

## 基于 HPLC 指纹图谱与 7 个成分含量测定的润鼻通窍滴剂质量评价

闫敬伟<sup>1</sup>, 杨巡<sup>1</sup>, 高永跃<sup>2\*</sup>, 罗玉玲<sup>2</sup>, 徐文芬<sup>1</sup>, 雷娅娅<sup>1</sup>, 钱旭双<sup>1</sup>, 杨迪<sup>1</sup>

(1. 贵州中医药大学, 贵阳 550025; 2. 贵州中医药大学第二附属医院, 贵阳 550000)

**摘要** **目的:**采用指纹图谱、多指标成分含量测定方法研究不同批次润鼻通窍滴剂,为其质量评价提供依据。**方法:**采用 Acclaim TM - C<sub>18</sub> 色谱柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm),以甲醇(A) - 乙腈(B) - 0.2% 甲酸水溶液(C)为流动相,进行梯度洗脱,流速 0.8 ~ 1.0 mL · min<sup>-1</sup>,进样量 10 μL,检测波长 327 nm。建立润鼻通窍滴剂的 HPLC 指纹图谱,利用化学计量方法比较润鼻通窍滴剂的质量一致性。采用 HPLC 法对新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、异绿原酸 B、异绿原酸 A、木犀草苷、异绿原酸 C 7 个成分进行多成分含量测定。**结果:**10 批次样品指纹图谱共标定了 14 个共有峰,相似度均 ≥ 0.933,并利用对照品指认了新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、异绿原酸 B、异绿原酸 A、木犀草苷、异绿原酸 C 7 个共有峰。同步测定润鼻通窍滴剂中 7 个成分的含量,分别为 0.131 5 ~ 0.133 8、0.095 5 ~ 0.098 9、0.087 4 ~ 0.090 1、0.012 8 ~ 0.015 8、0.010 3 ~ 0.013 7、0.022 7 ~ 0.024 9、0.006 8 ~ 0.008 6 mg · mL<sup>-1</sup>。**结论:**建立的润鼻通窍滴剂指纹图谱稳定可靠,多成分含量同时测定方法简便快捷,可用于润鼻通窍滴剂的质量控制,为润鼻通窍滴剂的后续研究奠定了坚实的基础。

**关键词:**润鼻通窍滴剂;高效液相色谱法;指纹图谱;相似度评价;多指标含量测定;质量控制

中图分类号: R 917 文献标识码: A 文章编号: 0254 - 1793(2024)12 - 2064 - 08

doi: 10.16155/j.0254 - 1793.2024 - 0255

## Quality evaluation of Runbi Tongqiao drops based on HPLC fingerprint and determination of 7 components

YAN Jing - wei<sup>1</sup>, YANG Xun<sup>1</sup>, GAO Yong - yue<sup>2\*</sup>, LUO Yu - ling<sup>2</sup>,  
XU Wen - fen<sup>1</sup>, LEI Ya - ya<sup>1</sup>, QIAN Xu - shuang<sup>1</sup>, YANG Di<sup>1</sup>

(1. Guizhou University of Chinese Medicine, Guiyang 550025, China; 2. The Second Affiliated Hospital of Guizhou University of Chinese Medicine, Guiyang 550000, China)

**Abstract Objective:** To investigate different batches of Runbi Tongqiao drops by fingerprint and multi - index component content determination method, and to provide basis for its quality evaluation. **Methods:** Acclaim TM - C<sub>18</sub> chromatographic column(250 mm × 4.6 mm, 5 μm) was used with methanol(A) - acetonitrile (B) - 0.2% formic acid aqueous solution(C) as the mobile phase with gradient elution. The flow rate was 0.8 - 1.0 mL · min<sup>-1</sup>. The injection volume was 10 μL and the detection wavelength was 327 nm. The HPLC fingerprint of Runbi Tongqiao drops was established, and the quality consistency of Runbi Tongqiao drops was compared by stoichiometric method. The contents of neochlorogenic acid, chlorogenic acid, cryptochlorogenic acid, isochlorogenic

\* 通信作者 Tel:18586809990;E - mail:961500808@qq.com

第一作者 Tel:17393320567;E - mail:969132757@qq.com

acid B, isochlorogenic acid A, luteoloside and isochlorogenic acid C were determined by HPLC. **Results:** A total of 14 common peaks were calibrated in the fingerprints of 10 batches of samples, and the similarities were  $\geq 0.933$ . Seven common peaks of neochlorogenic acid, chlorogenic acid, cryptochlorogenic acid, isochlorogenic acid B, isochlorogenic acid A, luteoloside and isochlorogenic acid C were identified by reference substances. The contents of seven components in Runbi Tongqiao drops were determined simultaneously, which were  $0.1315 - 0.1338 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ ,  $0.0955 - 0.0989 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ ,  $0.0874 - 0.0901 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ ,  $0.0128 - 0.0158 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ ,  $0.0103 - 0.0137 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ ,  $0.0227 - 0.0249 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  and  $0.0068 - 0.0086 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ , respectively. **Conclusion:** The established fingerprint of Runbi Tongqiao drops is stable and reliable, and the simultaneous determination method of multi-component content is simple and fast. It can be used for the quality control of Runbi Tongqiao drops, which lays a solid foundation for the follow-up study of Runbi Tongqiao drops.

