

心痛舒喷雾剂 HPLC 指纹图谱、含量测定及指标成分传递规律研究^Δ

梁万徽^{1*}, 陶舒悦¹, 左池靖¹, 汪杰¹, 刘艳¹, 余卫东¹, 彭灿^{1,2,3,4,5#}, 王茜^{1,5}(1. 安徽中医药大学药学院, 合肥 230012; 2. 省部共建安徽道地中药材品质提升协同创新中心, 合肥 230012; 3. 安徽省乡村振兴协同技术服务中心, 合肥 230012; 4. 安徽省现代中药产业共性技术研究中心, 合肥 230012; 5. 药物制剂技术与应用安徽省重点实验室, 合肥 230012)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2023)23-2861-07
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2023.23.08



摘要 目的 建立心痛舒喷雾剂高效液相色谱(HPLC)指纹图谱,对其指认成分进行含量测定,并探究饮片、中间体、喷雾剂中指标成分的传递规律,为心痛舒喷雾剂的工艺把关和质量控制提供参考。方法 采用《中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012版)》建立13批心痛舒喷雾剂的HPLC指纹图谱,并指认共有峰;采用HPLC法对指认成分进行含量测定;以牡丹皮中的丹皮酚和川芎中的阿魏酸为指标成分,考察两者在饮片、中间体、喷雾剂中的传递规律。结果 13批心痛舒喷雾剂中共有33个共有峰,相似度均 ≥ 0.994 ;共指认了8个成分,分别为没食子酸(5号峰)、氧化芍药苷(9号峰)、绿原酸(10号峰)、咖啡酸(14号峰)、芍药苷(17号峰)、阿魏酸(21号峰)、洋川芎内酯 I (27号峰)、丹皮酚(31号峰)。8个成分的含量分别为0.590 3~0.719 7、0.565 7~0.851 3、0.279 4~0.368 1、0.080 6~0.106 1、1.922 5~3.033 5、0.151 3~0.191 6、0.250 6~0.336 0、3.056 7~4.161 0 mg/mL。丹皮酚和阿魏酸从饮片 \rightarrow 喷雾剂的平均转移率分别为63.76%、38.06%,其中在牡丹皮的渗漉提取和减压浓缩工艺中丹皮酚的损失超30%,在川芎的水蒸气蒸馏提取工艺中阿魏酸的损失超50%。结论 建立的心痛舒喷雾剂HPLC指纹图谱及含量测定方法重复性好、专属性强;牡丹皮的渗漉提取和减压浓缩及川芎的水蒸气蒸馏提取是引起指标成分转移率下降的关键工艺。

关键词 心痛舒喷雾剂;高效液相色谱法;指纹图谱;含量测定;成分传递规律

HPLC fingerprint, content determination and transferring patterns of index components of Xintongshu spray

LIANG Wanhui¹, TAO Shuyue¹, ZUO Chijing¹, WANG Jie¹, LIU Yan¹, YU Weidong¹, PENG Can^{1,2,3,4,5}, WANG Qian^{1,5}(1. School of Pharmacy, Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230012, China; 2. MOE-Anhui Joint Collaborative Innovation Center for Quality Improvement of Anhui Genuine Chinese Medicinal Materials, Hefei 230012, China; 3. Rural Revitalization Collaborative Technical Service Center of Anhui Province, Hefei 230012, China; 4. Generic Technology Research Center for Anhui TCM Industry, Hefei 230012, China; 5. Anhui Provincial Key Laboratory of Pharmaceutical Preparation Technology and Application, Hefei 230012, China)

ABSTRACT OBJECTIVE To establish the HPLC fingerprint of Xintongshu spray, determine the contents of identified components, and investigate the transferring patterns of the index components of decoction pieces, intermediates and spray, so as to provide scientific reference for technology management and quality control of Xintongshu spray. **METHODS** HPLC fingerprints of 13 batches of Xintongshu spray were established by the *Similarity Evaluation System for Chromatographic Fingerprints of TCM* (2012 edition), and common peaks were identified; the contents of identified components were determined by HPLC. The paeonol in Moutan Cortex and ferulic acid in Chuanxiong Rhizoma were used as index components to investigate the transferring patterns of them in decoction pieces, intermediates and spray. **RESULTS**

There were a total of 33 common peaks in the fingerprints of 13 batches of Xintongshu spray, and the similarities were more than 0.994. Eight components were identified, i.e. gallic acid (peak 5), oxypaeoniflorin (peak 9), chlorogenic acid (peak 10), caffeic acid (peak 14), paeoniflorin (peak 17),

^Δ基金项目 安徽省科技重大专项(No.202103a07020001);亳州市科技重大专项揭榜挂帅项目(No.bzzd2021002)

*第一作者 硕士研究生。研究方向:中药复方药效物质基础。
E-mail:1551457923@qq.com

#通信作者 副教授,硕士生导师,博士。研究方向:中药制剂与分析。
E-mail:pengcankang@hotmail.com

ferulic acid (peak 21), senkyunolide I (peak 27) and paeonol (peak 31). The contents of 8 components ranged from 0.590 3-0.719 7, 0.565 7-0.851 3, 0.279 4-0.368 1, 0.080 6-0.106 1, 1.922 5-3.033 5, 0.151 3-0.191 6, 0.250 6-0.336 0, 3.056 7-4.161 0 mg/mL, respectively. The average transfer rates of paeonol and ferulic acid from decoction pieces to sprays were 63.76% and 38.06%, respectively. It was also found that the process in which the loss of paeonol was more than 30% was the extraction by percolation and negative pressure concentration of Moutan Cortex. The process in which the loss of ferulic acid was more than 50% was the steam distillation extraction process of Chuanxiong Rhizoma. **CONCLUSIONS** The established HPLC fingerprint and content determination method of Xintongshu spray are reproducible and specific. The key processes that cause a decrease in the average transfer rates of the index components are the extraction by percolation and negative pressure concentration of Moutan Cortex and steam distillation extraction of Chuanxiong Rhizoma.

