

HPLC 波长切换法同时测定排毒养颜胶囊中 10 种成分

李 静¹, 张 青¹, 肖春霞², 蒲旭峰^{2*}

1. 成都中医药大学药学院, 四川 成都 611130

2. 成都市食品药品检验研究院, 四川 成都 610000

摘 要: **目的** 利用 HPLC 法同时测定排毒养颜胶囊中番泻苷 A、番泻苷 B、松果菊苷、毛蕊花糖苷、橙皮苷、芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚和大黄素甲醚的含量, 结合化学模式识别评价不同批次排毒养颜胶囊的质量差异。 **方法** 结合变波长检测器, 建立同时测定 15 批次排毒养颜胶囊中 10 种成分含量的 HPLC 法, 并对含量测定结果进行主成分分析 (PCA) 和聚类分析, 综合评价市售排毒养颜胶囊质量的差异性。 **结果** 排毒养颜胶囊中番泻苷 A、番泻苷 B、松果菊苷、毛蕊花糖苷、橙皮苷、芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚和大黄素甲醚 10 种成分分别在 0.167 4~2.093 0、0.093 5~1.177 0、0.075 9~0.948 6、0.049 9~0.623 7、0.109 0~1.363 0、0.033 5~0.418 4、0.079 7~0.996 1、0.013 9~0.174 3、0.025 2~0.315 6、0.012 3~0.061 4 $\mu\text{g/mL}$ 线性关系良好; 平均加样回收率分别为 99.84%、99.15%、99.34%、99.81%、100.6%、99.36%、99.86%、100.1%、100.1%、99.76%, RSD 均 $<2.0\%$; 检测限为 0.64~2.18 ng/mL ; 定量限为 3.19~9.55 ng/mL ; 15 批样品中 10 种有效成分的含量分别为 0.712 7~1.118 0、0.403 9~0.522 0、0.236 4~0.320 3、0.671 1~1.183 0、0.058 0~0.146 7、0.108 7~0.259 2、0.014 7~0.050 1、0.517 3~0.582 8、0.275 4~0.305 1、0.162 1~0.185 3 mg/粒 , 各批次样品存在一定差异, 主要是不同大黄投料造成。 **结论** 实验建立的方法简便准确、重复性好, 可用于排毒养颜胶囊的质量控制, 提示厂家在制剂生产过程中要加强对大黄药材的质量控制, 为排毒养颜胶囊后续质量提高提供参考。

关键词: HPLC; 排毒养颜胶囊; 含量测定; 主成分分析; 一致性评价; 番泻苷 A; 番泻苷 B; 松果菊苷; 毛蕊花糖苷; 橙皮苷; 芦荟大黄素; 大黄酸; 大黄素; 大黄酚; 大黄素甲醚

中图分类号: R286.02 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2018)20-4824-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2018.20.018

Simultaneous determination of 10 components in Paidu Yangyan Capsules by HPLC wavelength change method

LI Jing¹, ZHANG Qing¹, XIAO Chun-xia², PU Xu-feng²

1. College of Pharmacy, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611130, China

2. Chengdu Institute for Food and Drug Control, Chengdu 610000, China

Abstract: Objective The contents of sennoside A, sennoside B, echinacoside, verbascoside, hesperidin, aloe-emodin, rhein, emodin, chrysophanol, and rheochrysidin in Paidu Yangyan Capsules (PYC) were determined by HPLC. The quality of different batches of psoralen were evaluated by chemical pattern recognition. **Methods** HPLC was established for the simultaneous determination of 10 components in 15 batches of PYC with variable wavelength detector, and the results were analyzed by principal component analysis and cluster analysis to comprehensively evaluate the difference in quality of PYC which is available in the market. **Results** The contents of sennoside A, sennoside B, echinacoside, verbascoside, hesperidin, aloe-emodin, rhein, emodin, chrysophanol, and rheochrysidin in PYC had good linear relationship in the ranges of 0.167 4—2.093 0, 0.093 5—1.177 0, 0.075 9—0.948 6, 0.049 9—0.623 7, 0.109 0—1.363 0, 0.033 5—0.418 4, 0.079 7—0.996 1, 0.013 9—0.174 3, 0.025 2—0.315 6, and 0.012 3—0.061 4 $\mu\text{g/mL}$, the average sample recovery rate range were 99.84%, 99.15%, 99.34%, 99.81%, 100.6%, 99.36%, 99.86%, 100.1%, 100.1%, and 99.76% (RSD $<2.0\%$), the detection limits were 0.64—2.18 ng/mL , quantitative limits were 3.19—9.55 ng/mL , the content of 10 active ingredients in 15 batches of samples respectively were 0.712 7—1.118 0, 0.403 9—0.522 0, 0.236 4—

收稿日期: 2018-05-29

基金项目: 《中国药典》2020 年版标准提高项目 (479)

作者简介: 李 静 (1993—), 女, 硕士研究生, 研究方向为中药药剂和药物分析。Tel: 13548126391 E-mail: 1013498852@qq.com

*通信作者 蒲旭峰, 主任中药师, 博士, 研究方向为中药分析及中药新药。E-mail: pxf68@263.net

0.320 3, 0.671 1—1.183 0, 0.0580—0.1467, 0.108 7—0.2592, 0.0147—0.0501, 0.5173—0.5828, 0.2754—0.3051, and 0.1621—0.1853 mg/grain and there were some differences among the samples in different batches, mainly due to different rhubarb dosages.

