

香、柴胡、青皮疏肝解郁、降逆止呕，合为臣药；延胡索、片姜黄、莪术活血祛瘀、行气止痛，丁香、高良姜、肉桂温中散寒止痛，豆蔻、砂仁化湿行气、温中止呕，合为佐药；甘草调和诸药，为使药，诸药合用，共奏疏肝解郁、开胃消食之功。参考中药质量标志物确定原则^[11-12]，以君药为主，兼顾臣、佐、使药，本实验选取朴沉化郁丸中君药香附所含 α -香附酮，臣药陈皮、枳壳、青皮所含柚皮芸香苷、橙皮苷、川陈皮素、3, 5, 6, 7, 8, 3', 4'-七甲氧基黄酮，佐药延胡索所含延胡索乙素、去氢紫堇碱、紫堇碱、四氢小檗碱作为指标成分，采用一测多评法，以延胡索乙素为内标，建立与其他成分之间的相对校正因子，并通过耐用性考察、色谱峰定位、外标法测定结果对比，发现该方法操作简便，稳定性好，可用于该制剂质量评价和控制。

参考文献：

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典：2015 年版一部 [S]. 北京：中国医药科技出版社，2015：139-140；191；197；246；258；827.
[2] 邱蓉丽，吴玉兰，乐 巍. 陈皮、青皮中 4 种黄酮成分的

比较研究[J]. 中成药，2015，37(1)：149-153.
[3] 陈艳红，吴秋云，蔡佳仲. 17 批不同产地香附中有效成分的含量测定[J]. 临床医学工程，2010，17(11)：41-42.
[4] 王雪婷，王 磊，宋德成，等. 不同产地香附中 α -香附酮含量测定[J]. 天津科技，2013，40(1)：28-29.
[5] 封宇飞，张宏武，邹忠梅，等. HPLC 法同时测定陈皮饮片中 5 种黄酮类化合物的含量[J]. 药物分析杂志，2009，29(1)：10-15.
[6] 庄泽荣，梁咏倩，秦 楠，等. 超高效液相色谱法测定陈皮藿香汤中 4 种成分的含量[J]. 广东药学院学报，2016，32(4)：439-443.
[7] 卢君蓉，李文兵，傅超美，等. 香附药材的质量控制方法的探讨[J]. 中国医院药学杂志，2015，35(5)：389-392.
[8] 徐 皓. HPLC 法测定不同产地元胡药材中 5 种生物碱含量[J]. 药物分析杂志，2015，35(8)：1403-1407.
[9] 毕福钧，林 彤. RP-HPLC 法同时测定醋延胡索配方颗粒中 7 种生物碱[J]. 中草药，2016，47(4)：606-609.
[10] 周 卿，尚京川. HPLC-DAD 法同时测定延胡索中 4 种生物碱的含量[J]. 重庆医科大学学报，2014，39(7)：1017-1019.
[11] 刘昌孝，陈士林，肖小河，等. 中药质量标志物 (Q-Marker)：中药产品质量控制的新概念[J]. 中草药，2016，47(9)：1443-1457.
[12] 张铁军，白 钢，陈常青，等. 基于“五原则”的复方中药质量标志物 (Q-marker) 研究路径[J]. 中草药，2018，49(1)：1-13.

补肾解毒颗粒中 4 种成分测定及 HPLC 特征图谱建立

谭志滨， 徐俊鸿， 邓卓燕， 蓝 海*
(广州中医药大学顺德医院，广东 佛山 528300)

摘要：目的 测定补肾解毒颗粒（熟地黄、山药、补骨脂等）中 4 种成分含有量，并建立 HPLC 特征图谱。**方法** 该药物 50% 甲醇提取液的分析采用 Thermo Acclaim TM 120 C₁₈ 色谱柱（4.6 mm×250 mm，5 μ m）；流动相乙腈-0.1% 磷酸，梯度洗脱；体积流量 1.0 mL/min；检测波长 240、246 nm；柱温 35 $^{\circ}$ C。**结果** 莫诺苷、马钱苷、补骨脂素、异补骨脂分别在 2.481 8~124.087 6、2.328 5~116.424 0、1.064 8~53.239 8、1.528 3~76.416 0 μ g/mL 范围内线性关系良好（ $r \geq 0.999\ 9$ ），平均加样回收率分别为 102.43%、98.61%、92.02%、96.93%，RSD 分别为 3.75%、5.79%、3.46%、5.80%。15 批样品特征图谱中有 6 个特征峰，相似度 0.997~0.999。**结论** 该方法简便可靠，重复性好，可用于补肾解毒颗粒的质量控制。

