

doi:10.11751/ISSN.1002-1280.2024.05.08

基于网络药理学和 HPLC 法建立宠物用复方石淋通片中多指标成分的质量控制方法

翟晓峰, 卢新颖, 李明慧, 热西旦木·马木江, 顾妍, 杜守颖*, 白洁*

(北京中医药大学 中药学院, 北京 102488)

[收稿日期] 2023-12-29 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280 (2024) 05-0063-11 [中图分类号] S859.79

[摘要] 建立宠物用复方石淋通片多指标成分含量测定方法。利用网络药理学方法筛选复方石淋通片治疗尿石症、膀胱炎的关键活性成分, 结合相关文献及《中国药典》相关要求, 确定指标性成分。利用 HPLC 分析方法, 使用 CAPCELL PAK C18 MG (S-5) 4.6 × 250 mm 色谱柱, 柱温 30 °C, 进样量 10 μL, 流速为 1.0 mL · min⁻¹, 检测波长 335 nm, 以乙腈-0.1% 甲酸水为流动相, 梯度洗脱, 建立指标性成分含量测定的方法。通过网络药理学筛选出槲皮素、咖啡酸、绿原酸等十个关键成分。结合《中国药典》及相关文献选出新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、咖啡酸、夏佛塔昔、异夏佛塔昔六种指标性成分。含量测定方法学结果表明: 各成分线性关系良好 ($r \geq 0.999$); 精密度良好, *RSD* 为 0.03% ~ 0.21%; 重复性良好, *RSD* 为 0.70% ~ 2.02%; 供试品在 24h 内稳定性良好, *RSD* 为 0.30% ~ 2.02%; 平均加样回收率 (*RSD*) 在 98.31% ~ 104.31% (0.36% ~ 2.28%); 三批样品中六种成分的含量分别在 0.990 ~ 1.434 mg · g⁻¹、1.533 ~ 2.083 mg · g⁻¹、1.311 ~ 2.023 mg · g⁻¹、0.332 ~ 0.353 mg · g⁻¹、1.594 ~ 1.768 mg · g⁻¹、0.787 ~ 1.057 mg · g⁻¹ 之间。该含量测定方法有良好的重复性和稳定性, 可用于宠物用复方石淋通片的质量分析。

[关键词] 复方石淋通片; 网络药理学; HPLC; 多指标成分; 含量测定

Establishment of a Quality Control Method based on Network Pharmacology and HPLC Method for the Quality Control of Multi-indicator Components in Compound Shi-lin-tong Tablets for pets

ZHAI Xiao-feng, LU Xin-ying, LI Ming-hui, MAMUJIANG Rexidanmu, GU Yan, DU Shou-ying*, BAI Jie*

(School of Chinese Materia Medica, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 102488, China)

Corresponding authors: DU Shou-ying, E-mail: Dushouying@263.net; BAI Jie, E-mail: baijie22811@163.com

Abstract: To establish a multi-indicator method for the determination of the content of Compound Shi-lin-tong Tablets for pets. Screening the key active ingredients of Compound Shi-lin-tong Tablet for the treatment of urolithiasis and cystitis by using network pharmacological methods, combining with the relevant literature and the

作者简介: 翟晓峰, 硕士研究生, 从事中药新制剂与新技术方向研究。

通讯作者: 杜守颖, E-mail: Dushouying@263.net; 白洁, E-mail: baijie22811@163.com

relevant requirements of Chinese Pharmacopoeia, to determine the indicator ingredients. The method was established for the determination of the content of the indicator components by HPLC analysis using a CAPCELL PAK C18 MG (S-5) 4.6 × 250 mm column at 30 °C with an injection volume of 10 μL, a flow rate of 1.0 mL/min, and a detection wavelength of 335 nm, with a gradient elution using acetonitrile - 0.1% formic acid in water as the mobile phase. Ten key components such as quercetin, caffeic acid, and chlorogenic acid were screened by network pharmacology. Six index components, neochlorogenic acid, chlorogenic acid, cryptochlorogenic acid, caffeic acid, charophylloside and isochlorophylloside, were selected in conjunction with the Chinese Pharmacopoeia and related literature. The methodological results of the content determination showed: The linearity of the components was good ($r \geq 0.999$); Good precision, RSD of 0.03% ~ 0.21%; Repeatability was good with RSD of 0.70% to 2.02%; The stability of the test material was good over 24 h with RSD of 0.30% ~ 2.02%; The average spiked recoveries (RSD) ranged from 98.31% to 104.31% (0.36% to 2.28%); The levels of the six components in the three batches of samples ranged from 0.990 to 1.434 mg · g⁻¹, 1.533 to 2.083 mg · g⁻¹, 1.311 to 2.023 mg · g⁻¹, 0.332 to 0.353 mg · g⁻¹, 1.594 to 1.768 mg · g⁻¹, and 0.787 to 1.057 mg · g⁻¹, respectively. The content determination method has good reproducibility and stability, and can be used for the quality analysis of Compound Shi - lin - tong Tablets for pets.

