

## HPLC 多指标成分测定结合多元统计分析的益宫颗粒质量控制研究

田丹<sup>1</sup>, 王东孝<sup>1</sup>, 景贤<sup>1</sup>, 李俊涛<sup>2</sup>, 陈淑敏<sup>1\*</sup>

1. 郑州颐和医院 药学部, 河南 郑州 450047

2. 河南省医药科学研究所 药物研究所, 河南 郑州 450052

**摘要:** 目的 建立 HPLC 法同时测定益宫颗粒中多种活性成分, 结合多元统计分析对益宫颗粒产品质量进行全面评价。方法 采用 HPLC 法同时测定毛蕊异黄酮葡萄糖苷、芒柄花苷、黄芪紫檀烷苷、黄芪异黄酮苷、川续断皂苷 VI、续断苷 A、续断苷 B 和常春藤皂苷元。结合聚类分析、主成分分析和因子分析对不同批次益宫颗粒产品质量进行综合评价。结果 毛蕊异黄酮葡萄糖苷、芒柄花苷、黄芪紫檀烷苷、黄芪异黄酮苷、川续断皂苷 VI、续断苷 A、续断苷 B 和常春藤皂苷元平均加样回收率分别为 99.75%、98.41%、98.22%、96.90%、100.08%、97.81%、97.20%、96.97%, RSD 值分别为 0.87%、1.09%、1.36%、1.45%、0.77%、1.20%、1.33%、1.15% ( $n=9$ ); 通过聚类分析 10 批益宫颗粒样品分为 3 类, 样品 S5、S6、S7 聚为第 1 类, 样品 S1、S2、S3、S4 聚为第 2 类, 样品 S8、S9、S10 聚为第 3 类。经主成分分析, 前 3 个主成分特征值依次为 4.265、1.611、1.052, 累积方差贡献率达到 86.602%, 主成分因子综合得分与聚类分析分类结果一致。结论 建立的 HPLC 法测定益宫颗粒中活性成分结合多元统计分析的操作便捷, 重复性好, 结果准确可靠, 可用于益宫颗粒的综合质量评价。**关键词:** 益宫颗粒; 毛蕊异黄酮葡萄糖苷; 芒柄花苷; 黄芪紫檀烷苷; 高效液相色谱; 聚类分析; 主成分分析; 因子分析  
中图分类号: R286.02 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2023)03-0559-07

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2023.03.010

## Quality control of Yigong Granules by HPLC multi-index component determination combined with multivariate statistical analysis

TIAN Dan<sup>1</sup>, WANG Dong-xiao<sup>1</sup>, JING Xian<sup>1</sup>, LI Jun-tao<sup>2</sup>, CHEN Shu-min<sup>1</sup>

1. Department of Pharmacy, Zhengzhou Yihe Hospital, Zhengzhou 450047, China

2. Institute of Pharmacology, Henan Institute of Medical and Pharmaceutical Sciences, Zhengzhou 450052, China

**Abstract: Objective** To establish a HPLC method for simultaneous determination of various active components in Yigong Granules. Multivariate statistical analysis was used to evaluate the quality of Yigong Granules. **Methods** HPLC method was used to determine contents of calycosin 7-*O*- $\beta$ -*D*-glucopyranoside, ononin, 9,10-dimethoxy-pterocarpan-glucoside, 2'-dihydroxy-3',4'-dimethoxyisoflavan-7-*O*- $\beta$ -*D*-glucopyranoside, asperosaponin VI, dipsanoside A, dipsanoside B, and hederagenin in Yigong Granules. The quality of different batches of Yigong Granules was comprehensively evaluated by cluster analysis, principal component analysis, and factor analysis. **Results** The average recoveries of calycosin 7-*O*- $\beta$ -*D*-glucopyranoside, ononin, 9,10-dimethoxy-pterocarpan-glucoside, 2'-dihydroxy-3',4'-dimethoxyisoflavan-7-*O*- $\beta$ -*D*-glucopyranoside, asperosaponin VI, dipsanoside A, dipsanoside B, and hederagenin were 99.75%, 98.41%, 98.22%, 96.90%, 100.08%, 97.81%, 97.20%, and 96.97% with the RSD values of 0.87%, 1.09%, 1.36%, 1.45%, 0.77%, 1.20%, 1.33%, and 1.15% ( $n=9$ ). Ten batches of Yigong Granules were clustered into three categories through cluster analysis, and samples S5, S6, and S7 were clustered into one category, samples S1, S2, S3, and S4 were clustered into one category, and samples S8, S9, and S10 were clustered into one category. The first three principal component eigenvalues were 4.265, 1.611, and 1.052 through principal component analysis, and the cumulative variance contribution rate was 86.602%. The comprehensive score of principal component factor was consistent with the classification result of cluster analysis. **Conclusion** The established quality control method for determination of active ingredients in Yigong Granules by HPLC combined with multivariate statistical analysis is convenient, reproducible, accurate, and reliable, and can be used for comprehensive quality evaluation of Yigong Granules.

