

## HPLC 法测定十味降糖颗粒中 10 种成分及其化学计量学综合评价

何燕燕<sup>1</sup>, 董玉波<sup>1</sup>, 徐祥举<sup>2</sup>, 张智超<sup>3</sup>, 任强<sup>4</sup>, 周金辉<sup>4</sup>, 王玉娟<sup>1\*</sup>

1. 中国人民解放军联勤保障部队第九六〇医院 药学部, 山东 济南 250031
2. 齐鲁制药有限公司, 山东 济南 250031
3. 山东省医疗保险事业中心, 山东 济南 250031
4. 济宁医学院 药学院, 山东 日照 276826

**摘要:** 目的 建立 HPLC 法同时测定十味降糖颗粒中毛蕊异黄酮葡萄糖苷、芒柄花素、新芒果苷、芒果苷、异芒果苷、3'-羟基葛根素、葛根素、3'-甲氧基葛根素、东莨菪素和东莨菪苷的方法, 采用化学计量学对其进行分析。方法 采用 SepaxBio C<sub>18</sub> 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为乙腈-0.1% 甲酸, 梯度洗脱; 检测波长 254 nm (0~45 min 测定毛蕊异黄酮葡萄糖苷、芒柄花素、新芒果苷、芒果苷、异芒果苷、3'-羟基葛根素、葛根素、3'-甲氧基葛根素)、346 nm (45~75 min 测定东莨菪素和东莨菪苷); 柱温 30 °C; 体积流量 1.0 mL/min; 进样 10 μL。采用聚类分析、主成分分析、偏最小二乘法-判别分析法对 10 种成分测定结果进行评价。结果 毛蕊异黄酮葡萄糖苷、芒柄花素、新芒果苷、芒果苷、异芒果苷、3'-羟基葛根素、葛根素、3'-甲氧基葛根素、东莨菪素和东莨菪苷分别在 1.97~98.50、3.43~171.50、12.35~617.50、6.28~314.00、0.56~28.00、3.99~199.50、15.46~773.00、3.05~152.50、0.43~21.50、0.77~38.50 μg/mL 有良好的线性关系。平均回收率分别为 98.54%、99.63%、100.09%、98.94%、97.11%、99.72%、100.06%、98.71%、96.97%、97.84%, RSD 值分别为 1.02%、0.84%、0.70%、1.26%、1.36%、0.69%、0.88%、1.42%、1.58%、1.79%。偏最小二乘-判别分析的分类结果与聚类分析的结果基本一致; 芒柄花素 (VIP=1.575)、东莨菪苷 (VIP=1.516)、毛蕊异黄酮葡萄糖苷 (VIP=1.223) 和葛根素 (VIP=1.095) 可能是影响十味降糖颗粒产品质量的主要潜在标志物。结论 建立的方法准确易行, 为十味降糖颗粒多指标成分质量控制方法的制订提供参考。

**关键词:** 十味降糖颗粒; 毛蕊异黄酮葡萄糖苷; 芒柄花素; 新芒果苷; 高效液相色谱; 聚类分析; 偏最小二乘法-判别分析  
中图分类号: R286.02 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2022)10-2232-07

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2022.10.009

## Determination of 10 components in Shiwei Jiangtang Granules by HPLC and comprehensive evaluation of chemometrics

HE Yan-yan<sup>1</sup>, DONG Yu-bo<sup>1</sup>, XU Xiang-ju<sup>2</sup>, ZHANG Zhi-chao<sup>3</sup>, REN Qiang<sup>4</sup>, ZHOU Jin-hui<sup>4</sup>, WANG Yu-juan<sup>1</sup>

1. Department of Pharmacy, No. 960 Hospital of PLA Joint Logistics Support Force, Jinan 250031, China
2. Qilu Pharmaceutical Co., Ltd., Jinan 250031, China
3. Shandong Medical Insurance Center, Jinan 250031, China
4. School of Pharmacy, Jining Medical University, Rizhao 276826, China

