

小儿扶脾颗粒指纹图谱研究

管志美¹, 彭艳梅², 龚年春², 谭电波²

(1. 湖南省药品审评认证与不良反应监测中心, 湖南 长沙, 410013;

2. 湖南省中医药研究院中药研究所, 湖南 长沙, 410013)

[摘要] 目的: 建立湖南时代阳光药业股份有限公司小儿扶脾颗粒的高效液相色谱法(HPLC)指纹图谱分析方法。方法: 采用反相高效液相色谱法, Ultimate - XB C₁₈ 色谱柱(4.6mm×250mm, 5μm), 乙腈-0.1%磷酸溶液梯度洗脱, 柱温30℃, 检测波长330nm。结果: 以橙皮苷为参照峰, 建立了小儿扶脾颗粒 HPLC 指纹图谱, 确立了12个共有峰, 10批样品之间的共有峰相似度>0.9。结论: 该方法准确, 精密度、重复性较好, 可作为湖南时代阳光药业股份有限公司小儿扶脾颗粒质量控制的依据。

[关键词] 小儿扶脾颗粒; 高效液相色谱法; 指纹图谱

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **DOI:** 10.16808/j.cnki.issn1003-7705.2018.11.069

A fingerprint analysis of Xiaoer Fupi granules

GUAN Zhi - mei¹, PENG Yan - mei², GONG Nian - chun², TAN Dian - bo²

(1. Hunan Center for Drug Evaluation and ADR Monitoring, Changsha 410013, Hunan, China;

2. Institute of Material Medica, Hunan Academy of Chinese Medicine, Changsha 410013, Hunan, China)

[Abstract] Objective: To establish the high - performance liquid chromatography (HPLC) method for the fingerprint analysis of Xiaoer Fupi granules manufactured by Hunan Timesun Pharmaceutical Co., Ltd. Methods: Reversed - phase HPLC was performed on an Ultimate - XB C₁₈ column (4.6 mm × 250mm, 5μm) with acetonitrile - 0.1% phosphoric acid solution for gradient elution at a column temperature of 30℃ and a detection wavelength of 330nm. Results: The HPLC fingerprint of Xiaoer Fupi granules was established with hesperidin as the reference peak, and a total of 12 common peaks were identified. The similarity of the common peaks of 10 batches of samples was higher than 0.9. Conclusion: This method is accurate and has good precision and repeatability. Therefore, it can be used as the basis for the quality control of Xiaoer Fupi granules manufactured by Hunan Timesun Pharmaceutical Co., Ltd.

[Key words] Xiaoer Fupi granule; high - performance liquid chromatography; fingerprint

小儿扶脾颗粒是湖南时代阳光药业股份有限公司已上市多年的全国独家品种, 收载于《中华人民共和国药典》2015年版第1增补本中^[1], 该复方制剂由白术、陈皮、党参、山楂、莲子、茯苓6味药材组成, 对治疗小儿脾虚、消化不良及体质消瘦具有显著疗效^[2-3]。目前小儿扶脾颗粒的质量控制主要是测定指标成分橙皮苷的含量^[4], 尚无整体化学成分的指纹图谱研究。本实验采用 HPLC 法建立小儿扶脾颗粒的指纹图谱, 为该复方制剂的综合质量控制提供更全面、更可靠的评价方法。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 LC-20AT 型高效液相色谱仪(日本岛津公司); 分析天平[梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司]; 离心机(江苏金坛市中大仪器厂); 移液器[百得实验室仪器(苏州)有限公司]; 超声波清洗器(SB-5200D, 宁波新芝生物科技股份有限公司)。

1.2 试剂 橙皮苷对照品(中国食品药品检定研究院, 批号: 110921-201617); 小儿扶脾颗粒(湖南时代阳光药业股份有限公司, 批号: 20160901, 20160505, 20160708, 20170206, 20170801, 20180102, 20180103, 20180104, 20180105, 20180106); 乙腈为色谱纯; 水为重蒸水; 其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 Ultimate - XB C₁₈ 色谱柱(4.6mm×250mm, 5μm); 柱温30℃, 检测波长330nm, 进样量10μL, 流动相为乙腈-0.1%磷酸水溶液, 流速为1.0mL/min, 按表1进行梯度洗脱。

2.2 溶液制备

2.2.1 对照品溶液 取橙皮苷适量, 精密称定, 置于容量瓶中, 加甲醇制成浓度为200mg/L的对照品溶液。

基金项目: 湖南省传统中药制剂质量评价和溯源工程技术研究中心资助项目(编号: 2018TP2035)