收稿日期: 2022-11-06

基金项目: 河南省医学科技攻关计划省部共建指导性计划重点项目 (SBGJ202002105)

作者简介: 田丹 (1985—), 女, 主管药师, 硕士, 研究方向为药物质量评价、临床药学。E-mail: mh607@163.com

\*通信作者: 陈淑敏 (1979—), 女, 副主任药师, 硕士, 研究方向为药理及医院管理。

**Key words:** Yigong Granules; calycosin 7-*O*- $\beta$ -*D*-glucopyranoside, ononin, 9,10-dimethoxy-pterocarpan-glucoside; HPLC; cluster analysis; principal component analysis; factor analysis

益宫颗粒由黄芪、续断、败酱草、当归、党参、丹参、益母草和香附加工而成，益气摄血、养血化瘀，主要用于产后血性恶露持续数日仍淋漓不绝，色淡红或紫黯、质地稀薄或挟有血块、小腹坠痛、自汗、乏力、少气懒言，舌淡紫或有瘀斑、脉缓弱或弦涩等病症<sup>[1]</sup>。现代研究表明益宫颗粒在治疗血瘀型产后恶露不绝<sup>[2]</sup>、剖宫产术后子宫复旧不全或宫腔积血<sup>[3-4]</sup>有较好的疗效，且不良反应小，临床应用广泛。中药复方制剂中化学成分复杂繁多，靶点多、协同作用、整体性等特点决定了多种活性成分质控模式成为中药复方制剂质量评价方法发展的重要性和必然性。聚类分析、主成分分析等多元统计分析通过对复杂的数据信息进行整合、降维，挖掘复杂数据间存在的内在规律，有助于药品生产企业控制原药材质量和制剂生产过程，提升益宫颗粒的质量标准。益宫颗粒现行质量标准以黄芪甲苷为目标成分，采用紫外分光光度法进行了测定<sup>[1]</sup>，并且有关益宫颗粒中活性成分测定的文献报道仅局限于单一成分的分析<sup>[5]</sup>。为了更加全面地提升益宫颗粒的质量多方位可控性，本实验以益宫颗粒的君药黄芪药效成分毛蕊异黄酮葡萄糖苷、芒柄花苷、黄芪紫檀烷苷和黄芪异黄酮，臣药续断活性成分川续断皂苷VI、续断苷 A 和续断苷 B 以及佐药败酱草代表性成分常春藤皂苷元为指标成分，建立益宫颗粒 HPLC 多种活性成分同时测定方法，结合聚类分析、主成分分析、因子分析对不同批次益宫颗粒产品质量进行综合评价，为益宫颗粒质量标准提升和批次间质量评价提供方法学参考。

## 1 仪器与试剂

Shimadzu LC-20A 型高效液相色谱仪（日本岛津公司）；OHAUS AX224ZH/E 型电子天平（苏州赛恩斯仪器有限公司）；SB25-12DT 型超声波提取器（宁波新芝生物科技股份有限公司）。

毛蕊异黄酮葡萄糖苷（质量分数 96.8%，批号 111920-201907）、常春藤皂苷元（质量分数 98.3%，批号 111733-201205）和川续断皂苷VI（质量分数 94.3%，批号 111685-201908）对照品购自中国食品药品检定研究院；芒柄花苷（质量分数 99.8%，批号 PRF20060944）、续断苷 A（质量分数 98.0%，批号 BP3129-M2206271042）和续断苷 B（质量分数

98.5%，批号 BP3130-M1606131010）对照品购自成都普瑞法科技开发有限公司；黄芪紫檀烷苷（质量分数 98.5%，批号 16112732）对照品购自上海普科贸有限公司；黄芪异黄酮（质量分数 99.6%，批号 15071522）对照品购自上海同田生物技术有限公司。

益宫颗粒，规格 10 g/袋，批号分别为 2010302、2011301、2011305、2011306、2101303、2104305、2105303、2201318、2204309、2209302，编号分别为 S1~S10，购自陕西健民制药有限公司。

