

## 川芎饮片标准汤剂的质量分析

成颜芬, 吴亿晗, 杨晓琴, 傅超美, 章津铭\*, 何瑶\*  
(成都中医药大学药学院, 成都 611137)

**[摘要]** 目的:制备川芎饮片标准汤剂并对其进行质量分析。方法:参照标准汤剂的要求,制备来自 3 个产地共 15 批川芎饮片标准汤剂;建立其 HPLC 指纹图谱,采用聚类分析进行质量分析;建立其指纹图谱共有模式下 4 种指标成分(阿魏酸,洋川芎内酯 I,洋川芎内酯 A 和藁本内酯)的 HPLC 含量测定方法;计算各批次样品中指标成分转移率、出膏率,并测定样品的 pH。结果:对 15 批川芎饮片标准汤剂采用“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”(2012A 版)进行指纹图谱分析,确定了 22 个共有峰,其相似度均 >0.92;定性指认出其中 11,13,17,18,19,20 号峰,分别为阿魏酸,洋川芎内酯 I,洋川芎内酯 A,正丁基苯酞,阿魏酸松柏酯,藁本内酯;通过聚类分析可将 3 个产地的川芎饮片标准汤剂质量概貌进行区分,说明不同产地的川芎存在质量差异,但同一产地不同批次质量较为稳定。15 批川芎饮片标准汤剂共有模式下 4 种主要成分分别为阿魏酸,洋川芎内酯 I,洋川芎内酯 A 和藁本内酯;以洋川芎内酯 A( $0.1763 \sim 0.2498 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ )和洋川芎内酯 I( $0.0652 \sim 0.1034 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ )在标准汤剂中含量较高,藁本内酯( $0.0400 \sim 0.0898 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ )次之,阿魏酸( $0.0220 \sim 0.0423 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ )最低,4 个成分的转移率依次为 6.63%~11.82%,33.32%~55.98%,1.26%~3.73%,16.39%~33.05%;15 批川芎饮片标准汤剂的干膏得率 12.69%~19.78%,pH 4.54~4.82。结论:该研究建立了各产地多批次川芎饮片标准汤剂的指纹图谱和多成分含量测定方法,适用于川芎饮片标准汤剂的质量控制。

**[关键词]** 川芎; 饮片; 标准汤剂; 指纹图谱; 聚类分析; 阿魏酸; 藁本内酯

**[中图分类号]** R22;R94;R28;C37;O657.7 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2019)09-0117-07

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfx.20190312

**[网络出版地址]** <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20181115.0933.007.html>

**[网络出版时间]** 2018-11-16 15:58

## Quality Analysis of Standard Decoction of Chuanxiong Rhizoma

CHENG Yan-fen, WU Yi-han, YANG Xiao-qin, FU Chao-mei, ZHANG Jin-ming\*, HE Yao\*  
(College of Pharmacy, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China)

**[Abstract]** **Objective:** To prepare standard decoction of Chuanxiong Rhizoma and conduct its quality analysis. **Method:** According to the requirements of standard decoction, 15 batches of standard decoction of Chuanxiong Rhizoma from three producing areas were prepared, the HPLC fingerprint was established and the quality analysis was carried out by cluster analysis; under common pattern of fingerprint, the simultaneous determination of four index components (ferulic acid, senkyunolide I, senkyunolide A and ligustilide) was established by HPLC. The transfer rates of main components, dry extract yield, pH value of samples were measured. **Result:** A total of 15 batches of standard decoctions of Chuanxiong Rhizoma were fingerprinted by Similarity Evaluation System for Chromatographic Fingerprint of Traditional Chinese Medicine (edition of 2012A). Twenty-two common peaks were identified, and their similarities were all greater than 0.92, and peak 11, 13, 17, 18, 19 and 20 were identified qualitatively as ferulic acid, senkyunolide I, senkyunolide A, *n*-butylphthalide, coniferyl ferulate and ligustilide, respectively. The quality overview of standard decoction of Chuanxiong Rhizoma

**[收稿日期]** 20180720(014)

**[基金项目]** 四川省科技厅支撑计划重点研发项目(2018sz0140)

**[第一作者]** 成颜芬,在读硕士,从事药剂学研究,E-mail:2992904079@qq.com

**[通信作者]** \*章津铭,副教授,从事中药新制剂和新剂型研究,E-mail:cdutcmzjm@126.com;

\*何瑶,讲师,从事中药新制剂和新剂型研究,E-mail:20660306@qq.com

from three producing areas could be distinguished through cluster analysis, which showed that there were differences in quality of Chuanxiong Rhizoma from different producing areas, but the quality was relatively stable in different batches of samples from the same origin. Under common pattern, there were four major components in 15 batches of standard decoction of Chuanxiong Rhizoma, including ferulic acid, senkyunolide I, senkyunolide A and ligustilide. Contents of senkyunolide A ( $0.176\ 3\text{--}0.249\ 8\ \text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ) and senkyunolide I ( $0.065\ 2\text{--}0.103\ 4\ \text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ) was high in the standard decoction, content of ligustilide ( $0.040\ 0\text{--}0.089\ 8\ \text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ) followed, and content of ferulic acid ( $0.022\ 0\text{--}0.042\ 3\ \text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ) was the lowest, transfer rates of the above four components were 6.63% -11.82%, 33.32% -55.98%, 1.26% -3.73% and 16.39% -33.05%, respectively. Dry extract yield of the standard decoction was 12.69% to 19.78%, and the pH was 4.54 to 4.82. **Conclusion:** This study establishes the fingerprint and multi-component determination methods of standard decoctions of Chuanxiong Rhizoma from various producing areas, which is suitable for quality control of this standard decoction.

