

中图分类号: R917; R927 文献标志码: A 文章编号: 1006-4931(2024)18-0066-05
doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2024.18.015



复方双花片指纹图谱分析及多指标成分含量测定

曾锦燕, 叶绿萍, 甘静玉

(广西中医药大学第一附属医院, 广西南宁 530023)

摘要:目的 建立复方双花片指纹图谱并结合化学模式评价质量。方法 采用高效液相色谱(HPLC)法, 色谱柱为 Shimadzu Wondasil C₁₈ 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 流动相为乙腈-0.05% 磷酸水溶液(梯度洗脱), 流速为 1.0 mL/min, 检测波长 0~20 min 时为 278 nm、20~45 min 时为 330 nm、45~75 min 时为 278 nm, 柱温为 30 °C, 进样量为 20 μL, 建立 10 批样品的指纹图谱, 采用中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012A 版)进行相似度评价, 确定共有峰; 采用偏最小二乘判别分析(PLS-DA)技术分析共有峰化学模式, 筛选差异性标志物, 测定含量。结果 建立的指纹图谱共标定 23 个共有峰; 10 批样品相似度均大于 0.950; 共筛选出 8 个差异性标志物。(R, S) - 告依春、绿原酸、咖啡酸、木犀草苷、穿心莲内酯、连翘苷、槲皮素、脱水穿心莲内酯质量浓度分别在 12.74~127.42 μg/mL、223.98~2239.78 μg/mL、25.83~258.33 μg/mL、17.42~174.19 μg/mL、10.05~100.54 μg/mL、20.48~204.84 μg/mL、32.66~326.61 μg/mL、18.63~186.29 μg/mL 范围内与峰面积线性关系良好($r > 0.998$, $n = 6$); 精密性、稳定性、重复性试验结果的 RSD 均小于 2.0%; 平均加样回收率分别为 101.37%, 100.08%, 99.36%, 102.31%, 101.18%, 98.46%, 99.09%, 102.34%, RSD 分别为 1.39%, 2.52%, 1.69%, 2.22%, 2.31%, 1.88%, 1.64%, 1.72% ($n = 6$)。结论 所建立的方法简便快速、稳定可行、专属性强, 结果准确可靠, 可用于复方双花片的质量评价。

关键词: 复方双花片; 高效液相色谱法; 指纹图谱; 相似度评价; 化学模式分析; 含量测定

Fingerprint Analysis of Compound Shuanghua Tablets and Content Determination of Multi - Index Components

ZENG Jinyan, YE Lyuping, GAN Jingyu

(The First Affiliated Hospital of Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning, Guangxi, China 530023)

Abstract: Objective To establish the fingerprint of Compound Shuanghua Tablets and evaluate their quality based on the chemical pattern analysis. **Methods** The high - performance liquid chromatography (HPLC) method was adopted. The chromatographic column was the Shimadzu Wondasil C₁₈ column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), the mobile phase was acetonitrile - 0.05% phosphoric acid aqueous solution (gradient elution), the flow rate was 1.0 mL/min, multiple wavelengths were adopted (278 nm at 0 - 20 min, 330 nm at 20 - 45 min, 278 nm at 45 - 75 min), the column temperature was 30 °C, and the injection volume was 20 μL. The fingerprint of 10 batches of samples was established, the Similarity Evaluation System for Chromatographic Fingerprint of Traditional Chinese Medicine (Version 2012A) was used for similarity evaluation, and the common peaks were marked. The partial least squares - discriminant analysis (PLS - DA) method was used to analyze the chemical patterns of common peaks, the differential biomarkers were screened, and their contents were determined. **Results** A total of 23 common peaks were marked in the fingerprint. The similarity of 10 batches of samples was greater than 0.950. Eight differential biomarkers were screened. The linear ranges of (R, S) - goitrin, chlorogenic acid, caffeic acid, galuteolin, andrographolide, phillyrin, quercetin, and dehydroandrographolide were 12.74 - 127.42 μg/mL, 223.98 - 2239.78 μg/mL, 25.83 - 258.33 μg/mL, 17.42 - 174.19 μg/mL, 10.05 - 100.54 μg/mL, 20.48 - 204.84 μg/mL, 32.66 - 326.61 μg/mL, 18.63 - 186.29 μg/mL ($r > 0.998$, $n = 6$) respectively. The RSDs of precision, stability and repeatability tests were all lower than 2.0%. The average recovery rates of the above eight biomarkers were 101.37%, 100.08%, 99.36%, 102.31%, 101.18%, 98.46%, 99.09%, 102.34% with RSDs of 1.39%, 2.52%, 1.69%, 2.22%, 2.31%, 1.88%, 1.64%, 1.72% ($n = 6$) respectively. **Conclusion** The established method is simple, fast, stable, feasible, specific, accurate and reliable, which can be used for the quality evaluation of Compound Shuanghua Tablets.

