

UPLC-MS/MS 法同时测定青果丸中 15 种成分的含量

南丹慧¹, 姚昱吏¹, 康荣峰¹, 马海棠¹, 刘晓玲¹, 李运^{2*}, 杨扶德^{1*}

(1. 甘肃中医药大学药学院, 甘肃兰州 730000; 2. 兰州市食品药品检验检测研究院, 甘肃兰州 730050)

摘要: **目的** 建立 UPLC-MS/MS 法同时测定青果丸中没食子酸、绿原酸、隐绿原酸、木犀草苷、异绿原酸 C、槲皮素、蝙蝠葛苏林碱、哈巴俄苷、木犀草素、黄芩素、甲基麦冬黄烷酮 B、蝙蝠葛碱、芍药苷、黄芩苷、汉黄芩素的含量。**方法** 分析采用 Brownlee SPP C₁₈ 色谱柱 (2.1 mm×100 mm, 2.7 μm); 流动相水 (含 0.1% 甲酸、5 mmol/L 乙酸铵) -乙腈, 梯度洗脱; 体积流量 0.3 mL/min; 柱温 35 °C; 电喷雾离子源; 正负离子扫描; 多反应监测模式。再进行聚类分析、主成分分析、正交偏最小二乘判别分析。**结果** 15 种成分在各自范围内线性关系良好 ($R^2 > 0.9988$), 平均加样回收率 94.52% ~ 106.39%, RSD 0.21% ~ 3.94%。22 批样品聚为 4 类, 4 个主成分累积方差贡献率为 83.808%, 主要差异成分为异绿原酸 C、木犀草苷、没食子酸、绿原酸、隐绿原酸、甲基麦冬黄烷酮 B、蝙蝠葛苏林碱。**结论** 该方法准确灵敏, 可用于青果丸的质量评价。

关键词: 青果丸; 化学成分; 含量测定; UPLC-MS/MS; 聚类分析; 主成分分析; 正交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(2026)05-1436-08

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2026.05.002

Simultaneous content determination of fifteen constituents in Qingguo Pills by UPLC-MS/MS

NAN Dan-hui¹, YAO Yu-li¹, KANG Rong-feng¹, MA Hai-tang¹, LIU Xiao-ling¹, LI Yun^{2*}, YANG Fu-de^{1*}

(1. College of Pharmacy, Gansu University of Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China; 2. Lanzhou Municipal Institute of Food and Drug Control, Lanzhou 730050, China)

ABSTRACT: **AIM** To establish a UPLC-MS/MS method for the simultaneous content determination of gallic acid, chlorogenic acid, cryptochlorogenic acid, luteoloside, isochlorogenic acid C, quercetin, daurisolone, harpagoside, luteolin, baicalein, methylophopogonanone B, dauricine, paeoniflorin, baicalin and wogonin in Qingguo Pills. **METHODS** The analysis was performed on a 35 °C thermostatic Brownlee SPP C₁₈ column (2.1 mm×100 mm, 2.7 μm), with the mobile phase comprising of water (containing 0.1% formic acid and 5 mmol/L ammonium acetate) -acetonitrile flowing at 0.3 mL/min in a gradient elution manner, and electron spray ionization source was adopted in positive and negative ion scanning with multiple reaction monitoring mode. Subsequently, cluster analysis, principal component analysis and orthogonal partial least squares discriminant analysis were performed. **RESULTS** Fifteen constituents showed good linear relationships within their own ranges ($R^2 > 0.9988$), whose average recoveries were 94.52% - 106.39% with the RSDs of 0.21% - 3.94%. Twenty-two batches of samples were clustered into four categories, four principal components demonstrated the accumulative variance contribution rate of 83.808%, isochlorogenic acid C, luteoloside, gallic acid, chlorogenic acid, cryptochlorogenic acid, methylophopogonanone B and daurisolone were taken as differential components.

收稿日期: 2025-10-21

基金项目: 国家药品监督管理局中药材及饮片质量控制重点实验室项目 (2024GSMPA-KL); 2021 年度甘肃高等学校产业支撑计划项目 (2021CYZC-40); 兰州市人才创新创业项目 (2023-RC-9)

作者简介: 南丹慧 (2001—), 女, 硕士生, 从事中药鉴定及其品质评价研究。E-mail: 18894305376@163.com

* **通信作者:** 李运 (1985—), 男, 博士, 高级工程师, 从事中药质量控制研究。E-mail: lyun04@163.com

杨扶德 (1972—), 男, 博士, 教授, 博士生导师, 从事中药品质、中药材规范化栽培研究。E-mail: gszyfd@163.com

CONCLUSION This accurate and sensitive method can be used for the quality evaluation of Qingguo Pills.

