

HPLC-波长切换法同时测定消栓肠溶胶囊中7个成分的含量

陈 玮*(皖北煤电集团总医院药剂科,安徽 宿州 234000)

中图分类号 R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2019)17-2343-05

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2019.17.08

摘要 目的:建立同时测定消栓肠溶胶囊中7个活性成分绿原酸、苦杏仁苷、芍药苷、阿魏酸、洋川芎内酯 I、毛蕊异黄酮苷和藜本内酯的含量。方法:采用高效液相色谱法,色谱柱为 Agilent Eclipse Plus C₁₈,流动相为乙腈-0.1%磷酸溶液,梯度洗脱,检测波长为 326 nm(绿原酸)、210 nm(苦杏仁苷)、230 nm(芍药苷)、321 nm(阿魏酸)、334 nm(洋川芎内酯 I)、274 nm(毛蕊异黄酮苷)、260 nm(藜本内酯),流速为 1.0 mL/min,柱温为 35 ℃,进样量为 10 μL。结果:绿原酸、苦杏仁苷、芍药苷、阿魏酸、洋川芎内酯 I、毛蕊异黄酮苷和藜本内酯检测质量浓度的线性范围分别为 1.16~34.81、1.85~55.48、13.22~396.50、13.50~405.09、1.75~52.51、2.74~82.18、7.67~230.07 μg/mL(*r* 为 0.999 1~0.999 7);定量限分别为 0.056、0.103、0.085、0.013、0.136、0.184、0.276 μg;精密度、稳定性(24 h)、重复性试验的 RSD<2.0%(*n*=6);平均回收率分别为 99.3%、98.6%、98.8%、99.7%、97.1%、97.6%和 99.2%(RSD<2.0%,*n*=6)。结论:建立的含量测定方法操作简便、结果准确,可用于消栓肠溶胶囊中7个成分的同时测定。

关键词 消栓肠溶胶囊;绿原酸;苦杏仁苷;芍药苷;阿魏酸;洋川芎内酯 I;毛蕊异黄酮苷;藜本内酯;含量测定;高效液相色谱法

Simultaneous Determination of 7 Constituents in Xiaoshuan Enteric-coated Capsules by HPLC-wavelength Switching Method

CHEN Wei (Dept. of Pharmacy, Wanbei Coal-electricity Corporation General Hospital, Anhui Suzhou 234000, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for simultaneous determination of 7 active constituents in Xiaoshuan enteric-coated capsules, such as chlorogenic acid, amygdalin, paeoniflorin, ferulic acid, senkyunolide I, calycosin glycoside and ligustilide. METHODS: HPLC method was adopted. The determination was performed on Agilent Eclipse Plus C₁₈ column with mobile phase consisted of acetonitrile-0.1% phosphoric acid (gradient elution). The detection wavelengths were set at 326 nm for chlorogenic acid, 210 nm for amygdalin, 230 nm for paeoniflorin, 321 nm for ferulic acid, 334 nm for senkyunolide I, 274 nm for calycosin glycoside and 260 nm for ligustilide. The flow rate was set at 1.0 mL/min, and the column temperature was 35 ℃. The sample size was 10 μL. RESULTS: The linear range was 1.16-34.81 μg/mL for chlorogenic acid, 1.85-55.48 μg/mL for amygdalin, 13.22-396.50 μg/mL for paeoniflorin, 13.50-405.09 μg/mL for ferulic acid, 1.75-52.51 μg/mL for senkyunolide I, 2.74-82.18 μg/mL for calycosin glycoside, 7.67-230.07 μg/mL for ligustilide (*r*=0.999 1-0.999 7), respectively. The limit of quantity were 0.056, 0.103, 0.085, 0.013, 0.136, 0.184 and 0.276 μg. RSDs of precision, stability (24 h) and reproducibility tests were lower than 2.0% (*n*=6). Average recoveries were 99.3%, 98.6%, 98.8%, 99.7%, 97.1%, 97.6% and 99.2% (RSD<2.0%, *n*=6). CONCLUSIONS: Established method is accurate and simple. It can be used for simultaneous determination of 7 constituents in Xiaoshuan enteric-coated capsules.

