

## 不同产地马齿苋 HPLC 指纹图谱

张文洁<sup>1</sup>, 胡娜<sup>2</sup>, 徐靓<sup>1</sup>, 程岚<sup>1\*</sup>

(1. 辽宁中医药大学药学院, 辽宁大连 116600;  
2. 北京慧宝康源医学研究有限责任公司, 北京 100084)

**[摘要]** 目的:建立马齿苋水提液 HPLC 特征指纹图谱。方法:采用回流提取制备不同产地马齿苋药材供试品溶液,流动相乙腈-甲醇(7:3)-0.1%甲酸水溶液梯度洗脱,检测波长 320 nm,建立马齿苋水提液的 HPLC 指纹图谱,并进行相似度评价。结果:10 种不同产地马齿苋供试品溶液指纹图谱中确定了 11 个共有峰,5 号峰咖啡酸为参照峰,10 批样品指纹图谱中 12 个共有峰的相似度均 >0.80。结论:该方法具有较好的重复性和稳定性,所建立的马齿苋 HPLC 指纹图谱标定了 11 个共有峰,色谱峰的重叠率较高,说明马齿苋没有明显的地域差异性,该方法将为马齿苋药材质量控制提供可靠依据,为其相关及临床应用研究提供借鉴。

**[关键词]** 马齿苋; 指纹图谱; 高效液相色谱; 不同产地

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)19-0060-04

**[doi]** 10.13422/j.cnki.sjfx.2015190060

**HPLC Fingerprints of *Portulaca oleracea* from Different Places** ZHANG Wen-jie<sup>1</sup>, HU Na<sup>2</sup>, XU Liang<sup>1</sup>, CHENG Lan<sup>1\*</sup> (1. School of Pharmacy, Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Dalian 116600, China; 2. Beijing Huibao Kangyuan Co. Ltd., Beijing 100084, China)

**[Abstract]** **Objective:** To establish an HPLC fingerprint method of water extracts from *Portulaca oleracea*. **Method:** The sample solutions of *P. oleracea* from different origins were prepared by the reflux extraction. An HPLC fingerprint analysis was performed with acetonitrile-methanol (7:3) and 0.1% formic acid as the mobile phase by gradient elution. The UV detection was 320 nm. And the similarity evaluation analysis was conducted. **Result:** Totally 11 common peaks were identified in the fingerprints of sample solution of 10 types of *P. oleracea* from different origins. With the No. 5 peak caffeic acid as the reference peak, the similarities of 12 common peaks in the fingerprints of the 10 batches of samples were more than 0.80. **Conclusion:** The method has a good reproducibility and stability and identify 11 common peaks in the HPLC fingerprint, with a high overlap rate in the chromatographic peaks, indicating no significant regional differences in *P. oleracea*. It can provide a reliable basis for the quality control of *P. oleracea* and a reference for relevant and clinic application studies.

**[Key words]** *Portulaca oleracea*; fingerprint; HPLC; different places

马齿苋具有清热解毒、凉血止血、止痢的功效,用于热毒血痢、痈肿疔疮、湿疹、丹毒等<sup>[1]</sup>。主要成分为黄酮类、生物碱、多糖、香豆素、有机酸等,具有抗菌、抗炎、止痛、抗氧化、抗衰老等药理作用<sup>[2-3]</sup>。近年来,马齿苋体内外化学成分分析报道较多<sup>[4-10]</sup>。复方中含马齿苋的指纹图谱研究也有报道<sup>[11-12]</sup>,而马齿苋药材指纹图谱研究未见报道,本文对 10 种不同产地马齿苋药材进行研究,建立马齿苋药材的

HPLC 指纹图谱分析方法,为全面控制和评价马齿苋药材的质量提供依据。

### 1 材料

不同产地马齿苋药材 S<sub>1</sub> ~ S<sub>8</sub> 为收集品种,分别采自河北,湖南,朝阳,大连,沈阳,辽阳,江苏,山东,黑龙江,安徽, S<sub>9</sub>, S<sub>10</sub> 为市售马齿苋饮片,经辽宁中医药大学翟延君教授鉴定均为马齿苋科植物马齿苋 *Portulaca oleracea* 的干燥地上部分。

