

- 44(9): 1597-1603.
- [6] 申柯, 姚晓煜, 李建国, 等. 多组分定量结合 AHP-熵权法对不同产地梅花鹿茸饮片质量综合评价[J]. 中草药, 2024, 55(21): 7474-7482.
- [7] 李志娇, 郑振秋, 张晓博, 等. HPLC-MS/MS 法同时测定月季花配方颗粒中 10 种成分的含量[J]. 中成药, 2024, 46(5): 1435-1440.
- [8] 郑振秋, 巩长芹, 张雪, 等. HPLC-MS/MS 法同时测定荆防颗粒中 10 种成分[J]. 中成药, 2023, 45(12): 3901-3905.
- [9] 徐楠, 赵宇郁, 张伟, 等. 额日赫木-8 散 HPLC 指纹图谱建立及秦皮乙素测定[J]. 中成药, 2022, 44(8): 2469-2475.
- [10] 国家药典委员会, 中华人民共和国药典: 2020 年版一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020.
- [11] 肖娟兰, 赵鹿, 张东旭, 等. 基于 HPLC-Q-TOF-MS/MS 技术的蒙药安神补心六味丸化学成分辨识[J]. 中药材, 2021, 44(7): 1656-1667.
- [12] 向萍, 王晓琴, 马超美. RP-HPLC 法同时测定广枣中 5 种活性成分含量[J]. 中药新药与临床药理, 2018, 29(2): 189-193.
- [13] 杨璐萌, 杨凌鉴, 贾璞, 等. 基于 HPLC-Q-TOF-MS/MS 的广枣果肉化学成分分析[J]. 第二军医大学学报, 2016, 37(2): 159-166.
- [14] 惠玉晶, 于金高, 樊修和, 等. 基于小分子-蛋白质相互作用的甘草质量标志物筛选及活性验证[J]. 中国中药杂志, 2023, 48(20): 5498-5508.
- [15] 杨小平. 藿香正气胶囊质量评价[J]. 中成药, 2024, 46(6): 1982-1984.
- [16] 丁曼, 毛艳, 赵学佳, 等. 基于指纹图谱和一测多评联合化学计量学及熵权 TOPSIS 法对顶羽菊药材质量评价[J]. 中草药, 2024, 55(16): 5627-5638.
- [17] 郭威, 田雨晴, 唐云峰, 等. 金藤清痹颗粒多波长融合指纹图谱建立及质量评价[J]. 中成药, 2024, 46(10): 3400-3405.
- [18] 杨帅, 郑林, 迟明艳, 等. UPLC-MS/MS 法同时测定阿胶中 18 种核苷、游离氨基酸的含量[J]. 中成药, 2024, 46(7): 2140-2146.
- [19] 中华人民共和国卫生部药政局. 中华人民共和国卫生部药品标准(蒙药分册)[S]. 1998: 94.

UPLC 法同时测定通宣理肺丸中 11 种成分的含量及其化学计量学考察

靳婉君¹, 浩文婷², 刘靖¹, 张明童^{1*}, 倪琳^{1*}

(1. 甘肃省药品检验研究院, 国家中药材及饮片质量控制重点实验室, 甘肃省中藏药检验检测技术工程实验室, 甘肃兰州 730030; 2. 甘肃省药物警戒中心, 甘肃兰州 730070)

摘要: **目的** 建立 UPLC 法同时测定通宣理肺丸中甘草苷、甘草酸铵、柚皮苷、新橙皮苷、橙皮苷、迷迭香酸、黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素、白花前胡甲素的含量, 并进行化学计量学考察。**方法** 分析采用 SVEA C₁₈ 色谱柱 (2.1 mm×150 mm, 2.5 μm); 流动相乙腈-0.1% 磷酸, 梯度洗脱; 体积流量 0.5 mL/min; 柱温 30 ℃; 检测波长 250 nm。再进行聚类分析、主成分分析、偏最小二乘判别分析。**结果** 11 种成分在各自范围内线性关系良好 ($R^2 > 0.990$), 平均加样回收率 90.00%~98.32%, RSD 0.35%~1.89%。40 批样品聚为 3 类, 黄芩苷、黄芩素、甘草苷、汉黄芩苷、汉黄芩素、新橙皮苷为质量差异标志物。**结论** 该方法简便, 重复性良好, 可为通宣理肺丸质量控制及评价提供依据。

关键词: 通宣理肺丸; 化学成分; 含量测定; 化学计量学; UPLC; 聚类分析; 主成分分析; 偏最小二乘判别分析

中图分类号: R927.2

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2025)09-2840-09

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2025.09.003

收稿日期: 2025-04-24

基金项目: 甘肃省科技计划项目 (24CXGA075); 甘肃省药品监管科学项目 (2023GSMPA065)

作者简介: 靳婉君 (1993—), 女, 硕士生, 从事中药药效物质基础及其质量标准研究。E-mail: 18394660062@163.com

* 通信作者: 张明童 (1987—), 男, 硕士, 副主任中药师, 从事中药质量控制研究。E-mail: 519815751@qq.com

倪琳 (1979—), 女, 主任中药师, 从事中药质量控制研究。E-mail: 1724010367@qq.com

Simultaneous content determination of eleven constituents in Tongxuan Lifei Pills by UPLC and their chemometric investigation

JIN Wan-jun¹, HAO Wen-ting², LIU Jing¹, ZHANG Ming-tong^{1*}, NI Lin^{1*}

(1. State Key Laboratory for Quality Control of Chinese Medicinal Materials and Decoction Pieces, Gansu Provincial Engineering Laboratory for Chinese and Tibetan Medicine Inspection and Testing Technology, Gansu Provincial Institute for Drug Control, Lanzhou 730030, China; 2. Gansu Provincial Pharmacovigilance Center, Lanzhou 730070, China)

ABSTRACT: AIM To establish a UPLC method for the simultaneous content determination of liquiritin, ammonium glycyrrhizate, naringin, neohesperidin, hesperidin, rosmarinic acid, baicalin, wogonoside, baicalein, wogonin and praeruptorin A in Tongxuan Lifei Pills, and to make chemometric investigation. **METHODS** The analysis was performed on a 30 °C thermostatic SVEA C₁₈ column (2.1 mm×150 mm, 2.5 μm), with the mobile phase comprising of acetonitrile-0.1% phosphoric acid flowing at 0.5 mL/min in a gradient elution manner, and the detection wavelength was set at 250 nm. Subsequently, cluster analysis, principal component analysis and partial least square discriminant analysis were performed. **RESULTS** Eleven constituents showed good linear relationships within their own ranges ($R^2 > 0.990$), whose average recoveries were 90.00%–98.32% with the RSDs of 0.35%–1.89%. Forty batches of samples were clustered into 3 types. Baicalein, baicalin, liquiritin, wogonin, wogonoside and neohesperidin were taken as quality differential markers. **CONCLUSION** This simple and reproducible method can provide the basis for quality control and evaluation of Tongxuan Lifei Pills.

