

基于一测多评 (QAMS) 法联合化学计量学的参贝止咳颗粒综合质量评价

刘艳芬¹, 段 芳¹, 张 翹², 邹 敏^{3,4}, 郭 丹^{1*}

1. 南方医科大学南方医院 药学部, 广东 广州 510515

2. 广东食品药品职业学院中药学院, 广东 广州 510520

3. 广西中医药大学基础医学院, 广西 南宁 530200

4. 广西中医药大学附属国际壮医医院&广西国际壮医医院 儿科, 广西 南宁 530200

摘要: 目的 建立参贝止咳颗粒中重楼皂苷 VII、VI、I 及白花前胡甲素、白花前胡乙素、白花前胡素 E、法卡林二醇、人参炔醇、柚皮芸香苷、橙皮苷、川陈皮素、橘红素的高效液相色谱 (HPLC) 一测多评 (quantitative analysis of multi-components by single-marker, QAMS) 方法, 并结合聚类分析和主成分分析对参贝止咳颗粒进行综合质量评价。方法 采用 Venusil XBP C₁₈ 色谱柱; 乙腈-0.1% 磷酸水溶液为流动相, 梯度洗脱; 检测波长分别为 203 nm (检测重楼皂苷 VII、VI、I)、321 nm (检测白花前胡甲素、白花前胡乙素和白花前胡素 E)、254 nm (检测法卡林二醇和人参炔醇) 和 283 nm (检测柚皮芸香苷、橙皮苷、川陈皮素和橘红素); 以白花前胡甲素为内参物, 建立重楼皂苷 VII、VI、I 及白花前胡乙素、白花前胡素 E、法卡林二醇、人参炔醇、柚皮芸香苷、橙皮苷、川陈皮素和橘红素的相对校正因子 (relative correction factor, RCF), 利用 RCF 计算各成分含量并与外标法实测值进行比较, 验证所建立的 HPLC QAMS 法的准确性和可行性; 并采用 SPSS 26.0 统计软件对 12 批参贝止咳颗粒中 12 种成分定量测定结果进行聚类分析和主成分分析。结果 参贝止咳颗粒中 12 种成分线性范围良好 ($0.9991 \leq r \leq 0.9997$); 重楼皂苷 VII、VI、I 及白花前胡乙素、白花前胡素 E、法卡林二醇、人参炔醇、柚皮芸香苷、橙皮苷、川陈皮素和橘红素的 RCF 耐用性良好; QAMS 法与外标法含量测定结果无显著性差异; 聚类分析和主成分分析结果一致, 12 批参贝止咳颗粒聚为 2 类, 主成分 1~4 是影响参贝止咳颗粒质量评价的主要因子。结论 以白花前胡甲素为内参物, 建立的 HPLC QAMS 法可用于参贝止咳颗粒中多指标成分定量控制和综合质量评价。

关键词: 参贝止咳颗粒; 多指标成分; 高效液相色谱; 一测多评法; 相对校正因子; 化学计量学; 聚类分析; 主成分分析; 质量评价; 重楼皂苷 VII; 重楼皂苷 VI; 重楼皂苷 I; 白花前胡甲素; 白花前胡乙素; 白花前胡素 E; 法卡林二醇; 人参炔醇; 柚皮芸香苷; 橙皮苷; 川陈皮素; 橘红素

中图分类号: R283.6

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2022)02-0413-11

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2022.02.011

Comprehensive quality evaluation of Shenbei Zhike Granules based on HPLC-QAMS combined with chemometrics

LIU Yan-fen¹, DUAN Fang¹, ZHANG Qiao², ZOU Min^{3,4}, GUO Dan¹

1. Department of Pharmacy, Southern Hospital of Southern Medical University, Guangzhou 510515, China

2. College of Traditional Chinese Medicine, Guangdong Food and Drug Vocational College, Guangzhou 510520, China

3. College of Basic Medicine, Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530200, China

4. Department of Pediatrics, International Zhuang Medicine Hospital Affiliated to Guangxi University of Chinese Medicine & Guangxi International Zhuang Medical Hospital, Nanning 530200, China

Abstract: Objective To establish a high performance liquid chromatography (HPLC) quantitative analysis of multi-components by single-marker (QAMS) method for the simultaneous determination of polyphyllin VII, VI, I, praeruptorin A, B, E, falcariindiol, panaxynol, narirutin, hesperidin, nobiletin and tangeretin in Shenbei Zhike Granules (SZG, 参贝止咳颗粒), and combine cluster

收稿日期: 2021-08-10

基金项目: 全国中药特色技术传承人才培训项目 (国中医药人教函[2019]43 号 T20194828003); 广西壮族自治区中医药管理局自筹经费科研课题 (GZZC2020114); 广西壮族自治区教育厅高校中青年教师基础能力提升项目 (2018KY0302)

作者简介: 刘艳芬 (1987—), 女, 广东广州人, 本科, 主管药师, 主要从事药物质量控制及医院药学研究工作。Tel: 13533222157

*通信作者: 郭 丹 (1971—), 男, 广东广州人, 博士, 主任药师, 主要从事药物质量控制及抗肿瘤药理研究工作。

Tel: 13533054889 E-mail: opgq3802@163.com

analysis and principal component analysis to comprehensive evaluate the quality of SZG. **Methods** The chromatographic column was Venusil XBP C₁₈ column. The mobile phase was composed of acetonitrile-0.1% phosphoric acid in gradient elution. The detection wavelength were set at 203 nm for polyphyllin VII, VI, and I, 321 nm for praeruptorin A, B and E, 254 nm for falcariindiol and panaxynol, and 283 nm for narirutin, hesperidin, nobiletin and tangeretin. The relative correction factors (RCF) of polyphyllin VII, VI, I, praeruptorin B, E, falcariindiol, panaxynol, narirutin, hesperidin, nobiletin and tangeretin were established by HPLC method with praeruptorin A as internal reference, which was used to calculate the content of various constituents. The external standard method (ESM) was used to determine the contents of twelve components. The results of the two methods were compared, and the accuracy and feasibility of the established HPLC QAMS method was verified. The cluster analysis and principal component analysis of twelve components in twelve batches of SZG were carried out by SPSS 26.0 statistical software. **Results** The results showed that the twelve components had good linear relationship ($0.999 \leq r \leq 0.9997$). The RCF of polyphyllin VII, VI, I, praeruptorin B, E, falcariindiol, panaxynol, narirutin, hesperidin, nobiletin and tangeretin had good durability. There was no significant difference between QAMS and ESM. The results of cluster analysis and principal component analysis were consistent. Twelve batches of samples were clustered into two categories, and the principal components 1—4 were the main factor affecting the quality evaluation of SZG. **Conclusion** The established HPLC QAMS method can be used for quantitative control and comprehensive quality evaluation of multiple index components in SZG.

