

doi: 10.12452/j.fxcxb.24052987

基于HPLC指纹图谱和一测多评法的复方南板蓝根颗粒质量评价

刘主洁, 毕福钧*, 林彤*

(广州市药品检验所, 国家药监局中成药质量评价重点实验室, 广东 广州 510160)

摘要: 采用高效液相色谱法(HPLC)对复方南板蓝根颗粒进行指纹图谱研究和相似度评价, 并结合主成分分析(PCA)、正交偏最小二乘判别分析(OPLS-DA)进行统计学研究。在此基础上, 以秦皮乙素为内参物, 计算单咖啡酰酒石酸和菊苣酸的相对校正因子, 并利用外标法(ESM)验证一测多评法(QAMS)的可靠性。10批复方南板蓝根颗粒的指纹图谱中共确定13个共有峰, 相似度为0.942~0.996。PCA、OPLS-DA模式识别结果均表明, 不同厂家样品间的成分存在一定差异。QAMS与ESM检测数据表明, 两种算法的差异不大。所建立的指纹图谱结合统计学分析和一测多评法评价模式经济可靠、准确可行, 可用于完善复方南板蓝根颗粒的质量标准监控。

关键词: 复方南板蓝根颗粒; 指纹图谱; 一测多评; 秦皮乙素; 高效液相色谱

中图分类号: O657.7; R284.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-4957(2024)11-1835-08

Quality Evaluation of Fufang Nanbanlangen Keli Based on HPLC Characteristic Fingerprint and Quantitative Analysis of Multi-components with Single Marker

LIU Zhu-jie, BI Fu-jun*, LIN Tong*

(NMPA Key Laboratory for Quality Evaluation of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou Institute for Drug Control, Guangzhou 510160, China)

Abstract: The analysis was achieved by high-performance liquid chromatography (HPLC) and similarity of fingerprints evaluation. Additionally, principal component analysis (PCA) and orthogonal partial least squares discriminate analysis (OPLS-DA) were employed to explore the overall data and differential compounds of Fufang Nanbanlangen Keli. At the same time, taking aesculetin as the internal standard, relative correction factors of caftaric acid and chicoric acid were calculated to establish the multi-components by single marker (QAMS) method. The correctness and practicability of this study was assessed by contrasting the data with external standard method (ESM). 13 common chromatographic peaks were signed in fingerprints with 10 batches of Fufang Nanbanlangen Keli, and the similarities of each batch were 0.942–0.996. The PCA and OPLS-DA study showed that there were certain varies from different manufacturers. Compared with ESM data, the data of QAMS method were not significantly different. The established fingerprint combined with QAMS method are economic and reliable, which can provide references and systematic studies for the comprehensive supervisory control of Fufang Nanbanlangen Keli.

Key words: Fufang Nanbanlangen Keli; characteristic fingerprint; QAMS; aesculetin; high-performance liquid chromatography

复方南板蓝根颗粒由南板蓝根、紫花地丁和蒲公英组成, 具有消炎解毒功效, 主要用于治疗腮腺炎、咽炎、乳腺炎和疮疖肿痛^[1]。现行标准只有性状、理化鉴别反应和南板蓝根薄层色谱法(TLC)鉴别项, 未能全面监控产品的质量。目前有关该制剂的研究主要为定性鉴别研究及含量测定, 李钦等^[2]建立了处方中咖啡酸、紫花地丁的TLC定性鉴别及蒲公英中咖啡酸的含量测定方法; 温琰^[3]利用高效液

收稿日期: 2024-05-29; 修回日期: 2024-08-08

基金项目: 2021年广东省科技创新战略专项(20212210005)

* 通讯作者: 林彤, 主任中药师, 研究方向: 中药及中成药质量标准研究, E-mail: 1479215697@qq.com
毕福钧, 主任中药师, 研究方向: 中药及中成药质量标准研究, E-mail: 137255039@qq.com

相色谱(HPLC)建立了紫花地丁中秦皮乙素的含量测定方法;王金鹏等^[4]通过HPLC建立了复方南板蓝根颗粒中南板蓝根靛蓝和靛玉红的含量测定方法;张利沙等^[5]采用硫酸-苯酚法测定了复方南板蓝根颗粒中多糖的含量及其单糖组成。但上述文献缺乏对全方药味的特征鉴别和多成分质控指标的研究。

中药指纹图谱主要是借助波谱、色谱等检测技术对中药的化学成分进行整体研究,能反映中药整体特征,具有高度选择性,可作为鉴别中药真伪、全面评价产品质量的重要手段^[6-7]。一测多评法(QAMS)作为含量评价模式在中药多成分分析领域受到广泛应用。QAMS是利用中药各有效成分存在的内在函数关系(相对校正因子, $f_{k,k}$),通过只测定某一典型成分的含量来达到多指标成分同步检测的目的^[8],有利于解决多指标成分含量监控中对照品短缺和价格昂贵的问题。本文针对复方南板蓝根颗粒中各味药材活性成分的特点^[9-11],通过HPLC结合化学计量学分析法建立全方药味的指纹图谱,同时采用QAMS法测定单咖啡酰酒石酸、秦皮乙素、菊苣酸的含量,降低了分析时间和经济成本,可为复方南板蓝根颗粒的质量标准提升提供参考。