KEY WORDS: Qingguo Pills; chemical constituents; content determination; UPLC-MS/MS; cluster analysis; principal component analysis; orthogonal partial least squares discriminant analysis

青果丸包含青果、金银花、黄芩、北豆根、麦冬、玄参、白芍、桔梗等多味中药，具有清热解毒、利咽生津功效，临床上常用于治疗咽喉肿痛、声音嘶哑等症状。但2025年版《中国药典》中青果丸质量控制指标仅为黄芩苷^[1]，文献[2-4]也仅采用HPLC法测定没食子酸、黄芩苷、绿原酸含量，即目前关于该制剂质量控制的研究大多局限于单一或少数成分，难以全面反映其整体质量特征。

超高效液相色谱-串联质谱联用技术(UPLC-MS/MS)凭借其高灵敏度、高选择性和强分离能力，已成为复杂基质中多成分定量分析的首选方法^[5]，相较于传统方法，它能有效区分结构相似的化合物，降低基质干扰，尤其适用于中药复方中痕量成分的精准测定^[6-11]。然而，现有研究对青果丸中多种成分的分析仍存在不足，而且对黄酮类、有机酸类、苷类等成分的同时检测尚无报道。因此，本实验建立UPLC-MS/MS法同时测定青果丸中没食子酸、绿原酸、隐绿原酸、木犀草苷、异绿原酸C、槲皮素、蝙蝠葛苏林碱、哈巴俄苷、木犀草素、黄芩素、甲基麦冬黄烷酮B、蝙蝠葛碱、芍药苷、黄芩苷、汉黄芩素的含量，以期为该制剂质量标准提升提供科学依据。

1 材料

1.1 仪器 Agilent 1290 Infinity II-G6460A型超高

效液相色谱串联三重四级杆质谱联用仪(美国Agilent Technologies公司); BSA323S型电子天平(德国Sartorius公司); SBL-10DT型超声波恒温清洗机(宁波新芝生物科技股份有限公司); 移液枪、Centrifuge 5810R型离心机(德国Eppendorf公司)。
1.2 试剂与药物 没食子酸(批号16715, 纯度 $\geq 98\%$)、隐绿原酸(批号5208, 纯度 $\geq 98\%$)、木犀草苷(批号111720-201810, 纯度 $\geq 93.5\%$)、异绿原酸C(批号16660-S240901, 纯度 $\geq 90.5\%$)、槲皮素(批号100081-201610, 纯度 $\geq 99.1\%$)、木犀草素(批号111520-202006, 纯度 $\geq 94.4\%$)、黄芩苷(批号12676-S241001, 纯度 $\geq 97.1\%$)、黄芩素(批号16645, 纯度 $\geq 97.6\%$)、蝙蝠葛碱(批号14721, 纯度 $\geq 99.7\%$)、哈巴俄苷(批号15144, 纯度 $\geq 96.2\%$)、芍药苷(批号18889-S240701, 纯度 $\geq 96.8\%$)、甲基麦冬黄烷酮B(批号18853, 纯度 $\geq 98\%$)、蝙蝠葛苏林碱(批号18802, 纯度 $\geq 94.5\%$)、汉黄芩素(批号15304, 纯度 $\geq 99.1\%$)对照品均购自上海诗丹德标准技术服务有限公司; 绿原酸对照品(批号RDD-L00701908029, 纯度 $\geq 98\%$)购自成都瑞芬思丹德生物科技有限公司。青果丸共22批, 具体见表1。乙腈、甲醇、甲酸均为色谱纯; 乙酸铵为HPLC级; 水为超纯水。

表1 青果丸信息

Tab. 1 Information of Qingguo Pills

厂家	编号	批号	产地	厂家	编号	批号	产地				
Q1	S1	230701	湖南长沙	Q2	S12	240502	陕西西安				
	S2	230803	陕西西安		Q3	S13	106230203	陕西西安			
	S3	230804	四川成都			Q4	S14	106231101	湖南长沙		
	S4	240407	湖南长沙				Q5	S15	106240302	广东惠州	
	S5	240409	江苏徐州					Q5	S16	21035062	广东汕尾
	S6	240504	广东清远						Q5	S17	22035429
Q2	S7	231203	广东深圳	Q5						S18	23035192
	S8	240102	陕西西安		Q5					S19	23499001
	S9	240201	安徽阜阳			Q5				S20	24499001
	S10	240401	四川成都				Q5			S21	24499002
	S11	240501	陕西西安					Q5		S22	24499004

2 方法与结果

2.1 溶液制备

2.1.1 对照品溶液 精密称取各对照品适量，甲醇溶解并稀释成分别含没食子酸 10.49 μg/mL、绿原酸 10.25 μg/mL、隐绿原酸 10.59 μg/mL、木犀草苷 0.91 μg/mL、异绿原酸 C 9.15 μg/mL、槲皮素 10.01 μg/mL、蝙蝠葛苏林碱 9.06 μg/mL、哈巴俄苷 9.33 μg/mL、木犀草素 9.44 μg/mL、黄芩素 10.12 μg/mL、甲基麦冬黄烷酮 B 11.46 μg/mL、蝙蝠葛碱 9.86 μg/mL、黄芩苷 9.62 μg/mL、芍药苷 14.07 μg/mL、汉黄芩素 9.58 μg/mL 的溶液，即得，在 4 °C 下保存。

2.1.2 供试品溶液 取本品适量，研碎，取粉末约 0.5 g，精密称定，置于具塞锥形瓶中，精密加入 20 mL 甲醇，称定质量，超声（功率 300 W，频率 40 kHz）处理 25 min，静置冷却后甲醇补足缺失的质量，8 000 r/min 离心 10 min，取上清液，过 0.22 μm 微孔滤膜，取续滤液，即得。

