

# 栀子饮片及栀子配方颗粒的指纹图谱建立、含量测定及化学模式识别<sup>△</sup>

梁朝锋<sup>1\*</sup>, 韩晓珂<sup>1</sup>, 秦亚东<sup>2</sup>, 徐斌<sup>1</sup>, 祁俊<sup>1</sup>, 周娟娟<sup>1</sup> (1. 芜湖市中医医院药检室, 安徽芜湖 241000; 2. 安徽中医药大学药学院, 安徽芜湖 241002)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2022)14-1718-06

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2022.14.10



**摘要** 目的 建立栀子饮片及栀子配方颗粒的指纹图谱, 测定其中6个成分的含量, 并结合化学模式识别分析评价其质量。方法 采用高效液相色谱法。以栀子苷为参照, 采用《中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012版)》绘制20批栀子饮片及10批栀子配方颗粒的指纹图谱, 并进行相似度评价, 确定共有峰; 同法测定去乙酰车叶草酸甲酯、栀子苷、苦番红花素、芦丁、西红花苷 I、西红花苷 II 的含量; 采用 ORIGIN 9.1 软件进行聚类分析, 采用 SIMCA 16.0 软件进行主成分分析、偏最小二乘法-判别分析, 以变量投影重要性(VIP)值大于1为标准筛选影响栀子饮片及栀子配方颗粒质量的差异性成分。结果 20批栀子饮片及10批栀子配方颗粒均有24个共有峰, 30批样品共有22个共有峰, 相似度均不低于0.96; 共指认了6个共有峰, 分别为去乙酰车叶草酸甲酯(2号峰)、栀子苷(6号峰)、苦番红花素(9号峰)、芦丁(11号峰)、西红花苷 I (15号峰)、西红花苷 II (17号峰)。栀子饮片中上述6个成分的平均含量分别为1.04、57.00、1.30、1.03、9.63、0.99 mg/g, 栀子配方颗粒中的平均含量分别为0.96、17.04、0.37、0.27、0.73、0.04 mg/g。主成分分析结果显示, 栀子饮片和栀子配方颗粒各分为一类, 与聚类分析结果一致; 有9个共有峰的VIP值>1, 分别为16号峰、14号峰、3号峰、17号峰(西红花苷 II)、15号峰(西红花苷 I)、18号峰、22号峰、2号峰(去乙酰车叶草酸甲酯)、21号峰。结论 所建指纹图谱和含量测定方法简便、重复性较好, 结合化学模式识别可用于评价栀子饮片及栀子配方颗粒的质量; 16号峰等色谱峰对应的9个成分可能是影响两者质量的差异性成分。

**关键词** 栀子; 栀子配方颗粒; 指纹图谱; 含量测定; 高效液相色谱法; 化学模式识别

## Establishment of fingerprint, content determination and chemical pattern recognition of decoction pieces and dispensing granules of *Gardenia jasminoides*

LIANG Chaofeng<sup>1</sup>, HAN Xiaoke<sup>1</sup>, QIN Yadong<sup>2</sup>, XU Bin<sup>1</sup>, QI Jun<sup>1</sup>, ZHOU Juanjuan<sup>1</sup> (1. Drug Control Room, Wuhu Municipal Hospital of Traditional Chinese Medicine, Anhui Wuhu 241000, China; 2. Dept. of Pharmacy, Anhui College of Traditional Chinese Medicine, Anhui Wuhu 241002, China)

**ABSTRACT** **OBJECTIVE** To establish the fingerprint of decoction pieces and dispensing granules of *Gardenia jasminoides*, to determine the contents of 6 components, so as to evaluate its quality combined with chemical pattern recognition. **METHODS** High performance liquid chromatography (HPLC) was used. Using geniposide as the reference, *Similarity Evaluation System for Chromatographic Fingerprint of TCM* (2012 edition) was used to draw the fingerprints of 20 batches of *G. jasminoides* decoction pieces and 10 batches of *G. jasminoides* dispensing granules. Similarity evaluation and common peaks identification were conducted. The same HPLC method was adopted to determine the contents of deacetyl asperulosidic acid methyl ester, geniposide, picrocrocin, rutin, crocin- I and crocin- II. ORIGIN 9.1 software was used for hierarchical clustering analysis, and SIMCA 16.0 software was used for principal component analysis (PCA) and partial least squares-discriminant analysis. The differential components affecting the quality of decoction pieces and dispensing granules were screened by taking the variable importance in projection (VIP) value>1 as the standard. **RESULTS** There were 24 common peaks for both 20 batches of *G. jasminoides* decoction piece and 10 batches of *G. jasminoides* dispensing granules; a total of 22 common peaks were found in the fingerprints of 30 batches of samples, and the similarity was not lower than 0.96; six common peaks were identified, i.e. deacetyl asperulosidic acid methyl ester (peak 2), geniposide (peak 6), picrocrocin (peak 9), rutin (peak 11), crocin- I (peak 15), crocin- II (peak 17). Average contents of above 6 components in *G. jasminoides* decoction pieces were 1.04, 57.00, 1.30, 1.03, 9.63 and 0.99 mg/g, respectively; those of *G. jasminoides* dispensing granules were 0.96, 17.04, 0.37, 0.27, 0.73 and 0.04 mg/g, respectively. PCA

