

中图分类号: R917; R927 文献标志码: A 文章编号: 1006-4931(2026)06-0087-07  
doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2026.06.019



## 灵泽片质量综合评价

朱 静<sup>1</sup>, 郭秀秀<sup>2</sup>

(1. 安徽省合肥市庐阳区三孝口街道社区卫生服务中心, 安徽 合肥 230061; 2. 安徽省宿州市食品药品检验检测中心, 安徽 宿州 234100)

**摘要:**目的 建立灵泽片的高效液相色谱(HPLC)指纹图谱及多成分定量测定方法,并评价制剂质量。方法 色谱柱为 Shim-pack GIST C<sub>18</sub> 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,检测波长为 254 nm,柱温为 30 °C,进样量为 20 μL。所得图谱导入中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012A 版),建立 10 批样品的 HPLC 指纹图谱,指认共有峰并计算相似度。通过相似度分析、聚类分析(CA)和正交偏最小二乘-判别分析(OPLS-DA)法筛选差异标志物,采用 Hotelling's T<sup>2</sup> 和 DModX 法分析样品批间一致性。采用 HPLC 法测定差异标志物含量。结果 10 批样品指纹图谱相似度均大于 0.990,共标定 34 个共有峰,指认出 9 个共有成分。10 批样品聚为 2 类,尿嘧啶、尿苷、23-乙酰泽泻醇 B、莪术二酮、牻牛儿酮、鸟苷、姜黄素为差异标志物。Hotelling's T<sup>2</sup> 和 DModX 控制限分别为 54.890 和 27.202,10 批样品均在控制限以下,批间一致性较好。7 个差异标志物在各自质量浓度范围内与峰面积线性关系良好( $r > 0.998 0, n = 8$ );检测限为 0.37~2.08 μg/mL;精密密度、稳定性、重复性试验结果的 RSD 均小于 3.0%( $n = 6$ );平均加样回收率为 97.32%~102.48%,RSD 为 0.54%~1.29%( $n = 9$ ),10 批样品中 7 个差异标志物含量的 RSD < 1.0%。结论 本研究中不同批次样品间一致性较好。所建方法结果准确、高效、重复性和稳定性好,可用于灵泽片的质量控制。

**关键词:** 灵泽片; 高效液相色谱法; 指纹图谱; 含量测定; 化学计量学; 质量评价

第一作者: 朱静,女,大学本科,副主任中药师,研究方向为中药及中药材质量,(电子信箱)791380960@qq.com。

值也较低,同时该企业是 18 家企业中唯一一家 9 个指标峰响应值均较低的企业,提示该企业可能在制剂过程中疏于对挥发油的控制。

### 3.4 方法评价

该方法专属性好、简单可行,为抗病毒口服液的质量控制提供了依据。造成部分企业相应指标峰响应值较低的原因可能为投料药材质量差异;未对相应挥发油进行管控,储存过程中部分挥发性成分损失。提示相关企业应把好药材质量关,严格控制挥发油提取工艺、制剂高温灭菌工艺,防止挥发油提取不完全或损失,同时还应重点关注贮藏过程中挥发性成分的损失情况。

### 参考文献

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 1027-1029.  
[2] 王捧英, 李国川, 李朝悦, 等. HPLC 同时测定抗病毒口服液中的(R,S)-告依春和连翘苷[J]. 华西药学杂志, 2019, 34(2): 173-175.  
[3] 邱陈劲, 孟鹤, 谢小燕, 等. 抗病毒口服液的质量标准改进研究[J]. 中国医院用药评价与分析, 2018, 18(7): 870-873.  
[4] 康志英, 蔡春玲, 连林生, 等. 抗病毒口服液中广藿香含量测定方法研究[J]. 中国医药导报, 2011, 8(2): 55-57.  
[5] 许雄博, 刘韶, 彭应枝, 等. GC-MS 结合化学计量学用于抗病毒口服液挥发油的研究[J]. 中中药学, 2015, 13(1): 87-90.  
[6] 韩建卫, 李晶, 王知斌, 等. GC-MS 联用法分析石菖蒲挥

发油的化学成分[J]. 化学工程师, 2019(4): 34-36.

