

doi: 10.12452/j.fxcxb.250430334

指纹图谱定性分析与多成分定量分析相结合的3种金荞麦制剂质量比较

何梦¹, 李余佳^{2,3}, 曹溢¹, 戴莹^{2,3}, 秦楠^{4*}, 窦志华^{1,2,3*}

(1. 南通大学 药学院, 江苏 南通 226019; 2. 南通大学附属南通第三医院 药学部, 江苏 南通 226006; 3. 南通市第三人民医院 药学部, 江苏 南通 226006; 4. 南京中医药大学南通附属医院 药学部, 江苏 南通 226001)

摘要: 采用指纹图谱定性分析与多成分定量分析相结合的方法对金荞麦片(FDRT)、金荞麦胶囊(FDRC)和威麦宁胶囊(WMNC)3种金荞麦制剂进行质量比较研究。利用高效液相色谱法测定20批FDRT、11批FDRC和15批WMNC的指纹图谱, 标定共有峰40个, 采用超快速液相色谱-四极杆飞行时间质谱共鉴定了67个成分, 其中6个鞣质类成分(原花青素B1、B3、C2、B2、C1和A2)、3个酚类成分(没食子酸、原儿茶酸和原儿茶醛)、4个黄酮类成分(儿茶素、表儿茶素、表儿茶素没食子酸酯和芦丁)采用对照品比对确认。以量化共有峰面积为变量, 分别进行层次聚类分析、主成分分析、正交偏最小二乘判别分析, 结果均显示FDRT和FDRC与WMNC存在明显质量差异, FDRT与FDRC也存在一定质量差异。对采用对照品比对确认且分离度较好的10个成分进行定量测定, 发现除FDRC和WMNC中儿茶素及FDRT和FDRC中原花青素A2的平均含量无明显差异($P>0.05$)外, 3种FDR制剂中10个成分的平均含量均有显著差异($P<0.01$ 或 $P<0.05$), 其中没食子酸、原儿茶酸及原儿茶醛为FDRC>FDRT>WMNC, 原花青素B1和原花青素B3为FDRC>WMNC>FDRT, 表儿茶素、原花青素C1及表儿茶素没食子酸酯为WMNC>FDRC>FDRT, 儿茶素为FDRC和WMNC>FDRT, 原花青素A2为WMNC>FDRC和FDRT。3种FDR制剂的主要成分基本相同, 但存在质量差异, 且FDRT和FDRC与WMNC差异明显。

关键词: 金荞麦片; 金荞麦胶囊; 威麦宁胶囊; 质量比较; 指纹图谱; 超快速液相色谱-四极杆飞行时间质谱; 模式识别; 多成分定量分析

中图分类号: O657.7; R914.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-4957(2025)12-2449-13

Quality Comparison of Three *Fagopyri Dibotryis Rhizoma* Preparations by Combining Fingerprint Qualitative Analysis with Multi-component Quantitative Analysis

HE Meng¹, LI Yu-jia^{2,3}, CAO Yi¹, DAI Ying^{2,3}, QIN Nan^{4*}, DOU Zhi-hua^{1,2,3*}

(1. School of Pharmacy, Nantong University, Nantong 226019, China; 2. Department of Pharmacy, Affiliated Nantong Hospital 3 of Nantong University, Nantong 226006, China; 3. Department of Pharmacy, Nantong Third People's Hospital, Nantong 226006, China; 4. Department of Pharmacy, Nantong Affiliated Hospital of Nanjing University of Chinese Medicine, Nantong 226001, China)

Abstract: This study conducted a comparative quality evaluation of three *Fagopyri Dibotryis Rhizoma* (FDR) preparations named FDR Tablets (FDRT), FDR Capsules (FDRC), and Weimaining Capsules (WMNC) by combining fingerprint qualitative analysis with multi-component quantitative analysis. Fingerprints of 20 batches of FDRT, 11 batches of FDRC, and 15 batches of WMNC were determined by high performance liquid chromatography, 40 common peaks in the fingerprints were demarcated, and 67 components were identified in these 40 common peaks by ultra-fast liquid chromatography-quadrupole time-of-flight mass spectrometry (UFLC-Q-TOF-MS/MS). Among these, 6 tannins including procyanidin B1 (PB1), procyanidin B3 (PB3), procyanidin C2 (PC2), procyanidin B2 (PB2), procyanidin C1 (PC1), and procyanidin A2 (PA2), 3 phenolics including gallic acid, pro-

收稿日期: 2025-04-30; 修回日期: 2025-08-18

基金项目: 南通市科技计划重点项目新冠肺炎专项(MS12022012)

* 通讯作者: 秦楠, 硕士, 主管中药师, 研究方向: 中药药理, E-mail: qinnan12345@126.com

窦志华, 博士, 副教授, 主任中药师, 研究方向: 中药药效物质及质量评价研究, E-mail: zhihuadou@163.com

网络首发时间: 2025-10-28

tocatechuic acid, and protocatechualdehyde, and 4 flavonoids including catechin, epicatechin, epicatechin gallate (ECG), and rutin were confirmed by reference substance. Hierarchical cluster analysis, principal component analysis, and orthogonal partial least squares discriminant analysis were conducted by using the quantified peak areas of the common peaks as variables. The results consistently showed significant differences in quality between FDRT and FDRC compared to WMNC, and there were also some differences in quality between FDRT and FDRC themselves. Quantitative determination was conducted on a total of 10 components, which were verified by comparison with reference substance and exhibited good separation. The results revealed that, with the exception of no significant difference in the mean content of catechin between FDRC and WMNC, as well as in PA2 between FDRT and FDRC ($P>0.05$), the mean content of all 10 components across the three FDR preparations showed significant differences ($P<0.01$ or $P<0.05$). Specifically: gallic acid, protocatechuic acid, and protocatechualdehyde exhibited $\text{FDRC}>\text{FDRT}>\text{WMNC}$, PB1 and PB3 showed $\text{FDRC}>\text{WMNC}>\text{FDRT}$, epicatechin, PC1, and ECG demonstrated $\text{WMNC}>\text{FDRC}>\text{FDRT}$, catechin displayed both FDRC and $\text{WMNC}>\text{FDRT}$, and PA2 exhibited $\text{WMNC}>\text{both FDRC and FDRT}$. In summary, the main components contained in the three FDR preparations are basically the same; however, there are differences in quality, with FDRT and FDRC demonstrating notable differences compared to WMNC.

Key words: *Fagopyri Dibotryis Rhizoma* Tablets; *Fagopyri Dibotryis Rhizoma* Capsules; Weimain-ing Capsules; quality comparison; fingerprint; UFLC-Q-TOF-MS/MS; pattern recognition; multi-component quantitative analysis

金荞麦(*Fagopyri Dibotryis Rhizoma*, FDR)为蓼科植物金荞麦*Fagopyrum dibotrys*(D. Don) Hara的干燥根茎^[1]。南通成云龙老先生1958年献出了FDR汤剂治疗肺脓疡的祖传秘方^[2],南通多家单位和中国医学科学院药物研究所联合对FDR进行了系统研究,并研制了金荞麦片(FDRT),有关专家认为金荞麦及其制剂是我国首先挖掘的新型抗感染药物^[3-6],FDR也因此被1977年版及以后历版《中国药典》收载^[1,7]。精华制药集团股份有限公司后期又研制了金荞麦胶囊(FDRC)^[8]。云南也在民间用FDR水煎剂治疗肺癌基础上研究开发了威麦宁胶囊(WMNC)^[3,9]。2019冠状病毒(COVID-19)疫情暴发后,Zhang等^[10]筛选出包括FDR在内的26种中草药具有直接抑制新冠病毒作用,FDR再次引起业内关注^[11]。

FDRT、FDRC和WMNC的中间体或原料均为FDR的乙醇提取物^[3,8,12],其中FDRT和FDRC的中间体分别为FDR乙醇提取浸膏^[12]和喷雾干燥粉^[8],WMNC的原料威麦宁为FDR乙醇提取物经大孔吸附树脂柱纯化处理后的喷雾干燥粉^[13]。理论上3种制剂的功效基本相同,但根据说明书,FDRT和FDRC主要用于肺脓疡等,而WMNC则主要用于肺癌等。FDR及FDRT治疗肺脓疡的疗效经过了全国各地600余家医疗机构临床验证^[6],WMNC单用或联合化疗治疗肺癌的疗效也得到临床验证^[14-15],但未见3种FDR制剂的其他临床报道。

FDR的化学成分包括鞣质类、酚类、黄酮类、苯丙素苷类、有机酸类、氨基酸类、生物碱类、蒽类等^[2,16-17],其中鞣质(也称单宁)是一类基本单元为儿茶素、表儿茶素或二者的没食子酸酯的原花色素缩合性单宁(如原花青素B2)混合物,该类成分同时是FDR及其制剂治疗肺脓疡和肺癌的主要活性成分^[3,9]。根据制备工艺,3种FDR制剂所含化学成分的数量和含量应该具有可比性,对此进行研究可为探索3种FDR制剂相互扩大适应症、阐明FDR制剂治疗COVID-19的药效物质奠定基础。但3种FDR制剂的现行质量控制标准指标单一且专属性不强。FDRT仅采用分光光度法测定总黄酮的含量,FDRC仅采用高效液相色谱(HPLC)法测定表儿茶素的含量,WMNC仅采用分光光度法测定总鞣质及HPLC法测定表儿茶素的含量^[13]。

