

骨骼风痛片的综合质量评价^Δ

吉顺莉^{1*}, 周虹², 王永智³, 殷晓芹^{1#} (1. 南通大学附属医院药学部, 江苏南通 226001; 2. 海安市人民医院药剂科, 江苏南通 226600; 3. 南京中医药大学药学院, 南京 210023)

中图分类号 R917; R284 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2024)08-0948-07
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2024.08.09



摘要 **目的** 建立测定骨骼风痛片中原薯蓣皂苷等11种成分含量的方法, 同时进行化学计量学分析及熵权优劣解距离(EW-TOPSIS)法分析, 以综合评价骨骼风痛片的质量。**方法** 采用高效液相色谱法。以Agilent Eclipse Plus C₁₈为色谱柱, 以乙腈-0.2%磷酸溶液为流动相进行梯度洗脱, 流速为1.0 mL/min, 柱温为30℃, 检测波长为203 nm(0~28 min, 原薯蓣皂苷、甲基原薯蓣皂苷、伪原薯蓣皂苷、薯蓣皂苷)、280 nm(28~60 min, 儿茶素、表儿茶素、甘草素、美迪紫檀素、6-姜辣素、8-姜酚、10-姜酚), 进样量为10 μL。以表儿茶素为内参物, 采用一测多评(QAMS)法计算原薯蓣皂苷、甲基原薯蓣皂苷、伪原薯蓣皂苷、薯蓣皂苷、儿茶素、甘草素、美迪紫檀素、6-姜辣素、8-姜酚和10-姜酚的含量, 并与外标法检测结果进行比较; 采用SPSS 26.0、SIMCA 14.1软件进行主成分分析和正交偏最小二乘法-判别分析, 以变量重要性投影(VIP)值大于1为标准, 筛选影响质量的差异标志物; 采用EW-TOPSIS法对15批样品的质量进行综合评价。**结果** 高效液相色谱结合QAMS法测得原薯蓣皂苷、甲基原薯蓣皂苷、伪原薯蓣皂苷、薯蓣皂苷、儿茶素、甘草素、美迪紫檀素、6-姜辣素、8-姜酚和10-姜酚的含量分别为6.330~10.863、1.150~2.274、0.431~0.740、2.818~4.823、0.826~1.510、0.043~0.094、0.079~0.231、0.479~1.020、0.146~0.288、0.118~0.318 mg/g, 与外标法比较差异均无统计学意义($P>0.05$); 15批样品可分为3组, S1~S6、S7~S10、S11~S15分别聚为一组; 原薯蓣皂苷、表儿茶素、薯蓣皂苷、6-姜辣素的VIP值均大于1; 15批样品的最优解欧氏贴近度(C_i)为0.163 5~0.703 7, 其中S11~S15样品的 C_i 值均大于0.6。**结论** 所建QAMS法准确、简便, 结合化学计量学分析及EW-TOPSIS法可用于综合评价骨骼风痛片的质量; 原薯蓣皂苷、表儿茶素、薯蓣皂苷和6-姜辣素可能是影响骨骼风痛片质量的差异标志物; S11~S15样品的质量较好。

关键词 骨骼风痛片; 一测多评法; 化学计量学分析; 熵权优劣解距离法; 含量测定; 差异标志物

Comprehensive quality evaluation of Guge fengtong tablets

Ji Shunli¹, ZHOU Hong², WANG Yongzhi³, YIN Xiaoqin¹ (1. Dept. of Pharmacy, the Affiliated Hospital of Nantong University, Jiangsu Nantong 226001, China; 2. Dept. of Pharmacy, Hai'an People's Hospital, Jiangsu Nantong 226600, China; 3. School of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE** To establish a method for the content determination of 11 components such as protodioscin in Guge fengtong tablets, and to evaluate the comprehensive quality of Guge fengtong tablets by combining with chemometric analysis and entropy weight-technique for order preference by similarity to ideal solution (EW-TOPSIS) method. **METHODS** HPLC method was adopted. The determination was performed on Agilent Eclipse Plus C₁₈ column with a mobile phase consisted of acetonitrile-0.2% phosphoric acid solution at the flow rate of 1.0 mL/min by gradient elution. The column temperature was set at 30℃. The detection wavelengths were set at 203 nm (0-28 min, protodioscin, methyl protodioscin, pseudoprotodioscin, dioscin) and 280 nm (28-60 min, catechin, epicatechin, liquiritigenin, medicarpin, 6-gingerol, 8-gingerol, 10-gingerol); the sample size was 10 μL. Using epicatechin as the internal reference, quantitative analysis of multi-components by single marker (QAMS) method was used to determine the contents of protodioscin, methyl protodioscin, pseudoprotodioscin, dioscin, catechin, liquiritigenin, medicarpin, 6-gingerol, 8-gingerol and 10-gingerol, which were compared with the results of the external standard method. SPSS 26.0 software and SIMCA 14.1 software were used for principal component analysis and orthogonal partial least squares-discriminant analysis, with variable importance in projection (VIP) value greater than 1 as the standard, to screen for differential markers that affect the quality; the EW-TOPSIS method was adopted to evaluate the quality of 15 batches of samples comprehensively. **RESULTS** The contents of protodioscin, methyl protodioscin, pseudoprotodioscin, dioscin, catechin, liquiritigenin, medi-

^Δ 基金项目 江苏省高等学校基础科学(自然科学)研究重大项目 (No.23KJA360007)

