

[科研报道]

基于谱效关系的通关藤质量标志物筛选

李思雨¹, 裴志东^{1*}, 王嘉唯¹, 于丹¹, 陈月华¹, 张慧^{1*}, 宋雅梅^{2*}

(1. 辽宁中医药大学药学院, 辽宁 大连 116600; 2. 辽宁中医药大学附属第三医院, 辽宁 沈阳 110003)

摘要: **目的** 基于谱效关系筛选通关藤质量标志物。**方法** 采用 HPLC-VWD-ELSD 法建立药材指纹图谱, MTT 法表征其抑制人肝癌细胞 SMMC-7721 增殖作用。灰色关联分析、聚类分析、正交偏最小二乘法-判别分析筛选质量标志物, UPLC-Q-TOF/MS 法鉴定其结构。**结果** 30 批药材指纹图谱中有 15 个共有峰 (VWD 条件下 11 个, ELSD 条件下 9 个, 两者重叠峰 5 个), 相似度均大于 0.9。各批药材平均细胞抑制率为 58.55%, 其中 S8 最高, 为 85.61%; S27 最低, 为 34.17%。各批药材聚为 4 类, VWD 条件下 3~6 号峰及 ELSD 条件下 6、8、12、14 号峰对抗肿瘤活性贡献较大, VWD 条件下 3、4、6、7 号峰及 ELSD 条件下 3、6、11、12、14 号峰 VIP 值均大于 1。质量标志物有 7 个, 分别为 tenacissoside G、tenacissoside H、tenacissoside I、tenacissoside C、marsdenoside C、tenacigenoside K、tenacigenoside A。**结论** 本实验确定了通关藤抗肿瘤作用的质量标志物, 可为该药材质量控制奠定基础。

关键词: 通关藤; 指纹图谱; 抗肿瘤活性; 谱效关系; 质量标志物

中图分类号: R282

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2025)07-2327-06

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2025.07.030

通关藤为萝藦科牛奶菜属植物通关藤 *Marsdenia tenacissima* (Roxb.) Wight et Arn. 的干燥藤茎, 始载于《滇南本草》^[1], 具有止咳平喘、祛痰、通乳、清热解毒等功效^[2], 其化学成分主要包括皂苷、多糖、有机酸等^[3], 其中皂苷是通关藤抗肿瘤主要药效物质^[4]。现代药理证实, 通关藤具有抗肿瘤、免疫调节作用^[5], 临床上用于治疗胃癌、肝癌等疾病^[6-7]。目前, 由通关藤水提物制成的消癌平片、胶囊、颗粒等系列制剂的上市厂家已达近百家, 但近年来临床用量剧增, 用药混乱现象严重^[8], 2020 年版《中国药典》以检测通关藤苷 H 含量来评价药材质量, 一方面缺乏专属性, 另一方面未以临床功效为导向, 未体现中药多成分、多靶点协同起效的整体性特点, 故亟待提高标准, 解决现有药典标准难以评价药材质量的难题。

2016 年, 刘昌孝院士^[9]提出了“质量标志物”概念, 有望解决中药质量控制体系中药量而不准的困局。本研究以抗肿瘤作用为导向, 在中药多成分相互作用整体性特点的前提下, 采用 HPLC-VWD-ELSD 法建立不同产地通关藤指纹图谱, 表征该药材体外抑制人肝癌 SMMC-7721 细胞增殖的作用, 结合灰色关联、正交偏最小二乘法-判别分析等化学识别模式进行谱效关系分析, 筛选质量标志物, 并

通过 UPLC-Q-TOF/MS 技术明确其结构, 以期完善相关质量评价体系奠定基础。

1 材料

1.1 仪器 Agilent 1260 高效液相色谱仪 (配置 VWD、ELSD 检测器)、Agilent 6550 三重四极杆高分辨质谱仪 (配置 Dual AJS ESI 离子源) (美国 Agilent 公司); 酶标仪、CO₂ 培养箱 (美国赛默飞世尔科技公司); CX31RTSF 型倒置显微镜 (日本 Olympus 公司)。

1.2 试剂与药物 人肝癌细胞 SMMC-7721、胎牛血清 (批号 BC20201201) (上海柏乾生物科技有限公司); Tenacissoside I、Tenacissoside G 对照品及环磷酰胺 (上海源叶生物科技有限公司, 批号 PM0529SB13、PM0529SA1、X22D8Y51136, 纯度 ≥ 98%); Tenacissoside H 对照品 (中国食品药品检定研究院, 批号 111913-201202, 纯度 ≥ 98%); PBS 缓冲液、DMEM 培养基 (大连美仑生物技术有限公司, 批号 MA0015-Mug-12G、MA0212-Aug-26G6)。

