

UPLC-MS/MS 法测定红参多指标成分分析结合化学计量学和熵权优劣解距离法评价参麦颗粒质量

刘亚茹^{1,2}, 雷蓉^{2*}, 苏建², 刘永利^{1,2*} (1. 河北医科大学, 石家庄 050017; 2. 河北省药品医疗器械检验研究院, 河北省中药质量评价与标准研究重点实验室, 石家庄 050227)

摘要:目的 建立超高效液相色谱-串联质谱(UPLC-MS/MS)法同时测定参麦颗粒中 14 个成分含量的方法,分析不同厂家红参投料的质量差异。方法 采用Shimadzu Shim-pack gist C₁₈ (2.1 mm × 100 mm, 2 μm) 色谱柱,以乙腈和水为流动相,同时测定 71 批参麦颗粒中 14 个皂苷类成分的含量,结合化学计量学分析影响参麦颗粒中红参投料差异的主要物质基础,并运用熵权优劣解距离法(EW-TOPSIS)对不同厂家参麦颗粒红参投料质量进行优劣性评价。结果 14 个成分在一定浓度范围内与峰面积呈良好线性关系($r \geq 0.9985$);平均加样回收率范围均为 95.6% ~ 105.0% [相对标准偏差(RSD) < 4.7%];经化学计量学以及熵权优劣解距离法分析可知,3 个厂家生产的样品分别聚为 3 类,其中 B 厂家投入红参质量整体较好,C 厂家红参投料存在掺伪现象。结论 该方法特异、灵敏、高效、可靠,可用于参麦颗粒的质量控制。

关键词:参麦颗粒;红参;质量评价;化学计量学;熵权优劣解距离法

doi:10.11669/cpj.2024.15.012 中图分类号:R282 文献标志码:A 文章编号:1001-2494(2024)15-1445-08

UPLC-MS/MS Multi-Index Component Analysis of Red Ginseng Combined with Chemometrics and EW-TOPSIS Method to Evaluate the Quality of Shenmai Granules

LIU Yaru^{1,2}, LEI Rong^{2*}, SU Jian², LIU Yongli^{1,2*} (1. Hebei Medical University, Shijiazhuang 050017, China; 2. Hebei Key Laboratory for Quality Evaluation and Standard of Traditional Chinese Medicine, Hebei Institute for Drug and Medical Device Control, Shijiazhuang 050227, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish a UPLC-MS/MS method for simultaneous determination of 14 components in Shenmai granules, and analyze the quality differences of red ginseng feed from different manufacturers. **METHODS** Shimadzu Shim-pack gist C₁₈ (2.1 mm × 100 mm, 2 μm) chromatographic column with acetonitrile-water as the mobile phase were used to determine the contents of 14 saponin components in 71 batches of Shenmai Granules. And then analyzed the main material basis affecting the difference in red ginseng feeding in Shenmai granules combined with chemometrics and evaluated the quality of red ginseng feeding in Shenmai granules from different manufacturers combined with EW-TOPSIS. **RESULTS** The concentrations of 14 components had a good linear relationship ($r \geq 0.9985$); and the average recovery rate was 95.6% - 105.0% (RSD < 4.7%). According to the analysis of chemometrics and EW-TOPSIS, the samples produced by the three manufacturers were grouped into three categories, among which the quality of red ginseng feeding by manufacturer B was generally good, and the red ginseng feeding by manufacturer C was adulterated. **CONCLUSION** This method is specific, sensitive, efficient, and reliable, and can be used for the quality control of Shenmai granules. **KEY WORDS:** Shenmai granule; red ginseng; quality evaluation; chemometrics; EW-TOPSIS

参麦颗粒是由红参、麦冬、南沙参、黄精、山药和枸杞子 6 味组成的中成药,具有养阴生津的功效,主要用于面黄肌瘦、津少口渴、腰膝酸软、食欲不振、头晕眼花、心悸气短、神经衰弱等疾病的治疗^[1]。参麦颗粒收载于中药成方制剂第十三册,原质量标准较为简单,仅有性状、理化鉴别和检查项,无法满足质量监管需求。文献报道中,仅 Tao 等^[2]采用高效

液相色谱法(HPLC)波长切换法同时测定参麦颗粒中尿囊素、原儿茶醛、儿茶素、表儿茶素、麦冬甲基黄烷酮 A 和甲基麦冬二氢高异黄酮 B 6 种成分的含量,并未控制方中红参的质量,而红参为方中君药,具有大补元气、复脉固脱、益气摄血的功效^[3-5],且市场上存在人参投料掺伪西洋参及其边角料的现象^[6-10]。为进一步有效控制参麦颗粒中红参的质

基金项目:中药有效性安全性评价及全过程质量控制研究项目资助(NMPAJGKX-2023-024)

作者简介:刘亚茹,女,硕士研究生 研究方向:药物分析 *通讯作者:雷蓉,女,硕士,高级工程师 研究方向:中药质量控制方法与质量评价 Tel:(0311)85212007-8042;刘永利,男,硕士,硕士生导师 研究方向:中药质量控制方法与质量评价 Tel:(0311)69086006

量,同时考察红参中是否也存在西洋参掺伪投料情况,本研究通过运用超高效液相色谱-串联质谱(UP-LC-MS/MS)法测定参麦颗粒中拟人参皂苷 F₁₁、人参皂苷 Rf、Ro、Rb₁、Rg₁、Re、Rd、Rb₂、Rb₃、Rg₂、Rg₃、Rc、Rh₁、三七皂苷 R₁等14个皂苷类成分的含量,其中拟人参皂苷 F₁₁为西洋参中特征性成分,结合化学计量学和熵权优劣解距离法分析不同厂家红参投料的质量差异及优劣,为参麦颗粒的质量评价与控制提供依据。

1 仪器和试剂

1.1 仪器

AB SCIEX Triple Quad 6500 型高效液相色谱-质谱联用仪,Analyst 1.6.3 工作站(美国 AB SCIEX 公司);XPE26 型电子天平(0.001 mg)、XS105DU 型电子天平(0.01 mg)(瑞士 Mettler-Toledo 公司);KQ-500DE 型超声波清洗器(昆山超声仪器有限公司);Agilent Bond Elut C₁₈柱(500 mg,6 mL,美国 Agilent 公司)。

