

中图分类号: R286.0; R284.1 文献标志码: A 文章编号: 1006-4931(2023)15-0079-06
doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2023.15.017



基于高效液相色谱指纹图谱及多指标成分分析的化学计量学评价活血消痛酊质量

李菲

(中国人民解放军联勤保障部队第九〇〇医院, 福建 福州 350000)

摘要:目的 基于高效液相色谱(HPLC)指纹图谱及多指标成分分析的化学计量学评价活血消痛酊的质量。方法 采用 HPLC 法测定含量, 色谱柱为 Waters Sunfire ODS C₁₈ 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 流动相为乙腈-0.15% 甲酸溶液(梯度洗脱), 流速为 0.95 mL/min, 检测波长为 230 nm(阿魏酸和芍药苷)、254 nm(欧前胡素和异欧前胡素)、280 nm(丹参酮 II_A 和丹酚酸 B)、403 nm(羟基红花黄色素 A), 柱温为 30 °C, 进样量为 10 μL。采用中药色谱指纹图谱相似度评价系统 2012A 版确定共有峰, 并进行相似度评价。采用聚类分析与正交偏最小二乘判别分析(OPLS-DA)进行主成分分析。结果 10 批样品的 HPLC 指纹图谱中, 有 22 个共有峰, 指认出 8 个色谱峰; 相似度为 0.978~0.998; 8 个指标成分阿魏酸、芍药苷、丹酚酸 B、丹参酮 II_A、羟基红花黄色素 A、山柰素、欧前胡素、异欧前胡素的色谱峰均能达到基线分离, 线性关系良好($r=0.9997, 0.9994, 0.9993, 0.9992, 0.9998, 0.9991, 0.9992, 0.9995, n=6$); 平均加样回收率分别为 100.19%, 99.40%, 98.88%, 99.10%, 100.08%, 99.04%, 99.14%, 99.02%, RSD 分别为 0.55%, 0.54%, 0.74%, 0.94%, 0.76%, 1.15%, 0.79%, 1.16% ($n=9$)。10 批样品中, 上述 8 种成分的含量分别为 0.7001~0.7219 mg/mL、0.4085~0.4209 mg/mL、0.5008~0.5119 mg/mL、0.4001~0.4219 mg/mL、1.1920~1.2990 mg/mL、0.1701~0.1819 mg/mL、0.2051~0.2159 mg/mL、0.2081~0.2189 mg/mL。不同批号样品间存在一定差异, 按生产年份可聚为 3 类; 5 个差异性质标志物分别为阿魏酸(3 号峰)、2 号峰、7 号峰、羟基红花黄色素 A(12 号峰)和 13 号峰。结论 所建立的综合质量评价方法准确、专属、全面, 可用于活血消痛酊的质量控制。

关键词:活血消痛酊; 高效液相色谱法; 指纹图谱; 化学计量学; 质量控制

Quality Evaluation of Huoxue Xiaotong Tincture by Chemometrics Based on HPLC Fingerprint and Multi-Component Analysis

LI Fei

(The 900th Hospital of Joint Logistics Support Force of the PLA, Fuzhou, Fujian, China 350000)

Abstract: Objective To evaluate the quality of Huoxue Xiaotong Tincture based on the high-performance liquid chromatography

第一作者: 李菲, 女, 大学本科, 药师, 研究方向为药品质量控制与药物分析, (电子信箱)13635268071@163.com。

时, 若指标间有侧重点, 可使用层次分析法或熵权法计算相应的权重, 再进行综合分析^[12-13], 结果更接近预期值。本研究中采用 TOPSIS 法结合维生素 B₁、维生素 B₆ 及氢氯噻嗪 3 种成分的含量及含量均匀度对市场上 3 家企业的复方罗布麻片 I 质量进行综合评价, 企业 B 质量较好。

综上所述, 本研究中建立的方法简便、快速、准确、重复性好, 能用于维生素 B₁、维生素 B₆ 及氢氯噻嗪的含量及氢氯噻嗪的含量均匀度测定, 为更好地控制复方罗布麻片 I 的内在质量和生产工艺改进提供依据。

参考文献

[1] 张泽梁. 复方罗布麻片治疗原发性高血压的等效研究[J]. 中国临床研究, 2014, 6(8): 49-50.
[2] WS-10001-(HD-1089)-2002, 国家药品监督管理局国家药品标准(第十一册)[S].
[3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(四部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 137.
[4] 卢晓梅. HPLC 法同时测定复方罗布麻片 I 中氢氯噻嗪和盐酸异丙嗪的含量及含量均匀度[J]. 中国药师, 2014, 17(11): 1891-1893.
[5] 杨晶, 夏新华, 张雁. HPLC-QAMS 法同时测定复方罗

布麻片 I 中 8 个活性成分的含量[J]. 药物分析杂志, 2019, 39(8): 1433-1442.

