

指纹图谱结合多成分含量测定的猪苓配方颗粒质量评价

李彬, 倪东宇, 张梦奇, 张红萍, 吴纤慷, 徐虹, 郑国平, 王琼芬^{*}(舟山市食品药品检验检测研究院, 浙江 舟山 316000)

摘要: 目的 建立猪苓配方颗粒质量评价方法, 综合评价不同厂家产品质量均一性和稳定性。方法 采用 HPLC 以 Shim-pack GIST C₁₈-AQ(4.6 mm×150 mm, 3 μm)为色谱柱, 乙腈-水溶液为流动相, 梯度洗脱, 流速 1.0 mL·min⁻¹, 检测波长为 350 nm(0~3 min)和 250 nm(3~35 min), 柱温 30 ℃, 构建不同厂家猪苓配方颗粒指纹图谱, 指认共有峰, 并进行相似度评价、聚类分析; 采用相同 HPLC 测定 4 种活性成分含量, 对 16 批样品进行质量分析和评价。结果 猪苓配方颗粒指纹图谱共标定 14 个共有峰, 指认出其中 6 个成分, 分别为 2 号峰(尿苷)、4 号峰(鸟苷)、6 号峰(腺苷)、12 号峰(猪苓酮 B)、13 号峰(猪苓酮 A)、14 号峰(猪苓酮 C); 16 批样品指纹图谱相似度为 0.609~0.982; 聚类分析将全部样品分为 2 大类; 鸟苷、腺苷、猪苓酮 B、猪苓酮 A 在各自质量浓度范围内线性关系良好, r 均 ≥ 0.999 7; 仪器精密度、重复性、稳定性试验的 RSD 均 $<3\%$; 平均加样回收率分别为 98.22%, 99.32%, 99.56%, 99.15%, RSD 均 $<3\%$ ($n=6$)。16 批样品中, 鸟苷、腺苷、猪苓酮 B、猪苓酮 A 含量分别为 6.326~28.006, 13.392~44.058, 10.324~30.335, 9.270~26.964 μg·g⁻¹。结论 不同厂家样品存在较大的质量差异, 本研究建立的指纹图谱结合多指标性成分含量测定方法可全面、准确评价猪苓配方颗粒内在质量, 为整体提升该药品质量提供依据。

关键词: 猪苓配方颗粒; 高效液相色谱法; 指纹图谱; 聚类分析; 含量测定; 质量评价

中图分类号: R284.1

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2023)18-2556-06

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.20231239

引用本文: 李彬, 倪东宇, 张梦奇, 等. 指纹图谱结合多成分含量测定的猪苓配方颗粒质量评价[J]. 中国现代应用药学, 2023, 40(18): 2556-2561.

Quality Evaluation of Polyporus Formula Granules Based on Fingerprint and Multi-component Determination

LI Bin, NI Dongyu, ZHANG Mengqi, ZHANG Hongping, WU Qiansu, XU Hong, ZHENG Guoping, WANG Qiongfeng^{*}(Zhoushan Institute for Food and Drug Control, Zhoushan 316000, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish the quality evaluation method of Polyporus formula granules, and to comprehensive evaluate the quality uniformity and stability of products from different manufacturers. **METHODS** The fingerprint of Polyporus formula granules was determined by HPLC. Shim-pack GIST C₁₈-AQ(4.6 mm×150 mm, 3 μm) was used, mobile phase was acetonitrile-water with gradient elution, volume flow rate was 1.0 mL·min⁻¹, detection wavelength was 350 nm (0~3 min) and 250 nm(3~35 min), column temperature was 30 ℃. HPLC fingerprints of Polyporus formula granules from different manufacturers were established, common peaks were identified, similarities were evaluated and cluster analysis were performed. HPLC was used to determine the contents of 4 active ingredients, and the quality of 16 batches of samples was analyzed and evaluated. **RESULTS** The established HPLC fingerprint of Polyporus formula granules defined 14 common peaks and identified 6 common components. They were peak 2(uridine), peak 4(guanosine), peak 6(adenosine), peak 12(polyporusteron B), peak 13(polyporusteron A), peak 14(polyporusteron C). The similarity of 16 batches of samples were 0.609~0.982, and could be clustered into 2 categories by cluster analysis. Guanosine, adenosine, polyporusteron B and polyporusteron A all showed good linear relationships($r\geq 0.999$ 7), RSDs of instrument precision, stability and reproducibility tests were $<3\%$. The average recoveries were 98.22%, 99.32%, 99.56%, 99.15%, RSD $<3\%$ ($n=6$). The contents of guanosine, adenosine, polyporusteron B, polyporusteron A in 16 batches of samples were 6.326~28.006, 13.392~44.058, 10.324~30.335, 9.270~26.964 μg·g⁻¹. **CONCLUSION** There is considerable quality difference among different manufacturers. The established fingerprint combine with the compound determination can comprehensively and accurately evaluate the internal quality of Polyporus formula granules, and provide a basis for the overall improvement of the quality.