色谱指纹图谱同时具有整体性和模糊性特征,能够展示被测样品所含化学成分的全貌^[18],但有些色谱峰可能存在重叠成分^[19],指纹图谱包含的高度复杂的多元数据也难以解释^[20]。四极杆-飞行时间串联质谱(Q-TOF-MS/MS)可在无对照品的情况下实现化合物的结构解析和鉴定,能够判别色谱峰是否存在重叠成分^[21-22],不仅能整体分析中药中的化学成分,而且能全面评价中药质量^[23]。化学模式识别技术可对指纹图谱数据进行降维、识别和分类,揭示复杂数据背后的规律,并通过可视化处理形象地反映中药制剂的整体质量及不同样品间的差异^[20]。单一或少数化学成分不能全面评价中药及其制剂的

质量^[24], 在指纹图谱和Q-TOF-MS/MS定性分析基础上进行多成分含量测定是中药质量评价的关键^[25]。

鉴于此, 本研究测定了20批FDRT、11批FDRC和15批WMNC的HPLC指纹图谱, 采用超快速液相色谱-四极杆飞行时间质谱(UFLC-Q-TOF-MS/MS)对指纹图谱共有峰进行了成分鉴定, 以量化共有峰面积为变量对指纹图谱进行了层次聚类分析(HCA)、主成分分析(PCA)和正交偏最小二乘判别分析(OPLS-DA)等模式识别分析, 并测定了46批样品中采用对照品比对确认且色谱峰分离较好的10个成分的含量, 以此为基础对3种FDR制剂进行了质量比较。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

Alliance高效液相色谱系统(配备Empower色谱工作站、e2695分离单元和2998 PAD检测器, 美国Waters公司); UFLC-Triple-Q-TOF-MS系统, 包括Shimadzu Prominence UFLC液相色谱仪(SIL-20AC XR自动进样器和LC-20AD XR泵, 日本岛津公司)和AB SCIEX Triple TOF 4600质谱仪(配备PeakView质谱分析软件、电喷雾离子源和Q-TOF-MS/MS检测器, 美国AB SCIEX公司); BT 25S型电子天平(德国Sartorius公司); SK5200H超声波清洗器(上海科导超声仪器有限公司)。

质谱纯乙腈、色谱纯甲醇(Fisher Scientific公司); 色谱纯甲酸(德国Merck公司); 纯净水(杭州娃哈哈集团有限公司)。

对照品: 原儿茶酸(批号110809-202207)、没食子酸(批号110831-201906)、原儿茶醛(批号110810-202210)、表儿茶素没食子酸酯(ECG, 批号111987-201501)、芦丁(批号100080-202012)购自中国食品药品检定研究院; 原花青素C2(PC2, 批号wkq23051009)购自四川省维克奇生物科技有限公司; 原花青素A2(PA2, 批号GR-138-230019)、原花青素B1(PB1, 批号GR-138-310519)、原花青素B2(PB2, 批号GR-139-213006)、原花青素B3(PB3, 批号GR-138-352214)、原花青素C1(PC1, 批号GR-138-310726)、儿茶素(批号GR-139-203497)、表儿茶素(批号GR-139-055270)购自南京广润生物制品有限公司。

样品: 20批FDRT(编号S1~S20, 批号分别为22230101、22230102、22230103、22230104、22230106、22230112、22230113、22230114、22230201、22230203、22220103、22230202、22230208、22230209、22230210、22230211、22230212、22230213、22230214、22230218)、11批FDRC(编号S21~S31, 批号分别为73220202、73220301、73230103、73220305、73220306、73220502、73220504、73230102、73220103、73220302、73211102)生产企业均为精华制药集团股份有限公司; 15批WMNC(编号S32~S46, 批号分别为220502、210704、210601、210703、220402、210303、210602、220603、221101、210702、210604、230304、221001、230301、230401)生产企业为华颐药业有限公司。以上样品均购自国内医疗机构或药店。

1.2 溶液制备

1.2.1 FDRT供试品溶液制备 取FDRT数片, 除去薄膜衣, 研细, 精密称取约1 g, 置于50 mL量瓶中, 加50%乙醇至刻度, 超声(功率200 W, 频率53 kHz)提取30 min, 放冷后过滤。滤液减压浓缩(50~70 °C)至近干, 残渣用10%乙腈分次洗涤, 并转移至10 mL量瓶中, 加10%乙腈至刻度, 摇匀, 3 000 r/min离心5 min, 取上清液用0.22 μm微孔滤膜过滤, 取续滤液作为供试品溶液^[2]。

1.2.2 FDRC供试品溶液制备 取FDRC数粒, 倾出内容物, 研细, 其余同“1.2.1”操作。

1.2.3 WMNC供试品溶液制备 取WMNC数粒, 倾出内容物, 研细, 其余同“1.2.1”操作。

1.2.4 成分鉴定用混合对照品溶液制备 分别称取各对照品适量, 精密称定, 置于同一量瓶中, 加50%甲醇溶解并稀释, 配制成13个成分质量浓度均为40.0 μg·mL⁻¹的混合对照品溶液。

1.2.5 定量测定用混合对照品溶液制备 取除芦丁、PC2、PB2外的10个对照品适量, 精密称定, 加50%乙醇溶解, 分别配制成10个对照品贮备液。分别精密吸取各对照品贮备液适量, 置于同一量瓶中, 加50%乙醇至刻度, 摇匀配制成没食子酸、原儿茶酸、原儿茶醛、儿茶素、表儿茶素、ECG、PA2、PB1、PB3和PC1质量浓度分别为102.025、86.275、12.525、277.480、397.280、427.920、300.400、315.600、1 047.00 μg·mL⁻¹的混合对照品溶液A。取混合对照品溶液A, 分别用50%乙醇分别稀释2、

5、10、20、50倍,配制成混合对照品溶液B~F。

1.3 指纹图谱的建立及分析方法

1.3.1 色谱条件 色谱柱为Symmetry C₁₈(4.6 mm×250 mm, 5 μm);流动相为0.1%甲酸水溶液(A)-乙腈(B),梯度洗脱程序:0~10 min, 2%~4% B; 10~20 min, 4% B; 20~30 min, 4%~10% B; 30~50 min, 10%~12% B; 50~60 min, 12%~15% B; 60~70 min, 15%~16% B; 70~100 min, 16%~50% B。流速为1 mL·min⁻¹;柱温为30℃;检测波长为280 nm^[2]。

1.3.2 质谱条件 色谱分离条件同“1.3.1”。ESI方式电离,负离子模式扫描,离子源为DuoSpray,离子源喷射电压(ISVF)为4 500 V,雾化气(Gas 1)为413.7 kPa,加热气(Gas 2)为413.7 kPa,气帘气(CUR)为241.3 kPa,离子源温度(TEM)为500℃。采用TOF MS-IDA-10MS/MS方式获取质谱信息,具体参数设置:一级质谱解簇电压(DP)为-80 V,碰撞能量(CE)为-10 eV,TOF-MS累计时间为250 ms,母离子扫描范围为 m/z 115~1 500 Da;二级质谱解簇电压(DP)为-80 V,碰撞能量(CE)为-35 eV,碰撞能量扩展(CES)为15 eV,TOF-MS累计时间为100 ms,扫描范围为 m/z 50~1 500 Da。

1.3.3 精密度实验 连续6次自动吸取S45供试品溶液30 μL进样测定,记录6次测定的各共有峰保留时间及峰面积,以保留时间适中且分离度较好的23号峰(PC1)为参照峰,计算其他共有峰与参照峰的峰面积比值(PAR)和相对保留时间(RRT)及其相对标准偏差(RSD)。

1.3.4 稳定性实验 分别于制备后0、3、6、9、12、18、24、36 h自动吸取S45供试品溶液30 μL进行测定,同“1.3.3”方法进行分析。

1.3.5 重复性实验 取6份S45,按“1.2.3”方法制备供试品溶液,同“1.3.3”方法进行测定并分析。

1.3.6 指纹图谱测定及对照指纹图谱的建立 自动吸取S1~S46供试品溶液30 μL进行测定,将图谱以AIA格式导入《中药色谱指纹图谱相似度评价系统软件(2012版)》,以S45图谱为参照,使用中位数进行自动匹配,加以多点校正,生成对照指纹图谱,标定共有峰。

1.3.7 共有峰的鉴定 分别自动吸取S13、S24及S45供试品溶液及成分鉴定用混合对照品溶液各10 μL,注入UFLC-Triple-Q-TOF-MS系统测定,使用PeakView1.6质谱分析软件提取3个样品和混合对照品的总离子流图。首先对对照品的质谱数据进行分析,总结裂解规律;其次,将软件提供的化合物的质谱数据与对照品或文献中的质谱数据比对,结合在线检索化合物数据库PubChem(<http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>),对3种制剂指纹图谱的共有峰成分进行鉴定。

1.3.8 模式识别 以量化共有峰面积为变量,采用SIMCA 14.1软件分别进行HCA、PCA和OPLS-DA分析。

1.4 成分含量测定及结果分析

1.4.1 线性关系考察 分别自动吸取定量测定用混合对照品溶液A~F各30 μL进样测定,以峰面积(Y)对进样质量浓度(X , mg·mL⁻¹)进行回归处理,得10个成分的回归方程、线性范围及相关系数。

1.4.2 检出限和定量下限考察 将定量测定用混合对照品溶液F逐步稀释后进行测定,以信噪比3:1、10:1分别进行检出限(LOD)和定量下限(LOQ)测定。

1.4.3 精密度实验 自动吸取30 μL含量测定用混合对照品溶液C,第1 d连续6次进样测定进行日内精密度考察,第1~3 d每天进样测定2次进行日间精密度考察,记录10个成分的峰面积积分值,计算RSD。

