

## 正天丸挥发性成分的气相特征图谱分析

朱琼<sup>1</sup>, 耿璐璐<sup>2</sup>, 李琼娅<sup>3</sup>, 聂其霞<sup>1</sup>, 王国华<sup>1</sup>,  
王勇<sup>3</sup>, 臧琛<sup>1</sup>, 张保献<sup>1\*</sup>

(1. 中国中医科学院 中药研究所, 北京 100700; 2. 吉林大学 珠海学院, 广东 珠海 519041;  
3. 华润三九医药股份有限公司, 广东 深圳 518110)

**[摘要]** **目的:**建立正天丸中挥发性成分的气相特征图谱,为该制剂的质量控制提供参考。**方法:**采用水蒸气蒸馏法提取正天丸中挥发性成分,通过气相色谱法对16批正天丸中挥发性成分进行分析,以相对保留时间为指标,建立正天丸挥发性成分的气相特征图谱,考察14批正天丸中间体和制剂特征图谱的差异性。**结果:**正天丸挥发性成分气相特征图谱指定了20个共有峰,确定了3个化学成分(阿魏酸、甲基丁香酚和藁本内酯)。精密度、重复性、稳定性试验中共有峰相对保留时间RSD均<0.1%;14批正天丸中间体挥发性成分气相图谱各共有峰相对保留时间RSD均<0.1%,与制剂特征图谱相对保留时间差别不大。**结论:**建立的正天丸挥发性成分气相特征图谱特征性强、方法准确可靠、重复性好,可用于正天丸挥发性成分的质量控制。正天丸制备工艺成熟、稳定,制剂批间一致性良好。

**[关键词]** 正天丸;挥发性成分;气相特征图谱;阿魏酸;甲基丁香酚;藁本内酯;中间体

**[中图分类号]** R283.6;R284.1;R284.2;R222.18 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)24-0076-04

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2016240076

**[网络出版地址]** <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20160603.1130.012.html>

**[网络出版时间]** 2016-06-03 11:30

## GC Characteristic Chromatogram Analysis of Volatile Components in Zhengtian Pills

ZHU Qiong<sup>1</sup>, GENG Lu-lu<sup>2</sup>, LI Qiong-ya<sup>3</sup>, NIE Qi-xia<sup>1</sup>, WANG Guo-hua<sup>1</sup>,  
WANG Yong<sup>3</sup>, ZANG Chen<sup>1</sup>, ZHANG Bao-xian<sup>1\*</sup>

(1. *Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China;*  
2. *Zhuhai College, Jilin University, Zhuhai 519041, China;*  
3. *Sanjiu Medical & Pharmaceutical Co. Ltd., Shenzhen 518110, China*)

**[Abstract]** **Objective:** To establish the verified method of gas chromatography (GC) characteristic chromatogram of volatile components in Zhengtian pills, and provide a reference for the quality control of this preparation. **Method:** Volatile components in 16 batches of Zhengtian pills were extracted by steam distillation and analyzed by GC, taking relative retention time as index, GC characteristic chromatogram of volatile components in Zhengtian pills was established, difference of characteristic chromatogram between Zhengtian pills and 14 batches of intermediate was investigated. **Result:** Twenty common peaks were selected as characteristic peaks to assess similarities of different samples from different origins, and three of them were confirmed. Relative standard deviations (RSDs) of precision, reproducibility, stability were all less than 0.1%. RSDs of relative retention time of common peaks in intermediate were less than 0.1%, and there was little difference between intermediate and Zhengtian pills. **Conclusion:** This method is accurate and reliable with good repeatability, which can be used

**[收稿日期]** 20160223(004)

**[基金项目]** 国家“重大新药创制”科技重大专项(2013ZX09201022)

**[第一作者]** 朱琼,在读硕士,从事中药新剂型与新型给药系统研究,Tel:010-84014127,E-mail:joanzhuqiong@yeah.net

**[通讯作者]** \*张保献,研究员,从事中药新剂型与新型给药系统研究,Tel:010-84014127,E-mail:zhangbaoxian925@163.com

for quality control of volatile components in Zhengtian pills. Preparation technology of Zhengtian pills is stable and its consistency between batches is good.

