

用生姜用量、微波功率、加热时间 3 个因素,每个因素 3 个水平进行实验,以优选出微波法的最佳炮制工艺,取 9 份厚朴药材,每份取样 500 g,结果见表 1、表 2 和表 3。

表 1 因素水平表

因素水平	A	B	C
	生姜用量/%	微波功率/w	加热时间/min
1	5	400	10
2	10	550	15
3	15	700	20

表 2 $L_9(3^4)$ 正交试验表

试验号	A	B	C	D	总酚的平均含量/(mg/g)
	1	2	3	4	
1	1	1	1	1	19.59
2	1	2	2	2	21.11
3	1	3	3	3	19.76
4	2	1	2	3	20.33
5	2	2	3	1	20.51
6	2	3	1	2	20.07
7	3	1	3	2	19.62
8	3	2	1	3	20.48
9	3	3	2	1	20.28
K_1	1.614	1.126	0.523	1.279	
K_2	1.267	1.585	2.087	1.479	
K_3	1.289	1.459	1.560	1.412	
R_j	0.538	0.375	0.174	0.426	

表 3 方差分析结果

方差来源	离差平均和	自由度	F 值	F 临界值	显著性
A	0.053	2	1.656	19.000	
B	1.206	2	37.688	19.000	*
C	0.655	2	20.469	19.000	*
误差	0.03	2			

注:* 差异显著

3 讨论

综合主成分分析用于秦皮的质量评价

杨 铭, 周寅敏, 陈佳蕾, 余敏英, 史秀峰, 顾希钧
(上海中医药大学附属龙华医院药剂科, 上海 200032)

关键词:主成分分析; 综合评价指标; 秦皮

摘要:目的:探讨综合主成分分析用于秦皮的质量评价的可行性。方法:在获取秦皮 HPLC 指纹信息的基础上,选择 9 个共有峰的相对含量为指标,对不同产地的秦皮建立了综合主成分评价模型。结果:本文提出的综合主成分评价较全面的反映了秦皮样本的信息,评价结果具有一定的客观性,与系统聚类法结果一致。结论:综合主成分分析可用于中药多指

3.1 从直观分析表可以看出,各因素对实验结果重要性为微波功率>加热时间>生姜用量。方差分析结果表明,微波功率和加热时间对姜制厚朴炮制品中总酚含量的影响有显著意义($P>0.05$),而生姜用量的影响较少($P<0.05$)。因此微波炮制姜厚朴的最佳工艺为 $A_2B_2C_2$,即生姜用量 10%,微波功率 550 W,微波时间 15 min。

3.2 通过与传统炮制品比较可知,传统炮制法生产过程中炮制火候、温度、时间等较难掌握,温度过高则产品易焦糊,过低则产品含水量较高,且费工费时。而按照最佳工艺加工出的微波炮制品的总酚含量高于传统炮制品,且外观更加美观,杂质较少,炮制过程中的各项参数简便可控,无传统姜炙过程中的烟尘污染,不对生产人员的身体健康造成伤害。可见,微波法炮制姜制厚朴的工艺合理可行,建立的 HPLC 方法准确,重复性好,适用于厚朴饮片的质量控制。

参考文献:

- [1] 中国药典[S]. 一部. 2005:205.
- [2] 李杰萍,梁 统,周克元,等. 厚朴酚对趋化三肽激活的大鼠中性粒细胞功能的影响[J]. 中国药科大学学报, 2003, 34(3): 260-263.
- [3] 黄文华,郭宝林,斯金平. 不同种源厚朴酚性成分的 HPLC 图谱研究[J]. 中国中药杂志, 2005, 30(13): 968-971.
- [4] 中国药典[S]. 一部. 2005:196.
- [5] 欧阳荣,周新蓓,胡铁骊,等. 厚朴生片及 5 种不同炮制品的质量比较[J]. 中医药导报, 2007, 13(10): 19-21.
- [6] 叶定江,原思通. 中药炮制学辞典[M]. 上海:上海科学技术出版社, 2005:469.

