

基于 HPLC-QAMS 及化学计量学的利胆石颗粒质量评价研究

刘艳芬¹, 段芳¹, 张翹², 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

摘要: 目的 建立 HPLC 一测多评法 (quantitative analysis of multi-components by single-marker, QAMS) 法联合化学计量学对利胆石颗粒质量控制的方法。方法 采用 HPLC-QAMS 对 3 个厂家的 10 批利胆石颗粒中双去甲氧基姜黄素、去甲氧基姜黄素、姜黄素、柚皮芸香苷、橙皮苷、川陈皮素、3,5,6,7,8,3',4'-七甲氧基黄酮、橘红素、香附烯酮、圆柚酮和 α -香附酮含量进行同时检测; 再利用 SPSS 26.0、SIMCA 14.1 软件对上述指标的 QAMS 法计算数据进行层次聚类分析 (hierarchical cluster analysis, HCA)、主成分分析 (principal component analysis, PCA) 及偏最小二乘-判别分析 (partial least squares-discriminant analysis, PLS-DA), 综合评价利胆石颗粒质量及标志性成分。结果 11 种成分分别各自范围内线性关系良好 ($r > 0.9993$); 平均加样回收率在 96.87%~100.08%, RSD 在 0.66%~1.56%; HPLC-QAMS 法所测结果与外标法 (ESM) 无显著性差异; 通过化学计量学分析, 10 批利胆石颗粒聚为 3 类, 同一厂家聚为一类, 不同厂家的质量存在一定的差异, 柚皮芸香苷 (VIP=1.745)、橙皮苷 (VIP=1.470)、香附烯酮 (VIP=1.350) 和姜黄素 (VIP=1.188) 可能是影响利胆石颗粒产品质量差异的标志性物。结论 所建立的 HPLC-QAMS 法多指标成分定量控制及化学计量学模式识别专属性强, 可用于利胆石颗粒质量控制和综合评价。

关键词: 利胆石颗粒; 一测多评法; 偏最小二乘-判别分析; 化学计量学; 质量评价; 双去甲氧基姜黄素; 去甲氧基姜黄素; 姜黄素; 柚皮芸香苷; 橙皮苷; 川陈皮素; 3,5,6,7,8,3',4'-七甲氧基黄酮; 橘红素; 香附烯酮; 圆柚酮; α -香附酮; 层次聚类分析; 主成分分析

中图分类号: R286.02

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2022)19-6044-10

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2022.19.011

Quality evaluation of Lidanshi Granules based on HPLC-QAMS and chemometrics

LIU Yan-fen¹, DUAN Fang¹, ZHANG Qiao², 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

Abstract: Objective To establish a method for quality control of Lidanshi Granules (利胆石颗粒, LG) by HPLC-quantitative analysis of multi-components by single-marker (QAMS) combined with chemometrics. **Methods** HPLC-QAMS was used to simultaneously detect the contents of bisdemethoxycurcumin, demethoxycurcumin, curcumin, narirutin, hesperidin, nobiletin, 3,5,6,7,8,3',4'-heptamethoxyflavone, tangeretin, cyperenone, nootkatone and α -cyperone in 10 batches of LG from three manufacturers. SPSS 26.0 and SIMCA 14.1 software were used to conduct hierarchical cluster analysis (HCA), principal component analysis (PCA) and partial least squares-discriminant analysis (PLS-DA) on the QAMS calculation data of the above indexes, so as to comprehensively evaluate the quality and symbolic components of LG. **Results** The linear ranges of 11 components were good ($r > 0.9993$). The average recoveries were 96.87%—100.08%, RSDs were 0.66%—1.56%. There was no significant difference between HPLC-QAMS and external standard method (ESM). Through chemometrics analysis, 10 batches of LG were clustered into three categories, and the same manufacturer was clustered into one category. There was certain difference in the quality of different manufacturers, narirutin (VIP = 1.745), hesperidin (VIP = 1.470), cyperenone (VIP = 1.350) and curcumin (VIP = 1.188) might be the differential markers affecting the quality of LG. **Conclusion** Establishment of HPLC-QAMS multi-index component quantitative control and application

收稿日期: 2022-04-13

基金项目: 全国中药特色技术传承人才培养项目 (国中医药人教函 [2019] 43 号 T20194828003)

作者简介: 刘艳芬, 女, 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。E-mail: 757428953@qq.com

*通信作者: 郭丹, 男, 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。E-mail: wzaetn@163.com

of chemometric pattern recognition are specific, which can be used for quality control and comprehensive evaluation of LG.

Key words: Lidanshi Granules; QAMS; discriminant analysis of partial least squares; chemometrics; quality evaluation; bisdemethoxycurcumin; demethoxycurcumin; curcumin; narirutin; hesperidin; nobiletin; 3,5,6,7,8,3',4'-heptamethoxyflavone; tangeretin; cyperone; nootkatone; α -cyperone; hierarchical cluster analysis; principal component analysis

中医药是中华民族智慧的结晶,在预防与治疗疾病方面发挥了重要的作用。但目前中药复方制剂质量评价标准不完善、均一性差一直是行业发展的首要问题,中药制剂由多种药味根据中医药配伍理论组方,中药材本身受基原多、品种多、产地广、成分繁杂、作用复杂(或制约或协同)的影响,质量和疗效的一致性不能保证。

利胆石颗粒具有疏肝利胆、和胃健脾的功效,由郁金、陈皮、青皮、枳壳、香附、神曲、茵陈、紫苏梗等 15 味中药材加工而成,主要用于胆囊结石、胆道感染、胆道术后综合症的治疗。其处方源于卫生部药品标准中药成方制剂第十二册^[1],质量标准未制定含量测定项,相关文献报道^[2]仅对橙皮苷进行定量控制。对于由 15 味中药材组方的制剂来说,仅测定单一成分难以准确评价其综合质量,也不能从根本上保证产品质量,更不能保证疗效和安全性。但中药成分对照品不易提纯、不稳定、价高也造成多指标多成分质量控制模式难以推广,一测多评法(quantitative analysis of multi-components by single-marker, QAMS)是采用一种相对易得、价廉的内参比物质对照品,实现对多个成分的同时测定;化学计量学应用数学、统计学与计算机科学的工具和手段及其最新成果进行设计或选择最优测量方法,主要包括层次聚类分析(hierarchical cluster analysis, HCA)、主成分分析(principal component analysis, PCA)、判别分析(discriminant analysis, DA)和人工神经网络。可以根据多变量数值分析把同类与异类中药材区别开,近年来, HPLC-QAMS 法^[3-4]及化学计量学^[5]越来越多地应用于中成药复方制剂质控研究中。

本实验参考中药质量标志物^[6-7]确认依据,以君药香附和陈皮为首选,同时兼顾臣药青皮、郁金和神曲及佐药枳壳,选取它们所含主要成分进行分析,其中香附疏肝解郁、理气宽中,主要药效成分为香附烯酮、圆柚酮和 α -香附酮等^[8],陈皮、青皮和枳壳理气健脾、宽中行滞、疏肝,主要含黄酮苷类成分柚皮芸香苷、橙皮苷、川陈皮素、3,5,6,7,8,3',4'-七甲氧基黄酮(3,5,6,7,8,3',4'-heptamethoxyflavone, HMOF)和橘红素^[9],郁金利胆退黄、行气解郁、清

