

中图分类号: R917 文献标志码: A 文章编号: 1006-4931(2024)08-0056-06
doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2024.08.014



酒大黄(唐古特大黄)配方颗粒超高效液相色谱指纹图谱 及化学模式识别研究*

许树萍^{1,2}, 黄凯伟^{1,2}, 张 辉^{1,2}, 魏家保^{1,2}, 谭 沛^{1,2}

(1. 华润三九医药股份有限公司, 广东 深圳 518110; 2. 华润三九现代中药制药有限公司, 广东 惠州 516000)

摘要:目的 为酒大黄(唐古特大黄)配方颗粒的质量评价提供参考。方法 采用超高效液相色谱(UPLC)法, 色谱柱为 CORTECS UPLC T3 柱(100 mm×2.1 mm, 1.6 μm), 流动相为甲醇-0.05% 磷酸水溶液(梯度洗脱), 流速为 0.25 mL/min, 检测波长为 265 nm, 柱温为 35℃, 进样量为 1 μL。采用中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012 版)建立 21 批样品的 UPLC 指纹图谱, 并进行相似度评价。采用聚类分析(CA)法、主成分分析(PCA)法、正交偏最小二乘-判别分析(OPLS-DA)法评价样品质量, 并筛查标志性成分。结果 共标定并指出 18 个共有峰。21 批样品的指纹图谱相似度均大于 0.950, 3 种分析方法均将样品分为 3 类, OPLS-DA 法分析显示, 异莲花掌苷、白藜芦醇-4'-O-β-D-(6''-O-没食子酰)葡萄糖苷、儿茶素、大黄酚、没食子酸、番泻苷 A、莲花掌苷和大黄酚-1-O-β-D-葡萄糖苷为制剂的标志性成分。结论 该方法简单可行, 可为酒大黄(唐古特大黄)配方颗粒的质量评价提供参考。

关键词: 酒大黄; 唐古特大黄; 配方颗粒; 超高效液相色谱法; 指纹图谱; 聚类分析法; 主成分分析法; 正交偏最小二乘-判别分析法

UPLC Fingerprint and Chemical Pattern Recognition of Wine-Processed Rhei Radix et Rhizoma (*Rheum Tanguticum*) Formula Granules

XU Shuping^{1,2}, HUANG Kaiwei^{1,2}, ZHANG Hui^{1,2}, WEI Jiabao^{1,2}, TAN Pei^{1,2}

(1. China Resources Sanjiu Pharmaceutical Co., Ltd., Shenzhen, Guangdong, China 518110; 2. China Resources Sanjiu Modern Chinese Medicine Pharmaceutical Co., Ltd., Huizhou, Guangdong, China 516000)

Abstract: Objective To provide a reference for the quality evaluation of Wine-Processed Rhei Radix et Rhizoma (*Rheum*

*基金项目: 广东省深圳市科技计划项目[JSGG20191129093418578]。

第一作者: 许树萍, 女, 大学本科, 研究方向为中药配方颗粒工艺及质量标准, (电子信箱)2027879405@qq.com。

- Receptor Antagonist, for the Acute Treatment of Migraine: Results from a Double-blind, Randomized, Placebo-controlled Trial, Study 301[J]. Headache, 2018, 58(8): 1336-1337.
- [7] MARCUS R, GOADSBY PJ, DODICK D, et al. BMS-927711 for the acute treatment of migraine: a double-blind, randomized, placebo-controlled, dose-ranging trial[J]. Cephalalgia, 2014, 34(2): 114-125.
- [8] LIPTON RB, CROOP R, STOCK DA, et al. Safety, tolerability, and efficacy of zavegepant 10 mg nasal spray for the acute treatment of migraine in the USA: a phase 3, double-blind, randomised, placebo-controlled multicentre trial[J]. Lancet Neurol, 2023, 22(3): 209-217.
- [9] CROOP R, MADONIA J, STOCK DA, et al. Zavegepant nasal spray for the acute treatment of migraine: A Phase 2/3 double-blind, randomized, placebo-controlled, dose-ranging trial[J]. Headache, 2022, 62(9): 1153-1163.
- [10] DODICK DW, LIPTON RB, AILANI J, et al. Ubrogapant for the Treatment of Migraine[J]. N Engl J Med, 2019, 381(23): 2230-2241.
- [11] LIPTON RB, DODICK DW, AILANI J, et al. Effect of Ubrogapant vs Placebo on Pain and the Most Bothersome Associated Symptom in the Acute Treatment of Migraine: The ACHIEVE II Randomized Clinical Trial[J]. JAMA, 2019, 322(19): 1887-1898.
- [12] VOSS T, LIPTON RB, DODICK DW, et al. A phase II b randomized, double-blind, placebo-controlled trial of ubrogapant for the acute treatment of migraine[J]. Cephalalgia, 2016, 36(9): 887-98.
- [13] 杨 杰, 郭步伐, 龙 盼, 等. 天麻素抗偏头痛作用机制的网络药理学与分子对接研究[J]. 中国药业, 2023, 32(9): 42-46.
- [14] 王 冰, 刘欣欣, 冯亚楠, 等. 氟桂利嗪联合血塞通治疗偏头痛有效性和安全性 Meta 分析[J]. 中国药业, 2022, 31(2): 109-115.
- [15] BLAIR HA. Rimegepant: A Review in the Acute Treatment and Preventive Treatment of Migraine[J]. CNS Drugs, 2023, 37(3): 255-265.
- [16] NOOR N, ANGELETTE A, LAWSON A, et al. A Comprehensive Review of Zavegepant as Abortive Treatment for Migraine[J]. Health Psychol Res, 2022, 10(3): 35506.
- [17] NEDD M, GARLAND S, FALK N, et al. Ubrogapant: An Oral Calcitonin Gene-Related Peptide (CGRP) Receptor Antagonist for Abortive Migraine Treatment[J]. Ann Pharmacother, 2022, 56(3): 346-351.

