

## 芎冰鼻腔喷雾剂指纹图谱研究

郭丽蓉, 周莉玲\*, 沈海球, 莫媚丹  
(广州中医药大学中药学院, 广州 510006)

**[摘要]** 目的:测定川芎药材及芎冰鼻腔喷雾剂的指纹图谱,为科学评价及有效控制其质量提供可靠方法。方法:高效液相色谱法,Phenomenex Hyperclone BDS C<sub>18</sub>(4.00 mm×250 mm,5 μm),甲醇 1% 冰乙酸为流动相,梯度洗脱,322 nm 检测。结果:川芎药材和芎冰鼻腔喷雾剂指纹图谱峰数多,分离好,有相关性,精密度,重复性,稳定性均 <3%。结论:本方法科学、准确、专属性好,可为芎冰鼻腔喷雾剂及含川芎的中成药控制质量提供可靠的科学依据。

**[关键词]** 川芎;芎冰鼻腔喷雾剂;指纹图谱;高效液相色谱法

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)09-0063-05

### HPLC Fingerprinting of Total Xiongbing Nasal Spray

GUO Li-rong, ZHOU Li-ling\*, SHEN Hai-qiu, MO Mei-dan  
(Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China)

**[Abstract]** **Objective:** To establish sensitive and specific HPLC fingerprint for controlling the quality of Rhizoma Chuanxiong and Xiongbing Nasal spray. **Method:** HPLC method was applied for quality assessment of Xiongbing Nasal spray. HPLC analysis was performed on a Phenomenex Hyperclone BDS C<sub>18</sub>(4.00 mm×250 mm, 5 μm) by gradient elution using methanol-1% acetic acid solution as mobile phase. Flow-rate was 1 mL·min<sup>-1</sup>. The detection wavelength was at 322 nm. **Result:** Rhizoma Chuanxiong and Xiongbing Nasal spray were closely related to each other. **Conclusion:** The method is rapid and accurate. It can be used for determination of Xiongbing Nasal spray and Chinese formulated medicine with it.

**[Key words]** Rhizoma Chuanxiong; Xiongbing Nasal spray; fingerprints; HPLC

芎冰处方源自广州中医药大学一附院心脑血管内科专家陈宏珪教授积多年治疗中风经验研制成的醒脑喷雾剂,经鼻腔给药治疗 AIS 取得确切疗效。方中川芎辛、温,气香窜,温窜香并,具有活血行气、祛风止痛的作用,能“上行头目,下行血海”。冰片辛、苦,微寒,具有开窍醒神、清热止痛的功效,多用于中风、痰热、神昏窍闭等症。因其“独行则势弱,佐

使则有功”常做辅药或引经药用。川芎、冰片合用,气血同治,佐使得法,共凑理气活血、开窍之功,使“气顺则痰自清”,“血行而风自灭”,充分发挥两药辛香走窜之力,以达治疗 AIS 之功。本研究根据指纹图谱研究技术要求<sup>[1]</sup>,采用 HPLC 建立了芎冰鼻腔喷雾剂及川芎药材的标准指纹图谱,并考察二者相关性,为芎冰鼻腔喷雾剂的内在质量控制提供了一个有效的方法。

#### 1 仪器与试药

岛津 LC-2010CHT 高效液相色谱仪,SPD-M10A 检测器,LC solution 工作站,Phenomenex Hyperclone BDS C<sub>18</sub>(4.00 mm×250 mm,5 μm),BS110S 型电子天平(德国 Sartorius 公司),HS6510D 超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

阿魏酸对照品(中国药品生物制品检定所,批号

**[收稿日期]** 20101025010

**[基金项目]** 国家自然科学基金(30672669)

**[第一作者]** 郭丽蓉,硕士研究生,中药药剂学专业, Tel: 020-39356169, E-mail: guolirong@foxmail.com

**[通讯作者]** \*周莉玲,教授,博士生导师,从事中药新剂型与新技术的研究, Tel: 020-39358040, E-mail: zhouliling717@sina.com

110773-200611), 芎冰鼻腔喷雾剂(自制, 批号 100901, 100902, 100903, 100904, 100905, 100906, 100907, 100908, 100909, 100910), 川芎药材(购于广州药材市场, 批号 101001, 101002, 101003, 101004, 101005, 101006, 101007, 101008, 101009, 101010)。