KEYWORDS Xintongshu spray; HPLC; fingerprint; content determination; transferring patterns of components

心痛舒喷雾剂(国药准字Z20194075)由牡丹皮、川芎及冰片3味中药制备而成,在临床上用于治疗痰浊瘀血痹阻心脉而致的冠心病心绞痛;其经舌下喷雾给药,被毛细血管吸收后直接进入体循环,起效快,疗效确切,在心血管疾病急救方面具有独特优势^[1-2]。

中药复方具有多成分、多靶点、综合作用的特点,其药效的发挥是多成分协同作用的结果^[3]。现行的心痛舒喷雾剂质量控制标准收载于《国家药品标准新药转正标准》第42册^[4],主要为单味中药薄层鉴定及单一成分含量测定,无法反映出整体的质量情况,同时也未见国内外关于心痛舒喷雾剂质量控制的研究。为保障中药复方的质量及临床药效的发挥,有必要建立一种简单、高效、准确的指纹图谱和多成分含量测定方法,以应用于企业的生产和质检。

中药复方指纹图谱和多成分含量测定研究是保障其质量的基础,而对中药复方质量的提升研究也同样重要。中药复方质量的提升离不开对其制备工艺的研究和优化,而通过探究“指标成分”在中药复方制备过程中的传递规律,则有利于发现和优化影响其质量的关键工艺。基于此,本研究建立心痛舒喷雾剂高效液相色谱(HPLC)指纹图谱,对其指认成分进行含量测定;再以该喷雾剂中牡丹皮、川芎药材的质控成分丹皮酚和阿魏酸为“指标成分”^[5],探究指标成分在饮片、中间体、喷雾剂中的传递规律,以期为中心舒喷雾剂的工艺把关和质量控制提供参考。

1 材料

1.1 主要仪器

Waters ACQITY Arc型HPLC仪购自美国Waters公司;YL-060ST型超声波清洗器购自深圳市语路清洗设备有限公司;AB135-S型电子分析天平购自赛多利斯科学仪器(北京)有限公司;BT-25S型高速离心机购自常州市万丰仪器制造有限公司;HX-200型中药粉碎机购自永康市溪岸五金药具厂。

1.2 主要药品与试剂

没食子酸、氧化芍药苷、绿原酸、阿魏酸、洋川芎内酯I的对照品(批号分别为J05GB153704、N26GB169459、A22GB158496、G13S11L124423、PZ7A11F122339,纯度均 $\geq 98.0\%$)均购于上海源叶生物科技有限公司;咖啡酸、芍药苷、丹皮酚的对照品(批号分别为PS010522、PS000825、PS000281,纯度均 $\geq 98.0\%$)均购于成都普思生物科技有限公司;吐温-80(药用级)购于上海麦克林生化科技有限公司;乙腈、甲醇为色谱纯,甲酸为分析纯,水为娃哈哈纯净水。牡丹皮、川芎、冰片饮片和13批心痛舒喷雾剂(批号分别为20221001、20221002、20221003、20221004、20221005、20221006、20221007、20221008、20221009、20221010、20220101、20220201、20220202,编号S1~S13)均由华佗国药股份有限公司提供。另外,本实验室自制了心痛舒喷雾剂6批,编号S14~S19。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱为East Laboratory Epic C₁₈(4.6 mm \times 250 mm, 5 μ m);流动相为乙腈(A)-0.1%甲酸溶液(B),梯度洗脱(0~10 min, 10%A \rightarrow 15%A; 10~24 min, 15%A \rightarrow 25%A; 24~28 min, 25%A \rightarrow 26%A; 28~30 min, 26%A \rightarrow 30%A; 30~48 min, 30%A \rightarrow 57%A; 48~52 min, 57%A \rightarrow 80%A; 52~57 min, 80%A \rightarrow 10%A; 57~62 min, 10%A);流速为0.8 mL/min;柱温为30 $^{\circ}$ C;进样量为10 μ L;检测波长分别为254、320 nm(指纹图谱研究时选择254 nm;含量测定时选择254 nm作为没食子酸、氧化芍药苷、芍药苷、洋川芎内酯I、丹皮酚的检测波长,320 nm作为绿原酸、咖啡酸、阿魏酸的检测波长)。

2.2 心痛舒喷雾剂的制备

按心痛舒喷雾剂现行工艺进行制备^[4],具体为:取牡丹皮235 g,用80%乙醇浸渍48 h,再用65%乙醇缓缓渗漉(料液比约为1:12),收集漉液,减压回收乙醇,得牡丹皮流浸膏,备用。取川芎392 g,用水蒸气蒸馏法提取挥

