

12种成分含量测定结合多元统计分析的扎冲十三味丸质量评价^Δ

张微^{1,2*}, 张谦^{1,2}, 白图雅^{1,2}, 李鑫奎³, 胡玉霞^{1,2}, 张梦迪^{1,2}, 刘静^{1,2}, 王芳^{1,2}, 李君^{1,2#} (1. 内蒙古医科大学药学院, 呼和浩特 010110; 2. 内蒙古医科大学新药筛选工程研究中心, 呼和浩特 010110; 3. 内蒙古医科大学计算机学院, 呼和浩特 010110)

中图分类号 R286.0; R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2026)19-2509-07

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2026.19.05



摘要 目的 评价扎冲十三味丸的质量。方法 采用高效液相色谱串联三重四极杆质谱(HPLC-MS/MS)法测定18批样品中沉香四醇、木香炔内酯、次乌头碱、去氢木香内酯、新乌头碱、乌头碱、甘草素、甘草酸、鞣花酸、甘草苷、柯里拉京、没食子酸的含量;采用微生物在线分析平台进行聚类分析(CA),采用SIMCA14.1软件进行主成分分析(PCA)和正交偏最小二乘法-判别分析(OPLS-DA);采用SPSSAU在线分析平台构建随机森林、极端随机树、极端梯度提升机器学习模型;采用熵权-逼近理想解排序(TOPSIS)法评价样品的综合质量。结果 上述12种成分的含量分别为104.331~694.382、652.217~1 085.075、6.051~130.980、612.174~1 417.179、1.018~32.239、0.953~24.967、65.552~652.239、2 019.412~5 385.807、52.867~4 990.450、156.307~883.180、10.142~475.722、1 102.863~4 826.396 μg/g。CA、PCA结果均显示,18批样品分为两类,S1~S6、S10~S15为一类,S7~S9、S16~S18为一类;OPLS-DA结果显示,新乌头碱、甘草酸、甘草苷、鞣花酸、次乌头碱、甘草素、沉香四醇、没食子酸、去氢木香内酯的变量重要性投影值>1。3种机器学习模型结果均显示,鞣花酸、次乌头碱的差异贡献度较大。熵权-TOPSIS法结果显示,B厂家样品整体质量优于其他4个厂家。结论 所建含量测定方法稳定、可行,结合多元统计分析可用于评价扎冲十三味丸的质量;鞣花酸、次乌头碱是影响该制剂质量的差异标志物。

关键词 扎冲十三味丸;含量测定;HPLC-MS/MS法;化学模式识别分析;熵权-TOPSIS分析;机器学习;质量评价

Quality evaluation of Zhachong-13 pills based on the content determination of 12 components combined with multivariate statistical analysis

ZHANG Wei^{1,2}, ZHANG Qian^{1,2}, BAI Tuyu^{1,2}, LI Xinkui³, HU Yuxia^{1,2}, ZHANG Mengdi^{1,2}, LIU Jing^{1,2}, WANG Fang^{1,2}, LI Jun^{1,2} (1. School of Pharmacy, Inner Mongolia Medical University, Hohhot 010110, China; 2. Engineering Research Center of New Pharmaceutical Screening, Inner Mongolia Medical University, Hohhot 010110, China; 3. School of Computer Science, Inner Mongolia Medical University, Hohhot 010110, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE** To evaluate the quality of Zhachong-13 pills. **METHODS** The contents of agarotetrol, costunolide, hyaconitine, dehydrocostus lactone, mesaconitine, aconitine, liquiritigenin, glycyrrhizic acid, ellagic acid, liquiritin, corilagin, and gallic acid in 18 batches of samples were determined by high-performance liquid chromatography-tandem triple quadrupole mass spectrometry (HPLC-MS/MS) method. Cluster analysis (CA) was performed using the Microbioinformatics online analysis platform. Principal component analysis (PCA) and orthogonal partial least squares discriminant analysis (OPLS-DA) were performed using SIMCA 14.1 software. Random forest, extremely randomized trees, and extreme gradient boosting machine learning models were constructed using the SPSSAU online analysis platform. The comprehensive quality of the samples was evaluated by the entropy weight-technique for order preference by similarity to ideal solution (TOPSIS) method. **RESULTS** The

contents of the above 12 components were 104.331-694.382, 652.217-1 085.075, 6.051-130.980, 612.174-1 417.179, 1.018-32.239, 0.953-24.967, 65.552-652.239, 2 019.412-5 385.807, 52.867-4 990.450, 156.307-883.180, 10.142-475.722, and 1 102.863-4 826.396 μg/g, respectively. The results of CA and PCA showed that the 18 batches of samples were divided into two categories: S1-S6, S10-S15 were grouped into one

^Δ基金项目 国家自然科学基金项目(No.82460822, No.82360801); 内蒙古自治区自然科学基金项目(No.2024QN08054, No.2025LHMS-08061, No.2026MS0980); 内蒙古自治区卫生健康科技计划项目(No.202201187); 内蒙古医科大学青年培育项目(No.YKD2021QN015)

*第一作者 助理研究员, 硕士。研究方向: 中蒙药药效物质基础。E-mail: zhangwei0488@163.com

#通信作者 副研究员, 硕士生导师, 硕士。研究方向: 中蒙药药效物质基础及质量评价体系构建。E-mail: 827395247@qq.com

category, while S7-S9 and S16-S18 were grouped into another category. The OPLS-DA results showed that the variable importance in projection values of mesaconitine, glycyrrhizic acid, liquiritin, ellagic acid, hypaconitine, liquiritigenin, agarotetrol, gallic acid, and dehydrocostus lactone were greater than 1. The results of the three machine learning models showed that ellagic acid and hypaconitine had relatively large differential contributions. The entropy weight-TOPSIS results showed that the overall quality of samples from manufacturer B was superior to that of the other four manufacturers. **CONCLUSIONS** The established method is stable and feasible, and can be used to evaluate the quality of Zhachong-13 pills, in combination with multivariate statistical analysis. Ellagic acid and hypaconitine are differential markers that affect its quality.

