

## 麻仁软胶囊的指纹图谱研究

黎阳<sup>1</sup>, 刘素香<sup>2</sup>, 张铁军<sup>2\*</sup>, 陈常青<sup>2</sup>

1. 天津中医药大学, 天津 300193

2. 天津药物研究院, 天津 300193

**摘要:** 目的 建立麻仁软胶囊指纹图谱。方法 采用 Diamonsil C<sub>18</sub> 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为甲醇-0.05% 磷酸梯度洗脱, 检测波长 230 nm, 柱温 30 °C, 体积流量 1.0 mL/min。测定 10 批麻仁软胶囊, 建立指纹图谱。结果 指纹图谱各项参数符合标准, 22 个共有峰及 1 个共有峰群, 进行了主成分分析。结论 建立了麻仁软胶囊指纹图谱, 该方法可更全面地控制麻仁软胶囊的质量。

**关键词:** 麻仁软胶囊; HPLC; 指纹图谱; 相似度; 主成分分析

中图分类号: R286.02 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2011)06-1097-04

## Fingerprint of Maren Soft Capsula

LI Yang<sup>1</sup>, LIU Su-xiang<sup>2</sup>, ZHANG Tie-jun<sup>2</sup>, CHEN Chang-qing<sup>2</sup>

1. Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China

2. Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300193, China

**Abstract: Objective** To establish the HPLC fingerprint of Maren Soft Capsula. **Methods** The HPLC method was used with Diamonsil C<sub>18</sub> column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), and a mixture liquid of methanol-0.05% H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> as mobile phase in a gradient elution. Detection wavelength was 230 nm, flow rate was 1.0 mL/min, and column temperature was 30 °C. The HPLC fingerprint was established of 10 batches of Maren Soft Capsula. **Results** Under the selected spectrum condition, the 10 batches of Maren Soft Capsula showing 22 common peaks and 1 common peak group, principal components analysis was carried out. **Conclusion** This method is reasonable and reliable to the quality control of Maren Soft Capsula.

**Key words:** Maren Soft Capsula; HPLC; fingerprint; similarity; principal components analysis

麻仁软胶囊由麻子仁、芍药、枳实、大黄、厚朴、杏仁组成, 源于张仲景《伤寒论》中的麻子仁丸。具有润肠泄热, 行气通便的功效<sup>[1]</sup>。现广泛应用于临床出现的肠胃燥热、津液不足、大便干结、小便频数等。目前国内对麻仁软胶囊质量标准的研究多采用单一成分或多组分定量的方法, 付玉梅等<sup>[2]</sup>采用 HPLC 法对麻仁软胶囊中大黄素进行测定, 杨桂芝等<sup>[3]</sup>利用 HPLC 法对麻仁软胶囊中大黄酸进行测定, 黎阳等<sup>[4]</sup>采用 HPLC 法测定了麻仁软胶囊中 7 种成分。该药成分极为复杂, 而临床用药强调整体性。为了全面地反映麻仁软胶囊的内在质量, 本实验采用 HPLC 法对麻仁软胶囊进行了指纹图谱研究, 建

立了麻仁软胶囊 HPLC 指纹图谱方法, 用于该制剂的质量控制。

### 1 仪器与材料

Agilent 1100 高效液相色谱仪 (美国 Agilent 公司), 配置自动进样器、柱温箱、UV 监测器、Agilent 1100 色谱工作站。AB204—N 型电子天平 (梅特勒-托利); AS3120 超声波清洗仪 (天津奥特赛恩斯仪器有限公司)。

甲醇为色谱纯, 磷酸、乙醇均为分析纯, 水为天磁纯净水; 芦荟大黄素 (110795-200605)、大黄酸 (110757-200206)、大黄素 (110756-200110)、大黄酚 (110796-200716)、厚朴酚 (110729-200310)、和厚朴酚 (110730-200609)、橙皮苷 (110721-9202)、

收稿日期: 2010-11-05

基金项目: “十一五” 国家科技支撑计划项目 (2006BAI06A01-02); 天津市科技创新专项

作者简介: 黎阳 (1984—), 女, 天津中医药大学硕士研究生。Tel: (022)23006848 E-mail: carol.jane@163.com

\*通讯作者 张铁军 Tel: (022)23006848 E-mail: tiejunzh2000@yahoo.com.cn

柚皮苷 (110722-200309) 对照品均购自中国药品生物制品检定所; 大黄素甲醚 (质量分数 $\geq 98\%$ ) 实验室自制; 新橙皮苷对照品 (质量分数 $\geq 98\%$ ) 购自成都思科华生物技术有限公司。10 批麻仁软胶囊由天津中央药业有限公司提供 (批号分别为 071121、080512、081101、090202、090301、090404、090705、090801、090802、090804)。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