发油,挥发油用乙醇溶解后,备用;提取挥发油后的药液滤出,药渣再加水煎煮2 h,煎液与上述药液合并,滤过,得川芎水提液;将该水提液减压浓缩至适当相对密度,加乙醇使含醇量达60%,静置48 h,滤过;滤液减压回收乙醇,并浓缩至适量,得川芎醇沉浓缩液,备用。取19 g冰片与20 mL吐温-80,加适量乙醇混匀,备用。将上述备用的药液合并,用乙醇及蒸馏水调整药液总量为1 000 mL并使含醇量<30%,混匀,滤过,即得。

2.3 溶液的制备

2.3.1 混合对照品溶液的制备

精密称取没食子酸、氧化芍药苷、绿原酸、咖啡酸、芍药苷、阿魏酸、洋川芎内酯 I、丹皮酚对照品适量至容量瓶中,加入75%甲醇制备成质量浓度分别为69.0、72.8、34.8、11.0、366.0、24.2、31.4、379.0 $\mu\text{g/mL}$ 的混合对照品溶液。

2.3.2 供试品溶液的制备

(1)心痛舒喷雾剂供试品溶液的制备:精密吸取心痛舒喷雾剂药液1 mL至20 mL容量瓶中,加75%甲醇至刻度,摇匀,过0.22 μm 有机微孔滤膜,取续滤液即得。(2)饮片供试品溶液的制备:取牡丹皮、川芎饮片粗粉各0.5 g至锥形瓶,加75%甲醇50 mL,超声(频率40 kHz,功率360 W)提取30 min;补足失重,离心,取上清液,过0.22 μm 有机微孔滤膜,取续滤液即得。(3)中间体供试品溶液的制备:按“2.2”项下处方中各饮片量与制备工艺,制得牡丹皮渗漉液和流浸膏样品,川芎水提液和醇沉浓缩液样品,分别按“2.3.2(1)”项下方法制备即得。(4)阴性对照供试品溶液制备:按“2.2”项下处方中各饮片量与制备工艺,制得缺川芎、缺牡丹皮的阴性对照样品,分别按“2.3.2(1)”项下方法制备即得。

2.4 心痛舒喷雾剂HPLC图谱的建立

2.4.1 精密度试验

取S1号心痛舒喷雾剂样品,按“2.3.2(1)”项下方法制备供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件进行检测,连续进样6次,获取色谱图。以31号峰(丹皮酚,下同)为参照峰,计算得各共有峰的相对保留时间RSD<0.13%,相对峰面积RSD<2.99% ($n=6$),符合中药指纹图谱的要求。

2.4.2 重复性试验

取S1号心痛舒喷雾剂样品,按“2.3.2(1)”项下方法平行制备6份供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件进行检测,获取色谱图。以31号峰为参照峰,计算得各共有峰的相对保留时间RSD<0.18%,相对峰面积RSD<4.46% ($n=6$),符合中药指纹图谱的要求。

2.4.3 稳定性试验

取S1号心痛舒喷雾剂样品,按“2.3.2(1)”项下方法

制备供试品溶液,分别在室温放置0、2、4、8、12、24 h时按“2.1”项下色谱条件进行检测,获取色谱图。以31号峰为参照峰,计算得各共有峰的相对保留时间RSD<0.21%,相对峰面积RSD<3.51% ($n=6$),符合中药指纹图谱的要求。

2.4.4 指纹图谱的建立和相似度评价

取13批(编号S1~S13)心痛舒喷雾剂样品,按“2.3.2(1)”项下方法制备供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件进行检测。将获取的色谱图导入《中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012版)》,将S1批次设为参照图谱,对照图谱生成方法选择平均数法,时间窗宽度设为0.1,经过多点校正后进行峰匹配获得对照图谱R及13批样品的叠加图谱,如图1所示。结果显示,共标定共有峰33个,其中31号峰(丹皮酚)峰面积最大,分离度较好,故选择31号峰为参照峰;各批次心痛舒喷雾剂样品与对照图谱的相似度均 ≥ 0.994 ,表明各批次样品之间的差异性较小。

