

通肠清胰合剂HPLC指纹图谱建立及多指标成分的含量测定



陈毕琳¹, 胡运莲², 李霞³, 刘梓梵¹, 徐茜³, 黄志军^{1,3}

1. 武汉理工大学化学化工与生命科学学院 (武汉 430070)
2. 湖北省中医院脾胃病科 (武汉 430061)
3. 健民药业集团股份有限公司 (武汉 430053)

【摘要】目的 建立通肠清胰合剂的 HPLC 指纹图谱, 并对 5 种成分进行含量测定。**方法** 采用 Agilent ZORBAX SB-C₁₈ 色谱柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 以乙腈 -pH 5.0 磷酸盐缓冲液为流动相, 梯度洗脱, 检测波长为 230 nm 和 250 nm, 流速为 1.0 mL/min, 柱温为 30 °C, 进样量为 10 μL。通过中药色谱指纹图谱相似度评价系统 (2012 版) 建立 10 个批次的通肠清胰合剂 HPLC 指纹图谱, 同时进行相似度评价。结合软件 SPSS 27.0、OriginPro 2024b 进行聚类分析和主成分分析。**结果** 黄芩苷、芍药苷、大黄酸、厚朴酚、和厚朴酚分别在一定浓度范围内线性关系良好 ($r \geq 0.9998$), 平均回收率和 RSD 分别在 96.39%~97.96%、1.54%~2.37% ($n=6$) 之间。10 批通肠清胰合剂指纹图谱显示存在 12 个共有峰, 相似度为 0.984~1.000。10 批样品可聚为 3 类, 其中 S1~S7 为第一类, S10 为第二类, S8 和 S9 为第三类。指认了 5 个成分, 分别为大黄酸、芍药苷、黄芩苷、厚朴酚、和厚朴酚。**结论** 本研究所建立的通肠清胰合剂 HPLC 指纹图谱及成分含量测定方法准确可靠、重复性强, 为通肠清胰合剂的质量控制提供了科学依据。

【关键词】 通肠清胰合剂; 含量测定; 高效液相色谱指纹图谱; 聚类分析; 主成分分析; 质量研究

【中图分类号】 R286.0

【文献标识码】 A

Establishment of HPLC fingerprint and content determination of multiple index components in Tongchang Qingyi mixture

CHEN Bilin¹, HU Yunlian², LI Xia³, LIU Zifan¹, XU Qian³, HUANG Zhijun^{1,3}

1. School of Chemistry, Chemical Engineering and Life Sciences, Wuhan University of Technology, Wuhan 430070, China

2. Department of Spleen and Stomach, Hubei Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Wuhan 430061, China

3. Hubei Academy of Preventive Medicine Sciences Jianmin Pharmaceutical Group Inc, Wuhan 430053, China
Corresponding author: HUANG Zhijun, Email: huangzhijun@whut.edu.cn

【Abstract】Objective To establish HPLC fingerprint of Tongchang Qingyi mixture, and to determine the content of 5 components. **Methods** An Agilent ZORBAX SB-C₁₈ chromatographic column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) was used. Acetonitrile-pH 5.0 phosphate buffer solution was

DOI: 10.12173/j.issn.2097-4922.202406136

基金项目: 湖北省重点研发计划项目 (2023BCB032)

通信作者: 黄志军, 博士, 副教授, 硕士研究生导师, Email: huangzhijun@whut.edu.cn

taken as the mobile phase with gradient elution. The detection wavelengths were set at 230 nm and 250 nm. The flow rate was 1.0 mL/min, the column temperature was 30 °C, and the injection volume was 10 μ L. The HPLC fingerprints of 10 batches of Tongchang Qingyi mixture were established by the "Similarity Evaluation System for Chromatographic Fingerprints of Traditional Chinese Medicine (2012 version)", and the similarity evaluation was conducted simultaneously. Cluster analysis and principal component analysis were carried out in combination with the software SPSS 27.0 and OriginPro 2024b. **Results** Baicalin, paeoniflorin, rhein, magnolol and honokiol all had good linear relationships within certain concentration ranges respectively ($r \geq 0.999$). The average recovery rates and RSDs were between 96.39%-97.96% and 1.54%-2.37% ($n=6$), respectively. The fingerprint chromatograms of 10 batches of Tongchang Qingyi mixture showed that there were 12 common peaks, with the similarities ranging from 0.984 to 1.000. The 10 batches of samples could be clustered into 3 categories. Among them, S1-S7 belonged to the first category, S10 belonged to the second category, and S8 and S9 belonged to the third category. Five components had been identified, namely rhein, paeoniflorin, baicalin, magnolol and honokiol. **Conclusion** The established HPLC fingerprint and component content measurement method for Tongchang Qingyi mixture in the research are accurate, reliable, and highly reproducible, and provide a scientific basis for the quality control of Tongchang Qingyi mixture.

【Keywords】 Tongchang Qingyi mixture; Content determination; High performance liquid chromatography fingerprint; Cluster analysis; Principal component analysis; Quality study

通肠清胰合剂是由湖北省中医院开发的一种院内制剂，由健民药业集团股份有限公司开展临床前药学研究，用于治疗急性胰腺炎。通肠清胰合剂由大黄、酒黄芩、麸炒枳实、姜厚朴、蒲公英、赤芍、芒硝、炙甘草 8 味药材组成。通肠清胰合剂的处方是由经典名方大承气汤加减而成，本方组成以通腑为要，兼顾行气、活血、清热、祛湿^[1]。现执行标准^[2]中尚无【含量测定】项，而当下发展中药现代化是大势所趋，因此制定通肠清胰合剂的质量标准十分有必要。目前，通肠清胰合剂的研究主要集中在临床方面^[3-4]，在质量控制研究方面尚未见相关报道，同时也缺乏通肠清胰合剂的指纹图谱及化学模式识别方面的研究。本试验将指纹图谱中所提供的信息数据进行再评价，以中药指纹图谱结合聚类分析（cluster analysis, CA）、主成分分析（principal component analysis, PCA）对通肠清胰合剂的质量进行控制。

相关研究表明，大黄的功效包含促进结肠蠕动而产生泻下效应，同时还能抑制急性胰腺炎的炎症反应^[5-7]，大黄素可以作为大黄功效相关的质量标志物^[8]。赤芍中芍药苷与黄芩中黄芩苷可发挥抗炎抗菌、镇痛、镇静的作用^[9-13]。厚朴有改善胃肠运动障碍的功效，可以调控肠胃运动^[14-15]，还可以抑制肠分泌产生抗腹泻的作用和抑制肠过度运动，从而保护肠道^[16-18]。因此以大黄中大黄酸、赤芍中芍药苷、厚朴中厚朴酚及和厚朴酚、

