

# 刺五加片指纹谱分析及不同厂家样品谱比较

苗爱东,彭燕,胡辉,王本富,马超,何二龙\*

(中国人民解放军第 474 医院,新疆 乌鲁木齐 830011)

**摘要:**目的 对 5 个不同厂家生产的 9 批刺五加片进行指纹谱的比较研究。方法 以 5 个不同厂家生产的刺五加片为分析对象,选择适宜的条件,建立了刺五加片剂的指纹图谱。结果 方法学考察表明,本研究建立的分析方法有比较好的重现性;不同厂家生产的刺五加片共有峰面积的比值有一定的差异。结论 指纹谱分析方法可简便、快速的鉴别和区分不同厂家生产的刺五加片剂。

**关键词:** 刺五加片; HPLC-FPS; HPLC

中图分类号: R286.02 文献标识码: B 文章编号: 0253-2670(2003)03-0218-03

## HPLC-FPS analysis of Ciwujia Tablets and comparison of its different sources

MIAO Ai-dong, PENG Yan, HU Hui, WANG Ben-fu, MA Chao, HE Er-long

(PLA 474 Hospital, Urumqi 830011, China)

**Abstract Object** To compare HPLC-FPS of five kinds of Ciwujia Tablets (CWT) in nine batches from five different sources. **Methods** HPLC-FPS analysis method of CWT was developed, and the HPLC-FPS of nine samples was established. **Results** The methodological evaluation showed that this method had a good repeatability, and the ratio of common peak area for different samples was different. **Conclusion** This method can be used to differentiate CW T from different sources conveniently.

**Key words** Ciwujia Tablet; HPLC-FPS; HPLC

刺五加片是由五加科植物刺五加 *Acanthopanax senticosus* (Rupr. et Maxim.) Harms 提取加工精制而成,具有益气健脾,补肾安神作用。临床上主要用于治疗脾肾阳虚,体虚乏力,食欲不振,腰膝酸痛,失眠多梦等症。刺五加片剂属《中华人民共和国药典》2000年版一部收载品种。刺五加的主要活性成分为刺五加苷 A, B, B<sub>1</sub>, C, D, E, F, G 等。本实验采用反相高效液相色谱法,梯度洗脱,对市售的刺五加片的指纹图谱进行了研究,以期为进一步完善该制剂的质量控制标准提供实验依据。

### 1 仪器、试剂和样品

L-7000型高效液相色谱仪,包括 L-7100双泵, L-7400紫外可见检测器, L-7300柱温箱(日本日立公司); HW-2000色谱工作站(南京千谱软件有限公司); CSF-250-3超声波清洗器(济宁超声电子仪器厂); TDL-4型离心机(上海安亭科学仪器厂)。

乙腈、甲醇为色谱纯,其余试剂为分析纯。

紫丁香苷(syringin)对照品(美国阿尔法实验室,纯度 99.5%);刺五加对照药材(中国药品生物制品检定所);刺五加片(市售,黑龙江南岔制药厂,

批号: 20000106, 20000702;黑龙江铁力制药厂,批号: 20000726, 20001023, 20010618, 20010711;上海信谊制药厂,批号: E010101;安徽东方制药厂,批号: 000803;安徽广生制药有限公司,批号: 010907)。

### 2 方法与结果

#### 2.1 溶液的制备

2.1.1 对照品溶液的制备:精密称取紫丁香苷对照品适量,以甲醇溶解,制成 0.02 mg/mL 的溶液,作为对照品溶液。

2.1.2 刺五加对照药材溶液制备:精密称取刺五加对照药材 1.0 g,置具塞锥形瓶中,加 75%乙醇 100 mL,放置 24 h,滤过,滤液浓缩后移至 10 mL 量瓶中,加水稀释至刻度,摇匀,离心(3 000 r/min) 10 min,吸取上清液,0.45 μm 微孔滤膜过滤后,20 μL 进样测定。

2.1.3 供试样品溶液制备:取样品 10 片,除去糖衣,精密称定后,研细,精密称取适量(约 0.2 g)置 10 mL 量瓶中,加适量水,超声处理 30 min,加水至刻度,摇匀,离心(3 000 r/min) 10 min,吸取上清液,0.45 μm 微孔滤膜过滤后,20 μL 进样测定。

