

# 赶黄草花与茎、叶 HPLC 指纹图谱比较

陀扬凌, 金玲, 张旭\*

(成都中医药大学药学院, 教育部中药材标准化重点实验室, 中药资源系统研究与开发利用省部共建国家重点实验室培育基地, 成都 611175)

**[摘要]** **目的:**建立赶黄草花的 HPLC 指纹图谱,并对赶黄草花、茎、叶不同部位的指纹图谱进行比较,寻找赶黄草不同部位质量评价与控制方法。**方法:**采用 ODS 柱,流动相乙腈-0.1% 甲酸水,梯度洗脱,流速 0.8 mL·min<sup>-1</sup>,柱温 30 ℃,检测波长 280 nm,进样量 10 μL。**结果:**赶黄草花共标示出 15 个共有峰,其中 5 号峰为芦丁峰,9 号峰为槲皮素峰;10 批赶黄草花的相似度在 0.925~0.960。赶黄草花分别与茎、叶对比,花的共有峰数目最多,茎最少;茎、叶、花指纹特征峰相对含量有较大差异,花所含特征峰成分的相对含量基本高于茎和叶。**结论:**该方法准确可靠,重复性好,为赶黄草各部位药材质量评价与控制提供参考;为保证药材质量,建议赶黄草药材在花期采收。

**[关键词]** 赶黄草;花;茎;叶;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(2015)15-0061-04

**[doi]** 10.13422/j.cnki.sjfx.2015150061

## Comparison of HPLC Fingerprint Analysis of Flos, Caulis and Folium from *Penthor chinense*

TUO Yang-ling, JIN Ling, ZHANG Xu\* (College of Pharmacy, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Key Laboratory of Standardization of Chinese Herbal Medicine, Ministry of Education, State Key Laboratory Breeding Base of Systematic Research, Development and Utilization of Chinese Medicine Resources, Chengdu 611175, China)

**[Abstract]** **Objective:** To establish a method for analysis of *Penthorum chinense* flos by HPLC fingerprint and compare the fingerprints of caulis, folium and flos, and to seek ways to the quality assessment and quality control of different parts of *P. chinense*. **Method:** The analysis was performed on an ODS column with acetonitrile-0.1% formic acid as mobile phase in gradient elution mode. The flow rate was 0.8 mL·min<sup>-1</sup>, the column temperature was 30 ℃ and the injection volume was 10 μL with the detection wavelength of 280 nm. **Result:** Fifteen common peaks were separated on HPLC fingerprint of the flos of *P. chinense*, including the fifth peak of rutin peak, the ninth peak of quercetin peaks. The similarities of 10 batches of samples were in the range of 0.925-0.960. When the flos of *P. chinense* was compared with caulis and folium, we found that flos has the most common peaks and caulis has the least. Besides, significant variability was found among the caulis, folium and flos, the contents of marker peak in the flos were more than that in the caulis and folium. **Conclusion:** The method showed good accuracy, validity and reproducibility characteristics and provided information for the quality assessment and quality control of different parts of *P. chinense*. To ensure the quality of Chinese medicine, it is recommended that *P. chinense* should be harvested during florescence.