<sup>△</sup> 基金项目 中央补助安徽省中医药公共卫生专项-中药炮制技术传承基地建设项目(No.卫办秘[2016]531号);安徽省教育厅高校学科(专业)拔尖人才学术资助项目(No.gxbjZD2021103);芜湖市华佗计划卫生高层次人才分层培养项目(No.芜卫组[2021]134号)

\* 第一作者 副主任中医师, 硕士。研究方向: 中药制剂工艺、质量控制。E-mail: lcf3177413@126.com

results showed that *G. jasminoides* decoction pieces and *G. jasminoides* dispensing granules were clustered into respective one category, which was consistent with results of cluster analysis. There were 9 common peaks with VIP value>1, which were 16, 14, 3, 17 (crocin- II), 15 (crocin- I), 18, 22, 2 (deacetyl asperulosidic acid methyl ester) and 21.

**CONCLUSIONS** The established fingerprint and content determination method are simple and reproducible. Combined with chemical pattern recognition, it can be used to evaluate the quality of decoction pieces and dispensing granules of *G. jasminoides*. Nine corresponding components represented by peak 16 and so on are the differential components that affect the quality of them.

**KEYWORDS** *Gardenia jasminoides*; *Gardenia jasminoides* dispensing granules; fingerprint; content determination; HPLC; chemical pattern recognition

梔子为茜草科植物梔子 *Gardenia jasminoides* Ellis 的干燥成熟果实, 主要分布于我国长江以南地区, 具有泻火除烦、凉血解毒、清热利湿等功效<sup>[1]</sup>。该药最早见于《神农本草经》, 是我国卫生部首批颁布的药食两用资源, 应用广泛<sup>[2-3]</sup>。现代研究表明, 梔子主要含有环烯醚萜类[如去乙酰车叶草酸甲酯(deacetyl asperulosidic acid methylester, DAAME)、梔子苷等]、萜类(如西红花苷 I、西红花苷 II、苦番红花素等)、黄酮类(如芦丁等)、三萜类等成分<sup>[4]</sup>, 具有抗炎、调节免疫、抗氧化、治疗心血管系统疾病等药理作用<sup>[5-6]</sup>。目前, 2020年版《中国药典》(一部)梔子“含量测定”项仅以梔子苷为指标性成分<sup>[1]</sup>, 但由于梔子成分复杂, 因此对单一指标进行定量分析无法全面控制梔子的质量。

梔子配方颗粒是将梔子饮片经提取、浓缩制成的供临床用的颗粒剂, 是梔子饮片的新形式。与原饮片相比, 梔子配方颗粒具有免煎煮、方便携带、便于调剂和存储等优点, 且成分同样复杂<sup>[7]</sup>。国家药典委员会于2021年颁布了梔子配方颗粒的质量标准, 亦仅以梔子苷含量作为评价指标<sup>[8]</sup>, 难以全面控制其质量。笔者通过查阅文献可知, 现有相关研究主要集中在梔子及其炮制品的质量评价方面<sup>[9-10]</sup>, 对梔子配方颗粒的评价甚少。指纹图谱是一种量化的综合性鉴定手段, 能全面反映中药中化学成分的内在特征<sup>[11-12]</sup>。化学模式识别可对多种现代仪器检测所得数据进行识别与处理, 能更加客观地反映中药的质量信息, 现已在中药质量研究领域得到广泛应用<sup>[13]</sup>。基于此, 本研究采用高效液相色谱(high performance liquid chromatography, HPLC)法建立了梔子饮片及梔子配方颗粒的指纹图谱, 并同法测定了其中 DAAME、梔子苷、苦番红花素、芦丁、西红花苷 I、西红花苷 II 的含量; 采用化学模式识别分析了影响梔子饮片与梔子配方颗粒质量的差异性成分, 旨在为其质量控制提供参考。

## 1 材料

### 1.1 主要仪器

本研究所用主要仪器有 1200 型 HPLC 仪(美国 Agilent 公司), AL204 型电子天平、XP205 型电子天平(瑞士 Mettler Toledo 公司), KQ-500DE 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司), HHW-4 型数显恒温水浴锅(常州金坛双捷实验仪器厂), QE-100 型多功能粉碎机(浙江屹立工贸有限公司)等。

### 1.2 主要药品与试剂

DAAME 对照品(批号 111786-201602, 纯度 94.3%)、

梔子苷对照品(批号 110749-201919, 纯度 97.1%)、苦番红花素对照品(批号 112056-202001, 纯度 97.6%)、西红花苷 I 对照品(批号 111588-201704, 纯度 88.4%)、西红花苷 II 对照品(批号 111589-201705, 纯度 92.2%)均购自中国食品药品检定研究院; 芦丁对照品(批号 Yz112820, 纯度 ≥98%)购自南京源植生物科技有限公司; 乙腈、甲醇、甲酸、磷酸均为色谱纯, 甲醇、乙醇均为分析纯, 水为超纯水。

