

基于特征图谱结合化学计量学和一测多评法的北刘寄奴配方颗粒质量评价

张京华¹, 吴娜娜¹, 吕亚男¹, 曹桂云¹, 董晓弟¹, 林永强², 李金鑫¹, 孟兆青^{1*}

1. 山东宏济堂制药集团股份有限公司, 山东省中医药治疗呼吸系统疾病技术创新中心, 山东 济南 250103

2. 山东省食品药品检验研究院, 山东 济南 250101

摘要: 目的 建立 HPLC 法特征图谱结合化学计量学和一测多评法 (quantitative analysis of multi-components with a single-marker method, QAMS) 的方法, 对北刘寄奴 (*Siphonostegiae Herba*, SH) 配方颗粒 (formula granules, SHFG) 进行质量评价。方法 利用 15 批北刘寄奴标准汤剂 (SH standard decoctions, SHSD) 建立 HPLC 特征图谱, 并对指认的成分采用 QAMS 法测定含量。基于标准汤剂出膏率、指标成分含量及转移率, 研究配方颗粒与标准汤剂的一致性, 同时以特征图谱相似度评价法、聚类分析及主成分分析 (principal component analysis, PCA)、QAMS 法对配方颗粒进行质量评价。结果 15 批标准汤剂和 8 批配方颗粒特征图谱相似度均 > 0.9, 确定了 12 个共有峰, 指认咖啡酸、夏佛塔苷、对香豆酸、阿魏酸、毛蕊花糖苷、异毛蕊花糖苷、木犀草素、芹菜素 8 个成分。聚类分析及 PCA 可将 15 批标准汤剂和 8 批配方颗粒分成 2 类, C 厂家 2 批配方颗粒 (S22、S23) 单独为一类。15 批北刘寄奴标准汤剂出膏率为 11.70%~21.73%, 咖啡酸、夏佛塔苷、对香豆酸、阿魏酸、木犀草素、芹菜素、毛蕊花糖苷、异毛蕊花糖苷质量分数分别为 0.18~0.60、0.21~3.83、0.64~2.36、0.05~1.03、0.54~2.52、0.23~0.63、8.97~24.62、5.78~16.80 mg/g, 其从饮片到标准汤剂转移率分别为 23.28%~42.17%、26.73%~47.73%、21.98%~39.62%、24.00%~42.48%、8.85%~14.88%、18.54%~30.86%、19.12%~30.56%、26.87%~44.35%。A 厂家 3 批北刘寄奴配方颗粒 (S16~S18) 出膏率、指标成分含量及转移率与同批次饮片制备的标准汤剂接近, 且均在质量标准规定范围内; B、C 厂家 5 批北刘寄奴配方颗粒 (S19~S23) 8 种指标成分含量均在标准汤剂按制成量折算后含量范围内。结论 所建立的特征图谱结合化学计量学及 QAMS 法, 可系统全面地评价北刘寄奴配方颗粒的质量, 为北刘寄奴配方颗粒的工艺研究、质量控制以及临床应用提供参考。

关键词: 北刘寄奴; 标准汤剂; 配方颗粒; HPLC; 特征图谱; 一测多评法; 化学计量学; 主成分分析; 咖啡酸; 夏佛塔苷; 对香豆酸; 阿魏酸; 毛蕊花糖苷; 异毛蕊花糖苷; 木犀草素; 芹菜素

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2024)14-4722-13

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2024.14.010

Quality evaluation of *Siphonostegiae Herba* formula granules based on specific chromatograms combined with chemometrics and quantitative analysis of multi-components with a single-marker

ZHANG Jinghua¹, WU Nana¹, LYU Yanan¹, CAO Guiyun¹, DONG Xiaodi¹, LIN Yongqiang², LI Jinxin¹, MENG Zhaoqing¹

1. Shandong Hongjitang Pharmaceutical Group Co., Ltd., Shandong Province Technical Innovation Center of Traditional Chinese Medicine Treatment of Respiratory Diseases, Jinan 250103, China

2. Shandong Institute for Food and Drug Control, Jinan 250101, China

Abstract: Objective To establish the HPLC specific chromatography combined with chemometric analysis and quantitative analysis of multi-components with a single-marker method (QAMS) for the quality evaluation of Beiliujinu (*Siphonostegiae Herba*) formula granules (SHFG). **Methods** The HPLC specific chromatography of 15 batches of *Siphonostegiae Herba* standard decoctions (SHSD) was established, and the contents of identified components were determined by the QAMS method. Based on the extraction rates, index component contents, and transfer rates of the standard decoctions, the consistency of formula granules with the standard decoctions was studied. The quality of SHFG was evaluated by similarity analysis, cluster analysis, principal component analysis, and the QAMS

收稿日期: 2024-01-28

基金项目: 山东省重点研发计划重大科技创新工程项目 (2021CXGC010511); 泉城“5150”引才倍增计划 (2021 年)

作者简介: 张京华 (1987—), 女, 硕士, 高级工程师, 从事中药研发工作。E-mail: rainbow0005@hotmail.com

*通信作者: 孟兆青 (1979—), 男, 博士, 高级工程师, 从事中药研发工作。E-mail: cpummm@163.com

method. **Results** The similarity between specific chromatograms of 15 batches of SHSD and eight batches of SHFG were more than 0.9, 12 common peaks were calibrated, and eight components (caffeic acid, schaftoside, *p*-coumaric acid, ferulic acid, verbascoside, isoacteoside, luteolin and apigenin) were identified. Cluster analysis and principal component analysis can divide 15 batches of SHSD and eight batches of SHFG into two categories, and two batches of SHFG (S22, S23) from manufacturer C were classified as a single category. The extraction rates of 15 batches of SHSD were 11.70%—21.73%, the contents of caffeic acid, schaftoside, *p*-coumaric acid, ferulic acid, luteolin, apigenin, verbascoside and isoacteoside were 0.18—0.60, 0.21—3.83, 0.64—2.36, 0.05—1.03, 0.54—2.52, 0.23—0.63, 8.97—24.62, 5.78—16.80 mg/g and the transfer rates of these components from the herbal pieces to SFSD were 23.28%—42.17%, 26.73%—47.73%, 21.98%—39.62%, 24.00%—42.48%, 8.85%—14.88%, 18.54%—30.86%, 19.12%—30.56%, 26.87%—44.35%. The extract rates, index component contents, and transfer rates of index compounds in three batches of SHFG (S16—S18) from manufacturer A were close to the standard decoction prepared from the same batch of medicinal materials, and were all within the scope of the quality standard. The contents of eight index components of five batches of SHFG (S19—S23) from B and C manufacturers were all within the content range after converting the standard decoction according to the prepared amount. **Conclusion** The established HPLC specific chromatography and chemometric analysis methods combined with the QAMS method can comprehensively evaluate the quality of SHFG, which can provide a reference for the technological research, quality control, and clinical use of SHFG.

Key words: *Siphonostegiae Herba*; standard decoction; formula granule; specific chromatograms; QAMS; chemometrics; principal component analysis; caffeic acid; schaftoside; *p*-coumaric acid; ferulic acid; verbascoside; isoacteoside; luteolin; apigenin

北刘寄奴为玄参科植物阴行草 *Siphonostegia chinensis* Benth. 的干燥全草，又名六月霜、金钟茵陈。北刘寄奴性苦、寒，归脾、胃、肝、胆经；具有活血祛瘀、通经止痛、凉血、止血、清热利湿的功能；常用于跌打损伤、外伤出血、瘀血经闭、月经不调、产后瘀痛、癥瘕积聚、血痢、血淋、湿热黄疸、水肿腹胀、白带过多^[1]。现代研究表明，北刘寄奴含有黄酮类、奎尼酸酯类、有机酸类、多酚类、苯乙醇苷类等化学成分，具有保肝、抗血小板聚集、抗炎、抗菌、利胆等药理作用^[2-9]。

中药配方颗粒是由单味中药饮片经水提、分离、浓缩、干燥、制粒而成的颗粒，克服了传统煎剂需要临时煎煮、携带不方便等缺点。随着中药配方颗粒市场的扩大，加强其质量控制愈加重要。国家药品监督管理局于 2021 年发布的《中药配方颗粒质量控制与标准制定技术要求》（以下简称《技术要求》）规定，以标准汤剂作为中药配方颗粒标准制定的参照物，并明确以出膏率、特征图谱/指纹图谱、主要成分含量及转移率等为指标，衡量中药配方颗粒与标准汤剂的一致性^[10-11]。目前山东、江西、河南等省已经根据《技术要求》建立了北刘寄奴配方颗粒省级标准，使北刘寄奴配方颗粒在临床得到了广泛的应用，但是其质控指标特征图谱、木犀草素和毛蕊花糖苷含量测定方法不一致，且仅以木犀草素和毛蕊花糖苷为指标无法全面反映配方颗粒的质量，有待进一步统一和完善。

另外，目前尚无北刘寄奴配方颗粒与临床汤剂

一致性研究，不利于其临床用药。因此，本研究根据相关法规和《技术要求》的规定，于北刘寄奴主产区及道地产区收集 15 批药材，按照要求制成饮片，制备标准汤剂，建立基于标准汤剂的北刘寄奴配方颗粒的质量标准，以出膏率、特征图谱、指标成分的含量及转移率为指标并结合聚类分析和主成分分析（principal component analysis, PCA），衡量北刘寄奴配方颗粒与相应标准汤剂的一致性，对不同批次北刘寄奴配方颗粒进行综合评价，为北刘寄奴配方颗粒的质量控制和临床应用合理性提供实验依据，为工艺优化提供研究方向，同时也可作为配方颗粒的科学参考。

1 仪器与材料

1.1 仪器

Agilent 1260 型高效液相色谱仪，美国 Agilent 科技有限公司；Waters e2695 型高效液相色谱仪，美国 Waters 公司；TS8606 型冻干机，德国 Fevik 公司；KQ-250DE 型数控超声波清洗器，昆山市超声仪器有限公司；BSA224S-CW 型电子天平，赛多利斯科技仪器（北京）有限公司；XS105 型电子天平，瑞士 Mettler Toledo 集团公司；KDM 型可调控电热套，山东鄄城华鲁电热仪器有限公司。

