

本文引用:顾从文,卜超,王学芹,黄保生,韩燕全,洪燕,吴德玲. 复方辛夷滴鼻液的指纹图谱及7种成分含量测定研究[J]. 湖南中医药大学学报, 2022, 42(6): 934-940.

复方辛夷滴鼻液的指纹图谱及7种成分含量测定研究

顾从文^{1,2}, 卜超^{1,2}, 王学芹^{1,2}, 黄保生^{1,2}, 韩燕全^{1*}, 洪燕², 吴德玲²

(1.安徽中医药大学第一附属医院国家中医药管理局中药制剂三级实验室/中药复方安徽省重点实验室/现代药物制剂安徽省工程技术中心,安徽合肥230601;2.安徽中医药大学,安徽合肥230031)

〔摘要〕目的 建立复方辛夷滴鼻液 UPLC 指纹图谱及7种成分含量测定方法,为其质量评价提供依据。方法 采用 Waters Acquity UPLC BEH C₁₈ 色谱柱(2.1 mm×50 mm,1.7 μm),乙腈-0.1%磷酸水为流动相,梯度洗脱,流速 0.2 mL/min,进样量 1 μL,检测波长 230 nm,柱温 30 ℃;在此条件下建立复方辛夷滴鼻液指纹图谱,同时,测定其木兰花碱、芍药苷、黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、木兰脂素和短叶老鹳草素 A 的含量。结果 建立了 10 批复方辛夷滴鼻液的 UPLC 指纹图谱,确定了 16 个共有峰,指认了其中 7 个成分,相似度均大于 0.994;聚类分析可将 10 批样品分为 3 类;正交偏最小二乘判别分析筛选出对样品分类贡献较大的 8 个色谱峰;含量测定结果显示,7 种成分的平均含量为 0.034 3~2.059 8 mg/mL,RSD 值为 7.18%~23.52%。结论 不同批次复方辛夷滴鼻液整体质量较稳定,但批次间部分成分含量存在一定差异;实验建立的指纹图谱及多成分含量测定方法稳定可行,可为复方辛夷滴鼻液的质量评价提供依据。

〔关键词〕 复方辛夷滴鼻液;UPLC;指纹图谱;含量测定;质量控制

〔中图分类号〕R284.1 **〔文献标志码〕**A **〔文章编号〕**doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2022.06.011

Study on fingerprint and content determination of seven components in Compound Xinyi Nasal Drops

GU Congwen^{1,2}, BU Chao^{1,2}, WANG Xueqin^{1,2}, HUANG Baosheng^{1,2}, HAN Yanquan^{1*}, HONG Yan², WU Deling²

(1. The First Affiliated Hospital of Anhui University of Chinese Medicine, Grade Three-level Laboratory of Traditional Chinese Medicine Preparation/Anhui Province Key Laboratory of Chinese Medicinal Formula/Anhui Engineering Technology Research Center of Modernized Pharmaceuticals, Hefei, Anhui 230601, China; 2. Anhui University of Chinese Medicine, Hefei, Anhui 230031, China)

〔Abstract〕 Objective To establish the UPLC fingerprint and determination method of seven components in Compound Xinyi Nasal Drops, and to provide basis for its quality evaluation. **Methods** Waters Acquity BEH C₁₈ column (2.1 mm×50 mm, 1.7 μm) was used with acetonitrile-0.1% phosphoric acid water as mobile phase by gradient elution at a flow rate of 0.2 mL/min. The injection volume was 1 μL; the detection wavelength was 230 nm; the column temperature was 30 ℃. Under these conditions, the fingerprint of Compound Xinyi Nasal Drops was established, and the content levels of magnolflorine, paeoniflorin, baicalin, wogonoside, baicalein, magnolin and brevilin A in the samples were determined. **Results** The UPLC fingerprints of ten batches of Compound Xinyi Nasal Drops were established; sixteen common peaks were identified; seven components were identified, and the similarity of ten batches of samples was greater than 0.994. Hierarchical cluster analysis can divide ten batches of samples into three categories. Eight chromatographic peaks screened by orthogonal partial least squares discrimination analysis and contributed significantly to sample classification. The content determination results showed that the average content of the seven components was 0.034 3~2.059 8 mg/mL, with RSD values ranging from 7.18% to 23.52%. **Conclusion** The overall quality of different batches of

〔收稿日期〕2022-01-08

〔基金项目〕药物制剂技术与应用安徽省重点实验室开放基金(2021KFKT09);安徽省自然科学基金(2108085MH313)。

〔第一作者〕顾从文,女,硕士研究生,研究方向:中药炮制和质量控制。

〔通信作者〕* 韩燕全,男,主任药师,E-mail:hyquan2003@163.com。

Compound Xinyi Nasal Drops is stable, but there are some differences in the content levels of some components between batches. The fingerprint and multi-component determination methods established in the experiment are stable and feasible, which can provide a basis for the quality evaluation of Compound Xinyi Nasal Drops.

