

本文引用: 陈壁娜, 黄益穗, 骆月姬. 基于 HPLC-QAMS 法多成分含量测定结合化学计量学评价半夏天麻丸质量的研究[J]. 湖南中医药大学学报, 2023, 43(5): 869-876.

基于 HPLC-QAMS 法多成分含量测定结合化学计量学 评价半夏天麻丸质量的研究

陈壁娜, 黄益穗*, 骆月姬

广州中医药大学第一附属医院药学部, 广东 广州 510405

[摘要] **目的** 建立多指标结合化学计量学综合分析半夏天麻丸成分质量及关键指标的方法, 为其质量评价提供科学依据。**方法** 采用高效液相色谱一测多评 (high performance liquid chromatography-quantitative analysis of multi-components by single-marker, HPLC-QAMS) 法建立 12 批半夏天麻丸 11 种成分含量测定方法, 运用 SPSS 26.0 和 SIMCA 14.0 软件对以上指标进行聚类分析 (clustering analysis, CA)、主成分分析 (principal component analysis, PCA) 及偏最小二乘-判别分析 (partial least squares-discriminant analysis, PLS-DA), 通过对 12 批产品的分析, 综合评价半夏天麻丸质量及标志性成分。**结果** 建立的 11 种成分含量测定方法稳定性较好。CA 分析可将 12 批样品聚为三大类, 2 个主成分可代表 11 种成分 92.142% 的信息量, 可用 2 个主成分对半夏天麻丸进行综合评价。根据 PLS-DA 结果分析, 造成其质量差异的指标为橙皮苷、天麻素、柚皮芸香苷、毛蕊异黄酮葡萄糖苷和巴利森苷, 可能是影响半夏天麻丸产品质量的差异性标志物。**结论** 本实验首次建立了半夏天麻丸多指标成分质控方法, 该方法易操作, 重复性与稳定性良好; 化学计量学手段也为半夏天麻丸质量控制研究提供了参考依据。

[关键词] 半夏天麻丸; 多指标成分; 高效液相色谱一测多评法; 相对校正因子; 化学计量学; 综合质量评价

[中图分类号] R284 **[文献标志码]** A **[文章编号]** doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2023.05.016

Quality evaluation of Banxia Tianma Pill by multi-component content determination using HPLC-QAMS and chemometrics

CHEN Bi'na, HUANG Yisui*, LUO Yueji

Department of Pharmacy, The First Hospital of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou,
Guangdong 510405, China

[Abstract] **Objective** To establish a method for the quality and key indexes of Banxia Tianma Pill (BXTMP) by multi-index combined with chemometrics to provide a scientific basis for its quality evaluation. **Methods** High performance liquid chromatography-quantitative analysis of multi-components by single-marker (HPLC-QAMS) was used to establish a method for the determination of 11 components content in 12 batches of BXTMP. The quality and iconic components of 12 batches of BXTMP were determined and analyzed by SPSS 26.0 and SIMCA 14.1 software for clustering analysis (CA), principal component analysis (PCA), and partial least squares-discriminant analysis (PLS-DA). **Results** The determination methods of 11 components were stable. The results showed that the 12-batch samples were classified into three categories by CA, two principal components could account for 92.142% of the information content of 11 components, and two principal components could be used for the comprehensive evaluation of BXTMP. According to PLS-DA, the quality differences were caused by hesperidin, gastrodin, naringin, mullein isoflavone glucoside and

[收稿日期] 2022-10-25

[基金项目] 广州中医药大学第一附属医院创新强院工程项目。

[第一作者] 陈壁娜, 女, 主管中药师, 研究方向: 药物质量控制。

[通信作者] * 黄益穗, 女, 主管药师, E-mail: 307489794@qq.com。

parishin. These components may be the differential markers affecting the quality of BXTMP. **Conclusion** The quality control method of multi-index components of BXTMP was established for the first time. The method is easy to operate, with good repeatability and stability. Chemometrics also provides a reference for the quality control of BXTMP.

[**Keywords**] Banxia Tianma Pill; multi-index component; high performance liquid chromatography-quantitative analysis of multi-components by single-marker; relative correlation factor; chemometrics; comprehensive quality evaluation

半夏天麻丸收载于《中华人民共和国药典(2020 版)》一部^[1],由黄芪、天麻、陈皮、法半夏、人参、黄柏等 12 味药材配方,能健脾祛湿、化痰息风,主要用于眩晕、头痛、如蒙如裹、胸脘满闷的脾虚湿盛、痰浊内阻。现代研究表明,半夏天麻丸可使缺血性脑血管病患者体内前列环素 I₂ 水平显著升高,同时降低血栓素 A₂ 水平,使脑血流灌注指标平均通过时间显著缩短,显著升高脑血容量、脑血流量^[2]。目前,关于半夏天麻丸已有临床应用^[2]、工艺处方^[3]研究,未检索到与该制剂检验分析相关的文献,现行标准^[1]中仅对陈皮成分橙皮苷进行了定量控制。近年来,高效液相色谱一测多评(high performance liquid chromatography-quantitative analysis of multi-components by single-marker, HPLC-QAMS)法^[4-5]和化学计量学^[5-7]的多指标评价^[8]模式越来越多地应用于中药复方制剂质控研究中。本实验选取半夏天麻丸君药天麻所含主要成分天麻素、巴利森苷 E、巴利森苷 B、巴利森苷 C 和巴利森苷,臣药黄芪所含黄酮类成分毛蕊异黄酮葡萄糖苷、芒柄花素和 7,2'-二羟基-3',4'-二甲氧基异黄烷,臣药陈皮所含主要成分柚皮芸香苷、橙皮苷和川陈皮素为指标性成分,同时以制剂中含量适中,色谱峰出峰时间居中,质量稳定的天麻素作为内参物,采用 HPLC-QAMS 法对以上 11 种成分含量同时进行测定,并与外标法(external standard method, ESM)结果进行比较,同时通过化学计量学[聚类分析(clustering analysis, CA)、主成分分析(principal component analysis, PCA)及偏最小二乘-判别分析(partial least squares-discriminant analysis, PLS-DA)]等方法探究多指标成分含量数据间潜在的内在的关系,找出影响质量差异的主要针对性成分,旨在为半夏天麻丸整体质量控制提供依据。