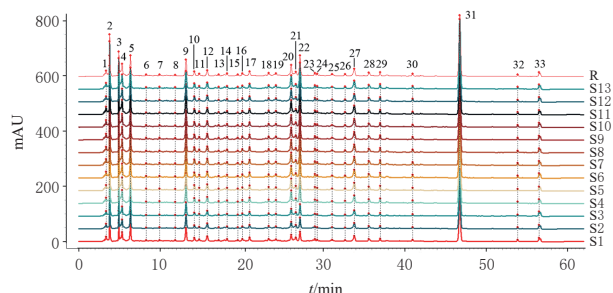


图1 13批心痛舒喷雾剂的指纹图谱和对照图谱R

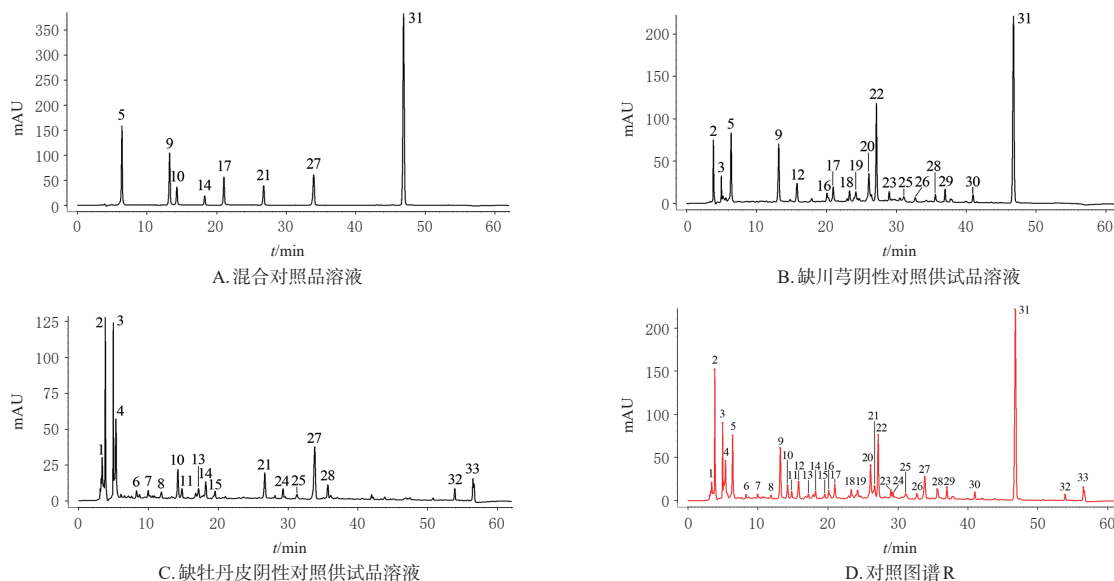
2.4.5 共有峰的指认和归属

取“2.3.1”项下混合对照品溶液、“2.3.2(4)”项下阴性对照供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件进行检测,获得色谱图。如图2所示,将对照图谱R与混合对照品图谱进行比对,指出5号峰为没食子酸、9号峰为氧化芍药苷、10号峰为绿原酸、14号峰为咖啡酸、17号峰为芍药苷、21号峰为阿魏酸、27号峰为洋川芎内酯 I、31号峰为丹皮酚。将对照图谱R与缺川芎、缺牡丹皮的阴性对照图谱进行对比发现,2、3、5、9、12、16~20、22、23、25、26、28~31号峰归属于牡丹皮;1~4、6~8、10、11、13~15、21、24、25、27、28、32、33号峰归属于川芎,其中2、3、25、28号峰同时归属于牡丹皮和川芎。

2.5 8个指认成分的含量测定

2.5.1 专属性试验

取空白溶剂、混合对照品溶液、S1号心痛舒喷雾剂供试品溶液及阴性对照供试品溶液按“2.1”项下色谱条件进行检测,并记录色谱图。如图3所示,空白溶剂基线平整,除溶剂峰外无干扰峰;在各对照品成分的相应位



5:没食子酸;9:氧化芍药苷;10:绿原酸;14:咖啡酸;17:芍药苷;21:阿魏酸;27:洋川芎内酯 I ;31:丹皮酚。

图2 各样品含量测定专属性试验的HPLC图谱

置上,心痛舒喷雾剂供试品中均有色谱峰与之对应;阴性对照供试品中也无色谱峰干扰,表明该方法专属性较好,可以用于含量测定。

2.5.2 线性关系考察

精密吸取“2.3.1”项下混合对照品溶液 1.0、1.5、2.0、2.5、4.0、5.0 mL,分别置于 5 mL 容量瓶中,加 75% 甲醇稀释至刻度,摇匀;过 0.22 μm 有机微孔滤膜,取续滤液按“2.1”项下色谱条件进样分析,以进样量为横坐标(X),峰面积为纵坐标(Y),获得各成分的回归方程和线性范围,同时测定检测限和定量限,结果见表 1。

2.5.3 精密度试验

取“2.3.1”项下混合对照品溶液,按“2.1”项下色谱条件连续进样 6 次,记录色谱图。结果显示,没食子酸、氧化芍药苷、绿原酸、咖啡酸、芍药苷、阿魏酸、洋川芎内酯 I、丹皮酚峰面积的 RSD 分别为 0.02%、0.09%、0.06%、0.05%、0.10%、0.20%、0.11%、0.40%(n=6),表明仪器精密度较好。

2.5.4 稳定性试验

取 S1 号心痛舒喷雾剂样品,按“2.3.2(1)”项下方法制备供试品溶液,分别在室温放置 0、2、4、8、12、24 h 时按“2.1”项下色谱条件进行检测,记录色谱图。结果显示,没食子酸、氧化芍药苷、绿原酸、咖啡酸、芍药苷、阿魏酸、洋川芎内酯 I、丹皮酚峰面积的 RSD 分别为 0.26%、0.46%、0.16%、0.17%、0.20%、0.28%、0.09%、0.12%(n=6),表明供试品溶液在室温放置 24 h 内稳定性较好。