[**Key words**] Chuanxiong Rhizoma; decoction pieces; standard decoction; fingerprint; cluster analysis; ferulic acid; ligustilide

川芎主产四川、云南、甘肃等地,为著名川产道地药材之一<sup>[1]</sup>。始载于《神农本草经》,被列为上品,具有活血行气、祛风止痛的功效,被誉为“血中气药”<sup>[2]</sup>;临床常用于心脑血管、呼吸、泌尿系统及妇科等疾病<sup>[3-4]</sup>。川芎含苯酞类、有机酚酸类、生物碱类、多糖类等多种化学成分<sup>[5]</sup>,其中阿魏酸、藁本内酯、洋川芎内酯 A 和洋川芎内酯 I 等是主要的活性成分,且药理活性显著<sup>[6-8]</sup>。川芎临床应用十分广泛,据统计<sup>[9]</sup>,2015 年版《中国药典》收录的 1 493 种成方制剂中有 231 个制剂含有川芎,占比 15.47%;2018 年 4 月,国家中医药管理局发布关于 100 个《古代经典名方目录(第一批)》中,包括桃红四物汤、身痛逐瘀汤在内的 14 个经典名方中均含有川芎。汤剂是川芎的主要传统应用形式,但存在服用、储存、携带等不便;配方颗粒较传统汤剂有一定的优势,且在临床大量使用,已有研究者进行了川芎配方颗粒研究<sup>[10-11]</sup>。但配方颗粒存在原料质量差异较大、生产工艺不规范、临床用药剂量混乱等不足,故开展中药汤剂标准参照形式的研究已成为当前中医药行业关注的焦点。

中药饮片标准汤剂<sup>[12]</sup>是以中医药理论为指导、临床应用为基础,参考现代提取方法,经标准化工艺制备而成的单味中药饮片水煎液,用于标化临床用药,保障用药的准确性和剂量的一致性。中药饮片标准汤剂综合体现了饮片和制备工艺等影响疗效的关键因素<sup>[13-14]</sup>,与饮片相比,标准汤剂能够体现制备工艺的影响;与配方颗粒相比,标准汤剂没有辅料的干扰,没有经过干燥过程,保持与传统汤剂的一致性,且标准汤剂易于通过饮片或提取液的调配实现各种理想浓度,因此,中药饮片标准汤剂作为一种

基准,标化不同临床用药形式,以期实现临床疗效的一致性,是目前保障中药临床有效、质量可控的有效形式。目前,已有学者对人参片<sup>[15]</sup>、黄芩<sup>[16]</sup>、红花<sup>[17]</sup>、栀子<sup>[18]</sup>等至少 70 个中药饮片标准汤剂进行了研究。周蔚昕等<sup>[19]</sup>采用紫外及红外光谱法研究同产于四川的 15 个批次川芎饮片标准汤剂的指纹图谱,并同时测定阿魏酸、绿原酸和咖啡酸的含量,但这 3 个成分不是川芎的特征成分,不能更好地体现川芎饮片标准汤剂专属成分含量的信息,该研究存在产地单一、成分不具代表性等问题,不足以阐明其标准汤剂的质量概貌及产地间质量差异。本实验选择 3 个产地共 15 批川芎饮片为研究对象,将其制备成标准汤剂<sup>[13]</sup>,以指纹图谱结合系统聚类分析<sup>[20-23]</sup>进行川芎饮片标准汤剂的质量概貌和产地质量差异分析,同时对其指纹图谱共有模式中 4 种主要成分进行含量测定,建立多指标成分的含量测定方法,并测定其干膏得率、主要成分转移率及 pH,为川芎饮片标准汤剂的质量研究及其临床应用提供科学依据。

## 1 材料

LC-2030C 3D 型高效液相色谱仪(日本岛津公司),CPA225D 型 1/10 万电子分析天平(德国赛多利斯公司)。洋川芎内酯 I,洋川芎内酯 A,藁本内酯对照品(成都瑞芬思生物科技有限公司,批号分别为 Y-085-170609, Y-083-170411, G-010-160719,纯度均 > 98%);阿魏酸对照品(四川省维克奇生物科技有限公司,批号 wkq17022303,纯度 ≥ 98%),水为纯化水,甲醇、冰乙酸均为色谱级,其他试剂均为分析纯。

川芎饮片信息见表 1,购于四川、云南、甘肃 3 个产区,均经成都中医药大学卢先明教授鉴定为伞形科植物川芎 *Ligusticum chuanxiong* 的干燥根茎。