Key words: Compound Shuanghua Tablets; HPLC; fingerprint; similarity evaluation; chemical pattern analysis; content determination

复方双花片由穿心莲、连翘、金银花、板蓝根组方, 具有清热解毒、利咽消肿功效, 可用于风热外感、风热乳蛾等证, 临床常用于治疗急性扁桃体炎^[1]、慢性支气管炎^[2]、流行性腮腺炎^[3]、慢性咽炎^[4]等毒热性疾病。有研究表明, 复方双花片具有抗金黄色葡萄球菌、肺炎球菌、乙型链球菌、大肠杆菌作用, 同时可抑制流感病毒、副流感病毒^[5]。该药品现收载的国家标准^[6]中仅以绿原

酸含量作为质量控制中的定量指标, 且相关文献多集中于药理学研究^[7-8]或某几种单一成分的含量测定^[9-10]。由药理学研究可知, 复方双花片为多成分多靶点协同作用, 单一成分的定量分析不能全面反映制剂内在质量, 而中药指纹图谱技术从中药物质基础出发, 运用现代分析检测技术, 能整体、系统地评价中药制剂特征, 结合主成分分析等化学模式识别技术, 发现快速

第一作者: 曾锦燕, 女, 硕士研究生, 主管药师, 研究方向为中药及民族药品种、质量与资源开发, (电子信箱)564891785@qq.com。

体现中药制剂药效物质基础的化学物质群,从而综合评价中药制剂质量^[11-14]。为此,本研究中采用高效液相色谱(HPLC)法结合偏最小二乘判别分析(PLS-DA)建立复方双花片指纹图谱,并进行化学模式识别分析,旨在为全面评价制剂质量提供依据。现报道如下。

1 仪器和试剂

1.1 仪器

LC-2010A HT型高效液相色谱仪,包括SLI-10ADVP自动进样器、SPD-10AVP紫外检测器、LC-10AVP四元洗脱泵(日本Shimadzu公司);C-TP110-B型电子天平(青岛精诚仪器仪表有限公司,精度为0.01 mg);PS-1008T型数控超声波清洗器(合肥攀升超声波科技有限公司)。

1.2 试剂

复方双花片(陕西康惠制药股份有限公司,批号分别为220307,220425,220511,220516,220714,220919,221002,221006,221116,221124,编号为S1-S10)。对照品(*R,S*)-告依春(批号为111753-202007,含量100.0%),绿原酸(批号为110753-202119,含量96.3%),咖啡酸(批号为110885-201703,含量99.7%),木犀草苷(批号为111720-202111,含量96.6%),穿心莲内酯(批号为110797-202010,含量99.6%),连翘苷(批号为110821-202117,含量94.9%),槲皮素(批号为100081-201610,含量99.8%),脱水穿心莲内酯(批号为110854-202111,含量98.9%),均购自中国食品药品检定研究院。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:Shimadzu Wondasil C₁₈柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm);流动相:乙腈(A)-0.05%磷酸水溶液(B)^[9],梯度洗脱(0~5 min时10%A,5~20 min时10%A → 13%A,20~45 min时13%A → 20%A,45~50 min时20%A → 27%A,60~65 min时27%A → 40%A,65~75 min时40%A → 45%A,75~80 min时45%A → 60%A,80~85 min时60%A → 10%A);流速:1.0 mL/min;检测波长:0~20 min时278 nm,20~45 min时330 nm,45~75 min时278 nm;柱温:30 °C,进样量:20 μL。

