

愈银片的HPLC指纹图谱研究^Δ

崔小敏^{1*}, 石会丽¹, 雷 琨¹, 王晓萍^{2#} (1.陕西省中医药研究院, 西安 710003; 2.陕西省中医医院, 西安 710003)

中图分类号 R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2017)03-0397-04
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2017.03.31

摘要 目的:建立愈银片的高效液相色谱(HPLC)指纹图谱。方法:采用HPLC法。色谱柱为Inertsil ODS-3,流动相为乙腈-0.1%磷酸溶液(梯度洗脱),流速为1.0 mL/min,检测波长为230 nm,柱温为30 ℃,进样量为10 μL。以槲皮素为参照物,测定10批愈银片的HPLC图谱,采用《中药色谱指纹图谱相似度评价系统》(2012版)进行共有峰指认和相似度评价。结果:10批愈银片的HPLC图谱有39个共有峰,相似度均>0.96。经验证,10批样品HPLC图谱与对照指纹图谱具有较好的一致性。结论:该研究所建指纹图谱可为愈银片的鉴别和质量评价提供参考。

关键词 愈银片;指纹图谱;高效液相色谱法;银屑病;质量标准;槲皮素

Study on the HPLC Fingerprint Chromatogram of Yuyin Tablet

CUI Xiaomin¹, SHI Huili¹, LEI Kun¹, WANG Xiaoping² (1.Shaanxi Provincial Academy of Traditional Chinese Medicine, Xi'an 710003, China; 2.Shaanxi Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Xi'an 710003, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish the HPLC fingerprint for chromatogram Yuyin tablet. METHODS: HPLC was performed on the column of Inertsil ODS-3 with mobile phase of acetonitrile-0.1% phosphoric acid (gradient elution) at a flow rate of 1.0 mL/min, detection wavelength was 230 nm, column temperature was 30 ℃, and injection volume was 10 μL. Using quercetin as reference, the HPLC profiles of 10 batches of Yuyin tablet were determined. *Similarity Evaluation Software for Chromatographic Fingerprint of Traditional Chinese Medicine* (2012 edition) was used for the common peaks identification and similarity evaluation. RESULTS: There were 39 common peaks in the HPLC profiles of the 10 batches of Yuyin tablet, similarity degrees were higher than 0.96. It was proved that the HPLC profiles and control fingerprint profile of 10 batches of samples had good consistency. CONCLUSIONS: The established fingerprint chromatogram can provide reference for the identification and quality evaluation of Yuyin tablet.

KEYWORDS Yuyin tablet; Fingerprint chromatograms; HPLC; Psoriasis; Quality standard; Quercetin

愈银片为陕西省中医药研究院专家根据中医药传统理论组方,并经现代制备工艺制成的医院制剂,由槐米、松香、牡丹皮、白芍、制何首乌、三棱、莪术等7味药组成,具有活血软坚、润肤止痒之功效。其临床疗效确切,长期应用可清血热、祛湿邪、止瘙痒,总有效率达95%,是治疗银屑病的良药。方中槐米具有清热解毒、凉血活血、润肤之功,列为君药;松香可燥湿解毒,牡丹皮可清热凉血,白芍、制何首乌可滋阴、润肤,四药列为臣药;三棱、莪术可活血化瘀、通络列为佐使药。目前愈银片的质量标准仅有单味药的薄层色谱(TLC)鉴别,文献报道也仅有高效液相色谱法(HPLC)测定其中芍药苷的含量^[1],并不能全面反映制剂的内在质量,也无法保证制剂批间质量的一致性和稳定性。指纹图谱的建立能够比较全面地反映药物中所含化学成分的种类和数

量^[2-4],从整体上描述和评价药物质量,对于提高中药质量、促进中药现代化意义重大。本试验采用HPLC建立了愈银片HPLC指纹图谱,运用相似度评价方法对10批愈银片制剂的HPLC图谱进行了分析评价^[5-10],为其质量标准的提升提供了有力的技术支持;通过对照法指认了指纹图谱中8个主要的色谱峰^[11-13],为治疗银屑病中药制剂的物质基础探究提供了一定的科学依据。

