

基于 HPLC 指纹图谱和多成分含量测定的苏合香丸质量评价研究*

易静¹, 刘德慧², 杨蓉¹, 杜鹏飞¹, 孙文霞¹, 任静^{1**}

(1. 成都大学药学院 四川省药物制剂及装备工程技术研究中心, 成都 610050;

2. 成都九芝堂金鼎药业有限公司, 成都 610100)

摘要 目的:建立温通开窍药苏合香丸高效液相色谱指纹图谱以及同时测定没食子酸、胡椒碱、木香烯内酯、丁香酚和肉桂酸 5 个成分含量的方法,为苏合香丸质量控制方法提供参考。**方法:**采用 Swell Chromplus C₁₈ 色谱柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm),以甲醇(A) - 0.05% 磷酸水溶液(B)为流动相,梯度洗脱,流速 1.0 mL · min⁻¹,检测波长 220 nm,柱温 30 °C,对 15 批苏合香丸进样分析;采用“中药指纹图谱相似度评价系统”生成对照指纹图谱,并进行相似度分析,结合聚类分析、主成分分析进行评价。**结果:**建立苏合香丸指纹图谱,15 批样品的相似度均大于 0.9。共标定了 13 个共有峰,并指认了没食子酸、肉桂酸、丁香酚、胡椒碱、木香烯内酯 5 个成分,并建立 5 个成分的含量测定方法,测定其含量分别为 2.506 ~ 3.652 mg · g⁻¹、0.666 ~ 0.876 mg · g⁻¹、3.834 ~ 5.140 mg · g⁻¹、0.884 ~ 1.306 mg · g⁻¹和 19.908 ~ 55.704 mg · g⁻¹。采用聚类分析将 15 批苏合香丸分为 4 类,主成分分析筛选出 3 个主成分,累计方差贡献率为 76.102%,说明主成分可包含原有数据的绝大部分信息。**结论:**建立的苏合香丸指纹图谱及多成分含量测定方法稳定、可靠,可为苏合香丸的质量控制及临床应用提供参考。

关键词:苏合香丸;指纹图谱;含量测定;聚类分析;主成分分析;多元统计分析

中图分类号: R 917 文献标识码: A 文章编号: 0254 - 1793(2024)09 - 1551 - 09

doi: 10.16155/j.0254 - 1793.2024 - 0224

Quality evaluation of Suhexiang pills by HPLC fingerprint and multi - component quantitative analysis*

YI Jing¹, LIU De - hui², YANG Rong¹,
DU Peng - fei¹, SUN Wen - xia¹, REN Jing^{1**}

(1. School of Pharmacy, Chengdu University, Sichuan Pharmaceutical Preparation and Equipment Engineering Technology Research Center, Chengdu 610050, China; 2. Chengdu Jiuzhitang Jinding Pharmaceutical Co., Ltd., Chengdu 610100, China)

Abstract Objective: To establish the HPLC fingerprint of Suhexiang pills and determine the contents of gallic acid, piperine, costunolide, eugenol and cinnamic acid simultaneously, and to provide reference for the quality control method of Suhexiang pills. **Methods:** The separation was performed on a Swell Chromplus C₁₈ column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) with methanol (A) - 0.05% phosphoric acid solution (B) as the mobile phase at a flow rate of 1.0 mL · min⁻¹. The detection wavelength was 220 nm and the column temperature was 30 °C.

* 青藏高原民族药用资源保护与利用实验室开放基金项目(QTPEM2301)

** 通信作者 Tel:(028)84216070;E-mail:renjing98@tom.com

第一作者 Tel:(028)84216071;E-mail:645980201@qq.com

Fifteen batches of Suhexiang pills were analyzed. The “Traditional Chinese Medicine Fingerprint Similarity Evaluation System” was used to establish the reference fingerprint and the similarity analysis was evaluated in combination with cluster analysis and principal component analysis. **Results:** The fingerprint of Suhexiang pills was established, and the similarities of 15 batches of samples were above 0.9. Thirteen common peaks were identified, and five components including gallic acid, cinnamic acid, eugenol, piperine and costunolide were identified. The contents of the five components were $2.506 - 3.652 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, $0.666 - 0.876 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, $3.834 - 5.140 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, $0.884 - 1.306 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ and $19.908 - 55.704 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, respectively. Using cluster analysis, 15 batches of Suhexiang pills were divided into four categories. Three principal components were selected, and the cumulative variance contribution rate was 76.102%, indicating that the principal components could contain most of the information of the original data. **Conclusion:** The fingerprint and multi-component content determination method of Suhexiang pills are stable and reliable, which can provide reference for the quality control and clinical application of Suhexiang pills.

Keywords: Suhexiang pills; fingerprint; content determination; cluster analysis; principal component analysis; multivariate statistical analysis

苏合香丸为著名的温通开窍药,其用药历史悠久,最早见于唐·《玄宗开元广济方》,原名“吃力伽(白术丸)”,后来的《千金要方》和《外台秘要》均有记载^[1],是中医临床抢救急危重症的有效药物,国家重点新药冠心苏合丸、麝香保心丸都是在其处方基础上精简研制而成。苏合香丸由苏合香、安息香、冰片、水牛角浓缩粉、人工麝香、檀香、沉香、丁香、香附、木香、乳香(制)、萹芩、白术、诃子肉、朱砂等 15 味药材配伍组成^[2],其中苏合香、安息香共为君药,辟秽化痰、通行气血;木香、白檀香、沉香、乳香、丁香、香附为臣药,助行气解郁、散寒止痛、辟秽化浊、活血化痰。诸药相合共奏行气开窍、温中止痛之功,临床上用于痰迷心窍所致的痰厥昏迷、中风偏瘫、肢体不利,以及中暑、心胃气痛^[3],有关研究指出在中风、新型冠状病毒感染、脑梗死、突发性耳聋、动脉硬化等疾病方面有确切疗效^[4-11]。