**[收稿日期]** 20141008(010)

**[第一作者]** 张文洁,高级实验师,从事药物制剂及新药研究, Tel: 0411-85890182, E-mail: wenjiezhang509@hotmail.com

**[通讯作者]** \* 程岚,博士,教授,从事药物制剂方面研究, Tel: 0411-85890145, E-mail: sychenglan@163.com

甲醇,乙腈(色谱纯,Teda Company INC.),甲酸、甲醇(分析纯,国药集团化学试剂有限公司),纯净水购于娃哈哈集团有限公司。

1100 系列高效液相色谱仪(美国安捷伦仪器有限公司),BT 25S 型 1/1 万电子分析天平(北京赛多利斯仪器有限公司),KQ-500DE 型超声波清洗器(昆山超声仪器有限公司)。

## 2 方法与结果

**2.1 色谱条件** 依利特 C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 200 mm, 5 μm),流动相乙腈-甲醇(7:3)(A)-0.1% 甲酸水溶液(B)梯度洗脱(0~30 min,10%~20% A;30~40 min,20%~23% A;40~60 min,23%~30% A),检测波长 320 nm,流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>,柱温 25 °C,进样量 20 μL。

**2.2 供试品溶液的制备** 取马齿苋药材(S<sub>1</sub>)粗粉 2.5 g,精密称定,置 50 mL 具塞锥形瓶中,精密加 5% 甲酸甲醇溶液 25 mL,密塞,摇匀,称定质量,超声处理(功率 250 W,频率 40 kHz)30 min,取出,放冷,再称定质量,用 5% 甲酸甲醇溶液补足。摇匀,离心,取上清液,置棕色瓶中,作为供试品溶液。

### 2.3 指纹图谱方法学考察<sup>[13]</sup>

**2.3.1 精密密度试验** 取同一产地马齿苋(S<sub>1</sub>)供试品溶液,在同一色谱条件下,连续进样 5 次,测定其指纹图谱,再用“中药指纹图谱相似度评价系统”(2004A)软件计算,其中时间窗设为 0.7,结果平均相似度为 0.993 6,RSD 0.3%,表明仪器精密密度良好。

**2.3.2 稳定性试验** 取同一产地马齿苋(S<sub>1</sub>)供试品溶液,在同一色谱条件下,分别在 1, 2, 4, 8, 16, 24 h 进样 6 次,测定其指纹图谱,再用“中药指纹图谱相似度评价系统”(2004A)软件计算,其中时间窗设为 0.7,结果平均相似度为 0.992,RSD 0.4%,表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

**2.3.3 重复性试验** 取同一产地马齿苋(S<sub>1</sub>)药材粗粉 6 份,按照 2.2.1 项下方法制备供试品溶液,在同一色谱条件下,测定其指纹图谱,用“中药指纹图谱相似度评价系统”(2004A)软件计算,其中时间窗设为 0.7,结果相似度平均值为 0.971,RSD 1.4%,表明本法测定的重复性良好。

**2.3.4 耐用性试验** 取同一产地马齿苋(S<sub>1</sub>)供试品溶液,用 3 个不同色谱柱,其他色谱条件相同,每个色谱柱,进样 2 次,测定其指纹图谱。再用“中药指纹图谱相似度评价系统”(2004A)软件计算,其中时间窗设为 0.7,用依利特 C<sub>18</sub>,Diamonsil C<sub>18</sub>,