黄芩中黄芩苷作为指标成分，以期通肠清胰合剂的质量评价提供依据。

1 材料

1.1 主要仪器

Waters e2695 高效液相色谱仪，包括 2489 UV/Vis Detector 检测器（美国沃特世公司）；MS204TS 电子天平（瑞士梅特勒-托利多公司）。

1.2 主要药品与试剂

通肠清胰合剂 10 个批次，由健民药业生产，S1~S10 对应批号依次为 231001、231002、231003、231004、231005、231101、231102、231103、231104、231105；对照品：黄芩苷（批号：110715-202223，纯度 97.2%）、芍药苷（批号：110736-202246，纯度 96.7%）、厚朴酚（批号：110729-202316，纯度 99.2%）、大黄酸（批号：110757-202308，纯度 95.0%）、和厚朴酚（批号：110730-201915，纯度 99.8%）均购自中国食品药品检定研究院；乙腈为色谱纯，二水合磷酸氢二钠、十二烷基磺酸钠、甲醇、二甲亚砜、冰醋酸均为分析纯，水为纯化水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

采用 Agilent ZORBAX SB-C₁₈ 色谱柱（250 mm × 4.6 mm，5 μ m）；以乙腈（A）-pH 5.0

磷酸盐缓冲液（二水合磷酸氢二钠 2.8 g，十二烷基磺酸钠 0.2 g，冰醋酸 1 mL，加水溶解并稀释至 1 000 mL，调节 pH 至 5.0）（B）为流动相，梯度洗脱（洗脱程序见表 1）^[19-20]；检测波长为 230 nm 和 250 nm；流速为 1.0 mL/min；柱温为 30 ℃；进样量为 10 μL。

表1 梯度洗脱程序
Table 1. Gradient elution procedures

时间 (min)	流动相 A (%)	流动相 B (%)
0~4	6~8	94~92
4~10	8~11	92~89
10~60	11~16	89~84
60~80	16~20	84~80
80~115	20~24	80~76

2.2 溶液的制备

2.2.1 混合对照品溶液

精密称取厚朴酚、和厚朴酚、芍药苷、大黄酸、黄芩苷适量，加入 50% 甲醇进行溶解，分别制成每 1 mL 含厚朴酚 0.40 mg、和厚朴酚 0.50 mg、芍药苷 0.20 mg、大黄酸 1.00 mg、黄芩苷 0.20 mg 的混合对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液

精密移取通肠清胰合剂 5 mL 至 50 mL 量瓶中，加入 50% 甲醇溶解，摇匀，定容至刻度，超声处理（功率：250 W，频率：40 kHz）30 min，放冷，滤过，将所得滤液再用二甲亚砜萃取，每次 25 mL，萃取 2 次，萃取液合并，摇匀，滤过，取续滤液，即得。

2.2.3 阴性样品溶液

取处方量除酒黄芩、姜厚朴、赤芍、大黄外的各味药材按成品的制备方法制得缺酒黄芩、缺姜厚朴、缺赤芍、缺大黄的阴性样品，取适量阴性样品按“2.2.2”项下方法制得阴性样品溶液。

2.3 HPLC指纹图谱的建立

2.3.1 精密度试验

取供试品溶液（批号：231001），按“2.1”项下色谱条件连续进样 6 次，以峰 10 黄芩苷为参照峰，计算得各色谱峰的相对保留时间和相对峰面积的 *RSD* 均 < 2.0 (*n*=6)，结果表明该仪器精密度良好。

2.3.2 稳定性试验

取供试品溶液（批号：231001），分别于室温放置 0、4、8、12、24 h 时按“2.1”项下色谱

条件进样测定，以峰 10 黄芩苷为参照峰，计算得各色谱峰的相对保留时间的 *RSD* < 1.0 (*n*=5)，相对峰面积的 *RSD* < 4.0 (*n*=5)，结果表明供试品溶液放置 24 h 稳定性良好。

2.3.3 重复性试验

取同一批次（批号：231001）通肠清胰合剂 6 份，按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液，并按“2.1”项下色谱条件进样测定，以峰 10 黄芩苷为参照峰，计算得各色谱峰的相对保留时间和相对峰面积的 *RSD* 均 < 1.0 (*n*=6)，结果表明该方法重复性良好。

2.3.4 图谱生成及相似度评价

取通肠清胰合剂 10 个批次，按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液，并按“2.1”项下色谱条件进样测定，记录色谱图。结果显示，所有的色谱峰均集中在 110 min 内，其中有 12 个共有峰。通过与对照品溶液色谱图进行比对，可以确认 2 号峰（25.567 min）为芍药苷、7 号峰（62.700 min）为厚朴酚、8 号峰（68.133 min）为大黄酸、9 号峰（73.750 min）为和厚朴酚、10 号峰（83.717 min）为黄芩苷。具体见图 1 和图 2。

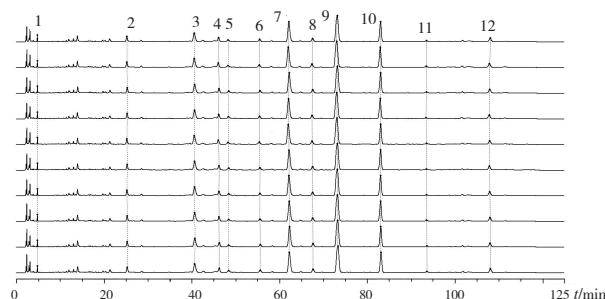


图1 10批样品色谱峰叠加HPLC图谱

Figure 1. HPLC chromatogram of superimposed peaks from 10 batches of samples

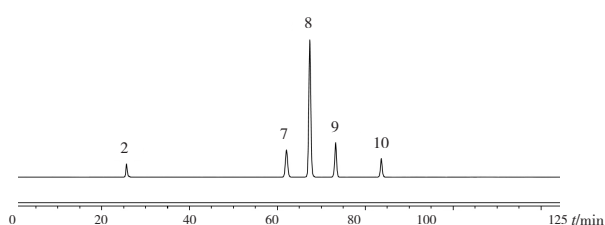


图2 混合对照品的HPLC图谱

Figure 2. HPLC chromatogram of the mixed reference substances

注：2. 芍药苷；7. 厚朴酚；8. 大黄酸；9. 和厚朴酚；10. 黄芩苷。

将 10 个批次的通肠清胰合剂色谱图导入中药色谱指纹图谱相似度评价系统（2012 版），设定时间窗宽度为 0.1 min，以样品 1 谱图为对照图

谱，经过多点矫正、数据匹配生成色谱指纹图谱共有模式，10 个批次通肠清胰合剂的指纹图谱相似度分别为 0.999、0.991、1.000、0.998、0.989、0.996、0.994、0.997、0.998、0.984，结果表明不同批次工艺样品的成分组成基本可以达到一致，质量均一性良好。

