

小儿清咽颗粒指纹图谱及多成分含量测定研究

钟惠娴¹, 胥爱丽^{2,3}, 毕晓黎^{2,3}, 曾志浩¹, 李素梅^{2,3}, 李养学^{2,3}, 黄华靖¹(1. 广州中医药大学第五临床医学院, 广东 广州 510405; 2. 广东省中医药工程技术研究院, 广东 广州 510095; 3. 广东省中医药研究开发重点实验室, 广东 广州 510095)

摘要: **目的** 建立小儿清咽颗粒的超高效液相色谱(UPLC)指纹图谱, 并同时测定新绿原酸、绿原酸、连翘酯苷 A、异绿原酸 A、异绿原酸 B、橙皮苷的含量, 为其质量控制提供参考。**方法** 采用 Phenomenex Kinetex XB C₁₈ 色谱柱, 以乙腈-0.1%磷酸溶液为流动相, 梯度洗脱; 流速: 0.4 mL·min⁻¹; 柱温: 25 ℃; 检测波长: 284 nm。采用“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”(2012 A 版)及 SPSS 统计软件对结果进行聚类分析(CA)、主成分分析(PCA)及偏最小二乘法-判别分析(PLS-DA)。**结果** 建立了小儿清咽颗粒的 UPLC 指纹图谱及同时测定 6 个成分的方法, 确定了 14 个共有峰, 相似度均大于 0.97。特征成分新绿原酸(2 号峰)、绿原酸(3 号峰)、连翘酯苷 A(9 号峰)、异绿原酸 B(11 号峰)、异绿原酸 A(12 号峰)、橙皮苷(13 号峰)分别在 26.150~261.500、27.177~362.358、38.250~765.000、7.670~230.100、9.840~98.400、4.124~72.170 μg·mL⁻¹ 范围内呈良好的线性关系, 回收率分别为 101.23%、100.57%、99.32%、98.01%、96.12%、97.92%; 聚类分析和主成分分析可将 10 批样品聚为 2 类。**结论** 所建立的 UPLC 指纹图谱和定量测定分析方法简单、快速、准确, 可为全面控制小儿清咽颗粒的质量提供依据。

关键词: 小儿清咽颗粒; 超高效液相色谱法; 指纹图谱; 含量测定; 聚类分析; 主成分分析; 偏最小二乘法-判别分析

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1003-9783(2021)08-1183-06

doi: 10.19378/j.issn.1003-9783.2021.08.017

Quality Control of Xiaer Qingyan Granules Based on UPLC Fingerprint and Simultaneous Determination of Multi-components

ZHONG Huixian¹, XU Aili^{2,3}, BI Xiaoli^{2,3}, ZENG Zhihao¹, LI Sumei^{2,3}, LI Yangxue^{2,3}, HUANG Huajing¹(1. School of the Fifth Clinical Medicine, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405 Guangdong, China; 2. Guangdong Province Engineering Technology Research Institute of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510095 Guangdong, China; 3. Guangdong Provincial Key Laboratory of Research and Development in Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510095 Guangdong, China)

Abstract: Objective To establish the UPLC fingerprint of *Xiaer Qingyan* Granules, and simultaneously determine the contents of neochlorogenic acid, chlorogenic acid, forsythiaside A, isochlorogenic acid A, isochlorogenic acid B, and hesperidin, to provide reference for quality control. **Methods** The determination was performed on Phenomenex Kinetex XB C₁₈ column with mobile phase consisted of acetonitrile(A)-0.1% phosphoric acid (gradient elution) at the flow rate of 0.4 mL·min⁻¹. The detection wavelength was set at 284 nm. Cluster analysis(CA), principal component analysis(PCA), and partial least squares-discriminant analysis(PLS-DA) were performed on the results using the similarity evaluation system of traditional Chinese medicine chromatographic fingerprints (2012 Edition) and SPSS analysis software. **Results** The UPLC fingerprint of *Xiaer Qingyan* Granules and the method of quantifying 6 components at the same time were established, and 14 common peaks were determined,

收稿日期: 2020-12-17

作者简介: 钟惠娴, 女, 硕士研究生, 研究方向: 中药制剂质量控制。Email: zhonghuixian96@126.com。通信作者: 胥爱丽, 女, 博士, 主任中药师, 硕士研究生导师, 研究方向: 中药制剂质量控制。Email: xal555@163.com。

