

川芎饮片标准汤剂指纹图谱研究

周蔚昕^{1,2}, 刘涛^{1*}, 张佳¹, 谢梦蝶^{1,2}, 张倩^{1,2}, 吕海洋¹

1. 成都大学药学与生物工程学院, 四川 成都 610106

2. 成都大学张澜学院, 四川 成都 610106

摘要: 目的 制备15批川芎饮片标准汤剂, 并对其进行质量研究。方法 按标准汤剂制备条件, 制备15批川芎饮片标准汤剂, 采用HPLC同时测定川芎饮片标准汤剂中阿魏酸、绿原酸和咖啡酸的含量; 采用紫外光谱法和红外光谱法, 建立川芎饮片标准汤剂指纹图谱; 并利用相关系数法和双指标分析法, 对不同批次川芎饮片标准汤剂的光谱图进行比对分析。结果 15批川芎饮片标准汤剂中阿魏酸、绿原酸和咖啡酸的质量分数分别为0.316 0%~0.565 6%、0.017 7%~0.050 4%、0.485 7%~0.749 5%, 出膏率为18.82%~27.60%; 与紫外和红外对照指纹图谱相比, 各批次川芎饮片标准汤剂指纹图谱相似度分别大于0.990和0.911, 双指标分析法结果显示各批次川芎饮片标准汤剂共有峰率均>51.72%。结论 建立的质量评价方法可用于川芎饮片标准汤剂的系统性评价, 并为川芎配方颗粒等相关制剂的质量标准制定提供理论参考。

关键词: 川芎; 标准汤剂; 红外指纹图谱; 紫外指纹图谱; 双指标序列分析法

中图分类号: R286.02 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2018)10-2401-09

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2018.10.023

Study on fingerprint of *Chuanxiong Rhizome* standard decoction

ZHOU Wei-xin^{1,2}, LIU Tao¹, ZHANG Jia¹, XIE Meng-die^{1,2}, Zhang Qian^{1,2}, LV Hai-yang¹

1. College of Pharmacy and Biotechnology Industry, Chengdu University, Chengdu 610106, China

2. Zhanglan Honors College, Chengdu University, Chengdu 610106, China

Abstract: Objective To prepare 15 batches of *Chuanxiong Rhizoma* standard decoctions and evaluate its quality. **Methods** According to preparation conditions of the TCM standard decoction, 15 batches of *Chuanxiong Rhizoma* standard decoction were prepared; The content of ferulic acid chlorogenic acid and caffeic acid in *Chuanxiong Rhizoma* standard decoction were determined by using HPLC; The fingerprint of *Chuanxiong Rhizoma* standard decoction was established by using UV-visible spectrophotometry and infrared spectroscopy; And diverse batches of *Chuanxiong Rhizoma* standard decoction fingerprint were comparative analyzed by using the correlation coefficient method and double-index analysis method. **Results** The results of 15 batches of samples revealed that the transfer rate of ferulic acid ranged from 0.485 7% to 0.749 5 %, the transfer rate of chlorogenic acid ranged from 0.316 0% to 0.565 6%, the transfer rate of caffeic acid ranged from 0.017 7% to 0.050 4%, and extract rate was at the range of 18.82%—27.60%. Compared with the UV and IR standard fingerprint, the similarity of *Chuanxiong Rhizoma* standard decoction fingerprint was more than 0.990 and 0.911 respectively. The results of double-index analysis showed that the common peak rate of each lot of *Chuanxiong Rhizoma* standard decoction was more than 51.72%. **Conclusion** This quality evaluation method can be used for the systematic evaluation of *Chuanxiong Rhizoma* standard decoction. It also provides a theoretical reference preparation for the formulation of quality standard of for the formulation of quality standard for *Chuanxiong Rhizoma* preparations such as *Chuanxiong Rhizoma* dispensing granules.

Key words: *Chuanxiong Rhizoma*; standard decoction; IR fingerprint; UV fingerprint; double-index sequence analysis method

川芎为伞形科植物川芎 *Ligusticum chuanxiong* Hort. 的干燥根茎^[1], 始载于《神农本草经》, 被列 为上品, 主产于四川、云南等地, 具有活血行气、祛风止痛之功效^[2]。川芎临床上广泛用于多种心血

收稿日期: 2017-12-27

基金项目: 四川省科技厅 2018 年科技项目 (2018TJPT0049, 2018ZR0107); 四川千人计划支持项目 (2013332)

作者简介: 周蔚昕 (1997—), 在读本科生。Tel: 13666147718 E-mail: 2436870112@qq.com

*通信作者 刘涛 (1976—), 博士, 研究员级高级工程师, 主要从事中成药新药开发及再评价工作。

Tel: 13378118375 E-mail: liutao0578@sina.com

管等疾病的防治^[3-7]。川芎含有 70 余个苯酞类化合物、19 个有机酚酸类化合物、11 个生物碱类化合物等成分^[8-12]。

中药饮片标准汤剂是指在中医药理论指导下,选取道地药材或主产区药材,将其加工炮制成合格饮片后,经标准化工艺制备而成的中药饮片水煎剂^[13-15]。随着中医药现代化的发展,出现多种“新型”中药饮片用药形式,如配方颗粒,尽管其为中药临床用药提供了新选择,但也存在产品标准有差距、用药剂量与实际投料不一致等弊端^[16]。为此,国家出台了《中药配方颗粒质量控制与标准制定技术要求(征求意见稿)》(简称《中药配方颗粒技术要求》),并要求所有制备工艺及质量标准研究均须以其药材饮片标准汤剂为标准,以保证其生产工艺和质量控制的稳定一致性。因此,对中药饮片标准汤剂质量的研究将为配方颗粒的开发及质量控制提供参考意义。本研究选用道地产区的 15 批川芎药材饮片制成标准汤剂,以绿原酸、咖啡酸和阿魏酸为指标,测定其含量,确认了阿魏酸转移率和出膏率范围,并建立了川芎饮片标准汤剂的紫外和红外指纹图谱,为其质量标准的制定提供依据。