[**Keywords**] Compound Xinyi Nasal Drops; UPLC; fingerprint; content determination; quality control

复方辛夷滴鼻液是安徽中医药大学第一附属医院的医院制剂,其剂型为滴鼻剂,主要用于治疗变应性鼻炎。该制剂主要针对“气虚血瘀、邪滞鼻窍”的病机,其处方由辛夷、牡丹皮、酒黄芩、鹅不食草和蝉蜕等组成,具有疏风、清热、凉血燥湿之功效。前期研究表明,复方辛夷滴鼻液具有抗炎、抗菌、抗过敏、镇痛、调节免疫等作用^[1-2],能明显改善变应性鼻炎的鼻痒、鼻塞及流涕等症状,与其他药物联合给药治疗效果更佳^[3-4]。该制剂在安徽中医药大学第一附属医院临床已使用20余年,疗效确切,且未见明显不良反应,已取得制剂注册批准文号(皖药制字Z20080006)。由于复方辛夷滴鼻液申报医院制剂是在2008年之前,申报时该制剂的质量控制指标较单一,主要是控制制剂中的黄芩苷含量,未能体现中药制剂多成分的特点,也难以全面评价其内在质量。因此,需要针对复方辛夷滴鼻液多味中药组成的特点,对其总体质量和多指标含量测定方法进行研究,以提高其质量控制水平。

中药指纹图谱是一种以中药化学成分为基础,运用现代分析方法获得相应可表征中药特征的色谱图、光谱图,进而对中药进行质量控制与评价的重要手段^[5-6]。近年来,研究人员通过指纹图谱结合化学模式识别,如聚类分析(hierarchical cluster analysis, HCA)、主成分分析(principal component analysis, PCA)和正交偏最小二乘判别分析(orthogonal partial least squares discrimination analysis, OPLS-DA)等,对复杂的指纹图谱数据进行信息整合,从而对中药材和中药制剂质量进行更加全面的评价^[7]。基于仪器分析和指纹图谱分析技术的最新进展,本研究采用定性和定量相结合的方法,通过建立复方辛夷滴鼻液的指纹图谱,结合化学模式识别对其质量进行分析,并对该制剂中所含7个指标成分的含量同时进行测定,以期为提高该制剂质量控制水平和进一步开发应用提供依据。

1 主要仪器与试剂

Waters Acquity H-Class 超高液相色谱仪(美国 Waters 公司);电子天平(德国 Sartorius 公司,型号:BP211D);超声仪(江苏昆山超声仪器有限公司,型号:KQ3200D)。乙腈、甲醇为色谱纯(德国 SIGMA 公司);磷酸为分析纯(天津市富宇精细化工有限公

司);屈臣氏蒸馏水;0.22 μm 微孔滤膜(上海安谱实验科技有限公司)。木兰花碱(批号:DST191114-004)、芍药苷(批号:DSTDS007001)、汉黄芩苷(批号:DST201011-026)、黄芩素(批号:DSTDH002401)、木兰脂素(批号:DST170301-041)和短叶老鹳草素 A(批号:DSTDD018801)均购于成都德思特生物科技有限公司。黄芩苷(批号:110715-201318)购于中国食品药品检定研究院。复方辛夷滴鼻液(8 mL/支),由安徽中医药大学第一附属医院制剂中心提供,批号见表1。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

Waters Acquity UPLC BEH C₁₈ 色谱柱(2.1 mm×50 mm, 1.7 μm);流动相为乙腈(A)-0.1%磷酸水溶液(B),梯度洗脱,梯度洗脱程序为3%~16% A(0~4 min),16% A(4~8 min),16%~25% A(8~12 min),25%~30% A(12~15 min),30%~45% A(15~18 min),45%~80% A(18~20 min),80%~100% A(20~22 min),100%~3% A(22~23 min);进样量:1 μL;流速:0.2 mL/min;柱温:30 ℃;检测波长:230 nm。

2.2 供试品溶液的制备

精密吸取1 mL 复方辛夷滴鼻液,置于25 mL 容量瓶中,加甲醇超声(100 W, 40 kHz)混匀,定容至25 mL,测定前在12 000 r/min 离心(离心半径为3 cm)12 min,吸取上清液过0.22 μm 滤膜,获取续滤液作为供试品溶液,备用。

2.3 对照品溶液的制备

精密称取木兰花碱、芍药苷、黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、木兰脂素、短叶老鹳草素 A 对照品适量,分别置于10 mL 容量瓶中,以甲醇溶解至刻度,摇匀,制成对照品母液。分别取7个对照品母液适量,加甲醇制成每1 mL 分别含木兰花碱0.002 04 mg、芍药苷0.012 93 mg、黄芩苷0.066 285 mg、汉黄芩苷0.025 98 mg、黄芩素0.003 9 mg、木兰脂素0.002 048 mg、短叶老鹳草素 A 0.005 6 mg 的混合对照品溶液。

2.4 指纹图谱研究

2.4.1 精密度试验

精密吸取S1号(批号:20200311)供试品溶液,按照“2.1”项下色谱条件连续进样6次,将所得数据导入《中药色谱指纹图谱相似度评价系统》(2004版

A)^[8],计算其相似度大小,结果得出各样品相似度均大于 0.999(中位数),表明符合指纹图谱要求,仪器精密度良好。

2.4.2 稳定性试验 精密吸取 S1 号(批号:20200311)供试品溶液,按照“2.1”项下色谱条件在 0、4、8、12、16、24 h 进样分析测定,获取相应数据并导入相似度评价软件进行评价,计算其相似度,结果表明各指纹图谱相似度均大于 0.999(中位数),表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.4.3 重复性试验 精密吸取 S3 号(批号:20200720)样品 6 份,按照“2.2”项方法制备供试品溶液 6 份,按“2.1”项下色谱条件分别进样 6 次,将所得数据导入《中药色谱指纹图谱相似度评价系统》(2004 版 A),计算其相似度,结果表明各样品相似度均大于 0.999(中位数),表明此方法重复性良好,符合指纹图谱要求。

