

## 辣木叶的 HPLC 指纹图谱

金玲<sup>1</sup>, 娄涛涛<sup>1</sup>, 刘旋<sup>2</sup>, 张旭<sup>1\*</sup>

- (1. 成都中医药大学药学院, 中药材标准化教育部重点实验室, 四川省中药资源系统研究与开发利用重点实验室——省部共建国家重点实验室培育基地, 成都 611137;
2. 西双版纳傣药有限公司, 云南景洪 666100)

**[摘要]** 目的:通过建立辣木叶的 HPLC 指纹图谱,评价不同产地辣木叶质量的差异,为辣木质量控制和评价提供科学依据,推动辣木的开发与利用。方法:采用 HPLC 法, Diamonsil Plus C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相乙腈(A)-0.05% 磷酸溶液(B)(0~70 min, 5%~30% A; 70~75 min, 30%~100% A), 流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, 检测波长 230 nm, 柱温 30 ℃。测定 5 个不同产地 12 批辣木叶的指纹图谱,并采用国家药典委员会颁布的“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”(2004 A)和 SPSS 21.0 统计软件中的聚类分析对指纹图谱进行相似度比较。结果:建立辣木叶指纹图谱共有模式,标定 14 个指纹图谱共有峰,其中 3 个成分峰分别为没食子酸、芦丁、槲皮苷,为其有效成分。12 批辣木叶中 9 批的相似度 > 0.90,说明不同产地及同一产地不同地区辣木叶指纹图谱既有共性又存在一定差异。结论:建立的方法精密度、重复性和稳定性较好,可为辣木叶的鉴别和质量评价提供参考。

**[关键词]** 辣木叶; 高效液相色谱法; 指纹图谱; 相似度评价; 聚类分析

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2017)08-0086-06

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2017080086

**[网络出版地址]** <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20170214.0836.006.html>

**[网络出版时间]** 2017-02-14 8:36

### HPLC Fingerprint of *Moringa oleifera* Leaves

JIN Ling<sup>1</sup>, LOU Tao-tao<sup>1</sup>, LIU Xuan<sup>2</sup>, ZHANG Xu<sup>1\*</sup>

- (1. Pharmacy College, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine (TCM), Key Laboratory of Standardization of Chinese Herbal Medicine, Ministry of Education, Key Laboratory of Systematic Research, Development and Utilization of Chinese Medicine Resources in Sichuan Province, Key Laboratory Breeding Base of Co-founded by Sichuan Province and Ministry of Science and Technology, Chengdu 611137, China;
2. Xishuangbanna Dai Medicine Co. Ltd., Jinghong 666100, China)

**[Abstract]** **Objective:** To establish the HPLC fingerprint of *Moringa oleifera* leaves from different origins for identification and quality control, and promote the development of the modernization process of *M. oleifera* leaves. **Method:** HPLC was performed on the column of Diamonsil Plus C<sub>18</sub> with acetonitrile (A) -0.05% phosphoric acid solution (B) as the mobile phase (0-70 min, 5% -30% A; 70-75 min, 30% -100% A) at a flow rate of 1.0 mL·min<sup>-1</sup>. The detective wavelength was 230 nm and the column temperature was 30 ℃. The fingerprints of 12 batches of *M. oleifera* leaves from 5 different origins were compared for similarity by using *Traditional Chinese Medicine Chromatographic Fingerprint Similarity Evaluation System* (2004 A) and the cluster analysis through SPSS 21.0. **Result:** The common mode for *M. oleifera* leaves fingerprints was established, and

**[收稿日期]** 20160422(015)

**[基金项目]** 成都市科技局惠民项目(2015-HM01-00188-SF)

**[第一作者]** 金玲,在读硕士,从事中药化学和中药质量控制研究, Tel:13980748142, E-mail:492894534@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

14 common fingerprint peaks were identified; among them, three component peaks were gallic acid, rutin and quercetin which were the effective components; the similarity was greater than 0.90 in 9 batches of the 12 batches of *M. oleifera* leaves, indicating that propolis fingerprints had both similarities and differences either from different main producing areas or different fields within the same producing area. **Conclusion:** This method is reproducible, precise and steady and it can be used for origin identification and quality control of *M. oleifera* leaves.