(收稿日期: 2023-04-21; 修回日期: 2023-10-11)

tanguticum) Formula Granules. **Methods** Ultra - high - performance liquid chromatography (UPLC) was adopted. The chromatographic column was CORTECS UPLC T3 column (100 mm × 2.1 mm, 1.6 μm), the mobile phase was methanol - 0.05% phosphoric acid aqueous solution (gradient elution), the flow rate was 0.25 mL / min, the detection wavelength was 265 nm, the column temperature was 35 °C, and the injection volume was 1 μL. The Similarity Evaluation System for Chromatographic Fingerprint of Traditional Chinese Medicine (2012 Version) was used to establish UPLC fingerprints of 21 batches of samples, and the similarity evaluation was conducted. The cluster analysis (CA), principal component analysis (PCA) and orthogonal partial least squares - discriminant analysis (OPLS - DA) were used to evaluate the quality of samples and screen the characteristic components. **Results** A total of 18 common peaks were marked and identified. The similarity of the fingerprints of 21 batches of samples was greater than 0.950. The samples were divided into three categories by the above three analytical methods. The OPLS - DA showed that isolindleyin, resveratrol - 4' - O - β - D - (6'' - O - galloyl) glucoside, catechin, chrysophanol, gallic acid, sennoside A, lindleyin and chrysophanol - 1 - O - β - D - glucoside were the characteristic components of the preparation. **Conclusion** This method is simple and feasible, which can provide a reference for the quality evaluation of Wine - Processed Rhei Radix et Rhizoma (*Rheum tanguticum*) Formula Granules.

Key words: wine - processed Rhei Radix et Rhizoma; *Rheum tanguticum*; formula granules; UPLC; fingerprint; cluster analysis; principal component analysis; orthogonal partial least squares - discriminant analysis

酒大黄(唐古特大黄)配方颗粒为蓼科植物唐古特大黄 *Rheum tanguticum* Maxim. ex Balf. 的干燥根和根茎经酒炙法炒干并按标准汤剂的主要质量指标加工制成^[1]。唐古特大黄又称“鸡爪大黄”,主产于甘肃、青海、西藏等高寒、高海拔地区,据报道,唐古特大黄有泻热攻坚、化瘀行滞、清热解毒消火功效,药用历史悠久,是我国常用传统大宗中药材^[2]。酒大黄苦寒泻下作用稍缓,并借酒升提之性,引药上行,善清上焦血分热毒,可用于目赤咽肿、齿龈肿痛的治疗^[3]。有研究表明,其主要化学成分包括游离 / 结合型的蒽醌类、蒽酮类,二苯乙烯类,苯丁酮类,色原酮类,黄酮类及鞣质类化合物^[4-7]。其中,酒大黄中的游离 / 结合型蒽醌类、蒽酮类成分是发挥其泻下作用的关键成分^[8]。本研究中根据国家药品监督管理局《中药配方颗粒质量控制与标准制定技术要求》及2020年版《中国药典》中中药质量标准研究制定技术要求,采用超高效液相色谱(UPLC)法建立酒大黄(唐古特大黄)配方颗粒指纹图谱,同时结合相似度评价,以及聚类分析(CA)法、主成分分析(PCA)法、正交偏最小乘 - 判别分析(OPLS - DA)法,对不同原料产地、批次的配方颗粒质量进行评估,探讨主要化学成分间的相关性,为全面控制酒大黄(唐古特大黄)配方颗粒的质量提供依据。现报道如下。