基金项目: 广东省科技计划项目“创新中药研发平台建设”(2017A070701017)。

and the similarities were all greater than 0.97. The 6 characteristic components were neochlorogenic acid (peak2), chlorogenic acid (peak3), forsythiaside A (peak9), isochlorogenic acid B (peak11), isochlorogenic acid A (peak12), and hesperidin (peak13). They all showed good linearity in the ranges of 26.150–261.500, 27.177–362.358, 38.250–765.000, 7.670–230.100, 9.840–98.400, 4.124–72.170 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$; the recovery rates were 101.23%, 100.57%, 99.32%, 98.01%, 96.12%, 97.92%. The results of cluster analysis and principal component analysis divided the 10 batches of samples into 2 types. **Conclusion** The established UPLC fingerprint and quantitative analysis method are simple, fast and accurate, which can provide a basis for comprehensive quality control for the *Xiaoer Qingyan* Granules.

Keywords: *Xiaoer Qingyan* Granules; UPLC; fingerprint spectrum; content determination; cluster analysis; principal component analysis; partial least squares–discriminant analysis

银翘散始载于清代著名温病大家吴鞠通的代表作《温病条辨》，具有辛凉解表、清热解毒的功效，被称为“温病第一方”^[1-4]。小儿清咽颗粒为我院院内制剂，是以经典名方银翘散为基础方，由金银花、连翘、板蓝根、陈皮、薄荷、防风、大青叶等组成。小儿清咽颗粒具有辛凉解表、清热解毒、利咽消肿的作用，对小儿外感风热所致之流涕、鼻塞、咽痛、咳嗽、发热恶寒、舌红苔黄、脉浮数等症有良好的疗效，具有深入研发的价值。目前该制剂原质量标准比较简单，有必要开展进一步的研究。本实验对小儿清咽颗粒进行超高效液相色谱(UPLC)指纹图谱研究，并测定君药金银花、连翘所含的新绿原酸、绿原酸、异绿原酸 A、异绿原酸 B、连翘酯苷 A 及臣药陈皮所含的橙皮苷 6 个成分的含量；采用相似度评价结合聚类分析(CA)、主成分分析(PCA)与偏最小二乘法–判别分析(PLS-DA)等化学模式识别方法进行分析，为全面评价小儿清咽颗粒的质量提供参考。

1 仪器与材料

1.1 仪器 Agilent 1290 超高效液相色谱仪、DAD 紫外检测器(美国 Agilent 公司)；XS205DU 电子分析天平(瑞士梅特勒公司)；KQ700-DE 型数控超声波清洗机(江苏昆山超声仪器有限公司)。

1.2 材料 绿原酸(批号：110753–201415，纯度 96.2%)、连翘酯苷 A(批号：111810–201606，纯度 93.4%)、橙皮苷(批号：110721–201316，纯度 95.3%)、咖啡酸(批号：110885–200102，纯度 98.0%)、毛蕊花糖苷(批号：111530–201914，纯度 95.2%)、迷迭香酸(批号：111871–201203，纯度 > 98%)，中国食品药品检定研究院；新绿原酸(批号：

X-014–180410，纯度 > 98%)、异绿原酸 A(批号：Y-068–160726，纯度 > 98%)、异绿原酸 B(批号：Y-069–150624，纯度 > 98%)，成都瑞芬思生物科技有限公司；乙腈为色谱纯，德国 Merck 公司；水为超纯水；甲醇为分析纯，广州化学试剂厂；10 批小儿清咽颗粒由广东第二中医院制剂室生产，批号为 J1902001 (S1)、J1903004 (S2)、J1905002 (S3)、J1907005 (S4)、J1909001 (S5)、J1910002 (S6)、20191104 (S7)、20200102 (S8)、20200203 (S9)、20200301 (S10)。

2 方法与结果

2.1 小儿清咽颗粒指纹图谱建立

2.1.1 色谱条件 色谱柱为 Phenomenex Kinetex XB C₁₈ (150 mm×2.1 mm, 1.7 μm)；流动相：乙腈(A)–0.1%磷酸溶液(B)，梯度洗脱(0~15 min, 5%~15% A；15~25 min, 15% A；25~35 min, 15%~40% A；35~40 min, 40%~98% A；40~43 min, 98% A)；流速：0.4 mL·min⁻¹；柱温：25 $^{\circ}\text{C}$ ；检测波长：284 nm；进样量：1 μL 。

2.1.2 供试品溶液的制备 取小儿清咽颗粒约 1.0 g，精密称定，置 50 mL 具塞锥形瓶中，精密加入甲醇 25 mL，称定质量，超声(700 W, 50 kHz)处理 30 min，放冷，用甲醇补足减失的质量，过 0.22 μm 微孔滤膜，取续滤液，作为供试品溶液。

