

· 药学基础 ·

基于HPLC-DAD-CAD多检测器联用与化学计量学的 益母草颗粒多成分质量一致性评价

李双燕^{1,2}, 章军², 郭丛², 李思远², 邱继鹏², 苏江敏², 刘安², 寇晓娣^{1*}, 刘艳^{2*}

(1. 天津中医药大学, 天津 301617; 2. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700)

[摘要] 目的:系统评价益母草颗粒中4种成分的含量差异,揭示同厂家及不同厂家产品的质量波动规律,为生产工艺优化与质量控制提供科学依据。方法:采用高效液相色谱-二极管阵列检测器-电雾式检测器联用法(HPLC-DAD-CAD),测定19个厂家(53批次,159盒)样品中丁香酸、盐酸益母草碱、阿魏酸、盐酸水苏碱4种成分的含量,绘制指纹图谱,并计算指纹图谱差异度(P_s)及同厂家不同样品的相对标准偏差(RSD);以 P_s 和4种成分RSD为变量构建主成分分析(PCA)模型,对厂家进行分类;选取涵盖3类一致性组的5个厂家(M1~M5)样本,计算其批内一致性(P_A)、批间一致性(P_B)及 P_s 3个质量一致性参数,并以这5个厂家的 P_A 、 P_B 、 P_s 为变量进行PCA。结果:19个厂家样品中4种指标成分的平均总含量为41.10~97.54 mg/袋,其中2025年版《中华人民共和国药典》质控成分盐酸水苏碱含量为32.46~72.70 mg/袋,均符合要求,其RSD为1.7%~17.1%;其余3种成分含量分别为丁香酸1.43~41.92 mg/袋、盐酸益母草碱0.67~11.85 mg/袋、阿魏酸0.11~3.81 mg/袋,其中盐酸益母草碱在同厂家样品间的含量波动最显著(RSD 4.8%~59.2%)。PCA结果显示,19个厂家可划分为三类,8个厂家样品(M2、M6、M7、M8、M10、M15、M17、M18)一致性较高;5个厂家样品(M3、M9、M12、M13、M14)一致性中等;6个厂家样品(M1、M4、M5、M11、M16、M19)一致性较低。2种方法对5个代表厂家的分类结果一致,其中M2厂家质量一致性和指标成分总含量为M1~M5中最优。结论:该研究建立的HPLC-DAD-CAD多检测器联用技术可实现益母草颗粒中4种成分的精准检测,19个厂家产品中的4种指标成分总含量差异明显,应用2种一致性评价方法结合PCA均能有效将其一致性划分为三类,2种方法的分类结果高度一致,该研究可为益母草颗粒工艺优化及质量标准提升提供科学依据。

[关键词] 中成药; 益母草颗粒; 高效液相色谱法(HPLC); 二极管阵列检测器(DAD); 电雾式检测器(CAD); 多成分检测; 质量一致性

[中图分类号] R242;R932;O657 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2026)08-0174-08

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20252067

[网络出版地址] <https://link.cnki.net/urlid/11.3495.R.20251021.1738.002>

[网络出版日期] 2025-10-22 13:07:54 [增强出版附件] 内容详见 <http://www.syfjxzz.com> 或 <http://cnki.net>



Multi-component Quality Consistency Evaluation of Leonuri Herba Granules Based on HPLC-DAD-CAD Multi-detector Technique and Chemometrics

LI Shuangyan^{1,2}, ZHANG Jun², GUO Cong², LI Siyuan², DI Jipeng², SU Jiangmin², LIU An²,
KOU Xiaodi^{1*}, LIU Yan^{2*}

(1. Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 301617, China;

2. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China)

[Abstract] **Objective:** To systematically evaluate the content differences of 4 components in Leonuri Herba granules, reveal the quality fluctuation patterns of products from the same and different manufacturers, providing scientific basis for the

[收稿日期] 2025-07-28

[基金项目] 中国中医科学院科技创新工程项目(CI2023E001TS09);国家自然科学基金项目(82374179);中国中医科学院中药研究所国家自然科学基金培育专项(ZXKT23010)

[第一作者] 李双燕,在读硕士,从事中药质量标准研究,E-mail:15130303552@163.com

[通信作者] *刘艳,博士,研究员,从事中药品质评价和经典名方开发研究,E-mail:yliu1980@icmm.ac.cn;