KEYWORDS Xiaoshuan enteric-coated capsules; Chlorogenic acid; Amygdalin; Paeoniflorin; Ferulic acid; Senkyunolide I; Calycosin glycoside; Ligustilide; Content determination; HPLC

消栓肠溶胶囊具有补气、活血和通络之功效,是由黄芪、当归、赤芍、川芎、地龙、桃仁和红花等7味药材制成的制剂^[1]。研究表明,该药对脑梗死和缺血性中风气虚血瘀症效果明显^[2-3]。川芎-当归药对是治疗缺血性中风的高频用药,在治疗缺血性中风中协同发挥活血通络之功用,宋代《太平惠民和剂局方》中记载的芎归汤即由二者组成^[4-5],其内在活性成分主要为绿原酸、洋川芎内酯 I、阿魏酸和藜本内酯等^[6]。据文献报道,藜本内酯和

洋川芎内酯 I 可加速部分药物透过血脑屏障,具有抗血小板聚集和抗凝血的作用^[7],绿原酸具有较广泛的抗菌、抗病毒、抑制血小板聚集等作用^[8]。方中黄芪能利水消肿、生津养血,主要含有黄酮类和三萜皂苷类化合物,其中毛蕊异黄酮苷是黄酮类典型代表化合物^[9-10];方中赤芍可以散瘀止痛和清热凉血,内含大量单萜类化合物,其中以芍药苷占比较大^[11-12];方中桃仁主要活性成分为苦杏仁苷,具有抗动脉粥样硬化及免疫调节等作用^[13]。在消栓肠溶胶囊现行标准^[1]中,仅以黄芪甲苷作为定量考

*主管药师。研究方向:医院药学。E-mail:51492050@qq.com

察指标。而该方中的上述活性成分,特别是绿原酸、苦杏仁苷、芍药苷、阿魏酸、洋川芎内酯 I、毛蕊异黄酮苷和藜本内酯,均是发挥活血消肿、通络散瘀等药理活性的主要成分,其含量大小对消栓肠溶胶囊的质量具有一定影响,故笔者建议将这些成分纳入质量标准中加以控制。

在含量测定中,本研究通过设计 $L_9(3^4)$ 正交试验,优化消栓肠溶胶囊中活性成分提取方法,以最大程度地提取出这7个活性成分;再采用高效液相色谱(HPLC)-波长切换法,建立同时测定样品中绿原酸、苦杏仁苷、芍药苷、阿魏酸、洋川芎内酯 I、毛蕊异黄酮苷和藜本内酯含量的方法,以进一步完善消栓肠溶胶囊质量检测标准,为客观科学评价消栓肠溶胶囊质量提供参考依据。

1 材料

1.1 仪器

e2695 HPLC 仪,包括 2695Alliance 四元梯度泵、2998 二极管阵列检测器(美国 Waters 公司);ML204 电子天平(瑞士梅特勒-托利多公司);S180H 超声清洗器(德国 Elma 公司)。

1.2 药品与试剂

消栓肠溶胶囊(三门峡赛诺维制药有限公司,批号:20180105、20180106、20180301、20180302、20180501、20180502,规格:0.2 g);绿原酸(批号:111521-201708,纯度:95.1%)、苦杏仁苷(批号:110820-201506,纯度:93.4%)、芍药苷(批号:110736-201741,纯度:95.7%)、毛蕊异黄酮苷(批号:111920-201505,纯度:97.1%)、阿魏酸(批号:110773-201614,纯度:99.0%)、藜本内酯(批号:111737-201507,纯度: $\geq 99.0\%$),上述各对照品均购自中国食品药品检定研究院;洋川芎内酯 I 对照品(成都瑞芬思生物科技有限公司,批号:Y-085-170609,纯度: $\geq 98.0\%$);甲醇、乙腈均为色谱纯,其他试剂为分析纯,水为娃哈哈纯净水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:Agilent Eclipse Plus C_{18} (250 mm \times 4.6 mm,5 μ m);流动相:乙腈(A)-0.1%磷酸溶液(B),梯度洗脱(0~10 min,10% A;10~15 min,10% \rightarrow 25% A;15~20 min,25% \rightarrow 30% A;20~35 min,30% \rightarrow 60% A;35~50 min,60% \rightarrow 80% A;50~60 min,80% A;60~75 min,80% \rightarrow 90% A);流速:1.0 mL/min;检测波长:326 nm(0~12 min,检测绿原酸)、210 nm(12~15.5 min,检测苦杏仁苷)、230 nm(15.5~20 min,检测芍药苷)、321 nm(20~30 min,检测阿魏酸)、334(30~45 min,检测洋川芎内酯 I)、274 nm(45~50 min,检测毛蕊异黄酮苷)、260 nm(50~75 min,检测藜本内酯);柱温:35 $^{\circ}$ C;进样