Conclusion The established method is simple, accurate and reproducible, and can be used to control the quality of PYC. It is suggested that the quality control of *Rhei Radix et Rhizoma* should be strengthened in the process of preparation production for providing a reference of PYC follow-up quality improvement.

Key words: HPLC; Paidu Yangyan Capsules; content determination; principal component analysis; consistency evaluation; sennoside A; sennoside B; echinacoside; verbascoside; hesperidin; aloe-emodin; rhein; emodin; chrysophanol; rheochrysidin

排毒养颜胶囊 (Paidu Yangyan Capsule, PYC) 是近年来被广泛使用的一种保健类药品, 收载于《中药成方制剂》, 由云南盘龙云海药业有限公司生产, 主要由大黄、西洋参、白术、枳实、荷叶、肉苁蓉等组成, 具有益气活血、通便排毒的功效, 用于气虚血瘀、热毒内盛、便秘、痤疮、颜面色斑、高脂血症等^[1]。PYC 组方复杂, 药味成分众多, 而现行《中华人民共和国卫生部药品标准》中仅有一个理化鉴别项, 即薄层定性鉴别大黄酚、大黄素 2 种成分, 且无定量规定, 如此很难确保临床用药安全性和有效性, 也难以实现对其质量的全面有效地控制^[1-3]。本课题组建立同时测定 PYC 中 10 种化学成分的 HPLC 法, 用于评价不同批次 PYC 的质量差异性, 并结合模式识别分析阐明其质量差异原因, 以期为更加全面、合理地评控 PYC 的质量提供参考。

1 仪器与材料

Agilent 1260 高效液相色谱仪, 包括 G1315D 二极管阵列检测器, Agilent OpenLAB 色谱工作站, 美国 Agilent 公司; ME-204E 型电子分析天平、XPE-26 型电子分析天平, 瑞士 Mettler-Toledo 公司; SK250H 超声仪, 上海科导超声仪器有限公司; Milli-Q Advantage A10 型超纯水仪, 美国 Millipore 公司。

对照品番泻苷 A (批号 110824-201301, 质量分数 94.7%)、番泻苷 B (批号 110825-201502, 质量分数 95.6%)、大黄素 (批号 110756-201512, 质量分数 98.7%)、大黄酚 (110796-201621, 质量分数 99.2%)、大黄酸 (110757-201607, 质量分数 99.3%)、芦荟大黄素 (110795-201710, 质量分数 98.3%)、大黄素甲醚 (110758-201616, 质量分数 99.0%)、橙皮苷 (110721-201617, 质量分数 96.1%)、毛蕊花糖苷 (111530-201512, 质量分数 96.7%)、松果菊苷 (111670-201706, 质量分数 89.7%) 均由中国食品药品检定研究院提供; 甲醇为色谱纯, 其余试剂均为分析纯, 水为纯化水。

15 批 PYC 购于云南盘龙云海药业有限公司,

规格为 0.4 g/粒, 批号分别为 170321、170427、170540、170320、170536、171152、171213、171153、171255、171256、171258、171259、171261、180102、180105, 分别编号 YP1~YP15。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱为 Sunfire-C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为甲醇-0.1%磷酸水溶液, 梯度洗脱程序: 0~5.00 min, 35%甲醇; 5.01~10.00 min, 35%~40%甲醇; 10.01~30.00 min, 40%~45%甲醇; 30.01~40.00 min, 45%~65%甲醇; 40.01~50.00 min, 65%~85%甲醇; 50.01~65.00 min, 85%~100%甲醇; 体积流量 1.0 mL/min; 柱温 35 °C; 进样量 10 μL。

通过 DAD 检测器对 PYC 甲醇提取液进行全波长扫描, 结果发现番泻苷 A、番泻苷 B、芦荟大黄素、大黄酚、大黄素、大黄酸和大黄素甲醚在 254 nm 处有最大吸收, 橙皮苷在 283 nm 处有最大吸收, 松果菊苷和毛蕊花糖苷在 330 nm 处有最大吸收, 波长切换即是 254 nm (13~16 min, 18~65 min 检测番泻苷 A、番泻苷 B、芦荟大黄素、大黄酚、大黄素、大黄酸和大黄素甲醚)、283 nm (16~18 min 检测橙皮苷)、330 nm (0~13 min 检测松果菊苷和毛蕊花糖苷)。