1 仪器与材料

1.1 仪器

TU-1810 型紫外可见分光光度计,北京普析通用仪器有限公司;Ichrom5100 高效液相色谱仪,大连依利特仪器工业有限公司;Spectrum Two 型傅里叶变换红外光谱仪,美国 PerkinElmer 公司;TJ270-30A 型傅里叶变换红外光谱仪,天津拓普仪器有限公司;DZTW 电子调温电热套,北京市永光明医疗仪器有限公司;HH-6 型数显恒温水浴锅,常州国华电器有限公司;BS-6KH 型电子分析天平,上海友声衡器有限公司,精度为 0.1 mg;SQP 型电子分析天平,赛多利斯科学仪器有限公司,精度为 0.01 mg;KQ-100E 型超声波清洗器,昆山市超声仪器有限公司。

1.2 试药

15 批川芎产于四川彭州敖平、都江堰灌县道地产区,经成都大学药学与生物工程学院刘涛研究员鉴定,川芎药材为伞形科植物川芎 *Ligusticum chuanxiong* Hort. 的干燥根茎,水分、灰分、浸出物、含量等均符合《中国药典》2015 年版一部中规定,川芎饮片信息见表 1。阿魏酸对照品,四川省维克奇生物科技有限公司,批号 150526,质量分数≥

表 1 川芎饮片的信息

Table 1 Information of *Chuanxiong Rhizome*

编号	批号	产地	来源
S1	20170606	彭州	成都荷花池药业有限责任公司
S2	20170706	都江堰	四川德仁堂药业连锁有限公司
S3	170709	都江堰	四川省中药饮片有限责任公司
S4	170801	彭州	河南辉煌草本药业有限公司
S5	20170319	彭州	成都荷花池药业有限责任公司
S6	20170731	都江堰	成都荷花池药业有限责任公司
S7	170809	彭州	河南辉煌草本药业有限公司
S8	20170905	都江堰	四川德仁堂药业连锁有限公司
S9	170901	彭州	河南辉煌草本药业有限公司
S10	16091201	都江堰	乐山市康发药业中药饮片有限公司
S11	20170910	都江堰	成都荷花池药业有限责任公司
S12	170915	都江堰	四川省中药饮片有限责任公司
S13	20170917	都江堰	四川德仁堂药业连锁有限公司
S14	170927	都江堰	四川省中药饮片有限责任公司
S15	170929	都江堰	四川省中药饮片有限责任公司

98%;水为怡宝纯净水,甲醇为色谱纯,其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 指标成分阿魏酸的测定

2.1.1 色谱条件^[1] 采用 Global Chromatography C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm),流动相为 1.0% 冰乙酸水溶液-甲醇(70:30),柱温为 25 ℃,体积流量 1.0 mL/min,进样量 10 μL,检测波长为 321 nm;理论板数按阿魏酸计算应不低于 4 000。

2.1.2 对照品溶液的制备 取在含有变色硅胶的干燥器中干燥 24 h 的阿魏酸对照品适量,精密称定,加甲醇制成质量浓度为 20 mg/L 的阿魏酸对照品溶液,即得。

2.1.3 供试品溶液的制备 取约 1.0 g 川芎饮片粉末,精密称定,置于具塞锥形瓶中,精密加入 70% 甲醇 50 mL,密塞,称定质量,水浴加热回流 30 min,取出,放冷,称定质量,用 70% 甲醇补足减失的质量,滤过后过 0.45 μm 微孔滤膜,取续滤液,即得。

2.1.4 样品测定 按“2.1.1”项下色谱条件分别测定供试品和 20 mg/L 的阿魏酸对照品溶液,并使用外标一点法测定并计算阿魏酸含量。结果证实所收集样品均符合《中国药典》2015 年版一部中对川芎饮片指标成分的限量要求。

2.2 川芎饮片标准汤剂的制备及出膏率测定

2.2.1 川芎饮片标准汤剂的制备 依据《中药配方

颗粒技术要求》及《医疗机构中药煎药室管理规范》中相关规定, 确定工艺流程为称取川芎药材饮片 200 g, 加 9 倍量水, 浸泡 30 min, 加热至沸后保持微沸, 回流提取 30 min, 趁热双层纱布滤过, 药渣加 7 倍量水回流提取 25 min, 趁热双层纱布滤过, 合并滤液, 减压浓缩至 100 mL (温度 50 °C, 压力 -0.09 MPa), 浓缩液充分预冻后, 冷冻干燥 (温度 -60 °C, 真空度 7.70 Pa) 至粉末状, 即得^[17]。15 批药材饮片 (S1~S15) 分别制备成对应的标准汤剂 (SDOL01~SDOL15)。

2.2.2 出膏率测定 精密移取川芎饮片标准汤剂提取液 50 mL, 置已恒定质量的蒸发皿中水浴蒸干,

于 105 °C 烘箱中干燥至精密称定质量的质量差异低于 0.3 mg 后, 计算理论出膏率^[18]; 将川芎饮片标准汤剂经浓缩和冷冻干燥后精密称定质量, 计算实际出膏率。结果见表 2。

2.3 川芎饮片标准汤剂中指标成分的测定

2.3.1 色谱条件及系统适应性试验 采用 Global Chromatography C₁₈ 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为 1.0%冰乙酸溶液-甲醇 (70:30), 柱温为 25 °C, 体积流量 1.0 mL/min, 进样量 10 μL, 检测波长为 321 nm; 此色谱条件下, 供试品溶液中待测指标成分阿魏酸和有效成分绿原酸、咖啡酸的分离度均良好, 见图 1。

