

ICP-MS 法分析脑震宁颗粒无机元素组成

李蓉蓉¹, 张俊杰², 李 昆^{3,4}, 游蓉丽^{3,4}, 刘海霞³, 秦雪梅¹, 朱 平^{3,4*}, 李震宇^{1*}

1. 山西大学 中医药现代研究中心, 山西 太原 030006

2. 山西大学 大型科学仪器中心, 山西 太原 030006

3. 山西振东安特生物制药有限公司, 山西 晋中 030600

4. 北京振东光明药物研究院有限公司, 北京 100085

摘要: **目的** 采用电感耦合等离子体质谱 (ICP-MS) 法对脑震宁颗粒无机元素组成进行分析, 为其产品质量均一性和安全性评价奠定基础。**方法** 脑震宁颗粒样品进行微波消解处理, 采用 ICP-MS 法定量测定 10 批样本中 18 种无机元素的含量, 通过 Heatmaps 图谱、Pearson 相关系数图对结果进行分析; 通过无机元素指纹图谱、主成分分析 (PCA) 结合聚类分析对质量均一性进行评价。**结果** 脑震宁颗粒中无机元素以 K、Ca、P、Na、Mg、Fe 为主, 且不同元素含量之间存在着一定正相关性。As、Hg、Cd、Pb、Cu 这 5 种重金属元素的限量符合《中国药典》2015 年版限度规定。采用平均数和中位数法分别建立无机元素对照指纹图谱, 从指纹图谱相似度、聚类分析、PCA 结果来看, 脑震宁颗粒无机元素的质量均一性较好。PCA 结果显示, K、Mg、Sr、Mn、P、Pb 等元素可能是影响脑震宁颗粒无机元素质量波动的特征元素。**结论** 本研究初步明确了脑震宁颗粒的无机元素组成, 为其质量均一性和安全性评价奠定了基础。

关键词: 脑震宁颗粒; 电感耦合等离子体质谱; 无机元素; 指纹图谱; 质量均一性

中图分类号: R286.02 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2019)10-2347-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.10.014

Analysis of inorganic elements compositions of Naozhenning Granules by ICP-MS

LI Rong-rong¹, ZHANG Jun-jie², LI Kun^{3,4}, YOU Rong-li^{3,4}, LIU Hai-xia³, QIN Xue-mei¹, ZHU Ping^{3,4}, LI Zhen-yu¹

1. Modern Research Center for Traditional Chinese Medicine of Shanxi University, Taiyuan 030006, China

2. Scientific Instrument Center of Shanxi University, Taiyuan 030006, China

3. Shanxi Zhendong Ante Biological Pharmaceutical Co., Ltd., Jinzhong 030600, China

4. Beijing Zhendong Guangming Pharmaceutical Research Institute Co., Ltd., Beijing 100085, China

Abstract: Objective To analyze the inorganic elements composition of Naozhenning Granules (NG) by inductively coupled plasma spectrometer (ICP-MS), in order to evaluate the uniformity and safety of NG. **Methods** The sample of NG was prepared using the microwave digestion method, and the levels of 18 inorganic elements in 10 batches of NG were determined by ICP-MS. Then the results were analyzed by Heatmaps and Pearson Correlations. The uniformity of the products was evaluated by Inorganic elemental fingerprint, principal components analysis, and Cluster analysis. **Results** The main inorganic elements in NG were K, Ca, P, Na, Mg, Fe, and there was positive correlations among the different elements. The contents of five heavy metal elements, including As, Hg, Cd, Pb, and Cu, were below the limit of Chinese Pharmacopoeia 2015. The inorganic elements reference fingerprint of NG was generated using the average and median methods. The results of fingerprint similarity, cluster analysis, and principal component analysis showed that the inorganic elements of NG showed good uniformity. The results of principal component analysis showed that K, Mg, Sr, Mn, P,

收稿日期: 2019-01-28

基金项目: 山西省重点研发计划 (201603D3113003); 山西省中药现代化振东专项基金 (2106ZD0404); 山西省研究生联合培养基地人才培养项目 (2018JD05)

作者简介: 李蓉蓉 (1995—), 女, 硕士研究生, 研究方向为中药物质基础研究。Tel: 17836205575 E-mail: lirrsxu@163.com

*通信作者 李震宇, 男, 教授, 硕士生导师, 研究方向为中药质量控制及活性成分研究。Tel: 15834101402 E-mail: lizhenyu@sxu.edu.cn

朱 平, 男, 高级工程师, 研究方向为中药工艺。E-mail: zp8236@sohu.com

and Pb may be the characteristic elements influencing the quality fluctuation of inorganic elements of NG. **Conclusion** This study determined the inorganic element composition of NG, which laid a foundation for its uniformity and safety evaluation of NG.