2.1.3 阴性样品溶液 按既定工艺及处方，分别

制成缺青果、缺金银花、缺黄芩、缺北豆根、缺麦冬、缺玄参、缺白芍、缺桔梗的阴性样品，按“2.1.2”项下方法制备，即得。

2.2 色谱条件 Brownlee SPP C₁₈ 色谱柱(2.1 mm×100 mm, 2.7 μm); 流动相水(含 0.1% 甲酸和 5 mmol/L 乙酸钠)(A)-乙腈(B), 梯度洗脱(负离子模式, 0~3 min, 90%~85% A; 3~5 min, 85% A; 5~8 min, 85%~30% A; 8~10 min, 30% A; 10~11 min, 30%~90% A; 11~12 min, 90% A。正离子模式, 0~3 min, 90%~70% A; 3~6 min, 70%~30% A; 6~8 min, 30% A; 8~9 min, 30%~20% A; 9~10 min, 20%~90% A; 10~11 min, 90% A); 体积流量 0.3 mL/min; 柱温 35 °C; 进样量 2 μL。

2.3 质谱条件 电喷雾离子源; 正负离子扫描; 多反应监测模式; 雾化器压力 45 psi (1 psi=6.895 kPa); 毛细管电压 3 500 V (负离子)、4 000 V (正离子); 干燥气温度 340 °C; 体积流量 11 L/min。其他参数见表 2, 色谱图见图 1。

表 2 各成分质谱参数

Tab. 2 Mass spectrometry parameters for various constituents

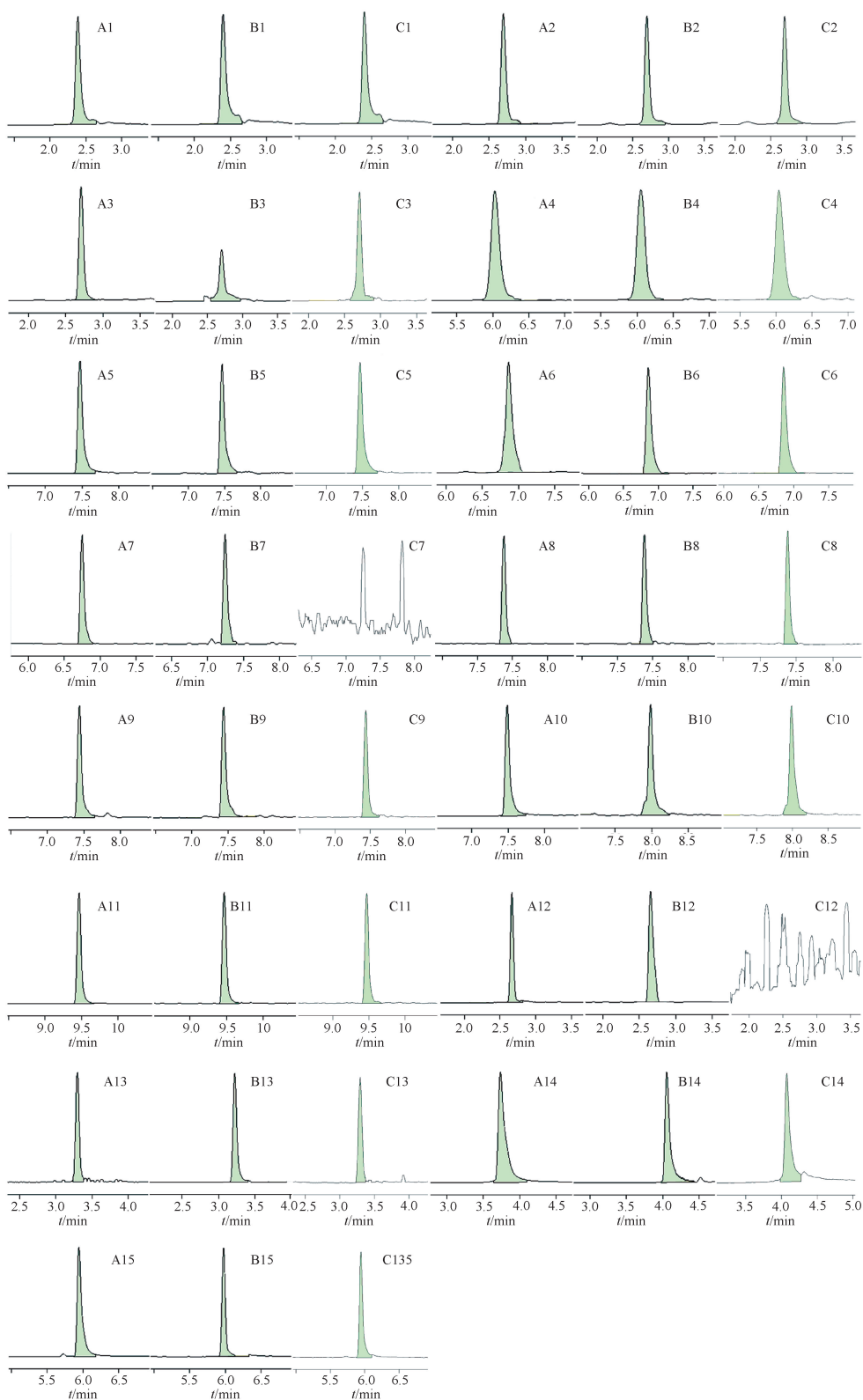
成分	<i>t_R</i> /min	母离子 <i>m/z</i>	子离子 <i>m/z</i>	碎裂电压/V	碰撞能量/eV
没食子酸	2.398	168.9[M-H] ⁻	125.0[M-H-CO ₂] ⁻	80	15
绿原酸	2.699	353.0[M-H] ⁻	191.0[M-H-caffeoyl] ⁻	90	15
隐绿原酸	2.708	352.9[M-H] ⁻	173.0[M-H-C ₆ H ₁₂ O ₆] ⁻	90	10
木犀草苷	6.031	446.9[M-H] ⁻	284.9[M-H-C ₆ H ₁₀ O ₅] ⁻	165	30
异绿原酸 C	6.857	514.9[M-H] ⁻	353.0[M-H-caffeoyl] ⁻	130	15
槲皮素	7.482	300.9[M-H] ⁻	151.0[M-H-C ₈ H ₆ O ₃] ⁻	110	20
蝙蝠葛苏林碱	7.248	432.0[M-H] ⁻	225.8[M-H-C ₁₁ H ₁₀ O ₄] ⁻	120	25
哈巴俄苷	7.379	493.0[M-H] ⁻	345.1[M-H-C ₆ H ₄ O ₄] ⁻	120	6
木犀草素	7.449	284.9[M-H] ⁻	133.0[M-H-C ₇ H ₅ O ₄] ⁻	120	35
黄芩素	7.980	268.9[M-H] ⁻	222.8[M-H-HCOOH] ⁻	100	20
甲基麦冬黄烷酮 B	9.466	327.0[M-H] ⁻	206.0[M-H-C ₇ H ₅ O ₂] ⁻	120	25
蝙蝠葛碱	2.664	206.1[M+H] ⁺	162.1[M+H-CO ₂] ⁻	100	25
芍药苷	3.301	498.0[M+H] ⁺	179.0[M+H-C ₁₅ H ₂₀ O ₉] ⁺	90	15
黄芩苷	3.939	446.9[M+H] ⁺	271.0[M+H-C ₆ H ₈ O ₇] ⁺	80	19
汉黄芩素	5.942	285.0[M+H] ⁺	270.0[M+H-CH ₃] ⁺	100	25

