

木香顺气丸 HPLC 特征指纹图谱研究及多成分含量测定

曹瑞竹

(黔西南民族职业技术学院,兴义 562400)

摘要 目的:建立木香顺气丸的指纹图谱,并进行多成分定量分析,为评价其质量提供依据。方法:采用 SB-C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) 色谱柱,以甲醇(A)-乙腈(B)-0.2% 磷酸水溶液(C)为流动相,梯度洗脱(0~5 min, 10%A, 10%B; 5~20 min, 10%A → 20%A, 10%B → 20%B; 20~40 min, 20%A → 50%A, 20%B → 10%; 40~60 min, 50%A, 10%B),流速 1.0 mL · min⁻¹,检测波长 225 nm,柱温 35 ℃。通过相似度评价结合聚类分析对 15 批次木香顺气丸指纹图谱进行质量评价,并对指认的 5 个指标成分进行定量测定研究。结果:在特征图谱研究中,共确定木香顺气丸 HPLC 指纹图谱 8 个共有峰,通过与对照品比较指认其中 5 个共有峰分别为木香烃内酯、去氢木香内酯、和厚朴酚、厚朴酚和甘草酸,利用相似度软件对 15 批样品指纹图谱进行分析,各批样品相似度均在 0.90 以上。木香烃内酯、去氢木香内酯、和厚朴酚、厚朴酚和甘草酸进样量分别在 0.067~2.688、0.057~2.264、0.033~1.304、0.032~1.264 和 0.067~2.688 μg 范围内线性关系良好,r 均大于 0.998 0;平均加样回收率为 98.6%~99.6%,RSD 在 1.0%~1.9%。15 批样品中木香烃内酯、去氢木香内酯、和厚朴酚、厚朴酚和甘草酸含量范围分别为 3.93~8.15、0.52~9.73、8.00~13.67、2.21~5.96、1.99~5.01 mg · g⁻¹。通过聚类分析,15 批样品聚成三类。结论:所建立的木香顺气丸 HPLC 指纹图谱和含量测定分析方法可用于木香顺气丸的质量控制。

关键词: 木香顺气丸;木香烃内酯;去氢木香内酯;和厚朴酚;厚朴酚;甘草酸;高效液相色谱;指纹图谱;相似度分析;聚类分析

中图分类号: R 917 文献标识码: A 文章编号: 0254-1793 (2017) 00-1127-08

doi: 10.16155/j.0254-1793.2017.06.27

Fingerprint and multi-components determination of Muxiang Shunqi pills by HPLC

CAO Rui-zhu

(Southwest Guizhou Vocational and Technical College for Nationalities, Xingyi 562400, China)

Abstract Objective: To establish fingerprint and multi-components determination method of Muxiang Shunqi pills, and to provide reference for quality evaluation. **Methods:** The analysis was performed on a C₁₈ column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), and the mobile phase consisted of methanol(A), acetonitrile(B) and 0.2% phosphoric acid(C) with gradient elution (0~5 min, 10%A and 10%; 5~20 min, 10%A → 20%A and 10%; 20~40 min, 20%A → 50%A and 20%; 40~60 min, 50%A and 10%) at a flow

作者 Tel: 15117308900; E-mail: 3492683946@qq.com

rate of $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$. The detection wavelength was 225 nm and the column temperature was 35 °C. Similarity evaluation combined with cluster analysis (CA) was used to evaluate the fingerprint of 15 batches of Muxiang Shunqi pills, and the five markers were quantified. **Results:** The common mode of the fingerprint showed 8 common peaks, 5 of which were identified by comparison with the reference substances. They were costunolide, dehydrocostuslactone, honokiol, magnolol and glycyrrhizic acid. The similar degrees of 15 batches of samples were above 0.9. The linear ranges were 0.067–2.688 μg, 0.057–2.264 μg, 0.033–1.304 μg, 0.032–1.264 μg and 0.067–2.688 ng for costunolide, dehydrocostuslactone, honokiol, magnolol and glycyrrhizic acid, respectively, with $r > 0.998$. The average recoveries varied from 98.6%–99.6% with RSDs of 1.0%–1.9%. The content ranges of costunolide, dehydrocostuslactone, honokiol, magnolol and glycyrrhizic acid in fifteen batches of samples were $3.93\text{--}8.15 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, $0.52\text{--}9.73 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, $8.00\text{--}13.67 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, $2.21\text{--}5.96 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ and $1.99\text{--}5.01 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, respectively. All 15 batches of samples could be classified into three clusters. **Conclusion:** The established method could be used for the quality control of MuxiangShunqi pills.

