

枳术颗粒多指标成分含量测定及化学计量学分析*

李诗琪^{1,3}, 彭雲², 高原¹, 赵开军^{3,4}, 王海丽^{3,4**}

(1. 中国药科大学, 南京 211198; 2. 江苏弘典中药产业研究院有限公司, 南京 210023; 3. 南京中山制药有限公司, 南京 210046; 4. 江苏省中药经典名方工程技术研究中心, 南京 210023)

摘要 目的:建立高效液相色谱法同时测定枳术颗粒中芸香柚皮苷、柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷、柚皮素、川陈皮素、白术内酯Ⅲ 7 个指标性成分的含量, 同时结合化学计量学分析为其质量评价提供参考依据。**方法:**采用 Waters Symmetry C₁₈ 色谱柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 流动相为乙腈(A) - 0.1% 磷酸水溶液(B), 梯度洗脱, 流速 1.0 mL · min⁻¹, 检测波长 220 nm(白术内酯Ⅲ)、280 nm(芸香柚皮苷、柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷、柚皮素)和 332 nm(川陈皮素), 柱温 30 °C, 进样体积 10 μL。采用统计分析软件对含量测定结果进行聚类分析、主成分分析与正交偏最小二乘法判别。**结果:**24 批枳术颗粒中各成分分离度较好, 在考察的线性范围内浓度与峰面积呈良好的线性关系($r > 0.9999$), 平均回收率在 87.6%~114.3%。24 批枳术颗粒存在一定差异, 筛选出 4 个差异性成分柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷和柚皮素。24 批枳术颗粒供试样品中芸香柚皮苷、柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷、柚皮素、川陈皮素、白术内酯Ⅲ 的含量依次为 0.378 4~1.380 1、5.125 8~18.137 6、0.283 9~1.195 8、4.490 3~22.585 0、0.022 5~0.349 8、0.063 3~0.211 4 和 0.054 7~0.137 5 mg · g⁻¹。**结论:**所建立的方法准确可靠, 重复性强, 可为枳术颗粒的质量控制提供参考依据。

关键词:枳术颗粒; 化学计量学分析; 芸香柚皮苷; 柚皮苷; 橙皮苷; 新橙皮苷; 柚皮素; 川陈皮素; 白术内酯Ⅲ

中图分类号: R 917 文献标识码: A 文章编号: 0254 - 1793(2024)02 - 0224 - 09

doi: 10.16155/j.0254 - 1793.2024.02.04

Content determination and chemometric analysis of multi - index components in Zhizhu granules*

LI Shi - qi^{1,3}, PENG Yun², GAO Yuan¹, ZHAO Kai - jun^{3,4}, WANG Hai - li^{3,4**}

(1. China Pharmaceutical University, Nanjing 211198, China; 2. Jiangsu Hongdian Research Institute of Traditional Chinese Medicine Industry Co., Ltd., Nanjing 210023, China; 3. Nanjing Zhongshan Pharmaceutical Co., Ltd., Nanjing 210046, China; 4. JiangSu Classical Prescriptions Engineering Research Center, Nanjing 210023, China)

Abstract Objective: To establish an HPLC method for simultaneous determination of seven components (naringin, naringin, hesperidin, neohesperidin, naringenin, nobiletin and atractylenolide Ⅲ) in Zhizhu granules. And to provide reference for its quality evaluation by using chemometric analysis. **Methods:** The chromatographic column Waters Symmetry C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) was adopted using HPLC - DAD. The mobile phase consisted of acetonitrile (A) - 0.1% phosphoric acid (B) in gradient elution with flow rate of 1.0 mL · min⁻¹, the

* 企业知识产权战略推进计划项目(项目编号 ZT20210180 - 33)

** 通信作者 Tel: 15861815259; E - mail: 15861815259@163.com

第一作者 Tel: 18950888312; E - mail: lsqiii47@163.com

detection wavelength were 220 nm (atractylenolide III), 280 nm (narirutin, naringin, hesperidin, neohesperidin and naringenin) and 332 nm (nobiletin). The column temperature was set at 30°C and the injection volume was 10 μ L. Cluster analysis, principal component analysis and orthogonal partial least squares – discrimination analysis were used to distinguish the content determination results. **Results:** The resolution of each component in 24 batches of Zhizhu granules was good, and the linear relationship between concentration and peak area was good ($r > 0.9999$). The average recoveries were within 87.6% – 114.3%. There were some differences in 24 batches of Zhizhu granules, and 4 different components were screened out, which were naringin, hesperidin, neohesperidin and naringin. The contents of narirutin, naringin, hesperidin, neohesperidin, naringenin, nobiletin and atractylenolide III in 24 batches of Zhizhu granules samples were 0.3784 – 1.3801 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$, 5.1258 – 18.1376 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$, 0.2839 – 1.1958 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$, 4.4903 – 22.5850 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$, 0.0225 – 0.3498 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$, 0.0633 – 0.2114 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ and 0.0547 – 0.1375 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$, respectively. **Conclusion:** The established method is accurate, reliable and reproducible, which can provide reference for the quality control of Zhizhu granules.