KEYWORDS Zhachong-13 pills; content determination; HPLC-MS/MS method; chemical pattern recognition analysis; entropy weight-TOPSIS analysis; machine learning; quality evaluation

蒙药扎冲十三味丸又称嘎日迪-13,由制草乌、诃子、木香、甘草、沉香、石菖蒲、人工麝香、丁香、肉豆蔻、禹粮土、珊瑚(制)、珍珠(制)、磁石(煅)13味药材组成,具有祛风通窍、舒筋活血、镇静安神、除“协日乌素”之功效,蒙医临床常用于治疗半身不遂、左瘫右痪、四肢麻木、言语不清、神经麻痹等病症^[1-2]。现代药理学研究表明,制草乌中所含乌头碱、新乌头碱和次乌头碱具有抗炎、镇痛作用^[3];沉香四醇作为沉香特征性色酮类成分,可抑制乙酰胆碱酯酶活性并增强记忆^[4];诃子富含鞣质及酚酸类成分,其中没食子酸可改善肝损伤、调节肝代谢并抑制肝纤维化^[5],柯里拉京可抑制高糖诱导的足细胞氧化应激及凋亡从而缓解糖尿病肾病^[6],鞣花酸通过激活核因子E2相关因子2/线粒体转录因子A通路增强抗氧化能力、维持线粒体稳态,保护神经元免受脑出血后的继发性脑损伤^[7];甘草富含黄酮类、萜类、皂苷类等成分,其中甘草苷、甘草素和甘草酸具有抗炎、抗氧化及免疫调节作用^[8-9];木香主要成分去氢木香内酯和木香烯内酯具有抗炎、抗菌活性^[10]。

扎冲十三味丸现收载于《中华人民共和国卫生部药品标准》(蒙药分册),该标准仅含制法、性状、鉴别、用法用量等项,尚无含量测定项^[1],这严重制约了该制剂的现代化发展和临床推广;同时,中药制剂成分复杂,药效的发挥具有多成分协同作用的特点,单个指标成分作为质量评价指标,难以客观反映制剂整体品质。因此,构建科学、合理的质量评价体系具有较好的现实意义。

高效液相色谱串联三重四极杆质谱(high-performance liquid chromatography-tandem triple quadrupole mass spectrometry, HPLC-MS/MS)技术具有分析周期短、灵敏度高等优势,在多组分定量分析中被广泛应用^[11]。化学模式识别和机器学习分析能整合多变量信息,有效克服传统制剂质量评价过程中多维信息分析困难的问题^[12-13]。熵权-逼近理想解排序(technique for order preference by similarity to ideal solution, TOPSIS)法

能够将多指标变量转化为单个综合变量,降低分析过程中不同类型指标的干扰,使分析结果更为客观、科学^[13]。为此,本研究采用HPLC-MS/MS技术测定扎冲十三味丸中乌头碱、新乌头碱、次乌头碱、沉香四醇、没食子酸、柯里拉京、鞣花酸、甘草苷、甘草素、甘草酸、木香烯内酯、去氢木香内酯的含量,通过化学模式识别分析、机器学习分析等多元统计分析方法筛选影响该制剂质量的差异标志物,采用熵权-TOPSIS法进行质量综合评价,以期为该制剂的质量评价提供参考。

1 材料

1.1 主要仪器

本研究所用主要仪器包括LC-MS 8045型三重四极杆液质联用仪(日本Shimadzu公司)、BSA224S型万分之一天平[赛多利斯科学仪器(北京)有限公司]、FA1204B型十万分之一电子天平(青岛聚创世纪环保科技有限公司)、DS-7510DTH型数控超声波清洗器(上海生析超声仪器有限公司)。

1.2 主要试剂与药品

去氢木香内酯(批号0603-0020,纯度 $\geq 98.0\%$)、甘草素(批号1073-0020,纯度 $\geq 98.0\%$)、鞣花酸(批号PU0846-0025,纯度 $\geq 98.0\%$)、柯里拉京(批号0265-0020,纯度 $\geq 98.0\%$)、没食子酸(批号3658-0020,纯度 $\geq 98.0\%$)、甘草苷(批号PS1050-0020,纯度 $\geq 98.0\%$)对照品均购自成都普思生物科技股份有限公司;沉香四醇(批号111980-202505,含量 $\geq 98.5\%$)、次乌头碱(批号110798-202010,含量 $\geq 99.2\%$)、新乌头碱(批号110799-202409,含量 $\geq 98.3\%$)、乌头碱(批号110799-202409,含量 $\geq 98.6\%$)对照品均购自中国食品药品检定研究院;甘草酸对照品(批号B023252,纯度 $\geq 98.0\%$)购自上海起发实验试剂有限公司;木香烯内酯对照品(批号YY012HB197202,纯度 $\geq 98.0\%$)购自江苏麦格生物科技有限公司;甲醇为色谱纯,甲酸为分析纯,水为蒸馏水。