[6] 徐硕, 金鹏飞. HPLC 法同时测定复方罗布麻片 I 中硫酸双胍屈嗪和 3 种维生素的含量[J]. 中国药房, 2018, 29(5): 607-609.
[7] 吴红英, 李道明. 高效液相色谱法测定复方罗布麻片 I 中维生素 B₆ 的含量[J]. 中国药师, 2010, 13(7): 907-908.
[8] 刘倩倩, 蒋磊. 高效液相色谱双波长法测定复方罗布麻片 I 中 3 组分含量[J]. 中国药业, 2021, 30(11): 56-58.
[9] 陈家仪, 甘丽慈, 沈艺, 等. TOPSIS 模型在猴耳环质量评价中的应用[J]. 今日药学, 2020, 30(2): 124-129.
[10] 夏玉英, 张传平, 张慧晔, 等. 基于 TOPSIS 分析和多组分定量的感冒清热颗粒质量控制研究[J]. 微量元素与健康研究, 2021, 38(5): 67-71.
[11] 严玉晶, 崔婷, 丁青, 等. 熵权 TOPSIS 法结合多指标成分综合评价金钱草药材的质量[J]. 中国药房, 2020, 31(23): 2870-2876.
[12] 冯利梅, 陈艳球, 乐世俊, 等. 基于层次分析-熵权法的中药质量标志物量化辨识方法研究: 以芍药甘草汤为例[J]. 药学学报, 2021, 56(1): 296-305.
[13] 任爱农, 卢爱玲, 田耀洲, 等. 层次分析法用于中药复方提取工艺的多指标权重研究[J]. 中国中药杂志, 2008, 33(4): 372-374.

(收稿日期: 2022-10-04; 修回日期: 2023-04-04)

(HPLC) fingerprint, multi - component content determination combined with chemometrics. **Methods** HPLC method was adopted. The chromatographic column was Waters Sunfire ODS C₁₈ column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), the mobile phase was acetonitrile - 0.15% formic acid solution (gradient elution), the flow rate was 0.95 mL/min, the switching wavelength was set at 230 nm (ferulic acid and paeoniflorin), 254 nm (imperatorin and isoimperatorin), 280 nm (tanshinone II_A and salvianolic acid B), and 403 nm (hydroxysafflor A), the column temperature was 30 °C, and the injection amount was 10 μL. The Similarity Evaluation System for Chromatographic Fingerprint of Traditional Chinese Medicine (Version 2012A) was used to identify common peaks and conduct similarity evaluation. Cluster analysis and orthogonal partial least squares discriminant analysis (OPLS - DA) were used for principal component analysis. **Results** In the HPLC fingerprints of ten batches of samples, there were twenty - two common peaks and eight chromatographic peaks were identified. The similarity was in the range of 0.978 - 0.998. The chromatographic peaks of the eight index components (ferulic acid, paeoniflorin, salvianolic acid B, tanshinone II_A, hydroxysafflower yellow A, kaempferol, imperatorin, and isoimperatorin) could reach the baseline separation with a good linear relationship ($r = 0.9997, 0.9994, 0.9993, 0.9992, 0.9998, 0.9991, 0.9992, 0.9995, n = 6$). The average recoveries of the above eight components were 100.19%, 99.40%, 98.88%, 99.10%, 100.08%, 99.04%, 99.14%, and 99.02% with RSDs of 0.55%, 0.54%, 0.74%, 0.94%, 0.76%, 1.15%, 0.79%, and 1.16% ($n = 9$), respectively. Among ten batches of samples, the contents of the above eight components were in the ranges of 0.7001 - 0.7219 mg/mL, 0.4085 - 0.4209 mg/mL, 0.5008 - 0.5119 mg/mL, 0.4001 - 0.4219 mg/mL, 1.1920 - 1.2990 mg/mL, 0.1701 - 0.1819 mg/mL, 0.2051 - 0.2159 mg/mL, and 0.2081 - 0.2189 mg/mL, respectively. There were some differences in different batches of samples, which could be grouped into three categories according to the production year. The five differential quality markers were ferulic acid (peak 3), peak 2, peak 7, hydroxysafflower yellow A (peak 12), and peak 13. **Conclusion** The established comprehensive quality evaluation method is accurate, specific, and comprehensive, which can be used for the quality control of Huoxue Xiaotong Tincture.