Keywords: Zhizhu granules; chemometric analysis; narirutin; naringin; hesperidin; neohesperidin; naringenin; nobiletin; atractylenolide III

枳术颗粒由麸炒枳实、麸炒白术、荷叶制备而成,具有健脾消食、行气化湿等功效,临床上用于治疗慢性萎缩性胃炎^[1]、残胃炎^[2]、消化性溃疡^[3-4]等胃肠道疾病。枳术颗粒系利用现代提取方法由枳术丸改剂型来的国家4类中药创新药,相比于丸剂,颗粒剂溶出快,药效发挥迅速,且服药依从性更好,适合小儿与老人服用^[5]。枳术颗粒所含化学成分丰富,但目前2020年版《中华人民共和国药典》的含量测定下仅测定柚皮苷及新橙皮苷,文献报道对枳术颗粒的成分检测多集中于枳实所含的黄酮类物质^[6-8],检测种类较为单一。中药复方成分复杂,药效为多成分相互作用的结果,单一组分测定不利于中药复方制剂的整体质量控制^[9-10]。麸炒白术在该方中用量为麸炒枳实的2倍,有先补脾胃之弱,后化脾胃之伤的功效,故该方适于脾胃虚弱的患者^[11]。有文献报道,枳实与白术1:2配伍时能够促进小鼠肠平滑肌收缩,有利于胃排空^[12]。枳实在麸炒后促进胃肠蠕动的苷类成分含量降低,但与白术配伍后可明显改善这一现象,药材配伍保证了组方的健脾消食功效^[13]。所以,枳实和白术作为组方中发挥药效的主要成分,同时控制其所含的活性成分更有利于枳术颗粒的药效评价。近年来,多组分含量测定及化学计量学分析结合的应用在中药及其制剂的质量评价中越来越受到重视^[14]。本研究建立了高效液相色谱法同时测定麸炒枳实及麸炒白术中的7个活性成分,同时进行化学计量学分析,该方法简便、准

确,重复性好,可为枳术颗粒质量的全面控制提供一定参考依据。

1 仪器与试剂

LC-40D 岛津高效液相色谱仪,配置 LC-40D 二元泵、SIL-40C 全自动进样器、CTO-40S 柱温箱、SPD-M40 检测器(岛津有限公司),ML104/02 万分之一天平和 XPR2 百万分之一天平均购自梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司,RODI-220A1 纯水机(锐思捷水纯化技术有限公司),KH-500E 超声波清洗仪(昆山禾创超声仪器有限公司)。

枳术颗粒(6 g·袋⁻¹)24批,编号为 S1~S24,相应的批号分别为 190201、200301、200401、200501、200601、201001、201101、201102、201103、201104、210101、210201、210301、210302、210303、210304、220101、220201、220301、220401、220501、220502、220601、220602,均由南京中山制药有限公司提供。

对照品芸香柚皮苷(批号 N2006002,含量 99.27%),购自成都迈克斯医药科技有限公司;柚皮苷(批号 110722-201714,含量 93.4%)、橙皮苷(批号 110721-202019,含量 95.3%)、新橙皮苷(批号 111857-201804,含量 99.4%)、川陈皮素(批号 112055-202102,含量 100%)、白术内酯 III(批号 111978-201501,含量 99.9%),均购自中国食品药品检定研究院;柚皮素(批号 100917,含量 98%),购自上海融禾医药科技有限公司。色谱级乙腈(22075301)和甲醇(22075179)均购自安徽天地高纯

溶剂有限公司;磷酸(C14276009)购自上海麦克林生化科技有限公司;甲醇(20220624)和乙醇(20220704)均购自国药集团化学试剂有限公司。

2 方法与结果

2.1 溶液的制备

2.1.1 对照品母液 精密称取芸香柚皮苷、柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷、柚皮素、川陈皮素、白术内酯Ⅲ的对照品适量,用甲醇溶解,配制成含上述7个成分分别为0.399 3、3.012 3、0.201 1、2.503 2、0.032 5、0.044 2和0.031 3 mg·mL⁻¹的混合对照品母液。

2.1.2 供试品溶液 枳术颗粒研细,精密称取1 g,精密加入甲醇溶液10 mL,密塞,称量,超声(功率300 W,频率50 kHz)处理30 min,放冷,再称量,用甲醇溶液补足减失的量,摇匀,0.22 μm微孔滤膜滤过,取续滤液,即得。

