

## 基于高效液相色谱一测多评技术联合化学计量学的脂必泰胶囊质量评价\*

余万冰<sup>1</sup>, 张单丽<sup>1</sup>, 关素珍<sup>1</sup>, 王海燕<sup>2</sup>

(1. 南阳市中心医院中药药学部, 河南 南阳 473000; 2. 河南中医药大学药学院, 郑州 450046)

**摘要** 目的: 建立高效液相色谱一测多评(HPLC-QAMS)技术联合化学计量学评价脂必泰胶囊质量的方法。方法: 采用 HPLC 法, 以泽泻醇 A 为内参物, 通过外标法建立其与牡荆素葡萄糖苷、牡荆素鼠李糖苷、齐墩果酸、熊果酸、白术内酯Ⅲ、白术内酯 I、24-乙酰泽泻醇 A、23-乙酰泽泻醇 B 的相对校正因子( $f$ ), 利用建立的  $f$  计算对应的 8 个成分含量, 比较实测值与计算值间的差异。采用化学计量学分析含量数据, 评价其质量。结果: 泽泻醇 A 与牡荆素葡萄糖苷、牡荆素鼠李糖苷、齐墩果酸、熊果酸、白术内酯Ⅲ、白术内酯 I、24-乙酰泽泻醇 A、23-乙酰泽泻醇 B 的  $f$  值分别为 1.044 0、0.633 1、0.861 0、0.691 7、1.224 8、1.372 7、1.516 1 和 0.768 2, 同时重复性良好。13 批脂必泰胶囊中 9 种成分经 QAMS 法与外标法测定, 结果差异不明显。主成分分析结果显示 13 批样品聚为 3 类; 脂必泰胶囊的主要质量差异因子为牡荆素鼠李糖苷、熊果酸、白术内酯Ⅲ、白术内酯 I 和 23-乙酰泽泻醇 B。结论: 所建立的方法可用于脂必泰胶囊质量的综合评价。

**关键词:** 脂必泰胶囊; 高效液相色谱一测多评法; 化学计量学; 统计学; 主成分分析; 偏最小二乘法-判别分析  
中图分类号: R 921.2 文献标识码: A 文章编号: 1009-3656(2024)06-0545-10

doi:10.19778/j.chp.2024.06.003

## Quality evaluation of zhibitai capsules based on high performance liquid chromatography QAMS combined with chemometrics\*

YU Wanbing<sup>1</sup>, ZHANG Danli<sup>1</sup>, GUAN Suzhen<sup>1</sup>, WANG Haiyan<sup>2</sup>

(1. Department of Traditional Chinese Medicine Pharmacy, Nanyang Central Hospital, Nanyang 473000, China

2. School of Pharmacy, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China)

**Abstract Objective:** To establish a method for the quality evaluation of zhibitai capsules by high performance liquid chromatography-quantitative analysis of multi-components by single marker (HPLC-QAMS) combined with chemometrics. **Methods:** HPLC method was used to establish the relative correction factors ( $f$ ) of alisol A with vitexin-4''-O-glucoside, rhamnosylvitexin, oleanolic acid, ursolic acid, atractylenolide III, atracylenolide I, alisol A 24-acetate and 23-acetate alisol B by external standard method with alisol A as the internal reference. The established  $f$  was used to calculate the contents of the corresponding eight components, and the differences between the measured values and the calculated values were compared. The content data were analyzed by chemometrics to evaluate its quality. **Results:** The  $f$  values of alisol A with vitexin-4''-O-glucoside, rhamnosylvitexin, oleanolic acid, ursolic acid, atractylenolide III, atracylenolide I, alisol A 24-acetate and 23-acetate alisol B were 1.044 0, 0.633 1, 0.861 0, 0.691 7, 1.224 8, 1.372 7, 1.516 1 and 0.768 2, respectively, and the repeatability was

\* 基金项目: 河南省高等学校重点科研指导计划项目(20B460010)

第一作者简介: 余万冰, 硕士, 中药师; 研究方向: 药物质量控制。Tel: 0377-63200141; 17837799288; E-mail: ugmso@163.com

good. Nine components in 13 batches of zhibitai capsules were determined by QAMS method and external standard method, and the results were not significantly different. The results of principal component analysis showed that 13 batches of samples were clustered into 3 categories. The main quality difference factors of zhibitai capsule were rhamnosylvitexin, ursolic acid, atractylenolide III, atracylenolide I and 23-acetyl alisol B. **Conclusion:** The established method can be used for the comprehensive evaluation of the quality of zhibitai capsules.

**Key words:** zhibitai capsules; HPLC-QAMS; chemometrics; statistics software; principal component analysis; partial least squares discrimination analysis

脂必泰胶囊由山楂、泽泻、白术和红曲组方,具有消痰化瘀、健脾和胃之功效。临床主治痰瘀互结,气血不利所致的头昏、胸闷、腹胀、食欲减退、神疲乏力等高脂血症<sup>[1-4]</sup>;现代研究表明:脂必泰胶囊联合他汀类可有效调节血脂,降低炎症因子水平,安全有效<sup>[5-6]</sup>;脂必泰胶囊治疗不稳定型心绞痛,能够调整血脂水平,降低 sICAM-1、MMP-9 的含量<sup>[7]</sup>;脂必泰胶囊可显著改善腹膜透析患者的血脂、炎症因子和氧化应激指标水平<sup>[8]</sup>。脂必泰胶囊现行质量标准 WS<sub>3</sub>-119(Z-119)-2004(Z) 采用薄层色谱法对熊果酸和齐墩果酸以熊果酸计来进行定量分析,检索相关质量控制的文献:施磊等<sup>[9]</sup>对脂必泰胶囊溶出度进行了方法学验证,刘源等<sup>[10]</sup>和温中明等<sup>[11]</sup>对脂必泰胶囊中红曲的有效成分洛伐他汀的含量测定进行了研究。因中药成分复杂,仅对其中单一成分进行控制并不能全面评价药品质量。本实验采用 HPLC-QAMS 法<sup>[12]</sup>测定 13 批脂必泰胶囊中牡荆素葡萄糖苷、牡荆素鼠李糖苷、齐墩果酸、熊果酸、白术内酯Ⅲ、白术内酯Ⅰ、泽泻醇 A、24-乙酰泽泻醇 A 和 23-乙酰泽泻醇 B 含量,并利用化学计量学<sup>[13]</sup>评价其综合质量,旨在为脂必泰胶囊的整体质量控制提供借鉴。