2.5.5 重复性试验

取 S1 号心痛舒喷雾剂样品,按“2.3.2(1)”项下方法平行制备供试品溶液 6 份,按“2.1”项下色谱条件进行检

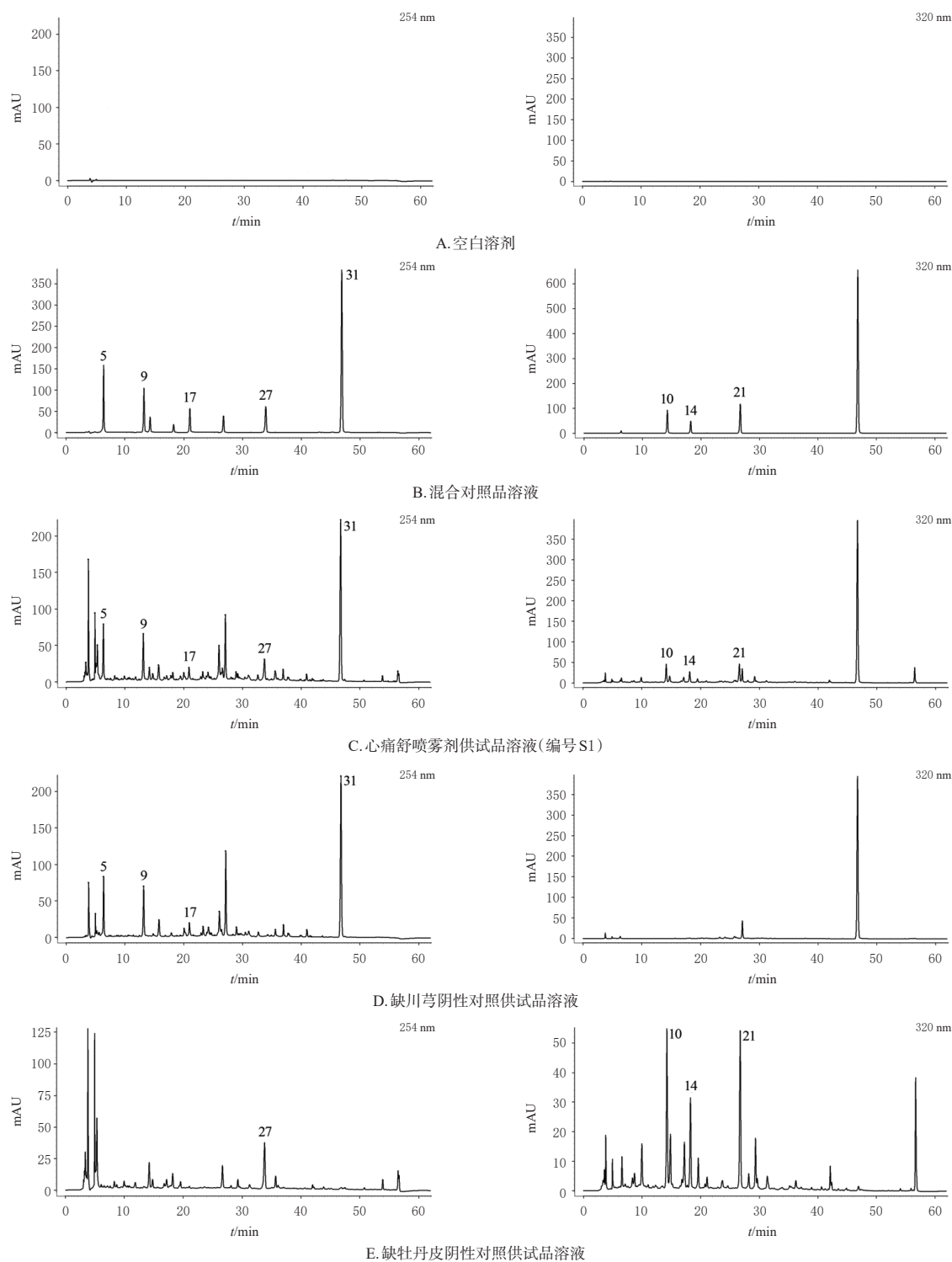
测,记录色谱图,然后代入回归方程中计算含量。结果显示,没食子酸、氧化芍药苷、绿原酸、咖啡酸、芍药苷、阿魏酸、洋川芎内酯 I、丹皮酚含量的 RSD 分别为 0.53%、0.27%、0.61%、0.68%、0.56%、0.38%、1.89%、0.57%(n=6),表明方法重复性较好。

2.5.6 加样回收率试验

取各对照品适量,用 75% 甲醇配制成没食子酸、氧化芍药苷、绿原酸、咖啡酸、芍药苷、阿魏酸、洋川芎内酯 I、丹皮酚质量浓度分别为 0.704、0.874、0.351、0.106、2.900、0.197、0.309、3.780 mg/mL 的混合对照品溶液;精密吸取混合对照品溶液和已知浓度的心痛舒喷雾剂供试品溶液(编号 S1)各 0.5 mL,置于 20 mL 容量瓶中,加 75% 甲醇稀释至刻度,平行制备 6 份;再按“2.1”项下色谱条件进样分析,计算加样回收率。结果显示,上述 8 种的平均加样回收率分别为 98.57%、100.34%、104.75%、98.81%、102.35%、97.04%、101.14%、98.20%,RSD 分别为 0.81%、1.50%、1.58%、1.31%、1.70%、2.69%、0.82%、0.19%(n=6)。结果见表 2。

2.5.7 样品含量测定

取心痛舒喷雾剂样品(编号 S1~S13),按“2.3.2(1)”项下方法制备供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件进行检测,记录各待测成分的峰面积,然后代入回归方程中计算含量,结果见表 3。心痛舒喷雾剂的国家标准为丹皮酚含量 > 1.6 mg/mL,企业内控标准为丹皮酚含量 > 2.6 mg/mL、阿魏酸含量 > 0.15 mg/mL,由此可见 13 批心痛舒喷雾剂均合格,但在成分的含量上存在一定差异。为探明影响心痛舒喷雾剂质量的关键工艺,本研究选择丹皮酚和阿魏酸为指标成分,进一步探究其在饮片、中间体、喷雾剂中的传递规律,全面剖析制备工艺。