1.4.4 稳定性实验 提取“1.3.4”测定的色谱图,记录10个成分的峰面积积分值,计算RSD。

1.4.5 重复性实验 提取“1.3.5”测定的色谱图,记录10个成分的峰面积积分值,代入回归方程计算6次测定的10个成分的平均含量及其RSD。

1.4.6 回收率实验 取S45细粉6份,每份约0.5 g,精密称定,置于50 mL量瓶中,分别精密添加适量体积“1.2.5”配制的10个对照品贮备液(各成分添加量约等于样品中的量),其余按“1.2.3”方法操作,按样品测定方法进样测定,计算10个成分的加标回收率及其RSD。

1.4.7 样品含量测定及分析 提取“1.3.6”测定的S1~S46的色谱图,记录10个待测成分的峰面积积分值,代入回归方程计算样品中各成分的含量,将3种FDR制剂中10个成分含量测定结果应用

GraphPad Prism 9软件进行对比分析, 并利用微生信在线生物信息学分析、可视化平台(<https://www.bioinformatics.com.cn/>)绘制热图。

2 结果与讨论

2.1 指纹图谱的建立及分析

2.1.1 方法学考察 精密度实验PAR的RSD≤4.7%, RRT的RSD≤0.59%, 说明仪器精密度良好; 稳定性实验PAR的RSD≤4.9%, RRT的RSD≤0.63%, 说明供试品溶液在制备后36 h内稳定; 重复性实验PAR的RSD≤4.6%, RRT的RSD≤0.49%, 说明样品的处理方法重复性较好。

2.1.2 指纹图谱测定及对照指纹图谱 46批样品的指纹图谱及对照指纹图谱见图1, 对照指纹图谱标定了40个共有峰。记录46批样品指纹图谱40个共有峰的峰面积, 将共有峰面积按进样的供试品溶液中含生药量进行量化处理^[26], 得量化共有峰面积。

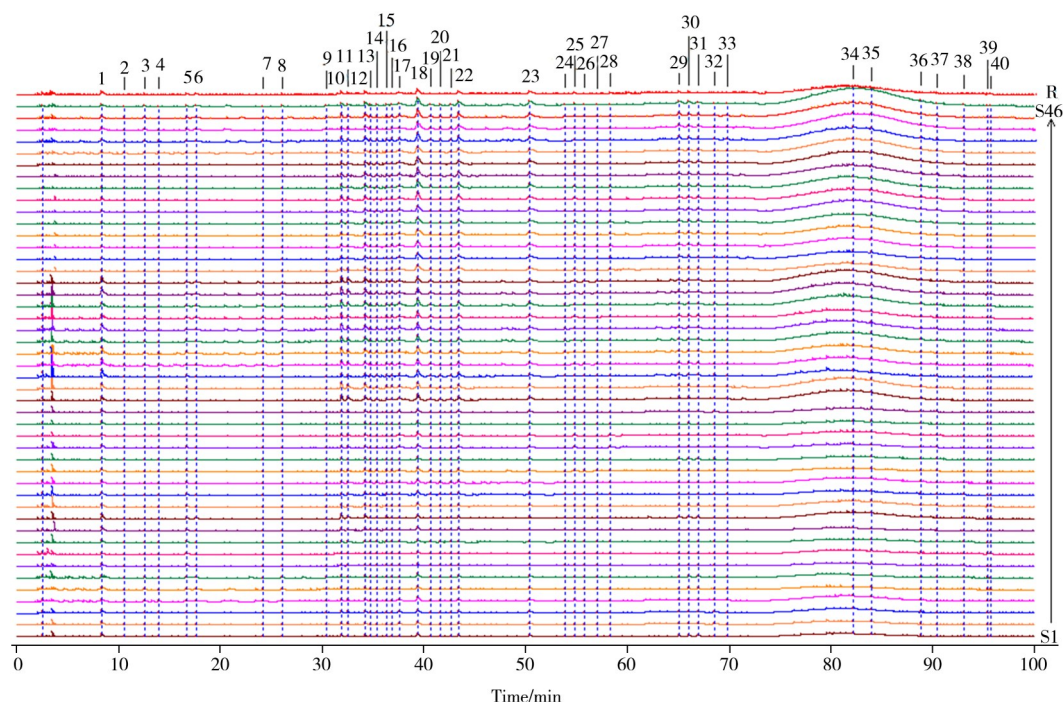


图1 46批FDR制剂(S1~S46)的HPLC指纹图谱及对照指纹图谱(R)

Fig. 1 HPLC fingerprints of 46 batches FDR preparations(S1~S46) and reference fingerprint(R)

2.1.3 共有峰的鉴定 3个样品和混合对照品的总离子流图见图2, 3种制剂指纹图谱的40个共有峰共鉴定了67个成分, 包括鞣质类成分30个, 酚类成分15个, 黄酮类成分7个, 苯丙素苷类成分9个, 有机酸类成分2个, 氨基酸类成分、生物碱类成分、蒽类成分及其他类成分各1个, 其中3个酚类成分(没食子酸、原儿茶酸和原儿茶醛)、6个鞣质类成分(PB1、PB3、PC2、PB2、PC1和PA2)、4个黄酮类成分(儿茶素、表儿茶素、ECG和芦丁)共13个成分采用对照品比对确认, 3种制剂对应编号的共有峰质谱数据基本一致(见表1, 表中各成分编号与图2相同)。

2.1.4 聚类分析 将“2.1.2”计算所得46批FDR制剂指纹图谱的40个量化共有峰面积导入SIMCA14.1软件进行HCA。结果(图3)显示, 46批样品聚为2组: S1~S20(FDRT)和S21~S31(FDRC)为一组, S32~S46(WMNC)为另一组; 第一组又聚为S1~S20(FDRT)和S21~S31(FDRC)2个亚组。提示FDRT和FDRC与WMNC存在明显的质量差异, FDRT与FDRC也存在一定的质量差异。

2.1.5 主成分分析 将“2.1.2”计算所得46批FDR制剂指纹图谱的40个量化共有峰面积导入SIMCA14.1软件进行PCA, 建立的模型累计模型解释率 R^2_{Xcum} 为0.889, 累计模型预测能力 Q^2_{Xcum} 为0.769, 表明所建模型可以解释88.9%的原始信息, 且 R^2_{Xcum} 和 Q^2_{Xcum} 均大于0.5, 表明模型稳定可靠。46批FDR制剂的得分散点图(图4)显示, S1~S20(FDRT)和S21~S31(FDRC)分布在纵轴“0”轴左侧, 而S32~S46(WMNC)则分布在纵轴“0”轴右侧, S1~S20(FDRT)和S21~S31(FDRC)又分别主要分布在横

轴“0”轴上侧和下侧,与HCA结果一致,也提示FDRT和FDRC与WMNC存在明显的质量差异,FDRT与FDRC存在一定质量差异。

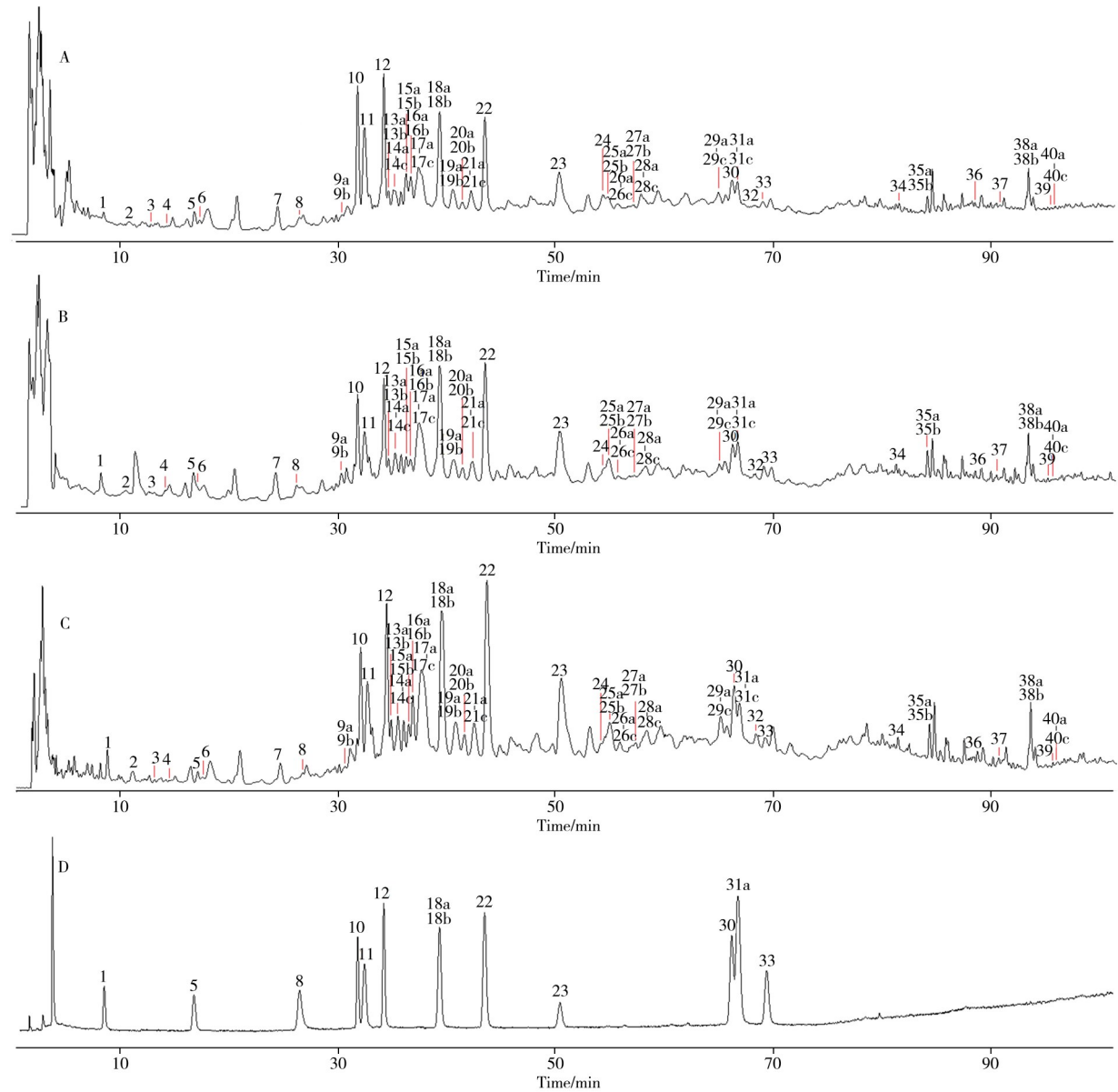


图2 FDRT(A)、FDRC(B)、WMNC(C)及混合对照品(D)的总离子流图(负离子模式)
Fig. 2 TIC of FDRT(A), FDRC(B), WMNC(C) and mixed reference substances(D)(negative ion mode)