KEY WORDS: Tongxuan Lifei Pills; chemical constituents; content determination; chemometrics; UPLC; cluster analysis; principal component analysis; partial least square discriminant analysis

通宣理肺丸由麻黄、黄芩、前胡等11味中药组成,具有镇咳祛痰、平喘、解热、抗炎作用,可用于治疗感冒引起的咳嗽、支气管哮喘等疾病^[1-2]。中药复方制剂组成及成分复杂,故多成分含量测定是控制其整体质量的重要手段^[3]。化学计量学可通过分类、降维、综合等算法,对指纹图谱中的数据进行特征性识别^[4-5],并且两者结合可更系统全面地评价中药质量,目前已被广泛应用于相关制剂^[6-7]。

近年来,关于通宣理肺丸指标成分的研究有多组分^[8-9]、一测多评法^[10]等方式,但并未对市售品进行综合评价。因此,本实验建立UPLC法同时测定通宣理肺丸中甘草苷、甘草酸铵,枳壳中柚皮苷、新橙皮苷,陈皮中橙皮苷,紫苏叶中迷迭香酸,黄芩中黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素,前胡中白花前胡甲素的含量,并采用聚类分析、主成分分析(PCA)、偏最小二乘判别分析(PLS-DA)^[11-13]进行化学计量学考察,旨在为该制剂质量评价提供参考。

1 材料

1.1 仪器 安捷伦1290超高效液相色谱仪(美国

安捷伦公司);MS205DU可变量程天平(十万分之一,瑞士梅特勒-托利多公司);KQ-500DE数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

1.2 试剂 甘草苷(批号111610-201908,纯度95.0%)、柚皮苷(批号110722-202116,纯度93.5%)、橙皮苷(批号110721-201617,纯度96.1%)、新橙皮苷(批号111857-201804,纯度99.4%)、迷迭香酸(批号111871-201203,纯度98.8%)、黄芩苷(批号110715-202122,纯度94.2%)、汉黄芩苷(批号112002-201702,纯度98.5%)、黄芩素(批号111595-201808,纯度97.9%)、汉黄芩素(批号111514-202207,纯度100.0%)、甘草酸铵(批号110731-201720,纯度97.7%)、白花前胡甲素(批号111711-201904,纯度99.4%)对照品均购自中国食品药品检定研究院。磷酸(批号20180628,纯度85.0%)购自国药化学试剂有限公司;乙腈(批号20230406,纯度99.9%)购自德国默克公司;纯水(批号20230105)购自屈臣氏集团(香港)有限公司。

1.3 药物 通宣理肺丸(大蜜丸)共40批,购自8个厂家,具体见表1。

表1 通宣理肺丸信息

Tab. 1 Information of Tongxuan Lifei Pills

厂家编号	样品编号	生产厂家	批号	厂家编号	样品编号	生产厂家	批号
A	S1	北京御生堂集团石家庄制药有限公司	119024	D	S21	九芝堂股份有限公司	20211236
A	S2	北京御生堂集团石家庄制药有限公司	291026	D	S22	九芝堂股份有限公司	20230306
A	S3	北京御生堂集团石家庄制药有限公司	119032	D	S23	九芝堂股份有限公司	20230307
A	S4	北京御生堂集团石家庄制药有限公司	291030	E	S24	山西天生制药有限责任公司	122006
A	S5	北京御生堂集团石家庄制药有限公司	291028	E	S25	山西天生制药有限责任公司	123005
B	S6	甘肃河西制药有限责任公司	190701	E	S26	山西天生制药有限责任公司	123006
B	S7	甘肃河西制药有限责任公司	190102	E	S27	山西天生制药有限责任公司	122003
B	S8	甘肃河西制药有限责任公司	230301	F	S28	国药集团冯了性(佛山)药业有限公司	220018
B	S9	甘肃河西制药有限责任公司	230302	F	S29	国药集团冯了性(佛山)药业有限公司	220016
C	S10	山西华康药业股份有限公司	20230103	F	S30	国药集团冯了性(佛山)药业有限公司	220017
C	S11	山西华康药业股份有限公司	20230402	F	S31	国药集团冯了性(佛山)药业有限公司	230006
C	S12	山西华康药业股份有限公司	20230503	F	S32	国药集团冯了性(佛山)药业有限公司	230012
C	S13	山西华康药业股份有限公司	20230703	G	S33	北京同仁堂股份有限公司	23010074
C	S14	山西华康药业股份有限公司	20230504	G	S34	北京同仁堂股份有限公司	23010072
C	S15	山西华康药业股份有限公司	20230702	G	S35	北京同仁堂股份有限公司	23010086
C	S16	山西华康药业股份有限公司	20230705	G	S36	北京同仁堂股份有限公司	21010287
C	S17	山西华康药业股份有限公司	20230104	H	S37	药都制药集团股份有限公司	230101
C	S18	山西华康药业股份有限公司	20230401	H	S38	药都制药集团股份有限公司	230501
C	S19	山西华康药业股份有限公司	20230505	H	S39	药都制药集团股份有限公司	230102
D	S20	九芝堂股份有限公司	20211238	H	S40	药都制药集团股份有限公司	230503

2 方法与结果

2.1 色谱条件 SVEA C₁₈ 色谱柱 (2.1 mm×150 mm, 2.5 μm); 流动相乙腈 (A) -0.1% 磷酸 (B), 梯度洗脱 (0~15 min, 13%~14% A; 15~32 min, 14%~30% A; 32~42 min, 30%~35% A; 42~60 min, 35%~60% A); 体积流量 0.5 mL/min; 柱温 30 ℃; 检测波长 250 nm; 进样量 2 μL。