Key words: Shenbei Zhike Granules; multi-index component; HPLC; quantitative analysis of multi-components by single-marker; relative correction factor; chemometrics; cluster analysis; principal component analysis; quality evaluation; polyphyllin VII; polyphyllin VI; polyphyllin I; praeruptorin A; praeruptorin B; praeruptorin E; falcariindiol; panaxynol; narirutin; hesperidin; nobiletin; tangeretin

支气管炎是由生物或非生物因素引起的支气管黏膜及其周围组织的急性或慢性非特异性炎症，为常见的呼吸道疾病，咳嗽、咳痰等为其最主要的临床表现，严重影响患者的生活、学习和工作。参贝止咳颗粒（Shenbei Zhike Granules, SZG）由北沙参、浙贝母、前胡、重楼、陈皮、苦杏仁等 14 味中药材经提取、浓缩加工而成，清肺、化痰、止咳，主要用于急性支气管炎及慢性单纯型支气管炎急性发作期咳嗽的治疗，儿童和成人均可服用，临床应用广泛^[1]。中成药复方制剂由多味中药材配伍组方而成，同时每味中药材又含有多种药效成分，具有多靶点、协同作用等特点，其不同于化药制剂原料相对稳定，中药材品种种属、产地来源等因素直接影响中药材的内在质量，即使中药材符合现行国家标准的规定，其产品质量也存在较大差异，直接影响所生产制剂的产品质量和临床治疗效果的一致性。SZG 现行质量标准 WS-10807(ZD-0807)-2002-2011Z 及相关文献的 1、2 个成分检测^[1-2]，难以全面评价 SZG 的整体质量，多指标成分定量分析的中药质量控制新模式，有效解决了中药整体质量控制方法学问题，对提升 SZG 整体质量具有重要意义。

高效液相色谱（HPLC）一测多评（quantitative analysis of multi-components by single-marker, QAMS）法^[3-5]利用中药有效成分间存在的内在函数关系，通过对 1 种成分的定量测定来实现对多种成

分的同步检测，能够有效降低检验成本，有助于方法的普及应用。聚类分析、主成分分析（principal component analysis, PCA）等化学计量学（chemometrics）分析方法^[6-7]能够将复杂数据中的多维信息进行成分整合，发掘复杂数据中存在的隐蔽规律，查找出存在质量差异的主要因素，有助于对产品质量的有效控制，近年来已广泛应用于中药制剂的研究分析中。本实验以白花前胡甲素为内参物，采用 HPLC QAMS 法对 SZG 中重楼皂苷 VII、VI、I 及白花前胡甲素、白花前胡乙素、白花前胡素 E、法卡林二醇、人参炔醇、柚皮芸香苷、橙皮苷、川陈皮素和橘红素的含量进行同时检测，首次建立了 SZG 多指标成分质量评价方法，同时运用聚类分析、PCA 等化学计量学方法对 12 批 SZG 定量测定结果进行分析，为进一步提高该制剂整体质量控制水平提供科学依据。

1 材料

1.1 试药

对照品白花前胡甲素（批号 111711-201904，质量分数 99.4%）、重楼皂苷 VII（批号 111593-202105，质量分数 98.4%）、白花前胡乙素（批号 111904-201804，质量分数 98.9%）、橙皮苷（批号 110721-202019，质量分数 95.3%）、重楼皂苷 VI（批号 111592-201604，质量分数 97.0%）、川陈皮素（批号 112055-202001，质量分数 99.6%）和重楼皂苷 I

(批号 111590-202105, 质量分数 94.5%) 均来源于中国食品药品检定研究院; 对照品白花前胡素 E (批号 PRF20042641, 质量分数 98.1%)、法卡林二醇 (批号 PRF9061222, 质量分数 99.4%)、人参炔醇 (批号 PRF20120905, 质量分数 98.6%)、柚皮芸香苷 (批号 PRF9062802, 质量分数 99.8%) 和橘红素 (批号 PRF8063048, 质量分数 98.7%) 均来源于成都普瑞法科技开发有限公司。阴性实验所用中药材来源于安国市神禾中药材饮片有限责任公司, 经广东食品药品职业学院中药学院张翹教授鉴定为正品, 北沙参 (批号 20201006, 产地山东) 为伞形科沙参属植物珊瑚菜 *Glehnia littoralis* Fr. Schmidt ex Miq. 的干燥根, 浙贝母 (批号 20201003, 产地浙江) 为百合科贝母属植物浙贝母 *Fritillaria thunbergii* Miq. 的干燥鳞茎, 前胡 (批号 20180903, 产地甘肃) 为伞形科前胡属植物白花前胡 *Eucedanum praeruptorum* Dunn 的干燥根, 重楼 (批号 20200802, 产地云南) 为百合科重楼属植物云南重楼 *Paris polyphylla* Smith var. *yunnanensis* (Franch.) Hand. -Mazz. 的干燥根茎, 陈皮 (批号 20200702, 产地湖北) 为芸香科柑橘属植物橘 *Citrus reticulata* Blanco 及其栽培变种的干燥成熟果皮, 苦杏仁 (批号 20191201, 产地内蒙古) 为蔷薇科杏属植物山杏 *Prunus armeniaca* L. var. *ansu* Maxim. 的干燥成熟种子, 款冬花 (批号 20180602, 产地河南) 为菊科款冬属植物款冬 *Tussilago farfara* L. 的干燥花蕾, 半夏 (批号 20191101, 产地湖北) 为天南星科半夏属植物半夏 *Pinellia ternata* (Thunb.) Breit. 的干燥块茎, 百部 (批号 20171103, 产地江西) 为百部科百部属植物对叶百部 *Stemona tuberosa* Lour. 的干燥块根, 蝉蜕 (批号 20190803, 产地河南) 为蝉科昆虫黑蚱 *Cryptotympana pustulata* Fabricius 的若虫羽化时脱落的皮壳, 荆芥 (批号 20190902, 产地安徽) 为唇形科荆芥属植物荆芥 *Schizonepeta tenuifolia* Briq. 的干燥地上部分, 连翘 (批号 20191203, 产地河北) 为木犀科连翘属植物连翘 *Forsythia suspensa* (Thunb.) Vahl 的干燥果实, 薄荷 (批号 20190502, 产地江苏) 为唇形科薄荷属植物薄荷 *Mentha haplocalyx* Briq. 的干燥地上部分, 甘草 (批号 20181101, 产地新疆) 为豆科甘草属植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. 的干燥根和根茎。

乙腈为色谱纯, 其余试剂为分析纯。SZG (规格: 每袋装 10 g; 批号 20200301、20200302、

20200303、20200406、20200407、20200707、20200708、20201205、20201210、20201211、20210104、20210105, 编号依次为 S1~S12) 来源于云南腾冲东方红制药有限公司。

1.2 仪器

Agilent 1200 型高效液相色谱仪, 美国安捷伦公司; Waters 2695 型高效液相色谱仪, 美国 Waters 公司; 液相色谱柱 (Venusil XBP C₁₈ 柱、Acclaim 120 C₁₈ 柱和 Waters XBridge C₁₈ 柱, 规格均为 250 mm×4.6 mm, 5 μm); DL-720D 型超声波清洗器, 上海之信仪器有限公司; Sartorius CP225D 型电子天平, 赛多利斯科学仪器有限公司。

2 方法与结果

2.1 溶液的制备

2.1.1 混合对照品溶液 分别精密称取对照品重楼皂苷 VII、VI、I 及白花前胡甲素、白花前胡乙素、白花前胡素 E、法卡林二醇、人参炔醇、柚皮芸香苷、橙皮苷、川陈皮素和橘红素各适量, 用甲醇制成质量浓度依次为 0.496、0.432、0.716、2.470、0.554、0.786、0.298、0.374、1.290、3.016、0.308、0.112 mg/mL 的混合对照品储备液。精密吸取储备液 2.5 mL, 用甲醇稀释 20 倍得混合对照品溶液 (重楼皂苷 VII 24.8 μg/mL、重楼皂苷 VI 21.6 μg/mL、重楼皂苷 I 35.8 μg/mL、白花前胡甲素 123.5 μg/mL、白花前胡乙素 27.7 μg/mL、白花前胡素 E 39.3 μg/mL、法卡林二醇 14.9 μg/mL、人参炔醇 18.7 μg/mL、柚皮芸香苷 64.5 μg/mL、橙皮苷 150.8 μg/mL、川陈皮素 15.4 μg/mL、橘红素 5.6 μg/mL)。

2.1.2 供试品溶液 取 SZG, 研细后取约 2 g, 精密称定, 精密加甲醇 25 mL, 称定质量, 超声处理 (功率 600 W、频率 50 kHz) 20 min, 放冷补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 得 SZG 供试品溶液。

