

便通胶囊的含量测定及化学模式识别分析^Δ

舒波^{1*},雷果平²,袁斌^{3#}(1.川北医学院附属医院药剂科,四川南充 637000;2.南充市食品药品检验所,四川南充 637000;3.川北医学院药物研究所,四川南充 637000)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2022)18-2209-06

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2022.18.07



摘要 目的 建立同时测定便通胶囊中芸香柚皮苷等11个成分含量的方法,进行化学模式识别分析,筛选差异标志物。方法 采用高效液相色谱法。以Venusil XBP C₁₈为色谱柱,乙腈-0.1%磷酸溶液为流动相进行梯度洗脱,流速为1.0 mL/min,进样量为10 μL,柱温为30 ℃,检测波长分别为283、330、520、220 nm。以毛蕊花糖苷为内参物,结合一测多评法测定含量,并与外标法结果进行比较。采用SPSS 26.0、SIMCA 14.1软件进行聚类分析、主成分分析和正交偏最小二乘法-判别分析,以变量重要性投影(VIP)值大于1为标准筛选影响便通胶囊质量的差异标志物。**结果** 高效液相色谱结合一测多评法测得芸香柚皮苷、柚皮苷、新橙皮苷、松果菊苷、管花苷A、异毛蕊花糖苷、矢车菊素-3-O-葡萄糖苷、矢车菊素-3-O-芸香糖苷、白木内酯Ⅲ、白木内酯Ⅰ的含量分别为0.739~1.265、1.134~2.158、1.407~2.359、1.368~2.502、0.304~0.522、0.257~0.521、0.423~0.727、0.375~0.733、0.130~0.283、0.062~0.166 mg/g,与外标法测定结果的相对平均偏差均小于2%。聚类分析结果显示,15批样品可聚为3类,S1~S7为一类,S8~S10为一类,S11~S15为一类,与主成分分析的分类结果一致。正交偏最小二乘法-判别分析结果显示,矢车菊素-3-O-芸香糖苷、白木内酯Ⅲ、柚皮苷、新橙皮苷、松果菊苷、毛蕊花糖苷的VIP值大于1。**结论** 成功建立了同时测定便通胶囊中芸香柚皮苷等11个成分含量的方法,结合化学模式识别分析可用于便通胶囊的质量控制。矢车菊素-3-O-芸香糖苷等6个成分可能是影响便通胶囊质量的差异标志物。

关键词 便通胶囊;高效液相色谱法;一测多评法;化学模式识别;质量评价;差异标志物

Content determination and chemical pattern recognition analysis of Biantong capsules

SHU Bo¹, LEI Guoping², YUAN Bin³ (1. Dept. of Pharmacy, the Affiliated Hospital of North Sichuan Medical College, Sichuan Nanchong 637000, China; 2. Nanchong Institute for Food and Drug Control, Sichuan Nanchong 637000, China; 3. Institute of Materia Medica, North Sichuan Medical College, Sichuan Nanchong 637000, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE** To establish the method for simultaneous determination of 11 components as narirutin in Biantong capsules, to conduct chemical pattern recognition analysis and to screen differential markers affecting their quality. **METHODS** HPLC method was adopted. The separation was carried out on Venusil XBP C₁₈ column with mobile phase consisted of acetonitrile-0.1% phosphoric acid solution with gradient elution at flow rate of 1.0 mL/min. The sample size was 10 μL, and column temperature was set at 30 ℃. The detection wavelengths were set at 283, 330, 520, 220 nm, respectively. Using verbascoside as an internal standard, the contents were determined by quantitative analysis of multi-components by single marker (QAMS), and the results were compared with those of external standard method. Cluster analysis, principle component analysis and orthogonal partial least squares-discriminant analysis were performed with SPSS 26.0 and SIMCA 14.1 software. The differential markers affecting the quality of Biantong capsules were screened using the variable importance in projection (VIP) value greater than 1 as the standard. **RESULTS** The contents of narirutin, naringin, neohesperidin, echinacoside, tubuloside A, isoacteoside, cyanidin-3-O-glucoside, cyanidin-3-O-rutinoside, atractylolide III and atractylolide I were 0.739-1.265, 1.134-2.158, 1.407-2.359, 1.368-2.502, 0.304-0.522, 0.257-0.521, 0.423-0.727, 0.375-0.733, 0.130-0.283 and 0.062-0.166 mg/g, respectively. The relative average deviation of them from the external standard method was less than 2%. The results of cluster analysis showed that 15 batches of samples could be grouped into three categories, S1-S7 as a category, S8-S10 as a category, and S11-S15 as a category, which was consistent with the classification results of principal component analysis. The results of orthogonal partial least squares-discriminant analysis showed that the VIP values of cyanidin-3-O-rutinoside, atractylolide III, naringin, neohesperidin, echinacoside and verbascoside were all greater than 1. **CONCLUSIONS** The method for simultaneous determination of 11 components in Biantong capsules, including narirutin, is successfully established. Combined with chemical pattern recognition analysis, it can be

