

## 人参健脾丸多指标含量测定及化学计量学分析

栾永福<sup>1</sup>, 解盈盈<sup>1</sup>, 周广涛<sup>1</sup>, 许丽丽<sup>1</sup>, 周倩倩<sup>1</sup>, 张明童<sup>2</sup>, 林永强<sup>1\*</sup>, 汪冰<sup>1\*</sup>

1. 山东省食品药品检验研究院, 国家药监局胶类产品质量评价重点实验室, 中药标准创新与质量评价山东省工程研究中心, 中药配方颗粒共性技术山东省工程研究中心, 产业技术公共服务平台, 山东 济南 250101
2. 甘肃省药品检验研究院, 甘肃 兰州 730000

**摘要:** 目的 建立人参健脾丸(Renshen Jianpi Pills, RJP)中 11 个成分的 HPLC 含量测定方法, 并对测定结果进行化学计量学分析。方法 采用 Kromasil 100-5-C<sub>18</sub> 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm), 以乙腈-0.1%甲酸水溶液为流动相梯度洗脱, 体积流量 1.0 mL/min, 柱温 35 ℃, 进样体积 10 μL; 采用切换波长法测定 52 批 RJP 中隐绿原酸、香草酸、斯皮诺素、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、阿魏酸、芸香柚皮苷、3,6'-二芥子酰基蔗糖、川陈皮素、橘皮素、藁本内酯、白术内酯 I 的含量, 结合层次聚类分析(hierarchical cluster analysis, HCA)、主成分分析(principal component analysis, PCA)和正交偏最小二乘法-判别分析(orthogonal partial least squares-discriminant analysis, OPLS-DA)对含量测定结果进行综合分析。结果 隐绿原酸、香草酸、斯皮诺素、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、阿魏酸、芸香柚皮苷、3,6'-二芥子酰基蔗糖、川陈皮素、橘皮素、藁本内酯、白术内酯 I 分别在 0.18~17.75、0.20~20.02、0.20~19.96、0.31~30.81、0.21~21.07、0.84~84.14、0.44~44.24、0.18~17.63、0.17~17.17、1.62~162.48、0.17~17.28 μg/mL 线性关系良好( $r \geq 0.9997$ ), 平均加样回收率分别为 97.46%、101.61%、103.02%、96.49%、102.88%、96.97%、97.92%、99.13%、94.29%、92.16%、95.57%, RSD 分别为 0.78%、0.57%、1.12%、1.65%、0.73%、0.91%、1.23%、1.34%、1.54%、1.92%、1.76%。化学计量学分析结果显示, 52 批 RJP 样品聚为 3 类, 不同生产企业样品质量存在一定差异; 芸香柚皮苷、藁本内酯和川陈皮素是影响 RJP 样品质量的主要潜在标志物。结论 建立的 HPLC 含量测定方法简单、可行, 结合化学计量学方法可用于 RJP 的质量的综合评价。

**关键词:** 人参健脾丸; HPLC; 化学计量学; 层次聚类分析; 主成分分析; 正交偏最小二乘法-判别分析; 芸香柚皮苷; 藁本内酯; 川陈皮素

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2023)21-7044-11

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2023.21.013

## Multi-component content determination and chemometrics analysis of Renshen Jianpi Pills

LUAN Yong-fu<sup>1</sup>, XIE Ying-ying<sup>1</sup>, ZHOU Guang-tao<sup>1</sup>, XU Li-li<sup>1</sup>, ZHOU Qian-qian<sup>1</sup>, ZHANG Ming-tong<sup>2</sup>, LIN Yong-qi<sup>1</sup>, WANG Bing<sup>1</sup>

1. NMPA Key Laboratory for Quality Evaluation of Gelatin Products, Shandong Institute for Food and Drug Control, Shandong Engineering Research Center for Traditional Chinese Medicine Standard Innovation and Quality Evaluation, Shandong Engineering Research Center for Generic Technologies of Traditional Chinese Medicine Formula Granules, Public Service Platform of Industrial Technology, Jinan 250101, China
2. Gansu Institute for Drug Control, Lanzhou 730000, China

**Abstract: Objective** To establish an HPLC content determination method of 11 components in Renshen Jianpi Pills (人参健脾丸, RJP), and analyze the content determination results by chemometrics method. **Methods** The analysis was carried out on Kromasil 100-5-C<sub>18</sub> column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm). The mobile phase was acetonitrile-0.1% formic acid with gradient elution. The column

收稿日期: 2023-04-23

**基金项目:** 山东省重点研发计划(重大科技创新工程)项目(2021CXGC010511); 山东省重点研发计划(重大科技创新工程)项目(2021SFGC1202); 山东省人文社会科学课题(2021-YYGL-44); 泉城产业领军人才支持计划创新团队项目(MRJT2105); 中药材及饮片质量控制重点实验室项目(2022GSMPLA-KL12); “新高校 20 条”科研带头人工作室项目(202228096)

**作者简介:** 栾永福(1989—), 硕士, 主管中药师, 研究方向为中药质量评价。Tel: 15275129397 E-mail: luanyongfu668@126.com

**\*通信作者:** 林永强(1975—), 博士, 主任药师, 从事中药质量控制与评价研究。E-mail: 13864067104@163.com

汪冰(1981—), 硕士, 主任中药师, 从事中药质量控制与评价研究。E-mail: wwbing@163.com

temperature was 35 °C, the volume flow was 1.0 mL/min, and the injection volume was 10 µL. Measuring the content of cryptochlorogenic acid, vanillic acid, spinosin, calycoflavone glucoside, ferulic acid, naringin, 3,6'-disinialoyl sucrose, nobiletin, hesperetin, ligustilide and atractylenolide I in 52 batches of RJP by wavelength switching method. The content determination results were comprehensively analyzed using hierarchical cluster analysis (HCA), principal component analysis (PCA), and orthogonal partial least squares-discriminant analysis (OPLS-DA). **Results** Cryptochlorogenic acid, vanillic acid, spinosin, calycoflavone glucoside, ferulic acid, naringin, 3,6'-disinialoyl sucrose, nobiletin, hesperetin, ligustilide and atractylenolide I showed good linear relationship ( $r \geq 0.999$ ) within the ranges of 0.18—17.75, 0.20—20.02, 0.20—19.96, 0.31—30.81, 0.21—21.07, 0.84—84.14, 0.44—44.24, 0.18—17.63, 0.17—17.17, 1.62—162.48, and 0.17—17.28 µg/mL, whose average recoveries were 97.46%, 101.61%, 103.02%, 96.49%, 102.88%, 96.97%, 97.92%, 99.13%, 94.29%, 92.16%, and 95.57% with RSD values of 0.78%, 0.57%, 1.12%, 1.65%, 0.73%, 0.91%, 1.23%, 1.34%, 1.54%, 1.92%, 1.76%, respectively. The chemometrics analysis results showed that 52 batches of RJP could be clustered into three categories, and there were some differences in sample quality among different manufacturers. Naringin, ligustilide and nobiletin were the main potential markers affecting the quality of RJP. **Conclusion** The established content determination method by HPLC is simple and feasible, and could be used for the comprehensive evaluation of the quality of RJP combined with chemometrics method.

**Key words:** Renshen Jianpi Pills; HPLC; chemometrics; hierarchical cluster analysis; principal component analysis; orthogonal partial least squares-discriminant analysis; naringin; ligustilide; nobiletin

人参健脾丸(Renshen Jianpi Pills, RJP)源于明代王肯堂的《证治准绳·类方》,由人参、白术(麸炒)、茯苓、山药、陈皮、木香、砂仁、炙黄芪、当归、酸枣仁(炒)、远志(制)11味药组方而成,均为原粉入药。具有补脾益气、和胃止泻的功效,临床上主要用于脾胃虚弱所致的饮食不化、脘闷嘈杂、恶心呕吐、腹痛便溏、不思饮食、体弱倦怠<sup>[1]</sup>。RJP现行法定质量标准为《中国药典》2020年版一部及生产企业药品补充申请批件,仅对橙皮苷单一成分进行了定量控制,无法整体反映产品的质量状况。RJP物质基础不明确,相关研究报道较少<sup>[2-4]</sup>,且生产企业较多,不同生产企业、不同生产批次之间的产品质量差异亦无文献报道。

鉴于此,本实验采用HPLC波长切换法,以隐绿原酸、香草酸、斯皮诺素、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、阿魏酸、芸香柚皮苷、3,6'-二芥子酰基蔗糖、川陈皮素、橘皮素、藁本内酯、白术内酯I共11种成分为指标,对不同生产企业和生产批次的RJP进行含量测定。并结合化学计量学方法进行综合分析,以期作为RJP的质量控制与评价提供参考。

