

## HPLC 法测定通便宁片中 8 种成分及其化学计量学综合评价

杨洋<sup>1</sup>, 黄敏<sup>2\*</sup>, 王春明<sup>3</sup>, 孙文英<sup>4</sup>

1. 安庆市第六人民医院 安庆市精神病医院 检验科, 安徽 安庆 246003

2. 安庆市第六人民医院 安庆市精神病医院 药剂科, 安徽 安庆 246003

3. 安庆医药高等专科学校 药学系, 安徽 安庆 246052

4. 安徽中医药大学 安徽省中医药科学院 药学院, 安徽 合肥 230013

**摘要:** 目的 建立 HPLC 法测定通便宁片中咖啡酸、儿茶素、表儿茶素、芹菜素-6,8-二-C-葡萄糖苷、异鼠李素-3-O-β-龙胆二糖苷、番泻苷 B、番泻苷 A、丁内未利葡萄糖苷, 结合化学计量学综合评价产品质量。方法 采用 Discovery C<sub>18</sub> 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相 0.3% 冰醋酸-乙腈, 梯度洗脱; 检测波长为 325 nm (0~13 min 检测咖啡酸)、270 nm (13~55 min 检测儿茶素、表儿茶素、芹菜素-6,8-二-C-葡萄糖苷、异鼠李素-3-O-β-龙胆二糖苷、番泻苷 B、番泻苷 A 和丁内未利葡萄糖苷); 柱温 30 °C; 体积流量 1.0 mL/min; 进样量 10 μL。运用聚类分析 (CA)、主成分分析 (PCA)、正交偏最小二乘判别分析法 (OPLS-DA) 对测定结果进行综合分析。结果 咖啡酸、儿茶素、表儿茶素、芹菜素-6,8-二-C-葡萄糖苷、异鼠李素-3-O-β-龙胆二糖苷、番泻苷 B、番泻苷 A、丁内未利葡萄糖苷分别在 0.49~12.25、0.36~9.00、1.08~27.00、4.15~103.75、39.47~986.75、43.71~1092.75、29.20~730.00、8.57~214.25 μg/mL 线性关系良好, 平均回收率分别为 96.99%、97.28%、98.01%、99.33%、100.03%、99.74%、100.10%、98.85%, RSD 值分别为 1.43%、0.89%、1.55%、0.72%、0.58%、0.66%、0.82%、1.31%。12 批通便宁片样品可聚为 3 类, 不同的生产周期呈现一定的差异性; 番泻苷 B、异鼠李素-3-O-β-龙胆二糖苷和番泻苷 A 是影响通便宁片产品质量的主要潜在标志物。结论 所建立的方法简单可行, 结合化学计量学可用于通便宁片质量的综合评价, 可为通便宁片的质量标准提升提供参考。

**关键词:** 通便宁片; 咖啡酸; 儿茶素; 表儿茶素; 番泻苷 B; 异鼠李素-3-O-β-龙胆二糖苷; 番泻苷 A; 高效液相色谱; 聚类分析; 主成分分析; 正交偏最小二乘判别分析法

中图分类号: R286 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2022)08-1737-07

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2022.08.008

## Determination of eight components in Tongbianning Tablets by HPLC and comprehensive evaluation of chemometrics

YANG Yang<sup>1</sup>, HUANG Min<sup>2</sup>, WANG Chun-ming<sup>3</sup>, SUN Wen-ying<sup>4</sup>

1. Clinical Laboratory, The Sixth People's Hospital of Anqing, Anqing Psychiatric Hospital, Anqing 246003, China

2. Department of Pharmacy, The Sixth People's Hospital of Anqing, Anqing Psychiatric Hospital, Anqing 246003, China

3. Department of Pharmacy, Anqing Medical College, Anqing 246052, China

4. School of Pharmacy, Anhui University of Chinese Medicine, Anhui Academy of Chinese Medicine, Hefei 230013, China

**Abstract: Objective** To establish an HPLC method to determine the contents of caffeic acid, catechin, epicatechin, 6,8-di-C-glucosylapigenin, isorhamnetin 3-O-gentiobioside, sennoside B, sennoside A, and tinnevellin glucoside in Tongbianning Tablets, and to comprehensively evaluate quality by chemometrics analysis. **Methods** The separation was carried out on Discovery C<sub>18</sub> column (250 mm×4.6 mm, 5 μm). The mobile phase was 0.3% glacial acetic acid - acetonitrile with gradient elution. The detection wavelength was set at 325 nm (0 — 13 min for caffeic acid) and 270 nm (13 — 55 min for catechin, epicatechin, 6,8-di-C- glucosylapigenin, isorhamnetin 3-O-gentiobioside, sennoside B, sennoside A, and tinnevellin glucoside). The column temperature was 30 °C, the volume flow was 1.0 mL/min, and the injection volume was 10 μL. The results were comprehensively analyzed by using cluster analysis (CA), principal component analysis (PCA), and orthogonal partial least squares-discriminant analysis (OPLS-DA). **Results** Caffeic acid,

