

樟帮栀子饮片 HPLC 指纹图谱研究

周强, 彭红*, 罗光明, 曾金祥
(江西中医学院, 南昌 330004)

[摘要] 目的: 建立樟帮栀子饮片的 HPLC 特征指纹图谱, 为其质量控制提供参考。方法: 采用 RP-HPLC, Agilent Zorbax Eclipse XBD-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm) 色谱柱, 乙腈-水梯度洗脱, 流速 1.0 mL·min⁻¹, 柱温 30 °C, 进样量 20 μL, 检测波长 238 nm(0~20 min), 440 nm(20~40 min)。结果: 初步建立了樟帮栀子饮片 HPLC 指纹图谱, 确定共有峰 9 个。将 11 批不同产地、相同炮制方法的栀子饮片指纹图谱与樟帮栀子饮片对照指纹图谱进行相似度比较, 相似度在 0.495~0.952。结论: 用于建立樟帮栀子饮片指纹图谱的 10 批天齐堂饮片厂提供的栀子饮片相似度理想, 而收集于不同产地、采用相同的炮制方法炮制的栀子饮片内在质量具有较大差异性。

[关键词] 栀子; 樟帮法; 高效液相指纹图谱

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)04-0054-04

[doi] 10.11653/syfy2014040054

HPLC Fingerprint Analysis of Zhangbang Gardenia Decoction Pieces

ZHOU Qiang, PENG Hong*, LUO Guang-ming, ZENG Jin-xiang
(Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China)

[Abstract] **Objective:** To establish a HPLC fingerprint of Gardenia (*Gardenia jasminoids*) decoction pieces which is made with Zhangbang method, so as to provide a reference for its quality control. **Method:** Chromatographic separation was carried out by an Agilent Zorbax Eclipse XBD-C₁₈ column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) and gradient elution was performed by mobile phase containing acetonitrile and water. The flow rate was 1.0 mL·min⁻¹, the column temperature was maintained at 30 °C. The detector was set at 238 nm (0-20 min), 440 nm (20-40 min). **Result:** A consistent Zhangbang Gardenia decoction pieces HPLC fingerprint pattern containing 9 common peaks was obtained. We also compared the similarities between the fingerprints of 11 batches decoction pieces from different areas and the standard one we have established. Similarities ranges from 0.495 to 0.952. **Conclusion:** Similarities between the 10 batches Zhangbang Gardenia decoction pieces we obtained from Zhangshu Tianqitang decoction factory was certainly good. Similarities between the 11 batches from different areas but all were made with the same method and the standard fingerprint we had established for Zhangbang method is quite uneven.

[Key words] *Gardenia jasminoids*; Zhangbang method; HPLC fingerprint

栀子为茜草科植物栀子的干燥成熟果实, 始载于《神农本草经》, 列为中品。栀子性寒, 味苦, 归心、肝、肺、胃、三焦经, 具泻火除烦、清热利湿、凉血

解毒、消肿止痛之功效。一般认为栀子炒后可缓和苦寒之性, 多用于清热解郁。栀子炭性涩, 偏于收敛止血。栀子经姜制后, 可缓和寒性, 增强除烦止呕之功^[1]。

江西的中药饮片炮制历史悠久, 在长期发展过程中形成了独具区域特色的“樟树帮”和“建昌帮”, 占据了四大中药炮制流派的半壁江山。现存唯一有关樟帮炮制技术的详尽文献《樟树中药炮制全书》中, 记载了樟帮栀子饮片的炮制方法, 其以去皮壳取栀子仁为特点, 炒制火候较其他方法为大^[2]。栀

[收稿日期] 20130104(012)

[基金项目] “江西省道地药材栀子规范化种植研究”项目(2011BAI04B01)

[第一作者] 周强, 硕士, 从事中药资源开发与利用研究, E-mail: zhouqiangfly@sina.com

[通讯作者] * 彭红, 从事药物新剂型及质量控制研究, Tel: 15180168408, E-mail: 1030806402@qq.com

子是江西道地药材,产量及规模大且品质相对稳定。但樟帮法栀子饮片的质量标准研究几乎空白。本实验选择樟帮炮制特色明显的江西道地药材栀子为研究对象,建立能反映樟帮炮制特色的栀子饮片指纹图谱,并将来自不同产地、同样采用樟帮炮制法炮制的 11 批栀子饮片指纹图谱与所建立的樟帮栀子饮片对照指纹图谱进行了相似度比较。