Key words: Naozhenning Granules; inductively coupled plasma spectrometer; inorganic elements; fingerprint; uniformity of product quality

脑震宁颗粒(Naozhenning Granule, NG)为中药复方制剂,由地黄、当归、炒酸枣仁、柏子仁、茯苓、陈皮、丹参、川芎、地龙、牡丹皮及竹茹 11 味中药材提取加工制成。临床上具有凉血活血、化瘀通络、益血安神、宁心定智、除烦止呕的功效,主要用于脑外伤引起的头痛、头晕、烦躁失眠、健忘惊悸、恶心呕吐,是颅脑外伤后恢复期的主要用药,可以改善外伤后头痛症状,促进功能恢复,纠正植物神经功能紊乱^[1-6]。

中成药的无机元素来源于中药材^[7-8],其药效的发挥与其所含的微量元素存在一定的关系。在人体中很多药物发挥药效都需要激活酶,而一些微量元素是许多酶的组成成分或激活剂。此外,微量元素还具有运载作用及维持核酸的正常代谢等生理功能^[9]。目前一些研究表明,微量元素含量的差异也会影响中药的药效,不同的产地、不同的炮制方法以及存在于中药材的部位不同会导致中药材微量元素的含量不同,药效也会产生差别^[10-12]。另外,中药材中有害重金属元素的超标会危害人体健康^[13]。因此,明确中药中无机元素的组成有助于中药质量的均一性和安全性评价。

目前,无机元素检测的方法很多,包括原子吸收光谱法(AAS)、电感耦合等离子体质谱(ICP-MS)、X 射线荧光分析法、电感耦合等离子体发射光谱法(ICP-AES)等方法。其中,微波消解 ICP-MS 法具有灵敏度高、分析速度快、检测限低的特点,已经用于桂枝茯苓胶囊^[14]、麝香保心丸^[15]及清血八味片^[16]等多种中成药的无机元素分析。本研究拟采用微波消解 ICP-MS 方法对 NG 中的无机元素组成进行轮廓分析,明确其主要无机元素,并建立其无机元素指纹图谱,为 NG 的质量评价提供参考。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Anton Paar Multiwave 3000 微波消解仪,奥地利 Anton Paar 公司;BSA124S 分析天平,德国 Sartorius 公司;Perkin Elmer Nex ION 350X ICP-MS 电感耦合等离子体质谱仪,美国 Perkin Elmer 公司。

1.2 试剂与试剂

浓硝酸,优级纯,天津市科密欧化学试剂有限

公司;超纯水,由力康公司纯水仪(EASY15)制备;标准储备液 K、Na、Mg、P、Fe、Ca、As、Hg、Pb、Cd、Cu、V、Ga、Ba、Zn、Mn、Sr、Ti,国家有色金属及电子材料分析测试中心,1.000 mg/mL;内标液 Bi、Ge、In、Li、Sc、Tb、Y,Perkinelmer Internal Standard Mix,10 µg/mL;NG,山西振东安特生物制药有限公司,批号分别为 20160609、20160612、20160613、20160701、20171203、20171210、20180101、20180104、20180107、20180110。

2 方法与结果

2.1 对照品溶液制备

将所测的 18 种元素分为 4 组,分别配制对照品溶液。第 1 组:K 元素用 1%硝酸配成 50 µg/mL 的标准储备液,第 2 组:Na、Mg、P、Fe、Ca 元素配成 25 µg/mL 的标准储备液,第 3 组 As、Hg、Cd、Pb、Cu、V、Ga 元素配成 0.25 µg/mL 的标准储备液,第 4 组 Ba、Zn、Mn、Sr、Ti 元素配成 0.5 µg/mL 的标准储备液。精密吸取 1 mL 上述 4 组标准储备液混合,再加入 1%硝酸水溶液 1 mL,得到 18 种元素的混标溶液,依次稀释 2、10、20、100、200 倍,向各对照品溶液中加入内标(Bi、Ge、In、Li、Sc、Tb、Y)溶液使内标溶液中各元素的质量浓度为 50 ng/mL。

2.2 供试品溶液制备

精密称取 0.15 g NG 样品粉末于聚四氟乙烯消解罐中,加入浓硝酸 6 mL,轻轻振荡后混匀置微波消解仪内,按照设定的消解程序消解:前 10 min 进行 800 W 的功率爬坡,维持 5 min,再经 15 min 的 1 500 W 功率爬坡,维持 30 min。消解完成后,消解液冷却至 <70 °C,加少量纯水溶解并转移至 100 mL 量瓶中定容,得待测溶液,取 3 mL 的待测溶液向其中加入内标液,使内标液中各元素的质量浓度为 50 ng/mL,即为供试品溶液。标准物质和空白对照采用同样方式消解处理。

2.3 ICP-MS 仪器参数

射频功率为 1 600 W,等离子体氩气体积流量 18 L/min,载气体积流量 0.94 L/min,辅助气体体积流量 1.2 L/min,雾化器类型 Meinhard,滞留时间 50

ms; 仪器调谐主要技术指标: 常规分析灵敏度指标 $^{115}\text{In} > 40\,000\text{ cps}$, $^{238}\text{U} > 30\,000\text{ cps}$, $^9\text{Be} > 2\,000\text{ cps}$; 碰撞模式为 kinetic energy discrimination (KED), 氦气体积流量为 3.7 mL/min。

2.4 测定方法

选择加入内标液 Bi、Ge、In、Li、Sc、Tb、Y, 通过基体校正的方法按照“2.3”项条件测定 18 种无机元素的含量, 每个样品数据读取 3 次, 取其平均值。