Keywords: Muxiang Shunqi pills; costunolide; dehydrocostuslactone; honokiol; magnolol; glycyrrhizic acid; HPLC; fingerprint; similarity evaluation; cluster analysis

木香顺气丸是由木香、醋香附、甘草、厚朴、苍术(炒)、砂仁、槟榔、陈皮、枳壳(炒)、青皮(炒)和生姜共11味药材制成的复方制剂,气香,味苦。临床用于湿浊中阻、脾胃不和所致的胸膈痞闷、脘腹胀痛、呕吐恶心和嗳气纳呆等症状。该药品成分复杂,含有多种化合物,现收载于中国药典2015年版一部^[1],药典已对厚朴酚及和厚朴酚做定量检测要求,相关文献也对木香内酯类^[2-3]、甘草酸^[4]、辛弗林^[5]、橙皮苷^[6]等成分做了质量方法研究。而中药成分和药理作用都十分复杂,往往是多种成分联合作用在不同靶点发挥疗效,传统的单一成分研究已无法准确、真实、全面地对中成药进行综合质量评价^[7]。中药及其制剂的指纹图谱质量控制方法,目前已在国际上达成共识,此方法能真实、全面地评价药品质量,且有着良好的重现性和稳定性。在中药领域中,各种符合中药(天然药物)特色的指纹图谱控制技术体系正在研究和建立,如李家春等^[8]建立了桂枝茯苓胶囊HPLC指纹图谱,程红等^[9]对中药复方制剂仙灵骨葆胶囊HPLC指纹图谱做了研究,程宏英等^[10]建立菊花指纹图谱的同时测定其活性成分含量,潘伟东等^[11]对韩信草高效液相色谱指纹图谱做了研究,刘吉成等^[12]利用HPLC法建立了黑草药材指纹图谱,黄琪等^[13]对地锦草药材HPLC指纹图谱及识别模式做了研究,吴昭晖等^[14]对甘草药材指纹图谱做了深入探讨,朱林燕等^[15]对藏药二十一味寒水石丸的HPLC做

了研究。本研究采用HPLC法对木香顺气丸进行指纹图谱研究,并对5个指标成分含量进行测定,旨在全面分析、评价木香顺气丸质量,为控制该药质量提高科学依据。

1 仪器和材料

Waters 2695型高效液相色谱仪(2489型紫外检测器,Empower 2色谱工作站;沃特世公司);Agilent SB-C₁₈色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm;填料:十八烷基硅烷键合硅胶,具有较大的二异丁基侧链基团;安捷伦公司)FP240型鼓风干燥箱(Binder公司);AL104型电子天平(梅特勒公司);KQ-250DB型数控超声波清洗器(昆山超声波仪器有限公司,功率250 W,超声频率40 kHz);Milli-QAcademic超纯水系统(默克密理博公司)。

市售木香顺气丸15批,河南省康华药业股份有限公司4批,批号15091903(S1)、15102502(S2)、15111907(S3)、16031627(S4);商丘市金马药业有限公司5批,批号15093021(S5)、15111508(S6)、15120923(S7)、16031615(S8)、16041526(S9);河南百年康鑫医药有限公司6批,批号20150705(S10)、20151106(S11)、20151118(S12)、20151121(S13)、20160315(S14)、20160521(S15)。

对照品木香烃内酯(批号111524-201509,含量以99.0%计)、厚朴酚(批号110729-201513,含量以98.8%计)、和厚朴酚(批号110730-201614,含量以99.3%计)、去氢木香内酯(批号111525-201008,

含量以 99.6% 计)、甘草酸铵(批号 110731-201418, 含量 93.1%, 1 mg 甘草酸铵盐相当于甘草酸为 0.979 5 mg), 均购自中国食品药品检定研究院; 甲醇、乙腈为色谱纯, 水为娃哈哈纯净水, 其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: Agilent SB-C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇(A)-乙腈(B)-0.2% 磷酸水溶液(C)系统, 梯度洗脱(0~5 min, 10%A, 10%B; 5~20 min, 10%A → 20%A, 10%B → 20%; 20~40 min, 20%A → 50%A, 20%B → 10%; 40~60 min, 50%A, 10%B); 检测波长: 225 nm; 流速: 1.0 mL·min⁻¹; 柱温: 35 °C, 进样量: 20 μL。

