

## 【评价方法学】

## 大川芎方制剂类天麻素类、苯酞类以及酚酸类成分测定方法研究

陈炼明<sup>1,2</sup>, 刘洁<sup>2,3</sup>, 李乾<sup>4</sup>, 苏汝彬<sup>1,2</sup>, 王明霞<sup>1,2</sup>, 贾志鑫<sup>2,3</sup>, 肖红斌<sup>2,3,4\*</sup>

1. 北京中医药大学 中药学院, 北京 100029
2. 北京中医药大学 中药分析与转化研究中心, 北京 100029
3. 北京中医药大学 北京中医药研究院, 北京 100029
4. 新疆石河子大学 药学院, 新疆 石河子 832000

**摘要:** 目的 建立3个内标、3个波长法测定大川芎方不同制剂的天麻素类、苯酞类以及酚酸类3类成分的含量。方法 采用Agilent ZORBAX Eclipse XDB-C<sub>18</sub>色谱柱, 流动相为乙腈-0.05%磷酸水溶液, 梯度洗脱, 检测波长为220、278、322 nm, 柱温为35 °C, 体积流量为1 mL/min。以天麻素、藁本内酯、阿魏酸为内标, 建立天麻素类(巴利森苷、巴利森苷B)、苯酞类(洋川芎内酯I、H、A和欧当归内酯A)以及酚酸类(绿原酸)成分的相对校正因子(RCF), 在不同进样体积、不同色谱柱、不同添加剂条件下验证其耐用性, 利用RCF值计算2种大川芎方制剂中10个成分的含量, 并与外标法测定结果进行比较, 验证方法的可行性。结果 所建立的方法相对校正因子耐用性良好(RSD≤3.5%), 与外标法的含量测定结果基本一致。结论 该3内标、3波长法可用于大川芎方制剂的药效成分测定。

**关键词:** 大川芎方; 制剂; 类成分; 天麻素类; 苯酞类; 酚酸类

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2019)12-2369-08

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2019.12.015

## Study on determination method of gastrodin, phthalide and phenolic acid in Dachuanxiong prescription

CHEN Lianming<sup>1,2</sup>, LIU Jie<sup>2,3</sup>, LI Qian<sup>4</sup>, SU Rubin<sup>1,2</sup>, WANG Mingxia<sup>1,2</sup>, JIA Zhixin<sup>2,3</sup>, XIAO Hongbin<sup>2,3,4</sup>

1. School of Chinese Materia Medica, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China
2. Research Center for Chinese Medicine Analysis and Transformation, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China
3. Beijing Research Institute of Chinese Medicine, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China
4. School of Pharmacy, Shihezi University, Shihezi 832000, China

**Abstract: Objective** Three internal standards and three wavelength methods were established to determine the content of gastrodin, phenolics and phenolic acids in different preparations of Dachuanxiong prescription. **Methods** The separation was carried out on Agilent ZORBAX Eclipse XDB-C<sub>18</sub> column. The mobile phase consisted of acetonitrile - 0.05% phosphoric acids aqueous solution with gradient elution. The detection wavelength was at 220, 278, 322 nm with flow velocity at 1.0 mL/min and column temperature at 35 °C. Firstly, gastrodin, Z-ligustilide, ferulic acid were used as references to get the average relative correction factors (RCF value) of gastrodin analogues (parishin B, parishin), phthalides (senkyunolide I, senkyunolide H, senkyunolide A and levistolide A) and phenolic acids (chlorogenic acid) respectively. Secondly, durability test of RCF was carried out in different factors including inject volume, columns, and additives. Finally, the contents of 10 compounds in two kinds of Dachuanxiong prescription preparations was calculated based on the RCF value, and compared with the determination results of external standard method to verify the feasibility of the method. **Results** The result showed that durability of established method was good (RSD ranging below 3.5%), which is basically consistent with the content determination results of external standard method. **Conclusion** The determination method of three internal standards and three wavelengths can be used to determine the pharmacodynamic composition of Dachuanxiong prescription.

**Key words:** Dachuanxiong Formula; preparation; class compounds; gastrodin analogues; phthalides; phenolic acids

收稿日期: 2019-04-27

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81774155, 81803703); 中国博士后科学基金项目(2018M630119).

\*通信作者: 肖红斌, 教授, 研究方向为中药物质及机制系统分析。Tel: (010)64286490 E-mail: hbxiao69@163.com.

大川芎方出自金·刘完素《宣明论方》卷二,由川芎和天麻以4:1的比例组成,具有活血化瘀、平肝熄风的功效,为临床治疗偏头痛的经典中药复方<sup>[1]</sup>。目前大川芎方已被开发成多种制剂,如天舒胶囊、天舒片和大川芎口服液。《中国药典》2015年版一部中天舒胶囊、天舒片的含量测定项下规定采用UV-HPLC分别测定指标性成分天麻素和阿魏酸<sup>[2]</sup>。近年来研究发现大川芎方中苯酞类、酚酸类、天麻素类成分等对偏头痛也有潜在的治疗作用,如阿魏酸、绿原酸等可通过改善血管舒缩、减少炎症介质释放等途径缓解偏头痛<sup>[3-5]</sup>,天麻素和巴利森昔类成分对东莨菪碱<sup>[6]</sup>和 $\beta$ -淀粉样蛋白<sup>[7]</sup>所致认知障碍模型等具有显著的改善作用,苯酞类化合物如藁本内酯可明显改善大鼠中动脉闭塞大鼠行为障碍、减轻脑缺血、抑制血小板聚集<sup>[8-10]</sup>。因此,测定这些成分对阐释大川芎方治疗偏头痛药效物质及质量控制具有重要意义。