第一作者: 管志美, 男, 药学硕士, 副主任药师, 研究方向: 药品审评与认证

通讯作者: 谭电波, 男, 副研究员, 研究方向: 中医药研究与开发, E-mail: 908191609@qq.com

表 1 小儿扶脾颗粒指纹图谱梯度洗脱程序		
时间 (min)	0.1% 磷酸 (%)	乙腈 (%)
0	95	5
5	90	10
25	87	13
55	70	30
80	30	70
88	10	90
89	95	5
100	95	5

2.2.2 供试品溶液 取装量差异下的本品内容物 4.0g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入 50% 甲醇-水 25mL,称定重量,超声处理(功率 300W,频率 40kHz)30min,放冷,再称定重量,用 50% 甲醇-水补足减失的重量,摇匀,离心(4000r/min,5min)后取上清液,经 0.22 μ m 过滤头滤过,即得。

2.2.3 药材供试品溶液 称取小儿扶脾颗粒处方中的 6 味药材,参照小儿扶脾颗粒国家药品标准颁布的制备方法制备相应的单味药材清膏。然后按照“2.2.2”项下的方法制备各单味药材供试品溶液。

2.3 方法学考察

2.3.1 精密度实验 精密吸取同一供试品溶液(批号: 20180102),连续进样 6 次,按“2.1”项下色谱条件测定。结

果显示,各个特征峰的相对保留时间 RSD 在 0.08% ~ 0.50%,相对峰面积的 RSD 在 1.18% ~ 4.42%,谱图导入中药色谱指纹图谱相似度评价系统软件(V2.0)处理,6 张谱图的相似度大于 0.999,表明仪器精密度良好。

2.3.2 稳定性试验 精密吸取同一供试品溶液(批号: 20180102),每隔 100min 进样 1 次。连续进样 7 次,按“2.1”项下色谱条件测定。结果显示,各个特征峰的相对保留时间 RSD 在 0.78% ~ 1.87%,相对峰面积的 RSD 在 1.88% ~ 4.84%,谱图导入中药色谱指纹图谱相似度评价系统软件(V2.0)处理,7 张谱图的相似度大于 0.994,表明供试品溶液在 12h 内稳定。

2.3.3 重复性实验 取同一批号的小儿扶脾颗粒 6 份,按照“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,分别进样。结果显示各个特征峰的相对保留时间 RSD 在 0.08% ~ 1.12%,相对峰面积的 RSD 在 1.38% ~ 4.85%,谱图导入中药色谱指纹图谱相似度评价系统软件(V2.0)处理,6 张谱图的相似度大于 0.997。证明该方法的重复性好。

2.4 小儿扶脾颗粒 HPLC 指纹图谱建立及分析

2.4.1 指纹图谱测定 取 10 批小儿扶脾颗粒样品,分别按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件进样,记录指纹图谱。(见图 1)