2.2 溶液制备

混合对照品溶液:取各对照品适量,精密称定,加甲醇溶解分别制成每1 mL含(*R,S*)-告依春25.5 μg,绿原酸448.0 μg,咖啡酸51.7 μg,木犀草苷34.8 μg,穿心莲内酯20.1 μg,连翘苷41.0 μg,槲皮素65.3 μg,脱水穿心莲内酯37.3 μg的混合对照品溶液。

供试品溶液:取样品20片,除去包衣,研细,取约1.0 g,精密称定,置100 mL具塞锥形瓶中,加入75%甲醇

30 mL,摇匀,称定质量,超声(功率250 W,频率40 kHz)处理45 min^[5],放冷,再次称定质量,用75%甲醇补足减失的质量,摇匀,静置,取上清液,经0.45 μm微孔滤膜滤过,取续滤液,即得。

阴性对照品溶液:按复方双花片处方及工艺制备不含穿心莲、连翘、金银花、板蓝根的阴性样品,并按供试品溶液制备方法制备,即得。

2.3 方法学考察

精密度试验:取供试品(批号为220307)溶液适量,按2.1项下色谱条件连续进样测定6次,以穿心莲内酯峰为参照峰,计算各共有峰的相对保留时间(RRT)及相对峰面积(RPA)。结果的RSD分别为0.74%~1.69%(*n*=6)和0.89%~2.61%(*n*=6),表明方法精密度良好。

稳定性试验:取供试品(批号为220307)溶液适量,分别于室温下放置0,3,6,9,18,24 h时按2.1项下色谱条件进样测定,以穿心莲内酯峰为参照峰,计算各共有峰RRT和RPA。结果的RSD分别为0.77%~1.15%(*n*=6)和0.38%~2.71%(*n*=6),表明供试品溶液在室温放置24 h内基本稳定。

重复性试验:取供试品(批号为220307)适量,各6份,按2.2项下方法制备供试品溶液,按2.1项下色谱条件进样测定,以穿心莲内酯峰为参照,计算各共有峰RRT和RPA。结果的RSD分别为1.15%~1.72%(*n*=6)和0.63%~2.87%(*n*=6),表明方法重复性良好。

2.4 指纹图谱研究

指纹图谱建立:取样品10批,按2.2项下方法制备供试品溶液,按2.1项下色谱条件进样测定。将所得色谱图导入中药指纹图谱相似度评价系统(2012A版)软件,得HPLC叠加指纹图谱(见图1)和对照指纹图谱(见图2)。

