

炒麦芽配方颗粒的 HPLC 指纹图谱研究

高颖*,张云天,徐以亮,李松
(江阴天江药业有限公司,江苏 江阴 214434)

[摘要] 目的:建立炒麦芽配方颗粒的 HPLC 指纹图谱分析方法。方法:采用高效液相色谱法,以 Megres5-C₁₈ (Hanbon, 4.6 mm×250 mm, 5 μm)为色谱柱,以乙腈-0.1% 磷酸溶液为流动相梯度洗脱,检测波长 316 nm,流速 1.0 mL·min⁻¹,柱温 30 ℃。结果:炒麦芽配方颗粒指纹图谱共有 9 个共有峰,方法学考察结果良好,各批炒麦芽配方颗粒样品指纹图谱与对照指纹图谱相似度均>0.88,可以用于炒麦芽配方颗粒的定性鉴别。结论:采用 HPLC 指纹图谱可实现全面和整体的评价,为有效提高炒麦芽配方颗粒的质量控制提供参考。

[关键词] 炒麦芽配方颗粒; 高效液相色谱; 指纹图谱

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2013)20-0115-04

[doi] 10.11653/syfy2013200115

Study on HPLC Fingerprint Analysis of Roasted Malt Formula Granules

GAO Ying*, ZHANG Yun-tian, XU Yi-liang, LI Song
(Jiangyin Tianjiang Pharmaceutical Co. Ltd, Jiangyin 214434, China)

[Abstract] Objective: To establish a method of fingerprint analysis on Roasted Malt Formula granules by HPLC. Method: The fingerprints chromatographic were obtained by HPLC with Megres5-C₁₈ column (4.6 mm×250 mm, 5 μm) by gradient elution; the solvent system composed of acetonitrile-0.1% phosphoric. The wavelength was set at 316 nm, the flow rate was 1.0 mL·min⁻¹ and the column temperature was maintained at 30 ℃. Result: The HPLC specific chromatogram of Roasted Malt Formula granules showed 9 common peaks. The methodological results were good. The similarity of ten batches of samples exceeded 0.88. Conclusion: The fingerprints chromatogram can realize the analysis of a formulas as a whole with supplies references for improving the quality control of Roasted Malt Formula granules.

[Key words] Roasted Malt Formula granules; HPLC; fingerprints

麦芽为禾本科植物大麦 *Hordeum vulgare* L. 的成熟果实经发芽干燥而成。现商品麦芽主要为大麦芽,其味甘,性平,归脾、胃经,具有行气消食、健脾开胃、退乳消胀的作用,用于食积不消,脘腹胀痛,脾虚食少,乳汁郁积,乳房肿痛,妇女断乳。生麦芽健脾和胃,用于脾虚食少,乳汁郁积。炒麦芽行气消食回乳,用于食积不消,妇女断乳^[1]。炒麦芽配方颗粒由炒麦芽饮片经提取、浓缩、干燥、制粒等工序,它突

[收稿日期] 20111207(009)

[基金项目] 2011 年度江苏省企业博士聚集计划项目 (2011009)

[通讯作者] * 高颖,硕士,从事中药质量标准研究,Tel:0510-86408091, E-mail:yinggao2006@126.com

破了传统中药饮片需要煎煮的服用模式,具有免煎易服,易储存,携带方便等优点^[2-3]。

目前对于炒麦芽的研究较少,只有少数关于麦芽化学成分及炮制学方面的研究^[4]。近年来美国 FDA 及欧共体在有关草药质量控制中提出应建立并申报药材及其制剂的色谱指纹图谱,以考察草药产品批间质量的一致性^[5]。本文采用高效液相色谱法建立炒麦芽配方颗粒的指纹图谱分析方法,达到从整体上控制炒麦芽配方颗粒质量的目的。

1 材料

1.1 仪器 Agilent 1200 高效液相色谱仪 (Agilent-G1311C 四元泵, Agilent-G1329B 进样器, Agilent-G1315D DAD 检测器, CHEMSTATION B.04.02 化学工作站), 超声清洗机 (无锡超声电子设备厂)。

