·中药工业·

UPLC 波长切换法同时测定脑安颗粒中 9 种化学成分的含量及其化学模式识别分析

郭焱*

盐城市食品药品监督检验中心，江苏　盐城　224000

［摘要］　**目的：**建立超高效液相色谱法（UPLC）波长切换法同时测定脑安颗粒中洋川芎内酯 A、洋川芎内酯Ⅰ、洋川芎内酯 H、川芎嗪、绿原酸、阿魏酸、阿魏酸松柏酯、羟基红花黄色素 A 和藁本内酯 9 种成分含量的方法。**方法：**采用 Zorbax Eclipse Plus C_{18} 色谱柱（100 mm×2.1 mm，1.8 μm），流动相为乙腈-0.4% 冰醋酸溶液，梯度洗脱；流速为 0.3 mL·min^{-1}；检测波长为 285、320、304 nm；柱温为 30 ℃；进样量为 2 μL；并采用 SPSS 22.0 统计软件对含量测定结果进行主成分分析与聚类分析。**结果：**洋川芎内酯 A、洋川芎内酯Ⅰ、洋川芎内酯 H、川芎嗪、绿原酸、阿魏酸、阿魏酸松柏酯、羟基红花黄色素 A 和藁本内酯线性范围分别为 5.17～82.68（r=0.999 5）、5.01～80.08（r=0.999 6）、4.84～77.48（r=0.999 4）、2.03～32.62（r=0.999 3）、3.47～55.56（r=0.999 7）、3.16～50.62（r=0.999 8）、3.63～58.04（r=0.999 5）、3.12～49.88（r=0.999 4）、8.56～136.96 μg·mL^{-1}（r=0.999 3）；平均加样回收率为 98.70%～100.01%，RSD 均小于 1.11%（n=6）。主成分分析与聚类分析均可将不同生产厂家的脑安颗粒很好地分类，且分类结果一致。**结论：**该方法简便、准确、重复性好，可用于脑安颗粒的质量控制。

［关键词］　脑安颗粒；超高效液相色谱法；含量测定；化学模式识别

［中图分类号］　R284；R286　　［文献标识码］　A　　［文章编号］　1673-4890（2021）05-0868-08

doi：10.13313/j.issn.1673-4890.20200525002

Simultaneous Determination of Nine Components in Nao′an Granules by UPLC with Wavelength Switching and Combined with Chemical Pattern Recognition Analysis

GUO Yan*

Yancheng Food and Drug Supervision and Inspection Center, *Yancheng* 224000, *China*

［**Abstract**］　**Objective**: To establish an Ultra performance liquid chromatography (UPLC) method for simultaneous determination of 9 components in Nao′an granules including senkyunolide A, senkyunolide Ⅰ, senkyunolide H, ligustrazine, chlorogenic acid, ferulic acid, coniferyl ferulate, hydroxysafflor yellow A, ligustilide. **Methods**: A Zorbax Eclipse Plus C_{18} (100 mm×2.1 mm, 1.8 μm) chromatographic column was used; the mobile phase was acetonitrile (A)-0.4% glacial acetic acid solution (B) with gradient elution at the flow rate of 0.3 mL·min^{-1} and the detection wavelengths were 285, 320 and 304 nm. The principal component analysis and cluster analysis were conducted for the results of content determination by SPSS 22.0 statistical software. **Results**: The linear ranges of senkyunolide A, senkyunolide Ⅰ, senkyunolide H, ligustrazine, chlorogenic acid, ferulic acid, coniferyl ferulate, hydroxysafflor yellow A, ligustilide were: 5.17-82.68 (r=0.999 5) 5.01-80.08 (r=0.999 6), 4.84-77.48 (r=0.999 4), 2.03-32.62 (r=0.999 3), 3.47-55.56 (r=0.999 7), 3.16-50.62 (r=0.999 8), 3.63-58.04 (r=0.999 5), 3.12-49.88 (r=0.999 4), 8.56-136.96 μg·mL^{-1} (r=0.999 3), respectively. The average recoveries (n=6) varied from 98.70% to 100.01% with RSDs no more than 1.11%. The samples were clearly classification by using CA and PCA, and the results of classification were consistent. **Conclusion**: The method is simple and accurate with good repeatability, which can be used to control the quality of Nao′an Granules

［**Keywords**］　Nao′an Granules; UPLC; content determination; chemical pattern recognition