共有峰归属及指认:10批样品指纹图谱共有23个共有峰,其峰面积总和占色谱峰总面积的97.5%,通过与对照品溶液色谱图(见图3)比对,指认出8个共有峰。

指纹图谱相似度评价:根据中药指纹图谱相似度

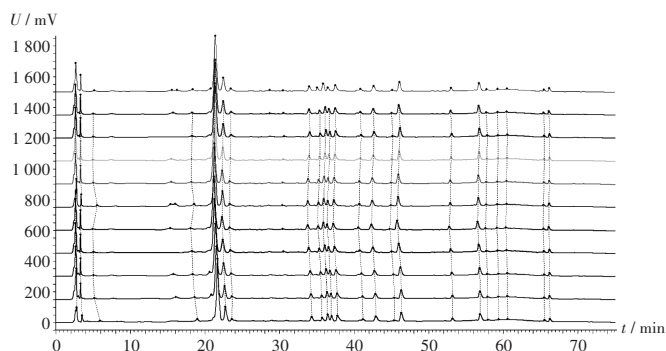


图1 10批样品的高效液相色谱叠加指纹图谱

Fig. 1 HPLC superimposed fingerprint of 10 batches of Samples

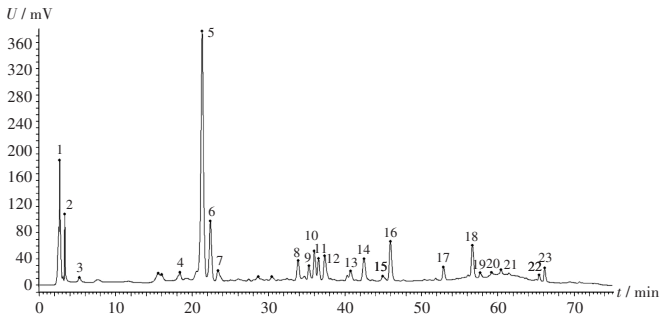


图2 复方双花片高效液相色谱对照指纹图谱

Fig. 2 HPLC reference fingerprint of Compound Shuanghua Tablets

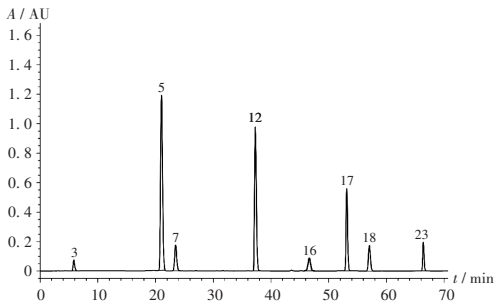


图3 混合对照品高效液相色谱图

3. (R,S) - 告依春 5. 绿原酸 7. 咖啡酸 12. 木犀草苷
16. 穿心莲内酯 17. 连翘苷 18. 槲皮素 23. 脱水穿心莲内酯

3. (R,S) - Goitrin 5. Chlorogenic acid 7. Caffeic acid 12. Galuteolin
16. Andrographolide 17. Phillyrin 18. Quercetin 23. Dehydroandrographolide

Fig. 3 HPLC chromatograms of mixed reference substance

评价系统(2012A版)软件计算相似度。结果10批样品相似度分别为0.984, 0.995, 0.995, 0.998, 0.998, 0.996, 0.998, 0.958, 0.996, 0.998, 表明复方双花片内在化学物质群较统一。

共有峰相关分析:16号色谱峰穿心莲内酯峰保留时间约为46 min,相对居中,峰面积相对其他共有峰较适中,与相邻色谱峰有较好分离度,峰形较好,故以其为参照峰,分别计算其他共有峰的RRT和RPA,结果的RSD分别为0.59%~1.87%,0.67%~17.10%,表明各批次样品的色谱峰的RRT较稳定,峰面积存在差异较大。共有峰相对峰面积见表1。

2.5 指纹图谱差异的质量标志物分析

建立23个共有峰峰面积对取样量的 10×23 数据矩阵,导入Simca-P 14.1软件,建立PLS-DA模型。提取贡献率较大的前3个主成分, R^2X 为0.978, R^2Y 为0.993, Q^2 为0.891,说明所建模型有较强的解释率、稳定性和预测性。置换检验结果 R^2 拟合线和 Q^2 拟合线在Y坐标轴的截距分别为0.215和-0.307,说明所建模型无过度拟合现象,可判别分析15批复方双花片指纹图谱差异^[15]。经PLS-DA模型拟合生成变量重要性(VIP)投影值图,VIP值大于1的成分为引起指纹图谱差异的差异标志物,详见图4。共筛选出10个差异标志

表1 10批样品的高效液相色谱指纹图谱共有峰相对峰面积
Tab.1 Relative peak area of common peaks in HPLC fingerprint of 10 batches of samples