**[Key words]** *Penthorum chinense*; flos; caulis; folium; HPLC fingerprint

赶黄草又名扯根菜,民间以其全草入药,具清热、利尿、解毒、活血、平肝、健脾、祛黄疸等功效。现

代药理研究表明赶黄草具有抗氧化<sup>[1]</sup>、保肝<sup>[2]</sup>等作用,主要成分为黄酮、有机酸、挥发油等;其中没食子

**[收稿日期]** 20140829(005)

**[基金项目]** 四川省教育厅重点项目(10ZA090)

**[第一作者]** 陀扬凌,在读硕士,从事中药化学和中药质量控制研究,Tel:18384255763,E-mail:837920817@qq.com

**[通讯作者]** \*张旭,博士,副教授,从事中药化学和中药质量控制研究,Tel:028-61800231,E-mail:16429511@qq.com

酸和槲皮素是赶黄草中的有效成分<sup>[3]</sup>。目前,赶黄草清热、解毒、保肝的功效得到人们广泛认可,其药材及相关产品的销量逐年攀升,成为最著名的苗族药之一。市场上流通的赶黄草药材将花、叶、茎 3 个部位分别出售,花的价格最高,叶次之,茎最低。已有文献报道茎和叶的 HPLC 指纹图谱研究,其结果显示赶黄草的茎与叶 2 个入药部位的指纹图谱差异显著,8 个产地的赶黄草叶的指纹图谱相似度较高,并建议结合赶黄草不同部位的药效及临床需求,合理选择入药部位<sup>[4]</sup>。未见对花的相关研究报道,而花是赶黄草药材最重要部位,市场售价最高,因此,对花进行 HPLC 指纹图谱研究,建立其相关质量评价和控制的方法非常重要。本文采用高效液相色谱法研究 10 批赶黄草花的指纹图谱,对其已知成分槲

皮素和芦丁定位,并比较了花与茎、叶的指纹图谱差异,为评价和控制赶黄草药材综合质量提供参考。

### 1 材料

1200 系列高效液相色谱仪(包括 DAD 阵列检测器,Agilent),KQ3200B 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司),DV215CD 型电子天平[赛多利斯科学仪器(北京)有限公司]。10 批赶黄草茎、叶、花样品分别购买自四川五家药材公司,见表 1,经成都中医药大学马俞英教授鉴定系赶黄草 *Penthorum chinense* 的地上部位。芦丁对照品(中国食品药品检定研究院,批号 100080-200707),槲皮素对照品(成都曼斯特生物有限公司,批号 must-13072505)。实验用乙腈、甲酸为色谱纯,甲醇均为分析纯。试验用水为乐百氏纯净水。

表 1 赶黄草药材来源

Table 1 Origins of *Penthorum chinense*

收集日期	编号	产地	供货单位	部位
2013-09-08	S1	泸州古蔺	四川新荷花中药饮片股份有限公司	花
2013-09-12	S2	泸州泸县	泸州百草堂中药饮片有限公司	花
2013-09-28	S3	泸州古蔺	古蔺宏安药业有限公司	花
2013-11-12	S4	都江堰	四川御鼎堂中药饮片有限公司	花
2013-11-15	S5	泸州古蔺	四川锦云堂中药饮片有限公司	花
2014-03-18	S6	泸州古蔺	泸州百草堂中药饮片有限公司	茎、叶、花
2014-03-18	S7	泸州古蔺	四川御鼎堂中药饮片有限公司	茎、叶、花
2014-05-20	S8	都江堰	四川锦云堂中药饮片有限公司	茎、叶、花
2014-05-07	S9	泸州古蔺	古蔺宏安药业有限公司	茎、叶、花
2014-05-20	S10	泸州古蔺	四川新荷花中药饮片股份有限公司	茎、叶、花

## 2 方法与结果

**2.1 色谱条件** Diamonsil C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相乙腈(A)-0.1% 甲酸水(B),梯度洗脱(0 ~ 70 min, 10% ~ 50% A; 70 ~ 75 min, 50% ~ 10% A),检测波长 280 nm,柱温 30 °C,流速 0.8 mL·min<sup>-1</sup>,进样量 10 μL。

**2.2 对照品溶液的制备** 分别精密称取芦丁和槲皮素对照品 10 mg,用甲醇溶解并定容至 10 mL 量瓶中,摇匀,即得质量浓度为 1.0 g·L<sup>-1</sup> 的对照品溶液。

**2.3 供试品溶液的制备** 精密称取赶黄草花粉末(过 2 号筛)1.0 g 于 50 mL 锥形瓶中,加入 50% 甲醇 40 mL,超声 40 min,过滤,定容至 50 mL 量瓶中,加 50% 甲醇至刻度,摇匀,用 0.22 μm 微孔滤膜过滤,即得。

