

基于指纹图谱、化学模式识别和多指标含量测定的金贝口服液质量控制研究^Δ

田 婧^{1,2*}, 崔伟亮^{2,3}, 臧远芳², 汪 冰², 李慧芬³, 张爱均⁴, 薛 菲², 解盈盈², 林永强^{1,5#}(1. 山东中医药大学药物研究院, 济南 250355; 2. 山东省食品药品检验研究院中药室/中药配方颗粒共性技术山东省工程研究中心/产业技术基础公共服务平台/山东省中药药效组分与创新转化重点实验室, 济南 250101; 3. 山东中医药大学药学院, 济南 250355; 4. 山东宏济堂制药集团股份有限公司, 济南 250103; 5. 中国食品药品检定研究院中药民族药检定所/药品监管科学全国重点实验室, 北京 100061)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2026)13-1704-06
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2026.13.08



摘要 目的 基于多波长切换高效液相色谱(HPLC)指纹图谱、化学模式识别和多指标含量测定,建立金贝口服液的质量控制方法。方法 以15批金贝口服液为样品,采用《中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012版)》建立多波长切换HPLC指纹图谱,并进行色谱峰指认和相似度评价。采用聚类分析、主成分分析、正交-偏最小二乘判别分析对15批金贝口服液样品进行化学模式识别分析。采用多波长切换HPLC法同时测定样品中新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、连翘酯苷A、黄芩苷、丹酚酸B、汉黄芩苷含量。结果 15批金贝口服液的指纹图谱中共标定了25个共有峰,并指出其中7个共有峰,各样品相似度均大于0.960。化学模式识别分析结果发现,样品S1~S8聚为第1类,S9~S15聚为第2类,且黄芩苷、汉黄芩苷、新绿原酸、绿原酸、丹酚酸B为质量差异成分。15批金贝口服液中新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、连翘酯苷A、黄芩苷、丹酚酸B、汉黄芩苷的平均含量分别为0.213 7、0.085 3、0.104 9、0.287 3、0.420 1、0.062 1、0.176 0 mg/mL。结论 本研究基于多波长切换HPLC指纹图谱、化学模式识别和多指标含量测定建立的金贝口服液质量控制方法稳定、可靠,可为该制剂的质量标准制定提供参考。

关键词 金贝口服液;多波长切换;指纹图谱;含量测定;化学模式识别;质量标准

Study on quality control of Jinbei oral liquid based on fingerprint, chemical pattern recognition and multi-index content determination

TIAN Jing^{1,2}, CUI Weiliang^{2,3}, ZANG Yuanfang², WANG Bing², LI Huifen³, ZHANG Aijun⁴, XUE Fei², XIE Yingying², LIN Yongqiang^{1,5} (1. Institute of Materia Medica, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355, China; 2. Dept. of Traditional Chinese Medicine, Shandong Institute for Food and Drug Control/Shandong Engineering Research Center for Common Technology of Traditional Chinese Medicine Formula Granules/Public Service Platform for Industrial Technology Infrastructure/Shandong Key Laboratory of Effective Components and Innovative Transformation of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250101, China; 3. School of Pharmacy, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355, China; 4. Shandong Hongjitang Pharmaceutical Group Co., Ltd., Jinan 250103, China; 5. Institute for Traditional Chinese Medicine and Ethnic Medicines Control, National Institutes for Food and Drug Control/State Key Laboratory of Drug Regulatory Science, Beijing 100061, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE** To establish a quality control method for Jinbei oral liquid based on multi-wavelength switching high performance liquid chromatography (HPLC) fingerprint, chemical pattern recognition and multi-index content determination.

METHODS A total of 15 batches of Jinbei oral liquid were used as test samples. The *Similarity Evaluation System for Chromatographic Fingerprint of Traditional Chinese Medicine (Version 2012)* was adopted to establish multi-wavelength switching

HPLC fingerprints, followed by chromatographic peak identification and similarity evaluation. Cluster analysis, principal component analysis and orthogonal partial least squares-discriminant analysis were applied to conduct chemical pattern recognition on the 15 batches of samples. The multi-wavelength switching HPLC method was used to simultaneously determine the contents of neochlorogenic acid,

^Δ **基金项目** 国家重点研发计划-中医药现代化专项(No. 2023YFC3504102);药品监管科学全国重点实验室课题(No. 2025SKLDRS0338);中药监管科学研究项目(No.ZYJGKX202410)

