

# 布渣叶药材 HPLC 指纹图谱研究

孙冬梅<sup>1\*</sup>, 谭志灿<sup>2</sup>, 罗文汇<sup>1</sup>, 毕晓黎<sup>1</sup>

(1. 广东省中医研究所, 广州 510095; 2. 广州中医药大学, 广州 510405)

**[摘要]** 目的:建立布渣叶药材的 HPLC 指纹图谱分析方法,为有效控制其质量提供可靠的依据。方法:采用 Waters Xbridge™ C<sub>18</sub> 柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相甲醇-0.05% 磷酸溶液线性梯度洗脱,流速 0.8 mL·min<sup>-1</sup>,检测波长 320 nm,柱温 25 °C。结果:确定 20 个共有色谱峰为特征峰,构成布渣叶药材 HPLC 指纹图谱,其中 3 个共有峰得到确认,分别为牡荆苷、异牡荆苷和水仙苷;19 批布渣叶样品中有 15 批样品指纹图谱与对照指纹图谱相似度 >0.90,其余样品相似度 >0.75。结论:该色谱方法简单、准确、重复性好,可用于布渣叶药材的质量评价。

**[关键词]** 布渣叶; 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)12-0084-04

## Study on HPLC-fingerprint of *Microcos paniculata*

SUN Dong-mei<sup>1\*</sup>, TAN Zhi-can<sup>2</sup>, LUO Wen-hui<sup>1</sup>, BI Xiao-li<sup>1</sup>

(1. Guangdong Provincial Institute of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510095, China;  
2. Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405, China)

**[Abstract]** **Objective:** To establish a method of fingerprint analysis on *Microcos paniculata* by HPLC for the quality control. **Method:** The chromatographic fingerprints were obtained by the Waters Xbridge C<sub>18</sub> column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) with the gradient elution solvent system composed of methanol and 0.05% phosphoric acid. The flow rate was 0.8 mL·min<sup>-1</sup>; the wavelength was set at 320 nm and the column temperature was maintained at 25 °C. **Result:** Twenty main common peaks were selected in the standard fingerprint and three peaks of them were identified as vitexin, isovitexin and narcissoside. There were fifteen samples fingerprints with good similarities with correlation coefficients higher than 0.90 compared with the standard fingerprint in nineteen different samples of *M. paniculata*, while others were higher than 0.75. **Conclusion:** The method with good reproducibility is simple and accurate, it can be applied for quality assessment for *M. paniculata*.

**[Key words]** *Microcos paniculata*; HPLC; fingerprints

布渣叶为椴树科植物破布叶 *Microcos paniculata* L. 的干燥叶,又名破布叶、麻布叶、崩补叶、烂布渣、山茶叶等;主要分布于我国广东、海南、广西等地,其中广东的阳西和湛江为主产地,属于广东道地药材。本品味微酸,性凉,无毒;具有清热利湿、健胃消滞的功效;用于治疗感冒发热、黄疸、食欲不振、消化不良、脘腹胀痛、泄泻、疮疡、蜈蚣咬伤等<sup>[1-4]</sup>,广东民

间常用布渣叶制成凉茶饮用。作为两广地区民间草药,布渣叶应用广泛,同时具有良好的药用和食用价值。

现代研究报道,布渣叶药材含有黄酮类、生物碱、挥发油、有机酸、糖类、酚类成分<sup>[5-11]</sup>,具有保护心血管、调血脂、抗衰老及杀虫等作用<sup>[12-14]</sup>。为了更好地控制布渣叶的质量,本文对不同产地 19 批样品进行指纹图谱研究,并建立了布渣叶高效液相指纹图谱评价方法,综合控制布渣叶质量。