**Keywords:** Runbi Tongqiao drops; high performance liquid chromatography; fingerprint; similarity evaluation; multi-index content determination; quality control

润鼻通窍滴剂是贵州中医药大学第二附属医院研制的医疗机构制剂,主要由鹅不食草、鱼腥草、白芷、辛夷、炒苍耳子、防风、炙麻黄、山银花、菊花、石菖蒲、牡丹皮和薄荷组成。具有宣肺通窍、润鼻止痒、消肿利气的功效,主要用于治疗过敏性鼻炎及感染后鼻炎引起的阵发性鼻痒、鼻干、喷嚏、鼻塞、鼻黏膜干燥充血、清涕,甚至涕中带血等诸证。该制剂在贵州中医药大学第二附属医院临床使用疗效良好,为了保障该制剂使用的安全有效和质量可控,对其质量控制和评价方法尚待深入研究。因此,通过查阅相关文献<sup>[1-10]</sup>,并根据前期研究结果,本文通过 HPLC 指纹图谱结合多成分同步含量测定方法,从定性和定量 2 个方面开展润鼻通窍滴剂的质量控制和质量评价研究,为完善该制剂的质量标准制定提供实验依据。

## 1 仪器与材料

### 1.1 仪器

Thermo Ultimate 3000 型高效液相色谱仪、二极管阵列(DAD)检测器(赛默飞世尔科技),AG135 型十万分之一电子天平(上海梅特勒有限公司),SK5200H 超声波清洗器(上海科导超声仪器有限公司,频率 53 kHz,功率 200 W)。

### 1.2 材料

润鼻通窍滴剂 10 批(规格  $10 \text{ mL} \cdot \text{支}^{-1}$ ,批号 20220401、20220402、20220403、20220404、20220405、20220406、20220407、20220408、20220409、20220410,编号 S1 ~ S10)为贵州中医药大学第二附属医院自

制;对照品绿原酸(批号 AZ221011851,纯度  $\geq 98\%$ )、新绿原酸(批号 AZ21102901,纯度  $\geq 98\%$ )、隐绿原酸(批号 AFBL2251,纯度  $\geq 98\%$ )、异绿原酸 A(批号 AZ22042903,纯度  $\geq 98\%$ )、异绿原酸 B(批号 AZ21092203,纯度  $\geq 98\%$ )购自成都埃法生物科技股份有限公司,木犀草苷(批号 PS000708,纯度  $\geq 98\%$ )和异绿原酸 C(批号 PS001057,纯度  $\geq 98\%$ )购自成都普思生物科技股份有限公司。甲醇(纯度 99.99%,安徽天地高纯溶剂有限公司)、色谱纯乙腈(上海跃盛贸易有限公司);分析纯甲酸(天津科密欧化学试剂有限公司);水为怡宝纯净水。

鹅不食草(批号 20220301)、鱼腥草(批号 211116)、白芷(批号 20220701)、辛夷(批号 210628)、炒苍耳子(批号 210327)、防风(批号 20220701)、炙麻黄(批号 211213)、山银花(批号 210605)、菊花(批号 20220601)、石菖蒲(批号 211021)、牡丹皮(批号 210715)和薄荷(批号 103620210701),以上 12 味药材均购自贵州同济堂中药饮片有限公司,由贵州中医药大学第二附属医院主任药师高永跃鉴别为正品。

## 2 方法

### 2.1 色谱条件

采用 Acclaim TM - C<sub>18</sub> 色谱柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm),以甲醇(A) - 乙腈(B) - 0.2% 甲酸水溶液(C)为流动相,梯度洗脱(0 ~ 2 min, 5% A → 18% A, 1.0 mL · min<sup>-1</sup>; 2 ~ 20 min, 18% A → 28% A, 1.0 mL ·

$\text{min}^{-1}$ ; 20 ~ 30 min, 28% A  $\rightarrow$  42% A, 1.0 ~ 0.80 mL  $\cdot$   $\text{min}^{-1}$ ; 30 ~ 45 min, 42% A, 0.80 mL  $\cdot$   $\text{min}^{-1}$ ; 45 ~ 60 min, 42% A  $\rightarrow$  93% A, 0.80 ~ 1.0 mL  $\cdot$   $\text{min}^{-1}$ ), 检测波长 327 nm, 进样量 10  $\mu\text{L}$ , 柱温 30  $^{\circ}\text{C}$ 。

## 2.2 溶液的制备

**2.2.1 对照品溶液** 分别精密称取对照品新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、异绿原酸 B、异绿原酸 A、木犀草苷、异绿原酸 C 适量, 加甲醇溶解并制成浓度分别为 1.000、1.000、1.001、0.202 0、0.199 0、0.200 0、0.202 0  $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  的单一对照品储备液。分别精密吸取上述对照品储备液加甲醇制成浓度分别为 0.090 0、0.100 0、0.070 7、0.020 2、0.019 9、0.020 0、0.020 2  $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  的混合对照品溶液, 备用。

**2.2.2 供试品溶液** 取润鼻通窍滴剂 5 支混匀作为供试品溶液, 取适量过 0.45  $\mu\text{m}$  微孔滤膜, 即得。

**2.2.3 单味药材样品溶液** 分别取润鼻通窍滴剂中 12 味原药材, 按照处方中对应的处方量比例进行取样, 以润鼻通窍滴剂制剂工艺制得相应的单味药材样品溶液, 取适量过 0.45  $\mu\text{m}$  微孔滤膜, 即得。

**2.2.4 阴性样品溶液** 按润鼻通窍滴剂处方比例和制备工艺, 制备同时缺鱼腥草、山银花、菊花、炒苍耳子的阴性样品, 过 0.45  $\mu\text{m}$  微孔滤膜, 即得。

## 3 HPLC 指纹图谱研究

### 3.1 方法学考察

**3.1.1 精密度试验** 取 S2 号样品的供试品溶液适量, 在“2.1”项色谱条件下连续进样 6 次, 记录色谱峰, 以 2 号新绿原酸色谱峰为参照峰(S), 计算得到 14 个共有峰的相对保留时间 RSD 为 0.045% ~ 0.14%, 峰面积比值的 RSD 为 0.15% ~ 1.9%, 表明仪器精密度良好。

