

基于 HPLC 指纹图谱与多成分含量测定结合 化学计量学的玉屏风散质量评价

申亚君¹, 安琪¹, 丁笑颖¹, 李恒阳¹, 郭龙¹, 郑玉光^{1,2}, 郑倩^{3*}, 张丹^{1*}

¹河北中医学院 河北省中药炮制技术创新中心, 石家庄 050200;

²河北医药化工职业技术学院, 石家庄 050026; ³ 石家庄市中医院, 石家庄 050051

摘要:建立玉屏风散 HPLC 指纹图谱结合化学计量学的方法对其进行分析, 并测定其中 11 种成分的含量, 为玉屏风散质量控制提供科学依据。采用 Shimadzu Inertsil ODS-2 C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) 色谱柱, 以乙腈-水为流动性进行梯度洗脱, 流速 1.0 mL/min, 柱温 30 °C, 检测波长 230 nm。15 批玉屏风散的 HPLC 指纹图谱, 相似度 > 0.83, 标定了 24 个共有峰, 指认 11 个色谱峰, 分别为升麻素苷、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、升麻素、5-*O*-甲基维斯阿米醇苷、亥茅酚苷、毛蕊异黄酮、芒柄花素、芒柄花苷、白术内酯 III、白术内酯 I、白术内酯 II, 含量测定结果分别为 0.104 ~ 0.449、0.048 ~ 0.121、0.047 ~ 0.111、0.129 ~ 0.550、0.017 ~ 0.037、0.025 ~ 0.053、0.030 ~ 0.118、0.009 ~ 0.025、0.148 ~ 0.615、0.088 ~ 0.382、0.073 ~ 0.385。借助 SPSS 23.0、SIMCA-P 13.0 等软件对 15 批玉屏风散进行聚类分析 (HCA)、主成分分析 (PCA)、正交偏最小二乘判别分析 (OPLS-DA) 等化学计量学分析, 15 批样品聚为 2 类。所建立的玉屏风散质量评价方法稳定性、重复性好, 可用于玉屏风散的质量控制和评价。

关键词:玉屏风散; HPLC; 指纹图谱; 含量测定; 化学计量学

中图分类号: R917

文献标识码: A

文章编号: 1001-6880(2021)7-1121-08

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2021.7.006

Quality evaluation of Yupingfeng Powder based on HPLC fingerprint, determination of multi-index components and chemometrics analysis

SHEN Ya-jun¹, AN Qi¹, DING Xiao-ying¹, LI Heng-yang¹,
GUO Long¹, ZHENG Yu-guang^{1,2}, ZHENG Qian^{3*}, ZHANG Dan^{1*}

¹Traditional Chinese Medicine Processing Technology Innovation Center of Hebei Province, Hebei University of Chinese Medicine, Shijiazhuang 050200, China; ²Hebei Chemical and Pharmaceutical College, Shijiazhuang 050026, China;

³Chinese Traditional Medicine Hospital of Shijiazhuang, Shijiazhuang 050051, China

Abstract: To establish an analysis method of Yupingfeng Powder based on HPLC fingerprint combined with chemometrics analysis, and determined the contents of 11 components in it, which provides the scientific basis for quality control of Yupingfeng Powder. The chromatographic column was Shimadzu Inertsil ODS-2 C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), the mobile phase was composed of the acetonitrile-water solution in gradient elution manner at a flow rate of 1.0 mL/min, the column temperature was set at 30 °C, the detection wavelength was set at 230 nm. The HPLC fingerprint of 15 batches of Yupingfeng Powder was established, the similarity was more than 0.83, 24 common peaks were calibrated and 11 chromatographic peaks were identified. They are prim-*O*-glucosylcimifugin, calycosin-7-*O*-β-*D*-glucoside, cimifugin, 5-*O*-methylvisammioside, sec-*O*-glucosylhamaudol, calycosin, formononetin, ononin, astragaloside III, astragaloside I, astragaloside II, respectively. The results of content determination were 0.104-0.449, 0.048-0.121, 0.047-0.111, 0.129-0.550, 0.017-0.037, 0.025-0.053, 0.030-0.118, 0.009-0.025, 0.148-0.615, 0.088-0.382, 0.073-0.385. The results were analyzed by using SPSS 23.0, SIMCA-P 13.0, and other software to perform HCA, PCA, and OPLS-DA, and other chemometric analyses of 15 batches of Yupingfeng Pow-

收稿日期: 2021-02-22 接受日期: 2021-05-31

基金项目: 河北省自然科学基金青年项目 (H2018423029); 中央本级重大增减支项目 (2060302); 中央财政公共卫生专项“中药资源普查项目” (Z135080000022); 河北省二期现代农业产业技术体系创新团队项目 (HBCT2018060205)

* 通信作者 Tel: 86-311-89926324; E-mail: zhangdanid@163.com, xiaozheng_123@yeah.net

der, fifteen batches of samples were grouped into two groups. The established quality evaluation method of Yupingfeng Powder is stable and reproducible and can be used for the quality control and evaluation of Yupingfeng Powder.