1 材料

1.1 仪器

LC-2010A HT型HPLC仪,包括SPD-20A型紫外检测器、LC色谱工作站(日本Shimadzu公司);KQ-100型超声波清洗仪(昆山市超声仪器有限公司,功率:250 W,频率:40 kHz);BSA124S型电子分析天平(北京赛多利斯天平有限公司)。

1.2 药品与试剂

愈银片(陕西省中医药研究院药剂科自制,批号:20140401、20140624、20140916、20141101、20150325、20150527、20150902、20151207、20160201、20160516,规格:0.2 g/片);芍药苷对照品(批号:110736-200933)、丹皮酚对照品(批号:110708-201407)均购自中国食品药

Δ 基金项目:陕西省社会发展科技攻关项目(No.2016SF-358)

* 研究实习生,硕士。研究方向:中药新药开发和质量控制。

E-mail:369803637@qq.com

通信作者:副主任药师。研究方向:中药炮制、中药鉴定和新药开发利用。E-mail:893727976@qq.com

品检定研究院;芦丁对照品(批号: MUST-16031812)、二苯乙烯苷对照品(批号: MUST-16021005)、1,2,3,4,6-五没食子酰葡萄糖对照品(批号: MUST-16061211)、槲皮素对照品(批号: MUST-16031804)均购自成都曼斯特生物科技有限公司;没食子酸、松香酸对照品(陕西省中医药研究院实验室自制,经氢谱、碳谱鉴定结构),以上对照品纯度均>98%;乙腈为色谱纯,其余试剂均为分析纯,水为重蒸水。

1.3 药材

试验用药材购自不同药材公司或药材市场(见表1),经陕西省中医药研究院石会丽研究员鉴定均为真品。

表1 药材来源

Tab 1 Sources of herbs

批号	药材	产地	收集地
20160101	槐米	陕西	陕西兴盛德药业有限公司
20160306	松香	广西	西安市万寿路药材市场
160101815	白芍	安徽	亳州市中药饮片厂
1602016027	牡丹皮	安徽	亳州市中药饮片厂
20150901	制何首乌	陕西	西安藻露堂药业中天医药有限公司
20160101	三棱	安徽	陕西兴盛德药业有限公司
20160401	莪术	广西	陕西兴盛德药业有限公司

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: Inertsil ODS-3(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈(A)-0.1%磷酸溶液(B), 梯度洗脱(0~10 min, 5%→20% A; 10~30 min, 20%~30% A; 30~60 min, 30%~60% A; 60~85 min, 60%→95% A); 流速: 1.0 mL/min; 检测波长: 230 nm; 柱温: 30 °C; 进样量: 10 μL。

2.2 溶液的制备

2.2.1 混合对照品溶液 分别称取待测成分对照品各适量,加75%甲醇溶液制成芍药苷、丹皮酚、芦丁、二苯乙烯苷、1,2,3,4,6-五没食子酰葡萄糖、槲皮素、没食子酸、松香酸质量浓度分别为57.4、310.0、381.8、48.6、164.8、58.6、146.9、177.1 μg/mL的混合对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液 精密称取样品粉末(过2号筛)1.0 g,置于50 mL具塞三角瓶中,加75%甲醇25 mL,超声处理30 min,摇匀,微孔滤膜(0.45 μm)滤过,取续滤液,即得。

2.2.3 单味药材溶液 精密称取“1.3”项下7种单味药材粉末(过2号筛)各约0.15 g,同“2.2.2”项下方法制得单味药材溶液。

2.3 方法学考察

2.3.1 精密度试验 取“2.2.1”项下混合对照品适量,按“2.1”项下色谱条件连续进样6次测定,以槲皮素的保留时间和峰面积为参照,记录各共有峰相对保留时间和相对峰面积。结果,39个共有峰相对保留时间的RSD<0.05%,相对峰面积的RSD<3.0%,表明仪器精密度良好。

2.3.2 稳定性试验 取“2.2.2”项下供试品溶液(批号:

20141101)适量,分别于室温下放置0、4、8、12、24 h时进样测定,以槲皮素的保留时间和峰面积为参照,记录各共有峰相对保留时间和相对峰面积。结果,39个共有峰相对保留时间的RSD<0.07%(n=5),相对峰面积的RSD<3.0%(n=5),表明供试品溶液在室温放置24 h内基本稳定。

