

文章编号: 1006-2858(2006) 04-0233-04

# 苦碟子注射液毛细管电泳指纹图谱

孙国祥, 董玉霞, 慕善学, 孙毓庆  
(沈阳药科大学 药学院, 辽宁 沈阳 110016)

**摘要:** 目的 建立苦碟子注射液的毛细管电泳指纹图谱(CEFP), 为苦碟子注射液的质量控制提供新方法。方法 采用高效毛细管电泳法, 紫外检测波长 242 nm, 电压为 12.5 kV, 以硼砂( $75 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ , 调 pH 值为 9.52) 为背景电解质进行指纹图谱研究。结果 建立了苦碟子注射液 CEFP, 以腺苷峰为参照物峰, 确定了 24 个共有峰, 测定 11 批苦碟子注射液 CEFP 与共有模式间具有良好的相似性, 以相似度和色谱指纹图谱信息量指数对其进行评价。结论 所建立的 CEFP 具有较好的精密度和重现性, 对苦碟子注射液的质量控制提供了新方法。

**关键词:** 毛细管电泳; 指纹图谱; 苦碟子注射液; 指纹图谱信息量指数  $I$ ; 指纹图谱相对指数  $I_r$   
**中图分类号:** O 658 **文献标识码:** A

苦碟子注射液(*Ixeris sonchifolia* Hance injection)<sup>[1]</sup> 是以苦碟子即抱茎苦蕒菜为原料, 经现代工艺提取精制而成。苦碟子为菊科植物抱茎苦蕒菜(*Ixeris sonchifolia* (Bunge) Hance) 的当年生干枯全草, 有活血止痛、清热祛瘀之功效, 也具有镇痛、镇静作用, 临床上用于治疗冠心病、脑梗塞等疾病, 疗效显著<sup>[2]</sup>。苦碟子注射液的主要成分为黄酮类, 文献中有 HPLC-MS 法测定苦碟子注射液中腺苷含量的报道<sup>[3]</sup>, 未见有毛细管电泳指纹图谱方面的研究。作者以毛细管区带电泳法对苦碟子注射液进行了指纹图谱初步研究, 结果具有较好的重现性, 对苦碟子注射液的质量控制提供了一种新的参考方法。

## 1 仪器与试剂

大连江申 HPCE-10 高效毛细管电泳仪(大连江申分离科学技术公司), 自制重力进样器, HS2060 超声波清洗器(HENGAO T&D), 江申色谱工作站(大连江申分离科学技术公司)。分析纯硼砂(沈阳化学试剂厂), 腺苷、氯原酸、咖啡酸对照品(中国药品生物制品检定所), 苦碟子注射液为市售品。

## 2 方法与结果

### 2.1 对照品溶液制备

精密称取腺苷对照品 8.0 mg, 置 25 mL 量瓶

中, 加甲醇定容至刻度, 摇匀, 即得。

### 2.2 样品供试液的制备

精密量取苦碟子注射液 20 mL, 加热(减压)浓缩至 5.0 mL, 作供试液。

### 2.3 电泳条件

石英毛细管 65 cm × 75 μm. I. D., 有效长度 50 cm (河北永年光导纤维厂); 紫外检测波长 242 nm; 灵敏度 0.002 AUFS; 运行电压 12.5 kV; 背景电解质(BGE) 为  $75 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  硼砂(调 pH 值为 9.52); 电流约 135 mA; 重力进样 15 s (高度 8.5 cm); 每次进样前用 BGE 加压冲洗毛细管柱 5 min, 并运行 5 min。

分别以 50、75、100  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  硼砂溶液和 100  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$   $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  溶液作 BGE 分析样品, 结果用  $75 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  硼砂分离时效果较好, 但不能完全分离; 调 BGE pH 9.52 时分离效果明显改善, 因此 BGE 选择  $75 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  硼砂(pH 9.52)。之后, 考察分离电压为 9、10、11、12.5、14 kV 时分离情况, 以 12.5 kV 时分离效果最佳。本文考察了在 208 nm、228 nm 和 242 nm 测定苦碟子注射液的 CEFP, 但以 242 nm 时, 各指纹峰的信号较强, 且信号大小的分布比较均匀, 因此选择 242 nm 作检测波长。

