

基于 HPLC 指纹图谱结合多成分含量测定和化学模式识别的大山楂丸质量评价

李运¹, 王苗², 刘晓玲², 许晓辉¹, 马海棠², 戚鹏飞¹, 邱国玉³, 程显隆^{4*} (1. 兰州市食品药品检验检测研究院, 兰州 730050; 2. 甘肃中医药大学药学院, 兰州 730000; 3. 甘肃药业集团科技创新研究院有限公司, 兰州 730000; 4. 中国食品药品检定研究院, 北京 100050)

摘要:目的 建立大山楂丸(Dashanzha Pills, DSZP)的高效液相色谱(HPLC)指纹图谱及5种指标性成分的含量测定方法,并结合化学模式识别法对其质量进行评价。方法 分析采用 Eclipse Plus C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm), 柱温 30 °C; 以乙腈-0.1% 甲酸水溶液为流动相进行梯度洗脱, 流速 1.0 mL·min⁻¹, 检测波长 250 nm, 进样量 10 μL。基于 51 批次 DSZP 样本建立指纹图谱, 指认了 5 种指标性成分, 并对其进行了定量测定, 结合聚类分析、主成分分析(principle component analysis, PCA)、正交偏最小二乘判别分析(orthogonal partial least squares-discriminant analysis, OPLS-DA)等模式识别方法对 DSZP 进行综合分析。结果 建立了 DSZP 指纹图谱, 共标定了 16 个共有峰, 并指认了 5 个化学成分, 分别为绿原酸(5 号峰)、香草酸(6 号峰)、金丝桃苷(7 号峰)、异绿原酸 B(9 号峰)、异绿原酸 A(10 号峰); 含量测定 5 种指标性成分的线性关系良好($r > 0.998$), 加标回收率在 96.27%~109.35%, RSD 在 2.83%~4.07%。绿原酸、香草酸、金丝桃苷、异绿原酸 B、异绿原酸 A 的含量分别在 0.047 2~0.227 0、0.009 7~0.036 2、0.023 0~0.370 2、0.006 4~0.0632 和 0.021 7~0.064 5 mg·g⁻¹ 之间。除厂家 Q2 外, 其余厂家样品含量在各自均值的±30%, 表明不同企业间的产品质量存在一定差异。化学模式识别结果提示, 所有样品大致可分为两类, 表明企业内的制备工艺较稳定, 但企业间存在一定差异。筛选得到的样品差异标志物中包括指标成分绿原酸、金丝桃苷和异绿原酸 B。结论 该定量方法准确、快速, 可行性较高, 结合化学模式识别可为 DSZP 的质量进行综合评价。

关键词: 大山楂丸; 高效液相色谱指纹图谱; 化学模式识别; 质量控制; 金丝桃苷; 异绿原酸 B

doi:10.11669/cpj.2024.24.010 中图分类号:R917 文献标志码:A 文章编号:1001-2494(2024)24-2372-12

Quality Evaluation of Dashanzha Pills Based on HPLC Fingerprint and Multi-Component Analysis Combined with Chemical Pattern Recognition

LI Yun¹, WANG Miao², LIU Xiaoling², XU Xiaohui¹, MA Haitang², QI Pengfei¹, QIU Guoyu³, CHENG Xian-long^{4*} (1. Lanzhou Institute for Food and Drug Control, Lanzhou 730050, China; 2. College of Pharmacy, Gansu University of Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China; 3. Gansu Pharmaceutical Group Science and Technology Innovation Research Institute Co., Ltd. Lanzhou 730000, China; 4. National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 100050, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish the HPLC fingerprints and content determination method of five index components of Dashanzha pills(DSZP), and evaluate the quality combined with chemical pattern recognition. **METHODS** The analysis was performed on an Eclipse plus C₁₈ column (4.6 mm×250 mm, 5 μm) at 30 °C. Acetonitrile-0.1% formic acid aqueous solution was used as the mobile phase for gradient elution at flow rate of 1.0 mL·min⁻¹. The detection wavelength was set at 250 nm, and the injection volume was 10 μL. Based on 51 batches of DSZP samples, the fingerprint was established, and five index components were identified and quantitatively determined. Cluster analysis, principal component analysis and orthogonal partial least squares discriminant analysis were used to comprehensively analyze 51 batches of samples. **RESULTS** The fingerprints of DSZP were established, sixteen peaks were identified, and five chemical components were identified. They were chlorogenic acid (peak 5), vanillic acid (peak 6), hyperoside (peak 7), isochlorogenic acid B (peak 9), and isochlorogenic acid A (peak 10). The linear relationship of the five index components was good ($r > 0.998$), and the recovery rate was 96.27%–109.35%, and the RSD was 2.83%–4.07%. The contents of chlorogenic acid, vanillic acid, hyperoside, isochlorogenic acid B, and isochlorogenic acid A were 0.047 2–0.227 0, 0.009 7–0.036 2,

基金项目: 甘肃省药品科研项目资助(2022GSMPA0037); 陇原青年创新创业人才项目资助(2023LQGR49); 兰州市青年科技人才创新项目资助(2023-QN-144); 兰州市科技计划项目资助(2022-2-2)

作者简介: 李运, 男, 硕士, 高级工程师 研究方向: 中药质量控制研究 * 通讯作者: 程显隆, 男, 研究员 研究方向: 中药质量控制研究 Tel: (010)67095432

0.023 0–0.370 2, 0.006 4–0.063 2 and 0.021 7–0.064 5 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$, respectively. Except for manufacturer Q2, the contents of the products from the other manufacturers samples were maintained at $(100 \pm 30)\%$ of their respective average values, and the contents of the five components of manufacturer Q2 were mostly higher than 30% of the average value of all samples, indicating that there were great differences in product quality among different enterprises. The results of chemical pattern recognition showed that all samples could be roughly divided into two categories, indicating that the preparation process was relatively stable within the enterprise, but there were some differences between enterprises. The difference markers of the screened samples included the target components chlorogenic acid, hyperoside, and isochlorogenic acid B. **CONCLUSION** The quantitative method is accurate, rapid and feasible. Combined with chemical pattern recognition method, it can be used to evaluate the quality of DSZP.

KEY WORDS: Dashanzha pill; HPLC fingerprint; chemical pattern recognition; quality control; hyperoside; isochlorogenic acid B

作为我国中医药经典名方,大山楂丸(Dashanzha pills, DSZP)由山楂、六神曲(麸炒)、炒麦芽3味药细粉与炼蜜、水等混合而成的大蜜丸,具有消食化滞、调和脾胃的作用^[1]。“性味”是中药的特有属性,反映了中药的本质特征,是中药药性理论的核心。DSZP味酸,酸味能收能涩,该类药物的物质基础多以有机酸类为主。DSZP与复方消化酶对于肠胃消化功能的恢复均有促进作用,且相比于复方消化酶,DSZP具有价优质廉,安全性高的特点^[2]。山楂作为君药,又富含黄酮类成分,具有多种现代药理作用^[3-4]。在《中国药典》2020年版基础上,目前DSZP的质量控制多以单个成分的含量测定为主,且时间较久远^[5-6],缺乏系统性控制。当前药典中对DSZP的检测项目主要有性状、鉴别、检查、含量测定,从近年来国家药品评价抽检情况来看,中成药质量状况易受生产投料原料质量、工艺等的影响,导致部分中成药出现一些质量问题^[7-9]。DSZP的安全性较好,受众人群众广,需求量大,生产企业多,不同厂家、不同批次间的质量是否存在差异及整体质量如何尚无文献报道。故本文结合前期研究基础,基于中成药整体质量控制的理念,建立DSZP的指纹图谱,并对绿原酸、香草酸、金丝桃苷、异绿原酸B、异绿原酸A等5种指标性成分进行含量测定,借助化学模式识别方法对多批次DSZP进行全面质量特征分析,旨在为其质量控制提供参考。

1 材料

1.1 仪器

Waters e2695液相色谱仪(美国Waters公司);调温型电热套(北京科伟永兴仪器有限公司);XSE205DU型电子天平(瑞士梅特勒-托利多公司);节能型智能恒温槽(宁波新芝生物科技股份有限公司);Centrifuge 5810R型离心机(艾本德公司);旋转蒸发仪(IKA公司)。

1.2 试剂

绿原酸(批号RDD-L00701908029,纯度98%,成都瑞芬思德丹生物科技有限公司);香草酸(批号:110722-201815,纯度:91.7%);金丝桃苷(批号:111521-201809,纯度:94.9%)(中国食品药品检定研究院);异绿原酸A(批号:7867,纯度:98%);异绿原酸B(批号:3089,纯度:98%)(上海诗丹德标准技术服务有限公司)。乙腈、甲醇均为色谱纯,纯化水为屈臣氏,其他试剂均为分析纯。