Δ 基金项目 四川省科技计划项目(No.2020YFS0528);南充市科技项目(市校科技战略合作专项)(No.19SXHZ0450)

* 第一作者 副主任中药师。研究方向:临床合理用药、中药质量。电话:0817-2801702。E-mail:30387948@qq.com

通信作者 副研究员,硕士。研究方向:天然产物药效评价。电话:0817-3373323。E-mail:sjqp00@163.com

used for the quality control of Biantong capsules. Six components such as cyanidin-3-*O*-rutoside may be the differential markers that affect the quality of Biantong capsules.

KEYWORDS Biantong capsules; HPLC; QAMS; chemical pattern recognition; quality evaluation; differential markers

便通胶囊由肉苁蓉、麸炒白术、枳实、桑椹、当归、芦荟6味药材组成,具有健脾益肾、润肠通便的功效,主要用于治疗脾肾不足、肠腑气滞,或习惯性便秘、肛周疾病所致大便秘结,或排便乏力、神疲气短、头晕目眩、腰膝酸软等症^[1-2]。方中肉苁蓉补肾益血、润肠通便,麸炒白术健脾益气,共为君药,松果菊苷、管花苷A、毛蕊花糖苷、异毛蕊花糖苷等为肉苁蓉的特征成分,白术内酯Ⅲ、白术内酯Ⅰ等为白术的活性成分;桑椹滋阴补血、清利肠道,当归补血活血、润肠通便,合为臣药,矢车菊素-3-*O*-葡萄糖苷、矢车菊素-3-*O*-芸香糖苷为桑椹的药效成分,阿魏酸为当归的主要成分^[3];枳实破气消积、化痰散痞,芦荟泻下通便,共为佐药,芸香柚皮苷、柚皮苷和新橙皮苷为枳实的主要成分^[4]。便通胶囊现收载于2020年版《中国药典》(一部)^[5],但现行标准仅对肉苁蓉成分松果菊苷和芦荟成分芦荟苷进行了定量控制。由于中成药复方制剂成分复杂,成分间相互协同、相互制约,具有多靶点等特点,因此单一成分的测定难以有效保证疗效的一致性及质量的整体均一性。中药质量评价指标的选择应以君药所含成分为首选,同时兼顾臣、佐、使药成分^[6],但阿魏酸为当归^[3]、白术^[7]和芦荟^[8]的共有成分,专属性不强,且芦荟的处方用量较小,因此本研究以君药肉苁蓉和麸炒白术、臣药桑椹以及佐药枳实中的主要成分为指标成分。

高效液相色谱结合一测多评(HPLC-QAMS)法能有效地降低检验成本,解决对照品不稳定、不易获得等不足,已广泛用于多指标成分的含量测定^[9]。化学模式识别分析通过对多成分的定量测定结果进行提取和降维,能挖掘出复杂数据间存在的内在关联性,找出对质量控制具有显著贡献的主要成分^[10]。基于此,本研究采用HPLC-QAMS法同时测定便通胶囊中芸香柚皮苷等11个成分的含量,并进行化学模式识别分析,筛选差异标志物,以期为便通胶囊的质量控制提供依据。

1 材料

1.1 主要仪器

本研究所用主要仪器有LC-20A型HPLC仪(日本Shimadzu公司)、e2695型HPLC仪(美国Waters公司)、XS105型电子分析天平(瑞士Mettler-Toledo公司)、SB-1000YDTD型超声清洗机(宁波新芝生物科技股份有限公司)等。

1.2 主要药品与试剂

便通胶囊(编号为S1~S15,批号分别为200112、200325、200433、200437、200443、200545、200547、201123、201126、201128、210617、210861、210872、