### 2.4 苦碟子注射液毛细管电泳指纹图谱(CEFP)的建立

#### 2.4.1 系统适用性试验和参照物峰的选择

收稿日期: 2005-04-01

作者简介: 孙国祥(1962-), 男(汉族), 辽宁凌源人, 副教授, 硕士生导师, 主要从事毛细管电泳在药物分析中的应用研究和中药指纹图谱方法学研究, Tel. 024-23986286, E-mail gxswmws@163.com。

分别将  $320 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  腺苷对照品溶液和样品供试液在毛细管电泳仪上重力进样 15 s (高度 8.5 cm), 记录电泳图见图 1, 对比迁移时间可知 18 号峰为腺苷。在样品供试液中加入对照品溶

液, 进样, 记录电泳图, 结果电泳峰增益证明上述结论正确。测得腺苷峰的理论塔板数为 5346。由于峰 18(腺苷峰)与相邻组分分离良好, 其峰面积及迁移时间适中, 因此选作参照物峰。

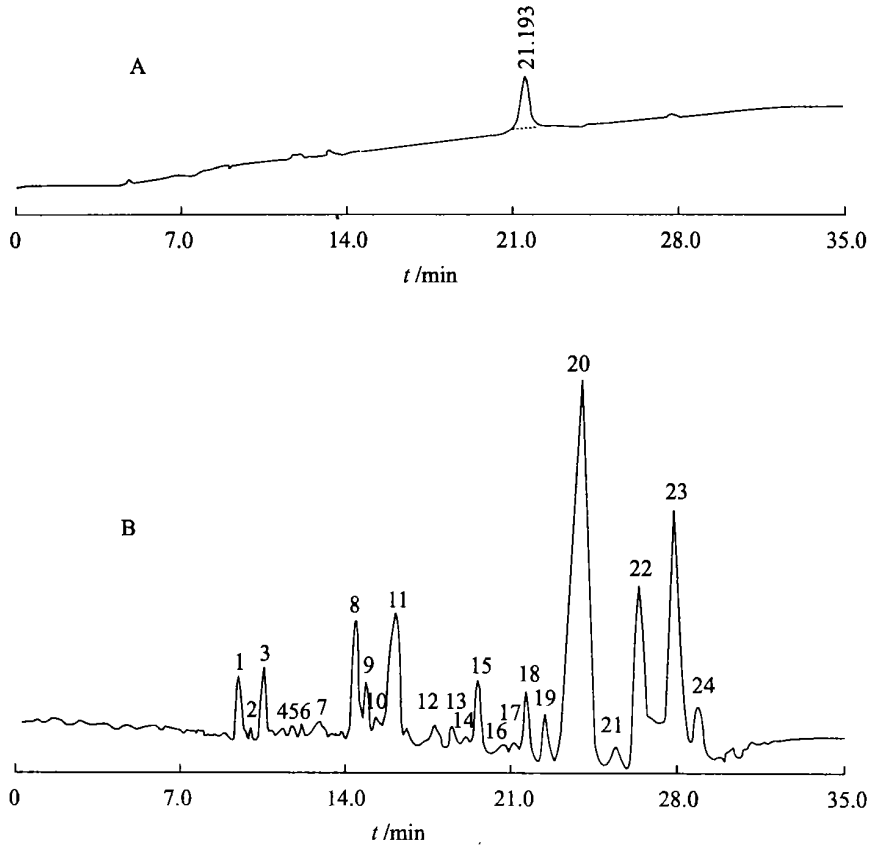


Fig. 1 Electropherograms of adenosine (A) and *Ilexis sonchifolia* Hance injection (B)

2.4.2 共有指纹峰的确定和标准 CEFP 的建立

将 12 批苦碟子注射液的供试液各进样分析 2 次, 记录电泳图, 以相对平均迁移时间和相对平均峰面积标定其指纹特征。通过对 12 批苦碟子注射液 CEFP 的比较研究, 按各电泳峰的共有率  $f_i \geq 70\%$  作为选择 CE 指纹峰的依据<sup>[4]</sup>, 确定苦