色谱甲醇(迪马), 水为超纯水, 其他试剂为分析纯。

## 2 方法与结果

**2.1 色谱条件** 色谱柱 Phenomenex Hyperclone BDS C<sub>18</sub> (4.00 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相甲醇-1% 冰乙酸(0 ~ 40 min, 20: 80 ~ 45: 55; 40 ~ 60 min, 45: 55 ~ 70: 30; 60 ~ 70 min, 70: 30 ~ 84: 16), 流速 1 mL·min<sup>-1</sup>, 检测波长 322 nm, 紫外检测时间 70 min, 柱温 35 ℃。

**2.2 检测波长考察** 采用二级管阵列检测器对检测波长进行考察, 分别记录在 322, 340, 280, 254 nm 波长处的色谱图。结果在 322 nm 处, 各色谱峰均有较好的紫外吸收, 基线平稳, 色谱信息最为丰富, 并且分离度良好, 因此选择 322 nm 作为检测波长。

**2.3 流动相的选择** 分别以甲醇和 1% 冰乙酸水溶液、甲醇和 0.5% 冰乙酸水溶液、甲醇和 0.25% 冰乙酸水溶液、甲醇和 1% 磷酸水溶液、甲醇和 0.5% 磷酸水溶液、甲醇和 0.25% 磷酸水溶液不同比例为流动相对供试品进行分析。结果表明, 甲醇和磷酸水溶液为流动相峰形不好, 分离度不高, 而以做梯度洗脱, 分离峰较多, 且分离度较好, 故选择甲醇和 1% 冰乙酸水溶液为流动相。理论塔板数以阿魏酸计, 不低于 6 000。

**2.4 测定时间的选择** 在上述 HPLC 测定条件下, 对样品分析一定时间。结果表明, 供试品溶液在 70 min 后, 基本上无色谱峰, 故检测时间选定为 70 min。

**2.5 参照峰的选择** 因阿魏酸的峰面积在图谱中所占的比例较大, 较稳定, 选其为参照峰(S)。

### 2.6 溶液的制备

**2.6.1 对照品溶液的制备** 精密称取干燥至恒重的阿魏酸对照品适量, 加甲醇制成 0.3 g·L<sup>-1</sup> 的对照品溶液。

**2.6.2 供试品溶液的制备** 精密量取芎冰鼻腔喷雾剂 250 μL, 加甲醇定容至 10 mL, 经 0.45 μm 微孔滤膜过滤, 即得, 作为芎冰鼻腔喷雾剂供试品。

精密称取川芎药材 2 g, 加入 95% 乙醇 50 mL,

放置过夜, 超声 20 min, 滤过, 滤液挥干, 加 20 mL 水, 以 20, 20, 10 mL 乙酸乙酯萃取 3 次, 合并萃取液, 挥干, 残渣加甲醇溶解定容至 10 mL, 经 0.45 μm 微孔滤膜过滤, 即得, 作为川芎药材供试品<sup>[2]</sup>。