1.3 样品

DSZP均为市售样品,购自11个厂家51批次样品,样品来源信息见表1。

2 方法与结果

2.1 溶液的制备

2.1.1 对照品溶液的制备 精密称取绿原酸、香草酸、金丝桃苷、异绿原酸B、异绿原酸A等对照品适量,分别于10 mL量瓶中,甲醇溶解并定容,制得绿原酸、香草酸、金丝桃苷、异绿原酸B、异绿原酸A质量浓度为1.025 1、1.074 7、0.918 6、1.010 4、0.973 1 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的单一对照品溶液。精密吸取上述单一对照品溶液各适量,甲醇定容5 mL量瓶,得到绿原酸、香草酸、金丝桃苷、异绿原酸B、异绿原酸A质量浓度分别为82.000 0、10.747 0、36.744 0、16.166 4、27.246 8 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的混合对照品溶液,于4 $^{\circ}\text{C}$ 条件下保存,备用。

2.1.2 供试品溶液制备 取样品适量,剪碎,称取2 g,与硅藻土等比例混合后研成粉末。精密称定粉末2 g(精确至0.001 g),置于150 mL锥形瓶中,精密量取甲醇溶液25 mL,称量,加热回流提取1 h,静置放冷后再次称重,用甲醇溶液补足,离心(8 000 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$, 5 min)后取出上清液,60 $^{\circ}\text{C}$ 减压浓缩,浓缩液转移至5 mL量瓶,甲醇少量多次冲洗,洗涤液一并转移至量瓶,甲醇定容至刻度,摇匀后0.45 μm 有机微孔滤膜过滤,取续滤液即得。

表 1 大山楂丸(DSZP)样品信息

Tab. 1 Sample information of DSZP

No.	Enterprise	Batch number	Source (in Chinese)	No.	Enterprise	Batch number	Source (in Chinese)	
H1	Q1	19015202	Lanzhou(兰州)	H27	Q5	20221223	Tianjin(天津)	
H2		22015043	Xingtai(邢台)	H28		20230226	Changchun(长春)	
H3		22015056	Beijing(北京)	H29		20230334	Shanghai(上海)	
H4		22015090	Xi'an(西安)	H30		20230343	Shijiazhuang(石家庄)	
H5		22015091	Xingtai(邢台)	H31		20230501	Jinan(济南)	
H6		21015100	Chengdu(成都)	H32		20230504	Yichun(宜春)	
H7		22015148	Taiyuan(太原)	H33		20230507	Haerbin(哈尔滨)	
H8		22015149	Luohe(洛阳)	H34		Q6	121010	Tianjin(天津)
H9		22015150	Zhengzhou(郑州)	H35			122003	Shouzhou(朔州)
H10		22015151	Beijing(北京)	H36			123002	Taiyuan(太原)
H11	21015187	Chongqing(重庆)	H37	Q7	2220305	Fuyang(阜阳)		
H12	21015395	Qingdao(青岛)	H38		2220305	Fuyang(阜阳)		
H13	Q2	131065	Jinan(济南)	H39		2220902	Beijing(北京)	
H14		131065	Changsha(长沙)	H40	Q8	20210680	Mianyang(绵阳)	
H15		131069	Fuyang(阜阳)	H41		20210680	Zhengzhou(郑州)	
H16		131069	Heze(菏泽)	H42		20220102	Changzhi(长治)	
H17		131069	Yichun(宜春)	H43	Q9	220401	Zhengzhou(郑州)	
H18		131070	Dezhou(德州)	H44		230501	Zhengzhou(郑州)	
H19		Q3	210401	Changchun(长春)	H45		230501	Kaifeng(开封)
H20	211201		Handan(邯郸)	H46	Q10	WJ21056	Haerbin(哈尔滨)	
H21	220701		Anshan(鞍山)	H47		WJ21057	Zhengzhou(郑州)	
H22		220701	Yichun(宜春)	H48		WJ22115	Chengdu(成都)	
H23	Q4	20220572	Chaoyang(朝阳)	H49	Q11	20211217	Kunming(昆明)	
H24		20221221	Hengyang(衡阳)	H50		20230638	Shaoguan(韶关)	
H25		20230411	Guangzhou(广州)	H51		20230638	Shaoguan(韶关)	
H26		20230412	Wuhan(武汉)					

2.1.3 阴性样品溶液制备 DSZP 由山楂、麸炒六神曲、炒麦芽等 3 味药组方而成,《中国药典》2020 年版收载 DSZP 项下制法为 3 种粉末直接与炼蜜等混合制成,故在阴性试验中与供试品溶液制备方法保持一致,分别制得山楂、麸炒六神曲、炒麦芽的单一样品溶液。

2.2 色谱条件

采用 Agilent 公司 Eclipse Plus C₁₈ 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-0.1% 甲酸水溶液, 梯度洗脱: 0 ~ 5 min, 5% ~ 6% 乙腈; 5 ~ 12 min, 6% ~ 12% 乙腈; 12 ~ 20 min, 12% ~ 15% 乙腈; 20 ~ 26 min, 15% ~ 19% 乙腈; 26 ~ 40 min, 19% ~ 33% 乙腈; 40 ~ 55 min, 33% ~ 55% 乙腈; 55 ~ 60 min, 55% ~ 75% 乙腈; 60 ~ 65 min, 75% ~ 90% 乙腈; 65 ~ 70 min, 90% ~ 5% 乙腈 70 ~ 72 min, 5% 乙腈; 流速: 1.0 mL · min⁻¹, 检测波长: 250 nm, 柱温: 30 °C, 进样量: 10 μL。

2.3 指纹图谱研究

2.3.1 精密度试验 取 DSZP (编号 H4), 按“2.1.2”项下方法进行供试品溶液的制备, 按

“2.2”项下色谱条件连续进样 6 次, 以 5 号峰(绿原酸)为参照峰, 测得各共有峰相对保留时间及相对峰面积的相对标准偏差 (RSD) 值, 均小于 3.0%, 表明仪器精密度良好。

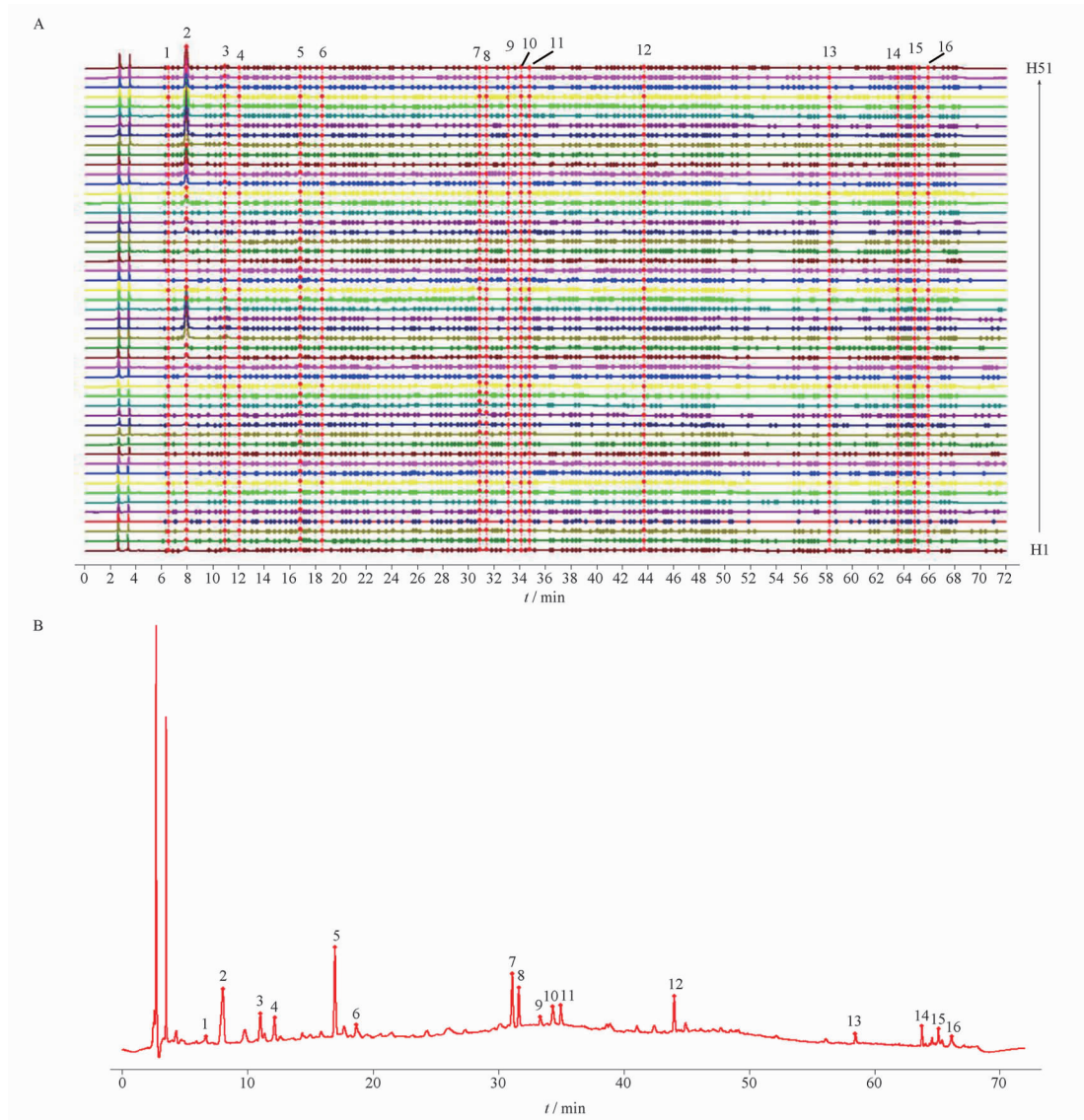
2.3.2 重复性试验 取 DSZP (编号 H4) 平行 6 份, 精密称定, 按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液, 在“2.2”项下色谱条件进样测定, 记录各色谱图。以 5 号峰(绿原酸)为参照峰, 测得各共有峰相对保留时间及相对峰面积的 RSD 值, 均小于 3.0%, 表明该方法重复性好。