1 材料

1.1 试药

对照品毛蕊异黄酮葡萄糖苷、天麻素、橙皮苷和川陈皮素(中国食品药品检定研究院,批号:111920-

201907、110807-202010、110721-202019、112055-202102,含量均高于 95.3%);7,2'-二羟基-3',4'-二甲氧基异黄烷(上海源叶生物科技有限公司,批号:Y31D10H107318,含量 98.0%);芒柄花素、巴利森苷 E、巴利森苷 B、巴利森苷 C、巴利森苷和柚皮芸香苷(成都普瑞法科技开发有限公司,批号:PRF8032146、PRF9010943、PRF9061142、PRF9061143、PRF9061141、PRF9062802,含量均高于 97.1%);半夏天麻丸(太极集团四川绵阳制药有限公司,规格:每 100 丸重 6 g,批号:2002001、2002002、2005003、2007004、2007005、2102001、2103002、2105003、2110008、2111009、2201001、2201002,编号依次为 S1~S12);甲酸、乙腈为色谱纯,其他试剂为分析纯。

1.2 仪器

UltiMate 3000 型高效液相色谱仪(美国戴安公司);Waters e2695 型高效液相色谱仪(美国 Waters 公司);液相色谱柱:Hedera ODS-2 柱(江苏汉邦科技有限公司)、Thermo BDS C₁₈ 柱(美国赛默飞世尔公司)和 Durashell C₁₈ 柱(艾杰尔科技有限公司);XSE205DU 型电子分析天平[梅特勒托利多科技(中国)有限公司]。

2 方法与结果

2.1 混合对照品溶液的制备

精密称取毛蕊异黄酮葡萄糖苷、芒柄花素、7,2'-二羟基-3',4'-二甲氧基异黄烷、天麻素、巴利森苷 E、巴利森苷 B、巴利森苷 C、巴利森苷、柚皮芸香苷、橙皮苷、川陈皮素对照品适量,用 60% 甲醇制成各成分质量浓度分别为 0.236、0.410、0.128、0.472、0.506、0.152、0.374、0.960、4.872、9.890、1.192 mg·mL⁻¹ 的混合母液。再将此母液用 60% 甲醇稀释 20 倍得混合对照品溶液。

2.2 供试品溶液的制备

精密称定半夏天麻丸细粉约 1.0 g,置具塞锥形瓶中,精密加 60% 甲醇 25 mL,称重,加热回流 1 h,常温放至室温,60% 甲醇补重,摇匀过滤,即得。取按其处方工艺制备的缺黄芪、缺天麻和缺陈皮的阴性

供试品各适量,按“2.1”项方法制得供试品溶液。

2.3 色谱条件及专属性试验

色谱柱为 Heder ODS-2,柱温 30 ℃,流速 1.0 mL·min⁻¹;波长切换:254 nm(0~22 min 检测毛蕊异黄酮葡萄糖苷、芒柄花素和 7,2'-二羟基-3',4'-二甲氧基异黄酮)^[9-12]、220 nm(22~44 min 检测天麻素、巴利森苷 E、巴利森苷 B、巴利森苷 C 和巴利森苷)^[13-17]和 283 nm(44~75 min 检测柚皮芸香苷、橙皮苷和川陈皮素)^[18-21];0.1%甲酸-乙腈(B)梯度洗脱(0~10 min,13.0% B;10~19 min,13.0%→17.0% B;19~44 min,17.0%→26.0% B;44~63 min,26.0%→62.0% B;63~75 min,62.0%→13.0% B),进样量为 10 μL。理论板数按各成分色谱峰计,均高于 4500。在上述色谱条件下进样混合对照品溶液及供试品溶液,记录色谱图(图 1)。图谱显示半夏天麻丸供试品溶液中 11 种成分与相邻色谱峰分离良好(分离度均≥1.5);阴性无干扰。

2.4 多指标成分测定

2.4.1 标准曲线方程的绘制 精密吸取“2.1”项混合母液 0.1、0.2、0.5、1.0、2.0、5.0 mL,分别用 60%甲醇稀释至 20 mL,得序号为 1~6 的混合对照品溶液,按“2.3”项色谱条件分别进样检测,以上述 11 个对照品质量浓度为横轴,峰面积为纵轴建立标准曲线。详见表 1。

2.4.2 精密度、重复性与稳定性考察 取同一份半夏天麻丸(编号:S1)供试品溶液,在“2.3”项色谱条件下,不间断进样 6 次,记录色谱峰峰面积,计算得出各成分峰面积的 RSD 值为 0.56%~1.32%(n=6),表明精密度良好。取半夏天麻丸(编号:S1),按“2.2”项方法制备 6 份供试品溶液,在“2.3”项色谱条件下检测,用外标法计算 11 种成分的含量,得出含量的 RSD 值为 0.96%~1.89%(n=6),表明方法的重复性良好。取一份半夏天麻丸(编号:S1)供试品溶液,于 0、2、5、9、16、24、36 h 在“2.3”项色谱条件下进样检测,记录色谱峰峰面积,得出 11 种成分峰面积的 RSD 值为 0.52%~1.38%(n=7),表明配制的半夏天麻丸供试品溶液 36 h 内稳定。

