

基于多指标成分定量结合化学计量学的清喉咽颗粒质量评价

赵一懿, 高莹莹, 郭婉莹, 傅欣彤, 郭洪祝*

北京市药品检验研究院, 国家药品监督管理局中成药质量评价重点实验室, 中药成分分析与生物评价北京市重点实验室, 北京 102206

摘要: **目的** 建立清喉咽颗粒(Qinghouyan Granules, QHY)多指标成分定量分析方法, 结合化学计量学及熵权-优劣解距离法(technique for order preference by similarity to an ideal solution, TOPSIS)分析, 对 9 个厂家的 QHY 质量进行综合评价, 为其质量控制与评价提供方法及参考依据。**方法** HPLC 法分析 QHY 中黄芩苷、连翘酯苷 A、熊果苷、五福花苷酸、连翘酯苷 I、连翘苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素、水苏糖、棉子糖 11 种成分含量, 对 9 个厂家的 177 批次 QHY 样品进行定量测定; 利用 SIMCA 14.1 和 SPSS 25.0 软件, 对上述 11 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), 筛选造成 QHY 质量差异的特征标志物; 在 PCA 基础上设定 Hotelling's T² 和 DModX 控制限, 对 177 批间样品进行质量差异的监控; 运用熵权-TOPSIS 模型对 9 个厂家 QHY 质量的优劣排序, 多角度建立 QHY 质量综合评价方法。**结果** 11 种成分含量测定方法学考察结果精密性、重复性、稳定性及准确度的 RSD 值均小于 3.0%。HCA 和 PCA 结果均显示, 不同厂家间及厂家内部不同批次间样品质量均有差异。OPLS-DA 模型以 VIP 值 > 1 为标准, 筛选出水苏糖、棉子糖、汉黄芩素、黄芩苷、连翘酯苷 I、连翘酯苷 A 6 个特征标志物, 可能是影响 QHY 质量的主要成分。熵权-TOPSIS 法结果显示, 相对接近度 C 在 0.084~0.850, 表明不同厂家间 QHY 质量差异较大, 厂家 TCQ 排序最优, 厂家 JM 排序最后。**结论** 建立的 QHY 中 11 种化学成分含量测定方法准确可靠, HCA、PCA 和 OPLS-DA 可有效筛选影响 QHY 质量的特征标志物, 熵权-TOPSIS 法可综合评价 QHY 质量。

关键词: 清喉咽颗粒; 多指标成分定量; 多元统计分析; 熵权-TOPSIS; 质量控制; 质量评价; 黄芩苷; 连翘酯苷 A; 熊果苷; 五福花苷酸; 连翘酯苷 I; 连翘苷; 汉黄芩苷; 黄芩素; 汉黄芩素; 水苏糖; 棉子糖

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2025)15-5441-11

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.15.011

Quality evaluation of Qinghouyan Granules based on multi-index component quantitative analysis combined with chemometrics

ZHAO Yiyi, GAO Yingying, WU Wanying, FU Xintong, GUO Hongzhu

Beijing Key Laboratory of Analysis and Biological Evaluation of Components in Traditional Chinese Medicine, NMPA Key Laboratory for Quality Evaluation of Traditional Chinese Patent Medicine, Beijing Institute for Drug Control, Beijing 102206, China

Abstract: Objective To establish a multi-index component quantitative method for analyzing Qinghouyan Granules (清喉咽颗粒, QHY), combined with chemometrics and technique for order preference by similarity to an ideal solution (TOPSIS) analysis to comprehensively evaluate the quality of QHY products from nine different manufacturers, thereby providing methods and reference basis for its quality control and evaluation. **Methods** An HPLC method was developed for simultaneous quantification of 11 components—baicalin, forsythiaside A, arbutin, pentaflorin acid, forsythiaside I, forsythin, wogonoside, baicalein, wogonin, stachyose, and raffinose in 177 batches of QHY sourced from nine manufacturers. Hierarchical cluster analysis (HCA), principal component analysis (PCA), and orthogonal partial least squares-discriminant analysis (OPLS-DA) with SIMCA 14.1 and SPSS 25.0 software were conducted on the detection results of the 11 component contents to screen out the characteristic markers that cause the quality differences of QHY. Quality variations among batches were monitored by establishing Hotelling's T² and DModX control limits based

收稿日期: 2025-03-12

基金项目: 国家药品抽检计划(2024)

作者简介: 赵一懿, 女, 副主任药师, 主要从事中药成分分析与质量控制研究。E-mail: zhaoyiyi410@163.com

*通信作者: 郭洪祝, 主任药师, 研究方向中药质量控制与品质评价 E-mail: guohz@bidc.org.cn

on PCA. Entropy weight TOPSIS was applied to rank the quality of QHY from nine manufacturers, and a comprehensive evaluation method for QHY quality was established from multiple perspectives. **Results** The RSD values of the precision, repeatability, stability and accuracy of the methodological investigation results for the determination of the content of 11 components were less than 3.0%. HCA and PCA revealed show that there are differences in sample quality among different manufacturers and among different batches within a manufacturer. OPLS-DA identified six critical markers ($VIP > 1.0$): stachyose, raffinose, baicalin, wogonin, forsythiaside I, and forsythiaside A, which were confirmed as primary contributors to quality variation. The results of entropy weight TOPSIS show that the relative proximity degree C ranges from 0.084 to 0.850, indicating significant quality disparities of QHY among manufacturers, with manufacturer E ranking highest and C lowest. **Conclusion** The established method for determining the contents of 11 chemical components in QHY is accurate and reliable. HCA, PCA and OPLS-DA can effectively screen out the characteristic markers that affect the quality of QHY, and the entropy-weighted-TOPSIS method can comprehensively evaluate the quality of QHY.

Key words: Qinghouyan Granules; multi-index component quantitative analysis; multivariate statistical analysis; entropy weight TOPSIS; quality control; quality evaluation; baicalin; forsythiaside A; arbutin; pentaflorin acid; forsythiaside I; forsythin; wogonoside; baicalein; wogonin; stachyose; raffinose

清喉咽颗粒 (Qinghouyan Granules, QHY) 源于清代喉科名医郑梅涧所著《重楼玉钥》中的“养阴清肺汤”加减而成, 由地黄、麦冬、玄参、连翘、黄芩 5 味中药组成, 具有养阴、清肺、解毒功能。方中玄参、黄芩共为君药, 连翘、地黄、麦冬同为辅臣佐药。用于治疗局限性咽白喉、轻度中毒型白喉、急性扁桃体炎、咽峡炎所致的咽喉疼痛确有疗效^[1-3]。QHY 原名清喉咽冲剂, 1990 年由太极集团重庆桐君阁药厂有限公司研制生产, 执行标准为《四川省药品标准 (83 年版)》。1993 年变更执行标准为《卫生部药品标准》中药成方制剂第二册, 该标准一直沿用至今, 标准项目仅有性状和颗粒剂检查项, 质控指标缺失, 无法有效控制和评价制剂质量^[4]。经文献检索, QHY 质量分析方面的报道多为对制剂中黄芩苷或连翘苷 1~2 个指标成分的含量测定, 不能全面反映制剂的质量差异^[5-15]。本研究运用多维色谱多成分定量技术, 建立 QHY 整体质量分析方法, 指标覆盖黄芩、连翘、地黄、玄参等大多数药味, 填补该品种质量标准研究空白, 并运用化学计量学方法, 结合层次聚类分析 (hierarchical cluster analysis, HCA)、主成分分析 (principal component analysis, PCA)、正交偏最小二乘法-判别分析 (orthogonal partial least squares-discriminant analysis, OPLS-DA) 等方法, 比较不同厂家间、同厂家不同批次间样品质量差异, 筛选出反映 QHY 质量的特征成分。进而运用熵权-TOPSIS (technique for order preference by similarity to an ideal solution, TOPSIS) 法对各厂家样品进行质量排序, 综合评价制剂质量, 旨在通过多指标成分含量测定, 实现对 QHY 更为全面、系统的质量控制, 为提升 QHY 质量标准提供依据。