2.2 溶液制备

2.2.1 对照品溶液 精密称取对照品适量, 置于 50 mL 量瓶中, 甲醇制成分别含甘草苷 0.040 4 mg/mL、柚皮苷 0.460 8 mg/mL、橙皮苷 0.391 6 mg/mL、新橙皮苷 0.201 0 mg/mL、迷迭香酸 0.102 5 mg/mL、黄芩苷 0.208 9 mg/mL、汉黄芩苷 0.195 8 mg/mL、黄芩素 0.020 4 mg/mL、汉黄芩素 0.033 6 mg/mL、甘草酸铵 0.080 4 mg/mL、白花前胡甲素 0.053 6 mg/mL 的溶液, 即得, 置于 4 ℃ 冰箱中保存。

2.2.2 供试品溶液 参照文献 [10] 报道, 取本品约 1.0 g, 精密称定, 加约 1.0 g 硅藻土, 研匀, 置于具塞锥形瓶中, 精密加入 25 mL 70% 乙醇, 密塞, 称定质量, 超声 (功率 300 W, 频率 40 kHz) 处理 30 min, 放冷, 70% 乙醇补足缺失的质量, 摇匀, 过滤, 取续滤液, 即得。

2.2.3 阴性样品溶液 按组方要求制成阴性样品, 按“2.2.2”项下方法制备, 即得。

2.3 方法学考察

2.3.1 专属性试验 取对照品、供试品、阴性样品溶液适量, 在“2.1”项色谱条件下进样测定, 结果见图 1。由此可知, 阴性样品在各成分色谱峰出峰位置均无干扰, 表明该方法专属性良好。

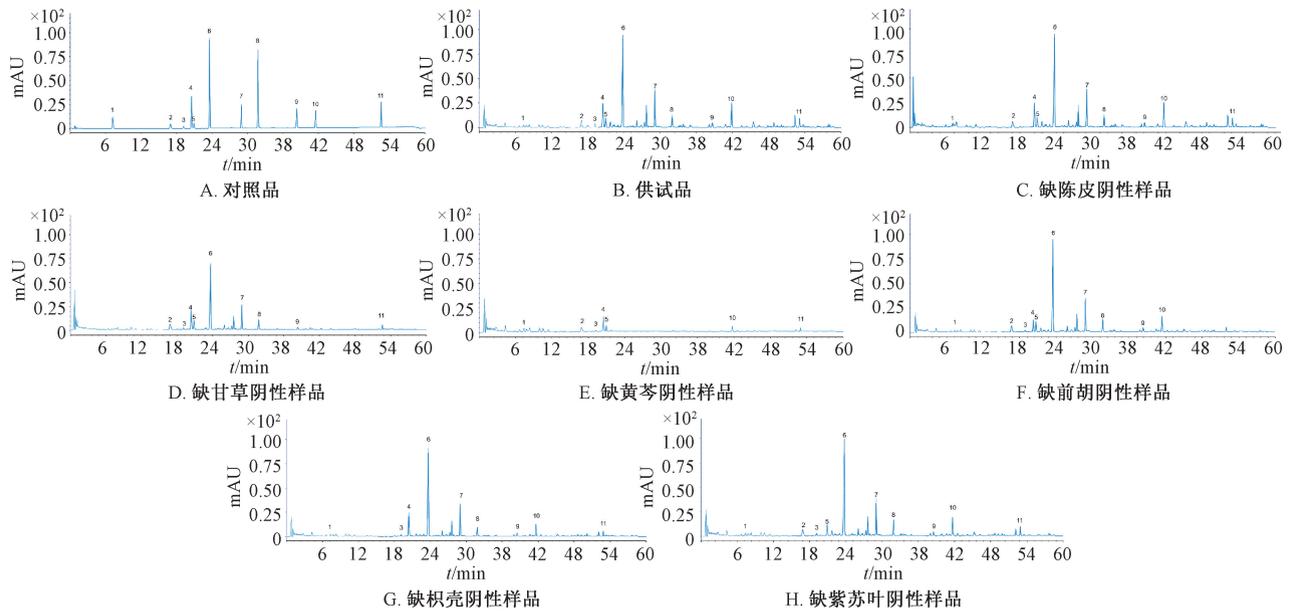
2.3.2 线性关系考察 参照文献 [10] 报道, 制成不同质量浓度对照品溶液, 在“2.1”项色谱条件下进样测定。以对照品质量浓度为横坐标 (X), 峰面积为纵坐标 (Y) 进行回归, 结果见表 2, 可知各成分在各自范围内线性关系良好。

表2 各成分线性关系

Tab. 2 Linear relationships of various constituents

成分	回归方程	R ²	线性范围/(μg·mL ⁻¹)
甘草苷	Y=3.308 6X-2.246	0.999 3	4.04~40.40
柚皮苷	Y=1.610 7X-14.101	0.995 5	30.72~460.80
橙皮苷	Y=1.374 2X-14.971	0.998 4	39.16~391.60
迷迭香酸	Y=6.614 2X-2.943	0.997 7	1.71~102.54
新橙皮苷	Y=1.473 5X+1.691 3	0.999 8	25.13~201.04
黄芩苷	Y=7.504 4X+30.476	0.994 3	41.78~208.90
汉黄芩苷	Y=6.542 8X-5.659	0.990 8	9.79~195.80
黄芩素	Y=12.219 0X+4.345	0.992 6	1.36~20.37
汉黄芩素	Y=10.433 1X+1.335	0.999 2	0.51~30.58
甘草酸铵	Y=5.778 2X+4.664	0.999 8	10.06~80.44
白花前胡甲素	Y=4.173 2X-0.691	0.999 2	2.68~53.60

2.3.3 精密度试验 精密吸取“2.2.1”项下对照品溶液适量, 在“2.1”项色谱条件下进样测定 6 次, 测得甘草苷、柚皮苷、橙皮苷、迷迭香酸、



1. 甘草苷 2. 柚皮苷 3. 橙皮苷 4. 迷迭香酸 5. 新橙皮苷 6. 黄芩苷 7. 汉黄芩苷 8. 黄芩素 9. 汉黄芩素 10. 甘草酸铵
11. 白花前胡甲素
1. liquiritin 2. naringin 3. hesperidin 4. rosmarinic acid 5. neohesperetin 6. baicalin 7. wogonoside 8. baicalein 9. wogonin
10. ammonium glycyrrhizinate 11. praeruptorin A

