

蒲蓝利咽合剂的指纹图谱建立及含量测定^Δ

王 博^{1,2*}, 于晓涛^{1,2}, 刘玉萍¹, 赫振玉¹, 王 瑞^{1,2,3#}(1. 漯河市中心医院药学部, 河南 漯河 462000; 2. 河南省中药制剂与加工中医药重点实验室, 河南 漯河 462000; 3. 河南省中药制剂现代化技术研发与临床应用工程研究中心, 河南 漯河 462000)

中图分类号 R917;R284 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2022)22-2753-05
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2022.22.13



摘要 目的 建立蒲蓝利咽合剂的指纹图谱和绿原酸等8种成分的含量测定方法,以评价蒲蓝利咽合剂的质量。方法 以黄芩苷为参照峰,采用《中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012版)》建立11批蒲蓝利咽合剂的高效液相色谱(HPLC)指纹图谱,指认共有峰并进行相似度评价,采用SPSS 20.0、SIMCA 14.1软件进行聚类分析、主成分分析、正交偏最小二乘法-判别分析,以变量重要性投影(VIP)值大于1为指标筛选影响蒲蓝利咽合剂质量的标志物;采用相同的HPLC法测定绿原酸等8种成分的含量。结果 11批蒲蓝利咽合剂指纹图谱共有20个共有峰,相似度在0.973~0.994之间;指认了8个共有峰,分别为绿原酸、咖啡酸、马钱苷、菊苣酸、木蝴蝶苷B、黄芩苷、千层纸素A-7-O-β-D-葡萄糖醛酸、汉黄芩苷。聚类分析结果显示,11批样品分为2大类,其中S3、S10~S11为一类,其余为一类。主成分分析结果显示,前4个主成分的累计方差贡献率为95.546%,其分类结果与聚类分析结果一致。正交偏最小二乘法-判别分析结果显示,15、14(黄芩苷)、10、18(汉黄芩苷)、11、17(千层纸素A-7-O-β-D-葡萄糖醛酸)、4、20、16、12、7、19号峰的VIP值大于1。11批样品中绿原酸、咖啡酸、马钱苷、菊苣酸、木蝴蝶苷B、黄芩苷、千层纸素A-7-O-β-D-葡萄糖醛酸、汉黄芩苷的含量分别为0.287~1.021、0.163~0.485、0.735~3.641、0.587~4.012、1.920~9.063、37.443~115.974、3.623~13.942、7.135~18.736 mg/g。结论 建立的蒲蓝利咽合剂HPLC指纹图谱及绿原酸等8种成分的含量测定方法,可用于该制剂的质量评价;黄芩苷、汉黄芩苷、千层纸素A-7-O-β-D-葡萄糖醛酸等12种成分可能是影响蒲蓝利咽合剂质量的标志物。

关键词 蒲蓝利咽合剂;指纹图谱;含量测定;高效液相色谱法;化学模式识别分析

Fingerprint establishment and content determination of Pulan liyan mixture

WANG Bo^{1,2}, YU Xiaotao^{1,2}, LIU Yuping¹, HE Zhenyu¹, WANG Rui^{1,2,3}(1. Dept. of Pharmacy, Luohe Central Hospital, Henan Luohe 462000, China; 2. Henan Provincial Key Laboratory of TCM Preparations and Processing, Henan Luohe 462000, China; 3. Henan Engineering Research Center of TCM Preparation Modernization Technology R&D and Clinical Application, Henan Luohe 462000, China)