Key words: Yupingfeng Powder; HPLC; fingerprint; determination; chemometrics

玉屏风散首载于元代朱震亨的《丹溪心法》^[1], 由防风、黄芪、白术三味药组成, 在中医方剂里有“玉屏组合少而精, 芪术防风鼎足行”的说法。该方益气, 固表, 止汗, 用于表虚不固, 自汗恶风, 面色晄白, 或体虚易感风邪者^[2]。方中君药黄芪性味甘温, 补气升阳, 固表止汗^[2], 具有抗肿瘤、保护心脑血管、提高免疫功能、保护肺功能、保护肾组织、保护肝损伤、保护肠功能、调节血压、抗衰老、防治骨质疏松症等作用^[3]; 臣药白术味甘微温, 健脾益气, 燥湿利水^[2], 白术可助君药加强益气之功; 防风为佐祛风解表, 胜湿止痛^[2]。黄芪配白术, 汗不外泄, 外邪易难内侵, 该方以补气药为主, 配合小量祛风解表之品防风, 使补中寓散^[4]。临床上常用于治疗气虚体质、有效减少反复上呼吸道感染频率^[5]、小儿哮喘^[6]、慢性荨麻疹、湿疹^[7,8]、肝癌^[9-11]。

目前关于玉屏风散质量分析的研究, 已有部分文献报道^[12-14], 但饮片的质量受产地、加工炮制方法等的影响, 在临床疗效上也有一定的差异^[15]。因此, 本研究利用 HPLC 法建立了 15 批玉屏风散的 HPLC 指纹图谱, 并对玉屏风散中 11 种成分的含量进行了同时测定, 同时结合化学计量学的方法对其质量进行了综合评价, 为建立玉屏风散水煎液质量标准、阐明玉屏风散药效机制以及指导临床合理用药提供了一定的依据。

1 仪器与材料

1.1 仪器

岛津 LC-20AT 高效液相色谱仪(日本岛津制作所); SPD-M20A 紫外检测器(日本岛津制作所); BSA224S-CW 电子分析天平(赛多利斯科学仪器有限公司); SHB-III 循环水式多用真空泵(郑州长城科工贸有限公司); HH-2 数显恒温水浴锅(江苏省金

坛市荣华仪器制造有限公司); KQ2200E 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

1.2 材料

乙腈为色谱纯(Fisher Scientific Co. Ltd.), 甲醇为色谱纯(Fisher Scientific Co. Ltd.), 正丁醇(天津市永大化学试剂有限公司), 水为超纯水。

对照品升麻素苷(批号 PRF7040523、纯度 > 98%)、毛蕊异黄酮葡萄糖苷(批号 PRF8032744、纯度 > 98%)、升麻素(批号 PRF7090123、纯度 > 98%)、5-O-甲基维斯阿米醇苷(批号 PRF7083021、纯度 > 98%)、亥茅酚苷(批号 PRF7083022、纯度 > 98%)、毛蕊异黄酮(批号 PRF7120844、纯度 > 98%)、芒柄花素(批号 PRF8032146、纯度 > 98%)、芒柄花苷(批号 PRF8032741、纯度 > 98%)、白术内酯 I(批号 PRF7071542、纯度 > 98%)、白术内酯 II(批号 PRF7080843、纯度 > 98%)、白术内酯 III(批号 PRF8032742、纯度 > 98%) 均购于成都普瑞法科技开发有限公司。

15 批黄芪饮片、防风饮片、白术饮片分别购于石家庄市内各药房, 经河北中医学院张丹副教授鉴定均为正品(见表 1)。各饮片均符合《中国药典》2020 年版项下性状要求, 鉴定结果黄芪为豆科植物蒙古黄芪 *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. var. *mongholicus* (Bge.) Hsiao 或膜荚黄芪 *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. 的干燥根, 防风为伞形科植物防风 *Saposhnikovia divaricate* (Turcz.) Schischk. 的干燥根, 白术为菊科植物白术 *Atractylodes macrocephala* Koidz. 的干燥根茎。将黄芪、白术、防风三种饮片分别粉碎过 60 目筛, 按 2:2:1 的比例混合均匀, 即得玉屏风散样品。

表 1 15 批次玉屏风散饮片的产地信息

Table 1 Origin information of 15 batches of Yupingfeng Powder

批次 No.	饮片 Decoction pieces	产地 Origin	批号 Batch No.	批次 No.	饮片 Decoction pieces	产地 Origin	批号 Batch No.
S1	黄芪	河北安国	200701	S9	黄芪	甘肃	200910
	防风	河北安国	200801		防风	内蒙古赤峰	FF200324
	白术	河北安国	19123101		白术	浙江	20200801
S2	黄芪	内蒙古包头	200801	S10	黄芪	甘肃	2007001