210987、211044,规格0.35 g)购自健民药业集团股份有限公司。新橙皮苷对照品(批号111857-201804,纯度99.4%)、毛蕊花糖苷对照品(批号111530-201914,纯度95.2%)、柚皮苷对照品(批号110722-202116,纯度91.7%)、白术内酯Ⅲ对照品(批号111978-201501,纯度99.9%)、松果菊苷对照品(批号111670-201907,纯度91.8%)和白术内酯Ⅰ对照品(批号111975-201501,纯度99.9%)均购自中国食品药品检定研究院;管花苷A对照品(批号PRF9091721,纯度98.9%)、矢车菊素-3-*O*-葡萄糖苷对照品(批号PRF10012104,纯度98.4%)、芸香柚皮苷对照品(批号PRF9062802,纯度99.8%)、异毛蕊花糖苷对照品(批号PRF21102922,纯度97.0%)和矢车菊素-3-*O*-芸香糖苷对照品(批号PRF20081421,纯度98.5%)均购自成都普瑞法科技开发有限公司;乙腈、磷酸均为色谱纯,其余试剂均为分析纯,水为纯净水。

2 方法与结果

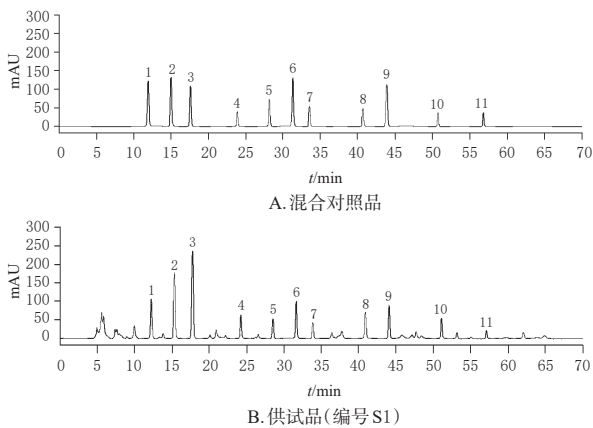
2.1 指标成分的含量测定

2.1.1 色谱条件 以Venusil XBP C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm)为色谱柱,以乙腈(A)-0.1%磷酸溶液(B)为流动相进行梯度洗脱(0~11 min, 15.0%A; 11~20 min, 15.0%A→35.0%A; 20~36 min, 35.0%A→42.0%A; 36~47 min, 42.0%A→50.0%A; 47~60 min, 50.0%A→60.0%A; 60~70 min, 60.0%A→15.0%A)^[11];流速为1.0 mL/min;进样量为10 μL;柱温为30 °C;检测波长分别为283 nm(0~20 min, 芸香柚皮苷、柚皮苷、新橙皮苷)^[12]、330 nm(20~36 min, 松果菊苷、管花苷A、毛蕊花糖苷、异毛蕊花糖苷)^[13]、520 nm(36~47 min, 矢车菊素-3-*O*-葡萄糖苷、矢车菊素-3-*O*-芸香糖苷)^[14]、220 nm(47~70 min, 白术内酯Ⅲ、白术内酯Ⅰ)^[15]。

2.1.2 混合对照品溶液的制备 取芸香柚皮苷、柚皮苷、新橙皮苷、松果菊苷、管花苷A、毛蕊花糖苷、异毛蕊花糖苷、矢车菊素-3-*O*-葡萄糖苷、矢车菊素-3-*O*-芸香糖苷、白术内酯Ⅲ、白术内酯Ⅰ对照品各适量,用70%甲醇制成上述各成分质量浓度依次为0.852、0.936、1.412、1.170、0.354、0.710、0.278、0.414、0.578、0.192、0.108 mg/mL的混合对照品贮备液;取混合对照品贮备液,用70%甲醇稀释,制得上述各成分质量浓度依次为42.6、46.8、70.6、58.5、17.7、35.5、13.9、20.7、28.9、9.6、5.4 μg/mL的混合对照品溶液。

2.1.3 供试品溶液的制备 精密称取便通胶囊内容物1.0 g,精密加入70%甲醇25 mL,称定质量,超声(功率1 000 W,频率40 kHz)处理30 min,放冷,再次称定质量,用70%甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,即得。