2.3.3 重复性试验 精密称取同一批样品(批号: 20141101)适量,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,共6份,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,以槲皮素的保留时间和峰面积为参照,记录各共有峰相对保留时间和相对峰面积。结果,39个共有峰相对保留时间的RSD<0.11%(n=6),相对峰面积的RSD<3.0%(n=6),表明本方法重复性良好。

2.4 HPLC指纹图谱的生成及共有峰的归属和指认

2.4.1 HPLC指纹图谱的生成 取10批样品各适量,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,采用《中药色谱指纹图谱相似度评价系统》(2012版)对10批样品的HPLC图谱进行分析,得HPLC指纹图谱,详见图1、图2。

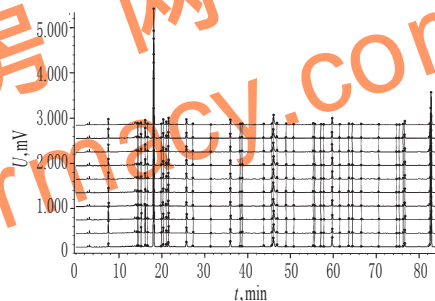


图1 10批样品HPLC叠加指纹图谱

Fig 1 HPLC overlay fingerprint chromatograms of 10 batches of samples

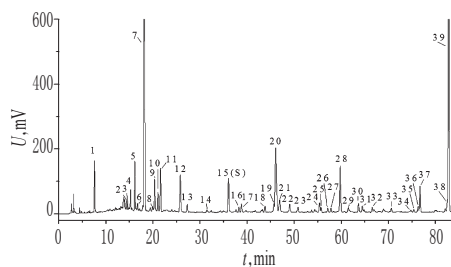


图2 样品HPLC对照指纹图谱

Fig 2 HPLC fingerprint chromatogram of samples

2.4.2 共有峰的归属和指认 比较图2中各色谱(15号峰为槲皮素)并对HPLC图谱共有峰进行归属。结果显示,样品HPLC图谱39个共有峰中2、3、6、7、10、11、13、14、15、18号色谱峰来源于槐米;16、19、21、23~34、36~39号色谱峰来源于松香;1、4、5、9、17、20号色谱峰来源于白芍;1、5、9、12、14、17、20号色谱峰来源于牡丹皮;1、8号色谱峰来源于制何首乌;其余22、35号色谱峰没有找到相应的药材来源。共有峰中1、5、7、8、9、15、20、39号色谱峰分别指认为没食子酸、芍药苷、芦丁、二苯乙烯

昔、1,2,3,4,6-五没食子酰葡萄糖、槲皮素、丹皮酚、松香酸;经统计,上述8个色谱峰面积之和约占共有峰总面积的78%。

2.4.3 相似度与各共有峰相关数据分析 采用《中药色谱指纹图谱相似度评价系统》(2012版)对10批样品的HPLC图谱进行比较分析。结果,10批样品的HPLC图谱相似度均>0.96,详见表2;各共有峰的相对保留时间和相对峰面积见表3、表4。

表2 10批样品相似度评价结果

Tab 2 Results of similarity evaluation of 10 batches of samples

样品	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10
S1	1.000	0.972	0.973	0.998	0.986	0.996	0.996	0.996	0.989	0.992
S2	0.972	1.000	1.000	0.962	0.993	0.989	0.988	0.989	0.996	0.992
S3	0.973	1.000	1.000	0.964	0.991	0.989	0.989	0.990	0.996	0.991
S4	0.998	0.962	0.964	1.000	0.977	0.990	0.991	0.991	0.983	0.986
S5	0.986	0.993	0.991	0.977	1.000	0.996	0.996	0.995	0.997	0.999
S6	0.996	0.989	0.989	0.990	0.996	1.000	1.000	1.000	0.998	0.999
S7	0.996	0.988	0.989	0.991	0.996	1.000	1.000	1.000	0.998	0.999
S8	0.996	0.989	0.990	0.991	0.995	1.000	1.000	1.000	0.999	0.999
S9	0.989	0.996	0.996	0.983	0.997	0.998	0.998	0.999	1.000	0.999
S10	0.992	0.992	0.991	0.986	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	1.000
对照	0.993	0.992	0.992	0.986	0.998	1.000	0.999	0.999	0.999	1.000