**[Key words]** *Moringa oleifera* leaves; HPLC; fingerprint; similarity assessment; cluster analysis

辣木是辣木亚目辣木科辣木属的一种植物,全世界辣木只有一个属,目前已发现并定名的有 14 个种。至今我国已引种栽培的主要有印度传统辣木、印度改良辣木和非洲辣木<sup>[1]</sup>。

我国于 1960 年代初开始在台湾、海南、广东、云南南部等广大热带、亚热带地区引种辣木。2014 年 7 月,习近平主席在古巴访问期间,将辣木种子作为国礼赠送给古巴领导人卡斯特罗,辣木随即在我国声名鹊起<sup>[2]</sup>。印度传统医学认为,辣木叶有护肝、利尿、消炎、止痛、降压、强心、催乳等功效,常用来预防和治疗糖尿病、高血压病、皮肤病、免疫力弱、贫血、坏血病、肥胖症、关节炎、消化器官肿瘤等疾病<sup>[3]</sup>。辣木的相关研究国外很早就开始,其中辣木叶提取物的生物活性有大量文献报道<sup>[4-6]</sup>;国内对辣木叶的药用价值研究相对较少,仅针对其通便<sup>[7-8]</sup>和体外降糖作用<sup>[9-10]</sup>方面。大部分的研究认为与其药效作用相关的化学成分主要是辣木叶中的黄酮类和多酚类,但其确切的有效成分和作用机制还尚不清楚。国内评价辣木叶质量的优劣通常仅以营养成分和矿物质元素含量的高低为指标,而忽略了具有药效物质基础的活性成分<sup>[11-13]</sup>。目前,欧美一些发达国家已将辣木叶视为新时代的健康食物,在我国,辣木叶的药用保健功能日益受到人们的重视。但现在药材活性成分研究报道缺乏,构效关系研究相对薄弱,质量标准水平偏低,因此,构建一种基于活性成分的整体角度评价辣木叶质量的方法迫在眉睫。色谱指纹图谱凸显同种物质整体相像性,能够全面表征药材内在化学成分种类和数量,体现药材整体质量的信息,文献资料未见关于辣木叶指纹图谱研究报道;本文以辣木叶为材料,采用 HPLC 技术,建立不同产地辣木叶 HPLC 指纹图谱,并结合相似度评价、聚类分析对不同产地辣木叶质量进行综合评价,为建立辣木叶质量标准提供科学依据,探讨指纹图谱技术在辣木叶定性鉴别和质量控制中应用的可行性。

## 1 材料

1200 系列高效液相色谱仪(包括 DAD 阵列检

测器,美国 Agilent 公司),SSI 1500 系列高效液相色谱仪(美国 SSI 公司),Diamondsil Plus C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),DV215CD 型电子天平(美国奥豪斯公司),KQ3200B 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司),FW135 型中药粉碎机(天津泰斯特仪器有限公司)。

乙腈(色谱纯,美国 Fisher 公司),超纯水机(成都超纯科技有限公司),甲醇、磷酸(分析纯,成都市科龙化工试剂厂)。对照品芦丁(中国食品药品检定研究院,批号 100080-200707),没食子酸(成都普思生物科技有限公司,批号 P80380030),槲皮苷(成都曼斯特生物有限公司,批号 must-14092105),纯度均 >98%。

12 批辣木叶样品经成都中医药大学马俞英教授鉴定为辣木科辣木 *Moringa oleifera* 的叶,详细来源信息见表 1。样品收集后晒干,粉碎,过 4 号筛,自封袋密封,避光,于阴凉干燥处保存。