2.1.3 阴性样品溶液 按枳术颗粒制备方法制得缺枳实、白术的阴性样品,再按“2.1.2”项下方法制

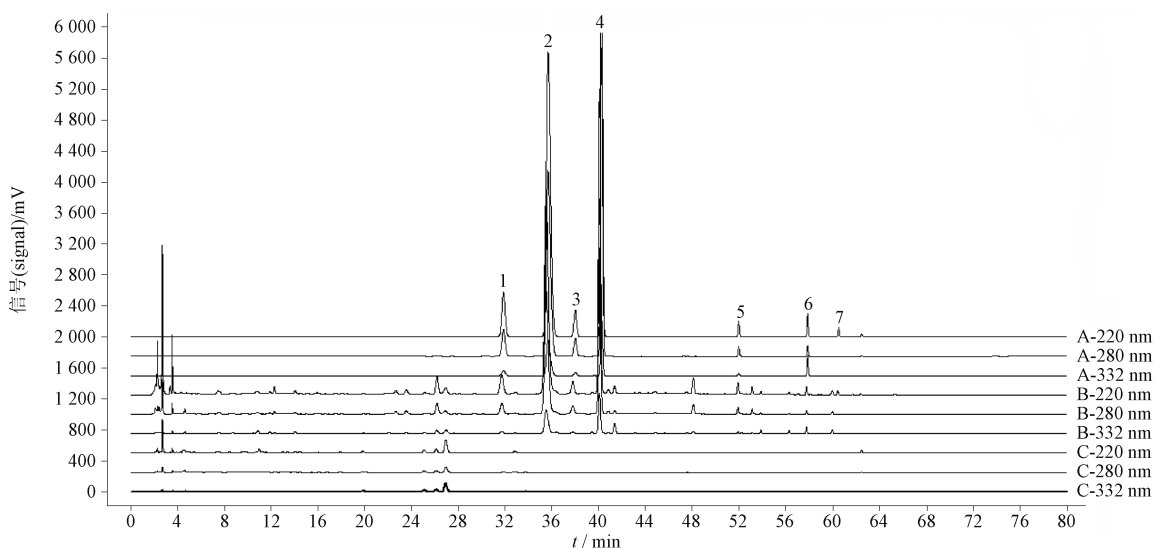
备阴性样品溶液。

2.2 色谱条件

Waters Symmetry C₁₈ 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm),流动相为乙腈(A)-0.1%磷酸水溶液(B),梯度洗脱(0~7 min,10%A→15%A;7~20 min,15%A→18%A;20~30 min,18%A→19%A;30~45 min,19%A→35%A;45~55 min,35%A→60%A;55~65 min,60%A→75%A;65~70 min,75%A→10%A;70~80 min,10%A),检测波长为220 nm(白术内酯Ⅲ)、280 nm(芸香柚皮苷、柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷、柚皮素)和332 nm(川陈皮素),流速1.0 mL·min⁻¹,柱温30℃,进样体积10 μL。

2.3 方法学考察

2.3.1 专属性考察 分别精密吸取供试品溶液(S6)、混合对照品母液、阴性样品溶液各10 μL,按“2.2”项下色谱条件进样,该检测条件下待测成分色谱峰对称,与相邻色谱峰分离度 $R > 1.5$,且阴性无干扰,见图1。



1. 芸香柚皮苷(narirutin) 2. 柚皮苷(naringin) 3. 橙皮苷(hesperidin) 4. 新橙皮苷(neohesperidin) 5. 柚皮素(naringenin) 6. 川陈皮素(nobiletin) 7. 白术内酯Ⅲ(atractylenolideⅢ)

图1 对照品溶液(A)、供试品溶液(B)、阴性样品溶液(C)的HPLC图

Fig. 1 HPLC chromatograms of reference substances solution(A), sample solution(B) and negative sample solution(C)

2.3.2 线性关系考察 分别精密量取“2.1.1”项下母液0.3、0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 mL,置5 mL量瓶中,用甲醇定容至刻度,得系列浓度对照品溶液(对照-1~对照-6),在“2.2”项色谱条件下进样测定。以对照品质量浓度(X , mg·mL⁻¹)为横坐标,峰面积 Y 为纵坐标进行线性回归,见表1。

2.3.3 精密度试验 取“2.3.2”项下对照-4溶液,按“2.2”项色谱条件下连续进样6次,记录峰面积。芸香柚皮苷、柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷、柚皮素、川陈皮素、白术内酯Ⅲ峰面积的RSD分别为0.24%、0.24%、0.33%、0.25%、0.24%、0.24%、0.11%,说明仪器精密度良好。

表1 枳术颗粒中7个指标成分的线性关系考察

Tab. 1 Linear relationship of seven components in Zhizhu granules

成分 (component)	回归方程 (regression equation)	r	线性范围 (linear range)/(mg · mL ⁻¹)
芸香柚皮苷(narirutin)	$Y = 1.7451 \times 10^7 X - 1.2414 \times 10^4$	0.999 9	0.024 0 ~ 0.399 3
柚皮苷(naringin)	$Y = 1.9494 \times 10^7 X + 3.4495 \times 10^4$	0.999 9	0.180 7 ~ 3.012 3
橙皮苷(hesperidin)	$Y = 1.9400 \times 10^7 X - 7.8348 \times 10^3$	0.999 9	0.012 1 ~ 0.201 1
新橙皮苷(neohesperidin)	$Y = 1.9558 \times 10^7 X + 2.5328 \times 10^5$	0.999 9	0.150 2 ~ 2.503 2
柚皮素(naringenin)	$Y = 3.4109 \times 10^7 X - 4.0028 \times 10^2$	0.999 9	0.002 0 ~ 0.032 5
川陈皮素(nobiletin)	$Y = 4.1165 \times 10^7 X - 3.4026 \times 10^3$	0.999 9	0.002 7 ~ 0.044 2
白术内酯Ⅲ(atractylenolide Ⅲ)	$Y = 2.9905 \times 10^7 X - 4.1952 \times 10^3$	0.999 9	0.001 9 ~ 0.031 3

2.3.4 稳定性考察 取同一样品(S6),按“2.1.2”项方法制备供试品溶液,按“2.2”项色谱条件,分别于0、2、4、6、8、10、12、24 h进样,记录各成分峰面积。芸香柚皮苷、柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷、柚皮素、川陈皮素、白术内酯Ⅲ峰面积的RSD分别为4.7%、1.0%、1.1%、1.1%、0.94%、0.91%、0.80%,说明供试品溶液在24 h内稳定。

2.3.5 重复性试验 取同一样品(S6),按“2.1.2”项方法平行制备6份供试品溶液,在“2.2”项色谱条件下进样测定。芸香柚皮苷、柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷、柚皮素、川陈皮素、白术内酯Ⅲ的含量分别为

0.910 0、7.734 6、0.458 8、6.502 8、0.084 5、0.098 8、0.077 0 mg · g⁻¹,RSD分别为2.4%、2.4%、2.4%、2.4%、2.5%、2.2%、2.1%,说明该方法重复性良好。

2.3.6 加样回收率试验 取含量已知的枳术颗粒(S6)9份,精密称取0.5 g,分别按已知含量的80%、100%、120% 3个水平加入对照品,按“2.1.2”项方法制备供试溶液,按“2.2”项色谱条件进样测定,计算加样回收率及RSD。芸香柚皮苷、柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷、柚皮素、川陈皮素、白术内酯Ⅲ的回收率在85.4%~116.6%,RSD在0.66%~3.2%,说明该方法准确度较好,见表2。

