

基于化学计量学与熵权-灰色关联度法的清心沉香八味散(丸)综合质量研究

刘成东^{1,2}, 张 谦^{1,2}, 陆景坤³, 陈佳惠¹, 杨 蓉¹, 翟雪钰¹, 李 君^{1,2*}, 王跃武^{1,2*}

(1 内蒙古医科大学药学院, 呼和浩特 010110; 2 内蒙古自治区新药筛选工程研究中心, 呼和浩特 010110; 3 内蒙古医科大学基础医学院, 呼和浩特 010110)

[摘要] **目的:** 建立 HPLC-MS/MS 同时测定清心沉香八味散(丸)中 15 个成分[甜菜碱、沉香四醇、佛手柑内酯、2-(2-苯乙基)色酮、去氢二异丁香酚、*D*-(-)-奎尼酸、没食子酸、原儿茶酸、羟基红花黄色素 A、芦丁、异槲皮苷、鞣花酸、木犀草素、芹菜素]的含量,并结合化学计量学与熵权-灰色关联度法分析综合质量,为该制剂的质量控制和评价提供科学依据。**方法:** 采用 Shim-pack GIST-HP C₁₈ 色谱柱;流动相为甲醇(A)-0.1% 甲酸的水溶液(B),梯度洗脱;柱温 35 ℃;进样量 3 μL。微生信平台进行聚类分析(cluster analysis, CA),SIMCA 14.1 软件进行主成分分析(principal component analysis, PCA)和正交偏最小二乘判别分析(orthogonal partial least squares discriminant analysis, OPLS-DA),以 VIP 值 > 1.0 为标准筛选质量差异物;采用熵权-关联度法分析综合质量。**结果:** 15 个成分在各自范围内线性关系良好, *r* 均 ≥ 0.999 0;精密度 RSD 均 < 3.00%;稳定性和重复性良好, RSD 均 < 5.00%;平均加样回收率为 93.62% ~ 105.10%, RSD 为 1.18% ~ 4.37%。CA 和 PCA 分析将 14 批清心沉香八味散(丸)聚为两大类: D 厂家(D1 ~ D4)聚为一类, A 厂家和 M 厂家(A1 ~ A4, M1 ~ M6)聚为一类; OPLS-DA 模式下筛选出 6 个差异标志物, 分别为 *D*-(-)-奎尼酸、沉香四醇、2-(2-苯乙基)色酮、去氢二异丁香酚、佛手柑内酯和槲皮素。结果表明, A2 厂家综合质量最好。**结论:** 建立的 HPLC-MS/MS 法可同时测定清心沉香八味散(丸)中 15 个成分, 结合化学计量学与熵权-灰色关联度法可用于清心沉香八味散(丸)综合质量研究。

[关键词] 清心沉香八味散(丸); HPLC-MS/MS; 化学计量学; 熵权-灰色关联度法; 质量控制; 质量评价
[中图分类号] R932 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1003-3734(2025)17-1872-10

Study on the comprehensive quality of Qingxin Chenxiang Bawei powder (pills) based on chemometrics and entropy weight-grey correlation degree method

LIU Cheng-dong^{1,2}, ZHANG Qian^{1,2}, LU Jing-kun³, CHEN Jia-hui¹, YANG Rong¹, ZHAI Xue-yu¹,
LI Jun^{1,2*}, WANG Yue-wu^{1,2*}

(1 School of Pharmacy, Inner Mongolia Medical University, Hohhot 010110, China; 2 Inner Mongolia Engineering Research Center for New Drug Screening, Hohhot 010110, China; 3 School of Basic Medicine, Inner Mongolia Medical University, Hohhot 010110, China)

[Abstract] **Objective:** An HPLC-MS/MS method was established for the simultaneous determination of 15

[基金项目] 内蒙古医科大学“致远”人才计划资助项目(ZY20242115);内蒙古医科大学面上资助项目(YKD2024MS015);内蒙古自治区蒙医药协同创新中心国际合作资助项目(MYYXTGJ202306);内蒙古自治区蒙医药协同创新中心成果转化培育资助项目(MYYXTPY202306);内蒙古自治区科技计划资助项目(2023YFHH0082)

[作者简介] 刘成东,男,硕士研究生,主要从事中药质量控制方法研究。E-mail:2858209687@qq.com。

[通讯作者] *李君,男,硕士,助理研究员,主要从事中蒙药药效物质研究。E-mail:nmg15547126231@sina.com。*王跃武,男,博士,硕士生导师,主要从事中蒙药质量控制及新剂型开发研究。E-mail:wyywimmu@163.com。

[DOI] 10.20251/j.cnki.1003-3734.2025.17.013

components [betaine, agaritol, bergamolide, 2-(2-phenylidene) chromone, dehydrodiisoeugenol, *D*-(-)-quinic acid, gallic acid, protocatechuic acid, hydroxysafflor yellow A, rutin, isoquercetin, ellagic acid, luteolin and apigenin] in Qingxin Chenxiang Bawei powder (pills). The quantitative method, combined with chemometrics and entropy weight-grey correlation degree method to analyze the comprehensive quality, provides a reference for the quality control and evaluation of this preparation. **Methods:** The analysis was conducted using a Shim-pack GIST-HP C₁₈ chromatographic column, with the mobile phase consisting of methanol (A) and a 0.1% formic acid aqueous solution (B). A gradient elution was employed at a column temperature of 35 °C, with an injection volume of 3 μL. Weisenxin platform was used for cluster analysis (CA), SIMCA 14.1 software was used for principal component analysis (PCA) and orthogonal partial least squares discriminant analysis (OPLS-DA), and the compounds with variable important in projection (VIP) value greater than 1.0 were used as the criterion to screen quality differences. The entropy weight-correlation degree method was used to analyze the comprehensive quality. **Results:** The linear relationship of the 15 components was good in their respective ranges, and the linear correlation coefficient was greater than or equal 0.9990. Precision RSD were all lower than 3.00%. The stability and repeatability were good, RSD lower than 5.00%; The average recoveries were 93.62% ~ 105.10%, and RSD was 1.18% ~ 4.37%. CA and PCA analysis classified 14 batches of Qingxin Chenxiang Bawei powder (pills) into 2 categories: manufacturers D (D1 ~ D4) were grouped into one group, manufacturers A and M (A1 ~ A4, M1 ~ M6) were grouped into one group. Six difference markers were screened in OPLS-DA mode, which were *D*-(-)-quinic acid, agaritol, 2-(2-phenylethyl) chromone, dehydrodiisoeugenol, bergamolactone and quercetin, respectively. A2 has the best comprehensive quality. **Conclusion:** The established HPLC-MS/MS method for the simultaneous determination of 15 components in Qingxin Chenxiang Bawei powder (pill) can be used for the comprehensive quality study of Qingxin Chenxiang Bawei powder (pill) combined with chemometrics and entropy weight correlation degree method.