## 1 仪器与材料

### 1.1 试药

对照品白术内酯Ⅲ(批号 111978-202302,含量 100.0%)、熊果酸(批号 110742-201823,含量 99.9%)、白术内酯Ⅰ(批号 111975-201501,含量 99.9%)、23-乙酰泽泻醇 B(批号 111846-202307,含量 99.4%)、齐墩果酸(批号 110709-202109,含量 95.8%)和牡荆素葡萄糖苷(批号 111979-201501,含量 92.8%)(中国食品药品检定研究院);泽泻醇 A、牡荆素鼠李糖苷和 24-乙酰泽泻醇 A(武汉天植生物技术有限公司,批号分别为 CFS202202、CFS202202 和 CFS202201,含量均 ≥ 98.0%);色谱纯乙腈和磷酸(山东禹王实业有限公司化工分公司),其余试剂为 AR 纯;脂必泰胶囊(成都地奥九泓制药

厂,每粒装 0.24 g),批号:230211、230309、230314、230317、230402、230706、230707、230708、230722、240104、240107、240127 和 240204,编号 S1 ~ S13。

### 1.2 仪器

HPLC 仪(日本岛津公司,LC-10AT 型;美国沃特世公司,Waters Arc 型);色谱柱 Cosmosil C<sub>18</sub> 柱、Alltima C<sub>18</sub> 柱和 Waters Xbridge C<sub>18</sub> 柱,规格均为 5 μm,250 mm × 4.6 mm,型号均为 B 型;电子天平(北京赛多利斯公司,TB 215D 型),超声波清洗器(杭州法兰特超声波科技有限公司,FRQ-1006T 型)。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

色谱柱为 Cosmosil C<sub>18</sub>;流动相为 0.2% 磷酸-乙腈(B)梯度洗脱(0 ~ 13 min,15.0% B;13 ~ 30 min,15.0% → 35.0% B;30 ~ 40 min,35.0% → 60.0% B;40 ~ 53 min,60.0% → 75.0% B;53 ~ 60 min,75.0% → 15.0% B);流速 1.0 ml · min<sup>-1</sup>,柱温 30 °C;波长切换(0 ~ 22 min,360 nm 检测牡荆素葡萄糖苷和牡荆素鼠李糖苷<sup>[14]</sup>;22 ~ 60 min,210 nm 检测齐墩果酸、熊果酸、白术内酯Ⅲ、白术内酯Ⅰ、泽泻醇 A、24-乙酰泽泻醇 A 和 23-乙酰泽泻醇 B<sup>[15-16]</sup>);进样量 10 μL。

### 2.2 混合对照品溶液制备

准确称取各对照品,用 80% 甲醇超声溶解制成含牡荆素葡萄糖苷 0.326 mg · mL<sup>-1</sup>、牡荆素鼠李糖苷 2.318 mg · mL<sup>-1</sup>、齐墩果酸 0.942 mg · mL<sup>-1</sup>、熊果酸 1.910 mg · mL<sup>-1</sup>、白术内酯Ⅲ 0.228 mg · mL<sup>-1</sup>、白术内酯Ⅰ 0.170 mg · mL<sup>-1</sup>、泽泻醇 A 0.432 mg · mL<sup>-1</sup>、24-乙酰泽泻醇 A、0.146 mg · mL<sup>-1</sup> 和 23-乙酰泽泻醇 B 1.070 mg · mL<sup>-1</sup> 的混合对照品贮备液,再将贮备液用 80% 甲醇稀释成上述 9 种对照品质量浓度分别为 16.30、115.90、47.10、95.50、11.40、8.50、21.60、7.30 和 53.50 μg · mL<sup>-1</sup> 的溶液,即得。

### 2.3 试样制备

取脂必泰胶囊内容物约 0.2 g,精密称定,加

80% 甲醇 20 mL 经超声 (300 W, 40 KHz) 45 min 处理, 放冷, 80% 甲醇稀释至 25 mL, 摇匀, 即得。牡荆素葡萄糖苷、牡荆素鼠李糖苷、齐墩果酸和熊果酸为山楂所含特征性成分, 白术内酯 III 和白术内酯 I 为白术中主要活性成分, 泽泻醇 A、24-乙酰泽泻醇 A 和 23-乙酰泽泻醇 B 为泽泻的主要活性成分, 分别制备缺山楂、缺白术、缺泽泻和缺红曲的阴性供试品, 再制成相应的供试品

溶液。所有 HPLC 用溶液均经 0.22  $\mu\text{m}$  滤膜过滤。

## 2.4 专属性考察

精密吸取混合对照品溶液及供试品溶液各 10  $\mu\text{L}$ , 进样。图谱显示脂必泰胶囊供试品溶液中待测成分吸收峰对称性好, 与相邻吸收峰不干扰, 与对照品吸收峰的保留时间相同; 理论板数按各成分计应不低于 5 000 (图 1)。

