

基于 HPLC 指纹图谱结合化学计量学及多成分定量测定的香果健消片质量评价

梅佳华^{1,2}, 郝佳旭^{1,3}, 程欣^{1,4}, 张权¹, 张占尧¹, 李姓喜¹, 张海亮¹, 马云淑^{1,5,6*}

1. 云南中医药大学, 云南 昆明 650500

2. 云南省南药可持续利用研究重点实验室, 云南 昆明 650500

3. 阿克苏地区第四人民医院, 新疆 阿克苏 843000

4. 云南省傣医药与彝医药重点实验室, 云南 昆明 650500

5. 云南省高校外用给药系统与制剂技术研究重点实验室, 云南 昆明 650500

6. 云南省药食同源饮片工程中心, 云南 昆明 650500

摘要: **目的** 建立香果健消片(Xiangguo Jianxiao Tablets, XJT)HPLC 指纹图谱及多成分定量测定方法。**方法** 采用 Infinity Lab Poroshell 120 SB-C₁₈ 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 4 μm), 流动相为乙腈-0.15%甲酸水, 梯度洗脱, 体积流量 1.0 mL/min, 柱温 30 ℃, 检测波长 254 nm, 进样量 10 μL; 建立 XJT 指纹图谱, 采用层次聚类分析(hierarchical cluster analysis, HCA)和主成分分析(principal component analysis, PCA)评价不同批次 XJT 质量, 采用 Hotelling's T^2 和 DModX 方法设定不同批次 XJT 质量控制范围; HPLC 法测定 13 批 XJT 中原儿茶酸、绿原酸、咖啡酸、异绿原酸 B、异绿原酸 A、橙皮苷、异绿原酸 C、木香烃内酯、去氢木香内酯的含量。**结果** XJT 指纹图谱方法学考察结果符合要求, 标记 18 种共有成分, 通过对照品指认鉴定出 9 种成分, 13 批样品的相似度均大于 0.90; HCA 和 PCA 表明批间一致性良好, Hotelling's T^2 和 DModX 的控制上限分别为 23.58 和 1.70。13 批 XJT 中原儿茶酸、绿原酸、咖啡酸、异绿原酸 B、异绿原酸 A、橙皮苷、异绿原酸 C、木香烃内酯、去氢木香内酯 9 种成分的质量分数分别为 23.0~68.7、558.7~2 463.9、39.3~109.6、117.1~294.2、228.7~1 001.7、372.2~839.1、151.4~800.6、124.3~1 073.9、589.0~2 229.8 μg/g。**结论** 所建立的 HPLC 指纹图谱和多成分定量测定方法准确可靠, 可用于 XJT 的质量评价。

关键词: 香果健消片; 指纹图谱; 化学计量学; 原儿茶酸; 绿原酸; 咖啡酸; 异绿原酸 B; 异绿原酸 A; 橙皮苷; 异绿原酸 C; 木香烃内酯; 去氢木香内酯

中图分类号: R283.6

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2025)02-0458-09

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.02.009

Quality evaluation of Xiangguo Jianxiao Tablets based on HPLC fingerprint combined with chemometrics and multi-component content determination

MEI Jiahua^{1,2}, HAO Jiaxu^{1,3}, CHENG Xin^{1,4}, ZHANG Quan¹, ZHANG Zhanyao¹, LI Xingxi¹, ZHANG Hailiang¹, MA Yunshu^{1,5,6}

1. Yunnan University of Chinese Medicine, Kunming 650500, China

2. Yunnan Key Laboratory of Southern Medicinal Utilization, Kunming 650500, China

3. Fourth People's Hospital of Akesu District, Akesu 843000, China

4. Yunnan Key Laboratory of Dai and Yi medicines, Kunming 650500, China

5. The Key Laboratory of External Drug Delivery System and Preparation Technology in University of Yunnan Province, Kunming 650500, China

收稿日期: 2024-08-10

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(82174065); 云南省科技厅重点研发计划(202103AC100005); 云南省科技厅重大科技专项(202102AA310027); 云南省科技厅社会发展专项-重点研发计划项目(202303AC100025); 云南省生物医药专项-重大科技专项计划(202302AA310031); 云南省教育厅科学研究基金项目(2024Y379); 云南省中西医结合慢病防治重点实验室开放基金资助项目(YPKLG2024-016); 云南省傣医药与彝医药重点实验室资助项目(2024SS24074)

作者简介: 梅佳华, 博士研究生, 研究方向为中药新剂型与新制剂。E-mail: Highwaydo@163.com

***通信作者:** 马云淑, 博士, 教授, 博士生导师, 研究方向为中药新剂型与新制剂。E-mail: yunshuma2@126.com

6. Engineering Research Center for Medicine and Food Homologous Beverage of Yunnan Province, Kunming 650500, China

Abstract: Objective To establish an HPLC fingerprint method and a method for the determination of the multi-component content of Xiangguo Jianxiao Table (XJT). **Methods** The components were analyzed on an Infinity Lab Poroshell 120 SB-C₁₈ column (250 mm × 4.6 mm, 4 μm). The gradient elution was carried out with the mobile phase composed of 0.15% formic acid water and acetonitrile at the flow rate of 1.0 mL/min and the column temperature of 30 °C. The detecting wavelength was 254 nm and injection volume was 10 μL. Based on the fingerprinting of XJT, hierarchical cluster analysis (HCA) and principal component analysis (PCA) were used to evaluate the quality of different batches of XJT, while Hotelling's T^2 and DModX methods were used to analyze the quality control range of different batches of XJT. HPLC was used to determine the contents of nine components, namely protocatechuic acid, chlorogenic acid, caffeic acid, isochlorogenic acid B, isochlorogenic acid A, hesperidin, isochlorogenic acid C, costunolide and dehydrocostus iactone in 13 batches of XJT. **Results** The methodological investigation of XJT fingerprints met the requirements, labelled 18 common components, identified nine components by control identification, and the similarity of 13 batches of samples was greater than 0.90. HCA and PCA showed good inter-batch consistency, and the upper control limits of Hotelling's T^2 and DModX were 23.58 and 1.70. The contents of protocatechuic acid, chlorogenic acid, caffeic acid, isochlorogenic acid B, isochlorogenic acid A, hesperidin, isochlorogenic acid C, costunolide and dehydrocostus iactone in 13 batches of XJT ranged from 23.0—68.7, 558.7—2 463.9, 39.3—109.6, 117.1—294.2, 228.7—1 001.7, 372.2—839.1, 151.4—800.6, 124.3—1 073.9, 589.0—2 229.8 μg/g, respectively. **Conclusion** The HPLC fingerprinting method and multi-component content determination method were accurate and reliable, and can be used for the quality evaluation of XJT.