心凉血,主要含姜黄素类成分双去甲氧基姜黄素、去甲氧基姜黄素和姜黄素^[10],综合考虑,最终选取质稳价廉的橙皮苷为内参比物质,采用 HPLC-QAMS 法并结合化学计量学对利胆石颗粒中双去甲氧基姜黄素、去甲氧基姜黄素、姜黄素、柚皮芸香苷、橙皮苷、川陈皮素、HMOF、橘红素、香附烯酮、圆柚酮和 α -香附酮含量进行同时检测及评价分析,以期完善该制剂的控制手段,确保产品质量稳定和临床疗效的一致性。

1 仪器与材料

1.1 仪器

Thermo Ultimate 3000 型高效液相色谱仪,美国 Thermo Fisher 公司; Waters e2695 型高效液相色谱仪,美国 Waters 公司; Venusil XBP C₁₈ 柱,博纳艾杰尔公司; Cosmosil C₁₈ 柱, Nacalai Tesque 公司; Kromasil 100-5-C₁₈ 柱, Akzo-Nobel 公司,规格均为 250 mm×4.6 mm, 5 μ m; Sartorius CP225D 型电子天平,赛多利斯科学仪器有限公司。

1.2 试药

对照品双去甲氧基姜黄素(批号 112004-201501,质量分数 95.0%)、去甲氧基姜黄素(批号 112003-201501,质量分数 98.5%)、姜黄素(批号 110823-202107,质量分数 98.1%)、橙皮苷(批号 110721-202019,质量分数 95.3%)、川陈皮素(批号 112055-202102,质量分数 99.7%)和 α -香附酮(批号 110748-201815,质量分数 99.7%)购于中国食品药品检定研究院;对照品柚皮芸香苷(批号 PRF9062802,质量分数 99.8%)、HMOF(批号 PRF10032041,质量分数 99.7%)、橘红素(批号 PRF8063048,质量分数 98.7%)、香附烯酮(批号 PRF20073022,质量分数 98.0%)和圆柚酮(批号 PRF8072622,质量分数 97.4%)购于成都普瑞法科技开发有限公司。

阴性试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翘教授鉴定为正品,郁金(批号 20210802,产地浙江)为姜科姜黄属植物温郁金 *Curcuma wenyujin* Y. H. Chen et C. Ling 的干燥块根,陈皮(批号 20201203,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, 青皮(批号 20210801, 产地江西)为芸香科柑橘属植物橘及其栽培变种的干燥幼果或未成熟果实的果皮, 枳壳(批号 20200704, 产地湖南)为芸香科柑橘属植物酸橙 *Citrus aurantium* L. 及其栽培变种的干燥未成熟果实, 香附(批号 20210103, 产地辽宁)为莎草科莎草属植物莎草 *Cyperus rotundus* L. 的干燥根茎, 茵陈(批号 20201201, 产地陕西)为菊科艾属植物滨蒿 *Artemisia scoparia* Waldst. et Kit. 的干燥地上部分, 紫苏梗(批号 20191103, 产地湖北)为唇形科紫苏属植物紫苏 *Perilla frutescens* (L.) Britt. 的干燥茎, 山楂(批号 20200901, 产地山东)为蔷薇科山楂属植物山楂 *Crataegus pinnatifida* Bge. 的干燥成熟果实, 川楝子(批号 20211001, 产地甘肃)为楝科楝属植物川楝 *Melia toosendan* Sieb. et Zucc. 的干燥成熟果实, 麦芽(批号 20200903, 产地河南)为禾本科大麦属植物大麦 *Hordeum vulgare* L. 的成熟果实经发芽干燥的炮制加工品, 稻芽(批号 20210901, 产地江苏)为禾本科稻属植物稻谷 *Oryza sativa* L. 的成熟果实经发芽干燥的炮制加工品, 莱菔子(批号 20210203, 产地河南)为十字花科萝卜属植物萝卜 *Raphanus sativus* L. 的干燥成熟种子, 法半夏(批号 20200601, 产地四川)为天南星科半夏属植物半夏 *Pinellia ternata* (Thunb.) Breit. 的干燥块茎的炮制加工品, 皂荚(批号 20211003, 产地河北)为豆科皂荚属植物皂荚 *Geleditisia sinensis* Lam. 的干燥成熟果实。

乙腈和甲酸均选用色谱纯级别, 其余试剂为分析纯; 利胆石颗粒(规格: 每袋装 25 g), 分别购于云南云龙制药股份有限公司, 批号 20200905、20210207、20210211、20210309, 编号 S1~S4; 华润三九医药股份有限公司, 批号 2102138D、2103072D、2103094D, 编号依次为 S5~S7; 江西保利制药有限公司, 批号 200901、201102、210203, 编号依次为 S8~S10。

2 方法与结果

2.1 混合对照品溶液的制备

取双去甲氧基姜黄素、去甲氧基姜黄素、姜黄素、柚皮芸香苷、橙皮苷、川陈皮素、HMOF、橘红素、香附烯酮、圆柚酮和 α -香附酮对照品适量, 用甲醇制成 0.126、0.142、0.258、0.976、1.210、0.392、0.178、0.156、0.480、0.094、0.212 mg/mL 的混合储备液。将混合储备液用甲醇稀释 20 倍得混合对照

品溶液(双去甲氧基姜黄素 6.3 μ g/mL、去甲氧基姜黄素 7.1 μ g/mL、姜黄素 12.9 μ g/mL、柚皮芸香苷 48.8 μ g/mL、橙皮苷 60.5 μ g/mL、川陈皮素 19.6 μ g/mL、HMOF 8.9 μ g/mL、橘红素 7.8 μ g/mL、香附烯酮 24.0 μ g/mL、圆柚酮 4.7 μ g/mL 和 α -香附酮 10.6 μ g/mL)。

2.2 供试品溶液的制备

取利胆石颗粒适量, 研细, 精密称定约 2 g, 置具塞锥形瓶中, 精密加甲醇 25 mL, 称定质量, 加热回流处理 30 min, 放冷, 补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 即得利胆石颗粒供试品溶液。