* 第一作者 副主任药师, 硕士。研究方向: 临床药学及药剂学。
E-mail: ihpmec@163.com

通信作者 主任药师, 硕士。研究方向: 临床药学及药事管理。
E-mail: uzb95@163.com

carpin, 6-gingerol, 8-gingerol and 10-gingerol determined by HPLC combined with QAMS were 6.330-10.863, 1.150-2.274, 0.431-0.740, 2.818-4.823, 0.826-1.510, 0.043-0.094, 0.079-0.231, 0.479-1.020, 0.146-0.288, 0.118-0.318 mg/g, respectively; there were no statistical significances, compared with the external standard method ($P>0.05$). A total of 15 batches of samples were clustered into 3 groups, with S1-S6, S7-S10, and S11-S15 clustered into one group, respectively. The VIP values of protodioscin, epicatechin, dioscin and 6-gingerol were greater than 1. Euclidean closeness values of the optimal solution (C_i) for 15 batches of samples were 0.163 5 to 0.703 7, and C_i values of S11-S15 were all higher than 0.6. **CONCLUSIONS** The established QAMS method is accurate and simple, and can be used for comprehensive quality evaluation of Guge fengtong tablets, by combining with chemometric analysis and EW-TOPSIS method. Protodioscin, epicatechin, dioscin and 6-gingerol are the differential markers that affect the quality of Guge fengtong tablets. Samples S11-S15 have better quality.

KEYWORDS Guge fengtong tablets; QAMS; chemometric analysis; EW-TOPSIS method; content determination; differential markers

骨骼风痛片由鸡血藤、穿山龙、干姜组成,主要用于风湿痹痛。方中,鸡血藤可活血补血、调经止痛、舒筋活络,主要药效成分为黄酮类成分,包括儿茶素、表儿茶素、甘草素和美迪紫檀素等^[1];穿山龙具有祛风除湿、舒筋通络、活血止痛、止咳平喘等作用,主要活性成分为皂苷类成分,包括原薯蓣皂苷、甲基原薯蓣皂苷、伪原薯蓣皂苷和薯蓣皂苷等^[2];干姜可温中散寒、回阳通脉、温肺化饮,主要成分为6-姜辣素、8-姜酚和10-姜酚^[3]。目前,骨骼风痛片的执行标准为国家药品监督管理局公布的药品标准[WS-10720(ZD-0720)-2002-2012Z-2021],以薯蓣皂苷作为定量指标,且相关文献比较陈旧^[4]。由于中成药复方制剂的药效成分众多,药理作用复杂,仅对单一成分进行检测难以全面反映制剂的整体质量;加之中药材易受产地、加工等因素的影响,使得同种制剂的质量和临床疗效存在明显差异,故提升中成药复方制剂的质量控制标准具有重要意义。

一测多评(quantitative analysis of multi-components by single marker, QAMS)技术可将价廉易得的对照品作为内参物,实现对多种成分含量的同时测定,具有检验成本低、用时短、效率高等特点^[5]。化学计量学分析可通过对复杂数据进行处理而挖掘出造成产品批间差异的主要成分^[6]。熵权优劣解距离(entropy weight technique for order preference by similarity to ideal solution, EW-TOPSIS)法的多目标决策与中药多指标质量综合评价的思路相符,能够直观反映各评价指标与总得分的接近程度,可用于分析产品质量的影响因素^[7]。基于此,本研究拟采用QAMS法同时测定骨骼风痛片中原薯蓣皂苷、甲基原薯蓣皂苷、伪原薯蓣皂苷、薯蓣皂苷、儿茶素、表儿茶素、甘草素、美迪紫檀素、6-姜辣素、8-姜酚、10-姜酚的含量,结合化学计量学分析和EW-TOPSIS法对其质量进行综合评价,旨在为完善骨骼风痛片的质量控制标准提供参考。

1 材料

1.1 主要仪器

本研究所用主要仪器包括UltiMate 3000型高效液相色谱仪(美国Thermo Fisher Scientific公司)、Agilent 1200型高效液相色谱仪(美国Agilent公司)、CPA225D型电子天平[赛多利斯科学仪器(北京)有限公司,精度0.01 mg]、JP-080ST型超声波清洗器(深圳市洁盟清洗设备有限公司)等。

1.2 主要药品与试剂

表儿茶素对照品(批号110878-201703,纯度99.7%)、6-姜辣素对照品(批号111833-202007,纯度99.3%)、10-姜酚对照品(批号111994-202303,纯度98.9%)、薯蓣皂苷对照品(批号111707-201703,纯度96.1%)、儿茶素对照品(批号110877-202306,纯度96.6%)、原薯蓣皂苷对照品(批号111937-202102,纯度94.8%)、8-姜酚对照品(批号111993-202202,纯度94.3%)、伪原薯蓣皂苷对照品(批号111855-202304,纯度96.6%)均购自中国食品药品检定研究院;甲基原薯蓣皂苷对照品(批号CFS202201,纯度 $\geq 98.0\%$)、美迪紫檀素对照品(批号CFS202202,纯度 $\geq 98.0\%$)、甘草素对照品(批号CFS202202,纯度98.6%)均购自武汉天植生物技术有限公司;乙腈、磷酸均为色谱纯,其余试剂均为分析纯,水为纯净水。