18批扎冲十三味丸中,6批(编号S1~S6,批号分别为221139、231002、230968-043、241011、240229、2312241,规格1 g/10粒)购自A厂家;3批(编号S7~S9,批号分别为221137、240717、250213,规格2 g/10粒)购自B厂家;3批(编号S10~S12,批号分别为20230408、20241001、20221001,规格2 g/10粒)购自C厂家;3批(编号S13~S15,批号分别为23011003、2408041、2502037,规格2 g/10粒)购自D厂家;3批(编号S16~S18,批号分别为12510004、12410055、12510003,规格2 g/10粒)购自E厂家。

2 方法与结果

2.1 扎冲十三味丸中12种成分的含量测定

2.1.1 色谱与质谱条件

色谱条件为:以Shim-pack GIST-HP C₁₈(2.1 mm×100 mm,3 μm)为色谱柱,以甲醇(A)-0.1 %甲酸水溶液(B)为流动相进行梯度洗脱(0.01~0.3 min,10%A→25%A;0.3~1.0 min,25%A→45%A;1.0~1.5 min,45%A;1.5~3.0 min,45%A→65%A;3.0~5.0 min,65%A→75%A;5.0~5.5 min,75%A→95%A;5.5~7.0 min,95%A;7.0~7.01 min,95%A→10%A;7.01~10 min,10%A);流速为0.25 mL/min;柱温为35℃;进样量为3 μL。

质谱条件为:采用电喷雾离子源在正、负离子模式下以多重反应监测(multiple reaction monitoring,MRM)模式扫描;加热气流量为10 L/min;脱溶剂温度为526℃;雾化气流量为3 L/min。12种成分的质谱参数见表1。

表1 12种成分的MRM质谱参数

成分	保留时间/min	离子对(<i>m/z</i>)	碰撞能量/eV
沉香四醇	4.824	319.1→301.2(正离子)	-15
木香烃内酯	7.845	233.3→187.3(正离子)	-13
次乌头碱	5.488	616.3→556.1(正离子)	-35
去氢木香内酯	7.909	231.3→185.3(正离子)	-13
新乌头碱	5.294	632.3→572.1(正离子)	-35
乌头碱	5.480	646.3→586.2(正离子)	-37
甘草素	5.758	255.2→119.0(负离子)	25
甘草酸	7.732	821.2→351.0(负离子)	42
鞣花酸	5.492	300.9→283.9(负离子)	34
甘草苷	4.798	417.0→255.0(负离子)	21
柯里拉京	3.949	633.1→301.0(负离子)	21
没食子酸	3.092	168.9→125.0(负离子)	18

2.1.2 溶液的制备

(1)对照品溶液的制备:精密称取沉香四醇、木香烃内酯、次乌头碱、去氢木香内酯、新乌头碱、乌头碱、甘草素、甘草酸、鞣花酸、甘草苷、柯里拉京、没食子酸对照品各适量,分别置于10 mL容量瓶中,加甲醇适量,超声(功率20 W,频率80 kHz,下同)溶解,定容,得上述12种

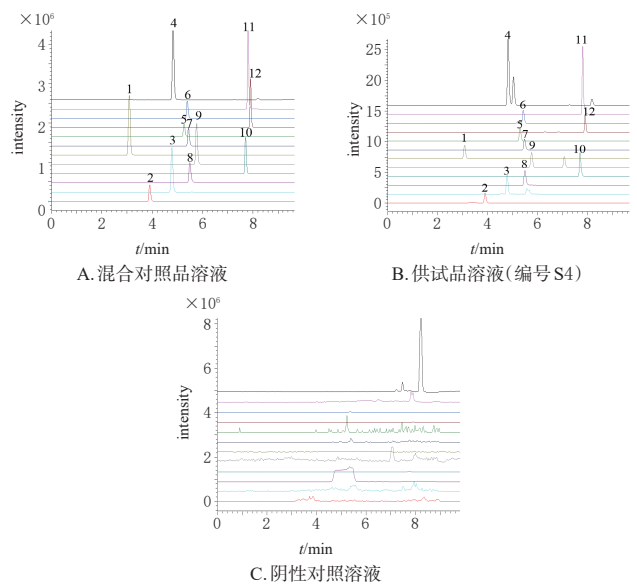
成分质量浓度分别为454.00、556.00、357.00、533.00、112.00、160.00、439.00、526.00、472.00、416.00、501.00、501.00 μg/mL的单一对照品储备液。分别精密量取上述各单一对照品储备液适量,置于同一10 mL容量瓶中,加80%甲醇定容,得上述12种成分质量浓度分别为4 540.00、5 560.00、357.00、5 330.00、44.80、80.00、4 390.00、105 200.00、5 192.00、4 160.00、501.00、5 010.00 ng/mL的混合对照品溶液,于4℃保存。

(2)供试品溶液的制备:取扎冲十三味丸,研磨、过筛,称取约0.5 g,置于50 mL锥形瓶中,加80%甲醇5 mL,称质量、封口,超声处理20 min,冷却至室温,用80%甲醇补足减失的质量,摇匀,再加80%甲醇稀释100倍,经0.22 μm滤膜滤过,即得供试品溶液,于4℃保存。