**2.6.3 空白对照溶液的制备** 按处方量制备川芎阴性制剂, 精密量取 250 μL, 加甲醇定容至 10 mL, 经 0.45 μm 微孔滤膜过滤, 即得。

### 2.7 方法学考察

**2.7.1 对照品实验** 吸取对照品溶液 10 μL, 注入高效液相色谱仪, 记录梯度洗脱条件下色谱图, 结果见图 1。

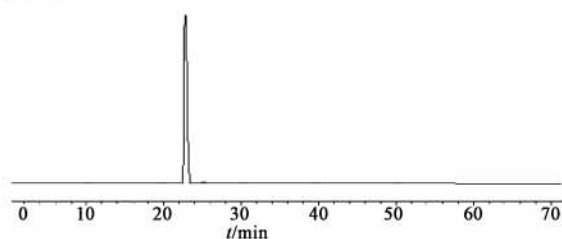


图 1 梯度洗脱条件下阿魏酸对照品图谱

**2.7.2 阴性对照试验** 吸取川芎阴性对照溶液 10 μL, 注入高效液相色谱仪, 记录梯度洗脱条件下色谱图, 结果显示阴性对照无干扰。

**2.7.3 精密度试验** 以同一份供试品溶液连续进样 6 次, 对共有峰的相对保留时间和相对峰面积进行统计, 结果显示各共有峰的相对保留时间和相对峰面积 RSD < 3%, 表明系统精密度良好。

**2.7.4 重复性试验** 取同一批号的供试品溶液 6 份, 按以上色谱条件进行测定, 对共有峰的相对保留时间和相对峰面积进行统计, 结果显示各共有峰的相对保留时间和相对峰面积 RSD < 3%, 表明方法重复性较好。

**2.7.5 稳定性试验** 以同一批号供试品为考察对象, 稳定性考察时间为 0, 4, 6, 10, 12, 24 h, 并对共有峰的相对保留时间和相对峰面积进行计算, 结果显示各共有峰的相对保留时间和相对峰面积 RSD < 3%, 表明该供试品 24 h 稳定。

### 2.8 川芎药材指纹图谱

**2.8.1 样品的测定** 精密吸取 10 批川芎药材供试品溶液(批号依次记为 101001 ~ 101010), 依次进样, 在上述色谱条件下分别测定, 记录色谱图, 见图 2。结果发现, 10 批川芎药材共有 20 个共有峰。以 8 号阿魏酸的色谱峰为参照峰(S), 其相对保留时间为 1.00, 相对峰面积为 1.00, 计算其他各峰的相对

保留时间和相对峰面积。

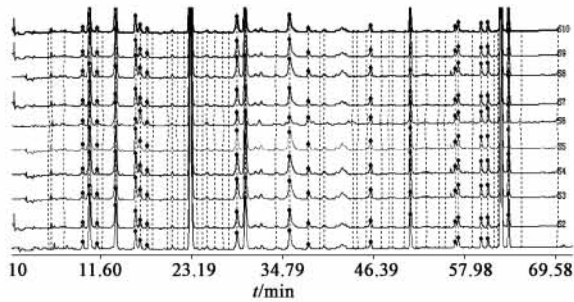


图2 10批川芎药材的指纹图谱

(图谱从下而上批号依次为 101001,101002,101003,101004,101005,101006,101007,101008,101009,101010)

他各峰的相对保留时间和相对峰面积,相对保留时间见表1,相对峰面积见表2。

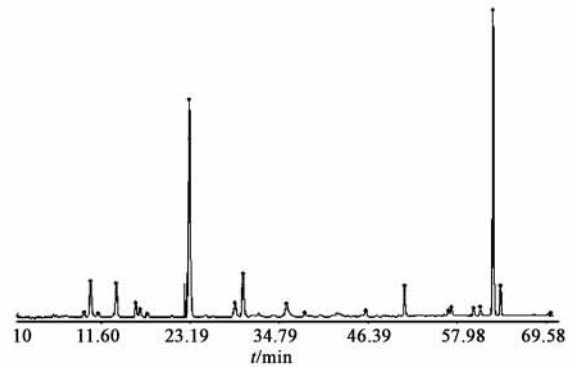


图3 川芎药材对照指纹图谱

**2.8.2 川芎 HPLC 指纹图谱共有模式的建立** 用“中药色谱指纹图谱相似度评价系统 2004A 版”软件进行数据处理,将多个色谱图进行比较,得到可以反映多个色谱图特征的对照模式色谱图,结果见图3。

## 2.9 芎冰鼻腔喷雾剂指纹图谱

**2.9.1 样品的测定** 精密吸取 10 批芎冰鼻腔喷雾剂供试品溶液(批号依次记为 100901 ~ 100910),依次进样,在上述色谱条件下分别测定,记录色谱图,见图4。结果发现,10 批芎冰鼻腔喷雾剂共有 22 个共有峰。以 8 号阿魏酸的色谱峰为参照峰(S),其相对保留时间为 1.00,相对峰面积为 1.00,计算其