**Abstract: Objective** To establish an HPLC method for simultaneous determination of calycosin 7-*O*-β-*D*-glucopyranoside, formononetin, neomangiferin, mangiferin, isomangiferin, 3'-hydroxy puerarin, puerarin, 3'-methoxy puerarin, scopoletin, and scopolin in Shiwei Jiangtang Granules, and to analyze the data by chemometric methods. **Methods** The separation was carried out on SepaxBio C<sub>18</sub> column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm). The mobile phase consisted of acetonitrile - 0.1% formic acid with gradient elution. The detection wavelengths were set at 254 nm (for calycosin 7-*O*-β-*D*-glucopyranoside, formononetin, neomangiferin, mangiferin, isomangiferin, 3'-hydroxy puerarin, puerarin, 3'-methoxy puerarin) and 346 nm (for scopoletin and scopolin). The column temperature was 30 °C, the volume flow was 1.0 mL/min, and the injection volume was 10 μL. Cluster analysis, principal component analysis, partial least squares-discriminant analysis method were used to evaluate the results of ten components. **Results** Calycosin 7-*O*-β-*D*-glucopyranoside,

收稿日期: 2022-04-26

基金项目: 山东省中医药科技发展计划项目 (2019-0449)

作者简介: 何燕燕 (1990—), 女, 药师, 本科, 研究方向为药物质量控制、临床药学和药事管理。E-mail: orfnou@163.com

\*通信作者: 王玉娟 (1983—), 女, 主管药师, 本科, 研究方向为药物质量控制、临床药学和药事管理。

formononetin, neomangiferin, mangiferin, isomangiferin, 3'-hydroxy puerarin, puerarin, 3'-methoxy puerarin, scopoletin, and scopolin had good linear relationships within the ranges of 1.97 — 98.50, 3.43 — 171.50, 12.35 — 617.50, 6.28 — 314.00, 0.56 — 28.00, 3.99 — 199.50, 15.46 — 773.00, 3.05 — 152.50, 0.43 — 21.50, and 0.77 — 38.50  $\mu\text{g/mL}$ . The average recoveries were 98.54%, 99.63%, 100.09%, 98.94%, 97.11%, 99.72%, 100.06%, 98.71%, 96.97%, and 97.84% with RSD values of 1.02%, 0.84%, 0.70%, 1.26%, 1.36%, 0.69%, 0.88%, 1.42%, 1.58%, and 1.79%, respectively. The classification results of partial least squares-discriminant analysis were basically consistent with those of cluster analysis. Formononetin (VIP = 1.575), scopolin (VIP = 1.516), calycosin 7-*O*- $\beta$ -*D*-glucopyranoside (VIP = 1.223) and puerarin (VIP = 1.095) may be the main potential marker affecting the quality of Shiwei Jiangtang Granules. **Conclusion** The established HPLC method is convenient and accurate, which can be used for multi-index quality control for Shiwei Jiangtang Granules.

**Key words:** Shiwei Jiangtang Granules; calycosin 7-*O*- $\beta$ -*D*-glucopyranoside; formononetin; neomangiferin; HPLC; cluster analysis; partial least squares discriminant analysis

十味降糖颗粒由黄芪、知母、葛根、地骨皮、人参、五味子、天花粉、山药和鸡内金组方而成，主要用于对倦怠乏力、自汗盗汗、气短懒言、口渴喜饮、五心烦热、心悸失眠、溲赤便秘、舌红少津、舌体胖大、苔薄或花剥、脉弦细或细数的非胰岛素依赖型糖尿病中气阴两虚证的治疗。方中黄芪、葛根益气滋阴、生津止渴，合为君药；知母清热泻火、滋阴润燥，人参、五味子补气固脱、益气生津，山药、天花粉生津补肾，合为臣药；地骨皮凉血除蒸、清肺降火，鸡内金健胃消食、涩精止遗，合为佐使药。现代研究表明十味降糖颗粒能够上调糖尿病大鼠肝脏腺苷酸活化蛋白激酶  $\alpha$  的表达，抑制肾脏结缔组织生长因子的表达，调节机体糖脂代谢，还可以降低糖尿病肾病早期尿微量白蛋白值，缓解肾脏肥大趋势和体质量降低，降低糖尿病肾病血肌酐、尿素含量，对肝肾起到保护作用<sup>[1-4]</sup>。十味降糖颗粒的现行质量标准<sup>[5]</sup>和文献报道<sup>[6-7]</sup>仅对葛根素进行测定。本实验以十味降糖颗粒君药黄芪中主要成分毛蕊异黄酮葡萄糖苷、芒柄花素，葛根中特征成分 3'-羟基葛根素、葛根素和 3'-甲氧基葛根素，臣药知母中药效成分新芒果苷、芒果苷和异芒果苷，佐药地骨皮中所含东莨菪素和东莨菪苷为定量控制目标成分，采用 HPLC 法联合化学计量学建立十味降糖颗粒中多指标成分质量评价模式，为提升十味降糖颗粒的质量控制水平、稳定产品质量和确保临床疗效一致性提供参考依据。