Key words: Huoxue Xiaotong Tincture; HPLC; fingerprint; chemometrics; quality control

活血消痛酊是由当归、川芎、丹参、白芍、白芷、红花、丁香、肉桂等15味中药材加工制成的医院制剂,具有活血止痛、舒筋活络功效,临床外用于治疗跌打损伤、气滞血瘀所致肢体疼痛。现行质量标准收载于《福建省医院制剂规程》^[1],但仅对当归、川芎、白芍3味中药材进行薄层色谱鉴别及酊剂项下的常规检查,并无含量测定,不能全面、准确地评价其质量。目前,未见文献报道活血消痛酊质量控制研究。本研究中采用高效液相色谱(HPLC)波长切换法测定阿魏酸、芍药苷、丹酚酸B、丹参酮II_A、羟基红花黄色素A、山柰素、欧前胡素、异欧前胡素8种成分的含量,并结合化学计量学评价活血消痛酊的整体质量,为进一步完善其质量标准提供理论依据。现报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Agilent1260型高效液相色谱仪(安捷伦科技有限公司);CPA225D型电子天平(德国Sartorius公司,精度为0.01 mg);KQ-250DB型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司,功率为500 W,频率为40 kHz)。

1.2 试剂

活血消痛酊(医院制剂,规格为每瓶40 mL,编号为S1 - S10,批号分别为20190217, 20190521, 20190611, 20200906, 20201019, 20201125, 20210608, 20210917, 20211027, 2021115);阿魏酸对照品(批号110773 -

202015,含量以99.1%计),芍药苷对照品(批号110736 - 202143,含量以95.7%计),丹酚酸B对照品(批号111562 - 202017,含量以96.8%计),丹参酮II_A对照品(批号110766 - 202021,含量以99.0%计),羟基红花黄色素A对照品(批号111637 - 202110,含量以95.1%计),山柰素对照品(批号110861 - 202113,含量以93.7%计),欧前胡素对照品(批号110826 - 202018,含量以99.2%计),异欧前胡素对照品(批号110827 - 202112,含量以99.3%计),均购自中国食品药品检定研究院;乙腈、甲醇、甲酸均为色谱纯,水为屈臣氏蒸馏水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件^[2-4]

色谱柱:Waters Sunfire ODS C₁₈柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm);流动相:乙腈(A) - 0.15%甲酸溶液(B),梯度洗脱(0 ~ 16 min时18%A, 16 ~ 28 min时18%A → 36%A, 28 ~ 40 min时36%A → 83%A, 40 ~ 48 min时83%A → 65%A, 48 ~ 58 min时65%A → 55%A, 58 ~ 64 min时55%A → 18%A);检测波长:230 nm(0 ~ 30 min时检测阿魏酸和芍药苷),403 nm(30 ~ 36 min时检测羟基红花黄色素A),280 nm(36 ~ 48 min时检测丹参酮II_A和丹酚酸B)、254 nm(48 ~ 64 min时检测欧前胡素和异欧前胡素);流速:0.95 mL/min;柱温:30 °C;进样量:10 μL。

2.2 溶液制备

混合对照品溶液:分别取阿魏酸、芍药苷、丹酚酸B、

丹参酮Ⅱ_A、羟基红花黄色素A、山柰素、欧前胡素、异欧前胡素对照品各适量,精密称定,用甲醇溶解并定容,制成质量浓度分别为2.078 3,1.201 7,1.625 4,1.216 8,3.716 6,0.558 9,0.605 7,0.636 2 mg/mL的混合对照品溶液,避光保存。

供试品溶液:取活血消痛酊3瓶,混匀,精密量取10 mL,置50 mL棕色容量瓶中,加65%甲醇30 mL,室温超声处理(功率为400 W,频率为40 kHz)45 min,取出,再用65%甲醇定容至50 mL,摇匀,滤过,取续滤液,0.45 μm微孔滤膜滤过,即得。

阴性对照品溶液:按活血消痛酊的制备工艺分别制备缺丹参、红花、白芍、白芷、当归和川芎的阴性样品,按供试品溶液制备方法制备溶液,即得。

2.3 HPLC 指纹图谱建立

2.3.1 方法学考察

精密度试验:取样品(编号为S8),依法制备供试品溶液,按2.1项下色谱条件连续进样测定6次,以12号峰(羟基红花黄色素A)为参照峰,测得其余21个共有峰相对保留时间的RSD在0.77%~1.03%(n=6)之间,相对峰面积的RSD在1.14%~1.65%(n=6)之间,表明仪器精密度良好。

稳定性试验:取精密度试验项下供试品溶液,分别于0,4,8,12,16,20,24 h时按2.1项下色谱条件进样测定,以12号峰(羟基红花黄色素A)为参照峰,测得其余21个共有峰相对保留时间的RSD在0.86%~1.15%(n=7)之间,相对峰面积的RSD在1.22%~1.97%(n=7)之间,表明供试品溶液在24 h内稳定性良好。