1 实验部分

1.1 仪器

岛津 Nexera XR 高效液相色谱仪(日本 Shimadzu 公司);安捷伦 1260 高效液相色谱仪(美国 Agilent 科技公司)。密理博纯水器(美国 Millipore 公司)。AG245 十万分之一电子天平、XPE26 百万分之一电子天平(瑞士 Mettler Toledo 公司)。

1.2 材料

秦皮乙素(批号 110741-202310,纯度为 98.3%,记为 AE)、单咖啡酰酒石酸(批号 112087-202101,纯度为 98.3%,记为 CF)、菊苣酸(批号 110741-202310,纯度为 98.3%,记为 CA)、咖啡酸(批号 110885-201703,纯度为 99.7%,记为 CI)、绿原酸(批号 110753-202119,纯度为 96.3%,记为 CR)和秦皮甲素(批号 110740-201806,纯度为 92.4%,记为 AI)均购自中国食品药品检定研究院;乙腈(色谱纯,德国 Merck 公司);甲酸、甲醇(分析纯,广州化学试剂厂)。共收集复方南板蓝根颗粒样品 10 批,其中生产企业 A 共 3 批(批号:20117B、21030A、20120B,分别编号为 S1、S4、S7);生产企业 B 共 3 批(批号:21331、21353、21356,分别编号为 S2、S9、S10);生产企业 C 共 4 批(批号:202104906、202103901、202104907、202104902B,分别编号为 S3、S5、S6、S8)。

1.3 色谱条件

色谱柱为 Shim-pack Scepter C₁₈-120(250 mm×4.6 mm, 5 μm),流动相为 0.3%甲酸(A)-乙腈(B),洗脱梯度为:0~10 min, 10% B; 10~12 min, 10%~12% B; 12~18 min, 12% B; 18~35 min, 12%~26% B; 35~45 min, 26%~50% B; 45~50 min, 50%~90% B; 50~55 min, 90% B。进样体积为 5 μL;流速为 1.0 mL/min;检测波长为 327 nm。

1.4 对照品溶液的制备

分别称取对照品 AE、CF、CA、CR、CI、AI 适量,精密称定,加入 70%甲醇制成每 1 mL 含 AE 30 μg、CF 35 μg、CA 15 μg、CR 50 μg、CI 60 μg、AI 25 μg 的溶液。

1.5 供试品溶液的制备

取装量差异项下的本品适量,研细,取约 3.5 g,精密称定,置于具塞锥形瓶中。精密加入 70%甲醇 25 mL,称定质量,于超声机中超声处理(功率 380 W,频率 37 kHz)30 min,放冷,再称定质量,用 70%甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液即得。

2 结果与讨论

2.1 HPLC 指纹图谱研究

2.1.1 色谱条件和提取条件的优化 实验中比较了甲醇-水、乙腈-水、乙腈-0.1%甲酸、乙腈-0.3%甲酸、乙腈-0.5%甲酸、甲醇-0.3%甲酸等作为流动相时的分离效果,结果显示,乙腈-0.3%甲酸为流动相时各色谱峰的分离效果及响应较好,故选用乙腈-0.3%甲酸为流动相。比较了水、30%甲醇、50%甲醇、70%甲醇、甲醇等不同提取溶剂、超声处理与加热回流等不同提取方法以及不同提取时间(1、

30、45、60 min)的效果,结果显示以70%甲醇制备的供试品色谱图中色谱峰数目较多且响应较高,结合含量考察结果,确定提取条件为以70%甲醇超声提取30 min。

2.1.2 仪器精密度 取同一份复方南板蓝根颗粒样品供试液(编号:S2),依法测定6次,以7号峰为参照峰(S峰),分别计算其它峰与S峰保留时间和峰面积的相对比值。结果显示,12个色谱峰与S峰保留时间、峰面积的相对比值的相对标准偏差(RSD)均在5.0%以内,表明仪器具有良好的精密度。

2.1.3 重复性 取同一批复方南板蓝根颗粒样品(编号:S2)6份,按“1.5”制备供试品溶液,依法测定,并以7号峰为S峰,分别计算其它峰与S峰保留时间和峰面积的相对比值。结果显示,12个色谱峰与S峰保留时间、峰面积的相对比值的RSD均在5.0%以内,表明该方法具有较好的重复性。

2.1.4 稳定性 取同一批复方南板蓝根颗粒样品(编号:S2),分别于0、2、4、8、12、24、48 h进样分析,以7号峰为S峰,分别计算其它峰与S峰保留时间和峰面积的相对比值。结果显示,12个色谱峰与S峰保留时间、峰面积的相对比值的RSD均在5.0%以内,表明供试品溶液在48 h内有较好的稳定性。