\* 收稿日期: 2002-06-17

作者简介:苗爱东(1969-),男,四川自贡人,副主任药师,博士,主要从事药物分析及质量标准研究工作,在省级以上刊物发表论文 30 余篇,其中 20 余篇论文被《美国化学文摘》收录。Tel: (0991) 6632883

2.2 不同流动相系统及检测波长的选择: 吸取上述样品 20 $\mu$  L 进样, 分别以乙腈-磷酸、乙腈-水、乙腈-醋酸、甲醇-磷酸、甲醇-水、甲醇-醋酸的不同浓度、比例的等度和梯度洗脱进行试验, 记录 220, 254, 270, 300, 344, 360 nm 波长的色谱图。结果表明: 用甲醇-1% 醋酸进行梯度洗脱 ( $\theta > 60$  min, 1% 醋酸 100% ~ 35%), 流速为 1 mL/min, 测定波长 270 nm 的条件为佳, 见图 1

2.3 指纹图谱的建立

2.3.1 色谱条件及系统适应性试验: 色谱柱为钻石 C<sub>18</sub> (4.6 mm $\times$  250 mm, 5 $\mu$  m) (北京迪马公司); 甲醇-1% 醋酸为流动相进行梯度洗脱。检测波长为 270 nm, 理论塔板数按紫丁香苷峰计算应不低于 30 000

2.3.2 测定方法: 分别精密称取对照品溶液和供试溶液各 20 $\mu$  L, 注入液相色谱仪, 记录 60 min 内的色谱图。以紫丁香苷色谱峰 (S 峰) 的保留时间和峰面积为 1.0, 计算相对保留时间和峰面积比值

2.3.3 方法学考察<sup>[1,2]</sup>: 稳定性试验: 取同一供试品

溶液, 分别在 0, 2, 4, 8, 24 h 检测指纹图谱。其相对保留时间稳定, 主要共有色谱峰相对峰面积 RSD 为 1.86%。结果表明, 供试品溶液稳定性较好。

精密度试验: 取同一供试品溶液, 连续进样 5 次, 检测指纹图谱。其相对保留时间稳定, 主要共有色谱峰相对峰面积 RSD 为 1.42%。结果表明, 精密度较好。

重现性试验: 取同一批号供试品 5 份, 分别处理后检测指纹图谱。其相对保留时间稳定, 主要共有色谱峰相对峰面积 RSD 为 2.16%。结果表明, 重现性较好。

2.4 不同生产厂家刺五加片指纹谱比较: 按供试品溶液的制备方法制备, 分别取 5 个不同厂家生产的 9 个批次刺五加片制成供试品溶液。取 20 $\mu$  L 进样, 按选定的色谱条件测定, 记录指纹图谱 (图 1) 以紫丁香苷为对照品, 其相对保留时间为 1.0, 标示了刺五加片指纹图谱中 17 个共有峰, 其相对保留时间和主要共有峰的相对峰面积列于表 1, 2

结果表明, 5 个生产厂家刺五加片 HPLC 指纹

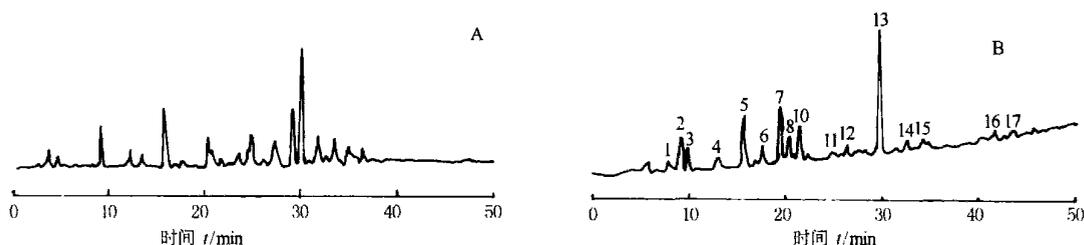


图 1 刺五加对照药材 (A) 和刺五加片 (B) 的指纹图谱

Fig. 1 HPLC fingerprints of Ciwujia crude drug (A) and Ciwujia Tablet (B)