2.4.4 UPLC 指纹图谱建立及相似度评价 取 10 批复方辛夷滴鼻液,按“2.2”项下制备供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件进行分析,将得到的检测数据导入《中药色谱指纹图谱相似度评价系统》(2004 版 A),通过比较 10 批供试品 UPLC 的检测结果,确定了 16 个共有色谱峰,结果见图 1。以 UPLC 共有模式为对照,对 10 批样品进行相似度评价。结果显示,10 批样品与共有模式的相似度为 0.994~1.000,表明不同批次的复方辛夷滴鼻液相似度较好,详见表 1。

2.4.5 共有峰的指认及相对保留时间和相对峰面积 通过与混合对照品比对,指认了其中 7 个色谱峰,分别为 3 号色谱峰(木兰花碱)、4 号色谱峰(芍

表 1 10 批复方辛夷滴鼻液 UPLC 共有峰的相似度

| 编号 | 批号 | 相似度 |
|-----|----------|-------|
| S1 | 20200311 | 1.000 |
| S2 | 20200509 | 0.998 |
| S3 | 20200720 | 0.994 |
| S4 | 20200916 | 0.997 |
| S5 | 20201119 | 0.999 |
| S6 | 20210223 | 0.996 |
| S7 | 20210421 | 0.998 |
| S8 | 20210514 | 0.997 |
| S9 | 20210708 | 0.999 |
| S10 | 20210915 | 1.000 |

药苷)、7 号色谱峰(黄芩苷)、11 号色谱峰(汉黄芩苷)、13 号色谱峰(黄芩素)、14 号色谱峰(木兰脂素)、16 号色谱峰(短叶老鹳草素 A),结果见图 2。由于黄芩苷的峰面积最大,分离度较好,故选择黄芩苷作为参照,计算其余共有峰的相对保留时间和相对峰面积,结果见表 2 和表 3。结果显示,各共有峰的相对保留时间 RSD 值为 0.04%~0.23%,相对峰面积 RSD 值为 7.82%~28.76%,其中 3、8、14、15 号峰面积差异最大(RSD 值均大于 20%),表明各共有峰出峰时间相对稳定,但不同批次样品各成分含量存在一定差异,在差异最大的色谱峰中已知成分的有 3 号色谱峰(木兰花碱)、14 号色谱峰(木兰脂素)。

2.5 化学模式识别

2.5.1 HCA 以 16 个共有峰的峰面积为变量,用 SIMCA 14.0 软件,对 10 批样品进行聚类分析。聚类分析结果可将 10 批样品大致分为三类,S1、S2、S5 为 I 类;S8、S9、S10 为 II 类;S3、S4、S6、S7 为 III 类,见图 3。不同批次的复方辛夷滴鼻液在聚类上存在一