* **第一作者** 硕士研究生。研究方向:中药新产品开发及中药分析。E-mail:13370660047@163.com

通信作者 主任药师,博士生导师。研究方向:中药质量控制关键技术。E-mail:linyongqiang@nifdc.org.cn

chlorogenic acid, cryptochlorogenic acid, forsythoside A, baicalin, salvianolic acid B and wogonoside in samples. **RESULTS** A total of 25 common peaks were calibrated in the fingerprints of 15 batches of Jinbei oral liquid, among which 7 common peaks were unambiguously identified. The similarity of all samples was higher than 0.960. Chemical pattern recognition results showed that samples S1-S8 were clustered into group 1, and samples S9-S15 were clustered into group 2. Baicalin, wogonoside, neochlorogenic acid, chlorogenic acid and salvianolic acid B were identified as the differential quality markers. The average contents of neochlorogenic acid, chlorogenic acid, cryptochlorogenic acid, forsythoside A, baicalin, salvianolic acid B and wogonoside in 15 batches of Jinbei oral liquid were 0.213 7, 0.085 3, 0.104 9, 0.287 3, 0.420 1, 0.062 1, 0.176 0 mg/mL, respectively. **CONCLUSIONS** The established quality control method for Jinbei oral liquid combining multi-wavelength switching HPLC fingerprint, chemical pattern recognition and multi-index content determination is stable and reliable, which can provide a reference for the formulation of quality standards of this preparation.

KEYWORDS Jinbei oral liquid; multi-wavelength switching; fingerprint; content determination; chemical pattern recognition; quality standard

金贝口服液是在国家名老中医陶凯教授临床应用多年的经验方基础上,按照国家1.1类创新中药要求研发的中药复方制剂。该制剂由黄芪、丹参、金银花、黄芩、甘草等12味中药组成,用于治疗特发性肺纤维化^[1-2]。目前,该制剂现行质量控制标准中含量测定项下仅以黄芪甲苷作为指标成分^[3],无法涵盖其药效物质基础的整体特征,难以有效控制该制剂的质量一致性和稳定性。因此,建立一种能同时表征中药整体化学成分特征和关键活性成分含量的综合质量评价方法,对保障金贝口服液的质量一致性和临床疗效具有重要意义。

近年来,多波长切换高效液相色谱(HPLC)法可通过优化活性成分的最大吸收波长检测条件,同时采集多个活性成分的高灵敏度色谱信号^[4]。化学模式识别能从大量色谱数据中挖掘样品中潜在的质量差异信息,从而明确关键差异成分^[5]。多指标含量测定能精准量化关键药效成分,全面反映中药的内在质量和疗效^[6]。基于此,本研究采用多波长切换HPLC指纹图谱、化学模式识别和多指标含量测定手段,建立金贝口服液质量控制方法,以期为金贝口服液的质量一致性、工艺稳定性及产品可靠性提供科学依据与理论参考。

1 材料

1.1 主要仪器

K2025型HPLC仪购自山东悟空仪器有限公司;HH-21-4型数显恒温水浴锅购自山东博恒科学仪器有限公司;XSE205型十万分之一电子天平购自梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司。

1.2 主要药品与试剂

绿原酸、连翘酯苷A、黄芩苷、隐绿原酸、汉黄芩苷、丹酚酸B对照品(批号分别为110753-202520、111810-202209、110715-202223、112111-202502、112002-202504、111562-202519,纯度均大于93%)和黄芪、川贝母、丹参、党参、当归、甘草、黄芩、连翘、金银花、川芎对照药材(批号分别为120974-202414、121757-202101、120923-201816、121057-202107、120927-202118、120904-202021、120955-

202411、120908-202318、12106-201608、120918-201813)均购自中国食品药品检定研究院;北沙参对照药材(批号SD0022-20210)购自山东省食品药品检验研究院;清半夏对照药材(批号250801)购自山东百味堂中药饮片有限公司;新绿原酸对照品(批号MUST-23040213,纯度大于99%)购自成都曼思特生物科技有限公司。

黄芪、党参、北沙参、丹参、当归、川芎、金银花、连翘、黄芩、清半夏、川贝母、甘草药材(批号分别为2301001、22120012、22120011、22090022、YF25400011、2209001、22120034、2212002、22120011、21020011、22040011、22120031)和15批金贝口服液样品(编号S1~S15,批号分别为2201001、2205001、2211001、2212001、2302001、2304001、2307001、2401001、2412001、2502001、2503001、2504001、2505001、2506001、2507001),均购自山东宏济堂制药集团股份有限公司。