2.4 方法学考察

2.4.1 专属性试验 在“2.2”“2.3”项条件下进样测定，结果见图 1。由此可知，各成分色谱峰形理想，未见明显干扰峰，表明该方法专属性良好。

2.4.2 线性关系考察 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，在“2.2”“2.3”项条件下进样测定，并以信噪比 S/N≥3 时的最低质量浓度为检出限(LOD)，S/N≥10 时的最低质量浓度为定量限(LOQ)，结果见表 3，可知各成分在各自范围内线性关系良好。



注：A~C 分别为对照品、供试品、缺北豆根阴性样品。

1. 没食子酸 2. 绿原酸 3. 隐绿原酸 4. 木犀草苷 5. 槲皮素 6. 异绿原酸 C 7. 蝙蝠葛苏林碱 8. 哈巴俄苷 9. 木犀草素
10. 黄芩素 11. 甲基麦冬黄烷酮 B 12. 蝙蝠葛碱 13. 芍药苷 14. 黄芩苷 15. 汉黄芩素

1. gallic acid 2. chlorogenic acid 3. cryptochlorogenic acid 4. luteolin-7-O-glucoside 5. quercetin 6. isochlorogenic acid C 7. daurisoline
8. harpagoside 9. luteolin 10. baicalein 11. methylphopogonane B 12. dauricine 13. paeoniflorin 14. dauricine 15. wogonin

图 1 各成分提取离子流色谱图

Fig. 1 Extracted ion current chromatograms of various constituents

表3 各成分线性关系

Tab. 3 Linear relationships of various constituents

成分	回归方程	R ²	线性范围/(ng·mL ⁻¹)	LOD/(ng·mL ⁻¹)	LOQ/(ng·mL ⁻¹)
没食子酸	Y=2.431X+1 448.1	0.999 7	11.535~5 767.3	0.9	11.5
绿原酸	Y=15.222X+8 186.1	0.998 8	5.864~2 932.16	1.3	4.4
隐绿原酸	Y=0.949X+195.981	0.999 6	6.354~2 118	1.6	5.4
木犀草苷	Y=12.813X+646.38	0.999 3	10.6~1 177.8	2.7	8.9
异绿原酸 C	Y=3.977X+5 217.2	0.999 2	9.15~4 574.775	0.1	9.2
槲皮素	Y=4.819X+356.65	0.999 8	1.982~220.198	1.4	4.6
蝙蝠葛苏林碱	Y=0.106X+7.085	0.999 7	9.063~4 531.275	0.1	9.1
哈巴俄苷	Y=0.341X+0.524	0.999 7	4.664~2 331.898	0.3	4.7
木犀草素	Y=8.826X+89.877	0.999 2	1.699~188.8	1.7	5.8
黄芩素	Y=0.198X+231.05	0.999 8	50.606~25 302.8	0.7	50.6
甲基麦冬黄烷酮 B	Y=9.455X+96.593	0.999 4	9.165~183.3	2.6	8.8
蝙蝠葛碱	Y=19.397X-290.19	0.999 5	3.94~197.207	1.7	5.5
芍药苷	Y=2.443X-172.9	0.998 9	42.689~21 344.4	10.4	42.7
黄芩苷	Y=18.775X+51 474.1	0.998 9	56.73~28 365	13.6	56.7
汉黄芩素	Y=91.284X+8 457.592	0.999 9	11.5~3 833.2	2.6	8.6

