

基于 UHPLC 多成分测定与主成分分析的 金藤清痹颗粒质量评价*

邓丽华^{1,2}, 许克宁^{1,2}, 袁晓梅^{1,2}, 丁兵¹, 王丽苹^{1,2},
徐丽^{1,2}, 杨本官¹, 刘源慧², 范建伟^{1,2**}

(1. 鲁南制药集团股份有限公司 经方与现代中药融合创新全国重点实验室, 临沂 276006;

2. 鲁南厚普制药有限公司 中药制药共性技术山东省工程研究中心, 临沂 276006)

摘要 目的: 建立同时测定金藤清痹颗粒中青藤碱、新绿原酸、木兰花碱、隐绿原酸、绿原酸、异绿原酸 B、异绿原酸 A、异绿原酸 C、哈巴俄苷、藜本内酯和甘草酸铵 11 个成分含量的 UHPLC 法, 并结合主成分分析对制剂进行质量评价。方法: 采用 UHPLC 波长切换法, 色谱柱为 Waters XSelect[®] CSH C₁₈ 柱 (150 mm × 4.6 mm, 2.5 μm), 以甲醇-乙腈 (1:1) 为流动相 A, 0.2% 磷酸水溶液为流动相 B, 梯度洗脱, 流速 1.0 mL · min⁻¹, 柱温 25 °C, 检测波长 218 nm (0 ~ 17 min 时, 检测青藤碱)、326 nm (17 ~ 25 min 和 34 ~ 98 min 时, 检测新绿原酸、隐绿原酸、绿原酸和异绿原酸 A、异绿原酸 B、异绿原酸 C)、263 nm (25 ~ 34 min 和 98 ~ 125 min 时, 检测木兰花碱、哈巴俄苷、藜本内酯、甘草酸铵)。利用 SPSS27.0 软件对 20 批金藤清痹颗粒中成分含量进行多元统计分析。结果: 青藤碱、新绿原酸、木兰花碱、隐绿原酸、绿原酸、异绿原酸 B、异绿原酸 A、异绿原酸 C、哈巴俄苷、藜本内酯和甘草酸铵 11 个成分的质量浓度分别在 14.36 ~ 143.61 μg · mL⁻¹ ($r = 0.999\ 9$)、7.71 ~ 77.15 μg · mL⁻¹ ($r = 0.999\ 8$)、9.18 ~ 91.83 μg · mL⁻¹ ($r = 0.999\ 7$)、10.71 ~ 107.07 μg · mL⁻¹ ($r = 0.999\ 8$)、12.88 ~ 128.80 μg · mL⁻¹ ($r = 0.999\ 8$)、5.20 ~ 51.95 μg · mL⁻¹ ($r = 0.999\ 7$)、5.18 ~ 51.84 μg · mL⁻¹ ($r = 0.999\ 8$)、5.40 ~ 53.95 μg · mL⁻¹ ($r = 0.999\ 8$)、2.62 ~ 26.16 μg · mL⁻¹ ($r = 0.999\ 9$)、6.31 ~ 63.06 μg · mL⁻¹ ($r = 0.999\ 9$) 和 11.13 ~ 111.26 μg · mL⁻¹ ($r = 0.997\ 6$) 范围内与峰面积的线性关系良好; 平均加样回收率 ($n = 6$) 分别为 98.3%、98.3%、98.5%、98.9%、99.2%、101.0%、98.1%、97.1%、96.8%、98.0% 和 98.7%, RSD 均小于 3.0%。20 批金藤清痹颗粒样品中, 上述青藤碱等 11 个成分的含量测定结果 ($n = 6$) 依次为 2.206 ~ 2.704、1.071 ~ 1.403、2.096 ~ 2.487、1.321 ~ 1.724、2.241 ~ 2.612、0.605 ~ 0.749、0.363 ~ 0.412、0.835 ~ 1.020、0.151 ~ 0.191、0.791 ~ 1.188 和 1.008 ~ 1.363 mg · g⁻¹。主成分分析结果显示, 连续生产的金藤清痹颗粒批次间质量差异较小, 且以样品 S1、S5 和 S7 的综合质量相对更好。结论: 建立的 UHPLC 多指标成分含量测定方法简便、准确、稳定, 结合主成分分析, 可全面地评价金藤清痹颗粒的产品质量。

关键词: 金藤清痹颗粒; 超高效液相色谱; 波长切换; 含量测定; 主成分分析; 质量评价

中图分类号: R 917 文献标识码: A 文章编号: 0254-1793(2024)03-0522-10

doi: 10.16155/j.0254-1793.2024.03.18

* 山东省重点研发计划(重大科技创新工程)项目(2021CXGC010508); 山东省新旧动能转换重大产业攻关项目(鲁动能办[2021]23号)

** 通信作者 Tel: (0539)8336639; E-mail: lunanfanjianwei@163.com

第一作者 Tel: 13754746480; E-mail: lilydeng791217@sina.com

Quality evaluation of Jinteng Qingbi granules based on UHPLC multi-index component determination and principal component analysis*

DENG Li-hua^{1,2}, XU Ke-ning^{1,2}, YUAN Xiao-mei^{1,2}, DING Bing¹,
WANG Li-ping^{1,2}, XU Li^{1,2}, YANG Ben-guan¹, LIU Yuan-hui², FAN Jian-wei^{1,2**}

(1. State Key Laboratory of Integration and Innovation of Classic Formula and Modern Chinese Medicine, Lunan Pharmaceutical Group Co., Ltd., Linyi 276006, China; 2. Shandong Engineering Research Center of Generic Manufacture Technology of Traditional Chinese Medicine, Lunan Hope Pharmaceutical Co., Ltd., Linyi 276006, China)

