

蒙药材森登的 HPLC 指纹图谱研究

拉喜那木吉拉*, 李淑艳, 白梅荣, 巴根那
(内蒙古民族大学蒙医药学院, 内蒙古 通辽 028000)

[摘要] 目的:建立蒙药材森登的高效液相色谱指纹图谱,为科学评价和有效控制其质量提供可靠的方法。方法:用 HPLC-DAD 方法测定了 10 个产地森登药材样品,采用药典委员会颁布的中药指纹图谱相似度评价系统 2004A 进行评价,建立了共有模式,以相似度评价图谱的相似性。结果:10 产地森登药材的色谱指纹图谱有 10 个共有峰,高效液相色谱指纹图谱的相似度都 >0.9,建立共有模式,不同产地森登指纹图谱相似性较好。结论:该方法可用于森登药材质量评价。

[关键词] 蒙药材森登; 高效液相色谱; 指纹图谱

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)17-0131-03

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20120704.1742.027.html>

[网络出版时间] 2012-07-04 17:42

Study on HPLC Fingerprint of Mongolian Medicine Sedeng from Different Area

Laxinamujila*, LI Shu-yan, BAI Mei-rong, BA Gen-na

(College of Mongolian Medicine, Inner Mongolia University for Nationalities, Tongliao 028000, China)

[Abstract] **Objective:** To establish the HPLC fingerprint of mongolian medicine sedeng and provide reliable method for scientific evaluation and effective control of quality. **Method:** Sedeng from 10 different area was determined by HPLC-DAD, and evaluated with traditional Chinese medicine fingerprint similarity evaluation system 2004A, the Common Pattern was established and the similarity of chromatography with similar degree was evaluated. **Result:** The HPLC fingerprint of sedeng from 10 different area had 10 common peak, the similar degree of HPLC fingerprint was above 0.9; the similarity of Fingerprint of Mongolian Medicine Sedeng from different area were good. **Conclusion:** The method can be used to evaluate the quality of Mongolian medicine sedeng.

[Key words] Mongolian medicine sedeng; HPLC; fingerprint

蒙药森登是无患子科植物文冠木的茎干或枝条的无皮干燥木部,是蒙医常用的清热、消肿、燥“协日乌素”药。森登味甘、微苦涩,性凉;具有燥“协日乌素”、清热、消肿、止痛功能,主要用于治疗风湿性关节、风湿内热、皮肤风湿、风湿性心脏病等病症^[1-2]。蒙医学临床上采用森登浸膏单服或流浸膏配方^[1],曾被收载 1977 年版《中国药典》^[2]一部。

关于森登药材质量控制停留在药材性状鉴别,虽然有文献报道^[3-7]蒙药材文冠木中含有黄酮类、醌类,但有效成分不明确,控制其质量控制方法的研究未见,因此,建立蒙药材森登的质量评价方法,对不同产地森登药材的质量进行系统的比较研究,确保临床用药的疗效和森登药材质量稳定十分必要。

指纹图谱质量控制能够在中药(蒙药)有效成分不明确的现状下,仍可有效的表征其质量,目前已广泛用于中草药及其各种制剂的质量控制。本文应用高效液相色谱法,在森登中单一成分的含量测定研究^[8]的基础上,建立森登药材的指纹图谱,并对不同产地药材进行对比,以期对森登的质量控制建立有效的方法,并为森登的临床用药和规范化生产

[收稿日期] 20110627(004)

[基金项目] 内蒙古民族大学科学研究项目(MDX2009027)

[通讯作者] *拉喜那木吉拉,在读博士生,从事蒙药与方剂质量控制研究, Tel: 13789710541; E-mail: namujila@126.com

的质量控制提供参考。

1 仪器和试剂

高效液相色谱仪,日本岛津产的 LC-10ATVP 双泵, DGU-12A 在线真空脱气系统, CT010ASUP 柱温箱, SPD-M10AVP 二极管阵列检测器, class-vp 工作站。实验所用药材来自于内蒙古各地及辽宁省阜新县等地区自采自用药材,采集时间均为 2008 年 8 月至 2009 年 6 月,由内蒙古民族大学蒙医药学院布和巴特尔教授鉴定为文冠木 *Xanthoceras sorbifolia Bunge*, 槲皮素对照品(批号 100081-200406 中国药品生物制品检定所,供含量测定用),甲醇(色谱纯,天津市化学试剂二厂色谱技术开发公司)乙腈(色谱纯,天津市德恩化学试剂有限公司),其余所用试剂皆为分析纯。