取按处方和制法制备的缺郁金和神曲阴性样品、缺陈皮、枳壳、青皮和神曲阴性样品、缺香附和神曲阴性样品各适量, 按上述方法制得 3 种阴性供试品溶液。

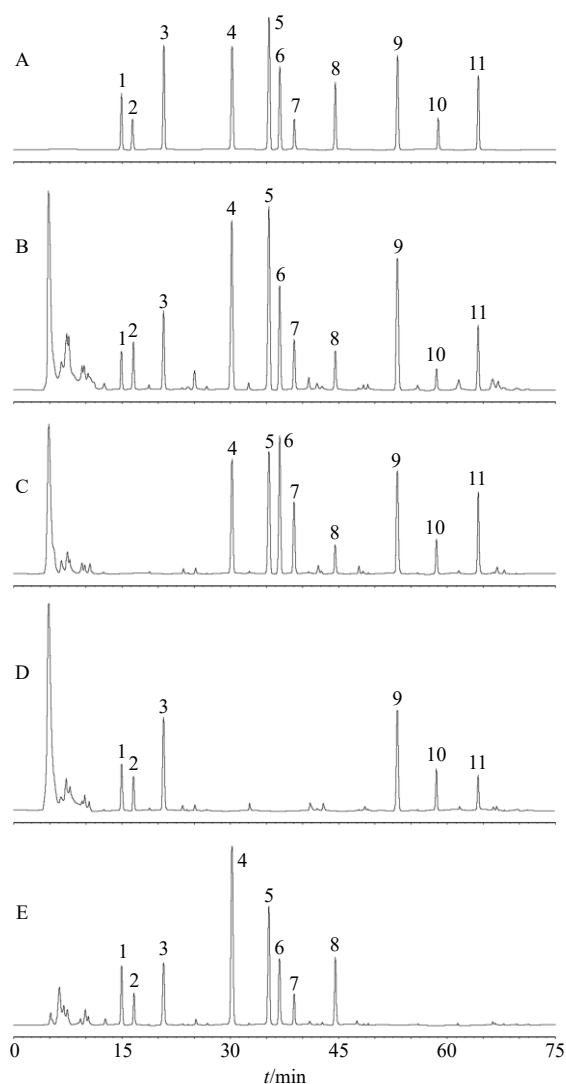
2.3 色谱条件

Venusil XBP C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μ m) 色谱柱, 柱温 30 $^{\circ}$ C; 检测波长分别为 420 nm (0~24 min 检测双去甲氧基姜黄素、去甲氧基姜黄素和姜黄素)^[11-15]、300 nm (24~47 min 检测柚皮芸香苷、橙皮苷、川陈皮素、HMOF 和橘红素)^[16-19]和 242 nm (47~75 min 检测香附烯酮、圆柚酮和 α -香附酮)^[20-22]; 流动相为乙腈-0.1%甲酸水溶液, 梯度洗脱: 0~12 min, 17.0%乙腈; 12~24 min, 17.0%~46.0%乙腈; 24~47 min, 46.0%~61.0%乙腈; 47~67 min, 61.0%~68.0%乙腈; 67~75 min, 68.0%~17.0%乙腈; 体积流量 1.0 mL/min; 进样量 10 μ L。理论板数按各成分色谱峰计均 $\geq$ 5500。

2.4 方法学验证

2.4.1 专属性试验 依法进样“2.1”项下混合对照品溶液及“2.2”项供试品溶液, 记录色谱图(图 1)。结果表明, 利胆石颗粒供试品溶液中 11 种成分与相邻色谱峰分离良好(分离度均 $\geq$ 1.5); 阴性样品不干扰检测。

2.4.2 线性关系考察 精密吸取“2.1”项下储备液 0.1、0.2、0.5、1.0、2.0、5.0 mL, 置不同的 20 mL 量瓶中, 用甲醇定容得 6 个混合对照品溶液, 依法进样, 以双去甲氧基姜黄素、去甲氧基姜黄素、姜黄素、柚皮芸香苷、橙皮苷、川陈皮素、HMOF、橘红素、香附烯酮、圆柚酮和 α -香附酮质量浓度对峰面积进行线性回归, 得回归方程、线性范围及相关系数分别为双去甲氧基姜黄素 $Y=7.088 2 \times 10^5 X-506.90$, $r=0.999 6$, 线性范围 0.63~31.50 μ g/mL;



1-双去甲氧基姜黄素 2-去甲氧基姜黄素 3-姜黄素 4-柚皮芸香苷 5-橙皮苷 6-川陈皮素 7-HMOF 8-橘红素 9-香附烯酮 10-圆柚酮 11- α -香附酮
1-bisdemethoxycurcumin 2-demethoxycurcumin 3-curcumin 4-narirutin 5-hesperidin 6-nobiletin 7-HMOF 8-tangeretin 9-cyperone 10-nootkatone 11- α -cyperone

图 1 混合对照品 (A), 利胆石颗粒样品 (B), 缺郁金和神曲阴性样品 (C), 缺陈皮、枳壳、青皮和神曲阴性样品 (D), 缺香附和神曲阴性样品 (E) 的 HPLC 图

Fig. 1 HPLC of mixed reference substances (A), Lidanshi Granules sample (B), negative sample without *Curcumae Radix* and *Divina Comoedia* (C), negative sample without *Citri Reticulatae Pericarpium*, *Aurantii Fructus*, *Citri Reticulatae Pericarpium Viride* and *Divina Comoedia* (D), negative sample without *Cyperi Rhizoma* and *Divina Comoedia* (E)

去甲氧基姜黄素 $Y=9.162\ 8\times 10^5 X+1\ 454.6$, $r=0.999\ 3$, 线性范围 $0.71\sim 35.50\ \mu\text{g/mL}$; 姜黄素 $Y=1.813\ 4\times 10^6 X-217.70$, $r=0.999\ 7$, 线性范围 $1.29\sim$

$64.50\ \mu\text{g/mL}$; 柚皮芸香苷 $Y=1.652\ 5\times 10^6 X-960.10$, $r=0.999\ 4$, 线性范围 $4.88\sim 244.00\ \mu\text{g/mL}$; 橙皮苷 $Y=1.537\ 1\times 10^6 X+1\ 242.10$, $r=0.999\ 6$, 线性范围 $6.05\sim 302.50\ \mu\text{g/mL}$; 川陈皮素 $Y=2.076\ 8\times 10^6 X+641.60$, $r=0.999\ 3$, 线性范围 $1.96\sim 98.00\ \mu\text{g/mL}$; HMOF $Y=1.439\ 3\times 10^6 X+1\ 061.80$, $r=0.999\ 4$, 线性范围 $0.89\sim 44.50\ \mu\text{g/mL}$; 橘红素 $Y=1.213\ 3\times 10^6 X-744.90$, $r=0.999\ 6$, 线性范围 $0.78\sim 39.00\ \mu\text{g/mL}$; 香附烯酮 $Y=2.456\ 4\times 10^6 X+972.80$, $r=0.999\ 3$, 线性范围 $2.40\sim 120.00\ \mu\text{g/mL}$; 圆柚酮 $Y=4.939\ 9\times 10^5 X+139.50$, $r=0.999\ 5$, 线性范围 $0.47\sim 23.50\ \mu\text{g/mL}$; α -香附酮 $Y=1.565\ 2\times 10^6 X+645.30$, $r=0.999\ 4$, 线性范围 $1.06\sim 53.00\ \mu\text{g/mL}$ 。

2.4.3 精密度试验 依法重复进样利胆石颗粒 (编号 S1) 供试品溶液 6 次, 每次 $10\ \mu\text{L}$, 得双去甲氧基姜黄素、去甲氧基姜黄素、姜黄素、柚皮芸香苷、橙皮苷、川陈皮素、HMOF、橘红素、香附烯酮、圆柚酮和 α -香附酮峰面积的 RSD 值依次为 1.35%、1.18%、1.12%、0.77%、0.59%、1.06%、1.20%、1.26%、0.81%、1.42%、1.30%, 表明精密度良好 (RSD 小于 2.0%)。

2.4.4 重复性试验 依法制备 6 份利胆石颗粒 (编号 S1) 供试品溶液, 进样 $10\ \mu\text{L}$ 检测分析, 用外标法计算含量, 得双去甲氧基姜黄素、去甲氧基姜黄素、姜黄素、柚皮芸香苷、橙皮苷、川陈皮素、HMOF、橘红素、香附烯酮、圆柚酮和 α -香附酮质量分数的 RSD 值依次为 1.79%、1.66%、1.58%、1.05%、0.93%、1.28%、1.32%、1.45%、1.11%、1.85%、1.63%, 表明重复性良好 (RSD 小于 2.0%)。

