

基于 HPLC 多指标成分联合化学计量学的血速升颗粒质量评价

王新晓, 惠文其, 张迪, 陈云飞, 李昕沛*

西安市第五医院 & 陕西中医药大学附属中西医结合医院 药学部, 陕西 西安 710082

摘要: 目的 建立血速升颗粒的质量评价方法。方法 采用高效液相色谱法同时测定血速升颗粒中牡荆素葡萄糖苷、牡荆素鼠李糖苷、牡荆素、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、芒柄花苷、美迪紫檀素、淫羊藿苷、宝藿苷 I、阿魏酸松柏酯、藁本内酯 10 种成分, 并采用化学计量学综合分析数据。结果 10 种成分分别在各自范围内线性关系良好 ($r \geq 0.999 1$), 平均回收率在 96.86%~100.20% ($n=9$)。16 批血速升颗粒样品聚为 3 类; 牡荆素鼠李糖苷、藁本内酯、阿魏酸松柏酯、毛蕊异黄酮葡萄糖苷和淫羊藿苷是影响血速升颗粒产品质量的主要成分。结论 熵权优劣解距离 (EW-TOPSIS) 法结果为生产企业评价产品质量优劣提供了数据支持, 所建立的方法可用于血速升颗粒的综合质量评价。

关键词: 血速升颗粒; 牡荆素葡萄糖苷; 牡荆素; 藁本内酯; 高效液相色谱; 化学计量学; 熵权优劣解距离法

中图分类号: R286.02 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2022)11-2482-08

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2022.11.009

Quality evaluation of Xuesusheng Granules based on HPLC multi-index components combined with chemometrics

WANG Xin-xiao, HUI Wen-qi, ZHANG Di, CHEN Yun-fei, LI Xin-pei

Department of Pharmacy, Xi'an No.5 Hospital, & Chinese and Western Medicine Hospital TCM-integrated Hospital Affiliated to Shaanxi University of Chinese Medicine, Xi'an 710082, China

Abstract: Objective To establish quality evaluation of Xuesusheng Granules. **Methods** The contents of vitexin-4"-O-glucoside, rhamnosylvitexin, vitexin, calycosin 7-O- β -D-glucopyranoside, ononin, medicarpin, icariin, baohuoside I, coniferyl ferulate, and ligustilide in Xuesusheng Granules were determined by HPLC method. The content data were analyzed by chemometrics method. **Results** The 10 components had good linear relationships within their respective ranges ($r \geq 0.999 1$), and the average recovery rate was 96.86%—100.20% ($n=9$). Statistical analysis showed that 16 batches of samples were clustered into 3 groups. Rhamnosylvitexin, ligustilide, coniferyl ferulate, calycosin 7-O- β -D-glucopyranoside, and icariin were the main potential markers affecting the quality of Xuesusheng Granules. **Conclusion** The results of EW-TOPSIS method pointed out the data support for the production enterprises to analyze the quality of products. The established method can be used for the comprehensive evaluation of the quality of Xuesusheng Granules.

Key words: Xuesusheng Granules; vitexin-4"-O-glucoside; vitexin; ligustilide; HPLC; chemometrics; EW-TOPSIS

血速升颗粒由黄芪、当归、山楂、鸡血藤、淫羊藿和阿胶组方而成, 具有益气温阳、养血活血的功效, 用于气血亏虚引起的贫血、各种失血^[1]。血速升颗粒改善血细胞成分、治疗肿瘤相关性贫血的疗效显著^[2-3]。血速升颗粒收载于《卫生部药品标准中药成方制剂第十七册》, 质量标准未对其中活性成分进行测定。血速升颗粒组方繁杂, 所含化学成分较多, 干扰成分较多, 因此, 建立一个科学、全面的质量评价方法对血速升颗粒的质量进行全面、

准确地评价具有重要的现实意义。方中黄芪和当归为君药, 益气养血; 阿胶和鸡血藤为臣药, 补血养血; 佐使药为淫羊藿和山楂, 其中淫羊藿补肾壮阳, 山楂佐阿胶, 补而不滞, 全方共奏益气、补血、活血之功。本实验以君药为首选, 兼顾臣、佐、使药, 以君药黄芪、当归, 臣药阿胶、鸡血藤, 佐使药山楂、淫羊藿为研究对象, 分析它们所含活性成分, 其中山楂所含成分为牡荆素葡萄糖苷、牡荆素鼠李糖苷和牡荆素^[5], 黄芪和鸡血藤所含成分为毛蕊异

收稿日期: 2022-09-05

基金项目: 陕西省科技计划项目 (2022JQ-898)

作者简介: 王新晓 (1982—), 女, 主管药师, 本科, 主要从事医院药学研究。

*通信作者: 李昕沛 (1988—), 女, 主管药师, 硕士, 主要从事药物质量评价、临床药学及医院药学研究。E-mail: uiio49@163.com

黄酮葡萄糖苷、芒柄花苷和美迪紫檀素^[6-7], 淫羊藿所含成分为淫羊藿苷、宝藿苷 I^[8], 当归所含成分为阿魏酸松柏酯、藁本内酯^[9]。本实验采用 HPLC 法对血速升颗粒中 10 种成分进行测定, 并通过化学计量学评价其质量, 以期对血速升颗粒的整体质量控制提供实验数据。

