

引用:谭川,魏谭军,陈飞,王春龙,魏旭,肖成,王毅,王育.化瘀除痹合剂HPLC多药效成分定量控制及化学计量学联合加权TOPSIS法综合质量评价[J].中医导报,2025,31(6):101-107.

化瘀除痹合剂HPLC多药效成分定量控制 及化学计量学联合加权TOPSIS法 综合质量评价*

谭 川¹,魏谭军¹,陈 飞¹,王春龙¹,魏 旭¹,肖 成¹,王 毅¹,王 育²
(1.达州市中西医结合医院/达州市第二人民医院,四川 达州 635000;
2.达州市食品药品检验所,四川 达州 635000)

[摘要] 目的:建立化瘀除痹合剂中多药效成分定量控制的方法,并联合化学计量学及加权优劣解距离(TOPSIS)法评价化瘀除痹合剂的质量。方法:采用高效液相色谱(HPLC)法同时测定16批化瘀除痹合剂中羟基红花黄色素A、红花黄色素A、苦杏仁苷、野黑樱苷、龙胆苦苷、马钱苷酸、獐牙菜苦苷、香附烯酮、 α -香附酮、洋川芎内酯H、洋川芎内酯I、洋川芎内酯A和藁本内酯含量,运用统计学软件对16批样品进行差异性分析,挖掘影响化瘀除痹合剂质量的主要因子成分。结果:建立的方法重复性和准确度较好,仪器精密度高,供试品溶液24 h稳定。16批化瘀除痹合剂中13个成分含量存在一定差异。化学计量学分析结果显示16批样品聚为3类,相邻批次聚为一组;龙胆苦苷、羟基红花黄色素A、红花黄色素A、苦杏仁苷、藁本内酯和香附烯酮是重要差异性标志物。加权TOPSIS法结果显示16批样品最优解的欧氏贴近度(C_i)为0.266 7~0.658 7,其中S15的排名靠前, C_i 为0.658 7。结论:建立的13个药效成分定量检测的方法操作便捷、结果准确,化学计量学和加权TOPSIS法可评价化瘀除痹合剂的质量。

[关键词] 化瘀除痹合剂;高效液相色谱法;化学计量学;加权优劣解距离法;质量差异性评价

[中图分类号] R286.0 [文献标识码] A [文章编号] 1672-951X(2025)06-0101-07

DOI:10.13862/j.cn43-1446/r.2025.06.017

Quantitative Control of Multiple Bioactive Components in Huayu Chubi Mixture (化瘀除痹合剂) by HPLC and Comprehensive Quality Evaluation Using Chemometrics Combined with Weighted TOPSIS Method

TAN Chuan¹, WEI Tanjun¹, CHEN Fei¹, WANG Chunlong¹, WEI Xu¹, XIAO Cheng¹, WANG Yi¹, WANG Yu²
(1.Dazhou Integrated Traditional Chinese and Western Medicine Hospital/Dazhou Second People's Hospital, Dazhou Sichuan 635000, China; 2.Dazhou Institute for Food and Drug Control, Dazhou Sichuan 635000, China)

[Abstract] Objective: To establish a method for quantitative control of multiple bioactive components in Huayu Chubi Mixture (化瘀除痹合剂, HYCBM) and evaluate its quality using chemometrics combined with weighted Technique for Order Preference by Similarity to Ideal Solution (TOPSIS) method. Methods: The contents of 13 bioactive components (hydroxysafflor yellow A, safflor yellow A, amygdalin, prunasin, gentiopicroside, loganic acid, swertiamarin, cyperotundone, α -cyperone, senkyunolide H, senkyunolide I, senkyunolide A, and ligustilide) in 16 batches of HYCBM were simultaneously determined by high-performance liquid chromatography (HPLC). Statistical software was used for differential analysis to identify the main factors affecting the quality of HYCBM. Results: The established method showed good repeatability, accuracy, high instrument precision, and sample stability within 24 h. The contents of the 13 components varied among the 16 batches. Chemometric analysis classified the samples into 3 clusters, with adjacent batches grouped together. Gentiopicroside, hydroxysafflor yellow A, safflor yellow A, amygdalin, ligustilide, and cyperotundone were identified as key markers for quality differentiation. The weighted TOPSIS results showed Euclidean proximity (C_i) values ranging from 0.2667 to 0.6587, with batch

*基金项目:四川省中医药管理局中医药科研专项课题(2024MS040)

通信作者:魏谭军,男,副主任中药师,研究方向为医疗机构中药制剂开发

S15 ranking highest ($C_i=0.6587$). Conclusion: The developed method for quantifying 13 bioactive components is convenient and accurate. Chemometrics combined with weighted TOPSIS can effectively evaluate the quality of HYCBM.

[Keywords] Huayu Chubi Mixture; high-performance liquid chromatography (HPLC); chemometrics; weighted Technique for Order Preference by Similarity to Ideal Solution (TOPSIS); quality evaluation

化瘀除痹合剂为达州市中西医结合医院临床常用方剂,功效以活血化瘀为主,兼祛湿除痹、通络止痛、补益之效。化瘀除痹合剂主治瘀血痹阻证,症见腰腿痛、肩痛、臂痛、肌肉关节酸痛或周身疼痛,经久不愈者。方中桃仁和红花为君药,活血化瘀,通络止痛^[1-3]。川芎活血化瘀,行气通滞;当归活血行滞,止痛;没药活血定痛,消肿生肌;香附辛香行散,味苦疏泄。以上四药行气血、止痹痛,增强活血化瘀,共为臣药^[4-7]。秦艽祛风除湿;羌活祛风除湿,利关节,止痛;地龙疏通经络;续断补肝肾,强筋骨,通行血脉;黄芪补三焦之气,利水消肿,行滞通痹。以上五药共为佐药^[8-12]。甘草调和诸药,缓急止痛,为使药^[13]。化瘀除痹合剂疗效确切,但未收录于2020年版《中华人民共和国药典》。中药复方制剂所含化学成分丰富,且成分之间可相互作用。为保证制剂的临床药效,本研究采用外标法同时检测16批化瘀除痹合剂中羟基红花黄色素A、红花黄色素A、苦杏仁苷、野黑樱苷、龙胆苦苷、马钱苷酸、獐牙菜苦苷、香附烯酮、 α -香附酮、洋川芎内酯H、洋川芎内酯I、洋川芎内酯A、藁本内酯含量,并结合化学计量学^[14]及加权TOPSIS法^[15]对检测结果进行统计分析,以期化瘀除痹合剂质量标准的完善及质量标志物的选择提供参考。

