

本文引用: 华 阳, 谢 飞, 周 虹, 李志明. 基于 HPLC-QAMS 多指标成分定量与化学计量学的延丹胶囊质量评价研究[J]. 湖南中医药大学学报, 2023, 43(5): 857-863.

基于 HPLC-QAMS 多指标成分定量与化学计量学的 延丹胶囊质量评价研究

华 阳¹, 谢 飞¹, 周 虹¹, 李志明²

1.海安市人民医院药剂科,江苏 海安 226600;2.南京中医药大学药学院,江苏 南京 210023

〔摘要〕 **目的** 采用高效液相色谱—测多评(high performance liquid chromatography-quantitative analysis of multi-components by single marker, HPLC-QAMS)法同时检测延丹胶囊中 10 种主要成分含量,建立延丹胶囊多组分定量与化学计量学的综合分析方法,构建延丹胶囊质量评控体系。**方法** 采用Hedera ODS-2(C₁₈)色谱柱,乙腈-0.1%冰醋酸为流动相,梯度洗脱,检测波长 230 nm(检测 3,29-二苯甲酰基栝楼仁二醇和3,29-二苯甲酰基栝楼仁三醇)和 280 nm(检测二氢丹参酮 I、隐丹参酮、丹参酮 I、丹参酮 II A、原阿片碱、延胡索乙素、紫堇碱和四氢小檗碱);选取丹参酮 II A 为内参比物质,建立其与其他 9 种成分的相对校正因子,计算各成分含量,同时运用外标法验证所建立 HPLC-QAMS 法的重复性、合理性和可行性;运用化学计量学方法对 10 批样品的 10 种成分含量数据进行分析,挖掘对其质量控制具有显著贡献的主要成分。**结果** 定量分析的 10 种成分线性关系良好($r>0.999$);平均加样回收率 96.93%~100.14%(RSD<2.0%);HPLC-QAMS 法所测结果与外标法无显著性差异;偏最小二乘-判别分析结果显示丹参酮 II A、3,29-二苯甲酰基栝楼仁三醇、丹参酮 I 和延胡索乙素是影响延丹胶囊产品质量的差异性标志物(VIP 值>1)。**结论** 所建立的 HPLC-QAMS 多指标成分定量控制方法操作便捷,重复性与稳定性良好,结果准确可靠,结合化学计量学分析,可用于延丹胶囊的整体质量控制和综合评价。

〔关键词〕 延丹胶囊;多指标成分;高效液相色谱—测多评法;相对校正因子;化学计量学;质量评价

〔中图分类号〕R284.1

〔文献标志码〕A

〔文章编号〕doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2023.05.014

Quality evaluation of Yandan Capsule by multi-component content determination using HPLC-QAMS and chemometrics

HUA Yang¹, XIE Fei¹, ZHOU Hong¹, LI Zhiming²

1. Department of Pharmacy, The People's Hospital of Hai'an, Hai'an, Jiangsu 226600, China; 2. College of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing, Jiangsu 210023, China

〔Abstract〕 **Objective** To determine the content of 10 main components in Yandan Capsule (YDC) by high performance liquid chromatography-quantitative analysis of multi-components by single-marker (HPLC-QAMS) method simultaneously and to establish a comprehensive analysis method for multi-component quantification and chemometrics of YDC so as to construct a quality evaluation and control system for YDC. **Methods** The gradient elution was performed on a Hedera ODS-2 (C₁₈) column with acetonitrile-0.1% glacial acetic acid as the mobile phase. The detection wavelengths were set at 230 nm for 3, 29-dibenzoyloxykaroundiol and 3, 29-dibenzoyl rarounitriol, and 280 nm for dihydrotanshinone I, cryptotanshinone, tanshinone I, tanshinone II A, protopine, tetrahydropalmatine, corydaline and tetrahydroberberine. Tanshinone II A was selected as the internal reference substance to establish the relative correction factors with the other 9 components, the content of each component was calculated and the

〔收稿日期〕2022-10-06

〔基金项目〕南通市基础科学研究和社会民生科技计划项目(JCZ2022010)。

〔第一作者〕华 阳,男,硕士,主管药师,研究方向:中药质量评价、衣原体相关微生物生化药理学、合理用药及药物经济学评价,E-mail:pdqk08@163.com。

repeatability, rationality and feasibility of the established HPLC-QAMS method were verified by external standard method (ESM). The content data of 10 components in 10 batches of samples were analyzed by chemometrics, and the main components that contributed significantly to its quality control were explored. **Results** The 10 components by quantitative analysis had a good linear relationship ($r>0.999$); the average recoveries of the 10 components were 96.93%~100.14% ($RSD<2.0\%$); there was no significant difference between the quantitative results of HPLC-QAMS and ESM; the results of partial least squares-discriminant analysis showed that tanshinone II A, 3,29-dibenzoyl rarounitriol, tanshinone I and tetrahydropalmatine were the differential markers affecting the quality of YDC (VIP>1). **Conclusion** With good repeatability and stability, the established HPLC-QAMS multi-index component quantitative control method is convenient to operate, and the results are accurate and reliable. Combined with chemometric analysis, it can be used for overall quality control and comprehensive evaluation of YDC.