2.1.3 阴性供试品溶液 取按 SZG 处方和制法分别制备的缺重楼、缺前胡、缺北沙参、缺陈皮的阴性样品各适量, 再按“2.1.2”项方法制得 4 种阴性供试品溶液。

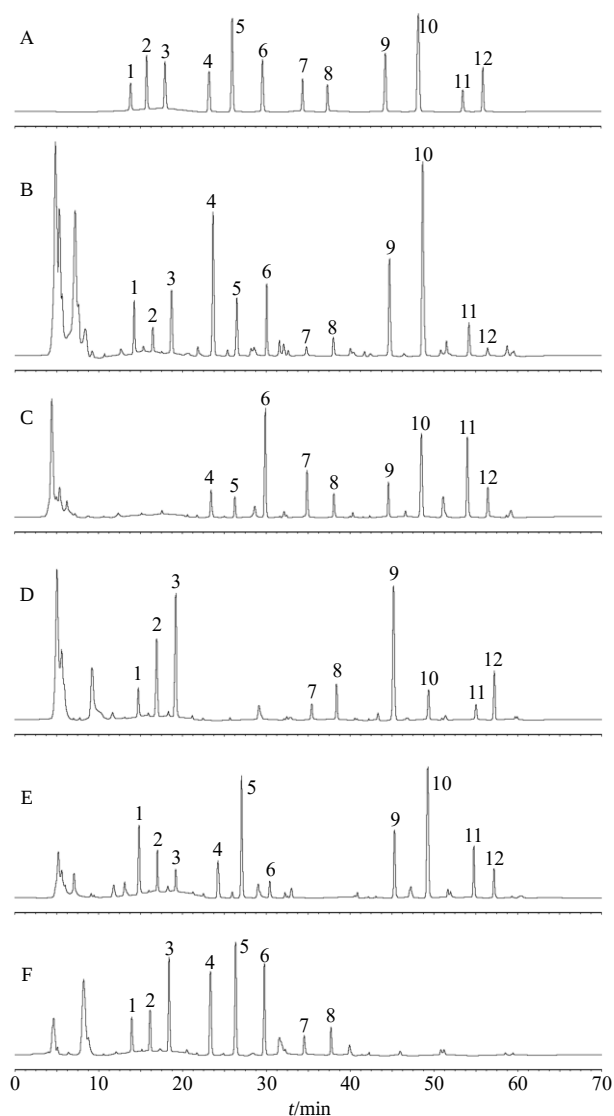
2.2 色谱条件与系统适用性

采用 Venusil XBP C₁₈ 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 柱温 30 ℃; 乙腈-0.1%磷酸水溶液为流动相, 梯度洗脱: 0~11 min, 13.0%乙腈; 11~21 min, 13.0%~34.0%乙腈; 21~32 min, 34.0%~53.0%乙腈; 32~40 min, 53.0%~65.0%乙腈; 40~59 min, 65.0%~76.0%乙腈; 59~70 min, 76.0%~

13.0%乙腈; 体积流量 0.9 mL/min; 检测波长为 203 nm (0~21 min, 重楼皂苷 VII、VI、I) [8-13]、321 nm (21~32 min, 白花前胡甲素、白花前胡乙素和白花前胡素 E) [14-18]、254 nm (32~40 min, 法卡林二醇和人参炔醇) [19-20] 和 283 nm (40~70 min, 柚皮芸香苷、橙皮苷、川陈皮素和橘红素) [21-27]; 进样量 10 μ L。在该实验条件下, 理论板数按所测各成分色谱峰计均不低于 5500; SZG 供试品溶液中 12 种成分与相邻色谱峰均能有效分离 (分离度均 > 1.5); 阴性样品对 SZG 中重楼皂苷 VII、VI、I 及白花前胡甲素、白花前胡乙素、白花前胡素 E、法卡林二醇、人参炔醇、柚皮芸香苷、橙皮苷、川陈皮素和橘红素的同时测定无干扰, 色谱图见图 1。

2.3 方法学考察

2.3.1 线性关系考察 精密吸取“2.1.1”项混合对照品储备液 0.1、0.2、0.5、1.0、2.0、5.0 mL, 分别用甲醇稀释至 20 mL, 得混合对照品溶液 I~VI, 各精密吸取 10 μ L, 注入高效液相色谱仪中, 记录色谱峰峰面积, 以重楼皂苷 VII、VI、I 及白花前胡甲素、白花前胡乙素、白花前胡素 E、法卡林二醇、人参炔醇、柚皮芸香苷、橙皮苷、川陈皮素和橘红素峰面积为纵坐标 (Y), 质量浓度为横坐标 (X) 进行线性回归, 得回归方程分别为重楼皂苷 VII $Y=1.402\ 2\times 10^6 X-472.5$, $r=0.999\ 7$, 线性范围 2.48~124.00 μ g/mL; 重楼皂苷 VI $Y=1.063\ 2\times 10^6 X+1\ 143.9$, $r=0.999\ 3$, 线性范围 2.16~108.00 μ g/mL; 重楼皂苷 I $Y=1.678\ 7\times 10^6 X-582.40$, $r=0.999\ 7$, 线性范围 3.58~179.00 μ g/mL; 白花前胡甲素 $Y=1.249\ 9\times 10^6 X+1\ 292.8$, $r=0.999\ 4$, 线性范围 12.35~617.50 μ g/mL; 白花前胡乙素 $Y=1.563\ 6\times 10^6 X+660.10$, $r=0.999\ 6$, 线性范围 2.77~138.50 μ g/mL; 白花前胡素 E $Y=1.838\ 1\times 10^6 X-1\ 391.4$, $r=0.999\ 1$, 线性范围 3.93~196.50 μ g/mL; 法卡林二醇 $Y=6.108\ 6\times 10^5 X+1\ 073.9$, $r=0.999\ 5$, 线性范围 1.49~74.50 μ g/mL; 人参炔醇 $Y=8.998\ 7\times 10^5 X-1\ 324.6$, $r=0.999\ 6$, 线性范围 1.87~93.50 μ g/mL; 柚皮芸香苷 $Y=1.540\ 5\times 10^6 X-762.90$, $r=0.999\ 2$, 线性范围 6.45~322.50 μ g/mL; 橙皮苷 $Y=2.051\ 6\times 10^6 X-165.40$, $r=0.999\ 5$, 线性范围 15.08~754.00 μ g/mL; 川陈皮素 $Y=7.157\ 3\times 10^6 X-1\ 059.8$, $r=0.999\ 1$, 线性范围 1.54~77.00 μ g/mL; 橘红素 $Y=3.992\ 7\times 10^5 X-471.20$, $r=0.999\ 5$, 线性范围 0.56~28.00 μ g/mL; 结果表明, 12 种成分在各自质



1-重楼皂苷 VII 2-重楼皂苷 VI 3-重楼皂苷 I 4-白花前胡甲素
5-白花前胡乙素 6-白花前胡素 E 7-法卡林二醇 8-人参炔醇
9-柚皮芸香苷 10-橙皮苷 11-川陈皮素 12-橘红素
1-polyphyllin VII 2-polyphyllin VI 3-polyphyllin I 4-praepruptorin
A 5-praepruptorin B 6-praepruptorin E 7-falcarindiol 8-panaxynol
9-narirutin 10-hesperidin 11-nobiletin 12-tangeretin

图 1 混合对照品 (A)、SZG 样品 (B)、缺重楼阴性样品 (C)、缺前胡阴性样品 (D)、缺北沙参阴性样品 (E) 和缺陈皮阴性样品 (F) 的 HPLC 图

Fig. 1 HPLC of mixed reference substances (A), SZG sample (B), negative sample without *Paridis Rhizoma* (C), negative sample without *Peucedani Radix* (D), negative sample without *Glehniae Radix* (E) and negative sample without *Citri Reticulatae Pericarpium* (F)