2.4.3 准确度考察 精密称取半夏天麻丸(编号:S1)细粉 0.5 g,分别按相当于各成分含量 80%、100%、120% 的 3 个水平加入混合对照品溶液(11 种对照品质量浓度分别为 0.137、0.206、0.065、0.241、0.269、0.084、0.191、0.572、3.612、8.095、0.796 mg·mL⁻¹),再

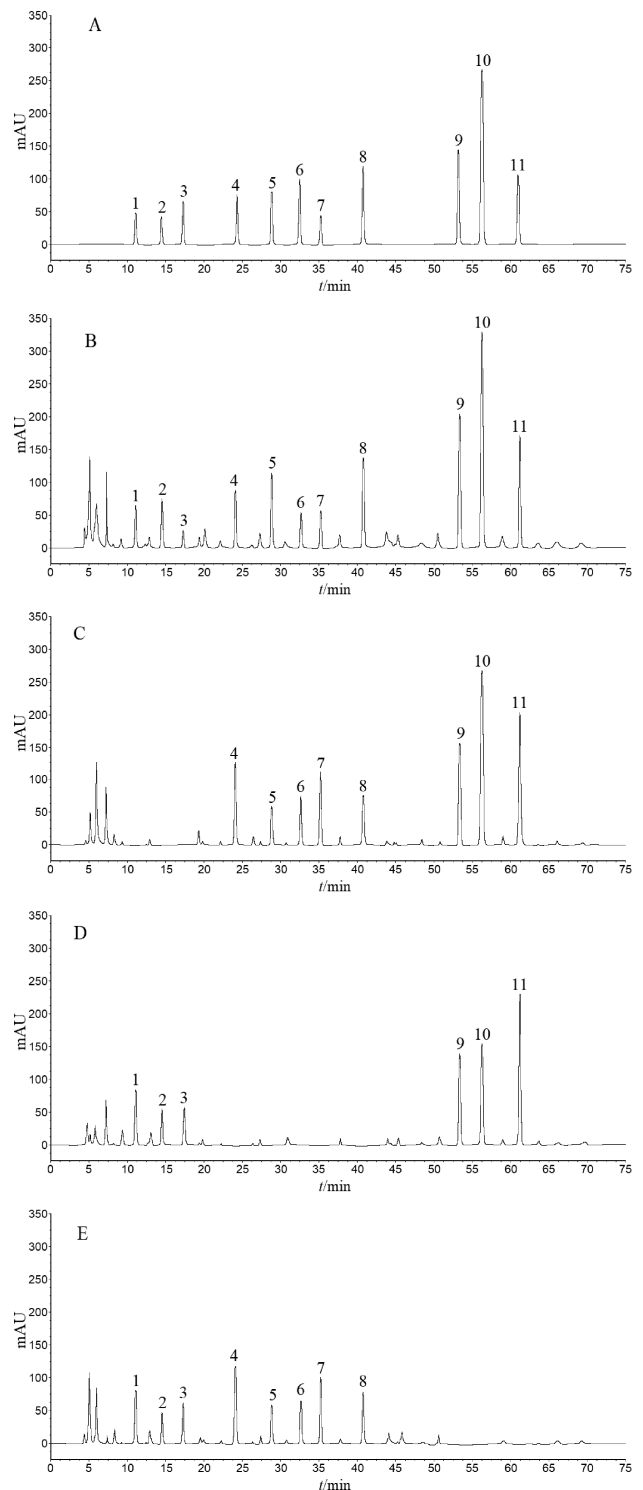


图 1 HPLC 色谱图

注:A.混合对照品;B.半夏天麻丸;C.黄芪阴性样品;D.天麻阴性样品;E.陈皮阴性样品。1.毛蕊异黄酮葡萄糖苷;2.芒柄花素;3. 7,2'-二羟基-3',4'-二甲氧基异黄酮;4.天麻素;5.巴利森苷 E;6.巴利森苷 B;7.巴利森苷 C;8.巴利森苷;9.柚皮芸香苷;10.橙皮苷;11.川陈皮素。

按“2.2”项制法配制供试品溶液,每个水平 3 份,在“2.3”项色谱条件下检测,结果各成分的平均加样回收率(n=9)及 RSD 分别为 97.98%(1.37%)、98.59%(1.42%)、96.90%(1.47%)、100.03%(0.71%)、99.42%

表 1 半夏天麻丸中 11 种成分的线性关系

成分	回归方程	<i>r</i>	线性范围/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)
毛蕊异黄酮葡萄糖苷	$Y=1.688\ 3\times 10^6X+653.8$	0.999 6	1.18~59.00
芒柄花素	$Y=1.868\ 9\times 10^6X-1\ 133.9$	0.999 7	2.05~102.50
7,2'-二羟基-3',4'-二甲氧基异黄酮	$Y=1.245\ 3\times 10^6X+805.2$	0.999 5	0.64~32.00
天麻素	$Y=2.508\ 3\times 10^6X-487.4$	0.999 4	2.36~118.00
巴利森苷 E	$Y=2.856\ 8\times 10^6X+1\ 393.3$	0.999 6	2.53~126.50
巴利森苷 B	$Y=1.520\ 4\times 10^6X-219.7$	0.999 2	0.76~38.00
巴利森苷 C	$Y=1.622\ 6\times 10^6X-1\ 552.3$	0.999 1	1.87~93.50
巴利森苷	$Y=2.250\ 8\times 10^6X+1\ 184.6$	0.999 6	4.80~240.00
柚皮芸香苷	$Y=1.263\ 5\times 10^6X+914.5$	0.999 5	24.36~1 218.00
橙皮苷	$Y=1.391\ 7\times 10^6X+1\ 404.4$	0.999 7	49.45~2 472.50
川陈皮素	$Y=2.636\ 2\times 10^6X+911.5$	0.999 3	5.96~298.00