Key words: Compound Shi - lin - tong Tablets; network pharmacology; HPLC; multi - index component; content determination

随着我国都市化水平的提高,民众将伴侣动物作为重要家庭成员的观念逐渐深入,宠物数量也同步增长,其中犬猫是人们饲养的主要宠物品种,截止 2022 年,我国城镇犬猫数量已经达到了 11655 万只,宠物经济市场规模也达到了 2706 亿元^[1]。尿石症作为犬猫常见泌尿系统疾病之一,临床上多表现为排尿困难,尿血,尿闭,严重者因尿毒症而致死^[2]。临床上多以药物和手术治疗为主,术后结石存在复发率较高的问题^[3-5],同时宠物临床用药上面临着宠物专用药品种少,数量严重不足的问题^[6]。为满足宠物用药的需求,农业农村部颁布《人用中药转宠物用中药注册资料要求》等相关文件,将人用药物转为宠物用药,短期内加速宠物专用药的研发和生产^[7]。

复方石淋通片人用标准收载于《卫生部药品标准中药成方制剂第十二册》,处方组成包括广金钱草、石韦、忍冬藤、海金沙、滑石粉五味药。具有清热利湿,通淋排石的功效^[8],是临床上治疗泌尿系结石的传统用药。现行人用部颁药品标准^[9]中,质量标准项下鉴别项下仅有化学反应鉴别,专属性不

强,缺少指标成分含量测定,难以准确评价复方制剂的真假及优劣程度。按照《人用中药转宠物用中药注册资料要求》文件要求,宠物用药的质量标准应不低于人用中药标准,同时鼓励制定优于原标准的质量标准。故将其转变为宠物用药时需对其质量标准进行提高。

选择能表征药效的指标性成分作为质控指标是质量标准提升的关键。网络药理学基于系统生物学和生物网络平衡的角度阐释疾病,近些年快速成为中医药研究主流方法之一^[10],本研究将利用网络药理学方法筛选出关键活性成分,同时结合《中国药典》及相关文献确定宠物用复方石淋通片的指标性成分,并建立其含量测定的方法,为日后宠物用复方石淋通片的质量标准研究奠定基础。

1 材料

1.1 数据库及软件 HIT2.0 数据库(<http://hit2.badd-cao.net/>); HERB 数据库(<http://herb.ac.cn/>); Gene Cards 数据库(<https://www.genecards.org/>); STRING11.0 (<https://string-db.org/>); Venny2.1.0 (<https://bioinfopg.cnb.csic.es/tools/>)

venny/); Cytoscape 软件(3.9.1 版)。

1.2 仪器 LC-20A 高效液相色谱仪(日本岛津公司, SPD-M20A, PDA 检测器, LC Solutio 色谱工作站); KQ5200DA 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司); MP5002 电子天平(上海舜宇恒平科学仪器有限公司); Sartorius BSA 224S 电子分析天平(北京赛多利斯科学仪器有限公司)。

1.3 药品与试剂 实验室自制宠物用复方石淋通片(编号 S1、S2、S3); 新绿原酸(批号 D23GB172337)、隐绿原酸(批号 J01GB147635)、异夏佛塔苷(A271B213944)对照品购于上海源叶生物科技有限公司; 绿原酸(批号 110753-202119)、咖啡酸(批号 110885-201703)、夏佛塔苷(批号 111912-202204)对照品购于中国食品药品检定研究院。广金钱草(批号 2202041)、石韦(批号 2112047)、忍冬藤(批号 2205027)、海金沙(批号 2011053)、滑石粉(批号 2108057)药材均购于北京市双桥燕京中药饮片厂。乙腈(分析纯), 甲酸购自 Fisher 公司; 娃哈哈纯净水购于杭州娃哈哈集团有限公司。

2 方法

2.1 基于网络药理学的复方石淋通片关键活性成分的筛选

2.1.1 复方石淋通片活性成分及靶点的获取和筛选 通过 HIT2.0 数据库、HERB 数据库检索并收集复方石淋通片中广金钱草、石韦、忍冬藤、海金沙、滑石粉五味中药活性成分和相关靶点。

2.1.2 复方石淋通片临床适应症疾病共有靶点的获取和筛选 查询 Gene Cards 数据库并收集疾病靶点, 本研究选择结石、膀胱炎为临床适应症以关键词“calculus”“cystitis”进行检索并筛选, 删去重复靶点, 再与药材成分靶点利用 Venny 2.1.0 绘制韦恩图, 得到药物-疾病共同靶点。

2.1.3 共有靶点 PPI 网络构建 将药物-疾病共有靶点提交至 STRING 11.0 平台, 去除离散或无关的基因节点, 分别选择分析物种为“*Canis lupus familiaris*”标准为置信值 (medium confidence) = 0.9, 分别得到蛋白质相互作用 (PPI) 网络。利用

Cytoscape 3.9.1 对 PPI 网络进一步可视化, 得到 PPI 网络图。

2.1.4 关键活性成分的确定 将药物成分与药物-疾病共有靶点, 通过 Cytoscape 3.9.1 分析作图, 以连接度 (Degree)、介度 (Betweenness) 及紧密度 (Closeness) 为条件筛选排名较前的关键活性成分。

2.1.5 KEGG 富集分析 将关键靶点输入 DAVID 数据库进行 KEGG 通路富集分析, 选择物种“*Canis lupus familiaris*”。

2.2 宠物用复方石淋通片多指标成分含量测定方法的建立

2.2.1 色谱条件 采用 CAPCELL PAK C18 MG (S-5) 4.6 × 250 mm 色谱柱, 柱温 30 °C, 进样量 10 μL, 流速为 1.0 mL · min⁻¹, 以流动相 A(乙腈)和流动相 B(0.1% 甲酸水)为条件进行梯度洗脱, 梯度洗脱时间程序见表 1。

表 1 梯度洗脱时间程序

Tab 1 Gradient elution time program		
时间/min	乙腈(A)	0.1% 甲酸水(B)
0-3	1-8	99-92
3-20	8-12	92-88
20-35	12-14	88-86
35-70	14	86

2.2.2 对照品溶液的配制 精密称取新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、咖啡酸、夏佛塔苷、异夏佛塔苷对照品适量, 精密称定, 加入 50% 甲醇制成质量浓度分别为 1.109、9.900、1.155、9.980、9.640、1.027 mg · mL⁻¹ 的对照品溶液, 即得。

2.2.3 供试品溶液的配制 取复方石淋通片, 粉碎, 取粉末约 1 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 50% 甲醇 25.00 mL, 称重, 超声处理(功率 250 W, 频率 40 kHz) 30 min, 放冷, 称重, 用 50% 甲醇补足减失重量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 过 0.45 μm 滤膜, 即得。