## 1 仪器与材料

### 1.1 仪器

Waters 2695 型高效液相色谱仪,美国 Waters 公司; XSE205 型十万分之一电子天平,德国 Mettler Toledo 公司; FW177 型高速万能粉碎机,天津市泰斯特仪器有限公司; KQ500DB 型数控超声波清洗器,昆山市超声仪器有限公司; DZKW-C 型恒温水浴锅,上海树立仪器仪表有限公司。

### 1.2 材料

对照品香草酸(批号 110776-200402,质量分数 100.0%)、斯皮诺素(批号 111869-202005,质量分数 94.8%)、毛蕊异黄酮葡萄糖苷(批号 111920-201907,质量分数 96.8%)、阿魏酸(批号 110773-201915,质量分数 99.4%)、3,6'-二芥子酰基蔗糖(批号 111848-202006,质量分数 96.5%)、川陈皮素(批号 112055-202001,质量分数 99.6%)、橘皮素(批号 112054-202102,质量分数 100.0%)、藁本内酯(批号 111737-201910,质量分数 100.0%)、白术内酯 I(批号 111975-201501,质量分数 99.9%)购于中国食品药品检定研究院;对照品芸香柚皮苷(批号 MUST-22040211,质量分数 98.76%)、隐绿原酸(批号 MUST-16022403,质量分数 99.07%)购于成都普思生物科技股份有限公司。甲醇,色谱级,天津市科密欧化学试剂有限公司;乙腈,色谱级, Honeywell Burdick & Jackson 公司;甲酸,色谱级,上海阿拉丁生物科技有限公司;水为 Milli-Q Advantage A10 型超纯水仪(美国 Millipore 公司)制备水;其余试剂均为分析级。RJP 样品为 2022 年国家药品抽检所抽取样品,按照法定质量标准进行检验,结果均符合规定。样品具体信息见表 1。

## 2 方法与结果

### 2.1 对照品溶液的制备

分别取隐绿原酸、香草酸、斯皮诺素、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、阿魏酸、芸香柚皮苷、3,6'-二芥子酰基蔗糖、川陈皮素、橘皮素、藁本内酯、白术内酯 I 对照品适量,精密称定,加甲醇制成含隐绿原

表 1 RJP 样品信息

Table 1 Information of RJP samples

| 样品编号 | 批号       | 规格  | 橙皮苷含量                   | 生产企业      | 样品编号 | 批号       | 规格  | 橙皮苷含量                   | 生产企业    |
|------|----------|-----|-------------------------|-----------|------|----------|-----|-------------------------|---------|
| S1   | 20015134 | 大蜜丸 | 11.9 mg·丸 <sup>-1</sup> | 北京同仁堂股份有限 | S27  | 114015   | 大蜜丸 | 16.6 mg·丸 <sup>-1</sup> |         |
| S2   | 20015086 | 大蜜丸 | 13.4 mg·丸 <sup>-1</sup> | 公司同仁堂制药厂  | S28  | 114016   | 大蜜丸 | 14.4 mg·丸 <sup>-1</sup> |         |
| S3   | 21015038 | 大蜜丸 | 13.5 mg·丸 <sup>-1</sup> |           | S29  | 289026   | 小蜜丸 | 2.7 mg·g <sup>-1</sup>  |         |
| S4   | 21015045 | 大蜜丸 | 13.7 mg·丸 <sup>-1</sup> |           | S30  | 289029   | 小蜜丸 | 3.7 mg·g <sup>-1</sup>  |         |
| S5   | 21015057 | 大蜜丸 | 13.7 mg·丸 <sup>-1</sup> |           | S31  | 289032   | 小蜜丸 | 3.3 mg·g <sup>-1</sup>  |         |
| S6   | 21015120 | 大蜜丸 | 16.4 mg·丸 <sup>-1</sup> |           | S32  | 289033   | 小蜜丸 | 3.3 mg·g <sup>-1</sup>  |         |
| S7   | 21015140 | 大蜜丸 | 13.4 mg·丸 <sup>-1</sup> |           | S33  | 289034   | 小蜜丸 | 2.9 mg·g <sup>-1</sup>  |         |
| S8   | 21015142 | 大蜜丸 | 12.9 mg·丸 <sup>-1</sup> |           | S34  | 20210401 | 大蜜丸 | 9.1 mg·丸 <sup>-1</sup>  | 山西华康药业股 |
| S9   | 21015145 | 大蜜丸 | 13.8 mg·丸 <sup>-1</sup> |           | S35  | 20210702 | 大蜜丸 | 9.4 mg·丸 <sup>-1</sup>  | 份有限公司   |
| S10  | 21015146 | 大蜜丸 | 12.7 mg·丸 <sup>-1</sup> |           | S36  | 20210704 | 大蜜丸 | 9.6 mg·丸 <sup>-1</sup>  |         |
| S11  | 21015147 | 大蜜丸 | 12.7 mg·丸 <sup>-1</sup> |           | S37  | 20211001 | 大蜜丸 | 9.7 mg·丸 <sup>-1</sup>  |         |
| S12  | 21015193 | 大蜜丸 | 13.0 mg·丸 <sup>-1</sup> |           | S38  | 20211002 | 大蜜丸 | 9.2 mg·丸 <sup>-1</sup>  |         |
| S13  | 21015194 | 大蜜丸 | 13.0 mg·丸 <sup>-1</sup> |           | S39  | 20211201 | 大蜜丸 | 9.4 mg·丸 <sup>-1</sup>  |         |
| S14  | 21015268 | 大蜜丸 | 13.0 mg·丸 <sup>-1</sup> |           | S40  | 20211202 | 大蜜丸 | 11.0 mg·丸 <sup>-1</sup> |         |
| S15  | 21015270 | 大蜜丸 | 12.9 mg·丸 <sup>-1</sup> |           | S41  | 20220101 | 大蜜丸 | 10.0 mg·丸 <sup>-1</sup> |         |
| S16  | 21015275 | 大蜜丸 | 15.2 mg·丸 <sup>-1</sup> |           | S42  | 20220102 | 大蜜丸 | 10.6 mg·丸 <sup>-1</sup> |         |
| S17  | 21015276 | 大蜜丸 | 12.9 mg·丸 <sup>-1</sup> |           | S43  | 20210601 | 大蜜丸 | 8.6 mg·丸 <sup>-1</sup>  | 山西万辉制药  |
| S18  | 21015280 | 大蜜丸 | 14.7 mg·丸 <sup>-1</sup> |           | S44  | 20210602 | 大蜜丸 | 10.4 mg·丸 <sup>-1</sup> | 有限公司    |
| S19  | 21015292 | 大蜜丸 | 11.6 mg·丸 <sup>-1</sup> |           | S45  | 20210902 | 大蜜丸 | 7.1 mg·丸 <sup>-1</sup>  |         |
| S20  | 21015293 | 大蜜丸 | 12.8 mg·丸 <sup>-1</sup> |           | S46  | 20211001 | 大蜜丸 | 7.9 mg·丸 <sup>-1</sup>  |         |
| S21  | 21015297 | 大蜜丸 | 11.7 mg·丸 <sup>-1</sup> |           | S47  | 20211002 | 大蜜丸 | 7.1 mg·丸 <sup>-1</sup>  |         |
| S22  | 21015298 | 大蜜丸 | 12.6 mg·丸 <sup>-1</sup> |           | S48  | 201101   | 小蜜丸 | 2.8 mg·g <sup>-1</sup>  | 药都制药集团股 |
| S23  | 21015300 | 大蜜丸 | 13.9 mg·丸 <sup>-1</sup> |           | S49  | 210101   | 大蜜丸 | 15.2 mg·丸 <sup>-1</sup> | 份有限公司   |
| S24  | 21015318 | 大蜜丸 | 13.4 mg·丸 <sup>-1</sup> |           | S50  | 210801   | 大蜜丸 | 13.6 mg·丸 <sup>-1</sup> |         |
| S25  | 114012   | 大蜜丸 | 18.0 mg·丸 <sup>-1</sup> | 北京御生堂集团石家 | S51  | 211001   | 大蜜丸 | 12.9 mg·丸 <sup>-1</sup> |         |
| S26  | 114013   | 大蜜丸 | 19.5 mg·丸 <sup>-1</sup> | 庄制药有限公司   | S52  | 220101   | 小蜜丸 | 2.4 mg·g <sup>-1</sup>  |         |