量:10 μ L。

2.2 供试品溶液制备

2.2.1 正交试验优选提取方法 取消栓肠溶胶囊(批号:20180105),以不同提取溶剂(A)、料液比(B)和超声(功率:250 W,频率:40 kHz)时间(C)为考察因素,每因素设计3水平,按 $L_9(3^4)$ 正交表进行试验。以绿原酸、苦杏仁苷、芍药苷、阿魏酸、洋川芎内酯 I、毛蕊异黄酮苷和藜本内酯的含量的综合评分为指标,各成分权重系数^[14]均为1/7,综合评分=1/7 \times 绿原酸含量+1/7 \times 苦杏仁苷含量+1/7 \times 芍药苷含量+1/7 \times 阿魏酸含量+1/7 \times 洋川芎内酯 I 含量+1/7 \times 毛蕊异黄酮苷含量+1/7 \times 藜本内酯含量。正交试验因素、水平、设计与结果见表1,方差分析结果见表2。

表1 正交试验因素、水平、设计与结果

Tab 1 Factors, levels, design and results of orthogonal tests

序号	A(提取溶剂)	B(料液比)	C(超声时间),min	含量,mg/g							综合评分
				绿原酸	苦杏仁苷	芍药苷	阿魏酸	洋川芎内酯 I	毛蕊异黄酮苷	藜本内酯	
1	30%甲醇(A ₁)	1:10(B ₁)	30(C ₁)	0.268	0.234	2.637	2.690	0.398	0.552	1.434	1.173
2	30%甲醇(A ₁)	1:30(B ₂)	90(C ₂)	0.271	0.284	2.663	2.804	0.438	0.732	1.533	1.246
3	30%甲醇(A ₁)	1:50(B ₃)	60(C ₂)	0.253	0.324	2.660	2.863	0.460	0.884	1.590	1.291
4	70%甲醇(A ₂)	1:10(B ₁)	60(C ₂)	0.216	0.395	2.597	2.621	0.333	0.525	1.441	1.161
5	70%甲醇(A ₂)	1:30(B ₂)	30(C ₁)	0.237	0.397	2.620	2.679	0.363	0.597	1.493	1.198
6	70%甲醇(A ₂)	1:50(B ₃)	90(C ₃)	0.225	0.396	2.635	2.711	0.361	0.625	1.495	1.207
7	甲醇(A ₃)	1:10(B ₁)	90(C ₃)	0.209	0.351	2.584	2.266	0.302	0.334	1.326	1.053
8	甲醇(A ₃)	1:30(B ₂)	60(C ₂)	0.220	0.401	2.601	2.532	0.311	0.505	1.415	1.141
9	甲醇(A ₃)	1:50(B ₃)	30(C ₁)	0.227	0.407	2.596	2.591	0.316	0.633	1.441	1.173
K ₁	3.710	3.388	3.544								
K ₂	3.566	3.585	3.592								
K ₃	3.367	3.670	3.506								
R	0.343	0.283	0.086								