表 1 川芎饮片样品信息及其标准汤剂的物理化学特征参数

Table 1 Information of Chuanxiong Rhizoma decoction pieces and physicochemical parameters of its standard decoction

样品	批号	产地	阿魏酸			洋川芎内酯 I			洋川芎内酯 A			藜本内酯			干膏 得率 /%	pH
			饮片 /%	标准 汤剂 / $g \cdot L^{-1}$	转移率 /%	饮片 /%	标准 汤剂 / $g \cdot L^{-1}$	转移率 /%	饮片 /%	标准 汤剂 / $g \cdot L^{-1}$	转移率 /%	饮片 /%	标准 汤剂 / $g \cdot L^{-1}$	转移率 /%		
CX-1	17120911	四川都江堰	0.063 6	0.039 9	31.37	0.100 0	0.099 1	49.55	1.183 0	0.229 4	9.70	1.338 8	0.074 4	2.78	17.98	4.60
CX-2	17120912	四川都江堰	0.067 9	0.037 1	27.32	0.104 6	0.103 4	49.43	1.128 7	0.204 0	9.04	1.274 3	0.066 5	2.61	19.16	4.63
CX-3	17120913	四川都江堰	0.065 6	0.037 2	28.35	0.094 3	0.086 3	45.76	1.103 3	0.192 8	8.74	1.284 2	0.065 3	2.54	19.78	4.65
CX-4	17120914	四川都江堰	0.064 0	0.042 3	33.05	0.081 9	0.091 7	55.98	1.036 0	0.245 0	11.82	1.204 9	0.089 8	3.73	17.71	4.62
CX-5	17120915	四川都江堰	0.061 6	0.038 0	30.84	0.089 1	0.087 7	49.21	1.111 8	0.214 5	9.65	1.285 0	0.060 0	2.33	12.69	4.68
CX-6	17120916	四川都江堰	0.064 9	0.035 1	27.04	0.085 2	0.079 8	46.83	1.106 4	0.211 0	9.54	1.204 6	0.072 4	3.01	19.71	4.57
CX-7	20180101	云南鹤庆县	0.088 0	0.034 9	19.83	0.085 4	0.081 2	47.54	1.300 6	0.216 2	8.31	1.516 3	0.063 2	2.08	17.30	4.73
CX-8	20180102	云南鹤庆县	0.093 1	0.041 5	22.29	0.090 6	0.065 2	35.98	1.378 6	0.249 8	9.06	1.607 6	0.077 8	2.42	16.70	4.80
CX-9	20180103	云南鹤庆县	0.102 4	0.038 7	18.90	0.102 3	0.079 9	39.05	1.492 9	0.198 0	6.63	1.620 6	0.040 7	1.26	18.61	4.82
CX-10	20180104	云南鹤庆县	0.095 9	0.036 3	18.93	0.100 9	0.075 9	37.61	1.412 3	0.206 5	7.31	1.507 5	0.056 6	1.88	19.57	4.81
CX-11	1710251	甘肃华亭县	0.068 8	0.026 3	19.11	0.104 9	0.083 4	39.75	1.199 9	0.210 4	8.77	0.850 5	0.040 0	2.35	13.32	4.54
CX-12	1710252	甘肃华亭县	0.058 4	0.023 4	20.03	0.096 2	0.088 1	45.79	1.042 9	0.217 5	10.43	0.773 0	0.043 8	2.83	14.87	4.62
CX-13	1710253	甘肃华亭县	0.057 5	0.025 5	22.17	0.098 1	0.087 0	44.34	1.106 7	0.186 5	8.43	0.801 7	0.043 5	2.71	13.27	4.57
CX-14	1710254	甘肃华亭县	0.069 2	0.024 6	17.77	0.101 8	0.069 3	34.04	1.333 5	0.200 4	7.51	0.900 1	0.046 7	2.59	13.15	4.59
CX-15	1710255	甘肃华亭县	0.067 1	0.022 0	16.39	0.103 1	0.068 7	33.32	1.225 5	0.176 3	7.19	0.866 7	0.042 3	2.44	13.57	4.58

## 2 方法与结果

### 2.1 溶液的制备

**2.1.1 川芎饮片标准汤剂的供试品溶液<sup>[13]</sup>** 称取川芎饮片 100 g, 置于圆底烧瓶中, 加 8 倍量水充分润湿, 放置, 浸泡 30 min, 加热煮沸后回流提取 30 min, 趁热 3 层纱布过滤; 滤渣加 8 倍量水回流提取 20 min, 趁热过滤, 合并 2 次滤液, 减压浓缩至 500 mL, 得生药质量浓度为  $0.2 g \cdot mL^{-1}$  的川芎饮片标准汤剂。精密吸取川芎饮片标准汤剂 2 mL, 置于 10 mL 量瓶中, 加 70% 甲醇定容, 超声 10 min, 冷却后称重, 加 70% 甲醇补足减失的质量, 摇匀, 经  $0.45 \mu m$  微孔滤膜滤过, 取续滤液, 即得。