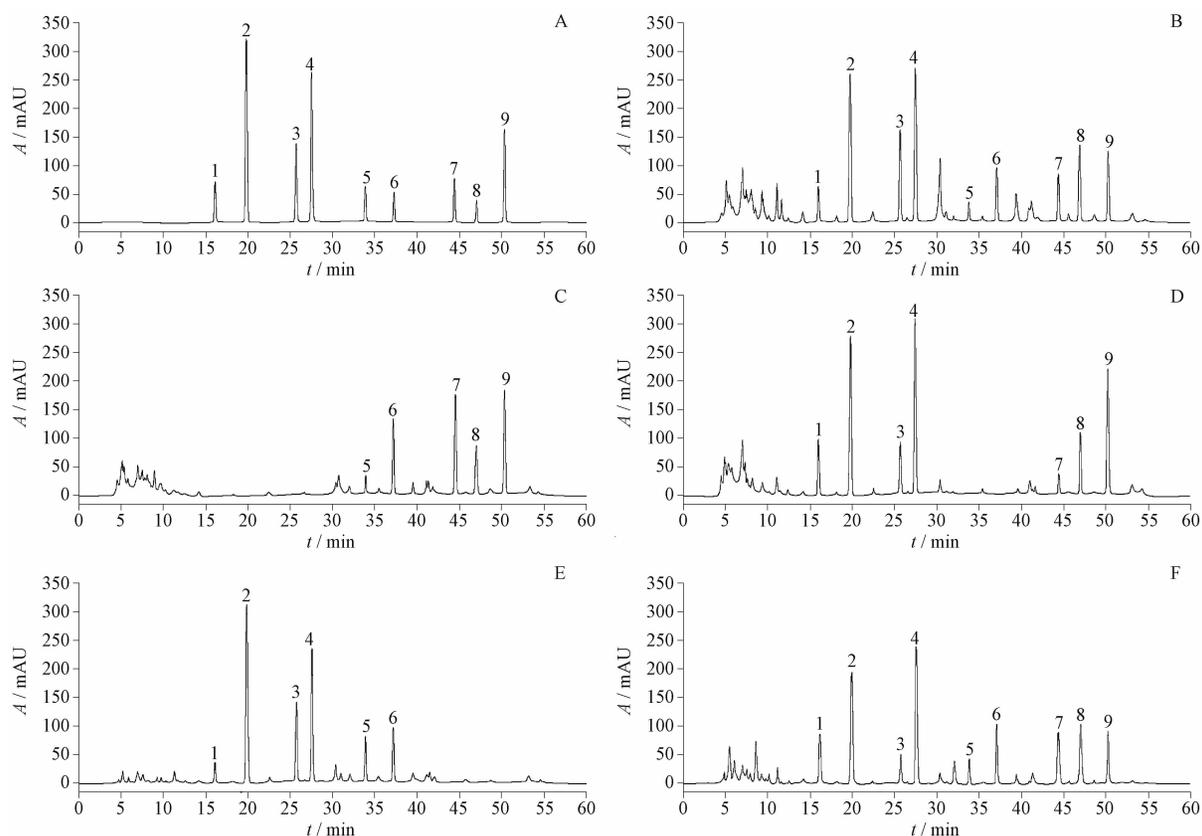


图 1 HPLC 色谱图

注: 1 - 牡荆素葡萄糖苷; 2 - 牡荆素鼠李糖苷; 3 - 齐墩果酸; 4 - 熊果酸; 5 - 白术内酯 III; 6 - 白术内酯 I; 7 - 泽泻醇 A; 8 - 24-乙酰泽泻醇 A; 9 - 23-乙酰泽泻醇 B。A - 混合对照品; B - 脂必泰胶囊; C - 山楂阴性样品; D - 白术阴性样品; E - 泽泻阴性样品。

Fig. 1 HPLC chromatogram

Note: 1 - vitexin-4''-O-glucoside; 2 - rhamnosylvitexin; 3 - oleanolic acid; 4 - ursolic acid; 5 - atractylenolide III; 6 - atractylenolide I; 7 - alisol A; 8 - alisol A 24-acetate; 9 - 23-acetate alisol B. A - mixed reference; B - Zhibitai Capsules; C - Crataegi Fructus negative samples; D - Atractylodis Macrocephalae Rhizoma negative samples; E - Alismatis Rhizoma negative samples; F - Monascus Rice negative samples.

## 2.5 外标法方法学验证

**2.5.1 线性关系考察** 分别精密吸取 2.2 项下混合对照品贮备液 0.1、0.5、1.0、1.5、2.0 和 2.5 mL, 置 6 个 20 mL 容量瓶, 用 80% 甲醇定容, 摇匀制得系列对照品工作溶液, 按 2.1 项色谱条件进样检测, 记录色谱曲线图, 牡荆素葡萄糖苷、牡荆素鼠李糖苷、齐墩果酸、熊果酸、白术内酯 III、白术内酯 I、泽泻醇 A、24-乙酰泽泻醇 A 和 23-乙酰泽泻醇 B 对照

品质量浓度 ( $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ) 为横轴, 峰面积为纵轴, 绘制标准曲线, 结果见表 1。

**2.5.2 精密度考察** 取混合对照品溶液, 连续进样 6 次, 结果仪器精密度良好: 牡荆素葡萄糖苷、牡荆素鼠李糖苷、齐墩果酸、熊果酸、白术内酯 III、白术内酯 I、泽泻醇 A、24-乙酰泽泻醇 A 和 23-乙酰泽泻醇 B 色谱峰峰面积均无明显变化, 各成分峰面积的 RSD 值均  $< 2.0\%$  ( $n = 6$ )。

表 1 脂必泰胶囊中各成分的线性关系

Tab. 1 Linear relation of each constituents in zhibitai capsules

Component	Regression equation	Range of linearity/( $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )	<i>r</i>
Vitexin-4''-O-glucoside	$Y = 5.8753 \times 10^5 X - 717.1$	1.63 ~ 40.75	0.999 6
Rhamnosylvitexin	$Y = 9.6942 \times 10^5 X + 1213.8$	11.59 ~ 289.75	0.999 2
Oleanolic acid	$Y = 7.1055 \times 10^5 X - 2089.5$	4.71 ~ 117.75	0.999 1
Ursolic acid	$Y = 8.8599 \times 10^5 X + 315.4$	9.55 ~ 238.75	0.999 5
Atractylenolide III	$Y = 5.0173 \times 10^5 X - 1926.5$	1.14 ~ 28.50	0.999 8
Atractylenolide I	$Y = 4.4522 \times 10^5 X + 869.8$	0.85 ~ 21.25	0.999 2
Alisol A	$Y = 6.1458 \times 10^5 X - 1655.4$	2.16 ~ 54.00	0.999 5
Alisol A 24-acetate	$Y = 4.0503 \times 10^5 X + 337.9$	0.73 ~ 18.25	0.999 3
23-Acetate alisol B	$Y = 7.9781 \times 10^5 X - 1270.1$	5.35 ~ 133.75	0.999 6

**2.5.3 脂必泰胶囊试样稳定性考察** 取一份脂必泰胶囊(编号:S1)供试品溶液,于制备后室温放置 2、4、7、12、18 和 24 h 时进样,结果脂必泰胶囊供试品溶液具有 24 h 稳定性:牡荆素葡萄糖苷、牡荆素鼠李糖苷、齐墩果酸、熊果酸、白术内酯 III、白术内酯 I、泽泻醇 A、24-乙酰泽泻醇 A 和 23-乙酰泽泻醇 B 色谱峰峰面积未见大的变化,各成分峰面积的 RSD 值均 < 2.0% ( $n = 6$ )。

**2.5.4 重复性考察** 取脂必泰胶囊(编号:S1)6 份,各自按 2.3 项试样制备流程制成供试品溶液,分别进样 10  $\mu\text{L}$ ,结果重复性良好:牡荆素葡萄糖苷、牡荆素鼠李糖苷、齐墩果酸、熊果酸、白术内酯 III、白术内酯 I、泽泻醇 A、24-乙酰泽泻醇 A 和 23-乙酰泽泻醇 B 的含量无大的变化,各成分含量的 RSD 值

