

基于 HPLC 多指标成分定量联合 OPLS-DA、EW-TOPSIS 法的天丹通络胶囊质量评价研究

巴小翠¹, 孙俊英¹, 陈玉洁², 李占芳^{1*}

1. 东营市食品药品检验研究院 药品科, 山东 东营 257091

2. 山东中医药大学 药学院, 山东 济南 250355

摘要: **目的** 对天丹通络胶囊进行质量评价研究。**方法** 采用 HPLC 法测定天丹通络胶囊中天麻素、巴利森苷 E、巴利森苷、奇壬醇、豨莶苷、豨莶精醇、洋川芎内酯 H、洋川芎内酯 I、洋川芎内酯 A、丹参素、丹酚酸 B、隐丹参酮和丹参酮 II_A, 结合正交偏最小二乘法判别分析 (OPLS-DA) 法和熵权优劣解距离 (EW-TOPSIS) 法对天丹通络胶囊产品质量优劣进行评价。**结果** 天麻素、巴利森苷 E、巴利森苷、奇壬醇、豨莶苷、豨莶精醇、洋川芎内酯 H、洋川芎内酯 I、洋川芎内酯 A、丹参素、丹酚酸 B、隐丹参酮和丹参酮 II_A 的平均回收率分别为 98.77%、99.45%、100.05%、96.94%、97.99%、98.43%、98.08%、97.90%、98.90%、97.86%、100.14%、96.97%、99.32%, RSD 值分别为 1.09%、1.32%、0.63%、1.43%、1.51%、1.30%、1.57%、0.83%、1.64%、0.94%、0.70%、1.41%、1.37%。15 批天丹通络胶囊样品明显分成 3 类。丹酚酸 B、巴利森苷、豨莶苷、巴利森苷 E、天麻素和洋川芎内酯 A 可以作为影响天丹通络胶囊产品质量的关键成分。EW-TOPSIS 分析法可确定 15 批天丹通络胶囊样品质量优劣综合排序。**结论** 所建立方法操作便捷, 结果准确可靠, 为提升天丹通络胶囊的整体质量控制方法提供了参考和借鉴。

关键词: 天丹通络胶囊; 天麻素; 巴利森苷 E; 丹参酮 II_A; 高效液相色谱; 正交偏最小二乘判别分析; 熵权优劣解距离
中图分类号: R286.02 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-5515(2023)05-1094-08

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2023.05.009

Quality evaluation of Tiandan Tongluo Capsules based on HPLC multi-index component quantification combined with OPLS-DA and EW-TOPSIS

BA Xiao-cui¹, SUN Jun-ying¹, CHEN Yu-jie², LI Zhan-fang¹

1. Department of Drug, Dongying Institute for Food and Drug Control, Dongying 257091, China

2. School of Pharmacy, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355, China

Abstract: Objective To evaluate quality of Tiandan Tongluo Capsules. **Methods** The contents of gastrodin, parishin E, parishin A, kireinol, darutoside, darutigenol, senkyunolide H, senkyunolide I, senkyunolide A, danshensu, salvianolic acid B, cryptotanshinone, and tanshinone II_A in Tiandan Tongluo Capsules were determined by HPLC. OPLS-DA and EW-TOPSIS methods were used to evaluate quality of Tiandan Tongluo Capsules. **Results** The average recoveries of gastrodin, parishin E, parishin A, kireinol, darutoside, darutigenol, senkyunolide H, senkyunolide I, senkyunolide A, danshensu, salvianolic acid B, cryptotanshinone, and tanshinone II_A were 98.77%, 99.45%, 100.05%, 96.94%, 97.99%, 98.43%, 98.08%, 97.90%, 98.90%, 97.86%, 100.14%, 96.97%, and 99.32% with the RSD values of 1.09%, 1.32%, 0.63%, 1.43%, 1.51%, 1.30%, 1.57%, 0.83%, 1.64%, 0.94%, 0.70%, 1.41%, and 1.37%. The 15 batches of Tiandan Tongluo Capsules samples were clustered into three categories. Salvianolic acid B, parishin A, darutoside, parishin E, gastrodin, and senkyunolide A were the key components affecting the quality of Tiandan Tongluo Capsules. The EW-TOPSIS method can be used for comprehensive evaluation of quality of Tiandan Tongluo Capsules. **Conclusion** The established method is rapid, sensitive, accurate, and reliable, and provides a reference for improving the overall quality control method of Tiandan Tongluo Capsules.

Key words: Tiandan Tongluo Capsules; gastrodin; parishin E; tanshinone II_A; HPLC; OPLS-DA; EW-TOPSIS

收稿日期: 2022-12-30

基金项目: 山东省中医药科技发展计划项目 (2019-0033)