表3 10批样品HPLC图谱共有峰的相对保留时间

Tab 3 Relative retention time of the common peaks of 10 batches of samples in HPLC chromatograms

峰号	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10
1	0.209 1	0.209 2	0.209 0	0.211 0	0.209 4	0.209 2	0.209 0	0.209 0	0.209 2	0.209 5
2	0.397 0	0.397 3	0.397 0	0.396 7	0.397 7	0.397 1	0.397 2	0.397 4	0.397 8	0.397 2
3	0.404 5	0.404 9	0.404 6	0.404 2	0.405 2	0.404 6	0.404 7	0.404 8	0.405 4	0.404 7
4	0.421 8	0.422 2	0.421 9	0.421 3	0.422 4	0.421 9	0.421 9	0.421 9	0.422 5	0.422 0
5	0.447 4	0.447 8	0.447 4	0.446 8	0.448 0	0.447 5	0.447 6	0.447 7	0.448 1	0.447 5
6	0.463 1	0.463 5	0.463 2	0.462 5	0.463 7	0.463 4	0.463 6	0.463 7	0.464 0	0.463 3
7	0.503 0	0.503 6	0.503 1	0.502 3	0.503 0	0.503 1	0.503 3	0.503 4	0.503 7	0.503 1
8	0.551 5	0.552 6	0.552 2	0.550 7	0.551 7	0.551 8	0.552 0	0.552 2	0.552 7	0.551 8
9	0.564 6	0.565 2	0.564 7	0.563 8	0.564 6	0.564 8	0.565 1	0.565 4	0.565 5	0.564 5
10	0.584 2	0.584 9	0.584 4	0.583 4	0.584 3	0.584 4	0.584 7	0.585 0	0.585 2	0.584 1
11	0.598 4	0.599 1	0.598 6	0.597 6	0.598 4	0.598 5	0.598 9	0.599 1	0.599 3	0.598 2
12	0.715 5	0.715 5	0.715 1	0.715 0	0.715 4	0.715 2	0.715 1	0.715 3	0.715 6	0.715 1
13	0.757 3	0.757 5	0.757 2	0.756 9	0.757 0	0.757 2	0.757 2	0.757 4	0.756 9	0.756 8
14	0.873 0	0.873 5	0.873 4	0.873 0	0.873 2	0.873 2	0.873 2	0.873 3	0.873 1	0.872 9
15	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0
16	1.062 1	1.062 0	1.062 0	1.062 3	1.062 3	1.062 0	1.061 9	1.061 9	1.061 9	1.061 9
17	1.076 0	1.075 8	1.075 8	1.076 2	1.076 1	1.075 7	1.075 7	1.075 7	1.075 6	1.075 8
18	1.215 7	1.214 9	1.214 8	1.215 5	1.215 3	1.215 2	1.215 1	1.215 0	1.215 3	1.215 8
19	1.268 0	1.267 5	1.267 3	1.268 3	1.268 0	1.267 7	1.267 4	1.267 4	1.267 8	1.268 1
20	1.278 8	1.278 3	1.277 9	1.278 8	1.278 6	1.278 2	1.277 9	1.277 9	1.278 4	1.278 6
21	1.302 2	1.301 4	1.301 3	1.302 3	1.301 9	1.301 8	1.301 5	1.301 5	1.301 9	1.302 2
22	1.360 8	1.360 3	1.360 0	1.361 0	1.360 6	1.360 4	1.360 0	1.360 0	1.360 6	1.360 9
23	1.410 2	1.409 7	1.409 3	1.410 5	1.410 0	1.409 8	1.409 4	1.409 4	1.410 1	1.410 5
24	1.537 0	1.536 2	1.535 6	1.537 2	1.536 7	1.536 5	1.535 9	1.535 8	1.536 7	1.537 2
25	1.546 5	1.545 7	1.545 1	1.546 7	1.546 2	1.546 0	1.545 4	1.545 3	1.546 2	1.546 8
26	1.585 3	1.584 6	1.584 0	1.585 7	1.585 2	1.584 9	1.584 2	1.584 2	1.585 2	1.585 7
27	1.604 6	1.603 7	1.603 1	1.604 8	1.604 2	1.604 0	1.603 3	1.603 3	1.604 3	1.604 8
28	1.659 2	1.658 4	1.657 6	1.659 4	1.658 9	1.658 7	1.658 0	1.657 9	1.659 0	1.659 5
29	1.707 7	1.706 5	1.705 6	1.707 6	1.707 1	1.706 9	1.706 2	1.706 0	1.707 2	1.707 8
30	1.767 0	1.766 2	1.765 3	1.767 1	1.766 6	1.766 4	1.765 7	1.765 6	1.766 8	1.767 4