Abstract Objective: To establish a UHPLC method for simultaneously determining sinomenine, neochlorogenic acid, magnolflorine, cryptochlorogenic acid, chlorogenic acid, isochlorogenic acid B, isochlorogenic acid A, isochlorogenic acid C, harpagoside, ligustilide and ammonium glycyrrhizate in Jinteng Qingbi granules, and evaluate the quality of Jinteng Qingbi granules combined with principal component analysis. **Methods:** UHPLC wavelength switching method was employed in the study. The chromatographic separation was performed on a Waters XSelect® CSH C₁₈ column (150 mm × 4.6 mm, 2.5 μm) using methanol-acetonitrile (1:1) as mobile phase A and 0.2% phosphoric acid aqueous solution as mobile phase B in a gradient mode at 25 °C. The flow rate was 1.0 mL · min⁻¹, and the UV detection wavelength was chosen at 218 nm for sinomenine during 0–17 min, 326 nm for neochlorogenic acid, cryptochlorogenic acid, chlorogenic acid, isochlorogenic acid B, isochlorogenic acid A and isochlorogenic acid C during 17–25 min and 34–98 nm, 263 nm for magnolflorine, harpagoside, ligustilide and ammonium glycyrrhizate during 25–34 min and 98–125 nm, respectively. Furthermore, multiple statistical analysis was conducted on the contents of 11 components in 20 batches of Jinteng Qingbi granules using SPSS27.0 software. **Results:** Satisfactory linearities of sinomenine, neochlorogenic acid, magnolflorine, cryptochlorogenic acid, chlorogenic acid, isochlorogenic acid B, isochlorogenic acid A, isochlorogenic acid C, harpagoside, ligustilide and ammonium glycyrrhizate were in the ranges of 14.36–143.61 μg · mL⁻¹ ($r = 0.9999$), 7.71–77.15 μg · mL⁻¹ ($r = 0.9998$), 9.18–91.83 μg · mL⁻¹ ($r = 0.9997$), 10.71–107.07 μg · mL⁻¹ ($r = 0.9998$), 12.88–128.80 μg · mL⁻¹ ($r = 0.9998$), 5.20–51.95 μg · mL⁻¹ ($r = 0.9997$), 5.18–51.84 μg · mL⁻¹ ($r = 0.9998$), 5.40–53.95 μg · mL⁻¹ ($r = 0.9998$), 2.62–26.16 μg · mL⁻¹ ($r = 0.9999$), 6.31–63.06 μg · mL⁻¹ ($r = 0.9999$) and 11.13–111.26 μg · mL⁻¹ ($r = 0.9976$), respectively. The average recoveries ($n = 6$) were 98.3%, 98.3%, 98.5%, 98.9%, 99.2%, 101.0%, 98.1%, 97.1%, 96.8%, 98.0% and 98.7%, respectively, with RSDs less than 3.0%. The contents ranges of sinomenine and other 10 components of 20 batches of Jinteng Qingbi granules samples were 2.206–2.704, 1.071–1.403, 2.096–2.487, 1.321–1.724, 2.241–2.612, 0.605–0.749, 0.363–0.412, 0.835–1.020, 0.151–0.191, 0.791–1.188 and 1.008–1.363 mg · g⁻¹, respectively. The results of principal component analysis showed that the quality differences between batches of continuously produced Jinteng Qingbi granules were relatively smaller, and the comprehensive quality of samples S1, S5 and S7 was relatively better. **Conclusion:** The established UHPLC method of multi-index component determination is simple, accurate and stable. Combined with principal component analysis, it can be used for quality evaluation of Jinteng Qingbi granules comprehensively. **Keywords:** Jinteng Qingbi granules; UHPLC; wavelength switching; content determination; principal component analysis; quality evaluation

类风湿性关节炎(rheumatoid arthritis, RA)是一种以慢性进展性滑膜炎为特征的自身免疫性疾病,其临床发病率约0.5%~1.0%,既严重影响患者生活质量,又为社会带来极大的经济负担^[1]。目前,临床常会选用非甾体抗炎药、糖皮质激素、抗风湿药等对症治疗,但上述药物易引起脱发、口腔炎、肝毒性等不良反应,极大限制了对RA患者的治疗^[2]。RA属于中医学“痹证”范畴,又称“尪痹”“顽痹”“鹤膝风”等,为中医优势病种^[3],中医药治疗RA具有独特优势和良好疗效。金藤清痹颗粒源于清·鲍相璈《验方新编》中“四妙勇安汤”,由金银花、青风藤、白花蛇舌草、玄参、白芍、生地黄、山慈菇、鹿衔草、当归、甘草、蜈蚣等11味药物组成,具有清热解毒、活血消肿、通痹止痛的功效,用于RA活动期的治疗^[4]。现代研究表明,金藤清痹颗粒可明显改善活动期RA患者的临床症状、体征及各项生化指标,疗效确切^[5]。

金藤清痹颗粒现行质量标准^[6]仅以青藤碱、绿原酸2个成分作为定量控制指标,迄今未见有金藤清痹颗粒多成分同时含量测定的文献报道。中药化学成分的复杂性决定了以多指标成分的同时测定进行质量控制更加全面、科学、合理^[7-8]。为进一步评价金藤清痹颗粒产品质量,本研究采用UHPLC波长切换法对金藤清痹颗粒中青藤碱、新绿原酸、木兰花碱、隐绿原酸、绿原酸、异绿原酸B、异绿原酸A、异绿原酸C、哈巴俄苷、藁本内酯和甘草酸铵11个指标成分含量进行同时测定,并结合主成分分析,为全面、客观、有效地评价金藤清痹颗粒的质量提供科学参考。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Thermo Vanquish Flex 超高效液相色谱系统(配备DAD检测器、Chromleon 7.2 色谱工作站, Thermo Fisher Scientific 公司);Waters XSelect[®] CSH C₁₈ 色谱柱(150 mm×4.6 mm, 2.5 μm; Waters 公司);XS204 万分之一电子分析天平、XS105DU 十万分之一电子分析天平(Mettler-Toledo 公司);JY-15 超声波清洗机(鼎泰(湖北)生化科技设备制造有限公司)。

1.2 试剂

对照品青藤碱(批号110774-201808,纯度94.6%)、绿原酸(批号110753-201817,纯度96.8%)、哈巴俄苷(批号111730-201709,纯度95.9%)、甘草酸铵(批号110731-202021,纯度96.2%)均购自中国食品药品检定研究院,新绿原酸

(批号MUST-21030108,纯度99.67%)、隐绿原酸(批号MUST-21082610,纯度99.88%)、异绿原酸B(批号MUST-21030602,纯度99.05%)、异绿原酸A(批号MUST-21102611,纯度98.46%)、异绿原酸C(批号MUST-21081010,纯度99.77%)均购自成都曼思特生物科技有限公司,木兰花碱(批号A31HB193420,纯度98.0%)购自上海源叶生物科技有限公司;藁本内酯(批号070017-201912,纯度98.0%)购自上海鸿永生物科技有限公司。甲醇、乙腈为色谱纯(Merck 公司),其他试剂均为分析纯,水为自制超纯水。20批金藤清痹颗粒样品(规格:每袋10 g;批号分别为28200081、28210001、28210011、28210021、28210031、28210041、28210051、28210061、28210071、28210081、28210091、28210101、28210111、28210121、28210131、28210141、28210151、28210161、28210171、28210181、28210191,编号依次为S1~S20)由鲁南厚普制药有限公司提供。