1 材 料

1.1 药物与试剂 化瘀除痹合剂(达州市中西医结合医院,批号:230406,230407,230411,230412,230420,230426,231024,231029,231101,231105,231114,240307,240312,240315,240316,240320),编号分别为S1~S16。13个对照品来源信息见表1。乙腈(色谱纯,批号:220101226M42)和甲醇(色谱纯,批号:230151201M23)均购自VSA公司;磷酸(分析纯,批号:20231008)购自天津市科密欧化学试剂有限公司。

表 1 各对照品信息

名称	来源	批号	含量
洋川芎内酯I	中国食品药品检定研究院	112071-202302	99.5%
α -香附酮	中国食品药品检定研究院	110748-202318	98.5%
龙胆苦苷	中国食品药品检定研究院	110770-202219	98.1%
羟基红花黄色素A	中国食品药品检定研究院	111637-202412	97.7%
马钱苷酸	中国食品药品检定研究院	111865-202005	97.5%
獐牙菜苦苷	中国食品药品检定研究院	110785-202205	97.2%
苦杏仁苷	中国食品药品检定研究院	110820-202410	94.9%
红花黄色素A	武汉天植生物技术有限公司	CFS201902	98.0%
野黑樱苷	武汉天植生物技术有限公司	CFS202201	98.3%
香附烯酮	武汉天植生物技术有限公司	CFS202101	98.7%
洋川芎内酯H	武汉天植生物技术有限公司	CFS202201	98.4%
洋川芎内酯A	武汉天植生物技术有限公司	CFS202301	98.3%
藁本内酯	武汉天植生物技术有限公司	CFS202201	98.1%

1.2 主要仪器 Agilent 1100型高效液相色谱仪(美国安捷伦科技公司);XS105型电子天平(0.01 mg,瑞士Mettler-Toledo公司);JK-300B型超声波清洗器(合肥金尼机械制造有限公司)。

2 方法与结果

2.1 溶液的制备

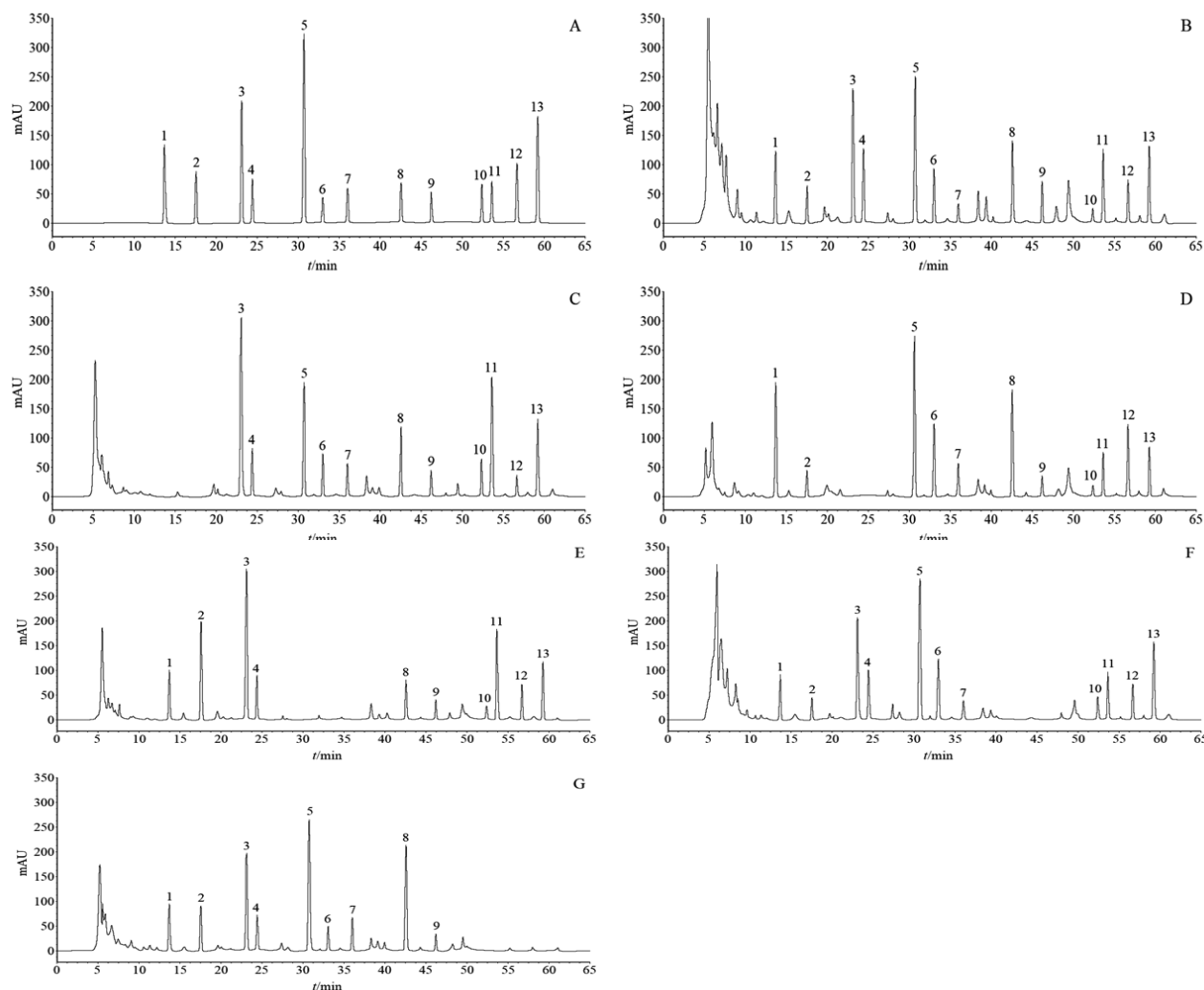
2.1.1 混合对照品溶液 精密称取13个待测成分的对照品,用75%甲醇超声(功率300 W,频率40 kHz)溶解并稀释,制成混合对照品溶液。(见表2)

