

岩黄连注射液的 HPLC 指纹图谱研究

罗远秀*, 文东旭*, 蒋受军, 蒋及年, 许有诚, 谢培德, 曾祥林

(广西食品药品检验所, 广西南宁 530021)

摘要:目的 建立岩黄连注射液的 HPLC 指纹图谱, 用于控制产品的质量。方法 采用 HPLC 法。Shim-pack CLC-ODS 色谱柱(150 mm×6.0 mm, 5 μ m), 乙腈-缓冲溶液(1:1)梯度洗脱, 体积流量为 1 mL/min, 检测波长 285 nm。中药色谱指纹图谱相似度评价系统的操作规范(版本 2004A)计算。结果 13 批岩黄连注射液的相似度均在 0.95 以上, 确定了 12 个共有峰, 建立了该注射液 HPLC 指纹图谱。结论 本法可作为岩黄连注射液质量控制方法。

关键词:岩黄连注射液; 指纹图谱; 高效液相色谱

中图分类号:R286.02

文献标识码:B

文章编号:0253-2670(2007)07-1007-03

HPLC Fingerprint of Yanhuanglian Injections

LUO Yuan-xiu, WEN Dong-xu, JIANG Shou-jun, JIANG Ji-nian, XU You-cheng,

XIE Pei-de, ZENG Xiang-lin

(Guangxi Institute for Food and Drug Control, Nanning 530021, China)

Abstract: Objective To establish the HPLC fingerprint for the quality control of Yanhuanglian Injections. **Methods** HPLC Chromatography method was used. The conditions included a Shim-pack CLC-ODS column (250 mm×6.0 mm, 5 μ m), the gradient elution was adopted with acetonitrile-buffer solution (1:1), the detection wavelength was at 285 nm, and the flow rate was 1.0 mL/min. *The Operating Standard of Similarity Evaluation System for Chromatographic Fingerprint of Chinese Materia Medica (Version 2004A)* was used to calculate. **Results** Similarity of 13 batches of injections was over 0.95, the fingerprint of Yanhuanglian Injections was established, and 12 common peaks were indicated. **Conclusion** This method can be applied to the quality control of Yanhuanglian Injections.

Key words: Yanhuanglian Injections; fingerprints; HPLC

岩黄连注射液为广西河丰药业有限公司生产的全国独家品种, 由岩黄连单味药材经提取总生物碱制成的单方制剂, 用于急慢性肝炎属肝胆湿热证者^[1]。为了更好地控制岩黄连注射液的质量, 本实验采用 HPLC 法对岩黄连注射液进行指纹图谱研究, 建立了岩黄连注射液指纹图谱分析方法。

1 仪器与试药

Waters515 泵、Waters996 二极管阵列检测器、Waters M³² 色谱工作站、717 自动进样系统。乙腈为色谱纯, 其他试剂均为分析纯。脱氢卡维丁对照品由广西河丰药业有限公司提供, 经 HPLC 归一化测定其质量分数为 99.32%, 岩黄连注射液由广西河丰药业有限公司提供。

2 方法与结果

2.1 色谱条件: 色谱柱为 Shim-pack CLC-ODS 柱

(150 mm×6.0 mm, 5 μ m); 流动相: 乙腈-磷酸盐缓冲液[0.05 mol/L 庚烷磺酸钠-0.05 mol/L 磷酸二氢钾(1:1), 含 0.2% 乙二胺, 用磷酸调 pH 3.0], 线性梯度洗脱, 0~130 min, 乙腈-磷酸盐缓冲液(20:80), 130~140 min, 乙腈-磷酸盐缓冲液(27:73), 140~160 min, 乙腈-磷酸盐缓冲液(20:80); 体积流量: 1 mL/min; 检测波长: 285 nm。

2.2 溶液的制备

2.2.1 供试品溶液的制备: 取岩黄连注射液作为供试品溶液。

2.2.2 阴性样品溶液的制备: 除岩黄连提取物外, 按处方比例称取各辅料, 按岩黄连注射液的制备工艺制成 100 mL, 作为阴性样品溶液。

2.2.3 参照物溶液的制备: 精密称取脱氢卡维丁对照品 17.74 mg, 置 50 mL 量瓶中, 加 pH(3.8±0.5)

收稿日期: 2006-09-21

基金项目: 广西科学基金资助项目(0448046); 广西“新世纪十百千人才工程”专项资金资助项目(2003226)

作者简介: 罗远秀(1964—), 女, 广西合浦县人, 副主任药师, 主要从事药品分析检验、药品质量控制方法的制订及新药开发, 现调至广西食品药品监督管理局药品认证审评中心从事认证审评工作。Tel: (0771)5886193 E-mail: luoyx@gxfda.gov.cn