15批骨骼风痛片(批号分别为210501、210503、210702、210801、210902、210903、220301、220302、220601、220702、230101、230201、230202、230203、230401,编号为S1~S15,规格为每片重0.31 g)购自通药制药集团股份有限公司。鸡血藤饮片(产地云南省凤庆县,批号221003)、穿山龙饮片(产地辽宁省西丰县,批号221108)和干姜饮片(产地山东省昌邑市,批号220902)均购自吴江上海蔡同德堂中药饮片有限公司,经南通大学附属医院药学部殷晓芹主任药师鉴定分别为豆科植物密花豆*Spatholobus suberectus* Dunn的干燥

藤茎,薯蓣科植物穿龙薯蓣 *Dioscorea nipponica* Makino 的干燥根茎,姜科植物姜 *Zingiber officinale* Rosc. 的干燥根茎。

2 方法与结果

2.1 骨骼风痛片中 11 种成分的含量测定

2.1.1 色谱条件

以 Agilent Eclipse Plus C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm) 为色谱柱,以乙腈(A)-0.2% 磷酸溶液(B)为流动相进行梯度洗脱(具体程序为:0~12 min, 16.0%A; 12~28 min, 16.0%A→30.0%A; 28~40 min, 30.0%A→48.0%A; 40~56 min, 48.0%→80.0%A; 56~60 min, 80.0%A→16.0%A);流速为 1.0 mL/min;检测波长为 203 nm(0~28 min, 原薯蓣皂苷、甲基原薯蓣皂苷、伪原薯蓣皂苷、薯蓣皂苷)、280 nm(28~60 min, 儿茶素、表儿茶素、甘草素、美迪紫檀素、6-姜辣素、8-姜酚、10-姜酚);柱温为 30 ℃;进样量为 10 μL。

2.1.2 溶液的制备

(1)混合对照品溶液:精密称取原薯蓣皂苷、甲基原薯蓣皂苷、伪原薯蓣皂苷、薯蓣皂苷、儿茶素、表儿茶素、甘草素、美迪紫檀素、6-姜辣素、8-姜酚、10-姜酚对照品适量,加 75% 甲醇溶解并稀释,制成上述各对照品质量浓度分别为 5.310、0.978、0.412、2.790、0.734、0.810、0.076、0.128、0.630、0.154、0.196 mg/mL 的混合对照品贮备液。取上述混合对照品贮备液,用 75% 甲醇稀释 20 倍,摇匀,制成上述各对照品质量浓度分别为 265.50、48.90、20.60、139.50、36.70、40.50、3.80、6.40、31.50、7.70、9.80 μg/mL 的混合对照品溶液。

(2)供试品溶液:取骨骼风痛片,除去包衣并研磨成细粉,取约 1.0 g,精密称定,置于具塞锥形瓶中,加 75% 甲醇 25 mL,称定质量,超声(功率 300 W,频率 40 kHz)处理 45 min,放冷,再次称定质量并用 75% 甲醇补足减失的质量,摇匀,经 0.45 μm 滤膜滤过,即得。

(3)阴性供试品溶液:按制剂处方和制法分别制备缺穿山龙、缺鸡血藤、缺干姜的阴性样品,再按“2.1.2 (2)”项下方法制备对应的阴性供试品溶液。

(4)空白溶液:以 75% 甲醇为空白溶液。

2.1.3 系统适用性试验及成分归属

分别精密吸取“2.1.2”项下各溶液,按“2.1.1”项下色谱条件进样测定,记录色谱图。结果显示,供试品溶液中原薯蓣皂苷等 11 种成分的色谱峰峰形尖锐,与混合对照品溶液中各成分色谱峰保留时间一致,空白溶液对检测无干扰,11 种成分的理论板数均不低于 5 500。原薯蓣皂苷、甲基原薯蓣皂苷、伪原薯蓣皂苷和薯蓣皂苷来源于穿山龙,儿茶素、表儿茶素、甘草素和美迪紫檀素来

