

维吾尔药玫瑰花口服液的 高效液相色谱指纹图谱^①

阿吉姑·阿布都热西提^② 楚刚辉 徐云玲 买买提吐尔逊

(喀什师范学院生命与环境科学系 新疆喀什市阔纳乃则尔巴格路 463 号 844007)

摘要 建立玫瑰花口服液的 HPLC 指纹图谱, 更有效地控制该产品的质量。色谱柱: Agilent HC-C₁₈ (Analytical 4.6mm × 250mm, 5μm); 流动相: 0.5% 磷酸-甲醇, 梯度洗脱; 体积流量: 0.8mL/min; 运行时间: 40min; 柱温: 30°C; 进样量: 20μL; 检测波长: 268nm。确定了 15 个共有峰, 方法学考察表明, 本研究建立的分析方法有良好的重现性。本法稳定、简便、可靠, 为玫瑰花口服液的质量标准提供了较全面的信息。

关键词 玫瑰花口服液; 高效液相色谱; 指纹图谱; 质量控制

中图分类号: O657.7⁺2

文献标识码: A

文章编号: 1004-8138(2011)05-2728-05

1 引言

玫瑰花口服液源于维吾尔医典名著《卡热巴丁卡德尔》成药总库, 其以补益心脑、镇静安神、消肿止痛, 经过长期的临床应用治疗心血管疾病方面取得了可喜的疗效^[1,2]。质量控制是中药现代化的第一步, 指纹图谱是目前国内外广泛接受的一种药材质量评价模式^[3,4]。HPLC 指纹图谱具有分效率高、分析速度快等优点^[5-7], 已被广泛用于中成药口服液的质量控制^[8-10]。本文应用 HPLC 技术, 研究并建立玫瑰花口服液的指纹图谱, 并对不同批号的玫瑰花口服液进行对比为其临床用药安全和中药质量控制提供科学依据。

2 实验部分

2.1 仪器与材料

岛津 LC-20AT 型高效液相色谱仪(日本岛津公司); DGU-20A5 在线脱气机, SPD-M 20A 二极管阵列检测器, LC-20AT 四元泵, CTO-10AS 柱温箱; TU-1900 型双波长紫外可见分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司)。

乙醇(分析纯, 天津市风船化学试剂科技有限公司); 甲醇(色谱纯, 天津市光复精细化工研究所), 磷酸(分析纯, 上海和逸化学试剂有限公司)。

玫瑰花口服液(喀什昆仑维吾尔药业股份有限公司, 共有 12 批样品, 见表 1)。实验用水为超纯水。

表 1 玫瑰花口服液的不同批号

样品编号	批号	样品编号	批号	样品编号	批号	样品编号	批号
S1	20080301	S4	20080308	S7	20100531	S10	20080209
S2	20080208	S5	20090511	S8	20090508	S11	20080105
S3	20080108	S6	20080407	S9	20090507	S12	20080302

① 新疆维吾尔自治区教育厅青年基金项目(XJEDU2009S86)

② 联系人, 手机: (0) 13899134025; 电话: (0998) 2581090; 传真: (0998) 2893543; E-mail: aji_228@163.com

作者简介: 阿吉姑·阿布都热西提(1982—), 女(维吾尔族), 新疆喀什市人, 讲师, 硕士, 主要从事中药民族药的开发与研究。

收稿日期: 2011-08-18; 接受日期: 2011-08-30

2.2 供试品溶液的制备

取玫瑰花口服液 5mL, 置 10mL 容量瓶中, 摇匀, 用 60% 甲醇稀释至刻度, 用 0.45 μ m 滤膜过滤, 取续滤液, 即得。

2.3 色谱条件

色谱柱为 Agilent HC-C₁₈ (Analytical 4.6mm \times 250mm, 5 μ m); 流动相: A(0.5% 磷酸)-B(甲醇), 梯度洗脱, 0—10min(18%—40% B), 10—20min(40%—45% B), 20—35min(45%—50% B), 35—40min(50%—80% B); 体积流量: 0.8mL/min; 运行时间: 40min; 柱温: 30 $^{\circ}$ C; 进样量: 20 μ L; 检测波长: 268nm。