表2 方差分析结果

Tab 2 Analysis of variance

方差来源	平方和	自由度	均方	F	P
A(提取溶剂)	0.020	2	0.010	33.169	0.029
B(料液比)	0.014	2	0.007	23.715	0.040
C(超声时间)	0.001	2	0.001	2.127	0.320
误差	0.001	2	0.000		
总计	12.622	9			
校正的总计	0.036	8			

从表1可直观看出,各因素对综合评分的影响顺序为A>B>C,最优组合为A₁B₃C₂;据表2结果可知,因素A和B对综合评分指标有显著影响($P<0.05$),因素C无显著影响($P>0.05$),这与表1直观分析结果一致。由正交试验可得出,最优提取条件为:每1 g供试品以50 mL 30%甲醇为提取溶剂,超声处理60 min。按上述最优提取方案,分别提取3份,计算绿原酸、苦杏仁苷、芍药苷、阿魏酸、洋川芎内酯 I、毛蕊异黄酮苷和藜本内酯的平均含量分别为0.236、0.377、2.655、2.747、0.353、0.548、

1.537 mg/g, RSD均小于2%, 综合评分为1.208, 表明最优提取方案较好。

2.2.2 供试品溶液制备方法 取消栓肠溶胶囊内容物适量, 研细, 取细粉约1 g, 精密称定, 置于具塞三角烧瓶中, 精密加入50 mL 30%甲醇, 称质量, 超声处理(功率: 250 W, 频率: 40 kHz) 60 min, 放冷, 用30%甲醇补足损失质量, 摇匀, 滤过, 即得, 室温避光保存。

2.3 混合对照品溶液制备

精密称取绿原酸、苦杏仁苷、芍药苷、阿魏酸、洋川芎内酯 I、毛蕊异黄酮苷、藁本内酯对照品各适量, 加30%甲醇超声处理(功率: 250 W, 频率: 40 kHz) 30 min, 配制成每1 mL含绿原酸0.058 mg、苦杏仁苷0.092 mg、芍药苷0.661 mg、阿魏酸0.675 mg、洋川芎内酯 I 0.088 mg、毛蕊异黄酮苷0.137 mg、藁本内酯0.383 mg的混合对照品贮备溶液。取上述贮备溶液2 mL, 置于25 mL量瓶中, 加30%甲醇稀释至刻度, 即得混合对照品溶液。

2.4 阴性对照溶液制备

取缺黄芪、当归、赤芍、川芎、桃仁和红花的消栓肠溶胶囊处方中的其他药材和辅料, 按“2.2.2”项下方法制备成阴性对照溶液, 滤过, 备用。

2.5 系统适用性试验

取“2.2”“2.3”“2.4”项下供试品溶液、混合对照品溶液和阴性对照溶液, 按“2.1”项下色谱条件测定, 结果各成分与相邻色谱峰分离度均大于1.5, 对称因子在1.09~1.21之间, 理论板数以绿原酸、芍药苷、洋川芎内酯 I、毛蕊异黄酮苷、阿魏酸、藁本内酯峰计均大于5 000。色谱图见图1。

2.6 线性关系考察

分别精密吸取“2.3”项下混合对照品贮备溶液0.5、2.0、6.0、12、15 mL, 置于25 mL量瓶中, 加30%甲醇溶液稀释至刻度, 摇匀, 得系列质量浓度混合溶液, 按“2.1”项下色谱条件测定分析, 记录色谱图。以各成分质量浓度($\mu\text{g/mL}$)为横坐标(x)、峰面积为纵坐标(y)进行线性回归, 绘制标准曲线, 计算各成分回归方程和相关系数等。取“2.3”项下混合对照品溶液, 用30%甲醇逐步稀释, 按各成分色谱峰信噪比(S/N) 10:1 分别测定其定量限。7个成分的线性关系和定量限数据结果见表3。

2.7 精密度试验

取“2.3”项下混合对照品溶液, 按“2.1”项下色谱条件, 连续进样6次, 记录峰面积。结果, 绿原酸、苦杏仁苷、芍药苷、阿魏酸、洋川芎内酯 I、毛蕊异黄酮苷和藁本内酯峰面积的RSD分别0.7%、1.1%、0.5%、0.2%、0.6%、0.8%、1.2% ($n=6$), 表明仪器精密度良好。