源于鸡血藤,6-姜辣素、8-姜酚和 10-姜酚来源于干姜。结果见图 1(空白溶液图略)。

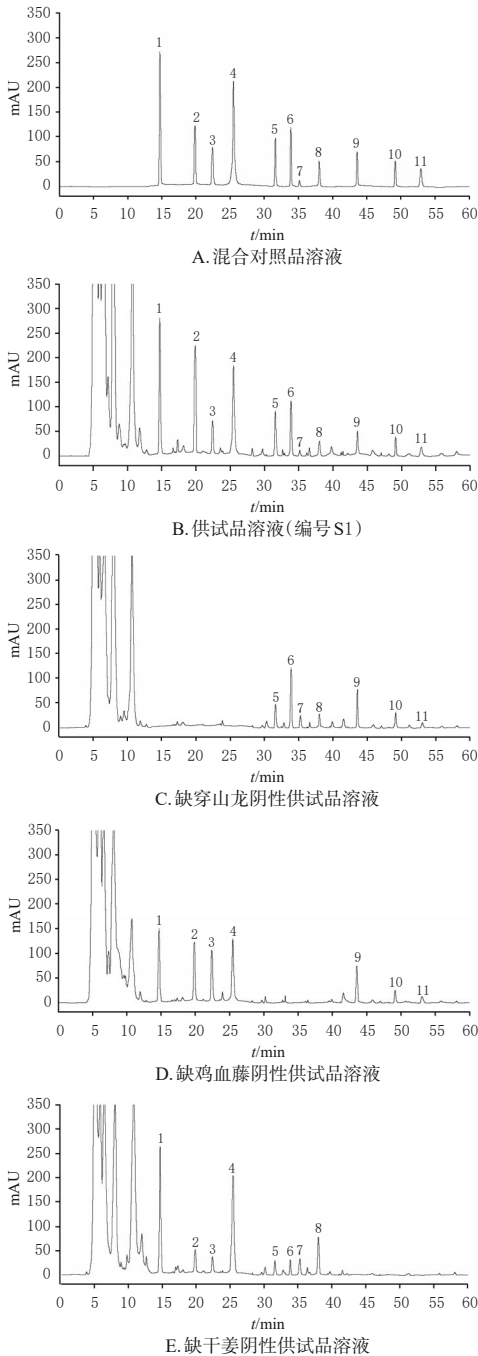


图 1 5 种溶液的高效液相色谱图

2.1.4 线性关系考察

精密吸取“2.1.2(1)”项下混合对照品贮备液适量,分别用 75% 甲醇稀释 4、10、20、40、100、200 倍,制得系列混合对照品溶液,按“2.1.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积,以各待测成分的质量浓度为横坐标(X)、峰面积为纵坐标(Y)进行线性回归,结果见表 1。

表1 原薯蓣皂苷等11种成分的回归方程及线性范围

待测成分	回归方程	<i>r</i>	线性范围/(μg/mL)
原薯蓣皂苷	$Y=1.415\ 5\times10^5X+1\ 838.8$	0.999 4	26.55~1 327.50
甲基原薯蓣皂苷	$Y=1.093\ 9\times10^5X-484.9$	0.999 3	4.89~244.50
伪原薯蓣皂苷	$Y=3.210\ 8\times10^5X+1\ 737.2$	0.999 7	2.06~103.00
薯蓣皂苷	$Y=1.662\ 8\times10^5X-1\ 193.8$	0.999 4	13.95~697.50
儿茶素	$Y=6.221\ 3\times10^5X+192.1$	0.999 6	3.67~183.50
表儿茶素	$Y=7.876\ 8\times10^5X+1\ 365.4$	0.999 3	4.05~202.50
甘草素	$Y=9.378\ 0\times10^4X+151.5$	0.999 5	0.38~19.00
美迪紫檀素	$Y=8.439\ 0\times10^4X+1\ 249.4$	0.999 7	0.64~32.00
6-姜辣素	$Y=4.328\ 7\times10^5X-1\ 645.2$	0.999 3	3.15~157.50
8-姜酚	$Y=1.015\ 9\times10^5X+633.7$	0.999 6	0.77~38.50
10-姜酚	$Y=2.230\ 5\times10^5X+1\ 054.3$	0.999 4	0.98~49.00

2.1.5 精密度试验

精密吸取“2.1.2(2)”项下供试品溶液(编号S1),按“2.1.1”项下色谱条件进样测定6次,记录峰面积。结果显示,原薯蓣皂苷等11种成分峰面积的RSD均小于2.0%($n=6$),表明方法精密度良好。

2.1.6 重复性试验

取骨骼风痛片(编号S1),共6份,按“2.1.2(2)”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并以外标法计算样品含量。结果显示,原薯蓣皂苷等11种成分含量的RSD均小于2.0%($n=6$),表明方法重复性良好。

2.1.7 稳定性试验

取“2.1.2(2)”项下供试品溶液(编号S1),分别于室温下放置0、2、4、7、12、18、24 h时按“2.1.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果显示,原薯蓣皂苷等11种成分峰面积的RSD均小于2.0%($n=7$),表明供试品溶液于室温下放置24 h内稳定性良好。

2.1.8 加样回收率试验

精密称取骨骼风痛片(编号S1)细粉,共9份,每份约0.5 g,分别加入混合对照品溶液[每毫升含原薯蓣皂苷3.751 mg、甲基原薯蓣皂苷0.712 mg、伪原薯蓣皂苷0.283 mg、薯蓣皂苷1.816 mg、儿茶素0.491 mg、表儿茶素0.572 mg、甘草素0.037 mg、美迪紫檀素0.065 mg、6-姜辣素0.421 mg、8-姜酚0.094 mg、10-姜酚0.119 mg,按“2.1.2(1)”项下方法配制]0.8、1.0、1.2 mL,每水平平行3份,按“2.1.2(2)”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算加样回收率。结果显示,原薯蓣皂苷等11种成分的平均加样回收率为96.87%~100.13%,RSD为0.61%~1.63%($n=9$)。

2.1.9 相对校正因子的计算

以表儿茶素(稳定性好、价廉易得、含量和出峰时间适中)为内参物,取“2.1.4”项下系列混合对照品溶液,按“2.1.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算表儿茶素相对于其他10种成分(原薯蓣皂苷、甲基原薯蓣皂

苷、伪原薯蓣皂苷、薯蓣皂苷、儿茶素、甘草素、美迪紫檀素、6-姜辣素、8-姜酚和10-姜酚)的相对校正因子:相对校正因子(f)= $\frac{\rho_i \times A_s}{\rho_s \times A_i}$ (式中, ρ 为质量浓度, A 为峰面积, i 为内参物, s 为其他待测成分)。结果显示,上述10种成分的平均相对校正因子分别为0.559 0、0.720 1、2.462 6、0.476 0、1.278 1、8.392 4、9.136 7、1.823 6、7.725 1、3.523 4,RSD均小于2.0%($n=6$)。