**2.4 精密度试验** 取花粉末(样品 S4)适量,按

**2.3 项下方法制备。**吸取供试品溶液 10 μL,连续进样测定 5 次,记录 75 min 色谱图。结果各共有峰的相对保留时间 RSD 0.4% ~ 0.7%,相对峰面积的 RSD 0.3% ~ 2.8%,表明本方法精密度良好,符合指纹图谱的技术要求。

**2.5 稳定性试验** 取花粉末(样品 S4)适量,按 **2.3 项下方法制备。**吸取供试品溶液 10 μL,分别于 0, 2, 4, 6, 8, 10 h 进样,记录 75 min 色谱图。结果显示,各共有峰相对保留时间的 RSD 0.1% ~ 0.4%,相对峰面积的 RSD 1.2% ~ 2.2%,表明供试品溶液在 10 h 内稳定性良好。

**2.6 重复性试验** 取花粉末(样品 S4)适量,共 6 份,按 **2.3 项下方法制备,**测定,记录 75 min 色谱图。结果显示,各共有峰相对保留时间的 RSD 在 0.3% ~ 0.4%,相对峰面积的 RSD 在 1.0% ~ 2.9%,表明本方法重复性良好,符合指纹图谱的技

术要求。

**2.7 指纹图谱的建立及分析** 在上述条件下,测定 10 批赶黄草花,记录 75 min 色谱图。采用“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”(2004A 版)对 10 批样品的图谱数据进行分析,10 批样品的图谱均有 15 个共有峰并生成对照图谱,结果见图 1,2。以对照图谱为参考,计算相似度,结果 S1 ~ S10 相似度分别

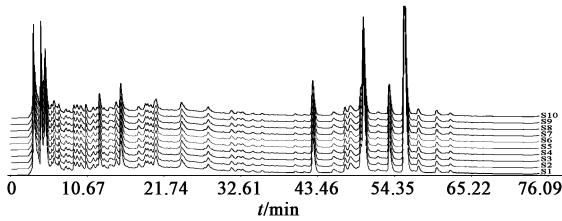


图 1 10 批赶黄草花样品 HPLC 指纹谱

Fig. 1 HPLC fingerprint of 10 batches of *Penthorum chinense*

表 2 10 批赶黄草花样品相对峰面积

Table 2 HPLC analysis result of 10 batches of *Penthorum chinense*

No.	相对峰面积														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15(S)
S1	0.055	0.017	0.033	0.064	0.471	0.402	0.373	0.054	0.073	0.65	0.015	0.192	0.786	0.427	1
S2	0.056	0.018	0.032	0.064	0.468	0.389	0.375	0.055	0.072	0.655	0.015	0.196	0.788	0.429	1
S3	0.054	0.018	0.032	0.064	0.452	0.384	0.375	0.055	0.075	0.654	0.015	0.196	0.787	0.425	1
S4	0.057	0.018	0.034	0.063	0.465	0.393	0.375	0.054	0.069	0.654	0.015	0.195	0.796	0.423	1
S5	0.058	0.017	0.034	0.062	0.466	0.394	0.375	0.053	0.07	0.653	0.015	0.196	0.786	0.429	1
S6	0.056	0.017	0.033	0.063	0.465	0.389	0.375	0.053	0.062	0.652	0.015	0.197	0.78	0.429	1
S7	0.056	0.018	0.034	0.062	0.464	0.42	0.375	0.056	0.074	0.642	0.015	0.193	0.798	0.424	1
S8	0.054	0.017	0.034	0.063	0.456	0.41	0.378	0.057	0.075	0.645	0.014	0.196	0.783	0.421	1
S9	0.057	0.018	0.032	0.063	0.478	0.391	0.377	0.052	0.069	0.653	0.014	0.197	0.793	0.424	1
S10	0.057	0.017	0.033	0.064	0.472	0.41	0.378	0.054	0.069	0.649	0.015	0.196	0.787	0.428	1