表2 枳术颗粒中7个指标成分的加样回收率试验

Tab. 2 Recovery test of seven components of Zhizhu granules

成分 (component)	加入水平 (added level)/%	样品含量 (content) / mg	加入量 (added) / mg	测得量 (measured) / mg	回收率 (recovery) / %	平均回收率 (average recovery) / %	RSD/ %
芸香柚皮苷(narirutin)	80	0.456 8	0.366 0	0.782 0	88.8	88.7	1.8
		0.458 9	0.366 0	0.789 7	90.4		
		0.457 1	0.366 0	0.775 5	87.0		
	100	0.459 1	0.457 6	0.864 9	88.7	87.6	1.9
		0.456 5	0.457 6	0.848 3	85.6		
		0.459 2	0.457 6	0.864 7	88.6		
	120	0.457 1	0.549 1	0.932 1	86.5	87.7	1.7
		0.457 5	0.549 1	0.941 0	88.1		
		0.458 9	0.549 1	0.947 2	88.9		
柚皮苷(naringin)	80	3.882 7	3.110 7	6.907 1	97.2	97.1	2.4
		3.900 5	3.136 0	7.025 8	99.7		
		3.885 1	3.122 0	6.836 4	94.5		
	100	3.902 1	3.894 3	7.708 5	97.7	97.2	1.0
		3.880 4	3.873 3	7.635 5	97.0		
		3.902 9	3.910 2	7.691 5	96.9		
	120	3.885 1	4.706 8	8.326 7	94.4	96.0	1.5
		3.888 2	4.690 9	8.422 6	96.7		

表 2(续)

成分 (component)	加入水平 (added level)/%	样品含量 (content) / mg	加入量 (added) / mg	测得量 (measured) / mg	回收率 (recovery) /%	平均回收率 (average recovery) /%	RSD/ %
橙皮苷(hesperidin)	80	3.900 5	4.678 7	8.437 8	97.0	100.7	1.7
		0.230 3	0.185 0	0.416 6	100.7		
		0.231 4	0.185 0	0.421 1	102.5		
	100	0.230 4	0.185 0	0.413 2	98.8	99.6	1.5
		0.231 5	0.231 3	0.463 9	100.5		
		0.230 2	0.231 3	0.456 4	97.8		
	120	0.231 5	0.231 3	0.463 7	100.4	99.8	1.5
		0.230 4	0.277 6	0.502 8	98.1		
		0.230 6	0.277 6	0.509 9	100.6		
新橙皮苷(neohesperidin)	80	0.231 4	0.277 6	0.510 7	100.7	101.8	2.9
		3.264 4	2.614 9	5.869 5	99.6		
		3.279 3	2.619 9	6.043 7	105.5		
	100	3.266 3	2.635 7	5.907 4	100.2	101.2	3.2
		3.280 6	3.265 7	6.658 7	103.4		
		3.262 4	3.262 7	6.432 0	97.2		
	120	3.281 3	3.278 6	6.662 1	103.1	99.9	1.5
		3.266 3	3.921 4	7.117 3	98.2		
		3.268 9	3.920 4	7.215 2	100.7		
柚皮素(naringenin)	80	3.279 3	3.917 4	7.228 0	100.8	114.3	1.6
		0.042 4	0.033 9	0.081 0	114.0		
		0.042 6	0.033 9	0.082 0	116.3		
	100	0.042 5	0.033 9	0.080 5	112.5	112.9	2.1
		0.042 6	0.042 3	0.091 1	114.5		
		0.042 4	0.042 3	0.089 0	110.2		
	120	0.042 7	0.042 3	0.090 9	114.1	113.3	0.66
		0.042 5	0.050 8	0.099 8	113.0		
		0.042 5	0.050 8	0.100 0	113.3		
川陈皮素(nobiletin)	80	0.042 6	0.050 8	0.100 3	113.5	106.5	2.1
		0.049 6	0.0395	0.091 5	106.1		
		0.049 8	0.039 5	0.092 9	109.1		
	100	0.049 6	0.039 5	0.090 8	104.3	105.5	2.0
		0.049 8	0.049 4	0.102 6	106.8		
		0.049 6	0.049 4	0.100 4	103.0		
	120	0.049 8	0.049 4	0.102 6	106.7	105.5	1.2
		0.049 6	0.059 3	0.111 3	104.1		
		0.049 7	0.059 3	0.112 6	106.2		
白术内酯Ⅲ(atractylenolideⅢ)	80	0.049 8	0.059 3	0.112 8	106.2	102.9	1.4
		0.038 6	0.031 3	0.070 9	103.1		
		0.038 8	0.031 3	0.071 5	104.3		
	100	0.038 7	0.031 3	0.070 4	101.3	101.0	1.4
		0.038 8	0.039 2	0.079 0	102.6		
		0.038 6	0.039 2	0.077 1	98.4		
	120	0.038 8	0.039 2	0.078 8	102.1	100.8	1.2
		0.038 8	0.039 2	0.078 8	102.1		
		0.038 7	0.047 0	0.085 4	99.5		
		0.038 7	0.047 0	0.086 4	101.5		
		0.038 8	0.047 0	0.086 4	101.4		