酸 17.75 μg/mL、香草酸 20.02 μg/mL、斯皮诺素 19.96 μg/mL、毛蕊异黄酮葡萄糖苷 30.81 μg/mL、阿魏酸 21.07 μg/mL、芸香柚皮苷 84.14 μg/mL、3,6'-二芥子酰基蔗糖 44.24 μg/mL、川陈皮素 17.63 μg/mL、橘皮素 17.17 μg/mL、藁本内酯 162.48 μg/mL、白术内酯 I 17.28 μg/mL 的混合对照品溶液。

## 2.2 供试品溶液的制备

取本品适量，剪碎，取约 3 g，精密称定，加硅藻土 1.5 g，充分研磨成薄片后剪碎，置圆底烧瓶中，精密加入甲醇 25 mL，密塞，称定质量，水浴加热回流 1 h，取出，放冷，再称定质量，用甲醇补足缺失的质量，摇匀，滤过，即得供试品溶液。

## 2.3 阴性样品溶液的制备

按照 RJP 处方工艺分别制备缺木香、砂仁、酸

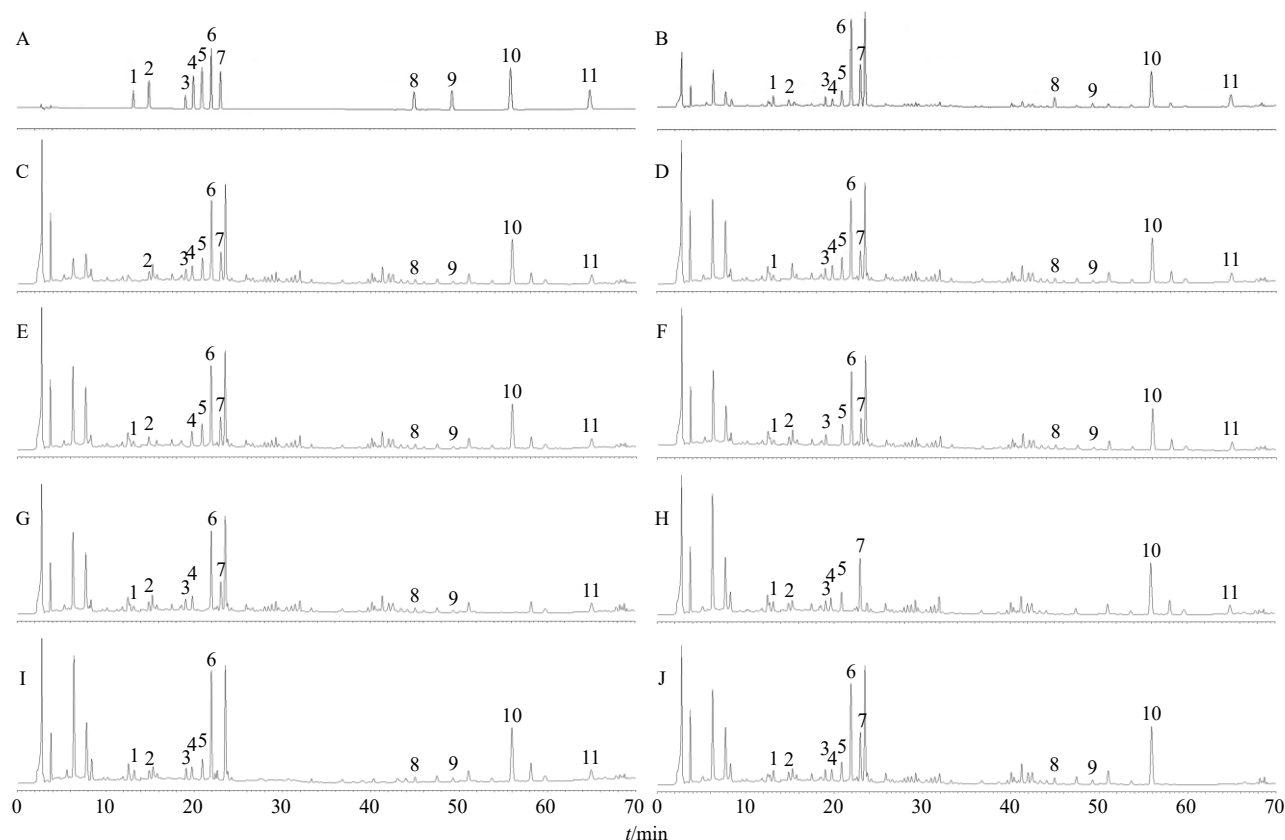
枣仁、黄芪、当归、陈皮、远志和白术的阴性样品，依照供试品溶液制备方法制成阴性样品溶液。

## 2.4 色谱条件

色谱柱为 Kromasil 100-5-C<sub>18</sub> 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 以乙腈-0.1%甲酸水溶液为流动相，梯度洗脱：0~60 min, 5%~65%乙腈；60~63 min, 65%乙腈；63~66 min, 65%~90%乙腈；66~70 min, 90%乙腈；体积流量为 1.0 mL/min；柱温为 35 ℃；波长切换检测：0~14 min, 325 nm；14~20.5 min, 260 nm；20.5~21.5 min, 325 nm；21.5~22.5 min, 282 nm；22.5~60 min, 325 nm；60~70 min, 277 nm；进样量为 10 μL。典型 HPLC 色谱图见图 1。

## 2.5 线性关系考察

精密量取对照品溶液 20、10、5、2、1、0.2 mL，



1-隐绿原酸 2-香草酸 3-斯皮诺素 4-毛蕊异黄酮葡萄糖苷 5-阿魏酸 6-芸香柚皮苷 7-3,6'-二芥子酰基蔗糖 8-川陈皮素 9-橘皮素 10-藜本内酯 11-白术内酯 I, 图 6、7 同

1-cryptochlorogenic acid 2-vanillic acid 3-spinosin 4-calycoflavone glucoside 5-ferulic acid 6-naringin 7-3,6'-disinailoyl sucrose 8-nobiletin 9-hesperetin 10-ligustilide 11-atractylenolide I, same as figures 6 and 7

图 1 混合对照品 (A)、RJP 样品 (B) 和缺木香阴性 (C)、缺砂仁阴性 (D)、缺酸枣仁阴性 (E)、缺黄芪阴性 (F)、缺当归阴性 (G)、缺陈皮阴性 (H)、缺远志阴性 (I)、缺白术阴性 (J) 的 HPLC 图

Fig. 1 HPLC of mixed reference substances (A), RJP sample (B), negative samples without *Aucklandiae Radix* (C), without *Amomi Fructus* (D), without *Ziziphi Spinosae Semen* (E), without *Astragali Radix* (F), without *Angelicae Sinensis Radix* (G), without *Citri Reticulatae Pericarpium* (H), without *Polygalae Radix* (I), without *Atractylodis Macrocephalae Rhizoma* (J)

分别置 20 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 即得系列对照品溶液。按照“2.4”项下色谱条件进样检测, 记录色谱峰峰面积, 以隐绿原酸、香草酸、斯皮诺素、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、阿魏酸、芸香柚皮苷、3,6'-二芥子酰基蔗糖、川陈皮素、橘皮素、藜本内酯、白术内酯 I 对照品的质量浓度为横坐标 ( $X$ )、峰面积为纵坐标 ( $Y$ ), 进行线性回归, 得到 11 种成分的回归方程、相关系数 ( $r$ ) 和线性范围分别为隐绿原酸  $Y=247\ 22.1 X-130\ 8.12$ ,  $r=0.999\ 7$ , 线性范围  $0.18\sim17.75\ \mu\text{g/mL}$ ; 香草酸  $Y=401\ 87.6 X-709\ 8.63$ ,  $r=1.000\ 0$ , 线性范围  $0.20\sim20.02\ \mu\text{g/mL}$ ; 斯皮诺素  $Y=176\ 19.0 X-306\ 8.45$ ,  $r=0.999\ 9$ , 线性范围  $0.20\sim19.96\ \mu\text{g/mL}$ ; 毛蕊异黄酮葡萄糖苷  $Y=331\ 65.3 X+197\ 9.89$ ,  $r=1.000\ 0$ , 线性范围  $0.31\sim30.81\ \mu\text{g/mL}$ ; 阿魏酸  $Y=586\ 60.4 X-946\ 1.61$ ,  $r=$