[7] 曾晓艳, 李芳, 谭朝阳, 等. 石菖蒲和茴香菖蒲的生药学及 GC-MS 比较分析研究[J]. 时珍国医国药, 2021, 32(10): 2432-2436.  
[8] 罗球珠, 杨隼华, 巫资舜, 等. 菖蒲挥发油成分的气相色谱-质谱分析[J]. 中国药物经济学, 2021, 16(8): 116-120.  
[9] 刘晶, 王光函, 庞敏, 等. 气相色谱法测定温郁金挥发油中 5 种成分含量[J]. 中华中医药学刊, 2017, 35(9): 2415-2418.  
[10] 魏珊, 吴婷, 李敏, 等. 不同产地连翘挥发油主要成分分析及抗菌活性研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(4): 69-74.  
[11] 封燮, 石欢, 杨贵雅, 等. 基于 GC-MS 与化学计量学的不同采收时期连翘挥发油类成分动态变化研究[J]. 中国中药杂志, 2022, 47(1): 54-61.  
[12] 郭晓玲, 冯毅凡, 罗集鹏. 广藿香挥发油气相色谱指纹图谱再研究[J]. 中药材, 2004, 27(12): 903-908.  
[13] 田宇, 江汉美, 韩蔓, 等. HS-SPME-GC-MS 分析大青叶和板蓝根中挥发性成分[J]. 湖北农业科学, 2020, 59(14): 159-162.  
[14] 李星辰, 尹丽燕, 蔡红, 等. 温郁金化学成分、药理作用、临床应用的研究进展及其质量标志物的预测分析[J]. 中国中药杂志, 2023, 48(20): 5419-5437.  
[15] 张宽永, 沈燧, 张璐, 等. 基于 UPLC-Triple-TOF-MS 和网络药理学快速建立郁金潜在中药质量标志物成分库[J]. 中草药, 2022, 53(9): 2612-2622.

(收稿日期: 2024-12-11; 修回日期: 2025-12-18)

## Quality Comprehensive Evaluation of Lingze Tablets

ZHU Jing<sup>1</sup>, GUO Xiuxiu<sup>2</sup>

(1. Sanxiaokou Street Community Health Service Center, Luyang District, Hefei, Anhui 230061, China; 2. Suzhou Food and Drug Inspection and Testing Center, Suzhou, Anhui 234100, China)

**Abstract: Objective** To establish a high - performance liquid chromatography (HPLC) fingerprint and a method for determination of multi - component content of Lingze Tablets, and to evaluate the quality of the formulation. **Methods** The chromatographic column was Shim - pack GIST C<sub>18</sub> column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), the mobile phase was acetonitrile - 0.05% phosphoric acid solution (gradient elution), the flow rate was 1.0 mL / min, the detection wavelength was 254 nm, the column temperature was 30 °C, and the injection volume was 20 μL. The obtained chromatograms were imported into the *Traditional Chinese Medicine Chromatographic Fingerprint Similarity Evaluation System* (version 2012A) to establish the HPLC fingerprints for 10 batches of samples, the common peaks were identified, and the similarity was calculated. Differential markers were screened through similarity analysis, cluster analysis (CA), and orthogonal partial least squares - discriminant analysis (OPLS - DA). Hotelling's T<sup>2</sup> and DModX methods were employed to analyze the batch - to - batch consistency of samples. The HPLC method was used to detect the content of differential markers. **Results** The similarity of the fingerprint of 10 batches of samples was higher than 0.990, with 34 common peaks marked and nine common components identified. 10 batches of samples were clustered into two groups, with uracil, uridine, alisol B 23 - acetyl, curdione, germacrone, guanosine, and curcumin identified as differential markers. The control limits for Hotelling's T<sup>2</sup> and DModX were 54.890 and 27.202, respectively. All 10 batches of samples were under these control limits, with good batch to - batch consistency. The linear ranges of seven differential markers were good ( $r > 0.998 0, n = 8$ ); the limit of detection was in the range of 0.37 - 2.08 μg / mL; the RSDs of precision, stability, and repeatability test results were all lower than 3.0% ( $n = 6$ ); the average recovery rate was in the range of 97.32% - 102.48%, with RSDs of 0.54% - 1.29% ( $n = 9$ ), and the RSDs of the content of the seven differential markers in 10 batches of samples were all lower than 1.0%. **Conclusion** The consistency of samples among different batches in this study is relatively good. The established method is accurate, efficient, reproducible and stable, which can be used for the quality control of Lingze Tablets.