[Key words] Qingxin Chenxiang Bawei powder (pill); HPLC-MS/MS; stoichiometry; entropy weight-grey relational degree method; quality control; quality evaluation

清心沉香八味制剂目前在市面上有散剂和丸剂(水丸)2种剂型,原方收载于《中华人民共和国卫生部药品标准》(蒙药分册),由沉香、广枣、檀香、紫檀香、红花、肉豆蔻、天竺黄和北沙参八味药组成,是蒙医临床常用药物之一^[1],具有清肺、理气、镇静安神等功效,主要适用于治疗心肺火盛、胸闷不适、心慌气短等“赫依”性病证^[2]。《中国医学百科全书·蒙医学》认为“赫依”是诱发疾病的主要原因,“赫依性疾病”是赫依偏盛导致功能紊乱引起的诸病总称。方中沉香,味辛、盖,性凉,清热止痛、利呼吸,以抑赫依为主要功效^[3];现代研究表明,沉香具有镇静催眠、镇痛、抗心肌缺血等药理活性^[4],为主药。广枣具有行气活血、安神养心之功,可镇赫依^[5];紫檀香具有消肿止痛、清热活血之功,以调节赫依血相证^[6];红花具有清热、活血止痛、滋养正精之功,可清赫依之热^[7];肉豆蔻则有调胃火、消食开胃之功,可祛赫依^[8];四药皆为辅药,共辅主药纠正赫依偏盛。檀香能清肺热,北

沙参可止咳化痰^[9],二药共为助药。诸药合用共同发挥清肺理气、镇静安神之功,此方为治疗赫依性疾病的良药。

目前,关于清心沉香八味制剂的质量研究主要以单一成分研究为主^[10-11]。复方药物具有多成分、多靶点和多作用途径的特点^[12],因此有必要建立一个客观多成分的综合质量标准,不仅有利于对该制剂深入研究,亦有助于临床用药安全和推广。

HPLC-MS/MS在多反应监测模式(multiple reaction monitoring, MRM)下具有简便快捷、灵敏度高、选择性高等特点^[13]。化学计量学能够建立复杂模型,综合分析对质量控制具有显著贡献的主要成分^[14]。嫡权-灰色关联分析可对各指标的综合评判值进行直观表达,避免主观判断影响数据客观性^[15]。基于此,本研究采用 HPLC-MS/MS 技术同时测定清心沉香八味制剂中甜菜碱、沉香四醇、佛手柑内酯、2-(2-苯乙基)色酮、去氢二异丁香酚、*D*-

(-)-奎尼酸、没食子酸、原儿茶酸、羟基红花黄色素 A、芦丁、异槲皮苷、鞣花酸、槲皮素、木犀草素和芹菜素 15 个成分的含量,并结合化学计量学与熵权-灰色关联度法对 14 批清心沉香八味制剂进行综合质量分析,旨在为该制剂的质量控制与评价提供科学依据。

材 料

1 仪器

LC-MS 8045 型高效液相色谱-三重四极杆质谱联用仪,配备电喷雾离子源和 LC-20AD 型输液泵(日本岛津公司);AUW120D 型十万分之一电子天平(日本岛津公司);BSA224S 型万分之一天平(赛多利斯科学仪器有限公司);KQ5200E 型超声波清洗器(广州博勒泰科有限公司)。

2 试药

收集 3 个厂家共 14 批次清心沉香八味散(丸),分别为 A 厂家散剂(批号:210930,210739,230709,230506,编号:A1~A4)、D 厂家丸剂(批号:220507,220706,220814,221101,编号:D1~D4)、M 厂家散剂(批号:2306053,2304007,2210003,2211010,2112012,2303024,编号:M1~M6),A 厂家和 M 厂家散剂规格均为 3 g·袋⁻¹,D 厂家丸剂规格为 1 g·8 粒⁻¹。以上样品制法根据《中华人民共和国卫生部药品标准》(蒙药分册),将处方中八味药粉碎成细粉,过筛,混匀(散剂按剂量分装即可),用凉开水泛丸,打光,干燥,约 400 粒·50 g⁻¹。

对照品甜菜碱(批号:BWJ4343-2016,纯度≥98.5%)、佛手柑内酯(批号:BW50402,纯度≥98.3%)、2-(2-苯乙基)色酮(批号:CFN91849,纯度≥98.4%)、去氢二异丁香酚(批号:BW50280,纯度≥98.2%)、D-(-)-奎尼酸(批号:BW50280,纯度≥98.2%)、原儿茶酸(批号:BWC9078-2016,纯度≥98.6%)、芦丁(批号:BWC9016-2016,纯度≥98.5%)、异槲皮苷(批号:BW50378,纯度≥98.4%)、鞣花酸(批号:BWC9075-2016,纯度≥98.4%)、槲皮素(批号:BWC9014-2016,纯度≥98.85%)、木犀草素(批号:BWC9083-2016,纯度≥98.5%)均购自伟业计量有限公司;对照品沉香四醇(批号:111980-201904,纯度≥98.6%)、羟基红花黄色素 A(批号:111637-202412,纯度≥98.1%)、没食子酸(批号:110831-202407,纯度≥98.3%)、芹

菜素(批号:111901-202205,纯度≥98.4%)均购自中国食品药品检定研究院;色谱纯甲醇(美国 Thermo fisher 公司);质谱纯甲酸(上海起发生物科技有限公司);蒸馏水(屈臣氏有限公司)。