* ［通信作者］　郭炎，副主任中药师，研究方向：药品检验；Tel：（0515）89088618，E-mail：1506330625@qq.com

脑安颗粒具有活血化瘀、益气通络的功效，主要用于脑血栓形成急性期、恢复期气虚血瘀证候者的治疗，该中药复方制剂由川芎、当归、红花、人参、冰片 5 味中药加工而成，收载于《国家药品标准·新药转正》第 34 册[1]。方中君药川芎为伞形科植物川芎 *Ligusticum chuanxiong* Hort. 的干燥根茎，具有抑制血小板聚集、改善冠状动脉血流量、抗缺血再灌注损伤、降低血管阻力等作用，与臣药当归同属一科，两者均以苯酞类为主的挥发油类成分为主要活性成分，具有相似的化学成分，还含有有机酸类、生物碱类等成分[2-4]。红花为佐药，其药效成分羟基红花黄色素 A 能有效改善患者神经功能缺损程度，促进急性脑梗死患者的康复[5-6]。《国家药品标准·新药转正》第 34 册采用薄层荧光扫描法对脑安颗粒中人参皂苷 Re 做定量测定，此方法操作烦琐、误差较大，且难以全面评价药品质量。参考文献［7］采用超高效液相色谱法（UPLC）测定脑安颗粒中的多种人参皂苷成分，但尚未有采用 UPLC 同时定量测定脑安颗粒中其他多种成分的文献报道。为了全面评价脑安颗粒的质量，完善其质量评价标准，本研究采用 UPLC 波长切换法对其中洋川芎内酯 A、洋川芎内酯Ⅰ、洋川芎内酯 H、川芎嗪、绿原酸、阿魏酸、阿魏酸松柏酯、藁本内酯、羟基红花黄色素 A 9 种指标成分进行含量测定，为进一步的临床研究提供参考。

1　材料

Waters ACQUITY 型超高效液相色谱仪，包括真空脱气机、二元泵、自动进样器、柱温箱、2998 型二极管阵列检测器、Empower 2.0 工作站；AUW-220D 型电子天平（d = 0.01 mg，美国岛津公司）；KQ-250DB 型数控超声波清洗器（昆山超声波仪器有限公司，功率：500 W，频率：50 kHz）。

对照品阿魏酸（批号：110773-201915，纯度：99.4%）、绿原酸（批号：110753-201817，纯度：96.8%）、盐酸川芎嗪（批号：110817-201608，纯度：83.4%）、藁本内酯（批号：111737-201910，纯度：100.0%）、羟基红花黄色素 A（批号：111637-201810，纯度：93.1%）均购自中国食品药品检定研究院；洋川芎内酯 A（批号：CHB170817）、洋川芎内酯Ⅰ（批号：CHB161125）、洋川芎内酯 H（批号：CHB171229）、阿魏酸松柏酯（批号：CHB170912）、川芎嗪（批号：CHB180627）均购于上海纯优生物科技有限公司，纯度均≥98.0%；甲醇、乙腈均为色谱纯；其他试剂均为分析纯；水为超纯水。

脑安颗粒购自药店，共收集到 3 个厂家 13 个批次的样品，规格：1.2 g/袋，产品信息见表 1。

表 1　13 批脑安颗粒样品信息

编号	生产企业	批号
S1	河南省百泉制药有限公司	190108
S2		190324
S3		190513
S4		190622
S5		191011
S6	上海祥鹤药业有限公司	1904125
S7		1906014
S8		1909108
S9		1910216
S10		1911112
S11	辽源誉隆亚东药业有限责任公司	181223
S12		190119
S13		190507

2　方法与结果

2.1　色谱条件

色谱柱：Zorbax Eclipse Plus C_{18}（100 mm×2.1 mm，1.8 μm）；流动相：乙腈（A）-0.4% 冰醋酸溶液（B），梯度洗脱（0 ~ 12 min，5% ~ 10% A；12 ~ 15 min，10% ~ 38% A；15 ~ 22 min，38% ~ 55% A；22 ~ 25 min，55% ~ 5% A；流速：0.3 mL·min^{-1}；检测波长：0 ~ 8 min，285 nm（绿原酸、川芎嗪）；8 ~ 10 min，320 nm（阿魏酸）；10 ~ 12 min，304 nm（羟基红花黄色素 A）；12 ~ 19 min，285 nm（洋川芎内酯Ⅰ、洋川芎内酯 H、阿魏酸松柏酯、洋川芎内酯 A）；19 ~ 25 min，320 nm（藁本内酯）[8-11]；柱温：30 ℃；进样量：2 μL。

2.2　溶液的制备

2.2.1　混合对照品溶液的制备　精密称取洋川芎内酯 A、洋川芎内酯Ⅰ、洋川芎内酯 H、川芎嗪、绿原酸、阿魏酸、阿魏酸松柏酯、羟基红花黄色素 A 和藁本内酯对照品各适量，加 55% 甲醇超声处理溶解后制成质量浓度分别为 0.206 7、0.200 2、0.193 7、0.081 6、0.138 9、0.126 3、0.145 1、0.124 7、0.342 4 mg·mL^{-1}的混合对照品储备液，