1 仪器与试药

1.1 仪器

Waters e2695-2998 型高效液相色谱仪, 包括四元泵溶剂系统、自动进样器、PDA 检测器和 Empower 3 色谱工作站, 美国沃特世科技有限公司; 岛津 LC-20A 型高效液相色谱仪, 配备四元泵溶剂系统、自动进样器、蒸发光检测器 (ELSD) 和 LC Solution 色谱工作站, 日本岛津科技有限公司; SB25-120 型超声波清洗机, 宁波新芝生物科技股份有限公司; Sartorius CP225D 型电子分析天平, 德国赛多利斯集团; Milli-Q 型超纯水仪, 美国 Thermo Fisher Scientific 公司。

1.2 试药

对照品熊果苷 (批号 800183-202101, 质量分数 99.7%)、连翘酯苷 A (批号 111810-202209, 质量分数 96.4%)、黄芩苷 (批号 110715-202223, 质量分数 97.2%)、连翘苷 (批号 110821-202318, 质量分数 95.8%)、汉黄芩苷 (批号 112002-202303, 质量分数 98.5%)、黄芩素 (批号 111595-202309, 质量分数 98.6%)、汉黄芩素 (批号 111514-202207, 质量分数 98.0%)、棉子糖 (批号 190225-201901, 质量分数 98.0%)、水苏糖 (批号 112031-202203, 质量分数 94.9%) 均由中国药品食品药品检定研究院所提供, 均为供含量测定用。对照品五福花苷酸, 批号 BBP04840, 质量分数 > 98.0%, 云南西力生物科技股份有限公司; 对照品连翘酯苷 I, 质量分数 > 98.0%, 批号 DSTDL011201, 成都德思特生物技术有限公司。

色谱纯乙腈、甲醇, 美国 Sigma 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, 北京化学试剂有限公司; 超纯水, 由 Milli-Q 型

超纯水仪制备。177 批次 QHY 样品来自 9 个不同厂家，具体样品信息见表 1。

表 1 177 批 QHY 样品信息

Table 1 Sample information of 177 batches of QHY samples

编号	厂家	批数	编号	厂家	批数
ZT01~ZT26	ZT	26	LX01~LX12	LX	12
WS01~WS37	WS	37	KF01~KF09	KF	9
JM01~JM19	JM	19	YC01	YC	1
TSC01~TSC38	TSC	38	TB01、TB02	TB	2
TCQ01~TCQ31	TCQ	31			

2 方法与结果

2.1 色谱条件

2.1.1 黄芩苷等 9 个成分含量测定 色谱柱为 Waters Atlantis T3 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为乙腈-0.4%磷酸水溶液, 梯度洗脱: 0~8 min, 5%~10%乙腈; 8~15 min, 10%~18%乙腈; 15~20 min, 18%~20%乙腈; 20~30 min, 20%~30%乙腈; 30~40 min, 30%~50%乙腈; 40~50 min, 50%~60%乙腈; 50~55 min, 60%~85%乙腈; 55~60 min, 85%~100%乙腈; 平衡时间 10 min; 体积流量 1.0 mL/min; 检测波长 230 nm; 柱温 30 ℃; 理论板数按黄芩苷峰计算应不低于 10 000。

2.1.2 水苏糖和棉子糖成分含量测定 色谱柱为 Waters Xbridge Amide 柱 (250 mm×4.6 mm, 3.5 μm); 流动相为水-乙腈, 梯度洗脱: 0~5 min, 90%~85%乙腈; 5~10 min, 85%~80%乙腈; 10~25 min, 80%~75%乙腈; 25~35 min, 75%~70%乙腈; 35~40 min, 70%乙腈; 40~55 min, 70%~68%乙腈; 55~65 min, 68%~60%乙腈; 65~70 min, 60%~50%乙腈; 70~80 min, 50%~90%乙腈; 平衡时间 10 min; 体积流量 1.0 mL/min; 蒸发光检测器检测, 漂移管温度 105 ℃, 气体体积流量 1.5 L/min; 柱温 30 ℃。理论板数按水苏糖峰计算应不低于 10 000。

2.2 对照品溶液的制备

取黄芩苷等 11 个对照品适量, 甲醇分别配制成含黄芩苷 289.9 μg/mL、连翘酯苷 A 192.4 μg/mL、熊果苷 55.3 μg/mL、五福花苷酸 23.5 μg/mL、连翘酯苷 I 50.6 μg/mL、连翘苷 21.7 μg/mL、汉黄芩苷 60.1 μg/mL、黄芩素 6.4 μg/mL、汉黄芩素 20.5 μg/mL、水苏糖 454.4 μg/mL、棉子糖 271.4 μg/mL 的溶液, 作为对照品溶液, 备用。

2.3 供试品溶液的制备

取 QHY 适量, 研细, 取约 1 g, 精密称定, 置

具塞锥形瓶中, 精密加入 50%甲醇 20 mL, 密塞, 称定质量, 超声处理 30 min, 放冷, 再称定质量, 用 50%甲醇补足减失的质量, 摇匀, 经 0.22 μm 有机滤膜滤过, 取续滤液, 即得供试品溶液。

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 6 个不同质量浓度的混合对照品溶液, 按照“2.1.1”和“2.1.2”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, 进行线性回归并计算回归方程, 结果分别为黄芩苷 $Y=1\,832\,331.10X-118\,478.57$, $R^2=1.000\,0$, 线性范围 869.6~5 797.0 mg/mL; 连翘酯苷 A $Y=1\,220\,646.12X+32\,868.95$, $R^2=0.996\,6$, 线性范围 577.2~3 848.3 mg/mL; 熊果苷 $Y=377\,864.31X+128\,307.90$, $R^2=0.992\,9$, 线性范围 276.6~1 382.8 mg/mL; 五福花苷酸 $Y=1\,435\,126.34X+21\,368.10$, $R^2=0.999\,3$, 线性范围 117.7~588.5 mg/mL; 连翘酯苷 I $Y=1\,346\,275.11X+8\,446.80$, $R^2=1.000\,0$, 线性范围 252.8~1 264.2 mg/mL; 连翘苷 $Y=2\,202\,485.84X+7\,674.10$, $R^2=1.000\,0$, 线性范围 108.3~541.7 mg/mL; 汉黄芩苷 $Y=1\,659\,895.65X+15\,710.70$, $R^2=1.000\,0$, 线性范围 300.7~1 503.4 mg/mL; 黄芩素 $Y=2\,986\,253.02X+3\,089.10$, $R^2=1.000\,0$, 线性范围 31.8~159.1 mg/mL; 汉黄芩素 $Y=2\,809\,615.99X+9\,054.40$, $R^2=1.000\,0$, 线性范围 102.7~513.5 mg/mL; 水苏糖 $Y=1.92X+11.76$, $R^2=0.994\,7$, 线性范围 820.7~2 207.0 mg/mL; 棉子糖 $Y=1.92X+12.09$, $R^2=0.996\,6$, 线性范围 305.3~1 691.6 mg/mL; 结果表明, 各成分在各自的质量浓度范围内线性关系良好。

2.4.2 精密度试验 取适量黄芩苷等 11 个成分混合对照品溶液, 按照“2.1.1”“2.1.2”项下色谱条件连续进样 6 次, 记录黄芩苷、连翘酯苷 A、熊果苷、五福花苷酸、连翘酯苷 I、连翘苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素、水苏糖、棉子糖峰面积并计算其 RSD 值, 结果其 RSD 分别为 1.06%、0.72%、0.41%、1.79%、1.25%、1.46%、0.78%、1.19%、1.17%、2.32%、2.52%, 结果表明该仪器精密度良好。

