

# 银黄系列品种高效液相指纹图谱

刘永利,李冬梅,冯丽\*,袁浩

(河北省药品检验所,石家庄 050011)

**[摘要]** 目的:建立银黄系列品种的指纹图谱检测方法。方法:采用 C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm),流动相乙腈与 0.1% 磷酸溶液进行梯度洗脱,检测波长为 318 nm。通过指纹图谱相似度评价软件,对银黄系列品种的指纹图谱进行了相似度计算。结果:银黄胶囊、银黄含片、银黄颗粒、银黄口服液 4 个剂型指纹图谱整体一致,共有峰数量与比例稍有差别,各剂型 10 批样品相似度 >0.9。结论:所建立指纹图谱检测方法适用于银黄系列制剂的质量控制。

**[关键词]** 银黄系列品种;指纹图谱;高效液相色谱

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)20-0102-03

## HPLC Fingerprint Chromatogram of Yinhuang Series Preparations

LIU Yong-li, LI Dong-mei, FENG Li\*, YUAN Hao

(Hebei Provincial Institute for Drug Control, Shijiazhuang 050011, China)

**[Abstract]** **Objective:** To established the method of Yinhuang series preparations fingerprint chromatogram. **Method:** In this method, the C<sub>18</sub> column (4.6 mm × 150 mm, 5 μm) was used, and acetonitrile-0.1% phosphoric acid was used as gradient eluent; detection wavelength was at 318 nm. **Result:** Yinhuang capsules, Yinhuang buccal tablets, Yinhuang granules and Yinhuang oral liquid were consistent with the overall fingerprint chromatogram, but the number and percentage of common peaks slightly different, 10 batches similarity of Yinhuang series preparations are greater than 0.9. **Conclusion:** This method is useful for quality control of Yinhuang series preparations.

**[Key words]** Yinhuang series preparations; fingerprint chromatogram; HPLC

银黄系列品种是由金银花提取物与黄芩提取物组成的复方制剂,主要有胶囊剂、含片、颗粒剂、口服液等剂型,临床上主要用于急、慢性扁桃体炎,急、慢性咽喉炎,上呼吸道感染等症的治疗,其质量标准分别收载于部颁标准、新药转正标准与《中国药典》<sup>[1-3]</sup>,均采用薄层色谱法对绿原酸与黄芩苷进行了鉴别,但部颁标准中无含量测定项,新药转正标准中采用紫外法测定了绿原酸与黄芩苷含量,《中国药

典》则采用 HPLC 测定了两者含量,致使各剂型药品质量不一。目前,指纹图谱已成为国内外公认的鉴别中药品种和评价中药质量的最有效手段,可评价原料药材、半成品和成品质量均一性和稳定性<sup>[4-6]</sup>。为此我们采用 HPLC 法建立银黄系列品种各剂型的指纹图谱通用检测方法,并采用国家药典会推荐的《中药色谱指纹图谱相似度评价软件》(2004)对各个剂型分别进行了相似度评价。

### 1 仪器与试剂

高效液相色谱仪(Shimadzu LC20A, LC Solution 工作站,日本;Waters 2695, Empower 工作站,美国),Mettler AE-163 电子分析天平(瑞士),KQ5200B 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司),乙腈为色谱纯,水为重蒸水,其他试剂均为分析纯。绿原酸对照品(批号 110753-200413)、黄芩苷对照品(批号

**[收稿日期]** 20101230(005)

**[第一作者]** 刘永利,硕士,副主任药师,从事中药质量控制研究, Tel: 0311-85212108, E-mail: liuyongli2008@126.com

**[通讯作者]** \*冯丽,主任药师,从事中药质量评价研究, E-mail: jianyan882@sohu.com

110715-200514)由中国药品生物制品检定所提供。样品银黄颗粒(河北国金药业有限责任公司),银黄口服液(河北瑞生药业有限公司),银黄胶囊(石家庄以岭药业有限公司),银黄含片(成都地奥制药集团有限公司)。

## 2 方法与结果

**2.1 色谱条件**  $C_{18}$  色谱柱(4.6 mm × 150 mm, 5  $\mu$ m, shim-pack, Shimadzu),柱温 25  $^{\circ}$ C,流动相乙腈(A)-0.1% 磷酸溶液(B)0 ~ 12 min, 5% ~ 45% A, 12 ~ 20 min, 45% A, 梯度洗脱,检测波长 318 nm,理论板数按绿原酸峰计应不低于50 000。

**2.2 供试品溶液的制备** 颗粒剂、含片、胶囊剂,取样品适量,混匀,研细,取 0.2 g,精密称定,置 50 mL 量瓶中,加稀乙醇约 30 mL,超声处理 20 min,放冷,加稀乙醇至刻度,摇匀,滤过,即得。取口服液,精密吸取 1 mL,置 50 mL 量瓶中,加稀乙醇至刻度,摇匀,滤过,即得。