1.3 药材 通关藤共 30 批, 经辽宁中医药大学张慧教授鉴定为正品, 具体见表 1。

2 方法与结果

2.1 供试品溶液制备 取 30 批药材, 每批 50 g, 加 8 倍

收稿日期: 2024-04-12

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (82173935); 辽宁省教育厅面上项目 (LJKMZ20221312, LJKZ0893); 辽宁省教育厅重点攻关项目 (JYTZD2023198)

作者简介: 李思雨 (1994—), 女, 博士, 讲师, 从事中药品质评价研究。E-mail: lnzylsy@163.com

#共同第一作者: 裴志东 (1970—), 男, 硕士, 副教授, 从事中药质量、药事管理研究。E-mail: pzd87586078@163.com

*通信作者: 张慧 (1970—), 女, 博士, 教授, 从事中药质量评价、创新药物研究。E-mail: syyyccs@163.com

宋雅梅 (1974—), 女, 博士, 主任药师, 从事中药质量控制研究。E-mail: 1694682054@qq.com

网络出版日期: 2024-07-19

网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.1368.R.20240718.1052.002.html>

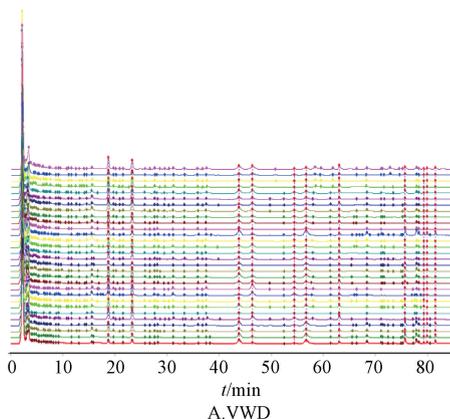
表 1 通关藤信息

编号	产地	来源	编号	产地	来源
S1	云南	亳州药材市场	S16	广西	亳州药材市场
S2	云南临沧	亳州药材市场	S17	广西玉林	亳州药材市场
S3	云南	亳州药材市场	S18	广西	亳州药材市场
S4	云南	亳州药材市场	S19	广西	亳州药材市场
S5	云南临沧	亳州药材市场	S20	贵州	安国药材市场
S6	云南	安国药材市场	S21	贵州	安国药材市场
S7	云南西双版纳	安国药材市场	S22	贵州	安国药材市场
S8	云南昆明	安国药材市场	S23	贵州	安国药材市场
S9	云南	安国药材市场	S24	贵州	安国药材市场
S10	云南临沧	安国药材市场	S25	贵州	安国药材市场
S11	云南昆明	安国药材市场	S26	贵州	安国药材市场
S12	广西	亳州药材市场	S27	广东	成都荷花池药材市场
S13	广西	亳州药材市场	S28	广东	成都荷花池药材市场
S14	广西玉林	亳州药材市场	S29	四川	成都荷花池药材市场
S15	广西	亳州药材市场	S30	四川	成都荷花池药材市场

量 70% 乙醇回流提取 3 次，每次 1.5 h，合并提取液，过滤，即得。取 400 mL，挥干，根据前期预实验测得的 IC₅₀ 值 (7.728 g/mL)，完全培养基制成相当于生药量 12.5 mg/mL 的溶液，0.22 μm 微孔滤膜过滤。

2.2 指纹图谱建立 采用 HPLC-VWD-ELSD 法。

2.2.1 色谱条件 Agilent Zorbax SB-C₁₈ 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm)；流动相水 (A)-乙腈 (B)，梯度洗脱 (0~15 min, 65%~61% A；15~16 min, 61%~60% A；16~33 min, 60%~58% A；33~55 min, 58% A；55~60 min, 58%~50% A；60~85 min, 50%~25% A)；体积流量 1 mL/min；柱温 30 ℃；检测波长 235 nm；进样量 15 μL；漂移管温度 80 ℃。



2.2.2 精密度试验 精密吸取供试品溶液 (S2) 适量，在“2.2.1”项色谱条件下进样测定 6 次，以 3 号峰 (tenacissoside I) 为参照，测得共有峰相对保留时间 RSD 为 0.27%~1.27%，相对峰面积 RSD 为 1.11%~2.76%，表明仪器精密度良好。

