

中图分类号: R932; R284.1; R286.0 文献标志码: A 文章编号: 1006-4931(2024)23-0076-07
doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2024.23.017



多组分定量分析、化学计量学、灰色关联度分析评价骨仙片质量*

冯鹏飞¹, 叶晓娅¹, 徐聪慧²

(1. 河南省平顶山市产品质量检验检测中心, 河南 平顶山 467000; 2. 河南中医药大学药学院, 河南 郑州 450046)

摘要:目的 建立骨仙片的质量评价方法。方法 采用高效液相色谱法测定制剂中梓醇、地黄苷 D、地黄苷 A、益母草苷、特女贞苷、橄榄苦苷、女贞苷 G13、仙茅苷乙、仙茅苷、新北美圣草苷、柚皮苷、防己诺林碱和粉防己碱的含量, 色谱柱为 Nucleodur C₁₈ 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), 流速为 1.0 mL/min, 检测波长分别为 203 nm(梓醇、地黄苷 D、地黄苷 A、益母草苷), 224 nm(特女贞苷、橄榄苦苷、女贞苷 G13), 280 nm(仙茅苷乙、仙茅苷、新北美圣草苷、柚皮苷、防己诺林碱、粉防己碱), 柱温为 30 °C, 进样量为 10 μL; 采用化学计量学和灰色关联度分析(GRA)法对多指标成分含量测定结果进行差异性分析。结果 13 种成分在各自质量浓度范围内与峰面积线性关系良好($r > 0.999$, $n = 6$); 精密度、稳定性、重复性试验结果的 RSD 均小于 2.0%; 加样回收率为 96.88%~100.14%, RSD 均小于 2.0% ($n = 9$)。聚类分析结果显示, 18 批样品聚为 3 类, 同一生产厂家的样品聚为 1 类。主成分分析结果显示, 特征值大于 1 的 3 个主成分的累计方差贡献率为 89.367%。正交偏最小二乘判别分析结果显示, 梓醇、特女贞苷、粉防己碱、柚皮苷、地黄苷 D、防己诺林碱、新北美圣草苷为影响样品质量的主要潜在标志物。GRA 结果显示, 18 批样品的相对关联度为 0.337 9~0.623 6, 同一厂家的样品的质量差异小。结论 所建立的方法结果准确、重复性良好, 可用于骨仙片的质量评价。

关键词: 骨仙片; 高效液相色谱法; 灰色关联度分析法; 化学计量学; 质量评价

Quality Evaluation of Guxian Tablets Based on Multi-Component Quantitative Analysis, Chemometrics, and Grey Relational Analysis

FENG Pengfei¹, YE Xiaoya¹, XU Conghui²

(1. Pingdingshan Institute for Food and Drug Control, Pingdingshan, Henan, China 467000; 2. School of Pharmacy, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou, Henan, China 450046)

Abstract: **Objective** To establish a quality evaluation method for Guxian Tablets. **Methods** High-performance liquid chromatography (HPLC) was used for the content determination of catalpol, rehmannioside D, rehmannioside A, leonuride, specnuezhenide, oleuropein, nuezhenoside G13, curculigoside B, curculigoside, neoeriocitrin, naringin, fangchinoline and tetrandrine in Guxian Tablets. The chromatography column was Nucleodur C₁₈ column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), the mobile phase was acetonitrile-0.1% phosphoric acid aqueous solution (gradient elution), the flow rate was 1.0 mL/min, the detection wavelength was set at 203 nm for catalpol, rehmannioside D, rehmannioside A and leonuride, 224 nm for specnuezhenide, oleuropein and nuezhenoside G13, and 280 nm for curculigoside B, curculigoside, neoeriocitrin, naringin, fangchinoline and tetrandrine, the column temperature was 30 °C and the injection volume was 10 μL. The chemometrics and grey relational analysis (GRA) method was used to analyze the difference in the results of multi-index component content. **Results** The 13 components had good linear relationships within their respective ranges ($r > 0.999$, $n = 6$). The RSDs of precision, stability, and repeatability test results were all lower than 2.0%. The recovery rate of 13 components was in the range of 96.88% - 100.14%, with $RSD < 2.0\%$ ($n = 9$). Cluster analysis (CA) showed that 18 batches of samples were clustered into three categories, while samples from the same manufacturer were clustered into one category. The results of principal component analysis (PCA) showed that the cumulative variance contribution rate of the three principal components with eigenvalues > 1 was 89.367%. The results of orthogonal partial

*基金项目: 河南省高等学校重点科研项目[20A110024]。

第一作者: 冯鹏飞, 男, 大学本科, 主管中药师, 研究方向为中药质量分析, (电话)0375-7665696(电子信箱)hoq259@163.com。

- [16] YU B, ZHANG G, AN Y, et al. Morroniside on anti-inflammation activities in rats following acute myocardial infarction[J]. The Korean Journal of Physiology & Pharmacology, 2018, 22(1): 17-21.
- [17] ZHANG J, WANG C, WANG H, et al. Logenin alleviates sepsis-induced acute lung injury by regulating macrophage polarization and inhibiting NLRP3 inflammasome activation[J]. International Immunopharmacology, 2021, 95: 107529.
- [18] ZHANG Y, FAN M, ZHANG W, et al. Schisandrin ameliorates diabetic nephropathy via regulating of PI3K/Akt/NF-κB-mediated inflammation and TGF-β₁-induced fibrosis in HFD/STZ-induced C57BL/6J mice[J]. Journal of Functional Foods, 2023, 100: 105376.
- [19] 唐安福, 李思, 王银娟, 等. 一测多评法在中药化学成分分析中的应用及其研究进展[J]. 中南药学, 2014, 12(2): 144-147.