KEYWORDS: Polyporus formula granules; HPLC; fingerprints; cluster analysis; content determination; quality evaluation

猪苓配方颗粒为多孔菌科真菌猪苓 *Polyporus umbellatus* (Pers.) Fries 的干燥菌核经炮制并按标准汤剂的主要质量指标加工制成的配方颗粒, 经

临床配方后直接冲服使用。猪苓已有两千多年入药历史, 始载于《神农本草经》, 列为中品, 是一种应用广泛的真菌类药材^[1]。其性平, 味甘、淡,

作者简介: 李彬, 男, 副主任药师 E-mail: 852914518@qq.com

^{*}通信作者: 王琼芬, 女, 主任药师

E-mail: wqf6512@aliyun.com

· 2556 · Chin J Mod Appl Pharm, 2023 September, Vol.40 No.18

中国现代应用药学 2023 年 9 月第 40 卷第 18 期

具有利水渗湿之功效,主要用于小便不利、水肿、泄泻、淋浊、带下的治疗^[2]。猪苓化学成分众多,主要含有甾体类、多糖类、非甾体类、氨基酸类等成分,其中甾体类(麦角甾醇、麦角甾酮、猪苓酮等)是其主要化学成分^[3-4],中国药典 2020 年版把麦角甾醇作为猪苓指标性成分。

中药配方颗粒由单味中药饮片经水提、分离、浓缩、干燥、制粒而成,也称为免煎中药饮片,目前其质量监管纳入中药饮片管理范畴^[5]。因中药配方颗粒失去了饮片原本的性状、显微特征,故无法通过这些特征识别区分其质量真伪优劣^[6],因此,对化学成分的分析测定成为辨别其质量的重要手段^[7]。猪苓中作为其主要活性成分的甾体类化合物因水溶性差,水煎提取制备转移率低,尤其是麦角甾醇、麦角甾酮转移率极低,有文献报道采用质谱法检测猪苓颗粒中以上 2 种成分,结果含量甚低^[8],因此,常规方法难以精确定量。研究中发现猪苓酮成分则能达到较好的转移,另外,核苷类成分作为真菌类中药特有的非甾体类活性物质^[9],在猪苓水煎液中也能得到较好的转移。

目前,有关猪苓配方颗粒质量评价相关研究甚少,已有报道的仅有单一多糖成分、核苷成分的 HPLC 指纹图谱研究^[10],难以全面反映其整体质量。基于此,本研究建立能同时反映猪苓配方颗粒中多类活性成分信息的 HPLC 指纹图谱,通过对不同厂家样品进行指纹图谱相似度评价和聚类分析,以及 4 种活性成分(鸟苷、腺苷、猪苓酮 B、猪苓酮 A)含量测定,可更全面、客观反映药品内在质量,以期为猪苓配方颗粒整体质量控制和评价提供依据。

1 仪器与试剂

Agilent 1260 液相色谱仪(美国 Agilent 公司); XSE205DU 电子天平(梅特勒-托利多仪器有限公司); KQ-250DV 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

尿苷(批号:110887-202104;纯度:99.6%)、鸟苷(批号:111977-202202;纯度:88.6%)、腺苷(批号:111879-202204;纯度:99.4%)均由中国食品药品检定研究院提供;猪苓酮 B(批号:260102-202112;纯度:99.1%)、猪苓酮 A(批号:260101-202202;纯度:98.74%)、猪苓酮 C(批号:260179-202302;纯度:98.93%)均由上海鸿永生物科技有限公司提供;甲醇(分析纯,国药集团化学