2.2 溶液制备

2.2.1 混合对照品溶液 精密称取番泻苷 A、番泻苷 B 对照品各适量, 置于 50 mL 量瓶中, 用 0.1% 碳酸氢钠水溶液溶解并稀释至刻度, 作为对照品溶液 I。另精密取芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚和大黄素甲醚对照品各适量, 加甲醇-醋酸乙酯 (2:1) 的混合溶液溶解并定容于 200 mL 量瓶内, 摇匀, 作为对照品溶液 II。取橙皮苷对照品适量加甲醇定容于 100 mL 量瓶内, 作为对照品溶液 III。再取毛蕊花糖苷、松果菊苷对照品适量, 加甲醇混合定容于 100 mL 量瓶, 作为对照品溶液 IV。所得对照品溶液中, 番泻苷 A、番泻苷 B、芦荟大黄素、

大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚、橙皮苷、毛蕊花糖苷和松果菊苷的质量浓度分别为 83.71、47.09、16.74、39.84、6.973、12.62、2.455、54.51、24.95、37.94 $\mu\text{g/mL}$ 。

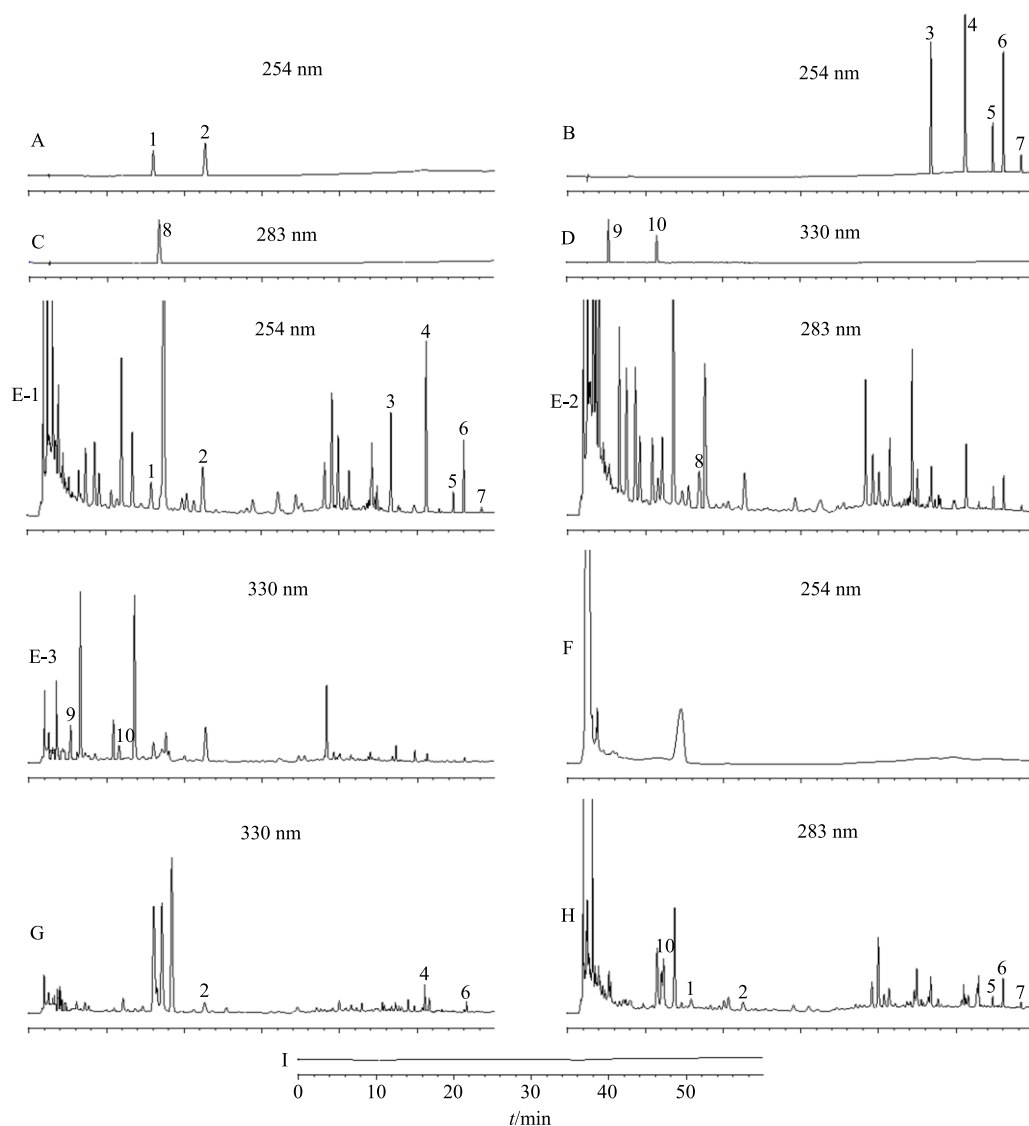
2.2.2 供试品溶液 精密称取 PYC 样品粉末 0.4 g，置于具塞锥形瓶中，精密加入 50% 甲醇溶液 20 mL，密塞，称定质量，超声处理（功率 250 W，频率 50 kHz）30 min，放冷，再次称定质量，加 50% 甲醇溶液补足减失质量，摇匀，经 0.45 μm 微孔滤膜滤过，取续滤液，即得。