1 仪器与试剂

Agilent 1260 型高效液相色谱仪 (美国 Agilent 公司); XS105 型电子天平 (瑞士 Mettler-Toledo 公司); FQ-1024 型超声波清洗器 (杭州法兰特超声波科技有限公司)。

宝藿苷 I (批号 111852-202104, 质量分数 99.2%)、牡荆素 (批号 111687-202105, 质量分数 99.1%)、淫羊藿苷 (批号 110737-202017, 质量分数 98.1%)、毛蕊异黄酮葡萄糖苷 (批号 111920-201907, 质量分数 96.8%) 和牡荆素葡萄糖苷 (批号 111979-201501, 质量分数 92.8%) 对照品均购于中国食品药品检定研究院; 牡荆素鼠李糖苷 (批号 PRF7071344, 质量分数 99.8%)、芒柄花苷 (批号 PRF8081121, 质量分数 99.6%)、美迪紫檀素 (批号 PRF8030125, 含量 99.9%)、阿魏酸松柏酯 (批号 PRF9040921, 质量分数 91.3%) 和藁本内酯 (批号 PRF8070601, 质量分数 99.2%) 对照品均购于成都普瑞法科技开发有限公司; 乙腈、甲酸为色谱纯, 其余试剂为分析纯; 血速升颗粒购于河北永丰药业有限公司, 规格 10 g/袋, 批号分别为 7819100112、7819100212、7819100312、7819100412、7819120112、7819120212、7819120312、7819120412、7820040112、7820040312、7820090212、7820100512、7821050412、7821050512、7821060212、7821070212, 编号分别为 S1~S16。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

Agilent Extend C₁₈ 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相乙腈-0.2%甲酸, 梯度洗脱 (0~13 min, 17.0% A; 13~24 min, 17.0%→25.0% A; 24~38 min, 25.0%→30.0% A; 38~49 min, 30.0%→37.0% A; 49~59 min, 37.0%→40.0% A; 59~70 min, 40.0%→17.0% A); 检测波长: 350 nm (0~24 min, 检测牡荆素葡萄糖苷、牡荆素鼠李糖苷、牡荆素^[10-12]), 280 nm (24~70 min, 检测毛蕊异黄酮葡萄糖苷、芒柄花苷、美迪紫檀素、淫羊藿苷、宝藿苷 I、阿魏酸松柏酯、藁本内酯^[13-16]); 体积流量 1.0

mL/min; 柱温 30 °C; 进样量 10 μL。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液的制备 取牡荆素葡萄糖苷、牡荆素鼠李糖苷、牡荆素、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、芒柄花苷、美迪紫檀素、淫羊藿苷、宝藿苷 I、阿魏酸松柏酯、藁本内酯对照品适量, 用 70% 甲醇制成质量浓度分别为 0.192、1.350、0.084、0.270、0.118、0.062、0.654、0.358、0.472、0.296 mg/mL 的混合对照品母液, 再将该母液用 70% 甲醇稀释 20 倍得混合对照品溶液 (上述 10 种对照品质量浓度分别为 9.60、67.50、4.20、13.50、5.90、3.10、32.70、17.90、23.60、14.80 μg/mL)。

2.2.2 供试品溶液的制备 取血速升颗粒样品适量, 研成细粉, 精密称定约 0.6 g, 置 25 mL 量瓶中, 加 70% 甲醇适量, 超声处理 30 min, 放冷并用 70% 甲醇稀释至刻度, 摇匀, 经 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 取续滤液, 即得。按血速升颗粒的质量标准分别制备缺山楂、缺淫羊藿、缺当归、缺黄芪和鸡血藤的阴性样品, 同法制备相应的阴性样品溶液。

2.3 系统适用性实验

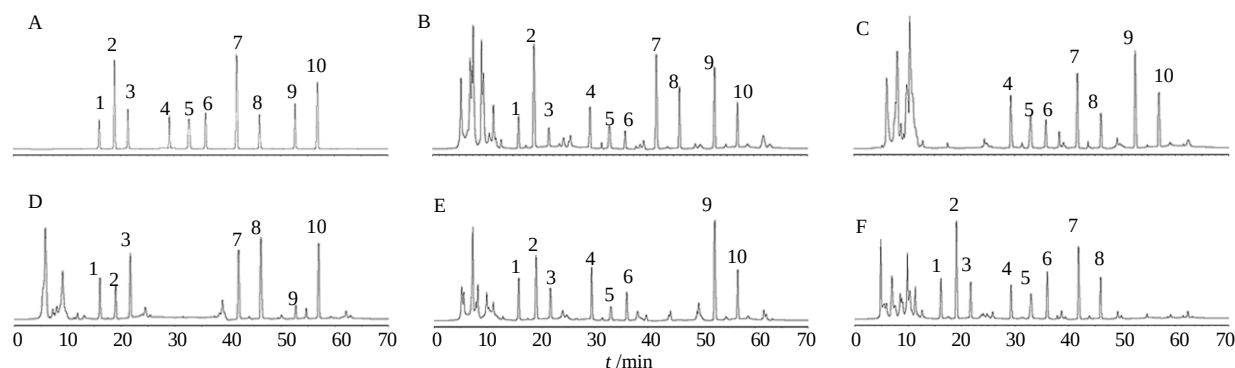
取混合对照品溶液和供试品溶液, 在上述色谱条件下进样检测, 记录色谱图, 见图 1。血速升颗粒供试品溶液中 10 种成分色谱峰峰形对称, 与相邻色谱峰的分离度均≥1.5, 在与对照品溶液色谱图相应保留时间处有相同的色谱峰。理论板数按淫羊藿苷计应不低于 5 500。