1.2 试剂

对照品拟人参皂苷 F₁₁(批号:110841-201607,纯度 99.5%)、人参皂苷 Ro(批号:111903-202106,纯度 95.0%)、人参皂苷 Rb₁(批号:110704-202028,纯度 93.1%)、人参皂苷 Rg₁(批号:110703-202034,纯度 94.0%)、人参皂苷 Re(批号:110754-202028,纯度 93.9%)、人参皂苷 Rd(批号:111818-202104,纯度 97.3%)、人参皂苷 Rb₂(批号:111715-201203,纯度 93.8%)、人参皂苷 Rb₃(批号:111686-201504,纯度 97.0%)、20(S)-人参皂苷 Rg₂(批号:111779-200801)、人参皂苷 Rg₃(批号:110804-201504,纯度 99.5%)、三七皂苷 R₁(批号:110745-201619,纯度 95.0%)(中国食品药品检定研究院),人参皂苷 Rc(纯度 HPLC ≥ 98%)、人参皂苷 Rh₁(纯度 HPLC ≥ 98%)、人参皂苷 Rf(纯度 HPLC ≥ 98%)(上海抚生实业有限公司);乙腈为色谱纯;水为屈臣氏饮用水。

71 批次参麦颗粒样品抽自全国各地经营、使用单位,涉及 3 个厂家,其中 A 厂家样品 21 批次(S1 ~ S21),B 厂家样品 21 批次(S22 ~ S42),C 厂家样品 29 批(S43 ~ S71)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

采用 Shimadzu Shim-pack gist C₁₈(2.1 mm × 100 mm,2 μm)色谱柱,以乙腈为流动相 A,水为流动

相 B,梯度洗脱(0 ~ 2 min,20% → 33% A;2 ~ 10 min,33% → 37% A;10 ~ 17 min,37% → 80% A;17 ~ 20 min,80% → 90% A;20.1 ~ 25 min,20% A),流速为 0.35 mL · min⁻¹,柱温 40 °C,进样量为 5 μL。

2.2 质谱条件

采用电喷雾离子源(ESI),负离子模式下多反应离子监测(MRM),喷雾电压 -4 500 V,辅助气 1(N₂)5.0 × 10⁵ Pa,辅助气 2(N₂)5.0 × 10⁵ Pa,辅助气加热温度 500 °C,气帘气 3.7 × 10⁴ Pa,碰撞气(N₂)0.41 × 10⁵ Pa。各成分的质谱参数见表 1,MRM 图谱见图 1。

表 1 参麦颗粒各成分质谱参数

Tab. 1 Mass spectrometry parameters of various components in Shenmai granules

Compounds	Parent ion (<i>m/z</i>)	Daughter ion (<i>m/z</i>)	Declustering potential/V	Collision energy/V
Pseudoginsenoside F ₁₁	799.6	653.7	-20	-50
Ginsenoside Rf	799.6	637.6	-20	-45
Ginsenoside Ro	955.6	793.4	-44	-56
Ginsenoside Rb ₁	1 107.5	945.5	-20	-55
Ginsenoside Rg ₁	799.4	637.4	-20	-35
Ginsenoside Re	945.5	637.3	-20	-56
Ginsenoside Rd	945.5	783.5	-60	-52
Ginsenoside Rb ₂	1 077.6	783.4	-70	-69
Ginsenoside Rb ₃	1 077.6	783.5	-82	-67
Ginsenoside Rg ₂	783.6	475.5	-35	-48
Ginsenoside Rg ₃	783.5	621.4	-60	-42
Ginsenoside Rc	1 077.5	783.5	-20	-63
Ginsenoside Rh ₁	637.4	161.1	-27	-20
Notoginsenoside R ₁	931.5	637.4	-40	-50

2.3 溶液的配制

2.3.1 混合对照品溶液 精密称取各对照品适量,分别置于 100 mL 量瓶中,加入甲醇定容,配制各对照品储备液(拟人参皂苷 F₁₁ 34.4 μg · mL⁻¹、人参皂苷 Rf 35.55 μg · mL⁻¹、人参皂苷 Rb₁ 36.78 μg · mL⁻¹、人参皂苷 Rg₁ 37.56 μg · mL⁻¹、人参皂苷 Re 36.98 μg · mL⁻¹、人参皂苷 Rd 38.51 μg · mL⁻¹、人参皂苷 Rb₂ 38.01 μg · mL⁻¹、人参皂苷 Rb₃ 35.12 μg · mL⁻¹、人参皂苷 Rg₂ 38.97 μg · mL⁻¹、人参皂苷 Rc 33.46 μg · mL⁻¹、人参皂苷 Rh₁ 42.11 μg · mL⁻¹、三七皂苷 R₁ 35.82 μg · mL⁻¹);精密称取人参皂苷 Rg₃ 和人参皂苷 Ro 对照品适量,分别置于 250 和 50 mL 量瓶中,加甲醇定容,配制人参皂苷 Rg₃ 储备液(17.508 μg · mL⁻¹)和人参皂苷 Ro(95 μg · mL⁻¹)。分别取上述各对照品储备液适量,置于同一 50 mL