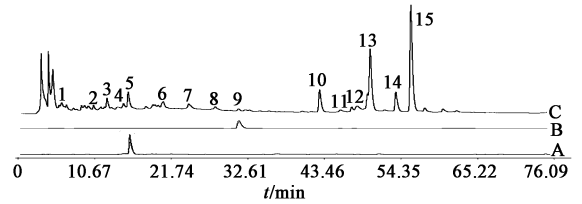
**2.8 赶黄草花与茎、叶的指纹图谱比较** 测定赶黄草花、叶、茎各 5 批(编号为 S5 ~ S10),按 2.3 项下方法制备,及拟定方法进行分析,记录 75 min 色谱图,对赶黄草花与茎、叶的指纹图谱比较,结果茎具有 9 个特征指纹峰,叶具有 12 个特征指纹峰,见图 3,表 3。

### 3 讨论

通过试验优选确定乙腈-0.1% 甲酸水梯度洗脱系统为流动相。考察 210,254,270,280,290 nm 等不同的波长进行 DAD 检测器分析,在 280 nm 波长处指纹峰较多,多数特征成分的响应值较大,且基线较平稳,故选择 280 nm 作为指纹图谱检测波长。

比较了超声和水浴回流两种供试品溶液提取方法,结果两种方法差异不大,为简便操作,选择超声

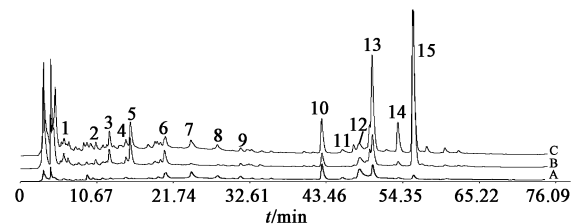
为 0.949,0.950,0.947,0.933,0.958,0.925,0.932,0.939,0.960,0.948。各批样品共有峰的相对保留时间与相对峰面积见表 2。经对照品及紫外光谱对照,5 号峰为芦丁峰,9 号峰为槲皮素峰。15 号峰为赶黄草花的最大峰,峰面积比在 19.95% ~ 41.38%,故以 15 号峰为参照峰。



A, B. 对照品; C. 赶黄草花对照指纹谱; 5. 芦丁; 9. 槲皮素

图 2 10 批赶黄草花样品对照指纹谱

Fig. 2 Chromatogram of reference substance and reference fingerprint of 10 batches of Flos of *Penthorum chinense*



A. 茎; B. 叶; C. 花

图 3 赶黄草茎、叶与花 HPLC 指纹谱

Fig. 3 HPLC fingerprint of flos, caulis and folium of *Penthorum chinense*

提取。采用不同浓度的甲醇和乙醇溶液作为提取溶剂,结果 50% 甲醇提取的色谱图色谱峰分布较其他溶剂均匀,40 倍(即样品 1.0 g,加入 50% 甲醇溶液 40 mL)溶剂超声提取 40 min 的色谱峰数最多,含量