碟子注射液中共有指纹峰为 24 个, 见图 1。舍弃与其他差异很大的 1 个批号; 取剩下 11 批供试液所得的迁移时间、相对迁移时间 (RT)、峰面积和相对峰面积 (RA) 标定苦碟子注射液 CEFP, 结果见表 1。计算不同批次供试品与对照 CEFP 的相似度结果见表 2, 其值均大于 0.99。

Table 1 The data of fingerprints in the standard CEFP for *Ilexis sonchifolia* Hance injection

No.	t/min	A/( $\mu\text{V} \cdot \text{s}$ )	RT	RA	No.	t/min	A/( $\mu\text{V} \cdot \text{s}$ )	RT	RA
1	8.95	$3.21 \times 10^4$	0.44	0.73	13	17.23	$1.18 \times 10^4$	0.85	0.27
2	9.45	$6.84 \times 10^3$	0.47	0.16	14	17.87	$1.45 \times 10^4$	0.88	0.31
3	9.95	$3.22 \times 10^4$	0.49	0.73	15	18.20	$3.20 \times 10^4$	0.90	0.74
4	10.73	$4.26 \times 10^3$	0.53	0.10	16	19.27	$5.28 \times 10^3$	0.95	0.12
5	11.04	$5.07 \times 10^3$	0.55	0.12	17	19.76	$9.88 \times 10^3$	0.97	0.21
6	11.43	$4.45 \times 10^3$	0.57	0.10	18(S)	20.24	$4.07 \times 10^4$	1.00	0.93
7	12.28	$1.56 \times 10^4$	0.61	0.35	19	21.16	$9.22 \times 10^4$	1.04	0.69
8	13.62	$5.71 \times 10^4$	0.67	1.31	20	22.38	$6.97 \times 10^5$	1.10	17.26
9	14.03	$2.49 \times 10^4$	0.69	0.57	21	23.77	$1.64 \times 10^4$	1.17	0.37
10	14.40	$4.59 \times 10^3$	0.71	0.10	22	24.81	$1.55 \times 10^5$	1.22	3.52
11	15.14	$1.33 \times 10^5$	0.75	3.04	23	26.11	$2.48 \times 10^5$	1.29	5.59
12	16.60	$1.70 \times 10^4$	0.82	0.38	24	27.02	$5.94 \times 10^4$	1.33	1.40

2.4.3 精密度试验

将测定对照 CEFP 的供试液连续进样 5 次, 记录电泳图, 结果各指纹峰的相对迁移时间的 RSD 均小于 4.4%, 相对峰面积除 9、10 号峰变动超过 11%, 其余不大于 6.3%, 考虑到毛细管电泳仪器的重现, 进样精密度基本合格。

2.4.4 样品稳定性试验

取测定对照 CEFP 的供试液, 分别在制备样品后 0、3.5、7.5、12、16、20 h 进样测定, 记录电泳图。结果各峰的相对迁移时间的 RSD 小于 5.0%, 相对峰面积的 RSD 在 3.1% ~ 12.0% 之间, 表明样品在 20 h 内基本稳定。

2.4.5 重现性试验

按“1.2.2”条平行制备 5 份供试液, 进样测定, 并记录指纹图谱。以第 18 号峰为参照物峰, 计算 24 个共有峰相对峰面积的 RSD 值除 9 号峰为 9.1%, 10 号峰为 11.3%, 17 号峰为 9.3%, 其余不大于 5.0%, 基本符合指纹图谱要求。

2.5 用色谱指纹图谱信息量指数和相对信息量指数评价苦碟子注射液 CEFP

根据信息量理论, 色谱峰熵值  $S_i = -p_i \ln p_i \dots(1)$ , 指纹图谱总熵值  $S = -\sum_{i=1}^n p_i \ln p_i \dots(2)$ ,  $p_i$  为色谱峰面积归一化值,  $S$  代表指纹图谱信息量大小, 越大越好。将  $n$  个峰作谷

积分, 则构造  $R = \prod_{i=1}^n A_i^S = A_1^{-p_1 \ln p_1} \cdot A_2^{-p_2 \ln p_2} \cdot A_n^{-p_n \ln p_n} \dots(3)$ , 两端取自然对数得  $I = \ln R = -$