2.4 含量测定

取 24 批枳术颗粒,按“2.1.2”项方法制备供试

品溶液,按“2.2”项色谱条件检测,计算各成分的含量。结果见表 3。

表 3 24 批次枳术颗粒中 7 个成分的含量测定

Tab. 3 Contents of seven constituents in 24 batches of Zhizhu granules

编号 (No.)	含量(content)/(mg·g ⁻¹)							总含量 (total content)/ (mg·g ⁻¹)
	芸香柚皮苷 (naringin)	柚皮苷 (naringin)	橙皮苷 (hesperidin)	新橙皮苷 (neohesperidin)	柚皮素 (naringenin)	川陈皮素 (nobiletin)	白术内酯Ⅲ (atractylenolide Ⅲ)	
S1	0.63	6.99	1.07	14.28	0.07	0.08	0.06	23.18
S2	0.51	7.17	0.32	6.88	0.04	0.07	0.06	15.05
S3	0.52	5.30	0.52	4.68	0.02	0.10	0.08	11.22
S4	0.53	5.16	0.57	4.52	0.03	0.11	0.09	11.01
S5	0.60	6.69	0.49	6.53	0.06	0.09	0.06	14.52
S6	0.91	7.73	0.46	6.50	0.08	0.10	0.08	15.86
S7	1.14	14.32	0.75	13.67	0.18	0.14	0.10	30.30
S8	1.17	14.68	0.77	13.99	0.19	0.15	0.10	31.05
S9	1.33	16.62	0.84	15.31	0.21	0.15	0.10	34.56
S10	1.36	17.49	0.89	16.18	0.22	0.15	0.10	36.39
S11	1.15	14.95	0.81	14.76	0.18	0.14	0.12	32.11
S12	0.48	11.04	0.35	10.64	0.31	0.10	0.10	23.02
S13	0.40	10.36	0.29	9.96	0.34	0.10	0.10	21.55
S14	1.32	17.58	0.94	17.15	0.25	0.15	0.13	37.52
S15	1.35	17.98	0.95	17.52	0.26	0.16	0.13	38.35
S16	1.33	17.72	0.94	17.24	0.25	0.15	0.13	37.76
S17	1.04	13.80	0.81	14.75	0.15	0.16	0.14	30.85
S18	1.00	13.67	0.79	14.56	0.15	0.16	0.13	30.46
S19	0.98	13.10	0.76	13.70	0.14	0.15	0.13	28.96
S20	1.11	13.62	0.83	15.01	0.14	0.18	0.07	30.96
S21	1.01	12.58	0.78	14.24	0.14	0.16	0.07	28.98
S22	1.08	14.70	1.00	18.49	0.20	0.19	0.07	35.73
S23	1.20	16.34	1.11	20.55	0.23	0.21	0.08	39.72
S24	1.27	17.39	1.18	22.20	0.22	0.20	0.06	42.52

2.5 化学计量分析

2.5.1 聚类分析 聚类分析是对测得的样本数据集进行分类,将相似程度相似的样本聚为一类的多元统计方法^[15]。将含量测定结果用 SPSS25.0 软件进行分析,采用组间连接法,以欧氏距离为测度,结果见图 2。当欧氏距离为 15 时,样品分为 3 类,其中 S1 ~ S6、S12 和 S13 归为 I 类,S7 ~ S11 和 S14 ~ S24 归为 II 类。

2.5.2 主成分分析 主成分分析通过数据降维来研究数据集的内在关系,在尽可能保留原有信息的条件下将多个指标转换成少数可反应原始大部分信息(70% ~ 85%)的互相独立的主成分^[16]。使用 SPSS25.0 对 24 批枳术颗粒含量测定结果进行主成

分分析,提取特征值 > 1 的主成分,得到 2 个主成分,累积方差贡献率为 82.03%,可以解释样品的大部分信息。碎石图(图 3)显示前 2 个成分陡峭,其他成分较平缓,说明前 2 个成分可以代表样品的大部分信息^[17]。利用 SIMCA14.0 软件得到主成分得分图(图 4),可看出 24 批样品分为 3 类,其中 S1 ~ S6 归为 I 类,S7 ~ S11 和 S14 ~ S24 归为 II 类,S12 和 S13 归为 III 类,与 CA 结果基本一致。

2.5.3 偏最小二乘判别分析 偏最小二乘判别分析是一种有监督的判别方法,因其集主成分分析、多元线性回归分析、典型相关分析为一体而使结果具有简洁直观的特点,被广泛应用于中药及其制剂