2 方法与结果

2.1 供试品溶液的制备

取金藤清痹颗粒适量,研细,精密称取1 g,置25 mL量瓶中,加入40%甲醇水溶液20 mL,超声处理(功率300 W,频率40 kHz)30 min,取出,放冷,定容至刻度,摇匀,用微孔滤膜(Φ0.22 μm)滤过,取续滤液,即得。

2.2 混合对照品溶液的制备

精密称取“1.2”项下各对照品适量,加40%甲醇水溶液制成青藤碱、新绿原酸、木兰花碱、隐绿原酸、绿原酸、异绿原酸B、异绿原酸A、异绿原酸C、哈巴俄苷、藁本内酯和甘草酸铵的质量浓度分别为143.61、77.15、91.83、107.07、128.75、51.95、51.84、53.95、26.16、63.06和111.26 μg·mL⁻¹的混合对照品溶液。

2.3 阴性对照溶液的制备

参考金藤清痹颗粒处方与制法^[6],分别制备缺青风藤、缺金银花、缺当归、缺甘草、缺玄参的5种阴性样品,“2.1”项下方法,分别制得相应阴性对照溶液。

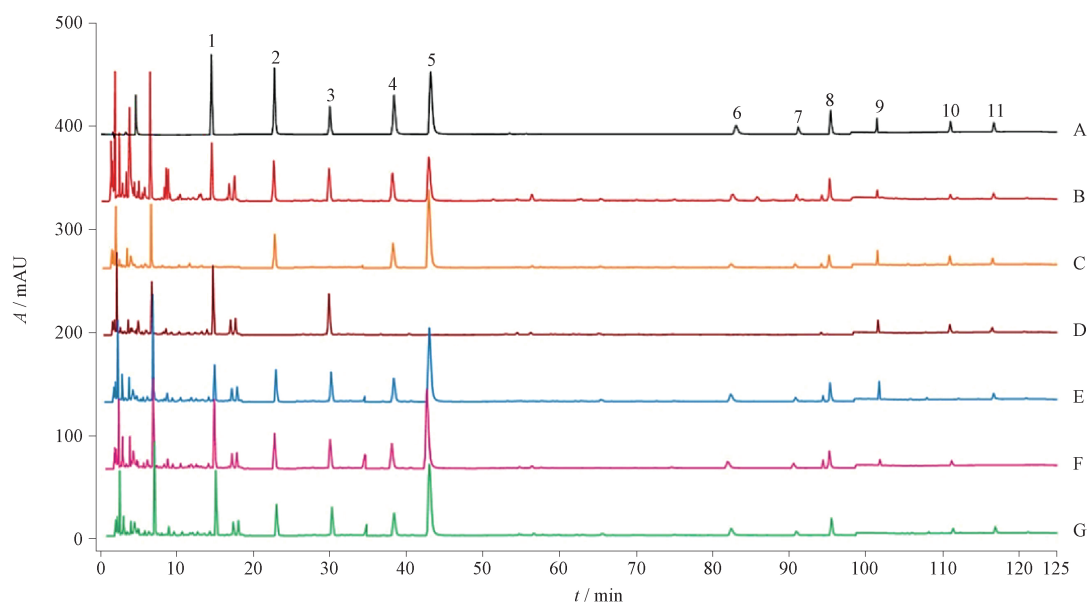
2.4 色谱条件

色谱柱:Waters XSelect[®] CSH C₁₈ 柱(150 mm×4.6 mm, 2.5 μm);流动相:甲醇-乙腈(1:1)为流动相A,0.2%磷酸水溶液为流动相B,梯度洗脱(0~13 min,3%A→7%A;13~45 min,7%A→13%A;45~52 min,

13%A→20%A;52~85 min,20%A→25%A;85~95 min,25%A→35%A;95~102 min,35%A→55%A;102~120 min,55%A→60%A;120~125 min,60%A→70%A);流速:1.0 mL·min⁻¹;柱温:25℃;检测波长:218 nm(0~17 min时,检测青藤碱)、326 nm(17~25 min和34~98 min时,检测新绿原酸、隐绿原酸、绿原酸和异绿原酸 A、异绿原酸 B、异绿原酸 C)、263 nm(25~34 min和98~125 min时,检测木兰花碱、哈巴俄苷、藜本内酯、甘草酸铵);进样量:5 μL。

2.5 方法学考察

2.5.1 专属性 分别精密吸取混合对照品溶液、供试品溶液及各阴性对照溶液,按“2.4”项下色谱条件进样分析。样品中青藤碱、新绿原酸、木兰花碱、隐绿原酸、绿原酸、异绿原酸 B、异绿原酸 A、异绿原酸 C、哈巴俄苷、藜本内酯、甘草酸铵各峰的分离度和对称性良好,其分离度均大于 1.5,对称因子均在 0.90~1.10;对照品溶液及样品溶液目标峰的保留时间一致,且阴性样品无干扰。色谱图见图 1。



1. 青藤碱(sinomenine) 2. 新绿原酸(neochlorogenic acid) 3. 木兰花碱(magnolflorine) 4. 隐绿原酸(cryptochlorogenic acid) 5. 绿原酸(chlorogenic acid) 6. 异绿原酸 B(isochlorogenic acid B) 7. 异绿原酸 A(isochlorogenic acid A) 8. 异绿原酸 C(isochlorogenic acid C) 9. 哈巴俄苷(harpagoside) 10. 藜本内酯(ligustilide) 11. 甘草酸铵(ammonium glycyrrhizate)

图 1 混合对照品(A)、样品(B)、缺青风藤阴性样品(C)、缺金银花阴性样品(D)、缺当归阴性样品(E)、缺甘草阴性样品(F)和缺玄参阴性样品(G)的色谱图

Fig. 1 UHPLC chromatograms of mixed reference substance (A), sample (B), negative sample without *Sinomenii Caulis* (C), negative sample without *Lonicerae Japonicae Flos* (D), negative sample without *Angelicae Sinensis Radix* (E), negative sample without *Glycyrrhizae Radix et Rhizoma* (F) and negative sample without *Scrophulariae Radix* (G)

2.5.2 线性关系考察 精密吸取“2.2”项下混合对照品溶液 1、2、3、5、8、10 mL,分别置于 10 mL 量瓶中,以 40% 甲醇水溶液稀释至刻度,摇匀,即得系列浓度的混合对照品溶液。精密吸取上述系列混合对照品溶液,按“2.4”项下色谱条件进样测定。以峰面积(Y)对质量浓度(X)进行线性回归,得青藤碱等 11 个成分的回归方程及其线性范围,见表 1。

