

川芎饮片标准汤剂的 HPLC 及物理指纹图谱研究

周蔚昕^{1,2}, 刘涛^{1*}, 刘钱¹, 罗虹¹, 杨俊莉¹, 余杰¹, 彭晓宇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, 建立其 HPLC 指纹图谱和物理指纹图谱并对其进行质量评价。方法 按《中药配方颗粒质量控制与标准制定技术要求(征求意见稿)》中标准汤剂制备条件, 制备 15 批川芎饮片标准汤剂, 采用 HPLC, 流动相为 0.6% 磷酸水溶液-乙腈, 进行梯度洗脱, 柱温 30 ℃, 体积流量 1.0 mL/min, 检测波长 324 nm, 建立川芎饮片标准汤剂的 HPLC 指纹图谱; 并建立由 9 个 2 级指标(相对均匀度指数、颗粒间空隙率、卡尔指数、松密度、振实密度、干燥失重、吸湿性、豪斯纳比、休止角)构成的物理指纹图谱。结果 HPLC 对照指纹图谱中主要共有峰有 13 个, 确认 3 个, 分别为绿原酸、咖啡酸和阿魏酸。以阿魏酸为参照峰, 分析了各共有峰的相对保留时间和相对峰面积, 并规定了各共有峰相对保留时间和相对峰面积的限度。建立了 HPLC 及物理指纹图谱, 并规定其相似度均不应低于 0.9。结论 建立的川芎饮片标准汤剂的 HPLC 和物理指纹图谱可作为合理稳定的质量评价指标, 为川芎配方颗粒的研制及质量控制提供参考。

关键词: 川芎饮片; 标准汤剂; 配方颗粒; HPLC; 指纹图谱; 物理指纹图谱; 相对均匀度指数; 颗粒间空隙率; 卡尔指数; 松密度; 振实密度; 干燥失重; 吸湿性; 豪斯纳比; 休止角; 质量评价

中图分类号: R286.02 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2018)21-5107-09

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2018.21.023

HPLC and physical fingerprint of *Chuanxiong Rhizoma* standard decoction

ZHOU Wei-xin^{1,2}, LIU Tao¹, LIU Qian¹, LUO Hong¹, YANG Jun-li¹, YU Jie¹, PENG Xiao-yu¹

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 decoction, and establish HPLC fingerprint and physical fingerprint for quality evaluation. **Methods** Fifteen batches of *Chuanxiong Rhizoma* standard decoction were prepared according to preparation conditions of the traditional Chinese medicine (TCM) standard decoction in “Technical Requirements for Quality Control and Standard Formulation of Prescription Granules of TCM (draft for soliciting opinions)”. The mobile phase of HPLC consisted of 0.6% aqueous solution of phosphoric acid and acetonitrile with gradient elution, column temperature of that was 30 ℃, flow rate of that was 1.0 mL/min and detection wavelength of that was 324 nm. Physical fingerprint that consisted of nine secondary indexes (relative homogeneity index, intergranular porosity, Karl index, loose density, vibrating density, dry weight loss, hygroscopicity, Hausner ratio, and angle of repose) was established. **Results** There were 13 common peaks in the HPLC control fingerprint, and three of them were identified as chlorogenic acid, caffeic acid, and ferulic acid respectively. Taking ferulic acid as a reference peak, the relative retention time and relative peak area of each co-owned peak were analyzed, and the limits of relative retention time and relative peak area of each co-owned peak were specified. The HPLC and physical fingerprint were established, and the similarity should greater than 0.9. **Conclusion** The HPLC and physical fingerprint of the *Chuanxiong Rhizoma* standard decoction can be used as reasonable and stable index to evaluate the quality of *Chuanxiong Rhizoma* standard decoction. Which provides a reference for the preparation and quality control of *Chuanxiong Rhizoma* dispensing granule.

Key words: *Chuanxiong Rhizoma* pieces; standard decoction; dispensing granules; HPLC; fingerprint; physical fingerprint; relative homogeneity index; interparticle voidage; Karl index; loose density; vibrating density; dry weight loss; hygroscopicity; Hausner ratio; angle of repose; quality evaluation

收稿日期: 2018-06-17

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); 成都大学教改项目(cdjgy2017010)

作者简介: 周蔚昕(1997—), 女, 四川成都人, 在读本科生。Tel: 13666147718 E-mail: 2436870112@qq.com

*通信作者 刘涛(1976—), 男, 四川南充人, 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

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》, 列为上品。主产于四川省彭州、都江堰等地, 为四川的道地药材。其味辛, 性温, 归肝、胆、心包经, 具有活血行气、祛风止痛之功效^[2]。川芎为中医常用的活血化瘀药, 川芎及其化学部位、单体成分对心脑血管系统、神经系统、呼吸系统以及肝、肾等具有多方面的药理活性^[3-7]。研究表明, 川芎含有 70 余个苯酞类化合物、19 个有机酚酸类、11 个生物碱类化合物、3 个神经酰胺类化合物和 2 个脑苷脂类化合物等^[8-10]。