$1.000\ 0$ , 线性范围  $0.21\sim21.07\ \mu\text{g/mL}$ ; 芸香柚皮苷  $Y=186\ 79.1 X-115\ 31.3$ ,  $r=1.000\ 0$ , 线性范围  $0.84\sim84.14\ \mu\text{g/mL}$ ; 3,6'-二芥子酰基蔗糖  $Y=256\ 62.0 X-823\ 8.58$ ,  $r=0.999\ 9$ , 线性范围  $0.44\sim44.24\ \mu\text{g/mL}$ ; 川陈皮素  $Y=390\ 53.8 X-640\ 4.45$ ,  $r=0.999\ 9$ , 线性范围  $0.18\sim17.63\ \mu\text{g/mL}$ ; 橘皮素  $Y=565\ 49.4 X-540\ 6.31$ ,  $r=0.999\ 9$ , 线性范围  $0.17\sim17.17\ \mu\text{g/mL}$ ; 藜本内酯  $Y=113\ 26.8 X-137\ 32.0$ ,  $r=1.000\ 0$ , 线性范围  $1.62\sim162.48\ \mu\text{g/mL}$ ; 白术内酯 I  $Y=444\ 06.2 X-286\ 3.47$ ,  $r=0.999\ 8$ , 线性范围  $0.17\sim17.28\ \mu\text{g/mL}$ 。

## 2.6 精密度试验

取上述混合对照品溶液, 依法连续进样 6 次, 每次  $10\ \mu\text{L}$ , 得隐绿原酸、香草酸、斯皮诺素、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、阿魏酸、芸香柚皮苷、3,6'-二芥子

酰基蔗糖、川陈皮素、橘皮素、藁本内酯、白术内酯 I 峰面积的 RSD 分别为 0.97%、1.09%、0.86%、0.38%、0.98%、0.66%、0.88%、1.85%、1.27%、1.03%、1.76%，表明该仪器精密度良好。

## 2.7 稳定性试验

取供试品 (S23)，按照“2.2”项下方法制备供试品溶液，分别于制备后 0、6、12、18、24 h，按照“2.4”项下色谱条件进样 10  $\mu$ L，得隐绿原酸、香草酸、斯皮诺素、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、阿魏酸、芸香柚皮苷、3,6'-二芥子酰基蔗糖、川陈皮素、橘皮素、藁本内酯、白术内酯 I 峰面积的 RSD 分别为 0.37%、0.52%、0.92%、1.14%、1.72%、1.02%、0.87%、0.98%、0.77%、0.66%、1.05%，结果表明供试品溶液 24 h 内稳定。

## 2.8 重复性试验

取供试品 (S23) 适量，按照“2.2”项下方法平行制备 6 份供试品溶液，依法进样 10  $\mu$ L，以“2.5”项下线性方程计算 11 种成分的含量。结果样品中隐绿原酸、香草酸、斯皮诺素、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、阿魏酸、芸香柚皮苷、3,6'-二芥子酰基蔗糖、川陈皮素、橘皮素、藁本内酯、白术内酯 I 质量分数平均值分别为 0.019、0.020、0.039、0.027、0.032、0.411、0.092、0.020、0.009、0.415、0.044 mg/g，RSD 分别为 0.78%、0.99%、0.63%、1.02%、1.15%、1.22%、0.56%、0.43%、0.96%、0.72%、1.27%，表明重复性良好。

## 2.9 加样回收率试验

取已知待测成分含量的供试品 (S23) 适量，剪碎，取约 1.5 g，精密称定，加硅藻土 0.75 g，充分研磨成薄片后剪碎，置圆底烧瓶中，精密加入混合对照品溶液（隐绿原酸、香草酸、斯皮诺素、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、阿魏酸、芸香柚皮苷、3,6'-二芥子酰基蔗糖、川陈皮素、橘皮素、藁本内酯、白术内酯 I 的质量浓度分别为 3.057、2.817、6.258、3.722、5.159、50.077、15.223、3.305、1.502、54.160、6.480  $\mu$ g/mL）10 mL，再精密加入甲醇 15 mL，称定质量，加热回流 1 h，放冷，再称定质量，用甲醇补足减失的质量，摇匀，滤过，取续滤液，即得。平行制备 6 份供试品溶液，依法进样 10  $\mu$ L，计算上述 11 种成分的加样回收率。结果隐绿原酸、香草酸、斯皮诺素、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、阿魏酸、芸香柚皮苷、3,6'-二芥子酰基蔗糖、川陈皮素、橘皮素、藁本内酯、白术内酯 I 的平均加样回收率分别为 97.46%、

101.61%、103.02%、96.49%、102.88%、96.97%、97.92%、99.13%、94.29%、92.16%、95.57%，RSD 分别为 0.78%、0.57%、1.12%、1.65%、0.73%、0.91%、1.23%、1.34%、1.54%、1.92%、1.76%，符合《中国药典》2020 年版四部“通则 9101 分析方法验证指导原则”项下规定范围<sup>[5]</sup>。

## 2.10 检测限与定量限

取“2.1”项下对照品溶液逐步稀释，精密吸取 10  $\mu$ L 注入液相色谱仪，记录色谱图。以色谱图信噪比为 3:1 时待测成分的相应质量浓度为检测限，以色谱图信噪比为 10:1 时待测成分的相应质量浓度为定量限。经试验，隐绿原酸、香草酸、斯皮诺素、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、阿魏酸、芸香柚皮苷、3,6'-二芥子酰基蔗糖、川陈皮素、橘皮素、藁本内酯、白术内酯 I 的检测限分别为 0.09、0.07、0.10、0.15、0.05、0.08、0.11、0.09、0.09、0.20、0.09  $\mu$ g/mL，定量限分别为 0.22、0.20、0.30、0.31、0.16、0.28、0.33、0.26、0.21、0.81、0.26  $\mu$ g/mL。

## 2.11 样品测定

取 RJP52 批 (S1~S52)，按照“2.2”项下方法每批次平行制备 3 份 RJP 供试品溶液，按照“2.4”项下色谱条件进样检测隐绿原酸、香草酸、斯皮诺素、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、阿魏酸、芸香柚皮苷、3,6'-二芥子酰基蔗糖、川陈皮素、橘皮素、藁本内酯、白术内酯 I 峰面积，外标法计算 RJP 中 11 种指标成分的含量（表 2）。为进一步显示样品的含量特征，绘制样品含量雷达图（图 2）。表 2 和图 2 表明，各样品的指标成分含量存在一定差异，如样品 S43~S47 中藁本内酯含量明显偏低，可能与当归的投料量或储存年限有关；样品 S9~S13 和样品 S48~S52 中芸香柚皮苷含量明显偏低，而川陈皮素含量明显偏高，可能与投料陈皮的产地或采收季节有关。因此，本方法可在一定程度上反映 RJP 原料药材的投料情况及质量状况。

## 2.12 化学计量学分析

化学计量学是以计算机和近代计算技术为基础的一门新兴交叉学科，通过统计学或数学方法在化学体系的测量值与体系的状态之间建立联系，在中药的质量控制与评价研究中具有重要意义<sup>[6]</sup>。因此，为评价不同生产企业和批次 RJP 样品之间的差异，寻找差异性成分，有必要对其含量测定结果进行化学计量学分析。

### 2.12.1 层次聚类分析 (hierarchical cluster analysis,

表 2 RJP 中 11 种成分含量测定结果 ( $n = 3$ )  
Table 2 Results of determination of 11 components in RJP ( $n = 3$ )