**Key words:** Lingze Tablets; HPLC; fingerprint; content determination; chemometrics; quality evaluation

灵泽片是由乌灵菌(粉)、莪术、浙贝母、泽泻4味药材组成的中药复方制剂,有益肾活血、软坚散结、利尿除湿的功效<sup>[1]</sup>。临床用于治疗前列腺增生肾虚血瘀湿阻证出现的尿频、排尿困难、尿线变细、淋漓不尽、腰膝酸软<sup>[2-3]</sup>。方中乌灵菌(粉)补益肾气、通利膀胱、除湿利尿,为君药;莪术破血行气、逐瘀消癥、软坚散结,为臣药;浙贝母清热化痰、开郁散结,为佐药;泽泻入肾、膀胱经,清泻肾火、利水渗湿,又为引药入膀胱,为使药,诸药相合,共奏益肾活血、散结利水之功效。灵泽片现收载于2020年版《中国药典(一部)》,以牻牛儿酮及呋喃二烯含量作为质控指标,但单一指标成分的定量分析无法全面反映复方制剂内在质量。高效液相色谱(HPLC)指纹图谱波长可较全面地反映中药及其制剂中所含化学成分的种类与数量,进而对药品质量进行整体描述和评价,对于提高中药质量及促进中药现代化具有重要意义<sup>[4]</sup>。聚类分析(CA)及正交偏最小二乘 - 判别分析(OPLS - DA)法等化学计量学方法可对指纹图谱原始数据进行归类分析,进一步反映中药及其制剂的一致性,两者结合已广泛用于中药领域的鉴别和质量评价<sup>[5-6]</sup>。本研究中拟建立灵泽片的HPLC指纹图谱,采用CA法<sup>[7]</sup>和OPLS - DA法分析不同批次样品的内在质量,并在此基础上设定 Hotelling's T<sup>2</sup>和

DModX 统计量的控制限和警戒限,结合多指标成分含量测定,全面、准确地反映灵泽片的质量,为灵泽片的质量控制和质量标准提升提供参考。现报道如下。

### 1 仪器与试剂

#### 1.1 仪器

UltiMate 3000 型高效液相色谱仪(美国 Thermo Fisher Scientific 公司);XPR105DR / AC 型电子天平,ME204T / 02 型电子天平(瑞士 Mettler Toledo 公司,精度分别为 0.01 mg 和 0.1 mg);KX - 2127QT 型超声波清洗机(北京科玺世纪科技有限公司)。

#### 1.2 试剂

灵泽片(浙江佐力药业股份有限公司,规格为每片 0.58 g,批号分别为 221024、221114、221207、230219、230221、230706、230815、230908、231002、231017,编号 S1 - S10);对照品尿嘧啶(批号为 100469 - 201302,含量 99.6%)、腺苷(批号为 110879 - 202204,含量 99.4%)、鸟苷(批号为 111977 - 202202,含量 88.6%)、尿苷(批号为 110887 - 202305,含量 99.6%)、莪术二酮(批号为 111800 - 202203,含量 99.8%)、牻牛儿酮(批号为 111665 - 201906,含量 99.8%)、呋喃二烯(批号为 111824 - 202203,含量 99.6%)、23 - 乙酰泽泻醇 B(批号为 111846 - 202307,含量 99.4%)、姜黄素(批号为

110823 - 202107, 含量 98.1%), 均购自中国食品药品检定研究院; 甲醇、乙腈均为色谱纯, 磷酸为分析纯, 水为娃哈哈纯净水。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

色谱柱: Shim-pack GIST C<sub>18</sub>柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈(A) - 0.05% 磷酸水溶液(B), 梯度洗脱(0 ~ 10 min 时 2%A, 10 ~ 20 min 时 2%A → 13%A, 20 ~ 30 min 时 13%A → 20%A, 30 ~ 50 min 时 20%A → 40%A, 50 ~ 60 min 时 40%A → 62%A, 60 ~ 70 min 时 62%A → 2%A); 流速: 1.0 mL/min; 检测波长: 254 nm; 柱温: 30 °C; 进样量: 20 μL。

### 2.2 溶液制备

混合对照品溶液: 取对照品尿嘧啶、腺苷、鸟苷、尿苷、莪术二酮、牻牛儿酮、呋喃二烯、23-乙酰泽泻醇B、姜黄素各适量, 精密称定, 加 70% 甲醇溶解, 制成质量浓度分别为 220.68, 293.52, 226.48, 221.60, 329.08, 200.04, 224.20, 337.76, 39.84 μg/mL 的混合对照品贮备液; 精密量取 5 mL, 置 25 mL 容量瓶中, 加 70% 甲醇稀释, 制成质量浓度分别为 44.14, 58.70, 45.30, 44.32, 65.82, 40.01, 44.84, 67.55, 7.97 μg/mL 的溶液, 摇匀, 经 0.45 μm 的微孔滤膜过滤, 取续滤液, 即得。

供试品溶液: 取样品 10 片, 研细, 混匀, 取细粉约 1.0 g, 精密称定, 置 100 mL 具塞锥形瓶中, 精密加入 70% 甲醇 30 mL, 密塞, 称定质量, 超声(功率 250 W、频率 40 kHz, 下同)处理 45 min, 冷却至室温, 再次称定质量, 用 70% 甲醇补足减失的质量, 摇匀, 经 0.45 μm 的微孔滤膜过滤, 取续滤液, 即得。