[**Keywords**] Yandan Capsule; multi-index component; high performance liquid chromatography-quantitative analysis of multi-components by single-marker; relative correction factors; chemometrics; quality evaluation

延丹胶囊由瓜蒌、丹参、醋延胡索、五灵脂、醋乳香、白芍、枳壳和柴胡组方而成,具有活血祛瘀、理气止痛的临床功效,主要用于气滞血瘀引起的胸痛、胸闷、心慌、憋气类冠心病劳累性心绞痛的治疗^[1]。现代研究表明,延丹胶囊联合阿司匹林可有效降低冠心病患者氧化应激水平,调节血清胱抑素 C 和纤溶酶原激活物抑制物-1 水平,促进心功能恢复^[2];通过改善抗氧化应激水平,减少心肌炎症,发挥抗凋亡作用,对异丙肾上腺素诱导 SD 大鼠心肌缺血模型具有显著的改善作用^[3]。目前,延丹胶囊执行标准为国家食品药品监督管理局国家药品标准 YBZ04452005-2009Z,质量标准和文献报道仅对该制剂 1~3 种成分进行了含量检测^[4],未对检测结果进行综合评价。中成药所含化学成分繁多,现有质控标准不能表征其整体质量的差异性。本实验选取延丹胶囊君药丹参成分二氢丹参酮 I、隐丹参酮、丹参酮 I 和丹参酮 II A,臣药醋延胡索成分原阿片碱、延胡索乙素、紫堇碱和四氢小檗碱,佐药瓜蒌成分 3,29-二苯甲酰基栝楼仁二醇和 3,29-二苯甲酰基栝楼仁三醇为指标性成分,同时以丹参酮 II A 为内参比物质,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)法对以上 10 种成分同时进行含量测定,并结合化学计量学方法发现多种成分含量数据间潜在的关联性,挖掘影响质量差异的主要成分,为延丹胶囊的整体质量控制和综合评价提供数据支持。

1 材料

1.1 试药

对照品隐丹参酮、原阿片碱、丹参酮 II A 和延胡

索乙素(中国食品药品检定研究院,批号分别为 110852-201807、110853-201805、110766-202022 和 110726-202020,含量均不低于 99.0%);对照品二氢丹参酮 I、丹参酮 I、紫堇碱和四氢小檗碱(成都普瑞法科技开发有限公司,批号分别为 PRF9072403、PRF9091108、PRF10022126 和 PRF8050941,含量均不低于 98.8%);对照品 3,29-二苯甲酰基栝楼仁二醇和 3,29-二苯甲酰基栝楼仁三醇(武汉天植生物技术有限公司,批号分别为 CFS201901、CFS202101,含量均为 98.0%);延丹胶囊(天长亿帆制药有限公司,规格:0.3 g/粒,批号:200902、201001、210105、210109、210201、210914、211203、211207、220203 和 220301,编号依次为 S1~S10);乙腈和冰醋酸为色谱纯级别,其余试剂为分析纯。

1.2 仪器

高效液相色谱仪(UltiMate 3000 型,美国热电公司;Waters e2695 型,Waters 公司);Hedera ODS-2(C_{18})柱、Thermo BDS C_{18} 柱和 Durashell C_{18} 柱(规格均为:5 μ m,250 mm $\times$ 4.6 mm);电子分析天平(Mettler Toledo 公司,XSE205DU 型);高频数控超声波清洗器(昆山禾创超声仪器有限公司,KH-700TDB 型)。

2 方法与结果

2.1 混合对照品溶液的制备

取各对照品适量,用 70%甲醇制成含 3,29-二苯甲酰基栝楼仁二醇 0.096 mg/mL、3,29-二苯甲酰基栝楼仁三醇 0.322 mg/mL、二氢丹参酮 I 0.258 mg/mL、隐丹参酮 0.592 mg/mL、丹参酮 I 0.714 mg/mL、丹参酮 II A 1.130 mg/mL、原阿片碱 0.128 mg/mL、延

胡索乙素 0.450 mg/mL、紫堇碱 0.376 mg/mL、四氢小檗碱 0.292 mg/mL 的混合对照品贮备液,再精密吸取贮备液 1.0 mL,用同一溶剂稀释 20 倍制得混合对照品溶液。

2.2 供试品溶液的制备

取延丹胶囊内容物混匀,取适量,研细。精密称取上述粉末 2.0 g,加 70%甲醇 20 mL,超声处理 30 min,放冷,70%甲醇定容至 25 mL,摇匀,过滤,即得延丹胶囊供试品溶液。取按质量标准中处方及制备流程制备的缺瓜蒌、缺丹参和缺醋延胡索的阴性供试品各适量,按上述方法制得阴性供试品溶液。