置冰箱冷藏避光保存，备用。

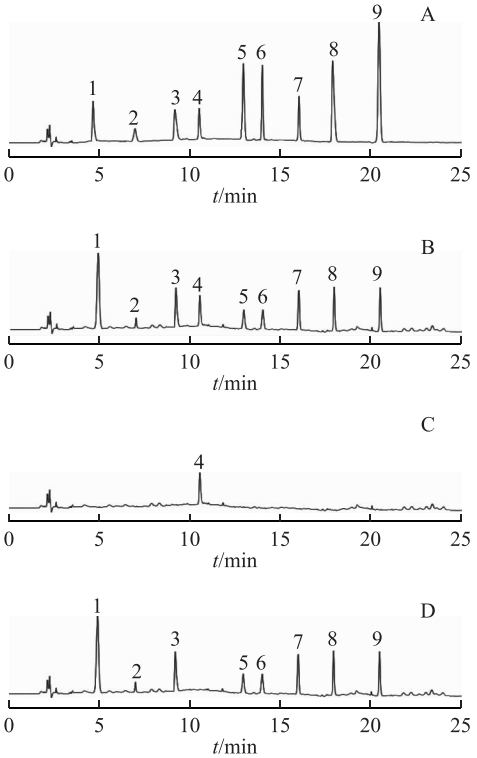
2.2.2　供试品溶液的制备　取装量差异项下的脑安颗粒，研匀，取约 1.0 g，精密称定，置 50 mL 棕色量瓶中，加入 55% 甲醇约 30 mL，30 ℃超声处理（功率：500 W，频率：50 kHz）45 min，放冷至室温，再用 55% 甲醇稀释至刻度，摇匀，滤过，取续滤液经 0.45 μm 微孔滤膜滤过，即得供试品溶液，冷藏避光保存。

2.2.3　阴性供试品溶液的制备　按照脑安颗粒处方工艺分别制备缺川芎、当归、红花的阴性样品，依照 **2.2.2** 项下供试品溶液制备方法处理，即得阴性供试品溶液。

2.3　方法学考察

2.3.1　系统适用性试验　分别精密吸取 **2.2** 项下的供试品溶液、混合对照品溶液、阴性供试品溶液、空白溶剂各 2 μL，按 **2.1** 项下色谱条件测定，结果理论板数均大于 9800，9 种成分与相邻色谱峰之间的分离度均大于 1.5，拖尾因子均小于 1.15，空白溶剂与阴性供试品溶液中的其他成分对 9 种成分的测定无干扰，说明该色谱系统专属性较好。色谱图见图 1。

2.3.2　线性关系考察　分别精密吸取 **2.2.1** 项下混合对照品溶液 0.5、1.0、2.0、4.0、6.0、8.0 mL，分别置20 mL 量瓶中，加 55% 甲醇溶液稀释至刻度，摇匀，得系列混合对照品溶液。取上述系列混合对照品溶液和混合对照品储备液，设置进样体积为 2 μL，按 **2.1** 项下色谱条件测定，记录色谱图。以质量浓度为横坐标（X），峰面积为纵坐标（Y）进行线性回归，绘制各组分回归曲线，计算相应回归方程和相关系数（r）。结果表明，洋川芎内酯 A、洋川芎内酯Ⅰ、洋川芎内酯 H、川芎嗪、绿原酸、阿魏酸、阿魏酸松柏酯、羟基红花黄色素 A 和藁本内酯在实验范围内呈良好的线性关系。将对照品溶液逐级稀释后，以信噪比 S/N = 10 时的质量浓度为各成分的定量限（LOQ），结果见表 2。



注：A. 混合对照品；B. 样品；C. 缺川芎、当归阴性样品；D. 缺红花阴性样品；1. 绿原酸；2. 川芎嗪；3. 阿魏酸；4. 羟基红花黄色素 A；5. 洋川芎内酯Ⅰ；6. 洋川芎内酯 H；7. 阿魏酸松柏酯；8. 洋川芎内酯 A；9. 藁苯内酯。

图 1　对照品、阴性样品及脑安颗粒溶液 UPLC 图

表 2　脑安颗粒 9 种有效成分的线性范围

化合物	回归方程	r	线性范围/μg·mL^{-1}	LOQ/μg·mL^{-1}
洋川芎内酯 A（senkyunolide A）	$Y = 232.15X + 24.11$	0.999 5	5.17 ~ 82.68	0.41
洋川芎内酯Ⅰ（senkyunolide Ⅰ）	$Y = 109.61X + 52.85$	0.999 6	5.01 ~ 80.08	0.37
洋川芎内酯 H（senkyunolide H）	$Y = 490.06X - 57.99$	0.999 4	4.84 ~ 77.48	0.28
川芎嗪（ligustrazine）	$Y = 176.78X + 38.29$	0.999 3	2.03 ~ 32.62	0.09
绿原酸（chlorogenic acid）	$Y = 241.29X + 22.51$	0.999 7	3.47 ~ 55.56	0.15
阿魏酸（ferulic acid）	$Y = 382.64X - 40.03$	0.999 8	3.16 ~ 50.62	0.17
阿魏酸松柏酯（coniferyl ferulate）	$Y = 189.32X + 13.98$	0.999 5	3.63 ~ 58.04	0.22
羟基红花黄色素 A（hydroxysafflor yellow A）	$Y = 245.72X - 15.32$	0.999 4	3.12 ~ 49.88	0.14
藁苯内酯（ligustilide）	$Y = 201.55X + 9.31$	0.999 3	8.56 ~ 136.96	0.55