## 2 方法与结果

### 2.1 溶液的制备

**2.1.1 混合对照品溶液的制备** 精密称取毛蕊异黄酮葡萄糖苷、芒柄花苷、黄芪紫檀烷苷、黄芪异黄酮、川续断皂苷VI、续断苷 A、续断苷 B、常春藤皂苷元对照品适量，用 75%乙醇制成质量浓度分别为 0.956、0.392、0.358、0.134、2.940、0.708、0.252、0.116 mg/mL 的混合对照品贮备液。精密吸取混合对照品贮备液 0.1、0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 mL，分别用 75%乙醇稀释至 20 mL，得到 6 个用于线性考察的混合对照品溶液 I~VI；取中间质量浓度混合对照品溶液 III 作为混合对照品溶液（含毛蕊异黄酮葡萄糖苷、芒柄花苷、黄芪紫檀烷苷、黄芪异黄酮、川续断皂苷VI、续断苷 A、续断苷 B、常春藤皂苷元分别为 38.2、15.7、14.3、5.4、117.6、28.3、10.1、4.6  $\mu$ g/mL）。

**2.1.2 供试品溶液的制备** 取益宫颗粒，研细后精密称定约 2 g，加 75%乙醇 20 mL，超声提取 30 min，室温放冷后用 75%乙醇稀释至 25 mL，摇匀，经 0.45  $\mu$ m 微孔滤膜滤过，取续滤液，即得。

**2.1.3 阴性样品溶液的制备** 按益宫颗粒质量标准项下的处方和制法分别制备缺黄芪、缺续断、缺败酱草的阴性样品，再按照供试品溶液的制备项下处理方法制成相应的阴性样品溶液。

### 2.2 色谱条件

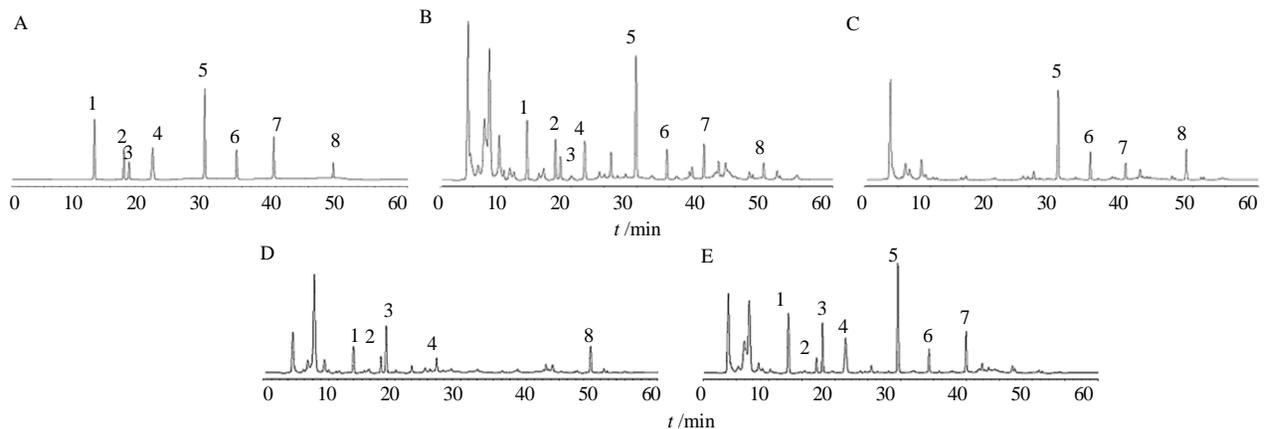
Agilent Eclipse XDB-C<sub>18</sub> 色谱柱（250 mm $\times$ 4.6 mm，5  $\mu$ m），流动相乙腈（A）-0.1%磷酸溶液（B）梯度洗脱（0~11.0 min，10.0% A；11.0~24.0 min，10.0% $\rightarrow$ 15.0% A；24.0~42.0 min，15.0% $\rightarrow$ 35.0% A；42.0~51.0 min，35.0% $\rightarrow$ 70.0% A；51.0~60.0

min, 70.0%→10.0% A), 检测波长 260 nm (检测毛蕊异黄酮葡萄糖苷、芒柄花苷、黄芪紫檀烷苷和黄芪异黄烷苷<sup>[6-8]</sup>)、210 nm (检测川续断皂苷 VI、续断苷 A、续断苷 B 和常春藤皂苷元<sup>[9-17]</sup>), 体积流量为 1.0 mL/min, 柱温为 30 °C, 进样量为 10 μL。

### 2.3 专属性试验

精密吸取混合对照品溶液、益宫颗粒供试品溶液和各阴性样品溶液, 依法检测, 记录色谱图, 见

图 1。在与毛蕊异黄酮葡萄糖苷、芒柄花苷、黄芪紫檀烷苷、黄芪异黄烷苷、川续断皂苷 VI、续断苷 A、续断苷 B、常春藤皂苷元对照品相同保留时间处, 益宫颗粒供试品中有相应色谱峰, 且与相邻色谱峰分离度均大于 1.5, 理论板数按毛蕊异黄酮葡萄糖苷、芒柄花苷、黄芪紫檀烷苷、黄芪异黄烷苷、川续断皂苷 VI、续断苷 A、续断苷 B、常春藤皂苷元色谱峰计均大于 6 500, 阴性样品对测定无干扰。



