

加味柴胡疏肝散基准样品 HPLC 指纹图谱及关键质量属性量值传递规律研究

姜艳雯^{1,2}, 邹恺平¹, 陈梦娇^{1,2}, 刘 顺¹, 江志伟¹, 曹 园^{1*}, 龚冠闻^{1*}

1. 南京中医药大学附属医院, 江苏省中医院, 江苏 南京 210000

2. 南京中医药大学第一临床医学院, 江苏 南京 210000

摘 要: **目的** 建立加味柴胡疏肝散 (Modified Chaihu Shugan Powder, MCSP) 基准样品 HPLC 指纹图谱及多成分含量测定的方法, 结合化学模式分析, 探究关键质量属性的传递规律。**方法** 制备 40 批 MCSP 样品, 利用 HPLC 法, 以乙腈-0.2%磷酸水溶液为流动相, 采用“中药色谱指纹图谱相似度评价软件 (2012 年版)”计算其相似度, 结合化学计量法分析多产地多批次 MCSP 基准样品, 结合指标性成分含量以及转移率, 进行量值传递分析及整体质量研究。**结果** 建立的 40 批 MCSP 基准样品相似度大于 0.90, 指纹图谱相似度良好, 29 个共有峰中认出其中 13 个色谱峰, 所建立的多成分含量测定方法稳定可靠。芍药内酯苷、芍药苷、阿魏酸、芸香柚皮苷、柚皮苷、橙皮苷、橙皮素、新橙皮苷、去氢木香内酯、柴胡皂苷 A 的平均转移率分别为 29.96%、22.08%、32.98%、22.42%、33.26%、15.50%、34.23%、56.94%、8.66%、8.69%。**结论** 采用指纹图谱结合多指标成分含量测定及转移率等评价指标对 MCSP 基准样品进行了量值传递综合考察, 初步构建 MCSP 全过程质量控制体系, 为制剂开发及 MCSP 的进一步研究提供参考。

关键词: 加味柴胡疏肝散; 基准样品; 指纹图谱; 因子分析; 量值传递; 关键质量属性; 芍药内酯苷; 芍药苷; 阿魏酸; 芸香柚皮苷; 柚皮苷; 橙皮苷; 橙皮素; 新橙皮苷; 去氢木香内酯; 柴胡皂苷 A

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2024)01-0085-16

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2024.01.011

HPLC fingerprint of Modified Chaihu Shugan Powder benchmark sample and quantity transfer law of key quality attributes

JIANG Yanwen^{1,2}, ZOU Kaiping¹, CHEN Menjiao^{1,2}, LIU Shun¹, JIANG Zhiwei¹, CAO Yuan¹, GONG Guanwen¹

1. Affiliated Hospital of Nanjing University of Chinese Medicine/Jiangsu Province Hospital of Chinese Medicine, Nanjing 210000, China

2. No.1 Clinical Medical College of Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210000, China

Abstract: Objective To establish the fingerprint and multi-component content determination method of Modified Chaihu Shugan Powder (加味柴胡疏肝散, MCSP) benchmark sample, and explore the transmission law of key quality attributes by combining chemical pattern analysis. **Methods** A total of 40 batches of MCSP samples were prepared by HPLC method with acetonitrile-0.2% phosphate water as mobile phase, and the similarity was calculated by using the Chinese Medicine Chromatographic Fingerprint Similarity Evaluation Software (2012 edition), combined with stoichiometric analysis, multiple batches of MCSP samples from multiple origins were analyzed, and the value transfer analysis and overall quality study were carried out in combination with the index component content and transfer rate. **Results** The benchmark similarity of 40 batches of MCSP substances was greater than 0.90, and the similarity of the characteristic map was good, with a total of 29 common peaks, of which 13 peaks were identified, and the established multi-component content determination method was stable and reliable. The average transfer rates of albiflorin, paeoniflorin, ferulic acid, narirutin, naringin, hesperidin, hesperetin, neohesperidin, dehydrocostuslactone, saikosaponin A were 29.96%, 22.08%, 32.98%, 22.42%, 33.26%, 15.50%, 34.23%, 56.94%, 8.66% and 8.69%, respectively. **Conclusion** The

收稿日期: 2023-07-26

基金项目: 国家自然科学基金项目 (81704083); 江苏省中医药管理局专题研究项目 (ZT202108); 江苏省自然科学基金面上项目 (BK20211395)

作者简介: 姜艳雯, 硕士研究生, 研究方向为中药分析。E-mail: jiangyanwen92@163.com

*通信作者: 龚冠闻, 硕士生导师, 主任医师, 从事急性胰腺炎的治疗研究。E-mail: love_ggw2@163.com

曹 园, 硕士生导师, 研究员, 研究方向为中药药效物质与质量标准。E-mail: caoy2002@126.com

characteristic map was used to combine the evaluation indicators such as multi-index component content determination and transfer rate to comprehensively investigate the measurement value transfer of MCSP benchmark samples, and the quality control system of the whole process of MCSP was preliminarily constructed, which provided reference for the development of preparations and further research of MCSP.

Key words: Modified Chaihu Shugan Powder; benchmark sample; fingerprinting; factor analysis; quantity value transmission; key quality attributes; albiflorin; paeoniflorin; ferulic acid; narirutin; naringin; hesperidin; hesperetin; neohesperidin; dehydrocostuslactone; saikosaponin A

柴胡疏肝散 (Chaihu Shugan Powder, CSP) 是理气剂的代表方, 载于明末医家张介宾所著《景岳全书》, 主治胁肋疼痛、肝失疏泄等疾病^[1]。加味柴胡疏肝散 (Modified Chaihu Shugan Powder, MCSP) 是在 CSP 的基础上将芍药定为赤芍, 加砂仁、法半夏、麸炒白术、木香以及厚朴花而成。本方以柴胡疏肝解郁、调畅肝气为君药, 醋香附行气解郁, 川芎活血止痛, 二药相合共为臣药, 助君药解肝胆气滞, 促进气血津液的运行^[2]。以陈皮、麸炒枳壳理气健脾^[3], 法半夏、麸炒白术降逆和胃, 砂仁、木香、厚朴花消食行滞, 赤芍养血柔肝、缓急止痛为佐药, 甘草补益脾气, 兼调诸药, 亦为使药之用。虽由 CSP 加味, 却可使其疏肝解郁、行气止痛之力大增, 同时增加脾胃调理之用, 脾胃健运, 脏腑才能和顺协调, 肝气调达, 元气才能充沛, 因此本方更适用于胆源性胰腺炎的治疗。

该方能有效减轻患者临床症状、改善黄疸指标、促进胰腺周围渗出的吸收, 而且能促进早期肠内营养的应用, 帮助患者减少脓毒症和器官功能不全的发生率, 对于控制慢性胆囊炎、胆囊术后综合征也有非常好的疗效^[4-6]。关于 MCSP 的量值传递以及饮片的质量评价研究尚未见有文献报道。对 MCSP 进行质量评价是保证临床用药安全有效的基础, 亦是中药生产现代化和质量标准科学化的关键^[7-9]。当前制剂的研究应以中药中特定核心质量物质的溯源和传递进行分析, 对整体质量的动态变化进行控制, 为 MCSP 的可行性及质量提供保障^[10-11], 因此有必要开展 MCSP 的量值传递规律研究以及饮片的质量评价。

本研究制备了 40 批 MCSP 基准样品, 建立其指纹图谱, 利用主成分分析 (principal component analysis, PCA) 和因子分析等化学计量学分析, 结合指标性成分含量以及转移率, 进行量值传递分析及整体质量研究, 为中药复方制剂后续开发提供科学理论依据, 也为经典名方 CSP 的进一步研究打下基础。

1 仪器与材料

1.1 仪器

Waters Acquity Arc 型高效液相色谱仪, 沃特世科技中国有限公司; Kudos SK6200H 型超声波清洗器, 上海科导超声仪器有限公司; Cmdieip 型黑晶电陶炉 3500 W, 德国凯盟迪艾普公司; BP-211D 型电子分析天平, 十万分之一, 德国赛多利斯公司; AX224 型电子分析天平, 万分之一, 美国欧豪斯公司; HH-S₆ 型数显恒温水浴锅, 济南欧莱博科学仪器有限公司; RT-02A 型高速粉碎机, 泓荃制药机械公司; HGZF-9203 型电热恒温鼓风干燥箱, 上海精宏实验设备有限公司; 煎药壶 3.6 L, 康舒旗舰店。

1.2 试剂

对照品去氢木香内酯 (批号 B21026)、芸香柚皮苷 (批号 220106)、新橙皮苷 (批号 B21390)、阿魏酸 (批号 131110A)、橙皮素 (批号 B20184)、橙皮苷 (批号 B20182)、咖啡酸 (批号 B20660)、柚皮苷 (批号 B21594)、芍药苷 (批号 B21148)、芍药内酯苷 (批号 B21149)、柴胡皂苷 A (批号 B20146)、柴胡皂苷 D (批号 B20150)、甘草苷 (批号 Z10J8X39611), 质量分数均 $\geq 98\%$, 均购自上海源叶生物科技有限公司; 对照品甘草酸 (批号 160902, 质量分数 $\geq 98\%$)、川陈皮素 (批号 210710, 质量分数 $\geq 93\%$) 均购自南京聚康医药化工有限公司。乙腈, 色谱纯, 美国 Tedia 公司; 磷酸, 分析纯, 成都市科隆化学品有限公司; 屈臣氏纯净水, 长江和记有限公司; 其他试剂为分析纯。

1.3 饮片

不同产地及批次饮片经南京中医药大学附属医院江苏省中医院制剂部周琴妹主任中药师鉴定, 柴胡为伞形科柴胡属植物柴胡 *Bupleurum chinense* DC. 的干燥根、陈皮为芸香科柑橘属植物橘 *Citrus reticulata* Blanco 的干燥成熟果皮、香附为莎草科莎草属植物莎草 *Cyperus rotundus* L. 的干燥根茎、川芎为伞形科藁本属植物川芎 *Ligusticum chuanxiong* Hort. 的干燥根茎、枳壳为芸香科柑橘属植物酸橙

Citrus aurantium L.的干燥未成熟果实、甘草为豆科甘草属植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch.的干燥根和根茎、赤芍为毛茛科芍药属植物芍药 *Paeonia lactiflora* Pall.的干燥根、木香为菊科风毛菊属植物木香 *Aucklandia lappa* Decne.的干燥根、砂仁为姜科豆蔻属植物阳春砂 *Amomum villosum* Lour.的干燥成熟果实、半夏为天南星科半夏属植物半夏 *Pinellia ternate* (Thunb.) Breit.的干燥块茎、厚朴花为木兰科厚朴属植物厚朴 *Magnolia officinalis* Rehd.et Wils.的干燥花蕾、白术为菊科苍术属植物白术 *Atractylodes*

macrocephala Koidz.的干燥根茎,以上饮片符合《中国药典》2020年版项下相关规定。

通过随机数表法对表1中MCSP的饮片进行随机组合,其中对柴胡、川芎、陈皮、麸炒枳壳、木香及赤芍的指标性成分需进行产地分析,因此收集了不同产地多批次的饮片,其余6味作为共有药味,重复使用,分别为厚朴花(批号220701,产地四川)、麸炒白术(批号220703,产地安徽)、法半夏(批号2207016,产地甘肃)、砂仁(批号20220901-01,产地云南)、醋香附(批号220702,产地河南)、甘草