收稿日期:2009-07-10

作者简介:杨 铭(1979-),男,硕士,主管药师,主要从事中西药物制剂工艺及质量控制研究。Tel:(021)64385700-7308 E-mail:yang-pluszhu@sina.com

标的质量评价。

中图分类号:R283

文献标识码:A

文章编号:1001-4528(2010)05-0808-05

目前主成分分析主要用于对中药样品的整体分析鉴别及分类,而要对中药样品质量优劣进行综合评价,目前国内还没有一个比较完善的方法。对中药样品质量优劣进行综合评价实际上属于多指标评价问题,各指标权重的不确定性及某些指标间存在的相关性将给综合评价带来困难。主成分分析就可以在不损失或尽量少损失原有指标信息的情况下,将多个具有相关性的指标转换成少数几个互相独立的综合指标(即主成分)。综合主成分评价模型已广泛应用于社会经济学领域^[1-2],使之成为一种比较有效的综合评价方法。

秦皮具有清热燥湿,收涩,明目的功能^[3]。现代药理实验表明,秦皮具有抗菌、消炎、镇静、利尿、镇咳、祛痰和平喘等作用^[4]。作为本院制剂秦冰滴眼液的主要原料药材,其质量的好坏将直接关系到制剂质量的稳定。本文尝试将综合主成分分析法应用于秦皮质量优劣的综合评价,希望能与同行共同探讨以丰富中药质量综合评价的方法。

1 仪器、试剂及软件

日本岛津 LC-40Avp 高效液相色谱仪,SPD-10Avp 紫外检测器,CTO-40Avp 柱温箱,Class-vp 色谱工作站,Kromasil LAAL-KR006 C-18 色谱柱(250 mm×4.6 mm,5 μm),SBXZ-1A 恒温水浴锅(上海申瓯仪器公司),Sartorius BS110S 精密电子天平。

秦皮甲素(批号 0740-200104)、秦皮乙素(批号 110741-200506)与秦皮素(批号 111731-200501)对照品购自中国药品生物制品检定所,甲醇为色谱纯,水为纯净水,其他试剂均为分析纯。使用的软件为 MATLAB 与中药色谱指纹图谱相似度评价系统(A 版)。

2 药材及饮片

本实验所选用的 10 批秦皮均通过上海市药品检验所吴赵云教授鉴定,其来源见表 1。秦皮对照药材购自中国药品生物制品检定所。

3 方法与结果

3.1 溶液的配制

3.1.1 供试品溶液制备

精密称取秦皮药材粗粉 2.00 g,置于 50 mL 具塞锥形瓶中,精密移取 50 mL 水,摇匀。超声提取 80 min,过滤,精密吸取 3 mL 续滤液至 10 mL 量瓶,定容至刻度,高速离心 10 min,微孔滤膜(0.45 μm)过滤,滤液避光冷藏,作为供试品溶液。

3.1.2 对照品溶液制备

表 1 秦皮来源及批号

秦皮药材	产地	批号	来源
S0	/	121415-200702	中国药品生物制品检定所
S1	陕西	20080428	上海虹桥药业有限公司
S2	陕西	20070926	上海虹桥药业有限公司
S3	陕西	20070925	上海万仕诚国药制品有限公司
S4	辽宁	20070803	上海养和堂中药饮片有限公司
S5	陕西	20080107	上海虹桥药业有限公司
S6	陕西	2006121812	上海华浦中药饮片有限公司
S7	陕西	2007102502	上海德华国药制品有限公司
S8	陕西	2006120107	上海德华国药制品有限公司
S9	辽宁	20080202	北京同仁堂崇文门药店
S10	亳州	20070827	安徽亳州五星药业公司

精密称取秦皮甲素对照品 10 mg、秦皮乙素对照品 5 mg、秦皮素对照品 5 mg,分别置于 3 个 10 mL 量瓶中,精密加入甲醇至刻度,避光冷藏,作为对照品母液。再精密移取秦皮甲素母液 3 mL,秦皮乙素母液 1.5 mL,秦皮素母液 0.5 mL 至 10 mL 量瓶,用甲醇定容至 10 mL,混匀,避光冷藏,作为对照品混合液。