1.2 材料

对照品咖啡酸，批号 200335-190702，质量分数 99.1%，购自江苏永健医药科技有限公司；对照品夏佛塔苷（批号 111912-202204，质量分数 94.9%）、对香豆酸（批号 112037-202102，质量分数 99.7%）、

阿魏酸（批号 110713-201915，质量分数 99.4%）、毛蕊花糖苷（批号 111530-201914，质量分数 95.2%）、木犀草素（批号 111520-202107，质量分数 96.3%）、芹菜素（批号 111901-2022057，质量分数 98.4%），购自中国食品药品检定研究院；对照品异毛蕊花糖苷，批号 61303-13-7，质量分数 98.0%，购自上海鸿永生物科技有限公司。15 批药材的来源

详见表 1，经山东省食品药品检验研究院林永强主任药师鉴定为玄参科植物阴行草 *S. chinensis* Benth. 的干燥全草；8 批北刘寄奴配方颗粒信息详见表 2；乙腈，色谱纯，月旭科技（上海）股份有限公司；磷酸，色谱纯，天津科密欧化学试剂有限公司；甲醇，分析级，天津市富宇精细化工有限公司；纯水，杭州娃哈哈有限公司；屈臣氏纯化水。

表 1 15 批北刘寄奴药材信息

Table 1 Information of 15 batches of *Siphonostegiae Herba* from different origins

编号	产品批号	产地	编号	产品批号	产地	编号	产品批号	产地
YC1	YF21030001	河南南阳市	YC6	YF21030006	河南南阳市	YC11	YF21030011	河南南阳市
YC2	YF21030002	河北赤城县	YC7	YF21030007	吉林安图	YC12	YF21030012	安徽宣城
YC3	YF21030003	河南南阳市	YC8	YF21030008	河北赤城县	YC13	YF21030013	安徽宣城
YC4	YF21030004	河北赤城县	YC9	YF21030009	吉林安图	YC14	YF21030014	安徽宣城
YC5	YF21030005	吉林安图	YC10	YF21030010	河北赤城县	YC15	YF21030015	河南南阳市

表 2 8 批北刘寄奴配方颗粒信息

Table 2 Information of eight batches of SHFG from different manufacturers

编号	产品批号	产品当量	生产厂家	备注
S16	2007001	每克相当于 4.2 g 药材	山东宏济堂制药集团股份有限公司（A 厂家）	由 YF21030001 批次饮片制备
S17	2007002	每克相当于 4.2 g 药材	山东宏济堂制药集团股份有限公司（A 厂家）	由 YF21030001 批次饮片制备
S18	2007003	每克相当于 4.2 g 药材	山东宏济堂制药集团股份有限公司（A 厂家）	由 YF21030001 批次饮片制备
S19	S3040022	每克相当于 4.2 g 药材	山东一方制药有限公司（B 厂家）	
S20	S3050322	每克相当于 4.2 g 药材	山东一方制药有限公司（B 厂家）	
S21	S3070372	每克相当于 4.2 g 药材	山东一方制药有限公司（B 厂家）	
S22	医院调配	每克相当于 4.2 g 药材	山东红日康仁堂药业有限公司（C 厂家）	
S23	医院调配	每克相当于 4.2 g 药材	山东红日康仁堂药业有限公司（C 厂家）	

2 方法与结果

2.1 样品制备

2.1.1 标准汤剂冻干粉的制备 将 15 批北刘寄奴药材按《中国药典》2020 年版北刘寄奴〔炮制〕项下方法处理，得 15 批北刘寄奴饮片（批号同药材）。根据《技术要求》，结合现代临床用药习惯，北刘寄奴标准汤剂煎煮工艺确定如下：15 批北刘寄奴饮片，称取各 100 g，分别置于砂锅中，加水煎煮 2 次，第 1 次加 12 倍量水，浸泡 30 min，武火煮沸后改为文火煎煮 30 min，第 2 次加 10 倍量水，武火煮沸后改为文火煎煮 20 min，趁热滤过，合并滤液，浓缩，冷冻干燥，即得 15 批标准汤剂冻干粉（编号 S1~S15）。

2.1.2 对照品溶液的制备 分别精密称定咖啡酸、夏佛塔苷、对香豆酸、阿魏酸、毛蕊花糖苷、异毛蕊花糖苷、木犀草素、芹菜素对照品适量，加甲醇溶解，制成质量浓度分别为 17.08、102.22、40.58、

34.44、138.99、290.47、34.44、4.35 μg/mL 的混合对照品溶液。

2.1.3 供试品溶液的制备 取北刘寄奴配方颗粒或标准汤剂冻干粉适量，研细，取约 0.5 g，精密称定，置具塞锥形瓶中，加入 70%甲醇 25 mL 称定质量，加热回流 30 min，放冷，用 70%甲醇补足减失的质量，摇匀，滤过，取续滤液，即得供试品溶液。

2.2 色谱条件与系统适用性试验

Agilent 5 TC-C₁₈ 色谱柱（250 mm×4.6 mm，5 μm）；以乙腈-0.05%磷酸水溶液为流动相，梯度洗脱：0~20 min，10%~20%乙腈；20~60 min，20%~35%乙腈；检测波长 310 nm（前 40 min），后变换为 350 nm；体积流量为 1 mL/min；柱温为 35 ℃；理论板数按咖啡酸峰计算，应不低于 3 000。

2.3 北刘寄奴标准汤剂及配方颗粒 HPLC 特征图谱研究

2.3.1 专属性考察 吸取北刘寄奴配方颗粒供试品

溶液、阴性样品（取配方颗粒所用辅料，按“2.1.3”项下方法制成）、空白溶剂、混合对照品溶液，注入高效液相色谱仪测定，结果表明，阴性样品无干扰，方法专属性良好（图 1）。

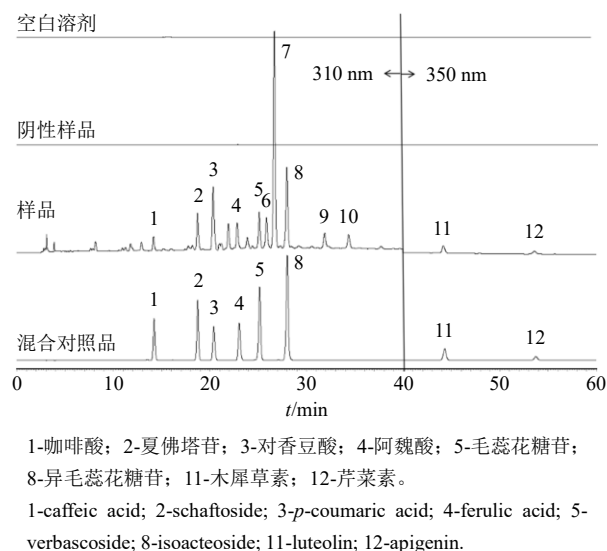


图 1 北刘寄奴配方颗粒专属性色谱图
Fig. 1 Specific chromatogram of SHFG

2.3.2 重复性考察 按“2.1.3”项下方法平行制备 6 份北刘寄奴标准汤剂冻干粉（S1）供试品溶液，按照“2.2”项下色谱条件进样测定，记录色谱图。以峰 1 为参照峰，测得各共有峰相对保留时间 RSD 为 0.06%~0.11%，表明该方法重复性良好。

2.3.3 中间精密度考察 不同分析人员，在不同时间利用另一台高效液相色谱仪，再次进行重复性试验。分析 2 次重复性试验结果，各共有峰相对保留时间 RSD 为 0.20%~0.80%，表明该方法中间精密度良好。

2.3.4 稳定性考察 同一供试品溶液分别在 0、4、8、12、24 h 测定，各共有峰相对保留时间 RSD 为 0.07%~0.30%，相对峰面积的 RSD 为 1.71%~4.80%，表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.3.5 耐用性考察 分别采用 Agilent 1260、Waters e2695 高效液相色谱系统，Agilent 5 TC-C₁₈（2）色谱柱，考察不同仪器对相对保留时间的影响，测得各共有峰相对保留时间 RSD 为 0.49%~3.62%；采用 Agilent 1260 高效液相色谱仪，分别考察 Agilent 5 TC-C₁₈（2）[250 mm×4.6 mm，5 μm，序列号（SN）704069、605903]、Atlantis T3 [250 mm×4.6 mm，5 μm，SN 01853029014085、02033227018895]、中谱红 AQ-C₁₈ [250 mm×4.6 mm，5 μm，SN

019020472]、中谱红 ODS-H [250 mm×4.6 mm，5 μm，SN 418020441] 6 根色谱柱对相对保留时间的影响，6 根色谱柱测定同一供试品溶液，测得各共有峰相对保留时间 RSD 为 0.88%~2.43%；分别采用不同体积流量和不同柱温测定同一供试品溶液，测得各共有峰相对保留时间 RSD 为 0.69%~2.72%，表明方法耐用性良好。

2.3.6 特征图谱的建立 将 15 批北刘寄奴标准汤剂冻干粉和 8 批北刘寄奴配方颗粒制成供试品溶液，如法测定，将图谱导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统（2012 版）”（图 2）。以 S1 批标准汤剂的特征图谱为参照，对 15 批北刘寄奴标准汤剂和 8 批配方颗粒特征图谱进行共有峰标识，选择出峰稳定，峰形和分离度较好的 12 个共有峰作为特征峰，经与对照品对照，指认了其中 8 个成分，分别为咖啡酸（峰 1）、夏佛塔苷（峰 2）、对香豆酸（峰 3）、阿魏酸（峰 4）、毛蕊花糖苷（峰 5）、异毛蕊花糖苷（峰 8）、木犀草素（峰 11）、芹菜素（峰 12）。对 15 批北刘寄奴标准汤剂的特征图谱采用多点校正并对共有峰进行 Mark 匹配，生成对照特征图谱。比较 15 批北刘寄奴标准汤剂图谱与对照特征图谱的相似度，相似度>0.90，说明不同批次北刘寄奴饮片所制备的标准汤剂具有较高的相似度。