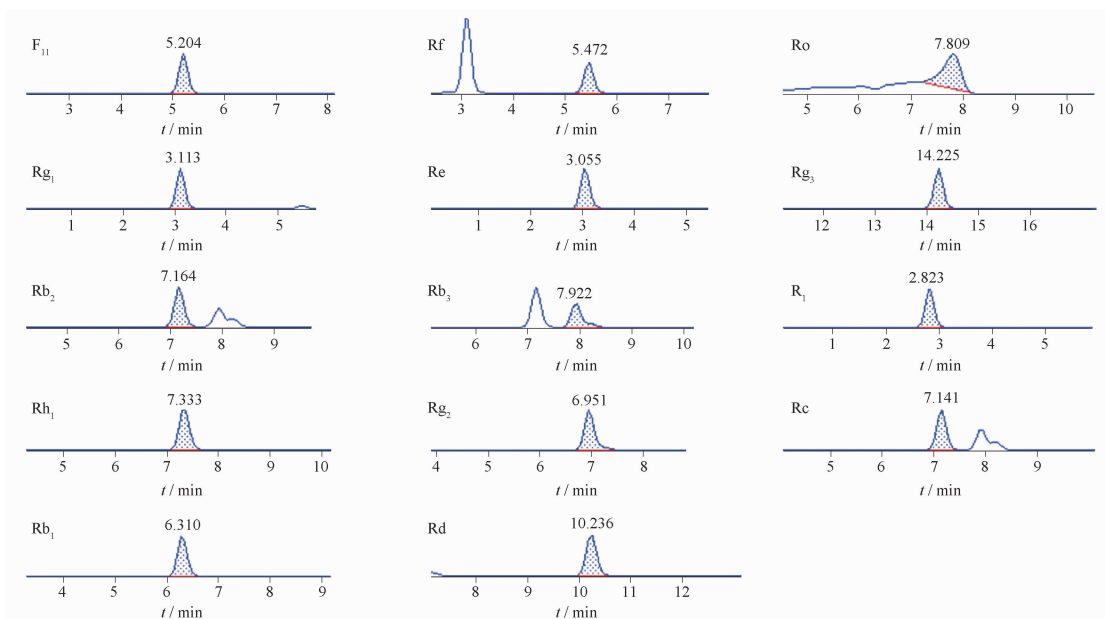


图1 参麦颗粒中14个皂苷成分的质谱多反应监测(MRM)提取离子流图

Fig. 1 Multiple reaction monitoring (MRM) extraction ion flow diagrams of 14 saponin components in Shenmai granules

量瓶,用甲醇配制成含拟人参皂苷 F_{11} $344 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、人参皂苷 R_f $355 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、人参皂苷 R_{b1} $4159 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、人参皂苷 R_{g1} $1600 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、人参皂苷 R_e $614 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、人参皂苷 R_d $616 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、人参皂苷 R_{b2} $456 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、人参皂苷 R_{b3} $140 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、人参皂苷 R_{g2} $101.322 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、人参皂苷 R_c $535 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、人参皂苷 R_{h1} $1000 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、三七皂苷 R_1 $107.46 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、人参皂苷 R_{g3} $280 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、人参皂苷 R_o $760 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的混合对照品溶液。

2.3.2 供试品溶液 取本品约2.0 g,研细,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入水20 mL,密塞,超声处理(功率700 W,频率80 kHz)30 min,取出,放冷,滤过,取续滤液10 mL,加在C18固相萃取小柱(500 mg,容量为6 mL,预先用甲醇6 mL、水6 mL洗脱)上,用水15 mL洗脱,放置5 min,继用甲醇15 mL洗脱,收集洗脱液,置蒸发皿中蒸干,残渣加甲醇溶解并转移至5 mL量瓶中,加甲醇稀释至刻度,用0.22 μm 滤膜滤过,即得。

2.4 方法学考察

2.4.1 线性关系考察及定量限测定 精密吸取混合对照品溶液适量,按倍率稀释法用甲醇稀释配制成一系列6个浓度的混合对照品溶液,按“2.1”和“2.2”项下条件进行分析。以色谱峰面积 Y 为纵坐标,对照品质量浓度 X 为横坐标,绘制标准曲线。回归方程、线性范围结果见表2。结果表明,各成分在各自浓度范围内线性关系良好。

配制混合对照品溶液,逐级稀释后进样测定,以信噪比(S/N) = 10时的对照品质量浓度为各分析物的定量限,结果见表2。

2.4.2 精密度的实验 取“2.3.1”项下混合对照品储备液6份,按“2.1”和“2.2”项下条件进行分析,测得拟人参皂苷 F_{11} 、人参皂苷 R_f 、 R_o 、 R_{b1} 、 R_{g1} 、 R_e 、 R_d 、 R_{b2} 、 R_{b3} 、 R_{g2} 、 R_{g3} 、 R_c 、 R_{h1} 及三七皂苷 R_1 峰面积的相对标准偏差(RSD)值分别为2.0%、1.5%、1.9%、2.8%、3.3%、3.6%、2.2%、2.3%、2.9%、1.7%、1.8%、2.2%、2.6%、2.5%,表明仪器精密良好。

2.4.3 重复性的实验 称取参麦颗粒(S2)6份,分别按“2.3.2”项下方法制备供试品溶液,按“2.1”和“2.2”项下条件进行分析,测得拟人参皂苷 F_{11} 、人参皂苷 R_f 、 R_o 、 R_{b1} 、 R_{g1} 、 R_e 、 R_d 、 R_{b2} 、 R_{b3} 、 R_{g2} 、 R_{g3} 、 R_c 、 R_{h1} 及三七皂苷 R_1 的平均含量分别为16.398、488.326、1600.800、942.311、160.864、178.691、455.358、631.181、61.017、726.282、3124.934、525.894、248.370、18.023 $\text{ng} \cdot \text{g}^{-1}$,RSD分别为2.3%、3.5%、2.8%、3.9%、4.0%、3.5%、3.3%、2.3%、1.9%、3.1%、2.2%、3.8%、3.2%、2.9%,表明本方法重复性好。

2.4.4 稳定性的实验 取“2.3.2”项下供试品溶液(S2),分别于0、4、8、12、24 h进行测定,结果拟人参皂苷 F_{11} 、人参皂苷 R_f 、 R_o 、 R_{b1} 、 R_{g1} 、 R_e 、 R_d 、 R_{b2} 、 R_{b3} 、 R_{g2} 、 R_{g3} 、 R_c 、 R_{h1} 及三七皂苷 R_1 的色谱峰面积