2.3.5 标准指纹图谱制定

取 10 个批次的通肠清胰合剂，按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液，并按“2.1”项下色谱条件进样测定，并记录 115 min 色谱图，将 10 批次的通肠清胰合剂色谱图导入中药色谱指纹图谱相似度评价系统（2012 版）生成标准指纹图谱，见图 3。

2.3.6 成品与药材的指纹图谱之间的相关性

药材供试品溶液制备：分别取处方中各味药材按照合剂工艺进行提取，制得浸膏，按照标准指纹图谱条件进行色谱峰归属，结果见表 2 和图 4。通肠清胰合剂中除芒硝外，其余 7 种药材均有相应的色谱峰归属，其中，1、8 号峰归属于大黄；2、3 号峰归属于赤芍；4 号峰归属于大黄；5 号峰归属于蒲公英；6、7、9 号峰归属于厚朴；10、11、12 号峰归属于黄芩；枳实和甘草的色谱峰均无专属性。

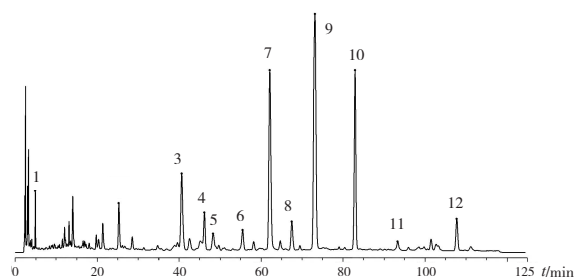


图3 标准指纹图谱

Figure 3. Standard fingerprint

表2 通肠清胰合剂与药材相关性图谱

Table 2. Correlation chromatograms between Tongchang Qingyi mixture and medicinal materials

峰号	大黄	酒黄芩	枳实	姜厚朴	蒲公英	赤芍	炙甘草
1	+						
2						+	
3						+	
4	+						
5					+		
6				+			
7				+			
8	+						
9				+			
10		+					
11		+					
12		+					

注：“+”表示该药材出现对应峰号的色谱峰。

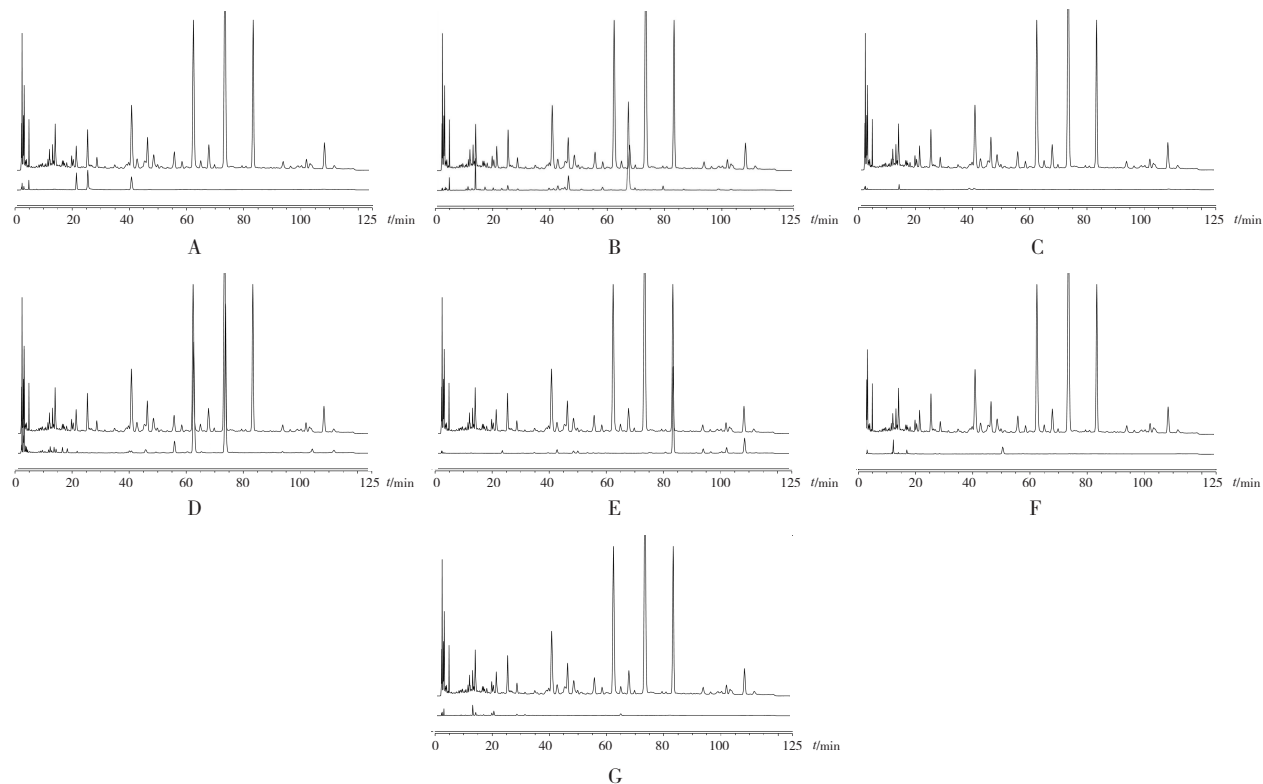


图4 各药材与成品对比色谱图

Figure 4. Chromatograms for comparison between various medicinal materials and the sample

注：A. 赤芍；B. 大黄；C. 炙甘草；D. 姜厚朴；E. 酒黄芩；F. 蒲公英；G. 枳实。

2.3.7 CA

采用 SPSS 27.0 软件, 以共有峰相对峰面积为变量, 组间连接和平欧式距离法绘图^[21] (图 5)。结果显示, 10 批样品可聚为 3 类, 其中 S1~S7 为第一类, S10 为第二类, S8 和 S9 为第三类。表明在制备工艺相同的条件下, 不同批次间通肠清胰合剂存在一定差异。