续表 1 (Continued Tab. 1)

批次 No.	饮片 Decoction pieces	产地 Origin	批号 Batch No.	批次 No.	饮片 Decoction pieces	产地 Origin	批号 Batch No.
	防风	呼伦贝尔	200901		防风	河北	200602
	白术	安徽亳州	180503		白术	四川	2007051
S3	黄芪	甘肃	2006001	S11	黄芪	山西	20200916
	防风	呼伦贝尔	201001		防风	河北	200424
	白术	安徽亳州	200801		白术	安徽亳州	201025
S4	黄芪	内蒙古	20200705	S12	黄芪	山西灵丘	20201010
	防风	内蒙古赤峰	200322		防风	河北安国	2020134
	白术	安徽	200105		白术	安徽亳州	200311
S5	黄芪	内蒙古	20200622	S13	黄芪	甘肃武山	20200930
	防风	内蒙古	201001		防风	内蒙古	202001001
	白术	安徽	200301		白术	安徽亳州	200325
S6	黄芪	宁夏	20200430	S14	黄芪	甘肃	2004012
	防风	湖北	20200201		防风	陕西秦岭	200911
	白术	浙江	201114002		白术	安徽亳州	200504
S7	黄芪	宁夏	20200423	S15	黄芪	内蒙古包头	20200901
	防风	河北	2002027		防风	甘肃	200912
	白术	湖南	20200101		白术	浙江磐安	20200910
S8	黄芪	甘肃	200501				
	防风	河南安阳	FF200313				
	白术	安徽	200802				

2 方法与结果

2.1 溶液的制备

2.1.1 混合对照品溶液

精密称取适量对照品,用甲醇溶解配制成含升麻素苷、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、升麻素、5-*O*-甲基维斯阿米醇苷、亥茅酚苷、毛蕊异黄酮、芒柄花素、芒柄花苷、白术内酯 III、白术内酯 I、白术内酯 II 的对照品混合溶液,浓度分别为 1.725、1.010、1.110、1.530、1.290、1.010、2.050、0.990、2.090、2.035、2.005 mg/mL。

2.1.2 玉屏风散供试品溶液

精密称取粉末约 2.5 g,加 50 mL 甲醇超声提取 30 min,过滤,滤液浓缩至干后,加水 20 mL,用水饱和的正丁醇萃取四次,合并萃取液,蒸干,残渣加适量甲醇使溶解,转移至 10 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,0.22 μm 微孔滤膜滤过,即得。

2.1.3 阴性样品溶液

分别按“2.1.2”项下的方法制成缺黄芪、缺防

风、缺白术的阴性样品溶液。

2.2 色谱条件

Shimadzu Inertsil ODS-2 C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) 色谱柱,以乙腈(A)-水溶液(B)为流动相,梯度洗脱(见表 2),流速 1.0 mL/min,检测波长 230 nm,柱温 30 °C,进样量 10 μL。

表 2 梯度洗脱程序

Table 2 Gradient elution program

时间 Time (min)	A (%)	B (%)
0	15	85
40	28	72
45	33	67
50	35	65
60	45	55
100	55	45
120	60	40

2.3 玉屏风散 HPLC 指纹图谱的建立

2.3.1 精密度试验

取玉屏风散样品(编号 S1)适量,按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液,精密吸取同一玉屏风散供试品溶液,连续进样 6 次,以 1 号峰(升麻素苷)为参照峰,测得其余 17 个共有峰相对保留时间 RSD < 3.0%,相对峰面积的 RSD < 3.0%。结果表明仪器精密度良好。

2.3.2 稳定性试验

取玉屏风散样品(编号 S1)适量,按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液,精密吸取同一玉屏风散供试品溶液,分别在供试品溶液制备后第 0、4、8、12、18、24 h 进样,以 1 号峰(升麻素苷)为参照峰,测得其余 17 个共有峰相对保留时间 RSD < 3.0%,相对峰面积的 RSD < 3.0%。结果表明供试品溶液在制备后 24 h 内稳定。

2.3.3 重复性试验

精密称定玉屏风散样品(编号 S1)2.5 g,平行 6 份,按“2.1.2”项下方法处理,得玉屏风散供试品溶液,依法进样,以 1 号峰(升麻素苷)为参照峰,测得其余 17 个共有峰相对保留时间 RSD < 3.0%,相对峰面积的 RSD < 3.0%,表明该方法的重复性良好。

2.3.4 指纹图谱的建立及相似度分析

取各批次玉屏风散样品适量,按“2.1.2”项下

方法制备供试品溶液,按“2.2”项下方法测定,采用中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2004 版)建立 15 批样品指纹图谱(图 1),共标示出 24 个共有峰,指出其中 11 个峰。15 批样品色谱图与对照指纹图谱相比较,各批次样品的指纹图谱相似度在 0.835 ~ 0.965 之间,表明玉屏风散各批次间相似性较好(见表 3)。