表2 参麦颗粒中14个成分线性考察结果

Tab. 2 Linear inspection results of 14 components in Shenmai granules

Compounds	Regression equation	linear range/ng · mL ⁻¹	r	Limit of quantitation/ng · mL ⁻¹
Pseudoginsenoside F ₁₁	Y = 750.13X - 1 078.3	3.44 - 344	0.999 3	0.688
Ginsenoside Rf	Y = 2 045.70X + 3 466.8	3.55 - 355	0.999 4	0.711
Ginsenoside Ro	Y = 969.21X + 8 731.6	7.60 - 760	0.999 3	1.520
Ginsenoside Rb ₁	Y = 191.86X + 11 919	41.59 - 4 159	0.999 0	4.159
Ginsenoside Rg ₁	Y = 2 760.40X + 100 048	16 - 1 600	0.999 1	1.600
Ginsenoside Re	Y = 736.52X + 2 835.9	6.14 - 614	0.999 4	0.614
Ginsenoside Rd	Y = 588.80X + 3 450.8	6.16 - 616	0.999 7	1.232
Ginsenoside Rb ₂	Y = 182.57X - 130.34	4.56 - 456	0.999 8	4.560
Ginsenoside Rb ₃	Y = 98.98X + 32.622	2.81 - 140	0.999 4	28.096
Ginsenoside Rg ₂	Y = 5 834.50X + 5 609.6	1.01 - 101	0.999 8	0.101
Ginsenoside Rg ₃	Y = 1 531.80X - 529.84	2.80 - 280	0.999 6	0.280
Ginsenoside Rc	Y = 319.29X + 2 367.3	5.35 - 535	0.999 5	1.071
Ginsenoside Rh ₁	Y = 1 715.50X + 5 0295	10 - 1 000	0.998 5	0.200
Notoginsenoside R ₁	Y = 1 949.90X - 3 079.6	1.07 - 107	0.999 2	0.215

的RSD分别为2.1%、2.9%、3.1%、2.4%、1.7%、2.1%、2.9%、2.5%、3.8%、1.9%、1.4%、1.9%、1.4%、1.8%，表明供试品溶液在24 h内稳定性良好。

2.4.5 加样回收率实验 精密称取已知含量的

参麦颗粒样品(S2)6份,每份约1.0 g,加入各对照储备液适量,按“2.3.2”项下方法制备所需溶液,进样分析,计算回收率及其RSD,结果见表3。

表3 参麦颗粒14个成分的回收率

Tab. 3 Recovery rate of 14 components in Shenmai granules

Compounds	m(Original)/ng	m(Added)/ng	m(Measured)/ng	Recovery/%	RSD/%
Pseudoginsenoside F ₁₁	8.383	9.632	18.190	102.1	1.1
Ginsenoside Rf	244.945	231.786	485.153	103.5	0.9
Ginsenoside Ro	809.044	779.000	1 604.999	102.5	1.6
Ginsenoside Rb ₁	472.663	476.922	966.907	103.5	1.8
Ginsenoside Rg ₁	81.301	73.618	157.222	103.1	1.9
Ginsenoside Re	89.632	86.083	179.036	102.3	1.8
Ginsenoside Rd	232.779	226.439	460.891	100.4	1.9
Ginsenoside Rb ₂	318.999	305.600	630.915	102.9	2.2
Ginsenoside Rb ₃	30.809	29.501	60.960	95.6	4.0
Ginsenoside Rg ₂	371.276	385.024	774.941	104.0	2.9
Ginsenoside Rg ₃	1 577.700	1 783.715	2 972.700	103.5	4.7
Ginsenoside Rc	268.326	262.326	537.057	102.0	2.4
Ginsenoside Rh ₁	124.582	126.330	257.460	105.0	0.4
Notoginsenoside R ₁	9.109	10.030	19.545	103.2	1.3

2.5 样品含量测定

71批次的参麦颗粒样品,按“2.3.2”项下方法制备供试品溶液,按“2.1”和“2.2”项下条件进行分析,运用线性回归方程计算样品含量,各厂家样品结果见表4。

2.6 化学计量学分析

2.6.1 聚类分析 将参麦颗粒14种皂苷类成分的含量参数导入OriginPro 2021软件进行系统聚类分析(HCA),结果见图2。由图可知,当相对聚类距离为0.85时,71批样品按厂家分别聚为3类,聚类效果明显,表明3个厂家样品的皂苷类成分的含量有明显区别,其中S22样品单独聚为1类,差异性较大,结合14种皂苷类成分含量进行分析,可能是由于人参皂苷

Rf、Rg₂、Rg₃3种成分含量较高所致^[11]。

2.6.2 正交偏最小二乘法判别分析(OPLS-DA)

为了进一步筛选对不同生产厂家参麦颗粒样品质量影响较大的成分,以14种皂苷类成分的含量为变量,利用SIMCA14.1软件建立OPLS-DA模型,模型参数为R²_{Xcum}为0.69, R²_{Ycum}为0.973, Q²_{cum}为0.966^[12]。3个企业的样品按企业聚类明显,见图3D, S22样品产生偏离,其结果与聚类分析结果一致。筛选出5个VIP值>1的差异性成分,见图3E,分别为拟人参皂苷F₁₁、人参皂苷Rf、人参皂苷Rh₁、人参皂苷Rb₁、人参皂苷Rg₁。由Loading图可知(图3F),成分点距离原点越远表明该成分对样品的差异性贡献越大,A、B、C3个企业分别以人參

表 4 参麦颗粒各厂家 14 个成分含量结果。ng · g⁻¹

Tab. 4 Analysis of the content of 14 components in Shenmai granules from various manufacturers. ng · g⁻¹

Compounds	A manufacturer (n = 21)				B manufacturer (n = 21)				C manufacturer (n = 29)			
	X _{min}	X _{max}	\bar{X}	δ	X _{min}	X _{max}	\bar{X}	δ	X _{min}	X _{max}	\bar{X}	δ
Pseudoginsenoside F ₁₁	8	162	28	34	0	352	116	81	191	467	328	76
Ginsenoside Rf	32	250	113	61	37	1 174	401	212	16	43	29	7
Ginsenoside Ro	461	3 401	1 469	858	158	3 179	1 805	578	1 104	2 560	1 788	389
Ginsenoside Rb ₁	279	6 942	2 404	1 899	61	6 094	2 828	1 942	3 167	15 175	6 807	2 878
Ginsenoside Rg ₁	68	819	316	208	0	259	143	94	59	562	183	127
Ginsenoside Re	52	1 332	429	367	20	624	231	171	125	1 732	463	337
Ginsenoside Rd	86	3 635	1 196	1 032	84	2 265	1 105	698	152	2 679	681	534
Ginsenoside Rb ₂	43	2 345	871	767	26	2 665	1 014	700	280	1 204	647	239
Ginsenoside Rb ₃	4	294	89	83	0	375	160	120	55	230	151	52
Ginsenoside Rg ₂	333	1 379	760	274	244	3 680	852	808	268	946	661	157
Ginsenoside Rg ₃	804	4 741	2 664	1 075	845	187 53	3 714	4 542	800	4 055	2 252	741
Ginsenoside Rc	123	2 390	803	680	19	2 432	1 006	679	405	1415	946	307
Ginsenoside Rh ₁	208	520	362	92	69	556	183	117	106	298	216	45
Notoginsenoside R ₁	3	117	34	28	0	47	30	16	12	105	42	23