目前 2020 年版《中华人民共和国药典》仅采用气相色谱法对苏合香丸中的龙脑和丁香酚进行含量测定,而中药指纹图谱技术的信息量大,特征性强,能够更科学地显示中药质量控制标准的整体性与模糊性^[12-14]。故本研究拟建立苏合香丸的 HPLC 指纹图谱,并采用化学计量学分析方法比较不同样品中化学成分的差异^[15-19],分析影响苏合香丸质量的主要色谱峰,同时建立了苏合香丸中 5 个活性成分的含量测定方法,以期为苏合香丸的质量控制提供参考。

1 仪器与试剂

1.1 试剂

苏合香丸 15 批,批号分别为 230601、230602、230603、230604、230701、230702、230703、230704、230801、230802、230803、231001、231002、231003 和 231004,规格为 $3 \text{ g} \cdot \text{丸}^{-1}$,均由成都九芝堂金鼎药业有限公司提供。对照品肉桂酸(含量 99.96%,批号 21032206)、丁香酚(含量 99.15%,批号 23033107)购自成都普菲德生物技术有限公司;胡椒碱(含量 98%,批号 23033101)、木香炔内酯(含量 98%,批号 23031307)购自成都康邦生物科技有限公司;没食子酸(含量 91.5%,批号 110831-201906)购自中国食品药品检定研究院。HPLC 级甲醇、分析纯磷酸、硅藻土等均由成都市科隆化学品有限公司提供;水为超纯水,自制。

1.2 仪器

Waters 2695 型高效液相色谱仪,Waters Empower 色谱工作站;普利赛斯 ES225SM-DR(E) 十万分之一电子天平;赛多利斯 BS224S 万分之一电子天平;KQ-300E 型超声清洗仪;上海安亭 TGL-16G 台式高速离心机。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

采用 Swell Chromplus C_{18} ($250 \text{ mm} \times 4.6 \text{ mm}$, $5 \mu\text{m}$) 色谱柱,以甲醇为流动相 A,以 0.05% 磷酸水溶液流动相 B,梯度洗脱(0 ~ 15 min, 5% A → 20% A;

15 ~ 40 min, 20% A → 45% A; 40 ~ 70 min, 45% A → 85% A; 70 ~ 80 min, 85% A → 5% A; 80 ~ 85 min, 5% A), 流速 1.0 mL · min⁻¹, 检测波长 220 nm, 进样体积 5 μL, 柱温 30 °C。

2.2 对照品储备溶液制备

分别取没食子酸、肉桂酸、丁香酚、胡椒碱、木香烯内酯的对照品适量, 精密称定, 置量瓶中, 加 80% 甲醇水制成质量浓度分别为 1.169、1.035、1.052、1.021、4.998 mg · mL⁻¹ 的对照品储备溶液。

2.3 供试品溶液制备

取苏合香丸 10 丸, 精密称定, 剪碎, 取 3 g, 精密称定, 加入硅藻土 3 g, 研匀, 移至具塞锥形瓶中, 加入 80% 甲醇水 50 mL, 称量, 超声 (功率 300 W, 频率 40 kHz) 处理 15 min, 取出放冷, 再称量, 用 80% 甲醇水补足减失的量, 摇匀, 10 000 r · min⁻¹ 离心 5 min, 取上清液用 0.45 μm 有机微孔滤膜滤过, 取滤液, 即得。

2.4 指纹图谱方法学考察

2.4.1 精密度试验 取苏合香丸 (批号 230702), 按“2.3”项下方法制备供试品溶液, 按“2.1”项下条件连续进样 6 针, 记录色谱图。以没食子酸峰 (2 号峰) 为参照峰, 计算各共有峰的相对保留时间 (relative retention time, RRT) 和相对峰面积 (relative common peak area, RPA) 的 RSD。各共有峰 RRT 的 RSD 为 0.14%~0.19%, RPA 的 RSD 为 0.20%~2.5%, 均 <

3.0%, 表明仪器精密度良好。

2.4.2 稳定性试验 取苏合香丸 (批号 230702), 按“2.3”项下方法制备供试品溶液, 按“2.1”项下条件分别在 0、4、6、8、12 h 进样分析, 记录色谱图。以没食子酸色谱峰为参照峰, 计算得各共有峰的 RRT 及 RPA 的 RSD 分别为 0.20%~0.38% 和 0.35%~2.9%, 均 <3%, 表明供试品溶液在室温条件下 12 h 内稳定性良好。

2.4.3 重复性试验 取苏合香丸 (批号 230702), 按“2.3”项下方法平行制备供试品溶液 6 份, 按“2.1”项下条件进样分析, 记录色谱图。以没食子酸色谱峰为参照峰, 计算得各共有峰的 RRT 及 RPA 的 RSD 分别为 0.070%~0.15% 和 0.46%~2.5%, 表明所建方法的重复性良好。

2.5 指纹图谱建立

2.5.1 多批次样品色谱图及共有峰 取 15 批苏合香丸, 按“2.3”项下方法制备苏合香丸供试品溶液, 按“2.1”项下色谱条件进样检测, 采用“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”2012 版, 以 S1 为参照图谱, 时间窗宽度为 0.1, 通过多点校正、Mark 峰匹配, 得 15 批苏合香丸指纹图谱共有模式及对照图谱, 见图 1、2 和表 1。匹配后标定了 13 个共有峰, 经过与对照品谱图及保留时间对比指认出 5 个色谱峰 (见表 2), 分别为 2 号峰没食子酸、7 号峰肉桂酸、8 号峰丁香酚、10 号峰胡椒碱、11 号峰木香烯内酯。