2.2 溶液的制备

2.2.1 混合对照品溶液 取木香烃内酯、去氢木香内酯、和厚朴酚、厚朴酚、甘草酸铵的对照品各适量, 精密称定, 置 25 mL 量瓶中, 用甲醇溶解并稀释至刻度, 摆匀, 用 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 取续滤液即得每 1 mL 中分别含木香烃内酯 33.6 μg, 去氢木香内酯 28.3 μg, 和厚朴酚 16.3 μg, 厚朴酚 15.8 μg 和甘草酸铵 33.6 μg 的混合对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液 取本品药丸适量, 研细, 取约 2.0 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇 50 mL 密塞, 称量, 超声处理(功率 250 W, 频率 33 kHz) 30 min, 放冷, 再称量, 用甲醇补足减失的量, 摆匀, 滤过, 精密量取续滤液 5 mL 置 25 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摆匀, 用 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 取续滤液即得供试品溶液。

2.3 指纹图谱方法学考察

2.3.1 精密度试验 取批号为 20150705 的木香顺气丸样品(S1 号样品), 按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液, 依“2.1”项下色谱条件, 连续进样 6 次, 记录色谱图。以 4 号峰为参照峰, 计算共有峰的相对保留时间及相对峰面积。结果共有峰相对保留时间的 RSD 均小于 0.2%, 相对峰面积的 RSD 均小于 1.0%, 6 次采集到指纹图谱(以第 1 次进样色谱图为参照)的相似度均大于 0.95, 结果表明仪器精密度良好。

2.3.2 稳定性试验 取批号为 20150705 的木香顺气丸样品(S1 号样品), 按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液, 精密吸取 20 μL, 依“2.1”项下色谱条件,

分别于 0、2、4、8、10、12 h 进样, 记录色谱图。以 4 号峰为参照峰, 计算共有峰的相对保留时间及相对峰面积。结果共有峰相对保留时间的 RSD 均小于 0.3%, 相对峰面积的 RSD 均小于 1.1%, 6 个时间点采集到指纹图谱(以 0 h 进样色谱图为参照)的相似度均大于 0.91, 结果表明供试品溶液在 12 h 内稳定。

2.3.3 重复性试验 取批号为 20150705 的木香顺气丸样品(S1 号样品)6 份, 分别按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液, 依“2.1”项下色谱条件, 进样测定, 记录色谱图。以 4 号峰为参照峰, 计算共有峰的相对保留时间及相对峰面积。结果共有峰相对保留时间的 RSD 均小于 0.8%, 相对峰面积的 RSD 均小于 0.6%, 6 份样品指纹图谱(以第 1 份样品色谱图为参照)的相似度均大于 0.93, 结果表明方法重复性良好。

2.4 指纹图谱研究

2.4.1 15 批木香顺气丸 HPLC 指纹图谱的建立及相似度评价 取 15 批木香顺气丸(S1~S15 号样品), 依照“2.2.2”项下方法制备供试品溶液, 按“2.1”项下色谱条件测定, 记录色谱图。采用《中药色谱指纹图谱相似度评价系统》(2012 年版)对色谱图进行分析, 以 S1 号木香顺气丸样品的图谱为参考图谱, 时间窗宽度设为 0.5 min, 采用多点校正后自动匹配指纹图谱, 并以平均数法生成对照指纹图谱(见图 1), 计算指纹图谱相似度。结果 15 批样品指纹图谱和对照指纹图谱相似度均大于 0.9。计算结果见表 1。