(收稿日期: 2023-12-07; 修回日期: 2024-05-09)

least squares - discriminant analysis (OPLS - DA) showed that catalpol, specnuezhenide, tetrandrine, naringin, rehmannioside D and neoeriocitrin were the main potential biomarkers affecting the quality of Guxian Tablets. GRA results showed that the relative correlation of the 18 batches of samples ranged from 0.337 9 to 0.623 6, and the difference in the quality of samples from the same manufacturer was little. **Conclusion** The established method has accurate results and good reproducibility, which can be used for the quality evaluation of Guxian Tablets.

Key words: Guxian Tablets; HPLC; grey correlation analysis method; chemometrics; quality evaluation

骨仙片由熟地黄、枸杞子、女贞子、黑豆、菟丝子、骨碎补、仙茅、牛膝、防己组方^[1],能阻碍由葡聚糖引起的血液淤滞,减轻角叉菜胶引起的足跖肿胀,调节转化生长因子- β (TGF- β)等,促进骨形成^[2-3]。但骨仙片的质量标准中仅对柚皮苷进行了定量检测,且相关文献也仅以单一成分为指标进行分析。单组分质控手段不能全面反映制剂质量的优劣,更不能保证其疗效的稳定。化学计量学方法通过对数个指标性成分的含量数据进行提取和降维,挖掘多个数据间的内在联系,分析影响质量的差异性成分^[4-5]。灰色关联度分析(GRA)法基于灰色系统的灰色过程,根据各因素数列曲线形状相似程度进行发展态势分析,对各指标成分的综合评价进行直观表达,避免了用多个指标对其综合评价的人为判断^[6-7]。本研究中采用高效液相色谱(HPLC)法同时测定骨仙片中梓醇、地黄苷D、地黄苷A、益母草苷、特女贞苷、橄榄苦苷、女贞苷G13、仙茅苷乙、仙茅苷、新北美圣草苷、柚皮苷、防己诺林碱和粉防己碱的含量,运用化学计量学和GRA法对多组分的定量检测数据进行分析 and 挖掘,综合评价其质量。现报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Waters 2695 型高效液相色谱仪(美国 Waters 公司);DS-2510DTH 型超声波清洗器(上海生析超声仪器公司,功率为 120 W,频率为 40 kHz);AB104. N 型电子天平(梅特勒-托利多仪器 <上海> 有限公司,精度为 0.1 mg)。

1.2 试剂

梓醇对照品(批号为 110808-202313,含量为 99.6%),地黄苷 D 对照品(批号为 112063-202103,含量为 94.2%),特女贞苷对照品(批号为 111926-201906,含量为 95.0%),仙茅苷对照品(批号为 110771-201908,含量为 95.8%),柚皮苷对照品(批号为 110722-202116,含量为 93.5%),防己诺林碱对照品(批号为 110793-202108,含量为 96.3%),粉防己碱对照品(批号为 110711-201810,含量为 99.6%),均购于中国食品药品检定研究院;地黄苷 A 对照品(批号为 CFS202001),橄榄苦苷对照品(批号为 CFS202201),新北美圣草苷对照品(批号为 CFS202201),仙茅苷乙对照

品(批号为 CFS202101),均购于武汉天植生物技术有限公司,含量均不低于 98.0%;益母草苷对照品(批号为 PRF9103142,含量为 94.4%),女贞苷 G13 对照品(批号为 PRF10052501,含量为 98.5%),均购于成都普瑞法科技开发有限公司;骨仙片(广州 A 公司,编号为 S1-S8,批号分别为 OE012, OL002, QJ002, QI018, NB008, NC004, RA005, RE005;广州 B 公司,编号为 S9-S12,批号分别为 B4L004, C5L001, C5L003, E3L001;广州 C 公司,编号为 S13-S18,批号分别为 B00011, X00007, R00005, V00006, Y00011, Z00013);乙腈、磷酸(色谱纯,美国 Fisher 公司);其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 HPLC 法测定多组分含量

