

· 检验检测 ·

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2019.18.011

四波长融合指纹图谱评价金卷升板胶囊质量*

王玲娇¹, 杨亮¹, 张振杰¹, 于静^{1△}, 杨继章¹, 孙国祥², 周春华¹

(1. 河北医科大学第一医院, 河北 石家庄 050031; 2. 沈阳药科大学药学院, 辽宁 沈阳 110016)

摘要:目的 建立金卷升板胶囊四波长融合色谱指纹图谱。方法 采用高效液相色谱法, 分别于254, 275, 330, 360 nm波长处进样检测, 所得图谱导入中药色谱指纹图谱超信息特征数字化评价系统4.0版软件, 建立对照指纹图谱, 采用系统指纹定量法对11批样品进行质量评价。结果 11批样品共有65个共有峰, 其中5号峰为没食子酸峰, 12号峰为绿原酸峰, 37号峰为黄芩苷峰, 49号峰为芦荟大黄素峰, 64号峰为大黄素甲醚峰; 样品质量等级, S7和S10质量好, S1, S2, S3, S5, S6, S8, S9质量良好, S4和S11质量中等。结论 基于多波长融合技术的系统指纹定量法可为金卷升板胶囊的质量评价提供参考。

关键词:金卷升板胶囊; 系统指纹定量法; 多波长融合指纹图谱; 宏定性相似度; 宏定量相似度

中图分类号: R932; R284.1; R286.0

文献标识码: A

文章编号: 1006-4931(2019)18-0029-03

Quality Evaluation of Jinjuanshengban Capsules by Four Wavelength Fusion Fingerprint

WANG Lingjiao¹, YANG Liang¹, ZHANG Zhenjie¹, YU Jing¹, YANG Jizhang¹, SUN Guoxiang², ZHOU Chunhua¹

(1. The First Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang, Hebei, China 050031; 2. College of Pharmacy, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang, Liaoning, China 110016)

Abstract: Objective To establish a four wavelength fusion chromatographic fingerprint of Jinjuanshengban Capsules. **Methods** HPLC method was used to detect samples at 254, 275, 330 and 360 nm wavelengths respectively. The obtained chromatograms were imported into the Digitized Evaluation System for Super-Information Characteristics of Chromatographic Fingerprints in Traditional Chinese Medicine 4.0 software to establish the control fingerprints. The quality of 11 batches of samples was evaluated by systematic quantified fingerprint method (SQFM). **Results** There were 65 common peaks in 11 batches of samples, of which No. 5 peak was the gallic acid, No. 12 peak was the chlorogenic acid, No. 37 peak was baicalin, No. 49 peak was aloe-emodin, No. 64 peak was emodin methyl ether. The quality of S7 and S10 samples was very good, the quality of S1, S2, S3, S5, S6, S8 and S9 samples was good, the quality of S4 and S11 samples was medium. **Conclusion** The SQFM based on multi-wavelength fusion technology can provide reference for the quality evaluation of Jinjuanshengban Capsules.

Key words: Jinjuanshengban Capsules; systematically quantified fingerprint method; multi-wavelength fusion fingerprint; macro-qualitative similarity; macro-quantitative similarity

*基金项目: 河北中医药管理局科研计划项目[2018117]。

第一作者: 王玲娇, 女, 硕士研究生, 主管药师, 研究方向为中药质量控制, (电子信箱)327239256@qq.com。

△通信作者: 于静, 女, 硕士研究生, 副主任药师, 研究方向为中药质量控制, (电话)0311-85917354。

2.6 双嘧达莫含量均匀度测定

3批样品每批均取10片, 分别置10个小烧杯中, 加0.1 mol/L盐酸溶液适量, 分次超声溶解外层(双嘧达莫层), 并转移至100 mL容量瓶中, 依法测定双嘧达莫含量, 得各片含量并计算3批样品的 $A+2.2S$ 分别为6.1, 7.2, 6.7, 符合规定, 表明含量均匀度较好。

3 讨论

参照有关标准^[2,5], 建议用2.6项下10份样品平均标示量的百分含量作为含量的测定值, 更易观察每片双嘧达莫层的溶解情况。新标准^[2]虽然解决了外层双嘧达莫测定时刮片引起的误差, 但依然存在测定阿司匹林时刮片的费时费力问题。测阿司匹林含量时所用肠溶衣内层应完好无损, 无裂缝、崩解或软化现象。