选择峰形和分离度较好，且价廉易得的咖啡酸对照品的色谱峰（峰 1）为参照峰（S），计算得到各共有峰的相对保留时间 RSD 为 0~0.9%，12 个特征峰相对保留时间差异较小，均在平均值±10%范围内，选择相对保留时间的平均值作为规定值。规定值为 1.33（峰 2）、1.44（峰 3）、1.61（峰 4）、1.77（峰 5）、1.83（峰 6）、1.88（峰 7）、1.97（峰 8）、2.25（峰 9）、2.42（峰 10）、3.12（峰 11）、3.78（峰 12），允许误差：±10%。数据见表 3。

比较 8 批北刘寄奴配方颗粒与北刘寄奴标准汤剂特征图谱。结果表明，8 批北刘寄奴配方颗粒的特征图谱均呈现与北刘寄奴标准汤剂相同的 12 个共有峰，且 12 个共有峰的相对保留时间基本一致，图谱相似度评价结果均大于 0.9，说明北刘寄奴标准汤剂与不同厂家生产的北刘寄奴配方颗粒之间相似度较好，成分差异较小，现行生产工艺能够保证制备得到的配方颗粒与标准汤剂的一致性。

2.3.7 聚类分析 将 15 批北刘寄奴标准汤剂指纹图谱中 12 个特征峰的峰面积按制成量折算配方颗粒峰面积，将折算后的峰面积和 8 批配方颗粒的峰面积

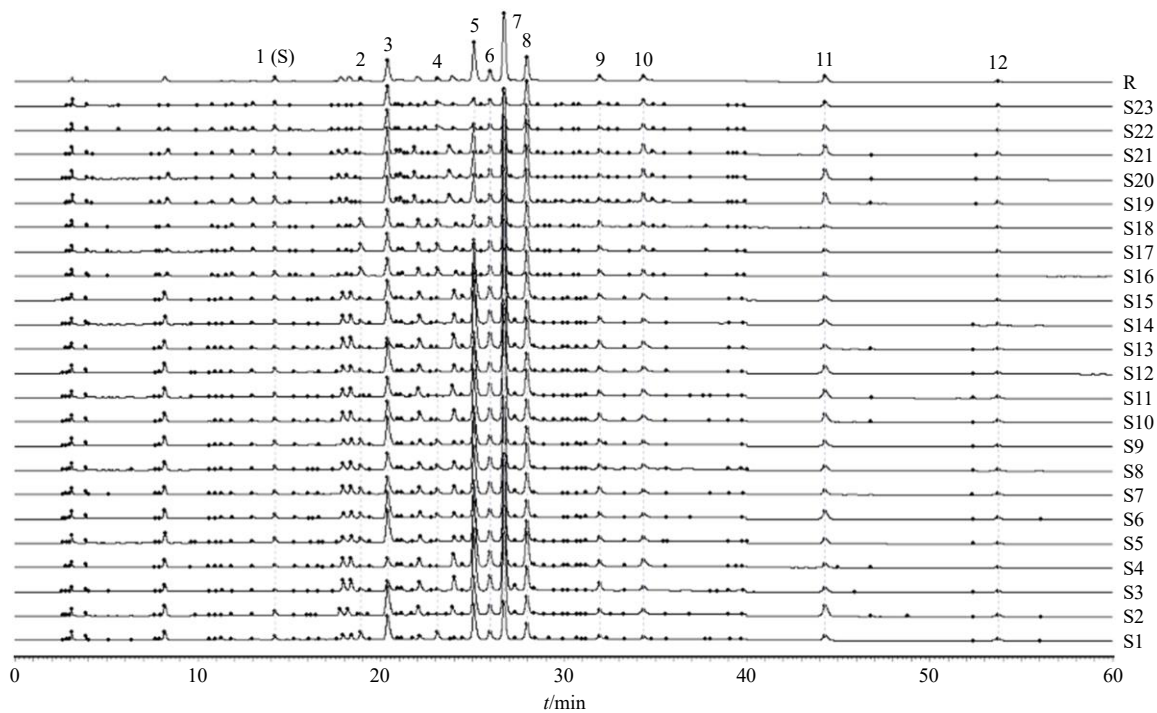


图 2 15 批北刘寄奴标准汤剂 (S1~S15) 和 8 批配方颗粒 (S16~S23) 特征图谱及对照特征图谱 (R)
Fig. 2 HPLC characteristic chromatograms of 15 batches of SHSD (S1—S15) and eight batches of SHSD (S16—S23) and reference specific chromatography (R)

表 3 15 批北刘寄奴标准汤剂 (S1~S15) 和 8 批配方颗粒 (S16~S23) 特征图谱共有峰的相对保留时间
Table 3 Relative retention time of common peaks in specific chromatography of 15 batches of SHSD (S1—S15) and eight batches of SHFG (S16—S23)

相对保留时间													相对保留时间												
编号	峰 1 (S)	峰 2	峰 3	峰 4	峰 5	峰 6	峰 7	峰 8	峰 9	峰 10	峰 11	峰 12	编号	峰 1 (S)	峰 2	峰 3	峰 4	峰 5	峰 6	峰 7	峰 8	峰 9	峰 10	峰 11	峰 12
S1	1.00	1.32	1.44	1.61	1.77	1.82	1.88	1.98	2.25	2.43	3.12	3.79	S14	1.00	1.32	1.43	1.61	1.77	1.82	1.88	1.97	2.24	2.42	3.11	3.78
S2	1.00	1.32	1.44	1.62	1.77	1.82	1.88	1.97	2.25	2.43	3.12	3.78	S15	1.00	1.32	1.44	1.61	1.77	1.82	1.88	1.97	2.25	2.43	3.12	3.79
S3	1.00	1.32	1.43	1.61	1.77	1.82	1.88	1.97	2.24	2.42	3.11	3.78	S16	1.00	1.32	1.44	1.61	1.77	1.83	1.88	1.97	2.25	2.43	3.12	3.79
S4	1.00	1.33	1.44	1.62	1.77	1.83	1.88	1.98	2.25	2.42	3.11	3.77	S17	1.00	1.32	1.44	1.61	1.77	1.83	1.88	1.97	2.25	2.43	3.12	3.79
S5	1.00	1.33	1.44	1.61	1.78	1.83	1.89	1.98	2.25	2.43	3.12	3.79	S18	1.00	1.32	1.44	1.61	1.77	1.83	1.88	1.98	2.25	2.43	3.12	3.78
S6	1.00	1.32	1.43	1.61	1.77	1.82	1.88	1.97	2.24	2.42	3.11	3.77	S19	1.00	1.34	1.43	1.62	1.76	1.83	1.88	1.96	2.25	2.40	3.12	3.78
S7	1.00	1.32	1.43	1.61	1.77	1.82	1.88	1.97	2.25	2.42	3.12	3.78	S20	1.00	1.35	1.43	1.62	1.75	1.83	1.88	1.96	2.25	2.40	3.12	3.78
S8	1.00	1.32	1.44	1.61	1.77	1.82	1.88	1.98	2.25	2.43	3.12	3.79	S21	1.00	1.35	1.43	1.62	1.75	1.83	1.88	1.96	2.25	2.40	3.12	3.78
S9	1.00	1.32	1.43	1.61	1.77	1.82	1.88	1.97	2.24	2.42	3.11	3.77	S22	1.00	1.35	1.43	1.63	1.76	1.84	1.88	1.96	2.26	2.40	3.12	3.78
S10	1.00	1.32	1.44	1.61	1.77	1.82	1.88	1.98	2.25	2.43	3.12	3.79	S23	1.00	1.35	1.43	1.63	1.76	1.84	1.88	1.96	2.26	2.40	3.12	3.78
S11	1.00	1.32	1.44	1.62	1.77	1.82	1.88	1.97	2.25	2.42	3.11	3.78	平均值	1.00	1.33	1.44	1.61	1.77	1.83	1.88	1.97	2.25	2.42	3.12	3.78
S12	1.00	1.32	1.44	1.61	1.77	1.82	1.88	1.97	2.25	2.43	3.12	3.79	RSD/%	0.00	0.89	0.36	0.41	0.39	0.36	0.11	0.36	0.24	0.48	0.15	0.18
S13	1.00	1.32	1.43	1.61	1.77	1.82	1.88	1.97	2.24	2.42	3.11	3.78													

导入 SPSS 20.0 软件进行聚类分析, 结果见图 3。结果发现当欧氏距离为 15 时, 23 批样品可分为 2 大类, C 厂家北刘寄奴配方颗粒 (S22、S23) 聚为一类, A、B 厂家北刘寄奴配方颗粒 (S16~S21) 与标准汤剂聚为一类, 说明 A、B 厂家北刘寄奴配方颗粒 (S16~S21) 与标准汤剂一致性较好。

2.3.8 PCA 将 15 批北刘寄奴标准汤剂指纹图谱中 12 个特征峰的峰面积按制成量折算配方颗粒峰面积,

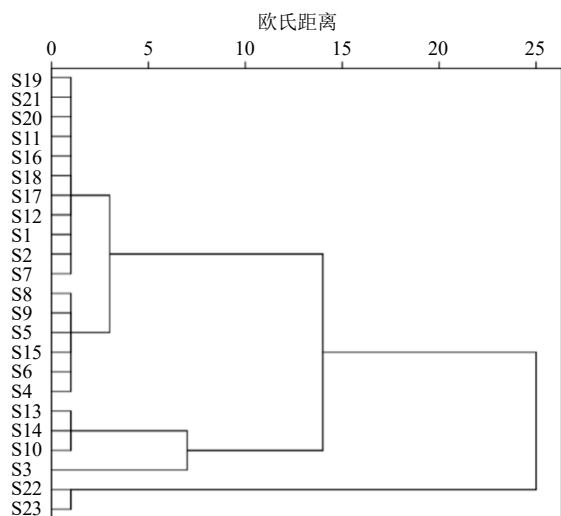


图 3 15 批北刘寄奴标准汤剂 (S1~S15) 和 8 批配方颗粒 (S16~S23) 特征图谱聚类分析

Fig. 3 Characteristic map cluster analysis map of 15 batches of SHFG (S1—S15) and eight batches of SHSD (S16—S23)