(3)阴性对照溶液的制备:在不加入扎冲十三味丸的前提下,按“2.1.2(2)”项下方法制备阴性对照溶液。

2.1.3 专属性试验

取上述阴性对照溶液、混合对照品溶液及供试品溶液,按“2.1.1”项下条件进样,记录色谱图。结果(图1)显示,供试品溶液中各待测成分保留时间与各对照品一致,而阴性对照溶液在相应位置处无干扰。



1:没食子酸;2:柯里拉京;3:甘草苷;4:沉香四醇;5:新乌头碱;6:乌头碱;7:次乌头碱;8:鞣花酸;9:甘草素;10:甘草酸;11:木香烃内酯;12:去氢木香内酯。

图1 12种成分的MRM色谱图

2.1.4 线性关系考察

精密量取“2.1.2(1)”项下混合对照品溶液0.01、0.1、0.2、0.4、0.8、1 mL,分别置于1 mL容量瓶中,加80%甲醇定容,得系列混合对照品溶液,按“2.1.1”项下条件进样。以各成分质量浓度(*X*)为横坐标、峰面积(*Y*)为纵坐标进行线性回归。结果见表2。

表2 12种成分的回归方程与线性范围

成分	回归方程	r	线性范围/(ng/mL)
沉香四醇	$Y=9.86\times10^3X+2.06\times10^6$	0.999 9	45.400~4 540.000
木香烃内酯	$Y=5.23\times10^3X+5.76\times10^6$	0.999 2	55.600~5 560.000
次乌头碱	$Y=5.85\times10^3X-4.93\times10^5$	0.999 5	3.570~357.000
去氢木香内酯	$Y=3.29\times10^3X+5.78\times10^6$	0.999 0	53.300~5 330.000
新乌头碱	$Y=2.12\times10^4X-9.36\times10^5$	0.999 8	0.448~44.800
乌头碱	$Y=6.57\times10^3X+9.41\times10^5$	0.999 6	0.800~80.000
甘草素	$Y=5.52\times10^3X+2.85\times10^6$	0.999 1	43.900~4 390.000
甘草酸	$Y=0.68\times10^3X-4.63\times10^4$	0.999 8	1 052.000~105 200.000
鞣花酸	$Y=0.79\times10^3X+9.99\times10^5$	0.999 7	51.920~5 192.000
甘草苷	$Y=6.84\times10^3X+2.10\times10^5$	0.999 6	41.600~4 160.000
柯里拉京	$Y=1.07\times10^3X-2.49\times10^5$	0.999 9	5.010~501.000
没食子酸	$Y=8.40\times10^3X-8.43\times10^5$	0.999 8	50.100~5 010.000

2.1.5 精密度试验

取“2.1.4”项下系列混合对照品溶液(沉香四醇、木香烃内酯、次乌头碱、去氢木香内酯、新乌头碱、乌头碱、甘草素、甘草酸、鞣花酸、甘草苷、柯里拉京和没食子酸质量浓度分别为908.0、1 112.0、71.4、1 066.0、8.96、16.0、878.0、21 040.0、1 038.4、832.0、100.2、1 002.0 ng/mL),按“2.1.1”项下条件连续进样6次,记录峰面积。结果显示,沉香四醇等12种成分峰面积的RSD分别为2.24%、1.32%、1.88%、2.61%、2.45%、2.66%、2.46%、2.12%、1.14%、2.61%、2.05%、1.93%($n=6$),表明仪器精密度良好。

2.1.6 稳定性试验

取“2.1.2(2)”项下供试品溶液(编号S4),分别于室温下放置0、2、4、8、12、18、24 h时按“2.1.1”项下条件进样,记录峰面积。结果显示,沉香四醇等12种成分峰面积的RSD分别为1.58%、2.69%、2.09%、2.57%、2.69%、2.45%、2.05%、2.82%、2.59%、2.62%、1.23%、2.02%($n=7$),表明供试品溶液于室温放置24 h内稳定性良好。

2.1.7 重复性试验

取样品(编号S4)约0.5 g,共6份,分别按“2.1.2(2)”项下方法制备供试品溶液,按“2.1.1”项下条件进样,记录峰面积并根据回归方程计算含量。结果显示,沉香四醇等12种成分含量的RSD分别为0.75%、0.91%、2.33%、1.11%、2.64%、2.03%、1.47%、2.20%、1.37%、1.76%、2.78%、1.08%($n=6$),表明方法重复性良好。

2.1.8 加样回收率试验

精密称取已知含量的样品(编号S4),共6份,每份约0.25 g,分别按1:1含量比例加入混合对照品溶液1 mL[取“2.1.2(1)”项下次乌头碱、新乌头碱、乌头碱、甘草素、鞣花酸、甘草苷、柯里拉京各单一对照品储备液适量,置于10 mL容量瓶中,同时在上述容量瓶中加入沉香四醇1.81 mg、木香烃内酯1.94 mg、去氢木香内酯2.27 mg、甘草酸8.11 mg、没食子酸4.61 mg],按“2.1.2

(2)”项下方法制备供试品溶液,按“2.1.1”项下条件进样,记录峰面积并计算加样回收率。结果显示,沉香四醇等12种成分的平均加样回收率为97.76%~102.41%,RSD为0.38%~1.89%($n=6$),表明方法准确度良好。

2.1.9 扎冲十三味丸的含量测定

取18批样品,分别按“2.1.2(2)”项下方法制备供试品溶液,按“2.1.1”项下条件进样,记录峰面积并根据回归方程计算含量。每批样品平行测定3次,取平均值。结果见表3。