5:没食子酸;9:氧化芍药苷;10:绿原酸;14:咖啡酸;17:芍药苷;21:阿魏酸;27:洋川芎内酯 I ;31:丹皮酚。

图3 专属性试验考察结果

2.5.8 指标成分的传递规律分析

取S14~S19批次实验室自制的心痛舒喷雾剂样品和对应的牡丹皮、川芎饮片及牡丹皮渗漉液、流浸膏,川芎水提液、醇沉浓缩液等中间体样品,按“2.3.2”项下相应方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件进行检测,记录各供试品中指标成分丹皮酚和阿魏酸的峰面

积,代入回归方程中计算丹皮酚和阿魏酸两种指标成分在各样品中的总量,结果如表4和表5所示。结果显示,丹皮酚从饮片→喷雾剂总量的平均转移率为63.76%,在渗漉提取和减压蒸馏提取中损失较大,损失比例超30%;阿魏酸从饮片→喷雾剂总量的平均转移率为38.06%,在水蒸气蒸馏提取中损失较大,损失比例超50%。

表1 8个成分的线性关系考察结果

成分	回归方程	R ²	线性范围/(μg/mL)	检测限/(μg/mL)	定量限/(μg/mL)
没食子酸	Y=22.955X-17.352	0.999 9	13.80~69.00	0.180 6	0.602 0
氧化芍药苷	Y=18.565X-10.553	0.999 8	14.56~72.80	0.256 9	0.856 3
绿原酸	Y=32.060X-60.291	0.999 6	6.96~34.80	0.237 3	0.791 0
咖啡酸	Y=61.547X-9.294.9	0.999 9	2.20~11.00	0.115 3	0.384 3
芍药苷	Y=1.595.1X-337.8	0.999 9	73.20~366.00	0.376 8	1.256 0
阿魏酸	Y=62.521X-127.64	1.000 0	4.84~24.20	0.096 5	0.321 7
洋川芎内酯 I	Y=29.271X+622.81	1.000 0	6.28~31.40	0.145 1	0.483 7
丹皮酚	Y=16.507X+354.25	1.000 0	75.80~379.00	0.474 2	1.580 7

表2 8个成分的加样回收试验结果

成分	样品含量/mg	加入量/mg	测得量/mg	加样回收率/%	平均加样回收率/%	RSD/%
没食子酸	0.349 1	0.352 0	0.691 9	97.39	98.57	0.81
	0.349 1	0.352 0	0.695 7	98.47		
	0.349 1	0.352 0	0.698 3	99.20		
	0.349 1	0.352 0	0.693 7	97.90		
	0.349 1	0.352 0	0.698 9	99.38		
氧化芍药苷	0.429 9	0.437 0	0.872 3	101.24	100.34	1.50
	0.429 9	0.437 0	0.865 1	99.59		
	0.429 9	0.437 0	0.860 3	98.49		
	0.429 9	0.437 0	0.862 4	98.97		
	0.429 9	0.437 0	0.875 0	101.85		
绿原酸	0.170 9	0.175 5	0.350 4	102.28	104.75	1.58
	0.170 9	0.175 5	0.352 6	103.53		
	0.170 9	0.175 5	0.355 7	105.30		
	0.170 9	0.175 5	0.358 1	106.67		
	0.170 9	0.175 5	0.357 3	106.21		
咖啡酸	0.051 7	0.053 0	0.103 8	98.30	98.81	1.31
	0.051 7	0.053 0	0.103 7	98.11		
	0.051 7	0.053 0	0.104 6	99.81		
	0.051 7	0.053 0	0.105 2	100.94		
	0.051 7	0.053 0	0.103 7	98.11		
芍药苷	1.300 0	1.450 0	2.792 3	102.92	102.35	1.70
	1.300 0	1.450 0	2.776 0	101.79		
	1.300 0	1.450 0	2.804 1	103.73		
	1.300 0	1.450 0	2.798 7	103.36		
	1.300 0	1.450 0	2.736 4	99.06		
阿魏酸	0.093 4	0.098 5	0.185 7	93.71	97.04	2.69
	0.093 4	0.098 5	0.193 5	101.62		
	0.093 4	0.098 5	0.188 3	96.35		
	0.093 4	0.098 5	0.189 3	97.36		
	0.093 4	0.098 5	0.189 2	97.26		
洋川芎内酯 I	0.160 2	0.154 5	0.315 5	100.52	101.14	0.82
	0.160 2	0.154 5	0.315 4	100.45		
	0.160 2	0.154 5	0.315 3	100.39		
	0.160 2	0.154 5	0.317 9	102.07		
	0.160 2	0.154 5	0.316 6	101.23		
丹皮酚	1.812 6	1.890 0	3.671 0	98.33	98.20	0.19
	1.812 6	1.890 0	3.672 3	98.40		
	1.812 6	1.890 0	3.670 9	98.32		
	1.812 6	1.890 0	3.668 8	98.21		
	1.812 6	1.890 0	3.665 4	98.03		

表3 8个成分的含量测定结果(n=3, mg/mL)