## 1 仪器与试药

安捷伦 1100 型高效液相色谱仪(安捷伦公司)、LC-2030 型高效液相色谱仪(岛津公司); A UW2200 型电子天平(岛津公司); KQ-100DA 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

毛蕊异黄酮葡萄糖苷(批号 111920-201907, 质

量分数 96.8%)、芒果苷(批号 111607-201704, 质量分数 98.1%)和葛根素(批号 110752-201816, 质量分数 95.4%)对照品均购自中国食品药品检定研究院; 芒柄花素(批号 PRF8091225, 质量分数 99.9%)、新芒果苷(批号 PRF9070941, 质量分数 99.0%)、异芒果苷(批号 PRF9092642, 质量分数 99.8%)、3'-羟基葛根素(批号 PRF9092002, 质量分数 98.0%)、3'-甲氧基葛根素(批号 PRF9092003, 质量分数 97.1%)、东莨菪素(批号 PRF9102221, 质量分数 99.9%)和东莨菪苷(批号 PRF8042028, 质量分数 99.4%)对照品均购自成都普瑞法科技开发有限公司; 乙腈、甲酸色谱级, 其余试剂为分析纯; 十味降糖颗粒购自吉林吉春制药股份有限公司, 规格 6 g/袋, 批号分别为 201102、201103、201205、201206、201215、201219、210406、210501、210504、211101、211109、211202, 编号分别为 S1~S12。

## 2 方法与结果

### 2.1 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、新芒果苷、芒果苷、异芒果苷、3'-羟基葛根素、葛根素、3'-甲氧基葛根素、东莨菪素、东莨菪苷对照品各适量, 用甲醇制成含各成分 0.394、0.686、2.470、1.256、0.112、0.798、3.092、0.610、0.086、0.154 mg/mL 的混合对照品溶液贮备液。精密吸取该贮备液 1.0 mL, 用甲醇稀释 20 倍, 得混合对照品溶液(含毛蕊异黄酮葡萄糖苷、芒柄花素、新芒果苷、芒果苷、异芒果苷、3'-羟基葛根素、葛根素、3'-甲氧基葛根素、东莨菪素、东莨菪苷 19.7、34.3、123.5、62.8、5.6、39.9、154.6、30.5、4.3、7.7  $\mu\text{g/mL}$ )。

### 2.2 供试品溶液的制备

取十味降糖颗粒, 研细, 精密称定 2.0 g, 置 25

mL 量瓶中, 加甲醇 20 mL, 于 60 °C 进行 30 min 的超声处理, 取出, 放冷, 用甲醇加至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。按十味降糖颗粒的质量标准项下处方和制法分别制备缺黄芪、缺知母、缺葛根、缺地骨皮的阴性样品, 同法制备相应的阴性样品溶液。

### 2.3 色谱条件和系统适用性

SepaxBio C<sub>18</sub> 色谱柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相为乙腈 (A) - 0.1% 甲酸 (B), 梯度洗脱 (0~10 min, 12.0% A; 10~17 min, 12.0%→17.0% A; 17~29 min, 17.0%→35.0% A; 29~45 min, 35.0%→65.0% A; 45~62 min, 65.0%→72.0% A; 62~75 min, 72.0%→12.0% A); 检测波长 254 nm (0~45 min 测定毛蕊异黄酮葡萄糖苷、芒柄花素、新芒果苷、芒果苷、异芒果苷、3'-羟基葛根素、葛根素、3'-甲氧基葛根素) [18-16]、346 nm (45~75 min 测定东莨菪素和东莨菪苷) [17-18]; 柱温 30 °C; 体积

流量 1.0 mL/min; 进样 10 μL。理论板数以各成分色谱峰计均大于 5 500。

### 2.4 专属性试验

依法进样混合对照品溶液、十味降糖颗粒供试品溶液和各阴性样品溶液, 记录色谱图 (图 1)。结果十味降糖颗粒供试品溶液中 10 种成分与相邻色谱峰分离良好, 分离度和拖尾因子均符合规定; 阴性供试品溶液对十味降糖颗粒中 10 种成分的同时测定无干扰。

### 2.5 线性回归试验

精密吸取混合对照品溶液贮备液 0.1、0.2、0.5、1.0、2.0、5.0 mL, 置不同的 20 mL 量瓶中, 用甲醇定容制成 6 个混合对照品溶液, 依法进样, 以毛蕊异黄酮葡萄糖苷、芒柄花素、新芒果苷、芒果苷、异芒果苷、3'-羟基葛根素、葛根素、3'-甲氧基葛根素、东莨菪素和东莨菪苷峰面积对质量浓度进行线性回归, 结果见表 1。

