

# 安神补脑液高效液相色谱指纹图谱的研究

李卓明, 黄雯, 李明, 林忠泽, 苏子仁\*  
(广州中医药大学, 广东 广州 510405)

[摘要] 目的: 建立安神补脑液的 HPLC 指纹图谱, 为科学评价及有效控制制剂的质量提供有效可靠的方法。方法: 采用 Phenomenex Luna 5  $\mu$  C<sub>18</sub>(2) 100R (4.6 mm  $\times$  250 mm, 5  $\mu$ m) 色谱柱, 以乙腈-水梯度洗脱, 检测波长 320 nm, 柱温 25  $^{\circ}$ C, 确定安神补脑液的 HPLC 指纹图谱条件, 对两个企业共 18 批样品进行测定。结果: 18 批样品得到的色谱指纹图谱有 17 个共有峰, 体现了淫羊藿、制何首乌和甘草 3 种药材的特征。方法精密度高、稳定性、重复性良好。结论: 本方法为安神补脑液的质量评价提供了依据。

[关键词] 安神补脑液; 指纹图谱; 高效液相色谱法

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2008)02-0018-03

## Studies on the HPLC Fingerprint of Anshen Bunao Liquid

Li Zhuo-ming, HUANG Wen, LI Ming, LIN Zhong-ze, SU Zi-ren\*  
(Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405, China)

[Abstract] **Objective:** To establish a sensitive HPLC fingerprint method for controlling the quality of Anshen Bunao Liquid. **Methods:** HPLC analysis was performed on Column Phenomenex Luna 5 $\mu$  C<sub>18</sub>(2) 100R (4.6 mm  $\times$  250 mm, 5  $\mu$ m), with a mixture of acetonitrile and water as mobile phase in gradient mode. The wavelength was set at 320 nm, and column temperature was 25  $^{\circ}$ C. Samples of 18 batches, which was produced by two enterprises, were analyzed. **Results:** The HPLC fingerprint of Anshen Bunao Liquid showed 17 common peaks, which indicated that the components were originated primarily from Radix Polygoni Multiflori Preparata, Herba Epimedii, and Radix et Rhizoma Glycyrrhizae. Good precision, stability and repetition were showed. **Conclusions:** The method provides an evidence to quality evaluation of Anshen Bunao Liquid.

[Key words] Anshen Bunao Liquid; fingerprint; HPLC

安神补脑液由淫羊藿、何首乌、鹿茸、大枣、生姜、甘草等制备而成, 具有安神健脑、生精补髓、益气养血之功效。其现行质量标准主要以单一化学成分作为质控指标, 显然未能全面体现安神补脑液中复杂的化学成分, 有一定的局限性<sup>[1]</sup>。为了更有效地控制其质量, 提高质量控制方法的技术内涵, 本文对安神补脑液进行 HPLC 指纹图谱的研究, 实验取得了满意的成果。

### 1 实验材料

**1.1 仪器** Dionex Summit 高效液相色谱仪(P680 HPLC Pump, ASI-100 Automated Sampled Injector, UVD170U, PDA-100 Photodiode Array Detector, STH585 Column Oven), Chromeleon 数据处理系统; 试验室专用超纯水机(重庆利迪现代水技术设备有限公司); 万分之一电子分析天平(AB-204N, 上海 METTLER TOLEDO GROUP); 电子恒温水浴锅(HH-S11-Cr2 II, 广东省汕头市医用设备厂有限公司)。

**1.2 试药** 何首乌对照药材(供鉴别用, 批号 934-200106) 2, 3, 5, 4'-四羟基二苯乙烯 2-O- $\beta$ -D-葡萄糖苷对照品(供含量测定用, 批号 0844-200003)、淫羊

[收稿日期] 2007-06-18

[通讯作者] \* 苏子仁, Tel: (020) 36585814; E-mail: vip\_suziren@gzhtcm.edu.cn

藿苳对照品(供含量测定用,批号 110737-200312),均购自中国药品生物制品检定所。乙腈为色谱纯试剂(Merck 公司),水为超纯水,乙醚、乙酸乙酯、甲醇等试剂均为分析纯。

**1.3 样品** 安神补脑液 18 批,其中 10 批为广州星群药业(股份)有限公司生产,8 批为吉林敖东延边药业股份有限公司生产。安神补脑液半成品,淫羊藿、制何首乌、干姜、大枣、甘草药材由广州星群药业(股份)有限公司提供。

**1.4 数据处理软件** 采用中国药典委员会出版的中药色谱指纹图谱相似性评价系统软件(2004A 版)中位数法进行分析计算。

## 2 方法与结果

**2.1 色谱条件** 色谱柱: Phenomenex Luna 5u C<sub>18</sub> (2) 100R (4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-水梯度洗脱,洗脱曲线如表 1; 检测波长: 320 nm; 柱温: 25 °C; 进样量: 5 μL; 流速: 1.0 mL·min<sup>-1</sup>。

表 1 安神补脑液 HPLC 指纹图谱流动相洗脱条件(min)