色谱柱为 Diamonsil  $C_{18}$  柱 (250 mm $\times$ 4.6 mm, 5  $\mu$ m), 检测波长 230 nm, 柱温 30  $^{\circ}$ C, 体积流量 1.0 mL/min, 流动相为甲醇 (A) -0.05% 磷酸水溶液 (B), 梯度洗脱条件: 0~15 min, 5%~37% A; 15~35 min, 37% A; 35~40 min, 37%~44% A; 40~50 min, 44%~54% A; 50~60 min, 54%~60% A; 60~72 min, 60%~70% A; 72~90 min, 70%~100% A; 90~95 min, 100%~5% A。

### 2.2 对照品溶液的制备

分别称取芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚对照品适量, 精密称定, 配制成芦荟大黄素 43.00  $\mu$ g/mL、大黄酸 37.80  $\mu$ g/mL、大黄素 58.00  $\mu$ g/mL、大黄酚 67.80  $\mu$ g/mL、大黄素甲醚 48.00  $\mu$ g/mL 甲醇溶液, 摇匀, 作为储备液 A。精密量取储备液 A 3 mL 置 10 mL 量瓶中, 甲醇稀释至刻度, 摇匀, 得 A 对照品溶液。分别称取厚朴酚、和厚朴酚对照品适量, 精密称定, 配制成厚朴酚 65.40  $\mu$ g/mL、和厚朴酚 118.00  $\mu$ g/mL 甲醇溶液, 摇匀, 作为储备液 B。精密量取储备液 B 4 mL 置 10 mL 量瓶中, 甲醇稀释至刻度, 摇匀, 得 B 对照品溶液。

### 2.3 供试品溶液的制备

取麻仁软胶囊 10 粒, 剪开囊皮取其内容物混匀, 称取约 0.2 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 80% 乙醇 25 mL, 称定质量, 超声 20 min, 放冷, 再称定质量, 用溶剂补足减少的质量, 摇匀, 离心, 取上清液, 经 0.45  $\mu$ m 微孔滤膜滤过, 即得。

### 2.4 精密度试验

取批号 090801 麻仁软胶囊内容物, 制备供试品溶液, 连续进样 5 次, 计算得其中 23 个色谱峰相对保留时间的 RSD 值均低于 0.5%, 相对峰面积的 RSD 值均低于 4.9%。

### 2.5 稳定性试验

取批号 090801 麻仁软胶囊内容物, 制备供试品溶液, 密闭置于室温条件下放置, 分别在 0、2、4、

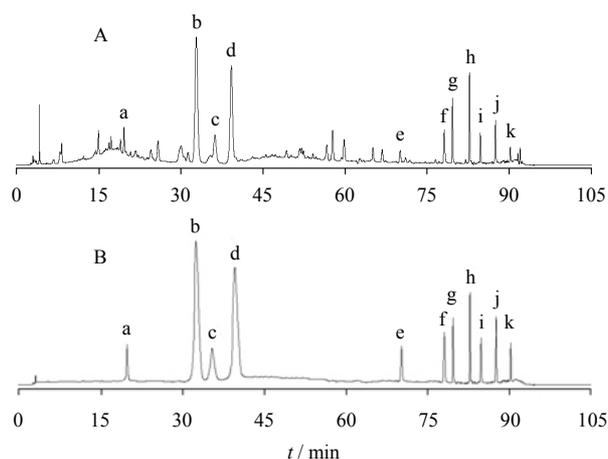
12、24 h 进样测定, 计算得其中 23 个色谱峰相对保留时间的 RSD 值均低于 1.0%, 相对峰面积的 RSD 值均低于 5.0%。表明密闭置于室温的供试品溶液在 24 h 内稳定。

### 2.6 重现性试验

取批号 090801 麻仁软胶囊内容物 5 份, 制备供试品溶液, 分别进行测定, 计算主要色谱峰相对保留时间的 RSD 值均低于 0.8%, 相对峰面积的 RSD 值均低于 4.9%。

### 2.7 样品测定

取 10 批麻仁软胶囊内容物, 分别制备供试品溶液, 各精密吸取 10  $\mu$ L, 注入高效液相色谱仪, 记录 0~105 min 色谱图 (图 1)。色谱图中以柚皮苷色谱峰为参照峰计算相对保留时间和相对峰面积。



a-芍药苷 b-柚皮苷 c-橙皮苷 d-新橙皮苷 e-芦荟大黄素 f-大黄酸 g-和厚朴酚 h-厚朴酚 i-大黄素 j-大黄酚 k-大黄素甲醚  
a-paeoniflorin b-naringin c-hesperidins d-neohesperidin e-aloe-emodin f-rhein g-honokiol h-magnolol i-emodin j-chrysochanolol k-phycion