收稿日期: 2022-06-15

基金项目: 安徽省教育厅高校优秀拔尖人才培养项目 (gxyq2021265)

作者简介: 杨洋 (1983—), 女, 主管检验师, 本科, 主要从事检验工作。E-mail: xtmyye@163.com

\*通信作者: 黄敏 (1983—), 女, 主管药师, 本科, 主要从事药物质量控制和医院药学研究工作。

catechin, epicatechin, 6,8-di-*C*-glucosylapigenin, isorhamnetin 3-*O*-gentiobioside, sennoside B, sennoside A, and tinnevellin glucoside showed good linear relationships within the ranges of 0.49—12.25, 0.36—9.00, 1.08—27.00, 4.15—103.75, 39.47—986.75, 43.71—1 092.75, 29.20—730.00, and 8.57—214.25  $\mu\text{g/mL}$ , whose average recoveries were 96.99%, 97.28%, 98.01%, 99.33%, 100.03%, 99.74%, 100.10%, and 98.85% with RSD values of 1.43%, 0.89%, 1.55%, 0.72%, 0.58%, 0.66%, 0.82%, and 1.31%, respectively. 12 Batches of Tongbianning Tablets could be clustered into three categories, and different production cycles show certain differences. Sennoside B, isorhamnetin 3-*O*-gentiobioside, and sennoside A were the main potential markers affecting the quality of Tongbianning Tablets. **Conclusion** The established method is simple and feasible, and can be used combined with chemometrics method for the comprehensive evaluation of the quality of Tongbianning Tablets, and can provide a reference for the improvement of the quality standard of Tongbianning Tablets.

**Key words:** Tongbianning Tablet; caffeic acid; catechin; epicatechin; sennoside B; isorhamnetin 3-*O*-gentiobioside; sennoside A; HPLC; CA; PCA; OPLS-DA

通便宁片由牵牛子、砂仁、番泻叶干膏粉和白豆蔻组方,采用现代工艺加工而成,具有宽中理气、泻下通便的功效,临床上用于症见腹痛拒按、腹胀纳呆、口干口苦、小便短赤、舌红苔黄、脉弦滑数的实热便秘<sup>[1]</sup>。现行质量标准采用 HPLC 法检测了番泻苷 A 和番泻苷 B<sup>[1]</sup>,文献也报道了芦荟大黄素的定量检测<sup>[2]</sup>。通便宁片处方中番泻叶干膏粉泻下导滞、清泄实热、热结便秘,为君药,主要成分包含番泻苷 A、番泻苷 B、芹菜素-6,8-二-*C*-葡萄糖苷、异鼠李素-3-*O*- $\beta$ -龙胆二糖苷、丁内未利葡萄糖苷<sup>[3]</sup>;牵牛子泻下清热、消积导滞,为臣药,主要包含苷类、生物碱类、蒽醌类、酚酸类、糖类成分,其中咖啡酸为主要成分<sup>[4]</sup>。砂仁、白豆蔻行气化湿,共为佐药,砂仁中主要包括酚类物质、黄酮类化合物、挥发油、有机酸、无机成分和多糖等,以咖啡酸、儿茶素和表儿茶素为代表性成分<sup>[5]</sup>。通便宁片中诸药合用,共奏宽中理气、泻下通便之功。中药制剂集众多成分于一身,建立一个科学、便捷、合理的质量评价方法对通便宁片的质量进行全面准确的评价具有重要的意义。本实验采用 HPLC 法测定通便宁片中咖啡酸、儿茶素、表儿茶素、芹菜素-6,8-二-*C*-葡萄糖苷、异鼠李素-3-*O*- $\beta$ -龙胆二糖苷、番泻苷 B、番泻苷 A、丁内未利葡萄糖苷 8 种成分,通过化学计量学对其进行综合质量评价<sup>[6]</sup>,以期完善和提高通便宁片的质量控制水平提供参考。

## 1 仪器与材料

Shimadzu LC-20A 型高效液相色谱仪(日本岛津公司); CP324S 型电子天平(德国 Sartorius 公司)。

表儿茶素(批号 110878-201703,质量分数 99.7%)、咖啡酸(批号 110885-201703,质量分数 99.7%)、儿茶素(批号 110877-202005,质量分数 95.1%)、番泻苷 B(批号 110825-202004,质量分数