2.5.3 精密度试验 取“2.2”项下混合对照品溶液,按“2.4”项下色谱条件进样,连续测定 6 次,计算相应峰面积及其 RSD。结果青藤碱、新绿原酸、木

花碱、隐绿原酸、绿原酸、异绿原酸 B、异绿原酸 A、异绿原酸 C、哈巴俄苷、藜本内酯和甘草酸铵峰面积的 RSD 分别为 0.71%、0.60%、0.60%、0.76%、0.83%、1.1%、1.6%、0.75%、0.67%、0.71% 和 0.82%,表明仪器精密度良好。

2.5.4 重复性试验 精密称取同一批样品(批号 28200081,编号 S1)6 份,按“2.1”项下方法制备供试品溶液,按“2.4”项下色谱条件进样,记录相应峰面积。计算青藤碱、新绿原酸、木兰花碱、隐绿原酸、绿原酸、异绿原酸 B、异绿原酸 A、异绿原酸 C、哈巴俄

苷、藜本内酯和甘草酸铵的平均含量($n=6$)分别为 2.592、1.383、2.262、1.719、2.611、0.728、0.408、1.020、0.160、1.200 和 1.159 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$, 其 RSD 依次为 0.22%、0.41%、0.23%、0.58%、0.52%、0.87%、1.4%、1.7%、0.26%、0.77% 和 0.65%, 表明该法重复性良好。

表 1 11 个成分的线性回归方程、相关系数及线性范围

Tab. 1 The linear regression equations, correlation coefficients and linear ranges of eleven components

成分 (component)	回归方程 (regression equation)	r	线性范围 (linear range)/($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)
青藤碱(sinomenine)	$Y = 8.790 \times 10^{-2}X - 8.438 \times 10^{-2}$	0.999 9	14.36 ~ 143.61
新绿原酸(neochlorogenic acid)	$Y = 1.740 \times 10^{-1}X - 1.157 \times 10^{-1}$	0.999 8	7.71 ~ 77.15
木兰花碱(magnolflorine)	$Y = 9.129 \times 10^{-2}X + 2.428 \times 10^{-2}$	0.999 7	9.18 ~ 91.83
隐绿原酸(cryptochlorogenic acid)	$Y = 1.521 \times 10^{-1}X - 1.959 \times 10^{-1}$	0.999 8	10.71 ~ 107.07
绿原酸(chlorogenic acid)	$Y = 1.765 \times 10^{-1}X - 2.163 \times 10^{-1}$	0.999 8	12.88 ~ 128.80
异绿原酸 B(isochlorogenic acid B)	$Y = 1.707 \times 10^{-1}X - 1.826 \times 10^{-1}$	0.999 7	5.20 ~ 51.95
异绿原酸 A(isochlorogenic acid A)	$Y = 2.088 \times 10^{-1}X - 2.127 \times 10^{-1}$	0.999 8	5.18 ~ 51.84
异绿原酸 C(isochlorogenic acid C)	$Y = 1.951 \times 10^{-1}X - 2.342 \times 10^{-1}$	0.999 8	5.40 ~ 53.95
哈巴俄苷(harpagoside)	$Y = 1.092 \times 10^{-1}X - 1.288 \times 10^{-2}$	0.999 9	2.62 ~ 26.16
藜本内酯(ligustilide)	$Y = 3.193 \times 10^{-2}X - 1.273 \times 10^{-3}$	0.999 9	6.31 ~ 63.06
甘草酸铵(ammonium glycyrrhizate)	$Y = 3.646 \times 10^{-2}X - 1.103 \times 10^{-1}$	0.997 6	11.13 ~ 111.26

2.5.5 稳定性试验 室温条件下取 S1 号样品,按“2.1”项下方法制备供试品溶液,并按“2.4”项下色谱条件分别于制备后 0、3、6、9、12、24 h 进样测定,记录相应峰面积。结果青藤碱、新绿原酸、木兰花碱、隐绿原酸、绿原酸、异绿原酸 B、异绿原酸 A、异绿原酸 C、哈巴俄苷、藜本内酯和甘草酸铵峰面积的 RSD 分别为 0.30%、0.25%、0.36%、0.32%、0.29%、0.68%、0.69%、0.56%、1.6%、0.69% 和 0.79%,表明供试品溶液室温下 24 h 内稳定。

2.5.6 加样回收率试验 取含量已知的 S1 号样品细粉 6 份,每份 0.5 g,精密称定,分别置于 25 mL 量瓶中,每份加入混合对照品储备液 10 mL(每 1 mL 分别含青藤碱 102.94 μg 、新绿原酸 59.32 μg 、木兰花碱 126.21 μg 、隐绿原酸 84.07 μg 、绿原酸 113.74 μg 、异绿原酸 B 37.03 μg 、异绿原酸 A 16.22 μg 、异绿原酸 C 47.11 μg 、哈巴俄苷 8.06 μg 、藜本内酯 56.88 μg 和甘草酸铵 42.96 μg),按“2.1”项下方法制备加样供试溶液,并按“2.4”项下色谱条件进样,计算各成分回收率及其 RSD,结果见表 2。

2.6 样品含量测定

取 20 批金藤清痹颗粒样品(编号 S1 ~ S20),分别按“2.1”项下方法制备供试品溶液,每批样品平行 3 份,并按“2.4”项下色谱条件进样测定,计算各批样

品中青藤碱等 11 个成分的含量,结果见表 3。

2.7 主成分分析

将“2.6”项下样品含量测定结果的标准化得分作为变量,导入 SPSS 27.0 软件进行主成分分析,并以特征值 >1 为判定标准,按方差贡献率大小提取出 3 个主成分,依次记作 F_1 、 F_2 和 F_3 ,且三者的累计方差贡献率达 96.394%,表明该 3 个主成分基本反映了 11 个指标的全部信息,可对样品降维分析,结果见表 4。在主成分 F_1 中,青藤碱、新绿原酸、隐绿原酸、绿原酸、异绿原酸 B、异绿原酸 A 和异绿原酸 C 的特征向量的绝对值均大于其他变量,表明 F_1 主要反映了青风藤、金银花 2 味药材的质量信息;同理, F_2 主要反映了玄参、甘草和青风藤 3 味药材的质量信息, F_3 反映了当归、青风藤和玄参的质量信息。

依据各指标成分的特征向量,分别求得 3 个主成分 $F_1 \sim F_3$ 的函数表达式: $Y_1 = 0.318 4X_1 + 0.367 3X_2 + 0.110 5X_3 + 0.363 9X_4 + 0.345 5X_5 + 0.373 8X_6 + 0.352 4X_7 + 0.378 8X_8 - 0.136 8X_9 + 0.255 3X_{10} - 0.092 9X_{11}$, $Y_2 = 0.061 8X_1 - 0.127 3X_2 + 0.540 5X_3 - 0.146 7X_4 + 0.240 3X_5 + 0.003 1X_6 + 0.192 2X_7 + 0.060 5X_8 + 0.504 3X_9 - 0.134 8X_{10} + 0.543 6X_{11}$, $Y_3 = -0.487 5X_1 + 0.136 5X_2 - 0.332 6X_3 + 0.080 6X_4 - 0.098 0X_5 + 0.066 9X_6 + 0.081 6X_7 + 0.005 5X_8 +$