2 方法与结果

2.1 多波长切换HPLC指纹图谱的建立

2.1.1 色谱条件

采用Inertsil ODS-3 C₁₈色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm),以乙腈(A)-0.1%磷酸溶液(B)为流动相进行梯度洗脱(0~11 min, 5%A; 11~33 min, 5%A→14%A; 33~39 min, 14%A→20%A; 39~53 min, 20%A; 53~72 min, 20%A→32%A; 72~95 min, 32%A→50%A; 95~100 min, 50%A→75%A; 100~105 min, 75%A→5%A; 105~110 min, 5%A);流速为1.0 mL/min;进样量为10 μL;柱温为30℃。波长切换条件为0~23 min, 280 nm; 23~33 min, 327 nm; 33~68 min, 290 nm; 68~87 min, 286 nm; 87~92 min, 254 nm; 92~110 min, 280 nm。

2.1.2 混合对照品溶液的配制

精密称取新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、连翘酯苷A、黄芩苷、汉黄芩苷、丹酚酸B对照品适量,置于同一容量瓶中,以甲醇溶解并定容,配制成各成分质量浓度分别为430.04、164.72、207.98、425.74、589.18、236.88、101.82 μg/mL的混合对照品溶液。

2.1.3 供试品溶液的制备

精密量取金贝口服液样品 5 mL,置于 20 mL 容量瓶中,加甲醇稀释并定容,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.1.4 对照药材溶液的制备

分别取黄芪、党参、北沙参、川贝母、丹参、当归、川芎、金银花、清半夏、连翘、黄芩、甘草对照药材适量,按金贝口服液制备工艺制备单一药材溶液,再按“2.1.3”项下方法处理,制成相应的对照药材溶液。

2.1.5 阴性样品溶液的制备

按金贝口服液制备工艺分别制备缺丹参、当归、川芎、金银花、连翘、黄芩、甘草、党参(这些药材具有特征峰归属,且可能存在基质干扰)的阴性样品,再按“2.1.3”项下方法处理,制成相应的阴性样品溶液。

2.1.6 精密度考察

取金贝口服液样品(编号 S5),按“2.1.3”项下方法制成供试品溶液,再按“2.1.1”项下色谱条件连续进样 6 次,记录色谱图。以 17 号峰(黄芩苷)为参照峰,计算得各共有峰的相对保留时间的 RSD 均小于 0.60%,相对峰面积的 RSD 均小于 1.96%($n=6$),表明该方法精密度良好。

2.1.7 稳定性考察

取金贝口服液样品(编号 S5),按“2.1.3”项下方法制成供试品溶液,分别于室温放置 0、2、4、8、12、16、24 h 时,按“2.1.1”项下色谱条件进样分析,记录色谱图。以 17 号峰(黄芩苷)为参照峰,计算得各共有峰的相对保留时间的 RSD 均小于 0.20%,相对峰面积的 RSD 均小于 1.98%($n=7$),表明该供试品溶液在室温放置 24 h 内稳定性良好。

2.1.8 重复性考察

取金贝口服液样品(编号 S5),按“2.1.3”项下方法平行制备 6 份供试品溶液,再按“2.1.1”项下色谱条件进样分析,记录色谱图。以 17 号峰(黄芩苷)为参照峰,计算得各共有峰的相对保留时间的 RSD 均小于 0.30%,相对峰面积的 RSD 均小于 1.99%($n=6$),表明该方法重复性良好。

2.1.9 指纹图谱的建立和相似度评价

取 15 批金贝口服液样品,按“2.1.3”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1.1”项下色谱条件进样分析,记录色谱图。将色谱数据导入《中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012 版)》,以编号 S5 样品的图谱为参照图谱,生成 15 批金贝口服液样品的 HPLC 叠加指纹图谱和对照图谱 R,并进行相似度分析。结果显示,15 批金贝口服液的指纹图谱(见图 1)共标定了 25 个共有峰,根据文献报道^[7]、混合对照品图谱(图 2)及色谱峰保留时间进行对比,共指认出 7 个共有峰,分别为新绿原酸(峰 3)、绿原酸(峰 5)、隐绿原酸(峰 6)、连翘酯苷 A(峰 10)、黄芩苷(峰 17)、丹酚酸 B(峰 18)、汉黄芩苷(峰 22)。

(峰 17)、丹酚酸 B(峰 18)、汉黄芩苷(峰 22)。15 批金贝口服液与对照指纹图谱 R 的相似度均大于 0.960,表明各批样品质量稳定,化学成分具有良好一致性,符合质量控制要求。