2.2.3 稳定性试验 精密吸取供试品溶液 (S2) 适量，室温下于 0、2、4、6、8、10 h 在“2.2.1”项色谱条件下进样测定，以 3 号峰为参照，测得共有峰相对保留时间 RSD 为 0.04%~2.07%，相对峰面积 RSD 为 0.11%~2.99%，表明溶液在 10 h 内稳定性良好。

2.2.4 重复性试验 按“2.1”项下方法制备供试品溶液 (S2) 6 份，在“2.2.1”项色谱条件下进样测定，以 3 号峰为参照，测得共有峰相对保留时间 RSD 为 0.26%~1.91%，相对峰面积 RSD 为 0.93%~2.92%，表明该方法重复性良好。

2.2.5 图谱生成及相似度评价 精密吸取 30 份供试品溶液，在“2.2.1”项色谱条件下进样测定，将相关数据导入“中药指纹图谱相似度评价系统软件”，采用中位数法，对照图谱见图 1，指纹图谱见图 2，可知在 VWD 条件下有 11 个共有峰，ELSD 条件下有 9 个共有峰，两者重叠峰有 5 个，最终确定为 15 个，相似度均大于 0.9。

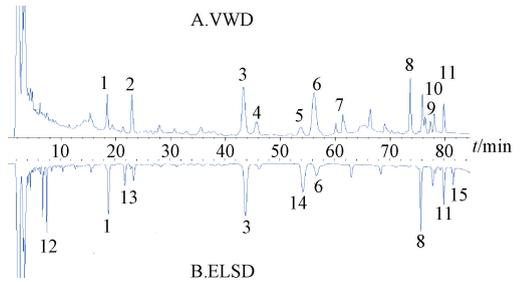


图 1 30 批通关藤对照图谱

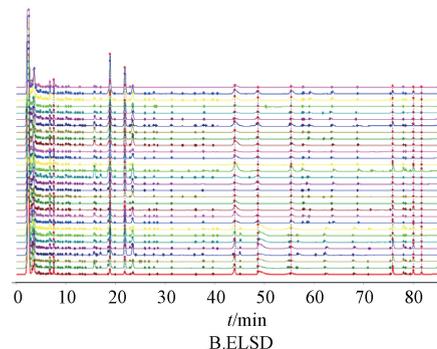


图 2 30 批通关藤 HPLC 指纹图谱

2.3 对人肝癌细胞 SMMC-7721 的抑制作用 取对数生长期细胞悬液 100 μL，接种于 96 孔板中，置于 37 ℃、含 5% CO₂ 的培养箱中孵育 24 h，设置加药试验孔 (加入 200 μL 生药量为 12.5 mg/mL 的供试品溶液)、空白孔 (加入等量完全培养基)，每组 5 个复孔，继续孵育 48 h，加入 180 μL 完全培养基及 20 μL MTT 溶液 (5 mg/mL)，继续培养 4 h 后

吸出液体，加入 150 μL DMSO，摇床上振荡，在 492 nm 波长处测定光密度 (OD)^[10-11]，计算细胞抑制率，结果见图 3。由此可知，平均细胞抑制率为 58.55%，其中 S8 最高，为 85.61%；S27 最低，为 34.17%，表明各批药材对 SMMC-7721 细胞均具有抑制作用，并且呈现明显差异。

2.4 化学计量学研究

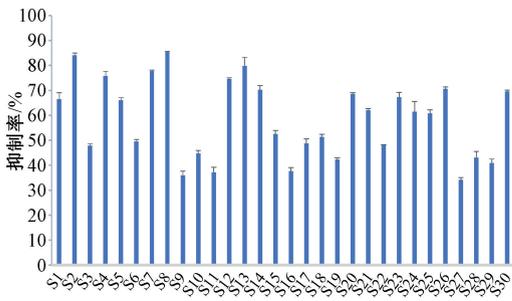


图3 通关藤对 SMMC-7721 细胞的抑制率

2.4.1 灰色关联分析 采用 SPSSAU 在线软件 (<https://spssau.com/analytical-services>), 以不同批次药材细胞抑制率(效)为母数列, 同一批次药材共有峰峰面积(谱)为子序列, 计算谱效关联度, 峰面积关联度 >0.6 时, 共有峰与药效呈相关性; 关联度 >0.8 时, 两者呈高度相关性^[12], 结果见表2、图4。由此可知, 抗肿瘤活性与 VWD 条件下共有峰峰面积的关联度由大到小依次为6号峰(V6)、3号峰(V3)、5号峰(V5)、4号峰(V4)、8号峰(V8)、2号峰(V2)、9号峰(V9)、7号峰(V7)、1号峰(V1)、11号峰(V11)、10号峰(V10), 均大于0.7; 与 ELSD 条件