2.1.4 专属性试验 取上述混合对照品溶液、供试品溶液、阴性溶液(70% 甲醇)各适量,按“2.1.1”项下色谱条件进样分析,记录色谱图(图1,阴性溶液图略)。结果显示,各成分峰的理论板数均不低于5 500,且分离良好;阴性溶液对含量测定无干扰。



1. 芸香柚皮苷; 2. 柚皮苷; 3. 新橙皮苷; 4. 松果菊苷; 5. 管花苷 A; 6. 毛蕊花糖苷; 7. 异毛蕊花糖苷; 8. 矢车菊素-3-O-葡萄糖苷; 9. 矢车菊素-3-O-芸香糖苷; 10. 白术内酯 III; 11. 白术内酯 I

图1 芸香柚皮苷等待测成分混合对照品、供试品的 HPLC 图

2.1.5 线性关系考察 精密吸取“2.1.2”项下混合对照品贮备液 0.1、0.2、0.5、1.0、2.0、5.0 mL,用 70% 甲醇分别稀释至 20 mL,得系列线性工作溶液,按“2.1.1”项下色谱条件进样分析,记录峰面积。以各待测成分的质量浓度为横坐标(X)、峰面积为纵坐标(Y)进行线性回归。结果见表 1。

表 1 芸香柚皮苷等 11 个待测成分的回归方程与线性范围

待测成分	回归方程	r	线性范围/($\mu\text{g/mL}$)
芸香柚皮苷	$Y=2.1101 \times 10^6 X+781.4$	0.9996	4.26~213.00
柚皮苷	$Y=2.3192 \times 10^6 X-1174.9$	0.9993	4.68~234.00
新橙皮苷	$Y=2.8194 \times 10^6 X-438.5$	0.9995	7.06~353.00
松果菊苷	$Y=2.5136 \times 10^6 X-1210.7$	0.9994	5.85~292.50
管花苷 A	$Y=7.9512 \times 10^6 X+118.4$	0.9996	1.77~88.50
毛蕊花糖苷	$Y=1.7567 \times 10^6 X+826.7$	0.9993	3.55~177.50
异毛蕊花糖苷	$Y=6.3847 \times 10^6 X+735.6$	0.9994	1.39~69.50
矢车菊素-3-O-葡萄糖苷	$Y=1.1320 \times 10^6 X-1059.3$	0.9996	2.07~103.50
矢车菊素-3-O-芸香糖苷	$Y=1.5129 \times 10^6 X+721.5$	0.9993	2.89~144.50
白术内酯 III	$Y=4.6993 \times 10^6 X+453.6$	0.9995	0.96~48.00
白术内酯 I	$Y=3.4481 \times 10^6 X-1225.5$	0.9992	0.54~27.00

2.1.6 精密度试验 取“2.1.3”项下供试品溶液(编号 S1),按“2.1.1”项下色谱条件连续进样测定 6 次,记录峰面积。结果显示,芸香柚皮苷等 11 个待测成分峰面积的 RSD 均小于 2%($n=6$),表明方法精密度良好。

2.1.7 重复性试验 取便通胶囊(编号 S1),共 6 份,按“2.1.3”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1.1”项下色谱条件进样分析,记录峰面积并按外标法计算含量。结果显示,芸香柚皮苷等 11 个待测成分含量的 RSD 均小于 2%($n=6$),表明方法重复性良好。

2.1.8 稳定性试验 取“2.1.3”项下供试品溶液(编号 S1),分别于室温下放置 0、2、5、9、16、24、36 h 时按“2.1.1”项下色谱条件进样分析,记录峰面积。结果显示,芸香柚皮苷等 11 个待测成分峰面积的 RSD 均小于 2%($n=7$),表明供试品溶液于室温下放置 36 h 稳定性良好。

2.1.9 加样回收率试验 精密称取已知含量的便通胶囊(编号 S1)内容物 0.5 g,共 9 份,按 80%、100%、120% 分别加入混合对照品溶液(芸香柚皮苷等 11 个待测成分的质量浓度依次为 0.479、0.631、0.917、0.769、0.194、0.383、0.155、0.239、0.294、0.107、0.059 mg/mL),按“2.1.3”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1.1”项下色谱条件进样分析,记录峰面积并计算加样回收率。结果显示,芸香柚皮苷等 11 个待测成分的平均加样回收率为 96.95%~100.13%(RSD 为 0.64%~1.43%, $n=9$)。