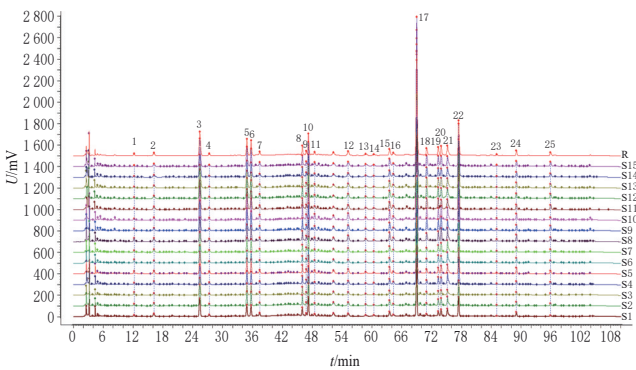
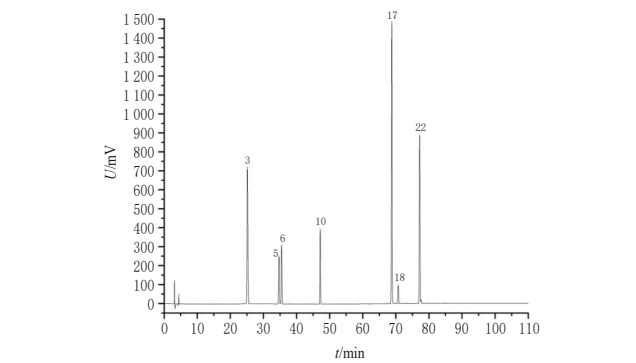


图 1 15 批金贝口服液的指纹图谱和对照图谱 R

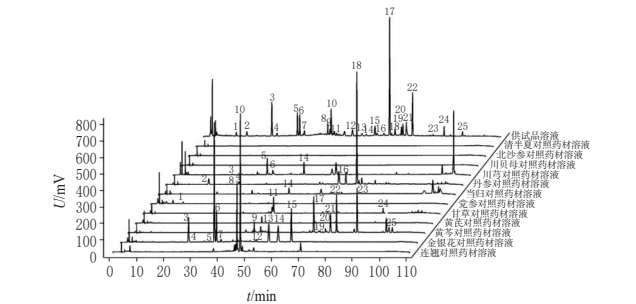


3:新绿原酸;5:绿原酸;6:隐绿原酸;10:连翘酯苷A;17:黄芩苷;18:丹酚酸B;22:汉黄芩苷。

图 2 混合对照品溶液色谱图

2.1.10 指纹图谱共有峰的归属

取“2.1.4”项下各对照药材溶液和“2.1.3”项下供试品溶液(编号 S5)适量,按“2.1.1”项下色谱条件进样分析,记录色谱图,然后结合保留时间与色谱峰特征,对 25 个共有峰进行药材归属分析。结果(图 3)显示,峰 1 归属于党参,峰 11、24 归属于甘草,峰 2、4、16、18 归属于丹参,峰 3、4、5、6、7、12、13、14、15 归属于金银花,峰 8、10 归属于连翘,峰 3、5、6 归属于川芎,峰 14 归属于当归、川芎,峰 9、17、19、20、21、22、23、25 归属于黄芩。



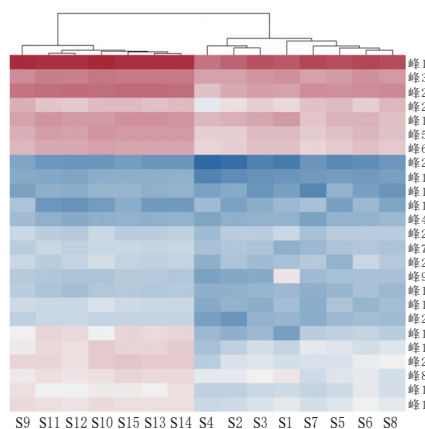
3:新绿原酸;5:绿原酸;6:隐绿原酸;10:连翘酯苷A;17:黄芩苷;18:丹酚酸B;22:汉黄芩苷。

图 3 金贝口服液供试品与对照药材的色谱图

2.2 化学模式识别分析

2.2.1 聚类分析

以15批金贝口服液样品指纹图谱的25个共有峰的峰面积为变量,经标准化处理后进行聚类分析(cluster analysis, CA),并采用R软件包“pheatmap”绘制CA热图。结果(图4)显示,15批金贝口服液样品可聚为2类,其中S1~S8聚为第1类,此类样品中峰17、峰22、峰3、峰10的峰面积相对较大,峰23、峰11、峰14的峰面积相对较小;S9~S15聚为第2类,此类样品中峰17、峰22、峰10、峰3、峰5、峰6、峰18、峰19、峰20的峰面积相对较大,峰1、峰4的峰面积相对较小。由此可知,峰3(新绿原酸)、峰5(绿原酸)、峰6(隐绿原酸)、峰10(连翘酯苷A)、峰17(黄芩苷)、峰18(丹酚酸B)、峰19、峰20、峰22(汉黄芩苷)可能是区分不同批次金贝口服液的关键特征峰。