| 样品<br>编号 | 质量分数/(mg·g <sup>-1</sup> ) |       |       |               |       |       |                  |       |       |       |        |
|----------|----------------------------|-------|-------|---------------|-------|-------|------------------|-------|-------|-------|--------|
|          | 隐绿原酸                       | 香草酸   | 斯皮诺素  | 毛蕊异黄酮<br>葡萄糖苷 | 阿魏酸   | 芸香柚皮苷 | 3,6'-二芥子<br>酰基蔗糖 | 川陈皮素  | 橘皮素   | 藁本内脂  | 白术内酯 I |
| S1       | 0.019                      | 0.016 | 0.039 | 0.016         | 0.019 | 0.287 | 0.086            | 0.014 | 0.006 | 0.154 | 0.089  |
| S2       | 0.016                      | 0.016 | 0.044 | 0.017         | 0.019 | 0.285 | 0.090            | 0.013 | 0.006 | 0.169 | 0.062  |
| S3       | 0.021                      | 0.024 | 0.037 | 0.006         | 0.026 | 0.242 | 0.084            | 0.090 | 0.043 | 0.196 | 0.065  |
| S4       | 0.022                      | 0.024 | 0.039 | 0.008         | 0.028 | 0.247 | 0.093            | 0.092 | 0.043 | 0.259 | 0.041  |
| S5       | 0.023                      | 0.022 | 0.037 | 0.011         | 0.027 | 0.291 | 0.093            | 0.054 | 0.025 | 0.259 | 0.047  |
| S6       | 0.017                      | 0.022 | 0.033 | 0.012         | 0.030 | 0.279 | 0.094            | 0.067 | 0.032 | 0.295 | 0.058  |
| S7       | 0.020                      | 0.021 | 0.035 | 0.009         | 0.028 | 0.306 | 0.077            | 0.044 | 0.020 | 0.336 | 0.048  |
| S8       | 0.021                      | 0.021 | 0.036 | 0.009         | 0.029 | 0.273 | 0.077            | 0.060 | 0.028 | 0.280 | 0.048  |
| S9       | 0.028                      | 0.032 | 0.045 | 0.009         | 0.039 | 0.115 | 0.092            | 0.237 | 0.113 | 0.406 | 0.042  |
| S10      | 0.025                      | 0.029 | 0.039 | 0.008         | 0.034 | 0.088 | 0.086            | 0.222 | 0.105 | 0.294 | 0.040  |
| S11      | 0.024                      | 0.029 | 0.040 | 0.008         | 0.034 | 0.090 | 0.082            | 0.225 | 0.107 | 0.276 | 0.044  |
| S12      | 0.025                      | 0.028 | 0.040 | 0.008         | 0.035 | 0.099 | 0.086            | 0.227 | 0.108 | 0.296 | 0.044  |
| S13      | 0.026                      | 0.030 | 0.041 | 0.008         | 0.034 | 0.097 | 0.081            | 0.230 | 0.111 | 0.261 | 0.055  |
| S14      | 0.019                      | 0.019 | 0.037 | 0.027         | 0.029 | 0.377 | 0.087            | 0.023 | 0.010 | 0.380 | 0.044  |
| S15      | 0.019                      | 0.018 | 0.036 | 0.026         | 0.028 | 0.373 | 0.088            | 0.018 | 0.009 | 0.350 | 0.048  |
| S16      | 0.015                      | 0.019 | 0.053 | 0.029         | 0.026 | 0.400 | 0.094            | 0.020 | 0.010 | 0.367 | 0.045  |
| S17      | 0.019                      | 0.018 | 0.036 | 0.026         | 0.025 | 0.372 | 0.085            | 0.020 | 0.009 | 0.326 | 0.042  |
| S18      | 0.014                      | 0.019 | 0.035 | 0.026         | 0.028 | 0.370 | 0.093            | 0.027 | 0.013 | 0.374 | 0.050  |
| S19      | 0.018                      | 0.017 | 0.032 | 0.024         | 0.026 | 0.338 | 0.078            | 0.020 | 0.009 | 0.303 | 0.041  |
| S20      | 0.019                      | 0.016 | 0.034 | 0.024         | 0.025 | 0.365 | 0.082            | 0.022 | 0.010 | 0.321 | 0.035  |
| S21      | 0.016                      | 0.016 | 0.033 | 0.024         | 0.027 | 0.339 | 0.080            | 0.017 | 0.008 | 0.338 | 0.043  |
| S22      | 0.019                      | 0.018 | 0.037 | 0.024         | 0.030 | 0.365 | 0.086            | 0.018 | 0.008 | 0.373 | 0.046  |
| S23      | 0.019                      | 0.020 | 0.039 | 0.027         | 0.032 | 0.406 | 0.092            | 0.020 | 0.009 | 0.418 | 0.044  |
| S24      | 0.019                      | 0.018 | 0.036 | 0.025         | 0.032 | 0.394 | 0.089            | 0.021 | 0.010 | 0.434 | 0.043  |
| S25      | 0.019                      | 0.021 | 0.044 | 0.016         | 0.003 | 0.383 | 0.077            | 0.019 | 0.007 | 0.247 | 0.022  |
| S26      | 0.019                      | 0.021 | 0.047 | 0.016         | 0.008 | 0.445 | 0.084            | 0.021 | 0.009 | 0.265 | 0.031  |
| S27      | 0.020                      | 0.020 | 0.041 | 0.017         | 0.003 | 0.368 | 0.088            | 0.019 | 0.009 | 0.153 | 0.035  |
| S28      | 0.019                      | 0.016 | 0.041 | 0.015         | 0.006 | 0.324 | 0.088            | 0.028 | 0.015 | 0.177 | 0.033  |
| S29      | 0.026                      | 0.020 | 0.041 | 0.033         | 0.003 | 0.335 | 0.095            | 0.023 | 0.011 | 0.269 | 0.050  |
| S30      | 0.026                      | 0.027 | 0.044 | 0.032         | 0.009 | 0.506 | 0.101            | 0.024 | 0.011 | 0.384 | 0.035  |
| S31      | 0.029                      | 0.017 | 0.049 | 0.031         | 0.004 | 0.466 | 0.104            | 0.025 | 0.012 | 0.305 | 0.041  |
| S32      | 0.029                      | 0.018 | 0.049 | 0.034         | 0.004 | 0.464 | 0.105            | 0.026 | 0.012 | 0.288 | 0.045  |
| S33      | 0.023                      | 0.032 | 0.049 | 0.027         | 0.004 | 0.382 | 0.096            | 0.036 | 0.019 | 0.202 | 0.043  |
| S34      | 0.022                      | 0.016 | 0.030 | 0.021         | 0.026 | 0.240 | 0.102            | 0.026 | 0.014 | 0.519 | 0.029  |
| S35      | 0.022                      | 0.015 | 0.030 | 0.018         | 0.025 | 0.233 | 0.106            | 0.021 | 0.011 | 0.420 | 0.038  |
| S36      | 0.020                      | 0.017 | 0.028 | 0.018         | 0.027 | 0.241 | 0.101            | 0.025 | 0.012 | 0.427 | 0.035  |
| S37      | 0.022                      | 0.018 | 0.031 | 0.017         | 0.026 | 0.250 | 0.105            | 0.030 | 0.016 | 0.427 | 0.045  |
| S38      | 0.021                      | 0.017 | 0.029 | 0.018         | 0.026 | 0.241 | 0.099            | 0.024 | 0.012 | 0.485 | 0.043  |
| S39      | 0.023                      | 0.017 | 0.033 | 0.018         | 0.025 | 0.218 | 0.120            | 0.030 | 0.015 | 0.514 | 0.051  |

续表 2

| 样品<br>编号 | 质量分数/(mg·g <sup>-1</sup> ) |       |       |               |       |       |                  |       |       |       |        |
|----------|----------------------------|-------|-------|---------------|-------|-------|------------------|-------|-------|-------|--------|
|          | 隐绿原酸                       | 香草酸   | 斯皮诺素  | 毛蕊异黄酮<br>葡萄糖苷 | 阿魏酸   | 芸香柚皮苷 | 3,6'-二芥子<br>酰基蔗糖 | 川陈皮素  | 橘皮素   | 藁本内酯  | 白术内酯 I |
| S40      | 0.026                      | 0.017 | 0.027 | 0.022         | 0.030 | 0.243 | 0.128            | 0.037 | 0.020 | 0.648 | 0.039  |
| S41      | 0.025                      | 0.017 | 0.029 | 0.020         | 0.027 | 0.227 | 0.117            | 0.035 | 0.018 | 0.563 | 0.043  |
| S42      | 0.027                      | 0.019 | 0.032 | 0.020         | 0.028 | 0.238 | 0.125            | 0.039 | 0.020 | 0.626 | 0.048  |
| S43      | 0.018                      | 0.013 | 0.022 | 0.023         | 0.017 | 0.121 | 0.030            | 0.018 | 0.006 | 0.169 | 0.040  |
| S44      | 0.016                      | 0.016 | 0.018 | 0.019         | 0.014 | 0.137 | 0.019            | 0.021 | 0.006 | 0.143 | 0.045  |
| S45      | 0.015                      | 0.018 | 0.019 | 0.011         | 0.013 | 0.131 | 0.031            | 0.020 | 0.009 | 0.083 | 0.045  |
| S46      | 0.016                      | 0.015 | 0.022 | 0.010         | 0.012 | 0.149 | 0.028            | 0.021 | 0.009 | 0.085 | 0.044  |
| S47      | 0.015                      | 0.016 | 0.021 | 0.009         | 0.012 | 0.119 | 0.026            | 0.019 | 0.008 | 0.084 | 0.044  |
| S48      | 0.036                      | 0.017 | 0.035 | 0.056         | 0.043 | 0.051 | 0.134            | 0.192 | 0.064 | 0.336 | 0.046  |
| S49      | 0.028                      | 0.023 | 0.042 | 0.027         | 0.041 | 0.045 | 0.120            | 0.182 | 0.061 | 0.413 | 0.054  |
| S50      | 0.036                      | 0.020 | 0.049 | 0.025         | 0.039 | 0.041 | 0.105            | 0.202 | 0.069 | 0.438 | 0.043  |
| S51      | 0.030                      | 0.019 | 0.035 | 0.012         | 0.038 | 0.038 | 0.108            | 0.179 | 0.058 | 0.336 | 0.057  |
| S52      | 0.028                      | 0.020 | 0.042 | 0.019         | 0.039 | 0.047 | 0.103            | 0.186 | 0.062 | 0.300 | 0.114  |

