

基于主成分分析的中药制剂综合评价模式探索

张振巍¹, 张娜娜², 石磊^{1*}

(1. 中国人民解放军第一五五中心医院, 河南 开封 475003;
2. 开封市中医院, 河南 开封 475000)

[摘要] 目的:建立清热解毒口服液生产工艺的综合评价模式,并应用于该制剂的生产监控。方法:选择清热解毒口服液为研究对象,以共有峰为多变量,采用主成分分析、因子分析等方法实现对数据的压缩、解释,通过少量主分量分析揭示制剂整体质量的变化。结果:最佳提取工艺为加 10 倍量水提取 2 次,每次 100 min。结论:降维分析法能简化分析过程,且能深刻揭示原始数据的内在规律,适用于对中药整体质量的控制。

[关键词] 清热解毒口服液; 主成分分析法; 因子分析; 综合评价; 质量控制

[中图分类号] R283.6, R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)16-0018-04

[doi] 10.11653/syfy2013160018

Investigation of Comprehensive Evaluation for Traditional Chinese Medicine Preparations Based on Principal Component Analysis

ZHANG Zhen-wei¹, ZHANG Na-na², SHI Lei^{1*}

(1. The 155th Central Hospital of People's Liberation Army, Kaifeng 475003, China;
2. Kaifeng Hospital of Traditional Chinese Medicine, Kaifeng 475000, China)

[收稿日期] 20121213(011)

[基金项目] 济南军区后勤科研计划(CJN10L067)

[第一作者] 张振巍,药师,从事中药新药及制剂质量标准研究,Tel:15137868191,E-mail:zhenwei_981@163.com

[通讯作者] *石磊,主任药师,从事中药制剂与医院药学研究,Tel:0378-3958759

Zeta 电位绝对值在 30 mV 已足够建立最大能量来保证体系的稳定性,而制备的样品为 -20 ~ 25 mV,较接近最稳定电位值。龙胆苦苷作为水溶性药物,在体系中更易发生药物泄漏问题,较难制成纳米制剂。

[参考文献]

[1] 徐关丽,陈露露,蔡江辉,等. 龙胆苦苷对脓毒症小鼠急性肝损伤的保护作用[J]. 激光杂志,2013,34(1):96.
[2] Müller B H, Petersen R D, Hommess A, et al. Nanostructured lipid carriers (NLC) in cosmetic dermal products[J]. Adv Drug Deliv Rev,2007,59(6):522.
[3] Müller B H, Radtke M, Wissing S A. Solid lipid nanoparticles (SLN) and nanostructured lipid carriers (NLC) in cosmetic and dermatological preparations[J]. Adv Drug Deliv Rev,2002,54(S1):131.

[4] YUAN H, CHEN J. Studies on oral absorption of stearic acid SLN by a novel fluorometric method[J]. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces,2007,58:157.
[5] 葛卫红,郭建友,蔡金娜,等. 高效液相色谱法测定金胆片中龙胆苦苷的含量[J]. 中国实验方剂学杂志,2006,12(11):10.
[6] 王金鹏,王砚,任华忠,等. HPLC 测定复方茵陈糖浆中龙胆苦苷[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(11):71.
[7] 黄凌斐. 脂质纳米载体的制备与细胞转运研究[D]. 杭州:浙江大学,2008.
[8] 陈晶,顾月清. 纳米结构脂质载药系统的研究进展[J]. 药学进展,2010,34(12):535.
[9] 陈立亚,于宝珠,赵慧芳. Zeta 电位及其在药学分散体系研究中的应用[J]. 药物分析杂志,2006,26(2):281.

[责任编辑 全燕]

[Abstract] **Objective:** To Establish comprehensive evaluation model of production process of Qingre Jiedu oral liquid, and apply to production monitoring of this preparation. **Method:** Qingre Jiedu oral liquid was selected as study object, with shared peaks as multivariate variables, principal component analysis, factor analysis and other methods were adopted to achieve data compression and interpretation, and the overall quality changes of preparations was revealed by a small amount of principle component analysis. **Result:** Optimum extraction technology of Qingre Jiedu oral liquid was: extracted 2 times with 10 times the amount of water, 100 min per time. **Conclusion:** Dimensionality reduction analysis could simplify analysis process and reveal inherent laws of raw data penetratingly, it was suitable for control of the overall quality of traditional Chinese medicine.

