

瓜蒌皮药材的 HPLC 指纹图谱

史国玉^{1,2}, 刘伟¹, 耿岩玲¹, 刘建华¹, 王晓^{1*}, 周凤琴³

(1. 山东省科学院中药过程控制研究中心/山东省分析测试中心, 济南 250014;
2. 山东医学高等专科学校, 济南 250002; 3. 山东中医药大学, 济南 250355)

[摘要] 目的: 建立瓜蒌皮药材的 HPLC 指纹图谱。方法: 采用 Agilent TC-C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) 色谱柱, 以乙腈-0.2% 冰乙酸为流动相进行梯度洗脱, 检测波长 260 nm, 流速 0.8 mL·min⁻¹, 柱温 25 °C, 进样 20 μL。结果: 建立了瓜蒌皮药材的 HPLC 指纹图谱, 方法学考察结果良好, 确立了 13 个共有峰, 其中 5 个共有峰得到确认, 10 批瓜蒌皮样品指纹图谱的相似度均 > 0.9。结论: 该方法稳定性、重复性好, 建立的指纹图谱可为瓜蒌皮的质量评价提供依据。

[关键词] 瓜蒌皮; 指纹图谱; 高效液相色谱

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2014)01-0073-04

[doi] 10.11653/syfy2014010073

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20131017.1131.001.html>

[网络出版时间] 2013-10-17 11:31

HPLC Fingerprint of *Pericarpium trichosanthis*

SHI Guo-yu¹, LIU Wei¹, GENG Yan-ling¹, LIU Jian-hua¹, WANG Xiao^{1*}, ZHOU Feng-qin²

(1. Process Control Research Center of Traditional Chinese Medicine/Shandong Analysis and Test Center, Ji'nan 250014, China; 2. Shandong Medical college, Ji'nan 250002, China;
3. Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Ji'nan 250355, China)

[Abstract] **Objective:** To establish HPLC fingerprint of *P. trichosanthis*. **Method:** The HPLC method was used on an Agilent TC-C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) chromatographic column with acetonitrile-0.2% ice acetic acid as mobile phase in gradient elution at the detection wavelength of 260 nm with the flow rate of 0.8 mL·min⁻¹, and the column temperature was 25 °C, the sample injection was 20 μL. **Result:** The HPLC fingerprint of

[收稿日期] 20130618(009)

[基金项目] “十二五”国家科技支撑计划课题 (2011BAI06B06)

[第一作者] 史国玉, 主管药师, 博士, 从事中药资源与质量控制研究, Tel:0531-68606191, E-mail: shigy@live.com

[通讯作者] * 王晓, 研究员, 博士, 博士生导师, 从事中药资源及天然产物化学研究, Tel:0531-82605304, E-mail: wangx@sdas.org

- [3] 何兴富, 左承学, 褚福胜. HPLC 法测定复方黄连素片中盐酸小檗碱的含量[J]. 华西药学杂志, 1999, 14(2): 132.
- [4] 张敏娟, 黄秀梅, 姜世贤. HPLC 和 UPLC 法测定复方黄连素片中吴茱萸碱、吴茱萸次碱含量的方法比较[J]. 药物分析杂志, 2012, 32(11): 2077.
- [5] 周广涛, 高鹏, 戴兵, 等. 木香中去氢木香内酯和木香烯内酯提取工艺优选[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(2): 40.
- [6] 刘正清. 不同产地和采收时间木香药材中木香烯内酯和去氢木香内酯的测定[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(16): 116.
- [7] 何建雄, 赖小平, 魏刚, 等. HPLC 测定银翘柴桂汤中绿原酸、芍药苷、黄芩苷[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(6): 48.
- [8] 李捷玮, 金柔男, 李翔, 等. 多种中成药中芍药苷的含量测定[J]. 药物分析杂志, 2009, 29(9): 1440.
- [9] 刘静静, 刘晓, 蔡皓等. 对市售白芍饮片芍药苷含量低于中国药典标准的深入探讨[J]. 药物分析杂志, 2010, 30(10): 1817.