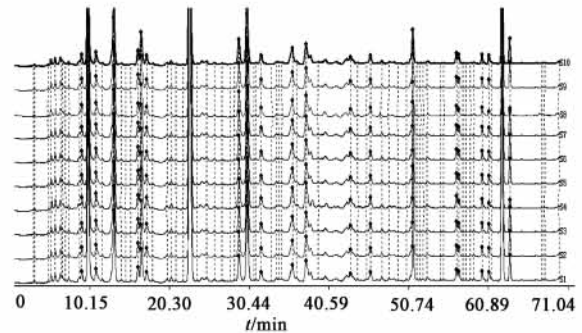


图4 10批芎冰鼻腔喷雾剂的指纹图谱

(图谱从下而上批号依次为 100901,100902,100903,100904,100905,100906,100907,100908,100909,100910)

表1 10批川芎药材指纹图谱主要共有峰相对保留时间

共有峰	药材批号										RSD/%
	100901	100902	100903	100904	100905	100906	100907	100908	100909	100910	
1	0.412	0.408	0.407	0.426	0.402	0.398	0.411	0.399	0.413	0.412	2.03
2	0.435	0.447	0.437	0.442	0.429	0.433	0.434	0.435	0.436	0.444	1.26
3	0.475	0.479	0.478	0.493	0.476	0.477	0.475	0.476	0.473	0.477	1.16
4	0.576	0.576	0.578	0.587	0.568	0.576	0.577	0.577	0.576	0.582	0.84
5	0.687	0.693	0.684	0.711	0.683	0.688	0.682	0.687	0.692	0.686	1.22
6	0.729	0.724	0.722	0.735	0.725	0.726	0.728	0.725	0.726	0.728	0.49
7	0.765	0.765	0.764	0.767	0.769	0.779	0.766	0.765	0.765	0.765	0.58
8S	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.00
9	1.255	1.278	1.273	1.276	1.273	1.271	1.278	1.273	1.187	1.272	2.19
10	1.323	1.322	1.334	1.323	1.348	1.327	1.342	1.335	1.321	1.327	0.69
11	1.387	1.398	1.395	1.392	1.427	1.422	1.396	1.395	1.397	1.393	0.94
12	1.567	1.552	1.556	1.562	1.558	1.567	1.568	1.564	1.572	1.568	0.40
13	1.643	1.627	1.642	1.638	1.638	1.639	1.639	1.638	1.643	1.639	0.28
14	1.848	1.882	1.792	1.872	1.874	1.794	1.793	1.853	1.883	1.882	2.13
15	1.998	2.134	2.021	1.999	2.014	2.015	2.016	2.018	2.016	2.013	1.94
16	2.233	2.245	2.236	2.232	2.239	2.235	2.232	2.238	2.241	2.237	0.19
17	2.362	2.434	2.357	2.375	2.358	2.344	2.349	2.357	2.347	2.352	1.11
18	2.475	2.483	2.467	2.485	2.436	2.433	2.445	2.489	2.487	2.485	0.90
19	2.522	2.516	2.516	2.614	2.516	2.523	2.499	2.517	2.517	2.512	1.26
20	2.643	2.647	2.652	2.714	2.637	2.633	2.588	2.635	2.638	2.638	1.16
21	2.743	2.746	2.716	2.767	2.747	2.745	2.718	2.725	2.728	2.731	0.58
22	2.791	2.787	2.767	2.798	2.784	2.785	2.754	2.778	2.763	2.764	0.52