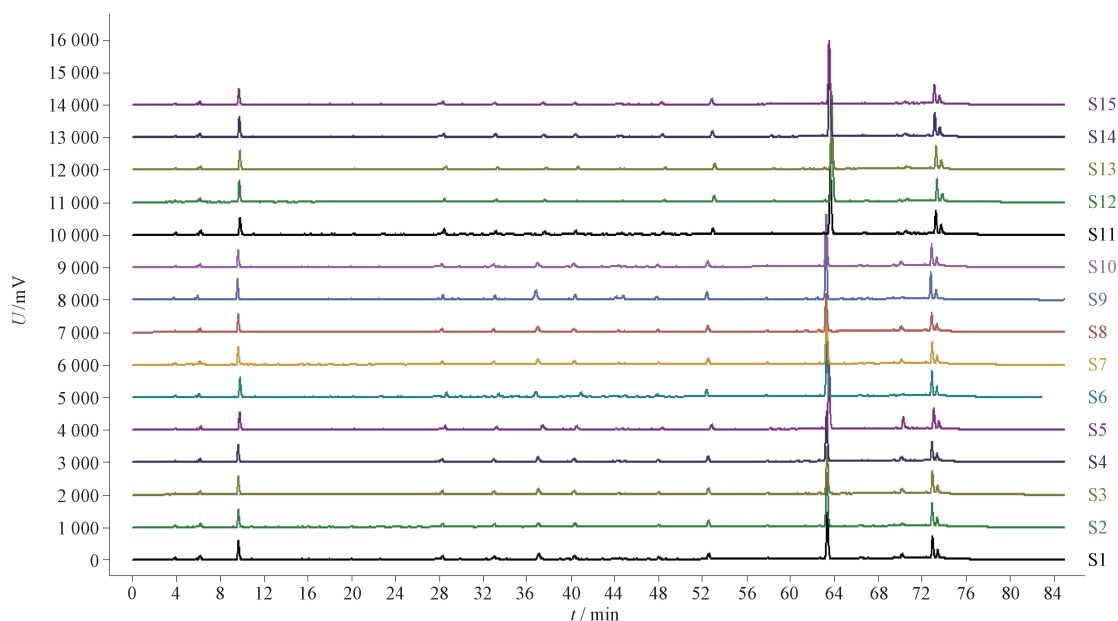
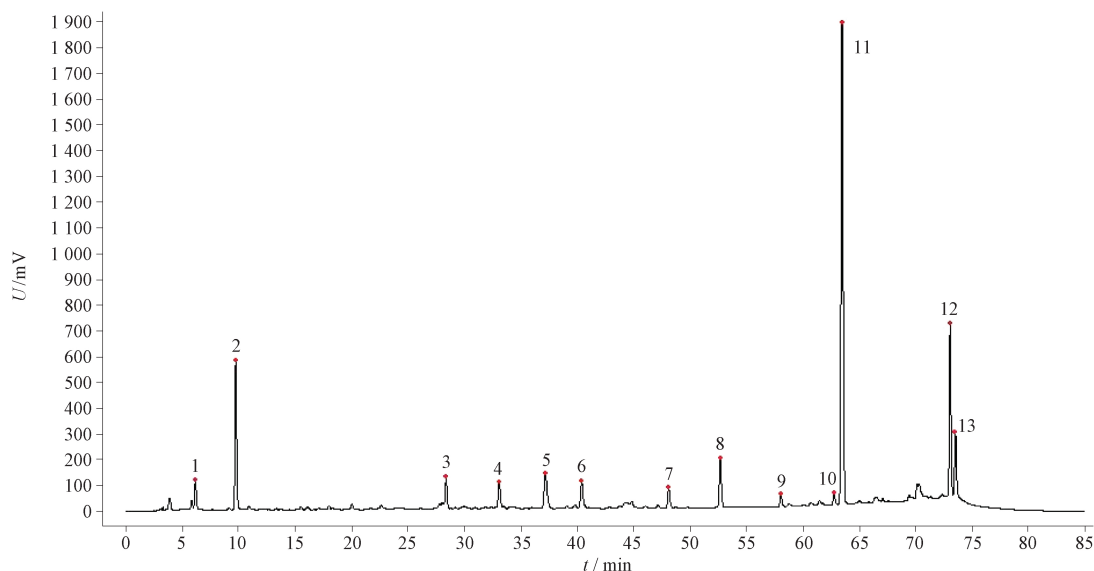


图 1 15 批苏合香丸 HPLC 色谱叠加谱

Fig. 1 Overlay HPLC chromatograms of 15 batches of Suhexiang pills



2. 没食子酸 (gallic acid) 7. 肉桂酸 (cinnamic acid) 8. 丁香酚 (eugenol) 10. 胡椒碱 (piperine) 11. 木香炔内酯 (costunolide)

图2 苏合香丸 HPLC 指纹图谱共有模式图

Fig. 2 Common pattern of HPLC fingerprints of Suhexiang pills

表1 15批苏合香丸共有峰的 RRT

Tab. 1 RRT of 15 batches of Suhexiang pills

共有峰号 (common peak No.)	RRT														
	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13	S14	S15
1	0.621	0.622	0.621	0.621	0.587	0.620	0.621	0.621	0.621	0.620	0.632	0.629	0.631	0.631	0.631
2	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
3	2.944	2.925	2.945	2.946	2.947	2.942	2.944	2.944	2.946	2.944	2.886	2.906	2.907	2.900	2.906
4	3.435	3.415	3.437	3.438	3.439	3.434	3.437	3.436	3.438	3.436	3.362	3.387	3.387	3.381	3.389
5	3.826	3.811	3.827	3.826	3.826	3.828	3.829	3.828	3.826	3.827	3.813	3.840	3.835	3.830	3.839
6	4.194	4.167	4.195	4.196	4.197	4.189	4.193	4.193	4.197	4.192	4.101	4.135	4.130	4.125	4.138
7	4.967	4.943	4.970	4.970	4.970	4.967	4.970	4.968	4.970	4.968	4.911	4.951	4.937	4.936	4.952
8	5.444	5.416	5.447	5.448	5.448	5.444	5.446	5.446	5.448	5.444	5.373	5.420	5.400	5.402	5.422
9	6.003	5.972	6.008	6.008	6.009	6.003	6.005	6.005	6.008	6.004	5.917	5.970	5.942	5.948	5.969
10	6.484	6.450	6.490	6.490	6.490	6.481	6.485	6.484	6.491	6.485	6.392	6.448	6.414	6.424	6.449
11	6.570	6.534	6.576	6.576	6.577	6.568	6.572	6.570	6.578	6.571	6.462	6.519	6.484	6.496	6.521
12	7.559	7.516	7.564	7.564	7.565	7.550	7.558	7.558	7.569	7.560	7.436	7.494	7.452	7.474	7.505
13	7.608	7.564	7.612	7.613	7.613	7.598	7.606	7.606	7.618	7.605	7.484	7.544	7.500	7.521	7.553