表 2 川芎饮片标准汤剂测定结果

Table 2 Determination results of *Chuanxiong Rhizome* standard decoction

川芎标准汤剂	出膏率/%		绿原酸/%	咖啡酸/%	阿魏酸/%		
	理论值	实际值			药材	标准汤剂	转移率
SDOL01	19.54	18.82	0.485 1	0.035 5	0.291 4	0.677 8	43.78
SDOL02	22.52	22.30	0.415 0	0.032 1	0.365 4	0.628 6	38.36
SDOL03	22.52	20.44	0.413 0	0.028 9	0.397 3	0.744 8	38.32
SDOL04	27.60	24.60	0.435 7	0.033 1	0.339 6	0.662 4	53.83
SDOL05	22.08	19.33	0.565 6	0.044 7	0.272 9	0.628 5	44.52
SDOL06	20.74	25.14	0.347 2	0.037 1	0.411 7	0.727 6	44.43
SDOL07	25.73	19.26	0.316 0	0.030 7	0.309 7	0.504 0	31.34
SDOL08	22.86	21.13	0.519 6	0.050 4	0.257 0	0.485 7	39.93
SDOL09	22.05	20.02	0.455 1	0.036 0	0.353 2	0.660 9	37.46
SDOL10	23.35	22.82	0.488 5	0.032 1	0.412 5	0.692 8	38.33
SDOL11	20.37	20.03	0.524 3	0.033 2	0.430 1	0.749 5	34.90
SDOL12	21.93	21.92	0.534 4	0.036 0	0.439 4	0.723 3	36.08
SDOL13	21.77	20.10	0.372 7	0.017 7	0.330 6	0.546 1	33.20
SDOL14	22.22	21.95	0.545 0	0.037 9	0.373 7	0.613 3	36.02
SDOL15	22.06	21.52	0.422 7	0.036 8	0.288 8	0.632 9	47.16
范围	19.54~27.60	18.82~25.14	0.316 0~0.565 6	0.017 7~0.050 4	0.257 0~0.439 4	0.485 7~0.749 5	31.34~47.16

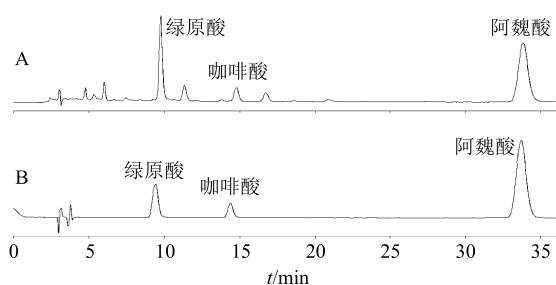


图 1 川芎饮片标准汤剂供试品 (A) 和混合对照品 (B) 的 HPLC 图

Fig. 1 HPLC of *Chuanxiong Rhizome* standard decoction (A) and mixed reference substances (B)

2.3.2 供试品溶液制备 取约 0.2 g 川芎饮片标准汤剂的冻干粉末, 精密称定, 置于具塞锥形瓶中, 加入 50 mL 纯水, 精密称定质量, 超声处理 20 min (功率 100 W, 频率 40 kHz), 取出, 放冷, 精密称定质量, 用纯水补足减失的质量, 摇匀, 滤过后过 0.45 μm 微孔滤膜, 取续滤液, 即得。

2.3.3 对照品溶液的制备 取在含有变色硅胶的干燥器中干燥 24 h 的绿原酸、咖啡酸、阿魏酸对照品适量, 精密称定, 加甲醇制得质量浓度分别为 0.179、0.005、0.097 mg/mL 的对照品溶液。

2.3.4 标准曲线的制备 精密量取 0.097 mg/mL 阿

魏酸对照品溶液 0.25、0.75、1.25、1.75、2.25、2.75 mL; 0.179 mg/mL 绿原酸对照品溶液 0.1、0.3、0.5、0.7、0.9、1.1 mL; 0.005 mg/mL 咖啡酸对照品 0.1、0.6、1.1、1.6、2.1、2.6 mL, 分别加入 6 个 5 mL 容量瓶中, 以甲醇定容, 即得具有梯度的混合对照品溶液。按“2.3.1”项下色谱条件测定, 以峰面积为纵坐标 (Y), 进样量为横坐标 (X), 得到回归方程, 分别为绿原酸 $Y=2\ 535.3 X-4.140\ 4$, $r=0.999\ 3$, 线性范围 0.035 8~0.393 8 μg ; 咖啡酸 $Y=10\ 417 X+14.08$, $r=0.999\ 1$, 线性范围 0.001 0~0.026 0 μg ; 阿魏酸 $Y=4\ 399.2 X+4.588\ 2$, $r=0.999\ 5$, 线性范围 0.048 4~0.542 4 μg 。

2.3.5 精密度、重复性、稳定性考察 取川芎饮片标准汤剂 (批号 SDOL01), 按“2.3.2”项下制备方法制得供试品溶液, 按“2.3.1”项下条件连续进样 6 次, 测得绿原酸、咖啡酸和阿魏酸峰面积的 RSD 分别为 0.24%、0.16%、0.60%, 表明仪器精密度良好。取川芎饮片标准汤剂 (批号 SDOL01), 按“2.3.2”项下制备方法平行制备 6 份供试品溶液, 按“2.3.1”项下条件测定, 结果显示绿原酸、咖啡酸和阿魏酸含量 RSD 分别为 0.96%、1.01%、1.55%, 表明该方法重复性良好。取川芎饮片标准汤剂 (批号 SDOL01) 供试品溶液, 于供试品溶液制备后 0、2、4、6、8、12 h 时, 按“2.3.1”项下条件测定, 结果显示绿原酸、咖啡酸和阿魏酸峰面积的 RSD 分别为 0.56%、0.39%、0.25%, 表明供试品溶液在制备后 12 h 内稳定性良好。

2.3.6 加样回收率试验 取已测定的川芎饮片标准汤剂 0.1 g, 精密称定, 根据川芎饮片标准汤剂中绿原酸、咖啡酸和阿魏酸的含量按 1:1 比例分别加入绿原酸、咖啡酸和阿魏酸对照品溶液, 按“2.3.2”项下方法制备供试品溶液, 平行 6 份, 按“2.3.1”项下色谱条件测定, 计算回收率, 结果绿原酸、咖啡酸和阿魏酸的平均回收率分别为 97.67%、92.37%、93.95%, RSD 分别为 1.95%、2.76%、1.30%。

2.3.7 样品测定 参照《中国药典》2015 年版一部中方法并加以改进, 考察了供试品溶液制备方法并对其方法进行验证, 建立了指标成分绿原酸、咖啡酸和阿魏酸的含量测定方法, 并计算阿魏酸转移率, 见表 2。