2.4.5 稳定性试验 取利胆石颗粒 (编号 S1) 供试品溶液, 于制备后 0、2、5、9、16、24 h 依法进样 $10\ \mu\text{L}$, 得双去甲氧基姜黄素、去甲氧基姜黄素、姜黄素、柚皮芸香苷、橙皮苷、川陈皮素、HMOF、橘红素、香附烯酮、圆柚酮和 α -香附酮峰面积的 RSD 值依次为 1.31%、1.14%、1.09%、0.80%、0.61%、1.04%、1.18%、1.29%、0.84%、1.43%、1.27%, 表明利胆石颗粒供试品溶液 24 h 内稳定 (RSD 小于 2.0%)。

2.4.6 加样回收率试验 取已知待测成分含量的利胆石颗粒 (编号 S1), 研成细粉, 精密称定 $1.0\ \text{g}$, 精密加入混合对照品溶液 (双去甲氧基姜黄素 $0.067\ \text{mg/mL}$ 、去甲氧基姜黄素 $0.082\ \text{mg/mL}$ 、姜黄素 $0.174\ \text{mg/mL}$ 、柚皮芸香苷 $0.749\ \text{mg/mL}$ 、橙皮苷 0.886

mg/mL、川陈皮素 0.218 mg/mL、HMOF 0.117 mg/mL、橘红素 0.091 mg/mL、香附烯酮 0.343 mg/mL、圆柚酮 0.051 mg/mL 和 α -香附酮 0.149 mg/mL) 0.8、1.0、1.2 mL, 每个质量浓度制备 3 份, 再按“2.2”项方法制成加样供试品溶液, 依法检测, 得上述 11 种成分的平均加样回收率及 RSD 分别为 97.28%(1.28%)、98.03%(1.56%)、98.18%(0.91%)、99.82%(0.84%)、100.08%(0.70%)、97.32%(1.07%)、97.43%(1.36%)、99.00%(1.19%)、100.01%(0.66%)、96.95%(0.88%)、96.87%(1.16%)。

2.5 HPLC-QAMS 的建立

2.5.1 相对校正因子($f_{k/s}$)的计算 依法进样“2.4.2”项 6 个混合对照品溶液各 10 μ L, 用对照品质量浓度与峰面积之比计算各成分 $f_{k/s}$, 即 $f_{k/s} = f_k/f_s = (W_k/A_k)/(W_s/A_s) = (W_kA_s)/(W_sA_k)$ (其中 f 、 W 、 A 、 k 和 s 依次代表 f 、质量浓度、峰面积、内参物和其他待测成分)。以橙皮苷为内参物, 分别计算其他 10 种成分的 f (表 1)。

2.5.2 仪器及色谱柱对 $f_{k/s}$ 的影响 分别选用仪器

(Thermo Ultimate 3000 型和 e2695 型高效液相色谱仪) 和色谱柱 (Venusil XBP C₁₈ 柱、Cosmosil C₁₈ 柱和 Kromasil 100-5-C₁₈ 柱), 进样“2.1”项下混合对照品溶液 10 μ L, 结果 (表 2) 测得各成分 $f_{k/s}$ 的 RSD 在 0.79%~1.97%, 表明仪器与色谱柱对所建立的 $f_{k/s}$ 无影响。

2.5.3 体积流量对 $f_{k/s}$ 的影响 在体积流量 0.8、1.0、1.2 mL/min 条件下, 依法进样“2.1”项下对照品溶液 10 μ L, 结果 (表 3) 测得各成分 $f_{k/s}$ 的 RSD 在 0.85%~1.92%, 表明体积流量对所建立的 $f_{k/s}$ 无影响。

2.5.4 柱温对 $f_{k/s}$ 的影响 在柱温 25、30、35 $^{\circ}$ C 条件下, 依法进样“2.1”项下对照品溶液 10 μ L, 结果 (表 4) 测得各成分 $f_{k/s}$ 的 RSD 在 0.68%~1.94%, 表明柱温对所建立的 $f_{k/s}$ 无影响。

2.5.5 色谱峰定位 依法进样“2.1”项下对照品溶液 10 μ L, 采用相对保留时间值法对待测成分色谱峰进行定位, 考察仪器 (Thermo Ultimate 3000 型和 e2695 型高效液相色谱仪) 和色谱柱 (Venusil XBP C₁₈ 柱、Cosmosil C₁₈ 柱和 Kromasil 100-5-C₁₈ 柱) 对

表 1 利胆石颗粒中 11 种成分的 $f_{k/s}$

Table 1 $f_{k/s}$ of 11 component in Lidanshi Granules

混合对照品溶液	$f_{\text{橙皮苷/双去甲氧基姜黄素}}$	$f_{\text{橙皮苷/去甲氧基姜黄素}}$	$f_{\text{橙皮苷/姜黄素}}$	$f_{\text{橙皮苷/柚皮芸香苷}}$	$f_{\text{橙皮苷/川陈皮素}}$	$f_{\text{橙皮苷/HMOF}}$	$f_{\text{橙皮苷/橘红素}}$	$f_{\text{橙皮苷/香附烯酮}}$	$f_{\text{橙皮苷/圆柚酮}}$	$f_{\text{橙皮苷}/\alpha\text{-香附酮}}$
1	2.175 4	1.637 4	0.862 5	0.920 4	0.724 0	1.055 1	1.291 5	0.618 5	3.090 5	0.972 2
2	2.169 3	1.634 0	0.838 0	0.920 2	0.726 0	1.055 3	1.254 4	0.609 8	3.089 3	0.972 4
3	2.198 8	1.638 6	0.862 0	0.924 1	0.725 5	1.057 8	1.264 5	0.610 5	3.099 4	0.965 3
4	2.172 0	1.649 3	0.847 8	0.917 3	0.731 6	1.056 3	1.262 7	0.617 8	3.079 4	0.968 0
5	2.164 3	1.713 4	0.843 0	0.945 9	0.756 6	1.081 5	1.274 3	0.641 4	3.141 3	1.001 1
6	2.169 7	1.672 7	0.848 3	0.928 5	0.738 2	1.066 3	1.266 4	0.624 0	3.108 2	0.979 9
平均值	2.174 9	1.657 6	0.850 3	0.926 1	0.733 7	1.062 0	1.269 0	0.620 3	3.101 3	0.976 5
RSD/%	0.56	1.86	1.18	1.12	1.69	0.98	1.01	1.87	0.71	1.33

表 2 仪器及色谱柱对 $f_{k/s}$ 的影响

Table 2 Effects of instruments and columns on $f_{k/s}$

仪器	色谱柱	$f_{\text{橙皮苷/双去甲氧基姜黄素}}$	$f_{\text{橙皮苷/去甲氧基姜黄素}}$	$f_{\text{橙皮苷/姜黄素}}$	$f_{\text{橙皮苷/柚皮芸香苷}}$	$f_{\text{橙皮苷/川陈皮素}}$	$f_{\text{橙皮苷/HMOF}}$	$f_{\text{橙皮苷/橘红素}}$	$f_{\text{橙皮苷/香附烯酮}}$	$f_{\text{橙皮苷/圆柚酮}}$	$f_{\text{橙皮苷}/\alpha\text{-香附酮}}$
Thermo	Venusil XBP C ₁₈	2.172 0	1.654 3	0.847 6	0.924 2	0.731 9	1.060 5	1.267 2	0.618 5	3.100 1	0.974 3
Ultimate	Cosmosil C ₁₈	2.140 5	1.617 9	0.825 3	0.907 7	0.718 0	1.038 2	1.240 1	0.604 3	3.070 6	0.950 6
3000	Kromasil 100-5-C ₁₈	2.189 2	1.708 6	0.856 9	0.941 3	0.750 6	1.084 7	1.287 5	0.635 9	3.143 9	0.998 0
e2695	Venusil XBP C ₁₈	2.166 9	1.632 8	0.841 5	0.919 0	0.724 4	1.055 0	1.253 9	0.614 0	3.0954	0.967 4
	Cosmosil C ₁₈	2.155 7	1.650 1	0.837 2	0.915 6	0.720 8	1.047 9	1.254 8	0.606 7	3.088 2	0.958 1
	Kromasil 100-5-C ₁₈	2.178 3	1.679 5	0.848 1	0.936 4	0.743 2	1.072 6	1.271 0	0.625 2	3.129 7	0.982 7
	平均值	2.167 1	1.657 2	0.842 8	0.924 0	0.731 5	1.059 8	1.262 4	0.617 4	3.104 7	0.971 9
	RSD/%	0.79	1.97	1.29	1.38	1.78	1.59	1.30	1.92	0.88	1.76

