中图分类号：R932；R284.1；R286.0　　文献标志码：A　　文章编号：1006－4931(2025)13－0067－08
doi:10.3969/j.issn.1006－4931.2025.13.014

芸中解表颗粒高效液相色谱指纹图谱建立及质量评价*

周丽玲[1]，赵翡翠[2,3]，彭　军[2,3]，韩　荣[3]，张海英[2,3]，赵生俊[2,3△]

（1. 新疆医科大学第四临床医学院，新疆 乌鲁木齐　830000；2. 新疆中药炮制研究重点实验室，新疆 乌鲁木齐　830000；3. 新疆医科大学附属中医医院，新疆 乌鲁木齐　830000）

摘要：目的　建立芸中解表颗粒的高效液相色谱（HPLC）指纹图谱，并评价其质量。**方法**　色谱柱为 Waters XTerra MS C_{18} 柱（250 mm×4.6 mm，5 μm），流动相为乙腈－0.1% 磷酸溶液（梯度洗脱），流速为 1.0 mL/min，检测波长为 283 nm，柱温为 35 ℃，进样量为 10 μL。采用中药色谱指纹图谱相似度评价系统（2012 版）建立 15 批样品的 HPLC 指纹图谱，并进行相似度评价。结合聚类分析（CA）及主成分分析（PCA）对 15 批样品进行质量评价。**结果**　15 批样品的 HPLC 指纹图谱共标定了 16 个共有峰，相似度均不小于 0.932，并指认 5 个共有峰分别为新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、橙皮苷、新橙皮苷。以上 5 种成分的质量浓度分别在 0.010 0～0.100 0 mg/mL、0.050 0～0.500 0 mg/mL、0.020 0～0.200 0 mg/mL、0.060 0～0.300 0 mg/mL、0.010 0～0.100 0 mg/mL 范围内与峰面积线性关系良好（$R^2 \geq 0.999\ 7$，$n=5$）；精密度、稳定性、重复性试验结果的 *RSD* 均小于 2.5%（$n=6$）；平均加样回收率分别为 99.51%，100.87%，100.79%，99.26%，101.94%，*RSD* 分别为 1.15%，0.81%，1.29%，0.95%，0.70%（$n=6$）。15 批样品中 5 种成分的含量分别为（0.48±0.05）mg/g、（2.04±0.16）mg/g、（0.71±0.06）mg/g、（1.18±0.07）mg/g、（0.51±0.06）mg/g（$n=3$）。CA 和 PCA 结果基本一致，15 批样品可聚为 4 类。PCA 结果显示，5 种成分中新绿原酸、绿原酸、橙皮苷、新橙皮苷的权重系数较大。**结论**　所建立的 HPLC 指纹图谱及多成分含量测定方法操作简便、结果准确可靠，可为芸中解表颗粒质量标准的建立提供参考。

关键词：芸中解表颗粒；高效液相色谱法；指纹图谱；含量测定；相似度评价；聚类分析；主成分分析

Establishment and Quality Evaluation of HPLC Fingerprints of Yunzhong Jiebiao Granules

ZHOU Liling[1], ZHAO Feicui[2,3], PENG Jun[2,3], HAN Rong[3], ZHANG Haiying[2,3], ZHAO Shengjun[2,3]

(1. The Fourth Clinical Medical College, Xinjiang Medical University, Urumqi, Xinjiang, China 830000; 2. Xinjiang Key Laboratory of Processing and Research of Traditional Chinese Medicine, Urumqi, Xinjiang, China 830000; 3. Affiliated Hospital of Traditional Chinese Medicine, Xinjiang Medical University, Urumqi, Xinjiang, China 830000)

Abstract: Objective　To establish the high－performance liquid chromatography (HPLC) fingerprints of Yunzhong Jiebiao Granules and to evaluate their quality. **Methods**　The chromatographic column was Waters XTerra MS C_{18} column (250 mm×4.6 mm, 5 μm), the mobile phase was acetonitrile－0.1% phosphoric acid solution (gradient elution), the flow rate was 1.0 mL/min, the

*基金项目：中央引导地方科技发展专项资金项目[ZYYD2024JD13]；新疆维吾尔自治区卫生健康委员会区级名老中医药专家传承工作室建设项目[新卫科教函〔2023〕93号]；新疆中药炮制研究重点实验室开放课题[ZYYPZ202302]。

第一作者：周丽玲，女，硕士研究生在读，研究方向为中药复方制剂，（电子信箱）1579630929@qq.com。

△通信作者：赵生俊，男，大学本科，主任药师，研究方向为中西药合理用药、药事管理学与临床药学，（电子信箱）1519531677@qq.com。

ment, characterization and pharmacokinetic evaluation [J]. Pharmaceutics, 2020, 12(2): 1－17.

[23] NASEEM A, KOVOORU L, BEHERA AK, et al. A critical review of synthesis procedures, applications and future potential of nanoemulsions [J]. Adv Colloid Interface Sci, 2021, 287: 102318.

[24] ISLAM F, SAEED F, AFZAAL M, et al. Food grade nanoemulsions: Promising delivery systems for functional ingredients [J]. J Food Sci Technol, 2023, 60(5): 1461－1471.

[25] PERAZZO A, PREZIOSI V, GUIDO S. Phase inversion emulsification: Current understanding and applications [J]. Adv Colloid Interface Sci, 2015, 222: 581－599.

[26] LI HM, LU HS, ZHANG Y, et al. Oil－in－water nanoemulsion with reversible charge prepared by the phase inversion composition method [J]. J Mol Liq, 2021, 336: 116174.

[27] MUSTAFA IF, HUSSEIN MZ. Synthesis and technology of nanoemulsion－based pesticide formulation [J]. Nanomaterials (Basel), 2020, 10(8): 1608.

[28] LEE HY, PARK YM, HWANG HM, et al. The effect of the mixed extract of kalopanax pictus nakai and achyranthes japonica nakai on the improvement of degenerative osteoarthritis through inflammation inhibition in the monosodium iodoacetate－induced mouse model [J]. Curr Issues Mol Biol, 2023, 45(8): 6395－6414.

[29] AN N, DONG WZ, PANG GD, et al. TPVB and general anesthesia affects postoperative functional recovery in elderly patients with thoracoscopic pulmonary resections based on ERAS pathway [J]. Transl Neurosci, 2023, 14(1): 20220305.