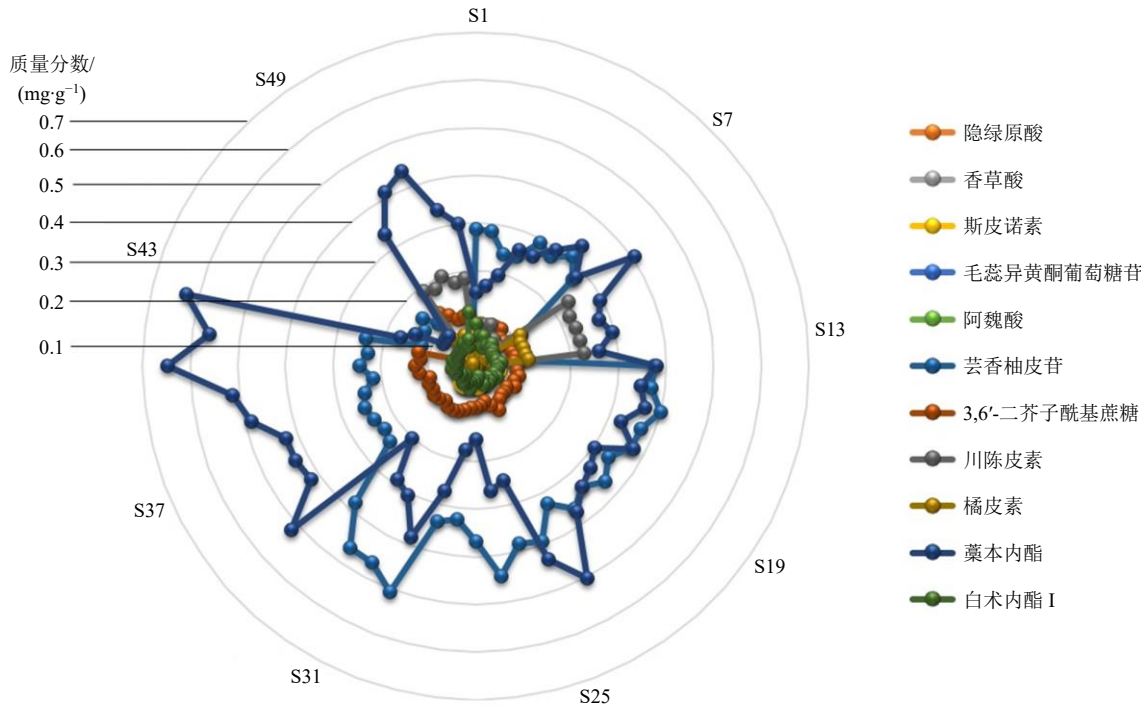


图 2 RJP 样品中 11 种成分含量雷达图  
Fig. 2 Radar chart of 11 components in RJP

HCA) HCA 是根据同类样品相似度高在多维空间中距离较小的原理,对未知分类样品在模式空间中寻找相互关联的部分,依据相似度进行分类的一种统计方法<sup>[7]</sup>。以 52 批次 RJP 样品中 11 个成分的含量为变量,导入 SPSS 24.0 软件,采用组间联接、余弦法进行 HCA,输出垂直方向谱系图。结果如图

3 所示,当分类距离为 5 时,52 批样品可聚为 3 类:北京同仁堂股份有限公司同仁堂制药厂部分样品(S9~S13)和药都制药集团股份有限公司所有样品(S48~S52)共 10 批样品为 I 类,山西华康药业股份有限公司所有 9 批样品(S34~S42)为 II 类,其余 33 批样品为 III 类。

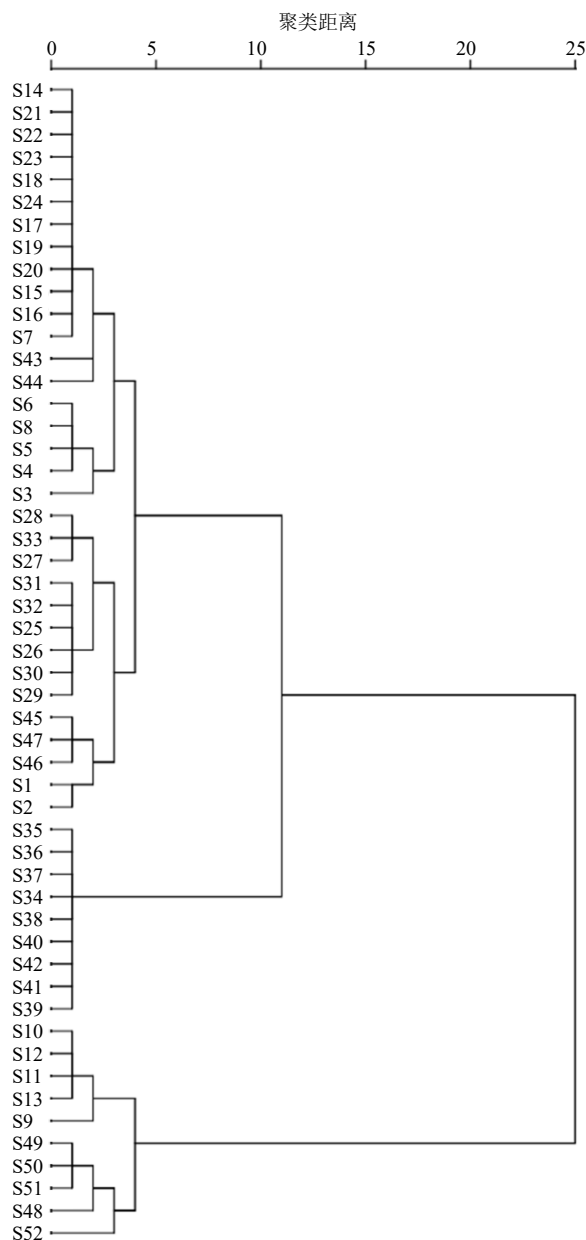


图 3 52 批 RJP 的 HCA 树状图

Fig. 3 HCA dendrogram of 52 batches of RJP

**2.12.2 主成分分析 (principal component analysis, PCA)** PCA 是统计学常用的降维分析方法,以最大方差为原则,将数据的多元变量提取转换成少数变量,尽可能多地反映原有变量的信息,对于复杂的中药体系而言,可以表征化学测量数据的整体情况<sup>[8]</sup>。以 52 批次 RJP 样品中 11 个成分的含量为变量,导入 SPSS 24.0 软件,进行 PCA,以特征值 > 1 为提取标准,提取 4 个主成分因子,累积方差贡献率达到 84.404%,说明这 4 个主成分因子能反映原有变量 84.404% 的信息,即可以用 4 个主成分因子代替原始 11 个成分评价 RJP 样品。主成分因子

特征值及方差贡献率见表 3。

主成分因子载荷矩阵反映了各主成分与 11 个成分即原始变量之间的相关系数,结果见表 4,主成分因子 1 主要反映了隐绿原酸、香草酸、川陈皮素和橘皮素的信息,主成分因子 2 主要反映了毛蕊异黄酮葡萄糖苷、芸香柚皮苷、3,6'-二芥子酰基蔗糖和藁本内酯的信息,主成分因子 3 主要反映了香草酸和斯皮诺素的信息,主成分因子 4 主要反映白术内酯 I 的信息。将 52 批次 RJP 样品中 11 个成分的含量数据导入 SIMCA 14.1 软件,经分析生成得