空白溶剂: 以水为空白溶剂。

### 2.3 HPLC 指纹图谱建立

#### 2.3.1 方法学考察

精密度试验: 取 2.2 项下供试品溶液(编号 S1), 按

2.1 项下色谱条件连续进样 6 次, 记录色谱图。以峰 17(牻牛儿酮)为参照峰, 计算各共有峰的相对保留时间(RRT)和相对峰面积(RPA)。结果的 RSD 分别小于 0.37% 和小于 2.24%(n = 6), 表明方法精密度良好。

稳定性试验: 取 2.2 项下供试品溶液(编号 S1), 于室温下放置 0, 4, 8, 16, 20, 24 h 时按 2.1 项下色谱条件进样测定, 记录色谱图。以峰 17(牻牛儿酮)为参照峰, 计算各共有峰的 RRT 和 RPA。结果的 RSD 分别小于 0.41% 和小于 2.86%(n = 6), 表明供试品溶液室温放置 24 h 内基本稳定。

重复性试验: 取样品(编号 S1)适量, 按 2.2 项下方法制备供试品溶液, 平行 6 份, 按 2.1 项下色谱条件进样测定, 记录色谱图。以峰 17(牻牛儿酮)为参照峰, 计算各共有峰的 RRT 和 RPA。结果的 RSD 分别小于 0.59% 和小于 3.64%(n = 6), 表明方法重复性良好。

#### 2.3.2 指纹图谱建立

取 10 批样品各适量, 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色谱指纹图谱相似度评价系统(2012A 版), 时间窗宽度设定为 0.3 min, 参考图谱为 S1<sup>[8]</sup>, 采用多点校正法自动匹配分析, 建立灵泽片 HPLC 叠加指纹图谱和对照指纹图谱(R)。详见图 1。10 批样品与对照指纹图谱的相似度分别为 1.000, 0.997, 0.998, 0.991, 0.996, 0.995, 0.995, 0.998, 0.992, 0.994, 均大于 0.990, 相似度良好。

10 批样品指纹图谱共标定 34 个共有峰, 取供试品溶液(S1)和混合对照品溶液, 按 2.1 项下色谱条件进样分析, 采用保留时间比较法, 指认出 9 个色谱峰, 其中峰 3 为尿嘧啶, 峰 4 为腺苷, 峰 12 为 23-乙酰泽泻醇 B, 峰 14 为莪术二酮, 峰 17 为牻牛儿酮, 峰 19 为呋喃二烯, 峰 24 为腺苷, 峰 26 为鸟苷, 峰 31 为姜黄素, 其中峰 17 保留时间相对适中, 与相邻色谱峰分离度较好, 性质稳定且色谱响应值适中, 故选择其作为参照峰(S)。以峰 17 为参

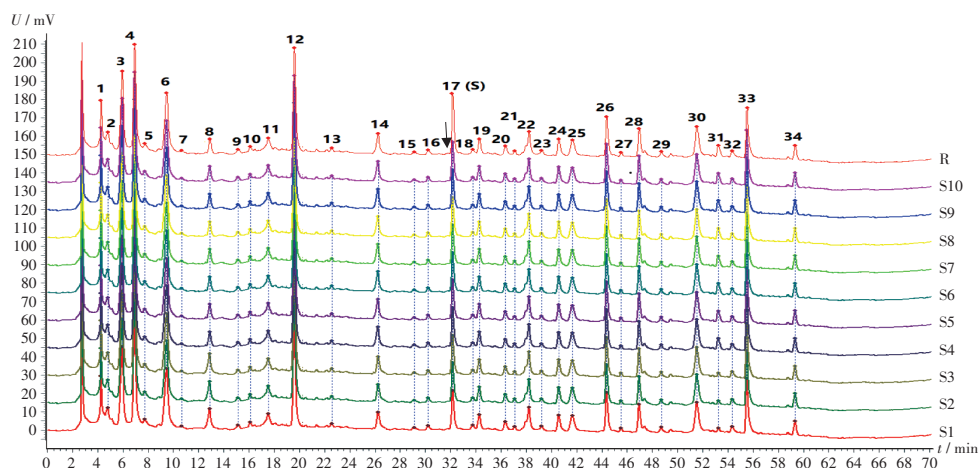
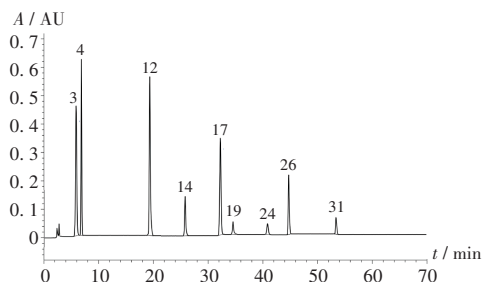