### 1 材料

**1.1 仪器** Waters e2695-2998 型高效液相色谱仪(美国),PAD 检测器,四元梯度泵,软件为 Empower2 数据处理软件系统;METTLER XS205DU

**[收稿日期]** 20111103(011)

**[基金项目]** 广东省中医药局建设中医药强省课题(20111131号)

**[通讯作者]** \*孙冬梅,硕士,主任中药师,从事中药质量评价研究,Tel:020-83482683, E-mail:temgdp@163.com

电子天平(瑞士),HWS26 型电热恒温水浴锅(上海一恒科技有限公司)。

**1.2 试药** 布渣叶批号及产地来源见表 1,经广东省中医研究所刘法锦教授鉴定为椴树科植物破布叶 *Microcos paniculata* L. 的干燥叶;牡荆苷(批号 111687-200602)购于中国药品生物制品检定所;异牡荆苷(批号 Y-127-110705)、水仙苷(批号 S-063-110926)购于成都瑞芬思生物科技有限公司;甲醇为色谱纯,其余试剂均为分析纯。

表 1 布渣叶药材来源

No.	来源	采收时间 或批号
S1	广州市天河宝润堂中药饮片厂(广东)	20100101
S2	高要得隆中药饮片厂(广西)	090815
S3	广东化州(阴干)	201108
S4	湛江市嘉辉药业有限公司(广东)	100802
S5	广州市健琪医药有限公司(广东)	101128
S6	康美药业股份有限公司(广东)	100107881
S7	四川省乐山市健康药业有限公司(广西)	20091230
S8	四川省乐山市健康药业有限公司(广东)	20100120
S9	广东雷州(晒干)	201107
S10	广东雷州(阴干)	201108
S11	广东南北行中药饮片有限公司(广东)	090314R502
S12	广东遂溪县(晒干)	201107
S13	广州市药材公司中药饮片厂(广东)	20100601
S14	四川绵阳天诚药业股份有限公司(广西)	20100803
S15	广州市同健医药连锁有限公司(广东)	100906
S16	广州市雄森药业有限公司(广东)	20100112
S17	广东众康中药饮片有限公司(广东)	100902
S18	广州致信药业有限公司(广东)	100110
S19	广州中芝源中药有限公司(广西)	110716

## 2 方法与结果

**2.1 色谱条件** Waters Xbridge™ C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm);流动相以甲醇为流动相 A,以 0.05% 磷酸水溶液为流动相 B,按表 2 进行梯度洗脱;流速 0.8 mL · min<sup>-1</sup>,柱温 25 ℃,检测波长 320 nm。

**2.2 对照品溶液的制备** 取牡荆苷、异牡荆苷和水仙苷对照品适量,精密称定,加 50% 甲醇制成浓度分别为 22.24, 20.52, 30.52 mg · L<sup>-1</sup> 的混合溶液,即得。

表 2 流动相梯度洗脱条件

t/min	流动相 A/%	流动相 B/%
0 ~ 25	15 ~ 30	85 ~ 70
25 ~ 50	30 ~ 45	70 ~ 55
50 ~ 70	45 ~ 70	55 ~ 30
70 ~ 80	70 ~ 15	30 ~ 85

**2.3 供试品溶液的制备** 取上述 S1 ~ S19 号布渣叶样品粉末(过三号筛)各约 1 g,置具塞锥形瓶中,精密加入 50% 甲醇 25 mL,称定质量,加热回流 30 min,放冷,再称定质量,用 50% 甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

**2.4 测定法** 精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 10 μL,注入高效液相色谱仪中,按上述色谱条件,测定,并记录色谱图。

### 2.5 方法学考察

**2.5.1 精密度试验** 取 S1 供试品溶液,连续进样 6 次,以 12 号峰牡荆苷为参照峰,计算出 1 ~ 20 号共有指纹峰的相对保留时间和相对峰面积的 RSD 均 < 3%,同时用相似度评价软件计算各色谱指纹图谱的相似度均 > 0.990,表明仪器稳定,精密度良好。