表 2 加样回收率试验结果 ($n=6$)

Tab. 2 Results of recovery test

成分 (component)	取样量 (weight)/g	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/ %
青藤碱(sinomenine)	0.500 0	1.296 0	1.029 4	2.303 0	97.82	99.4	1.2
	0.500 1	1.296 3	1.029 4	2.326 8	100.11		
	0.503 8	1.305 8	1.029 4	2.320 0	98.52		
	0.504 6	1.307 9	1.029 4	2.334 8	99.76		
	0.505 3	1.309 7	1.029 4	2.330 3	99.15		
	0.504 8	1.308 4	1.029 4	2.346 5	100.85		
新绿原酸(neochlorogenic acid)	0.500 0	0.691 5	0.593 2	1.281 5	99.46	99.5	0.60
	0.500 1	0.691 6	0.593 2	1.280 5	99.28		
	0.503 8	0.696 8	0.593 2	1.284 8	99.12		
	0.504 6	0.697 9	0.593 2	1.287 3	99.36		
	0.505 3	0.698 8	0.593 2	1.295 8	100.64		
	0.504 8	0.698 1	0.593 2	1.285 3	98.99		
木兰花碱(magnolflorine)	0.500 0	1.131 0	1.262 1	2.381 5	99.09	98.7	0.27
	0.500 1	1.131 2	1.262 1	2.376 3	98.65		
	0.503 8	1.139 6	1.262 1	2.382 8	98.50		
	0.504 6	1.141 4	1.262 1	2.387 0	98.69		
	0.505 3	1.143 0	1.262 1	2.384 5	98.37		
	0.504 8	1.141 9	1.262 1	2.389 8	98.87		
隐绿原酸(cryptochlorogenic acid)	0.500 0	0.859 5	0.840 7	1.699 0	99.86	99.0	0.72
	0.500 1	0.859 7	0.840 7	1.698 0	99.71		
	0.503 8	0.866 0	0.840 7	1.695 5	98.67		
	0.504 6	0.867 4	0.840 7	1.700 3	99.07		
	0.505 3	0.868 6	0.840 7	1.698 8	98.75		
	0.504 8	0.867 8	0.840 7	1.691 3	97.95		
绿原酸(chlorogenic acid)	0.500 0	1.305 5	1.137 4	2.439 5	99.70	99.6	0.67
	0.500 1	1.305 8	1.137 4	2.449 0	100.51		
	0.503 8	1.315 4	1.137 4	2.449 5	99.71		
	0.504 6	1.317 5	1.137 4	2.453 8	99.90		
	0.505 3	1.319 3	1.137 4	2.443 0	98.80		
	0.504 8	1.318 0	1.137 4	2.442 0	98.82		
异绿原酸 B(isochlorogenic acid B)	0.500 0	0.364 0	0.370 3	0.732 0	99.38	99.4	1.0
	0.500 1	0.364 1	0.370 3	0.730 0	98.81		
	0.503 8	0.366 8	0.370 3	0.735 0	99.43		
	0.504 6	0.367 3	0.370 3	0.740 0	100.65		
	0.505 3	0.367 9	0.370 3	0.739 5	100.35		
	0.504 8	0.367 5	0.370 3	0.730 3	97.97		
异绿原酸 A(isochlorogenic acid A)	0.500 0	0.204 0	0.162 2	0.366 5	100.18	98.1	1.3
	0.500 1	0.204 0	0.162 2	0.362 3	97.60		
	0.503 8	0.205 6	0.162 2	0.365 3	98.46		
	0.504 6	0.205 9	0.162 2	0.362 5	96.5		
	0.505 3	0.206 2	0.162 2	0.365 3	98.09		
	0.504 8	0.206 0	0.162 2	0.365 0	98.03		
异绿原酸 C(isochlorogenic acid C)	0.500 0	0.510 0	0.471 1	0.976 0	98.92	97.9	0.94
	0.500 1	0.510 1	0.471 1	0.971 0	97.83		
	0.503 8	0.513 9	0.471 1	0.977 8	98.47		
	0.504 6	0.514 7	0.471 1	0.975 3	97.77		
	0.505 3	0.515 4	0.471 1	0.978 8	98.37		
	0.504 8	0.514 9	0.471 1	0.968 5	96.29		

表 2(续)

成分 (component)	取样量 (weight)/g	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/ %
哈巴俄苷(harpagoside)	0.500 0	0.080 0	0.080 6	0.159 8	99.01	98.9	0.66
	0.500 1	0.080 0	0.080 6	0.160 0	99.26		
	0.503 8	0.080 6	0.080 6	0.160 3	98.88		
	0.504 6	0.080 7	0.080 6	0.159 8	98.14		
	0.505 3	0.080 8	0.080 6	0.160 0	98.26		
	0.504 8	0.080 8	0.080 6	0.161 3	99.88		
藜本内酯(ligustilide)	0.500 0	0.600 0	0.568 8	1.163 5	99.07	98.4	0.86
	0.500 1	0.600 1	0.568 8	1.165 8	99.45		
	0.503 8	0.604 6	0.568 8	1.166 8	98.84		
	0.504 6	0.605 5	0.568 8	1.163 5	98.10		
	0.505 3	0.606 4	0.568 8	1.159 5	97.24		
	0.504 8	0.605 8	0.568 8	1.162 0	97.78		
甘草酸铵(ammonium glycyrrhizate)	0.500 0	0.579 5	0.429 6	1.004 8	99.00	98.5	0.50
	0.500 1	0.579 6	0.429 6	1.002 3	98.39		
	0.503 8	0.583 9	0.429 6	1.003 0	97.56		
	0.504 6	0.584 8	0.429 6	1.008 8	98.70		
	0.505 3	0.585 6	0.429 6	1.008 8	98.51		
	0.504 8	0.585 1	0.429 6	1.008 5	98.56		

表 3 金藤清痹颗粒中 11 个成分的含量(n=3)