Key words: Xiangguo Jianxiao Tablets; fingerprint; chemometrics; protocatechuic acid; chlorogenic acid; caffeic acid; isochlorogenic acid B; isochlorogenic acid A; hesperidin; isochlorogenic acid C; costunolide; dehydrocostus iactone

香果健消片 (Xiangguo Jianxiao Tablets, XJT) 来源于中药部颁标准, 由蜘蛛香、草果、木香和糯米 4 味中药组成, 具有健胃消食之功效, 用于消化不良、气胀饱闷、食积腹痛和胸满腹胀^[1]。XJT 组方药味成分复杂, 主要含有酚酸类、环烯醚萜类、黄酮类、苯丙素类、单萜类和倍半萜类等多种化学成分, 在镇痛、促消化和调节胃肠道功能等方面具有药理活性, 其中蜘蛛香中酚酸类具有抗炎镇痛的作用^[2-6], 黄酮类成分橙皮苷具有促消化作用^[7-8], 木香中木香烃内酯、去氢木香内酯在调节胃肠功能方面具有很强的活性^[9], 草果中原儿茶酸具有抗氧化、抗炎等多种药理活性^[10-11], 可见 XJT 的药效物质可能来自多种化学成分。而 XJT 现行质量标准仅采用滴定法进行评价, 文献也仅分别对单一药材中成分含量进行分析^[12-14], 因此探索一种整体评价 XJT 质量的方法非常必要。

中药指纹图谱是一种信息量大、整体性强的质量分析方法, 能够对中药中的主要化学成分进行整体表征, 广泛应用于中药材鉴别^[15]、中药复方制剂质量评价^[16]及中药制药生产过程^[17]。化学计量学通过数学和统计学方法分析大量数据、挖掘内在关联, 主要包括层次聚类分析和主成分分析 (principal component analysis, PCA) 等, 已广泛应用在中药指纹图谱质量评价研究, 客观反映中药制剂的整体

质量^[18]。随着中药制剂质量控制方法要求的提高, 单一成分的含量测定已无法满足制剂质量全面评价的要求, 而多成分的含量测定方法已成为中药质量控制的重要手段^[19]。通过建立指纹图谱结合化学计量学方法进行定性分析, 并采用多指标成分的含量测定进行定量分析, 可有效评价中药制剂质量, 客观反映制剂质量的一致性^[20-21]。

为全面控制 XJT 的质量, 本研究采用 HPLC 建立 XJT 指纹图谱, 对 13 批 XJT 样品进行相似度分析, 进一步结合化学计量学手段分析不同批次 XJT 产品的质量, 在 PCA 的基础上, 利用 Hotelling's T^2 和 DModX 方法设定 XJT 的控制限和警戒限, 更高效的控制其质量。通过 HPLC 法测定其中 9 种成分原儿茶酸、绿原酸、咖啡酸、异绿原酸 B、异绿原酸 A、橙皮苷、异绿原酸 C、木香烃内酯、去氢木香内酯的含量。本研究建立较全面的 XJT 质量评价方法, 为该品种质量标准的提升提供依据。

1 仪器与材料

1.1 仪器

Agilent 1260 Series 型高效液相色谱仪, 配置自动进样器、四元泵、在线脱气机、柱温箱和紫外检测器, 美国 Agilent 公司; DHAUS® 型十万分之一分析天平, 奥豪斯仪器 (上海) 有限公司; SK2510HP 型超声波清洗器, 上海科导超声仪器有限公司;

GL16M 型高速冷冻离心机, 上海净信实业发展有限公司; UPR-II-10TNZP 型超纯水机, 四川优普超纯科技有限公司。

1.2 试剂

乙腈, 色谱纯, 批号 JB136030, 德国默克公司; 甲酸, 色谱纯, 批号 20220917, 云南景锐科技有限公司; 纯净水, 杭州娃哈哈集团有限公司。

对照品绿原酸(批号 110753-202119, 质量分数 98.20%)、去氢木香内酯(批号 111525-201912, 质量分数 99.5%)、木香烃内酯(批号 111524-201911, 质量分数 99.9%)、原儿茶酸(批号 110809-201906, 质量分数 98.7%) 购自中国食品药品检定研究院; 对照品咖啡酸(批号 DK001301, 质量分数 98.00%)、异绿原酸 A(批号 21011110, 质量分数 98.66%)、异绿原酸 B(批号 210823-037, 质量分数 98.00%)、橙皮苷(批号 200925, 质量分数 98.00%)、异绿原酸 C(批号 21030603, 质量分数 99.84%), 购自森岚科技有限公司。

1.3 制剂与饮片

13 批 XJT, 批号 210701、210801、211001、211201、211203、220402、220602、230301、230302、230303、230721、230823、230901, 分别编号 S1~S13, 购自云南云河药业股份有限公司。

实验所用药材饮片购自昆明市官渡区德阳远知药材经营部, 经云南中医药大学张洁教授鉴定, 蜘蛛香为败酱科缬草属植物蜘蛛香 *Valeriana jatamansi* Jones 的干燥根茎和根、木香为菊科云木香属植物木香 *Aucklandia lappa* Decne 的干燥根、草果为姜科砂仁属植物草果 *Amomum tsaoko* Crevost et Lemaire 的干燥成熟果实^[22]。

2 方法与结果

2.1 指纹图谱的建立

2.1.1 混合对照品溶液的制备 分别精密称取原儿茶酸、绿原酸、咖啡酸、异绿原酸 B、异绿原酸 A、橙皮苷、异绿原酸 C、木香烃内酯、去氢木香内酯对照品适量, 加入 70% 甲醇制得质量浓度分别为 20.4、784.3、15.0、60.0、195.5、236.0、314.5、65.0、50.5 $\mu\text{g/mL}$ 的混合对照品溶液。

2.1.2 供试品溶液的制备 XJT 用研钵研成细粉, 过 2 号筛, 精密称取 1.0 g, 置于圆底烧瓶中, 加 10 mL 70% 甲醇, 精密称定, 超声 60 min, 放冷后用 70% 甲醇补足减失的质量, 经 12 000 r/min 离心 10 min, 取上清液, 过 0.22 μm 微孔滤膜, 取续滤液,