ABSTRACT OBJECTIVE To establish the fingerprint of Pulan liyan mixture, and content determination method of 8 components such as chlorogenic acid so as to evaluate the quality of Pulan liyan mixture. **METHODS** Using baicalin as reference peak, high-performance liquid chromatography (HPLC) fingerprints of 11 batches of Pulan liyan mixture were established by the *Chromatographic Fingerprint Similarity Evaluation System of TCM* (2012 edition) for similarity evaluation and identifying the common peaks. Cluster analysis, principal component analysis and orthogonal partial least squares-discriminant analysis of those samples were performed with SPSS 20.0 software and SIMCA 14.1 software. The variable importance projection (VIP) value greater than 1 was used as the index to screen the markers affecting the quality of Pulan liyan mixture; the contents of 8 components such as chlorogenic acid were determined by the same HPLC method. **RESULTS** Totally 20 common peaks in the fingerprints of 11 batches of Pulan liyan mixture was established, and the similarities were 0.973-0.994. The 8 peaks were identified, which were chlorogenic acid, caffeic acid, loganin, cichoric acid, styroside B, baicalin, melaleucalycin A-7-O-β-D-glucuronic acid and wogonin. The results of cluster analysis showed that the 11 batches of samples were divided into two categories, S3, S10 and S11 were grouped into one category, and the other batches of samples were grouped into one category. The results of principal component analysis showed that the cumulative variance contribution rate of the first four principal

components was 95.546%, and the classification results were consistent with the cluster analysis results. The results of orthogonal partial least squares-discriminant analysis showed that 15, 14 (baicalin), 10, 18 (wogonin), 11, 17 (laminarin A-7-O-β-D-glucuronic acid), 4, 20, 16, 12, 7 and 19 peaks had VIP values greater than 1. The contents of chlorogenic acid, caffeic acid, loganin, cichoric acid, styroside B,

^Δ 基金项目 河南省工程研究中心资助项目(No. 豫发改高技[2019]569号);中央引导地方科技发展专项(No. 漯财预指[2020]309号)

* 第一作者 主管药师,硕士。研究方向:中药质量评价。电话:0395-3385705。E-mail:496690274@qq.com

通信作者 主任药师,硕士。研究方向:中药制剂研发。电话:0395-3356116。E-mail:wangrui56116@163.com

baicalin, melaleucalycin A-7-*O*- β -D-glucuronic acid and wogonin were 0.287-1.021, 0.163-0.485, 0.735-3.641, 0.587-4.012, 1.920-9.063, 37.443-115.974, 3.623-13.942 and 7.135-18.736 mg/g, respectively. **CONCLUSIONS** The established HPLC fingerprint and the determination method of 8 components such as chlorogenic acid could be used for the quality evaluation of Pulan liyan mixture. The 12 components, such as baicalin, wogonoside, melaleucalycin A-7-*O*- β -D-glucuronic acid, may be the markers affecting the quality of Pulan liyan mixture.

KEYWORDS Pulan liyan mixture; fingerprint; content determination; high-performance liquid chromatography; chemical pattern recognition analysis

蒲蓝利咽合剂由蒲公英、黄芩、木蝴蝶、忍冬藤等6味药材组成,由《千家妙方》记载的“复方蒲公英汤”^[1]加减化裁而来,能透泄里热壅盛之邪,具有清热解毒、凉血利咽之效,主要用于治疗上呼吸道感染引起的发热、咽喉肿痛等症。方中蒲公英为君药,清热解毒、消肿散结^[2];黄芩为臣药,善清上焦之火,可治火毒炽盛的疮痍肿毒、咽喉肿痛^[3];木蝴蝶、忍冬藤等为佐使药,疏风通络、清肺利咽^[4-5];诸药共奏清热解毒、抗炎消肿之效。蒲蓝利咽合剂主要含有酚酸类、黄酮类、萜类、挥发油等成分,其中绿原酸、咖啡酸、菊苣酸为君药蒲公英中酚酸类成分,具有抗菌、抗病毒、抗炎等作用^[6-8];黄芩苷、千层纸素 A-7-*O*- β -D-葡萄糖醛酸、汉黄芩苷为臣药黄芩中黄酮类成分,具有抗病毒、神经保护等作用^[9];马钱苷为佐药忍冬藤中环烯醚萜类成分,具有抗氧化、抗菌及增强免疫功能等作用^[10];木蝴蝶苷 B 为使药木蝴蝶的特征性成分,具有抗菌、抗炎等作用^[11]。目前,对蒲蓝利咽合剂的质量控制仅限于薄层鉴别及相关检查项,尚缺少定量控制的方法。