Tab.3 Contents of eleven components in Jinteng Qingbi granules

样品编号 (sample No.)	含量(content)/(mg · g ⁻¹)										
	青藤碱 (sinomenine)	新绿原酸 (neochlorogenic acid)	木兰花碱 (magnoliflorine)	隐绿原酸 (cryptochlorogenic acid)	绿原酸 (chlorogenic acid)	异绿原酸 B (isochlorogenic acid B)	异绿原酸 A (isochlorogenic acid A)	异绿原酸 C (isochlorogenic acid C)	哈巴俄苷 (harpagoside)	藜本内酯 (ligustilide)	甘草酸铵 (ammonium glycyrrhizate)
S1	2.592	1.383	2.262	1.719	2.612	0.728	0.408	1.020	0.160	1.200	1.159
S2	2.501	1.309	2.141	1.598	2.447	0.675	0.391	0.945	0.155	1.137	1.111
S3	2.476	1.318	2.144	1.605	2.409	0.693	0.393	0.952	0.154	1.122	1.097
S4	2.467	1.313	2.158	1.606	2.413	0.701	0.393	0.957	0.152	1.114	1.093
S5	2.583	1.362	2.251	1.682	2.520	0.726	0.410	1.000	0.159	1.166	1.133
S6	2.588	1.372	2.243	1.628	2.518	0.734	0.396	0.995	0.156	1.171	1.130
S7	2.523	1.365	2.196	1.669	2.542	0.726	0.406	0.986	0.180	1.163	1.124
S8	2.436	1.294	2.109	1.611	2.439	0.704	0.395	0.949	0.165	1.113	1.090
S9	2.549	1.226	2.410	1.528	2.520	0.690	0.403	0.950	0.184	0.884	1.331
S10	2.389	1.151	2.281	1.386	2.376	0.637	0.381	0.900	0.176	0.833	1.255
S11	2.458	1.181	2.340	1.423	2.440	0.647	0.388	0.922	0.179	0.854	1.285
S12	2.616	1.255	2.487	1.514	2.594	0.699	0.412	0.982	0.191	0.902	1.363
S13	2.219	1.095	2.146	1.321	2.249	0.616	0.363	0.846	0.182	0.795	1.206
S14	2.206	1.071	2.096	1.354	2.241	0.605	0.364	0.835	0.179	0.791	1.187
S15	2.620	1.259	2.223	1.609	2.500	0.694	0.397	0.947	0.171	0.827	1.043
S16	2.704	1.319	2.318	1.662	2.601	0.719	0.399	0.989	0.163	0.869	1.074
S17	2.619	1.256	2.246	1.542	2.448	0.682	0.390	0.949	0.155	0.825	1.029
S18	2.559	1.236	2.200	1.505	2.392	0.684	0.380	0.928	0.151	0.808	1.008
S19	2.604	1.257	2.240	1.584	2.437	0.684	0.388	0.944	0.155	0.817	1.026
S20	2.569	1.242	2.215	1.514	2.407	0.670	0.383	0.935	0.154	0.798	1.015

表 4 3 个主成分的特征值、方差贡献率、累计方差贡献率及其特征向量

Tab.4 Eigenvalue, variance contribution, accumulative contribution and eigenvector of three principal components

成分 (component)	主成分(principal component)		
	F_1	F_2	F_3
青藤碱(sinomenine)	0.318 4	0.061 8	-0.487 5
新绿原酸(neochlorogenic acid)	0.367 3	-0.127 3	0.136 5
木兰花碱(magnolflorine)	0.110 5	0.540 5	-0.332 6
隐绿原酸(cryptochlorogenic acid)	0.363 9	-0.146 7	0.080 6
绿原酸(chlorogenic acid)	0.345 5	0.240 3	-0.098 0
异绿原酸 B(isochlorogenic acid B)	0.373 8	0.003 1	0.066 9
异绿原酸 A(isochlorogenic acid A)	0.352 4	0.192 2	0.081 6
异绿原酸 C(isochlorogenic acid C)	0.378 8	0.060 5	0.005 5
哈巴俄苷(harpagoside)	-0.136 8	0.504 3	0.300 6
藜本内酯(ligustilide)	0.255 3	-0.134 8	0.635 0
甘草酸铵(ammonium glycyrrhizate)	-0.092 9	0.543 6	0.332 6
特征值(eigenvalue)	6.845	2.567	1.191
方差贡献率(variance contribution)/%	62.231	23.340	10.823
累计方差贡献率(accumulative contribution)/%	62.231	85.571	96.394

$0.3006X_9 + 0.6350X_{10} + 0.3326X_{11}$; 式中, Y_1, Y_2, Y_3 分别代表 3 个主成分 F_1, F_2, F_3 的得分, $X_1, X_2 \sim X_n$ 依次表示青藤碱、新绿原酸、木兰花碱等 11 个成分含量的标准化数据。

将 20 批金藤清痹颗粒样品(S1 ~ S20)中青藤碱等 11 个成分含量的标准化数据,依次代入上述函数表达式中,得到主成分得分,并导入 SPSS 27.0 软件绘制出主成分得分散点图,见图 2。图中样品点的空间距离越近,表示样品的化学成分更为接近,其中, S1 ~ S8、S15 ~ S20、S9 ~ S12、S13 ~ S14 分别聚为 4 个居群。分别以各主成分对应的方差贡献率作为权重,对主成分得分及其相应的权重进行线性加权,构建金藤清痹颗粒评价函数: $Y = 0.6223Y_1 + 0.2334Y_2 + 0.1082Y_3$, 计算各样品的综合评价得分,分值越高表示该样品整体质量越好^[9-10]。结果表明,20 批金藤清痹颗粒样品中,以 S1、S5、S7 的整体质量更好,结果见表 5。

3 讨论

3.1 待测成分的选择

为了对金藤清痹颗粒进行全面质量评控,本研究前期针对该制剂药味组成,结合现行《中华人民共和国药典》及相关文献报道,选择君药金银花中的绿原酸、隐绿原酸、新绿原酸、异绿原酸 A、异绿原酸 B、异绿原酸 C、木犀草苷^[11-12]和青风藤中的青藤碱、

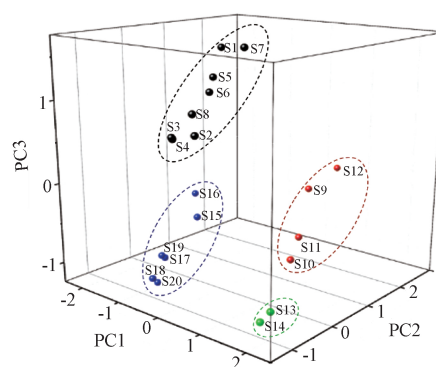


图 2 主成分得分散点图

Fig.2 Scatter plot of principal component scores

木兰花碱^[13], 臣药当归中的阿魏酸、藜本内酯^[14]和白芍中的芍药苷, 佐药玄参中的哈巴苷、哈巴俄苷^[15]及使药甘草中的甘草苷、甘草酸铵, 一并作为候选目标成分进行定量分析方法学研究。结果发现, 金藤清痹颗粒中木犀草苷、阿魏酸、芍药苷、哈巴苷及甘草苷 5 个成分的含量相对较低, 甚者未能检出。为确保定量分析结果准确性, 本研究最终选定绿原酸、隐绿原酸、新绿原酸、异绿原酸 A、异绿原酸 B、异绿原酸 C、青藤碱、木兰花碱、藜本内酯、哈巴俄苷、甘草酸铵等 11 个成分作为待测成分, 藉此对金藤清痹颗粒进行多指标成分定量控制。