方法与结果

1 对照品溶液的制备

分别取适量甜菜碱、沉香四醇、佛手柑内酯、2-(2-苯乙基)色酮、去氢二异丁香酚、D-(-)-奎尼酸、没食子酸、原儿茶酸、羟基红花黄色素 A、芦丁、异槲皮苷、鞣花酸、槲皮素、木犀草素、芹菜素,精密称定,置于不同 10 mL 量瓶中,用甲醇溶解定容至刻度,配制成浓度分别为 0.549,0.285,0.360,0.294,0.300,0.717,0.323,0.275,0.495,0.565,0.333,0.685,0.326,0.320,0.316 mg·mL⁻¹的对照品母液,分别精密量取各对照品母液适量置于同一 10 mL 量瓶中,用甲醇稀释至刻度,得到质量浓度分别为 713.70,3 990.00,4.32,735.00,300.00,14 340.00,1 162.80,467.50,6 682.50,113.00,66.60,548.00,27.97,6.40,13.27 ng·mL⁻¹的混合对照品溶液。

2 供试品溶液制备

取样品粉末适量(过 3 号筛),称取约 0.5 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入 75% 甲醇 8 mL,称定质量,超声处理(功率 250 W,频率 90 kHz) 55 min,放冷,再称定质量,用 75% 甲醇补足减失质量,摇匀,0.22 μm 有机滤膜过滤,滤液稀释 50 倍,即得。

3 色谱及质谱条件

Shim-pack GIST-HP C₁₈ 色谱柱(100 mm×2.1 mm, 3 μm);流动相为甲醇(A)-0.1% 甲酸的水溶液(B),梯度洗脱(0.01~0.9 min,10%~22% A;0.9~1.2 min,22%~45% A;1.2~3 min,45%~60% A;3.0~5.5 min,60%~78% A;5.5~6.2 min,78%~95% A;6.2~6.7 min,95% A;6.7~7.51 min,95%~10% A;7.51~9.5 min,10% A);体积流量 0.25 mL·min⁻¹;柱温 35℃;进样量 3 μL。质谱采用电喷雾离子源(electrospray ionization,ESI),正、负离子扫描;MRM 模式,分段采集;喷雾电压为 3.80 kV(+)和 3.50 kV(-),雾化气体积流量为 3 L·min⁻¹;加热气体积流量为 10 L·min⁻¹;接口温度为 300℃;脱溶剂温度为 526℃;加热块温度为 400℃。各成分质谱参数见表 1。

表 1 各成分质谱参数

编号	成分	t_R /min	母离子 m/z	子离子 m/z	碰撞能量/eV
1	甜菜碱	1.119	118.1[M + H] ⁺	58.1[M + H - C ₂ H ₄ O ₂] ⁺	-27
2	沉香四醇	4.399	319.2[M + H] ⁺	301.1[M + H - H ₂ O] ⁺	-15
3	佛手柑内酯	6.846	217.2[M + H] ⁺	202.0[M + H - CH ₃] ⁺ /174.0[M + H - CO] ⁺	-22/-30
4	2-(2-苯乙基)色酮	7.895	251.3[M + H] ⁺	160.0[M + H - C ₇ H ₈] ⁺	-24
5	去氢二异丁香酚	8.313	327.2[M + H] ⁺	203.0[M + H - C ₇ H ₈ O ₂] ⁺ /188.1[M + H - C ₈ H ₁₁ O ₂] ⁺	-14/-20
6	D-(-)-奎尼酸	1.164	191.2[M - H] ⁻	127.0[M - H - CH ₄ O ₃] ⁻	19
7	没食子酸	2.370	169.3[M - H] ⁻	125.0[M - H - C ₂ H ₃ O] ⁻	16
8	原儿茶酸	3.078	153.3[M - H] ⁻	109.1[M - H - CO ₂] ⁻	17
9	羟基红花黄色素 A	3.359	611.3[M - H] ⁻	491.2[M - H - C ₄ H ₈ O ₄] ⁻	26
10	芦丁	4.862	609.2[M - H] ⁻	300.0[M - H - C ₁₂ H ₁₉ O ₉] ⁻	40
11	异槲皮苷	4.934	463.2[M - H] ⁻	300.0[M - H - C ₆ H ₁₁ O ₅] ⁻	28
12	鞣花酸	5.187	301.0[M - H] ⁻	284.1[M - H - H ₂ O] ⁻	31
13	槲皮素	5.899	301.0[M - H] ⁻	151.1[M - H - C ₈ H ₆ O ₃] ⁻	22
14	木犀草素	6.162	285.3[M - H] ⁻	133.0[M - H - C ₇ H ₄ O ₄] ⁻	36
15	芹菜素	6.789	269.0[M - H] ⁻	117.0[M - H - C ₇ H ₄ O ₄] ⁻	34

4 线性关系考察

精密量取上述混合对照品溶液 250, 500, 1 000, 2 000, 3 000 和 4 000 μL , 分别置于不同 5 mL 容量瓶中, 甲醇稀释至刻度线, 再精密量取混合对照品