中药饮片标准汤剂是在中医理论指导下以临床应用为参考, 使用现代中药提取方法并通过标准化工艺规程制备而成的单味中药饮片水煎液^[11-13]。随中药现代化程度不断加快, 中药行业发展出多种中药用药形式, 如中药配方颗粒。而中药饮片标准汤剂则可以标化以水为溶媒的包括配方颗粒在内的新型用药形式, 较大程度上解决了中药配方颗粒等新型用药形式与临床中药汤剂间存在质量和疗效差异的问题^[14]。在国家出台的《中药配方颗粒质量控制与标准制定技术要求(征求意见稿)》中则明确要求有关中药配方颗粒的所有研究均应与标准汤剂进行对比研究。因此, 对中药饮片标准汤剂的质量标准研究将为中药配方颗粒的研制及质量控制提供理论参考。

本课题组前期已对川芎饮片标准汤剂建立了基于指标成分含量和紫外、红外指纹图谱的质量评价方法^[15], 为了进一步控制其质量, 本实验对川芎饮片标准汤剂的 HPLC 和物理指纹图谱进行了研究, 以期对川芎配方颗粒的工艺优化及质量控制提供标准。

1 仪器与材料

1.1 仪器

Ichrom5100 高效液相色谱仪, 大连依利特仪器有限公司; DZTW 电子调温电热套, 北京市永光明医疗仪器有限公司; SHZ-D (III) 循环水式多用真空泵, 成都康宇科技有限公司; DSH-10A 型电子水分测定仪, 邦西仪器科技有限公司; 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; FD-1A-50 冷冻干燥机, 北京博医康实验仪器有限公司。

1.2 试药

15 批川芎饮片产于四川彭州敖平、都江堰灌县等道地产区, 具体信息见表 1, 经成都大学药学与生物工程学院刘涛研究员鉴定, 为伞形科植物川芎 *Ligusticum chuanxiong* Hort. 的干燥根茎, 经检验, 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。对照品阿魏酸(批号 150526, 质量分数 $\geq 98\%$)、绿原酸(批号 170703, 质量分数 $\geq 98\%$)、咖啡酸(批号 160123, 质量分数 $\geq 98\%$), 四川省维克奇生物科技有限公司; 水为怡宝纯净水, 乙腈为色谱纯, 其余试剂均为分析纯。

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

2 方法与结果

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: 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^[16]。按此法制备 15 批川芎饮片标准汤剂, 分别编号为 SDOL1~SDOL15。

2.2 川芎饮片标准汤剂的 HPLC 指纹图谱研究

2.2.1 色谱条件及系统适应性试验 由于川芎饮片

标准汤剂中以水溶性酚酸类成分为主,因此综合川芎药材饮片和酚酸类成分的较大吸收波长,在 270、280、294、321、324 nm 下进行检测,比对结果显示 324 nm 时色谱峰数量最多且分离度良好;对不同流动相的洗脱效果进行了比较,并考察了多种梯度洗脱条件,结果显示在 40 min 后无色谱峰,经分析,可能是由于样品中主要为极性物质,因此保留时间较小且较集中;另外,由于检测柱温会影响色谱峰的保留时间,因此考察了柱温为 20、25、30、35 °C 时色谱峰的分离效果,确认柱温为 30 °C 时各峰分离效果佳,且保留时间适宜。

经考察,确定色谱条件: Global Chromatography C₁₈ 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为 0.6% 磷酸水溶液-乙腈, 梯度洗脱: 0~18 min, 12%~17% 乙腈; 18~30 min, 17%~25% 乙腈; 30~40 min, 25%~33% 乙腈; 柱温为 30 °C; 体积流量 1.0 mL/min; 进样量 10 μL; 检测波长为 324 nm。在此色谱条件下, 各色谱峰数量较多, 主要色谱峰的分离度均>1.5, 且基线平稳。

2.2.2 对照品溶液的制备 取经干燥的绿原酸、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。

2.2.3 供试品溶液的制备 取约 0.3 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。

2.2.4 精密度试验 取川芎饮片标准汤剂 (批号 SDOL01), 按“2.2.3”项下制备方法制得供试品溶液, 按“2.2.1”项下色谱条件连续进样 6 次, 记录色谱图, 以阿魏酸色谱峰为参照峰, 对各主要共有色谱峰相对保留时间及相对峰面积进行统计^[17], 结果显示相对保留时间和相对峰面积 RSD 均小于 0.81%, 表明仪器精密度良好。

2.2.5 重复性试验 取川芎饮片标准汤剂 (批号 SDOL01), 按“2.2.3”项下制备方法平行制得 6 份供试品溶液, 按“2.2.1”项下色谱条件测定, 记录色谱图。以阿魏酸色谱峰为参照峰, 对各主要共有色谱峰相对保留时间及相对峰面积进行统计, 结果显示相对保留时间 RSD 和相对峰面积 RSD 均小于 1.97%, 表明该方法重复性良好。

2.2.6 稳定性试验 取川芎饮片标准汤剂 (批号 SDOL01), 按“2.2.3”项下制备方法制得供试品溶液, 按“2.2.1”项下色谱条件分别在 0、2、4、8、12、24 h 时测定, 记录色谱图, 以阿魏酸色谱峰为参照峰, 对各主要共有色谱峰相对保留时间及相对峰面积进行统计, 结果显示相对保留时间和相对峰面积 RSD 均小于 1.92%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.2.7 指纹图谱的采集 取 10 批川芎饮片标准汤剂 (批号 SDOL01~SDOL10), 按“2.2.3”项下方法制备得标准汤剂供试品溶液, 并按“2.2.1”项下色谱条件进行测定。