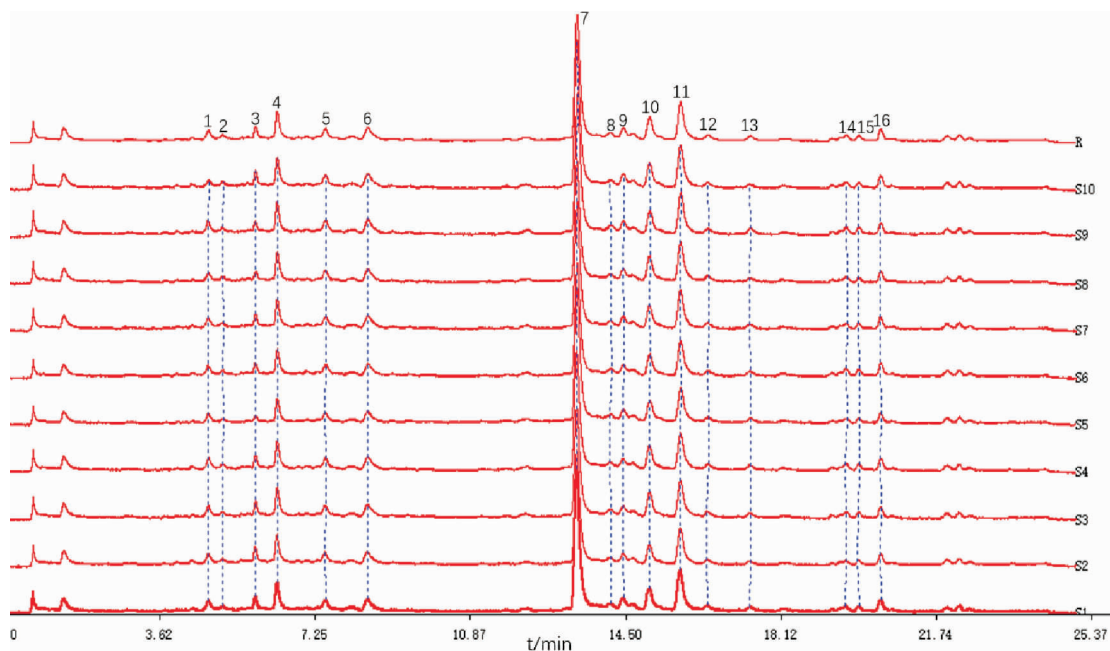


图 1 10 批复方辛夷滴鼻液 UPLC 指纹图谱及共有模式

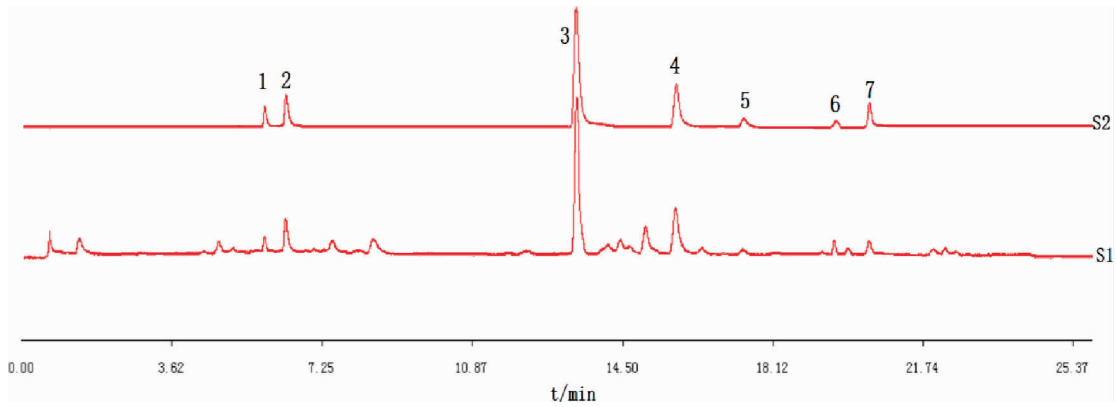


图2 复方辛夷滴鼻液供试品(S1)和对照品(S2)的UPLC色谱图

注:1. 木兰花碱;2. 芍药苷;3. 黄芩苷;4. 汉黄芩苷;5. 黄芩素;6. 木兰脂素;7. 短叶老鹳草素A。

表2 10批复方辛夷滴鼻液UPLC指纹图谱共有峰的相对保留时间

| 峰号 | S1 | S2 | S3 | S4 | S5 | S6 | S7 | S8 | S9 | S10 | 平均值 | RSD/% |
|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 1 | 0.355 | 0.356 | 0.357 | 0.357 | 0.355 | 0.355 | 0.356 | 0.356 | 0.355 | 0.357 | 0.356 | 0.23 |
| 2 | 0.380 | 0.380 | 0.381 | 0.381 | 0.382 | 0.381 | 0.382 | 0.381 | 0.381 | 0.382 | 0.381 | 0.15 |
| 3 | 0.439 | 0.437 | 0.439 | 0.439 | 0.438 | 0.438 | 0.439 | 0.439 | 0.438 | 0.438 | 0.438 | 0.13 |
| 4 | 0.476 | 0.476 | 0.476 | 0.477 | 0.476 | 0.476 | 0.476 | 0.477 | 0.476 | 0.476 | 0.476 | 0.07 |
| 5 | 0.560 | 0.559 | 0.561 | 0.561 | 0.559 | 0.562 | 0.561 | 0.561 | 0.560 | 0.561 | 0.561 | 0.16 |
| 6 | 0.635 | 0.634 | 0.635 | 0.635 | 0.634 | 0.635 | 0.635 | 0.635 | 0.635 | 0.635 | 0.635 | 0.08 |
| 7(S) | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 0.00 |
| 8 | 1.059 | 1.059 | 1.059 | 1.058 | 1.057 | 1.060 | 1.060 | 1.060 | 1.058 | 1.057 | 1.059 | 0.12 |
| 9 | 1.082 | 1.080 | 1.081 | 1.080 | 1.081 | 1.081 | 1.081 | 1.081 | 1.081 | 1.081 | 1.081 | 0.04 |
| 10 | 1.127 | 1.127 | 1.127 | 1.127 | 1.126 | 1.127 | 1.126 | 1.128 | 1.127 | 1.126 | 1.127 | 0.06 |
| 11 | 1.181 | 1.180 | 1.181 | 1.182 | 1.181 | 1.180 | 1.180 | 1.182 | 1.181 | 1.181 | 1.181 | 0.04 |
| 12 | 1.227 | 1.227 | 1.227 | 1.230 | 1.230 | 1.228 | 1.230 | 1.230 | 1.229 | 1.228 | 1.229 | 0.09 |
| 13 | 1.301 | 1.303 | 1.304 | 1.303 | 1.303 | 1.302 | 1.301 | 1.302 | 1.302 | 1.302 | 1.302 | 0.06 |
| 14 | 1.469 | 1.471 | 1.472 | 1.470 | 1.471 | 1.469 | 1.472 | 1.473 | 1.470 | 1.470 | 1.471 | 0.08 |
| 15 | 1.494 | 1.491 | 1.493 | 1.494 | 1.493 | 1.492 | 1.491 | 1.492 | 1.490 | 1.491 | 1.492 | 0.09 |
| 16 | 1.531 | 1.531 | 1.532 | 1.531 | 1.531 | 1.530 | 1.530 | 1.531 | 1.529 | 1.530 | 1.531 | 0.06 |