峰号	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	RSD(%)
1	1.54	1.36	1.45	1.74	1.28	1.65	1.44	1.39	1.58	1.62	9.61
2	0.32	0.44	0.39	0.41	0.29	0.41	0.35	0.44	0.36	0.39	13.07
3	0.15	0.17	0.16	0.14	0.13	0.17	0.13	0.16	0.14	0.11	13.39
4	0.26	0.22	0.27	0.22	0.23	0.25	0.24	0.21	0.26	0.22	8.81
5	7.04	7.05	7.04	7.11	7.02	7.03	7.15	7.01	7.11	7.03	0.67
6	1.37	1.34	1.12	1.51	1.22	1.19	1.20	1.31	1.37	1.28	8.80
7	0.33	0.37	0.32	0.36	0.34	0.31	0.32	0.36	0.34	0.38	6.88
8	0.45	0.41	0.45	0.43	0.42	0.47	0.45	0.44	0.47	0.46	4.53
9	0.26	0.22	0.23	0.24	0.21	0.23	0.22	0.19	0.20	0.25	9.66
10	0.49	0.55	0.46	0.42	0.41	0.43	0.42	0.45	0.47	0.48	9.25
11	0.33	0.34	0.36	0.33	0.30	0.32	0.31	0.36	0.33	0.31	6.15
12	0.62	0.57	0.43	0.61	0.58	0.56	0.44	0.66	0.74	0.69	16.78
13	0.16	0.15	0.11	0.17	0.14	0.16	0.15	0.14	0.13	0.15	11.73
14	0.68	0.65	0.66	0.42	0.45	0.59	0.75	0.64	0.59	0.55	17.10
15	0.13	0.12	0.14	0.14	0.13	0.15	0.12	0.12	0.13	0.14	7.82
16	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
17	0.28	0.26	0.27	0.22	0.29	0.28	0.28	0.31	0.29	0.28	8.57
18	0.73	0.76	0.81	0.74	0.79	0.56	0.69	0.74	0.95	0.48	17.94
19	0.11	0.12	0.14	0.1	0.12	0.11	0.12	0.13	0.11	0.14	11.11
20	0.16	0.16	0.16	0.12	0.14	0.12	0.13	0.13	0.14	0.16	11.88
21	0.12	0.12	0.14	0.12	0.13	0.13	0.12	0.15	0.14	0.15	9.31
22	0.10	0.10	0.09	0.11	0.12	0.12	0.14	0.10	0.11	0.09	14.84
23	0.23	0.27	0.23	0.24	0.23	0.21	0.25	0.20	0.20	0.24	9.61

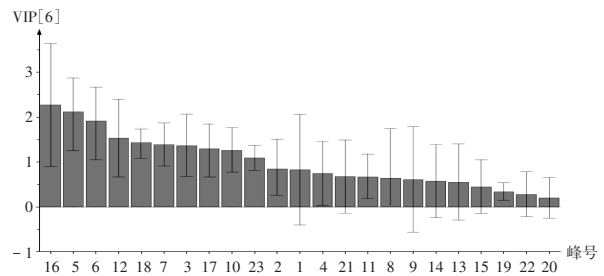


图4 10批样品PLS-DA VIP图

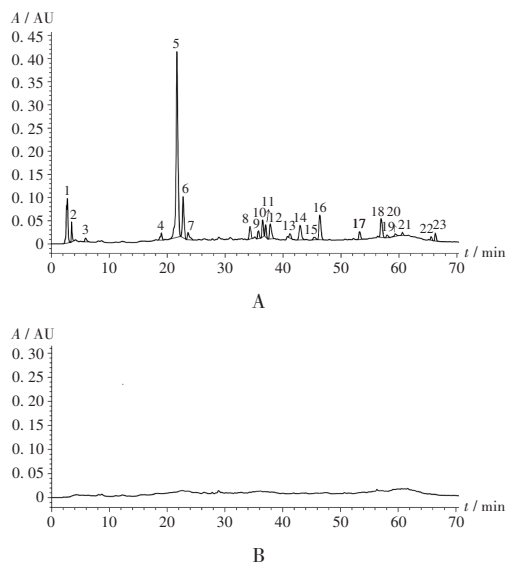
Fig. 4 VIP plot of PLS-DA of 10 batches of samples

物,依权重大小分别为16号峰(穿心莲内酯),5号峰(绿原酸),6号峰,12号峰(木犀草苷),18号峰(槲皮素),7号峰(咖啡酸),3号峰[(R,S)-告依春],17号峰(连翘苷),10号峰、23号峰(脱水穿心莲内酯)。

2.6 多指标成分含量测定

2.6.1 方法学考察

系统适用性试验:取2.2项下供试品溶液、阴性对照品溶液各适量,按2.1项下色谱条件进样测定,记录色谱。详见图3、图5。结果,8个有效成分的拖尾因子均为0.95~1.05,理论板数按绿原酸峰计算应不低于5000;分离度均大于1.5,基线分离良好。