2.4.3 精密度试验 精密吸取“2.1”项下对照品溶液适量，在“2.2”“2.3”项条件下进样测定6次，测得没食子酸、绿原酸、隐绿原酸、木犀草苷、异绿原酸 C、槲皮素、蝙蝠葛苏林碱、哈巴俄苷、木犀草素、黄芩素、甲基麦冬黄烷酮 B、蝙蝠葛碱、芍药苷、黄芩苷、汉黄芩素峰面积 RSD 分别为 1.28%、1.72%、1.00%、0.97%、2.70%、2.02%、1.33%、2.72%、1.78%、2.79%、1.38%、2.01%、1.27%、0.48%、0.79%，表明仪器精密度良好。

2.4.4 稳定性试验 精密吸取同一份供试品溶液(S21)适量，室温下于0、2、4、8、12、24 h在“2.2”“2.3”项条件下进样测定，测得没食子酸、绿原酸、隐绿原酸、木犀草苷、异绿原酸 C、槲皮素、蝙蝠葛苏林碱、哈巴俄苷、木犀草素、黄芩素、甲基麦冬黄烷酮 B、蝙蝠葛碱、芍药苷、黄芩苷、汉黄芩素峰面积 RSD 分别为 2.43%、0.56%、0.26%、2.07%、1.01%、2.66%、2.38%、0.72%、2.29%、2.77%、3.66%、1.01%、2.05%、0.17%、0.55%，表明溶液在24 h内稳定性良好。

2.4.5 重复性试验 精密称取本品(S21)适量，按“2.1”项下方法平行制备6份供试品溶液，在“2.2”“2.3”项条件下进样测定，测得没食子酸、绿原酸、隐绿原酸、木犀草苷、异绿原酸 C、槲皮素、蝙蝠葛苏林碱、哈巴俄苷、木犀草素、黄芩素、甲基麦冬黄烷酮 B、蝙蝠葛碱、芍药苷、黄芩苷、汉黄芩素含量 RSD 分别为 1.29%、0.39%、0.52%、1.91%、0.92%、2.49%、2.55%、1.98%、2.85%、1.09%、4.06%、1.21%、2.04%、0.97%、

0.85%，表明该方法重复性良好。

2.4.6 加样回收率试验 精密称取本品(S21) 0.25 g，平行6份，加入适量对照品溶液，按“2.1”项下方法制备供试品溶液，在“2.2”“2.3”项条件下进样测定，计算回收率。结果，没食子酸、绿原酸、隐绿原酸、木犀草苷、异绿原酸 C、槲皮素、蝙蝠葛苏林碱、哈巴俄苷、木犀草素、黄芩素、甲基麦冬黄烷酮 B、蝙蝠葛碱、芍药苷、黄芩苷、汉黄芩素平均加样回收率分别为 99.52%、99.81%、99.29%、101.67%、95.26%、103.01%、100.73%、99.26%、96.14%、99.57%、94.52%、106.39%、100.06%、100.07%、100.62%，RSD 分别为 0.78%、0.76%、1.54%、2.99%、2.67%、3.35%、2.21%、1.48%、3.26%、0.46%、3.64%、3.94%、0.21%、0.30%、0.38%。

2.4.7 样品含量测定 取22批样品，按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液，在“2.2”“2.3”项色谱条件下进样测定，计算含量，结果见表4。

2.5 化学计量学

2.5.1 聚类分析 将各成分含量导入 SIMCA 14.1 软件，采用 Ward 系统聚类方法进行分析，结果见图2。由此可知，当欧式距离为35时22批样品聚为4类，S1~S3为第Ⅰ类，S4~S6、S13~S18为第Ⅱ类，S19~S22为第Ⅲ类，S7~S12为第Ⅳ类，表明不同批次样品之间存在一定质量差异，可能源于原料药产地波动、采收季节变化、生产工艺参数微小偏差、储存条件差异等因素。

2.5.2 主成分分析 以各成分含量为变量导入 SPSS 软件，以特征值>1为提取标准，得到4个主

表4 各成分含量测定结果 (μg/g, n=3)

Tab. 4 Results for content determination of various constituents (μg/g, n=3)