1-毛蕊异黄酮葡萄糖苷 2-芒柄花苷 3-黄芪紫檀烷苷 4-黄芪异黄烷苷 5-川续断皂苷 VI 6-续断苷 A 7-续断苷 B 8-常春藤皂苷元  
1-calycosin 7-O-β-D-glucopyranoside 2-ononin 3-9,10-dimethoxy-ptero-carpan-glucoside 4-2'-dihydroxy-3',4'-dimethoxyisoflavan-7-O-β-D-glucopyranoside 5-asperosaponin VI 6-dipsanoside A 7-dipsanoside B 8-hederagenin

图 1 混合对照品 (A)、益宫颗粒 (B)、缺黄芪阴性样品 (C)、缺续断阴性样品 (D)、缺败酱草阴性样品 (E) 的 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of mixed reference substance (A), Yigong Granules (B), negative sample without *Astragali Radix* (C), negative sample without *Dipsaci Radix* (D), negative sample without *Patrininae Herba* (E)

### 2.4 线性关系考察

分别精密吸取 6 个供线性考察的混合对照品溶液, 按照以上色谱条件分别依法进样检测, 记录色谱图, 以毛蕊异黄酮葡萄糖苷、芒柄花苷、黄芪紫

檀烷苷、黄芪异黄烷苷、川续断皂苷 VI、续断苷 A、续断苷 B、常春藤皂苷元的质量浓度为横坐标, 相应色谱峰峰面积为纵坐标, 进行线性回归, 结果见表 1。

表 1 8 个成分的回归方程、相关系数和线性范围

Table 1 Regression equations, correlation coefficients, and linear ranges of eight constituents

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	$Y=2.1359 \times 10^6 X - 826.1$	0.999 5	4.78~119.50
芒柄花苷	$Y=1.4852 \times 10^6 X + 395.6$	0.999 9	1.96~49.00
黄芪紫檀烷苷	$Y=1.2317 \times 10^6 X + 400.9$	0.999 8	1.79~44.75
黄芪异黄烷苷	$Y=7.2549 \times 10^5 X - 274.5$	0.999 6	0.67~16.75
川续断皂苷 VI	$Y=1.3674 \times 10^6 X - 1 073.8$	0.999 3	14.70~367.50
续断苷 A	$Y=1.5096 \times 10^6 X + 598.3$	0.999 7	3.54~88.50
续断苷 B	$Y=8.3319 \times 10^5 X - 645.0$	0.999 4	1.26~31.50
常春藤皂苷元	$Y=5.1672 \times 10^5 X - 350.5$	0.999 9	0.58~14.50

## 2.5 精密度试验

取混合对照品溶液，连续测定 6 次，结果显示毛蕊异黄酮葡萄糖苷、芒柄花苷、黄芪紫檀烷苷、黄芪异黄烷苷、川续断皂苷 VI、续断苷 A、续断苷 B、常春藤皂苷元色谱峰峰面积的 RSD 值分别为 1.09%、1.13%、1.29%、1.40%、0.52%、1.08%、1.25%、1.38%。

## 2.6 重复性试验

取编号 S1 益宫颗粒样品 6 份，平行配制供试品溶液，依法检测峰面积，计算质量分数，结果显示毛蕊异黄酮葡萄糖苷、芒柄花苷、黄芪紫檀烷苷、黄芪异黄烷苷、川续断皂苷 VI、续断苷 A、续断苷 B、常春藤皂苷元质量分数的 RSD 值分别为 1.52%、1.67%、1.78%、1.89%、0.96%、1.61%、1.74%、1.83%。

## 2.7 稳定性试验

取编号 S1 益宫颗粒样品，制备供试品溶液，分别于配制后 0、3、6、12、18、24 h 依法检测，结果显示毛蕊异黄酮葡萄糖苷、芒柄花苷、黄芪紫檀烷苷、黄芪异黄烷苷、川续断皂苷 VI、续断苷 A、续断苷 B、常春藤皂苷元色谱峰峰面积的 RSD 值分别为 1.14%、1.21%、1.33%、1.56%、0.70%、1.27%、1.39%、1.58%，表明益宫颗粒供试品溶液在 24 h 内