表 1 辣木样品来源

Table 1 Origins of *Moringa oleifera* leaves

样品编号	收集日期	产地	样品来源
S1	2015-05-07	云南景洪	西双版纳傣药有限公司
S2	2015-08-19	印度进口	购买
S3	2015-10-15	云南保山	自采
S4	2015-12-10	云南景洪 1	自采
S5	2016-02-08	云南东川	自采
S6	2016-02-24	云南景洪	云南省热带作物科学研究所 中国-古巴辣木科技合作试验 示范基地
S7	2016-02-24	云南景洪 2	自采
S8	2016-02-24	云南景洪	西双版纳傣药有限公司
S9	2016-02-26	广东江门	新会司前镇辣木种植基地
S10	2016-03-15	云南景洪	云南省热带作物科学研究所 中国-古巴辣木科技合作试验 示范基地
S11	2016-03-15	云南景洪 3	自采
S12	2016-05-05	云南景洪	云南省热带作物科学研究所 中国-古巴辣木科技合作试验 示范基地

注:云南景洪 1,2,3 代表景洪的不同地区,药用部位均是叶。

## 2 方法与结果

**2.1 色谱条件** 采用迪马 C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相乙腈(A)-0.05% 磷酸溶液(B) 梯度洗脱(0 ~ 70 min, 5% ~ 30% A; 70 ~ 75 min, 30% ~ 100% A); 流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, 柱温 30 °C, 检测波长 230 nm, 进样量 10 μL。

**2.2 对照品溶液制备** 精密称取芦丁对照品 10.20 mg, 槲皮苷对照品 10.32 mg 和没食子酸对照品 10.24 mg, 分别用甲醇溶解并定容至 10 mL 量瓶中, 摇匀, 即得质量浓度为 1.020 g·L<sup>-1</sup> 的芦丁对照品溶液, 1.032 g·L<sup>-1</sup> 的槲皮苷对照品溶液和 1.024 g·L<sup>-1</sup> 的没食子酸对照品溶液。

**2.3 供试品溶液制备** 精密称取辣木叶粉末(过 4 号筛) 1.0 g 于 50 mL 锥形瓶中, 精密加入甲醇 20 mL, 称定质量, 超声(500 W, 53 kHz) 30 min, 补足减失的质量, 过滤, 滤液加甲醇定容至 25 mL 量瓶中, 摇匀, 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 取续滤液作为供试品溶液, 即得。

### 2.4 方法学考察

**2.4.1 精密度试验** 取 S1 号辣木叶样品, 按 2.3 项下方法制备供试品溶液, 按 2.1 项下色谱条件连续进样 6 次, 记录色谱图, 考察共有峰相对保留时间和相对峰面积。结果相对保留时间的 RSD < 0.9%, 相对峰面积的 RSD < 3.0%, 表明仪器精密度良好, 符合指纹图谱的技术要求。

**2.4.2 重复性试验** 取 S1 号辣木叶样品 6 份, 按 2.3 项下方法制备供试品溶液, 按 2.1 项下色谱条件依次进样, 记录色谱图, 考察共有峰相对保留时间和相对峰面积。结果相对保留时间的 RSD < 1.0%, 相对峰面积的 RSD < 3.0%, 表明方法重复性良好, 符合指纹图谱的技术要求。

**2.4.3 稳定性试验** 取 S1 号辣木叶样品, 按 2.3 项下方法制备供试品溶液, 按 2.1 项下色谱条件, 分别于 0, 2, 4, 8, 12, 24 h 进样分析, 记录色谱图, 考察共有峰相对保留时间和相对峰面积。结果相对保留时间的 RSD < 1.0%, 相对峰面积的 RSD < 2.8%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

**2.5 辣木叶指纹图谱的建立及共有峰的指认** 在上述条件下, 测定 12 批辣木叶, 记录色谱图。采用“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”(2004A 版) 对 12 批样品的图谱数据进行分析, 以样品 S4 为参考图谱, 以平均数法生成共有模式作为对照图谱, 时间窗宽度为 0.1 s, 得到 12 批样品的图谱均有 14 个共有峰。经对照品及紫外光谱对照, 确认出 1 号峰

