

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

陈丰连^{*1}, 张文进², 徐鸿华¹

(1. 广州中医药大学中药学院中药分析教研室, 广州 510006; 2. 广东南台药业有限公司, 广东 平远 514600)

[摘要] 目的: 建立广金钱草地上部分化学成分指纹图谱研究方法, 对不同采收期及不同产地的广金钱草指纹图谱进行研究。方法: 采用 RP-HPLC 法, DiamonsilTM C₁₈ 色谱柱(迪马公司, 4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 甲醇-0.2% 磷酸水溶液(28:72), 流速 1 mL · min⁻¹, 检测波长 271 nm, 柱温 40 °C。结果: 广东阳春产广金钱草与其他产地色谱指纹图谱差别较大, 不同采收期药材黄酮成分含量有明显的差别。结论: 该色谱条件简单易行, 可用于广金钱草的鉴别研究。

[关键词] 广金钱草; 不同采收期; 不同产地; 液相指纹图谱

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2010)14-0096-03

HPLC Fingerprints of Overground part of *Desmodium styracifolium* in Different Collecting Time and Different Growing Areas

CHEN Feng-lian^{1*}, ZHANG Wen-jin², XU Hong-hua¹

(1. College of Chinese Materia Medica, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China;
2. Cuangdong Nantai Pharmaceutical Co. Ltd, Pingyuan 514600, China)

[Abstract] **Objective:** The HPLC fingerprints of chemical composition were established to evaluate different collecting time and different growing areas of overground part of *Desmodium styracifolium*. **Method:** HPLC analysis was performed on a DiamonsilTM C₁₈ column(4.6 mm × 250 mm, 5 μm) with the mobile phase in isocratic elution : ethanol(A)-H₂O(0.2% phosphoric acid) (28:72). The column temperature was setup at 40 °C and the flow-rate was 1.0 mL · min⁻¹. The detection of wavelength was at 271 nm. **Result:** The *D. styracifolium* from Yangchun has distinct differences with other place of origin; The accumulation of flavones constituents showed a regular pattern in different collecting time. **Conclusoin:** The method is reliable and can be helpful on the quality control of *D. styracifolium*.

[Key words] *Desmodium styracifolium*; different collecting time; different growing area; HPLC fingerprint

广金钱草是豆科植物广金钱草 *Desmodium styracifolium* (Osborn) Merr. 的干燥地上部分, 主产于广东、广西等地, 原为两广一带民间常用草药, 近世以其能治结石症而闻名, 据报道广金钱草含有异牡荆苷等黄酮类物质, 且为药效成分^[1-2]。对广金钱草的指纹图

谱研究虽然已有文献报道^[3], 但文中所用药材为商品药材, 其产地不确定, 未见有对不同原产地及不同采收期广金钱草药材的指纹图谱研究。本文建立了广金钱草液相指纹图谱的色谱条件, 并对不同采收期和不同产地的广金钱草进行研究。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 Dionex P680A 型高效液相色谱仪(德国戴安公司)(P680 泵, PDA-100 二极管阵列检测器, Chromeleon 数据处理系统), Sartorius 电子分析天平, 超声处理提取器(功率 250 W, 频率 50 kHz)。

1.2 试剂 异牡荆苷(isovitexin, 产品号 17804) 对照品从 Sigma 公司购买, 纯度为 98%, 甲醇为色谱

[收稿日期] 20100613(005)

[基金项目] 广东省科技攻关项目(2008A030101009)

[通讯作者] * 陈丰连, 博士, 副教授, 研究方向: 中药资源开发与质量研究, Tel: 13138679251, E-mail: chenfenglian@21cn.com

纯,其余试剂均为分析纯。广金钱草 *D. styracifolium* 样品由广东南台药业有限公司广金钱草规范化种植基地及各地采集,采集其易混淆品假花生 *D. heterocarpum* (L.) DC.、链荚豆 *Alysicarpus vaginalis* (L.) DC. 及其同名异物品金钱草 *Lysimachia christinae* Hance,以上样品经广州中医药大学药用植物教研室潘超美教授鉴定。见表 1。

表 1 广金钱草药材样品来源

样品	产地	备注
1	广东平远县大柘镇	种植(采集样品多份)
2	广东高要	种植
3	广东江门	种植
4	广东遂溪	种植
5	广东揭阳	种植
6	广东化州	种植
7	广东云浮	种植
8	广东阳春	种植
9	广东雷州	种植
10	广西玉林	种植
11	广西宜州	种植
12	广西罗村	野生
13	广东阳春	野生
金钱草	四川仁寿	野生
假花生	平远县大柘镇	野生
链荚豆	平远县大柘镇	野生