2.3.3　精密度试验　取混合对照品溶液，按 **2.1** 项下色谱条件连续进样 6 次，记录色谱图并计算 9 种成分峰面积的 RSD。结果洋川芎内酯 A、洋川芎内酯Ⅰ、洋川芎内酯 H、川芎嗪、绿原酸、阿魏酸、阿魏酸松柏酯、羟基红花黄色素 A 和藁本内酯峰面积 RSD（$n = 6$）分别为 1.03%、0.86%、0.72%、0.65%、0.88%、0.91%、0.58%、1.11%、0.94%，表明仪器精密度良好。

2.3.4　稳定性试验　取同一供试品溶液（S4），分别于制备后 0、4、8、12、16、20、24 h 按 **2.1** 项下色谱条件进样测定，记录色谱图并计算 9 种成分峰面积的 RSD。结果洋川芎内酯 A、洋川芎内酯Ⅰ、洋川芎内酯 H、川芎嗪、绿原酸、阿魏酸、阿魏酸松柏酯、羟基红花黄色素 A 和藁本内酯峰面积的 RSD（$n = 7$）分别为 1.08%、1.02%、0.79%、0.88%、0.91%、0.67%、0.83%、0.81%、0.98%，表明供试品溶液 24 h 内稳定性良好。

2.3.5　重复性试验　取同一批供试品（S4）6 份，按 **2.2.2** 项下方法制备供试品溶液，按 **2.1** 项下色谱条件进样测定，记录色谱图及峰面积，按 **2.3.2** 项下回归方程计算 9 种成分的含量及其 RSD。结果洋川芎内酯 A、洋川芎内酯Ⅰ、洋川芎内酯 H、川芎嗪、绿原酸、阿魏酸、阿魏酸松柏酯、羟基红花黄色素 A 和藁本内酯平均质量分数分别为 0.297 8、0.261 3、0.258 8、0.110 9、0.361 7、0.302 1、0.215 4、0.197 2、1.115 3 $mg \cdot g^{-1}$，RSD（$n = 6$）分别为 1.07%、1.13%、0.98%、0.89%、1.01%、0.75%、0.85%、0.69%、0.93%，表明该方法重复性良好。

2.3.6　加样回收率试验　精密称取已知含量的供试品（S4）6 份，每份约 0.5 g，精密称定，分别精密加入洋川芎内酯 A、洋川芎内酯Ⅰ、洋川芎内酯 H、川芎嗪、绿原酸、阿魏酸、阿魏酸松柏酯、羟基红花黄色素 A 和藁本内酯混合对照品溶液（质量浓度分别为 101.3、89.2、87.3、37.53、123.2、103.4、74.13、67.27、117.07　$\mu g \cdot mL^{-1}$）1.50 mL，按 **2.2.2** 项下供试品溶液制备方法处理，按 **2.1** 项下色谱条件进样分析，记录色谱图，计算各成分加样回收率及相应 RSD。结果洋川芎内酯 A、洋川芎内酯Ⅰ、洋川芎内酯 H、川芎嗪、绿原酸、阿魏酸、阿魏酸松柏酯、羟基红花黄色素 A 和藁本内酯平均加样回收率及 RSD 分别为 100.01%（RSD 为 0.75%）、99.57%（RSD 为 0.62%）、99.21%（RSD 为 0.53%）、99.35%（RSD 为 1.10%）、99.94%（RSD 为 0.65%）、99.84%（RSD 为 1.11%）、98.70%（RSD 为 0.56%）、99.59%（RSD 为 0.78%）、99.26%（RSD 为 1.03%），结果见表 3。