**2.1.2 川芎饮片的供试品溶液<sup>[9]</sup>** 取川芎饮片粉末(过四号筛)约 0.5 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 70% 甲醇 50 mL, 密塞, 称定质量, 加热回流 30 min, 放冷, 称定质量, 用 70% 甲醇补足减失的质量, 摇匀, 静置, 取上清液, 滤过, 取续滤液, 即得。

**2.1.3 对照品储备液** 精密称取适量阿魏酸, 用 70% 甲醇定容配成  $211 mg \cdot L^{-1}$  的阿魏酸对照品溶液; 分别精密称取洋川芎内酯 I, 洋川芎内酯 A, 藜本内酯适量, 依次加甲醇配制成质量浓度为 423, 268,

238  $mg \cdot L^{-1}$  的对照品储备液, 备用。

### 2.2 指纹图谱的采集和分析

**2.2.1 色谱条件** Agilent Eclipse Plus  $C_{18}$  色谱柱 (4.6 mm  $\times$  250 mm, 5  $\mu m$ ), 流动相甲醇(A)-1% 乙酸水溶液(B) 梯度洗脱 (0 ~ 20 min, 3% ~ 10% A; 20 ~ 55 min, 10% ~ 46% A; 55 ~ 57 min, 46% A; 57 ~ 75 min, 46% ~ 70% A; 75 ~ 89 min, 70% ~ 95% A), 柱温 25  $^{\circ}C$ , 流速 1  $mL \cdot min^{-1}$ , 检测波长 270 nm, 进样量 10  $\mu L$ 。

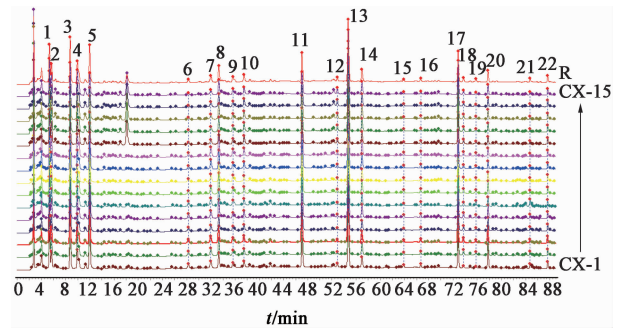
**2.2.2 精密度试验** 取同一批川芎饮片标准汤剂 (CX-3) 的供试品溶液按 2.2.1 项下色谱条件连续进样 6 次, 以阿魏酸(11 号峰) 为参照峰, 计算各共有峰相对保留时间和相对峰面积的 RSD 均 < 0.1%, 表明仪器精密度良好。

**2.2.3 重复性试验** 平行制备同一批川芎饮片标准汤剂 (CX-3) 的供试品溶液 6 份, 按 2.2.1 项下色谱条件进样, 以阿魏酸(11 号峰) 为参照峰, 计算各共有峰相对保留时间和相对峰面积的 RSD 均 < 0.2%, 表明该方法重复性较好。

**2.2.4 稳定性试验** 取川芎饮片标准汤剂 (CX-3) 的供试品溶液放置 0, 2, 4, 8, 12, 24 h 后分别按 2.2.1 项下色谱条件测定, 以阿魏酸(11 号峰) 为参照峰,

计算各共有峰相对保留时间和相对峰面积的 RSD 均 < 2.4%, 表明该供试品溶液在 24 h 内稳定。

**2.2.5 样品检测与分析** 根据 2.2.1 项色谱条件对 15 批川芎饮片标准汤剂的供试品溶液进行检测, 记录各样品色谱图。采用“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”(2012A 版), 设定 CX-3 色谱图为参照图谱, 利用中位数法, 时间窗宽度设置 0.1 min, 进行相似度计算。结果 15 批川芎饮片标准汤剂的相似度均 > 0.92, 并确定 22 个共有峰, 其共有峰峰面积占川芎饮片标准汤剂的 56.52% ~ 68.25%, 表明各批次川芎饮片标准汤剂具有较好的一致性。指认出其中 6 个共有峰, 分别是 11 号峰(阿魏酸), 13 号峰(洋川芎内酯 I), 17 号峰(洋川芎内酯 A), 18 号峰(正丁基苯酞), 19 号峰(阿魏酸松柏酯), 20 号峰(藁本内酯), 6 个共有峰的峰面积占所有色谱峰峰面积比例依次为 5.02%, 10.86%, 4.62%, 1.072%, 0.70%, 2.11%。见图 1 和表 2。



R. 对照指纹图谱(表 2 同)

图 1 15 批川芎饮片标准汤剂的 HPLC 指纹谱

Fig. 1 HPLC fingerprint of 15 batches of standard decoction of Chuanxiong Rhizoma

**2.2.6 聚类分析** 以 11 号峰的峰面积为参照, 采用 SPSS 22.0 软件对 15 批样品进行聚类分析, 以组间联接法聚类, 平方 Euclidean 距离为指标, 见图 2。结果发现 15 批川芎饮片标准汤剂可分为 3 类, 相同产地的川芎饮片被归为一类, 不同产地的属于不同

表 2 15 批川芎饮片标准汤剂指纹图谱的相似度

Table 2 Similarity of fingerprint of 15 batches of standard decoction of Chuanxiong Rhizoma