稳定性良好。

## 2.8 回收率试验

取编号 S1 益宫颗粒样品 9 份，每份约 1.0 g，研细后精密称定，3 份分为 1 组，每组分别精密加入混合对照品溶液（毛蕊异黄酮葡萄糖苷、芒柄花苷、黄芪紫檀烷苷、黄芪异黄烷苷、川续断皂苷 VI、续断苷 A、续断苷 B、常春藤皂苷元的质量浓度分别为 0.571、0.245、0.192、0.089、1.946、0.373、0.136、0.068 mg/mL）0.8、1.0、1.2 mL，制备供试品溶液，依法进样测定，计算得毛蕊异黄酮葡萄糖苷、芒柄花苷、黄芪紫檀烷苷、黄芪异黄烷苷、川续断皂苷 VI、续断苷 A、续断苷 B 和常春藤皂苷元的平均加样回收率分别为 99.75%、98.41%、98.22%、96.90%、100.08%、97.81%、97.20%、96.97%，RSD 值分别为 0.87%、1.09%、1.36%、1.45%、0.77%、1.20%、1.33%、1.15% ( $n=9$ )。

## 2.9 样品测定

取 10 批编号依次为 S1~S10 的益宫颗粒样品，制备供试品溶液，依法进样检测毛蕊异黄酮葡萄糖苷、芒柄花苷、黄芪紫檀烷苷、黄芪异黄烷苷、川续断皂苷 VI、续断苷 A、续断苷 B 和常春藤皂苷元峰面积，采用外标法计算质量分数，结果见表 2。

表 2 益宫颗粒中毛蕊异黄酮葡萄糖苷、芒柄花苷、黄芪紫檀烷苷、黄芪异黄烷苷、川续断皂苷 VI、续断苷 A、续断苷 B 和常春藤皂苷元的测定结果 ( $n=3$ )

Table 2 Results of calycosin 7-*O*- $\beta$ -*D*-glucopyranoside, ononin, 9,10-dimethoxy-pterocarpan-glucoside, 2'-dihydroxy-3',4'-dimethoxyisoflavan-7-*O*- $\beta$ -*D*-glucopyranoside, asperosaponin VI, dipsanoside A, dipsanoside B, and hederagenin in Yigong Granules ( $n=3$ )

编号	质量分数/(mg·g <sup>-1</sup> )							
	毛蕊异黄酮葡萄糖苷	芒柄花苷	黄芪紫檀烷苷	黄芪异黄烷苷	川续断皂苷 VI	续断苷 A	续断苷 B	常春藤皂苷元
S1	0.576	0.241	0.193	0.087	1.956	0.372	0.138	0.069
S2	0.479	0.256	0.236	0.082	2.029	0.367	0.106	0.058
S3	0.555	0.248	0.232	0.102	1.931	0.38	0.125	0.071
S4	0.677	0.272	0.216	0.073	1.903	0.295	0.121	0.056
S5	0.465	0.257	0.205	0.073	1.754	0.411	0.136	0.063
S6	0.483	0.223	0.173	0.069	1.855	0.376	0.117	0.057
S7	0.468	0.235	0.198	0.071	1.837	0.357	0.123	0.06
S8	0.607	0.276	0.223	0.107	2.344	0.429	0.133	0.074
S9	0.582	0.281	0.207	0.099	2.196	0.418	0.127	0.082
S10	0.592	0.289	0.209	0.111	2.308	0.42	0.134	0.071

## 2.10 多元统计分析

**2.10.1 聚类分析** 为考察不同批次益宫颗粒中 8 个化合物的质量分数差异, 利用 SPSS 26.0 软件, 采用组间联接聚类方法, 以欧氏距离为测度, 对 10 批益宫颗粒的质量分数数据进行分析, 结果见图 2。结果表明 10 批益宫颗粒样品分为 3 类, 样品 S5、S6、S7 聚为第 1 类, 样品 S1、S2、S3、S4 聚为第 2 类, 样品 S8、S9、S10 聚为第 3 类。

**2.10.2 主成分分析** 将表 2 测得的数据导入 SIMCA

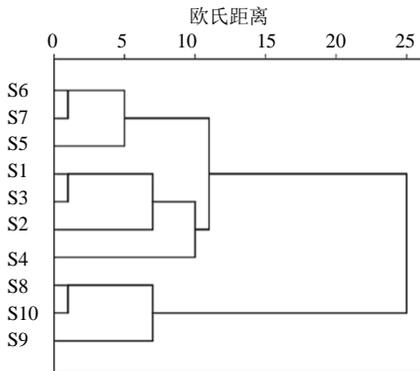


图 2 益宫颗粒聚类分析树状图

Fig. 2 Cluster analysis tree diagram of Yigong Granules

14.1 统计软件中, 建立益宫颗粒样品 PCA, 得分散点图 (图 3)。结果所建立的模型稳定性良好, 样品分类结果与聚类分析结果一致。参考相关文献报道方法<sup>[18-20]</sup>按  $C_i = (x_i - \bar{x}) / SD_i$  (式中  $x_i$  为各活性成分质量分数,  $\bar{x}$  为 10 批次样品各活性成分质量分数平均值,  $SD_i$  为 10 批次样品各活性成分质量分数的标准偏差) 对表 2 中毛蕊异黄酮葡萄糖苷、芒柄花苷、黄芪紫檀烷苷、黄芪异黄烷苷、川续断皂苷 VI、续断苷 A、续断苷 B 和常春藤皂苷元质量分数检测数据进行标准化处理 (表 3)。