本研究中还考察了高效液相色谱法, 测定结果与紫外分光光度法基本一致。也考察了标准所允许游离水杨酸的最大限量, 对结果无影响。紫外分光光度法未采用

对人体有害的有机溶剂乙腈、四氢呋喃等, 健康环保, 且快速准确, 可作为测定阿司匹林双嘧达莫片含量及含量均匀度的方法。

参考文献:

- [1] WS-10001-(HD-0716)-2002, 国家药品监督管理局国家药品标准·化学药品地方标准上升国家标准(第八册)[S].
- [2] WS₁-XG-015-2017, 国家食品药品监督管理总局国家药品标准[S].
- [3] 魏会宇, 刘莹, 张瑶纾. 高效液相色谱法测定阿司匹林双嘧达莫双层片含量测定方法的建立[J]. 天津医科大学学报, 2017, 13(1): 102-103.
- [4] 陈汝红, 郭毅, 刘铁钢, 等. 紫外分光光度法测定双苯氟嗪片的含量均匀度及溶出度[J]. 中国新药杂志, 2008, 17(15): 1339-1341.
- [5] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(二部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 775.

(收稿日期: 2019-01-21)

金卷升板胶囊源自河北医科大学第一医院血液科刘清池主任医师经验方,由金银花、黄芩、地锦草、熟地黄等中药材组方,有解毒散瘀、清热凉血、止血通络功效,主治原发性免疫性血小板减少症(ITP)^[1-2]。现有文献多报道以高效液相色谱(HPLC)法测定处方中单味药材代表成分及建立单味药材单波长指纹图谱^[3-4],未见该制剂的指纹图谱报道。多波长融合指纹图谱可清晰、完整地揭示处方中有效成分的复杂物质基础,现已用于中药成分分析^[5-6]。本研究中建立了金卷升板胶囊的四波长融合指纹图谱,并对其质量进行全面评价。现报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

1200 Series 型高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司);BS 110S 型分析天平(北京赛多利斯科学仪器有限公司);KQ-400KDE 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);微孔滤膜(上海兴亚净化材料厂)。

1.2 试剂

没食子酸对照品(批号为 110710-200110,含量 98%),绿原酸对照品(批号为 110756-200102,含量 98%),黄芩苷对照品(批号为 110755-200103,含量 98%),芦荟大黄素对照品(批号为 110796-200802,含量 98%),大黄素甲醚对照品(批号为 110724-200613,含量 98%),均购自中国食品药品检定研究院;金卷升板胶囊(河北医科大学第一医院,批号分别为 170813、170826、170901、170914、170928、170834、170841、170855、170935、170959、170968,编号依次为 S1~S11,规格为每粒 0.5 g);甲醇为色谱纯,其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:Diamonsil C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm,5 μm);

流动相:0.5% 乙酸水(A)-甲醇(B),梯度洗脱(0~10 min 时 10% B→40% B,10~40 min 时 40% B→70% B,40~55 min 时 70% B→100% B,55~65 min 时 100% B);检测波长:254,275,330,360 nm;柱温:30℃;流速:1 mL/min;进样量:10 μL。

2.2 溶液制备

分别取没食子酸对照品 1.34 mg,绿原酸对照品 6.19 mg,黄芩苷对照品 6.46 mg,芦荟大黄素对照品 1.81 mg,大黄素甲醚对照品 3.21 mg,精密称定,置 25 mL 容量瓶中,加甲醇定容,摇匀,得混合对照品溶液。取样品内容物 10 粒,混匀,研细,取 0.2 g,精密称定,置 10 mL 容量瓶中,加入约 10 mL 70% 甲醇,超声(功率 300 W,频率 40 Hz)处理 30 min,降至常温后,加 70% 甲醇定容,摇匀,滤过,得供试品溶液。

2.3 方法学考察

按标准进行方法学考察,结果精密性、稳定性、重复性试验的 RSD 均小于 3%,表明仪器精密性、方法重复性均良好,供试品室温下放置 24 h 内稳定。

2.4 四波长融合指纹图谱分析

融合指纹图谱建立:取 11 批样品,依法制备 11 批供试品溶液,按拟订色谱条件进样测定,得 HPLC 图谱,导入中药色谱指纹图谱超信息特征数字化评价系统 4.0 版软件,得 HPLC 指纹图谱(见图 1)。以黄芩苷峰为参照物峰,确定 65 个共有峰,其中 5 号峰为没食子酸峰,12 号峰为绿原酸峰,37 号峰为黄芩苷峰,49 号峰为芦荟大黄素峰,64 号峰为 64 号峰为大黄素甲醚峰,按照平均值法生成对照指纹图谱(RFP),见图 1。