表 2 指纹图谱主要共有峰相对峰面积

共有峰	药材批号										RSD/%
	100901	100902	100903	100904	100905	100906	100907	100908	100909	100910	
1	0.028	0.029	0.028	0.028	0.029	0.028	0.029	0.028	0.029	0.029	1.83
2	0.418	0.415	0.421	0.416	0.398	0.418	0.415	0.421	0.418	0.418	1.59
3	0.043	0.043	0.044	0.043	0.043	0.043	0.043	0.044	0.043	0.043	0.982
4	0.215	0.214	0.215	0.214	0.216	0.215	0.216	0.215	0.212	0.215	0.54
5	0.025	0.026	0.025	0.026	0.025	0.025	0.026	0.025	0.026	0.025	2.03
6	0.114	0.115	0.116	0.114	0.115	0.116	0.115	0.116	0.114	0.115	0.71
7	0.035	0.036	0.035	0.036	0.036	0.035	0.036	0.035	0.036	0.037	1.89
8S	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.00
9	0.079	0.083	0.082	0.083	0.082	0.079	0.083	0.082	0.083	0.082	1.89
10	0.227	0.227	0.235	0.226	0.235	0.225	0.225	0.235	0.226	0.235	2.04
11	0.035	0.036	0.036	0.036	0.035	0.035	0.034	0.036	0.036	0.035	1.98
12	0.068	0.067	0.068	0.067	0.065	0.068	0.067	0.068	0.066	0.065	1.79
13	0.078	0.082	0.079	0.081	0.078	0.078	0.082	0.079	0.081	0.078	2.15
14	0.034	0.035	0.034	0.036	0.035	0.034	0.035	0.034	0.036	0.035	2.27
15	0.026	0.026	0.026	0.027	0.026	0.026	0.026	0.025	0.027	0.026	2.17
16	0.083	0.083	0.082	0.084	0.082	0.082	0.083	0.082	0.084	0.082	0.99
17	0.005 8	0.005 7	0.005 8	0.005 8	0.006	0.005 7	0.005 7	0.005 8	0.005 8	0.006	1.89
18	0.023	0.023	0.024	0.023	0.024	0.024	0.023	0.024	0.023	0.024	2.24
19	0.014	0.014	0.014	0.014	0.014	0.014	0.014	0.014	0.014	0.013	2.28
20	0.018	0.019	0.019	0.019	0.018	0.019	0.019	0.019	0.019	0.018	2.58
21	0.216	0.217	0.213	0.208	0.225	0.214	0.217	0.213	0.208	0.215	2.27
22	0.016	0.016	0.016	0.016	0.016	0.015	0.016	0.016	0.015	0.016	2.67

2.9.2 芎冰鼻腔喷雾剂 HPLC 指纹图谱共有模式的建立 用“中药色谱指纹图谱相似度评价系统 2004A 版”软件进行数据处理,将多个色谱图进行比较,得到可以反映多个色谱图特征的对照模式色谱图,结果见图 5。

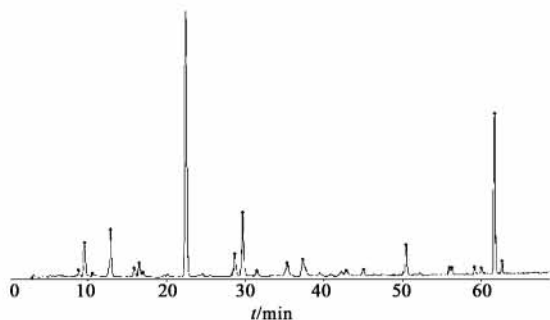


图 5 芎冰鼻腔喷雾剂对照指纹图谱

2.9.3 指纹图谱相似度分析 用“中药色谱指纹图谱相似度评价系统 2004A 版”软件进行数据处理,

10 批制剂的相似度都大于 0.9,说明不同批次的制剂稳定性较好,可作为该制剂的质量控制。

2.10 川芎药材、芎冰鼻腔喷雾剂之间相关性的比较 芎冰鼻腔喷雾剂含川芎、冰片等药材,制剂中应该有与川芎药材保留时间一致的对应峰,在川芎药材、制剂的图谱里保留时间基本相同,结果表明川芎原药材与芎冰鼻腔喷雾剂有明显相关性,见图 3,5。结果表明川芎药材与芎冰鼻腔喷雾剂的指纹图谱有明显相关性。

### 3 讨论

在川芎药材供试品溶液制备方法中,比较了超声提取和甲醇回流提取 2 种提取方式对川芎有效成分指纹图谱的影响。结果表明超声提取出峰数目多,分离度好,基线平稳;而且,在甲醇回流提取方式中,甲醇有很大毒性,而超声提取利用乙醇为提取溶剂,则无毒,简便易行,因此选择超声提取的方法作