图1 各成分UPLC色谱图

Fig. 1 UPLC chromatograms of various constituents

新橙皮苷、黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素、甘草酸铵、白花前胡甲素峰面积RSD分别为0.81%、0.92%、0.31%、0.03%、0.14%、0.66%、0.37%、0.24%、0.16%、0.71%、0.27%，表明仪器精密度良好。

2.3.4 重复性试验 取同一批本品(S27)，按“2.2.2”项下方法平行制备6份供试品溶液，在“2.1”项色谱条件下进样测定，测得甘草苷、柚皮苷、橙皮苷、迷迭香酸、新橙皮苷、黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素、甘草酸铵、白花前胡甲素含量RSD分别为1.26%、0.98%、1.36%、1.03%、0.79%、1.21%、1.32%、0.03%、2.01%、0.67%、1.33%，表明该方法重复性良好。

2.3.5 稳定性试验 取同一份供试品溶液(S27)，于0、6、12、18、24、36、48 h在“2.1”项色谱条件下进样测定，测得甘草苷、柚皮苷、橙皮苷、迷迭香酸、新橙皮苷、黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素、甘草酸铵、白花前胡甲素峰面积RSD分别为0.55%、1.77%、2.21%、1.74%、2.01%、1.62%、1.35%、0.04%、1.21%、0.72%、0.87%，表明溶液在48 h内稳定性良好。

2.3.6 耐用性试验 取同一份供试品溶液(S27)，分别于资生堂、SVEA、Waters、Agilent柱

上在“2.1”项色谱条件下进样测定，测得甘草苷、柚皮苷、橙皮苷、迷迭香酸、新橙皮苷、黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素、甘草酸铵、白花前胡甲素含量RSD分别为2.06%、1.67%、1.09%、1.05%、0.13%、1.56%、1.88%、0.45%、2.13%、1.62%、1.42%，表明该方法耐用性良好。

2.3.7 加样回收率试验 精密称取各成分含量已知的本品(S27) 1.0 g，共6份，按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液，精密加入分别含甘草苷0.253 4 mg、柚皮苷2.535 5 mg、橙皮苷2.566 3 mg、迷迭香酸0.062 2 mg、新橙皮苷0.913 mg、黄芩苷3.552 mg、汉黄芩苷0.903 4 mg、黄芩素0.045 3 mg、汉黄芩素0.212 1 mg、甘草酸铵0.655 2 mg、白花前胡甲素0.253 1 mg的对照品溶液1 mL，在“2.1”项色谱条件下进样测定，计算回收率。结果，甘草苷、柚皮苷、橙皮苷、迷迭香酸、新橙皮苷、黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素、甘草酸铵、白花前胡甲素平均加样回收率分别为92.15%、98.32%、90.00%、92.90%、93.58%、96.99%、92.58%、91.23%、93.45%、93.55%、96.33%，RSD分别为1.34%、1.89%、1.37%、1.09%、1.67%、1.09%、1.05%、0.64%、0.75%、0.35%、0.64%。

2.4 样品含量测定 取40批样品,按“2.2.2”项下进样测定,外标法计算含量,结果见表3。
项下方法制备供试品溶液,在“2.1”项色谱条件

表3 各成分含量测定结果 (mg/g)

Tab. 3 Results for content determination of various constituents (mg/g)

厂家编号	样品编号	甘草苷	柚皮苷	橙皮苷	迷迭香酸	新橙皮苷	黄芩苷	汉黄芩苷	黄芩素	汉黄芩素	甘草酸铵	白花前胡甲素
A	S1	0.503	3.053	4.073	0.103	2.565	3.692	1.855	0.126	0.143	1.018	0.542
A	S2	0.476	2.978	3.724	0.151	2.426	4.560	1.663	0.154	0.076	0.880	0.445
A	S3	0.483	2.672	3.684	0.168	2.373	3.335	1.644	0.122	0.064	0.869	0.537
A	S4	0.429	2.718	3.795	0.097	2.696	4.033	1.756	0.128	0.126	0.568	0.423
A	S5	0.439	2.680	3.293	0.083	3.096	3.188	1.824	0.124	0.122	0.48	0.388
B	S6	0.136	1.807	1.423	0.061	1.293	3.140	1.324	0.045	0.014	0.455	0.142
B	S7	0.106	2.047	1.515	0.069	1.523	3.251	1.203	0.047	0.013	0.521	0.125
B	S8	0.107	2.049	1.777	0.111	1.898	3.131	1.233	0.038	0.014	0.609	0.226