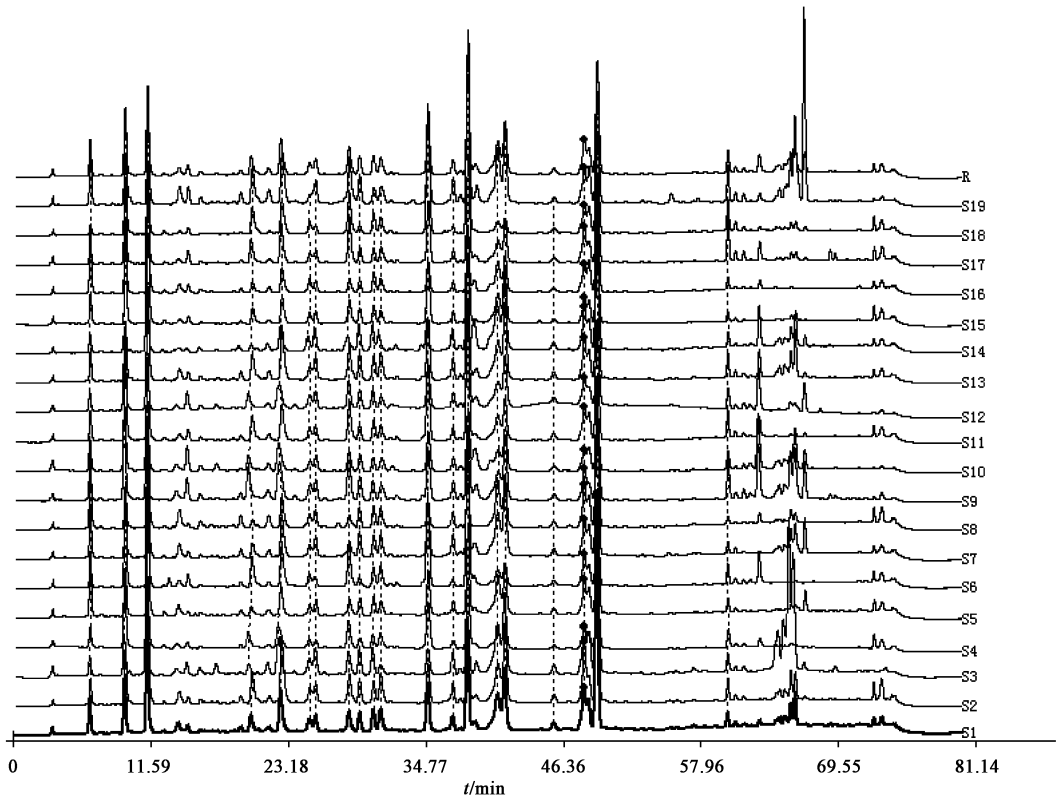
**2.5.2 重复性试验** 取同一批样品(S1),分别精密称取 6 份,按照 2.3 项下方法制备供试品溶液,分别进样,以 12 号峰牡荆苷为参照峰,计算出 1 ~ 20 号共有指纹峰的相对保留时间和相对峰面积的 RSD 均 < 3%,同时用相似度评价软件计算各色谱指纹图谱的相似度均 > 0.990,表明方法重复性良好。

**2.5.3 稳定性试验** 取 S1 供试品溶液,分别在 0, 2, 5, 10, 16, 27 h 进样,以 12 号峰牡荆苷为参照峰,计算出 1 ~ 20 号共有指纹峰的相对保留时间和相对峰面积的 RSD 均 < 3%,同时用相似度评价软件计算各色谱指纹图谱的相似度均 > 0.990,表明供试品溶液在 27 h 内稳定。

**2.6 指纹图谱的建立及相似度分析** 精密吸取 2.3 项下制备的各批次供试品溶液各 10 μL,注入高效液相色谱仪,按照 2.1 项下色谱条件进行测定,得到 19 批布渣叶 HPLC 色谱图,将其导入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 版)”,选取时间窗宽度为 0.5 min,以中位数生成对照谱图,经过 1 点校正后自动匹配,结果见图 1 ~ 2,表 3。