批次	没食子酸	氧化芍药苷	绿原酸	咖啡酸	芍药苷	阿魏酸	洋川芎内酯 I	丹皮酚
S1	0.697 7	0.851 3	0.340 1	0.101 1	2.599 8	0.186 7	0.319 1	3.608 6
S2	0.670 4	0.790 1	0.347 4	0.082 6	2.818 5	0.168 2	0.286 6	3.845 1
S3	0.681 3	0.834 2	0.357 8	0.081 9	2.571 8	0.172 2	0.301 7	4.093 9
S4	0.690 6	0.767 6	0.368 1	0.095 0	2.927 0	0.176 6	0.308 2	4.161 0
S5	0.712 4	0.828 1	0.332 8	0.086 0	2.531 0	0.162 9	0.295 4	3.794 3
S6	0.648 9	0.733 1	0.330 5	0.085 9	2.450 1	0.163 0	0.295 8	3.449 2
S7	0.670 1	0.700 2	0.325 0	0.097 5	2.342 4	0.176 8	0.311 3	3.251 9
S8	0.719 7	0.807 3	0.352 9	0.106 1	3.033 5	0.191 6	0.336 0	3.765 8
S9	0.664 4	0.788 7	0.338 1	0.080 6	2.831 3	0.165 1	0.284 3	3.839 7
S10	0.680 5	0.757 9	0.360 5	0.092 7	2.883 9	0.173 0	0.306 0	4.085 7
S11	0.604 6	0.565 7	0.279 4	0.081 0	1.922 5	0.156 1	0.250 6	3.056 7
S12	0.590 3	0.580 1	0.283 5	0.082 4	2.187 3	0.153 3	0.253 9	3.136 1
S13	0.619 3	0.631 5	0.295 6	0.083 9	2.106 8	0.151 3	0.262 6	3.426 0

表4 饮片、中间体、喷雾剂中丹皮酚的传递结果

批次	饮片中总量/g	中间体中总量/g		喷雾剂中总量/g	饮片→喷雾剂总量的转移率/%	平均转移率/%
		渗滤液	流浸膏			
S14	8.224	6.801	5.327	5.273	64.12	63.76
S15	7.813	6.540	4.853	4.808	61.54	
S16	7.977	6.322	4.786	4.734	59.35	
S17	7.648	6.451	5.337	5.241	68.53	
S18	7.402	6.243	4.712	4.633	62.60	
S19	7.563	6.379	5.082	5.025	66.44	

表5 饮片、中间体、喷雾剂中阿魏酸的传递结果

批次	饮片中总量/g	中间体中总量/g		喷雾剂中总量/g	饮片→喷雾剂总量的转移率/%	平均转移率/%
		水提液	醇沉浓缩液			
S14	0.483	0.212	0.183	0.176	36.44	38.06
S15	0.496	0.217	0.203	0.198	39.92	
S16	0.475	0.205	0.190	0.183	38.53	
S17	0.510	0.226	0.211	0.205	40.20	
S18	0.494	0.220	0.185	0.179	36.23	
S19	0.502	0.215	0.192	0.186	37.05	

3 讨论

3.1 色谱条件的优化

本文考察了甲醇-水、甲醇-0.1%甲酸、乙腈-水、乙腈-0.1%甲酸4种不同的流动相体系,结果显示,以乙腈-0.1%甲酸为流动相,所得色谱峰数量最多,且分离和响应效果最好。前期笔者参考相关文献^[6-8],对心痛舒喷雾剂供试品和对照品进行了全波长扫描,最终含量测定选择254 nm作为没食子酸、氧化芍药苷、芍药苷、洋川芎内酯 I、丹皮酚的检测波长,选择320 nm作为绿原酸、咖啡酸、阿魏酸的检测波长;且发现在254 nm波长下色谱峰数目多、响应高、分离度较好,故选择254 nm作为指纹图谱的检测波长。笔者还考察了3种不同的柱温(25、30、35 °C)和3种不同的流速(0.8、1.0、1.2 mL/min)对色谱分离效果的影响,结果发现,在柱温30 °C、流速0.8 mL/min时,色谱图峰形均较为对称,分离度较好。

3.2 心痛舒喷雾剂样品稀释溶剂的优化

本文前期考察了10%甲醇、50%甲醇、75%甲醇、甲醇4种不同的样品稀释溶剂。结果发现,当采用10%甲醇和50%甲醇作为稀释溶剂时,色谱图峰面积降低,可能的原因是心痛舒喷雾剂中绝大多数成分为脂溶性成

分,当稀释溶剂中水的含量升高时导致脂溶性成分不溶解,色谱峰面积降低;当采用甲醇作为样品稀释溶剂时,没食子酸和绿原酸的色谱峰均发生了前延与分叉,推测产生了溶剂化效应。因此,本研究最终选择75%甲醇作为稀释溶剂,所得色谱图峰形较为对称。

3.3 基于指标成分的传递规律分析

心痛舒喷雾剂制备工艺复杂,其工艺参数上的不均一则可能导致质量上的差异。本文选取牡丹皮和川芎的药典质控成分丹皮酚和阿魏酸作为指标成分,探究其在饮片、中间体、喷雾剂中的传递规律。结果显示,牡丹皮的渗漉提取和减压浓缩及川芎的水蒸气蒸馏提取是指标成分显著损失的关键工艺。