2 方法与结果

2.1 参照物溶液的制备 取异牡荆苷对照品加甲醇制成 $29.6 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的溶液,作为参照物溶液。

2.2 供试品溶液的制备 取以上各样品粗粉 0.5 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,加入三氯甲烷 20 mL,超声处理 10 min,滤过,弃去三氯甲烷液,滤渣挥干。加甲醇 35 mL,密塞,称定质量,超声处理 20 min,取出,放冷,再称定质量,用甲醇补足减失的质量,摇匀,以 $0.45 \text{ }\mu\text{m}$ 微孔滤膜滤过,备用。

2.3 色谱条件 DiamonsilTM C₁₈ 色谱柱(迪马公司, $4.6 \text{ mm} \times 250 \text{ mm}, 5 \text{ }\mu\text{m}$);流动相甲醇-0.2% 磷酸溶液(28:72);流速 $1 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$;检测波长 271 nm;柱温 $40 \text{ }^\circ\text{C}$ 。

2.4 测定法 分别精密吸取参照物溶液及供试品溶液各 $10 \text{ }\mu\text{L}$,注入高效液相色谱仪,测定峰面积,即得。色谱图见图 1。

2.5 方法学考察

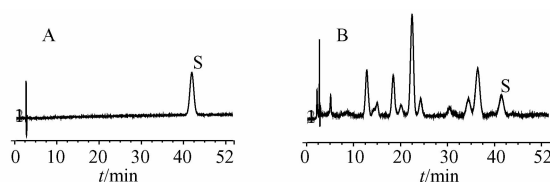


图 1 HPLC 指纹色谱图

A. 对照品;B. 供试品;S. 异牡荆苷

2.5.1 稳定性试验 取同一供试品溶液,分别在不同时间按拟定的色谱条件测定,结果表明,24 h 内各峰相对峰面积和相对保留时间 $\text{RSD} < 3\%$,表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.5.2 精密度试验 精密吸取同一供试品溶液 $10 \text{ }\mu\text{L}$,重复进样测定 5 次。结果表明,色谱图中各色谱峰的相对保留时间 $\text{RSD} < 2\%$,相对峰面积 $\text{RSD} < 3\%$,表明仪器精密度良好。

2.5.3 重复性试验 取 1 号药材 5 份,分别精密称定,照供试品液制备方法处理并按拟定的条件进样测定,结果表明,色谱图中各色谱峰的相对保留时间 $\text{RSD} < 2\%$,相对峰面积 $\text{RSD} < 3\%$,表明该方法重复性良好。

2.6 指纹图谱的建立及分析

2.6.1 方法建立 分别选择 10 批广东南台药业有限公司规范化种植基地的样品,采收时间均一致,按前面确定的方法进行样品测定。将所测数据导入中药指纹图谱相似度计算软件(Version 1.285),并计算,建立起共有模式,10 批样品相似度均大于 0.9。

2.6.2 不同采收期指纹图谱 取广金钱草规范化种植基地的不同采收期的样品,采收时间分别为 6 月 20 日起,每隔 20~30 d 取样 1 次,直至 10 月 30 日,共 7 个样品。按供试品溶液的制备方法处理,进样测定,结果见图 2~8。分析测定结果可得:不同采收期样品与共有模式相比,其相似度均大于 0.9;7 月 10 采收样品的各色谱峰面积最大,从 7 月 30 日至 10 月 10 日采收的样品其各色谱峰面积逐渐减小。

2.6.3 不同产地及野生品指纹图谱 取不同产地的广金钱草及野生品,按供试品溶液的制备方法处理,测定指纹图谱,不同产地样品与共有模式相比其相似系数见表 2,由表可知广东阳春产的广金钱草(种植和野生)相似度均