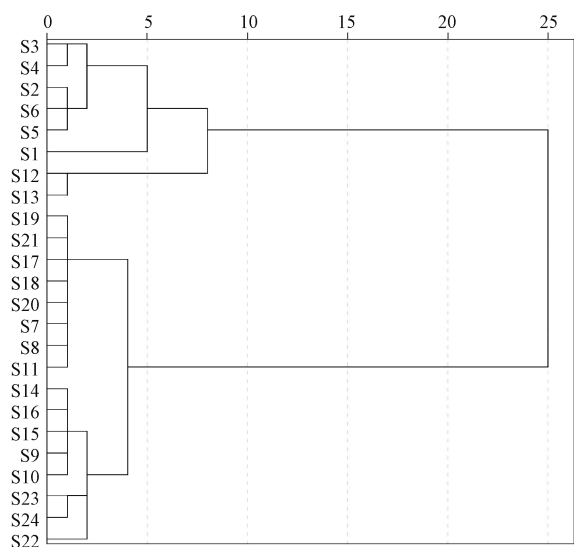


图2 24批样品 CA 图

Fig. 2 CA of 24 batches of samples

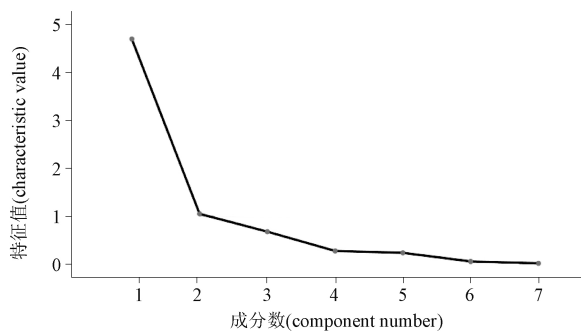


图3 碎石图

Fig. 3 Scree plot

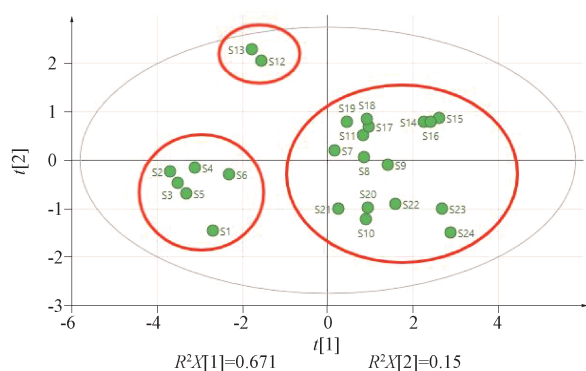


图4 主成分得分图

Fig. 4 Score plot of principal component

的质量控制中^[18]。采用SIMCA14.0软件进行PLS-DA分析,共提取4个主成分,模型解释率 R^2X 为0.995,稳定性参数 R^2Y 为0.732,预测能力参数 Q^2 为0.539,均 >0.5 ,说明该模型建立成功,具有较好的

稳定性和预测力^[19]。由得分散点图可以看出,除S1为异常值外,其余样本信息均落在95%置信区间内,剔除异常值后可分为2类,其中S2~S6、S12和S13归为I类,S7~S11和S14~S24归为II类,与CA、PCA结果基本一致,见图5。VIP图(图6)可直观反应各成分对影响组间差异的权重大小,VIP >1 说明该组分对权重影响率高于50%,为差异标志物^[20]。由VIP图提取4个差异标志物,按权重大小排序为3号峰(橙皮苷)、4号峰(新橙皮苷)、2号峰(柚皮苷)和5号峰(柚皮素)。其中,橙皮苷、新橙皮苷、柚皮苷可促进功能性消化不良大鼠的胃排空及小肠推进,柚皮素可促进正常小鼠的小肠推进^[21]。所以,这些化合物可能是枳术颗粒发挥消食功效的重要成分,在生产中加强对这类成分的控制,可以更好地保证药品稳定发挥疗效。

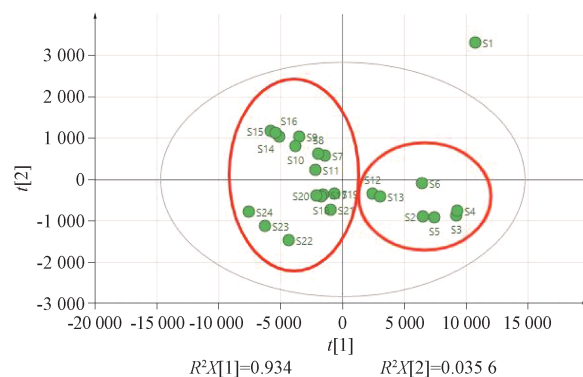


图5 PLS-DA 得分散点图

Fig. 5 PLS-DA score plots

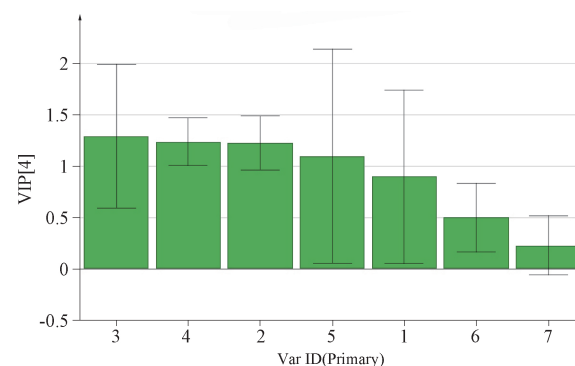


图6 PLS-DA VIP 图

Fig. 6 VIP plot of PLS-DA

3 讨论

3.1 样品前处理方式的考察

本实验采用单因素法考察了不同提取时间(30、

45 和 60 min),不同提取方式(加热回流和超声),不同提取溶剂(甲醇、70% 甲醇水、乙醇和 70% 乙醇水)对有效成分提取的影响,最佳前处理方式为甲醇为溶剂超声 30 min。

3.2 色谱条件的确定

本实验对不同流动相种类(甲醇-水、乙腈-水和乙腈-0.1% 磷酸水)及洗脱比例进行考察,最终确定使用乙腈-0.1% 磷酸水进行梯度洗脱所得到的色谱图峰型对称,分离度较好。DAD 190~800 nm 紫外区间进行全波长扫描,结果显示白术内酯Ⅲ的最大吸收波长为 220 nm,芸香柚皮苷、柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷、柚皮素的最大吸收波长为 280 nm,川陈皮素的最大吸收波长为 332 nm。

3.3 含量测定结果讨论

本实验所测定的芸香柚皮苷、柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷、柚皮素、川陈皮素均属于麸炒枳实中的黄酮类成分,白术内酯Ⅲ来源于麸炒白术。现代药理学研究表明枳实中的黄酮类物质是治疗胃肠道疾病的主要成分^[22],白术经麸炒后内酯类成分含量增加,健脾功效得到加强^[23],故所选取的 7 个成分可作为评价枳术颗粒健脾消食功效的重要指标。含量测定结果表明所收集的 2019 年~2022 年生产的 24 批次枳术颗粒中 7 个成分存在一定差异,造成差异的原因可能是饮片批次差异、生产过程中的质量控制差异。2020 年版《中华人民共和国药典》规定枳术颗粒中每袋柚皮苷含量应不少于 30 mg,新橙皮苷含量应不少于 20 mg,可知各批次均符合标准。但现行标准中只规定了含量下限并无含量上限,可以临床实验品为依据,根据药效及含量规定合理的限度范围,不仅可以更好地规范生产工艺,也能为药品稳定发挥疗效提供保障^[24]。