2.1.5 指纹图谱研究 将10批复方南板蓝根颗粒的色谱图导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统2012版”进行匹配和共有峰标识,选择出峰稳定、峰形及分离度较好的13个色谱峰为共有特征峰,生成对照指纹图谱。通过与对照品及对照药材、各药材阴性样品的色谱图(图1~3)比对,对样品色谱图中的各色谱峰进行归属确认(表1)。10批样品的叠加图与对照指纹图谱见图4,其中7号峰(秦皮乙素)的响应好,保留时间适中且价廉易得,因此选择该峰作为参照峰(S峰)。相似度结果均在0.90以上(表2),说明10批复方南板蓝根颗粒在化学成分上整体一致性良好。

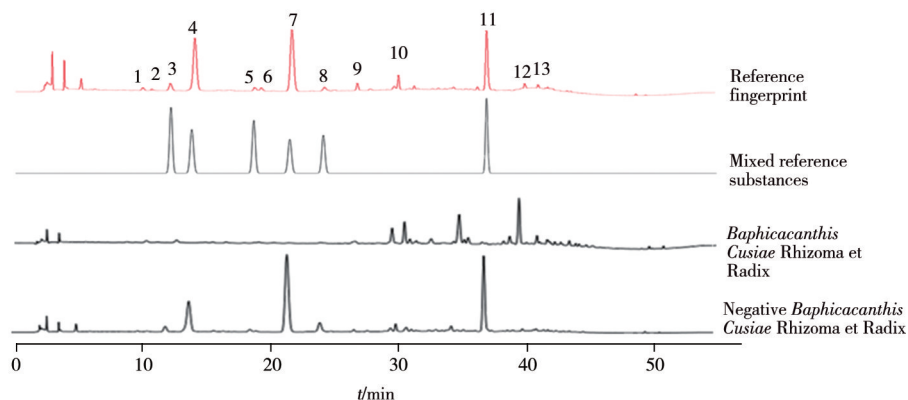


图1 对照指纹图谱、混合对照、南板蓝根和南板蓝根阴性的HPLC色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of reference fingerprint, mixed reference substances, *Baphicacanthis Cusiae Rhizoma et Radix* and negative *Baphicacanthis Cusiae Rhizoma et Radix*

3. aesculin(秦皮甲素); 4. caftaric acid(单咖啡酰酒石酸); 5. chlorogenic acid(绿原酸); 7. aesculetin(秦皮乙素); 8. caffeic acid(咖啡酸); 11. chicoric acid(菊苣酸)

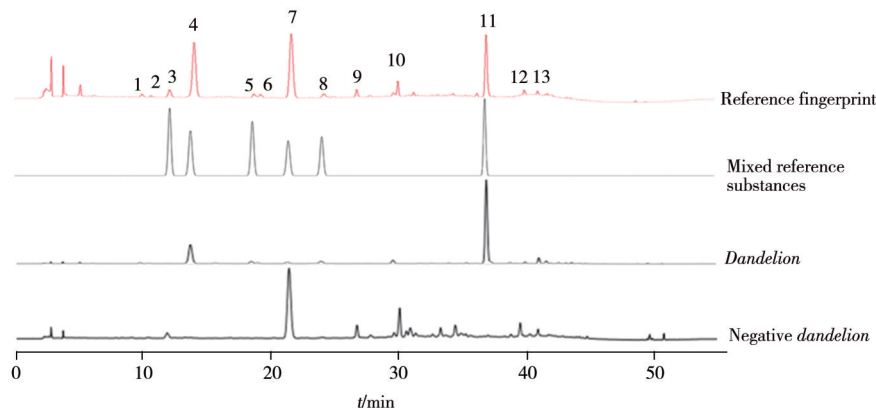


图2 对照指纹图谱、混合对照、蒲公英和蒲公英阴性的HPLC色谱图

Fig. 2 HPLC chromatograms of reference fingerprint, mixed reference substances, *dandelion* and negative *dandelion*

3. aesculin; 4. caftaric acid; 5. chlorogenic acid; 7. aesculetin; 8. caffeic acid; 11. chicoric acid

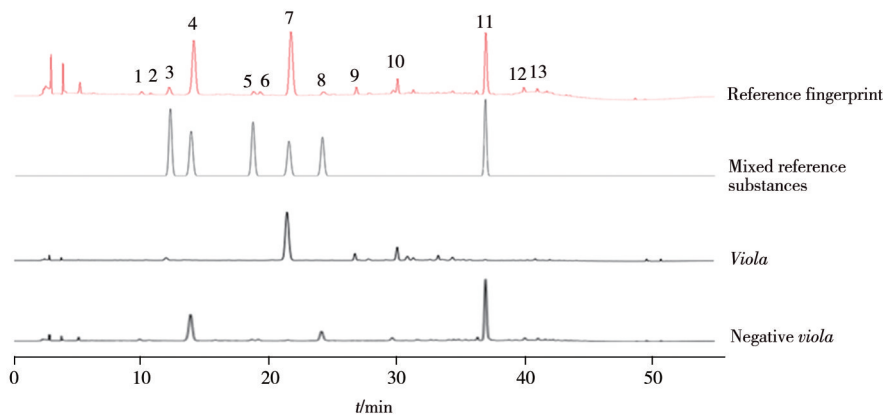


图3 对照指纹图谱、混合对照、紫花地丁和紫花地丁阴性的HPLC色谱图

Fig. 3 HPLC chromatograms of reference fingerprint, mixed reference substances, *viola* and negative *viola*
3. aesculin; 4. caftaric acid; 5. chlorogenic acid; 7. aesculetin; 8. caffeic acid; 11. chicoric acid