关键词：补肾解毒颗粒；莫诺苷；马钱苷；补骨脂素；异补骨脂素；特征图谱；HPLC

中图分类号：R927.2 **文献标志码：**A **文章编号：**1001-1528(2020)06-1426-06

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2020.06.006

收稿日期：2019-09-10
基金项目：广东省科技发展计划项目（2016ZC0102）
作者简介：谭志滨（1991—），男，硕士，中药师，从事配方颗粒、医院制剂标准研究。E-mail: tanzhibinyizhong@163.com
***通信作者：**蓝 海（1980—），男，博士，副主任医师，从事中药蟾酥及复方抗血液恶性肿瘤的基础及转化研究。E-mail: 13711782243@163.com

Determination of four constituents and establishment of characteristic HPLC chromatograms for Bushen Jiedu Granules

TAN Zhi-bin, XU Jun-hong, DENG Zhuo-yan, LAN Hai*
(Shunde Hospital of Guangzhou University of Chinese Medicine, Foshan 528300, China)

ABSTRACT: **AIM** To determine the contents of four constituents in Bushen Jiedu Granules (*Rehmanniae Radix Praeparata*, *Dioscoreae Rhizoma*, *Psoraleae Fructus*, etc.) and to establish their characteristic HPLC chromatograms. **METHODS** The analysis of 50% methanol extract of this drug was performed on a 35 °C thermostatic Thermo Acclaim TM 120 C₁₈ column (4.6 mm×250 mm, 5 μm), with the mobile phase comprising of acetonitrile-0.1% phosphoric acid flowing at 1.0 mL/min in a gradient elution manner, and the detection wavelengths were set at 240, 246 nm. **RESULTS** Morroniside, loganin, psoralen, isopsoralen showed good linear relationships within the ranges of 2.481 8 – 124.087 6, 2.328 5 – 116.424 0, 1.064 8 – 53.239 8, 1.528 3–76.416 0 μg/mL ($r \geq 0.999\ 9$), whose average recoveries were 102.43%, 98.61%, 92.02%, 96.93% with the RSDs of 3.75%, 5.79%, 3.46%, 5.80%, respectively. There were six characteristic peaks in the characteristic chromatograms of fifteen batches of samples with the similarities of more than 0.997–0.999. **CONCLUSION** This simple, reliable and reproducible method can be used for the quality control of Bushen Jiedu Granules.

KEY WORDS: Bushen Jiedu Granules; morroniside; loganin; psoralen; isopsoralen; characteristic chromatograms; HPLC

补肾解毒颗粒是根据广东省名中医陈志雄教授验方补肾解毒方制成的制剂，包含熟地黄、山萸肉、山药、补骨脂、莪术、石上柏等药材，用于治疗血液系统恶性肿瘤，尤其对多发性骨髓瘤治疗有良效^[1-6]。方中主药山萸肉所含以莫诺苷和马钱苷为主的环烯醚萜类成分具有抗炎止痛、免疫抑制等活性^[7-8]；补骨脂素、异补骨脂素为另一主药补骨脂的主要有效成分，对肉瘤和艾氏腹瘤等有着明显的抑制作用^[9-11]。本实验通过 HPLC 法测定补肾解毒颗粒中莫诺苷、马钱苷、补骨脂素、异补骨脂素含量，并建立其特征图谱，以期为该制剂质量控制提供依据。

1 材料

熟地黄（批号 181201，产地河南）、山药（批号 190101，产地河南）、盐山茱萸（肉）（批号 181201，产地浙江）、莪术（批号 181201，产地广西）、石上柏（批号 180901，产地广东）、补骨脂（批号 181201，产地河南）均购自广东天泰药业有限公司中药饮片厂，经广州中医药大学顺德医院徐俊鸿主任药师鉴定为正品，凭证标本保存于广州中医药大学顺德医院制剂中心。

莫诺苷（批号 111998-201703，纯度 97.4%）、马钱苷（批号 111640-201808，纯度 99.0%）、补

骨脂素（批号 110739-201617，纯度 99.7%）、异补骨脂素（批号 110738-201715，纯度 99.5%）对照品均购于中国食品药品检定研究院；甲醇、乙腈为色谱纯；其他试剂均为分析纯；水为超纯水。