近年来关于大川芎方制剂中成分定量检测方法已有报道,如赵辉等<sup>[11]</sup>采用HPLC多波长同时测定了不同批次天舒胶囊中的天麻素、阿魏酸和5-羟甲基糠醛,王晶晶等<sup>[12]</sup>采用一测多评法测定天舒胶囊中洋川芎内酯A、藁本内酯和丁基苯酞3个苯酞类成分,张晖芬等<sup>[13]</sup>建立反相高效液相色谱-双波长切换法同时测定天舒胶囊中天麻素、阿魏酸和6,7-二羟基藁本内酯的含量。以上方法只测定了制剂中一类或多个成分含量,目前尚未建立同时测定多类多个成分测定方法。因此,本研究在一测多评方法的基础上建立3类10个成分的成分测定方法,即采用3个内标,在3个波长下同时测定大川芎方中相似结构的天麻素类、苯酞类和酚酸类3类成分的含量,考察相对校正因子的耐用性和保留时间的定位,并利用该方法对2种大川芎方制剂不同批次成分进行同时检测。

## 1 仪器与试剂

Agilent 1260型高效液相色谱仪(美国安捷伦公司);MS205DU型十万分之一电子天平(瑞士梅特勒-托利多仪器有限公司);AE240型万分之一天平(瑞士梅特勒-托利多仪器有限公司);KQ-500E型超声波清洗机(昆山市超声仪器有限公司);3-18KS高速冷冻离心机(德国Sigma公司)。

对照品天麻素(批号T-007-161216)、对羟基苯甲醇(批号D-059-160328)、欧当归内酯A(批号O-002-180906)、洋川芎内酯I(批号Y-085-170609)、洋川芎内酯H(批号Y-084-180408)、藁本内酯(批号G-

010-170411)、阿魏酸(批号A-002-161216)、绿原酸(批号L-007-171216)购自成都瑞芬思生物科技有限公司,纯度均 $\geq 98\%$ ;巴利森昔和巴利森昔B(委托中科院大连化学物理研究所实验室制备),纯度均 $\geq 98\%$ 。乙腈、甲酸为质谱纯,水来自MillQ超纯水仪,其他试剂均为分析纯。伞形科植物川芎*Ligusticum chuanxiong* Hort、兰科植物天麻*Gastrodia elata* Bl.的药材饮片从北京同仁堂药店购买所得。天舒胶囊和天舒片购自药店,样品存放于北京中医药大学分析与转化研究中心实验室,样品信息见表1。

表1 样品信息  
Table 1 Sample information

样品编号	名称	批号
1	天舒胶囊	180907
2	天舒胶囊	171204
3	天舒胶囊	170719
4	天舒胶囊	180101
5	天舒胶囊	180814
6	天舒胶囊	181104
7	天舒胶囊	180805
8	天舒胶囊	160311
9	天舒胶囊	170709
10	天舒胶囊	180102
11	天舒胶囊	180517
12	天舒片	180502
13	天舒片	180905
14	天舒片	180801
15	天舒片	181004
16	天舒片	180706
17	天舒片	180803
18	天舒片	181108
19	天舒片	181008
20	天舒片	181003
21	天舒片	180903

## 2 方法与结果

### 2.1 溶液的制备

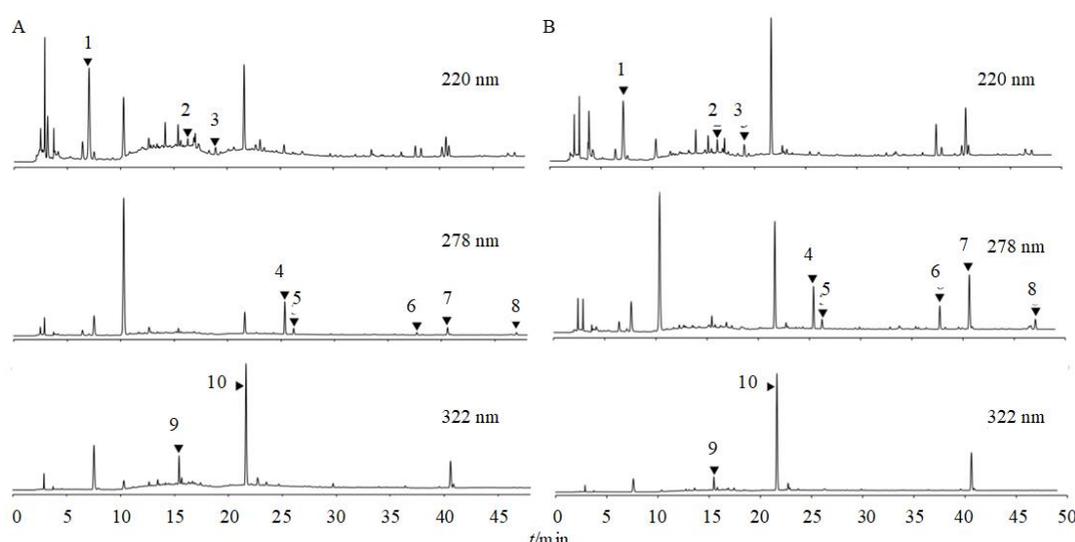
**2.1.1 混合对照品溶液的制备** 取10个成分的对照品适量,精密称定,加70%甲醇溶解并制成含天麻素1.9  $\mu\text{g/mL}$ 、巴利森昔1.9  $\mu\text{g/mL}$ 、巴利森昔B 3.3  $\mu\text{g/mL}$ 、洋川芎内酯I 2.5  $\mu\text{g/mL}$ 、洋川芎内酯H 0.3  $\mu\text{g/mL}$ 、洋川芎内酯A 7.8  $\mu\text{g/mL}$ 、藁本内酯6.4  $\mu\text{g/mL}$ 、欧当归内酯A 2.1  $\mu\text{g/mL}$ 、阿魏酸2.7  $\mu\text{g/mL}$ 、绿原酸1.3  $\mu\text{g/mL}$ 的对照品溶液。