2.2.3 阴性对照溶液 按 PYC 工艺方法分别制备

缺大黄、缺肉苁蓉、缺枳实的阴性对照样品，按“2.2.2”项下方法制备，即得。

2.3 系统适应性试验

在“2.1”项色谱条件下，精密取混合对照品溶液 I~IV、供试品溶液和 3 种阴性对照溶液各适量进样测定，结果见图 1。结果表明，在该色谱条件下，各成分均能达到基线分离（分离度大于 1.5），理论塔板数均大于 10 000，供试品溶液与对照品在相应的保留时间有对应色谱峰出现，阴性无干扰。其中，图 A、B、E-1、F 波长为 254 nm，图 C、E-2、H 波长为 283 nm，图 D、E-3、G 波长为 330 nm。



1-番泻苷 A 2-番泻苷 B 3-芦荟大黄素 4-大黄酸 5-大黄素 6-大黄酚 7-大黄素甲醚 8-橙皮苷 9-松果菊苷 10-毛蕊花糖苷
1-sennoside A 2-sennoside B 3-aloe-emodin 4-rhein 5-emodin 6-chrysophanol 7-emodin 8-hesperidin 9-echinacoside 10-verbascoside

图 1 对照品溶液 I (A)、对照品溶液 II (B)、对照品溶液 III (C)、对照品溶液 IV (D)、供试品 (E1~3)、缺大黄阴性 (F)、缺肉苁蓉阴性 (G)、缺枳实阴性 (H) 和空白试验 (I) 的 HPLC 图

Fig. 1 HPLC of reference solution I (A), reference solution II (B), reference solution III (C), reference solution IV (D), test sample (E1—3), rhubarb negative (F), cistanche negative (G), fructus aurnatii immaturus negative (H), and blank test (I)

2.4 线性关系、检测限和定量限考察

精密量取“2.2.1”项下对照品溶液 I、II、III、IV 各 1 mL, 分别用适宜溶剂定容于 10 mL 量瓶中, 得混合溶液 1~4 号, 摇匀。精密取上述 4 种混合溶液各 1、5、15 μL , 再取对照品溶液 I、II、III、IV

各 1、5、15、25 μL , 分别按“2.1”项下色谱条件进样。以对照品进样量为横坐标 (X), 峰面积为纵坐标 (Y) 进行线性回归, 同时不断稀释已知质量浓度的对照品溶液, 以信噪比 (S/N) = 10 确定定量限, $S/N=3$ 确定检测限, 结果见表 1。

表 1 回归方程与线性范围、检测限和定量限结果
Table 1 Detection of regression equations, linear ranges, LOD, and LOQ

待测成分	回归方程	r	线性范围/(ng·mL ⁻¹)	检测限/(ng·mL ⁻¹)	定量限/(ng·mL ⁻¹)
番泻苷 A	$Y=1\,048.1\,X+0.063\,1$	1.000 0	167.430~2\,093.000	1.67	8.37
番泻苷 B	$Y=1\,047.8\,X+0.052\,5$	1.000 0	93.495~1\,177.000	0.94	4.71
芦荟大黄素	$Y=5\,578\,X+3.443\,3$	1.000 0	33.471~418.400	0.93	4.02
大黄酸	$Y=3\,381.7\,X-2.801\,7$	0.999 9	79.688~996.100	0.64	3.19
大黄素	$Y=4\,230.3\,X+1.420\,0$	1.000 0	13.946~174.300	1.67	8.36
大黄酚	$Y=5\,848.4\,X+1.525\,9$	1.000 0	25.246~315.600	1.01	5.49
大黄素甲醚	$Y=4\,313.9\,X-0.469\,5$	1.000 0	12.276~61.380	1.23	9.55
橙皮苷	$Y=1\,779.2\,X+0.912\,5$	0.999 7	109.016~1\,363.000	2.18	6.54
松果菊苷	$Y=1\,442.2\,X+0.890\,1$	1.000 0	75.886~948.600	1.52	7.62
毛蕊花糖苷	$Y=1\,771.3\,X+0.108\,6$	1.000 0	49.897~623.700	1.99	6.98

2.5 精密度试验

精密量取混合对照品溶液 I、II、III、IV 适量, 按“2.1”项下所述色谱条件连续进样 6 次。结果番泻苷 A、番泻苷 B、芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚、橙皮苷、松果菊苷和毛蕊花糖苷峰面积的 RSD 分别为 0.05%、0.16%、0.68%、0.94%、0.77%、0.75%、0.82%、0.49%、0.14%、0.17%, 表明仪器精密度良好。

2.6 稳定性试验

取“2.2.2”项下供试品溶液 (批号 170321) 适量, 于 0、1、2、4、8、12、24 h 进样测定。结果番泻苷 A、番泻苷 B、芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚和大黄素甲醚、橙皮苷、松果菊苷和毛蕊花糖苷峰面积的 RSD 分别为 0.95%、0.51%、0.58%、0.95%、0.38%、0.15%、0.96%、0.85%、0.64%、0.57%, 表明在 24 h 内供试品溶液稳定性良好。