3.4 化学计量学结果讨论

CA 和 PCA 结果表明,样品 S1~S6 与样品 S7~S24 间具有一定差异,推测造成批间差异的原因可能是药材的来源、产地及采收年份等因素^[25]。PLS-DA 结果提取了 4 个差异标志物,均来源于麸炒枳实,提示应更加注重控制麸炒枳实的药材质量。饮片是中药制剂的主要原料,投料会将饮片差异带到制剂中,因此确保投料环节饮片质量的稳定对中药制剂的稳定性尤为重要^[26]。此外生产过程中的浓缩、醇沉单元及浸膏干燥等环节均会影响制剂质量,采用混批投料、标准化生产过程可进一步提高产品

稳定性^[24]。故生产过程中应重视控制投料饮片的批次差异、生产过程及储存方式等以保证样品批次间的均一性与稳定性。

本实验建立了一种枳术颗粒含量测定方法,可同时测定该产品中麸炒枳实及麸炒白术的有效成分,所建立的方法简便,准确度高,重复性良好,为更全面地评价枳术颗粒的质量提供了一定参考依据。

参考文献

- [1] 余靖华,甘炜坚,梁雅超,等. 枳术颗粒辅助标准四联疗法治疗 Hp 阳性慢性萎缩性胃炎的效果[J]. 中外医学研究,2022,20(13):4
YU JH, GAN WJ, LIANG YH, et al. Effect of Zhizhu granule assisted standard quadruple therapy on Hp positive chronic atrophic gastritis[J]. Chin Foreign Med Res, 2022, 20(13): 4
- [2] 邢朝富. 雷贝拉唑联合莫沙比利与枳术颗粒治疗残胃炎的疗效观察[J]. 临床合理用药杂志,2012,5(18):69
XING ZF. Efficacy of rabeprazole combined with mosapride and Zhizhu granules in the treatment of residual gastritis[J]. J Clin Rational Drug Use, 2012, 5(18):69
- [3] 王礼国,陈世芳,吴从吉. 枳术颗粒合用奥美拉唑治疗消化性溃疡 41 例疗效观察[J]. 中国医学创新,2009,6(23):53
WANG LG, CHEN SF, WU CJ. Therapeutic effect of Zhizhu granule combined with omeprazole on 41 cases of peptic ulcer[J]. Med Innov China, 2009, 6(23):53
- [4] 黄继武. 枳术颗粒联合奥美拉唑治疗消化性溃疡的疗效分析[J]. 实用心脑血管病杂志,2011,19(1):53
HUANG JW. Effect analysis of Zhizhu granule combined with omeprazole in the treatment of peptic ulcer[J]. Pract J Cardiac Cereb Pneum Vasc Dis, 2011, 19(1):53
- [5] 王志刚,卢利军. “金芪利水排石”颗粒剂与水丸剂治疗泌尿系结石的临床疗效比较[J]. 甘肃中医学院学报,2014,31(3):61
WANG ZG, LU LJ. Comparison of clinical efficacy of "Jinqi Lishi-uipaiishi" granules and Shui pills in the treatment of urinary calculi[J]. J Gansu Univ Chin Med, 2014, 31(3):61
- [6] 周骏,刘美辉,金顺福,等. 高效液相色谱法测定枳术颗粒中柚皮苷的含量[J]. 中国药房,2006,17(14):1103
ZHOU J, LIU MH, JIN SF, et al. Content determination of naringin in Zhizhu granules by HPLC[J]. China Pharm, 2006, 17(14): 1103
- [7] 王其华,徐云辉,濮存海,等. HPLC 法测定枳术颗粒中枳实的 5 种黄酮类物质[J]. 药学与临床研究,2013,21(3):232
WANG QH, XUN YH, PU CH, et al. Measuring five compounds of flavonoids in immature bitter orange as monarch drug of the Zhizhu Granule by HPLC[J]. Pharm Clin Res, 2013,21(3):232
- [8] 张一帆,林志航,汤秋华. 一测多评法测定枳术颗粒中四种黄酮类成分的含量[J]. 海峡药学,2020,32(1):80