量浓度范围内线性关系良好。

2.3.2 精密度试验 精密吸取同一份 SZG (S1) 供试品溶液 10 μ L, 注入高效液相色谱仪中, 记录色谱峰峰面积, 连续操作 6 次, 测得重楼皂苷 VII、

VI、I 及白花前胡甲素、白花前胡乙素、白花前胡素 E、法卡林二醇、人参炔醇、柚皮芸香苷、橙皮苷、川陈皮素和橘红素峰面积的 RSD 值依次为 1.26%、1.30%、1.11%、0.67%、0.93%、0.75%、1.38%、1.29%、0.71%、0.53%、1.44%、1.50%，表明该条件下仪器精密度良好。

2.3.3 重复性试验 取同一批 SZG(S1)，按“2.1.2”项方法平行制备 6 份供试品溶液，各精密吸取 10 μ L，注入高效液相色谱仪中，记录色谱峰峰面积并按外标法计算 12 种成分质量分数，结果 12 种成分重楼皂苷 VII、VI、I 及白花前胡甲素、白花前胡乙素、白花前胡素 E、法卡林二醇、人参炔醇、柚皮芸香苷、橙皮苷、川陈皮素和橘红素质量分数的平均值分别为 0.353、0.306、0.522、1.876、0.409、0.615、0.161、0.219、0.963、2.318、0.184、0.062 mg/g，RSD 值依次为 1.60%、1.75%、1.48%、0.95%、1.38%、1.23%、1.71%、1.56%、1.05%、0.82%、1.85%、1.93%，表明该方法的重复性良好。

2.3.4 稳定性试验 取同一份 SZG(S1) 供试品溶液，于制备后 0、2、5、9、16、24 h 各精密吸取 10 μ L，注入高效液相色谱仪中，记录色谱峰峰面积，结果 SZG 供试品溶液在 24 h 内稳定，12 种成分重楼皂苷 VII、VI、I 及白花前胡甲素、白花前胡乙素、白花前胡素 E、法卡林二醇、人参炔醇、柚皮芸香苷、橙皮苷、川陈皮素和橘红素峰面积的 RSD 值依次为 1.22%、1.35%、1.14%、0.71%、1.01%、0.68%、1.40%、1.26%、0.75%、0.58%、1.42%、1.47%。

2.3.5 加样回收率试验 取 12 种成分含量已测定的同一批 SZG(S1)，共 9 份，研细后每份精密称定 1.0 g，随机分成 3 组，精密加入混合对照品溶液

(重楼皂苷 VII 0.347 mg/mL、重楼皂苷 VI 0.298 mg/mL、重楼皂苷 I 0.534 mg/mL、白花前胡甲素 1.872 mg/mL、白花前胡乙素 0.419 mg/mL、白花前胡素 E 0.618 mg/mL、法卡林二醇 0.153 mg/mL、人参炔醇 0.219 mg/mL、柚皮芸香苷 0.972 mg/mL、橙皮苷 2.297 mg/mL、川陈皮素 0.179 mg/mL、橘红素 0.063 mg/mL) 0.8、1.0、1.2 mL 各 1 组，再按“2.1.2”项方法制成加样供试品溶液，各精密吸取 10 μ L，注入高效液相色谱仪中，记录色谱峰峰面积，计算得 12 种成分重楼皂苷 VII、VI、I 及白花前胡甲素、白花前胡乙素、白花前胡素 E、法卡林二醇、人参炔醇、柚皮芸香苷、橙皮苷、川陈皮素和橘红素的平均加样回收率分别为 97.93%、96.97%、99.76%、100.06%、98.59%、99.48%、96.99%、97.77%、100.08%、99.81%、98.18%、98.09%，RSD 分别为 1.18%、1.29%、0.82%、0.79%、1.62%、0.86%、0.95%、1.34%、0.72%、1.05%、1.45%、1.53%。

2.4 相对校正因子 (relative correction factor, RCF) 的测定及其耐用性考察

2.4.1 RCF 的测定 精密吸取“2.3.1”项混合对照品溶液 I~VI 各 10 μ L，注入高效液相色谱仪中，记录色谱峰峰面积，以白花前胡甲素为内参物，运用公式 $f_{k/s} = f_k/f_s = (A_k/W_k)/(A_s/W_s) = A_k W_s / A_s W_k$ (其中 f 、 W 和 A 分别代表 RCF、质量浓度和峰面积， k 和 s 分别代表内参物和其他待测成分) 计算重楼皂苷 VII、VI、I 及白花前胡乙素、白花前胡素 E、法卡林二醇、人参炔醇、柚皮芸香苷、橙皮苷、川陈皮素和橘红素的 RCF，结果见表 1。

2.4.2 不同仪器及色谱柱对 RCF 的影响 精密吸取“2.1.1”项下混合对照品溶液 10 μ L，注入高效

表 1 SZG 中各成分的 RCF

Table 1 RCF of various components in SZG

混合对照品溶液	$f_{\text{白花前胡甲素}}/f_{\text{重楼皂苷 VII}}$	$f_{\text{白花前胡甲素}}/f_{\text{重楼皂苷 VI}}$	$f_{\text{白花前胡甲素}}/f_{\text{重楼皂苷 I}}$	$f_{\text{白花前胡甲素}}/f_{\text{白花前胡乙素}}$	$f_{\text{白花前胡甲素}}/f_{\text{白花前胡素 E}}$	$f_{\text{白花前胡甲素}}/f_{\text{法卡林二醇}}$	$f_{\text{白花前胡甲素}}/f_{\text{人参炔醇}}$	$f_{\text{白花前胡甲素}}/f_{\text{柚皮芸香苷}}$	$f_{\text{白花前胡甲素}}/f_{\text{橙皮苷}}$	$f_{\text{白花前胡甲素}}/f_{\text{川陈皮素}}$	$f_{\text{白花前胡甲素}}/f_{\text{橘红素}}$
I	0.902 5	1.152 6	0.765 8	0.810 2	0.666 8	2.043 6	1.431 4	0.808 2	0.612 2	1.715 8	3.166 9
II	0.900 2	1.149 5	0.744 3	0.808 1	0.668 7	2.044 5	1.390 6	0.802 8	0.612 2	1.724 0	3.147 4
III	0.908 6	1.144 7	0.762 3	0.804 7	0.665 4	2.040 6	1.395 9	0.783 3	0.611 5	1.714 2	3.161 8
IV	0.904 2	1.184 9	0.755 2	0.810 6	0.676 0	2.052 9	1.404 2	0.815 9	0.612 1	1.739 1	3.154 3
V	0.873 8	1.186 4	0.728 5	0.786 2	0.693 3	2.035 5	1.374 4	0.821 4	0.605 6	1.779 4	3.119 5
VI	0.893 5	1.173 8	0.746 5	0.800 8	0.678 5	2.046 8	1.390 9	0.810 0	0.609 7	1.742 8	3.133 2
平均值	0.897 1	1.165 3	0.750 4	0.803 4	0.674 8	2.044 0	1.397 9	0.807 0	0.610 5	1.735 9	3.147 2
RSD/%	1.39	1.60	1.83	1.15	1.56	0.28	1.37	1.64	0.43	1.14	0.57

液相色谱仪中,记录色谱峰峰面积,计算各成分的 RCF 值,分别考察不同品牌高效液相色谱仪(Agilent 1200 型、Waters 2695 型)和不同品牌液相色谱柱(Venusil XBP C₁₈ 柱、Acclaim 120 C₁₈ 柱和 Waters XBridge C₁₈ 柱)对各成分 RCF 值的影响,结果见表 2,结果各成分 RCF 的 RSD 在 0.62%~1.86%,表明仪器及色谱柱对 RCF 无显著影响。