20 批梔子饮片(编号 S1~S20)于 2020 年 6 月—2021 年 7 月分别购自安徽省芜湖市、河南省郑州市各药店和芜湖市中医医院药剂科, 经芜湖市中医医院药检室徐斌副主任中药师鉴定为茜草科植物梔子 *G. jasminoides* Ellis 的干燥成熟果实。10 批梔子配方颗粒(编号 PF1~PF10, 每 1.0 g 相当于饮片 10 g)于 2020 年 6 月—2021 年 3 月购自广东一方制药有限公司。20 批梔子饮片及 10 批梔子配方颗粒的来源信息见表 1。

表 1 20 批梔子饮片及 10 批梔子配方颗粒的来源信息

样品	编号	产地/来源	批号
梔子饮片	S1	江西宜春	210301
	S2	江西樟树	20190729
	S3	江西丰城	210202
	S4	江西瑞昌	210501
	S5	江西吉安	210611
	S6	江西赣州	200701
	S7	江西景德镇	20070604
	S8	江西九江	20112904
	S9	江西鹰潭	200512
	S10	江西宜春	200308
	S11	江西宜春	201101
	S12	江西樟树	21010103
	S13	江西新干	20210301
	S14	福建福鼎	190801
	S15	广东梅州	191211
	S16	四川宜宾	20210605
	S17	安徽亳州	Y20201014
	S18	安徽亳州	Y202101027
	S19	湖南株洲	210304
	S20	河南唐河	2105018
梔子配方颗粒	PF1	广东一方制药有限公司	0110761
	PF2	广东一方制药有限公司	1020981
	PF3	广东一方制药有限公司	9110861
	PF4	广东一方制药有限公司	9110851
	PF5	广东一方制药有限公司	9100772
	PF6	广东一方制药有限公司	9100771
	PF7	广东一方制药有限公司	0080311
	PF8	广东一方制药有限公司	0063271
	PF9	广东一方制药有限公司	0041651
	PF10	广东一方制药有限公司	0041661

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

以 Agilent ZORBAX-SB C<sub>18</sub> (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) 为色谱柱,以乙腈(A)-0.1%甲酸溶液(B)为流动相进行梯度洗脱(0~9 min, 7% A→12% A; 9~16 min, 12% A→19% A; 16~25 min, 19% A→23% A; 25~30 min, 23% A; 30~35 min, 23% A→30% A; 35~50 min, 30% A→37% A; 50~60 min, 37% A→58% A);检测波长为 238 nm(DAAME、栀子苷、苦番红花素、芦丁)、440 nm(西红花苷 I、西红花苷 II);柱温为 30 ℃;流速为 1.0 mL/min;进样量为 10 μL。

### 2.2 混合对照品溶液的制备

分别取 DAAME、栀子苷、苦番红花素、芦丁、西红花苷 I、西红花苷 II 对照品适量,精密称定,加甲醇溶解,制成 DAAME、栀子苷、苦番红花素、芦丁质量浓度分别为 73.30、610.80、44.60、41.70 μg/mL 和西红花苷 I、西红花苷 II 质量浓度分别为 148.90、20.03 μg/mL 的 2 种混合对照品溶液。

### 2.3 供试品溶液的制备

取样品[栀子饮片粉末(过 40 目筛)约 0.2 g 或栀子配方颗粒(研细)约 0.05 g],精密称定,置于具塞锥形瓶中,加 70% 甲醇 25 mL,称定质量,超声(功率 350 W、频率 40 kHz)提取 30 min,冷却至室温,再次称定质量,用 70% 甲醇补足缺失的质量,摇匀,经 0.22 μm 微孔滤膜滤过,即得。

### 2.4 HPLC 指纹图谱的建立

2.4.1 精密度试验 取“2.3”项下供试品溶液(编号 S1),按“2.1”项下色谱条件进样测定 6 次,以栀子苷(6 号峰)为参照峰,计算各共有峰的相对保留时间和相对峰面积。结果显示,各共有峰相对保留时间和相对峰面积的 RSD 均小于 2.8% (n=6),表明方法精密度良好。

2.4.2 稳定性试验 取“2.3”项下供试品溶液(编号 S1),分别于室温下放置 0、2、4、6、8、10 h 时按“2.1”项下色谱条件进样测定,以栀子苷(6 号峰)为参照峰,计算各共有峰的相对保留时间和相对峰面积。结果显示,各共有峰相对保留时间和相对峰面积的 RSD 均小于 3.5% (n=6),表明供试品溶液于室温下放置 10 h 内稳定性良好。

2.4.3 重复性试验 取样品(编号 S1),共 6 份,按“2.3”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,以栀子苷(6 号峰)为参照峰,计算各共有峰的相对保留时间和相对峰面积。结果显示,各共有峰相对保留时间和相对峰面积的 RSD 均小于 3.0% (n=6),表明方法重复性良好。