2.1.3 对照品溶液的制备 分别取新绿原酸、绿原酸、连翘酯苷 A、异绿原酸 A、异绿原酸 B、橙皮苷对照品适量，精密称定，加甲醇制成质量浓度为 261.50、1 811.79、765.00、246.00、767.00、506.996 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的对照品储备溶液。

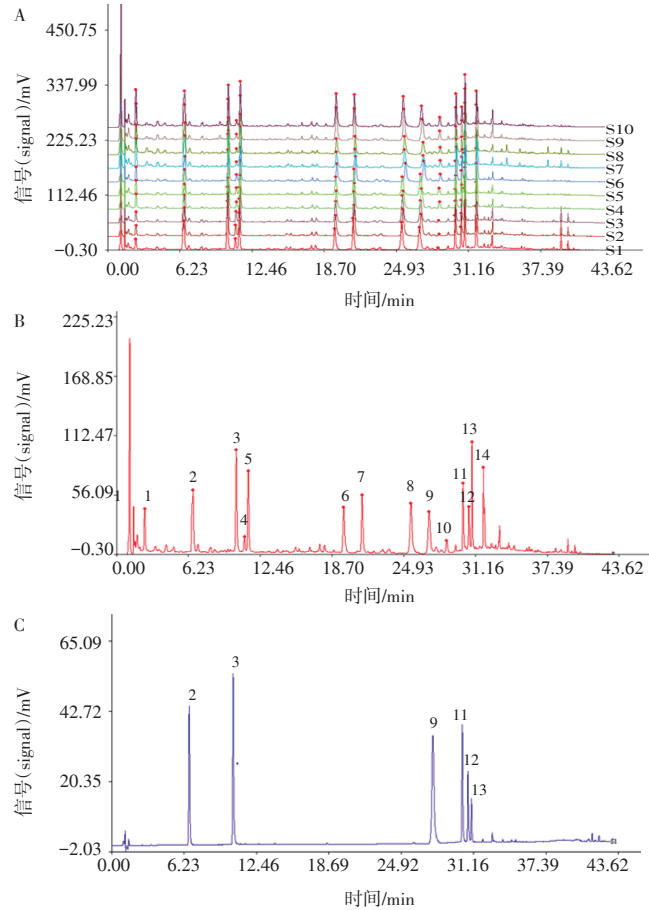
2.1.4 精密度试验 取同一批小儿清咽颗粒供试

品(S6), 按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液, 并按“2.1.1”项下色谱条件连续进样 6 次, 以 7 号峰为参照峰(S), 计算得到共有峰相对峰面积和相对保留时间的 RSD 均小于 2.00%, 表明仪器精密度良好。

2.1.5 重复性试验 取同一批小儿清咽颗粒供试品(S6), 按“2.1.2”项下方法平行制备 6 份供试品溶液, 并按“2.1.1”项下色谱条件依次进样测定, 以 7 号峰为参照峰(S), 计算得到共有峰相对峰面积和相对保留时间的 RSD 均小于 2.50%, 表明该方法重复性良好。

2.1.6 稳定性试验 取同一批小儿清咽颗粒供试品(S6), 按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液, 并按“2.1.1”项下色谱条件分别于 0、2、4、6、8、10、12 h 进样测定, 以 7 号峰为参照峰(S), 计算得到共有峰相对峰面积和相对保留时间的 RSD 均小于 2.49%, 表明供试品溶液在 12 h 内稳定性良好。

2.1.7 UPLC 指纹图谱的建立 取 10 批小儿清咽颗粒样品, 按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液, 并按“2.1.1”项下色谱条件依次进样测定。采用“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”(2012 A 版)进行指纹图谱分析。用多点校正后进行自动分配(时间窗宽度为 0.1 min), 用中位数法生成指纹图谱。结果见图 1。各共有峰相对保留时间的 RSD 均小于 0.50%, 相对峰面积的 RSD 存在较大的差异。结果见表 1。10 批小儿清咽颗粒样品色谱图与对照图谱相似度分别为 0.992、0.993、0.991、0.978、0.984、0.983、0.979、0.978、0.981、0.981。



注: 2. 新绿原酸; 3. 绿原酸; 5. 咖啡酸; 9. 连翘酯苷 A; 10. 毛蕊花糖苷; 11. 异绿原酸 B; 12. 异绿原酸 A; 13. 橙皮苷; 14. 迷迭香酸