2.4 线性关系考察

精密吸取混合对照品母液 0.1、0.2、0.5、1.0、2.0、5.0 mL, 分别用 70% 甲醇定容至 20 mL, 摇匀制得线性系列工作溶液, 进样检测, 记录色谱图。以牡荆素葡萄糖苷、牡荆素鼠李糖苷、牡荆素、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、芒柄花苷、美迪紫檀素、淫羊藿苷、宝藿苷 I、阿魏酸松柏酯、藁本内酯的质量浓度为横轴, 峰面积为纵轴, 进行线性回归, 结果见表 1。

2.5 精密度试验

血速升颗粒样品 (编号 S1) 制备供试品溶液, 重复进样 6 次, 记录牡荆素葡萄糖苷、牡荆素鼠李糖苷、牡荆素、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、芒柄花苷、美迪紫檀素、淫羊藿苷、宝藿苷 I、阿魏酸松柏酯、藁本内酯的峰面积, 计算得其 RSD 值分别为 1.12%、0.53%、1.26%、1.08%、1.16%、1.33%、0.67%、0.99%、0.78%、1.02%。



1-牡荆素葡萄糖苷 2-牡荆素鼠李糖苷 3-牡荆素 4-毛蕊异黄酮葡萄糖苷 5-芒柄花苷 6-美迪紫檀素 7-淫羊藿苷 8-宝藿苷 I 9-阿魏酸松柏酯 10-藁本内酯
1-vitexin-4"-O-glucoside 2-rhamnosylvitexin 3-vitexin 4-calycosin 7-O-β-D-glucopyranoside 5-ononin 6-medicarpin 7-icariin 8-baohuoside I 9-coniferyl ferulate 10-ligustilide

图 1 混合对照品 (A)、血速升颗粒 (B)、缺山楂阴性样品 (C)、缺黄芪和鸡血藤阴性样品 (D)、缺淫羊藿阴性样品 (E) 和缺当归阴性样品 (F) 的 HPLC 图谱

Fig. 1 HPLC chromatograms of mixed reference substance (A), Xuesusheng Granules (B), negative sample without *Crataegi Fructus* (C), negative sample without *Astragali Radix* and *Spatholbi Caulis* (D), negative sample without *Epimedii Folium* (E), and negative sample without *Angelicae Sinensis Radix* (F)

表 1 各成分的线性关系

Table 1 Linear regression of each component

成分	回归方程	<i>r</i>	线性范围/(μg·mL ⁻¹)
牡荆素葡萄糖苷	$Y=3.570\ 9\times 10^6 X+1\ 002.7$	0.999 2	0.96~48.00
牡荆素鼠李糖苷	$Y=3.115\ 7\times 10^6 X+1\ 011.6$	0.999 6	6.75~337.50
牡荆素	$Y=2.389\ 2\times 10^6 X+465.4$	0.999 1	0.42~21.00
毛蕊异黄酮葡萄糖苷	$Y=4.165\ 8\times 10^6 X-654.3$	0.999 8	1.35~67.50
芒柄花苷	$Y=2.836\ 4\times 10^6 X+965.8$	0.999 5	0.59~29.50
美迪紫檀素	$Y=1.603\ 7\times 10^6 X+714.6$	0.999 7	0.31~15.50
淫羊藿苷	$Y=5.732\ 5\times 10^6 X-593.3$	0.999 6	3.27~163.50
宝藿苷 I	$Y=5.407\ 6\times 10^6 X-1\ 147.1$	0.999 4	1.79~89.50
阿魏酸松柏酯	$Y=6.143\ 1\times 10^6 X+980.5$	0.999 9	2.36~118.00
藁本内酯	$Y=4.511\ 9\times 10^6 X+691.8$	0.999 3	1.48~74.00

2.6 稳定性试验

取血速升颗粒 (编号 S1) 供试品溶液, 于制备后 0、2、4、7、12、18、24 h 进样测定, 记录牡荆素葡萄糖苷、牡荆素鼠李糖苷、牡荆素、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、芒柄花苷、美迪紫檀素、淫羊藿苷、宝藿苷 I、阿魏酸松柏酯、藁本内酯的峰面积, 计算得其 RSD 值分别为 1.14%、0.57%、1.25%、1.10%、1.18%、1.37%、0.69%、1.01%、0.81%、0.98%, 表明血速升颗粒供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.7 重复性试验

取血速升颗粒样品 (编号 S1) 6 份, 制备供试

品溶液, 进样测定峰面积值, 计算牡荆素葡萄糖苷、牡荆素鼠李糖苷、牡荆素、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、芒柄花苷、美迪紫檀素、淫羊藿苷、宝藿苷 I、阿魏酸松柏酯、藁本内酯的质量分数, 结果其 RSD 值分别为 1.67%、0.98%、1.72%、1.44%、1.50%、1.87%、1.27%、1.56%、1.18%、1.39%。

2.8 回收率试验

取血速升颗粒样品 (编号 S1) 9 份, 研成细粉, 每份精密称定 0.3 g, 分别加入混合对照品溶液 (牡荆素葡萄糖苷、牡荆素鼠李糖苷、牡荆素、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、芒柄花苷、美迪紫檀素、淫羊藿苷、