96.0%)、番泻苷 A(批号 110824-202003,质量分数 97.2%)对照品均购自中国食品药品检定研究院;丁内未利葡萄糖苷(批号 PRF8062841,质量分数 98.8%)、芹菜素-6,8-二-*C*-葡萄糖苷(批号 PRF9090743,质量分数 99.2%)购自成都普瑞法科技开发有限公司;异鼠李素-3-*O*- $\beta$ -龙胆二糖苷(批号 RFS-H04511812016,质量分数 98.0%)购自成都瑞芬思生物科技有限公司;乙腈、磷酸为色谱纯,其余试剂为分析纯;通便宁片购于广州白云山奇星药业有限公司,规格 0.48 g/片,批号分别为 20308、20242、20243、20254、21109、21122、21135、21138、22002、22016、22022、22025,编号 S1~S12。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

Discovery C<sub>18</sub> 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5  $\mu\text{m}$ ),流动相 0.3%冰醋酸(A)-乙腈(B),梯度洗脱(0~10 min, 11.0% B; 10~13 min, 11.0%→13.0% B; 13~20 min, 13.0%→22.0% B; 20~45 min, 22.0%→25.0% B; 45~55 min, 25.0%→11.0% B);检测波长 325 nm(0~13 min 检测咖啡酸)<sup>[7-10]</sup>、270 nm(13~55 min 检测儿茶素、表儿茶素、芹菜素-6,8-二-*C*-葡萄糖苷、异鼠李素-3-*O*- $\beta$ -龙胆二糖苷、番泻苷 B、番泻苷 A 和丁内未利葡萄糖苷)<sup>[11-18]</sup>;柱温 30  $^{\circ}\text{C}$ ;体积流量 1.0 mL/min;进样量 10  $\mu\text{L}$ 。

### 2.2 溶液的制备

**2.2.1 混合对照品溶液的制备** 取咖啡酸、儿茶素、表儿茶素、芹菜素-6,8-二-*C*-葡萄糖苷、异鼠李素-3-*O*- $\beta$ -龙胆二糖苷、番泻苷 B、番泻苷 A、丁内未利葡萄糖苷对照品适量,用 70%乙醇制成质量浓度分别为 0.098、0.072、0.216、0.830、7.894、8.742、5.840、1.714 mg/mL 的混合对照品贮备液,再将贮备液用 70%乙醇稀释 20 倍得混合对照品溶液(8 种