2.1.10 不同色谱条件对相对校正因子的影响考察

精密吸取“2.1.2(1)”项下混合对照品溶液,按“2.1.1”项下色谱条件进样分析,分别考察不同色谱仪(UltiMate 3000型、Agilent 1260型)、色谱柱(Agilent Eclipse Plus C₁₈、Hypersil BDS C₁₈、Cosmosil 5C₁₈-MS-II,规格一致)、流速(0.8、1.0、1.2 mL/min)、柱温(25、30、35℃)对相对校正因子的影响。结果显示,不同仪器、色谱柱、流速、柱温对相对校正因子的影响不大,RSD均小于2.0%($n=3$ 或 $n=2$)。

2.1.11 色谱峰定位

精密吸取“2.1.2(1)”项下混合对照品溶液,按“2.1.1”项下色谱条件进样分析,分别记录不同色谱仪和色谱柱(同“2.1.10”项)下各待测成分的保留时间,采用相对保留时间进行色谱峰定位。结果显示,原薯蓣皂苷等11种成分相对保留时间的RSD均小于2.0%($n=6$),表明可采用相对保留时间对各待测成分色谱峰进行准确定位。

2.1.12 含量测定

取15批骨骼风痛片(编号S1~S15),按“2.1.2(2)”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积,分别按外标法和QAMS法(以表儿茶素为内参物)计算各成分含量(每样品平行测定3次)。运用SPSS 26.0软件对2种方法的检测结果进行 t 检验,检验水准 $\alpha=0.05$ 。结果(表2)显示,外标法测得内参物的含量为0.664~1.484 mg/g,测得原薯蓣皂苷、甲基原薯蓣皂苷、伪原薯蓣皂苷、薯蓣皂苷、儿茶素、甘草素、美迪紫檀素、6-姜辣素、8-姜酚和10-姜酚的含量分别为6.154~10.973、1.128~2.329、0.422~0.761、2.764~4.861、0.811~1.537、0.044~0.096、0.077~0.235、0.492~1.049、0.142~0.293、0.121~0.324 mg/g;QAMS法测得原薯蓣皂苷等10种成分的含量分别为6.330~10.863、1.150~2.274、0.431~0.740、2.818~4.823、0.826~1.510、0.043~0.094、0.079~0.231、0.479~1.020、0.146~0.288、0.118~0.318 mg/g。15批样品中,各成分含量差异较大,但2种方法所测原薯蓣皂苷等10种成分的含量比较,差异均无统计学意义($P>0.05$)。

表2 外标法与QAMS法的含量测定结果($n=3, \text{mg/g}$)

待测成分	测定方法	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13	S14	S15
表儿茶素	外标法	1.158	1.484	1.335	1.428	1.389	1.241	0.942	1.021	0.725	0.664	1.068	1.292	0.903	1.116	0.983
原薯蓣皂苷	外标法	7.529	7.761	8.604	8.317	9.122	8.793	7.014	7.247	6.731	6.154	10.012	9.805	10.973	10.327	9.507
	QAMS法	7.324	7.904	8.412	8.153	8.901	8.657	6.829	7.104	6.583	6.330	10.187	9.942	10.863	10.515	9.696
甲基原薯蓣皂苷	外标法	1.413	1.576	1.802	1.762	1.979	2.105	2.283	1.852	2.329	2.037	1.376	1.128	1.615	1.274	1.492
	QAMS法	1.375	1.547	1.854	1.756	1.940	2.056	2.231	1.901	2.274	1.993	1.345	1.150	1.660	1.246	1.460
伪原薯蓣皂苷	外标法	0.561	0.486	0.534	0.546	0.576	0.519	0.476	0.488	0.437	0.422	0.682	0.735	0.691	0.761	0.673
	QAMS法	0.547	0.497	0.522	0.535	0.561	0.510	0.464	0.475	0.449	0.431	0.691	0.722	0.677	0.740	0.659
薯蓣皂苷	外标法	3.647	3.821	3.518	3.731	3.415	3.297	3.104	3.025	2.764	3.003	4.628	4.713	4.459	4.861	4.325
	QAMS法	3.549	3.928	3.435	3.630	3.331	3.205	3.019	3.098	2.818	2.927	4.547	4.823	4.348	4.727	4.444
儿茶素	外标法	0.972	0.998	1.152	1.079	1.097	1.202	0.885	0.983	0.865	0.811	1.247	1.537	1.294	1.431	1.350
	QAMS法	0.947	1.027	1.129	1.051	1.085	1.236	0.862	0.967	0.889	0.826	1.214	1.510	1.280	1.463	1.319
甘草素	外标法	0.073	0.091	0.083	0.082	0.077	0.075	0.096	0.071	0.064	0.061	0.058	0.057	0.053	0.049	0.044
	QAMS法	0.071	0.089	0.081	0.084	0.075	0.073	0.094	0.069	0.065	0.062	0.059	0.056	0.052	0.048	0.043
美迪紫檀素	外标法	0.127	0.135	0.168	0.143	0.159	0.168	0.094	0.102	0.077	0.085	0.219	0.228	0.201	0.235	0.182
	QAMS法	0.124	0.132	0.164	0.147	0.156	0.173	0.096	0.100	0.079	0.087	0.214	0.222	0.206	0.231	0.177
6-姜辣素	外标法	0.834	0.911	0.946	0.971	1.049	0.927	0.596	0.586	0.643	0.492	0.869	0.691	0.928	0.805	0.843
	QAMS法	0.812	0.936	0.923	0.998	1.020	0.906	0.580	0.571	0.627	0.479	0.890	0.683	0.951	0.787	0.862
8-姜酚	外标法	0.179	0.198	0.199	0.215	0.214	0.181	0.154	0.158	0.142	0.155	0.283	0.264	0.273	0.293	0.243
	QAMS法	0.175	0.203	0.194	0.210	0.219	0.185	0.150	0.155	0.146	0.151	0.278	0.258	0.268	0.288	0.237
10-姜酚	外标法	0.232	0.219	0.171	0.206	0.174	0.167	0.132	0.145	0.121	0.138	0.262	0.275	0.275	0.324	0.246
	QAMS法	0.226	0.213	0.176	0.201	0.171	0.163	0.129	0.148	0.118	0.135	0.255	0.268	0.280	0.318	0.241