Thermo U3000 高效液相色谱仪，配置 TCC-3000SD 柱温箱、LPG-3400SDN 泵、VWD-3100 检测器、手动进样器（美国 Thermo 公司）；ESJ200-4A 电子天平（十万分之一，沈阳神宇龙腾天平有限公司）；FA2004 分析天平（常州市幸运电子设备有限公司）。

2 方法与结果

2.1 补肾解毒颗粒制备 称取熟地饮片 500 g、山药饮片 250 g、山萸肉饮片 250 g、莪术饮片 250 g、石上柏饮片 250 g、补骨脂饮片 250 g，置于提取容器中，加入 12 倍量水煎煮 2 h，滤过，收集滤液，滤渣加入 10 倍量水提取 1 h，收集合并滤液，滤液浓缩至相对密度 1.25（55~60 °C）。浓缩后，加入无水乙醇至含醇量 50%~55%，静置 12 h 以上，醇沉，滤过，收集滤液，浓缩至相对密度 1.10（55~60 °C），浸膏、糊精、糖粉以 1：4：1 比例添加糊精、糖粉等辅料，制粒，干燥，即得（1 000 g）。

2.2 对照品溶液制备 精密称取各对照品适量，

置于 10 mL 量瓶中, 50% 甲醇定容至刻度, 制成每 1 mL 分别含 1.0 mg 上述成分的贮备液, 精密量取适量, 置于同一 25 mL 量瓶中, 50% 甲醇定容至刻度, 制成每 1 mL 含莫诺昔 120 μg、马钱苷 120 μg、补骨脂素 50 μg、异补骨脂素 80 μg 的溶液, 即得。

2.3 供试品溶液制备 取颗粒适量研细, 精密称取 1 g, 置于具塞锥形瓶中, 精密加入 50 mL 50% 甲醇, 超声 (功率 300 W、频率 40 Hz) 处理 30 min 后取出, 放冷至室温, 50% 甲醇补足减失的质量, 摇匀, 过 0.45 μm 微孔滤膜, 即得。

2.4 阴性样品溶液制备 按颗粒处方和工艺, 制备缺山萸肉、缺补骨脂的阴性样品, 按“2.3”项下方法制备, 即得。

2.5 色谱条件 Thermo Acclaim TM 120 C₁₈ 色谱柱 (4.6 mm×250 mm, 5 μm); 流动相乙腈-0.1% 磷酸, 梯度洗脱 (0~3 min, 12% 乙腈; 3~15 min, 12%~18% 乙腈; 15~20 min, 18%~25% 乙腈; 20~25 min, 25%~38% 乙腈; 25~28 min, 38%~40% 乙腈; 28~36 min, 40% 乙腈; 36~40 min, 40%~100% 乙腈; 40~50 min, 100%~12% 乙腈); 体积流量 1.0 mL/min; 检测波长 240 nm (0~25 min)、246 nm (25~50 min); 柱温 35 ℃; 进样量 20 μL。

2.6 方法学考察

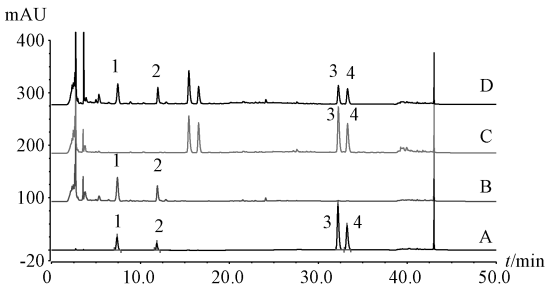
2.6.1 线性关系考察 精密吸取对照品溶液 0.10、0.20、0.50、1.00、2.00、5.00 mL 至 5 mL 量瓶中, 50% 甲醇稀释至刻度, 在“2.5”项色谱条件下进样测定。以溶液质量浓度为横坐标 (X), 峰面积为纵坐标 (Y) 进行回归, 结果见表 1, 可知各成分在各自范围内线性关系良好。

表 1 各成分线性关系

Tab. 1 Linear relationships of various constituents				
成分	回归方程	r	线性范围/ (μg·mL ⁻¹)	
莫诺昔	Y=0.576 0X+0.276 4	1.000 0	2.481 8~124.087 6	
马钱苷	Y=0.539 0X+0.249 5	1.000 0	2.328 5~116.424 0	
补骨脂素	Y=2.424 0X+0.884 4	0.999 9	1.064 8~53.239 8	
异补骨脂素	Y=2.445 5X+0.991 1	0.999 9	1.528 3~76.416 0	