成分的质量浓度分别为 4.90、3.60、10.80、41.50、394.70、437.10、292.00、85.70  $\mu\text{g/mL}$ 。

**2.2.2 供试品溶液的制备** 取通便宁片，研成细粉，精密称定细粉 2.0 g，精密加 70%乙醇 25 mL，称定质量，加热回流 60 min，放冷，70%乙醇补足质量，摇匀，滤过，即得。

**2.2.3 阴性样品溶液的制备** 按质量标准分别制备缺牵牛子和砂仁、缺砂仁、缺番泻叶干膏的阴性样品，按照 2.2.2 项下方法制备相应阴性样品溶液。

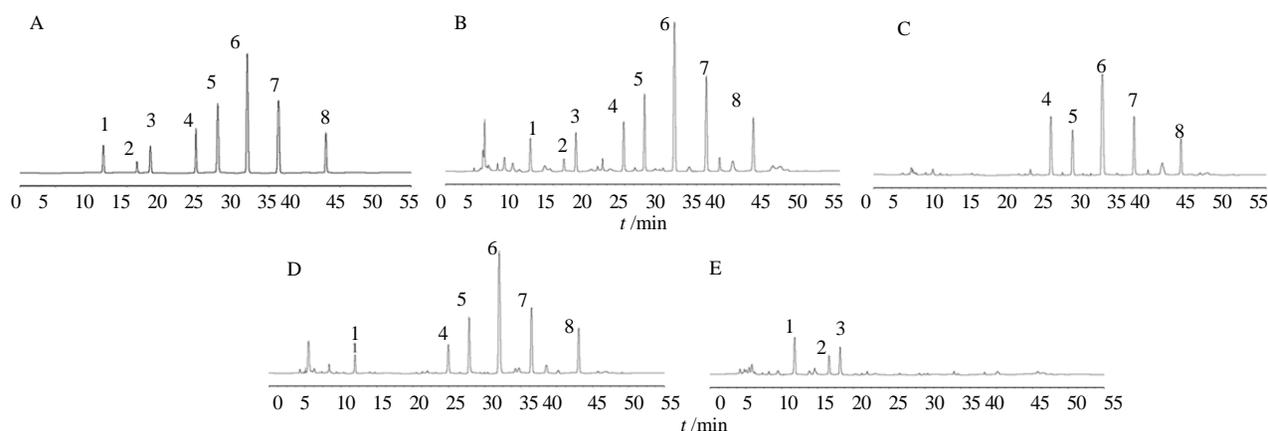
### 2.3 系统适用性试验

取混合对照品溶液、供试品溶液和阴性样品溶液，在上述色谱条件下进样检测，记录色谱图（图

1）。图谱显示供试品溶液中 8 种成分与相邻色谱峰分离良好（分离度均  $\geq 1.5$ ），供试品溶液的色谱图中在与对照品溶液色谱图相应保留时间处有相同的色谱峰；理论板数按咖啡酸计不低于 4 500。

### 2.4 线性关系考察

取混合对照品贮备液，精密吸取 0.1、0.2、0.5、1.0、2.0、2.5 mL，分别用 70%乙醇加至 20 mL，摇匀制得系列线性工作溶液，进样检测，记录色谱图。以咖啡酸、儿茶素、表儿茶素、芹菜素-6,8-二-C-葡萄糖苷、异鼠李素-3-O- $\beta$ -龙胆二糖苷、番泻苷 B、番泻苷 A、丁内未利葡萄糖苷的质量浓度对峰面积进行线性回归，结果见表 1。



1-咖啡酸 2-儿茶素 3-表儿茶素 4-芹菜素-6,8-二-C-葡萄糖苷 5-异鼠李素-3-O- $\beta$ -龙胆二糖苷 6-番泻苷 B 7-番泻苷 A 8-丁内未利葡萄糖苷  
1-caffeic acid 2-catechin 3-epicatechin 4-6,8-di-C-glucosylapigenin 5-isorhamnetin-3-O-gentiobioside 6-sennoside B 7-sennoside A 8-tinnevellin glucoside

图 1 混合对照品 (A)、通便宁片 (B)、缺牵牛子和砂仁阴性样品 (C)、缺砂仁阴性样品 (D) 和缺番泻叶干膏阴性样品 (E) 的 HPLC 图谱

Fig. 1 HPLC chromatograms of mixed reference substances (A), Tongbianning Tablets (B), negative sample without *Pharbitidis Semen* and *Amomi Fructus* (C), negative sample without *Amomi Fructus* (D), negative sample without *Senna Folium Arida Crustulum* (E)

表 1 各成分的线性关系

Table 1 linear regression of each constituents

成分	回归方程	$r$	线性范围/ $(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$
咖啡酸	$Y=2.7198\times 10^6 X+360.8$	0.999 1	0.49~12.25
儿茶素	$Y=2.4791\times 10^6 X+1008.1$	0.999 6	0.36~9.00
表儿茶素	$Y=1.6027\times 10^6 X-445.7$	0.999 4	1.08~27.00
芹菜素-6,8-二-C-葡萄糖苷	$Y=9.4165\times 10^5 X+268.0$	0.999 9	4.15~103.75
异鼠李素-3-O- $\beta$ -龙胆二糖苷	$Y=3.5861\times 10^5 X+605.8$	0.999 7	39.47~986.75
番泻苷 B	$Y=7.8102\times 10^5 X-733.2$	0.999 2	43.71~1092.75
番泻苷 A	$Y=4.5791\times 10^5 X-648.0$	0.999 6	29.20~730.00
丁内未利葡萄糖苷	$Y=6.9574\times 10^5 X-579.3$	0.999 7	8.57~214.05

### 2.5 精密度试验

取通便宁片(编号 S1)供试品溶液,在上述色谱条件下,重复进样 6 次,记录咖啡酸、儿茶素、表儿茶素、芹菜素-6,8-二-C-葡萄糖苷、异鼠李素-3-O-β-龙胆二糖苷、番泻苷 B、番泻苷 A、丁内未利葡萄糖苷色谱峰峰面积,计算得峰面积的 RSD 值分别为 1.33%、1.46%、1.04%、0.98%、0.62%、0.55%、0.69%、0.77%。

### 2.6 稳定性试验

取通便宁片(编号 S1)供试品溶液,于制备后 0、2、4、8、12、18、24 h 进样测定,记录咖啡酸、儿茶素、表儿茶素、芹菜素-6,8-二-C-葡萄糖苷、异鼠李素-3-O-β-龙胆二糖苷、番泻苷 B、番泻苷 A、丁内未利葡萄糖苷色谱峰峰面积,计算得峰面积的 RSD 值分别为 1.37%、1.44%、1.03%、0.96%、0.65%、0.57%、0.71%、0.79%,表明通便宁片供试品溶液 24 h 内稳定。