**2.3 对照品溶液的制备** 精密称取绿原酸对照品适量,加稀乙醇制成 10  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的溶液,作为参照物溶液。另取黄芩苷对照品,分别加稀乙醇制成 0.25  $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  的溶液,作为对照品溶液。

### 2.4 方法学考察

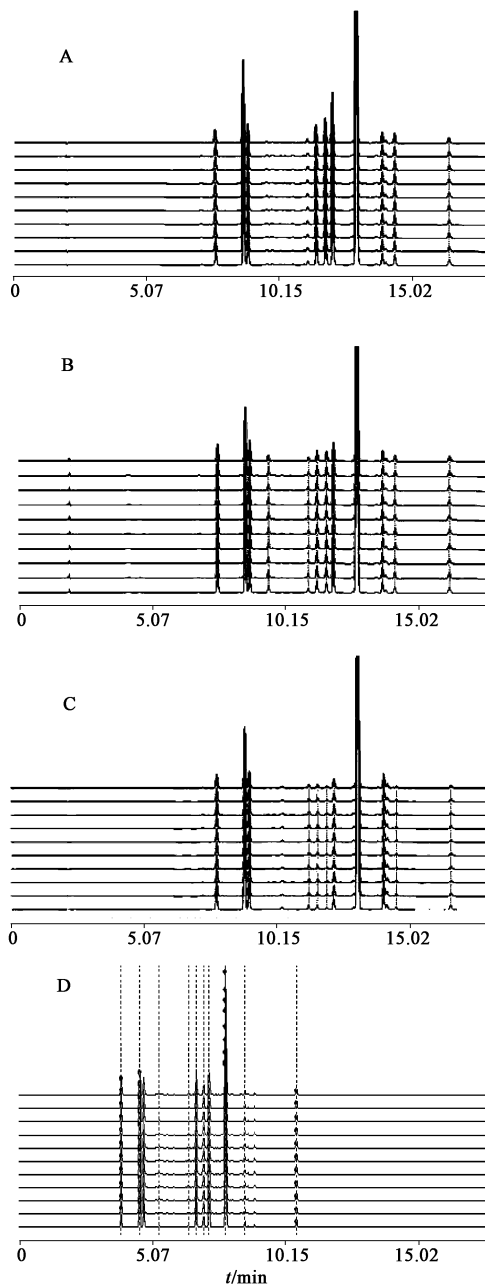
**2.4.1 精密度的试验** 分别取各剂型的同一供试品溶液,连续进样 6 次,检测指纹图谱。结果表明,各共有峰的相对保留时间 RSD 0.01% ~ 0.91%,相对峰面积为 RSD 2.86% ~ 4.25%,表明精密度良好。

**2.4.2 重复性试验** 分别取各剂型的同一批样品,按 2.2 法同时制备 6 份供试品溶液,检测指纹图谱。结果表明,各共有峰的相对保留时间 RSD 0.03% ~ 0.09%,相对峰面积 RSD 2.39% ~ 4.85%,表明重复性良好。

**2.4.3 稳定性试验** 分别取各剂型的同一份供试品溶液,分别在 0, 4, 8, 12, 15, 24 h 检测指纹图谱。结果表明,各共有峰的相对保留时间 RSD 0.01% ~ 0.08%,相对峰面积 RSD 1.22% ~ 3.63%,表明供试品至少在 24 h 内稳定。

**2.5 样品测定及对照指纹图谱的建立** 取银黄系列品种各 10 批次样品,运用上述条件测定,记录 1 h 色谱图,结果所有色谱峰集中在 20 min 内。运用《中药色谱指纹图谱相似度评价系统 A 版》(2004) 进行分析(图 1),分别建立银黄系列品种 HPLC 指纹图谱的对照图谱。

**2.6 样品相似度计算** 相似度是评价中药指纹图谱的一个重要参数,运用《中药色谱指纹图谱相似度评价系统 A 版》(2004),各样品指纹图谱与该对照图谱比较,得到相似度结果,见表 1。



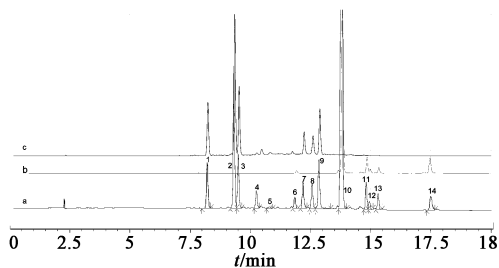
A. 10 批银黄含片; B. 10 批银黄颗粒;  
C. 10 批银黄口服液; D. 10 批银黄胶囊