表 2 混合对照品溶液

名称	贮备液质量浓度/(mg/mL)	混合对照品溶液质量浓度/(μ g/mL)
羟基红花黄色素A	0.326	16.30
红花黄色素A	0.212	10.60
苦杏仁苷	0.490	24.50
野黑樱苷	0.168	8.40
龙胆苦苷	0.580	29.00
马钱苷酸	0.026	1.30
獐牙菜苦苷	0.052	2.60
香附烯酮	0.130	6.50
α -香附酮	0.048	2.40
洋川芎内酯H	0.074	3.70
洋川芎内酯I	0.110	5.50
洋川芎内酯A	0.278	13.90
藁本内酯	0.356	17.80

2.1.2 供试品溶液 精密量取化瘀除痹合剂0.5 mL,置25 mL量瓶中,用75%甲醇稀释至刻度,摇匀,即得。在13个定量检测指标成分中,羟基红花黄色素A和红花黄色素A来源于红花,苦杏仁苷和野黑樱苷来源于桃仁,龙胆苦苷、马钱苷酸和獐牙菜苦苷为秦艽和续断共有成分,香附烯酮和 α -香附酮来源于香附,洋川芎内酯H、洋川芎内酯I、洋川芎内酯A和藁本内酯为川芎和当归共有成分。为验证阴性供试品对检测结果无干扰,本试验取化瘀除痹合剂处方中的12味药材,按照配制工艺,分别制备缺红花、缺桃仁、缺秦艽和续断、缺香附、缺川芎和当归的阴性样品,再制备相应的阴性样品溶液。以上溶液均采用0.22 μ m有机系滤膜过滤,按照色谱条件进行测定。

2.2 色谱条件 采用Prep Scalar C₁₈色谱柱,柱温为30℃。检测波长分别为403 nm(0~19 min检测羟基红花黄色素A和红花黄色素A)^[16]、210 nm(19~27 min检测苦杏仁苷和野黑樱苷)^[17]、242 nm(27~49 min检测龙胆苦苷、马钱苷酸、獐牙菜苦苷、香附烯酮和 α -香附酮)^[18]、280 nm(49~65 min检测洋川芎内酯H、洋川芎内酯I、洋川芎内酯A和藁本内酯)^[19]。流动相为乙腈(A)-0.4%磷酸,流速为1.0 mL/min,梯度洗脱(0~10 min,12.0% A;10~19 min,12.0%→25.0% A;19~27 min,25.0%→32.0% A;27~39 min,32.0%→58.0% A;39~49 min,58.0%→



注:1.羟基红花黄色素A;2.红花黄色素A;3.苦杏仁苷;4.野黑樱苷;5.龙胆苦苷;6.马钱苷酸;7.獐牙菜苦苷;8.香附烯酮;9.α-香附酮;10.洋川芎内酯H;11.洋川芎内酯I;12.洋川芎内酯A;13.藁本内酯。

图1 混合对照品(A)、化瘀除痹合剂(B)、缺红花阴性供试品(C)、缺桃仁阴性供试品(D)、缺秦艽和续断阴性供试品(E)、缺香附阴性供试品(F)、缺川芎和当归阴性供试品(G)的HPLC色谱图

65.0% A; 49~61 min, 65.0% → 86.0% A; 61~65 min, 86.0% → 12.0% A), 进样量为10 μL。

2.3 专属性试验 按照色谱条件测定混合对照品溶液及供试品溶液, 所得色谱图显示化瘀除痹合剂供试品溶液中13种成分的出峰顺序及时间与对照品溶液一致, 分离度符合《中华人民共和国药典》要求, 5个阴性样品均未产生干扰; 理论板数按待测成分计大于4 500。(见图1)

2.4 化瘀除痹合剂中13个指标成分的含量测定

2.4.1 绘制标准曲线 取混合对照品贮备液, 加75%甲醇逐级稀释4、10、20、40、100、200倍后, 进样, 以各对照品质量浓度为横坐标(X), 峰面积为纵坐标(Y), 绘制标准曲线。结果见表3。

2.4.2 精密度试验 精密吸取混合对照品溶液, 连续进样5次, 采集各成分峰面积。羟基红花黄色素A、红花黄色素A、苦杏仁苷、野黑樱苷、龙胆苦苷、马钱苷酸、獐牙菜苦苷、香附烯酮、α-香附酮、洋川芎内酯H、洋川芎内酯I、洋川芎内酯A、藁本内酯峰面积的RSD值分别为1.12%、1.21%、0.98%、1.21%、