图 1 10 批小儿清咽颗粒(A)及其共有模式(B)和混合对照品的超高效液相色谱(UPLC)图谱

Figure 1 UPLC fingerprint of 10 batches of *Xiaoer Qingyan* Granules (A), their common mode (B) and mix reference substances(C)

表 1 10 批小儿清咽颗粒共有峰相对峰面积

Table 1 The relative peak areas and RSDs of 14 common chromatographic peaks of 10 of *Xiaoer Qingyan* Granules

编号	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	RSD/%
1	0.253 7	0.254 3	0.254 5	0.467 2	0.455 8	0.466 4	1.190 2	1.310 4	0.873 3	0.870 3	61.67
2	1.064 3	1.073 3	1.023 1	1.126 0	1.121 7	1.133 8	1.998 2	2.126 0	1.277 5	1.276 1	30.25
3	1.326 9	1.338 6	1.221 6	2.006 6	1.997 3	2.028 3	1.697 8	1.814 7	1.066 0	1.066 6	25.33
4	0.275 9	0.276 1	0.277 4	0.205 6	0.205 8	0.205 3	0.215 4	0.225 5	0.146 0	0.146 7	22.19
5	0.981 0	0.987 2	0.913 8	1.074 1	1.070 7	1.082 8	1.823 6	1.938 2	1.101 7	1.100 5	29.92
6	0.801 2	0.802 3	0.808 7	0.820 9	0.832 1	0.834 8	1.021 9	1.095 3	1.190 6	1.185 7	17.61
7(S)	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	0.00
8	1.203 9	1.203 6	1.194 9	0.999 7	1.001 1	0.994 8	1.549 3	1.655 5	1.371 3	1.367 8	18.40
9	1.071 5	1.047 1	1.041 3	1.302 4	1.218 6	1.244 6	1.001 7	1.061 6	0.592 8	0.561 0	24.78
10	0.049 0	0.047 3	0.045 9	0.269 3	0.269 0	0.269 1	0.356 0	0.376 7	0.289 5	0.290 6	56.89
11	0.696 8	0.701 0	0.666 8	0.803 0	0.799 8	0.807 3	0.843 7	0.897 2	0.610 6	0.607 1	13.49
12	0.455 1	0.452 3	0.436 5	0.564 6	0.564 0	0.571 7	0.524 8	0.555 6	0.364 5	0.358 5	17.05
13	1.072 4	1.072 8	1.072 4	1.319 0	1.306 6	1.344 1	1.225 4	1.342 0	0.732 4	0.728 8	20.91
14	0.595 5	0.594 5	0.542 4	1.094 9	0.784 0	0.799 5	0.701 1	0.748 2	0.453 7	0.449 9	28.73

2.1.8 聚类分析(CA) 以 10 批样品 14 个共有峰的相对峰面积为原始数据,应用 SPSS 20.0 统计软件,采用组间平均数联结法进行聚类分析。结果见图 2。