2.4.4 指纹图谱的生成 取 20 批栀子饮片及 10 批栀子配方颗粒,按“2.3”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,将所得色谱数据导入《中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012 版)》,分别以 S1、PF1

(色谱信息丰富且各色谱峰峰面积适中)为参照,采用中位数法生成对照图谱(S1 为 R1、PF1 为 R2),设置时间窗宽度为 0.1,经多点校正后自动匹配,得到栀子饮片及栀子配方颗粒的 HPLC 叠加指纹图谱。结果显示,20 批栀子饮片及 10 批栀子配方颗粒的叠加指纹图谱中均有 24 个共有峰,详见图 1、图 2。以 S1 为参照,采用中位数法生成对照图谱(R3),得到栀子饮片及栀子配方颗粒的叠加指纹图谱。结果显示,30 批样品的叠加指纹图谱中共有 22 个共有峰,详见图 3。

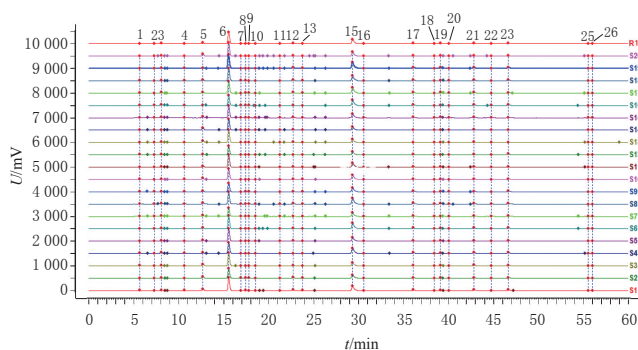


图 1 20 批栀子饮片的 HPLC 叠加指纹图谱及对照图谱

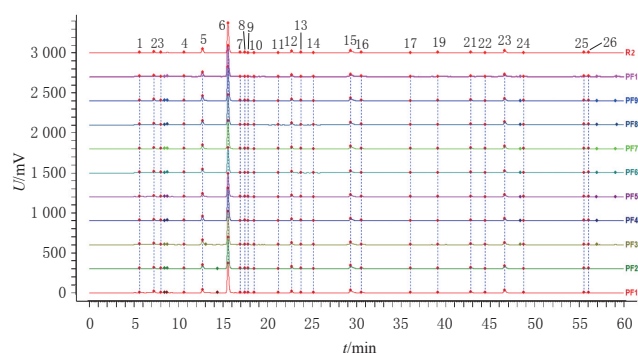


图 2 10 批栀子配方颗粒的 HPLC 叠加指纹图谱及对照图谱

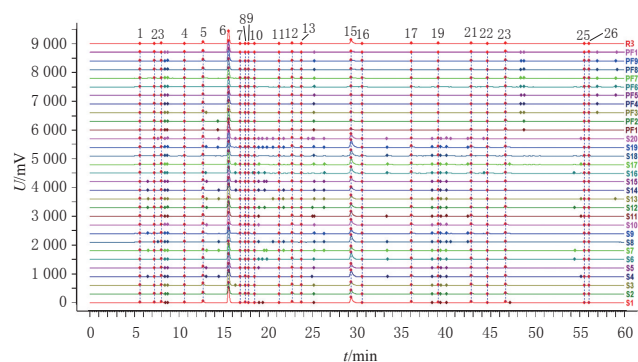
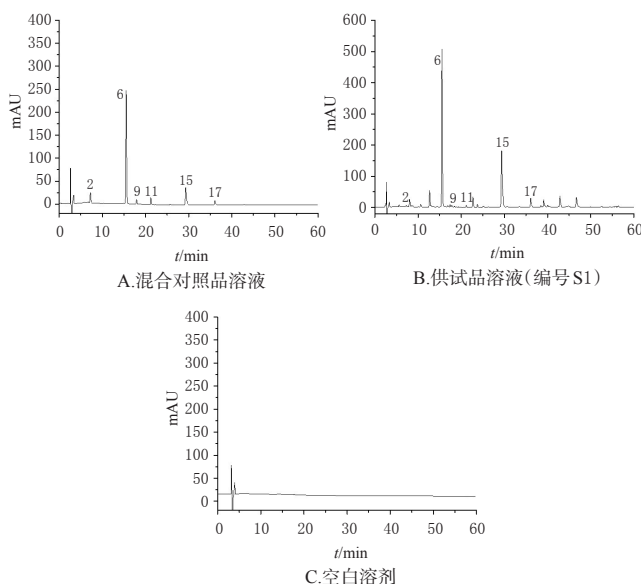


图 3 30 批样品的 HPLC 叠加指纹图谱及对照图谱

2.4.5 共有峰指认 取“2.2”项下 DAAME、栀子苷、苦番红花素、芦丁混合对照品溶液 4 mL,西红花苷 I、西红花苷 II 混合对照品溶液 1 mL,置于 10 mL 量瓶中,加 70% 甲醇定容,另取“2.3”项下供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录色谱图(图 4)。通过与混合对照品对比,指认出 2 号峰为 DAAME、6 号峰为栀子苷、9 号峰为苦番红花素、11 号峰为芦丁、15 号峰为西红花苷