2.2 各批次样品含量的化学计量学分析

2.2.1 主成分分析

采用SPSS 26.0软件以降维的方式对15批样品中原薯蓣皂苷等11种成分的含量测定结果(表儿茶素为外标法,其余为QAMS法,下同)进行主成分分析(principal component analysis, PCA)。以特征值阈值为1提取出2个主成分(PC1、PC2),其中PC1的特征值为7.896,方差贡献率为71.753%,其信息综合了原薯蓣皂苷、甲基原薯蓣皂苷、伪原薯蓣皂苷、薯蓣皂苷、儿茶素、美迪紫檀素、8-姜酚、10-姜酚等成分;PC2的特征值为1.856,方差贡献率为16.876%,其信息由表儿茶素、甘草素和6-姜辣素提供。应用SIMCA 14.1软件建立PCA模型(图2),得模型参数 R^2X 为0.887;15批样品可分为3组,S1~S6为一组,S7~S10为一组,S11~S15为一组。

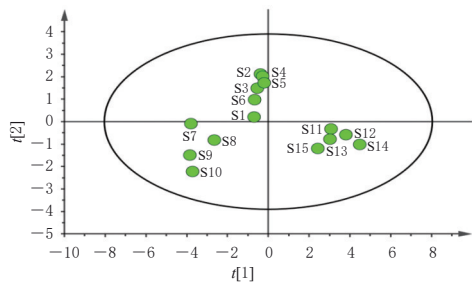
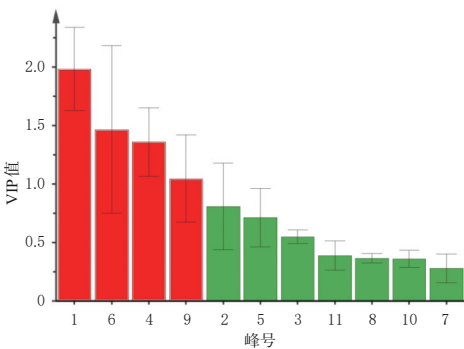


图2 15批样品的PCA得分图

2.2.2 正交偏最小二乘法-判别分析

为查找造成15批样品差异的主要因素,本研究运用SIMCA 14.1软件进行正交偏最小二乘法-判别分析(orthogonal partial least squares-discriminant analysis, OPLS-DA),得模型参数 R^2X 为0.900、 R^2Y 为0.920、 Q^2 为0.876,

均大于0.5,说明模型稳定可靠、预测能力强^[8]。对OPLS-DA模型进行置换检验200次,结果显示, R^2 拟合直线与Y轴的截距为0.057(小于0.3),同时最右侧的 R^2 和 Q^2 值均大于左侧的 R^2 和 Q^2 值,表明构建的OPLS-DA模型拟合度良好,不存在过度拟合^[9]。变量重要性投影(variable importance in projection, VIP)值可反映造成差异的主要因素^[9],故本研究提取了OPLS-DA模型中11种成分的VIP值,结果(图3)显示,原薯蓣皂苷、表儿茶素、薯蓣皂苷、6-姜辣素的VIP值分别为1.985 5、1.468 1、1.360 2、1.046 7(均大于1),提示这4种成分可能是影响骨骼风痛片质量的差异标志物。



1:原薯蓣皂苷;2:甲基原薯蓣皂苷;3:伪原薯蓣皂苷;4:薯蓣皂苷;5:儿茶素;6:表儿茶素;7:甘草素;8:美迪紫檀素;9:6-姜辣素;10:8-姜酚;11:10-姜酚。

图3 原薯蓣皂苷等11种成分的VIP值

2.3 EW-TOPSIS分析

骨骼风痛片中的原薯蓣皂苷等11种成分均为药效成分,属于越大越优型指标。根据公式 $x^*_j =$

$\frac{x_{ij}-\min(x_j)}{\max(x_j)-\min(x_j)}$ [式中, x_{ij} 为第 i 批样品中第 j 个成分的含量, $\min(x_j)$ 为第 j 个成分含量最小值, $\max(x_j)$ 为第 j 个成分含量最大值, $i=1,2,3\cdots m, j=1,2,3\cdots n$; 本研究中, $m=15, n=11$] 对这 11 种成分的含量检测结果进行归一化处理^[10]; 再以这 11 种成分的 VIP 值作为其指标权重 (W_j), 将归一化处理后的数据与 W_j 相乘得到加权决策矩阵 (Z): $Z=(x_{ij}\times W_j)_{m\times n}$, 进而得到最优方案 Z^+ 分别为 1.985 5、0.808 7、0.549 8、1.360 2、0.712 9、1.468 1、0.279 3、0.364 8、1.046 7、0.360 5、0.389 2, 最劣方案 Z^- 均为 0; 根据最优与最劣方案, 按公式 $D_i^+=\sqrt{\sum_{j=1}^n(Z_{ij}-Z_j^+)^2}$ 、 $D_i^-=\sqrt{\sum_{j=1}^n(Z_{ij}-Z_j^-)^2}$ 、 $C_i=\frac{D_i^-}{D_i^++D_i^-}$ 分别计算 15 批样品的正理想解距离 (D_i^+)、负理想解距离 (D_i^-) 以及最优解欧氏贴近度 (C_i)。 C_i 值为 0~1, C_i 越大, 表示样品质量越优^[11]。 结果 (表 3) 显示, 15 批样品的 C_i 值为 0.163 5~0.703 7, 其中 S11~S15 的 C_i 值均大于 0.6, 表明这 5 批样品的质量较好^[11]。