（收稿日期：2024－04－18；修回日期：2025－01－23）

detection wavelength was 283 nm, the column temperature was 35 ℃, and the injection volume was 10 μL. The Similarity Evaluation System for Chromatographic Fingerprint of Traditional Chinese Medicine (Version 2012) was used to establish HPLC fingerprints for 15 batches of samples, and conduct similarity evaluation. The quality of 15 batches of samples was evaluated by the cluster analysis (CA) and principal component analysis (PCA). **Results** A total of 16 common peaks were identified in the HPLC fingerprints of 15 batches of samples, with a similarity of ≥ 0.932. Five common peaks were identified as neochlorogenic acid, chlorogenic acid, cryptochlorogenic acid, hesperidin, and neohesperidin. The linear ranges of the above five components were 0.010 0 - 0.100 0 mg / mL, 0.050 0 - 0.500 0 mg / mL, 0.020 0 - 0.200 0 mg / mL, 0.060 0 - 0.300 0 mg / mL, and 0.010 0 - 0.100 0 mg / mL (R^2 ≥ 0.999 7, n = 5), respectively. The *RSD*s of precision, stability, and repeatability test results were all lower than 2.5% (n = 6). The average recoveries of the above five components were 99.51%, 100.87%, 100.79%, 99.26%, and 101.94%, with *RSD*s of 1.15%, 0.81%, 1.29%, 0.95%, and 0.70% (n = 6), respectively. The contents of above five components in 15 batches of samples were (0.48 ± 0.05) mg / g, (2.04 ± 0.16) mg / g, (0.71 ± 0.06) mg / g, (1.18 ± 0.07) mg / g, and (0.51 ± 0.06) mg / g (n = 3), respectively. The results of CA and PCA were basically consistent, and 15 batches of samples could be clustered into four categories. The PCA results showed that among the five components, the weight coefficients of neochlorogenic acid, chlorogenic acid, hesperidin, and neohesperidin were relatively high. **Conclusion** The established HPLC fingerprint and multi - component content determination method are simple, accurate and reliable, which can provide a reference for the establishment of the quality standard for Yunzhong Jiebiao Granules.

Key words: Yunzhong Jiebiao Granules; HPLC; fingerprints; content determination; similarity evaluation; cluster analysis; principal component analysis

寒湿感冒由风、寒、湿邪侵犯肺卫引起，以恶寒重、发热轻、头痛身疼、鼻塞流涕等为主要症状[1]。新疆由于冬长夏短，且冬季寒冷多风，寒湿感冒较常见。芸中解表方为新疆医科大学附属中医医院的经验方，由陈皮、金银花、佛手等9味中药组方，具有温肾健脾、散寒祛湿、清瘟通络等功效，用于治疗由寒湿感冒引起的周身乏力酸痛、恶寒、鼻塞流涕、咳嗽、咽干咽痛等症，疗效显著。该方在临床的使用以汤剂为主，存在质量稳定性差、可控性低、运输携带不便等缺点[2]，故拟将此方制备成便于携带且质量相对可控的颗粒剂。目前，该颗粒在医院制剂申报工作中的质量标准检查项尚不完善，难以保证质量，药品稳定性和安全性较低[2]。为全面控制和评价芸中解表颗粒的质量，本研究中采用高效液相色谱（HPLC）法测定指标性成分的含量，构建了HPLC指纹图谱[3]，并结合化学计量学分析方法对其进行综合评价。现报道如下。

1 仪器与试药

1.1 仪器

e2695 - Waters型高效液相色谱仪（美国Waters公司）；MS205DU型电子天平（瑞士Mettler Toledo公司，精度为万分之一）；SK250LHC型超声波清洗器（上海科导超声仪器有限公司，功率为240 W，频率为35 kHz）；HHS - 24型电热恒温水浴锅（上海东星建材试验设备有限公司）。

1.2 试药

新绿原酸对照品（批号为DSTDX001504，含量为98.80%），绿原酸对照品（批号为ZAB9 - E103，含量为96.20%），隐绿原酸对照品（批号为MUST - 17030621，含量为98.82%），橙皮苷对照品（批号为MUST - 17032502，含量为98.76%），新橙皮苷对照品（批号为MUST - 17040707，含量为98.08%），均购于中国食品药品检定研究院；甲醇（批号为2007L - 2106），乙腈（批号为L - 33055），均为色谱纯，购于美国Fisher公司；15批芸中解表颗粒样品分别来源于实验室小试产品（编号为S1 - S7，S11 - S15）和新奇康药业股份有限公司的中试产品（编号为S8 - S10，批号分别为240863，240968，240969），样品信息见表1。

表1 15批芸中解表颗粒样品信息

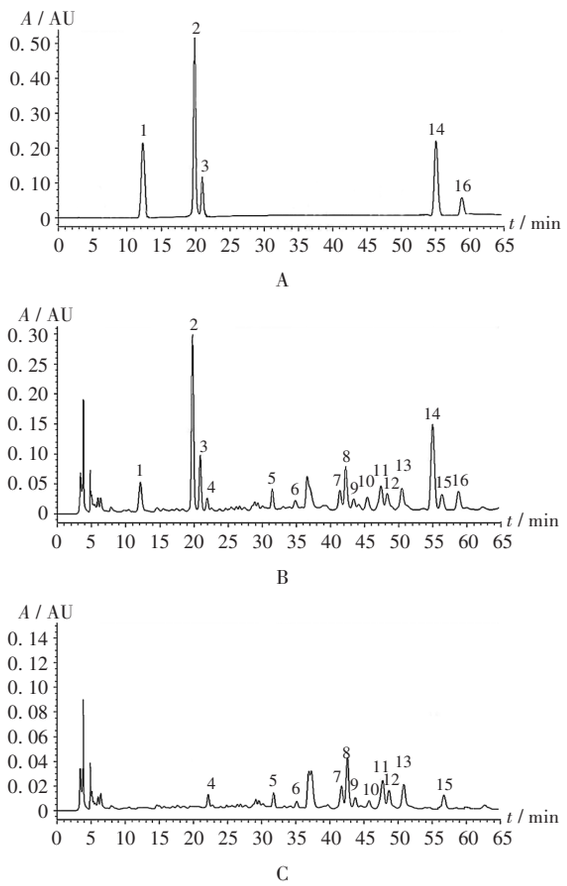
Tab. 1 Information of 15 batches of Yunzhong Jiebiao Granules