表3 10批复方辛夷滴鼻液UPLC指纹图谱共有峰的相对峰面积

| 峰号 | S1 | S2 | S3 | S4 | S5 | S6 | S7 | S8 | S9 | S10 | 平均值 | RSD/% |
|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 1 | 0.051 | 0.072 | 0.070 | 0.073 | 0.056 | 0.072 | 0.067 | 0.056 | 0.066 | 0.043 | 0.063 | 16.52 |
| 2 | 0.015 | 0.024 | 0.021 | 0.023 | 0.020 | 0.017 | 0.021 | 0.029 | 0.022 | 0.023 | 0.021 | 18.20 |
| 3 | 0.045 | 0.071 | 0.068 | 0.059 | 0.025 | 0.051 | 0.049 | 0.038 | 0.038 | 0.049 | 0.049 | 28.76 |
| 4 | 0.123 | 0.154 | 0.172 | 0.142 | 0.124 | 0.136 | 0.140 | 0.147 | 0.143 | 0.126 | 0.141 | 10.53 |
| 5 | 0.057 | 0.069 | 0.075 | 0.063 | 0.052 | 0.077 | 0.060 | 0.068 | 0.064 | 0.056 | 0.064 | 13.09 |
| 6 | 0.113 | 0.136 | 0.160 | 0.164 | 0.117 | 0.156 | 0.134 | 0.158 | 0.128 | 0.125 | 0.139 | 13.75 |
| 7(S) | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 0.00 |
| 8 | 0.024 | 0.035 | 0.055 | 0.039 | 0.035 | 0.044 | 0.039 | 0.032 | 0.041 | 0.032 | 0.038 | 22.15 |
| 9 | 0.055 | 0.049 | 0.058 | 0.045 | 0.049 | 0.058 | 0.055 | 0.057 | 0.054 | 0.051 | 0.053 | 8.26 |
| 10 | 0.165 | 0.178 | 0.234 | 0.218 | 0.162 | 0.226 | 0.198 | 0.228 | 0.181 | 0.187 | 0.198 | 13.66 |
| 11 | 0.309 | 0.339 | 0.367 | 0.335 | 0.277 | 0.357 | 0.348 | 0.354 | 0.327 | 0.327 | 0.334 | 7.82 |
| 12 | 0.033 | 0.038 | 0.050 | 0.054 | 0.034 | 0.053 | 0.045 | 0.049 | 0.039 | 0.033 | 0.043 | 19.21 |
| 13 | 0.029 | 0.033 | 0.039 | 0.045 | 0.029 | 0.047 | 0.040 | 0.039 | 0.036 | 0.030 | 0.037 | 17.18 |
| 14 | 0.020 | 0.024 | 0.039 | 0.038 | 0.025 | 0.039 | 0.025 | 0.032 | 0.028 | 0.025 | 0.030 | 23.61 |
| 15 | 0.024 | 0.028 | 0.039 | 0.040 | 0.031 | 0.056 | 0.033 | 0.026 | 0.036 | 0.029 | 0.034 | 26.94 |
| 16 | 0.058 | 0.075 | 0.088 | 0.076 | 0.063 | 0.088 | 0.067 | 0.064 | 0.060 | 0.066 | 0.071 | 15.39 |

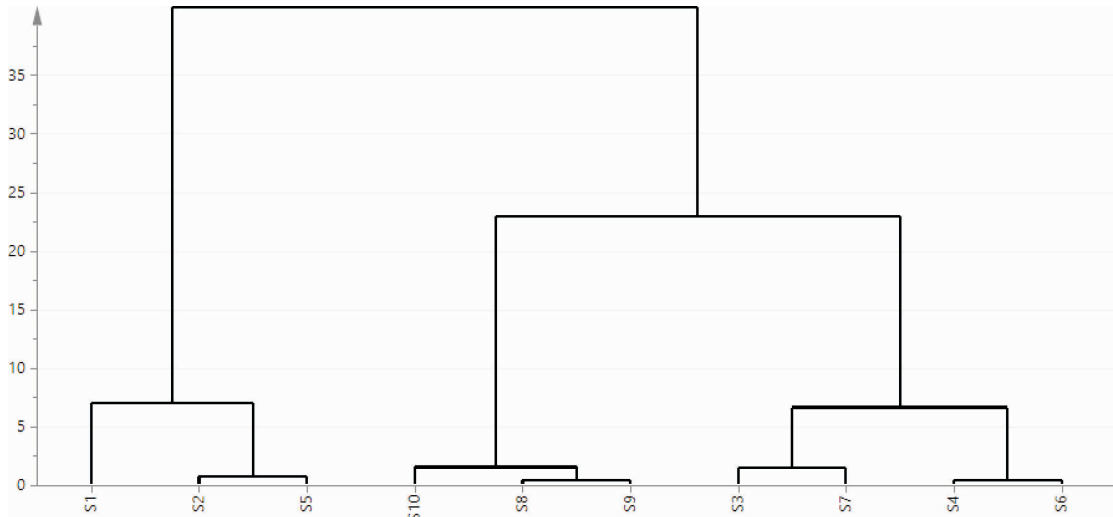


图 3 10 批复方辛夷滴鼻液聚类分析结果树状图

定的差异,但是总体差异并无规律,可能与不同批号制剂的饮片来源批次、提取和制剂制备过程以及储存时间长短等因素有关。

2.5.2 OPLS-DA 为进一步分析复方辛夷滴鼻液之间的差异,以 16 个共有峰峰面积为变量,采用 OPLS-DA 对其进行分析,结果见图 4。OPLS-DA 分析结果显示,10 批样品大致可分为 3 类,该结果与聚类分析结果一致,见图 4A。通过变量值重值(variable importance in projection, VIP)评价法对不同

批次样品的共有峰进行分析,从而筛选出对 10 批复方辛夷滴鼻液分类贡献较大的成分,结果见图 4B。当 VIP 值大于 1 时,表示该成分对组间分类贡献较大。VIP 值大于 1 的共有峰有 8 个,其值按大小依次为 11 号(汉黄芩苷)、10 号、14 号(木兰脂素)、9 号、12 号、7 号(黄芩苷)、6 号、13 号(黄芩素)色谱峰,这些色谱峰对不同批次复方辛夷滴鼻液的分类贡献较大,所代表的成分是该制剂的主要差异性成分。