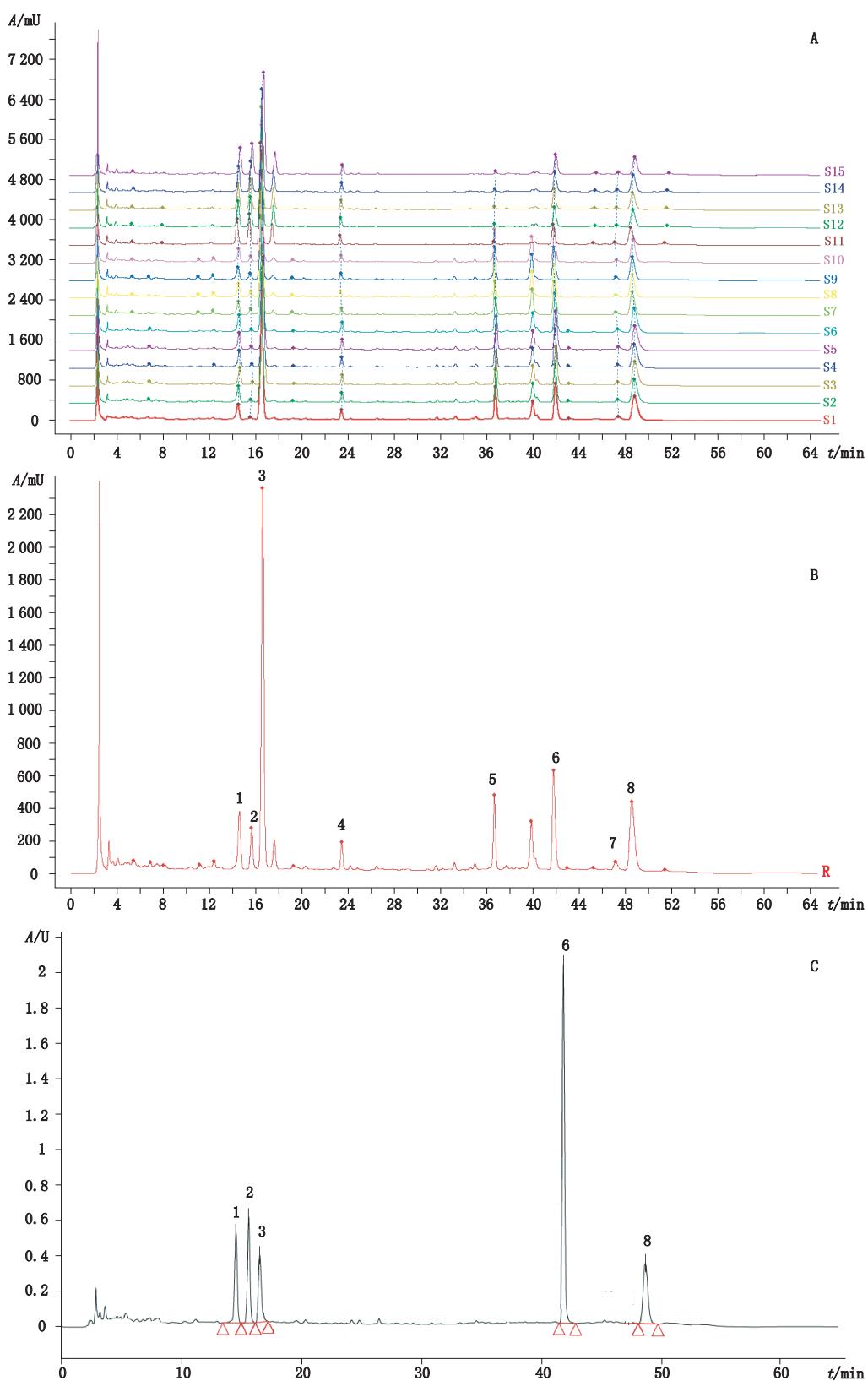
2.4.2 指纹图谱中共有峰指认及相对峰面积计算 利用相似度评价系统软件处理, 15 批指纹图谱中共检测到 8 个共有峰。通过与混合对照品比对可以指认其中 5 个成分, 分别是木香烃内酯、去氢木香内酯、和厚朴酚、厚朴酚和甘草酸, 其保留时间分别为 14.647、15.713、16.669、42.004 和 48.818 min。其中 4 号峰峰形较好, 前后无杂质峰干扰, 分离完全, 出峰时间居中, 因此选作参考峰, 计算其他共有峰相对峰面积, 计算结果见表 2。

2.5 木香顺气丸 5 个成分含量测定

2.5.1 色谱条件 同“2.1”项下色谱条件。

2.5.2 混合对照品溶液的制备 同“2.2.1”项下方法。

2.5.3 供试品溶液的制备 同“2.2.2”项下方法。



1. 木香烃内酯 (costunolide) 2. 去氢木香内酯 (dehydrocostuslactone) 3. 和厚朴酚 (honokiol) 6. 厚朴酚 (magnolol) 8. 甘草酸 (glycyrrhizic acid)

图 1 15 批木香顺气丸 HPLC 指纹图谱 (A)、对照指纹图谱 (B)、混合对照品色谱图 (C)

Fig. 1 Fingerprint of 15 batches of Muxiang Shunqi pills (A), reference fingerprint (B) and chromatogram of mixed reference substances (C)

表 1 15 批木香顺气丸相似度评价结果

Tab. 1 Similarities of 15 batches of Muxiang Shunqi pills

样品编号 (sample No.)	相似度 (similarity)	样品编号 (sample No.)	相似度 (similarity)
S1	0.996	S9	0.956
S2	0.975	S10	0.968
S3	0.966	S11	0.979
S4	0.995	S12	0.968
S5	0.958	S13	0.996
S6	0.964	S14	0.994
S7	0.978	S15	0.995
S8	0.990		

2.5.4 线性关系和定量限的考察 分别精密吸取混合对照品溶液 2、10、20、30、50、60、80 μL 注入高效液相色谱仪进行测定,记录色谱图。以进样量(X)为横坐标,峰面积(Y)为纵坐标,绘制标准曲线,得到回归方程见表 3。取混合对照品溶液,用甲醇逐步稀释,分别吸取 20 μL 注入色谱仪,取峰面积的信噪比为 10($S/N=10$)时的对照品浓度为定量限(LOQ),结果见表 3。