2.1.10 相对校正因子的计算 取“2.1.5”项下系列线性工作溶液,按“2.1.1”项下色谱条件进样分析,记录峰面积,以毛蕊花糖苷为内参物(毛蕊花糖苷的出峰时间居中、含量较高、质量稳定),按下式计算毛蕊花糖苷相对于其他成分的相对校正因子(f_{si}),即 $f_{si} = f_i/f_s = (W_i \times A_s)/(W_s \times A_i)$ 。式中, A_s 为内参物的峰面积, W_s 为内参物的质量浓度, A_i 为待测成分的峰面积, W_i 为待测成分的质量浓度^[9]。结果显示,其他 10 个待测成分(顺序同表 1,毛蕊花糖苷除外)的平均 f_{si} 分别为 0.840 0、0.757 3、0.626 7、0.702 0、2.229 4、2.760 5、1.567 8、1.161 2、3.757 3、5.157 2, RSD 为 0.21%~1.89%($n=6$)。

2.1.11 不同试验条件对 f_{si} 的影响 取“2.1.2”项下混合对照品溶液,按“2.1.1”项下色谱条件进样分析,分别考察不同 HPLC 仪(Shimadzu LC-20A 型、e2695 型,下同)、色谱柱(Venusil XBP C₁₈、Cosmosil C₁₈、Durashell C₁₈,规格均为 250 mm×4.6 mm, 5 μm ,下同)、流速(0.8、1.0、1.2 mL/min)、柱温(25、30、35 $^{\circ}\text{C}$)对 f_{si} 的影响。结果显示,其他 10 个待测成分(毛蕊花糖苷除外) f_{si} 的 RSD 均小于 2%。

2.1.12 色谱峰定位 取“2.1.2”项下混合对照品溶液,按“2.1.1”项下色谱条件进样分析,分别考察不同色谱仪、色谱柱对相对保留时间(R_{is})的影响。结果显示,其他 10 个待测成分(毛蕊花糖苷除外) R_{is} 的 RSD 均小于 2%,表明 R_{is} 法可以对目标化合物色谱峰进行准确定位。

2.1.13 15 批样品的含量测定 取 15 批便通胶囊,按“2.1.3”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1.1”项下色谱条件进样分析,记录峰面积,分别按外标法、HPLC-QAMS 法(以毛蕊花糖苷为内参物)计算含量,每样品平行测定 3 次,采用相对平均偏差(relative average deviation, RAD)考察 2 种方法所得结果的差异(表 2)。结果显示,2 种方法所得含量测定结果的 RAD 均小于 2%,表明 2 种方法的测定结果无明显差异。

表2 芸香柚皮苷等11种待测成分的含量测定结果(mg/g, n=3)