*寇晓娣,博士,教授,从事中药化学研究,E-mail:xiaodikou2013@163.com

optimization of production process and quality control. **Methods:** High performance liquid chromatography-diode array detector-charged aerosol detector(HPLC-DAD-CAD) was employed to determine the contents of 4 components(syringic acid, leonurine hydrochloride, ferulic acid, and stachydrine hydrochloride) in samples from 19 manufacturers (53 batches, 159 boxes). Additionally, fingerprint profiles were constructed, and the fingerprint dissimilarity(P_s) and relative standard deviation(RSD) of different samples from the same manufacturer were calculated. A principal component analysis(PCA) model was established with P_s and the RSD values of the 4 components as variables to classify the manufacturers. Finally, samples from 5 manufacturers(M1-M5) covering three consistency groups were selected to calculate three quality consistency parameters, namely intra-batch consistency(P_A), inter-batch consistency(P_B), and P_S . Then, PCA was performed with P_A , P_B , and P_S of these 5 manufacturers as variables. **Results:** The average total content of the 4 index components per bag across the 19 manufacturers ranged from 41.10 mg to 97.54 mg. Among them, the content of stachydrine hydrochloride(a pharmacopoeial quality control component) was 32.46-72.70 mg per bag, all meeting the requirements of the 2025 edition of the *Pharmacopoeia of the People's Republic of China*, with RSD of 1.7%-17.1%. The content ranges of the other 3 components were as follows: syringic acid of 1.43-41.92 mg per bag, leonurine hydrochloride of 0.67-11.85 mg per bag, and ferulic acid of 0.11-3.81 mg per bag. Notably, leonurine hydrochloride exhibited the most significant content fluctuation among samples from the same manufacturer(RSD of 4.8%-59.2%). PCA results showed that the 19 manufacturers could be classified into 3 categories. Samples from 8 manufacturers(M2, M6, M7, M8, M10, M15, M17, M18) demonstrated relatively high consistency, five manufacturers(M3, M9, M12, M13, M14) showed moderate consistency, six manufacturers(M1, M4, M5, M11, M16, M19) exhibited low consistency. The two methods yielded consistent classification results for the 5 representative manufacturers, verifying the reliability of the proposed method. Among these, manufacturer M2 showed the best quality consistency and the highest total content of indicator components among M1-M5. **Conclusion:** The HPLC-DAD-CAD multi-detector hyphenation technology established in this study enables the accurate detection of 4 components in Leonuri Herba granules. Significant differences in the total content of these four components are observed among products from 19 manufacturers. The application of 2 consistency evaluation methods combined with PCA can effectively classify their consistency into 3 categories, and the classification results of the 2 methods are highly consistent. This study provides scientific basis for the process optimization and quality standard improvement of Leonuri Herba granules.

[Keywords] Chinese patent medicines; Leonuri Herba granules; high performance liquid chromatography(HPLC); diode array detector(DAD); charged aerosol detector(CAD); multi-component detection; quality consistency

益母草颗粒由单味药益母草煎煮加工制备而成,是妇科经典中药制剂,收载于《国家基本医疗保险、工伤保险和生育保险药品目录(2024年)》及历版《中华人民共和国药典》(以下简称《中国药典》)一部,其具有活血调经的功效,用于血瘀所致的月经不调、产后恶露不绝,证见经水量少、淋漓不净、产后出血时间过长;产后子宫复旧不全见上述证候者。研究表明其活性成分主要包括生物碱^[1]、黄酮^[2]、二萜类^[3]、苯乙醇类^[4]等,具有抗氧化、抗凋亡、抗炎、镇痛等药理作用^[5]。益母草颗粒目前拥有185个国产药品批准文号,覆盖上百家生产企业。然而,不同企业益母草原产地、采收期、提取浓缩工艺等存在差异,使得产品间有效成分含量、稳定性等质量指标分化明显,为质量评价带来挑战。2025年版《中国药典》采用高效液相色谱法(HPLC)对盐酸水苏碱单一指标成分进行定量分析^[6],但该方法存在成分覆盖不足、检测手段局限等问题,不足以区分产品质量一致性。现有文献报道主要集中在使用HPLC及其联用技术,如高效液相色谱-质谱法(HPLC-MS)、高效液相色谱-蒸发光散射检测法(HPLC-ELSD)对盐酸水苏碱、盐酸益母草碱等单一或少数成分的定量分析上^[7-10],尽管这些方法在

灵敏度和专属性方面有所突破(如HPLC-MS检测限低 $50\text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$),但仍存在如HPLC-MS设备昂贵、成本高,HPLC-ELSD对低含量成分的检测易受基质干扰等局限。此外,现有研究缺乏对同厂家不同批次及不同厂家产品质量一致性的系统评价,尚未见基于多指标成分对益母草颗粒批内、批间及厂家间产品质量差异的深入研究。化学计量学分析在数据挖掘与分类领域的应用日益广泛。该方法涵盖数学、统计学等相关技术手段,能够从分析数据中有效提取有价值的特征信息。其中,主成分分析(PCA)作为经典且应用广泛的传统数据分析技术,已成为众多研究中的核心分析手段,其核心目标是在最大限度保留原始数据关键信息的前提下,通过线性变换将高维数据映射到低维空间,实现数据降维^[11]。

本研究使用的电雾式检测器(CAD)对非挥发性化合物具有广谱响应特性,检测灵敏度较ELSD高出30~55倍^[12],与二极管阵列检测器(DAD)形成优势互补,构建高效液相色谱-二极管阵列检测器-电雾式检测器(HPLC-DAD-CAD)联用技术,实现了单样品制备后丁香酸、盐酸益母草碱、阿魏酸及盐酸水苏碱4种成分的全面检测,并与指纹图谱差