溶液适量, 于“3”项下条件进样分析。以对照品进样浓度为横坐标(x), 峰面积为纵坐标(y)进行回归分析, 15 个成分在各自范围内线性关系良好, 见表 2。

表 2 清心沉香八味散(丸)中 15 个成分的线性关系考察结果

编号	成分	回归方程	r	线性范围 / $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$	定量下限 / $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$	检测下限 / $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$
1	甜菜碱	$y = 5.226 \times 10^4 x + 5.128 \times 10^5$	0.999 5	35.69 ~ 713.70	1.70	0.56
2	沉香四醇	$y = 2.349 \times 10^4 x + 2.892 \times 10^5$	0.999 6	199.50 ~ 3 990.00	5.84	1.93
3	佛手柑内酯	$y = 8.377 \times 10^4 x + 4.380 \times 10^3$	0.999 0	0.13 ~ 4.32	0.04	0.01
4	2-(2-苯乙基)色酮	$y = 3.076 \times 10^4 x + 8.689 \times 10^4$	0.999 7	36.75 ~ 735.00	0.76	0.25
5	去氢二异丁香酚	$y = 3.152 \times 10^4 x + 8.205 \times 10^4$	0.999 6	15.00 ~ 300.00	0.24	0.08
6	D-(-)-奎尼酸	$y = 8.270 \times 10 x - 2.792 \times 10^4$	0.999 3	717.00 ~ 14 340.00	21.62	7.14
7	没食子酸	$y = 1.040 \times 10^3 x - 2.151 \times 10^3$	0.999 9	58.14 ~ 1 162.80	10.98	3.62
8	原儿茶酸	$y = 2.178 \times 10^3 x - 7.376 \times 10^3$	0.999 8	23.38 ~ 467.50	2.51	0.83
9	羟基红花黄色素 A	$y = 3.576 \times 10^2 x + 1.145 \times 10^4$	0.999 0	344.13 ~ 6 682.50	16.24	5.36
10	芦丁	$y = 5.123 \times 10^4 x - 1.889 \times 10^4$	0.999 8	5.65 ~ 113.00	0.36	0.12
11	异槲皮苷	$y = 8.937 \times 10^3 x - 1.651 \times 10^3$	0.999 8	3.33 ~ 66.60	0.23	0.08
12	鞣花酸	$y = 1.647 \times 10^2 x - 6.847 \times 10^3$	0.999 1	27.40 ~ 548.00	2.78	8.22
13	槲皮素	$y = 6.375 \times 10^3 x - 5.596 \times 10^3$	0.999 2	1.40 ~ 27.97	0.38	0.13
14	木犀草素	$y = 9.767 \times 10^3 x - 1.879 \times 10^3$	0.999 2	0.32 ~ 6.40	0.04	0.01
15	芹菜素	$y = 1.275 \times 10^4 x - 2.349 \times 10^3$	0.999 6	0.66 ~ 13.27	0.14	0.03

5 精密度实验

精密量取混合液 3 000 μL ,置于 5 mL 容量瓶中,甲醇稀释至刻度线,于“3”项下条件分别测定 6 次,计算得上述 15 个成分峰面积 RSD 分别为 0.94%,1.61%,1.13%,1.40%,1.22%,0.58%,2.82%,0.63%,0.63%,2.54%,2.64%,1.97%,1.70%,2.89%和 2.65%,表明仪器精密度良好。

6 重复性实验

取 M1 号样品(批号:2306053)6 份,按“2”项下方法制备供试品溶液,于“3”项下条件分别进样分析,计算得上述 15 个成分平均含量分别为 42.43,1 572.99,0.19,203.40,82.95,3 979.67,150.08,90.21,1 786.16,16.47,5.10,100.41,3.82,0.95 和 0.97 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,RSD 分别为 0.82%,0.41%,1.51%,1.00%,1.97%,0.88%,1.78%,1.26%,1.71%,2.22%,1.94%,2.88%,3.99%,2.11%和 2.99%,表明该方法具有良好的重复性。

7 稳定性实验

取 M1 号样品,按“2”项下方法制备供试品溶液,于“3”项下条件在 0,2,4,8,12,24 h 时进

样分析,计算得上述 15 个成分峰面积 RSD 分别为 0.68%,0.26%,2.00%,1.17%,3.43%,1.04%,1.93%,1.11%,0.82%,2.33%,1.59%,4.23%,2.39%,3.49%和 3.04%,表明样品溶液在 24 h 内具有良好稳定性。

8 加样回收实验

称取已知成分含量的 M1 号样品 6 份,每份约 0.250 0 g,分别按样品中成分浓度质量约 100% 的比例加入对照品,按“2”项下方法制备供试品溶液,于“3”项下条件分别进样测定,计算得上述 15 个成分平均加样回收率分别为 99.47%,96.41%,103.56%,95.88%,92.41%,93.90%,97.58%,101.23%,98.43%,94.4%,102.23%,102.10%,93.62%,103.71%和 105.1%,RSD 分别为 3.32%,1.81%,4.17%,3.39%,3.64%,1.56%,2.63%,2.37%,1.76%,3.23%,3.48%,3.33%,4.37%,4.11%和 3.34%。

9 样品含量测定

取 14 批清心沉香八味散(丸),按“2”项下方法制备供试品溶液,于“3”项下条件进样测定,计算上述 15 个成分含量,结果见表 3。

表 3 清心沉香八味散(丸)中 15 个成分的含量测定结果

$\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, $n=3$

编号	甜菜碱	沉香四醇	佛手柑内酯	2-(2-苯乙基)色酮	去氢二异丁香酚	D-(-)-奎尼酸	没食子酸	原儿茶酸
A1	56.24	1 794.58	0.32	200.48	94.80	2 714.08	130.32	149.94
A2	54.97	1 885.54	0.60	209.73	78.89	2 486.45	121.36	132.04
A3	60.44	1 737.72	0.21	242.89	73.53	4 052.21	192.69	44.64
A4	68.98	1 800.20	0.31	238.16	86.82	4 067.06	200.62	56.73
D1	92.65	331.53	0.40	94.82	110.76	3 448.95	337.40	121.42
D2	119.39	375.18	0.25	117.69	84.18	4 068.57	369.77	85.73
D3	129.75	471.29	0.26	123.91	87.31	4 045.40	346.56	91.02
D4	126.95	466.71	0.25	123.52	89.04	4 065.74	352.38	91.20
M1	44.89	1 574.42	0.19	206.15	84.14	3 972.52	154.87	93.65
M2	69.98	1 459.75	0.24	140.86	56.22	4 176.40	200.70	100.00
M3	85.60	1 331.22	1.09	199.72	72.96	4 043.46	149.11	108.55
M4	80.46	1 295.72	1.06	198.34	70.56	3 937.78	145.20	106.72
M5	56.16	1 789.32	1.02	226.05	63.87	3 775.95	132.23	70.37
M6	47.25	1 372.62	0.23	184.87	76.82	4 009.66	150.63	98.57
含量范围	44.89~129.75	331.53~1 885.54	0.19~1.09	94.82~242.89	56.22~110.76	3 448.95~4 176.40	121.36~369.77	44.64~149.94
mean	78.12	1 263.27	0.46	179.09	80.71	3 776.02	213.13	96.47
SD	29.15	590.39	0.34	48.98	13.56	530.02	94.36	27.93