表1 指纹图谱共有峰的上FLC-Q-TOF-MS/MS鉴定结果

Table 1 Identification results of common peak in fingerprint by UFLC-Q-TOF-MS/MS

No.	t_R /min	Compound	Formula	Parent ion (m/z)	Error /ppm	MS/MS(m/z) ⁵⁾	Classification
1	8.61	没食子酸 ¹⁾	C ₇ H ₆ O ₅	169.014 9 ²⁾	3.9	125.024 4, 169.014 6, 97.029 3	酚
2	10.79	2-O-没食子酰基-D-葡萄糖 ^[2,27]	C ₁₃ H ₁₆ O ₁₀	331.067 3 ²⁾	0.7	271.046 3, 330.842 8, 169.013 9, 125.024 6	酚
3	12.96	邻苯三酚-2-O-葡萄糖苷酸 ^[2]	C ₁₂ H ₁₄ O ₉	301.056 7 ²⁾	0.6	169.013 7, 125.024 9, 301.058 1	酚
4	14.29	香草酸 ^[2]	C ₈ H ₈ O ₄	167.035 6 ²⁾	3.7	123.045 9, 121.028 5, 167.035 5, 137.025 4	酚
5	17.03	原儿茶酸 ¹⁾	C ₇ H ₆ O ₄	153.020 2 ²⁾	5.7	109.030 1, 153.018 6, 91.020 0, 81.035 1	酚
6	17.35	香草酸-4-O-葡萄糖苷 ^[2,27]	C ₁₄ H ₁₈ O ₉	329.089 1 ²⁾	3.9	167.034 9, 123.046 2, 89.023 6	酚
7	24.34	丁酸葡萄糖苷 ^[2,7]	C ₁₅ H ₂₀ O ₁₀	359.098 5 ²⁾	0.4	197.045 4, 153.055 7, 123.008 8, 166.996 6	酚
8	26.40	原儿茶醛 ¹⁾	C ₇ H ₆ O ₃	137.025 2 ²⁾	5.7	137.025 1, 93.034 1	酚

(续表 1)

No.	t_R /min	Compound	Formula	Parent ion (m/z)	Error /ppm	MS/MS(m/z) ⁵⁾	Classification
9a	30.50	Sibiricose A3 ^[2]	C ₁₉ H ₂₆ O ₁₃	461.130 2 ²⁾	0.3	461.132 7, 153.019 6	酚
9b	30.58	表儿茶素-(2 β →7, 4 β →8)-表儿茶素-(4 β →8)-表没食子酰儿茶素 ^[2]	C ₄₅ H ₃₆ O ₁₉	879.177 6 ²⁾	-0.2	559.071 9, 709.129 1, 727.110 1	鞣质
10	31.59	PB1 ¹⁾	C ₃₀ H ₂₆ O ₁₂	577.137 8 ²⁾	4.6	289.072 2, 407.077 3, 425.089 7, 577.141 7	鞣质
11	32.42	PB3 ¹⁾	C ₃₀ H ₂₆ O ₁₂	577.137 1 ²⁾	3.4	407.078 9, 289.072 3, 425.089 2, 577.137 9	鞣质
12	34.15	儿茶素 ¹⁾	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	289.073 1 ²⁾	4.6	289.073 6, 245.082 8, 125.024 1, 137.025 3	黄酮
13a	34.65	1, 6-二没食子酸酰基- β -D-葡萄糖 ^[2,27]	C ₂₀ H ₂₀ O ₁₄	483.080 3 ²⁾	4.7	483.080 8, 271.047 7, 169.014 9, 313.058 3	酚
13b	34.70	(+)-儿茶素-3-O-葡萄糖 ^[2]	C ₂₁ H ₂₄ O ₁₁	487.103 1 ³⁾	3.8	331.083 1, 451.127 6, 269.077 8, 289.076 2	黄酮
14a	35.24	原花青素 B7 ^[2]	C ₃₀ H ₂₆ O ₁₂	577.138 4 ²⁾	5.6	407.079 5, 289.073 2, 577.142 0, 425.090 0	鞣质
14b	35.41	绿原酸 ^[2,27-28]	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	353.088 5 ²⁾	2.0	233.048 4, 205.050 7, 353.088 1, 245.051 9	酚
14c	35.53	对羟基苯甲醛 ^[2,27-28]	C ₇ H ₆ O ₂	121.030 4 ²⁾	7.4	121.029 4, 93.035 8	酚
15a	36.21	Arecatannin A1 ^[2]	C ₄₅ H ₃₈ O ₁₈	865.202 3 ²⁾	4.8	287.057 8, 125.024 4, 289.073 4, 577.138 6	鞣质
15b	36.43	Epicatechin-(3'-O-7'')-epiafzelechin ^[2]	C ₃₀ H ₂₆ O ₁₁	561.142 6 ²⁾	4.2	289.072 4, 561.144 3, 407.078 9, 435.110 0	鞣质
16a	36.58	1-甲基-4, 6-二-O-没食子酸酰基- β -D-葡萄糖 ^[2, 27]	C ₂₁ H ₂₂ O ₁₄	497.096 0 ²⁾	4.7	497.096 8, 183.029 4, 313.057 6, 169.014 3	酚
16b	36.90	儿茶素-(4 α →6)-[表儿茶素-(4 β →8)] ₂ -表儿茶素 ^[2]	C ₆₀ H ₅₀ O ₂₄	1 153.265 2 ²⁾	2.8	577.137 4, 575.120 2	鞣质
17a	37.31	[儿茶素-(4 α →8)] ₃ -儿茶素(4S) ^[2]	C ₆₀ H ₅₀ O ₂₄	1 153.262 7 ²⁾	0.7	577.138 2, 575.129 3, 865.191 3	鞣质
17b	37.56	原花青素 B4 ^[2,27-28]	C ₃₀ H ₂₆ O ₁₂	577.137 8 ²⁾	4.6	289.072 3, 407.079 1, 577.138 6, 425.089 3	鞣质
17c	37.80	京尼平苷 ^[2,27]	C ₁₇ H ₂₄ O ₁₀	387.130 8 ²⁾	2.9	207.066 0, 119.035 6, 101.027 0, 387.142 3	萜
18a	39.13	PC2 ¹⁾	C ₄₅ H ₃₈ O ₁₈	901.176 8 ²⁾	1.8	577.145 6, 865.182 9, 125.024 8, 865.214 4	鞣质
18b	39.17	PB2 ¹⁾	C ₃₀ H ₂₆ O ₁₂	577.138 2 ²⁾	5.3	407.078 8, 289.071 8, 577.140 9, 425.088 1	鞣质
19a	40.51	Arecatannin C1 ^[2,27]	C ₄₅ H ₃₈ O ₁₈	865.202 8 ²⁾	4.9	287.059 4, 577.138 2, 125.024 8, 289.070 9	鞣质
19b	40.56	4, 15-Dioxo-5, 8, 11, 14-tetraoxa-octadecane-1, 18-dioic acid ^[2]	C ₁₄ H ₂₂ O ₁₀	349.115 7 ²⁾	4.8	349.115 2, 99.045 4, 249.063 7, 113.025 4	有机酸
20a	41.39	[儿茶素-(4 α →8)] ₃ -儿茶素(4R) ^[2]	C ₆₀ H ₅₀ O ₂₄	576.130 6 ⁴⁾	6.2	289.071 9, 125.023 8, 151.038 6, 407.078 1	鞣质
20b	41.67	Epiafzelechin-(4 β →8)-epicatechin-(4 β →8)-catechin ^[2]	C ₄₅ H ₃₈ O ₁₇	849.204 5 ²⁾	1.0	287.054 7, 289.074 6, 577.139 2, 271.061 5	鞣质
21a	42.15	Proanthocyanidin B2 ^[2]	C ₃₀ H ₂₆ O ₁₂	577.138 0 ²⁾	4.9	577.142 9, 289.073 2, 407.077 4, 125.024 9	鞣质
21b	42.46	[表儿茶素-(4 β →8)] ₃ -儿茶素(4R) ^[2]	C ₆₀ H ₅₀ O ₂₄	1 153.266 0 ²⁾	5.3	575.135 8, 865.192 5, 577.139 3, 1 153.290 3	鞣质
21c	42.53	[表儿茶素-(4 β →8)] ₂ -表儿茶素-3-O-没食子酸酯 ^[2]	C ₅₂ H ₄₂ O ₂₂	1 053.190 7 ³⁾	4.3	1 017.211 0	鞣质
22	43.41	表儿茶素 ¹⁾	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	289.072 6 ²⁾	2.9	289.072 5, 245.082 5, 137.024 6, 125.023 8	黄酮
23	50.37	PC1 ¹⁾	C ₄₅ H ₃₈ O ₁₈	865.203 1 ²⁾	5.3	287.055 2, 577.145 2, 289.073 0, 125.024 1	鞣质
24	54.27	原花青素 B8 ^[2]	C ₃₀ H ₂₆ O ₁₂	577.138 0 ²⁾	4.9	289.073 3, 407.077 6, 577.139 8, 425.087 9	鞣质
25a	54.66	Cinnamtannin A2 ^[2]	C ₆₀ H ₅₀ O ₂₄	576.130 8 ⁴⁾	6.0	289.072 9, 125.024 5, 151.041 8, 245.046 1	鞣质
25b	54.99	N-乙酰基-L-苯丙氨酸 ^[2,27]	C ₁₁ H ₁₃ NO ₃	206.083 3 ²⁾	5.0	164.071 4, 103.054 8	氨基酸
26a	55.66	表儿茶素-(4 β →8)-表儿茶素 ^[2]	C ₃₀ H ₂₆ O ₁₂	577.138 6 ²⁾	6.0	289.073 0, 577.152 0, 425.087 4, 125.024 2	鞣质