1 仪器与试药

1.1 仪器

Waters Acquity UPLC H - Class Plus 色谱系统(美国 Waters 公司),包括四元溶剂管理器(ACQ - QSM)、自动进样器(ACQ - FTM)、原装进口色谱柱温箱(ACQ - CM)、二极管阵列紫外检测器(ACQ - PDA)、Empower 色谱管理系统;XS204型、XS205型、XSE205型电子分析天平(精度均为0.1 mg),ME36S型电子分析天平(精度为

0.001 mg),均购自梅特勒 - 托利多 <上海> 仪器有限公司;SK3310HP型超声波清洗器(上海科导超声仪器有限公司);JC - HH - 8型恒温水浴锅(青岛精诚仪器仪表有限公司)。

1.2 试药

酒大黄(唐古特大黄)配方颗粒(华润三九医药股份有限公司)21批,编号为S1 - S21,其中S1 - S3, S4 - S6, S16 - S21, S7 - S9, S10 - S12, S13 - S15原料产地分别为青海省果洛藏族自治州玛沁县,青海省黄南藏族自治州河南蒙古族自治县,四川省阿坝藏族羌族自治州若尔盖县,四川省甘孜藏族自治州色达县,甘肃省甘南藏族自治州合作市。没食子酸对照品(批号为110831 - 201605,含量90.8%),儿茶素对照品(批号为110877 - 201604,含量99.2%),番泻苷A对照品(批号为110824 - 202003,含量97.2%),芦荟大黄素对照品(批号为110795 - 202011,含量97.5%),大黄酸对照品(批号为110757 - 201607,含量99.3%),大黄素对照品(批号为110756 - 201913,含量96.0%),大黄酚对照品(批号为110796 - 201922,含量99.4%),大黄素甲醚对照品(批号为110758 - 201616,含量99.0%),均购于中国食品药品检定研究院。白藜芦醇 - 4' - O - β - D - (6'' - O - 没食子酰)葡萄糖苷对照品(批号为STC3930105,含量98.0%),异莲花掌苷对照品(批号为STC3710105,含量98.0%),莲花掌苷对照品(批号为ST82330105,含量98.0%),芦荟大黄素 - 8 - O - β - D - 葡萄糖苷对照品(批号为ST79960105,含量98.0%),大黄酚 - 1 - O - β - D - 葡萄糖苷对照品(批号为ST83090105,含量98.0%),大黄酸 - 8 - O - β - D - 葡萄糖苷对照品(批号为ST15280120,含量98.0%),大黄酚 - 8 - O - β - D - 葡萄糖苷对照品(批号为ST23870205,含量98.0%),大

黄素甲醚-8-O- β -D-葡萄糖苷对照品(批号为ST23870110,含量98.0%),均购自上海诗丹德标准技术服务有限公司;大黄素-8-O- β -D-吡喃葡萄糖苷对照品(上海鸿永生物科技有限公司,批号为040090-202105,含量96.3%);表儿茶素-3-O-没食子酸酯对照品(上海源叶生物科技有限公司,批号为MFCD00075940,含量97.2%);甲醇为色谱纯,其余试剂均为分析纯,水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:CORTECS UPLC T3柱(100 mm $\times$ 2.1 mm, 1.6 μ m);流动相:甲醇-0.05%磷酸水溶液,梯度洗脱(0~1 min时5%A $\rightarrow$ 20%A,1~9 min时20%A $\rightarrow$ 35%A,9~17 min时35%A $\rightarrow$ 37%A,17~21 min时37%A $\rightarrow$ 48%A,21~24 min时48%A $\rightarrow$ 60%A,24~30 min时60%A $\rightarrow$ 100%A,30~35 min时100%A);流速:0.25 mL/min;检测波长:265 nm;柱温:35 $^{\circ}$ C;进样量:1 μ L。

2.2 溶液制备

取18种对照品各适量,精密称定,加甲醇溶液制成每1 mL分别含没食子酸、儿茶素、番泻苷A、大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚、芦荟大黄素140,20,20,16,16,16,8 μ g及其余10种对照品各20 μ g的单一对照品溶液。取样品适量,研细,取约0.5 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,加80%甲醇50 mL,密塞,超声(功率250 W,频率40 kHz)处理30 min,冷却至室温,滤过,取续滤液,即得供试品溶液。