重复性试验:取样品(编号为S8),平行制备6份供试品溶液,按2.1项下色谱条件进样测定,以12号峰(羟基红花黄色素A)为参照峰,测得其余21个共有峰相对保留时间的RSD在1.06%~1.59%(n=6)之间,相对峰面积的RSD在1.52%~2.13%(n=6)之间,表明方法重复性良好。

2.3.2 指纹图谱建立与相似度评价

取样品(编号为S1-S10),按2.2项下方法制备供试品溶液,按2.1项下色谱条件进样测定。利用中药色谱指纹图谱相似度评价系统2012A版分析采集的指纹图谱,设样品(编号为S8)的图谱为参考图谱,采用多点校正全谱匹配,确立22个共有峰。结果10批供试品溶液相对于共有模式的相似度分别为0.993,0.994,0.996,0.978,0.989,0.991,0.996,0.998,0.995,0.990,均大于0.97。指纹图谱见图1。

2.3.3 指纹图谱中共有峰指认及相对峰面积计算

采用中药色谱指纹图谱相似度评价系统2012A版处理,10批样品的指纹图谱中共检测到22个共有峰。与

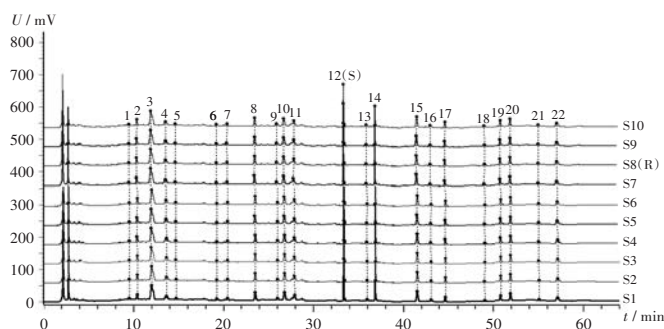


图1 10批活血消痛酊HPLC指纹图谱

Fig. 1 HPLC fingerprints of ten batches of Huoxue Xiaotong Tincture

混合对照品比对,指认出8个成分,分别为阿魏酸(3号峰)、芍药苷(9号峰)、羟基红花黄色素A(12号峰)、丹酚酸B(14号峰)、丹参酮Ⅱ_A(15号峰)、山柰素(17号峰)、欧前胡素(19号峰)、异欧前胡素(20号峰),保留时间(t_R)分别为10.207,25.859,33.818,37.502,41.639,45.221,50.054,52.119 min。其中,12号峰峰位居中,且峰面积占共有指纹峰总峰面积的35%以上,故以12号峰(羟基红花黄色素A)作为参照峰。

2.4 多指标成分定量分析

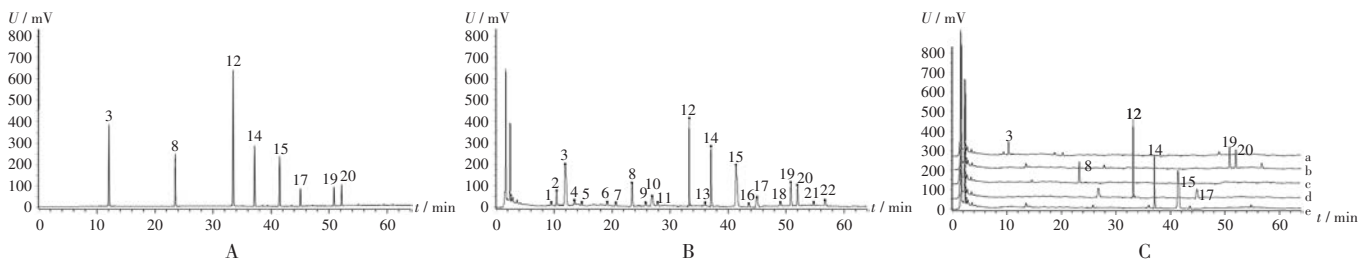
2.4.1 方法学考察

专属性试验:分别精密吸取2.2项下混合对照品溶液、供试品溶液及阴性对照品溶液各适量,按2.1项下色谱条件进样测定。结果各待测成分与相邻峰的分度均大于1.5,对称因子在0.96~1.09之间,且阴性对照无干扰。色谱图见图2。