### 2.7 重复性试验

取通便宁片(编号 S1)样品适量,共 6 份,制备供试品溶液,在上述色谱条件下检测分析,记录色谱峰峰面积,采用外标法计算咖啡酸、儿茶素、表儿茶素、芹菜素-6,8-二-C-葡萄糖苷、异鼠李素-3-

O-β-龙胆二糖苷、番泻苷 B、番泻苷 A、丁内未利葡萄糖苷的质量分数,得各成分质量分数的 RSD 值分别为 1.85%、1.93%、1.72%、1.19%、1.11%、0.93%、1.19%、1.05%。

### 2.8 回收率试验

取通便宁片样品(编号 S1)9 份,研成细粉,每份精密称定 1.0 g,分别加入混合对照品溶液(含咖啡酸、儿茶素、表儿茶素、芹菜素-6,8-二-C-葡萄糖苷、异鼠李素-3-O-β-龙胆二糖苷、番泻苷 B、番泻苷 A、丁内未利葡萄糖苷 0.079、0.058、0.153、0.607、5.298、6.701、4.529、1.312 mg/mL)0.8、1.0、1.2 mL,制备供试品溶液,进样测定,计算得 8 种成分的平均回收率分别为 96.99%、97.28%、98.01%、99.33%、100.03%、99.74%、100.10%、98.85%,RSD 值分别为 1.43%、0.89%、1.55%、0.72%、0.58%、0.66%、0.82%、1.31%。

### 2.9 样品测定

取 12 批通便宁片样品,制备供试品溶液,依法进样分析,采用外标法计算通便宁片中咖啡酸、儿茶素、表儿茶素、芹菜素-6,8-二-C-葡萄糖苷、异鼠李素-3-O-β-龙胆二糖苷、番泻苷 B、番泻苷 A、丁内未利葡萄糖苷的质量分数,结果表 2。

表 2 通便宁片中咖啡酸、儿茶素、表儿茶素、芹菜素-6,8-二-C-葡萄糖苷、异鼠李素-3-O-β-龙胆二糖苷、番泻苷 B、番泻苷 A、丁内未利葡萄糖苷的测定结果 (n=3)

Table 2 Results of caffeic acid, catechin, epicatechin, 6,8-di-C-glucosylapigenin, isorhamnetin 3-O-gentiobioside, sennoside B, sennoside A, and tinnevellin glucoside in Tongbianning Tablets (n=3)

编号	质量分数/(mg/g)							
	咖啡酸	儿茶素	表儿茶素	芹菜素-6,8-二-C-葡萄糖苷	异鼠李素-3-O-β-龙胆二糖苷	番泻苷 B	番泻苷 A	丁内未利葡萄糖苷
S1	0.076	0.054	0.149	0.612	5.376	6.715	4.537	1.328
S2	0.086	0.062	0.116	0.592	5.490	6.860	4.630	1.525
S3	0.093	0.067	0.133	0.626	5.307	6.626	4.470	1.478
S4	0.085	0.058	0.108	0.553	5.625	7.027	4.741	1.570
S5	0.054	0.044	0.085	0.521	4.421	5.518	3.733	1.238
S6	0.053	0.048	0.098	0.534	4.618	5.773	3.789	1.288
S7	0.059	0.034	0.078	0.486	4.277	5.346	3.616	1.194
S8	0.045	0.031	0.089	0.505	4.203	5.235	3.534	1.148
S9	0.083	0.050	0.168	0.784	6.475	8.084	5.466	1.847
S10	0.064	0.060	0.176	0.832	6.762	8.443	5.710	1.803
S11	0.089	0.042	0.184	0.750	6.894	8.608	5.818	1.970
S12	0.074	0.052	0.209	0.815	7.024	8.777	5.934	1.907

## 2.10 化学计量学质量评价

**2.10.1 聚类分析(cluster analysis, CA)** 运用 SPSS 26.0 软件对 12 批通便宁片进行 CA, 将表 2 中咖啡酸、儿茶素、表儿茶素、芹菜素-6,8-二-C-葡萄糖苷、异鼠李素-3-O- $\beta$ -龙胆二糖苷、番泻苷 B、番泻苷 A、丁内未利葡萄糖苷的质量分数数据导入 SPSS 26.0 软件, 以 Euclidean 距离为测度, 采用平均联接法, 运行系统聚类程序, 得图 2。结果显示, 当类间距离为 10 时, 12 批通便宁片聚为 3 类, S7、S8、S5、S6 聚为一类, S1、S3、S2、S4 聚为一类, S11、S12、S10、S9 聚为一类。同一生产周期的产品聚为一类, 说明通便宁片有较明显的分类趋势。