表 1 森登药材来源及采集时间

No.	产地	采集时间
1	内蒙古库伦旗	2008-10
2	内蒙古通辽市科尔沁区	2007-09
3	内蒙古扎鲁特旗	2007-10
4	内蒙古阿鲁科尔沁旗	2009-10
5	内蒙古科右中旗	2008-03
6	内蒙古科左中旗	2009-10
7	辽宁省阜新县	2009-03
8	内蒙古鄂尔多斯市	2009-09
9	内蒙古东乌珠穆沁旗	2009-03
10	内蒙古巴林右旗	2009-03

2 方法和结果

2.1 色谱条件 Diamonsil™ 钻石 C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 200 mm, 5 μm),流动相 A 0.1% 磷酸-B 乙腈,梯度洗脱(1 ~ 5 min, 85% A; 5 ~ 17 min, 85% ~ 62% A; 17 ~ 25 min, 62% ~ 53% A)。流速 1 mL · min⁻¹,检测波长 238 nm,柱温 30 °C,进样 10 μL,槲皮素理论塔板数不低于 3 500。

2.2 对照品溶液制备 精密称取在 105 °C 干燥至恒重的槲皮素对照品适量,加甲醇制成每 1 mL 含槲皮素 10 μg 的溶液,即得。

2.3 供试品溶液制备 取森登样品中粉约 0.2 g,精密称定,加甲醇 25 mL,称重,超声 30 min,取出,放冷,称重,并用甲醇补足失重,滤过,取滤液过 0.45 μm 滤膜,即得。

2.4 方法学考察

2.4.1 精密度考察 精密吸取森登样品(1号)溶液 10 μL,连续进样 5 次,考察色谱峰的保留时间的

一致性,各主要色谱峰保留时间和峰面积基本一致,在同一台仪器测得的色谱指纹图谱与其共有峰模式图的相似度 > 0.96(中位数),保留时间 RSD < 3%,表明仪器精密度良好,符合指纹图谱的要求。

2.4.2 重复性考察 取同一个批号的样品 5 份,同上操作,考察色谱峰保留时间的一致性,各主要色谱峰保留时间和峰面积基本一致,在同一台仪器测得的色谱指纹图谱与其共有峰模式图的相似度 > 0.98(中位数),符合指纹图谱的要求。

2.4.3 稳定性考察 精密吸取森登样品(1号)溶液 10 μL,分别在 1, 8, 16, 24, 48 h 连续测定 5 次以色谱峰为观测指标,考察色谱峰保留时间的一致性,各主要色谱峰保留时间和峰面积基本一致,在同一台仪器测得的色谱指纹图谱与其共有峰模式图的相似度 > 0.97(中位数),各峰的保留时间 RSD < 3%,表明在 48 h 内供试液稳定性良好。

2.5 不同产地森登药材指纹图谱测定

2.5.1 共有峰的指定 分别取个产地森登药材样品,按照 2.3 项下的方法制备供试品溶液,按 2.1 项下条件依次进样测定,各产地样品色谱峰形及峰数基本一致见图 1,采用相对保留时间标定共有指纹峰,即以槲皮素对照品作为参照物,选择保留时间与参照物峰(s)的保留时间比值一致的峰为共有指纹峰,即图 1 中的 1 ~ 10 号峰,各产地共有指纹峰相对保留时间 RSD < 3%,每个产地色谱图中共有峰的峰面积之和 > 90%,结果全部色谱峰出现在 25 min 内,故检测时间选为 25 min。

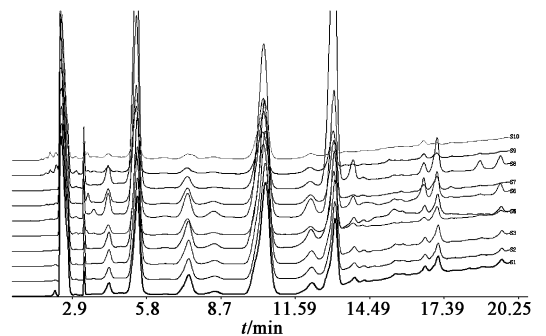
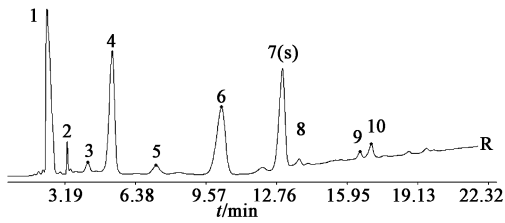