2.2.4 单味药材供试品溶液的制备 按照处方比

例及工艺,分别制备广金钱草、石韦、忍冬藤、海金沙提取浓缩液,广金钱草浓缩液加入 5 倍量 85% 乙醇,其余三味药物浓缩液加入 5 倍量 70% 乙醇,醇沉 12 h,过滤,取续滤液,过 0.45 μm 滤膜,即得。

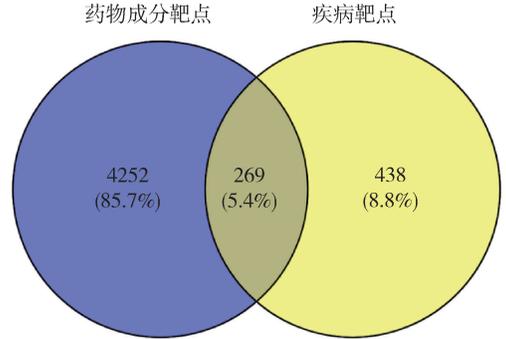
3 结果与分析

3.1 复方石淋通片网络药理学筛选结果

3.1.1 复方石淋通片活性成分及临床适应症靶点
利用 HIT2.0 数据库检索并筛选,得到广金钱草 32 个活性成分,429 个成分靶点,石韦 12 个活性成分,252 个成分靶点,忍冬藤 46 个活性成分,519 个成分靶点;利用 HERB 数据库检索并筛选,得到海金沙 114 个活性成分,4197 个成分靶点。删去重复成分,共计获得活性成分 181 个,成分相关靶点 4809 个。利用 Gene Cards 数据库检索并筛选,共计获得疾病靶点 701 个。

取上述成分相关靶点与药物成分相关靶点通过 Venny 2.1.0 绘制韦恩图,得到药物-疾病共同靶点 269 个,见图 1。

3.1.2 PPI 网络构建及关键靶点的确定 药物-疾病的 269 个共有靶点提交至 STRING 11.0 平台得到 PPI 网络,并导入 Cytoscape 3.9.1 对 PPI 网络进一步可视化,绘制 PPI 网络图,见图 2。以度值从高到底排序,得到排名前 5 的核心靶点,分别是白细胞介素-6 (IL6)、白细胞介素-1B (IL1B)、白细胞介素-10 (IL10)、干扰素 γ(IFNG)、表皮生长因子受体(EGFR)。



(注:筛选出 269 个交集靶点,4252、438 分别为药物、疾病不交集靶点)

(Note: 269 intersecting targets were screened, 4252 and 438 are drug and disease non-intersecting targets, respectively)

图 1 “药物-疾病”韦恩图

Fig 1 "Drug-disease" Wayne diagrams

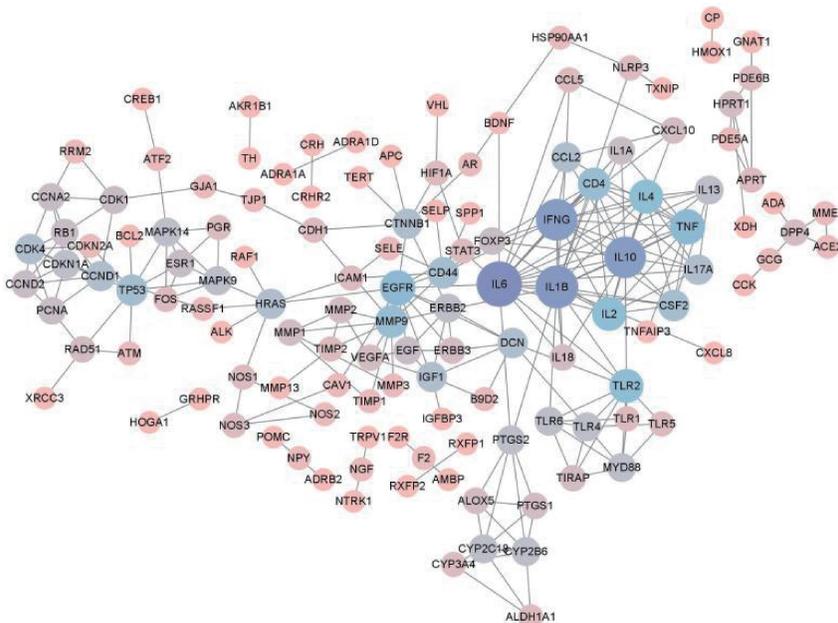
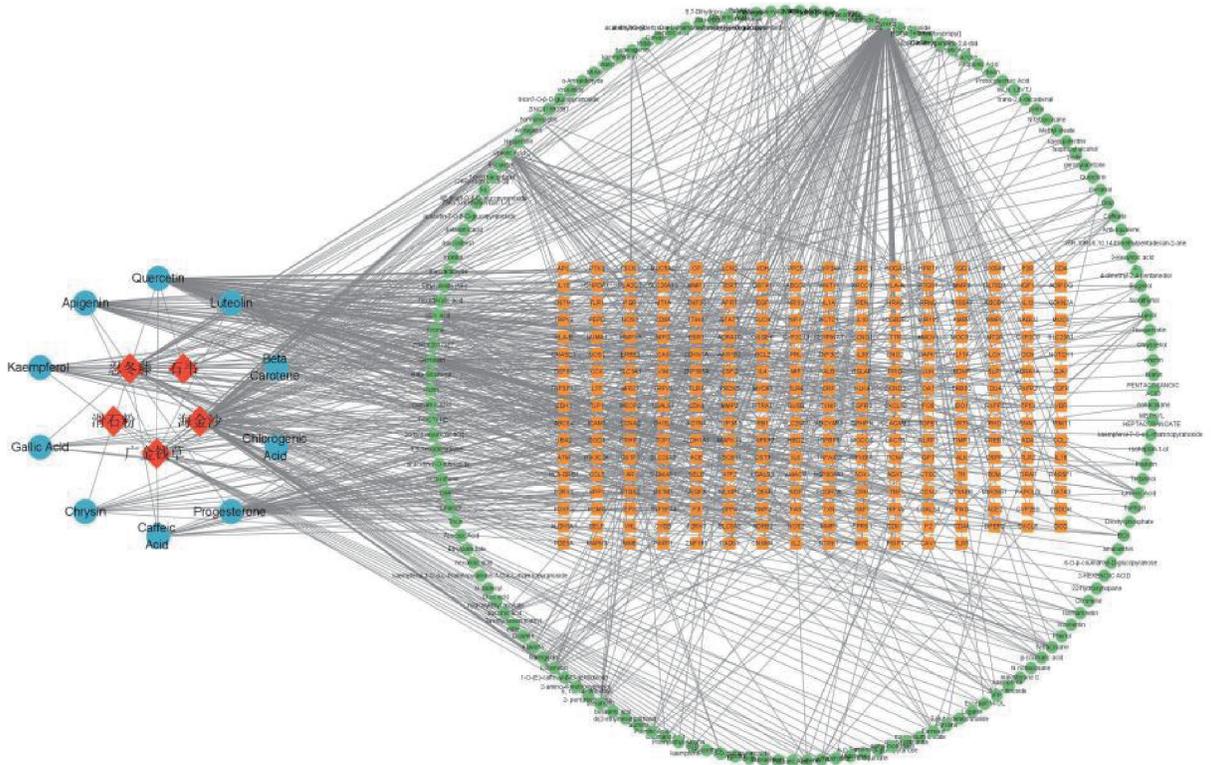