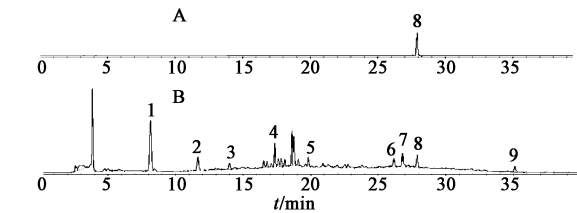
1.2 试剂与药材 炒麦芽配方颗粒(炒麦芽纯浸膏-麦芽糊精 95:5)由江阴天江药业有限公司提供(批号分别为 0710200,0809123,0901073,0903034,0911066,1003116,1009014,1011077,1007054,1110034)。阿魏酸对照品(批号 0753-9910)购于中国药品生物制品检定所,乙腈为色谱纯(上海振兴化工一厂),水为娃哈哈水,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 Megres5-C₁₈ 色谱柱(Hanbon, 4.6 mm×250 mm, 5 μm),流动相以乙腈为流动相 A,以 0.1% 磷酸水溶液为流动相 B,按表 1 进行梯度洗脱。检测波长 316 nm,流速 1.0 mL·min⁻¹,柱温 30 ℃,进样体积 10 μL。在此色谱条件下,按阿魏酸峰计算理论塔板数不低于 5 000,与其他色谱峰的分度度 > 1.5,见图 1。

表 1 炒麦芽配方颗粒特征图谱梯度洗脱

t/min	流动相 A/%	流动相 B/%
0 ~ 5	5	95
5 ~ 20	5 ~ 20	95 ~ 80
20 ~ 25	20 ~ 30	80 ~ 70
25 ~ 30	30 ~ 45	70 ~ 55
30 ~ 40	45 ~ 50	55 ~ 50



A. 对照品;B. 样品;8. 阿魏酸;1~9. 10 批样品共有峰

图 1 炒麦芽配方颗粒样品 HPLC

2.2 对照品溶液的制备 精密称取阿魏酸对照品 5.48 mg,置 100 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,制成质量浓度为 54.8 mg·L⁻¹ 的溶液,即得。

2.3 供试品溶液的制备 取上述批号的炒麦芽配方颗粒 1 g,置具塞锥形瓶中,精密加入 70% 乙醇 25 mL,超声处理(功率 200 W,频率 40 kHz)30 min,放冷,滤过,将滤液浓缩至 5 mL,定容,滤过,取续滤液,即得。

2.4 方法学考察

2.4.1 重复性试验 取同一批号样品(批号 1007054)共 5 份,按供试品溶液制备方法制备成供试液,进样 10 μL 分析。结果表明,各主要色谱峰相对保留时间和其相对峰面积无明显变化,以 8 号峰阿魏酸为参照峰,其 RSD 均 < 3%,表明方法重复性

良好。

2.4.2 精密度试验 取重复性试验中同一供试品溶液,连续进样 5 次,以 8 号峰阿魏酸为参照峰,计算 1~9 号共有峰指纹峰的相对保留时间和相对峰面积的 RSD 均 < 3%,表明仪器稳定,精密度良好。

2.4.3 稳定性试验 取重复性试验中同一供试品溶液,分别 0,4,8,12,24 h 进样,以 8 号峰阿魏酸为参照峰,计算 1~9 号共有峰指纹峰的相对保留时间和相对峰面积的 RSD 均 < 3%,表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.5 指纹图谱的建立 精密吸取 2.3 项下制备的供试品溶液各 10 μL,注入高效液相色谱仪,将其导入采用药典委员会推荐的中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2004A 版),进行色谱峰匹配,匹配结果见图 2。以 8 号峰阿魏酸为参照峰确定 9 个共有峰为构成炒麦芽配方颗粒指纹图谱的特征峰,样品共有峰的相对保留时间及相对峰面积分别列于表 2,3。10 批炒麦芽配方颗粒与对照指纹图谱相似度计算结果见表 4。