均 < 2.0% ( $n = 6$ )。

**2.5.5 准确度考察** 本试验采用向已知被测成分含量的试样中加入一定量的对照品进行加样回收率测定。取已知 9 个成分含量的脂必泰胶囊细粉(编号:S1)约 0.1 g,精密称定,共称取 9 份,3 份为 1 组,每组分别加入混合对照品溶液(每 mL 含牡荆素葡萄糖苷 0.181 mg、牡荆素鼠李糖苷 1.682 mg、齐墩果酸 0.694 mg、熊果酸 1.315 mg、白术内酯 III 0.134 mg、白术内酯 I 0.092 mg、泽泻醇 A 0.237 mg、24-乙酰泽泻醇 A 0.079 mg 和 23-乙酰泽泻醇 B 0.738 mg)0.8、1.0、1.2 mL,依法制成加样供试品溶液,分别进样 10  $\mu\text{L}$ ,计算 9 种成分的平均加样回收率见表 2,结果提示本试验方法准确度良好。

表 2 加样回收率试验结果

Tab. 2 Test results of sample recovery rate

Component	Amount/g	Original/mg	Added/mg	Tested/mg	Recovery/%	Average recovery/%	RSD/%
Vitexin-4''-O-glucoside	0.100 3	0.180 7	0.144 8	0.323 9	98.90	98.22	1.79
	0.105 9	0.190 8	0.144 8	0.330 3	96.34		
	0.099 7	0.179 7	0.144 8	0.325 1	100.41		
	0.098 2	0.177 0	0.181 0	0.351 3	96.30		
	0.102 6	0.184 9	0.181 0	0.360 7	97.13		
	0.104 3	0.187 9	0.181 0	0.367 5	99.23		
	0.096 0	0.173 0	0.217 2	0.381 6	96.04		
	0.098 9	0.178 2	0.217 2	0.395 6	100.09		
	0.101 5	0.182 9	0.217 2	0.399 1	99.54		
Rhamnosylvitexin	0.100 3	1.690 3	1.345 6	3.034 6	99.90	100.03	0.69
	0.105 9	1.784 6	1.345 6	3.138 9	100.65		
	0.099 7	1.680 1	1.345 6	3.027 1	100.10		
	0.098 2	1.654 9	1.682 0	3.341 8	100.29		
	0.102 6	1.729 0	1.682 0	3.420 7	100.58		
	0.104 3	1.757 7	1.682 0	3.428 5	99.33		

续表 2 (Tab. 2 continued)

Component	Amount/g	Original/mg	Added/mg	Tested/mg	Recovery/%	Average recovery/%	RSD/%
Oleanolic acid	0.096 0	1.617 8	2.018 4	3.639 0	100.14	99.34	0.72
	0.098 9	1.666 7	2.018 4	3.698 9	100.68		
	0.101 5	1.710 5	2.018 4	3.700 1	98.57		
	0.100 3	0.697 2	0.555 2	1.254 1	100.31		
	0.105 9	0.736 1	0.555 2	1.279 8	97.93		
	0.099 7	0.693 0	0.555 2	1.247 3	99.84		
	0.098 2	0.682 6	0.694 0	1.372 5	99.41		
	0.102 6	0.713 2	0.694 0	1.400 2	98.99		
Ursolic acid	0.104 3	0.725 0	0.694 0	1.410 7	98.80	99.18	0.96
	0.096 0	0.667 3	0.832 8	1.500 2	100.01		
	0.098 9	0.687 5	0.832 8	1.513 4	99.17		
	0.101 5	0.705 5	0.832 8	1.534 7	99.57		
	0.100 3	1.316 6	1.052 0	2.368 7	100.01		
	0.105 9	1.390 1	1.052 0	2.440 5	99.85		
	0.099 7	1.308 8	1.052 0	2.351 3	99.10		
	0.098 2	1.289 1	1.315 0	2.603 2	99.93		
Atractylenolide III	0.102 6	1.346 8	1.315 0	2.630 9	97.65	97.96	0.82
	0.104 3	1.369 1	1.315 0	2.651 7	97.54		
	0.096 0	1.260 2	1.578 0	2.831 6	99.58		
	0.098 9	1.298 3	1.578 0	2.863 4	99.18		
	0.101 5	1.332 4	1.578 0	2.907 5	99.82		
	0.100 3	0.133 0	0.107 2	0.238 5	98.41		
	0.105 9	0.140 4	0.107 2	0.245 1	97.67		
	0.099 7	0.132 2	0.107 2	0.236 6	97.39		
Atractylenolide I	0.098 2	0.130 2	0.134 0	0.259 3	96.34	97.73	1.33
	0.102 6	0.136 0	0.134 0	0.268 2	98.66		
	0.104 3	0.138 3	0.134 0	0.271 0	99.03		
	0.096 0	0.127 3	0.160 8	0.285 0	98.07		
	0.098 9	0.131 1	0.160 8	0.289 3	98.38		
	0.101 5	0.134 6	0.160 8	0.291 7	97.70		
	0.100 3	0.091 7	0.073 6	0.162 4	96.06		
	0.105 9	0.096 8	0.073 6	0.168 2	97.01		
Alisol A	0.099 7	0.091 1	0.073 6	0.161 9	96.20	99.58	0.63
	0.098 2	0.089 8	0.092 0	0.180 6	98.70		
	0.102 6	0.093 8	0.092 0	0.184 1	98.15		
	0.104 3	0.095 3	0.092 0	0.185 5	98.04		
	0.096 0	0.087 7	0.110 4	0.194 7	96.92		
	0.098 9	0.090 4	0.110 4	0.200 9	100.09		
	0.101 5	0.092 8	0.110 4	0.201 4	98.37		
	0.100 3	0.235 6	0.189 6	0.423 8	99.26		
Alisol A	0.105 9	0.248 8	0.189 6	0.439 5	100.58	99.58	0.63
	0.099 7	0.234 2	0.189 6	0.421 2	98.63		
	0.098 2	0.230 7	0.237 0	0.467 9	100.08		
	0.102 6	0.241 0	0.237 0	0.476 0	99.16		
Alisol A	0.104 3	0.245 0	0.237 0	0.481 7	99.87		

续表 2(Tab. 2 continued)