3.1.3 对照药材溶液制备

取对照药材,按 3.1.1 项下方法进行制备,作为对照药材溶液。

3.2 色谱条件和系统适应性

色谱条件:色谱柱为 Kromasil LAAL-KR006 C-18 色谱柱(250 mm×4.6 mm,5 μm);流动相为甲醇-0.1% 磷酸水(13:87);柱温:40℃;流速:1.0 mL/min;进样量:20 μL;检测波长:340 nm;检测时间:70 min。供试品溶液在此色谱条件下进样各峰分离情况良好,所有组分均在 70 min 内被检测完毕。

3.3 方法学考察

3.3.1 精密度实验

将 10 号样本按 3.1.1 项中的制备方法进行制备,将此样本连续进样 6 次,每次进样量为 20 μL。在 3.2 项色谱条件下进行 HPLC 检测分析。以药典委员会推荐的“中药色谱指纹图谱相似度评价系统(A 版)”对上述秦皮提取液指纹图谱进行分析,以秦皮甲素峰为参照得各主要色谱峰相对保留时间 RSD 在 0.04%~0.90% 之间,相对峰面积比值的 RSD 在 0.03%~0.99% 之间。

3.3.2 重复性实验

将 10 号样本按 3.1.1 项中的制备方法进行制备,平行制备 6 个样本,每样本分别进样量 20 μL。在 3.2 项中的色谱条件下进行 HPLC 检测分析。以药典委员会推荐的“中药色谱指纹图谱相似度评价

系统(A版)”对上述秦皮提取液指纹图谱进行分析,以秦皮甲素峰为参照得各主要色谱峰相对保留时间RSD在0.05%~0.57%之间,相对峰面积比值的RSD在0.02%~1.86%之间。

3.3.3 稳定性实验

将10号样本按3.1.1项中的制备方法进行制备,在0、6、24、27、30、48、51、54 h进样,共8次,每次进样20 μL,在3.2项色谱条件下进行HPLC检测分析。以药典委员会推荐的“中药色谱指纹图谱相似度评价系统(A版)”对上述秦皮提取液指纹图谱进行分析,以秦皮甲素峰为参照得各主要色谱峰相对保留时间RSD在0.13%~2.81%之间,相对峰面积比值的RSD在0.02%~1.62%之间,证明供试品溶液在54 h内稳定。

3.4 样品测定

取10批秦皮药材及对照药材,按3.1.1项中方法进行制备,分别进样20 μL,在3.2项色谱条件下进行检测。结果如图1。共标定出9个共有峰,峰1(7.72 min),峰2(10.33 min),峰3(15.12 min),峰4(16.98 min),峰5(27.52 min),峰6(29.16 min),峰7(33.44 min),峰8(44.78 min),峰9(59.31

表 2 共有峰单位质量峰面积结果

	峰 1	峰 2	峰 3	峰 4	峰 5	峰 6	峰 7	峰 8	峰 9
S0	50 169	71 185	63 294	3 271 605	54 497	1 279 394	618 152	2 562 697	446 770
S1	44 545	266 003	49 228	2 901 656	64 132	1 528 143	15 009	1 153 486	346 142
S2	29 702	119 011	54 384	2 829 793	42 790	1 136 001	36 835	1 208 760	332 224
S3	14 397	35 913	37 907	1 093 704	17 099	954 759	121 878	1 081 258	438 295
S4	16 424	21 909	40 335	1 165 953	16 657	933 671	14 815	1 240 607	415 786
S5	34 821	281 193	42 961	2 505 327	41 510	1 271 990	16 877	1 172 330	422 752
S6	27 365	538 480	26 412	1 514 981	26 647	1 260 057	60 498	758 661	436 707
S7	28 704	149 009	44 443	2 299 966	45 928	970 015	41 532	1 098 794	312 437
S8	31 040	125 706	37 921	1 984 558	48 835	1 214 108	46 337	1 200 513	348 569
S9	9 997	15 702	21 958	4 123 945	72 100	320 733	503 967	2 965 738	301 047
S10	8 307	17 735	51 280	3 492 635	21 710	947 968	824 430	1 635 989	335 519