图 1 各批银黄样品指纹图谱

**2.7 指纹图谱相关性分析** 运用上述条件测定金银花提取物、黄芩提取物与各剂型样品 10 批,记录 1 h 色谱图,结果所有色谱峰集中在 20 min 内。其中 1 ~ 9 号峰为金银花提取物中成分(注:测定的 10 批

表 1 10 批样品相似度评价

银黄颗粒		银黄含片		银黄口服液		银黄胶囊	
批号	相似度	批号	相似度	批号	相似度	批号	相似度
0905151	0.99	0807022	0.98	100103	0.99	021201	0.99
0905181	0.99	0807027	0.99	100105	0.99	021202	0.99
0905221	0.99	0807028	0.99	100107	0.99	021203	0.99
0905251	0.99	0809011	0.99	100113	0.99	021204	0.99
0906121	0.99	0807028	0.99	100115	0.99	021205	0.99
0906131	0.99	0809007	0.99	100202	0.99	021206	0.99
0906151	0.99	0809030	0.99	100204	0.99	021207	0.99
1001291	0.98	0809019	0.99	100206	0.99	021208	0.99
1002231	0.98	0812011	0.99	100208	0.99	021209	0.99
1003051	0.99	0812029	0.99	100210	0.95	021210	0.99



a: 各剂型典型样品; b: 黄芩提取物; c: 金银花提取物

图 2 样品与提取物指纹图谱

金银花提取图谱中均有与 6 号峰相对应的色谱峰, 但 10 批黄芩提取物中在与 6 号峰相对应处有 6 批有色谱峰, 4 批没有色谱峰, 所以确定其可能为金银花提取物中成分, 10~14 号峰为黄芩提取物中成分, 2 号峰为绿原酸, 8 号峰为黄芩苷, 见表 1, 图 2。

### 3 讨论

分别考察了提取溶剂 (30% 乙醇、稀乙醇、50% 甲醇、乙醇)、提取时间及不同流动相对结果的影响, 结果各溶剂提取结果相近, 因稀乙醇毒性小, 所以选择其为提取溶剂; 比较甲醇-0.1% 磷酸溶液与乙腈-0.1% 磷酸系统 2 种流动相, 以乙腈系统梯度洗脱为流动相得到指纹图谱分离度效果最好, 所有色谱峰集中在 20 min 内。

以稀乙醇为溶剂, 分别测定了绿原酸与黄芩苷的紫外光谱图, 结果黄芩苷的最大吸收波长为 318 nm 与 276 nm, 绿原酸的最大吸收波长为 324 nm, 在 318 nm 处吸收变化较缓, 所以选择 318 nm 为检测波长, 在此波长下各色谱峰间分离度、稳定性较好。

绿原酸与黄芩苷为银黄系列品种的主要成分, 由于黄芩苷含量高, 峰面积与其他成分相差较大, 而绿原酸保留时间适中, 峰面积适宜, 所以选择其为参照物。

4 种剂型指纹图谱整体一致, 但共有峰数目与比例稍有差别。以图 2 中各剂型典型指纹图谱为例进行说明: 颗粒剂有 12 个共有峰, 无 5, 12 号峰; 胶囊剂有 11 个共有峰, 无 5, 6, 12 号峰; 含片有 11 个共有峰, 无 4, 5, 12 号峰; 口服液有 12 个共有峰, 无 4, 13 号峰。其 5 号峰为口服液独有, 其余 3 个剂型无此色谱峰, 12 号峰只有口服液列入共有峰, 在其余 3 个剂型中峰面积变化较大, 这些可能是口服液与其他 3 个固体剂型工艺不同所致。

笔者曾运用中检所研制的中药指纹图谱相似度软件计算 10 批银黄胶囊指纹图谱的相似度, 结果均 > 0.99<sup>[5]</sup>, 本文运用国家药典会推荐的《中药色谱指纹图谱相似度评价系统 A 版》对各剂型同一企业 10 批样品计算相似度, 结果 > 0.95, 表明各企业产品质量较为稳定。运用所建立指纹图谱检测方法对各剂型的样品进行试验, 结果各色谱峰分离度好, 表明此方法有很好的适用性。

### [参考文献]

- [1] 中国药典. 一部[S]. 2010:1082, 1084.
- [2] 卫生部药品标准中药成方制剂. 第十九册[S]. 1996:199.
- [3] 国家药品监督管理局. 新药转正药品标准. 第 16 册[S]. 1998:42.
- [4] 任德全. 中药质量控制的里程碑——中药指纹图谱[J]. 中成药, 2001, 23(1):1.
- [5] 刘永利, 李冬梅, 冯丽, 等. 银黄胶囊指纹图谱的建立及质量相关性研究[J]. 中成药, 2007, 29(9): 1343.
- [6] 陈雪英. 芩连片 HPLC 指纹图谱研究[J]. 中国现代应用药学, 2010, 27(7):615.

[责任编辑 蔡仲德]