编号	来源	批号									生产厂家
		陈皮	广藿香	金银花	佛手	北柴胡	连翘	干姜	独活	紫苏梗	
S1 - S3	小试产品	231201	230701	231201	231101	231201	230901	230301	230501	230401	湖北道地药材科技有限公司（厂家A）
S4 - S6	小试产品	230627	230824	230722	230729	230305	230306	230604	230319	230713	安徽康和中药科技有限公司（厂家B）
S7,S11	小试产品	2201101	220601	210801	220301	220601	220301	220401	220401	220401	豪州市济善堂中药科技有限公司（厂家C）
S12 - S15	小试产品	02 - 23010101	03 - 23090101	01 - 23090101	03 - 23080101	03 - 23100101	03 - 23070201	02 - 23100101	02 - 23110101	03 - 24030101	安徽润芙蓉药业有限公司（厂家D）
S8 - S10	中试产品	2404008	2305060	2310055	2309111	2301019	2301009	2307050	2404020	2305085	豪州市惠康堂中药科技有限公司（厂家E）

2 方法与结果

2.1 色谱条件与系统适用性试验

色谱柱：Waters Xterra MS C_{18}柱（250 mm × 4.6 mm，5 μm）；流动相：乙腈（A）－0.1%磷酸溶液（B），梯度洗脱（0～25 min 时 8%A → 15%A，25～60 min 时 15%A → 22%A，60～65 min 时 22%A → 8%A）；流速：1.0 mL/min；检测波长：283 nm；柱温：35 ℃；进样量：10 μL。在此色谱条件下，供试品溶液色谱中，在与混合对照品溶液色谱相同保留时间处有相应色谱峰出现，且阴性对照无干扰。色谱图见图1。



1. 新绿原酸　2. 绿原酸　3. 隐绿原酸　14. 橙皮苷　16. 新橙皮苷
A. 混合对照品溶液　B. 供试品溶液　C. 阴性对照品溶液

图1 高效液相色谱图

1. Neochlorogenic acid　2. Chlorogenic acid　3. Cryptochlorogenic acid　14. Hesperidin　16. Neohesperidin
A. Mixed reference solution　B. Test solution　C. Negative reference solution

Fig. 1 HPLC chromatograms

2.2 溶液制备

分别取新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、橙皮苷、新橙皮苷对照品各适量，精密称定，置5 mL容量瓶中，加甲醇定容，制成质量浓度分别为0.100 0，0.500 0，0.200 0，0.300 0，0.100 0 mg/mL的混合对照品溶液。取样品（编号为S11）适量，研磨成粉，精密称定，置锥形瓶中，加10 mL甲醇，称定质量，超声处理30 min，放冷，用甲醇补足减失的质量，摇匀，滤过，取续滤液，即得供试品溶液。根据芸中解表颗粒生产工艺制备不含陈皮、佛手、金银花的阴性样品，按供试品溶液制备方法制备，即得阴性对照品溶液。

2.3 HPLC 指纹图谱建立

2.3.1 方法学考察

精密度试验：取同一批供试品溶液（编号为S11），按2.1项下色谱条件连续进样测定6次，以峰2为参照峰。结果共有峰相对峰面积的*RSD*为0.92%～2.99%（$n=6$），相对保留时间的*RSD*为0.02%～0.06%（$n=6$），表明仪器精密度良好。

稳定性试验：取同一批供试品溶液（编号为S11），分别于制备后0，4，8，12，24，48 h时按2.1项下色谱条件进样测定，以峰2为参照峰。结果共有峰相对峰面积的*RSD*为0.71%～3.57%（$n=6$），相对保留时间的*RSD*为0.04%～0.16%（$n=6$），表明供试品溶液在48 h内稳定性良好。

重复性试验：取同一批供试品溶液（编号为S11）6份，按2.1项下色谱条件进样测定，以峰2为参照峰。结果共有峰相对峰面积的*RSD*为0.57%～2.49%（$n=6$），相对保留时间的*RSD*为0.02%～0.08%（$n=6$），表明方法重复性良好。

2.3.2 指纹图谱建立与相似度评价

指纹图谱建立与共有峰指认：取2.2项下供试品溶液（编号为S1－S15）各适量，按2.1项下色谱条件进样测定，并将色谱图导入中药色谱指纹图谱相似度评价系统（2012版）[4]，以S7的图谱为参照图谱，采用中位数法，时间窗设为0.1 min，经多点校正后进行色谱峰匹配，建立15批样品的HPLC叠加指纹图谱（图2），结果共确定16个共有峰。将对照指纹图谱（图3）与混合对照品溶液HPLC图（图1 A）比对，指认出峰1为新绿原酸，峰2为绿原酸，峰3为隐绿原酸，峰14为橙皮苷，峰16为新橙皮苷。其中，峰2（绿原酸）的峰面积较大且出峰时间稳定[5]，故以其保留时间和峰面积为参照，计算各共有峰的相对保留时间和相对峰面积。结果见表2和表3。

相似度评价：评价结果显示，15批样品的相似度为0.932～0.998。详见表4。

2.4 化学计量学分析

聚类分析（CA）：采用SPSS 27.0统计学软件对15批样品的16个共有峰的峰面积数据进行标准化处理，选择组间联接，欧式距离为25，进行CA。结果显示，15批样品可聚为4类，其中编号S1－S3，S6，S8－S9，S11，S13－S15聚为第1类，编号S4和S7聚为第2类，编号S5