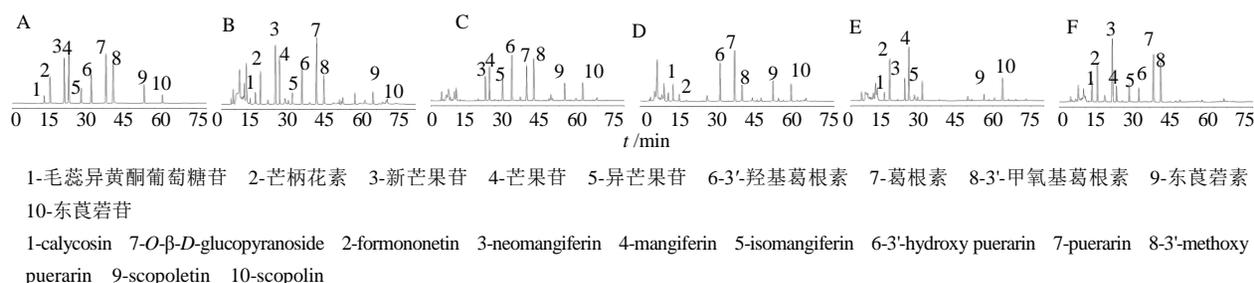


图 1 混合对照品 (A)、十味降糖颗粒 (B)、缺黄芪阴性样品 (C)、缺知母阴性样品 (D)、缺葛根阴性样品 (E) 和缺地骨皮阴性样品 (F) 的 HPLC 图谱

Fig. 1 HPLC chromatograms of mixed reference substances (A), Shiwai Jiangtang Granules (B), negative sample without *Astragali Radix* (C), negative sample without *Anemarrhenae Rhizoma* (D), negative sample without *Puerariae Lobatae Radix* (E), and negative sample without *Lycii Cortex* (F)

表 1 10 个成分的线性关系和范围

Table 1 Linearity and range of 10 reference substances

化合物	回归方程	r	线性范围/(μg·mL <sup>-1</sup> )
毛蕊异黄酮葡萄糖苷	$A=1.14 \times 10^6 C-1400$	0.999 1	1.97~98.50
芒柄花素	$A=1.96 \times 10^6 C-957$	0.999 3	3.43~171.50
新芒果苷	$A=1.86 \times 10^6 C-598$	0.999 5	12.35~617.50
芒果苷	$A=2.36 \times 10^6 C+419$	0.999 3	6.28~314.00
异芒果苷	$A=1.05 \times 10^6 C-1134$	0.999 4	0.56~28.00
3'-羟基葛根素	$A=2.07 \times 10^6 C+239$	0.999 1	3.99~199.50
葛根素	$A=1.67 \times 10^6 C+1330$	0.999 5	15.46~773.00
3'-甲氧基葛根素	$A=1.43 \times 10^6 C-830$	0.999 2	3.05~152.50
东莨菪素	$A=6.57 \times 10^6 C+636$	0.999 3	0.43~21.50
东莨菪苷	$A=9.00 \times 10^5 C-1050$	0.999 4	0.77~38.50

## 2.6 精密度试验

取十味降糖颗粒(批号 201102)适量,制备供试品溶液,重复进样 6 次,计算得毛蕊异黄酮葡萄糖苷、芒柄花素、新芒果苷、芒果苷、异芒果苷、3'-羟基葛根素、葛根素、3'-甲氧基葛根素、东莨菪素和东莨菪苷峰面积的 RSD 值分别为 1.32%、1.10%、0.97%、1.05%、1.56%、1.44%、0.53%、1.09%、1.61%、1.58%。

## 2.7 重复性试验

取十味降糖颗粒(批号 201102)6 份适量,制备供试品溶液,进样分析,计算得毛蕊异黄酮葡萄糖苷、芒柄花素、新芒果苷、芒果苷、异芒果苷、3'-羟基葛根素、葛根素、3'-甲氧基葛根素、东莨菪素和东莨菪苷的质量分数分别为 0.281、0.535、1.741、0.892、0.083、0.615、2.316、0.453、0.048、0.121 mg/g, RSD 值分别为 1.57%、1.49%、1.02%、1.43%、1.86%、1.57%、0.90%、1.38%、1.91%、1.76%。