2.6.2 专属性考察 精密吸取对照品、供试品、阴性样品溶液各 20 μL, 在“2.5”项色谱条件下进样测定, 结果见图 1。由此可知, 供试品、对照品溶液均在相同保留时间出现吸收峰, 阴性无干扰, 表明该方法专属性良好。

2.6.3 精密度试验 精密吸取供试品溶液 20 μL, 在“2.5”项色谱条件下进样测定 6 次, 测得莫诺昔、马钱苷、补骨脂素、异补骨脂素峰面积 RSD



注: A~D 分别为对照品、缺补骨脂阴性样品、缺山萸肉阴性样品、供试品。

1. 莫诺昔 2. 马钱苷 3. 补骨脂素 4. 异补骨脂素
1. morroniside 2. loganin 3. psoralen 4. isopsoralen

图 1 各成分 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of various constituents

分别为 0.80%、0.42%、0.82%、0.75%, 表明仪器精密度良好。

2.6.4 稳定性试验 精密吸取同一份供试品溶液, 于 0、1、2、4、6、8、24 h 在“2.5”项色谱条件下进样测定, 测得莫诺昔、马钱苷、补骨脂素、异补骨脂素峰面积 RSD 分别为 0.80%、0.61%、0.58%、0.59%, 表明溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.6.5 重复性试验 精密称取同一批样品 (批号 190304) 6 份, 按“2.3”项下方法制备供试品溶液, 在“2.5”项色谱条件下进样测定, 测得莫诺昔、马钱苷、补骨脂素、异补骨脂素含有量 RSD 分别为 1.24%、1.00%、2.38%、1.58%, 表明该方法重复性良好。

2.6.6 加样回收率试验 精密称取各成分含有量已知的颗粒 6 份, 每份 0.5 g, 按 100% 水平加入各对照品溶液, 按“2.3”项下方法制备供试品溶液, 在“2.5”项色谱条件下进样测定, 计算回收率, 结果见表 2。

2.6.7 样品含有量测定 取 15 批颗粒, 每批平行 2 份, 按“2.3”项下方法制备供试品溶液, 在“2.5”项色谱条件下进样测定, 计算含有量, 结果见表 3。

2.7 HPLC 特征图谱建立

2.7.1 专属性考察 同“2.6.2”项。

2.7.2 整体性考察 精密吸取供试品溶液 20 μL, 在“2.5”项色谱条件下进样测定, 并以最终梯度延长 1 倍的时间进行洗脱, 结果见图 2。由此可知, 在 50 min 后无其他干扰峰, 表明该方法整体性良好。

2.7.3 精密度试验 精密吸取供试品溶液 20 μL, 在“2.5”项色谱条件下进样测定 6 次, 以补骨脂

表 2 各成分加样回收率试验结果 (n=6)

Tab. 2 Results of recovery tests for various constituents (n=6)

成分	称样量/ g	原有量/ mg	加入量/ mg	测得量/ mg	回收率/ %	平均回收 率/% (RSD/%)
莫诺苷	0.503 6	0.375 5	0.372 8	0.783 5	109.44	102.43 (3.75)
	0.502 3	0.374 5	0.372 8	0.761 1	103.70	
	0.499 0	0.372 1	0.372 8	0.748 6	101.00	
	0.500 2	0.372 9	0.372 8	0.743 2	99.31	
	0.501 8	0.374 1	0.372 8	0.743 6	99.10	
	0.499 4	0.372 4	0.372 8	0.752 7	102.03	
马钱苷	0.503 6	0.239 5	0.271 7	0.534 9	108.75	98.61 (5.79)
	0.502 3	0.238 8	0.271 7	0.516 0	102.04	
	0.499 0	0.237 3	0.271 7	0.498 7	96.22	
	0.500 2	0.237 8	0.271 7	0.494 1	94.33	
	0.501 8	0.238 6	0.271 7	0.495 7	94.63	
	0.499 4	0.237 5	0.271 7	0.497 5	95.71	
补骨脂素	0.503 6	0.090 3	0.089 7	0.177 5	97.22	92.02 (3.46)
	0.502 3	0.090 1	0.089 7	0.173 7	93.19	
	0.499 0	0.089 5	0.089 7	0.169 7	89.42	
	0.500 2	0.089 7	0.089 7	0.169 1	88.53	
	0.501 8	0.090 0	0.089 7	0.171 3	90.58	
	0.499 4	0.089 6	0.089 7	0.173 2	93.18	
异补骨脂素	0.503 6	0.084 3	0.076 4	0.166 0	106.97	96.93 (5.80)
	0.502 3	0.084 1	0.076 4	0.156 6	94.88	
	0.499 0	0.083 5	0.076 4	0.154 1	92.29	
	0.500 2	0.083 7	0.076 4	0.153 9	91.86	
	0.501 8	0.084 0	0.076 4	0.157 6	96.34	
	0.499 4	0.083 6	0.076 4	0.159 4	99.23	