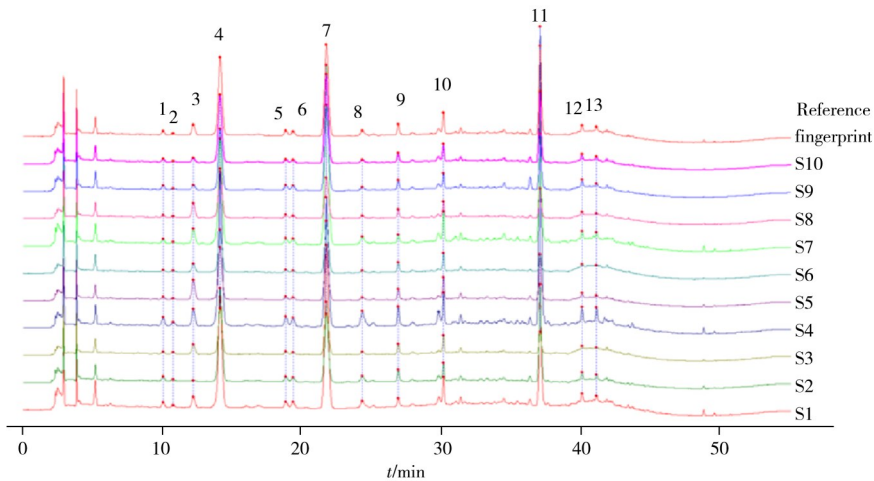


图4 10批复方南板蓝根颗粒的HPLC色谱叠加图及对照图谱

Fig. 4 HPLC chromatograms of 10 batches of Fufang Nanbanlangen Keli and reference fingerprint

2.1.6 化学识别模式研究 主成分分析(PCA):

PCA是在不损失主要信息的前提下,通过数学降维,扩大样本之间的差异,是一种无监督的多元统计分析算法。以13个共有峰峰面积为变量,采用SIMCA 14.0软件对10批复方南板蓝根颗粒进行PCA分析,结果前2个主成分的累计贡献为95.9%,能反映样品的整体信息。以前2个主成分建立坐标系,得到样品的主成分得分图(图5A),由图可见同一生产企业的样品各自聚为一类,说明不同生产企业的样品间存在一定的成分差异。图5B为主成分载荷图,由图可知,峰11(菊苣酸)、7(秦皮乙素)、4(单咖啡酰酒石酸)在区分不同企业复方南板蓝根颗粒指纹图谱中的贡献较大。

正交偏最小二乘判别分析(OPLS-DA): OPLS-DA综合了多元线性回归和主成分回归的优势,利用正交信号校正法减少预测误差,能使组别间的差异最大化,提高模型的分类精确度,属于有监督识别模式。以13个共有峰的峰面积为变量,采用SIMCA 14.0软件对10批样品进行OPLS-DA分析(图6),结果 $R^2X=0.991$, $R^2Y=1$,表明该模型具有良好的解释能力; $Q^2=0.628$,表明该模型的预测能力好,3

表1 各色谱峰的指认与归属

Table 1 Identification of the common chromatographic peaks

No.	Compound	Origin
1	-	Dandelion
2	-	<i>Baphicacanthis Cusiae</i> Rhizoma et Radix
3	Aesculin	<i>Viola</i>
4	Caftaric acid	Dandelion
5	Chlorogenic acid	Dandelion
6	-	Dandelion
7	Aesculetin	<i>Viola</i>
8	Caffeic acid	Dandelion
9	-	<i>Viola</i>
10	-	<i>Viola</i>
11	Chicoric acid	Dandelion
12	-	Dandelion
13	-	Dandelion

组样本明显分离，相互之间无交叉现象。通过提取 OPLS-DA 模型中 13 个变量的重要性投影 (VIP)，得到 VIP 得分图 (图 7)，以 VIP 值大于 1 筛选出贡献较大的成分，按 VIP 大小排序依次为峰 7(秦皮乙素)、11(菊苣酸)、3(秦皮甲素)、4(单咖啡酰酒石酸)。其中峰 7(秦皮乙素)、11(菊苣酸)、4(单咖啡酰酒石酸)与主成分分析结果一致，说明上述 3 个成分可作为复方南板蓝根颗粒的含量监控指标，其峰面积见表 3。