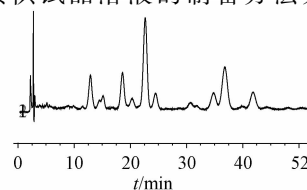


图 2 6 月 20 日采收样品色谱

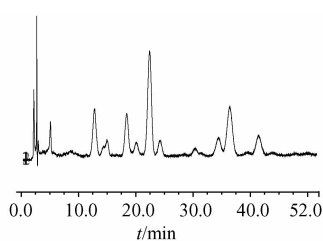


图 3 7 月 10 日采收样品色谱

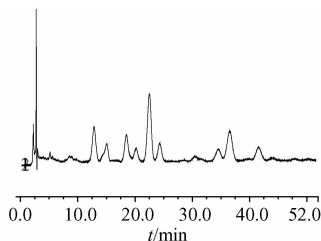


图 4 7 月 30 日采收样品色谱

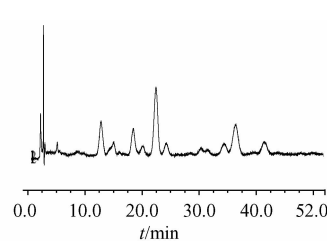


图 5 8 月 10 日采收样品色谱

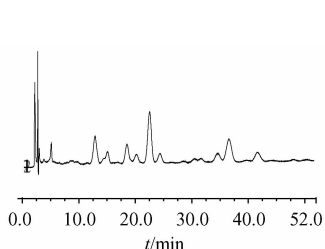


图 6 9 月 10 日采收样品色谱

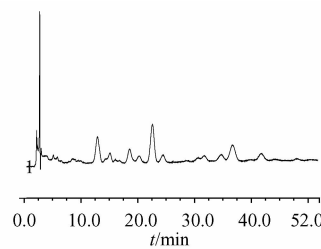


图 7 10 月 10 日采收样品色谱

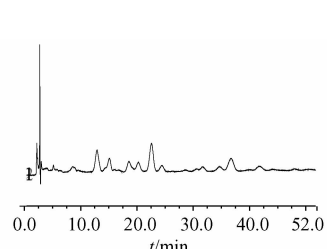


图 8 10 月 30 日采收样品色谱

为 0.3 左右,广东江门和广东遂溪产相似度为 0.7 左右。

表 2 不同产地及野生金钱草相似度

样品	产地	相似系数
1	广东平远	0.985 3
2	广东高要	0.989 0
3	广东江门	0.739 9
4	广东遂溪	0.710 7
5	广东揭阳	0.983 9
6	广东化州	0.976 7
7	广东云浮	0.952 1
8	广东阳春(种植)	0.348 0
9	广东雷州	0.986 4
10	广西玉林	0.961 4
11	广西宜州	0.990 5
12	广西罗村	0.970 2
13	广东阳春(野生)	0.336 1

2.6.4 广金钱草易混淆品的样品分析 取广金钱草易混淆品金钱草、假花生、链荚豆,按供试品溶液的制备方法处理,测定指纹图谱,易混淆品与共有模式相比,其相似度分别为 -0.014 9,0.230 5,0.234 7。

3 讨论

本文对不同产地的药材进行了指纹图谱研究,所建立的色谱条件简便易行,利用该色谱指纹图谱可鉴别广金钱草及其易混淆品。发现广东阳春产广金钱草相似度在 0.3 左右,与其他产地黄酮类成分

差异明显。作者在采集药材样品时发现,阳春产广金钱草其植物形态与其他产地有明显的区别,其叶片大小约为 5 cm × 5 cm,颜色为墨绿色,花期在 10 月,而其他产地的叶片大小约为 2.5 cm × 2.5 cm,颜色为绿色,花期在 8 月。这可能是不同的气候条件和生态环境影响到其化学成分及生物形态。

同一产地不同采收期的广金钱草其相似度在 0.9 以上,可见同一产地黄酮类成分差异不明显。由不同采收期的指纹图谱可见,广金钱草黄酮类成分含量在 7 月中旬最高,随后逐渐降低,说明其黄酮类成分含量随采收时间的推后而变小。黄酮类成分为广金钱草的药效成分,本研究结果对广金钱草的采收期的确立有一定的借鉴作用。

[参考文献]

- [1] 王植柔,白先忠,覃光熙. 广金钱草主要成分防治尿结石的实验研究[J]. 中华泌尿外科杂志,1991,12(1): 13.
- [2] 苏亚伦,王玉蓝,杨峻山. 广金钱草黄酮类化学成分的研究[J]. 中草药,1993,24(7):343.
- [3] 陈思妮,张振秋. 广金钱草 HPLC 指纹图谱研究[J]. 中成药,2008,30(9):1250.

[责任编辑 邹晓翠]