表 3 体积流量对 $f_{k/s}$ 的影响
Table 3 Effects of flow velocities on $f_{k/s}$

体积流量/ (mL·min ⁻¹)	$f_{\text{橙皮苷/双去甲氧基姜黄素}}$	$f_{\text{橙皮苷/去甲氧基姜黄素}}$	$f_{\text{橙皮苷/姜黄素}}$	$f_{\text{橙皮苷/柚皮芸香苷}}$	$f_{\text{橙皮苷/川陈皮素}}$	$f_{\text{橙皮苷/HMOF}}$	$f_{\text{橙皮苷/橘红素}}$	$f_{\text{橙皮苷/香附烯酮}}$	$f_{\text{橙皮苷/圆柚酮}}$	$f_{\text{橙皮苷}/\alpha\text{-香附酮}}$
0.8	2.195 8	1.696 3	0.870 2	0.935 6	0.751 0	1.072 6	1.290 9	0.637 8	3.141 9	0.991 2
1.0	2.176 3	1.659 0	0.851 5	0.928 8	0.736 1	1.064 3	1.271 5	0.622 2	3.103 6	0.978 4
1.2	2.159 0	1.632 7	0.848 1	0.912 3	0.724 5	1.050 9	1.256 7	0.614 3	3.076 2	0.956 7
平均值	2.177 0	1.662 7	0.856 6	0.925 6	0.737 2	1.062 6	1.273 0	0.624 8	3.107 2	0.975 4
RSD/%	0.85	1.92	1.39	1.29	1.80	1.03	1.35	1.91	1.06	1.79

表 4 柱温对 $f_{k/s}$ 的影响
Table 4 Effects of column temperature on $f_{k/s}$

柱温/°C	$f_{\text{橙皮苷/双去甲氧基姜黄素}}$	$f_{\text{橙皮苷/去甲氧基姜黄素}}$	$f_{\text{橙皮苷/姜黄素}}$	$f_{\text{橙皮苷/柚皮芸香苷}}$	$f_{\text{橙皮苷/川陈皮素}}$	$f_{\text{橙皮苷/HMOF}}$	$f_{\text{橙皮苷/橘红素}}$	$f_{\text{橙皮苷/香附烯酮}}$	$f_{\text{橙皮苷/圆柚酮}}$	$f_{\text{橙皮苷}/\alpha\text{-香附酮}}$
25	2.160 9	1.620 9	0.831 5	0.910 3	0.718 9	1.051 5	1.246 2	0.600 1	3.070 4	0.957 2
30	2.172 6	1.655 8	0.848 0	0.924 7	0.731 6	1.060 3	1.267 5	0.618 9	3.099 5	0.974 0
35	2.185 2	1.683 5	0.857 2	0.938 2	0.747 3	1.074 7	1.283 9	0.621 0	3.123 8	0.991 6
平均值	2.171 2	1.653 4	0.845 6	0.924 4	0.732 6	1.062 2	1.265 9	0.613 3	3.097 9	0.974 3
RSD/%	0.68	1.90	1.54	1.51	1.94	1.10	1.49	1.88	0.86	1.77

相对保留时间值 (t) 的影响, 结果 (表 5) 测得双去甲氧基姜黄素、去甲氧基姜黄素、姜黄素、柚皮芸香苷、川陈皮素、HMOF、橘红素、香附烯酮、圆柚酮、 α -香附酮和橙皮苷相对保留时间值 (t) 的 RSD 在 0.84%~1.72%, 表明采用相对保留时间值法可以对目标化合物色谱峰进行准确定位。

2.6 含量测定

为验证所建立的 QAMS 法的准确性及可行性, 取 10 批利胆石颗粒, 依法制备利胆石颗粒供试品溶液, 再依法进样分析, 分别运用外标法和 HPLC QAMS 法计算利胆石颗粒中各成分的含量, 比较 2 种方法检测结果的差异。结果 (表 6) 2 种方法无显著差异 ($P>0.05$), 表明 HPLC QAMS 法可用于利胆石颗粒中 11 种成分的含量测定。

3 利胆石颗粒的化学计量学质量分析

3.1 HCA

将 10 批利胆石颗粒中双去甲氧基姜黄素、去甲氧基姜黄素、姜黄素、柚皮芸香苷、橙皮苷、川陈皮素、HMOF、橘红素、香附烯酮、圆柚酮和 α -香附酮 HPLC-QAMS 法含量测定结果导入 SPSS 26.0 统计软件进行聚类模式识别分析 (分类: 系统聚类; 聚类方法: 组间联接; 测量区间: Euclidean 距离), 得图 2。结果显示, 当间距为 15 时, 10 批利胆石颗粒供试品聚为 3 类, S5、S6 和 S7 为第 I 类, S1、S3、S2 和 S4 为第 II 类, S8、S9 和 S10 为第 III 类, 从聚类结果可以看出, 同一厂家的产品聚成一类。

3.2 PCA

PCA 通过降维处理对指标进行简化, 将 10 批

表 5 仪器及色谱柱对 $t_{s/k}$ 的影响Table 5 Effects of instruments and chromatographic columns on $t_{s/k}$

仪器	色谱柱	$t_{\text{双去甲氧基姜黄素/橙皮苷}}$	$t_{\text{去甲氧基姜黄素/橙皮苷}}$	$t_{\text{姜黄素/橙皮苷}}$	$t_{\text{柚皮芸香苷/橙皮苷}}$	$t_{\text{川陈皮素/橙皮苷}}$	$t_{\text{HMOF/橙皮苷}}$	$t_{\text{橘红素/橙皮苷}}$	$t_{\text{香附烯酮/橙皮苷}}$	$t_{\text{圆柚酮/橙皮苷}}$	$t_{\alpha\text{-香附酮/橙皮苷}}$
Thermo	Venusil XBP C ₁₈	0.422 4	0.465 6	0.587 4	0.854 6	1.041 3	1.098 2	1.259 3	1.502 9	1.660 1	1.819 3
Ultimate	Cosmosil C ₁₈	0.420 8	0.451 1	0.581 6	0.842 1	1.029 6	1.071 9	1.230 5	1.483 2	1.642 8	1.796 6
3000	Kromasil 100-5-C ₁₈	0.429 5	0.472 8	0.594 8	0.868 9	1.055 1	1.111 5	1.277 0	1.530 7	1.687 5	1.835 7
e2695	Venusil XBP C ₁₈	0.417 7	0.460 3	0.582 6	0.850 2	1.035 9	1.080 4	1.241 8	1.489 6	1.653 9	1.802 8
	Cosmosil C ₁₈	0.423 6	0.455 9	0.585 1	0.851 8	1.036 2	1.083 7	1.245 6	1.497 0	1.632 6	1.804 1
	Kromasil 100-5-C ₁₈	0.425 0	0.467 4	0.590 7	0.857 3	1.048 0	1.092 2	1.262 1	1.514 5	1.671 2	1.825 9
	平均值	0.423 2	0.462 2	0.587 0	0.854 2	1.041 0	1.089 7	1.252 7	1.503 0	1.658 0	1.814 1
	RSD/%	0.94	1.72	0.86	1.04	0.89	1.29	1.33	1.16	1.19	0.84

