

## 基于 15 种成分定量结合化学模式识别及 TOPSIS 分析的三黄片质量评价

何小芳<sup>1</sup>, 王欣<sup>2</sup>, 李及<sup>2</sup>, 罗霄<sup>2</sup>, 梁恒兴<sup>2</sup>, 吴彦欣<sup>1</sup>, 李如萍<sup>1</sup>, 马双成<sup>3</sup>, 李婷婷<sup>2\*</sup>, 何瑶<sup>1\*</sup>

1. 西南特色中药资源国家重点实验室, 成都中医药大学药学院, 四川 成都 611137

2. 成都市药品检验研究院, 国家药品监督管理局中药材质量监测评价重点实验室, 四川 成都 610045

3. 国家药典委员会, 药品监管科学全国重点实验室, 北京 100061

**摘要:**目的 建立三黄片(Sanhuang Tablets)UPLC 多组分定量分析方法, 联合化学模式识别分析及优劣解距离法(technique for order preference by similarity to an ideal solution, TOPSIS)分析, 对不同厂家的三黄片质量进行综合评价, 为三黄片的质量评价和质量控制提供参考依据。方法 以 Waters Acquity UPLC Hss T3 (150 mm×2.1 mm, 1.8 μm) 柱为色谱柱, 以甲醇-0.1%磷酸水溶液为流动相, 梯度洗脱, 检测波长为 254、276 nm, UPLC 同时检测芦荟大黄素-8-*O*-葡萄糖苷、大黄酚-1-*O*-葡萄糖苷、大黄酚-8-*O*-葡萄糖苷、芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚、黄芩苷、千层纸素 A-7-*O*-β-*D*-葡萄糖醛酸苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素、没食子酸 14 种成分及盐酸小檗碱的含量, 对抽样于 7 个厂家的 52 批次三黄片进行含量测定; 利用 SIMCA 14.1 和 SPSS 25.0 软件对上述 15 种成分含量检测结果进行层次聚类分析(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), 挖掘影响三黄片质量的关键成分; 运用 TOPSIS 对 7 个厂家三黄片质量的优劣排序, 建立三黄片质量综合评价方法。结果 三黄片中 UPLC 定量分析方法学考察均符合《中国药典》2020 年版规定要求, 精密性、稳定性、重复性及准确度的 RSD 值均小于 3.0%。HCA 和 PCA 结果均显示 52 批次三黄片聚为 3 类; PCA 共提取到 4 个主成分, 累积方差贡献率为 91.309%; OPLS-DA 筛选出变量重要性投影(variable importance in projection, VIP)值>1.0 的 6 个差异性标志物大黄素甲醚、没食子酸、盐酸小檗碱、大黄酚、黄芩苷、芦荟大黄素-8-*O*-葡萄糖苷, 可能是影响三黄片质量的主要成分; TOPSIS 欧氏贴度在 0.1849~0.5566, 表明不同厂家间三黄片质量差异较大, 其中厂家 A、B 的排名靠前。结论 建立的多成分定量检测方法操作便捷, 能准确可靠的测定三黄片中 15 种化学成分含量; HCA、PCA 和 OPLS-DA 可有效筛选出影响三黄片质量的差异性标志物, 联合 TOPSIS 法可用于综合评价三黄片质量。

**关键词:** 三黄片; 质量控制; 化学计量学; 优劣解距离法; UPLC; 黄芩苷; 大黄素; 盐酸小檗碱; 大黄素甲醚; 没食子酸; 大黄酚; 芦荟大黄素; 大黄酸; 千层纸素 A; 汉黄芩苷; 黄芩素; 汉黄芩素; 质量评价

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2024)24-8379-13

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2024.24.007

## Quality evaluation of Sanhuang Tablets based on quantitative analysis of 15 components combined with chemical pattern recognition analysis and TOPSIS method

HE Xiaofang<sup>1</sup>, WANG Xin<sup>2</sup>, LI Ji<sup>2</sup>, LUO Xiao<sup>2</sup>, LIANG Hengxing<sup>2</sup>, WU Yanxin<sup>1</sup>, LI Ruping<sup>1</sup>, MA Shuangcheng<sup>3</sup>, LI Tingting<sup>2</sup>, HE Yao<sup>1</sup>

1. State Key Laboratory of Southwestern Chinese Medicine Resources, School of Pharmacy, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China

2. Chengdu Institute For Drug Control, NMPA Key Laboratory for Quality Monitoring and Evaluation of Traditional Chinese Medicine, Chinese Materia Medica, Chengdu 610045, China

3. Chinese Pharmacopoeia Commission, State Key Laboratory of Drug Regulatory Science, Beijing 100061, China

收稿日期: 2024-07-13

基金项目: 国家重点研发计划——中医药现代化专项(2023YFC3504101)

作者简介: 何小芳, 硕士研究生, 研究方向为新制剂、新剂型、新技术研究。E-mail: 2056993001@qq.com

\*通信作者: 何瑶, 教授, 主要从事新制剂、新剂型、新工艺研究。E-mail: heyao2010@cdutcm.edu.cn

李婷婷, 副主任药师, 主要从事药物质量控制研究及检验工作。E-mail: ltt2910@163.com

**Abstract: Objective** To establish a multi-component quantitative method for the UPLC analysis of Sanhuang Tablets (三黄片, SHT), combined with chemical pattern recognition analysis and technique for order preference by similarity to an ideal solution (TOPSIS) analysis, to comprehensively evaluate the quality of SHT from different manufacturers, and to provide a reference basis for the quality evaluation and quality control of SHT. **Methods** The separation was performed on a Waters Acquity UPLC Hss T3 (150 mm × 2.1 mm, 1.8 μm) column with methanol-0.1% aqueous phosphoric acid as the mobile phase in a gradient elution, and the detection wavelengths were 254 nm and 276 nm. UPLC was used for the simultaneous determination of content of aloe-emodin-8-*O*-glucopyranoside, chrysophanol-1-*O*-glucoside, chrysophanol-8-*O*-glucopyranoside, aloe-emodin, rhein, emodin, chrysophanol, physcion, baicalin, oroxylin A-7-*O*-β-*D*-glucuronide, wogonoside, baicalein, wogonin, gallic acid and berberine hydrochloride, and the content of 52 batches of SHT sampled from seven manufacturers were determined; HCA, PCA and OPLS-DA were performed on the content test results of the above 15 components using SIMCA 14.1 and SPSS 25.0 software to dig out the key components affecting the quality of SHT; TOPSIS was used to rank the advantages and disadvantages of SHT quality of seven manufacturers, and establishing a comprehensive evaluation method of SHT quality. **Results** The methodological investigation of UPLC quantitative analysis in SHT meets the requirements specified in the 2020 edition of the *Chinese Pharmacopoeia*. The RSD values of precision, stability, repeatability and accuracy were less than 3.0%. The results of both HCA and PCA showed that the 52 batches of SHT were clustered into three classes; a total of four principal components were extracted from the PCA, and the cumulative variance contribution rate was 91.309%; OPLS-DA screened six differential markers with variable importance in projection (VIP) values >1.0, including physcion, gallic acid, berberine hydrochloride, chrysophanol, baicalin, aloe-emodin-8-*O*-β-*D*-glucopyranoside, which were the main components affecting the quality of SHT; TOPSIS Euclidean closeness ranges from 0.184 9 to 0.556 6, indicating that the quality of SHT varies greatly among different manufacturers, with manufacturers A and B ranking high. **Conclusion** The established multi-component quantitative assay is easy to operate and can accurately and reliably determine the contents of 15 chemical components in SHT; HCA, PCA and OPLS-DA can effectively screen out the difference markers influencing the quality of SHT, which combined with TOPSIS method can be used to comprehensively evaluate the quality of SHT.

**Key words:** Sanhuang Tablets; quality control; chemometrics; technique for order preference by similarity to an ideal solution; UPLC; baicalin; emodin; berberine hydrochloride; physcion; gallic acid; chrysophanol; aloe-emodin; rhein; oroxylin A; wogonoside; baicalein; wogonin; quality evaluation

三黄片 (Sanhuang Tablets) 最早来源于东汉医圣张仲景所著《金匱要略》中的经典名方“泻心汤”。泻心汤由大黄、黄连、黄芩 3 味中药组成, 具有清热解毒、泻火通便的功效, 用于三焦热盛所致的目赤肿痛、口鼻生疮、咽喉肿痛、牙龈肿痛、心烦口渴等症; 三药配伍, 直清上、中、下三焦之火; 其用药精简、组方经典, 是治疗火热壅盛之经典方<sup>[1-2]</sup>。1958 年由邯郸制药厂研制成片剂, 名“三黄片”, 后人又将处方改为大黄、黄芩浸膏和盐酸小檗碱。从 1974 年起, 三黄片收载于《湖北省药品标准汇编》, 后陆续收载于各省级药品标准, 1997 年收载于中华人民共和国卫生部药品标准中药成方制剂第 12 册, 2000 年开始收载于《中国药典》。现行标准为《中国药典》2020 年版一部<sup>[3]</sup>、国家食品药品监督管理局药品检验补充检验方法和检验项目批准件 2007002 (修订版)。