2.5.5 仪器精密度试验 取同一批样品[批号为 20150705(S1 号样品)]的供试品溶液,连续进样 6 针,记录色谱图;结果木香烃内酯、去氢木香内酯、和厚朴酚、厚朴酚和甘草酸峰面积的 RSD 分别为 0.12%、0.25%、0.36%、0.42%、0.29%,说明仪器精密度良好。

表 2 15 批样品(S1~S15)共有峰相对峰面积

Tab. 2 The relative areas of 8 common chromatographic peaks of 15 samples (S1~S15)

峰号(peak No.)	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13	S14	S15
1	2.65	2.66	2.63	2.62	3.35	3.33	3.35	3.32	3.33	2.18	2.22	2.30	2.23	2.24	2.22
2	1.06	1.07	1.09	1.06	3.67	3.67	3.66	3.67	3.65	0.30	0.32	0.30	0.32	0.34	0.33
3	19.81	19.95	19.80	19.79	12.20	12.16	12.15	12.21	12.14	16.64	16.67	16.43	16.54	16.59	16.52
4(s)	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
5	5.49	5.51	5.45	5.45	0.36	0.36	0.36	0.36	0.36	3.30	3.47	3.31	3.44	3.36	3.36
6	6.78	6.82	6.73	6.79	3.16	3.13	3.15	3.15	3.12	5.21	5.27	5.22	5.25	5.29	5.28
7	0.69	0.70	0.69	0.69	0.41	0.43	0.42	0.42	0.42	0.63	0.65	0.63	0.62	0.63	0.61
8	7.31	7.37	7.27	7.27	3.89	3.92	3.95	3.90	3.88	6.18	6.23	6.14	6.20	6.25	6.24

表 3 峰面积与浓度的线性关系和定量限

Tab. 3 Linear relation between peak area and concentration and LOQ

化合物 (compound)	回归方程 (regression equation)	r	线性范围 (linear range) / μg	定量限(LOQ)/ (μg · mL ⁻¹)
木香烃内酯(costunolide)	$Y=168.32X+3.31$	0.999 8	0.067~2.688	0.081
去氢木香内酯(dehydrocostuslactone)	$Y=59.377X-13.31$	0.999 0	0.057~2.264	0.012
和厚朴酚(honokiol)	$Y=89.31X-10.32$	0.998 9	0.033~1.304	0.015
厚朴酚(magnolol)	$Y=20.31X+16.31$	0.999 3	0.032~1.264	0.006
甘草酸(glycyrrhetic acid)	$Y=103.12X+10.06$	0.999 5	0.067~2.688	0.029

2.5.6 稳定性试验 取同一批样品[批号为 20150705(S1 号样品)]的供试品溶液,分别于 0、3、6、9、12、18、24 h 进样,记录色谱图;结果木香烃内酯、去氢木香内酯、和厚朴酚、厚朴酚和甘草酸峰面积的 RSD 分别为 0.23%、0.15%、0.53%、0.33%、0.73%,说明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.5.7 重复性试验 取同一批样品[批号为 20150705(S1 号样品)],研细,取细粉约 2.0 g,精密称定,按“2.2”项方法平行制备 6 份供试品溶液,依“2.1”项下色谱条件测定,记录色谱图,以外标法求算各组分含量和 RSD;结果木香烃内酯、去氢木香内酯、和厚朴酚、厚朴酚和甘草酸平均含量分别为 5.01、2.18、10.76、4.48、3.66 mg · g⁻¹,RSD 分别为 0.42%、0.89%、0.59%、0.98%、0.46%,表明本方法重复性

(S1 号样品)],研细,取细粉约 2.0 g,精密称定,按“2.2”项方法平行制备 6 份供试品溶液,依“2.1”项下色谱条件测定,记录色谱图,以外标法求算各组分含量和 RSD;结果木香烃内酯、去氢木香内酯、和厚朴酚、厚朴酚和甘草酸平均含量分别为 5.01、2.18、10.76、4.48、3.66 mg · g⁻¹,RSD 分别为 0.42%、0.89%、0.59%、0.98%、0.46%,表明本方法重复性

良好。

2.5.8 回收率试验 取已知含量木香顺气丸[批号为20150705(S1号样品)],研细,取细粉6份,每份约1.0 g,精密称定,置50 mL量瓶中,分别精密加入