图 2 PPI 网络图

Fig 2 PPI network diagram

3.1.3 关键成分的确定 利用 Cytoscape 3.9.1 构建复方石淋通片治疗结石、膀胱炎的“药材 - 活性成分 - 共有靶点”网络图,见图 3。获得 10 个

关键成分,即槲皮素、孕酮、芹菜素、木犀草素、山萘酚、 β -胡萝卜素、咖啡酸、白杨素、没食子酸、绿原酸。



(注:红色菱形代表药物;蓝色圆形代表关键成分;橙色方形代表共有靶点;绿色圆形代表成分)

(Note: red diamonds represent drugs; blue circles represent key ingredients; orange squares represent shared targets; green circles represent ingredients)

图 3 “药物 - 活性成分 - 共有靶点”网络图

Fig 3 "Drug - Active Ingredient - Shared Target" network diagrams

3.1.4 KEGG 通路分析 利用 DAVID 数据库对共有靶点进行 KEGG 通路分析,筛选 $P < 0.05$,包括 131 个通路,选择 P 值小的前 20 条结果进行分析, R 语言绘制 KEGG 富集气泡图,见图 4。

关键信号通路包括 IL-17 信号通路、癌症通路、膀胱癌、炎症性肠病、类风湿性关节炎、脂质和动脉粥样硬化、乙型肝炎、恰加斯病、流体剪切应力和动脉粥样硬化、糖尿病并发症中的 AGE-RAGE 信号通路、癌症中的蛋白聚糖、内分泌抵抗、TNF 信号通路、前列腺癌、疟疾、EB 病毒感染、利什曼病、松弛素信号通路、Toll 样受体信号通路、Th17 细胞分化等 131 条。

3.2 方法学考察

3.2.1 专属性考察 分别取 2.2 项下对照品溶液和供试品溶液,按“2.2.1”项下色谱条件分析,色谱图见图 5。分析结果提示,各指标性成分分离度良好;从单味药样品色谱图中得知,1 号峰(新绿原酸)、2 号峰(绿原酸)、3 号峰(隐绿原酸)是石韦和忍冬藤的共有成分,4 号峰(咖啡酸)是石韦、忍冬藤和海金沙的共有成分,5 号峰(夏佛塔昔)、6 号峰(异夏佛塔昔)是广金钱草的特有成分,各对应目标化合物均在相应的保留时间,无色谱峰吸收出现,表明处方中其他共存物质对含量测定结果无干扰。