异度(P_s)和相对标准偏差(RSD)等参数相结合,经过PCA得到一致性区分因子(P),对19个厂家的质量一致性进行区分,为益母草颗粒的质量一致性评价提供兼具科学性与实用性的新策略。

1 材料

Vanquish Core型液相色谱仪,包括VC-D40-A型可变波长检测器、VH-D20-A型电雾式检测器(美国Thermo Fisher Scientific公司),ME204T/02型万分之一电子天平、XSR105/A型十万分之一电子天平(瑞士梅特勒-托利多公司)。

19个厂家益母草颗粒,其中前5家(M1~M5)为厂家送检(每个厂家5个批次,共25批次;每个批次3盒,共计75个样品);后14家(M6~M19)为市场收集(每个厂家2个批次,共28批次;每个批次3盒,共计84个样品),具体样品信息见表1。实验所用对照品包括丁香酸(批号PS010564)、盐酸益母草碱(批号PS010410)、阿魏酸(批号PS012244)、盐酸水苏碱(批号PS2631-0025),纯度均 $\geq 98\%$,购自成都普思生物科技股份有限公司。甲酸为质谱纯、乙腈为色谱纯,其余试剂均为分析纯,水为屈臣氏蒸馏水。

表1 19个厂家益母草颗粒供试品的批号信息

Table 1 Batch number information of Yimucao granules from 19 manufacturers

厂家编号	批号
M1	240807, 240701, 240601, 231004, 240420
M2	23110251, 23110275, 23110218, 23110148, 23110191
M3	231005, 231204, 231011, 230202, 240306
M4	221002, 220705, 221003, 230605, 231004
M5	2230801, 2220201, 2230201, 2220801, 2231203
M6	4373003, 4375001
M7	240501, 230505
M8	230901, 240507
M9	2024002, 2024007
M10	240607, 240609
M11	240404, 231112
M12	23041532, 22091531
M13	240502, 240207
M14	230902, 240201
M15	20240120, 20240702
M16	20240201, 20240802
M17	2311013, 2407005
M18	2312034, 2312044
M19	2403003, 2406003

2 方法与结果

2.1 HPLC-DAD-CAD测定丁香酸、盐酸益母草碱、阿魏酸和盐酸水苏碱的含量

2.1.1 对照品溶液的制备 精密称定丁香酸、盐酸益母草碱及阿魏酸对照品适量,用70%乙醇溶解并定容,配制成混合对照品溶液,其中丁香酸、盐酸益母草碱和阿魏酸的质量浓度分别为0.106、0.100、0.114 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。精密称定盐酸水苏碱对照品适量,加70%乙醇溶解并定容,制成每1 mL含0.118 mg盐酸水苏碱的对照品溶液。

2.1.2 供试品溶液的制备 精密称定研细后的益母草颗粒1.000 g,置具塞锥形瓶中,精密加入70%乙醇25 mL,称定质量,超声处理40 min(功率300 W,频率40 kHz),放冷,用70%乙醇补足减失的质量,0.22 μm 微孔滤膜滤过,即得。

2.1.3 色谱条件 DAD色谱条件:Welch Ultimate AQ-C₁₈色谱柱(4.6 mm \times 150 mm, 5 μm),以0.1%甲酸水溶液(A)-乙腈(B)梯度洗脱(0~20 min, 5%~17%B; 20~32 min, 17%~19%B),流速1.0 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$,柱温25 $^{\circ}\text{C}$,DAD检测波长277 nm,进样量5 μL 。CAD色谱条件:采用Agilent InfinityLab Poroshell 120 HILIC-Z色谱柱(4.6 mm \times 150 mm, 2.7 μm),流动相为10 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 甲酸铵水溶液(A)-乙腈(B)(15:85),流速1.0 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$,柱温25 $^{\circ}\text{C}$,CAD雾化器温度35 $^{\circ}\text{C}$,采集频率20 Hz,气压62.2 psi(1 psi \approx 6.895 kPa),进样量5 μL 。对照品溶液、供试品溶液的色谱图见增强出版附加材料。

2.1.4 方法学考察 精密配制丁香酸(质量浓度范围为0.05~212 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)、盐酸益母草碱(质量浓度范围为0.10~100 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)、阿魏酸(质量浓度范围为0.11~28.5 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)、盐酸水苏碱(质量浓度范围为0.92~472 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)的系列浓度梯度对照品溶液(溶剂均为70%乙醇),按2.1.3项下色谱条件进样测定,记录峰面积。分别以信噪比3和10作为标准,测得各成分的检测限及定量限,结果表明,在相应质量浓度范围内,浓度与对应峰面积的线性关系良好,回归方程、检测限、定量限见表2。取同一供试品溶液,按2.1.3项下色谱条件连续进样测定6次,记录峰面积,并计算峰面积RSD。结果显示,4种成分峰面积的RSD均 $\leq 3\%$,表明该仪器的精密度较好。取供试品溶液,在室温下分别放置0、2、4、8、12、20、24 h,再按2.1.3项下色谱条件进样测定,记录峰面积,并计算峰面积的RSD值。结果显示,4种成分峰面积的RSD均 $\leq 3\%$,表明供试品溶液在室温下放置24 h稳定性良好。按2.1.2项下方法平