2.8 稳定性试验

取同一供试品溶液(批号: 20180105), 按“2.1”项下

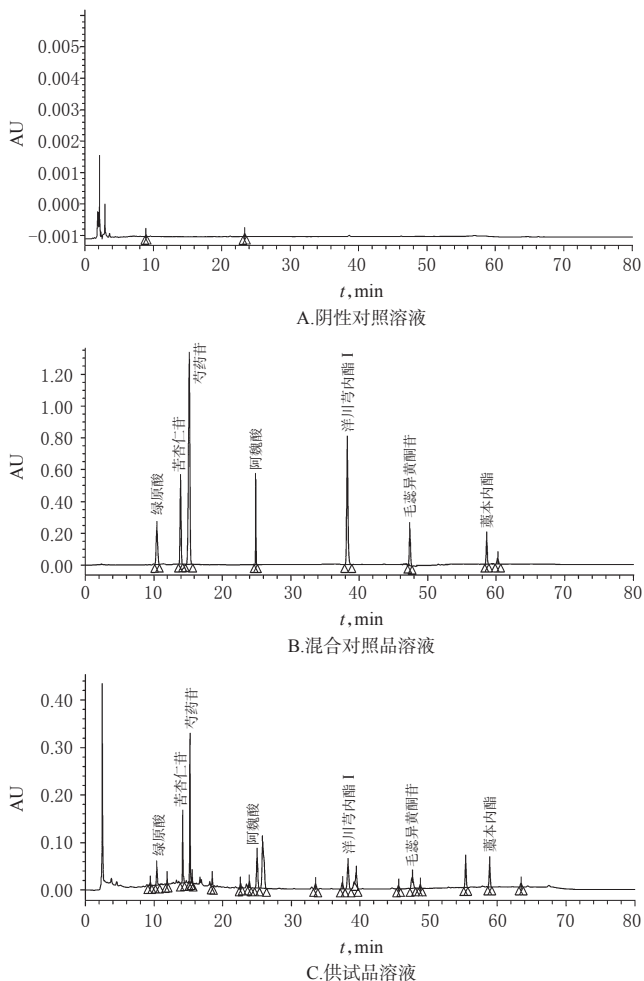


图1 高效液相色谱图

Fig 1 HPLC chromatograms

表3 7个成分的线性关系和定量限

Tab 3 Linear relationships and LOQ of 7 components

成分	回归方程	r	线性范围, $\mu\text{g/mL}$	定量限, μg
绿原酸	$y=210.76x+23.08$	0.999 7	1.16~34.81	0.056
苦杏仁苷	$y=108.36x+1.24$	0.999 1	1.85~55.48	0.103
芍药苷	$y=98.02x-12.54$	0.999 5	13.22~396.50	0.085
阿魏酸	$y=118.33x+35.66$	0.999 7	13.50~405.09	0.013
洋川芎内酯 I	$y=310.32x-29.80$	0.999 3	1.75~52.51	0.136
毛蕊异黄酮苷	$y=85.21x+32.86$	0.999 6	2.74~82.18	0.184
藁本内酯	$y=183.03x+1.23$	0.999 7	7.67~230.07	0.267

色谱条件, 分别于制备后0、3、6、12、15、24 h测定, 记录峰面积。结果, 绿原酸、苦杏仁苷、芍药苷、阿魏酸、洋川芎内酯 I、毛蕊异黄酮苷和藁本内酯峰面积的RSD分别为0.5%、0.7%、1.2%、1.4%、0.9%、1.3%、1.0% ($n=6$), 表明24 h内供试品溶液稳定性良好。

2.9 重复性试验

取同一批供试品(批号: 20180105), 共6份, 按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液, 依法测定, 记录色谱图, 计算7个成分的含量及RSD值。结果, 绿原酸、苦杏仁苷、芍药苷、阿魏酸、洋川芎内酯 I、毛蕊异黄酮苷和藁本内酯的平均含量分别为0.232、0.366、2.654、2.735、