[责任编辑 顾雪竹]

P. trichosanthis was established. The methodological investigation result was good. 13 common peaks were existed in the fingerprint and five common peaks were confirmed. The similarities of 10 batches of *P. trichosanthis* are greater than 0.9. **Conclusion:** The method is stable, and the established fingerprint can provide a basis for quality evaluation of *P. trichosanthis*.

[Key words] *Pericarpium trichosanthis*; fingerprint; HPLC.

瓜蒌皮为葫芦科植物栝楼 *Trichosanthes kirilowii* Maxim. 或双边栝楼 *T. rosthornii* Harms 的干燥成熟果皮,具有清热化痰、利气宽胸之功效,主要用于痰热咳嗽、胸闷胁痛等症^[1]。现代研究表明,瓜蒌皮及其制剂具有扩张冠状动脉、抗心律失常、抗氧化应激、抑制血小板聚集、降低胆固醇、抗菌消炎和抗癌等多种作用^[2-5],是治疗心血管系统疾病特别是冠心病的常用中药。

中药指纹图谱技术以其多成分、综合性的特点,成为评价中药质量的一种方法,多用于中药的质量控制及品种鉴定^[6]。为了全面表征瓜蒌皮药材中各成分的分布,作者采用 HPLC 研究瓜蒌皮药材的指纹图谱,为瓜蒌皮药材的质量控制及其开发利用提供科学依据。

1 材料

AGILENT 1200 型高效液相色谱仪、AGILENT CHEMSTATION 工作站、DAD 检测器(美国 Agilent 公司),KQ-250E 型超声波清洗器(江苏昆山市超声仪器有限公司);BSA 124S 型分析天平(北京赛多利斯天平公司)。香草酸葡萄糖苷(98.7%)、柯伊利素葡萄糖苷(98.2%)、香草酸(98.0%)、异槲皮苷(98.5%)与芦丁(99.0%)对照品均由本实验室提供;甲醇、乙腈为色谱纯。

瓜蒌皮药材来源见表 1,经山东省中医药大学周凤琴教授鉴定为葫芦科植物栝楼 *Trichosanthes kirilowii* Maxim. 的干燥成熟果皮,将样品粉碎,过 40 目筛,备用。

表 1 药材来源

No.	药材来源	采集时间	No.	药材来源	采集时间
1	山东平阴 1	2012-11	6	山东长清 2	2012-11
2	安徽亳州	2012-10	7	山东临沂	2012-09
3	山东平阴 2	2012-11	8	河北安国 1	2012-10
4	山东莱芜	2012-10	9	河北安国 2	2012-10
5	山东长清 1	2012-11	10	山东平阴 3	2012-11

2 方法

2.1 色谱条件 Agilent TC-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm ×

250 mm, 5 μm), 流动相乙腈(A)和 0.2% HAc(B) 梯度洗脱,梯度条件见表 2,检测波长 260 nm,柱温 25 °C,流速 1.0 mL·min⁻¹,进样量 20 μL。

表 2 流动相梯度洗脱表

t/min	A/%	B/%	t/min	A/%	B/%
0	5	95	20	8	92
6	5	95	50	25	75
13	8	92	60	100	0

2.2 对照品溶液的制备

2.2.1 对照品的制备 取瓜蒌皮药材粉末,加 95% 乙醇渗漉,提取液减压浓缩,浓缩液依次采用石油醚、乙酸乙酯、正丁醇萃取,回收溶剂得浸膏。取所得乙酸乙酯浸膏和正丁醇浸膏,分别采用大孔吸附树脂柱色谱、硅胶柱色谱、凝胶柱色谱、MCI 柱色谱及制备液相等分离手段分得单体化合物,并综合运用核磁、质谱等现代技术手段,鉴定结构分别为:香草酸葡萄糖苷、柯伊利素葡萄糖苷、香草酸、异槲皮苷与芦丁。