**2.1.2 供试品溶液的制备** 精密称取粉碎后的川芎药材 20.072 g、天麻药材 5.018 g，加入 15 倍量的 95% 乙醇加热回流提取 2 次，每次 2 h，合并滤液；待药渣干燥至无醇味后，加 15 倍量的水加热回流提取 2 次，每次 2 h，最后合并所有滤液，减压浓缩至无醇味后减压冷冻干燥，所得粉末保存于 4 °C 冰箱。精密称取粉末 1 g，置具塞锥形瓶中，移液管精密加入 50% 甲醇 50 mL，称定质量，超声处理(功率 250 W，频率 40 kHz)60 min，放冷，再称定质量，用 50% 甲醇补足减失的质量，摇匀，离心(16 000 r/min) 10 min，取上清液，即得。

**2.2 色谱条件**

色谱柱：Agilent ZORBAX Eclipodese XDB-C<sub>18</sub> 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm)；资生堂 CAPCELL PAK C<sub>18</sub> 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm)；流动相为乙腈(A)-0.05% 磷酸水溶液(B)，采用梯度洗脱：0~5 min, 4% A；5~13 min, 4%~19% A；13~15 min, 19% A；15~28 min, 19%~42% A；28~33 min, 42%~58% A；33~48 min, 58%~85% A。检测波长 220、278、322 nm；体积流量 1.0 mL/min；柱温 35 °C；进样量 5 μL。

天舒胶囊和天舒片中 10 个成分的色谱图见图 1，本实验选择 220、278、322 nm 3 个波长对 10 个成



1-天麻素;2-巴利森苷B;3-巴利森苷;4-洋川芎内酯I;5-洋川芎内酯H;6-洋川芎内酯A;7-藁本内酯;8-欧当归内酯A;9-绿原酸;10-阿魏酸  
1-gastrodin; 2-parishin B; 3-parishin; 4-senkyunolide I; 5-senkyunolide H; 6-senkyunolide A; 7-Z-ligustilide; 8-levistolide A; 9- chlorogenicacid; 10-ferulic acid

图1 天舒胶囊(A)和天舒片(B)中10个成分的HPLC谱图

Fig. 1 HPLC spectra of 10 components in Tianshu Capsules (A) and Tianshu Tablets (B)

分进行含量测定，其中天麻素、巴利森苷B、巴利森苷3个成分的检测波长为220 nm，洋川芎内酯I、洋川芎内酯H、洋川芎内酯A、藁本内酯、欧当归内酯A 5个成分的检测波长为278 nm，阿魏酸、绿原酸2个成分的检测波长为322 nm。结果表明，供试品溶液中10个成分分离度良好。

**2.3 方法学考察**

**2.3.1 线性关系考察** 取适宜质量浓度的10个对照品溶液，用70%甲醇溶液稀释配制成系列质量浓度，按照“2.1”项下色谱条件测定。以各个成分的质量浓度为横坐标(X)，对应峰面积为纵坐标(Y)，绘制标准曲线，得线性回归方程及线性范围，结果见表2，各成分标准曲线在线性范围内线性关系良好。

表2 大川芎方中10个成分的回归方程及线性范围、相关系数

Table 2 Regression equation, linear range and coefficient of 10 components in Dachuanxiong decoction

成分	回归方程	r	线性范围(μg·mL <sup>-1</sup> )
天麻素	Y=11.3X-6.14	0.9999	1.93~155
巴利森苷B	Y=11.2X-5.51	0.9999	3.83~153
巴利森苷	Y=9.73X-10.7	0.9999	3.27~261
洋川芎内酯I	Y=12.8X-9.63	0.9999	2.50~200
洋川芎内酯H	Y=29.1X-2.92	0.9999	0.325~26.0
洋川芎内酯A	Y=3.06X-6.16	0.9999	15.7~626
藁本内酯	Y=11.7X-12.3	0.9999	12.8~510
欧当归内酯A	Y=14.6X-7.13	0.9999	2.15~172
绿原酸	Y=14.1X-12.9	0.9999	5.35~107
阿魏酸	Y=31.0X-25.2	0.9999	5.30~212