行制备6份供试品溶液,再按2.1.3项下色谱条件进样测定,记录峰面积,并以外标法计算样品中4种成分的含量。结果显示,丁香酸、盐酸益母草碱、阿魏酸和盐酸水苏碱的平均质量分数分别为5.38、0.87、0.56、2.54 mg·g⁻¹,RSD均≤3%,表明方法的重复性较好。取益母草颗粒样品适量,按2.1.2项下方法制备供试品溶

液,加入一定量的对照品,即得,平行6份,测定4种成分的含量,计算平均回收率及RSD。结果显示,4种成分的回收率为99.8%~101.1%,RSD<1.4%,4种指标成分的加样回收率见增强出版附加材料,表明方法准确可靠,可用于益母草颗粒4种指标成分的定量检测。

表2 益母草颗粒中4种指标成分的线性关系、线性范围、检测限及定量限

Table 2 Linear relationships, linear ranges, detection limits, and quantification limits of 4 index components in Leonuri Herba granules

成分	线性方程	r	线性范围/mg·L ⁻¹	检测限/mg·L ⁻¹	定量限/mg·L ⁻¹
丁香酸	Y=0.277 2X-0.060 4	1.000 0	0.21~212.00	0.05	0.21
盐酸益母草碱	Y=0.132 6X+0.000 7	1.000 0	0.39~100.00	0.10	0.39
阿魏酸	Y=0.188 6X+0.007 9	1.000 0	0.19~28.50	0.11	0.19
盐酸水苏碱	Y=0.035 1X+0.067 3	0.999 9	3.69~472.00	0.92	3.69

2.2 含量测定 按照以上制备方法及色谱条件,本研究对19个厂家共计53批次(159盒)的益母草颗粒进行含量测定,结果显示,19个厂家样品中4种指标成分平均含量为41.10~97.54 mg/袋,其中M19厂家的样品,4种成分的总含量相对较高,作为药典质控指标及主要药效成分,所有样品均符合2025年版《中国药典》中盐酸水苏碱≥27.0 mg/袋的要求,19个厂家样品中该成分平均含量为32.46~72.70 mg/袋,整体高于其他3种成分,且呈现质量差异,其中M18厂家含量最高,M7厂家最低。盐酸益母草碱与阿魏酸分别保持在0.67~11.85 mg/袋与0.11~3.81 mg/袋,而丁香酸在不同厂家间的样品中含量波动最为显著(1.43~41.92 mg/袋),见表3。该可视化结果充分证明了建立多指标质量一致性评价体系的必要性。经统计,19个厂家盐酸水苏碱含量,计算得其平均值为50.47 mg/袋;以该平均值为基准,按±30%波动范围推导,建议2025年版《中国药典》标准中“本品每袋含益母草以盐酸水苏碱(C₇H₁₃NO₂·HCl)计,不得少于27.0 mg”应提升为“本品每袋含益母草以盐酸水苏碱(C₇H₁₃NO₂·HCl)计,含量应控制在35.00~66.00 mg”。

2.3 质量一致性评价

2.3.1 方法一 为系统评价益母草颗粒的一致性,本研究基于P_S和4种成分的RSD构建评价体系,其中P_S=1-S,S是某厂家不同批次样品之间的指纹图谱相似度。在2种色谱条件下,分析了某厂家不同批次的益母草颗粒样品,选取277 nm下的图谱作为指纹图谱,并将色谱图导入《中药色谱指纹图谱相似度评价系统》(2012.130723版)。采用中位数法,时间窗宽度为0.1 min,并使用多点校正、全峰匹配后生成的图谱为参考图谱,计算每个图谱与参照图

表3 19个厂家益母草颗粒中4种指标成分的平均含量(n=3)

Table 3 Average contents of 4 index components in Leonuri Herba granules from 19 manufacturers(n=3) mg/袋

厂家编号	盐酸水苏碱	盐酸益母草碱	丁香酸	阿魏酸
M1	46.17	1.30	6.76	0.74
M2	69.64	11.85	9.50	1.81
M3	56.48	2.73	9.95	1.37
M4	63.04	3.06	10.50	1.63
M5	51.16	3.84	8.98	1.15
M6	34.23	2.88	3.63	0.37
M7	32.46	8.85	23.02	0.40
M8	43.21	2.80	8.02	0.55
M9	50.66	4.21	9.07	1.03
M10	39.02	1.25	3.99	0.31
M11	49.62	2.46	10.94	0.31
M12	58.22	4.39	10.44	0.63
M13	65.41	0.67	1.44	0.11
M14	47.32	0.98	1.43	0.12
M15	40.57	1.11	6.02	0.45
M16	48.40	2.85	5.32	0.50
M17	49.40	5.29	6.47	0.68
M18	72.70	8.35	12.71	0.85
M19	41.22	10.59	41.92	3.81

谱之间的相似度,最小的百分比即为S。同时计算同厂家不同批次4种成分的RSD。以19个厂家益母草颗粒的P_S及4种成分的RSD为变量,构建PCA模型对19个厂家进行质量一致性分类。