得到 XJT 供试品溶液。

2.1.3 单味药材样品溶液的制备 取各味药材细粉(过 2 号筛), 按“2.1.2”项下方法制备单味药材样品溶液。

2.1.4 色谱条件 采用 InfinityLab Poroshell 120 SB- C_{18} 色谱柱(250 mm $\times$ 4.6 mm, 4 μm); 流动相为乙腈-0.15% 甲酸水溶液; 梯度洗脱: 0~5 min, 3%~5% 乙腈; 5~10 min, 5%~10% 乙腈; 10~15 min, 10%~15% 乙腈; 15~20 min, 15%~20% 乙腈; 20~25 min, 20%~25% 乙腈; 25~30 min, 25%~30% 乙腈; 30~35 min, 30%~35% 乙腈; 35~40 min, 35%~40% 乙腈; 40~50 min, 40%~45% 乙腈; 50~60 min, 45%~50% 乙腈; 60~70 min, 50%~60% 乙腈; 体积流量 1 mL/min; 柱温 30 $^{\circ}\text{C}$; 检测波长 254 nm; 进样量 10 μL 。

2.1.5 精密度考察 取 S8 供试品溶液, 按“2.1.4”项下色谱条件检测 6 次, 以 7 号峰(绿原酸)为参照峰(一方面考虑到绿原酸是有效成分, 用于后续的定量测定, 方便从指纹图谱到定量测定方面的过渡; 另一方面考虑选择居中且峰面积相对较大且稳定的色谱峰, 可以保证在所建立的色谱条件下其他共有峰围绕在参考峰左右, 保证计算相对保留时间和峰面积的偏差最小), 测得共有峰相对保留时间的 RSD 为 0.043%~0.192%, 相对峰面积的 RSD 为 0.10%~3.89%, 结果表明该仪器精密度良好。

2.1.6 稳定性考察 取 S8 供试品溶液, 按“2.1.4”项下色谱条件分别于制备后 0、2、4、6、8、10、12、24 h 进样检测, 以 7 号峰(绿原酸)为参照峰, 计算得到共有峰相对保留时间的 RSD 为 0.054%~0.249%, 相对峰面积的 RSD 为 0.33%~3.78%, 结果表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.1.7 重复性考察 取 S8 XJT 样品制备 6 份供试品溶液, 按“2.1.4”项下色谱条件进样检测, 以 7 号峰(绿原酸)为参照峰, 计算得到共有峰相对保留时间的 RSD 为 0.061%~0.230%, 相对峰面积的 RSD 为 0.98%~3.54%, 结果表明该方法重复性良好。

2.1.8 指纹图谱的建立及相似度评价 将 13 批 XJT 供试品溶液(S1~S13)进样检测分析并记录色谱图, 导入《中药色谱指纹图谱相似度评价系统》(2012 年版)软件中, 以 S8 为参照图谱, 时间宽度为 0.1 s, 设置中位数, 目标峰匹配, 生成对照指纹图谱(R)和 13 批 XJT 样品(S1~S13)指纹图谱叠加图(图 1)。

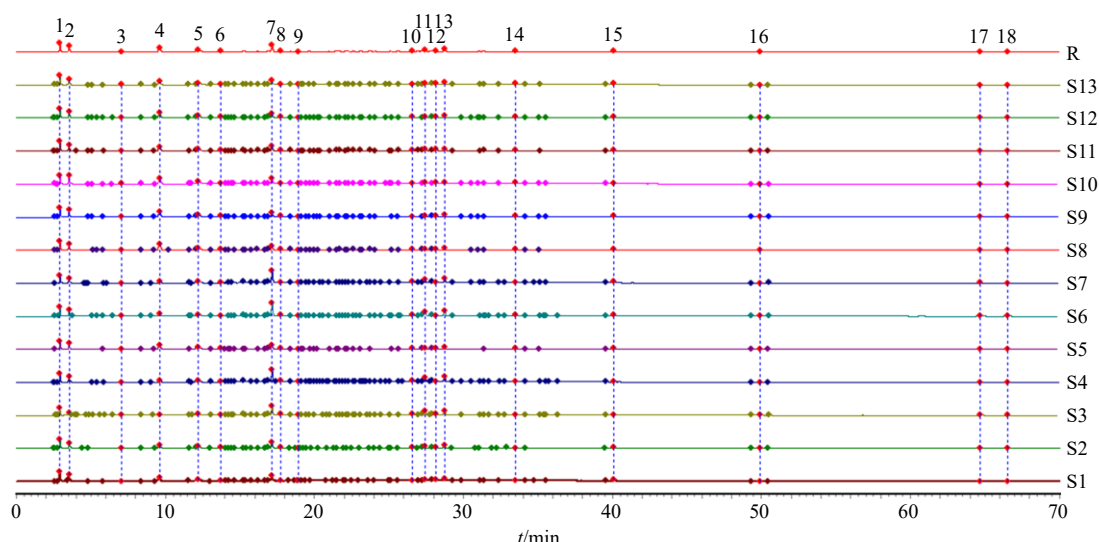


图 1 13 批 XJT 样品 (S1~S13) 的 HPLC 指纹图谱
Fig. 1 HPLC fingerprint of 13 batches of XJT (S1—S13)

计算得到 13 批 XJT 样品 (S1~S13) 与对照指纹图谱的相似度结果分别为 0.989、0.995、0.867、0.913、0.957、0.922、0.918、0.924、0.955、0.961、0.988、0.958、0.980，相似度均较高，表明 XJT 各批次样品间较稳定，质量一致性良好，结果见表 1。

对 13 批 XJT 样品 (S1~S13) 指纹图谱进行色谱图归属，确定 18 个共有峰 (图 1)，其中 1、2、5、6 号峰来自蜘蛛香、木香和草果共有，3、4、7~10、12~15 号峰来自蜘蛛香，11 号峰来自蜘蛛香和木香共有，16 号峰来自草果，17、18 号峰来自木香，结果见图 2。

取 S8 供试品溶液和混合对照品溶液进样检测并比对出峰时间，结果表明 5 号峰为原儿茶酸，7 号峰为绿原酸，8 号峰为咖啡酸，10 号峰为异绿原酸 B，11 号峰为异绿原酸 A，12 号峰为橙皮苷，13 号峰为异绿原酸 C，17 号峰为木香桉内酯，18 号峰为去氢木香内酯，混合对照品色谱图见图 3。

2.2 化学模式识别分析

2.2.1 层次聚类分析 (hierarchical cluster analysis, HCA) 采用 SPSS 26.0 软件，以欧氏距离为测度，选择组间连接法，以 13 批 XJT 样品 (S1~S13) 的 18 个共有峰的峰面积为变量进行 HCA，结果见图 4。

