

天麻配方颗粒高效液相色谱指纹图谱研究

段华琴, 张云天, 徐以亮, 李 松

江阴天江药业有限公司, 江苏 江阴 214434

摘要: 目的 研究天麻配方颗粒的高效液相色谱指纹图谱, 为其质量控制提供更可靠的方法。方法 采用高效液相色谱法, 色谱柱为 Megres5-C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 以乙腈-0.05%磷酸溶液进行梯度洗脱, 柱温为 30 °C, 体积流量为 0.8 mL/min, 检测波长为 220 nm。结果 初步建立了天麻配方颗粒的高效液相色谱指纹图谱, 确定了 6 个特征峰。结论 高效液相色谱指纹图谱可为天麻配方颗粒的鉴别和质量控制提供参考。

关键词: 天麻配方颗粒; 指纹图谱; 高效液相色谱法

中图分类号: R917.4 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2014)05-0431-03

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2014.05.012

HPLC characteristic chromatogram of Formula Granule of *Gastrodiae Rhizoma*

DUAN Hua-qin, ZHANG Yun-tian, XU Yi-liang, LI Song

Jiangyin Tianjiang Pharmaceutical Co. Ltd, Jiangyin 214434, China

Abstract: **Objective** To establish the HPLC characteristic chromatogram of Formula Granule of *Gastrodiae Rhizoma* as a reference for the identification and quality control of this formula granule. **Methods** The chromatograms were obtained using the Megres5-C₁₈ column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) with mobile phase comprised of acetonitrile-0.05% phosphoric acid aqueous solution in gradient elution at flow rate of 0.8 mL/min, column temperature 30 °C, detection wavelength 220 nm and sample size of 10 μL. **Results** The HPLC characteristic chromatogram of Formula Granule of *Gastrodiae Rhizoma* consisted of 6 common peaks. The similarity of 10 batches of samples was above 0.9. **Conclusion** The HPLC method is proved to be accurate, stable and reproducible and can provide reference for the identification and quality control of Formula Granule of *Gastrodiae Rhizoma*.

Key words: Formula Granule of *Gastrodiae Rhizoma*; characteristic chromatogram; HPLC

中药配方颗粒是指采用现代化科学技术, 仿照传统中药汤剂煎煮的方法, 将中药饮片经浸提、浓缩、干燥等工艺精致而成的单剂量颗粒或粉末剂型, 目前允许等同中药饮品作为汤剂配方使用。天麻为兰科植物 *Gastrodia elata* Bl. 的干燥块茎, 具有平肝熄风的功效, 用于治疗头痛眩晕、肢体麻木、小儿惊风、癫痫抽搐、破伤风等, 为传统的名贵中药材^[1]。利用高效液相色谱法对天麻药材及饮片进行质量控制的方法已有相关报道^[2-4]。中药特征图谱是中药整体性的化学表征, 是进行中药质量控制的重要方法^[5]。天麻配方颗粒为经工艺优化、试验验证合格后生产的成品, 本文采用高效液相色谱法对 10 批天麻配方颗粒进行测定, 初步建立了其特征指纹

图谱, 共确定 6 个特征峰。

1 材料

1.1 仪器

Agilent 1260 型 HPLC 仪 (G1311C 四元泵, G1329B 自动进样器, G1315D DAD 检测器, Agilent 化学工作站); AT-330 型柱温箱 (天津奥特赛恩斯科学仪器有限公司生产); 十万分之一电子天平 (瑞士 Meltzer 公司生产); 超声清洗机 (无锡超声电子设备厂生产)。

1.2 试剂

天麻素对照品 (中国食品药品检定研究院提供, 批号 807-200104); 乙腈为色谱纯; 水为重蒸馏水; 其他试剂均为分析纯; 10 批天麻配方颗粒由江阴天

收稿日期: 2013-12-11

基金项目: 上海市中医药技术国际化培育项目 (ZYSN XD-CC-BZH)

作者简介: 段华琴 (1986—), 女, 硕士, 主要从事中药配方颗粒的质量标准研究。E-mail: hqduan_cpu@126.com

江药业有限公司提供,批号为1211050、1208058、1204062、1202102、1112115、1107012、1104154、1103151、1011142、1007043,分别编号为S1~S10。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱为 Megres5-C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相为乙腈-0.05%磷酸溶液,梯度洗脱(0→18→23→38→55 min,乙腈的体积分数为1%→1%→10%→20%→28%);进样量10 μL,体积流量0.8 mL/min,检测波长220 nm,柱温30 ℃。