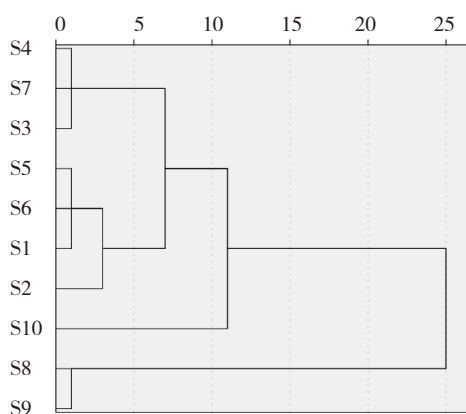


图5 CA图

Figure 5. CA diagram

2.3.8 PCA

采用 SPSS 27.0 软件, 将通肠清胰合剂 10 个批次的共有峰峰面积作为变量, 进行 PCA, 以特征值 > 1 为原则, 可以得到 3 个主成分, 这 3 个主成分的累计方差贡献率总计为 87.579%, 具体见表 3。荷载的绝对值越大, 则对主成分的贡献越大^[22-23], 荷载矩阵数据见表 4。结果显示主成分 1 荷载信息较大, 峰 5、峰 7 (厚朴酚)、峰 8 (大黄酸) 和峰 9 (和厚朴酚) 为主要荷载成分, 主成分 2 主要荷载成分为峰 1、峰 2 (芍药苷)、峰 10 (黄芩苷), 主成分 3 荷载峰 11 的信息。这 3 个成分可以代表通肠清胰合剂的指纹图谱共有峰的基本信息, 为影响不同批次的通肠清胰合剂质量的主要成分, 其中峰 2 (芍药苷)、峰 7 (厚朴酚)、峰 8 (大黄酸)、峰 9 (和厚朴酚)、峰 10 (黄芩苷) 均为 3 个主成分的荷载成分, 为后续进行含量测定提供了依据。且该结果提示严格控制大黄、姜厚朴、赤芍和酒黄芩的药材质量以及投料量可以进一步保证通肠清胰合剂的质量。采用 OriginPro 2024b 软件绘制 PCA 得分图 (图 6)。横纵坐标分别为主成分 1 和 2, 其和大于 80%, 说明该图能够很好地反应 10 批样品的情况。结果显示 10 批通肠清胰合剂样品所对应的点分散程度不高, 说明 10 批样品相似度较高,

与相似度评价结果一致。大致可分为 3 类, 其中 S1~S7 为第一类, S10 为第二类, S8 和 S9 为第三类, 与 CA 结果一致。

表3 主成分特征值及方差贡献

Table 3. Principal component eigenvalues and variance contributions

成分	特征值	方差贡献率 (%)	累计方差贡献率 (%)
1	9.272	57.949	57.949
2	3.572	22.324	80.274
3	1.169	7.305	87.579

表4 主成分因子载荷矩阵

Table 4. Principal component factor load matrix

峰号	主成分1	主成分2	主成分3
1	0.847	-0.437	0.117
2	0.741	-0.403	-0.096
3	0.752	-0.221	-0.365
4	0.877	-0.263	0.331
5	0.921	0.057	0.095
6	0.783	0.303	-0.362
7	0.959	0.074	-0.199
8	0.934	-0.129	-0.105
9	0.946	-0.274	-0.143
10	0.776	0.418	0.229
11	0.650	-0.054	0.666
12	0.802	-0.053	0.263

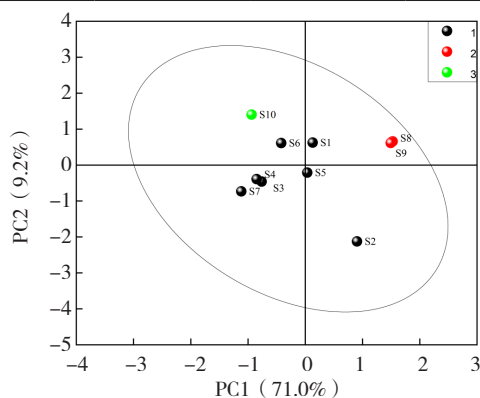


图6 PCA得分图

Figure 6. PCA score chart

2.4 含量测定

2.4.1 线性关系考察

精密称取黄芩苷 11.25 mg、厚朴酚 9.98 mg、和厚朴酚 11.17 mg、芍药苷 8.09 mg、大黄酸 4.06 mg 置 25 mL 量瓶中, 加 50% 甲醇使溶解并定容至刻度, 摇匀, 得混合对照品溶液。分别精密吸取上述混合对照品溶液 0.5、1、2、3、4、10 mL, 置 10 mL 量瓶中, 加 50% 甲醇稀释至刻度, 摇匀, 按“2.1”项下色谱条件进样测定, 以对照品溶液的浓度为横坐标 (X , $\mu\text{g}/\text{mL}$)、峰面积为纵坐标 (Y) 绘制标准曲线, 结果见表 5。

表5 各成分线性关系考察结果

Table 5. Linear relationship investigation results of each component

成分	回归方程	r	线性范围 (μg/mL)
黄芩苷	$Y=0.5577X+0.0670$	0.9998	0.0219~0.4374
厚朴酚	$Y=44.980X+0.0020$	1.0000	0.0198~0.3960
和厚朴酚	$Y=34.006X+0.1533$	0.9999	0.0223~0.4450
芍药苷	$Y=37.083X-0.1196$	1.0000	0.0156~0.3129
大黄酸	$Y=38.098X-0.0914$	1.0000	0.0007~0.1543

2.4.2 精密度试验

取供试品溶液 (批号: 231001), 按“2.1”项下色谱条件连续进样测定 6 次, 计算得黄芩苷、芍药苷、大黄酸、厚朴酚、和厚朴酚峰面积的 RSD 在 0.23%~0.58% 之间 (n=6), 结果表明该仪器精密度良好。

2.4.3 重复性试验

取同一批次 (批号: 231001) 通肠清胰合剂 6 份, 按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液, 并按“2.1”项下色谱条件进样测定, 计算得黄芩苷、芍药苷、大黄酸、厚朴酚、和厚朴酚的平均含量分别为 97.109、19.421、3.174、13.184、7.977 mg/g, RSD 在 0.29%~2.18% 之间 (n=6), 结果表明该方法重复性良好。

2.4.4 稳定性试验

取供试品溶液 (批号: 231001), 分别于室温放置 0、2、4、6、8、10、24 h 时按“2.1”项下色谱条件进样测定, 计算得黄芩苷、芍药苷、大黄酸、厚朴酚、和厚朴酚峰面积的 RSD 在 0.68%~1.09% 之间 (n=7), 结果表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.4.5 加样回收率试验

取已知成分含量的不同批次 (批号:

231001、231002、231003、231004、231005、231101) 通肠清胰合剂 6 份, 分别精密量取 5 mL, 以样品中成分含量的 50% 加入“2.2.1”项下混合对照品溶液 (加入 50% 对照品量浓度分别为: 黄芩苷 1.0025 mg/mL、厚朴酚 0.8032 mg/mL、和厚朴酚 1.0037 mg/mL、芍药苷 0.3914 mg/mL、大黄酸 0.2008 mg/mL) 50 mL, 再按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液, 并按“2.1”项下色谱条件进样测定, 计算得黄芩苷、芍药苷、大黄酸、厚朴酚、和厚朴酚的平均回收率分别为 96.90%、96.39%、97.24%、97.11%、97.96%, RSD 在 1.54%~2.37% 之间 (n=6), 结果表明该方法准确度良好。

2.4.6 样品的含量测定

取通肠清胰合剂 10 个批次, 按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液, 并按“2.1”项下色谱条件进样测定, 记录色谱图 (图 1、图 2 和图 7), 并计算黄芩苷、芍药苷、大黄酸、厚朴酚、和厚朴酚的含量, 结果见表 6。

表6 各成分含量测定结果 (mg/g, n=3)

Table 6. Content determination results of each component (mg/g, n=3)

编号	芍药苷	黄芩苷	厚朴酚	和厚朴酚	大黄酸
S1	18.977	94.886	12.902	7.802	3.100
S2	18.621	93.081	12.635	7.649	3.044
S3	18.614	93.067	12.592	7.648	3.042
S4	17.692	88.675	12.004	7.291	2.923
S5	19.136	95.659	12.989	7.853	3.131
S6	19.317	96.467	13.102	7.934	3.143
S7	19.532	97.780	13.287	8.029	3.196
S8	18.792	94.023	12.753	7.733	3.069
S9	18.699	93.508	12.701	7.679	3.056
S10	18.365	91.782	12.459	7.544	3.001

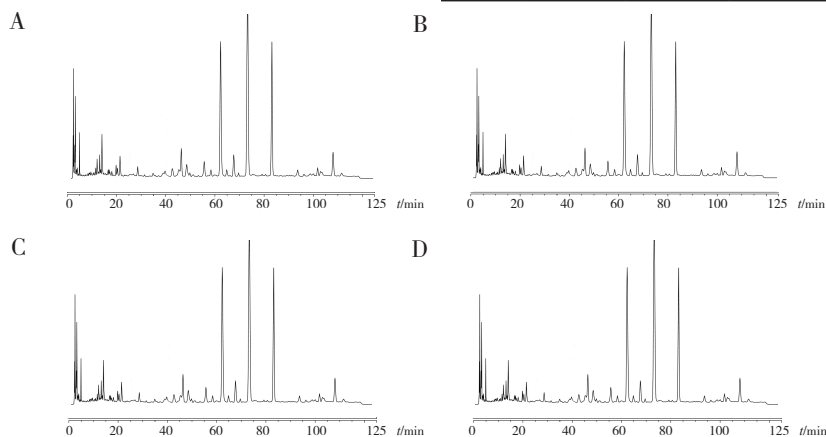


图7 阴性样品的HPLC图谱

Figure 7. HPLC chromatogram of negative sample

注: A. 缺赤芍; B. 缺大黄; C. 缺姜厚朴; D. 缺酒黄芩。

3 讨论

3.1 供试品溶液制备方法的筛选试验

本品由 8 味药材组成，含有多糖、蛋白、黄酮、生物碱、皂苷、木脂素、鞣酸、氨基酸等众多复杂成分，相互之间产生干扰而影响药材的出峰，为了减少杂质干扰，提高检测结果的准确性，根据通肠清胰合剂的处方和制剂特点，考察了多种不同的萃取溶剂。结果显示，当使用三氟乙酸对样品进行萃取时，HPLC 图谱上的 3 号、4 号峰发生重叠，5 号、8 号峰缺失；当使用丙酮对样品进行萃取时，2 号峰发生重叠，11 号峰缺失。当使用二甲亚砜萃取，不仅出峰数量较多且分离度好，峰面积较大，峰形更好，最终有利于提高检测结果的准确性。本研究最终确定用二甲亚砜进行萃取。

3.2 流动相的选择

使用了相同的梯度洗脱程序考察了多组流动相，将样品和对照品分别用相应的流动相进行洗脱，并采用芍药苷、厚朴酚、大黄酸、和厚朴酚、黄芩苷 5 种对照品溶液对样品的色谱峰进行指认，经比较筛选，发现乙腈-缓冲盐系统所得液相色谱图基线较平稳，分离出的成分较多，且峰形较对称、分离度更好，明显优于其他流动相。且通过试验对缓冲盐的浓度和 pH 进行了考察，结果表明，仅该方法配制的缓冲盐（二水合磷酸氢二钠 2.8 g，十二烷基磺酸钠 0.2 g，冰醋酸 1 mL，加水溶解并稀释至 1 000 mL，调节 pH 至 5.0）才能够同时洗脱出 5 种成分。

3.3 检测波长的选择

参照《中国药典（2020 年版）》一部中大黄、黄芩、赤芍、厚朴药材质量标准^[1]，并查阅相关文献^[24-27]，与本试验比较，发现单一波长的检测成分种类较少，无法满足 7 味药材的定性鉴别需要，故选择同时使用 230 nm 和 250 nm 双波长进行检测。

3.4 处方药材色谱峰归属分析

本方为大乘气汤加减方，君药大黄和臣药芒硝均为泻下药，结合使泻下效果更强，同时臣药黄芩和赤芍清热燥湿、活血化瘀，蒲公英清热解毒。佐药麸炒枳实和姜厚朴行气散结、消痞除湿，使药炙甘草调和诸药^[28-29]。现代药理研究表明，本试验中涉及的 5 个成分对急性胰腺炎的治疗均

具有抗炎和调节肠道菌群等相关作用。大黄对应色谱峰为 1、4、8 号峰，其中 8 号峰大黄酸可以有效调节肠道菌群^[30]，同时具有一定的抗炎效果^[30-32]，能通过抑制 Toll 样受体-5/核因子- κ B 信号通路治疗结肠性胃溃疡^[32]；赤芍对应色谱峰为 2、3 号峰，其中 2 号峰芍药苷通过抑制巨噬细胞中的核因子- κ B 通路，对溃疡性结肠炎表现出明显的抗炎作用^[33]；甘草对应色谱峰为 4、12 号峰；蒲公英对应的色谱峰为 5 号峰；枳实对应 6 号峰；厚朴对应 7、9 号峰，其中 7 号峰为厚朴酚，9 号峰为和厚朴酚。和厚朴酚与厚朴酚可通过调节肠道菌群对脂多糖诱导的肠道损伤起抗炎作用^[34]，和厚朴酚通过激活去乙酰化酶 3 对高甘油三酯血症急性胰腺炎有确切的保护作用^[35]；黄芩对应 10、11、12 号峰，其中 10 号峰黄芩苷可通过直接诱导与结肠癌相关的 HCT-116 细胞凋亡^[36]，抑制人结肠癌细胞 HT-29 细胞的炎症反应，并且能够抑制白细胞介素-6、肿瘤坏死因子- α 等炎症因子的分泌^[37]，具有一定的抗炎作用；甘草无对应的特征峰，后续可对甘草的专属性进行进一步研究。