三黄片是临床上广泛使用的中成药制剂, 根据国家药品监督管理局网站查询到该品种全国共有 205 个批准文号, 有三黄片品种批准文号的生产企业有 189 家, 因而必须对其质量进行严格控制, 确

保制剂质量一致性、安全性、有效性<sup>[4-5]</sup>。目前, 《中国药典》2020 年版对三黄片质量控制仅以黄芩苷、大黄素、大黄酚和盐酸小檗碱的含量为指标。课题组收集到样品后, 先按照《中国药典》2020 年版中含量测定方法进行测定, 52 批三黄片药品检测结果均符合标准规定, 但各成分含量差异较大。也有文献报道仅以这 4 种成分为检测指标并不能较好地控制三黄片的质量<sup>[6-7]</sup>。

现代研究关于三黄片质量控制方法的报道多为单味药、其中 2 或 3 个有效成分的含量检测<sup>[8-10]</sup>, 并不能全面反映三黄片的质量差异。近几年也有研究者建立三黄片中 3 味中药的含量测定方法<sup>[4,11-12]</sup>, 但是存在样品量少、样品前处理繁琐及仪器设备昂贵等问题, 对 3 味中药中 15 种成分的含量同时测定的研究尚未见报道。故本研究从 7 个厂家收集 52 批三黄片, 采用液相色谱法测定三黄片中 15 个成分的含量, 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) 对其进行分析, 筛选影响三黄片质量的关键成分。联合优劣解距离法 (technique for order preference by similarity to an ideal solution, TOPSIS) 对其质量进行排序, 根据 TOPSIS 欧氏贴近度综合评价不同厂家生产的三黄片质量, 旨在通过多指标、多成分含量测定, 以更精确、更科学的方法综合评价三黄片质量, 为精准有效建立三黄片的质量控制方法提供参考依据。

## 1 仪器与试药

### 1.1 仪器

Waters Acquity H class 型超高效液相色谱仪, 配有四元泵、柱温箱、自动进样器、PDA 检测器及 Empower 3 工作站, 美国沃特世科技有限公司; Agilent 1260 Infinity 型高效液相色谱仪, 配有四元泵、柱温箱、自动进样器、DAD 检测器及 Openlab CDS 2.x 工作软件, 美国安捷伦科技有限公司; XPE26 型电子天平、ME204E 型电子天平, 瑞士梅特勒-托利多公司; Milli-Q 型超纯水仪, 美国密理博公司; SK250H 型超声仪, 上海科导超声仪器有限公司。

### 1.2 试药

对照品黄芩苷 (批号 110715-202223, 质量分数 97.20%)、黄芩素 (批号 110595-201808, 质量分数 97.90%)、汉黄芩苷 (批号 112002-201702, 质量分数 98.50%)、大黄酸 (批号 110757-201607, 质量分数 99.30%)、芦荟大黄素 (批号 110795-202011, 质量分数 97.50%)、大黄素甲醚 (批号 111758-202218, 质量分数 98.90%)、大黄酚 (批号 110796-201922, 质量分数 99.40%)、大黄素 (批号 110759-201913, 质量分数 96.00%)、没食子酸 (批号 110831-201906, 质量分数 91.50%)、盐酸小檗碱 (批号 110713-202015, 质量分数 85.90%) 由中国食品药品检定研究院提供; 对照品汉黄芩素 (批号 DSTDH002501, 质量分数 98.99%)、千层纸素 A-7-O-β-D-葡萄糖醛酸苷 (批号 DSTDQ004101, 质量分数 98.49%)、芦荟大黄素-8-O-葡萄糖苷 (批号 DST221227-125, 质量分数 98.57%)、大黄酚-1-O-葡萄糖苷 (批号 DST210401-138, 质量分数 100.00%)、大黄酚-8-O-葡萄糖苷 (批号 DST210201-071, 质量分数 98.59%), 由成都德思特生物技术有限公司提供。

色谱纯甲醇, 美国 Fisher 公司; 色谱级磷酸, 天津市科密欧化学试剂有限公司; 分析纯甲醇, 成都市科隆化学有限公司; 超纯水, 由 Milli-Q 超纯

水仪制备。52 批三黄片样品来自 7 个厂家, 其中批号 220601、220801、221002、221001、221202、221201 样品 (编号 S01~S06) 来自 A 厂家, 批号 20210902、20210906、20221203、20230401、20230402、20230403 样品 (编号 S07~S12) 来自 B 厂家, 批号 220301、220604、220704、32220904、32220908、32221002、32221004、32221006、32221008、32221011、32221203、32221206 样品 (编号 S13~S24) 来自 C 厂家, 批号 22062801、22111701、22112901、23022101、23022201、23030401、23030601 样品 (编号 S25~S31) 来自 D 厂家, 批号 210304、210305、220309、220710、220716、220718 样品 (编号 S32~S37) 来自 E 厂家, 批号 20230504、20221013、20221013、20230501、20230502、20230503 样品 (编号 S38~S43) 来自 F 厂家, 批号 220703、220802、220805、220806、220807、220504、221004、221007、221009 样品 (编号 S44~S52) 来自 G 厂家。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

**2.1.1 黄芩苷等 14 个成分含量测定** 色谱柱为 Waters Acquity UPLC Hss T3 (150 mm×2.1 mm, 1.8 μm) 柱; 以甲醇-0.1%磷酸水溶液为流动相, 梯度洗脱: 0~5 min, 3%~20%甲醇; 5~20 min, 20%~40%甲醇; 20~27 min, 40%~45%甲醇; 27~40 min, 45%~58%甲醇; 40~50 min, 58%~90%甲醇; 50~53 min, 90%甲醇; 53~54 min, 90%~3%甲醇; 54~64 min, 3%甲醇; 检测波长 254、276 nm; 进样体积 1 μL; 柱温 30 °C; 体积流量 0.3 mL/min。

**2.1.2 盐酸小檗碱含量测定** 按照《中国药典》2020 年版三黄片项下盐酸小檗碱的含量测定方法检测, 色谱柱为 Capcell Pak C<sub>18</sub> MGII (150 mm×6 mm, 5 μm) 柱; 乙腈-水 (1:1, 每 1 000 mL 中加入磷酸二氢钾 3.4 g 和十二烷基硫酸钠 1.7 g) 为流动相; 检测波长 265 nm; 进样体积 10 μL; 柱温 30 °C; 体积流量 1 mL/min。

### 2.2 对照品溶液的制备

取黄芩苷等 15 个对照品适量, 加甲醇分别配制成含黄芩苷 206.7 μg/mL、千层纸素 A-7-O-β-D-葡萄糖醛酸苷 98.4 μg/mL、汉黄芩苷 130.7 μg/mL、黄芩素 96.0 μg/mL、汉黄芩素 101.4 μg/mL、没食子酸 1 071.50 μg/mL、大黄酚-1-O-葡萄糖苷 49.13 μg/mL、芦荟大黄素-8-O-葡萄糖苷 45.30 μg/mL、大黄酚-8-O-葡萄糖苷 66.26 μg/mL、芦荟大黄素 48.33 μg/mL、

大黄酸 48.10  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、大黄素 46.66  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、大黄酚 48.88  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、大黄素甲醚 57.27  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、盐酸小檗碱 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的溶液，作为对照品母液，备用。

### 2.3 供试品溶液的制备

**2.3.1 黄芩苷等 14 个成分含量测定** 取三黄片 10 片，使用刀片除去包衣，精密称定，研细，取 0.1 g 置具塞锥形瓶中，精密加入 70% 甲醇 100 mL，密塞，称定质量，超声处理 30 min，放冷至室温，再称定质量，用 70% 甲醇补足减失的质量，摇匀，经 0.22  $\mu\text{m}$  有机滤膜滤过，取续滤液，即得。

**2.3.2 盐酸小檗碱含量测定** 按照《中国药典》2020 年版三黄片项下盐酸小檗碱含量测定项下供试品溶液制备方法制备，取三黄片 10 片，使用刀片除去包

衣，精密称定，研细，取约 0.1 g 置具塞锥形瓶中，精密加入甲醇-盐酸（500：1）的混合溶液 20 mL，密塞，称定质量，超声处理 30 min，放冷至室温，再称定质量，用甲醇补足减失的质量，摇匀，经 0.22  $\mu\text{m}$  有机滤膜滤过，取续滤液，即得。

### 2.4 方法学考察

**2.4.1 线性关系考察** 分别精密吸取“2.2”项下各对照品溶液适量，配制成 7 个不同质量浓度的混合对照品溶液，按照“2.1.1”项下色谱条件进样测定，记录各成分的峰面积，以各成分的质量浓度为横坐标（ $X$ ），峰面积为纵坐标（ $Y$ ），绘制标准曲线并计算回归方程，结果见表 1。结果表明，各成分在各自的质量浓度范围内线性关系良好。