[Key words] Qingre Jiedu oral liquid; principal component analysis; factor analysis; synthesis evaluation; quality control

主成分分析是考察多个变量间相关性的一种多元统计方法,通过研究少数几个的主分量来解释多个变量间的内部结构。拟将中药化学成分组成作为多个变量,从这多个变量中导出少数几个主分量,使它们尽可能多地保留原始变量的信息,且彼此互不相关,进行统计分析,从而揭示中药整体成分的变化情况。本实验选择2010年版《中国药典》成方制剂中清热解毒口服液,该制剂由石膏、金银花、玄参、连翘、栀子、黄芩等12味中药组成,具有清热解毒之功效^[1]。采用主成分分析法,结合清热解毒口服液的提取工艺设计,将数据分析结果融合至工艺参数分析中,充分体现中医药整体效应,使分析变量简化,问题更加简单直观。

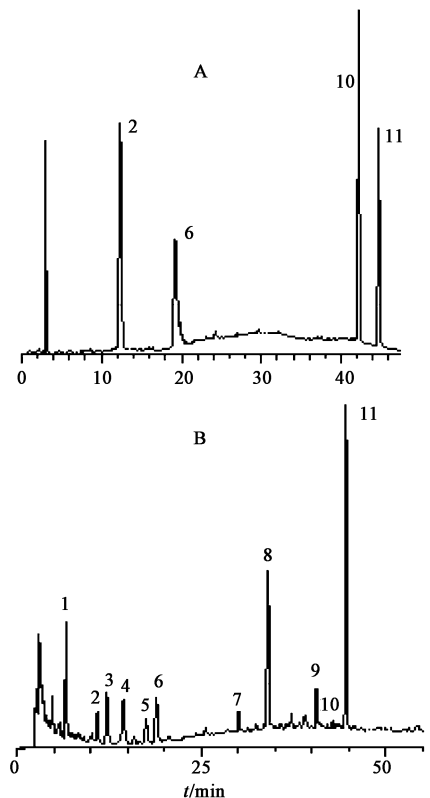
1 材料

岛津 LC2010CHT 型高效液相色谱仪(日本岛津),AB135-S 型双量程电子天平(瑞士梅特勒-托利多)。黄芩苷、绿原酸、栀子苷对照品(中国药品生物制品检定所,批号分别为 110715-201016,110753-200413,110749-200714),连翘苷对照品(科翔生物科技有限公司,批号 08-2011,纯度 >98%),甲醇为色谱纯,水为双重蒸馏水,其他试剂均为分析纯。药材购自医院药房,经药械科主任药师石磊教授鉴定,均为2010年版《中国药典》收载品种。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱 Shim-Pack VP-ODS C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相甲醇-0.1% 磷酸梯度洗脱 0 ~ 5 min, 30% ~ 40% 甲醇; 5 ~ 60 min, 46% ~ 70% 甲醇,流速 1.0 mL · min⁻¹,检测波长 227 nm,柱温 30 ℃,进样量 10 μL,见图 1。

2.2 对照品溶液的制备 精密称定黄芩苷、绿原酸、连翘苷、栀子苷对照品适量,置于 25 mL 量瓶中,用甲醇溶解并定容,摇匀,即得各成分质量浓度分别为 2.002, 1.298, 1.028, 1.446 0 g · L⁻¹ 的混合对照



A. 对照品; B. 供试品; 2. 栀子苷;
6. 绿原酸; 10. 连翘苷; 11. 黄芩苷

图 1 清热解毒口服液 HPLC

品溶液。

2.3 供试品溶液的制备 精密吸取清热解毒口服液适量(相当于处方中黄芩用量 0.5 g)置于 200 mL 量瓶中,加入适量甲醇超声处理 20 min,放冷至室温,用甲醇定容,经 0.45 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液,即得。

2.4 提取工艺设计及分析

2.4.1 均匀试验设计 采用水提法。选取提取时间、提取次数和加水量为考察因素^[2],按处方比例称取各药材共 129 g,采用 U₁₂(12 × 6 × 3)混合均匀

试验进行设计^[3],利用 DPS 7.05 处理系统对试验数据点的分布进行优化,以降低数据点的相关性和中心化偏差(CD),增加数据拟合的准确度,因素水平见表 1,试验安排及结果见表 2。

表 1 清热解暑口服液提取工艺优选混合均匀试验因素水平

水平	X_1 加水量/倍	X_2 提取时间/min	X_3 提取数/次
1	5	30	1
2	6	60	2
3	7	90	3
4	8	120	
5	9	150	
6	10	180	
7	11		
8	12		
9	13		
10	14		
11	15		
12	16		

表 2 清热解暑口服液提取工艺优选混合均匀试验安排

No.	X_1	X_2	X_3	综合评分		
				观测值(Y)	预测值(Y_e)	误差($e_i = Y - Y_e$)
S ₁	1	5	2	-0.949 0	-0.945 0	-0.004 0
S ₂	10	1	3	-0.916 1	-0.912 2	-0.003 9
S ₃	5	6	1	-0.828 0	-0.833 6	0.005 6
S ₄	11	3	1	-0.883 6	-0.882 9	-0.000 7
S ₅	6	2	2	0.557 0	0.606 9	-0.049 9
S ₆	3	1	1	0.199 9	0.196 0	0.003 9
S ₇	9	4	1	-0.198 1	-0.189 3	-0.008 8
S ₈	12	5	2	-0.425 7	-0.429 8	0.004 0
S ₉	7	2	2	0.478 1	0.428 2	0.049 9
S ₁₀	4	4	3	1.171 7	1.162 9	0.008 8
S ₁₁	8	6	3	1.098 7	1.104 3	-0.005 6
S ₁₂	2	3	3	1.079 3	1.078 6	0.000 7