2.2.2 对照品溶液的配制 精密称取上述制备的香草酸葡萄糖苷、柯伊利素葡萄糖苷、香草酸、异槲皮苷与芦丁对照品适量,加甲醇制成质量浓度分别为 0.1 g·L⁻¹ 的混合对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备 精密称取瓜蒌皮药材粉末 2.0 g,置 50 mL 量瓶中,加入 50% 甲醇适量,超声提取 30 min,溶剂补至刻度,摇匀,滤过,取续滤液,0.45 μm 微孔滤膜滤过得供试品。

2.4 方法学考察

2.4.1 精密度试验 吸取供试品提取液(平阴 1),连续进样 6 次,分别记录保留时间及峰面积,以第 7 个峰为参照,计算各峰的相对保留时间及相对峰面积,所得各峰相对保留时间 RSD 均 < 1.12%; 相对峰面积的 RSD 均 < 2.76%,表明仪器精密度良好。

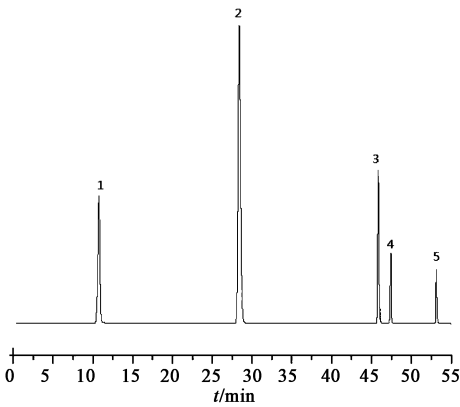
2.4.2 稳定性试验 吸取药材供试品溶液(平阴 1),分别在 0, 2, 4, 8, 12, 24 h 进样 6 次。分别记录各色谱峰的保留时间和峰面积,以第 7 个峰为参照,计算各峰的相对保留时间及相对峰面积,所得相对保留时间的 RSD 均 < 2.32%, 相对峰面积的 RSD

均 < 2.89%,表明供试品溶液 24 h 内稳定。

2.4.3 重复性试验 平行取瓜蒌皮药材粉末 6 份(平阴 1),按 2.3 项下药材供试品溶液的制备方法制备成供试品溶液进样,分别记录各色谱峰的保留时间和峰面积,以第 7 个峰为参照,计算各峰的相对保留时间及相对峰面积,所得相对保留时间的 RSD 均 < 2.72%,相对峰面积的 RSD 均 < 2.96%,结果表明重复性较好。

3 结果

3.1 混合对照品的指纹图谱 精密吸取混合对照品溶液,按 2.1 项下色谱条件进样,所得色谱峰如图 1。

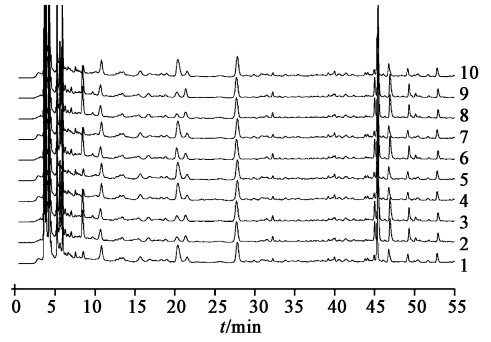


1. 香草酸葡萄糖苷;2. 香草酸;3. 芦丁;
4. 异槲皮苷;5. 柯伊利素葡萄糖苷

图 1 混合对照品色谱峰

3.2 样品指纹图谱测定 将 10 批瓜蒌皮药材按照 2.3 项下制备方法制成供试品溶液,按 2.1 项下色谱条件进行分析,记录色谱图。采用国家药典委员会《中药色谱指纹图谱相似度评价系统 2004A 版》进行数据分析,建立瓜蒌皮药材指纹图谱色谱叠加