表1 MCSP 饮片来源信息
Table 1 Source information of MCSP herbal pieces

序号	柴胡		陈皮		赤芍		麸炒枳壳		川芎		木香	
	批号	产地	批号	产地	批号	产地	批号	产地	批号	产地	批号	产地
1	20220502-01	陕西	220802	浙江	220701	内蒙古	20220503	江西	20220701-02	眉山	20220401	云南
2	20220903-02	陕西	22102014	浙江	221001	内蒙古	220901	江西	20220901-02	眉山	20220901-01	云南
3	20221102-01	陕西	22121216	浙江	221102	内蒙古	20230201-01	江西	20221201-02	眉山	20230101-02	云南
4	22131301	山西	22121601	浙江	22080401	内蒙古	22120601	江西	22051402	眉山	20230208	云南
5	22070802	山西	221201	浙江	221000021	内蒙古	22070503	江西	22010601	眉山	22101509	云南
6	21062701	山西	220309	浙江	230101751	内蒙古	22070502	江西	230106	成都	20050904	云南
7	220702	山西	22070101	广东	221210	内蒙古	221101	江西	2206012	成都	221200179	云南
8	220903051	湖北	21101801	广东	2205032	内蒙古	220311	江西	220801	成都	220800169	云南
9	220550011	湖北	221002501	广东	211204	内蒙古	220801	江西	220930	成都	23020101	云南
10	221022	河北	230101921	广东	211016	内蒙古	220817	江西	22101201	彭山	2206012	四川
11	220302	河北	20210303	江苏	221003	内蒙古	221201	江西	221101331	彭山	211127	四川
12	2201012	河北	20220905	江苏	22052701	山西	221101701	湖南	221100381	彭山	210818	四川
13	211124	河北	230101	福建	21100201	山西	220200891	湖南	22020102	彭山	2102011	四川

(批号220601,产地甘肃),随机组合结果见表2。

2 方法与结果

2.1 MCSP 基准样品的制备

MCSP 的样品煎煮方式参照《医疗机构中药煎药室管理规范》2009年版的相关规定进行,以临床常用处方:柴胡、醋香附、赤芍、麸炒枳壳、川芎、陈皮、木香、砂仁、麸炒白术、法半夏、厚朴花以及甘草,加水至药面上方2~5 cm,浸泡30 min,武火(电陶炉2200 W)煮沸后再煎煮30 min,200目滤网滤过,滤液放凉,二煎文火(电陶炉600 W)煎煮20 min,200目滤网滤过,合并2次滤液,加水调整体积为200 mL,即得MCSP基准样品。

2.2 MCSP 基准样品指纹图谱研究

2.2.1 色谱条件 色谱柱为Waters X Select HSS T3柱(150 mm×4.6 mm,3.5 μm);流动相为乙腈-0.2%

磷酸水溶液,梯度洗脱:0~5 min,0~5%乙腈;5~8 min,5%~8%乙腈;8~55 min,8%~20%乙腈;55~75 min,20%~30%乙腈;75~90 min,30%~35%乙腈;90~110 min,35%~65%乙腈;110~120 min,65%~5%乙腈;检测波长254 nm;体积流量1 mL/min;进样体积10 μL;柱温30 ℃。

2.2.2 供试品溶液的制备 精密吸取“2.1”项下制备的样品1 mL,70%甲醇超声15 min,定容至5 mL量瓶中,摇匀,静置,取上清液过0.22 μm滤膜,即得。

2.2.3 对照品溶液的制备 分别取芍药苷、芍药内酯苷、橙皮苷、柚皮苷、橙皮素、新橙皮苷、阿魏酸、去氢木香内酯、甘草苷、甘草酸、咖啡酸、川陈皮素、芸香柚皮苷适量,精密称定,加甲醇配制成质量浓度为60.9、59.5、61.4、64.7、60.8、59.0、

表 2 MCSP 随机组合
Table 2 Random combination of MCSP

编号	批号					
	柴胡	麸炒枳壳	陈皮	川芎	赤芍	木香
S1	20220502-01	20220503	220802	20220701-02	220701	20220401
S2	20220903-02	220901	22102014	20220901-02	221001	20220901-01
S3	20221102-01	20230201-01	22121216	20221201-02	221102	20230101-02
S4	22131301	22120601	22121601	22101201	22080401	20230208
S5	22070802	22070503	22070101	22051402	22052701	22101509
S6	21062701	22070502	21101801	22010601	21100201	20050904
S7	220903051	221101701	221002501	221101331	221000021	221200179
S8	220550011	220200891	230101921	221100381	230101751	220800169
S9	221022	221101	221201	230106	221210	2206012
S10	220302	220311	220309	2206012	2205032	211127
S11	211124	220817	20220905	220930	211016	2102011
S12	220702	221201	230101	22020102	221003	23020101
S13	20220502-01	220311	220309	2206012	2205032	211127
S14	20220903-02	221101701	230101921	22051402	21100201	20230101-02
S15	20221102-01	22120601	22102014	20220701-02	221102	210818
S16	22131301	20220503	22121601	20220901-02	220701	23020101
S17	22070802	220200891	22121601	20220701-02	221000021	20220901-01
S18	21062701	220817	220802	22051402	22080401	20220401
S19	220903051	22070502	22121216	20221201-02	22052701	20230101-02
S20	220550011	22120601	22070101	22020102	230101751	221200179
S21	221022	220200891	20220905	220801	211016	20050904
S22	220302	220901	20210303	22101201	221210	220800169
S23	2201012	20230201-01	220309	22010601	211204	2102011
S24	211124	221101	230101	221101331	221001	211127
S25	220702	22070503	21101801	221100381	211016	20230208
S26	20221102-01	221201	221201	221100381	221210	22101509
S27	22070802	220311	22070101	230106	221003	221200179
S28	2201012	220801	21101801	230106	230101751	2206012
S29	20220903-02	220200891	230101	220930	21100201	211127
S30	20220903-02	220200891	20210303	20220901-02	22052701	210818
S31	20221102-01	221101701	230101	22101201	21100201	2102011
S32	22070802	220200891	20220905	220801	22052701	2206012
S33	21062701	221101701	230101	20221201-02	21100201	211127
S34	220550011	220200891	20210303	22101201	22052701	210818
S35	221022	221101701	230101	2206012	21100201	2102011
S36	220903051	220200891	20220905	20220701-02	22052701	2206012
S37	2201012	221101701	230101	221101331	21100201	211127
S38	220903051	221101701	20220905	220801	22052701	210818
S39	220550011	220200891	230101	221101331	21100201	2102011
S40	220903051	221101701	20210303	230106	22052701	20230101-02

61.0、59.4、92.3、51.8、60.4、59.5、58.8 $\mu\text{g/mL}$ 的混合对照品溶液。

2.2.4 指纹图谱方法学考察

(1) 参照峰的选择：指纹图谱中，柚皮苷的含量较高，且色谱峰稳定，故选择柚皮苷（峰 18）作为指纹图谱的参照峰，计算指纹图谱中各共有峰的相对保留时间和相对峰面积。

(2) 精密度考察：取同一批 MCSP 基准样品（S1），参照“2.2.2”项下方法制备供试品溶液 1 份，按“2.2.1”项下色谱条件连续进样 6 次，计算各共有峰相对保留时间和相对峰面积，结果显示，各共有峰相对保留时间的 RSD 均 $<0.70\%$ ，相对峰面积的 RSD 均 $<2.44\%$ ，表明仪器精密度良好。

(3) 重复性考察：取同一批 MCSP 基准样品（S1），参照“2.2.2”项下方法平行制备供试品溶液 6 份，按“2.2.1”项下色谱条件进样，计算各共有峰相对保留时间和相对峰面积，结果显示各共有峰相对保留时间的 RSD 均 $<0.07\%$ ，相对峰面积的 RSD 均 $<2.57\%$ ，表明该方法重复性好。

(4) 稳定性考察：取同一批 MCSP 基准样品（S1），参照“2.2.2”项下方法制备供试品溶液 1 份，按“2.2.1”项下色谱条件，分别于制样后 0、2、4、

8、12、24 h 进样，计算各共有峰相对保留时间和相对峰面积，结果显示，各共有峰相对保留时间的 RSD 均 $<0.13\%$ ，相对峰面积的 RSD 均 $<2.13\%$ ，表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.2.5 指纹图谱的建立及相似度的分析 取 40 批 MCSP 基准样品，按“2.2.2”项下方法制备，按“2.2.1”项下色谱条件进行测定。采用国家药典委员会“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”（2012 版）软件对样品指纹图谱进行分析。以样品 S1 的指纹图谱作为参照谱进行指纹匹配（平均数法，时间窗 0.1 min），确定了 29 个共有峰，并生成对照指纹图谱（R），40 批 MCSP 基准样品的 HPLC 指纹图谱叠加图见图 1。40 批 MCSP 基准样品（S1~S40）相似度结果分别为 0.981 0、0.979 0、0.967 0、0.985 0、0.982 0、0.980 0、0.923 0、0.977 0、0.960 0、0.949 0、0.961 0、0.983 0、0.961 0、0.977 0、0.990 0、0.966 0、0.989 0、0.988 0、0.979 0、0.993 0、0.982 0、0.995 0、0.991 0、0.977 0、0.988 0、0.946 0、0.989 0、0.945 0、0.984 0、0.985 0、0.996 0、0.974 0、0.992 0、0.980 0、0.959 0、0.990 0、0.994 0、0.973 0、0.988 0、0.992 0。相似度均大于 0.90，结果表明 40 批 MCSP 基准样品整体相似性较好。