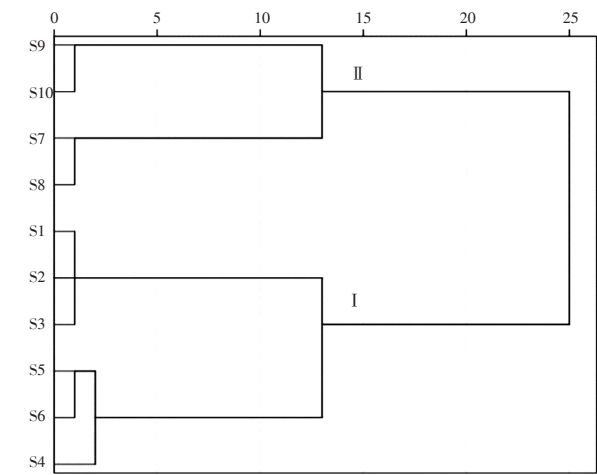


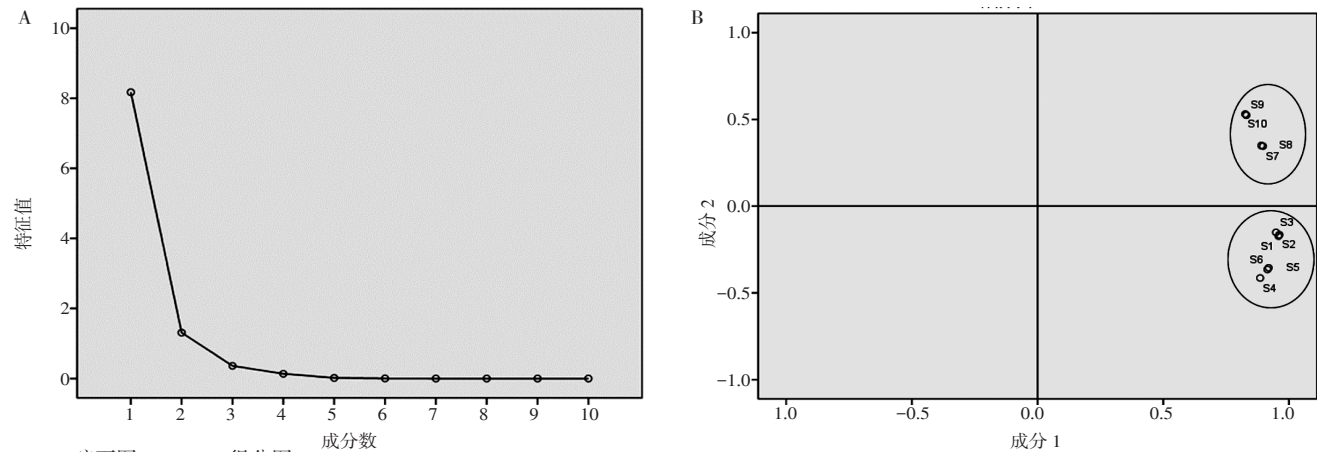
图 2 10 批小儿清咽颗粒样品聚类分析树状图
Figure 2 Hierarchical clustering analysis for 10 batches of Xiaoe Qingyan Granules

10 批样品可聚为两类, S1、S2、S3、S4、S5、S6 聚为 I 类, S7、S8、S9、S10 聚为 II 类。

2.1.9 主成分分析(PCA) 采用 SPSS 20.0 统计软件对 10 批样品共有峰峰面积进行标准化处理,再进行 PCA。以特征值大于 1 为提取原则,得到前 2 个成分的累计贡献率为 94.830%,能够概括样品数据的绝大部分信息,见表 2。PCA 碎石图显示,在特征值 > 1 曲线陡峭,特征值 < 1 后趋于平缓,说明提取 2 个主成分合理,见图 3-A。PCA 将 10 批样品分为 2 类: S1、S2、S3、S4、S5、S6 聚为一组; S7、S8、S9、S10 聚为一组,与 CA 结果一致。见图 3-B。

表 2 10 批小儿清咽颗粒样品特征值及累计方差贡献率
Table 2 Characteristic values and variance contribution rates of 10 batches of Xiaoe Qingyan Granules

成分	特征值	方差贡献率/%	累计方差贡献率/%
1	8.173	81.734	81.734
2	1.310	13.096	94.830



A. PCA 碎石图; B. PCA 得分图
图 3 10 批小儿清咽颗粒品主成分分析
Figure 3 Principal component analysis for 10 batches of Xiaoe Qingyan Granules

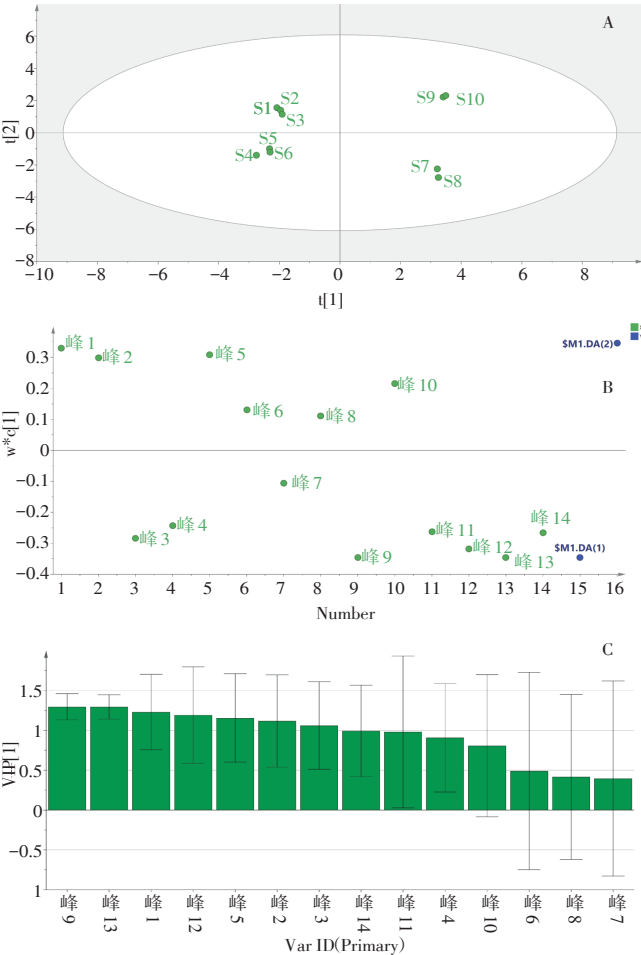
2.1.10 偏最小二乘法-判别分析(PLS-DA) 将 10 批样品 14 个共有峰峰面积导入 SIMCA-P 14.1 分析软件,应用 PLS-DA 分析程序,分别生成得分散点图、载荷图和变量重要性投影(Variable Importance in Projection, VIP)值图,见图 4。得分散点图中各点的集合状态反映了产品批次之间的内在质量。10 批样品数据点均落在置信区间(95%)内,根据分布可分为 2 类且 2 类样品能够显著分布在两侧,说明他们之间有显著性差异,与 CA、PCA 分类结果一致。PLS-DA 载荷图上各点代表其变量,距离中心点越远,表明权重值越大,区分样本的作用越大。结合 VIP 值图可更直观地得出各色谱峰影响程度依次为峰 9 > 峰 13 > 峰 1 > 峰 12 > 峰 5 > 峰 2 > 峰 3 > 峰 14 >