3 结果与讨论

3.1 色谱条件的选择

3.1.1 流动相的选择

本实验曾以乙腈-水、甲醇-水、甲醇-0.5% 磷酸作为流动相进行试验, 结果表明以甲醇-0.5% 磷酸线性梯度洗脱为最佳, 谱图上各色谱峰分离度较好, 保留时间适中, 峰形好, 因此该洗脱系统作为玫瑰花口服液的 HPLC 指纹图谱的流动相。实验中记录了 2h 色谱图, 发现 40min 后色谱峰未出现, 故确定运行时间为 40min。

3.1.2 检测波长的选择

本实验将样品供试液比较了 190—400nm 波长下的色谱图, 结果在 268nm 测定的信息量最多, 特征最为明显, 图谱中的各指纹峰信号强, 分离效果较好。因此该波长作为检测波长。

3.2 方法学考察

3.2.1 精密度实验

取同一供试品溶液, 连续进样 6 次, 检测指纹图谱。测得其共有峰相对保留时间和相对峰面积的 RSD 分别为 0.38%—1.06% 和 1.38%—6.07%, 表明方法精密度良好。

3.2.2 稳定性实验

取同一供试品溶液, 分别在 0、2、4、8、12、16、24h 进样。测得其共有峰相对保留时间和相对峰面积的 RSD 分别为 0—1.29% 和 1.84%—7.26%, 表明样品溶液在 24h 内稳定。

3.2.3 重复性实验

取同一供试品溶液 6 份, 分别进样, 测得其共有峰相对保留时间和相对峰面积的 RSD 分别为 0.32%—3.17% 和 1.69%—8.44%, 表明方法重复性良好。

3.3 玫瑰花口服液指纹图谱的建立及相似度分析

3.3.1 指纹图谱的建立

按 2.2 项下方法制备玫瑰花口服液的供试品溶液, 在 2.3 项下的色谱条件下, 取 20 μ L 进样检测, 得到样品高效液相色谱指纹图谱, 见图 1。

3.3.2 共有峰的标定

把 12 批玫瑰花口服液色谱数据导入中药色谱指纹图谱相似度评价系统(国家药典委员会, 2004A 版)软件, 对保留时间 0—40min 的色谱峰进行多点校正后, 自动匹配, 生成口服液对照指纹图谱, 见图 2, 共标定 15 个共有峰。

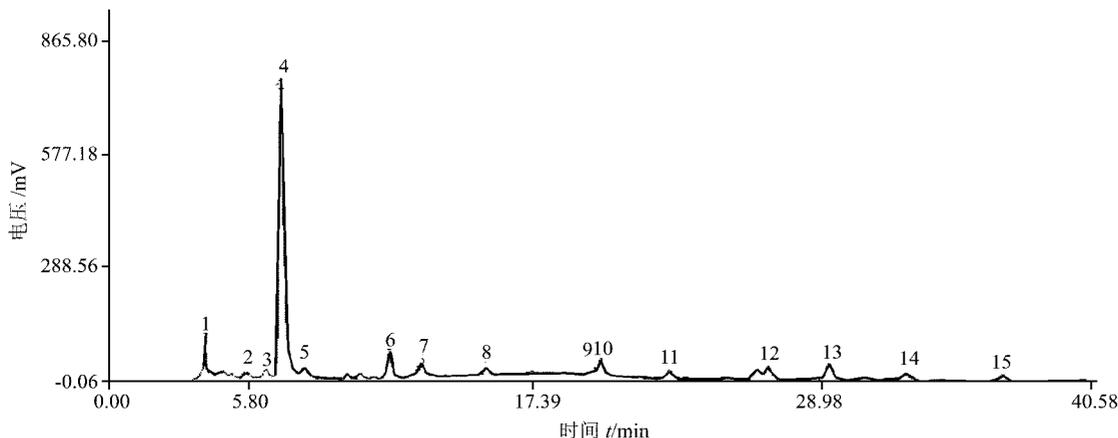


图 1 玫瑰花口服液样品的色谱图

从图 2 中可以看到各个图谱所表现的峰形大致相同又有所不同,尤其是第 15 号峰在有的批号中不太明显,体现了指纹图谱整体性和模糊性的特点。在 s1—s12 的样品色谱图中,第 4 号峰保留时间和峰面积均较其他峰相对稳定,故选定第 4 号峰为参照峰,计算各共有指纹峰相对于参比峰的相对保留时间和相对峰面积的比值,结果见表 2。