样品	CX-1	CX-2	CX-3	CX-4	CX-5	CX-6	CX-7	CX-8	CX-9	CX-10	CX-11	CX-12	CX-13	CX-14	CX-15	R
CX-1	1.000	0.996	0.996	0.997	0.993	0.988	0.975	0.975	0.969	0.964	0.945	0.939	0.946	0.944	0.932	0.984
CX-2	0.996	1.000	0.999	0.999	0.999	0.995	0.979	0.982	0.979	0.974	0.954	0.948	0.955	0.952	0.940	0.990
CX-3	0.996	0.999	1.000	0.997	0.997	0.990	0.986	0.987	0.984	0.981	0.964	0.959	0.965	0.963	0.952	0.994
CX-4	0.997	0.999	0.997	1.000	0.998	0.994	0.977	0.979	0.973	0.969	0.947	0.940	0.947	0.945	0.933	0.986
CX-5	0.993	0.999	0.997	0.998	1.000	0.996	0.978	0.982	0.980	0.975	0.953	0.947	0.955	0.951	0.938	0.989
CX-6	0.988	0.995	0.990	0.994	0.996	1.000	0.966	0.972	0.970	0.963	0.939	0.932	0.941	0.936	0.922	0.980
CX-7	0.975	0.979	0.986	0.977	0.978	0.966	1.000	0.997	0.994	0.995	0.975	0.971	0.974	0.975	0.962	0.993
CX-8	0.975	0.982	0.987	0.979	0.982	0.972	0.997	1.000	0.997	0.998	0.974	0.97	0.974	0.974	0.956	0.994
CX-9	0.969	0.979	0.984	0.973	0.980	0.970	0.994	0.997	1.000	0.998	0.979	0.976	0.980	0.980	0.961	0.994
CX-10	0.964	0.974	0.981	0.969	0.975	0.963	0.995	0.998	0.998	1.000	0.980	0.978	0.981	0.981	0.965	0.993
CX-11	0.945	0.954	0.964	0.947	0.953	0.939	0.975	0.974	0.979	0.980	1.000	0.999	0.999	1.000	0.994	0.986
CX-12	0.939	0.948	0.959	0.940	0.947	0.932	0.971	0.970	0.976	0.978	0.999	1.000	0.999	1.000	0.993	0.982
CX-13	0.946	0.955	0.965	0.947	0.955	0.941	0.974	0.974	0.980	0.981	0.999	0.999	1.000	0.999	0.993	0.986
CX-14	0.944	0.952	0.963	0.945	0.951	0.936	0.975	0.974	0.980	0.981	1.000	1.000	0.999	1.000	0.992	0.985
CX-15	0.932	0.940	0.952	0.933	0.938	0.922	0.962	0.956	0.961	0.965	0.994	0.993	0.993	0.992	1.000	0.974
R	0.984	0.990	0.994	0.986	0.989	0.980	0.993	0.994	0.994	0.993	0.986	0.982	0.986	0.985	0.974	1.000

类别, 即样品 CX-1 ~ CX-6 归为一类, 样品 CX-7 ~ CX-10 为一类, 样品 CX-11 ~ CX-15 为一类。

**2.3 川芎饮片标准汤剂中多指标成分的含量测定**

**2.3.1 色谱条件** Agilent Eclipse Plus C<sub>18</sub> 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相甲醇(A)-1% 乙酸水溶液(B) 梯度洗脱 (0 ~ 15 min, 35% ~ 56% A; 15 ~ 18 min, 56% ~ 68% A; 18 ~ 24 min, 68% ~ 76% A; 24 ~ 28 min, 76% ~ 87% A), 柱温 25 °C, 流速

1 mL · min<sup>-1</sup>, 检测波长 270 nm, 进样量 10 μL。在此条件下各个对照品与其他成分的分度良好, 见图 3。

**2.3.2 线性关系考察** 准确吸取 2.1.3 项下 4 种储备液, 用 70% 甲醇配成质量浓度分别为 42.2, 26.375, 21.1, 13.187 5, 10.55, 5.275 mg · L<sup>-1</sup> 的阿魏酸对照品溶液; 用甲醇配成质量浓度为 42.3, 21.15, 10.575, 5.287 5, 2.643 7, 1.321 9 mg · L<sup>-1</sup> 的

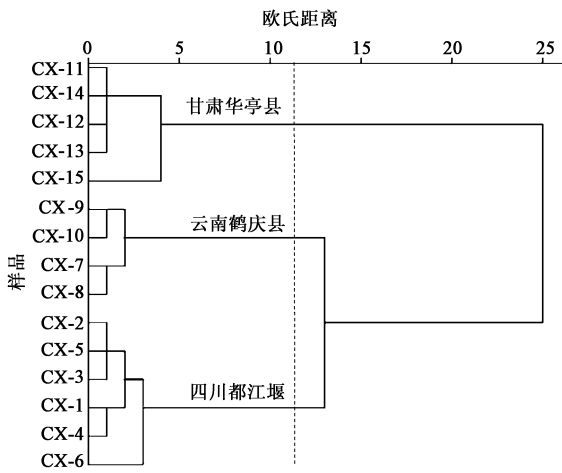


图 2 15 批川芎饮片标准汤剂的聚类分析

Fig. 2 Cluster analysis of 15 batches of standard decoction of Chuanxiong Rhizoma