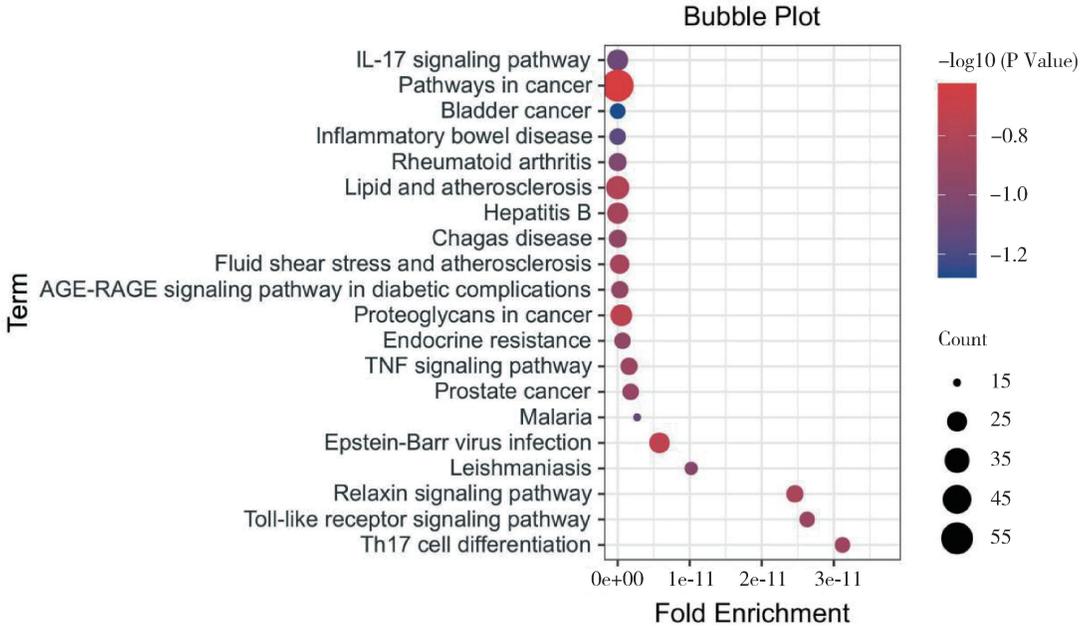
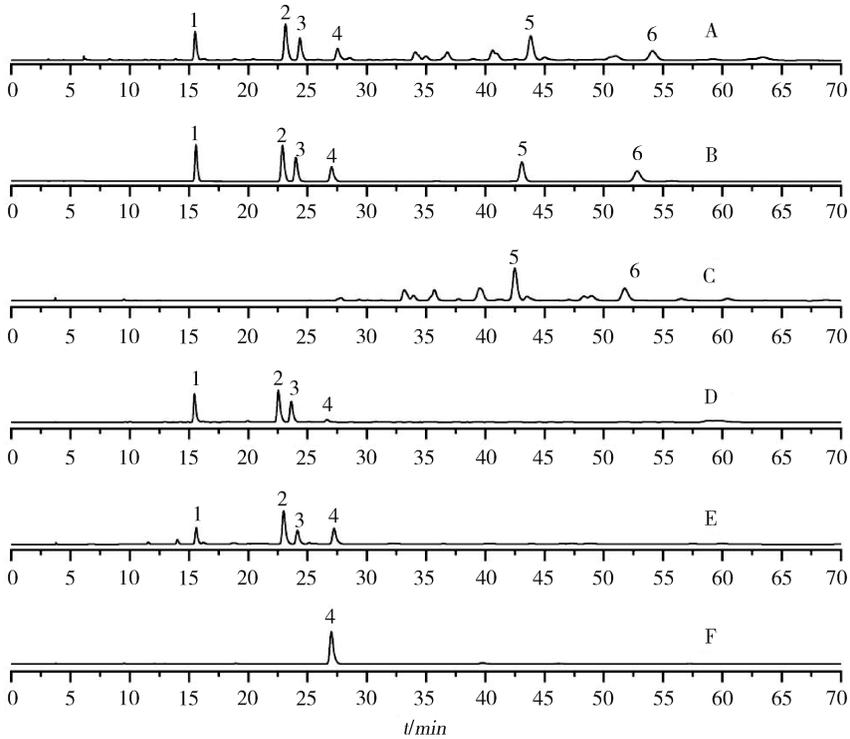


图 4 KEGG 通路富集分析气泡图

Fig 4 Bubble diagram for KEGG pathway enrichment analysis



1. 新绿原酸;2. 绿原酸;3. 隐绿原酸;4. 咖啡酸;5. 夏佛塔苷;6. 异夏佛塔苷;A. 复方石淋通片供试品;B. 对照品溶液;
 C. 广金钱草供试品;D. 石韦供试品;E. 忍冬藤供试品;F. 海金沙供试品

1. Neochlorogenic acid; 2. Chlorogenic acid; 3. Cryptochlorogenic acid; 4. Caffeic acid; 5. Charcotenoside; 6. Isocharcotenoside;
 A. Compound Shiliangtong Tablet test; B. Control solution; C. Guangjinchenqiancao test; D. Shiwei test; E. Lonicera test; F. Haijinsha test

图 5 复方石淋通片 HPLC 色谱图

Fig 5 HPLC chromatogram of Compound Shi - lin - tong Tablet

3.2.2 线性关系考察 精密吸取“2.2.2”项下对照品适量,置于 10 mL 容量瓶中,50% 甲醇定容至刻度,摇匀,在“2.2.1”项下色谱条件分析。以对照品质量浓度为横坐标($X, \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$),峰面积为纵坐标(Y)进行线性回归,结果见表 2,可知各成分在各自范围内线性关系良好。

表 2 各成分线性关系

Tab 2 Linear relationship between components

成分	回归方程	相关系数 r	线性范围/ $(\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1})$
新绿原酸	$Y = 26770X - 22296$	0.9994	5.545 ~ 110.900
绿原酸	$Y = 28075X - 62683$	0.9990	9.900 ~ 99.000
隐绿原酸	$Y = 20113X - 39639$	0.9994	5.775 ~ 115.500
咖啡酸	$Y = 44440X - 13912$	0.9996	1.996 ~ 39.920
夏佛塔苷	$Y = 22757X - 57549$	0.9993	9.940 ~ 154.240
异夏佛塔苷	$Y = 21458X - 8224.9$	0.9995	5.135 ~ 102.700

3.2.3 精密度试验 取混合对照品溶液,在“2.2.1”项下色谱条件下重复进样 6 次,以色谱峰面积积分值计算相对标准偏差(RSD),结果新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、咖啡酸、夏佛塔苷、异夏佛塔苷峰面积的 RSD 分别为 0.08%、0.09%、0.03%、0.14%、0.21%、0.12%,表明该方法的仪器精密度良好。

3.2.4 稳定性试验 取编号 S1 样品,按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液,分别在 0、2、4、6、12、24 h,在“2.2.1”项下色谱条件进样分析,测得新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、咖啡酸、夏佛塔苷、异夏佛塔苷 RSD 分别为 2.02%、0.36%、0.35%、1.37%、1.22%、0.30% 表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

3.2.5 重复性试验 取编号 S1 样品,按“2.2.3”项下方法平行制备 6 份供试品溶液,按“2.2.1”项下色谱条件进样测定,测得新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、咖啡酸、夏佛塔苷、异夏佛塔苷 RSD 分别为 2.02%、0.96%、0.93%、0.95%、0.70%、1.07%,表明该方法重复性良好。