线性关系考察与定量限确定:分别精密吸取2.2项下混合对照品溶液0.5,1.0,2.0,2.5,3.0,4.0 mL,置同一50 mL棕色容量瓶中,加甲醇稀释并定容,摇匀,得系列混合对照品溶液,按2.1项下色谱条件进样测定。以质量浓度为横坐标($X, \mu\text{g/mL}$)、峰面积为纵坐标(Y)进行线性回归,结果见表1。以信噪比(S/N)为10:1时的进样量为定量限,结果见表1。

精密度试验:精密量取2.2项下混合对照品溶液适量,按2.1项下色谱条件下连续进样测定6次,记录色谱图。结果阿魏酸、芍药苷、丹酚酸B、丹参酮Ⅱ_A、羟基红花黄色素A、山柰素、欧前胡素、异欧前胡素峰面积的RSD分别为0.78%,0.65%,0.47%,1.01%,0.83%,0.71%,0.81%,0.94%(n=6),表明仪器精密度良好。

稳定性试验:取样品(编号为S8),依法制备供试品溶液,分别于0,5,10,15,20,25,30,36 h时按2.1项下色谱条件进样测定,记录色谱图。结果阿魏酸、芍药苷、丹酚酸B、丹参酮Ⅱ_A、羟基红花黄色素A、山柰素、欧前胡素、异欧前胡素峰面积的RSD分别为0.99%,0.91%,0.87%,0.81%,1.02%,1.08%,0.93%,1.13%(n=8),表明供试品溶液36 h内稳定性良好。



3. 阿魏酸 8. 芍药苷 12. 羟基红花黄色素A 14. 丹酚酸B 15. 丹参酮II_A 17. 山柰素 19. 欧前胡素 20. 异欧前胡素
A. 混合对照品溶液 B. 供试品溶液 C. 阴性对照品溶液(a-e:分别缺当归和川芎、白芷、白芍、红花、丹参)

图2 高效液相色谱图

3. Ferulic acid 8. Paeoniflorin 12. Hydroxysafflower yellow A 14. Salvianolic acid B 15. Tanshinone II_A 17. Kaempferol 19. Imperatorin 20. Isoimperatorin
A. Mixed reference solution B. Test solution C. Negative reference solution (a-e: lacking Angelicae Sinensis Radix and Chuanxiong Rhizoma, Angelicae Dahuricae Radix, Paeoniae Radix Alba, Croci Stigma, and Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma respectively)

Fig. 2 HPLC chromatograms

表1 线性关系考察与定量限确定结果

Tab. 1 Results of the linear relation test and LOQ

成分	回归方程	r	线性范围(μg/mL)	定量限(ng)
阿魏酸	$Y = 23.52X + 5.644$	0.9997	20.78~166.26	6.11
芍药苷	$Y = 18.64X + 14.78$	0.9994	12.02~96.14	4.54
丹酚酸B	$Y = 78.16X - 15.38$	0.9993	16.25~130.03	4.93
丹参酮II _A	$Y = 82.33X - 11.02$	0.9992	12.168~97.34	4.62
羟基红花黄色素A	$Y = 25.71X + 10.51$	0.9998	37.17~297.33	7.87
山柰素	$Y = 36.19X + 8.947$	0.9991	5.589~44.71	0.91
欧前胡素	$Y = 91.08X - 18.03$	0.9992	6.057~48.46	1.01
异欧前胡素	$Y = 78.16X - 15.38$	0.9995	6.362~50.89	1.09

重复性试验:取样品(编号为S8),按2.2项下方法平行制备供试品溶液6份,按2.1项下色谱条件进样测定,记录色谱图。结果阿魏酸、芍药苷、丹酚酸B、丹参酮II_A、羟基红花黄色素A、山柰素、欧前胡素、异欧前胡素的平均含量分别为0.721 2, 0.419 7, 0.511 8, 0.421 1, 1.298 0, 0.181 9, 0.215 0, 0.218 0 mg/mL, RSD分别为0.99%, 0.86%, 1.02%, 1.01%, 0.85%, 0.77%, 0.92%, 0.75%(n=6),表明方法重复性良好。

加样回收试验:取同一批样品(编号为S8),5 mL,共9份,分为3组,各3份,按供试品中阿魏酸、芍药苷、丹酚酸B、丹参酮II_A、羟基红花黄色素A、山柰素、欧前胡素、异欧前胡素含量的80%,100%,120%精密加入相应对照品,按2.2项下方法制备供试品溶液,按2.1项下色谱条件进样测定,计算加样回收率。结果见表2。

2.4.2 样品含量测定

取样品(编号为S1-S10),按2.2项下方法制备供试品溶液,按2.1项下色谱条件进样测定,计算各成分含量。结果见表3。

2.5 化学模式识别分析

2.5.1 聚类分析^[5]