B	S9	0.106	1.921	1.568	0.110	1.358	3.183	1.552	0.037	0.012	0.496	0.152
C	S10	0.442	4.922	2.006	1.195	4.315	3.192	1.235	0.192	0.101	0.803	0.592
C	S11	0.439	4.362	1.754	1.571	3.961	3.268	1.234	0.303	0.122	0.664	0.541
C	S12	0.329	3.650	1.074	0.901	2.681	3.221	1.241	0.324	0.160	0.632	0.496
C	S13	0.582	3.950	1.528	1.528	2.861	3.350	1.475	0.285	0.151	0.733	0.543
C	S14	0.251	2.964	1.794	0.994	2.234	3.189	1.067	0.377	0.139	0.596	0.596
C	S15	0.323	4.185	1.385	1.097	3.992	3.229	1.354	0.406	0.122	0.635	0.505
C	S16	0.406	4.004	1.552	1.49	3.726	3.219	1.003	0.139	0.104	0.746	0.541
C	S17	0.391	3.938	1.408	1.553	2.794	3.279	1.038	0.137	0.071	0.672	0.536
C	S18	0.424	3.102	1.508	1.243	3.115	3.250	1.064	0.191	0.098	0.703	0.528
C	S19	0.323	3.518	1.377	1.036	1.983	3.711	1.354	0.170	0.103	0.896	0.496
D	S20	0.238	3.488	2.231	0.645	1.693	3.168	1.307	0.079	0.022	0.665	0.432
D	S21	0.137	4.157	1.568	0.687	2.458	3.261	1.279	0.092	0.019	0.703	0.412
D	S22	0.176	3.531	1.744	0.814	1.850	3.225	1.464	0.104	0.031	0.556	0.389
D	S23	0.165	3.725	1.664	0.711	1.850	3.224	1.263	0.068	0.016	0.542	0.432
E	S24	0.491	3.042	3.166	0.079	2.067	4.021	1.114	0.054	0.061	0.802	0.563
E	S25	0.516	3.245	2.967	0.095	2.522	3.965	1.234	0.08	0.055	0.717	0.442
E	S26	0.506	3.985	2.886	0.067	2.412	3.766	0.987	0.063	0.094	0.809	0.532
E	S27	0.551	3.541	3.152	0.089	2.133	4.221	1.235	0.075	0.123	0.699	0.524
F	S28	0.635	5.194	4.158	1.074	2.969	3.111	1.038	0.112	0.622	1.026	0.706
F	S29	0.615	5.041	4.358	1.274	2.835	3.718	1.674	0.101	0.644	1.026	0.696
F	S30	0.568	4.812	3.772	1.496	3.022	3.971	1.744	0.092	0.521	0.815	0.634
F	S31	0.558	4.204	3.514	2.021	3.704	3.211	1.444	0.097	0.503	0.822	0.591
F	S32	0.706	4.315	3.624	2.291	3.706	3.326	1.453	0.102	0.588	0.748	0.614
G	S33	0.575	3.076	2.279	0.061	1.234	3.379	1.023	0.042	0.026	0.623	0.231
G	S34	0.464	3.049	2.098	0.047	1.655	3.312	0.897	0.036	0.022	0.806	0.303
G	S35	0.598	2.876	2.207	0.049	1.042	3.089	0.963	0.038	0.029	0.669	0.289
G	S36	0.535	3.004	2.201	0.054	1.407	3.343	0.875	0.034	0.036	0.705	0.222
H	S37	0.608	5.007	4.258	0.561	3.361	3.182	0.997	0.059	0.046	0.665	0.491
H	S38	0.483	4.752	3.419	0.796	2.984	3.306	1.131	0.066	0.029	0.594	0.525
H	S39	0.487	4.221	3.785	0.655	3.024	3.247	1.224	0.059	0.037	0.502	0.494
H	S40	0.506	4.597	4.014	0.704	3.221	3.452	1.033	0.079	0.013	0.470	0.397