$\sum_{i=1}^n p_i \ln p_i \ln A_i \dots(4)$ , 显然  $I$  是单峰信息量与峰面积自然对数乘积的总和, 它既揭示了指纹图谱总信息量、反映指纹图谱总信号大小, 又揭示只有在各指纹峰面积相等时获得最大值(即信号的平均化程度), 因此  $I$  是代表指纹信号大小、信号均匀化程度和信息量多少的指数, 称之为色谱指纹图谱信息量指数。假设理想 FP 的时间为 50 min, 实际时间为  $t$ ,  $t$  越小表明时间效率越高。因此考察由 1 mg 中药材(或制剂)提取物进样后获得的  $I$  值, 有助于了解样品提取信息的丰富程度和中药中化学成分含量大小, 则得到色谱指纹图谱相对信息量指数  $I_r$ :

由 1 mg 中药材(或制剂)提取物进样后获得的  $I$  值, 有助于了解样品提取信息的丰富程度和中药中化学成分含量大小, 则得到色谱指纹图谱相对信息量指数  $I_r$ :

$$I_r = \frac{50I}{Qt} = \frac{-50 \sum_{i=1}^n p_i \ln p_i \ln A_i}{Qt} \quad (5)$$

$n$  为指纹峰总数,  $p_i$  为峰面积归一化值,  $A_i$  为以谷谷积分获得的峰面积,  $Q$  为与一次进样量相当的原生药材(或制剂)质量(mg),  $t$  为最后一个指纹峰出峰时间(min)。测定苦碟子注射液的  $I$  和  $I_r$  结果见表 2。根据实验结果,  $I$  和  $I_r$  值应分别不低于 22 和 7000, 否则为不合格产品。

Table 2 The evaluation results of the 11 batches of *Ixeris sonchifolia* Hance injection

No.	Similarity	$\beta$	$\gamma$	$t$	$A_0$	$A$	$P/\%$	$S$	$I$	$F$	$Fr$	$I_r$
1	0.995	0.913	0.428	33.0	$1.8 \times 10^4$	$5.8 \times 10^4$	80.9	2.07	23.2	39.9	12 102	7 030
2	0.995	0.913	0.411	30.3	$2.1 \times 10^4$	$7.8 \times 10^4$	108.0	1.96	22.7	39.0	12 860	7 488
3	0.996	0.913	0.418	26.6	$2.1 \times 10^4$	$7.3 \times 10^4$	100.7	2.02	23.1	39.7	14 920	8 685
4	0.995	0.913	0.412	27.8	$1.7 \times 10^4$	$6.7 \times 10^4$	93.3	1.97	22.5	38.3	13 770	8 107
5	0.995	0.913	0.412	23.1	$1.7 \times 10^4$	$6.7 \times 10^4$	93.3	1.97	22.5	38.3	16 571	9 757
6	0.996	0.913	0.433	26.3	$2.6 \times 10^4$	$8.0 \times 10^4$	111.3	2.10	24.2	41.9	15 947	9 198
7	0.995	0.913	0.428	23.0	$2.1 \times 10^4$	$6.5 \times 10^4$	90.8	2.08	23.6	40.6	17 641	10 247
8	0.994	0.913	0.421	29.0	$2.2 \times 10^4$	$7.7 \times 10^4$	107.4	2.02	23.3	40.0	13 797	8 044
9	0.996	0.913	0.429	26.5	$2.3 \times 10^4$	$7.3 \times 10^4$	100.7	2.06	23.6	40.9	15 443	8 907
10	0.996	0.913	0.421	26.0	$2.5 \times 10^4$	$7.9 \times 10^4$	109.1	2.04	23.5	40.5	15 588	9 046
11	0.993	0.913	0.405	25.4	$2.3 \times 10^4$	$7.5 \times 10^4$	104.5	1.99	22.8	38.7	15 255	8 986
12	0.853	0.865	0.358	32.4	$1.3 \times 10^4$	$2.5 \times 10^4$	76.3	1.81	17.6	30.6	11 045	6 353