(续表1)

No.	t_R /min	Compound	Formula	Parent ion (m/z)	Error /ppm	MS/MS(m/z) ⁵⁾	Classification
26b	55.68	表儿茶素-(4 β →8)-3-O-没食子酰表儿茶素-(4 β →8)-儿茶素 ^[2]	C ₅₂ H ₄₂ O ₂₂	1 017.213 5 ²⁾	3.9	557.111 0	鞣质
26c	55.82	Hemiphloin ^[2,28]	C ₂₁ H ₂₂ O ₁₀	433.115 5 ²⁾	3.4	313.072 1, 295.064 6, 325.070 6, 267.064 3	黄酮
27a	57.08	Afzelechin-(4→8)-catechin-(4→8)-catechin ^[2]	C ₄₅ H ₃₈ O ₁₇	849.207 8 ²⁾	4.9	577.142 1, 287.049 4	鞣质
27b	57.09	Procyanidin trimer EEC ^[2]	C ₄₅ H ₃₈ O ₁₈	901.180 3 ²⁾	5.6	575.129 0, 714.165 6, 865.236 6, 245.043 7	鞣质
28a	57.84	1, 6-Di-O-syringoyl- β -D-glucose ^[2]	C ₂₄ H ₂₈ O ₁₄	539.143 3 ²⁾	5.0	539.153 1, 197.046 0, 341.084 4, 153.055 6	酚
28b	57.90	Pestalotin 4'-O-methyl- β -mannopyranoside ^[2]	C ₁₈ H ₃₀ O ₉	389.184 0 ²⁾	5.9	389.186 2, 183.145 2	其他
28c	58.06	Arecatannin A3 ^[2]	C ₇₅ H ₆₂ O ₃₀	720.161 7 ⁴⁾	3.7	289.067 0, 125.024 1, 287.058 0, 577.133 8	鞣质
29a	64.64	鞣花酸 ^[2,27-28]	C ₁₄ H ₆ O ₈	301.000 4 ²⁾	4.7	301.000 0	酚
29b	64.89	3, 3'-Digalloylprocyanidin B2 ^[2]	C ₄₄ H ₃₄ O ₂₀	881.162 0 ²⁾	5.6	287.058 3, 125.027 9, 729.162 1, 289.064 3	鞣质
29c	65.19	Arecatannin A1-3, 3'-digallate ^[2]	C ₅₉ H ₄₆ O ₂₆	1 169.229 1 ²⁾	7.4	575.127 8, 577.135 3, 881.177 9	鞣质
30	66.12	ECG ¹⁾	C ₂₂ H ₁₈ O ₁₀	477.062 0 ³⁾	5.5	169.014 2, 289.072 1, 441.085 6, 125.024 4	黄酮
31a	66.49	芦丁 ¹⁾	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	609.149 3 ²⁾	5.2	609.151 4, 301.036 8	黄酮
31b	66.55	Isocinnamtannin A2 ^[2]	C ₆₀ H ₅₀ O ₂₄	1 153.267 6 ²⁾	4.9	287.054 1, 575.122 8, 577.149 6, 865.176 2	鞣质
31c	66.98	儿茶素-(4 β →8)-儿茶素-(4 β →8)-表儿茶素 ^[2]	C ₄₅ H ₃₈ O ₁₈	865.204 7 ²⁾	7.1	713.167 8, 125.023 4, 287.054 4, 289.068 8	鞣质
32	68.68	表没食子儿茶素-7-葡萄糖醛酸 ^[2]	C ₂₁ H ₂₂ O ₁₃	481.100 0 ²⁾	2.6	481.102 3, 315.074 2, 153.018 9, 437.098 2	黄酮
33	68.85	PA2 ¹⁾	C ₃₀ H ₂₄ O ₁₂	611.099 2 ³⁾	4.9	575.125 3, 289.073 6, 423.074 3, 449.088 8	鞣质
34	81.42	3-Feructosyl-6'- <i>p</i> -coumaroyl-sucrose ^[2]	C ₃₁ H ₃₆ O ₁₆	699.172 8 ³⁾	4.4	663.198 2, 145.028 8, 175.039 8	苯丙素苷
35a	84.02	6-Acetyl-3', 6'-di- <i>p</i> -coumaroyl-sucrose ^[2]	C ₃₂ H ₃₆ O ₁₆	675.197 1 ²⁾	6.0	675.204 2, 145.029 7, 487.150 9, 529.165 7	苯丙素苷
35b	84.07	N- <i>cis</i> -feruloyltramine ^[2, 27-28]	C ₁₈ H ₁₉ NO ₄	312.125 3 ²⁾	5.7	312.126 5, 148.053 5, 178.051 2	生物碱
36	88.57	Smilaside A ^[2]	C ₃₆ H ₄₂ O ₁₉	813.207 5 ³⁾	7.5	175.040 8	苯丙素苷
37	90.42	Hydropiperoside ^[2]	C ₃₉ H ₄₀ O ₁₇	815.201 7 ³⁾	7.1	145.028 7, 633.185 1, 779.228 4	苯丙素苷
38a	93.24	Tatariside A ^[2, 27-28]	C ₃₆ H ₄₀ O ₁₈	759.220 2 ²⁾	7.9	145.029 7	苯丙素苷
38b	93.43	9, 10, 13-Trihydroxy-11-octadecadienoic acid ^[2]	C ₁₈ H ₃₄ O ₅	329.235 1 ²⁾	5.3	329.237 0, 211.135 0, 171.103 3, 229.145 3	有机酸
39	95.41	Diboside A ^[2]	C ₄₉ H ₄₈ O ₂₀	991.247 0 ³⁾	3.7	955.300 1	苯丙素苷
40a	95.76	Lapathoside A ^[2, 7]	C ₅₀ H ₅₀ O ₂₁	1 021.261 7 ³⁾	7.7	985.297 2, 145.029 4	苯丙素苷
40b	95.94	Tatariside B ^[2, 27-28]	C ₄₄ H ₄₆ O ₂₀	929.236 0 ³⁾	9.0	145.028 4, 893.270 9	苯丙素苷
40c	96.11	Lapathoside B ^[2]	C ₅₁ H ₅₂ O ₂₂	1 051.281 6 ³⁾	16.3	1 015.300 9, 145.029 2	苯丙素苷

1): confirmed by comparison with reference substances(通过对照品比对确认); 2): parent ion is $[M-H]^-$ (母离子为 $[M-H]^-$); 3): parent ion is $[M+Cl]^-$ (母离子为 $[M+Cl]^-$); 4): parent ion is $1/2[M-2H]^{2-}$ (母离子为 $1/2[M-2H]^{2-}$); 5): sequencing according to the abundance(根据丰度排列)