试剂有限公司);乙腈(色谱纯,德国 Merck 公司);水为超纯水。7 个厂家 16 批猪苓配方颗粒样品编号(批号)分别为:S1~S2(A 厂,批号:2108092,2108115)、S3~S4(B 厂,批号:K2107169,K2109062)、S5~S6(C 厂,批号:20080623,21090081)、S7~S8(D 厂,批号:210901,211001)、S9~S12(E 厂,批号:A2030973,A2049351,A2085363,A2120601)、S13(F 厂,批号:21180015)、S14~S16(G 厂,批号:21020181,21090371,21109616)均为市售品。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

Shim-pack GIST C₁₈-AQ 色谱柱(4.6 mm×150 mm,3 μm);流动相为乙腈(A)-水(B),梯度洗脱:0~8 min,2%A;8~30 min,2%→50%A;30~35 min,50%A;流速:1.0 mL·min⁻¹;检测波长:0~3 min 为 350 nm、3~35 min 为 250 nm;柱温:30 ℃;进样体积为 10 μL。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液的制备 取尿苷、鸟苷、腺苷、猪苓酮 B、猪苓酮 A、猪苓酮 C 对照品适量,精密称定,分别加 50%甲醇溶解并制成质量浓度为 473.30,725.81,653.26,604.11,574.67,364.06 μg·mL⁻¹ 单一对照品储备液。精密吸取鸟苷、腺苷、猪苓酮 B、猪苓酮 A 储备液各适量,置同一 25 mL 量瓶中,加 50%甲醇稀释制成质量浓度依次为 29.032,26.130,24.165,22.987 μg·mL⁻¹ 的混合对照品溶液 I;再精密吸取鸟苷、腺苷、猪苓酮 B、猪苓酮 A 储备液各适量,置于 500 mL 量瓶中,加 50%甲醇稀释制成质量浓度分别为 7.839,11.759,7.249,6.436 μg·mL⁻¹ 的混合对照品溶液 II。

2.2.2 供试品溶液的制备 取样品,研细,精密称取细粉适量(约相当于猪苓饮片 14 g),置具塞锥形瓶中,精密加入 50%甲醇 25 mL,称定质量,超声处理(功率 200 W,频率 40 kHz)30 min,放冷,再称定质量,用 50%甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.3 方法学考察

2.3.1 仪器精密度试验 取样品(S1)按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件连续进样 6 次,记录色谱图,以腺苷为参照峰,分别计算各共有峰的相对保留时间和相对峰面积的 RSD 值。结果显示各共有峰的相对保留时间 RSD 为 0.23%~0.87%,相对峰面积 RSD 为 0.31%~

1.08%，表明仪器精密度良好。

2.3.2 重复性试验 取样品(S1)按“2.2.2”项下方法平行制备供试品溶液 6 份，按“2.1”项下色谱条件进样测定，记录色谱图，分别计算各共有峰的相对保留时间和相对峰面积的 RSD 值。结果显示各共有峰的相对保留时间 RSD 为 0.21%~1.25%，相对峰面积 RSD 为 1.06%~2.97%，表明该方法重复性良好。

2.3.3 稳定性试验 取样品(S1)按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液，按“2.1”项下色谱条件，分别在 0, 4, 8, 12, 18, 24 h 测定，记录色谱图，分别计算各共有峰的相对保留时间和相对峰面积的 RSD 值。结果显示各共有峰的相对保留时间 RSD 为 0.17%~0.66%，相对峰面积 RSD 为 0.95%~2.65%，表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.4 指纹图谱的构建及相似度考察

2.4.1 指纹图谱的构建 7 个厂家 16 批猪苓配方颗粒样品按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液，按“2.1”项下色谱条件进样测定，得到样品色谱图。样品指纹图谱构建时，为保证拟合样品的代表性和结果的准确性，对图谱信息明显离群的 3 批次 G 厂家样品予以剔除。将其他 13 批样品得到的色谱数据导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012 版)”软件，以 S1 样品图谱作为参照图谱，经多点校正，采用平均数法，时间窗为 0.1 s，生成 HPLC 叠加指纹图谱和对照指纹图谱(R)，见图 1。选择其中响应值最高、分离度较好、保留时间居中的 6 号峰(腺苷)为参照峰(S)，采用 Marck 峰匹配，共标定了 14 个共有峰。采用 DAD 全扫描，通过与“2.2.1”项下对照品色谱、光谱信息比对，指出其中 6 个共有峰，分别为 2 号峰(尿苷)、4 号峰(鸟苷)、6 号峰(腺苷)、12 号峰(猪苓酮