为没食子酸, 10 号峰为芦丁, 13 号峰为槲皮苷, 见图 1, 2。其中, 12 号峰峰面积较大, 且峰型和分离度均较好, 选择作为参照峰, 计算各共有峰与参照峰的相对保留时间和相对峰面积, 结果见表 2, 3。

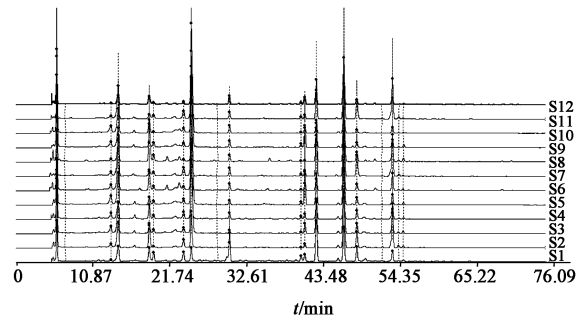
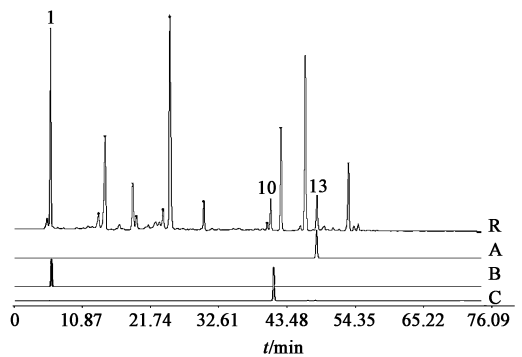


图 1 12 批辣木叶 HPLC 指纹谱

Fig. 1 HPLC fingerprint of 12 batches of *Moringa oleifera* leaves



R. 辣木叶共有模式; A, B, C. 对照品; 1. 没食子酸; 10. 芦丁; 13. 槲皮苷

图 2 12 批辣木叶共有模式

Fig. 2 HPLC fingerprint common pattern of 12 batches of *Moringa oleifera* leaves

**2.6 12 批辣木叶共有峰情况分析** 从图 1 和表 4 中可以看出, 10 号共有峰(芦丁)的 RSD 97.9%, 在 14 个共有峰中最大, 说明 12 批辣木叶中芦丁含量的差异最大, S5 中含有芦丁量最多。其次是 4, 5, 7, 8, 13, 14 号共有峰面积的 RSD 在 56.2% ~ 73.9%, 仅次于 10 号共有峰, 表明不同产地 12 批辣木叶中些成分峰面积差异相对较大。1, 2, 3, 6, 9, 11, 12 号共峰面积 RSD < 50.0%, 变化幅度较小, 相对稳定。综上可知, 不同产地辣木叶化学组分基本相似, 但含量差异较大。

**2.7 不同产地辣木叶相似度评价** 采用“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”(2004A 版) 对 12 批样品的图谱数据进行分析, 将 12 批样品色谱图与对照指纹图谱进行比较, 所得相似度结果见表 5。

由表 5 可知, 相似度分析结果大致可分为 3 类:

表 2 12 批辣木叶指纹图谱共有峰相对保留时间

Table 2 HPLC fingerprint peaks relative retention time of 12 batches of *Moringa oleifera* leaves