0.352、0.540、1.526 mg/g, RSD 分别为 1.2%、0.7%、1.1%、1.1%、1.2%、1.0%、1.5% ($n=6$), 表明方法重复性良好。

2.10 加样回收率试验

取已知含量的消栓肠溶胶囊(批号:20180105)内容物适量,共6份,每份约0.5 g,精密称定,置于具塞三角烧瓶中,分别加入绿原酸0.120 mg、苦杏仁苷0.162 mg、芍药苷1.466 mg、阿魏酸1.690 mg、洋川芎内酯 I 0.141 mg、毛蕊异黄酮苷0.255 mg、藜本内酯0.888 mg,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,依法测定,记录色谱图,计算各成分加样回收率及其RSD值,结果见表4。

表4 回收率试验结果($n=6$)

Tab 4 Results of recovery tests ($n=6$)

成分	样品中含量,mg	加入量,mg	测定量,mg	回收率,%	平均回收率,%	RSD,%
绿原酸	0.116	0.120	0.233	98.69	99.3	0.9
	0.118	0.120	0.235	98.91		
	0.120	0.120	0.238	99.15		
	0.117	0.120	0.236	99.57		
	0.116	0.120	0.232	98.39		
	0.115	0.120	0.237	100.93		
苦杏仁苷	0.182	0.162	0.341	99.10	98.6	0.7
	0.179	0.162	0.339	99.34		
	0.178	0.162	0.337	99.05		
	0.176	0.162	0.333	98.66		
	0.174	0.162	0.328	97.57		
	0.179	0.162	0.335	98.18		
芍药苷	1.333	1.466	2.768	98.89	98.8	0.2
	1.335	1.466	2.774	99.04		
	1.336	1.466	2.770	98.85		
	1.334	1.466	2.755	98.38		
	1.338	1.466	2.772	98.87		
	1.336	1.466	2.768	98.79		
阿魏酸	1.353	1.690	3.054	100.36	99.7	0.5
	1.351	1.690	3.015	99.15		
	1.347	1.690	3.047	100.34		
	1.349	1.690	3.029	99.67		
	1.352	1.690	3.022	99.33		
	1.354	1.690	3.032	99.60		
洋川芎内酯 I	0.177	0.141	0.307	96.51	97.1	0.9
	0.172	0.141	0.305	97.44		
	0.173	0.141	0.303	96.50		
	0.178	0.141	0.312	97.80		
	0.179	0.141	0.315	98.44		
	0.170	0.141	0.299	96.08		
毛蕊异黄酮苷	0.269	0.255	0.521	99.43	97.6	1.2
	0.275	0.255	0.513	96.79		
	0.276	0.255	0.517	97.36		
	0.269	0.255	0.507	96.76		
	0.268	0.255	0.506	96.75		
	0.265	0.255	0.513	98.65		
藜本内酯	0.763	0.888	1.640	99.33	99.2	0.4
	0.772	0.888	1.654	99.64		
	0.783	0.888	1.668	99.81		
	0.773	0.888	1.645	99.03		
	0.764	0.888	1.635	98.97		
	0.788	0.888	1.654	98.70		

2.11 样品含量测定

分别精密吸取“2.2”“2.3”项下供试品溶液和混合对照品溶液各10 μ L,按“2.1”项下色谱条件测定,记录绿原酸、苦杏仁苷、芍药苷、阿魏酸、洋川芎内酯 I、毛蕊异黄酮苷、藜本内酯的峰面积,计算消栓肠溶胶囊中7个活性成分的含量,结果见表5。

表5 样品中7个成分的含量测定结果(mg/g, $n=3$)

Tab 5 Content determination of 7 components in samples (mg/g, $n=3$)

批号	绿原酸	苦杏仁苷	芍药苷	阿魏酸	洋川芎内酯 I	毛蕊异黄酮苷	藜本内酯
20180105	0.231	0.367	2.654	2.737	0.351	0.544	1.527
20180106	0.232	0.369	2.656	2.745	0.349	0.546	1.539
20180301	0.232	0.373	2.646	2.751	0.348	0.548	1.543
20180302	0.231	0.371	2.568	2.745	0.353	0.548	1.525
20180501	0.233	0.367	2.673	2.753	0.352	0.553	1.538
20180502	0.235	0.375	2.682	2.762	0.350	0.552	1.542