表3 18批样品中12种成分含量测定结果($n=3$, $\mu\text{g/g}$)

编号	沉香四醇	木香烃内酯	次乌头碱	去氢木香内酯	新乌头碱	乌头碱	甘草素	甘草酸	鞣花酸	甘草苷	柯里拉京	没食子酸
S1	694.382	653.052	77.421	696.585	10.863	3.753	110.469	2 360.882	73.699	419.681	10.142	1 102.863
S2	503.841	821.805	48.987	963.683	10.743	5.655	243.563	2 419.610	52.867	156.307	10.866	1 235.931
S3	542.992	837.800	50.601	1 042.958	10.996	5.747	124.213	2 603.588	58.695	376.142	14.376	1 454.506
S4	632.616	733.781	74.072	851.345	32.239	13.951	219.019	3 402.644	536.822	245.581	95.948	1 856.009
S5	497.282	797.428	71.510	893.678	15.887	4.281	119.288	2 750.284	183.905	375.387	55.465	1 909.511
S6	357.825	865.853	99.857	612.174	15.619	4.484	104.137	3 572.731	513.274	490.954	123.633	1 807.160
S7	118.812	779.329	22.831	1 163.834	3.107	0.953	205.827	2 231.268	3 721.518	442.775	475.722	4 826.396
S8	104.331	1 085.075	42.142	1 417.179	4.886	5.070	138.828	2 851.975	4 730.010	340.516	357.999	4 746.080
S9	122.116	940.323	34.908	1 223.932	3.830	6.391	316.466	2 401.697	4 990.450	346.730	425.233	3 971.467
S10	293.556	883.321	130.980	991.434	16.482	10.868	652.239	5 385.807	637.073	565.029	78.967	2 070.718
S11	253.074	652.217	29.234	945.153	3.211	1.327	419.579	4 431.800	520.886	883.180	70.676	1 820.759
S12	489.130	834.140	126.625	984.277	16.055	10.451	465.471	3 540.173	603.353	440.291	64.059	2 043.870
S13	470.880	909.882	25.386	1 090.960	5.649	10.060	218.102	2 962.179	436.725	419.775	99.087	1 985.902
S14	585.228	720.501	23.510	896.783	3.381	2.775	65.552	3 028.922	499.943	603.391	249.724	1 979.465
S15	597.104	735.856	22.426	837.506	3.186	2.263	170.184	2 944.150	425.057	361.088	126.122	2 333.979
S16	485.864	880.904	11.774	1 112.677	1.018	2.347	76.230	2 368.445	963.940	583.602	356.401	1 900.814
S17	531.221	950.850	6.051	1 407.369	1.806	24.967	167.635	2 019.412	689.726	194.185	175.061	2 622.080
S18	499.521	1 037.260	10.691	1 365.826	1.093	2.466	131.744	2 465.811	1 039.343	519.217	297.638	2 262.905

2.2 扎冲十三味丸的化学模式识别分析

2.2.1 聚类分析

将18批样品中12种成分的平均含量导入微生信在线分析平台(<https://www.bioinformatics.com.cn/>)进行聚类分析(cluster analysis, CA),采用完全连接法,距离度量设置为欧氏距离^[14]。结果(图2)显示,18批样品聚为两类,A厂家样品(编号S1~S6)、C厂家样品(编号S10~S12)、D厂家样品(编号S13~S15)聚为一类,B厂家样品(编号S7~S9)、E厂家样品(编号S16~S18)聚为一类,提示不同厂家样品的质量可能存在差异(图中由蓝色至红色表明成分含量越来越高)。

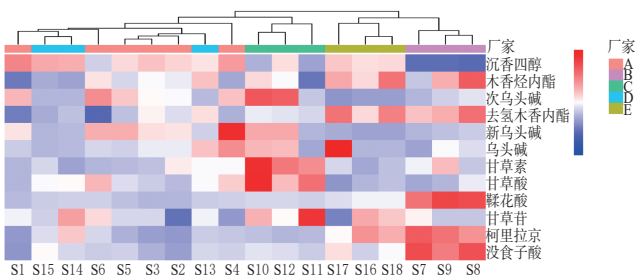


图2 18批样品的CA热图

2.2.2 主成分分析

以18批样品中12种成分的平均含量为变量,采用SIMCA14.1软件进行无监督模式的主成分分析(principal component analysis,PCA)。PCA结果(图3)显示,A厂家样品(编号S1~S6)、C厂家样品(编号S10~S12)、D厂家样品(编号S13~S15)为一类,B厂家样品(编号S7~S9)、E厂家样品(编号S16~S18)为一类,且B、E厂家样品存在分离趋势,该结果与CA结果基本一致。同时,PCA结果还显示,B、D、E厂家不同批次样品较为聚集,而A、C厂家不同批次样品具有一定离散性。