洋川芎内酯 I 对照品溶液, 质量浓度为 268, 134, 67, 33.5, 16.75, 8.375  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的洋川芎内酯 A 对照品溶液以及质量浓度为 238, 119, 59.5, 29.75, 14.875, 2.975  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的藁本内酯对照品溶液。按 2.3.1 项下色谱条件测定, 以质量浓度为横坐标,

表 3 川芎饮片标准汤剂中 4 种化合物的线性关系考察

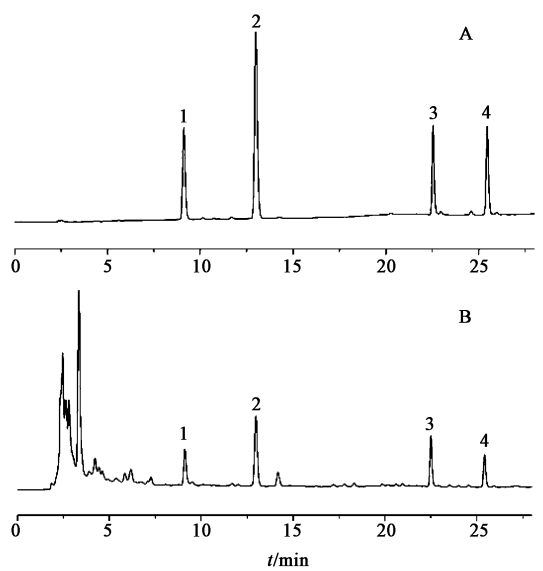
Table 3 Investigation of linear relationships of four compounds in standard decoction of Chuanxiong Rhizoma

化合物	线性范围/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	回归方程	r
阿魏酸	5.275 ~ 42.2	$Y = 54\,552.121X - 62\,155.98$	0.999 8
洋川芎内酯 I	1.321 9 ~ 42.3	$Y = 37\,456.215X - 6\,784.234$	0.999 9
洋川芎内酯 A	8.375 ~ 268	$Y = 7\,314.199X + 8\,570.234$	0.999 8
藁本内酯	2.975 ~ 238	$Y = 21\,662.815X - 29\,911.23$	0.999 8

**2.3.3 精密度试验** 取同一川芎饮片标准汤剂 (CX-3) 的供试品溶液, 按 2.3.1 项下色谱条件连续进样 6 次, 结果阿魏酸, 洋川芎内酯 I, 洋川芎内酯 A 和藁本内酯峰面积的 RSD 分别为 0.2%, 0.2%, 0.4% 和 0.3%, 表明仪器精密度良好。

**2.3.4 重复性试验** 平行制备 6 份川芎饮片标准汤剂 (CX-3) 的供试品溶液, 按 2.3.1 项下色谱条件测定, 结果阿魏酸, 洋川芎内酯 I, 洋川芎内酯 A 和藁本内酯的平均质量浓度分别为 37.2, 94.3, 192.8, 65.3  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , RSD 分别为 0.1%, 0.4%, 0.4%, 0.2%, 表明该方法的重复性良好。

**2.3.5 稳定性试验** 取同一川芎饮片标准汤剂 (CX-3) 的供试品溶液适量, 分别于制备后 0, 2, 4, 8, 12, 24 h 后按 2.3.1 项下色谱条件测定, 计算阿魏酸, 洋川芎内酯 I, 洋川芎内酯 A 和藁本内酯峰面积



A. 对照品; B. 供试品; 1. 阿魏酸; 2. 洋川芎内酯 I; 3. 洋川芎内酯 A; 4. 藁本内酯

图 3 川芎饮片标准汤剂的 HPLC

Fig. 3 HPLC chromatograms of standard decoction of Chuanxiong Rhizoma

峰面积为纵坐标, 得回归方程, 见表 3。

的 RSD 分别为 0.2%, 0.2%, 0.2% 和 0.3%, 表明供试品溶液在制备后的 24 h 内稳定。

**2.3.6 加样回收率试验** 取已知指标成分含量的川芎饮片标准汤剂 2 mL (CX-3, 阿魏酸, 洋川芎内酯 I, 洋川芎内酯 A 和藁本内酯的质量分别为 74.4, 188.6, 385.6, 130.6  $\mu\text{g}$ ), 分别按 80%, 100%, 120% 的比例添加对照品, 平行制备 6 份供试品溶液, 按 2.3.1 项下色谱条件测定, 计算各指标成分的平均加样回收率分别为 98.8%, 100.25%, 99.66% 和 99.3%, RSD 依次为 1.5%, 1.3%, 1.6% 和 1.9%, 表明该方法准确可靠。