下共有峰峰面积的关联度由大到小依次为8号峰(E8)、6号峰(E6)、12号峰(E12)、14号峰(E14)、13号峰(E13)、15号峰(E15)、11号峰(E11)、3号峰(E3)、1号峰(E1), 均大于0.8, 表明该作用是多成分共同作用的结果, 其中V6、V3、V5、V4、E8、E6、E12、E14号峰贡献较大。

表2 抗肿瘤活性与共有峰峰面积的关联度

峰号	VWD		峰号	ELSD	
	关联度	排序		关联度	排序
V1	0.754	9	E12	0.909	3
V2	0.778	6	E1	0.883	9
V3	0.811	2	E13	0.899	5
V4	0.800	4	E3	0.883	8
V5	0.809	3	E14	0.900	4
V6	0.829	1	E6	0.910	2
V7	0.773	8	E8	0.916	1
V8	0.790	5	E11	0.885	7
V9	0.774	7	E15	0.887	6
V10	0.747	11			
V11	0.752	10			

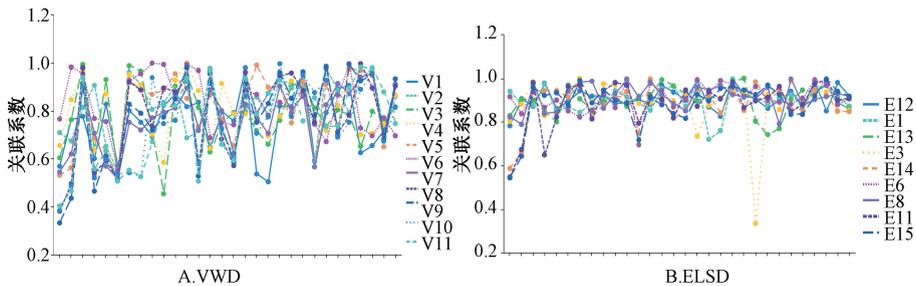


图4 抗肿瘤活性与共有峰峰面积的关联度

2.4.2 聚类分析 将共有峰峰面积导入迈维生信云平台 (<https://cloud.metware.cn>), 按照文献 [13] 报道进行数据处理, 绘制纵向为聚类特征成分含量、横向为聚类样品的热图, 其中绿色代表低表达, 红色代表高表达, 结果见图5。由此可知, 在 VWD 条件下各批样品聚为4类, S1~S2、S4、S13为I类, S3、S7~S8、S11~S12、S15、

S17~S19、S21、S23~S26、S30为II类, S5、S9~S10、S16、S27~S28为III类, S6、S14、S20、S22、S29为IV类; ELSD条件下各批样品聚为4类, S1~S2、S4、S6~S7、S12~S13、S18为I类, S3、S11、S17、S19、S22~S24为II类, S5、S8~S9、S28~S30为III类, S10、S14~S16、S20~S21、S25~S27为IV类。

