

HPLC 指纹图谱法评价市售胖大海的质量一致性

王如峰^{1*}, 安燕南¹, 袁铭¹, 吴秀稳¹, 丁怡²

(1. 北京中医药大学中药学院, 北京 100102; 2. 清华大学生命科学学院, 北京 100084)

[摘要] **目的:** 建立胖大海高效液相色谱指纹图谱分析方法, 比较不同地区市售胖大海质量的一致性, 为其质量评价提供参考。**方法:** 通过对提取条件和色谱条件进行考察, 构建高效液相色谱指纹图谱法并用其测定购自国内不同地区的市售胖大海样品的指纹图谱, 采用相似度分析软件对指纹图谱进行分析比较。**结果:** 确定了胖大海指纹图谱的提取条件和高效液相色谱条件, 发现了胖大海的 20 个共有特征峰, 8 份市售胖大海样品的相似度为 0.942~0.984。**结论:** 建立了胖大海的高效液相色谱指纹图谱分析方法, 通过该方法证明中国不同地区的市售胖大海的质量比较一致。

[关键词] 胖大海; 高效液相色谱指纹图谱; 质量

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)17-0073-04

[doi] 10.11653/syfy2013170073

Quality Coherence Evaluation of the Seeds of *Sterculia lychnophora* Commercially Available in China Based on HPLC Fingerprint

WANG Ru-feng^{1*}, AN Yan-nan¹, YUAN Ming¹, WU Xiu-wen¹, DING Yi²

(1. School of Chinese Materia Medica, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100102, China;

2. School of Life Sciences, Tsinghua University, Beijing 100084, China)

[Abstract] **Objective:** To establish high performance liquid chromatographic fingerprint of the seeds of *Sterculia lychnophora* and compare the quality coherence of this drug commercially available in China in order to provide a reference for its quality evaluation. **Method:** The fingerprint analysis procedure of these seeds was developed by investigating the extraction and chromatographic conditions, the fingerprints of 8 batches of the seeds purchased from various places of China were determined with this procedure, and the data were analyzed with Chromatographic Fingerprint Similarity Evaluation System 2004A Version provided by Chinese Pharmacopoeia

[收稿日期] 20121029(005)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81073018, 81274044)

[通讯作者] *王如峰, 博士, 副教授, 从事中药化学成分及生物转化研究, Tel:010-84738646, E-mail: wangrufeng@tsinghua.org.cn

[4] 蔡伟, 林宏英, 张宏桂, 等. 气相色谱法测定不同采收月份和年限金钗石斛中石斛碱[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(11):62.

[5] 范斌, 柏冬, 刘泓, 等. 气相色谱法测定艾奇康胶囊中龙脑的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2009, 15(6):15.

[6] 刘伟, 孙曙光, 王东, 等. 气相色谱法测定耳炎灵滴剂中薄荷醇的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2006, 12(2):66.

[7] 卢淑君, 杨燕云, 许亮, 等. 气相色谱法测定牛蒡子脂肪油中 3 种脂肪酸含量[J]. 中国实验方剂学杂

志, 2011, 17(20):56.

[8] 刘吉金, 黄服喜, 熊英. 毛细管气相色谱法同时测定活络油中 7 种成分的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2006, 12(10):16.

[9] 施俊辉, 史亚军, 唐梅, 等. 气相色谱内标法测定黄芩提取物亚微乳中的乙醇残留[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(15):66.

[10] 党小平, 陆兔林, 王云锋, 等. GC 测定鸦胆子油软胶囊中油酸的含量[J]. 南京中医药大学学报, 2008, 24(1):56.

[责任编辑 顾雪竹]

Commission. **Result:** The extraction and chromatographic conditions for HPLC fingerprint of the seeds of *S. lychnophora* were established, 20 common peaks of this drug were identified, and similarities of these 8 batches were determined to be between 0.942 and 0.984. **Conclusion:** The HPLC fingerprint analysis procedure of the seeds of *S. lychnophora* has been successfully established for the first time. The quality of the seeds of *S. lychnophora* commercially available in China was demonstrated to be comparable by the established procedure.