编号	没食子酸	绿原酸	隐绿原酸	木犀草苷	异绿原酸 C	蝙蝠葛苏林碱	哈巴俄苷	木犀草素
S1	188.17	184.68	33.20	31.74	158.56	62.71	61.62	4.06
S2	227.17	183.24	38.91	30.88	172.33	95.08	34.21	3.65
S3	213.24	181.63	33.84	34.15	162.64	87.19	32.03	3.47
S4	245.43	215.83	40.39	37.47	187.21	63.90	94.77	1.98
S5	237.71	197.65	31.25	39.78	177.68	64.40	99.06	1.62
S6	243.88	192.62	38.18	36.94	188.22	75.18	102.70	1.95
S7	204.89	174.51	34.47	27.53	152.35	39.05	133.84	2.96
S8	152.36	162.53	35.23	29.58	134.69	39.05	105.94	2.66
S9	144.94	214.66	43.20	37.38	204.82	61.88	144.69	3.39
S10	136.71	204.40	42.49	35.22	192.87	69.81	170.37	2.94
S11	137.80	192.69	38.45	32.55	183.86	56.83	167.75	3.56
S12	145.09	192.75	28.91	31.96	185.45	64.32	161.01	3.51
S13	189.00	169.23	49.26	59.06	199.37	146.74	96.67	5.85
S14	202.14	175.42	25.59	38.86	170.38	80.26	140.42	3.81
S15	170.18	184.90	34.03	38.81	189.02	119.18	90.42	3.55
S16	150.44	196.19	33.92	33.95	243.18	146.22	68.34	4.63
S17	169.24	210.36	36.98	34.50	255.67	169.01	54.18	4.57
S18	206.08	222.43	29.92	34.31	258.58	131.76	43.92	3.45
S19	437.22	176.84	108.55	32.83	331.99	55.75	134.08	4.03
S20	410.81	180.63	157.36	31.04	281.69	59.09	104.12	3.02
S21	403.41	182.87	153.14	31.71	289.03	44.53	125.54	3.22
S22	384.29	224.05	162.25	32.93	342.84	29.49	182.67	3.19

名称	槲皮素	黄芩素	甲基麦冬黄烷酮 B	蝙蝠葛碱	芍药苷	黄芩苷	汉黄芩素
S1	11.35	821.04	13.92	2.60	1 564.92	1 934.05	174.14
S2	14.14	801.23	8.61	3.54	1 463.18	2 082.87	160.44
S3	11.72	738.25	8.80	3.58	1 461.09	2 065.11	153.88
S4	—	587.09	3.18	2.75	1 180.58	2 150.24	98.78
S5	—	488.39	2.76	2.44	1 148.41	2 083.19	85.46
S6	—	516.66	2.71	3.15	1 221.05	2 134.61	88.49
S7	—	1 486.46	0.99	1.35	889.62	1 439.30	245.58
S8	—	883.59	1.14	1.27	905.07	1 480.90	176.45
S9	—	1 092.51	1.72	1.58	997.84	1 816.09	201.30
S10	3.26	1 004.37	1.54	1.62	981.58	1 980.57	180.90
S11	9.01	1 184.71	1.57	1.45	888.21	1 923.52	205.29
S12	7.10	1 139.69	1.69	1.14	1 094.85	1 922.19	202.53
S13	—	734.54	0.61	5.54	1 157.72	2 060.92	128.02
S14	—	569.69	2.05	3.44	1 243.56	2 032.42	100.09
S15	2.00	530.38	2.44	3.27	1 154.85	2 115.52	101.73
S16	—	797.83	2.81	4.51	1 316.18	2 130.93	145.41
S17	—	705.92	2.98	5.17	1 300.32	2 221.77	131.48
S18	—	688.32	3.01	4.16	1 385.22	2 265.04	121.84
S19	0.87	1 151.49	3.16	1.90	1 099.20	1 942.97	201.37
S20	3.43	1 503.41	0.73	1.74	872.88	1 728.69	267.77
S21	4.28	1 570.63	0.88	1.94	899.39	1 708.95	290.93
S22	5.46	1 140.92	0.58	1.60	972.73	2 061.59	199.49

注：—表示未检测出。

成分，累积方差贡献率为 83.808%，见表 5。

再将各成分含量导入 SMICA14.1 软件，得到得分图，见图 3。由此可知，22 批样品分为 4 类，S1~S3 为第 I 类、S4~S6、S13~S18 为第 II 类、S19~S22 为第 III 类、S7~S12 为第 IV 类，与聚类分析一致。

2.5.3 正交偏最小二乘判别分析 在聚类分析基础上，将各成分含量导入 SIMCA14.1 软件建立模型，累积解释参数 R^2X (自变量矩阵) 为 0.769， R^2Y (因变量矩阵) 为 0.843，预测能力参数 Q^2 为 0.749，均大于 0.5，并且经 200 次置换检验后未显示过拟合现象，表明其预测能力良好，见图 4~

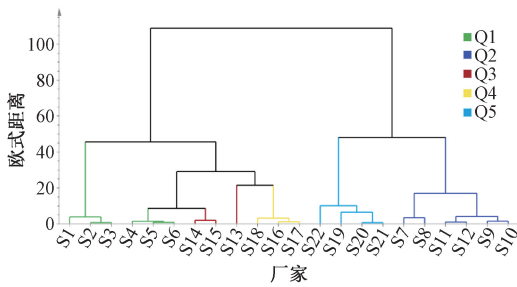


图2 22批青果丸聚类分析图

Fig. 2 Cluster analysis plot for 22 batches of Qingguo Pills

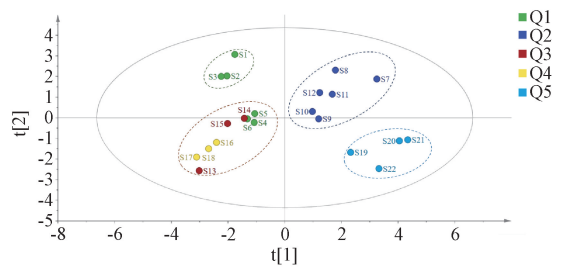


图3 22批青果丸主成分分析得分图

Fig. 3 Score plot for principal component analysis of 22 batches of Qingguo Pills