Welchrom C<sub>18</sub> 3 个不同品牌色谱柱测定相似度均 > 0.92,RSD 1.4%,结果表明该方法系统适用性和耐用性良好。

**2.4 指纹图谱建立** 在上述色谱条件下,测定 S<sub>1</sub>~S<sub>10</sub> 供试品溶液 HPLC 色谱图。马齿苋药材指纹图谱以保留时间约为 19.27 min 的 5 号峰(咖啡酸)作为参照峰。根据不同产地供试品测定结果所给出的峰数、峰值(积分值)和峰位(相对迁移时间)等相关参数,进行分析、比较,制定优化的指纹图谱。结果见图 1。

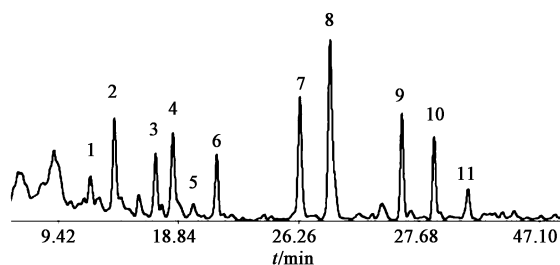


图 1 马齿苋药材的指纹谱

Fig. 1 HPLC chromatographic of *Portulaca oleracea*

### 2.5 指纹图谱分析

**2.5.1 共有指纹峰的标定** 经过对马齿苋供试品 HPLC 色谱图的分析、比较,标定马齿苋 11 个共有峰作为指纹图谱特征峰,5 号峰鉴定为咖啡酸,做为参照峰,分别求出各共有峰与之相比的 α 值(调整迁移时间之比)和各共有峰的相对峰面积。结果见表 1,2。

**2.5.2 指纹图谱的聚类分析** 选择马齿苋 HPLC 中 11 个共有峰,用 SPSS 15.0 软件的 hierarchical cluster analysis 对 10 个不同产地马齿苋样品进行聚类分析,所用的聚类方法为 Nearest neighbor,距离公式为 Square Euclidean distance,得到不同产地马齿苋的聚类分析。见图 2。

结果显示,样品河北、安徽、黑龙江、湖南、山东、朝阳、大连归为一类;沈阳、辽阳归为一类;河北、安徽、黑龙江、湖南、山东、朝阳、大连与沈阳、辽阳归为一类;江苏与其他样品完全归为一类。

**2.5.3 色谱峰的重叠率** 以马齿苋对照谱图(R)为基准,按照以下公式计算[待测样品与对照谱图共有的峰数 × 2 / (待测样品与对照谱图峰数和)] × 100%,S<sub>1</sub>~S<sub>10</sub> 号样品色谱峰的重叠率结果见表 3。样品的色谱峰重叠率除 S<sub>7</sub> 江苏外,均在 84% 以上。

**2.5.4 相似度评价** 将测试数据导入国家药典委员会“中药指纹图谱相似度评价系统”(2004A)软件,经过校正选峰,设定匹配模式,将色谱峰自动匹

表 1 马齿苋 HPLC 指纹图谱中共有峰的相对迁移时间  $\alpha$  值

Table 1 Relative migrating time of common peak in HPLC fingerprint of *Portulaca oleracea*

批次	峰 1	峰 2	峰 3	峰 4	峰 5	峰 6	峰 7	峰 8	峰 9	峰 10	峰 11
S <sub>1</sub>	0.630	0.756	0.892	0.942	1.000	1.168	1.450	1.586	1.858	1.986	2.061
S <sub>2</sub>	0.633	0.743	0.913	0.959	1.000	1.140	1.480	1.611	1.898	2.053	2.166
S <sub>3</sub>	0.614	0.733	0.872	0.942	1.000	1.152	1.448	1.543	1.801	1.967	2.076
S <sub>4</sub>	0.628	0.746	0.884	0.953	1.000	1.131	1.466	1.599	1.875	2.005	2.140
S <sub>5</sub>	0.648	0.729	0.894	0.964	1.000	1.138	1.472	1.589	1.878	2.004	2.115
S <sub>6</sub>	0.687	0.778	0.927	0.952	1.000	1.186	1.538	1.666	1.971	2.107	2.251
S <sub>7</sub>	0.634	0.728	0.920	0.967	1.000	1.147	1.486	1.609	1.900	2.054	2.169
S <sub>8</sub>	0.632	0.749	0.912	0.959	1.000	1.140	1.480	1.608	1.896	2.027	2.163
S <sub>9</sub>	0.634	0.715	0.894	0.942	1.000	1.114	1.445	1.583	1.850	1.977	2.088
S <sub>10</sub>	0.614	0.750	0.893	0.941	1.000	1.168	1.450	1.584	1.842	1.986	2.099