2.5.2 相似度评价 以对照图谱为参照,对15批苏合香丸指纹图谱进行相似度评价,结果15批样品的相似度分别为0.992、0.999、0.992、0.998、0.997、0.996、0.999、0.978、0.991、0.998、0.995、0.992、0.994、0.995和0.996,均>0.9,表明相似度良好,不同生产批次间苏合香丸化学成分一致,质量稳定。

2.6 基于化学计量学方法的苏合香丸分析与比较

2.6.1 聚类分析 应用SPSS 22.0软件,以共有峰的

峰面积为变量,进行系统聚类分析,见图3。15批苏合香丸可分为4类:Ⅰ类包括1~8号样品,10号样品,为2306、2307和2308批次样品,由此说明临近生产日期不同批次样品间差异较小,且各个批次的药品质量较为相似;Ⅱ类包括11~14号样品,为2310批次样品;15号样品与9号样品被单独分为两类,分别为第Ⅲ类及第Ⅳ类,分别为批号为230801和231004的样品,推测可能与该批样品的加工方法等有关。

表 2 15 批苏合香丸共有峰 RPA
Tab. 2 RPA of 15 batches of Suhexiang pills

共有峰号 (common peak No.)	RPA														
	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13	S14	S15
1	0.210	0.203	0.215	0.215	0.209	0.198	0.209	0.206	0.197	0.203	0.257	0.194	0.198	0.200	0.238
2	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
3	0.264	0.267	0.265	0.263	0.266	0.266	0.266	0.270	0.257	0.265	0.418	0.200	0.227	0.228	0.252
4	0.243	0.239	0.245	0.246	0.245	0.239	0.251	0.247	0.246	0.255	0.279	0.178	0.236	0.235	0.201
5	0.790	0.922	0.764	0.766	0.853	0.858	0.957	0.910	0.827	0.891	0.309	0.155	0.177	0.190	0.217
6	0.310	0.299	0.317	0.318	0.316	0.311	0.314	0.317	0.328	0.320	0.348	0.113	0.235	0.231	0.168
7	0.202	0.218	0.208	0.203	0.193	0.213	0.204	0.204	0.224	0.227	0.217	0.163	0.189	0.187	0.206
8	0.452	0.490	0.514	0.490	0.412	0.488	0.470	0.454	0.497	0.473	0.474	0.393	0.417	0.412	0.451
9	0.107	0.119	0.116	0.116	0.092	0.114	0.116	0.091	0.118	0.115	0.107	0.093	0.094	0.092	0.108
10	0.090	0.090	0.090	0.092	0.092	0.104	0.103	0.105	0.112	0.106	0.116	0.097	0.095	0.093	0.101
11	2.248	2.017	2.273	2.199	2.933	2.038	2.428	2.384	3.326	2.315	5.106	4.304	4.666	4.562	4.446
12	1.280	1.276	1.293	1.298	1.210	1.284	1.219	1.251	1.330	1.393	1.422	1.066	1.230	1.213	1.243
13	0.556	0.540	0.568	0.567	0.533	0.554	0.530	0.550	0.585	0.603	0.650	0.503	0.590	0.593	0.611

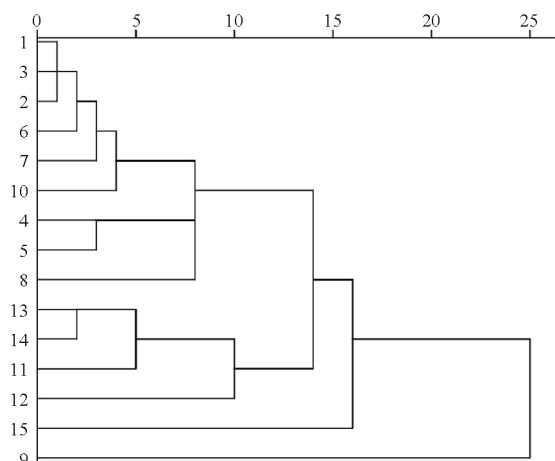


图 3 苏合香丸聚类分析

Fig. 3 Cluster analysis of Suhexiang pills

2.6.2 主成分分析 利用 SPSS 22.0 软件对数据标准化后进行主成分分析,由特征值大于 1 且贡献率大于 75% 的标准来看,当提取前 3 个主成分时,

前 3 个特征值均大于 1,其累计贡献率大于 75%,即前 3 个主成分包含了 12 个共有成分的 76.102% 的信息,符合主成分分析条件,结果见表 3。结果苏合香丸第一主成分特征值为 4.940,贡献率为 41.169%,对应的载荷量较大者为肉桂酸、胡椒碱、丁香酚,说明第一主成分受这几个成分的影响较大,为多成分定量提供了依据;第二主成分特征值为 3.090,贡献率为 25.749%,对应的载荷量较大者为没食子酸、胡椒碱和木香烃内酯,说明第二主成分受这几个成分的影响比较大;第三主成分特征值为 1.102,贡献率为 9.184%,对应的载荷量较大者为 4 号峰、6 号峰;苏合香丸前 3 个主成分的累计方差贡献率则为 76.102%,说明了前 3 个主成分能够概括原有数据的绝大部分信息。碎石图显示,提取出来的 3 个主成分的坡度较陡,表明前 3 个主成分是评价苏合香丸质量的代表性成分,结果见图 4。