表 3　脑安颗粒 9 种成分的加样回收率试验结果

化合物	称样量/g	样品中含量/mg	对照品加入量/mg	测得量/mg	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
洋川芎内酯 A	0.500 9	0.149 1	0.151 9	0.301 6	100.44	100.01	0.75
	0.501 7	0.149 4		0.300 9	99.87		
	0.506 4	0.150 8		0.301 2	99.04		
	0.511 2	0.152 2		0.304 1	100.05		
	0.513 5	0.152 9		0.304 0	99.48		
	0.523 3	0.155 8		0.309 5	101.19		
洋川芎内酯Ⅰ	0.500 9	0.130 8	0.133 8	0.263 6	99.27	99.57	0.62
	0.501 7	0.131 1		0.264 2	99.55		
	0.506 4	0.132 3		0.264 7	98.96		
	0.511 2	0.133 5		0.267 1	99.91		
	0.513 5	0.134 1		0.266 7	99.13		
	0.523 3	0.136 7		0.271 3	100.63		
洋川芎内酯 H	0.500 9	0.129 6	0.130 9	0.259 5	99.28	99.21	0.53
	0.501 7	0.129 8		0.259 1	98.81		
	0.506 4	0.131 1		0.260 0	98.49		
	0.511 2	0.132 3		0.262 8	99.75		
	0.513 5	0.132 8		0.262 4	99.07		
	0.523 3	0.135 4		0.266 1	99.84		

续表 3

化合物	称样量/g	样品含量/mg	对照品加入量/mg	测得量/mg	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
川芎嗪	0. 500 9	0. 055 5	0. 056 3	0. 110 7	98. 09	99. 35	1. 10
	0. 501 7	0. 055 6		0. 111 3	99. 11		
	0. 506 4	0. 056 1		0. 111 7	98. 83		
	0. 511 2	0. 056 6		0. 113 6	101. 37		
	0. 513 5	0. 056 9		0. 112 7	99. 26		
	0. 523 3	0. 058 0		0. 114 0	99. 47		
绿原酸	0. 500 9	0. 181 1	0. 184 8	0. 366 2	100. 19	99. 94	0. 65
	0. 501 7	0. 181 4		0. 367 7	100. 82		
	0. 506 4	0. 183 2		0. 366 8	99. 37		
	0. 511 2	0. 184 9		0. 370 1	100. 25		
	0. 513 5	0. 185 7		0. 368 6	99. 01		
	0. 523 3	0. 189 3		0. 374 1	100. 02		
阿魏酸	0. 500 9	0. 151 3	0. 155 1	0. 306 3	99. 94	99. 84	1. 11
	0. 501 7	0. 151 5		0. 306 4	99. 88		
	0. 506 4	0. 152 9		0. 306 5	99. 08		
	0. 511 2	0. 154 4		0. 308 2	99. 21		
	0. 513 5	0. 155 1		0. 308 6	99. 01		
	0. 523 3	0. 158 1		0. 316 1	101. 92		
阿魏酸松柏酯	0. 500 9	0. 107 8	0. 111 2	0. 216 9	98. 14	98. 70	0. 56
	0. 501 7	0. 108 1		0. 218 2	99. 04		
	0. 506 4	0. 109 0		0. 218 0	98. 05		
	0. 511 2	0. 110 1		0. 220 7	99. 46		
	0. 513 5	0. 110 6		0. 220 2	98. 57		
	0. 523 3	0. 112 7		0. 222 7	98. 96		
羟基红花黄色素 A	0. 500 9	0. 098 7	0. 100 9	0. 197 8	98. 24	99. 59	0. 78
	0. 501 7	0. 098 9		0. 199 6	99. 89		
	0. 506 4	0. 099 8		0. 199 4	99. 25		
	0. 511 2	0. 100 8		0. 201 5	99. 81		
	0. 513 5	0. 101 2		0. 201 8	99. 78		
	0. 523 3	0. 103 1		0. 204 5	100. 55		
藁苯内酯	0. 500 9	0. 171 5	0. 175 6	0. 345 4	99. 05	99. 26	1. 03
	0. 501 7	0. 171 7		0. 344 1	98. 18		
	0. 506 4	0. 173 3		0. 347 6	99. 29		
	0. 511 2	0. 175 0		0. 347 6	98. 33		
	0. 513 5	0. 175 8		0. 350 9	99. 77		
	0. 523 3	0. 179 1		0. 356 3	100. 96		

2. 4　样品含量测定

取供试品 13 批，分别按照 **2. 2. 2** 项下条件制备供试品溶液，按 **2. 1** 项下色谱条件平行进样3 针，记录色谱图及峰面积，按 **2. 3. 2** 项下回归方程计算 9 种活性成分含量，结果见表 4。