2.6 用色谱指纹图谱指数和相对指数评价苦碟子注射液 CEFP

按文献[5]方法, 表 2 给出了苦碟子注射液 CEFP 中 24 个指纹峰信号均化系数  $\gamma > 0.40$ , 苦

碟子注射液的色谱指纹图谱指数  $F > 38$  和相对指数  $Fr > 12 000$ ; 信息量指数  $I > 22$  和相对信息量指数  $I_r > 7 000$ , 显然第 12 批为不合格数据。  $A_0, A$  分别是 24 个指纹峰面积几何平均值和算

术平均值,  $\beta$  是指纹图谱中基线分离峰对儿数与总峰对儿数比值,  $P\%$  是单批注射液指纹峰总面积与对照 CEFP 总峰面积的百分比。根据表 2 可知每批苦碟子注射液 CEFP 的  $I$  与  $F$ ,  $I_r$  与  $F_r$  的比值均是 0.58, 说明信息量指数与色谱指纹图谱指数的变化趋势是一致的, 前者的计算比后者简便, 侧重于反映指纹图谱的信息量; 后者侧重于反映指纹图谱分离情况和指纹信号的大, 它们都能相对评价指纹图谱的优劣。

### 3 讨论

作者用毛细管区带电泳法对苦碟子注射液进行了指纹图谱研究, 首次用色指纹图谱信息量指数  $I$  和  $I_r$  评价苦碟子注射液 CEFP 的优劣, 它既能揭示指纹图谱总信息量、反映指纹图谱总信号大小, 又能揭示指纹信号均化程度, 因此  $I$  是代表指纹信号大小、信号均匀化程度和信息量多少的指数。本文同时用色谱指纹图谱指数  $F$  和相对指数  $F_r$  评价苦碟子注射液 CEFP, 旨在检验色

谱指纹图谱信息量指数评价结果是否可行, 结果二者尽管数值不同, 但变化趋势是一致的, 即证明信息量指数可用于指纹图谱优劣的评价,  $I$  和  $I_r$  也可用于其他色谱指纹图谱的评价。本文建立的苦碟子 CEFP, 可为苦碟子注射液的质量控制提供有益参考。

#### 参考文献:

- [1] 国家药品监督管理局.《国家中成药标准汇编》地标升国标内科心系分册 [S]: 2002. 492.
- [2] 任风芝, 栾新慧. 苦蕒菜属植物化学成分和药理活性研究进展 [J]. 广州化工, 2000, 4: 131- 133.
- [3] 邓意辉, 刘丹, 吴琼, 等. 苦碟子注射液中腺苷的含量测定 [J]. 沈阳药科大学学报, 2003, 20: 431- 434.
- [4] 孙国祥, 万月生, 孙毓庆. 射干的毛细管电泳指纹图谱研究 [J]. 色谱, 2004, 22(3): 206- 209.
- [5] 孙国祥, 刘晓玲, 邓湘昱, 等. 色谱指纹图谱指数  $F$  和相对指数  $F_r$  的研究 [J]. 药学学报, 2004, 39(11): 921- 924.

## Fingerprint of *Ixeris sonchifolia* Hance injection by CE

SUN Guo xiang, DONG Yu xia, MU Shan xue, SUN Yu qing

(School of Pharmacy, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China)

**Abstract: Objective** To establish the capillary electrophoresis fingerprints (CEFP) of *Ixeris sonchifolia* Hance injection and to evaluate its quality. **Methods** The fingerprints of *Ixeris sonchifolia* Hance injection was determined by CE. The detection wavelength was set at 242 nm with voltage of 12.5 kV, 75 mmol·L<sup>-1</sup>, sodium borate solution (adjusted pH 9.52) was used as background electrolyte. **Results** Twenty-four co-existing peaks were selected as the fingerprints of *Ixeris sonchifolia* Hance injection and adenosine were selected as the reference peak. There existed good similarities between the standard CEFP and each CEFP of the eleven different batches. The fingerprints information index were first used to evaluated the CEFP. **Conclusions** The CEFP has good precision, reproducibility and stability, which can be useful in the quality control of *Ixeris sonchifolia* Hance injection.

**Key words:** CE; fingerprints; *Ixeris sonchifolia* Hance injection; chromatographic fingerprint information index ( $I$ ); chromatographic fingerprint relative information index ( $I_r$ )