3.2.6 加样回收试验 精密量取各成分含有量已知的 S1 样品 0.5 g,共 6 份,加入对照品溶液,按“2.2.3”项下方法平行制备供试品溶液,进样测定,计算回收率,结果见表 3。新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、咖啡酸、夏佛塔苷、异夏佛塔苷平均加样回收率(RSD) 分别为 102.38% (2.28%)、104.31% (0.44%)、98.32% (0.36%)、101.93% (1.89%)、100.84% (0.75%)、100.99% (0.76%)。

3.2.7 样品含量测定 按上述供试品溶液的制备方法和测定方法,测定 3 批次自制宠物用复方石淋通片中 6 种指标性成分的含量,结果见表 4。

表 3 各指标性成分加样回收率

Tab 3 Recovery rate of spiked samples for each indicator component

成分	样品中含量/mg	加入量/mg	测得量/mg	加样回收率/%	均值/%	RSD /%
新绿原酸	0.197	0.194	0.387	97.78	102.38	2.28
	0.197	0.194	0.400	104.37		
	0.197	0.194	0.398	103.51		
	0.197	0.194	0.397	103.17		
	0.197	0.194	0.397	102.68		
	0.197	0.194	0.397	102.76		
绿原酸	0.304	0.322	0.637	103.52	104.31	0.44
	0.304	0.322	0.639	104.10		
	0.304	0.322	0.640	104.55		
	0.304	0.322	0.640	104.64		
	0.304	0.322	0.639	104.30		
	0.304	0.322	0.641	104.73		

续表 3

成分	样品中含量/mg	加入量/mg	测得量/mg	加样回收率/%	均值/%	RSD/%
隐绿原酸	0.265	0.302	0.562	98.50	98.32	0.36
	0.265	0.302	0.562	98.56		
	0.265	0.302	0.562	98.62		
	0.265	0.302	0.559	97.71		
	0.265	0.302	0.561	98.36		
	0.265	0.302	0.561	98.11		
咖啡酸	0.072	0.070	0.142	99.60	101.93	1.89
	0.072	0.070	0.143	101.51		
	0.072	0.070	0.143	101.53		
	0.072	0.070	0.145	103.80		
	0.072	0.070	0.145	104.60		
	0.072	0.070	0.142	100.52		
夏佛塔苷	0.350	0.342	0.692	99.94	100.84	0.75
	0.350	0.342	0.696	101.29		
	0.350	0.342	0.699	102.08		
	0.350	0.342	0.694	100.48		
	0.350	0.342	0.694	100.57		
	0.350	0.342	0.694	100.68		
异夏佛塔苷	0.210	0.205	0.414	99.62	100.99	0.76
	0.210	0.205	0.416	100.64		
	0.210	0.205	0.418	101.53		
	0.210	0.205	0.418	101.37		
	0.210	0.205	0.419	101.64		
	0.210	0.205	0.418	101.16		

表 4 样品中 6 种成分的含量

Tab 4 Levels of the six components in the samples

样品	含量/(mg · g ⁻¹)					
	新绿原酸	绿原酸	隐绿原酸	咖啡酸	夏佛塔苷	异夏佛塔苷
S1	0.990	1.533	1.311	0.353	1.768	1.057
S2	1.191	1.835	1.593	0.332	1.594	0.959
S3	1.434	2.083	2.023	0.339	1.261	0.787

4 讨论与结论

4.1 指标性成分的确定 利用网络药理学对复方石淋通片的活性成分和靶点进行预测。得到了 IL6、IL1B、IL10 等 5 个关键靶点,信号通路主要包括 IL-17 信号通路、癌症通路、膀胱癌等 131 条。筛选出槲皮素、咖啡酸、绿原酸等十个关键成分。

《中国药典》2020 版中广金钱草、石韦、忍冬藤的质控成分分别是夏佛塔苷和绿原酸。根据复方石淋通片方解,广金钱草为组方君药^[11],有清热除湿、利尿通淋的功效,用于治疗石淋、尿路结石、小便涩痛等,现代药理研究表明广金钱草黄酮类成分对尿石症明显的治疗效果,能够降低钙离子浓度、

草酸含量,血清肌酐、尿素氮含量,增加镁离子浓度,从而抑制草酸钙结晶的形成和集聚^[12,13,14,15]。其中夏佛塔昔和异夏佛塔昔是广金钱草的主要活性成分^[16,17],同时夏佛塔昔是广金钱草的主要指标成分。石韦作为中医临床治疗结石常用药物^[18,19],其功效为利尿通淋,凉血止血,现代药理研究表明,石韦有显著的抗结石、抗炎的作用,其有机酸类成分是其发挥药效的物质基础,主要包括新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸等^[20,21]。酚酸类成分也是忍冬藤的主要活性成分^[22,23]。根据文献研究结果,上述成分可能是复方治疗尿石症的药效基础。

考虑到中药复方应以君药为主,而广金钱草有效成分相关文献研究及数据库资料较少的原因,导致其指标性成分,如夏佛塔昔、异夏佛塔昔等在网药筛选中排名靠后。由于网络药理学研究对数据库的依赖性很大,数据库的完善性、可靠性与完整性均对预测结果存在影响^[24,25],说明单独采用网络药理学的结果具有一定的局限性,其数据信息还需进一步补充,故需结合文献谨慎筛选、补充活性成分。

最终结合网药筛选结果和《中国药典》及相关文献检索,筛选出新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、咖啡酸、夏佛塔昔、异夏佛塔昔六种成分作为复方石淋通片的指标性成分。其中咖啡酸是石韦、忍冬藤和海金沙的共有成分,新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸是石韦和忍冬藤的共有成分,夏佛塔昔和异夏佛塔昔是广金钱草的特有成分。