T	0	20	40	42	55	58
乙腈(%)	15	25	25	40	40	15
水(%)	85	75	75	60	60	85

**2.2 供试品溶液的制备** 精密吸取安神补脑液 20 mL,置分液漏斗中,用乙醚提取 2 次,每次 15 mL,弃去乙醚液,水液用乙酸乙酯提取 5 次,每次 15 mL,合并乙酸乙酯液,挥干乙酸乙酯,残渣用甲醇溶解并转移至 5 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

**2.3 精密度试验** 取批号为 CK40116 的安神补脑液样品,按供试品制备方法制备供试品溶液,按拟定色谱条件连续进样 6 次,将所得图谱以中药色谱指纹图谱相似性评价系统进行分析(多点校正,平均数法),结果相似度均大于 0.99,表明仪器稳定,精密度良好。

**2.4 稳定性试验** 取批号为 CK40116 的安神补脑液样品,按供试品制备方法制备供试品溶液,按拟定色谱条件分别在 0, 1, 2, 4, 8, 16, 24 h 各进样 1 次,将所得图谱以中药色谱指纹图谱相似性评价系统进行分析(多点校正,平均数法),结果相似度均大于 0.99,表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好,故可在 24 h 内完成测定。

**2.5 重复性试验** 取批号为 CK40116 的安神补脑液样品,按供试品制备方法制备 6 份供试品溶液,按

拟定色谱条件进样测定,将所得图谱以中药色谱指纹图谱相似性评价系统进行分析(多点校正,平均数法),结果相似度均大于 0.99,表明方法具有较好的可重复性。

**2.6 安神补脑液 HPLC 指纹图谱与半成品、药材的相关性分析** 取安神补脑液半成品及处方中植物类中药,按安神补脑液制备工艺及供试品制备方法制备半成品、药材溶液,依法进样测定,通过比较色谱保留时间及紫外光谱特征确定制剂中各峰与半成品、药材的相关性。成品与半成品的 17 个色谱峰有明显归属,其中 1, 2 号找不到对应的药材,可能为提取过程中新产生的成分,3 号与制何首乌药材有明显归属,4, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17 号与淫羊藿药材有明显归属,5, 6, 7 号与甘草药材有明显归属,大枣、干姜在图谱中未能检出。见图 1。