待测成分	方法	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13	S14	S15
毛蕊花糖苷	外标法	0.776	0.832	0.810	0.881	0.907	0.936	0.855	1.072	1.162	1.128	0.662	0.698	0.641	0.599	0.731
芸香柚皮苷	外标法	0.952	1.056	0.989	0.889	0.974	0.890	0.857	0.822	0.745	0.782	1.175	1.238	1.110	1.209	1.237
	QAMS法	0.931	1.031	1.005	0.901	0.952	0.874	0.841	0.813	0.739	0.768	1.193	1.265	1.141	1.240	1.213
	RAD/%	1.12	1.20	0.80	0.67	1.14	1.28	0.94	0.55	0.40	0.90	0.76	1.08	1.38	1.27	0.98
柚皮苷	外标法	1.275	1.557	1.706	1.470	1.529	1.618	1.347	1.144	1.121	1.108	2.051	1.906	1.986	2.135	1.820
	QAMS法	1.313	1.520	1.722	1.454	1.576	1.645	1.385	1.160	1.094	1.134	2.085	1.934	2.011	2.158	1.855
	RAD/%	1.47	1.20	0.47	0.55	1.51	0.83	1.39	0.69	1.22	1.16	0.82	0.73	0.63	0.54	0.95
新橙皮苷	外标法	1.841	1.647	1.915	1.820	1.759	1.944	1.852	1.510	1.401	1.435	2.144	2.239	2.308	2.325	2.198
	QAMS法	1.805	1.662	1.930	1.844	1.781	1.973	1.889	1.552	1.437	1.407	2.173	2.270	2.314	2.359	2.221
	RAD/%	0.99	0.45	0.39	0.66	0.62	0.74	0.99	1.37	1.27	0.99	0.67	0.69	0.13	0.73	0.52
松果菊苷	外标法	1.537	1.735	1.668	1.832	1.693	1.765	2.021	1.637	1.451	1.392	1.987	2.436	2.103	2.408	2.216
	QAMS法	1.569	1.702	1.653	1.870	1.741	1.798	2.048	1.602	1.473	1.368	2.012	2.502	2.121	2.425	2.252
	RAD/%	1.03	0.96	0.45	1.03	1.40	0.93	0.66	1.08	0.75	0.87	0.63	1.34	0.43	0.35	0.81
管花苷A	外标法	0.391	0.354	0.405	0.366	0.381	0.393	0.351	0.333	0.316	0.303	0.485	0.505	0.473	0.518	0.512
	QAMS法	0.386	0.351	0.407	0.369	0.377	0.396	0.360	0.335	0.317	0.304	0.488	0.509	0.478	0.522	0.499
	RAD/%	0.64	0.43	0.25	0.41	0.53	0.38	1.27	0.30	0.16	0.16	0.31	0.39	0.53	0.38	1.29
异毛蕊花糖苷	外标法	0.312	0.35	0.487	0.421	0.398	0.456	0.476	0.437	0.513	0.452	0.309	0.268	0.385	0.282	0.251
	QAMS法	0.315	0.354	0.491	0.425	0.402	0.444	0.471	0.435	0.521	0.457	0.308	0.264	0.380	0.286	0.257
	RAD/%	0.48	0.57	0.41	0.47	0.50	1.33	0.53	0.23	0.77	0.55	0.16	0.75	0.65	0.70	1.18
矢车菊素-3-O-葡萄糖苷	外标法	0.475	0.535	0.628	0.576	0.541	0.605	0.582	0.463	0.444	0.426	0.673	0.660	0.710	0.712	0.625
	QAMS法	0.488	0.529	0.613	0.563	0.545	0.595	0.579	0.475	0.440	0.423	0.682	0.665	0.727	0.704	0.631
	RAD/%	1.35	0.56	1.21	1.14	0.37	0.83	0.26	1.28	0.45	0.35	0.66	0.38	1.18	0.56	0.48
矢车菊素-3-O-芸香糖苷	外标法	0.593	0.725	0.667	0.653	0.704	0.628	0.593	0.571	0.536	0.522	0.480	0.451	0.433	0.399	0.371
	QAMS法	0.582	0.733	0.649	0.664	0.692	0.617	0.601	0.565	0.532	0.510	0.483	0.456	0.429	0.396	0.375
	RAD/%	0.94	0.55	1.37	0.84	0.86	0.88	0.67	0.53	0.37	1.16	0.31	0.55	0.46	0.38	0.54
白术内酯Ⅲ	外标法	0.217	0.257	0.285	0.248	0.273	0.280	0.246	0.156	0.172	0.131	0.239	0.186	0.251	0.215	0.142
	QAMS法	0.220	0.254	0.283	0.250	0.270	0.276	0.245	0.155	0.170	0.130	0.241	0.185	0.258	0.213	0.141
	RAD/%	0.69	0.59	0.35	0.40	0.55	0.72	0.20	0.32	0.58	0.38	0.42	0.27	1.38	0.47	0.35
白术内酯Ⅰ	外标法	0.116	0.110	0.081	0.093	0.106	0.090	0.084	0.078	0.063	0.072	0.135	0.142	0.149	0.162	0.152
	QAMS法	0.118	0.111	0.080	0.092	0.105	0.089	0.085	0.077	0.062	0.071	0.133	0.140	0.146	0.166	0.153
	RAD/%	0.85	0.45	0.62	0.54	0.47	0.56	0.59	0.65	0.80	0.70	0.75	0.71	1.02	1.22	0.33

2.2 聚类分析

将HPLC-QAMS法测得的芸香柚皮苷等11个待测成分含量结果导入SPSS 26.0软件,以欧氏距离为测度,采用组间联接法进行聚类分析。结果显示,当欧氏距离为10时,15批样品可聚为3类,S1~S7为一类,S8~S10为一类,S11~S15为一类。结果见图2。