图 1 10 批样品高效液相色谱叠加指纹图谱

Fig. 1 HPLC superimposed fingerprint for 10 batches of samples



3. 尿嘧啶 4. 尿苷 12. 23 - 乙酰泽泻醇B 14. 菝葜二酮  
17. 牻牛儿酮 19. 呋喃二烯 24. 腺苷 26. 鸟苷 31. 姜黄素

图2 混合对照品溶液高效液相色谱图

3. Uracil 4. Uridine 12. Alisol B 23-acetyl 14. Curdione 17. Germacrone  
19. Furanedione 24. Adenosine 26. Guanosine 31. Curcumin

Fig. 2 HPLC chromatograms of mixed reference solution

照,计算其他共有峰的RRT和RPA,结果的RSD分别为1.23%~2.74%和1.69%~9.82%(n=10),表明10批样品各批次间共有成分基本一致,但化学成分峰面积存在较大差异。混合对照品溶液色谱图见图2。

## 2.4 化学计量学分析

### 2.4.1 CA

以10批样品34个共有峰峰面积为变量建立样本,导入SPSS 22.0统计学软件,采用组间连接系统聚类法,以平方欧式距离为测度进行聚类分析,聚类分析树状图见图3。可见,当类间距离为10时,10批样品可聚为2类:S1-S3为I类,S4-S10为II类,表明10批样品指纹图谱存在组间差异。

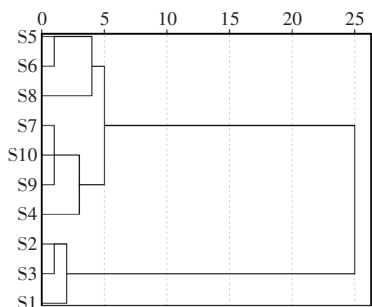


图3 10批样品聚类分析树状图

Fig. 3 Dendrogram of CA of 10 batches of samples

### 2.4.2 OPLS-DA

以指纹图谱34个共有峰峰面积为变量,使用Simca-P 14.1软件进行OPLS-DA分析。结果共提取2个主成分,主成分模型解释率参数 $R^2X$ 为0.966,模型区分参数 $R^2Y$ 为0.972,模型预测力参数 $Q^2$ 为0.981,表明所建模型有效可靠<sup>[9]</sup>,可用于判别分析10批样品的组间差异。分析结果变量重要性投影(VIP)值见图4。VIP值的大小,可直观体现变量对组间差异的权重,变量VIP>1.0,说明该变量对组间差异的影响具有统计学意义,可作为差异标志物,本研究共筛选出9个差异标志物,

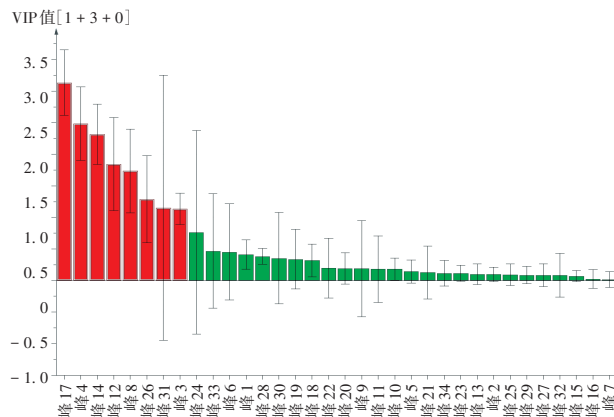


图4 10批样品OPLS-DA VIP图

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

依权重从大到小依次为峰17(牻牛儿酮)、峰4(尿苷)、峰14(菝葜二酮)、峰12(23-乙酰泽泻醇B)、峰8、峰26(鸟苷)、峰31(姜黄素)、峰3(尿嘧啶)。

### 2.4.3 Hotelling's T<sup>2</sup>和DModX控制限建立

采用Simca-P 14.1软件进行Hotelling's T<sup>2</sup>和DModX统计量分析,控制图见图5、图6。图中控制限 $T^2_{crit}(99\%)$ 为54.890, $D_{crit}(0.05)$ 为1.713;警戒限 $T^2_{crit}(95\%)$ 为27.202,10批样品均在Hotelling's T<sup>2</sup>和DModX控制限以下,表明10批样品批间一致性较好。