## 3 讨论

**3.1 供试品溶液的制备** 针对布渣叶所含化学成



S1 ~ S19. 19 批布渣叶样品

图 1 19 批布渣叶样品指纹图谱匹配色谱

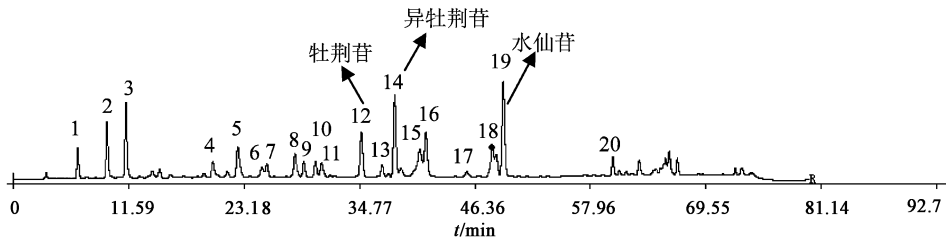


图 2 布渣叶药材共有模式对照指纹图谱

表 3 布渣叶指纹图谱相似度

No.	相似度(对照)	No.	相似度(对照)
S1	0.977	S11	0.976
S2	0.960	S12	0.963
S3	0.770	S13	0.980
S4	0.952	S14	0.901
S5	0.971	S15	0.987
S6	0.921	S16	0.950
S7	0.968	S17	0.973
S8	0.910	S18	0.861
S9	0.885	S19	0.847
S10	0.911		

醇、甲醇及 50% 乙醇为溶媒的提取效果,并考察了提取方法及提取时间的影响,结果以 50% 甲醇回流提取 30 min 为佳,所得色谱图能最大限度地反映药材的特征,同时能很好的除去布渣叶中叶绿素等杂质对色谱柱的污染。

**3.2 检测波长的选择** 采用 PAD 二极管阵列检测器进行全波长扫描,综合考虑三维色谱图在不同波长下色谱峰的数目、丰度,各成分的分离程度,以及基线的漂移情况等,最后选定 320 nm 为检测波长。

**3.3 流动相条件优化** 分别试验了甲醇-水、甲醇-磷酸水溶液、乙腈-磷酸水溶液 3 种流动相系统,以及不同流动相比比例,并考察了不同磷酸浓度对布渣叶色谱行为的影响。结果表明,以甲醇-0.05% 磷酸作为流动相为佳,色谱峰信息较为丰富且峰形较好。

分,分别对比了以水、20% 甲醇、50% 甲醇、70% 甲

**3.4 色谱柱考察** 分别考察了不同厂家的色谱柱, Waters Xbridge™ C<sub>18</sub> (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) 色谱柱, SHISEIDO Capcell pak MG C<sub>18</sub> (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) 色谱柱, Merck Hibar Purospher Star RP-18e (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) 色谱柱, Agilent Zorbax SB C<sub>18</sub> (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) 色谱柱, Agilent TC C<sub>18</sub> (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) 色谱柱, 结果表明采用 Waters Xbridge™ C<sub>18</sub> (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) 色谱柱所得色谱图峰数较多, 峰形较好。