作者简介: 巴小翠 (1981—), 女, 主管药师, 本科, 从事药品质量研究。

*通信作者: 李占芳 (1976—), 女, 主任药师, 从事药物质量分析及评价。E-mail: wvf533@163.com

天丹通络胶囊由天麻、豨薟草、川芎、丹参等10种中药组方而成,活血通络、熄风化痰,主要用于中风中经络、风痰瘀血痹阻脉络,脑梗死急性期和恢复早期出现的半身不遂、偏身麻木、口眼歪斜、语言蹇涩等^[1]。临床研究表明天丹通络胶囊能够有效改善脑梗死恢复期患者神经功能缺损、促进神经功能恢复、改善中医证候,临床治疗效果确切,且安全性良好^[2-3]。天丹通络胶囊联合普罗布考亦可用于治疗风痰瘀阻型老年脑梗死合并颈动脉粥样硬化斑块^[4]。天丹通络胶囊收载于《中国药典》2020年版一部中,其质量控制标准中对丹参酮Ⅱ_A、丹酚酸B和天麻素分别制定了定量检测方法,但检测用时较长,检测效率较低。朱月梅等^[5]对天丹通络片中阿魏酸、丹参酮Ⅱ_A和天麻素进行定量控制研究。中药及其制剂通过多种成分间相互协同、相互制约,达到临床治疗效果,尤其是中药复方制剂,具有独特的多靶点和多层次特点,有效性是其化学物质群总体作用的综合体现,单成分不能全面反映产品的综合质量。正交偏最小二乘法判别分析(OPLS-DA)有较强的预测能力,可以通过数据分析挖掘出引起产品质量差异的主要指标性成分。熵权优劣解距离(EW-TOPSIS)法可将多指标转化为一个综合指标,客观地对各指标进行权重赋值,避免人为赋权的主观性,使分析结果更客观合理,因此OPLS-DA联合TOPSIS法越来越多地应用于中药材或中药制剂的综合评价中^[6-7]。为保障用药安全,更好地控制天丹通络胶囊的质量,本实验建立同时测定天丹通络片中天麻素、巴利森苷E、巴利森苷、奇壬醇、豨薟苷、豨薟精醇、洋川芎内酯H、洋川芎内酯I、洋川芎内酯A、丹参素、丹酚酸B、隐丹参酮和丹参酮Ⅱ_A的HPLC法,并联合OPLS-DA、EW-TOPSIS法对15批天丹通络胶囊进行质量评价,以期提升天丹通络胶囊的整体质量控制方法。

1 试药与仪器

天麻素、奇壬醇、丹参素钠、丹酚酸B、隐丹参酮和丹参酮Ⅱ_A对照品均购自中国食品药品检定研究院,批号分别为110807-202010、111726-202203、110855-201915、111562-201917、110852-201807、110766-202022,质量分数分别为95.5%、99.6%、97.8%、96.6%、99.0%、98.9%;巴利森苷E、巴利森苷、豨薟苷、豨薟精醇、洋川芎内酯H、洋川芎内酯I和洋川芎内酯A对照品均购自成都普瑞法科技开发有限公司,批号分别为PRF9010943、

PRF9061141、PRF22052543、PRFM9030503、PRF15121422、PRF15121423、PRF8031301,质量分数分别为98.4%、97.6%、98.0%、98.5%、98.7%、98.0%、99.5%;天丹通络胶囊购自山东凤凰制药股份有限公司,规格0.4g/粒,批号分别为3019039、3019038、3019032、3019031、3019028、3019027、3019026、3019076、3019073、3019064、3019062、3019017、3019010、3019009、3019004,编号分别为S1~S15;色谱级乙腈和磷酸,纯净水,分析级甲醇等试剂。

LC-10AT型高效液相色谱仪(日本Shimadzu公司);XPE205型电子分析天平(瑞士Mettler Toledo公司),KQ-700DB型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

2 方法与结果

2.1 混合对照品溶液的制备

分别精密称取天麻素、巴利森苷E、巴利森苷、奇壬醇、豨薟苷、豨薟精醇、洋川芎内酯H、洋川芎内酯I、洋川芎内酯A、丹参素钠、丹酚酸B、隐丹参酮和丹参酮Ⅱ_A对照品适量,用70%甲醇溶解并制成质量浓度分别为1.354、1.692、2.930、0.092、0.178、0.056、0.212、0.294、0.570、0.348、3.410、0.274、0.496 mg/mL的混合对照品母液;精密吸取该母液1 mL,置20 mL量瓶中,用70%甲醇稀释至刻度,摇匀,即得。

2.2 供试品溶液的制备

精密称定天丹通络胶囊内容物0.5 g,于25 mL量瓶中精密加入70%甲醇20 mL,超声处理30 min,冷却,用70%甲醇加至刻度,摇匀,滤过,即得。

2.3 阴性样品溶液的制备

按天丹通络胶囊处方比例和制法制备缺天麻、豨薟草、川芎、丹参的阴性样品各适量,分别按供试品溶液的制备项下操作制备各阴性样品溶液。

2.4 色谱条件

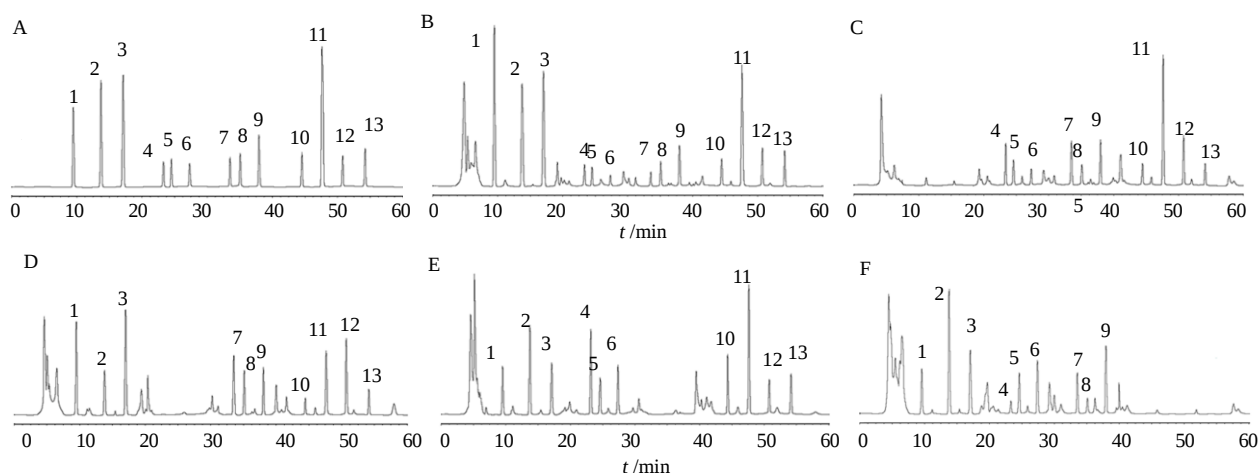
Hypersil C₁₈色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相为乙腈-0.1%磷酸水溶液,梯度洗脱(0~8 min, 13.0%乙腈;8~19 min, 13.0%→28.0%乙腈;19~29 min, 28.0%→35.0%乙腈;29~40 min, 35.0%→58.0%乙腈;40~57 min, 58.0%→82.0%乙腈;57~65 min, 82.0%→13.0%乙腈);检测波长:220 nm(0~29 min 天麻素、巴利森苷E、巴利森苷、奇壬醇、豨薟苷和豨薟精醇)^[8-11]、280 nm(29~65 min 检测洋川芎内酯H、洋川芎内酯I、洋川芎