2. 5　化学模式识别分析

将 13 批脑安颗粒含量测定结果输入 SPSS 22. 0 软件和 SIMCA 14. 0 软件进行聚类分析和主成分分析。

表 4　脑安颗粒中 9 种成分含量测定结果

mg·g^{-1}

批号	质量分数								
	洋川芎内酯 A	洋川芎内酯 I	洋川芎内酯 H	川芎嗪	绿原酸	阿魏酸	阿魏酸松柏酯	羟基红花黄色素 A	藁苯内酯
S1	0.295 5	0.260 1	0.257 1	0.110 2	0.360 2	0.300 2	0.210 3	0.194 4	1.110 4
S2	0.294 2	0.259 8	0.256 3	0.109 8	0.361 1	0.300 9	0.211 6	0.195 1	1.113 9
S3	0.296 1	0.258 6	0.254 9	0.108 8	0.359 8	0.301 1	0.212 2	0.193 3	1.112 1
S4	0.297 8	0.261 3	0.258 8	0.110 9	0.361 7	0.302 1	0.215 4	0.197 2	1.115 3
S5	0.298 8	0.264 4	0.259 9	0.118 6	0.368 5	0.308 9	0.218 9	0.199 6	1.119 9
S6	0.290 1	0.265 9	0.260 3	0.112 6	0.366 4	0.307 7	0.216 7	0.197 8	1.116 4
S7	0.291 6	0.268 7	0.261 1	0.113 4	0.365 1	0.306 5	0.219 1	0.198 5	1.120 1
S8	0.290 7	0.262 9	0.261 7	0.114 9	0.364 9	0.305 4	0.217 4	0.190 7	1.117 7
S9	0.292 2	0.263 4	0.262 3	0.115 5	0.362 2	0.304 9	0.214 8	0.191 1	1.115 2
S10	0.293 2	0.269 1	0.265 5	0.116 7	0.363 9	0.303 9	0.215 2	0.192 4	1.118 3
S11	0.299 9	0.269 6	0.263 8	0.117 8	0.365 5	0.302 2	0.213 1	0.196 2	1.119 1
S12	0.299 1	0.267 7	0.264 1	0.118 3	0.361 9	0.301 7	0.220 2	0.198 6	1.111 5
S13	0.290 7	0.266 5	0.259 5	0.119 5	0.366 6	0.305 8	0.214 3	0.200 2	1.115 9

2.5.1　聚类分析　系统聚类分析是根据测定样品的数据，将研究对象划分为不同类别，类别内的研究对象有相似特点，类别间的对象则有所不同的一种多元统计分析方法[12-13]。利用 SPSS 22.0 软件，采用利差平方和法(Ward 法)，以欧式距离平方为样品测度，对 13 批样品进行聚类分析。分析发现，当欧式距离为 5 时，13 批样品被分成了 3 类：S1、S2、S3、S4、S5 为第 I 类，S6、S7、S8、S9、S10 为第 Ⅱ 类，S11、S12、S13 为第 Ⅲ 类。第 I 类均为河南省百泉制药有限公司产品，第 Ⅱ 类全部为上海祥鹤药业有限公司产品，第 Ⅲ 类全部为辽源誉隆亚东药业有限责任公司产品。说明同一厂家产品质量具有较高的稳定性，不同厂家的样品之间存在一定差异。聚类分析树状图见图 2。

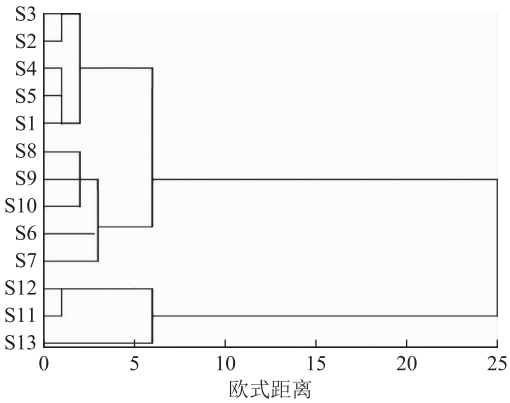


图 2　13 批脑安颗粒聚类分析树状图

2.5.2　主成分分析及药物质量评价　以 13 批脑安颗粒中的 9 个成分含量为指标建立数据集，输入 SPSS 22.0 软件，运用因子分析中的主成分分析处理，提取累积方差贡献率 > 85% 的因子[14-18]（A1、A2、A3）作为主成分，其中 A1 特征值为 5.718，方差贡献率为 62.421%，A2 特征值为 1.469，方差贡献率为 16.327%，A3 特征值为 1.227，方差贡献率为 13.633%。3 个主成分的相关系数矩阵及因子得分矩阵见表 4 ~ 5。由表 4 可知，川芎嗪、绿原酸、阿魏酸、阿魏酸松柏酯和藁本内酯之间均具有较大的正相关性。由表 5 因子得分矩阵可知，洋川芎内酯 I、绿原酸、阿魏酸、阿魏酸松柏酯、藁本内酯对主成分 A1 贡献较大，洋川芎内酯 A 和洋川芎内酯 H 对主成分 A2 贡献较大，川芎嗪和羟基红花黄色素 A 对主成分 A3 贡献较大。