2.3 色谱条件及专属性试验

色谱柱 Hadera ODS-2(C_{18}),柱温 30 ℃,进样量 10 μ L;检测波长分别为 230 nm(0~17 min 检测 3,29-二苯甲酰基枳椇仁二醇和 3,29-二苯甲酰基枳椇仁三醇)^[5-7]、280 nm(17~60 min 检测二氢丹参酮 I、隐丹参酮、丹参酮 I、丹参酮 II A、原阿片碱、延胡索乙素、紫堇碱和四氢小檗碱)^[8-18];流动相乙腈(A)-0.1%冰醋酸(B),流速 1.0 mL/min,梯度洗脱:0~11 min,7.0% A;11~17 min,7.0% A $\rightarrow$ 30.0% A;17~34 min,30.0% A $\rightarrow$ 55.0% A;34~50 min,55.0% A $\rightarrow$ 78.0% A;50~60 min,78.0% A $\rightarrow$ 7.0% A。在上述色谱条件下进样混合对照品溶液及供试品溶液,记录色谱流出曲线(见图 1)。曲线图显示基线平稳,混合对照品溶液与供试品溶液在相同保留时间处均有相应的色谱峰出现,分离度均 ≥ 1.5 ;阴性供试品对延丹胶囊供试品的检测未产生干扰。

2.4 方法学考察

2.4.1 线性关系考察 精密吸取混合对照品贮备液 0.1、0.2、0.5、1.0、2.0、5.0 mL,分别用同一溶剂定容至 20 mL,摇匀制得序号为 1~6 的混合对照品溶液,按“2.3”项色谱条件检测,以对照品质量浓度对峰面积进行线性回归,结果见表 1。

2.4.2 精密度考察 取 2.2 项下供试品溶液(编号:S1)一份,按“2.3”项色谱条件连续进样 6 次,记录 3,29-二苯甲酰基枳椇仁二醇、3,29-二苯甲酰基枳椇仁三醇、二氢丹参酮 I、隐丹参酮、丹参酮 I、丹参酮 II A、原阿片碱、延胡索乙素、紫堇碱和四氢小檗碱色谱曲线,结果峰面积的 RSD 值依次为 1.33%、1.06%、1.18%、0.98%、0.87%、0.57%、1.30%、1.09%、1.14%、1.22%($n=6$),表明精密度良好。

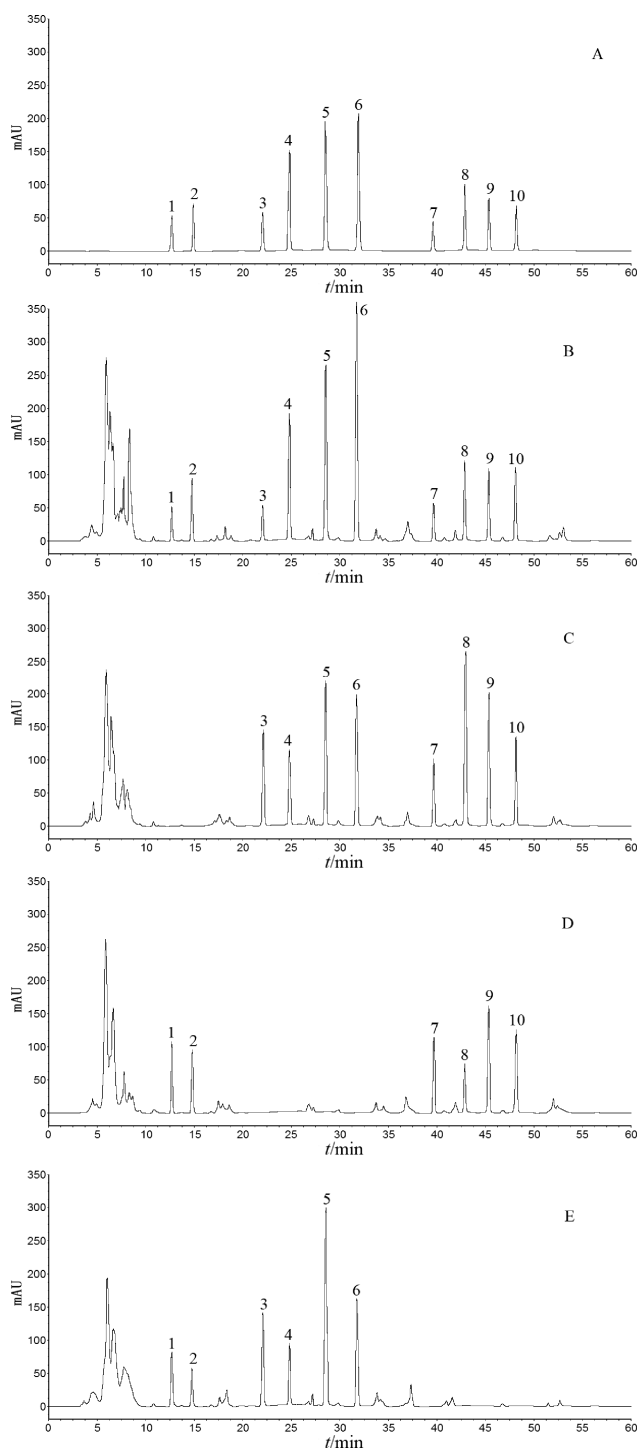


图 1 HPLC 色谱图

注:A.混合对照品;B.延丹胶囊;C.瓜蒌阴性供试品;D.丹参阴性供试品;E.醋延胡索阴性供试品。1. 3,29-二苯甲酰基枳椇仁二醇;2. 3,29-二苯甲酰基枳椇仁三醇;3. 二氢丹参酮 I;4. 隐丹参酮;5. 丹参酮 I;6. 丹参酮 II A;7. 原阿片碱;8. 延胡索乙素;9. 紫堇碱;10. 四氢小檗碱。