表 2 相似度计算结果

Table 2 The results of similarity calculation

Manufacturer	Serial number	Batch number	Similarity
A	S1	20117B	0.993
	S4	21030A	0.942
	S7	20120B	0.987
B	S2	21331	0.976
	S9	21353	0.989
	S10	21356	0.996
C	S3	202104906	0.968
	S5	202103901	0.986
	S6	202104907	0.959
	S8	202104902B	0.971

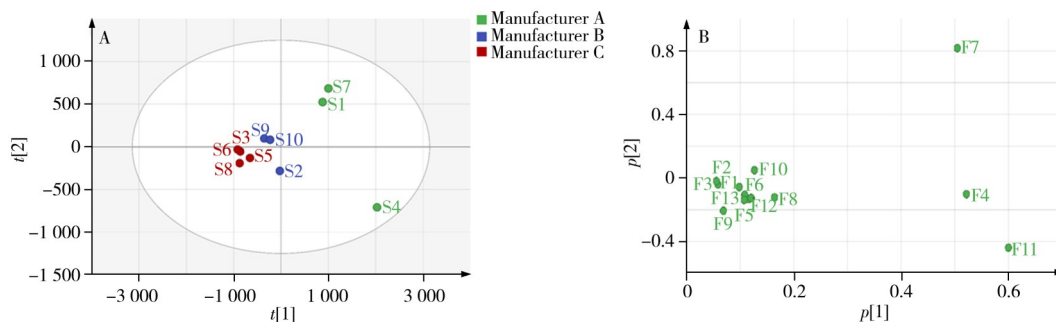


图 5 PCA 得分图(A)与载荷图(B)
Fig. 5 PCA scores plots(A) and loading plots(B)

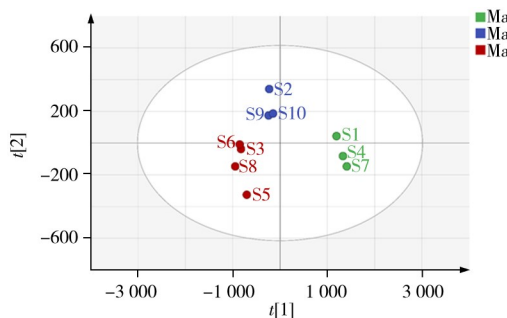


图 6 OPLS-DA 得分图
Fig. 6 OPLS-DA scores plots

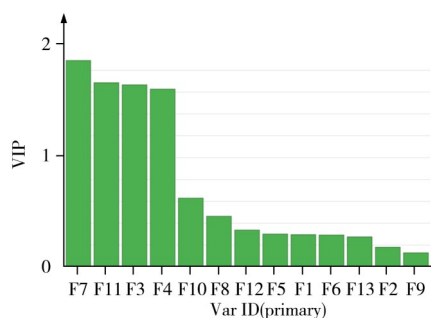


图 7 13 个共有峰的 VIP 图
Fig. 7 VIP values of 13 common peaks

2.2 一测多评含量测定

2.2.1 指标成分和参照物的选择 根据文献报道，秦皮乙素具有抗肿瘤、抗氧化、抗炎、免疫调节、抗血管粥样硬化等多种药理活性^[12]；菊苣酸具有抗菌、抗炎、抗氧化、抗肿瘤等作用^[13]；单咖啡酰酒石酸具有抗炎、抗氧化等作用^[14]，实验发现上述 3 个成分在复方南板蓝根颗粒中的相对含量较高，结合 PCA 及 OPLS-DA 分析筛选出这 3 个成分可能为复方南板蓝根颗粒的主要差异成分，因此选用该 3 个成分作为 QAMS 法含量测定的指标成分。从各成分的色谱分离效果看，秦皮乙素的色谱峰保留时间适中，处于色谱图中位，且性质稳定、价廉易得，因此本研究选择秦皮乙素作为参照物。研究表明，QAMS 法应用于结构母核相似成分间的评价是可行的，此外，有许多学者将 QAMS 法拓展到不同结构母核化学成分类别间的评价研究，也取得了良好成效^[15-17]。本研究以秦皮乙素为内参物，计算单咖啡酰酒石酸、菊苣

表 3 3 个成分的峰面积

Table 3 The peak areas of three compounds

Sample	Peak 4	Peak 7	Peak 11
S1	807 109	1 167 214	553 590
S2	656 459	486 772	437 639
S3	311 116	376 764	96 181
S4	1 117 123	929 068	1 362 890
S5	353 633	391 391	200 806
S6	287 980	371 007	77 473
S7	770 344	1 289 056	611 417
S8	335 836	290 272	132 747
S9	423 922	615 494	251 430
S10	472 772	637 296	322 690