编号	羟基红花黄色素 A	芦丁	异槲皮苷	鞣花酸	槲皮素	木犀草素	芹菜素
A1	2 466.28	21.37	5.15	103.84	4.34	1.36	1.73
A2	1 468.68	18.81	5.56	102.18	4.73	1.32	1.14
A3	2 001.71	26.13	8.35	95.62	6.34	1.36	1.00
A4	1 582.06	23.41	6.55	103.33	5.81	1.32	1.32
D1	924.13	12.69	8.29	81.09	6.10	1.78	2.41
D2	1 364.09	13.99	11.67	82.00	8.28	2.04	1.87
D3	1 341.46	18.06	12.56	84.93	8.15	1.96	1.64
D4	1 226.57	16.35	11.96	86.40	8.41	2.06	1.76
M1	1 794.68	17.13	5.19	97.57	3.93	0.98	0.95
M2	1 790.14	20.02	6.21	127.36	4.25	2.08	2.99
M3	2 073.29	31.39	10.33	100.81	5.13	1.23	1.37
M4	2 029.10	31.10	9.99	100.94	5.07	1.18	1.37
M5	2 069.02	27.87	6.62	118.86	3.88	1.08	1.01
M6	1 751.07	19.57	5.76	101.80	3.73	1.24	1.23
含量范围	924.13 ~ 2 466.28	12.69 ~ 31.39	5.15 ~ 12.56	81.09 ~ 127.36	3.73 ~ 8.41	0.98 ~ 2.08	0.95 ~ 2.99
mean	1 705.88	21.28	8.16	99.05	5.58	1.50	1.56
SD	412.89	5.95	2.68	13.14	1.67	0.39	0.58

10 化学计量学-质量控制

10.1 聚类分析 (cluster analysis, CA)

将 14 批样品中 15 个成分的含量数据导入微生信平台进行 CA 分析,采用完全聚类法,距离度量方法设定为欧氏距离^[16],结果见图 1。以成分

含量表达量为指标可以聚为两大类:A 厂家和 M 厂家(A1 ~ A4, M1 ~ M4)聚为第一类,D 厂家(D1 ~ D4)聚为第二类,说明 A 厂家和 M 厂家样品间质量具有一致性,三厂家整体质量具有一定差异。

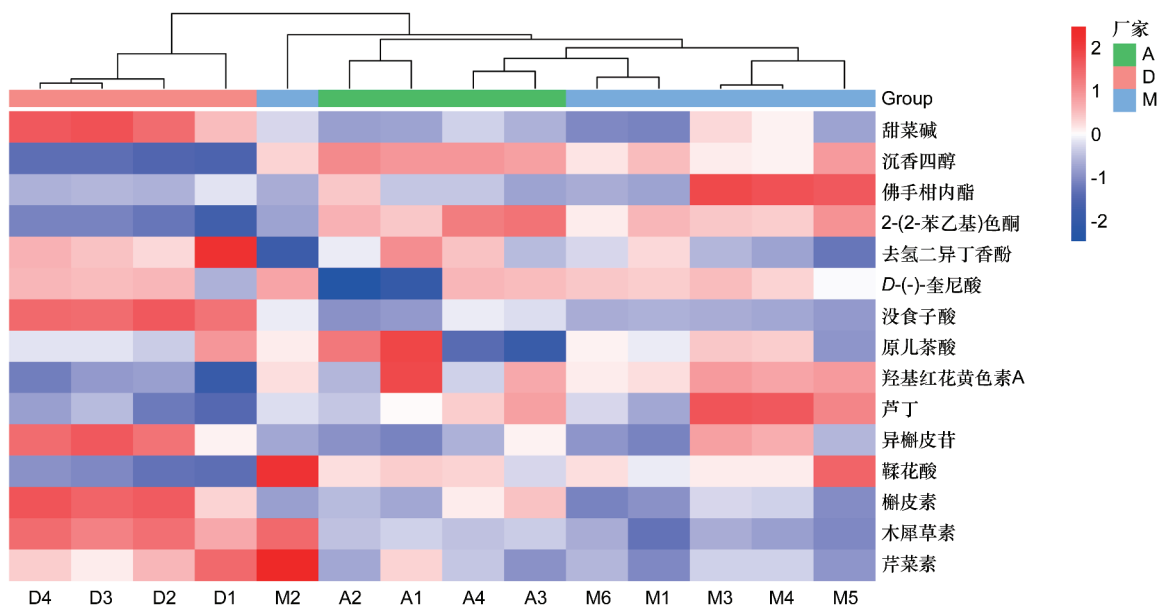


图 1 14 批清心沉香八味散(丸)成分含量聚类热图分析

10.2 主成分分析 (principal component analysis, PCA)

为探究质量差异,以 14 批清心沉香八味散(丸)15 个成分的含量为变量,导入 SIMCA 14.1 软

件中进行无监督判别 PCA 分析,结果见图 2。样品 A1 ~ A4, M1 ~ M4 与样品 D1 ~ D4 分离明显, A 厂家内部样品间明显离散性较大,表明 A 厂家质量差异较大。

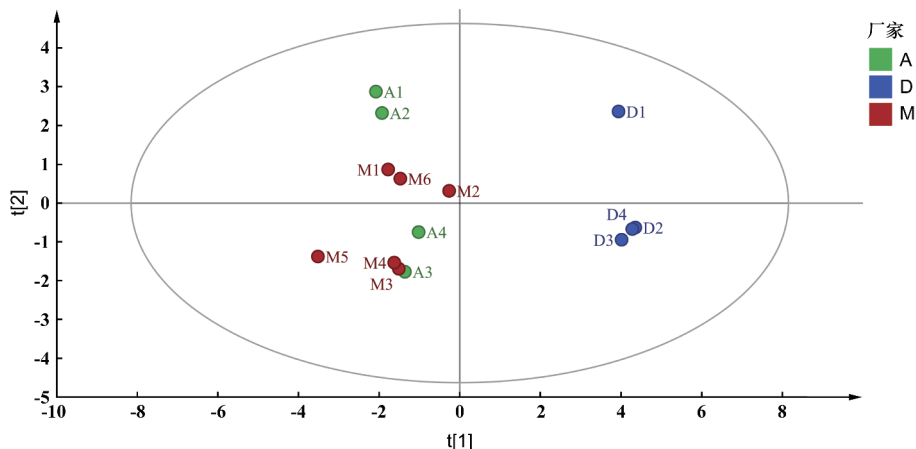


图 2 14 批清心沉香八味散(丸)样品成分含量 PCA 得分图

10.3 正交偏最小二乘法-判别分析 (orthogonal partial least squares discriminant analysis, OPLS-DA)