2.2.8 HPLC 对照指纹图谱的建立 将 10 批样品的色谱图导入中药指纹图谱相似度评价系统软件 (国家药典委员会, 版本 2004 A) 中, 生成对照指纹图谱, 图谱中共有 13 个共有峰, 结果见图 1。取绿原酸、咖啡酸和阿魏酸对照品溶液, 按“2.2.1”项下色谱条件测定, 通过比对保留时间, 确认 4、6、9 号峰分别为绿原酸、咖啡酸和阿魏酸。

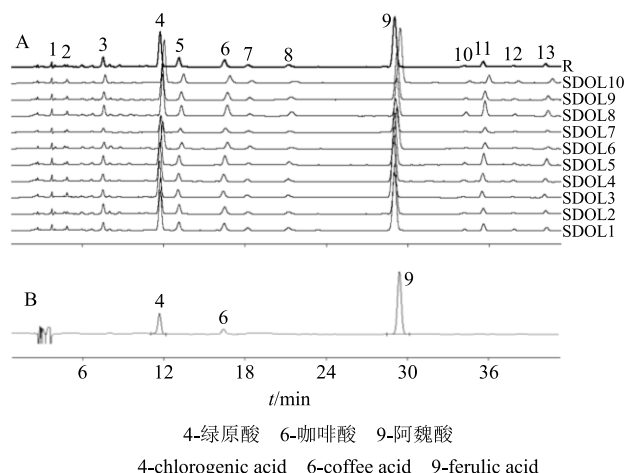


图 1 10 批川芎饮片标准汤剂 HPLC 指纹图谱及对照指纹图谱 (A) 和混合对照品图谱 (B)

Fig. 1 HPLC fingerprint of reference substance and 10 batches of Chuanxiong Rhizome standard decoction (A) and mixed reference substances (B)

2.3 HPLC 指纹图谱参数确认

2.3.1 相似度评价 采用中药指纹图谱相似度评价系统软件 (国家药典委员会, 版本 2004 A), 对 10 批川芎饮片标准汤剂的 HPLC 指纹图谱进行相似度分析。相似度结果分别为 0.996、0.921、0.994、0.998、0.932、0.975、0.973、0.973、0.995、0.924, 范围为 0.921~0.998。因此, 拟规定样品 HPLC 指纹图谱与对照指纹图谱的相似度应大于 0.9。

2.3.2 共有峰指标参数 在川芎饮片标准汤剂中,阿魏酸的保留时间居中,故选用阿魏酸(9 号峰)作为参照峰,将其保留时间和峰面积记为 1.000,计算 10 批川芎饮片标准汤剂指纹图谱中共有峰的相对保留时间和相对峰面积^[16],结果见表 2、3。

2.4 验证试验

另取 5 批(SDOL11~SDOL15)川芎饮片标准汤剂,按“2.2.3”项下方法制得标准汤剂供试品溶液,并按“2.2.1”项下色谱条件进行测定,所得图谱与对照指纹图谱经数据处理软件“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”(2004A 版)分析计算相似度。相似度结果分别为 0.933、0.933、0.926、0.932、0.928,符合限度要求,且共有色谱峰的相对保留时间和相

对峰面积结果均在限度要求内,见表 4、5。

2.5 川芎饮片标准汤剂的物理指纹图谱研究

2.5.1 川芎饮片标准汤剂物理质量指标的测定方法 以堆积性、流动性、稳定性、均一性和可压性作为川芎饮片标准汤剂物理指纹谱的一级指标^[18],以松密度(D_a)、振实密度(D_c)、休止角(α)、豪斯纳比(IH)、干燥失重(HR)、吸湿性(H)、相对均匀度指数(I0)、颗粒间空隙率(I_c)和卡尔指数(IC)作为二级指标^[19],各指标参数的测定首选法定标准收载方法^[20]。

堆积性的二级物理质量指标为 D_a 和 D_c 。 D_a : 取 25 mL 量筒,缓慢加入约 20 g 样品,读取体积,用样品质量除以粉末体积,即得; D_c : 将上述盛有

表 2 10 批样品的共有峰相对保留时间

Table 2 Relative retention time of common peaks in 10 batches of samples

序号	相对保留时间												
	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
SDOL1	0.169	0.188	0.297	0.460	0.484	0.591	0.659	0.773	1.000	1.214	1.262	1.340	1.387
SDOL2	0.170	0.188	0.298	0.461	0.485	0.591	0.659	0.773	1.000	1.213	1.260	1.337	1.383
SDOL3	0.163	0.181	0.287	0.447	0.471	0.571	0.637	0.746	1.000	1.206	1.218	1.293	1.337
SDOL4	0.169	0.188	0.297	0.463	0.488	0.592	0.659	0.774	1.000	1.249	1.262	1.339	1.385
SDOL5	0.169	0.189	0.298	0.458	0.486	0.589	0.659	0.773	1.000	1.214	1.262	1.339	1.386
SDOL6	0.167	0.189	0.295	0.462	0.487	0.591	0.656	0.776	1.000	1.210	1.257	1.332	1.381
SDOL7	0.169	0.189	0.297	0.462	0.485	0.590	0.658	0.775	1.000	1.213	1.262	1.338	1.385
SDOL8	0.170	0.189	0.295	0.462	0.489	0.600	0.657	0.776	1.000	1.210	1.258	1.334	1.382
SDOL9	0.170	0.189	0.297	0.462	0.487	0.591	0.657	0.774	1.000	1.210	1.258	1.332	1.381
SDOL10	0.168	0.187	0.293	0.457	0.484	0.592	0.654	0.767	1.000	1.209	1.257	1.331	1.367
RSD/%	1.26	1.31	1.13	1.04	1.04	1.23	1.02	1.17	0.00	1.01	1.07	1.05	1.11