续表3

Continued Tab 3

峰号	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10
31	1.789 5	1.788 7	1.787 7	1.789 6	1.789 1	1.788 9	1.788 2	1.788 1	1.789 2	1.789 8
32	1.847 8	1.846 9	1.845 7	1.847 6	1.847 3	1.847 0	1.846 3	1.846 2	1.847 4	1.848 1
33	1.961 3	1.960 2	1.958 9	1.961 3	1.960 8	1.960 6	1.959 7	1.959 7	1.961 0	1.961 8
34	2.077 0	2.075 1	2.073 5	2.077 1	2.075 8	2.075 5	2.074 6	2.074 6	2.076 1	2.076 9
35	2.094 1	2.092 4	2.090 9	2.093 8	2.093 2	2.093 0	2.092 0	2.092 0	2.093 4	2.094 4
36	2.119 3	2.117 4	2.115 8	2.118 8	2.118 2	2.118 0	2.117 1	2.117 0	2.118 5	2.119 6
37	2.130 6	2.128 9	2.127 3	2.130 2	2.129 7	2.129 4	2.128 4	2.128 4	2.129 8	2.130 9
38	2.291 0	2.289 2	2.287 1	2.290 6	2.290 4	2.290 5	2.289 5	2.289 3	2.290 1	2.291 0
39	2.300 1	2.298 2	2.296 3	2.299 7	2.299 2	2.298 6	2.297 6	2.297 5	2.299 5	2.300 2