(1.11%)、96.87% (1.57%)、98.79% (0.99%)、99.66% (1.17%)、100.11% (0.69%)、99.65% (1.26%) 和 98.98% (0.84%)。

2.5 HPLC-QAMS 法建立

2.5.1 相对校正因子(*f*)的计算 分别精密吸取“2.4.1”项 6 个混合对照品溶液,在“2.3”项色谱条件下检测,以天麻素为内参物,按照公式 $f_{k/s}=f_k/f_s=(W_k/A_k)/(W_s/A_s)=(W_k\times A_s)/(W_s\times A_k)$ (其中 *f*、*W*、*A*、*k* 和 *s* 依次代表相对校正因子、质量浓度、峰面积、其他待测成分和内参物)分别计算其他 10 种成分的 *f*。详见表 2。

2.5.2 耐用性考察 本试验考察了液相色谱仪和色谱柱的变化、柱温的变化、流速的变化对各待测成分 *f* 的影响。结果提示,不同色谱仪(UltiMate 3000 型和 e2695 型)和不同色谱柱(Hedera ODS-2 柱、Thermo BDS C₁₈ 柱和 Durashell C₁₈ 柱)时,*f* 的耐用性良好(表 3);柱温为 25、30、35 °C 时,*f* 的耐用性良好(表 4);流速为 0.8、1.0、1.2 mL·min⁻¹ 时,*f* 的耐用性良好(表 5)。

2.5.3 色谱峰定位 本试验以天麻素为内参物,考

察其他待测成分在不同品牌 HPLC 仪和不同品牌色谱柱上相对保留时间的 *RSD* 波动。结果提示,在相同的色谱条件下,不同品牌 HPLC 仪(UltiMate 3000 型和 e2695 型)和不同色谱柱(Hedera ODS-2 柱、Thermo BDS C₁₈ 柱和 Durashell C₁₈ 柱),各待测成分的相对保留时间的 *RSD* 均小于 2.0%。详见表 6。

2.6 HPLC-QAMS 与 ESM 结果比较

取 12 批半夏天麻丸(S1~S12),依法制备供试品溶液,在“2.3”项色谱条件下进样,首先运用 ESM 法计算半夏天麻丸中 11 种成分的含量,再采用 HPLC-QAMS 法,运用表 2 中的 *f* 值计算各组分含量(表 7)。采用 SPSS 26.0 软件对每个成分的 2 种方法所得数据进行 *t* 检验,结果 *P*>0.05,表明两种方法无显著性差异,HPLC-QAMS 法可用于半夏天麻丸中 11 种成分的含量测定。

2.7 CA

采用 SPSS 26.0 统计软件对表 7 中 HPLC-QAMS 法测定结果进行 CA,得聚类树状图(图 2)。结果表明,当间距为 10 时,12 批半夏天麻丸样品聚

表 2 半夏天麻丸中各成分的相对校正因子

混合对照 品溶液	相对校正因子									
	毛蕊异黄酮 葡萄糖苷	芒柄花素	7,2'-二羟基-3',4'- 二甲氧基异黄酮	巴利森 苷 E	巴利森 苷 B	巴利森 苷 C	巴利 森苷	柚皮芸 香苷	橙皮苷	川陈 皮素
1	1.510 0	1.384 2	2.016 0	0.887 1	1.629 4	1.541 0	1.146 5	2.065 4	1.825 7	0.974 5
2	1.506 4	1.352 9	2.016 8	0.887 4	1.630 0	1.519 1	1.113 9	2.008 2	1.819 3	0.925 6
3	1.472 0	1.361 9	1.991 1	0.883 6	1.636 2	1.511 8	1.118 2	1.969 7	1.844 6	0.942 9
4	1.513 0	1.371 5	2.026 1	0.890 2	1.646 1	1.535 7	1.124 9	1.987 2	1.827 6	0.952 5
5	1.462 3	1.308 2	2.005 3	0.863 5	1.664 5	1.575 0	1.100 7	1.975 5	1.762 4	0.955 3
6	1.488 0	1.346 0	2.014 5	0.879 6	1.648 0	1.542 6	1.115 9	1.986 6	1.806 9	0.950 9
平均值	1.491 9	1.354 1	2.011 6	0.881 9	1.642 4	1.537 5	1.120 0	1.998 8	1.814 4	0.950 3
<i>RSD</i> /%	1.43	1.94	0.60	1.10	0.82	1.44	1.36	1.76	1.56	1.68

表3 仪器及色谱柱对相对校正因子的影响

仪器	色谱柱	相对校正因子									
		毛蕊异黄酮 葡萄糖苷	芒柄 花素	7,2'-二羟基-3',4'- 二甲氧基异黄酮	巴利森 苷 E	巴利森 苷 B	巴利森 苷 C	巴利 森苷	柚皮芸 香苷	橙皮 苷	川陈 皮素
UltiMate 3000	Hedera ODS-2	1.493 6	1.356 2	2.012 9	0.883 1	1.644 7	1.539 0	1.122 2	1.999 8	1.816 3	0.951 6
	Thermo BDS C ₁₈	1.528 9	1.391 5	2.043 6	0.899 4	1.666 0	1.566 8	1.154 0	2.051 6	1.856 8	0.979 2
	Durashell C ₁₈	1.461 4	1.310 9	1.995 1	0.870 8	1.621 9	1.495 3	1.103 9	1.950 2	1.774 1	0.931 5
e2695	Hedera ODS-2	1.482 0	1.347 1	2.000 8	0.878 5	1.635 8	1.527 5	1.111 4	1.976 4	1.805 2	0.942 1
	Thermo BDS C ₁₈	1.506 7	1.362 2	2.024 4	0.891 3	1.652 5	1.545 9	1.137 6	2.020 1	1.837 5	0.960 8
	Durashell C ₁₈	1.479 5	1.344 6	2.006 5	0.876 0	1.633 2	1.528 7	1.118 3	1.974 5	1.793 9	0.946 0
	平均值	1.492 0	1.352 1	2.013 9	0.883 2	1.642 4	1.533 9	1.124 6	1.995 4	1.814 0	0.951 9
	RSD/%	1.58	1.94	0.88	1.19	0.94	1.55	1.63	1.82	1.65	1.74