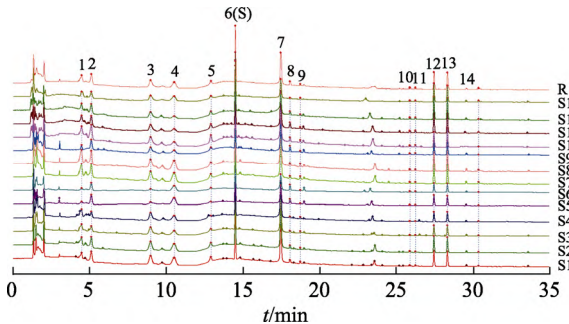


图 1 13 批猪苓配方颗粒 HPLC 叠加指纹图谱和对照指纹图谱
Fig. 1 HPLC superimposed fingerprints and reference fingerprint of 13 batches of Polyporus formula granules

B)、13 号峰(猪苓酮 A)、14 号峰(猪苓酮 C)。

2.4.2 相似度评价 采用“中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012 版)”软件，以对照指纹图谱为参照，对 16 批不同厂家样品进行相似度评价，结果见表 1。结果显示各厂家间样品指纹图谱存在差异，A、E、F 厂家 7 批次样品相似度均>0.950，B、C、D 厂家 6 批次样品相似度均在 0.900~0.950，G 厂家 3 批次样品相似度均<0.900，且该厂家不同批次样品相似度差异较大。表明猪苓配方颗粒不同厂家间存在不同程度的质量差异。

表 1 样品 HPLC 指纹图谱相似度评价结果
Tab. 1 Similarity evaluation results of HPLC fingerprint of samples

样品编号	相似度	样品编号	相似度
S1	0.982	S9	0.976
S2	0.981	S10	0.962
S3	0.938	S11	0.970
S4	0.918	S12	0.959
S5	0.930	S13	0.967
S6	0.947	S14	0.609
S7	0.910	S15	0.892
S8	0.905	S16	0.825

2.4.3 聚类分析 将 6 个厂家 13 批次猪苓配方颗粒样品(剔除 G 厂家样品)中 14 个共有峰的相对峰面积数据导入 SPSS 26.0 统计软件进行系统聚类分析，聚类方法为组间联接，测量区间为平方欧式距离，聚类结果见图 2。结果显示，当欧氏距离为 10 时，13 批样品可分为两大类，其中 S3、S4、S7、S8 聚为一类，其他批次聚为一类。

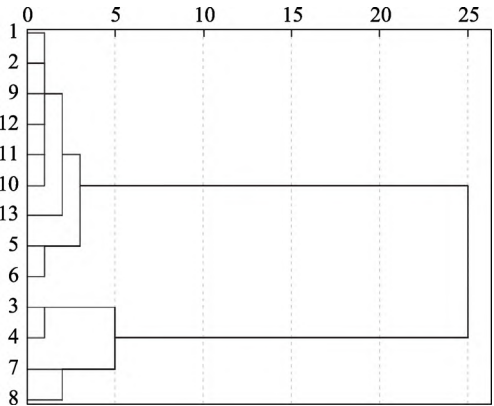


图 2 13 批样品聚类树状图
Fig. 2 Cluster dendrogram of 13 batches of samples

2.5 含量测定

2.5.1 专属性试验 精密吸取“2.2”项下混合对照品溶液 I、供试品溶液各 10 μ L，按“2.1”项下色谱条件进样测定。结果显示鸟苷、腺苷、猪苓

酮 B、猪苓酮 A 色谱峰与相邻峰之间分离度良好,理论板数均>10 000, 缺猪苓阴性样品溶液在相应保留时间处未见色谱峰, 不干扰测定, 表明方法专属性良好。色谱图见图 3。