表 6 利胆石颗粒中 11 种成分含量测定结果 ($n=3$)Table 6 Determination results of 11 components in Lidanshi Granules ($n=3$)

样品	双去甲氧基姜黄素/(mg·g ⁻¹)		去甲氧基姜黄素/(mg·g ⁻¹)		姜黄素/(mg·g ⁻¹)		柚皮芸香苷/(mg·g ⁻¹)		川陈皮素/(mg·g ⁻¹)		橙皮苷/(mg·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	0.069	0.068	0.081	0.080	0.172	0.174	0.756	0.768	0.217	0.219	0.891
S2	0.070	0.072	0.122	0.125	0.242	0.248	0.838	0.856	0.273	0.274	0.953
S3	0.057	0.056	0.087	0.088	0.176	0.180	0.736	0.731	0.232	0.226	0.844
S4	0.076	0.078	0.111	0.113	0.215	0.209	0.837	0.815	0.269	0.266	0.974
S5	0.070	0.069	0.109	0.111	0.152	0.153	0.726	0.745	0.213	0.212	0.766
S6	0.065	0.064	0.129	0.132	0.110	0.109	0.707	0.702	0.194	0.197	0.709
S7	0.060	0.059	0.119	0.116	0.102	0.100	0.659	0.673	0.186	0.189	0.695
S8	0.089	0.087	0.077	0.078	0.164	0.160	0.623	0.638	0.309	0.305	1.073
S9	0.105	0.108	0.068	0.067	0.189	0.194	0.590	0.602	0.299	0.297	1.120
S10	0.090	0.092	0.099	0.097	0.133	0.136	0.557	0.566	0.328	0.325	1.142
P 值	0.978		0.959		0.968		0.875		0.964		—

样品	HMOF/(mg·g ⁻¹)		橘红素/(mg·g ⁻¹)		香附烯酮/(mg·g ⁻¹)		圆柚酮/(mg·g ⁻¹)		α -香附酮/(mg·g ⁻¹)	
	外标法	QAMS	外标法	QAMS	外标法	QAMS	外标法	QAMS	外标法	QAMS
S1	0.119	0.118	0.092	0.093	0.347	0.345	0.052	0.051	0.145	0.146
S2	0.125	0.127	0.120	0.122	0.263	0.270	0.033	0.034	0.193	0.188
S3	0.121	0.124	0.090	0.092	0.359	0.364	0.041	0.042	0.131	0.132
S4	0.112	0.111	0.119	0.117	0.313	0.308	0.038	0.039	0.182	0.183
S5	0.102	0.103	0.083	0.082	0.201	0.199	0.034	0.033	0.104	0.103
S6	0.095	0.094	0.076	0.077	0.181	0.180	0.028	0.027	0.115	0.113
S7	0.096	0.097	0.079	0.080	0.164	0.160	0.030	0.031	0.087	0.086
S8	0.153	0.151	0.151	0.148	0.535	0.528	0.056	0.057	0.163	0.160
S9	0.158	0.160	0.135	0.137	0.501	0.514	0.061	0.060	0.125	0.123
S10	0.148	0.145	0.140	0.142	0.482	0.491	0.064	0.063	0.176	0.171
P 值	0.992		0.968		0.983		0.986		0.920	

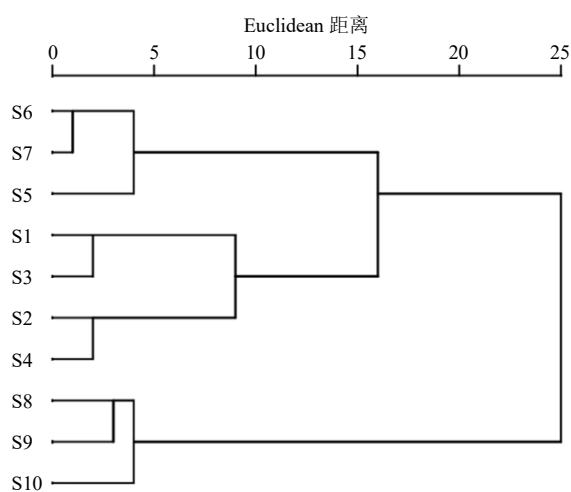


图 2 10 批样品聚类树状图

Fig. 2 Cluster tree of 10 batches of samples

利胆石颗粒中双去甲氧基姜黄素、去甲氧基姜黄素、姜黄素、柚皮芸香苷、橙皮苷、川陈皮素、HMOF、橘红素、香附烯酮、圆柚酮和 α -香附酮HPLC-QAMS法含量测定结果导入 SPSS 26.0 统计软件及统计软件 SIMCA 14.1 对主成分进行提取, 得各主成分特征值和方差贡献率, 结果见表 7、8 和图 3。由表 7 可知前 2 个主成分特征值大于 1, 即 7.463 和 2.227, 对方差的贡献率分别为 67.848%、20.248%, 累积方差贡献率为 88.096%, 大于 85%, 表明选取前 2 个主成分即可代表利胆石颗粒 88.096% 的信息量。表 8 主成分矩阵可以看出第 1 主成分的信息来自双去甲氧基姜黄素、去甲氧基姜黄素、橙皮苷、川陈皮素、HMOF、橘红素、香附烯酮、圆柚酮等成分的综合, 第 2 主成分的信息来自姜黄素、柚皮芸香苷

表 7 利胆石颗粒中主成分特征值和贡献率

Table 7 Eigenvalue and contribution rate of principal components in Lidanshi Granules

主成分	初始特征值			提取载荷平方和		
	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	7.463	67.848	67.848	7.463	67.848	67.848
2	2.227	20.248	88.096	2.227	20.248	88.096
3	0.754	6.852	94.949			
4	0.338	3.077	98.026			
5	0.130	1.183	99.209			
6	0.045	0.413	99.622			
7	0.023	0.206	99.828			
8	0.014	0.126	99.954			
9	0.005	0.046	100.000			

表 8 11 种成分的成分矩阵

Table 8 Composition matrix of 11 components in Lidanshi Granules

成分	主成分		成分	主成分	
	1	2		1	2
双去甲氧基姜黄素	0.877	-0.167	HMOF	0.967	-0.046
去甲氧基姜黄素	-0.720	0.334	橘红素	0.948	0.161
姜黄素	0.374	0.833	香附烯酮	0.967	-0.123
柚皮芸香苷	-0.495	0.826	圆柚酮	0.929	-0.244
橙皮苷	0.981	0.143	α -香附酮	0.553	0.746
川陈皮素	0.942	0.179			