图 1 麻仁软胶囊 (A) 和混合对照品 (B) 的 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC fingerprints of Maren Soft Capsula (A) and mixed reference substances (B)

### 2.8 指纹图谱分析

指纹图谱分析软件: 采用国家药典委员会编的“中药色谱指纹图谱相似度评价系统 2004A 版”<sup>[5]</sup>。参数设置: (1) 参照图谱: 采用批号 090404 样品作为相似度计算时校正的参照图谱。(2) 时间窗宽度: 0.10 min。(3) 校正方式: 多点校正。校正色谱峰的确定: 色谱图中主要色谱峰在 0~105 min 基本分布均匀。(4) 指纹图谱的生成: 10 批麻仁软胶囊色谱图生成指纹图谱见图 2, 生成的对照指纹图谱见图 3, 相似度计算结果见表 1, 表明 10 批样品相似度均在 0.9 以上, 符合要求。

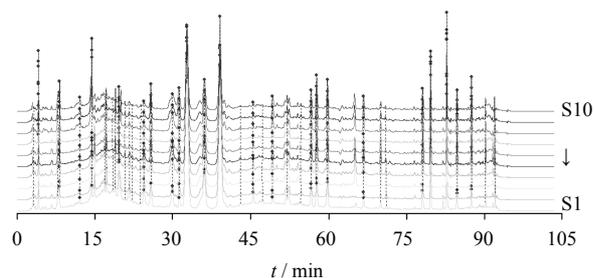


图 2 麻仁软胶囊指纹图谱

Fig. 2 HPLC fingerprints for 10 batches of samples

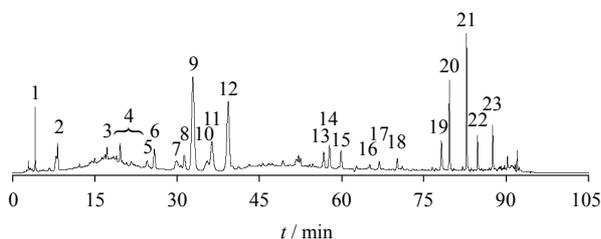


图 3 对照指纹图谱

Fig. 3 Compered fingerprint by HPLC

表 1 10 批样品相似度评价结果

Table 1 Similarity evaluation of 10 batches of samples

批号	参照图谱	对照图谱	批号	参照图谱	对照图谱
071121	0.936	0.973	090404	1.000	0.976
080512	0.909	0.962	090705	0.989	0.963
081101	0.925	0.977	090801	0.932	0.949
090202	0.939	0.984	090802	0.941	0.953
090301	0.981	0.984	090804	0.939	0.951

### 2.9 色谱峰的归属

分别精密吸取供试品溶液、白芍药材及其阴性对照、枳实药材及其阴性对照、厚朴药材及其阴性对照、大黄药材及其阴性对照各 10 μL, 注入高效液相色谱仪, 记录 105 min 色谱图进行对比。通过图谱对比, 3 号峰及 4 号色谱峰群中 1 个峰 (芍药苷) 属于白芍; 7 号峰、9 号峰 (柚皮苷)、10 号峰 (橙皮苷)、12 号峰 (新橙皮苷) 属于枳实; 20 号峰 (和厚朴酚)、21 号峰 (厚朴酚) 属于厚朴; 2 号峰、6 号峰、11 号峰、13 号峰、14 号峰、15 号峰、17 号峰、18 号峰 (芦荟大黄素)、19 号峰 (大黄酸)、22 号峰 (大黄素)、23 号峰 (大黄酚) 属于大黄。

### 2.10 主成分分析

10 批样品的色谱数据, 各色谱峰占总峰面积量化作为数据的信息, 一个样品的数据为一个数据向量生成样本数据, 10 个样品数据组成样本指纹信息数据矩阵。

从主成分分析的贡献率来看: PC1 的贡献率最大为 55.97%, PC2 的贡献率次之为 19.25%, PC3 的贡献率再次之为 12.2%, PC4 的贡献率为 8.20%, 其他的贡献率较小。从累积贡献率来看, 取前 4 个特征值时, 累积贡献率为 95.62%, 故取前 4 个为主成分。

由表 2 可以看出, 2、6、10 号色谱峰在主成分 1 中有明显的正相负荷, 表明它们增加, 第 1 主成分增大; 5、9、12 号色谱峰在主成分 1 中有明显的逆负荷, 表明它们增加, 第 1 主成分减少; 其他对第 1 主成分影响相对较小。3 号色谱峰、4 号色谱峰群、5 号色谱峰在主成分 2 中有明显的正相负荷, 表明它们增加, 第 2 主成分增大; 18、19、20、21、22、23 号色谱峰在主成分 2 中有明显的逆负荷, 表明它们增加, 第 2 主成分减少; 其他对第 2 主成分影响相对较小。9、11、20 号色谱峰在主成分 3 中