**3.1.2 重复性试验** 按“2.2.2”项下方法平行制备 6 份 S2 号样品的供试品溶液, 在“2.1”项色谱条件下进样测定, 记录色谱峰, 以 2 号峰(新绿原酸)为参照峰, 计算各共有峰相对保留时间的 RSD 在 0.042% ~ 0.26%, 峰面积比值的 RSD 为 0.18% ~ 2.8%, 表明该方法重复性良好。

**3.1.3 稳定性试验** 取“3.1.2”项的供试品溶液 1 份, 分别于 0、4、8、12、16、24 h, 在“2.1”项色谱条件下进样测定, 记录色谱峰, 以 2 号峰(新绿原酸)为参照峰, 计算得各共有峰相对保留时间的 RSD 在 0.035% ~ 0.32%, 峰面积比值的 RSD 在 0.30% ~ 2.5%, 表明供试品溶液测定在 24 h 内稳定性良好。

### 3.2 指纹图谱的建立及相似度评价

分别取 10 批润鼻通窍滴剂(S1 ~ S10) 适量, 同“2.2.2”项下制备供试品溶液, 按“2.1”项下色谱条件进行 HPLC 分析, 将样品的数据导入《中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2004A 版)》, 设置 S1 为参照图谱, 进行多点校正后自动匹配, 得到 10 批润鼻通窍滴剂供试品的指纹图谱共有模式及对照指纹图谱(图 1), 以生成的对照图谱作为参照图谱(R), 对 10 批样品进行相似度评价, 并以 2 号峰作为参照峰计算各色谱峰的相对保留时间和相对峰面积的 RSD。结果显示, S1 ~ S10 批润鼻通窍滴剂与对照图谱的相似度均  $> 0.92$ , 表明 10 批样品的差异较小, 化学成分基本一致。14 个共有峰的相对保留时间 RSD 为 0.056% ~ 0.20%, 相对峰面积的 RSD 为 0.48% ~ 8.9%, 表明不同批次润鼻通窍滴剂样品间的指纹图谱整体无差异, 但色谱峰高或峰面积存在一定差异, 可用于润鼻通窍滴剂定性鉴别。

### 3.3 色谱峰的指认

在 327 nm 下共检出了 14 个共有峰, 通过对照品比对指认出 7 个峰。其中峰 2 为新绿原酸、峰 3 为绿原酸、峰 4 为隐绿原酸、峰 6 为异绿原酸 B、峰 7 异绿原酸 A、峰 9 为木犀草苷、峰 10 为异绿原酸 C, 混合对照品溶液 HPLC 图谱见图 2。

### 3.4 各单味药色谱峰归属

依据紫外光谱信息和保留时间, 对润鼻通窍滴剂与单味药的指纹图谱的相关峰进行比对, 确定特征峰的来源归属, 分别取 12 个原药材样品溶液, 按“2.1”项下色谱条件进样测定, 色谱图见图 2, 其中色谱峰 1 归属于鹅不食草; 色谱峰 2(新绿原酸) 归属于鱼腥草、菊花; 色谱峰 3(绿原酸) 归属于菊花、山银花、苍耳子; 色谱峰 4(隐绿原酸) 归属于菊花、山银花; 色谱峰 5、9(木犀草苷)、11、13 归属于菊花; 色谱峰 6(异绿原酸 B)、7(异绿原酸 A) 归属于菊花、山银花; 色谱峰 8 归属于鹅不食草、菊花; 色谱峰 10(异绿原酸 C) 归属于菊花、山银花; 色谱峰 12 归属于白芷、菊花; 色谱峰 14 归属于石菖蒲。由于薄荷、辛夷、炙麻黄、防风在处方中的量较低, 且均含挥发性成分, 在用水煎煮过程中容易损失, 故在此条件下响应值低, 未见其色谱峰; 鱼腥草、鹅不食草、苍耳子、石菖蒲、白芷归属峰较少的原因, 可能是煎煮过程中有大量成分挥发。