2.2 溶液的制备

2.2.1 标准品溶液制备 取天麻素对照品适量,精密称定,加流动相制成每1 mL含70 μg的溶液,即得。

2.2.2 供试品溶液制备 取本品适量,研细,取约0.2 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入50%甲醇25 mL,密塞,称定质量,超声处理(功率250 W,频率50 kHz)30 min,放冷,再称定质量,用50%甲醇补足缺失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.3 精密度试验

取样品S1,精密称定,按照“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,连续进样5次,记录液相色谱图。结果表明,各主要色谱峰的相对保留时间和相对峰面积无明显变化,其RSD值分别为0.00%、0.15%、0.34%、0.41%、0.45%、0.53%和0.00%、0.22%、0.21%、0.03%、0.03%、0.23%,符合特征图谱要求,精密度良好。

2.4 重复性试验

取样品S1,精密称定5份,分别按照“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,记录液相色谱图。结果表明,各主要色谱峰的相对保留时间和相对峰面积无明显变化,其RSD值分别为0.00%、0.27%、0.62%、0.80%、0.82%、0.99%和0.00%、0.22%、0.46%、0.55%、0.31%、0.28%,符合特征图谱要求,重复性良好。

2.5 稳定性试验

取样品S1,精密称定,按照“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,分别于样品制备后0、4、8、12、24 h测定特征图谱。结果表明,各主要色谱峰的相对保留时间和相对峰面积无明显变化,其RSD值分别为0.00%、1.44%、2.67%、1.40%、2.34%、1.86%和0.00%、0.67%、0.08%、0.15%、0.12%、0.38%,符合特征图谱要求,稳定性良好。

3 特征图谱的构建

3.1 特征峰的确定

按照上述实验方法和色谱条件对10批天麻配方颗粒进行测定,比较记录的色谱图。结果发现,色谱峰1~6为10批样品的共有峰,其中1号色谱峰为天麻素,见图1。由于1号色谱峰占总峰面积的比例最大,且含量稳定,故将该峰作为参照峰。特征峰的选取原则为:主要特征峰与相邻峰的分度达到1.2以上,其他特征峰也达到一定分离,峰尖到峰谷的距离至少大于该峰高的2/3以上,如果未达到,则两个峰可以合并为一个峰计算^[6]。10批天麻配方颗粒样品的特征图谱见图2,10批样品特征图谱中色谱峰群基本一致。

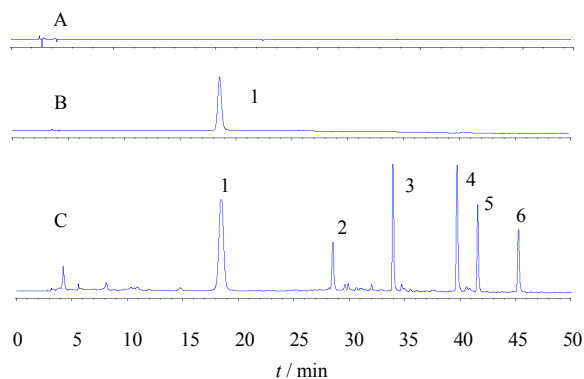


图1 空白溶剂(A)、天麻素(B)和天麻配方颗粒(C)色谱图

Fig. 1 Chromatogram of blank solution (A), Gastrodin (B) and formula granule of *Gastrodiae Rhizome* (C)

3.2 特征图谱相似度评价

将所得到的数据导入国家药典委员会指定的“中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2004 A版)”,设定参照图谱,将色谱峰自动匹配,然后生成对照图谱R,进行相似度评价,见表1。10批样品的相似度均大于0.9,说明生产的该10批天麻配方颗粒的质量稳定。

4 讨论

供试液制备过程中,曾采用不同溶剂(50%甲醇、70%甲醇、甲醇、稀乙醇、70%乙醇、乙醇)进行比较,结果以50%甲醇提取时,天麻素色谱峰峰形最为尖锐,提取效率最高,因此采用50%甲醇作为提取溶剂。采用DAD检测器记录天麻配方颗粒样品溶液在190~400 nm的3D吸收图,发现检测波长为220 nm时谱图中出现的色谱峰最多,且分离度良好,因此选择220 nm作为检测波长。