A. 供试品溶液 B. 阴性对照品溶液

图5 含量测定高效液相色谱图

A. Test solution B. Negative reference solution

Fig. 5 HPLC chromatograms of content determination

线性关系考察:分别精密量取2.2项下混合对照品溶液1,2,4,6,8,10 mL,置10 mL容量瓶中,加流动相定容,摇匀,制成系列混合对照品溶液。精密量取10 μ L,按2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以待测成分质量浓度(X , μ g/mL)为横坐标、峰面积(Y)为纵坐标进行线性回归,得回归方程。结果见表2。

表2 线性关系及定量限、检测限考察结果

Tab. 2 Results of the linear relation test, limit of quantification and limit of detection investigation

待测成分	回归方程	r	线性范围 (μ g/mL)	定量限 (μ g/mL)	检测限 (μ g/mL)
(R,S)-告依春	$Y_1 = 6.20 \times 10^3 X_1 + 2.56 \times 10^2$	0.999 3	12.74~127.42	0.202 0	0.061 2
绿原酸	$Y_2 = 3.86 \times 10^4 X_2 + 1.69 \times 10^2$	0.999 5	223.98~2 239.78	0.041 4	0.012 5
咖啡酸	$Y_3 = 1.10 \times 10^4 X_3 - 3.21 \times 10^2$	0.999 1	25.83~258.33	0.070 1	0.021 1
木犀草苷	$Y_4 = 5.75 \times 10^3 X_4 + 1.78 \times 10^2$	0.998 9	17.42~174.19	0.118 8	0.037 1
穿心莲内酯	$Y_5 = 1.75 \times 10^4 X_5 + 4.06 \times 10^2$	0.999 4	10.05~100.54	0.118 2	0.035 9
连翘苷	$Y_6 = 2.27 \times 10^4 X_6 + 2.07 \times 10^2$	0.999 3	20.48~204.84	0.174 5	0.052 7
槲皮素	$Y_7 = 2.10 \times 10^2 X_7 + 5.39 \times 10^2$	0.999 1	32.66~326.61	0.091 1	0.027 4
脱水穿心莲内酯	$Y_8 = 8.02 \times 10^3 X_8 - 2.60 \times 10^2$	0.999 7	18.63~186.29	0.099 3	0.029 8

定量限及检测限考察:分别精密量取2.2项下混合对照品溶液适量,倍比稀释,并按2.1项下色谱条件进样测定,以信噪比10:1、3:1时的质量浓度分别记作定量限、检测限。结果见表2。

精密度试验:取2.2项下混合对照品溶液适量,按2.1项下色谱条件连续进样测定6次,记录峰面积。结果8个成分峰面积的RSD为0.75%~1.69%($n=6$),表明仪器精密度良好。

稳定性试验:取2.2项下供试品溶液(批号为

220307)适量,分别于室温下放置0,4,8,16,24,48 h时按2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果,8个成分峰面积的RSD分别为0.77%~1.70%($n=6$),表明供试品溶液在室温放置48 h内基本稳定。

重复性试验:取样品(批号为220307)适量,精密称定,各6份,按2.2项下方法制备供试品溶液,再按2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算含量。结果(R,S)-告依春、绿原酸、咖啡酸、木犀草苷、穿心莲内酯、连翘苷、槲皮素、脱水穿心莲内酯平均含量分别为0.765, 13.439, 1.550, 1.045, 0.603, 1.229, 1.960, 1.118 mg/g, RSD为0.35%~1.68%($n=6$),表明方法重复性良好。

加样回收试验:取已知含量样品(批号为220307)适量,共6份,分别加入一定质量浓度的对照品溶液,按2.2项下方法制备供试品溶液,再按2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算回收率。结果(R,S)-告依春、绿原酸、咖啡酸、木犀草苷、穿心莲内酯、连翘苷、槲皮素、脱水穿心莲内酯平均加样回收率分别为101.37%, 100.08%, 99.36%, 102.31%, 101.18%, 98.46%, 99.09%, 102.34%, RSD分别为1.39%, 2.52%, 1.69%, 2.22%, 2.31%, 1.88%, 1.64%, 1.72%($n=6$)。