[ **Key words** ] Zhengtian pills; volatile components; GC characteristic chromatogram; ferulic acid; methyl eugenol; ligustilide; intermediate

正天丸是由南方医科大学附属南方医院中医科陈宝田名老中医的临床经验方开发而成,其处方由钩藤、白芍、川芎、当归、地黄、白芷、防风、羌活、桃仁、红花、细辛、独活、麻黄、黑顺片、鸡血藤共 15 味药组成,具有疏风活血、养血平肝、通络止痛的功效。适用于多种类型头痛的治疗<sup>[1]</sup>,疗效确切,不良反应少<sup>[2]</sup>。

正天丸收载于《中国药典》2015 年版一部<sup>[3]</sup>,现有红花、鸡血藤、桃仁、防风的显微鉴别,钩藤、白芍、麻黄、独活的薄层鉴别与白芍中芍药苷的含量测定,在该制剂主要含挥发性成分的细辛及伞形科当归、川芎、羌活、独活、防风、白芷 7 味药材中,目前只对独活、防风 2 味药进行了鉴别。目前也有对正天丸中阿魏酸、升麻素苷<sup>[4]</sup>、羟基红花黄色素 A<sup>[5]</sup> 等成分进行含量测定及 HPLC 特征图谱<sup>[6]</sup> 研究的报道。但尚未见对正天丸中细辛和伞形科药材的挥发性成分研究。研究表明伞形科植物芳香挥发性成分具有较好的通络、避秽、改善血液流变学异常等疗效<sup>[7]</sup>,细辛挥发油具有祛风散寒、通窍止痛等功效<sup>[8]</sup>,均是正天丸发挥药理作用的主要组成部分。正天丸为全生粉入药,制丸过程中温度变化会对挥发性成分造成一定程度的影响。为整体、有效地控制正天丸的质量,本实验通过对 16 批正天丸进行气相色谱分析,建立该品种挥发性成分的气相特征图谱,为该制剂的质量评价提供参考。

## 1 材料

GC-2014 型气相色谱仪(日本岛津公司), RTX-5 型毛细管柱[0.25 mm × 30 m, 0.25 μm, 瑞斯泰康科技(北京)有限公司]。川芎、羌活、独活、防风、当归、白芷、细辛等药材均由华润三九医药股份有限公司提供,经中国中医科学院中药研究所臧琛副主任药师鉴定,均符合《中国药典》2015 年版一部的相关规定;藁本内酯、甲基丁香酚、阿魏酸对照品(中国食品药品检定研究院,批号分别为 111737-201305, 111642-200301, 110773-201313), 16 批正天丸(批号 1503023H ~ 1503034H, 1407025H, 1408001H, 1408003H, 1408027H), 14 批正天丸中间体(1503023H ~ 1503035H, 1503037H), 水为蒸馏水, 甲醇为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

**2.1 色谱条件** 进样口温度 270 °C, 检测器温度 300 °C, 分流比 1:50, 载气氮气, 氢气压力 55 kPa, 空气压力 45 kPa, 尾吹扫流量 30 mL·min<sup>-1</sup>, 柱流量 1 mL·min<sup>-1</sup>; 程序升温(起始温度 70 °C, 保持 1 min; 以 2 °C·min<sup>-1</sup> 的速率升至 90 °C, 保持 1 min; 以 5 °C·min<sup>-1</sup> 的速率升至 220 °C, 保持 1 min; 以 12 °C·min<sup>-1</sup> 的速率升至 270 °C, 保持 5 min)。

**2.2 供试品溶液的制备** 精密称取样品粉末(过三号筛)约 15 g, 置烧瓶中, 加入水 240 mL 及玻璃珠数颗, 连接挥发油提取器, 自挥发油提取器上端加水至叉口有水溢入烧瓶为止, 并由提取器上端定量加入乙酸乙酯 2 mL, 保持微沸状态 2 h。冷却后收集乙酸乙酯层, 加乙酸乙酯定容至 2 mL, 加入适量无水硫酸钠, 静置, 取上层液, 滤过, 即得。