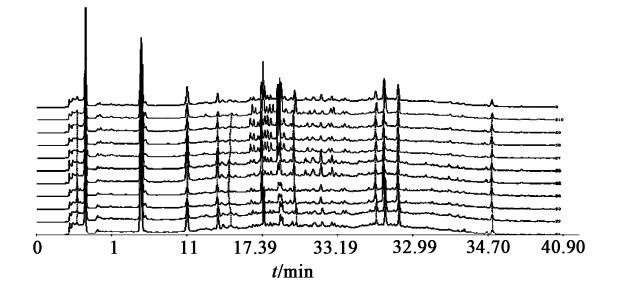


图 2 10 批样品匹配图谱

3 讨论

3.1 提取条件和色谱条件的优化 比较了超声提取、回流提取和振摇提取,发现差异不大,考虑到操作的简便性,因此采用超声提取的方式。同时考察了不同的提取溶剂(70% 甲醇、甲醇、50% 乙醇、70% 乙醇、95% 乙醇)和提取时间,结果表明 70% 乙醇超声提取 30 min 较完全,可以将大多数成分提取出来。采用二极管阵列检测器对图谱进行全波长扫描,结果在 316 nm 下的色谱图基线较平稳,色谱峰的信息较丰富,参照峰阿魏酸的响应值也较高,故选用 316 nm 作为检测波长。在流动相系统选择中,分别以乙腈-水、乙腈-0.1% 醋酸、乙腈-0.1% 磷酸等不同体积分数、不同比例的流动相系统进行等度和梯度洗脱试验。结果表明,用乙腈-0.1% 磷酸进行梯度洗脱为佳,峰形尖锐且分离度较好,各峰的保留时间适中,而且大大缩短了分析时间,整个特征图谱分析时间均可在 40 min 内完成。

表 2 10 批炒麦芽配方颗粒共有峰的相对保留时间

min

No.	峰号								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	0.289	0.416	0.501	0.627	0.717	0.938	0.962	1.000	1.257
2	0.289	0.416	0.502	0.627	0.717	0.938	0.962	1.000	1.257
3	0.290	0.417	0.501	0.625	0.715	0.938	0.961	1.000	1.260
4	0.291	0.417	0.501	0.624	0.714	0.938	0.961	1.000	1.260
5	0.291	0.417	0.501	0.623	0.713	0.938	0.961	1.000	1.259
6	0.291	0.417	0.501	0.623	0.712	0.938	0.961	1.000	1.259
7	0.291	0.417	0.501	0.622	0.711	0.938	0.961	1.000	1.259
8	0.291	0.417	0.501	0.622	0.711	0.938	0.961	1.000	1.259
9	0.292	0.417	0.501	0.622	0.711	0.938	0.961	1.000	1.259
10	0.289	0.416	0.501	0.626	0.716	0.938	0.962	1.000	1.257
平均值	0.290	0.417	0.501	0.624	0.714	0.902	0.961	1.000	1.259
RSD/%	0.369	0.136	0.071	0.338	0.331	0.016	0.064	0.000	0.084

表 3 10 批炒麦芽配方颗粒共有峰的相对峰面积

No.	峰号								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	4.872	1.771	0.932	1.269	0.254	0.421	1.171	1.000	0.352
2	4.788	0.830	0.539	1.215	0.384	0.669	1.658	1.000	0.344
3	4.193	0.687	0.606	0.962	0.323	0.829	2.095	1.000	0.336
4	4.281	0.521	0.550	0.943	0.287	0.839	2.146	1.000	0.471
5	6.516	3.325	1.451	1.634	0.683	0.647	1.698	1.000	0.394
6	6.830	3.209	1.092	1.615	0.750	0.684	1.628	1.000	0.446
7	5.006	1.523	0.712	1.579	0.605	0.926	1.374	1.000	0.593
8	6.337	0.996	0.537	1.360	0.585	0.741	1.196	1.000	0.644
9	5.078	0.928	0.418	1.134	0.468	0.881	1.341	1.000	0.424
10	3.473	1.036	0.348	1.133	0.768	0.740	1.453	1.000	0.381

表 4 炒麦芽配方颗粒样品相似度比较

No.	批号	相似度
1	0710200	0.946
2	0809123	0.966
3	0901073	0.974
4	0903034	0.973
5	0911066	0.966
6	1003116	0.975
7	1009014	0.936
8	1011077	0.957
9	1007054	0.956
10	1110034	0.884

3.2 色谱峰的归属 麦芽中主要含有麦黄酮^[4]、β-

淀粉酶^[6]、大麦芽碱^[6]、阿魏酸^[7]等成分。2010 年版《中国药典》未对麦芽中有效成分进行含量测定。本研究采用阿魏酸对照品作对比,指出 8 号峰为阿魏酸并作为参照峰。

3.3 结果分析 以阿魏酸为参照峰确定了炒麦芽配方颗粒的 9 个共有峰,各峰的保留时间匹配较好,相对保留时间的 RSD 均 < 3%。通过相似度软件计^[8-10]算得到 10 批炒麦芽配方颗粒的对照图谱及各批样品与对照图谱之间的相似度,结果表明 10 批样品相关性较好,不同批号炒麦芽配方颗粒指纹图谱的色谱峰整体基本一致,个别批次相似度较低,可能与麦芽原料药材及炒麦芽炮制工艺有关,说明要固定原料药材的来源以及炮制工艺水平才能保证炒麦芽配方颗粒质量的稳定性和均一性。