图,见图 2。



1~10 为 10 个不同产地

图 2 瓜蒌皮药材 HPLC 叠加

3.3 共有峰的标定 将 10 批瓜蒌皮药材的指纹图谱进行匹配,结果 1~13 号峰在 10 批样品色谱图中均出现。因此标定此 13 个峰为共有指纹峰,将混合对照品色谱图与样品色谱图中相应位置的色谱峰进行比较,确认样品指纹图谱中 2 号峰、7 号峰、10 号峰、11 号峰和 13 号峰分别是香草酸葡萄糖苷、香草酸、芦丁、异槲皮苷与柯伊利素葡萄糖苷,见图 3。

3.4 相似度评价 对 10 批不同产地瓜蒌皮的 HPLC 数据进行处理,相似度结果见表 3。

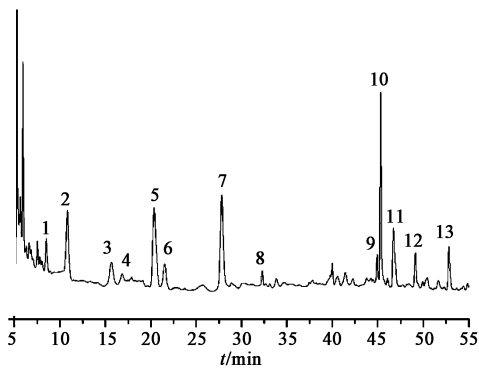
4 讨论与小结

4.1 提取方法的选择 由于瓜蒌皮药材自古以来均作为水煎剂和注射液应用,同时根据文献^[7]及瓜蒌皮的化学成分性质^[8-9],筛选了不同提取溶剂(水、50%乙醇、乙醇、甲醇、50%甲醇)、不同提取方式(超声提取、回流提取),结果表明 50% 甲醇超声提取制备的供试品溶液最佳,对瓜蒌皮药材中主要成分的提取效果较好,且方法简便,容易操作。

4.2 测定波长的选择 为了获得最大量的代表化

表 3 10 批瓜蒌皮药材相似度

No.	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	R
S1	1.000	0.992	0.993	0.994	0.992	0.991	0.999	0.996	0.994	0.998	0.997
S2	0.993	1.000	0.998	0.987	0.993	0.996	0.998	0.993	0.991	0.992	0.994
S3	0.996	0.994	1.000	0.991	0.995	0.994	0.993	0.994	0.994	0.993	0.995
S4	0.994	0.997	0.991	1.000	0.993	0.992	0.995	0.993	0.992	0.982	0.998
S5	0.982	0.993	0.995	0.993	1.000	0.993	0.984	0.992	0.997	0.994	0.999
S6	0.991	0.985	0.994	0.992	0.993	1.000	0.996	0.995	0.998	0.994	0.992
S7	0.999	0.998	0.993	0.995	0.994	0.996	1.000	0.996	0.994	0.995	0.994
S8	0.995	0.993	0.994	0.993	0.992	0.995	0.996	1.000	0.996	0.999	0.992
S9	0.993	0.981	0.994	0.992	0.997	0.998	0.994	0.996	1.000	0.992	0.998
S10	0.998	0.992	0.993	0.994	0.994	0.996	0.995	0.999	0.992	1.000	0.996
R	0.997	0.993	0.995	0.998	0.995	0.992	0.992	0.996	0.998	0.997	1.000



2. 香草酸葡萄糖苷;7. 香草酸;10. 芦丁;
11. 异槲皮苷;13. 柯伊利素葡萄糖苷

图3 瓜蒌皮药材共有模式峰

学成分色谱峰的指纹图谱,参照文献^[10],筛选检测波长,通过对254,260,277,310 nm进行了筛选,结果发现260 nm下检测所得图谱的色谱峰最多,且分离度较好,故选260 nm为检测波长。