**2.3.7 样品测定** 分别精密吸取 15 批川芎饮片标准汤剂的供试品溶液 10  $\mu\text{L}$ , 按 2.3.1 项下色谱条件测定, 计算各指标成分的含量, 结果见表 1。

**2.4 川芎饮片标准汤剂过程稳定性评价指标的测定** 分别计算阿魏酸, 洋川芎内酯 I, 洋川芎内酯 A 和藁本内酯的转移率, 转移率 = 标准汤剂中指标成分质量/饮片中指标成分质量  $\times 100\%$ 。取川芎饮片标准汤剂 50 mL, 冷冻干燥成粉末状, 称定质量, 记为  $m$ , 按干膏得率 = 总浸膏质量/ $M \times 100\% = m \times 10/M \times 100\%$  计算, 式中  $M$  表示所用饮片质量。川芎饮片标准汤剂的 pH 用 pH 计测定。结果见表 1。

### 3 讨论

中药标准汤剂作为经典名方制剂的质量基准和衡量中药配方颗粒的标准参照物, 已成为当前中医药界的研究热点之一。标准汤剂的制备首先要求所用饮片来源具有道地性和代表性<sup>[13]</sup>, 故选自 3 个主产区或规范化种植产区的川芎共 15 批次; 其次, 实验前对饮片进行检测, 均符合 2015 年版《中国药典》中的各项规定<sup>[9]</sup>, 在 321 nm 处测得 15 批川芎饮片中阿魏酸的质量分数 0.116 4% ~ 0.318 4%; 最后, 整个制备过程应完全遵循标准化操作<sup>[13]</sup>, 其质量控制采用指纹图谱、聚类分析和多指标成分含量测定相结合, 从整体定性和指标成分定量的角度标定川芎饮片标准汤剂的化学轮廓和质量控制, 这将为川芎相关制剂的制备和质量控制提供参考。

指纹图谱和聚类分析的有效结合为不同产地川芎的鉴别与质量评价提供了新途径。本文研究结果表明, 15 批川芎饮片标准汤剂之间的一致性良好。其相似度较好, 均  $> 0.92$ ; 匹配结果显示共有 22 个共有峰, 指出 11, 13, 17, 18, 19, 20 号峰, 依次为阿魏酸, 洋川芎内酯 I, 洋川芎内酯 A, 正丁基苯酞, 阿魏酸松柏酯, 藁本内酯; 发现川芎中川芎嗪和欧当归内酯 A 含量极低, 未能准确指出共有峰位置。结合聚类分析考察了 3 个产地饮片之间的质量差异, 发现同类同产地的样品质量稳定, 不同类别、不同产地样品间化学成分可能存在差异。

指纹图谱共有模式下多指标成分含量测定方法的建立可有效评价标准汤剂的质量。现代研究表明<sup>[1]</sup>, 洋川芎内酯 A 和 I, 藁本内酯等苯酞类成分具有显著的抗动脉粥样硬化、抗心肌缺血、降血压、抗血栓和抗炎镇痛等作用; 阿魏酸是一种广泛存在的有机酸, 自身性质不稳定, 受热或见光等条件下易分解, 作为川芎饮片标准汤剂质量控制的特征指标性不强, 不能较为全面、真实地反映该标准汤剂的整体质量, 选用多指标成分含量测定方法能更有效的控制川芎饮片标准汤剂的质量, 故建立阿魏酸, 洋川芎

内酯 A, 洋川芎内酯 I 和藁本内酯 4 种化学成分的含量测定方法。洋川芎内酯 I 结构中含有羟基, 洋川芎内酯 A 和藁本内酯缺乏羟基, 本文研究结果发现同一类成分的转移率与其含量高低没有直接联系, 可能与其自身结构特性及其在水中的稳定性有关; 且同一种成分的转移率还与不同制备工艺条件相关。然而在《中药饮片标准汤剂研究策略》<sup>[13]</sup>中未明确指出含挥发性中药饮片标准汤剂的质量控制研究方法, 存在挥发性中药标准汤剂质量控制的不完善性以及制备工艺的局限性等问题, 笔者为此提出 2 点见解: ①建立中药指纹图谱结合聚类分析模式下多指标专属性成分的含量测定方法<sup>[24]</sup>; ②优化并改进挥发性中药标准汤剂的制备工艺条件, 如牡丹皮<sup>[25]</sup>中丹皮酚具有挥发性, 采用水蒸气蒸馏单独提取出丹皮酚后, 可采用低温结晶法处理以避免丹皮酚损失。

预试验中对川芎饮片标准汤剂的 HPLC 分析条件进行考察, 提取溶剂考察了甲醇, 90% 甲醇, 70% 甲醇, 50% 甲醇, 25% 甲醇和水, 结果表明 70% 甲醇所制备样品的指纹图谱色谱图峰形、基线以及分离度等均较好; 对流动相组成进行筛选, 考察了甲醇-1% 乙酸、甲醇-0.1% 磷酸、乙腈-1% 乙酸和乙腈-0.1% 磷酸, 结果表明甲醇-1% 乙酸水溶液的分光效果较好; 对指纹图谱和含量测定的同一波长进行了筛选, 分别考察了 260, 270, 280, 290, 300, 310, 320 nm 处的色谱图, 结果发现波长 260 ~ 290 nm 能够反映川芎的主要化学成分, 且色谱峰分离较好, 结合 4 种指标成分各自的最佳吸收波长, 确定检测波长 270 nm 为最佳; 此外, 还考察了不同品牌色谱柱、不同品牌高效液相色谱仪、柱温及流速, 结果发现这些条件对样品色谱图基本无影响。