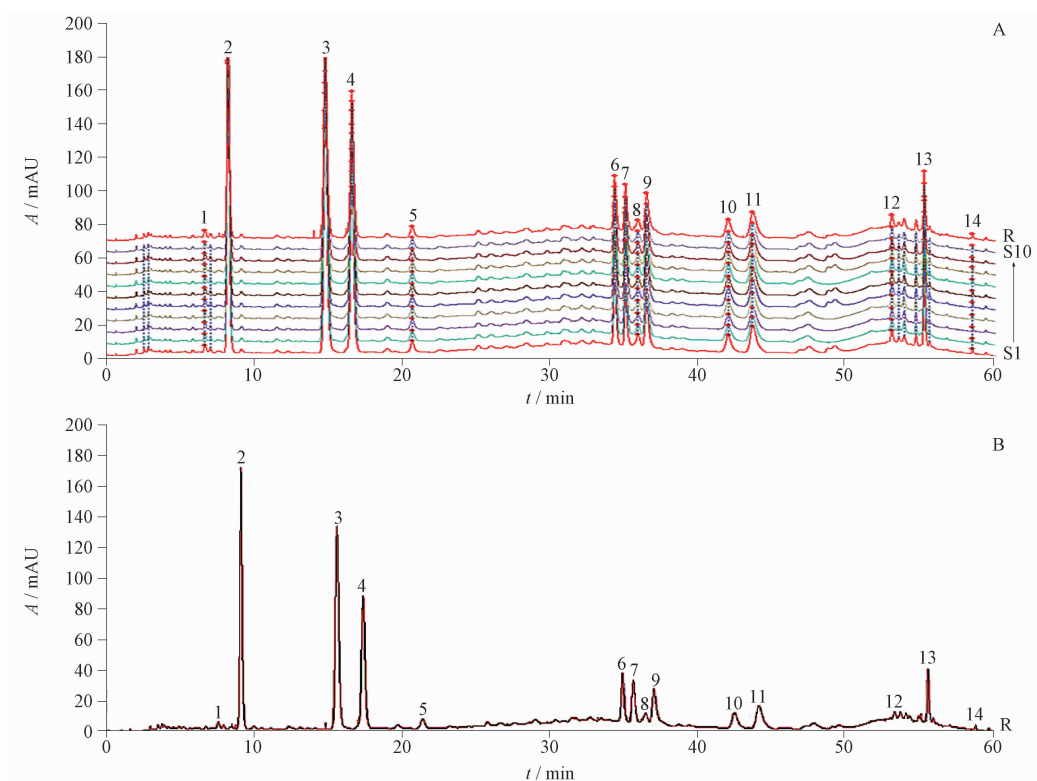
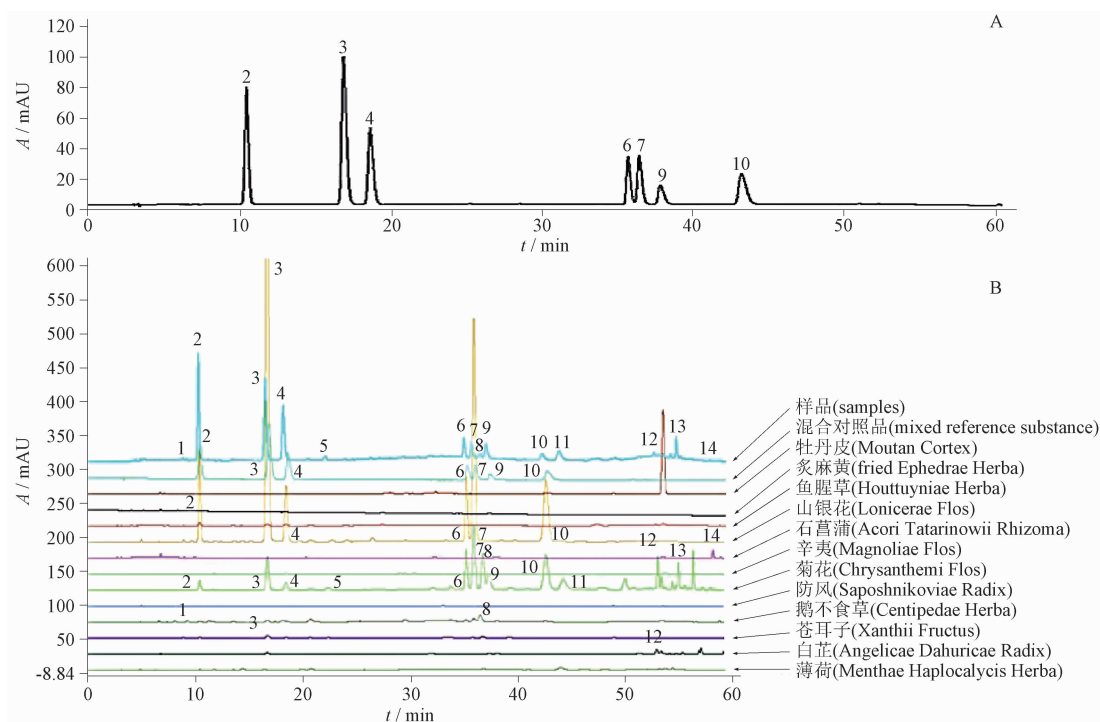


图 1 润鼻通窍滴剂 HPLC 指纹图谱叠加图 (A) 及对照指纹图谱 R (B)

Fig. 1 Overlay HPLC fingerprints (A) and reference fingerprint R (B) of Runbi Tongqiao drops



2. 新绿原酸 (neochlorogenic acid) 3. 绿原酸 (chlorogenic acid) 4. 隐绿原酸 (cryptochlorogenic acid) 6. 异绿原酸 B (isochlorogenic acid B)  
7. 异绿原酸 A (isochlorogenic acid A) 9. 木犀草苷 (luteoloside) 10. 异绿原酸 C (isochlorogenic acid C)

图 2 混合对照品 (A) 和润鼻通窍滴剂与组方药味 (B) 的 HPLC 图

Fig. 2 HPLC chromatograms of mixed reference substances (A) and Runbi Tongqiao drops and formulations (B)

### 3.5 聚类分析结果

将 10 批润鼻通窍滴剂指纹图谱的 14 个量化共有峰峰面积导入 SPSS 26.0 软件,进行系统聚类,根据聚类分析图(图 3)结果可知,10 批供试品指纹图谱可分为 2 大类,其中 S1、S2、S3、S10 聚为 1 类, S4、S5、S6、S7、S8、S9 聚为第二类,聚类结果显示二者在 14 个成分的含量上存在一定的差异,这可能与润鼻通窍滴剂生产工艺及药材批次间差异有关。