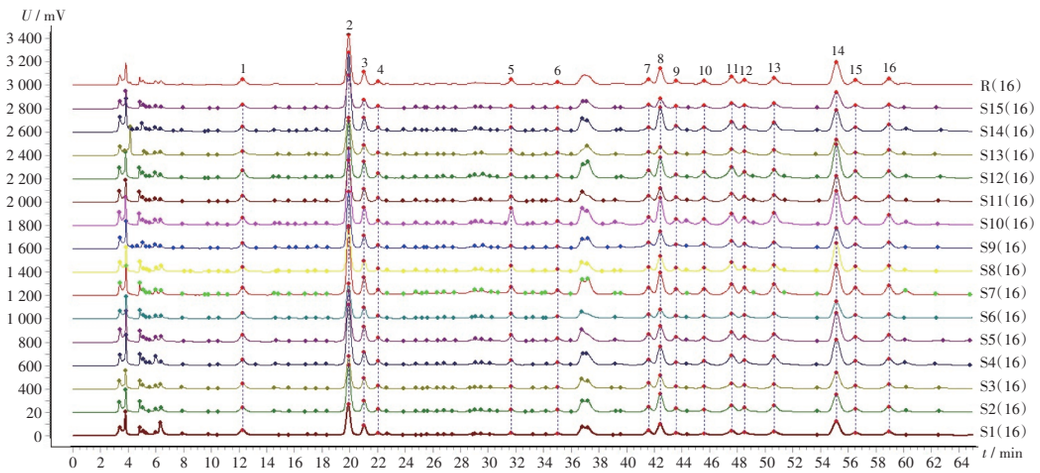


图 2　15 批芸中解表颗粒样品高效液相色谱叠加指纹图谱

Fig. 2　HPLC superimposed fingerprints of 15 batches of Yunzhong Jiebiao Granules

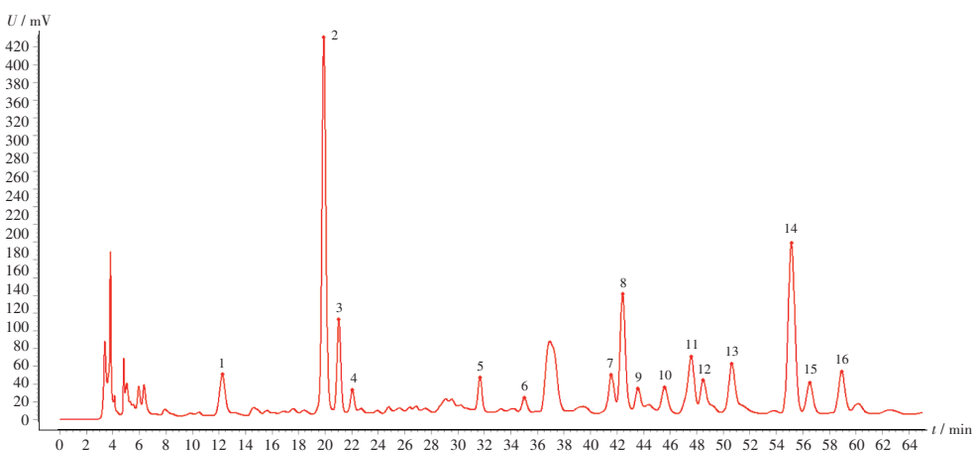


图 3　芸中解表颗粒样品的高效液相色谱对照指纹图谱

Fig. 3　HPLC reference fingerprint of 15 batches of Yunzhong Jiebiao Granules

表 2　15 批芸中解表颗粒样品 HPLC 图谱共有峰相对保留时间

Tab. 2　Relative retention time of common peaks of HPLC fingerprints of 15 batches of Yunzhong Jiebiao Granules

峰号	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13	S14	S15	*RSD*(%)
1	0. 616	0. 615	0. 615	0. 615	0. 642	0. 614	0. 615	0. 612	0. 617	0. 618	0. 616	0. 618	0. 617	0. 617	0. 616	1. 12
2	1. 000	1. 000	1. 000	1. 000	1. 000	1. 000	1. 000	1. 000	1. 000	1. 000	1. 000	1. 000	1. 000	1. 000	1. 000	0. 00
3	1. 057	1. 057	1. 056	1. 057	1. 052	1. 057	1. 057	1. 057	1. 057	1. 057	1. 056	1. 056	1. 058	1. 057	1. 057	0. 12
4	1. 108	1. 108	1. 108	1. 108	1. 108	1. 108	1. 109	1. 109	1. 108	1. 107	1. 107	1. 107	1. 107	1. 108	1. 108	0. 05
5	1. 590	1. 596	1. 589	1. 594	1. 591	1. 591	1. 589	1. 591	1. 588	1. 587	1. 591	1. 592	1. 590	1. 592	1. 588	0. 14
6	1. 756	1. 760	1. 756	1. 760	1. 762	1. 762	1. 758	1. 762	1. 756	1. 757	1. 759	1. 758	1. 758	1. 760	1. 759	0. 11
7	2. 083	2. 089	2. 085	2. 092	2. 091	2. 091	2. 086	2. 091	2. 085	2. 085	2. 089	2. 091	2. 087	2. 092	2. 089	0. 15
8	2. 125	2. 131	2. 127	2. 134	2. 134	2. 134	2. 128	2. 133	2. 127	2. 126	2. 132	2. 133	2. 130	2. 134	2. 131	0. 16
9	2. 183	2. 190	2. 186	2. 193	2. 193	2. 193	2. 187	2. 193	2. 187	2. 185	2. 190	2. 191	2. 187	2. 192	2. 189	0. 15
10	2. 284	2. 291	2. 288	2. 289	2. 294	2. 294	2. 288	2. 294	2. 286	2. 286	2. 291	2. 292	2. 284	2. 294	2. 290	0. 15
11	2. 383	2. 391	2. 387	2. 395	2. 395	2. 395	2. 389	2. 395	2. 387	2. 385	2. 390	2. 392	2. 389	2. 394	2. 391	0. 17
12	2. 428	2. 436	2. 433	2. 440	2. 440	2. 441	2. 434	2. 441	2. 433	2. 431	2. 436	2. 438	2. 433	2. 440	2. 437	0. 17
13	2. 535	2. 544	2. 541	2. 549	2. 549	2. 550	2. 542	2. 550	2. 542	2. 538	2. 544	2. 546	2. 541	2. 505	2. 545	0. 43
14	2. 759	2. 768	2. 766	2. 775	2. 774	2. 777	2. 767	2. 777	2. 766	2. 762	2. 768	2. 771	2. 766	2. 773	2. 771	0. 19
15	2. 828	2. 838	2. 837	2. 845	2. 846	2. 846	2. 835	2. 847	2. 836	2. 832	2. 838	2. 840	2. 834	2. 843	2. 840	0. 20
16	2. 948	2. 958	2. 957	2. 966	2. 967	2. 968	2. 957	2. 968	2. 957	2. 952	2. 958	2. 961	2. 954	2. 964	2. 962	0. 21

表3 15批芸中解表颗粒样品HPLC图谱共有峰相对峰面积

Tab. 3 Relative peak areas of common peaks of HPLC fingerprints of 15 batches of Yunzhong Jiebiao Granules