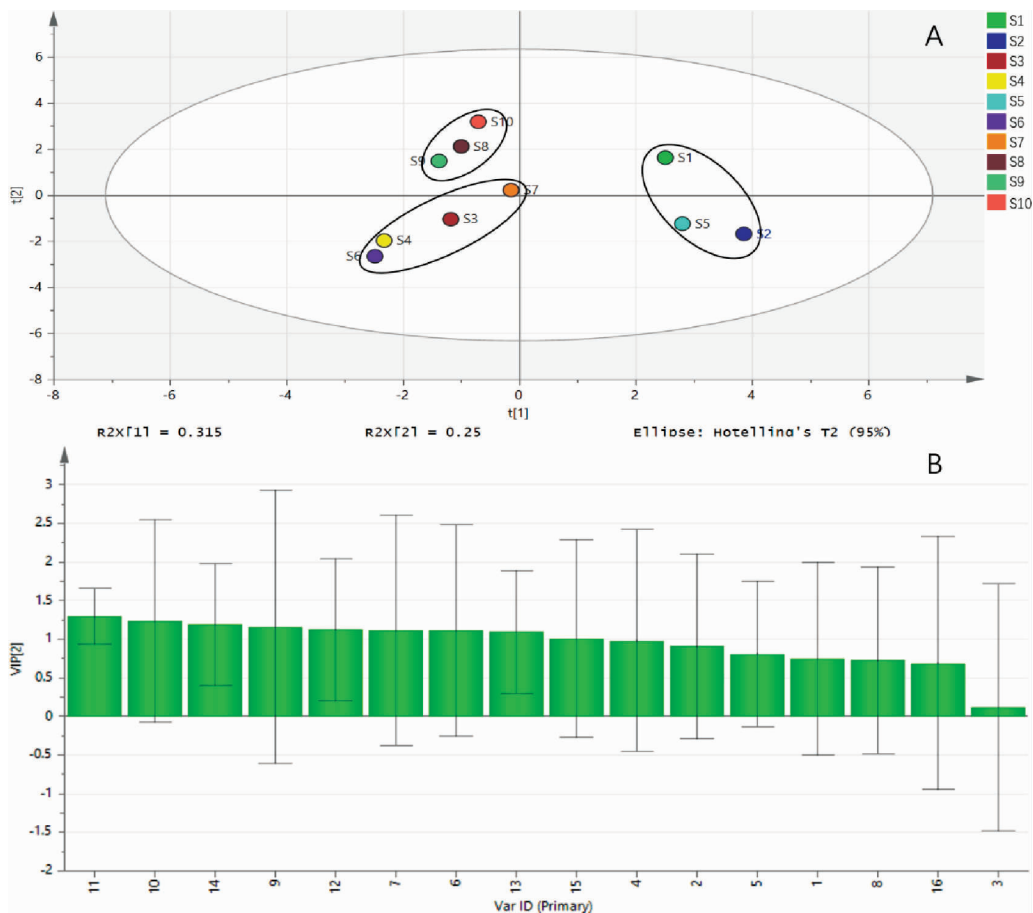


图 4 10 批复方辛夷滴鼻液的 OPLS-DA 分析图(A)和 VIP 值图(B)

2.6 含量测定

2.6.1 色谱条件 流动相比比例和梯度洗脱程序同“2.1”项下条件,在此色谱条件下进样测定,各成分理论塔板数按木兰花碱计均大于5000,色谱分离度均大于1.5,表明系统适用性符合相关要求。

2.6.2 线性关系考察 分别精密吸取混合对照品溶液0.5、1、2、3、4、5 μL 依次进样,按“2.1”项方法检测,测定峰面积。分别以木兰花碱、芍药苷、黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、木兰脂素和短叶老鹳草素A进样量为横坐标(x),以峰面积为纵坐标(y)拟合线性回归,绘制标准曲线,计算回归方程,结果见表4。

表4 7种成分的线性回归方程

| 成分 | 回归方程 | r 值 | 线性范围($\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$) |
|---------|----------------------|---------|----------------------------------------|
| 木兰花碱 | $y=307.24x-13.076$ | 0.999 7 | 0.001~0.010 |
| 芍药苷 | $y=562.20x-20.724$ | 0.999 7 | 0.006~0.065 |
| 黄芩苷 | $y=349.180x-177.502$ | 0.999 5 | 0.033~0.331 |
| 汉黄芩苷 | $y=124.991x-44.484$ | 0.999 5 | 0.013~0.130 |
| 黄芩素 | $y=27.854x-11.060$ | 0.999 8 | 0.002~0.020 |
| 木兰脂素 | $y=12.769x-5.676.5$ | 0.999 7 | 0.001~0.010 |
| 短叶老鹳草素A | $y=41.920x-16.295$ | 0.999 6 | 0.003~0.028 |

2.6.3 精密度实验 精密吸取混合对照品溶液1 μL ,连续进样6次,测定峰面积,木兰花碱、芍药苷、黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、木兰脂素、短叶老鹳草素A的峰面积RSD值分别为1.64%、2.06%、0.93%、2.60%、2.41%、1.99%、2.42%,表明仪器精密度良好。

2.6.4 稳定性试验 精密吸取S1号(批号:20200311)供试品溶液,按照“2.1”项下色谱条件在0、4、8、12、16、24 h进样分析测定峰面积,计算RSD值,结果显示木兰花碱、芍药苷、黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、木兰脂素、短叶老鹳草素A峰面积的RSD值分别为2.37%、2.43%、1.56%、2.67%、3.85%、2.86%、2.92%,

表明供试品溶液在24 h内稳定性良好。

2.6.5 重复性实验 精密吸取S3号(批号:20200720)样品6份,按照“2.2”项下样品制备方法制备供试品溶液,按“2.1”项色谱条件下进样测定,测定峰面积,结果显示木兰花碱、芍药苷、黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、木兰脂素、短叶老鹳草素A峰面积的RSD值分别为2.42%、2.44%、2.61%、2.77%、2.41%、2.64%、2.36%,表明供试品制备的重复性良好。