表3 15批骨骼风痛片的质量评价结果及排序

编号	D_i^+	D_i^-	C_i	排序
S1	2.174 7	1.342 4	0.381 7	11
S2	1.713 0	2.062 3	0.546 3	8
S3	1.646 1	1.919 0	0.538 3	9
S4	1.646 5	2.056 5	0.555 4	7
S5	1.517 5	2.174 6	0.589 0	6
S6	1.685 9	1.892 1	0.528 8	10
S7	2.710 6	1.020 9	0.273 6	13
S8	2.545 2	0.968 3	0.275 6	12
S9	2.986 0	0.883 2	0.228 3	14
S10	3.177 5	0.621 1	0.163 5	15
S11	1.159 4	2.465 5	0.680 2	3
S12	1.191 7	2.615 0	0.686 9	2
S13	1.238 2	2.622 5	0.679 3	4
S14	1.130 4	2.685 1	0.703 7	1
S15	1.327 7	2.215 9	0.625 3	5

3 讨论

3.1 提取条件的选择

本课题组前期对不同提取溶剂 (45%、60%、75% 甲醇和无水甲醇) 进行了考察, 结果显示, 以 75% 甲醇为提取溶剂时, 骨骼风痛片中原薯蓣皂苷等 11 种成分的提取率最高。同时, 本课题组还对比了超声和加热回流不同提取时间 (30、45、60 min) 的提取效果, 结果显示, 当超声提取 45 min 时, 原薯蓣皂苷等 11 种成分的提取率最高且重复性好。

3.2 色谱条件的选择

本课题组前期对不同流动相 (甲醇-水、乙腈-水) 进行了考察, 结果显示, 以甲醇-水为流动相时, 供试品溶液色谱图基线不平稳, 各待测成分色谱峰不能完全分

离; 以乙腈-水为流动相时, 个别色谱峰拖尾严重, 且与相邻色谱峰不能完全分离; 在水相中加入适量磷酸后, 供试品溶液色谱图基线平稳, 且各待测成分色谱峰分离效果和峰形均较好, 故选择乙腈-0.2% 磷酸溶液为流动相进行梯度洗脱。本课题组前期采用紫外检测器对混合对照品溶液进行全波长扫描后发现, 原薯蓣皂苷、甲基原薯蓣皂苷、伪原薯蓣皂苷和薯蓣皂苷存在末端吸收^[12], 当以 203 nm 为检测波长时, 这 4 种成分均有较强的色谱响应; 而儿茶素、表儿茶素、甘草素、美迪紫檀素、6-姜辣素、8-姜酚和 10-姜酚在 280 nm 处有较大吸收^[13], 故采用“2.1.1”项下检测波长进行检测。

3.3 含量测定结果分析

外标法测得原薯蓣皂苷、甲基原薯蓣皂苷、伪原薯蓣皂苷、薯蓣皂苷、儿茶素、表儿茶素、甘草素、美迪紫檀素、6-姜辣素、8-姜酚和 10-姜酚的含量分别为 6.154~10.973、1.128~2.329、0.422~0.761、2.764~4.861、0.811~1.537、0.664~1.484、0.044~0.096、0.077~0.235、0.492~1.049、0.142~0.293、0.121~0.324 mg/g, 各成分的含量差异较大; 除表儿茶素外, 其余 10 种成分的检测结果与 QAMS 法所测结果比较, 差异均无统计学意义, 表明本研究所建 QAMS 法准确、可行。

3.4 化学计量学和 EW-TOPSIS 结果分析

PCA 结果显示, 15 批骨骼风痛片可分为 3 组, S1~S6 为一组, S7~S10 为一组, S11~S15 为一组。OPLS-DA 结果显示, 原薯蓣皂苷、表儿茶素、薯蓣皂苷、6-姜辣素的 VIP 值均大于 1, 对骨骼风痛片的质量影响较大, 可作为影响其质量的差异标志物, 提示药企在生产骨骼风痛片的过程中, 可针对这些差异标志物建立相应的质量控制标准, 以提高产品质量的稳定性和一致性。EW-TOPSIS 分析结果显示, 15 批样品的 C_i 值为 0.163 5~0.703 7, S11~S15 的 C_i 值为 0.625 3~0.703 7, 表明这 5 批样品质量较好, 提示药企需查找造成质量差异的原因, 缩小产品差异, 提高产品质量。

综上所述, 本研究所建 QAMS 法准确、简便, 结合化学计量学分析及 EW-TOPSIS 法可用于综合评价骨骼风痛片的质量; 原薯蓣皂苷、表儿茶素、薯蓣皂苷、6-姜辣素可能是影响骨骼风痛片质量的差异标志物; S11~S15 批样品的质量较好。

参考文献

[1] CHANG J, SUN W C, ZENG J H, et al. Establishment of an *in vitro* system based on AGM-S3 co-culture for screening traditional herbal medicines that stimulate hematopoiesis[J]. J Ethnopharmacol, 2019, 240: 111938.
[2] 李媛媛, 周鸿铭. 穿山龙总皂苷的药理作用及机制研究进展[J]. 中医药学报, 2020, 48(5): 73-77.