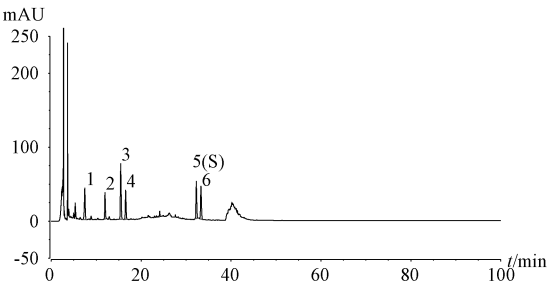
表 3 各成分含有量测定结果 (mg/g, n=2)

Tab. 3 Results of content determination of various constituents (mg/g, n=2)

批号	莫诺苷	马钱苷	补骨脂素	异补骨脂素
181213	0.613 7	0.417 5	0.129 3	0.123 1
181225	0.716 4	0.471 4	0.138 6	0.139 3
190304	0.745 6	0.475 5	0.179 4	0.167 4
190313	0.751 8	0.481 6	0.152 6	0.144 3
190319	0.756 7	0.474 7	0.153 5	0.145 9
190410	0.744 7	0.466 5	0.133 3	0.121 9
190424	0.753 9	0.472 8	0.163 2	0.142 0
190508	0.717 0	0.512 8	0.152 4	0.143 0
190521	0.747 6	0.491 5	0.133 7	0.140 0
190530	0.737 8	0.485 0	0.137 0	0.120 6
190604	0.738 1	0.476 8	0.134 7	0.116 5
190614	0.738 5	0.478 5	0.134 8	0.116 3
190624	0.741 5	0.475 4	0.137 7	0.119 6
190628	0.749 6	0.483 1	0.149 4	0.138 7
190703	0.745 7	0.478 9	0.137 7	0.121 4
平均值	0.733 2	0.476 2	0.142 0	0.130 9

素为参照峰 (S)，测得各特征峰相对保留时间 RSD 为 0~0.23%，相对峰面积 RSD 为 0~1.42%，表明仪器精密度良好。

2.7.4 稳定性试验 精密吸取同一份供试品溶液，于 0、1、2、4、6、8、24 h 在“2.5”项色谱条件



1. 莫诺苷 2. 马钱苷 5 (S). 补骨脂素 6. 异补骨脂素
1. morroniside 2. loganin 5 (S). psoralen 6. isopsoralen

图 2 各成分整体性色谱图

Fig. 2 Integrality chromatogram of various constituents

下进样测定，以补骨脂素为参照峰 (S)，测得各特征峰相对保留时间 RSD 为 0~0.22%，相对峰面积 RSD 为 0~1.35%，表明溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.7.5 重复性试验 取同一批颗粒 (批号 190304) 6 份，按“2.3”项下方法制备供试品溶液，在“2.5”项色谱条件下进样测定，以补骨脂素为参照峰 (S)，测得各特征峰相对保留时间 RSD 为 0~0.20%，相对峰面积 RSD 为 0~2.71%，表明该方法重复性良好。

2.7.6 图谱确定 取 15 批颗粒，按“2.3”项下方法制备供试品溶液，在“2.5”项色谱条件下进样测定，以补骨脂素为参照峰 (S)，测定各特征峰相对保留时间、相对峰面积，建立特征图谱和对照图谱，结果见图 3~4、表 4。