表4 流速对相对校正因子的影响

流速/ (mL·min ⁻¹)	相对校正因子										
	毛蕊异黄酮 葡萄糖苷	芒柄花素	7,2'-二羟基-3',4'- 二甲氧基异黄酮	巴利森 苷 E	巴利森 苷 B	巴利森 苷 C	巴利 森苷	柚皮芸 香苷	橙皮 苷	川陈 皮素	
0.8	1.470 4	1.323 8	2.000 7	0.871 2	1.633 5	1.511 5	1.104 8	1.956 0	1.783 7	0.930 1	
1.0	1.493 0	1.356 5	2.014 2	0.883 7	1.644 8	1.539 2	1.121 5	1.999 7	1.816 1	0.952 8	
1.2	1.519 8	1.374 4	2.030 5	0.893 9	1.662 1	1.562 3	1.136 9	2.027 4	1.842 8	0.966 5	
	平均值	1.494 4	1.351 6	2.015 1	0.882 9	1.646 8	1.537 7	1.121 1	1.994 4	1.814 2	0.949 8
	RSD/%	1.65	1.90	0.74	1.29	0.87	1.65	1.43	1.80	1.63	1.94

表5 柱温对相对校正因子的影响

流速/ (mL·min ⁻¹)	相对校正因子										
	毛蕊异黄酮 葡萄糖苷	芒柄花素	7,2'-二羟基-3',4'- 二甲氧基异黄酮	巴利森 苷 E	巴利森 苷 B	巴利森 苷 C	巴利 森苷	柚皮芸 香苷	橙皮 苷	川陈 皮素	
25	1.520 8	1.378 1	2.032 5	0.896 1	1.662 0	1.560 5	1.136 1	2.035 5	1.847 0	0.965 1	
30	1.490 3	1.351 6	2.010 2	0.880 4	1.641 1	1.534 9	1.118 5	1.996 3	1.812 9	0.948 4	
35	1.469 6	1.327 9	1.991 4	0.872 7	1.629 7	1.513 2	1.099 7	1.962 2	1.787 2	0.932 8	
	平均值	1.493 6	1.352 5	2.011 4	0.883 1	1.644 3	1.536 2	1.118 1	1.998 0	1.815 7	0.948 8
	RSD/%	1.72	1.86	1.02	1.35	0.99	1.54	1.63	1.84	1.65	1.70

表6 仪器及色谱柱对相对保留时间的影响

仪器	色谱柱	相对保留时间									
		毛蕊异黄酮 葡萄糖苷	芒柄 花素	7,2'-二羟基-3',4'- 二甲氧基异黄酮	巴利森 苷 E	巴利森 苷 B	巴利森 苷 C	巴利 森苷	柚皮芸 香苷	橙皮 苷	川陈 皮素
UltiMate 3000	Hedera ODS-2	0.457 1	0.594 3	0.711 4	1.185 7	1.337 1	1.448 6	1.677 1	2.188 6	2.314 3	2.508 6
	Thermo BDS C ₁₈	0.462 9	0.583 6	0.702 1	1.161 4	1.319 5	1.437 0	1.654 6	2.160 1	2.282 7	2.461 5
	Durashell C ₁₈	0.464 0	0.599 2	0.720 9	1.205 9	1.352 3	1.459 1	1.697 3	2.217 8	2.350 0	2.536 2
e2695	Hedera ODS-2	0.454 2	0.587 1	0.707 5	1.173 6	1.324 4	1.442 5	1.660 8	2.173 4	2.301 9	2.495 0
	Thermo BDS C ₁₈	0.458 3	0.586 8	0.706 8	1.172 8	1.326 7	1.440 8	1.663 7	2.172 5	2.300 7	2.487 4
	Durashell C ₁₈	0.456 5	0.591 4	0.719 3	1.193 0	1.360 2	1.453 3	1.685 5	2.190 8	2.333 4	2.519 1
	平均值	0.458 8	0.590 4	0.711 3	1.182 1	1.336 7	1.446 9	1.673 2	2.183 9	2.313 8	2.504 6
	RSD/%	0.83	0.97	1.04	1.36	1.23	0.58	0.98	0.92	1.05	1.28

表 7 半夏天麻丸中 11 种成分含量测定结果($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$, $n=3$)