结果显示,19个厂家样品的P_S范围为0.1%~5.7%,M1、M4、M5、M16稍高(1.5%~5.7%),其余均≤1%;19个厂家样品中,盐酸水苏碱、盐酸益母草碱、丁香酸、阿魏酸的含量的RSD呈现显著差异。盐酸水苏碱的RSD范围为1.7%~17.1%,说明在

2025年版《中国药典》的要求下,大部分厂家自身生产出的益母草颗粒盐酸水苏碱含量差异不明显。其中,M14、M4等厂家RSD偏高,反映其生产中原料均一性控制不足,导致该成分批次间含量波动剧烈;盐酸益母草碱RSD在M4中高达59.2%,而M8中仅为4.8%;丁香酸的RSD范围为2.5%~27.7%。其中,M5(27.7%)、M1(17.0%)等厂家RSD偏高;阿魏酸在M12中达43.3%,M15中仅4.9%,反映出原料来源、生产工艺等因素对单一成分提取效果的影响。综合4种成分RSD和 P_S 结果分析,M4厂家生产工艺稳定性较差,生产的益母草颗粒4种成分含量差异相对较大。见增强出版附加材料。

进一步对19个厂家的样品进行PCA,KMO和Bartlett检验结果显示,KMO值(0.623)>0.5,Bartlett球形检验 $P<0.05$,表明这些样本数据符合要求。3个主成分累计贡献率86.7%,散点得分见增强出版附加材料。表明3个主成分的提取涵盖了样品共有成分的大部分信息。19个厂家在降维空间呈明显的空间分离,M2、M6、M7、M8、M10、M15、M17、M18共8个厂家高度聚集于PC1负半轴、PC2接近于0、PC3的中间区域,提示生产工艺稳定、批间差异小;M3、M9、M12、M13、M14 5个厂家分布于PC1零点、PC2、PC3中间区域,反映中等质量波动;M1、M4、M5、M11、M16、M19离散度最高,定位远离聚类中心,表明其关键成分含量失控风险突出。

为对19个厂家样品的质量进行量化表征,在PCA模式下对新提取的主成分PC1、PC2、PC3与5个变量进行关联分析,3个主成分因子对5个变量参数表达式分别为 $p_1=0.476 \times \text{RSD}_{\text{盐酸水苏碱}} + 0.571 \times \text{RSD}_{\text{盐酸益母草碱}} + 0.212 \times \text{RSD}_{\text{丁香酸}} + 0.341 \times \text{RSD}_{\text{阿魏酸}} + 0.535 \times P_S$, $p_2=0.232 \times \text{RSD}_{\text{盐酸水苏碱}} - 0.351 \times \text{RSD}_{\text{盐酸益母草碱}} + 0.879 \times \text{RSD}_{\text{丁香酸}} + 0.053 \times \text{RSD}_{\text{阿魏酸}} - 0.216 \times P_S$, $p_3=-0.123 \times \text{RSD}_{\text{盐酸水苏碱}} - 0.074 \times \text{RSD}_{\text{盐酸益母草碱}} - 0.137 \times \text{RSD}_{\text{丁香酸}} + 0.918 \times \text{RSD}_{\text{阿魏酸}} - 0.343 \times P_S$ 。依据各厂家5个变量参数实际数值分别计算各厂家新的主成分因子 p_1 、 p_2 、 p_3 。3个主成分因子在坐标轴上的贡献率分别为0.493、0.208和0.166,根据其在坐标轴上的贡献率,设置一致性区分因子(P)计算公式,即 $P=0.493p_1+0.208p_2+0.166p_3$, P 值越低,质量一致性越高,因此根据 P 值,可对厂家按质量一致性进行分类。结果显示,19个厂家可分为3类,即M2、M6、M7、M8、M10、M15、M17、M18等8个厂家 $P<13.0$,可分为一类;M3、M9、M12、M13、M14等5个厂家 $13.0 \leq P < 20.8$,可以分为一类;M1、M4、M5、M11、M16、M19等6个厂家 $P>20.8$,可以分为一类;现有19个厂家样品 P 值有明

显差异,说明现有厂家间的质量及生产工艺存在一定程度的差异。见表4。

表4 19个厂家益母草颗粒样品的变量因子和 P 值

Table 4 Variable factors and P values of Leonuri Herba granules from 19 manufacturers

厂家编号	p_1	p_2	p_3	P
M1	29.9	10.8	23.7	20.9
M2	13.1	8.8	5.4	9.2
M3	25.6	10.2	18.6	17.8
M4	52.0	-5.9	3.1	24.9
M5	33.1	22.9	19.3	24.3
M6	12.7	6.8	5.0	8.5
M7	19.0	3.0	17.7	12.9
M8	10.7	15.2	3.6	9.0
M9	23.5	4.4	3.6	13.1
M10	15.2	11.0	3.3	10.3
M11	29.8	25.0	13.2	22.1
M12	29.2	1.1	37.0	20.7
M13	20.3	13.1	14.0	15.0
M14	20.6	8.2	6.7	13.0
M15	10.5	10.1	1.5	7.5
M16	44.0	-2.5	30.1	26.2
M17	10.8	-0.6	3.0	5.7
M18	8.8	0.0	4.9	5.2
M19	33.8	5.9	24.0	21.9