2.5 检测限和定量限

连续测定样品空白溶液 11 次, 测定元素的信号响应值, 以其信号响应值的标准偏差 (δ) 的 3 倍所对应的质量浓度为检测限 (LOD), 10 倍所对应的质量浓度为定量限 (LOQ), 结果见表 1。

2.6 重复性试验

从 10 批次样品中取等量的供试品溶液, 平行制备 6 份, 依次进样, 测定结果见表 1, RSD 值为 0.68%~5.63% (由于 Hg 和 Cd 的含量均低于检出限, 其 RSD 值不具参考意义), 说明该方法的重复性良好。

2.7 标准曲线绘制

取“2.1”项下配制的对照品溶液, 按照“2.4”

项下的测定方法进行测定, 以对照品质量浓度为横坐标 (X), 测定各元素响应值与内标响应值的比值为纵坐标 (Y), 绘制标准曲线, 得各元素对照品的回归方程, 见表 1。

2.8 准确度试验

按照“2.4”项下的测定方法测定国家标准物质黄芪 GBW10028, 将测定值与黄芪标准物质中的标准值进行对比, 由表 2 数据可以看出, 该法的准确性良好, 可以满足 NG 样品中无机元素测定要求。

2.9 样品测定

取批号为 20160609、20160612、20160613、20160701、20171203、20171210、20180101、20180104、20180107、20180110 的 10 批样品按照“2.2”项下的方法对样品处理后, 按照“2.4”项下的测定方法, 依次测定。

2.10 数据处理及分析

将 ICP-MS 采集的数据导入 Excel 表格中保存为 CSV 格式, 通过 Metaboanalyst 4.0 (<https://www.metaboanalyst.ca>) 网站生成 Heatmaps 图和元素含量之间的 Pearson 相关系数图; 将各元素的质量分数扩大或缩小到同一数量级, 之后使用 Excel 软件绘制 NG 的无机元素指纹图谱及对照图谱; 采用软件

表 1 18 种元素的线性关系、检出限和定量限考察结果

Table 1 Linearity, LOD, and LOQ of 18 elements

元素	回归方程	r	线性范围/($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	LOD/($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	LOQ/($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	RSD/%
K	$Y=4.800\times 10^{-3}X+0.151\,1$	1.000 0	50~10 000	0.359	1.969	0.77
Na	$Y=4.370\times 10^{-2}X-0.189\,1$	0.999 6	25~5 000	0.257	0.857	1.07
Mg	$Y=7.900\times 10^{-3}X+0.102\,0$	1.000 0	25~5 000	0.968	3.227	0.84
P	$Y=1.000\times 10^{-4}X+0.001\,1$	1.000 0	25~5 000	1.380	4.599	2.26
Fe	$Y=4.000\times 10^{-4}X+0.024\,9$	1.000 0	25~5 000	2.502	8.341	1.13
Ca	$Y=1.000\times 10^{-5}X+0.003\,3$	0.998 9	25~5 000	73.103	243.375	5.25
As	$Y=2.000\times 10^{-3}X+0.000\,2$	1.000 0	0.25~50.00	0.029	0.095	5.00
Hg	$Y=3.000\times 10^{-4}X+0.000\,1$	0.994 2	0.25~50.00	0.332	1.106	—
Pb	$Y=1.360\times 10^{-2}X+0.011\,8$	1.000 0	0.25~50.00	0.025	0.083	0.68
Cd	$Y=7.000\times 10^{-4}X+0.000\,1$	0.999 8	0.25~50.00	0.021	0.071	—
Cu	$Y=3.540\times 10^{-2}X+0.102\,9$	0.999 9	0.25~50.00	0.279	0.928	1.95
V	$Y=1.300\times 10^{-2}X+0.005\,7$	1.000 0	0.25~50.00	0.118	0.394	3.14
Ga	$Y=5.400\times 10^{-3}X+0.001\,1$	1.000 0	0.25~50.00	0.064	0.214	2.52
Ba	$Y=3.600\times 10^{-3}X+0.002\,4$	0.999 9	0.5~100.0	0.040	0.133	1.00
Zn	$Y=3.100\times 10^{-3}X+0.053\,1$	0.996 1	0.5~100.0	0.448	1.494	0.82
Mn	$Y=7.700\times 10^{-3}X+0.002\,8$	0.999 8	0.5~100.0	1.473	58.362	1.94
Sr	$Y=7.000\times 10^{-3}X+0.002\,6$	1.000 0	0.5~100.0	0.091	0.303	1.12
Ti	$Y=3.000\times 10^{-4}X+0.000\,1$	0.999 9	0.5~100.0	0.381	1.271	5.63

表 2 中药材标准物质黄芪中 18 种元素质量分数 ($n = 6$)Table 2 Contents of 18 elements in *Astragalus Radix* ($n = 6$)