表 1 方法学试验结果

Table 1 Results of methodological test

指标成分	线性回归方程	线性范围/ $(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$	$R^2$	RSD/%		
				精密度	稳定性	重复性
黄芩苷	$Y=14\ 019.90 X-2\ 790.98$	0.516 8~206.700 0	0.999 9	1.32	0.76	0.56
千层纸素 A-7-O- $\beta$ -D-葡萄糖醛酸苷	$Y=11\ 613.00 X-7\ 862.41$	0.245 9~98.360 0	0.999 8	1.41	1.52	2.34
汉黄芩苷	$Y=15\ 142.48 X-10\ 524.05$	0.326 7~130.700 0	0.999 9	1.25	1.59	1.17
黄芩素	$Y=20\ 711.60 X-15\ 999.41$	0.239 9~95.960 0	0.999 8	1.32	2.19	1.39
汉黄芩素	$Y=24\ 212.22 X-18\ 205.76$	0.253 4~101.360 0	0.999 8	1.25	2.52	2.09
没食子酸	$Y=640\ 346.97 X+1\ 225.00$	10.720 0~1\ 071.500 0	0.999 8	0.65	0.84	2.14
芦荟大黄素-8-O-葡萄糖苷	$Y=24\ 808.41 X-3\ 515.82$	0.453 0~45.300 0	0.999 9	0.82	2.60	2.56
大黄酚-1-O-葡萄糖苷	$Y=12\ 462.99 X+2\ 017.59$	0.491 4~49.140 0	0.999 9	1.82	1.51	2.74
大黄酚-8-O-葡萄糖苷	$Y=9\ 242.63 X+2\ 017.59$	0.662 6~66.260 0	0.999 9	0.45	1.20	2.21
芦荟大黄素	$Y=17\ 711.84 X-343.38$	0.483 3~48.330 0	0.999 9	0.89	2.56	1.92
大黄酸	$Y=14\ 956.62 X+413.45$	0.481 0~48.100 0	0.999 9	1.77	2.14	2.73
大黄素	$Y=13\ 125.78 X+2\ 017.57$	0.466 6~46.660 0	0.999 9	2.48	2.21	2.93
大黄酚	$Y=18\ 362.14 X+1\ 455.26$	0.488 8~48.880 0	0.999 9	0.58	0.63	1.99
大黄素甲醚	$Y=12\ 919.60 X+1\ 353.62$	0.572 7~57.270 0	0.999 9	1.43	1.28	2.00

**2.4.2 精密度试验** 取适量黄芩苷等 14 个成分混合对照品溶液，按照“2.1.1”项下色谱条件连续进样 6 次，记录 14 个成分峰面积并计算其 RSD 值，结果见表 1，结果表明该仪器精密度良好。

**2.4.3 稳定性试验** 取适量三黄片样品（S38），按照“2.3.1”项下方法制备三黄片供试品溶液，分别于制备后 0、4、8、12、24、36 h 进样测定，记录 14 个成分峰面积并计算其 RSD 值，结果见表 1。结果表明供试品溶液在 36 h 内稳定性良好。

**2.4.4 重复性试验** 精密称取同一批三黄片样品（S38）6 份，按照“2.3.1”项下方法制备三黄片供试品溶液，按照“2.1.1”项下色谱条件进行检测，计算各成分质量分数并计算其 RSD 值，结果见表

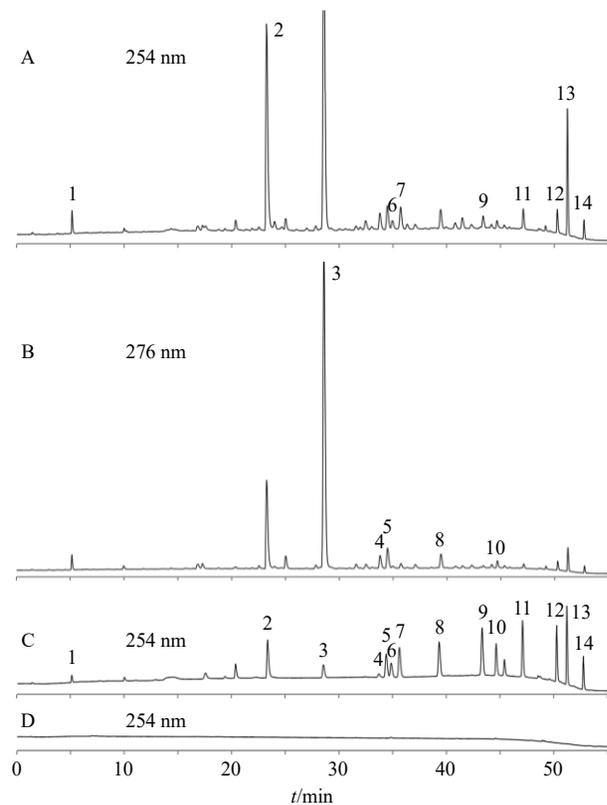
1。结果表明该测定方法重复性良好。

**2.4.5 加样回收率试验** 精密称取已测定 14 个成分含量的三黄片样品（S38）9 份，每份取样量为三黄片供试品溶液制备时取样量的 50%，以当前取样量中各成分含量的 0.5、1.0、1.5 倍，分别精密加入各对照品溶液，按照“2.3.1”项下方法制备供试品溶液，按照“2.1.1”项下色谱条件进样测定，计算各成分的加样回收率并计算其 RSD 值，结果 14 个成分黄芩苷、千层纸素 A-7-O- $\beta$ -D-葡萄糖醛酸苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素、没食子酸、大黄酚-1-O-葡萄糖苷、芦荟大黄素-8-O-葡萄糖苷、大黄酚-8-O-葡萄糖苷、芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚的平均加样回收率分别为

100.56%、99.26%、101.05%、100.84%、101.57%、99.71%、100.93%、99.69%、99.89%、100.26%、99.84%、100.06%、98.67%、99.33%，RSD 分别为 2.09%、1.82%、1.67%、1.68%、1.12%、2.38%、1.34%、2.02%、1.78%、1.59%、2.33%、2.75%、2.19%、2.87%，结果表明该方法具有良好的准确度，该方法可行。

### 2.5 样品测定

取 7 个厂家的 52 批三黄片样品，按照“2.3.1”项下方法进行供试品溶液的制备，按照“2.1.1”项下色谱条件进样分析，计算样品中黄芩苷等 14 种成分的含量；按照“2.3.2”项下方法进行供试品溶液的制备，按照“2.1.2”项下色谱条件进样分析，计算样品中盐酸小檗碱的含量；典型的色谱图见图 1、2，含量测定结果见表 2。



1-没食子酸；2-芦荟大黄素-8-O-葡萄糖苷；3-黄芩苷；4-千层纸素 A-7-O-β-D-葡萄糖醛酸苷；5-汉黄芩苷；6-大黄酚-1-O-葡萄糖苷；7-大黄酚-8-O-葡萄糖苷；8-黄芩素；9-芦荟大黄素；10-汉黄芩素；11-大黄酸；12-大黄素；13-大黄酚；14-大黄素甲醚。

1-gallic acid; 2-aloe-emodin-8-O-glucopyranoside; 3-baicalin; 4-oroxylin A-7-O-β-D-glucuronide; 5-wogonoside; 6-chrysophanol-1-O-glucoside; 7-chrysophanol-8-O-glucopyranoside; 8-baicalein; 9-aloe-emodin; 10-wogonin; 11-rhein; 12-emodin; 13-chrysophanol; 14-phycion.

图 1 三黄片供试品溶液 (S38, A, B)、混合对照品溶液 (C) 和空白溶剂 (D) 的 UPLC 图

Fig. 1 UPLC of SHT test solution (S38, A, B), mixed reference substances solution (C) and blank solvent (D)

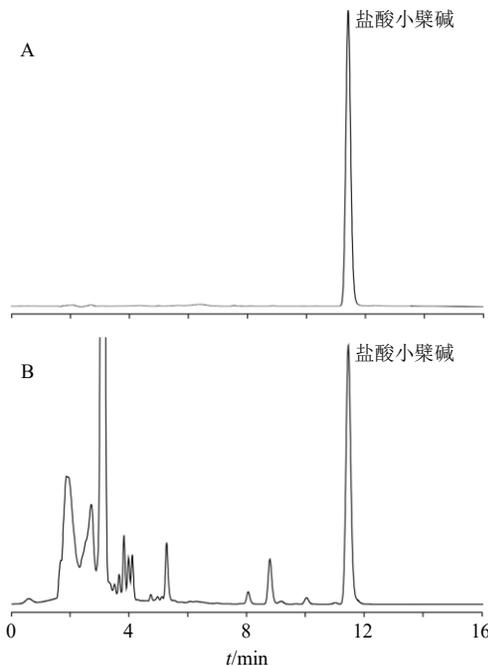


图 2 盐酸小檗碱对照品溶液 (A) 和三黄片供试品溶液 (S38, B) 的 HPLC 图

Fig. 2 HPLC of berberine hydrochloride reference substance solution (A) and SHT test solution (S38, B)

本研究测定的 15 个成分中包含了《中国药典》2020 年版三黄片质量控制项下规定的黄芩苷、盐酸小檗碱、大黄素和大黄酚 4 个质量控制指标，检测结果显示，这 4 个质量控制指标均符合《中国药典》2020 年版标准中规定的限度。从表 2 中可以看出 7 个厂家的黄芩苷、汉黄芩苷和汉黄芩素的标准偏差较大。特别是黄芩苷、汉黄芩苷 2 个成分，52 批次三黄片检测结果的标准偏差分别为 6.386 4、8.753 8 mg/g。黄芩苷含量最高的批次来自厂家 A，最低的批次来自厂家 G，含量相差 1.63 倍；汉黄芩苷含量最高的批次来自厂家 A、最低的批次来自厂家 C，含量相差 96.08 倍。测定差异比较大的成分均来自于处方中的黄芩浸膏，可能是黄芩投料及黄芩浸膏制备工艺的问题，提示各企业应该依法依规按照处方要求投料，并严格把控投料药材的质量、加强黄芩浸膏制备工艺参数验证和确认，保障不同厂家、不同批次三黄片药品之间质量的一致性。