由于中药成分复杂,对一种或几种成分的定量研究不能全面反映中药制剂的整体质量。中药指纹图谱所含化学成分信息量大、特征性强,能对中药质量进行整体描述和评价^[12],结合化学模式识别能对指纹图谱的整体性和模糊性进行更加科学合理的评价^[13]。基于此,本研究建立了蒲蓝利咽合剂的高效液相色谱(HPLC)指纹图谱,并进行化学模式识别分析;同时采用相同的HPLC法测定该制剂中绿原酸、咖啡酸、马钱苷、菊苣酸、木蝴蝶苷 B、黄芩苷、千层纸素 A-7-*O*- β -D-葡萄糖醛酸、汉黄芩苷共8种活性成分的含量,旨在为蒲蓝利咽合剂的质量评价提供参考。

1 材料

1.1 主要仪器

本研究所用主要仪器有 LC-20A 型 HPLC 仪、AUW-120D 型十万分之一天平(日本 Shimadzu 公司),Milli-Q 型纯水仪(美国 Millipore 公司),KQ-300E 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

1.2 主要药品与试剂

对照品绿原酸(批号 110753-202119,纯度 96.8%)、咖啡酸(批号 110885-201703,纯度 99.7%)、黄芩苷(批号 110715-202122,纯度 95.4%)、汉黄芩苷(批号 112002-201702,纯度 98.5%)均购自中国食品药品检定研究院;

对照品千层纸素 A-7-*O*- β -D-葡萄糖醛酸(批号 DSTDQ-004001,纯度 98.49%)、马钱苷(批号 DSTDM003801,纯度 99.31%)、菊苣酸(批号 DSTDJ003901,纯度 98.23%)、木蝴蝶苷 B(批号 DSTDM002901,纯度 98.39%)均购自成都德思特生物科技有限公司;乙腈、甲酸均为色谱纯,水为纯化水。

11 批蒲蓝利咽合剂[规格为每毫升含生药 0.52 g(100 mL/瓶),编号 S1~S11,批号分别为 20210621、20220214、20220216、20220218、20220221、20220223、20220225、20220228、20220302、20220304、20220307]均为漯河市中心医院自制。

黄芩饮片(批号 20201201)、忍冬藤饮片(批号 20191101)、木蝴蝶饮片(批号 20201001)均购自安徽桐花堂中药饮片科技有限公司,蒲公英饮片(批号 180601)购自亳州市万草堂中药饮片有限公司,均经漯河市中心医院制剂室于晓涛副主任中药师鉴定为真品。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

以 Shimadzu Shim-pack GIST C₁₈(150 mm×4.6 mm, 5 μ m)为色谱柱,以 0.1% 甲酸溶液(A)-乙腈(B)为流动相进行梯度洗脱(0~7 min, 7%B; 7~15 min, 7%B→8%B; 15~27 min, 8%B→10%B; 27~32 min, 10%B→15%B; 32~45 min, 15%B; 45~55 min, 15%B→19%B; 55~60 min, 19%B→22%B; 60~80 min, 22%B→25%B; 80~85 min, 25%B→40%B; 85~100 min, 40%B→50%B; 100~105 min, 50%B→90%B);柱温为 25 $^{\circ}$ C;流速为 1.0 mL/min;进样量为 5 μ L;指纹图谱检测波长为 254 nm;含量测定检测波长为 237 nm(马钱苷)、280 nm(木蝴蝶苷 B、黄芩苷、千层纸素 A-7-*O*- β -D-葡萄糖醛酸、汉黄芩苷)、327 nm(绿原酸、咖啡酸、菊苣酸)。

2.2 溶液的制备

2.2.1 混合对照品溶液 取绿原酸、咖啡酸、马钱苷、菊苣酸、木蝴蝶苷 B、黄芩苷、千层纸素 A-7-*O*- β -D-葡萄糖醛酸、汉黄芩苷对照品适量,置于 10 mL 容量瓶中,加 50% 甲醇制成上述各成分质量浓度分别为 68.400、30.000、250.625、237.600、105.600、2 204.800、289.300、408.000 μ g/mL 的混合对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液 取蒲蓝利咽合剂 1 mL,加水稀释至 10 mL,以 14 000 r/min 离心 10 min,取上清液,即得供试品溶液。