内酯 A、丹参素、丹酚酸 B、隐丹参酮和丹参酮 II_A)^[12-19]; 体积流量 1.0 mL/min; 柱温 30 ℃; 进样量: 10 μL。

2.5 专属性试验

天丹通络胶囊样品中天麻素、巴利森苷 E、巴

利森苷、奇壬醇、豨莶苷、豨莶精醇、洋川芎内酯 H、洋川芎内酯 I、洋川芎内酯 A、丹参素钠、丹酚酸 B、隐丹参酮和丹参酮 II_A 在上述色谱条件下分离度良好, 各阴性样品对天丹通络胶囊中多指标成分定量测定无干扰, 图 1。



1-天麻素 2-巴利森苷 E 3-巴利森苷 4-奇壬醇 5-豨莶苷 6-豨莶精醇 7-洋川芎内酯 H 8-洋川芎内酯 I 9-洋川芎内酯 10-丹参素 11-丹酚酸 B 12-隐丹参酮 13-丹参酮 II_A
1-gastrodin 2-parishin E 3-parishin A 4-kirenol 5-darutoside 6-darutigenol 7-senkyunolide H 8-senkyunolide I 9-senkyunolide A 10-danshensu 11-salvianolic acid B 12-cryptotanshinone 13-tanshinone II_A

图 1 混合对照品 (A)、天丹通络胶囊 (B)、缺天麻阴性样品 (C)、缺豨莶草阴性样品 (D)、缺川芎阴性样品 (E) 和缺丹参阴性样品 (F) 的 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of mixed reference substances (A), Tiandan Tongluo Capsules (B), negative sample without *Gastrodiae Rhizoma* (C), negative sample without *Siegesbeckiae Herba* (D), negative sample without *Chuanxiong Rhizoma* (E), negative sample without *Salviae miltiorrhizae Radix et Rhizoma* (F)

2.6 标准曲线方程的绘制

取混合对照品母液, 分别精密移取 0.1、0.2、0.5、1.0、2.0、5.0 mL 于 20 mL 量瓶中, 加 70% 甲醇至刻度, 分别精密吸取 10 μL 进样检测, 记录色谱图。以质量浓度对色谱峰峰面积进行线性回归, 见表 1。

2.7 精密度试验

取混合对照品溶液, 连续进样 6 次, 记录色谱曲线, 结果天麻素、巴利森苷 E、巴利森苷、奇壬醇、豨莶苷、豨莶精醇、洋川芎内酯 H、洋川芎内酯 I、洋川芎内酯 A、丹参素钠、丹酚酸 B、隐丹参酮和丹参酮 II_A 峰面积的 RSD 值分别为 1.02%、1.34%、0.84%、1.24%、1.68%、1.41%、1.71%、1.09%、1.15%、0.91%、1.81%、0.79%、1.22%。

2.8 稳定性试验

称取编号 S1 的天丹通络胶囊样品, 制备供试品溶液, 于室温下放置 0、2、5、9、14、20、24 h,

进样分析, 记录色谱曲线。结果天麻素、巴利森苷 E、巴利森苷、奇壬醇、豨莶苷、豨莶精醇、洋川芎内酯 H、洋川芎内酯 I、洋川芎内酯 A、丹参素钠、丹酚酸 B、隐丹参酮和丹参酮 II_A 峰面积的 RSD 值分别为 1.16%、1.25%、1.38%、1.75%、0.64%、1.27%、1.11%、1.22%、1.35%、1.59%、0.89%、1.59%、1.03%, 结果供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.9 重复性试验

取编号 S1 的天丹通络胶囊样品共 6 份, 分别制备供试品溶液, 进样分析, 记录色谱曲线, 采用外标法计算天麻素、巴利森苷 E、巴利森苷、奇壬醇、豨莶苷、豨莶精醇、洋川芎内酯 H、洋川芎内酯 I、洋川芎内酯 A、丹参素钠、丹酚酸 B、隐丹参酮和丹参酮 II_A 的质量分数, 结果其质量分数的 RSD 值分别为 0.98%、1.43%、1.75%、1.25%、1.35%、1.70%、1.38%、1.47%、1.83%、0.91%、1.08%、1.13%、0.84%。