2.3.3 稳定性试验 取 DSZP (编号 H4), 按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液, 在“2.2”项下色谱条件下, 分别于 0、2、4、8、12、24 h 测定, 记录各色谱图。以 5 号峰(绿原酸)为参照峰, 测得各共有峰相对保留时间及相对峰面积的 RSD 值, 均小于 3.0%, 表明供试品溶液于 24 h 内测定结果稳定。

2.3.4 对照指纹图谱的建立及相似度评价 取 11 个厂家产 DSZP 51 批样品, 按“2.1.2”项下方法进行供试品溶液的制备, 按“2.2”项下色谱条件采集色谱数据, 对各色谱图进行积分后, 导出 AIA 格式

的文件,分别将其导入《中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012.130723 版本)》进行处理,将其他样品的色谱峰与参照图谱进行自动匹配,生成 DSZP 叠加图谱及对照图谱,见图 1。设定 H4 为参照图谱,时间窗宽度设定为 0.2 min,采用中位数法,进行全谱峰匹配,生成 DSZP 对照指纹图谱。共标定出 16 个共有峰,其中 5 号峰(绿原酸)稳定性好,色谱

响应高,保留时间适中,故选择该色谱峰为参照峰(S),计算得 51 批 DSZP 指纹图谱相似度。结果表明,Q1 ~ Q11 11 个厂家生产 DSZP 的相似度分别为:0.919 ~ 1.000、0.829 ~ 0.958、0.920 ~ 0.980、0.653 ~ 0.676、0.872 ~ 0.982、0.866 ~ 0.889、0.709 ~ 0.839、0.713 ~ 0.740、0.641 ~ 0.647、0.633 ~ 0.636、0.657 ~ 0.671。



5 - 绿原酸;6 - 香草酸;7 - 金丝桃苷;9 - 异绿原酸 B;10 - 异绿原酸 A;其他峰未确认。

5 - chlorogenic acid;6 - vanillic acid;7 - hyperoside;9 - isochlorogenic acid B;10 - isochlorogenic acid A; Other peaks unconfirmed.

图 1 51 批 DSZP 的指纹图谱(A)和对照指纹图谱(B)

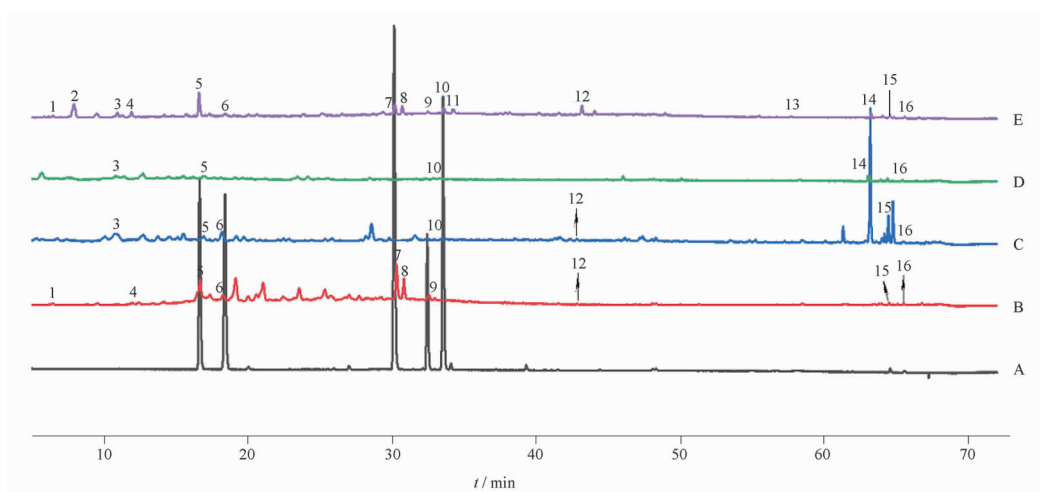
Fig. 1 HPLC fingerprint of 51 batches of DSZP(A) and reference (B)

2.3.5 色谱峰归属及指认 精密吸取“2.1”项下各溶液,按“2.2”项下色谱条件进样分析,与指纹图谱共有峰进行对比。结果 16 个共有峰中的 13 个色谱峰分属于山楂、麸炒六神曲及炒麦芽,

其余 3 个保留时间分别为 7.97 min(2 号峰)、34.71 min(11 号峰)、58.24 min(13 号峰)的色谱峰未能归属。

经与对照品比较指认了 5 个色谱峰,分别为绿原

酸(5号峰)、香草酸(6号峰)、金丝桃苷(7号峰)、异绿原酸 B(9号峰)、异绿原酸 A(10号峰),见图2。



A - 混合对照品; B - 山楂; C - 麸炒六神曲; D - 炒麦芽; E - 样品; 5 - 绿原酸; 6 - 香草酸; 7 - 金丝桃苷; 9 - 异绿原酸 B; 10 - 异绿原酸 A。

A - mixed reference substances; B - Crataegi Fructus; C - roasted of Liushenqu; D - roasted of Hordei Fructus Germinatus; E - sample; 5 - Chlorogenic acid; 6 - Vanillic acid; 7 - Hyperoside; 9 - Isochlorogenic acid B; 10 - Isochlorogenic acid A.

图2 DSZP 样品 HPLC 指纹图谱色谱峰归属图

Fig. 2 Chromatographic peak attribution of HPLC fingerprints of DSZP samples

2.4 含量测定研究

2.4.1 专属性考察 取“2.1”项下3种溶液,在“2.2”色谱条件下进样,记录色谱图,目标成分均达到基线分离,可见供试品呈现与对照品保留时间一致的色谱峰。在阴性样品色谱图中,绿原酸、香草酸在3味药材中均可检测到,除此之外,山楂中可测到金丝桃苷和异绿原酸 B,麸炒六神曲中可测到异绿原酸 A 和异绿原酸 B,麦芽中可测到异绿原酸 A,且炒麦芽和麸炒六神曲中整体色谱峰的响应值较低,具体见图3。