[**Key words**] *Sterculia lychnophora*; HPLC fingerprint; quality

胖大海又名大海子、安南子、大发等^[1],是梧桐科苹婆属植物灯籽苹婆的干燥成熟种子^[2]。胖大海主产于东南亚的老挝、越南、泰国、马来西亚和印度等国,虽然我国广东、海南等地已经引种,但是临床使用的胖大海主要靠从上述国家进口^[3-4]。本品主要功效为清热润肺、利咽解毒、润肠通便,中医用其治疗咽喉肿痛、头痛目赤、干咳无痰、热结便秘等^[5]。胖大海的药理作用主要为抗菌、抗炎、抗病毒、镇痛、增强免疫、缓泻等^[6-10]。胖大海的化学成分报道较少,主要由糖类、黄酮类、生物碱类和有机酸类组成^[11-15]。糖类包括半乳糖醛酸、半乳糖乙酸、阿拉伯糖、鼠李糖、半乳糖、蔗糖、水溶性多糖 P I、P II、PP III、碱溶性多糖 PH、正丁基甘露糖苷、西黄芪粘胶素等。黄酮类主要有槲皮素、槲皮素-3-O-芸香糖苷、异鼠李素-3-O-芸香糖苷、山柰酚-3-O-芸香糖苷和山柰酚-3-O-葡萄糖苷等。生物碱类只报道了喹啉类生物碱苹婆碱 I 和苹婆碱 II,以及脑苷类大豆脑苷 I 和天南星脑苷 I。有机酸类包括 2,4-二羟基苯甲酸、咖啡酸和饱和与不饱和脂肪酸等。另外,胖大海中还含有尿嘧啶、 β -谷甾醇和胡萝卜苷等。

除了正品胖大海之外,某些伪品例如圆粒苹婆的种子也见于药材市场或被掺入胖大海中作为药用^[16-18]。胖大海来源较广,所含化学成分复杂,其质量是否一致值得关注。而胖大海的质量研究却较少,仅见利用薄层色谱法和紫外分光光度法鉴别胖大海提取物的报道^[19-20]。要想准确全面地了解市场上销售的胖大海的质量状况,需要对其全成分进行分析评价,而指纹图谱技术是一种目前能够被广泛接受的中药质量的综合评估手段,能从整体水平上反映含有多种成分的复杂样品的质量,已被广泛用于中药材的质量评价^[21-26]。因此,我们对胖大海的 HPLC 指纹图谱进行了研究,并采用该方法对中国部分市售胖大海的质量一致性进行了评价。

1 材料

Waters 高效液相色谱仪(沃特世公司,美国),包括 Waters 1525 泵,手动进样器,Waters 2489 紫外

检测器。Chromasil C₁₈ ODS 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μ m)。KQ-500DE 型速控超声波清洗器。Sartorius 电子分析天平。

乙腈为色谱纯(Fisher 公司,美国),其他试剂均为分析纯(北京化工厂生产),水为市售屈臣氏纯净水。2,4-二羟基苯甲酸、尿嘧啶对照品为作者从胖大海中自制,经归一化法测定,其纯度 $\geq 98\%$ 。

胖大海药材 8 批,购自国内不同地区的中药店或药材市场,经王如峰副教授鉴定为灯籽苹婆 *Sterculia lychnophora* Hance 的干燥成熟种子。

数据处理软件采用《中药色谱指纹图谱相似度评价系统 2004A 版》(国家药典委员会)进行 HPLC 指纹图谱的数据分析。

2 方法与结果

2.1 提取溶剂考察 精密称取胖大海粉末 4 份,每份 1.000 g,分别置于具塞锥形瓶中。加入 20 倍量的纯水、40% 乙醇、70% 乙醇、100% 乙醇,称重。在 25 $^{\circ}$ C 超声提取 50 min。放冷,称重并补足减失的质量。滤纸过滤后,取续滤液用 0.45 μ m 微孔滤膜滤过后进样高效液相色谱仪。经过综合比较色谱峰数目和峰面积,确定 70% 乙醇为最佳提取溶剂。

2.2 样品溶液制备 精密称取胖大海粉末 1.000 g,置于具塞锥形瓶中。加入 20 倍量(质量:体积)的 70% 乙醇,称重。在 25 $^{\circ}$ C 超声提取 50 min。放冷,称重并补足减失的质量。滤纸过滤后,取续滤液以 0.45 μ m 微孔滤膜滤过,即得。

2.3 对照品溶液制备

2.3.1 2,4-二羟基苯甲酸 取 2,4-二羟基苯甲酸对照品适量,加甲醇制成 0.025 g·L⁻¹ 的对照品溶液,用 0.45 μ m 微孔滤膜滤过,摇匀,即得。

2.3.2 尿嘧啶 取尿嘧啶对照品适量,加甲醇制成 0.028 g·L⁻¹ 的对照品溶液,摇匀,用 0.45 μ m 微孔滤膜滤过,即得。

2.4 色谱条件考察 对不同的色谱柱、流动相、流速和检测波长进行考察,最终确定色谱条件为:Kromasil-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μ m), C₁₈ 预柱,流动相乙腈(A)-0.5% 醋酸水溶液(B)梯度洗

脱(表1),流速 $0.74 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$,检测波长 220 nm ,柱温 $30 \text{ }^\circ\text{C}$ 。