1 仪器与试药

UNICO-2000 型紫外-可见分光光度计(尤尼康检测仪器有限公司),Agilent 1200 型高效液相色谱仪(DAD 检测器,VWD 检测器),甲醇(色谱纯)(山东禹王试剂有限公司),乙腈(TEDIA 公司),栀子苷对照品(Z36-111012),中药指纹图谱相似度计算软件 2004B(国家药典委员会),10 批樟帮栀子饮片由樟树天齐堂饮片厂提供。其他栀子药材 11 批收集于江西、浙江、湖南、广西等不同地区,经我院中药鉴定学科组褚小兰教授鉴定为茜草科植物栀子 *Gardenia jasminoides* Ellis 的干燥成熟果实。不同产地药材相应的饮片由实验室自制,方法为樟帮法,符合《中国药典》(2010 年版)栀子项下炒栀子标准,见表 1。

表 1 栀子样品来源

No.	收集地
1	江西樟树
2	江西上饶
3	江西抚州
4	浙江杭州
5	浙江温州
6	福建厦门
7	重庆南川
8	重庆
9	四川纳溪
10	湖南
11	广西

注:品种均为栀子 *G. jasminoides* Ellis。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 Agilent Zorbax Eclipse XBD-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×250 mm,5 μm),流动相乙腈-水(梯度洗脱),检测波长 238 nm(0~20 min),440 nm(20~40 min),柱温 30 ℃,流速 1.0 mL·min⁻¹,进样量 20 μL。梯度洗脱程序见表 2。

2.2 供试品溶液的制备 供试饮片 50 ℃干燥 12 h,粉碎,过 40 目筛。取粉末约 0.1 g,精密称定,

表 2 梯度洗脱程序

t/min	乙腈/%	水/%
0	10	90
15	15	85
20	23	77
30	28	72
40	35	65
50	50	50
60	10	90

置圆底烧瓶中,精密入甲醇-水(50:50)25 mL,回流提取 60 min,放冷,过再称定质量,50% 甲醇补重,摇匀,过滤,精密量取续滤液 2 mL 置 10 mL 量瓶中,50% 甲醇定容,摇匀,经 0.45 μm 的微孔滤膜滤过,取续滤液作为供试品溶液。

2.3 对照品溶液的制备 取栀子苷对照品适量,精密称定,加甲醇制成每 1 mL 含 21.2 μg 的溶液,经 0.45 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液作为混合对照品溶液。

2.4 色谱图记录时间 记录 120 min 的色谱图,由图谱得出 60 min 已基本出峰,因此指纹图谱记录 60 min。

2.5 方法学考察

2.5.1 精密度试验 取供试品溶液,按选定的色谱条件,连续 6 次进样,检测指纹图谱。各共有峰的相对保留时间及 4 号色谱峰的峰面积比值基本一致,其 RSD 均 <2%,相似度均 >0.99,表明仪器精密度良好。

2.5.2 重复性试验 取栀子样品 6 份,照供试品溶液制备方法制备 6 份供试品溶液,在选定的色谱条件下检测指纹图谱。以栀子苷峰的保留时间和峰面积为参照,各共有峰的相对保留时间及 4 号色谱峰的峰面积比值基本一致,其 RSD 均 <2%,相似度均 >0.99,表明本方法重复性较好。

2.5.3 稳定性试验 取供试品溶液,分别在 0,2,4,8,12 h 不同时间点检测指纹图谱,以栀子苷峰的保留时间和峰面积为参照,各共有峰的相对保留时间及 4 号色谱峰的峰面积比值基本一致,其 RSD 均 <2%,相似度均 >0.99,表明样品在 12 h 内稳定性良好。

2.6 樟帮栀子饮片指纹图谱的建立及共有指纹峰的标定 分别取天齐堂樟帮栀子饮片 10 批按 2.2 项制备供试品溶液,在选定的色谱条件下取 20 μL 注入高效液相色谱仪进行分析测定。比较 10 批样品色谱图(图 1),由于栀子苷含量较大且相对稳定,

且与其相邻色谱峰能达到基线分离,故选择栀子苷作为参照物,确定共有峰 9 个,其中 4 号峰(S)为栀子苷的峰。计算 10 批样品共有峰相对保留时间及相对峰面积,两者 RSD 均分别 < 3%,符合指纹图谱