注: X_{min}, X_{max} - 不同批次间各成分含量的最小值和最大值; \bar{X} - 各成分含量的均值; δ - 各成分含量的标准值。

Note: X_{min}, X_{max} - the maximum and minimum values of each ingredient in different batches; \bar{X} - the average content of each component; δ - the standard deviation of the content of each component.

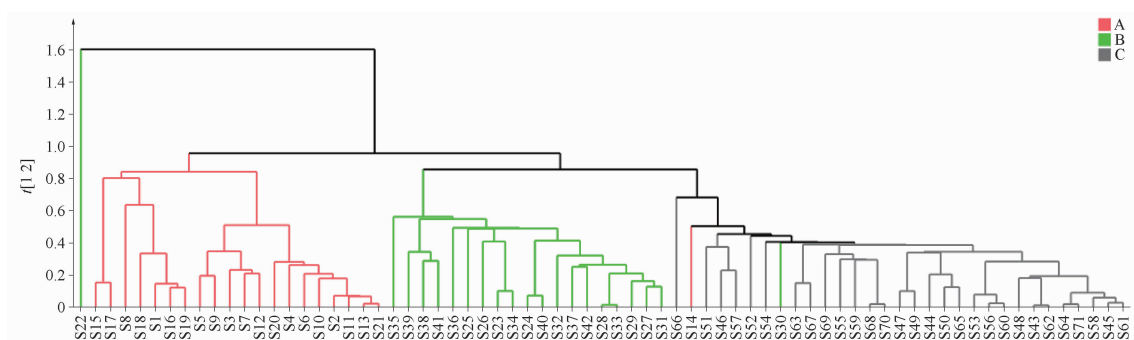


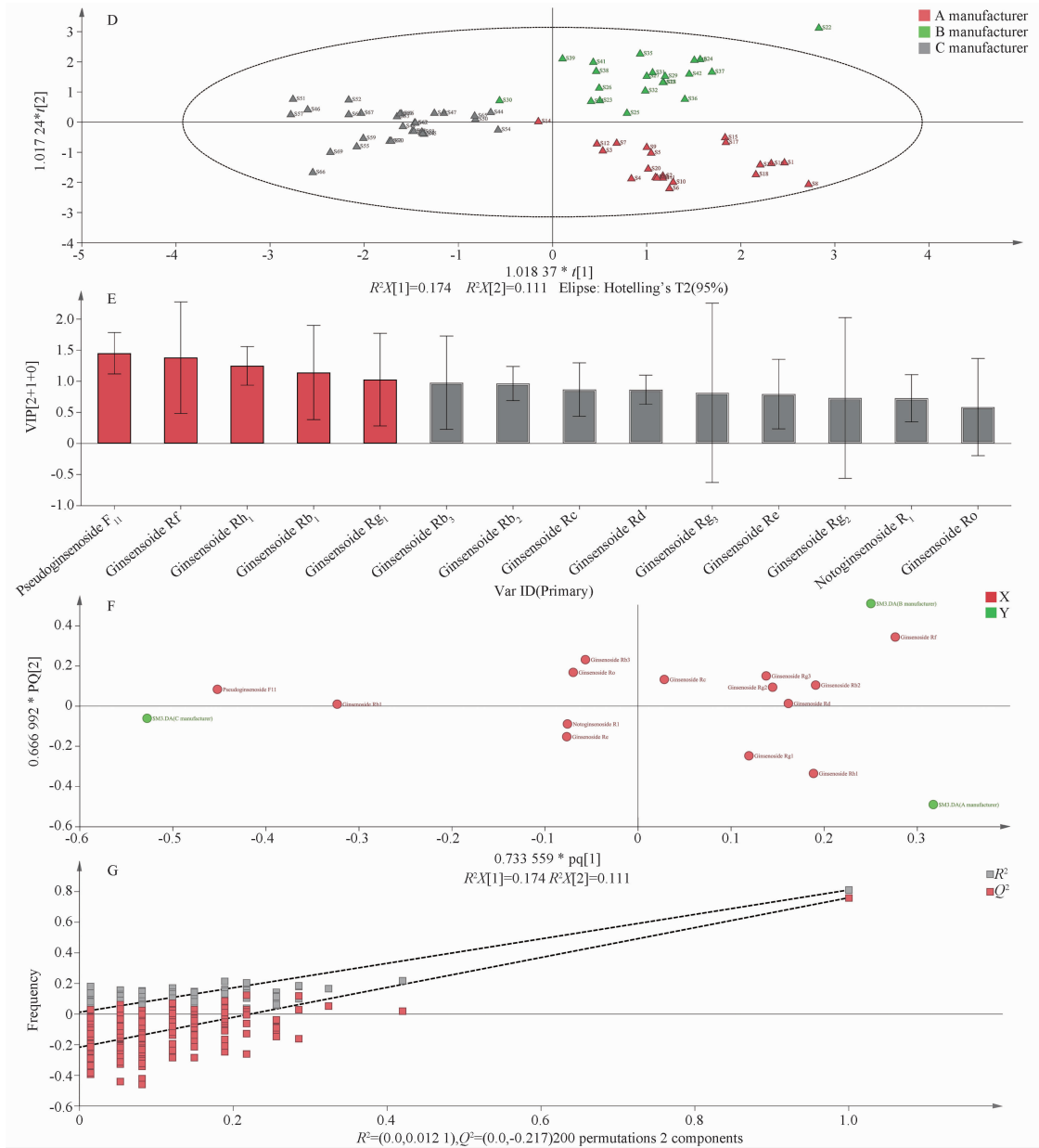
图 2 参麦颗粒样品的系统聚类分析(HCA)图

Fig. 2 Hierarchical cluster analysis(HCA) diagram of the sample of Shenmai granules