### 2.6 化学模式识别分析

2.6.1 HCA 为了更直观地比较 7 个厂家生产的三黄片的质量差异，将表 2 中 52 批三黄片 15 种成分的含量数据作为变量，导入 SPSS 25.0 软件中进行 HCA。采用组间联接的聚类方法，以平方欧式距离为样品间距离进行 HCA，绘制树状图。结果如图 3

表 2 52批三黄片样品含量测定结果

Table 2 Results of content determination of 52 batches of SHT samples

样品	质量分数/(mg·g <sup>-1</sup> )							
	没食子酸	芦荟大黄素-8-O-葡萄糖苷	大黄酚-1-O-葡萄糖苷	大黄酚-8-O-葡萄糖苷	芦荟大黄素	大黄酸	大黄素	大黄酚
S01	0.654 3	0.241 0	0.688 7	0.964 2	1.928 4	1.515 2	1.239 7	3.202 5
S02	0.591 5	0.197 2	0.591 5	0.788 6	1.813 9	1.301 3	1.104 1	2.918 0
S03	0.073 7	0.110 6	0.516 0	0.626 6	0.552 9	1.437 5	5.565 8	0.405 5
S04	0.567 6	0.212 8	0.780 4	1.028 7	1.844 6	1.348 0	1.028 7	2.944 3
S05	0.156 5	0.313 0	0.586 9	0.626 0	0.665 1	1.369 3	6.103 3	0.469 5
S06	0.510 0	0.204 0	0.748 0	1.020 1	1.802 1	1.394 1	1.054 1	2.958 2
S07	5.864 8	0.960 9	1.921 8	5.831 7	0.795 2	0.265 1	0.530 2	3.976 1
S08	5.393 7	0.898 9	1.766 9	5.641 7	0.806 0	0.248 0	0.527 0	3.843 8
S09	5.749 4	0.830 8	1.894 3	5.749 4	0.864 1	0.265 9	0.498 5	4.154 2
S10	4.496 1	0.899 2	1.612 4	4.682 2	0.434 1	0.217 1	0.248 1	2.325 6
S11	5.397 9	1.072 7	1.903 1	5.605 5	0.519 0	0.276 8	0.346 0	2.837 4
S12	6.493 9	1.043 1	1.917 9	5.787 3	0.706 6	0.269 2	0.403 8	3.398 4
S13	3.285 9	0.158 0	0.442 3	1.042 7	0.600 3	1.263 8	1.263 8	2.780 4
S14	2.633 1	0.254 8	0.651 2	1.613 8	0.396 4	0.821 1	0.821 1	1.812 0
S15	2.252 1	0.302 1	0.769 0	1.977 5	0.329 6	0.631 7	0.631 7	1.373 2
S16	2.295 8	0.298 2	0.655 9	1.699 5	0.417 4	0.954 1	0.834 8	1.580 2
S17	1.952 6	0.418 4	0.871 7	2.371 0	0.348 7	0.767 1	0.557 9	1.325 0
S18	1.746 1	0.443 9	0.947 0	2.426 8	0.384 7	0.710 3	1.390 9	1.272 6
S19	2.180 2	0.290 7	0.668 6	1.715 1	0.465 1	0.901 2	0.726 7	1.744 2
S20	1.847 8	0.358 5	0.717 0	1.902 9	0.386 1	0.689 5	0.468 8	1.323 8
S21	1.920 8	0.384 2	0.857 0	2.245 9	0.354 6	0.709 2	0.591 0	1.329 8
S22	1.938 6	0.387 7	0.894 7	2.266 6	0.357 9	0.686 0	0.596 5	1.312 3
S23	1.672 9	0.288 4	0.605 7	1.528 7	0.403 8	0.692 2	0.519 2	1.355 6
S24	1.465 1	0.436 4	0.966 3	2.306 7	0.311 7	0.592 3	0.467 6	1.122 2
S25	2.879 4	0.304 9	0.813 0	2.777 8	0.440 4	0.643 6	0.880 8	2.913 3
S26	3.024 6	0.472 6	1.134 2	3.276 6	0.598 6	0.693 1	0.945 2	2.867 0
S27	2.753 2	0.441 9	1.087 7	3.263 1	0.441 9	0.611 8	0.883 8	2.515 3
S28	2.932 3	0.505 6	1.213 3	3.538 9	0.471 9	0.539 3	0.741 5	2.460 4
S29	2.955 2	0.509 5	1.222 8	3.566 6	0.475 5	0.577 4	0.815 2	2.479 6
S30	2.842 6	0.507 6	1.184 4	3.417 9	0.473 8	0.541 5	0.710 7	2.402 7
S31	2.560 7	0.432 3	1.064 2	3.159 3	0.432 3	0.565 3	0.798 1	2.460 9
S32	1.866 6	0.198 6	0.675 1	2.660 8	0.595 7	1.072 3	1.151 7	4.209 7
S33	1.794 1	0.234 0	0.741 0	2.808 1	0.546 0	0.975 0	1.092 0	4.017 2
S34	1.743 3	0.198 1	0.594 3	2.337 6	0.713 2	1.030 1	1.149 0	4.358 2
S35	1.746 2	0.232 8	0.659 7	2.134 3	0.582 1	0.892 5	1.008 9	3.686 5
S36	1.410 1	0.274 2	0.744 2	2.467 7	0.548 4	0.705 1	0.861 7	3.016 1
S37	1.239 8	0.271 2	0.736 1	2.479 7	0.4649	0.736 1	0.581 2	2.867 1
S38	0.498 3	0.099 7	0.365 4	0.531 6	0.531 6	1.495 0	5.581 4	1.196 0
S39	0.338 6	0.203 2	0.169 3	0.135 5	0.541 8	0.474 1	7.822 6	0.609 5
S40	0.341 6	0.205 0	0.136 7	0.170 8	0.410 0	0.512 5	7.550 4	0.478 3
S41	0.505 6	0.101 1	0.370 7	0.539 3	0.539 3	1.415 6	5.696 0	1.213 3
S42	0.500 8	0.100 2	0.333 9	0.567 6	0.534 2	1.368 9	5.576 0	1.202 0

表 2 (续)

样品	质量分数/(mg·g <sup>-1</sup> )							
	没食子酸	芦荟大黄素-8-O-葡萄糖苷	大黄酚-1-O-葡萄糖苷	大黄酚-8-O-葡萄糖苷	芦荟大黄素	大黄酸	大黄素	大黄酚
S43	0.499 5	0.099 9	0.333 0	0.499 5	0.532 8	1.498 5	5.328 0	1.132 2
S44	2.751 2	0.747 6	1.584 9	4.934 2	0.717 7	0.508 4	0.568 2	3.349 3
S45	2.922 3	0.867 1	1.541 4	4.881 2	0.770 7	0.706 5	0.738 6	3.853 6
S46	2.798 8	0.757 3	1.580 5	4.972 0	0.691 5	0.461 0	0.493 9	3.523 2
S47	2.589 2	0.726 2	1.326 2	4.231 1	0.694 7	0.536 8	0.536 8	3.504 9
S48	2.885 3	0.809 3	1.477 8	4.750 2	0.703 7	0.598 2	0.633 4	3.940 9
S49	3.058 7	0.695 2	1.320 8	4.275 3	0.695 2	0.347 6	0.556 1	4.414 3
S50	2.946 8	0.697 1	1.267 4	4.214 2	0.665 4	0.285 2	0.475 3	4.277 6
S51	2.872 9	0.699 8	1.436 5	4.604 1	0.699 8	0.147 3	0.442 0	4.235 7
S52	2.991 9	0.882 2	1.764 5	5.370 2	0.652 1	0.498 7	0.460 3	3.567 3
$\bar{x} \pm s$	2.296 0± 1.531 3	0.447 7± 0.280 2	0.977 9± 0.488 9	2.769 5± 1.724 0	0.647 2± 0.375 7	0.764 7± 0.393 2	1.569 2± 2.022 3	2.548 4± 1.201 9