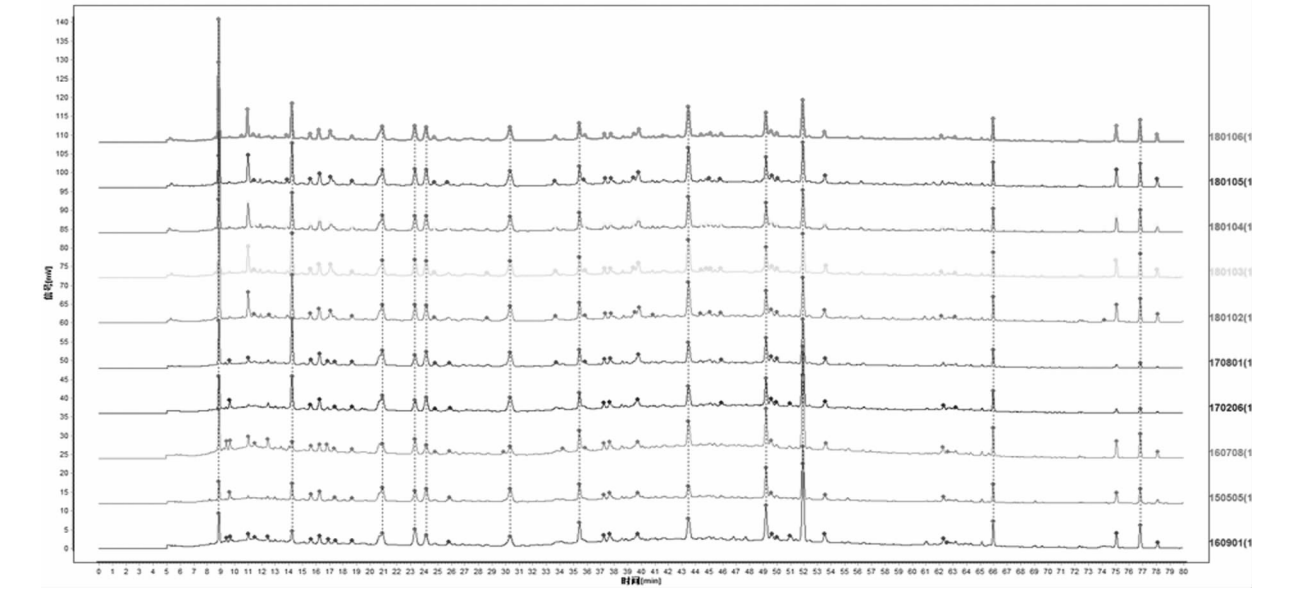


图 1 10 批小儿扶脾颗粒的指纹图谱

2.4.2 共有峰的标定 对 10 批小儿扶脾颗粒样品的指纹图谱进行分析,选择稳定性好、吸收强、特征明显的色谱峰作为共有峰,结果共标定了 12 个共有指纹峰(见图 1)。其中 10 号峰经与标准品橙皮苷相对保留时间对比分析确认为橙皮苷,其保留时间适中,峰面积稳定,峰形好,因此将 10 号峰(橙皮苷)作为参照峰。(见图 2)

2.4.3 特征指纹图谱相似度评价 将 10 批小儿扶脾颗粒样品色谱图导入中药色谱指纹图谱相似度评价系统软件(V2.0),经校准,以均值法自动生成“对照谱图”(见图 3),再计算 10 批样品与对照图谱的相似度(见表 2),各批样品

与对照谱图的相似度在 0.907 ~ 0.973 之间,证明各批小儿扶脾颗粒与对照谱图相似度高。

2.5 共有指纹峰的来源确认 按“2.1”项下的色谱条件对小儿扶脾颗粒和 6 味药材样品溶液进行分析比较,根据色谱峰信息,对小儿扶脾颗粒与药材指纹图谱的相关峰进行指认,确定特征峰的药材归属(见图 4)。通过小儿扶脾颗粒复方与全方药材相关性研究,确认小儿扶脾颗粒复方 HPLC 指纹图谱的特征峰的来源,其中有 2 个峰不能得到归属,其余峰来自白术(1,4,9 号峰),陈皮(1,3,4,6,7,8,9,10,11,12 号峰),党参(1 号峰),山楂(1,4 号峰),莲子(4 号峰)。