2.6.2 含量测定

取10批样品各适量,分别按2.2项下方法制备供试品溶液,再按2.1项下色谱条件进样测定,平行测定3次,记录峰面积并计算样品含量。结果见表3。

表3 样品中8个成分含量测定结果(mg/g, $n=3$)

Tab. 3 Results of content determination of eight components in samples (mg/g, $n=3$)

编号	(R,S)-告依春	绿原酸	咖啡酸	木犀草苷	穿心莲内酯	连翘苷	槲皮素	脱水穿心莲内酯
S1	0.765	13.439	1.550	1.045	0.603	1.229	1.960	1.118
S2	0.759	13.125	1.412	1.114	0.744	1.325	2.014	1.214
S3	0.569	13.521	1.674	1.232	0.589	1.127	1.695	1.036
S4	0.633	13.016	1.268	0.714	0.711	1.026	1.744	1.071
S5	0.598	12.956	1.331	1.009	0.716	1.325	1.911	0.969
S6	0.426	12.785	1.258	0.785	0.689	1.155	1.947	0.787
S7	0.771	13.589	1.725	0.965	0.623	1.363	2.114	1.267
S8	0.790	13.442	1.474	1.052	0.598	0.989	1.785	0.695
S9	0.649	11.968	1.115	1.011	0.633	1.385	2.062	1.125
S10	0.825	12.528	1.065	0.858	0.579	1.437	1.967	1.211
RSD(%)	17.54	3.71	15.17	15.04	8.87	11.95	6.81	16.85

3 讨论

3.1 指标成分选择

复方双花片中金银花、连翘清热解毒、疏散痈肿,共为君药;穿心莲清热解毒、凉血消肿,为臣药;板蓝根清热凉血、疏散瘟疫、热毒发斑,为佐药;全方共奏

清热解毒、消肿散结、清瘟消疫、利咽止痛之功效。君药金银花、连翘治疗流感的主要成分包括槲皮素、木犀草素等^[16-18],其中槲皮素可抑制炎症细胞因子肿瘤坏死因子- α 、白细胞介素 1β 的分泌,木犀草素能使流感相关基因表达降低,绿原酸可调节机体免疫;穿心莲的活性成分穿心莲内酯具有较强的抗细菌和抗病毒作用;板蓝根中槲皮素、木犀草素等可通过靶向MAPK1蛋白,抑制炎症因子分泌,调节机体免疫功能^[19],同时(R,S)-告依春是板蓝根抗病毒的有效成分之一。结合2020年版《中国药典》及PLS-DA结果,确定(R,S)-告依春、绿原酸、咖啡酸、木犀草苷、穿心莲内酯、连翘苷、槲皮素、脱水穿心莲内酯为本研究的定量分析指标。

3.2 色谱条件考察

预试验中考察了甲醇-0.05%磷酸水溶液与乙腈-0.05%磷酸水溶液作为流动相进行梯度洗脱,结果乙腈洗脱能力优于甲醇,指纹图谱共有峰洗脱较完全,故采用后者作为流动相。通过二极管阵列检测器对供试品溶液及混合对照品溶液进行全波长扫描,显示分段波长采集法可保证色谱图中各化合物有最大吸收。考察了不同柱温(25℃、30℃、35℃、40℃),不同流速(0.7、0.8、0.9、1.0 mL/min)对结果的影响,最终确定色谱条件。

3.3 结果分析

本研究中所建复方双花片HPLC指纹图谱操作简单,定量分析指标覆盖制剂中的4味药材,且10批样品与对照指纹图谱的相似度高;不同批次样品色谱峰峰面积存在差异,筛选出10个与原始变量关系最为密切的目标峰,推断出影响不同批次样品差异的8个关键成分,即差异标志物,在日常质量控制中应加强对这8个关键成分的考察。大多数中药及中成药质量标准的含量测定成分仅为指标性成分而非有效成分,依据中药系统药理学分析平台(TCMSP)检索结果可知,槲皮素、木犀木苷、(R,S)-告依春、绿原酸、咖啡酸、穿心莲内酯、脱水穿心莲内酯、连翘苷均为本方中4味药材的活性成分。因此以上述8个成分作为复方双花片质量控制的定量指标具有研究意义。受现有条件限制,6号峰和10号峰尚不能定性定量分析,还需进一步实验验证。