## 2.8 稳定性试验

取十味降糖颗粒(批号 201102)适量,制备供试品溶液,室温放置,于制备后 0、2、6、12、18、24 h 依法进样,计算得毛蕊异黄酮葡萄糖苷、芒柄花素、新芒果苷、芒果苷、异芒果苷、3'-羟基葛根素、葛根素、3'-甲氧基葛根素、东莨菪素和东莨菪

苷峰面积的 RSD 值分别为 1.29%、1.14%、1.05%、1.10%、1.58%、1.42%、0.56%、1.12%、1.64%、1.53%,表明十味降糖颗粒供试品溶液 24 h 稳定。

## 2.9 回收率试验

取十味降糖颗粒 9 份适量,研细,每份精密称定 1.0 g,均分成 3 组,精密加入混合对照品溶液(含毛蕊异黄酮葡萄糖苷、芒柄花素、新芒果苷、芒果苷、异芒果苷、3'-羟基葛根素、葛根素、3'-甲氧基葛根素、东莨菪素、东莨菪苷分别为 0.281、0.536、1.747、0.889、0.083、0.612、2.297、0.453、0.048、0.121 mg/mL) 0.8、1.0、1.2 mL,制备供试品溶液,依法测定,计算得 10 种成分的平均回收率分别为 98.54%、99.63%、100.09%、98.94%、97.11%、99.72%、100.06%、98.71%、96.97%、97.84%, RSD 值分别为 1.02%、0.84%、0.70%、1.26%、1.36%、0.69%、0.88%、1.42%、1.58%、1.79%。

## 2.10 样品测定

取 12 批十味降糖颗粒(编号 S1~S12),制备供试品溶液,依法进样分析,采用外标法计算十味降糖颗粒中毛蕊异黄酮葡萄糖苷、芒柄花素、新芒果苷、芒果苷、异芒果苷、3'-羟基葛根素、葛根素、3'-甲氧基葛根素、东莨菪素、东莨菪苷的质量分数,结果见表 2。

表 2 十味降糖颗粒中毛蕊异黄酮葡萄糖苷、芒柄花素、新芒果苷、芒果苷、异芒果苷、3'-羟基葛根素、葛根素、3'-甲氧基葛根素、东莨菪素、东莨菪苷的测定结果 ( $n=3$ )

Table 2 Determination of calycosin 7-O- $\beta$ -D-glucopyranoside, formononetin, neomangiferin, mangiferin, isomangiferin, 3'-hydroxy puerarin, puerarin, 3'-methoxy puerarin, scopoletin, and scopolin in Shiwei Jiangtang Granules ( $n=3$ )

编号	质量分数/(mg·g <sup>-1</sup> )									
	毛蕊异黄酮葡萄糖苷	芒柄花素	新芒果苷	芒果苷	异芒果苷	3'-羟基葛根素	葛根素	3'-甲氧基葛根素	东莨菪素	东莨菪苷
S1	0.279	0.532	1.743	0.895	0.082	0.617	2.319	0.451	0.047	0.119
S2	0.335	0.565	2.027	0.991	0.075	0.582	2.135	0.489	0.053	0.137
S3	0.278	0.705	1.652	0.866	0.078	0.481	2.369	0.537	0.063	0.135
S4	0.307	0.632	1.932	0.915	0.080	0.549	2.288	0.500	0.060	0.146
S5	0.281	0.497	1.838	0.940	0.073	0.514	2.196	0.374	0.052	0.108
S6	0.299	0.741	1.463	0.808	0.076	0.446	2.427	0.589	0.070	0.133
S7	0.292	0.412	0.942	0.761	0.070	0.353	1.906	0.411	0.076	0.085
S8	0.272	0.339	0.907	0.711	0.067	0.324	1.846	0.423	0.078	0.092
S9	0.266	0.374	0.808	0.738	0.065	0.370	1.808	0.393	0.068	0.070
S10	0.253	0.953	2.597	1.216	0.108	0.730	2.916	0.719	0.039	0.100
S11	0.236	0.991	2.811	1.192	0.111	0.867	3.031	0.697	0.043	0.115
S12	0.227	0.851	2.904	1.166	0.106	0.798	2.853	0.647	0.038	0.076