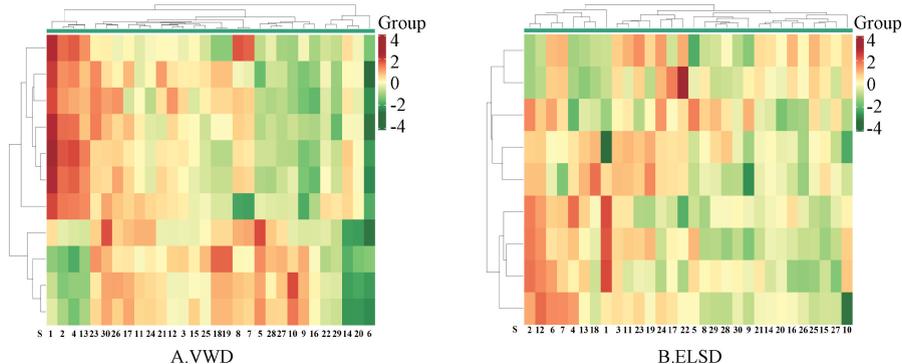


图5 共有峰峰面积聚类热图

2.4.3 正交偏最小二乘法-判别分析 (OPLS-DA) 以共有峰峰面积为自变量, 抗肿瘤活性因变量, 导入 SIMCA

14.1 软件构建 OPLS-DA 模型, 将离散值 S1 剔除来进行优化, 结果见图6, 可知 R^2Y 分别为 0.667、0.629, 表明数据

对模型具有良好的解释能力。为了进一步验证模型可靠性，进行200次随机排列实验，结果见图7，可知以纵轴截距为负值时未存在过度拟合现象。再以VIP值>1为条件筛选对

抗肿瘤药效贡献较大的共有峰作为质量标志物，结果见图8，可知V6、V4、V3、V7、E3、E11、E6、E12、E14的VIP值均大于1，与灰色关联分析基本一致。

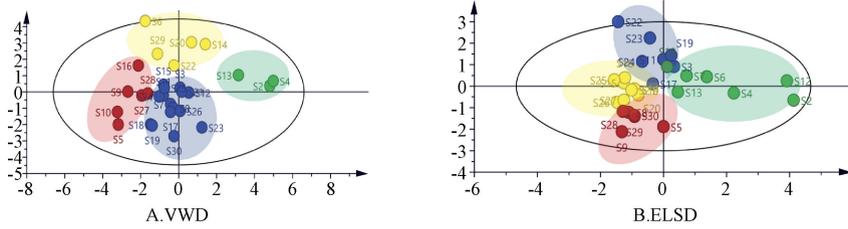


图6 OPLS-DA得分图

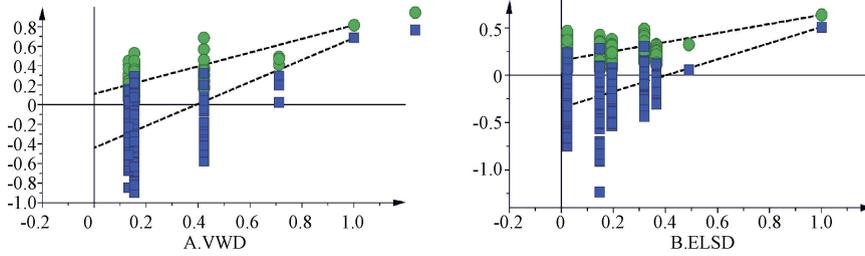


图7 OPLS-DA置换检验图 (n=200)

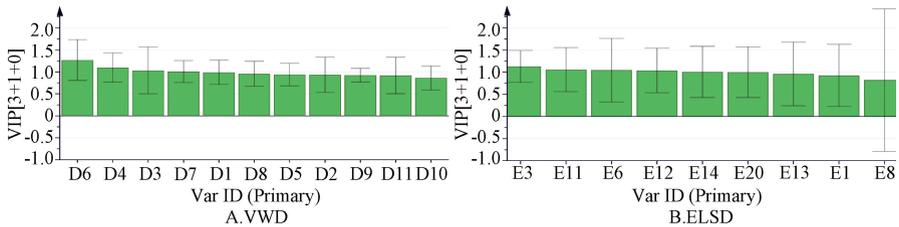


图8 共有峰峰面积VIP值

2.5 结构鉴定

2.5.1 色谱条件 同“2.2.1”项。

2.5.2 质谱条件 电喷雾离子源 (ESI); 正负离子扫描; 干燥气体积流量 14 L/min; 鞘气温度 360 °C; 毛细管电压 3 500 V; 雾化器压力 35 psi (1 psi=6.895 kPa); 碎裂电压 175 V; 二级质谱碰撞电压 40 eV; 扫描范围 m/z 100 ~ 1 500。

2.5.3 结果分析 采用 Agilent MassHunter Qualitative

Analysis 软件对质谱图进行分析，总离子流图 (正离子模式) 见图9，与对照品及文献 [14-19] 比对，获得精准分子量及二级碎片离子，初步推断色谱峰对应化合物的信息，结果见表3。由此可知，质量标志物有7个，分别为 tenacissoside G、tenacissoside H、tenacissoside I、tenacissoside C、marsdenoside C、tenacigenoside K、tenacigenoside A。