通肠清胰合剂 HPLC 指纹图谱中存在 12 个共有峰，其相似度均高于 0.980，表明本制剂生产工艺稳定，不同组分之间的差异性小。通过 CA 和 PCA 将 10 个批次的通肠清胰合剂分为 3 类，这表明不同批次产品仍存在一定差异。对通肠清胰合剂的 3 个主要成分进行进一步的质量评价，对其中的大黄酸、芍药苷、黄芩苷、厚朴酚、和厚朴酚分别进行含量测定。综上所述，本研究首次建立包含 5 个指标的含量测定方法，并采用 CA 和 PCA 结合指纹图谱相似度软件，多维度地对通肠清胰合剂进行质量控制，提高产品的质量

参考文献

- 1 中国药典 2020 年版. 一部 [S]. 2020: 25, 138, 166, 258, 263, 315, 368.
- 2 中华人民共和国卫生部药典委员会. 中华人民共和国卫生部药品标准 (中药成方制剂第十七册) [S]. 北京: 人民卫生出版社, 1998: 209.
- 3 章茜, 刘斌斌, 苏成霞, 等. 通肠清胰汤对重症急性胰腺炎大鼠肠道功能的实验研究 [J]. 华南国防医学杂志, 2020, 34(5): 301-305. [Zhang Q, Liu BB, Su CX, et al. Experimental study of Tongchang Qingyi decoction on intestinal function

- of rats with severe acute pancreatitis[J]. *Military Medicine of Joint Logistics*, 2020, 34(5): 301–305.] DOI: [10.13730/j.issn.1009-2595.2020.05.002](https://doi.org/10.13730/j.issn.1009-2595.2020.05.002).
- 4 朱逸伦. 通肠清胰汤合丹参川芎嗪治疗急性胰腺炎(腑实热结证)的临床疗效观察[D]. 武汉: 湖北中医药大学, 2016. <https://d.wanfangdata.com.cn/thesis/D846695>.
 - 5 武新安. 大黄泻下的大肠靶向给药之我见[J]. *中国中药杂志*, 2002, 27(1): 72–74. [Wu XA. Opinion of colon-targeting delivery about Rhubarb extract as a purgative[J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2002, 27(1): 72–74.] DOI: [10.3321/j.issn:1001-5302.2002.01.028](https://doi.org/10.3321/j.issn:1001-5302.2002.01.028).
 - 6 唐大轩, 谭正怀, 梁媛媛, 等. 大黄蒽醌致泻作用及其机理的初步研究[J]. *时珍国医国药*, 2007, 18(6): 1312–1314. [Tang DX, Tan ZH, Liang YY, et al. The Inducing diarrhea effects and its mechanisms of anthraquinone from *Rheum palmatum* L.[J]. *Lishizhen Medicine and Materia Medica Research*, 2007, 18(6): 1312–1314.] DOI: [10.3969/j.issn.1008-0805.2007.06.017](https://doi.org/10.3969/j.issn.1008-0805.2007.06.017).
 - 7 伍洋, 刘英, 刘济滔, 等. 大黄素对重症急性胰腺炎小鼠 Treg/Th17 平衡的影响及机制研究[J]. *重庆医科大学学报*, 2019, 44(5): 617–621. [Wu Y, Liu Y, Liu QT, et al. Effect of emodin on regulatory T cell/T helper 17 cell balance in mice with severe acute pancreatitis and related mechanism[J]. *Journal of Chongqing Medical University*, 2019, 44(5): 617–621.] DOI: [10.13406/j.cnki.cyxh.001979](https://doi.org/10.13406/j.cnki.cyxh.001979).
 - 8 王玉, 杨雪, 夏鹏飞, 等. 大黄化学成分、药理作用研究进展及质量标志物的预测分析[J]. *中草药*, 2019, 50(19): 4821–4837. [Wang Y, Yang X, Xia PF, et al. Research progress on chemical composition and pharmacological effects of *Rhei Radix et Rhizoma* and predictive analysis on quality markers[J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 2019, 50(19): 4821–4837.] DOI: [10.7501/j.issn.0253-2670.2019.19.033](https://doi.org/10.7501/j.issn.0253-2670.2019.19.033).
 - 9 范韦佟, 廖彩岑, 周艳, 等. 赤芍的化学成分和抗炎活性研究[J]. *昆明理工大学学报(自然科学版)*, 2022, 47(3): 117–122. [Fan WT, Liao CC, Zhou Y, et al. Chemical constituents of *Paeoniae radix rubra* and their anti-inflammatory activities[J]. *Journal of Kunming University of Science and Technology (Natural Science Edition)*, 2022, 47(3): 117–122.] DOI: [10.16112/j.cnki.53-1223/n.2022.03.252](https://doi.org/10.16112/j.cnki.53-1223/n.2022.03.252).
 - 10 贾泽, 王春光, 张石磊, 等. 赤芍水提物及芍药苷对大肠杆菌抗菌增敏活性的影响[J]. *中国兽医学报*, 2019, 39(10): 2026–2032. [Jia Z, Wang CG, Zhang SL, et al. Antibacterial and sensitizing activity of *Paeonia lactiflora* aqueous extract and paeoniflorin to *Escherichia coli*[J]. *Chinese Journal of Veterinary Science*, 2019, 39(10): 2026–2032.] DOI: [10.16303/j.cnki.1005-4545.2019.10.23](https://doi.org/10.16303/j.cnki.1005-4545.2019.10.23).
 - 11 Tzeng HE, Tsai CH, Ho TY, et al. *Radix paeoniae rubra* stimulates osteoclast differentiation by activation of the NF- κ B and mitogen-activated protein kinase pathways[J]. *BMC Complement Altern Med*, 2018, 18(1): 132. DOI: [10.1186/s12906-018-2196-7](https://doi.org/10.1186/s12906-018-2196-7).