### 2.11 化学计量学质量评价

**2.11.1 聚类分析 (CA)** 运用 SPSS 26.0 软件对 12 批十味降糖颗粒中毛蕊异黄酮葡萄糖苷、芒柄花素、新芒果苷、芒果苷、异芒果苷、3'-羟基葛根素、葛根素、3'-甲氧基葛根素、东莨菪素和东莨菪苷的测定数据进行 CA, 将表 2 中数据导入统计软件中, 采用平均联接法, 以 Euclidean 距离为测度, 得 CA 图 (图 2)。结果显示, 当 Euclidean 距离为 15 时, 12 批十味降糖颗粒聚为 3 类, S7~S9 聚为第 I 类, S1~S6 聚为第 II 类, S10~S12 聚为第 III 类。

**2.11.2 主成分分析 (PCA)** 将表 2 中测定数据导入 SPSS 26.0 统计软件对进行降维分析, 得各主成分特征值和方差贡献率 (表 3)、成分矩阵 (表 4)。由表 3 可知前 2 个主成分特征值大于 1, 即 7.544、1.555, 对方差的贡献率分别为 75.444%、15.550%, 累积方差贡献率为 90.994%, 大于 85%, 表明选取前 2 个主成分即可代表十味降糖颗粒 90.994% 的信息量。表 4 主成分矩阵可以看出第一主成分的信息来自芒柄花素、新芒果苷、芒果苷、异芒果苷、3'-

羟基葛根素、葛根素、3'-甲氧基葛根素、东莨菪素的综合, 第二主成分的信息来自毛蕊异黄酮葡萄糖苷、东莨菪苷的信息。同时使用统计软件 SIMCA 14.1 建立 PCA 模型, 12 批十味降糖颗粒 PCA 得分图 (图 3) 共提取出 2 个主成分  $R^2_x$  为 0.754, 大于 0.5, 所建立的模型稳定性较高。从图 3 可以看出, S1~S6、S7~S9、S10~S12 分别呈现一定关联性。

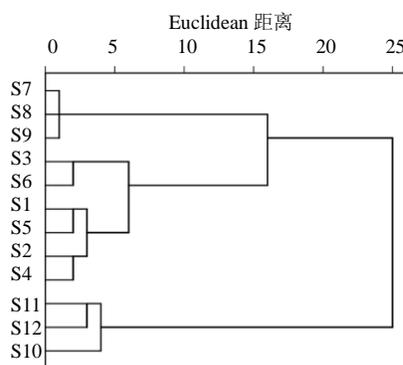


图 2 十味降糖颗粒 CA 图

Fig. 2 Dendrogram for CA for Shiwei Jiangtang Granules

表 3 十味降糖颗粒中主成分方差分析

Table 3 Principal component analysis of variance in Shiwei Jiangtang Granules

主成分	初始特征值			提取荷载平方和		
	特征值	方差贡献率/%	累积方差贡献率/%	特征值	方差贡献率/%	累积方差贡献率/%
1	7.544	75.444	75.444	7.544	75.444	75.444
2	1.555	15.550	90.994	1.555	15.550	90.994
3	0.590	5.896	96.890			
4	0.171	1.715	98.605			
5	0.050	0.502	99.106			
6	0.038	0.383	99.489			
7	0.020	0.198	99.687			
8	0.018	0.176	99.863			
9	0.011	0.113	99.977			
10	0.002	0.023	100.000			

**2.11.3 偏最小二乘法 - 判别分析 (PLS-DA)** PLS-DA 通过对数据的分析能够查找出引起产品质量差异的特征成分, 将表 2 中数据导入 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 ( $R^2_x$ 、 $R^2_y$ ) 分别为 0.940、0.864 (大于 0.5), 预测能力参数  $Q^2$  为 0.693, 所建立的模型稳定可靠、预测能力强。

对建立的 PLS-DA 模型进行 200 次置换检验,

得图 5。结果显示  $R^2$  拟合直线 Y 轴截距为 0.166, 小于 0.3, 表明所建立的 PLS-DA 模型结果可靠;  $Q^2$  拟合直线 Y 轴截距为 -0.171 (小于 0), 表明所构建的 PLS-DA 模型不存在过度拟合, 预测能力好, 可有效判别 12 批十味降糖颗粒的质量差异。根据变量重要性投影 (VIP) 值筛选影响药物炮制前后组方十味降糖颗粒化学成分差异的标志性成分 (图 6), 结果  $VIP > 1$  的有 4 个成分, 即成分 3 (芒柄花素,