2.1.1 色谱条件与系统适用性试验

色谱柱: Nucleodur C₁₈ 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μ m);流动相: 乙腈(A)-0.1% 磷酸水溶液^[8-10],梯度洗脱(0~10 min 时 9.0%A, 10~22 min 时 9.0%A → 12.0%A, 22~37 min 时 12.0%A → 30.0%A, 37~48 min 时 30.0%A → 35.0%A, 48~59 min 时 35.0%A → 52.0%A, 59~68 min 时 52.0%A → 70.0%A, 68~75 min 时 70.0%A → 9.0%A);流速: 1.0 mL/min;检测波长: 203 nm(0~22 min 时检测梓醇、地黄苷 D、地黄苷 A 和益母草苷)^[11-13], 224 nm(22~37 min 时检测特女贞苷、橄榄苦苷和女贞苷 G13)^[14-16], 280 nm(37~75 min 时检测仙茅苷乙、仙茅苷、新北美圣草苷、柚皮苷、防己诺林碱和粉防己碱)^[17-22];柱温: 30 °C;进样量: 10 μ L。混合对照品溶液、供试品溶液、阴性对照品溶液在此色谱条件下的色谱图见图 1,供试品溶液中 13 种成分与相邻色谱峰的分离度均大于 1.5,且阴性对照无干扰。

2.1.2 溶液制备

混合对照品溶液: 取梓醇、地黄苷 D、地黄苷 A、益母草苷、特女贞苷、橄榄苦苷、女贞苷 G13、仙茅苷乙、仙茅苷、新北美圣草苷、柚皮苷、防己诺林碱、粉防己碱对照品各适量,精密称定,置同一容量瓶中,用 70% 甲醇制成质量浓度分别为 0.634, 0.512, 0.318, 0.174, 1.630, 0.142, 0.410, 0.096, 0.258, 0.730, 0.976, 0.832, 1.310 mg/mL 的混合对照品贮备液。精密吸取混合对照品贮备液 1.0 mL,用 70% 甲醇稀释成上述

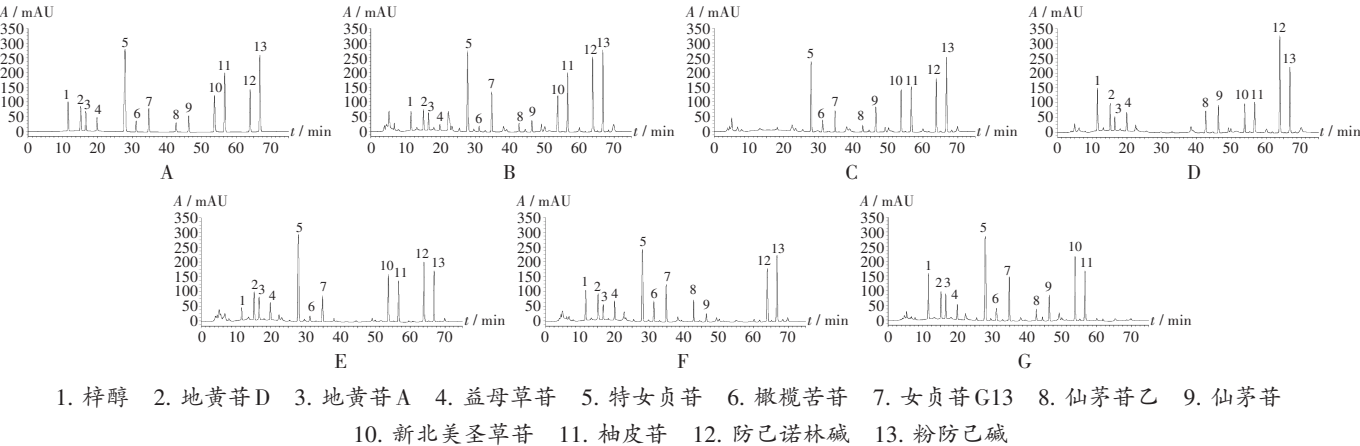


图1 高效液相色谱图

1. Catalpol 2. Rehmannioside D 3. Rehmannioside A 4. Leonuride 5. Specnuezhenide 6. Oleuropein 7. Nuezhenoside G13 8. Curculigoside B
9. Curculigoside 10. Neorioritrin 11. Naringin 12. Fangchinoline 13. Tetrandrine
A. Mixed reference solution B. Test solution C - G. Negative reference solution (lacking Rehmanniae Radix Praeparata, Ligustri Lucidi Fructus,
Curculiginis Rhizoma, Drynariae Rhizoma, and Stephaniae Tetrandrae Radix, respectively)

Fig. 1 HPLC chromatograms

成分质量浓度分别为31.70, 25.60, 15.90, 8.70, 81.50, 7.10, 20.50, 4.80, 12.90, 36.50, 48.80, 41.60, 65.50 $\mu\text{g/mL}$ 的溶液,即得。

供试品溶液:取除去包衣的骨仙片细粉1.0 g,精密称定,置25 mL容量瓶中,用70%甲醇超声提取(功率为120 W,频率为40 kHz)30 min,放至室温,用70%甲醇定容,摇匀,0.45 μm 有机滤膜滤过,取续滤液,即得。

阴性对照品溶液:按骨仙片处方和工艺分别制备缺熟地黄、女贞子、仙茅、骨碎补、防己的阴性样品,按供试品溶液制备方法制备,即得。

2.1.3 方法学考察

线性关系考察:精密量取2.1.2项下混合对照品贮备液0.1, 0.2, 0.5, 1.0, 2.0, 5.0 mL,分别置20 mL容量瓶中,加70%甲醇定容,按2.1.1项下色谱条件进样测定,以对照品溶液质量浓度($C, \mu\text{g/mL}$)为横坐标、峰面积(A)为纵坐标进行线性回归。结果见表1。