峰 11 > 峰 4 > 峰 10 > 峰 6 > 峰 8 > 峰 7。其中,峰 9 (连翘酯苷 A)、峰 13(橙皮苷)、峰 1、峰 12(异绿原酸 A)、峰 5(咖啡酸)、峰 2(新绿原酸)、峰 3(绿原酸)、峰 14(迷迭香酸)、峰 11(异绿原酸 B)的 VIP 值大于 1,说明这些变量对模型分类的贡献具有统计学意义,可作为差异标志物。

2.2 含量测定

2.2.1 色谱条件及供试品溶液制备 色谱条件同“2.1.1”项下,供试品溶液按“2.1.2”项下制备。

2.2.2 线性关系的考察 分别精密吸取不同体积混合对照品溶液适量,置 10 mL 量瓶中,用甲醇稀释至刻度,摇匀,制得系列浓度的混合对照品溶液。分别精密吸取 1 μ L,注入液相色谱仪,按“2.1.1”项



A. PLS-DA 得分图; B. PLS-DA 载荷图; C. 变量重要性投影图

图 4 10 批小儿清咽颗粒样品的 PLS-DA 分析

Figure 4 Principal component analysis for 10 batches of Xiaoe Qingyan Granules

下色谱条件进行测定, 以对照品浓度为横坐标(X), 峰面积为纵坐标(Y), 绘制标准曲线, 计算回归方程。结果见表 3。

表 3 6 种成分线性关系考察结果

Table 3 The results of linear relationships between the six components

成分	线性回归方程	线性范围/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	r
新绿原酸	$Y=9\,704.399\,6\,X+18.338\,04$	26.150~261.500	0.999 9
绿原酸	$Y=9\,524.565\,63\,X+23.996\,864$	27.177~362.358	0.999 6
连翘酯苷 A	$Y=4\,753.506\,3\,X+11.498\,135$	38.250~765.000	0.999 9
异绿原酸 A	$Y=12\,431.202\,7\,X-26.716\,389$	9.840~98.400	0.999 5
异绿原酸 B	$Y=12\,128.963\,4\,X+19.970\,582$	7.670~230.100	0.999 4
橙皮苷	$Y=4\,444.295\,99\,X+4.262\,5374$	20.280~202.798	0.999 8

2.2.3 精密度试验 精密吸取混合对照品溶液 5 mL 置 10 mL 容量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 精密吸取 1 μL , 注入液相色谱仪中, 按“2.1.1”项下色谱条件连续进样 6 次, 计算得到新绿原酸、绿原酸、连

翘酯苷 A、异绿原酸 A、异绿原酸 B、橙皮苷峰面积的 RSD 分别为 1.35%、1.99%、1.42%、1.29%、1.68%、2.09%, 表明仪器精密度良好。

2.2.4 重复性试验 取同一批小儿清咽颗粒供试品溶液(S6), 按“2.1.1”项下色谱条件连续进样 6 次, 计算得到新绿原酸、绿原酸、连翘酯苷 A、异绿原酸 A、异绿原酸 B、橙皮苷峰面积的 RSD 分别为 2.35%、2.76%、1.98%、2.89%、2.14%、1.87%, 表明仪器精密度良好。