表5 主成分特征值与方差贡献率

Tab. 5 Eigenvalues and variance contribution rates of principal components

主成分	初始特征值			提取载荷平方和		
	总计	方差贡献率/%	累积贡献率/%	总计	方差贡献率/%	累积贡献率/%
1	6.000	39.998	39.998	6.000	39.998	39.998
2	2.601	17.342	57.340	2.601	17.342	57.340
3	2.275	15.165	72.505	2.275	15.165	72.505
4	1.695	11.302	83.808	1.695	11.302	83.808

5。再以变量重要性投影值 (VIP 值) >1 为标准筛选差异性成分^[12], 共得到 7 种, 分别为异绿原酸 C、木犀草苷、没食子酸、绿原酸、隐绿原酸、甲基麦冬黄烷酮 B、蝙蝠葛苏林碱。

原酸等成分, 具有抗炎、抗菌、抗病毒活性^[14-15], 其中绿原酸异构体对工艺条件敏感, 可作为工艺一致性的“关键指示因子”; 黄芩含黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素等成分, 具有抗炎、免疫调节作用^[16-17]; 北豆根含蝙蝠葛碱等生物碱^[18]; 麦冬、玄参、白芍滋阴降火, 其主要成分分别为甲基麦冬黄烷酮 B、哈巴俄苷、芍药苷, 具有免疫调节、抗炎、抗菌、镇痛等作用^[19-21]。上述 15 种成分融合了方剂理论、功能与工艺敏感性, 旨在响应多指标监控方向。

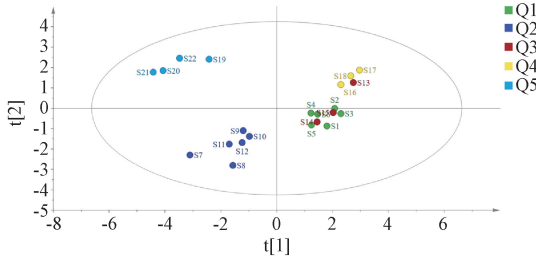


图4 22批青果丸正交偏最小二乘法-判别分析得分图

Fig. 4 Score plot for orthogonal partial least squares discriminant analysis of 22 batches of Qingguo Pills

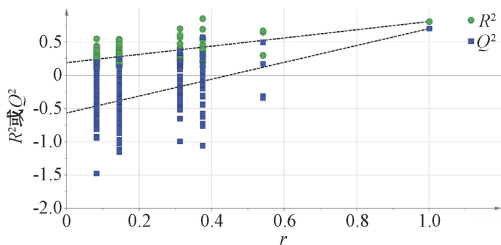


图5 22批青果丸置换检验图

Fig. 5 Plot for replacement test of 22 batches of Qingguo Pills

3 讨论

青果丸中君药青果含没食子酸, 具有抗菌、抗病毒作用^[13]; 金银花含绿原酸、木犀草苷、隐绿

原酸等成分, 具有抗炎、抗菌、抗病毒活性^[14-15], 其中绿原酸异构体对工艺条件敏感, 可作为工艺一致性的“关键指示因子”; 黄芩含黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素等成分, 具有抗炎、免疫调节作用^[16-17]; 北豆根含蝙蝠葛碱等生物碱^[18]; 麦冬、玄参、白芍滋阴降火, 其主要成分分别为甲基麦冬黄烷酮 B、哈巴俄苷、芍药苷, 具有免疫调节、抗炎、抗菌、镇痛等作用^[19-21]。上述 15 种成分融合了方剂理论、功能与工艺敏感性, 旨在响应多指标监控方向。

化学计量学结果显示, 聚类分析与主成分分析均将 22 批青果丸分为 4 类; 正交偏最小二乘判别分析筛选出 7 个关键差异性标志物 (VIP 值>1), 其中 Q2、Q5 厂家样品各自独立成簇, 显示同一厂家稳定性较好, 而 Q1、Q3、Q4 厂家样品部分交叉聚集, 提示其原料或工艺存在波动; 异绿原酸 C、木犀草苷、没食子酸绿原酸、隐绿原酸、甲基麦冬黄烷酮 B、蝙蝠葛苏林碱对差异性的贡献较大, 建议纳入质量控制标准。

含量测定结果显示, 22 批青果丸中没食子酸、绿原酸、隐绿原酸、木犀草苷、异绿原酸 C、槲皮素、蝙蝠葛苏林碱、哈巴俄苷、木犀草素、黄芩素、甲基麦冬黄烷酮 B、蝙蝠葛碱、芍药苷、黄芩苷、汉黄芩素含量范围分别为 136.71 ~ 437.22、162.53 ~ 224.05、25.59 ~ 162.25、27.53 ~ 59.06、134.69 ~ 342.84、0 ~ 14.14、29.49 ~ 169.01、32.03 ~ 182.67、1.62 ~ 5.85、488.39 ~ 1 570.632、