0.93%、1.61%、1.46%、1.30%、1.55%、1.47%、1.35%、1.18%和1.04%, 表明仪器精密性良好。

表3 13种成分线性关系考察结果

成分	回归方程	线性范围/(μg/mL)	r
羟基红花黄色素A	$Y=1.8967 \times 10^6 X - 613.9000$	1.63~81.50	0.9992
红花黄色素A	$Y=1.3869 \times 10^6 X + 953.5000$	1.06~53.00	0.9998
苦杏仁苷	$Y=1.9714 \times 10^6 X + 1136.7000$	2.45~122.50	0.9993
野黑樱苷	$Y=1.1975 \times 10^6 X + 853.1000$	0.84~42.00	0.9998
龙胆苦苷	$Y=2.6483 \times 10^6 X - 637.2000$	2.90~145.00	0.9994
马钱苷酸	$Y=5.3918 \times 10^5 X + 489.6000$	0.13~6.500	0.9996
獐牙菜苦苷	$Y=9.6456 \times 10^5 X + 842.9000$	0.26~13.00	0.9999
香附烯酮	$Y=1.4367 \times 10^6 X + 1024.5000$	0.65~32.50	0.9993
α-香附酮	$Y=8.3691 \times 10^5 X + 951.2000$	0.24~12.00	0.9998
洋川芎内酯H	$Y=1.0162 \times 10^6 X - 773.4000$	0.37~18.50	0.9997
洋川芎内酯I	$Y=1.2874 \times 10^6 X - 1256.8000$	0.55~27.50	0.9994
洋川芎内酯A	$Y=1.5232 \times 10^6 X + 1369.3000$	1.39~69.50	0.9999
藁本内酯	$Y=2.1985 \times 10^6 X + 572.4000$	1.78~89.00	0.9995

2.4.3 稳定性试验 取1份化瘀除痹合剂(S1)供试品溶液，于室温放置0、2、4、8、12、16、24 h时进样，采集峰面积。羟基红花黄色素A、红花黄色素A、苦杏仁苷、野黑樱苷、龙胆苦苷、马钱苷酸、獐牙菜苦苷、香附烯酮、 α -香附酮、洋川芎内酯H、洋川芎内酯I、洋川芎内酯A、藁本内酯峰面积的RSD值分别为1.41%、1.48%、1.26%、1.56%、1.22%、1.96%、1.79%、1.61%、1.89%、1.72%、1.65%、1.45%和1.25%，表明化瘀除痹合剂供试品溶液24 h内稳定性良好。

2.4.4 重复性试验 精密量取6份化瘀除痹合剂(S1)，每份0.5 mL，分别用75%甲醇制成供试品溶液，进样，采集峰面积。用外标法计算羟基红花黄色素A、红花黄色素A、苦杏仁苷、野黑樱苷、龙胆苦苷、马钱苷酸、獐牙菜苦苷、香附烯酮、 α -香附酮、洋川芎内酯H、洋川芎内酯I、洋川芎内酯A、藁本内酯的含量。各成分含量的RSD值分别为1.59%、1.64%、1.49%、1.68%、1.43%、1.95%、1.91%、1.77%、1.96%、1.83%、1.79%、1.66%和1.55%，表明所建方法的重复性良好。

2.4.5 加样回收率试验 取已测13种成分含量的化瘀除痹合剂(S1)9份，每份精密量取0.25 mL，分别按已测各成分含量的80%、100%、120%加入混合对照品溶液(对照品羟基红花黄色素A、红花黄色素A、苦杏仁苷、野黑樱苷、龙胆苦苷、马钱苷酸、獐牙菜苦苷、香附烯酮、 α -香附酮、洋川芎内酯H、洋川芎内酯I、洋川芎内酯A、藁本内酯的质量浓度分别为0.171、0.114、0.329、0.081、0.439、0.013、0.028、0.067、0.023、0.037、0.056、0.131和0.238 mg/mL)，其余操作同“2.1.2”项，每个比例制备3份，进样检测。13种成分的平均加样回收率分别为98.55%、98.37%、100.08%、97.95%、99.34%、97.81%、96.95%、98.28%、97.53%、98.38%、96.89%、99.09%、100.12%，RSD值分别为1.44%、1.32%、0.69%、1.52%、0.97%、1.41%、0.98%、1.13%、1.13%、1.55%、1.13%、1.27%、0.82%。

2.4.6 含量测定 取16批化瘀除痹合剂(S1~S16)按“2.1.2”项下方法制备的供试品溶液，进样分析，利用外标法计算13种成分含量。结果见表4。

表4 化瘀除痹合剂中 13 种成分含量测定结果 (n=3)													
编号	羟基红花黄色素A/ (mg/mL)	红花黄色素A/ (mg/mL)	苦杏仁苷/ (mg/mL)	野黑樱苷/ (mg/mL)	龙胆苦苷/ (mg/mL)	马钱苷酸/ (mg/mL)	獐牙菜苦苷/ (mg/mL)	香附烯酮/ (mg/mL)	α -香附酮/ (mg/mL)	洋川芎内酯H/ (mg/mL)	洋川芎内酯I/ (mg/mL)	洋川芎内酯A/ (mg/mL)	藁本内酯/ (mg/mL)
S1	0.672	0.459	1.314	0.328	1.746	0.051	0.117	0.265	0.089	0.152	0.216	0.537	0.948
S2	0.506	0.577	1.366	0.336	1.815	0.056	0.150	0.370	0.090	0.098	0.221	0.558	0.961
S3	0.637	0.522	1.342	0.391	1.784	0.068	0.130	0.305	0.101	0.119	0.206	0.549	1.077
S4	0.745	0.564	1.297	0.364	1.723	0.061	0.140	0.327	0.104	0.135	0.211	0.530	1.108
S5	0.544	0.498	1.336	0.418	1.775	0.069	0.120	0.276	0.095	0.105	0.195	0.546	1.016
S6	0.600	0.576	1.436	0.376	1.908	0.064	0.147	0.318	0.107	0.115	0.222	0.587	1.144
S7	0.652	0.377	1.134	0.245	1.507	0.043	0.106	0.255	0.109	0.114	0.175	0.463	1.163
S8	0.363	0.328	1.080	0.299	1.435	0.040	0.101	0.216	0.126	0.087	0.183	0.441	1.347
S9	0.388	0.323	1.130	0.335	1.501	0.041	0.103	0.234	0.123	0.100	0.188	0.462	1.310
S10	0.350	0.354	1.046	0.308	1.390	0.032	0.097	0.166	0.133	0.080	0.177	0.428	1.419
S11	0.312	0.270	1.024	0.286	1.361	0.036	0.101	0.152	0.129	0.091	0.170	0.419	1.378
S12	1.028	0.503	1.582	0.421	2.102	0.088	0.186	0.244	0.076	0.171	0.273	0.646	0.808
S13	1.001	0.386	1.652	0.523	2.195	0.091	0.172	0.296	0.080	0.180	0.285	0.675	0.853
S14	0.956	0.538	1.684	0.443	2.238	0.085	0.179	0.207	0.074	0.188	0.268	0.688	0.783
S15	1.084	0.445	1.718	0.507	2.282	0.095	0.192	0.255	0.069	0.214	0.292	0.702	0.732
S16	1.120	0.395	1.617	0.471	2.148	0.082	0.165	0.199	0.084	0.197	0.279	0.661	0.893