4.2 分析条件的选择 实验选择 PDA 检测器对样品进行分析,波长范围为 190 nm ~ 400 nm。在波长 335 nm 时,君药广金钱草指标成分夏佛塔昔的峰面积最大^[26,27],且色谱基线平稳,峰形较好。实验中考察了乙腈 - 0.1% 甲酸水和乙腈 - 0.1% 磷酸水作为流动相对各成分分离的影响,结果显示,乙腈 - 磷酸水各峰的分离度不如乙腈 - 甲酸水,且个别峰出现拖尾现象。同时,对流动相中甲酸的浓度进行了考察,结果显示 0.1% 甲酸可使各峰达到较好的分离。

4.3 结论 本研究通过网络药理学筛选出宠物用复方石淋通片中表征药效的指标成分,结合《中国药典》中各味药的质控指标,筛选出新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、咖啡酸、夏佛塔昔、异夏佛塔昔作为指标性成分,并建立了同时测定以上成分的分析方法,从一定程度上反应了复方的内在质量,所用方法简单、稳定,具备定性和定量作用,能为宠物用复方石淋通片的质量评价提供参考。

参考文献:

- [1] 中国宠物行业白皮书 2022 年[Z]. Chinese Pet Industry White Paper 2022[Z].
- [2] 唐阳国. 犬猫尿石症调查及 MS 对大鼠肾和膀胱功能的影响[D]. 广西大学, 2023. DOI: 10. 27034/d. cnki. ggxiu. 2022. 000441. Tang Y G. Investigation of urolithiasis in dogs and cats and the effect of metabolic syndrome on renal and bladder function in rats [D]. Guangxi University, 2023. DOI: 10. 27034/d. cnki. ggxiu. 2022. 000441.
- [3] 刘 蕊, 张耀圣. 病证结合辨治复发性尿路结石[J]. 现代中医临床, 2023, 30(06): 50 - 53. Liu H, Zhang Y S. Syndrome differentiation and treatment of recurrent urinary calculi based on combination of disease and syndrome[J]. Modern chinese clinical medicine, 2023, 30(06): 50 - 53.
- [4] 盖 伟. 北京部分地区猫尿石症发病规律调查及防治效果分析[D]. 东北农业大学, 2023. DOI: 10. 27010/d. cnki. gdbnu. 2023. 000589. Gai W. Investigation on the Regularity of Feline Urolithiasis in Some Areas of Beijing and Analysis on the Effect of Prevention and Treatment[D]. College of Veterinary Medicine, 2023. DOI: 10. 27010/d. cnki. gdbnu. 2023. 000589.
- [5] Lulich J, Berent A, Adams L, et al. ACVIM Small Animal Consensus Recommendations on the Treatment and Prevention of Uroliths in Dogs and Cats[J]. 日本兽医泌尿器学会誌, 2019, 11(1): 30 - 40.
- [6] 俞 峰, 唐 娜, 朱怡平, 等. 试论我国宠物临床用药困局与破局之道[J]. 中国兽医杂志, 2021, 57(11): 116 - 118. Yu X, Tang N, Zhu Y P, et al. Discussing the dilemma of clinical medication for pets in China and the way to break the dilemma[J]. Chinese Journal of Veterinary Medicine, 2021, 57(11): 116 - 118.