在牡丹皮的渗漉提取中,乙醇的浓度、用量和渗漉速度等参数均会影响丹皮酚的提取率,此外丹皮酚具有随水蒸气蒸馏的物理性质,因此减压浓缩时的温度、转速、真空度等参数也会显著影响丹皮酚的提取率。在川芎的水提工艺中阿魏酸损失较高,笔者查阅相关文献发现,川芎水提时阿魏酸转移率普遍较低,如高扬等^[9]发现阿魏酸从饮片至标准汤剂的平均转移率为37.7%,莫雨佳等^[10]发现阿魏酸从饮片至全方水煎液的平均转移率为45.97%。因此,笔者推测导致阿魏酸转移率低的主要原因与其水溶性较差有关,建议在水提川芎时,可以通过增加加水量、提取次数,添加乙醇和趁热过滤等操作来增加阿魏酸转移率。

综上所述,本文建立的指纹图谱和多成分含量测定方法重复性好、专属性强,可以用于心痛舒喷雾剂的质量评价;其次,本文探明了丹皮酚和阿魏酸两种指标成分在饮片、中间体、喷雾剂中的传递规律,明确了影响心痛舒喷雾剂质量的关键工艺,可以为企业的生产和工艺优化提供参考。

参考文献

[1] 沈绍功. 心痛舒喷雾剂治疗冠心病心绞痛717例(1770例次)临床与实验研究[J]. 中国中医急症, 1999, 8(5): 200-204, 242.
SHEN S G. Clinical and experimental study on Xintongshu spray in treating 717 patients (1770 times) of angina pectoris of coronary heart disease[J]. J Emerg Tradit Chin Med, 1999, 8(5): 200-204, 242.

[2] 汪朝晖, 赵立诚. 心痛舒喷雾剂治疗冠心病心绞痛的临床观察[J]. 安徽中医临床杂志, 2000, 12(2): 75-76.
WANG C H, ZHAO L C. Clinical observation of Xintongshu spray in treating angina pectoris of coronary heart disease[J]. Clin J Anhui Tradit Chin Medicine, 2000, 12(2): 75-76.

[3] 周梦楠, 陈向阳, 陈晓鹤, 等. 基于“优势成分预测-潜在靶点筛选”的“2R网络药理学”的中药复方有效组分研究方法的构建[J]. 中国中药杂志, 2021, 46(9): 2363-2369.
ZHOU M N, CHEN X Y, CHEN X H, et al. Construction

of “2R network pharmacology” research method for effective components of traditional Chinese medicine based on “prediction of dominant components-screening of potential targets” [J]. China J Chin Mater Med, 2021, 46(9): 2363-2369.

[4] 国家药典委员会. 国家药品标准新药转正标准: 第42册[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2003: 75.
Chinese Pharmacopoeia Commission. National drug standards for the correction of new drugs: volume 42[M]. Beijing: People's Medical Publishing House Co., LTD, 2003: 75.

[5] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 一部[M]. 2020年版. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 42, 179.
Chinese Pharmacopoeia Commission. Chinese pharmacopoeia: volume I [M]. 2020 edition. Beijing: China Medical Science and Technology Press, 2020: 42, 179.

[6] 刘洁, 卢超, 冯若冰, 等. 一测多评法同时测定牡丹皮中7个成分含量[J]. 中药材, 2023, 46(1): 150-155.
LIU J, LU C, FENG R B, et al. Simultaneous determination of seven components in Cortex Moutan by one test and multiple evaluations[J]. J Chin Med Mater, 2023, 46(1): 150-155.

[7] 李晓艳, 张侠, 张紫微, 等. HPLC双波长切换法同时测定不同产地牡丹皮中芍药苷和丹皮酚的含量[J]. 药品评价, 2022, 19(15): 904-907.
LI X Y, ZHANG X, ZHANG Z W, et al. Detecting the content of paeoniflorin and paeonol in moutan cortex from different origins by HPLC dual-wavelength method[J]. Drug Eval, 2022, 19(15): 904-907.

[8] 王涛, 张慧, 古咸杰, 等. 川芎多波长叠加指纹图谱初步研究[J]. 药物分析杂志, 2017, 37(9): 1648-1653.
WANG T, ZHANG H, GU X J, et al. Preliminary study on the multi-wavelength overlapping HPLC fingerprint of Chuanxiong Rhizoma[J]. Chin J Pharm Anal, 2017, 37(9): 1648-1653.

[9] 高扬, 高晓燕, 张志强. 川芎配方颗粒的制备及量值传递研究[J]. 天津中医药大学学报, 2022, 41(5): 638-643.
GAO Y, GAO X Y, ZHANG Z Q. Study on preparation and law of quality value transmitting of Chuanxiong dispensing granules[J]. J Tianjin Univ Tradit Chin Med, 2022, 41(5): 638-643.

[10] 莫雨佳, 王彦, 齐琪, 等. 经典名方散偏汤 HPLC 指纹图谱的建立及川芎的量值传递研究[J]. 中国中药杂志, 2020, 45(3): 572-578.
MO Y J, WANG Y, QI Q, et al. HPLC fingerprint of famous traditional formula Sanpian decoction and quality value transmitting of Chuanxiong Rhizoma[J]. China J Chin Mater Med, 2020, 45(3): 572-578.

(收稿日期: 2023-07-03 修回日期: 2023-10-18)

(编辑: 唐晓莲)