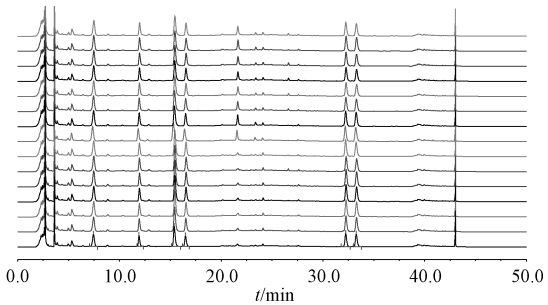


图 3 15 批样品 HPLC 特征图谱

Fig. 3 Characteristic HPLC chromatograms of fifteen batches of samples

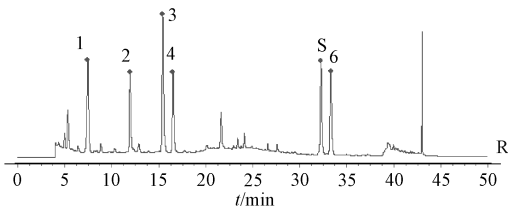


图 4 各成分对照图谱

Fig. 4 Reference chromatogram of various constituents

表 4 各特征峰相对保留时间、相对峰面积

Tab. 4 Relative retention time and relative peak areas of various characteristic peaks

批号	相对保留时间						相对峰面积					
	莫诺苷	马钱苷	峰 3	峰 4	补骨脂素(S)	异补骨脂素	莫诺苷	马钱苷	峰 3	峰 4	补骨脂素(S)	异补骨脂素
181213	0. 231	0. 370	0. 477	0. 512	1. 000	1. 032	1. 015	0. 673	1. 478	0. 128	1. 000	0. 170
181225	0. 231	0. 370	0. 478	0. 512	1. 000	1. 032	1. 098	0. 704	1. 651	0. 134	1. 000	0. 165
190304	0. 232	0. 371	0. 479	0. 513	1. 000	1. 032	1. 061	0. 666	1. 606	0. 134	1. 000	0. 163
190313	0. 232	0. 371	0. 479	0. 513	1. 000	1. 032	1. 058	0. 661	1. 601	0. 134	1. 000	0. 162
190319	0. 232	0. 371	0. 479	0. 513	1. 000	1. 032	1. 059	0. 648	1. 598	0. 135	1. 000	0. 162
190410	0. 232	0. 371	0. 479	0. 513	1. 000	1. 032	1. 179	0. 721	1. 780	0. 139	1. 000	0. 147
190424	0. 232	0. 371	0. 479	0. 513	1. 000	1. 032	1. 012	0. 619	1. 531	0. 133	1. 000	0. 159
190508	0. 229	0. 368	0. 475	0. 509	1. 000	1. 032	1. 029	0. 715	1. 246	0. 133	1. 000	0. 174
190521	0. 232	0. 371	0. 478	0. 512	1. 000	1. 032	1. 180	0. 756	1. 391	0. 132	1. 000	0. 174
190530	0. 231	0. 370	0. 478	0. 512	1. 000	1. 032	1. 145	0. 733	1. 397	0. 135	1. 000	0. 156
190604	0. 232	0. 371	0. 479	0. 513	1. 000	1. 032	1. 163	0. 732	1. 416	0. 136	1. 000	0. 153
190614	0. 232	0. 371	0. 479	0. 513	1. 000	1. 032	1. 162	0. 734	1. 419	0. 136	1. 000	0. 152
190624	0. 232	0. 371	0. 479	0. 513	1. 000	1. 032	1. 146	0. 716	1. 395	0. 135	1. 000	0. 154
190628	0. 232	0. 371	0. 479	0. 513	1. 000	1. 032	1. 078	0. 677	1. 273	0. 130	1. 000	0. 170
190703	0. 232	0. 372	0. 479	0. 513	1. 000	1. 032	1. 157	0. 724	1. 394	0. 140	1. 000	0. 156
平均值	0. 231	0. 371	0. 478	0. 512	1. 000	1. 032	1. 103	0. 699	1. 478	0. 134	1. 000	0. 161
RSD/%	0. 35	0. 22	0. 21	0. 19	0	0	5. 59	5. 54	9. 93	2. 30	0	5. 16

2. 7. 7 计量学分析

2. 7. 7. 1 相似度分析 利用中药色谱指纹图谱相似度评价软件（2012 年版），以液相图谱共有模式为参照图谱，将数据进行特征峰匹配，夹角余弦法计算相似度，结果见表 5。由此可知，各批样品之间的差异较小，表明制备工艺稳定，重复性良好。