为了降低与组别无关变量的影响,并能更好地获得样品组间的差异来源信息,采用 SIMCA 14.1 软件的有监督模式进行 OPLS-DA,进一步分析 14 批样品质量,构建的模型累计解释能力参数 R^2X 为 0.937, R^2Y 为 0.964, 预测能力参数 Q^2 (cum) 为 0.768, 以上 3 个参数均 >0.5 , 表明此模型具有良好的解释能力^[17], 见图 3。结果表明, A1 ~ A4 和 M1 ~

M4, D1 ~ D4 分别聚为一类,且聚类效果更明显,其结果与 CA 和 PCA 分析结果相同,进一步说明样品间存在质量差异。为筛选出导致样品差异的主要成分,以变量权重值(variable importance in projection, VIP) >1 为标准筛选质量差异物^[18]。由图 4 可知,共筛选出 6 个质量差异物,分别为 D-(-)-奎尼酸、沉香四醇、2-(2-苯乙基)色酮、去氢二异丁香酚、佛手柑内酯和槲皮素,即该 6 个成分是造成 14 批样品质量差异的主要成分。

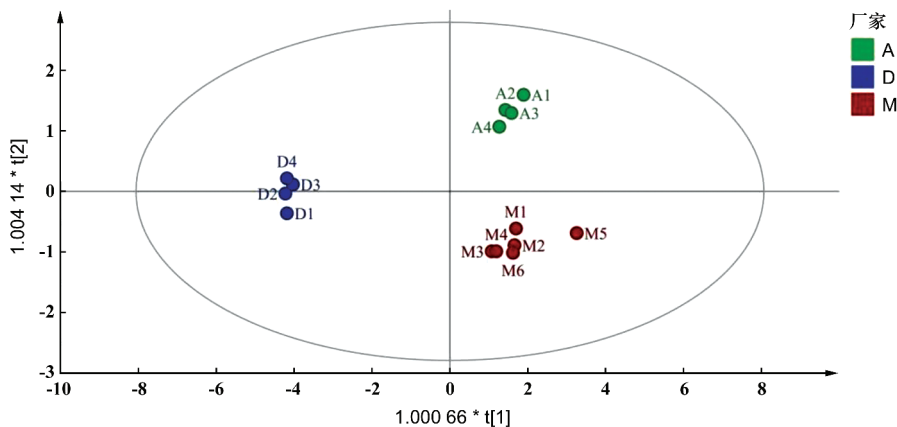
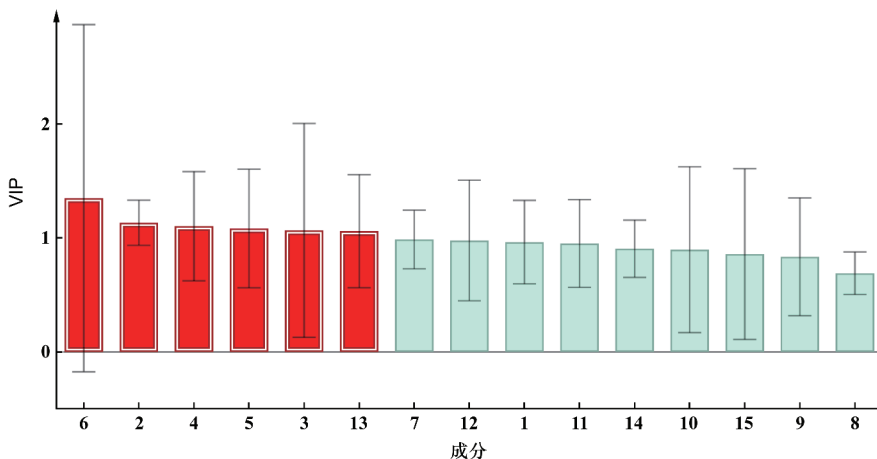


图 3 14 批清心沉香八味散(丸)样品成分含量 OPLS-DA 得分图



1:甜菜碱;2:沉香四醇;3:佛手柑内酯;4:2-(2-苯乙基)色酮;5:去氢二异丁香酚;6:*D*-(-)-奎尼酸;7:没食子酸;
8:原儿茶酸;9:羟基红花黄色素 A;10:芦丁;11:异槲皮苷;12:鞣花酸;13:槲皮素;14:木犀草素;15:芹菜素

图 4 14 批清心沉香八味散(丸)样品成分含量 VIP 图

11 熵权-灰色关联-质量评价

11.1 熵权法计算权重 (W_i)

熵权法可通过衡量每个指标的信息熵 (E_j) 自动确定各指标 W_i ,从而避免主观赋权的偏差。其中 E_j 衡量指标的“信息不确定性”或“离散性”, E_j 越大,指标的变化越分散,意味着该指标对评估贡献越小, W_i 越小; E_j 越小,指标变化越集中,贡献越大, W_i 越大。计算方法如下。

11.1.1 无量纲化处理 假设有 a 个评价对象, b 个评价指标(本研究中 $a = 14, b = 15$), x_{ij} 为第 i 个评价对象下的第 j 个评价指标所对应的数据 ($i = 1, 2,$