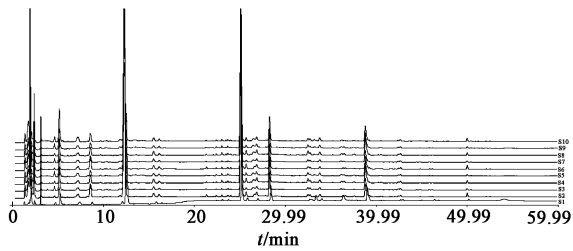


图 1 10 批樟帮栀子饮片色谱

要求。

运用国家药典委员会制定的用于生成共有模式的《中药指纹图谱相似度计算软件》A 版(2004),将 10 批次樟帮栀子饮片图谱数据导入,采用中位数算法,设置样品 1 号图谱为参照图谱,自动匹配生成对照图谱(图 2),10 批栀子饮片指纹图谱相似度理想(表 2)。

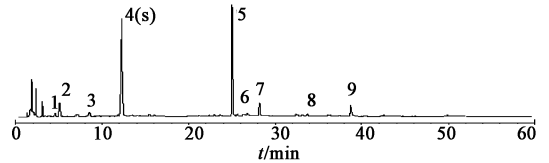


图 2 樟帮栀子饮片对照指纹图谱

表 2 10 批樟帮栀子相似度

No.	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	对照
01	1.000	0.985	0.984	0.984	0.978	0.984	0.962	0.975	0.974	0.987	0.981
02	0.985	1.000	0.998	0.997	0.998	0.996	0.990	0.995	0.993	0.994	0.998
03	0.984	0.998	1.000	0.999	0.998	0.996	0.989	0.995	0.995	0.996	0.999
04	0.984	0.997	0.999	1.000	0.998	0.996	0.989	0.995	0.993	0.995	0.998
05	0.978	0.998	0.998	0.998	1.000	0.994	0.994	0.997	0.994	0.992	0.999
06	0.984	0.996	0.996	0.996	0.994	1.000	0.984	0.990	0.987	0.992	0.994
07	0.962	0.990	0.989	0.989	0.994	0.984	1.000	0.998	0.992	0.984	0.994
08	0.975	0.995	0.995	0.995	0.997	0.990	0.998	1.000	0.996	0.993	0.998
09	0.974	0.993	0.995	0.993	0.994	0.987	0.992	0.996	1.000	0.996	0.996
10	0.987	0.994	0.996	0.995	0.992	0.992	0.984	0.993	0.996	1.000	0.995
对照	0.981	0.998	0.999	0.998	0.999	0.994	0.994	0.998	0.996	0.995	1.000

2.7 不同地区栀子饮片指纹图谱比较及相似度评价 分别取不同产地并由实验室自行炮制的 11 批樟帮栀子饮片按 2.2 项制备供试品溶液,在选定的色谱条件下进行分析(图 3),以 2.7 项下建立的樟帮栀子饮片对照指纹图谱为标准,采用《中药指纹图谱相似度计算软件》B 版(2004),计算相似度。11 批饮片指纹图谱与对照指纹图谱比较相似度分别为 0.930, 0.914, 0.872, 0.495, 0.757, 0.569, 0.942, 0.879, 0.952, 0.570, 0.942(图 4)。

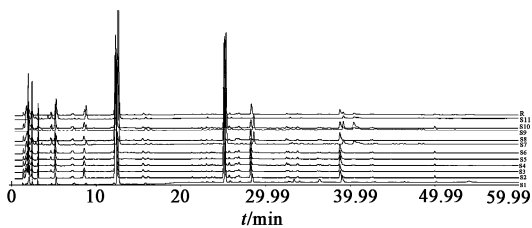


图 3 不同地区栀子 HPLC 色谱

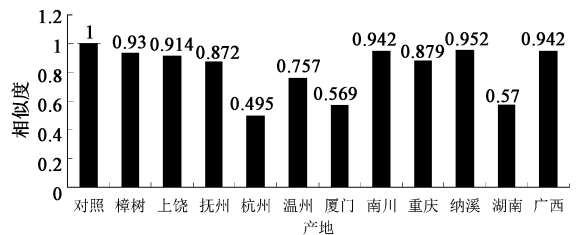


图 4 樟帮栀子对照指纹图谱与各地区栀子指纹图谱比较

3 讨论

本实验所采用的樟帮法栀子饮片炮制技术为本课题组前期工作的研究成果。笔者在考察了栀子的净制工艺以及破碎技术的基础上,以栀子苷含量、西红花苷-1 含量及饮片色泽度为指标,以炒制温度、炒制时间为考察因素确定了樟帮法栀子饮片炮制工艺最佳工艺:取原药材,拣去杂质、残留的果梗及发霉仁黑者,筛去泥土、灰屑,抢水洗净,60 ℃ 烘干,脱皮机破碎后过 4 号筛,置锅内 240 ℃ 炒 18 min,炒至