表 1 刺五加片剂指纹图谱共有峰相对保留时间

Table 1 Relative retention times of common peaks for nine batches of Ciwujia Tablet

峰号	000106	000702	000726	000803	001023	010101	010618	010711	010907	均值
1	0.269	0.268	0.269	0.270	0.270	0.268	0.270	0.271	0.276	0.270
2	0.305	0.306	0.306	0.306	0.306	0.305	0.306	0.307	0.312	0.307
3	0.328	0.328	0.328	0.328	0.329	0.327	0.329	0.328	0.334	0.329
4	0.435	0.434	0.435	0.435	0.436	0.432	0.436	0.437	0.424	0.434
5	0.528	0.529	0.529	0.528	0.528	0.527	0.526	0.527	0.531	0.528
6	0.584	0.584	0.585	0.585	0.584	0.583	0.584	0.584	0.585	0.584
7	0.655	0.655	0.656	0.656	0.656	0.655	0.655	0.655	0.657	0.655
8	0.675	0.676	0.676	0.676	0.676	0.675	0.676	0.675	0.676	0.676
9	0.692	0.691	0.691	0.692	0.693	0.691	0.692	0.691	0.692	0.692
10	0.713	0.713	0.712	0.713	0.713	0.711	0.712	0.712	0.713	0.712
11	0.832	0.830	0.824	0.832	0.830	0.830	0.830	0.830	0.829	0.830
12	0.878	0.878	0.878	0.879	0.878	0.878	0.879	0.877	0.878	0.878
13 (S)	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
14	1.082	1.080	1.083	1.081	1.081	1.080	1.080	1.080	1.080	1.081
15	1.145	1.143	1.145	1.142	1.143	1.142	1.142	1.141	1.142	1.143
16	1.379	1.378	1.378	1.376	1.378	1.377	1.377	1.378	1.377	1.378
17	1.454	1.454	1.451	1.450	1.453	1.452	1.446	1.449	1.447	1.451

表 2 刺五加片剂指纹图谱共有峰的相对峰面积值

Table 2 Relative areas of common peaks for nine batches of Ciwujia Tablet

峰号	000106	000702	000726	000803	001023	010101	010618	010711	010907	均值
1	0.064	0.070	0.100	0.081	0.113	0.084	0.068	0.079	0.066	0.081
2	0.248	0.371	0.224	0.156	0.274	0.222	0.154	0.186	0.215	0.228
3	0.109	0.095	0.118	0.171	0.179	0.125	0.147	0.141	0.116	0.133
4	0.140	0.155	0.110	0.255	0.193	0.150	0.099	0.142	0.327	0.175
5	0.269	0.246	0.218	0.410	0.906	0.161	0.266	0.373	0.378	0.358
6	0.175	0.420	0.241	0.109	0.318	0.260	0.142	0.172	0.184	0.224
7	1.052	0.740	0.237	0.799	0.808	0.714	0.504	0.463	0.656	0.664
8	0.220	0.234	0.158	0.234	0.267	0.245	0.229	0.244	0.256	0.232
9	0.085	0.110	0.073	0.076	0.101	0.072	0.062	0.074	0.083	0.082
10	0.256	0.445	0.234	0.236	0.435	0.365	0.295	0.350	0.399	0.335
11	0.086	0.111	0.153	0.072	0.129	0.112	0.105	0.122	0.103	0.110
12	0.125	0.110	0.079	0.091	0.138	0.089	0.093	0.099	0.107	0.103
13 (S)	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
14	0.119	0.144	0.085	0.099	0.145	0.102	0.111	0.107	0.169	0.120
15	0.167	0.087	0.046	0.089	0.205	0.076	0.100	0.081	0.135	0.110
16	0.136	0.124	0.096	0.075	0.108	0.102	0.070	0.116	0.144	0.108
17	0.223	0.138	0.059	0.154	0.147	0.165	0.0810	0.103	0.126	0.133

图谱存在一定的差异,其共有峰相对保留时间基本一致,相对峰面积比值存在一定的差异,可用来鉴别和区分不同厂家生产的刺五加片。

2.5 结论:根据研究结果,制定了刺五加片剂标准指纹图谱技术参数,其共有峰的峰号(相对保留时间):1(0.270),2(0.307),3(0.329),4(0.434),5(0.528),6(0.584),7(0.655),8(0.676),9(0.692),10(0.712),11(0.830),12(0.878),13(1.000),14(1.081),15(1.143),16(1.378),17(1.451)。