表 2 因子负荷矩阵

Table 2 Component matrix

色谱峰	主成分			
	1	2	3	4
1	0.914	0.105	0.275	0.150
2	0.928	-0.086	0.315	-0.153
3	0.741	0.556	0.132	-0.348
4	0.595	0.615	0.211	0.435
5	-0.429	0.535	-0.190	0.628
6	0.987	0.045	0.134	0.040
7	0.825	0.339	-0.356	-0.126
8	0.864	0.181	0.224	-0.322
9	-0.307	0.292	0.565	0.528
10	0.915	-0.264	-0.249	-0.081
11	0.555	0.292	0.770	-0.029
12	-0.697	0.513	-0.244	0.322
13	0.783	0.445	-0.131	0.299
14	0.845	0.387	-0.262	0.194
15	0.863	0.484	0.075	-0.070
16	0.800	0.298	-0.488	-0.094
17	0.785	0.402	-0.426	0.012
18	0.459	-0.525	-0.502	0.473
19	0.725	-0.631	-0.225	0.115
20	0.639	-0.545	0.508	0.169
21	0.543	-0.583	0.417	0.406
22	0.630	-0.683	-0.207	0.220
23	0.893	-0.415	-0.132	0.057

有明显的正相负荷,表明它们增加,第 3 主成分增大;18 号色谱峰在主成分 3 中有明显的逆负荷,表明它们增加,第 3 主成分减少;其他对第 3 主成分影响相对较小。5 号色谱峰在主成分 4 中有明显的正相负荷,表明它们增加,第 4 主成分增大;3、7、8 号色谱峰在主成分 4 中有明显的逆负荷,表明它们增加,第 4 主成分减少;其他对第 4 主成分影响相对较小。

### 3 讨论

中药是一个由多组分、多因素构成的复杂体系,其化学成分的多多样性与复杂性是其疗效的物质基础<sup>[6]</sup>。麻仁软胶囊是一个由 6 味中药组成的复方,仅测定其中几个成分的量难以全面评价和控制其质量。为了更全面地控制麻仁软胶囊的质量,本实验采用 HPLC 对 10 批麻仁软胶囊样品进行了梯度洗脱,所得到的色谱图相似度达到了 0.9 以上,符合要求。麻仁软胶囊的指纹图谱有 22 个共有峰和 1 个共有峰群,以其相对保留时间和相对峰面积来计算稳定性、重现性和精密度,RSD 值均在 5% 以下。利用对照品作对照,指认了共有色谱峰中的芍药苷、柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷、和厚朴酚、芦荟大黄素、厚朴酚、大黄酸、大黄素、大黄酸共 10 个色谱峰。

麻仁软胶囊中成分多,极性差异大,采用等度洗脱的方法不能在短时间内将其洗脱和分离,因此在初始色谱条件基础上选用不同梯度比例的甲醇-

0.05%磷酸水溶液、乙腈-0.05%磷酸水溶液等流动相体系,进行试验对比分析供试品溶液,记录所得色谱图,比较图中各物质的分离情况和峰形,及所检测到的峰数,以考查流动相洗脱强度和梯度对检测结果的影响。最终确定采用甲醇-0.05%磷酸水溶液梯度洗脱。

对麻仁软胶囊色谱数据进行主成分分析,结合色谱峰归属的结果分析得出:对麻仁软胶囊整体质量影响主要是 4 个主成分,第 1 主成分影响最大。对第 1 主成分影响较大的色谱峰是有明显正相负荷的 2、6 号色谱峰来自于大黄,有明显逆负荷的 9、12 号色谱峰来自于枳实。对第 2 主成分影响较大的色谱峰是有明显正相负荷的 3、4 号色谱峰来自于白芍,有明显逆负荷的 18、19、20、21、22、23 号色谱峰来自于大黄(蒽醌类)。

### 参考文献

- [1] 中国药典[S]. 一部. 2010.
- [2] 付玉梅, 吴波. HPLC 法测定麻仁软胶囊中大黄素的含量 [J]. 湖北中医杂志, 2002, 24(8): 51.
- [3] 杨桂芝, 潘英, 王津, 等. 麻仁丸软胶囊中大黄酸含量测定方法的改进 [J]. 天津药学, 1997, 9(3): 60-62.
- [4] 黎阳, 刘素香, 张铁军, 等. HPLC 法测定麻仁软胶囊中 7 种成分 [J]. 中草药, 2011, 42(5): 890-892.
- [5] 黎阳, 张铁军, 刘素香, 等. 枳实药材的指纹图谱研究 [J]. 中草药, 2009, 40(9): 1469-1474.
- [6] 张铁军. 中药质量认识与质量评价 [J]. 中草药, 2011, 42(1): 1-9.