传统和现代方法相结合评价白术饮片质量

罗琛艳, 金祖翔, 魏思文, 李舰, 窦志英*
(天津中医药大学, 天津 300193)

[摘要] 目的: 通过传统的形态描述和现代的 HPLC 检测方法结合, 研究白术饮片的质量。方法: 对白术饮片的色泽、形状、气味、质地进行描述, 评价优劣; 用 HPLC 方法测定白术饮片中药效成分白术内酯 I, II, III 的含量, 评价其质量。结果: 白术饮片色黄或较黄、有明显黄色或红棕色朱砂点、质地硬有较大裂隙者, 白术内酯类成分含量较高, 白术内酯 I, II, III 含量总和均 $>0.6 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。结论: 白术饮片的传统评价结果与现代 HPLC 方法测定白术内酯含量评价结果基本一致。

[关键词] 白术; 高效液相; 白术内酯; 质量评价

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)04-0057-05

[doi] 10.11653/syfy2014040057

Study of Evaluating *Atractylodis Macrocephala Rhizoma*' Quality by Combination of Traditional and Modern Methods

LUO Chen-yan, JIN Zu-xiang, WEI Si-wen, LI Jian, DOU Zhi-ying*
(Tianjin University of Traditional Medicine, Tianjin 300193, China)

[Abstract] **Objective:** To establish the standard of evaluating the quality of pieces of *Atractylodes*

[收稿日期] 20130710(017)

[基金项目] 中医药行业科研专项(201007012-2-10)

[第一作者] 罗琛艳, 在读研究生, 从事中药成分研究和质量控制研究, E-mail: luochenyan_com@sina.com

[通讯作者] * 窦志英, 教授, Tel: 022-23052241, E-mail: zhiyingdou@163.com

表面焦橙色, 断面黄棕色, 出锅筛去灰屑, 放凉即得。

与对照图谱相比, 11 批不同产地、相同炮制工艺的栀子饮片指纹图谱的相似度在 0.495 ~ 0.952, 其中以江西、四川、广西及重庆南川地区的栀子饮片相似度稍高, 而浙江、福建和湖南等地相似度较差。说明不同产地相同的炮制方法栀子饮片的内在质量具有较大差异。推测可能是由于其土壤环境、气候特点的不同导致的差异。另外, 樟帮法栀子炮制与常规方法比较其特点以及优越性具体表现在哪些方面还有待进一步深入研究。

[参考文献]

- [1] 张学兰, 程合丽, 李慧芬. 栀子炮制的历史沿革研究[J]. 中成药, 2005, 27(11): 1281.
- [2] 龚千锋. 樟树中药炮制全书[M]. 南昌: 江西科学技术出版社, 1990: 240.
- [3] 罗光明, 陈岩. 不同品种及产地栀子水溶性成分指纹

图谱研究[J]. 中成药, 2008, 30(4): 475.

- [4] 王莎, 周小琴, 司徒少金, 等. 栀子药材环烯醚萜类和西红花酸类成分 HPLC 指纹图谱研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(19): 85.
- [5] 任淑娟, 孙辉, 丁野, 等. 栀子药材的 HPLC 指纹图谱研究[J]. 华西药学杂志, 2012(3): 309.
- [6] 陈阳, 贾琳, 蔡乐, 等. 四川纳溪地区栀子指纹图谱及红花苷和栀子苷含量的研究[J]. 华西药学杂志, 2010(4): 458.
- [7] 孙艳清, 马冯飞. 栀子厚朴汤及相关药对和单味药材的指纹图谱研究及多指标定量分析[J]. 药学进展, 2011, 35(8): 373.
- [8] 王硕华, 周晓东. 脑血宁注射液中栀子药材 HPLC 指纹图谱研究[J]. 中国中医药信息杂志, 2011, 18(10): 55.
- [9] 王柯, 张彤, 刘云, 等. 茵栀黄注射液指纹图谱的研究[J]. 中国药理学杂志, 2009, 44(10): 743.

[责任编辑 邹晓翠]