表 2 玫瑰花口服液指纹图谱中共有峰的相对峰面积及相对保留时间

峰号	α	相对峰面积												A_v	RSD (%)
		S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12		
1	0.550	0.376	0.035	0.027	0.030	0.027	0.044	0.034	0.023	0.057	0.057	0.053	0.054	0.068	1.433
2	0.795	0.062	0.045	0.032	0.039	0.027	0.038	0.021	0.022	0.041	0.041	0.035	0.036	0.037	0.299
3	0.911	0.071	0.052	0.039	0.046	0.038	0.048	0.030	0.036	0.052	0.052	0.042	0.048	0.046	0.225
4	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.000
5	1.132	0.110	0.140	0.049	0.034	0.013	0.037	0.010	0.003	0.030	0.030	0.030	0.035	0.043	0.940
6	1.636	0.097	0.083	0.049	0.053	0.049	0.051	0.019	0.034	0.055	0.055	0.051	0.052	0.054	0.366
7	1.829	0.077	0.078	0.050	0.050	0.041	0.050	0.021	0.032	0.051	0.051	0.051	0.047	0.050	0.317
8	2.198	0.030	0.021	0.010	0.014	0.074	0.012	0.018	0.012	0.015	0.015	0.012	0.012	0.020	0.875
9	2.814	0.037	0.038	0.027	0.023	0.044	0.029	0.060	0.054	0.023	0.023	0.029	0.028	0.035	0.359
10	2.865	0.057	0.058	0.039	0.033	0.051	0.040	0.065	0.060	0.033	0.033	0.040	0.039	0.046	0.259
11	3.272	0.035	0.035	0.021	0.019	0.031	0.021	0.037	0.044	0.019	0.019	0.023	0.023	0.027	0.319
12	3.852	0.035	0.044	0.029	0.024	0.052	0.024	0.069	0.059	0.024	0.024	0.032	0.030	0.037	0.416
13	4.208	0.076	0.127	0.080	0.027	0.018	0.101	0.080	0.060	0.018	0.018	0.086	0.089	0.065	0.563
14	4.656	0.026	0.031	0.023	0.018	0.040	0.025	0.057	0.054	0.018	0.018	0.024	0.023	0.030	0.457
15	5.217	0.000	0.001	0.002	0.003	0.074	0.003	0.129	0.243	0.009	0.009	0.007	0.004	0.040	1.858

注: α ——平均相对保留时间; A_v ——相对峰面积的平均值。

由表 2 可知,在 12 批样品的 15 个共有峰中,它们的相对峰面积的 RSD 在 0—1.858% 之间,均小于 2%,共有峰相对保留时间介于 0.550—5.217 之间,说明 12 批样品的 15 个共有峰信号波动较小,均较为稳定。

3.3.3 图谱相似度评价

应用中药色谱指纹图谱相似度评价系统软件分析各批次样品指纹图谱的相似度,结果见表 3。从表 3 可知,12 个不同批次样品的指纹图谱与对照图谱之间的相似度在 0.900—0.992 范围内, S7、S8 与其他样品之间的相似度差值在 0.823—0.944,而其他各样品间的相似度大于 0.902,所以本次实验采用的 12 批玫瑰花口服液的质量较稳定,都具有较好的一致性。