金卷升板胶囊质量评价:以生成的对照指纹图谱为标准,采用系统指纹定量法依次计算 11 批样品的宏定性相似度(S_m)、宏定量相似度(P_m)、均化系数(α)值,并

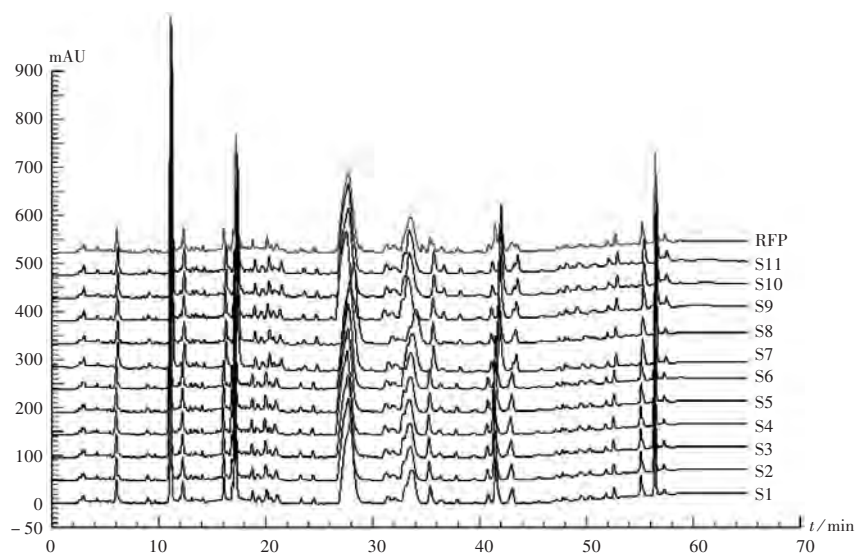


图 1 11 批金卷升板胶囊指纹图谱与对照指纹图谱(RFP)

表1 金卷升板胶囊指纹质量评价结果

样品	融合				254 nm				275 nm				330 nm				360 nm			
	S_m	P_m	α	等级	S_m	P_m	α	等级	S_m	P_m	α	等级	S_m	P_m	α	等级	S_m	P_m	α	等级
S1	0.950	84.8	0.048	IV	0.998	93.6	0.027	II	1.000	93.6	0.002	II	1.000	93.8	0.002	II	0.998	88.6	0.009	III
S2	0.826	86.2	0.034	IV	0.999	95.9	0.014	I	1.000	94.7	0.001	II	1.000	93.9	0.004	II	0.999	88.5	0.021	III
S3	0.823	86.6	0.026	IV	0.998	95.2	0.016	I	1.000	94.2	0.003	II	1.000	95.3	0.001	I	0.999	96.2	0.009	I
S4	0.776	83.2	0.064	V	0.999	99.0	0.011	I	1.000	95.6	0.014	I	0.999	97.5	0.003	I	0.999	99.8	0.013	I
S5	0.831	89.2	0.037	IV	0.998	102.7	0.045	I	1.000	95.6	0.026	I	1.000	97.8	0.009	I	0.999	97.4	0.007	I
S6	0.817	89.7	0.053	IV	0.999	100.1	0	I	1.000	97.8	0.024	I	1.000	99.7	0.007	I	0.999	96.9	0.005	I
S7	0.871	96.1	0.038	III	0.998	105.9	0.006	II	0.999	105.0	0.001	II	1.000	108.4	0.012	II	0.998	106.5	0.007	II
S8	0.872	82.2	0.057	IV	0.997	92.6	0.001	II	0.999	90.5	0.012	II	0.999	90.4	0.017	II	0.998	94.3	0.025	II
S9	0.823	96.5	0.039	IV	0.997	101.9	0.037	I	0.999	109.8	0.037	II	0.997	103.4	0.008	I	0.990	110.6	0.004	III
S10	0.855	98.9	0.050	III	0.994	105.0	0.011	II	0.999	110.1	0.001	III	0.999	111.2	0.027	III	0.997	113.3	0.013	III
S11	0.759	94.6	0.044	V	0.993	106.4	0.006	II	0.998	112.7	0.023	III	0.998	108.1	0.002	II	0.996	106.6	0.018	II