将折算后的峰面积和 8 批配方颗粒的峰面积 (峰 5 和峰 8 峰面积加和分析, 标为峰 5) 导入 SPSS 20.0 软件进行 PCA, 得到相关矩阵的特征值与方差贡献率、因子载荷矩阵及得分图。以特征值 >1 为提取标准得到 3 个主成分累积方差贡献率为 85.48%, 能较好涵盖 12 个共有峰的信息。主成分 1 方差贡献率为 40.04%, 主要反映峰 1、3、11、12 的信息; 主成分 2 方差贡献率为 32.34%, 主要反映峰 2、4、5、10 的信息; 主成分 3 方差贡献率为 13.10%, 主要反映峰 7 的信息。由图 4 得分图可知, C 厂家配方颗粒 (S22、S23) 与 A、B 厂家配方颗粒及标准

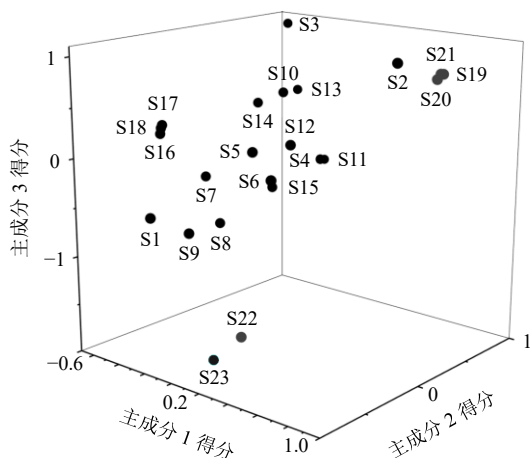


图 4 15 批北刘寄奴标准汤剂 (S1~S15) 和 8 批配方颗粒 (S16~S23) 的 PCA 得分

Fig. 4 PCA score chart of 15 batches of SHSD (S1—S15) and eight batches of SHFG (S16—S23)

汤剂样品分布距离较远, A、B 厂家配方颗粒 (S16~S21) 与标准汤剂样品间的离散程度较低, 表明 A、B 厂家配方颗粒 (S16~S21) 与标准汤剂成分差异较小, 其分类结果与聚类分析结果基本一致。

2.4 北刘寄奴标准汤剂及配方颗粒一测多评 (quantitative analysis of multi-components with a single-marker method, QAMS) 方法建立

2.4.1 专属性考察 取北刘寄奴配方颗粒及相应辅料按“2.1.3”项下方法制备配方颗粒供试品溶液及阴性样品溶液, 取北刘寄奴配方颗粒供试品溶液、混合对照品溶液、阴性样品溶液、空白溶剂按“2.2”项下色谱条件检测, 结果表明阴性样品无干扰, 说明该方法专属性良好。

2.4.2 线性关系考察 精密量取咖啡酸、夏佛塔苷、对香豆酸、阿魏酸、毛蕊花糖苷、异毛蕊花糖苷、木犀草素、芹菜素质量浓度分别为 85.42、127.77、152.18、43.05、833.94、726.18、49.75、18.14 $\mu\text{g/mL}$ 的混合对照品溶液, 采用倍数稀释法, 分别稀释 2、4、8、16、32 倍, 按“2.2”项下色谱条件进行检测。以质量浓度为横坐标 (X), 峰面积为纵坐标 (Y), 进行线性回归, 计算回归方程及相关系数, 结果分别为咖啡酸 $Y=44.194 X+0.312 8$, $r=0.999 9$, 线性范围 2.67~85.42 $\mu\text{g/mL}$; 夏佛塔苷 $Y=15.616 X-0.932 8$, $r=1.000 0$, 线性范围 3.99~127.77 $\mu\text{g/mL}$; 对香豆酸 $Y=78.599 X+30.3$, $r=0.999 8$, 线性范围 4.76~152.18 $\mu\text{g/mL}$; 阿魏酸 $Y=45.357 X-4.365 7$, $r=0.999 8$, 线性范围 1.35~43.05 $\mu\text{g/mL}$; 毛蕊花糖苷 $Y=12.158 X+8.519 6$, $r=0.999 4$, 线性范围 26.06~833.94 $\mu\text{g/mL}$; 异毛蕊花糖苷 $Y=11.16 X-24.173$, $r=0.999 9$, 线性范围 22.69~726.18 $\mu\text{g/mL}$; 木犀草素 $Y=35.682 X+0.376 4$, $r=0.999 8$, 线性范围 1.55~49.75 $\mu\text{g/mL}$; 芹菜素 $Y=39.76 X-4.202 6$, $r=0.999 9$, 线性范围 0.57~18.14 $\mu\text{g/mL}$; 结果发现各成分在一定质量浓度范围内线性关系良好。

2.4.3 精密度试验 精密吸取“2.1.2”项下的混合对照品溶液, 按“2.2”项下的色谱条件连续进样 6 次, 记录咖啡酸、夏佛塔苷、对香豆酸、阿魏酸、毛蕊花糖苷、异毛蕊花糖苷、木犀草素、芹菜素各组分的峰面积, 并计算峰面积的 RSD, 结果显示咖啡酸、夏佛塔苷、对香豆酸、阿魏酸、毛蕊花糖苷、异毛蕊花糖苷、木犀草素、芹菜素的峰面积 RSD 分别为 0.6%、0.3%、0.4%、0.6%、0.8%、0.7%、0.5%、0.8%, 表明仪器精密度良好。

2.4.4 重复性试验 取北刘寄奴标准汤剂冻干粉(S1)按“2.1.3”项下方法制备 6 份供试品溶液,按“2.2”项下色谱条件检测,计算咖啡酸、夏佛塔苷、对香豆酸、阿魏酸、毛蕊花糖苷、异毛蕊花糖苷、木犀草素、芹菜素平均质量分数分别为 0.48、3.80、1.72、1.03、11.85、8.41、0.87、0.34 mg/g, RSD 分别为 1.0%、0.9%、3.4%、0.8%、1.1%、0.9%、1.1%、0.6%,表明该方法重复性良好。

2.4.5 中间精密密度试验 2 个分析人员在不同时间分别按“2.1.3”项下方法制备 6 份供试品溶液,利用不同仪器按“2.2”项下色谱条件检测,结果北刘寄奴标准汤剂中咖啡酸、夏佛塔苷、对香豆酸、阿魏酸、毛蕊花糖苷、异毛蕊花糖苷、木犀草素、芹菜素质量分数的 RSD 分别为 3.6%、2.4%、2.8%、1.7%、3.0%、1.9%、1.7%、4.0%,表明方法中间精密密度良好。

2.4.6 稳定性试验 取北刘寄奴标准汤剂冻干粉按“2.1.3”项下方法制备供试品溶液,分别于制备后 0、4、8、12、24 h 按“2.2”项下色谱条件测定,计算咖啡酸、夏佛塔苷、对香豆酸、阿魏酸、毛蕊花糖苷、异毛蕊花糖苷、木犀草素、芹菜素质量分数的 RSD 分别为 1.6%、0.8%、3.8%、1.9%、0.8%、0.6%、2.8%、2.5%,表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.4.7 加样回收率试验 取北刘寄奴标准汤剂冻干粉 0.25 g,精密称定,平行 6 份,加入对照品溶液适量,按“2.1.3”项下方法制备供试品溶液,按“2.2”项下色谱条件测定,计算咖啡酸、夏佛塔苷、对香豆酸、阿魏酸、毛蕊花糖苷、异毛蕊花糖苷、木犀草素、芹菜素加样回收率分别为 94.21%~96.95%、94.06%~95.49%、93.09%~96.31%、92.11%~94.47%、94.09%~101.45%、91.71%~99.72%、93.76%~95.73%、96.43%~97.54%, RSD 分别为 1.1%、0.6%、1.3%、1.8%、2.6%、3.4%、1.4%、2.8%,表明该方法准确度良好。

2.4.8 相对校正因子($f_{s/i}$)的计算 根据“2.4.1”项下 5 个不同稀释质量浓度混合对照品溶液的线性考察结果,以咖啡酸为内参物,计算 7 种成分的 $f_{s/i}$,公式为 $f_{s/i}=A_s C_i / C_s A_i$,式中 A_s 为内参物峰面积, C_s 为内参物质量浓度; A_i 为待测物峰面积, C_i 为待测物质量浓度。夏佛塔苷、对香豆酸、阿魏酸、毛蕊花糖苷、异毛蕊花糖苷、木犀草素、芹菜素的 $f_{s/i}$ 分别为 2.98、0.58、1.03、4.07、4.01、1.24、1.23,见表 4。

表 4 北刘寄奴标准汤剂及配方颗粒中 7 种成分的 $f_{s/i}$

Table 4 Results of the $f_{s/i}$ of seven components in SHSD and SHFG

试验号	$f_{\text{咖啡酸/}}$ 夏佛塔苷	$f_{\text{咖啡酸/}}$ 对香豆酸	$f_{\text{咖啡酸/}}$ 阿魏酸	$f_{\text{咖啡酸/}}$ 毛蕊花糖苷	$f_{\text{咖啡酸/}}$ 异毛蕊花糖苷	$f_{\text{咖啡酸/}}$ 木犀草素	$f_{\text{咖啡酸/}}$ 芹菜素
1	2.98	0.58	1.03	4.07	4.03	1.23	1.23
2	2.97	0.58	1.03	4.08	4.00	1.24	1.22
3	2.98	0.58	1.02	4.06	4.01	1.24	1.23
4	2.98	0.58	1.03	4.07	4.00	1.23	1.23
5	2.97	0.57	1.03	4.07	4.00	1.24	1.23
平均值	2.98	0.58	1.03	4.07	4.01	1.24	1.23
RSD/%	0.18	0.77	0.44	0.17	0.33	0.44	0.36