2.6.6 加样回收率实验 精密吸取S6号(批号:20210223)样品6份,分别精密加入与样品中成分含量接近的对照品,混合均匀,按照“2.2”项方法制备供试品溶液,按“2.1”项色谱条件进样,进样量1 μL ,计算得到木兰花碱、芍药苷、黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、木兰脂素、短叶老鹳草素A平均回收率分别为97.77%、98.53%、99.63%、99.49%、98.20%、99.44%、99.21%,RSD值分别为2.38%、2.13%、1.04%、2.64%、2.49%、2.01%、2.52%,表明该方法准确可靠。

2.6.7 含量测定 将供试品溶液分别取1 μL ,在“2.1”项色谱条件下进样,如图2所示,各成分分离度较高,通过外标法对木兰花碱、芍药苷、黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、木兰脂素和短叶老鹳草素A的含量进行计算,如表5所示。结果显示10批复方辛夷滴鼻液中各成分含量RSD值为7.18%~23.52%,其中芍药苷、黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素和短叶老鹳草素A含量RSD值均小于12%;木兰花碱和木兰脂素含量RSD值较大,分别为16.87%、23.52%,表明不同批次的复方辛夷滴鼻液各成分含量存在一定差异,但整体含量较为接近,其中含量差异较大的是木兰花碱和木兰脂素。造成这种差异的原因可能为不同批次制剂生产药材本身成分含量有一定差异,此外,该制剂为水提醇沉工艺,而辛夷中多含挥发性成分,制备和储藏过程会对其含量产生一定的影响。

表5 10批复方辛夷滴鼻液中7种成分含量测定结果($\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$)

| 编号 | 木兰花碱 | 芍药苷 | 黄芩苷 | 汉黄芩苷 | 黄芩素 | 木兰脂素 | 短叶老鹳草素A |
|-------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| S1 | 0.036 4 | 0.345 6 | 2.339 3 | 0.820 2 | 0.057 6 | 0.035 8 | 0.088 9 |
| S2 | 0.044 9 | 0.337 9 | 1.838 6 | 0.706 7 | 0.051 8 | 0.032 8 | 0.091 2 |
| S3 | 0.041 8 | 0.366 8 | 1.785 7 | 0.742 5 | 0.059 3 | 0.052 3 | 0.103 1 |
| S4 | 0.039 4 | 0.328 2 | 1.930 1 | 0.733 3 | 0.073 0 | 0.054 9 | 0.095 9 |
| S5 | 0.018 6 | 0.323 2 | 2.182 7 | 0.686 3 | 0.054 4 | 0.041 2 | 0.091 1 |
| S6 | 0.032 0 | 0.296 4 | 1.815 4 | 0.734 6 | 0.072 0 | 0.054 1 | 0.105 6 |
| S7 | 0.034 7 | 0.347 6 | 2.069 7 | 0.817 2 | 0.069 3 | 0.039 7 | 0.091 1 |
| S8 | 0.026 0 | 0.350 7 | 1.989 9 | 0.798 0 | 0.066 0 | 0.048 3 | 0.083 8 |
| S9 | 0.029 0 | 0.383 1 | 2.241 8 | 0.831 3 | 0.068 9 | 0.046 7 | 0.088 9 |
| S10 | 0.040 6 | 0.364 0 | 2.404 4 | 0.890 3 | 0.060 5 | 0.045 8 | 0.104 4 |
| 平均值 | 0.034 3 | 0.344 3 | 2.059 8 | 0.776 0 | 0.063 3 | 0.045 2 | 0.094 4 |
| SD | 0.008 1 | 0.024 7 | 0.223 8 | 0.064 8 | 0.007 6 | 0.007 6 | 0.007 5 |
| RSD/% | 23.52 | 7.18 | 10.86 | 8.35 | 11.93 | 16.87 | 7.97 |

3 讨论

复方辛夷滴鼻液由辛夷、牡丹皮、酒黄芩、鹅不食草和蝉蜕等中药组成。辛夷的主要药效成分是木兰脂素与木兰花碱^[9-10];牡丹皮中含量较高的成分芍药苷具有抗过敏、抗炎、抗凝血等作用^[11-12];黄芩中重要药效成分有黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素,近几年药理研究发现,黄芩素可增强免疫功能,黄芩苷、黄芩素可提高血管通透性,缓解炎症反应症状^[13-14];鹅不食草的主要有效成分是短叶老鹳草素 A,且含量较高^[15]。因此,本研究同时测定木兰花碱、芍药苷、黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、木兰脂素和短叶老鹳草素 A 7 个活性成分,有助于复方辛夷滴鼻液的质量评价。

本研究对色谱条件进行了优化,以色谱峰分离度、响应值、基线的平稳度等为考察因素,考察了甲醇-水,乙腈-水,乙腈-0.1%磷酸水等流动相体系;同时考察了 254、274、280、230 nm 等不同检测波长及 0.20、0.25、0.30、0.35 mL/min 等不同流速。最终,选择流动相乙腈-0.1%磷酸水、检测波长 230 nm、流速 0.2 mL/min 作为最佳色谱条件。