峰号	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13	S14	S15	*RSD*(%)
1	0.083	0.078	0.077	0.073	0.102	0.096	0.090	0.073	0.091	0.102	0.096	0.100	0.067	0.079	0.091	13.41
2	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.00
3	0.117	0.134	0.108	0.126	0.158	0.128	0.147	0.124	0.163	0.166	0.146	0.155	0.116	0.168	0.149	14.05
4	0.027	0.035	0.032	0.042	0.046	0.033	0.039	0.037	0.043	0.046	0.042	0.047	0.026	0.046	0.036	18.04
5	0.023	0.025	0.019	0.051	0.067	0.049	0.103	0.074	0.031	0.051	0.060	0.028	0.053	0.053	0.027	48.28
6	0.022	0.029	0.017	0.029	0.043	0.023	0.041	0.029	0.020	0.035	0.034	0.027	0.025	0.032	0.020	26.28
7	0.080	0.085	0.080	0.074	0.113	0.079	0.097	0.083	0.135	0.106	0.103	0.111	0.070	0.082	0.074	20.26
8	0.179	0.295	0.190	0.243	0.232	0.144	0.271	0.240	0.328	0.340	0.212	0.267	0.110	0.388	0.232	30.33
9	0.043	0.061	0.032	0.039	0.063	0.039	0.072	0.062	0.087	0.073	0.070	0.047	0.037	0.093	0.131	41.75
10	0.036	0.052	0.032	0.060	0.070	0.050	0.085	0.067	0.115	0.087	0.075	0.092	0.048	0.079	0.049	34.31
11	0.100	0.140	0.100	0.166	0.169	0.102	0.169	0.177	0.157	0.176	0.174	0.191	0.159	0.187	0.095	22.75
12	0.070	0.085	0.065	0.094	0.039	0.072	0.098	0.069	0.092	0.099	0.089	0.095	0.073	0.055	0.063	22.79
13	0.090	0.140	0.063	0.161	0.156	0.107	0.164	0.123	0.100	0.154	0.129	0.133	0.090	0.144	0.100	24.68
14	0.349	0.354	0.291	0.359	0.428	0.450	0.386	0.411	0.430	0.465	0.510	0.434	0.311	0.419	0.308	16.14
15	0.048	0.060	0.039	0.063	0.081	0.061	0.098	0.087	0.078	0.106	0.082	0.098	0.042	0.075	0.056	29.28
16	0.374	0.582	0.355	0.597	0.564	0.427	0.593	0.546	0.743	0.581	0.502	0.563	0.479	0.832	0.645	22.56

表4 15批芸中解表颗粒指纹图谱相似度评价结果

Tab. 4 Results of similarity evaluation of fingerprints of 15 batches of Yunzhong Jiebiao Granules

编号	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13	S14	S15	R
S1	1.000	0.992	0.998	0.992	0.992	0.993	0.993	0.983	0.987	0.989	0.987	0.990	0.977	0.964	0.993	0.996
S2	0.992	1.000	0.988	0.994	0.978	0.980	0.990	0.971	0.994	0.988	0.969	0.976	0.977	0.986	0.987	0.993
S3	0.998	0.988	1.000	0.988	0.991	0.988	0.988	0.985	0.985	0.987	0.987	0.992	0.969	0.959	0.989	0.994
S4	0.992	0.994	0.988	1.000	0.990	0.991	0.995	0.985	0.988	0.993	0.983	0.986	0.987	0.978	0.996	0.998
S5	0.992	0.978	0.991	0.990	1.000	0.996	0.992	0.996	0.973	0.989	0.998	0.997	0.975	0.945	0.995	0.994
S6	0.993	0.980	0.988	0.991	0.996	1.000	0.991	0.988	0.978	0.989	0.992	0.990	0.987	0.956	0.996	0.995
S7	0.993	0.990	0.988	0.995	0.992	0.991	1.000	0.987	0.985	0.997	0.987	0.987	0.981	0.968	0.993	0.997
S8	0.983	0.971	0.985	0.985	0.996	0.988	0.987	1.000	0.968	0.987	0.997	0.996	0.966	0.941	0.992	0.990
S9	0.987	0.994	0.985	0.988	0.973	0.978	0.985	0.968	1.000	0.986	0.966	0.973	0.981	0.989	0.984	0.991
S10	0.989	0.988	0.987	0.993	0.989	0.989	0.997	0.987	0.986	1.000	0.983	0.984	0.982	0.972	0.990	0.996
S11	0.987	0.969	0.987	0.983	0.998	0.992	0.987	0.997	0.966	0.983	1.000	0.997	0.965	0.932	0.991	0.990
S12	0.990	0.976	0.992	0.986	0.997	0.99	0.987	0.996	0.973	0.984	0.997	1.000	0.964	0.942	0.994	0.992
S13	0.977	0.977	0.969	0.987	0.975	0.987	0.981	0.966	0.981	0.982	0.965	0.964	1.000	0.976	0.985	0.986
S14	0.964	0.986	0.959	0.978	0.945	0.956	0.968	0.941	0.989	0.972	0.932	0.942	0.976	1.000	0.964	0.974
S15	0.993	0.987	0.989	0.996	0.995	0.996	0.993	0.992	0.984	0.990	0.991	0.994	0.985	0.964	1.000	0.997
R	0.996	0.993	0.994	0.998	0.994	0.995	0.997	0.990	0.991	0.996	0.990	0.992	0.986	0.974	0.997	1.000

和S12聚为第3类，编号S10单独聚为第4类。详见图4。结合2.3.2项下相似度评价结果发现，不同厂家的药材生产出的样品质量存在一定差异，但总体质量相对稳定。

主成分分析（PCA）：将15批样品共有的16个色谱峰的峰面积导入SPSS 27.0统计学软件进行PCA，结果得到3个主成分因子，累积方差贡献率为81.115%（>80%）。结果见表5。采用凯撒正态化最大方差法进行正交旋转，得出旋转后的主因子载荷矩阵。结果见表6。以3个主成分因子作为变量分别绘制PCA的碎石图（图5）和得分图（图6）。可见，主成分1中，峰9和峰11有负载荷；主成分2中，峰5和峰6有负载荷；主成分3中，峰10和峰15有负载荷，其余各峰均为正载荷。其中，主成分1中峰1（新绿原酸）、峰2（绿原酸）、峰14（橙皮苷）对应的载荷为0.858，0.875，0.906，主成分2中峰9载荷为