**2.3 对照品溶液制备** 精密称取藁本内酯、阿魏酸对照品适量, 分别加甲醇制成质量浓度为 200, 44 mg·L<sup>-1</sup> 的对照品溶液。精密称取甲基丁香酚对照品适量, 加正己烷制成 580 mg·L<sup>-1</sup> 对照品溶液。

### 2.4 方法学考察

**2.4.1 精密度试验** 取本品粉末, 按 2.2 项下方法制备供试品溶液, 按 2.1 项下条件连续进样 6 次, 计算各共有峰相对保留时间的 RSD < 0.1%, 表明仪器精密度良好。

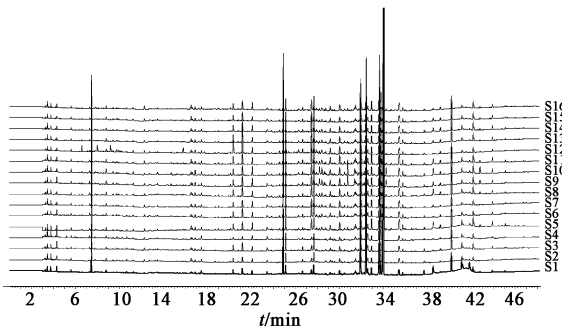
**2.4.2 重复性试验** 取本品粉末 6 份, 按 2.2 项下方法制备供试品溶液, 按 2.1 项下条件测定, 计算各共有峰相对保留时间的 RSD < 0.1%, 表明该方法重复性良好。

**2.4.3 稳定性试验** 取本品粉末按 2.2 项下方法制备供试品溶液, 分别在 0, 1, 2, 4, 12, 24, 48 h 按 2.1 项下条件进样, 计算各共有峰相对保留时间的 RSD < 0.1%, 表明供试品溶液在 48 h 内稳定。

### 2.5 GC 特征图谱的建立与共有峰的确定

**2.5.1 特征图谱的建立** 取 16 批正天丸样品, 按 2.2 项下方法制备供试品溶液, 精密吸取 1 μL 按 2.1 项下色谱条件测定, 见图 1。选取其中 20 个色谱峰作为共有峰, 非共有峰面积占总峰面积的比例 < 10%。将 16 批制剂气相色谱分析所得数据导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”(2012

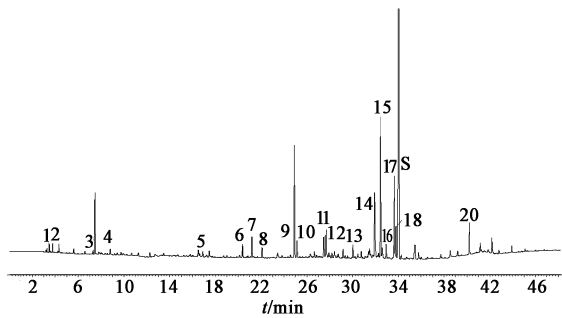
版),以批号 S16 样品的图谱为参照图谱,进行全谱匹配,建立特征图谱,见图 2。



S1. 1407025H; S2. 1408001H; S3. 1408003H; S4. 1408027H; S5 ~ S16. 1503023H ~ 1503034H

图 1 16 批正天丸样品的指纹谱

Fig. 1 Fingerprints of 16 batches of Zhengtian pills



8. 阿魏酸;9. 甲基丁香酚;S. 藁本内酯

图 2 正天丸样品 GC 特征谱

Fig. 2 GC characteristic chromatogram of Zhengtian pills

**2.5.2 共有峰指认** 经 GC-MS 对正天丸水蒸气蒸馏法提取的挥发性成分进行质核比分析,发现藁本内酯和甲基丁香酚为主要成分。按 2.1 项下色谱条件分析阿魏酸、甲基丁香酚、藁本内酯对照品溶液,与特征图谱比对,指认共有峰中 8 号峰为阿魏酸,9 号峰为甲基丁香酚,19 号峰(S)为藁本内酯。