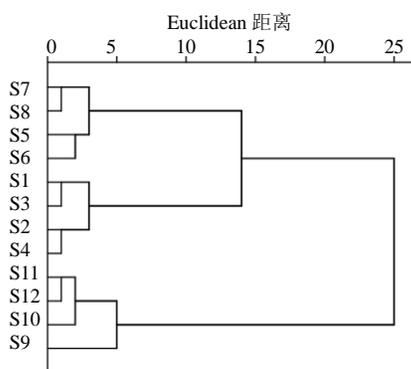


图 2 通便宁片样品 CA 图

Fig. 2 Dendrogram for CA for Tongbianning Tablets

**2.10.2 主成分分析(PCA)** 将表 2 中质量分数数据分别导入 SPSS 26.0 和 SIMCA 14.1 统计软件进行降维分析和建立 PCA 模型, 得表 3、4 和图 3。前 2 个主成分特征值为 6.399、1.103 (均大于 1), 对方差的贡献率分别为 79.985%、13.782%, 累积方

表 3 通便宁片中 8 种成分的成分矩阵

Table 3 Composition matrix of 8 ingredients in Tongbianning Tablets

成分	主成分	
	1	2
咖啡酸	0.672	0.611
儿茶素	0.512	0.774
表儿茶素	0.949	-0.188
芹菜素-6,8-二-C-葡萄糖苷	0.945	-0.225
异鼠李素-3-O- $\beta$ -龙胆二糖苷	0.992	-0.104
番泻苷 B	0.992	-0.103
番泻苷 A	0.991	-0.104
丁内未利葡萄糖苷	0.970	-0.110

差贡献率为 93.767% (大于 85%), 表明选取前 2 个主成分即可代表通便宁片 93.767% 的信息量。主成分矩阵可以看出第一主成分的信息来自咖啡酸、表儿茶素、芹菜素-6,8-二-C-葡萄糖苷、异鼠李素-3-O- $\beta$ -龙胆二糖苷、番泻苷 B、番泻苷 A、丁内未利葡萄糖苷等成分的综合, 第二主成分的信息来自儿茶素的信息。建立 PCA 模型时, 共提取出 2 个主成分  $R^2_X$  为 0.938, 大于 0.5, 所建立的模型稳定性较高。可以看出, S1~S4、S5~S8、S9~S12 分别呈现一定关联性, 分类与 CA 结果一致。

**2.10.3 正交偏最小二乘法-判别分析(OPLS-DA)** 正交偏最小二乘法-判别分析通过对数据的分析能够找出引起产品质量差异的特征成分, 将表 2 中数据导入 SIMCA 14.1 统计软件, 并运行 OPLS-DA 程序, 得图 4。结果累积解释能力参数 ( $R^2_X$ 、 $R^2_Y$ ) 分别为 0.992、0.945, 预测能力参数  $Q^2$  为 0.884, 均

表 4 通便宁片中主成分方差分析

Table 4 Principal component analysis of variance in Tongbianning Tablets

主成分	初始特征值			提取荷载平方和		
	特征值	方差贡献率/%	累积方差贡献率/%	特征值	方差贡献率/%	累积方差贡献率/%
1	6.399	79.985	79.985	6.399	79.985	79.985
2	1.103	13.782	93.767	1.103	13.782	93.767
3	0.355	4.432	98.199			
4	0.099	1.240	99.438			
5	0.035	0.435	99.873			
6	0.010	0.122	99.995			
7	0.000	0.005	100.000			
8	$5.364 \times 10^{-6}$	$6.705 \times 10^{-5}$	100.000			