酸的相对校正因子,并考察了该方法的科学性,为复方南板蓝根颗粒的质量监控提供了新方法,也为 QAMS 法应用于不同结构母核化学成分的含量分析积累了数据基础。

2.2.2 线性关系 分别取 CF、AE、CA 对照品 2.385、2.336、2.079 mg,精密称定,置于 25 mL 量瓶中,加入 70% 甲醇稀释至刻度,摇匀作为对照储备液(其中 CF 93.78 $\mu\text{g/mL}$ 、AE 91.85 $\mu\text{g/mL}$ 、CA 81.75 $\mu\text{g/mL}$)。精密吸取上述对照储备液 0.1、1、3、5、8、10 mL,分别加入 70% 甲醇定容至 10 mL 容量瓶中,混合摇匀,得到系列质量浓度的对照品溶液,依法测定。分别以各对照品的进样量(X)为横坐标,峰面积积分值(Y)为纵坐标,计算线性回归方程。CF 的线性回归方程为 $Y=3\ 697.4X-6\ 208.2$, $r=0.999\ 9$; AE 的线性回归方程为 $Y=3\ 064.6X-1\ 553.7$, $r=1.000\ 0$; CA 的线性回归方程为 $Y=4\ 806.5X-8\ 756.4$, $r=0.999\ 9$ 。结果表明 CF 在 4.689~468.9 ng、AE 在 4.592~459.2 ng、CA 在 4.088~408.8 ng 范围内线性关系良好。

2.2.3 仪器精密度 取同一批复方南板蓝根颗粒样品溶液(编号: S2),依法测定 6 次。结果测得 CF、AE、CA 的 RSD 分别为 0.20%、0.40%、0.60%,均小于 5.0%,表明仪器具有良好的精密度。

2.2.4 稳定性 取同一批复方南板蓝根颗粒样品溶液(编号: S2),在室温放置 0、2、4、8、12、24、48 h 后分别进样,依法测定,结果在 48 h 测得 CF、AE、CA 的 RSD 分别为 1.1%、1.1%、0.83%,均小于 5.0%,表明供试品溶液在 48 h 内稳定。

2.2.5 重复性 取同一批复方南板蓝根颗粒样品(编号: S2)3.5 g,精密称定,共 6 份,按“1.5”方法制备供试品溶液,依法测定。结果测得 CF 的平均含量为 0.241 mg/g, RSD 为 1.1%; AE 的平均含量为 0.220 mg/g, RSD 为 2.1%; CA 的平均含量为 0.127 mg/g, RSD 为 0.90%,表明该方法具有较好的重复性。

2.2.6 加标回收率 取已知含量的样品(编号: S2)粉末约 1.75 g,精密称取 6 份,置于具塞锥形瓶中,分别精密加入 70% 甲醇 25 mL(含 CF 16.19 $\mu\text{g/mL}$ 、AE 14.90 $\mu\text{g/mL}$ 、CA 8.82 $\mu\text{g/mL}$),称定质量,按“1.5”制备供试品溶液,依法测定。计算各成分的平均回收率为 96.6%~100%, RSD 为 1.2%~1.7%,表明该方法具有较好的准确度。

2.2.7 相对校正因子 根据“2.2.2”的线性考察结果,以 AE、CF、CA 的浓度及其对应的峰面积,计算 AE 与 CF、CA 的相对校正因子。结果显示,AE 与 CF、CA 的相对校正因子基本一致,平均值分别为 0.836 1 和 0.646 8(见表 4)。

2.2.8 相对校正因子的耐用性 分别考察 2 种不同品牌的 HPLC 仪(Agilent 1260、岛津 Nexera XR)及 2 种不同品牌的 C_{18} 色谱柱(Shim-pack Scepter C_{18} -120(250 mm \times 4.6 mm, 5 μm)、Diamonsil C_{18} (250 mm \times 4.6 mm, 5 μm)),对 AE 与 CF、CA 的相对校正因子的影响。结果显示,不同品牌的 HPLC 仪及色谱柱所得的 $f_{\text{AE/CF}}$ 和 $f_{\text{AE/CA}}$ 无显著差异, RSD 均小于 3.0%,说明该方法的耐用性较好(见表 5)。

2.2.9 色谱峰的定位 根据“2.2.8”的耐用性考察结果,以 AE 峰为参照峰,分别计算 Agilent 1260、岛津 Nexera XR 两种不同品牌的 HPLC 仪和 Shim-pack Scepter C_{18} -120(250 mm \times 4.6 mm, 5 μm)、Diamonsil C_{18} (250 mm \times 4.6 mm, 5 μm) 2 种不同品牌色谱柱对 CF、CA 的相对保留时间(t_{R})和保留时间差(Δt)。结果各成分相对保留时间的 RSD 均小于 5.0%,而保留时间差的差异较大,表明选用相对保留时间定位各目标色谱峰更为合适(见表 6)。

表 4 相对校正因子

Table 4 Relative correction factors

No.	$f_{\text{AE/CF}}$	$f_{\text{AE/CA}}$
1	0.827 3	0.644 7
2	0.852 5	0.664 0
3	0.836 7	0.645 9
4	0.837 8	0.645 7
5	0.834 4	0.643 9
6	0.827 8	0.636 4
Average	0.836 1	0.646 8
RSD/%	1.1	1.4