2.4 川芎饮片标准汤剂的红外特征图谱分析

2.4.1 供试品溶液制备 取川芎饮片标准汤剂干燥浸膏约 0.5 g, 精密称定, 于 25 mL 量瓶中用纯水定

容。精密移取 100 μL 上述溶液, 于玛瑙研钵中吹干溶剂, 与干燥 KBr 粉末按 1:100 混合研磨均匀, 于 15 MPa 真空环境中压片 1 min, 制得透明薄膜片, 即得。

2.4.2 光谱扫描条件 将按“2.4.1”项下制备的供试透明薄片放入傅里叶变换红外光谱仪中扫描测定。扫描范围 4 000~450 cm^{-1} , 扫描时扣除 H_2O 和 CO_2 的干扰。

2.4.3 精密度、重复性、稳定性考察 取川芎饮片标准汤剂样品 (批号 SDOL01), 按“2.4.1”项所述制备方法制备供试品, 按“2.4.2”项条件连续测定 6 次, 得红外图谱, 取图谱中吸收强度最强的 10 个对应波数作为特征峰波数, 计算红外图谱中特征峰波数值的 RSD, 结果显示各特征峰波数值 RSD 均小于 0.03%, 表明傅里叶变换红外光谱仪的仪器精密度良好。取川芎饮片标准汤剂样品 (批号 SDOL01), 按照“2.4.1”项所述制备方法平行制备供试品 6 份, 按“2.4.2”项条件测定红外光谱图, 计算 IR 图谱中特征峰波数值的 RSD, 结果显示各特征峰波数值 RSD 均小于 0.70%, 表明供试品制备方法方法与测定方法的重复性均良好。取川芎饮片标准汤剂样品 (批号 SDOL01), 分别在 0、1、2、3、4、5 h 按“2.4.2”项条件测定供试品, 计算 IR 图谱中特征峰波数值的 RSD, 结果显示各峰波数值 RSD 均小于 0.86%, 表明样品在制得后 5 h 内稳定。

2.4.4 中间精密度考察 取川芎饮片标准汤剂样品 (批号 SDOL01), 在不同时间由不同操作人员使用不同仪器, 按“2.4.1”项所述制备方法制备供试品, 按“2.4.2”项条件测定, 结果显示各特征峰波数值 RSD 均小于 0.97%, 表明中间精密度良好。

2.4.5 样品制备重复性考察 取川芎药材饮片 (批号 170929), 按“2.2.1”项下方法制备 3 批川芎饮片标准汤剂, 按“2.4.1”项所述制备方法平行制备供试品 3 份, 并按“2.4.2”项条件测定红外光谱图, 结果显示各峰波数值 RSD 均小于 1.38%, 表明样品制备方法的重复性良好。

2.4.6 川芎饮片标准汤剂的红外指纹图谱测定 将 15 批川芎饮片标准汤剂按“2.4.1”项下方法制备供试品, 并按“2.4.2”项下条件进行测定, 测得 15 批川芎饮片标准汤剂的红外指纹图谱, 其红外指纹图谱重叠图见图 2。

2.5 川芎标准汤剂红外指纹图谱双指标序列分析

2.5.1 共有峰的确定 共有峰定义为在相互比较的

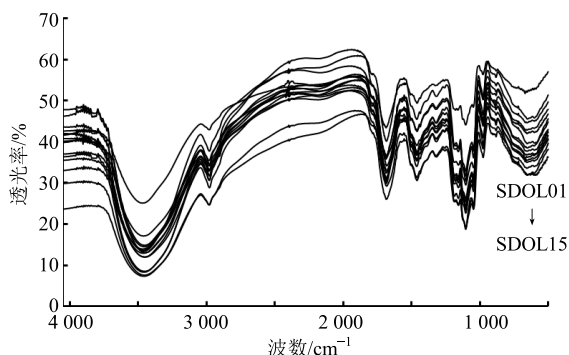


图 2 15 批川芎饮片标准汤剂红外光谱叠加图

Fig. 2 IR spectrograms of 15 batches of *Chuanxiong Rhizome* standard decoction

2 个红外指纹图谱中都出现的一组吸收峰, 且组内吸收峰的最大波数差显著小于其与相邻组间的平均波数差, 反之则为变异峰^[19-20]。川芎饮片标准汤剂红外指纹图谱波数及共有峰变异峰见表 3。

2.5.2 双指标序列分析法鉴别指标 双指标序列分析法的前提是建立指纹图谱中的共性鉴别指标以及变异鉴别指标, 即指纹图谱的共有峰率 (P) 和变异峰率 (P_v)^[21], 其表达方法可简化为下述公式。

$$N_a = N_g + n_a$$

$$N_b = N_g + n_b$$

$$P = N_g / N_d$$

$$P_{va} = n_a / N_g$$

$$P_{vb} = n_b / N_g$$

N_a 为指纹图谱 a 的总峰数, N_b 为指纹图谱 b 的总峰数, n_a 为红外指纹图谱 a 的变异峰数, n_b 为红外指纹图谱 b 的变异峰数, N_g 为共有峰数, P 为共有峰率, N_d 为独立峰数, P_{va} 为指纹图谱 a 的变异峰率, P_{vb} 为指纹图谱 b 的变异峰率

2.5.3 15 批川芎饮片标准汤剂的近似关系组、对及分析 以每个川芎饮片标准汤剂样品为参考, 代入 P 和 P_v 计算公式, 分别计算其他川芎饮片标准汤剂样品 IR 指纹图谱的 P 和 P_v , 按“2.5.2”项中相关表述, 对 15 批川芎饮片标准汤剂样品红外指纹图谱进行双指标序列分析, 并确定其近似关系组、对^[22]。依据样品之间的 P 和 P_v 值, 将各批次样品的最大相似关系对划分成不同组别, 从而判断不同批次样品的近似程度, 即取每组样品 P 最大值的对应序列, 依据 P 由大至小的方式分为 3 个组别。

A 组: SDOL02-SDOL03 [87.50 (0.00, 14.29)]; SDOL03-SDOL02 [87.50 (0.00, 14.29)]; SDOL06-SDOL08 [83.33 (0.00, 20.00)]; SDOL08-SDOL02 [83.33 (5.00, 15.00)]; SDOL13-SDOL14SDOL15

