIP 值接近 1（VIP=0.887），说明表儿茶

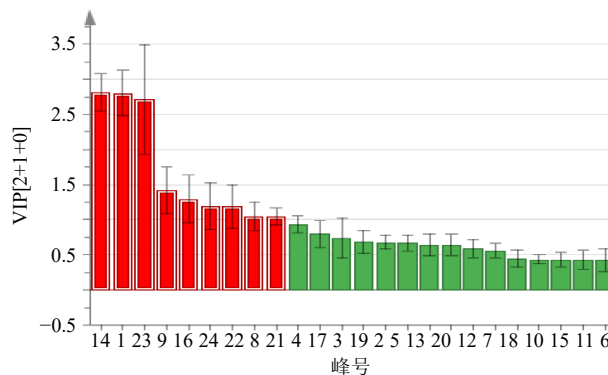


图 5 24 个共有峰的 VIP 值

Fig. 5 VIP values of 24 common components

素、没食子酸、鞣花酸、绿原酸和原儿茶酸是影响样品的主要成分,将这 5 种成分作为指导 QBD 汤剂冻干粉的定量质控指标。

3 讨论

3.1 色谱条件的选择

本实验综合考察了甲醇-0.1%磷酸水溶液、乙腈-0.1%磷酸水溶液、乙腈-0.5%磷酸水溶液、乙腈-水 4 种流动相、波长(214、237、254、273、280、306 nm)、柱温(25、30、35 ℃)、体积流量(0.8、1.0 mL/min)以及色谱柱(Thermo Hypersil Gold C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm)、Acclaim™ 120 C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm)等因素,结果表明在流动相为乙腈-0.1%磷酸水溶液、波长 237 nm、柱温 30 ℃、体积流量为 1.0 mL/min、色谱柱为 Acclaim™ 120 C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm)等条件下色谱峰峰形、分离度及出峰数量等较优,同时色谱图基线更平稳,各峰之间的比例比较协调,直观效果较好。在综合考察峰形、基线等多项干扰因素下,确定此色谱条件进行指纹图谱及含测相关研究。

3.2 指标成分的确定

QBD 组方精简,方中以青果中的酚类成分含量最高,为其主要药效成分,天然硫苷是菜菔中的主要特征性化学成分^[29]。结合相关文献查阅^[30-33],参照《中国药典》2020 年版^[1]中对青果饮片明确规定的没食子酸指标成分,并采用化学指纹图谱与多成分含量测定相结合进一步确定该方与药效相关联的关键成分。因方中青果为历版药典收载中药,菜菔为人们经常食用的蔬菜,因此本实验对全方的质量控制研究侧重在青果。青果中的多酚类成分如没食子酸、绿原酸、原儿茶酸、表儿茶素和鞣花酸是发挥清热解毒、利咽、抗氧化的主要成分^[34-36],没食子酸还为主要抗菌活性成分^[34]。

本实验通过建立 HPLC 指纹图谱,从定性和定量 2 个层面对 QBD 进行质量控制,在定量指标成分选择方面,由于后期发现东莨菪内酯峰型不太好且在标准汤剂中含量极微不好进行定量研究。综合分析,选择含量相对较高的主要药效成分没食子酸、绿原酸、原儿茶酸、表儿茶素和鞣花酸作为 QBD 冻干粉的含测指标,评价冻干粉批次间的一致性,有利于控制其质量稳定性。

此外,研究发现即使经过初步筛选并优化 QBD 梯度洗脱条件,色谱图中也只显示出菜菔中的唯一特征峰。课题组接下来将通过解吸电喷雾电离-离子

化质谱成像技术(desorption electrospray ionization-mass spectrometry imaging, DESI-MSI)^[37]、紫外-可见分光光度法等对 HPLC 未能检测的未知成分如青果菜菔合煎后产生的新物质及菜菔中的天然硫苷类成分等进行分析鉴定,以更全面控制 QBD 冻干粉的质量。

3.3 检测结果分析

指纹图谱结果表明,饮片、煎煮液、浓缩液和冻干粉的相似度均大于 0.9,一致性良好。QBD 冻干粉指标成分质量分数为没食子酸 0.239%~0.435%、原儿茶酸 0.002 31%~0.004 35%、绿原酸 0.002 57%~0.004 43%、表儿茶素 0.090 0%~0.128%、鞣花酸 0.049 6%~0.112%。含量测定结果表明,15 批 QBD 冻干粉样品含量较高的 3 种成分中,没食子酸含量的平均值为 S5~S8>S9~S12>S1~S4>S13~S15,表儿茶素含量的平均值为 S9~S12>S13~S15>S5~S8>S1~S4,鞣花酸含量的平均值为 S5~S8>S13~S15>S1~S4>S9~S12。分析造成此含量差异的原因可能是产地不同所致,化学计量学结果验证了分析的合理性。PCA 及 HCA 结果都表明了产地的不同导致 15 批样品聚集成不同类别,也为后续实验开展选择青果产地来源明确了方向。