元素	测定值/(mg·g ⁻¹)	参考值/(mg·g ⁻¹)	不确定度/(mg·g ⁻¹)	元素	测定值/(mg·g ⁻¹)	参考值/(mg·g ⁻¹)	不确定度/(mg·g ⁻¹)
K	6.921	7.000	0.400 0	Cd	—	4.200×10^{-8}	1.000×10^{-8}
Na	1.119	1.460	0.190 0	Cu	7.788×10^{-3}	8.500×10^{-3}	7.000×10^{-4}
Mg	2.142	2.280	0.100 0	V	2.105×10^{-3}	2.560×10^{-3}	3.200×10^{-4}
P	2.415	2.250	0.120 0	Ga	—	—	—
Fe	1.123	1.130	0.070 0	Ba	0.025 43	0.025 00	2.500×10^{-3}
Ca	4.332	4.560	0.180 0	Zn	0.024 70	0.022 30	1.000×10^{-3}
As	6.009×10^{-4}	5.700×10^{-4}	0.500 0	Mn	0.032 76	0.033 00	1.000×10^{-3}
Hg	—	1.200×10^{-5}	—	Sr	0.047 54	0.051 00	3.000×10^{-3}
Pb	1.385×10^{-3}	1.440×10^{-3}	1.000×10^{-4}	Ti	0.093 80	0.102 00	0.011 00

SPSS 21.0 对 10 批次 NG 的无机元素质量分数进行聚类分析,并使用软件 Simca 13.0 绘制 PCA 散点图,对 NG 进行质量均一性分析。采用软件 SPSS 21.0 对数据标准化后进行主成分分析 (PCA),据初始特征值和累计贡献率提取主成分因子,对提取的主成分因子进行载荷矩阵,由负荷量的大小来寻找 NG 中的特征元素。

2.11 样品中无机元素的测定结果及分析

10 批 NG 样品中 18 种无机元素的测定结果见表 3。可以看出,NG 中 18 种无机元素的含量差异很大,K 元素的含量最高,其平均质量分数为 $3\,443.518\ \mu\text{g/g}$,其次含量较高的元素及其平均质量分数为 Ca ($869.529\ \mu\text{g/g}$)、P ($830.062\ \mu\text{g/g}$)、Na ($552.145\ \mu\text{g/g}$)、Mg ($445.913\ \mu\text{g/g}$)、Fe ($172.496\ \mu\text{g/g}$)。这些元素含量占本研究所测 18 种元素含量的 99.5% (图 1)。此外,NG 中含有微量的 Ga、Ba、Zn、Mn、Sr、Ti、Hg、Pb、Cd、Cu、V 等元素在部分批次中的含量低于检出限。《中国药典》2015 年版中对中药材的重金属及有害元素的限度规定,As 不得超过 $2\ \text{mg/kg}$,Hg 不得超过 $0.2\ \text{mg/kg}$,Cd 不得超过 $0.3\ \text{mg/kg}$,Pb 不得超过 $5\ \text{mg/kg}$,Cu 不得超过 $20\ \text{mg/kg}$,本实验测定的 10 批 NG 样品中 5 种重金属元素 As、Hg、Cd、Pb、Cu 均未超标,说明 NG 的重金属含量是在安全限度范围之内。

为了可以更直观地表示不同批次 NG 中各无机元素的含量的高低,使用 Metaboanalyst 网站绘制了 Heatmaps 图 (图 2)。由于元素 Hg、Cr、V、Pb、Cu 在多批 NG 中含量低于检出限,因此在绘制 Heatmaps 图时,将这些数据剔除。图中可以直观地看出,批号 20160612 样品中 Fe、Mn、K、Mg、P、Zn 等元素含量最高,批号 20180104 样品中各元素

整体含量均较低。由表 3 及图 2 可见,同一元素在不同批次样品之间的含量存在较大差异,如 K 元素含量最低值为 $2\,776.230\ \mu\text{g/g}$,最高可达 $4\,401.263\ \mu\text{g/g}$ 。为了进一步准确分析各元素在不同批间样品之间含量的波动状况,引入一个新的变量,并定义为变异系数 (变异系数 = 标准偏差/平均值),其数值可以反映某一元素含量在不同样品之间的变异范围。由表 3 可见,Zn 元素的变异系数较大,说明在不同批间的样品之间 Zn 元素含量波动较大,而 Ti 元素的变异系数较小,说明其含量在不同批间样品之间较稳定。

为了进一步分析 NG 中各元素的相关性,绘制 14 种元素的 Pearson 相关系数图 (图 3)。图中红色表示正相关,蓝色表示负相关,颜色越深表示相关性越大,反之越小。由于元素 Hg、Cd、V、Pb、Cu 在多批 NG 中含量低于检出限,因此在绘制相关系数图时,将这些数据剔除。由图 3 可以直观地看出,元素 Zn、Fe、Mn、K、Mg 这几种元素之间相互存在较强的正相关性,Ga 与 Ba、K 与 P 之间也存在较强的正相关性。此外,元素 Na 与 Ca、Fe 与 Ti、Fe 与 P 存在着中等强度的正相关。

2.12 无机元素指纹图谱建立及相似度分析

由于 NG 中的 18 种无机元素含量数量级差别较大,为了更直观准确的绘制指纹图谱,将不同元素的含量扩大或缩小至同一数量级 (K 缩小 100 倍,Na、Mg、P、Fe、Ca 缩小 10 倍,As、Ba、Mn、Sr、Ti 扩大 10 倍,Ga 扩大 100 倍),以元素种类为横坐标,相对含量为纵坐标绘制指纹图谱 (图 4)。可见 10 批 NG 峰形相似,但不同批次之间相对含量略有差异。将 10 批样品以平均数和中位数法分别生成 NG 无机元素对照指纹图谱 (图 4)。然后通过夹