表 3 10 批样品的共有峰相对峰面积

Table 3 Relative peak area of common peaks in 10 batches of samples

序号	相对峰面积												
	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
SDOL1	0.015	0.011	0.078	0.483	0.097	0.112	0.045	0.053	1.000	0.036	0.106	0.028	0.034
SDOL2	0.020	0.023	0.123	0.514	0.086	0.150	0.041	0.047	1.000	0.037	0.129	0.031	0.039
SDOL3	0.013	0.011	0.069	0.436	0.076	0.100	0.042	0.040	1.000	0.039	0.093	0.025	0.031
SDOL4	0.020	0.012	0.081	0.518	0.118	0.114	0.044	0.052	1.000	0.047	0.122	0.032	0.038
SDOL5	0.022	0.014	0.103	0.665	0.173	0.147	0.034	0.102	1.000	0.065	0.163	0.041	0.049
SDOL6	0.024	0.023	0.092	0.466	0.106	0.115	0.066	0.037	1.000	0.054	0.135	0.043	0.044
SDOL7	0.018	0.009	0.073	0.358	0.120	0.085	0.047	0.047	1.000	0.051	0.121	0.047	0.051
SDOL8	0.024	0.017	0.156	0.780	0.308	0.209	0.050	0.127	1.000	0.113	0.262	0.061	0.090
SDOL9	0.021	0.016	0.102	0.571	0.144	0.139	0.053	0.067	1.000	0.068	0.152	0.044	0.049
SDOL10	0.015	0.009	0.091	0.565	0.112	0.128	0.039	0.064	1.000	0.048	0.126	0.043	0.040
RSD/%	20.07	35.95	27.24	22.30	50.16	26.60	19.20	45.60	0.00	40.94	33.41	27.17	35.83

表 4 5 批样品的共有峰相对保留时间

Table 4 Relative retention time of common peaks in five batches of samples

序号	相对保留时间												
	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
SDOL11	0.168	0.188	0.293	0.462	0.485	0.592	0.654	0.767	1.000	1.209	1.256	1.331	1.366
SDOL12	0.168	0.186	0.293	0.458	0.482	0.593	0.653	0.766	1.000	1.209	1.257	1.331	1.365
SDOL13	0.168	0.188	0.296	0.461	0.488	0.594	0.657	0.776	1.000	1.209	1.257	1.332	1.373
SDOL14	0.170	0.188	0.298	0.460	0.484	0.591	0.657	0.773	1.000	1.215	1.262	1.339	1.385
SDOL15	0.165	0.189	0.293	0.457	0.483	0.586	0.654	0.766	1.000	1.220	1.253	1.326	1.367
RSD/%	1.07	0.58	0.78	0.45	0.48	0.53	0.29	0.60	0.00	0.41	0.26	0.35	0.61

表 5 5 批样品的共有峰相对峰面积

Table 5 Relative peak area of common peaks in five batches of samples

序号	相对峰面积												
	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
SDOL11	0.013	0.009	0.078	0.541	0.099	0.115	0.045	0.049	1.000	0.052	0.112	0.033	0.037
SDOL12	0.013	0.010	0.088	0.571	0.103	0.128	0.044	0.055	1.000	0.052	0.115	0.035	0.037
SDOL13	0.019	0.010	0.077	0.461	0.131	0.109	0.054	0.066	1.000	0.054	0.129	0.042	0.044
SDOL14	0.016	0.012	0.105	0.614	0.127	0.146	0.045	0.072	1.000	0.055	0.134	0.038	0.043
SDOL15	0.015	0.020	0.125	0.514	0.092	0.176	0.039	0.037	1.000	0.055	0.137	0.034	0.040
RSD/%	16.38	36.84	21.54	10.70	15.84	20.07	11.92	24.81	0.00	2.83	9.00	10.02	8.14

待测粉末的量筒以 2 s/次的频率上下振动 200 次，读取样品体积，用样品质量除以该体积，即得。

流动性的二级物理质量指标为 α 和 IH。 α ：采用固定漏斗法测定，固定串联漏斗使其距离水平面高度为 h ，缓慢地将粉末倒入漏斗中，直至粉末的顶尖与漏斗的顶尖接触，测定底部圆形堆积体半径 (r)，计算公式为 $\alpha=\arctan(h/r)$ ；IH：计算公式为 $IH=D_c/D_a$ 。

稳定性的二级物理质量指标为 HR 和 H 。HR：使用快速水分测定仪，取约 3.0 g 的待测粉末，于 105 ℃ 下加热 10 min，读取失水率，即得； H ^[21]：取蒸发皿置于恒温恒湿的干燥器（下部放置饱和氯化钠溶液）中，于 12 h 后精密称定质量 (m_1)，取约 1 g 待测粉末平铺于上述蒸发皿中，精密称定质量 (m_2)，将蒸发皿置于上述恒温恒湿的条件下，24 h 后精密称定质量 (m_3)。计算公式为 $H=(m_3-m_2)/(m_2-m_1)$ 。