中药指纹图谱可通过综合各种有效化学信息和相似度评价,并结合化学模式识别进一步分析中药质量,有助于中药质量标准的建立。因此,本文建立了复方辛夷滴鼻液 UPLC 指纹图谱,在 10 批样品中共标定了 16 个共有峰,指认了其中的 7 个色谱峰,相似度均大于 0.994,表明各批样品所含成分相似。通过 HCA 和 OPLS-DA 分析发现,10 批复方辛夷滴鼻液大致分为 3 类,不同批次的复方辛夷滴鼻液在聚类上存在一定的差异,但是总体差异并无规律,可能与不同批号制剂的饮片来源批次、提取和制剂制备过程以及储存时间长短等因素有关。结合 VIP 评分法筛选出 8 个差异性成分并指认出汉黄芩苷、木兰脂素、黄芩苷、黄芩素 4 个成分。

含量测定结果显示,10 批复方辛夷滴鼻液中 7 种成分含量 RSD 值为 7.18%~23.52%,其中木兰花碱和木兰脂素含量 RSD 值大于 16%,其他成分 RSD 值均小于 12%,表明不同批次的复方辛夷滴鼻液各成分含量存在一定差异,但整体含量较为接近,其中木兰花碱和木兰脂素含量差异最大,其他成分含量差异相对较小。峰面积分析结果与含量测定结果一致。造成这两种成分含量差异最大的原因可能为:不同批次制剂生产药材本身受生长条件、采集时间等因素影响,成分含量存在一定差异^[16-17]。此外,该制剂采用水提醇沉工艺进行制备,而辛夷中多含挥发性成分,制备和储藏过程会对其含量产生一定的影响^[18-19]。

本研究建立了复方辛夷滴鼻液的指纹图谱,并

同时测定木兰花碱、芍药苷、黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、木兰脂素和短叶老鹳草素 A 7 种成分的含量,可以为该制剂的质量评价提供依据,但制剂中动物药蝉蜕相关成分的定性及定量分析还有待进一步研究。

参考文献

- [1] 齐心愿.复方辛夷滴鼻液对变应性鼻炎患者外周血 CD34⁺细胞和嗜酸性粒细胞的影响[J].中医药临床杂志,2014,26(3):229-230.
- [2] 吴飞虎,宋任洁,喻琦,等.复方辛夷滴鼻液对变应性鼻炎大鼠鼻腔灌洗液中细胞因子 IL-4、IL-13、INF- γ 、TSLP 含量及鼻黏膜 TSLP 影响[J].辽宁中医药大学学报,2019,21(3):44-47.
- [3] 宋若会,高士俊,许春华,等.滴鼻灵滴鼻对变应性鼻炎患者血清白细胞介素的影响[J].中国中西医结合耳鼻喉科杂志,2006,14(5):278-280.
- [4] 孙先琳,刘华君,伏伶,等.复方辛夷滴鼻液联合氯雷他定治疗儿童变应性鼻炎的疗效及对患儿免疫功能指标的影响[J].现代生物医学进展,2019,19(3):482-485.
- [5] 刘东方,赵丽娜,李银峰,等.中药指纹图谱技术的研究进展及应用[J].中草药,2016,47(22):4085-4094.
- [6] 罗艳,柯雪红,黄可儿,等.指纹图谱结合化学计量学评价及鉴别广陈皮与陈皮[J].中药新药与临床药理,2018,29(1):47-53.
- [7] 粟倩,唐洁,张鹏,等.妇科千金胶囊与妇科千金片指纹图谱的建立及其比较分析[J].湖南中医药大学学报,2021,41(8):1197-1203.
- [8] 唐清,匡艳辉,李雯珊,等.基于指纹图谱和一测多评(QAMS)法的丹红化瘀口服液质量评价研究[J].中草药,2022,53(6):1663-1670.
- [9] 杨光.基于物质基础表征与新型化学模式识别方法的辛夷质量控制与药物动力学研究[D].上海:第二军医大学,2017.
- [10] 渠亚蓉,胡静,周琪,等.辛夷、辛夷仁和辛夷外苞片中非挥发性成分比较[J].中成药,2021,43(9):2576-2580.
- [11] 王军,张雨凤,方成武,等.趁鲜加工对凤丹皮的适用性研究[J].中国现代中药,2016,18(8):1039-1041,1047.
- [12] 宗伟,闫春英,张蓉.芍药苷在溃疡性结肠炎中通过靶向 NF- κ B 信号通路调控 Th17/Treg 平衡[J].山西医科大学学报,2022,53(2):192-201.
- [13] 龚发萍,郑鸣.黄芩的化学成分及药理作用[J].临床合理用药杂志,2021,14(34):176-178.
- [14] 侯阿美,刘健,郭锦晨,等.黄芩清热除痹胶囊改善 RA 患者 SOD 及免疫炎症血液指标的临床研究[J].锦州医科大学学报,2019,40(1):12-16,117.
- [15] 任海琴,吕秋月,彭玉德,等.HPLC/UV 测定鹅不食草中五种倍半萜内酯成分含量[J].中国现代中药,2019,21(5):616-621.
- [16] 王海燕,刘斌.一测多评法测定不同产地牡丹皮中 5 种有效成分的含量[J].中国药品标准,2021,22(6):577-582.
- [17] 连赟芳.基于 HPLC 指纹图谱与多元统计法的黄芩质量评价研究[J].福建中医药,2021,52(10):23-26.
- [18] HU M, BAI M, YE W, et al. Variations in Volatile Oil Yield and Composition of "Xin-yi" (*Magnolia biondii* Pamp. Flower Buds) at Different Growth Stages[J]. Journal of Oleo Science, 2018, 67(6): 779-787.
- [19] 廖鹏飞,王亚杰,郝单丽,等.辛夷标准汤剂质量标准研究[J].中国中医药信息杂志,2020,27(3):53-56.