注:色块颜色越红表明峰面积越大,颜色越蓝表明峰面积越小。

图4 15批金贝口服液样品的CA热图

2.2.2 主成分分析

以15批金贝口服液样品的25个共有峰峰面积作为分析变量,采用SIMCA 14.1软件进行主成分分析(principal component analysis, PCA)。以特征值>1为提取标准,提取出4个主成分,其初始特征值依次为18.030、2.609、1.868、1.236,累计方差贡献率为91.319%,表明该模型可有效表征样品的主要化学成分特征与质量信息。进一步将峰面积数据标准化处理后导入SIMCA 14.1软件,生成PCA得分图(图5)。由图5可知,15批金贝口服液样品呈现清晰的聚类趋势,该结果与“2.2.1”项下CA结果高度吻合,这提示15批金贝口服液样品的质量一致性良好,但批次间存在细微差异。

2.2.3 正交-偏最小二乘判别分析

采用SIMCA 14.1软件对15批金贝口服液样品的25个共有峰峰面积数据进行正交-偏最小二乘判别分析(orthogonal partial least squares-discriminant analysis, OPLS-DA)。结果(图6)显示,自变量解释度 R^2X 为0.774,模型拟合优度 R^2Y 为0.947,预测能力指标 Q^2 为0.886,表明该模型具有良好的稳定性和预测可靠性。进一步以变量重要性投影(variable importance projection,

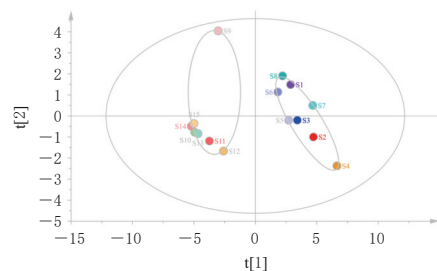


图5 15批金贝口服液样品的PCA得分图

VIP)值>1为条件筛选质量差异成分。结果(图7)显示,共筛选出5个质量差异成分,按VIP值大小排序依次为黄芩苷(峰17)>汉黄芩苷(峰22)>新绿原酸(峰3)>绿原酸(峰5)>丹酚酸B(峰18)。

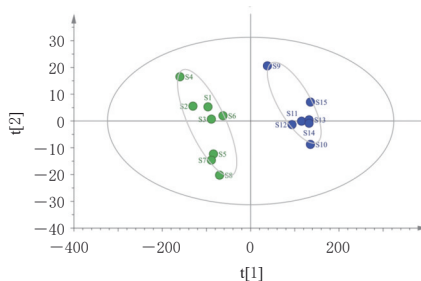


图6 15批金贝口服液样品的OPLS-DA得分图

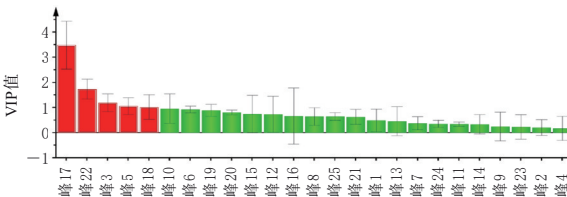


图7 15批金贝口服液样品共有峰的VIP得分图

2.3 7个指标成分的含量测定

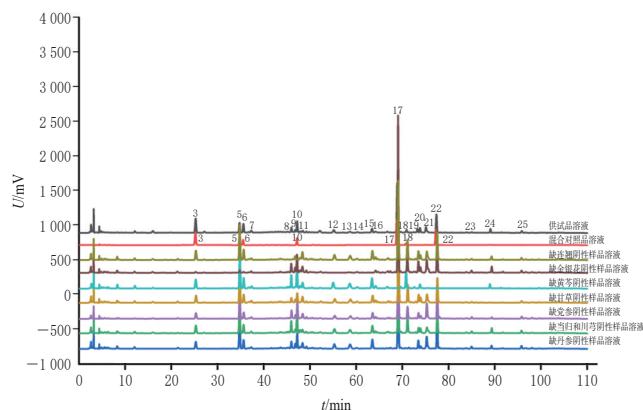
根据“2.1”“2.2”项下结果,后续将新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、连翘酯苷A、黄芩苷、丹酚酸B、汉黄芩苷作为金贝口服液的指标成分进行含量测定研究。