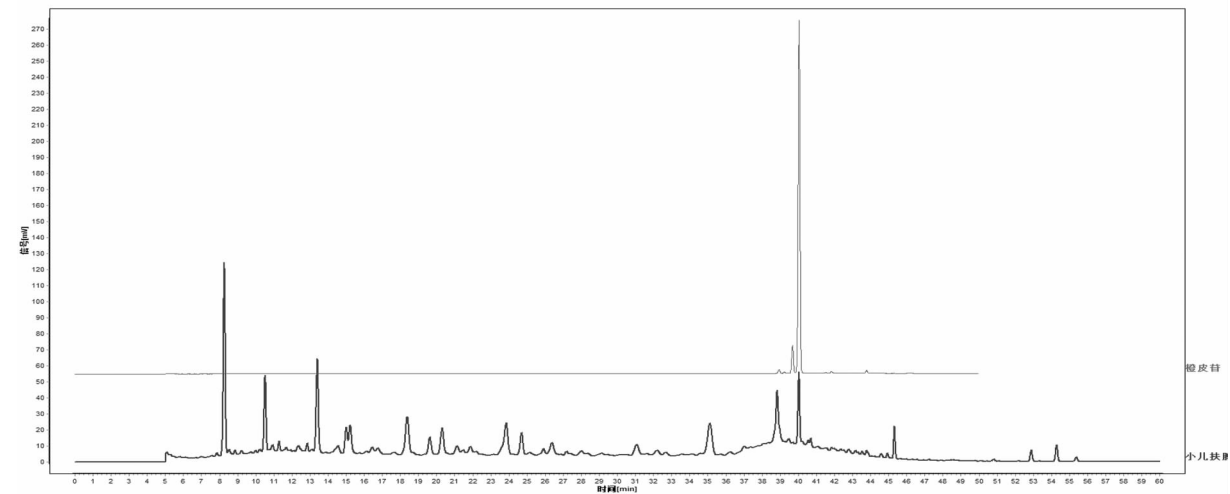


图 2 橙皮苷与小儿扶脾颗粒指纹图谱的比较

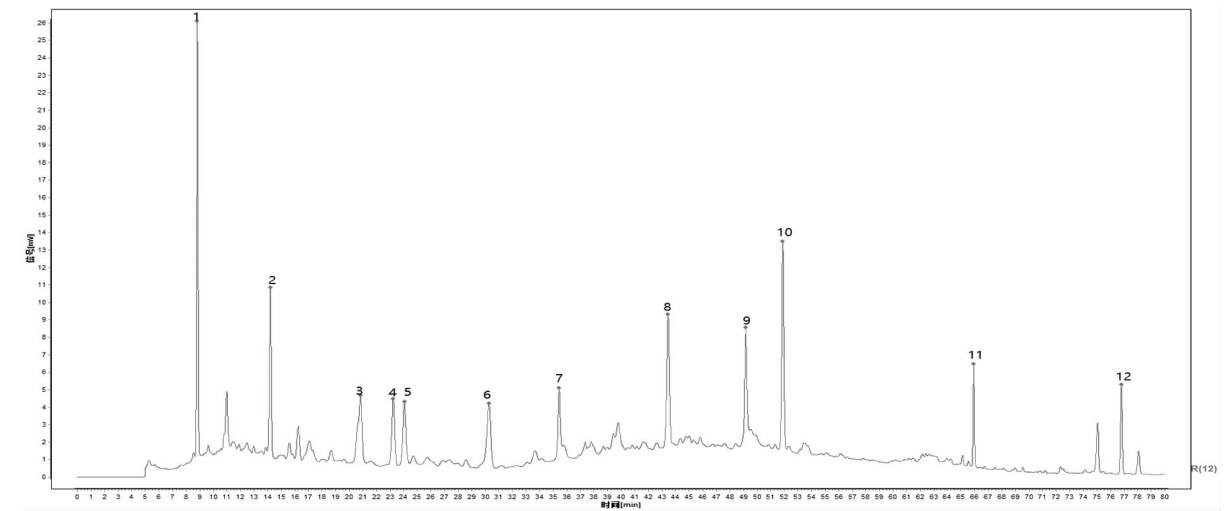


图 3 小儿扶脾颗粒的对照指纹图谱

表 2 10 批小儿扶脾颗粒与对照指纹图谱的相似度

批号	160901	160505	160708	170206	170801	180102	180103	180104	180105	180106
对照指纹图谱	0.911	0.907	0.927	0.945	0.963	0.973	0.970	0.966	0.968	0.960

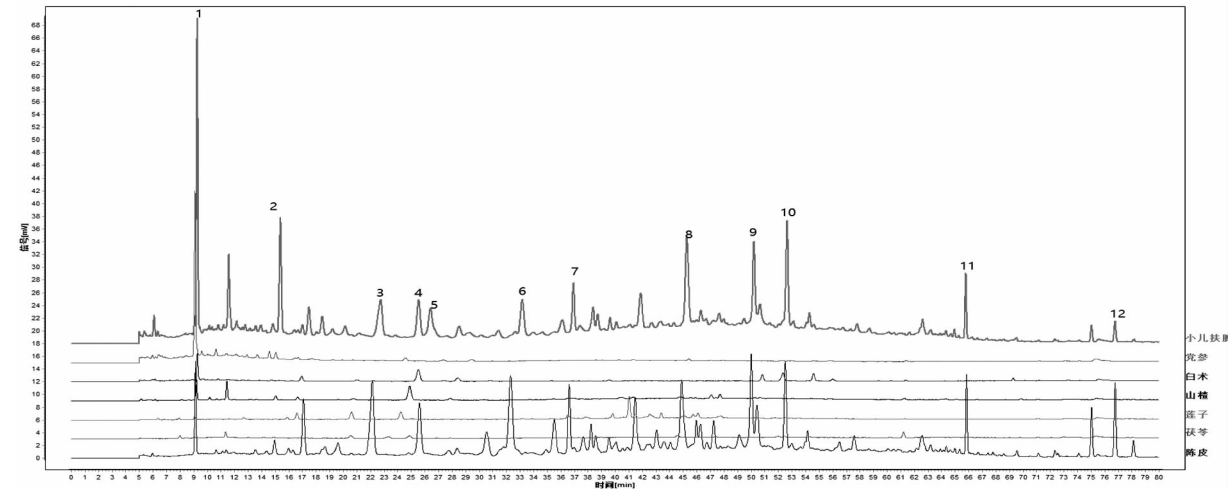


图 4 小儿扶脾颗粒指纹图谱和单味药 HPLC 图谱

正交试验优选前列舒康片提取工艺研究

魏 龙¹, 田其学²

(1. 湖南省株洲市中心医院, 湖南 株洲, 412000;