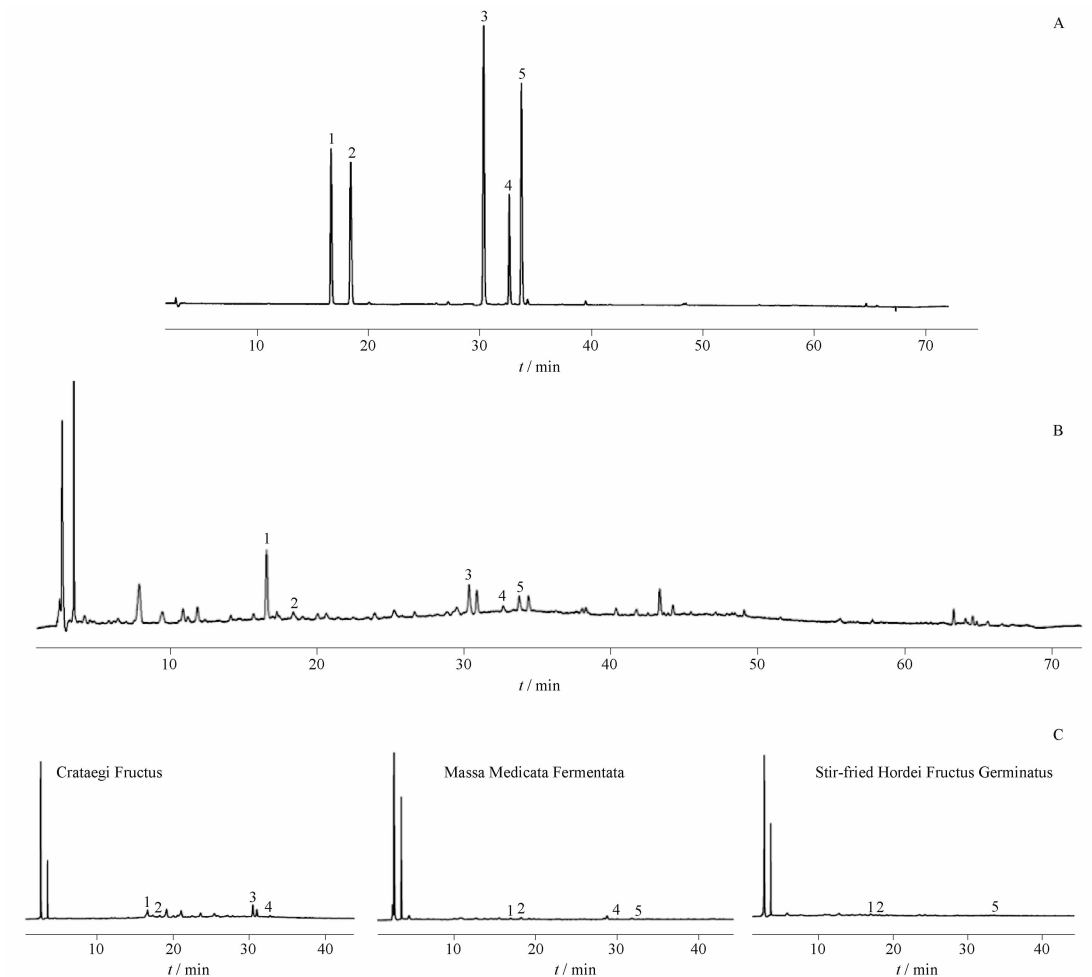
2.4.2 线性关系 分别吸取“2.1.1”项下混合对照品溶液 0.1、0.2、0.4、0.8、1.2、1.6 mL,分别置于 2 mL 量瓶中,用甲醇定容至刻度,摇匀,配制成梯度浓度的混合对照品溶液,按照“2.2”项下色谱条件测定。以对照品溶液质量浓度($X, \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)为横坐标,峰面积(Y)为纵坐标进行标准曲线绘制,见表2。

2.4.3 方法学考察 按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液,依“2.2”项下色谱条件,连续进样6次,结果绿原酸、香草酸、金丝桃苷、异绿原酸 B、异绿原酸 A 峰面积的 RSD 均 < 3%,表明仪器精密度高。精密称取样品(编号:H4),按“2.1.2”项下方法平行制备6份溶液,按“2.2”项下色谱条件分别进样测定,绿原酸、香草酸、金丝桃苷、异绿原酸 B、异绿原酸 A 的平均含量分别为 0.163 0、0.019 7、0.116 3、0.018 6、0.035 7 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$,RSD 均 < 3%,结果表明,

该方法重复性良好。精密称取样品(编号:H4),按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液,按“2.2”项下色谱条件,分别于 0、2、4、8、12、24 h 测定,结果绿原酸、香草酸、金丝桃苷、异绿原酸 B、异绿原酸 A 峰面积的 RSD 均 < 3%,结果表明,该方法在 24 h 内稳定性良好。

2.4.4 加样回收率试验 精密称取样品(编号:H4) 0.5 g,平行6份,分别按 1:1 加入对照品溶液,在“2.1.2”项下方法制备供试品溶液,进样分析,计算回收率,结果绿原酸、香草酸、金丝桃苷、异绿原酸 B、异绿原酸 A 平均加样回收率($n = 6$)分别为 98.09%、107.15%、109.35%、96.27%、105.27%,RSD 值均小于 4.5%,结果见表3。

2.4.5 样品测定 对 51 批大山楂丸按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液,平行3份,在“2.2”项下色谱条件进样分析,见表4。结果显示,所有样品中绿原酸的均值为 0.133 0 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$,香草酸均值为 0.021 1 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$,金丝桃苷均值为 0.118 4 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$,异绿原酸 B 均值为 0.023 3 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$,异绿原酸 A 均值为 0.041 0 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$,多个企业的目标化合物明显超出所有样品均值 $\pm 30\%$,表明企业间的产品质量存在较大差异,单一投料药材对 DSZP 整体质量的影响有待进一步的深入研究;Q2 企业中所有目标成分含量均不同程度超出所有样品均值 $\pm 30\%$,为进一步突出含量差异,利用 Origin 21 制作含量雷达图,见图4。



A - 混合对照品; B - 样品; C - 阴性样品; 1 - 绿原酸; 2 - 香草酸; 3 - 金丝桃苷; 4 - 异绿原酸 B; 5 - 异绿原酸 A。

A - Mixed control; B - Sample; C - Negative sample; 1 - Chlorogenic acid; 2 - Vanillic acid; 3 - Hyperoside; 4 - Isochlorogenic acid B; 5 - Isochlorogenic acid A.

图3 DSZP 色谱图

Fig. 3 Chromatograms of DSZP

表2 DSZP 样品中各成分的线性范围、回归方程及相关系数

Tab. 2 Linear ranges, regression equations and correlation coefficients for each component in DSZP samples

Component	Regression equation	Linearity range/ $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	<i>r</i>
Chlorogenic acid	$Y = 1.21 \times 10^4 X - 2.35 \times 10^4$	4.10 - 65.60	0.998 9
Vanillic acid	$Y = 2.15 \times 10^4 X - 1.98 \times 10^3$	0.54 - 8.60	0.998 0
Hyperoside	$Y = 8.47 \times 10^3 X - 2.87 \times 10^3$	1.84 - 29.40	0.999 0
Isochlorogenic acid B	$Y = 1.43 \times 10^4 X - 2.78 \times 10^3$	0.81 - 12.93	0.998 9
Isochlorogenic acid A	$Y = 1.62 \times 10^4 X - 8.87 \times 10^3$	1.36 - 21.80	0.999 1

表3 DSZP 样品中各成分加样回收率试验结果

Tab. 3 Results of spiked sample recovery test in DSZP samples

Component	<i>m</i> (Original)/ μg	<i>m</i> (Sample)/g	<i>m</i> (Added)/ μg	<i>m</i> (Measured)/ μg	Recovery/%	Average recovery/%	RSD/%
Chlorogenic acid	81.822 2	0.502 0	82.000 0	157.011 9	91.69	98.09	4.07
	82.474 2	0.506 0	82.000 0	162.548 3	97.65		
	81.659 2	0.501 0	82.000 0	160.455 4	96.09		
	82.148 2	0.504 0	82.000 0	163.511 8	99.22		
	81.903 7	0.502 5	82.000 0	166.584 9	103.27		
Vanillic acid	81.985 2	0.503 0	82.000 0	164.485 6	100.61	107.15	3.69
	9.866 9	0.502 0	9.672 3	20.334 6	108.22		
	9.945 5	0.506 0	9.672 3	20.425 0	108.35		

续表 3(continued)

Component	$m(\text{Original})/\mu\text{g}$	$m(\text{Sample})/\text{g}$	$m(\text{Added})/\mu\text{g}$	$m(\text{Measured})/\mu\text{g}$	Recovery/%	Average recovery/%	RSD/%
Hyperoside	9.847 2	0.501 0	9.672 3	20.126 3	106.27	109.35	3.65
	9.906 2	0.504 0	9.672 3	20.575 9	110.31		
	9.876 7	0.502 5	9.672 3	20.524 5	110.08		
	9.886 5	0.503 0	9.672 3	19.524 2	99.64		
	58.402 9	0.502 0	57.871 8	122.516 4	110.79		
	58.868 2	0.506 0	57.871 8	118.429 6	102.92		
	58.286 5	0.501 0	57.871 8	124.197 1	113.89		
	58.635 5	0.504 0	57.871 8	120.332 2	106.61		
Isochlorogenic acid B	58.461 0	0.502 5	57.871 8	121.960 2	109.72	96.27	3.92
	58.519 2	0.503 0	57.871 8	123.426 4	112.16		
	9.323 1	0.502 0	9.382 5	18.202 4	94.64		
	9.397 3	0.506 0	9.382 5	18.978 0	102.11		
	9.304 5	0.501 0	9.382 5	18.338 6	96.29		
	9.360 2	0.504 0	9.382 5	17.867 5	90.67		
Isochlorogenic acid A	9.332 3	0.502 5	9.382 5	18.528 1	98.01	105.27	2.83
	9.341 6	0.503 0	9.382 5	18.337 8	95.88		
	17.902 5	0.502 0	17.351 5	36.739 2	108.56		
	18.045 1	0.506 0	17.351 5	35.629 9	101.34		
	17.866 8	0.501 0	17.351 5	36.405 2	106.84		
	17.973 8	0.504 0	17.351 5	36.718 2	108.03		
	17.920 3	0.502 5	17.351 5	35.735 6	102.67		
17.938 2	0.503 0	17.351 5	36.010 0	104.15			