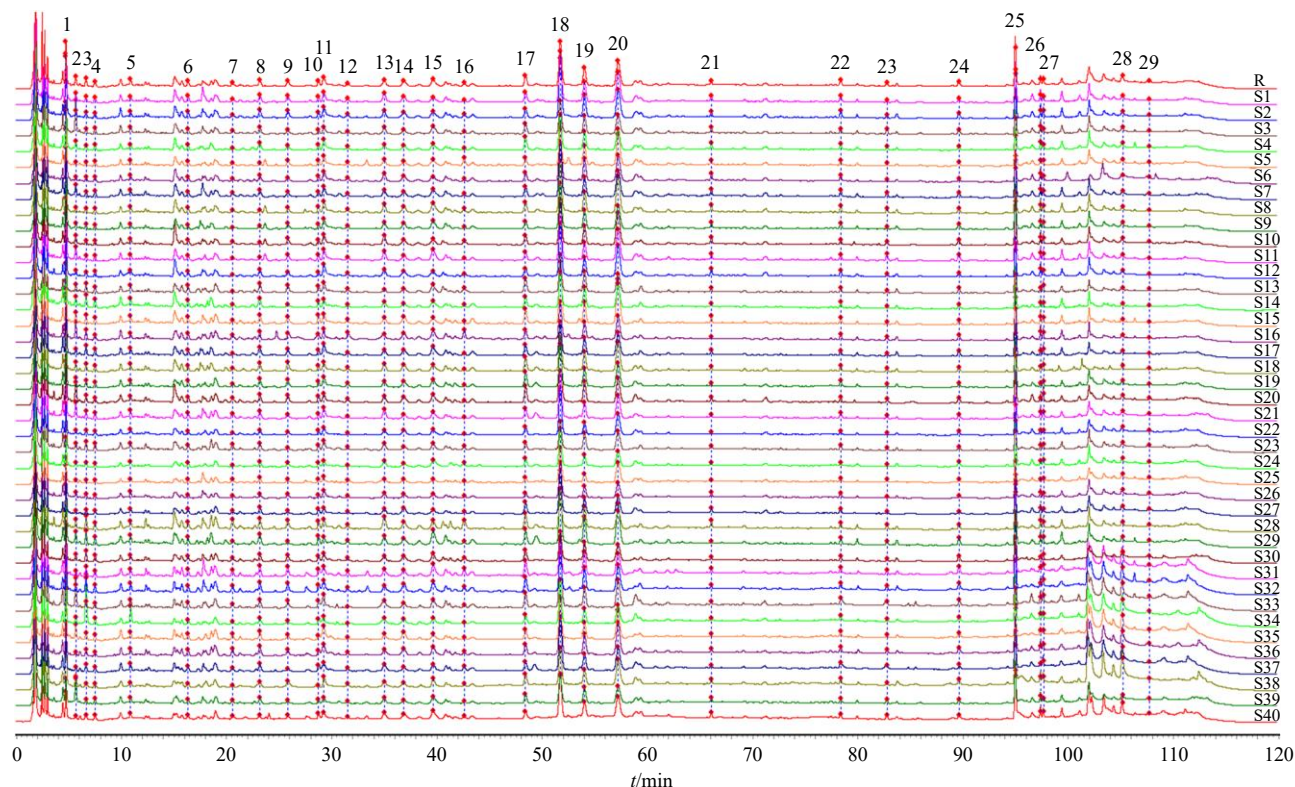


图 1 40 批 MCSP 基准样品 HPLC 的叠加指纹图谱和对照指纹图谱 (R)

Fig. 1 HPLC superimposed fingerprints of 40 batches of MCSP material benchmarks and its control fingerprint (R)

2.2.6 色谱峰指认及归属 将 40 批 MCSP 基准样品的对照图谱和各单味药的供试品溶液以及混合对照品溶液进行比较, 结果见图 2。指认出其中 13 个共有峰, 分别为咖啡酸 (7 号峰)、芍药内酯苷 (9 号峰)、芍药苷 (11 号峰)、阿魏酸 (13 号峰)、甘草苷 (15 号峰)、芸香柚皮苷 (17 号峰)、柚皮苷 (18 号峰)、橙皮苷 (19 号峰)、新橙皮苷 (20 号峰)、

橙皮素 (22 号峰)、甘草酸 (25 号峰)、川陈皮素 (26 号峰)、去氢木香内酯 (29 号峰)。

通过比对, 发现大部分单味药的特征峰可传递到全方基准样品的对照谱图中, 见图 3。其中, 峰 21 归属于柴胡; 峰 7、29 归属于木香; 峰 9、11、14、16 归属于赤芍; 峰 13 归属于川芎; 峰 25、27 归属于法半夏; 峰 15、23~25、27、28 归属于甘草;

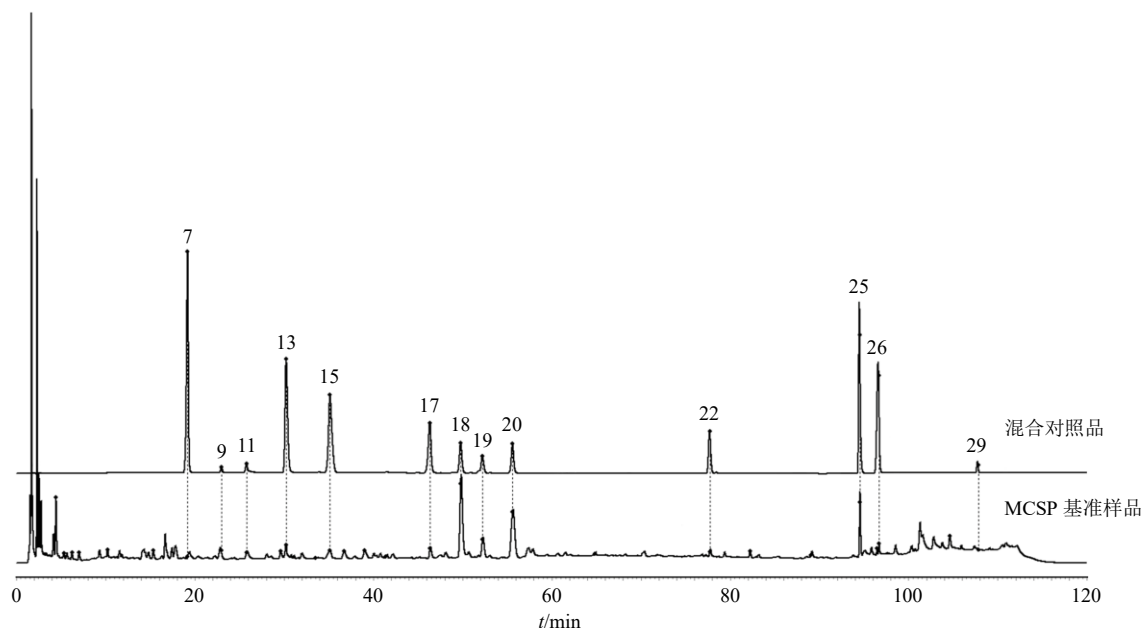


图 2 混合对照品和 MCSP 样品的 HPLC 图

Fig. 2 HPLC of mixed reference substances and MCSP sample

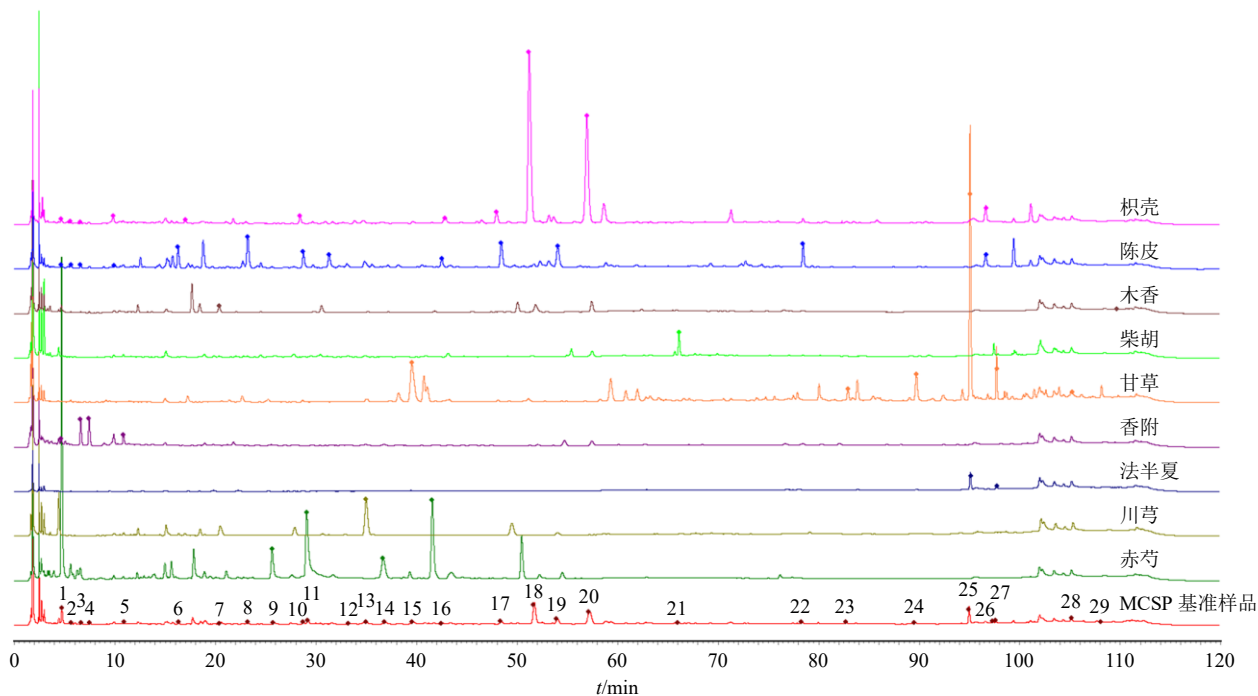


图 3 MCSP 基准样品与各单味药归属峰传递

Fig. 3 MCSP material benchmarks and attribution peak transmission of each single herb

峰 1、3~5 归属于醋香附；峰 1~3、5、6、10、16、17、26 为麸炒枳壳与陈皮的共有峰；峰 8、12、19、22 归属于陈皮；峰 18、20 归属于麸炒枳壳。砂仁、厚朴花、麸炒白术在此条件下没有色谱信息。可见采用“2.2.2”项下工艺制备 MCSP 样品时其主要成分从饮片-标准煎液形成较为完整的传递，且归属关系较为清晰。

2.3 指标性成分含量测定方法的建立

2.3.1 色谱条件

(1) 柴胡皂苷 A：色谱柱为 Waters X Select HSS T3 柱 (150 mm×4.6 mm, 3.5 μm)；流动相为乙腈-0.2%磷酸水溶液，洗脱梯度：0~3 min, 0~5%乙腈；3~5 min, 5%~22%乙腈；5~25 min, 22%~36%乙腈；25~60 min, 36%~50%乙腈；60~75 min, 50%~25%乙腈；75~90 min, 25%~5%乙腈；检测波长 210 nm；体积流量 1 mL/min；进样体积 10 μL；柱温 30 ℃。

(2) 芍药内酯苷、芍药苷、阿魏酸、芸香柚皮苷、柚皮苷、橙皮苷、橙皮素、新橙皮苷、去氢木香内酯方法：同“2.2.1”项。

2.3.2 供试品溶液的制备

(1) 柴胡皂苷 A：精密量取 MCSP 基准样品 10 mL，置分液漏斗中，用水饱和正丁醇提取 4 次，每次 20 mL，合并滤液，用氨试剂洗至澄清，弃去洗液，蒸干，残渣加适量甲醇溶解，转移至 5 mL 量瓶中，加甲醇至刻度，摇匀，静置，过 0.22 μm 滤膜，检测柴胡皂苷 A 的含量。