表 4 十味降糖颗粒中 10 种成分的成分矩阵

Table 4 Composition matrix of 10 ingredients in Shiwei Jiangtang Granules

成分	主成分	
	1	2
毛蕊异黄酮葡萄糖苷	-0.592	0.743
芒柄花素	0.940	0.155
新芒果苷	0.962	0.137
芒果苷	0.965	0.032
异芒果苷	0.984	-0.107
3'-羟基葛根素	0.966	0.045
葛根素	0.980	0.057
3'-甲氧基葛根素	0.896	0.066
东莨菪素	-0.886	-0.014
东莨菪苷	0.067	0.969

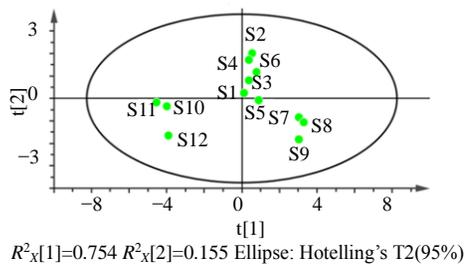


图 3 十味降糖颗粒样品 PCA 得分图

Fig. 3 Score plot of PCA for Shiwei Jiangtang Granules

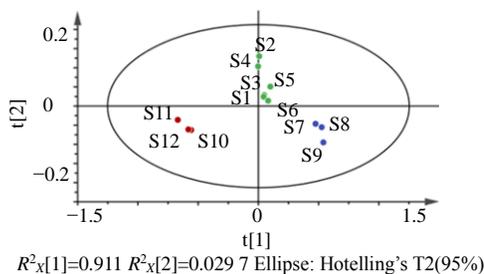


图 4 十味降糖颗粒的 PLS-DA 模型得分图

Fig. 4 Score plot of PLS-DA of Shiwei Jiangtang Granules

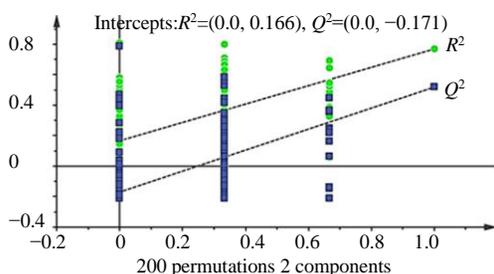


图 5 PLS-DA 置换检测结果

Fig. 5 Permutation plot of PLS-DA

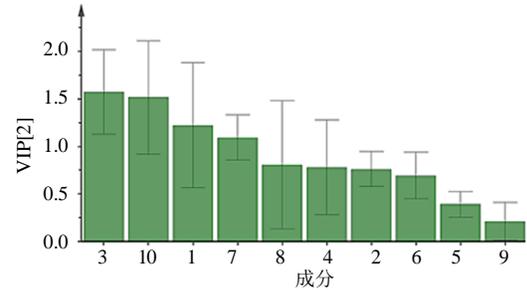


图 6 十味降糖颗粒样品的 VIP 图

Fig. 6 VIP values of samples of Shiwei Jiangtang Granules

VIP=1.575)、成分 10 (东莨菪苷, VIP=1.516)、成分 1 (毛蕊异黄酮葡萄糖苷, VIP=1.223)、成分 7 (葛根素, VIP=1.095) 对十味降糖颗粒样品质量的影响较大, 可能是影响十味降糖颗粒产品质量的主要潜在标志物。

### 3 讨论

#### 3.1 流动相的确定

实验首先以乙腈 - 0.1% 甲酸<sup>[8,10]</sup>、乙腈 - 0.1% 磷酸<sup>[18]</sup>、乙腈 - 0.1% 冰醋酸<sup>[12]</sup>、甲醇 - 0.1% 甲酸<sup>[17]</sup>和甲醇 - 0.1% 磷酸<sup>[9]</sup>作为流动相, 以十味降糖颗粒中毛蕊异黄酮葡萄糖苷、芒柄花素、新芒果苷、芒果苷、异芒果苷、3'-羟基葛根素、葛根素、3'-甲氧基葛根素、东莨菪素、东莨菪苷的灵敏度、分离效果和基线平稳情况为指标进行考察, 结果发现流动相乙腈 - 0.1% 甲酸为最优, 最终以乙腈 - 0.1% 甲酸溶液为流动相进行十味降糖颗粒中毛蕊异黄酮葡萄糖苷、芒柄花素、新芒果苷、芒果苷、异芒果苷、3'-羟基葛根素、葛根素、3'-甲氧基葛根素、东莨菪素、东莨菪苷的同时检测。