表 2 不同仪器及色谱柱对 RCF 的影响

Table 2 Effects of different instruments and columns on RCF

仪器	色谱柱	f 白花前胡甲素/	f 白花前胡甲素/	f 白花前胡甲素/	f 白花前胡甲素/	f 白花前胡甲素/	f 白花前胡甲素/	f 白花前胡甲素/	f 白花前胡甲素/	f 白花前胡甲素/	f 白花前胡甲素/	
		重楼皂苷 VII	重楼皂苷 VI	重楼皂苷 I	白花前胡乙素	白花前胡素 E	法卡林二酮	人参炔醇	柚皮芸香苷	橙皮苷	川陈皮素	橘红素
Agilent 1200 型	Venusil XBP C ₁₈	0.892 6	1.160 3	0.747 1	0.800 1	0.672 5	2.041 4	1.394 7	0.803 9	0.606 2	1.731 1	3.144 8
	Acclaim 120 C ₁₈	0.914 1	1.194 5	0.766 9	0.822 9	0.691 0	2.060 9	1.429 1	0.822 3	0.611 9	1.767 9	3.175 5
	Waters XBridge C ₁₈	0.871 5	1.140 3	0.728 2	0.787 5	0.659 3	2.025 5	1.370 5	0.785 6	0.597 3	1.700 3	3.120 1
Waters 2695 型	Venusil XBP C ₁₈	0.887 9	1.156 2	0.741 6	0.792 8	0.662 9	2.038 0	1.380 6	0.794 4	0.601 4	1.725 8	3.130 6
	Acclaim 120 C ₁₈	0.896 2	1.170 8	0.743 8	0.810 4	0.681 6	2.057 1	1.400 2	0.816 0	0.613 8	1.746 3	3.154 7
	Waters XBridge C ₁₈	0.889 7	1.147 1	0.731 0	0.796 6	0.668 2	2.036 5	1.389 3	0.792 7	0.601 0	1.728 5	3.138 9
平均值		0.892 0	1.161 5	0.743 1	0.801 7	0.672 6	2.043 2	1.394 1	0.802 5	0.605 3	1.733 3	3.144 1
RSD/%		1.54	1.66	1.86	1.61	1.77	0.65	1.44	1.78	1.08	1.30	0.62

表 3 不同体积流量对 RCF 的影响

Table 3 Effects of different volumetric flowrate on RCF

体积流量/ (mL·min ⁻¹)	f 白花前胡甲素/	f 白花前胡甲素/	f 白花前胡甲素/	f 白花前胡甲素/	f 白花前胡甲素/	f 白花前胡甲素/	f 白花前胡甲素/	f 白花前胡甲素/	f 白花前胡甲素/	f 白花前胡甲素/	f 白花前胡甲素/
	重楼皂苷 VII	重楼皂苷 VI	重楼皂苷 I	白花前胡乙素	白花前胡素 E	法卡林二醇	人参炔醇	柚皮芸香苷	橙皮苷	川陈皮素	橘红素
0.7	0.883 1	1.141 9	0.731 5	0.795 4	0.660 3	2.019 6	1.372 9	0.787 3	0.605 9	1.701 5	3.126 7
0.8	0.891 8	1.157 0	0.740 7	0.797 8	0.666 9	2.035 1	1.395 6	0.792 1	0.608 3	1.716 6	3.148 0
0.9	0.899 5	1.167 6	0.753 8	0.806 2	0.678 0	2.047 7	1.400 1	0.809 9	0.613 6	1.738 2	3.151 1
1.0	0.907 9	1.174 1	0.761 1	0.814 5	0.682 5	2.059 0	1.417 4	0.816 0	0.618 2	1.743 7	3.159 8
1.1	0.915 4	1.189 3	0.766 0	0.818 3	0.689 2	2.063 3	1.423 8	0.820 7	0.621 0	1.757 5	3.178 5
平均值	0.899 5	1.166 0	0.750 6	0.806 4	0.675 4	2.044 9	1.402 0	0.805 2	0.613 4	1.731 5	3.152 8
RSD/%	1.42	1.53	1.91	1.24	1.73	0.86	1.42	1.83	1.04	1.29	0.60

2.4.4 柱温对 RCF 的影响 在不同柱温 20、22、25、28、30 °C 条件下,精密吸取“2.1.1”项混合对照品溶液 10 μ L,注入高效液相色谱仪中,记录色谱峰峰面积,计算各成分的 RCF 值,分别考察不同柱温对各成分 RCF 值的影响,结果见表 4,结果各成分 RCF 的 RSD 在 0.65%~1.86%,表明柱温对 RCF 无显著影响。

2.4.5 色谱峰定位 精密吸取“2.1.1”项混合对照品溶液 10 μ L,注入高效液相色谱仪中,记录色谱峰保留时间,采用相对保留时间值法对待测成分色谱峰进行定位,分别考察不同品牌高效液相色谱仪

2.4.3 体积流量对 RCF 的影响 在不同体积流量 0.7、0.8、0.9、1.0、1.1 mL/min 条件下,精密吸取“2.1.1”项混合对照品溶液 10 μ L,注入高效液相色谱仪中,记录色谱峰峰面积,计算各成分的 RCF 值,分别考察不同体积流量对各成分 RCF 值的影响,结果见表 3,结果各成分 RCF 的 RSD 在 0.60%~1.91%,表明体积流量对 RCF 无显著影响。

(Agilent 1200 型、Waters 2695 型)和不同品牌液相色谱柱(Venusil XBP C₁₈ 柱、Acclaim 120 C₁₈ 柱和 Waters XBridge C₁₈ 柱)对相对保留时间(relative retention time, RRT)的影响,结果见表 5,结果重楼皂苷 VII、VI、I 及白花前胡乙素、白花前胡素 E、法卡林二醇、人参炔醇、柚皮芸香苷、橙皮苷、川陈皮素、橘红素和白花前胡甲素的 RRT 值($t_{s/k}$)的 RSD 在 0.62%~1.51%,表明采用 RRT 值法对目标化合物色谱峰进行准确定位是可行的。

2.5 含量测定

为验证建立的 QAMS 法准确性及可行性,取

表 4 不同柱温对 RCF 的影响

Table 4 Effects of different column temperature on RCF

柱温/ ℃	重楼皂苷 VII f 白花前胡甲素/	重楼皂苷 VI f 白花前胡甲素/	重楼皂苷 I f 白花前胡甲素/	白花前胡乙素 f 白花前胡甲素/	白花前胡素 E f 白花前胡甲素/	法卡林二醇 f 白花前胡甲素/	人参炔醇 f 白花前胡甲素/	柚皮芸香苷 f 白花前胡甲素/	橙皮苷 f 白花前胡甲素/	川陈皮素 f 白花前胡甲素/	橘红素 f 白花前胡甲素/
20	0.871 3	1.131 9	0.724 2	0.782 5	0.657 1	2.029 7	1.366 0	0.782 2	0.598 3	1.707 4	3.111 9
22	0.889 0	1.152 6	0.735 5	0.796 1	0.666 9	2.035 1	1.387 9	0.796 1	0.602 1	1.724 6	3.128 6
25	0.895 7	1.160 1	0.747 9	0.800 8	0.672 5	2.041 6	1.394 3	0.803 9	0.606 6	1.733 1	3.145 0
28	0.899 2	1.175 3	0.753 6	0.808 2	0.678 3	2.053 3	1.401 5	0.809 7	0.609 8	1.746 2	3.160 7
30	0.906 8	1.182 5	0.757 8	0.814 9	0.684 8	2.061 9	1.422 2	0.818 0	0.611 2	1.760 8	3.183 3
平均值	0.892 4	1.160 5	0.743 8	0.800 5	0.671 9	2.044 3	1.394 4	0.802 0	0.605 6	1.734 4	3.145 9
RSD/%	1.50	1.71	1.86	1.54	1.58	0.65	1.47	1.70	0.89	1.18	0.88