以每个主成分的特征值占累加特征值的百分比作为权重系数进行线性组合，可得到综合得分计算公式(1)。

$$F = 0.624F_1 + 0.163F_2 + 0.136F_3 \quad (1)$$

F 代表综合得分，F_1、F_2 和 F_3 分别代表 3 个主成得分，其中 $F_n = \mathrm{FAC}_n \times$ 相应特征值的算术平方根（n 代表 1、2、3，FAC 为主成分的因子得分系数），结果见表 6。综合得分越高，说明以 9 个有效成分为指标的脑安颗粒质量越好。由表 7 可知，上海祥鹤药业有限公司生产的产品质量较好。

表 5　脑安颗粒中 9 种成分相关系数矩阵

成分	r								
	洋川芎内酯 A	洋川芎内酯 I	洋川芎内酯 H	川芎嗪	绿原酸	阿魏酸	阿魏酸松柏酯	羟基红花黄色素 A	藁苯内酯
洋川芎内酯 A	1.000	-0.028	0.022	0.097	-0.190	-0.429	-0.019	0.238	-0.160
洋川芎内酯 I	-0.028	1.000	0.848	0.751	0.616	0.417	0.535	0.351	0.602
洋川芎内酯 H	0.022	0.848	1.000	0.734	0.406	0.283	0.538	-0.052	0.474
川芎嗪	0.097	0.751	0.734	1.000	0.684	0.483	0.521	0.331	0.472
绿原酸	-0.190	0.616	0.406	0.684	1.000	0.870	0.530	0.475	0.808
阿魏酸	-0.429	0.417	0.283	0.483	0.870	1.000	0.631	0.320	0.719
阿魏酸松柏酯	-0.019	0.535	0.538	0.521	0.530	0.631	1.000	0.379	0.453
羟基红花黄色素 A	0.238	0.351	-0.052	0.331	0.475	0.320	0.379	1.000	0.165
藁苯内酯	-0.160	0.602	0.474	0.472	0.808	0.719	0.453	0.165	1.000

表 6　脑安颗粒中 9 种成分因子得分矩阵

有效成分	得分		
	A1	A2	A3
洋川芎内酯 A	-0.129	0.828	0.317
洋川芎内酯 I	0.843	0.301	-0.219
洋川芎内酯 H	0.381	0.715	-0.563
川芎嗪	-0.096	0.331	0.820
绿原酸	0.895	-0.241	0.217
阿魏酸	0.797	-0.520	0.169
阿魏酸松柏酯	0.744	0.067	0.109
羟基红花黄色素 A	0.428	0.205	0.813
藁苯内酯	0.796	-0.251	-0.064

3　讨论

3.1　方法学条件

研究过程中，采用二极管阵列检测器(PAD)在 190～400 nm 全波长进行筛选；考察了不同比例和梯度的流动相系统(甲醇、乙腈、水、0.2% 磷酸、0.4% 冰醋酸、0.5% 甲酸)对色谱峰的影响；对柱温(25、30、35 ℃)、提取溶剂(甲醇、乙醇、75% 甲醇、75% 乙醇、55% 甲醇、55% 乙醇)、提取方式(超声、浸渍过夜、回流)、提取时间(35、45、55 min)、超声频率及超声功率都进行考察。通过上述研究，最终选择分段变换波长检测法对 9 种化学成分进行测定并优化得到了本研究所需的色谱条件。

3.2　液相色谱仪的考察

本实验分别考察高效液相色谱仪和超高效液相色谱仪对脑安颗粒的分析，结果 UPLC 相较 HPLC 不仅大大缩短了分析时间(由 80 min 缩短到 25 min)，而且各主要成分的分离效果更好，能满足系统适用性试验的要求，灵敏度和专属性更强，测定结果准确、可靠。

表 7　13 批脑安颗粒主成分得分、综合得分及排序

样品编号	FAC_1	FAC_2	FAC_3	F_1	F_2	F_3	F	排序
S1	-1.622	0.215	0.092	-2.620	-0.026	-204.840	-29.565	13
S2	-1.307	-0.380	0.353	-1.921	-0.819	-166.520	-24.034	12
S3	-1.686	-0.235	0.377	-2.504	-0.766	-155.827	-22.932	11
S4	-0.648	0.440	0.779	-0.847	0.394	-100.453	-14.159	9
S5	0.626	0.297	-1.844	0.770	0.807	-4.039	0.061	7
S6	0.588	-1.324	0.462	1.349	-1.616	204.538	28.463	2
S7	0.961	-0.718	0.317	1.969	-0.812	139.207	20.074	3
S8	0.278	-1.123	-1.282	0.438	-1.248	77.867	10.685	5
S9	0.715	-0.517	0.802	0.921	-0.708	102.990	14.500	4
S10	1.280	-0.024	1.680	2.110	-0.077	272.579	38.465	1
S11	0.618	1.540	-0.417	0.715	2.163	-94.790	-12.123	8
S12	0.323	2.260	0.126	0.069	3.063	-121.304	-15.995	10
S13	-0.125	-0.430	-1.447	-0.448	-0.355	50.590	6.559	6