2.4.3 稳定性试验 取同一批 QHY 样品 (厂家 TCQ, 编号 TCQ12), 按照“2.3”项下方法制备供试品溶液, 分别于制备后 0、2、4、8、16、24、48 h 进样测定, 记录黄芩苷、连翘酯苷 A、熊果苷、

五福花苷酸、连翘酯苷 I、连翘苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素、水苏糖、棉子糖峰面积并计算其 RSD 值, 结果其 RSD 分别为 0.92%、1.16%、1.76%、1.46%、1.81%、1.52%、1.50%、1.76%、1.88%、0.57%、0.27%, 结果表明供试品溶液在 48 h 内稳定性良好。

2.4.4 重复性试验 精密称取同一批 QHY 样品(厂家 TCQ, 编号 TCQ12) 6 份, 按照“2.3”项下方法制备供试品溶液, 按照“2.1.1”“2.1.2”项下色谱条件进行检测, 计算黄芩苷、连翘酯苷 A、熊果苷、五福花苷酸、连翘酯苷 I、连翘苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素、水苏糖、棉子糖质量分数并计算其 RSD 值, 结果其质量分数的 RSD 分别为 0.95%、0.57%、1.07%、1.26%、1.23%、1.55%、0.92%、1.11%、1.35%、0.75%、0.68%, 结果表明该测定方法重复性良好。

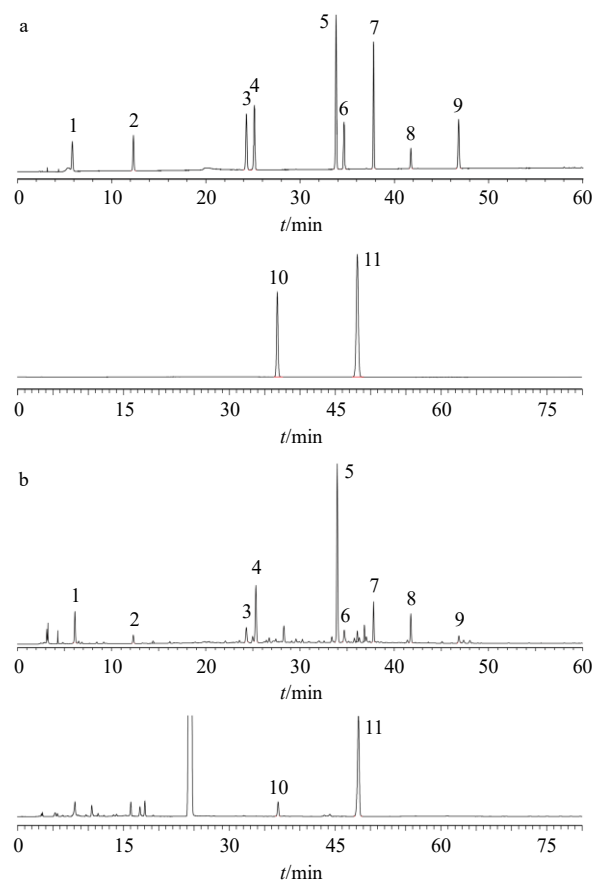
2.4.5 加样回收率试验 采用加样回收法, 精密称取已知含量的同一批次 QHY 样品(厂家 TCQ, 编号 TCQ12), 分别精密称取 0.25、0.50、1.00 g, 各平行 3 份, 置锥形瓶中, 分别精密加入相应量的对照品, 按照“2.3”项下方法制备供试品溶液, 按照“2.1.1”“2.1.2”项下色谱条件进样测定, 计算各成分的加样回收率并计算其 RSD 值, 结果黄芩苷、连翘酯苷 A、熊果苷、五福花苷酸、连翘酯苷 I、连翘苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素、水苏糖、棉子糖的平均加样回收率分别为 99.51%、97.84%、100.54%、99.93%、99.15%、102.50%、101.88%、99.55%、100.16%、98.25%、101.19%, RSD 分别为 0.40%、0.40%、1.65%、1.69%、1.48%、1.18%、1.89%、2.92%、1.27%、0.41%、1.18%, 结果表明该方法具有良好的准确度, 该方法可行。

2.5 含量测定结果

取 177 批 QHY 样品, 按照“2.3”项下方法制备供试品溶液, 按照“2.1.1”“2.1.2”项下色谱条件进样测定, 计算 11 种成分的含量, 典型色谱图见图 1。采用 SPSS 22.0 对各企业 11 种成分含量进行统计分析, 结果见表 2。9 个厂家各成分含量平均值分布见图 2, 可见不同厂家样品各成分含量差异较大。

2.6 多元统计分析

2.6.1 HCA 为了更直观地比较 9 个厂家 QHY 的质量差异, 将 177 批样品中 11 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 Ward 法(Ward's method), 以平方欧氏距离(squared Euclidean distance)作为样品的测度进行 HCA, 绘



1-熊果苷; 2-五福花苷酸; 3-连翘酯苷 I; 4-连翘酯苷 A; 5-黄芩苷; 6-连翘苷; 7-汉黄芩苷; 8-黄芩素; 9-汉黄芩素; 10-棉子糖; 11-水苏糖。

1-arbutin; 2-pentaflonic acid; 3-forsythoside I; 4-forsythoside A; 5-baicalin; 6-forsythoside; 7-wogonoside; 8-baicalin; 9-wogonin; 10-raffinose; 11-stachyose.

图 1 混合对照品 (a) 和 QHY 样品 (b) 的 HPLC 图

Fig. 1 HPLC of mixed reference substances (a) and QHY sample (b)

制树状图, 结果如图 3 所示, 当欧氏距离为 10 时, 样品被明显分为 2 类, 厂家 TCQ 生产的 QHY 样品单独聚为一类, 表明均一性较好且质量有别于其他企业样品; 厂家 ZT、WS、JM、LX 的样品明显离散, 表明厂家内部批间样品质量也存在差异。

2.6.2 PCA 将 177 批样品 11 个成分含量数据导入 SPSS 25.0 软件, 采用降维的方式进行 PCA, 以特征值大于 1 为提取标准, 得到前 2 个主成分, 累积方差贡献率为 91.542%, 结果见表 3。碎石图 (scree plot) 进一步表明前 2 个成分之外其他成分趋于平缓, 说明前 2 个主成分就可以代表 QHY 的整体特征, 结果见图 4。177 批样品的主成分得分图见图 5, 样品相对聚集为 3 类, 厂家内部批间离散较明显, 即通过降维的方式样品间的质量差异更显著。厂家

表 2 不同厂家样品中 11 种成分含量 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Contents of 11 components in different manufacturers samples ($\bar{x} \pm s$)

厂家	n	质量分数/(mg·g ⁻¹)					
		熊果苷	五福花苷酸	连翘酯苷 I	连翘苷	汉黄芩苷	黄芩素
TCQ	31	3.364 4±0.887 2	0.495 8±0.176 5	1.123 9±0.177 0	0.373 3±0.092 6	1.488 1±0.181 4	0.653 2±0.117 9
JM	19	0.097 2±0.073 9	0.007 0±0.006 0	0.052 2±0.033 3	0.136 9±0.077 4	0.236 5±0.099 7	0.150 5±0.049 4
ZT	26	0.262 1±0.152 8	0.082 5±0.066 6	0.089 9±0.081 1	0.037 6±0.034 1	0.590 3±0.128 1	0.301 0±0.167 6
TSC	38	1.828 1±0.593 5	0.317 2±0.163 2	0.645 6±0.098 7	0.215 4±0.101 7	0.458 2±0.067 3	0.419 8±0.048 1
LX	12	3.216 8±0.303 4	0.995 7±0.136 6	1.243 2±0.239 5	0.403 1±0.120 9	0.565 3±0.126 8	0.300 2±0.084 2
KF	11	2.452 7±0.879 8	0.550 6±0.160 8	0.798 2±0.162 2	0.332 3±0.074 5	0.997 5±0.170 3	0.441 7±0.065 9
WS	37	0.851 6±0.458 1	0.206 0±0.123 7	0.294 5±0.144 1	0.111 6±0.043 0	0.307 9±0.044 6	0.075 3±0.015 7
TB	2	1.760 7±0.222 9	0.293 3±0.030 7	0.535 8±0.043 1	0.295 7±0.049 9	0.797 5±0.135 4	0.471 0±0.107 1