表 1 13 批 XJT 样品 (S1~S13) 与对照指纹图谱相似度结果
Table 1 Similarity results of 13 batches of XJT samples (S1—S13) with control fingerprints

编号	相似度													对照
	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13	
S1	1.000	0.994	0.901	0.953	0.984	0.962	0.864	0.946	0.979	0.979	0.998	0.98	0.995	0.989
S2	0.994	1.000	0.944	0.994	0.961	0.904	0.903	0.921	0.958	0.957	0.994	0.959	0.986	0.995
S3	0.901	0.944	1.000	0.981	0.901	0.972	0.970	0.933	0.986	0.911	0.979	0.900	0.955	0.967
S4	0.953	0.994	0.981	1.000	0.960	0.997	0.989	0.902	0.954	0.976	0.948	0.961	0.918	0.913
S5	0.984	0.961	0.901	0.960	1.000	0.971	0.968	0.980	0.997	0.994	0.984	0.998	0.991	0.957
S6	0.962	0.904	0.972	0.997	0.971	1.000	0.995	0.919	0.967	0.986	0.858	0.974	0.931	0.922
S7	0.864	0.903	0.970	0.989	0.968	0.995	1.000	0.909	0.962	0.981	0.858	0.969	0.927	0.918
S8	0.946	0.921	0.933	0.902	0.980	0.919	0.909	1.000	0.988	0.980	0.955	0.989	0.970	0.924
S9	0.979	0.958	0.986	0.954	0.997	0.967	0.962	0.988	1.000	0.995	0.982	0.999	0.992	0.955
S10	0.979	0.957	0.911	0.976	0.994	0.986	0.981	0.980	0.995	1.000	0.979	0.995	0.987	0.961
S11	0.998	0.994	0.979	0.948	0.984	0.860	0.858	0.955	0.982	0.979	1.000	0.983	0.998	0.988
S12	0.980	0.959	0.900	0.961	0.998	0.974	0.969	0.989	0.999	0.995	0.983	1.000	0.992	0.958
S13	0.995	0.986	0.955	0.918	0.991	0.931	0.927	0.970	0.992	0.987	0.998	0.992	1.000	0.980
对照	0.989	0.995	0.967	0.913	0.957	0.922	0.918	0.924	0.955	0.961	0.988	0.958	0.980	1.000

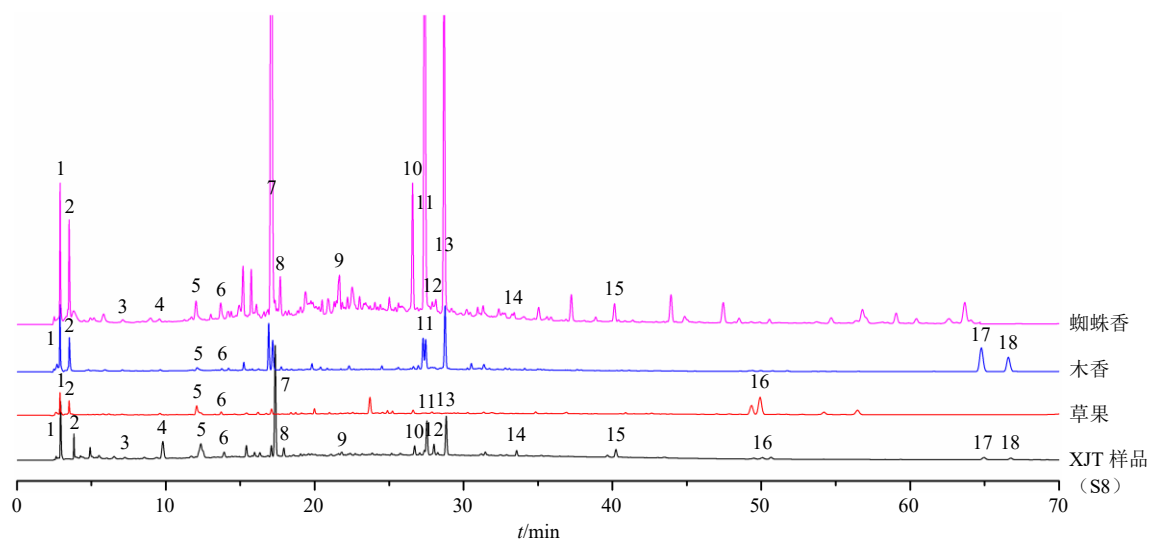
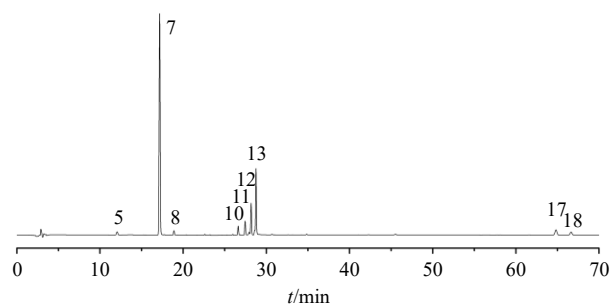


图 2 XJT 样品和处方各单味中药的 HPLC 图

Fig. 2 HPLC chromatograms of XJT sample and its relevant herbs



5-原儿茶酸; 7-绿原酸; 8-咖啡酸; 10-异绿原酸 B; 11-异绿原酸 A; 12-橙皮苷; 13-异绿原酸 C; 17-木香烃内酯; 18-去氢木香内酯。

5-protocatechuic acid; 7-chlorogenic acid; 8-caffeic acid; 10-isochlorogenic acid B; 11-isochlorogenic acid A; 12-hesperidin; 13-isochlorogenic acid C; 17-costunolide; 18-dehydrocostunolide.