**2.3.2 精密度的试验** 精密吸取“2.2.2”项下制备的大川芎方供试品溶液,按“2.1”项色谱条件测定天麻素、巴利森昔、巴利森昔B、洋川芎内酯I、洋川芎内酯H、洋川芎内酯A、藁本内酯、欧当归内酯A、绿原酸以及阿魏酸的峰面积,重复测定6次,进样量5  $\mu\text{L}$ ,结果10个成分日内精密度的RSD值分别为2.1%、3.2%、0.70%、1.9%、2.8%、1.5%、2.2%、2.6%、2.5%、0.80%,日间精密度的RSD值分别为2.6%、3.5%、1.9%、1.3%、1.8%、0.92%、0.27%、4.6%、2.8%、0.81%。

**2.3.3 稳定性的试验** 取“2.2.2”项下大川芎方供试品溶液分别于配制后的0、2、4、8、12、24 h测定10个成分的峰面积,进样量5  $\mu\text{L}$ ,结果显示,在24 h内10个成分的稳定性的RSD值分别为4.5%、3.8%、3.0%、1.3%、2.7%、0.75%、0.39%、3.5%、2.9%、1.3%,表明供试品溶液在24 h内具有良好的稳定性,表明样品的稳定性良好。

**2.3.4 重复性的试验** 取大川芎方粉末,共6份,分别按“2.2.2”项下方法制得供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件进行测定,进样量5  $\mu\text{L}$ ,记录峰面积,计算10个成分的质量分数,结果各成分重复性的RSD值为4.6%、3.4%、3.8%、2.6%、3.0%、3.3%、5.7%、14.6%、3.2%、2.9%,表明本方法重复性良好,表明检测方法准确可靠,重复可行。

**2.3.5 加样回收试验** 取已测定的大川芎粉末,共6份,各约1 g,精密称定,加15 mL 50%甲醇充分浸润后,分别以约为1:1的摩尔浓度比例加入相应对照品溶液后,定容至25 mL,其余按“2.1.2”项下方法操作,制得供试品溶液,照“2.2”项下色谱条件采用标准对照法进行测定,进样量5  $\mu\text{L}$ ,结果见表3。10个成分的回收率为99.41%~107.11%,RSD值均小于6.36%,表明该方法回收率良好。

## 2.4 相对校正因子的测定

精密吸取“2.2.1”项下混合对照品溶液,分别进样1、2、4、10、20  $\mu\text{L}$ ,测定1次,记录峰面积,根据公式计算相对校正因子(RCF)。

$$\text{RCF} = f_i/f_m = (W_k \times A_m) / (W_m \times A_k)$$

式中 $A_k$ 为内标物峰面积, $W_k$ 为内标物质量, $A_m$ 为其他组分m峰面积, $W_m$ 为其他组分m质量。

结果见表4,以天麻素、藁本内酯以及阿魏酸为内标成分,计算得到的RCF的RSD值在3.58%以内。

## 2.5 不同色谱柱和添加剂对RCF的耐用性考察

考察Agilent ZORBAX Eclipse XDB-C<sub>18</sub>柱(250 mm×4.6 mm, 5  $\mu\text{m}$ ); Thermo BDS HYPERSIL C<sub>18</sub>柱(250 mm×4.6 mm, 5  $\mu\text{m}$ ); 资生堂CAPCELL PAK C<sub>18</sub>柱(250 mm×4.6 mm, 5  $\mu\text{m}$ )对RCF的影响。同时考察以0.05%磷酸和0.05%甲酸分别添加到水相后对RCF的影响。结果见表5,各个成分RCF的RSD值均小于2%,表明RCF在不同品牌色谱柱和不同添加剂具有良好的适应性。

## 2.6 不同色谱柱和添加剂对相对保留值(RT<sub>R</sub>)的耐用性考察

本研究采用相对保留法[ $\text{RT}_R = r_{m/k} = t_{R(m)}/t_{R(k)}$ ]来准确定位待测色谱峰,测定相对保留值在不同色谱柱和不同添加剂时的重现性。采用相对保留值法,结果见表6,数据结果表明,除巴利森昔和巴利森昔B之外,各待测成分的相对保留值RSD均小于2%,可用于待测成分色谱峰定位。

## 2.7 类成分测定方法与外标法测定结果比较

采用外标法对大川芎方的2种成方制剂(天舒胶囊11批次和天舒片10批次)中10个成分进行含量测定,并与用类成分测定方法计算的结果进行比

表3 加样回收试验结果(n=6)

Table 3 Sampling recovery test results (n=6)

成分	样品量/mg	加入量/mg	测得总量/mg	回收率/%	RSD/%
天麻素	1.54	2.16	3.78	103.4	4.5
巴利森昔B	1.49	2.16	3.71	102.5	6.4
巴利森昔	2.48	3.65	6.13	99.70	2.4
洋川芎内酯I	2.90	3.06	6.06	103.3	1.5
洋川芎内酯H	0.25	0.38	0.63	100.6	3.6
洋川芎内酯A	7.56	8.17	16.09	104.4	2.4
藁本内酯	3.40	5.43	8.98	102.8	3.4
欧当归内酯A	0.42	2.30	2.71	99.41	5.1
绿原酸	1.24	0.93	2.24	107.1	5.3
阿魏酸	1.79	2.95	4.81	102.5	2.6