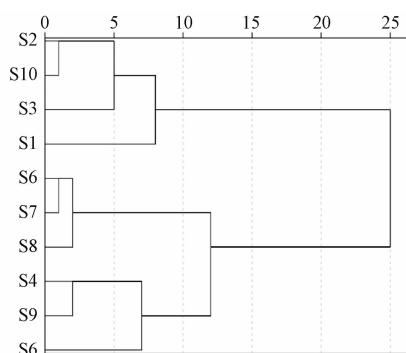


图 3 润鼻通窍滴剂指纹图谱量化共有峰峰面积聚类分析树状图  
Fig. 3 Cluster analysis tree diagram of quantitative common peak areas in fingerprints of Runbi Tongqiao drops

### 3.6 主成分分析

以 10 批润鼻通窍滴剂指纹图谱中 14 个共有峰的峰面积为变量,利用 SPSS 26.0 统计分析软件进行主成分分析(PCA),计算主成分特征值,累计方差贡献率,特征值 >1 的主成分有 3 个,累计方差贡献率为 86.284%。色谱峰 2、6、7、9、10 在主成分 1 有较高的正载荷,色谱峰 12、13、14、在主成分 2 有较高的正载荷,色谱峰 3 在主成分 3 上有较高的正载荷。分别以主成分 1、2、3 建立其三维坐标体系,由图 4 可知,S1、S2 和 S3 可聚为 1 类;S4、S6 聚为 1 类;同理 S5、S10 可聚为 1 类;S7、S8、S9 较分散,各聚为 1 类。该分析结果与相似度评价、聚类分析结果有一定的差异。

## 4 多成分含量测定

### 4.1 专属性试验

分别吸取混合对照品溶液、供试品溶液、阴性样品溶液适量,按照“2.1”项下色谱条件分别进样,记录色谱图。结果显示,在新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、异绿原酸 B、异绿原酸 A、木犀草苷和异绿原酸 C 对照品相应位置上,供试品溶液中均有相同保留

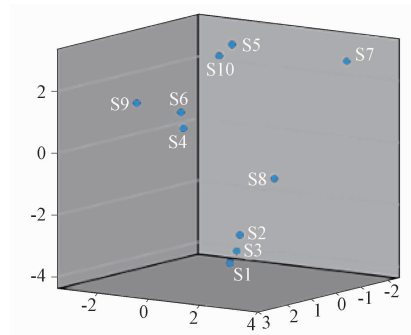


图 4 10 批润鼻通窍滴剂指纹图谱主成分分析的三维散点图

Fig. 4 Three-dimensional scatter principal component plot of fingerprints of ten batches of Runbi Tongqiao drops

时间的色谱峰出现,且各相应色谱峰的紫外吸收(UV)光谱图与对照品的 UV 光谱图基本一致,而阴性样品溶液色谱图中在对应的位置上无色谱峰出现,说明阴性没有干扰,表明该方法专属性良好。结果见图 5。

### 4.2 线性关系考察

分别精密吸取“2.2.1”项下的单一对照品储备液,加甲醇制成系列浓度的混合对照品溶液,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积,以对照品溶液的质量浓度  $X$  为横坐标,峰面积  $Y$  为纵坐标,绘制标准曲线,线性关系见表 1。

### 4.3 精密度试验

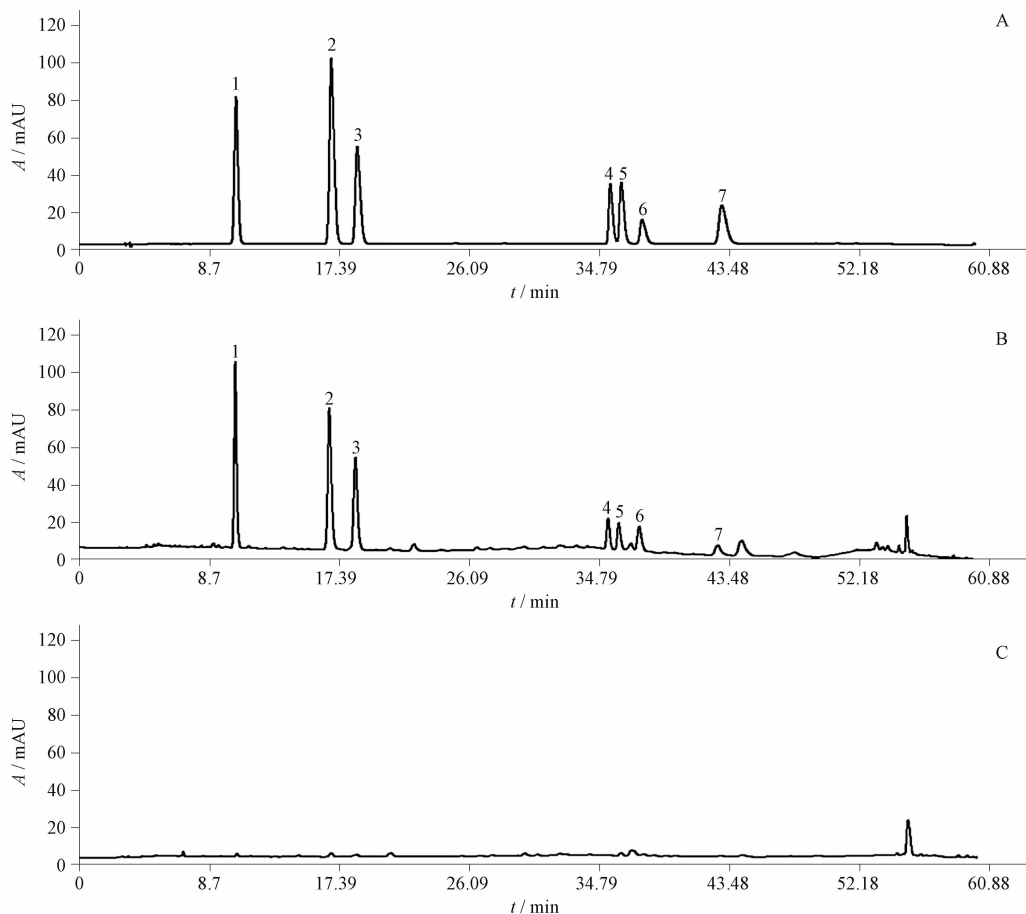
精密吸取“2.2.1”项下混合对照品溶液适量,按照“2.1”项下的色谱条件连续进样 6 次,记录峰面积。结果显示,新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、异绿原酸 B、异绿原酸 A、木犀草苷、异绿原酸 C,各成分峰面积值的 RSD ( $n = 6$ ) 分别为 0.57%、0.37%、0.40%、0.42%、0.71%、1.2%、0.57%,表明仪器精密度良好。