表 3 RJP 中主成分因子特征值及方差贡献率

Table 3 Eigenvalue and variance contribution rate of principal component factors in RJP

| 主成分因子 | 初始特征值 |         |           | 提取特征值 |         |           |
|-------|-------|---------|-----------|-------|---------|-----------|
|       | 总计    | 方差贡献率/% | 累积方差贡献率/% | 总计    | 方差贡献率/% | 累积方差贡献率/% |
| 1     | 4.155 | 37.776  | 37.776    | 4.155 | 37.776  | 37.776    |
| 2     | 2.476 | 22.505  | 60.282    | 2.476 | 22.505  | 60.282    |
| 3     | 1.626 | 14.784  | 75.065    | 1.626 | 14.784  | 75.065    |
| 4     | 1.027 | 9.339   | 84.404    | 1.027 | 9.339   | 84.404    |
| 5     | 0.795 | 7.223   | 91.627    |       |         |           |
| 6     | 0.426 | 3.876   | 95.503    |       |         |           |
| 7     | 0.237 | 2.159   | 97.662    |       |         |           |
| 8     | 0.111 | 1.011   | 98.673    |       |         |           |
| 9     | 0.084 | 0.767   | 99.440    |       |         |           |
| 10    | 0.056 | 0.507   | 99.947    |       |         |           |
| 11    | 0.006 | 0.053   | 100.000   |       |         |           |

表 4 RJP 中主成分因子载荷矩阵

Table 4 Loading matrix of principal component factors in RJP

| 成分           | 主成分因子载荷 |        |        |        |
|--------------|---------|--------|--------|--------|
|              | 1       | 2      | 3      | 4      |
| 隐绿原酸         | 0.741   | 0.407  | 0.000  | 0.077  |
| 香草酸          | 0.636   | -0.140 | 0.617  | -0.221 |
| 斯皮诺素         | 0.347   | 0.456  | 0.720  | 0.227  |
| 毛蕊异黄酮葡萄糖苷    | -0.127  | 0.733  | -0.096 | 0.258  |
| 阿魏酸          | 0.711   | 0.006  | -0.512 | -0.046 |
| 芸香柚皮苷        | -0.631  | 0.529  | 0.436  | -0.028 |
| 3,6'-二芥子酰基蔗糖 | 0.466   | 0.800  | -0.088 | 0.032  |
| 川陈皮素         | 0.952   | -0.225 | 0.075  | -0.010 |
| 橘皮素          | 0.927   | -0.267 | 0.150  | -0.119 |
| 藁本内酯         | 0.291   | 0.683  | -0.447 | -0.348 |
| 白术内酯 I       | 0.306   | -0.191 | -0.175 | 0.846  |



分图。如图 4 所示, 样品可大体聚为 3 类, 分类结果与 HCA 结果一致。

**2.12.3 正交偏最小二乘法-判别分析 (orthogonal partial least squares-discriminant analysis, OPLS-DA)** 为进一步分析引起样品质量差异的原因, 筛选出对差异贡献较大的成分, 本研究基于 HCA 和 PCA 结果, 建立 OPLS-DA 模型进行有监督的判别分析<sup>[9]</sup>。将 52 批次 RJP 样品中 11 个成分的含量数据导入 SIMCA 14.1 软件, 自动拟合建立 OPLS-DA 模型,

累积解释能力参数 ( $R^2$ 、 $R^2_Y$ ) 分别为 0.941 和 0.900, 预测能力参数  $Q^2$  为 0.873, 均大于 0.5, 表明所构建 OPLS-DA 模型稳定可靠、预测能力良好。

对建立的模型进行 200 次置换检测, 结果如图 5 所示,  $R^2$  和  $Q^2$  的回归线斜率均较大, 且左侧随机排列得到的  $R^2$  和  $Q^2$  均小于右侧的原始值, 表明所构建的 OPLS-DA 模型未出现过拟合现象, 具有较好的预测能力, 可用于进一步的数据分析。

S-Plot 图可以体现各变量的贡献度与样品间的

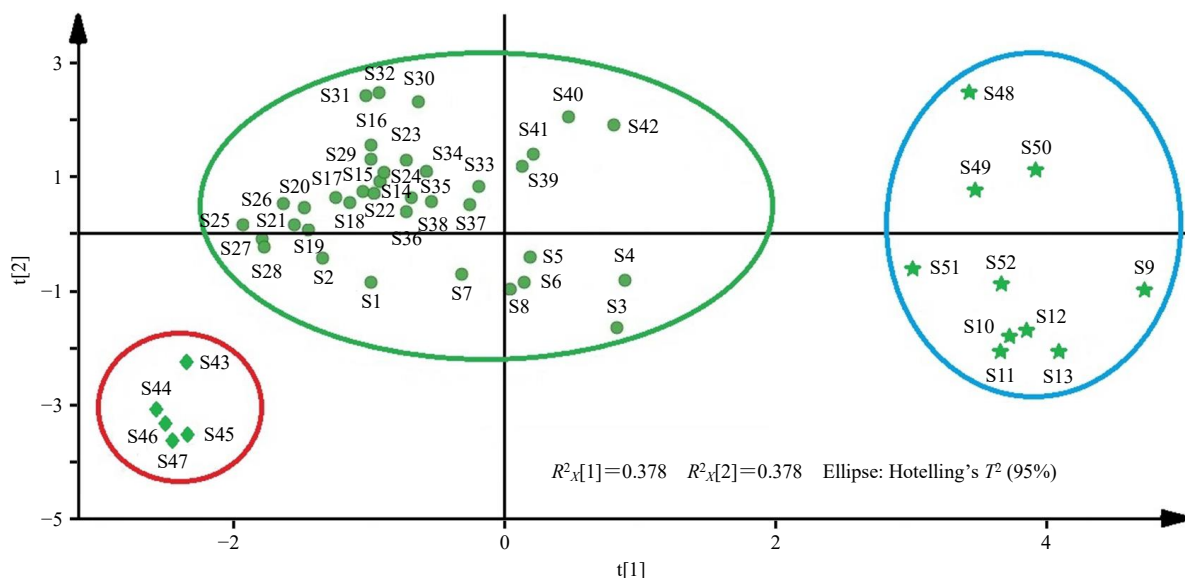


图 4 52 批 RJP 主成分得分图

Fig. 4 PCA score plot of 52 batches of RJP

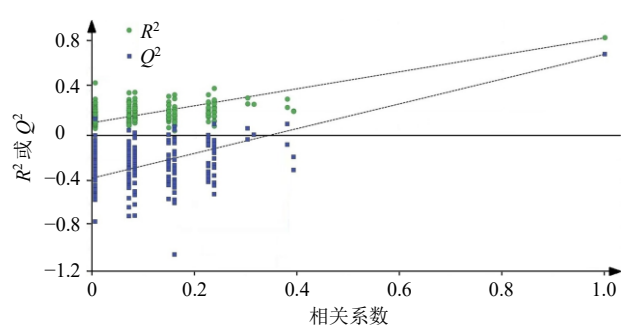


图 5 OPLS-DA 模型 200 次置换检测图

Fig. 5 200 permutation detection plot of OPLS-DA model

相关性, S 形 2 个角上的变量是影响样品差异性的潜在标志物。因此, 进一步生成 OPLS-DA 模型的 S-Plot 图, 如图 6 所示, 芸香柚皮苷 (6 号峰)、藁本内酯 (10 号峰) 和川陈皮素 (8 号峰) 可能是影响样品差异性的标志物。

变量重要性投影 (variable importance in projection, VIP) 值表示差异成分对各组样品分类判

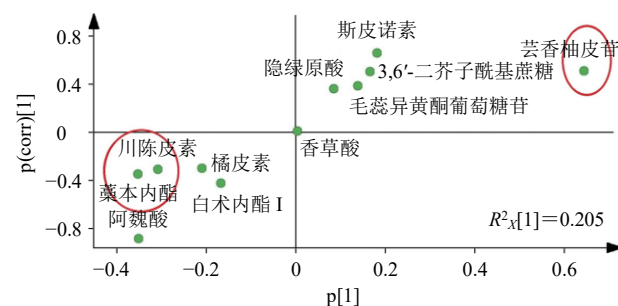


图 6 OPLS-DA 模型 S-Plot 图

Fig. 6 S-Plot figure of OPLS-DA model

别的影响强度和解释能力, 是筛选差异性化合物的重要指标。VIP 值越大, 对差异的影响越大, 通常以 VIP 值  $> 1$  作为筛选标准<sup>[10]</sup>。经 OPLS-DA, 生成 11 个成分的 VIP 得分图, 结果见图 7。以 VIP 值  $> 1$  为阈值, 筛选出了 3 个变量, 按 VIP 值的大小依次排序为藁本内酯 (10 号峰)、芸香柚皮苷 (6 号峰)、川陈皮素 (8 号峰), 此 3 个成分对样品分类具有显著影响, 是引起样品差异的主要标志物。