注:等级III为质量好,IV为质量良好,V为质量中等。

区分金卷升板胶囊归属的质量等级(见表1)。结果11批样品均为合格品。

两种指纹图谱质量评价结果比较:不同批次的金卷升板胶囊样品在融合后和4个单波长下分别建立对照指纹图谱,采用系统指纹定量法评价质量(见表1)。结果表明,指纹信号均化性与对照指纹图谱差异较小,但单波长处指纹信息的不全会导致质量等级评价一致性偏好,且区分度小,而综合了特征图谱的融合谱的质量等级除S10外,其余均有所下降,但能更好地区别不同样品的质量等级,使试验结果更客观真实。

3 讨论

3.1 样品提取方法选择

预试验比较了乙醇超声提取法、浸泡法和回流提取法对有效成分的影响,结果回流提取法和浸泡法的指纹图谱峰数量在4个检测波长处均少于超声提取法,且回流温度过高,浸泡时间过长均导致主要成分相对含量下降,部分成分被破坏和分解,故最终选择超声法进行提取。

3.2 样品提取溶剂选择

预试验中,比较了不同比例的甲醇、乙醇在超声条件下提取的结果,发现甲醇提取的供试品溶液的色谱峰及分离度均优于乙醇,因此采用甲醇进行提取。70%甲醇提取的样品在各个波长的主要成分色谱峰面积均大于30%甲醇、50%甲醇及80%甲醇,故选择70%甲醇作为提取溶剂。

3.3 融合指纹图谱检测波长确定

预试验中对组方有效成分进行全波长扫描,最终选取254,275,330,360 nm这4个特征波长处的色谱图进行融合。将11批样品在4个波长下的色谱信号分别导

入中药色谱指纹图谱超信息特征数字化评价系统4.0版软件^[7-9],以获取较好的相似度和合适的指纹峰为评价标准,选取软件计算的最大值在融合时间窗0.2 min时融合4个检测波长下的色谱图,得金卷升板胶囊各批次的融合指纹图谱。

综上所述,基于多波长融合技术的系统指纹定量法可为金卷升板胶囊的质量评价提供参考。

参考文献:

- [1] 刘清池,王淑珍,冯寿岐,等. 凉血解毒法治疗紫癜病崩漏30例疗效观察[J]. 河北中医,2014,36(11):1633-1634.
- [2] 刘清池,王淑珍,冯寿岐,等. 凉血解毒方药对原发免疫性血小板减少症患者外周血CD4⁺,CD25⁺调节性T细胞水平的影响[J]. 河北医药,2015,37(7):977-980.
- [3] LEE WH, KU SK, BAE JS, et al. Antiplatelet, anticoagulant, and profibrinolytic activities of baicalin[J]. Archives of Pharmacal Research,2015,38(5):893-903.
- [4] 彭纪铭,路娟,陈哲,等. 多波长检测UPLC法测定地锦草中鞣花酸等4种指标性成分的含量[J]. 药物分析杂志,2017,37(4):589-594.
- [5] 药雅俊,孔祥鹏,裴妙荣. 大黄酒石滴丸HPLC多波长指纹图谱及多成分含量测定[J]. 中国实验方剂学杂志,2016,22(6):30-33.
- [6] 邵礼梅,王云龙. 不同炮制方法的延胡索高效液相色谱指纹图谱研究[J]. 中国药业,2016,25(14):41-44.
- [7] 马迪迪,巩丹丹,孙国祥,等. 三波长融合指纹图谱结合6组分定量和主成分分析评价银翘解毒片的质量[J]. 色谱,2017,35(7):741-747.
- [8] 张玉静,孙万阳,孙国祥,等. 丹参四波长串联定量指纹图谱与抗氧化活性谱相关研究[J]. 中南药学,2017,15(6):723-729.
- [9] 王晓琼,李家琳. 高效液相乘方指纹图谱评价防风通圣丸质量[J]. 中成药,2014,36(5):1021-1025.

(收稿日期:2019-01-16)