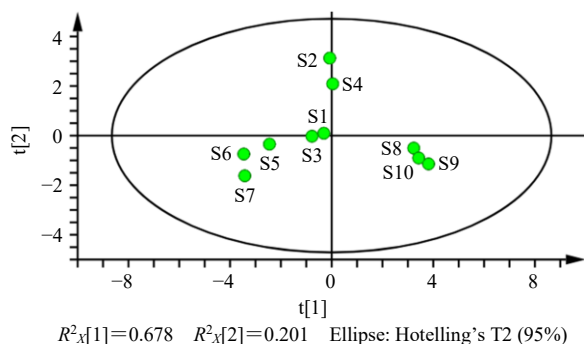


图 3 PCA 得分图

Fig. 3 Score plot of PCA

的信息。从图 3 可以看出, S8~S10、S1~S4 以及 S5~S7 分别呈现一定关联性,与“3.1”项聚类分析结果一致。

3.3 PLS-DA

PLS-DA 通过对数据的分析,能够查找出引起产品质量差异的特征成分,将 10 批利胆石颗粒中

双去甲氧基姜黄素、去甲氧基姜黄素、姜黄素、柚皮芸香苷、橙皮苷、川陈皮素、HMOF、橘红素、香附烯酮、圆柚酮和 α -香附酮的 QAMS 法含量数据导入 SIMCA 14.1 统计软件,进行 PLS-DA 分析,绘制 PLS-DA 模型得分图(图 4),结果累积解释能力参数(R^2_X 、 R^2_Y)分别为 0.927 和 0.848,预测能力参数 Q^2 为 0.757,均大于 0.5,说明表明所建立的模型稳定可靠、预测能力强,可用于区分不同批次的利胆石颗粒。

由图 4 可以看出 10 批利胆石颗粒的含量数据点均落在 95%置信区间内,根据分布可分为 3 类,与聚类分析和主成分分析结果一致。

对建立的 PLS-DA 模型进行 200 次置换检验(图 5),结果显示 R^2 拟合直线 Y 轴截距为 0.133,小于 0.3,表明所建立的模型结果可靠; Q^2 拟合直线 Y 轴截距为 -0.275,小于 0.05,表明所建立的模型不存在过度拟合,可有效判别分析 10 批利胆石颗粒的质量差异。

根据变量重要性投影(variable importance in projection, VIP)值筛选影响药物炮制前后组方利胆

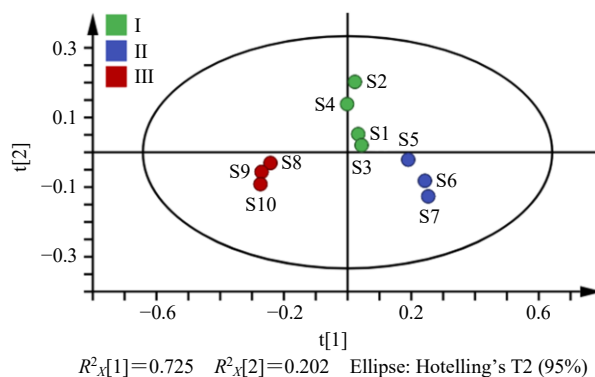


图 4 10 批利胆石颗粒样品的 PLS-DA 模型得分图

Fig. 4 Score plot of PLS-DA of 10 batches of Lidanshi Granules

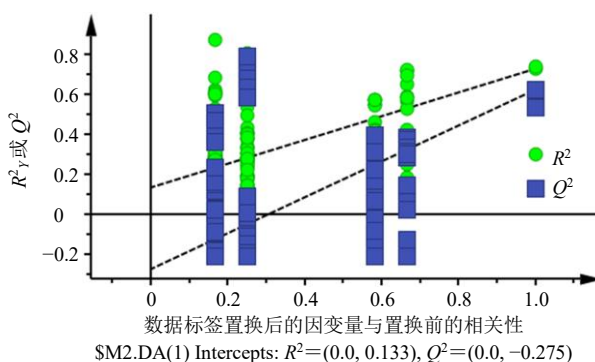


图 5 PLS-DA 置换检测图

Fig. 5 Permutation plot of PLS-DA

石颗粒化学成分差异的标志性成分(图 6), 结果 VIP>1 的有 4 个成分, 即柚皮芸香苷(VIP=1.745)、橙皮苷(VIP=1.470)、香附烯酮(VIP=1.350)和姜黄素(VIP=1.188)对利胆石颗粒样品质量的影响较大, 可能是影响利胆石颗粒产品质量的主要潜在标志物。

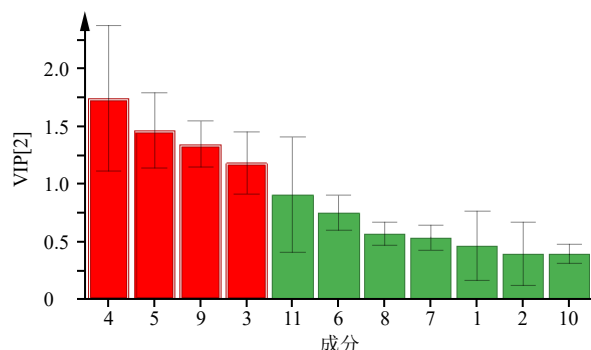


图 6 10 批利胆石颗粒样品的 PLS-DA 模型中共有峰的 VIP 值

Fig. 6 VIP values of common peaks in PLS-DA model of 10 batches of Lidanshi Granules

4 讨论

4.1 供试品处理方式的确定

本实验在制备供试品溶液, 以双去甲氧基姜黄素、去甲氧基姜黄素、姜黄素、柚皮芸香苷、橙皮苷、川陈皮素、HMOF、橘红素、香附烯酮、圆柚酮和 α -香附酮的提取效率为指标, 结合杂质干扰情况, 首先考察了溶剂水、甲醇和乙醇, 分别采用超声^[12-15]、回流^[17]、索氏^[11]提取时 11 种成分的提取效率。结果发现, 水作溶剂时, 圆柚酮和 α -香附酮几乎未提取出, 乙醇为溶剂时, 橘红素和圆柚酮基本未检出, 只有甲醇采用回流提取时, 各成分提取效率较高, 同时杂质干扰最少, 进而对甲醇体积分数(50%^[19]、70%^[15]、85%^[11]、100%^[20-22])和提取时间(20、30、40、50 min)进行了筛选对比, 发现甲醇加热回流时 11 种提取率随提取时间的延长有降低趋势, 但杂质却在逐渐增加, 综合考虑确定以甲醇加热回流提取 30 min 为最佳提取方式。

4.2 流动相系统的确定

本实验在筛选流动相时, 通过对乙腈-水、甲醇-水的运行, 筛选出乙腈-水系统优于甲醇-水系统, 但有个别色谱峰出现了拖尾现象, 进而对乙腈-0.4%磷酸水溶液^[15]、乙腈-0.1%甲酸水溶液^[17-18]、乙腈-3%甲酸水溶液^[11]、乙腈-1%冰醋酸水溶液^[12]为流动相系统进行检测利胆石颗粒供试品溶液, 对比双去

甲氧基姜黄素、去甲氧基姜黄素、姜黄素、柚皮芸香苷、橙皮苷、川陈皮素、HMOF、橘红素、香附烯酮、圆柚酮和 α -香附酮色谱峰的峰形及分离效果, 结果乙腈-0.1%甲酸水溶液条件下可达到基线分离, 峰形较好, 因此, 选择乙腈-0.1%甲酸水溶液为流动相梯度洗脱对利胆石颗粒中 11 种成分含量进行同时检测。