表 3 NG 中无机元素的质量分数、平均质量分数及变异系数 ($n = 3$)
Table 3 Contents, average contents, and CV of and inorganic elemental of NG ($n = 3$)

批号	质量分数/($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)								
	K	Na	Mg	P	Fe	Ca	As	Hg	Pb
20160609	3 482.736	633.492	480.185	771.945	168.626	1 087.095	1.667	ND	1.091
20160612	4 401.263	639.548	595.911	976.258	208.022	970.408	1.256	ND	ND
20160613	3 490.937	452.794	472.958	777.236	179.073	812.220	0.806	ND	ND
20160701	3 492.822	451.738	476.752	846.199	171.073	793.778	1.298	ND	ND
20171203	3 416.445	624.801	436.468	864.663	162.628	733.461	1.032	ND	3.896
20171210	3 540.158	626.563	487.101	903.913	175.446	1 264.795	1.558	ND	1.266
20180101	3 137.608	410.729	422.370	785.135	170.029	648.475	1.529	ND	ND
20180104	2 776.230	593.454	354.004	719.336	148.463	534.397	0.854	ND	ND
20180107	3 339.147	701.468	423.566	830.834	166.882	1 133.525	0.963	ND	ND
20180110	3 357.835	386.838	409.817	825.102	174.309	717.134	1.365	ND	ND
平均值	3 443.518	552.145	445.913	830.062	172.496	869.529	1.233	—	—
变异系数/%	11.82	20.59	14.05	8.87	8.75	26.98	24.82	—	—

批号	质量分数/($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)								
	Cd	Cu	V	Ga	Ba	Zn	Mn	Sr	Ti
20160609	ND	1.264	ND	0.724	4.176	17.638	6.280	3.444	2.115
20160612	ND	1.050	ND	0.814	4.682	19.667	7.515	4.049	2.396
20160613	ND	ND	ND	0.697	3.811	7.597	6.096	3.204	2.086
20160701	ND	0.372	ND	0.764	4.465	8.539	6.094	3.395	2.057
20171203	ND	0.321	ND	0.807	4.705	5.102	5.011	3.278	1.932
20171210	ND	0.574	ND	0.772	4.396	10.206	5.886	4.142	2.180
20180101	ND	ND	ND	0.784	4.287	0.963	4.866	3.249	2.326
20180104	ND	ND	ND	0.622	3.521	ND	4.639	3.026	1.906
20180107	ND	ND	ND	0.726	4.103	3.440	4.965	3.533	2.422
20180110	ND	0.348	ND	0.638	3.849	13.118	5.000	3.264	2.113
平均值	—	—	—	0.735	4.200	9.586	5.635	3.458	2.153
变异系数/%	—	—	—	9.06	9.22	65.63	15.94	10.52	8.32

ND-代表测定值小于检测限 —-无法计算平均值和变异系数

ND-content is less than LOD —-unable to calculate mean and coefficient of variation

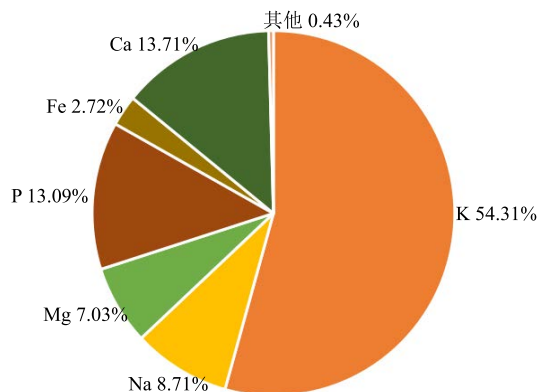


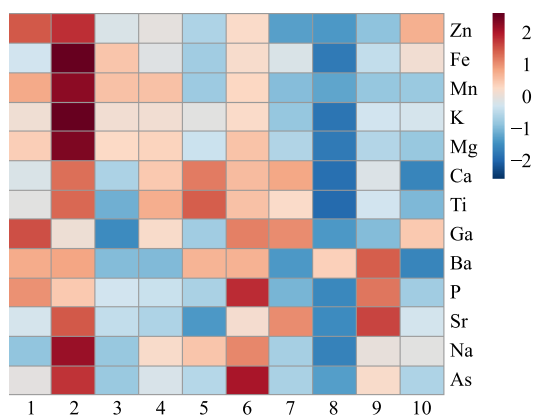
图 1 NG 中各元素占比分析

Fig. 1 Proportion of elements in NG

角余弦法计算 10 批样品与生成的对照图谱的相似度, 夹角余弦值接近 1, 说明相似程度高 (表 4)。由表 4 可见, 10 批 NG 指纹图谱与平均数、中位数对照图谱的夹角余弦值均大于 0.984, 说明各批次间无机元素指纹图谱的相似度较高, 即不同批次的 NG 无机元素的质量均一性较好。