皂苷 Rh₁、人参皂苷 Rf、拟人参皂苷 F₁₁ 得到区分, 因此人参皂苷 Rh₁、人参皂苷 Rf、拟人参皂苷 F₁₁ 3 个成分的含量差异是导致不同企业产生差异性的主要因素。为防止模型出现过拟合, 通过 200 次置换检验对模型内部进行验证, 结果见图 3G, Q² 回归线的截距为 -0.217 (< 0), 证明模型稳定可靠, 不存在过拟合, 可以用于不同企业参麦颗粒样品的分析。

现市场上存在用西洋参或其边角料替代人参投料的现象, 在研究过程中从参麦颗粒样品中检出了拟人参皂苷 F₁₁, 并且不同生产厂家的样品中拟人参皂苷 F₁₁ 有明显差别, 为了评价不同企业红参投料是否存在掺伪现象, 需选用合适的指标成分进行分析。通过上述分析可知人参皂苷 Rh₁、人参皂苷 Rf、拟人参皂苷 F₁₁ 3 个成分的含量差异是导致不同企业样品差异性的主要因素, 据文献报道, 人参、西洋参在蒸制阶段, 原人参三醇型皂苷 (如 Re、Rg₁ 等) 脱去

C-20 位糖基, 水解生成 Rg₂ 和 Rh₁; 原人参二醇型皂苷 (如 Rb₁、Rd 等) 则生成 Rg₃, 故人参皂苷 Rh₁ 不能作为评价指标, 而拟人参皂苷 F₁₁ 是西洋参中的特征性成分, 人参皂苷 Rf 是人参中的特征性成分^[13-17], 也是不同企业生产样品的差异性成分, 因此选用拟人参皂苷 F₁₁、人参皂苷 Rf 两个成分评价不同企业投料用红参的质量, 并同时评价是否存在掺伪投料问题。利用 OriginPro 2021 软件, 以拟人参皂苷 F₁₁ 含量为横坐标, 人参皂苷 Rf 的含量为纵坐标, 作组边际图, 见图 4。由图 4 可知, 厂家 B 各批次样品中人参皂苷 Rf 的含量普遍较高, 红参投料质量整体较好, 但各批次间的差异性较大; 厂家 C 中人参皂苷 Rf 的含量最低, 拟人参皂苷 F₁₁ 含量最高, 存在红参投料掺伪西洋参的可能; 厂家 A 中人参皂苷 Rf 和拟人参皂苷 F₁₁ 含量均低, 存在红参掺伪投料的情况低, 但可能存在红参投料不足或质量较差的嫌疑。



D - 样品 OPLS - DA 图; E - 样品变量投影重要度 (VIP) 图; F - 样品载荷图; G - 样品 OPLS-DA 置换检测结果图; X - 成分; Y - 厂家; R - 解释能力; Q - 预测能力。
D - OPLS-DA diagram of the sample; E - variable important in projection (VIP) diagram of the sample; F - sample load diagram; G - OPLS-DA displacement detection diagram of the sample; X - compounds; Y - manufacturer; R - interpret ability; Q - predictive ability.

图 3 参麦颗粒样品的正交偏最小二乘法判别分析 (OPLS-DA) 图

Fig. 3 OPLS-DA diagram of the sample of Shenmai granules

2.7 熵权优劣解距离法分析

2.7.1 归一化处理 为了评价参麦颗粒样品中红参投料的质量差异,以 14 种成分为指标进行分析。其中人参皂苷 Rf、Ro、Rb₁、Rg₁、Re、Rd、Rb₂、Rb₃、Rg₂、Rg₃、Rc、Rh₁ 这 12 种成分属于越大越优型指标,为正向指标。拟人参皂苷 F₁₁、三七皂苷 R₁ 属于越小越优型指标,为逆向指标。正向指标根据公式 1 进行正向化处理,逆向指标根据公式 2 进行逆向化处理。 x_{ij} 为原始含量数据, X_{ij} 和 Y_{ij} 分别为经正向

化和逆向化后的数据; $\max(x_j)$ 和 $\min(x_j)$ 分别为各成分含量数据的最大值和最小值。

$$X_{ij} = [x_{ij} - \min(x_j)] / [\max(x_j) - \min(x_j)] \quad \text{公式(1)}$$

$$Y_{ij} = [\max(x_j) - x_{ij}] / [\max(x_j) - \min(x_j)] \quad \text{公式(2)}$$

2.7.2 各指标信息熵计算 据信息论中信息熵的定义,按公式 3 计算一组数据的信息熵(E_j),依据各指标成分的信息熵,按公式 4 计算各指标成分的

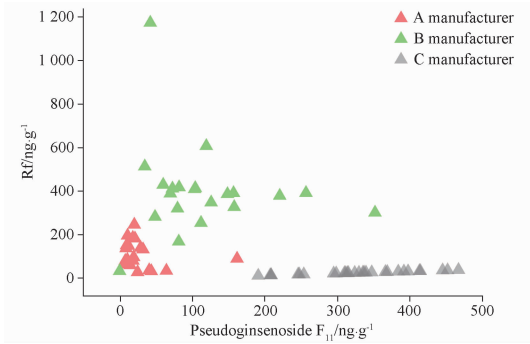


图4 参麦颗粒组边际图

Fig. 4 Marginal map of Shenmai granules

权重 (W_j), 结果见表5。信息熵反映了指标的离散程度, 熵越大, 指标的离散程度越小, 指标对于决策的重要值, 即权重越小。

$$E_j = -\ln(n)^{-1} \sum p_{ij} \ln p_{ij} \quad \text{公式(3)}$$

$$W_j = (1 - E_j) / (k - \sum E_j) \quad \text{公式(4)}$$

式中, p_{ij} 为第 j 项指标下第 i 个样本值所占比重; 若 $p_{ij} = 0$, 则定义 $\ln p_{ij} = 0$; k 为指标个数; n 为样本量。