样品	质量分数/(mg·g <sup>-1</sup> )						
	大黄素甲醚	黄芩苷	千层纸素 A-7-O-β-D-葡萄糖醛酸苷	汉黄芩苷	黄芩素	汉黄芩素	盐酸小檗碱
S01	0.757 6	60.606 1	6.542 7	27.892 6	6.887 1	12.741 0	17.217 6
S02	0.670 3	66.246 1	7.097 8	30.362 8	7.492 1	14.195 6	20.110 4
S03	1.142 6	54.920 8	5.528 9	23.958 7	7.371 9	11.057 9	17.324 0
S04	0.674 0	57.467 2	6.385 2	26.605 2	6.385 2	12.415 8	17.382 1
S05	1.212 8	62.206 6	5.868 5	28.560 3	6.259 8	7.824 7	17.605 6
S06	0.680 0	55.423 3	6.120 4	25.841 6	6.460 4	11.900 7	17.324 0
S07	0.894 6	50.695 8	2.982 1	2.650 8	1.656 7	0.331 3	17.892 6
S08	0.836 9	50.836 9	2.789 8	2.789 8	1.549 9	0.310 0	16.739 0
S09	0.930 5	51.512 1	2.991 0	2.658 7	1.994 0	0.664 7	17.613 8
S10	0.496 1	50.852 7	2.790 7	2.480 6	1.860 5	0.620 2	16.744 2
S11	0.622 8	56.747 4	3.114 2	2.768 2	0.346 0	0.692 0	18.685 1
S12	0.740 2	60.565 3	3.364 7	3.028 3	2.355 3	0.672 9	17.160 2
S13	0.631 9	48.025 3	2.211 7	0.316 0	2.527 6	0.316 0	14.849 9
S14	0.424 7	47.282 0	2.265 0	0.566 3	1.698 8	0.566 3	12.740 7
S15	0.302 1	42.296 1	1.922 5	0.549 3	1.373 2	0.274 6	12.908 5
S16	0.536 7	47.406 1	2.087 1	0.596 3	1.490 8	0.298 2	14.907 6
S17	0.313 8	55.439 3	2.440 7	0.697 4	2.092 1	0.348 7	18.131 1
S18	0.325 5	47.055 3	2.071 6	0.591 9	1.775 7	0.295 9	15.093 2
S19	0.436 0	47.674 4	2.034 9	0.581 0	1.744 2	0.290 7	14.534 9
S20	0.275 8	43.850 0	1.930 5	0.551 6	1.654 7	0.275 8	14.340 9
S21	0.354 6	47.576 8	2.068 6	0.591 0	1.773 0	0.295 5	13.888 9
S22	0.328 1	49.209 7	2.087 7	0.596 5	1.491 2	0.298 2	14.912 0
S23	0.346 1	43.841 9	1.730 6	0.576 9	2.307 5	0.576 9	14.710 1
S24	0.280 5	46.446 4	1.870 3	0.623 4	2.493 8	0.623 4	15.274 3
S25	0.643 6	47.764 2	2.371 3	3.726 3	1.355 0	0.338 8	16.937 7
S26	0.661 6	48.519 2	1.890 4	0.945 2	1.890 4	0.315 1	14.492 8
S27	0.577 8	55.404 5	2.379 3	3.059 1	1.359 6	0	16.315 4
S28	0.573 0	46.511 6	2.696 3	3.033 4	1.348 2	0.337 0	15.166 8

表 2 (续)

样品	质量分数/(mg·g <sup>-1</sup> )						
	大黄素甲醚	黄芩苷	千层纸素 A-7-O-β-D-葡萄糖醛酸苷	汉黄芩苷	黄芩素	汉黄芩素	盐酸小檗碱
S29	0.577 4	47.554 3	2.717 4	3.057 1	1.358 7	0.339 7	15.964 7
S30	0.575 3	48.392 6	2.707 3	2.707 3	1.353 6	0.338 4	14.890 0
S31	0.565 3	53.874 3	2.993 0	1.995 3	1.662 8	0.665 1	16.295 3
S32	0.873 7	59.571 1	2.382 8	4.765 7	1.588 6	0.794 3	22.637 0
S33	0.858 0	60.452 4	2.340 1	4.680 2	1.560 1	0.780 0	21.840 9
S34	0.950 9	55.467 5	2.377 2	3.169 6	1.981 0	0.792 4	20.602 2
S35	0.814 9	54.326 7	2.328 3	3.492 4	1.552 2	0.776 1	20.178 5
S36	0.665 9	65.021 5	2.741 9	3.917 0	1.958 5	0.391 7	19.584 8
S37	0.619 9	63.153 8	3.099 6	3.874 5	1.549 8	0.387 4	19.372 3
S38	1.328 9	45.182 7	3.986 7	12.624 6	3.986 7	5.315 6	14.285 7
S39	1.625 5	46.732 1	4.063 7	18.286 5	4.740 9	6.434 1	15.577 4
S40	1.332 4	47.488 9	3.758 1	18.107 3	4.441 4	6.491 3	16.057 4
S41	1.348 2	44.826 4	4.044 5	12.470 5	3.707 4	5.055 6	14.155 7
S42	1.302 2	45.075 1	4.006 7	12.687 8	4.006 7	5.342 2	14.023 4
S43	1.265 4	45.621 0	3.996 0	12.987 0	3.663 0	5.328 0	14.319 0
S44	0.687 8	40.669 9	1.794 3	1.495 2	1.794 3	0.598 1	14.952 2
S45	0.802 8	45.600 5	1.926 8	1.605 7	1.926 8	0.642 3	15.414 3
S46	0.724 4	45.439 6	1.975 6	1.317 1	2.304 9	0.658 5	15.475 8
S47	0.789 4	44.205 9	1.894 5	1.263 0	1.578 8	0.631 5	15.787 8
S48	0.809 3	49.612 9	2.111 2	1.407 5	1.759 3	0.703 7	16.889 5
S49	0.903 7	51.790 1	2.433 1	1.390 3	1.737 9	0.695 2	17.031 6
S50	0.887 2	48.795 9	2.218 0	1.267 4	1.901 1	0.633 7	14.892 3
S51	0.847 1	62.246 8	2.946 6	1.841 6	2.209 9	0.736 6	17.679 6
S52	0.767 2	52.167 2	2.685 1	1.534 3	1.917 9	0.767 2	18.412 0
$\bar{x} \pm s$	0.742 2±	51.262 5±	3.022 4±	6.329 7±	2.600 7±	2.388 0±	16.487 0±
	0.313 3	6.386 4	1.349 3	8.753 8	1.755 3	3.841 4	2.186 0

所示, 当欧氏距离为 10 时, 52 批三黄片被聚为 3 类: S38~S43 (厂家 F) 聚为第 1 类; S07~S37、S44~S52 聚为第 2 类; S01~S06 (厂家 A) 聚为第 3 类。除厂家 A、F 各自聚为 1 类, 其余 5 个厂家聚为 1 类。表明不同厂家间三黄片化学成分的含量存在一定的差异。

**2.6.2 PCA** PCA 是一种应用较广泛的数据降维处理方法, 将原始数据所包含的多个相关的变量进行重新组合、线性降维, 生成新的、相互无关且能够反映原始数据变量的绝大部分信息的综合变量, 即主成分<sup>[13-14]</sup>。该分析技术已经广泛应用于中药的品质综合评价与分类。

将表 2 含量数据导入 SPSS 25.0 软件, 采用降维的方式进行 PCA, 以主成分特征值>1 为提取标准, 结果 Bartlett 球形度检定显著性  $P<0.000 1$ , 说

明拒绝变量相互独立的假设, 即数据进行 PCA 成立。共提取得到 4 个主成分, 累积方差贡献率为 91.309% (表 3), 表明前 4 个主成分可综合解释三黄片原有变量 91.309% 的信息; 其中第 1 主成分综合了大黄酸、大黄素、千层纸素 A-7-O-β-D-葡萄糖醛酸苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素的信息; 第 2 主成分的信息来自没食子酸、大黄酚-1-O-葡萄糖苷、大黄酚-8-O-葡萄糖苷、芦荟大黄素、大黄酚、黄芩苷、盐酸小檗碱; 第 3 个主成分的信息来自芦荟大黄素-8-O-葡萄糖苷; 第 4 个主成分的信息来自大黄素甲醚的信息; 具体结果见表 4。同时, 以 52 批次三黄片中 15 种成分含量为变量, 应用统计软件 SIMCA 14.1 建立 PCA 模型, 经分析生成得分矩阵图见图 4。由 PCA 得分矩阵图可知, 厂家 A 和厂家 F 区别于其余厂家, 其他 5 个厂家大致聚在一起,

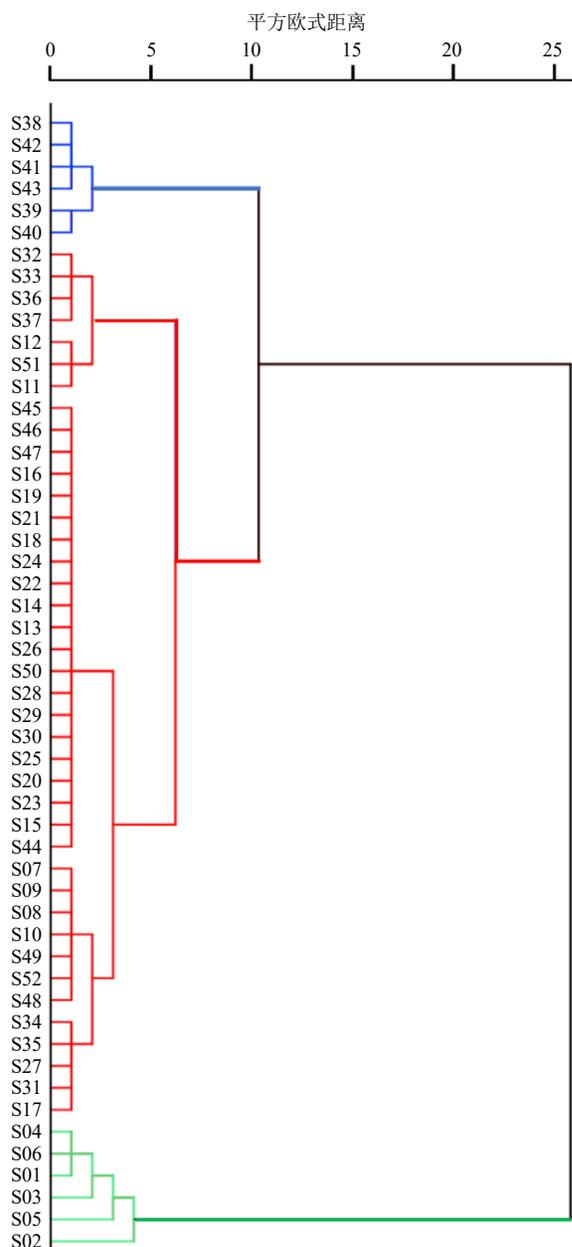


图 3 52 批三黄片的 HCA 树状图

Fig. 3 HCA tree diagram of 52 batches of SHT

表 3 三黄片中 4 个主成分的特征值和方差贡献率

Table 3 Eigenvalues and variance contribution rates of four principal components in SHT