2.4.3 稳定性考察 取延丹胶囊(编号:S1)供试品溶液一份,于制备后 0、2、4、6、10、16、24 h 进样,记录 3,29-二苯甲酰基枳椇仁二醇、3,29-二苯甲酰基枳椇仁三醇、二氢丹参酮 I、隐丹参酮、丹参酮 I、丹参酮 II A、原阿片碱、延胡索乙素、紫堇碱和四氢小

表 1 延丹胶囊中 10 种成分的线性回归结果

成分	回归方程	线性范围/($\mu\text{g/mL}$)	r 值
3,29-二苯甲酰基栝楼仁二醇	$Y=4.960\ 9\times 10^5X+1\ 028.1$	0.48~24.00	0.999 7
3,29-二苯甲酰基栝楼仁三醇	$Y=1.813\ 6\times 10^6X-941.5$	1.61~80.50	0.999 9
二氢丹参酮 I	$Y=1.314\ 6\times 10^6X+1\ 507.5$	1.29~64.50	0.999 5
隐丹参酮	$Y=3.054\ 8\times 10^6X+796.8$	2.96~148.00	0.999 7
丹参酮 I	$Y=3.737\ 6\times 10^6X-1\ 205.7$	3.57~178.50	0.999 4
丹参酮 II A	$Y=2.889\ 7\times 10^6X-765.5$	5.65~282.50	0.999 7
原阿片碱	$Y=8.055\ 4\times 10^5X+1\ 130.1$	0.64~32.00	0.999 8
延胡索乙素	$Y=2.437\ 8\times 10^6X-1\ 635.6$	2.25~112.50	0.999 5
紫堇碱	$Y=2.081\ 9\times 10^6X+849.3$	1.88~94.00	0.999 6
四氢小檗碱	$Y=1.528\ 7\times 10^6X+1\ 171.0$	1.46~73.00	0.999 4

槲碱色谱曲线峰面积,结果峰面积的 RSD 值依次为 1.34%、1.03%、1.16%、1.01%、0.84%、0.59%、1.29%、1.12%、1.11%、1.20%($n=7$),表明延丹胶囊供试品溶液 24 h 内稳定。

2.4.4 重复性考察 取延丹胶囊(编号:S1)6 份,每份 2.0 g,精密称定,按“2.2”项下方法制备 6 份供试品溶液,按“2.3”项色谱条件下检测,用外标法计算 3,29-二苯甲酰基栝楼仁二醇、3,29-二苯甲酰基栝楼仁三醇、二氢丹参酮 I、隐丹参酮、丹参酮 I、丹参酮 II A、原阿片碱、延胡索乙素、紫堇碱和四氢小檗碱的含量,结果含量的 RSD 值依次为 1.88%、1.66%、1.74%、1.38%、1.29%、1.21%、1.79%、1.52%、1.61%、1.68%($n=6$),表明重复性良好。

2.4.5 加样回收率实验 取延丹胶囊(编号:S1)细粉 9 份,每份精密称定 1.0 g,分别加入混合对照品溶液(含 3,29-二苯甲酰基栝楼仁二醇 0.052 mg/mL、3,29-二苯甲酰基栝楼仁三醇 0.239 mg/mL、二氢丹参酮 I 0.187 mg/mL、隐丹参酮 0.489 mg/mL、丹参酮 I 0.607 mg/mL、丹参酮 II A 0.928 mg/mL、原阿片碱 0.086 mg/mL、延胡索乙素 0.357 mg/mL、紫堇碱 0.302 mg/mL 和四氢小檗碱 0.216 mg/mL 的溶液) 0.8、1.0、1.2 mL(各 3 份),再按“2.2”项方法制得加

样供试品溶液,在“2.3”项色谱条件下检测,得各成分的平均加样回收率为 96.93%、97.92%、98.52%、99.34%、99.08%、100.14%、97.48%、98.73%、98.04%、97.90%;RSD 分别为 1.44%、0.90%、1.28%、1.50%、1.22%、0.75%、1.34%、1.61%、1.17%、1.31%($n=9$)。

2.5 HPLC-QAMS 法

2.5.1 相对校正因子(f_{is})的计算 在一定线性范围内各成分的量与检测器的响应值成正比。试验取“2.4.1”项 6 个混合对照品溶液,在“2.3”项色谱条件下检测,记录色谱曲线。以丹参酮 II A 为参照物(丹参酮 II A 质稳易得且价廉),计算各成分校正因子(f_{is}): $f_{is}=f_i/f_s=(\rho_i/A_i)/(\rho_s/A_s)=(\rho_i\times A_s)/(\rho_s\times A_i)$ (式中 f_{is} 、 ρ 、 A 、 i 、 s 依次代表相对校正因子、质量浓度、峰面积、参照物和其他待测成分)。详见表 2。