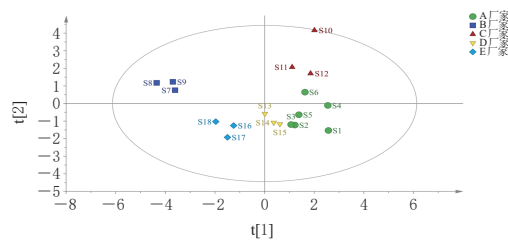


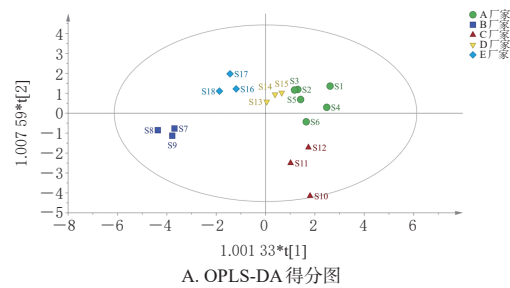
图3 18批样品的PCA得分图

2.2.3 正交偏最小二乘法-判别分析

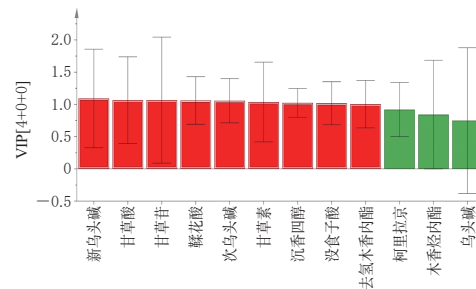
以18批样品中12种成分的平均含量为变量,采用SIMCA 14.1软件进行正交偏最小二乘法-判别分析(orthogonal partial least squares discriminant analysis, OPLS-DA),结果显示,OPLS-DA模型的 R^2X 为0.868、 R^2Y 为0.704, Q^2 为0.604,均大于0.5,表明模型稳定、可行且具有良好的预测能力。为防止模型过拟合,对该模型进行随机排列200次置换检验,结果显示,置换检验生成的 Q^2 均在 R^2 之下,并且 Q^2 拟合回归线与 Y 轴截距为-0.592(<0),表明模型稳定且未过拟合。OPLS-DA得分图(图4A)显示,18批样品分为两类,分类结果与CA、PCA结果一致。以变量重要性投影(variable importance in projection, VIP)值 >1 为标准^[15],筛选影响样品质量的差异标志物,结果(图4B)显示,新乌头碱、甘草酸、甘草苷、鞣花酸、次乌头碱、甘草素、沉香四醇、没食子酸、去氢木香内酯的VIP值 >1 。

2.3 扎冲十三味丸的机器学习分析

以18批样品中12种成分的平均含量为输入变量,以化学模式识别分析的分类结果为类别标签,将数据导入SPSSAU在线分析平台(<https://spssau.com/index.html>),按约8:2比例将18批样品随机分为训练集(14批)和测试集(4批),并对12种成分的平均含量数据进行归一化处理,分别构建随机森林(random forest, RF)、极端随机树(extremely randomized trees, ET)及极端梯度提升(extreme gradient boosting, XGBoost)机器学习模型,采用十折交叉验证评估3种模型的稳定性。结果显



A. OPLS-DA得分图



B. VIP图

图4 18批样品的OPLS-DA图

示,各模型在训练集和测试集中的精确率和准确率均为100%,表明3种模型均具有良好的预测能力。根据特征权重值对12种成分的差异贡献度进行排序,并以特征权重值 >0.1 为标准^[16]筛选特征差异标志物。结果显示,RF模型中没食子酸、鞣花酸、次乌头碱的特征权重值 >0.1 ;ET模型中新乌头碱、鞣花酸、次乌头碱的特征权重值 >0.1 ;XGBoost模型中甘草素、次乌头碱、去氢木香内酯、没食子酸及鞣花酸的特征权重值 >0.1 。结果见图5。

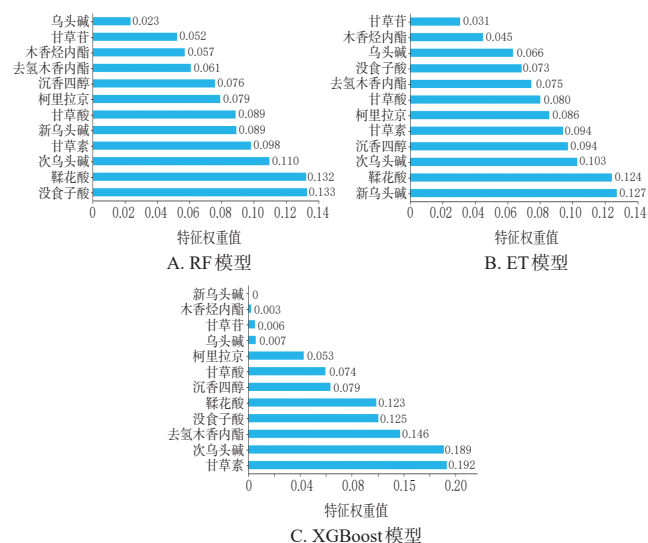


图5 3种模型的特征权重值分析结果

2.4 扎冲十三味丸的熵权-TOPSIS分析

熵权法可根据各指标的离散程度客观确定各指标权重,指标越离散(熵越小),表示权重越高^[17]。将18批样品中12种成分的平均含量数据输入SPSSAU在线分析平台(<https://spssau.com/index.html>),获得各指标的权重系

数(W_i),以 $W_i>0.1$ 为标准筛选质量差异标志物^[18]。结果显示,沉香四醇、木香烃内酯、次乌头碱、去氢木香内酯、新乌头碱、乌头碱、甘草素、甘草酸、鞣花酸、甘草苷、柯里拉京和没食子酸的 W_i 分别为0.040 4、0.003 8、0.106 4、0.009 4、0.142 8、0.125 3、0.080 2、0.013 8、0.266 5、0.028 4、0.147 1、0.035 9,其中鞣花酸、柯里拉京、新乌头碱、乌头碱、次乌头碱的 $W_i>0.1$,提示这5个成分在综合质量评价中的差异贡献度较大。