表5 参麦颗粒样品各指标成分信息熵及权重

Tab. 5 Information entropy and weight of each index component of Shenmai granules

Compounds	E_j	$W_j/\%$	Compounds	E_j	$W_j/\%$
Pseudoginsenoside F_{11}	0.965 4	4.17	Ginsenoside Rd	0.920 1	9.64
Notoginsenoside R_1	0.988 3	1.40	Ginsenoside Rb_2	0.939 5	7.29
Ginsenoside Rf	0.859 7	16.91	Ginsenoside Rb_3	0.946 4	6.46
Ginsenoside Ro	0.980 0	2.41	Ginsenoside Rg_2	0.941 2	7.09
Ginsenoside Rb_1	0.940 5	7.18	Ginsenoside Rg_3	0.906 2	11.30
Ginsenoside Rg_1	0.943 1	6.86	Ginsenoside Rc	0.953 6	5.59
Ginsenoside Re	0.929 9	8.45	Ginsenoside Rh_1	0.956 6	5.24

2.7.3 TOPSIS 法计算贴进度 按公式5将同向化矩阵 X_{ij} ($i = 1, 2, \dots, n; j = 1, 2, \dots, m; n = 71, m = 14$) 归一化得到矩阵 Z_{ij} , 再按公式6熵权化得到加权标准矩阵 $V_{ij}^{[18]}$ 。确定标准矩阵 V_{ij} 的正理想解 V_j^+ 和负理想解 V_j^- , 按公式7~9计算评价对象与正理想解、负理想解的欧氏距离 D^+, D^- 以及各评价对象与最优解的相对贴进程度 C_{ij} 。 C_{ij} 表示评价对象与最优方案的接近程度, 该值越大说明越接近最优方案, 根据 C_{ij} 的大小进行排序, 评价71批次参麦颗粒样品的优劣。利用 OriginPro 2021 软件, 以 C_{ij} 大小为指标作箱线图(图5), 纵坐标为名次, 由图5可知, 厂家C整体排名靠后, 红参投料质量差, 厂家B的排名靠前, 红参投料质量较好。

$$Z_{ij} = X_{ij} / \sqrt{\sum_{j=1}^m X_{ij}^2} \quad \text{公式(5)}$$

$$V_{ij} = X_{ij} W_j \quad \text{公式(6)}$$

$$D^+ = \sqrt{\sum_{j=1}^m (V_{ij} - V_j^+)^2} \quad \text{公式(7)}$$

$$D^- = \sqrt{\sum_{j=1}^m (V_{ij} - V_j^-)^2} \quad \text{公式(8)}$$

$$C_{ij} = \frac{D^-}{D^- + D^+} \quad \text{公式(9)}$$

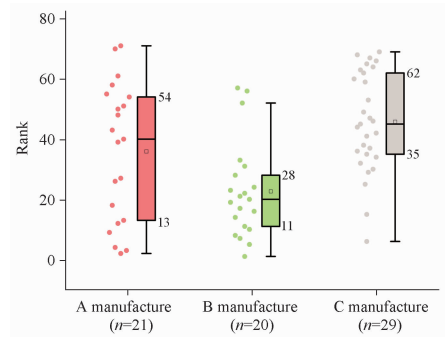


图5 参麦颗粒不同厂家熵权排名箱线图

Fig. 5 Box diagram of entropy weight ranking of different manufacture of Shenmai granules

3 讨论

3.1 指标成分的选择

人参皂苷 Rf、拟人参皂苷 F_{11} 分别为红参、西洋参中特征性成分, 这两种指标可以科学评价红参投料是否存在掺伪西洋参的嫌疑, 但对于红参投料质量优劣的整体评价还应综合考察红参中主要活性成分。人参高温蒸制为红参过程会造成人参中皂苷类成分的糖苷键以及酯键断裂, 从而产生某些特有皂苷, 比如人参皂苷 Rh_2 等, 还会导致人参皂苷 Rb_1 、人参皂苷 Rc、人参皂苷 Rd 等皂苷类成分含量增加^[19-20], 人参皂苷为红参的主要活性成分, 含量越高, 红参药理活性越强, 红参质量越好。而拟人参皂苷 F_{11} 、三七皂苷 R_1 分别为西洋参和三七中的特征性成分, 红参中含量越低则红参质量越好, 本研究建立了红参中14种成分的含量测定方法, 其中12种成分为越大越优型指标, 2种成分为越小越优型指标, 通过测定14种成分含量可以科学评价红参质量。

3.2 实验方法的考察

3.2.1 提取方法考察 参麦颗粒由6味药及辅料蔗糖经工艺提取所制, 辅料蔗糖的用量占比较大, 因此对参麦颗粒主要药效成分的提取有较高要求。本实验先后考察了回流提取、萃取以及大孔吸附树脂等方法, 发现经回流提取后溶液中仍存在较多糖, 萃取乳化现象较为严重, 后续又考察了通过固相萃取柱进行洗脱, 发现该方法提取较为完全, 操作简便, 可以将大部分糖类成分洗脱去除。本实验还考察了

不同品牌、不同规格的固相萃取柱,包括 Agilent Bond Elut C₁₈ (500 mg, 6 mL), Waters Sep-Pak Vac 6cc C₁₈ (500 mg), Waters Sep-Pak Vac 6cc C₁₈ (1 g), 发现 Agilent Bond Elut C₁₈ (500 mg, 6 mL) 固相萃取柱提取样品较为完全,可以使被测组分得到较好的分离,并且不会出现超载现象。

3.2.2 流动相考察 实验考察了乙腈-水、乙腈-甲酸水、乙腈-甲醇-甲酸水等流动相体系,结果发现使用乙腈-水作为流动相的分离效果好,所得的峰形好,因此选用乙腈-水作流动相。