2.2.3 阴性样品溶液 按蒲蓝利咽合剂处方工艺分别制备缺黄芩或蒲公英或忍冬藤或木蝴蝶以及同时缺蒲公英和忍冬藤(因两者均含有咖啡酸)、黄芩和木蝴蝶(因两者均含有黄芩苷)的阴性样品,按“2.2.2”项下方法制备各阴性样品溶液。

2.3 蒲蓝利咽合剂 HPLC 指纹图谱的建立

2.3.1 精密度试验 精密量取编号为 S11 的供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件连续进样 6 次,记录峰面积。以黄芩苷为参照峰,结果显示,各共有峰相对保留时间和相对峰面积的 RSD 分别为 0.010%~0.234%、0.083%~2.935%($n=6$),表明方法精密度良好。

2.3.2 重复性试验 精密量取编号为 S11 的样品,共 6 份,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件进样,记录峰面积。以黄芩苷为参照峰,结果显示,各共有峰相对保留时间和相对峰面积的 RSD 分别为 0.025%~0.481%、0.140%~2.777%($n=6$),表明方法重复性良好。

2.3.3 稳定性试验 精密量取编号为 S11 的供试品溶液,分别于室温下放置 0、2、4、8、12、24 h 时按“2.1”项下色谱条件进样,记录峰面积。以黄芩苷为参照峰,结果显示,各共有峰相对保留时间和相对峰面积的 RSD 分别为 0.034%~0.630%、0.272%~2.865%($n=6$),表明供试品溶液于室温下放置 24 h 内稳定性良好。

2.3.4 指纹图谱的生成和相似度评价 取 11 批样品,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件进样,记录色谱峰。将所得的色谱图采用《中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012 版)》软件进行分析,以峰面积适中的 S11 样品为对照图谱,选择中位数计算,采用多点校正生成 HPLC 叠加指纹图谱和对照指纹图谱(R)。结果显示,11 批样品共有 20 个共有峰,详见图 1。11 批样品的相似度分别为 0.988、0.990、0.991、0.985、0.991、0.989、0.973、0.981、0.989、0.994、0.993。

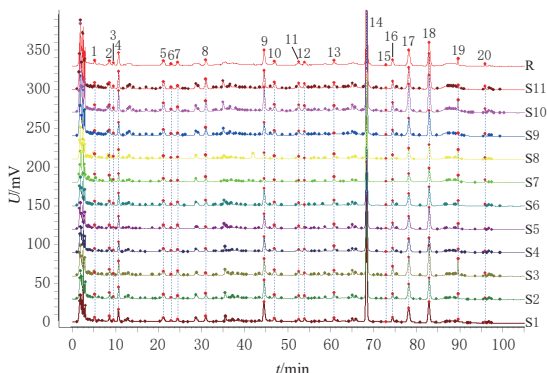
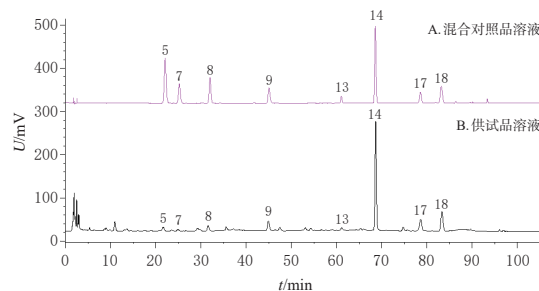


图 1 11 批蒲蓝利咽合剂的 HPLC 叠加指纹图谱和对照指纹图谱(R)

2.3.5 共有峰指认 经过与相应对照品图谱(图 2) 对比,共指出 8 个色谱峰,分别为绿原酸(5 号峰)、咖啡酸(7 号峰)、马钱苷(8 号峰)、菊苣酸(9 号峰)、木蝴蝶苷