表 1 各成分的线性方程

Table 1 Regression equation of each constituent

成分	回归方程	<i>r</i>	线性范围/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)
天麻素	$Y=3.537\ 2\times 10^6 X+937.6$	0.999 6	6.77~338.50
巴利森苷 E	$Y=4.025\ 7\times 10^6 X-1\ 009.0$	0.999 2	8.46~423.00
巴利森苷	$Y=2.709\ 1\times 10^6 X+685.2$	0.999 4	14.65~732.50
奇壬醇	$Y=2.589\ 7\times 10^6 X-1\ 170.8$	0.999 5	0.46~23.00
獐豕苷	$Y=2.201\ 6\times 10^6 X+786.8$	0.999 9	0.89~44.50
獐豕精醇	$Y=1.935\ 1\times 10^6 X+1\ 040.3$	0.999 2	0.28~14.00
洋川芎内酯 H	$Y=2.819\ 2\times 10^6 X+1\ 151.6$	0.999 4	1.06~53.00
洋川芎内酯 I	$Y=3.608\ 6\times 10^6 X-1\ 072.2$	0.999 3	1.47~73.50
洋川芎内酯 A	$Y=4.219\ 4\times 10^6 X-951.5$	0.999 6	2.85~142.50
丹参素	$Y=3.957\ 5\times 10^6 X+990.2$	0.999 2	1.74~87.00
丹酚酸 B	$Y=3.785\ 7\times 10^6 X+1\ 031.7$	0.999 4	17.05~852.50
隐丹参酮	$Y=3.288\ 4\times 10^6 X-1\ 002.1$	0.999 3	1.37~68.50
丹参酮 II _A	$Y=3.097\ 9\times 10^6 X-966.5$	0.999 6	2.48~124.00

2.10 回收率试验

取编号 S1 的天丹通络胶囊样品内容物 9 份, 每份精密称定 0.25 g, 分别加入混合对照品溶液(天麻素、巴利森苷 E、巴利森苷、奇壬醇、獐豕苷、獐豕精醇、洋川芎内酯 H、洋川芎内酯 I、洋川芎内酯 A、丹参素钠、丹酚酸 B、隐丹参酮和丹参酮 II_A 质量浓度分别为 0.997、1.281、2.035、0.054、0.097、0.032、0.118、0.161、0.439、0.185、2.286、0.141、0.337 mg/mL) 0.8、1.0、1.2 mL, 每个水平各 3 份, 制备供试品溶液, 进样分析, 计算得天麻素、巴利森苷 E、巴利森苷、奇壬醇、獐豕苷、獐豕精醇、洋川芎内酯 H、洋川芎内酯 I、洋川芎内酯 A、丹参素钠、丹酚酸 B、隐丹参酮和丹参酮 II_A 的平均回收率分别为 98.77%、99.45%、100.05%、96.94%、97.99%、98.43%、98.08%、97.90%、98.90%、97.86%、100.14%、96.97%、99.32%, RSD 值分别为 1.09%、1.32%、0.63%、1.43%、1.51%、1.30%、1.57%、0.83%、1.64%、0.94%、0.70%、1.41%、1.37%。

2.11 样品测定

取 15 批天丹通络胶囊(S1~S15), 每批分别平行制备 3 份供试品溶液, 依法进样, 记录色谱曲线, 测定天麻素、巴利森苷 E、巴利森苷、奇壬醇、獐豕苷、獐豕精醇、洋川芎内酯 H、洋川芎内酯 I、洋川芎内酯 A、丹参素、丹酚酸 B、隐丹参酮和丹参酮 II_A 峰面积, 采用外标法计算各成分的质量分数, 结果见表 2。

2.12 OPLS-DA 评估

以 15 批天丹通络胶囊中天麻素、巴利森苷 E、巴利森苷、奇壬醇、獐豕苷、獐豕精醇、洋川芎内酯 H、洋川芎内酯 I、洋川芎内酯 A、丹参素、丹酚酸 B、隐丹参酮和丹参酮 II_A 的质量分数测定结果数据为变量, 运用 SIMCA 14.1 统计软件挖掘引起天丹通络胶囊产品质量差异的主要潜在标志物, 建立 OPLS-DA 模型, 得 15 批天丹通络胶囊的 OPLS-DA 模型得分图, 见图 2。结果显示所建立 OPLS-DA 模型的解释率($R^2>0.5$)和预测能力($Q^2>0.5$)均较好, 模型稳定可靠。15 批天丹通络胶囊样品明显分成 3 类, S12、S13、S15、S14 聚为一类, 位于得分图左下方; S6、S7、S4、S5、S1、S2、S3 聚为一类, 位于得分图中上方; S10、S11、S8、S9 聚为一类, 位于得分图右下方。

以变量重要性投影(VIP)>1 为筛选标准, 筛选出引起天丹通络胶囊样品质量差异的主要潜在标志物, VIP 值越大, 表明该成分对天丹通络胶囊组间质量差异的影响越大。15 批天丹通络胶囊各成分 VIP 图见图 3。结果显示丹酚酸 B(VIP=1.714)、巴利森苷(VIP=1.584)、獐豕苷(VIP=1.278)、巴利森苷 E(VIP=1.273)和天麻素(VIP=1.192) VIP 值均大于 1, 洋川芎内酯 A VIP 值为 0.992, 接近 1, 表明丹酚酸 B、巴利森苷、獐豕苷、巴利森苷 E、天麻素和洋川芎内酯 A 可以作为影响天丹通络胶囊产品质量的关键成分。

表 2 天丹通络胶囊中天麻素、巴利森苷 E、巴利森苷、奇壬醇、豨莶苷、豨莶精醇、洋川芎内酯 H、洋川芎内酯 I、洋川芎内酯 A、丹参素、丹酚酸 B、隐丹参酮和丹参酮 II_A 测定结果 (n=3)

Table 2 Determination of gastrodin, parishin E, parishin A, kirenol, darutoside, darutigenol, senkyunolide H, senkyunolide I, senkyunolide A, danshensu, salvianolic acid B, cryptotanshinone, and tanshinone II_A in Tiandan Tongluo Capsules (n=3)