2. 湖南省中医药研究院附属医院, 湖南 长沙, 410006)

[摘要] 目的: 优选前列舒康片的提取工艺。方法: 以浸膏得率、盐酸小檗碱和京尼平苷酸为评价指标, 将溶剂倍数、溶剂种类、提取时间、浸泡时间等作为考察因素, 通过正交试验优选出前列舒康片的提取工艺。结果: 优选出前列舒康片中黄柏醇提工艺为黄柏粗粉加乙醇回流提取2次, 第1次加7倍量60%乙醇提取1.5h, 第2次加6倍量60%醇提取1h; 车前子等药材水提工艺为加水煎煮2次, 1次加8倍量水, 浸泡1h, 煎煮2h; 第2次加6倍量水, 煎煮1.5h。结论: 通过正交试验优选出的前列舒康片提取工艺合理可行、重复性良好, 可为前列舒康片的工艺研究提供参照。

[关键词] 前列舒康片; 提取工艺; 正交试验; 浸膏得率; 盐酸小檗碱; 京尼平苷酸

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **DOI:** 10.16808/j.cnki.issn1003-7705.2018.11.070

Optimization of extraction process for Qianlieshukang tablets based on the orthogonal test

WEI Long¹, TIAN Qi-xue²

(1. Zhuzhou Central Hospital, Zhuzhou 412007, Hunan, China;

2. The Affiliated Hospital of Hunan Academy of Chinese Medicine, Changsha 410006, Hunan, China)

[Abstract] Objective: To optimize the extraction process for Qianlieshukang tablets. Methods: With extract yield, berberine hydrochloride, and geniposidic acid as the assessment indices, solvent time, type of solvent, extraction time, and soak time were used the factors for evaluation, and the orthogonal test was used to optimize the extraction process of Qianlieshukang tablets. Results: The optimized ethanol extraction process for Cortex Phellodendri in Qianlieshukang tablets was reflux extraction of Cortex Phellodendri crude powder with alcohol twice, with 7 times of 60%

3 讨 论

本实验在优化色谱条件时, 经过多次调整流动相的梯度洗脱程序的设置, 得到表1的条件, 此条件下小儿扶脾颗粒的指纹图谱中各组分的峰清晰可辨识, 分离度大于1.5, 峰形尖锐, 保留时间适中, 基线漂移较弱, 指纹图谱包含的信息丰富。实验中比较了不同检测波长(220nm, 240nm, 260nm, 280nm, 300nm, 310nm, 320nm, 330nm, 340nm, 360nm)条件下的色谱图。经过比较发现, 检测波长为330nm时, 谱图中各峰的峰高协调, 所有的峰都可辨认, 此时的谱图呈现的信息最丰富, 因此确定检测波长为330nm。在制备供试品溶液时, 考查了不同提取方法(超声、水浴加热、水浴回流、萃取), 不同提取溶剂(水、50%甲醇-水, 甲醇)等, 结果表明, 本实验的最佳提取溶剂为50%甲醇-水, 超声提取30min。

小儿扶脾颗粒药味组成多, 化学成分复杂, 单一活性成分橙皮苷不能全面反应该方的整体质量。本文经过实验条件优化建立了小儿扶脾颗粒指纹图谱的测定方法, 该方法精密度高, 稳定性及重复性好, 操作简便可行。以橙皮苷为

参照物, 确定了12个共有峰, 并归属到了各药材, 应用“中药指纹图谱相似度评价系统(V2.0)”软件对10批小儿扶脾颗粒指纹图谱进行分析处理, 10批样品与对照谱图的相似度在0.907~0.973之间, 说明不同批次的小儿扶脾颗粒的化学组成一致性较好。本文建立的HPLC指纹图谱为小儿扶脾颗粒生产工艺的改进及质量标准的研究提供了一种新的参考方法。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 57.
- [2] 张文婷, 张雁冰, 陈志勇, 等. 小儿扶脾颗粒联合硫酸锌治疗小儿厌食症疗效观察[J]. 中国医师杂志, 2015, 17(12): 1869-1871.
- [3] 李朝平, 黄建良. 小儿扶脾颗粒治疗小儿厌食症疗效观察[J]. 实用医药杂志, 2015(7): 627-628.
- [4] 唐纯玉, 唐代凤, 彭艳梅, 等. 小儿扶脾颗粒中橙皮苷和芸香柚皮苷含量的检测方法[P]. 中国: CN104458949A, 2015-03-25.

(收稿日期: 2018-10-12)

第一作者: 魏龙, 男, 副主任药师, 研究方向: 中药制剂

通讯作者: 田其学, 男, 主任药师, 研究方向: 中药加工炮制及制剂