2.5 化学计量学考察

2.5.1 箱式图 采用 Graphpad Prism 9 软件绘制,结果见图2。由此可知,不同厂家、批次样品中各成分含量存在差异,其中汉黄芩苷、甘草酸铵较稳定。

2.5.2 聚类分析 将共有峰峰面积导入 R4.2.1 软件进行分析,结果见图3。由此可知,40批样品聚为5类,其中厂家F的5批样品(S28~S32)聚

为第1类,厂家B、G的8批样品(S6~S9、S33~S36)聚为第2类,其余厂家样品聚为第3类且能各自聚类,并且厂家C、F样品中各成分含量较高,表明不同厂家、批次样品质量存在差异。

2.5.3 主成分分析(PCA) 将各成分含量导入 SIMCA 14.1 软件进行分析,结果见图4。由此可知,40批样品聚为3类,其中厂家F的5批样品聚为一类,厂家B、G的8批样品聚为一类,其余

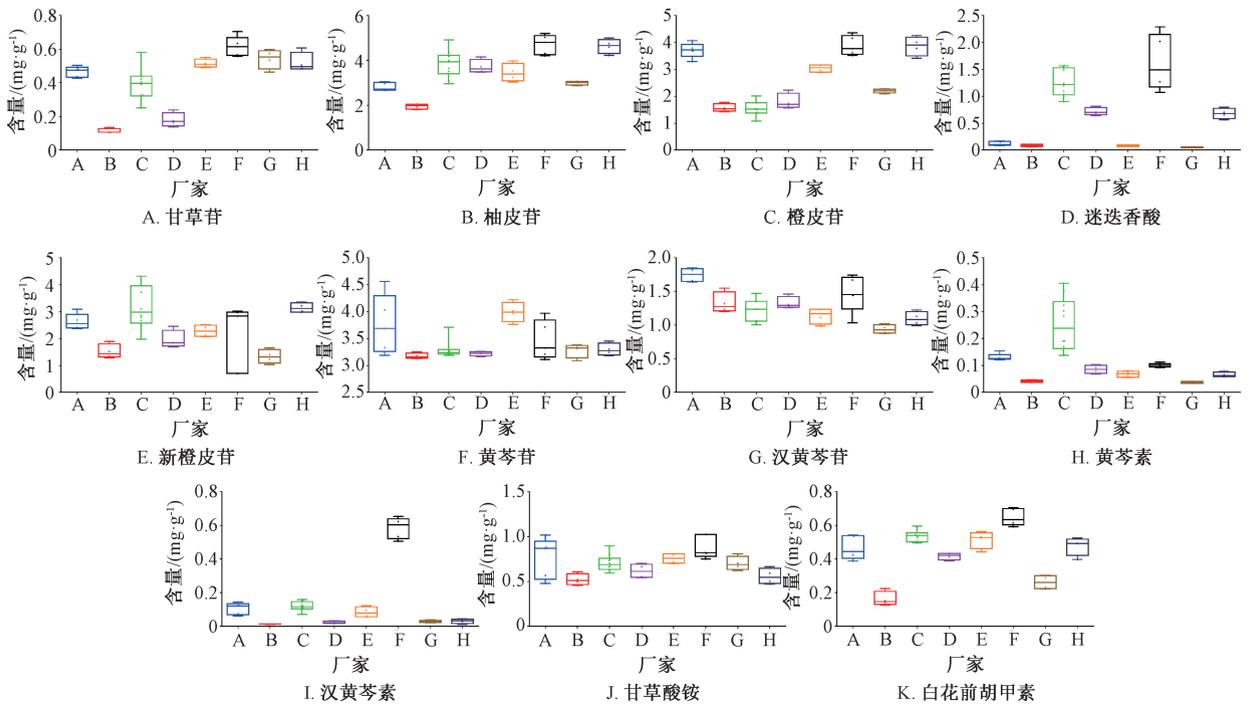


图2 各成分含量箱式图

Fig. 2 Box diagrams for contents of various constituents

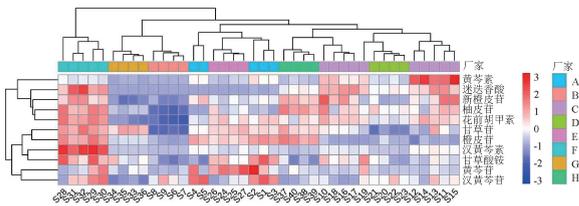


图3 40批通宣理肺丸聚类分析图

Fig. 3 Cluster analysis plot for 40 batches of Tongxuan Lifei Pills

厂家样品聚为一类，与聚类分析一致，并且均在95%的置信区间内。

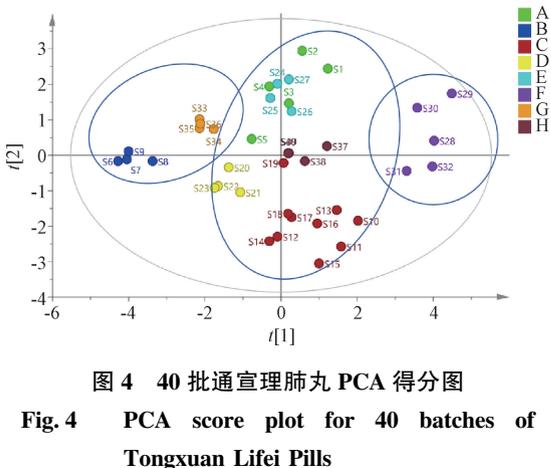


图4 40批通宣理肺丸PCA得分图

Fig. 4 PCA score plot for 40 batches of Tongxuan Lifei Pills

2.5.4 偏最小二乘判别分析 (PLS-DA) 将各成分含量导入 SIMCA 14.1 软件进行分析，结果见图 5A，可知稳定性参数 R^2Y 为 0.758，解释率参数

R^2X 为 0.961，预测能力参数 Q^2 为 0.608，表明模型稳定，预测能力强。再进行 200 次置换检验，结果见图 5B，可知 R^2 在 Y 轴上的截距为 0.158， Q^2 在 Y 轴上的截距为 -0.487，即 $R^2 > Q^2$ 且 Q^2 为负值，表明模型无过度拟合，可用于各批样品组间差异的判别分析。以 VIP 值 > 1 为筛选标准^[14]，共发现 6 种成分，其 VIP 值依次为黄芩苷 $>$ 汉黄芩苷 $>$ 黄芩素 $>$ 甘草苷 $>$ 汉黄芩苷 $>$ 新橙皮苷，可作为质量差异标志物，见图 5C。

2.5.5 因子分析 将各成分含量导入 SPSS 26.0 软件^[15]，提取特征值 > 0.8 的 4 个主成分，见表 4。根据公式 $PCA = \alpha / \lambda$ (λ 为特征值， α 为因子得分) 计算主成分得分 $PCA1 \sim PCA4$ ^[16]，再根据公式 $F = (0.416\ 92 \times PCA1 + 0.202\ 95 \times PCA2 + 0.117\ 19 \times PCA3 + 0.075\ 81 \times PCA4) / 0.812\ 86$ 计算综合得分 F ，结果见表 5，可知厂家 F 排名第一，C、A 次之，B、G 靠后。

表4 主成分特征值及方差贡献率

Tab. 4 Eigenvalues and variance contribution rates of principal components

主成分	特征值	方差贡献率/%	累积方差贡献率/%
1	4.586	41.692	41.592
2	2.232	20.295	61.987
3	1.289	11.719	73.705
4	0.834	7.581	81.286