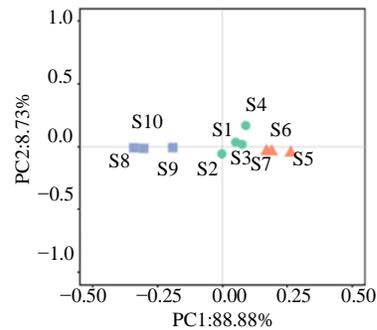


图 3 主成分得分散点图

Fig. 3 PCA score scatter plot

表 3 益宫颗粒各活性成分数据标准化

Table 3 Data standardization of active components in Yigong Granules

编号	归一化值							
	毛蕊异黄酮葡萄糖苷	芒柄花苷	黄芪紫檀烷苷	黄芪异黄烷苷	川续断皂苷 VI	续断苷 A	续断苷 B	常春藤皂苷元
S1	0.385	-0.781	-0.862	-0.025	-0.271	-0.263	1.212	0.337
S2	-0.968	-0.084	1.426	-0.335	0.087	-0.388	-2.020	-0.942
S3	0.092	-0.456	1.213	0.907	-0.393	-0.063	-0.101	0.570
S4	1.794	0.660	0.362	-0.894	-0.530	-2.193	-0.505	-1.174
S5	-1.163	-0.037	-0.223	-0.894	-1.260	0.714	1.010	-0.360
S6	-0.912	-1.619	-1.926	-1.143	-0.765	-0.163	-0.909	-1.058
S7	-1.121	-1.060	-0.596	-1.019	-0.854	-0.639	-0.303	-0.709
S8	0.817	0.847	0.734	1.217	1.629	1.165	0.707	0.919
S9	0.469	1.079	-0.117	0.720	0.905	0.890	0.101	1.849
S10	0.608	1.451	-0.011	1.466	1.453	0.940	0.808	0.570

采用 SPSS 26.0 软件对 10 批益宫颗粒的测定数据进行主成分分析 (表 4~6)。从表 4 中可以看出, 以特征值大于 1 为提取标准, 前 3 个主成分的累积方差贡献率达到 86.602%, 前 3 个主成分可以代表益宫颗粒中的大部分信息, 根据前 3 个主成分的方差贡献率和累积方差贡献率按  $W_i = V_i / V_i$  (式中  $W_i$ 、 $V_i$  和  $V_i$  分别代表前 3 个主成分权重系数、方差贡献

率和累积方差贡献率) 计算得前 3 个主成分权重系数依次为 0.616、0.232、0.152。从表 5 可以看出, 芒柄花苷、黄芪异黄烷苷、川续断皂苷 VI、续断苷 A 和常春藤皂苷元组成主成分 1 的信息, 是对第 1 主成分影响较大的特征向量; 黄芪紫檀烷苷和续断苷 B 组成了主成分 2 的信息, 是对第 2 主成分影响较大的特征向量; 毛蕊异黄酮葡萄糖苷组成了主成

分 3 的信息,是对第 3 主成分影响较大的特征向量。根据表 6 中各主成分得分系数,按  $F_1=0.132 C_1+0.192 C_2+0.095 C_3+0.221 C_4+0.208 C_5+0.153 C_6+0.119 C_7+0.203 C_8$ ,  $F_2=0.307 C_1+0.214 C_2+0.415 C_3+0.008 C_4+0.074 C_5-0.385 C_6-0.347 C_7-0.186 C_8$ ,  $F_3=0.604 C_1+0.086 C_2-0.417 C_3-0.134 C_4-0.113 C_5-0.370 C_6+0.486 C_7-0.025 C_8$  分别计算各主成分得分;按  $Z=F_1W_1+F_2W_2+F_3W_3$  计算 10 个批次益宫颗粒的综合得分(表 7)。