DOI:CNKI:11-3495/R.20110314.0941.007

## 藕节、藕节炭 HPLC 特征图谱研究

单玲玲<sup>1</sup>, 刘善新<sup>2\*</sup>, 靳光乾<sup>2</sup>, 梁瑞雪<sup>2</sup>

(1. 山东中医药大学, 济南 250355; 2. 山东省中医药研究院, 济南 250014)

**[摘要]** 目的:建立藕节、藕节炭 HPLC 特征图谱。方法:以 3-表白桦脂酸为参照物,采用 Lichrospher C<sub>18</sub> 柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm),乙腈-0.2% 磷酸为流动相梯度洗脱,柱温 30 ℃,流速 1 mL·min<sup>-1</sup>,检测波长 203 nm,分析时间 70 min。结果:藕节、藕节炭分别获得 5,4 个共有特征峰,同时标定了 3-表白桦脂酸的位置。结论:该方法操作简便,重复性好,特征性强,为藕节、藕节炭的质量控制提供了新参考。

**[关键词]** 藕节;藕节炭;高效液相色谱法;特征图谱

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)09-0067-05

## HPLC Specific Chromatograms of Nelumbinis Rhizomatis Nodus and Nelumbinis Rhizomatis Nodus Charcoal

SHAN Ling-ling<sup>1</sup>, LIU Shan-xin<sup>2\*</sup>, JIN Guang-qian<sup>2</sup>, LIANG Rui-xue<sup>2</sup>

(1. Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355, China;

2. Shandong Academy of Chinese Medicine, Jinan 250014, China)

**[Abstract]** **Objective:** To set up the HPLC specific chromatograms of Nelumbinis Rhizomatis Nodus and

**[收稿日期]** 20100903(002)

**[基金项目]** 国家十一五科技支撑项目(2006BAI09B006-02)

**[第一作者]** 单玲玲, 硕士, 研究方向: 中药质量控制, E-mail: shanling ling2009@163.com

**[通讯作者]** \* 刘善新, 副研究员, Tel: 0531-82949812, E-mail: liushanxin66@163.com

**[网络出版时间]** 2011-03-14 09:41

为供试品溶液制备方法。

研究中发现,流动相采用 HPLC 等度洗脱时,当流动相洗脱能力较强时,一些峰不能得到良好分离;但当流动相洗脱能力减弱时,虽然改善了峰的分,但一些成分出峰时间较长,中药成分复杂,利用等度洗脱时很难将极性不同的组分全部洗脱下来,有些组分会残留在色谱柱内,时间长了可能会堵塞色谱柱,采用梯度洗脱可以克服以上缺点。

研究了 10 批芍冰鼻腔喷雾剂的指纹图谱,并制定了该制剂的对照指纹图谱(图 7)。根据以上 10 批指纹图谱的分析结果可以看出,指纹图谱相似度较高,都大于 0.9,说明不同批次的制剂稳定性较好,可作为该制剂的质量控制。

目前,指纹图谱已成为国内外公认的鉴别中药品种和评价中药质量的最有效手段<sup>[3]</sup>。它是一种综合的、量化的色谱鉴定手段,借以鉴别真伪,评价

原料药材,半成品和成品质量的均一性和稳定性,其基本属性是整体性和模糊性<sup>[4]</sup>。

### [参考文献]

- [1] 国家食品药品监督管理局. 中药指纹图谱研究的技术要求(暂行)[S]. 国药管注[2000]384号(附件). 北京:2000.
- [2] 宋金春,胡传芹,刘红,等. 川芎高效液相指纹图谱的建立[J]. 中国药房,2005,16(9):716.
- [3] Han F M, Cai M, chen M. Development of fingerprinting research on traditional Chinese medicines[J] J Anal Sci, 2004,20:647.
- [4] 谢培山. 色谱指纹图谱分析是中草药质量控制的可行策略[J]. 中药新药与临床药理. 2001,12(3):141.

[责任编辑 蔡仲德]