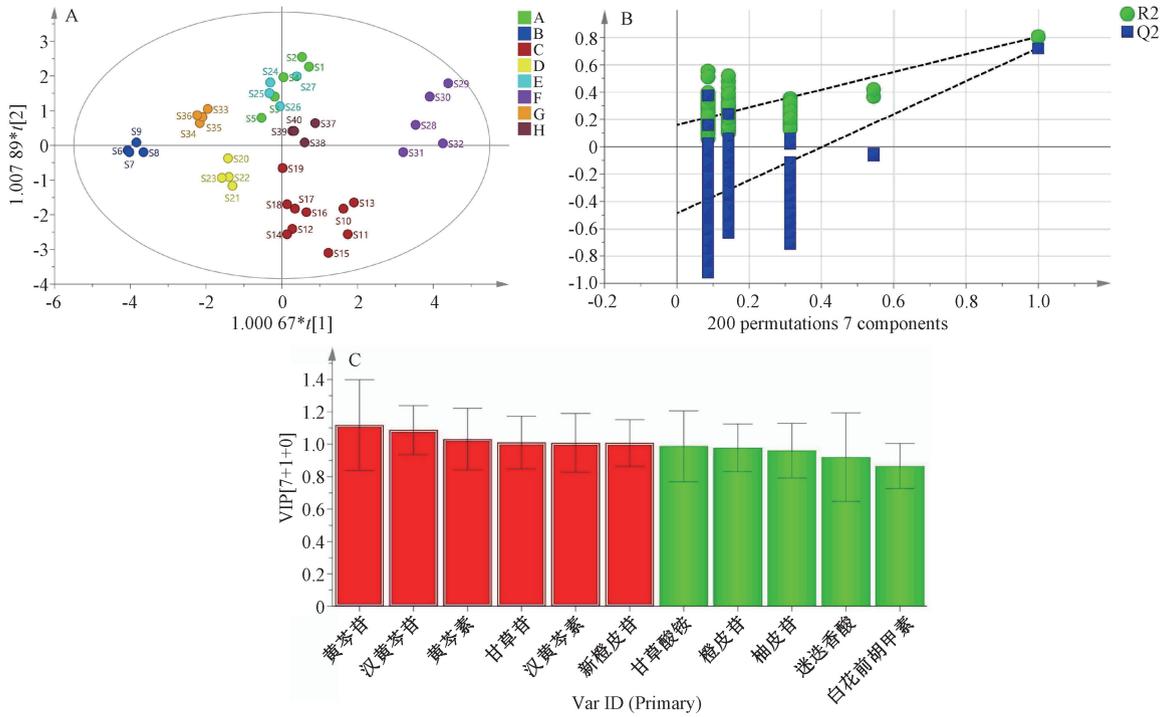


图 5 40 批通宣理肺丸 PLS-DA 图

Fig. 5 PLS-DA plots for 40 batches of Tongxuan Lifei Pills

表 5 主成分综合得分及排序

Tab. 5 Comprehensive scores and rankings for principal components

厂家编号	样品编号	PCA1	PCA2	PCA3	PCA4	F	排序
A	S1	-0.163	2.560	0.261	1.393	0.723	8
A	S2	-1.387	4.242	-0.549	0.982	0.360	13
A	S3	-0.534	1.195	0.296	0.886	0.150	19
A	S4	-1.289	1.292	0.283	1.724	-0.137	25
A	S5	-0.735	-1.400	0.699	1.917	-0.447	28
B	S6	-3.852	-1.969	0.216	0.705	-2.371	40
B	S7	-3.696	-1.526	0.092	0.345	-2.231	38
B	S8	-3.032	-1.428	0.119	0.372	-1.860	37
B	S9	-3.746	-1.884	0.239	1.331	-2.233	39
C	S10	2.592	-0.479	-0.975	-0.542	1.019	6
C	S11	2.277	-0.705	-1.825	-0.245	0.706	9
C	S12	0.417	-0.401	-2.185	-0.097	-0.210	26
C	S13	1.628	0.180	-1.613	0.156	0.662	10
C	S14	0.168	-0.178	-2.497	-0.261	-0.342	27
C	S15	1.635	-0.578	-2.793	0.227	0.313	14
C	S16	1.664	-0.810	-0.855	-0.932	0.441	11
C	S17	0.952	-0.803	-0.856	-0.860	0.084	20
C	S18	0.646	-0.332	-1.232	-0.631	0.012	22
C	S19	-0.393	1.578	-1.504	-0.071	-0.031	23
D	S20	-1.087	-0.910	0.053	0.078	-0.770	30
D	S21	-0.623	-0.948	-0.567	-0.063	-0.644	29
D	S22	-1.191	-1.533	-0.338	0.679	-0.979	32
D	S23	-1.166	-1.524	-0.157	0.052	-0.996	33
E	S24	-1.167	2.776	0.219	-0.692	0.061	21
E	S25	-1.104	2.003	0.204	-0.317	-0.066	24
E	S26	-0.312	1.945	0.356	-1.240	0.261	15
E	S27	-0.918	2.735	0.303	-0.345	0.223	16

续表5

厂家编号	样品编号	PCA1	PCA2	PCA3	PCA4	F	排序
F	S28	4.113	0.264	1.462	-0.783	2.314	2
F	S29	3.663	1.409	1.276	1.108	2.518	1
F	S30	2.892	0.936	0.883	1.435	1.978	4
F	S31	3.714	-1.318	0.989	0.796	1.793	5
F	S32	4.353	-1.329	1.277	0.819	2.161	3
G	S33	-2.215	0.133	1.004	-1.041	-1.055	36
G	S34	-1.871	0.633	0.537	-1.427	-0.857	31
G	S35	-2.024	-0.191	1.096	-1.292	-1.048	35
G	S36	-2.162	0.296	0.906	-1.434	-1.038	34
H	S37	1.609	-0.692	1.655	-1.184	0.780	7
H	S38	1.054	-0.841	0.943	-0.679	0.403	12
H	S39	0.653	-1.340	1.295	-0.170	0.171	18
H	S40	0.635	-1.061	1.281	-0.699	0.180	17

3 讨论

3.1 色谱条件、提取工艺选择 本实验参照文献[10]报道,选择70%乙醇超声提取、流动相乙腈-磷酸、柱温30℃、检测波长250nm。另外,体积流量为0.3 mL/min时,会大大延长洗脱时间;为0.6 mL/min时,分离度较差;为0.5 mL/min时,洗脱效果理想,各成分色谱峰峰形、分离度良好,符合2020年版《中国药典》^[17]要求。

3.2 含量分析 40批通宣理肺丸中各成分含量在不同厂家中具有明显差异,如紫苏叶中迷迭香酸,可能是因干燥、灭菌等工艺或药品包装材料所致。聚类分析、PCA发现,不同厂家可基本实现聚类,但个别批次样品的质量不稳定;PLS-DA分析发现,制剂主要差异成分为黄芩苷、汉黄芩苷、甘草苷、黄芩素、汉黄芩素、新橙皮苷,其中黄芩中黄芩苷、汉黄芩苷含量受炮制温度影响较大,黄芩素、汉黄芩素含量在不同厂家之间的差异可能与黄芩炮制或生产过程中干燥等工艺相关^[18],但黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素是黄芩主要活性物质和指标成分^[19-20],具有止血、抗炎、抗病毒等药理作用,故仅靠黄芩素、汉黄芩素含量来判断药材质量不够全面,后期需针对性地对其炮制工艺及药效进行研究。另外,因子分析结合综合得分发现,厂家F排名第一,其所生产的样品中11种成分含量均较高,进一步证明上述方法的可靠性。

4 结论

本实验选择通宣理肺丸中甘草所含甘草苷、甘草酸铵,枳壳所含柚皮苷、新橙皮苷,陈皮所含橙皮苷,紫苏叶所含迷迭香酸,黄芩所含黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素,前胡所含白花前胡甲素作为指标成分,可体现该制剂君臣佐使配伍情况,科学性较好。再建立UPLC法同时测定上述成

分含量,该方法准确可靠,可为通宣理肺丸质量评价提供参考依据。然后,采用化学计量学评价通宣理肺丸质量,发现其整体上稳定。

参考文献:

- [1] 邱怡敏.玉屏风散联合通宣理肺丸治疗变应性鼻炎的临床效果分析[J].中国社区医师,2020,36(33):112-113.
- [2] 曾奕敏,曾荣.通宣理肺丸联合酮替芬治疗支气管哮喘临床观察[J].光明中医,2021,36(24):4233-4234.
- [3] 张静.柴胡桂枝汤复方化学成分表征及抗肝郁脾虚外感模型药效及其相关性研究[D].济南:山东中医药大学,2019.
- [4] 尹继瑶,胡静,沈霞,等.基于指纹图谱和网络药理学的肾复康II号胶囊的药效物质和质量控制研究[J].中国现代应用药学,2023,40(13):1765-1774.
- [5] 杨亦柳,于倩,肖凤琴,等.基于网络药理学和化学计量学方法预测桔梗的质量标志物[J].中国现代应用药学,2023,40(13):1785-1794.
- [6] 徐蓓蕾,孙文斌,王昊,等.基于指纹图谱和网络药理学的秦皮质量标志物(Q-Marker)预测分析[J].中草药,2023,54(15):5019-5032.
- [7] 苏亚菲,张云,薛柯,等.不同采收期连翘HPLC指纹图谱建立及质量标志物预测分析、网络药理学研究[J].中成药,2023,45(4):1177-1183.
- [8] 李运,王苗,张国强,等.通宣理肺丸HPLC指纹图谱建立及7种成分测定[J].中成药,2021,43(10):2630-2636.
- [9] 周军,王杰,蔡霞.高效液相色谱法快速测定通宣理肺浓缩丸中6种成分的含量[J].中国药学杂志,2013,48(21):1856-1859.
- [10] 刘靖,靳婉君,郭朝晖,等.一测多评法同时测定通宣理肺丸中9种成分的含量[J].中成药,2025,47(1):7-13.
- [11] 浩文婷,靳婉君,刘康康,等.基于多波长法测定心脑血管胶囊中多种成分并对不同厂家药物的质量评价[J].中药材,2024,47(7):1745-1753.
- [12] 林炜鑫,王志康,杨念明,等.5个产地沉香质量评价和特征分析[J].中成药,2025,47(3):721-726.

- [13] 李卓群, 王海丽, 贵书琪, 等. 小儿感冒舒颗粒 HPLC 指纹图谱建立与化学模式识别[J]. 中国现代应用药学, 2021, 38(22): 2820-2825.
- [14] 周丽娟, 杨晓宁, 王雅芝, 等. 基于 HPLC-CAD 指纹图谱结合化学计量学方法分析不同产地北柴胡药材质量[J]. 中南药学, 2022, 20(10): 2253-2258.
- [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萁及同属药材[J]. 中草药, 2024, 55(5): 1709-1716.
- [16] 刘鑫, 蔺瑞丽, 倪琳, 等. 基于 HPLC 指纹图谱和多指标定量不同淫羊藿品种的比较研究[J]. 药物分析杂志, 2024, 44(9): 1613-1623.
- [17] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2020 年版一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 1571.
- [18] 林欢欢, 邵长鑫, 彭婷, 等. 黄芩炮制的历史沿革及现代研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2024, 30(3): 279-289.
- [19] Zhao T T, Tang H L, Xie L, et al. *Scutellaria baicalensis* Georgi. (Lamiaceae): A review of its traditional uses, botany, phytochemistry, pharmacology and toxicology[J]. *J Pharm Pharmacol*, 2019, 71(9): 1353-1369.
- [20] Hu L Q, Xiong Y, Zou Z R, et al. Identifying the chemical markers in raw and wine-processed *Scutellaria baicalensis* by ultra-performance liquid chromatography/quadrupole time-of-flight mass spectrometry coupled with multiple statistical strategies[J]. *Biomed Chromatogr*, 2020, 34(8): e4849.

基于 HPLC 指纹图谱、含量测定及酶活性评价不同企业建曲质量

王瑞生¹, 张振凌^{1,2*}, 陈祎甜³, 孙梦梅⁴, 朱建光^{1,2*}

(1. 河南中医药大学, 豫药全产业链研发河南省协同创新中心, 河南省中药特色炮制技术工程研究中心, 河南省中药饮片炮制中医药重点实验室, 河南 郑州 450008; 2. 呼吸疾病中医药防治省部共建协同创新中心, 河南 郑州 450008; 3. 洛阳市妇幼保健院, 河南 洛阳 471099; 4. 浙江苏可安药业有限公司, 浙江 杭州 310000)

摘要: 目的 评价不同企业建曲质量。方法 建立 HPLC 指纹图谱, 测定柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷、木犀草素、芹菜素含量, 以及淀粉酶、糖化酶、纤维素酶、蛋白酶(中性、酸性、碱性)活性, 再进行聚类分析。结果 18 批样品指纹图谱中有 28 个共有峰, 指出 11 个, 相似度 0.697~0.997。5 种成分含量分别为 0~0.022 7%、0.095 1%~0.326 2%、0~0.031 7%、0.000 7%~0.004 9%、0.004 0%~0.071 1%, 6 种酶活性分别为 8.71~88.25、17.67~370.13、7.97~61.21、5.21~22.05、5.13~20.66、6.22~20.96 U/g。各批样品聚为 4 类, 不同企业或同一企业不同批次的分类存在交叉。结论 不同企业建曲生产工艺不稳定, 应尽快规范其炮制工艺, 建立其质量标准。

关键词: 建曲; 质量评价; HPLC 指纹图谱; 含量测定; 酶活性; 聚类分析

中图分类号: R283

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2025)09-2848-08

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2025.09.004

Quality evaluation of Jianqu from different enterprises based on HPLC fingerprints, content determination and enzyme activity

WANG Rui-sheng¹, ZHANG Zhen-ling^{1,2*}, CHEN Yi-tian³, SUN Meng-mei⁴, ZHU Jian-guang^{1,2*}

(1. Henan Provincial Collaborative Innovation Center for Research and Development of Whole Industry Chain for Yu Yao, Henan Provincial Engineering Research Center for Special Processing Technology of Traditional Chinese Medicines, Henan Provincial Traditional Chinese Medicine Key Laboratory for Processing of Chinese Herbal Medicine Slices, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450008, China; 2. Collaborative Innovation Center for Traditional Chinese Medicine in Preventing and Treating of Respiratory Diseases Co-founded by Henan Province and MOST, Zhengzhou 450008, China;

收稿日期: 2025-01-20

基金项目: 国家公益行业专项-中药炮制技术传承基地建设(38103021-2022); 河南省科技研发计划联合基金项目(222301420076); 河南省高等学校重点科研项目计划(22B360004)

作者简介: 王瑞生(1990—), 男, 博士, 讲师, 从事中药饮片质量及其炮制机制研究。E-mail: wrsh900226@163.com

* 通信作者: 张振凌(1957—), 女, 教授, 从事中药饮片质量及其炮制机制研究。E-mail: zhangz6758@163.com

朱建光(1974—), 男, 博士, 教授, 从事中药饮片质量及其炮制机制研究。E-mail: 13503859285@139.com