**3.5 指纹图谱分析**<sup>[15-17]</sup> 对布渣叶的指纹图谱研究虽然已有文献报道<sup>[18]</sup>, 但文中主要针对布渣叶总黄酮提取物进行分析。本研究分别收集了主产地采收的布渣叶药材及市场流通的布渣叶饮片, 共 19 批样品, 所收集的样品具有较好的代表性。采用上述色谱方法, 确定了布渣叶药材的 20 个共有峰, 其中 12, 14, 19 号峰得到确认, 分别为牡荆苷、异牡荆苷和水仙苷。通过相似度计算软件得到 19 批布渣叶样品的共有模式对照指纹图谱及各批样品与对照图谱之间的相似度。结果表明, 各批样品指纹图谱的色谱峰整体上基本一致, 其中 15 批样品相关性较好, 相似度 > 0.90, 余下 4 批样品相似度在 0.75 ~ 0.90。对相似度较低的 4 批样品进行分析, S3 略带枝条及花蕾, S9 叶片较小, S18, S19 较陈旧。试验表明布渣叶药材的质量受到生长环境、采收加工和储存条件等诸多因素的影响。本研究布渣叶的合理采收和应用提供了一定的实验依据。

**3.6 采用指纹图谱技术综合评价药材质量** 中药成分极为复杂, 仅仅使用定性鉴别和指标成分的含量测定方法很难准确的判断其内在的质量, 而采用指纹图谱技术, 可提供多成分群的特征, 为布渣叶的质量控制提供科学依据。

#### [参考文献]

- [1] 中国药典. 一部[S]. 2010:88.  
 [2] 广东省食品药品监督管理局. 广东省中药材标准. 第一册[S]. 广州:广东科技出版社, 2004:66.  
 [3] 江苏新医学院. 中药大词典. 下册[M]. 上海:上海科

技出版社, 1986:1824.

- [4] 《中药商品知识》编写组. 中药商品知识. 中册[M]. 广州:广东科技出版社, 1989:129.  
 [5] 石玲艳. 破布叶的化学鉴别方法[J]. 广西中医药, 1993, 16(2):40.  
 [6] 曾聪彦, 吴惠妃, 郭展荣. 布渣叶化学成分定性鉴别的实验研究[J]. 世界中西医结合杂志, 2009, 4(3):175.  
 [7] 罗集鹏. 布渣叶黄酮类成分的研究[J]. 中草药, 1993, 24(9):455.  
 [8] Bandara K A, Kumar V, Jacobsson U, et al. Insecticidal piperidine alkaloid from *Microcos paniculata* stem bark[J]. Phytochemistry, 2000, 54(1):29.  
 [9] 冯世秀, 刘梅芳, 魏孝义, 等. 布渣叶中三萜和黄酮类成分的研究[J]. 热带亚热带植物学报, 2008, 16(1):51.  
 [10] 毕和平, 韩长日, 王芳, 等. 破布叶叶片中挥发油的化学成分研究[J]. 林产化学与工业, 2006, 27(3):124.  
 [11] 罗集鹏, 张丽萍, 杨世林, 等. 布渣叶的生物碱类成分研究[J]. 药学学报, 2009, 44(2):150.  
 [12] 陈淑英, 余佩填, 练美莲, 等. 布渣叶对血脂影响的实验研究[J]. 中药新药与临床药理, 1991, 2(3/4):53.  
 [13] 曾聪彦, 梅全喜, 高玉桥, 等. 布渣叶水提物解热退黄作用的实验研究[J]. 中国药房, 2010, 21(11):973.  
 [14] 戴卫波, 梅全喜, 曾聪彦, 等. 布渣叶不同提取部位对大鼠胃液分泌功能的影响研究[J]. 时珍国医国药, 2010, 21(3):606.  
 [15] 陈丰连, 张文进, 徐鸿华. 不同采收期及不同产地广金钱草地上部分 HPLC 指纹图谱研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(14):96.  
 [16] 范莉, 濮润, 赵海誉, 等. 红花药材的 HPLC 指纹图谱及质量研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(1):37.  
 [17] 张明昶, 彭小冰, 苗旭辉, 等. 中药虎杖特征指纹图谱研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(1):53.  
 [18] 李坤平, 高崇凯, 李卫民. 布渣叶药材中黄酮的高效液相色谱指纹图谱分析[J]. 理化检验:化学分册, 2011, 47(2):194.

[责任编辑 顾雪竹]