按照文献^[6]方法对数据进行标准化处理后,计算各指标成分的相关系数R,再对相关系数矩阵R进行特征值分解,求满足 $V^* D = R * V$ 的特征向量矩阵V与特征值矩阵D,再根据特征值计算各主成分

表 3 特征根、特征向量(PCs)、各主成分的贡献率(按特征根大小排序后)

	PC1	PC2	PC3	PC4	PC5	PC6	PC7	PC8	PC9
峰 1	-0.195	0.586	0.041	0.099	-0.258	0.025	0.429	0.080	-0.591
峰 2	-0.342	0.128	0.396	0.398	0.535	-0.320	0.276	-0.119	0.270
峰 3	-0.019	0.437	-0.526	-0.398	0.039	-0.418	0.151	0.041	0.417
峰 4	0.427	0.309	0.097	0.036	0.355	-0.383	-0.541	0.069	-0.376
峰 5	0.252	0.409	0.470	0.059	-0.292	0.220	-0.108	0.412	0.479
峰 6	-0.383	0.407	-0.097	-0.074	0.206	0.534	-0.436	-0.387	0.074
峰 7	0.386	0.057	-0.393	0.287	0.483	0.459	0.303	0.273	0.015
峰 8	0.457	0.134	-0.080	0.392	-0.295	-0.062	0.105	-0.699	0.150
峰 9	-0.308	-0.014	-0.405	0.654	-0.268	-0.166	-0.347	0.299	0.068
特征根	3.657	2.338	1.448	0.857	0.555	0.084	0.049	0.009	0.002
贡献率	0.406	0.260	0.161	0.095	0.062	0.009	0.005	0.001	0.000
累计贡献率	40.6%	66.6%	82.7%	92.2%	98.4%	99.3%	99.9%	100.0%	100.0%

min);其中峰4为秦皮甲素、峰6为秦皮乙素、峰9为秦皮素。9个共有峰的峰面积之和占总峰面积的98%以上,非共有峰峰面积之和占总峰面积的2%以下,可见9个共有峰基本可以反映秦皮的质量。

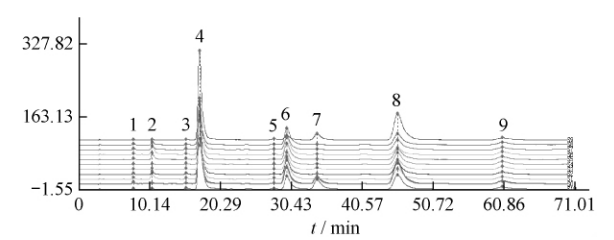


图 1 秦皮 HPLC 指纹图谱

3.5 秦皮质量的综合评价

选择9个共有峰的相对含量作为评价指标,这里的相对含量系指成分HPLC色谱峰面积与取样量的比值,即单位质量的峰面积,计算公式 $1^{[5]}$ 如下:

$$C_{ij} = \frac{A_{ij}}{m_i} \tag{1}$$

其中 C_{ij} 为*i*号样品第*j*号峰单位质量的峰面积。 A_{ij} 为*i*号样品第*j*号峰的峰面积。 m_i 为*i*号样品的取样量。计算结果如表2。

分的贡献率^[6],用MATLAB软件编制程序计算的结果见表3。可见,当提取的主成分数为5时,累计的方差贡献率已达98.4%,基本保留了原样本的信息。所以确定提取的主成分数为5个,再根据其相应

的方差贡献率所占的百分比为权重,将前 5 个主成分进行线性组合构造出可以基本反映原始样本信息的综合主成分 F 值^[6]。对 F 值进行排序,其结果也是对秦皮质量综合评价的结果,见表 4。由表 4 可见综合主成分 F 得分越高,样品质量越好,可见 9 号样品的质量最优。

表 4 综合主成分评价结果

样品编号	综合主成分 F 值	优劣排序
S0	0.908 1	2
S1	0.358 3	4
S2	0.052 4	5
S3	-1.183 0	11
S4	-1.104 4	10
S5	-0.288 7	8
S6	-0.935 1	9
S7	0.000 1	6
S8	-0.145 4	7
S9	1.900 5	1
S10	0.437 2	3