2.5 16批化瘀除痹合剂的质量差异性评价

2.5.1 主成分分析(PCA) 将表4数据录入SPSS 26.0软件，进行PCA分析^[20]，结果见表5~6。主成分1的特征值为10.486，累积方差贡献率为80.665%，其中羟基红花黄色素A、苦杏仁苷、野黑樱苷、龙胆苦苷、马钱苷酸、獐牙菜苦苷、 α -香附酮、洋川芎内酯H、洋川芎内酯I、洋川芎内酯A、藁本内酯对第1主成分贡献度高；主成分2的特征值为1.608，累积方差贡献率为12.367，红花黄色素A和香附烯酮对第2主成分贡献度显著。平均联接(组间)谱系图(见图2)显示，当距离为10时，16批化瘀除痹合剂明显聚为3组。S8、S9、S10、S11和S7为一组，S3、S5、S1、S4、S2和S6为一组，S14、S15、S13、S16和S12为一组。为验证聚类分组的准确性，本研究采用SIMCA 14.1软件对表4数据进行主成分分析，结果见图3。分组与聚类结果一致，同时所有检测数据无异常(所有数据点均在95%置信区间内)。

表 5 化瘀除痹合剂中主成分方差分析			
主成分	特征值	方差贡献率/%	累积方差贡献率/%
1	10.486	80.665	80.665
2	1.608	12.367	93.032

表 6 化瘀除痹合剂中 13 种成分的载荷矩阵表		
成分	主成分1	主成分2
羟基红花黄色素A	0.938	-0.185
红花黄色素A	0.509	0.788
苦杏仁苷	0.994	-0.016
野黑樱苷	0.896	-0.158
龙胆苦苷	0.994	-0.016
马钱苷酸	0.976	-0.028
獐牙菜苦苷	0.965	0.009
香附烯酮	0.295	0.891
α -香附酮	-0.958	-0.085
洋川芎内酯H	0.918	-0.299
洋川芎内酯I	0.966	-0.172
洋川芎内酯A	0.994	-0.017
藁本内酯	-0.958	-0.081

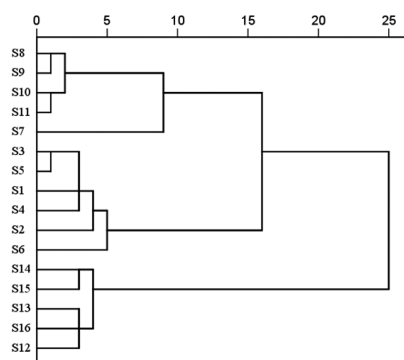


图2 16批化瘀除痹合剂的平均联接(组间)的谱系图

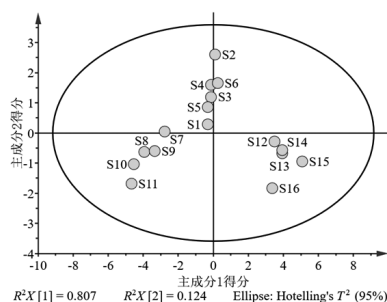


图3 PCA得分图

2.5.2 正交偏最小二乘法-判别分析(OPLS-DA) 本研究在主成分分析基础上,运行OPLS-DA分析程序,结果模型参数均大于0.5^[21]($R^2X=0.944$ 、 $R^2Y=0.866$ 、 $Q^2=0.796$),表明建立的模型稳定可靠、预测能力好。(见图4)变量重要性投影(VIP)值可反映变量对质量和分组影响的程度,以1为VIP值的阈值,发掘出龙胆苦苷(VIP=1.485 1)、羟基红花黄色素A(VIP=1.430 1)、红花黄色素A(VIP=1.418 5)、苦杏仁苷(VIP=1.288 6)、藜蘆内酯(VIP=1.228 5)和香附烯酮(VIP=1.102 7)为质量差异标志物^[22]。(见图5)置换检验200次,结果 R^2 的斜率为正值, Q^2 点的蓝色回归线与纵轴的交点为负值,表明构建的OPLS-DA模型未过度拟合。(见图6)