表4 使用不同进样体积测定得到的各待测成分的RCF

Table 4 Relative correction factors for each component to be measured using different injection volumes

进样体积/ $\mu\text{L}$	RCF						
	PB/GAS	PA/GAS	SI/LG	SH/LG	SA/LG	LA/LG	CA/FA
1	1.008	0.864	1.06	2.40	0.259	1.24	0.415
2	0.998	0.854	1.07	2.41	0.260	1.24	0.450
4	0.999	0.854	1.07	2.42	0.258	1.23	0.451
10	0.990	0.855	1.08	2.45	0.261	1.24	0.443
20	0.985	0.856	1.09	2.46	0.260	1.24	0.448
RSD	0.90%	0.47%	1.2%	1.1%	0.38%	0.42%	3.4%

GAS-天麻素;PB-巴利森苷B;PA-巴利森苷;SI-洋川芎内酯I;SH-洋川芎内酯H;SA-洋川芎内酯A;LG-藜本内酯;LA-欧当归内酯A;CA-绿原酸;FA-阿魏酸

GAS-gastrodin; PB-parishin B; PA-parishin; SI-senkyunolide I; SH-senkyunolide H; SA-senkyunolide A; LG-Z-ligustilide; LA-levistolide A; CA- chlorogenic acid; FA-ferulic acid

表5 不同色谱柱和添加剂的RCF的耐用性考察

Table 5 Durability of RCF with different chromatographic columns and additives

因素	RCF						
	PB/GAS	PA/GAS	SI/LG	SH/LG	SA/LG	LA/LG	CA/FA
Agilent ZORBAX Eclipse XDB- $C_{18}$ 柱	0.985	0.858	1.10	2.48	0.261	1.25	0.452
Thermo BDS HYPERSIL $C_{18}$ 柱	0.986	0.859	1.10	2.48	0.261	1.25	0.452
CAPCELL PAK $C_{18}$ 柱	0.985	0.856	1.09	2.47	0.260	1.24	0.448
0.05% 磷酸	0.985	0.856	1.09	2.47	0.260	1.24	0.448
0.05% 甲酸	0.986	0.859	1.09	2.48	0.261	1.25	0.453
不同色谱柱RSD	0.07%	0.17%	0.41%	0.30%	0.36%	0.49%	0.49%
不同添加剂RSD	0.09%	0.22%	0.52%	0.39%	0.46%	0.61%	0.68%

GAS-天麻素;PB-巴利森苷B;PA-巴利森苷;SI-洋川芎内酯I;SH-洋川芎内酯H;SA-洋川芎内酯A;LG-藜本内酯;LA-欧当归内酯A;CA-绿原酸;FA-阿魏酸

GAS-gastrodin; PB-parishin B; PA-parishin; SI-senkyunolide I; SH-senkyunolide H; SA-senkyunolide A; LG-Z-ligustilide; LA-levistolide A; CA- chlorogenic acid; FA-ferulic acid

表6 不同色谱柱和添加剂的相对保留值( $RT_r$ )的耐用性考察

Table 6 Durability of relative retention value ( $RT_r$ ) of different chromatographic columns and additives

因素	$RT_r$						
	PB/GAS	PA/GAS	SI/LG	SH/LG	SA/LG	LA/LG	CA/FA
Agilent ZORBAX Eclipse XDB- $C_{18}$ 柱	2.48	2.85	0.607	0.629	0.927	1.18	0.710
Thermo BDS HYPERSIL $C_{18}$ 柱	2.68	3.07	0.625	0.647	0.935	1.16	0.723
CAPCELL PAK $C_{18}$ 柱	2.27	2.64	0.625	0.645	0.929	1.16	0.714
0.05% 磷酸	2.30	2.68	0.626	0.646	0.929	1.16	0.713
0.05% 甲酸	2.32	2.69	0.626	0.646	0.929	1.16	0.716
不同色谱柱RSD	8.2%	7.5%	1.6%	1.6%	0.45%	0.79%	0.90%
不同添加剂RSD	0.43%	0.40%	0.015%	0.019%	0.002 7%	0.015%	0.28%

GAS-天麻素;PB-巴利森苷B;PA-巴利森苷;SI-洋川芎内酯I;SH-洋川芎内酯H;SA-洋川芎内酯A;LG-藜本内酯;LA-欧当归内酯A;CA-绿原酸;FA-阿魏酸

GAS-gastrodin; PB-parishin B; PA-parishin; SI-senkyunolide I; SH-senkyunolide H; SA-senkyunolide A; LG-Z-ligustilide; LA-levistolide A; CA- chlorogenic acid; FA-ferulic acid

较,验证类成分测定方法的结果准确性、可靠性。含量测定结果分别见表7和表8,结果表明2种方法测定的结果无显著性差异,类成分测定法用于大川芎方中10个成分的测定是准确可行的。

### 3 讨论

#### 3.1 色谱条件的优化

大川芎方的2种成方制剂天舒胶囊和天舒片的提取工艺包括醇提和水提工艺,其所测天麻素类、苯酞类、酚酸类3类10个成分,因其极性差异较大,因此选择了梯度洗脱的流动相系统。本研究考察了有机相(甲醇和乙腈)、不同浓度的添加剂(甲酸、乙酸和磷酸)的分离效果,发现乙腈-0.05%磷酸下基线平稳,分离度良好,酚酸类成分的灵敏度在酸性条件下良好。