表 4 51 批 DSZP 样品中 5 种成分含量测定结果。n=3, mg · g⁻¹Tab. 4 Determination results of five components in 51 batches of DSZP samples. n=3, mg · g⁻¹

No.	Chlorogenic acid	Vanillic acid	Hyperoside	Isochlorogenic acid B	Isochlorogenic acid A	No.	Chlorogenic acid	Vanillic acid	Hyperoside	Isochlorogenic acid B	Isochlorogenic acid A
H1	0.104 2	0.024 1	0.097 6	0.020 5	0.039 7	H27	0.147 1	0.019 2	0.127 3	0.031 5	0.053 8
H2	0.153 4	0.021 7	0.145 7	0.035 0	0.047 5	H28	0.199 2	0.023 0	0.120 8	0.026 0	0.046 4
H3	0.156 0	0.023 4	0.129 5	0.026 9	0.043 1	H29	0.205 9	0.028 2	0.146 8	0.039 7	0.055 0
H4	0.152 2	0.021 7	0.121 1	0.021 5	0.032 9	H30	0.193 6	0.036 2	0.162 4	0.027 1	0.045 8
H5	0.154 1	0.021 7	0.118 7	0.025 7	0.044 3	H31	0.205 6	0.031 9	0.174 1	0.041 4	0.058 3
H6	0.094 5	0.018 6	0.078 7	0.013 3	0.028 9	H32	0.178 2	0.022 1	0.132 6	0.027 3	0.042 4
H7	0.148 0	0.023 4	0.134 7	0.023 9	0.038 2	H33	0.206 0	0.034 6	0.163 4	0.021 7	0.040 1
H8	0.149 1	0.022 7	0.145 2	0.039 3	0.044 6	H34	0.085 8	0.016 5	0.113 4	0.021 4	0.030 1
H9	0.148 6	0.021 7	0.133 9	0.036 7	0.050 6	H35	0.088 1	0.014 9	0.106 3	0.020 6	0.026 0
H10	0.154 4	0.023 1	0.139 0	0.026 4	0.038 3	H36	0.173 8	0.029 0	0.133 5	0.020 2	0.033 2
H11	0.118 2	0.016 7	0.100 8	0.014 8	0.027 4	H37	0.129 7	0.019 6	0.078 3	0.014 6	0.047 3
H12	0.184 1	0.023 7	0.113 6	0.025 1	0.043 0	H38	0.130 0	0.019 2	0.085 2	0.026 4	0.064 5
H13	0.227 0	0.023 2	0.226 1	0.034 3	0.021 7	H39	0.053 6	0.014 5	0.098 7	0.017 6	0.046 4
H14	0.189 4	0.019 2	0.214 4	0.032 9	0.022 4	H40	0.122 8	0.011 7	0.060 1	0.015 6	0.034 1
H15	0.205 9	0.031 0	0.370 2	0.063 2	0.037 1	H41	0.118 9	0.012 2	0.056 9	0.013 3	0.027 2
H16	0.200 8	0.021 3	0.353 9	0.057 0	0.029 3	H42	0.097 1	0.009 7	0.097 5	0.018 1	0.026 7
H17	0.192 6	0.021 9	0.341 4	0.057 6	0.037 9	H43	0.093 3	0.013 3	0.023 0	0.006 6	0.041 4
H18	0.206 9	0.031 4	0.363 6	0.057 3	0.033 0	H44	0.081 0	0.012 1	0.028 9	0.009 6	0.042 1
H19	0.135 2	0.016 9	0.110 7	0.017 8	0.035 9	H45	0.084 7	0.015 5	0.032 7	0.011 1	0.043 8
H20	0.121 9	0.021 0	0.109 7	0.020 7	0.037 6	H46	0.077 5	0.018 3	0.031 2	0.017 9	0.056 8
H21	0.135 7	0.021 3	0.104 9	0.026 4	0.045 3	H47	0.067 9	0.016 8	0.032 3	0.016 6	0.047 1
H22	0.131 4	0.021 5	0.088 9	0.020 2	0.040 0	H48	0.063 5	0.019 6	0.036 7	0.014 8	0.056 4
H23	0.133 5	0.022 7	0.026 2	0.009 6	0.042 4	H49	0.053 8	0.018 0	0.036 4	0.009 1	0.043 5
H24	0.117 2	0.023 9	0.027 8	0.010 5	0.041 5	H50	0.047 2	0.016 9	0.035 5	0.006 4	0.053 8
H25	0.116 9	0.018 8	0.038 0	0.010 8	0.049 8	H51	0.056 4	0.018 4	0.034 0	0.006 5	0.053 0
H26	0.118 0	0.018 1	0.042 1	0.008 7	0.043 1						

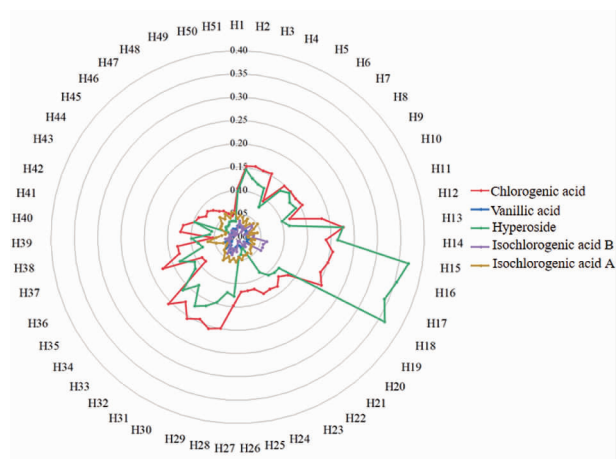


图4 DSZP 样品中 5 种成分的含量雷达图

Fig. 4 Radar chart of the five components in DSZP samples

3 化学模式识别研究

3.1 聚类分析

对 51 批样品进行共有峰指认,得到 16 个共有峰,以绿原酸为参照峰,得到共有峰的相对保留时间,见表 5。以此共有峰峰面积为原始数据,用 SPSS 25 进行聚类分析,具体见图 5。可知,当组间距离为 20 时,所有样品可分为两类,Q1、Q3 ~ Q13 聚为一类,Q2 单独聚为一类。表明被区分后的两类样品各自相似性较大,Q2 与其余厂家样品的差异性显著。

3.2 主成分分析(PCA)

以 51 批样品的 16 个共有峰峰面积为变量进行最基本的降维分析(PCA),导入 SPSS 25.0 软件,以特征值 > 1 为提取标准^[10],得到 4 个主成分

表 5 51 批 DSZP 样品中共有峰相对保留时间。min

Tab. 5 Relative retention time of common peaks in 51 batches of DSZP samples. min