2.4.9 $f_{s/i}$ 的耐用性考察 采用不同高效液相设备及不同色谱柱对各化合物的 $f_{s/i}$ 进行考察,结果见表 5,结果发现 $f_{s/i}$ 的 RSD 在 0.50%~2.34%,表明不同仪器和不同色谱柱对各待测成分 $f_{s/i}$ 无显著影响。

在不同体积流量及不同柱温下,测定各化合物的 $f_{s/i}$,结果见表 6,结果 $f_{s/i}$ 的 RSD 在 0~0.72%,表明不同体积流量和不同柱温对各待测成分 $f_{s/i}$ 无显著影响。

2.4.10 待测组分色谱峰的定位 根据“2.4.3”项下检测结果,分别计算各待测组分色谱峰的相对保留时间(t_{is})与保留时间差(Δt_{is}),结果见表 7,结果发现不同仪器、不同色谱柱对各成分 t_{is} 影响较小,其 RSD 均<2.8%,说明可根据 t_{is} 对各待测成分的色谱峰进行定位。

2.4.11 QAMS 与外标法(ESM)测定结果的比较 分别采用 QAMS 和 ESM 计算 15 批北刘寄奴标准汤剂和 8 批北刘寄奴配方颗粒中 8 种待测成分的含量,结果见表 8。2 种方法计算的含量之间相对误差(RE)<4%,表明所建立的 QAMS 方法准确性良好,可用于北刘寄奴配方颗粒及标准汤剂的含量测定。

2.5 北刘寄奴配方颗粒与标准汤剂一致性研究

分别取 15 批北刘寄奴饮片粉末(过二号筛)约 4 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,加水 50 mL,称定质量,加热回流 1.5 h,滤过,蒸干,用 70%甲醇溶解并定容至 25 mL,摇匀,过 0.45 μm 微孔滤膜,取续滤液,按“2.2”项下色谱条件测定咖啡酸、夏佛塔苷、对香豆酸、阿魏酸、毛蕊花糖苷、异毛蕊花糖苷、木犀草素、芹菜素的含量。并根据“2.4.11”项下测定结果计算 15 批标准汤剂中 8 种成分从饮片到标准汤剂的转移率,结果见表 9。北刘寄奴标准汤剂中咖啡酸、夏佛塔苷、对香豆酸、阿魏酸、木犀

表 5 不同仪器和色谱柱条件下测得 7 种成分的 $f_{s/i}$

Table 5 $f_{s/i}$ of seven components determined by different instruments and chromatographic columns

仪器	色谱柱	$f_{\text{咖啡酸/}}$	$f_{\text{咖啡酸/}}$	$f_{\text{咖啡酸/}}$	$f_{\text{咖啡酸/}}$	$f_{\text{咖啡酸/}}$	$f_{\text{咖啡酸/}}$	$f_{\text{咖啡酸/}}$
		夏佛塔昔	对香豆酸	阿魏酸	毛蕊花糖苷	异毛蕊花糖苷	木犀草素	芹菜素
Agilent 1260 LC-13	Agilent 5TC-C ₁₈ (2) (SN704069)	2.98	0.58	1.03	4.07	4.00	1.24	1.23
	Agilent 5TC-C ₁₈ (2) (SN605903)	2.98	0.58	1.03	4.06	4.00	1.24	1.23
	中谱红 AQ-C ₁₈ (SN019020472)	2.97	0.56	0.98	4.02	3.98	1.21	1.20
	中谱红 ODS-H (SN418020441)	2.87	0.56	1.03	4.09	4.00	1.23	1.22
	Atlantis T3 (SN01853029014085)	2.89	0.56	1.02	4.01	4.00	1.20	1.19
Agilent 1260 LC-15	Atlantis T3 (SN02033227018895)	2.84	0.55	0.98	4.00	3.96	1.16	1.15
Waters e2695	Agilent 5TC-C ₁₈ (2) (SN726574)	3.02	0.59	1.05	4.07	4.02	1.24	1.22
Agilent 1260 LC-10	Agilent 5TC-C ₁₈ (2) (SN704069)	2.97	0.58	1.03	4.09	4.03	1.23	1.22
	Agilent 5TC-C ₁₈ (2) (SN605903)	2.97	0.58	1.02	4.06	4.00	1.23	1.23
	中谱红 AQ-C ₁₈ (SN019020472)	2.96	0.56	1.01	4.00	3.98	1.19	1.18
平均值		2.95	0.57	1.02	4.05	4.00	1.22	1.21
RSD/%		1.96	2.34	2.21	0.89	0.50	2.13	2.15

表 6 不同体积流量及不同柱温条件下测得 7 种成分的 $f_{s/i}$

Table 6 $f_{s/i}$ of seven components determined with different flow rate and column temperature

体积流量/(mL·min ⁻¹)	柱温/°C	$f_{\text{咖啡酸/夏佛塔昔}}$	$f_{\text{咖啡酸/对香豆酸}}$	$f_{\text{咖啡酸/阿魏酸}}$	$f_{\text{咖啡酸/毛蕊花糖苷}}$	$f_{\text{咖啡酸/异毛蕊花糖苷}}$	$f_{\text{咖啡酸/木犀草素}}$	$f_{\text{咖啡酸/芹菜素}}$
0.9	35	2.97	0.58	1.03	4.07	4.00	1.22	1.22
1.0	35	2.98	0.58	1.03	4.06	4.00	1.24	1.23
1.1	35	2.98	0.58	1.03	4.07	4.01	1.24	1.23
1.0	34	2.98	0.58	1.03	4.07	4.00	1.24	1.22
1.0	36	2.98	0.58	1.03	4.05	3.99	1.23	1.23
平均值		2.98	0.58	1.03	4.06	4.00	1.24	1.23
RSD/%		0.15	0.00	0.00	0.22	0.18	0.72	0.45

表 7 不同仪器和色谱柱中各目标成分的 $t_{i/s}$ 及 $\Delta t_{i/s}$

Table 7 Values of $t_{i/s}$ and $\Delta t_{i/s}$ determined by different instruments and columns

仪器	色谱柱	$t_{\text{夏佛塔昔/}}$	$\Delta t_{\text{夏佛塔昔/}}$	$t_{\text{对香豆酸/}}$	$\Delta t_{\text{对香豆酸/}}$	$t_{\text{阿魏酸/}}$	$\Delta t_{\text{阿魏酸/}}$	$t_{\text{毛蕊花糖苷/}}$	$\Delta t_{\text{毛蕊花糖苷/}}$	$t_{\text{异毛蕊花糖苷/}}$	$\Delta t_{\text{异毛蕊花糖苷/}}$	$t_{\text{木犀草素/}}$	$\Delta t_{\text{木犀草素/}}$	$t_{\text{芹菜素/}}$	$\Delta t_{\text{芹菜素/}}$
		咖啡酸	昔/咖啡酸	咖啡酸	酸/咖啡酸	咖啡酸	咖啡酸	昔/咖啡酸	糖苷/咖啡酸	昔/咖啡酸	糖苷/咖啡酸	咖啡酸	素/咖啡酸	咖啡酸	咖啡酸
Agilent 1260 LC-13	Agilent 5TC-C ₁₈ (2) (SN704069)	1.32	4.53	1.44	6.17	1.62	8.81	1.77	10.93	1.97	13.79	3.12	30.00	3.79	39.47
	Agilent 5TC-C ₁₈ (2) (SN605903)	1.32	4.59	1.44	6.24	1.62	8.88	1.76	10.86	1.96	13.77	3.10	30.10	3.77	39.57
	中谱红 AQ-C ₁₈ (SN019020472)	1.34	4.86	1.43	6.12	1.62	8.77	1.76	10.76	1.97	13.73	3.13	30.24	3.79	39.66
	中谱红 ODS-H (SN418020441)	1.27	3.61	1.47	6.24	1.69	9.18	1.77	10.36	1.97	13.01	3.17	29.04	3.9	38.86
	Atlantis T3 (SN01853029014085)	1.28	3.95	1.45	6.40	1.64	9.13	1.75	10.73	1.95	13.53	3.11	30.14	3.79	39.89
Agilent 1260 LC-15	Atlantis T3 (SN02033227018895)	1.26	3.80	1.44	6.37	1.61	8.92	1.72	10.47	1.91	13.24	3.06	29.96	3.73	39.66
Waters e2695	Agilent 5TC-C ₁₈ (2) (SN726574)	1.28	4.72	1.45	7.48	1.60	9.95	1.64	10.75	1.82	13.71	2.93	32.26	3.50	41.81
Agilent 1260 LC-10	Agilent 5TC-C ₁₈ (2) (SN704069)	1.33	4.56	1.44	6.09	1.62	8.79	1.77	10.94	1.97	13.76	3.16	29.83	3.85	39.29
	Agilent 5TC-C ₁₈ (2) (SN605903)	1.31	4.57	1.43	6.28	1.62	8.94	1.75	10.94	1.95	13.85	3.09	30.31	3.74	39.83
	中谱红 AQ-C ₁₈ (SN019020472)	1.35	4.93	1.43	6.13	1.63	8.93	1.76	10.77	1.96	13.72	3.12	30.23	3.78	39.65
平均值		1.31	4.41	1.44	6.35	1.63	9.03	1.75	10.75	1.94	13.61	3.10	30.21	3.76	39.77
RSD/%		2.40	10.38	0.85	6.45	1.51	3.88	2.28	1.83	2.41	2.02	2.18	2.67	2.80	1.95

草素、芹菜素、毛蕊花糖苷、异毛蕊花糖苷从饮片到标准汤剂的转移率分别为 23.28%~42.17%、26.73%~47.73%、21.98%~39.62%、24.00%~42.48%、8.85%~14.88%、18.54%~30.86%、19.12%~30.56%、26.87%~44.35%，均在 15 批标准汤剂的平均转移率的 70%~130%，即 22.74%~

表8QAMS与ESM测定北刘寄奴标准汤剂及配方颗粒中8种成分含量的比较

Table 8Comparison of eight effective constituents determined by QAMS and ESM in SHSD and SHFG