主成分	特征值	方差贡献率/%	累积方差贡献率/%
1	7.672	51.148	51.148
2	3.380	22.533	73.681
3	1.454	9.694	83.375
4	1.190	7.935	91.309

与“2.6.1”项下 HCA 结果相符合。

**2.6.3 OPLS-DA** 为进一步分析影响不同厂家三黄片质量的差异标志物，以 52 批三黄片中 15 种成分含量为变量，导入 SIMCA 14.1 软件进行 OPLS-DA，建立 OPLS-DA 模型，该模型  $R_X^2=0.984$ ， $R_Y^2=0.797$ ， $Q^2=0.709$ ，均大于 0.5，表明模型稳定可行，可用于不同厂家三黄片中差异标志物的分析，结果 OPLS-DA 得分图见图 5。

由得分图可知，厂家 A、F 明显区别于其他厂家，结果与 HCA、PCA 结果相一致。为避免模型过度拟合造成结果假阳性，设置分类 Y 矩阵变量随机排列 200 次做置换检验，检验图见图 6。结果最右侧的  $R^2$  值和  $Q^2$  值均高于左侧的  $R^2$  值和  $Q^2$  值， $R^2$  回归线在 Y 轴截距为 0.095 4、 $Q^2$  回归线在 Y 轴截距为 -0.533 0，说明模型未出现过拟合现象，可用于判别分析 52 批样品的组间差异<sup>[15]</sup>。

通过变量重要性投影值 (variable importance for the projection, VIP)，以  $VIP>1$  为标准筛选出大黄素甲醚、没食子酸、盐酸小檗碱、大黄酚、黄芩苷、芦荟大黄素-8-O-葡萄糖苷 6 种关键成分，结果表明以上 6 种成分可能是引起三黄片质量差异的主要特征成分，VIP 值结果详见图 7。15 种成分的 VIP 值分别为 1.214 3、1.214 3、0.881 1、0.823 3、0.982 3、0.859 8、0.988 5、1.095 9、1.095 9、1.079 0、0.927 3、

表 4 主成分载荷矩阵

Table 4 Loadings matrix of principal components

成分名称	载荷				成分名称	载荷			
	主成分 1	主成分 2	主成分 3	主成分 4		主成分 1	主成分 2	主成分 3	主成分 4
没食子酸	-0.840	0.287	0.231	-0.038	大黄素甲醚	0.491	0.112	0.570	0.599
芦荟大黄素-8-O-葡萄糖苷	-0.780	0.396	0.418	-0.082	黄芩苷	0.216	0.721	-0.418	0.285
大黄酚-1-O-葡萄糖苷	-0.788	0.476	0.307	-0.140	千层纸素 A-7-O-β-D-葡萄糖醛酸苷	0.808	0.501	0.162	-0.136
大黄酚-8-O-葡萄糖苷	-0.871	0.409	0.231	0.027	汉黄芩苷	0.895	0.369	0.175	-0.079
芦荟大黄素	0.436	0.754	0.009	-0.386	黄芩素	0.891	0.308	0.181	-0.182
大黄酸	0.839	-0.067	-0.237	-0.078	汉黄芩素	0.882	0.371	0.153	-0.215
大黄素	0.720	-0.305	0.468	0.398	盐酸小檗碱	0.035	0.685	-0.419	0.530
大黄酚	-0.503	0.679	-0.126	0.153					

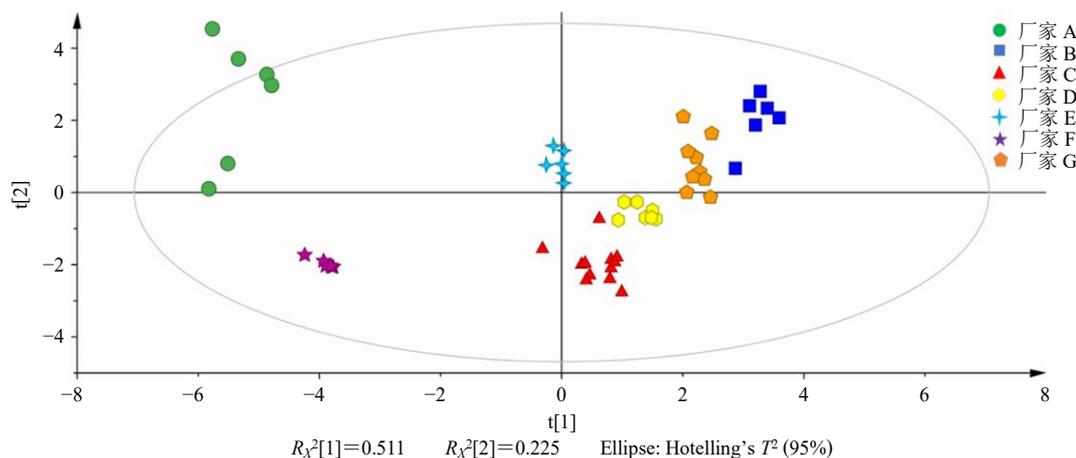


图 4 52 批三黄片样品 PCA 得分图

Fig. 4 PCA score chart of 52 batches of SHT samples

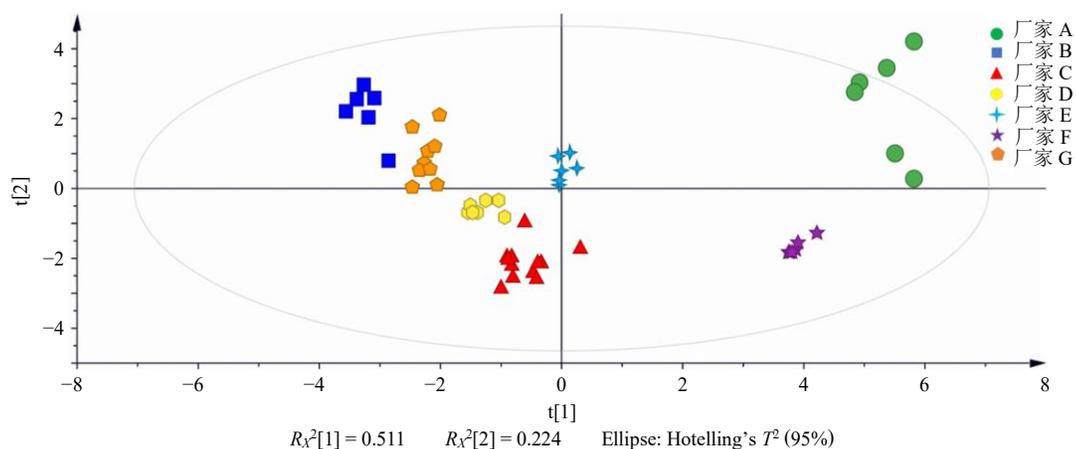


图 5 52 批三黄片样品 OPLS-DA 得分图

Fig. 5 OPLS-DA score chart of 52 batches of SHT samples

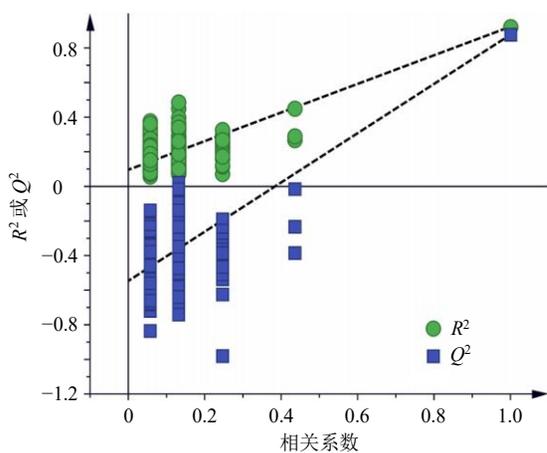


图 6 52 批三黄片样品 200 次检验置换图

Fig. 6 Replacement chart of 52 batches of SHT samples for 200 tests

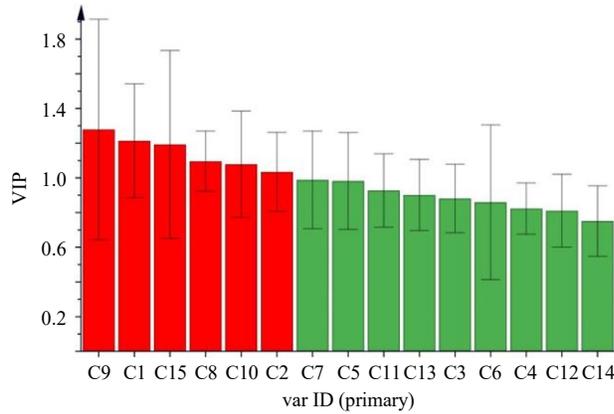
0.810 8、0.901 8、0.751 2、1.192 9。

### 2.7 TOPSIS 分析

《中国药典》2020 年版中大黄、黄芩、三黄片项

下的蒽醌类、黄酮类成分的限度均只有下限，未设上限；对于三黄片项下的盐酸小檗碱规定小片应为 4.0~5.8 mg，大片应为 8.0~11.5 mg，本研究所测 52 批三黄片盐酸小檗碱含量范围均符合标准规定，在此范围内按越大越优计。