[80.95 (11.76, 11.76)]; SDOL14-SDOL02 [81.82 (16.67, 5.56)]; SDOL15-SDOL02 [81.82 (16.67, 5.56)]。

B 组: SDOL01-SDOL05 [78.26 (16.67, 11.11)]; SDOL04-SDOL07SDOL08 [70.00 (28.57, 14.29)]; SDOL05-SDOL01SDOL02 [78.26 (16.67, 11.11)]; SDOL07-SDOL015 [72.00 (33.33, 5.56)]; SDOL09-SDOL05 [76.19 (25.00, 6.25)]; SDOL11-SDOL02 [72.41 (0.00, 38.10)]; SDOL12-SDOL06SDOL13 SDOL14 [72.00 (33.33, 5.56)]。

C 组: SDOL10-SDOL15 [69.23 (38.89, 5.56)]。

序列 SDOL11-SDOL02 [72.41 (0.00, 38.10)] 表示以 SDOL11 为标准计算 SDOL02 的 P 和 P_v 。此序列片断表示 SDOL11 与 SDOL02 的 P 是 72.41%, 其中 SDOL11 的 P_v 为 0.00, SDOL02 的 P_v 是 38.10%。序列 SDOL13-SDOL14SDOL15 [80.95 (11.76, 11.76)] 表示以 SDOL13 为标准计算时, SDOL14 和 SDOL15 与其具有相同的 P , 为 80.95%, 且 SDOL13 与 SDOL14、SDOL15 具有相同的 P_v , 为 11.76%。

在 A 组中, SDOL03、SDOL14、SDOL15、SDOL08 与 SDOL02 之间, SDOL06 与 SDOL08 之间, SDOL13 与 SDOL14、SDOL15 之间均有很高的 P 和很低的 P_v 。经分析, SDOL03、SDOL14、SDOL15、SDOL08 与 SDOL02 来源于相同的产地, 且其购买地相同, 生产批号上的时间较接近; SDOL06 与 SDOL08 以及 SDOL13 与 SDOL14、SDOL15 虽购自不同店家, 但其产地相同, 都产自四川省都江堰灌县, 因此其生长的环境气候较近似, 且其生产批号同样较接近, 因此其相似程度较高。

在 B 组中, SDOL05 与 SDOL01、SDOL02、SDOL09 之间, SDOL11 与 SDOL02 之间, SDOL12 与 SDOL06、SDOL13、SDOL14 之间, SDOL04 与 SDOL07、SDOL08 之间仍均有较高的 P , 但相比 A 组 P_v 较高。这几个相似组对产地不同, 但购买来源地址相近, 均位于四川成都附近, 储存环境相似, 因此 P 仍然较高, 相似性较好。

在 C 组中, SDOL10 的原药材饮片是购自乐山的普通饮片 (散装), 其饮片质量和包装材料与其他批次的精制饮片不同。且该批次川芎饮片与其他批次川芎饮片的储存环境和储存条件存在差异, 而川芎饮片中阿魏酸等成分受热见光易分解, 储存环境对其影响较大, 因此造成 SDOL10 与其他批次样品的 P 较低, P_v 较高。

表 3 川芎饮片标准汤剂红外指纹图谱共有峰波数

Table 3 Wave numbers and common peaks of IR fingerprint of *Chuanxiong Rhizome* standard decoction

序号	红外指纹图谱吸收峰波数/cm ⁻¹													
	峰 1	峰 2	峰 3	峰 4	峰 5	峰 6	峰 7	峰 8	峰 9	峰 10	峰 11	峰 12	峰 13	峰 14
SDOL01		3 401.54	2 929.81	2 366.53	2 344.60							1 735.11		
SDOL02		3 401.10	2 930.59		2 345.29		2 123.10		1 846.45			1 736.49		
SDOL03		3 401.52	2 931.06		2 344.66		2 122.05	1 871.26	1 846.19	1 831.97		1 735.12		
SDOL04	3 672.72	3 413.14	2 931.48	2 369.90	2 344.83				1 846.37	1 827.31		1 736.14		1 697.76
SDOL05		3 412.35	2 930.02	2 351.86	2 343.75							1 735.04		
SDOL06	3 677.32	3 402.01	2 928.55	2 352.05	2 343.97		2 118.33		1 846.11					
SDOL07	3 672.87	3 420.12	2 930.15		2 343.94	2 309.74						1 734.55		
SDOL08	3 673.52	3 401.48	2 933.93	2 351.90	2 344.00	2 310.53	2 122.50		1 846.91			1 736.38		
SDOL09		3 401.64	2 930.73	2 351.44	2 343.75									
SDOL10	3 676.96	3 413.73	2 927.33	2 351.49	2 343.78						1 793.05	1 734.70	1 717.97	
SDOL11		3 400.73	2 928.98	2 351.59	2 343.79	2 309.78	2 125.11		1 846.93			1 736.33		
SDOL12	3 673.32	3 400.25	2 929.19		2 343.71	2 315.09		1 871.37	1 846.42	1 827.06		1 736.14		
SDOL13	3 679.90	3 412.07	2 929.33		2 343.60							1 736.42		
SDOL14		3 401.73	2 932.18		2 343.77			1 846.39				1 734.56		
SDOL15	3 677.49	3 403.90	2 929.72		2 343.75							1 736.55		