2.3 方法学考察

精密度试验:取同一份供试品溶液,按2.1项下色谱条件连续进样测定6次,分别以15号峰与17号峰计算各共有峰的相对保留时间和相对峰面积(稳定性、重复性试验同)。结果相对保留时间的RSD为0.01%~0.16%($n=6$),相对峰面积的RSD为0.15%~3.23%

($n=6$),表明方法精密度良好。

稳定性试验:取同一份供试品溶液适量,分别于室温下放置0,4,8,12,16,24 h时按2.1项下色谱条件进样测定,计算各共有峰的相对保留时间和相对峰面积。结果相对保留时间的RSD为0.02%~0.37%($n=6$),相对峰面积的RSD为0.16%~3.91%($n=6$),表明供试品溶液在室温下放置24 h内基本稳定。

重复性试验:取同一批样品适量,按2.2项下方法制备供试品溶液6份,按2.1项下色谱条件进样测定,计算各共有峰的相对保留时间和相对峰面积。结果相对保留时间的RSD为0.02%~0.36%($n=6$),相对峰面积的RSD为1.13%~5.42%($n=6$),表明方法重复性良好。

2.4 指纹图谱的建立及相似度评价

取样品各适量,按2.2项下方法制备供试品溶液,按2.1项下色谱条件进样测定,记录色谱图。导入中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012版),形成21批样品的UPLC叠加指纹图谱和对照指纹图谱(见图1和图2);通过与混合对照品溶液色谱图(见图3)比对,指认出18个共有成分。

采用中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012版)评价相似度,结果均大于0.950,表明21批样品的质量较稳定。详见表1。

2.5 化学模式识别研究

2.5.1 CA

采用SPSS 26.0统计学软件,以21批样品各特征峰面积为变量进行CA分析,结果见图4。可见,当分类距离为15时,21批样品可聚为3类,S1-S6、S10-S11、S7-S9、S12-S15、S16-S21各聚为一类。

2.5.2 PCA

采用SPSS 26.0统计学软件,对21批样品各特征峰

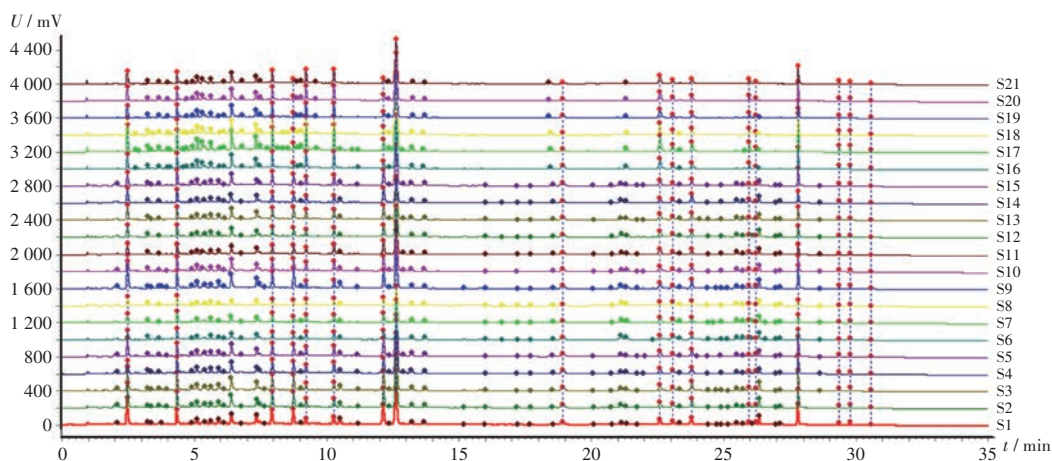


图1 21批酒大黄(唐古特大黄)配方颗粒的超高效液相色谱叠加指纹图谱

Fig. 1 UPLC superimposed fingerprints of 21 batches of Wine-Processed Rhei Radix et Rhizoma (*Rheum tanguticum*) Formula Granules