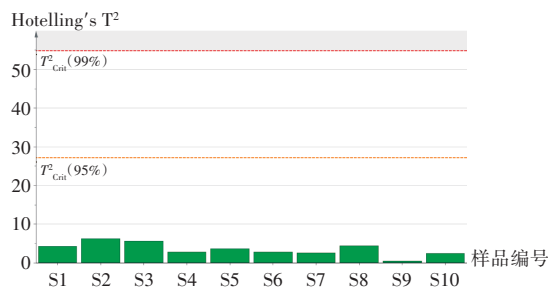


图5 10批样品Hotelling's T<sup>2</sup>控制图

Fig. 5 Hotelling's T<sup>2</sup> control chart of 10 batches of samples



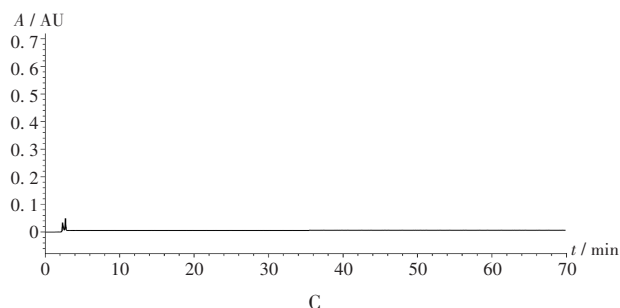
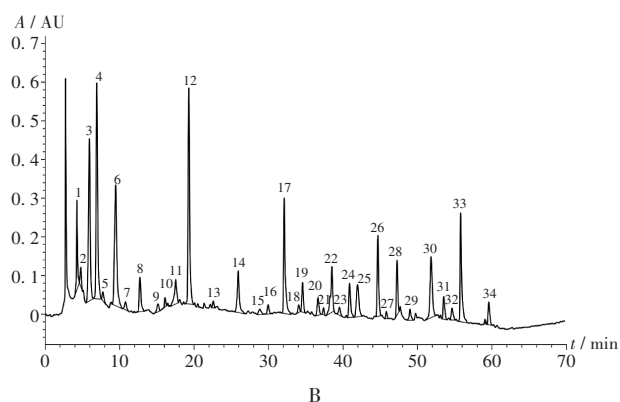
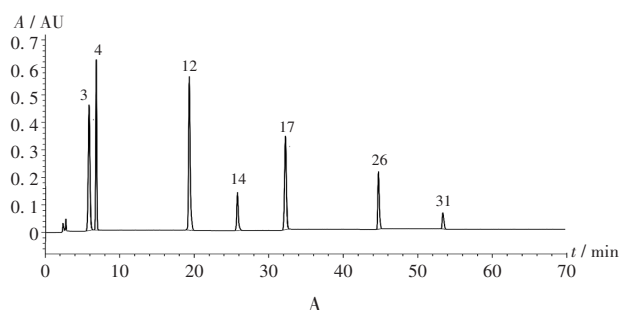
图6 10批样品DModX控制图

Fig. 6 DModX control chart of 10 batches of samples

## 2.5 差异标志物含量测定

### 2.5.1 方法学考察

专属性试验:精密吸取2.2项下3种溶液(溶剂),按2.1项下色谱条件进样测定,记录色谱图。结果供试品溶液色谱图中7个已知化学成分差异标志物色谱峰与相邻色谱峰分离度>1.5,理论板数按牻牛儿酮色谱



3. 尿嘧啶 4. 尿苷 12. 23 - 乙酰泽泻醇B 14. 莪术二酮  
17. 牻牛儿酮 26. 鸟苷 31. 姜黄素  
A. 混合对照品溶液 B. 供试品溶液 C. 空白溶剂

图7 专属性试验高效液相色谱图

3. Uracil 4. Uridine 12. Alisol B 23-acetyl 14. Curdione 17. Germacrone  
26. Guanosine 31. Curcumin  
A. Mixed reference solution B. Test solution C. Blank solvent

Fig. 7 HPLC chromatograms of the specificity test

峰计大于7500,空白溶剂无干扰。详见图7。

线性关系与检测限考察:取2.2项下混合对照品贮备液1,2,3,4,5,6,7,8 mL,分别置10 mL容量瓶中,用70%甲醇稀释,制成系列混合对照品溶液,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( $X, \mu\text{g}/\text{mL}$ )为横坐标,峰面积( $Y$ )为纵坐标进行线性回归,得回归方程和线性范围。另取混合对照品溶液,逐级稀释,按2.1项下色谱条件进样测定,分别以信噪比( $S/N$ )为3时相应成分的质量浓度为检测限。结果见表1。

精密度试验:取混合对照品溶液,按2.1项下色谱条件连续进样测定6次,记录色谱图。结果尿嘧啶、尿苷、23-乙酰泽泻醇B、莪术二酮、牻牛儿酮、鸟苷和姜黄素峰面积的RSD分别为0.57%,0.39%,0.62%,0.56%,

表1 线性关系与检测限考察结果( $n=8$ )

Tab. 1 Results of linear relationship and limit of detection( $n=8$ )