Component	Amount/g	Original/mg	Added/mg	Tested/mg	Recovery/%	Average recovery/%	RSD/%
Alisol A 24-acetate	0.096 0	0.225 5	0.284 4	0.509 3	99.79	96.92	1.53
	0.098 9	0.232 3	0.284 4	0.513 6	98.91		
	0.101 5	0.238 4	0.284 4	0.522 5	99.89		
	0.100 3	0.078 7	0.063 2	0.139 5	96.20		
	0.105 9	0.083 1	0.063 2	0.143 8	96.04		
	0.099 7	0.078 3	0.063 2	0.139 7	97.15		
	0.098 2	0.077 1	0.079 0	0.153 5	96.71		
	0.102 6	0.080 5	0.079 0	0.156 4	96.08		
	0.104 3	0.081 9	0.079 0	0.158 0	96.33		
	0.096 0	0.075 4	0.094 8	0.170 9	100.74		
23-Acetate alisol B	0.098 9	0.077 6	0.094 8	0.169 5	96.94	100.12	0.69
	0.101 5	0.079 7	0.094 8	0.170 8	96.10		
	0.100 3	0.736 8	0.590 4	1.321 2	98.98		
	0.105 9	0.777 9	0.590 4	1.370 9	100.44		
	0.099 7	0.732 4	0.590 4	1.327 1	100.73		
	0.098 2	0.721 4	0.738 0	1.466 5	100.96		
	0.102 6	0.753 7	0.738 0	1.489 8	99.74		
	0.104 3	0.766 2	0.738 0	1.506 2	100.27		
	0.096 0	0.705 2	0.885 6	1.597 9	100.80		
	0.098 9	0.726 5	0.885 6	1.606 7	99.39		
	0.101 5	0.745 6	0.885 6	1.628 8	99.73		

2.6 QAMS 法中相对校正因子(*f*)的计算

以泽泻醇 A 为内参物,进样 2.5.1 项 6 个系列对照品工作溶液,按照公式  $f = \frac{C_s \times A_i^{[17]}}{C_i \times A_s}$  计算泽泻醇 A 与牡荆素葡萄糖苷、牡荆素鼠李糖苷、

齐墩果酸、熊果酸、白术内酯 III、白术内酯 I、24-乙酰泽泻醇 A、23-乙酰泽泻醇 B 之间的 *f* 值(式中  $C_s$  和  $C_i$  分别为其他成分和内参物的质量浓度,  $A_i$ 、 $A_s$  分别为内参物和其他待成分的峰面积),结果见表 3。

表 3 *f* 值计算结果

Tab. 3 Calculation results for *f* values

Mixed reference solution	Vitexin-4''-O-glucoside	Rhamnosylvitexin	Oleanolic acid	Ursolic acid	Atractylenolide III	Atractylenolide I	Alisol A 24-acetate	23-acetate alisol B
1	1.043 7	0.634 2	0.845 0	0.687 3	1.214 6	1.365 4	1.540 3	0.762 1
2	1.034 6	0.629 5	0.848 2	0.691 0	1.223 6	1.360 8	1.489 3	0.768 0
3	1.042 7	0.633 1	0.887 7	0.692 2	1.221 1	1.378 9	1.529 0	0.767 0
4	1.042 2	0.639 7	0.857 1	0.688 2	1.230 6	1.352 1	1.497 8	0.769 7
5	1.065 1	0.624 8	0.861 8	0.701 8	1.244 8	1.414 3	1.527 4	0.774 9
6	1.035 6	0.637 2	0.866 5	0.689 7	1.214 0	1.364 7	1.513 1	0.767 4
Average recovery	1.044 0	0.633 1	0.861 0	0.691 7	1.224 8	1.372 7	1.516 1	0.768 2
RSD/%	1.05	0.85	1.79	0.75	0.95	1.61	1.30	0.53

2.7 QAMS 法中 *f* 耐用性考察

分别采用 HPLC 仪(LC-10AT 型和 Waters Arc 型)和色谱柱(Cosmosil C<sub>18</sub> 柱、Alltima C<sub>18</sub> 柱和 Waters

Xbridge C<sub>18</sub> 柱),考察仪器及色谱柱对 *f* 的影响。取 2.2 项混合对照品溶液 10 μL,进样,结果建立的相对校正因子 RSD 值均 <2.0%,提示建立的 *f* 耐用性良好(表 4)。

表 4 相对校正因子耐用性考察结果

Tab. 4 Results of relative correction factor durability test

Instruments	Chromatographic column	Vitexin-4''-O-glucoside	Rhamnosyl-vitexin	Oleanolic acid	Ursolic acid	Atractylenolide III	Atractylenolide I	Alisol A 24-acetate	23-acetate alisol B
LC-10AT	Cosmosil C <sub>18</sub>	1.042 3	0.632 7	0.860 2	0.690 5	1.221 9	1.371 6	1.514 7	0.767 4
	Alltima C <sub>18</sub>	1.047 6	0.633 9	0.869 4	0.692 7	1.235 2	1.380 7	1.526 2	0.769 7
	Waters Xbridge C <sub>18</sub>	1.062 8	0.637 4	0.882 3	0.710 1	1.241 3	1.410 9	1.543 6	0.775 2
Waters Arc	Cosmosil C <sub>18</sub>	1.035 7	0.620 3	0.847 5	0.688 6	1.215 9	1.341 1	1.486 9	0.761 8
	Alltima C <sub>18</sub>	1.046 2	0.627 1	0.856 4	0.689 2	1.223 6	1.369 5	1.493 5	0.764 9
	Waters Xbridge C <sub>18</sub>	1.058 1	0.638 5	0.873 9	0.701 9	1.240 3	1.392 8	1.539 7	0.776 2
Average recovery	1.048 8	0.631 7	0.865 0	0.695 5	1.229 7	1.377 8	1.517 4	0.769 2	
RSD/%	0.96	1.09	1.46	1.24	0.86	1.71	1.55	0.74	

## 2.8 QAMS 法相对保留时间值计算

记录 3 支色谱柱在 2 个色谱系统中各成分的保留时间,以泽泻醇 A 为内参物,计算牡荆素葡萄糖苷、牡荆素鼠李糖苷、齐墩果酸、熊果酸、白术内酯 III、白术内酯 I、24-乙酰泽泻醇 A、23-乙酰泽泻醇 B 与泽泻醇 A 之间的相对保留时间值,采用相对保留时间法定位各成分色谱峰,结果 RSD 均  $\leq 2.0\%$ ,表明相对保留时间值法适用于脂必泰胶囊中 9 个成分的定位(见表 5)。