2.13 基于多元统计分析的 NG 质量均一性评价

进一步采用多元统计分析对 10 批 NG 无机元素的质量均一性进行分析。从聚类分析 (图 5) 可以看出, 10 批样本可分为 3 组, 20160612 和 20180104 批次单独为 1 组, 其他样本为 1 组。从 PCA 散点图 (图 6, 其中 R_x^2 为 0.55, Q^2 为 0.453) 可以看出,



1~10 依次代表 10 批样品, 即 20160609、20160612、20160613、20160701、20171203、20171210、20180101、20180104、20180107、20180110

1—10 represent 10 batches of samples in turn, ie 20160609, 20160612, 20160613, 20160701, 20171203, 20171210, 20180101, 20180104, 20180107, 20180110

图 2 NG 无机元素含量的热图分析

Fig. 2 Heatmaps of inorganic elemental contents in NG

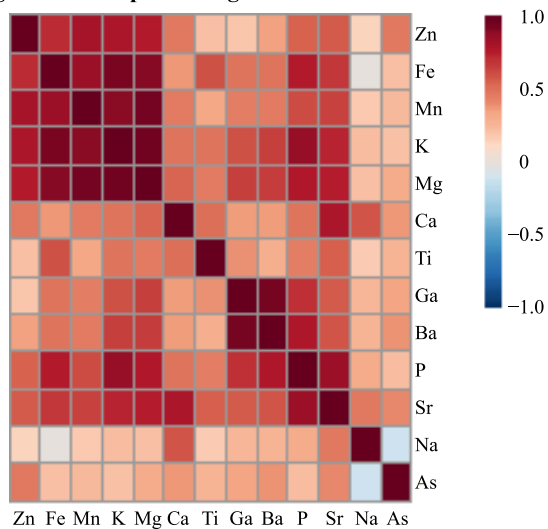


图 3 NG 各无机元素之间的 Pearson 相关性分析

Fig. 3 Pearson correlations between inorganic elemental of NG

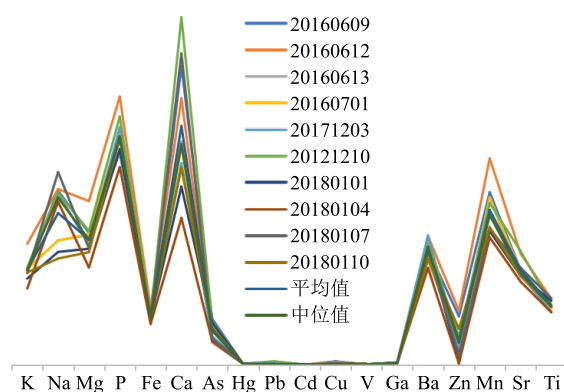


图 4 NG 无机元素指纹图谱

Fig. 4 Inorganic elemental fingerprint of NG

表 4 NG 无机元素指纹图谱相似度分析

Table 4 Similarity evaluation on inorganic elemental fingerprint of NG

批次	平均数夹角余弦值	中位数夹角余弦值
20160609	0.992 4	0.988 5
20160612	0.996 7	0.995 7
20160613	0.997 0	0.993 8
20160701	0.996 6	0.994 3
20171203	0.994 0	0.997 7
20171210	0.989 9	0.983 9
20180101	0.991 8	0.991 7
20180104	0.984 2	0.991 3
20180107	0.988 3	0.985 6
20180110	0.993 9	0.991 3

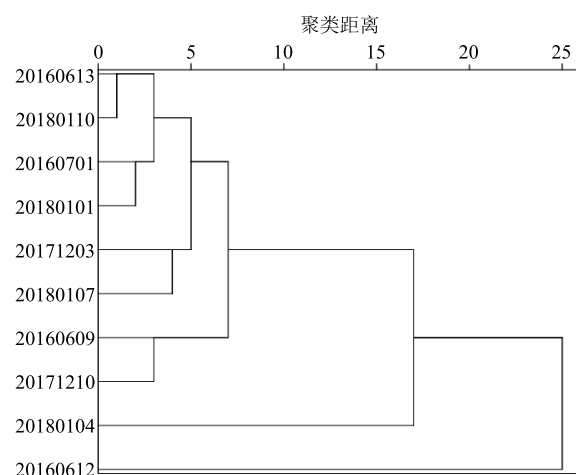


图 5 10 批 NG 无机元素的聚类分析

Fig. 5 Cluster analysis of inorganic elemental in 10 batches of NG

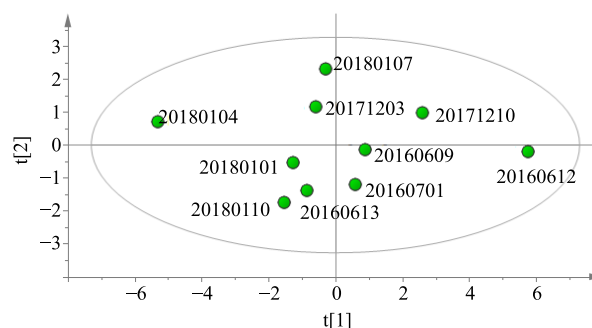


图 6 10 批 NG 无机元素的 PCA 散点图

Fig. 6 PCA scatter plot of inorganic elemental in 10 batches of NG

所有样本均在 95% 置信区间 ($PC1=55.0\%$, $PC2=11.1\%$), 但 20160612 和 20180104 批次的样品在第 1 主成分轴与其他样本存在差异, 即主成分分析和聚类分析结果一致。说明不同批次 NG 中无机元素