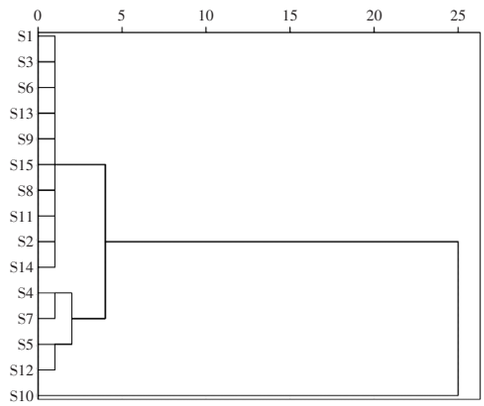


图 4　聚类分析树状图

Fig. 4　Dendrogram of the cluster analysis

表 5　15 批芸中解表颗粒样品主成分分析结果

Tab. 5　Results of the PCA for 15 batches of Yunzhong Jiebiao Granules

主成分	初始特征值			提取载荷平方和		
	总计	方差百分比(%)	累积方差贡献率(%)	总计	方差百分比(%)	累积方差贡献率(%)
1	9.861	61.634	61.634	9.861	61.634	61.634
2	1.703	10.645	72.279	1.703	10.645	72.279
3	1.414	8.836	81.115	1.414	8.836	81.115

0.891，主成分 3 中峰 16（新橙皮苷）的载荷对应为 0.882，峰的载荷值与峰对主成分的影响贡献成正比。可见，在 PCA 中产生主要影响的成分为新绿原酸、绿原酸、橙皮苷和新橙皮苷。由图 6 可见，15 批样品可聚为

表 6　旋转后的主成分矩阵载荷

Tab. 6　Rotated factor loading matrix of principal components

主成分	峰号															
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
1	0.858	0.875	0.743	0.758	0.069	0.718	0.660	0.577	−0.040	0.771	−0.260	0.857	0.788	0.906	0.847	0.562
2	0.345	0.195	0.516	0.128	−0.010	−0.070	0.165	0.637	0.891	0.369	0.199	0.297	0.325	0.040	0.176	0.760
3	0.252	0.127	0.350	0.356	0.245	0.328	0.468	0.237	0.052	−0.010	0.880	0.124	0.358	0.102	−0.240	0.882

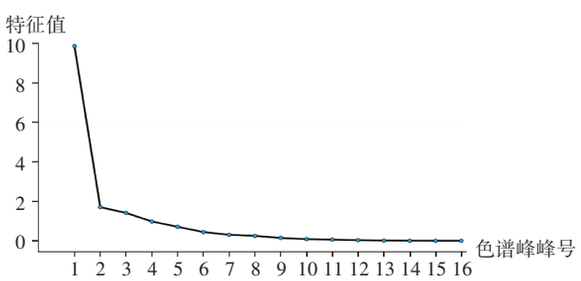


图 5　15 批芸中解表颗粒样品主成分分析碎石图

Fig. 5　PCA scree plot of 15 batches of Yunzhong Jiebiao Granules

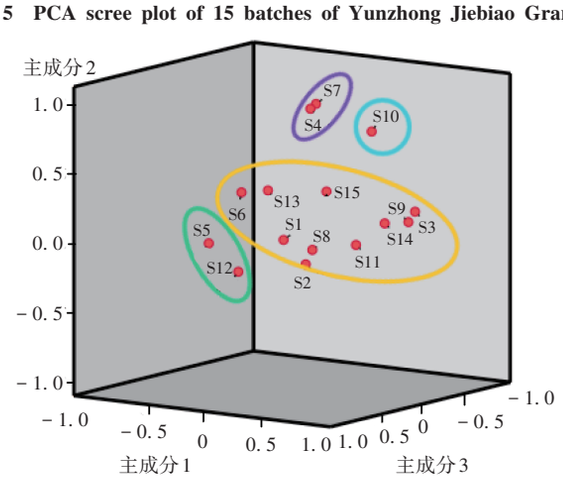


图 6　15 批芸中解表颗粒样品主成分分析得分图

Fig. 6　PCA score plot of 15 batches of Yunzhong Jiebiao Granules

4 类，与 CA 结果一致，其中峰 1（新绿原酸）、峰 2（绿原酸）、峰 3（隐绿原酸）、峰 4、峰 7、峰 8、峰 12、峰 13、峰 14（橙皮苷）、峰 16（新橙皮苷）的 10 种成分可能是芸中解表颗粒的重要组成成分。结合碎石图变化趋势，从第 3 个主成分开始折线由陡峭突然变得平稳，主成分的特征分值开始缓慢下降，陡峭到平稳对应的因子个数即为参考提取因子个数，表明影响不同批次颗粒共有峰含量差异的成分并非单一成分，而是由前 3 种主成分共同影响。故选择新绿原酸、绿原酸、橙皮苷、新橙皮苷和隐绿原酸作为该样品的质量评价指标是可靠、合理的。

2.5　含量测定

2.5.1　*方法学考察*

线性关系考察：分别精密吸取 2.2 项下混合对照品溶液 0.5，1.0，2.5，4.0，5.0 mL，置 5 mL 容量瓶中，加甲醇定容，按 2.1 项下色谱条件进样测定，以质量浓度（*X*，mg / mL）为横坐标、峰面积（*Y*）为纵坐标进行线性回归。结果见表 7，表明各成分在各自质量浓度范围内与峰面积线性关系良好。

精密度试验：取 2.2 项下混合对照品溶液适量，按 2.1 项下色谱条件连续进样测定 6 次，记录峰面积。结果见表 7，表明仪器精密度良好。

稳定性试验：取样品（编号为 S11）适量，精密称定，按 2.2 项下方法制备供试品溶液，分别于室温放置 0，4，8，12，24，48 h 时按 2.1 项下色谱条件进样测定，记录峰面积。结果见表 7，表明供试品溶液室温放置 48 h 内稳定性良好。

重复性试验：取样品（编号为 S11）适量，精密称定，按 2.2 项下方法平行制备供试品溶液 6 份，按 2.1 项下色谱条件进样测定，记录峰面积，并计算含量。结果见