序号	红外指纹图谱吸收峰波数/cm ⁻¹													
	峰 15	峰 16	峰 17	峰 18	峰 19	峰 20	峰 21	峰 22	峰 23	峰 24	峰 25	峰 26	峰 27	峰 28
SDOL01		1 637.11					1 409.22	1 385.19	1 272.03	1 210.71	1 127.44		1 053.45	997.77
SDOL02		1 633.12		1 518.95			1 412.13	1 384.98	1 268.03	1 208.93	1 136.60	1 106.86	1 053.04	996.60
SDOL03		1 636.64		1 522.45		1 457.78	1 411.68	1 385.06	1 268.68	1 208.36	1 136.44	1 106.33	1 052.84	996.72
SDOL04	1 654.11	1 637.17	1 561.04	1 523.27	1 497.82	1 457.93	1 408.25		1 272.02	1 209.26	1 130.04	1 107.04	1 053.05	998.02
SDOL05		1 636.84		1 522.88			1 411.39	1 385.09	1 271.73	1 208.14	1 130.73	1 107.44	1 053.30	997.37
SDOL06		1 632.66		1 519.07			1 409.05		1 267.67	1 207.58	1 130.17	1 106.80	1 052.81	997.08
SDOL07	1 653.79	1 636.41			1 497.25	1 457.69	1 408.46		1 275.24	1 210.36	1 128.27	1 110.62	1 053.29	997.32
SDOL08		1 633.34		1 519.02	1 497.34		1 411.80		1 267.61	1 208.48	1 136.50	1 106.65	1 053.08	997.06
SDOL09							1 411.90	1 385.05	1 270.84	1 208.86	1 135.58	1 106.79	1 053.29	997.39
SDOL10	1 653.82	1 636.67		1 534.02	1 497.43	1 457.81	1 411.64	1 384.94	1 271.97	1 208.31		1 107.37	1 052.38	997.24
SDOL11		1 633.01		1 519.10			1 411.61	1 385.12	1 265.41	1 205.34	1 135.40	1 106.58	1 052.73	996.81
SDOL12	1 654.03	1 632.66		1 537.24			1 410.96		1 267.28	1 207.08	1 135.62	1 106.24	1 052.43	996.27
SDOL13		1 629.46		1 520.26			1 411.69		1 270.94	1 206.76	1 136.55	1 106.98	1 052.83	996.23
SDOL14		1 636.26		1 522.19			1 410.88		1 270.83	1 207.39	1 136.39	1 106.28	1 053.07	997.38
SDOL15		1 633.12					1 411.97	1 384.82	1 268.66	1 208.79	1 136.24	1 107.12	1 052.95	996.34

序号	红外指纹图谱吸收峰波数/cm ⁻¹									
	峰 29	峰 30	峰 31	峰 32	峰 33	峰 34	峰 35	峰 36	峰 37	峰 38
SDOL01	925.80		830.86			669.18	618.52	598.66	555.83	475.71
SDOL02	925.64		831.45			671.81		602.82	552.47	
SDOL03	925.30		831.26			668.53		605.92	551.60	
SDOL04	925.86		830.76			669.15	618.54	605.88		
SDOL05	925.90		831.26				617.64	604.80	550.88	
SDOL06	925.26		831.73					603.41	550.97	
SDOL07	927.29		829.64			685.02	618.94	604.13	555.59	539.57
SDOL08	925.95		831.22			672.61		604.48	552.76	
SDOL09	926.17		831.21			672.61		602.91	554.33	
SDOL10	926.04		830.75			673.38		603.53	550.28	
SDOL11	925.85	854.01	830.94	709.69	697.94	672.93	614.57	602.95	554.17	543.70
SDOL12	925.03	854.75	831.47			673.15			550.66	
SDOL13	925.25	852.31	830.79					603.16	551.59	
SDOL14	925.76		831.49			674.00		604.42	551.60	
SDOL15	925.72		831.50			673.51		605.84	550.99	

由上述分析可知, 饮片产地和购买地相同或相近的几批次样品之间 P 较高, P_v 较低, 其相似度较高; 而饮片产地和储存条件差异较大的样品之间 P_v 相对较高, 相似度较低。分析结果真实且正确地反映出实际情况。

2.6 红外指纹图谱相似度分析

2.6.1 对照红外指纹图谱的建立 选取 10 批川芎饮片标准汤剂, 以其透光率的平均值作为对照红外指纹图谱的透光率, 制得对照红外图谱, 即川芎饮片标准汤剂的红外指纹图谱共有模式^[23], 见图 3。

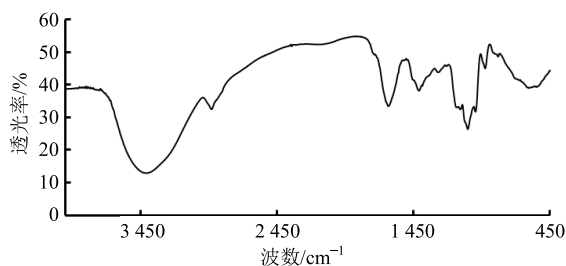


图 3 川芎饮片标准汤剂红外图谱共有模式

Fig. 3 Common pattern of IR spectrogram of *Chuanxiong Rhizome* standard decoction

2.6.2 样品红外指纹图谱相似度分析 利用数据处理软件“IBM SPSS statistics”中双变量相关“Kendall 的 tau-b”分析, 将 10 个批次 (SDOL01~SDOL10) 的川芎饮片标准汤剂样品红外图谱与对照红外指纹图谱进行相似度分析, 经计算, 结果分别为 0.997、0.984、0.978、0.982、0.999、0.970、0.927、0.991、0.911、0.953。可见, 10 批川芎饮片标准汤剂的红外图谱与对照指纹图谱的相似度在 0.911~0.999。另取 5 批川芎饮片标准汤剂, 所测得红外图谱相似度均 > 0.911。因此, 质量达标的川芎饮片所制得的标准汤剂, 按照“2.4.1”项所确定的方法制备供试品, 按“2.4.2”项所确定的光谱扫描条件扫描所得红外图谱与对照指纹图谱间的相似度应不低于 0.911。

2.7 川芎饮片标准汤剂的紫外特征图谱分析

2.7.1 供试品溶液制备 取川芎饮片标准汤剂干燥浸膏约 0.2 g, 精密称定, 于 100 mL 量瓶中用纯水定容至刻度线, 精密移取 5 mL 上述溶液, 于 50 mL 比色管中, 用纯水定容, 即得。

2.7.2 光谱扫描条件 以纯化水为空白调整基线, 扣除基底影响。于以下光谱条件扫描: 光度模式: Abs, 光谱带宽 2.00 nm, 扫描范围 200~800 nm, 扫描速度 200 nm/min, 狭缝宽 1.5 nm, 信息采集间