0.58 ~ 13.92、1.14 ~ 5.54、872.88 ~ 1 564.92、1 439.30~2 265.04、85.46 ~ 290.93 $\mu\text{g/g}$ 。其中，Q5 厂家样品中没食子酸、隐绿原酸、异绿原酸 C 含量高于其他厂家样品中，可能与青果、金银花质量或产地加工有关。

4 结论

本实验建立 UPLC-MS/MS 法同时测定青果丸中没食子酸、绿原酸、隐绿原酸、木犀草苷、槲皮素、异绿原酸 C、蝙蝠葛苏林碱、哈巴俄苷、木犀草素、黄芩素、甲基麦冬黄烷酮 B、蝙蝠葛碱、芍药苷、黄芩苷、汉黄芩素的含量，该方法前处理简便，分析快速，结果准确，结合化学计量学可有效揭示不同厂家该制剂的质量差异，从而为其质量标准提升提供参考。

参考文献：

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典：2025 年版一部[S]. 北京：中国医药科技出版社，2025；1127-1129.

[2] 张火旺，曾建忠，卓晓明. 高效液相色谱法测定青果丸中没食子酸含量[J]. 中国药业，2016，25(2)：64-65.

[3] 王亦存. HPLC 法测定青果丸中黄芩苷的含量[J]. 中国药房，2014，25(32)：3057-3058.

[4] 徐岳鑫. HPLC 法测定青果丸中绿原酸的含量[J]. 中国药师，2013，16(2)：255；304.

[5] 曹洪杰，夏方亮，王建强，等. UPLC-MS/MS 法同时测定仙灵葆胶囊中 12 种成分的含量[J]. 中成药，2025，47(3)：897-900.

[6] 余碧莲，谢凯莉，罗 晴，等. UPLC-MS/MS 法检测正天丸中 6 个马兜铃酸类成分[J]. 药物分析杂志，2025，45(6)：968-977.

[7] 白桦芳，针 涛，王宏进，等. UPLC-MS/MS 法同时测定归脾丸中 14 种成分[J]. 中成药，2023，45(7)：2138-2144.

[8] 陈雪婷，林诗铃，陈 涛，等. UPLC-MS/MS 法同时测定同仁牛黄清心丸中 15 个胆汁酸的含量[J]. 中国药房，2023，

34(17)：2074-2078.

[9] 刁春玲，邓杰华，袁秀泽，等. UPLC-MS/MS 法测定右归丸中 3 种双酯型生物碱及风险评价[J]. 中成药，2022，44(11)：3454-3458.

[10] 李 运，王 苗，韩晓霞，等. UPLC-MS/MS 法同时测定六神曲中 24 种成分的含量[J]. 中成药，2024，46(12)：3897-3905.

[11] 杨 帅，郑 林，迟明艳，等. UPLC-MS/MS 法检测坤泰胶囊中阿胶及其异源性成分[J]. 中成药，2024，46(11)：3851-3856.

[12] 王 苗，周德来，许晓辉，等. UPLC-MS/MS 法同时测定桑白皮中 11 种成分的含量[J]. 中成药，2024，46(10)：3207-3212.

[13] 王 恒，宋良科，汤 昊，等. 不同种质青果清热利咽化学组分的研究[J]. 中国中药杂志，2010，35(6)：669-672.

[14] 袁 悦，张林林，刘建庭，等. 中药金银花质量标志物预测分析研究[J]. 中国中药杂志，2022，47(7)：1730-1738.

[15] 于红红，姚佳倩，杨韵琪，等. 绿原酸调控 AMPK/SIRT1 通路对 ox-LDL 诱导的泡沫细胞自噬及炎症反应的影响[J]. 中药材，2025，48(2)：462-467.

[16] 阮清锋，章 丹，王富乾，等. 黄芩临床应用、化学成分、药理作用及其质量标志物 (Q-Marker) 预测分析[J]. 时珍国医国药，2025，36(8)：1534-1541.

[17] 李帅帅，罗瑞熙，韦亚琼，等. 黄芩苷通过调控 TLR4/NF- κ B 信号通路对脂多糖诱导 RAW264.7 细胞极化的影响[J]. 中成药，2022，44(12)：3835-3841.

[18] 曹桂庄，庄雪松，宁 波，等. 北豆根配方颗粒质量评价[J]. 中成药，2024，46(3)：717-723.

[19] 高龙龙，尹丽君，孟祎凡，等. 麦冬及其有效成分抗心脑血管疾病的药理研究进展[J]. 中国中医药现代远程教育，2021，19(13)：182-185.

[20] 李翎熙，陈迪路，周小江. 玄参化学成分、药理活性研究进展及其质量标志物分析预测[J]. 中成药，2020，42(9)：2417-2426.

[21] 王秋艳，王世新，隋方宇，等. 白芍活性成分、药理作用及成分变化的影响因素研究进展[J]. 中草药，2025，56(5)：1817-1829.