均一性的二级物理质量指标为 I0。使待测粉末依次过 1~8 号药典筛，振荡 5 min，记录每个筛网截留的粉末质量。筛网平均孔径分别为 1 424、603、303、215、165、138、108 μm ，计算公式为 $I0=F_m/[100+(d_m-d_{m-1})F_{m-1}+(d_{m+1}-d_m)F_{m+1}+(d_m-d_{m-2})$

$F_{m-2}+(d_{m+2}-d_m)F_{m+2}+\dots+(d_{m+n}-d_m)F_{m+n}]$ ，其中， F_m 为粉末粒径在多数范围的质量百分比， F_{m+1} 为多数粒径范围上一次筛子截留粉末的质量百分比， F_{m-1} 为多数粒径范围下一层筛子截留粉末的质量百分比， d_m 为多数粒径范围的粉末平均粒径， d_{m+1} 为多数粒径范围上一层筛子截留的粉末平均粒径， d_{m-1} 为多数粒径范围下一层筛子截留的粉末平均粒径， n 为确定的粒径范围个数。

可压性的二级物理质量指标为 I_c 和 IC。 I_c ：计算公式为 $I_c=(D_c-D_a)/(D_aD_c)$ ；IC：计算公式为 $IC=(D_c-D_a)/D_c$ 。

2.5.2 精密性和重现性试验 取川芎饮片标准汤剂（批号 SDOL01），按“2.5.1”项下方法平行测定 6 次，得各指标结果，并采用数据处理软件“IBM SPSS statistics”中夹角余弦方法，分析相似度。结果显示，9 个指标的 RSD 值均 <2.78%，相似度均 >0.991，表明该方法精密性良好；先由本课题组进行实验研究，再由另外 2 个其他课题组进行复核，以考察物理指纹图谱在不同实验室间的重现性。取川芎饮片标准汤剂（批号 SDOL01），在 3 个不同实验室由不同操作人员，按“2.5.1”项下方法测定 9 个指标，计算各指标的 RSD 值，并采用数据处理软件“IBM

SPSS statistics”中夹角余弦方法,计算分析相似度。实验结果显示,9个二级指标的RSD值均<1.51%,相似度均>0.995,表明该方法重现性良好。

2.5.3 物理质量指标的标准化转换 为便于分析,需将实际测定值转化至同一尺度,即0~10。标准化转换方法及各物理质量指标的可能数值范围参考药典标准和文献方法^[22],标准化转换方法及转化值范围见表6。

2.5.4 物理对照指纹图谱的建立 按照“2.5.1”项下方法,测得10批川芎饮片标准汤剂的9个物理参数值,对数值进行标准化,见表7。以10批川芎饮片标准汤剂的各个标准化参数值为半径绘制雷达图,并取参数值的平均值为半径绘制对照物理指纹

表6 二级物理质量指标标准化转换方法及转化值范围
Table 6 Standardized conversion method of secondary physical indexes and range of standard value

一级指标	二级指标	单位	范围	转换公式	标准化范围
堆积性	D_a	$\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	0~1	$10x$	5.30~7.60
	D_c	$\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	0~1	$10x$	6.60~9.00
流动性	α	°	50~0	$10-(x/5)$	1.29~2.89
	IH	—	3~1	$(30-10x)/2$	8.30~9.30
稳定性	HR	%	10~0	$10-x$	1.02~3.51
	H	%	20~0	$10-(x/2)$	4.60~6.59
均一性	I0	—	0~0.02	$1000x$	2.08~4.00
可压性	I_c	—	0~1.2	$10x/1.2$	1.00~2.00
	IC	%	0~50	$x/5$	2.40~5.00

表7 川芎饮片标准汤剂物理指纹谱相关指标值

Table 7 Results of indexes contained in physical fingerprint of *Chuanxiong Rhizome* standard decoction

批次	堆积性	流动性	稳定性	均一性	可压性
SDOL1	8.00±1.27	5.00±5.24	3.85±2.88	3.43	2.96±1.47
SDOL2	6.20±1.27	5.05±4.60	3.65±2.92	2.34	3.50±2.12
SDOL3	8.30±0.99	5.23±5.40	4.37±3.14	2.63	2.35±0.00
SDOL4	7.40±0.99	5.53±4.77	3.64±3.24	4.00	2.55±1.48
SDOL5	8.05±0.92	5.79±4.68	3.60±3.66	2.79	2.17±1.18
SDOL6	7.90±0.99	5.72±4.57	3.87±2.89	3.15	2.45±1.34
SDOL7	7.55±1.06	5.54±4.81	4.20±2.44	3.33	2.69±1.57
SDOL8	7.25±0.92	5.77±4.50	4.35±2.51	3.22	2.41±1.40
SDOL9	7.00±0.71	6.02±4.42	4.35±2.57	3.33	2.04±1.36
SDOL10	7.05±0.78	5.60±5.02	4.39±2.58	3.07	2.04±1.36

谱雷达图,结果见图2。

2.6 物理指纹谱参数确认

2.6.1 相似度分析 采用数据处理软件“IBM SPSS statistics”中夹角余弦方法,对10批川芎饮片标准汤剂的物理指纹谱与对照指纹图谱进行相似度计算分析,结果分别为0.944、0.998、0.944、0.986、0.944、0.944、0.986、0.986、0.998、0.998。可见,10批川芎饮片标准汤剂的物理指纹谱与对照指纹图谱的相似度在0.944~0.998。因此,拟规定样品的物理指纹谱与对照指纹谱的相似度应大于0.9。