- [7] 李丹,梁黎明,苏富琴等.我国宠物用中药评审工作的现状与举措[J].中国兽药杂志,2023,57(04):68-71.
Li D, Liang X M, Su F Q, *et al.* The Current Situation and Measure of Chinese Medicine for Pet Use[J]. Chinese Journal of Veterinary Drug,2023,57(04):68-71.
- [8] 刘元,李星宇,宋志钊等.复方石淋通片治疗泌尿系结石的药效学研究[J].中成药,2010,32(06):1052-1054.
Liu Y, Li X Y, Song Z Z, *et al.* Pharmacodynamic study on the treatment of urinary stones by Compound Shi - lin - tong Tablets [J]. Chinese traditional patent medicine, 2010, 32 (06): 1052 - 1054.
- [9] 复方石淋通片质量标准[S]. WS3 - B - 2373 - 97.
Quality Standard of Compound Shi - lin - tong Tablets [S]. WS3 - B - 2373 - 97.
- [10] 谢成志,任建勋.中药及复方功效的网络药理学研究与思考[J/OL].中国实验方剂学杂志;1-10[2023-11-15].
<https://doi.org/10.13422/j.cnki.syfjx.20231516>.
Xie C Z, Ren J X. Network Pharmacology in Research on Efficacy of Traditional Chinese Medicine and Compound Prescriptions [J/OL]. Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae;1 - 10 [2023 - 11 - 15]. <https://doi.org/10.13422/j.cnki.syfjx.20231516>.
- [11] 马杰,童珂,罗晖明等.高效液相色谱法测定复方石淋通胶囊中夏佛塔苷的含量[J].中南药学,2013,11(07):539-541.
Ma J, Tong K, Luo H M, *et al.* Determination of schaftoside in Fufang Shilintong capsules by HPLC [J]. Central South Pharmacy,2013,11(07):539-541.
- [12] 邓聿胤,吕纪华,王丽等.广金钱草总黄酮片对大鼠肾结石的作用[J].世界中西医结合杂志,2019,14(09):1252-1255+1259. DOI:10.13935/j.cnki.sjzx.190916.
Deng Y Y, Lv J H, Wang L, *et al.* Effect of the total flavonoid tablets of desmodium styracifolium on renal calculus in rats[J]. World Journal of Integrated Traditional and Western Medicine, 2019,14 (09): 1252 - 1255 + 1259. DOI:10.13935/j.cnki.sjzx.190916.
- [13] 刘英,王志勇,杨德慧等.广金钱草提取物对尿石症大鼠肾功能的保护作用[J].中国老年学杂志,2018,38(10):2467-2470.
Liu Y, Wang Z Y, Yang D H, *et al.* Protective effect of Strychnos militaris extract on renal function in urolithiasis rats [J]. Chinese Journal of Gerontology, 2018, 38 (10): 2467 - 2470.
- [14] 王鑫.广金钱草中黄酮类化合物定性分析及其抗大鼠肾草酸钙结石作用的研究[D].石家庄:河北医科大学,2018.
Wang X. Oualitative Analysis of Flavonoids from Herba Desmodii Styracifolii and Its Effects on Inhibiting Kidney Calcium Oxalate Stone in Rats [D]. Shijiazhuang: Hebei Medical University,2018.
- [15] 刘祺,陈静,廖正明等.广金钱草总黄酮胶囊治疗输尿管结石(湿热蕴结证)的随机、双盲、安慰剂平行对照临床试验报告[J].临床泌尿外科杂志,2023,38(04):246-250. DOI:10.13201/j.issn.1001-1420.2023.04.002.
Liu Q, Chen J, Liao Z M, *et al.* Randomized, double - blind, placebo parallel controlled clinical study on the treatment of ureteral calculi with total flavonoids of Desmodium styracifolium [J]. Journal of Clinical Urology,2023,38(04):246-250. DOI:10.13201/j.issn.1001-1420.2023.04.002.
- [16] Liu M,Liu C,Chen H, *et al.* Prevention of cholesterol gallstone disease by schaftoside in lithogenic diet - induced C57BL/6 mouse model [J]. European Journal of Pharmacology, 2017, 8151 - 9.
- [17] Xue L,Chao C,Tianjiao Z, *et al.* Comparative pharmacokinetic studies of five C - glycosylflavones in normal and urolithiasis model rats following administration of total flavonoids from Desmodium styracifolium by liquid chromatography - tandem mass spectrometry. [J]. Journal of separation science,2022,45 (15): 2901 - 2913.
- [18] 吕春艳,钱昌盛,魏丹霞.基于数据挖掘的中药治疗泌尿系结石用药规律分析[J].中国民族民间医药,2023,32(04):80-85.
Lv C Y, Qian C S, Wei D X. Analysis of the medication pattern of traditional Chinese medicine for treating urinary stones based on data mining [J]. Chinese medicine for ethnic groups, 2023, 32 (04): 80 - 85.
- [19] 罗志合,周波,王建宏等.泌尿系结石术后组方用药规律分析[J].现代中医药,2023,43(05):118-124. DOI:10.13424/j.cnki.mtcm.2023.05.022.
Luo Z H, Zhou B, Wang J H, *et al.* Analysis of the pattern of group medication after surgery for urinary stones [J]. Modern Chinese medicine,2023,43(05):118-124. DOI:10.13424/j.cnki.mtcm.2023.05.022.
- [20] 常姣,杨武德,龙毅.石韦对泌尿、代谢、免疫系统疾病的影响[J].中国民族民间医药,2022,31(06):80-83.
Chang J, Yang W D, Long Y. Effects of Ryrrosia Lingua on Urinary Metabolic and Immune System Diseases [J]. Chinese medicine for ethnic groups,2022,31(06):80-83.
- [21] 亓雪,李兰,张颖颖.有柄石韦的化学及药理研究进展[J].

- 山东化工,2018,47(16):64-65+68. DOI:10.19319/j.cnki.issn.1008-021x.2018.16.026.
- Qi X, Li L, Zhang Y Y. Research Advance in Chemical and Pharmacological on *Pyrosia petiolosa* (Christ) Ching [J]. Shandong Chemical Industry,2018,47(16):64-65+68. DOI:10.19319/j.cnki.issn.1008-021x.2018.16.026.
- [22] Xia Y C, Peng J, Lin F W, *et al.* Lonicerae Japonicae Caulis: a review of its research progress of active metabolites and pharmacological effects [J]. *Frontiers in Pharmacology*, 2023, 14:1277283-1277283.
- [23] 贾献慧,王 晓,张永清.忍冬藤酚酸类化学成分分离[J].中国实验方剂学杂志,2015,21(05):69-71. DOI:10.13422/j.cnki.syfjx.2015050069.
- Jia X H, Wang X, Zhang Y Q. Phenolic Acids of Lonicerae Japonicae Caulis [J]. *Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae*, 2015, 21(05):69-71. DOI:10.13422/j.cnki.syfjx.2015050069.
- [24] 贺英俊,刘博文,刘前呈等.中药方剂物质基础及质量控制探析[J].成都大学学报(自然科学版),2023,42(01):1-5.
- He Y J, Liu B W, Liu Q C, *et al.* Analysis of Material Basis and Quality Control of Traditional Chinese Medicine Prescription [J]. *Journal of Chengdu University (Natural Science Edition)*, 2023, 42(01):1-5.
- [25] 谢成志,任建勋.中药及复方功效的网络药理学研究与思考 [J].中国实验方剂学杂志,2024,30(01):198-207. DOI:10.13422/j.cnki.syfjx.20231516. Xie C Z, Ren J X. Network Pharmacology in Research on Efficacy of Traditional Chinese Medicine and Compound Prescriptions [J]. *Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae*, 2024, 30(01):198-207. DOI:10.13422/j.cnki.syfjx.20231516.
- [26] 马文娜.复方石淋通胶囊质量标准提升及其防潮工艺研究 [D].新疆医科大学,2016.
- Ma W N. Studies on the Evaluation of Quality Standards of Compound Shi-Lin-Tong Capsules and Moistureproof Process Technology [D]. Xinjiang Medical University, 2016.
- [27] 黄晓莉,钟 磊,闵远洋等.不同产地广金钱草种质资源综合评价[J].分子植物育种,2022,20(23):7960-7970. DOI:10.13271/j.mpb.020.007960.
- Huang X L, Zhong L, Min Y Y, *et al.* Comprehensive Evaluation of Germplasm Resources of *Desmodium styracifolium* from Different Habitats [J]. *Molecular plant breeding*, 2022, 20(23):7960-7970. DOI:10.13271/j.mpb.020.007960.

(编辑:陈 希)