B(13 号峰)、黄芩苷(14 号峰,由于其保留时间居中,将其作为参照峰)、千层纸素 A-7-O-β-D-葡萄糖醛酸(17 号峰)、汉黄芩苷(18 号峰)。



5:绿原酸;7:咖啡酸;8:马钱苷;9:菊苣酸;13:木蝴蝶苷B;14:黄芩苷;17:千层纸素A-7-O-β-D-葡萄糖醛酸;18:汉黄芩苷

图 2 混合对照品溶液与供试品溶液(编号 S11)的叠加 HPLC 图

2.4 HPLC 指纹图谱的化学模式识别分析

2.4.1 聚类分析 将 11 批样品的 20 个共有峰相对峰面积导入 SPSS 20.0 软件,采用组间联结法,以平方欧氏距离为区间进行聚类分析。结果显示,当平方欧氏距离为 10 时,11 批样品分为 2 大类,其中 S3、S10~S11 为一类,其余为一类。结果见图 3。

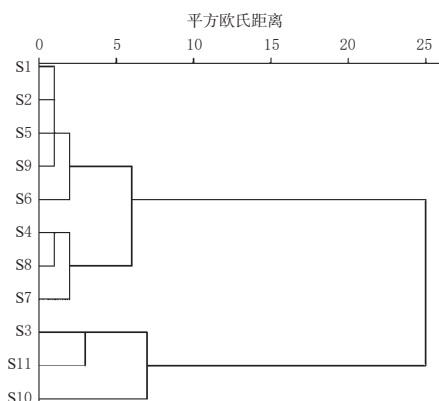


图 3 11 批蒲蓝利咽合剂的聚类分析树状图

2.4.2 主成分分析 以 11 批样品的 20 个共有峰相对峰面积为变量,运用 SPSS 20.0 软件进行主成分分析(表 1)。结果显示,前 4 个主成分的累计方差贡献率为 95.546%,表明这 4 个主成分能够反映指纹图谱共有峰的主要信息。采用 SIMCA14.1 软件进行无监督模式的主成分建模分析(图 4)。结果显示,11 批样品分为 2 类, S3、S10~S11 为一类,其余为一类,与聚类分析结果一致。

表 1 4 个主成分分子的特征值和方差贡献率

主成分	特征值	方差贡献率/%	累计方差贡献率/%
1	13.647	68.234	68.234
2	2.779	13.893	82.127
3	1.586	7.929	90.057
4	1.098	5.489	95.546

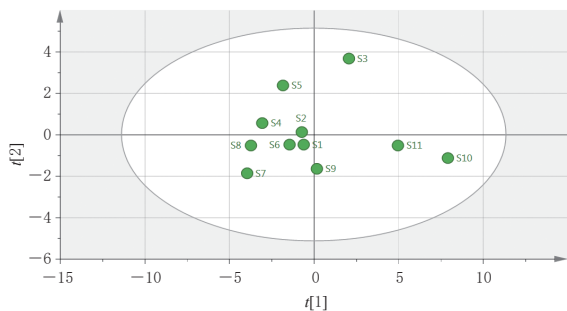


图4 11批蒲蓝利咽合剂的主成分分析得分图

2.4.3 正交偏最小二乘法-判别分析 以11批样品的20个共有峰相对峰面积为变量,运用SIMCA14.1软件进行正交偏最小二乘法-判别分析(图5)。结果显示,所得模型参数 $R_x^2=0.891$, $R_y^2=0.963$, $Q^2=0.899 > 0.5$,表明模型稳定,预测能力良好。

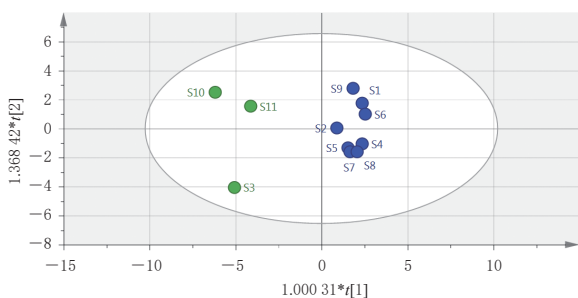


图5 11批蒲蓝利咽合剂的正交偏最小二乘法-判别分析得分矩阵图

以变量重要性投影(variable importance in projection, VIP)值大于1^[14]为指标筛选对样品分类贡献较大的成分(图6)。结果显示,15、14(黄芩苷)、10、18(汉黄芩苷)、11、17(千层纸素A-7-O-β-D-葡萄糖醛酸)、4、20、16、12、7(咖啡酸)、19号峰的VIP值大于1,表明这12个共有峰对应的成分可能是影响蒲蓝利咽合剂质量的标志物。