(2) 芍药内酯苷、芍药苷、阿魏酸、芸香柚皮苷、柚皮苷、橙皮苷、橙皮素、新橙皮苷、去氢木香内酯：同“2.2.2”项下制法制备供试品溶液，检测芍药内酯苷、芍药苷、阿魏酸、芸香柚皮苷、柚皮苷、橙皮苷、橙皮素、新橙皮苷、去氢木香内酯的含量。

2.3.3 阴性样品溶液的制备 按处方量分别称取缺川芎、缺麸炒枳壳陈皮、缺木香、缺赤芍以及缺柴胡阴性处方，按“2.1”项下 MCSP 基准样品制法得相应的阴性样品，再按“2.2.2”项下制法制备阴性样品溶液。

2.3.4 对照品溶液的制备 分别取芍药内酯苷、芍药苷、阿魏酸、芸香柚皮苷、柚皮苷、橙皮苷、橙皮素、新橙皮苷、去氢木香内酯适量，精密称定，加甲醇配制成质量浓度分别为 386.2、399.6、77.2、72.1、213.0、396.8、154.8、157.2、80.8 μg/mL 的混

合对照品溶液；再称取柴胡皂苷 A 适量，精密称定，加甲醇配制成质量浓度为 613.7 μg/mL 的柴胡皂苷 A 对照品溶液。

2.3.5 单味饮片含量测定溶液的制备 麸炒枳壳、陈皮、川芎、柴胡、木香以及赤芍含量测定供试品溶液的制备参照《中国药典》2020 年版各项下。

2.3.6 专属性考察 取“2.3.2”~“2.3.4”项下的供试品溶液、混合对照品溶液和阴性样品溶液，按“2.3.1”项下液相色谱条件进样测定，结果如图 4 所示，10 种指标成分色谱峰于其相邻色谱峰之间的分离度良好，各阴性样品溶液色谱图在待测成分出峰位置无干扰，表明该方法下 10 种成分专属性良好。

2.3.7 线性关系考察 取不同质量浓度的指标性成分对照品溶液，采用“2.3.1”项下色谱条件进样测定，以质量浓度为横坐标(X)，峰面积为纵坐标(Y)，绘制标准曲线并计算线性回归方程，结果分别为柴胡皂苷 A $Y=1.0\times 10^6 X-12\ 375$, $R^2=0.999\ 7$, 线性范围 29.90~477.80 μg/mL；芍药苷 $Y=792\ 786 X-17\ 584$, $R^2=0.999\ 6$, 线性范围 31.20~499.50 μg/mL；芍药内酯苷 $Y=326\ 798 X-7\ 448.4$, $R^2=0.999\ 3$, 线性范围 30.20~482.80 μg/mL；橙皮苷 $Y=906\ 338 X+604.76$, $R^2=0.999\ 5$, 线性范围 31.00~496.00 μg/mL；柚皮苷 $Y=674\ 948 X-5\ 622.8$, $R^2=0.999\ 9$, 线性范围 41.60~665.50 μg/mL；新橙皮苷 $Y=622\ 048 X-1\ 982.4$, $R^2=0.999\ 6$, 线性范围 30.70~491.30 μg/mL；橙皮素 $Y=154\ 174 X+99.582$, $R^2=0.999\ 6$, 线性范围 30.20~483.80 μg/mL；阿魏酸 $Y=2.0\times 10^6 X-1\ 148.7$, $R^2=0.999\ 6$, 线性范围 30.10~482.30 μg/mL；芸香柚皮苷 $Y=337\ 993 X-1\ 793$, $R^2=0.999\ 5$, 线性范围 28.20~450.50 μg/mL；去氢木香内酯 $Y=865\ 769 X-615.74$, $R^2=0.999\ 2$, 线性范围 15.80~252.50 μg/mL；结果表明指标成分在各自的线性范围内线性关系良好。

2.3.8 精密度考察 取 MCSP 基准样品 (S1)，按“2.3.2”项下 (1) 制备供试品溶液 1 份，按“2.3.1”项下方法 1 色谱条件，连续进样 6 次；按“2.3.2”项下 (2) 制备供试品溶液 1 份，按“2.3.1”项下方法 2 色谱条件，连续进样 6 次，各指标成分柴胡皂苷 A、芍药苷、芍药内酯苷、橙皮苷、柚皮苷、新橙皮苷、橙皮素、阿魏酸、芸香柚皮苷、去氢木香内酯峰面积的 RSD 值分别为 2.06%、0.57%、0.70%、1.22%、0.12%、2.12%、0.78%、1.50%、2.44%、1.56%，均小于 3%，表明仪器精密度良好。

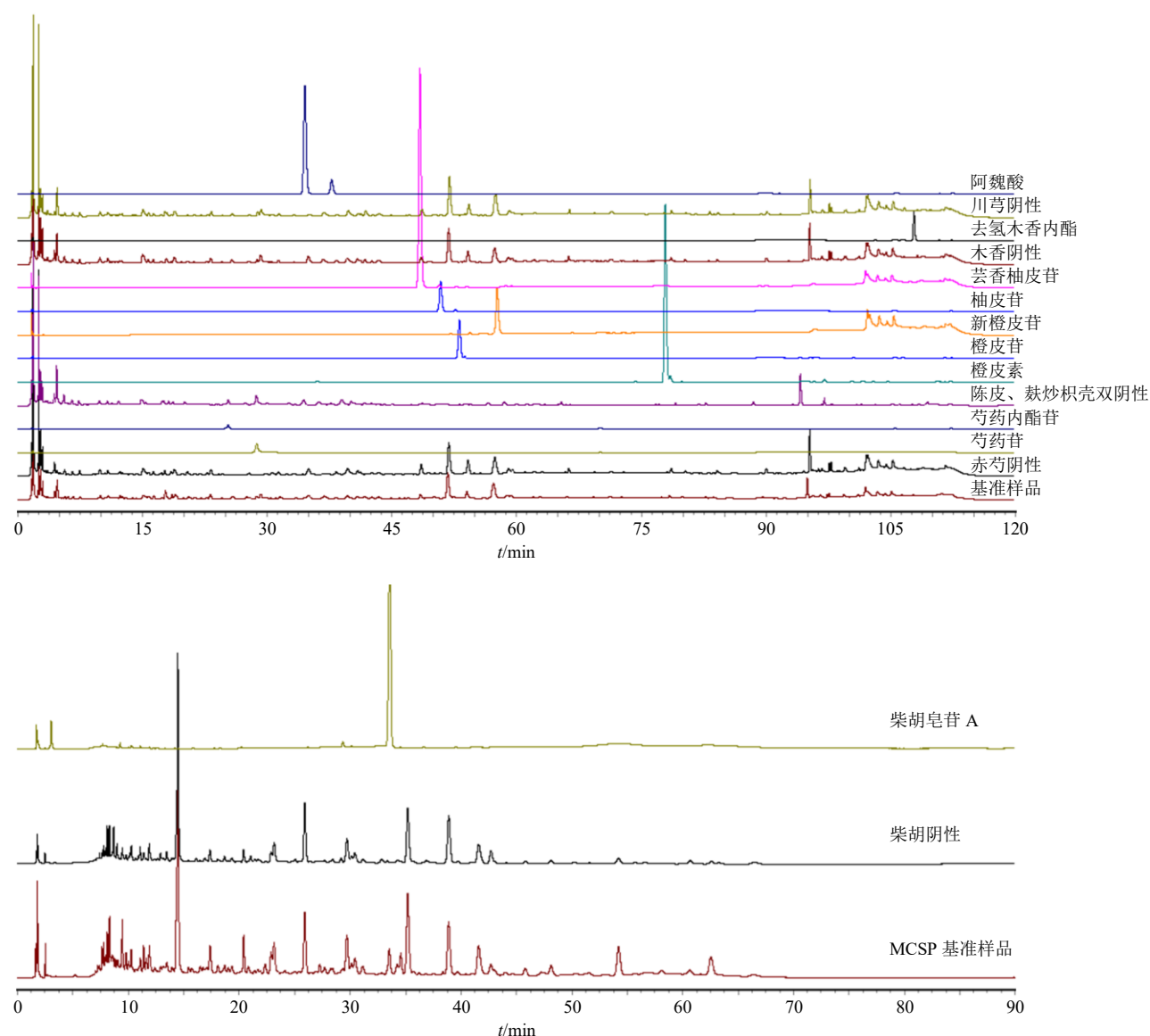


图 4 MCSP 基准样品、阴性样品及对照品的 HPLC 图

Fig. 4 HPLC of MCSP material benchmark, negative sample, and reference substance

2.3.9 稳定性考察 取 MCSP 基准样品 (S1), 参照“2.3.2”项下 (1) 方法制备供试品溶液 1 份, 按“2.3.1”项下方法 1 色谱条件, 分别在制样后 0、2、4、8、12、18、24 h 进行测定; 参照“2.3.2”项下 (2) 方法制备供试品溶液 1 份, 按“2.3.1”项下方法 2 色谱条件, 分别在制样后 0、2、4、8、12、18、24 h 进行测定, 各指标成分柴胡皂苷 A、芍药苷、芍药内酯苷、橙皮苷、柚皮苷、新橙皮苷、橙皮素、阿魏酸、芸香柚皮苷、去氢木香内酯峰面积的 RSD 值分别为 1.73%、0.59%、0.65%、0.78%、0.68%、1.44%、0.26%、0.92%、2.13%、1.89%, 均小于 3%, 结果表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.3.10 重复性考察 取 MCSP 基准样品 (S1), 按

“2.3.2”项下 (1) 方法平行制备 6 份供试品溶液, 按“2.3.1”项下方法 1 色谱条件进样检测; 按“2.3.2”项下 (2) 方法平行制备供试品溶液 6 份, 按“2.3.1”项下方法 2 色谱条件进样检测, 各指标成分柴胡皂苷 A、芍药苷、芍药内酯苷、橙皮苷、柚皮苷、新橙皮苷、橙皮素、阿魏酸、芸香柚皮苷、去氢木香内酯峰面积的 RSD 值分别为 1.86%、1.52%、1.25%、1.38%、1.75%、2.47%、1.73%、1.69%、2.57%、1.76%, 均小于 3%, 表明该方法的重复性良好。

2.3.11 加样回收率考察 精密称定已测知指标性成分含量的 MCSP 基准样品 (S1) 6 份, 分别按已知质量浓度的 100% 加入柴胡皂苷 A 对照品溶液, 按“2.3.2”项下 (1) 制备供试品溶液, 并按“2.3.1”