表 5 不同仪器和色谱柱的相对校正因子

Table 5 Relative correction factors of different instruments and columns

Instrument	Column	$f_{\text{AE/CF}}$	$f_{\text{AE/CA}}$
Shimadzu Nexera XR	Shim-pack Scepter C_{18} -120	0.836 1	0.646 8
	Diamonsil C_{18}	0.810 1	0.650 5
Agilent 1260	Shim-pack Scepter C_{18} -120	0.795 3	0.637 0
	Diamonsil C_{18}	0.805 8	0.649 4
	Average	0.811 8	0.645 9
	RSD/%	2.1	0.96

表 6 不同仪器和色谱柱下各成分的相对保留时间和保留时间差

Table 6 t_R and Δt of different instruments and columns

Instrument	Column	CF		CA	
		t_R	Δt	t_R	Δt
Shimadzu Nexera XR	Shim-pack Scepter C ₁₈ -120	0.643	7.690	1.716	15.413
	Diamonsil C ₁₈	0.668	6.623	1.865	17.253
Agilent 1260	Shim-pack Scepter C ₁₈ -120	0.640	7.733	1.725	15.567
	Diamonsil C ₁₈	0.643	6.988	1.861	16.868
	Average	0.649	7.259	1.792	16.275
	RSD/%	2.0	7.5	4.6	5.7

2.2.10 QAMS 与 ESM 结果比较 取收集到的复方南板蓝根颗粒样品依本方法进行分析, 分别通过外标法(ESM)和 QAMS 计算 CF、CA 的含量, 并分析 ESM 和 QAMS 结果的相对平均偏差(RAD)。结果两种方法测定的 CF、CA 含量的 RAD 值均小于 3.0%, 说明两种算法的结果无显著差异, QAMS 能用于 3 种成分的含量分析(见表 7)。

表 7 QAMS 与 ESM 结果比较(mg/袋, $n=2$)Table 7 The results of QAMS and ESM(mg/bag, $n=2$)

No.	AE		CF		CA		
	ESM	ESM	QAMS	RAD/%	ESM	QAMS	RAD/%
S1	5.461	3.034	3.160	2.0	1.634	1.680	1.4
S2	2.221	2.404	2.504	2.0	1.264	1.300	1.4
S3	1.739	1.153	1.201	2.0	0.279	0.287	1.4
S4	4.205	4.052	4.221	2.0	3.881	3.991	1.4
S5	1.788	1.310	1.350	1.5	0.582	0.593	0.92
S6	1.726	1.077	1.122	2.0	0.227	0.233	1.4
S7	6.014	2.889	3.009	2.0	1.791	1.842	1.4
S8	1.328	1.234	1.286	2.0	0.384	0.395	1.4
S9	2.825	1.571	1.637	2.0	0.731	0.751	1.4
S10	2.929	1.743	1.815	2.0	0.931	0.958	1.4

2.3 讨论

2.3.1 指纹图谱分析 色谱指纹图谱能体现中药各化学成分的整体特征, 并且具有一定的量化参数, 是国际上公认的评价中药质量的有效方式; 而化学计量学方法可对样品多组分进行多元特征信息计算, 软件应用易推广, 在中药道地性及多成分研究中已得到广泛应用。本研究建立的 10 批复方南板蓝根颗粒 HPLC 指纹图谱的相似度均在 0.90 以上, 说明样品间一致性良好, 并通过对照品指认了其中 6 个共有峰, 为复方南板蓝根颗粒的质量控制提供了数据参考。PCA 是依据样品间的相似性进行分析, 本实验建立的 PCA 模型中, 3 个生产企业的样品有分开的趋势, 说明不同企业生产的样品间成分存在一定差异。OPLS-DA 能将组别间差异最大化, 从而提高模型的分类准确度, 本实验建立的 OPLS-DA 模型中, 同一生产企业的样品较为集中且不同生产企业的产品明显分开, 说明不同生产企业的样品间成分差异明显, 可能由于原药材的来源和处理工艺的不同所致。PCA 及 OPLS-DA 分析结果均显示, 峰 7(秦皮乙素)、11(菊苣酸)、4(单咖啡酰酒石酸)在区分不同企业复方南板蓝根颗粒指纹图谱中的贡献较大, 说明上述 3 个成分可作为复方南板蓝根颗粒的含量监控指标。

2.3.2 一测多评研究 应用一测多评可以降低实验成本、提高检验效率, 是中药及中成药质量标准制定提倡和发展的方向, 本实验考察了常用不同厂家的高效液相色谱仪及不同品牌的色谱柱, 结果表明, 以秦皮乙素为内参物, 得到的单咖啡酰酒石酸和菊苣酸相对校正因子的 RSD 值符合要求、差异较小, 并通过对比 ESM 法和 QAMS 法的含量计算结果, 发现 2 种分析方法的测定结果差异不大, 表明该方法准确可靠。因此, 利用一测多评的相对校正因子对复方南板蓝根颗粒中有效成分秦皮乙素、单咖啡酰酒石酸、菊苣酸进行含量控制是可行的。