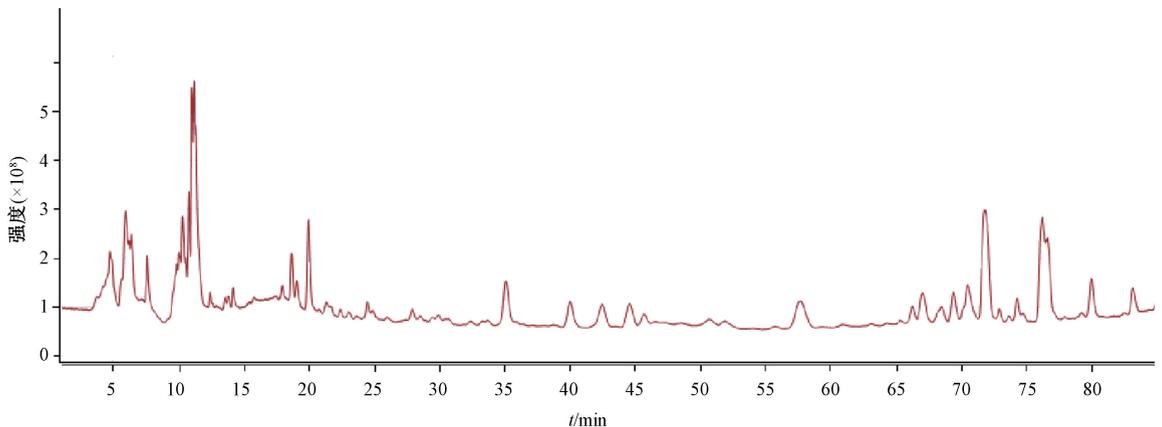


图9 通关藤总离子流图 (正离子模式)

表3 质量标志物结构鉴定结果

峰号	名称	分子式	理论值 m/z	实测值 m/z	误差($\times 10^6$)	子离子 m/z
3	tenacissoside I*	C ₄₄ H ₆₂ O ₁₄	837.403 2	837.404 1 [M+Na] ⁺	1.07	656.341 7
4	tenacissoside C	C ₅₃ H ₇₆ O ₁₉	1 039.487 3	1 039.487 0 [M+Na] ⁺	-0.29	876.212 1
6	tenacissoside G*	C ₄₂ H ₆₄ O ₁₄	815.418 8	815.419 1 [M+Na] ⁺	0.37	655.345 5, 113.058 4
7	marsdenoside C	C ₄₇ H ₆₈ O ₁₄	879.450 1	879.450 6 [M+Na] ⁺	0.57	757.411 4
11	tenacigenoside K	C ₄₅ H ₇₀ O ₁₉	937.440 4	937.440 5 [M+Na] ⁺	0.11	877.416 2
12	tenacigenoside A	C ₃₅ H ₅₆ O ₁₂	667.369 9	667.366 7 [M-H] ⁻	-4.79	507.338 1
14	tenacissoside H*	C ₄₂ H ₆₆ O ₁₄	817.434 5	817.435 6 [M+Na] ⁺	1.35	757.413 3, 655.346 8

注：*表示经对照品比对。

3 讨论与结论

通关藤中主要含有甾体皂苷、多糖等成分，其中甾体皂苷是抗肿瘤主要活性物质。为了尽可能建立全成分的通关藤指纹图谱，本实验采用 HPLC-VWD-ELSD 法，对该药材中有紫外吸收和弱紫外吸收的成分进行检测，尽可能达到多成分表征的目的。

化学计量学方法包括偏最小二乘回归分析 (PLSR)、正交偏最小二乘法-判别分析 (OPLS-DA) 等，是目前筛选中药质量标志物的一种简单、有效的手段。OPLS-DA 可排除自变量多重性的干扰，有效滤除与分类信息无关的噪音，从而提高了模型的解析能力和有效性^[20-22]，故本研究选择该方法对通关藤指纹图谱与体外抗肿瘤药效进行相关性分析。同时，指出通关藤基于抗肿瘤的 7 种主要活性成分，其中 tenacissoside G、H、I 可逆转卵巢癌细胞紫杉醇的耐药性^[23]、tenacigenoside A 可体外抑制伯基特淋巴瘤细胞增殖^[24]、tenacissoside C 可抑制血液肿瘤细胞增殖同时促进其凋亡^[25]等，佐证了本研究结果的正确性。

中药质量标志物以中医理论为基础，临床有效性为导向，成分专属性、可测性为依据，注重质量属性的本性，作为 2020 年版《中国药典》的补充，可为中药质量评价提供有效的手段^[26-27]。本研究采用 HPLC-VWD-ELSD 法建立 30 批通关藤指纹图谱，以抗肿瘤药效为导向，在遵循药材原有含量和比例的基础上采用谱效关联分析，确定质量标志物，并对其结构进行鉴定，体现了中药质量具有功效特异性和整体性的双重属性。

综上所述，本研究确定通关藤中基于抗肿瘤作用的质量标志物为 tenacissoside G、tenacissoside H、tenacissoside I、tenacissoside C、marsdenoside C、tenacigenoside K、tenacigenoside A，可为该药材质量控制体系的建立奠定基础，也为解决 2020 年版《中国药典》难以评价其质量的问题提供理论依据。

参考文献:

[1] 贾祎萍, 吴子薇, 李晓波, 等. 通关藤化学成分及其细胞毒活性[J]. 中成药, 2023, 45(9): 2910-2916.
[2] 陈敏, 李媛媛, 李先荣, 等. 通关藤化学、药理学和药代动力学研究进展[J]. 现代中药研究与实践, 2012, 26(6): 77-81.
[3] 胡玉洁, 魏兰懿, 赵娟, 等. 基于网络药理学及实验验证

探究通关藤治疗卵巢癌的作用机制[J]. 中国中药杂志, 2023, 48(8): 2222-2232.
[4] 王庆亮, 曹君, 葛明华, 等. C₂₁甾体苷类化合物的抗肿瘤作用和临床应用进展[J]. 肿瘤学杂志, 2014, 20(9): 762-767.
[5] 于绍帅, 陈明苍, 李志雄, 等. 通关藤的化学成分与药理活性研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(21): 279-283.
[6] 吴子薇, 李晓波, 麻文谦, 等. 通关藤注射液研究进展[J]. 上海中医药大学学报, 2023, 37(4): 71-82.
[7] 谢丽艳, 居文政, 周玲, 等. 通关藤及其制剂的药理作用和临床应用进展[J]. 现代药物与临床, 2011, 26(6): 439-443.
[8] 陈一笑, 王威宇, 冯建有, 等. 基于分子生物学及代谢组学的柴胡注射液抗肝癌作用机制研究[J]. 中草药, 2023, 54(17): 5590-5600.
[9] 冷彩云, 张慧, 乔佳, 等. 通关藤及其混淆品的鉴别研究[J]. 时珍国医国药, 2014, 25(4): 874-875.
[10] 刘昌孝. 中药质量标志物 (Q-Marker) 研究发展的 5 年回顾[J]. 中草药, 2021, 52(9): 2511-2518.
[11] 张紫嫣, 包永睿, 王帅, 等. 复方木鸡颗粒对人肝癌细胞 SMMC-7721 细胞周期和细胞凋亡的影响[J]. 中草药, 2020, 51(3): 407-410.
[12] 杨欣欣, 张云坤, 王帅, 等. 基于相关性分析的中药路路通抗肝肿瘤谱效关系研究[J]. 辽宁中医杂志, 2022, 49(6): 159-163.
[13] 林婧, 梁洁, 黄春燕, 等. 壮药华佗豆不同极性部位 HPLC 指纹图谱的建立及其镇痛抗炎作用的谱效关系[J]. 中国药房, 2021, 32(17): 2079-2084.
[14] 何江, 尚芳红, 李隆云, 等. 佛手指纹图谱的建立及抗氧化谱效关系研究[J]. 中草药, 2023, 54(23): 7841-7852.
[15] 廖辉, 单晓庆, 王林, 等. 通关藤中甾体化合物的电喷雾质谱裂解规律研究[J]. 质谱学报, 2010, 31(2): 103-109.
[16] Deng J, Liao Z X, Chen D F, et al. Marsdenosides A-H, polyoxypregnane glycosides from *Marsdenia tenacissima*[J]. *Phytochemistry*, 2005, 66(9): 1040-1051.
[17] Chen J J, Li X Y, Sun C R, et al. Identification of polyoxypregnane glycosides from the stems of *Marsdenia tenacissima* by high-performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry[J]. *Talanta*, 2008, 77(1): 152-159.

- [18] Luo S Q, Lin L Z, Cordell G A, et al. Polyoxypregnanes from *Marsdenia tenacissima*[J]. *Phytochemistry*, 1993, 34(6): 1615-1620.
- [19] Zeng Q H, Zhang F, Gao S H, et al. Simultaneous determination of six C₂₁ steroids of Xiao-Ai-Ping injection in rat plasma by LC-MS/MS [J]. *Biomed Chromatogr*, 2014, 28(2): 223-230.
- [20] 胡超, 赵洪庆, 刘检, 等. 基于谱效关系及活性验证的百合地黄汤抗抑郁成分研究[J]. *药学报*, 2024, 59(5): 1364-1373.
- [21] 涂济源, 柯畅, 王燕, 等. 子芩与枯芩 UPLC 指纹图谱建立及抗炎作用的谱效关系研究[J]. *中药材*, 2023, 46(6): 1454-1461.
- [22] 孙飞, 吴相亲, 戚悦, 等. 基于偏最小二乘算法探究山楂和焦山楂消食健脾功效成分[J]. *中国中药杂志*, 2023, 48(4): 958-965.
- [23] 孔欠文, 胡玉洁, 薛晓川, 等. 通关藤中4种C₂₁甾体化合物逆转卵巢癌细胞紫杉醇耐药的作用评价[J]. *中国药理学杂志*, 2022, 57(9): 706-717.
- [24] Li D, Li C P, Song Y Z, et al. *Marsdenia tenacissima* extract and its functional components inhibits proliferation and induces apoptosis of human Burkitt leukemia/lymphoma cells *in vitro* and *in vivo*[J]. *Leuk Lymphoma*, 2016, 57(2): 419-428.
- [25] 薛红利, 黄学娣, 何东, 等. 通光藤提取物对血液肿瘤细胞株增殖和凋亡的影响[J]. *四川大学学报(医学版)*, 2012, 43(2): 174-179.
- [26] 徐园园, 王明慧, 魏永利, 等. 中药质量标志物(Q-Marker)的科学计量分析[J]. *中草药*, 2024, 55(4): 1297-1308.
- [27] 白钢, 张铁军, 刘昌孝, 等. 基于监管科学的中药质量评价方法的整合研究思路和发展方向[J]. *中草药*, 2022, 53(20): 6313-6318.