2.5.2 色谱峰定位 采用相对保留时间值法对待测成分色谱峰进行定位,结果(见表 3)测得 RRT 的 RSD 在 0.81%~1.72%之间($n=6$),表明采用相对保留时间值法可以对目标化合物色谱峰进行准确定位。

2.6 外标法与 HPLC-QAMS 法含量测定结果

取 10 批延丹胶囊(S1~S10)供试品溶液,在“2.3”项色谱条件下检测,分别运用 ESM 和 HPLC-QAMS 法计算延丹胶囊中 3,29-二苯甲酰基栝楼仁

表 2 延丹胶囊中 9 种成分的 f_{is}

混合对照 品溶液	3,29-二苯甲酰 基栝楼仁二醇	3,29-二苯甲酰基 栝楼仁三醇	二氢丹参酮 I	隐丹参酮	丹参酮 I	原阿片碱	延胡索乙素	紫堇碱	四氢小檗碱
1	5.621 3	1.609 2	2.143 2	0.927 8	0.750 6	3.613 0	1.174 4	1.333 0	1.828 8
2	5.769 1	1.627 2	2.163 0	0.946 0	0.763 1	3.600 9	1.174 3	1.383 2	1.880 7
3	5.890 1	1.617 5	2.176 2	0.962 7	0.763 2	3.679 0	1.202 5	1.384 7	1.897 2
4	5.752 5	1.609 9	2.164 9	0.937 3	0.760 1	3.554 5	1.163 0	1.386 7	1.845 5
5	5.794 4	1.567 4	2.236 5	0.947 7	0.791 4	3.543 4	1.199 8	1.396 4	1.926 4
6	5.823 4	1.596 6	2.193 5	0.945 9	0.771 1	3.591 8	1.184 1	1.386 7	1.886 4
平均值	5.775 1	1.604 6	2.179 5	0.944 6	0.766 6	3.597 1	1.183 0	1.378 5	1.877 5
RSD/%	1.55	1.30	1.49	1.23	1.80	1.35	1.32	1.65	1.89

表 3 不同仪器及色谱柱条件下 3,29-二苯甲酰基栝楼仁二醇等 9 个成分的 RRT

仪器	色谱柱	3,29-二苯甲酰 基栝楼仁二醇	3,29-二苯甲酰 基栝楼仁三醇	二氢丹 参酮 I	隐丹参酮	丹参酮 I	原阿片碱	延胡索 乙素	紫堇碱	四氢小 檗碱
UltiMate 3000	Hedera ODS-2(C ₁₈)	0.398 0	0.467 7	0.690 5	0.777 2	0.891 2	1.239 8	1.341 8	1.420 1	1.508 5
	Thermo BDS C ₁₈	0.401 6	0.475 2	0.698 2	0.789 1	0.896 4	1.257 2	1.350 6	1.421 8	1.510 3
	Durashell C ₁₈	0.409 3	0.481 3	0.712 6	0.796 3	0.906 7	1.261 5	1.379 1	1.459 2	1.538 9
e2695	Hedera ODS-2(C ₁₈)	0.395 2	0.459 6	0.681 3	0.771 6	0.889 3	1.227 6	1.338 2	1.412 7	1.491 5
	Thermo BDS C ₁₈	0.399 5	0.469 1	0.697 1	0.786 2	0.890 6	1.243 8	1.345 2	1.420 3	1.501 2
	Durashell C ₁₈	0.407 4	0.478 5	0.711 2	0.789 4	0.903 4	1.259 5	1.376 5	1.457 6	1.536 8
平均值	平均值	0.401 8	0.471 9	0.698 5	0.785 0	0.896 3	1.248 2	1.355 2	1.431 9	1.514 5
RSD/%	RSD/%	1.37	1.69	1.72	1.15	0.81	1.07	1.33	1.45	1.27

二醇等 10 种成分的含量(见表 4)。再运用 SPSS 26.0 统计软件对每一成分的两组数据进行 *t* 检验,结果两种方法无显著性差异($P>0.05$),表明 HPLC-QAMS 法用于延丹胶囊中 3,29-二苯甲酰基栝楼仁二醇等 10 种成分的含量测定是可行的。

3 延丹胶囊的化学计量学质量分析

3.1 聚类分析(cluster analysis, CA)

将 10 批延丹胶囊中 3,29-二苯甲酰基栝楼仁二醇等 10 个成分一测多评法测定结果导入 SPSS 26.0 统计软件,通过组间连接聚类法,以欧氏距离为度量标准进行 CA,得聚类树状图。从图 2 看出当判别条件距离为 15 时,10 批延丹胶囊样品被分为三大类,一类包括 S7、S8 和 S6,二类包括 S2、S5、S3、S4

和 S1,三类包括 S9、S10。

3.2 主成分分析(principal component analysis, PCA)

将 10 批延丹胶囊中 3,29-二苯甲酰基栝楼仁二醇等 10 个成分一测多评法的测定结果导入 SPSS 26.0 统计软件进行 PCA,得表 5—6。以特征值大于 1 为提取标准,10 批延丹胶囊有 2 个主成分,其特征值分别为 6.171 和 2.931,对方差的贡献率分别为 61.708%和 29.307%,累计贡献率为 91.015%,表明前 2 个主成分可反映样品的整体信息。表 6 显示二氢丹参酮 I、隐丹参酮、丹参酮 II A、原阿片碱、延胡索乙素、紫堇碱、四氢小檗碱等成分的综合为第一主成分的信息,第二主成了解释了 3,29-二苯甲酰基栝楼仁二醇、3,29-二苯甲酰基栝楼仁三醇、丹参酮 I 的信息。再运用 SIMCA 14.1 统计软件对 10 批延