表1 胖大海 HPLC 指纹图谱梯度洗脱程序

t/min	A/%	B/%
0	5	95
30	21	79
32	21	79
33	33	67
36	5	95
41	5	95

2.5 方法学考察

2.5.1 精密性试验 取同一份供试品溶液,重复进样6次,对各主要色谱峰的相对保留时间及相对峰面积进行统计学分析,其 $\text{RSD} < 2\%$,表明精密性良好。

2.5.2 稳定性试验 取同一份供试品溶液,分别在0,2,4,6,10,12,24 h 进样,对各主要色谱峰的相对保留时间及相对峰面积进行统计学分析, $\text{RSD} < 2.5\%$,表明供试品溶液在24 h 内稳定。

2.5.3 重复性试验 取同一批号的供试品6份,按上述方法进行提取和测定,主要色谱峰的相对保留时间及相对峰面积的 $\text{RSD} < 2.5\%$,表明该方法的重复性良好。

2.6 结果

2.6.1 指纹图谱测定 按照所建立的方法,对8批胖大海样品进行了指纹图谱测定,所得 HPLC 指纹图见图1。

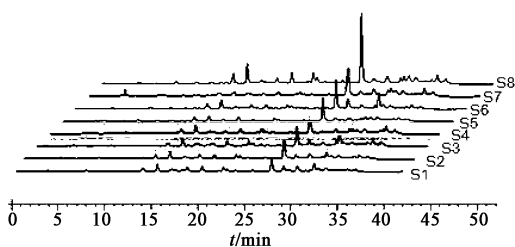
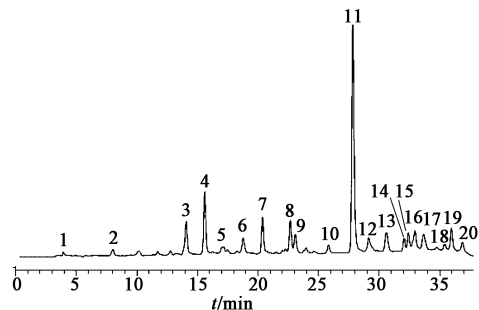


图1 8批胖大海样品的 HPLC 指纹图谱

2.6.2 共有峰分析及对照品指认 对所得8批胖大海样品的指纹图进行统计分析,通过色谱峰的保留时间和紫外光谱,确立了样品中的27个色谱峰,其中20个峰为共有的特征峰,见图2。共有峰数占总峰数的74.07%,共有峰面积平均占总峰面积的96.24%。通过进样对照品溶液,进行色谱峰的保留时间和紫外光谱图比对,确定其中7号峰为2,4-二羟基苯甲酸、19号峰为尿嘧啶。

2.6.3 相似度分析 采用国家药典委员会编写的“中药色谱指纹图谱相似度评价系统2004A版”软



7.2,4-二羟基苯甲酸;19. 尿嘧啶

图2 胖大海的 HPLC 指纹图谱的共有峰

件对上述8份样品的指纹图谱进行相似度分析,相似度计算结果见表2。

表2 胖大海指纹图谱相似度分析

No.	购买地	相似度
S1	北京	0.944
S2	河北秦皇岛	0.942
S3	上海	0.959
S4	河北安国	0.963
S5	吉林长春	0.972
S6	山东威海	0.984
S7	湖南长沙	0.983
S8	四川成都	0.964

3 结论与讨论

胖大海提取物的大部分色谱峰都达到了基线分离,说明该方法适用于胖大海的化学成分鉴别和质量评价。从色谱分析过程也可以看出,胖大海提取物的所有色谱峰在40 min之前已经被洗脱完毕,有机相乙腈的最高浓度仅达到33%,说明胖大海中的主要成分为极性较大的成分。这也间接印证了胖大海的传统给药方式,即用开水浸泡后服用的合理性。

通过共有峰分析和相似度分析,证明购自全国不同地区的8批胖大海样品的质量比较一致。其共有峰数达到20个,占总色谱峰数的74.07%,共有峰面积平均占总色谱峰面积的96.24%,而且所有胖大海样品的相似度都 > 0.94 (0.942 ~ 0.984)。说明无论从定性还是定量的角度来看,市售胖大海的化学成分比较一致。由此可以得出结论,虽然目前我国使用的胖大海来源复杂,但是其化学成分的组成相对稳定,质量比较一致。

【参考文献】

- [1] 徐祥浩,徐宋军. 中药胖大海名实考[J]. 中药材, 1987, 10(2):52.
- [2] 李娜,高昂,巩江,等. 胖大海药学研究概况[J]. 安徽农业科学, 2011, 39(16):9609.