表 2 马齿苋 HPLC 指纹图谱中共有峰的相对峰面积

Table 2 Common model of HPLC fingerprint of *Portulaca oleracea*

产地	峰 1	峰 2	峰 3	峰 4	峰 5	峰 6	峰 7	峰 8	峰 9	峰 10	峰 11
S <sub>1</sub>	0.172	0.414	0.630	0.484	1.000	0.294	0.461	1.337	0.748	0.694	0.198
S <sub>2</sub>	1.881	0.265	0.252	0.294	1.000	0.187	0.734	2.280	0.242	0.306	1.187
S <sub>3</sub>	1.400	1.182	1.292	1.002	1.000	0.927	1.576	1.349	1.085	1.637	1.440
S <sub>4</sub>	2.482	0.957	1.147	1.432	1.000	0.923	0.981	0.780	0.833	0.546	1.279
S <sub>5</sub>	3.147	2.910	2.145	2.924	1.000	1.960	2.729	4.338	2.667	1.694	1.010
S <sub>6</sub>	1.882	1.167	2.299	0.646	1.000	1.930	3.241	5.666	2.410	1.888	0.867
S <sub>7</sub>	1.332	2.285	1.111	1.435	1.000	0.707	1.256	3.251	1.686	0.123	8.317
S <sub>8</sub>	1.754	0.783	0.285	0.615	1.000	0.383	0.410	1.544	0.899	0.699	1.728
S <sub>9</sub>	1.407	1.333	1.216	1.229	1.000	0.128	0.355	1.759	0.842	0.724	0.116
S <sub>10</sub>	0.104	0.732	0.825	0.862	1.000	0.610	0.582	2.262	1.229	0.977	0.144

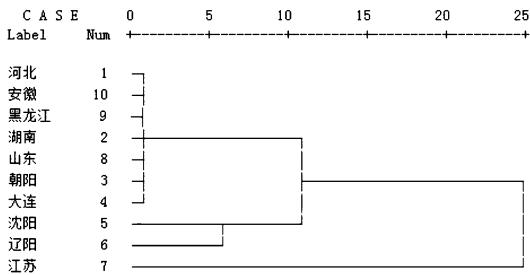


图 2 不同产地马齿苋的聚类分析

Fig. 2 Cluster analysis of *Portulaca oleracea* in different places

配,生成对照图谱(R),见图3。

色谱差异性评价和整体相似性评价,相似度结果表明马齿苋不同产地样品的指纹图谱,相似度较好均 > 0.8。但出峰时间在 20.5 min 左右,与马齿苋对照谱图(R)比较,样品 S<sub>6</sub> ~ S<sub>8</sub>, S<sub>10</sub> 峰面积基本一致,样品 S<sub>1</sub> ~ S<sub>5</sub>, S<sub>9</sub> 的峰面积明显小。

表 3 色谱峰的重叠率

Table 3 Overlapping ratios of chromatographic peak

No.	峰数	重叠率/%	No.	峰数	重叠率/%
S <sub>1</sub>	47	87.85	S <sub>6</sub>	52	92.86
S <sub>2</sub>	44	84.62	S <sub>7</sub>	33	70.97
S <sub>3</sub>	49	89.91	S <sub>8</sub>	46	86.79
S <sub>4</sub>	48	88.89	S <sub>9</sub>	44	84.62
S <sub>5</sub>	53	93.81	S <sub>10</sub>	45	85.71