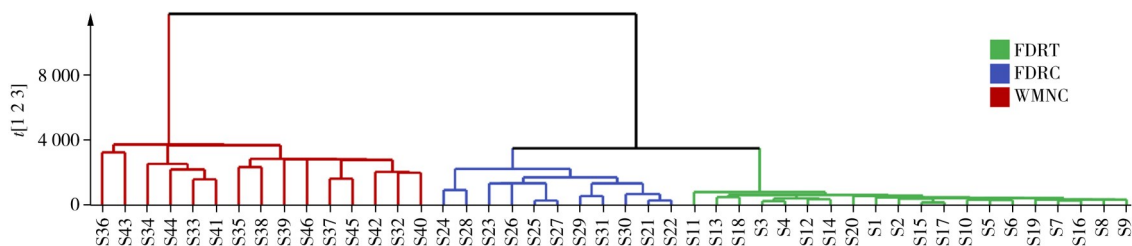


图3 46批FDR制剂的聚类分析结果

Fig. 3 HCA of 46 batches FDR preparations

2.1.6 正交偏最小二乘判别分析 为进一步筛选对 3 种 FDR 制剂质量影响较大的成分, 在 PCA 基础上, 将 46 批 FDR 制剂分为 FDRT(S1~S20)、FDRC(S21~S31) 及 WMNC(S32~S46) 3 组, 以“2.1.2”计算所得 40 个量化共有峰面积为变量, 采用 SIMCA 14.1 软件建立 OPLS-DA 模型。该模型参数 $R^2_{Xcum}=0.889$, $R^2_{Ycum}=0.918$, $Q^2_{cum}=0.911$, 均大于 0.5, 表明模型具有较高的稳定性和预测性。为防止模型出现过拟合, 通过 200 次置换检验对模型内部进行验证, 置换后的 R^2 、 Q^2 分别为 0.156、-0.434, 表明该模型稳定可靠, 可用于 3 种 FDR 制剂的分析(见图 5)。OPLS-DA 模型得分图(图 6)中 S1~S20(FDRT)和 S21~S31(FDRC)分布在纵轴“0”轴右侧, 而 S32~S46(WMNC)则分布在纵轴“0”轴左侧, 与 HCA 和 PCA 结果一致, 再次提示 FDRT 和 FDRC 与 WMNC 存在明显质量差异, FDRT 和 FDRC 也存在一定质量差异。OPLS-DA 模型中的变量投影重要性(VIP)图见图 7, 以 $VIP>1$ 为阈值, 筛选出 6 个引起 3 种 FDR 制剂质量差异的标志性共有峰, 根据 VIP 值大小依次为峰 35(6-Acetyl-3', 6'-di-*p*-coumaroyl-sucrose 和 *N*-*cis*-feruloyltramine)、峰 34(3-Feructosyl-6'-*p*-coumaroyl-sucrose)、峰 11(PB3)、峰 10(PB1)、峰 18(PC2 和 PB2) 和峰 12(儿茶素)。将“2.1.2”计算所得共有峰 35、34 和 18 的量化共有峰面积, 采用 IBM SPSS 25.0 统计软件进行方差分析, 组间比较采用 LSD 检验。结果(图 8)显示, 除 FDRT 和 FDRC 共有峰 34 的平均量化峰面积无明显差异($P>0.05$)外, 3 种制剂指纹图谱共有峰 35、34 和 18 的平均量化共有峰面积均有显著差异($P<0.01$), 其中共有峰 35 和 18 为 WMNC>FDRC>FDRT, 共有峰 34 为 WMNC>FDRC 和 FDRT。

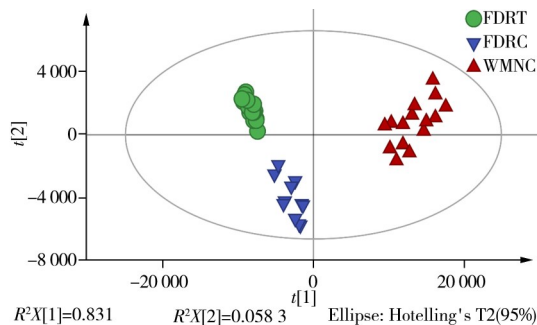


图 4 46 批 FDR 制剂的主成分得分散点图

Fig. 4 Scores plot of 46 batches FDR preparations

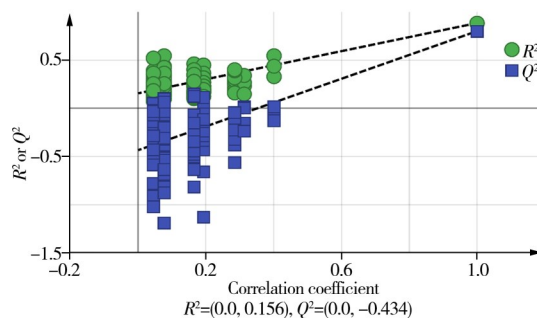
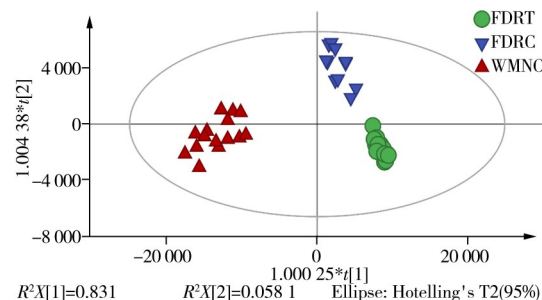
图 5 PLS-DA 模型的置换检验结果($n=200$)Fig. 5 Permutation test results of PLS-DA model($n=200$)

图 6 46 批 FDR 制剂的 OPLS-DA 得分图

Fig. 6 OPLS-DA score plot of 46 batches FDR preparations

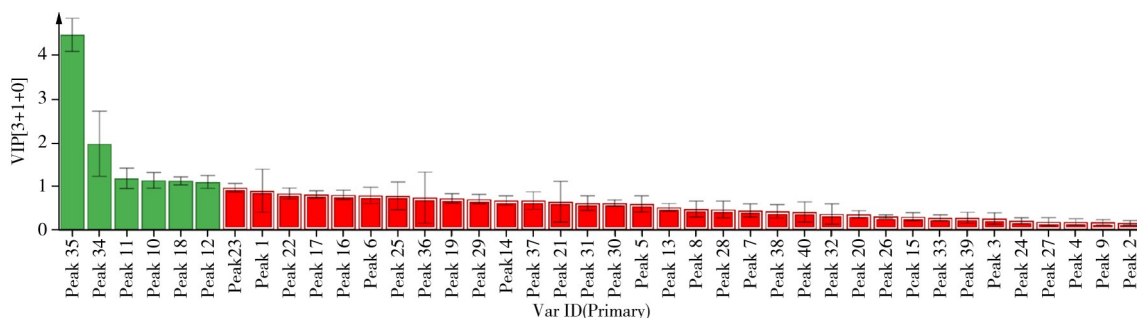


图 7 40 个共有峰的 VIP 图

Fig. 7 VIP value of 40 common peaks

2.2 成分含量测定结果及分析

2.2.1 方法学考察 10 个被测成分在一定质量浓度范围内线性关系良好, 检出限为 0.181~14.592 $\mu\text{g/mL}$, 定量下限为 0.225~15.867 $\mu\text{g/mL}$ (见表 2)。日内精密度的 $\text{RSD}\leq 2.3\%$, 日间精密度的 $\text{RSD}\leq 3.7\%$, 表明仪器精密度良好; 稳定性实验的 $\text{RSD}\leq 3.2\%$, 表明供试品溶液在制备后 36 h 内稳定; 重复性实验的 $\text{RSD}\leq 3.5\%$, 表明样品处理方法的重复性较好; 平均回收率为 97.5%~104%, $\text{RSD}\leq 2.7\%$, 表明所建立的方法准确度良好。

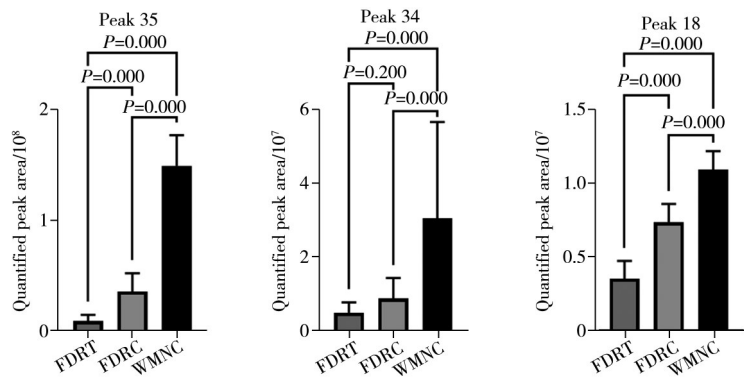


图 8 指纹图谱共有峰 35、34 及 18 量化共有峰面积的方差分析结果柱状图

Fig. 8 Bar charts of the variance analysis results of the quantified peak areas of common peaks 35, 34, and 18 in the fingerprint

表 2 10 个成分的回归方程、线性范围、检出限及定量下限

Table 2 Regression equations, linear ranges, LOD and LOQ of 10 components

Compound	Regression equation	<i>r</i>	Linear range/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	LOD/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	LOQ/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)
没食子酸	$Y=73\,297\,240\,X-3\,282$	0.999 9	2.040 5~102.025	0.190	0.427
原儿茶酸	$Y=42\,739\,684\,X-15\,956$	0.999 9	1.725 5~86.275	0.698	1.074
原儿茶醛	$Y=125\,372\,146\,X-18\,719$	0.999 9	0.250 5~12.525	0.181	0.225
PB1	$Y=19\,064\,922\,X-50\,972$	0.999 9	6.008~300.4	2.956	3.645
PB3	$Y=20\,128\,383\,X-80\,886$	0.999 9	6.312~315.6	4.568	5.571
儿茶素	$Y=19\,216\,041\,X-23\,878$	0.999 9	5.549 6~277.48	1.694	3.000
表儿茶素	$Y=19\,857\,944\,X-26\,122$	0.999 9	7.945 6~397.28	2.260	3.374
PC1	$Y=18\,934\,715\,X-267\,402$	0.999 9	20.94~1 047	14.592	15.867
ECG	$Y=31\,708\,601\,X-90\,574$	0.999 9	8.558 4~427.92	3.101	3.847
PA2	$Y=14\,065\,119\,X-124\,600$	0.999 9	12.36~618	9.285	9.844

2.2.2 样品含量测定结果 46 批 FDR 制剂中 10 个成分含量的柱状图见图 9，热图见图 10。图 9 显示，除 FDRC 和 WMNC 中儿茶素及 FDRT 和 FDRC 中 PA2 的平均含量无明显差异($P>0.05$)外，3 种 FDR 制剂中 10 个成分的平均含量及 10 个成分含量之和的平均值均有显著差异($P<0.01$ 或 $P<0.05$)，其中没食子酸、原儿茶酸及原儿茶醛为 FDRC>FDRT>WMNC，PB1 和 PB3 为 FDRC>WMNC>FDRT，表儿茶素、PC1、ECG 及 10 个成分含量之和为 WMNC>FDRC>FDRT，儿茶素为 FDRC 和 WMNC>FDRT，PA2 为 WMNC>FDRC 和 FDRT。