Batch No.	t1	t2	t3	t4	t5	t6	t7	t8	t9	t10	t11	t12	t13	t14	t15	t16
H1	0.394	0.472	0.647	0.715	1.000	1.101	1.846	1.876	1.977	2.035	2.072	2.605	3.454	3.766	3.842	3.904
H2	0.393	0.474	0.650	0.719	1.000	1.100	1.828	1.858	1.958	2.016	2.053	2.580	3.424	3.734	3.809	3.871
H3	0.394	0.473	0.649	0.714	1.000	1.100	1.838	1.868	1.969	2.027	2.065	2.597	3.452	3.767	3.843	3.906
H4	0.392	0.471	0.648	0.716	1.000	1.101	1.834	1.865	1.966	2.025	2.062	2.596	3.452	3.767	3.843	3.905
H5	0.391	0.472	0.648	0.716	1.000	1.100	1.832	1.863	1.963	2.023	2.060	2.594	3.450	3.764	3.840	3.904
H6	0.391	0.472	0.649	0.716	1.000	1.100	1.832	1.864	1.965	2.025	2.063	2.595	3.452	3.767	3.844	3.906
H7	0.391	0.471	0.648	0.716	1.000	1.100	1.831	1.861	1.962	2.023	2.060	2.592	3.445	3.758	3.834	3.898
H8	0.393	0.472	0.650	0.716	1.000	1.100	1.835	1.866	1.969	2.027	2.065	2.596	3.451	3.765	3.841	3.904
H9	0.394	0.473	0.650	0.719	1.000	1.101	1.831	1.861	1.962	2.021	2.059	2.589	3.443	3.757	3.833	3.898
H10	0.389	0.467	0.647	0.714	1.000	1.101	1.834	1.864	1.966	2.026	2.064	2.599	3.454	3.771	3.847	3.912
H11	0.385	0.469	0.647	0.715	1.000	1.102	1.838	1.869	1.973	2.032	2.070	2.610	3.467	3.784	3.861	3.925
H12	0.389	0.469	0.647	0.714	1.000	1.101	1.833	1.863	1.965	2.024	2.062	2.594	3.447	3.759	3.836	3.899
H13	0.386	0.466	0.649	0.713	1.000	1.101	1.844	1.875	1.979	2.038	2.078	2.620	3.486	3.804	3.882	3.946
H14	0.386	0.469	0.648	0.711	1.000	1.102	1.849	1.880	1.985	2.044	2.082	2.622	3.482	3.800	3.879	3.942
H15	0.386	0.466	0.649	0.713	1.000	1.101	1.842	1.873	1.978	2.039	2.077	2.616	3.484	3.798	3.877	3.940
H16	0.389	0.463	0.647	0.714	1.000	1.101	1.836	1.867	1.970	2.028	2.066	2.602	3.458	3.774	3.851	3.914
H17	0.391	0.468	0.648	0.714	1.000	1.102	1.838	1.870	1.974	2.035	2.071	2.611	3.474	3.789	3.868	3.931
H18	0.398	0.473	0.662	0.732	1.000	1.121	1.863	1.894	1.998	2.057	2.096	2.636	3.500	3.818	3.897	3.962
H19	0.389	0.472	0.648	0.716	1.000	1.099	1.826	1.856	1.959	2.019	2.056	2.588	3.445	3.762	3.838	3.899
H20	0.393	0.475	0.654	0.720	1.000	1.104	1.839	1.870	1.972	2.032	2.070	2.600	3.458	3.775	3.852	3.914
H21	0.395	0.476	0.653	0.719	1.000	1.103	1.841	1.872	1.975	2.034	2.071	2.608	3.468	3.787	3.864	3.926
H22	0.388	0.473	0.651	0.717	1.000	1.103	1.834	1.864	1.968	2.027	2.064	2.597	3.456	3.775	3.851	3.914
H23	0.390	0.474	0.653	0.719	1.000	1.102	1.834	1.865	1.964	2.025	2.064	2.598	3.453	3.772	3.849	3.912
H24	0.391	0.474	0.652	0.718	1.000	1.103	1.832	1.864	1.967	2.025	2.062	2.596	3.452	3.770	3.846	3.909
H25	0.390	0.474	0.654	0.720	1.000	1.102	1.827	1.857	1.961	2.019	2.058	2.588	3.441	3.757	3.834	3.898
H26	0.390	0.474	0.654	0.721	1.000	1.103	1.832	1.863	1.962	2.023	2.060	2.594	3.452	3.769	3.846	3.908
H27	0.391	0.475	0.653	0.717	1.000	1.103	1.830	1.861	1.964	2.025	2.063	2.600	3.463	3.791	3.867	3.927
H28	0.390	0.475	0.653	0.716	1.000	1.103	1.833	1.864	1.968	2.029	2.067	2.604	3.469	3.798	3.874	3.936
H29	0.389	0.474	0.654	0.718	1.000	1.101	1.832	1.863	1.969	2.029	2.067	2.607	3.471	3.802	3.879	3.942
H30	0.390	0.474	0.654	0.718	1.000	1.101	1.834	1.865	1.970	2.031	2.069	2.607	3.472	3.803	3.880	3.943
H31	0.389	0.474	0.652	0.717	1.000	1.101	1.831	1.862	1.965	2.026	2.064	2.599	3.459	3.788	3.863	3.923
H32	0.389	0.473	0.650	0.716	1.000	1.101	1.831	1.862	1.965	2.026	2.064	2.599	3.461	3.790	3.867	3.930
H33	0.389	0.474	0.653	0.719	1.000	1.101	1.829	1.860	1.962	2.023	2.061	2.593	3.451	3.778	3.853	3.915
H34	0.389	0.474	0.652	0.713	1.000	1.103	1.835	1.866	1.969	2.031	2.068	2.603	3.464	3.794	3.870	3.932
H35	0.385	0.470	0.648	0.712	1.000	1.097	1.826	1.859	1.966	2.025	2.063	2.603	3.471	3.802	3.877	3.937
H36	0.388	0.471	0.652	0.716	1.000	1.103	1.830	1.862	1.966	2.027	2.065	2.604	3.470	3.801	3.876	3.938

续表 5 (continued)

Batch No.	<i>t</i> ₁	<i>t</i> ₂	<i>t</i> ₃	<i>t</i> ₄	<i>t</i> ₅	<i>t</i> ₆	<i>t</i> ₇	<i>t</i> ₈	<i>t</i> ₉	<i>t</i> ₁₀	<i>t</i> ₁₁	<i>t</i> ₁₂	<i>t</i> ₁₃	<i>t</i> ₁₄	<i>t</i> ₁₅	<i>t</i> ₁₆
H37	0.384	0.469	0.651	0.714	1.000	1.103	1.834	1.866	1.971	2.032	2.070	2.607	3.474	3.804	3.879	3.942
H38	0.392	0.475	0.655	0.718	1.000	1.104	1.830	1.861	1.964	2.025	2.063	2.597	3.456	3.785	3.860	3.921
H39	0.389	0.475	0.655	0.720	1.000	1.104	1.830	1.861	1.966	2.025	2.063	2.596	3.456	3.784	3.858	3.919
H40	0.391	0.475	0.656	0.719	1.000	1.103	1.828	1.859	1.962	2.023	2.060	2.593	3.451	3.776	3.852	3.914
H41	0.389	0.474	0.655	0.718	1.000	1.105	1.831	1.863	1.947	2.028	2.066	2.601	3.460	3.788	3.862	3.925
H42	0.390	0.474	0.654	0.719	1.000	1.103	1.828	1.860	1.963	2.023	2.060	2.593	3.449	3.776	3.852	3.911
H43	0.385	0.473	0.661	0.717	1.000	1.104	1.834	1.866	1.972	2.029	2.069	2.605	3.469	3.799	3.875	3.936
H44	0.388	0.474	0.661	0.718	1.000	1.104	1.831	1.862	1.973	2.028	2.066	2.602	3.464	3.792	3.870	3.930
H45	0.386	0.473	0.653	0.718	1.000	1.102	1.831	1.863	1.971	2.027	2.066	2.605	3.467	3.798	3.873	3.938
H46	0.385	0.472	0.652	0.715	1.000	1.102	1.835	1.867	1.971	2.030	2.069	2.604	3.463	3.795	3.870	3.934
H47	0.386	0.472	0.652	0.714	1.000	1.102	1.833	1.864	1.970	2.027	2.066	2.599	3.462	3.791	3.866	3.931
H48	0.385	0.472	0.652	0.717	1.000	1.102	1.835	1.866	1.973	2.028	2.068	2.603	3.464	3.792	3.867	3.933
H49	0.383	0.472	0.652	0.716	1.000	1.103	1.830	1.863	1.970	2.026	2.066	2.602	3.463	3.793	3.867	3.933
H50	0.385	0.472	0.651	0.716	1.000	1.101	1.831	1.863	1.966	2.024	2.064	2.599	3.461	3.790	3.865	3.930
H51	0.383	0.471	0.651	0.717	1.000	1.102	1.826	1.858	1.961	2.020	2.061	2.596	3.455	3.784	3.859	3.923
RSD/%	0.831	0.581	0.548	0.436	0.000	0.284	0.342	0.336	0.375	0.328	0.331	0.354	0.370	0.438	0.434	0.430

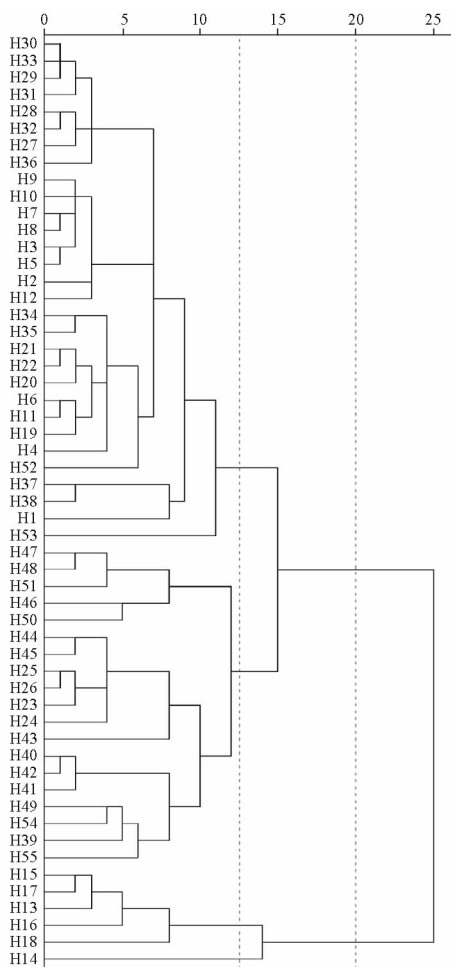


图 5 51 批 DSZP 样品聚类分析图

Fig. 5 Cluster analysis diagram of 51 batches of DSZP samples

因子,累积方差贡献率达到 75.709%,从一定程度上可为样本的质量评价提供参考依据。主成分及方差贡献率见表 6。将共有成分峰面积导入 SIMCA

14.1 软件,经分析生成得分图,见图 6,该结果与聚类分析结果基本一致。

3.3 正交偏最小二乘判别分析(OPLS-DA)