宝藿苣 I、阿魏酸松柏酯、藁本内酯质量浓度分别为 0.109、0.791、0.038、0.142、0.063、0.031、0.369、0.198、0.254、0.151 mg/mL) 0.8、1.0、1.2 mL, 制备供试品溶液, 进样测定, 计算得 10 种成分的平均回收率分别为 98.27%、96.86%、98.65%、98.40%、100.20%、97.74%、100.05%、97.36%、98.81%、97.91%, RSD 值分别为 1.21%、1.24%、1.33%、1.52%、1.12%、1.40%、1.63%、0.90%、1.22%、1.26%。

2.9 样品测定

取 16 批血速升颗粒样品 (S1~S16), 依法制备供试品溶液, 每批平行 3 份, 在上述色谱条件下进样分析, 采用外标法计算血速升颗粒中牡荆素葡萄糖苷、牡荆素鼠李糖苷、牡荆素、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、芒柄花苷、美迪紫檀素、淫羊藿苷、宝藿苣 I、阿魏酸松柏酯、藁本内酯的质量分数, 结果见表 2。

表 2 血速升颗粒中牡荆素葡萄糖苷、牡荆素鼠李糖苷、牡荆素、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、芒柄花苷、美迪紫檀素、淫羊藿苷、宝藿苣 I、阿魏酸松柏酯、藁本内酯的测定结果 ($n=3$)

Table 2 Determination results of vitexin-4''-O-glucoside, rhamnosylvitexin, vitexin, calycosin 7-O- β -D-glucopyranoside, ononin, medicarpin, icariin, baohuoside I, coniferyl ferulate, and ligustilide in Xuesusheng Granules ($n=3$)

编号	质量分数/(mg·g ⁻¹)									
	牡荆素葡萄糖苷	牡荆素鼠李糖苷	牡荆素	毛蕊异黄酮葡萄糖苷	芒柄花苷	美迪紫檀素	淫羊藿苷	宝藿苣 I	阿魏酸松柏酯	藁本内酯
S1	0.354	2.617	0.131	0.479	0.212	0.097	1.218	0.673	0.854	0.516
S2	0.410	2.409	0.119	0.552	0.230	0.109	1.314	0.635	0.908	0.661
S3	0.464	2.799	0.138	0.616	0.223	0.151	1.524	0.455	0.968	0.737
S4	0.392	2.674	0.125	0.545	0.253	0.131	1.399	0.525	1.131	0.595
S5	0.425	2.582	0.128	0.589	0.235	0.124	1.356	0.599	1.014	0.637
S6	0.350	2.478	0.117	0.433	0.176	0.107	1.255	0.561	0.797	0.534
S7	0.444	2.860	0.134	0.602	0.243	0.137	1.480	0.509	1.077	0.619
S8	0.373	2.739	0.122	0.534	0.277	0.145	1.440	0.486	1.189	0.553
S9	0.304	2.151	0.111	0.342	0.193	0.157	1.136	0.385	0.662	0.420
S10	0.313	2.250	0.114	0.337	0.216	0.134	1.181	0.441	0.687	0.455
S11	0.295	2.083	0.107	0.370	0.199	0.160	1.095	0.353	0.543	0.323
S12	0.306	2.040	0.103	0.282	0.185	0.141	1.053	0.403	0.600	0.296
S13	0.562	3.151	0.165	0.525	0.272	0.095	1.694	0.758	1.475	0.476
S14	0.521	3.291	0.173	0.403	0.338	0.081	1.653	0.797	1.531	0.576
S15	0.542	3.355	0.162	0.561	0.287	0.117	1.806	0.833	1.421	0.402
S16	0.582	3.421	0.177	0.464	0.328	0.088	1.749	0.946	1.591	0.497

2.10 化学计量学评价

2.10.1 聚类分析 (cluster analysis, CA) 将表 2 中 16 批血速升颗粒样品测定结果数据导入 SPSS 26.0 统计软件, 采用平均联接 (组间) 法, 以欧氏距离为测度进行 CA, 见图 2。结果显示, 当间距为 10 时, 16 批血速升颗粒样品聚为 3 类, 样品 S4、S8、S3、S7、S1、S6、S2、S5 聚为第 1 类, 样品 S9、S10、S11、S12 聚为第 2 类, 样品 S13、S14、S15、S16 聚为第 3 类。

2.10.2 主成分分析 (PCA) 将表 2 中 10 种成分测定结果数据导入 SPSS 26.0 统计软件, 采用降维

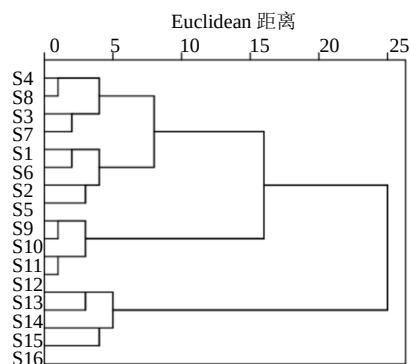


图 2 血速升颗粒样品聚类树状图

Fig. 2 Cluster tree of Xuesusheng Granules samples

的方式对主成分进行提取, 得各主成分特征值和方差贡献率(表 3)。可知前 2 个主成分特征值分别为 7.271、1.540(特征值大于 1), 方差贡献率分别为 72.715%、15.396%, 累积方差贡献率为 88.111%, 表明选取前 2 个主成分可代表血速升颗粒 88.111%