厂家	n	质量分数/(mg·g ⁻¹)				
		汉黄芩素	连翘酯苷 A	黄芩苷	棉子糖	水苏糖
TCQ	31	0.214 7±0.021 5	4.134 7±0.685 9	8.402 8±0.779 6	9.377 4±0.520 9	35.153 7±2.200 9
JM	19	0.046 5±0.017 7	0.263 7±0.171 4	1.595 0±0.537 0	1.496 3±0.520 3	3.332 2±2.510 8
ZT	26	0.065 8±0.052 1	0.324 7±0.280 1	2.709 4±0.561 8	1.413 1±0.196 0	6.239 5±0.969 4
TSC	38	0.085 3±0.007 9	2.181 6±0.416 4	1.695 9±0.235 9	3.689 4±0.613 8	18.082 9±1.150 9
LX	12	0.120 7±0.032 2	4.089 3±0.758 7	2.689 2±0.817 4	5.979 7±0.752 5	20.524 7±3.360 5
KF	11	0.132 7±0.014 6	3.461 8±0.740 1	4.549 8±1.269 7	4.789 9±0.693 9	20.408 2±1.794 6
WS	37	0.033 8±0.005 8	0.905 3±0.381 5	1.728 1±0.247 8	2.273 1±0.369 6	8.257 9±1.251 3
TB	2	0.155 5±0.013 4	1.585 0±0.174 7	2.898 2±0.189 9	4.517 9±1.407 0	14.480 3±3.946 2

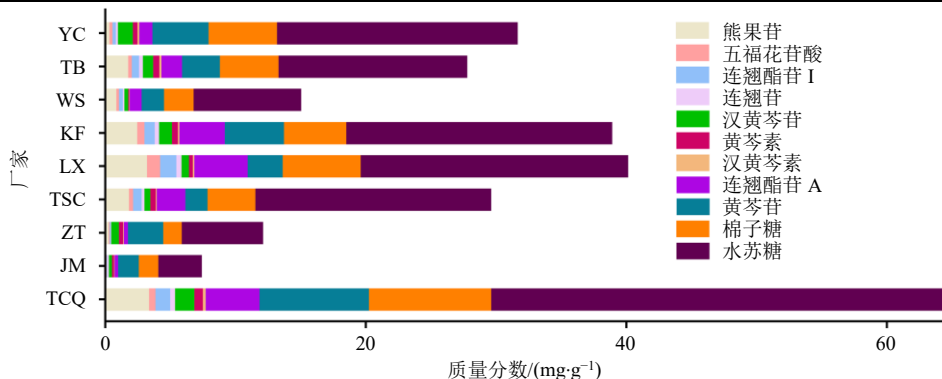


图 2 9 个厂家 11 种成分含量分布

Fig. 2 Distribution map of 11 components contents from nine manufacturers

TCQ 生产的样品单独分为一类, 相对聚集; 厂家 LX 和厂家 KF 生产样品明显离散; 厂家 TSC 生产的样品分为一类, 有部分批次样品离群 (TSC34、TSC29), 这些离散样品均表明批间差异较大, 接下来进一步分析; 厂家 WS 部分样品、厂家 JM 和厂家 ZT 样品分为一类, 表明有共性质量特征。

2.6.3 OPLS-DA 为进一步筛选造成不同厂家间 QHY 质量差异的特征成分, 选取分组明显、相对聚集且有代表性的样本 (即厂家 ZT、WS、JM、TSC、TCQ), 将批次较少的企业 (1~3 批) 不作统计, 以 11 种成分含量为变量, 导入 SIMCA 14.1 软件进行

OPLS-DA, 使用监督模式建立 OPLS-DA 模型, 该模型 $R^2=0.908$, $R^2=0.971$, $Q^2=0.966$, 均大于 0.5, 表明模型稳定可行, 可用于不同厂家 QHY 中差异标志物的分析, 结果 OPLS-DA 得分图见图 6。

由得分图可知, 厂家 TCQ 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 7。结果最右侧的 R^2 值和 Q^2 值均高于左侧, R^2 回归线在 Y 轴截距为 -0.004 23、 Q^2 回归线在 Y 轴截距为 -0.183, 说明模型未出现过拟合现象, 可用于判别分析样品的