样品编号	峰 1	峰 2	峰 3	峰 4	峰 5	峰 6	峰 7	峰 8	峰 9	峰 10	峰 11	峰 13	峰 14
S1	0.125	0.298	0.320	0.408	0.425	0.520	0.548	0.654	0.872	0.883	0.920	1.041	1.152
S2	0.126	0.290	0.311	0.408	0.422	0.513	0.536	0.652	0.868	0.880	0.915	1.040	1.151
S3	0.121	0.283	0.307	0.403	0.418	0.509	0.535	0.650	0.870	0.882	0.916	1.039	1.147
S4	0.126	0.290	0.311	0.408	0.422	0.513	0.536	0.652	0.868	0.880	0.915	1.040	1.151
S5	0.121	0.289	0.310	0.405	0.419	0.511	0.531	0.651	0.871	0.883	0.919	1.040	1.144
S6	0.131	0.285	0.309	0.397	0.413	0.500	0.524	0.646	0.869	0.882	0.915	1.043	1.149
S7	0.130	0.302	0.324	0.422	0.431	0.522	0.542	0.662	0.873	0.884	0.920	1.038	1.147
S8	0.128	0.289	0.314	0.408	0.423	0.511	0.535	0.652	0.873	0.885	0.919	1.040	1.145
S9	0.125	0.291	0.312	0.408	0.421	0.510	0.531	0.649	0.866	0.877	0.914	1.041	1.152
S10	0.130	0.294	0.315	0.404	0.420	0.511	0.531	0.646	0.868	0.880	0.916	1.041	1.147
S11	0.126	0.297	0.320	0.420	0.429	0.519	0.541	0.656	0.871	0.882	0.916	1.039	1.150
S12	0.123	0.284	0.308	0.407	0.418	0.512	0.539	0.654	0.868	0.880	0.916	1.038	1.143

注:峰 12 均为 1.000。表 3 同。

表 3 12 批辣木叶指纹图谱共有峰相对峰面积

Table 3 HPLC fingerprint peaks relative peak area of 12 batches of *Moringa oleifera* leaves

样品编号	峰 1	峰 2	峰 3	峰 4	峰 5	峰 6	峰 7	峰 8	峰 9	峰 10	峰 11	峰 13	峰 14
S1	0.859	0.067	0.611	0.500	0.315	0.355	0.387	0.718	0.153	0.201	1.659	0.432	0.327
S2	0.658	0.084	0.477	0.375	0.025	0.143	0.548	0.064	0.011	0.052	0.384	0.257	0.597
S3	0.619	0.139	0.573	0.132	0.052	0.105	1.474	0.043	0.021	0.125	0.397	0.151	0.281
S4	1.426	0.246	0.771	0.529	0.122	0.272	2.076	0.178	0.092	0.177	0.641	0.321	0.539
S5	0.985	0.194	0.579	0.121	0.058	0.103	2.274	0.062	0.043	0.450	0.350	0.114	0.144
S6	1.062	0.182	1.286	0.438	0.085	0.106	0.851	0.124	0.021	0.123	0.302	0.140	0.315
S7	2.278	0.408	1.136	0.519	0.051	0.217	2.330	0.264	0.047	0.194	0.439	0.159	0.228
S8	0.451	0.047	0.362	0.579	0.097	0.042	0.296	0.082	0.010	0.013	0.439	0.133	0.251
S9	1.822	0.201	0.649	0.152	0.145	0.142	2.800	0.161	0.093	0.506	0.504	0.145	0.204
S10	0.188	0.095	0.711	0.084	0.069	0.164	1.772	0.114	0.036	0.067	0.569	0.339	0.670
S11	0.184	0.098	0.699	0.086	0.073	0.160	0.869	0.107	0.034	0.059	0.562	0.346	0.688
S12	1.048	0.093	0.591	0.465	0.093	0.169	0.660	0.375	0.107	0.384	0.655	0.239	0.335

第 I 类为 S1, S8, 其相似度 < 0.85; 第 II 类为 S7, 其相似度为 0.85 ~ 0.90; 第 III 类为 S2, S3, S4, S5, S6, S9, S11, S12, 其相似度均 > 0.90。相似度结果表明, 不同产地的辣木叶成分相似度较高, 而由西双版纳傣药有限公司提供的辣木叶相似度较差, 这也许和公司采收加工辣木叶的方式有关, 说明其采收加工方式不稳定, 需要制定一系列措施统一其采收加工方式。