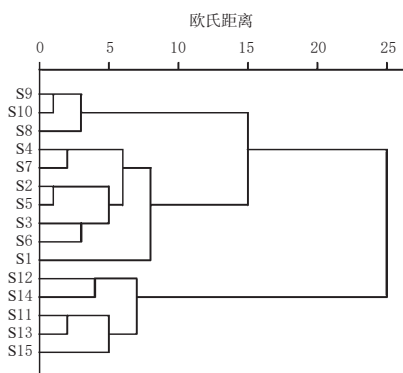


图2 15批样品的聚类分析树状图

2.3 主成分分析

将HPLC-QAMS法测得的芸香柚皮苷等11个待测成分含量结果导入SPSS 26.0软件进行主成分分析。结

果显示,前2个主成分的特征值分别为8.243、1.709,方差贡献率分别为74.941%、15.536%,累计方差贡献率为90.477%,表明前2个主成分可代表便通胶囊中90.477%的信息。芸香柚皮苷、柚皮苷、新橙皮苷、松果菊苷、管花苷A、毛蕊花糖苷、异毛蕊花糖苷、矢车菊素-3-O-葡萄糖苷、白术内酯Ⅰ可以反映第一主成分的信息,矢车菊素-3-O-芸香糖苷、白术内酯Ⅲ可以反映第二主成分的信息。同时应用SIMCA 14.1软件建立主成分分析模型。结果显示,模型拟合程度(R^2X)为0.749,表明所建模型稳定,S1~S7、S8~S10、S11~S15分别呈现一定关联性。结果见图3。

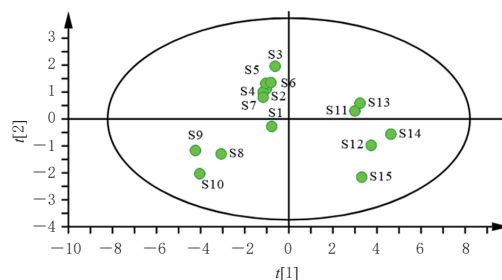


图3 主成分分析得分图

2.4 正交偏最小二乘法-判别分析

将HPLC-QAMS法测得的芸香柚皮苷等11个待测成分含量结果导入SIMCA 14.1软件进行正交偏最小二乘法-判别分析。结果显示,累积解释能力参数(R^2X 、 R^2Y)分别为0.909、0.866,预测能力参数(Q^2)为0.787,均大于0.5,表明所建模型稳定、可靠,预测能力强,可用于区分不同批次的便通胶囊。15批便通胶囊的含量测定结果均在95%置信区间内,表明建立的方法可靠。结果见图4。

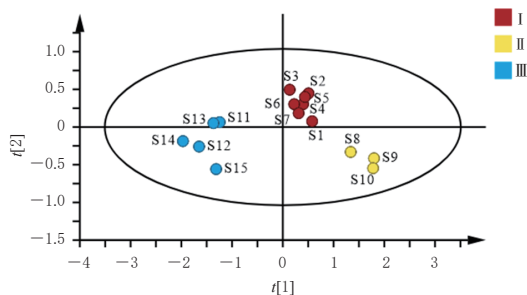
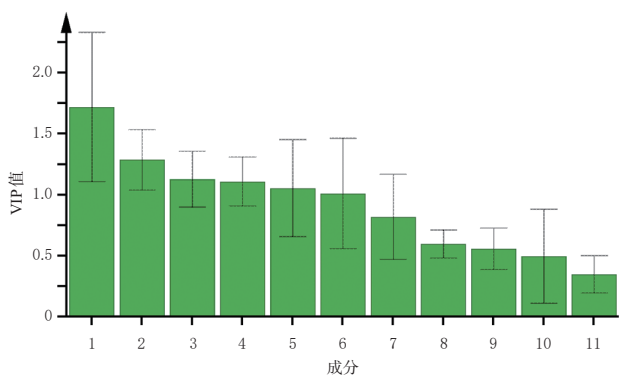


图4 15批样品的正交偏最小二乘法-判别分析模型得分图

变量重要性投影(variable importance in projection, VIP)值代表每个指标在区分样品时的贡献程度,以VIP值 >1 为标准筛选影响样品质量的差异标志物^[10]。结果显示,矢车菊素-3-*O*-芸香糖苷、白术内酯Ⅲ、柚皮苷、新橙皮苷、松果菊苷和毛蕊花糖苷是影响便通胶囊质量的差异标志物。结果见图5。