2.3.5 主要特征峰归属

精密吸取“2.1.2”项下对照品储备液适量,依法进样测定,与指纹图谱各主要共有峰进行对比,指出 11 个色谱峰,其中 1 号峰升麻素苷、2 号峰毛蕊异黄酮葡萄糖苷、3 号升麻素、4 号峰 5-*O*-甲基维斯阿米醇苷、5 号峰亥茅酚苷、7 号峰毛蕊异黄酮、9 号峰芒柄花素、12 号峰芒柄花苷、15 号峰白术内酯 III、18 号峰白术内酯 I、20 号峰白术内酯 II。

2.4 11 种成分含量测定

2.4.1 线性关系考察

分别精密量取“2.1.1”项下混合对照品溶液适量,加甲醇制成系列梯度浓度的混合对照品溶液,按照“2.2”项下的条件测定,记录峰面积。将所得峰面积(Y)与各对照品质量浓度(X)进行线性回归。结果显示各组分线性关系良好(见表 4)。

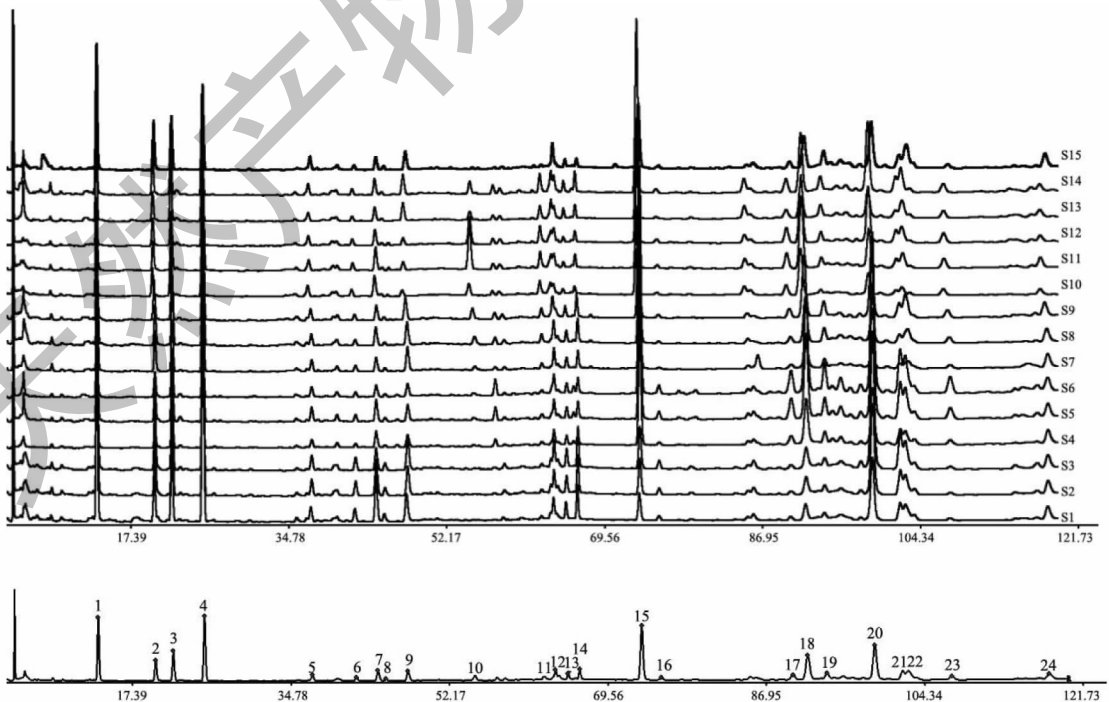


图 1 15 批玉屏风散 HPLC 指纹图谱(S1 ~ S15)和对照指纹图谱(R)

Fig. 1 HPLC fingerprints of 15 batches of Yupingfeng Powder (S1 ~ S15) and referential fingerprint (R)

表 3 15 批玉屏风散指纹图谱与对照指纹图谱相似度比较

Table 3 Comparison of similarity between 15 batches of Yupingfeng powder fingerprint and control fingerprint

序号 No.	相似度 Similarity	序号 No.	相似度 Similarity	序号 No.	相似度 Similarity
S1	0.914	S6	0.946	S11	0.939
S2	0.835	S7	0.869	S12	0.899
S3	0.879	S8	0.909	S13	0.883
S4	0.88	S9	0.911	S14	0.933
S5	0.958	S10	0.965	S15	0.935

表 4 11 种成分的回归方程、相关系数和线性范围

Table 4 Regression equations, correlation coefficients and linear ranges of the 11 constituents