项下方法 1 进样, 检测得到柴胡皂苷 A 的峰面积, 计算其平均加样回收率为 98.77%, RSD 为 1.66%。

精密称定已测知指标性成分含量的 MCSP 基准样品 (S1) 6 份, 分别按已知质量浓度的 100% 加入对照品溶液, 按“2.3.2”项下 (2) 制备为供试品溶液, 并按“2.3.1”项下方法 2 的条件进样检测, 得到各成分的峰面积, 计算得到芍药内酯苷、芍药苷、阿魏酸、芸香柚皮苷、柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷、橙皮素、去氢木香内酯的平均加样回收率分别为 101.46%、102.07%、101.22%、102.57%、101.22%、102.75%、102.33%、102.05%、100.93%, 其对应的 RSD 值分别为 1.40%、0.36%、0.61%、1.43%、1.74%、0.30%、0.98%、1.12%、1.02%。

2.4 MCSP 基准样品指标成分在饮片-水煎液间的量值传递分析

按“2.3.2”项下方法制备供试品溶液, 按“2.3.1”项下色谱条件进行 40 批 MCSP 基准样品中 10 个指标性成分的含量测定, 各饮片按照《中国药典》2020 年版进行含量测定, 结果见表 3。按公式计算饮片-样品中各指标成分含量的转移率^[12], 考察各指标性成分传递规律, 分析异常值, 结果见表 4, 不同产地的饮片指标性成分含量存在的差异, 结果见表 5。

$$\text{转移率} = w_m / W_M$$

w 表示基准样品中有效成分的质量分数, m 表示基准样品质量, W 表示饮片中有有效成分的质量分数, M 表示饮片量

2.5 基于 PCA 及因子分析对多批次饮片含量比较

PCA 是一种非监督的多元统计分析方法, 可将多个指标转换为少数几个主成分, 在不丢失太多信息的基础上, 通过线性变换, 将原始众多相关性的指标重新组合成新的相互独立的综合指标 (主成分) 来代替原始指标充分反映原始数据的信息^[13-14], 进一步构建因子模型, 通过降维将少数具有代表性的综合因子诠释全部变量, 将关系变量进行整理、归纳, 从而揭示影响指标的最大因素。

为了进一步阐明 MCSP 样品中各化学成分的差异, 在多成分定量分析的基础上, 采用 PCA 及因子分析进一步深化研究, 以所测定的 10 个指标性成分的含量作为变量, 导入至 SIMCA 软件进行分析与比较, 结果见图 5。继而将含量进行标准化处理, 导入 SPSS 26.0 软件进行因子分析, 其中 KMO 与 Bartlett 球形检验是检验因子分析适用性的相关测试, 一般情况下, KMO > 0.6 即可接受因子分析, 本研究中, KMO 值为 0.632 0, Bartlett 球形检验是

用来判断相关矩阵是否为单位矩阵, 如果为单位矩阵, 表示各变量互相独立, 不适合做因子分析, 其显著水平值需要在 0.05 以下, 值越小表明原始变量之间的相关矩阵越不可能是单位矩阵, 越适合做因子分析, 本研究中 Bartlett 球形检验的显著水平值为 0.001 (远小于 0.05), 表明数据可以进行因子分析, 具体见表 6。以累积贡献率 > 80% 作为判定依据, 提取到 6 个成分, 其累积方差贡献率为 83.444%, 表明这 6 个主成分可以代表 83.444% 的共有峰信息, 因此可作为基准样品质量的评价指标。初始特征值和方差贡献率见表 7。

用 Kaiser 标准化最大方差法处理得到旋转成分矩阵, 结果见表 8。根据各色谱峰在 6 个主成分上的载荷值, 可提取出每个主成分所反映的信息。在主成分 1 中芸香柚皮苷、橙皮苷、橙皮素是对第 1 主成分影响较大的特征向量, 主要与陈皮有关; 阿魏酸和柚皮苷是对第 2 主成分影响较大的特征向量, 主要与川芎、麸炒枳壳有关; 芍药内酯苷是对第 3 主成分影响较大的特征向量, 主要与赤芍有关; 而第 4 主成分与柴胡皂苷 A 呈高度正相关, 是对其影响较大的特征向量, 主要与柴胡有关; 对第 5 主成分影响较大的特征向量是去氢木香内酯; 对第 6 主成分影响较大的特征向量是芍药苷, 主要与赤芍有关。

选用 6 个主成分因子对 40 批 MCSP 基准样品进行综合评价, 以累积方差贡献率为分配系数, 计算各批次样品主成分因子得分及综合得分, 并对综合得分进行排序, 建立一种客观的中药质量评价手段, 结果见表 9。综合得分 (F) 公式^[15]: $F = \text{方差贡献率} \times \text{相应的因子得分} = 0.291\ 4\ F_1 + 0.153\ 6\ F_2 + 0.121\ 3\ F_3 + 0.099\ 9\ F_4 + 0.085\ 6\ F_5 + 0.082\ 4\ F_6$ ($F_1 \sim F_6$ 分别为主成分 1~6 得分)。对综合得分排名前 10 的批次进行分析发现, 麸炒枳壳以产地江西的批次占地居多, 赤芍以内蒙古产地的居多, 木香以云南产地的居多, 川芎以四川彭山的居多, 而陈皮与柴胡 4 个产地平均分布, 考虑这 2 味饮片在市面上产地复杂, 后期会增加批次, 进一步细化分析, 这也为选拔优质药材提供理论依据, 为制剂开发提供更全面的质量评价。

3 讨论

3.1 色谱条件分析

本研究前期考察了不同提取溶剂的色谱信息, 当 70% 甲醇作为溶剂时, 图谱中色谱峰信息最丰富;

表 3 饮片-基准样品中的含量及转移率

Table 3 Content and transfer rate in herbal piece-benchmark sample

批次	柴胡皂苷 A/(mg·g ⁻¹)				芍药内酯苷/(mg·g ⁻¹)				芍药苷/(mg·g ⁻¹)				阿魏酸/(mg·g ⁻¹)				芸香柚皮苷/(mg·g ⁻¹)			
	饮片	样品	转移率/%		饮片	样品	转移率/%		饮片	样品	转移率/%		饮片	样品	转移率/%		饮片	样品	转移率/%	
S1	164.16	11.57	7.05		346.29	77.12	22.27		449.25	93.26	20.76		108.24	27.17	25.10		767.35	156.19	20.35	
S2	137.43	15.03	10.94		366.52	107.63	29.37		438.08	75.39	17.21		99.14	26.99	27.23		823.02	192.94	23.44	
S3	117.11	11.84	10.11		344.49	109.61	31.82		439.64	91.86	20.89		97.73	29.74	30.43		901.95	252.05	27.94	
S4	68.15	6.56	9.63		139.12	52.41	37.67		304.23	85.05	27.96		88.18	31.23	35.42		691.52	168.87	24.42	
S5	221.15	16.69	7.55		336.55	120.56	35.82		393.66	89.40	22.71		100.25	28.80	28.73		857.03	207.82	24.25	
S6	192.52	14.47	7.52		338.84	113.78	33.58		383.40	100.41	26.19		102.26	28.88	28.24		846.07	232.86	27.52	
S7	66.35	6.41	9.66		343.85	118.08	34.34		409.77	75.50	18.42		84.20	26.87	31.91		927.45	223.43	24.09	
S8	57.69	5.63	9.76		331.09	103.04	31.12		444.83	94.94	21.34		75.03	30.71	40.94		1 302.47	356.33	27.36	
S9	65.67	5.66	8.62		567.41	126.34	22.27		382.01	79.76	20.88		88.23	30.77	34.88		980.08	236.41	24.12	
S10	40.70	4.40	10.80		533.01	115.57	21.68		362.28	81.29	22.44		72.34	29.78	41.16		1 040.88	250.23	24.04	
S11	68.91	7.47	10.83		529.37	118.13	22.31		375.82	88.72	23.61		82.86	26.52	32.01		1 034.22	247.04	23.89	
S12	94.98	8.51	8.96		241.50	83.55	34.60		292.76	73.19	25.00		77.20	30.59	39.63		1 041.78	252.32	24.22	
S13	164.16	11.63	7.08		533.01	112.13	21.04		362.28	83.46	23.04		72.34	24.54	33.92		1 040.88	280.76	26.97	
S14	137.43	9.17	6.67		338.84	103.14	30.44		383.40	84.21	21.96		100.25	34.20	34.12		1 213.17	265.30	21.87	
S15	117.11	9.34	7.97		344.49	100.90	29.29		439.64	74.51	16.95		108.24	24.70	22.82		611.17	113.65	18.60	
S16	68.15	4.85	7.12		346.29	91.99	26.56		449.25	75.72	16.85		99.14	22.24	22.43		833.53	108.88	13.06	
S17	221.15	18.18	8.22		343.85	101.06	29.39		409.77	75.27	18.37		108.24	31.29	28.91		1 032.71	195.87	18.97	
S18	192.52	11.26	5.85		139.12	43.84	31.51		304.23	83.88	27.57		100.25	29.87	29.79		684.13	160.46	23.46	
S19	66.35	5.61	8.46		336.55	99.04	29.43		393.66	85.52	21.72		97.73	29.96	30.66		638.78	163.13	25.54	
S20	57.69	5.42	9.39		331.09	113.23	34.20		444.83	85.58	19.24		77.20	30.84	39.95		815.94	239.99	29.41	
S21	65.67	7.41	11.28		529.37	115.57	21.83		375.82	86.20	22.94		97.26	31.79	32.68		1 316.62	367.48	27.91	
S22	40.70	4.47	10.98		567.41	142.97	25.20		382.01	89.89	23.53		88.18	29.61	33.57		1 111.72	235.37	21.17	
S23	59.68	5.94	9.95		523.44	125.15	23.91		388.85	79.02	20.32		102.26	33.69	32.95		1 291.01	312.47	24.20	
S24	164.16	9.44	5.75		366.52	113.39	30.94		438.08	89.16	20.35		84.20	27.32	32.44		981.91	241.68	24.61	
S25	94.98	10.76	11.33		529.37	117.09	22.12		375.82	87.61	23.31		75.03	28.08	37.43		857.98	210.33	24.51	
S26	117.11	10.26	8.76		567.41	127.64	22.50		382.01	78.94	20.66		75.03	29.70	39.58		1 039.95	306.94	29.51	
S27	221.15	9.95	4.50		241.50	82.81	34.29		292.76	70.88	24.21		88.23	27.38	31.03		858.15	250.71	29.21	
S28	59.68	5.92	9.91		331.09	117.01	35.34		444.83	85.44	19.21		88.23	24.92	28.24		807.64	223.70	27.70	
S29	164.16	11.95	7.28		338.84	98.49	29.07		383.40	94.43	24.63		82.86	33.28	40.17		1 265.22	193.43	15.29	
S30	137.43	13.74	10.00		336.55	115.34	34.27		393.66	90.37	22.96		99.14	34.23	34.52		1 241.06	190.86	15.38	
S31	137.43	10.75	7.82		338.84	118.02	34.83		383.40	92.23	24.06		88.18	28.77	32.63		1 175.92	210.80	17.93	
S32	117.11	9.79	8.36		336.55	112.99	33.57		393.66	90.25	22.93		97.26	29.11	29.93		1 316.62	175.38	13.32	
S33	221.15	15.18	6.87		338.84	116.79	34.47		383.40	88.70	23.14		97.73	34.49	35.29		1 175.92	250.76	21.32	
S34	192.52	14.11	7.33		336.55	105.22	31.26		393.66	91.31	23.20		88.18	31.41	35.62		1 241.06	227.30	18.32	
S35	57.69	6.04	10.00		338.84	110.40	32.58		383.40	88.71	23.14		72.34	29.99	41.46		1 175.92	196.14	16.68	
S36	65.67	7.43	11.31		336.55	115.67	34.37		393.66	84.60	21.49		108.24	28.89	26.70		1 316.62	169.88	12.90	
S37	66.35	6.58	9.92		338.84	110.76	32.69		383.40	84.08	21.93		84.20	26.90	31.95		1 175.92	314.78	26.77	
S38	65.67	4.26	6.49		336.55	112.63	33.46		393.66	81.27	20.64		97.26	30.50	31.36		1 227.32	237.08	19.32	
S39	66.35	5.55	8.36		338.84	101.97	30.09		383.40	94.34	24.60		84.20	31.69	37.63		1 265.22	214.63	16.96	
S40	57.69	5.38	9.33		336.55	111.09	33.01		393.66	89.56	22.75		88.23	31.57	35.78		1 151.77	232.09	20.15	