#### 3.2 供试品溶液制备方法的确定

本实验在制备十味降糖颗粒供试品溶液时, 分别考察了 3 种常用溶剂水、甲醇和乙醇, 结果发现甲醇的提取效果较好, 进而采用超声和回流的方式, 提取不同时间: 10、20、30、40 min, 结果发现超声提取 30 min 时各成分的提取效率较高, 实验接着对超声提取的温度 (室温、40、50、60、70 °C) 进行了摸索, 发现采用甲醇 60 °C 条件下超声 30 min 为最佳提取条件, 最终确定在 60 °C 条件下甲醇超声处理 30 min 为十味降糖颗粒供试品提取方法。

本实验采用 HPLC 法同时检测十味降糖颗粒中毛蕊异黄酮葡萄糖苷、芒柄花素、新芒果苷、芒果苷、异芒果苷、3'-羟基葛根素、葛根素、3'-甲氧基葛根素、东莨菪素、东莨菪苷, 同时结合化学计量学对测定数据进行综合评价, 挖掘出对产品质量影

响较大的成分为芒柄花素、东莨菪苷、毛蕊异黄酮葡萄糖苷和葛根素,提示药企在生产时关注相应原药材的质量,从而提高产品品质,稳定药品疗效。本实验所建立的方法准确易行,为十味降糖颗粒多指标成分质量控制方法的制订提供参考。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

#### 参考文献

- [1] 蔡彬,张东彦,栾思琦,等. 十味降糖散对糖尿病大鼠肝脏、脂肪 AMPK $\alpha$  和肾 CTGF 因子表达的调节 [J]. 中国兽医杂志, 2020, 57(3): 84-89.
- [2] 张东彦,熊骏仪,曾浩然,等. 十味降糖散对糖尿病肾病大鼠肾脏的保护作用 [J]. 中国兽医杂志, 2018, 54(3): 88-90.
- [3] 张东彦. 十味降糖散对糖尿病肾病大鼠肾脏的保护作用及对肾组织 CTGF 表达的影响 [D]. 重庆: 西南大学, 2018.
- [4] 栾司琦. 十味降糖散对糖尿病大鼠糖脂代谢、抗氧化作用及对肝脏、脂肪 AMPK $\alpha$  表达的影响 [D]. 重庆: 西南大学, 2018.
- [5] 国家药品标准 WS-10559 (ZD-0559) -2002-2012Z [S].
- [6] 丁爱英,李艳茹,曲佳,等. 十味降糖胶囊葛根中葛根素的 HPLC 含量测定 [J]. 齐鲁药事, 2009, 28(1): 22-23.
- [7] 杜伟奇,施秀芳,张文博,等. 高效液相色谱法测定十味降糖泡腾颗粒中葛根素的含量 [J]. 新乡医学院学报, 2011, 28(6): 719-720.
- [8] 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.
- [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] 刘蓬蓬,张凡,史辑,等. UPLC-MS/MS 法测定不同温度定向炮制黄芪中 8 种苷类和 4 种苷元成分的含量 [J]. 中国药房, 2020, 31(3): 287-293.
- [11] 相晓辰,许丹华. 知母不同炮制品 HPLC 指纹图谱及化学模式识别研究 [J]. 中国药师, 2021, 24(6): 1186-1192.
- [12] 张闯,周伟伟,刘兴超,等. 一测多评法同时测定尖叶假龙胆中龙胆苦苷,芒果苷,当药醇苷,木犀草素,去甲基雏菊叶龙胆酮及雏菊叶龙胆酮 [J]. 中草药, 2021, 52(15): 4675-4680.
- [13] 陶明爽,赵晨光,张青青,等. 不同等级种苗对知母药材产量和质量的影响 [J]. 时珍国医国药, 2020, 31(11): 2749-2751.
- [14] 李宗民,朱浩东,于丹,等. 基于多元统计学分析葛根指纹图谱研究 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2020, 22(11): 50-53.
- [15] 庞会娜,范琳,肖凤琴,等. 指纹图谱结合化学计量法对葛根抗氧化活性部位的药效物质筛选 [J]. 中国药房, 2021, 32(7): 839-844.
- [16] 韩晓珂,梁朝锋,秦亚东,等. 葛根与粉葛 HPLC 特征图谱差异性研究 [J]. 中药材, 2020, 43(11): 2724-2728.
- [17] 杨媛媛,谢志民,胡静,等. 3 种丁公藤属植物中 8 个成分的含量测定 [J]. 中南药学, 2020, 18(6): 982-985.
- [18] 胡静,崔小敏,杨媛媛,等. HPLC 法同时测定大果飞蛾藤中 8 种成分 [J]. 中成药, 2020, 42(3): 666-670.

[责任编辑 解学星]