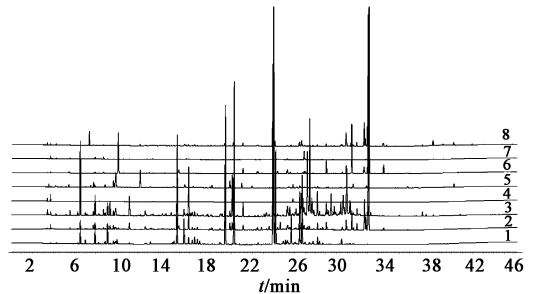
**2.5.3 特征图谱技术参数** 正天丸 GC 特征图谱中,19 号峰(藁本内酯)含量最高,稳定性好,定为参照峰(S 峰),计算 20 个特征峰与 S 峰的相对保留时间,见表 1。

**2.5.4 制剂与药材相关性** 将与制剂匹配的细辛、当归、川芎、独活、羌活、防风、白芷药材(各 5 批),按 2.2 项下方法制备供试品溶液,各药材按处方折算取样,同法制备各药材供试品溶液,按 2.1 项下色谱条件测定。将得到的各药材数据分别导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”(2012 版),全部色谱峰匹配拟合得到各药材气相特征图谱,与正天丸气相特征图谱进行比较,见图 3,对比各共有峰的出峰位置,确定各共有峰主要药材来源,见表 2。

表 1 正天丸 GC 特征图谱的相对保留时间( $\bar{x} \pm s, n = 5$ )

Table 1 Relative retention time of GC characteristic chromatogram of Zhengtian pills( $\bar{x} \pm s, n = 5$ )

峰号	相对保留时间	峰号	相对保留时间
1	0.101 6 ± 0.005 1	11	0.807 2 ± 0.040 4
2	0.110 5 ± 0.005 5	12	0.813 5 ± 0.040 7
3	0.219 2 ± 0.011 0	13	0.882 2 ± 0.044 1
4	0.258 7 ± 0.012 9	14	0.938 0 ± 0.046 9
5	0.496 5 ± 0.024 8	15	0.953 2 ± 0.047 7
6	0.598 3 ± 0.029 9	16	0.967 4 ± 0.048 4
7	0.622 8 ± 0.031 1	17	0.988 4 ± 0.049 4
8	0.648 8 ± 0.032 4	18	0.992 5 ± 0.049 6
9	0.731 8 ± 0.036 6	19(S)	1
10	0.738 5 ± 0.036 9	20	1.181 1 ± 0.059 1



1. 细辛;2. 川芎;3. 羌活;4. 白芷;5. 独活;6. 当归;7. 防风;8. 样品

图 3 正天丸样品与部分药材的相关性 GC

Fig. 3 GC chromatograms of correlation between Zhengtian pills and some of its Chinese herbs

表 2 正天丸中挥发性成分共有峰与药材的相关性分析

Table 2 Correlation between common peaks of volatile components in Zhengtian pills and its Chinese herbs

峰号	来源药材	峰号	来源药材
1	川芎、羌活、白芷	11	川芎、羌活、独活、白芷、细辛
2	川芎、当归、防风、独活、羌活	12	川芎、当归、羌活、独活、细辛、白芷
3	川芎、羌活	13	川芎、羌活、当归
4	当归、羌活、防风、白芷	14	川芎、羌活、独活
5	川芎、羌活、当归、细辛	15	川芎、当归
6	川芎、当归、羌活、防风、独活、白芷、细辛	16	川芎、羌活
7	川芎、当归、独活、白芷、细辛	17	川芎、当归、独活
8	川芎、当归、羌活	18	川芎、防风、独活
9	细辛	19	川芎、当归
10	川芎、当归、独活、白芷	20	防风、羌活

**2.6 中间体检测** 14 批正天丸中间体按 2.2 项下方法制备中间供试品溶液,精密吸取 1  $\mu$ L 按 2.1 项下色谱条件分析,结果 14 批正天丸中间体的 20 个共有峰均可检测到,相对保留时间 RSD 均  $< 0.1\%$ ,在相对保留时间范围内,图谱与制剂特征图谱差异不大。表明正天丸生产工艺技术成熟稳定,对生产过程中挥发性成分的影响较小。