2.3.1 专属性考察

分别精密吸取“2.1.2”“2.1.3”“2.1.5”项下混合对照品溶液、供试品溶液和各阴性样品溶液,按“2.1.1”项下色谱条件进样分析,记录色谱图。结果(图8)显示,新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、连翘酯苷A、黄芩苷、丹酚酸B、汉黄芩苷的色谱峰均能达到基线分离,且与相邻峰分离度良好;各阴性样品在相应保留时间处无干扰峰。这表明该方法专属性强。

2.3.2 线性关系考察

精密吸取“2.1.2”项下混合对照品溶液适量,以甲醇稀释制成不同质量浓度的系列对照品溶液,按“2.1.1”项下色谱条件进样分析,记录峰面积。以峰面积作为纵坐标(Y),对照品质量浓度(X,mg/mL)作为横坐标,绘制标准曲线并构建各成分的线性回归方程。结果(表1)显示,7种成分在其各自检测质量浓度范围内线性关系均良好。



3: 新绿原酸; 5: 绿原酸; 6: 隐绿原酸; 10: 连翘酯苷A; 17: 黄芩苷; 18: 丹酚酸B; 22: 汉黄芩苷。

图8 专属性考察结果的色谱图

表1 金贝口服液中7种成分的线性关系考察结果

成分	回归方程	<i>r</i>	线性范围/(mg/mL)
新绿原酸	$Y=12\,556X-1\,157.5$	0.999 6	0.021 5~0.430 0
绿原酸	$Y=14\,051X-52.333$	0.999 6	0.008 2~0.164 7
隐绿原酸	$Y=10\,989X-30.262$	0.999 8	0.010 3~0.207 9
连翘酯苷A	$Y=6\,208.5X-28.696$	0.999 6	0.021 3~0.425 7
黄芩苷	$Y=17\,057X-151.96$	0.999 8	0.029 4~0.589 1
丹酚酸B	$Y=6\,218.8X-9\,310.9$	0.999 6	0.005 0~0.101 8
汉黄芩苷	$Y=20\,472X-77.335$	0.999 9	0.011 8~0.236 8

2.3.3 精密度考察

精密量取“2.1.2”项下混合对照品溶液适量,按“2.1.1”项下色谱条件连续进样6次,记录色谱图。结果显示,新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、连翘酯苷A、黄芩苷、丹酚酸B、汉黄芩苷峰面积的RSD为0.83%~1.71% ($n=6$),表明仪器精密度良好。

2.3.4 重复性考察

取金贝口服液样品(编号S5),按“2.1.3”项下方法平行制备6份供试品溶液,再按“2.1.1”项下色谱条件进样分析,记录峰面积,并根据标准曲线计算7种成分的含量。结果显示,各成分含量的RSD为1.06%~1.88% ($n=6$),表明该方法重复性良好。

2.3.5 稳定性考察

取金贝口服液样品(编号S5),按“2.1.3”项下方法制备供试品溶液,分别于室温放置0、2、4、8、12、16、24 h时,按“2.1.1”项下色谱条件进样分析,记录峰面积。结果显示,各成分峰面积的RSD为1.05%~1.69% ($n=7$),表明供试品溶液在室温放置24 h内稳定性良好。

2.3.6 加样回收率试验

精密量取金贝口服液样品(编号S5)2.5 mL,共9份,分别置于20 mL容量瓶中,按各成分已知含量的80%、100%、120%分别精密加入混合对照品溶液(每个梯度设置3份平行样品),根据“2.1.3”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1.1”项下色谱条件进样分析,记录峰面积并计算加样回收率。结果显示,各成分的平均加样回收率分别为102.61%、99.47%、98.27%、98.93%、

100.74%、97.76%、99.72%,RSD分别为1.36%、1.34%、1.11%、1.49%、1.81%、1.44%、2.04% ($n=3$),表明该方法准确度良好。

2.3.7 耐用性考察

精密量取金贝口服液样品(编号S5),按“2.1.3”项下方法制备供试品溶液,按“2.1.1”项下色谱条件进样分析,考察不同色谱仪(K2025型悟空、Waters e2695)、不同色谱柱[Inertsil ODS-3 C₁₈(20C0103395)、Inertsil ODS-3 C₁₈(19D0013244)、Inertsil ODS-3 C₁₈(19H0041210)]、不同温度(25、30、35℃)、不同流速(0.9、1.0、1.1 mL/min)对各成分测定的影响。结果显示,在上述不同条件下,各成分含量的RSD值均小于2.92%,表明该方法的耐用性好。