表 4 延丹胶囊中 10 种成分含量测定结果(mg/g, $n=3$)

成分	方法	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	<i>P</i>
丹参酮 II A	ESM	0.929	1.231	1.103	1.172	1.294	0.720	0.591	0.653	1.665	1.486	—
3,29-二苯甲酰基栝楼仁二醇	ESM	0.051	0.059	0.061	0.061	0.053	0.042	0.032	0.028	0.057	0.039	0.942
	QAMS	0.050	0.058	0.062	0.060	0.054	0.041	0.031	0.029	0.056	0.038	
3,29-二苯甲酰基栝楼仁三醇	ESM	0.235	0.267	0.287	0.285	0.261	0.168	0.182	0.134	0.198	0.151	0.917
	QAMS	0.230	0.262	0.283	0.289	0.257	0.164	0.178	0.136	0.194	0.148	
二氢丹参酮 I	ESM	0.192	0.149	0.165	0.141	0.140	0.106	0.097	0.117	0.228	0.249	0.961
	QAMS	0.189	0.147	0.168	0.143	0.137	0.108	0.099	0.113	0.224	0.245	
隐丹参酮	ESM	0.473	0.465	0.475	0.485	0.459	0.415	0.387	0.371	0.623	0.631	0.976
	QAMS	0.479	0.458	0.468	0.492	0.447	0.406	0.393	0.378	0.632	0.619	
丹参酮 I	ESM	0.613	0.607	0.672	0.683	0.651	0.639	0.571	0.583	0.534	0.497	0.811
	QAMS	0.597	0.594	0.657	0.695	0.639	0.626	0.582	0.568	0.542	0.485	
原阿片碱	ESM	0.083	0.103	0.095	0.095	0.108	0.078	0.081	0.076	0.133	0.119	0.946
	QAMS	0.085	0.101	0.094	0.097	0.111	0.077	0.080	0.074	0.136	0.122	
延胡索乙素	ESM	0.354	0.338	0.379	0.317	0.298	0.185	0.186	0.165	0.529	0.589	0.933
	QAMS	0.347	0.329	0.385	0.310	0.291	0.188	0.181	0.161	0.517	0.578	
紫堇碱	ESM	0.295	0.322	0.352	0.315	0.294	0.391	0.269	0.247	0.221	0.182	0.979
	QAMS	0.289	0.330	0.344	0.307	0.299	0.383	0.264	0.253	0.226	0.186	
四氢小檗碱	ESM	0.211	0.299	0.382	0.312	0.332	0.361	0.367	0.309	0.187	0.182	0.666
	QAMS	0.217	0.293	0.277	0.306	0.325	0.352	0.359	0.315	0.182	0.177	

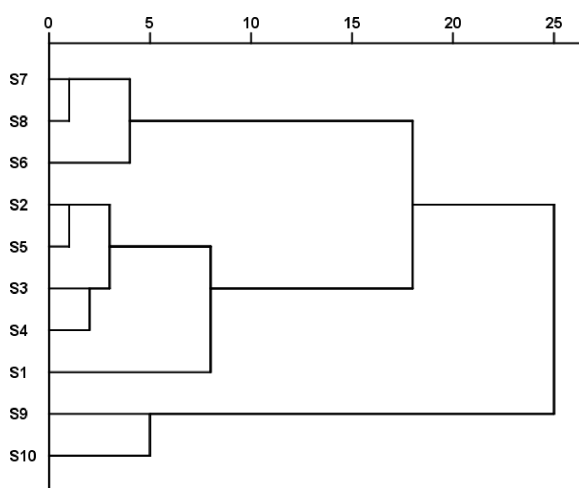


图2 10批样品聚类树状图

表5 延丹胶囊中主成分方差分析

主成分	特征值	方差贡献率/%	累积方差贡献率/%
1	6.171	61.708	61.708
2	2.931	29.307	91.015
3	0.418	4.175	95.190
4	0.274	2.735	97.925
5	0.112	1.120	99.046
6	0.058	0.583	99.629
7	0.023	0.231	99.860
8	0.009	0.090	99.949
9	0.005	0.051	100.000
10	-2.402E-17	-2.402E-16	100.000

表6 延丹胶囊中9种成分的成分矩阵表

成分	主成分	
	1	2
3,29-二苯甲酰基栝楼仁二醇	0.311	0.941
3,29-二苯甲酰基栝楼仁三醇	-0.017	0.955
二氢丹参酮 I	0.965	0.001
隐丹参酮	0.977	0.054
丹参酮 I	-0.567	0.774
丹参酮 II A	0.897	0.343
原阿片碱	0.906	0.182
延胡索乙素	0.974	0.110
紫堇碱	-0.656	0.601
四氢小檗碱	-0.929	0.083