故本实验根据极大值指标的正向化公式  $Y_{ij} = (Y_{ij} - \min Y_j) / (\max Y_j - \min Y_j)$ ，对表 2 中 7 个厂家 52 批三黄片的 15 种成分含量的平均值进行标准化处理，结果见表 5。以“2.6.3”项下的 VIP 值作为各成分的权重值 ( $W_j$ )，再运用  $Z_{ij} = Y_{ij} W_j$  构建加权决策矩阵，结果见表 6。采用评价指标与正、负理想解距离计算公式<sup>[16]</sup>，计算正理想解方案 ( $D_i^+$ ) 和负理想解方案 ( $D_i^-$ ) 及各评价指标的综合评分 ( $C_i$ )，结果见表 7。TOPSIS 分析结果显示，厂家 A、B 的  $C_i$  排名靠前，厂家 C 的  $C_i$  排名最后，提示 A、B 厂家三黄片的质量可能较好、厂家 C 的三黄片质量可能不佳。



C1-没食子酸; C2-芦荟大黄素-8-O-葡萄糖苷; C3-大黄酚-1-O-葡萄糖苷; C4-大黄酚-8-O-葡萄糖苷; C5-芦荟大黄素; C6-大黄酸; C7-大黄素; C8-大黄酚; C9-大黄素甲醚; C10-黄芩苷; C11-千层纸素 A-7-O-β-D-葡萄糖醛酸苷; C12-汉黄芩苷; C13-黄芩素; C14-汉黄芩素; C15-盐酸小檗碱; 表 5、6 同。

C1-gallic acid; C2-aloe-emodin-8-O-glucopyranoside; C3-chrysophanol-1-O-glucoside; C4-chrysophanol-8-O-glucopyranoside; C5-aloe-emodin; C6-rhein; C7-emodin; C8-chrysophanol; C9-phycion; C10-baicalin; C11-oroxylin A-7-O-β-D-glucuronide; C12-wogonoside; C13-baicalcin; C14-wogonin; C15-berberine hydrochloride; same as tables 5 and 6.

图 7 52 批三黄片样品中 15 种成分的 VIP 图

Fig. 7 VIP plot of 15 components of 52 batches of SHT samples

表 5 7 个厂家三黄片各指标归一化处理结果

Table 5 Results of normalization of SHT indexes of seven manufacturers

厂家	$Y_{ij}$														
	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8	C9	C10	C11	C12	C13	C14	C15
A	0	0.095 8	0.236 6	0.084 6	1.000 0	1.000 0	0.386 9	0.409 0	0.482 6	0.986 5	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	0.521 7
B	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	0.280 4	0	0	0.850 9	0.378 6	0.557 2	0.225 2	0.081 1	0.028 4	0.018 9	0.462 7
C	0.325 6	0.245 3	0.302 4	0.295 1	0	0.464 2	0.053 8	0.193 0	0	0.097 8	0	0	0.073 7	0.003 4	0
D	0.471 6	0.390 4	0.527 3	0.559 7	0.077 0	0.298 1	0.068 5	0.560 3	0.219 4	0.281 4	0.113 5	0.078 0	0	0	0.171 7
E	0.235 0	0.122 4	0.262 3	0.403 3	0.172 1	0.567 1	0.094 0	0.944 7	0.422 8	1.000 0	0.115 5	0.128 2	0.041 8	0.028 2	1.000 0
F	0.004 2	0	0	0	0.114 2	0.765 4	1.000 0	0	1.000 0	0	0.456 5	0.524 1	0.490 4	0.469 2	0.007 6
G	0.475 3	0.771 7	0.769 0	0.833 3	0.291 5	0.173 6	0.020 5	1.000 0	0.427 8	0.225 8	0.038 2	0.033 3	0.080 2	0.030 0	0.264 6

表 6 7 个厂家三黄片加权决策矩阵

Table 6 Seven manufacturers SHT weighted decision matrix

厂家	$Z_{ij}$														
	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8	C9	C10	C11	C12	C13	C14	C15
A	0	0.099 1	0.208 5	0.069 7	0.982 3	0.859 8	0.382 5	0.448 2	0.617 4	1.064 4	0.927 3	0.810 8	0.901 8	0.751 2	0.622 3
B	1.214 3	1.034 7	0.881 1	0.823 3	0.275 4	0	0	0.932 5	0.484 3	0.601 2	0.208 8	0.065 8	0.025 6	0.014 2	0.552 0
C	0.395 4	0.253 8	0.266 4	0.243 0	0	0.399 1	0.053 2	0.211 5	0	0.105 5	0	0	0.066 5	0.002 6	0
D	0.572 7	0.403 9	0.464 6	0.460 8	0.075 6	0.256 3	0.067 7	0.614 0	0.280 7	0.303 6	0.105 2	0.063 2	0	0	0.204 8
E	0.285 4	0.126 6	0.231 1	0.332 0	0.169 1	0.487 6	0.092 9	1.035 3	0.540 9	1.079 0	0.107 1	0.103 9	0.037 7	0.021 2	1.192 9
F	0.005 1	0	0	0	0.112 2	0.658 1	0.988 5	0	1.279 3	0	0.423 3	0.424 9	0.442 2	0.352 5	0.009 1
G	0.577 2	0.798 5	0.677 6	0.686 1	0.286 3	0.149 3	0.020 3	1.095 9	0.547 3	0.243 6	0.035 4	0.027 0	0.072 3	0.022 5	0.315 6

### 3 讨论

#### 3.1 指标成分选择依据

本研究参考了《中国药典》2020 年版三黄片处方中单味药的质控指标,并结合现有文献报道,选择与三黄片功效密切相关的化学组分作为检测指标。大黄作为君药,在方中清热解毒、泻下,研究表明,大黄中主要药效成分最具代表性且含量最高的是蒽醌类成分,包括游离型和结合型蒽醌,游离型蒽醌主要发挥清热解毒作用,结合型蒽醌主要发挥泻下作用<sup>[17-19]</sup>。现有对三黄片中大黄的蒽醌类成分进行测定的研究,主要以游离型蒽醌(大黄酸、芦荟大黄素、大黄素甲醚、大黄酚、大黄素)及其酸解后总蒽醌作为含量测定指标,鲜见对该复方中结合型蒽醌进行含量测定的研究。而大黄中大黄酚-1-O-葡萄糖苷、大黄酚-8-O-葡萄糖苷、大黄素-1-O-葡萄糖苷、大黄酸-8-O-β-D-葡萄糖苷、芦荟大黄素-8-O-葡萄糖为其主要的结合型蒽醌类成分,且其与三黄片泻火通便功效的发挥密切相关<sup>[11,20-22]</sup>。黄芩为臣药,以黄芩浸膏投料,系黄芩药材经水提酸沉而成,具清热燥湿、泻火解毒之功,清上焦之火,主要含有黄酮及其苷类、挥发油、萜类化合物等,黄酮类化合物是其主要活性成分。其中黄芩苷、汉黄

表 7 7 个厂家三黄片质量评价排序

Table 7 Seven manufacturers SHT quality evaluation ranking

厂家	$D_i^+$	$D_i^-$	$C_i$	排序
A	0.559 0	0.701 7	0.556 6	1
B	0.649 1	0.617 3	0.487 5	2
C	0.877 4	0.199 0	0.184 9	7
D	0.763 2	0.324 4	0.298 3	6
E	0.698 5	0.525 7	0.429 4	3
F	0.779 7	0.491 5	0.386 7	5
G	0.700 8	0.490 7	0.411 8	4

芩苷、千层纸素 A-7-O- $\beta$ -D-葡萄糖醛酸苷等苷类和黄芩素、汉黄芩素、千层纸素 A、白杨素等苷元类具有最强的药用活性<sup>[23-25]</sup>，与其清热解毒功效的发挥密切相关。此外，三黄片中以盐酸小檗碱单体投料，标准中也对该成分进行定量检测。