 - 12 Wu SC, Chu XL, Su JQ, et al. Baicalin protects mice against *Salmonella typhimurium* infection via the modulation of both bacterial virulence and host response[J]. *Phytomedicine* 2018, 48: 21–31. DOI: [10.1016/j.phymed.2018.04.063](https://doi.org/10.1016/j.phymed.2018.04.063).
 - 13 Jin X, Liu MY, Zhang DF, et al. Baicalin mitigates cognitive impairment and protects neurons from microglia-mediated neuroinflammation via suppressing NLRP3 inflammasomes and TLR4/NF- κ B signaling pathway[J]. *CNS Neurosci Ther*, 2019, 25(5): 575–590. DOI: [10.1111/cns.13086](https://doi.org/10.1111/cns.13086).
 - 14 魏理, 罗森珊. 厚朴酚对不同功能状态小鼠小肠运动功能的影响[J]. *医学理论与实践*, 2007, 20(8): 869–870. [Wei L, Luo MS. Study on small intestinal propulsive function in rat model by magnolol[J]. *The Journal of Medical Theory and Practice*, 2007, 20(8): 869–870.] DOI: [10.19381/j.issn.1001-7585.2007.08.001](https://doi.org/10.19381/j.issn.1001-7585.2007.08.001).
 - 15 巢蕾, 曹雨诞, 陈佩东, 等. 厚朴对胃肠动力障碍作用的研究[J]. *中国医药导报*, 2018, 15(13): 31–34. [Chao L, Cao YD, Chen PD, et al. Study on the effect of *Magnoliae officinalis* cortex on gastrointestinal motility disorders[J]. *China Medical Herald*, 2018, 15(13): 31–34.] DOI: [10.20047/j.issn1673-7210.2018.13.08](https://doi.org/10.20047/j.issn1673-7210.2018.13.08).
 - 16 Chen F, Zhang H, Du E, et al. Supplemental magnolol or honokiol attenuates adverse effects in broilers infected with *Salmonella pullorum* by modulating mucosal gene expression and the gut microbiota[J]. *J Anim Sci Biotechnol*, 2022, 13(1): 288–302. DOI: [10.1186/s40104-021-00611-0](https://doi.org/10.1186/s40104-021-00611-0).
 - 17 Chen H, Fu W, Chen H, et al. Magnolol attenuates the inflammation and enhances phagocytosis through the activation of MAPK, NF- κ B signal pathways in vitro and in vivo[J]. *Mol Immunol*, 2019, 105: 96–106. DOI: [10.1016/j.molimm.2018.11.008](https://doi.org/10.1016/j.molimm.2018.11.008).
 - 18 邓燕莉. 厚朴酚与厚朴酚抗腹泻作用及分子机理研究[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2012. <https://cdmd.cnki.com.cn/Article/CDMD-10537-1012441721.htm>.
 - 19 段红吉, 张洪, 来国防, 等. 血塞通分散片指纹图谱研究[J]. *云南中医学院学报*, 2015, 38(6): 36–41. [Duan HJ, Zhang H, Lai GF, et al. Research of fingerprint of Xuesaitong dispersible tablets[J]. *Journal of Yunnan University of Traditional Chinese Medicine*, 2015, 38(6): 36–41.] DOI: [10.19288/j.cnki.issn.1000-2723.2015.06.010](https://doi.org/10.19288/j.cnki.issn.1000-2723.2015.06.010).
 - 20 李泽娜, 刘畅, 李雪, 等. 杜仲配方颗粒 HPLC 指纹图谱及多成分含量测定研究[J]. *中国新药杂志*, 2022, 31(7): 705–712. [Li ZN, Liu C, Li X, et al. Establishment of HPLC fingerprint and determination of multiple components in *Eucommiae cortex formula granules*[J]. *Chinese Journal of New Drugs*, 2022, 31(7): 705–712.] DOI: [10.3969/j.issn.1003-3734.2022.07.015](https://doi.org/10.3969/j.issn.1003-3734.2022.07.015).
 - 21 叶丽娟, 徐素娥, 刁振慧, 等. 基于 HPLC 特征图谱结合化学模式识别法评价彝药鸡根饮片质量[J]. *中兽医医药杂志*, 2024, 43(4): 19–25. [Ye LJ, Xu SE, Diao ZH, et al. Quality control of Jigen pieces using HPLC characteristic chromatogram combined with chemical pattern recognition method[J]. *Journal of Traditional Chinese Veterinary Medicine*, 2024, 43(4): 19–25.] DOI: [10.13823/j.cnki.jtvm.2024.053](https://doi.org/10.13823/j.cnki.jtvm.2024.053).
 - 22 邱俊娜, 张榆, 张双, 等. 基于 HPLC 指纹图谱结合化学模式识别及定量测定的夏枯草质量控制研究[J]. *中草药*, 2020, 51(10): 2842–2850. [Qiu JN, Zhang Y, Zhang S, et al. Quality control of *Prunella vulgaris* based on HPLC fingerprints combined with chemical pattern recognition and content determination[J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 2020, 51(10): 2842–2850.]