#### 3.2 内标化合物和检测波长的选择

在内标成分选择方面,由于10个成分的线性范围和灵敏度各不相同,除了要考虑价廉易得及稳定性,还应考虑样品的实际浓度不应过低且保留时间适中,基于以上原则优先选择了天麻素、藁本内酯和阿魏酸作为内标成分。

在检测波长选择方面,巴利森苷类成分与天麻素均在220 nm处呈最大吸收,因此选择220 nm作为天麻素类化合物的检测波长;阿魏酸和绿原酸的紫外吸收波长相同,其特征最大吸收波长为322 nm,因此选择322 nm作为酚酸类的检测波长;洋川芎内酯I、H最大吸收波长为278 nm,藁本内酯由于共轭双键的影响,最大吸收波长红移,因此在322 nm和278 nm处有肩峰,考虑到其他苯酞类成分最

表7 ESM和QAMS测定天舒胶囊10个成分的质量浓度(mg·g<sup>-1</sup>)

Table 7 Mass concentrations of ten components in Tianshu Capsules by ESM and QAMS (mg·g<sup>-1</sup>)

成分	方法	样品编号										
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
GAS	ESM	2.96	3.56	3.32	3.65	3.37	3.43	3.57	4.04	4.43	3.55	3.73
	PB	0.146	0.157	0.118	0.258	0.230	0.293	0.138	0.169	0.160	0.242	0.101
	QAMS	0.124	0.135	0.097	0.235	0.208	0.270	0.116	0.146	0.138	0.219	0.080
	RE/%	-15	-14	-18	-8.8	-9.7	-7.8	-16	-13	-14	-9.3	-21
PA	ESM	0.259	0.317	0.254	0.448	0.416	0.507	0.299	0.409	0.386	0.435	0.241
	QAMS	0.206	0.264	0.201	0.396	0.364	0.456	0.247	0.357	0.334	0.383	0.188
	RE/%	-20	-17	-21	-12	-13	-10	-18	-13	-14	-12	-22
SI	ESM	2.31	2.38	2.99	1.97	2.44	2.62	3.37	3.28	3.15	1.55	2.62
	QAMS	2.51	2.56	3.25	2.07	2.64	2.78	3.77	3.66	3.46	1.65	2.77
	RE/%	8.8	7.3	8.7	4.9	8.5	5.9	12	11	9.6	6.7	5.6
SH	ESM	0.181	0.193	0.238	0.159	0.195	0.210	0.271	0.262	0.255	0.125	0.207
	QAMS	0.194	0.205	0.256	0.165	0.209	0.220	0.301	0.289	0.277	0.131	0.216
	RE/%	7.4	6.0	7.5	3.3	7.1	4.7	11	10	8.7	4.8	4.3
SA	ESM	1.14	0.888	0.936	2.00	0.872	1.31	0.895	0.899	0.939	0.787	1.38
	QAMS	1.14	0.862	0.923	2.01	0.853	1.30	0.904	0.903	0.934	0.756	1.36
	RE/%	0.73	-2.9	-1.5	0.62	-2.1	-1.1	1.1	0.49	-0.55	-3.9	-1.1
LG	ESM	0.610	0.747	0.653	1.1	0.645	0.966	0.466	0.495	0.582	0.713	1.03
LA	ESM	0.182	0.219	0.208	0.250	0.167	0.232	0.165	0.161	0.153	0.183	0.192
	QAMS	0.171	0.208	0.198	0.237	0.155	0.219	0.157	0.151	0.141	0.171	0.177
	RE/%	-5.8	-4.8	-4.5	-5.1	-7.5	-5.5	-4.9	-5.9	-8.2	-6.8	-8.0
CA	ESM	0.572	0.554	0.404	0.683	0.730	0.815	0.580	0.557	0.402	0.619	0.543
	QAMS	0.572	0.554	0.395	0.690	0.741	0.831	0.581	0.557	0.393	0.623	0.542
	RE/%	0.046	-0.000	-2.3	1.1	1.5	1.9	0.23	-0.027	-2.3	0.64	-0.13
FA	ESM	1.58	1.49	1.53	1.52	1.48	1.52	1.52	1.54	1.53	1.48	1.50

GAS-天麻素;PB-巴利森苷B;PA-巴利森苷;SI-洋川芎内酯I;SH-洋川芎内酯H;SA-洋川芎内酯A;LG-藁本内酯;LA-欧当归内酯A;CA-绿原酸;FA-阿魏酸

GAS-gastrodin; PB-parishin B; PA-parishin; SI-senkyunolide I; SH-senkyunolide H; SA-senkyunolide A; LG-Z-ligustilide; LA-levistolide A; CA- chlorogenic acid; FA-ferulic acid

表8 ESM和QAMS测定天舒片10个成分的质量浓度(mg·g<sup>-1</sup>)

Table 8 Mass concentrations of ten components in Tianshu Tablets by ESM and QAMS (mg·g<sup>-1</sup>)