编号	质量分数/(mg·g ⁻¹)												
	天麻素	巴利森苷 E	巴利森苷	奇壬醇	豨莶苷	豨莶精醇	洋川芎内酯 H	洋川芎内酯 I	洋川芎内酯 A	丹参素	丹酚酸 B	隐丹参酮	丹参酮 II _A
S1	4.127	5.104	8.361	0.213	0.394	0.126	0.479	0.653	1.741	0.732	9.248	0.561	1.357
S2	4.644	5.650	9.023	0.268	0.454	0.147	0.452	0.594	1.851	0.794	10.236	0.602	1.571
S3	3.432	5.508	10.462	0.237	0.507	0.099	0.324	0.689	1.973	0.771	9.980	0.586	1.780
S4	5.566	4.940	9.603	0.243	0.448	0.119	0.374	0.624	2.307	0.872	8.951	0.637	1.503
S5	5.270	5.220	9.308	0.253	0.484	0.140	0.426	0.639	2.067	0.812	9.458	0.656	1.629
S6	5.822	4.790	10.161	0.226	0.495	0.112	0.362	0.670	2.196	0.839	8.679	0.677	1.700
S7	6.172	4.610	9.883	0.220	0.439	0.106	0.346	0.609	2.424	0.956	8.352	0.618	1.431
S8	4.695	4.341	7.795	0.283	0.282	0.068	0.274	0.554	1.349	0.666	7.866	0.797	1.167
S9	5.705	4.456	8.110	0.207	0.277	0.073	0.314	0.567	1.402	0.748	8.073	0.775	1.199
S10	6.826	4.052	7.515	0.195	0.304	0.066	0.251	0.536	1.108	0.687	7.343	0.840	1.130
S11	5.982	4.209	7.226	0.187	0.232	0.058	0.287	0.515	1.224	0.638	7.627	0.815	1.172
S12	3.452	6.936	11.350	0.167	0.332	0.188	0.567	0.862	3.120	1.167	12.567	0.505	1.999
S13	3.741	6.799	12.004	0.145	0.382	0.203	0.673	0.884	3.243	1.131	12.319	0.433	2.231
S14	6.363	6.649	10.765	0.137	0.253	0.210	0.620	0.843	2.784	1.050	12.048	0.528	1.917
S15	4.382	6.390	11.068	0.129	0.418	0.172	0.510	0.786	2.488	1.020	11.579	0.546	1.838

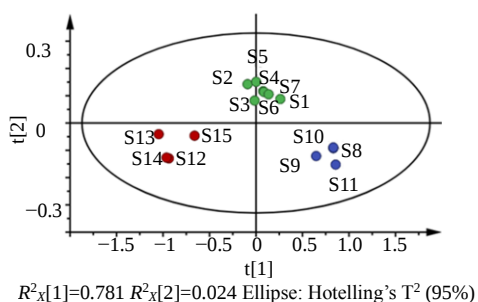
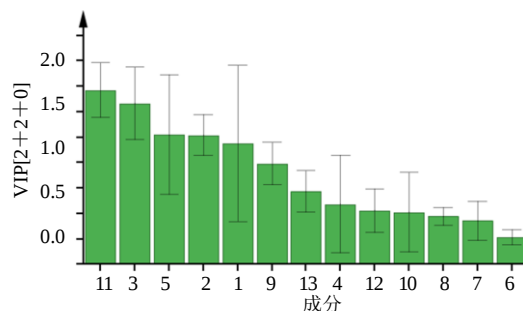


图 2 天丹通络胶囊的 OPLS-DA 模型得分

Fig. 2 Score chart of OPLS-DA model of Tiandan Tongluo Capsules

2.13 EW-TOPSIS 评估^[20]

以 15 批天丹通络胶囊中天麻素、巴利森苷 E、巴利森苷、奇壬醇、豨莶苷、豨莶精醇、洋川芎内酯 H、洋川芎内酯 I、洋川芎内酯 A、丹参素、丹酚酸 B、隐丹参酮和丹参酮 II_A 质量分数测定结果数据为变量, 建立初始化决策矩阵; 采用越大越优型指标计算公式(1)对初始化决策矩阵进行归一化处理(表 3), X_{ij} 和 Y_{ij} 分别为原始含量数据和数据



1-天麻素 2-巴利森苷 E 3-巴利森苷 4-奇壬醇 5-豨莶苷 6-豨莶精醇 7-洋川芎内酯 H 8-洋川芎内酯 I 9-洋川芎内酯 A 10-丹参素 11-丹酚酸 B 12-隐丹参酮 13-丹参酮 II_A
1-gastrodin 2-parishin E 3-parishin A 4-kirenol 5-darutoside 6-darutigenol 7-senkyunolide H 8-senkyunolide I 9-senkyunolide A 10-danshensu 11-salvianolic acid B 12-cryptotanshinone 13-tanshinone II_A

图 3 天丹通络胶囊的 VIP 图

Fig. 3 VIP images of Tiandan Tongluo Capsules

标准化后数据; $\max(x_j)$ 、 $\min(x_j)$ 分别为 13 个成分质量分数测定数据的最大值和最小值; $i=1, 2, \dots, 15$; $j=1, 2, \dots, 13$; 以 OPLS-DA 分析中 13 个成分变量重要性投影值为权重 (W_j), 采用计算公式

(2) 构建加权决策矩阵(表 4),可以看出加权决策矩阵最优向量 $Z_j^+=1.192、1.273、1.584、0.594、1.278、0.269、0.430、0.475、0.992、0.515、1.714、0.532、0.7180$,最劣向量 Z_j^- 均为 0;采用评价指标与正负理想解距离计算公式(3)和公式(4)分别计算 15 批天丹通络胶囊样品与正理想解距离(D_i^+)和与负理想解的距离(D_i^-);根据欧氏贴近度计算公式(5)得出最优解的欧氏贴近度(C_i),最终确定 15 批天丹通络胶囊样品的质量优劣综合排序,