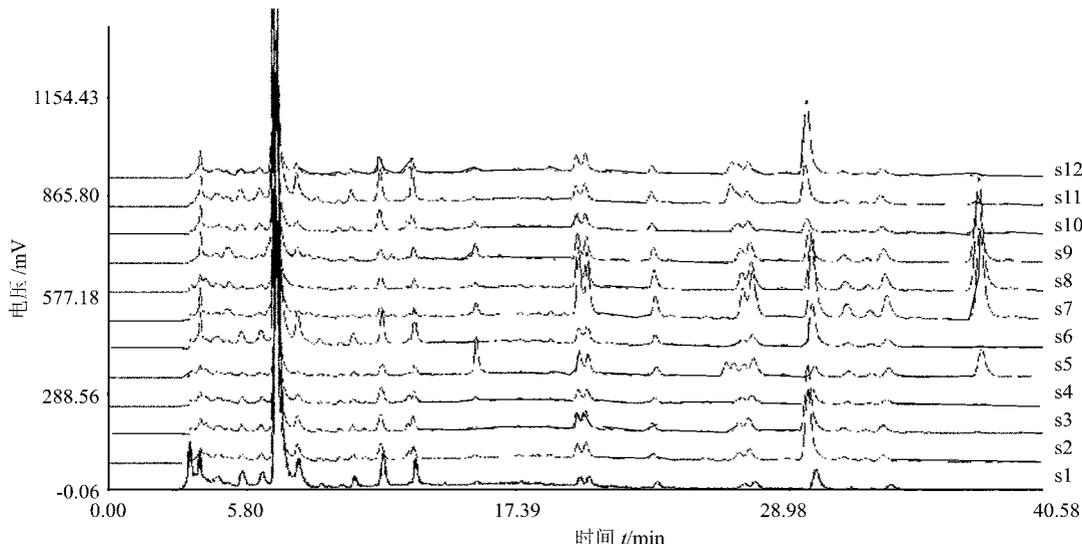


图 2 12 批玫瑰花口服液 HPLC 指纹图谱

表 3 玫瑰花口服液相似度的测定结果

编号	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	R
S1	1.000	0.946	0.950	0.978	0.933	0.977	0.890	0.838	0.932	0.968	0.975	0.941	0.975
S2	0.946	1.000	0.999	0.960	0.908	0.960	0.876	0.826	0.927	0.965	0.980	0.993	0.977
S3	0.950	0.999	1.000	0.963	0.911	0.963	0.880	0.829	0.931	0.971	0.984	0.995	0.980
S4	0.978	0.960	0.963	1.000	0.950	0.996	0.933	0.875	0.954	0.972	0.984	0.953	0.992
S5	0.933	0.908	0.911	0.950	1.000	0.936	0.943	0.918	0.903	0.927	0.930	0.905	0.957
S6	0.977	0.960	0.963	0.996	0.936	1.000	0.929	0.870	0.956	0.966	0.987	0.954	0.991
S7	0.890	0.876	0.880	0.933	0.943	0.929	1.000	0.976	0.895	0.884	0.897	0.874	0.944
S8	0.838	0.826	0.829	0.875	0.918	0.870	0.976	1.000	0.836	0.833	0.845	0.823	0.900
S9	0.932	0.927	0.931	0.954	0.903	0.956	0.895	0.836	1.000	0.945	0.948	0.927	0.961
S10	0.968	0.965	0.971	0.972	0.927	0.966	0.884	0.833	0.945	1.000	0.977	0.969	0.978
S11	0.975	0.980	0.984	0.984	0.930	0.987	0.897	0.845	0.948	0.977	1.000	0.980	0.990
S12	0.941	0.993	0.995	0.953	0.905	0.954	0.874	0.823	0.927	0.969	0.980	1.000	0.974
R	0.975	0.977	0.980	0.992	0.957	0.991	0.944	0.900	0.961	0.978	0.990	0.974	1.000

注: R——对照指纹图谱。

4 结论

研究采用 HPLC, 通过对 12 个批次口服液样品的指纹图谱分析, 比较了不同批次产品之间的差异。结果表明, 玫瑰花口服液的 HPLC 指纹图谱预处理方法简单, 测定后峰的分离度较好, 各个峰的相对保留时间和相对峰面积的 RSD 均较小, 样品和对照以及样品间的相似度较高, 说明样品在一段时间里质量比较稳定。

本方法未采用外加内标或外标物为参照物, 而是以样品 HPLC 特征图谱中出峰时间稳定, 面积最大的某个峰为参照物建立特征共有峰群。尽管尚不能确定该参照峰为何种化学成分, 但以此建立的特征峰群特征性强, 稳定性好, 可用于玫瑰花口服液的质量评价。

参考文献

[1] 热比亚·阿布力米提, 沙吉旦·斯拉木. 维吾尔药玫瑰花口服液结合西药治疗 44 例心血管疾病的疗效观察[J]. 中国民族医药

杂志, 2006, (1): 14.