4.3 流动相的选择 分别采用乙腈-水-1.0%磷酸水溶液、甲醇-乙腈-0.2%磷酸水溶液、乙腈-0.2% HAc水溶液、甲醇-0.2% HAc水溶液、甲醇-水^[10]不同梯度进行试验。结果表明,以乙腈-0.2% HAc水溶液线性梯度分离效果最好,基线最平稳。

4.4 相似度分析 按照上述指纹图谱测定方法和条件,对10批不同产地的瓜蒌皮药材进行分析,结果表明,不同样品图谱的共性特征基本吻合,相互之间的相似度较高,均>0.9以上,此结果亦与直观比较的情况相吻合。

[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, 2010:105.

[2] 吕建新. 瓜蒌皮注射液治疗急性心肌梗死室性再灌注心律失常32例[J]. 浙江中医杂志, 2011, 46(6):467.

[3] 杨征, 邱敏, 郭晓华, 等. 瓜蒌皮提取物对PDGF-BB所致血管平滑肌细胞增殖周期的影响[J]. 中国动脉硬化杂志, 2012, 20(10):899.

[4] 周广怡, 聂岁锋, 戴良, 等. 瓜蒌皮注射液对脑梗死患者血流动力学的影响[J]. 现代预防医学, 2012, 39(9):2307.

[5] 孟庆敏, 唐欣, 巴彩凤. 瓜蒌皮与前列地尔预处理对心肌缺血再灌注的影响[J]. 医学与哲学, 2012, 33(9B):44.

[6] 洪筱坤, 王智华. 中药数字化色谱指纹谱[M]. 上海:上海科学技术出版社, 2003:2.

[7] 周涛, 黄璐琦, 江维克. 高效液相色谱法测定大方油栝楼药材中葫芦素B的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2008, 14(6):4.

[8] 范雪梅, 陈刚, 苏珊珊, 等. 瓜蒌化学成分分离与鉴定[J]. 沈阳药科大学学报, 2011, 28(12):938.

[9] 范雪梅, 陈刚, 郭丽娜, 等. 瓜蒌化学成分分离与鉴定[J]. 沈阳药科大学学报, 2011, 28(11):871.

[10] 宋艳梅. 瓜蒌多元多息指纹图谱的鉴别研究及其品质相关数学评价模型的构建[D]. 济南:山东中医药大学, 2011.

[责任编辑 顾雪竹]

《中国中药杂志》2014年征订启事

《中国中药杂志》系中国科协主管,中国药学会主办,中国中医科学院中药研究所承办的综合性中药学术期刊。创刊于1955年7月,是创刊最早、发行量最大的中药学术刊物。《中国中药杂志》全面反映我国中医药科研最高学术水平,主要报道该领域新成果、新技术、新方法与新思路,内容包括栽培、资源与鉴定、炮制、药剂、化学、药理、不良反应、临床等。设有专论、综述、研究论文、研究报告、临床、学术探讨、药事管理、经验交流、信息等栏目。主要读者对象为医药领域各级管理部门、研究所、大专院校、企业以及医院等从事医药科研、管理、生产、医院制剂及临床研究等方面的专业人员。

《中国中药杂志》现为半月刊,128页,2014年定价每期30元,全年24期定价为720元。国内刊号11-2272/R,国际刊号1101-5302。

本刊现已全面实现网络编辑办公,如欲投稿或联系本刊、获取本刊各种信息动态请登录中国中药杂志网站 www.cjmm.com.cn 或 www.中国中药杂志.com。

联系电话:稿件查询010-64045830转602;主任电话010-64058556;资源与栽培栏编辑:010-64048925;制剂栏编辑:010-64040392;化学栏编辑:010-64040113;药理栏编辑:010-84022522;临床栏编辑:010-64059766;电子杂志制作发行及网上维护:010-64030625。