图 3 混合对照品 HPLC 图

Fig. 3 HPLC chromatogram of mixed reference substances

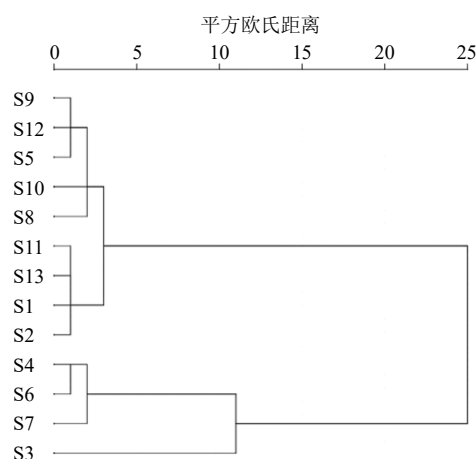


图 4 13 批 XJT 样品 (S1~S13) 的 HCA 结果

Fig. 4 HCA result of 13 batches of XJT samples (S1—S13)

可知, 当欧氏距离为 15 时, 样品可分为 2 类, S1、S2、S5、S8~S13 聚为第 1 类, S3、S4、S6、S7 聚为第 2 类。

2.2.2 PCA 采用 SIMCA 软件, 将 13 批 XJT 样品 18 个共有峰的峰面积进行分析, 主成分 1、2 的特征值均大于 1, 两者累积贡献率大于 80%, 可用于反映 XJT 样品指纹图谱的共有峰信息。由得分图可知, 13 批 XJT 样品分为 2 类, 与 HCA 结果一致, 结果见图 5。

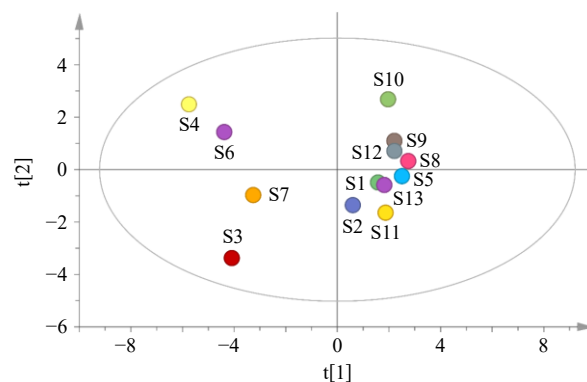


图 5 13 批 XJT 样品的 PCA 得分图

Fig. 5 PCA score plot of 13 batches of XJT sample

2.2.3 Hotelling's T^2 和 DModX 控制限的建立 Hotelling's T^2 和 DModX 作为 2 个互补的多变量分析手段, 用于表示不同批次样品之间的一致性。其中 Hotelling's T^2 为 PCA 模型的内部变化度量^[18], 表示每个选定点与模型中原点的距离, 代表样品信息与模型中其他样品信息的差异; DModX 为模型的外部变化度量, 表示数据在变量 X 空间到主成分模

型的距离,代表样品中未被模型解释的变化^[23-24]。当样品处于控制限度以下时,认为是正常批次产品,超出则为异常批次产品。2 种方法互相补充,当样品超出某个控制限即为异常批次样品。结果见图 6、7,图中 T_{Crit}^2 (99%) 和 D_{Crit} (0.05) 为控制限,上限分别为 23.58 和 1.70, T_{Crit}^2 (95%) 为警戒线,上限为 13.45。结果显示,13 批样品均在 Hotelling's T^2 和 DModX 的控制限内,为正常批次产品,批间一致性良好,所建立的 PCA 模型能较好地反映样品之间的波动。

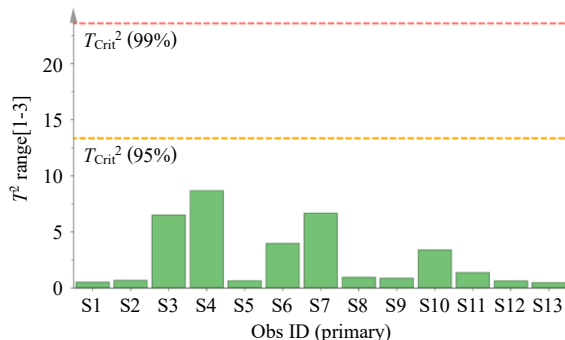


图 6 13 批 XJT 样品的 Hotelling's T^2 控制图

Fig. 6 Hotelling's T^2 control chart of 13 batches of XJT sample

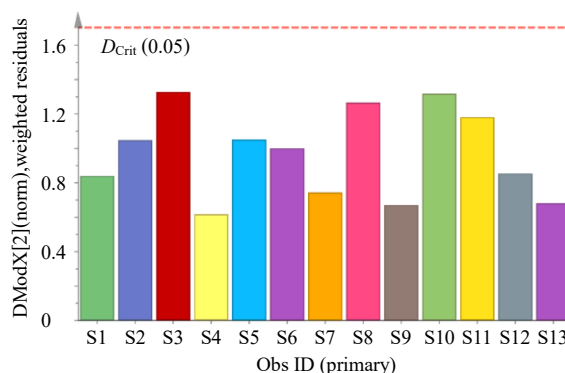


图 7 13 批 XJT 样品的 DModX 控制图

Fig. 7 DModX control chart of 13 batches of XJT sample

2.3 多成分含量测定

2.3.1 对照品溶液的制备 分别精密称取原儿茶酸、绿原酸、咖啡酸、异绿原酸 B、异绿原酸 A、橙皮苷、异绿原酸 C、木香烃内酯、去氢木香内酯对照品适量,置于 20 mL 量瓶中,加 70%甲醇溶解,定容至刻度,得到质量浓度分别为 17.5、576.5、12.0、75.5、242.0、104.5、197.0、288.0、582.5 $\mu\text{g/mL}$ 的对照品溶液。

2.3.2 供试品溶液的制备 按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液,分别称取缺蜘蛛香、缺木香和缺草果的药材粉末,按“2.1.2”项下方法分别制备缺蜘蛛

香阴性对照溶液、缺木香阴性对照溶液和缺草果阴性对照溶液。

2.3.3 色谱条件及专属性考察 采用 Infinity Lab Poroshell 120 SB- C_{18} 色谱柱 (250 mm $\times$ 4.6 mm, 4 μm); 流动相为乙腈-0.15%甲酸水溶液;梯度洗脱: 0~20 min, 5%~13%乙腈; 20~55 min, 13%~20%乙腈; 55~80 min, 20%~70%乙腈; 体积流量 1 mL/min; 柱温 30 $^{\circ}\text{C}$; 检测波长 254 nm; 进样量 10 μL ; 色谱图见图 8, 结果显示 9 种成分色谱峰峰形、分离度均良好, 阴性样品无干扰, 表明方法专属性良好, 可用于 XJT 的含量测定。