- [2] 伊德力斯·巴克. 中华人民共和国卫生部药品标准: 维吾尔药分册[M]. 乌鲁木齐: 新疆科技卫生出版社, 1998. 152.
- [3] 罗国安, 梁琼麟, 王义明. 中药指纹图谱——质量评价、质量控制与新药研发[M]. 北京: 化学工业出版社, 2009. 12.
- [4] Urbano Cuadrado M, Luque de Castro M D, Gomez-Nieto M A. Study of Spectral Analytical Data Using Fingerprints and Scaled Similarity Measurements[J]. *Anal. Bioanal. Chem.*, 2005, **381**(4): 953—963.
- [5] Abourashed E A, Vanderplank J R, Khan I A. High-Speed Extraction and HPLC Fingerprinting of Medicinal Plants—I. Application to Passiflora Flavonoids[J]. *Pharmaceutical Biology*, 2002, **40**(2): 81—91.
- [6] 王嗣雷, 朱青芝. 中药指纹图谱研究现状及应用进展[J]. 卫生职业教育, 2006, **24**(15): 153—155.
- [7] Chen C, Zhang H, Xiao W *et al.* High-Performance Liquid Chromatographic Fingerprint Analysis for Different Origins of Aea Buckthorn Berries[J]. *Chromatography A*, 2007, (1154): 250—259.
- [8] 董静, 贾凌云, 孙启时. 复方红景天口服液的指纹图谱测定方法研究[J]. 时珍国医国药, 2008, **19**(7): 1717—1718.
- [9] 赵晓莉, 张新庄, 狄留庆等. 小儿金宁口服液的 HPLC 指纹图谱研究[J]. 中国药房, 2010, **21**(43): 4086—4088.
- [10] 夏鹏霄, 杨瀚春, 袁洪泽等. 康力宝口服液的 HPLC 指纹图谱研究[J]. 西北药学杂志, 2007, **22**(1): 5—6.

HPLC Fingerprint of Rose Oral Liquid for Uigur Medicine

AJIGU Abudu-Rexiti CHU Gang-Hui XU Yun-Ling MAIMAITI Tu'erxun
(Department of Bio-Chemistry, Kashgar Teachers' College, Kashgar, Xinjiang 844007, P. R. China)

Abstract The HPLC fingerprint of rose oral liquid was established, and the quality of the product was effectively controlled. The HPLC analysis was performed on Agilent HC-C₁₈(Analytical 4.6mm × 250mm, 5μm) and 0.5% phosphoric acid-methanol as mobile phase at flow rate of 0.8 mL/min for gradient elution, and performance period was 40min, and column temperature was 30°C, and the sample size was 20μL, and the detection wavelength was 268nm. There were 15 common peaks in the HPLC fingerprints of rose oral liquid. This method had good repeatability. This chromatographic fingerprint method is steady, simple and reliable, and that can provide the comprehensive information for quality level of rose oral liquid.

Key words Rose Oral Liquid; HPLC; Fingerprint; Quality Control

这真是令人啼笑皆非
——由重大发明写成的论文被判为“没有发表价值”

欢迎作者将被他刊拒绝的佳作再投本刊

在物理学的科技成就中, 激光可算是仅次于核能的 1 项重大发明创造。第 1 台激光器是 1960 年由美国物理学家梅曼(见本刊《邮票上的科学家——佼佼者之路》一书中之 M4)发明的。然而《物理评论快报》却拒绝刊登梅曼的论文, 理由是: 这是微波激光物理方面的文章, 对快速出版物不再有价值。这真是令人啼笑皆非!

接着, 梅曼将论文寄到了英国《自然》杂志, 这篇 300 字的简短文章立即被接受。发表后引起全世界轰动。后来, 梅曼被列入美国发明家名人堂。

为了吸取历史教训, 本刊收到的论文, 即使其观点与审稿人有尖锐的意见冲突, 只要是言之有理, 也给予发表。因为“仁者见之谓之仁, 智者见之谓之智”(《周易·系辞上》), 不同人从不同角度看问题, 难免不同。我们欢迎作者将被他刊判为“没有发表价值”的佳作, 再投本刊。

繁荣学术交流事业, 需要“宽容”精神!

光谱实验室编辑部