木香烃内酯、去氢木香内酯、和厚朴酚、厚朴酚和甘草酸的对照品各适量,按“2.2.2”项下方法制备供试溶液,按“2.1”项下色谱条件测定,记录色谱图,计算回收率;结果见表4。

表4 木香顺气丸5个成分的回收率结果(*n=6*)

Tab. 4 Recoveries of five makers in Muxiang Shunqi pills

化合物 (compound)	称样量/ (sample weight)/g	原有量 (original content)/mg	加入量 (added)/ mg	测得量 (found)/ mg	回收率 (recovery)/ %	平均回收率 (average recovery)/ %	RSD/ %
木香烃内酯(costunolide)	1.001 3	2.524 1	2.511 6	5.024 6	99.56	98.9	1.3
	1.003 3	2.608 9	2.537 6	5.120 4	98.98		
	1.010 8	2.773 9	2.786 4	5.547 0	99.53		
	0.998 9	2.713 4	2.760 4	5.371 9	96.31		
	1.004 5	2.738 4	2.720 4	5.443 7	99.45		
	1.002 0	2.562 9	2.745 4	5.296 0	99.56		
去氢木香内酯(dehydrocostuslactone)	1.001 3	1.125 4	1.112 9	2.225 1	98.82	99.1	1.0
	1.003 3	1.157 9	1.138 9	2.290 5	99.45		
	1.010 8	1.207 9	1.220 4	2.431 5	100.26		
	0.998 9	1.190 5	1.194 4	2.377 3	99.37		
	1.004 5	1.192 6	1.174 6	2.335 3	97.29		
	1.002 0	1.133 6	1.199 6	2.326 9	99.48		
和厚朴酚(honokiol)	1.001 3	5.347 9	5.335 4	10.704 4	100.40	98.9	1.2
	1.003 3	5.403 9	5.361 4	10.739 3	99.52		
	1.010 8	5.462 9	5.475 4	10.806 0	97.58		
	0.998 9	5.441 9	5.409 4	10.751 1	98.15		
	1.004 5	5.429 9	5.411 9	10.833 7	99.85		
	1.002 0	5.393 9	5.436 9	10.708 8	97.76		
厚朴酚(magnolol)	1.001 3	2.253 9	2.241 4	4.484 1	99.50	98.6	1.9
	1.003 3	2.298 9	2.247 4	4.533 6	99.44		
	1.010 8	2.398 0	2.410 5	4.776 1	98.66		
	0.998 9	2.354 0	2.410 2	4.754 0	99.58		
	1.004 5	2.388 9	2.380 9	4.761 7	99.66		
	1.002 0	2.288 9	2.405 9	4.572 8	94.93		
甘草酸(glycyrrhizic acid)	1.001 3	1.803 9	1.791 4	3.584 2	99.39	99.6	1.1
	1.003 3	1.893 0	1.817 4	3.736 3	101.43		
	1.010 8	2.014 1	2.026 6	4.008 4	98.41		
	0.998 9	1.963 1	2.000 6	3.947 5	99.19		
	1.004 5	1.991 9	1.973 9	3.965 8	100.00		
	1.002 0	1.888 9	1.998 9	3.865 9	98.91		

2.5.9 样品含量测定 取 S1~S15 号木香顺气丸样品,按“2.2”项下方法制备供试品溶液,按“2.1”项下

色谱条件测定,记录色谱图,按外标法计算各组分含量,结果见表 5。

表 5 样品测定结果($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}, n=3$)

Tab. 5 The determination results of the samples

编号 (No.)	木香烃内酯 (costunolide)	去氢木香内酯 (dehydrocostuslactone)	和厚朴酚 (honokiol)	厚朴酚 (magnolol)	甘草酸 (glycyrrhizic acid)
S1	5.05	2.25	10.70	4.51	3.61
S2	6.31	2.81	13.37	5.63	4.51
S3	6.38	2.78	13.39	5.89	4.53
S4	6.32	2.85	13.67	5.96	5.01
S5	8.06	9.73	8.24	2.62	2.41
S6	8.05	9.70	8.00	2.60	2.40
S7	8.17	9.44	8.10	2.58	2.38
S8	8.09	9.72	8.17	2.60	2.34
S9	7.92	9.58	8.25	2.21	1.99
S10	4.20	0.65	8.99	3.46	3.06
S11	4.28	0.63	9.99	3.35	3.10
S12	4.35	0.60	9.69	3.33	3.09
S13	4.07	0.63	8.87	3.31	3.07
S14	4.05	0.61	8.94	3.33	3.01
S15	3.93	0.52	9.40	3.23	3.00