精密度试验:精密量取2.1.2项下供试品溶液(编号为S1)适量,按2.1.1项下色谱条件重复进样测定6次,记录峰面积。结果各成分峰面积的RSD均小于2.0%($n=6$),表明仪器精密度良好。

稳定性试验:取样品(编号为S1)适量,按2.1.2项下方法制备供试品溶液,分别于制备后0, 2, 5, 9, 16, 24, 36 h时按2.1.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果各成分峰面积的RSD均小于2.0%($n=7$),表明供试品溶液在36 h内稳定性良好。

重复性试验:取样品(编号为S1)适量,按2.1.2项下方法制备供试品溶液,按2.1.1项下色谱条件进样测

表1 13种成分线性关系考察结果($n=6$)

Tab. 1 Results of the linear relation test of 13 components ($n=6$)

成分	回归方程	线性范围($\mu\text{g/mL}$)	r
梓醇	$A = 4.3026 \times 10^6 C + 1203.9$	3.17~158.50	0.9995
地黄苷D	$A = 3.6859 \times 10^6 C - 715.6$	2.56~128.00	0.9992
地黄苷A	$A = 3.5814 \times 10^6 C - 419.2$	1.59~79.50	0.9999
益母草苷	$A = 2.3801 \times 10^6 C - 803.8$	0.87~43.50	0.9994
特女贞苷	$A = 6.8352 \times 10^6 C + 1009.1$	8.15~407.50	0.9992
橄榄苦苷	$A = 1.8659 \times 10^6 C + 185.6$	0.71~35.50	0.9996
女贞苷G13	$A = 3.9012 \times 10^6 C - 548.7$	2.05~102.50	0.9993
仙茅苷乙	$A = 1.2648 \times 10^6 C + 1051.2$	0.48~24.00	0.9994
仙茅苷	$A = 2.6887 \times 10^6 C - 796.5$	1.29~64.50	0.9995
新北美圣草苷	$A = 5.1026 \times 10^6 C - 907.0$	3.65~182.50	0.9997
柚皮苷	$A = 6.4709 \times 10^6 C - 1604.2$	4.88~244.00	0.9992
防己诺林碱	$A = 5.8034 \times 10^6 C - 1118.5$	4.16~208.00	0.9996
粉防己碱	$A = 7.2058 \times 10^6 C - 629.3$	6.55~327.50	0.9998

定,记录峰面积,用外标法计算含量。结果各成分含量的RSD均小于2.0%($n=6$),表明方法重复性良好。

加样回收试验:取已知含量的样品(编号为S1)9份,去除包衣后研细,每份取0.5 g,精密称定,分别按低、中、高水平加入混合对照品溶液(梓醇、地黄苷D、地黄苷A、益母草苷、特女贞苷、橄榄苦苷、女贞苷G13、仙茅苷乙、仙茅苷、新北美圣草苷、柚皮苷、防己诺林碱、粉防己碱对照品的质量浓度分别为0.431, 0.359, 0.217, 0.098, 1.251, 0.078, 0.289, 0.058, 0.141, 0.497, 0.771, 0.557, 0.974 mg/mL)0.8, 1.0, 1.2 mL,各3份,按2.1.2项下方法制备供试品溶液,按2.1.1项下色谱

表 2 18 批样品中 13 种成分含量测定结果 (mg / 片, $n = 3$)

Tab. 2 Results of the content determination of 13 components in 18 batches of samples (mg / tablet, $n = 3$)