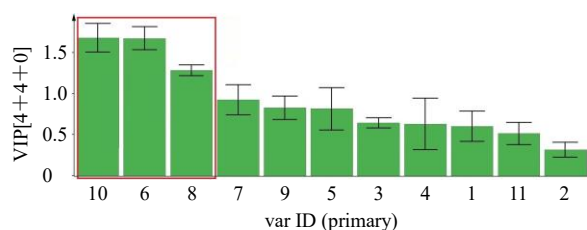


图 7 RJP 中 11 个成分的 VIP 得分图

Fig. 7 VIP score plot of 11 components in RJP

### 3 讨论

#### 3.1 指标成分的选择、药味归属和指认

RJP 由多种药味组方而成, 处方成分较为复杂, 因此采用梯度洗脱法对 RJP 及其处方药味进行成分分析, 最终选择 11 个色谱峰面积较大且药味专属性较好的成分作为指标成分。同时明确了 11 个成分分别来源于木香 (隐绿原酸)、砂仁 (香草酸)、酸枣仁 (斯皮诺素)、黄芪 (毛蕊异黄酮葡萄糖苷)、当归 (阿魏酸、藁本内酯)、陈皮 (芸香柚皮苷、川陈皮素、橘皮素)、远志 (3,6'-二芥子酰基蔗糖) 和白术 (白术内酯 I) 8 味药材。以中药质量标志物<sup>[11-14]</sup>概念为依据, 根据相关文献报道<sup>[15-22]</sup>推断出各个成分, 再用对照品进行色谱峰定位, 对 11 个成分进行了指认。

#### 3.2 检测波长的选择

采用二极管阵列检测器对 11 个成分进行全波长 (190~600 nm) 扫描。结果表明, 隐绿原酸、阿魏酸、3,6'-二芥子酰基蔗糖、川陈皮素、橘皮素、藁本内酯在 325nm 波长处有较大吸收, 香草酸、斯皮诺素、毛蕊异黄酮葡萄糖苷在 260 nm 波长处有较大吸收, 芸香柚皮苷在 282 nm 波长处有较大吸收, 白术内酯 I 在 277m 波长处有较大吸收, 因此, 选择切换波长检测。

#### 3.3 供试品溶液制备方法的选择

本实验对不同提取方式 [加热回流和超声 (功率 250 W、频率 40 kHz)]、提取溶剂 (50%甲醇、甲醇)、提取时间 (0.5、1.0、1.5 h) 和供试品取样量 (1.5、3.0、6.0 g) 进行考察, 结果超声提取、提取溶剂 50%甲醇、提取时间 0.5 h、供试品取样量 6.0 g 等 4 种方法提取率总体相对较低, 同时为节省时间和确保取样均匀, 确定制备方法为取样量 3.0 g, 以甲醇为提取溶剂, 加热回流提取 1 h。

#### 3.4 研究不足

实验中尝试测定人参中人参皂苷类成分、茯苓中三萜类成分和山药中核苷类成分, 但此实验条件

下存在色谱峰面积较小、分离度差等问题, 因此未进行定量分析。故本实验分析的 11 个成分无法反映处方中人参、茯苓、山药的质量状况。此外, 保留时间 10~25 min 内的色谱峰较密集, 且本实验为波长切换法, 因此, 可能存在仪器和色谱柱耐用性差的问题。后期需进一步优化色谱条件, 提高各成分的分度。

### 4 结论

本实验采用波长切换技术, 建立了一种可同时测定 RJP 中 11 个成分含量的 HPLC 方法, 并结合 HCA、PCA 和 OPLS-DA 等化学计量学方法, 对样品之间的差异性和影响因素进行统计分析。挖掘出芸香柚皮苷、藁本内酯、川陈皮素对 RJP 质量影响较大, 生产企业在生产中可重点关注这 3 个成分的含量及对应原药材的质量。本实验建立的方法准确可靠、直观明确、操作便捷, 可用于 RJP 的质量控制与评价。

**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: 491.
- [2] 孟凡双, 郜玉钢, 臧埔, 等. 人参健脾丸中 16 种人参皂苷的质量评价 [J]. 中南药学, 2016, 14(8): 863-866.
- [3] 祝洪艳, 张力娜, 王国丽, 等. 高效液相色谱法同时测定人参健脾丸中人参皂苷 Rg<sub>1</sub>、Re、Rb<sub>1</sub> 和酸枣仁皂苷 A、B 的含量 [J]. 中国药理学杂志, 2016, 51(9): 751-756.
- [4] 陈健, 胡幸, 吕紫璇, 等. 高效液相色谱-蒸发光散射检测器法测定人参健脾丸中黄芪甲苷含量 [J]. 中国药业, 2014, 23(22): 55-56.
- [5] 中国药典 [S]. 四部. 2020: 480.
- [6] 孙立丽, 王萌, 任晓亮. 化学模式识别方法在中药质量控制研究中的应用进展 [J]. 中草药, 2017, 48(20): 4339-4345.
- [7] 李平, 李新峰, 蔡晓旭, 等. 基于 HPLC 多指标成分定量测定联合化学计量学、熵权优劣解距离法的降糖通脉片质量评价研究 [J]. 中草药, 2023, 54(8): 2417-2426.
- [8] 林丽, 李欢欢, 谢辉, 等. 基于 HPLC 指纹图谱结合化学计量学的旋覆花药材质量评价研究 [J]. 中草药, 2021, 52(6): 1751-1758.
- [9] 金唯唯, 金华燕, 费状丽, 等. 基于 HPLC 指纹图谱结合化学模式识别辨析补中益气产品质量标志物 [J]. 中草药, 2023, 54(7): 2114-2126.
- [10] 刘天亮, 杨林林, 董诚明, 等. 基于化学模式识别的不同产地金银花 HPLC 指纹图谱研究 [J]. 中草药, 2022, 53(15): 4833-4843.

- [11] 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.
- [12] 张铁军, 白钢, 刘昌孝. 中药质量标志物的概念、核心理论与研究方法 [J]. 药学报, 2019, 54(2): 187-196.
- [13] Liu M Q, Zhao X R, Ma Z C, *et al.* Discovery of potential Q-marker of traditional Chinese medicine based on chemical profiling, chemometrics, network pharmacology, and molecular docking: *Centipeda minima* as an example [J]. *Phytochem Anal*, 2022, 33(8): 1225-1234.
- [14] Cheng Y F, Xiao M, Chen J M, *et al.* Quality assessment and Q-markers discovery of Tongsaimai Tablet by integrating serum pharmacochimistry and network pharmacology for anti-atherosclerosis benefit [J]. *Chin Med*, 2022, 17(1): 103-103.
- [15] 谭小娟, 李世雄, 李璎峪, 等. 白术饮片的指纹图谱形状特征与质量标志物(Q-Marker)研究 [J]. 中草药, 2021, 52(16): 4844-4851.
- [16] 周欣, 张琳, 毛婵, 等. 基于化学计量学方法结合正交偏最小二乘判别分析的陈皮饮片 HPLC 指纹图谱研究 [J]. 中草药, 2019, 50(9): 2194-2200.
- [17] 汪英俊, 严辉, 黄胜良, 等. 当归 HPLC 指纹图谱建立及化学计量学评价 [J]. 中成药, 2020, 42(2): 514-519.
- [18] 牟佳佳, 陈芳, 陈党辉, 等. 黄芪中 5 种黄酮类成分的含量测定及其指纹图谱研究 [J]. 药物评价研究, 2019, 42(5): 900-906.
- [19] 黎晓丽, 孙冬梅, 罗宇琴, 等. 基于主成分分析及聚类判别模式的木香 UPLC 指纹图谱研究 [J]. 中草药, 2019, 50(20): 5040-5046.
- [20] 申丽, 王洋, 江坤, 等. 阳春砂、绿壳砂与海南砂高效液相色谱指纹图谱比较研究 [J]. 中国药理学杂志, 2016, 51(12): 1039-1043.
- [21] 李佳涵, 王慧, 刘佳星, 等. 整合指纹图谱与多成分含量测定的酸枣仁汤质量评价研究 [J]. 中草药, 2022, 53(15): 4698-4708.
- [22] 彭亮, 杨冰月, 张琳, 等. 野生与栽培远志 HPLC 指纹图谱及化学模式识别研究 [J]. 中草药, 2018, 49(21): 4998-5003.

[责任编辑 郑礼胜]