表 5 仪器及色谱柱对 RRT 的影响

Table 5 Effects of instruments and chromatographic columns on RRT

仪器	色谱柱	t 重楼皂苷 VII/ 白花前胡甲素	t 重楼皂苷 VI/ 白花前胡甲素	t 重楼皂苷 I/ 白花前胡甲素	t 白花前胡乙素/ 白花前胡甲素	t 白花前胡素 E/ 白花前胡甲素	t 法卡林二醇/ 白花前胡甲素	t 人参炔醇/ 白花前胡甲素	t 柚皮芸香苷/ 白花前胡甲素	t 橙皮苷/ 白花前胡甲素	t 川陈皮素/ 白花前胡甲素	t 橘红素/ 白花前胡甲素
		白花前胡甲素	白花前胡甲素	白花前胡甲素	白花前胡甲素	白花前胡甲素	白花前胡甲素	白花前胡甲素	白花前胡甲素	白花前胡甲素	白花前胡甲素	白花前胡甲素
Agilent 1200 型	Venusil XBP C ₁₈	0.595 7	0.679 2	0.773 6	1.121 3	1.274 9	1.485 2	1.609 2	1.908 4	2.078 2	2.307 3	2.412 4
	Acclaim 120 C ₁₈	0.580 2	0.662 5	0.762 3	1.109 0	1.250 6	1.473 6	1.586 8	1.865 1	2.046 0	2.265 9	2.386 9
	Waters XBridge C ₁₈	0.603 9	0.690 4	0.785 9	1.137 7	1.298 1	1.498 1	1.623 1	1.946 7	2.102 8	2.334 1	2.441 0
Waters 2695 型	Venusil XBP C ₁₈	0.602 1	0.682 1	0.778 5	1.133 6	1.280 3	1.489 8	1.610 7	1.915 3	2.085 9	2.321 9	2.425 7
	Acclaim 120 C ₁₈	0.587 5	0.669 3	0.767 2	1.115 8	1.264 7	1.477 3	1.598 0	1.897 6	2.060 3	2.280 8	2.399 5
	Waters XBridge C ₁₈	0.591 6	0.682 2	0.774 1	1.122 1	1.285 5	1.491 7	1.615 9	1.923 8	2.084 6	2.316 2	2.428 7
平均值		0.593 5	0.677 6	0.773 6	1.123 2	1.275 7	1.485 9	1.607 3	1.909 5	2.076 3	2.304 4	2.415 7
RSD/%		1.51	1.48	1.07	0.96	1.30	0.62	0.81	1.43	0.97	1.13	0.83

12 批 SZG, 依法制备供试品溶液, 各精密吸取 10 μ L, 注入高效液相色谱仪中, 分别采用外标法和 QAMS 法计算 SZG 中各成分的含量, 并采用 SPSS 26.0 统计软件对 2 种方法检测结果进行独立样本 t 检验分析 (表 6)。结果 $P>0.05$, 外标法和 QAMS 法所得结果无明显差异, 表明 QAMS 法测定 SZG 中 12 种成分重楼皂苷 VII、VI、I 及白花前胡甲素、白花前胡乙素、白花前胡素 E、法卡林二醇、人参炔醇、柚皮芸香苷、橙皮苷、川陈皮素和橘红素的含量是可行的。

2.6 化学计量学质量评价模式的建立

2.6.1 聚类分析 运用 SPSS 26.0 软件对 12 批 SZG 中重楼皂苷 VII、VI、I 及白花前胡甲素、白花前胡乙素、白花前胡素 E、法卡林二醇、人参炔醇、柚皮芸香苷、橙皮苷、川陈皮素和橘红素的 QAMS 法计算结果进行聚类分析, 采用组间平均联接法, 以 Euclidean 距离为测度, 得聚类树状图见图 2。结果显示, 12 批 SZG 供试品聚为 2 类, S8~S12 聚为第 I 类, S1~S7 聚为第 II 类。

2.6.2 主成分分析 (principal component analysis, PCA) 将 12 批 SZG 中重楼皂苷 VII、VI、I 及白花前胡甲素、白花前胡乙素、白花前胡素 E、法卡林二醇、人参炔醇、柚皮芸香苷、橙皮苷、川陈皮素和橘红素的 QAMS 法计算结果导入 SPSS 26.0 统计软件, 进行 PCA, 见表 7、8 和图 3。

由表 7 可知前 4 个主成分特征值均大于 1, 即 4.556、2.215、1.973、1.594, 对方差的贡献率分别为 37.968%、18.461%、16.439%、13.281%, 累计方差贡献率为 86.149%, 表明选取前 4 个主成分即可评价 SZG 的质量。从表 8 可以看出重楼皂苷 VI、白花前胡甲素、白花前胡素 E、人参炔醇和橙皮苷对第 1 主成分的影响较大; 重楼皂苷 VII、I 及柚皮芸香苷和川陈皮素在第 2 主成分有明显正负荷值; 第 3 主成分反映了白花前胡乙素和橘红素的信息; 法卡林二醇在第 4 主成分有明显正负荷值。由图 3 可知 12 批 SZG 供试品聚为 2 类, S1~S7 为第 I 类, S8~S12 为第 II 类, 与“2.6.1”项下聚类分析结果一致。

表 6 SZG 中 12 种成分含量测定结果 ($n=3$)Table 6 Determination results of 12 components in SZG ($n=3$)

样品	重楼皂苷 VII/ ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)		重楼皂苷 VI/ ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)		重楼皂苷 I/ ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)		白花前胡乙素/ ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)		白花前胡素 E/ ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)		法卡林二醇/ ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)	
	外标法	QAMS	外标法	QAMS	外标法	QAMS	外标法	QAMS	外标法	QAMS	外标法	QAMS
S1	0.351	0.342	0.294	0.291	0.527	0.513	0.416	0.401	0.607	0.585	0.159	0.153
S2	0.316	0.304	0.290	0.286	0.509	0.491	0.380	0.395	0.641	0.656	0.154	0.159
S3	0.345	0.332	0.279	0.273	0.552	0.536	0.402	0.415	0.619	0.625	0.175	0.171
S4	0.364	0.379	0.281	0.270	0.501	0.479	0.424	0.420	0.597	0.607	0.144	0.149
S5	0.297	0.308	0.271	0.282	0.483	0.502	0.397	0.407	0.633	0.621	0.139	0.134
S6	0.328	0.336	0.304	0.315	0.497	0.518	0.425	0.409	0.585	0.590	0.127	0.130
S7	0.339	0.347	0.311	0.307	0.539	0.550	0.353	0.364	0.668	0.651	0.159	0.154
S8	0.334	0.326	0.331	0.325	0.553	0.535	0.478	0.469	0.496	0.508	0.175	0.170
S9	0.362	0.364	0.325	0.323	0.493	0.498	0.413	0.406	0.557	0.571	0.158	0.153
S10	0.368	0.379	0.298	0.294	0.532	0.519	0.369	0.377	0.576	0.592	0.143	0.146
S11	0.365	0.353	0.327	0.321	0.506	0.495	0.417	0.425	0.538	0.524	0.165	0.161
S12	0.359	0.371	0.316	0.328	0.487	0.503	0.414	0.401	0.579	0.596	0.154	0.149
P 值	0.912		0.906		0.725		0.994		0.895		0.729	