的含量高低与生产批次及生产年份无明显相关性, NG 的质量均一性较好。这 2 批样品与其他样本存在差异的原因在于, 样品 20160612 中 Fe、Mn、K、Mg、P、Zn 等元素含量最高, 而样品 20180104 中各元素整体含量均较低。然后进一步采用 PCA 确定影响 NG 质量波动的无机元素。PCA 可将原来的变量重新组合成一组新的综合变量, 并从中取出几个较少的综合变量尽可能多地反映原来的变量信息。根据 Kaiser 准则(特征值大于 1)及累积贡献率准则(累积贡献率达 80%或 85%以上), 前 5 个主成分初始特征值(分别为 8.236、2.063、1.648、1.449、1.293)均大于 1 且累积贡献率达 91.808%, 说明前 5 个主成分可以解释 91.808%的原始数据变量信息。对前 5 个主成分因子进行负荷量分析, 第 1 主成分因子负荷量较大的是 K、Mg、Sr、Mn、P, 第 2 主成分因子负荷量较大的是 Pb, 因总方差 65.372%的累积贡献率来自 1、2 主成分, 因此可初步认为 K、Mg、Sr、Mn、P、Pb 是影响 NG 无机元素组成质量波动的特征元素。

3 讨论

本研究采用 ICP-MS 对 NG 中 18 种无机元素的含量进行了轮廓指纹分析, 初步明确了其无机元素的组成。结果显示 NG 中的无机元素以 K、Ca、P、Na、Mg、Fe 为主, 含量最高的是 K, 其次是 Ca、P、Na、Mg、Fe, 这 6 种元素占测定元素总量的 99.5%。通过计算不同元素的变异系数, 发现 Zn 元素的波动最大, 而 Fe、P 元素波动较小, 其中最稳定的是 Ti 元素。Pearson 相关分析显示, 这些不同元素含量之间存在着一定正相关性。此外, NG 中 As、Hg、Cd、Pb、Cu 的限量符合《中国药典》2015 年版中对中药材的重金属及有害元素的限度规定, 即从重金属的角度来看, NG 是安全的。进一步采用平均数和中位数法分别建立无机元素对照指纹图谱, 从指纹图谱相似度、聚类分析、PCA 结果来看, NG 无机元素的质量均一性较好。PCA 结果显示, K、Mg、Sr、Mn、P、Pb 等元素可能是影响 NG 无机元素组成波动的特征元素。

NG 中对人体有益的无机元素包括 K、Na、Mg、P、Fe、Ca、Cu、Ga、Ba、Zn、Mn、Sr、Ti 等。脑震荡患者可见脑血液循环障碍、脑中间神经元受损、脑细胞生理代谢紊乱、毛细血管充血、神经元胞体肿大和脑水肿等症状^[17]。K 元素能维持人体的渗透压平衡, 扩张血管, 有助于损伤部位瘀血消散,

参与细胞的新陈代谢和酶促反应^[18]; Ca 元素能够维持肌肉与神经的正常兴奋性, 维持细胞膜的正常功能, 促进酶活性和激素的分泌, 能降低毛细血管的通透性, 控制炎症和水肿^[19]; Na 元素能维持渗透压平衡, 有助于细胞膜通透性的恢复, 减少组织液渗出; Mg 是许多酶系的辅助因子或激活剂, 是骨细胞结构和功能所必需的元素, 对中枢神经系统有镇静作用^[20], 补充 Zn、Mg 可促进神经功能恢复^[21]。Fe 元素参与人体中血红蛋白、肌红蛋白、细胞色素的合成, 并与乙酰辅酶 A、细胞色素还原酶等酶的活性相关, 参与体内氧的转运、交换。此外, Fe 元素还能维持正常造血功能, 增强免疫功能^[22]。Mn 元素参与许多酶的合成与激活, 能够激活多糖聚合酶, 促进细胞内脂肪氧化, 加快蛋白质和维生素 B、C 的合成, 催化造血功能, 参与中枢神经激素的传递, 调节内分泌系统, 提高免疫功能^[23]。Zn 元素参与多种酶的合成, 是人体中多种特异性酶的活性中心, 参与能量、细胞分解和其他物质的代谢, 能够协调免疫反应, 维持生殖功能, Zn 元素在神经系统也起着十分重要的作用, 其浓度的高低可改变多种膜受体和离子通道功能^[24]。Mn、Fe、Zn 这些微量元素元素的补充还有利于补脑健脑及增强记忆力, 有研究表明元素 Fe 和 Zn 与安神作用有关^[25]。Sr 元素是一种人体必需的微量元素, 与骨骼的形成和血管功能有关, 具有强壮骨骼和防止动脉硬化, 防止血栓形成的功能^[26]。目前, 还未发现微量元素 Ga、Ti 的生理功能, 这些元素的作用有待进一步研究。NG 中其他的无机元素, 及其与药效的相关性还需要在今后研究中进一步确证, 并将与药效相关的无机元素纳入 NG 的质量标准。