### 4.4 重复性试验

按“2.2.2”项下方法平行制备 6 份 S2 号样品的供试品溶液,在“2.1”项色谱条件下进样测定,记录峰面积。结果显示,新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、异绿原酸 B、异绿原酸 A、木犀草苷、异绿原酸 C 的平均含量分别为 0.126 7、0.092 2、0.083 6、0.010 8、0.009 0、0.022 9、0.005 9  $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ ,各成分含量的 RSD ( $n = 6$ ) 分别为 0.43%、0.20%、1.0%、2.6%、2.9%、2.5%、2.3%。结果表明该方法的重复性良好。

### 4.5 稳定性试验

取“4.4”项下供试品溶液 1 份,分别于 0、4、8、



1. 新绿原酸(neochlorogenic acid) 2. 绿原酸(chlorogenic acid) 3. 隐绿原酸(cryptochlorogenic acid) 4. 异绿原酸B(isochlorogenic acid B) 5. 异绿原酸A(isochlorogenic acid A) 6. 木犀草苷(luteoloside) 7. 异绿原酸C(isochlorogenic acid C)  
A. 混合对照品溶液(mixed reference solution) B. 供试品溶液(test solution) C. 阴性样品溶液(negative sample solution)

图5 专属性试验 HPLC 色谱图

Fig. 5 HPLC chromatograms of specificity test

表1 7个成分的回归方程、相关系数和线性范围

Tab. 1 Regression equation, correlation coefficient and linear range of 7 components

成分 (component)	回归方程 (regression equation)	<i>r</i>	线性范围 (linear range)/(mg · mL <sup>-1</sup> )
新绿原酸(neochlorogenic acid)	$Y = 207.52X + 2.3811$	0.9995	0.1315 ~ 0.1338
绿原酸(chlorogenic acid)	$Y = 389.85X - 3.6978$	0.9996	0.09550 ~ 0.09890
隐绿原酸(cryptochlorogenic acid)	$Y = 237.34X + 2.538$	0.9996	0.08740 ~ 0.09010
异绿原酸B(isochlorogenic acid B)	$Y = 476.98X + 0.1284$	0.9995	0.01280 ~ 0.01580
异绿原酸A(isochlorogenic acid A)	$Y = 527.68X + 0.1451$	0.9997	0.01030 ~ 0.01580
木犀草苷(luteoloside)	$Y = 323.32X - 0.8273$	0.9997	0.02270 ~ 0.02490
异绿原酸C(isochlorogenic acid C)	$Y = 575.95X + 0.0150$	0.9996	0.006800 ~ 0.008600

12、16、24 h,在“2.1”项色谱条件下进样测定,记录峰面积。结果显示,新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、异绿原酸B、异绿原酸A、木犀草苷、异绿原酸C峰面积

的RSD( $n = 6$ )分别为0.33%、0.33%、0.51%、0.30%、0.90%、1.4%、1.3%,表明供试品溶液在24 h内测定稳定性良好。

#### 4.6 加样回收试验

精密吸取 6 份润鼻通窍滴剂样品(S2)各 5.0 mL, 每份按 1:1 的比例精密加入各对对照品(新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、异绿原酸 B、异绿原酸 A、木犀草苷、异绿原酸 C), 按“2.2.2”项下方法平行制备 6 份供试品溶液, 按“2.1”项下色谱条件进样分析。结果 7 个成分

的平均加样回收率为 93.3%~103.6%, RSD 均 <3%, 该方法测定结果的准确度良好。

#### 4.7 样品含量测定

取 10 批润鼻通窍滴剂(S1~S10), 依“2.2.2”项下方法制备供试品溶液, 按“2.1”项下的色谱条件进样分析, 含量测定结果见表 2。

表 2 10 个批号润鼻通窍滴剂 7 个成分的含量测定结果 ( $n=3$ )

Tab. 2 Content determination results of 7 components in 10 batches of Runbi Tongqiao drops