隔 1.0 nm。

2.7.3 精密度、重复性、稳定性考察 取同一批次川芎饮片标准汤剂 (批号 SDOL01), 按“2.7.1”项所述制备方法制备供试品, 按“2.7.2”项条件连续测定 6 次, 计算所得紫外图谱在 278、246、303、320、228 nm 处吸光度 (A) 值的 RSD 均 < 0.26%, 结果表明紫外-可见分光光度计的仪器精密度良好。取同一批次川芎饮片标准汤剂 (批号 SDOL01), 按照“2.7.1”项所述制备方法平行制备供试品 6 份, 按“2.7.2”项条件测定紫外光谱图, 计算所得紫外图谱在 278、246、303、320、228 nm 处 A 值的 RSD 均 < 2.06%, 表明该方法重复性良好。取同一批次川芎饮片标准汤剂 (批号 SDOL01), 按“2.7.1”项所述制备方法制备供试品, 分别在 0、1、2、3、4、5 h 按“2.7.2”项条件测定紫外光谱图。计算所得紫外图谱在 278、246、303、320、228 nm 处 A 值的 RSD 均 < 0.53%, 结果表明样品在 5 h 内稳定性良好。

2.7.4 川芎饮片标准汤剂紫外光谱采集 取 15 批川芎饮片标准汤剂样品, 按“2.7.1”项下方法制备供试品, 并按“2.7.2”项下条件进行测定, 其紫外光谱叠加图见图 4。

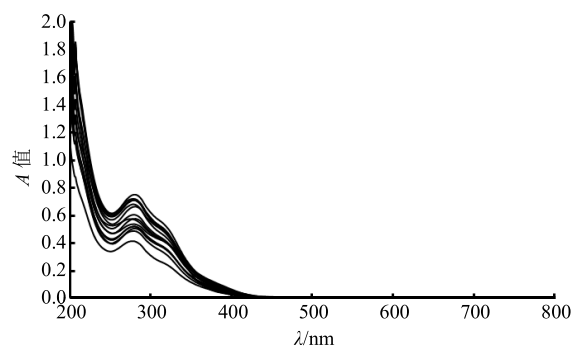


图 4 15 批川芎饮片标准汤剂紫外光谱叠加图

Fig. 4 UV spectrograms of 15 batches of *Chuanxiong Rhizome* standard decoction

2.7.5 对照紫外指纹图谱的建立^[24] 取 10 批由含量达标的川芎药材饮片制备成的川芎饮片标准汤剂样品 (批号 SDOL01~SDOL10), 按“2.7.2”项条件测得紫外指纹图谱, 以其各波长的 A 平均值作为对照指纹图谱的 A 值, 得到其对照紫外图谱如图 5 所示。

2.8 限度要求

2.8.1 相似度的计算 将利用数据处理软件“IBM SPSS statistics”中双变量相关“Kendall 的 tau-b”对

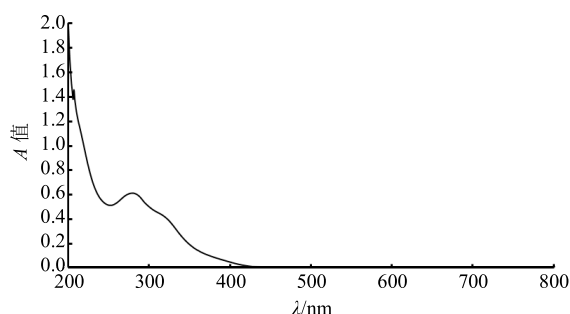


图 5 川芎饮片标准汤剂对照紫外指纹图谱

Fig. 5 Standard UV fingerprint of *Chuanxiong Rhizome* standard decoction

10 批川芎饮片标准汤剂(批号 SDOL01~SDOL10)的紫外指纹图谱与对照紫外指纹图谱进行相似度分析,并进行相似度测算^[25],结果分别为 1.000、1.000、1.000、1.000、1.000、0.999、0.999、0.999、0.993、0.990。可见,10 批川芎饮片标准汤剂的红外图谱与对照指纹图谱的相似度在 0.990~0.999。因此,质量达标的川芎饮片所制得的标准汤剂,按照“2.7.1”项所确定的方法制备供试品,按“2.7.2”项所确定的光谱扫描条件扫描所得紫外图谱与对照指纹图谱间的相似度应不低于 0.990。

2.8.2 A 值 取 10 批符合《中国药典》2015 年版检验标准的川芎饮片所制得的川芎饮片标准汤剂,按“2.7.2”项条件测得紫外图谱,结果见表 4。可见,符合药典检验标准的川芎饮片所制得的标准汤剂,按照“2.7.1”项所确定的方法制备供试品溶液,

表 4 10 批川芎饮片标准汤剂紫外图谱 A 值

Table 4 Absorbance values of UV spectrograms of 10 batches of *Chuanxiong Rhizome* standard decoction

批号	A 值				
	278 nm	246 nm	303 nm	320 nm	228 nm
SDOL01	0.722	0.629	0.566	0.475	0.894
SDOL02	0.521	0.437	0.411	0.351	0.638
SDOL03	0.490	0.410	0.381	0.318	0.604
SDOL04	0.539	0.490	0.451	0.402	0.696
SDOL05	0.712	0.621	0.566	0.481	0.890
SDOL06	0.712	0.606	0.565	0.486	0.819
SDOL07	0.417	0.347	0.300	0.247	0.484
SDOL08	0.575	0.539	0.460	0.406	0.744
SDOL09	0.683	0.585	0.521	0.440	0.825
SDOL10	0.751	0.635	0.605	0.518	0.921
范围	0.417~ 0.751	0.347~ 0.635	0.300~ 0.605	0.247~ 0.518	0.484~ 0.921

按“2.7.2”项所确定的光谱扫描条件扫描所得紫外图谱的 A 值应同时满足 278 nm(0.417~0.751)、246 nm(0.347~0.635)、303 nm(0.300~0.605)、320 nm(0.247~0.518)、228 nm(0.484~0.921)。