## 2.9 含量测定

取 13 批脂必泰胶囊(S1 ~ S13)供试品溶液各

10  $\mu\text{L}$ ,进样,首先利用外标法计算牡荆素葡萄糖苷、牡荆素鼠李糖苷、齐墩果酸、熊果酸、白术内酯 III、白术内酯 I、泽泻醇 A、24-乙酰泽泻醇 A 和 23-乙酰泽泻醇 B 的含量,再以泽泻醇 A 为内参物,运用建立的各成分的  $f$  的均值计算牡荆素葡萄糖苷、牡荆素鼠李糖苷、齐墩果酸、熊果酸、白术内酯 III、白术内酯 I、24-乙酰泽泻醇 A 和 23-乙酰泽泻醇 B 的含量。采用统计软件对每一成分的两种方法所得数据进行 T 检验,结果显示外标法和 QAMS 法含量的计算结果非常接近,差异不显著( $P > 0.05$ ),但各成分含量差异较大(见表 6)。

表 5 相对保留时间值计算结果

Tab. 5 Calculation results for relative retention time values

Instruments	Chromatographic column	Vitexin-4''-O-glucoside	Rhamnosyl-vitexin	Oleanolic acid	Ursolic acid	Atractylenolide III	Atractylenolide I	Alisol A 24-acetate	23-acetate alisol B
LC-10AT	Cosmosil C <sub>18</sub>	0.362 3	0.445 5	0.578 9	0.619 3	0.762 5	0.839 7	1.058 8	1.133 4
	Alltima C <sub>18</sub>	0.367 6	0.449 3	0.582 4	0.627 4	0.770 9	0.848 5	1.063 2	1.146 5
	Waters Xbridge C <sub>18</sub>	0.371 1	0.456 8	0.591 6	0.632 9	0.783 6	0.859 1	1.075 9	1.154 7
Waters Arc	Cosmosil C <sub>18</sub>	0.352 7	0.440 3	0.569 2	0.613 7	0.756 4	0.829 6	1.048 6	1.123 9
	Alltima C <sub>18</sub>	0.360 8	0.442 9	0.571 7	0.620 3	0.759 9	0.836 2	1.057 3	1.127 6
	Waters Xbridge C <sub>18</sub>	0.366 4	0.452 4	0.574 3	0.627 1	0.776 2	0.849 5	1.072 1	1.148 1
Average recovery	0.363 5	0.447 9	0.578 0	0.623 5	0.768 3	0.843 8	1.062 7	1.139 0	
RSD/%	1.78	1.38	1.42	1.11	1.36	1.26	0.95	1.09	

## 3 质量评价模式的建立

### 3.1 主成分分析

利用 SPSS 26.0 统计软件,以脂必泰胶囊中各成分 QAMS 法含量数据为变量,以特征值  $> 1$ ,同时累计方差贡献率  $> 85\%$  为标准提取主成分<sup>[18]</sup>。结果前 2 个主成分(PC1、PC2)满足条件,其中 PC1 的特征值为 6.821,牡荆素葡萄糖苷、牡荆素鼠李糖苷、齐墩果酸、熊果酸、泽泻醇 A、24-乙酰泽泻醇

A 和 23-乙酰泽泻醇 B 在其中的载荷值较高,PC2 的特征值为 1.682,信息则由白术内酯 III 和白术内酯 I 综合,累计方差贡献率为 94.474%。为考察 13 批脂必泰胶囊分类情况,应用 SIMCA 14.1 软件对各成分 QAMS 法含量数据构建 PCA 模型,结果 S1 ~ S5、S6 ~ S9 以及 S10 ~ S13 分别聚为一类,但各散点较分散,同样提示批次间质量差异较大。见图 2。

表 6 脂必泰胶囊中 9 种成分含量测定结果

Tab. 6 Determination results of 9 components in zhibitai capsules

Component	Method	Content/(mg · g <sup>-1</sup> )													P
		S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13	
Alisol A	ESM	2.349	2.519	2.668	2.747	2.519	2.881	3.246	3.517	3.413	1.941	1.814	2.212	2.285	-
Vitexin-4''- O-glucoside	ESM	1.802	1.915	2.379	2.131	2.439	1.446	1.438	1.147	1.264	2.986	3.201	2.849	2.571	0.901
	QAMS	1.752	1.862	2.321	2.080	2.387	1.488	1.410	1.115	1.231	2.915	3.263	2.802	2.504	
Rhamnosylvitexin	ESM	16.852	15.435	16.817	16.623	16.946	14.531	14.459	12.696	12.513	21.592	21.862	20.701	17.564	0.841
	QAMS	16.381	15.079	16.735	16.164	16.651	14.137	14.082	13.041	12.771	20.999	21.412	20.155	17.915	
Oleanolic acid	ESM	6.951	7.615	6.729	6.975	6.038	6.701	6.059	5.501	5.418	8.137	9.162	8.937	8.655	0.835
	QAMS	6.759	7.481	6.542	6.912	5.901	6.534	5.900	5.367	5.574	8.281	9.003	8.806	8.463	
Ursolic acid	ESM	13.127	12.061	13.374	12.248	13.345	11.332	11.264	10.397	9.762	16.582	16.948	15.934	14.342	0.811
	QAMS	12.763	11.749	13.039	12.594	12.974	11.015	10.972	10.161	9.950	16.361	16.683	15.703	13.958	
Atractylenolide III	ESM	1.326	1.786	1.611	1.729	1.457	1.273	1.234	0.874	0.804	1.092	1.329	1.007	1.182	0.893
	QAMS	1.364	1.748	1.572	1.683	1.421	1.310	1.203	0.853	0.782	1.063	1.314	1.025	1.157	
Atractylenolide I	ESM	0.914	1.159	1.057	1.098	0.923	0.761	0.899	0.843	0.774	0.682	0.630	0.597	0.563	0.860
	QAMS	0.902	1.136	1.030	1.073	0.905	0.783	0.875	0.824	0.791	0.665	0.614	0.581	0.548	
Alisol A 24-acetate	ESM	0.785	0.924	0.754	0.886	0.648	0.735	0.459	0.413	0.352	1.134	1.284	1.263	1.087	0.943
	QAMS	0.779	0.906	0.738	0.863	0.630	0.756	0.450	0.405	0.361	1.108	1.256	1.298	1.061	
23-Acetate alisol B	ESM	7.346	6.674	6.985	6.792	6.613	5.946	6.381	5.705	5.786	8.971	9.873	9.478	8.426	0.861
	QAMS	7.142	6.494	6.822	6.984	6.445	5.801	6.203	5.857	5.629	8.845	9.665	9.224	8.600	