成分	方法	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	P 值
天麻素	ESM	0.474	0.546	0.539	0.583	0.429	0.339	0.366	0.279	0.399	0.555	0.459	0.304	—
毛蕊异黄酮葡萄糖苷	ESM	0.278	0.371	0.322	0.340	0.301	0.232	0.179	0.165	0.322	0.224	0.278	0.209	0.964
	QAMS	0.283	0.363	0.326	0.349	0.293	0.230	0.177	0.162	0.316	0.221	0.273	0.213	
芒柄花素	ESM	0.426	0.533	0.480	0.506	0.384	0.557	0.374	0.369	0.327	0.303	0.285	0.272	0.930
	QAMS	0.415	0.522	0.474	0.494	0.395	0.551	0.379	0.364	0.325	0.306	0.282	0.267	
7,2'-二羟基-3',4'-二甲	ESM	0.127	0.141	0.123	0.130	0.133	0.108	0.103	0.105	0.173	0.155	0.170	0.166	0.885
氧基异黄酮	QAMS	0.126	0.139	0.122	0.129	0.132	0.107	0.100	0.104	0.171	0.154	0.168	0.164	
巴利森苷 E	ESM	0.529	0.534	0.698	0.605	0.495	0.411	0.333	0.371	0.908	0.844	0.987	0.816	0.980
	QAMS	0.516	0.548	0.684	0.613	0.482	0.400	0.328	0.363	0.925	0.858	0.961	0.825	
巴利森苷 B	ESM	0.174	0.160	0.173	0.176	0.162	0.149	0.147	0.143	0.239	0.222	0.243	0.224	0.978
	QAMS	0.178	0.162	0.170	0.174	0.160	0.151	0.146	0.140	0.235	0.220	0.241	0.230	
巴利森苷 C	ESM	0.376	0.401	0.464	0.434	0.316	0.355	0.361	0.339	0.614	0.519	0.571	0.538	0.968
	QAMS	0.380	0.412	0.453	0.422	0.315	0.346	0.357	0.331	0.606	0.514	0.587	0.545	
巴利森苷	ESM	1.152	1.360	1.153	1.258	1.109	1.180	1.113	1.085	1.043	1.006	0.963	0.929	0.851
	QAMS	1.130	1.355	1.124	1.243	1.136	1.184	1.101	1.076	1.026	0.990	0.954	0.918	
柚皮芸香苷	ESM	7.195	7.691	8.244	8.170	7.385	6.691	6.441	6.292	9.685	10.376	10.222	9.289	0.971
	QAMS	7.147	7.713	8.209	7.956	7.364	6.664	6.424	6.177	9.702	10.600	10.261	9.202	
橙皮苷	ESM	16.271	15.447	16.609	16.315	15.308	13.672	13.379	12.702	20.611	21.074	21.328	20.153	0.950
	QAMS	16.506	15.194	16.863	16.287	15.631	13.564	13.140	12.868	20.754	21.159	21.576	20.309	
川陈皮素	ESM	1.586	1.563	1.281	1.449	1.306	0.947	0.833	0.990	1.925	2.047	2.203	2.034	0.996
	QAMS	1.612	1.521	1.257	1.434	1.343	0.921	0.845	0.966	1.908	1.994	2.266	2.086	

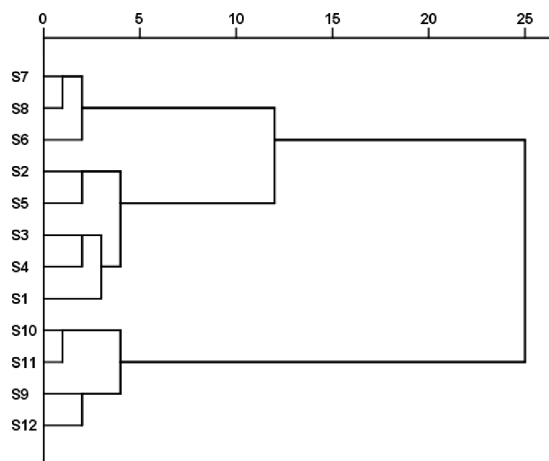


图 2 12 批样品聚类树状图

为三大类, S7、S8 和 S6 为一类, S2、S5、S3、S4 和 S1 为一类, S10、S11、S9 和 S12 为一类。

2.8 PCA

采用 SPSS 26.0 统计软件对表 7 中 HPLC-QAMS 法含量数据进行 PCA(表 8—9)。由 PCA 结果可知, 前 2 个主成分的累积贡献率为 92.142%, 其中主成分 1 占 68.984%, 主成分 2 占 23.159%; 由特征向量可知, 第一主成分综合了芒柄花素、7,2'-二羟基-3',4'-二甲氧基异黄酮、巴利森苷 E、巴利森苷 B、巴利森苷 C、柚皮芸香苷、橙皮苷和川陈皮素的信息,

表 8 半夏天麻丸中主成分方差分析

主成分	初始特征值		
	特征值	方差贡献率/%	累积方差贡献率/%
1	7.588	68.984	68.984
2	2.547	23.159	92.142
3	0.391	3.557	95.700
4	0.222	2.014	97.714
5	0.111	1.008	98.722
6	0.077	0.696	99.418
7	0.047	0.430	99.848
8	0.014	0.123	99.971
9	0.002	0.017	99.988
10	0.001	0.011	99.999
11	0.000	0.001	100.000

息, 第二主成分综合了毛蕊异黄酮葡萄糖苷、天麻素和巴利森苷的信息。同时应用统计软件 SIMCA 14.1 建立 PCA 模型(图 3), 共提取出 2 个主成分 $R^2X=0.921$, $Q^2=0.809$, 均大于 0.5, 说明所建立的模型稳定性较高。从图 3 可以看出, S1~S5、S6~S8 以及 S9~S12 分别呈现一定的关联性。

2.9 PLS-DA

为进一步比较 12 批半夏天麻丸, 寻找类间差异性指标, 将表 7 中 HPLC-QAMS 法含量数据导入

表9 半夏天麻丸中11种成分的成分矩阵表

成分	主成分	
	1	2
毛蕊异黄酮葡萄糖苷	0.152	0.935
芒柄花素	-0.718	0.607
7,2'-二羟基-3',4'-二甲氧基异黄酮	0.952	0.141
天麻素	0.183	0.865
巴利森苷 E	0.977	0.149
巴利森苷 B	0.990	-0.032
巴利森苷 C	0.945	0.050
巴利森苷	-0.681	0.689
柚皮芸香苷	0.962	0.144
橙皮苷	0.992	0.064
川陈皮素	0.954	0.112