表 3 赶黄草花与茎、叶的相对峰面积比较分析

Table 3 Comparison of flos, caulis and folium of *Penthorum chinense*

样品 编号	相对峰面积															
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15(S)	
花 S1	0.12	0.208	0.221	0.262	0.474	0.341	0.350	0.360	0.427	0.765	0.860	0.880	0.890	0.961	1	
	0.05	0.019	0.032	0.054	0.429	0.371	0.301	0.092	0.073	0.596	0.092	0.153	0.871	0.427	1	
	S2	0.055	0.019	0.034	0.055	0.427	0.368	0.308	0.096	0.075	0.580	0.096	0.145	0.892	0.429	1
	S3	0.054	0.018	0.032	0.055	0.426	0.352	0.302	0.096	0.075	0.503	0.096	0.149	0.903	0.425	1
	S4	0.054	0.020	0.033	0.054	0.428	0.365	0.305	0.095	0.075	0.592	0.095	0.15	0.876	0.43	1
S5	0.053	0.019	0.034	0.053	0.393	0.366	0.306	0.096	0.075	0.513	0.096	0.151	0.906	0.429	1	
茎 S1							1.239	0.908	0.641	0.579	3.107	0.133	2.085	0.816	1	
	S2						1.206	0.904	0.649	0.571	3.106	0.135	2.161	0.817	1	
	S3						1.232	0.915	0.641	0.574	3.103	0.130	2.058	0.825	1	
	S4						1.228	0.922	0.651	0.575	3.102	0.128	2.968	0.813	1	
	S5						1.121	0.904	0.641	0.580	3.102	0.131	2.064	0.763	1	
叶 S1	0.035	0.045	0.090	0.052	0.102	0.091			0.01	0.213		0.137	0.662	0.072	1	
	S2	0.035	0.047	0.091	0.052	0.105	0.089		0.01	0.213		0.138	0.684	0.078	1	
	S3	0.034	0.049	0.091	0.052	0.104	0.091		0.01	0.213		0.139	0.672	0.077	1	
	S4	0.035	0.047	0.091	0.053	0.101	0.091		0.01	0.213		0.138	0.663	0.073	1	
	S5	0.035	0.047	0.091	0.052	0.102	0.086		0.01	0.213		0.138	0.673	0.071	1	

最高。

测定了 10 批赶黄草花样品,共标出 15 个共有峰,各样品间峰面积相对比值具一定特征性,以 5, 10,13,15 号峰为强峰,可确定为赶黄草花特征峰。15 个共有峰峰面积的相对含量均较稳定,相似度在 0.925~0.960,说明不同来源的赶黄草花的质量相对稳定。

15 个共有峰经对照品对照,确定 5 号峰与 9 号峰分别为芦丁峰和槲皮素峰。后续研究将采用 LC-MS 及化学成分分离鉴定方法进一步确定共有峰的化学成分。

对 5 批赶黄草茎、叶、花进行了 HPLC 指纹图谱比较分析,结果茎具有 9 个特征指纹峰,叶具有 12 个特征指纹峰,花具有 15 个特征指纹峰,茎以 10, 13,15 号峰为主要特征峰,叶、花均以 5,10,13,15 号峰为主要特征峰。结果表明茎、叶、花的特征峰数目和相对含量具较大差异;与花相比,叶缺失 7,8, 11 号 3 个色谱峰,茎缺失 1,2,3,4,5,14 号 6 个色谱峰,在相同条件下,茎的峰面积除 10 号峰和叶、花峰面积相同外,其他特征指纹峰面积均比其他部位峰面积小。赶黄草叶和花所含特征指纹峰数目和相对

含量高于赶黄草茎,且花的色谱峰最多,说明赶黄草各部位药材质量优劣顺序为花 > 叶 > 茎,与药材市场价格相吻合;为保证赶黄草药材的质量,建议赶黄草在花期采收,与文献[5]报道一致。

[参考文献]

[1] Kapoor, Shailendra. Comment on isolation and identification of compounds from *Penthorum chinense* Pursh with antioxidant and antihepatocarcinoma properties: Pinoembrin and its rapidly emerging neuroprotective effects[J]. J Agr Food Chem, 2013, 61 (6):1416-1417.

[2] Zhang T T, Xu X L, Jiang M H, et al. Hepatoprotective function of *Penthorum chinense* Pursh[J]. Food Func, 2013, 4(11):1581-1585.

[3] 张旭,杨明. 赶黄草有效成分研究[J]. 成都中医药大学学报, 2005, 25(4):46.

[4] 韩炜,张红,张志杰,等. 赶黄草茎与叶 HPLC 特征指纹图谱的比较[J]. 中药材, 2013, 36(3):387-391.

[5] 孙佩,童文,杨晓,等. 赶黄草不同生育时期植株质量及有效成分含量变化研究[J]. 西南农业学报, 2013, 26(6):2666-2668.

[责任编辑 顾雪竹]