表 3 (续)

批次	柚皮苷/(mg·g ⁻¹)			新橙皮苷/(mg·g ⁻¹)			橙皮苷/(mg·g ⁻¹)			橙皮素/(mg·g ⁻¹)			去氢木香内酯/(mg·g ⁻¹)		
	饮片	样品	转移率/%	饮片	样品	转移率/%	饮片	样品	转移率/%	饮片	样品	转移率/%	饮片	样品	转移率/%
S1	1 680.89	485.99	28.91	1 306.83	390.40	29.87	900.79	157.73	17.51	50.59	26.63	52.64	869.96	76.72	8.82
S2	1 986.67	422.98	21.29	1 481.55	340.09	22.96	850.22	149.06	17.53	45.29	26.12	57.66	891.41	61.33	6.88
S3	1 540.98	493.58	32.03	1 184.39	492.19	41.56	876.20	160.46	18.31	50.86	32.78	64.46	857.84	42.55	4.96
S4	1 407.83	541.73	38.48	921.00	347.50	37.73	970.88	187.81	19.34	47.91	34.72	72.46	772.28	69.62	9.01
S5	1 859.37	638.45	34.34	1 485.08	582.92	39.25	1 130.11	184.86	16.36	51.88	33.76	65.07	938.96	76.93	8.19
S6	1 750.68	537.43	30.70	1 433.90	508.82	35.49	1 163.44	166.50	14.31	56.41	33.08	58.64	951.30	63.26	6.65
S7	1 886.02	579.91	30.75	1 033.00	331.04	32.05	1 101.31	150.48	13.66	74.73	31.69	42.40	816.55	77.42	9.48
S8	2 013.68	712.55	35.39	1 146.74	381.88	33.30	1 286.63	173.41	13.48	69.24	38.31	55.33	936.22	64.64	6.90
S9	1 141.35	392.70	34.41	1 045.69	362.49	34.67	1 217.69	189.10	15.53	59.81	36.79	61.51	778.60	64.08	8.23
S10	1 055.79	411.89	39.01	1 015.11	311.27	30.66	1 144.71	203.75	17.80	61.68	32.47	52.64	777.81	69.43	8.93
S11	1 154.29	273.57	23.70	1 058.51	328.26	31.01	1 243.71	171.26	13.77	62.67	29.11	46.46	563.41	56.65	10.06
S12	1 614.19	587.66	36.41	1 826.82	579.35	31.71	1 313.85	231.96	17.65	49.52	22.14	44.70	640.32	71.99	11.24
S13	1 055.79	415.23	39.33	1 015.11	338.33	33.33	1 144.71	218.92	19.12	61.68	39.39	63.87	777.81	67.61	8.69
S14	1 886.02	541.80	28.73	1 033.00	312.84	30.29	1 286.63	169.13	13.14	69.24	32.30	46.65	857.84	65.33	7.62
S15	1 407.83	447.98	31.82	921.00	280.02	30.40	850.22	118.92	13.99	45.29	26.73	59.02	833.73	81.05	9.72
S16	1 680.89	469.19	27.91	1 306.83	406.29	31.09	970.88	91.35	9.41	47.91	20.34	42.45	640.32	63.00	9.84
S17	2 013.68	505.17	25.09	1 146.74	301.76	26.31	970.88	105.53	10.87	47.91	22.02	45.96	891.41	64.87	7.28
S18	1 154.29	357.33	30.96	1 058.51	350.11	33.08	900.79	159.89	17.75	50.59	30.45	60.19	869.96	73.30	8.43
S19	1 750.68	597.12	34.11	1 433.90	400.18	27.91	876.20	107.86	12.31	50.86	22.50	44.25	857.84	68.21	7.95
S20	1 407.83	594.43	42.22	921.00	363.09	39.42	1 130.11	164.43	14.55	51.88	31.87	61.43	816.55	67.41	8.25
S21	2 013.68	818.02	40.62	1 146.74	462.08	40.30	1 243.71	194.42	15.63	62.67	31.88	50.88	951.30	77.44	8.14
S22	1 986.67	553.75	27.87	1 481.55	438.51	29.60	1 175.73	167.60	14.25	65.17	32.40	49.71	936.22	76.60	8.18
S23	1 540.98	558.53	36.25	1 184.39	527.38	44.53	1 144.71	175.67	15.35	61.68	33.97	55.07	563.41	53.82	9.55
S24	1 141.35	408.26	35.77	1 045.69	420.80	40.24	1 313.85	176.50	13.43	49.52	29.12	58.80	777.81	66.39	8.54
S25	1 859.37	480.43	25.84	1 485.08	391.06	26.33	1 163.44	169.71	14.59	56.41	32.29	57.25	772.28	67.02	8.68
S26	1 614.19	548.34	33.97	1 826.82	805.78	44.11	1 217.69	211.25	17.35	59.81	38.47	64.32	938.96	65.66	6.99
S27	1 055.80	439.40	41.62	1 015.11	424.50	41.82	1 130.11	199.40	17.65	51.88	35.10	67.62	816.55	67.90	8.31
S28	628.80	341.80	54.37	584.83	175.20	29.96	1 163.44	203.20	17.46	56.41	29.70	52.61	778.60	64.90	8.34
S29	2 013.70	698.40	34.68	1 146.74	509.50	44.43	1 313.85	185.70	14.14	49.52	35.20	71.07	777.81	75.00	9.64
S30	2 013.70	716.00	35.56	1 146.74	457.40	39.88	1 175.73	181.60	15.45	65.17	34.40	52.78	833.73	72.30	8.67
S31	1 886.00	579.30	30.72	1 033.00	382.00	36.97	1 313.85	183.50	13.97	49.52	27.10	54.74	563.41	54.60	9.69
S32	2 013.70	591.70	29.38	1 146.74	299.30	26.10	1 243.71	185.30	14.90	62.67	32.60	51.98	778.60	72.40	9.30
S33	1 886.00	659.50	34.97	1 033.00	421.60	40.82	1 313.85	212.20	16.15	49.52	30.00	60.66	777.81	69.80	8.98
S34	2 013.70	742.20	36.86	1 146.74	344.40	30.03	1 175.73	191.60	16.30	65.17	40.50	62.20	833.73	73.80	8.85
S35	1 886.00	743.60	39.43	1 033.00	327.70	31.72	1 313.85	230.10	17.51	49.52	32.50	65.71	563.41	61.70	10.96
S36	2 013.70	506.30	25.14	1 146.74	340.60	29.70	1 243.71	200.20	16.10	62.67	38.50	61.41	778.60	73.40	9.42
S37	1 886.00	478.50	25.37	1 033.00	354.30	34.30	1 313.85	185.30	14.11	49.52	35.00	70.61	777.81	72.10	9.27
S38	1 886.02	477.26	25.31	1 033.00	346.41	33.53	1 243.71	183.70	14.77	62.67	30.06	47.96	833.73	67.25	8.07
S39	2 013.68	736.11	36.56	1 146.74	375.22	32.72	1 313.85	226.37	17.23	49.52	30.10	60.77	563.41	66.46	11.80
S40	1 886.02	652.59	34.60	1 033.00	414.41	40.12	1 175.73	203.47	17.31	65.17	41.51	63.69	857.84	68.40	7.97

表 4 样品含量及转移率分析
Table 4 Sample content and transfer rate analysis

成分	质量分数均值/ (mg·g ⁻¹)	质量分数范围/ (mg·g ⁻¹)	转移率 均值/%	转移率 范围/%	偏差批次
芍药内酯苷	107.05	43.84~142.97	29.96	21.04~37.67	—
芍药苷	85.35	70.88~100.41	22.08	16.85~27.96	—
阿魏酸	29.48	22.24~34.49	32.98	22.43~41.46	S15、S16
芸香柚皮苷	226.66	108.88~367.48	22.42	12.90~29.51	S16、S20、S26、S27、S29、S30、S32、S36
柚皮苷	543.42	273.57~818.02	33.26	21.29~54.37	S2、S28
橙皮苷	178.23	91.35~231.96	15.50	9.41~19.34	S16
新橙皮苷	398.17	175.20~805.78	34.23	22.96~44.53	S2、S23
橙皮素	31.84	20.34~41.51	56.94	42.40~72.46	—
去氢木香内酯	67.81	42.55~81.05	8.66	4.96~11.80	S3、S39
柴胡皂苷 A	9.12	4.26~18.18	8.69	4.50~11.33	S18、S24、S25、S27、S36

表 5 HPLC 测定 MCSP 中 6 味饮片在不同产地下的指标性成分含量差异

Table 5 Differences in content of indicator components of six herbs in MCSP under different origins determined by HPLC