2.4.2 提取色谱的降维分析 按指纹图谱共有峰提取原则^[4],以相对保留时间标定共有峰。选择峰面积相对较大,位置相对稳定,最大峰面积 \leq 总峰面积的 60%,且所有共有峰峰面积总和占有整个色谱峰面积 90% 以上的色谱峰作为共有峰,将共有峰峰面积作为主成分分析的变量($A_1 \sim A_{11}$),经因子分析适用性 KMO 检验(度量 0.629)和球形 Bartlett 检验(近似卡方 346.699, $df = 55$, Sig. = 0.000)结果均符合适用性条件^[5],故对其进行因子分析,以便进一步对其公因子进行分析。

提取 2 个公因子(F_1, F_2),累计方程贡献率 96.855%,即对所有共有峰来说,2 个公因子对所有峰的解释程度达 96.855%,已足够描述整个色谱的含量变化。其中第 1 个因子方差贡献值 86.034%,

第 2 个方差贡献 10.821%,采用公因子对应的方差贡献率为权重指数计算综合评分 = 86.034%/96.855% F_1 + 10.821%/96.855% F_2 ,为更能表现各样本的属性,将公因子以最大方差法进行旋转,以明确各共有峰对公因子的归属,计算公因子与共有峰的旋转系数,结果显示 $F_1 = 0.105A_1 + 0.104A_2 + 0.114A_3 + 0.093A_4 + 0.094A_5 + 0.109A_6 + 0.106A_7 + 0.104A_8 + 0.099A_9 + 0.037A_{10} + 0.104A_{11}$; $F_2 = 0.097A_1 - 0.026A_2 + 0.297A_3 - 0.147A_4 - 0.153A_5 + 0.095A_6 + 0.018A_7 - 0.032A_8 - 0.091A_9 + 0.822A_{10} + 0.001A_{11}$ 。根据因子分析的实际意义,将提取的 2 个公因子分别归属为含量较高成分和低含量成分,根据其归属意义,以公因子为纵、横坐标对各工艺的提取效能进行分析,结果见图 2,3。

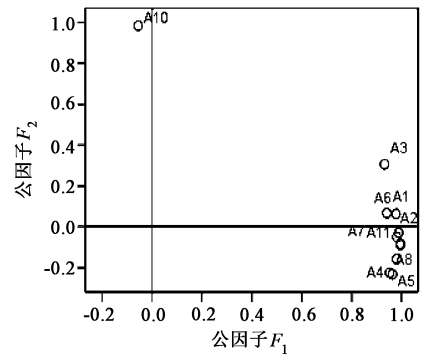


图 2 清热解暑口服液共有峰的公因子归属

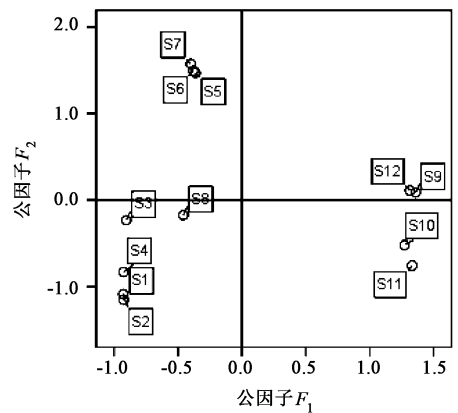


图 3 清热解暑口服液各提取工艺的公因子解释

由图 2 可知,从 HPLC 色谱中提取出来的 11 个共有峰,只有 10 号峰对公因子 F_2 具有较强的归属,其他成分的公因子提取主要集中在 F_1 中。从公因子的实际意义来讲,10 号色谱峰含量较低,在所有色谱峰中峰面积最低,经过化学成分对比,发现 A_{10} 为连翘苷的色谱峰,可能是由于连翘苷的热稳定性较差,提取时被破坏,导致含量较低。其他成分的色谱峰峰面积相对较大,在 F_1 中占比较高,故归属为