### 3 讨论

#### 3.1 色谱条件的建立

在建立色谱条件时,首先对流动相进行了优化筛选,考察了乙腈-0.1%甲酸溶液<sup>[6]</sup>、乙腈-0.1%冰乙酸溶液<sup>[8]</sup>、乙腈-0.1%磷酸溶液<sup>[9]</sup>3 个流动相体系。结果显示以乙腈-0.1%磷酸溶液体系效果最好,能达到基线分离,毛蕊异黄酮葡萄糖苷、芒柄花苷、黄芪紫檀烷苷、黄芪异黄烷苷、川续断皂苷 VI、续断苷 A、续断苷 B、常春藤皂苷元与相邻色谱峰的分度均大于 1.5。进一步对磷酸的浓度进行了摸索,对梯度洗脱的程序进行了优化,最终确定采用文中方法。

表 4 主成分特征值和方差贡献率

Table 4 Characteristic value and variance contribution rate

主成分	特征值	方差贡献率/%	累积方差贡献率/%
1	4.265	53.315	53.315
2	1.611	20.132	73.447
3	1.052	13.155	86.602
4	0.483	6.034	92.636
5	0.334	4.171	96.807
6	0.176	2.202	99.009
7	0.044	0.547	99.556
8	0.036	0.444	100.000

表 5 主成分因子载荷矩阵

Table 5 Principal component factor load matrix table

成分	载荷		
	1	2	3
毛蕊异黄酮葡萄糖苷	0.565	0.495	0.635
芒柄花苷	0.819	0.344	0.090
黄芪紫檀烷苷	0.405	0.668	-0.439
黄芪异黄烷苷	0.942	0.012	-0.141
川续断皂苷 VI	0.888	0.119	-0.119
续断苷 A	0.652	-0.620	-0.390
续断苷 B	0.510	-0.559	0.511
常春藤皂苷元	0.866	-0.300	-0.026

表 6 主成分得分系数矩阵表

Table 6 Principal component score coefficient matrix

成分	得分系数		
	1	2	3
毛蕊异黄酮葡萄糖苷	0.132	0.307	0.604
芒柄花苷	0.192	0.214	0.086
黄芪紫檀烷苷	0.095	0.415	-0.417
黄芪异黄烷苷	0.221	0.008	-0.134
川续断皂苷 VI	0.208	0.074	-0.113
续断苷 A	0.153	-0.385	-0.370
续断苷 B	0.119	-0.347	0.486
常春藤皂苷元	0.203	-0.186	-0.025

表 7 益宫颗粒主成分分析综合得分

Table 7 Comprehensive score of principal component analysis of Yigong Granules

编号	第 1 主成分得分	第 2 主成分得分	第 3 主成分得分	综合得分	排名
S1	-0.071	-0.809	1.237	-0.043	6
S2	-0.555	1.306	-1.966	-0.338	7
S3	0.253	0.366	-0.607	0.148	5
S4	-0.544	2.034	1.764	0.405	4
S5	-0.485	-1.116	-0.115	-0.575	8
S6	-1.374	-0.917	-0.002	-1.059	10
S7	-1.089	-0.407	-0.180	-0.793	9
S8	1.397	0.002	-0.197	0.831	1
S9	1.129	-0.323	-0.100	0.605	3
S10	1.340	-0.136	0.167	0.819	2

#### 3.2 供试品溶液制备方法的确定

由于益宫颗粒在生产时对原药材已进行了提取,本实验在供试品溶液制备时,考察了不同提取溶剂(甲醇、80%甲醇、75%乙醇、50%甲醇)和不同提取时间(20、30、40、60 min)在采用超声提取和回流提取时对益宫颗粒综合提取效率的影响,结果表明 75%乙醇超声提取 30 min 时,得到的 8 个成分响应值大,基本能提取完全,杂质干扰少。

实验采用 HPLC 法同时测定了益宫颗粒中毛蕊异黄酮葡萄糖苷、芒柄花苷、黄芪紫檀烷苷、黄芪异黄烷苷、川续断皂苷 VI、续断苷 A、续断苷 B 和常春藤皂苷元,所建立的方法操作便捷、重复性好,益宫颗粒中 8 个成分含量存在一定的批间差异,表明建立益宫颗粒 HPLC 多种活性成分定量控制模式对稳定产品整体质量具有重要意义。

聚类分析、主成分分析等多元统计分析方法通过对多种活性成分检测结果进行分类、降维,挖掘

复杂间存在的内在关联关系,主成分分析综合得分越高,表明该样品的综合质量越好,依此来实现对不同批次产品质量优劣的评价。聚类分析结果显示,10批益宫颗粒样品聚为3类,样品S5、S6、S7为一类,样品S1、S2、S3、S4为一类,样品S8、S9、S10为一类;主成分分析得分散点图样品分类显示,样品S8、S9和S10,样品S1、S2、S3和S4,样品S5、S6和S7分别呈现聚类性;主成分分析综合得分结果显示,S8、S10、S9位于排名前3位,S4、S3、S1、S2排名居中,S5、S7、S6位于排名后3位。聚类分析、主成分分析得分散点图样品分类、主成分因子综合得分结果一致,表明所建立的多元统计分析方法可用于产品质量优劣的评价。