成分	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13	S14	S15	S16	S17	S18
梓醇	0.274	0.351	0.284	0.316	0.338	0.391	0.329	0.293	0.172	0.242	0.223	0.157	0.252	0.306	0.213	0.264	0.206	0.232
地黄苷 D	0.228	0.263	0.206	0.260	0.280	0.293	0.286	0.254	0.176	0.160	0.163	0.134	0.250	0.192	0.267	0.221	0.147	0.242
地黄苷 A	0.142	0.165	0.141	0.158	0.171	0.187	0.179	0.150	0.119	0.126	0.123	0.123	0.226	0.210	0.218	0.234	0.201	0.193
益母草苷	0.062	0.072	0.066	0.059	0.069	0.049	0.055	0.052	0.034	0.036	0.032	0.029	0.095	0.092	0.088	0.100	0.103	0.084
特女贞苷	0.804	0.740	0.762	0.822	0.794	0.860	0.879	0.842	0.640	0.692	0.661	0.627	0.969	1.012	1.031	1.052	0.990	0.880
橄榄苦苷	0.051	0.048	0.042	0.040	0.045	0.031	0.031	0.037	0.029	0.033	0.027	0.030	0.057	0.060	0.063	0.071	0.066	0.054
女贞苷 G13	0.186	0.200	0.244	0.212	0.218	0.155	0.225	0.205	0.279	0.257	0.265	0.271	0.159	0.168	0.154	0.144	0.175	0.181
仙茅苷乙	0.035	0.041	0.035	0.034	0.038	0.043	0.040	0.037	0.036	0.026	0.034	0.033	0.032	0.031	0.030	0.029	0.038	0.037
仙茅苷	0.088	0.080	0.079	0.084	0.086	0.093	0.091	0.082	0.072	0.077	0.075	0.070	0.112	0.116	0.109	0.120	0.114	0.106
新北美圣草苷	0.316	0.343	0.263	0.377	0.351	0.333	0.363	0.413	0.288	0.323	0.297	0.276	0.406	0.505	0.428	0.489	0.454	0.441
柚皮苷	0.495	0.388	0.328	0.479	0.506	0.534	0.465	0.447	0.393	0.432	0.421	0.408	0.634	0.673	0.606	0.660	0.645	0.620
防己诺林碱	0.359	0.404	0.396	0.484	0.458	0.559	0.506	0.536	0.593	0.496	0.582	0.520	0.543	0.460	0.433	0.453	0.292	0.381
粉防己碱	0.622	0.671	0.641	0.714	0.692	0.578	0.556	0.735	0.559	0.603	0.580	0.537	0.865	0.844	0.922	0.893	0.801	0.823

条件进样测定,记录峰面积。结果 13 种成分的平均加样回收率分别为 98.97%, 99.09%, 97.25%, 96.88%, 100.14%, 98.66%, 99.02%, 96.91%, 97.98%, 98.56%, 99.89%, 99.39%, 100.02%, RSD 均小于 2.0% ($n = 9$), 表明方法准确度良好。

2.1.4 样品含量测定

取 18 批样品 (编号为 S1 - S18) 各适量,精密称定,按 2.1.2 项下方法制备供试品溶液,按 2.1.1 项下色谱条件进样测定 3 次,记录峰面积,按外标法计算含量。结果见表 2。

2.2 化学计量学分析

聚类分析 (CA): 以 Euclidean 距离为测度,采用平均联接法,用 SPSS 26.0 统计学软件对 18 批样品 (编号为 S1 - S18) 中梓醇、地黄苷 D、地黄苷 A、益母草苷、特女贞苷、橄榄苦苷、女贞苷 G13、仙茅苷乙、仙茅苷、新北美圣草苷、柚皮苷、防己诺林碱、粉防己碱的含量测定数据进行 CA,结果见图 2。可见,18 批样品大致聚为 3 类 (类间距离为 15),编号为 S1 - S8 的样品聚为 1 类 (第 I 类),编号为 S9 - S12 的样品聚为 1 类 (第 II 类),编号为 S13 - S18 的样品聚为 1 类 (第 III 类),同一生产厂家的样品聚为 1 类,表明聚为 1 类的样品的相似性较好。

主成分分析 (PCA): 以 18 批样品中梓醇、地黄苷 D、地黄苷 A、益母草苷、特女贞苷、橄榄苦苷、女贞苷 G13、仙茅苷乙、仙茅苷、新北美圣草苷、柚皮苷、防己诺林碱、粉防己碱的含量测定数据组成 18×13 数据矩阵,导入 SPSS 26.0 统计学软件进行 PCA,得特征值大于 1 的主成分 3 个 (PC1, PC2, PC3),其方差贡献率分别为 63.330%, 17.865%, 8.172%, 累计方差贡献率为 89.367%。其中,地黄苷 A、益母草苷、特女贞苷、橄榄苦

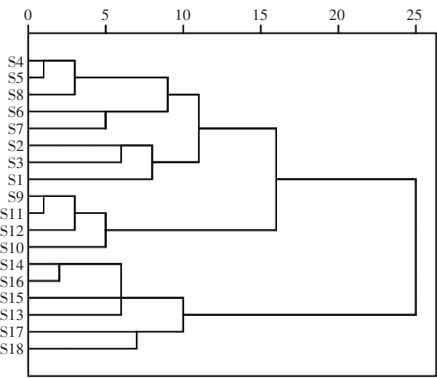


图 2 聚类分析树状图

Fig. 2 Dendrogram of the CA

苷、女贞苷 G13、仙茅苷、新北美圣草苷、柚皮苷和粉防己碱对 PC1 的贡献度高,梓醇、地黄苷 D 和仙茅苷乙对 PC2 的贡献度高,防己诺林碱对 PC3 的贡献度高。运用 SIMCA 14.1 软件建立 PCA 模型,提取 3 个主成分 (模型的 $R^2X = 0.894$),进一步分析,得 18 批样品的 PCA 得分图 (图 3)。可见,同一厂家的样品位于同一侧,与 CA 结果基本一致,但各散点分布较分散,表明 18 批样品的质量差异较大。