批次 (batch)	含量 (content)/(mg · mL <sup>-1</sup> )						
	新绿原酸 (neochlorogenic acid)	绿原酸 (chlorogenic acid)	隐绿原酸 (cryptochlorogenic acid)	异绿原酸 B (isochlorogenic acid B)	异绿原酸 A (isochlorogenic acid A)	木犀草苷 (luteoloside)	异绿原酸 C (isochlorogenic acid C)
S1	0.131 7	0.095 5	0.087 9	0.014 3	0.011 1	0.022 7	0.006 9
S2	0.131 5	0.097 5	0.088 3	0.013 6	0.010 9	0.022 9	0.007 3
S3	0.131 7	0.097 9	0.088 7	0.012 8	0.010 3	0.023 1	0.006 8
S4	0.132 7	0.098 5	0.089 4	0.014 5	0.011 8	0.023 1	0.007 8
S5	0.133 1	0.098 9	0.089 6	0.015 8	0.013 7	0.023 6	0.008 6
S6	0.131 7	0.097 1	0.088 2	0.014 5	0.012 5	0.024 3	0.007 8
S7	0.133 8	0.098 2	0.089 7	0.015 4	0.012 9	0.023 3	0.008 4
S8	0.132 2	0.097 6	0.088 5	0.015 3	0.013 4	0.024 2	0.008 3
S9	0.133 2	0.098 9	0.090 1	0.014 5	0.011 5	0.024 9	0.007 6
S10	0.131 7	0.097 1	0.087 4	0.014 0	0.011 4	0.023 8	0.007 3

## 5 讨论

### 5.1 色谱条件的考察

试验对不同色谱柱 (AQUASIL C<sub>18</sub> 和 Acclaim TM - C<sub>18</sub>), 不同流动相(乙腈 - 0.3% 乙酸水溶液、乙腈 - 0.2% 乙酸水溶液、甲醇 - 0.2% 磷酸水溶液、甲醇 - 0.2% 甲酸水溶液、甲醇 - 乙腈 - 0.2% 甲酸水溶液) 的分离情况进行了考察。结果以 Acclaim TM - C<sub>18</sub> 色谱柱, 流动相为甲醇 - 乙腈 - 0.2% 甲酸水溶液时, 峰数目更多, 且分离度更高, 响应值较高, 表明该条件分离效果更佳。采用 DAD 检测器在 225、285、327 和 345 nm 4 个波长处比较供试品溶液色谱峰的响应情况, 结果显示, 大部分成分的色谱峰在 327 nm 下吸收较大、分离效果较优, 故选择 327 nm 为检测波长。其次, 考察了柱温在 25、30 和 35 °C 时的分离效果, 发现柱温在 30 °C 时 7 个待测成分成分分离情况较好, 且峰形较好, 故选择 30 °C 作为检测柱温。

### 5.2 定量指标成分选择

通过查阅文献发现咖啡酰奎宁酸(绿原酸、新绿原酸、隐绿原酸)和二咖啡酰奎宁酸(异绿原酸 A、异

绿原酸 B 和异绿原酸 C) 化合物具有显著的镇咳、祛痰、抗炎、抗过敏<sup>[13]</sup>, 且对很多致病菌具有显著的抑制作用<sup>[14]</sup>。木犀草苷具有解热抗炎<sup>[15]</sup>、止咳<sup>[16]</sup>、抗病毒作用<sup>[17]</sup>。该指标与润鼻通窍滴剂的药效均有较强的关联性, 其含量可客观反映该制剂的质量优劣。

### 5.3 指纹图谱与含量测定结果分析

本研究建立了润鼻通窍滴剂的 HPLC 指纹图谱方法, 同时标定了多批样品中的 14 个共有峰, 并指出其中的 7 个成分, 即新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、异绿原酸 B、异绿原酸 A、木犀草苷、异绿原酸 C。10 批润鼻通窍滴剂与对照图谱的相似度均 >0.92, 表明不同批次润鼻通窍滴剂化学成分基本一致, 但各成分的含量存在一定差异, 可能与药材批次、制备工艺稳定性有关。14 个共有峰的相对保留时间 RSD 为 0.056%~0.20%, 相对峰面积的 RSD 为 0.48%~8.9%, 表明不同批次润鼻通窍滴剂样品间的指纹图谱整体无差异, 但色谱峰高或峰面积存在一定差异, 可用于润鼻通窍滴剂定性鉴别。利用指纹图谱的色谱分离条件, 建立了润鼻通窍滴剂中 7 个成分进行同步定量分析方法。

本研究中润鼻通窍滴剂中新绿原酸的含量最高,可达  $0.1338 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ , 绿原酸和隐绿原酸次之。

本研究以 HPLC 指纹图谱和多指标的含量测定相结合,通过对多批次润鼻通窍滴剂的定性鉴别和含量测定,为以多成分、多指标的润鼻通窍滴剂的质量标准建立提供了研究线索,并为润鼻通窍滴剂的深入开发奠定了坚实的基础。