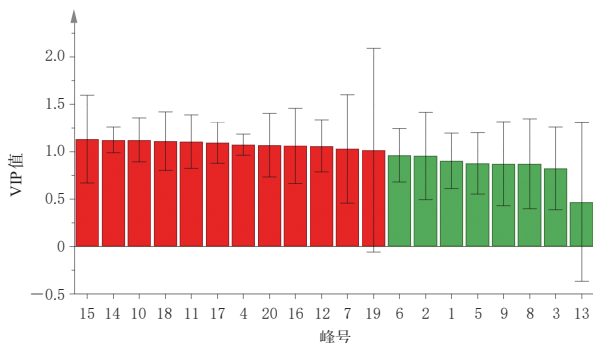


图6 各共有峰的VIP值

2.5 蒲蓝利咽合剂中绿原酸等8种成分的含量测定

采用相同的HPLC法测定蒲蓝利咽合剂中绿原酸等8种活性成分的含量。

2.5.1 专属性试验 取“2.2”项下混合对照品溶液、供试品溶液(编号S11)、各阴性样品溶液,按“2.1”项下色谱

条件进样,记录色谱图(图2,阴性样品图略)。结果显示,各成分分离度良好,阴性样品无干扰。

2.5.2 线性关系考察 精密量取“2.2.1”项下混合对照品溶液0.1、0.2、0.5、1.0、2.0、3.0 mL,分别置于5 mL容量瓶中,加50%甲醇稀释,得系列浓度工作溶液。取系列浓度工作溶液及混合对照品溶液,按“2.1”项下色谱条件进样,记录色谱峰。以各待测成分质量浓度为横坐标(x)、峰面积为纵坐标(y)进行线性回归。结果见表2。

表2 绿原酸等8种成分的回归方程与线性范围

待测成分	回归方程	r	线性范围/(μg/mL)
绿原酸	$y=37\ 373.335\ 7x-7\ 806.477\ 6$	0.999 5	1.368~68.400
咖啡酸	$y=65\ 513.446\ 1x-3\ 315.854\ 6$	0.999 8	0.600~30.000
马钱苷	$y=14\ 762.868\ 2x-14\ 917.207\ 4$	0.999 8	5.013~250.625
菊苣酸	$y=41\ 194.145\ 1x-17\ 019.736\ 3$	0.999 8	4.752~237.600
木蝴蝶苷B	$y=17\ 310.538\ 0x-4\ 849.576\ 8$	0.999 4	2.112~105.600
黄芩苷	$y=29\ 007.401\ 5x+102\ 493.260\ 9$	0.999 4	44.096~2 204.800
千层纸素A-7-O-β-D-葡萄糖醛酸	$y=29\ 957.443\ 3x+14\ 153.642\ 6$	0.999 2	5.786~289.300
汉黄芩苷	$y=35\ 283.791\ 0x-32\ 524.093\ 5$	0.999 4	8.160~408.000

2.5.3 精密度试验 精密量取“2.2.1”项下混合对照品溶液1 mL,置于5 mL容量瓶中,加50%甲醇定容至刻度,按“2.1”项下色谱条件连续进样6次,记录峰面积。结果显示,绿原酸、咖啡酸、马钱苷、菊苣酸、木蝴蝶苷B、黄芩苷、千层纸素A-7-O-β-D-葡萄糖醛酸、汉黄芩苷峰面积的RSD分别为0.60%、0.67%、0.65%、0.60%、0.47%、0.54%、0.52%、0.54%(n=6),表明仪器精密度良好。

2.5.4 重复性试验 精密吸取样品(编号S11),共6份,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件进样,记录峰面积并按标准曲线法计算样品含量。结果显示,绿原酸、咖啡酸、马钱苷、菊苣酸、木蝴蝶苷B、黄芩苷、千层纸素A-7-O-β-D-葡萄糖醛酸、汉黄芩苷含量的RSD分别为0.79%、0.27%、0.22%、0.12%、0.68%、0.49%、0.08%、0.12%(n=6),表明方法重复性良好。