枳壳				赤芍			木香	
产地	柚皮苷/ (mg·g ⁻¹)	新橙皮苷/ (mg·g ⁻¹)	芸香柚皮苷/ (mg·g ⁻¹)	产地	芍药内酯苷/ (mg·g ⁻¹)	芍药苷/ (mg·g ⁻¹)	产地	去氢木香内酯/ (mg·g ⁻¹)
江西	478.16±91.23	415.85±124.61	219.34±52.79	内蒙古	104.84±23.15	82.69±6.85	云南	68.08±7.84
湖南	631.70±103.98	374.26±58.80	236.56±57.13	山西	110.37±6.83	89.34±4.79	四川	67.51±7.14
陈皮				柴胡		川芎		
产地	芸香柚皮苷/ (mg·g ⁻¹)	橙皮苷/ (mg·g ⁻¹)	橙皮素/ (mg·g ⁻¹)	产地	柴胡皂苷 A/ (mg·g ⁻¹)	产地	阿魏酸/ (mg·g ⁻¹)	
浙江	207.06±64.42	159.81±39.72	30.24±6.02	陕西	11.53±1.83	四川眉山	29.68±3.57	
广东	245.61±42.83	175.68±16.10	33.12±2.31	山西	11.47±4.25	四川彭山	29.52±1.75	
江苏	231.39±55.17	186.57±11.48	34.55±4.28	湖北	6.64±2.93	四川成都	29.18±2.77	
福建	234.32±37.40	203.95±22.06	30.15±4.02	河北	6.33±1.50			

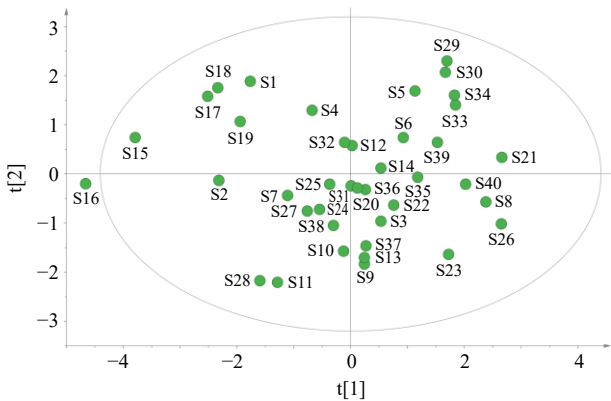


图 5 MCSP 样品 PCA 得分图

Fig. 5 PCA scores plot of MCSP samples

各溶剂谱图的色谱信息丰富度依次为 70%甲醇>50%甲醇>90%甲醇>纯甲醇>50%乙醇>70%乙

表 6 KMO 和 Bartlett 球形度检验结果

Table 6 KMO and Bartlett sphericity test results

KMO 和 Bartlett 的检验		检验结果
KMO 取样适切性量数		0.632 0
Bartlett 的球形度检验	近似卡方	80.719 0
	自由度	45
	显著性	0.001 0

醇>95%乙醇>无水乙醇。考察不同超声时长：5、10、15、20、30 min，发现 15 min 以后指标性成分峰面积趋于稳定。依据现有文献^[16]，考虑到全方中极性较大的皂苷类、黄酮类成分较多，先后考察了甲醇、乙腈、不同比例的磷酸水相等因素，最后选用乙腈-0.2%磷酸水溶液为洗脱剂，以保证峰形的对

表 7 特征值和方差贡献率

Table 7 Characteristic value and variance contribution rate			
成分	总计	方差贡献率/%	累积方差贡献率%
1	2.914	29.138	29.138
2	1.536	15.358	44.496
3	1.213	12.134	56.630
4	0.999	9.991	66.622
5	0.858	8.585	75.207
6	0.824	8.238	83.444

称和平滑。综合考察结果确定前处理方法为取 MCSP 样品 1 mL，加入 70%甲醇，超声 15 min 后定容至 5 mL，滤过。该方法保证了本研究过程的科学性与可靠性，也为类似方剂的研究提供了参考。

3.2 指标成分的选择

本研究前期对 MCSP 基准样品进行 200~400 nm 全波长扫描，比较分析不同波长条件下的峰数目、峰形、分离度等参数。发现在 254 nm 处饮片中指标性成分的特征峰信息丰富且分离度较好，为了更好的体现饮片中指标性成分的特征峰信息，选取

表 8 主成分因子载荷矩阵

Table 8 Principal component factor loading matrix										
主成分	因子载荷									
	芍药内酯苷	芍药苷	阿魏酸	芸香柚皮苷	柚皮苷	新橙皮苷	橙皮苷	橙皮素	去氢木香内酯	柴胡皂苷 A
1	0.124	0.184	0.223	0.599	0.087	0.183	0.852	0.838	0.037	-0.097
2	-0.001	0.308	0.838	0.259	0.856	0.436	0.179	0.062	0.073	0.003
3	0.946	0.121	-0.101	0.398	0.141	0.257	-0.025	0.155	-0.087	-0.100
4	-0.041	0.138	0.049	-0.090	0.027	0.523	-0.058	0.037	0.000	0.921
5	-0.072	-0.096	-0.119	-0.303	0.263	-0.107	0.005	0.114	0.966	0.030
6	0.087	0.829	0.083	-0.253	0.190	-0.439	0.021	0.214	-0.064	0.143

表 9 40 批 MCSP 的主成分因子得分及综合排序

Table 9 Principal component factor scores and comprehensive ranking of 40 batches of MCSP															
样品	F_1	F_2	F_3	F_4	F_5	F_6	F	样品	F_1	F_2	F_3	F_4	F_5	F_6	F
S1	-1.76	1.89	-0.41	-0.52	0.72	-0.11	-0.26	S21	2.66	0.34	-0.62	1.20	-1.26	0.84	1.57
S2	-2.32	-0.13	1.52	0.33	0.64	-0.02	0.35	S22	0.76	-0.64	-0.60	-0.11	-0.59	2.12	1.18
S3	0.53	-0.97	2.98	-1.41	0.04	-1.26	-2.05	S23	1.72	-1.64	1.59	0.80	-1.48	-0.62	-0.55
S4	-0.68	1.30	-1.62	-0.03	-0.18	-2.39	-2.34	S24	-0.54	-0.72	0.57	-0.31	0.55	0.24	0.16
S5	1.13	1.69	0.92	0.79	1.60	1.43	4.04	S25	-0.36	-0.21	0.39	-0.46	0.66	0.52	0.45
S6	0.93	0.74	1.68	-1.31	1.16	0.38	0.59	S26	2.65	-1.02	1.75	2.79	0.89	0.32	4.64
S7	-1.11	-0.43	-1.13	1.00	-0.41	1.47	1.33	S27	-0.76	-0.75	-0.43	1.95	0.99	-1.36	1.28
S8	2.38	-0.57	-0.44	-0.83	-0.81	-0.31	-1.23	S28	-1.60	-2.18	-1.09	-1.22	0.63	0.00	-1.63
S9	0.24	-1.83	-0.33	0.13	0.05	-0.09	-0.16	S29	1.69	2.30	-0.13	-0.15	0.20	0.06	0.91
S10	-0.13	-1.58	-1.14	0.18	-0.22	-0.20	-0.61	S30	1.66	2.07	0.35	-0.22	0.03	0.52	1.08
S11	-1.28	-2.20	0.87	-1.21	0.45	-0.31	-1.70	S31	0.00	-0.25	1.48	-1.51	-0.31	-0.12	-1.73
S12	0.02	0.57	0.17	2.88	-0.86	-1.24	1.24	S32	-0.11	0.65	-0.85	-1.01	0.34	0.63	-0.23
S13	0.25	-1.70	-0.60	0.14	2.39	-0.13	1.81	S33	1.84	1.41	0.71	0.03	0.09	-0.05	0.92
S14	0.53	0.12	0.02	-0.27	-0.84	-0.79	-1.47	S34	1.83	1.60	-0.77	-0.63	1.00	0.26	1.13
S15	-3.79	0.74	-1.06	0.69	0.28	1.47	1.03	S35	1.18	-0.07	-0.83	-1.02	-0.79	-0.44	-1.83
S16	-4.66	-0.20	0.77	0.31	-1.29	0.71	-1.51	S36	0.12	-0.29	-1.47	-0.22	0.86	0.42	0.67
S17	-2.51	1.57	2.07	0.31	-0.38	0.11	-0.16	S37	0.27	-1.47	-0.91	0.43	0.45	0.28	0.78
S18	-2.34	1.75	-0.85	0.31	0.83	-2.35	-1.42	S38	-0.30	-1.05	-0.60	0.17	-0.95	-0.16	-1.10
S19	-1.95	1.07	0.47	-0.31	-2.13	0.61	-1.98	S39	1.53	0.64	-0.89	-1.02	-1.12	-0.56	-2.00
S20	0.26	-0.32	-0.37	-0.26	-1.11	0.27	-1.01	S40	2.02	-0.21	-1.17	-0.40	-0.09	-0.16	-0.19

254 nm 对 MCSP 样品指纹图谱进行考察,但柴胡皂苷类成分经过富集后在 210 nm 处才有较大吸收,考虑其在本方中处于君药的地位,且柴胡皂苷类成分也具有明确的药理作用^[17-18],故参考相关文献增加其含量测定方法^[19-20],考察其传递规律,依据不同萃取次数后柴胡皂苷含量的变化,最后确定以水饱和正丁醇萃取 4 次的方法进行研究,因此本实验选择 210、254 nm 作为研究全方中多成分含量的检测波长。

通过对各单味药饮片的单煎液与全方的对比,发现大部分单味药的特征峰可传递到全方中,其中以麸炒枳壳与陈皮居多,其次是甘草、赤芍、醋香附、法半夏,木香、川芎、柴胡。因本研究采用了水煎煮的制备方法,臣药之一香附因其挥发性成分较多,而本方并未进行挥发油或蒸馏液的收集,故在基准样品中未检测到 α -香附酮,这也说明从水煎液-基准样品的制备过程中,挥发油类成分有损失,且高效液相色谱仪有一定的检测限,故未能检测出相应成分^[21],后续研究中将引入气相技术,构建更加完整的指纹图谱,揭示以臣药醋香附为代表的多个含有挥发性成分饮片的量值传递特征^[22]。其次由于法半夏的炮制工艺需要用到甘草,液相中峰形较好且可指认的峰与甘草重复,半夏本身的成分在此方法下并未发现故未对法半夏深入研究,而甘草的临床使用目的是用于调和诸药,故在后续实验中也未将其纳入计划。

综合全方 HPLC 指纹图谱以及药典相关规定,选择柴胡、赤芍、川芎、麸炒枳壳、陈皮、木香 6 味以其所含芍药内酯苷、芍药苷、阿魏酸、芸香柚皮苷、柚皮苷、橙皮苷、橙皮素、新橙皮苷、去氢木香内酯、柴胡皂苷 A 等具有明确药理活性的成分作为指标性成分进行定量考察^[23-27]。

3.3 量值传递研究

通过指纹图谱量值传递研究发现,除主要药效成分为挥发油的厚朴花、麸炒白术、砂仁、醋香附这几味药外^[28-30],大部分饮片的特征峰在饮片与基准样品间可以较为完整地传递。其中赤芍中指标性成分为芍药内酯苷以及芍药苷,其样品含量以及转移率均在平均值的 70%~130%,未出现离散数据,说明该药物在全方中量值传递稳定,且 2 个产地成分含量相似;川芎中指标性成分为阿魏酸,其质量分数为 22.24~34.49 mg/g,木香中的指标性成分为去氢木香内酯,其质量分数为 42.55~81.05 mg/g,