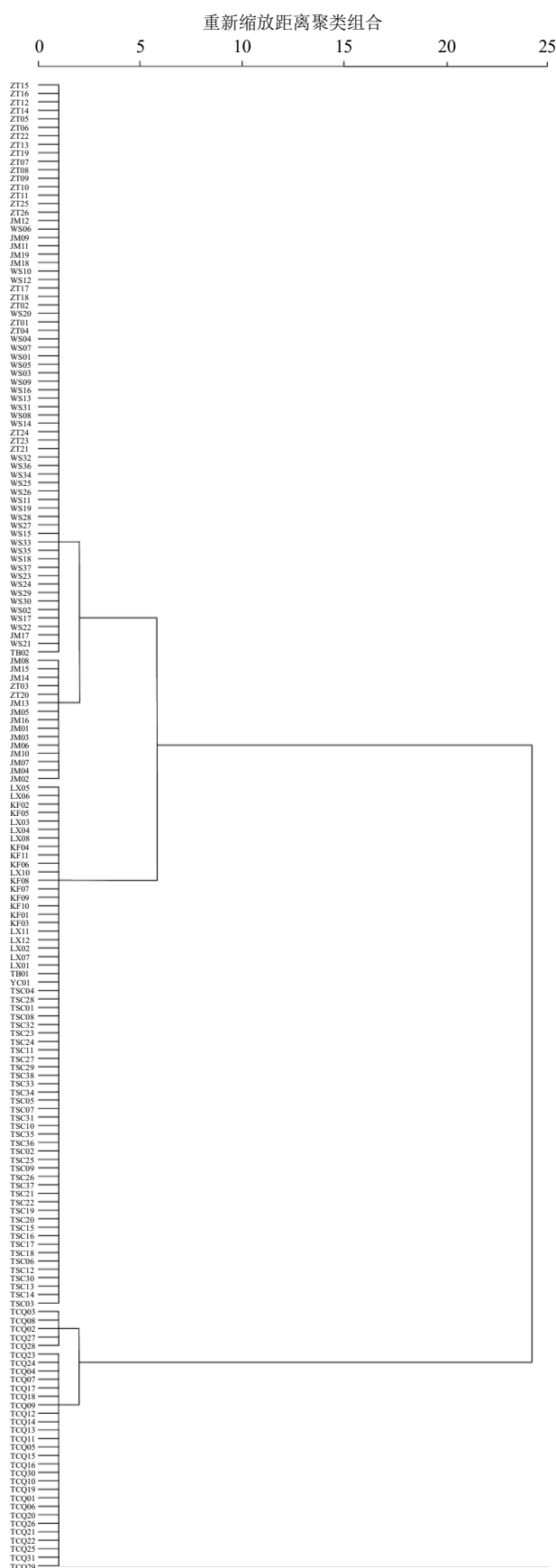


图 3 177 批样品聚类树状图

Fig. 3 Dendrogram of 177 batches of samples

表 3 主成分的初始特征值和贡献率

Table 3 Initial eigenvalue and contribution rate of principal component

主成分	初始特征值	方差贡献率/%	累积方差贡献率/%
PC1	8.734	79.401	79.401
PC2	1.336	12.141	91.542

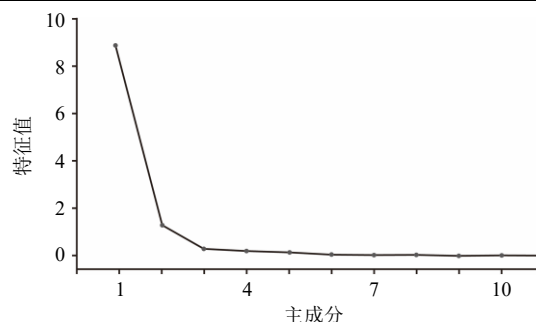


图 4 177 批样品主成分分析碎石图

Fig. 4 PCA scree plot of 177 batches of samples

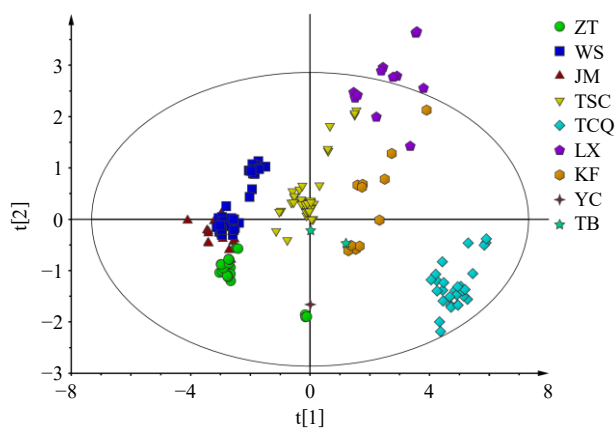


图 5 177 批样品 PCA 得分散点图

Fig. 5 PCA score plot of 177 batches of samples

组间差异。

将样品分组判别,从而筛选出样品之间的差异标志物。采用变量重要性投影值(variable importance for the projection, VIP)进行分析,以 $VIP \geq 1.0$ 为标准,筛选得到 6 个影响较大的峰,从大到小依次为水苏糖、棉子糖、汉黄芩素、黄芩苷、连翘酯苷 I、连翘酯苷 A,见图 8,结果表明以上 6 种成分可能是引起 QHY 质量差异的主要特征成分,作为质量标志物,在质量控制过程中,应重点关注这 6 个指标成分含量情况,更加科学评价制剂质量。11 个成分黄芩苷、连翘酯苷 A、熊果苷、五福花苷酸、连翘酯苷 I、连翘苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素、水苏糖、棉子糖的 VIP 值分别为 1.033 3、1.009 6、0.941 2、0.939 7、1.016 1、0.923 0、0.994 5、0.915 8、1.039 5、1.087 8、1.080 8。

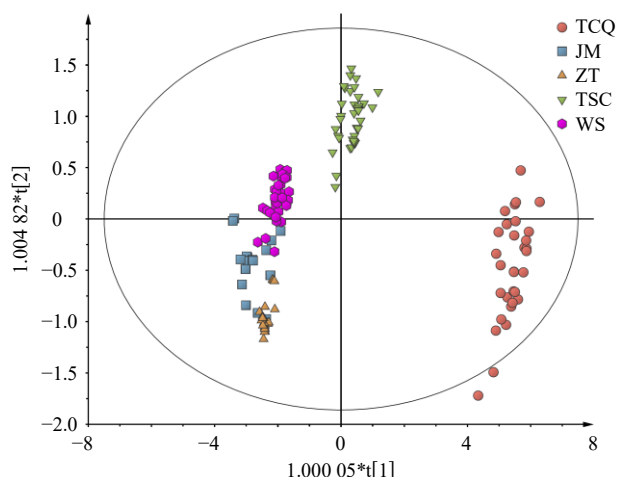


图 6 OPLS-DA 模型第 1、2 主成分得分图

Fig. 6 Score plot of 1st versus 2nd components in OPLS-DA model

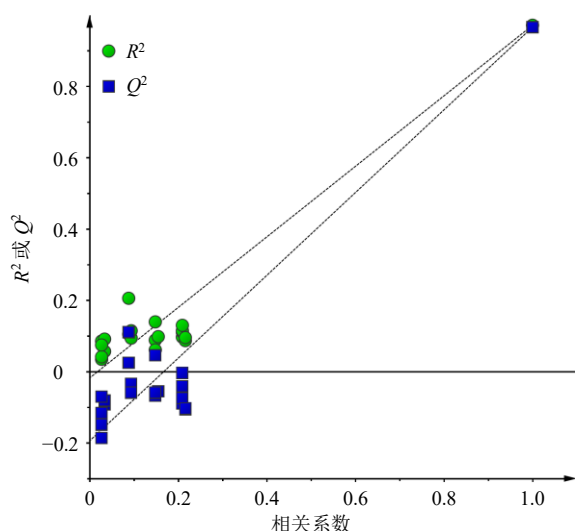


图 7 QHY 样品 200 次检验置换图

Fig. 7 Replacement chart of QHY samples for 200 tests

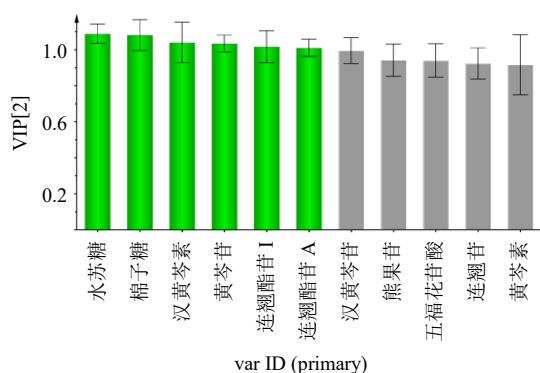


图 8 OPLS-DA 模型的 VIP 图

Fig. 8 VIP plot of OPLS-DA

2.6.4 Hotelling's T2 和 DModX 控制限的建立 Hotelling's T2 和 DModX 控制限是 2 个互补的统计量，可以有效监测制剂样品批间一致性。本实验 9

个厂家间 QHY 样品质量有明显差异，厂家内部批间质量也存在差异，Hotelling's T2 和 DModX 统计量作为批次一致性评价指标，可以有效对批间差异起到监控作用。Hotelling's T2 和 DModX 的控制图如图 9~10，图中的 T_{crit}^2 (99%) 和 D_{crit} 为控制限，其控制上限分别为 15.990 2 和 1.56； T_{crit}^2 (95%) 为警戒限，上限为 11.596 9。177 批 QHY 样品显示，厂家 TCQ、ZT、TSC、LX、KF、TB、YC 均有个别样品超出控制限，表明需关注企业内部批间差异；同时厂家 TCQ、ZT、TSC、LX 个别样品超出警戒限，提示与其他样品相比，这几批样品质量差异较明显，在制剂质量一致性评价时要尤为注意。

2.6.5 熵权-TOPSIS 分析 基于课题组前期研究及文献检索，本实验对 QHY 定量的 11 种化学成分，覆盖黄芩、连翘药味，水苏糖和棉子糖为地黄、玄参的特征糖类成分，均具有体内生物活性^[16-24]，因此 11 个成分均属于含量越高越优型指标。根据极大值指标正向化公式 $Y_{ij} = (x_{ij} - \min x_j) / (\max x_j - \min x_j)$ (Y_{ij} 为归一化处理后数据， x_{ij} 为第 i 批样品第 j 个成分含量值， $\min x_j$ 、 $\max x_j$ 分别代表 177 批样品中各成分最小值、最大值)，对 9 个厂家 177 批 QHY 中 11 种成分含量的平均值数据进行归一化处理。以 OPLS-DA 中各成分差异的 VIP 值作为各指标权重值，然后乘以归一化后的数据得加权决策矩阵，进而得到最优 (Z^+)、最劣方案 (Z^-)。采用评价指标与正、负理想解距离计算公式^[25-26]，计算正理想解距离 (D^+)、负理想解距离 (D^-)、相对接近度 (C)。 D^+ 值越大，说明与最优解距离越远； D^- 值越大，说明与最劣解距离越远，综合即 C 值越大说明被评价样本品质越佳，根据 C 值大小对 9 个厂家的 QHY 样品进行排序，结果见表 4。TOPSIS 分析结果显示，厂家 TCQ 排序第 1，厂家 JM 排序最后，提示厂家 TCQ、LX、KF 生产的 QHY 质量可能较好，厂家 JM 生产的 QHY 质量有待提高。