2.6.2 可压缩性分析 中药中间体粉末的压缩成型性是其粒度、流动性、密度和表面形态等物理属性的综合反映,而中药配方颗粒的制粒过程中,不同物理属性的中间体粉末加入相同的辅料会表现出不同的粉体学性质,从而影响制粒的压缩成型性^[23]。

由表7中结果可见,各批次川芎饮片标准汤剂

的可压性平均值较低, α 偏大,且其均一性和颗粒间孔隙率的平均值普遍偏小,此数据可直观说明川芎饮片标准汤剂冻干粉末间的空隙较小,且粉末的流动性较差,导致其可压性值偏低。经分析,颗粒间孔隙率值偏小的原因是粉末粒径小且粉末粒径差异大。由于川芎配方颗粒的成型与中间体粉末的可压缩性有直接关系,因此在考察川芎配方颗粒的制备工艺时,可通过各项物理指标预测其中间体的可压缩性,从而为川芎配方颗粒的制粒方式提供参考,且可提示是否需要通过加入润滑剂、改变浓缩干燥工艺等方式优化其物理属性。

通过物理指纹谱二级物理质量指标的半径值,求得可压性评价指数,可对川芎饮片标准汤剂的可压缩性进行评价。可压性评价指数包括参数轮廓指数(index of parametric profile, IPP)、参数指数(index of parameter, IP)和良好可压性指数(index of good

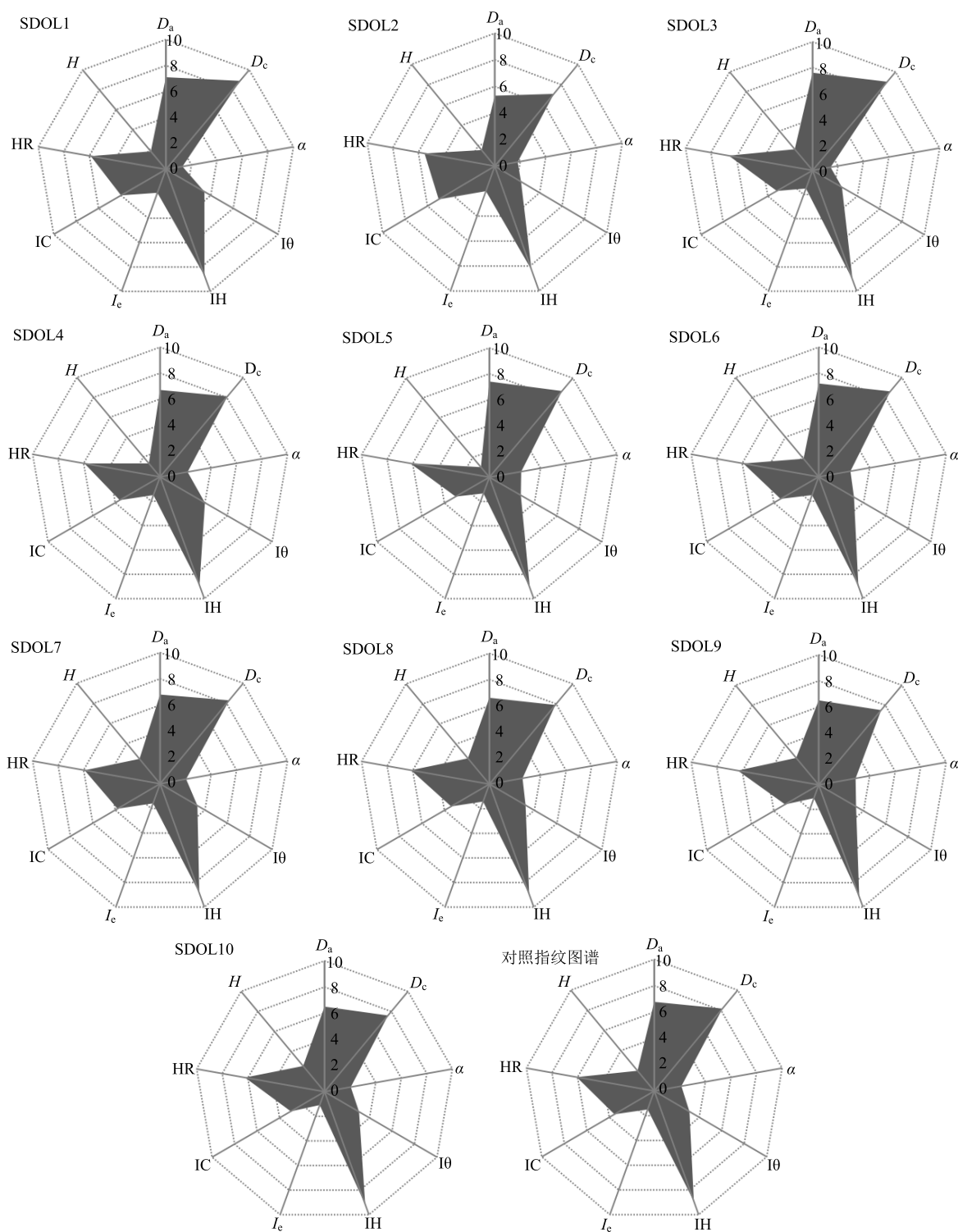


图 2 川芎饮片标准汤剂物理指纹谱

Fig. 2 Physical fingerprint spectrum of *Chuanxiong Rhizome* standard decoction

compression, IGC)。其中 IPP 定义为半径值 ≥ 5 的物理指标的个数占物理指纹谱中物理指标总数的百分比; IP 定义为所有物理指标半径值的平均值; IGC 的计算公式为 $IGC = IPP \times f$, 式中 f (可靠性因子) 的计算公式为 $f = \text{正多边形面积} / \text{圆的面积}$ (半径为