**2.8 不同产地辣木叶聚类分析** 为反映不同产地辣木叶的整体质量, 本实验选用 12 批样品所有峰面积的原始数据进行聚类分析, 研究不同产地样品之间的关系。将 12 批样品峰面积原始数据导入 SPSS 21.0 进行系统聚类, 采用组间连接法, 以相关系数作为样品相似度的距离公式, 聚类结果见图 3。

从图 3 可以看出, 不同产地 12 批样品在距离 25 时被聚为 1 类。在距离为 20 时, 聚为 2 类, 其中 S1 与其他批次辣木叶分隔开, 表明该批次由西双版纳傣药有限公司提供的辣木叶差异性较大。当距离从 15 到 10 的过程中, 样品被依次分开。最终聚类分析将 S7, S9, S5, S4, S3, S11 聚为一大类, 将 S2, S8, S12, S6, S10 聚为一类, 将 S1 单独聚为一类。结果表明, 云南省热带作物科学研究所中国-古巴辣木科技合作试验示范基地种植的辣木叶相似度较好, 本实验中于云南景洪、云南东川、云南保山自采以及由广东江门提供的辣木叶一致性良好, 而由西双版纳傣药有限公司提供的辣木叶差异性较大。

### 3 讨论

**3.1 色谱条件的优化** 由于辣木叶成分复杂, 本实

表 4 不同产地 12 批辣木叶共有峰面积

Table 4 Areas of common peaks for 12 batches of *Moringa oleifera* leaves from different regions

样品编号	峰 1	峰 2	峰 3	峰 4	峰 5	峰 6	峰 7	峰 8	峰 9	峰 10	峰 11	峰 12	峰 13	峰 14
S1	792 079	61 842	563 631	461 414	290 617	327 058	357 421	662 273	141 158	185 322	1 530 957	922 613	398 532	301 852
S2	1 201 176	153 680	871 219	684 276	45 625	261 751	1 000 052	116 450	20 809	95 143	701 102	1 824 797	469 126	1 089 041
S3	1 216 444	273 283	1 127 202	258 916	102 571	205 697	2 897 835	83 752	41 455	246 297	781 367	1 966 490	296 279	551 630
S4	1 144 458	197 557	619 051	424 217	97 740	218 462	1 666 154	143 100	74 094	141 660	514 310	802 490	257 885	432 494
S5	1 863 808	366 729	1 096 088	229 589	109 103	195 400	4 305 510	117 982	80 871	851 084	663 089	1 893 017	215 485	272 309
S6	1 474 225	252 797	1 785 684	607 864	118 065	146 498	1 181 205	172 384	29 525	170 425	419 788	1 388 743	194 336	437 100
S7	1 687 346	301 975	841 510	384 283	37 464	160 390	1 726 134	195 880	34 808	143 752	324 804	740 788	117 837	168 999
S8	933 353	97 726	748 833	1 197 980	199 921	87 249	612 127	169 577	20 555	26 613	908 649	2 069 308	275 895	520 159
S9	1 929 913	212 479	686 902	160 495	153 854	150 208	2 965 467	170 327	98 572	536 087	533 230	1 059 069	153 038	215 509
S10	349 985	176 070	1 324 402	156 237	129 020	305 751	3 300 020	211 348	66 391	125 031	1 059 468	1 862 043	630 407	1 247 589
S11	317 118	168 487	1 204 579	148 211	126 099	275 409	1 496 069	184 087	59 090	100 909	968 404	1 722 349	595 259	1 184 696
S12	577 268	51 003	325 204	255 910	51 332	93 014	363 304	206 695	58 871	211 321	360 596	550 662	131 557	184 368

表 5 12 批辣木叶相似度评价

Table 5 Results of similarity evaluation of 12 batches of *Moringa oleifera* leaves