1: 矢车菊素-3-*O*-芸香糖苷; 2: 白术内酯Ⅲ; 3: 柚皮苷; 4: 新橙皮苷; 5: 松果菊苷; 6: 毛蕊花糖苷; 7: 芸香柚皮苷; 8: 矢车菊素-3-*O*-葡萄糖苷; 9: 管花苷A; 10: 异毛蕊花糖苷; 11: 白术内酯Ⅰ

图5 11个成分的VIP图

3 讨论

本课题组前期分别考察了不同提取溶剂(水、甲醇、50% 甲醇、70% 甲醇、70% 乙醇)、提取时间(20、30、40、50 min)、提取方式(超声提取、回流提取)等因素对提取效果的影响,结果显示,以70% 甲醇为提取溶剂时,芸香柚皮苷等11个待测成分的色谱峰峰面积较大,故选择提取溶剂为70% 甲醇;超声提取和回流提取的提取效率差异不明显,因超声提取操作简便,故选择超声提取;当超

声提取30 min时,芸香柚皮苷等11个待测成分的含量较高,故选择超声时间为30 min。同时,本课题组又考察了不同流动相(乙腈-水、甲醇-水)的分离情况,结果显示,以乙腈-水为流动相时,芸香柚皮苷等11个待测成分的分离效果较好,但新橙皮苷色谱峰出现拖尾现象;进一步又对乙腈-0.1% 磷酸溶液、乙腈-0.1% 甲酸溶液、乙腈-0.2% 醋酸溶液进行了考察,结果显示,以乙腈-0.1% 磷酸溶液为流动相时,芸香柚皮苷等11个待测成分可达到基线分离,峰形较好,故选择乙腈-0.1% 磷酸溶液为流动相。

含量测定结果显示,外标法与HPLC-QAMS法的测定结果无明显差异;待测成分含量均存在一定批间差异,尤其以柚皮苷、毛蕊花糖苷、异毛蕊花糖苷、白术内酯Ⅲ及白术内酯Ⅰ等成分含量批间差异较大,同一生产阶段的产品含量差异波动相对较小,这可能与制剂生产所用药材批间差异小以及制剂生产过程质量控制有关。

聚类分析结果显示,15批样品可聚为3类,S1~S7为一类,S8~S10为一类,S11~S15为一类,与主成分分析分类结果一致,其原因可能为原药材来源及产地土壤、气候、水质等因素导致不同批次药材质量存在较大差异,提示药品生产企业在生产过程中应重点关注原药材产地并控制生产过程的参数,确保产品质量的均一性,最终达到疗效的一致性。正交偏最小二乘法-判别分析结果显示,矢车菊素-3-*O*-芸香糖苷、白术内酯Ⅲ、柚皮苷、新橙皮苷、松果菊苷、毛蕊花糖苷是影响便通胶囊质量的差异标志物。

综上所述,本研究建立了测定便通胶囊中芸香柚皮苷等11种成分含量的方法,结合化学模式识别分析可用于便通胶囊的质量控制。矢车菊素-3-*O*-芸香糖苷等6种成分可能是影响便通胶囊质量的差异标志物。

参考文献

- [1] 刘泉,韩克舜.便通胶囊联合莫沙必利在老年混合痔术后便秘中的应用效果[J].中国肛肠病杂志,2020,40(12):43-45.
- [2] 李瑞春,徐高峰,鱼潇.便通胶囊防治神经外科术后便秘的随机对照研究[J].世界中医药,2019,14(3):722-726.
- [3] 陈琳,朱靖,王嵩,等.当归主要活性成分提取方法及其活性研究进展[J].上海医药,2021,42(9):71-75.
- [4] 国家药典委员会.中华人民共和国药典临床用药须知:中药成方制剂卷:2015年版[M].北京:中国医药科技出版社,2017:89-90.
- [5] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S].2020年版.北京:中国医药科技出版社,2020:1347-1348.
- [6] 张铁军,许浚,韩彦琪,等.中药质量标志物(Q-marker)研究:延胡索质量评价及质量标准研究[J].中草药,2016,47(9):1458-1467.
- [7] 曹清华.白术抗氧化活性成分的提取及鉴定研究[D].贵阳:贵州师范大学,2018.

(下转第2218页)