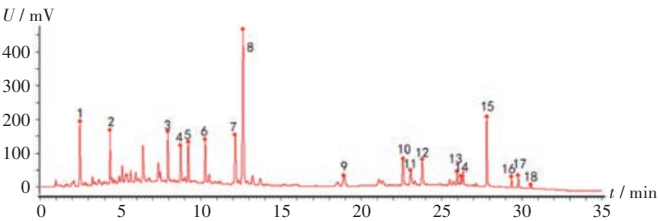
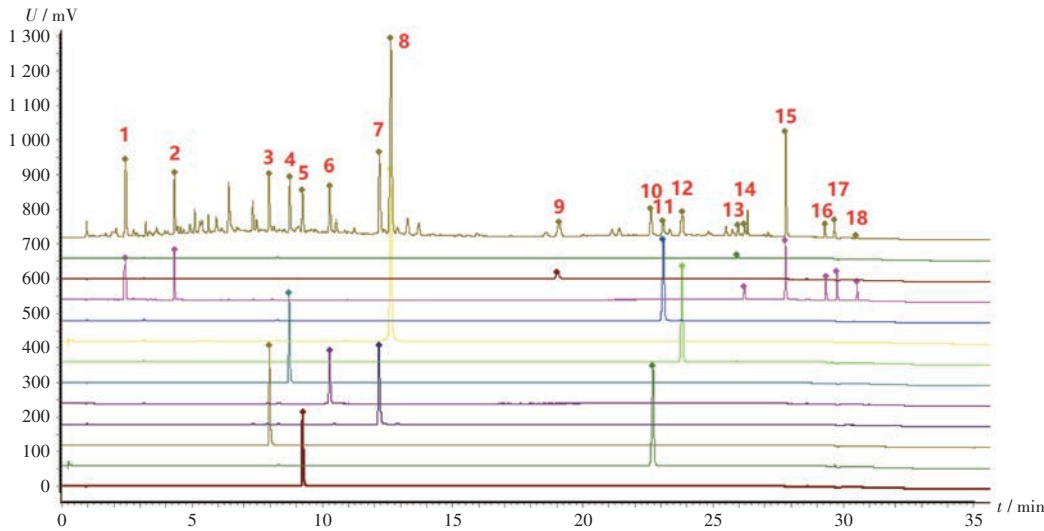


图2 酒大黄(唐古特大黄)配方颗粒超高效液相色谱图对照指纹图谱
Fig. 2 UPLC reference fingerprints of Wine - Processed Rhei Radix et Rhizoma (*Rheum tanguticum*) Formula Granules



1. 没食子酸 2. 儿茶素 3. 表儿茶素 - 3 - O - 没食子酸酯 4. 异莲花掌苣 5. 莲花掌苣 6. 芦荟大黄素 - 8 - O - β - D - 葡萄糖苷 7. 白藜芦醇 - 4' - O - β - D - (6'' - O - 没食子酰)葡萄糖苷 8. 大黄酸 - 8 - O - β - D - 葡萄糖苷 9. 番泻苷 A 10. 大黄酚 - 1 - O - β - D - 葡萄糖苷 11. 大黄酚 - 8 - O - β - D - 葡萄糖苷 12. 大黄素 - 8 - O - β - D - 吡喃葡萄糖苷 13. 大黄素甲醚 - 8 - O - β - D - 葡萄糖苷 14. 芦荟大黄素 15. 大黄酸 16. 大黄素 17. 大黄酚 18. 大黄素甲醚

图3 混合对照品溶液超高效液相色谱图

1. Gallic acid 2. Catechin 3. (-) - Epicatechin - 3 - O - gallate 4. Isolindleyin 5. Lindleyin 6. Aloe - emodin - 8 - O - β - D - glucoside 7. Resveratrol - 4' - O - β - D - (6'' - O - galloyl) glucoside 8. Rhein - 8 - O - β - D - glucoside 9. Sennoside A 10. Chrysophanol - 1 - O - β - D - glucoside 11. Chrysophanol - 8 - O - β - D - glucoside 12. Emodin - 8 - O - β - D - glucopyranoside 13. Physcion - 8 - O - β - D - glucoside 14. Aloe - emodin 15. Rhein 16. Emodin 17. Chrysophanol 18. Physcion

Fig. 3 UPLC chromatograms of mixed reference solution

表1 相似度评价结果

Tab. 1 Results of similarity evaluation

编号	相似度	编号	相似度	编号	相似度
S1	0.971	S8	0.989	S15	0.995
S2	0.979	S9	0.962	S16	0.980
S3	0.979	S10	0.996	S17	0.980
S4	0.995	S11	0.993	S18	0.970
S5	0.995	S12	0.997	S19	0.980
S6	0.986	S13	0.996	S20	0.979
S7	0.991	S14	0.980	S21	0.969

根据表2和表3的数据,由公式 $F_i = W_{i1}X_1 + W_{i2}X_2 + \dots + W_{ij}X_j$ (其中, W 为主成分中各个变量的权重,由成分矩阵中的第 j 列载荷除以对应成分特征值的算术平方根所得),计算得主成分得分 F_1 和 F_2 ,主成分得分图见图5。

面积的标准化值(X_i)进行PCA,主成分结果以特征值 > 1 为标准提取得到2个主成分(PC1, PC2),计算得特征值和方差贡献率(见表2),主成分因子载荷矩阵见表3。可见,提取的2个主成分能反映酒大黄(唐古特大黄)配方颗粒指纹图谱的大部分信息^[9]。