样品编号	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	R
S1	1.000	0.800	0.663	0.707	0.564	0.717	0.508	0.817	0.585	0.751	0.754	0.879	0.761
S2	0.800	1.000	0.870	0.884	0.768	0.904	0.715	0.924	0.766	0.909	0.912	0.933	0.930
S3	0.663	0.870	1.000	0.959	0.971	0.866	0.924	0.773	0.941	0.904	0.893	0.845	0.982
S4	0.707	0.884	0.959	1.000	0.950	0.881	0.945	0.765	0.961	0.842	0.832	0.887	0.977
S5	0.564	0.768	0.971	0.950	1.000	0.801	0.971	0.651	0.982	0.798	0.781	0.786	0.940
S6	0.717	0.904	0.866	0.881	0.801	1.000	0.781	0.847	0.807	0.830	0.826	0.905	0.919
S7	0.508	0.715	0.924	0.945	0.971	0.781	1.000	0.576	0.979	0.715	0.696	0.732	0.899
S8	0.817	0.924	0.773	0.765	0.651	0.847	0.576	1.000	0.632	0.814	0.819	0.899	0.841
S9	0.585	0.766	0.941	0.961	0.982	0.807	0.979	0.632	1.000	0.744	0.728	0.808	0.928
S10	0.751	0.909	0.904	0.842	0.798	0.830	0.715	0.814	0.744	1.000	0.998	0.823	0.919
S11	0.754	0.912	0.893	0.832	0.781	0.826	0.696	0.819	0.728	0.998	1.000	0.821	0.912
S12	0.879	0.933	0.845	0.887	0.786	0.905	0.732	0.899	0.808	0.823	0.821	1.000	0.920
R	0.761	0.930	0.982	0.977	0.940	0.919	0.899	0.841	0.928	0.919	0.912	0.920	1.000

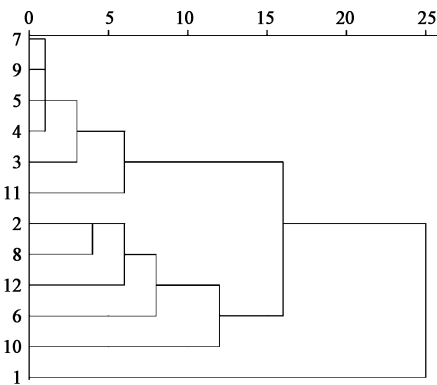


图 3 12 批辣木叶指纹图谱的聚类分析树状关系

Fig. 3 Cluster analysis dendrogram of fingerprints of 12 batches of *Moringa oleifera* leaves

酸溶液等不同溶剂系统的不同比例进行了梯度试验,并对 Diamonsil Plus C<sub>18</sub> (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), Alltech Chrom ODS (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), Kromasil C<sub>18</sub> (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) 等色谱柱进行了比较,结果表明迪马色谱柱较好,并且以乙腈(A)-0.05%磷酸溶液(B)为流动相梯度洗脱,流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>,柱温 30 ℃,检测波长 230 nm,进样量 10 μL 时,各色谱峰分离度和峰形较好,峰数目较多,分布均匀,基线平稳。

**3.2 检测波长的优化** 应用二极管阵列检测器对辣木叶甲醇提取物进行检测,参照 3D 立体图构向分析,在 210,230,260,280,350 nm 处,吸收峰较多,但在 210 nm 和 230 nm 处吸收峰尤其多,基本能够反映出辣木叶的整体效果,又由于 230 nm 处于干扰较

验分别对乙腈-水、甲醇-水、乙腈-甲酸溶液、乙腈-磷

少且在梯度洗脱时,基线平稳,所以确定检测波长为230 nm。

**3.3 样品提取条件的优化** 比较了不同提取方法(超声提取、水浴回流提取),不同溶剂(甲醇、乙醇、水、乙酸乙酯、丙酮)以及考察了不同体积分数甲醇(30%、50%、70%、100%)对图谱的影响,结果显示超声和水浴提取差异不大,用甲醇提取时得到的色谱峰效果最好,信息最为丰富。