$\dots, a; j = 1, 2, \dots, b$),按如下公式进行分析。

$$y_{ij} = \frac{x_{ij} - \min(x_j)}{\max(x_j) - \min(x_j)} \quad \text{公式(1)}$$

11.1.2 计算 E_j 值与 W_i 值 按如下公式计算 E_j 值

和 W_i 值(结果见表 4),其中 $P_{ij} = \frac{y_{ij}}{\sum_{i=1}^m y_{ij}}$,若 $P_{ij} = 0$, 则定义 $\ln P_{ij} = 0$ 。

$$E_j = -\frac{1}{\ln n} \sum_{i=1}^n P_{ij} \ln P_{ij} \quad \text{公式(2)}$$

$$W_i = \frac{1 - E_j}{\sum_{i=1}^m (1 - E_j)} \quad \text{公式(3)}$$

表 4 各成分 E_j 值与 W_i 值

评价指标	E_j	W_i	评价指标	E_j	W_i
甜菜碱	0.860	0.079	羟基红花黄色素 A	0.939	0.035
沉香四醇	0.899	0.057	芦丁	0.906	0.053
佛手柑内酯	0.742	0.145	异槲皮苷	0.843	0.089
2-(2-苯乙基)色酮	0.923	0.043	鞣花酸	0.891	0.061
去氢二异丁香酚	0.936	0.036	槲皮素	0.848	0.086
<i>D</i> -(-)-奎尼酸	0.952	0.027	木犀草素	0.890	0.062
没食子酸	0.814	0.105	芹菜素	0.845	0.087
原儿茶酸	0.936	0.036			

11.2 灰色关联度分析数据无量纲化

由于不同性质的指标可能对结果产生显著影响,因此在计算过程中需要去除量纲的影响,对数据进行规范化处理。按如下公式进行计算,其中 X_{ik} 为原始数据, X_k 为样品第 k 个指标均值。

$$Y_{ik} = X_{ik} / X_k \quad \text{公式(4)}$$

11.3 计算灰色关联系数

在计算母序列与特征序列之间的关联度时,首先选取最优参考序列(即所有样品中每个指标的最大值 Y_{sk})和最差参考序列(即所有样品中每个指标



的最小值 Y_{ik}), 则最优参考序列关联系数计算公式如下, 式中 ρ 为分辨系数, 本研究 ρ 值取表 4 中相关指标 W_i 值。

$$\xi_{k(s)} = \frac{\Delta_{\min} + \rho\Delta_{\max}}{|Y_{ik} - Y_{sk}| + \rho\Delta_{\max}} \quad \text{公式(5)}$$

$$\Delta_{\min} = \Delta_{\min} |Y_{ik} - Y_{sk}| \quad \text{公式(6)}$$

$$\Delta_{\max} = \Delta_{\max} |Y_{ik} - Y_{sk}| \quad \text{公式(7)}$$

最差参考序列关联系数计算公式为:

$$\xi_{k(t)} = \frac{\Delta_{\min} + \rho\Delta_{\max}}{|Y_{ik} - Y_{tk}| + \rho\Delta_{\max}} \quad \text{公式(8)}$$

$$\Delta_{\min} = \Delta_{\min} |Y_{ik} - Y_{tk}| \quad \text{公式(9)}$$

$$\Delta_{\max} = \Delta_{\max} |Y_{ik} - Y_{tk}| \quad \text{公式(10)}$$

11.4 关联度及相对关联度

最优参考序列关联度和最差参考序列关联度计

算公式分别为:

$$r_{i(s)} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \xi_{k(s)} \quad \text{公式(11)}$$

$$r_{i(t)} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \xi_{k(t)} \quad \text{公式(12)}$$

指标相对关联度计算公式为:

$$r_i = \frac{r_{i(s)}}{r_{i(s)} + r_{i(t)}} \quad \text{公式(13)}$$

根据指标相对关联度大小对评价对象进行排名, 结果见表 5。A 厂家中 A2 综合质量最好, A 厂家、D 厂家、M 厂家相对关联度分别为 0.470 ~ 0.523, 0.496 ~ 0.504 和 0.458 ~ 0.463, 提示 A 厂家质量差异程度最大。

表 5 14 批清心沉香八味散(丸)相对关联度及质量排名

编号	最差关联度	最优关联度	相对关联度	质量排名	编号	最差关联度	最优关联度	相对关联度	质量排名
A1	0.765	0.729	0.488	6	M1	0.735	0.631	0.462	12
A2	0.693	0.759	0.523	1	M2	0.749	0.634	0.458	13
A3	0.751	0.636	0.458	14	M3	0.719	0.645	0.473	8
A4	0.732	0.648	0.470	9	M4	0.718	0.647	0.474	7
D1	0.761	0.773	0.504	3	M5	0.745	0.642	0.463	10
D2	0.751	0.739	0.496	5	M6	0.733	0.632	0.463	11
D3	0.712	0.707	0.498	4					
D4	0.715	0.728	0.504	2					

讨 论

1 指标成分的选择

为保证研究的科学性, 所选成分指标参考了《中华人民共和国药典》2020 年版一部, 其中明确规定了沉香、广枣、红花、肉豆蔻的含量测定指标分别为沉香四醇、没食子酸、羟基红花黄色素 A 和去氢二异丁香酚, 其他成分指标则参考了相关文献研究^[19-22]。

2 色谱-质谱条件的优化

本研究中 15 个待测成分在不同流动相条件下分离效果和色谱强度皆不相同, 由此课题组考察了不同流动相(甲醇-0.1% 甲酸水、甲醇-0.2% 甲酸水)对实验结果的影响, 结果表明当流动相为甲醇-0.1% 甲酸水时各成分色谱峰峰形最优、分离度最好; 在对待测成分质谱条件考察时, 由于甜菜碱为叔胺碱类化合物带有较强的电负性, 即有较强的接受质子能力^[23], 为了得到更高响应度的色谱峰选择正离子模式分析甜菜碱。为全面分析各化合物, 本研

究采用 MRM 和正负离子模式扫描, 之后经电压优化, 选择响应度更高的参数作为化合物最终质谱参数进行分析。

3 结果分析

在清心沉香八味散(丸)综合质量研究中, 以 15 个成分的含量为指标, 首先采用 CA, PCA 和 OPLS-DA 对 3 个厂家 14 批次样品进行了全面质量分析。结果显示, 14 批次样品可以分为两大类(D 厂家聚为第一类, A 厂家和 M 厂家聚为第二类)。为了进一步探讨质量差异的来源, 以 OPLS-DA 模式分析, VIP 值 > 1 作为标准, 筛选出 6 个质量差异物, 分别为 D-(-)-奎尼酸、沉香四醇、2-(2-苯乙基)色酮、去氢二异丁香酚、佛手柑内酯、槲皮素。鉴于此制剂在《中华人民共和国卫生部药品标准》(蒙药分册)中并没有含量测定项, 因此可将这 6 个质量差异物作为含量测定项指标, 为该药的生产质量控制提供参考依据。在质量评价研究中, 熵权法通过客观赋权避免了主观判断误差, 灰色关联度分析则可利用