峰1 - 峰3、峰6、峰8、峰10 - 峰18主成分1载荷较高,表明这14个峰主要反映PC1的信息;峰4 - 峰5、峰7、峰9 PC2载荷较高,表明这4个峰主要反映PC2的信息。

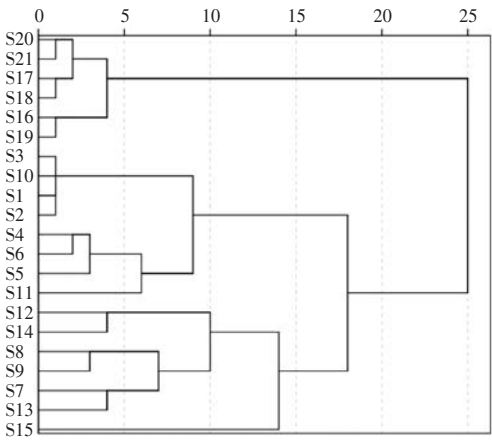


图4 聚类分析树状图

Fig. 4 Tree diagram of cluster analysis

2. 5. 3 OPLS - DA

采用SIMCA 14.1软件,以21批样品的特征峰峰面

表 2 样品主成分分析特征值及方差贡献率

Tab. 2 Eigenvalue and variance contribution rate of principal component analysis of samples

成分	特征值	方差贡献率(%)	累积方差贡献率(%)	成分	特征值	方差贡献率(%)	累积方差贡献率(%)
1	10.713	59.52	59.52	10	0.021	0.12	99.70
2	5.309	29.49	89.01	11	0.017	0.09	99.79
3	0.733	4.07	93.08	12	0.015	0.08	99.88
4	0.552	3.07	96.15	13	0.009	0.05	99.93
5	0.261	1.45	97.60	14	0.007	0.04	99.97
6	0.159	0.88	98.48	15	0.004	0.02	99.99
7	0.083	0.46	98.94	16	0.001	5.39×10^{-3}	100.00
8	0.067	0.37	99.31	17	2.654×10^{-4}	1.47×10^{-3}	100.00
9	0.049	0.27	99.58	18	3.444×10^{-5}	1.91×10^{-4}	100.00

表 3 主成分因子载荷矩阵

Tab. 3 Loading matrix of principal component factors

峰号	PC1	PC2	峰号	PC1	PC2
1	0.784	0.529	10	0.713	-0.688
2	0.789	0.552	11	0.698	-0.200
3	0.961	0.175	12	0.839	0.338
4	0.219	0.951	13	0.694	-0.631
5	0.641	-0.742	14	0.971	-0.011
6	0.719	-0.647	15	0.950	0.162
7	0.194	0.948	16	0.970	-0.154
8	0.851	-0.356	17	0.878	0.439
9	0.435	0.721	18	0.942	-0.082

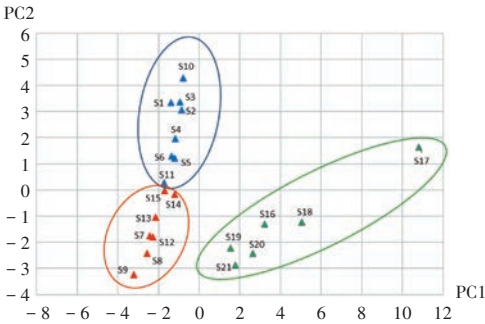
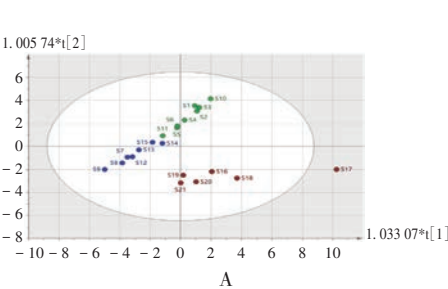
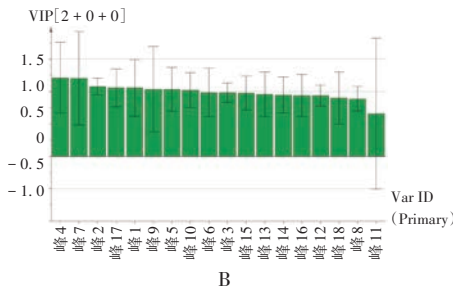