I、17号峰为西红花苷II。因6号峰响应最强,且该峰对应的成分栀子苷为2020年版《中国药典》(一部)中栀子的指标性成分,故以其为参照峰。



2: DAAME; 6: 栀子苷; 9: 苦番红花素; 11: 芦丁; 15: 西红花苷 I; 17: 西红花苷 II

图4 DAAME等成分的混合对照品溶液、供试品溶液、空白溶剂的HPLC图

2.4.6 相似度评价 采用《中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012版)》对20批栀子饮片及10批栀子配方颗粒进行相似度评价。结果显示,30批样品与对照图谱(R3)的相似度均不低于0.96,表明不同产地栀子饮片与栀子配方颗粒间成分种类基本相同。结果见表2。

表2 30批样品的相似度评价结果

编号	相似度	编号	相似度	编号	相似度	编号	相似度	编号	相似度
S1	0.996	S7	0.986	S13	0.995	S19	0.984	PF5	0.965
S2	0.999	S8	0.975	S14	0.997	S20	0.998	PF6	0.964
S3	0.995	S9	0.988	S15	0.999	PF1	0.967	PF7	0.973
S4	0.976	S10	0.991	S16	0.969	PF2	0.973	PF8	0.966
S5	1.000	S11	0.998	S17	0.980	PF3	0.961	PF9	0.963
S6	0.985	S12	0.996	S18	0.994	PF4	0.960	PF10	0.963

## 2.5 含量测定

2.5.1 系统适用性试验 “取2.2”项下混合对照溶液及“2.3”项供试品溶液(按“2.4.5”项下方法处理)、空白溶剂(70%甲醇),按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录色谱图,详见图4。由图4可知,各色谱峰的分度良好,空白溶剂对测定无干扰。

2.5.2 线性关系考察 精密吸取“2.2”项下DAAME、栀子苷、苦番红花素、芦丁混合对照品溶液0.5、2、4、6、8、10 mL,置于10 mL量瓶中,加70%甲醇定容,得系列样品溶液I;精密吸取西红花苷I、西红花苷II混合对照品溶液0.1、0.5、1、4、8、10 mL,置于10 mL量瓶中,加70%甲醇定容,得系列样品溶液II。取上述各溶液适量,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以各待测成分的质量浓度为横坐标(X)、峰面积为纵坐标(Y)进行线性回归。结果见表3。

表3 DAAME等成分的回归方程与线性范围

待测成分	回归方程	R <sup>2</sup>	线性范围/(μg/mL)
DAAME	$Y=9.980X-1.379$	0.999 2	3.67~73.30
栀子苷	$Y=14.341X-22.556$	0.999 6	30.54~610.80
苦番红花素	$Y=10.004X+0.169$	0.999 5	2.23~44.60
芦丁	$Y=11.426X-1.057$	0.999 5	2.09~41.70
西红花苷 I	$Y=45.888X-20.109$	0.999 9	1.49~148.90
西红花苷 II	$Y=68.708X-9.754$	0.999 9	0.20~20.03

2.5.3 精密度的试验 取“2.3”项下供试品溶液(编号S1),按“2.1”项下色谱条件进样测定6次,记录峰面积。结果显示,DAAME、栀子苷、苦番红花素、芦丁、西红花苷I、西红花苷II峰面积的RSD分别为2.85%、0.56%、0.98%、2.29%、0.20%、0.82%(n=6),表明方法精密度的良好。

2.5.4 稳定性试验 取“2.3”项下供试品溶液(编号S1),分别于室温下放置0、2、4、6、8、10 h时按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果显示,DAAME、栀子苷、苦番红花素、芦丁、西红花苷I、西红花苷II峰面积的RSD分别为0.95%、0.46%、2.29%、2.30%、0.27%、1.03%(n=6),表明供试品溶液于室温下放置10 h内稳定性良好。

2.5.5 重复性试验 取样品(编号S1),共6份,按“2.3”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并按外标法计算样品含量。结果显示,DAAME、栀子苷、苦番红花素、芦丁、西红花苷I、西红花苷II含量的RSD分别为2.01%、0.90%、1.43%、1.28%、0.75%、0.85%(n=6),表明方法重复性良好。

2.5.6 加样回收率试验 精密称取DAAME、栀子苷、苦番红花素、芦丁、西红花苷I、西红花苷II对照品适量,加甲醇制成质量浓度分别为146.60、2 036.00、892.00、834.00、297.80、40.05 μg/mL的单一对照品溶液。精密称取已知含量的样品(编号S1)粉末约0.1 g,共9份,分别按已知含量的80%、100%、120%加入上述各单一对照品溶液,按“2.3”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算加样回收率。结果显示,DAAME、栀子苷、苦番红花素、芦丁、西红花苷I、西红花苷II的平均加样回收率分别为100.83%(RSD=1.43%,n=9)、101.37%(RSD=1.62%,n=9)、99.50%(RSD=1.95%,n=9)、98.21%(RSD=1.35%,n=9)、99.96%(RSD=1.29%,n=9)、100.27%(RSD=1.47%,n=9),表明方法准确度良好。