表 5 20 批金藤清痹颗粒质量的综合评价得分

Tab. 5 Overall evaluation score for the quality of 20 batches of Jinteng Qingbi granules

批号 (sample No.)	得分(score)			综合得分 (overall score)	综合排名 (overall ranking)
	F_1	F_2	F_3		
S1	3.96	0.25	0.83	2.61	1
S2	0.28	-1.20	0.97	0.00	12
S3	0.53	-1.72	0.81	0.01	11
S4	0.66	-1.63	0.71	0.10	10
S5	2.91	-0.14	0.76	1.86	2
S6	2.48	-0.28	0.68	1.55	5
S7	2.49	0.29	1.52	1.78	3
S8	0.60	-1.33	1.21	0.19	9
S9	0.10	2.94	-0.16	0.73	7
S10	-3.12	1.46	0.18	-1.58	18
S11	-1.93	2.13	-0.07	-0.71	15
S12	1.12	4.26	-0.28	1.66	4
S13	-5.69	-0.04	0.80	-3.46	19
S14	-6.09	-0.46	0.89	-3.80	20
S15	0.66	-0.11	-1.02	0.27	8
S16	2.49	0.37	-1.54	1.47	6
S17	0.17	-0.9	-1.67	-0.29	13
S18	-0.88	-1.51	-1.47	-1.06	17
S19	0.10	-1.05	-1.56	-0.35	14
S20	-0.85	-1.30	-1.61	-1.01	16

3.2 检测波长的选择

上述绿原酸等 11 个待测目标成分的结构多样, 包含有机酸类(绿原酸、隐绿原酸、新绿原酸、异绿原酸 A、异绿原酸 B、异绿原酸 C), 生物碱类(青藤碱、木兰花碱), 香豆素类(藜本内酯), 三萜皂苷类(甘草酸铵)及环烯醚萜苷类(哈巴俄苷)。为实现对绿原酸等 11 个成分的同时测定, 利用 DAD 检测器在 200~400 nm 范围内进行全波长扫描, 并综合考虑各成分的紫外吸收及相互干扰情况, 最终确定采用波长切换法在 218 nm 下检测青藤碱, 326 nm 下检测新绿原酸、隐绿原酸、绿原酸、异绿原酸 A、异绿原酸 B 和异绿原酸 C, 263 nm 下检测木兰花碱、哈巴俄苷、藜本内酯和甘草酸铵。

3.3 色谱柱和流动相的选择

分别考察了 Waters CORTECS UPLC T3、Waters Acquity UPLC HSS T3、Waters UPLC BEH Shield PR18、Waters XSelect® CSH C₁₈ 和 Thermo GOLD™ C₁₈ 5 款色谱柱的适用性, 结果相同条件下 Waters XSelect® CSH C₁₈ 柱能使 11 个成分达到基线分离, 其峰形和分离度更佳, 柱效更高, 成为本研究待测成

分离分析的最佳选择。同时, 比较了甲醇-0.1% 甲酸水溶液、乙腈-0.1% 甲酸水溶液、甲醇-乙腈(1:1)-0.1% 甲酸水溶液、甲醇-乙腈(1:1)-0.2% 甲酸水溶液、甲醇-乙腈(1:1)-0.1% 磷酸水溶液和甲醇-乙腈(1:1)-0.2% 磷酸水溶液 6 种流动相系统, 结果以甲醇-乙腈(1:1)为有机相、0.2% 磷酸水溶液为水相时, 更利于待测目标成分的分离, 基线噪音最小, 各色谱峰分离度、对称性更佳, 故选用甲醇-乙腈(1:1)-0.2% 磷酸水溶液为流动相系统进行梯度洗脱。

3.4 提取条件的选择

针对超声提取和回流提取 2 种提取方法, 以 20% 甲醇水溶液、40% 甲醇水溶液、70% 甲醇水溶液和甲醇为提取溶剂分别进行了考察。结果表明, 上述 2 种提取方法及 4 种提取溶剂对待测目标成分的提取效果无明显差别, 为降低流动相与提取溶剂之间因极性差异所造成的溶剂效应, 最终确定以 40% 甲醇水溶液为提取溶剂, 进行超声提取。

3.5 主成分分析

作为常用的复杂数据统计分析方法, 主成分分析利用降维思想, 将多个相互关联的多变量通过线性变换, 在保留原始数据大部分信息的前提下, 选择少数几个具有代表性的综合指标(主成分)代替多个原始变量, 可以最大限度地保留样本的原始信息并对样本做出整体性评价^[16-18]。本研究中, 主成分分析结果表明金藤清痹颗粒的制剂工艺稳定性好, 连续生产批次之间的整体质量更为接近, 而非连续生产批次之间的质量差异, 更多地体现出药材在不同投料时间阶段内的质量波动性。

3.6 小结

本研究采用波长切换技术, 建立了 UHPLC 同时测定金藤清痹颗粒中青藤碱、新绿原酸、木兰花碱、隐绿原酸、绿原酸、异绿原酸 B、异绿原酸 A、异绿原酸 C、哈巴俄苷、藜本内酯和甘草酸铵 11 个成分的方法。该法简便、准确、稳定, 通过结合多元统计分析, 可用于金藤清痹颗粒的质量评价。

参考文献

- [1] 魏志萍, 洪芬芳, 杨树龙. 中药治疗类风湿关节炎的研究进展[J]. 中华中医药杂志, 2017, 32(12): 5477
WEI ZP, HONG FF, YANG SL. Research progress on traditional Chinese medicine on the treatment of rheumatoid arthritis [J]. Chin J Tradit Chin Med Pharm, 2017, 32(12): 5477