将熵权法所得各指标的 W_i 输入SPSSAU在线分析平台(<https://spssau.com/index.html>)获得正理想解距离(D_i^+)、负理想解距离(D_i^-)以及相对贴近程度(C_i), C_i 值越大表明样品质量越优^[19]。结果(表4)显示,B厂家样品(编号S7~S9)的 C_i 值为0.742~0.953,E厂家样品(编号S16~S18)的 C_i 值为0.136~0.203,A厂家样品(编号S1~S6)、C厂家样品(编号S10~S12)、D厂家样品(编号S13~S15)的 C_i 值为0.017~0.130,表明B厂家样品整体质量优于其他4个厂家。

表4 18批样品的熵权-TOPSIS排序结果

编号	D_i^+	D_i^-	C_i	排序
S1	1 320.123	27.409	0.020	16
S2	1 324.944	23.507	0.017	18
S3	1 322.737	25.382	0.019	17
S4	1 193.745	136.295	0.102	9
S5	1 287.822	50.721	0.038	15
S6	1 200.203	129.370	0.097	12
S7	344.041	989.087	0.742	3
S8	94.680	1 254.213	0.930	2
S9	65.718	1 321.245	0.953	1
S10	1 165.785	174.093	0.130	7
S11	1 197.692	136.713	0.102	10
S12	1 175.241	157.092	0.118	8
S13	1 219.999	110.713	0.083	14
S14	1 202.783	131.015	0.098	11
S15	1 222.070	112.905	0.085	13
S16	1 080.083	250.550	0.188	5
S17	1 151.376	181.065	0.136	6
S18	1 058.873	270.347	0.203	4

3 讨论

3.1 质谱条件优化

由于不同离子模式下各成分质谱响应不尽相同,此为获得可靠、准确的定量结果,本研究前期对各成分进行了一级质谱全扫描分析,结果发现,乌头碱、新乌头碱、次乌头碱、沉香四醇、木香烃内酯、去氢木香内酯在正离子模式下质谱响应较优,而没食子酸、柯里拉京、鞣花酸、甘草苷、甘草素、甘草酸在负离子模式下离子化更为完全;通过设置不同碰撞电压进行产物离子扫描,初步获得各成分的定量离子对,经系统自动优化程序得到本研究所用的最优质谱参数。

3.2 含量结果分析

含量测定结果显示,5个厂家的18批样品中12种成分含量存在差异,且同一厂家不同批次间差异也较为显著,其中含量相差10倍以上的成分有次乌头碱、新乌头碱、乌头碱、鞣花酸及柯里拉京(含量依次为6.051~130.980、1.018~32.239、0.953~24.967、52.867~4 990.450、10.142~475.722 $\mu\text{g/g}$);次乌头碱、新乌头碱、乌头碱为制草乌的代表成分,鞣花酸、柯里拉京为诃子的代表成分,提示制草乌和诃子饮片质量可能是导致该制剂质量差异的关键因素。既往研究表明,虽然不同产地草乌中的生物碱总量符合《中国药典》规定,但生物碱含量存在差异^[20];另有研究对云南保山市、云南临沧市、广西南宁市、广西玉林市、四川西昌市3省5个产地15批诃子的指纹图谱及化学计量学分析结果显示,不同产地及同一产地不同批次诃子药材质量存在一定质量差异^[21]。结合本研究含量测定结果,提示在该制剂的生产过程中,应严格把控制草乌、诃子饮片质量。

3.3 多元统计结果分析

由CA可知,5个厂家样品聚为两类,A、C、D厂家样品聚为一类,B、E厂家样品聚为一类。PCA结果与CA结果一致,且A、C厂家不同批次样品的分布具有一定离散性;而B、D、E厂家不同批次样品则较为聚集,提示这3家企业样品质量均一性较优;进一步分析发现,尽管CA将B、E厂家样品聚为一类,但这两家样品聚类具有离散趋势,且E厂家样品表现出向A、C、D厂家样品聚类趋势。这提示,E厂家样品整体质量与A、C、D厂家样品相似。

OPLS-DA筛选得到鞣花酸、次乌头碱、新乌头碱、甘草酸、甘草苷、甘草素、沉香四醇、没食子酸、去氢木香内酯9个影响样品质量的差异标志物。RF、ET及XG-Boost机器学习模型筛选得到鞣花酸、次乌头碱的差异贡献度较大。熵权法得到鞣花酸、柯里拉京、新乌头碱、乌头碱、次乌头碱的 $W_i>0.1$ 。综上提示,鞣花酸、次乌头碱为影响样品质量的差异标志物。结合含量测定结果发现,18批样品中鞣花酸含量为52.867~4 990.450 $\mu\text{g/g}$,含量相差约100倍,次乌头碱含量为6.051~130.980 $\mu\text{g/g}$,含量相差超20倍。因此,笔者认为扎冲十三味丸的现行质量标准中可考虑将鞣花酸、次乌头碱作为质控指标。

熵权-TOPSIS法分析结果显示,B厂家样品的 C_i 值为0.742~0.953,E厂家样品的 C_i 值为0.136~0.203,高于其他3个厂家样品的 C_i 值(0.017~0.130),提示B、E厂家样品的整体质量优于其他厂家样品;E厂家样品的