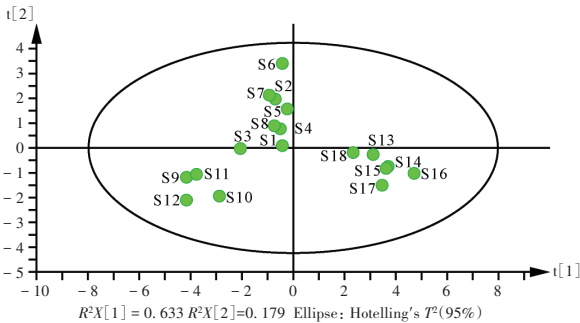


图 3 主成分分析得分图

Fig. 3 Score plot of the PCA

正交偏最小二乘判别分析(OPLS-DA):为深入挖掘影响骨仙片产品质量的差异标志物,用SIMCA 14.1 软件对 18 批样品中 13 种成分含量测定数据的 18×13 矩阵进行 OPLS-DA,结果见图 4。可见,各批次散点更集中,模型的 $R^2X = 0.910$, $R^2Y = 0.919$, $Q^2 = 0.888$,均大于 0.8,表明模型稳定、可靠。对 OPLS-DA 模型进行 200 次置换检验,结果最右侧的 R^2 值和 Q^2 值远大于左侧的 R^2 值和 Q^2 值,详见图 5,表明 OPLS-DA 模型未过拟合。由图 6 可知,各成分的变量重要性投影(VIP)值分别为 1.459 7, 1.183 0, 0.728 4, 0.594 2, 1.406 9, 0.446 8, 0.823 6, 0.268 5, 0.462 8, 0.997 7, 1.261 8, 1.013 5, 1.341 4,以 $VIP > 1$ 为评判标准筛选骨仙片的差异性成分为梓醇、地黄苷 D、特女贞苷、柚皮苷、防己诺林碱和粉防己碱,新北美圣草苷的 VIP 值接近 1,对骨仙片的质量也有一定影响,故这 7 种成分对骨仙片质量的影响较大,可作为骨仙片的指标性成分。

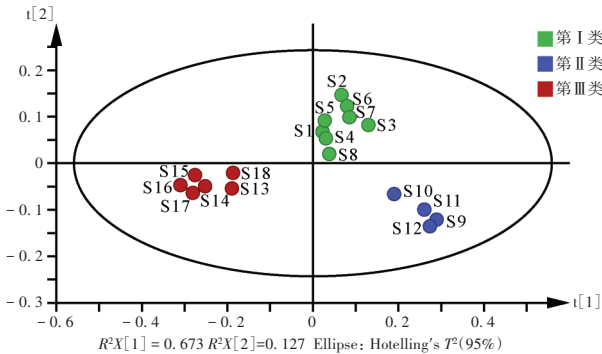


图 4 正交偏最小二乘判别分析模型得分图

Fig. 4 Score plot of the OPLS-DA model

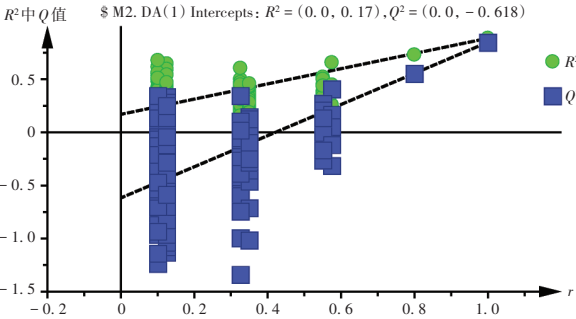


图 5 正交偏最小二乘判别分析置换检测结果图

Fig. 5 Replacement detection results of the OPLS-DA

2.3 GRA

原始数据标准化处理:按公式对 18 批样品中 13 种成分的含量测定数据进行标准化处理, $Y_{ij} = Z_{ij} / Z_{vj}$ 。式中, Z_{ij} 为 13 种成分的含量测定数据, Z_{vj} 为第 j 个成分含量测定结果的均值。结果见表 3。

关联系数计算:GRA 评价时,各评价指标标准化处理后数据的最大值和最小值分别为最优参考序列(Y_{bj})和最差参考序列(Y_{sj}),即 Y_{bj} 分别为 1.453 0, 1.311 5, 1.374 0, 1.574 9, 1.257 6, 1.570 8, 1.358 3, 1.232 1,