3 讨论

3.1 色谱条件的选择

木香顺气丸由 11 种药材制成,成分复杂,各化合物极性差别较大,紫外吸收各异,要满足同一条件尽可能多地分析未知化合物,首先要选择一个合适的色谱条件。为获得尽可能多的成分及有较好的分离效果,本研究分别考察了填料均为十八烷基硅烷键合硅胶的 Sunfire C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm)、Agilent SB-C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm)、Thermo AcclaimTM C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) 及 SHIMADZU VP-ODS (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) 等几种型号和规格的色谱柱,其中 Agilent SB-C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) 色谱柱较其他色谱柱能获得较多色谱峰,分离度效果及峰形均较好,故选其作为研究用色谱柱。

利用紫外-可见光分光光度计对供试品溶液进行全波长扫描,发现在 280 nm 和 225 nm 处有较大吸收,与 280 nm 比较 225 nm 处所包含色谱信息较多,各色谱峰分离完全,所以本研究分析波长选择 225 nm。本研究分别考察乙腈-磷酸盐水溶液和甲醇-磷酸盐水溶液流动相系统结果均达到理想分离效果,参考中华人民共和国药典厚朴酚含量检查流动相系统^[1],经优化处理,各色谱峰分离度效果最好,检出峰数量

较多,峰信号强度也比其他系统高,所以流动相选择甲醇-乙腈-0.2% 磷酸水溶液系统。

3.2 系统聚类分析(CA)

利用 SPSS 19.0 版软件,以指纹图谱共有峰相对峰面积(见表 2)为变量,采用组间连接法,选用欧氏距离,设置聚类数为 3,对 15 批木香顺气丸进行聚类分析,绘制聚类分析谱系图(见图 2)。从图可以看出,15 批样品划分为 3 类,来自 3 个厂家生产的木香顺气丸各自聚成一类。结合表 3 样品含量测定结果可以看出,不同厂家之间各成分含量存在较显著差异,尤其是去氢木香内酯差别较大,这可能与药材质量和处方工艺存在一定关系。

3.3 总结

目前,中药的质控方法很多,但多数局限于 1 种或几种活性成分的检测,这对于成分较为单一的化学类药品简捷实用,但对于成分复杂,多成分联合发挥功效的传统中药来说,显得较为片面和单一,而指纹图谱分析法能全面系统地对药品进行“全身体检”,对药品进行综合评价,能为有效地控制药品质量提供强有力的技术支撑。

本研究建立了木香顺气丸 HPLC 指纹图谱法,共收集到 3 个厂家 15 批成药,液相色谱指纹图谱中共

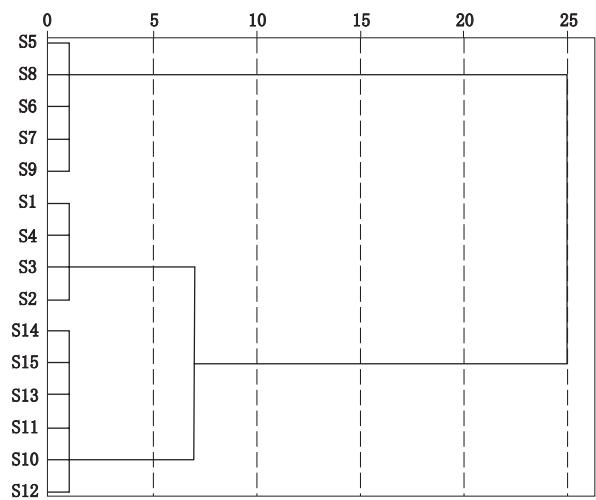


图 2 15 批样品(S1-S15)聚类分析图

Fig. 2 Clustering analysis diagram of 15 samples (S1-S15)

有 8 个共有峰,通过与混合对照品比较可以指认其中的 5 个有效成分,分别为木香烃内酯、去氢木香内酯、和厚朴酚、厚朴酚和甘草酸,为考察它们的质量,建立了五种成分的含量测定方法并测定 15 批样品中各成分百分含量,通过对结果进行聚类分析发现,不同厂家生产的木香顺气丸聚为一类。本研究建立了木香顺气丸 HPLC 指纹图谱法,方法快捷、简单,能系统快速地评价木香顺气丸的药品质量,为控制该药质量提高参考依据。