- LI Y Y, ZHOU H M. Pharmacological actions and mechanism of the total saponins from *Dioscoreae Nipponicae Rhizoma*[J]. *Acta Chin Med Pharmacol*, 2020, 48 (5): 73-77.
- [3] ZHOU Y Q, WU P, TANG Y, et al. Effects of carbonization processing on quality control, chemical compositions, and pharmacological mechanism of Ganjiang (*Zingiberis Rhizoma*)[J]. *Digit Chin Med*, 2023, 6(3): 341-356.
- [4] 徐建, 徐云, 王鑫, 等. 骨骼风痛片中鸡血藤高效液相特征图谱研究[J]. *长春中医药大学学报*, 2013, 29(5): 928-930.
- XU J, XU Y, WANG X, et al. Specific HPLC chromatographic of *Spatholobi Caulis* in Guge fengtong tablet[J]. *J Changchun Univ Tradit Chin Med*, 2013, 29(5): 928-930.
- [5] 闫艳, 杜晨晖. 一测多评法在中药质量控制中的应用及研究进展[J]. *世界科学技术-中医药现代化*, 2022, 24(6): 2378-2387.
- YAN Y, DU C H. Recent advances in quantitative analysis of multi-components by single marker on quality control of traditional Chinese medicine[J]. *Mod Tradit Chin Med Mater Med World Sci Technol*, 2022, 24(6): 2378-2387.
- [6] 于洋, 李军, 李宝国. 化学计量学在中药质量控制研究中的应用[J]. *中成药*, 2018, 40(5): 1139-1142.
- YU Y, LI J, LI B G. Application of chemometrics in quality control of traditional Chinese medicine[J]. *Chin Tradit Pat Med*, 2018, 40(5): 1139-1142.
- [7] 梁志毅, 黄贵发, 陈仕妍, 等. 基于熵权TOPSIS模型和灰色关联度分析的土茯苓质量评价[J]. *中国现代应用药学*, 2023, 40(9): 1207-1213.
- LIANG Z Y, HUANG G F, CHEN S Y, et al. Quality evaluation of *Smilacis Glabrae Rhizome* based on entropy-weight TOPSIS model and grey correlation analysis[J]. *Chin J Mod Appl Pharm*, 2023, 40(9): 1207-1213.
- [8] 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.
- YANG M J, BI X L, JIANG J Y, et al. UPLC fingerprint and content determination of Suchen mixture[J]. *Chin J Hosp Pharm*, 2022, 42(11): 1100-1106.
- [9] 肖会敏, 杨旭, 黄新文, 等. 基于HPLC指纹图谱及多成分含量的化学模式识别法评价小血藤质量[J]. *西北药学杂志*, 2022, 37(5): 1-7.
- XIAO H M, YANG X, HUANG X W, et al. Quality evaluation of *Schisandra propinqua* var. *sinensis* based on HPLC fingerprint and multi-component content determination[J]. *Northwest Pharm J*, 2022, 37(5): 1-7.
- [10] 王玉霞, 武晓玉, 夏鹏飞, 等. 基于熵权TOPSIS模型对经不同方法干燥的苦水玫瑰品质的综合评价[J]. *中成药*, 2021, 43(5): 1241-1248.
- WANG Y X, WU X Y, XIA P F, et al. Entropy-based TOPSIS model for comprehensive evaluation of quality of differently dried *Rosa sertata* × *Rosa rugosa*[J]. *Chin Tradit Pat Med*, 2021, 43(5): 1241-1248.
- [11] 严玉晶, 崔婷, 丁青, 等. 熵权TOPSIS法结合多指标成分综合评价金钱草药材的质量[J]. *中国药房*, 2020, 31(23): 2870-2876.
- YAN Y J, CUI T, DING Q, et al. Comprehensive quality evaluation of *Lysimachia christinae* based on the entropy weight TOPSIS method combined with multiple indicator components[J]. *China Pharm*, 2020, 31(23): 2870-2876.
- [12] 陈朝荣, 王剑波, 尤晓舟, 等. 不同炮制加工方法对穿山龙药材皂苷类成分的影响[J]. *中南药学*, 2020, 18(4): 672-675.
- CHEN C R, WANG J B, YOU X Z, et al. Effect of different processing methods on the content of main components in *Dioscoreae Nipponicae Rhizoma*[J]. *Cent South Pharm*, 2020, 18(4): 672-675.
- [13] 高伟城, 王小平, 沈晓华, 等. 不同干姜炮制品姜酚类成分含量的研究[J]. *中医临床研究*, 2020, 12(34): 22-25.
- GAO W C, WANG X P, SHEN X H, et al. A quantitative analysis of the different contents of gingerols in different processed *Zingiberis Rhizoma*[J]. *Clin J Chin Med*, 2020, 12(34): 22-25.

(收稿日期: 2023-11-30 修回日期: 2024-03-13)

(编辑: 陈 宏)