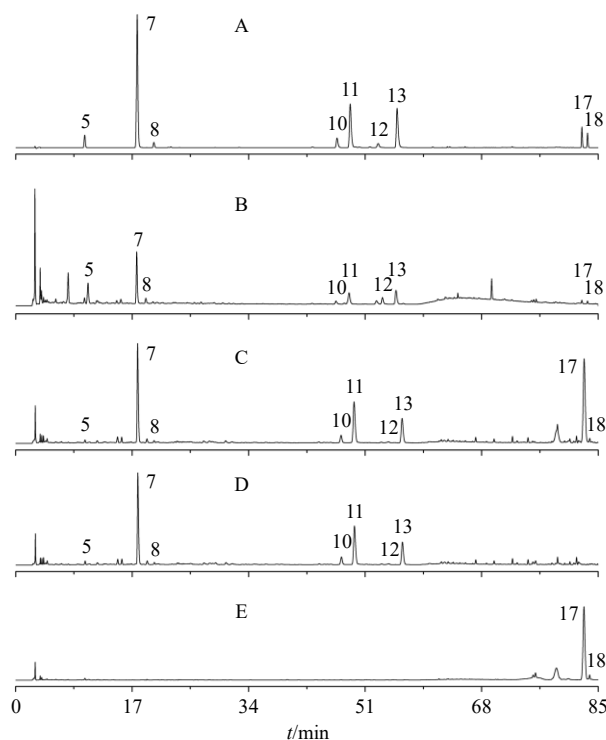


图 8 混合对照品 (A)、XJT 样品 (B)、缺草果阴性样品 (C)、缺木香阴性样品 (D)、缺蜘蛛香阴性样品 (E) 的 HPLC 图

Fig. 8 HPLC of mixed reference substances (A), XJT sample (B), negative sample without *Tsaoko Fructus* (C), negative sample without *Aucklandiae Radix* (D) and negative sample without *Valerianae Jatamansi Rhizoma et Radix* (E)

2.3.4 线性关系考察 精密吸取“2.3.1”项下对照品溶液 0.50、1.00、1.25、2.50、5.00、10.00 mL, 置于 10 mL 量瓶中, 加入 70%甲醇稀释至刻度, 配制成 6 种不同质量浓度的对照品溶液, 按“2.3.3”项下色谱条件进样检测, 以质量浓度为横坐标 (X), 峰面积为纵坐标 (Y) 进行线性回归, 得回归方程分别为原儿茶酸 $Y=33.4878X+1.0221$, $r=0.9999$,

线性范围 0.9~17.5 $\mu\text{g/mL}$; 绿原酸 $Y=12.432\ 6X+33.907\ 7$, $r=0.999\ 8$, 线性范围 28.8~576.5 $\mu\text{g/mL}$; 咖啡酸 $Y=21.748\ 5X+1.335\ 4$, $r=0.999\ 9$, 线性范围 0.6~12.0 $\mu\text{g/mL}$; 异绿原酸 B $Y=8.699\ 2X+6.370\ 9$, $r=0.999\ 7$, 线性范围 3.8~75.5 $\mu\text{g/mL}$; 异绿原酸 A $Y=13.108\ 7X+1.752\ 8$, $r=1.000\ 0$, 线性范围 12.1~242.0 $\mu\text{g/mL}$; 橙皮苷 $Y=3.122\ 2X+1.905\ 3$, $r=0.999\ 7$, 线性范围 5.2~104.5 $\mu\text{g/mL}$; 异绿原酸 C $Y=14.771\ 5X+11.130\ 7$, $r=0.999\ 7$, 线性范围 9.9~197.0 $\mu\text{g/mL}$; 木香烃内酯 $Y=2.352\ 9X+23.761\ 4$, $r=0.999\ 9$, 线性范围 14.4~288.0 $\mu\text{g/mL}$; 去氢木香内酯 $Y=0.861\ 4X+0.587\ 7$, $r=1.000\ 0$, 线性范围 29.1~582.5 $\mu\text{g/mL}$ 。

2.3.5 精密度考察 精密吸取“2.3.1”项下对照品溶液, 按照“2.3.3”项下色谱条件连续检测 6 次, 得到原儿茶酸、绿原酸、咖啡酸、异绿原酸 B、异绿原酸 A、橙皮苷、异绿原酸 C、木香烃内酯和去氢木香内酯的 RSD 分别为 1.44%、1.50%、1.56%、1.63%、1.95%、1.03%、1.59%、2.23%、1.64%, 表明仪器精密度良好。

2.3.6 重复性考察 取同一批 XJT 样品 6 份, 照“2.3.2”项下方法制备供试品溶液, 照“2.3.3”项下色谱条件检测, 得到原儿茶酸、绿原酸、咖啡酸、异绿原酸 B、异绿原酸 A、橙皮苷、异绿原酸 C、木香烃内酯和去氢木香内酯的 RSD 分别为 1.31%、1.54%、2.37%、1.60%、2.25%、2.97%、1.51%、2.69%、2.14%, 表明该方法重复性良好。

2.3.7 稳定性考察 取“2.3.2”项下供试品溶液, 于制备后 0、2、4、8、12、24 h 照“2.3.3”项下色谱条件检测分析, 得到原儿茶酸、绿原酸、咖啡酸、异绿原酸 B、异绿原酸 A、橙皮苷、异绿原酸 C、木香烃内酯和去氢木香内酯的 RSD 分别为 1.18%、1.45%、2.87%、1.90%、2.25%、2.29%、1.98%、2.06%、1.68%, 表明 XJT 样品在 24 h 内稳定性良好。

2.3.8 加样回收率考察 取同一批 XJT 样品 6 份, 加入相应的对照品溶液, 照“2.3.2”项下方法制备供试品溶液, 照“2.3.3”项下色谱条件检测分析, 得到原儿茶酸、绿原酸、咖啡酸、异绿原酸 B、异绿原酸 A、橙皮苷、异绿原酸 C、木香烃内酯和去氢木香内酯的平均加样回收率分别为 97.65%、95.78%、97.87%、104.02%、98.44%、97.05%、97.90%、101.49%、97.34%, RSD 分别为 1.75%、0.88%、2.09%、1.43%、2.69%、1.27%、1.21%、2.15%、1.86%, 表明该方法准确度良好。

2.3.9 样品含量测定 取 13 批 XJT 样品, 按照“2.3.2”项下方法制备供试品溶液, 按“2.3.3”项下色谱条件检测分析, 计算 XJT 样品中 9 种成分的含量, 结果见表 2, 结果显示, 13 批 XJT 中原儿茶酸、绿原酸、咖啡酸、异绿原酸 B、异绿原酸 A、橙皮苷、异绿原酸 C、木香烃内酯、去氢木香内酯 9 种成分的质量分数分别为 23.0~68.7、558.7~2 463.9、39.3~109.6、117.1~294.2、228.7~1 001.7、372.2~839.1、151.4~800.6、124.3~1 073.9、589.0~2 229.8 $\mu\text{g/g}$ 。