见表 5。

$$Y_{ij}=\frac{X_{ij}-\min(x_j)}{\max(x_j)-\min(x_j)} \tag{1}$$

$$Z_{ij}=Y_{ij}\times W_j \tag{2}$$

$$D_i^+=\sqrt{\sum_{j=1}^n(z_{ij}-Z_j^+)^2} \tag{3}$$

$$D_i^-=\sqrt{\sum_{j=1}^n(z_{ij}-Z_j^-)^2} \tag{4}$$

$$C_i=\frac{D_i^-}{D_i^++D_i^-}\times 100\% \tag{5}$$

表 3 天丹通络胶囊各指标归一化处理结果
Table 3 Results of normalization treatment for each index of 15 batches of Tiandan Tongluo Capsules

编号	归一化值												
	天麻素	巴利森 苷 E	巴利 森苷	奇壬醇	豨莶 苷	豨莶 精醇	洋川芎 内酯 H	洋川芎 内酯 I	洋川芎 内酯 A	丹参素	丹酚 酸 B	隐丹 参酮	丹参 酮 II _A
S1	0.204 8	0.364 8	0.237 5	0.545 5	0.589 1	0.447 4	0.540 3	0.374 0	0.296 5	0.177 7	0.364 7	0.314 5	0.206 2
S2	0.357 1	0.554 1	0.376 1	0.902 6	0.807 3	0.585 5	0.476 3	0.214 1	0.348 0	0.294 9	0.553 8	0.415 2	0.400 5
S3	0.000 0	0.504 9	0.677 3	0.701 3	1.000 0	0.269 7	0.173 0	0.471 5	0.405 2	0.251 4	0.504 8	0.375 9	0.590 4
S4	0.628 8	0.307 9	0.497 5	0.740 3	0.785 5	0.401 3	0.291 5	0.295 4	0.561 6	0.442 3	0.307 8	0.501 2	0.338 8
S5	0.541 5	0.405 0	0.435 7	0.805 2	0.916 4	0.539 5	0.414 7	0.336 0	0.449 2	0.328 9	0.404 9	0.547 9	0.453 2
S6	0.704 2	0.255 9	0.614 3	0.629 9	0.956 4	0.355 3	0.263 0	0.420 1	0.509 6	0.380 0	0.255 7	0.599 5	0.517 7
S7	0.807 3	0.193 5	0.556 1	0.590 9	0.752 7	0.315 8	0.225 1	0.254 7	0.616 4	0.601 1	0.193 1	0.454 5	0.273 4
S8	0.372 1	0.100 2	0.119 1	1.000 0	0.181 8	0.065 8	0.054 5	0.105 7	0.112 9	0.052 9	0.100 1	0.894 3	0.033 6
S9	0.669 7	0.140 1	0.185 0	0.506 5	0.163 6	0.098 7	0.149 3	0.140 9	0.137 7	0.207 9	0.139 7	0.840 3	0.062 7
S10	1.000 0	0.000 0	0.060 5	0.428 6	0.261 8	0.052 6	0.000 0	0.056 9	0.000 0	0.092 6	0.000 0	1.000 0	0.000 0
S11	0.751 3	0.054 4	0.000 0	0.376 6	0.000 0	0.000 0	0.085 3	0.000 0	0.054 3	0.000 0	0.054 4	0.938 6	0.038 1
S12	0.005 9	1.000 0	0.863 1	0.246 8	0.363 6	0.855 3	0.748 8	0.940 4	0.942 4	1.000 0	1.000 0	0.176 9	0.789 3
S13	0.091 0	0.952 5	1.000 0	0.103 9	0.545 5	0.953 9	1.000 0	1.000 0	1.000 0	0.931 9	0.952 5	0.000 0	1.000 0
S14	0.863 6	0.900 5	0.740 7	0.051 9	0.076 4	1.000 0	0.874 4	0.888 9	0.785 0	0.778 8	0.900 7	0.233 4	0.714 8
S15	0.279 9	0.810 7	0.804 1	0.000 0	0.676 4	0.750 0	0.613 7	0.734 4	0.646 4	0.722 1	0.810 9	0.277 6	0.643 1

3 讨论

在制备供试品溶液时,以色谱峰峰形、分离度、灵敏度为评价指标,分别考察了溶剂(50%甲醇^[12]、70%甲醇^[13]、甲醇^[14])、提取方式(超声和加热回流)和时间(20、30、60 min),结果显示 70%甲醇超声提取 30 min 时得到的 13 种成分色谱峰峰形、分离度较好,灵敏度最高。

通过对 13 个指标成分溶液进行全波长扫描,观察各成分光谱曲线中的最大吸收,最终确定采用 220 nm 检测天麻素、巴利森苷 E、巴利森苷、奇壬醇、豨莶苷和豨莶精醇,280 nm 检测洋川芎内酯 H、

洋川芎内酯 I、洋川芎内酯 A、丹参素、丹酚酸 B、隐丹参酮和丹参酮 II_A。各成分在该条件下有较大吸收,峰形尖锐,天丹通络胶囊供试品溶液在该条件下检测时基线相对平稳,且各成分的分离度良好。本实验在筛选流动相时,首先考察了甲醇-水和乙腈-水不同梯度洗脱程序,通过各洗脱程序下的色谱曲线比较,以乙腈-水系统为流动相效果较好,但个别色谱曲线拖尾严重,于是考虑加入不同磷酸溶液(0.05%、0.1%、0.2%)进行改善,最终发现乙腈-0.1%磷酸溶液作为流动相系统时,洗脱的效果最佳。