参考文献

- [1] 中国药典 2015 年版.一部 [S]. 2015: 610
ChP 2015. Vol I [S]. 2015: 610
- [2] 赖增发,夏丽.“一测多评”测定木香顺气丸中木香内酯类成分 [J]. 中国现代应用药学, 2014, 31(4): 421
LAI ZF, XIA L. Determination of costuslactone in MuxiangShunqipills by QAMS [J]. Chin J Mod Appl Pharm, 2014, 31(4): 421
- [3] 孙全明,朱朝德,李春雨. HPLC 测定木香顺气丸中的 4 种有效成分 [J]. 华西药学杂志, 2008, 23(2): 215
SUN QM, ZHU CD, LI CY. Determination of four effective components in Muxiang Shunqi pills by HPLC [J]. West China J Pharm Sci, 2008, 23(2): 215
- [4] 刘彤,史浚,李婷,等. HPLC 法测定木香顺气丸中甘草酸的含量 [J]. 天津药学, 2003, 15(1): 12
LIU T, SHI J, LI T, et al. Determination of glycyrrhizic acid in Muxiang Shunqi pills by HPLC [J]. Tianjin Pharm, 2003, 15(1): 12
- [5] 魏清芳,辛爱玲,王嘉林. HPLC 法测定木香顺气丸中辛弗林的含量 [J]. 安徽医药, 2010, 14(11): 1290
WEI QF, XIN AL, WANG JL. Determination of synephrine in Muxiang Shunqi pills by HPLC [J]. Anhui Med Pharm J, 2010, 14(11): 1290
- [6] 徐成志. HPLC 法测定木香顺气丸中橙皮苷的含量 [J]. 安徽医药, 2007, 11(1): 36
XU CZ. Determination of hesperidin in Muxiang Shunqi pills by HPLC [J]. Anhui Med Pharm J, 2007, 11(1): 36
- [7] 李强,杜思邈,张忠亮,等. 中药指纹图谱技术进展及未来发展方向展望 [J]. 中草药, 2013, 44(22): 3095
LI Q, DU SM, ZHANG ZL, et al. Progress in fingerprint technology on Chinese materia medica and prospect of its future development [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2013, 44(22): 3095
- [8] 李家春,孙兰,李红娟,等. 桂枝茯苓胶囊 HPLC 指纹图谱研究 [J]. 中草药, 2013, 43(7): 1333
LI JC, SUN L, LI HJ, et al. HPLC fingerprint of Guizhi Fuling capsules [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2012, 43(7): 1333
- [9] 程红,姚志红,戴毅,等. 中药复方制剂仙灵骨葆胶囊 HPLC 指纹图谱研究 [J]. 中国药学杂志, 2013, 48(10): 772
CHENG H, YAO ZH, DAI Y, et al. HPLC fingerprint of Xianling Gubao capsules, a TCM prescription [J]. Chin Pharm J, 2013, 48(10): 772
- [10] 程宏英,冯启余,曹玉华,等. 菊花中活性成分的高效液相色谱测定与指纹图谱研究 [J]. 分析科学学报, 2007, 23(3): 257
CHENG HY, FENG QY, CAO YH, et al. Determination of active ingredients in Flos Chrysanthemi and development of fingerprints by high performance liquid chromatography [J]. J Anal Sci, 2007, 23(3): 257
- [11] 潘伟东,杜义龙,赵胜男,等. 韩信草的高效液相色谱指纹图谱及化学模式识别 [J]. 药物分析杂志, 2015, 35(2): 250
PAN WD, DU YL, ZHAO SN, et al. HPLC fingerprint and chemical pattern recognition of Scutellariaindica [J]. Chin J Pharm Anal, 2015, 35(2): 250
- [12] 刘吉成,陈大建. 黑草药材 HPLC 指纹图谱的研究 [J]. 药物分析杂志, 2013, 33(3): 424
LIU JC, CHEN DJ. HPLC fingerprint study of the herb of Buchneracruciata [J]. Chin J Pharm Anal, 2013, 33(3): 424
- [13] 黄琪,黄彩虹,雷鹏,等. 地锦草药材 HPLC 指纹图谱及模式识别研究 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(12): 95
HUANG Q, HUANG CH, LEI P, et al. Study on HPLC fingerprint of Herba Euphorbiae Humifusae [J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2013, 19(12): 95
- [14] 吴昭晖,罗佳波,游文玮. 甘草药材 HPLC 指纹图谱研究 [J]. 中草药, 2008, 36(12): 1868
WU ZH, LUO JB, YOU WW. HPLC fingerprint spectrum of Radix Glycyrrhizae [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2008, 36(12): 1868
- [15] 朱林燕,谢建峰,孔子铭,等. 藏药二十一味寒水石丸的 HPLC 指纹图谱研究 [J]. 药物分析杂志, 2015, 35(8): 1430
ZHU LY, XIE JF, KONG ZM, et al. Study on HPLC fingerprint of Ershiyiwei Hanshuishi pills [J]. Chin J Pharm Anal, 2015, 35(8): 1430

(本文于 2016 年 11 月 3 日收到)