- DOI: [10.7501/j.issn.0253-2670.2020.10.027](https://doi.org/10.7501/j.issn.0253-2670.2020.10.027).
- 23 杨柯楠, 关永霞, 范建伟, 等. 川蛭通络胶囊 HPLC 指纹图谱建立及 9 个成分测定 [J/OL]. 中药材, 2024-06-28. [Yang KN, Guan YX, Fan JW, et al. Establishment of HPLC fingerprint of Chuanzhitongluo capsule and determination of 9 components[J/OL]. Journal of Chinese Medicinal Materials, 2024-06-28.] DOI: [10.13863/j.issn1001-4454.2024.06.024](https://doi.org/10.13863/j.issn1001-4454.2024.06.024).
 - 24 钟国男, 张余芳, 林冠, 等. 加味香连丸 HPLC 指纹图谱和 11 个成分定量分析 [J]. 食品与药品, 2022, 24(4): 344-351. [Zhong GN, Zhang YF, Lin G, et al. Study on HPLC fingerprint and quantification of 11 components in Jiawei Xianglian pills[J]. Food and Drug, 2022, 24(4): 344-351.] DOI: [10.3969/j.issn.1672-979X.2022.04.013](https://doi.org/10.3969/j.issn.1672-979X.2022.04.013).
 - 25 于佳禾, 金重先, 刘金凤, 等. 基于指纹图谱结合化学计量学方法评价不同产地野生与栽培赤芍质量 [J]. 上海中医药大学学报, 2023, 37(5): 31-38. [Yu JH, Jin ZX, Liu JF, et al. Quality evaluation of wild and cultivated Paeoniae Radix Rubra from different origins based on fingerprint combined with stoichiometry methods[J]. Academic Journal of Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, 2023, 37(5): 31-38.] DOI: [10.16306/j.1008-861x.2023.05.004](https://doi.org/10.16306/j.1008-861x.2023.05.004).
 - 26 肖复耀, 桂郎, 曾红玉, 等. 经典名方茵陈蒿汤基准样品 HPLC 指纹图谱及多指标量值传递研究 [J]. 中草药, 2024, 55(2): 446-459. [Xiao FY, Gui L, Zeng HY, et al. HPLC fingerprint of benchmark samples of classical prescription Yinchenhao Decoction and quality value transfer of multi-index components[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2024, 55(2): 446-459.] DOI: [10.7501/j.issn.0253-2670.2024.02.010](https://doi.org/10.7501/j.issn.0253-2670.2024.02.010).
 - 27 王洪志, 范俊婷, 刘勇, 等. HPLC 法测定清胰片中芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚的含量 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2008, 14(9): 13-15. [Wang HZ, Fan JT, Liu Y, et al. Determination of aloemodin, rhein, emodin and chrysophanol in Qingyi tablets by HPLC[J]. Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae, 2008, 14(9): 13-15.] DOI: [10.3969/j.issn.1005-9903.2008.09.006](https://doi.org/10.3969/j.issn.1005-9903.2008.09.006).
 - 28 冀志明, 赵晓良, 赵要领. 自拟大黄承气汤辅助治疗重症急性胰腺炎的疗效及对炎症因子、肠黏膜功能的影响 [J]. 中医药临床杂志, 2019, 31(12): 2306-2309. [Ji ZM, Zhao XL, Zhao YL, et al. Effect of self-made Dahuang Chengqi decoction on patients with severe acute pancreatitis and its influence on inflammatory factors and intestinal mucosal function[J]. Clinical Journal of Traditional Chinese Medicine, 2019, 31(12): 2306-2309.] DOI: [10.16448/j.cjctcm.2019.0667](https://doi.org/10.16448/j.cjctcm.2019.0667).
 - 29 蔡昭君, 陈怀宇, 李玮. 清胰汤加减辅以大承气汤、芒硝外敷治疗重症急性胰腺炎的效果 [J]. 中外医学研究, 2021, 19(28): 70-72. [Cai ZJ, Chen HY, Li W, et al. Effect of modified Qingyi decoction combined with Dachengqi decoction and Mirabilite external application on severe acute pancreatitis[J]. Chinese And Foreign Medical Research, 2021, 19(28): 70-72.] DOI: [10.14033/j.cnki.cfmr.2021.28.021](https://doi.org/10.14033/j.cnki.cfmr.2021.28.021).
 - 30 董玲玲. 大黄酸对溃疡性结肠炎抗炎及菌群调节作用机制研究 [D]. 成都: 成都中医药大学, 2022. DOI: [10.26988/d.cnki.gcdzu.2022.000422](https://doi.org/10.26988/d.cnki.gcdzu.2022.000422).
 - 31 郑舟琴, 杜宏. 大黄酸药理作用的新进展 [J]. 重庆医学, 2019, 48(22): 3897-3901. [Zheng ZQ, Du H. New progress of pharmacological actions of rhein[J]. Chongqing Medicine, 2019, 48(22): 3897-3901.] DOI: [10.3969/j.issn.1671-8348.2019.22.028](https://doi.org/10.3969/j.issn.1671-8348.2019.22.028).
 - 32 罗爽, 罗霞, 刘琦, 等. 大黄酸对 DSS 诱导溃疡性结肠炎小鼠的治疗作用及机制探讨 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(11): 109-113. [Luo S, Luo X, Liu Q, et al. Effect and mechanism of rhein on DSS-induced ulcerative colitis in mice[J]. Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae, 2017, 23(11): 109-113.] DOI: [10.13422/j.cnki.syfjx.2017110109](https://doi.org/10.13422/j.cnki.syfjx.2017110109).
 - 33 李猛. 芍药苷治疗溃疡性结肠炎的实验研究 [D]. 南京: 南京大学, 2020. DOI: [10.27235/d.cnki.gnju.2020.001945](https://doi.org/10.27235/d.cnki.gnju.2020.001945).
 - 34 李平萍, 师盼盼, 李柱, 等. 厚朴酚、和厚朴酚对脂多糖诱导小鼠肠道损伤的抗炎作用及机制研究 [J]. Feed Research, 2024, 47(12): 62-70. [Li PP, Shi PP, Li Z, et al. Anti-inflammatory effect and mechanism of magnolol and honokiol on intestinal injury induced by lipopolysaccharide in mice[J]. 饲料研究, 2024, 47(12): 62-70.] DOI: [10.13557/j.cnki.issn1002-2813.2024.12.012](https://doi.org/10.13557/j.cnki.issn1002-2813.2024.12.012).
 - 35 蒙诺, 杨慧莹, 陈金凤, 等. 和厚朴酚减轻高甘油三酯血症急性胰腺炎大鼠模型的氧化应激: 基于激活 SIRT3-MnSOD2 通路 [J]. 南方医科大学学报, 2023, 43(3): 405-411. [Meng N, Yang HY, Chen JF, et al. Honokiol reduces oxidative stress by activating the SIRT3-MnSOD2 pathway to alleviate hypertriglyceridemia-induced acute pancreatitis in rats[J]. Journal of Southern Medical University, 2023, 43(3): 405-411.] DOI: [10.12122/j.issn.1673-4254.2023.03.10](https://doi.org/10.12122/j.issn.1673-4254.2023.03.10).
 - 36 邹颖, 成晓燕, 于丰彦, 等. 黄芩苷对人结肠癌 HCT-116 细胞增殖和凋亡的影响 [J]. 广东医学院学报, 2016, 34(6): 578-581. [Zou Y, Cheng XY, Yu FY, et al. Effect of baicalin on proliferation and apoptosis of human colon cancer HCT-116 cells[J]. Journal of Guangdong Medical College, 2016, 34(6): 578-581.] DOI: [10.3969/j.issn.1005-4057.2016.06.007](https://doi.org/10.3969/j.issn.1005-4057.2016.06.007).
 - 37 蒋寅, 刘军楼, 朱磊, 等. 黄芩苷对 HT-29 细胞炎症模型 PI3K/NF- κ B 信号通路的影响及机制探讨 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(12): 118-122. [Jiang Y, Liu JL, Zhu L, et al. Effect of baicalin on PI3K/NF- κ B signaling pathways and its underlying mechanism in HT-29 cells inflammation model[J]. Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae, 2016, 22(12): 118-122.] DOI: [10.13422/j.cnki.syfjx.2016120118](https://doi.org/10.13422/j.cnki.syfjx.2016120118).
- 收稿日期: 2024 年 06 月 25 日 修回日期: 2024 年 10 月 05 日
 本文编辑: 钟巧妮 李 阳