3.3　聚类分析和主成分分析

主成分分析是对复杂信息的多维变量进行提取及数学降维，生成新的综合变量的相互独立的方法，生成的综合变量即是主成分。主成分分析法在不损失大量信息的前提下，将高维数据转换成低维数据，便于观察药物之间的差异性，特别适用于中药多成分的综合质量评价分析。本研究对 13 批脑安颗粒样品中的 9 种成分含量测定数据进行聚类分析和主成分分析，两者分析结果一致，13 批样品的 9 个成分含量存在一定差异，被分为 3 大类，可以很好识别不同生产厂家的样品。

中药复方制剂成分复杂，往往是多种药效成分协同作用，故多组分含量同时测定更能客观全面反映中药制剂的质量。本研究建立 UPLC 同时测量脑安颗粒中的洋川芎内酯 A、洋川芎内酯 Ⅰ、洋川芎内酯 H、川芎嗪、绿原酸、阿魏酸、阿魏酸松柏酯、羟基红花黄色素 A 和藁本内酯 9 种成分的含量，与 HPLC 相比大大缩短了分析时间，且精密度、稳定性、重复性、加样回收率均符合方法学要求，可为脑安颗粒药品质量评价提供参考。

参考文献

[1]　国家药典委员会. 国家食品药品监督管理局药品标准·新药转正标准：WS3-208（Z-208）-2002（Z）[S]. 北京：中国医药科技出版社，2011.

[2]　唐亚芳，杨岸新. 中药川芎的有效成分及其药理作用研究[J]. 中国现代药物应用，2018，12(10)：219-220.

[3]　牛莉，于泓苓. 中药当归的化学成分分析与药理作用研究[J]. 中西医结合心血管病电子杂志，2018，6(21)：90.

[4]　周鸿，黄含含，张静泽，等. 川芎-当归药对研究进展[J]. 中成药，2015，37(1)：184-188.

[5]　吴唐静，王静，刘瑞宁，等. 羟基红花黄色素 A 脑保护作用的研究进展[J]. 中国医药，2017，12(11)：1754-1757.

[6]　韩盟帝，马飞祥，汪亚楠，等. 基于网络药理学探讨红花活性成分及药理作用机制[J]. 内蒙古医科大学学报，2019，41(2)：126-130.

[7]　胡紫艳，孙夏荣，史达，等. UPLC 同时测定脑安颗粒中 6 种人参皂苷类成分的含量[J]. 中国执业药师，2016，13(12)：28-31.

[8]　严贵亮，段建荣. HPLC 法测定川芎-当归药对中酚酸类成分的含量[J]. 中国药师，2015，18(10)：1718-1720.

[9]　梁乙川，伍清芳，刘素娟，等. HPLC 法同时测定川芎药材中 10 种成分含量[J]. 中药材，2019，42(1)：136-138.

[10]　严维花，曹虹虹，郭爽，等. 当归不同炮制品的 UPLC 指纹图谱与多成分含量测定研究[J]. 中国中药杂志，2019，44(12)：2499-2510.

[11]　吴燕，李青苗，李彬，等. UPLC 测定川芎地上部分中的 3 种活性成分[J]. 华西药学杂志，2018，33(5)：526-528.

[12]　赵丹，朱乃亮，孙桂波，等. 基于聚类分析的不同批次清开灵注射液 HPLC 指纹图谱研究[J]. 中国药师，2019，22(8)：1441-1444.

[13]　高微，陈明生，韦广辉，等. 尖尾风药材的 HPLC 指纹图谱建立及聚类分析和主成分分析[J]. 中国药房，2018，29(16)：2215-2219.

[14]　王领弟，徐宝欣，李艳荣，等. 基于主成分和聚类分析的心安胶囊指纹图谱研究[J]. 中国药师，2017，20(1)：35-37.

[15]　石岩，魏锋，马双成. 关于主成分分析在中药和天然药物分析研究中应用的探讨[J]. 中国中药杂志，2018，43(14)：3031-3035.

[16]　张永苗，张兵，梁春霞，等. 基于 HPLC-UV 特征图谱与主成分分析的蔓荆子配方颗粒的质量控制研究[J]. 天津中医药，2019，36(9)：925-931.

[17]　郭守斌，江希连，江丽敏，等. UHPLC 测定芎菊上清丸中 9 种成分含量及化学模式分析[J]. 中国现代应用药学，2019，36(23)：2936-2942.

[18]　陈佩瑶，张月圆，王惠芸，等. 炒决明子主成分分析及其多肽降压活性[J]. 中国现代中药，2019，21(3)：365-369.

（收稿日期：2020-05-25　　编辑：王笑辉）