化合物 Compound	回归方程 Regression equation	相关系数 Correlation coefficient (r)	线性范围 Linear range (ng/mL)
升麻素苷 Prim- <i>O</i> -glucosylcimifugin	$Y = 2\,350\,208.93X + 25\,286.78$	0.999 9	0.034 5 ~ 1.035
毛蕊异黄酮葡萄糖苷 Calycosin-7- <i>O</i> - β - <i>D</i> -glucoside	$Y = 3\,028\,330.47X - 10\,239.27$	0.999 6	0.020 2 ~ 0.606
升麻素 Cimifugin	$Y = 4\,052\,016.20X + 36\,307.24$	0.999 7	0.022 2 ~ 0.666
5- <i>O</i> -甲基维斯阿米醇苷 5- <i>O</i> -Methylvisammioid	$Y = 2\,770\,145.16X + 26\,088.71$	0.999 9	0.030 6 ~ 0.918
亥茅酚苷 sec- <i>O</i> -Glucosylhamaudol	$Y = 3\,091\,775.73X + 24\,583.59$	0.999 9	0.025 8 ~ 0.774
毛蕊异黄酮 Calycosin	$Y = 3\,305\,947.68X + 17\,359.02$	0.999 9	0.020 2 ~ 0.606
芒柄花苷 Formononetin	$Y = 1\,953\,776.50X - 23\,490.90$	0.999 9	0.041 0 ~ 1.23
芒柄花素 Ononin	$Y = 10\,250\,869.47X + 57\,711.64$	0.999 9	0.019 8 ~ 0.594
白术内酯 III Astragaloside III	$Y = 3\,158\,455.86X + 42\,245.43$	0.999 9	0.041 8 ~ 1.221
白术内酯 I Astragaloside I	$Y = 3\,661\,431.29X + 46\,574.26$	0.999 9	0.040 7 ~ 1.203
白术内酯 II Astragaloside II	$Y = 648\,897.24X + 6\,980.06$	0.999 9	0.040 1 ~ 1.254

2.4.2 精密度试验

精密吸取“2.1.1”项下混合对照品溶液,在“2.2”项下色谱条件连续进样 6 次,测得各特征峰保留时间的 RSD < 3.0%,相对峰面积的 RSD < 3.0%。结果表明仪器精密度良好。

2.4.3 稳定性试验

取玉屏风散粉末(编号 S1)适量,按上述“2.1.2”项下方法制备供试品溶液,分别在供试品溶液制备后第 0、4、8、12、18、24 h 进样,记录峰面积。计算各成分的相对峰面积的 RSD < 3.0%。结果表明供试品溶液在制备后 24 h 内稳定。

2.4.4 重复性试验

取玉屏风散粉末(编号 S1)精密称定 2.5 g,平行 6 份,按“2.1.2”项下方法处理,得玉屏风散水煎液供试品溶液,依法进样测定,记录峰面积。计算各

成分的相对峰面积的 RSD < 3.0%。结果表明该方法的重复性良好。

2.4.5 加样回收率试验

精密称定 11 种成分含量已知的玉屏风散粉末样品 1.25 g,平行 6 份,分别加入对照品溶液适量,按照“2.1.2”项下方法制备供试品溶液,“2.2”项下色谱条件进样分析,计算 11 个成分的加样回收率的平均回收率分别为 98.31%、99.27%、95.99%、102.75%、101.68%、98.63%、98.79%、97.99%、98.21%、101.36%、96.89%,RSD 分别为 2.7%、1.9%、2.3%、1.7%、2.5%、1.7%、1.9%、1.7%、2.9%、2.7%、2.1%。