采用SPSS 22.0统计学软件分析,以10批样品8种

成分含量测定结果为变量,采用系统聚类分析法进行模式识别分析。类间距离为5时10批样品聚成了3类,分别为编号S3,S1,S2聚为I类,编号S6,S5,S4聚为II类,编号S9,S8,S7,S10聚为III类。详见图3。

2.5.2 正交偏最小二乘判别分析(OPLS-DA)

将10批样品的22个共有峰数据导入SIMCA-P 14.1软件进一步作OPLS-DA^[6-7],获得OPLS-DA得分图(图4)及重要性投影(VIP)图(图5)。结果,10批样品可分为3个区域,分类情况与2.5.1项下聚类分析结果一致。通过OPLS-DA的VIP筛选出对活血消痛酊分类结果具有统计学意义的成分,即差异性质量标志物。由图5可知,3号峰(阿魏酸)、2号峰、7号峰、12号峰(羟基红花黄色素A)和13号峰的VIP均大于1,表明上述5个峰可能是区分不同批次样品的差异性质量标志物。

3 讨论

3.1 指标成分选择

活血消痛酊组方中,丹参、当归、川芎、红花、白芍、白芷为主药,君药丹参用量占总处方量的28.8%,具有消散瘀血、疏通血脉作用,常配伍川芎、当归以提高疗效,其中丹参以活血为主,川芎偏于补气,当归善于补血^[8-10]。红花含有查耳酮苷类(羟基红花黄色素A)、黄酮类(山柰素)、有机酸等多种化合物,具有增加血流量、扩张血管、改善微循环等多种药理作用^[11-12]。白芍养血止痛,助君药活血祛瘀^[13],主要药效成分为芍药苷。佐药白芷辛散温通,利于血气运行,主要含有欧前胡素、异欧前胡素等香豆素类成分^[14-15]。2020年版《中国药典(一部)》中,红花、当归、川芎、丹参、白芍、白芷的含量测定成分分别为羟基红花黄色素A、山柰素、阿魏酸、丹参酮II_A、丹酚酸B、芍药苷、欧前胡素、异欧前胡素^[16]。故选择上述8种成分作为活血消痛酊的指标成分。

3.2 样品提取方法选择

分别考察了提取方式(超声提取、加热回流提取)、

表2 活血消痛酊中8种成分的加样回收试验结果(n=9)

Tab. 2 Results of the recovery test of eight components in Huoxue Xiaotong Tincture (n=9)

成分	样品含量 (mg)	加入量 (mg)	测得总 量(mg)	回收率 (%)	\bar{X} (%)	RSD (%)	成分	样品含量 (mg)	加入量 (mg)	测得总 量(mg)	回收率 (%)	\bar{X} (%)	RSD (%)
芍药苷	2.098	0.3379	2.432	98.85	99.40	0.54	欧前胡素	1.076	0.1711	1.246	99.36	99.14	0.79
	2.098	0.3379	2.433	99.14				1.076	0.1711	1.244	98.19		
	2.098	0.3379	2.436	100.03				1.076	0.1711	1.247	99.94		
	2.098	0.4205	2.514	98.93				1.076	0.2159	1.288	98.19		
	2.098	0.4205	2.517	99.64				1.076	0.2159	1.289	98.66		
	2.098	0.4205	2.515	99.17				1.076	0.2159	1.292	100.05		
	2.098	0.5039	2.601	99.82				1.076	0.2592	1.335	99.92		
	2.098	0.5039	2.603	100.23				1.076	0.2592	1.331	98.38		
	2.098	0.5039	2.596	98.83				1.076	0.2592	1.334	99.54		
阿魏酸	3.552	0.5603	4.112	99.95	100.19	0.55	羟基红花黄色素A	6.478	1.034	7.527	101.45	100.08	0.76
	3.552	0.5603	4.118	101.02				6.478	1.034	7.513	100.09		
	3.552	0.5603	4.113	100.13				6.478	1.034	7.503	99.13		
	3.552	0.7119	4.267	100.44				6.478	1.296	7.769	99.61		
	3.552	0.7119	4.261	99.59				6.478	1.296	7.771	99.77		
	3.552	0.7119	4.270	100.86				6.478	1.296	7.763	99.15		
	3.552	0.8548	4.405	99.79				6.478	1.555	8.041	100.51		
	3.552	0.8548	4.411	100.49				6.478	1.555	8.038	100.32		
	3.552	0.8548	4.402	99.44				6.478	1.555	8.044	100.71		
丹酚酸B	2.556	0.4076	2.956	98.14	98.88	0.74	异欧前胡素	1.092	0.1727	1.261	97.86	99.02	1.16
	2.556	0.4076	2.962	99.62				1.092	0.1727	1.262	98.44		
	2.556	0.4076	2.959	98.87				1.092	0.1727	1.264	99.59		
	2.556	0.5137	3.059	97.92				1.092	0.2169	1.306	98.66		
	2.556	0.5137	3.066	99.28				1.092	0.2169	1.308	99.59		
	2.556	0.5137	3.060	98.11				1.092	0.2169	1.304	97.74		
	2.556	0.6148	3.170	99.87				1.092	0.2633	1.359	101.41		
	2.556	0.6148	3.168	99.54				1.092	0.2633	1.354	99.51		
	2.556	0.6148	3.162	98.57				1.092	0.2633	1.351	98.37		
丹参酮II _A	2.104	0.3342	2.431	97.85	99.10	0.94	山柰素	0.9075	0.1441	1.048	97.50	99.04	1.15
	2.104	0.3342	2.435	99.04				0.9075	0.1441	1.049	98.19		
	2.104	0.3342	2.437	99.64				0.9075	0.1441	1.052	100.28		
	2.104	0.4215	2.517	97.98				0.9075	0.1812	1.085	97.96		
	2.104	0.4215	2.528	100.59				0.9075	0.1812	1.086	98.51		
	2.104	0.4215	2.525	99.88				0.9075	0.1812	1.087	99.06		
	2.104	0.5069	2.602	98.25				0.9075	0.2193	1.125	99.18		
	2.104	0.5069	2.606	99.03				0.9075	0.2193	1.126	99.64		
	2.104	0.5069	2.609	99.63				0.9075	0.2193	1.129	101.01		