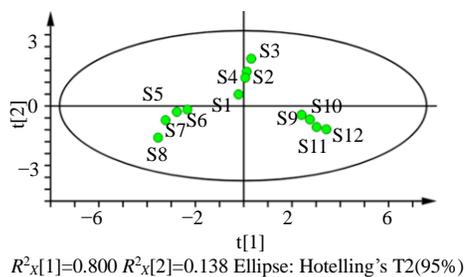


图 3 PCA 得分图

Fig. 3 Score plot of PCA

大于 0.5, 表明所建立的模型稳定可靠、预测能力强。对建立的 OPLS-DA 模型进行置换检验 200 次 (图 5), 结果显示  $R^2$  拟合直线 Y 轴截距为 0.106, 小于 0.3, 表明所建立的 OPLS-DA 模型结果可靠;  $Q^2$  拟合直线 Y 轴截距为 -0.540 (小于 0), 表明所构建的 OPLS-DA 模型不存在过度拟合, 预测能力好, 可有效判别分析 12 批通便宁片的质量差异。根据变量重要性投影 (VIP) 值筛选影响药物炮制前后组方便宁片中化学成分差异的标志性成分, 见图 6。结果  $VIP > 1$  的成分 6 (番泻苷 B,  $VIP = 1.465$ )、成分 5 (异鼠李素-3-O- $\beta$ -龙胆二糖苷,  $VIP = 1.309$ )、成分 7 (番泻苷 A,  $VIP = 1.212$ ) 对通便宁片样品质量的影响较大, 这 3 个成分均为君药所含成分, 同时质量分数相对较高, 是影响通便宁片产品质量的主要潜在标志物。

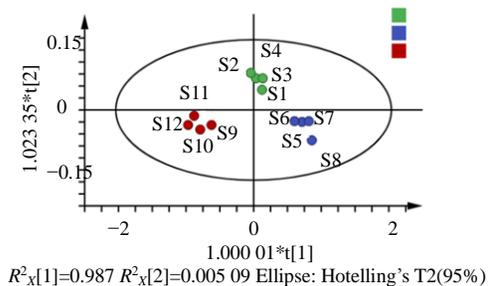


图 4 通便宁片的 OPLS-DA 模型得分图

Fig. 4 Score plot of OPLS-DA of Tongbianning Tablets

### 3 讨论

#### 3.1 色谱条件的选择

本实验在筛选流动相时, 首先采用乙腈 - 水梯度洗脱, 结果基线出现严重漂移, 个别色谱峰不能正常积分, 于是加入酸类 (0.1% 磷酸<sup>[9]</sup>、0.1% 甲酸、0.1% 冰醋酸<sup>[13]</sup>) 加以调节, 结果发现乙腈 - 0.1% 冰醋酸系统运行时, 可达到基线分离且峰形较好, 8 种成分有较大的响应值。为进一步优化色谱条件,

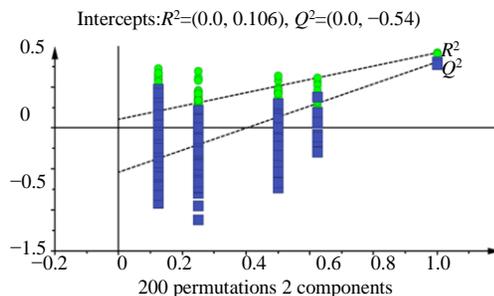


图 5 OPLS-DA 置换检测结果图

Fig. 5 Permutation plot of OPLS-DA

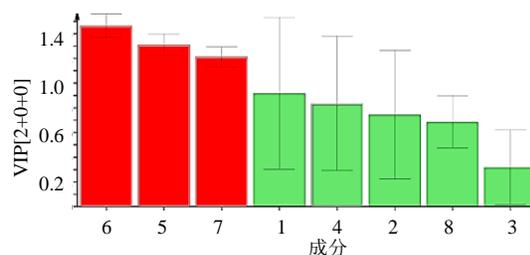


图 6 通便宁片样品的 VIP 图

Fig. 6 VIP values of Tongbianning Tablets samples

对冰醋酸的比例 (0.1%、0.2%、0.3%、0.5%) 进行了摸索。结果发现乙腈 - 0.3% 冰醋酸溶液为流动相时, 咖啡酸、儿茶素、表儿茶素、芹菜素-6,8-二-C-葡萄糖苷、异鼠李素-3-O- $\beta$ -龙胆二糖苷、番泻苷 B、番泻苷 A、丁内未利葡萄糖苷响应值最高, 色谱峰对称度最好, 故选用乙腈 - 0.3% 冰醋酸溶液作为流动相检测通便宁片中 8 种成分。

#### 3.2 供试品溶液制备方法的确定

筛选供试品溶液制备方法时, 首先采用不同体积分数的甲醇 (50%<sup>[9]</sup>、100%<sup>[15]</sup>)、乙醇 (50%<sup>[16]</sup>、70%<sup>[12]</sup>、80%<sup>[11]</sup>) 为提取溶剂, 比较超声和加热回流提取方式, 结果 70% 乙醇加热回流提取时, 8 种成分的提取率较高, 杂质干扰少。然后实验对提取时间 (15、30、60、90、120 min) 进行了摸索, 发现提取 60 min 时, 咖啡酸、儿茶素、表儿茶素、芹菜素-6,8-二-C-葡萄糖苷、异鼠李素-3-O- $\beta$ -龙胆二糖苷、番泻苷 B、番泻苷 A、丁内未利葡萄糖苷的提取率最高, 杂质最少, 故选用 70% 乙醇加热回流 60 min 为通便宁片中 8 种成分检测的供试品溶液制备的提取方法。