表 3 苏合香丸主成分特征值及累计方差贡献率

Tab. 3 Characteristic values of principal components and cumulative variance contribution rate of Suehexiang pills

成分 (component)	特征值 (characteristic value)	方差贡献率 (contribution rate of variance)/%	累计方差贡献率 (contribution rate of variance)/%
1	4.940	41.169	41.169
2	3.090	25.749	66.918
3	1.102	9.184	76.102

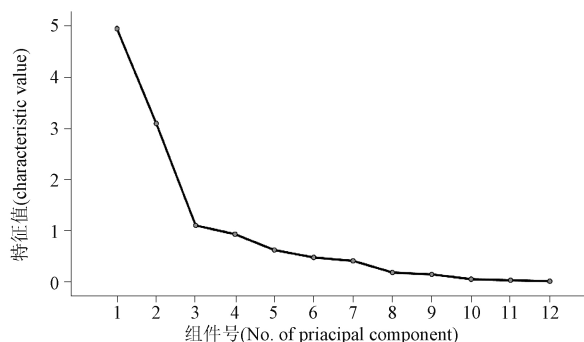


图4 苏合香丸指纹图谱主成分分析

Fig. 4 Principal component analysis of the fingerprints of Suhxiang pills

表4 回归方程及相关系数

Tab. 4 Linear equation and correlation coefficient

成分 (component)	回归方程 (regression equation)	r	线性范围 (linear range)/(mg · mL ⁻¹)
没食子酸(gallic acid)	$Y = 5.090 \times 10^5 X - 3.190 \times 10^5$	0.999 6	0.040 92 ~ 0.409 2
肉桂酸(cinnamic acid)	$Y = 8.780 \times 10^4 X - 6.980 \times 10^4$	0.999 4	0.010 35 ~ 0.103 5
丁香酚(eugenol)	$Y = 2.610 \times 10^5 X - 1.830 \times 10^5$	0.999 5	0.063 15 ~ 0.631 5
胡椒碱(piperine)	$Y = 9.670 \times 10^4 X - 8.020 \times 10^4$	0.999 8	0.025 52 ~ 0.255 2
木香烃内酯(costunolide)	$Y = 2.010 \times 10^6 X - 1.970 \times 10^6$	0.999 4	0.399 87 ~ 3.998 7

2.7.2 精密度试验 取苏合香丸(批号 230702),按“2.3”项下方法制备供试品溶液,按“2.1”项下条件连续进样6针,计算没食子酸、肉桂酸、丁香酚、胡椒碱、木香烃内酯的峰面积的RSD分别为0.19%、0.49%、0.38%、0.23%和0.98%。表明仪器精密度良好。

2.7.3 稳定性试验 取苏合香丸(批号 230701),按“2.3”项下方法制备供试品溶液,按“2.1”项条件下,分别在0、4、6、8、12 h进样分析,计算没食子酸、肉桂酸、丁香酚、胡椒碱、木香烃内酯的峰面积的RSD分别1.7%、1.8%、2.6%、0.67%和2.2%,表明供试品溶液12 h内稳定。

2.7.4 重复性试验 取苏合香丸(批号 230702),按“2.3”项下方法平行制备供试品溶液6份,按“2.1”项下条件进样分析,计算没食子酸、肉桂酸、丁香酚、胡椒碱、木香烃内酯平均含量分别为3.067、0.799、4.703、1.060、26.620 mg · g⁻¹,RSD分别为2.8%、2.7%、2.9%、2.9%和2.2%,表明方法重复性良好。

2.7.5 加样回收率试验 精密称取已知含量的同一批次苏合香丸(批号 230702)9份,平均分为3组,

2.7 含量测定

2.7.1 线性关系考察 精密移取各对照品溶液适量,置于10 mL量瓶中,加80%甲醇水稀释至刻度,配制没食子酸、肉桂酸、丁香酚、胡椒碱和木香烃内酯质量浓度分别为0.409 2、0.103 5、0.631 5、0.255 2和3.999 mg · mL⁻¹的混合对照品溶液,作为标曲最高浓度。精密移取混合对照品溶液0.5、1.0、1.5、2.5和3.5 mL置于5 mL量瓶中,加80%甲醇水稀释并定容,混匀,制备得到不同浓度的对照品工作溶液,按“2.1”项下条件进样分析,以峰面积 Y 为纵坐标,对照品质量浓度 X 为横坐标,绘制标准曲线并计算回归方程,结果见表4。

每组按5个成分已知含量的50%、100%和150%精密加入对照品。按“2.3”项下方法制备供试溶液,按“2.1”项下条件进样分析,计算各组分的加样回收率,结果没食子酸、肉桂酸、丁香酚、胡椒碱、木香烃内酯50%加标量的平均加样回收率分别为101.5%、101.9%、97.4%、100.1%和95.1%,RSD分别为1.3%、2.4%、2.4%、0.90%和0.90%;按100%加标量的平均加样回收率分别为96.3%、103.5%、102.0%、97.2%和99.5%,RSD分别为0.80%、1.5%、0.80%、1.8%和0.60%;按150%加标量的平均加样回收率分别为102.4%、102.0%、104.4%、97.6%和97.0%,RSD分别为0.20%、0.60%、0.30%、0.50%和0.70%,符合测定要求。

2.8 样品含量测定

分别取15批苏合香丸,按“2.3”项下方法制备供试品溶液,按“2.1”项下条件进样分析,记录各成分峰面积并计算含量,结果(表5)表明,15批苏合香丸中没食子酸、肉桂酸、丁香酚、胡椒碱、木香烃内酯含量范围分别为2.506~3.352、0.666~0.876、3.834~5.140、0.884~1.306和19.908~55.704 mg · g⁻¹。