表 5 15 批样品相似度

Tab. 5 Similarities of fifteen batches of samples

批号	相似度	批号	相似度
181213	0. 999	190521	0. 998
181225	0. 999	190530	0. 999
190304	0. 999	190604	0. 999
190313	0. 999	190614	0. 999
190319	0. 999	190624	0. 999
190410	0. 997	190628	0. 998
190424	0. 999	190703	0. 999
190508	0. 997	对照图谱	1. 000

2. 7. 7. 2 主成分分析 通过 SPSS Statistics 19. 0 软件进行主成分分析，结果见表 6~7。由此可知，前 2 个主成分累积方差贡献率为 87%，基本可以客观反映样品信息；补骨脂素、马钱苷对主成分 1 的贡献度最大，而莫诺苷、马钱苷对主成分 2 的最大。

2. 7. 7. 3 聚类分析 通过 SPSS Statistics 19. 0 软件，以组间联接法、平方 Euclidean 距离为测度，对 15 批样品进行聚类分析，见图 5。由此可知，当 0<阈值<5 时，除批号 181213 外其他样品聚为一类，批号 181213 样品由于 4 种成分含有量的差

表 6 主成分特征值和方差贡献率

Tab. 6 Principal component eigenvalues and variance contribution rates

成分	初始特征值			提取平方和载入		
	合计	方差/%	累积/%	合计	方差/%	累积/%
1	2. 437	60. 922	60. 922	2. 437	60. 922	60. 922
2	1. 059	26. 477	87. 399	1. 059	26. 477	87. 399
3	0. 325	8. 135	95. 534	—	—	—
4	0. 179	4. 466	100. 000	—	—	—

表 7 主成分分析结果

Tab. 7 Results of principal component analysis

指标	贡献度	
	主成分 1	主成分 2
莫诺苷	0. 759	0. 541
马钱苷	0. 776	0. 491
补骨脂素	0. 838	-0. 420
异补骨脂素	0. 745	-0. 591

异而单独聚为另一类，结果与表 5 一致，表明提取浓缩工艺稳定。

3 讨论

3. 1 色谱条件选择 本实验采用梯度洗脱，发现洗脱 50 min 内时 4 种成分分离效果良好，峰型对称，符合含有量测定要求。通过查阅相关文献结合 VWD 紫外检测器参数考察所测成分紫外吸收，发现莫诺苷、马钱苷最大吸收波长均为 240 nm^[12-14]，补骨脂素、异补骨脂素均为 246 nm^[15-16]，为达到特征图谱信息量最大化和测定要求，检测波长选取 240 nm（0~25 min）、246 nm（25~50 min）。流动

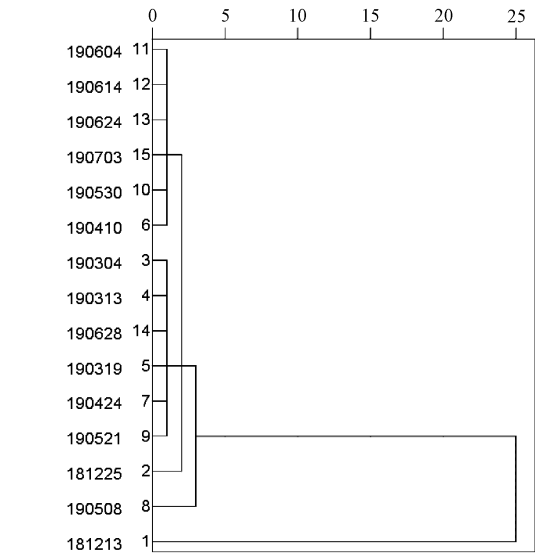


图 5 15 批样品聚类分析

Fig. 5 Cluster analysis of fifteen batches of samples

相比较了乙腈-0.1% 甲酸、乙腈-0.1% 磷酸，发现以后者洗脱时各成分均实现基线分离，可达到定量分析要求。再进行体积流量、柱温等耐用性考察，发现分别在（1.0±0.1）mL/min、（35.0±1.0）℃范围均可重现，方法耐用性良好。