2.7 重复性试验

取同一批样品 (批号 170321) 粉末适量, 按“2.2.2”项下方法平行制备 6 份供试品溶液, 进样测定。结果番泻苷 A、番泻苷 B、芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚、橙皮苷、松果菊苷和毛蕊花糖苷的质量分数平均值分别为 2.922、1.358、0.679、2.112、0.152、0.382、0.040、1.144、0.738、0.427 mg/g, RSD 分别为 0.04%、0.45%、

0.07%、0.04%、0.12%、0.14%、0.06%、0.13%、0.02%、0.03%, 表明本方法重复性良好。

2.8 加样回收率试验

取已测定的同一批样品 (批号 170321) 6 份, 每份精密称取 0.2 g, 置于具塞锥形瓶中, 分别加入番泻苷 A、番泻苷 B、芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚、橙皮苷、松果菊苷和毛蕊花糖苷对照品各适量, 按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液, 在“2.1”项下色谱条件测定, 记录峰面积并计算回收率, 结果番泻苷 A、番泻苷 B、芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚、橙皮苷、松果菊苷和毛蕊花糖苷的平均加样回收率分别为 99.84%、99.15%、99.34%、99.81%、100.63%、99.36%、99.86%、100.09%、100.10%、99.76%, RSD 分别为 0.35%、0.47%、0.65%、0.67%、0.53%、0.73%、0.92%、1.43%、1.01%、1.30%。

2.9 样品含量测定

按“2.2.2”项下方法平行制备 15 批样品的供试品溶液, 在“2.1”项色谱条件下进样测定, 结果见表 2。结果显示不同批次 PYC 中各成分质量分数的 RSD 均小于 3%, 表明批次之间差异较小, 总体质量较为稳定。

2.10 模式识别分析

主成分分析 (PCA) 是基于各数值变量之间的

表 2 样品含量测定结果 ($n=3$)Table 2 Determination of content of samples ($n=3$)

编号	质量分数/(mg·粒 ⁻¹)									
	番泻苷 A	番泻苷 B	芦荟大黄素	大黄酸	大黄素	大黄酚	大黄素甲醚	橙皮苷	松果菊苷	毛蕊花糖苷
YP1	1.099 0	0.487 9	0.236 4	0.757 0	0.058 2	0.145 4	0.014 7	0.546 1	0.275 9	0.162 9
YP2	1.114 0	0.522 0	0.258 4	0.778 1	0.058 9	0.146 1	0.015 1	0.549 2	0.275 4	0.163 2
YP3	1.118 0	0.510 7	0.259 5	0.806 3	0.058 0	0.146 0	0.015 1	0.557 7	0.292 8	0.164 4
YP4	1.080 0	0.487 1	0.256 8	0.790 7	0.058 5	0.108 7	0.015 1	0.549 3	0.275 6	0.163 6
YP5	0.952 0	0.489 0	0.288 1	1.183 0	0.146 7	0.259 2	0.050 1	0.582 8	0.284 9	0.185 3
YP6	0.947 7	0.490 9	0.288 0	1.182 0	0.145 1	0.259 0	0.050 1	0.577 7	0.284 0	0.181 5
YP7	0.928 4	0.412 2	0.307 4	0.707 7	0.128 8	0.208 7	0.038 0	0.526 6	0.275 9	0.162 1
YP8	0.928 9	0.415 0	0.307 1	0.708 9	0.129 8	0.209 5	0.039 5	0.528 1	0.275 9	0.162 9
YP9	0.714 0	0.412 3	0.319 3	0.717 0	0.119 0	0.199 4	0.039 0	0.526 2	0.291 5	0.167 0
YP10	0.717 8	0.414 8	0.319 2	0.717 5	0.119 4	0.204 2	0.039 6	0.528 1	0.289 9	0.166 7
YP11	0.712 7	0.403 9	0.318 3	0.671 1	0.114 1	0.192 6	0.036 6	0.517 3	0.285 9	0.166 9
YP12	0.721 1	0.416 7	0.319 6	0.714 6	0.114 3	0.202 7	0.039 1	0.527 4	0.302 4	0.171 4
YP13	0.716 7	0.415 0	0.320 3	0.715 6	0.115 0	0.203 0	0.039 0	0.528 5	0.305 1	0.169 0
YP14	0.805 7	0.457 9	0.307 4	0.741 7	0.128 4	0.202 7	0.042 1	0.558 2	0.300 0	0.175 4
YP15	0.808 7	0.458 4	0.307 8	0.743 6	0.128 7	0.203 1	0.043 1	0.554 9	0.295 4	0.174 4
RSD/%	1.19	0.62	0.64	1.35	2.01	1.42	2.47	0.24	0.24	0.28