丹胶囊中 3,29-二苯甲酰基栝楼仁二醇等 10 个成分建立 PCA 模型(见图 3),共提取出 2 个主成分 R^2X 为 0.910,大于 0.5,所建立的模型稳定性较高。图 3 显示 S1~S5、S6~S8 以及 S9~S10 分别呈现一定相关性,与 CA 结果一致。

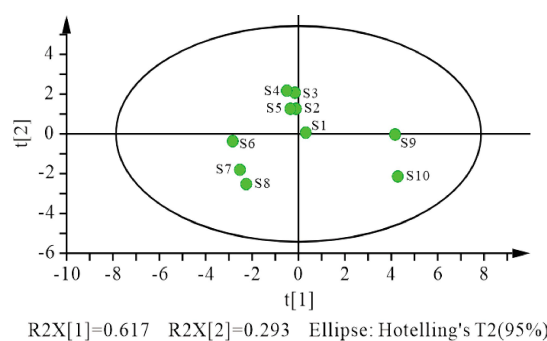


图3 PCA得分图

3.3 偏最小二乘法-判别分析(partial least squares discrimination analysis, PLS-DA)

将 10 批延丹胶囊中 10 个成分一测多评法测定的结果导入 SIMCA 14.1 统计软件进行 PLS-DA,结果得到 PLS-DA($R^2X=0.927$ 、 $Q^2=0.727$)模型,筛选出 4 个色谱峰的变量重要性投影(variable importance for projection, VIP)值大于 1,即成分 6(丹参酮 II A, $VIP=1.664$)、成分 2(3,29-二苯甲酰基栝楼仁三醇, $VIP=1.469$)、成分 5(丹参酮 I, $VIP=1.160$)和成分 8(延胡索乙素, $VIP=1.009$)对延丹胶囊样品质量的影响较大,可能是影响延丹胶囊产品质量的主要潜在标志物($VIP>1$)。

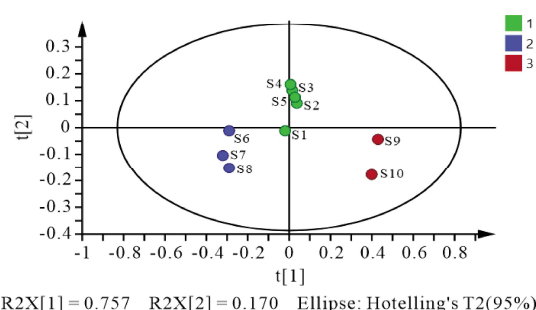


图4 10批延丹胶囊样品的PLS-DA模型得分图

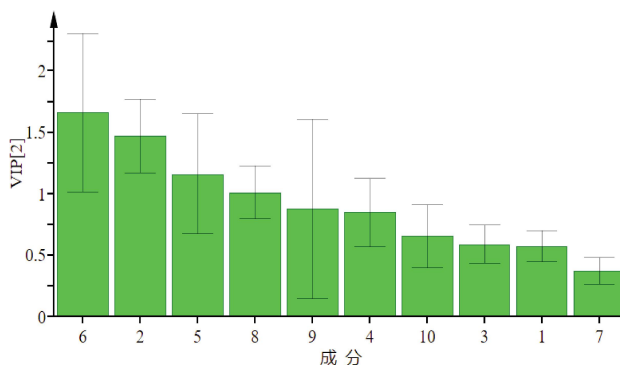


图5 10批延丹胶囊样品的VIP图

4 讨论

4.1 指标性成分的选择

延丹胶囊由丹参、延胡索(醋制)、五灵脂、瓜蒌、

乳香(醋制)、白芍、枳壳、柴胡配方而成。方中丹参活血祛瘀、通经止痛、清心除烦、凉血消痈,为君药,其主要活性成分以二氢丹参酮 I、隐丹参酮、丹参酮 I、丹参酮 II A 为代表;醋延胡索、五灵脂和醋乳香助丹参行气活血止痛,共为臣药;白芍、枳壳、柴胡、瓜蒌具有疏肝解郁、理气宽胸之效,共为佐使药。诸药合用有活血化瘀、理气止痛的作用。根据中药质量标志物选取原则,本实验选取君药丹参代表性成分二氢丹参酮 I、隐丹参酮、丹参酮 I 和丹参酮 II A,臣药醋延胡索主要成分原阿片碱、延胡索乙素、紫堇碱和四氢小檗碱,佐药瓜蒌代表性成分 3,29-二苯甲酰基栝楼仁二醇和 3,29-二苯甲酰基栝楼仁三醇为定量控制指标成分,采用 HPLC-QAMS 法对上述成分含量同时进行检测。同时选取含量较高,出峰时间较居中,且质量较为稳定的丹参酮 II A 为内参比物质。

4.2 供试品溶液制备方法的确定

本试验在筛选供试品溶液制备方法时,通过对提取溶媒的种类、提取方法和提取时间 3 个因素进行考察,结果发现 70% 甲醇超声提取 30 min 时,3,29-二苯甲酰基栝楼仁二醇等 10 种成分的提取率最高,杂质干扰最少。