- [3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:化学工业出版社, 2000:216.
- [4] 徐祥浩. 中药胖大海的引进历史和拉丁学名考证[J]. 华南农学院学报, 1982, 3(3):100.
- [5] 中国医学科学院药物研究所. 中药志. 第 3 册[M]. 北京:人民卫生出版社, 1984:538.
- [6] 杜力军, 孙绍美, 於兰, 等. 国产与进口胖大海对小鼠抗炎和小肠推进作用的比较[J]. 中药材, 1995, 18(8):409.
- [7] 曲本钦, 马统勋. 胖大海致泻作用的初步报告[J]. 中华医学杂志, 1954(5):337.
- [8] Feng D R. *Sterculia scaphigera* (Pangtaihai or Tungtaihai), a Chinese laxative drug[J]. J Chin Med, 1942, 61A:9.
- [9] 周长坚, 林键, 许凌枚, 等. 复方胖大海的药理研究[J]. 福建中医学院学报, 1994, 4(3):30.
- [10] 余传星, 朱玲. 胖大海治疗痢疾的实验研究[J]. 中医药研究, 1997(1):48.
- [11] 陈建民, 李文魁, 刘惠灵, 等. 胖大海化学成分的研究[J]. 中药材, 1995, 18(11):567.
- [12] 陈建民, 曹培让, 宋洪涛. 胖大海多糖 PP III 的纯化及性质的研究[J]. 中国中药杂志, 1996, 21(1):39.
- [13] Wang R F, Yang X W, Ma C M, et al. Alkaloids from the seeds of *Sterculia lychnophora* (Pangdahai) [J]. Phytochemistry, 2003, 63(4):475.
- [14] 王如峰, 杨秀伟, 马超美, 等. 胖大海中脂肪酸成分的气-质联用分析[J]. 中国中药杂志, 2003, 28(6):12.
- [15] Wang R F, Wu X W, Geng D. Two cerebrosides isolated from the seeds of *Sterculia lychnophora* and their neuroprotective effect [J]. Molecules, 2013, 18:1181.
- [16] 茅莉萍, 张丽云. 胖大海的真伪鉴别[J]. 海峡药学, 2005, 17(5):77.
- [17] 刘会前, 吴秀平. 一致劣质胖大海的鉴别[J]. 时珍国医国药, 1997, 8(2):165.
- [18] 张启华. 胖大海与伪品圆粒苹婆的鉴别[J]. 实用中医药杂志, 2007, 23(6):301.
- [19] 刀秀英, 孟芹, 李学兰. 胖大海的质量对比分析[J]. 中草药, 2000, 31(7):556.
- [20] 王春清. 胖大海与其混伪品的紫外光谱鉴别[J]. 光谱仪器与分析, 2003(3):40.
- [21] 詹雪艳, 史新元, 段天璇, 等. 色谱指纹图谱相似度方法的研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(2):248.
- [22] 关洪月, 李林, 刘晓, 等. 中药指纹图谱相似度计算方法探析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(18):282.
- [23] 林芳, 王云红, 万丽, 等. 一测多评法结合指纹图谱对杜仲质量控制的研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(13):78.
- [24] 梁瑾, 刘小花, 任远, 等. 黄芪药材的 HPLC-DAD-ELSD 指纹图谱研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(17):70.
- [25] 闫小玉, 赵瑛博, 梁可, 等. 高效液相色谱指纹图谱研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(12):108.
- [26] 国家药品监督管理局. 中药注射剂指纹图谱研究的技术要求(暂行)[J]. 中国药品标准, 2000, (4):157.

[责任编辑 顾雪竹]

欢迎订阅 2014 年《中国中医药信息杂志》

《中国中医药信息杂志》是由国家中医药管理局主管、中国中医科学院中医药信息研究所主办的中医药学术期刊。1994 年创刊, 2002 年, 被中国科学技术信息研究所的“中国科技论文统计源期刊”收录, 成为中国科技核心期刊。随着期刊影响力的不断提升, 已相继被《中国科学引文数据库》、波兰《哥白尼索引》、美国《化学文摘》、美国《乌利希期刊指南》、《世界卫生组织西太平洋地区医学索引》及英国《农业与生物科学研究中心文摘》、英国《全球健康》等知名检索系统收录。

本刊是中医药行业一本独具特色的学术期刊, 其内容较全面地反映了我国中医药发展水平。主要栏目有: 中医动态、专题论坛、改革与管理、中医药信息学、流行病学调查、临床论著、实验研究、中药研究与开发、临床报道、专家经验、临证心得、思路与方法、中医教育、医院药学、综述等。

本刊为月刊, 大 16 开国际开本, 136 页, 国内外公开发售, 每册定价 10 元, 全年 120 元。国内邮发代号: 82-670; 国外代号: M4564。也可直接汇款至本刊编辑部订阅。地址: 北京市东直门内南小街 16 号《中国中医药信息杂志》编辑部, 邮编: 100700, 电话: 010-64014411-3278, E-mail: Lxx@mail.cintem.ac.cn。