表7 归一化处理结果

编号	羟基红花黄色素A	红花黄色素A	苦杏仁苷	野黑樱苷	龙胆苦苷	马钱苷酸	獐牙菜苦苷	香附烯酮	α -香附酮	洋川芎内酯H	洋川芎内酯I	洋川芎内酯A	藜蘆内酯
S1	0.445 5	0.615 6	0.417 9	0.298 6	0.418 0	0.301 6	0.210 5	0.518 3	0.312 5	0.537 3	0.377 0	0.417 0	0.314 4
S2	0.240 1	1.000 0	0.492 8	0.327 3	0.492 9	0.381 0	0.557 9	1.000 0	0.328 1	0.134 3	0.418 0	0.491 2	0.333 3
S3	0.402 2	0.820 8	0.458 2	0.525 2	0.459 3	0.571 4	0.347 4	0.701 8	0.500 0	0.291 0	0.295 1	0.459 4	0.502 2
S4	0.535 9	0.957 7	0.393 4	0.428 1	0.393 1	0.460 3	0.452 6	0.802 8	0.546 9	0.410 4	0.336 1	0.392 2	0.547 3
S5	0.287 1	0.742 7	0.449 6	0.622 3	0.449 5	0.587 3	0.242 1	0.568 8	0.406 3	0.186 6	0.204 9	0.448 8	0.413 4
S6	0.356 4	0.996 7	0.593 7	0.471 2	0.593 9	0.507 9	0.526 3	0.761 5	0.593 8	0.261 2	0.426 2	0.593 6	0.599 7
S7	0.420 8	0.348 5	0.158 5	0.000 0	0.158 5	0.174 6	0.094 7	0.472 5	0.625 0	0.253 7	0.041 0	0.155 5	0.627 4
S8	0.063 1	0.188 9	0.080 7	0.194 2	0.080 3	0.127 0	0.042 1	0.293 6	0.890 6	0.052 2	0.106 6	0.077 7	0.895 2
S9	0.094 1	0.172 6	0.152 7	0.323 7	0.152 0	0.142 9	0.063 2	0.376 1	0.843 8	0.149 3	0.147 5	0.151 9	0.841 3
S10	0.047 0	0.273 6	0.031 7	0.226 6	0.031 5	0.000 0	0.000 0	0.064 2	1.000 0	0.000 0	0.057 4	0.031 8	1.000 0
S11	0.000 0	0.000 0	0.000 0	0.147 5	0.000 0	0.063 5	0.042 1	0.000 0	0.937 5	0.082 1	0.000 0	0.000 0	0.940 3
S12	0.886 1	0.759 0	0.804 0	0.633 1	0.804 6	0.888 9	0.936 8	0.422 0	0.109 4	0.679 1	0.844 3	0.802 1	0.110 6
S13	0.852 7	0.377 9	0.904 9	1.000 0	0.905 5	0.936 5	0.789 5	0.660 6	0.171 9	0.746 3	0.942 6	0.904 6	0.176 1
S14	0.797 0	0.873 0	0.951 0	0.712 2	0.952 2	0.841 3	0.863 2	0.252 3	0.078 1	0.806 0	0.803 3	0.950 5	0.074 2
S15	0.955 4	0.570 0	1.000 0	0.942 4	1.000 0	1.000 0	1.000 0	0.472 5	0.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	0.000 0
S16	1.000 0	0.407 2	0.854 5	0.812 9	0.854 5	0.793 7	0.715 8	0.215 6	0.234 4	0.873 1	0.893 4	0.855 1	0.234 4

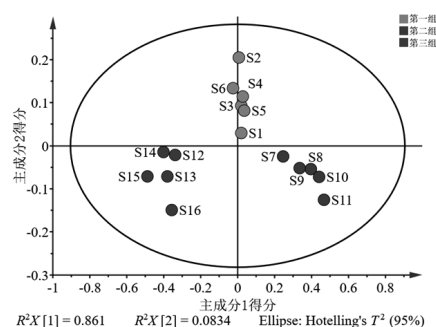


图4 16批化瘀除痹合剂样品的OPLS-DA模型得分图

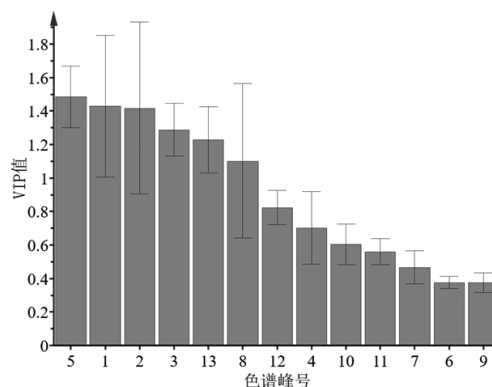


图5 16批化瘀除痹合剂样品的VIP图

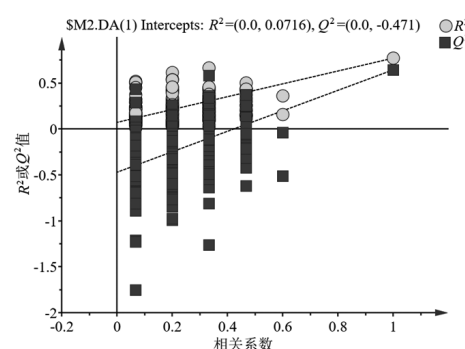


图6 OPLS-DA置换检测结果图

2.5.3 加权TOPSIS法分析

2.5.3.1 原始数据归一化处理 将16批化瘀除痹合剂中13种成分含量原始数据归一化处理。化瘀除痹合剂中的13种成分均属于越大越优型指标,根据公式 $Y_{ij} = \frac{Y_{ij} - \min(x_j)}{\max(x_j) - \min(x_j)}$ 对表4数据进行归一化处理。结果见表7。

2.5.3.2 质量差异性评价 取16批化瘀除痹合剂中羟基红花黄色素A、红花黄色素A、苦杏仁苷、野黑樱苷、龙胆苦苷、马钱苷酸、獐牙菜苦苷、香附烯酮、 α -香附酮、洋川芎内酯H、洋川芎内酯I、洋川芎内酯A、藁本内酯的VIP值(1.430 1、1.418 5、1.288 6、0.703 1、1.485 1、0.376 1、0.466 4、1.102 7、0.375 2、0.604 2、0.560 5、0.823 2和1.228 5)作为各指标权重,与表7数据对应相乘构建加权决策矩阵。以策矩阵中每一成分的最大值作为最优方案(Z^+),最小值作为最劣方案(Z^-),按照公式

$$D_i^+ = \sqrt{\sum_{j=1}^n (Z_j^+ - Z_j^-)^2}, D_i^- = \sqrt{\sum_{j=1}^n (Z_j^- - Z_j^-)^2}, C_i = \frac{D_i^-}{D_i^+ + D_i^-}$$

分别计算各批次样品与正理想解距离(D_i^+),与负理想解的距离(D_i^-),最优解的欧氏贴近度(C_i)。 C_i 值可以反映样品质量的优劣, $0 < C_i \leq 1$,数据大代表被评价样品优。结果见表8。