本文制备得到的 15 批川芎饮片标准汤剂整体均一性良好, 质量可控, 有助于标准化川芎饮片的不同临床用药形式, 保证制备工艺与传统制备方法一致, 解决因生产工艺、制备方法的不同而造成的质量差异问题, 保障药物临床疗效的一致性。本文立足于现代标准汤剂研究的基础上, 开辟了指纹图谱与聚类分析相结合以及其模式下多指标成分含量测定共同控制中药标准汤剂质量的一种新思路, 能有效体现川芎饮片标准汤剂专属成分的含量信息, 还可较为明确地阐明其质量概貌及产地间质量差异, 但仍需不断优化川芎饮片标准汤剂的制备工艺条件, 为川芎配方颗粒及川芎相关经典名方的品质评价提供参考。

[参考文献]

- [1] 韩炜. 川芎的化学成分与药理作用研究进展[J]. 中国现代中药, 2017, 19(9): 1341-1349.
- [2] 郑春松, 徐筱杰, 叶蕪芝, 等. 川芎活血化痰和行气止痛作用的计算机模拟研究[J]. 中华中医药杂志, 2015, 30(5): 1432-1436.
- [3] 张晓琳, 徐金娣, 朱玲英, 等. 中药川芎研究新进展[J]. 中药材, 2012, 35(10): 1706-1711.
- [4] 陈维, 吴燕, 李彬, 等. UPLC法测定川芎生长过程中6种主要成分的含量变化[J]. 天然产物研究与开发, 2018, doi:10.16333/j.1001-6880.2018.6.014.
- [5] RAN X, MA L, PENG C, et al. *Ligusticum chuanxiong* Hort: a review of chemistry and pharmacology[J]. Pharm Biol, 2011, 49(11): 1180-1189.
- [6] 韦玮, 徐崑, 杨秀伟. 规范化种植川芎化学成分研究[J]. 中草药, 2017, 48(15): 3017-3025.
- [7] 梁乙川, 郭换, 刘素娟, 等. 一测多评法测定川芎中7种成分含量[J]. 中药材, 2018, 41(1): 144-147.
- [8] 梁军. HPLC测定川芎中5种药效成分的含量[J]. 解放军预防医学杂志, 2015, 33(2): 224.
- [9] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015.
- [10] 林瑞东. 川芎配方颗粒生产工艺和质量标准的研究[D]. 长春: 吉林大学, 2015.
- [11] 毛霞, 胡久梅. 川芎配方颗粒的制备工艺及质量标准研究[J]. 辽宁农业职业技术学院学报, 2015, 17(3): 11-12, 21.
- [12] 朱广伟, 李西文, 李琦, 等. 基于传统煎药工艺的龙胆饮片标准汤剂制备及质量评价方法研究[J]. 中草药, 2017, 48(20): 4253-4260.
- [13] 陈士林, 刘安, 李琦, 等. 中药饮片标准汤剂研究策略[J]. 中国中药杂志, 2016, 41(8): 1367-1375.
- [14] 杨立伟, 王海南, 耿莲, 等. 基于标准汤剂的中药整体质量控制模式探讨[J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(8): 1-6.
- [15] 张鹏, 邬兰, 李西文, 等. 人参饮片标准汤剂的评价及应用探讨[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(7): 2-11.
- [16] 李琦, 章军, 崔文金, 等. 黄芩饮片标准汤剂的制备和质量标准评价[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(7): 36-40.
- [17] 董青, 赵嵘, 代云桃, 等. 红花标准汤剂的质量评价[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(7): 12-17.
- [18] 徐姣, 赵嵘, 代云桃, 等. 栀子标准汤剂的质量评价方法考察[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(7): 30-35.
- [19] 周蔚昕, 刘涛, 张佳, 等. 川芎饮片标准汤剂指纹图谱研究[J]. 中草药, 2018, 49(10): 2401-2409.
- [20] 肖作奇, 欧阳波, 潘涛, 等. 地肤子高效液相色谱指纹图谱及聚类分析研究[J]. 中医药导报, 2017, 23(13): 37-39, 43.
- [21] 黄玮, 周云庆, 杨洪元, 等. 胆黄润肠丸指纹图谱的聚类分析[J]. 中国医院药学杂志, 2016, 36(9): 719-723.
- [22] 蔡晓洋, 张思荻, 曾俊, 等. 基于主成分分析和聚类分析的栀子种质资源评价[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(14): 30-37.
- [23] 范卫锋, 郑兆广, 胡琴, 等. 丁香茄子的HPLC指纹图谱分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(20): 66-70.
- [24] 全家羽, 赵嵘, 代云桃, 等. 当归标准汤剂质量评价体系的建立[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(7): 18-23.
- [25] 焦梦姣, 邓哲, 章军, 等. 含挥发性成分中药饮片标准汤剂的制备和质量标准研究——以牡丹皮为例[J]. 中国中药杂志, 2018, 43(5): 891-896.

[责任编辑 刘德文]