含量较高成分^[6]。

由图3可知,12种提取工艺根据各公因子的属性分为三大类,第一类包括 S_1, S_2, S_3 和 S_8 ,各色谱峰峰面积值相对较低,对公因子的影响显示为负值;第二类包括 S_5, S_6 和 S_7 ,该3种工艺参数对公因子 F_2 的贡献程度较大,即工艺参数对共有峰 A_{10} (连翘苷)的提取程度相对较高,而对于除共有峰 A_{10} 以外的成分提取程度较低;第三类包括 S_9, S_{10}, S_{11} 和 S_{12} ,这4种提取工艺对公因子 F_1 贡献程度较大,而对公因子 F_2 的贡献程度较低,说明工艺参数对热敏性成分的影响程度较大,适合于热稳定性成分的提取。

2.4.3 数据的拟合分析^[7-8] 对综合评分进行多元非线性拟合,采用STATISTICA 8.0统计软件进行分析,得拟合方程 $Y = -0.8551 + 0.3306X_1 + 0.4588X_2 + 0.8381X_3 - 0.0392X_1^2 - 0.0314X_2^2 + 0.0266X_3^2 + 0.0752X_1X_2 + 0.0750X_1X_3 - 0.0903X_2X_3$ [$r = 0.9997, P = 0.0031, F = 326.5337(9, 2)$],说明该二项式方程对试验数据的拟合程度较高,且方程具有极显著意义。为更好地对试验模型进行预测,将3个影响因素的各水平值进行标准化转化后投影到二维三角能级图中,见图4,选择最佳的参数取值。

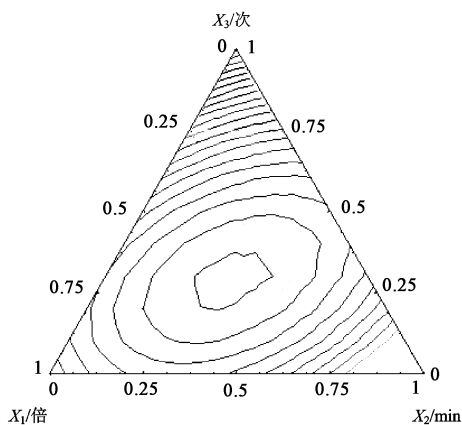


图4 清热解毒口服液提取工艺混合均匀试验各因素水平的二维三角能级

由图4可知,3个因素的水平值代码取值分别为0.5,0.45,0.6,经过代码转化,并结合实际生产情况,确定最佳提取工艺参数为加10倍量水提取2次,每次100 min。

2.4.4 工艺验证 取处方量的药材平行3份,按优选的工艺参数进行验证试验,结果综合评分平均值1.174, RSD 0.95%,说明该方法稳定性好。

3 讨论

试验设计的水平值和最佳工艺参数取值不一

致,主要原因是数据分析方法为连续性分析,通过连续性分析建立效应面,在效应面上对数据的分析更为精确。验证试验发现,当提取时间精确至100 min时,综合评价因子的数值较大,而在90,120 min时出现了谷值,与数据分析结果相一致。

主成分分析和因子分析均为用于将多个相关变量简化为少数几个综合指标的多元统计分析方法,在尽可能保留变量信息的基础上降低变量维数。通过对公因子的旋转,将变量进行归属,结合公因子的实际意义对其进行解释,在实际分析中非常适用,更有利于对成分复杂的中药进行分析^[9]。

选择清热解毒口服液生产工艺的优化为基础,采用高阶统计知识对试验数据进行深度分析、挖掘,将复杂的中药成分进行分类量化,既达到了对试验数据的压缩、解释,又体现出中药制剂的整体化特点;从中药多成分的“面”映射到关键的几个“点”,经深入分析后,从关键“点”辐射成“面”,多角度反映中药制剂的整体质量,该方法适用于对多成分的中药制剂进行综合评价^[10]。

【参考文献】

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010:1126.
- [2] 张振巍,张娜娜,李月梅. 黄芩、黄连配伍前后的主要化学成分含量变化[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(24):58.
- [3] 方开泰. 均匀设计与均匀设计表[M]. 北京:科学出版社,1994:117.
- [4] 国家药品监督管理局. 关于印发《中药注射剂指纹图谱研究的技术要求(暂行)》的通知[J]. 中成药,2000,22(10):671.
- [5] 张文彤. SPSS统计分析高级教程[M]. 北京:高等教育出版社,2004:213.
- [6] 张振巍,石磊,白丹丹,等. 混合均匀试验优选飞龙掌血散剂总生物碱提取工艺[J]. 中国药房,2012,23(39):3681.
- [7] 石磊,张振巍. 二次回归正交设计法优选黄芩苷醇提工艺[J]. 中药材,2011,34(12):1946.
- [8] 薛鹏喜,童志平,谢远. 超临界CO₂萃取穗花大黄中总蒽醌工艺优选[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(9):56.
- [9] 陈斌,蔡宝昌. 大黄药材HPLC指纹图谱的化学模式识别[J]. 南京中医药大学学报,2006,22(1):47.
- [10] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典临床用药须知(中药饮片类)[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010:228.

【责任编辑 仝燕】