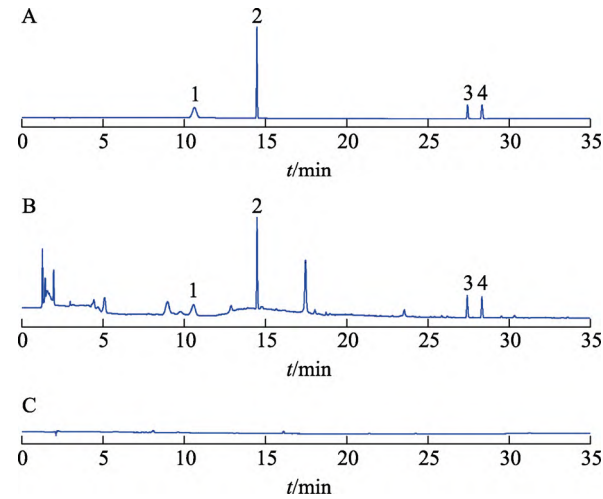


图 3 专属性试验 HPLC 色谱图
A—混合对照品; B—供试品; C—阴性样品; 1—鸟苷; 2—腺苷; 3—猪苓酮 B; 4—猪苓酮 A。
Fig. 3 HPLC chromatograms of specificity test
A—mixed reference; B—test substance; C—negative sample; 1—guanosine; 2—adenosine; 3—polyporusterone B; 4—polyporusterone A.

2.5.2 线性关系考察 分别吸取“2.2.1”项下鸟苷、腺苷、猪苓酮 B、猪苓酮 A 对照品储备液适量, 加 50% 甲醇制成 6 份不同浓度的混合对照品溶液, 按“2.1”项下色谱条件进行测定, 以峰面积为纵坐标(Y), 质量浓度为横坐标(X), 绘制标准曲线, 得到各成分的线性回归方程和线性范围, r 均 $\geq 0.999\ 7$, 表明各成分线性关系良好, 见表 2。

表 2 4 种成分的回归方程、相关系数和线性范围($n=6$)
Tab. 2 Regression equations, correlation coefficients and linear ranges of 4 constituents($n=6$)

成分	回归方程	r	线性范围/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$
鸟苷	$Y=19.837X+2.146\ 0$	0.999 7	1.451 6~145.16
腺苷	$Y=24.210X+3.268\ 8$	0.999 8	1.306 5~130.65
猪苓酮 B	$Y=13.203X+0.952\ 9$	0.999 9	1.208 2~120.82
猪苓酮 A	$Y=14.154X+0.374\ 1$	0.999 9	1.149 3~114.93

2.5.3 仪器精密度试验 取同一供试品溶液(S1), 按“2.1”项下色谱条件连续进样 6 次, 记录峰面积, 结果鸟苷、腺苷、猪苓酮 B、猪苓酮 A 峰面积的 RSD 分别为 1.05%, 0.86%, 0.77%, 0.69%, 表明仪器精密度良好。

2.5.4 重复性试验 取同一样品(S1)6 份, 按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液, 按“2.1”项下色谱条件进样, 依据标准曲线计算样品中各成分含量, 并计算 RSD。结果鸟苷、腺苷、猪苓酮

B、猪苓酮 A 的 RSD 分别为 2.07%, 1.57%, 1.23%, 1.37%, 表明该方法有良好的重复性。

2.5.5 稳定性试验 取同一供试品(S1)溶液, 按“2.1”项下色谱条件, 室温下分别于 0, 4, 8, 12, 16, 24 h 进样测定, 记录峰面积。结果鸟苷、腺苷、猪苓酮 B、猪苓酮 A 的 RSD 分别为 1.69%, 1.05%, 0.68%, 0.76%, 表明供试品溶液室温下 24 h 内稳定性良好。

2.5.6 加样回收率试验 精密称取已知含量的样品(S1)粉末 0.5 g(约相当于猪苓饮片 7 g), 置具塞锥形瓶中, 平行 6 份, 精密加入混合对照品溶液 II 25 mL, 按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液, 按“2.1”项下色谱条件进样测定, 计算鸟苷、腺苷、猪苓酮 B、猪苓酮 A 的平均加样回收率分别为 98.22%, 99.32%, 99.56%, 99.15%, RSD 分别为 2.21%, 1.35%, 0.73%, 1.39%, 表明方法准确度良好。

2.5.7 样品测定 按“2.2.2”项下供试品溶液制备方法制备各批次供试品溶液, 按“2.1”项下色谱条件进样测定, 依据标准曲线计算 16 批样品中每 1 g 猪苓饮片含鸟苷、腺苷、猪苓酮 B、猪苓酮 A 的质量, 结果见表 3。

表 3 样品含量测定结果($n=3$)
Tab. 3 Results of content determination of samples($n=3$)