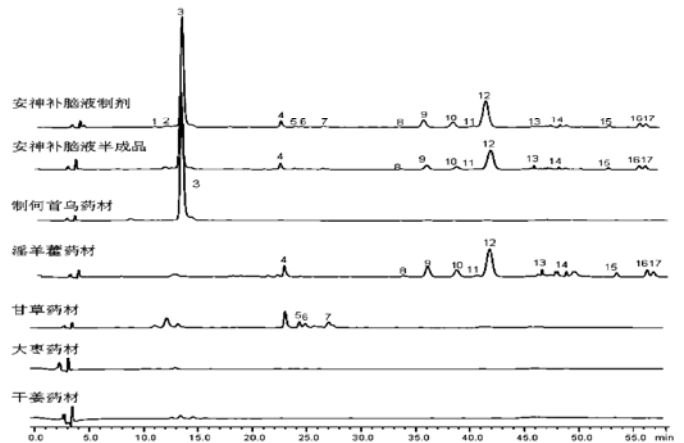


图 1 安神补脑液制剂与半成品、药材的相关性分析

**2.7 18 批安神补脑液的指纹图谱及其相似度评价** 对广州星群药业(股份)有限公司 10 批、吉林敖东延边药业有限公司 8 批安神补脑液样品进行指纹图谱分析,图谱结果见图 2, 3, 相似度评价结果见表 2, 3。

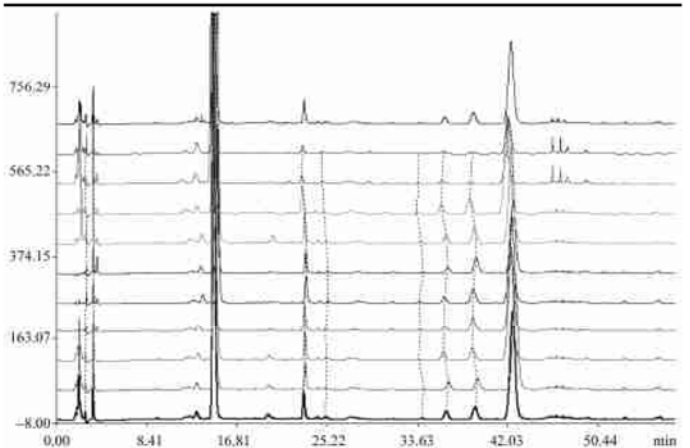


图 2 星群药业生产的安神补脑液样品相似度评价结果图谱

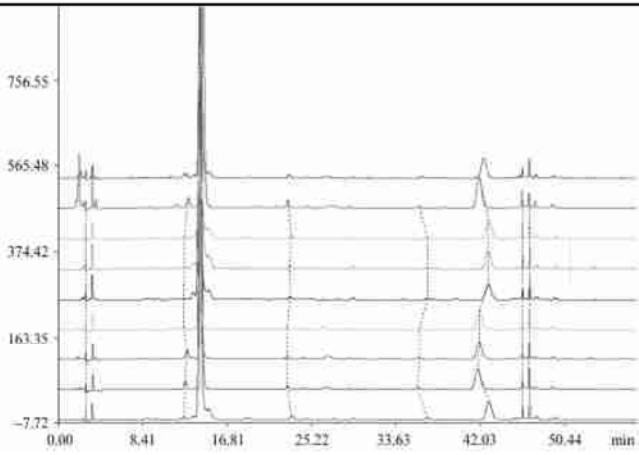


图 3 敖东药业生产的安神补脑液样品相似度评价结果图谱

表 2 星群药业 10 批安神补脑液样品相似度评价结果

产品批号	相似度	产品批号	相似度
CK40114	0.986	T060101	0.999
CK40115	0.990	T060102	0.968
CK40116	0.986	T060103	0.982
CK40108	0.957	CK40048	0.900
CK40110	0.989	CK40070	0.935

表 3 敖东药业生产的安神补脑液样品相似度评价结果

产品批号	相似度	产品批号	相似度
050419	0.996	060518	0.996
050603	0.998	0609108	0.995
050741	0.999	0611050	0.996
050750	1.000	0612039	0.977

2.8 指纹图谱共有模式的确立 用国家药典委员会提供的中药色谱指纹图谱相似度评价系统对广州星群药业(股份)有限公司生产的 10 批安神补脑液进行模式识别, 获得了安神补脑液指纹图谱的共有模式, 见图 4。

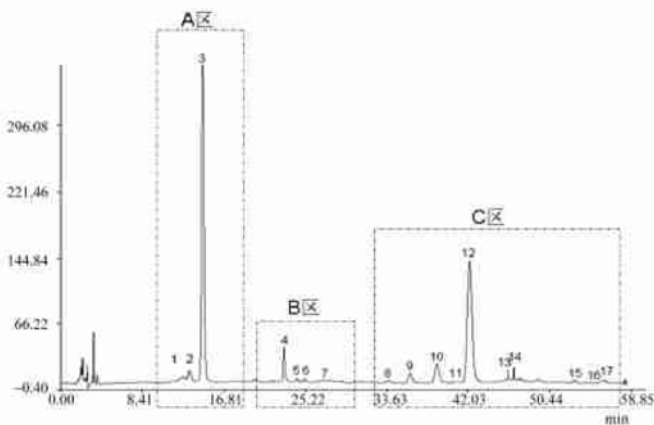


图 4 星群药业安神补脑液共有模式图谱

共有模式中特征明显、吸收强的共有峰共标定了 17 个峰。将图谱分为 A, B, C 3 区, 其中 A 区主要反映何首乌药效成分的特征, B 区 5, 6, 7 号峰反映甘草的指纹特征, C 区主要反映淫羊藿黄酮类成分的特征, 3, 4, 9, 10, 12 号为主要特征峰。通过吸收曲线的比较及加入法定性, 可以确定主要色谱峰的归属: 3 号峰( $t_R = 14.6 \text{ min}$ )为 2, 3, 5, 4'-四羟基二苯乙烯 2-O- $\beta$ -D-葡萄糖苷; 12 号峰( $t_R = 42.1 \text{ min}$ )为淫羊藿苷。

### 3 讨论

指纹图谱技术是当今中药质量研究的热点, 以其信息量大的特点克服了中药材、中成药的复杂性, 成为国际公认的控制中药质量的有效手段。本文建立了安神补脑液 HPLC 指纹图谱研究方法, 以乙腈-水为流动相梯度洗脱, 在 320 nm 波长 25 °C 柱温下检测, 能获得满意的图谱, 可清晰反映安神补脑液的主要药效成分二苯乙烯苷类、黄酮类成分及甘草的指纹特征。方法简便、准确、重复性好, 使用不同仪器或色谱柱进行分析, 均能保证色谱分离结果的重现性。

流动相及洗脱方式的考察优化分别考察了甲醇-水、甲醇-醋酸、乙腈-磷酸等系统, 经比较发现乙腈-水系统信息量相对较多, 色谱峰的分度度相对较好, 故确定乙腈-水系统作为流动相。采用梯度洗脱, 各色谱峰在 60 min 内全部洗出, 且大都基线分离, 分离效果佳, 保留时间适中。

对不同企业 18 批次的安神补脑液进行指纹图谱分析, 同一企业产品含量的变异范围不大, 相似度评价均在 0.9 以上, 说明同一企业的产品质量基本稳定在一定的水平内; 但不同生产企业的产品之间的差别较明显, 说明企业在药材品种来源的选择和生产工艺方面存在差异。如何在控制投料药材品种、来源的基础上, 严格监控生产过程, 以保证产品质量稳定, 有待进一步研究。

### [参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 一部, 北京: 化学工业出版社, 2005. 453.
- [2] 黄朝瑜, 赵陆华, 梅玲华, 等. 淫羊藿药材 HPLC 指纹图谱的研究[J]. 中国天然药物, 2003, 1(3): 146-149.
- [3] 刘振丽, 宋志前, 乔淑贞, 等. 制何首乌高效液相指纹图谱分析[J]. 中成药, 2005, 27(4): 378-380.