相互关系, 并对其降维处理, 把多个变量转化为几个互不相关的综合变量的统计方法^[4-5]。能实现在最大限度保留原始信息条件下减少信息维数, 将复杂的多维数据经数学投影处理后变为可视性良好的 2D/3D 图表, 能反映多个样本的总体信息特征, 达到综合评价药物质量的目的^[6-7]。利用模式识别统计分析软件 SIMCA 14.0 对 15 批 PYC 进行 PCA, 得到得分图、载荷图和各成分 VIP 值, 分别见图 2~4。从得分图 (图 2) 可看出, 除 YP5 的 1 次重复实验, 其他样品结果都分布在置信区间 (95%) 内, 15 批 PYC 存在一定差异性, 散点分布可分为 4 类, YP5、6 为一类, YP1、2、3、4 为一类, YP14、15 为一类, YP7、8、9、10、11、12、13 为一类。而载荷图 (图 3) 中大黄素甲醚、大黄素、芦荟大黄素、大黄酚、番泻苷 A 等成分离原点距离最远, 同时按各变量对分组的贡献率 (VIP) 大小排序, 见图 4, 上述成分的 VIP>1, 表明这 5 种化合物是各批次药品差异的主要生物标志物, 对不同批次样本分布起主要作用, 因此要提高 PYC 的质量一致性, 则需对上述成分的含量进行重点控制, 以减少药物批次之间的质量差异。

聚类分析 (HCA) 可以将大量复杂多维数据进行简化, 利用特征数据找出各样品间差异统计方法,

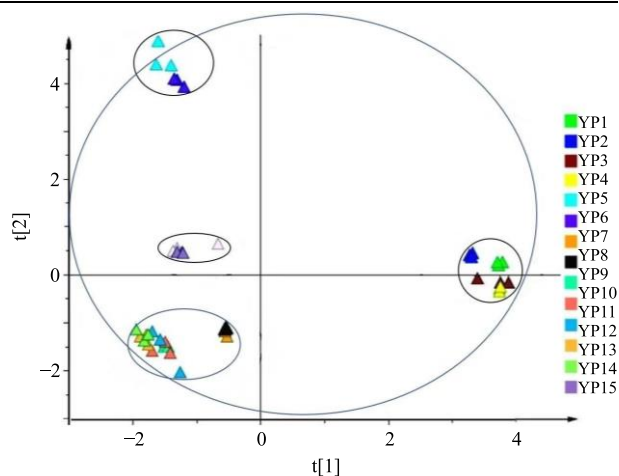
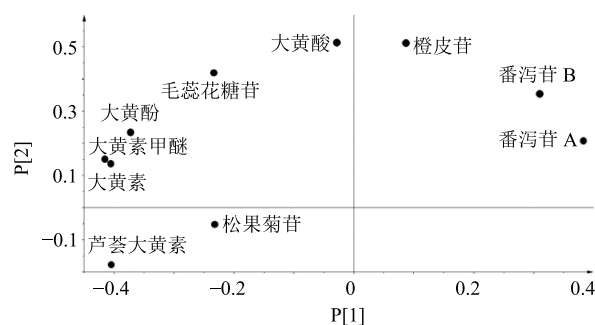
图 2 15 批样品得分图 ($n=3$)Fig. 2 Score chart for 15 batches of samples ($n=3$)

图 3 15 批样品载荷图

Fig. 3 Load diagram of 15 batches of samples

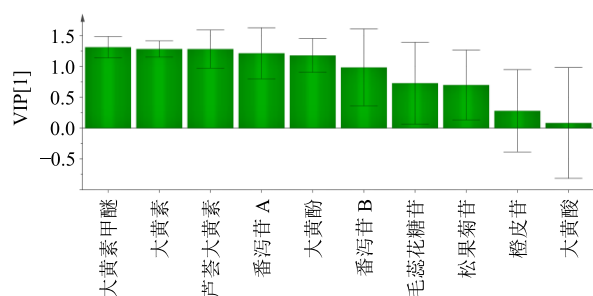


图 4 10 种成分的 VIP 值

Fig. 4 VIP value of 10 components

被广泛应用于中药质控、品种鉴别与分类等方面。将实验测得的 15 批次样品中 10 种化学成分含量数据导入 Simca-p 13.0 版软件, 采用 HCA 方法, 对各批数据进行分析, 结果见图 5。结果表明, 15 批次样品主要分为 4 类, YP7~YP13 为一类, YP5、6 为一类, YP14、15 为一类, YP1~YP4 为一类, 与上述 PCA 散点图结果一致, 表明所建分析建模稳定, 结果可靠。

通过对 15 批样品进行 PCA 和 HCA, 结果发现 15 批次 PYC 在一些主要成分含量上存在差异, 而大黄素甲醚、大黄素、芦荟大黄素、番泻苷 A、番泻苷 B 是区分不同批次样品的关键成分, 这些成分主要来自大黄。结合样品生产时间发现有差异的批次间生产时间间隔较长, 提示各批次样品差异可能是不同时间段采购的大黄投料存在质量差异所造成。大黄是方中主药, 性寒味苦, 具有泻下通便、活血祛瘀和祛湿退黄等功效^[8], 也是 PYC 发挥药效的主要物质, 同时笔者查阅资料发现大黄存在一定的不良反应^[9], 因此, 对 PYC 中大黄进行质量控制非常有必要, 以实现临床的精准用药和有效避免不良反应。