3.3 质量评价结果分析

系统聚类分析结果显示,3个厂家均以14种成分含量为依据分别聚为3类,表明3个厂家的14种成分含量有区别,即不同厂家间红参投料质量一致性差;进一步通过 OPLS-DA 分析造成不同厂家红参质量差异的主要成分,从而判断红参投料是否掺伪西洋参,结果表明厂家 B 掺伪嫌疑较小,厂家 C 掺伪嫌疑较大,厂家 A 可能存在红参投料不足或质量较差的嫌疑。最后结合熵权优劣解距离法整体评价红参质量,B 厂家红参质量较好且各批次间质量较为一致,而 C 厂家红参质量较差,A 厂家各批次间质量一致性较差。

4 结论

本实验采用 HCA、OPLS-DA 等化学计量学方法对3个厂家71批参麦颗粒红参中14种成分含量测定结果进行了综合分析,结果显示同一厂家样品质量较为稳定,不同企业间产品质量差异明显,引起企业间差异性成分为人参皂苷 Rh₁、人参皂苷 Rf、拟人参皂苷 F₁₁,提示某些样品存在红参掺伪西洋参投料问题,最终选择人参皂苷 Rf 为指标评价各企业的投料用红参的质量,提示有些企业存在红参投料不足的问题,同时所建立的熵权-优劣解距离法(EW-TOPSIS)法可对不同企业不同批次的产品质量优劣进行综合评价,为提升其整体质量提供了参考依据。

REFERENCES

- [1] TANG J C, CHEN D F, WANG R R. Study on the bed collapse in the shaping process of Shenmai granules[J]. *Pharm Care Res* (药学服务与研究), 2021, 21(1): 23-25.
- [2] TAO J, WANG X L. Simultaneous determination of six components in Shenmai granules by HPLC wavelength switching method[J]. *Pract Pharm Clin Rem* (实用药物与临床), 2019, 22(2): 174-178.
- [3] FAN W X, ZHAI Z L, HOU F J, et al. Research progress on chemical constituents and pharmacological activities of Ginseng

Radix et Rhizoma Rubra[J]. *Nat Prod Res Dev*(天然产物研究与开发), 2021, 33(1): 137-149.

- [4] QU W J, SU J M, XU W J, et al. Quality evaluation of commercial Ginseng Radix et Rhizoma Rubra based on Multi-component quantitative analysis[J]. *China J Chin Mater Med*(中国中药杂志), 2022, 47(21): 5855-5862.
- [5] *Ch. P*(2020) Vol I (中国药典 2020 年版. 一部)[S]. 2020: 160-161.
- [6] HARNLY J, CHEN P, HARRINGTON P B. Probability of identification: adulteration of American Ginseng with Asian Ginseng[J]. *J AOAC Int*, 2013, 96(6): 1258-1265.
- [7] CUI S, YANG L, WANG J, et al. Taste characteristics based quantitative and qualitative evaluation of ginseng adulteration[J]. *J Sci Food Agric*, 2015, 95(7): 1535-1543.
- [8] XIAO X W, HONG T, XV Y, et al. Study on the adulteration inspection of panax ginseng in Shengui Lurong Pills[J]. *Chin Pharm Aff*(中国药事), 2023, 37(4): 434-442.
- [9] JIANG C, LUO Y Q, YUAN Y, et al. Identification of Panax Ginseng, P. notoginseng and P. quinquefolius admixture by multiple allele-specific polymerase chain reaction[J]. *China J Chin Mater Med*(中国中药杂志), 2017, 42(7): 1319-1323.
- [10] MU X R, XV X Y, JIAO Y, et al. Detection of adulterated Ginseng Radix ET Rhizoma in Naolingsu preparations by HPLC-MS/MS[J]. *J Pharm Res*(药学研究), 2022, 41(8): 521-524.
- [11] WANG X W, WANG Y W, WANG H B, et al. Quality difference characteristics of bupleurum formulae granules based on the analysis of dual-wavelength fingerprint profiles and chemometric methods[J]. *Chin Pharm J*(中国药学杂志), 2020, 55(3): 218-227.
- [12] WANG Q, LIAO H J, JU W M, et al. Content determination of 10 components in different medicinal parts of sarcandra glabra based on multivariate statistical analysis[J]. *Chin Pharm J*(中国药学杂志), 2023, 58(11): 977-986.
- [13] YAO B L, WANG R R, ZHANG M, et al. Simultaneous detection of Panax quinquefolium illegally added in Renshen Jianpi Wan and Renshen Guipi Pills by UPLC-MS/MS[J]. *Mod Chin Med*(中国现代中药), 2023, 25(1): 150-156.
- [14] LI Y, ZHANG T J, LIU S X, et al. Research progress on chemical components and pharmacology of renseng[J]. *Chin Tradit Herb Drugs*(中草药), 2009, 40(1): 164-166.
- [15] CHEN L L, CUN N. Research progress on the chemical constituents of American Ginseng[J]. *Lishizhen Med Mater Med Res*(时珍国医国药), 2002, 13(10): 632-633.
- [16] LI X G, ZHANG L X, MENG X Y, et al. Isolation, identification and content determination of pseudoginsenoside F₁₁ in american ginseng[J]. *J Jilin Agric Univ*(吉林农业大学学报), 2005, 27(6): 645-648.
- [17] LU J, TANG J. Determine ginsenoside F₁₁ in American ginseng by HPLC/ELSD[J]. *Chin J Pharm Anal*(药物分析杂志), 1999, 19(4): 25-27.
- [18] HE B F, MA X H, XV Z W, et al. Optimization of glycyrrhiza sugar process based on improved entropy weight method combined with TOPSIS Model and BPNN Model[J]. *Chin Pharm J*(中国药学杂志), 2023, 58(8): 675-682.
- [19] LIU Y L, LEI R, WANG X L, et al. Research on quality control methods of Panax ginseng, Panax quinquefolius, Panax notoginseng and related proprietary chinese medicines baesd in Q-marker[J]. *Chin Pharm J*(中国药学杂志), 2019, 54(17): 1402-1410.
- [20] MENG D, YAO H Y, YU T J, et al. Study on optimization of red ginseng processing technology[J]. *Ginseng Res*(人参研究), 2021, 33(6): 13-15.

(收稿日期:2024-06-30)