- ZHANG YF, LIN ZH, TANG QH. Simultaneous quantitative analysis of 4 active components in Zhizhu granules using multi-components by single marker[J]. *Strait Pharm J*, 2020, 32(1): 80
- [9] 段营辉,朱樵苏,黄澜,等. 高效液相色谱法同时测定清肺抑火丸中13种成分的含量[J]. *中国医院药学杂志*, 2022, 42(14): 1399
- DUAN YH, ZHU QS, HUANG L, *et al.* Simultaneous determination of 13 components in Qingfei Yihuo pills by high performance liquid chromatography[J]. *Chin J Hosp Pharm*, 2022, 42(14): 1399
- [10] 刘雯,李峰,孙春亮,等. HPLC同时测定荆防颗粒中6种成分[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2016, 22(17): 55
- LIU W, LI F, SUN CL, *et al.* Simultaneous determination of six components in Jingfang granule by HPLC[J]. *Chin J Exp Tradit Med Form*, 2016, 22(17): 55
- [11] 刘统治, 金国娥. 浅谈李东垣枳术丸及现代临床运用[J]. *中医临床杂志*, 2015, 27(3): 357
- LIU TZ, JIN GE. Discussion of the modern clinical applications of Zhizhu pills of Li Dongyuan[J]. *Clin J Tradit Chin Med*, 2015, 27(3): 357
- [12] 丁玲,于志峰,周加林. 加味枳术颗粒治疗糖尿病胃轻瘫的疗效观察[J]. *中国医院用药评价与分析*, 2018, 18(3): 349
- DING L, YU ZF, ZHOU JL. Observation on efficacy of Jiaweizhizhu granules in treatment of diabetic gastroparesis[J]. *Eval Anal Drug - Use Hosp Chin*, 2018, 18(3): 349
- [13] 臧彬如, 单国顺, 贾天柱, 等. UPLC法测定生、制白术配伍枳术丸中10种成分[J]. *中成药*, 2020, 42(4): 960
- ZHANG BR, SHAN GS, JIA TZ, *et al.* Determination of ten constituents in raw and processed *Atractylodes macrocephala* compatible Zhizhu pills by UPLC[J]. *Chin Tradit Pat Med*, 2020, 42(4): 960
- [14] 庞茜茜,岳威治,刘克勤,等. 雪梨止咳糖浆中11个成分的含量测定及化学计量学分析[J]. *中国药房*, 2023, 34(1): 62
- PANG QQ, YUE WY, LIU KQ, *et al.* Content determination and chemometric analysis of 11 components in Xueli Zhike syrup[J]. *China Pharm*, 2023, 34(01): 62
- [15] 黄硯,刁灏瑒,张雁. 克咳片中8个成分的含量测定[J]. *药物分析杂志*, 2020, 40(2): 337
- HUANG Y, DIAO HY, ZHANG Y. Determination of 8 constituents in Keke tablets[J]. *Chin J Pharm Anal*, 2020, 40(2): 337
- [16] 方达锋,马恩耀,冯冲,等. 基于主成分分析与聚类分析的不同产地白芍质量评价研究[J]. *特种经济动植物*, 2023, 26(1): 14
- FANG DF, MA EY, FENG C, *et al.* Study on quality evaluation of Paeony from different producing areas based on principal component analysis and cluster analysis[J]. *Spec Econ Anim Plants*, 2023, 26(1): 14
- [17] 李卓群,王海丽,贵书琪,等. 小儿感冒舒颗粒 HPLC 指纹图谱建立与化学模式识别[J]. *中国现代应用药学*, 2021, 38(22): 2820
- LI ZQ, WANG HL, GUI SQ, *et al.* HPLC fingerprint establishment and chemistry pattern recognition of Xiaer Ganmaoshu Granules[J]. *Chin J Mod Appl Pharm*, 2021, 38(22): 2820
- [18] 项锋,叶继锋,侯齐书. 基于 PCA 和 PLS-DA 算法的不同生长阶段贯叶金丝桃药材 HPLC 指纹图谱研究[J]. *药物分析杂志*, 2020, 40(3): 568
- XIANG F, YE JF, HOU QS. Study on HPLC fingerprint of *Hyperici Perforati Herba* at different growth stage based on PCA and PLS-DA[J]. *Chin J Pharm Anal*, 2020, 40(3): 568
- [19] 何佳,黄文康,马相峰,等. 基于主成分分析与 PLS-DA 分析研究浙麦冬道地性与等级评价标准[J]. *中国药学杂志*, 2021, 56(4): 285
- HE J, HUANG WK, MA XF, *et al.* Geothermalism and grand evaluation of Zhejiang *Ophiopogon japonicus* based on PCA and PLS-DA[J]. *Chin Pharm J*, 2021, 56(4): 285
- [20] 王国锋. 基于指纹图谱及偏最小二乘法-判别分析(PLS-DA)评价肝爽颗粒的质量[J]. *中国药师*, 2022, 25(10): 1865
- WANG GF. Quality evaluation of Ganshuang granules by HPLC fingerprint and PLS-DA[J]. *China Pharm*, 2022, 25(10): 1865
- [21] 杨玉环,张灵煜,郭秋平,等. 枳实、枳壳的生物活性成分及其应用研究进展[J]. *食品与药品*, 2021, 23(5): 476
- YANG YH, ZHANG LY, GUO QP, *et al.* Bioactive components of *Fructus Aurantii Immaturus* and *Fructus Aurantii* and their application[J]. *Food Drug*, 2021, 23(5): 476
- [22] 钟民勇,乔日发,魏飞亭,等. 枳壳、枳实胃肠动力作用及其机制的研究概况[J]. *江西中医药*, 2021, 52(12): 68
- ZHONG MY, QIAO RF, WEI FT, *et al.* Research overview on gastrointestinal motility and its mechanism of *Fructus Aurantii* and *Fructus Aurantii*[J]. *Jiangxi J Tradit Chin Med*, 2021, 52(12): 68
- [23] 赵文龙,吴慧,单国顺,等. 麸炒白术“减酮减燥,增酯增效”炮制理论的再印证[J]. *中国中药杂志*, 2013, 38(20): 3493
- ZHAO WL, WU H, SHAN GS, *et al.* Verification of processing theory of "reducing ketone and dryness, and increasing ester and effect" for bran-fried *Atractylodes*[J]. *China J Chin Mater Med*, 2013, 38(20): 3493
- [24] 曾丽华,伍振峰,王芳,等. 中药制剂质量均一性的现状问题及保证策略研究[J]. *中国中药杂志*, 2017, 42(19): 3826
- ZENG LH, WU ZF, WANG F, *et al.* Status, problems and warranty strategy of quality uniformity for traditional Chinese medicine preparations[J]. *China J Chin Mater Med*, 2017, 42(19): 3826
- [24] 陆超颖,王佳丽,王洪兰,等. 不同基原枳实药材的质量差异评价研究[J]. *中草药*, 2022, 53(14): 4493
- LU CY, WANG JL, WANG HL, *et al.* Study on quality difference of *Aurantii Fructus Immaturus* from different origins[J]. *Chin Tradit Herb Drugs*, 2022, 53(14): 4493
- [26] 刘现磊,李琨,张辉,等. 市售丹参配方颗粒的 UPLC 指纹图谱及化学模式识别研究[J]. *药物分析杂志*, 2022, 42(11): 2000
- LIU XL, LI K, ZHANG H, *et al.* UPLC fingerprint and chemical pattern recognition study on commercial available Danshen formula granules[J]. *Chin J Pharm Anal*, 2022, 42(11): 2000

(本文于2023年2月2日收到)