的信息量。同时使用统计软件 SIMCA 14.1 建立 PCA 模型, 16 批血速升颗粒样品 PCA 得分见图 3, 共提取出 2 个主成分 R^2_X 为 0.881, 大于 0.5, 所建立的模型稳定性较高。从图 3 可以看出, S1~S8、S9~S12、S13~S16 分别呈现一定关联性。

表 3 血速升颗粒中主成分方差分析

Table 3 Analysis of variance of principal components in Xuesusheng Granules

主成分	初始特征值			提取载荷平方和		
	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	7.271	72.715	72.715	7.271	72.715	72.715
2	1.540	15.396	88.111	1.540	15.396	88.111
3	0.648	6.479	94.590			
4	0.283	2.827	97.417			
5	0.132	1.323	98.740			
6	0.049	0.490	99.230			
7	0.039	0.388	99.618			
8	0.025	0.247	99.865			
9	0.010	0.099	99.964			
10	0.004	0.036	100.000			

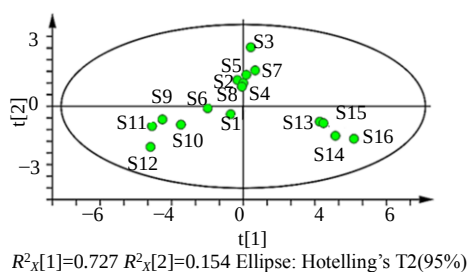


图 3 血速升颗粒 PCA 得分图

Fig. 3 PCA score chart for Xuesusheng Granules

2.10.3 正交偏最小二乘法-判别分析(OPLS-DA) 将表 2 中测定结果数据导入 SIMCA 14.1 统计软件, 启动 OPLS-DA 程序, 提取到 2 个主成分, 得 OPLS-DA 模型得分图(图 4), 结果累积解释能力参数 R^2_X 、 R^2_Y 分别为 0.961、0.897, 预测能力参数 Q^2 为 0.848, 均高于 0.5, 说明模型拟合度较好、稳定可靠、预测能力强。对建立的 OPLS-DA 模型进行 200 次置换检验(图 5), 结果显示 R^2 拟合直线 Y 轴截距为 0.222, 小于 0.3, 表明所建立的 OPLS-DA 模型结果可靠; Q^2 拟合直线 Y 轴截距为 -0.657(为负值), 表明所构建的 OPLS-DA 不存在过度拟合, 可有效判别分析 16 批血速升颗粒的质量差异。将能够引起组间差异的成分进行分析, VIP 图可反映出每个峰的贡献程度。经 OPLS-DA 模型拟合分析生成 VIP 图(图 6), 结果 $VIP > 1$ 的有 5 个成分, 即成分 2

(牡荆素鼠李糖苷, $VIP=1.489$)、成分 10(藁本内酯, $VIP=1.397$)、成分 9(阿魏酸松柏酯, $VIP=1.283$)、成分 4(毛蕊异黄酮葡萄糖苷, $VIP=1.084$)、成分 7(淫羊藿苷, $VIP=1.077$) 对血速升颗粒质量影响较大, 可能是影响血速升颗粒产品质量的差异标志物。

2.10.4 熵权 TOPSIS(EW-TOPSIS) 分析法 血速升颗粒中成分牡荆素葡萄糖苷、牡荆素鼠李糖苷、牡荆素、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、芒柄花苷、美迪紫檀素、淫羊藿苷、宝藿苷 I、阿魏酸松柏酯、藁本内酯的质量分数属于越大越优型指标。根据公式

$$x^*_{ij} = \frac{x_{ij} - \min(x_j)}{\max(x_j) - \min(x_j)} \text{ 对 16 批血速升颗粒中 10 种成}$$