此外,通过 OPLS-DA 找到的 VIP 值大于 1 的已知成分表儿茶素、没食子酸、鞣花酸和绿原酸是对区分不同批次样品质量具有较大贡献的几个主要成分,此外其他 VIP 值大于 1 的未知成分将会是课题组接下来需要关注的部分。通过化学计量学发现菜菔的特征峰(峰 6)的 VIP 值远小于 1,认定此峰可能不是影响 QBD 质量的主要成分,因此可将其作为定量因素进行研究。QBD 冻干粉指标成分的含量范围与转移率范围的结果表明指标成分转移稳定可控。

因提取溶媒为水,5 种指标成分极性较强且转移率较高,说明煎煮、浓缩和冻干工艺较稳定,未造成有效成分的明显损失^[38]。在量质传递过程中,冻干粉具备稳定、均一的优势,能很好地表达原方信息,而且便于储存,可为 QBD 冻干粉后续作为物质基准的深入研究提供依据。

本研究所建立的 QBD 的 HPLC 特征图谱、有效成分的含量测定和量质传递方法等质控手段,共同作为 QBD 的质量控制方法。在药食同源名方的研发中,控制原药材质量的均一性尤为重要,为进

一步缩小指标成分含量的范围,除了对产地进行分析外,还应展开对采收季节和采收年份等外界因素的分析研究。此外,若药材因产地或批次不同而质量差异较大时,可固定产地或控制药材的含量限度范围,并且在生产加工中可采取饮片均一化投料的方法,可有效实现质量控制,有利于确切反映 QBD 的质量变化属性,从而确保其功效的稳健发挥,为 QBD 复方制剂及大健康产品的开发研究提供可靠的质量评价依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 206.
- [2] Chen F Z, Yang L P, Huang Y N, et al. Isocorilagin, isolated from *Canarium album* (Lour.) Raeusch, as a potent neuraminidase inhibitor against influenza A virus [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2020, 523(1): 183-189.
- [3] Duan W J, Tan S Y, Chen J, et al. Isolation of anti-HIV components from *Canarium album* fruits by high-speed counter-current chromatography [J]. *Anal Lett*, 2013, 46(7): 1057-1068.
- [4] 蒋全德, 王景杰, 刘琳娜, 等. 白萝卜提取物对大鼠胃排空、肠推进及豚鼠离体回肠平滑肌的影响 [J]. *山西医科大学学报*, 2007, 38(3): 215-217, 257.
- [5] 张旭, 马波, 杜钢军, 等. 白萝卜提取物对小鼠胃排空、肠推进及家兔离体回肠平滑肌的影响 [J]. *河南大学学报: 医学版*, 2011, 30(1): 36-38.
- [6] 任秦有, 王胜智, 张超, 等. 莱菔提取物对功能性消化不良患者胃运动功能的影响 [J]. *贵阳中医学院学报*, 2011, 33(2): 15-17.
- [7] (清) 王士雄著. 陆士谔辑. 达美君等校注. 王孟英医案卷二 [M]. 北京: 中国中医药出版社, 1997: 39.
- [8] 江华娟, 李敏敏, 何瑶, 等. 基于 HPLC 指纹图谱和化学模式识别的经典名方桃红四物汤制备过程质量评价研究 [J]. *中草药*, 2021, 52(4): 1000-1010.
- [9] 樊启猛, 贺鹏, 李海英, 等. 经典名方物质基准研制的关键技术分析 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2019, 25(15): 202-209.
- [10] 周菲, 林美斯, 王琳, 等. 经典名方百合地黄汤物质基准制备及过程质量控制研究 [J]. *中草药*, 2019, 50(16): 3824-3832.
- [11] 国家药品监督管理局. 关于发布古代经典名方中药复方制剂简化注册审批管理规定的公告 (2018 年第 27 号) [EB/OL]. [2018-06-01]. <http://www.nmpa.gov.cn/WS04/CL2138/228247.html>.
- [12] 陈蒙, 林龙飞, 刘宇灵, 等. 经典名方苓桂术甘汤 HPLC 指纹图谱的建立及 3 种成分含量测定 [J]. *中草药*, 2019, 50(17): 4152-4157.
- [13] 闫莉. 青龙白虎利咽含片的药学研究 [D]. 成都: 成都中医药大学, 2013.
- [14] 闫莉, 傅超美, 季宁平, 等. 青龙白虎利咽含片的提取工艺研究 [J]. *中药与临床*, 2012, 3(5): 18-21.
- [15] 游宇, 罗林, 傅超美, 等. 青龙白虎保健饮料的研制 [J]. *中药与临床*, 2018, 9(2): 20-22.
- [16] 田萍, 位恒超, 韩德恩, 等. 真武汤 HPLC-ELSD 指纹图谱及 13 种成分含量测定研究 [J]. *中草药*, 2020, 51(23): 5980-5989.
- [17] 孟哲, 王丽君, 黄洋, 等. 中药三七不同药用部位的指纹图谱及模式识别研究 [J]. *中国药理学杂志*, 2020, 55(7): 504-509.
- [18] Cao X X, Sun L L, Li D, et al. Quality evaluation of *Phellodendri Chinensis Cortex* by fingerprint chemical pattern recognition [J]. *Molecules*, 2018, 23(9): E2307.
- [19] 李双双, 李双, 杨建明, 等. RP-HPLC 法测定桃红四物汤提取物中 9 种水溶性活性成分的含量 [J]. *中药新药与临床药理*, 2017, 28(3): 364-367.
- [20] 李耀磊, 左甜甜, 徐健, 等. 基于 ICP-MS 法对 4 种动物源性药材中 16 种无机元素的测定及量变规律研究 [J]. *药物评价研究*, 2020, 43(2): 248-254.
- [21] 刘冲, 刘荫贞, 乐智勇, 等. 桂枝饮片标准汤剂质量标准研究 [J]. *中草药*, 2017, 48(8): 1577-1583.
- [22] 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.
- [23] Chen Z, Li Q, Yu Z, et al. Analysis of the similarities and differences between *Aucklandia* and *Vladimirae* rhizomes by chemical profiling and chemometric analysis [J]. *J Ethnopharmacol*, 2020, 255: 112719.
- [24] Gu F, Hall P, Miles N J. Performance evaluation for composites based on recycled polypropylene using principal component analysis and cluster analysis [J]. *J Clean Prod*, 2016, 115: 343-353.
- [25] 徐男, 孙蓉, 崔焕月, 等. 化学计量学结合信息熵赋权优选半夏白术天麻汤提取工艺 [J]. *中草药*, 2020, 51(4): 995-1002.
- [26] 杨冰月, 彭亮, 颜永刚, 等. HPLC 指纹图谱结合化学模式识别分析不同产地款冬花生品与蜜炙品 [J]. *中草药*, 2018, 49(21): 4991-4997.
- [27] 肖琳婧, 刘莹莹, 赵禹, 等. HPLC 指纹图谱结合化学计量学的不同产地灯盏花药材和近缘种样品的质量评价 [J]. *中草药*, 2019, 50(14): 3438-3443.
- [28] 聂欣, 庞兰, 江华娟, 等. 经典名方化肝煎物质基准特征图谱及多指标成分含量测定研究 [J]. *中草药*, 2020,