图 1 不同产地蒙药材森登的指纹图谱

2.5.2 相似度分析 从各地采集的森登药材样品,记录 HPLC 指纹图谱,并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”软件对从各产地的森登药材的 HPLC 指纹图谱进行数据处理,生成对照 HPLC 指纹图谱(图 2)即作为共有模式,各产地森登药材的 HPLC 图谱与对照



7. 槲皮素对照品

图2 蒙药材森登的代表性指纹图谱

HPLC 指纹图谱的相似度均 > 0.90 , 符合指纹图谱要求 ($0.900 \sim 1.000$)。

3 讨论

3.1 检测波长考察 采用二极管阵列检测器对检测波长进行考察, 分别提取在 210, 215, 230, 238, 254, 280 nm 波长处的色谱图, 以槲皮素为对照品, 结果在 238 nm 下色谱峰峰数多, 基线较平稳, 色谱信息最为丰富, 因此选择了该波长作为检测波长。

3.2 流动相选择 森登主要成分有多糖、苷类、黄酮类、醌类等, 等度洗脱很难分离, 故采用梯度洗脱方式。比较①乙腈-水等度不同比例及不同梯度洗脱系统; ②甲醇-水等度不同比例及不同梯度洗脱系统; ③乙腈-0.1% 磷酸等度不同比例及不同梯度洗脱系统; ④甲醇-0.1% 磷酸等度不同比例及不同梯度洗脱系统。结果乙腈-水梯度洗脱系统, 对蒙药材森登提取物的 HPLC 图谱中的各峰的分离效果很好, 提供了较丰富的色谱信息, 且简单易制, 故确定为③为流动相。

3.3 提取溶剂的考察 取森登药材样品中粉 0.2 g 共 6 份, 精密称定, 分别置 7 个 50 mL 的锥形瓶中, 分别加甲醇、50% 甲醇、70% 甲醇、50% 乙醇、70% 乙醇各 25 mL, 称重, 超声 30 min, 取出, 放冷, 称重。分别用相应的溶剂补足失重。过滤。取滤液过 0.45 μm 滤膜。对 HPLC 指纹图谱分别进行考察, 经过对出峰个数, 分离度和槲皮素对照品提取率等的综合比较, 确定甲醇为适宜的提取溶剂。

3.4 提取方法的考察 分别比较水浴回流 60 min,

超声提取 60, 40, 30, 20 min 对森登药材的提取效果。取森登药材样品中粉 0.2 g, 共 5 份, 精密称定, 精密加入甲醇 25 mL, 密塞, 称重, 分别设定条件下提取, 放冷, 用甲醇补足失重, 滤过, 取滤液过 0.45 μm 滤膜。各提取方式色谱图的峰数、峰位差别比较, 超声提取 30 min 的响应值较其他提取方式的高, 因此选超声提取 30 min。

由于植物药材的化学成分受该植物生长环境变化的影响, 其 HPLC 指纹图谱因样品个体差异有所不同, 相同品种蒙药材样品间所存在的个体差异在其内在特性上将会有所反应, 这些差异会导致色谱图的差异, HPLC 指纹图谱技术是鉴别和评价天然产物的有效的工具, 今年来用于中药材的质量控制和评价研究较常见。HPLC 指纹图谱强调的是色谱的完整面目而不是精确的细微差别, 反映的质量信息是综合的结果。

[参考文献]

- [1] 罗布桑. 蒙药学 [M]. 呼和浩特: 内蒙古民族出版社, 2006: 157.
- [2] 中国药典. 一部 [S]. 1977: 121.
- [3] 崔承彬, 姚新生, 陈英杰, 等. 文冠木中五种黄酮类成分的 NMR 研究 [J]. 沈阳药科大学学报, 1991, 8 (1): 40.
- [4] 张王宣. 蒙药文冠木研究进展 [J]. 内蒙古石油化工, 2009(6): 9.
- [5] 张文霞, 包文芳. 文冠木化学成分的研究 [J]. 药学学报, 2000, 35(2): 124.
- [6] 刘玉磊, 乌日娜. 文冠木的研究进展 [J]. 中国民族医药杂志, 2009(2): 73.
- [7] 董玉, 王宏伟, 陈朝军, 等. 文冠木化学成分的研究 [J]. 北京中医药大学学报, 2008, 31(12): 844.
- [8] 巴根那, 拉喜那木吉拉, 白玉霞. HPLC 方法测定蒙药材文冠木中的槲皮素含量 [J]. 中国民族医药杂志, 2008, 14(11): 46.

[责任编辑 顾雪竹]