基于 HPLC 指纹图谱结合化学模式识别评价十五味龙胆花丸质量

邱毅¹, 德央¹, 郭丽萍¹, 王涛², 达娃卓玛¹, 李文兵², 兰钧^{1*}

[1. 西藏自治区食品药品检验研究院, 国家药品监督管理局中药(藏药)质量控制重点实验室, 西藏拉萨 850000; 2. 西南民族大学, 青藏高原民族药用资源保护与利用国家民委重点实验室, 四川省羌彝药用资源保护与利用技术工程实验室, 四川成都 610225]

摘要: 目的 评价十五味龙胆花丸质量。方法 建立 HPLC 指纹图谱, 分析采用 Agilent 5 HC C₁₈ 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相 0.1% 磷酸-乙腈, 梯度洗脱; 体积流量 1.0 mL/min; 柱温 30 ℃; 检测波长 254 nm, 再进行主成分分析、聚类分析。结果 8 个厂家 115 批样品中有 9 个共有峰, 除 3 个厂家个别样品外, 同一厂家不同批次的相似度均大于 0.950, 而不同厂家的在 0.903~0.986 之间。2 个主成分累积方差贡献率为 74.899%, 各厂家样品根据不同距离聚为 2 类、3 类或 4 类。结论 HPLC 指纹图谱结合化学模式识别稳定可靠, 可为十五味龙胆花丸的质量控制提供参考。

关键词: 十五味龙胆花丸; 质量评价; HPLC 指纹图谱; 主成分分析; 聚类分析

中图分类号: R283.6

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2025)07-2332-04

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2025.07.031

十五味龙胆花丸为藏医经典方剂, 记载于《藏医医诀补遗》^[1], 由白花龙胆、檀香、诃子等 15 味中藏药材组成, 具有清热理肺、止咳化痰之功, 用于支气管炎、肺气肿、咳嗽气喘、声音嘶哑的治疗^[2], 对慢性支气管炎^[3]、咳嗽变异性哮喘^[4-5] 临床效果显著。目前, 国内有 8 个厂家生产十五味龙胆花丸, 但该制剂现行法定标准较简单, 仅规定了性状^[6], 难以对其质量进行有效控制和评价。因此, 本实验建立十五味龙胆花丸 HPLC 指纹图谱, 并采用主成分分析、聚类分析进行化学模式识别, 以期为该制剂质量评价

提供参考。

1 材料

1.1 仪器 Waters 2695-2998 型高效液相色谱仪 (美国 Waters 公司); ME55 型电子天平 (瑞士 Mettler-Toledo 公司); GWB-1T/2T 型超纯水器 (北京普析通用仪器有限责任公司); KQ5200DB 型超声波清洗器 (昆山市超声仪器有限公司)。

1.2 试剂与药物 丁香酚 (批号 110725-202318, 纯度 99.6%)、甘草酸铵 (批号 110731-202122, 纯度 94.4%)、

收稿日期: 2025-01-03

基金项目: 西藏自治区食品药品检验研究院-国家药品监督管理局中药(藏药)质量控制重点实验室资助项目 (XZSYJY-KY-2023-06)

作者简介: 邱毅 (1994—), 男, 药师, 从事藏药质量标准及其质量控制研究。E-mail: 1124288110@qq.com

*通信作者: 兰钧 (1984—), 女, 主管药师, 从事藏药质量标准及其质量评价研究。E-mail: 623793676@qq.com