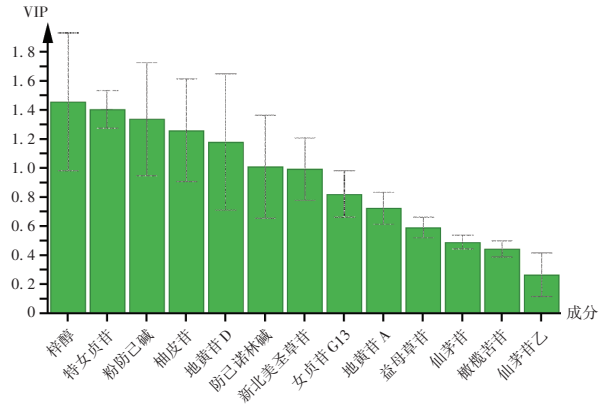


图 6 变量重要性投影图

Fig. 6 VIP images

1.305 8, 1.363 8, 1.326 4, 1.262 5, 1.313 4, Y_{sj} 分别为 0.583 4, 0.599 8, 0.698 8, 0.443 4, 0.749 6, 0.597 3, 0.701 1, 0.745 0, 0.761 7, 0.710 2, 0.646 4, 0.621 7, 0.765 0。再分别按公式计算各评价单元相对于最优、最差参考序列的关联系数 $C_{ij(b)}$ 和 $C_{ij(s)}$, $C_{ij(b)} = (\Delta_{\min} + \rho \Delta_{\max}) / (|Y_{ij} - Y_{bj}| + \rho \Delta_{\max})$, $C_{ij(s)} = (\Delta'_{\min} + \rho \Delta'_{\max}) / (|Y_{ij} - Y_{sj}| + \rho \Delta'_{\max})$ 。式中, $\Delta_{\min} = \min |Y_{ij} - Y_{bj}|$, $\Delta_{\max} = \max |Y_{ij} - Y_{bj}|$, $\Delta'_{\min} = \min |Y_{ij} - Y_{sj}|$, $\Delta'_{\max} = \max |Y_{ij} - Y_{sj}|$; ρ 为分辨率系数,取值 0.5。

关联度与相对关联度计算:关联度为每个被评价对象的所有评价指标关联系数的平均值,分别按公式 $R_{i(b)} = \frac{1}{13} \sum_{j=1}^{13} C_{ij(b)}$ 计算被评价对象相对于最优参考序列的关联度,按公式 $R_{i(s)} = \frac{1}{13} \sum_{j=1}^{13} C_{ij(s)}$ 计算被评价对象相对于最差参考序列的关联度。结果见表 4。再按公式 $R_i = R_{i(b)} / R_{i(b)} + R_{i(s)}$ 计算被评价对象的相对关联度,并对其质量优劣进行排序。结果编号为 S13-S18 的样品的质量最优,编号为 S1-S8 的样品的质量次之,编号为 S9-S12 的样品的质量最差,表明同一厂家的样品的质量差异小。详见表 5。

3 讨论

3.1 含量测定成分选择

骨仙片方中,熟地黄为君药,枸杞子、女贞子、菟丝子、骨碎补、仙茅、牛膝为臣药,黑豆、防己为佐药。熟地黄的有效成分为梓醇、地黄苷 D、地黄苷 A 和益母草苷,女贞子的特征成分为特女贞苷、橄榄苦苷和女贞苷 G13,仙茅的代表性成分为仙茅苷乙和仙茅苷,骨碎补的活性成分为新北美圣草苷和柚皮苷,防己的主要成分为防己诺林碱、粉防己碱。故含量测定成分选择上述 13 种成分。

3.2 样品提取方法选择

预试验中比较了不同体积分数的甲醇(50% 甲醇、

表3 18批样品中13种成分含量测定原始数据标准化处理结果

Tab.3 Results of raw data normalization of the content determination of 13 components in 18 batches of samples													
编号	梓醇	地黄苷D	地黄苷A	益母草苷	特女贞苷	橄榄苦苷	女贞苷G13	仙茅苷乙	仙茅苷	新北美圣草苷	柚皮苷	防己诺林碱	粉防己碱
S1	1.018 2	1.020 6	0.833 8	0.948 0	0.961 1	1.128 3	0.905 6	1.002 9	0.957 6	0.853 4	0.975 6	0.764 3	0.886 0
S2	1.304 3	1.177 3	0.968 9	1.100 9	0.884 6	1.061 9	0.973 7	1.174 8	0.870 5	0.926 3	0.764 7	0.860 1	0.955 8
S3	1.055 4	0.922 1	0.828 0	1.009 2	0.910 9	0.929 2	1.187 9	1.002 9	0.859 6	0.710 2	0.646 4	0.843 1	0.913 1
S4	1.174 3	1.163 8	0.927 8	0.902 1	0.982 7	0.885 0	1.032 1	0.974 2	0.914 0	1.018 1	0.944 0	1.030 4	1.017 1
S5	1.256 0	1.253 4	1.004 1	1.055 0	0.949 2	0.995 6	1.061 3	1.088 8	0.935 8	0.947 9	0.997 2	0.975 1	0.985 8
S6	1.453 0	1.311 5	1.098 1	0.749 2	1.028 1	0.674 8	0.754 6	1.232 1	1.012 0	0.899 3	1.052 4	1.190 1	0.823 4
S7	1.222 6	1.280 2	1.051 1	0.841 0	1.050 8	0.681 4	1.095 4	1.146 1	0.990 2	0.980 3	0.916 4	1.077 3	0.792 0
S8	1.088 8	1.137 0	0.880 8	0.795 1	1.006 6	0.818 6	0.998 1	1.060 2	0.892 3	1.115 3	0.881 0	1.141 2	1.047 0
S9	0.639 2	0.787 8	0.698 8	0.519 9	0.765 1	0.641 6	1.358 3	1.031 5	0.783 5	0.777 7	0.774 5	1.262 5	0.796 3
S10	0.899 3	0.716 2	0.739 9	0.550 5	0.827 3	0.730 1	1.251 2	0.745 0	0.837 9	0.872 3	0.851 4	1.056 0	0.859 0
S11	0.828 7	0.729 6	0.722 3	0.489 3	0.790 2	0.597 3	1.290 2	0.974 2	0.816 1	0.802 1	0.829 7	1.239 1	0.826 2
S12	0.583 4	0.599 8	0.722 3	0.443 4	0.749 6	0.663 7	1.319 4	0.945 6	0.761 7	0.745 3	0.804 1	1.107 1	0.765 0
S13	0.936 5	1.119 1	1.327 1	1.452 6	1.158 4	1.261 1	0.774 1	0.916 9	1.218 7	1.096 4	1.249 5	1.156 1	1.232 2
S14	1.137 1	0.859 4	1.233 1	1.406 7	1.209 8	1.327 4	0.817 9	0.888 3	1.262 2	1.363 8	1.326 4	0.979 3	1.202 3
S15	0.791 5	1.195 2	1.280 1	1.345 6	1.232 5	1.393 8	0.749 8	0.859 6	1.186 1	1.155 8	1.194 3	0.921 9	1.313 4
S16	0.981 0	0.989 3	1.374 0	1.529 1	1.257 6	1.570 8	0.701 1	0.830 9	1.305 8	1.320 6	1.300 7	0.964 4	1.272 1
S17	0.765 5	0.658 0	1.180 3	1.574 9	1.183 5	1.460 2	0.852 0	1.088 8	1.240 5	1.226 0	1.271 2	0.621 7	1.141 0
S18	0.862 1	1.083 3	1.133 3	1.284 4	1.052 0	1.194 7	0.881 2	1.060 2	1.153 4	1.190 9	1.221 9	0.811 2	1.172 4