表4 10批样品HPLC图谱共有峰的相对峰面积

Tab 4 Relative peak areas of 10 batches of samples in HPLC chromatograms

峰号	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10
1	0.291 1	1.554 8	1.629 9	0.379 6	0.539 9	0.581 6	0.649 7	0.725 9	1.009 6	0.559 9
2	0.091 6	0.177 5	0.176 9	0.128 3	0.181 0	0.122 4	0.123 9	0.124 4	0.142 8	0.142 9
3	0.070 3	0.117 8	0.116 2	0.128 4	0.098 2	0.079 5	0.084 3	0.085 1	0.095 9	0.085 4
4	0.053 0	0.814 1	0.857 5	0.164 3	0.147 6	0.212 1	0.247 7	0.303 8	0.472 6	0.185 5
5	0.175 4	2.296 2	2.575 5	0.307 7	0.445 8	0.630 6	0.736 0	0.880 7	1.353 8	0.553 8
6	0.111 9	0.121 3	0.145 0	0.118 4	0.131 2	0.109 1	0.114 0	0.114 9	0.116 3	0.113 6
7	14.014	18.565	18.465	17.261	18.798	15.006	15.519	15.632	16.554	16.184
8	0.087 5	0.141 9	0.145 0	0.082 5	0.104 8	0.107 2	0.110 3	0.100 1	0.121 8	0.105 2
9	0.336 5	1.238 7	1.271 1	0.709 7	0.662 9	0.819 8	0.719 8	0.701 0	0.963 5	0.864 5
10	0.321 7	0.496 1	0.495 2	0.392 6	0.499 2	0.391 5	0.397 1	0.377 4	0.440 7	0.436 8
11	0.600 8	1.326 4	1.323 0	0.994 4	1.350 6	0.869 2	0.856 3	0.845 8	1.021 6	1.041 3
12	0.936 6	1.531 8	1.523 1	1.016 0	1.242 5	1.050 5	1.112 2	1.152 2	1.281 9	1.107 5
13	0.138 8	0.255 3	0.256 2	0.180 2	0.255 6	0.175 5	0.177 3	0.174 4	0.201 1	0.203 5
14	0.078 4	0.124 0	0.122 9	0.119 1	0.116 8	0.089 8	0.091 3	0.093 8	0.103 8	0.098 0
15	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0
16	0.098 2	0.146 1	0.148 2	0.137 8	0.154 8	0.114 5	0.117 1	0.117 1	0.128 0	0.129 3
17	0.088 3	0.342 7	0.348 7	0.169 5	0.209 2	0.157 7	0.163 2	0.174 6	0.229 5	0.174 2
18	0.188 6	0.144 3	0.143 6	0.142 9	0.143 2	0.168 0	0.172 4	0.175 7	0.164 7	0.157 2
19	0.151 1	0.167 8	0.171 7	0.163 9	0.187 4	0.152 9	0.157 6	0.155 3	0.162 7	0.162 3
20	2.064 2	3.134 4	3.077 1	2.528 9	3.172 4	2.369 3	2.384 9	2.450 6	2.679 6	2.632 6
21	0.379 8	0.379 9	0.378 1	0.333 3	0.402 2	0.362 3	0.382 8	0.385 4	0.384 0	0.370 0
22	0.109 5	0.288 6	0.281 7	0.258 0	0.292 6	0.173 3	0.169 4	0.171 3	0.211 6	0.215 5
23	0.105 2	0.197 7	0.189 0	0.198 9	0.201 1	0.130 9	0.130 4	0.130 6	0.149 3	0.155 2
24	0.205 2	0.306 1	0.306 2	0.270 2	0.318 4	0.234 4	0.238 3	0.240 2	0.262 1	0.260 2
25	0.100 8	0.170 3	0.171 1	0.155 5	0.173 1	0.124 4	0.124 1	0.126 1	0.139 2	0.140 8
26	0.086 8	0.119 7	0.120 4	0.117 4	0.123 7	0.096 4	0.096 1	0.096 0	0.105 3	0.104 9
27	0.063 4	0.125 1	0.118 1	0.102 1	0.127 9	0.084 2	0.081 8	0.085 2	0.099 3	0.099 8
28	1.631 6	1.119 9	1.133 2	1.371 4	1.258 0	1.365 0	1.471 3	1.482 6	1.360 4	1.302 5
29	0.073 9	0.100 7	0.100 8	0.088 2	0.104 2	0.080 2	0.081 4	0.082 0	0.085 7	0.087 7
30	0.187 3	0.286 1	0.299 2	0.230 5	0.314 2	0.220 6	0.220 1	0.224 6	0.246 3	0.250 8
31	0.066 6	0.194 2	0.188 9	0.167 1	0.188 9	0.114 2	0.110 1	0.113 0	0.141 1	0.140 9
32	0.055 1	0.179 2	0.171 1	0.137 9	0.166 2	0.092 8	0.086 4	0.091 0	0.118 0	0.116 8
33	0.084 8	0.110 2	0.115 9	0.093 3	0.126 9	0.093 6	0.095 1	0.095 3	0.099 7	0.106 6
34	0.053 6	0.062 4	0.063 4	0.109 1	0.044 3	0.040 0	0.042 5	0.043 8	0.046 1	0.041 6
35	0.066 0	0.063 6	0.061 8	0.070 7	0.068 5	0.064 9	0.067 0	0.069 9	0.068 0	0.065 5
36	0.083 7	0.175 6	0.177 2	0.159 6	0.182 3	0.127 0	0.124 9	0.132 8	0.152 8	0.149 2
37	0.576 3	0.840 1	0.833 7	0.803 7	0.857 1	0.661 7	0.669 5	0.671 0	0.728 5	0.722 1
38										