图 5 主成分得分图

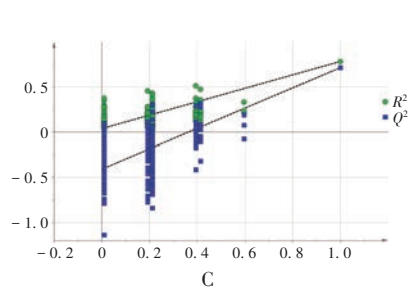
Fig. 5 Scoring plot of principal component analysis



A



B



C

A. 得分图 B. VIP 值 C. 模型交叉验证

图 6 OPLS - DA 分析结果

A. Scoring plot B. VIP value C. Cross - verification of models

Fig. 6 Results of OPLS - DA

积为变量进行 OPLS - DA 分析(见图 6)。结果数据矩阵的解释率参数 $R^2X(\text{cum}) = 0.888$, 模型区分参数 $R^2Y(\text{cum}) = 0.715$, 模型预测参数 $Q^2 = 0.523$, 均符合要求(即 $R^2Y > Q^2, Q^2 \geq 0.5$)。经 200 次置换检验, Q^2 回归线与纵轴的相交点小于 0.05, 说明模型未过拟合, 验证有效, 且稳定可靠^[10]。21 个样品可分成 3 类, 以变量投影重要性(VIP)值 > 1 为提取标准, 得到峰 4(异莲花掌苷)、峰 7(白藜芦醇 - 4' - O - β - D - (6'' - O - 没食子酰)葡萄糖苷)、峰 2(儿茶素)、峰 17(大黄酚)、峰 1(没食子酸)、峰 9(番泻苷 A)、峰 5(莲花掌苷)、峰 10(大黄酚 - 1 - O - β - D - 葡萄糖苷)是影响分类的主要标志性成分。

3 讨论

3.1 色谱条件选择

预试验中考察了不同流动相系统(甲醇 - 0.1% 磷酸水溶液、甲醇 - 0.1% 甲酸水溶液、甲醇 - 0.1% 乙酸水溶液), 不同流动相的酸比例(甲醇 - 0.05% 磷酸水溶液、甲醇 - 0.1% 磷酸水溶液、甲醇 - 0.2% 磷酸水溶液)等, 不同流速(0.20, 0.25, 0.30 mL/min), 不同柱温(30, 35, 40 $^{\circ}\text{C}$)的影响, 确定选择 2.1 项下色谱条件, 各色谱峰分离效果最好。

3.2 供试品溶液制备方法考察

预试验中考察了多种提取溶剂(水、甲醇、乙醇、60% 甲醇、80% 甲醇), 结果选择 80% 甲醇时指纹图谱得到的色谱峰峰形较好, 系统适用性参数相对较优; 还考察了超声提取和加热回流 2 种提取方式, 结果显示提取方式对指纹图谱的影响较小, 在此基础上, 考察了提取时间(15, 30, 45 min), 在该范围内, 各特征成分能被完全提取, 综合考虑, 选择 30 min 为提取时间。对取样量(0.25, 0.50, 0.75 g)也进行了考察, 当取样量为 0.5 g 时, 色谱峰的峰高及峰宽相对适中, 因此, 取样量确定为 0.5 g。通过考察确定了供试品溶液最佳制备方法, 采用该方法能更好将样品中的游离型蒽醌类、蒽酮类、鞣质类、二苯乙烯类成分充分提取出来, 更全面展现各化学成分特点, 为进一步的质量评价奠定基础。

3.3 酒大黄配方颗粒不同基源区分研究

前期试验还对不同基源大黄药材配方颗粒的指纹图谱进行了研究^[11-15]。取酒大黄(唐古特大黄、掌叶大黄、药用大黄)配方颗粒样品分别按2.1项下色谱条件进行指纹图谱分析。根据相关报道,白藜芦醇-4'-O- β -D-(6''-O-没食子酰)葡萄糖苷是唐古特大黄的专属性成分,而莲花掌苷、大黄酸-8-O- β -D-葡萄糖苷、番泻苷A等成分是引起不同基源大黄差异的主要标志性成分,且这些成分在唐古特大黄样品中的含量明显高于其他基源的样品。预试验研究结果显示,酒大黄(唐古特大黄)样品中峰5、峰8和峰9的响应值明显高于其他基源的样品,峰7在其他基源样品中缺失。通过对照品的定位,确定了峰5为莲花掌苷、峰7为白藜芦醇-4'-O- β -D-(6''-O-没食子酰)葡萄糖苷、峰8为大黄酸-8-O- β -D-葡萄糖苷、峰9为番泻苷A。与文献报道的结果一致。