2.4.6 样品含量测定

按照“2.1.2”项下方法制备 15 批玉屏风散供试品及阴性样品,在“2.2”项下色谱条件进样分析,

混合对照品、样品色谱图及阴性样品色谱图见图2。通过与阴性样品色谱图对比,可以判定2、7、9、12号峰存在于黄芪饮片中,1、3、4、5号色谱峰存在于防

风饮片中,15、18、20号色谱峰主要存在于白术饮片中,含量结果见表5。

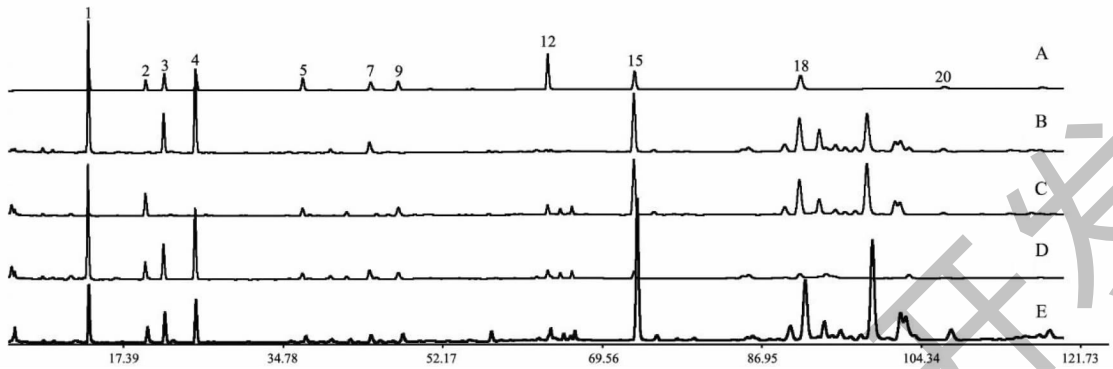


图2 混合对照品(A)、黄芪阴性样品(B)、防风阴性样品(C)、白术阴性样品(D)和玉屏风散(E)的HPLC图

Fig. 2 HPLC of mixed reference (A), negative sample without *Astragali Radix* (B), negative sample without *Saposhnikovia Radix* (C), negative sample without *Atractylodis Macrocephalae Rhizoma* (D), and *Yupingfeng Powder* (E)

表5 玉屏风散中11种成分含量测定结果($n=3$)

Table 5 Results of content determination of nine constituents in *Yupingfeng Powder* ($n=3$)

编号 No.	含量 Contents (mg/g)										
	1	2	3	4	5	7	9	12	15	18	20
S1	0.331	0.098	0.084	0.189	0.023	0.025	0.060	0.013	0.148	0.097	0.073
S2	0.272	0.083	0.082	0.181	0.027	0.031	0.064	0.013	0.152	0.088	0.073
S3	0.301	0.121	0.081	0.180	0.037	0.030	0.091	0.022	0.167	0.104	0.088
S4	0.269	0.048	0.068	0.177	0.017	0.037	0.058	0.010	0.304	0.183	0.103
S5	0.424	0.089	0.101	0.254	0.034	0.050	0.080	0.014	0.454	0.294	0.268
S6	0.272	0.059	0.072	0.146	0.024	0.026	0.066	0.017	0.590	0.337	0.385
S7	0.344	0.109	0.078	0.356	0.027	0.031	0.112	0.013	0.178	0.110	0.073
S8	0.269	0.119	0.111	0.550	0.025	0.046	0.118	0.018	0.339	0.162	0.130
S9	0.339	0.107	0.075	0.328	0.025	0.033	0.104	0.025	0.384	0.224	0.169
S10	0.250	0.067	0.073	0.179	0.027	0.050	0.030	0.009	0.196	0.149	0.137
S11	0.161	0.067	0.062	0.184	0.028	0.053	0.043	0.010	0.286	0.231	0.211
S12	0.104	0.059	0.047	0.129	0.025	0.036	0.035	0.010	0.317	0.218	0.211
S13	0.245	0.068	0.075	0.154	0.023	0.032	0.086	0.013	0.245	0.121	0.161
S14	0.449	0.098	0.089	0.215	0.033	0.038	0.096	0.016	0.430	0.197	0.191
S15	0.318	0.099	0.081	0.173	0.031	0.034	0.092	0.019	0.615	0.382	0.360

注:11个成分分别为升麻素苷、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、升麻素、5-*O*-甲基维斯阿米醇苷、亥茅酚苷、毛蕊异黄酮、芒柄花苷、芒柄花素、白术内酯III、白术内酯I、白术内酯II。

Note: The 11 components are *prim-O*-glucosylcimifugin, calycosin-7-*O*- β -*D*-glucoside, cimifugin, 5-*O*-methylvisammioside, *sec-O*-glucosylhamadul, calycosin, formononetin, ononin, astragaloside III, astragaloside I, astragaloside II, respectively.

2.5 基于化学计量学的玉屏风散水煎液质量分析

2.5.1 聚类分析

以15批玉屏风散中的11个成分的含量为变量,组成 11×15 数据矩阵导入SPSS 23.0软件中,采用组间联接系统聚类法,以平方欧式距离为测度

进行聚类分析,结果见图3。当类间距离为25时,15批样品可聚为两类,S1、S2、S3、S4、S7、S8、S10、S11、S12、S13为第I类,S5、S6、S9、S14、S15为第II类。结果表明,不同批次的样品主要成分的含量存在一定的差异,这可能与生产饮片所用药材的产地、

采收季节以及加工炮制有一定的关系,也反映出中药饮片质量的差异。

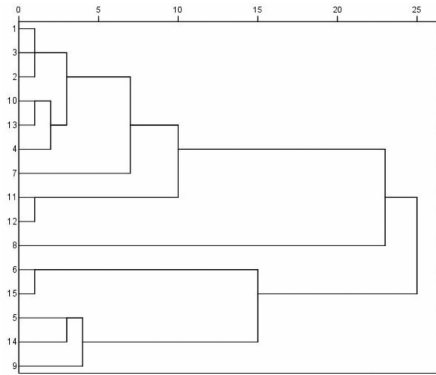


图3 15批玉屏风散聚类树状图

Fig. 3 Dendrogram of 15 batches of Yupingfeng Powder

2.5.2 主成分分析

以15批玉屏风散样品中11个成分的含量为变量,采用SIMCA-P 13.0软件对15批玉屏风散样品进行PCA分析,前两个主成分的贡献率66.0%,即可以用2个潜在综合指标来解释66.0%的总方差,可反映不同批次的玉屏风散的质量差异(见图4)。15批玉屏风散样品被分成2类,与聚类分析结果基本一致,究其原因各批次样品之间的质量差异所导致。