3.2 提取条件优化 课题组前期研究发现，供试品中莫诺苷色谱峰峰型对溶剂要求较高，容易出现裂峰、峰型不对称，故选择 2015 年版《中国药典》中的提取溶剂，即 50% 甲醇^[17]。再对不同提取方式（超声、加热回流）、提取时间（20、30、40 min）、提取溶剂用量（50、25、10 mL）进行考察，最终确定取样后精密加入 50% 甲醇 50 mL，超声（功率 300 W、频率 40 Hz）处理 30 min 作为最优提取条件。

3.3 HPLC 特征图谱分析 共指认了 6 个共有特征峰，其中峰 1、2、S、6 分别为莫诺苷、马钱苷、补骨脂素、异补骨脂素，即为补肾解毒颗粒特征成分。再通过化学计量学评价各批样品相似度，发现不同批次之间差异较小，而且均采用同批药材，不存在原料差异，表明生产工艺稳定，各成分提取完全。

4 结论

本实验测定补肾解毒颗粒中莫诺苷、马钱苷、补骨脂素、异补骨脂素的含有量，并建立其 HPLC 特征图谱，再通过聚类分析和主成分分析对 15 批样品进行化学计量学分析，发现该方法简便可靠，

稳定性、重复性良好，可用于评价该制剂质量。

参考文献：

[1] 蓝 海. 补肾解毒方治疗多发性骨髓瘤的临床疗效及实验机制研究[D]. 广州：广州中医药大学，2017.

[2] 陈 鹏，丘和明，宋 爽，等. 补肾活血法辅助化疗治疗多发性骨髓瘤骨病 16 例疗效观察[J]. 新中医，2006，38（8）：24-25.

[3] Mitsiades C S, Hideshima T, Chauhan D, *et al.* Emerging treatments for multiple myeloma: beyond immunomodulatory drugs and bortezomib[J]. *Semin Hematol*, 2009, 46(2): 166-175.

[4] 严鲁萍. 中西医结合治疗多发性骨髓瘤 18 例疗效观察[J]. 贵阳中医学院学报，1995，17(3)：39-40.

[5] Palumbo A, Falco P, Falcone A, *et al.* Melphalan, prednisone, and lenalidomide for newly diagnosed myeloma: kinetics of neutropenia and thrombocytopenia and time-to-event results[J]. *Clin Lymphoma Myeloma*, 2009, 9(2): 145-150.

[6] Kumar S K, Rajkumar S V, Dispenzieri A, *et al.* Improved survival in multiple myeloma and the impact of novel therapies[J]. *Blood*, 2008, 111(5): 2516-2520.

[7] 雷小小，苏艳莹，李美云，等. 山茱萸环烯醚萜苷中马钱苷和莫诺苷的研究进展[J]. 上海中医药杂志，2018，52(1)：104-108.

[8] 李观林. 山茱萸中环烯醚萜苷类的研究进展[J]. 亚太传统医药，2014，10(18)：48-49.

[9] 赵 婷，朱汀滢，吴 斌. 补骨脂中补骨脂素和异补骨脂素测定[J]. 中成药，2015，37(5)：1036-1040.

[10] 吴少华，张仲海，赵建斌. 补骨脂素体内外抗癌活性的实验研究[J]. 中国中药杂志，1998，23(5)：303-305.

[11] 郭江宁. 补骨脂抗氧化与抗癌活性成分的研究[D]. 沈阳：沈阳药科大学，2004.

[12] 郑阿旭. HPLC 法测定桂附地黄丸（浓缩丸）中莫诺苷、马钱苷和丹皮酚的含量[J]. 海峡药学，2018，30(10)：66-68.

[13] 王晓燕，黄 霞，霍甜甜，等. HPLC 法同时测定六味地黄丸中 4 种活性成分的含量[J]. 中医研究，2018，31(2)：75-78.

[14] 林雨芹，季巧遇，邵 坚，等. HPLC 法测定六味地黄膏中莫诺苷和马钱苷含量[J]. 江西中医药大学学报，2018，30(2)：74-76.

[15] 张芦燕，韩长锦，王 荣，等. HPLC 法同时测定男宝胶囊中淫羊藿苷、丹皮酚、补骨脂素和异补骨脂素的含量[J]. 宁夏医学杂志，2018，40(4)：352-354.

[16] 冯 良，褚书豪，汪小彩. 三波长切换法同时测定仙灵骨葆胶囊中淫羊藿苷等 5 种活性成分含量[J]. 中国中医药信息杂志，2017，24(10)：68-71.

[17] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典：2015 年版一部[S]. 北京：中国医药科技出版社，2015：704-705.