2.7 特征成分含量分析

通过多元统计分析筛选出 6 种成分作为质量标志物，是可能反映 QHY 质量差异的特征成分。选取其中含量较高的指标水苏糖、棉子糖、黄芩苷和连翘酯苷 A，考察在 177 批样品中的含量分布。水苏糖和棉子糖是制剂中代表玄参和地黄药味的特征多糖类成分，如图 11 所示，在 QHY 样品中含量差异明显，最大值和最小值之间相差近 40 倍，分析原因除生产工艺环节差异外，主要来自投料药材的影响。

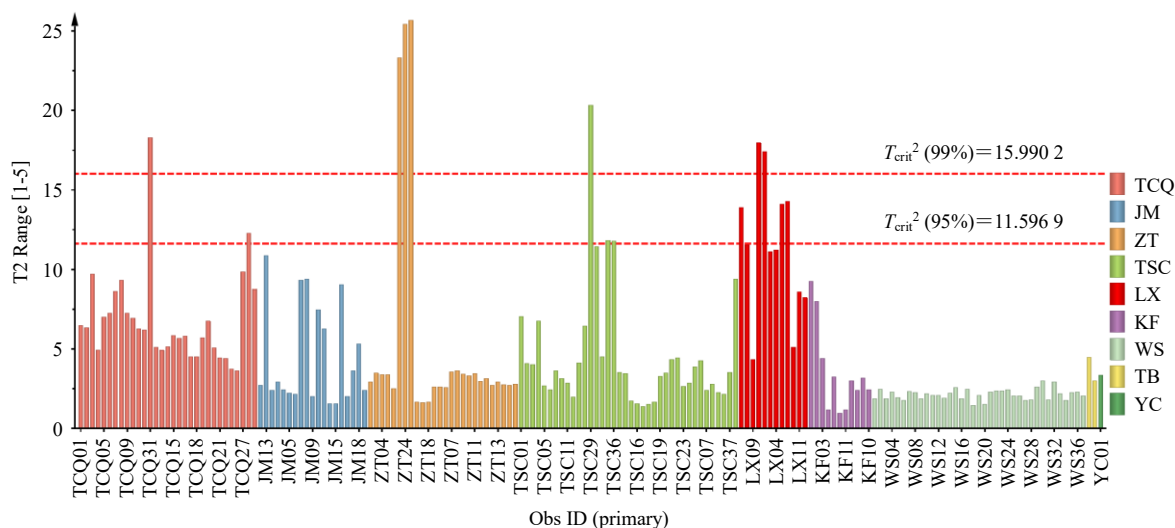


图 9 177 批样品 Hotelling's T2 控制图

Fig. 9 Hotelling's T2 control chart of 177 batches of samples

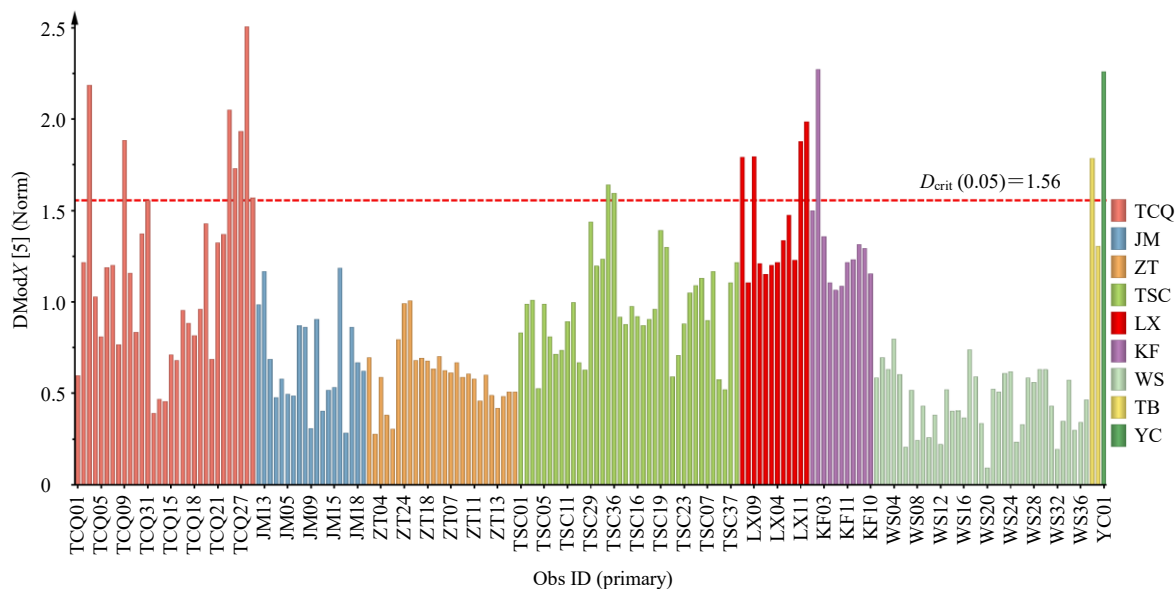


图 10 177 批样品 DModX 控制图

Fig. 10 DModX control chart of 177 batches of samples

表 4 9 个厂家 QHY 质量评价排序

Table 4 Relative ordering of quality evaluation of nine manufacturers of QHY

厂家	D ⁺	D ⁻	C	排序	厂家	D ⁺	D ⁻	C	排序
TCQ	0.178	1.013	0.850	1	KF	0.458	0.644	0.584	3
JM	1.029	0.094	0.084	9	WS	0.954	0.150	0.136	8
ZT	0.947	0.186	0.164	7	TB	0.619	0.510	0.452	4
TSC	0.706	0.429	0.378	6	YC	0.667	0.474	0.416	5
LX	0.514	0.750	0.593	2					

黄芩苷和连翘酯苷 A 为代表黄芩和连翘的特征成分, 如图 12 所示, 在 QHY 样品中含量同样差异明显, 且有样品中出现 2 个指标含量比例相反的现象, 即

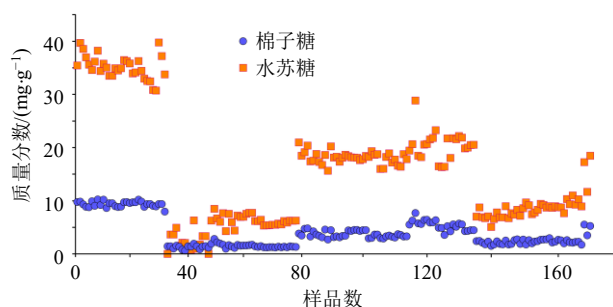


图 11 177 批样品水苏糖和棉子糖质量分数分布

Fig. 11 Distribution of stachyose and raffinose mass fractions of 177 batches of samples

大部分样品黄芩苷含量高于连翘酯苷 A 含量, 部分样品连翘酯苷 A 含量高于黄芩苷(图 12 中方框内)。

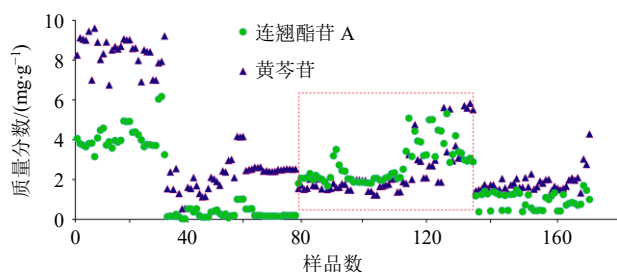


图 12 177 批样品黄芩苷和连翘酯苷 A 质量分数分布

Fig. 12 Distribution of baicalin and forsythiaside A mass fractions of 177 batches of samples