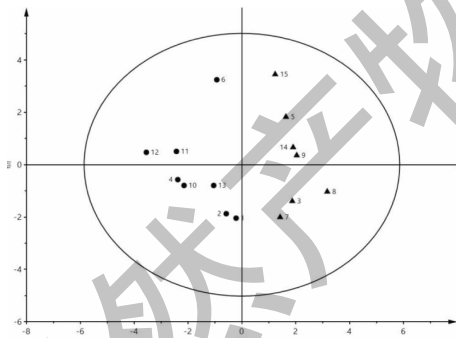


图4 样品PCA得分图

Fig. 4 PCA score scatter plot of 15 batches of Yupingfeng Powders

2.5.3 正交偏最小二乘法

为确定影响玉屏风散的潜在化学指标,本研究继续采用正交偏最小二乘法(OPLS-DA)对15批样品中的11种成分的含量组成的变量进行分析。与PCA分析结果一致,15批玉屏风散样品被分为两类(见图5), $R^2X = 0.968$, $R^2Y = 0.964$ 和 $Q^2 = 0.854$,表面所建立的模型具有很好的预测能力。为了选择化学标记,基于投影(VIP)值的可变重要性

进一步筛选11个成分。VIP代表变量的差异,当 $VIP > 1.0$ 时,即代表该成分是在分化中起重要作用的组分。结果显示,升麻素苷、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、5-O-甲基维斯阿米醇苷、毛蕊异黄酮、芒柄花素的 $VIP > 1.0$,说明这5种成分对玉屏风散整体质量影响较大(见图6)。

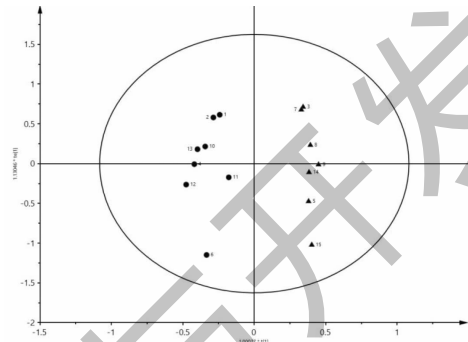


图5 样品OPLS-DA得分图

Fig. 5 OPLS-DA score scatter plot of 15 batches of Yupingfeng Powders

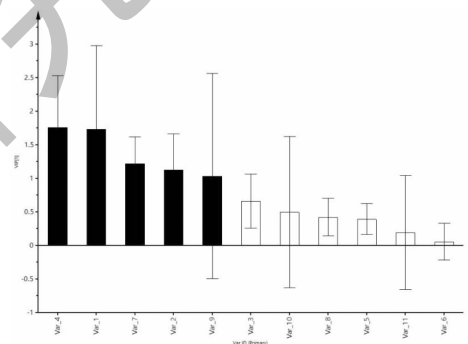


图6 样品各成分的VIP图

Fig. 6 VIP values of 15 batches of Yupingfeng Powders

3 结论

本实验在优化玉屏风散供试品溶液提取方式时,同时对比了超声、回流、连续回流三种提取方法,以玉屏风散色谱图中色谱峰的数量、分离度及定量测定的11种目标成分的提取率为指标分析,色谱峰相对保留时间的RSD $< 3.0\%$,其总提取率有较大差异,其中超声和索提两种方式所得物质含量较大,但是索提耗时较长,最后综合考虑采用超声方法进行提取。

实验中考察了甲醇-水、乙腈-水等不同流动相系统,结果发现乙腈-水干扰较小且分离效果较好,分析时间短,且梯度洗脱过程中基线平稳,因此选择乙腈-水为流动相。

对11个化合物分别在230、254、276、300、320 nm,5个波长下检测的色谱图进行比较,结果黄芪在

230 nm 检测波长下检出的特征峰相对较多且峰分离度高,有最大吸收;防风在 230、254 nm 检测波长下检出的特征峰数量基本一致;白术则在 230 nm 检测波长下有最大吸收,且白术内酯 I 和白术内酯 III 在其他波长下吸收较弱,因此采用了 230 nm 作为检测波长。