本实验采用 HPLC 法测定通便宁片中 8 种成分, 并结合 CA、PCA 和 OPLS-DA 等化学计量学方法对其进行了综合质量评价, 挖掘出番泻苷 B、

异鼠李素-3-O- $\beta$ -龙胆二糖苷和番泻苷 A 对通便宁片样品质量的影响较大, 建议生产企业在产品生产过程中应对这 3 个成分对应的原药材建立质量档案, 关注 3 个成分的质量。本实验通过方法学考察, 证明建立的方法简单可行, 可为通便宁片的质量标准提升提供参考。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

#### 参考文献

- [1] 国家食品药品监督管理局国家药品标准 WS3-03 (Z)-02)-96 (Z)-2017 [S]. 2017.
- [2] 周开, 梁晓燕, 程蕴瑶. 通便宁片质量标准研究 [J]. 中国现代药物应用, 2013, 7(14): 1-3.
- [3] 孙森凤, 张颖颖. 番泻叶成分及药理作用研究进展 [J]. 山东化工, 2017, 46(13): 44-45.
- [4] 张丹宇, 季宇彬, 许旭东, 等. 牵牛子的化学成分和药理作用研究进展 [J]. 科学技术创新, 2018, 22(30): 13-14.
- [5] 陆山红, 赵荣华, 么晨, 等. 砂仁的化学及药理研究进展 [J]. 中药药理与临床, 2016, 32(1): 227-230.
- [6] 于洋, 李军, 李宝国, 等. 化学计量学在中药质量控制研究中的应用 [J]. 中成药, 2018, 40(5): 1139-1142.
- [7] 冯鑫, 袁杰, 金传山, 等. 不同产地牵牛子生品及炒制品咖啡酸含量测定 [J]. 安徽中医药大学学报, 2016, 35(2): 91-93.
- [8] 田连起, 郑玉丽, 白吉星, 等. 牵牛子炮制前后咖啡酸的含量比较研究 [J]. 中医学报, 2011, 5(26): 595-597.
- [9] 姚娜, 黄燕明, 李雪银, 等. HPLC 同步测定泽兰配方颗粒指纹图谱与咖啡酸、迷迭香酸含量 [J]. 中医药信息, 2019, 36(4): 26-29.
- [10] 蔡晓星. HPLC 同时测定桑叶中新绿原酸、绿原酸及咖啡酸的含量 [J]. 中国处方药, 2020, 18(4): 37-38.
- [11] 向清华, 刘辉, 简志银, 等. 贵州金荞麦块根中表儿茶素含量的测定及分析 [J]. 贵州畜牧兽医, 2022, 46(2): 23-25.
- [12] 吕珊, 路东波, 张元元, 等. 砂仁酚类特征成分含量测定及其特征图谱质量表征关联分析研究 [J]. 中医学报, 2018, 46(1): 15-23.
- [13] 邵怡, 张水寒, 蔡光先, 等. 番泻叶超微粉体 HPLC 指纹图谱的研究 [J]. 中成药, 2012, 34(3): 397-400.
- [14] 郭秋萍, 王祝举, 唐力英, 等. HPLC 测定番泻叶中 5 种主要化学成分的含量 [J]. 中国中药杂志, 2008, 33(4): 363-365.
- [15] 张正, 施文婷, 莫秋怡, 等. 超高效液相色谱指纹图谱结合化学计量学优选掌叶大黄饮片炮制工艺 [J]. 化学分析计量, 2022, 31(4): 33-39.
- [16] 蔡杨靖, 潘云. 基于指纹图谱及多指标成分定量的通便灵胶囊质量评价 [J]. 中国药师, 2019, 22(5): 831-834.
- [17] 陈东洋, 张昊, 冯家力, 等. 高效液相色谱法测定减肥类保健食品中 7 种功效成分 [J]. 实用预防医学, 2020, 27(12): 1457-1459.
- [18] 于新兰, 包蓉, 蔡磊, 等. 基于多波长检测和替代对照品法用于通滞苏润江制剂的综合质量控制 [J]. 中国药理学杂志, 2018, 53(18): 1594-1602.

【责任编辑 解学星】