3 讨论

3.1 色谱条件的选择

在选择流动相时,笔者在预试验中先后考察甲醇-水、乙腈-水、甲醇-0.1%磷酸溶液、乙腈-0.1%磷酸溶液为流动相系统的分离效果。结果,使用甲醇-水和乙腈-水为流动相时,7个目标化合物未能全部检出;使用甲醇-0.1%磷酸溶液为流动相时,色谱峰总数较少,且苦杏仁苷和洋川芎内酯 I 无法检出;而使用乙腈-0.1%磷酸溶液进行梯度洗脱时,可以将目标峰完全洗脱,且各色谱峰对称性好(0.93~1.08),各峰间分离度均大于1.5。

在预试验中比较了 Dimonsil C₁₈(2)(250 mm \times 4.6 mm, 5 μ m)、Agilent ZORBAX SB-C₁₈(150 mm \times 4.6 mm, 5 μ m)、Thermo ODS C₁₈(150 mm \times 4.6 mm, 5 μ m)和 Agilent Eclipse Plus C₁₈(250 mm \times 4.6 mm, 5 μ m)等4根不同型号色谱柱的分离效果,结果,使用 Agilent Eclipse Plus C₁₈(250 mm \times 4.6 mm, 5 μ m)色谱柱时,各待测成分色谱峰与前后杂质峰的分离度稍大,但不同品牌色谱柱之间差异不大。

在预试验中考察柱温对分离效果的影响时,先后考察15、20、25、30、35 $^{\circ}$ C这5个温度,发现色谱柱柱温对色谱峰的分离度有较大影响,当柱温提高至35 $^{\circ}$ C时相邻最近的苦杏仁苷和芍药苷峰方可实现分离。

在选择检测波长时,使用二极管阵列检测器,在190~400 nm波长段分别扫描7个成分的对照品溶液,结果,绿原酸、苦杏仁苷、芍药苷、阿魏酸、洋川芎内酯 I、毛蕊异黄酮苷和藜本内酯最大吸收波长分别为326、210、230、321、334、274、260 nm,为使各目标成分色谱峰均能达到最佳信号强度,本试验采用分段波长仪器自动切换方式。

3.2 提取条件的优化

本研究在预试验中先后考察了加热回流法、溶剂萃取法和超声提取法3种提取方式,结果使用这3种提取方法所提取到的供试液中所含苦杏仁苷、芍药苷、阿魏酸、洋川芎内酯I、毛蕊异黄酮苷和藁本内酯含量分别为加热回流法:0.237、0.365、2.666、2.727、0.361、0.548、1.526 mg/g,溶剂萃取法:0.246、0.379、2.710、2.725、0.399、0.556、1.579 mg/g,超声提取法:0.235、0.358、2.652、2.737、0.360、0.542、1.512 mg/g。由上述结果可知,溶剂萃取法所测得各指标成分含量稍高,加热回流次之,但这3种提取方法所得7个成分含量相差甚微(小于5%)。考虑到加热回流法提取时间较长(2 h),且操作复杂;而溶剂萃取法需要专业仪器,方法不宜推广;超声提取法相对来说更加简便和实用。且超声提取技术是一种节能、省时、提取效率较高的方法^[15],在中药成分提取领域已有广泛运用。故最终选用超声提取法进行提取。

由于中药活性成分种类繁多,极性大小不同,所需溶出介质也不相同,且本研究中的7个化合物也存在极性差异,所以将不同提取溶剂作为正交试验筛选中的考察因素。另外,料液比和超声时间对成分提取效果整体来说虽是呈正比关系,但无限放大或升高这些条件会影响试验效率,而太小或太低会使活性成分提取不完全,故也将这2项纳入考察因素中。