2.2.5 稳定性试验 取同一批小儿清咽颗粒供试品溶液(S6), 按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液, 按“2.1.1”项下的色谱条件分别于 0、2、4、6、8、10、12 h 进样测定, 计算得到新绿原酸、绿原酸、连翘酯苷 A、异绿原酸 A、异绿原酸 B、橙皮苷峰面积的 RSD 分别为 1.21%、1.34%、1.48%、1.32%、1.11%、1.98%, 表明供试品溶液在 12 h 内稳定性良好。

2.2.6 加样回收率试验 取同一批小儿清咽颗粒供试品(S6)约 0.5 g, 精密称定 6 份, 分别置 50 mL 量瓶中, 加入各对照品适量, 按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液, 按“2.1.1”项下色谱条件依次测定, 计算得到新绿原酸、绿原酸、连翘酯苷 A、异绿原酸 A、异绿原酸 B、橙皮苷的平均加样回收率分别为 101.23%、100.57%、99.32%、96.12%、98.01%、97.92%, RSD 分别为 1.36%、0.67%、1.80%、1.59%、1.34%、1.16%。

2.2.7 样品含量测定 取 10 批小儿清咽颗粒样品, 按“2.1.2”项下方法制备样品溶液, 按“2.1.1”项下色谱条件进行测定, 计算样品中新绿原酸、绿原酸、连翘酯苷 A、异绿原酸 A、异绿原酸 B、橙皮苷的含量。结果见表 4。

表 4 10 批小儿清咽颗粒中 6 种成分含量测定结果($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$, $n=2$)

Table 4 Determination results of six constituents in 10 batches of Xiaoe Qingyan Granules($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$, $n=2$)

编号	新绿原酸	绿原酸	连翘酯苷 A	异绿原酸 A	异绿原酸 B	橙皮苷
S1	2.387	3.356	4.946	0.966	1.206	2.612
S2	2.388	3.330	4.928	0.951	1.196	2.579
S3	2.294	3.079	4.964	0.928	1.149	2.609
S4	2.073	4.088	4.839	0.988	1.114	2.606
S5	2.120	4.197	4.784	1.017	1.147	2.652
S6	2.090	4.144	4.653	0.982	1.124	2.662
S7	2.673	2.489	2.737	0.719	0.848	1.755
S8	2.568	2.495	2.719	0.689	0.814	1.738
S9	2.973	2.763	2.822	0.820	1.044	1.840
S10	2.285	2.780	2.699	0.805	1.047	1.856

3 讨论

3.1 提取条件的选择 本研究考察了不同体积分数(20%、40%、60%、80%、100%)的甲醇对小儿清咽颗粒指纹图谱色谱峰的影响。结果发现,以100%甲醇提取的指纹图谱各峰吸收强度均较高;考察了加热回流、超声2种提取方法,结果超声提取法的特征峰面积更大,这可能与样品中的绿原酸、连翘酯苷A等化合物不稳定,加热回流会加剧其分解有关;另外还考察了提取时间(15、30、45 min)对样品的影响,结果以提取30 min的效果为最佳。

3.2 色谱条件的选择 对小儿清咽颗粒样品在190~400 nm的全波长进行分析,结果在284 nm色谱峰较集中,色谱图中各色谱峰分离度较好且平均吸收强度较高,故选择284 nm作为检测波长。实验考察了乙腈-水、乙腈-0.1%甲酸水、乙腈-0.1%磷酸水系统,结果显示应用乙腈-0.1%磷酸水系统时样品各成分的峰型、基线和分离度均较好。

3.3 相似度分析 10批小儿清咽颗粒样品与对照图谱相似度相均大于0.97,符合指纹图谱的研究要求,表明小儿清咽颗粒具有较好的相关性,生产工艺成熟,不同批次样品质量稳定。

3.4 模式识别分析 聚类分析(CA)、主成分分析(PCA)及偏最小二乘法-判别分析(PLS-DA)结果表明,10批样品均可聚为两大类。回溯样品药材来源发现,I类样品金银花药材产地为河南封丘,II类金银花药材产地为山东平邑。同一产地批次间差异较小,但不同产地峰面积差异较大,各成分间的含量差异较大,药材来源不同,地理环境、植株特性等差异,会导致金银花相关活性成分含量的差异,从而对该制剂的质量产生较大影响。而以VIP值>1为评判标准,共有9个色谱峰的VIP值大于1,其中有4个峰来源于金银花药味,说明全方中金银花饮片质量优劣对小儿清咽颗粒指纹图谱影响较大。