明显优于乙醇,因此选择甲醇作为提取溶剂。另外还考察了50%、75%、100%甲醇和25、50、100倍溶剂用量,结果表明,50倍量溶剂75%甲醇提取效率最高。(2)提取时间考察:以不同超声时间(15、30、45、60 min)对试验结果的影响进行了对比,结果30 min的提取效率最高。(3)提取方法考察:以甲醇对超声和回流两种提取方式进行了考察,结果表明,两种提取方式差异无统计学意义,因此选择方便易操作的超声提取。

3.2 色谱条件的优化

(1)色谱柱考察:分别用不同色谱柱 Inertsil ODS-3 (250 mm×4.6 mm, 5 μm)、Agilent Zorbax SB-C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm)、Diamonsil C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm)进行试验,结果表明,Inertsil ODS-3 (250 mm×4.6 mm, 5 μm)的分离效果最好。(2)流动相考察:分别考察了甲醇-水、甲醇-磷酸、乙腈-水、乙腈-磷酸对色谱分离的影响,结果表明,乙腈-磷酸系统的分离效果最好。另对磷酸体积分数(0.05%、0.1%、0.2%)进行了考察,结果表明,0.1%和0.2%磷酸溶液分离效果相当,均优于0.05%磷酸溶液,从色谱柱耐受性角度考虑笔者选择了0.1%磷酸溶液。(3)柱温考察:在以上条件下,考察了不同柱温(30、35、45℃)对分离的影响,结果随着柱温升高,分离变差,笔者最终选择30℃柱温。

3.3 样品间差异分析

本试验以15号峰槲皮素为参照峰,计算得10批样品39个共有峰的相对保留时间RSD均在0.29%以内,较为稳定;大部分色谱峰相对峰面积RSD在4.8%~40%,其余主要来源于白芍的4、5号色谱峰相对峰面积RSD差异较大,说明不同批次样品化学成分含量存在一定差异,这种差异可能与原药材的质量有关,在投料生产时尤其要重点控制白芍原药材的质量。

综上所述,本研究所建指纹图谱可为愈银片的鉴别

和质量评价提供参考。

参考文献

- [1] 李忠林,任淑娟,张鹤,等.HPLC法测定愈银片中芍药苷的含量[J].中国药师,2009,12(5):618-620.
- [2] 周菲菲,王彬杰,张元媛,等.冠心舒通胶囊HPLC指纹图谱研究[J].中草药,2016,47(7):1137-1139.
- [3] 张宇霞,咎占全,王统霞,等.丹珍头痛胶囊的HPLC指纹图谱研究[J].中国药房,2015,26(27):3864-3866.
- [4] 罗石任,王昭,李洁.顽痹清丸HPLC指纹图谱研究[J].中国中医药信息杂志,2016,23(1):96-99.
- [5] 关洪月,李林,刘晓,等.中药指纹图谱相似度计算方法探析[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(18):282-284.
- [6] 汪艳平,戴德雄,谢媛媛,等.骨刺胶囊HPLC指纹图谱[J].中成药,2016,38(1):98-101.
- [7] 王伟,杨素德,李家春,等.银翘清热片HPLC指纹图谱研究[J].中草药,2016,44(11):1882-1885.
- [8] 李骅,高雅,杨倩,等.双丹口服液的HPLC指纹图谱研究[J].陕西中医,2016,37(6):734-737.
- [9] 张洪坤,周劲松,黄玉瑶,等.玉屏风散高效液相色谱指纹图谱研究[J].中药材,2016,39(3):734-736.
- [10] 秦裕辉,李跃辉,谭电波,等.丹瓜养目膏的HPLC指纹图谱研究[J].中国药房,2015,26(36):5128-5130.
- [11] 金林,赵万顺,郭巧生,等.白芍UPLC指纹图谱研究[J].中草药,2016,44(23):3564-3566.
- [12] 刘小蔓,常增荣,戴俊东,等.HPLC法同时测定牡丹皮中4种化学成分的含量[J].中国新药杂志,2015,24(8):954-956.
- [13] 焦豪妍,王英,陈丽莉,等.广东道地药材何首乌HPLC指纹图谱研究[J].中国药业,2014,23(23):58-60.

(收稿日期:2016-09-23 修回日期:2016-11-16)

(编辑:张静)

《中国药房》杂志——《文摘杂志》(AJ)收录期刊,欢迎投稿、订阅