表 2 13 批 XJT 样品中各成分含量测定结果 ($n=3$)

Table 2 Results of content determination of each component in 13 batches of XJT samples ($n=3$)

批号	质量分数/ $(\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1})$								
	原儿茶酸	绿原酸	咖啡酸	异绿原酸 B	异绿原酸 A	橙皮苷	异绿原酸 C	木香烃内酯	去氢木香内酯
211203	68.7	2 463.9	66.1	294.2	1 001.7	434.4	800.6	1 073.9	2 229.8
210801	48.2	1 912.6	45.3	280.9	661.5	675.9	645.5	286.2	723.8
210701	51.8	1 474.3	39.3	199.4	527.4	585.5	511.5	273.9	916.5
211001	23.0	1 274.7	83.5	177.5	650.2	436.2	548.3	435.8	1 079.8
211201	34.0	1 753.9	109.6	242.5	766.4	663.9	621.7	456.2	1 123.9
220402	33.1	1 803.8	94.8	212.6	673.9	839.1	581.7	458.7	962.5
220602	29.7	1 793.0	76.6	165.7	597.1	663.9	499.2	511.0	1 039.1
230301	65.8	558.7	84.9	119.6	228.7	655.3	151.4	124.3	589.0
230302	60.6	568.7	91.5	147.3	285.8	737.3	199.3	191.8	744.3
230303	63.1	705.6	89.1	117.1	232.2	372.2	209.0	189.3	779.1
230721	45.2	1 023.4	85.3	145.6	435.6	432.8	194.2	205.4	876.4
230823	44.3	1 209.2	86.7	158.3	502.3	394.5	248.0	194.5	795.3
230901	50.1	1 084.3	90.8	129.4	398.4	573.5	238.5	213.6	806.4

3 讨论

3.1 指纹图谱及化学模式识别分析

实验建立了 XJT 样品的 HPLC 指纹图谱, 13 批样品共确定了 18 种共有成分, 指认出 9 种成分, 分别为原儿茶酸、绿原酸、咖啡酸、异绿原酸 B、异绿原酸 A、橙皮苷、异绿原酸 C、木香烃内酯、去氢木香内酯, 13 批样品指纹图谱与对照图谱的相似度均大于 0.90, 表明各批次 XJT 样品一致性良好。指纹图谱对供试品溶液制备方法进行了考察, 包括提取方式(超声提取、加热回流提取), 提取溶剂(50%、70%、100%甲醇)和提取时间(30、60、90 min), 根据峰形、峰数、分离度等确定提取条件为 70%甲醇超声 60 min。此外, 对色谱条件进行考察^[25-29], 包括检测波长(225、254、327 nm), 流动相(乙腈-水、甲醇-水、乙腈-0.15%甲酸水溶液、乙腈-0.3%甲酸水溶液), 根据色谱峰数和分离度等, 确定波长为 254 nm, 流动相为乙腈-0.15%甲酸水溶液。利用指纹图谱结合 PCA 和 HCA 等化学计量学方法分析, 13 批 XJT 样品大致被分为 2 类, 其中 S3、S4、S6、S7 是一类, 可能是其对应的药材饮片来源于同一批次, 指标成分含量相差不多, 而与其他批次不同, 可能是由于 2 类之间的药材采收时间和生产时间不同导致。同时, 在 PCA 的基础上, 设定 Hotelling's T^2 和 DModX 的控制限, 分析不同批次的产品合格率, 提高质量控制效率。通过指纹图谱结合几种化学计量学方法, 多角度、多层次挖掘信息, 建立全面的质量评价方法。

3.2 多成分定量测定

本实验根据指纹图谱中共有峰的指认和归属情况, 选择指认出的 9 种成分进行全方位的含量测定, 包括绿原酸、咖啡酸、异绿原酸 A、异绿原酸 B、异绿原酸 C、橙皮苷、木香烃内酯、去氢木香内酯和原儿茶酸。研究表明, 蜘蛛香中酚酸类成分具有抗炎镇痛作用^[30], 包括绿原酸、咖啡酸、异绿原酸 A、异绿原酸 B、异绿原酸 C, 而黄酮类成分橙皮苷具有镇痛和促消化的双重作用^[28]。木香中木香烃内酯和去氢木香内酯既是《中国药典》2020 年版规定的指标成分, 又存在明显的调节胃肠功能的活性^[31]。同时 3 味中药中均含有的原儿茶酸具有显著的抗炎抗氧化活性^[32], 上述 9 种成分的药理活性与 XJT 临床应用相一致, 且涵盖不同药味, 可见定量成分的选择具有一定的合理性和可行性, 能够较全面的对 XJT 进行质控。

多成分定量测定结果表明 S1、S5、S6 这 3 个批次标志性成分含量排名前 3, 按照标志成分含量之和高低顺序排列依次为 $S1 > S5 > S6 > S7 > S2 > S4 > S3 > S12 > S13 > S11 > S9 > S10 > S8$, 提示绿原酸、咖啡酸、异绿原酸 A、异绿原酸 B、异绿原酸 C、橙皮苷、木香烃内酯、去氢木香内酯和原儿茶酸可以作为 XJT 质量评价的指标成分。13 批 XJT 含量存在差异, 可能的原因是药材饮片的采收期、采收年限、采收地点及生产时间不同, 为进一步提升 XJT 批间一致性, 建议加强对药材指标成分含量均一性的控制。