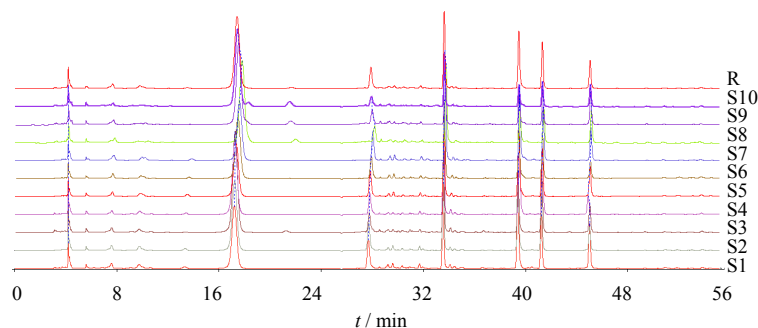


图2 10批天麻配方颗粒的特征图谱

Fig. 2 Characteristic chromatograms of 10 batches of formula granule of *Gastrodiae Rhizoma*

表1 10批天麻配方颗粒特征图谱相似度评价结果

Table 1 Similarity of 10 batches of formula granule of *Gastrodiae Rhizoma*

	1211050	1208058	1204062	1202012	1112115	1107012	1104154	1103151	1011142	1007043	R
1211050		0.992	0.945	0.981	0.999	0.984	0.997	0.931	0.929	0.9	0.977
1208058	0.992		0.97	0.996	0.995	0.998	0.997	0.955	0.954	0.931	0.991
1204062	0.945	0.97		0.984	0.947	0.983	0.958	0.996	0.995	0.988	0.992
1202012	0.981	0.996	0.984		0.984	0.999	0.989	0.971	0.97	0.954	0.997
1112115	0.999	0.995	0.947	0.984		0.988	0.998	0.931	0.93	0.9	0.978
1107012	0.984	0.998	0.983	0.999	0.988		0.991	0.97	0.97	0.951	0.997
1104154	0.997	0.997	0.958	0.989	0.998	0.991		0.944	0.943	0.915	0.985
1103151	0.931	0.955	0.996	0.971	0.931	0.97	0.944		1	0.995	0.985
1011142	0.929	0.954	0.995	0.97	0.93	0.97	0.943	1		0.995	0.985
1007043	0.9	0.931	0.988	0.954	0.9	0.951	0.915	0.995	0.995		0.97
R	0.977	0.991	0.992	0.997	0.978	0.997	0.985	0.985	0.985	0.97	

比较了 Megres5-C₁₈ 柱 (250 mm×4.6 mm, 5μm)、Lichrospher-C₁₈ 柱 (200 mm×4.6 mm, 5 μm) 及 ZORBAX Eclipse XDB-C₁₈ 柱 (150 mm×4.6 mm, 5 μm) 的分离效果, 结果前者分离效果理想。此外, 还考察了不同体积流量及柱温对分离效果的影响, 结果表明, 柱温为 30 ℃, 体积流量为 0.8 mL/min 时样品的分离效果较好。

从所得特征图谱的分析结果来看, 10 个批次的配方颗粒共有的色谱峰为 6 个, 相对保留时间分别为: 1.00 (峰 1)、1.60 (峰 2)、1.93 (峰 3)、2.27 (峰 4)、2.37 (峰 5)、2.59 (峰 6), 所得共有峰的相对保留时间稳定。将形成的天麻配方颗粒的特征图谱用于天麻配方颗粒的生产过程, 可为该产品提供更为全面的质量控制手段。

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2010.
- [2] 石上梅, 孙 婕, 杜庆鹏, 等. 天麻药材 HPLC 指纹图谱研究 [J]. 中国药学杂志, 2005, 40(10): 739-741.
- [3] 王 莉, 程孟春, 肖红斌, 等. 天麻液相色谱指纹图谱研究 [J]. 中草药, 2006, 37(9): 1402-1405.
- [4] 麻印莲, 肖永庆, 耿立冬, 等. 天麻饮片的 HPLC 指纹图谱鉴别 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(19): 104-107.
- [5] 张翠英, 董 梁, 陈士林, 等. 人参药材皂苷类成分 UPLC 特征图谱的质量评价方法 [J]. 药学学报, 2010, 45(10): 1296-1300.
- [6] 王 玺, 王文宇, 张克荣, 等. 中药 HPLC 指纹图谱相似性研究的探讨 [J]. 沈阳药科大学学报, 2003, 20(5): 360.