10) [24], 由于本研究构建的物理指纹谱共采用 9 个物理指标值, 因此 $f = 0.921$ 。

按照上述计算方式, 分别计算 10 批川芎饮片标准汤剂的可压性评价指数, 结果见表 8。据已有研究表明, 当 $IP > 0.4$, $IPP \geq 4$, $IGC \geq 4$ 时, 粉体具

有良好的压缩性。结果显示 10 批川芎饮片标准汤剂的 IP 均 >0.4 , IPP 在 $4.35\sim 4.79$, IGC 在 $4.00\sim 4.41$, 各批次间可压缩性差异不大且均具有较好的可压缩性。因此按“2.5.1”项下方法测定,并按“2.5.4”项下方法所构建的川芎饮片标准汤剂物理指纹谱,其可压缩性控制参数需满足 $IP>0.4$, $IPP\geq 4$, $IGC\geq 4$ 。

2.7 验证试验

另取 5 批川芎饮片标准汤剂,按“2.5.1”项所确定的测试方法进行测定,并按“2.5.4”项下方法建立物理指纹谱,所得物理指纹谱与对照指纹谱经数据处理软件“IBM SPSS statistics”中夹角余弦方法分析计算相似度,并按“2.6.2”项下分析方法计算可压缩性控制参数,结果见表 9。结果显示,其相似度和可压缩性控制参数均符合限度要求。

表 8 可压缩性评价参数

Table 8 Parameter values of compressibility evaluation

批号	IP	IPP	IGC
SDOL1	0.44	4.78 ± 2.97	4.41
SDOL2	0.56	4.35 ± 2.50	4.00
SDOL3	0.44	4.79 ± 3.23	4.41
SDOL4	0.44	4.69 ± 2.84	4.32
SDOL5	0.44	4.67 ± 3.19	4.30
SDOL6	0.44	4.78 ± 2.93	4.40
SDOL7	0.44	4.79 ± 2.75	4.41
SDOL8	0.44	4.75 ± 2.68	4.38
SDOL9	0.44	4.72 ± 2.71	4.35
SDOL10	0.44	4.58 ± 2.82	4.22

表 9 样品的验证结果

Table 9 Results of sample verification

批号	相似度	IP	IPP	IGC
SDOL11	0.998	0.44	4.41 ± 2.34	4.06
SDOL12	0.998	0.44	4.38 ± 2.60	4.03
SDOL13	0.986	0.44	4.76 ± 3.03	4.39
SDOL14	0.986	0.44	4.72 ± 3.02	4.35
SDOL15	0.998	0.44	4.45 ± 2.40	4.10

3 讨论

本研究参照国家药典委员会公布的《中药配方颗粒质量控制与标准制定技术要求(征求意见稿)》和卫生部、国家中医药管理局共同下发的《医疗机构中药煎药室管理规范》,选取 15 批质量达标的川芎饮片,以水为溶剂,进行规范化煎煮,经固液分离,低温减压浓缩以及冷冻干燥等工艺制得 15 批川

芎饮片标准汤剂,整个制备过程均满足标准化和统一化的要求^[1],在最大程度上与传统汤剂达成一致。对川芎饮片标准汤剂的质量标准研究主要采用 HPLC 和物理指纹图谱相结合的模式,从化学成分和粉体学性质两方面对川芎饮片标准汤剂进行质量评价。

HPLC 指纹图谱是控制标准汤剂、配方颗粒等失去中药外表特征的中药制剂的有效手段^[25-26]。经计算,各批次样品的 HPLC 指纹图谱中共有峰相对保留时间 RSD 为 $0.84\%\sim 1.17\%$,且 15 批川芎饮片标准汤剂与建立的 HPLC 对照指纹图谱的相似度为 $0.921\sim 0.998$,表明不同批次川芎药材饮片制备的川芎饮片标准汤剂一致性良好,但其相对峰面积差异较大,15 批样品的共有峰相对峰面积 RSD 值为 $16.72\%\sim 44.31\%$,说明川芎饮片标准汤剂的含量受川芎饮片来源影响较明显,也从侧面体现了原药材的规范化种植与炮制对标准汤剂质量的重要性。本实验建立的川芎饮片标准汤剂 HPLC 指纹图谱中 13 个共有峰及对照 HPLC 指纹图谱可反映其指纹特征。