提取溶剂(65% 甲醇、45% 甲醇)及超声提取时间(35, 45, 55 min)和功率(300, 400, 500 W)对样品各待测成分含量的影响。结果发现,采用65% 甲醇超声提取(功率为400 W)45 min,各待测成分含量较高且基线分离。

3.3 指纹图谱

结果分析显示,10批样品的相似度均大于0.97,表

明该制剂化学成分一致性较高。HPLC法含量测定结果表明,8种成分的含量存在一定差异,生产年份为2019年的样品中8种成分的含量普遍低,可能与部分样品已过有效期有关;生产年份为2020年的样品中阿魏酸含量偏低。阿魏酸属弱有机酸,存在顺式和反式2种异构体,化学稳定性较差。建议加强此批次当归、川芎

表3 10批活血消痛酊8种成分含量测定结果(mg/mL, n=3)

Tab. 3 Results of the content determination of eight components in ten batches of Huoxue Xiaotong Tincture (mg/mL, n=3)

编号	芍药苷	阿魏酸	丹酚酸B	丹参酮II _A	欧前胡素	羟基红花黄色素A	异欧前胡素	山柰素
S1	0.4085	0.7001	0.5008	0.4001	0.2056	1.1960	0.2088	0.1711
S2	0.4091	0.7004	0.5009	0.4003	0.2051	1.1970	0.2085	0.1702
S3	0.4093	0.7007	0.5014	0.4005	0.2054	1.1920	0.2081	0.1701
S4	0.4189	0.7106	0.5103	0.4206	0.2148	1.2950	0.2178	0.1809
S5	0.4191	0.7109	0.5105	0.4209	0.2141	1.2910	0.2177	0.1807
S6	0.4185	0.7104	0.5102	0.4208	0.2147	1.2930	0.2179	0.1806
S7	0.4199	0.7219	0.5117	0.4219	0.2152	1.2970	0.2189	0.1815
S8	0.4197	0.7212	0.5118	0.4211	0.2150	1.2980	0.2180	0.1819
S9	0.4207	0.7218	0.5119	0.4215	0.2159	1.2960	0.2183	0.1818
S10	0.4209	0.7213	0.5112	0.4217	0.2153	1.2990	0.2184	0.1812