表 8 化瘀除痹合剂质量评价排序

编号	D_i^+	D_i^-	C_i	排名	编号	D_i^+	D_i^-	C_i	排名
S1	2.042 6	1.633 3	0.444 3	11	S9	2.801 7	1.262 6	0.310 7	13
S2	1.945 6	2.198 7	0.530 5	8	S10	3.089 3	1.356 9	0.305 2	14
S3	1.792 4	1.981 2	0.525 0	9	S11	3.335 8	1.213 4	0.266 7	16
S4	1.742 6	2.162 1	0.553 7	7	S12	1.464 3	2.613 7	0.640 9	4
S5	2.001 1	1.774 8	0.470 0	10	S13	1.469 6	2.704 6	0.647 9	3
S6	1.566 9	2.333 8	0.598 3	6	S14	1.514 9	2.825 9	0.651 0	2
S7	2.567 1	1.292 6	0.334 9	12	S15	1.538 2	2.968 6	0.658 7	1
S8	2.965 8	1.249 4	0.296 4	15	S16	1.602 8	2.626 9	0.621 1	5

3 讨 论

3.1 定量目标化合物的确定 化瘀除痹合剂由桃仁、红花、川芎、当归、没药、香附、秦艽、羌活、地龙、续断、黄芪、甘草12味中药组成。羟基红花黄色素A和红花黄色素A为君药红花的主要药效成分,具有祛瘀止痛、降低胆固醇、降血压等作用^[10];苦杏仁苷和野黑樱苷为君药桃仁主要有效成分,具有镇痛、抗炎、抗动脉粥样硬化、免疫调节等作用^[2];洋川芎内酯H、洋川芎内酯I、洋川芎内酯A和藁本内酯等苯酞类化合物为臣药川芎和当归的主要药效成分,具有镇静、解痉、平喘、改善微循环、补血活血、松弛平滑肌、抑菌、提高机体免疫力等作用^[4-5,24];香附烯酮和 α -香附酮为臣药香附主要有效成分,具有解热镇痛、抗肿瘤、抗菌、抗炎、抗病毒等作用^[6,25];龙胆苦苷、马钱苷酸和獐牙菜苦苷等环醚萜苷类成分为佐药秦艽和续断主要成分,具有保肝、抗炎、镇痛、抗氧化、抗肿瘤、抑菌等作用^[8,11,26-27]。本研究参考中药质量标志物的选取原则(以君药成分为首选,兼顾臣、佐、使药成分),选取上述13个药效成分作为化瘀除痹合剂HPLC定量目标化合物。

3.2 流动相系统的确定 本试验在确定流动相时,首先对比考察了流动相乙腈-水和甲醇-水。乙腈-水系统基线平稳,但苦杏仁苷和龙胆苦苷色谱峰出现拖尾,与后续色谱峰不能分

离。本试验考虑加入磷酸溶液(0.1%磷酸、0.2%磷酸、0.3%磷酸、0.4%磷酸),结果运行乙腈-0.4%磷酸溶液时,13个目标成分具有对称的峰形,可达到基线完全分离。同时本试验分析了梯度洗脱比例,最终采用“2.2”项的色谱条件检测化瘀除痹合剂中羟基红花黄色素A、红花黄色素A、苦杏仁苷、野黑樱苷、龙胆苦苷、马钱苷酸、獐牙菜苦苷、香附烯酮、 α -香附酮、洋川芎内酯H、洋川芎内酯I、洋川芎内酯A、藁本内酯的含量。

3.3 评价结果分析 本研究首先建立了外标法方法学验证体系,结果13种成分在各自范围内线性关系良好,仪器精密性、方法重复性和供试品溶液稳定性均良好,方法准确度良好;本研究采用外标法定量检测16批化瘀除痹合剂中的13种成分,结果显示各成分含量存在一定差异。PCA可对复杂的多指标检测结果进行数据降维分析,挖掘复杂数据间的内在关联关系,实现对样品的分类;OPLS-DA可在PCA分类基础上,建立OPLS-DA模型,有效查找引起产品质量差异的标志性指标,对稳定产品质量具有重要意义。加权TOPSIS法可根据被评价对象与理想化指标的接近程度,实现对样品质量的相对优劣评价,且结果直观科学。本研究利用化学计量学对16批化瘀除痹合剂质量进行统计分析,结果16批化瘀除痹合剂分组明显,不同生产时段的样品聚为3类。其中龙胆苦苷、羟基红花黄色素A、红花黄色素A、苦杏仁苷、藁本内酯和香附烯酮是造成质量差异和分组的主要因子,因此建议将上述6种成分纳入检测指标,并加强对这6种成分对应原药材质量监管。加权TOPSIS法进一步验证了16批化瘀除痹合剂质量差异较大, C_i 值在0.266 7~0.658 7之间。其中S12~S16的 C_i 值均大于0.6,排名位于前5位;S1~S6排名次之。化瘀除痹合剂配制时应总结配制经验,优化和固定药材供应商,加强原药材来源质量控制,优化制剂生产过程参数控制。

本试验采用外标法结合化学计量学及加权TOPSIS法对16批化瘀除痹合剂进行了质量评价,构建了不同批次化瘀除痹合剂质量评价模式。建立的方法准确、简便,为其质量标准的完善与提高提供了实验基础。

参考文献

- [1] 杨凯麟,曾柳庭,葛安琪,等.基于网络药理学探讨桃仁-红花药对活血化瘀的分子机制[J].世界科学技术-中医药现代化,2018,20(12):2208-2216.
- [2] 张妍妍,韦建华,卢澄生,等.桃仁化学成分、药理作用及质量标志物的预测分析[J].中华中医药学刊,2022,40(1):234-241.
- [3] 白启荣,郭皎洁,吴娇.红花的化学成分及药理作用研究进展[J].新乡医学院学报,2024,41(1):88-94,100.
- [4] 梁旗,张来宾,吕洁丽.川芎的化学成分和药理作用研究进展[J].新乡医学院学报,2024,41(3):275-285.
- [5] 牟春燕,殷越,沈子芯.当归化学成分及药理作用研究进展[J].山东中医杂志,2024,43(5):544-551.
- [6] 徐秀梅,刘文建.香附药理作用及临床应用的进展[J].广东化工,2023,50(9):122-123,69.