- [2] 周政,赵灵,贾文瑞,等. 基于肠道菌群探讨金藤清痹颗粒抗类风湿关节炎的作用机制[J]. 现代药物与临床,2023,38(2):270
ZHOU Z, ZHAO LL, JIA WR, *et al.* Mechanism of Jinteng Qingbi granules against rheumatoid arthritis based on gut microbiota [J]. *Mod Drugs Clin*, 2023, 38 (2): 270
- [3] 袁博,曹炜,张解玉,等. 基于“虚、痰、瘀、毒”论治类风湿关节炎[J]. 中国中医药信息杂志,2022,29(5):140
YUAN B, CAO W, ZHANG XY, *et al.* Treatment of rheumatoid arthritis from “deficiency, phlegm, stasis and toxicity” [J]. *Chin J Inf Tradit Chin Med*, 2022, 29 (5): 140
- [4] 唐今扬,周彩云,王鑫,等. 金藤清痹颗粒治疗类风湿性关节炎模型大鼠的作用机制研究[J]. 北京中医药,2022,41(7):728
TANG JY, ZHOU CY, WANG X, *et al.* Study on the mechanism of Jinteng Qingbi granules in treating rheumatoid arthritis in model rats [J]. *Beijing J Tradit Chin Med*, 2022, 41 (7): 728
- [5] 唐今扬,周彩云,王鑫,等. 金藤清痹颗粒通过调节免疫微环境对类风湿性关节炎大鼠的干预作用[J]. 中成药,2022,44(11):3459
TANG JY, ZHOU CY, WANG X, *et al.* Effects of Jinteng Qingbi granules on rheumatoid arthritis rats through intervention of immune microenvironment [J]. *Chin Tradit Pat Med*, 2022, 44 (11): 3459
- [6] YBZ00332008 金藤清痹颗粒. 国家食品药品监督管理总局国家药品标准[S]. 2008
YBZ00332008 Jinteng Qingbi Keli. National Drug Standard of China Food and Drug Administration [S]. 2008
- [7] 郝乘仪,于蕾,昌盛,等. HPLC-DAD法同时测定小儿退热剂中多指标成分含量[J]. 药物分析杂志,2019,39(5):930
HAO CY, YU L, CHANG S, *et al.* Simultaneous determination the contents of index components in Xiaoer Tuire mixture by HPLC-DAD [J]. *Chin J Pharm Anal*, 2019, 39 (5): 930
- [8] 庄会芳,袁晓梅,庄建林,等. UPLC波长切换法同时测定心通颗粒中7个成分的含量[J]. 药物分析杂志,2023,43(8):1284
ZHUANG HF, YUAN XM, ZHUANG JL, *et al.* Simultaneous determination of seven components in Xintong granules by UPLC wavelength switching method [J]. *Chin J Pharm Anal*, 2023, 43 (8): 1284
- [9] 刘雯,郭海蛟,覃洁萍,等. 基于多组分含量测定及主成分分析的狗仔花质量控制[J]. 中国医院药学杂志,2021,41(2):135
LIU W, GUO HJ, QIN JP, *et al.* Quality control of *Vernonia patula* Merr based upon multi-component determination and principal component analysis [J]. *Chin J Hosp Pharm*, 2021, 41 (2): 135
- [10] 邵镭钎,李丹,蒋攀,等. 基于主成分及聚类分析的川明参的综合评价[J]. 中草药,2018,49(14):3389
SHAO QQ, LI D, JIANG P, *et al.* Comprehensive evaluation of yield and quality of *Chuanmingshen violaceum* based on principal component and cluster analysis [J]. *Chin Tradit Herb Drugs*, 2018, 49 (14): 3389
- [11] 胡杨,李先芝,钱全全,等. HPLC法同时测定金银花配方颗粒中6种成分[J]. 中成药,2021,43(7):1717
HU Y, LI XZ, QIAN QQ, *et al.* Simultaneous determination of six constituents in Jinyinhua Formula granules by HPLC [J]. *Chin Tradit Pat Med*, 2021, 43 (7): 1717
- [12] 邱连建,索彩仙,潘礼业,等. 基于多元统计分析的金银花、山银花及川银花质量评价研究[J]. 广东药科大学学报,2020,36(5):620
QIU LJ, SUO CX, PAN LY, *et al.* The quality evaluation of *Lonicerae japonicae* Flos, *Lonicerae Flos* and *Lonicerae similis* Flos based on multivariate statistical analysis [J]. *J Guangdong Pharm Univ*, 2020, 36 (5): 620
- [13] 王青青,方明月,刘双月,等. HPLC测定市售青藤藤中青藤碱和木兰花碱含量[J]. 中国现代中药,2018,20(11):1367
WANG QQ, FANG MY, LIU SY, *et al.* Content assay of sinomenine and magnoflorine in commercial *Caulis sinomenii* by HPLC [J]. *Mod Chin Med*, 2018, 20 (11): 1367
- [14] 骆嫒,潘娉婷,章建华,等. HPLC法同时测定丹参-当归药对中7个成分的含量[J]. 药物分析杂志,2018,38(10):1689
LUO Y, PAN PP, ZHANG JH, *et al.* Simultaneous determination of seven components in Radix Salviae Miltiorrhizae-Radix Angelicae Sinensis drug pair by HPLC [J]. *Chin J Pharm Anal*, 2018, 38 (10): 1689
- [15] 杨帆,蒋丽娟,高艳艳,等. 基于对照品和对照提取物的2个含玄参复方和制剂定量研究[J]. 药物分析杂志,2022,42(10):1838
YANG F, JIANG LJ, GAO YY, *et al.* Quantitative study of two formulation and preparation containing *Scrophulariae Radix* based on reference substances and reference extract [J]. *Chin J Pharm Anal*, 2022, 42 (10): 1838
- [16] 陈洁,陈文茜,郭文鼎,等. HPLC指纹图谱结合主成分分析对不同产地头顶一颗珠质量的评价[J]. 中国中医药信息杂志,2017,24(11):58
CHEN J, CHEN WQ, GUO WD, *et al.* Evaluation of quality coherence of *Trillium tschonoskii* Maxim. from different producing areas based on HPLC fingerprint and PCA [J]. *Chin J Inf Tradit Chin Med*, 2017, 24 (11): 58
- [17] 周冰倩,高喜梅,杨颖,等. 不同来源竹茹药材HPLC指纹图谱和化学计量学分析[J]. 中草药,2022,53(3):853
ZHOU BQ, GAO XM, YANG Y, *et al.* Quality analysis of *Caulis Bambusae* in Taeniam from different origins by HPLC coupled with chemometrics [J]. *Chin Tradit Herb Drugs*, 2022, 53 (3): 853
- [18] 冯飞,许金国,严国俊,等. 基于UPLC特征图谱与一测多评法的人参药材质量评价研究[J]. 中国中药杂志,2022,47(13):3530
FENG F, XU JG, YAN GJ, *et al.* Quality evaluation of Ginseng Radix et Rhizoma based on UPLC characteristic chromatogram and quantitative analysis of multi-components by single marker (QAMS) [J]. *China J Chin Mater Med*, 2022, 47 (13): 3530

(本文于2023年9月14日收到)