### 3 讨论

供试品溶液的制备方法考察了乙酸乙酯超声提取、石油醚回流提取、水蒸气蒸馏提取等方法,发现回流提取时,样品溶液过于黏稠;超声提取时,图谱整体性差,色谱峰峰型不佳;而水蒸气蒸馏提取时,挥发性成分图谱整体性好,峰数目多且分离度好,故选取水蒸气蒸馏法制备供试品溶液。提取时间分别考察了 2, 4, 8 h, 经比较,不同提取时间对图谱整体色谱峰个数影响不大,相对保留时间差别也不大,结合实际工业生产,故选取提取时间 2 h。预试验对极性<sup>[9]</sup>与弱极性<sup>[10]</sup>毛细管柱进行比较,结果发现采用极性毛细管柱分析时,色谱峰主要集中在图谱前端且峰数目少,而采用弱极性毛细管柱则峰数明显多于极性柱且分离度好,故选取弱极性毛细管柱进行 GC 特征图谱分析。

正天丸处方由 15 味药材组成,成分复杂,制丸过程中温度变化对挥发性成分有一定影响。张敏<sup>[11]</sup>分析了正天丸中挥发性成分的化学组成,但目前尚未见正天丸挥发性成分整体质量控制和批间一致性的相关研究。本文通过对 16 批正天丸中挥发性成分气相色谱的整体研究,建立了正天丸挥发性成分气相特征图谱,指认了 20 个特征峰,确定了其中 3 个色谱峰,对 20 个共有峰进行了归属。并对 14 批中间体挥发性成分气相色谱分析,发现中间体与制剂差别不大,表明正天丸生产工艺成熟、稳定,

挥发性成分保留较好,批间一致性良好。综上所述,本文建立的特征图谱特征性强、方法准确可靠、重复性好、特征峰分离度高,能有效控制挥发性成分的损耗,可为正天丸的整体质量控制提供参考。

#### [参考文献]

- [1] 曹克刚,高颖,黄粤. 正天丸治疗头痛临床研究[J]. 天津中医药,2009,26(4):349-350.
- [2] 陈捷,梁伟雄,秦劭晨,等. 正天丸治疗偏头痛的有效性与安全性的系统评价[J]. 中国实验方剂学杂志,2015,21(19):194-200.
- [3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2015:747-748.
- [4] 黄澜,陈惠玲,李玲玲. HPLC 同时测定正天丸中芍药苷、阿魏酸、升麻素苷、5-O-甲基维斯阿米醇苷的含量[J]. 中国中药杂志,2013,38(13):2114-2117.
- [5] 汪建君,李玲玲,陈惠玲,等. HPLC 法测定正天丸和正天胶囊中羟基红花黄色素 A 的含量[J]. 中国药品标准,2013,14(3):197-200.
- [6] 黄澜,黄惠琼,李玲玲. 正天丸的 HPLC 特征图谱研究[J]. 中国药房,2015,26(12):1713-1715.
- [7] 李伟霞,唐于平,郭建明,等. 比较评价当归川芎配伍对急性血瘀大鼠血液流变学及凝血功能的影响[J]. 中国中西医结合杂志,2012,32(6):806-811.
- [8] 穆启运,蓝涛华,徐方方,等. 正交试验优选川芎和细辛挥发油的  $\beta$ -环糊精微囊萃取工艺及成分分析[J]. 中国实验方剂学杂志,2014,20(20):1-5.
- [9] 李秋怡,宋恬,干国平,等. 川芎油的气相色谱指纹图谱研究[J]. 中草药,2008,39(2):206-208.
- [10] 王红,韩晓萍. GC 法同时测定妇科十味片中  $\alpha$ -香附酮和藁本内酯[J]. 中成药,2012,34(9):1707-1710.
- [11] 张敏. 正天丸及其原料药鸡血藤质量标准研究[D]. 广州:广州中医药大学,2014.

[责任编辑 刘德文]