样品	编号	咖啡酸/ (mg·g ⁻¹)			夏佛塔苷/(mg·g ⁻¹)			对香豆酸/(mg·g ⁻¹)			阿魏酸/(mg·g ⁻¹)			毛蕊花糖苷/(mg·g ⁻¹)			异毛蕊花糖苷/(mg·g ⁻¹)			木犀草素/(mg·g ⁻¹)			芹菜素/(mg·g ⁻¹)		
		QAMS	ESM	RE/%	QAMS	ESM	RE/%	QAMS	ESM	RE/%	QAMS	ESM	RE/%	QAMS	ESM	RE/%	QAMS	ESM	RE/%	QAMS	ESM	RE/%	QAMS	ESM	RE/%
标准汤剂	S1	0.49	3.83	3.82	0.26	1.75	1.77	-1.13	1.03	1.02	0.98	11.85	11.65	1.72	8.41	8.45	-0.47	0.87	0.88	-1.14	0.34	0.35	-2.86		
冻干粉	S2	0.56	0.21	0.21	0.00	2.11	2.13	-0.94	0.08	0.08	0.00	15.72	15.47	1.62	8.84	8.88	-0.45	2.52	2.55	-1.18	0.63	0.65	-3.08		
	S3	0.18	0.88	0.88	0.00	0.83	0.84	-1.19	0.16	0.16	0.00	24.42	24.02	1.67	12.16	12.22	-0.49	0.58	0.59	-1.69	0.32	0.32	0.00		
	S4	0.28	0.38	0.38	0.00	0.64	0.64	0.00	0.05	0.05	0.00	21.64	21.28	1.69	16.80	16.88	-0.47	0.54	0.55	-1.82	0.26	0.26	0.00		
	S5	0.60	1.29	1.29	0.00	2.36	2.38	-0.84	0.27	0.27	0.00	8.97	8.82	1.70	5.95	5.98	-0.50	0.66	0.66	0.00	0.27	0.28	-3.57		
	S6	0.52	1.57	1.57	0.00	1.87	1.88	-0.53	0.53	0.52	1.92	9.19	9.04	1.66	8.31	8.35	-0.48	1.12	1.14	-1.75	0.58	0.59	-1.69		
	S7	0.34	1.93	1.93	0.00	1.21	1.22	-0.82	0.56	0.55	1.82	10.30	10.13	1.68	8.36	8.40	-0.48	0.73	0.74	-1.35	0.27	0.27	0.00		
	S8	0.38	1.59	1.58	0.63	1.13	1.14	-0.88	0.37	0.37	0.00	10.40	10.23	1.66	6.13	6.16	-0.49	0.63	0.64	-1.56	0.23	0.23	0.00		
	S9	0.55	2.55	2.55	0.00	2.02	2.03	-0.49	0.63	0.62	1.61	9.94	9.78	1.64	5.78	5.80	-0.34	0.66	0.67	-1.49	0.23	0.23	0.00		
	S10	0.39	0.67	0.67	0.00	1.42	1.43	-0.70	0.11	0.11	0.00	11.90	11.71	1.62	10.35	10.40	-0.48	1.05	1.06	-0.94	0.28	0.28	0.00		
	S11	0.43	0.25	0.25	0.00	1.36	1.37	-0.73	0.06	0.06	0.00	14.16	13.92	1.72	11.82	11.88	-0.51	1.14	1.16	-1.72	0.25	0.25	0.00		
	S12	0.59	0.86	0.86	0.00	2.17	2.19	-0.91	0.16	0.15	6.67	9.20	9.05	1.66	6.89	6.92	-0.43	1.07	1.08	-0.93	0.46	0.47	-2.13		
	S13	0.23	0.63	0.63	0.00	0.68	0.69	-1.45	0.10	0.10	0.00	16.96	16.68	1.68	15.30	15.37	-0.46	0.57	0.58	-1.72	0.29	0.30	-3.33		
	S14	0.40	1.08	1.08	0.00	1.48	1.50	-1.33	0.21	0.21	0.00	12.23	12.03	1.66	11.27	11.32	-0.44	0.63	0.64	-1.56	0.27	0.28	-3.57		
	S15	0.44	0.78	0.78	0.00	1.30	1.31	-0.76	0.14	0.14	0.00	13.11	12.90	1.63	13.01	13.07	-0.46	0.56	0.57	-1.75	0.23	0.23	0.00		
配方颗粒	S16	0.35	2.71	2.71	0.00	1.02	1.01	0.99	0.75	0.75	0.00	4.42	4.48	-1.34	9.46	9.50	-0.42	0.45	0.45	0.00	0.18	0.18	0.00		
	S17	0.35	2.71	2.71	0.00	1.01	1.01	0.00	0.74	0.74	0.00	4.43	4.47	-0.89	9.34	9.41	-0.74	0.45	0.45	0.00	0.18	0.18	0.00		
	S18	0.36	2.74	2.73	0.37	1.09	1.09	0.00	0.76	0.76	0.00	4.35	4.39	-0.91	9.45	9.51	-0.63	0.46	0.46	0.00	0.19	0.19	0.00		
	S19	0.57	0.16	0.16	0.00	1.64	1.63	0.61	0.12	0.12	0.00	9.74	9.73	0.10	13.80	13.78	0.15	1.68	1.67	0.60	0.37	0.36	2.78		
	S20	0.56	0.20	0.20	0.00	1.61	1.60	0.63	0.12	0.12	0.00	9.60	9.57	0.31	13.52	13.50	0.15	1.68	1.66	1.20	0.37	0.37	0.00		
	S21	0.56	0.19	0.19	0.00	1.62	1.61	0.62	0.11	0.11	0.00	9.66	9.65	0.10	13.57	13.53	0.30	1.69	1.65	2.42	0.37	0.36	2.78		
	S22	0.32	0.60	0.61	1.64	1.22	1.21	0.83	0.26	0.25	4.00	2.40	2.39	0.42	9.88	9.84	0.41	0.73	0.72	1.39	0.16	0.16	0.00		
	S23	0.21	0.87	0.86	1.16	0.95	0.95	0.00	0.30	0.29	3.45	2.23	2.26	-1.33	8.98	8.80	2.05	0.77	0.76	1.32	0.15	0.15	0.00		

42.23%、26.66%~49.51%、21.52%~39.97%、23.77%~44.15%、8.12%~15.09%、16.79%~31.19%、17.28%~32.10%、25.94%~48.17%，说明标准汤剂的制备工艺相对稳定可行，指标成分可稳定从饮片传递至标准汤剂中。15批北刘寄奴标准汤剂中咖啡酸、夏佛塔苷、对香豆酸、阿魏酸、毛蕊花糖苷、异毛蕊花糖苷、木犀草素、芹菜素质量分数分别为0.18~0.60、0.21~3.83、0.64~2.36、0.05~1.03、8.97~24.62、5.78~16.80、0.54~2.52、0.23~0.63 mg/g，含量范围若取均值±3SD，15批标准汤剂8种指标成分的含量均在该范围内，范围过宽，不利于产品的质量控制；为了更好地控制产品质量，北刘寄奴标准汤剂8种指标成分咖啡酸、夏佛塔苷、对香豆酸、阿魏酸、毛蕊花糖苷和异毛蕊花糖苷的总量、木犀草素、芹菜素的含量取平均值的70%~（平均值+3SD），相应的北刘寄奴配方颗粒中8种指标成分的含量范围取标准汤剂按制成药23.8%折

算后平均值的70%~（平均值+3SD），即0.21~0.59、0.60~2.85、0.74~2.29、0.15~0.78、11.41~32.88、0.44~1.79、0.16~0.53 mg/g，修正范围为0.20~0.60、0.60~3.00、0.70~2.30、0.15~0.80、11.00~33.00、0.45~1.80、0.15~0.55 mg/g。A厂家3批北刘寄奴配方颗粒（S16~S18）咖啡酸、夏佛塔苷、对香豆酸、阿魏酸、木犀草素、芹菜素含量均在规定的范围内。计算A厂家3批北刘寄奴配方颗粒（S16~S18）中咖啡酸、夏佛塔苷、对香豆酸、阿魏酸、木犀草素、芹菜素从饮片到配方颗粒的转移率均在15批标准汤剂平均转移率的70%~130%，而毛蕊花糖苷和异毛蕊花糖苷含量和转移率与同批饮片制成的标准汤剂含量和转移率差异较大。经查阅文献发现^[29-30]，毛蕊花糖苷和异毛蕊花糖苷受热会相互转化，与标准汤剂相比，配方颗粒受热提取时间较长，因此以毛蕊花糖苷和异毛蕊花糖苷总量评价配方颗粒。3批北刘寄奴配方颗粒毛