正交试验设计在中药提取方法筛选过程中有着广泛运用^[16-17],其使用样品量较少、试验次数较少,方法科学合理。消栓肠溶胶囊药理作用明显,其由7味药材制成,内含大量化合物,有效成分的充分提取是质量控制试验顺利开展的前提条件。本研究以7个成分的综合评分为考察指标,采用正交试验设计优化溶剂种类、料液比和超声时间,寻求最优提取条件。最终确定提取条件为每1 g供试品以50 mL 30%甲醇超声(功率:250 W,频率:40 kHz)处理60 min。

本研究建立的HPLC-波长切换法可同时测定消栓肠溶胶囊中7个活性成分含量,此方法的建立进一步完善了该药质量控制方法,且方法简便、结果准确,可为客观系统地评价消栓肠溶胶囊的质量提供参考依据。

参考文献

[1] 国家食品药品监督管理局. WS3-571(Z-67)-2005(Z) 消栓肠溶胶囊[S]. 2006-01-17.
 [2] 徐东勋,伍雪英,何佳,等.消栓肠溶胶囊对脑梗死急性期神经功能及PAF、ET、NO的影响[J].中药药理与临床,2016,32(3):188-190.

[3] 王著敏,王峰,孙学平,等.消栓肠溶胶囊对缺血性中风气虚血瘀型患者血液流变学及凝血功能的影响[J].中国实验方剂学杂志,2015,21(17):190-194.
 [4] 王宜艳,滕晶.基于中医传承辅助系统的治疗中风病古方用药规律分析[J].中国实验方剂学杂志,2015,21(21):197-201.
 [5] 王健,张冬梅,任吉祥,等.基于现代医案的中风病用药规律研究[J].世界科学技术:中医药现代化,2013,15(5):1023-1028.
 [6] 刘亚鹭,徐士欣,张军平,等.川芎-当归药对有效成分在缺血性脑卒中应用的研究进展[J].华西药学杂志,2018,33(6):550-553.
 [7] ZHENG Q, TANG Y, HU PY, et al. The influence and mechanism of ligustilide, senkyunolide I, and senkyunolide A on echinacoside transport through MDCK-MDR1 cells as blood-brain barrier in vitro model[J]. *Phytother Res*, 2018, 32(3):426-435.
 [8] ZHU M, TANG Y, DUAN JA, et al. Roles of paeoniflorin and senkyunolide I in SiWu decoction on antiplatelet and anticoagulation activities[J]. *J Sep Sci*, 2010, 33(21):3335-3340.
 [9] 梁瑾,刘小花,任远,等.HPLC-DAD-ELSD法同时测定黄芪中5个成分的含量[J].药物分析杂志,2013,33(2):210-213.
 [10] 孙政华,邵晶,郭玫.黄芪化学成分及药理作用研究进展[J].中医临床研究,2015,7(25):22-25.
 [11] 刘杰,陈琳,范彩荣,等.基于HPLC-DAD-Q-TOF-MS/MS的白芍和赤芍主要成分定性定量研究[J].中国中药杂志,2015,40(9):1762-1770.
 [12] 陆小华,马骁,王建,等.赤芍的化学成分和药理作用研究进展[J].中草药,2015,46(4):595-602.
 [13] 许筱凰,李婷,王一涛,等.桃仁的研究进展[J].中草药,2015,46(17):2649-2655.
 [14] 白一丹,乔洲,薛敬伟,等.参松养心胶囊多组分同时测定及方法学验证[J].药物分析杂志,2018,38(8):1358-1368.
 [15] 钟玲,尹蓉莉,张仲林.超声提取技术在中药提取中的研究进展[J].西南军医,2007,9(6):84-87.
 [16] 黄琪,贾鹏晖,吴德玲,等.知母产地加工与饮片炮制一体化工艺研究[J].中草药,2018,49(20):4760-4766.
 [17] 李佳佳,郑鹏,顿佳颖,等.荆芥与连翘混合挥发油提取工艺优化[J].中国药房,2019,30(6):813-817.

(收稿日期:2019-05-06 修回日期:2019-05-31)

(编辑:刘萍)