本实验建立了 15 批玉屏风散的 HPLC 指纹图谱,选取黄芪中的毛蕊异黄酮葡萄糖苷、毛蕊异黄酮、芒柄花苷、芒柄花素,防风中的升麻素苷、升麻素、5-*O*-甲基维斯阿米醇苷、亥茅酚苷、和白术中白术内酯 III、白术内酯 I、白术内酯 II 为主要定量指标进行含量测定,并采用 HCA、PCA 和 OPLS-DA 等化学计量学方法考察了不同批次玉屏风散的整体性与差异性,结果发现,15 个批次的样品 HPLC 指纹图谱相似度在 0.835 ~ 0.965 之间,HCA 和 PCA 分析结果基本一致,将样品分为两大类,结合饮片产地信息发现,第 I 类中饮片多来自内蒙等地区,第 II 类样品中饮片则多来自浙江等地,南北方在土壤、气候及栽培方式上均有很大不同,且各药店饮片来源于不同产地的不同饮片加工厂,道地中药材及优良产地是影响饮片质量的关键因素,中药材因受不同生长环境影响所含有有效成分有所不同^[16]。因此饮片质量与中药饮片生产所需的药材产地、采收加工的季节与加工炮制有一定的相关性。本研究所建立的质量评价方法简便,重复性好,可对药品生产企业在原药材及制备过程中提供参考依据,有利于玉屏风散的临床合理运用。

参考文献

- 1 Wang QN, Lv WL, Li JM. Advances in experimental study and application of Yupingfeng Powder [J]. Chin J Tradit Chin Med(中华中医药学刊),2020,9(38):165-168.
- 2 Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China; Vol I (中华人民共和国药典:第一部) [M]. Beijing: China Medical Science Press, 2020.
- 3 Hu NN, Zhang XJ. Research progress on chemical constituents and pharmacological effects of *Astragalus membranaceus* [J]. Inf Tradit Chin Med(中医药信息),2021,38(1):76-82.
- 4 Zhou JS, Zhang HK, Huang YY, et al. Simultaneous determination of ten chemical components in Yupingfeng San by HPLC under multiple UV wavelengths [J]. J Pharm Anal(药物分析杂志),2016,36:1072-1081.
- 5 Chen C, Wang Q, Su ZQ, et al. Clinical trial of Yupingfeng Granules in recuperation of qi-deficient constitution with recurrent common cold [J]. Chin J Exp Tradit Med Form(中国实验方剂学杂志),2018,24(5):182-187.
- 6 Ma J, Ji WN. Clinical observation on the effect of the modified Yupingfeng San and Liujunzi Decoction as an adjunctive therapy in treating of 184 cases of children with asthma in remission [J]. J Ped Tradit Chin Med(中医儿科杂志),2018,14(2):32-35.
- 7 Li YY. Clinical observation on treatment of chronic urticaria with Yupingfeng San combined with desalination [J]. Guide Chin Med(中国医药指南),2020,18(26):131-132.
- 8 Fang J, Liu XY. Clinical observation on Yupingfeng Powder combined with Xiaofeng Powder in treating chronic eczema [J]. Guangming J Chin Med(光明中医),2018,33:3681-3683.
- 9 Zhang LR, Yao F, Jiang GR, et al. Research on direct inhibition and immunoregulation effects of Yupingfeng Powder in hepatic cell carcinoma [J]. Chin J Tradit Chin Med(中华中医药学刊),2014,32:1046-1050.
- 10 Yuan Q, Yao F, Zhang LR. Research on inhibition effects of Yupingfeng Powder through TSLP change the balance of Th1/Th2 in hepatocellular carcinoma [J]. J Nantong Univ(南通大学学报),2016,36:509-513.
- 11 Zhao SX, Liu HL, Fan Z, et al. Influence of Yupingfeng Powder adjuvant therapy on treatment effect and anti-tumor immunity of patients with primary liver cancer [J]. Anti-tumor Pharm(肿瘤药理学),2017,7:713-717.
- 12 Wang XZ, Wen HM, Li W, et al. Simultaneous determination of four chromones, three flavonoids and two atractylenolides in Yupingfeng Powder by HPLC [J]. Tradit Chin Drug Res Clin Pharm(中药新药与临床药理),2009,20:142-146.
- 13 Lin WW, Guo XM, Liu XJ, et al. UHPLC/MSⁿ multi-mode composite determination of 13 chemical components in extracts and preparations of Yupingfeng compound [J]. Fudan Univ J Med Sci(复旦学报(医学版)),2020,47:426-433.
- 14 Zhang HK, Zhou JS, Huang YY, et al. Study on high performance liquid chromatography fingerprint of Yupingfeng Powder [J]. J Chin Med Mater(中药材),2016,39:582-585.
- 15 Liu CX, Chen SL, Xiao XH, et al. A new concept on quality marker of Chinese materia medica: quality control for Chinese medicinal products [J]. Chin Tradit Herb Drug(中草药),2016,47:1443-1457.
- 16 Cao MC, Huang TK. Analysis and countermeasures of factors affecting the quality of Chinese herbal pieces [J]. Chin Pharm(中国药业),2016,25(6):1-10.