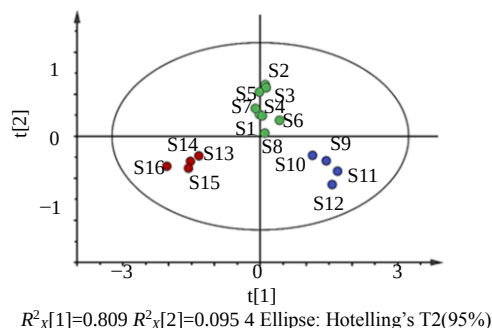


图 4 血速升颗粒样品的 OPLS-DA 模型得分图

Fig. 4 Score chart of OPLS-DA model for Xuesusheng Granules

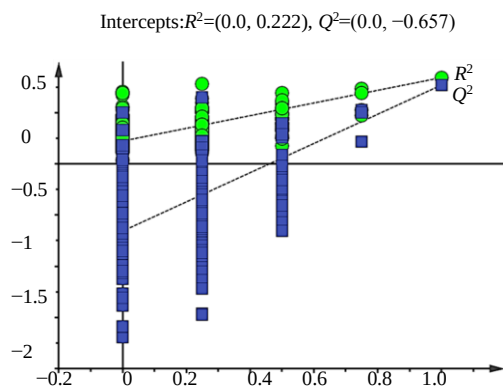


图 5 OPLS-DA 置换检测结果

Fig. 5 Results of OPLS-DA replacement detection

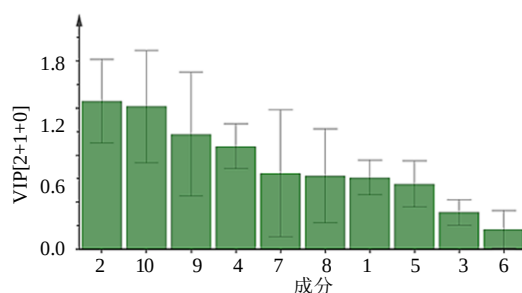


图 6 血速升颗粒样品的 VIP 图

Fig. 6 VIP images of Xuesusheng Granules

分数据进行归一化处理 (表 4)。

权重决定着各指标在样品评价中的重要性, 熵权法基于评价指标的信息熵大小和差异程度, 可以客观反映样品评价指标的重要性。以 OPLS-DA 分析中影响血速升颗粒成分差异的 VIP 值作为各指标权重 (W_j), 将形成的归一化后数据与各指标 W_j 相乘得加权决策矩阵[即 $Z = (x_{ij}^* \times W_j)_{mn}$], 见表 5。

根据加权决策矩阵得到最优方案 $Z^+ = \max(Z_1, Z_2, \dots, Z_m)$ 和最劣方案 $Z^- = \min(Z_1, Z_2, \dots, Z_m)$ 得 $Z^+ = \max(0.6800, 1.4890, 0.3570, 1.0840, 0.4740, 0.3330, 1.0770, 0.9620, 1.2830, 1.3970)$, Z^- 均为 0。根据最优与最劣方案, 按

$$D_i^+ = \sqrt{\sum_{j=1}^n (Z_{ij} - Z_j^+)^2}, D_i^- = \sqrt{\sum_{j=1}^n (Z_{ij} - Z_j^-)^2},$$

计算各批血速升颗粒样品与正理想解距离 (D_i^+), 与负理想解的距离 (D_i^-), 根据公式 $C_i = D_i^- / (D_i^+ + D_i^-)$ 计算最优解的欧氏贴近度 (C_i)。样品 D_i^+ 越小, D_i^- 越大, C_i 越大则被评价样品越优, 反之, 越差。16 批血速升颗粒药材根据 C_i 的大小排序, 结果见表 6。

表 4 各指标归一化处理结果

Table 4 Results of normalization treatment for each index

编号	归一化值									
	牡荆素葡萄糖苷	牡荆素鼠李糖苷	牡荆素	毛蕊异黄酮葡萄糖苷	芒柄花苷	美迪紫檀素	淫羊藿苷	宝藿苷 I	阿魏酸松柏酯	藁本内酯
S1	0.205 6	0.417 8	0.378 4	0.589 8	0.222 2	0.202 5	0.219 1	0.539 6	0.296 8	0.498 9
S2	0.400 7	0.267 2	0.216 2	0.808 4	0.333 3	0.354 4	0.346 6	0.475 5	0.348 3	0.827 7
S3	0.588 9	0.549 6	0.473 0	1.000 0	0.290 1	0.886 1	0.625 5	0.172 0	0.405 5	1.000 0
S4	0.338 0	0.459 1	0.297 3	0.787 4	0.475 3	0.632 9	0.459 5	0.290 1	0.561 1	0.678 0
S5	0.453 0	0.392 5	0.337 8	0.919 2	0.364 2	0.544 3	0.402 4	0.414 8	0.449 4	0.773 2
S6	0.191 6	0.317 2	0.189 2	0.452 1	0.000 0	0.329 1	0.268 3	0.350 8	0.242 4	0.539 7
S7	0.519 2	0.593 8	0.418 9	0.958 1	0.413 6	0.708 9	0.567 1	0.263 1	0.509 5	0.732 4
S8	0.271 8	0.506 2	0.256 8	0.754 5	0.623 5	0.810 1	0.513 9	0.224 3	0.616 4	0.582 8
S9	0.031 4	0.080 4	0.108 1	0.179 6	0.104 9	0.962 0	0.110 2	0.054 0	0.113 5	0.281 2
S10	0.062 7	0.152 1	0.148 6	0.164 7	0.246 9	0.670 9	0.170 0	0.148 4	0.137 4	0.360 5
S11	0.000 0	0.031 1	0.054 1	0.263 5	0.142 0	1.000 0	0.055 8	0.000 0	0.000 0	0.061 2
S12	0.038 3	0.000 0	0.000 0	0.000 0	0.055 6	0.759 5	0.000 0	0.084 3	0.054 4	0.000 0
S13	0.930 3	0.804 5	0.837 8	0.727 5	0.592 6	0.177 2	0.851 3	0.683 0	0.889 3	0.408 2
S14	0.787 5	0.905 9	0.945 9	0.362 3	1.000 0	0.000 0	0.796 8	0.748 7	0.942 7	0.634 9
S15	0.860 6	0.952 2	0.797 3	0.835 3	0.685 2	0.455 7	1.000 0	0.809 4	0.837 8	0.240 4
S16	1.000 0	1.000 0	1.000 0	0.544 9	0.938 3	0.088 6	0.924 3	1.000 0	1.000 0	0.455 8