### 3 讨论

3.1 文献研究了不同产地刺五加药材的指纹图谱<sup>[3]</sup>,流动相采用了甲醇-水-冰醋酸(15:85:1)等度洗脱。研究中发现:由于刺五加中含有较多的化学成分,流动相若采用等度洗脱,当提高流动相的洗脱能力时,则可出现较多的色谱峰,提供较多的信息,但有很多峰不能完全分离;当降低流动相的洗脱能力时,虽可改善峰的分离情况,但有部分成分不能被洗脱出峰,信息量减少。采用梯度洗脱,可兼得二者的优点。各成分之间分离情况良好,因此本实验采用了甲醇-1%醋酸梯度洗脱(0→60min 1%醋酸

10%~35%)的方法。

3.2 刺五加对照药材与其片剂的指纹图谱比较显示,药材的成分比片剂更复杂,但片剂特征峰与药材特征峰基本一致,相关性良好。

3.3 试验结果显示:5个不同生产厂家刺五加片指纹图谱中主要峰群的整体图貌基本一致。但各成分含量的相对比值有所不同,为鉴别、区分不同来源的刺五加片提供了科学依据。

3.4 建立指纹图谱对刺五加片进行综合、宏观的分析有利于全面控制该制剂的质量,促进刺五加制剂质量控制水平的提高。

### References

- [1] Ren D Q. The significance and effect of fingerprinting methods for qualitative evaluation of Chinese traditional medicine [J]. *J Chin Med Mater* (中药材), 2001, 24(4): 235-239.
- [2] *Technical Requirements of the Fingerprint in Injection of Chinese Materia Medica (Tentative Standard)* (中药注射剂指纹图谱研究的技术要求(暂行)) [S]. 2001.
- [3] Liu L J, Zhang Q B, Zhang S J. Study on HPLC-FPS analysis of *Radix Acanthopanax Sentiiosi* and comparative study on its different sources [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 2001, 23(11): 781-783.

## 化癍巴布膏体外透皮吸收研究

寿旦,孙静芸\*

(浙江大学药学院,浙江 杭州 310006)

**摘要:**目的 研究促透皮吸收剂氮酮对化癍巴布膏体外透皮吸收的影响。方法 采用改良 Franz 扩散池法,研究化癍巴布膏中胡椒碱的体外透皮吸收特性,采用高效液相色谱法检测透过的胡椒碱,同时采用气相色谱法,以丁香酚为检测指标考察制剂稳定性。结果 经统计学分析,胡椒碱的体外渗透过程符合零级方程,并且试验过程中制剂基本稳定。结论 促透皮吸收剂氮酮可以促进药物的透皮吸收。

**关键词:**化癍巴布膏;透皮吸收;胡椒碱;改良 Franz 扩散池法;丁香酚

中图分类号: R283.62; R286.02 文献标识码: B 文章编号: 0253-2670(2003)03-0220-03

### Study on *in vitro* percutaneous adsorption of Huayu Babu Sticking Plaster

SHOU Dan, SUN Jing-yun

(School of Pharmacy, Zhejiang University, Hangzhou 310006, China)

**Abstract Object** To research the effect of laurocapram upon the percutaneous absorption of Huayu Babu Sticking Plaster (HBSP) *in vitro*. **Methods** The improved Franz diffusing cells were chosen to study percutaneous absorption of piperine from HBSP. The content of permeated piperine was determined by HPLC; while the content of eugenol was determined by GC to inspect the stability of HBSP. **Results** The result showed that the process of penetrating of piperine in HBSP through skin could be in accordance with zero-grade releasing equation and HBSP was stable during the course of experiment. **Conclusion** Lauro-

\* 收稿日期: 2002-03-18

基金项目: 浙江省中医药管理局资助项目 (045)

作者简介: 寿旦 (1973-), 女, 浙江诸暨人, 助理研究员, 1994年毕业于华西医科大学药学院药学专业后, 在浙江省中医药研究院从事中药新药开发工作, 现为浙江大学药学院研究生。