编号	$\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$			
	鸟苷	腺苷	猪苓酮 B	猪苓酮 A
S1	27.190	42.932	25.073	22.707
S2	28.006	44.058	25.911	23.425
S3	10.228	14.245	11.808	11.107
S4	11.448	13.454	11.365	10.694
S5	17.227	29.316	11.820	10.469
S6	13.956	25.492	10.324	9.270
S7	21.331	22.393	20.790	18.557
S8	19.782	21.894	22.210	19.661
S9	11.216	36.975	22.719	22.559
S10	11.811	39.311	19.988	23.964
S11	6.691	33.023	28.118	25.886
S12	6.326	32.342	30.335	26.964
S13	9.209	13.392	16.725	13.781
S14	17.260	23.361	11.614	9.691
S15	21.360	27.962	20.128	16.135
S16	18.704	25.447	16.413	13.099

3 讨论

3.1 色谱条件的优化

3.1.1 流动相的选择 考察了甲醇-水、乙腈-水 2 种流动相系统, 首先采用不同比例的甲醇-水系统, 结果弱极性的猪苓酮成分保留时间长、峰形差,

猪苓酮 B 和猪苓酮 A 不易分离。采用乙腈-水系统, 则 2 种猪苓酮成分分离良好、理论板数高。但强极性的核苷成分保留较弱, 难以达到基线分离, 调整乙腈-水比例, 采用梯度洗脱, 结果多种核苷成分和猪苓酮成分均呈现较高的峰响应及良好的基线分离。

3.1.2 检测波长的选择 采用 DAD 检测器全波长紫外扫描, 采集各成分光谱信息, 结果显示核苷及猪苓酮成分均在 250 nm 波长左右有最大吸收, 因此, 本研究检测波长设置为 250 nm。但考虑到猪苓水提物中含有丰富的强极性猪苓多糖及非甾体类成分^[11-12], 保留时间 0~3 min 时在该波长下呈现众多远高于目标成分峰的色谱峰, 因此, 为优化指纹图谱整体拟合效果, 将 0~3 min 时的检测波长设置为 350 nm, 以降低峰响应。

3.1.3 色谱柱的选择 目前猪苓配方颗粒尚无统一的国家标准, 各生产企业执行的均为省级标准, 特征图谱和含量测定采用的有常规 HPLC 和 UPLC。本研究对 2 种方法进行比较, 结果常规 HPLC 保留时间过长, 待测色谱峰与相邻峰分离不佳, 无法满足检测要求。采用 UPLC 可克服上述缺陷, 但对仪器及色谱柱要求过高。因此, 本研究采用介于两者之间的 HPLC, 选择规格为 4.6 mm×150 mm, 3 μm 的 C₁₈ 色谱柱, 结果保留时间适中, 各色谱峰分离良好。并对该规格的 3 种不同品牌色谱柱(Shim-pack GIST C₁₈-AQ、Ultimate AQ-C₁₈、SuperLu C₁₈-AQ)进行耐用性考察, 结果猪苓配方颗粒中各成分峰出峰顺序一致, 分离效果良好, 表明方法耐用性好。

3.2 提取条件的优化

为最大限度提高猪苓配方颗粒中各类成分提取效率, 本研究考察了不同浓度甲醇(20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%)的超声提取效果。结果当甲醇浓度<40%时, 猪苓酮成分提取不完全, 当甲醇浓度>60%时, 则核苷成分提取效果欠佳, 为兼顾各成分综合提取效果, 实验选择 50%甲醇作为提取溶剂。为确定样品提取最佳料液比, 本研究以 S1 样品(规格为每 1 g 配方颗粒相当于饮片 14 g)作为考察对象, 考察不同料液比(0.6 : 25, 0.8 : 25, 1.0 : 25, 1.2 : 25, 1.4 : 25, g : mL)下 4 种成分的提取效果, 结果 5 种料液比条件下测得的猪苓酮成分含量基本一致, 但核苷成分在>1.0 : 25 料液比时含量略有下降, 因此实验选择料液比为 1.0 : 25。考虑到所收集的不同厂家样品存在规格差异, 故本研究