成分	方法	样品编号									
		12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
GAS	ESM	2.31	2.13	2.14	2.26	2.56	2.33	2.30	2.36	2.53	2.27
PB	ESM	0.201	0.165	0.271	0.350	0.306	0.148	0.110	0.251	0.177	0.078
	QAMS	0.180	0.143	0.249	0.328	0.284	0.126	0.089	0.229	0.155	0.057
	RE/%	-11	-13	-8.0	-6.3	-7.3	-14	-19	-8.7	-12	-27
PA	ESM	0.364	0.313	0.492	0.540	0.478	0.272	0.223	0.328	0.363	0.204
	QAMS	0.313	0.262	0.442	0.492	0.428	0.220	0.171	0.276	0.312	0.151
	RE/%	-14	-16	-10	-9.0	-11	-19	-23	-16	-14	-26
SI	ESM	0.952	1.71	0.938	0.559	0.823	1.97	0.998	0.984	1.86	1.27
	QAMS	0.992	1.90	0.950	0.549	0.838	2.12	1.03	1.01	2.01	1.32
	RE/%	4.2	11	1.2	-1.7	1.9	8.0	3.3	3.0	8.1	3.8
SH	ESM	0.081 6	0.137	0.096	0.050 4	0.070 1	0.161	0.090 8	0.084 7	0.150	0.105
	QAMS	0.082 9	0.150	0.096	0.047 7	0.069 3	0.171	0.092 0	0.085 2	0.159	0.106
	RE/%	1.6	9.5	-0.29	-5.2	-1.1	6.4	1.3	0.58	6.5	1.6
SA	ESM	1.89	0.793	2.38	2.06	1.56	0.89	1.48	1.14	1.05	1.09
	QAMS	1.92	0.794	2.37	2.04	1.55	0.88	1.47	1.11	1.05	1.06
	RE/%	1.8	0.18	-0.095	-0.68	-0.75	-1.9	-0.47	-2.5	-0.11	-3.0
LG	ESM	0.817	0.448	1.61	1.63	1.12	0.652	0.986	1.04	0.627	1.09
	ESM	0.329	0.127	0.270	0.272	0.243	0.162	0.213	0.206	0.170	0.240
	QAMS	0.325	0.115	0.255	0.257	0.229	0.149	0.199	0.191	0.158	0.227
LA	ESM	0.329	0.127	0.270	0.272	0.243	0.162	0.213	0.206	0.170	0.240
	QAMS	0.325	0.115	0.255	0.257	0.229	0.149	0.199	0.191	0.158	0.227
	RE/%	-1.3	-9.5	-5.8	-5.7	-5.6	-8.1	-6.5	-7.2	-7.0	-5.6
CA	ESM	0.759	0.502	0.433	0.502	0.521	0.374	0.559	0.365	0.414	0.681
	QAMS	0.766	0.496	0.421	0.497	0.515	0.362	0.560	0.352	0.405	0.683
	RE/%	0.91	-1.3	-2.8	-1.0	-1.3	-3.2	0.12	-3.8	-2.3	0.34
FA	ESM	2.17	2.04	2.18	2.17	2.20	1.96	1.77	1.92	2.10	2.12

GAS-天麻素;PB-巴利森昔B;PA-巴利森昔;SI-洋川芎内酯I;SH-洋川芎内酯H;SA-洋川芎内酯A;LG-藁本内酯;LA-欧当归内酯A;CA-绿原酸;FA-阿魏酸

GAS-gastrodin; PB-parishin B; PA-parishin; SI-senkyunolide I; SH-senkyunolide H; SA-senkyunolide A; LG-Z-ligustilide; LA-levistolide A; CA- chlorogenic acid; FA-ferulic acid

大吸收波长在278 nm处,综合共有的平坦吸收区,最终选择278 nm为苯酞类成分的检测波长。

### 3.3 供试溶液的制备

天舒胶囊和天舒片中所测3类成分因其极性的不同,导致溶解度差别较大,因此提取溶剂的选择是能够准确定量的关键。本研究分别对提取溶剂(不同比例的甲醇-水溶液、稀乙醇溶液、甲醇+20%甲醇混合提取液)、料液比(25倍和50倍)、超声时间(30 min和60 min)进行了考察。结果表明,用50倍量体积分数50%甲醇超声提取60 min为最佳条件,本条件操作简便,回收率较高。

### 3.4 类成分测定与外标法比较

本研究中建立了3内标、3波长、10成分的大川芎方制剂成分含量测定方法。10个成分的相对校

正因子在0.4~2.45,RSD值小于3.58%,该方法稳定可靠,且与外标法所测得的结果基本一致。另一方面采用相对保留值方法对色谱峰进行定位,除巴利森昔和巴利森昔B需要对照提取物辅助定位,其余保留时间RSD值小于2%。

### 3.5 测定结果分析

采用本研究建立的类成分测定方法对天舒胶囊11个批次和天舒片10个批次进行了10个3类成分的含量测定。同一批次样品中含量较高的成分有天麻素、阿魏酸、洋川芎内酯I、洋川芎内酯A和藁本内酯,其中天舒胶囊中天麻素含量和洋川芎内酯I的含量均大于1.4 mg/g,而天舒片中不同批次中10个成分的含量有所不同,发现洋川芎内酯A、I及藁本内酯含量高且批次间差异较大,其次是巴利森昔