目前对中药配方颗粒研制过程的质量控制仍停留在光谱、色谱等定性定量测定方法,却少见相关物理指纹图谱质量控制方法的研究,这说明对中药饮片标准汤剂和中药配方颗粒物理属性的研究还未得到足够重视,然而此类研究对于中药配方颗粒的研发过程有十分重要的意义,中药饮片标准汤剂物理属性的水平可以为生产工艺和制剂条件等提供理论参考,这符合人用药品注册技术标准国际协调会(ICH)提出的药品质量源于设计(quality by design, QbD)理念。中药饮片标准汤剂作为中药配方颗粒各阶段研究的质量标准,应该从各方面全方位地对其质量进行控制,以达到质量一致性和可控性,而仅从化学组分对其质量进行限定具有一定局限性。因此本实验借鉴了已有的粉体学性质研究体系,建立了川芎饮片标准汤剂的物理指纹图谱,规定了其内容和限度,并进行了验证,以期后续川芎饮片标准汤剂物理属性的相关研究提供前期基础。

由于中药浸膏粉末的粉体学性质直接影响到制粒质量,包括制粒过程的难易以及颗粒成型的质量^[27-28],因此川芎饮片标准汤剂作为中药配方颗粒中间体的质量基准,其物理属性研究可为中药配方颗粒的研制和质量控制提供参考。例如以川芎饮片标准汤剂物理属性为基准控制川芎配方颗粒中间体粉末的物理质量,通过参照川芎饮片标准汤剂的物

理属性,判断中间体粉末的可压缩性,并通过添加润滑剂等方式使其具有良好的物理属性,从而更好地对颗粒成型进行工艺优化和控制,并获得物理属性良好的中间体和成品,这为中药配方颗粒成型工艺优化和质量控制提供了新的思路。

虽然物理指纹图谱中包含的指标越多,越能完整地表征其质量属性,但测定的物理指标过多也会降低分析效率。因此本研究对已有文献进行总结,去除目的重复的指标和试验,综合实验需求,同时满足物理指纹图谱的代表性、完整性和简便性等因素,选取了5个一级指标及其项下的9个二级物理属性指标。实验结果能较直观反映川芎饮片标准汤剂的整体粉体学性质,经过多批验证试验表明该物理指纹图谱能够稳定可控地表征川芎饮片标准汤剂的物理属性。

除此之外,某些粉体学性质对于中药饮片标准汤剂中的化学物质也存在一定影响,如含水率和吸湿率对阿魏酸、黄芩苷等化学结构不稳定的成分可能存在一定影响,甚至致使其含量降低,因此,对中药饮片标准汤剂的粉体学性质研究可以在一定程度上反映其物理属性对其化学组分的影响。

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [2] 郑春松,徐筱杰,叶蕙芝,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] 高兵. 川芎鉴定及临床应用价值分析 [J]. 中国实用医药, 2017, 12(31): 131-132.
- [4] 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.
- [5] 金玉青,洪远林,李建蕊,等. 川芎的化学成分及药理作用研究进展 [J]. 中药与临床, 2013, 4(3): 44-48.
- [6] 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.
- [7] 郑怡然,韦玮,杨秀伟. 川芎中抑制脂多糖诱导的RAW264.7和BV2细胞系NO生成的新的丁苯酞衍生物—川芎螺内酯 [J]. 中草药, 2018, 49(7): 1497-1503.
- [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] 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.
- [12] 陈素娟,聂静,张旗,等. 熟地黄饮片标准汤剂的质量标准研究 [J]. 现代药物与临床, 2018, 33(9): 2173-2177.
- [13] 张慧,沈潇薇,姜慧洁,等. 煇苦杏仁标准汤剂质量与其饮片指标成分苦杏仁苷的相关性探讨 [J]. 中草药, 2018, 49(9): 2063-2069.
- [14] 李睿,翟华强,田伟兰,等. 中药煮散的历史源流及其与现代配方颗粒的对比性分析 [J]. 中国中药杂志, 2016, 41(5): 965-969.
- [15] 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.
- [16] 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(9): 40-45.
- [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] 崔向龙,徐冰,张毅,等. 质量源于设计在银杏叶片制粒工艺中的应用 (I): 颗粒粉体学性质综合评价 [J]. 中国中药杂志, 2017, 42(6): 1037-1042.
- [19] 李鹏程,刘涛,张文文,等. 基于QbD理念的黄槐片制备工艺及物理指纹图谱研究 [J]. 中草药, 2018, 49(7): 1576-1582.
- [20] European Pharmacopeia. Dosage forms monographs [S]. 2013.
- [21] 中国药典 [S]. 四部. 2015.
- [22] 张毅,徐冰,孙飞,等. 中药提取物粉末物理指纹谱研究及应用 [J]. 中国中药杂志, 2016, 41(12): 2221-2227.
- [23] 李远辉,伍振峰,李延年,等. 基于粉体学性质分析浸膏干燥工艺与中药配方颗粒制粒质量的相关性 [J]. 中草药, 2017, 48(10): 1930-1935.
- [24] 徐玉玲,谢敏,梁悦,等. 基于QbD理念优选川明参口含片的制备工艺 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(17): 1-6.
- [25] 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.
- [26] 方雯雯,成守玲,陈培胜,等. 白芷药材-饮片-提取物及配方颗粒的HPLC特征图谱相关性研究 [J]. 中草药, 2016, 47(18): 3211-3214.
- [27] 杨胤,冯怡,徐德生,等. 干燥工艺与中药提取物物理性质的相关性研究 [J]. 中国药学杂志, 2008, 43(17): 1295-1299.
- [28] 辜勇军,王广为,王莉,等. 不同干燥方法对五龙颗粒浸膏品质的影响 [J]. 中国新药杂志, 2015, 24(16): 1911-1915.