4.3 多指标成分定量控制及化学计量学结果评价

HPLC-QAMS 法测定利胆石颗粒中双去甲氧基姜黄素、去甲氧基姜黄素、姜黄素、柚皮芸香苷、橙皮苷、川陈皮素、HMOF、橘红素、香附烯酮、圆柚酮和 α -香附酮的含量, 从检测结果可以看出 HPLC-QAMS 法结果与外标法实测值无明显差异, 表明所建立的 HPLC-QAMS 法结果准确, 但各批次利胆石颗粒中 11 种成分含量存在一定的批间差异, 表明建立多指标检测的重要性。

分析含量差异的原因可能是厂家不同所导致, 从 HCA 和 PCA 结果可以看出, 10 批利胆石颗粒聚为 3 类, 同一厂家的样品聚为一类, 聚类结果与生产厂家具有一定关联性, 这可能与厂家生产工艺不尽相同, 生产所用设备、原药材也不相同有关, 这也迫切要求有一个高水平的全面监控的产品质量标准来严格监管产品质量, 从而实现质量均一性和疗效一致性。PLS-DA 方法筛选出 4 个差异性标志物, 即柚皮芸香苷、橙皮苷、香附烯酮和姜黄素是对利胆石颗粒样品质量的影响较大的成分, 与 HCA、PCA 相比, PLS-DA 的预测能力更强, 能够更准确地进行利胆石颗粒的质量评价, 也为后续生产厂家提升产品质量指明了方向。

本实验以橙皮苷为内参物, 建立了 HPLC-QAMS 法同时测定利胆石颗粒中双去甲氧基姜黄素、去甲氧基姜黄素、姜黄素、柚皮芸香苷、橙皮苷、川陈皮素、HMOF、橘红素、香附烯酮、圆柚酮和 α -香附酮的含量, 方法简便, 结果准确、专属性强, 可多方位较全面地反映利胆石颗粒中化学成分信息, 同时结合 HCA、PCA、PLS-DA 等化学计量学识别模式对含量检测结果进行综合分析, 为完善利胆石颗粒控制方法, 提升控制水平, 为确保产品质量均一性和临床疗效一致性提供科学依据。利胆石颗粒方中君药陈皮、臣药青皮和佐药枳壳均含有橙皮苷等成分, 橙皮苷质量稳定, 价廉易得, 可作为该制剂多指标成分 QAMS 法内参物, 《中国药典》2020 年版一部中陈皮和青皮均采用橙皮苷作为其

定量控制指标成分,枳壳采用柚皮苷和新橙皮苷作为其定量控制成分,建议药品生产企业建立枳壳中橙皮苷含量的内控标准,稳定该制剂的产品质量,以便于该制剂的临床合理应用。

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 WS3-B-2330-97 [S]. 1997: 67.
- [2] 杨炜峰, 陈茂如, 刘学华. HPLC 法测定利胆石颗粒中橙皮苷含量 [J]. 首都医药, 2008, 15(24): 38-39.
- [3] 梁颖欣, 朱旦, 黄舒婷, 等. 一测多评法测定钩藤中 7 种生物碱类成分的含量 [J]. 中药材, 2019, 42(8): 1820-1823.
- [4] Wang Z Q, Shen J, Li P, *et al.* Research on quality markers of *Moutan Cortex*: Quality evaluation and quality standards of *Moutan Cortex* [J]. *Chin Herb Med*, 2017, 9(4): 307-320.
- [5] 高森, 王苹, 唐铖, 等. 基于 HPLC 指纹图谱、多指标成分含量测定及化学计量学的湿热痹片质量评价 [J]. 中草药, 2020, 51(21): 5454-5461.
- [6] 刘昌孝, 陈士林, 肖小河, 等. 中药质量标志物(Q-Marker): 中药产品质量控制的新概念 [J]. 中草药, 2016, 47(9): 1443-1457.
- [7] 刘昌孝. 中药质量标志物(Q-Marker)研究发展的 5 年回顾 [J]. 中草药, 2021, 52(9): 2511-2518.
- [8] Mohamed-Ibrahim S R, Mohamed G A, Abdullah Khayat M T, *et al.* Anti-inflammatory terpenoids from *Cyperus rotundus* rhizomes [J]. *Pak J Pharm Sci*, 2018, 31(4 Suppl): 1449-1456.
- [9] Chen H F, Zhang W G, Yuan J B, *et al.* Simultaneous quantification of polymethoxylated flavones and coumarins in *Fructus aurantii* and *Fructus Aurantii Immaturus* using HPLC-ESI-MS/MS [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2012, 59: 90-95.
- [10] An Y W, Hu G, Yin G P, *et al.* Quantitative analysis and discrimination of steamed and non-steamed rhizomes of *Curcuma wenyujin* by GC-MS and HPLC [J]. *J Chromatogr Sci*, 2014, 52(9): 961-970.
- [11] 周秋明, 王文华, 夏平, 等. HPLC 法测定不同贮藏条件下莪术中 6 种化学成分的含量 [J]. 中国药师, 2020, 23(8): 1669-1673.
- [12] 高天慧, 廖婉, 傅超美, 等. 基于 pH 值动态变化的川产道地药材蓬莪术醋制前后化学成分差异研究 [J]. 中草药, 2017, 48(24): 5174-5178.
- [13] 靳雅惠. 桂郁金种质资源姜黄素类化学成分分析 [J]. 陕西农业科学, 2021, 67(9): 61-64.
- [14] 高红宁, 殷奕, 毛春芹, 等. HPLC 法测定不同产地醋莪术饮片姜黄素、双去甲氧基姜黄素和去甲氧基姜黄素的含量 [J]. 中国医药科学, 2021, 11(3): 67-70.
- [15] 臧远芳, 许丽丽, 刘洪超, 等. HPLC 波长切换法测定莪术中 8 个主要有效成分的含量 [J]. 中国现代应用药学, 2021, 38(18): 2227-2233.
- [16] 邱焱, 吴晓玲, 谢子婷, 等. 浊点萃取-HPLC 法测定陈皮中橙皮苷和川陈皮素的含量 [J]. 中药材, 2017, 40(9): 2125-2127.
- [17] 封宇飞, 张宏武, 邹忠梅, 等. HPLC 法同时测定陈皮饮片中 5 种黄酮类化合物的含量 [J]. 药物分析杂志, 2009, 29(1): 10-15.
- [18] 李影, 尚尔雨, 孙爽, 等. 陈皮 HPLC 指纹图谱色谱条件优化 [J]. 黑龙江科学, 2021, 12(10): 8-10.
- [19] 涂奇军, 徐玲, 聂晶, 等. 蛇胆陈皮制剂中陈皮 UPLC 指纹图谱 [J]. 中成药, 2018, 40(10): 2233-2237.
- [20] 王世宇, 李文兵, 卢君蓉, 等. HPLC 法同时测定不同产地香附药材中香附烯酮、圆柚酮和 α -香附酮 [J]. 中成药, 2015, 37(3): 588-591.
- [21] 卢君蓉, 李文兵, 王世宇, 等. 香附醋制前后香附烯酮、圆柚酮和 α -香附酮的含量比较 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(20): 24-27.
- [22] 乔璐, 张园园, 王若晨, 等. 不同炮制方法对香附中香附烯酮和 α -香附酮的影响 [J]. 中华中医药学刊, 2022, 40(1): 49-53.

[责任编辑 郑礼胜]