中药及其制剂不同于化学药品,同一中药材在不同制剂中的药效成分和药理作用不同,而现行的中药材的控制标准相对比较简单,难以与制剂药理药效相吻合,这就要求药品生产企业和监管部门根据制剂产品的临床疗效、药理研究,通过发掘原药材-半成品-成品中各指标成分含量转化规律,完善原药材种属、产地等源头控制,制定符合制剂要求的原药材内控标准,以降低产品批间质量差异。益宫颗粒HPLC多种活性成分定量控制联合多元统计分析方法的建立,有助于药品生产企业在原药材采购、制剂生产以及成品控制上建立关联关系,通过不断摸索,稳定影响制剂生产的关键控制点,最终实现产品临床治疗效果的一致性。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

#### 参考文献

- [1] 国家药品监督管理局药品标准 YBZ00312008 [S]. 2008.
- [2] 李桃英,高珊珊,刘鹏森,等. 加味生化汤联合益宫颗粒治疗血瘀型产后恶露不绝 [J]. 中医学报, 2018, 33(7): 1322-1324.
- [3] 刘茂永,黄露,龚乾涛,等. 益宫颗粒联合缩宫素治疗剖宫产术后子宫复旧不全临床效果及对泌乳的影响 [J]. 中华中医药学刊, 2020, 38(7): 81-83.
- [4] 史淑慧. 益宫颗粒联合缩宫素注射液在初产妇剖宫产分娩后子宫腔积血中的应用 [J]. 中国合理用药探索, 2019, 16(10): 170-172.
- [5] 高松红,单柏宇,徐阳,等. HPLC法测定益宫颗粒中阿魏酸的含量 [J]. 中国医药指南, 2018, 16(22): 10-12.
- [6] 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.
- [7] 张倩,杨怀瑾,周悦,等. 基于传统煎药工艺的黄芪药材HPLC指纹图谱及化学计量学质量评价研究 [J]. 中草药, 2021, 52(4): 1128-1134.
- [8] 王晶萍,董微微,赫志强,等. UPLC-MS/MS法同时测定黄芪-甘草药对8个有效成分 [J]. 哈尔滨商业大学学报, 2020, 36(6): 665-670.
- [9] 马蕙文,易红,李春,等. HPLC同时测定续断中7种成分的含量 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(6): 55-60.
- [10] 艾光丽,艾青青,杨小艳. 不同产地续断HPLC指纹图谱研究 [J]. 海峡药学, 2022, 34(4): 69-73.
- [11] 杨昌贵,龚安慧,张成刚,等. HPLC法同时测定续断药材中7个成分的含量 [J]. 中国药房, 2022, 33(6): 680-684.
- [12] 高乐,田宇柔,王鑫国,等. HPLC同时测定续断配方颗粒中4种成分的含量 [J]. 中药材, 2017, 40(4): 884-886.
- [13] 陈璞,赵华,贺雅琴,等. 续断HPLC特征图谱及3种活性成分的含量测定 [J]. 中药材, 2017, 40(6): 1373-1376.
- [14] 徐正龙. HPLC法同时测定凌霄花中常春藤皂苷元,齐墩果酸和熊果酸的含量 [J]. 中国处方药, 2020, 18(11): 23-24.
- [15] 张明,梁志云,张俊杰,等. 高效液相色谱法测定无患子果三蒸三烘炮制前后的常春藤皂苷元含量 [J]. 蛇志, 2021, 33(4): 398-400.
- [16] 万玉莹,陈晓奇,王喜锟,等. 藏药材唐古特铁线莲质量标准提升 [J]. 中南药学, 2022, 20(8): 1895-1902.
- [17] 涂正伟,李东华,关鑫,等. 一测多评法测定败酱草中3种三萜类成分 [J]. 中国中西医结合外科杂志, 2016, 22(5): 479-482.
- [18] 刘明芝,周仁郁. 中医药统计学与软件应用 [M]. 北京: 中国中医药出版社, 2006.
- [19] 魏敏,陀扬凌,杜晓月,等. 不同产地桑白皮中7种成分的含量测定及化学计量学评价 [J]. 中药材, 2020, 43(1): 125-129.
- [20] 梁军,刘彩凤,刘冬涵,等. 藏药白脉软膏多成分定量,指纹图谱结合多元统计分析的质量控制研究 [J]. 中草药, 2020, 51(2): 356-363.

**【责任编辑 解学星】**