3.4 化学模式识别分析

相似度评价结果显示,21批样品指纹图谱相似度均大于0.950,说明不同的酒大黄(唐古特大黄)配方颗粒样品在化学成分类型及含量上无明显差异。CA, PCA, OPLS-DA均将样品分为3类,结果显示,不同样品的化学成分类型一致,但成分的含量存在一定差异,其中S10-S12样品的原料属同一产地但未聚成同一类,推测该产地原料批次间的差异较大。PCA通过少数几个主成分来解释多个共有峰间的内部结构,距离越近的样本点间相似度越高,体现批次间的可视化,累积方差贡献率显示,前2个主成分包含了全部测量指标所具有的主要信息。在OPLS-DA模型下,以VIP值筛选出了导致各批次间产生差异的8个标志性成分,后期将对上述成分进行药理学研究,明确其药效差异。目前关于酒大黄的指纹图谱报道较少,未来可以从这8个成分出发,进一步评价酒大黄(唐古特大黄)饮片、标准汤剂和配方颗粒指纹图谱的相关性,为酒大黄饮片的投料、提取、干燥浓缩、制粒的各个环节提供依据。

3.5 方法评价

本研究中建立了酒大黄(唐古特大黄)配方颗粒UPLC指纹图谱,该方法简便、重复性较好;并结合化学模式识别研究反映了酒大黄主要化学成分类型及有效成分的特点。所建立的方法适用于快速评定不同批次酒大黄(唐古特大黄)配方颗粒的稳定性和一致性,可为其质量评价提供参考。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 232.
- [2] 陈丽萍, 李茂星, 马幸福. HPLC同时测定唐古特大黄地上部分6种化学成分含量[J]. 中国中医药信息杂志, 2017, 24(10): 76-80.
- [3] 颜永刚, 尹立敏, 王红艳, 等. HPLC法同时测定大黄炮制品中10种化学成分的含量[J]. 中国药房, 2016, 27(27): 3839-3842.
- [4] CHEN T, YANG X, WANG NN, et al. Separation of six compounds including two *n*-butyrophenone isomers and two stilbene isomers from *Rheum tanguticum* Maxim by recycling high speed counter-current chromatography and preparative high-performance liquid chromatography[J]. J Sep Sci, 2018, 41(19): 3660-3668.
- [5] SUN JC, WU YT, DONG SJ, et al. Influence of the drying method on the bioactive compounds and pharmacological activities of rhubarb [J]. J Sci Food Agric, 2018, 98(9): 3551-3562.
- [6] 龚小红, 赵梦杰, 党 珏, 等. 基于主成分分析不同产地大黄13个成分量的比较研究[J]. 中草药, 2017, 48(23): 4994-4999.
- [7] 刘月红, 黄政海, 董 玲, 等. 高效液相色谱法同时测定大黄中14种成分的含量[J]. 中国中药杂志, 2017, 42(23): 4514-4519.
- [8] 陆文瑾, 窦志华, 曹 瑞, 等. HPLC法同时测定大黄药材中8个非蒽醌类成分的含量[J]. 中国药房, 2019, 30(14): 1975-1980.
- [9] 黄 凤, 尹显梅, 唐国琳, 等. 基于PCA及CA的唐古特大黄蒽醌类、二蒽酮类及鞣质类含量研究[J]. 中国中药杂志, 2019, 44(5): 920-926.
- [10] 段雨晴, 朱田密, 陈树和, 等. 桦褐孔菌药材的薄层色谱鉴别和HPLC指纹图谱建立及化学模式识别分析[J]. 中国药房, 2023, 34(1): 52-56.
- [11] 黄凯伟, 任应宗, 张 辉, 等. 化橘红(柚)饮片、标准汤剂和配方颗粒相关性研究[J]. 中国药业, 2023, 32(17): 57-62.
- [12] 张 辉, 黄凯伟, 郑晓英, 等. 筋骨草配方颗粒高效液相色谱指纹图谱研究[J]. 中国药业, 2023, 32(8): 56-60.
- [13] 杜怡雯, 冯江毅, 胡黎文, 等. 大黄的药理活性研究及临床应用[J]. 中医临床研究, 2018, 10(25): 24-27.
- [14] 李丹丹, 张 慧, 李思雨, 等. 基于HPLC指纹图谱及UPLC-Q-TOF-MS法的3种不同来源大黄差异成分研究[J]. 中国药房, 2019, 30(23): 3240-3245.
- [15] 孙冬梅, 罗思妮, 魏 梅, 等. 不同基原大黄指纹图谱、多成分定量结合多元统计分析的质量评价研究[J]. 南京中医药大学学报, 2021, 37(1): 83-90.

(收稿日期: 2023-05-19; 修回日期: 2023-08-21)