3.6 聚类分析验证

为了验证综合主成分分析结果的可靠性及客观性,采用系统聚类法对其进行验证。对原始样本数据标准化处理后进行系统聚类分析,采用欧氏距离离差平方和法进行聚类分析的结果见图 2; 11 个秦皮样本基本可以分为两类,即较优品与一般品:其中 0、10、9 号样品聚为一类,在综合主成分排序中分别

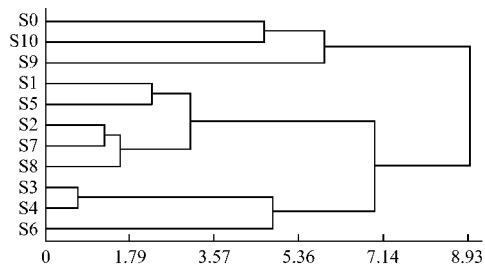


图 2 原始样本数据系统聚类

表 5 相似度计算结果

	S0	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	均值图谱
S0	1	0.943	0.961	0.952	0.956	0.96	0.895	0.968	0.969	0.97	0.973	0.988
均值图谱	0.988	0.982	0.99	0.95	0.951	0.992	0.936	0.995	0.99	0.952	0.979	1

4.3 通过本文与文献^[6]的评价结果可以发现,综合评价方法用于中药质量的多指标评价是切实可行的。本文与文献^[6]的评价指标都是基于中药样本的共有有效成分的相对含量,但是中药的质量评价最终还是应以效果为先,所以在获取多个药效指标数据的前提下,综合主成分评价法的指标可以是相应的多个药效指标,相关的工作还将继续。

参考文献:

[1] 朱艳科,杨辉耀.中国城市现代化水平的综合评价[J].商业

占了第 2、3、1 位,秦皮对照药材排在第 2 位,质量较优,所以为较优品;在剩下的一般品中还可以分为两类,即 3、4、6 号样品聚为一类,在综合主成分排序中分别占了第 11、10、9 位,质量较差,所以为采集样本中的较差品;余下的 1、5、2、7、8 号样品聚为一类,在综合主成分排序中分别处于中间序号。可见两者的结果基本一致,说明综合主成分较全面地表征了原始样本的信息。

4 讨论

4.1 提取时间的选择 曾对超声提取的时间做过考察,考察总时间达 120 min,并每间隔 10 min 取样一次进行分析,结果发现各色谱峰的单位质量峰面积在 80 min 后趋于恒定,由此确定提取时间为 80 min。

4.2 与相似度评价结果的比较 采用国家药典委员会开发的中药色谱指纹图谱相似度评价系统(A 版),运用夹角余弦法对各批次秦皮样品计算相似度结果见表 5。从相似度计算结果可以看出,无论是以对照药材为对照图谱,还是以各批次样品的均值为对照图谱,各批次秦皮样品都表现出了良好的相似度。由于对照药材理论上是处于较优品,所以从相似度可以看出,9 号、10 号样品与对照药材的相似度最接近,这个结果与本文使用的综合主成分评价的结果是一致的。但是仅以相似度作评价还是会有有一定的困难,首先要确立一个质量较优品,如本文用均值图谱作相似度评价,会发现所有的样本都具有良好的相似性,这时,再从中选出较优品就比较困难了。综合主成分评价为中药的多指标综合评价提供了新的手段,本文的结果显示,综合主成分评价结果与系统聚类法一致,又能较好地体现相似度评价,其质量排序结果具有一定的客观性,值得中药研究工作者参考。

研究 2002,(259):64-67.

[2] 袁海峰,徐国盛.主成分分析法在油气开发方案技术经济评价中的应用[J].国土资源科技管理,2005,(80):80-84.

[3] 中国药典[S].一部.2005:191.

[4] 方莲花,吕扬,杜冠华.秦皮的药理作用研究进展[J].中国中药杂志,2008,33(23):2732-2736.

[5] 王彬,黄河舟,朱臻宇,等.淫羊藿药材 HPLC 指纹图谱的勾兑研究[J].药学实践杂志,2008,26(6):432-434.

[6] 杨铭.综合主成分分析用于黄芪药材的质量评价[J].数理医药学杂志,2008,21(4):474-476.