待测成分	回归方程	$r$	线性范围( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	检测限( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )
尿嘧啶	$Y_1 = 152 X_1 + 112$	0.9991	22.07~176.54	1.41
尿苷	$Y_2 = 161 X_2 + 214$	0.9988	29.35~234.82	0.71
23-乙酰泽泻醇B	$Y_3 = 270 X_3 + 120$	0.9994	22.65~181.18	0.72
莪术二酮	$Y_4 = 96.8 X_4 + 169$	0.9992	22.16~177.28	1.42
牻牛儿酮	$Y_5 = 133 X_5 + 243$	0.9997	32.91~263.26	1.04
鸟苷	$Y_7 = 73.8 X_7 + 191$	0.9992	33.78~270.21	2.08
姜黄素	$Y_8 = 350 X_8 + 233$	0.9993	3.98~31.87	0.37

0.77%,0.34%,0.67%( $n=6$ ),表明仪器精密度良好。

稳定性试验:取2.2项下供试品溶液(编号S1),室温放置0,5,10,15,20,24 h时按2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果尿嘧啶、尿苷、23-乙酰泽泻醇B、莪术二酮、牻牛儿酮、鸟苷和姜黄素峰面积的RSD分别为1.02%,1.74%,1.13%,0.77%,1.93%,1.79%,1.20%( $n=6$ ),表明供试品溶液室温放置24 h内基本稳定。

重复性试验:取同一批样品(编号S1)适量,按2.2项下方法制备供试品溶液,平行6份,按2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积,并计算样品含量。结果尿嘧啶、尿苷、23-乙酰泽泻醇B、莪术二酮、牻牛儿酮、鸟苷和姜黄素平均含量分别为1.119,1.463,1.122,1.085,1.644,1.687,0.193 mg/g,RSD分别为1.29%,2.41%,1.32%,1.88%,1.19%,1.74%,1.36%( $n=6$ ),表明方法重复性良好。

加样回收试验:取样品细粉约0.5 g,9份,精密称定,置100 mL锥形瓶中,分别加入混合对照品贮备液3,2.5,2 mL,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,记录峰面积。结果尿嘧啶、尿苷、23-乙酰泽泻醇B、莪术二酮、牻牛儿酮、鸟苷和姜黄素平均加样回收率分别为100.49%,101.65%,97.94%,98.53%,100.67%,97.32%,101.58%,RSD分别为0.93%,1.20%,1.05%,1.09%,0.56%,1.29%,0.54%( $n=9$ )。

### 2.5.2 样品含量测定

取10批样品各适量,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3次,记录峰面积,以外标法计算7个差异标志物的含量。结果见表2。

## 3 讨论

### 3.1 指标成分选择

灵泽片中鸟灵菌粉含有核苷、氨基酸、黄酮、多糖等多种成分,其中腺苷、鸟苷、尿苷等核苷类成分是其最重要的功效物质<sup>[10]</sup>;呋喃二烯等挥发油类和姜黄素类成分是莪术发挥抗肿瘤、保肝、镇痛抗炎等作用的两大物质基础<sup>[11]</sup>,有研究发现,姜黄素、莪术酮、莪术二酮

表2 样品含量测定结果(mg/g, n=3)

Tab. 2 Results of the content determination of samples(mg/g, n=3)

编号	尿嘧啶	尿苷	23-乙酰泽泻醇B	莪术二酮	牻牛儿酮	鸟苷	姜黄素
S1	1.119	1.463	1.122	1.085	1.644	1.687	0.193
S2	1.236	1.236	1.065	1.112	1.663	1.569	0.187
S3	1.224	1.398	1.322	1.147	1.658	1.574	0.199
S4	1.374	1.663	0.988	1.525	1.999	1.477	0.347
S5	1.536	1.741	0.969	1.654	2.215	1.352	0.339
S6	1.296	1.598	0.789	1.574	1.963	1.556	0.412
S7	1.318	1.665	0.852	1.612	2.132	1.547	0.325
S8	1.679	1.674	0.996	1.636	2.345	1.332	0.314
S9	1.306	1.755	0.725	1.459	3.252	1.447	0.336
S10	1.715	1.698	0.963	1.670	2.341	1.515	0.327
$\bar{X}$	1.380	1.589	0.979	1.447	2.121	1.506	0.298
RSD(%)	0.14	0.11	0.17	0.16	0.23	0.07	0.26