3.5 定量指标的选择 本实验通过对照品指认了9个成分,其中包括君药金银花、陈皮的主要有效成分新绿原酸、绿原酸、异绿原酸A、异绿原酸B及橙皮苷;臣药连翘的主要有效成分连翘酯苷A。绿原酸及其异构体(新绿原酸、异绿原酸A、异绿原酸B)是金银花的主要活性成分,具有抗菌、抗病毒、抗炎以及调节免疫功能的作用^[5-7]。连翘酯苷A是连翘的主要指标性成分之一,被《中国药典》作为评价连翘药材质量的检测指标,具有抗菌、抗病毒、抗炎、抗氧化、松弛血管等作用,是连翘清热解毒、

消痈散结、疏散风热的物质基础^[8-12]。橙皮苷是陈皮的有效成分,有清除自由基和抗炎作用,可通过多种信号通路调节炎症因子的表达、释放,是燥湿健脾、行气祛湿作用的物质基础^[13-15]。故本实验选择君药所含的新绿原酸、绿原酸、异绿原酸A、异绿原酸B,臣药所含的连翘酯苷A及与其功效相关的橙皮苷作为含量测定指标。

本研究建立了小儿清咽颗粒UPLC指纹图谱,并同时测定了该制剂中6个指标成分。结果表明所建立的方法快速准确,简便高效,重复性好,可作为小儿清咽颗粒质量控制和评价的方法。

参考文献:

- [1] 钱厚聪. 银翘散配合西药治疗小儿急性上呼吸道感染发热的临床观察[J]. 中西医结合心血管病电子杂志, 2020, 8(2): 182-186.
- [2] 徐海青, 贾妮. 论银翘散现代临床应用[J]. 辽宁中医药大学报, 2020, 22(2): 164-167.
- [3] 刘锐, 王小巍, 张红艳, 等. 银翘散的现代临床应用[J]. 中国药理学杂志(网络版), 2019, 17(6): 266-270.
- [4] 王于心, 张小旭, 刘阳, 等. 柴胡银翘散加减治疗流行性感冒心得体会[J]. 世界最新医学信息文摘, 2019, 19(37): 242.
- [5] 关秀峰, 王锐, 李晓龙, 等. 金银花的化学成分与药理作用研究新进展[J]. 化学工程师, 2020, 34(4): 59-62.
- [6] 杨绍坤. 金银花的化学成分与生物活性研究[J]. 化工设计通讯, 2019, 45(11): 149.
- [7] SHIN H S, SATSU H, BAE M J, et al. Catechol groups enable reactive oxygen species scavenging-mediated suppression of PKD-NF kappaB-IL-8 signaling pathway by chlorogenic and caffeic acids in human intestinal cells[J]. Nutrients, 2017, 9(2): 163.
- [8] 吴国友. 连翘药理作用研究进展[J]. 中医学报, 2013, 28(10): 1508-1509.
- [9] 张宁. 连翘主要有效成分的提取与药理作用[J]. 世界最新医学信息文摘, 2019, 19(91): 180.
- [10] 程广东, 张强, 岳丽红, 等. 连翘酯苷A对内毒素致炎鸡脾脏IL-17和IL-6水平的影响[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2017, 50(24): 149-152.
- [11] 刘建洲, 张立伟. 基于人呼吸道上皮细胞炎症模型的连翘提取物抗炎活性实验研究[J]. 天然产物研究与开发, 2015, 27(7): 1248-1253.
- [12] 全云云, 袁岸, 龚小红, 等. 连翘抗炎药效物质基础筛选研究[J]. 天然产物研究与开发, 2017, 29(3): 435-438.
- [13] 李丽, 任周新, 赵鹏, 等. 橙皮苷及橙皮素抗肿瘤药理活性研究进展[J]. 中医学报, 2018, 33(12): 2304-2308.
- [14] 张启焕, 严新, 许伟, 等. 超声波辅助醇溶剂法提取橙皮苷及体外抑菌活性分析[J]. 安徽农业科学, 2015, 43(31): 33-34.
- [15] TSAI Y F, CHEN Y R, CHEN J P, et al. Effect of hesperidin on anti-inflammation and cellular antioxidant capacity in hydrogen peroxide-stimulated human articular chondrocytes[J]. Process Biochemistry, 2019, 85: 175-184.

(编辑: 梁进权)