表 5 加权矩阵

Table 5 Weighting matrix

编号	加权决策矩阵值									
	牡荆素葡萄糖苷	牡荆素鼠李糖苷	牡荆素	毛蕊异黄酮葡萄糖苷	芒柄花苷	美迪紫檀素	淫羊藿苷	宝藿苷 I	阿魏酸松柏酯	藁本内酯
S1	0.139 8	0.622 1	0.135 1	0.639 3	0.105 3	0.074 0	0.236 0	0.519 1	0.380 8	0.697 0
S2	0.272 5	0.397 9	0.077 2	0.876 3	0.158 0	0.123 3	0.373 3	0.457 4	0.446 9	1.156 3
S3	0.400 5	0.818 4	0.168 9	1.084 0	0.137 5	0.296 0	0.673 7	0.165 5	0.520 3	1.397 0
S4	0.229 8	0.683 6	0.106 1	0.853 5	0.225 3	0.213 8	0.494 9	0.279 1	0.719 9	0.947 2
S5	0.308 0	0.584 4	0.120 6	0.996 4	0.172 6	0.185 0	0.433 4	0.399 0	0.576 6	1.080 2
S6	0.130 3	0.472 3	0.067 5	0.490 1	0.000 0	0.115 1	0.289 0	0.337 5	0.311 0	0.754 0
S7	0.353 1	0.884 2	0.149 5	1.038 6	0.196 0	0.238 4	0.610 8	0.253 1	0.653 7	1.023 2
S8	0.184 8	0.753 7	0.091 7	0.817 9	0.295 5	0.271 3	0.553 5	0.215 8	0.790 8	0.814 2
S9	0.021 4	0.119 7	0.038 6	0.194 7	0.049 7	0.320 7	0.118 7	0.051 9	0.145 6	0.392 8
S10	0.042 6	0.226 5	0.053 1	0.178 5	0.117 0	0.226 1	0.183 1	0.142 8	0.176 3	0.503 6
S11	0.000 0	0.046 3	0.019 3	0.285 6	0.067 3	0.333 0	0.060 1	0.000 0	0.000 0	0.085 5
S12	0.026 0	0.000 0	0.000 0	0.000 0	0.026 4	0.254 9	0.000 0	0.081 1	0.069 8	0.000 0
S13	0.632 6	1.197 9	0.299 1	0.788 6	0.280 9	0.065 8	0.916 9	0.657 0	1.141 0	0.570 3
S14	0.535 5	1.348 9	0.337 7	0.392 7	0.474 0	0.008 2	0.858 2	0.720 2	1.209 5	0.887 0
S15	0.585 2	1.417 8	0.284 6	0.905 5	0.324 8	0.156 2	1.077 0	0.778 6	1.074 9	0.335 8
S16	0.680 0	1.489 0	0.357 0	0.590 7	0.444 8	0.037 0	0.995 5	0.962 0	1.283 0	0.636 8

表 6 血速升颗粒的质量评价排序

Table 6 Relative ordering of quality evaluation of Xuesusheng Granules

编号	D_i^+	D_i^-	C_i	排名
S1	1.923 7	1.343 5	0.411 2	11
S2	1.768 8	1.711 7	0.491 8	10
S3	1.434 1	2.199 8	0.605 4	5
S4	1.538 9	1.758 2	0.533 3	8
S5	1.569 6	1.830 6	0.538 4	7
S6	2.100 9	1.165 7	0.356 9	12
S7	1.363 7	2.002 6	0.594 9	6
S8	1.541 3	1.754 2	0.532 3	9
S9	2.725 8	0.588 7	0.177 6	14
S10	2.558 2	0.698 3	0.214 4	13
S11	2.964 2	0.452 8	0.132 5	15
S12	3.084 3	0.271 4	0.080 9	16
S13	1.052 9	2.351 2	0.690 7	3
S14	0.998 1	2.470 6	0.712 3	2
S15	1.143 6	2.532 8	0.688 9	4
S16	0.957 3	2.706 0	0.738 7	1

3 讨论

3.1 流动相的选择

选择流动相时,首先考察甲醇-水^[15]、乙腈-水^[17-18]两个基础流动相,发现乙腈-水系统相对较优,但牡荆素鼠李糖苷和芒柄花苷色谱峰拖尾严重,与相邻色谱峰不能完全分离,遂考察乙腈-0.1%甲酸溶液^[19-20]、乙腈-0.2%甲酸溶液^[13,16]、乙腈-0.1%磷酸溶液^[12]、乙腈-0.2%磷酸溶液^[14]对血速升颗粒供试品溶液色谱峰的影响。结果显示,乙腈-0.2%甲酸溶液作为流动相时,基线平稳,10种待测成分的响应值均较大、峰形、峰纯度最优。

3.2 供试品溶液制备方法的确定

在制备供试品溶液时,预试验比较了回流提取、超声提取两种提取方式。结果显示,70%甲醇作为提取溶剂时,两种方法提取效率差别较小。由于超声提取省时易操作,且有利于热不稳定物质溶出,所以采用超声提取法。通过对比50%乙醇^[18]、50%甲醇^[10]、70%甲醇^[10,16]、100%甲醇^[13]、水^[15]的提取效果,发现用70%甲醇提取时各成分提取率最高。最终以70%甲醇为溶剂、超声30 min作为血速升颗粒供试品溶液制备的提取方式。