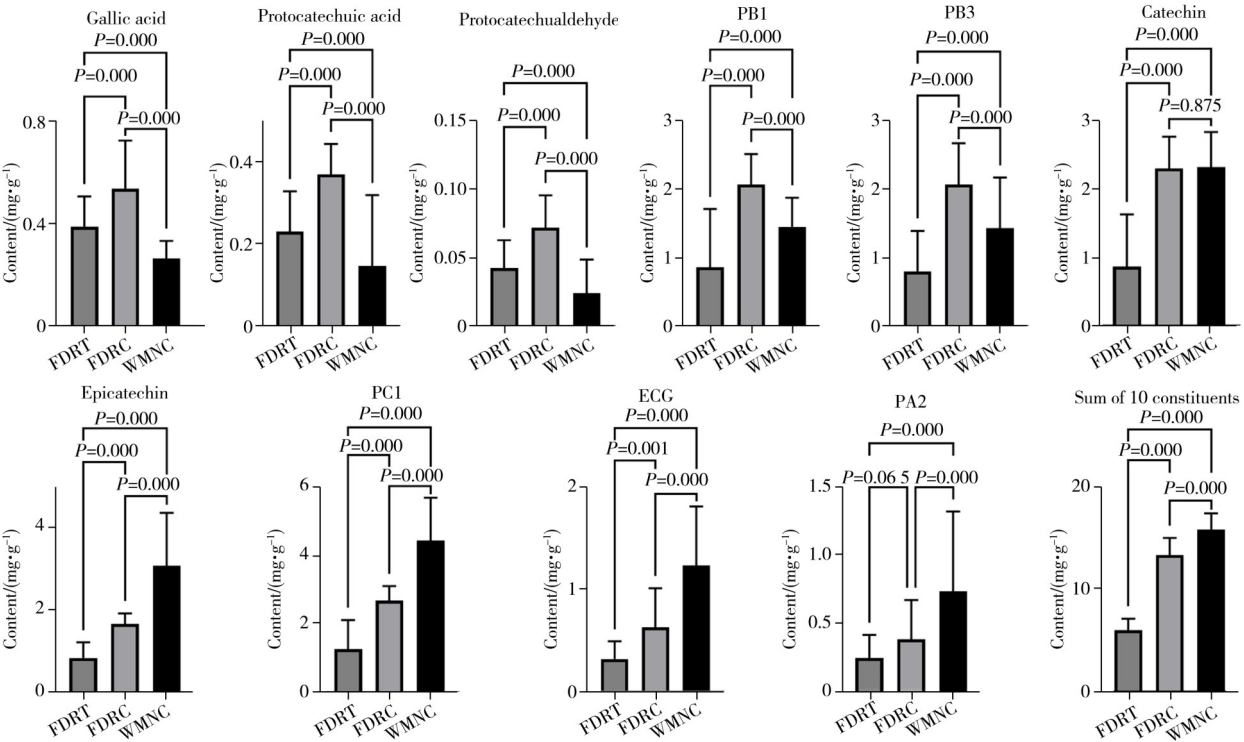


图 9 46 批 FDR 制剂中 10 个成分含量柱状图

Fig. 9 Bar charts of the contents of 10 constituents in 46 batches FDR preparations

2.4 讨 论

2.4.1 含量测定成分选择 本实验在文献[29]的色谱条件基础上多次调整了流动相梯度程序, 但仍有部分色谱峰未达到有效分离, 由于部分色谱峰存在重叠成分, 3 种 FDR 制剂指纹图谱 40 个共有峰鉴定了 67 个成分, 其中 13 个成分采用对照品比对确认。因为 PC2、PB2 及芦丁未与其他成分达到有效分离, 所以仅测定了其中 4 个鞣质类成分、4 个酚类成分和 3 个黄酮类成分共 10 个成分的含量。

2.4.2 FDR 制剂中的成分 指纹图谱能够对中药及其制剂中所含主要化学成分进行整体表征^[18]。从本研究建立的 46 批 3 种 FDR 制剂指纹图谱及共有峰鉴定结果看, FDRT、FDRC、WMNC 中主要含有相同的 67 个成分, 成分种类与文献报道基本一致^[2,16-17]。本研究进行含量测定的鞣质类、酚类及黄酮类成分目前也被认为是金荞麦及其制剂的主要活性成分^[2,16-17]。

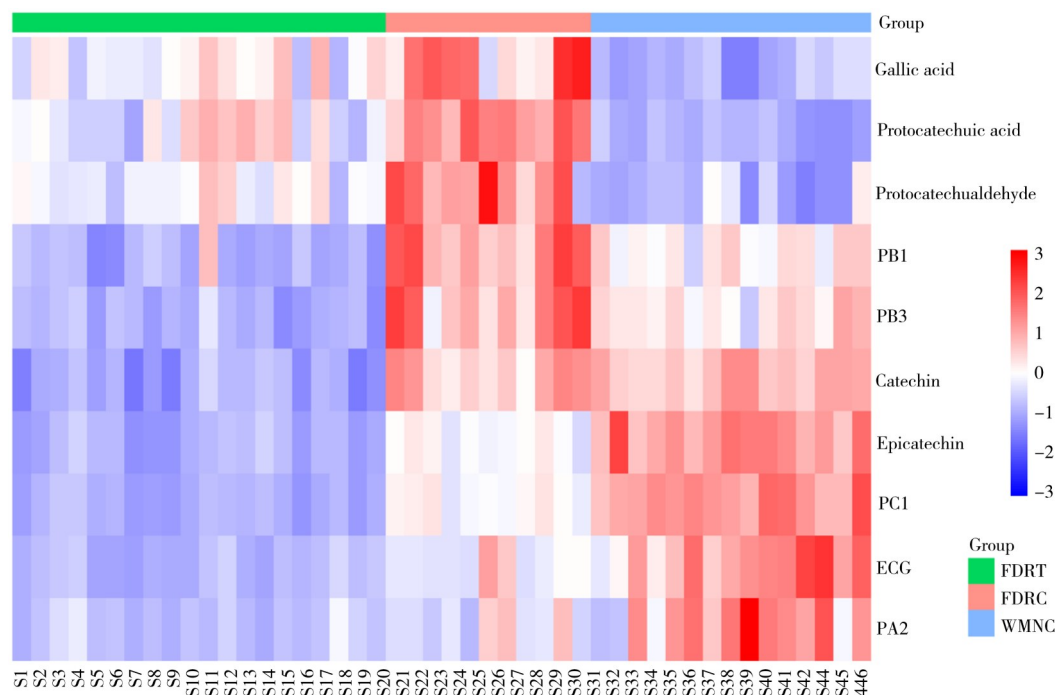


图 10 46 批 FDR 制剂中 10 个成分的含量热图

Fig. 10 Heatmap of the contents of 10 constituents in 46 batches FDR preparations

2.4.3 3 种 FDR 制剂的质量差异及原因分析 本研究结果显示, 3 种 FDR 制剂存在质量差异, 且 FDRT 和 FDRC 与 WMNC 存在明显质量差异, 指纹图谱共有峰 35、34、11、10、18、12 对应的成分是影响 3 种 FDR 制剂质量差异的主要成分。对于 3 种制剂, 指纹图谱共有峰 35、34 和 18 的平均量化共有峰面积除 FDRT 和 FDRC 的共有峰 34 无明显差异 ($P > 0.05$) 外, 其余均有显著性差异 ($P < 0.01$), 其中共有峰 35 和 18 为 WMNC > FDRC > FDRT, 共有峰 34 为 WMNC > FDRC 和 FDRT; PB3、PB1、儿茶素等 10 个成分的平均含量之和均存在显著差异, 且均为 WMNC > FDRC > FDRT, 因此总体来讲 WMNC 质量优于 FDRC 和 FDRT, FDRC 质量优于 FDRT。

引起 3 种 FDR 制剂质量差异的原因, 首先应考虑所用 FDR 原料, 因为原料的质量差异会传递到制剂。有研究表明, 因产地、生长年限、采收期等不同, FDR 化学成分的含量差异很大^[27-31], 有文献甚至报道 WMNC 的原料只能用云南产的 FDR^[27]。

其次应考虑制备工艺, FDRT、FDRC 和 WMNC 均为 FDR 的乙醇提取物制剂^[3, 8, 12], 但提取用乙醇浓度、用量、提取时间、次数等工艺因素均会影响成品制剂的质量。根据反相 HPLC 原理, 含量测定及 VIP > 1 涉及的共有峰所含的成分极性逐渐减小, 即水溶性成分出峰在前。含量测定和模式识别结果显示, 与 FDRC 比较, WMNC 中儿茶素 (峰 12) 的平均含量无明显差异, 以该成分为界, 之前出峰的成分平均含量均为 WMNC 低; 之后出峰的成分的平均含量及平均量化共有峰面积为 WMNC 高。这些明显与 WMNC 的原料威麦宁制备过程中的大孔吸附树脂纯化处理有关, 因为在处理过程中用水洗脱掉部分水溶性成分, 而较多地保留了极性较小的成分。威麦宁是 FDR 总鞣质和表儿茶素混合物的商品名^[3, 13, 32],

大孔吸附树脂纯化处理的目的是富集鞣质类成分和表儿茶素,虽然WMNC中儿茶素(峰12)之后出峰的PC1(峰23)、PA2(峰33)、PC2和PB2(峰18)等鞣质类成分的平均含量或平均共有峰量化面积大于FDRC,但之前出峰的PB3(峰11)、PB1(峰10)却低于FDRC,提示处理过程造成了某些极性较大的鞣质类成分流失。图8~10比较直观地展示了以上工艺引起的3种FDR制剂的质量差异。