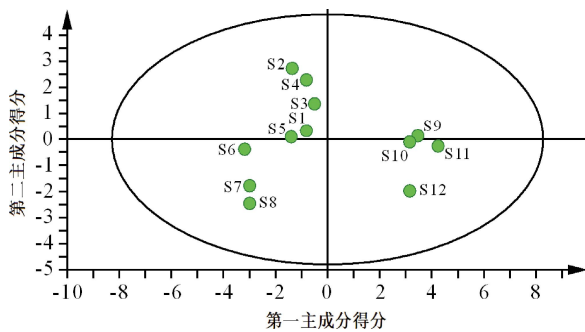


图3 PCA得分图

SIMCA 14.1 统计软件,运行 PLS-DA 程序,得图 4。结果累积解释能力参数 $R^2X=0.971$ 、 $R^2Y=0.823$, 预测能力参数 Q^2 为 0.743,理论上 R^2Y 、 Q^2 数值越接近 1,代表模型越好,通常两者高于 0.5 时提示所建立的模型稳定可靠、预测能力好。根据模型中各变量重要性投影(variable importance in projection, VIP) 预测值来筛选类间差异性指标。一般认为在 95% 的置信区间内 $VIP>1.0$ 的指标在分类中发挥着重要作用,筛选出半夏天麻丸化学成分差异的标志性成分 5 个成分($VIP>1$) (图 5),即成分 10(橙皮苷, $VIP=1.905$)、成分 4(天麻素, $VIP=1.274$)、成分 9(柚皮芸香苷, $VIP=1.270$)、成分 1(毛蕊异黄酮葡萄糖苷, $VIP=1.155$)、成分 8(巴利森苷, $VIP=1.052$)对半夏天麻丸样品质量的影响较大,可能是影响半夏天麻丸产品的主要潜在标志物。

3 讨论

3.1 含量测定指标的选择

半夏天麻丸由黄芪、天麻、陈皮、法半夏、人参、黄柏等 12 味药材配方,其中半夏和天麻均为治风痰

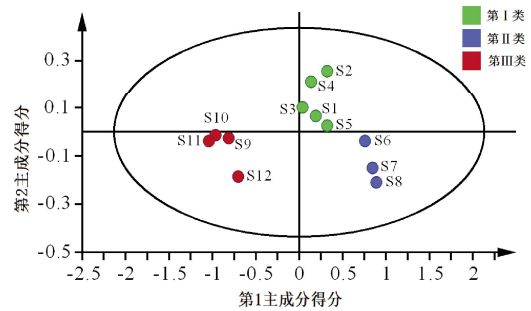


图4 12批半夏天麻丸样品的PLS-DA模型得分图

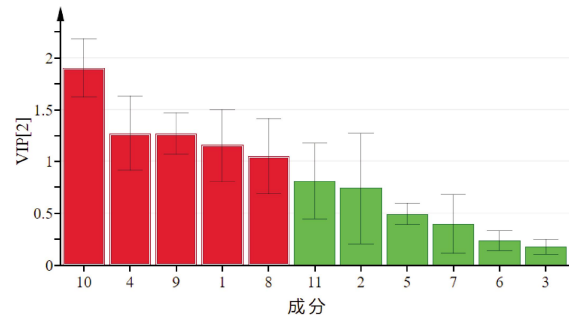


图5 12批半夏天麻丸样品的VIP图

注:1.毛蕊异黄酮葡萄糖苷;2.芒柄花素;3.7,2'-二羟基-3',4'-二甲氧基异黄酮;4.天麻素;5.巴利森苷 E;6.巴利森苷 B;7.巴利森苷 C;8.巴利森苷;9.柚皮芸香苷;10.橙皮苷;11.川陈皮素。

眩晕、痰厥的良药,共为君药;人参、黄芪、白术健脾益气,苍术、陈皮健脾燥湿,茯苓、泽泻健脾渗湿,7味合用,以去痰源,共为臣药,佐以六神曲、麦芽、黄柏。诸药相合共奏健脾祛湿、化痰息风之效。本实验依托中药质量标志物原则,选取君药天麻、臣药黄芪和陈皮为考察对象,对它们所含成分进行分析,确定以天麻所含主要成分天麻素、巴利森苷 E、巴利森苷 B、巴利森苷 C 和巴利森苷,黄芪所含主要有效成分毛蕊异黄酮葡萄糖苷、芒柄花素和 7,2'-二羟基-3',4'-二甲氧基异黄酮,陈皮所含代表性成分柚皮芸香苷、橙皮苷和川陈皮素为指标,采用 HPLC-QAMS 法兼波长切换法对以上 11 种成分进行含量测定。

3.2 供试品溶液处理方法的确定

本试验在制备供试品溶液时,首先考察了提取溶剂:50%甲醇、60%甲醇、甲醇和稀乙醇,结果发现 60%甲醇提取时,所测 11 种成分的提取率相对较高。接着以提取率为指标,对不同提取方式(超声提取 1 h、加热回流提取 1 h)进行考察,结果发现回流提取时,11 种成分的提取率最高,超声提取时,杂质较多,干扰正常检测。进而对提取时间 0.5、1、1.5、2 h 进行考察,发现提取 1 h 时,各成分的提取率最高,杂质最少,随着提取时间的延长,杂质增加,对含量检测造成干扰。综合考虑,最终确定以 60%甲醇回