4.3 HPLC-QAMS 法与化学计量学结果评价

HPLC-QAMS 法测定延丹胶囊中 10 种成分含量,通过与外标法比较,结果显示两种方法差异性较小($P>0.05$),表明 HPLC-QAMS 法是可行的,为该制剂多指标成分质控方法的普及应用提供了有利支持;CA 和 PCA 的结果表明 10 批延丹胶囊聚为 3 类。PLS-DA 分析的分析结果显示丹参酮 II A、3,29-二苯甲酰基栝楼仁三醇、丹参酮 I 和延胡索乙素等成分可能是影响延丹胶囊产品质量的主要潜在标志物。中药复方制剂一般由多味中药材组方而成,所含成分复杂,同一原药材即使符合同一药品标准,但其地域、气候不同可能造成所含成分差异较大,导致使用该药材生产的制剂质量差异也较大,从而产生不同的治疗作用。

本试验采用 HPLC-QAMS 法建立了延丹胶囊 10 种指标成分定量质控模式,对市场流通的 10 批不同阶段生产的样品进行检测,同时联合化学计量学识别模式进行综合分析,发掘出了影响产品质量差异性的主要物质性成分,为提高延丹胶囊质控水

平及整体质量,确保产品质量稳定和临床治疗效果的一致性提供了实验基础。

参考文献

- [1] 国家食品药品监督管理总局. 国家药品标准: YBZ04452005-2009Z [S]. 北京: 中国标准出版, 2009: 179-182.
- [2] 李文英, 吕 培. 延丹胶囊联合阿司匹林对冠心病病人氧化应激反应指标及血清 CysC、PAI-1 水平的影响[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2021, 19(9): 1535-1539.
- [3] 焦 杰, 马星月, 傅 强, 等. 延丹胶囊对异丙肾上腺素诱导大鼠心肌缺血的作用及机制[J]. 中成药, 2021, 43(4): 908-913.
- [4] 王玉龙, 袁步娟, 赵海欣, 等. HPLC 法测定延丹胶囊中原儿茶醛、芍药苷和橙皮苷的含量[J]. 解放军医药杂志, 2015, 27(12): 104-108.
- [5] 孙洋洋, 楚冬海, 乔 微, 等. 瓜蒌子专属性成分的含量测定及其指纹图谱的研究[J]. 中华中医药学刊, 2019, 37(5): 1155-1159.
- [6] 魏国栋, 马思缙, 王苏丽. 瓜蒌皮药材质量标准研究[J]. 亚太传统医药, 2015, 11(13): 29-31.
- [7] 谭 翔, 邹 顺, 薛 琰, 等. 黔产瓜蒌中 3, 29-二苯甲酰基栝楼仁三醇的含量测定[J]. 贵阳中医学院学报, 2014, 36(3): 14-15.
- [8] 李占芳, 李俊卿, 许 伟, 等. HPLC 一测多评法测定乳宁颗粒中柴胡皂苷 a、柴胡皂苷 d、二氢丹参酮 I、隐丹参酮、丹参酮 I、丹参酮 II A、王不留行环肽 A 和王不留行环肽 B[J]. 药物评价研究, 2021, 44(7): 1434-1440.
- [9] 何 艳, 胡小祥, 陈新明, 等. 高效液相色谱法同时测定丹膝颗粒中 8 种成分的含量[J]. 中药新药与临床药理, 2021, 32(2): 263-267.
- [10] 管小军, 厉 君, 黄娜娜, 等. HPLC 同时测定紫丹参药材中 8 种成分含量[J]. 中国中医药信息杂志, 2020, 27(9): 82-86.
- [11] 舒 翔, 王晓仙, 黄文涛, 等. HPLC-QAMS 法同时测定灵丹片中 9 种成分含量[J]. 湖北中医药大学学报, 2022, 24(4): 43-48.
- [12] 彭 洋, 徐忠诚, 周 涛, 等. HPLC 法同时测定柔肝顺气丸中 7 种成分的含量[J]. 中国药师, 2019, 22(10): 1957-1960.
- [13] 王艳伟, 代雪平, 王晓伟. HPLC 法测定益心通脉颗粒中丹参酮 I、隐丹参酮和丹参酮 II A 的含量[J]. 西北药学杂志, 2018, 33(4): 471-474.
- [14] 毕福钧, 林 彤. RP-HPLC 法同时测定醋延胡索配方颗粒中 7 种生物碱[J]. 中草药, 2016, 47(4): 606-609.
- [15] 田 甜, 陈镜楼, 黄徐英, 等. 高效液相色谱一测多评法同时测定木丹颗粒中 9 种成分[J]. 医药导报, 2022, 41(3): 388-395.
- [16] 罗 镭, 李文庭, 谭春梅, 等. HPLC 同时测定延胡索中 4 个化学成分的含量[J]. 江西中医药, 2017, 48(9): 64-66.
- [17] 张 丹, 王昌利, 卜雕雕, 等. 高效液相色谱法同时测定延胡索中 5 种生物碱含量的方法学研究[J]. 中南药学, 2018, 16(12): 1759-1762.
- [18] 郭宝凤, 周雪梅. 反相高效液相色谱法测定蒙药材灰绿黄堇中原阿片碱含量[J]. 中国药业, 2020, 29(19): 69-72.