样品	人参炔醇/ ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)		柚皮芸香苷/ ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)		橙皮苷/($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)		川陈皮素/ ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)		橘红素/($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)		白花前胡甲素/ ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)
	外标法	QAMS	外标法	QAMS	外标法	QAMS	外标法	QAMS	外标法	QAMS	外标法
S1	0.217	0.215	0.976	0.952	2.305	2.268	0.182	0.185	0.061	0.059	1.893
S2	0.212	0.208	1.006	0.979	2.105	2.072	0.180	0.173	0.070	0.068	1.774
S3	0.174	0.179	0.925	0.941	2.195	2.147	0.186	0.183	0.052	0.053	1.851
S4	0.198	0.205	0.837	0.859	2.228	2.256	0.193	0.191	0.073	0.071	1.820
S5	0.213	0.216	1.075	1.054	2.044	2.021	0.165	0.166	0.068	0.066	1.709
S6	0.205	0.211	1.122	1.093	2.106	2.143	0.201	0.198	0.064	0.062	1.833
S7	0.231	0.222	0.993	1.026	2.261	2.213	0.179	0.181	0.049	0.047	1.806
S8	0.250	0.246	1.064	1.101	2.535	2.509	0.173	0.171	0.069	0.070	2.050
S9	0.218	0.213	0.982	1.018	2.369	2.380	0.189	0.193	0.065	0.067	1.989
S10	0.243	0.249	1.108	1.092	2.387	2.416	0.190	0.192	0.071	0.069	2.118
S11	0.231	0.225	0.993	1.018	2.372	2.395	0.192	0.196	0.068	0.070	1.995
S12	0.209	0.204	0.981	1.016	2.334	2.311	0.189	0.194	0.062	0.063	1.986
P 值	0.934		0.816		0.879		0.937		0.850		—

2.6.3 化学计量学质量评价 聚类分析和 PCA 结果可以看出, 12 批 SZG 聚为 2 类, 主成分 1~4 是影响 SZG 质量评价的主要因子, 聚类分析和 PCA 结果一致, SZG 同一生产周期的样品聚成一类, 12 种成分重楼皂苷 VII、VI、I 及白花前胡甲素、白花前胡乙素、白花前胡素 E、法卡林二醇、人参炔醇、柚皮芸香苷、橙皮苷、川陈皮素和橘红素含量差异与该制剂生产期间存在一定的关联关系, 提示药品

生产企业关注制剂生产所用原药材种属、产地以及初加工方法等方面的控制, 逐步稳定原药材质量, 从源头上确保产品质量和临床疗效的一致性, 同时也表明建立 SZG 多指标成分质量控制模式对稳定该制剂的整体质量具有重要意义。

3 讨论

3.1 指标性成分的选择

SZG 由北沙参、浙贝母、前胡、苦杏仁、款冬

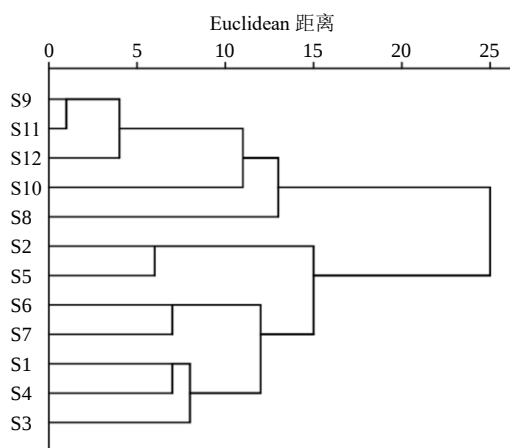


图 2 12 批样品聚类分析树状图

Fig. 2 Tree diagram of cluster analysis for 12 batches of samples

表 7 主成分特征值和贡献率

Table 7 Initial eigenvalues and contribution rate of principal components

主成分	初始特征值			提取荷载平方和		
	特征值	方差贡 献率/%	累积方差 贡献率/%	特征值	方差贡 献率/%	累积方差 贡献率/%
1	4.556	37.968	37.968	4.556	37.968	37.968
2	2.215	18.461	56.429	2.215	18.461	56.429
3	1.973	16.439	72.868	1.973	16.439	72.868
4	1.594	13.281	86.149	1.594	13.281	86.149
5	0.837	6.973	93.122			
6	0.388	3.232	96.355			
7	0.224	1.867	98.221			
8	0.130	1.079	99.301			
9	0.062	0.514	99.814			
10	0.018	0.153	99.968			
11	0.004	0.032	100.000			

花、法半夏、百部、蝉蜕、荆芥、重楼、连翘、陈皮、薄荷和甘草共 14 味药材加工而成，各味药的配方比例分别为 3.0 : 2.4 : 2.4 : 1.6 : 2.0 : 2.0 : 2.0 : 2.0 : 2.0 : 2.0 : 2.0 : 1.0 : 1.2，方中北沙参养阴清肺，浙贝母清热化痰止咳，前胡降气化痰，3 者共为君药；苦杏仁降气止咳平喘，款冬花、百部润肺下气、止咳化痰，法半夏、陈皮燥湿化痰，合为臣药；重楼清热解毒、消肿止痛，蝉蜕疏风利咽，薄荷、荆芥解表散风，连翘清热散风、消肿散结，合为佐药；甘草调和诸药、祛痰止咳，为其使药。为综合评价 SZG 的整体质量，本实验选取君药北沙

表 8 主成分矩阵

Table 8 Post-rotation factor load matrix

成分	主成分			
	1	2	3	4
重楼皂苷 VII	0.462	-0.719	0.382	0.177
重楼皂苷 VI	0.714	0.175	0.271	-0.112
重楼皂苷 I	0.030	0.698	0.557	0.362
白花前胡甲素	0.911	-0.079	0.167	0.169
白花前胡乙素	0.450	0.228	-0.735	0.167
白花前胡素 E	-0.887	-0.081	0.292	-0.042
法卡林二醇	0.211	0.271	-0.292	0.827
人参炔醇	0.682	0.318	0.114	-0.383
柚皮芸香苷	0.480	0.578	0.334	-0.513
橙皮苷	0.941	-0.056	0.045	0.261
川陈皮素	0.373	-0.720	0.406	0.074
橘红素	0.498	-0.293	-0.642	-0.440

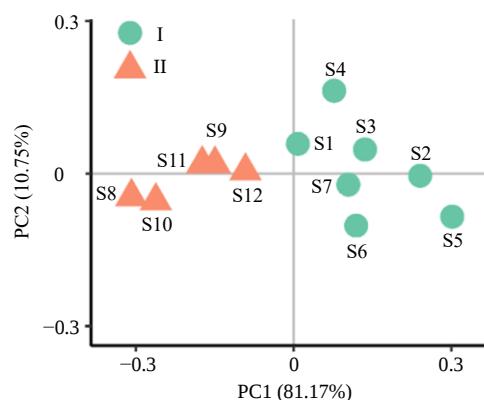


图 3 PCA 散点图

Fig. 3 Scatter plot of PCA

参代表性成分法卡林二醇和人参炔醇，前胡特征成分白花前胡甲素、白花前胡乙素和白花前胡素 E，臣药陈皮主要成分柚皮芸香苷、橙皮苷、川陈皮素和橘红素，以及佐药重楼药效成分重楼皂苷 VII、VI、I 为定量分析指标性成分。

3.2 提取方式的选择

本实验在确定供试品溶液提取方式时，考察了 2 种常用的提取方法及常用溶剂：乙醇^[10,20-21]、甲醇^[11-15,17-18,22-26]、三氯甲烷^[16]，结果发现，甲醇超声提取时，所测成分响应值较大，同时杂质干扰少，进而对提取时间 10、20、30、40 min 进行了优化选择，结果提取时间为 20、30、40 min 时，提取效果无显著差异，为节省时间，选取 20 min 为提取时间，综合上述条件，选取甲醇提取 20 min 为供试品溶液提取方式。