2.3.2 方法二 按以往课题组研究方法^[13-14],计算M1~M5的批内一致性(P_A)、批间一致性(P_B)、 P_S 3个质量一致性参数,并以5个厂家的 P_A 、 P_B 、 P_S 为变量进行PCA。其中, $P_{A/B}=(\text{含量极大值}-\text{含量极小值})/\text{含量平均值} \times 100\%$ 。当所测指标为非单一成分时, $P_{A/B}$ 等于各指标成分 $P_{A/B}$ 的算术平均值。

结果显示, P_A 范围为2.2%~6.6%, P_B 范围为26.7%~70.4%,各厂家的批内差异显著低于批间差异,提示药材来源波动可能是主要影响因素。5个厂家 P_A 值均低于10%,其中M2的 P_A 值最小,即同批次不同包装单位的样品4个成分含量的离散程度较小,反映出该厂家的设备工艺稳定性良好;M1、M4厂家样品 P_S 超过3%,推测可能与原料来源波动、生产工艺稳定性或储存条件等因素有关。见表5。

以5个厂家的 P_A 、 P_B 、 P_S 为变量进行PCA。结果显示,提取出2个主成分,其中PC1贡献67.9%,PC2贡献24.8%,总贡献率92.7%,说明这2个主成分能有效概括原始数据中4种成分的综合信息,可用于

表5 M1~M5厂家益母草颗粒样品的质量一致性差异值

Table 5 Quality consistency difference values of Leonuri Herba granules from manufacturers M1-M5 %

厂家编号	P_A	P_B	P_S
M1	6.6	58.5	3.2
M2	2.2	26.7	0.5
M3	2.8	47.3	0.7
M4	3.1	70.4	5.7
M5	3.8	62.7	1.5

区分不同厂家的样本特征,具体PCA得分见增强出版附加材料。结果显示,5个厂家分布于3个象限,M2、M3位于PC1负半轴、PC2接近0处,说明在PC1、PC2代表的综合特征上,M2与M3具有一定相似性;M1、M4、M5集中在PC1正半轴,与前两类形成明显分离。

对主成分因子PC1和PC2,其对于3个变量参数的表达式分别为 $p_1=0.456P_A+0.645P_B+0.613P_S$, $p_2=0.878P_A-0.211P_B-0.430P_S$ 。2个主成分因子在坐标轴上的贡献率分别为0.679和0.248,根据其在坐标轴上的贡献率,设置P值计算公式,即 $P=0.679p_1+0.248p_2$,根据P值,5个厂家可分为3类,即M2($P<15$)、M3($15<P<25$)各各自分为一类;M1、M4、M5($P>25$)可分为一类。见表6。方法一对M1~M5的分类结果显示,M2属于较高一致性组,M3属于中等一致性组,M1、M4、M5属于低一致性组,与方法二的分类一致,表明两种方法对同一批样本的质量一致性评价结果具有高度一致性,印证了评价逻辑的内在统一性。

表6 M1~M5厂家益母草颗粒样品的变量因子和P值

Table 6 Variable factors and values of Leonuri Herba granules from manufacturers M1-M5

厂家编号	p_1	p_2	P值
M1	42.7	-7.9	27.0
M2	18.5	-3.9	11.6
M3	32.2	-7.8	19.9
M4	50.3	-14.6	30.6
M5	43.1	-10.5	26.7

3 讨论

3.1 样品收集 本研究选用19个厂家样品以反映当前市场主流产品质量,其中M1~M5为厂家送样,各5个批次(3盒/批次);M6~M19为依据米内网查询到的2019—2024第一季度中国实体药店品牌TOP 20年度格局中除M1~M5外可收集到的14个厂家,受限于区域品牌流通率,仅收集2批次

(3盒/批次)样本进行代表性的含量研究。2批次样本可能低估厂家的质量波动,宜纳入更多批次样本($n\geq 3$ 批次),提升质量一致性评价的可靠性。

3.2 方法验证 方法二选取M1~M5厂家样本进行分析,M1~M5为厂家送样,批次数量充足(每个厂家5批次,共25批次),可满足 P_A 、 P_B 的分析需求;同时,经方法一初步分析,M1~M5涵盖方法一划分的三类质量一致性组,能够代表方法一的整体分类特征。基于此,通过课题组既往方法对这5个厂家进行分析,与方法一的分类结果进行对比,以此验证新方法的准确性。结果显示,2种方法对同一批样本的分类结果一致,这表明方法一不仅可以捕捉批内/批间波动,还通过拓展成分覆盖范围,实现了从送样厂家到市场流通产品的更系统、全面的质量评价。