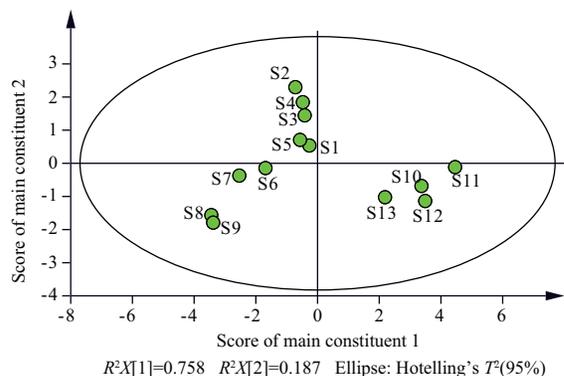


图 2 PCA 得分图

Fig. 2 PCA score chart

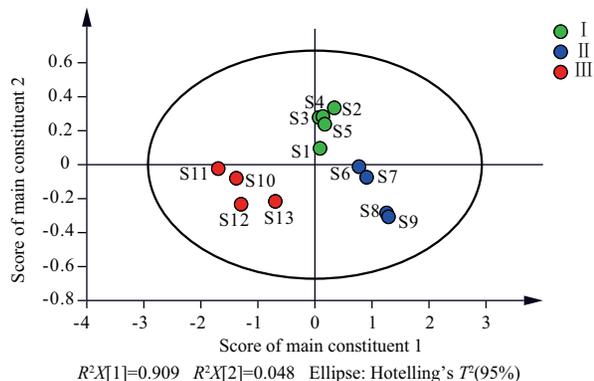


图 3 13 批脂必泰胶囊的 PLS-DA 模型得分图

Fig. 3 Score chart of PLS-DA model for 13 batches of zhibitai capsules

### 3.2 偏最小二乘法-判别分析(PLS-DA)

为查找引起产品质量差异的特征成分,在 PCA 基础上启动 PLS-DA 程序,结果 13 批样品同样分为 3 组(见图 3),且各参数均高于 0.5<sup>[19]</sup>,说明模型稳定可靠、预测能力强。变量重要性投影(VIP)可反映各成分对分组的贡献程度,以 1 为 VIP 的阈值,得到 4 个成分(牡荆素鼠李糖苷、熊果酸、白术内酯 III 和白术内酯 I)对分组贡献较大,但 23-乙酰泽泻醇 B 的 VIP 值为 0.988,对质量影响较大,也可作为质量差异因子(见图 4)。

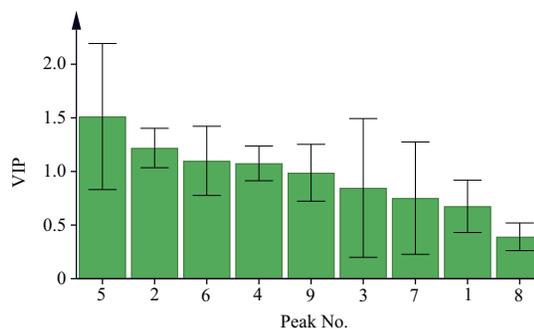


图 4 13 批脂必泰胶囊的 VIP 图

Fig. 4 VIP images of 13 batches of zhibitai capsules

## 4 讨论

### 4.1 样品处理方式

试验前期考察了不同体积分数的甲醇(60% 甲醇、80% 甲醇、100% 甲醇), 超声提取 30、45、60 min 时牡荆素葡萄糖苷、牡荆素鼠李糖苷、齐墩果酸、熊果酸、白术内酯Ⅲ、白术内酯Ⅰ、泽泻醇 A、24-乙酰泽泻醇 A 和 23-乙酰泽泻醇 B 提取情况及杂质干扰情况。结果 80% 甲醇超声 45 min 时, 9 种成分基本提取完全, 同时杂质干扰最小。

### 4.2 内参物的选择

待测成分牡荆素葡萄糖苷、牡荆素鼠李糖苷、齐墩果酸、熊果酸、白术内酯Ⅲ、白术内酯Ⅰ、泽泻醇 A、24-乙酰泽泻醇 A 和 23-乙酰泽泻醇 B 中泽泻醇 A 出峰位置位于上述 9 个成分的第 7 位, 结合 9 个成分的含量、对照品价格、易得程度、质量稳定性等, 本试验选择泽泻醇 A 为内参物。

### 4.3 质量评价结果分析

在建立的色谱条件下进行了外标法方法学验证, 结果均符合《中国药典》要求; 建立了相对校正因子计算及耐用性考察模块, 对比了外标法与 QAMS 法同时计算 13 批脂必泰胶囊中 9 种成分的含量, 结果两种方法间无明显差异, 但批次间各成分含量差异较大; 为进一步分析质量差异因子, 利用化学计量学的方法对 QAMS 法含量数据构建 PCA 和 PLS-DA 模型, 结果 13 批脂必泰胶囊聚为 3 组; 查找出牡荆素鼠李糖苷、熊果酸、白术内酯Ⅲ、白术内酯Ⅰ和 23-乙酰泽泻醇 B 对脂必泰胶囊质量差异贡献较大, 提示药企在生产脂必泰胶囊过程中, 应对 5 个成分建立质量控制体系, 优化药材来源和质量, 从根本上提高产品质量。

本试验建立的含量测定与数据分析相结合的方法, 可以较好地反映脂必泰胶囊的质量, 对脂必泰胶囊的质量控制提供指导作用, 同时一测多评法检验成本低, 工作效率高, 利于推广。

## 参考文献

[1] 国家食品药品监督管理局国家药品标准 WS<sub>3</sub>-119(Z-119)-2004(Z)[S]. 2004.  
State Food and Drug Administration National Drug Standards WS<sub>3</sub>-119(Z-119)-2004(Z)[S]. 2004.

[2] 花继平. 脂必泰胶囊治疗高脂血症的疗效观察[J]. 中西医结合心血管病电子杂志, 2020, 8(10):67.  
HUA JP. Observation on curative effect of zhibitai capsule in treatment of hyperlipidemia[J]. Cardiovas Dis Electr J Integr Tradit Chin West Med, 2020, 8(10):67.

[3] 龙昕. 脂必泰胶囊用于血脂异常患者治疗中的临床效果[J]. 饮食保健, 2020, 7(9):46.  
LONG X. Clinical effect of zhibitai capsule in the treatment of patients with dyslipidemia[J]. Diet Health Care, 2020, 7(9):46.