2.5.7 样品含量测定 取20批栀子饮片及10批栀子配方颗粒各适量,按“2.3”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并按外标法计算样品含量。每样品平行测定3次,结果见表4(栀子配方颗粒中6个成分含量已换算为饮片含量)。

## 2.6 主成分分析

以30批样品的22个共有峰峰面积为变量构建30×22数据矩阵,采用SIMCA 16.0软件进行主成分分析。结果显示,20批栀子饮片均分布于得分图的[t]1正值象

表4 DAAME等成分的含量测定结果(n=3,mg/g)

编号	DAAME	栀子苷	苦番红花素	芦丁	西红花苷 I	西红花苷 II
S1	0.88	59.14	1.44	1.26	9.43	0.82
S2	0.83	47.52	1.62	1.12	6.85	0.78
S3	1.01	64.41	1.07	1.35	6.32	0.58
S4	1.21	59.34	1.20	0.87	12.69	1.49
S5	1.10	72.70	1.37	1.27	9.09	0.91
S6	0.70	70.94	1.77	1.45	13.83	1.38
S7	1.83	41.77	1.32	1.04	8.29	0.87
S8	0.79	59.98	1.60	1.15	13.40	1.36
S9	0.77	42.37	1.28	0.83	8.20	1.19
S10	0.69	52.35	1.06	0.83	9.84	0.85
S11	0.75	60.25	1.03	0.82	9.61	0.89
S12	1.44	43.08	1.06	0.56	6.29	0.94
S13	0.94	61.90	0.72	0.97	6.69	0.47
S14	1.36	51.48	1.34	0.75	6.44	0.52
S15	0.87	58.78	1.29	1.16	8.38	0.75
S16	2.22	51.93	1.46	1.11	12.66	1.55
S17	0.90	54.23	1.23	1.02	12.31	1.16
S18	0.70	59.97	1.49	0.96	10.68	1.10
S19	0.79	64.41	1.60	1.02	13.11	1.56
S20	0.96	63.47	1.02	1.06	8.57	0.63
平均值	1.04	57.00	1.30	1.03	9.63	0.99
编号	DAAME	栀子苷	苦番红花素	芦丁	西红花苷 I	西红花苷 II
PF1	0.95	18.42	0.40	0.33	0.79	0.04
PF2	0.88	17.05	0.43	0.31	0.95	0.06
PF3	1.10	20.77	0.39	0.29	0.82	0.04
PF4	0.97	18.12	0.31	0.25	0.70	0.03
PF5	0.81	12.97	0.29	0.20	0.57	0.03
PF6	0.83	13.59	0.30	0.21	0.60	0.03
PF7	0.90	16.22	0.39	0.27	0.84	0.05
PF8	0.99	16.04	0.40	0.27	0.64	0.04
PF9	1.07	19.80	0.37	0.28	0.74	0.04
PF10	1.09	17.41	0.41	0.28	0.65	0.03
平均值	0.96	17.04	0.37	0.27	0.73	0.04

限,10批栀子配方颗粒均分布于得分图的[t]1负值象限;栀子配方颗粒聚集程度较高,栀子饮片聚集程度欠佳,如S4、S7、S12、S16散在分布于得分图的[t]2负值象限,表明不同样品中各成分的含量存在差异,这可能与栀子配方颗粒来自同一制药企业,而栀子饮片产地来源较广有关。结果见图5。

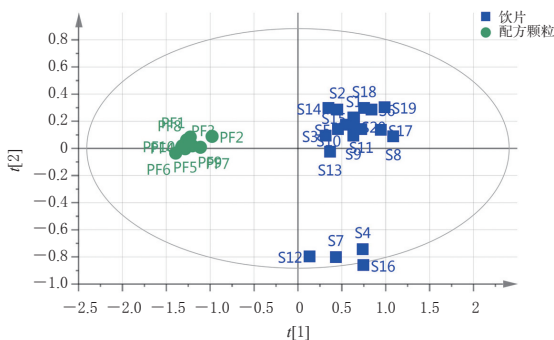


图5 30批样品的主成分分析得分图

### 2.7 聚类分析

以30批样品的22个共有峰峰面积为变量构建30×22数据矩阵,以平方欧氏距离为测度,采用ORIGIN 9.1软件进行聚类分析。结果显示,当距离为1.25时,30批

样品可聚为2类,其中S1~S20为一类,PF1~PF10为一类;当距离为0.75时,30批样品可聚为3类,其中PF1~PF10为一类,S4、S7、S12、S16为一类,S1~S3、S5、S6、S8~S11、S13~S15、S17~S20为一类,该结果与主成分分析结果基本一致。结果见图6。