最终按饮片量确定最佳料液比, 即称取相当于猪苓饮片 14 g 的配方颗粒加入 25 mL 溶液。

3.3 质量差异评价

3.3.1 相似度评价分析 G 厂家样品相似度均<0.900, 其中最低的为 S14 样品, 仅为 0.609。分析图谱发现该批样品色谱图中在与参照峰相对保留时间 1.56, 1.60, 2.33 处呈现 3 个较大的异常峰, 而在相应位置处, 其他厂家均未检出或峰响应很低, 测定结果呈现明显的离群, G 厂家另外 2 批样品 S15、S16 也不同程度检出以上 3 个异常峰。为分析离群原因, 本研究收集了多批次不同产地的猪苓饮片, 经水提或醇提后按配方颗粒同法制备测定, 结果色谱图与对照指纹图谱相似, 均未出现 G 厂家呈现的异常峰。鉴于本研究收集到的 G 厂家总体样本量尚显不足, 因此出现异常峰的原因目前尚不明确, 后期将通过扩大样本量及与厂家合作对其进行进一步分析研究。另外, B 厂家和 D 厂家 4 批样品相似度相对较低, 经图谱比对, 发现 2 个厂家样品色谱图中 7 号峰与参照峰峰面积比分别为 3.1 和 2.5, 远高于其他 5 个厂家平均值 0.9, 另外 3 号峰相比其他厂家峰面积呈现明显异常, 分析原因可能与原料药材产地、采收季节等因素相关^[13]。

3.3.2 聚类分析 为进一步分析不同厂家猪苓配方颗粒的质量差异, 本研究通过聚类分析对指纹图谱数据进行分析。剔除 G 厂家后的聚类分析结果表明同厂家不同批次样品均聚为一类, 表明产品批间质量稳定性较好, 各厂家生产工艺较为稳定。B 厂家和 D 厂家单独聚为一类, 表明与其他 4 个厂家存在一定的质量差异。

3.3.3 含量测定结果分析 含量测定结果显示, 16 批不同厂家猪苓配方颗粒样品 4 种成分含量存在一定差异, 均一性整体较差。其原因除配方颗粒药材提取工艺参数(如液料比、煎煮次数和时间、固液分离、浓缩、干燥等)设置存在一定差异外, 和猪苓原料药材差异(产地、采收季节、炮制工艺、储存环境等)有着较大相关性^[14]。其中 B 厂家样品 4 种成分总体含量低于其他厂家, 可能存在低质饮片投料或者工艺参数设置不合理问题。除 G 厂家外, 同厂家不同批次样品间成分差异相对较小, 含量总体稳定性较好。另外, 猪苓酮 B、猪苓酮 A 虽在不同样品中的含量互有高低, 但 2 种成分含量总体处于同一水平。目前, 省级标准含量测定项下有单独按猪苓酮 B 计, 也有按 2 种猪苓酮总

量计的限度规定,标准规定不统一,研究认为采用猪苓酮总量计更为合理,鉴于对照品价格昂贵,建议采用以猪苓酮 B 为参照物一测多评同时测定 2 种成分总量的方法。

3.4 现行标准分析

3.4.1 药材质量 猪苓配方颗粒质量标准中药材来源均为猪苓干燥菌核经炮制并按标准汤剂加工制成。目前市场流通的猪苓主要为栽培品种,且产地众多,来源分散,气候和环境可在很大程度上影响植物次生代谢产物的生物合成和积累^[15],产地来源是导致配方颗粒质量差异的关键因素之一,故有必要在质量标准中明确原料药材基源及产地。

3.4.2 制备方法 猪苓配方颗粒国内生产厂家众多,标准和规格不统一,目前尚未颁布统一的国家标准,迄今为止,已颁布的省级质量标准有 24 个。浙江、上海标准中干浸膏出膏率为 2.0%~4.0%,规格为每 1 g 相当于饮片 25 g;其他省标准中出膏率除江苏省为 2.5%~6.0%外,其余均为 2.5%~4.1%,规格为每 1 g 相当于饮片 14 g。为统一计量,方便临床配方,有必要对各省标准中的制法进行统一。

3.4.3 检验方法和限度 现有省级标准收载的方法和限度不一致,这也是导致目前市场上猪苓配方颗粒质量参差不齐的重要因素之一。因此,建立统一的质量标准,是保证猪苓配方颗粒质量均一稳定、临床应用安全有效的重要措施。另外,G 厂家样品中存在的多个异常峰,仅仅依赖现有标准收载的特征图谱和猪苓酮成分含量测定方法,无法对其质量进行客观、准确的评价和判定。指纹图谱相似度评价可通过色谱峰的峰数、峰位及峰高或峰面积的比值等全面反映样品的化学成分信息^[16],快速判断质量差异程度,因此,现有质量标准仍有待提高。

综上所述,本研究采用指纹图谱和多成分含量测定相结合的检测方法,综合评价了不同厂家猪苓配方颗粒的质量差异,为该产品质量评价提供依据,有助于引导企业采用道地、优质、规范的原料药材或饮片,并严格遵循标准汤剂制法和生产工艺规程,推动配方颗粒的“标准化”和“统一化”,提高临床用药的可靠性和量效性。

REFERENCES

[1] 康廷国,闫永红. 中药鉴定学[M]. 北京:中国中医药出版社,2016.