已知信息预测和解释未知信息^[24]。从结果可知,A 厂家、D 厂家、M 厂家相对关联度分别在 0.470 ~ 0.523,0.496 ~ 0.504 和 0.458 ~ 0.463,A 厂家中 A2 综合质量最好,但该厂家的相对关联度范围较大,与 PCA 分析中样品间离散性结果一致,说明其质量均一性较差。相对关联度结果与化学计量分析中聚类结果大致相同,亦进一步验证了前者的准确性,若以剂型和厂家为单位,则 D 厂家质量均一性最好,综合质量最好,后续课题组将继续增大样本量以探究综合质量是否与剂型或不同厂家制备工艺有关。

综上所述,本研究采用 HPLC-MS/MS 法同时测定清心沉香八味散(丸)中 15 个成分的含量,具有快速分析、专属性强和稳定性强的特点,结合化学计量学与熵权-关联度法可用于清心沉香八味散(丸)综合质量分析,为其质量控制与评价提供科学依据。

[参 考 文 献]

[1] 孙德俊,布仁巴图,刘晓玲,等.蒙药组方治疗慢阻肺的临床疗效比较[J].科技导报,2022,40(23):58-65.

[2] 萨仁额日登,关乌日汉,斯钦毕力格,等.基于蒙药清心沉香八味散组方对慢性心力衰竭的作用机制探讨[J].中国民族医药杂志,2023,29(7):68-70.

[3] 蔡明阳.从 TRPV1/NMDAR 介导的兴奋性毒性探讨蒙药扎冲十三味丸对 AIS 的神经保护机制[D].北京:北京中医药大学,2023.

[4] 何国浩,杨云,曾琳,等.基于 Citespace 和 VOSviewer 可视化分析沉香研究的发展态势[J].中草药,2024,55(20):7033-7046.

[5] 王艳芳,宋宽,宋昭赫,等.蒙药清心沉香八味散对急性抑郁模型小鼠行为学及单胺类神经递质的影响[J].包头医学院学报,2023,39(11):92-96.

[6] 关乌日汉,图门乌力吉.浅谈蒙药清心-8 味散治疗慢性心力衰竭的优势[J].中国民族医药杂志,2019,25(7):50-51.

[7] 小红,刘芝,伊拉娜,等.乌达巴拉-8 味散抑制博来霉素致小鼠特发性肺纤维化的研究[J].内蒙古民族大学学报(自然科学版),2023,38(3):247-252.

[8] 蔡明阳.从 TRPV1/NMDAR 介导的兴奋性毒性探讨蒙药扎

冲十三味丸对 AIS 的神经保护机制[D].北京:北京中医药大学,2023.

[9] 纪明月,其其格,席琳图雅,等.蒙古族药预防新型冠状病毒肺炎组方规律分析[J].中国中药杂志,2020,45(13):3013-3019.

[10] 那顺白乙拉,孟和.HPLC 法测定清心沉香八味散中沉香四醇的含量[J].中国民族民间医药,2017,26(12):11-13.

[11] 陈秀勤,林燕,康双龙,等.反相高效液相色谱法测定蒙成药八味清心沉香散中没食子酸的含量[J].中国民族医药杂志,2003,9(4):43-44.

[12] 任婕,梁金燕,万倩芸,等.中医药传承及其创新发展的思考[J].时珍国医国药,2020,31(7):1689-1691.

[13] 刘成东,杨利,陈佳惠,等.基于指纹图谱和化学计量学的冠心七味片质量控制研究[J].药学报,2025,60(4):1115-1123.

[14] 李惠敏,李凤超,高必兴,等.基于 HPLC 指纹图谱及化学模式识别对比研究曲花紫菀及同属药材[J].中草药,2024,55(5):1709-1716.

[15] 李雨昕,邢娜,白浩东,等.基于熵权法的灰色关联法-TOPSIS 法对不同产地三七及其炮制品质量的评价研究[J].中草药,2023,54(4):1252-1259.

[16] 杨萍,郑丽慧,乐琳,等.基于指纹图谱和化学计量学的 HPLC 指纹图谱化学模式识别分析[J].中国新药杂志,2024,33(20):2169-2177.

[17] 李军鸽,邱智东,赵莹,等.基于指纹图谱的黄连解毒汤 8 种指标成分含量测定及多元统计分析[J].中国新药杂志,2022,31(15):1524-1530.

[18] 李文莉,李军鸽,朱凯,等.基于指纹图谱的加味葛根颗粒 6 种指标成分含量测定及多元统计分析[J].中国新药杂志,2024,33(9):934-941.

[19] 杨璐萌,杨凌鉴,贾璞,等.基于 HPLC-Q-TOF-MS/MS 的广枣果肉化学成分分析[J].第二军医大学学报,2016,37(2):159-166.

[20] 秦伟瀚,阳勇,李卿,等.基于植物代谢组学方法的天然黄天然品与合成品间化学成分差异研究[J].中草药,2020,51(17):4411-4418.

[21] 安莹,张姗姗,张云,等.北沙参化学成分、药理作用研究进展及质量标志物(Q-Marker)预测[J].中草药,2024,55(2):640-656.

[22] 杨桃云,李薇,陈惠琴,等.菲律宾产丝沉香中 2-(2-苯乙基)色酮二聚体及其胃黏膜保护活性[J].中草药,2024,55(24):8321-8327.

[23] 孙全,王立娟,唐菱,等.基于多成分定量结合化学计量学评价青黛的质量[J].中国药房,2023,34(8):941-945.

[24] 冉淳莹,王杰,陈颖馨,等.特征图谱结合化学计量学与灰色关联度的川产枳壳药材质量评价[J].中国实验方剂学杂志,2023,29(22):121-127.

编辑:姚佳敏/接受日期:2025-04-23