表 7　方法学考察结果

Tab. 7　Results of the methodological investigation

成分	回归方程	R^2	线性范围 (mg / mL)	RSD(%, n = 6)			加样回收试验(%, n = 6)	
				精密度试验	稳定性试验	重复性试验	平均回收率	RSD
新绿原酸	$Y = 3\,620\,307X - 1\,816\,799$	0.999 8	0.010 0 ~ 0.100 0	1.39	2.09	1.54	99.51	1.15
绿原酸	$Y = 3\,620\,307X - 1\,816\,799$	0.999 8	0.050 0 ~ 0.500 0	2.03	2.27	1.25	100.87	0.81
隐绿原酸	$Y = 2\,863\,945X + 65\,993$	0.999 7	0.020 0 ~ 0.200 0	1.78	2.41	1.36	100.79	1.29
橙皮苷	$Y = 1\,466\,450X - 8\,912$	0.999 9	0.030 0 ~ 0.300 0	1.35	1.88	1.71	99.26	0.95
新橙皮苷	$Y = 145\,355X + 3\,282$	0.999 9	0.010 0 ~ 0.100 0	1.41	1.91	1.94	101.94	0.70

表 7，表明方法重复性良好。

加样回收试验：取已知含量的样品（编号为 S11）6 份，精密称定，按 1∶1 的比例加入对照品，按 2.2 项下方法制备供试品溶液，按 2.1 项下色谱条件进样测定，记录峰面积，并计算回收率。结果见表 7，表明方法准确度良好。

2.5.2　样品含量测定

取 15 批样品（编号为 S1 - S15），按 2.2 项下方法制备供试品溶液，按 2.1 项下色谱条件进样测定，平行 3 次，计算平均值，以 1 g 颗粒计算得到各指标性成分的含量初步确定制剂的含量限度范围。结果 15 批样品中新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、橙皮苷、新橙皮苷的含量分别为（0.48 ± 0.05）mg / g、（2.04 ± 0.16）mg / g、（0.71 ± 0.06）mg / g、（1.18 ± 0.07）mg / g、（0.51 ± 0.06）mg / g（$n = 3$）。详见表 8。

表 8　15 批芸中解表颗粒样品指标性成分含量测定结果（mg / g，$n = 3$）

Tab. 8　Results of the content determination of maker component in 15 batches of Yunzhong Jiebiao Granules (mg / g, $n = 3$)

药材厂家	编号	新绿原酸	绿原酸	隐绿原酸	橙皮苷	新橙皮苷	各药厂总含量平均值
厂家 A	S1	0.49	2.31	0.71	1.32	0.53	
厂家 A	S2	0.47	1.97	0.81	1.21	0.57	5.19
厂家 A	S3	0.46	2.17	0.74	1.25	0.56	
厂家 B	S4	0.52	1.89	0.69	1.11	0.48	
厂家 B	S5	0.57	1.92	0.73	1.13	0.55	4.77
厂家 B	S6	0.56	1.82	0.68	1.19	0.47	
厂家 E	S8	0.44	2.15	0.80	1.11	0.38	
厂家 E	S9	0.51	2.10	0.67	1.08	0.60	4.89
厂家 E	S10	0.39	2.06	0.77	1.16	0.46	
厂家 C	S7	0.41	2.21	0.66	1.24	0.61	4.82
厂家 C	S11	0.47	1.84	0.59	1.21	0.39	
厂家 D	S12	0.48	2.25	0.76	1.18	0.52	
厂家 D	S13	0.43	2.16	0.58	1.26	0.50	4.89
厂家 D	S14	0.50	1.95	0.73	1.04	0.47	
厂家 D	S15	0.45	1.85	0.75	1.20	0.51	
$\bar{X}$		0.48	2.04	0.71	1.18	0.51	4.92

3　讨论

中药制剂的原药材成分复杂，具有多组分、多靶点、多途径协调作用的特点，这要求其质量控制方法也要与之相适应[6]。HPLC 法具有分析速度快、灵敏度高、稳定性好等特点[7]，广泛用于中药制剂的质量评价。本研究中采用 HPLC 法对芸中解表颗粒的指标性成分进行含量测定，同时结合 HPLC 指纹图谱评价其质量，优化了该制剂的质量控制方法。

试验前期对色谱条件进行考察，根据指标性成分特点，以各色谱峰的分离度、峰面积和峰数为评价依据，分别考察了流动相（乙腈 - 水、乙腈 - 0.1% 磷酸溶液、甲醇 - 0.4% 甲酸溶液和乙腈 - 0.1% 冰醋酸溶液），流速（0.6，0.8，1.0 mL / min），柱温（25，30，35，40 ℃）；样品前处理考察了提取方式（静置萃取、加热回流、超声提取），溶剂（甲醇、乙醇、乙酸乙酯），提取时间（15，30，45，60 min），提取次数（1，2，3 次），溶剂体积（50%，75%，100%），筛选色谱分离条件和样品处理方法。方法学考察结果显示，2.1 项下色谱条件的分离度好、稳定性和准确度均较高，可用于芸中解表颗粒样品中指标性成分的含量测定。该色谱条件下，15 批样品的含量测定结果显示，豪州市惠康堂中药科技有限公司（厂家 E）和安徽润芙蓉药业有限公司（厂家 D）提供的药材制备颗粒中指标性成分的总含量最接近平均值，湖北道地药材科技有限公司（厂家 A）稍高于平均值，安徽康和中药科技有限公司（厂家 B）略低于平均值，每批样品的指标性成分含量存在一定差异，但总体差异不大。此外，本研究中建立了 15 批样品的 HPLC 指纹图谱并评价了相似度（≥ 0.932），共标定 16 个共有峰，指认出 5 个共有峰。CA 结果显示，第 1 聚类包括 5 个药材厂家的样品，表明药材即使源于不同厂家和批号，制备的样品质量也较均匀；而第 2 ~ 4 聚类表明，同一批次药材制备的样品质量也存在一定差异。对于样品质量差异产生的原因，初步分析可能与药材产地来源、每批药材生长环境、每批样品的生产条件差异有关。