流提取 1 h 为半夏天麻丸供试品最佳提取方式。

3.3 结果评价

本实验采用两种方法(外标法和一测多评法)测定半夏天麻丸中 11 种成分含量,通过比较,两种方法无显著性差异($P>0.5$)。本文验证了 HPLC-QAMS 法的可行性,也为降低检验成本及制剂检测多指标成分提供了实验基础。化学计量学在对 12 批样本数据进行处理时快速、全面地对样品进行归类,梳理相关性与差异性,利用 CA 和 PCA 互相验证,发现批间关联性和差异性。选取特征值大于 1 的公因子为主成分,结果前 2 个主成分特征值分别为 7.588 和 2.547,累计方差贡献率为 92.142%,12 批半夏天麻丸聚为三大类,第一主成分综合了苜蓿花素、7,2'-二羟基-3',4'-二甲氧基异黄酮、巴利森苷 E、巴利森苷 B、巴利森苷 C、柚皮芸香苷、橙皮苷和川陈皮素的信息,第二主成分综合了毛蕊异黄酮葡萄糖苷、天麻素和巴利森苷的信息。通过数据分析,以 VIP>1.0 为指标找出橙皮苷、天麻素、柚皮芸香苷、毛蕊异黄酮葡萄糖苷和巴利森苷等成分可能是影响半夏天麻丸产品质量的主要潜在标志物,为药企在今后生产该制剂时指明方向。提示生产企业应关注上述成分所对应原药材进厂控制标准、制剂生产过程中各成分转化率等数据的收集,通过不断探索,完善原药材内控标准,优化细化生产过程参数控制,有效地将产品质量控制与临床疗效研究成果相结合,为临床合理用药提供数据支持。

本试验采用 HPLC-QAMS 法建立了半夏天麻丸 11 种指标成分定量质控模式,对市场流通的 12 批不同阶段生产的样品进行检测,又通过化学计量学识别模式对多指标成分含量检测结果进行综合分析,发现影响产品质量差异性的主要物质性成分,以期最大限度地保证半夏天麻丸的质量。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 一部(2020 版)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 853.
- [2] 乔 楚, 杨雪松, 高 旋. 高效液相色谱法测定半夏天麻丸中天麻的含量[J]. 中国药物与临床, 2020, 20(22): 3836-3837.
- [3] 李龙龙, 李 哲, 屈云萍, 等. 基于模糊数学的半夏天麻丸处

- 方评价[J]. 现代中药研究与实践, 2016, 30(5): 36-39.
- [4] 肖 芳, 翟丽杰, 柴 劲. 一测多评法测定复方黄柏液涂剂中 8 种活性成分[J]. 中国药师, 2019, 22(5): 955-959.
- [5] 燕 霞, 朱雪妍, 何颂华, 等. HPLC—一测多评法同时测定壮药罗汉茶中 6 种黄酮类成分及多元统计分析[J]. 中国药房, 2021, 32(20): 2485-2491.
- [6] 蔡蒙杰, 俞明义, 冯婉红, 等. 基于 HPLC 多指标成分定量控制联合化学计量学的维血康糖浆综合质量评价[J]. 中国药师, 2022, 25(3): 525-529.
- [7] 粟 倩, 唐 洁, 张 鹏, 等. 妇科千金胶囊与妇科千金片指纹图谱的建立及其比较分析[J]. 湖南中医药大学学报, 2021, 41(8): 1197-1203.
- [8] 梁诗瑶, 刘倩倩, 黄 胜, 等. 六味地黄丸药渣中 4 种活性成分含量测定及抗氧化活性研究[J]. 湖南中医药大学学报, 2021, 41(5): 707-713.
- [9] 李紫岩, 杨 敏, 王 杰, 等. 以 7 种有效成分为指标评价内蒙古不同产地黄芪药材品质[J]. 中国现代中药, 2020, 22(1): 65-73.
- [10] 黄诗莹, 陈秋谷, 王佛长, 等. 黄芪-丹参煎液 HPLC 指纹图谱及多指标定量测定研究[J]. 中草药, 2019, 50(20): 4950-4956.
- [11] 童 丹, 王 芳. HPLC-UV 法测定黄芪中黄酮类化合物含量[J]. 中国兽医医药杂志, 2022, 41(3): 84-87.
- [12] 郭雅璇, 李蓉蓉, 秦雪梅, 等. 基于多指标含量测定的恒山黄芪特征成分研究[J]. 中国现代中药, 2022, 24(8): 1473-1480.
- [13] 石效荣, 刘义升, 邢树礼, 等. HPLC 法同时测定天麻醒脑胶囊中 9 种成分[J]. 中成药, 2020, 42(1): 33-36.
- [14] 刁飞燕, 李俊婕, 李启艳, 等. 不同产地天麻药材的指纹图谱建立及分析[J]. 中国药师, 2020, 23(10): 1920-1925.
- [15] 储 瑞, 励 娜, 陈一龙, 等. 不同加工方式的渝产天麻指纹图谱及化学成分含量分析[J]. 药物分析杂志, 2021, 41(9): 1621-1633.
- [16] 李俊婕, 刁飞燕, 胡德福, 等. 高效液相色谱法测定天麻中 7 种成分含量[J]. 药学研究, 2019, 38(4): 205-208.
- [17] 林 昕, 王 丽, 邵金良, 等. 不同产区天麻 HPLC 指纹图谱研究[J]. 中国现代应用药学, 2020, 37(13): 1543-1549.
- [18] 田 芳, 何小芳, 谭梓君, 等. 枳壳 HPLC 特征图谱及 6 个黄酮苷类成分含量测定[J]. 药物分析杂志, 2020, 40(6): 1090-1096.
- [19] 李 灿, 曾 娟, 龙雨青, 等. HPLC 指纹图谱结合多模式化学计量学方法评价枳壳药材质量[J]. 天然产物研究与开发, 2022, 34(4): 665-676.
- [20] 田 芳, 谭梓君, 何小芳, 等. 枳壳饮片标准汤剂质量评价研究[J]. 中国现代应用药学, 2021, 38(1): 42-48.
- [21] 张婷婷, 梁 燕, 彭 灿. 不同方法提取陈皮中黄酮类有效成分含量比较[J]. 中国药业, 2021, 30(13): 40-43.

(本文编辑 周 旦)