3 种口尝评价方法用于药物苦度评价的比较

刘瑞新¹,张杏芬²,李学林^{1*},施钧瀚¹,李慧玲²,仇继玺²

(1. 河南中医学院第一附属医院药学部,郑州 450000; 2. 河南中医学院,郑州 450008)

〔摘要〕 目的:对比 3 种口尝评价方法用于药物苦度评价研究的特点。方法:以苦参碱为模型药物,配制不同浓度的水溶液,由 20 名经筛选、培训合格的评价员口尝测试其苦度等级及具体苦度值,对样品进行排序法、评分法、排序结合评分法 3 种方法的评价,经过对所得数据的处理,用排序正确率、判断灵敏度、赋值精密度、拟合度 4 个指标综合分析。结果:排序结合评分法的排序正确率为 100%,判断灵敏度为 96.4%,拟合方程复相关系数为 0.991 6,3 个指标均优于其他 2 种方法;评分法在赋值精密度方面较其他 2 种方法更优。结论:3 种口尝方法就上述 4 个指标来看数排序结合评分法最优,但各有自己的特点,具体的口尝方法可根据自己实验目的、样品数目等选择。

〔关键词〕 苦度评价;口尝法;排序法;评分法;排序结合评分法
〔中图分类号〕 R284.1 〔文献标识码〕 A 〔文章编号〕 1005-9903(2013)20-0118-05
〔doi〕 10.11653/syfy2013200118
〔网络出版地址〕 <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20130808.1522.004.html>
〔网络出版时间〕 2013-08-08 15:22

Drug Evaluation of Bitterness Intensity by Three Kinds of THTPM

LIU Rui-xin¹, ZHANG Xing-fen², LI Xue-lin^{1*}, SHI Jun-han¹, LI Hui-ling², QIU Ji-xi²

(1. Department of Pharmacy, The First Affiliated Hospital of Henan University of Traditional Chinese Medicine (TCM), Zhengzhou 450000, China; 2. Henan University of TCM, Zhengzhou 450008, China)

〔Abstract〕 **Objective:** Compare characteristics of three kinds of THTPM (traditional human taste panel method) which is suitable for drugs bitter evaluation study. **Method:** As matrine a model drug, made into

〔收稿日期〕 20130307(009)
〔基金项目〕 国家自然科学基金青年基金项目(81001646)
〔第一作者〕 刘瑞新,博士,副主任药师,从事中药制剂及分析研究,Tel:0371-66233639,E-mail:liuruixin7@yahoo.com.cn
〔通讯作者〕 *李学林,博士生导师,主任药师,从事中药应用形式研究,Tel:0371-56245142,E-mail:xuelinli450000@163.com

〔参考文献〕

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010:145.

[2] 朱晓红,王强,杨丽霞,等. 尾叶香茶菜的高效液相指纹图谱研究[J]. 解放军药学报,2008,24(4):326.

[3] 王春胜,焦文革. 中药配方颗粒的临床应用及存在的问题[J]. 现代药物与临床,2010,25(3):186.

[4] 凌俊红. 麦芽的化学成分及炮制学研究[D]. 沈阳:沈阳药科大学,2005.

[5] 国祥,于秀明,毕开顺. 刺五加 HPLC 数字化指纹图谱研究[J]. 中成药,2007,29(9):1249.

[6] 凌俊红,王金辉,王楠,等. 大麦芽的化学成分[J]. 沈阳药科大学学报,2005,22(4):267.

[7] 王丹,杜金华. 比色法快速测定小麦及其麦芽中的阿魏酸[J]. 食品与发酵工业,2011,37,(1):146.

[8] 刘伟,范婷. 生长期施肥种类对柴胡 HPLC 指纹图谱影响分析[J]. 中国现代应用药学,2009,26(7):553.

[9] 田润涛,谢培山. 色谱指纹图谱相似度评价方法的规范化研究(一)[J]. 中药新药与临床药理,2006,17(1):40.

[10] 安金兵,许玉琼,贺东奇,等. 基于拟分布函数的中药色谱指纹图谱的相似性分析[J]. 北京大学学报:自然科学版,2008,44(5):695.

[责任编辑 邹晓翠]