2.3.8 样品含量测定

取15批金贝口服液样品,按“2.1.3”项下方法每批次平行制备2份供试品溶液,再按“2.1.1”项下色谱条件进样分析,记录峰面积并代入标准曲线计算7种成分的含量。结果(表2)显示,新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、连翘酯苷A、黄芩苷、丹酚酸B、汉黄芩苷的平均含量分别为0.213 7、0.085 3、0.104 9、0.287 3、0.420 1、0.062 1、0.176 0 mg/mL。

表2 金贝口服液中7种指标成分的含量测定结果 (mg/mL, $n=2$)

成分	新绿原酸	绿原酸	隐绿原酸	连翘酯苷A	黄芩苷	丹酚酸B	汉黄芩苷
S1	0.200 2	0.076 4	0.102 0	0.226 7	0.333 1	0.046 1	0.128 5
S2	0.203 0	0.075 9	0.101 3	0.273 3	0.331 5	0.047 2	0.131 4
S3	0.198 7	0.075 7	0.097 0	0.225 9	0.328 6	0.046 6	0.133 9
S4	0.198 7	0.076 7	0.097 1	0.246 7	0.336 0	0.046 2	0.135 4
S5	0.219 8	0.083 2	0.104 2	0.270 9	0.333 6	0.047 7	0.144 9
S6	0.219 3	0.085 6	0.107 0	0.223 7	0.342 3	0.051 6	0.142 8
S7	0.183 4	0.076 1	0.093 1	0.278 7	0.329 1	0.046 2	0.156 2
S8	0.190 2	0.072 7	0.092 9	0.234 2	0.353 3	0.047 5	0.158 8
S9	0.221 9	0.089 0	0.109 4	0.322 2	0.501 9	0.072 7	0.218 3
S10	0.222 7	0.094 2	0.109 7	0.319 2	0.511 5	0.091 4	0.209 0
S11	0.226 9	0.089 1	0.109 6	0.324 9	0.507 9	0.074 0	0.210 5
S12	0.227 5	0.088 8	0.110 4	0.341 1	0.515 2	0.075 8	0.210 6
S13	0.228 0	0.089 2	0.111 2	0.343 2	0.517 6	0.077 8	0.212 0
S14	0.230 9	0.090 4	0.112 5	0.347 1	0.527 1	0.080 3	0.214 7
S15	0.234 2	0.117 1	0.115 5	0.332 2	0.533 2	0.081 1	0.233 1
平均值	0.213 7	0.085 3	0.104 9	0.287 3	0.420 1	0.062 1	0.176 0

3 讨论

3.1 供试品溶液制备方法的确定和色谱条件的优化

笔者前期以色谱峰数量、特征峰响应值、提取效率及重现性为指标,比较了直接稀释法、回流提取法、液液萃取法、超声提取法对供试品溶液制备的影响,结果发现,直接甲醇稀释法操作简便、提取效率高、活性成分保留好。进一步笔者还考察了不同流动相(乙腈-水、甲醇-0.1%磷酸、乙腈-0.1%磷酸、乙腈-0.1%甲酸)、不同柱温(25、30、35℃)和不同流速(0.9、1.0、1.1 mL/min)对色谱峰分离的影响,最后确定流动相为乙腈-0.1%磷酸溶液,柱温为30℃,流速为1.0 mL/min。

3.2 多波长切换 HPLC 检测波长程序的建立

金贝口服液所含化学成分的结构与性质差异显著,其最大吸收波长分布范围较广,单一检测波长的指纹图谱难以全面表征其所有化学成分特征,无法客观反映制剂的整体质量。多波长切换 HPLC 可更全面、精准地反映中药复方制剂的整体化学成分特征^[8]。本研究采用二极管阵列检测器在 190~400 nm 波长范围内对金贝口服液样品进行全波长扫描,并结合 2025 年版《中国药典》中黄芩苷、绿原酸、丹酚酸 B、连翘酯苷 A 等成分的最佳检测波长要求^[9],设计了 6 种波长切换的检测程序,实现了不同吸收特性成分的同步高灵敏度检测,使指纹图谱的化学信息更加全面、丰富,有效提升了分析结果的准确性与可靠性。