- 51(20): 5177-5186.
- [29] 余辉攀. 莱菔化学成分和牡丹花提取物制备工艺及质量控制方法研究 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2014.
- [30] He Z Y, Xia W S. Analysis of phenolic compounds in Chinese olive (*Canarium album* L.) fruit by RPHPLC-DAD-ESI-MS [J]. *Food Chem*, 2007, 105(3): 1307-1311.
- [31] 姚瑞祺. 青果多酚的提取、分离及体外抗氧化活性研究 [D]. 西安: 陕西师范大学, 2009.
- [32] Chang Q, Su M H, Chen Q X, *et al.* Physicochemical properties and antioxidant capacity of Chinese olive (*Canarium album* L.) cultivars [J]. *J Food Sci*, 2017, 82(6): 1369-1377.
- [33] 王恒, 宋良科, 汤昊, 等. 不同种质青果清热利咽化学组分的研究 [J]. 中国中药杂志, 2010, 35(6): 669-672.
- [34] 孔庚星, 张鑫, 陈楚城, 等. 青果抗乙肝病毒成分研究 [J]. 解放军广州医高专学报, 1997(2): 84-86.
- [35] 张亮亮, 杨志伟, 林益明. 橄榄多酚抗氧化活性研究 [J]. 食品工业科技, 2008, 29(4): 57-59.
- [36] 袁剑刚, 刘昕, 汤展球. 橄榄的抑菌效应及其药效成分的初步研究 [J]. 食品科学, 2001, 22(3): 82-84.
- [37] 曲缘章, 孙博, 朱广伟, 等. DESI-MSI 技术在经典名方芍药甘草汤质量控制中应用研究 [J]. 中草药, 2020, 51(13): 3433-3443.
- [38] 洪婷婷, 张钰明, 杨琳洁, 等. 经典名方半夏泻心汤水煎液的 HPLC 指纹图谱及黄芩、黄连量值传递研究 [J]. 中草药, 2020, 51(20): 5166-5176.

[责任编辑 郑礼胜]