在本研究中，大黄中大黄素-1-O-葡萄糖苷、大黄酸-8-O- $\beta$ -D-葡萄糖苷未被 UPLC 检出，黄芩浸膏所含的千层纸素 A、白杨素未达检出限要求。因此，综合选择芦荟大黄素-8-O-葡萄糖苷、大黄酚-1-O-葡萄糖苷、大黄酸-8-O-葡萄糖苷、芦荟大黄素、没食子酸、大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚、黄芩苷、千层纸素 A-7-O- $\beta$ -D-葡萄糖醛酸苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素、盐酸小檗碱 15 种药效相关成分作为定量检测指标。

### 3.2 化学计量学结果分析及三黄片质量差异问题探讨

**3.2.1 化学计量学结果分析** 由 HCA 聚类图可知，7 个厂家被聚为 3 类，厂家 A、F 各单独聚为 1 类，其余厂家聚为 1 类。PCA 得分图可知，厂家 A、F 各单独聚为 1 类，厂家 A 的 6 批三黄片较分散，结果与 HCA 相一致，以上结果说明，不同厂家之间及同一厂家的不同批次间三黄片的质量均存在一定差异。OPLS-DA 以 VIP 值 >1 为标准，共识别出大黄素甲醚、没食子酸、盐酸小檗碱、大黄酚、黄芩苷、芦荟大黄素-8-O-葡萄糖苷 6 个差异性标志物。其中没食子酸、大黄素甲醚、大黄酚、芦荟大黄素-8-O-葡萄糖苷均来自君药大黄。在《中国药典》2020 年版三黄片项下，已对黄芩苷、盐酸小檗碱进行含量控制。然而，对于君药大黄的质量控制，标准中仅以大黄素和大黄酚的总量作为质控指标。根据本研究分析结果，没食子酸、大黄素甲醚、芦荟大黄素-8-O-葡萄糖苷可考虑作为三黄片中大黄的质量控制指标，以期更好地控制三黄片的质量。

TOPSIS 分析结果显示，TOPSIS 欧氏贴近度在 0.184 9~0.556 6，表明不同厂家间三黄片质量差异较大，综合评分排序：厂家 A > 厂家 B > 厂家 E > 厂家 G > 厂家 F > 厂家 D > 厂家 C，从 15 种成分含量高低的角来评价三黄片质量，厂家 A 最佳，且在 HCA 中厂家 A 是单独聚为一类，表明厂家 A 在原料选择、制剂工艺、生产设备、质量内控等方面可能有优势，可在深入调研后进行分析、推广，以提升三黄片药品整体质量。

**3.2.2 不同厂家三黄片质量差异问题探讨** 单从含量测定数据（表 2）中可以看出，不同厂家生产的三黄片样品中源自黄芩浸膏的黄芩苷、汉黄芩苷等成分的标准偏差较大，可能为黄芩浸膏制备工艺参数、黄芩投料的问题。课题组前期从三黄片处方、制法等方面展开调研，结果发现 7 个生产厂家的三黄片制备工艺存在差异，处方中大黄为一半原粉入药、一半提取浓缩为稠膏入药。各厂家在提取大黄并浓缩为稠膏时的工艺参数（提取溶剂加入量、提取时间及浓缩相对密度）、黄芩浸膏制备的工艺参数（提取加水量、浓缩相对密度、浸膏干燥温度及方式）均各不相同，这可能是导致其质量差异的主要原因之一。各生产厂家应当加强对黄芩浸膏、大黄提取工艺参数的验证和确认，保证最终产品的质量一致性。另外，大黄、黄芩药材的质量直接影响三黄片制剂的质量。

从化学模式识别分析中发现，源自大黄药材的大黄素甲醚、没食子酸、大黄酚、芦荟大黄素-8-O-葡萄糖苷是三黄片的质量差异性标志物。《中国药典》2020 年版中大黄项下收录了药用大黄、唐古特大黄和掌叶大黄 3 种基原，有研究<sup>[26-27]</sup>比较了这 3 种基原大黄的泻下效应强度及所含成分含量的差异，结果发现大黄 3 种基原所含成分及泻下强度均存在一定差异。因此，这可能是导致三黄片质量差异的另一原因。提示各生产厂家应加强对投料药材的品种基原和质量把关，方能生产质量稳定、安全、有效的产品。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

### 参考文献

- [1] 傅丹青, 徐莉, 葛尔宁, 等. 三黄泻心汤主要有效成分溶出规律研究 [J]. 中华中医药学刊, 2020, 38(10): 16-19.
- [2] 吴学渊, 房春林, 李文, 等. 三黄泻心汤煎煮过程中 13 种指标成分动态变化与分布规律研究 [J]. 中草药,

- 2022, 53(9): 2659-2667.
- [3] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 517.
- [4] 李晓花, 郭允, 李佳, 等. RP-HPLC 法同时测定三黄片中 7 种指标成分的含量 [J]. 沈阳药科大学学报, 2016, 33(8): 637-642.
- [5] 金杨, 王燕. 三黄片研究概况 [J]. 中国民族民间医药, 2017, 26(5): 70-72.
- [6] 邬伟魁, 严倩茹, 宋伟. 化学计量学在三黄片质量综合评价中的应用 [J]. 中国医院用药评价与分析, 2022, 22(5): 560-562.
- [7] 崔新刚, 王颖莹, 王新胜. 基于主成分分析和聚类分析的不同厂家三黄片质量分析 [J]. 中国民族民间医药, 2020, 29(16): 36-40.
- [8] 王西彬, 陈畅, 何希荣, 等. RP-HPLC 测定三黄片中黄芩苷和盐酸小檗碱的含量 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(13): 128-130.
- [9] 解军波, 张彦青, 戚务勤. RRLC-MS/MS 法测定三黄片中小檗碱、黄芩苷和大黄素 [J]. 中草药, 2010, 41(5): 739-741.
- [10] 贾丽华, 黄刚, 王东东, 等. HPLC 法测定不同厂家三黄片中大黄素与大黄酚的含量 [J]. 兵团医学, 2016, 47(1): 51-53.
- [11] 肖春霞, 周世玉, 文永盛. HPLC 法同时测定三黄片中 9 种成分 [J]. 中成药, 2018, 40(3): 601-604.
- [12] 岳磊, 张丹, 黄丽杰, 等. UPLC-MS/MS 法同时测定三黄片中 5 种成分的含量 [J]. 药品评价, 2021, 18(13): 791-794.
- [13] 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.
- [14] 田丹, 王东孝, 景贤, 等. HPLC 多指标成分测定结合多元统计分析的益宫颗粒质量控制研究 [J]. 现代药物与临床, 2023, 38(3): 559-565.
- [15] 李惠敏, 李凤超, 高必兴, 等. 基于 HPLC 指纹图谱及化学模式识别对比研究曲花紫堇及同属药材 [J]. 中草药, 2024, 55(5): 1709-1716.
- [16] 郑文烈, 张强, 冯飞, 等. 基于基准关联度和熵权-优劣解距离法综合评价优选经典名方羌活胜湿汤提取工艺 [J]. 中草药, 2024, 55(10): 3310-3320.
- [17] 陈艳琰, 唐于平, 陈嘉倩, 等. 大黄资源化学研究进展与利用策略 [J]. 中草药, 2018, 49(21): 5170-5178.
- [18] 陈倩倩, 史红专, 郭巧生, 等. 不同变异类型药用大黄筛选及其产量和内在品质比较 [J]. 中草药, 2022, 53(6): 1862-1867.
- [19] 王玉, 杨雪, 夏鹏飞, 等. 大黄化学成分、药理作用研究进展及质量标志物的预测分析 [J]. 中草药, 2019, 50(19): 4821-4837.
- [20] 杜闻杉, 刘喜纲, 李忠思, 等. 市售三黄片中游离和结合蒽醌含量的比较及聚类分析 [J]. 中国医院药学杂志, 2016, 36(22): 1950-1956.
- [21] 毛春芳, 施忠, 罗琳, 等. HPLC 法同时测定大黄中芦荟大黄素等 11 种成分的量 [J]. 中草药, 2014, 45(16): 2400-2403.
- [22] 刘娟, 魏胜利, 刘春生, 等. HPLC 测定 2 种大黄中 4 类功效组分含量 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(24): 157-161.
- [23] Shen J, Li P, He C N, *et al.* Simultaneous determination of 15 flavonoids from different parts of *Scutellaria baicalensis* and its chemometrics analysis [J]. *Chin Herb Med*, 2019, 11(1): 20-27.
- [24] 郑勇凤, 王佳婧, 傅超美, 等. 黄芩的化学成分与药理作用研究进展 [J]. 中成药, 2016, 38(1): 141-147.
- [25] Bai C K, Yang J J, Cao B, *et al.* Growth years and post-harvest processing methods have critical roles on the contents of medicinal active ingredients of *Scutellaria baicalensis* [J]. *Ind Crops Prod*, 2020, 158: 112985.
- [26] 王家葵, 李傲, 王慧, 等. 正品大黄不同品种间泻下效价强度比较研究 [J]. 中国中药杂志, 2006, 31(23): 1987-1991.
- [27] Zou J P, Wu W, Wang F, *et al.* The foundation of the rhubarb industry economy: Investigating metabolites disparities of rhubarb between varieties and growing environments on the Tibetan plate [J]. *Front Pharmacol*, 2024, 15, doi: 10.3389/FPHAR.2024.1461523.

[责任编辑 郑礼胜]