表 5 15 批苏合香丸 5 个成分含量测定结果

Tab. 5 Results of content determination of 5 components in 15 batches of Suhexiang pills

样品序号 (sample No.)	含量(content)/(mg · mL ⁻¹)				
	没食子酸(gallic acid)	肉桂酸(cinnamic acid)	丁香酚(eugenol)	胡椒碱(piperine)	木香烃内酯(costunolide)
S1	3.067	0.799	4.703	1.060	26.620
S2	2.556	0.720	4.245	0.884	19.908
S3	2.950	0.793	5.140	1.029	25.886
S4	2.980	0.780	4.948	1.058	25.310
S5	3.315	0.825	4.632	1.184	37.543
S6	2.892	0.796	4.787	1.158	22.760
S7	3.137	0.828	4.994	1.251	29.421
S8	2.892	0.761	4.448	1.168	26.624
S9	3.032	0.876	5.107	1.306	38.945
S10	2.851	0.836	4.574	1.171	25.480
S11	2.670	0.751	4.291	1.197	52.650
S12	3.352	0.707	4.459	1.260	55.704
S13	2.966	0.723	4.196	1.083	53.444
S14	3.103	0.750	4.337	1.119	54.655
S15	2.506	0.666	3.834	0.980	43.029
平均值(average)	2.960	0.786	4.742	1.062	26.338
RSD/%	8.2	7.2	7.9	10.7	49.3

3 讨论

3.1 方法的优化

本实验前期对供试品溶液的制备方法以及 HPLC 色谱条件筛选进行单因素考察,分别考察了不同体积分数(0%、20%、50%、80%、100%) 甲醇、不同提取时间(15、30、60 min)、不同测定波长(220、254、270、290、310、350、370 nm)、流动相中不同比例(0.1%、0.2%、0.05%) 磷酸、不同色谱柱 [Swell Chromplus C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), Hypersil BDS C₁₈ (200 mm × 4.6 mm, 5 μm) 和 Spursil C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm)] 对苏合香丸的指纹图谱及多成分含量的影响,以实验简便化,含量最优化进行优选,确定了提取方法为超声,提取溶剂为 80% 甲醇水,提取时间为 15 min,测定波长为 220 nm,流动相中含磷酸 0.05%,色谱柱选择 Swell Chromplus C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm)。

3.2 指纹图谱多元统计结果评价

通过分析 15 批苏合香丸指纹图谱,指认了 5 个成分,并对这 5 个成分进行含量测定,采用聚类分析将 15 批苏合香丸分为 4 类,其中个别样品与其他批次样品差异较大,这可能与样品贮存运输等条件有关。采用主成分分析,前 3 个主成分包含了共有成分的 76.102%,说明了前 3 个主成分能够概括原有

数据的绝大部分信息,其中肉桂酸、胡椒碱、丁香酚、没食子酸、木香烃内酯等对主成分有较大影响,为多成分定量提供了依据。

3.3 含量测定结果评价及指控指标的选择

本研究采用指纹图谱结合多成分含量测定及化学模式识别的分析方法,对 15 批苏合香丸进行了初步研究,经过与对照品的比对,指认了其中的 5 个共有峰分别为峰 2(没食子酸)、峰 7(肉桂酸)、峰 8(丁香酚)、峰 10(胡椒碱)、峰 11(木香烃内酯),其中没食子酸是有机酚酸的一种,广泛存在于五倍子、锁阳、地榆、石榴等草药和水果中,已被证实具有抗菌、抗炎、抗氧化、抗病毒及抗癌等生物学作用^[20-22];肉桂酸为肉桂及其挥发油中主要有效成分,具有解痉止痛、抗菌、抗肿瘤及促进免疫等药理作用^[23-25];丁香酚是丁香油的主要成分,具有抗菌、抗病毒、抗炎、镇痛和抗氧化等生物学特性^[26-28];胡椒碱是一种酰胺类生物碱成分,具有保护心血管、调节糖脂代谢、抗肿瘤、抗炎等药理作用^[29-30];木香烃内酯为倍半萜内酯类化合物,是中药木香的主要化学成分,具有广泛的药理活性,包括抗肿瘤、降血糖、抗菌、抗炎等作用^[31-32]。同时本研究也建立了苏合香丸中没食子酸、肉桂酸、丁香酚、胡椒碱、木香烃内酯等 5 个成分的含量测定方法,并对 15 批苏合香丸进行测定,

结果 15 批样品中没食子酸、肉桂酸、丁香酚、胡椒碱、木香烃内酯含量范围分别为 2.506 ~ 3.352、0.666 ~ 0.876、3.834 ~ 5.140、0.884 ~ 1.306 和 19.908 ~ 55.704 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。该方法可以较快地筛选出影响不同批次苏合香丸质量的关键色谱峰,可为苏合香丸的质量控制提供依据。