等成分为广西莪术的质量标志物<sup>[12]</sup>;浙贝母主要含有生物碱类、黄酮类、萜类及皂苷类、糖类等化学成分<sup>[13]</sup>, 2020年版《中国药典(一部)》中浙贝母的主要活性成分为贝母素甲和贝母素乙,为甾体生物碱,紫外吸收较弱,在现有色谱条件下无法检测出,因此本研究中将进一步采用蒸发光检测器对灵泽片中浙贝母的质量进行评价;泽泻的化学成分主要包括三萜类、倍半萜类、苯丙素类、二萜类、糖类和挥发油等<sup>[14]</sup>,其中以23-乙酰泽泻醇B为代表的三萜类化合物为其主要药效成分<sup>[15]</sup>。基于中医药理论及复方制剂药效作用,本研究中选择尿嘧啶、尿苷、23-乙酰泽泻醇B、莪术二酮、牻牛儿酮、呋喃二烯、腺苷、鸟苷和姜黄素作为指认的指标成分。

### 3.2 提取条件选择

灵泽片化学成分复杂,有效成分极性相差较大,因此,预试验中分别考察了不同提取溶剂(甲醇、95%甲醇、70%甲醇、45%甲醇、95%乙醇、70%乙醇、45%乙醇、纯水),不同提取方式(超声提取、加热回流提取),不同提取时间(30,45,60 min)和不同料液比(1:20、1:30、1:40、1:50)对供试品色谱图的影响,结果表明,以供试品色谱图中色谱峰数量、相邻色谱峰分离度及7个定量分析成分的提取率为综合指标,以2.2项下供试品溶液制备方法取效果最好。

### 3.3 色谱条件选择

预试验中采用二极管阵列检测器全波段扫描供试品溶液,以色谱图中色谱峰数量、峰面积响应值及色谱峰峰形为指标选择波长,发现254 nm波长处可获得较优图谱。通过比较不同流动相梯度洗脱系统(乙腈-水、乙腈-0.05%磷酸水溶液、乙腈-0.05%甲酸水溶

液、甲醇-水、甲醇-0.05%磷酸水溶液、甲醇-0.05%甲酸水溶液),不同流速(0.8,0.9,1.0,1.1 mL/min),不同柱温(25,30,35,45 °C)对检测结果的影响,结果表明,采用乙腈-0.05%磷酸水溶液洗脱,流速1.0 mL/min,柱温30 °C时色谱峰的分离效果最好,故选择。

### 3.4 控制限建立

Hotelling's  $T^2$ 和DModX控制图是为监测不同批次样品而开发的,Hotelling's  $T^2$ 表示每个选定观察点与模型平面原点的距离,为模型内部变化度量;DModX表示数据在变量X空间到主成分模型的距离,反映出采样点偏离模型的程度,为模型外部数据变化度量,两者结合可诊断异常样品,分析异常变量,可作为批次一致性评价指标<sup>[16]</sup>。通常认为在控制限度以下的产品为正常批次产品,超出控制限的为异常批次样品。本研究结果显示10批样品均在控制限以下,批间一致性较好。

### 3.5 方法评价

本研究中所建立的灵泽片HPLC指纹图谱方法简单,相似度分析和控制限结果显示10批样品指纹图谱整体一致性良好,但不同批次间仍存在差异,通过化学计量学分析可知,牻牛儿酮等8个差异标志物是引起批次差异的关键成分。应用指纹图谱色谱方法对其中7个成分化合物进行定量分析,方法可行性高,专属性强,可为准确评价灵泽片质量提供依据。

### 参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 1077.
- [2] 陈少峰, 耿强, 李春旭, 等. 灵泽片联合盐酸坦洛新治疗良性前列腺增生患者短期疗效观察[J]. 广东医学, 2024, 45(2): 183-187.
- [3] 赵明君, 沙可夫, 王莹. 灵泽片联合爱普列特治疗良性前列腺增生的疗效观察[J]. 现代药物与临床, 2023, 38(5): 1203-1207.
- [4] 黄蕾, 郑丽慧, 宋维, 等. 指纹图谱结合化学计量学筛选败黄肝宁合剂的质量标志物及定量分析[J]. 中药材, 2024, 47(3): 676-680.
- [5] 汪杰, 刘宇洁, 张静, 等. 基于化学计量法和指纹图谱对生姜不同处理方法的成分差异研究[J]. 中草药, 2024, 55(9): 3107-3115.
- [6] 李菲. 基于高效液相色谱指纹图谱及多指标成分分析的化学计量学评价活血消痛酊质量[J]. 中国药业, 2023, 32(15): 79-84.
- [7] 姜军华, 陈建兰, 许妍, 等. 基于指纹图谱及聚类分析评价小儿咽扁颗粒的质量[J]. 儿科药学杂志, 2023, 29(6): 27-31.
- [8] 陈旭, 姜建双, 李德华, 等. HPLC指纹图谱和多成分定量结合化学模式识别评价菊苣子质量[J]. 中草药, 2024, 55(13): 4526-4534.
- [9] 陈培钰, 陈婷, 李紫琳. HPLC多指标成分联合PCA和