C_i 值与其他3个厂家样品 C_i 值相近,这也进一步解释了PCA中E厂家样品偏离B厂家样品的原因。此外,由于本研究中所有指标均为正向指标,为验证熵权-TOPSIS法是否具有额外的决策价值,本研究进一步采用加权求和法对不同批次样品质量进行综合评价。结果显示,两种方法所得排序结果基本一致,表明熵权-TOPSIS法稳健、可行,可用于评价扎冲十三味丸的质量。

综上所述,本研究所建含量测定方法稳定、可行,结合多元统计分析可用于评价扎冲十三味丸的质量;鞣花酸、次乌头碱可能是影响该制剂质量的差异标志物。

利益冲突 本文所有作者声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 卫生部药典委员会. 中华人民共和国卫生部药品标准: 蒙药分册[M]. 赤峰: 内蒙古科学技术出版社, 1998: 70.
- [2] 马丽, 刘益, 刘婷婷, 等. 扎冲十三味丸抑制脂多糖诱导BV2小胶质细胞神经炎症损伤的机制[J]. 中国医院药学杂志, 2026, 46(9): 975-981.
- [3] 高雅. 基于体内化学成分结合蛋白质组学方法研究诃子制草乌“减毒存效”机制与“量-效/毒”关系[D]. 北京: 中国中医科学院, 2025: 22-23.
- [4] 阴紫钰. 沉香特征性成分抗神经炎症改善抑郁症的药理机制研究[D]. 北京: 北京中医药大学, 2025: 18-19.
- [5] 朱纪玲, 杨凡. 五倍子提取物没食子酸的肝脏保护作用及机制研究进展[J]. 中医药导报, 2026, 32(4): 129-135.
- [6] 桑乾才让, 扎西措, 慕晓旭, 等. 柯里拉京通过转录因子7影响足细胞氧化应激及凋亡缓解糖尿病肾病的研究[J]. 中国临床药理学杂志, 2026, 42(1): 40-46.
- [7] 吴兴涵, 张颖, 王棋, 等. 鞣花酸减轻脑出血引起的继发性脑损伤及其机制研究[J]. 华西药学杂志, 2026, 41(3): 315-318.
- [8] 曾铃, 刘耕, 王庆伟, 等. 甘草苷、甘草酸提取工艺优化及抗氧化活性[J]. 山西农业大学学报(自然科学版), 2026, 46(3): 105-114.
- [9] 庞克坚, 池长圣, 木古丽·木哈西, 等. 胀果甘草研究进展及质量标志物Q-Marker预测[J]. 海南医科大学学报, 2026, 32(16): 1266-1280.
- [10] 王心怡. 木香烯内酯/去氢木香烯内酯对CYP450酶的抑

制作用及机制研究[D]. 武汉: 湖北大学, 2025: 4-5.

- [11] 张谦, 李君, 王跃武, 等. HPLC-MS/MS结合化学模式识别的蒙药地格达-8质量研究[J]. 中药材, 2024, 47(6): 1461-1466.
- [12] Zhong M Y, Li M N, Zou W S, et al. Differentiation of Citri Reticulatae Pericarpium varieties via HPLC fingerprinting of polysaccharides combined with machine learning[J]. Food Chem, 2025, 473: 143053.
- [13] 陈佳惠, 罗琼, 蔚丽君, 等. 基于多成分定量的清热消癥方质量评价及标志性成分筛选[J]. 中国药房, 2026, 37(6): 740-745.
- [14] 李君, 张谦, 王跃武, 等. 基于HPLC-MS/MS和化学模式识别分析的蒙药那如-3味丸质量评价[J]. 中国医院药学杂志, 2024, 44(11): 1277-1284.
- [15] 李君, 李荣杰, 周枫叶, 等. 蒙药三子散质量评价研究: 指纹图谱、化学模式识别和多成分分析[J]. 中国药房, 2025, 36(4): 414-420.
- [16] 卢腾飞, 刘青, 董红敬, 等. 基于气相色谱-离子迁移谱及机器学习的不同产地香附饮片的快速鉴别[J]. 分析测试学报, 2026, 45(5): 951-959.
- [17] 杨颖, 薛明阳, 张谦, 等. 基于多成分含量测定结合熵权法、灰色关联度法和TOPSIS的扫日劳-4质量评价[J]. 化学研究与应用, 2026, 38(2): 334-345.
- [18] Zhang W, Zhou Y, Luo J, et al. Quality evaluation of daribu-5 based on the integrated strategy of “qualitative-quantitative-chemical pattern recognition-entropy weight-TOPSIS”[J]. Sep Sci Plus, 2026, 9: e70185.
- [19] 迟静, 贺玲, 毕夏, 等. 基于多指标成分定量联合化学计量学及熵权TOPSIS模型评价不同产地天葵子的质量[J]. 中药新药与临床药理, 2026, 37(2): 323-331.
- [20] 莫振培, 刘艳梅, 宋鹏. 不同产地生草乌药材的质量分析[J]. 农业科技与信息, 2026(4): 89-95, 101.
- [21] 苏德娜, 布仁, 德格吉日呼, 等. 基于指纹图谱及化学模式识别法的蒙药诃子标准汤剂质量评价研究[J]. 中华中医药杂志, 2026, 41(6): 1771-1780.

(收稿日期: 2026-05-12 修回日期: 2026-09-28)

(本文责编: 陈 宏)