#### 参考文献

- [1] 中华人民共和国药典 2020 年版. 一部[S]. 2020: 32  
ChP 2020. Vol I [S]. 2020: 32
- [2] 中华人民共和国药典 2020 年版. 四部[S]. 2020: 61  
ChP 2020. Vol IV [S]. 2020: 61
- [3] 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  
REN HQ, LÜ QY, PENG YD, *et al.* Determination of five sesquiterpene lactones in *Centipeda minima* by HPLC/UV[J]. Chin Mod Med, 2019, 21(5): 616
- [4] 何兵, 刘艳, 李春红, 等. 一测多评法同时测定鱼腥草不同部位中 6 种活性成分的量[J]. 中草药, 2013, 44(15): 2160  
HE B, LIU Y, LI CH, *et al.* Simultaneous determination of six active components in different parts of *Houttuynia cordata* by quantitative analysis of multi-components by single marker[J]. Chin Herb Med, 2013, 44(15): 2160
- [5] 曹纬国, 陶燕铎, 颜学伟, 等. 辛夷中辛夷脂素与木兰脂素高效液相色谱含量测定方法的建立与优化[J]. 时珍国医国药, 2014, 25(7): 1598  
CAO WG, TAO YD, YAN XW, *et al.* Establishment and optimization of high performance liquid chromatography (HPLC) method for the determination of xinyizhisu and magnolin in Magnoliae Flos [J]. Shizhen Tradit Chin Med, 2014, 25(7): 1598
- [6] 朱香梅, 李晴, 石雨荷, 等. 山银花的研究进展及其质量标志物预测分析[J]. 世界中医药, 2022, 17(13): 1860  
ZHU XM, LI Q, SHI YH, *et al.* Research progress and quality marker prediction analysis of Lonicerae Flos [J]. World Chin Med, 2022, 17(13): 1860
- [7] 张作华, 褚光松, 王海燕, 等. 一测多评法同时测定苍耳子中 5 个酚酸类成分的含量[J]. 药物分析杂志, 2021, 41(9): 1612  
ZHANG ZH, CHU GS, WANG HY, *et al.* Simultaneous determination of five phenolic acids in *Xanthii Fructus* by quantitative analysis of multi-components by single marker[J]. Chin J Pharm Anal, 2021, 41(9): 1612
- [8] 陈玲珑, 田其学, 李跃辉. 白芷纳米乳鼻喷雾剂质量控制方法的研究[J]. 中医药导报, 2019, 25(18): 47  
CHEN LL, TIAN QX, LI YH. Study on the quality control method of Baizhi nano-emulsion nasal spray[J]. Guiding J Tradit Chin Med Pharm, 2019, 25(18): 47
- [9] 金伟华, 邓凯文, 蒲志强, 等. 盐酸美西律滴鼻剂的制备及质量控制[J]. 中国药业, 2022, 31(21): 52  
JIN WH, DENG KW, PU ZQ, *et al.* Preparation and quality control of mexiletine hydrochloride nasal drops [J]. China Pharm, 2022, 31(21): 52
- [10] 胡岗, 陈鹏, 尹美珍, 等. 单味苍耳子滴鼻剂对变应性鼻炎的疗效观察[J]. 时珍国医国药, 2016, 27(2): 351  
HU G, CHEN P, YIN MZ, *et al.* Observation on the curative effect of single *Xanthium* nasal drops on allergic rhinitis [J]. Lishizhen Med Mater Med Res, 2016, 27(2): 351
- [11] 李玉凤, 张谦华, 林雀跃, 等. 玉叶金花中咖啡酰奎宁酸类成分抗炎活性研究[J]. 长春中医药大学学报, 2022, 38(2): 161  
LI YF, ZHANG QH, LIN QY, *et al.* Study on the anti-inflammatory activities of caffeoylquinic acids from *Mussaenda pubescens* Ait. F. [J]. J Changchun Univ Tradit Chin Med, 2022, 38(2): 161
- [12] WU QZ, ZHAO DX, XIANG J, *et al.* Antitussive, expectorant, and anti-inflammatory activities of four caffeoylquinic acids isolated from *Tussilago farfara* [J]. Pharm Biol, 2016, 54(7): 1117
- [13] 卡迪丽娅·木拉提, 艾力根·阿不都热依木, 张瑾. 异绿原酸 A 抑制变应性鼻炎大鼠炎症反应[J]. 解剖科学进展, 2022, 28(2): 234  
Ka-Di-Li-Ya·Mu-La-Ti, Ai-Li-Gen·A-Bu-Dou-Re-Yi-Mu, ZHANG J. Isochlorogenic acid A inhibits inflammatory response in rats with allergic rhinitis [J]. Prog Anat Sci, 2022, 28(2): 234
- [14] 元超, 王鸿发, 胡璇, 等. 艾纳香中绿原酸类化学成分研究[J]. 热带作物学报, 2019, 40(6): 1176  
YUAN C, WANG HF, HU X, *et al.* Study on the chemical constituents of chlorogenic acids in *Blumea balsamifera* [J]. Chin J Trop Crop, 2019, 40(6): 1176
- [15] 马双成, 刘燕, 毕培曦, 等. RP-HPLC 法测定金银花药材中常春藤皂苷元及齐墩果酸的含量[J]. 药物分析杂志, 2006, 26(7): 885  
MA SC, LIU Y, BI PX, *et al.* Determination of hederagenin and oleanolic acid in *Lonicerae Japonicae Flos* by RP-HPLC [J]. Chin J Pharm Anal, 2006, 26(7): 885
- [16] 湖南医药工业研究所技术情报研究室. 中草药通讯[M]. 长沙: 湖南医药工业研究所, 1977: 12  
Technical Information Laboratory, Hunan Institute of Pharmaceutical Industry. Chinese Herbal Medicine Communication [M]. Changsha: Hunan Institute of Pharmaceutical Industry, 1977: 12
- [17] 马双成, 刘燕, 毕培曦, 等. 金银花药材中抗呼吸道感染黄酮类成分的定量研究[J]. 药物分析杂志, 2006, 26(4): 426  
MA SC, LIU Y, BI PX, *et al.* Quantitative study on flavonoids from flos *Lonicerae* with anti-respiratory virus infection [J]. Chin J Pharm Anal, 2006, 26(4): 426

(本文于 2024 年 4 月 16 日收到)