表 4 天丹通络胶囊加权矩阵
Table 4 Weighting matrix of Tiandan Tongluo Capsules

编号	天麻素	巴利森 苷 E	巴利 森苷	奇壬醇	豨莶 苷	豨莶 精醇	洋川芎 内酯 H	洋川芎 内酯 I	洋川芎 内酯 A	丹参素	丹酚酸 B	隐丹 参酮	丹参 酮 II _A
S1	0.244 1	0.464 4	0.376 2	0.324 0	0.752 9	0.120 4	0.232 3	0.177 7	0.294 1	0.091 5	0.625 1	0.167 3	0.148 1
S2	0.425 7	0.705 4	0.595 7	0.536 1	1.031 7	0.157 5	0.204 8	0.101 7	0.345 2	0.151 9	0.949 2	0.220 9	0.287 6
S3	0.000 0	0.642 7	1.072 8	0.416 6	1.278 0	0.072 5	0.074 4	0.224 0	0.402 0	0.129 5	0.865 2	0.200 0	0.423 9
S4	0.749 5	0.392 0	0.788 0	0.439 7	1.003 9	0.107 9	0.125 3	0.140 3	0.557 1	0.227 8	0.527 6	0.266 6	0.243 3
S5	0.645 5	0.515 6	0.690 1	0.478 3	1.171 2	0.145 1	0.178 3	0.159 6	0.445 6	0.169 4	0.694 0	0.291 5	0.325 4
S6	0.839 4	0.325 8	0.973 1	0.374 2	1.222 3	0.095 6	0.113 1	0.199 5	0.505 5	0.195 7	0.438 3	0.318 9	0.371 7
S7	0.962 3	0.246 3	0.880 9	0.351 0	0.962 0	0.085 0	0.096 8	0.121 0	0.611 5	0.309 6	0.331 0	0.241 8	0.196 3
S8	0.443 5	0.127 6	0.188 7	0.594 0	0.232 3	0.017 7	0.023 4	0.050 2	0.112 0	0.027 2	0.1716	0.475 8	0.024 1
S9	0.798 3	0.178 3	0.293 0	0.300 9	0.209 1	0.026 6	0.064 2	0.066 9	0.136 6	0.107 1	0.239 4	0.447 0	0.045 0
S10	1.192 0	0.000 0	0.095 8	0.254 6	0.334 6	0.014 1	0.000 0	0.027 0	0.000 0	0.047 7	0.000 0	0.532 0	0.000 0
S11	0.895 5	0.069 3	0.000 0	0.223 7	0.000 0	0.000 0	0.036 7	0.000 0	0.053 9	0.000 0	0.093 2	0.499 3	0.027 4
S12	0.007 0	1.273 0	1.367 2	0.146 6	0.464 7	0.230 1	0.322 0	0.446 7	0.934 9	0.515 0	1.714 0	0.094 1	0.566 7
S13	0.108 5	1.212 5	1.584 0	0.061 7	0.697 1	0.256 6	0.430 0	0.475 0	0.992 0	0.479 9	1.632 6	0.000 0	0.718 0
S14	1.029 4	1.146 3	1.173 3	0.030 8	0.097 6	0.269 0	0.376 0	0.422 2	0.778 7	0.401 1	1.543 8	0.124 2	0.513 2
S15	0.333 6	1.032 0	1.273 7	0.000 0	0.864 4	0.201 8	0.263 9	0.348 8	0.641 2	0.371 9	1.389 9	0.147 7	0.461 7

表 5 天丹通络胶囊质量评价排序
Table 5 Relative ordering of quality evaluation of Tiandan Tongluo Capsules

编号	D_i^+	D_i^-	C_i	排序
S1	2.043 5	1.132 9	0.356 7	11
S2	1.644 0	1.613 9	0.495 4	10
S3	1.684 0	1.900 0	0.530 1	9
S4	1.485 6	1.716 6	0.536 1	8
S5	1.514 0	1.750 7	0.536 3	7
S6	1.411 1	1.935 8	0.578 4	5
S7	1.489 1	1.820 0	0.550 0	6
S8	2.516 7	0.819 8	0.245 7	15
S9	2.346 4	0.963 6	0.291 1	13
S10	2.548 2	1.268 9	0.332 4	12
S11	2.722 9	0.927 9	0.254 2	14
S12	1.526 5	2.285 3	0.599 5	4
S13	1.341 6	2.484 2	0.649 3	1
S14	1.409 2	2.218 1	0.611 5	3
S15	1.267 6	2.080 2	0.621 4	2

天丹通络胶囊由天麻、丹参、川芎、豨莶草、槐花、石菖蒲、人工牛黄、牛膝、黄芪和水蛭组方而成,专属性试验结果显示天麻素、巴利森苷 E 和巴利森苷为君药天麻中药效成分,丹参素、丹酚酸

B、隐丹参酮和丹参酮 II_A 为君药丹参中活性成分,奇壬醇、豨莶苷和豨莶精醇为臣药豨莶草中特征成分,洋川芎内酯 H、洋川芎内酯 I 和洋川芎内酯 A 为臣药川芎中代表性成分,可见多指标成分定量控制方法的建立有助于生产企业和监管部门进一步挖掘影响产品质量差异的主要贡献因素。

本研究所建立的 HPLC 多指标成分定量质控模式实现了对天丹通络胶囊中天麻素、巴利森苷 E、巴利森苷、奇壬醇、豨莶苷、豨莶精醇、洋川芎内酯 H、洋川芎内酯 I、洋川芎内酯 A、丹参素、丹酚酸 B、隐丹参酮和丹参酮 II_A 的同步检测,方法操作便捷,结果准确,15 批天丹通络胶囊中 13 个成分含量存在一定的批次间差异,表明此方法的普及应用对稳定天丹通络胶囊整体质量具有指导意义,同时也存在一定的不足,如对照品需求多、检验成本较高,有待在后续研究中引入一测多评技术。

OPLS-DA 是一种有监督的判别分析统计方法,用于识别不同样本组间的差异标志物。在实验中采用 SPSS 26.0 统计软件,以 15 批天丹通络胶囊中 13 个成分的质量分数测定数据为变量,进行无监督的主成分分析,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 9.782、1.612,方差贡献率分别为 75.244%、12.400%,累积方差贡献率为 87.644%,大于 85%,表明前 2 个主成分因子