- [2] 中国药典. 一部[S]. 2020: 331-332.
- [3] CHEN X M, TIAN L X, GUO S X. Research progress on chemical constituents and pharmacological effects of sclerotia of *Polyporus Umbellatus*(Polyporaceae, Basidiomycota)[J]. *Mycosystema*(菌物学报), 2017, 36(1): 35-47.
- [4] HUANG J W, LAI C, YUAN Y, et al. Correlative analysis advance of chemical constituents of *Polyporus umbellatus* and *Armillaria mellea*[J]. *China J Chin Mater Med*(中国中药杂志), 2017, 42(15): 2905-2914.
- [5] 国家药监局, 国家中医药局, 国家卫生健康委, 国家医保局. 关于结束中药配方颗粒试点工作的公告(2021 年第 22 号)[EB/OL]. (2021-02-10). [2023-05-01]. <https://www.nmpa.gov.cn/xxgk/fgwj/xzhgfxwj/20210210145856159.html>.
- [6] WANG Z, JIN H Y, MA S C. Discussion on the quality standard of traditional Chinese medicine formula granules from the perspective of market sampling[J]. *Chin Tradit Herb Drugs*(中草药), 2023, 54(3): 677-687.
- [7] WEI Y, CAO J Y, ZHANG L X, et al. Fingerprint and process quality assessment of raw herbs, standard decoction, intermediates and dispensing granules of *Lonicerae Japonicae* Flos[J]. *Chin J Mod Appl Pharm*(中国现代应用药学), 2022, 39(4): 495-499.
- [8] LI S M, FENG Y, ZENG X. HPLC-APCI-MS/MS method for simultaneous determination of ergot sterone and ergosterol in *Polyporus umbellatus* particles[J]. *Chin J Pharm Anal*(药物分析杂志), 2014, 34(4): 649-653.
- [9] DING X J, XIONG L, ZHOU Q M, et al. Advances in studies on chemical structure and pharmacological activities of natural nucleosides[J]. *J Chengdu Univ Tradit Chin Med*(成都中医药大学学报), 2018, 41(2): 102-108.
- [10] LIU J, XU Y H, ZHANG Q Q, et al. Quality evaluation for standard decoction of Fuling Formula Granules and Zhuling Formula Granules[J]. *Chin Tradit Pat Med*(中成药), 2020, 42(8): 2003-2008.
- [11] SONG R Q, NAN T G, YUAN Y, et al. Study on polysaccharide content and monosaccharide composition of *Polyporus umbellatus* from different production areas[J]. *China J Chin Mater Med*(中国中药杂志), 2019, 44(17): 3608-3614.
- [12] WANG T Y, ZHANG F F, REN Y Y, et al. Research progress on chemical constituents and pharmacological actions of *Polyporus umbellatus*[J]. *Shanghai J Tradit Chin Med*(上海中医药杂志), 2017, 51(4): 109-112.
- [13] GUO N, WU Z Y, WANG J G, et al. Analysis of three effective components of *Polyporus umbellatus* in different regions, different growth periods and different harvest periods[J]. *Special Wild Econ Animal Plant Res*(特产研究), 2019, 41(1): 72-77, 94.
- [14] WANG T Y. Quality evaluation of *Polyporus umbellatus*[D]. Changchun: Jilin Agricultural University, 2017.
- [15] YANG H Y. Study on key cultivation techniques and quality evaluation of *Polyporus umbellatus*[D]. Chengdu: Chengdu University of TCM, 2018.
- [16] ZHU M, CHEN B L, SHI S M. Application of fingerprint technology on traditional Chinese medicine in Chinese pharmacopoeia(2015 edition) volume I [J]. *Chin J Mod Appl Pharm*(中国现代应用药学), 2016, 33(5): 611-614.

收稿日期: 2023-05-06
(本文责编: 沈倩)