为进一步验证主成分分析结果的准确性,再次将共有成分峰面积导入 SIMCA 14.1 建立 OPLS-DA 模型,自动拟合后 R^2X 、 R^2Y 分别为 0.940 和 0.603,预测能力参数 Q^2 为 0.536,OPLS-DA 得分图见图 7,同主成分分析结果一致。为防止过拟合现象出现,随后进行 200 次的置换检验,见图 8,说明该模型稳定性较强,预测能力较好。变量重要性投影(variable importance for the projection, VIP)是筛选不同样品间差异性化合物的重要指标,VIP 值越大,对差异的影响越大。经分析后得到 16 个共有成分的 VIP 值,结果见图 9。以 VIP 值大于 1 为标准,得到 8 个变量,其中 5 号峰是绿原酸,7 号峰是金丝桃苷,9 号峰是异绿原酸 B,即导致样品差异性的主要标志物。

4 讨论

4.1 供试品溶液的制备方法考察

本研究对供试品溶液的提取方法(超声、回流)、提取时间(30 min、1 h)、提取溶剂为甲醇(体积分数 30%、50%、70%、100%)、体积分数 95% 乙醇,提取体积(10、25、50 mL)进行了系统考察。综合考虑样品的提取率、整体色谱行为、色谱峰信息的丰富情况、主要色谱峰的峰形、分离度及峰面积,环境的友好性。最终确定,当 2 g 样品中加入 25 mL 的甲醇,加热回流提取 1 h 为最佳提取条件。

4.2 指纹图谱及含量测定化学模式识别结果

本实验首次建立了 11 个生产厂家 51 批 DSZP

表6 DSZP 样品主成分特征值及方差贡献率

Tab.6 Eigenvalue and variance contribution rate of principal component of DSZP samples

Component	Initial eigenvalue			Extract the sum of squares of the load		
	Total	Variance percentage	Cumulative variance contribution rate%	Total	Variance percentage	Cumulative variance contribution rate%
1	5.716	35.725	35.725	5.716	35.725	35.725
2	3.417	21.353	57.078	3.417	21.353	57.078
3	1.519	9.493	66.572	1.519	9.493	66.572
4	1.462	9.137	75.709	1.462	9.137	75.709

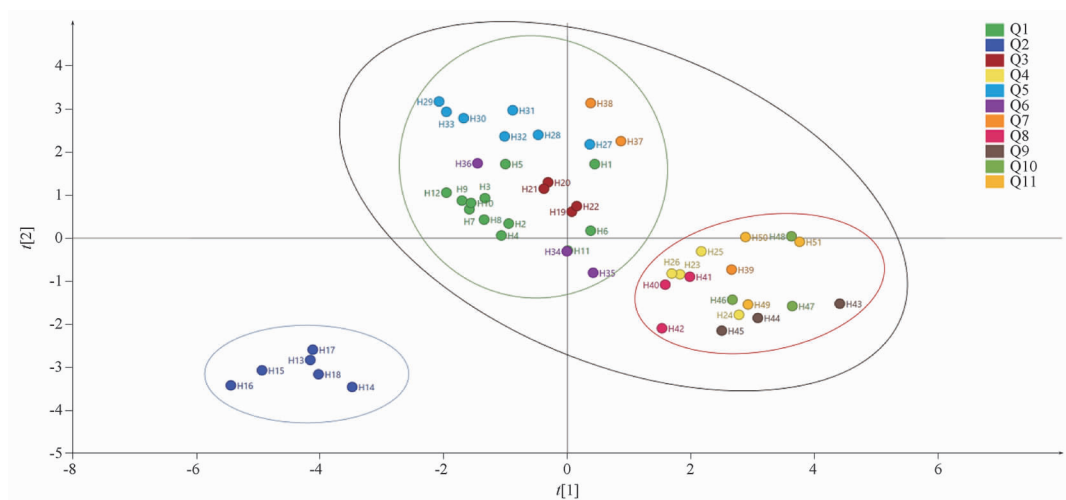


图6 51批DSZP样品的主成分得分图

Fig.6 Plot of principal component scores of 51 batches of DSZP samples

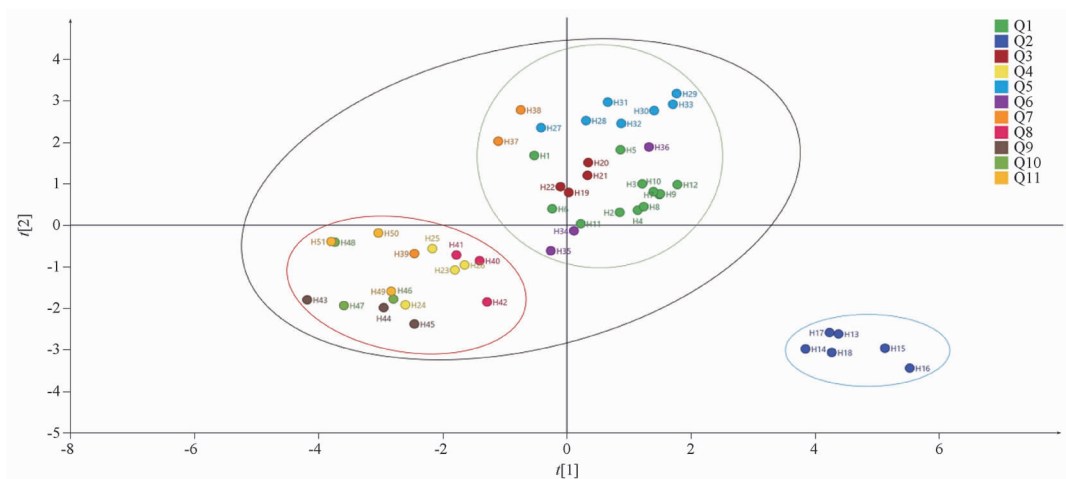


图7 51批DSZP样品正交偏最小二乘法-判别分析(OPLS-DA)得分图

Fig.7 OPLS-DA Score Chart of 51 batches of DSZP samples

的指纹图谱,能够较全面地对市售DSZP的质量状况进行评估。整体样本指纹图谱的相似度介于0.633~1.000,其中Q1、Q3两厂家产品相似度均大于0.9,接近1.0;Q2、Q5、Q6三个厂家产品相似度均大于0.8,接近0.9;Q4、Q9、Q10、Q11四个厂家产品相似度均在0.65左右,由此提示,同一厂家产品间一致性较好,不同厂家产品间存在较大差异。基

于指纹图谱的构建,可以弥补中成药质量控制指标与临床关系不紧密、“碎片化”的现象。探索中成药产品质量一致性的评价策略^[11-12],保障临床用药的安全、有效,意义重大。DSZP中指标性成分定量测定结果表明,同一厂家产DSZP中指标性成分的含量基本保持在各自均值的±30%,说明不同企业内部不同批号样品的均一性较好,生产工艺环境稳定

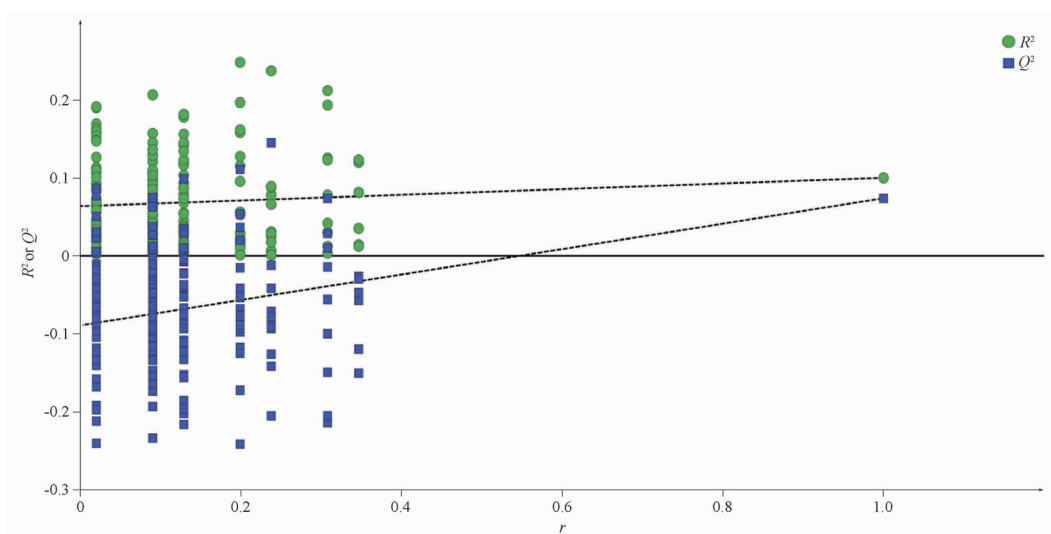


图 8 51 批 DSZP 样品 OPLS-DA 模型 200 次的置换检验图

Fig. 8 Permutation detection plot of OPLS-DA model of 51 batches of DSZP samples for 200 times