B和巴利森昔;以类成分含量作为比较,将同一类成分的含量加和,结果如图2所示,发现酚酸类成分偏差最小,天麻素类其次,苯酞类成分在各个批次中差异较大,而苯酞类容易通过氧化、水解等反应发生结构的改变,推测与浓缩过程中的时间与温度影响有关。

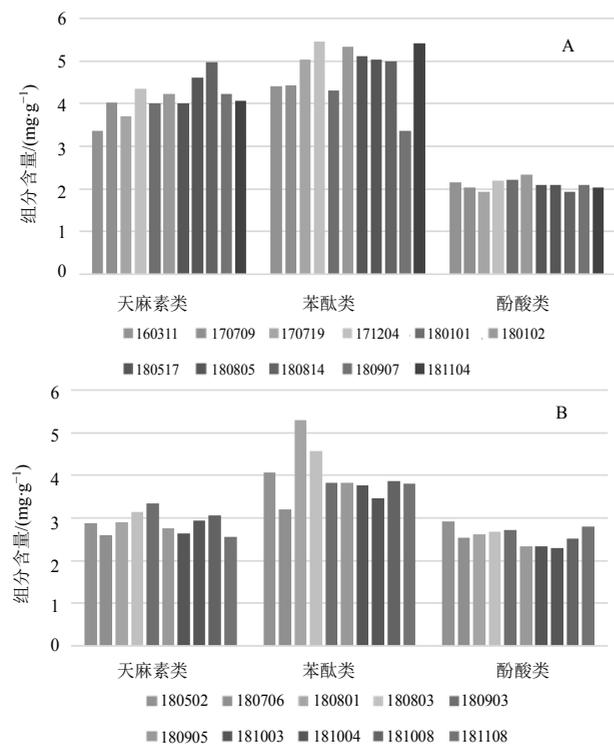


图2 不同批次天舒胶囊(A)和天舒片(B)中苯酞类、酚酸类、天麻素类成分含量比较

Fig. 2 Comparison on phthalphthalains, phenolic acids, and gastrodins in Tianshu Capsules (A) and Tianshu Tablets (B) in different batches

本研究建立了一个准确、重复性好、快速经济的大川芎方的类成分定量方法,提高相关上市制剂的质量控制标准水平,并为多指标类成分测定方法在中药质控中的推广应用提供了更充分的依据。

#### 参考文献

[1] Wang L, Zhang J M, Hong Y L, et al. Phytochemical and pharmacological review of da chuanxiong formula: a famous herb pair composed of chuanxiong rhizoma and

gastrodiae rhizoma for headache [J]. Evid Based Compl Altern Med, 2013: 425369.

- [2] 中国药典[S]. 一部. 2015.
- [3] 何磊, 包永睿, 孟宪生, 等. 基于活血化瘀功效的川芎酚酸组分治疗大鼠偏头痛作用机制研究[J]. 中南药学, 2018, 16(1): 45-49.
- [4] Zhang Y J, Lu X W, Song N, et al. Chlorogenic acid alters the voltage-gated potassium channel currents of trigeminal ganglion neurons [J]. Int J Oral Sci, 2014, 6(4): 233-240.
- [5] Cheng C, Ho T, Lee E, et al. Ferulic acid reduces cerebral infarct through its antioxidative and anti-inflammatory effects following transient focal cerebral ischemia in rats [J]. Am J Chin Med, 2008, 36(6): 1105-1119.
- [6] 刘智慧, 马浩, 王伟平, 等. 天麻素及派立辛改善东莨菪碱致学习记忆障碍的构效关系[J]. 药学学报, 2016, 51(5): 743-748.
- [7] Liu Z H, Wang W P, Feng N, et al. Parishin C's prevention of A $\beta$ 1 - 42-induced inhibition of long-term potentiation is related to NMDA receptors [J]. Acta Pharm Sin B, 2016, 6(3): 189-197.
- [8] 田京伟, 傅风华, 蒋王林, 等. 川芎苯酞对大鼠局部脑缺血的保护作用及机理探讨[J]. 中国中药杂志, 2005, 30(6): 466-468.
- [9] Wang Y H, Liang S, Xu D S, et al. Effect and mechanism of senkyunolide I as an anti-migraine compound from Ligusticum chuanxiong [J]. J Pharm Pharmacol, 2011, 63(2): 261-266.
- [10] Chan S S K, Jones R L, Lin G. Synergistic interaction between the Ligusticum chuanxiong constituent butylidenephthalide and the nitric oxide donor sodium nitroprusside in relaxing rat isolated aorta [J]. J Ethnopharmacol, 2009, 122(2): 308-312.
- [11] 赵辉, 武晓红, 蒲晓辉. HPLC法同时测定天舒胶囊中阿魏酸和天麻素[J]. 中成药, 2014, 36(1): 111-114.
- [12] 梁娟娟, 高慧敏, 陈两绵, 等. HPLC同步测定天舒胶囊3种成分的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(17): 81-84.
- [13] 张晖芬, 陈晓辉, 霍艳双, 等. RP-HPLC双波长切换法同时测定天舒胶囊中天麻素、阿魏酸和6, 7-二羟基藜本内酯的含量[J]. 沈阳药科大学学报, 2012, 29(6): 443-447.