3.3 指纹图谱建立、化学模式识别的结果分析

本研究建立的 15 批金贝口服液多波长切换 HPLC 指纹图谱共标定了 25 个共有峰,并成功指认了 7 个共有峰,且所指认的成分主要归属于金银花、黄芩、丹参、连翘等主要药味,可以客观反映金贝口服液的整体化学成分特征。另外,15 批金贝口服液与对照指纹图谱 R 的相似度均超过 0.960,表明 15 批金贝口服液样品的化学成分整体一致性良好,生产工艺相对稳定。化学模式识别分析结果显示,15 批金贝口服液样品可分为 2 类,批次间的质量差异主要由黄芩苷、汉黄芩苷、新绿原酸、绿原酸、丹酚酸 B 等成分的含量差异引起,且这些成分是黄芩、金银花、丹参的特征活性成分^[10-12]。这提示在金贝口服液的生产过程中,需进一步加强对黄芩、金银花、丹参等原料药材的质量管控,以保证该制剂的质量稳定性。

3.4 多指标成分的选择和含量测定结果分析

经 CA 和 OPLS-DA 发现,峰 3(新绿原酸)、峰 5(绿原酸)、峰 6(隐绿原酸)、峰 10(连翘酯苷 A)、峰 17(黄芩苷)、峰 18(丹酚酸 B)、峰 19、峰 20、峰 22(汉黄芩苷)是区分不同批次金贝口服液的关键特征峰,且黄芩苷、汉黄芩苷、新绿原酸、绿原酸、丹酚酸 B 是金贝口服液的质量差异成分,因此,本研究选择新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、连翘酯苷 A、黄芩苷、丹酚酸 B、汉黄芩苷作为金贝口服液的指标成分。进一步含量测定结果显示,15 批金贝口服液中新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、连翘酯苷 A、黄芩苷、丹酚酸 B、汉黄芩苷含量分别为 0.183 4~0.234 2、0.072 7~0.117 1、0.092 9~0.115 5、0.223 7~0.347 1、0.328 6~0.533 2、0.046 1~0.091 4、0.128 5~0.233 1 mg/mL,由此可知,金贝口服液各批次样品中上述指标成分含量存在明显差异,这可能因为不同药材产地的气候、

土壤、光照等生长环境存在差异。后续应从源头控制药材质量,为金贝口服液的质量一致性提供保障。

综上所述,本研究将多波长切换 HPLC 指纹图谱、化学模式识别和多指标含量测定相结合,建立了金贝口服液的质量控制方法,可为该制剂的质量标准制定提供科学、可行的技术依据。

参考文献

- [1] 张爱均,韩康康,于翠香,等.金贝口服液治疗特发性肺纤维化疗效回顾性分析[J].亚太传统医药,2025,21(7):77-85.
- [2] Xing X Y, Qiang W J, Bao J L, et al. Jinbei oral liquid ameliorates bleomycin-induced idiopathic pulmonary fibrosis in rats via reversion of Th1/Th2 shift[J]. Chin Herb Med, 2020, 12(3): 273-280.
- [3] 张爱均,严嘉伟,丁琳,等.金贝口服液制备过程中指标成分黄芪甲苷的传递研究[J].山东中医药大学学报,2023,47(1):71-79.
- [4] 尤春雪,张振秋,李峰,等.HPLC 波长切换技术对葛根中 8 种成分的测定及指纹图谱研究[J].中草药,2013,44(5):616-621.
- [5] 何东栋,宗慧,王重阳,等.健脾和胃方的指纹图谱、化学模式识别分析及多指标含量测定[J].中国药房,2025,36(15):1876-1881.
- [6] 张艺蕾,杨冰月,赵璠,等.基于指纹图谱及化学模式识别法结合多指标含量测定对不同直径远志根各部位的质量评价[J].中草药,2026,57(3):1091-1100.
- [7] 刘衍梁,张爱均,王含雪,等.金贝口服液抗 SARS-CoV-2 的作用机制研究[J].中药新药与临床药理,2023,33(6):730-738.
- [8] 张菊,张乾年,曹阳洋,等.黄芩叶多波长指纹图谱的建立及一测多评法测定其中 5 种指标成分[J].中草药,2026,57(9):3572-3578.
- [9] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[M].2025 年版.北京:中国医药科技出版社,2025:1127-1129.
- [10] 张楠,刘霄,王圆梦,等.紫外和远红光辐照对黄芩幼苗生长及活性成分积累的影响[J/OL].辐射研究与辐射工艺学报,2026. <https://link.cnki.net/urlid/31.1258.TL.20260622.1705.002>.
- [11] 谭倩,董晓东,朱瑞娟,等.“鲁十味”中药金银花有效成分、药理机制及产品开发研究进展[J].药学研究,2026,45(2):217-223,234.
- [12] 姚苏芸,成晓萍,田耘.丹参活性成分治疗糖尿病肾病的作用机制研究进展[J].环球中医药,2026,19(4):862-868.

(收稿日期:2026-03-09 修回日期:2026-06-24)

(本文责编:唐晓莲)