3.3 流动相的确定

本实验在对流动相考察时通过对乙腈-水^[10-13]、甲醇-水^[15-18]、乙腈-0.1%磷酸水溶液^[23]、乙腈-0.2%磷酸水溶液^[24-25]、乙腈-0.1%甲酸水溶液^[22]为流动相,依法进样供试品溶液,对不同流动相条件下的液相谱图进行分析比对,发现乙腈-0.1%磷酸水溶液可达到基线分离,峰形较好,各成分响应值大,因此选择乙腈-0.1%磷酸水溶液为流动相梯度洗脱对 SZG 中重楼皂苷 VII、VI、I 及白花前胡甲素、白花前胡乙素、白花前胡素 E、法卡林二醇、人参炔醇、柚皮芸香苷、橙皮苷、川陈皮素、橘红素含量进行同时检测。

本实验参考中药质量标志物选取原则,以君药北沙参和前胡所含成分为首选,同时兼顾臣药陈皮、佐药重楼所含成分,以白花前胡甲素为内参物,采用 HPLC QAMS 法对 SZG 中重楼皂苷 VII、VI、I 及白花前胡甲素、白花前胡乙素、白花前胡素 E、法卡林二醇、人参炔醇、柚皮芸香苷、橙皮苷、川陈皮素和橘红素含量进行了检测分析,首次建立了 SZG 多指标成分质控方法,填补了该制剂多指标成分定量控制方法的空白。通过 QAMS 法有效地降低了检验成本,推动了该方法的普及应用,通过对 12 批次样品 2 种方法所得结果进行独立样本 *t* 检验分析,验证了所建立的 HPLC QAMS 法应用于 SZG 多指标成分控制中的准确性和可行性。同时运用聚类分析和 PCA 等化学计量学方法对多指标成分含量测定结果进行统计学分析,挖掘了 12 种成分含量复杂数据中存在的内在关联关系,查找出了存在质量差异的主要因素,有助于药品生产企业和监管部分不断提升该制剂的质控手段,确保产品质量稳定和临床疗效的一致性,为指导临床合理用药提供参考依据。随着该制剂质量控制标准的逐步完善以及原药材种属来源、产地加工等诸多影响因素的稳定,后期可以采用液质联用技术定性定量测定更多化学成分等质控手段,进一步提升该制剂的质控水平,稳定其整体质量,更加有效地指导临床合理用药。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 国家食品药品监督管理局国家药品标准 WS-10807 (ZD-0807)-2002-2011Z [S]. 2011: 1-5.
- [2] 赵琰玲, 陈春. HPLC-ELSD 测定参贝止咳片中的贝母素甲和贝母素乙 [J]. 华西药学杂志, 2013, 28(2): 202-204.

- [3] 杨莎, 宋忠兴, 唐志书, 等. 一测多评法同时测定阿娜尔妇洁液中 7 种成分 [J]. 中草药, 2021, 52(12): 3560-3567.
- [4] Feng Y M, Li Q, Yang L, *et al.* Simultaneous determination of osthol, columbianadin, and isoimperatorin in *Angelicae Pubescentis Radix* by high-performance liquid chromatography (HPLC) using a quantitative analysis of multi-components by single marker (QAMS) calibration method [J]. *Instrum Sci Technol*, 2020, 48(5): 550-560.
- [5] Wang C Q, Jia X H, Zhu S, *et al.* A systematic study on the influencing parameters and improvement of quantitative analysis of multi-component with single marker method using notoginseng as research subject [J]. *Talanta*, 2015, 134: 587-595.
- [6] Lim M Y, O'Brien J, Paulo J A, *et al.* Improved method for determining absolute phosphorylation stoichiometry using Bayesian statistics and isobaric labeling [J]. *J Proteome Res*, 2017, 16(11): 4217-4226.
- [7] 陈皎, 王继森, 邓晶晶, 等. 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 [J]. 中草药, 2021, 52(13): 3872-3884.
- [8] Li H Y, Cao J L, Wu X, *et al.* Multiple fingerprint profiling for quality evaluation of polysaccharides and related biological activity analysis of Chinese patent drugs: Zishen Yutai Pills as a case study [J]. *J Ethnopharmacol*, 2020, 260: 113045.
- [9] Qin X J, Ni W, Chen C X, *et al.* Seeing the light: Shifting from wild rhizomes to extraction of active ingredients from above-ground parts of *Paris polyphylla* var. *yunnanensis* [J]. *J Ethnopharmacol*, 2018, 224: 134-139.
- [10] 蒋维, 李小辉, 万近福, 等. 滇重楼地上部分总皂苷 HPLC 指纹图谱 [J]. 中国现代中药, 2021, 23(1): 57-61.
- [11] 赵飞亚, 陶爱恩, 管鑫, 等. 重楼多指标 UPLC 定量分析及其化学品质综合评价 [J]. 中草药, 2020, 51(18): 4763-4770.
- [12] 谷文超, 郭冬琴, 杨敏, 等. 超高效液相色谱法测定野生与栽培滇重楼根茎及须根中 9 种甾体皂苷的含量 [J]. 中药新药与临床药理, 2020, 31(7): 838-847.
- [13] 张敏, 李玮, 黄颖雪, 等. 加格略(重楼)蒸制前后 HPLC 指纹图谱对比研究 [J]. 贵州科学, 2020, 38(4): 38-41.
- [14] 吕新林, 徐国兵, 许雷鸣, 等. 前胡总香豆素提取物质量标准研究 [J]. 中医药学报, 2020, 48(2): 43-46.
- [15] 史行幸, 黄琴伟, 周建良, 等. 前胡香豆素类成分 HPLC 指纹图谱研究 [J]. 中国现代应用药学, 2020, 37(7): 842-846.
- [16] 韩超. 高效液相色谱法测定白花前胡提取物中白花前

- 胡甲素的含量 [J]. 湖北中医药大学学报, 2011, 13(1): 32-33.
- [17] 李颖硕, 周秀, 李瑞芳, 等. 基于 UPLC-Q-TOF/MS 法分析不同产地前胡药材质量 [J]. 中成药, 2019, 41(5): 1110-1114.
- [18] 张样柏, 李国强, 管华诗. HPLC 法同时测定北沙参中法卡林二醇和人参炔醇的含量 [J]. 中国海洋大学学报: 自然科学版, 2007, 37(S1): 127-130.
- [19] 何军伟, 朱继孝, 杨丽, 等. 北沙参不同部位提取物镇咳祛痰作用研究 [J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2020, 22(8): 2864-2869.
- [20] 冯子晋, 卢小玲, 张建鹏, 等. 北沙参中香豆素类与聚炔类成分的含量测定研究 [J]. 中国海洋药物, 2014, 33(3): 20-26.
- [21] 臧彬如, 单国顺, 贾天柱, 等. UPLC 法测定生、制白术配伍枳术丸中 10 种成分 [J]. 中成药, 2020, 42(4): 960-964.
- [22] 陈育青, 朱善岚, 黄红宣, 等. 多波长 HPLC 结合化学模式识别的漳州陈皮炮制品质量比较研究 [J]. 福建医科大学学报, 2020, 54(5): 355-360.
- [23] 黄华花, 张伟云, 陈景海, 等. 陈皮配方颗粒的质量标准提高研究 [J]. 中国药房, 2019, 30(7): 937-941.
- [24] 黄华花, 王明军, 吕诗诗, 等. 陈皮配方颗粒的 UPLC 指纹图谱研究 [J]. 中国现代应用药学, 2020, 37(12): 1454-1458.
- [25] 宋玉鹏, 陈海芳, 谭舒舒, 等. 不同陈皮来源药材中橙皮苷、川陈皮素、橘皮素和辛弗林的含量比较 [J]. 时珍国医国药, 2017, 28(9): 2061-2064.
- [26] 邱蓉丽, 吴玉兰, 乐巍. 陈皮、青皮中 4 种黄酮成分的比较研究 [J]. 中成药, 2015, 37(1): 149-153.

[责任编辑 郑礼胜]