2.9 验证试验

另取 5 批川芎饮片标准汤剂,按照“2.7.1”项所确定的方法制备供试品,按“2.7.2”项所确定的光谱扫描条件扫描,所得紫外图谱的吸光度与对照指纹图谱经数据处理软件“IBM SPSS statistics”中双变量相关“Kendall 的 tau-b”分析计算相似度。结果显示,其紫外指纹图谱相似度和 A 值均符合限度要求。

3 讨论

本实验从 5 个来源收集了 15 批川芎药材饮片,测得阿魏酸质量分数为 0.257 0%~0.439 4%,说明采集的川芎药材饮片有较明显的个体差异,具较强代表性。本研究建立的川芎饮片标准汤剂制备方法参考《中药配方颗粒技术要求》中相关要求,与传统汤剂制备方式相符,经实验验证,该工艺稳定。为增强质量表征水平,同时测定了川芎饮片标准汤剂中绿原酸、咖啡酸和阿魏酸的含量,结果显示分离度良好,能体现成分含量信息。在前期对川芎饮片标准汤剂中藁本内酯、川芎嗪、欧当归内酯 A 等特征性成分进行了测定,结果均未检出,后期本研究将对其余成分进行进一步测定和确认。

本实验选取川芎饮片标准汤剂的冻干粉末作为供试品,相比直接取用标准汤剂或其浓缩液,具有储存方便、使用方便、符合配方颗粒研究需求等优点,但其贮藏需注意满足避光、低温、干燥等条件,以符合研究需要。

由研究结果可知不同来源的饮片所制得的川芎饮片标准汤剂,在绿原酸、咖啡酸和阿魏酸含量、红外指纹图以及紫外指纹图特征上都存在一定差异,因此在进行中药饮片标准汤剂、中药配方颗粒等研究时,应严格把控其药材及药材饮片的来源及质量。研究中发现阿魏酸转移率总体偏低的问题,经分析,此现象可能与阿魏酸本身性质不稳定,受热见光极易分解有关。

本实验将川芎饮片标准汤剂的红外及紫外指纹图谱与建立的对照指纹图谱进行比对分析,结果显示其相似度分别大于 0.911 和 0.990。

据川芎饮片标准汤剂红外图谱的共有峰率和变异峰率双指标序列分析结果显示,川芎饮片标准汤

剂质量与饮片产地及购买来源地关系紧密, 与实际情况相符, 可作为一种良好的川芎饮片标准汤剂质量评价方法。

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [2] 郑春松, 徐筱杰, 叶蕪芝, 等. 川芎活血化瘀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] 吕维, 吴恋, 罗红丽, 等. 星点设计-效应面法优化川芎提取工艺 [J]. 药物评价研究, 2014, 37(1): 53-57.
- [4] 赵自冰, 牛燕运. 加用复方川芎胶囊治疗冠心病伴颈动脉粥样硬化斑块 50 例 [J]. 广西中医药, 2015, 38(2): 15-16.
- [5] 姜溪, 邵凤, 郑歆, 等. 川芎救心滴丸对动物实验性心肌缺血的保护作用研究 [J]. 现代药物与临床, 2014, 29(5): 476-480.
- [6] 李海强. 中药川芎的现代基础研究及临床应用近况 [J]. 现代医药卫生, 2008, 24(13): 1999-2001.
- [7] 徐育新. 川芎鉴定及临床应用分析 [J]. 微量元素与健康研究, 2016, 33(3): 36-37.
- [8] 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.
- [9] Wei W, Wei X, Yang X W. Two new phthalide dimers from the rhizomes of *Ligusticum chuanxiong* [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2017, 19(7): 1-8.
- [10] Chang X L, Jiang Z Y, Ma Y B, et al. Two new compounds from the roots of *Ligusticum chuanxiong* [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2009, 11(9): 805-810.
- [11] 韦玮, 徐嵬, 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.
- [12] 黄瑾, 胡晋红, 朱全刚. 阿魏酸及其衍生物的药理作用 [J]. 中药材, 2001, 24(7): 523-526.
- [13] 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.
- [14] 代云桃, 李琦, 范自全, 等. 中药饮片标准汤剂的质量评价案例——金银花 [J]. 中国中药杂志, 2017, 42(5): 809-816.
- [15] 沈晓宇, 刘雪松, 毕宇安, 等. 盐补骨脂标准汤剂质量评价体系的建立 [J]. 中草药, 2018, 49(1): 100-108.
- [16] 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.
- [17] 刘冲, 刘荫贞, 乐智勇, 等. 桂枝饮片标准汤剂质量标准研究 [J]. 中草药, 2017, 48(8): 1577-1583.
- [18] 崔文金, 焦梦姣, 邓哲, 等. 黄连饮片标准汤剂的制备及质量标准分析 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(19): 40-45.
- [19] 徐海星, 陈慧, 许沛虎, 等. 不同产地苍耳子红外指纹图谱鉴别 [J]. 中药材, 2014, 37(6): 971-973.
- [20] 陈蓉, 陈广云, 沈蓓, 等. 基于共有峰率和变异峰率双指标序列分析法的芡实红外指纹图谱研究 [J]. 中国药房, 2012, 23(23): 2141-2146.
- [21] 张军锋, 杜宁, 谭伟航, 等. 莪术红外指纹图谱研究 [J]. 江苏农业科学, 2017, 45(10): 40-42.
- [22] 单鸣秋, 姚晓东, 池玉梅, 等. 侧柏叶红外指纹图谱共有峰率和变异峰率双指标序列分析 [J]. 光谱学与光谱分析, 2009, 29(8): 2092-2095.
- [23] 刘涛, 伍利华, 黄英, 等. 基于光谱法的清脑复神液指纹图谱研究 [J]. 中国测试, 2016, 42(2): 63-66.
- [24] 潘春晖, 杨红玉, 张焯, 等. 基于紫外指纹图谱的公英青蓝合剂质量研究 [J]. 中国畜牧兽医, 2017, 44(2): 578-585.
- [25] 伍蕊嗣, 刘涛, 付春梅, 等. 基于紫外指纹图谱的热毒宁注射液质量研究 [J]. 中草药, 2017, 48(3): 499-504.