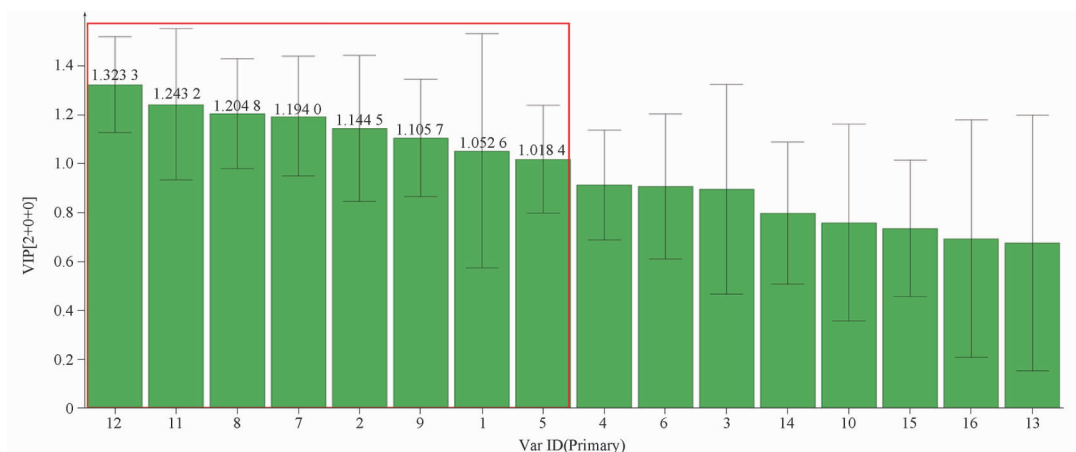


图 9 51 批 DSZP 样品变量重要性投影值 (VIP) 得分图

Fig. 9 VIP score plot of 51 batches of DSZP samples

可靠。在此基础上,厂家 Q2 的 5 种指标性成分含量显著高于所有样品均值的 $\pm 30%$,加之 16 个共有峰峰面积整体偏大,表明 Q2 厂家 DSZP 的整体质量要优于其余厂家样品,也表明不同企业间的产品质量存在较大差异,初步推测受投料原料质量状况影响较大。通过化学模式识别的方法进行更进一步的数据挖掘,聚类分析表明,当欧式距离为 15 时,所有样品大致可分为 3 类,当欧式距离为 20 时,样品可被聚为两类,其中 Q2 始终被单独聚为一类。由主成分分析得分图可知,该分析结果与聚类结果保持一致,OPLS-DA 中筛选得到 8 个影响样品间差异性原因的变量因子,其中包含定量分析的绿原酸、金丝桃苷和异绿原酸 B。这 3 个目标成分主要存在于山楂中,大山楂丸中规定山楂以生品入药,但不排除某些企业用其他炮制品代替,Luo 等^[13]研究山楂炒焦

前后 DSZP 化学成分进行分析,发现生品与焦品存在部分共有成分,其中包含绿原酸。因此,企业在生产前应严格把控投料药材的质量。

5 分析与总结

《中国药典》2020 年版收载 DSZP【鉴别】项下,对山楂、炒麦芽的部分显微特征进行了描述;通过盐酸-镁粉反应对黄酮类化合物进行了鉴别;利用 TLC 法对熊果酸进行鉴别。【含量测定】项下,采用薄层扫描法,建立了熊果酸的含量测定方法,仅对投料山楂的质量进行控制。由此可见,对于 DSZP 的质量控制手段较为单一,未能有效对投料进行全面的控制,难以反映其整体内在质量。同时,处方中六神曲的制法收载于《卫生部药品标准·中药成方制剂》^[14]《全国中药炮制规范》^[15],但全国各省地方标

准亦多有记载^[16-19],受发酵环境、终点确定等的影响,致使六神曲的品质良莠不齐,这可能是导致DSZP质量差异的重要原因,值得进一步关注。中成药通常由多味中药组方而成,物质组成复杂、多样,是其发挥药效的关键,同时也是全面的质量控制的难点。指纹图谱技术可以整体地展示被测样品的化学特征全貌,是最适合中成药整体质量控制的技术之一^[20],结合多指标成分定量测定,运用化学模式识别对测定数据进行深度挖掘表征,可进一步提升质量控制水平。

本试验建立了一种DSZP中HPLC法同时测定多成分含量方法,并结合化学计量学统计分析方法对51批样品整体进行质量评价。该方法结果可靠,准确性高,能够反映出市售DSZP的质量情况,可为山楂丸的质量标准提升提供参考。

REFERENCES

- [1] Ch. P (2020) Vol I (中国药典 2020 年版 . 一部) [S]. 2020;519-520.
- [2] LUO S J, WU J M, ZHANG X T, *et al.* Comparative study on the effect of hawthorn pill and compound digestive enzyme on promoting gastrointestinal digestion [J]. *Guangming J Chin Med* (光明中医), 2015, 30(12): 2552-2554.
- [3] REN W G, ZHANG C Y. Research progress and prediction of quality markers of Crataegi fructus [J]. *Northwest Pharm J* (西北药学杂志), 2023, 38(4): 214-220.
- [4] SHI G Y, WU W H, SHANG Q J, *et al.* Research on the Pharmacological and Health Care Application of Hawthorn [J]. *Mod Food* (现代食品), 2020(15): 126-128.
- [5] BAI X M, FU Y R, TIAN J M. Determination of oleanolic acid and ursolic acid in Dashanzha pills and fresh haw by HPLC [J]. *Chin J Hosp Pharm* (中国医院药学杂志), 2006, 26(8): 981-982.
- [6] LUO L, GUO L B, ZENG C Q. Determination of Total Flavones in Dashanzha Pills [J]. *Lishizhen Med Mater Med Res* (时珍国医国药), 2007(9): 2207-2208.
- [7] MA S C, WANG C, ZHU J, *et al.* Overall quality status of Chinese patent medicines and analysis of related problems [J]. *Chin Pharm J* (中国药学杂志), 2019, 54(17): 1369-1373.
- [8] LIU J, YU J D, ZHU J L, *et al.* Quality analysis of Chinese patent medicines based on 2008—2021 national drug sampling inspection [J]. *Mod Chin Med* (中国现代中药), 2023, 25(1): 9-14.
- [9] LIU J, ZHU J, WANG C, *et al.* Quality analysis of Chinese patent medicines based on 2022 national drug sampling and inspection [J]. *Mod Chin Med* (中国现代中药), 2023, 25(10): 2055-2060.
- [10] LUAN Y F, XIE Y Y, ZHOU G T, *et al.* Multi-component content determination and chemometrics analysis of Renshen Jianpi Pills [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2023, 54(21): 7044-7054.
- [11] ZHONG W, CHEN S, ZHANG J, *et al.* Which one is more important, raw materials or productive technology? -a case study for quality consistency control of Gegen Qinlian decoction [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2016, 41(6): 1027-1032.
- [12] ZHAO A Y, NI F Y, CHEN P Y, *et al.* Current studies on quality of Chinese patent drugs with consistency as core and discussions on new high-quality evaluation model [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2020, 45(15): 3740-3748.
- [13] LUO Q M, FAN Y L, HONG R, *et al.* Analysis of the chemical components *in vivo* and *in vitro* of Dashzha Pill composed of raw and charred Hawthorn [J]. *Chem Res Appl* (化学研究与应用), 2023, 35(11): 2577-2587.
- [14] China Pharmacopoeia Commission. Drug standards issued by ministry of public health prescription preparations of Chinese medicinal Vol 19(中华人民共和国卫生部药品标准中药成方制剂第十九册) [S]. 1994:36.
- [15] Drug Policy Authority of Chinese Ministry of Health. *National Processing Standards of Chinese Herbal Medicines* (全国中药炮制规范) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House. 1988:407-408.
- [16] Zhejiang Food and Drug Administration. Zhejiang Chinese medicine processing standards(浙江省中药炮制规范) [M]. Beijing: China Medical Science and Technology Press, 2015: 429-430.
- [17] Gansu Drug Administration. Gansu Chinese medicine processing standards(甘肃省中药炮制规范) [M]. Lanzhou: Lanzhou University Press, 2022: 311-313.
- [18] Sichuan Food and Drug Administration. Sichuan Chinese medicine decoction pieces processing standards(四川省中药饮片炮制规范) [M]. Sichuan: Sichuan Science and Technology Press, 2015: 265-266.
- [19] Tianjin Market and quality supervision and Administration Commission. Tianjin Chinese medicine decoction pieces processing standards(天津市中药饮片炮制规范) [S]. 2018: 219-220.
- [20] NIE L X, WU Y P, LIU J, *et al.* Considerations on investigation on quality standard of Chinese patent medicine [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 2023, 58(8): 2260-2270.

(收稿日期:2024-07-08)