3.3 检测波长的确定

本实验选择的 10 种指标性成分,即牡荆素葡萄糖苷、牡荆素鼠李糖苷、牡荆素、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、芒柄花苷、美迪紫檀素、淫羊藿苷、宝藿苷 I、阿魏酸松柏酯和藁本内酯,参考相关文献,同时结合对照品溶液的紫外扫描曲线图,发现牡荆素葡萄糖苷、牡荆素鼠李糖苷和牡荆素的最高吸收在 350 nm^[10-12],毛蕊异黄酮葡萄糖苷、芒柄花苷、美迪紫檀素、淫羊藿苷、宝藿苷 I、阿魏酸松柏酯和藁本内酯的最高吸收在 280 nm^[13-16],最终按照文中的色谱条件检测血速升颗粒中 10 种成分。

本实验建立了 HPLC 法测定血速升颗粒中多种化学成分的方法,检测了 16 批血速升颗粒,同时对 16 批样品中 10 种成分测定数据进行了 CA、PCA、OPLS-DA 和 EW-TOPSIS 分析,结果发现 CA 与 PCA 结果一致,16 批血速升颗粒样品聚为 3 类,PCA 分析结果 2 个主成分的累积贡献率达到 88.111%。利用 OPLS-DA 分析筛选出牡荆素鼠李糖苷、藁本内酯、阿魏酸松柏酯、毛蕊异黄酮葡萄糖苷和淫羊藿苷对血速升颗粒质量影响较大,是引起血速升颗粒批次间差异的主要标志性成分。EW-TOPSIS 分析结果为生产企业分析产品质量相对优劣性指明了方向。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 卫生部药品标准中药成方制剂第十七册 [S]. WS3-B-3206-98
- [2] 刘力强. 血速升颗粒治疗高分级脑胶质瘤术后放化疗患者疗效观察 [J]. 世界中医药, 2020, 15(3): 430-433.
- [3] 牛韧. 血速升颗粒治疗肿瘤相关性贫血的临床疗效观察 [J]. 医学理论与实践, 2019, 32(7): 953-955.
- [4] 张铁军, 白钢, 刘昌孝. 中药质量标志物的概念,核心理论与研究方法 [J]. 药学报, 2019, 54(2): 187-196.
- [5] 董嘉琪, 陈金鹏, 龚苏晓, 等. 山楂的化学成分、药理作用及质量标志物(Q-Marker)预测 [J]. 中草药, 2021, 52(9): 2801-2818.
- [6] 胡妮娜, 张晓娟. 黄芪的化学成分及药理作用研究进

展 [J]. 中医药信息, 2021, 38(1): 76-82.

- [7] 高志杰, 朱彤彤, 牛新茹, 等. 鸡血藤化学成分及药理活性研究进展 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2022, 24(4): 67-74.
- [8] 许婷, 黄萌萌, 李瑞云, 等. 多基原淫羊藿不同部位质量评价研究 [J]. 中草药, 2020, 51(1): 190-196.
- [9] 向璐, 张巧艳, 赵琦明, 等. 黄芪-当归化学成分、药理作用及临床应用的研究进展 [J]. 中草药, 2022, 53(7): 2196-2213.
- [10] 贾银芝, 吴琦, 杨绪芳, 等. 基于灰色关联-TOPSIS 法评价不同产地山楂质量 [J]. 中草药, 2021, 52(23): 7317-7322.
- [11] 乔冠婷, 王阳, 王晓慧, 等. 高效液相色谱法对山楂叶中 8 种有效成分的测定 [J]. 长治医学院学报, 2019, 33(2): 94-97.
- [12] 吴俊平, 陈淑敏, 杨光, 等. 基于 HPLC 多指标成分定量控制联合化学计量学的山菊降压胶囊质量评价研究 [J]. 现代药物与临床, 2021, 36(10): 2039-2044.
- [13] 梁丽娟, 赵奎君, 屠鹏飞, 等. HPLC 法同时测定黄芪中 4 种黄酮类成分的含量 [J]. 中国药房, 2010, 21(15): 1385-1387.
- [14] 杨冉冉, 姬蕾, 李二文, 等. 鸡血藤的 HPLC 指纹图谱及模式识别研究 [J]. 中草药, 2017, 48(21): 4530-4536.
- [15] 顾志荣, 马天翔, 祁梅, 等. 黄芪-当归药对配伍前后 HPLC 指纹图谱及主要化学成分变化 [J]. 中国现代应用药学, 2020, 37(3): 275-281.
- [16] 杨蕊菁, 赵磊, 夏鹏飞, 等. 不同产地当归药材 9 种成分的含量测定及主成分分析 [J]. 中药新药与临床药理, 2020, 31(4): 473-477.
- [17] 王英哲, 姜大成, 容路生, 等. 东北产朝鲜淫羊藿中黄酮类成分的对比分析 [J]. 药物分析杂志, 2019, 39(11): 2034-2040.
- [18] 许婷, 黄萌萌, 李瑞云, 等. 多基原淫羊藿不同部位质量评价研究 [J]. 中草药, 2020, 51(1): 190-196.
- [19] 杜憬生, 吴立群, 马鸿雁. 一测多评法测定鸡血藤中 4 种黄酮成分含量 [J]. 中药材, 2017, 40(4): 881-883.
- [20] 乐巍, 吴玉兰, 邱蓉丽. 基于 HPLC 及化学计量法对当归与欧当归药材的比较研究 [J]. 中药材, 2018, 41(8): 1846-1850.

【责任编辑 解学星】