* 现调至广西食品药品监督管理局药品认证审评中心工作

的水溶液约 35 mL,热水浴加热溶解,并用 pH 3.8 的水溶液稀释至刻度,即得。

2.3 阴性样品的影响:取阴性样品溶液 10 μ L,注入液相色谱仪,记录 180 min 色谱图,结果在保留时间 5 min 前有小峰,故使用中药色谱指纹图谱相似度评价系统的操作规范(版本 2004A)处理图谱时,要扣除保留时间 5 min 前的色谱峰。

2.4 记录时间的确定:取供试品溶液 10 μ L 注入液相色谱仪,记录 180 min 的色谱图,结果 140 min 后不再出峰,故记录色谱时间定为 140 min。

2.5 方法学考察

2.5.1 精密度试验:取批号 040803 样品,连续注入液相色谱仪 6 次,每次 10 μ L,记录色谱图,经中药色谱指纹图谱相似度评价系统的操作规范(版本 2004A)计算,6 张图谱之间的相似度均为 1,说明测定方法的精密度很好。

2.5.2 稳定性试验:取批号 040803 样品,分别于 0、3、6、12、18、24、30、36 h 测定,测定结果经中药色谱指纹图谱相似度评价系统的操作规范(版本 2004A)计算,相似度均为 1.000,RSD 为 0,说明本品启封后在 36 h 内是稳定的。

2.5.3 重现性试验:取批号 040803 样品 5 份,各取 10 μ L 注入液相色谱仪,记录 140 min 色谱图,经中药色谱指纹图谱相似度评价系统的操作规范(版本 2004A)计算,图谱之间的相似度均为 1。

2.6 指纹图谱的建立与相似度分析:取注射液 13 批,每批 2 份,各进样 10 μ L 记录 140 min 色谱图,同时取参照物溶液 10 μ L 绘制色谱图,把 13 批注射液 26 张色谱图导入中药色谱指纹图谱相似度评价系统的操作规范(版本 2004A)软件,选择时间窗 0.9,生成色谱的方法为平均值,对保留时间 5~140 min 的色谱峰进行多点校正后,自动匹配,匹配后色谱图见图 1,生成的注射液对照指纹图谱见图 2,有 12 个共有峰(1~11 和 S),其中 S 为脱氢卡维丁参照峰。各批注射液与对照指纹图谱比较相似度在 0.954~0.991,平均值为 0.977,RSD 为 1.27%,见表 1。

3 讨论

本实验采用药典会出版的中药色谱指纹图谱相似度评价系统的操作规范(版本 2004A)软件对色谱图直接进行相似度计算,与采用人工分析法相比,具有简便、准确、省时等优点。

色谱柱选择:选用了三根不同生产厂家的色谱柱:Nucleodur C₁₈ Gravity (250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μ m)(德国 Macherey-Nagel 公司);Luna C₁₈ (2)

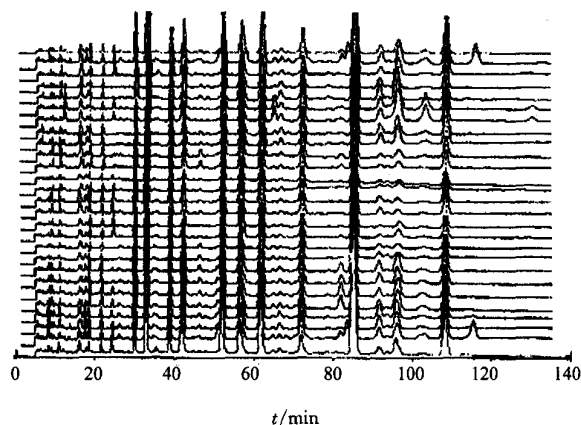


图 1 13 批样品匹配后的 26 张色谱图

Fig. 1 26 Matched chromatograms for 13 batches of samples

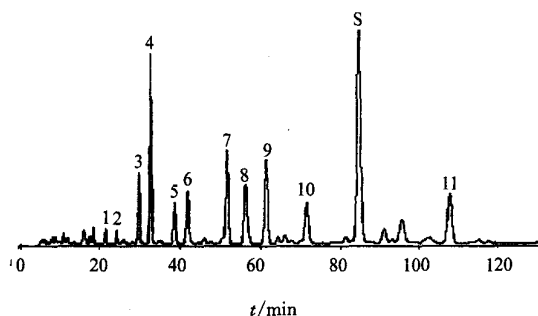


图 2 岩黄连注射液的对照指纹图谱

Fig. 2 HPLC Reference fingerprint of Yanhuanglian Injections

表 1 13 批注射液与注射液对照指纹图谱比较的相似度测定结果($n=2$)

Table 1 Similarity of 13 batches of injections and reference fingerprint of Yanhuanglian Injections ($n=2$)

批号	相似度	批号	相似度
030602	0.982	040109	0.972
030603	0.991	040204	0.980
030901	0.958	040801	0.991
030902	0.961	040802	0.954
030903	0.979	040803	0.981
031105	0.990	040804	0.989
040107	0.977		