后续同样根据药材质量及生产过程中的情况,科学评估制剂中质量差异明显的原因,并制定合理的质控限度。

2.8 特征成分批间一致性情况

QHY 由 5 味药材粉碎后混合渗漉提取,厂家内部在药材投料及生产工艺稳定的前提下,批间质量应符合均一性要求。近年来,对于中药制剂质量一致性研究也逐渐被关注^[25-27],本次收集的 9 个厂家 177 批 QHY 样品,厂家间质量差异明显的同时,个别厂家内部批间质量也存在差异。通过熵权-TOPSIS 分析给 9 个厂家样品质量排序,排序高低的评价标准除了和指标成分含量高低有关外,还与样品批间一致性有关。厂家 TCQ 样品黄芩苷和连翘酯苷 A 含量分布如图 13 所示,2 个指标成分含量均较高,且厂家内部批间一致性较好,TOPSIS 排序第 1。厂家 KF 和 WS 样品中黄芩苷和连翘酯苷 A 含量存在明显批间差异,如图 14~15 所示,且 WS 样品 2 个指标成分含量明显偏低,故 TOPSIS 排序靠后。TOPSIS 分析厂家 JM 排序最后,样品中黄芩苷和连翘酯苷 A 含量分布如图 16 所示,不但

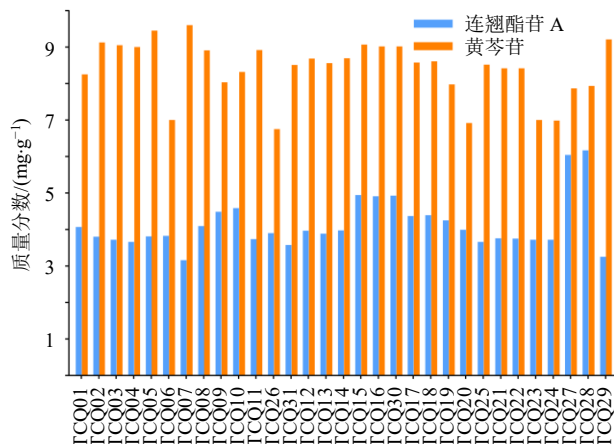


图 13 厂家 TCQ 样品黄芩苷和连翘酯苷 A 含量

Fig. 13 Baicalin and forsythiaside A contents of samples of manufacturer TCQ

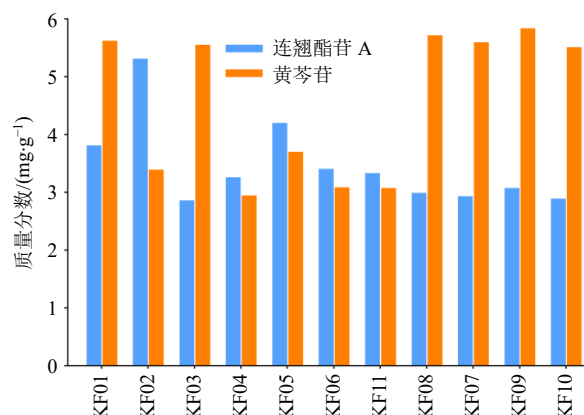


图 14 厂家 KF 样品黄芩苷和连翘酯苷 A 含量

Fig. 14 Baicalin and forsythiaside A contents of samples of manufacturer KF

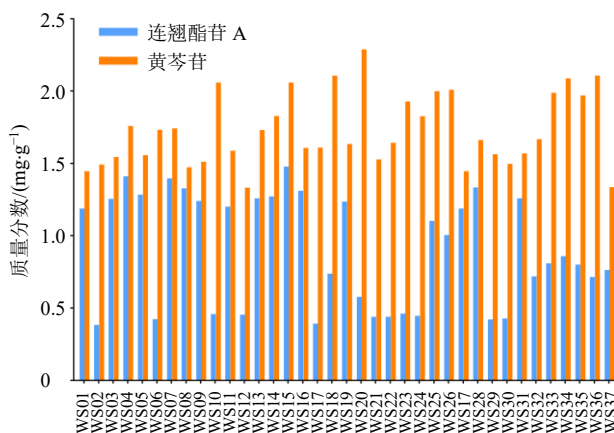


图 15 厂家 WS 样品黄芩苷和连翘酯苷 A 含量

Fig. 15 Baicalin and forsythiaside A contents of samples of manufacturer WS

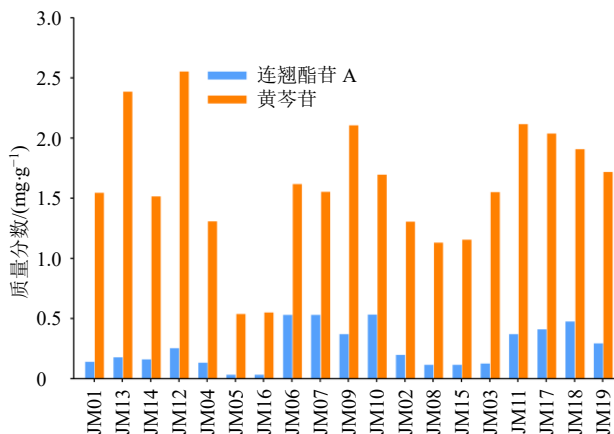


图 16 厂家 JM 样品黄芩苷和连翘酯苷 A 含量

Fig. 16 Baicalin and forsythiaside A contents of samples of manufacturer JM

批间差异大,连翘酯苷 A 含量更是异常偏低。

3 讨论

3.1 定量指标成分的选择

本实验中黄芩苷等 9 个成分含量测定是建立在

QHY 指纹图谱基础上定量,故均在 230 nm 下测定,各成分最大吸收波长在 230 nm 附近,经方法学考察,选择 230 nm 同一波长定量,符合含量测定要求。11 个指标成分覆盖黄芩、连翘、地黄、玄参等大多数药味,可较全面反映制剂质量情况。黄芩苷、连翘酯苷 A 等成分与处方清热解毒功效密切相关,水苏糖和棉子糖与处方养阴生津功效也具有相关的活性作用。因此表明本研究建立的定量方法指标成分选择具有一定合理性和可行性。

3.2 多元统计分析结果

由 HCA 聚类结果可知,9 个厂家被明显分为 2 类,厂家 TCQ 单独聚为一类,其他厂家聚为一类。PCA 得分图显示,厂家 TCQ 单独聚为一类,且样品相对聚集,厂家 LX 和厂家 KF 样品明显离散,结果与 HCA 一致。以上结果表明,不同厂家间及同厂家内部不同批次间样品质量均有差异。OPLS-DA 模型以 VIP 值 >1 为标准,筛选出水苏糖、棉子糖、汉黄芩素、黄芩苷、连翘酯苷 I、连翘酯苷 A 6 个特征标志物,覆盖黄芩、连翘、地黄和玄参糖类成分,可以表征 QHY 样品质量差异,在制剂质控评价中应重点关注。

在运用化学计量学方法筛选出特征标志物的同时,还可在 PCA 模型基础上设定 Hotelling's T² 和 DModX 控制限。Hotelling's T² 反映每个选定观察点与模型平面中原点距离,代表分析样品与模型中其他样品的差异;DModX 反映数据在变量 X 空间到模型的距离,代表样品中未被模型解释的变化差异。通常认为在控制限度以下的样品为正常批次样品,超出控制限为异常样品。Hotelling's T² 和 DModX 控制限主要用于控制厂家内部批间质量一致性,提高质控效率。