- [7] 郭倩倩,柳敏娜,刘天龙.没药甾酮药理作用研究进展[J].中医药学报,2022,50(4):115-118,F0003.
- [8] 宋雪,刘思佳,孔玲,等.多基原药材龙胆和秦艽化学成分和药理作用研究概况[J].亚太传统医药,2023,19(7):210-215.
- [9] 欧阳辉发,王友琴,赵淋仙,等.濒危药材羌活化学成分、药理作用、药代动力学研究进展及其应用分析[J].中药与临床,2023,14(4):105-111.
- [10] 王艳丽,宁宇,丁莹.地龙的化学成分及药理作用研究进展[J].中医药信息,2022,39(12):86-89.
- [11] 黄蒙蒙,周广涛,张霞,等.续断化学成分及药理作用研究进展[J].药学研究,2023,42(10):837-840.
- [12] 吴娇,仝芳超,黄芪的化学成分、药理作用及临床应用[J].滨州医学院学报,2024,47(1):68-75.
- [13] 肖先,李春燕,刘晓龙,等.甘草的主要化学成分及药理作用研究进展[J].新乡医学院学报,2023,40(3):280-285.
- [14] 王玉娟,董玉波,孙莎莎,等.基于HPLC-QAMS多指标成分定量测定联合化学计量学的津力达颗粒质量评价[J].中医药导报,2022,28(5):57-63,69.
- [15] 赵鑫,李君君,权文越,等.基于熵权TOPSIS评价半夏不同干燥方法对质量的影响[J].中药材,2022,45(2):327-330.
- [16] 范胜莲,刘光兴.不同干燥方法对红花中羟基红花黄色素A、山奈素及红花黄色素A含量的影响[J].中国药师,2020,23(6):1198-1200.
- [17] 何广铭,彭致铖,吴晓纯,等.燂桃仁中D-苦杏仁苷的U-PLC含量测定研究[J].海峡药理学,2020,32(10):60-63.
- [18] 乔璐,张园园,王若晨,等.不同炮制方法对香附中香附烯酮和 α -香附酮的影响[J].中华中医药学刊,2022,40(1):49-53.
- [19] 裘佳韦,王娅红,章建华,等.HPLC同时测定杜仲-川芎药对中的7种成分[J].华西药学杂志,2023,38(6):695-699.
- [20] 张生杰,田志梅,曹雪芹,等.基于HPLC指纹图谱与多成分定量结合化学模式识别法评价不同产地白芍的质量[J].中医药导报,2021,27(1):51-57.
- [21] 石欢,封燮,常雅晴,等.基于多成分含量测定和化学计量学的不同基原白芷药材质量评价研究[J].中草药,2023,54(11):3676-3684.
- [22] 庞茜茜,岳威治,刘克勤,等.雪梨止咳糖浆中11个成分的含量测定及化学计量学分析[J].中国药房,2023,34(1):62-66.
- [23] 张志鹏,邓李红,李美洲,等.基于化学模式识别和熵权TOPSIS法分析槐角不同部位的差异[J].中药材,2021,44(6):1415-1421.
- [24] 李晓雨,李双凤,刘晓美,等.当归-川芎药对的化学成分、药理作用及临床应用研究进展[J].中草药,2024,55(4):1415-1426.
- [25] 王凤霞,钱琪,李葆林,等.香附化学成分和药理作用研究进展及质量标志物(Q-Marker)预测分析[J].中草药,2022,53(16):5225-5234.
- [26] 冯苗苗,李梦含,党琳洁,等.龙胆中龙胆苦苷的提取工艺及药理活性研究进展[J].山东化工,2023,52(8):104-107.
- [27] 韵海霞,陈志.川西獐牙菜的研究进展[J].华西药学杂志,2020,35(5):567-571.

(收稿日期:2024-08-19 编辑:蒋凯彪)

(上接第87页) Steroid BiochemMol Biol,2009,114 (3-5): 207-211.

- [21] 管咏梅,叶盛航,周翔,等. β -环糊精-大豆苷元/PEG20000/Carbomer940纳米晶的制备及体外性质评价[J].中国中药杂志,2023,48(11):2949-2957.
- [22] PIETRA D, BORGHINI A, BIANUCCI A M. In vitro studies of antifibrotic and cytoprotective effects elicited by proto-berberine alkaloids in human dermal fibroblasts[J]. Pharmacol Rep,2015,67(6):1081-1089.
- [23] 何璿,凌勇根,赵洪庆,等.妇科断红饮胶囊改善大鼠功能失调性子宫出血的作用机制研究[J].中国药房,2022,33(23):2840-2844.
- [24] 马明圣,刘华祯,张天楠,等.AKT1基因嵌合突变致Proteus综合征一例报告并文献复习[J].北京医学,2021,43(4):304-307.
- [25] 张云,杜锋.参柏清热燥湿方对阴道炎疗效及IL-2、TNF- α 的变化[J].中医临床研究,2018,10(2):98-99.
- [26] ZHANG J Y, PENG J W, LI D M, et al. Divergent EGFR/MAPK-mediated immune responses to clinical Candida pathogens in vulvovaginal candidiasis[J]. Front Immunol, 2022,13:894069.
- [27] 胡晓玲,张晓春,江晓兰,等.通管汤盆腔灌注对大鼠输卵管炎性阻塞性不孕模型病理及BCL-2、EGFR蛋白表达的影响[J].井冈山大学学报(自然科学版),2017,38(5):89-95.
- [28] 马慧颖,刘翔宇,李文静,等.卵巢癌患者血清MMP-9和IL-8水平及其临床价值[J].现代妇产科进展,2021,30(8):571-574.
- [29] AN M L, FU X P, MENG X, et al. PI3K/AKT signaling pathway associates with pyroptosis and inflammation in patients with endometriosis[J]. J Reprod Immunol, 2024,162:104213.

(收稿日期:2024-10-28 编辑:蒋凯彪)