3 讨论

3.1 提取溶剂选择

查阅文献资料^[10-15]后发现, 10 种成分的提取方法与溶剂各不相同, 实验中考察了 0.1%碳酸氢钠溶液、0.1%碳酸氢钠溶液-30%甲醇 (1:10)、0.1%碳酸氢钠溶液-50%甲醇 (1:10)、0.1%碳酸氢钠溶液-甲醇 (1:10)、甲醇溶液、30%甲醇溶液、50%甲醇溶液等多个溶剂系统。发现使用 50%甲醇溶液作为提取溶剂时, 各成分都有较好的提取率。特别是番泻苷 A 和番泻苷 B 2 个成分, 以往文献中多数采用 0.1%碳酸氢钠溶液作为溶剂^[15-16], 但本实验发现 50%甲醇作溶剂时, 也有较好的提取率, 特别是在复方制剂研究中有较大应用价值。

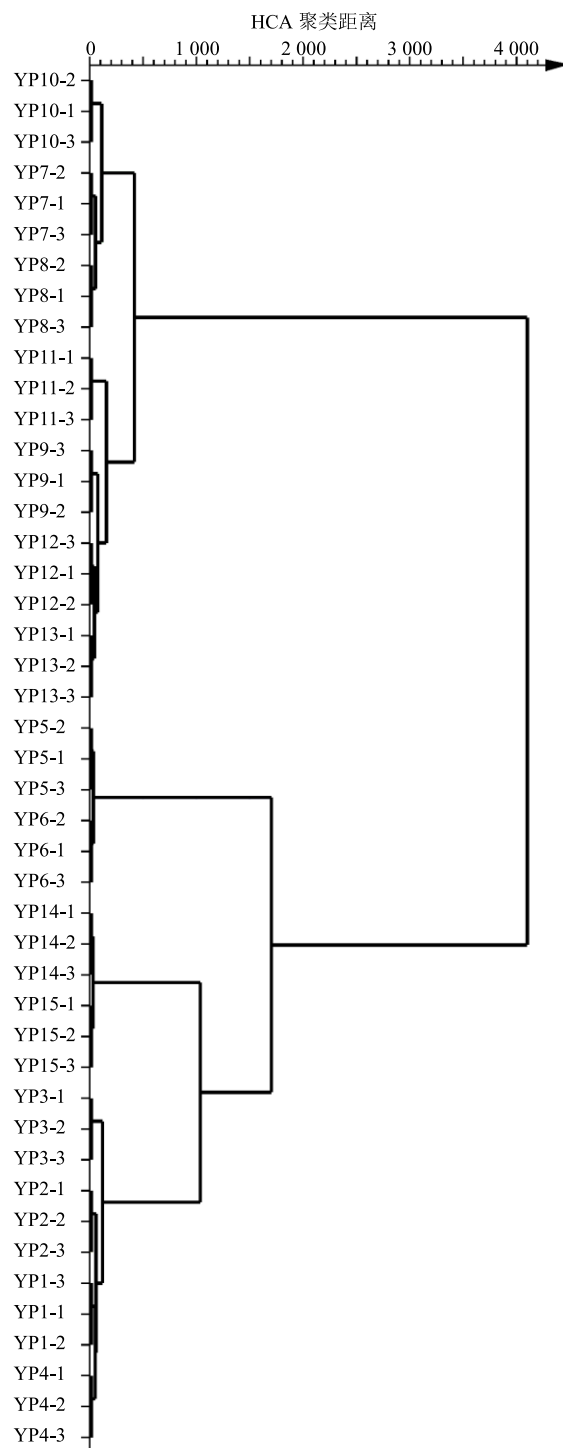


图 5 15 批样品 HCA

Fig. 5 Cluster analysis on 15 batches of sample

3.2 色谱条件考察

采用 DAD 检测器在 190~400 nm 处对 7 个大黄蒽醌类成分进行光谱扫描, 10 个成分的最大吸收波长相差较大, 故采用多波长法, 根据《中国药典》2015 年版^[8]和相关文献报道^[10-16], 最终确定番泻苷 A、番泻苷 B、芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大

黄酮、大黄素甲醚检测波长为 254 nm; 橙皮苷的检测波长为 283 nm; 松果菊苷和毛蕊花糖苷的检测波长为 330 nm。

3.3 样品分析

从不同批次样品成分差异分析结果可知, 批次间含量差异主要来源于大黄, 查阅文献后发现^[17-20], 不同品种、不同来源(包括不同基原、不同产地、不同生长年限、栽培/野生)的大黄药材中番泻苷 A、B 的含量分布差异较其他蒽醌类成分更为明显, 结合 PCA, 笔者认为, 将大黄素甲醚、大黄素、芦荟大黄酸、番泻苷 A、番泻苷 B 作为评价不同批次 PYC 质量一致性的指标成分, 这样比规定投料品种更能够有效控制其质量并保证药物有效性。