参考文献

- [1] 祝大卫.《苏沈良方》与“苏合香丸”[J]. 医古文知识, 1999(2): 31
ZHU DW. “Su Shen Liangfang” and “Suhexiang pills” [J]. Knowl Ancient Chin Med, 1999(2): 31
- [2] 中华人民共和国药典 2020 年版. 一部[S]. 2020:996
ChP 2020. Vol I [S]. 2020:996
- [3] 张明玥, 王伟萍, 陶虹. 对《中华人民共和国药典》2010 年版苏合香丸鉴别方法改进的研究[J]. 中国药品标准, 2012, 13(5): 375
ZHANG MY, WANG WP, TAO H. Study on the improvement of identification method of Suhexiang pills in 2010 edition of Chinese Pharmacopoeia [J]. Drug Stand China, 2012, 13(5): 375
- [4] 董尚灵, 张震中, 张燕, 等. 苏合香丸对急性期缺血中风阴闭证脑干听觉诱发电位及体感诱发电位的影响[J]. 浙江中医杂志, 2023, 58(3): 180
DONG SL, ZHANG ZZ, ZHANG Y, *et al.* The effect of Suhexiang pill on brainstem auditory evoked potential and somatosensory evoked potential in acute ischemic stroke [J]. Zhejiang J Tradit Chin Med, 2023, 58(3): 180
- [5] 方邦江, 赵静岩, 姜婧, 等. 苏合香丸治疗新型冠状病毒感染后心动过速患者的临床观察[J]. 中草药, 2023, 54(8): 2516
FANG BJ, ZHAO JY, JIANG J, *et al.* Clinical observation of tachycardia patients after novel coronavirus infection [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2023, 54(8): 2516
- [6] 冷伟. 苏合香丸治疗急性中风 108 例[J]. 中国药物经济学, 2012(4): 132
LENG W. Suhexiang pill treated 108 cases of acute stroke [J]. China Pharm Econ, 2012(4): 132
- [7] 刘清泉, 励国, 张杰, 等. 苏合香丸治疗新型冠状病毒感染患者的临床观察[J]. 中草药, 2023, 54(4): 1201
LIU QQ, LI G, ZHANG J, *et al.* Clinical observation of patients with novel coronavirus infection [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2023, 54(4): 1201
- [8] 王楠. 苏合香丸联合针灸治疗脑梗死恢复期的疗效分析[J]. 现代医学与健康研究电子杂志, 2023, 7(14): 86
WANG N. Analysis of the efficacy of Suhexiang pills and acupuncture in the recovery period of cerebral infarction [J]. Elect J Mod Med Health Res, 2023, 7(14): 86
- [9] 熊雪娇, 刘婷婷, 秦明臻, 等. 经典名方苏合香丸治疗中风临床精准定位研究的专家问卷调查[J]. 世界中医药, 2023, 18(13): 1827
XIONG XJ, LIU TT, QIN MZ, *et al.* Expert questionnaire survey of the study of clinical precision positioning of stroke [J]. World Tradit Chine Med, 2023, 18(13): 1827
- [10] 徐晓军. 苏合香丸联合地黄饮子治疗脑动脉硬化症 42 例临床观察[J]. 湖南中医杂志, 2014, 30(11): 56
XU XJ. Clinical observation of 42 cases of cerebral arteriosclerosis [J]. Hunan J Tradit Chin Med, 2014, 30(11): 56
- [11] 徐徐飞. 苏合香丸配合平肝化浊汤治疗突发性耳聋疗效观察[J]. 临床医药文献电子杂志, 2020, 34(7): 6
XU XF. Observation on the effect of Suhexiang pill with liver decoction in the treatment of sudden deafness [J]. Electronic J Clin Med Liter, 2020, 34(7): 6
- [12] 徐广, 杨丹, 谭秋生, 等. 白花前胡单株类型的 HPLC 指纹图谱研究[J]. 亚太传统医药, 2024, 20(3): 31
XU G, YANG D, TAN QS, *et al.* HPLC fingerprint study of single plant type [J]. Asia - Pacif Tradit Med, 2024, 20(3): 31
- [13] 江洁怡, 杨敏娟, 汤瑞茵, 等. 中药蝴蝶果 UPLC 指纹图谱及含量测定[J]. 药物分析杂志, 2024, 44(2): 233
JIANG JY, YANG MJ, TANG RY, *et al.* UPLC fingerprint and content determination of traditional Chinese medicine butterfly fruit [J]. Chin J Pharm Anal, 2024, 44(2): 233
- [14] 李沁, 张聪, 陈亮, 等. 基于超高效液相色谱指纹图谱、多指标成分定量及化学计量学的小儿感冒颗粒质量评价[J]. 药物分析杂志, 2023, 43(9): 1612
LI Q, ZHANG C, CHEN L, *et al.* Quality evaluation of pediatric cold particles based on ultra - high performance liquid chromatography fingerprint mapping, multi - index composition quantification and stoichiometry [J]. Chin J Pharm Anal, 2023, 43(9): 1612
- [15] 蔡淑慧, 赵华聪, 贾萌, 等. 基于 HPLC 指纹图谱和多成分定量分析的炒甘草饮片质量评价研究[J]. 中国中药杂志, 2021, 46(1): 118
CAI SH, ZHAO HC, JIA M, *et al.* Study on the quality evaluation of fried licorice decoction pieces based on HPLC fingerprint and multi - component quantitative analysis [J]. China J Chin Mater Med, 2021, 46(1): 118
- [16] 王婷格, 罗陆遥, 薛瑞, 等. 基于 HPLC 指纹图谱和多成分含量测定结合化学计量学的盐杜仲质量评价研究[J]. 中国中药杂志, 2024, 49(1): 141
WANG TG, LUO LY, XUE R, *et al.* Quality evaluation study of salt eucommia ulmoides based on HPLC fingerprint and multicomponent content determination combined with stoichiometry [J]. China J Chin Mater Med, 2024, 49(1): 141
- [17] 杨贵雅, 常雅晴, 薛紫鲸, 等. 基于指纹图谱和多成分含量测定的穿山龙药材质量评价研究[J]. 中国中药杂志, 2020, 45(20): 4949
YANG GY, CHANG YQ, XUE ZJ, *et al.* Study on the quality evaluation of Chinese medicinal herbs based on fingerprint mapping