另外也应考虑制剂成品含原药材的量。根据文献^[12-13, 32]推算及实际称量,FDRT每片(约0.3 g)含FDR约1.52 g,即每g含原药材约5.07 g;FDRC、WMNC每粒(0.4 g)含FDR均约2.5 g,即每g含原药材均约6.25 g。FDRT和FDRC为同一企业产品,原料来源应基本相同,差别仅为前者是FDR乙醇提取浸膏加赋形剂压片^[12],后者是FDR乙醇提取物喷雾干燥粉加赋形剂成型装胶囊^[8],但FDRT和FDRC中除PA2的平均含量无明显差异($P>0.05$)外,其余9个成分的平均含量均有显著差异($P<0.01$),其主要原因可能是浸膏比喷雾干燥粉需要加更多的赋形剂成型,使得成品含生药量相对较少。

2.4.4 3种FDR制剂的质量、用法用量及功效 制剂产生疗效的是患者实际服用的药物,与制剂中药物成分含量和用法用量有关。根据说明书,3种FDR制剂均为每日口服3次,FDRT为每次4~5片,FDRC为每次3粒,WMNC为每次6~8粒。根据“2.4.3”数据,FDRT、FDRC、WMNC的每日服药剂量推算到原药材的量分别为18.24~22.8 g、22.5 g和45~60 g,由此可见,如果用药剂量按推算到原药材的量计算,FDRT和FDRC基本相当,而WMNC则是其2.0~2.7倍。这从另一方面解释FDRT和FDRC主要用于肺脓疡等,而WMNC则主要用于肺癌等,也提示通过调整用药剂量可以相互扩大3种FDR制剂的适应症。

3 结 论

本研究建立了3种FDR制剂的HPLC指纹图谱,对标定的共有峰进行了成分鉴定,对3种FDR制剂的指纹图谱进行了模式识别分析,并对10个成分进行了含量比较。结果表明,从定性角度看,3种FDR制剂所含主要成分基本相同,但FDRT和FDRC与WMNC存在明显质量差异,FDRT与FDRC也存在一定质量差异,2个苯丙素苷类成分、1个生物碱类成分、4个鞣质类成分及1个黄酮类成分是引起3种FDR制剂质量差异的主要成分。总体上,WMNC的质量优于FDRT和FDRC,FDRC的质量优于FDRT。

参考文献:

- [1] Chinese Pharmacopoeia Commission. *Pharmacopoeia of the People's Republic of China (Volume I)*. Beijing: China Medical Science Press(国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)). 北京: 中国医药科技出版社, 2025: 236.
- [2] Cao Y. *Chemical Composition Analysis and Quality Evaluation of Decoction Pieces of Fagopyri Dibotryis Rhizoma*. Nantong: Nantong University(曹溢. 金荞麦化学成分研究及质量评价. 南通: 南通大学), 2025.
- [3] Peng Y, Sun Z M, Xiao P G. *Chin. Tradit. Herb. Drugs*(彭勇, 孙载明, 肖培根. 中草药), 1996, 27(10): 629-631.
- [4] Liu Y L, Fang Q N, Zhang X M, Feng X X, Zhang L F, He X W. *Acta Pharm. Sin.*(刘永滢, 房其年, 张秀梅, 冯向新, 张兰芬, 何雪文. 药学报), 1983, 18(7): 545-547.
- [5] Research Office of the Institute of Materia Medica of Chinese Academy of Medical Sciences. *Chin. Pharm. J.*(中国医学科学院药物研究所科研办公室. 中国药学杂志), 1980, 15(8): 40-41.
- [6] Fan W Q. *Chin. Tradit. Herb. Drugs*(范文起. 中草药), 1981, 12(7): 27.
- [7] Zhang X, Cao Y, Li J H, Liu A L, Liu H B, Huang L F. *Molecules*, 2017, 22(11): 1998.
- [8] He M S, Yan Y M, Gu L Q, Wang Z L, Qian B H, Wang Z Y. China Patent(何美姗, 阎玉梅, 顾理群, 王兆龙, 钱炳辉, 王志勇. 中国专利), CN1491710A. [2004-04-28].
- [9] Yao R C, Huang M F, Yang C R. *Acta. Bot. Yunnan*(姚荣成, 黄梅芬, 杨崇仁. 云南植物研究), 1989, 11(2): 215-218.
- [10] Zhang D H, Wu K L, Zhang X, Deng S Q, Peng B. *J. Integr. Med.*, 2020, 18(2): 152-158.
- [11] Cheng K, Wang X M, Cao X L, Xue H W. *J. Nantong Univ. Med. Sci.*(程康, 王秀梅, 曹晓琳, 薛红卫. 南通大学学报·医学版), 2021, 41(4): 341-344.
- [12] Ji K S, He M S. China Patent(季克胜, 何美姗. 中国专利), CN1156050A. [1997-08-06].
- [13] Li C F, Shang G M, Wu D H, Dong J H. China Patent(李昌福, 商国懋, 吴德海, 董建华. 中国专利), CN109646493A. [2019-04-19].
- [14] Zhang Y J, Shi Y F, Qi S Y, Zhang M Y, Yang J, Li G H. *Eval. Anal. Drug-Use Hosp. China*(张玉君, 石亚飞, 戚姝娅, 张铭予, 杨珺, 李国辉. 中国医院用药评价与分析), 2024, 24(6): 722-730.

- [15] Zhao L L, Wang Y T, Kong F M, Li X J, Liu H G, Wang X Q, Jia Y J. *Chin. Tradit. Herb. Drugs*(赵林林, 王艳亭, 孔凡铭, 李小江, 刘宏根, 王晓群, 贾英杰. 中草药), **2022**, 53(16): 5119-5127.
- [16] Zhang L L, He Y, Sheng F Y, Hu Y F, Song Y, Li W, Chen J R, Zhang J M, Zou L. *Chin. Med.*, **2021**, 16(1): 89.
- [17] Geng Q, Liu B, Cao Z W, Li L, Lu P P, Lin L, Yan L, Lu C. *Front. Pharmacol.*, **2023**, 14: 1095554.
- [18] Liu Z J, Bi F J, Lin T. *J. Instrum. Anal.* (刘主洁, 毕福钧, 林彤. 分析测试学报), **2024**, 43(11): 1835-1842.
- [19] Xie P S. *Mod. Tradit. Chin. Med. Mater. Med. World Sci. Technol.* (谢培山. 世界科学技术—中药现代化), **2001**, 3(3): 18-23.
- [20] Wang L Y, Geng J L, Li C J, Zhou R R, Dai Y, Dou Z H. *Sep. Sci. Plus*, **2024**, 7(9): e202400077.
- [21] Wu M S, Xiao G L, Xie C H, Xu A L. *J. Instrum. Anal.* (邬旻珊, 肖观林, 谢灿辉, 胥爱丽. 分析测试学报), **2024**, 43(11): 1803-1812.
- [22] Li C J, Wang L Y, Dai Y Y, Li Y J, Zhou R R, Dou Z H. *Sep. Sci. Plus*, **2025**, 5: e70060.
- [23] Liu Y C, Xiao G L, Tang R Y, Zeng Z H, Wu G Y, Jia D Z, Bi X L. *J. Instrum. Anal.* (刘焰嫦, 肖观林, 汤瑞茵, 曾志浩, 吴广颖, 贾德政, 毕晓黎. 分析测试学报), **2024**, 43(11): 1784-1793.
- [24] Meng Y, Zheng Y, Bao Y R, Wang S, Li T J, Meng X S. *J. Instrum. Anal.* (孟莹, 郑莹, 包永睿, 王帅, 李天娇, 孟宪生. 分析测试学报), **2024**, 43(9): 1376-1388.
- [25] Dai Y, Dou Z H, Zhou R R, Luo L, Bian L, Chen Y F, Tao J H, Chen Z X. *J. Anal. Methods Chem.*, **2021**, (2021): 5546446.
- [26] Dou Z H, Xu B, Ju Y F, Zhou R R, Dai Y, Ni L L. *Chin. Tradit. Herb. Drugs*(窦志华, 许波, 居宇峰, 周荣荣, 戴莹, 倪丽丽. 中草药), **2021**, 52(23): 7162-7175.
- [27] Zhang C C, Jiang Y, Liu C Z, Shi L Y, Li J T, Zeng Y, Guo L P, Wang S. *Metabolites*, **2022**, 12(9): 790.
- [28] Wu D D, Qu C, Yu D X, Yang F, Wu Q N. *J. Sep. Sci.*, **2024**, 47(23): e70037.
- [29] Lu H. *Study on the Quality Standards of Fagopyrum Dibotrys Medicinal Materials and its Decoction Pieces*. Nanjing: Nanjing University of Chinese Medicine(卢欢. 金荞麦药材及饮片的质量标准研究. 南京: 南京中医药大学), **2009**.
- [30] Liu Y, Ma N, Gao Z Y, Hua Y G, Cao Y, Yin D P, Jia Q J, Wang D K. *Genetica*, **2024**, 152(4/6): 159-178.
- [31] Zhang J, Wei S L, Li J, Fu C K. *Mod. Chin. Med.* (张晶, 魏胜利, 李娇, 付昌奎. 中国现代中药), **2021**, 23(3): 501-505.
- [32] Li C F, Shang G M, Wu D H, Zhang C. China Patent(李昌福, 商国懋, 吴德海, 张宸. 中国专利), CN109620864A. [2019-04-16].

(责任编辑: 丁 岩)