大部分批次符合 $\pm 30\%$ 的波动幅度,结合图 5 可知这 2 味饮片在不同产地不同批次的情况下含量也很稳定,分析其偏差数据出现的原因可能是因为煎剂易在过滤时少许沉淀附着在筛网上产生些许损耗,导致一些成分含量降低,后续会进一步增加批次,细化研究,减少误差与偶然性^[31];麸炒枳壳、陈皮作为同科饮片^[32-33],其成分相似,麸炒枳壳中特征性成分主要是芸香柚皮苷、柚皮苷以及新橙皮苷,陈皮中主要为芸香柚皮苷、橙皮苷与橙皮素,因芸香柚皮苷是共有成分,故其偏差较大,成分含量离散值较多,其余 4 个成分含量大多符合 $\pm 30\%$ 范围,分析原因可能是从药材到饮片的炮制、储藏过程中存在杂质,水分过多或过少导致,继而导致部分转移率的偏差,考虑是否根据实际情况将不同产地不同批次的饮片勾兑后投料,确保后续饮片和制剂质量的均一和稳定;柴胡作为君药^[34-35],其主要化学成分为皂苷、黄酮、挥发油等,不同产地的柴胡中柴胡皂苷 A 含量差距较大,陕西>山西>河北>湖北,因此建议对不同产地成分进行具体分析,以减少误差。

针对制剂的开发研究,决定其性能稳定疗效突出的关键在于突破基准样品的质量控制技术以及通过研究饮片-基准样品的关键质量属性在不同环节间的量值传递规律,才能不断提高中药的质量控制水平^[36],本实验所测得的转移率大部分都在其均值的 $\pm 30\%$ 范围内,总结原因可能是不同产地不同批次的药材在制备过程中受煎煮环境、储藏环境等因素影响导致指标成分转移率相差较大,后期制剂生产可考虑适当剔除部分批次转移率过低的饮片或采用混批投料方式来保证量值传递的均一性。后续研究将进一步增加基准样品研究产地与批次,以期建立更加具有代表性的基准样品相关质量标准^[37]。

4 结论

经典名方是中医药传承与发展的基础和关键,研发改进经典名方不仅满足现代的用药需求,还能推动中医药事业的发展。但是经典名方的研究面临诸多问题,如药材溯源、剂量折算、临床效果等^[38]。因而建立中药全产业链的品质传递过程关键评价技术体系是目前保障中药质量和疗效的关键^[39]。MCSP 是在经典名方柴胡疏肝散的基础上进行的改进,本研究建立了 MCSP 基准样品的指纹图谱,首先对其进行相似度分析,再根据色谱峰归属,将 29 个共有峰归属于 9 味饮片,并指出 13 个化学成

分。利用指纹图谱,建立多指标含量测定方法,结合转移率、化学计量学对 MCSP 的量值传递过程进行研究分析,初步建立了科学稳定的基准样品质量评价方法,以期 MCSP 的后续开发及相关制剂的质量控制提供依据。同时,本研究所测定的 10 个指标成分,来源于 6 味饮片,其中 9 个指标成分所归属的 5 味饮片属于经典名方柴胡疏肝散,因此本研究也在一定程度上揭示了柴胡疏肝散中部分成分的量值传递关系,也为柴胡疏肝散的进一步研究打下了基础。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 陈启亮,于清茜,李灿东,等.柴胡疏肝散的历史沿革与现代药理作用[J].辽宁中医杂志,2022,49(4):215-217.
- [2] 王常麟,高冬梅,高明周,等.柴胡疏肝散化学成分和药理作用研究进展及质量标志物的预测分析[J].中华中医药学刊,2022,40(11):124-131.
- [3] 许姗姗,许浚,张笑敏,等.常用中药陈皮、枳实和枳壳的研究进展及质量标志物的预测分析[J].中草药,2018,49(1):35-44.
- [4] 严仕梦,李法宝,吕婵,等.基于“胆病从肝论治”探讨胆囊术后综合征的中医证治[J].云南中医中药杂志,2023,44(2):91-95.
- [5] 曹海芳,张瑜,魏胜泰,等.柴胡疏肝散加减治疗慢性胆囊炎胆石症及胆囊功能和炎症因子的影响[J].中国实验方剂学杂志,2021,27(15):63-67.
- [6] 窦增花,李虎业,赵鹏飞.中药柴胡疏肝散加减治疗慢性胰腺炎对胰腺外分泌功能及胰腺纤维化的影响研究[J].世界中西医结合杂志,2022,17(2):398-401.
- [7] 陈丽华,肖发林,黄诗雨,等.中药质量评价研究思路及创新发展趋势[J].中草药,2021,52(9):2541-2547.
- [8] 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.
- [9] 刘昌孝.中药质量标志物(Q-marker):提高中药质量标准及质量控制理论和促进中药产业科学发展[J].中草药,2019,50(19):4517-4518.
- [10] 施能进,丁静,王刚,等.国内医疗机构制剂近40年研究热点和趋势可视化分析[J].中国医院药学杂志,2023,43(21):2353-2360.
- [11] 尚海花,廖茂梁,郑雅楠,等.基于同名同方药的化学物质基础及其创新研究思考[J].中草药,2023,54(16):5410-5420.
- [12] 储烟阁,匡艳辉,严曾豪,等.经典名方当归四逆汤物质基准指纹图谱及关键质量属性量值传递规律研究[J].中草药,2023,54(3):746-755.
- [13] 付小梅,孙菡,刘婧,等.基于聚类分析和主成分分析的栀子指纹图谱研究[J].中草药,2018,49(19):4653-4661.
- [14] 石欢,封燮,常雅晴,等.基于多成分含量测定和化学计量学的不同基原白芷药材质量评价研究[J].中草药,2023,54(11):3676-3684.
- [15] 邓神根,王梦雪,王芊芊,等.2020 年我国超大城市卫生资源配置效率与医疗水平分析[J].中国医院,2023,27(11):25-28.
- [16] 徐王磊,应力健.HPLC 法测定柴胡疏肝散中 8 个成分含量及主成分分析[J].中药材,2023,46(2):424-428.
- [17] Li J, Han J F, Lv J, et al. Saikosaponin A-induced gut microbiota changes attenuate severe acute pancreatitis through the activation of Keap1/Nrf2-ARE antioxidant signaling[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2020, 2020: 9217219.
- [18] Shi C D, Sun L L, Fang R, et al. Saikosaponin-a exhibits antipancreatic cancer activity by targeting the EGFR/PI3K/Akt pathway[J]. *Curr Pharm Biotechnol*, 2023, 24(4): 579-588.
- [19] 宋驰,葛威,邹佳莉,等.北柴胡及醋北柴胡标准汤剂质量差异性分析[J].中草药,2022,53(8):2331-2340.
- [20] 王康宇,贡济宇,郭云龙,等.基于化学模式识别分析的醋北柴胡 HPLC 指纹图谱研究[J].中药材,2020,43(9):2200-2203.
- [21] 崔业波,马晓静,王丹戎,等.基于传统煎药工艺的生香附、醋香附和四制香附定性定量方法研究[J].中国医药导刊,2023,25(6):580-585.
- [22] 杜克群,成颜芬,李敏敏,等.基于特征图谱与 5 种成分含量的经典名方桃红四物汤量值传递分析[J].中草药,2022,53(22):7058-7069.
- [23] 李艳凤,刘雅舒,李艳生.柴胡的化学成分与药理作用研究进展[J].西北药学杂志,2022,37(5):186-192.
- [24] Wang Y K, Li J, Wu L, et al. Saikosaponins regulate bile acid excretion in mice liver and ileum by activating farnesoid X receptor and bile acid transporter[J]. *Phytother Res*, 2023, 37(10): 4572-4586.
- [25] Luo Z X, Li M Q, Yang J C, et al. Ferulic acid attenuates high-fat diet-induced hypercholesterolemia by activating classic bile acid synthesis pathway[J]. *Front Nutr*, 2022, 9: 976638.
- [26] 李渊,高晓霞,秦雪梅.促胆汁分泌和排泄的中药研究进展[J].中国中药杂志,2020,45(6):1287-1296.
- [27] 郑加梅,尚明越,王嘉乐,等.木香的化学成分、药理作用、临床应用研究进展及质量标志物预测[J].中草药,2022,53(13):4198-4213.
- [28] 魏担,吴清华,裴瑾,等.厚朴花的本草考证、真伪鉴别、化学成分、药理作用、临床应用及新兴研究[J].中

- 国药房, 2019, 30(1): 140-144.
- [29] 杨丹阳, 于欢, 吴晓莹, 等. 白术化学成分及其生物活性研究进展 [J]. 中华中医药学刊, 2023, 41(5): 171-182.
- [30] 杨东生, 张越, 舒艳, 等. 砂仁化学成分及药理作用的研究进展 [J]. 广东化工, 2022, 49(8): 111-114.
- [31] 杨天梅, 李纪潮, 杨美权, 等. 不同产地初加工方法对云木香品质的影响 [J]. 中成药, 2022, 44(6): 2056-2058.
- [32] 肖建才, 闫滨滨, 万修福, 等. 基于指纹图谱和 UPLC-MS/MS 定量测定对不同产地陈皮的质量评价研究 [J]. 中草药, 2023, 54(10): 3302-3311.
- [33] 陈慧轩, 李翔, 杨健, 等. 4 种来源枳壳中 14 种黄酮类成分的 UPLC-MS/MS 同时含量测定及化学计量学分析 [J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2023, 25(2): 519-526.
- [34] 杜微波, 张志强, 陈敬然, 等. 北柴胡标准汤剂中柴胡皂苷量值传递规律研究 [J]. 山东中医药大学学报, 2023, 47(3): 342-348.
- [35] 李春娜, 刘悦, 刘洋洋, 等. 北柴胡化学成分及活性部位研究进展 [J]. 中华中医药学刊, 2014, 32(11): 2674-2677.
- [36] 黄仕文, 颜媛媛, 嵇晶, 等. 经典名方质量研究及其量值传递关键技术 [J]. 南京中医药大学学报, 2021, 37(3): 446-449.
- [37] 刘明松, 邓亚伟, 忻晓东, 等. 经典名方三化汤基准样品量值传递研究 [J]. 中草药, 2023, 54(11): 3501-3511.
- [38] 孙昱. 经典名方研发的现存问题及相关考虑 [J]. 药物评价研究, 2020, 43(5): 969-972.
- [39] 张佳, 杨怀瑾, 马丽霞, 等. 中药品质传递过程评价技术与方法研究进展 [J]. 中草药, 2021, 52(15): 4711-4721.

[责任编辑 郑礼胜]