3 结论

本研究将指纹图谱与 QAMS 相结合, 从整体性和定量角度综合评价复方南板蓝根颗粒的质量, 并通过化学判别模式体现出不同生产企业样品间的细微差别。该方法简单快速、准确可行, 可为完善复

方南板蓝根颗粒的质量标准提供参考和解决方案。

参考文献:

- [1] Pharmacopoeia Committee of the Ministry of Health of the People's Republic of China. Drug Standards for Ministry of Health of the People's Republic of China. *Traditional Chinese medicine formulations. Volume 5*(中华人民共和国卫生部药典委员会. 中华人民共和国卫生部药品标准 中药成方制剂. 第五册), **1992**: 108.
- [2] Li Q, Cheng T F, Xu Q T, Jia T Z. *Chin. Pharm. J.*(李钦, 程铁峰, 许启太, 贾天柱. 中国药学杂志), **2004**, (12): 58-60.
- [3] Wen Y. *Drug Stand. Chin.* (温琰. 中国药品标准), **2006**, (3): 64-65.
- [4] Wang J P, Sun C P, Lin H X, Wang Y, Wang S L. *Chin. J. Exp. Tradit. Med. Formulae*(王金鹏, 孙翠萍, 林海霞, 王砚, 王书林. 中国实验方剂学杂志), **2012**, 18(21): 128-130.
- [5] Zhang L S, Sun W W, Xu Z H, Guo H Z. *Chin. J. Pharm. Anal.* (张利沙, 孙玮玮, 徐自慧, 郭怀忠. 药物分析杂志), **2017**, 37(10): 1845-1850.
- [6] Wu X F, Zhou X, Huang X L, Wu H Q, Xie B. *J. Instrum. Anal.* (吴学峰, 周熙, 黄晓兰, 吴惠勤, 谢斌. 分析测试学报), **2022**, 41(3): 299-308.
- [7] Li Q, Du S M, Zhang Z L, Lü C M, Zhou Y Q, Zhao Y, Zhang N. *Chin. Tradit. Herb. Drugs*(李强, 杜思邈, 张忠亮, 吕春明, 周永全, 赵燕, 张宁. 中草药), **2013**, 44(22): 3095-3104.
- [8] Wang Z M, Qian Z Z, Zhang Q W, Zhu J J, Gao H M, Wang Z T. *Chin. J. Chin. Mater. Med.* (王智民, 钱忠直, 张启伟, 朱晶晶, 高慧敏, 王峥涛. 中国中药杂志), **2011**, 36(6): 657-658.
- [9] Xu Z Q, Zhao Z M, Ma Q, Yang D P, Xu X J. *Mod. Tradit. Chin. Med. Mater. Med.-World Sci. Technol.* (徐志琴, 赵志敏, 马庆, 杨得坡, 徐新军. 世界科学技术-中医药现代化), **2021**, 23(9): 3365-3375.
- [10] Liu Y F, Liu Z W, Ren Y R, Liu Y. *Chin. Archives Tradit. Chin. Med.*(刘亦菲, 刘兆薇, 任一冉, 刘颖. 中华中医药学刊), **2024**, 42(8): 132-141.
- [11] Li Y Y, Mao Y, Liang Z E N, Yang C L, Wu J, Yuan Z H, Yuan L Y. *Chin. Ani. Hus. Vet. Med.* (李媛媛, 毛妍, 梁曾恩妮, 杨成林, 邬静, 袁志航, 袁莉芸. 中国畜牧兽医), **2023**, 50(7): 2998-3006.
- [12] Chu Z D, Cai B. *Tradit. Chin. Drug Res. Clin. Pharmacol.* (储正达, 蔡彬. 中药新药与临床药理), **2024**, 35(2): 291-298.
- [13] Yang N, Tian G, Zhu M M, Li C, Bu W Q, Chen J, Hou X F, Liu Y, Wang G, Jia X B, Di L Q, Dong Z B, Feng L. *J. Ethnopharmacol.*, **2016**, 194: 395-402.
- [14] Saima, Irfan A, Saima N, Kashif B, Hiba-Allah N, Yousef A, Bin J, Mohammed B. *ACS Omega*, **2023**, 8(31): 28196-28206.
- [15] Zhang W J, Wang X Y, Li X Y, Li H Y. *Chin. J. Pharm. Anal.* (张文静, 王晓燕, 李向阳, 李海燕. 药物分析杂志), **2020**, 40(2): 329-336.
- [16] Shi Y F, Shao Y, Wang X Y. *J. Shanghai Univ. Tradit. Chin. Med.* (施燕峰, 邵艳, 王晓燕. 上海中医药大学学报), **2022**, 36(4): 59-64.
- [17] Cheng Y C, Wang Y E, He S L, Wang X Y, Ni Y. *Chin. New Drugs J.* (程玉钊, 王玉娥, 贺石麟, 王小芸, 倪艳. 中国新药杂志), **2022**, 31(12): 1223-1229.

(责任编辑: 丁 岩)