3.3 质量差异 益母草颗粒活血调经的核心功效依赖于多种活性成分的协同作用。其中,盐酸水苏碱和盐酸益母草碱是2025年版《中国药典》一部中收录的益母草药材含量测定指标成分。本研究结果显示,盐酸水苏碱含量均符合标准,但不同厂家含量差异显著,且同厂家不同样品RSD为1.7%~17.1%。这种波动影响药品质量稳定性,可能直接导致患者临床疗效的差异;盐酸益母草碱具有抗血小板聚集、抗炎等作用,与“活血调经”的核心功效直接相关^[15-16],其含量(0.67~11.85 mg/袋)及同厂家不同样品含量RSD(4.8%~59.2%)波动最显著,增加临床用药风险。此外,阿魏酸作为苯丙素类成分,对子宫平滑肌有解痉作用,也与临床用于调经止痛的作用相关^[17]。但其含量范围为0.11~3.81 mg/袋,RSD为4.9%~43.3%,波动亦显著;丁香酸为有机酸类成分,对大鼠心肌缺血再灌注损伤有保护作用^[18],其RSD为2.5%~27.7%,可能影响多成分间协同效应发挥的稳定性。

3.4 标准提升 现行标准对盐酸水苏碱仅控制下限(≥ 27.0 mg/袋),既未限制多成分含量,也未限定盐酸水苏碱的合理波动范围,远不能满足临床对药品质量稳定性的需求。基于本研究数据,建议2025年版《中国药典》标准中“本品每袋含益母草以盐酸水苏碱($C_7H_{13}NO_2 \cdot HCl$)计,不得少于27.0 mg”提升为“本品每袋含益母草以盐酸水苏碱($C_7H_{13}NO_2 \cdot HCl$)计,含量应控制在35.00~66.00 mg”。设定上限是为了促使企业优化原料均一性和提取工艺,减少因原料或者工艺不稳定导致的含量差异,从而保障临床疗效的稳定性。同时,这也提示质量评价需从“单一指标”转向“多成分协

同评价”,未来可考虑将盐酸益母草碱、阿魏酸等关键活性成分纳入质控范围,以更全面反映产品药效潜力与质量一致性。

本研究基于HPLC-DAD-CAD多检测器联用技术结合化学计量学方法,创新性地构建了益母草颗粒多成分质量评价体系。研究表明,益母草颗粒作为妇产科临床常用中成药^[19],其质量一致性存在显著差异。这一发现揭示了当前中成药质量控制面临的严峻挑战,如原料来源复杂、制备工艺多样、质量标准体系不完善等问题,直接影响药品疗效的稳定性和安全性^[20]。本研究通过建立多成分、多维度的质量评价模型,突破了传统单一成分质量控制模式的局限,为中成药质量一致性评价提供了新的技术路径。研究成果不仅为益母草颗粒的质量标准提升提供了科学依据,更为建立符合中药特点的质量评价体系提供了方法学参考。未来研究将进一步拓展该方法在其他中成药质量评价中的应用,以期推动中成药行业的质量标准化进程,助力实现中成药产业的高质量发展目标。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

[致谢] 感谢广西维威制药有限公司、北京同仁堂天然药物(唐山)有限公司、葵花药业集团(襄阳)隆中有限公司、天圣制药集团股份有限公司、三金集团湖南三金制药有限责任公司为本研究提供的样品。

[参考文献]

[1] 乔晶晶,吴敬南,薛敏,等. 益母草化学成分与药理作用研究进展[J]. 中草药,2018,49(23):5691-5704.
QIAO J J, WU Q N, XUE M, et al. Research progress on chemical components and pharmacological effects of *Leonurus japonicas* [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2018, 49(23):5691-5704.

[2] 莫梓轩,常国欣,袁玥,等. 益母草属植物黄酮类成分的研究进展[J]. 云南民族大学学报:自然科学版,2025,34(5):503-513.
MO Z X, CHANG G X, YUAN Y, et al. Research progress on the flavonoids from plants of *Leonurus* [J]. J Yunnan Minzu Univ Nat Sci Ed, 2025, 34(5):503-513.

[3] YANG B, HU Y, CHENG N, et al. Anti-inflammatory labdane diterpenoids from *Leonurus japonicus* Houtt [J]. Phytochemistry, 2020, 173:112223.

[4] ZHAO Z H, YAO Z H, LIN S J, et al. *Leonurus japonicus* Houtt. (Motherwort): Systematic research through chemical profiling, stability under controlled conditions and pharmacokinetic analysis on screening Q-markers for quality control [J]. J Pharm Biomed Anal, 2022, 213:114707.

[5] 李艳,苗明三. 益母草药理作用研究进展[J]. 中华中医药学刊,2023,41(5):102-106.

LI Y, MIAO M S. Research progress of pharmacological action of Yimucao (Herba Leonuri) [J]. Chin Arch Tradit Chin Med, 2023, 41(5):102-106.

[6] 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,2025:1556.
Chinese Pharmacopieia Commission. Pharmacopieia of the People's Republic of China: Volume 1 [M]. Beijing: China Medical Science Press, 2025:1556.