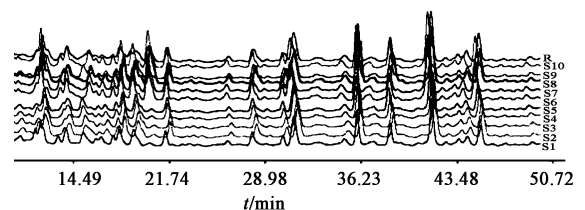


图 3 马齿苋 HPLC 指纹谱共有模式

Fig. 3 Common model of HPLC fingerprint of *Portulaca oleracea*

### 3 结论与讨论

本文采用 HPLC 对不同产地马齿苋进行指纹图谱相似度评价,不同产地马齿苋的化学成分没有明显区别,各成分的含量稍有不同,相似度较高,均 > 0.80。在 20.5 min 左右,样品  $S_6 \sim S_8, S_{10}$  峰面积基本一致,样品  $S_1 \sim S_5, S_9$  的峰面积明显小,为今后的实验研究提供一定的参考价值。

所建立的马齿苋指纹图谱标定了 11 个共有峰,色谱峰的重叠率较高,说明马齿苋没有明显的地域差异性。

本实验建立的马齿苋 HPLC 指纹图谱分析方法,方法简便,重复性好,专属性强,可全面控制马齿苋药材的内在质量。

#### [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, 2010:46.  
[2] 牛广财,朱丹. 马齿苋化学成分及其药理作用研究进展[J]. 安徽农业科学, 2005, 33(6):1090-1092.  
[3] 丁怀伟,姚佳琪,宋少江. 马齿苋的化学成分和药理活性研究进展[J]. 沈阳药科大学学报, 2008, 25(10):831-838.  
[4] 焦泽沼,刘佃雨,王培培,等. 比色法测定不同产地马齿苋中总多酚[J]. 现代药物与临床, 2014, 29(7):745-748.  
[5] 韩成花,白玉华,于春月,等. 高效液相色谱法同时测定大庆马齿苋中山奈酚和槲皮素的含量[J]. 中国

医药导报, 2014, 11(7):91-93.

[6] 雷红伟,徐丽君,董慧,等. RP-HPLC 测定马齿苋黄酮提取物中染料木苷的含量[J]. 中西医结合杂志, 2013, 5(4):189-190,193.  
[7] 王琳,郜昭慧,程忠哲,等. 马齿苋中多元酚含量测定[J]. 辽宁中医药大学学报, 2012, 17(6):212-214.  
[8] Cheng L, Cheng Z Z, Liu H X, et al. Liquid chromatographic (LC) determination of four bioactive compounds in the *Portulaca oleracea* L. [J]. J Med Plants Res, 2011, 5(31):6676-6680.  
[9] Cheng Z Z, Xie M, Zhang W J, et al. HPLC method for the simultaneous determination of four compounds in rat plasma after intravenous administration of *Portulaca oleracea* L. extract [J]. Brazil J Pharm Sci, 2012, 48(1):163-170.  
[10] Cheng Z Z, Wang D, Zhang W J, et al. LC determination and pharmacokinetic study of the main phenolic components of *Portulaca oleracea* L. extract in rat plasma after oral administration [J]. Nat Prod Res, 2012, 26(23):2247-2450.  
[11] 段渠,林俊芝,张定堃. 黄白甘草洗剂的 HPLC 指纹图谱研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(24):81-84.  
[12] 刘蔚,李力,蹇顺华,等. 金玄痔科熏洗散及其有效部位新制剂的 HPLC 指纹图谱比较[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(2):99-102.  
[13] 徐虎,韩乐,刘训红,等. 地黄饮片 HPCE 指纹图谱研究[J]. 中药材, 2012, 35(4):548-552.

[责任编辑 顾雪竹]