表 9 北刘寄奴标准汤剂的出膏率、指标成分的含量及转移率

Table 9 Extraction rate, index ingredients content and transfer rate of SHSD

编号	出膏率/%	标准汤剂中成分质量分数/(mg·g ⁻¹)							
		咖啡酸	夏佛塔苷	对香豆酸	阿魏酸	木犀草素	芹菜素	毛蕊花糖苷	异毛蕊花糖苷
S1	16.01	0.49	3.83	1.75	1.03	0.87	0.34	11.85	8.41
S2	18.21	0.56	0.21	2.11	0.08	2.52	0.63	15.72	8.84
S3	17.14	0.18	0.88	0.83	0.16	0.58	0.32	24.42	12.16
S4	15.96	0.28	0.38	0.64	0.05	0.54	0.26	21.64	16.80
S5	18.17	0.60	1.29	2.36	0.27	0.66	0.27	8.97	5.95
S6	17.83	0.52	1.57	1.87	0.53	1.12	0.58	9.19	8.31
S7	16.98	0.34	1.93	1.21	0.56	0.73	0.27	10.30	8.36
S8	16.91	0.38	1.59	1.13	0.37	0.63	0.23	10.40	6.13
S9	16.33	0.55	2.55	2.02	0.63	0.66	0.23	9.94	5.78
S10	15.99	0.39	0.67	1.42	0.11	1.05	0.28	11.90	10.35
S11	15.52	0.43	0.25	1.36	0.06	1.14	0.25	14.16	11.82
S12	15.89	0.59	0.86	2.17	0.16	1.07	0.46	9.20	6.89
S13	16.12	0.23	0.63	0.68	0.10	0.57	0.29	16.96	15.30
S14	15.99	0.40	1.08	1.48	0.21	0.63	0.27	12.23	11.27
S15	17.71	0.44	0.78	1.30	0.14	0.56	0.23	13.11	13.01
平均值	16.72	0.43	1.23	1.49	0.30	0.89	0.33	13.33	9.96
平均值±SD	15.81~17.63	0.30~0.55	0.27~2.20	0.94~2.03	0.02~0.58	0.39~1.39	0.20~0.45	8.71~17.96	6.56~13.35
平均值±2SD	14.90~18.54	0.17~0.68	-0.70~3.17	0.40~2.58	-0.26~0.85	-0.12~1.89	0.07~0.58	4.08~22.58	3.17~16.75
平均值±3SD	13.99~19.45	0.04~0.81	-1.67~4.14	-0.15~3.13	-0.54~1.13	-0.62~2.39	-0.05~0.71	-0.54~27.21	-0.23~20.14
70%~130%平均值	11.70~21.73	0.30~0.55	0.86~1.60	1.04~1.94	0.21~0.39	0.62~1.16	0.23~0.43	9.33~17.33	6.97~12.95

编号	标准汤剂中成分转移率/%								
	咖啡酸	夏佛塔苷	对香豆酸	阿魏酸	木犀草素	芹菜素	毛蕊花糖苷	异毛蕊花糖苷	毛蕊花糖苷和异毛蕊花糖苷糖苷总量
S1	26.59	43.63	25.65	33.06	14.88	21.63	28.50	26.87	27.80
S2	27.01	26.83	25.64	24.00	12.51	25.69	24.08	33.55	26.80
S3	25.76	32.99	22.34	32.74	13.36	18.54	25.90	35.10	28.38
S4	29.63	41.58	32.78	42.11	10.36	27.03	19.12	32.47	23.31
S5	38.65	35.96	36.39	37.07	14.87	30.86	24.58	39.61	28.97
S6	42.17	47.12	38.40	42.48	10.84	25.27	24.01	44.35	30.69
S7	40.20	47.73	29.94	41.26	11.60	19.66	25.11	39.91	30.11
S8	40.75	46.52	39.62	39.98	14.20	30.51	30.56	36.72	32.59
S9	41.18	46.39	37.29	40.61	8.85	22.03	25.86	39.90	29.70
S10	33.36	38.76	36.68	33.78	9.07	20.83	21.49	37.84	26.90
S11	30.02	26.73	34.80	24.26	10.74	20.37	25.79	37.12	29.95
S12	29.83	40.23	32.12	32.55	10.03	25.26	20.22	32.53	24.13
S13	23.28	34.04	21.98	26.35	11.26	27.08	22.34	38.19	27.81
S14	32.10	33.01	25.30	33.03	11.22	24.98	25.69	43.68	32.01
S15	26.71	29.77	22.27	26.17	10.29	20.10	27.09	37.97	31.60
平均值	32.48	38.09	30.75	33.96	11.60	23.99	24.69	37.05	28.72
平均值±SD	26.00~38.95	30.72~45.45	24.36~37.14	27.42~40.51	9.65~13.56	20.10~27.88	21.67~27.71	32.55~41.56	26.02~31.41
平均值±2SD	19.50~45.42	23.35~52.82	17.97~43.52	20.88~47.05	7.70~15.51	16.21~31.77	18.65~30.73	28.05~46.06	23.33~34.10
平均值±3SD	13.00~51.89	15.98~60.19	11.58~49.91	14.33~53.59	5.74~17.46	12.32~35.66	15.63~33.74	23.54~50.57	20.64~36.80
70%~130%平均值	22.70~42.23	26.66~49.51	21.52~39.97	23.77~44.15	8.12~15.09	16.79~31.19	17.28~32.10	25.94~48.17	20.10~37.33

表 9 (续)

编号	按制成药 23.8%换算配方颗粒中各成分质量分数/(mg·g ⁻¹)							
	咖啡酸	夏佛塔苷	对香豆酸	阿魏酸	木犀草素	芹菜素	毛蕊花糖苷	异毛蕊花糖苷
S1	0.33	2.58	1.18	0.69	0.58	0.23	7.97	5.66
S2	0.43	0.16	1.62	0.06	1.92	0.48	12.03	6.76
S3	0.13	0.63	0.60	0.11	0.42	0.23	17.59	8.76
S4	0.19	0.25	0.43	0.03	0.36	0.17	14.51	11.27
S5	0.46	0.98	1.80	0.21	0.50	0.21	6.85	4.54
S6	0.39	1.18	1.40	0.39	0.84	0.44	6.89	6.22
S7	0.25	1.38	0.86	0.40	0.52	0.19	7.35	5.96
S8	0.27	1.13	0.80	0.26	0.45	0.16	7.39	4.36
S9	0.38	1.75	1.38	0.43	0.45	0.16	6.82	3.96
S10	0.26	0.45	0.96	0.07	0.70	0.19	8.00	6.95
S11	0.28	0.16	0.89	0.04	0.75	0.16	9.23	7.71
S12	0.39	0.57	1.45	0.10	0.71	0.31	6.14	4.60
S13	0.16	0.43	0.46	0.07	0.38	0.20	11.49	10.36
S14	0.27	0.73	1.00	0.14	0.42	0.18	8.22	7.57
S15	0.32	0.58	0.97	0.11	0.42	0.17	9.76	9.68
平均值	0.30	0.86	1.05	0.21	0.63	0.23	9.35	6.96
平均值±SD	0.20~0.40	0.20~1.53	0.64~1.46	0.02~0.40	0.24~1.02	0.13~0.33	6.09~12.60	4.69~9.23
平均值±2SD	0.11~0.50	-0.46~2.19	0.23~1.88	-0.17~0.59	-0.15~1.40	0.03~0.43	2.84~15.86	2.42~11.50
平均值±3SD	0.01~0.59	-1.12~2.85	-0.18~2.29	-0.37~0.78	-0.53~1.79	-0.07~0.53	-0.42~19.11	0.15~13.77
70%~130%平均值	0.21~0.39	0.60~1.12	0.74~1.37	0.15~0.27	0.44~0.82	0.16~0.30	6.54~12.15	4.87~9.04

蕊花糖苷和异毛蕊花糖苷的总量及从饮片到配方颗粒的转移率均在规定的范围内,说明该配方颗粒制备工艺较为合理。结果见表 10。

B 厂家北刘寄奴配方颗粒 (S19~S21) 中咖啡酸、夏佛塔苷、对香豆酸、阿魏酸、毛蕊花糖苷和异毛蕊花糖苷总量、木犀草素、芹菜素质量分数分别为 0.56~0.57、0.16~0.20、1.61~1.64、0.11~0.12、23.12~23.54、1.68~1.69、0.37 mg/g, 咖啡酸、对香豆酸、毛蕊花糖苷和异毛蕊花糖苷总量、

木犀草素、芹菜素质量分数均在标准汤剂按制成药折算后平均值的 70%~(平均值+3SD); 北刘寄奴药材中夏佛塔苷、阿魏酸含量较低, 相应的标准汤剂含量也较低, 且不同批次北刘寄奴药材和相应标准汤剂夏佛塔苷、阿魏酸含量数据较离散, 15 批标准汤剂按制成药折算后的夏佛塔苷、阿魏酸质量分数分别为 0.16~2.58、0.03~0.69 mg/g, B 厂家北刘寄奴配方颗粒 (S19~S21) 夏佛塔苷、阿魏酸含量虽未达到规定范围的下限, 但在标准汤剂按制成药

表 10 北刘寄奴配方颗粒的出膏率、指标成分含量及转移率

Table 10 Extraction rates, index ingredients contents and transfer rates of SHFG[illegible]

折算后的含量范围内,说明 B 厂家北刘寄奴配方颗粒与标准汤剂的一致性也比较好。

C 厂家北刘寄奴配方颗粒(S22、S23)咖啡酸、夏佛塔苷、对香豆酸、阿魏酸、毛蕊花糖苷和异毛蕊花糖苷总量、木犀草素、芹菜素质量分数分别为 0.21~0.32、0.60~0.87、0.95~1.22、0.26~0.30、11.21~12.28、0.73~0.77、0.15~0.16 mg/g,均在标准汤剂按制成药折算后平均值的 70%~(平均值+3SD)。为了进一步提高北刘寄奴配方颗粒质量,建议可从药材和饮片的源头控制,增加夏佛塔苷和阿魏酸的内控质量标准。

3 讨论

《中药配方颗粒质量控制与标准制定技术要求》提出,建立以标准汤剂为衡量基准的中药配方颗粒质量标准体系,规范了配方颗粒的标准研究,体现中药配方颗粒的质量控制特点。本研究按照《技术要求》建立了基于标准汤剂的北刘寄奴配方颗粒标准,为北刘寄奴配方颗粒的评价提供依据。

本研究收集了 15 批不同产地的北刘寄奴药材制成的饮片,按照《技术要求》制备标准汤剂冻干粉,建立了 HPLC 特征图谱、QAMS 方法。在供试品制备方法中,采用单因素考察方法分别考察了不同提取溶剂(20%甲醇、50%甲醇、70%甲醇、甲醇)、不同提取方式(加热、回流)、不同提取时间(20、30、45 min)和不同提取溶媒用量(15、25、40 mL)对色谱峰峰形及峰面积的影响,结果采用 70%甲醇 25 mL 加热回流提取 30 min 时,各色谱峰峰形及分离度较好,特征峰响应值较高。