- and multi - component content determination [J]. *China J Chin Mater Med*, 2020, 45 (20): 4949
- [18] 杨正明, 地久此呷, 兰建龙, 等. 基于 UPLC 指纹图谱及多成分含量测定的火草质量控制研究 [J]. *中国中药杂志*, 2023, 48(11): 3000
YANG ZM, DI JCJ, LAN JL, *et al.* Study on grass quality control based on UPLC fingerprint and multicomponent content determination [J]. *Chin J Chin Mater Med*, 2023, 48 (11): 3000
- [19] 于密密, 范妙璇, 李铮, 等. 高效液相色谱法指纹图谱结合化学模式识别的小金制剂质量研究 [J]. *世界中医药*, 2023, 18(18): 2565
YU MM, FAN MX, LI Z, *et al.* Quality study of Xiaojin preparations by HPLC fingerprinting coupled with chemical pattern recognition [J]. *World Tradit Chin Med*, 2023, 18 (18): 2565
- [20] 陈志龙, 黄运茂, 王一冰, 等. 没食子酸的生物学特性及其在畜禽生产中的应用进展 [J]. *饲料工业*, 2022, 43(8): 59
CHEN ZL, HUANG YM, WANG YB, *et al.* Biological properties of gallic acid and its application in livestock and poultry production [J]. *Feed Ind*, 2022, 43 (8): 59
- [21] 张庭秀. 没食子酸对非小细胞肺癌 A549 细胞增殖与凋亡的影响及机制研究 [D]. 泸州:西南医科大学, 2018
ZHANG TX. Effect and Mechanism of Gallic Acid on Proliferation and Apoptosis of A549 Cells in Non - Small Cell Lung Cancer [D]. Luzhou: Southwest Medical University, 2018
- [22] 张小莉. 没食子酸提取及抑菌效力比较 [J]. *海峡药学*, 2021, 33(2): 76
ZHANG XL. Comparison of galenic acid extraction and bacteriostatic efficacy in the whole diet [J]. *Straits Pharm*, 2021, 33 (2): 76
- [23] 贾晓斌, 刘齐, 韦英杰, 等. RP - HPLC 同时测定代温灸膏中肉桂酸、桂皮醛、辣椒碱、二氢辣椒碱及 6 - 姜酚的含量 [J]. *药物分析杂志*, 2011, 31(8): 1467
JIA XB, LIU Q, WEI YG, *et al.* RP - HPLC simultaneously determined the contents of cassia bark acid, cinnamaldehyde, capsaicin, dihydrocapsaicin and 6 - gingerol in warm moxibustion ointment [J]. *Chin J Pharm Anal*, 2011, 31 (8): 1467
- [24] 李耀华, 魏江存, 梁建丽, 等. 不同产地肉桂叶中香豆素、肉桂酸、桂皮醛成分的含量测定 [J]. *中华中医药学刊*, 2020, 38(2): 54
LI YH, WEI JG, LIANG JL, *et al.* Determination of the components of coumarin, cassia bark acid and cinnamon aldehyde in cassia bark leaves from different origin [J]. *China J Tradit Chin Med*, 2020, 38 (2): 54
- [25] 陈洁莹, 陈琰, 张煜帆, 等. HPLC 法同时测定桂枝散结丸中桂皮醛和肉桂酸的含量 [J]. *实验与检验医学*, 2022, 40(4): 474
CHEN JY, CHEN L, ZHANG YF, *et al.* Cinnuraldehyde and cassia bark acid in the bolpills were measured simultaneously by HPLC [J]. *Exp Lab Med*, 2022, 40 (4): 474
- [26] 刘鹏. 丁香酚防治牙周炎的药理作用研究进展 [J]. *现代药物与临床*, 2022, 37(11): 2669
LIU P. Progress in the pharmacological effects of eugenol to prevent and treat periodontitis [J]. *Mod Med Clin*, 2022, 37 (11): 2669
- [27] 苏萌, 吕洁, 张兰, 等. 丁香酚诱导癌细胞 PC - 12 凋亡的研究 [J]. *今日药学*, 2022, 32(6): 434
SU M, LÜ J, ZHANG L, *et al.* Algenol - induced PC - 12 apoptosis in cancer cells [J]. *Pharm Today*, 2022, 32 (6): 434
- [28] 于杰, 郑淑媚, 张文海, 等. 丁香酚对压疮致病金黄色葡萄球菌及其耐药菌的抑菌作用及机制 [J]. *现代药物与临床*, 2023, 38(9): 2184
YU J, ZHENG SM, ZHANG WH, *et al.* Bacteriostatic effects and mechanism of eugenol on pressure ulcer pathogenic bacteria *Staphylococcus aureus* and its drug - resistant bacteria [J]. *Mod Med Clin*, 2023, 38 (9): 2184
- [29] 林思, 秦慧真, 邓玲玉, 等. 胡椒碱的药理作用及机制研究进展 [J]. *中国药房*, 2022, 33(13): 1653
LIN S, QIN HZ, DENG LY, *et al.* Progress in the pharmacology and mechanism of piperine [J]. *China Pharm*, 2022, 33 (13): 1653
- [30] 于岚, 郝正一, 胡晓璐, 等. 胡椒的化学成分与药理作用研究进展 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2020, 26(6): 234
YU L, HAO ZY, HU XL, *et al.* Progress in the chemical composition and pharmacological effects of pepper [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form*, 2020, 26 (6): 234
- [31] 班笃敬, 魏伟, 申超, 等. 木香烯内酯抑制乙醇诱导的肝细胞损伤与脂肪变性 [J]. *天然产物研究与开发*, 2019, 31(4): 608
BAN DJ, WEI W, SHEN C, *et al.* Trichoxiangolide suppresses ethanol - induced hepatocellular injury with steatosis [J]. *Nat Prod Res Dev*, 2019, 31 (4): 608
- [32] 刘丹, 刘明, 金良友, 等. 木香烯内酯抗肿瘤活性研究进展 [J]. *中国临床药理学与治疗学*, 2023, 28(10): 1168
LIU D, LIU M, JIN LY, *et al.* Progress in the antitumor activity of xyenolides [J]. *Clin Pharmacol Ther China*, 2023, 28 (10): 1168

(本文于 2024 年 4 月 5 日收到)