2.5.5 稳定性试验 取“2.2.2”项下供试品溶液(编号S11),分别于室温下放置0、2、4、8、12、24 h时按“2.1”项下色谱条件进样,记录峰面积。结果显示,绿原酸、咖啡酸、马钱苷、菊苣酸、木蝴蝶苷B、黄芩苷、千层纸素A-7-O-β-D-葡萄糖醛酸、汉黄芩苷峰面积的RSD分别为1.02%、0.69%、0.54%、0.35%、0.16%、0.32%、0.30%、0.26%(n=6),表明供试品溶液于室温下放置24 h内稳定。

2.5.6 加样回收率试验 精密量取样品(编号S11)0.5 mL,共6份,按1:1加入混合对照品溶液,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件进样,记录峰面积并计算加样回收率。结果显示,绿原酸、咖啡酸、马钱苷、菊苣酸、木蝴蝶苷B、黄芩苷、千层纸素A-7-O-β-D-葡萄糖醛酸、汉黄芩苷的平均加样回收率分别为100.69%、98.50%、101.86%、99.97%、104.34%、100.38%、101.84%、99.74%,RSD分别为1.99%、2.64%、1.42%、1.54%、2.89%、2.73%、1.53%、1.25%(n=6),表明方法准确度良好。

2.5.7 样品含量测定 精密量取11批样品,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件进样,记录峰面积并按标准曲线法计算样品含量,每批样品平行测定3次,取平均值。结果见表3。

表3 绿原酸等8种成分的含量测定结果($n=3$, mg/g)

编号	绿原酸	咖啡酸	马钱苷	菊苣酸	木蝴蝶苷B	黄芩苷	千层纸素A-7-O- β -D-葡萄糖醛酸	汉黄芩苷	总含量
S1	0.628	0.297	2.084	3.205	6.664	64.049	7.106	10.937	94.970
S2	0.590	0.297	1.920	3.000	9.063	64.289	7.239	10.814	97.212
S3	0.506	0.485	0.930	2.745	8.003	86.800	9.287	15.375	124.131
S4	0.421	0.246	1.252	2.376	8.136	46.573	6.224	7.366	72.594
S5	0.418	0.413	0.735	2.402	6.886	64.125	6.419	11.313	92.711
S6	0.574	0.316	1.768	2.727	7.133	54.575	5.985	9.530	82.608
S7	0.725	0.163	1.821	0.587	6.980	37.443	3.623	7.135	58.477
S8	0.287	0.196	1.393	0.976	6.651	45.280	5.248	7.333	67.364
S9	0.685	0.257	2.630	2.104	1.920	71.104	8.366	12.805	99.871
S10	1.021	0.482	3.641	4.012	7.287	115.974	13.942	18.736	165.095
S11	0.821	0.355	3.404	3.065	7.764	101.290	10.731	17.904	145.334

3 讨论

本课题组前期分别考察了以甲醇-甲酸溶液、乙腈-甲酸溶液、乙腈-乙酸溶液为流动相时各成分的分离效果,结果表明,以乙腈-甲酸溶液为流动相时各成分的分离效果较好,故选择其为流动相。同时还考察了不同波长下(230、254、280、330 nm)各色谱峰的吸收度,结果显示,在254 nm波长下所得色谱峰较多且分离度较好,能够较为全面地反映样品的化学成分信息,故选择254 nm为指纹图谱的检测波长;此外还对绿原酸等8种成分进行全波长扫描,结果发现,绿原酸、咖啡酸、菊苣酸的最大吸收波长为327 nm,马钱苷为237 nm,木蝴蝶苷B、黄芩苷、千层纸素A-7-O- β -D-葡萄糖醛酸、汉黄芩苷均为280 nm,因此选择237、280、327 nm为含量测定的检测波长。