[4] 张奕雯, 骆杨平. 脂必泰胶囊治疗高脂血症的网络药理学和分子对接分析[J]. 中国循证心血管医学杂志, 2022, 14(8):910.  
ZHANG YW, LUO YP. Analysis of network pharmacology and molecular docking on zhibitai capsules in treatment of hyperlipidemia[J]. Chin J Evid Based Cardiovasc Med, 2022, 14(8):910.

[5] 罗钢, 李芝蓓, 李小芳. 脂必泰胶囊联合他汀类药物降血脂的临床研究进展[J]. 中成药, 2023, 45(7):2288.  
LUO G, LI ZB, LI XF. Clinical research progress of zhibitai capsules combined with statins in reducing blood lipid[J]. Chin Tradit Pat Med, 2023, 45(7):2288.

[6] 刘倩, 周晓丹, 潘德锋. 脂必泰胶囊联合匹伐他汀对冠心病患者血脂水平的影响[J]. 心血管康复医学杂志, 2024, 33(1):60.  
LIU Q, ZHOU XD, PAN DF. Influence of zhibitai capsule combined with pitavastatin on blood lipid levels in patients with coronary heart disease[J]. Chin J Cardiovasc Rehabil Med, 2024, 33(1):60.

[7] 赵书刚. 脂必泰胶囊治疗痰瘀阻络型不稳定型心绞痛的疗效及对 sICAM-1, MMP-9 的影响[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2020, 18(1):105.  
ZHAO SG. Curative effect of zhibitai capsule in the treatment of unstable angina pectoris with phlegm and blood stasis blocking collaterals and its effect on sICAM-1 and MMP-9[J]. Chin J Integr Med Cardio/Cerebrovasc Dis, 2020, 18(1):105.

[8] 孔爱丽, 仇晓玲. 脂必泰胶囊在腹膜透析患者中的应用[J]. 中国医药导报, 2021, 18(9):86.  
KONG AL, QIU XL. Application of zhibitai capsules for peritoneal dialysis[J]. Chin Med Rep, 2021, 18(9):86.

[9] 施磊, 叶隽, 宋磊. 脂必泰胶囊溶出度测定的方法研究[J]. 药学实践杂志, 2019, 37(2):170.  
SHI L, YE J, SONG L. Study on the dissolution determination of zhibitai capsules[J]. J Pharm Prac, 2019, 37(2):170.

[10] 刘源, 李东, 谢静, 等. 高效液相色谱法测定脂必泰胶囊中洛伐他汀含量[J]. 中药材, 2010, 33(6):1002.  
LIU Y, LI D, XIE J, et al. Determination of lovastatin in zhibitai capsule by HPLC[J]. J Chin Med Mater, 2010, 33(6):1002.

[11] 温中明, 张法, 黄毅, 等. 脂必泰胶囊中红曲的含量测定[J]. 中国药业, 2011, 20(13):21.  
WEN ZM, ZHANG F, HUANG Y, et al. Determination of monascus rice in zhibitai capsule by HPLC[J]. China Pharm, 2011, 20(13):21.

[12] 方宝霞, 李湘, 滚代芬, 等. 一测多评法应用于化学药及中药的化学药成分质量控制研究进展[J]. 药物评价研究, 2023, 46(6):1382.  
FANG BX, LI X, GUN DF, et al. Research progress of quantita-

- tive analysis of multi-components with single marker in quality control of chemical drug compositions[J]. *Drug Eval Res*, 2023, 46(6):1382.
- [13] 久欣, 张慧文, 刘宏, 等. 化学计量学方法在中药质量标志物中的应用[J]. *中成药*, 2021, 43(12):3416.  
JIU X, ZHANG HW, LIU H, *et al.* Application of chemometrics methods in quality markers of traditional Chinese medicine[J]. *Chin Tradit Pat Med*, 2021, 43(12):3416.
- [14] 邓婷, 秦涛, 徐颖, 等. 同时测定山楂叶总黄酮中6种黄酮含量及体外抗氧化活性评价[J]. *中药与临床*, 2021, 12(5):27.  
DENG T, QIN T, XU Y, *et al.* Simultaneous detection of 6 flavonoids in Hawthorn Leave total flavonoids and evaluation of antioxidant activity[J]. *Pharm Clin Chin Mater Med*, 2021, 12(5):27.
- [15] 魏玮, 相芳, 许诺, 等. 泽泻不同炮制品中7个化学成分的含量测定[J]. *中国药师*, 2021, 24(12):2284.  
WEI W, XIANG F, XU N, *et al.* Determination of seven major components in different processed products of *Alismatis Rhizoma* [J]. *China Pharmacist*, 2021, 24(12):2284.
- [16] 周海艳, 高云佳, 王敏, 等. UPLC同时测定不同产地白术中3种白术内酯成分的含量[J]. *中国药品标准*, 2023, 24(1):5.  
ZHOU HY, GAO YJ, WANG M, *et al.* Simultaneous determination of three atractylenolides in *Atractylodes macrocephala* by UPLC[J]. *Drug Stand China*, 2023, 24(1):5.
- [17] 姚晨, 赵庆林, 张生潭, 等. 一测多评法同时测定腰息痛胶囊中6种成分[J]. *中成药*, 2023, 45(11):3745-3749.  
YAO C, ZHAO QL, ZHANG ST, *et al.* Simultaneous determination of 6 components in Yaositong capsules by QAMS[J]. *Chin Tradit Pat Med*, 2023, 45(11):3745.
- [18] 庞茜茜, 岳威治, 刘克勤, 等. 雪梨止咳糖浆中11个成分的含量测定及化学计量学分析[J]. *中国药房*, 2023, 34(1):62.  
PANG QQ, YUE WZ, LIU KQ, *et al.* Content determination and chemometric analysis of 11 components in Xueli zhike syrup[J]. *China Pharm*, 2023, 34(1):62.
- [19] 肖会敏, 杨旭, 黄新文, 等. 基于HPLC指纹图谱及多成分含量的化学模式识别法评价小血藤质量[J]. *西北药学杂志*, 2022, 37(5):1.  
XIAO HM, YANG X, HUANG XW, *et al.* Quality evaluation of *Schisandra propinqua* var. *sinensis* based on HPLC fingerprint and multi-component content determination[J]. *Northwest Pharm J*, 2022, 37(5):1.

(收稿日期:2024-06-21)