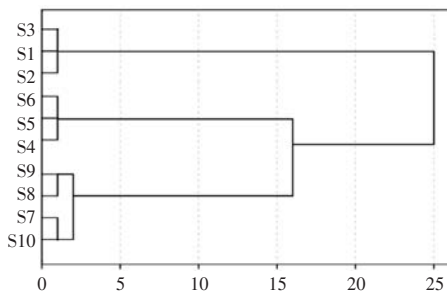


图3 10批活血消痛酊聚类分析树状图

Fig. 3 Dendrogram of cluster analysis of ten batches of Huoxue Xiaotong Tincture

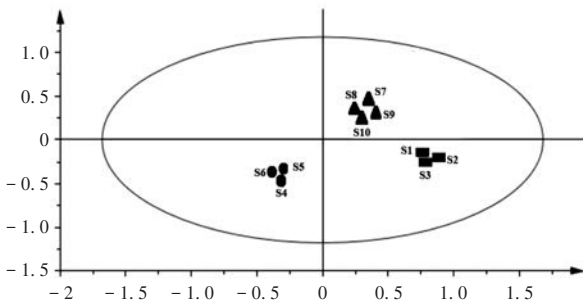


图4 10批活血消痛酊的OPLS-DA得分图

Fig. 4 OPLS-DA scores of ten batches of Huoxue Xiaotong Tincture

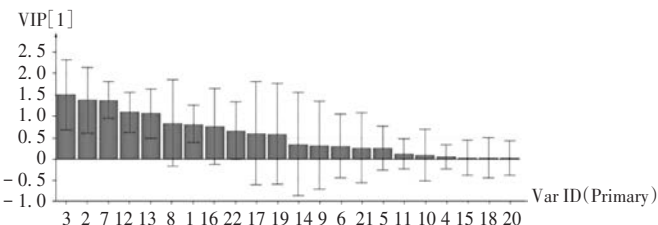


图5 活血消痛酊的共有峰VIP图

Fig. 5 VIP values of the common peaks Huoxue Xiaotong Tincture

原药材的保存和投料管理。通过聚类和OPLS-DA化学计量方法分析共有峰峰面积发现,10批样品按生产年份分别聚为1类,可能与医院制剂生产时间较长相关;另筛选5个差异性成分,指出阿魏酸和羟基红花黄色

素A 2个成分。建议医院应重点关注当归、川芎及红花3种原药材的相关性指标,严格控制提取工艺。

3.4 方法评价

本研究中建立的活血消痛酊指纹图谱及含量测定方法简便、准确、稳定,并结合化学计量学弥补了现有质量标准的不足,可为活血消痛酊的质量控制提供可靠依据。

参考文献

- [1] 福建省卫生厅. 福建省医院制剂规程[Z]. 福州:福建省卫生厅,1984:106.
- [2] 谭雄斯,庞武耀. HPLC波长切换法同时测定金嗓散结胶囊中的(R,S)-告依春,羟基红花黄色素A,丹酚酸B,木蝴蝶苷B和木蝴蝶苷A[J]. 中国现代中药,2017,19(12):1758-1761.
- [3] 李道明,程伟. HPLC法同时测定颈脑康丸中4种活性成分的含量[J]. 西北药学杂志,2018,33(6):37-39.
- [4] 庄佳芳,李扬,史涛. HPLC波长切换法同时测定强肝颗粒中8种活性成分的含量[J]. 中国药师,2020,23(6):218-221.
- [5] 许翔. 连翘败毒丸高效液相色谱指纹图谱研究及聚类分析[J]. 中国药业,2019,28(18):10-13.
- [6] 张永,丁越,张彤,等. 高效液相色谱指纹图谱结合化学计量方法评价不同生长年限肉桂药材[J]. 中成药,2021,43(2):543-546.
- [7] 中亚君,安琪,丁笑颖,等. 基于HPLC指纹图谱与多成分含量测定结合化学计量的玉屏风散质量评价[J]. 天然产物研究与开发,2021,33(7):1121-1128.
- [8] 秦梦圆,曾宇馨,苏鑫宇,等. 不同地区覆膜方式对当归产量及化学成分的影响[J]. 中南药学,2020,18(11):1822-1827.
- [9] 万新焕,王瑜亮,周长征,等. 丹参化学成分及其药理作用研究进展[J]. 中草药,2020,51(3):788-798.
- [10] 唐亚芳,杨岸新. 中药川芎的有效成分及其药理作用研究[J]. 中国现代药物应用,2018,12(10):219-220.
- [11] 韩盟帝,马飞翔,汪亚楠,等. 基于网络药理学探讨红花活性成分及药理作用机制[J]. 内蒙古医科大学学报,2019,41(2):126-130.
- [12] 吴沂芸,陈翠平,任超翔,等. 红花黄酮类成分累积量与功能基因表达水平的关联分析[J]. 中国中药杂志,2017,42(1):83-87.
- [13] 张娟,刘美,肖炯昌,等. 白芍不同提取方法及指纹图谱的研究[J]. 中国现代中药,2018,20(12):1549-1553.
- [14] 吉庆,马宇衡,张焯. 白芷的化学成分及药理作用研究进展[J]. 食品与药品,2020,22(6):5-10.
- [15] 李晓强,谭余庆,李慧杰,等. 欧前胡素药理作用及机制研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志,2020,26(18):196-201.
- [16] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京:中国医药科技出版社,2020:525.

(收稿日期:2022-10-12;修回日期:2023-03-07)