能够解释 87.644% 的原始变量。15 批天丹通络胶囊样品聚为 3 类, 第一主成分主要反映天麻素、巴利森苷 E、巴利森苷、甾萜精醇、洋川芎内酯 H、洋川芎内酯 I、洋川芎内酯 A、丹参素、丹酚酸 B、隐丹参酮、丹参酮 II_A 等成分的综合信息, 第二主成分主要反映奇壬醇和甾萜精苷的信息。OPLS-DA 等化学模式识别分析出丹酚酸 B、巴利森苷、甾萜精苷、巴利森苷 E、天麻素和洋川芎内酯 A 可能是影响天丹通络胶囊产品质量的主要潜在标志物, 在天丹通络胶囊质量标准提升时, 建议将上述成分纳入质量控制中。所建立的 EW-TOPSIS 分析法对 15 批天丹通络胶囊产品质量优劣进行了排序, S13、S15、S14 和 S12 位于排名前 4 位, 其次为 S6、S7、S5、S4、S3、S2 和 S1, 位于排名中间位置, S10、S9、S11 和 S8 位于排名后 4 位, 排序结果与化学模式识别分析样品聚类结果相互映, 表明所建立的质量评价方法为天丹通络胶囊生产过程控制和稳定性提供数据支持, 同时也提示生产企业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积累, 通过不断摸索与优化, 完善中药材进厂内控标准, 优化生产过程参数, 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。

本研究所建立的 HPLC 多指标成分定量控制模式以及化学模式识别、EW-TOPSIS 分析方法, 操作便捷, 结果准确可靠, 为提升天丹通络胶囊的整体质量控制方法提供了参考和借鉴。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 616-618.
- [2] 陈超. 天丹通络胶囊治疗脑梗死急性期的随机、双盲、多中心、阳性药平行对照临床试验 [J]. 现代中西医结合杂志, 2021, 30(29): 3275-3279.
- [3] 金泽, 陈静, 侯鑫磊, 等. 天丹通络胶囊治疗脑梗死恢复期风痰瘀血痹阻脉络证临床疗效观察 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(13): 58-64.
- [4] 郝春霞, 张晓光, 徐锦华, 等. 天丹通络胶囊联合普罗布考治疗风痰瘀阻型老年脑梗死合并颈动脉粥样硬化斑块的临床研究 [J]. 中国医院用药评价与分析, 2021, 21(5): 548-555.
- [5] 朱月梅, 梁茂本, 张沂. HPLC 法测定天丹通络片中 3 种活性成分的含量 [J]. 西北药学杂志, 2020, 35(2): 213-215.
- [6] 姚远, 王影, 李鹏, 等. PLS-DA 结合熵权 TOPSIS 法综合评价不同产地苍耳子 [J]. 现代药物与临床, 2022, 37(12): 2733-2740.
- [7] 杨敏娟, 毕晓黎, 江洁怡, 等. 苏陈合剂 UPLC 指纹图谱及含量测定 [J]. 中国医院药学杂志, 2022, 42(11): 1100-1106.
- [8] 张磊, 刘佳, 于静, 等. 甾萜草指纹图谱研究和 3 种活性成分的含量测定 [J]. 陕西中医, 2015, 36(12): 1674-1676.
- [9] 闫东旭, 王运君, 段琼, 等. RP-HPLC 同时测定甾萜草中奇壬醇与甾萜精醇的含量 [J]. 中国药学杂志, 2010, 45(12): 945-948.
- [10] 罗紫屹, 邱俊杰, 吴伊莉, 等. 不同变型与产地天麻中 6 种多酚类成分的比较 [J]. 华西药学杂志, 2022, 37(3): 280-284.
- [11] 翟英英, 位恒超. HPLC 梯度洗脱法同时测定小儿葫芦散中天麻素、巴利森苷 E、巴利森苷 A 和橙皮苷含量 [J]. 药物研究, 2020, 17(13): 23-25.
- [12] 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.
- [13] 姚阳阳, 穆希琼, 彭桐, 等. HPLC 法测定不同产地当归处理中 7 种成分的含量 [J]. 时珍国医国药, 2022, 33(8): 1987-1990.
- [14] 龚韬, 杨薇, 王夏, 等. 不同产地的当归中苯酞类成分的含量测定及聚类分析 [J]. 中国医药导报, 2022, 19(19): 20-24.
- [15] 樊磊磊, 徐金玲, 娄玉霞, 等. 一测多评法测定当归丸(浓缩丸)中 3 种成分的含量 [J]. 食品与药品, 2022, 24(2): 115-120.
- [16] 陈成, 邵艳, 俞明义, 等. 基于 HPLC 多指标成分定量控制联合化学计量学的得生胶囊综合质量评价 [J]. 中国药师, 2021, 24(10): 1918-1923.
- [17] 雷晓晴, 王亚丹, 乔三洋, 等. UHPLC 法同时测定并比较不同厂家、不同剂型益心舒制剂中 7 种成分含量 [J]. 中国药房, 2020, 31(11): 1314-1319.
- [18] 陈雨菡, 石小鹏, 李龙, 等. HPLC 法测定黄芪-丹参药对中 6 种成分含量 [J]. 中国药师, 2022, 25(7): 1292-1295.
- [19] 陈攀振, 郑文伟, 曹瑞, 等. HPLC 法同时测定丹参配方颗粒中 15 个成分的含量 [J]. 海峡药学, 2022, 34(6): 16-21.
- [20] 石依姗, 万青, 汪秋兰, 等. 基于熵权 TOPSIS 法和灰色关联度分析的藤茶药材等级研究 [J]. 中草药, 2022, 53(17): 5504-5512.

【责任编辑 解学星】