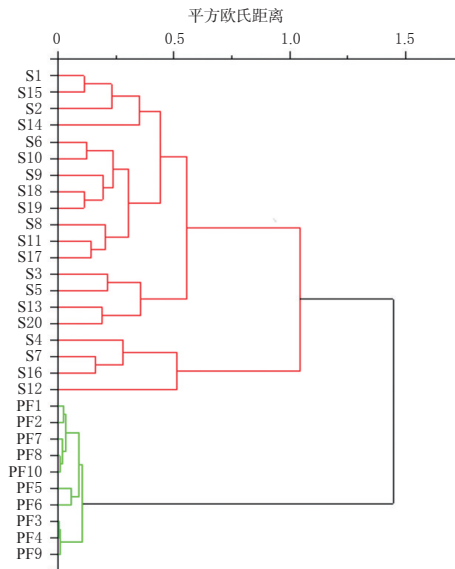


图6 30批样品的聚类分析树状图

### 2.8 偏最小二乘法-判别分析

为进一步寻找影响栀子饮片和栀子配方颗粒质量的差异性成分,本研究以22个共有峰峰面积为变量,采用SIMCA 16.0软件进行偏最小二乘法-判别分析。结果显示,栀子饮片和栀子配方颗粒可被区分,分别聚集在[t]1负值象限和[t]1正值象限,与主成分分析结果基本一致。结果见图7。

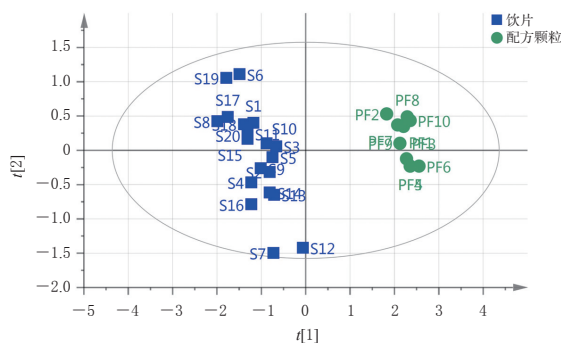


图7 30批样品的偏最小二乘法-判别分析得分图

以栀子饮片与栀子配方颗粒的22个共有峰峰面积为变量,采用SIMCA 16.0软件对各共有峰的变量重要性投影(variable importance in projection, VIP)值进行分析,并以VIP值>1为标准[14]筛选贡献较大的差异性成分。结果显示,VIP值>1的共有峰依次为16号峰、14号峰、3号峰、17号峰(西红花苷 II)、15号峰(西红花苷 I)、18号峰、22号峰、2号峰(DAAME)、21号峰,表明这9个共有峰对应的成分可能是影响栀子饮片与栀子配方颗粒质量的差异性成分。结果见图8。

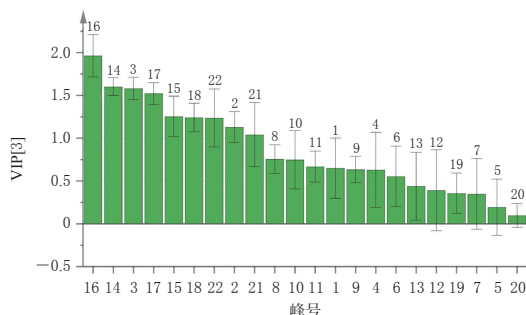


图8 22个共有峰的VIP值

### 3 讨论

本课题组前期考察了不同流动相系统(乙腈-0.1%甲酸溶液、乙腈-0.2%甲酸溶液、乙腈-0.2%磷酸溶液)对色谱峰的分离效果及特征峰信息的影响,结果显示,以乙腈-0.1%甲酸溶液为流动相时,所得色谱峰信息较为丰富,各色谱峰峰形及分离度均较好;同时,本课题组在参考文献[15]的基础上,考察了不同检测波长(238、265、330、440 nm)下各色谱峰的吸收情况,结果显示,DAAME、栀子苷、苦番红花素、芦丁在238 nm波长下,西红花苷Ⅰ、西红花苷Ⅱ在440 nm波长下均有较大吸收。此外,本课题组还考察了不同提取溶剂(30%甲醇、50%甲醇、70%甲醇、甲醇及30%乙醇、50%乙醇、70%乙醇、乙醇)的提取效果,结果显示,以70%甲醇为提取溶剂时的提取效果最好;本课题组对不同提取方法(超声、回流)的考察结果显示,2种方法无差别,为了操作简便,故选择超声提取。

本研究结果显示,20批栀子饮片和10批栀子配方颗粒均有24个共有峰,30批样品则有22个共有峰,与对照图谱(R3)的相似度均不低于0.96,表明不同产地栀子饮片与栀子配方颗粒间成分种类基本相同。主成分分析结果显示,栀子饮片与栀子配方颗粒各分为一类,与聚类分析结果一致。有9个共有峰的VIP值>1,提示这9个共有峰对应的成分可能是影响栀子饮片与栀子配方颗粒质量的差异性成分。