3.4 结论

结合模式识别对 PYC 中 10 种成分含量测定结果进行分析, 结果发现不同批次样品存在一定差异, 主要是大黄素甲醚、大黄素、芦荟大黄酸、番泻苷 A、番泻苷 B 等关键成分含量差异, 表明市售各批次 PYC 质量存在差异。厂家采购饮片投料时, 需按药典质量标准严格把控大黄饮片的质量, 实现从药材源头对制剂进行科学的质量控制, 同时在实际生产过程中, 对上述关键成分进行实时动态检测, 确保制剂质量的稳定性, 并在 PYC 质控中增加关键成分含量测定项, 实现高效地、有针对性地对 PYC 进行质量一致性评价。本实验建立的同时测定 15 批次 PYC 中 10 种成分含量的 HPLC 法, 科学、可行, 为进一步提高制剂质量提供新思路, 对更加全面、合理的评控 PYC 的质量具有参考价值。

参考文献

[1] 卫生部药品标准·中药成方制剂(第20册)[S]. 1998.
[2] 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.
[3] 刘昌孝. 从中药资源-质量-质量标志物认识中药产业的健康发展[J]. 中草药, 2016, 47(18): 3149-3154.
[4] 卢小泉. 化学计量学研究方法[M]. 北京: 科学出版社, 2013.
[5] 马腾茂, 刘飞, 王蓉, 等. 基于主成分分析和聚类分析的秦艽不同配伍药对对风湿热痹类风湿关节炎大鼠的作用研究[J]. 中草药, 2017, 48(11): 2255-2260.

[6] 陆兆光, 闫明, 杨晶, 等. 基于主成分分析的金黄凝胶体外透皮吸收研究[J]. 中草药, 2016, 47(15): 2635-2640.
[7] 熊瑞, 李艺丹, 张婷婷, 等. 补骨脂炮制前后纳入复方二神丸的提取物 HPLC 指纹图谱的建立及多种模式识别分析[J]. 中草药, 2017, 48(19): 3977-3985.
[8] 中国药典[S]. 一部. 2015.
[9] Connor S C, Wu W, Sweatman B C. Effects of feeding and body weight loss on the ¹H-NMR-based urine metabolic profiles of male Wistar Han rats: Implications for biomarker discovery[J]. *Biomarkers*, 2001, 9(2): 156-179.
[10] 曾建伟, 张珍丽, 钟黎, 等. HPLC 波长切换法同时测定复方苁蓉散中松果菊苷、毛蕊花糖苷和淫羊藿苷[J]. 中成药, 2016, 38(1): 84-87.
[11] 黄爱华, 曹骋, 曾元儿, 等. HPLC 法测定不同规格酸橙枳实中新橙皮苷和柚皮苷的含量[J]. 药物分析杂志, 2009, 29(9): 1448-1450.
[12] 高晓燕, 卢建秋. HPLC-DAD 法同时测定大黄中 7 个蒽醌类化合物的含量[J]. 药物分析杂志, 2010, 30(9): 1636-1641.
[13] 庞婷, 谢臻, 陈勇, 等. HPLC 同时测定大黄配伍药对中 7 个蒽醌类化合物的含量[J]. 中国新药杂志, 2017, 26(9): 1079-1088.
[14] 莫紫梅, 朱斌. 高效液相色谱法测定保健食品中番泻苷含量的研究[J]. 中国卫生检验杂志, 2014, 24(5): 674-676.
[15] 刘春霖, 刁飞燕, 谢强胜, 等. 高效液相色谱法测定减肥类保健食品中番泻苷 A、番泻苷 B 的含量[J]. 食品安全质量检测学报, 2017, 8(9): 3347-3352.
[16] 王亚丽, 沙拉麦提·艾力. HPLC 法测定维吾尔药通滞埃提勒菲力沙那片中番泻苷 A、B 的含量[J]. 中国民族医药杂志, 2017, 10(10): 40-42.
[17] 马蓉, 张雪菊. 液相色谱法对不同产地大黄中番泻苷 A 含量比较分析[J]. 中成药, 2008, 30(10): 1489-1490.
[18] 王家葵, 李傲, 王慧, 等. 正品大黄不同品种间泻下效价强度比较研究[J]. 中国中药杂志, 2006, 31(23): 1987-1991.
[19] 谭鹏, 张海珠. 大黄趁鲜加工工艺: 定尺寸饮片的研制及其质量评价[J]. 中草药, 2017, 48(12): 2407-2414.
[20] 张依倩, 王玉, 黄芝娟, 等. 基于 HPLC-DAD-MS 的道地产区大黄药材质量评价研究[J]. 药物评价研究, 2011, 34(3): 179-183.