[7] 王宁莉,张书华,王丽霞. 益母草颗粒中盐酸水苏碱与盐酸益母草碱的含量测定[J]. 延安大学学报:医学科学版,2015,13(2):4-6,10.
WANG N L, ZHANG S H, WANG L X. HPLC determination of hydrochloric stachydrine and hydrochloric leonurine in motherwort granules [J]. J Yan'an Univ Med Sci Ed, 2015, 13(2):4-6, 10.

[8] 李铭. 高效液相色谱-串联质谱法测定益母草颗粒中盐酸水苏碱的含量[J]. 中国当代医药,2016,23(2):8-10.
LI M. Content of stachydrine hydrochloride from Motherwort granule determined by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. China Mod Med, 2016, 23(2):8-10.

[9] 周超,张聿梅,何轶,等. HPLC-MS法同时测定益母草及其颗粒剂中盐酸水苏碱与盐酸益母草碱的含量[J]. 药物分析杂志,2016,36(5):830-834.
ZHOU C, ZHANG Y M, HE Y, et al. Simultaneous contents determination of stachydrine hydrochloride and leonurine hydrochloride in Herba Leonuri and Yimucao granules by HPLC-MS [J]. Chin J Pharm Anal, 2016, 36(5):830-834.

[10] 张霞,邓芳. 益母草颗粒中水苏碱与益母草碱检测分析[J]. 临床合理用药杂志,2017,10(14):5-6,20.
ZHANG X, DENG F. Detection and analysis of stachydrine and leonurine in motherwort particles [J]. Chin J Clin Ration Drug Use, 2017, 10(14):5-6, 20.

[11] LAN X M, LIN L J, YANG L X, et al. Comprehensive quality evaluation of *Magnolia officinalis* leaves based on wavelength fusion fingerprint, content determination, and antioxidant activity analysis [J]. Sci Tradit Chin Med, 2024, 2(1):48-56.

[12] LONG Z, GUO Z, ACWORTH I N, et al. A non-derivative method for the quantitative analysis of isosteroidal alkaloids from Fritillaria by high performance liquid chromatography combined with charged aerosol detection [J]. Talanta, 2016, 151:239-244.

[13] 劳永真,章军,刘艳萍,等. 基于高效液相色谱结合化学计量学方法评价六味地黄浓缩丸质量一致性[J]. 药物分析杂志,2024,44(3):532-541.
LAO Y Z, ZHANG J, LIU Y P, et al. Quality consistency of Liuwei Dihuang concentrated pills was evaluated by high performance liquid chromatography combined with stoichiometry [J]. Chin J Pharm Anal, 2024, 44(3):532-541.

[14] 劳永真,徐凌川,赵桢熠,等. 双黄连口服液质量一致性评价研究[J]. 中国现代中药,2024,26(1):152-158.
LAO Y Z, XU L C, ZHAO A Y, et al. Quality consistency

- evaluation of Shuanghuanglian oral liquid [J]. *Mod Chin Med*, 2024, 26(1): 152-158.
- [15] 代良萍, 孙晨, 谢晓芳, 等. 益母草及益母草注射液总碱的提取及其对凝血系统的影响[J]. *中华中医药学刊*, 2017, 35(9): 2372-2375.
DAI L P, SUN C, XIE X F, et al. Preparation of total alkaloids extracted from *Leonurus sibiricus* L (Yimucao) and Yimucao injection and effects on blood coagulation system [J]. *Chin Arch Tradit Chin Med*, 2017, 35(9): 2372-2375.
- [16] 熊佳伟, 马睿琦, 于华鹏, 等. 益母草碱在炎症相关性疾病中作用的研究进展[J]. *复旦学报: 医学版*, 2024, 51(4): 614-619.
XIONG J W, MA R Q, YU H P, et al. Research progress on the role of leonurine in inflammation-related diseases [J]. *J Fudan Univ Med Sci*, 2024, 51(4): 614-619.
- [17] 张欣, 高增平. 阿魏酸的研究进展[J]. *中国现代中药*, 2020, 22(1): 138-147.
ZHANG X, GAO Z P. Research progress in ferulic acid [J]. *Mod Chin Med*, 2020, 22(1): 138-147.
- [18] TANG X, LIU J, DONG W, et al. The cardioprotective effects of citric acid and L-malic acid on myocardial ischemia/reperfusion injury [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2013, 2013: 820695.
- [19] 王欢, 徐小敏. 某医院妇产科中成药应用情况与用药规范管理干预成效探讨[J]. *中医药管理杂志*, 2022, 30(20): 143-145.
WANG H, XU X M. Discussion on the application of Chinese patent medicines in obstetrics and gynecology of a hospital and the intervention effect of standardized medication management [J]. *Adm Tradit Chin Med*, 2022, 30(20): 143-145.
- [20] 李雪红, 王承. 基于管理视角的中成药应用与质量控制[J]. *中医药管理杂志*, 2024, 32(22): 85-87.
LI X H, WANG C. Study on the application and quality control of traditional Chinese patent medicines in neurosurgery from a management perspective [J]. *Adm Tradit Chin Med*, 2024, 32(22): 85-87.

[责任编辑 吕冬梅]