考虑到 9 个厂家间 QHY 质量存在明显差异,故在多元统计分析基础上,运用机器学习建立数学模型,采用熵权-TOPSIS 法对厂家间质量排序,进一步评价制剂质量。TOPSIS 法所建立的数学模型能通过对理想解的逼近而实现多目标决策分析,这与中药多指标质量综合评价思路相符合。熵权-TOPSIS 法是将改进的熵权法与 TOPSIS 法相结合,用于研究与理想方案相似性顺序选优技术的评价方法,可减少主观因素的影响,使结果更客观、科学。近年来该方法已逐渐广泛应用于中药材、制剂及生产过程质量评价研究中^[28-31]。本实验熵权-TOPSIS 法结果显示,C 在 0.084~0.850,表明不同

厂家间 QHY 质量差异较大,综合评分排序为厂家 TCQ>厂家 LX>厂家 KF>厂家 TB>厂家 YC>厂家 TSC>厂家 ZT>厂家 WS>厂家 JM,从 11 种成分含量高低的角度评价 QHY 制剂质量,厂家 TCQ 最优,且在多元统计 HCA 和 PCA 分析中厂家 TCQ 单独聚为一类,表明与其他厂家相比,质量存在优势。由此可见,不同厂家间制剂质量差异,除了和药材投料质量有关外,还受生产工艺差异影响,为提升该品种整体质量水平,应积极向原研企业 and 质量优质企业靠拢,逐步完善优化生产工艺,确保制剂质量整体提升。

综上所述,本实验通过多种多元统计方法相互验证,结合机器学习构建数学模型,多角度、多方位挖掘 QHY 数据信息,探寻共性中的差异及内在的联系,有利于建立更加全面、科学的 QHY 质量评价方法。

3.3 展望

本研究显示不同厂家不同批次 QHY 质量差异较大,主要原因是该品种现行质量标准落后,质控指标缺失造成。本实验建立 11 个指标成分含量测定方法,虽不能代表制剂全部物质基础组成,旨在形成明确量化的定量指纹图谱,为后续质量标准提升奠定基础。运用多元统计方法,筛选出造成制剂质量差异的特征标志物,后续进一步研究从两方面开展:一方面考虑制剂药材投料、生产工艺等差异,结合生产过程量值传递情况,对特征指标含量制定合理的限度,有助于企业有效控制产品质量;另一方面研究指标成分与临床疗效之间的关联,完善质量标志物,对 QHY 的质量进行全面、综合的评估,建立对临床应用更具指导意义的评价体系。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 刘欣宇,李星.清咽类中药药品应用及功效成分研究进展[J].亚太传统医药,2017,13(4):76-78.
- [2] 姚暄,支楠.咽喉科常用中成药临床应用近况[J].现代中西医结合杂志,2013,22(7):788-791.
- [3] 李香.针刺配合清喉咽颗粒治疗慢性咽炎 58 例[J].上海针灸杂志,2010,29(10):657.
- [4] 中华人民共和国药品标准中药成方制剂(第二册)[S].1997:255.
- [5] 徐连明,戴翔羚,刘汉清.清喉咽颗粒质量标准的研究[J].中医药学刊,2004,22(2):371-372.
- [6] 郭梅,黄杨.清喉咽颗粒质量标准研究[J].中医药导报,2008,14(8):110-111.

- [7] 郭群, 刘宝玉. 清喉咽无糖型颗粒剂质量标准研究 [J]. 天津药学, 2000, 12(2): 75.
- [8] 赵敏. 清喉咽颗粒中 HPLC 测定黄芩苷的含量 [J]. 中国中医药咨讯, 2012(2): 17-18.
- [9] 史大军, 邱海蕴, 康红英. HPLC 法测定清喉咽颗粒中连翘苷的含量 [J]. 中国药事, 2012, 26(1): 57-58.
- [10] 刘贤耀. 高效液相法测定清喉咽颗粒中黄芩苷的含量 [J]. 现代中药研究与实践, 2005, 19(6): 49-50.
- [11] 姚世霞, 牛钰婷, 刘东升, 等. 清喉咽颗粒的质量标准的提升研究 [J]. 时珍国医国药, 2021, 32(7): 1653-1656.
- [12] 任菲菲, 郑艳青, 张静, 等. 双波长 HPLC 法同时测定清喉咽颗粒中黄芩苷、连翘苷含量 [J]. 今日药学, 2022, 32(9): 657-660.
- [13] 范瑞, 冯慧. 高效液相色谱法测定清喉咽颗粒中连翘苷的含量 [J]. 海峡药学, 2010, 22(6): 87-88.
- [14] 武希桃, 陈云侠. HPLC 测定清喉咽颗粒中黄芩苷的含量测定 [J]. 现代中医药, 2006, 26(6): 55-56.
- [15] 刘文尧, 刘云. 高效液相色谱法测定清喉咽颗粒剂中黄芩苷的含量 [J]. 药物分析杂志, 1998, 18(5): 321-322.
- [16] 申云富, 范小青. 汉黄芩苷的药理活性研究进展 [J]. 上海中医药大学学报, 2016, 30(4): 98-101.
- [17] 黄群. 黄芩的药理活性研究 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2010, 12(5): 226-227.
- [18] 侯晓杰, 张建锋, 侯长周, 等. 黄芩苷药理活性和作用机制研究进展 [J]. 药物评价研究, 2024, 47(11): 2688-2696.
- [19] 黄烈岩, 聂黎行, 康帅, 等. 黄芩化学成分、药理作用和质量控制的研究进展 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2024, 26(4): 88-96.
- [20] 齐丽娜, 陈炫好, 金华, 等. 中药连翘化学成分及药理活性研究进展 [J]. 天津中医药大学学报, 2021, 40(2): 168-175.
- [21] 刘闯, 赵新月, 田颖颖, 等. 中药糖类成分生物活性及应用研究进展 [J]. 中国中医药图书情报杂志, 2024, 48(1): 256-260.
- [22] 祁昱彤, 张淼, 刘建勋, 等. 中药地黄的现代研究进展及其质量标志物 (Q-marker) 预测分析 [J]. 中华中医药学刊, 2023, 41(12): 176-184.
- [23] 吕弯弯, 赵茂娇, 李科, 等. 地黄多糖对 DSS 诱导的小鼠溃疡性结肠炎的治疗作用 [J]. 山西医科大学学报, 2024, 55(7): 863-871.
- [24] 姚辛敏, 关慧波. 地黄化学成分及药理作用研究进展 [J]. 中医药信息, 2025, 42(1): 84-89.
- [25] 孙莹莹, 孙巍, 王萍, 等. 基于 UPLC 指纹图谱的逍遥片批次一致性评价研究 [J]. 中草药, 2020, 51(20): 5154-5165.
- [26] 侯一哲, 黎翩, 肖红敏, 等. 血塞通滴丸皂苷类成分含量测定及批次一致性评价研究 [J]. 中草药, 2019, 50(11): 2552-2559.
- [27] 马兆臣, 陈奎奎, 李月婷, 等. 丹荷颗粒 25 种特征性成分 LC-MS 测定及制剂一致性分析 [J]. 中草药, 2019, 50(24): 5970-5979.
- [28] 朱文超, 崔琳琳, 关永霞, 等. 基于 AHP-熵权 TOPSIS 混合加权法评价不同灭菌工艺对红花药材原粉质量的影响 [J]. 药学研究, 2024, 43(10): 962-967.
- [29] 董琳琳, 刘相岑, 钟以凝, 等. 基于熵权 TOPSIS 法优选复方茯苓山药颗粒成型工艺及其薄层鉴别 [J]. 湖北农业科学, 2024, 63(10): 142-148.
- [30] 付瑞华, 张瑞, 姚雷娜. 基于加权 TOPSIS 法的舒肝宁注射液临床合理用药评价标准建立与应用 [J]. 中国药业, 2025, 34(1): 25-28.
- [31] 何小芳, 王欣, 李及, 等. 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 [J]. 中草药, 2024, 55(24): 8379-8391.

[责任编辑 郑礼胜]