本研究建立了11批蒲蓝利咽合剂的HPLC指纹图谱,确定了20个共有峰,与对照指纹图谱的相似度均大于0.97,说明各批次样品的质量均一稳定、差异较小。聚类分析、主成分分析的结果均显示,S3、S10~S11为一类,其余为一类。正交偏最小二乘法-判别分析结果显示,15、14(黄芩苷)、10、18(汉黄芩苷)、11、17(千层纸素A-7-O- β -D-葡萄糖醛酸)、4、20、16、12、7(咖啡酸)、19号峰为影响样品质量的标志物。考虑到复方制剂具有多成分、多靶点协同作用的特点,故选择样品中发挥抗菌消炎作用的主要药效成分绿原酸、菊苣酸、马钱苷和木蝴蝶苷B^[6,8,10-11],与VIP值>1的黄芩苷、千层纸素A-7-O- β -D-葡萄糖醛酸、汉黄芩苷、咖啡酸共8种成分作为蒲蓝利咽合剂质量控制的指标成分。

含量测定结果显示,11批样品中绿原酸、咖啡酸、马钱苷、菊苣酸、木蝴蝶苷B、黄芩苷、千层纸素A-7-O- β -D-葡萄糖醛酸、汉黄芩苷的含量分别为0.287~1.021、0.163~0.485、0.735~3.641、0.587~4.012、1.920~9.063、37.443~115.974、3.623~13.942、7.135~18.736 mg/g,表

明不同批次样品含量存在差异,其中S3、S10~S11样品中8种成分的总含量高于其他批次。其原因可能与蒲蓝利咽合剂原药材的产地、制剂提取浓缩工艺等多种因素有关^[15-16]。

综上所述,建立的蒲蓝利咽合剂HPLC指纹图谱和绿原酸等8种成分的含量测定方法,可用于蒲蓝利咽合剂的质量评价;黄芩苷、汉黄芩苷、千层纸素A-7-O- β -D-葡萄糖醛酸等12种成分可能是影响蒲蓝利咽合剂质量的标志物。

参考文献

- [1] 李文亮,齐强,王天明.千家妙方:下册[M].北京:解放军出版社,1982:414-416.
- [2] 孟然,薛志忠,鲁雪林,等.蒲公英的功效成分与药理作用研究进展[J].江苏农业科学,2021,49(9):36-43.
- [3] 贾传青,郭兰萍,王晓,等.条芩与枯芩的指纹图谱建立、抗炎活性及谱效关系研究[J].中国药房,2022,33(12):1430-1435.
- [4] 李静,韩燕雨.忍冬非花蕾部位的研究进展[J].中华中医药学刊,2020,38(4):43-50.
- [5] 程新杰,卞广利,李德强,等.木蝴蝶活性成分质量控制研究进展[J].医药导报,2022,41(8):1177-1180.
- [6] 王庆华,杜婷婷,张智慧,等.绿原酸的药理作用及机制研究进展[J].药学学报,2020,55(10):2273-2280.
- [7] 张雯,孙雅丽,王琳,等.咖啡酸及其衍生物药理作用研究进展[J].动物医学进展,2021,42(8):103-106.
- [8] 王玉真,高爽,李凌军,等.菊苣酸生物活性及其药理作用研究进展[J].中国新药杂志,2020,29(15):1729-1733.
- [9] 黄光强,梁洁,林婧,等.以黄芩为例的中药质量标志物预测分析[J].中国新药杂志,2020,29(3):285-292.
- [10] 文诗泳,谭伟民,龚力民,等.中药忍冬藤资源与质量控制的研究进展[J].中兽药,2017,15(3):335-338.
- [11] 肖梦溪.木蝴蝶粗提物对金黄色葡萄球菌小鼠肺炎治疗作用的研究[D].长春:吉林大学,2016.
- [12] 姚令文,刘燕,郑笑为,等.指纹图谱、特征图谱技术在中药材和中成药中的应用[J].中国新药杂志,2018,27(8):934-939.
- [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] 李思毅,李宏,刘陶世.轻身调脂消渴片的指纹图谱建立、化学模式识别及含量测定[J].中国药房,2022,33(10):1204-1212.
- [15] 张佳,杨怀瑾,马丽霞,等.中药品质传递过程评价技术与方法研究进展[J].中草药,2021,52(15):4711-4721.
- [16] 马丽霞,杨怀瑾,张佳,等.中药制剂质量与临床疗效的保障:中药品质传递过程控制[J].中国实验方剂学杂志,2021,27(14):222-228.

(收稿日期:2022-04-06 修回日期:2022-10-08)

(编辑:陈宏)