无机元素进行准确含量测定需要严格的方法学考察, 本研究旨在初步明确 NG 的无机元素组成, 并分析元素之间的相关性和基于无机元素的产品质量均一性, 所以采用了相对简捷的方法, 即与国家标准物质的比较来说明方法的准确性; 在后续研究中, 如果将安全性相关的重金属元素纳入质量标准、或对与药效相关的无机元素进行定量分析, 将建立准确的含量测定方法, 并进行严格的方法学考察。

参考文献

- [1] 王学建, 季炜鹏. 脑震宁治疗脑外伤后头痛 53 例疗效观察 [J]. 中华神经创伤外科电子杂志, 2017, 3(5): 292-293.
- [2] 于舒婷, 刘海霞, 李 昆, 等. 采用 UHPLC-QExactive

- 轨道阱高分辨质谱快速识别脑震宁颗粒的化学成分 [J]. 药学学报, 2018, 53(4): 609-620.
- [3] 卢紫娟, 刘海霞, 李 昆, 等. 基于网络药理学的脑震宁颗粒治疗脑外伤的机制分析 [J]. 中草药, 2018, 49(15): 3531-3540.
- [4] 李献玉, 郝少君, 王希东, 等. 高效液相色谱法同时测定脑震宁颗粒中丹酚酸B和橙皮苷的含量 [J]. 中国医院药学杂志, 2010, 30(17): 1508-1510.
- [5] 李 军, 李献玉. HPLC法测定脑震宁颗粒中阿魏酸和橙皮苷的含量 [J]. 解放军药学学报, 2009, 25(3): 264-265.
- [6] 江建军. 脑震宁等治疗脑外伤后综合征疗效观察 [J]. 现代中西医结合杂志, 2008, 17(9): 1371.
- [7] Niu X X, Chen X W, Su H, *et al.* Changes of secondary metabolites and trace elements in *Gentiana macrophylla* flowers: A potential medicinal plant part [J]. *Chin Herb Med*, 2014, 6(2): 145-151.
- [8] 张秀娟, 芦 清, 何春阳. 药材中微量元素测定方法的研究进展 [J]. 药物评价研究, 2017, 40(4): 566-570.
- [9] 谭绿贵, 傅先兰, 张 鑫, 等. 微量元素·人体健康·环境变化 [J]. 微量元素与健康研究, 2005, 22(4): 49-51.
- [10] 张亚丽, 王东青, 尹晓峰. 微量元素与中药功效关系探讨 [J]. 国医论坛, 2012, 27(6): 20-21.
- [11] 张柯瑶, 郭惠, 王 媚, 等. 扶正固本类中药中微量元素含量测定及药效关系研究 [J]. 陕西中医, 2017, 38(3): 398-400.
- [12] 田柱萍, 何邦平, 王小燕, 等. 中药材的药效与其所含微量元素关系的研究进展 [J]. 微量元素与健康研究, 2005, 22(4): 54-56.
- [13] 迟鸿悦, 李文影, 李乐乐, 等. ICP-MS法测定人参中6种重金属元素 [J]. 吉林中医药, 2018, 38(8): 954-957.
- [14] 康 玉, 刘先华, 王 斌. 基于 ICP-MS 法的桂枝茯苓胶囊中无机元素分析 [J]. 中草药, 2018, 49(14): 3292-3297.
- [15] 丁华永, 彭华毅, 林 绥. 基于 ICP-MS 法的麝香保心丸中 26 种无机元素分析 [J]. 中草药, 2018, 49(4): 847-852.
- [16] 王宝丽, 李 志, 荆 淼, 等. 微波消解 ICP-MS 法测定清血八味片中 32 种无机元素 [J]. 中草药, 2017, 48(10): 1983-1990.
- [17] 闫德祺, 王 刚, 高玉松, 等. 脑震荡的诊疗研究进展 [J]. 华南国防医学杂志, 2018, 32(2): 133-136.
- [18] 韩银. 微量元素与人体健康 [J]. 乡村科技, 2015(5): 45-45.
- [19] 李淑芹, 翟俊民. 微量元素与人体健康的关系 [J]. 中国地方病防治杂志, 2008, 23(6): 433-434.
- [20] 耿华田. 镁元素与人体健康 [J]. 中学生物学, 2005, 21(6): 7-8.
- [21] 王守军, 阎庆华, 朱美丽, 等. 颅脑损伤后脑脊液、血液中碳酸氢根、糖、电解质、微量元素含量的研究 [J]. 中华神经医学杂志, 2004, 3(1): 31-34.
- [22] 徐素萍. 微量元素铁与人体健康的关系 [J]. 中国食物与营养, 2007(12): 51-54.
- [23] 杨心乐, 王桂兰, 张忠诚. 锰与人体健康 [J]. 医学综述, 2006, 12(18): 1134-1136.
- [24] 陈文强. 微量元素锌与人体健康 [J]. 微量元素与健康研究, 2006, 23(4): 62-65.
- [25] 黄海霞, 黄学梅, 徐海涛, 等. 七种安神类中草药 Zn、Fe 含量的测定 [J]. 广东微量元素科学, 2015, 22(2): 33-36.
- [26] 张文玲, 孙瑞香, 魏洪芹, 等. 某些微量元素与人体健康的关系 [J]. 山东地质, 2003, 19(S1): 40-43.