含量测定结果显示,栀子饮片中DAAME、栀子苷、苦番红花素、芦丁、西红花苷Ⅰ、西红花苷Ⅱ的平均含量分别为1.04、57.00、1.30、1.03、9.63、0.99 mg/g;栀子配方颗粒中分别为0.96、17.04、0.37、0.27、0.73、0.04 mg/g。栀子配方颗粒中DAAME、栀子苷、苦番红花素、芦丁、西红花苷Ⅰ、西红花苷Ⅱ的含量分别为饮片含量的92.31%、29.89%、28.46%、26.21%、7.58%、4.04%,表明栀子饮片和栀子配方颗粒中,除DAAME外,栀子苷等其余5个成分的含量相差较大。有研究表明,在水提过程中,由于结构类似成分发生了转化,DAAME的转移率可超过100%<sup>[16]</sup>;而栀子苷及西红花苷类成分在加热过程中会发生降解<sup>[16]</sup>;苦番红花素为单萜类成分,可溶于水、乙醇,且对热、光、酸及碱较敏感<sup>[17]</sup>;芦丁在水中的溶解性较差<sup>[18]</sup>。这可能是导致栀子苷等5个成分转移率较低的原因,也提示饮片在加工制成颗粒的过程中,需要

注意煎煮时间和温度。

综上所述,本研究所建指纹图谱和含量测定方法简便、重复性较好,结合化学模式识别可用于评价栀子饮片及栀子配方颗粒的质量;16号峰等色谱峰对应的9个成分可能是影响两者质量的差异性成分。

### 参考文献

- [1] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S]. 2020年版.北京:中国医药科技出版社,2020:259.
- [2] 郑玲,张文生.栀子现代药理作用研究进展[J].环球中医药,2020,13(10):1813-1817.
- [3] 赵梦亭,朱如意,应佳亮,等.栀子炮制历史沿革、临床应用及质量评价研究进展[J].中华中医药杂志,2021,36(4):2229-2237.
- [4] 邹毅,周敏.栀子化学成分及药理作用的研究进展[J].江西化工,2019(5):47-48.
- [5] 孙瑜,蔡媛,沈冰冰,等.基于网络药理学及分子对接研究栀子抗缺血性脑卒中的分子机制[J].中成药,2021,43(9):2352-2359.
- [6] 卜妍红,陆婷,吴虹,等.栀子化学成分及药理作用研究进展[J].安徽中医药大学学报,2020,39(6):89-93.
- [7] 胡群,王慧玉,张晓芹.基于文献对中药配方颗粒应用现状与发展趋势的研究[J].中医药管理杂志,2019,27(2):1-3.
- [8] 国家药品监督管理局.国家药监局关于发布《中药配方颗粒质量控制与标准制定技术要求》的通告:2021年第16号[EB/OL].(2021-01-26)[2022-02-18]. [http://www.gov.cn/zhengce/zhengceku/2021-02/11/content\\_5586817.htm](http://www.gov.cn/zhengce/zhengceku/2021-02/11/content_5586817.htm).
- [9] 刘瑞连,李鑫,欧少福,等.栀子炒制前后有效成分含量测定及其质量评价研究[J].时珍国医国药,2020,31(12):2915-2917.
- [10] 黄跃前,程学仁,吴文平,等.基于指纹图谱与多元统计分析的栀子不同炮制品评价[J].广东药科大学学报,2020,36(6):765-770.
- [11] 罗娜,王雪,黄丽佳,等.不同产地栀子HPLC指纹图谱研究[J].昆明学院学报,2021,43(3):105-109.
- [12] 徐妍,杨华蕊,杨永寿,等.中药指纹图谱研究现状及展望[J].世界最新医学信息文摘,2018,18(76):91-94.
- [13] 孙立丽,王萌,任晓亮.化学模式识别方法在中药质量控制研究中的应用进展[J].中草药,2017,48(20):4339-4345.
- [14] 陈肖,管红梅,陈梦林,等.基于指纹图谱和多指标成分定量结合化学模式识别法评价不同产地草果质量研究[J/OL].中草药,2022,53(11):1-8[2022-04-18]. <https://kns.cnki.net/kcms/detail/12.1108.r.20220418.1144.003.html>.
- [15] 付小梅,杨超,吴志瑰,等.不同采收期栀子中8个有效成分含量动态变化与颜色的相关性研究[J].中国中药杂志,2020,45(13):3191-3202.
- [16] 窦志华,许波,居宇峰,等.栀子标准汤剂量值传递规律研究[J].中草药,2021,52(23):7162-7175.
- [17] 杨云,冯卫生.中药化学成分提取分离手册[M].北京:中国中医药出版社,1998:394.
- [18] 付起凤,王德娟,孟凡佳.正交法优化槐米中芦丁的超声提取工艺[J].中医药信息,2012,29(6):49-52.

(收稿日期:2022-01-14 修回日期:2022-05-04)

(编辑:陈宏)