**3.4 相似度评价与聚类分析** 相似度和聚类分析的结果显示,云南省热带作物科学研究所中国-古巴辣木科技合作试验示范基地种植的辣木叶相似度较高,聚为一类;采自云南景洪、云南保山、云南东川的辣木叶相似度接近,聚为一类;而由西双版纳德药有限公司提供的2批辣木叶相似度 $<0.85$ ,聚类分析时未能聚为一类,表明这2批辣木叶中成分差异较大,可能是由于采收时期不同导致的,因为在实验过程中发现,辣木叶粉的颜色会随着储存时间的延长而减退。

**3.5 辣木叶指纹图谱对评价辣木质量的意义** 本文建立的辣木叶 HPLC 指纹图谱方法精密度、稳定性、重复性良好。将指纹图谱数据与相似度评价、聚类分析相结合可反映不同产地辣木叶质量的整体变化,结果表明,不同批次或产地的辣木叶 HPLC 指纹图谱既有共性又存在差异,主要色谱峰的整体面貌基本一致,但峰面积有所不同,这说明不同因素会对药材中成分含量产生一定影响,是否与生长环境、土壤条件、采收时间、加工方式等因素有关,有待进一步考察。此外,3种活性成分峰的识别也为辣木叶后续含量测定、质量控制奠定了基础。

[参考文献]

[1] 刘昌芬,李国华. 辣木的研究现状及其开发前景[J]. 云南热作科技,2002,25(3):20-24.  
[2] 张雷,覃聪颖. 马锦林:良性推广辣木产业发展[J]. 广西林业,2015(9):20.

[3] 张燕平,段琼芬,苏建荣. 辣木的开发与利用[J]. 热带农业科学,2004,24(4):42-48.  
[4] Vongsak B, Sithisarn P, Mangmool S, et al. Maximizing total phenolics, total flavonoids contents and antioxidant activity of *Moringa oleifera* leaf extract by the appropriate extraction method [J]. Industrial Crops Prod,2013,44(1):566-571.  
[5] Karthivashan G, Arulselvan P, Wei tan S, et al. The molecular mechanism underlying the hepatoprotective potential of *Moringa oleifera* leaves extract against acetaminophen induced hepatotoxicity in mice [J]. J Func Foods,2015,17:115-126.  
[6] David Ola-Fadunsin S, Oluwafemi Ademola I. Direct effects of *Moringa oleifera* Lam (Moringaceae) acetone leaf extract on broiler chickens naturally infected with *Eimeria* species [J]. Trop Anim Health Prod,2013,45(6):1423-1428.  
[7] 贺银凤,任安祥,林经桓. 辣木叶对小白鼠通便作用的初步研究[J]. 食品工业,2009,29(6):10-12.  
[8] 贺敏,贺银凤. 辣木通便作用研究初探[J]. 内蒙古医学杂志,2009,41(12):1420-1423.  
[9] 陈瑞娇,朱必凤,王玉珍,等. 辣木叶总黄酮的提取及其降血糖作用[J]. 食品与生物技术学报,2007,26(4):42-45.  
[10] 吉莉莉,汪开毓,罗晓波,等. 辣木叶总黄酮响应面法微波萃取工艺优化及其体外降糖效果观察[J]. 天然产物研究与开发,2015,27(6):979-985.  
[11] 马李一,余建兴,张重权,等. 不同干燥方法对辣木叶营养价值的影响[J]. 食品科学,2008,29(9):331-333.  
[12] 初雅洁,符史关,龚加顺. 云南不同产地辣木叶成分的分析比较[J]. 食品科学,2016,37(2):160-164.  
[13] 杨东顺,樊建麟,邵金良,等. 辣木不同部位主要营养成分及氨基酸含量比较分析[J]. 山西农业科学,2015,43(9):1110-1115.

[责任编辑 顾雪竹]