陈皮、佛手和金银花作为芸中解表方的君药和臣

药，在处方中的占比较大。其中，陈皮具有抗炎、抗氧化、抗菌、提升免疫力等作用[8-10]，佛手具有免疫调节、抗炎、抗氧化、抗肿瘤、抑菌等作用[11-13]。现代药理学研究表明，橙皮苷可减轻炎性细胞向气道的募集和调节炎性反应，保护机械通气小鼠的肺部；一定质量浓度的橙皮苷能有效抑制或杀死金黄色葡萄球菌、蜡样芽孢杆菌、大肠杆菌和铜绿假单胞菌[14]；橙皮苷对环磷酰胺诱导的免疫抑制大鼠具有保护作用[15]；还有抗氧化、保护神经系统等多种生物学活性。杨艳萍[16]研究发现，新橙皮苷可缓解肺泡和支气管水肿症状，改善支气管及管腔内的炎性细胞浸润情况，还有抗氧化、抗过敏、抗菌等活性[17-18]。酚酸类成分是金银花的主要活性成分，具有抗炎、抗菌、抗病毒、抗氧化、抗肿瘤、保护神经等作用。宋亚玲等[19]通过考察金银花中酚酸类成分对巨噬细胞经脂多糖刺激后产生炎性因子的影响发现，新绿原酸、隐绿原酸、绿原酸对脂多糖刺激的巨噬细胞炎性因子均有不同程度抑制作用。研究发现，金银花酚酸类成分对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、绿脓杆菌、呼吸道病毒感染等有抑制作用[20]，绿原酸可通过破坏细菌的细胞膜来抑制生长，表明了新绿原酸、隐绿原酸、绿原酸是金银花抗呼吸道病毒感染的活性成分。可见，以上成分的药理学活性与芸中解表颗粒主治由寒湿感冒引起的鼻塞流涕、咳嗽、咽干咽痛、结膜炎等证相呼应。PCA结果显示，新绿原酸、隐绿原酸、绿原酸、橙皮苷和新橙皮苷在主成分的占比影响较大，进一步表明选择这5种成分作为指标性成分可用于评价该制剂的质量。

综上所述，本研究中建立的方法操作简便、结果准确，可为芸中解表颗粒质量标准的建立提供参考。但仅选择测定几个成分的含量用于评价该颗粒的质量存在一定局限性，无法全面反映该制剂的总体质量。可继续优化色谱条件，以测定其他成分的含量；还可对指纹图谱标定的16个色谱峰进行具体的药材归属研究，完善该颗粒的质量标准。

参考文献

[1] 郭　海，赵晓峰，皇玲玲，等. 吴鞠通寒湿理论在呼吸系统疾病运用探析[J]. 中国中医基础医学杂志，2021，27(9)：1355-1358.
[2] 李　菲. 基于高效液相色谱指纹图谱及多指标成分分析的化学计量学评价活血消痈酊质量[J]. 中国药业，2023，32(15)：79-84.
[3] 热孜亚·艾力木江，李晓娟，陈　良，等. 乌贝肠胃胶囊质量标准及指纹图谱研究[J]. 中医药导报，2023，29(1)：31-38.
[4] 陈　荣，钟水生，王亚琼，等. 清热解毒口服液指纹图谱的建立及质量评价模式研究[J]. 药物分析杂志，2023，43(12)：2154-2164.
[5] 聂　溶，蔡林雪，孟倩颖. 一测多评法同时测定结石通片中7种成分含量[J]. 中国药业，2023，32(18)：85-89.
[6] 杨　冰，封　亮，贾晓斌. 基于"组分结构"特征的中药制剂质量评价策略[J]. 中草药，2019，50(17)：4003-4007.
[7] 王　磊. 高效液相色谱法在中药质量检测中的运用实践研究[J]. 中国处方药，2018，16(8)：27-28.
[8] SELMI S，RTIBI K，GRAMI D，et al. Protective effects of orange (*Citrus sinensis* L.) peel aqueous extract and hesperidin on oxidative stress and peptic ulcer induced by alcohol in rat[J]. Lipids in Health & Disease，2017，16(1)：152.
[9] 崔佳韵，梁建芬. 不同年份新会陈皮挥发油的抗氧化活性评价[J]. 食品科技，2019，44(1)：98-102.
[10] ATTIA GH，MARREZ DA，MOHAMMED MA，et al. Synergistic Effect of Mandarin Peels and Hesperidin with Sodium Nitrite against Some Food Pathogen Microbes[J]. Molecules，2021，26(11)：3186.
[11] 王淑惠，杨玉洁，周爱梅，等. 两种方法提取佛手渣多糖及其对巨噬细胞RAW264.7免疫调节活性的研究[J]. 食品工业科技，2020，41(15)：179-187.
[12] SABRINA A，ISABELLA M，ALESSANDRA F，et al. Biological effects of bergamot and its potential therapeutic use as an anti-inflammatory，antioxidant，and anticancer agent[J]. Pharmaceutical Biology，2023，61(1)：639-646.
[13] WANG F，YOU H，GUO Y，et al. Essential oils from three kinds of fingered citrons and their antibacterial activities[J]. Industrial Crops and Products，2020，147：112172.
[14] VIJAYAKUMAR K，MUHILVANNAN S，ARUN VIGNESH M. Hesperidin inhibits biofilm formation，virulence and staphyloxanthin synthesis in methicillin resistant Staphylococcus aureus by targeting SarA and CrtM：an in vitro and in silico approach[J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology，2022，38(3)：1-12.
[15] BERKOZ M，YALIN S，OZKAN-YILMAZ F，et al. Protective effect of myricetin，apigenin，and hesperidin pretreatments on cyclophosphamide-induced immunosuppression[J]. Immunopharmacol Immunotoxicol，2021，43(3)：353-369.
[16] 杨艳萍. 新橙皮苷对RBL-2H3细胞脱颗粒的抑制作用及其对OVA诱导过敏性哮喘的影响[D]. 长春：吉林大学，2018.
[17] 邹　平，陈文涛，胡建刚，等. AB-8树脂联用C_{18}柱分离牡丹籽粕中新橙皮苷及生物活性研究[J]. 食品与发酵工业，2024，50(9)：106-116.
[18] 李晶晶. 新橙皮苷微乳凝胶的制备、质量评价及体外透皮的研究[D]. 沈阳：中国医科大学，2021.
[19] 宋亚玲，王红梅，倪付勇，等. 金银花中酚酸类成分及其抗炎活性研究[J]. 中草药，2015，46(4)：490-495.
[20] 熊乐文，金　莹，王彦予，等. 金银花酚酸类化学成分、药理活性及体内代谢研究进展[J]. 中成药，2022，44(3)：864-871.

（收稿日期：2024-07-14；修回日期：2025-03-11）