3.4 方法评价

本研究建立了复方双花片HPLC指纹图谱,结合化学模式识别技术对指纹图谱进行综合评价,并对筛选出的8个差异标志物进行定量分析,方法操作简便、结果准确可靠,经方法学验证切实可行,可为完善制剂的药品标准提供参考。

参考文献

[1] 高君,马一敏. 复方双花口服液联合美洛西林舒巴坦钠治疗小儿急性化脓性扁桃体炎的临床研究[J]. 现代药物与

临床,2021,36(8):1702-1705.

- [2] 林镜宏. 复方双花片联合盐酸氨溴索治疗慢性支气管炎临床观察[J]. 实用中医药杂志,2022,38(5):755-756.
- [3] 唐伟丽,张涛,韩欣妍,等. 基于网络药理学探讨“秦药”复方双花片治疗流行性腮腺炎的作用机制[J]. 中国药事,2023,37(3):276-286.
- [4] 刘永刚,闫一敏,杨荣松. 复方双花片联合布地奈德治疗慢性咽喉炎的临床研究[J]. 现代药物与临床,2017,32(11):2137-2140.
- [5] 祖金玥. 复方双花口服液的质量标准提升研究[D]. 北京:北京中医药大学,2015.
- [6] WS₃-178(Z-178)-2002(Z),国家食品药品监督管理局国家药品标准[S].
- [7] 蒋永梅. 复方双花口服液的临床应用及药理研究进展[J]. 中国新药杂志,2020,29(14):1624-1627.
- [8] 沈宏忠,翁柏岳. 复方双花片联合西药对急性分泌性中耳炎患者血清及分泌物炎症因子的影响[J]. 中国生化药物杂志,2016,36(11):141-143.
- [9] 任莹,范姣姣,张鑫. HPLC法测定复方双花片中绿原酸、咖啡酸、连翘苷、穿心莲内酯和木犀草素[J]. 现代药物与临床,2017,32(7):1192-1195.
- [10] 何远景,廖雪青. HPLC法测定复方双花颗粒中穿心莲内酯和脱水穿心莲内酯的含量[J]. 中国民族民间医药,2016,25(9):30.
- [11] 徐妍,杨华蕊,杨永寿,等. 中药指纹图谱研究现状及展望[J]. 世界最新医学信息文摘,2018,18(76):91-94.
- [12] 赵娟,谢世静,赵兴华,等. 中药指纹图谱质控方法研究进展[J]. 云南中医中药杂志,2020,41(1):82-86.
- [13] 魏培,曹春泉,朱瑞娟,等. 高效液相色谱指纹图谱法结合化学模式识别评价脑安胶囊整体质量[J]. 中国药业,2023,32(3):67-72.
- [14] 孟然,吴哲,冯薇,等. 基于HPLC指纹图谱结合化学模式识别及多成分定量的蒲公英质量评价研究[J]. 中草药,2022,53(24):7887-7896.
- [15] 童欢,张明伟,张炳武,等. 基于指纹图谱、含量测定和化学模式识别的五子衍宗丸质量评价研究[J]. 药物分析杂志,2023,43(1):103-112.
- [16] 刘馨蔚,王雪峰. 基于网络药理学和分子对接探讨“金银花-连翘”治疗流行性感冒的作用机制[J]. 中国中西医结合儿科学,2022,14(3):238-245.
- [17] 王越欣,王梅,李宁,等. 连翘抗炎活性成分及作用机制研究进展[J]. 中华中医药学刊,2022,40(1):115-120.
- [18] 李国芸,钱旭东,王硕,等. 基于网络药理学探讨穿心莲治疗新型冠状病毒肺炎的作用机制[J]. 承德医学院学报,2021,38(4):274-281.
- [19] 王法琴,张荣波,丁元辰,等. 基于网络药理学探讨板蓝根抗呼吸道感染的相关机制[J]. 中国当代医药,2023,30(3):17-21.

(收稿日期:2023-12-28;修回日期:2024-03-13)