(250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μ m)(美国 Phenomenex 公司);Shim-pack CLC-ODS (150 mm $\times$ 6.0 mm, 5 μ m)(日本岛津公司)进行试验筛选,比较分离度、峰形和柱效,结果 Shim-pack CLC-ODS (150 mm $\times$ 6.0 mm, 5 μ m)较为适合。

流动相的选择:选用了乙腈-水(1:1,内含 0.34%磷酸二氢钾和 0.17%十二烷基硫酸钠)、乙腈-0.05 mol/L 磷酸二氢钠溶液(用磷酸调 pH 3.0)(25:75),结果峰形和分离度不好,选用乙腈-磷酸

盐缓冲液[0.05 mol/L 庚烷磺酸钠-0.05mol/L 磷酸二氢钾(1:1),含 0.2%乙二胺,用磷酸调 pH 2.2、2.5、2.8、3.0、3.5、4.0]不同的比例和不同的梯度,结果以乙腈-磷酸盐缓冲液[0.05 mol/L 庚烷磺酸钠-0.05mol/L 磷酸二氢钾(1:1),含 0.2%乙二胺,用磷酸调 pH 3.0]按色谱条件的梯度运行洗脱最好,分离度、峰形和柱效均满意。

检测波长的选择:岩黄连注射液的成分比较多,已知的成分有脱氢卡维丁等。脱氢卡维丁在 230、270、347 nm 处有最大紫外吸收峰,其他成分分别在 205、233、240、270、285、290、347、355 nm 处

有最大紫外吸收峰。取注射液 10 μ L,注入液相色谱仪,采用二极管阵列检测器分别检测上述波长,结果以 285 nm 为检测波长检出的峰数较多,其分离度、峰形和柱效及出峰的稳定性较为满意,故选择 285 nm 为检测波长。

注射液的质量与药材、中间体提取物密切相关,特别是药材的质量,有关注射液与药材及其提取物中间体指纹图谱的相关性研究正在进行中。

Reference:

- [1] Ren Z X. Analysis on acupuncture with Yanhuanglian in treatment of 33 cases with virus hepatitis [J]. *Clin Focus* (临床荟萃), 2003, 18(2): 94.

HPLC 法测定参芪颗粒中人参皂苷 R_{g1} 和 Re

孙 艳,张卫同,陈海滨,王羽凝,周晓兵

(解放军总医院 药品保障中心,北京 100853)

摘 要:目的 建立参芪颗粒中人参皂苷 R_{g1} 、Re 的 HPLC 测定方法。方法 采用 HPLC 法,Chromasil C_{18} 色谱柱(250 mm $\times$ 4.6 mm),乙腈-0.05%磷酸溶液(21:79)为流动相,体积流量 1 mL/min,检测波长:203 nm。结果 在 30 min 内能基线分离人参皂苷 R_{g1} 和 Re,平均加样回收率分别为人参皂苷 R_{g1} 99.60%,RSD 为 1.93%($n=5$);人参皂苷 Re 98.58%,RSD 为 2.31%($n=5$)。结论 所建立的方法可准确快速地进行定量检测,可用于参芪颗粒的质量控制。

关键词:参芪颗粒;人参皂苷 R_{g1} ;人参皂苷 Re;高效液相色谱

中图分类号:R286.02

文献标识码:B

文章编号:0253-2670(2007)07-1009-02

Determination of ginsenoside R_{g1} and Re in Shenqi Granula by HPLC

SUN Yan, ZHANG Wei-tong, CHEN Hai-bin, WANG Yu-ning, ZHOU Xiao-bing

(Ensure Center of Drug, General Hospital of PLA, Beijing 100853, China)

Abstract: **Objective** To establish an HPLC method for the determination of ginsenosides R_{g1} and Re in Shenqi Granula. **Methods** Chromasil C_{18} column (250 mm $\times$ 4.6 mm) was used with acetonitrile-0.05% phosphoric acid solution (21:79) as mobile phase. The flow rate was 1 mL/min and the detected wavelength was 203 nm. **Results** Ginsenosides R_{g1} and Re could be baseline separated with in 30 min. The average recovery rates were 99.60% and 98.5%, corresponding RSD were 1.93% and 2.31% for ginsenoside R_{g1} and Re, respectively ($n=5$). **Conclusion** This method is fast and accurate and can be used for quality control of Shenqi Granula.

Key words: Shenqi Granula; ginsenoside R_{g1} ; ginsenoside Re; HPLC

参芪颗粒是由人参、黄芪、制首乌等药材加工制备而成的制剂,具有免疫调节作用和抗疲劳作用。为了控制本品的质量,本实验采用 HPLC 法测定了人参皂苷 R_{g1} 、Re。

1 实验材料

Agilent 1100 高效液相色谱仪(含 DAD 检测

器、柱温箱),BP110S 分析天平(德国 Sartorius 公司生产)。

人参皂苷 R_{g1} 、Re 由中国药品生物制品检定所提供;乙腈为色谱纯,其他试剂均为分析纯。各药材购自北京同仁堂,参芪颗粒为本院自制制剂。

2 方法与结果