XJT 现行质量控制方法仅采用滴定法较为过时, 本实验采用 HPLC 指纹图谱及多成分含量测定的方法进行质控, 并结合化学计量学分析不同批次的产品一致性, 设定控制限和警戒限以更好监控不同批次产品质量。指纹图谱从定性角度整体分析 XJT 成分分布和特点, 多成分含量测定从定量角度分析不同药味中有效成分的含量, 两者结合, 从定性和定量角度控制整体质量, 为 XJT 质量标准的提升提供依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 郝佳旭, 查丽春, 范晓, 等. 基于信息熵法优选香果健消片挥发油羟丙基- β -环糊精包合工艺及其表征 [J]. 中草药, 2022, 53(13): 3962-3971.
- [2] Luo J, He W Y, Li X, *et al.* Anti-acne vulgaris effects of chlorogenic acid by anti-inflammatory activity and lipogenesis inhibition [J]. *Exp Dermatol*, 2021, 30(6): 865-871.
- [3] 覃仕娜, 朱素梅, 莫钧茹, 等. 基于质量标志物的金岗清瘟颗粒有效成分辨识及其含量测定 [J]. 中草药, 2021, 52(24): 7527-7537.
- [4] Tang S, Zhong W, Li T, *et al.* Isochlorogenic acid A alleviates dextran sulfate sodium-induced ulcerative colitis in mice through STAT3/NF- κ B pathway [J]. *Int Immunopharmacol*, 2023, 118: 109989.
- [5] 张静茹. 金银花与山银花抗流感病毒功效差异及关键药效组分研究 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2018.
- [6] 张志宇, 胡贺佳, 熊荻菲菲, 等. 基于抗炎活性成分的苗药羊耳菊药材质量控制研究 [J]. 中草药, 2019, 50(22): 5571-5576.
- [7] 黄爱华, 迟玉广, 曾元儿, 等. 枳实黄酮对功能性消化不良大鼠胃肠动力的影响 [J]. 中药新药与临床药理, 2012, 23(6): 612-615.
- [8] Pyrzynska K. Hesperidin: A review on extraction methods,

- stability and biological activities [J]. *Nutrients*, 2022, 14(12): 2387.
- [9] Zheng H, Chen Y L, Zhang J Z, *et al.* Evaluation of protective effects of costunolide and dehydrocostuslactone on ethanol-induced gastric ulcer in mice based on multi-pathway regulation [J]. *Chem Biol Interact*, 2016, 250: 68-77.
- [10] Yang X B, Sun X, Zhou F, *et al.* Protocatechuic acid alleviates dextran-sulfate-sodium-induced ulcerative colitis in mice via the regulation of intestinal flora and ferroptosis [J]. *Molecules*, 2023, 28(9): 3775.
- [11] 尚明越, 王嘉乐, 代国娜, 等. 草果化学成分、药理作用、临床应用研究进展及质量标志物预测分析 [J]. 中草药, 2022, 53(10): 3251-3268.
- [12] 申力文, 李夸巧, 孙艳芬, 等. 香果健消片的质控方法研究 II: 木香主要成分的鉴别和含量测定 [J]. 大理学院学报, 2010, 9(12): 7-9.
- [13] 肖雨婷, 赵明芬, 彭芳, 等. 香果健消片质控方法研究 I: 蜘蛛香主要成分的鉴别和含量测定 [J]. 大理学院学报, 2010, 9(8): 9-11.
- [14] 张红玉, 刘剑, 王继陈. HPLC 法测定香果健消片中橙皮苷的含量 [J]. 中国民族民间医药, 2015, 24(9): 7-9.
- [15] 张立群, 马诗瑜, 冯恺, 等. HPLC 多指标成分定量结合化学计量学、加权 TOPSIS 模型评价不同产地肺形草质量 [J]. 现代药物与临床, 2024, 39(5): 1176-1183.
- [16] 张春亚, 张威, 李莹莹, 等. 基于指纹图谱和含量测定评价地黄不同入药形式制千金黄连丸质量 [J]. 中草药, 2024, 55(7): 2227-2236.
- [17] 颜佳乐, 邵艳妮, 仇萍, 等. 基于分析质量源于设计同时开发盐酸青藤碱制药过程 3 种物料的指纹图谱方法 [J]. 中草药, 2024, 55(18): 6154-6166.
- [18] 廖嘉穗, 付娟, 张日美, 等. 基于 HPLC 指纹图谱结合化学计量学及多成分定量测定的腰痹通胶囊质量评价研究 [J]. 中草药, 2024, 55(8): 2579-2588.
- [19] 刘冰, 赵晨, 王静, 等. 基于 HPLC 指纹图谱及多成分定量测定的痹祺胶囊质量评价 [J]. 中草药, 2023, 54(23): 7702-7708.
- [20] Dou M H, Huang J Y, Yu M M, *et al.* HPLC combined with chemometrics for quality control of Huamoyan Granules or Capsules [J]. *Chin Herb Med*, 2024, 16(3): 449-456.
- [21] 闫倩倩, 王建成, 张文艳. 基于多指标成分定量联合化学计量学、加权 TOPSIS 与灰色关联度融合模型评价不同产地缬草药材质量 [J]. 药物评价研究, 2024, 47(6): 1305-1315.
- [22] 刘雯, 郭海姣, 刘进宝, 等. HPLC 法同时测定外感风痧颗粒中 9 种成分 [J]. 中成药, 2020, 42(8): 1987-1991.
- [23] 董自亮, 李红亮, 原欢欢, 等. UPLC 测定经典名方金水六君煎中 11 种成分 [J]. 中草药, 2021, 52(3): 711-717.
- [24] 滕凯旋, 傅豪, 王中昌, 等. 基于物理指纹图谱的养胃颗粒浸膏质量一致性评价方法 [J]. 中草药, 2022, 53(3): 712-719.
- [25] 程盛勇, 付洋, 陈慧, 等. UPLC 同时测定蜘蛛香中 9 种成分 [J]. 中成药, 2020, 42(9): 2351-2356.
- [26] 马雯芳, 张秀丽, 姜建萍, 等. 滇桂艾纳香正丁醇部位 HPLC 指纹图谱建立及 6 种成分测定 [J]. 中成药, 2022, 44(2): 493-497.
- [27] 方慧祥. HPLC 法同时测定利胆片中 8 种成分 [J]. 中成药, 2021, 43(10): 2636-2639.
- [28] 付洋, 程盛勇, 郁林娜, 等. 一测多评法测定蜘蛛香中 9 个成分的含量 [J]. 药物分析杂志, 2019, 39(9): 1666-1672.
- [29] 程盛勇, 胡光线, 刘兴赋, 等. 大孔树脂分离纯化蜘蛛香总酚酸及其生物活性研究 [J]. 当代化工, 2023, 52(12): 2876-2882.
- [30] 梅佳华, 王涛, 查丽春, 等. D-最优混料设计制备复方蜘蛛香凝胶贴膏及初步药效学考察 [J]. 中草药, 2022, 53(11): 3329-3337.
- [31] 姜婕, 王应萍, 周益, 等. 香果健消药味配伍及不同极性部位理气止痛作用的谱效关系 [J]. 中国医院药学杂志, 2024, 44(1): 59-66.
- [32] 庾丽峰, 丘琴, 甄丹丹, 等. HPLC 同时测定龙利叶抗炎活性部位中的原儿茶酸和咖啡酸 [J]. 华西药理学杂志, 2020, 35(6): 640-643.

[责任编辑 郑礼胜]