样品检测时采用 DAD 检测器对北刘寄奴配方颗粒供试品溶液进行了紫外 190~400 nm 扫描,发现在 310 nm 下色谱峰数较多且各峰之间的分离度较好,其中木犀草素、芹菜素 2 个色谱峰在 350 nm 处吸收更强,故在咖啡酸、夏佛塔苷、对香豆酸、阿魏酸、毛蕊花糖苷、异毛蕊花糖苷出峰时间段选择 310 nm 波长,在木犀草素、芹菜素出峰时间段选择 350 nm 波长。HPLC 特征图谱和 QAMS 方法为在相同色谱条件下制备同一供试品溶液,实现 1 次进样可同时测定特征图谱和 QAMS 法检测 8 种成分含量,方法整合后,缩短了样品制备和检测时间,提高了试验效率。

本研究选取的指标成分,与北刘寄奴的有效性相关联,咖啡酸、夏佛塔苷、阿魏酸、木犀草素、芹菜素具有抗炎、抗菌、抗癌等多种生物活性,对

香豆酸具有抗氧化、抗肿瘤、抗菌、抗血小板聚集等药理作用,毛蕊花糖苷和异毛蕊花糖苷具有保肝、抗氧化、抗炎、免疫调节、镇痛等作用,是北刘寄奴发挥药理作用的主要活性物质^[12-28],使北刘寄奴配方颗粒能够体现北刘寄奴饮片的功效。因此同时测定这 8 种成分含量对北刘寄奴配方颗粒的质量控制具有重要意义。本研究仅指认了 8 个成分,尚有 4 个成分未被指认,后期将通过液质联用解析未被指认的共有峰的化学成分。

根据以往文献报道^[29-30],在水煎煮过程中毛蕊花糖苷会部分转化为异毛蕊花糖苷,使得异毛蕊花糖苷在煎煮过程中含量不断增加,因此通常北刘寄奴药材中毛蕊花糖苷含量高于异毛蕊花糖苷,而北刘寄奴配方颗粒毛蕊花糖苷含量低于异毛蕊花糖苷。故本研究结合文献并根据数据分析后选择毛蕊花糖苷和异毛蕊花糖苷 2 个成分总量作为指标来评价北刘寄奴配方颗粒。

聚类分析及 PCA 可将 15 批标准汤剂和 8 批配方颗粒分成 2 类,C 厂家配方颗粒(S22、S23)单独为一类,其他批次聚为一类。由聚类分析结果可看出,虽然 A、B 厂家间北刘寄奴配方颗粒存在差异,但没有明显地进行内部分类,且和标准汤剂能聚为一类,说明北刘寄奴配方颗粒和标准汤剂之间差异较小,制备工艺较为稳定。C 厂家配方颗粒(S22、S23)与其他批次样品的差异主要来自成分 3,而主成分 3 的权重主要为峰 7,峰 7 的峰面积明显小于其他批次,究其原因,可能与药材来源和配方颗粒生产工艺有关,由于峰 7 的化学成分未知,目前尚不知峰 7 在北刘寄奴配方颗粒中所起的作用,有待进一步研究。

本研究采用标准汤剂的出膏率、特征图谱、聚类分析和 PCA、指标成分含量及转移率等考察指标,整体的评价配方颗粒的质量。以制定的标准为依据,对 8 批配方颗粒与标准汤剂的一致性进行评价,特征图谱相似度均>0.9;A 厂家 3 批北刘寄奴配方颗粒(S16~S18)出膏率、8 种指标成分含量及相应转移率均在规定的范围内,B、C 厂家配方颗粒(S19~S23)中 8 种指标成分含量均在标准汤剂按制成药折算后含量范围内,说明该配方颗粒制备工艺较为合理,与北刘寄奴饮片临床汤剂物质基础基本一致。以上研究以出膏率、特征图谱、指标成分含量及转移率为指标结合聚类分析和 PCA,多维度衡量了北刘寄奴配方颗粒与标准汤剂的一致性,较

全面的评价了不同批次北刘寄奴配方颗粒的质量,为北刘寄奴配方颗粒的统一规范生产提供参考依据,并为其他配方颗粒研究提供思路。

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: 102.
- [2] 赖庆. 刘寄奴药理研究及其临床应用进展 [J]. 浙江中医杂志, 2015, 50(7): 541-542.
- [3] 林远茂, 施荣聪, 孙诚攻, 等. 基于网络药理学分析北刘寄奴的活性成分及其药效作用机制 [J]. 中医药导报, 2020, 26(10): 46-51.
- [4] 章丹丹, 潘一峰, 唐宁, 等. 刘寄奴抗炎组分筛选及其机制研究 [J]. 上海中医药杂志, 2009, 43(7): 67-71.
- [5] 汪凤山, 刘娟. 阴行草化学成分及药理作用研究进展 [J]. 黑龙江医药科学, 2008, 31(6): 61-62.
- [6] 胡恩明, 王道平. 基于超高分辨率液质的北刘寄奴药材中化学成分分析 [J]. 北方药学, 2022, 19(2): 5-11.
- [7] 张达, 姜宏梁, 杨学东, 等. 北刘寄奴中黄酮类化学成分的研究 [J]. 中草药, 2002, 33(11): 974-975.
- [8] Cao J X, An R, Tang Y, *et al.* Three new iridoid glycosides isolated from the traditional herb *Siphonostegia chinensis* with NF- κ B inhibitory activity [J]. *Phytochem Lett*, 2017, 22: 261-265.
- [9] Liu J Y, Xiong P Y, Huang L H, *et al.* *Artemisia anomala* S. Moore: A review of botany, traditional uses, phytochemistry, pharmacology and quality control [J]. *J Ethnopharmacol*, 2023, 315: 116663.
- [10] 国家药品监督管理局. 关于发布《中药配方颗粒质量控制与标准制定技术要求》的通告 (2021 年第 16 号) [EB/OL]. (2021-01-26) [2023-08-14]. http://www.gov.cn/zhengce/zhengceku/2021-02/11/content_5586817.html.
- [11] 曹桂云, 宁波, 余彩娟, 等. 指纹图谱、一测多评与模式识别相结合的忍冬藤配方颗粒质量评价 [J]. 中草药, 2024, 55(4): 1202-1214.
- [12] 邱梁佳. 基于活性的化学蛋白组学研究咖啡酸的抗炎靶点及机制 [D]. 广州: 南方医科大学, 2023.
- [13] 吴小琪. 夏佛塔昔抗炎与降脂功能的评估及其分子机理研究 [D]. 长沙: 中南林业科技大学, 2022.
- [14] 管西芹, 毛近隆, 唐迎雪, 等. 对香豆酸的药理作用研究进展 [J]. 中草药, 2018, 49(17): 4162-4170.
- [15] 张欣, 高增平. 阿魏酸的研究进展 [J]. 中国现代中药, 2020, 22(1): 138-147.
- [16] 王维刚, 王芑, 阳志强, 等. 毛蕊花糖苷药理作用研究进展 [J]. 国际药学研究杂志, 2020, 47(12): 1078-1087.
- [17] 赵微, 潘英妮. 肉苁蓉苯乙醇苷类成分药理作用研究进展 [J]. 亚太传统医药, 2013, 9(5): 77-79.
- [18] 姜亚玲, 李文渊, 冯爽, 等. 木犀草素的结构修饰及其生物活性研究进展 [J]. 中草药, 2023, 54(20): 6889-6902.
- [19] 李莹雪, 王锐银, 包永明. 芹菜素与丹参酮 II_A 的协同抗肿瘤作用及机制 [J]. 中草药, 2020, 51(22): 5788-5797.
- [20] Sato Y, Itagaki S, Kurokawa T, *et al.* *In vitro* and *in vivo* antioxidant properties of chlorogenic acid and caffeic acid [J]. *Int J Pharm*, 2011, 403(1/2): 136-138.
- [21] Yi Y, Zhang M, Xue H, *et al.* Schaftoside inhibits 3CL^{pro} and PL^{pro} of SARS-CoV-2 virus and regulates immune response and inflammation of host cells for the treatment of COVID-19 [J]. *Acta Pharm Sin B*, 2022, 12(11): 4154-4164.
- [22] Nigro O, Tuzi A, Tartaro T, *et al.* Biological effects of verbascoside and its anti-inflammatory activity on oral mucositis: A review of the literature [J]. *Anticancer Drugs*, 2020, 31(1): 1-5.
- [23] Zduńska K, Dana A, Kolodziejczak A, *et al.* Antioxidant properties of ferulic acid and its possible application [J]. *Skin Pharmacol Physiol*, 2018, 31(6): 332-336.
- [24] Boz H. *p*-Coumaric acid in cereals: Presence, antioxidant and antimicrobial effects [J]. *Int J Food Sci Tech*, 2015, 50(11): 2323-2328.
- [25] Gao H W, Cui Y K, Kang N X, *et al.* Isoacteoside, a dihydroxyphenylethyl glycoside, exhibits anti-inflammatory effects through blocking toll-like receptor 4 dimerization [J]. *Br J Pharmacol*, 2017, 174(17): 2880-2896.
- [26] Seelinger G, Merfort I, Schempp C M. Anti-oxidant, anti-inflammatory and anti-allergic activities of luteolin [J]. *Planta Med*, 2008, 74(14): 1667-1677.
- [27] Nabavi S F, Braidyn N, Gortzi O, *et al.* Luteolin as an anti-inflammatory and neuroprotective agent: A brief review [J]. *Brain Res Bull*, 2015, 119(Pt A): 1-11.
- [28] Zhou X, Wang F, Zhou R J, *et al.* Apigenin: A current review on its beneficial biological activities [J]. *J Food Biochem*, 2017, 41(4): e12376.
- [29] 田伟, 甄亚钦, 范帅帅, 等. 高效液相色谱法同时测定车前子配方颗粒中京尼平苷酸、咖啡酸、毛蕊花糖苷和异毛蕊花糖苷的含量 [J]. 中国药学杂志, 2018, 53(2): 140-144.
- [30] 武改丽, 霍志鹏, 王玉, 等. pH 对毛蕊花糖苷稳定性影响及降解产物分析 [J]. 中草药, 2022, 53(11): 3295-3305.

[责任编辑 郑礼胜]