表4 18批样品与最优参考序列和最差参考序列的关联度

Tab.4 Correlation between 18 batches of samples and the optimal / worst reference sequences																		
序列	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13	S14	S15	S16	S17	S18
$R_{(b)}$	0.456 4	0.515 5	0.445 8	0.501 0	0.535 8	0.600 7	0.544 1	0.510 1	0.468 9	0.423 9	0.453 6	0.419 8	0.659 8	0.684 7	0.657 2	0.757 0	0.638 8	0.578 8
$R_{(a)}$	0.576 7	0.543 8	0.638 3	0.520 9	0.497 1	0.546 3	0.533 8	0.527 8	0.752 7	0.710 2	0.722 3	0.822 6	0.447 3	0.444 2	0.471 1	0.456 9	0.512 6	0.467 5

表5 18批样品的相对关联度及其排序

Tab.5 Relative correlation and its ranking of 18 batches of samples							
编号	相对关联度	排序	编号	相对关联度	排序	编号	相对关联度
S1	0.441 8	13	S7	0.504 8	9	S13	0.596 0
S2	0.486 6	12	S8	0.491 5	10	S14	0.606 5
S3	0.411 2	14	S9	0.383 8	16	S15	0.582 5
S4	0.490 3	11	S10	0.373 8	17	S16	0.623 6
S5	0.518 7	8	S11	0.385 7	15	S17	0.554 8
S6	0.523 7	7	S12	0.337 9	18	S18	0.553 2

70% 甲醇和 100% 甲醇)、稀乙醇等提取溶剂,发现使用 70% 甲醇作为提取溶剂的样品较稳定;同时对超声提取时间(15, 30, 45 min)进行了筛选,发现超声提取 30 min 后,样品中的待测成分已基本提取完全,13 种成分的响应值均较大,分离度符合要求,且操作简单。故样品提取方法选择 70% 甲醇超声提取 30 min。

3.3 流动相选择

预试验中考察了不同流动相系统(乙腈-水、乙腈-0.1% 磷酸水溶液、乙腈-0.1% 甲酸水溶液、乙腈-0.1% 醋酸水溶液)对供试品溶液色谱图的影响,结果显示,流动相为乙腈-0.1% 磷酸水溶液时,色谱图基

线平稳,色谱峰数量较多,13 种成分的响应值最大、分离度最好。故流动相选择乙腈-0.1 磷酸水溶液。

3.4 质量评价结果分析

由 13 种成分的含量测定结果可知,不同批次样品中各成分的含量差异较大,表明多组分定量控制方法的建立对稳定骨仙片整体质量及疗效有积极意义。化学计量学分析结果显示,18 批不同厂家的骨仙片聚为 3 类,同一厂家的聚为 1 类,梓醇、特女贞苷、粉防己碱、柚皮苷、地黄苷 D 和新北美圣草苷对骨仙片质量的影响较大。GRA 模型综合评价结果与化学计量学聚类结果基本一致,对 18 批骨仙片质量优劣进行排序,其中编号为 S13-S18 的样品的质量最优,编号为 S1-S8 的样品的质量次之,编号为 S9-S12 的样品的质量最差。

3.5 方法评价

本研究中建立的多组分定量控制模式与化学计量学联合 GRA 综合评价方法结果准确、重复性良好,可用于骨仙片的质量评价。

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: 1278-1279.