

虎杖药材指纹图谱研究

雷海民*, 毕 葳, 李 强, 龚卫红, 黄 娟, 周玉新

(北京中医药大学中药学院, 北京 100102)

摘 要:目的 应用 RP-HPLC 对不同产地虎杖药材进行指纹图谱研究。方法 Kromasil C₁₈ 色谱柱 (150 mm×4.6 mm, 5 μm), 乙腈-水二元梯度洗脱, 体积流量: 1 mL/min, 检测波长 303 nm。结果 根据选择的色谱条件制订了不同产地虎杖药材的指纹图谱。结论 色谱图对各产地虎杖药材中各成分得到了很好的分离, 可作为虎杖药材的专属性指纹图谱。

关键词:虎杖药材; 高效液相色谱; 梯度洗脱; 指纹图谱

中图分类号: R282.7

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2006)07-1084-03

Fingerprint of *Rhizoma Polygoni Cuspidati*

LEI Hai-min, BI Wei, LI Qiang, GONG Wei-hong, HUANG Xian, ZHOU Yu-xin

(Beijing University of Traditional Chinese Medicine, Beijing 100102, China)

Abstract: **Objective** To study a fingerprint of raw material of *Rhizoma Polygoni Cuspidati* from various habitats by RP-HPLC. **Methods** Kromasil C₁₈ column (150 mm×4.6 mm, 5 μm) was used, with mixtures of acetonitrile and water as mobile phase in a gradient mode. The flow rate was 1 mL/min and wavelength was 303 nm. **Results** According to the optimum chromatographic conditions, a good fingerprint of *Rhizoma Polygoni Cuspidati* has been described. **Conclusion** The method is simple and accurate with good reproducibility. It may be practical value for the quality control of sample for *Rhizoma Polygoni Cuspidati* from various habitats.

Key words: *Rhizoma Polygoni Cuspidati*; HPLC; gradient elution; fingerprint

虎杖为蓼科植物虎杖 *Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc. 的干燥根茎和根。性味微苦、微寒, 归肝、胆、肺经。主要功能有祛风利湿、散瘀止痛、止咳化痰。用于关节痹痛、湿热黄疸、经闭、癥瘕、咳嗽痰多、水火烫伤、跌打损伤、痈肿疮毒等。其主要化学成分包括游离蒽醌及蒽醌苷类、白藜芦醇 (resveratrol) 及虎杖苷 (白藜芦醇苷, polydatin, piceid) 两种芪类化合物、鞣质以及黄酮类。现代药理研究发现白藜芦醇苷有强心、扩血管、抑制血小板聚集、降血糖、降血脂、镇咳平喘、抗菌、抗病毒、抗肿瘤等多种作用。目前有文献报道用 HPLC 法测定虎杖中的有效成分白藜芦醇和白藜芦醇苷的量^[1], 但未见到有关其指纹图谱的研究, 并且白藜芦醇和白藜芦醇苷不是虎杖药材中的仅有的有效成分, 所以尝试运用指纹图谱来对虎杖药材中的大部分有效成分进行控制^[2], 本实验采用 RP-HPLC 法对不同产地虎杖的指纹图谱进行了研究。

1 仪器与试剂

Agilent 1100 高效液相色谱仪 (四元泵、在线脱气、VWD 检测器), 超声波清洗器 (SK5200H, 200W, 59Hz, 上海科导仪器有限公司); 十万分之一分析天平 (AE 240, Metler), 乙腈为色谱纯 (Merck)。

不同产地虎杖 (表 1), 北京中医药大学药系刘春生教授鉴定为 *P. cuspidatum* Sieb. et Zucc.。

2 方法与结果

2.1 色谱分析条件: 采用 Kromasil C₁₈ 色谱柱 (150 mm×4.6 mm, 5 μm, 北京分析仪器厂, SN: 22209), 乙腈-水二元梯度洗脱, 体积流量: 1 mL/min, 检测波长 303 nm。记录时间 60 min。

2.2 流动相条件: 0~15 min: 乙腈 15%~20%、0.4%冰醋酸 85%~80%; 15~25 min: 乙腈 20%~30%、0.4%冰醋酸 80%~70%; 25~40 min: 乙腈 30%~50%、0.4%冰醋酸 70%~50%; 40~41 min: 乙腈 50%~80%、0.4%冰醋酸 50%~20%;

41~51 min;乙腈 80%、0.4%冰醋酸 20%。该流动相及梯度条件对色谱峰分离效果较好。

2.3 供试品溶液制备:精密称取虎杖药材(60 目) 250 mg,精密加入甲醇 50 mL,称质量,超声处理 45 min,补足损失的质量。摇匀,微孔滤膜滤过,取续滤液,即得。

2.4 方法学考察

2.4.1 精密度试验:精密吸取虎杖药材供试品(产地:西安)溶液 10 μ L,连续进样 5 次,以第 1 次测定的色谱图作为参照,使用相似度计算软件计算相似度,相似度平均值为 0.999,RSD 为 0.204%。11、23、28、43 min 4 个对照峰峰面积平均值的 RSD 分别为 2.70%、0.65%、1.35%、0.28%。试验结果表明,该方法精密度良好。

2.4.2 稳定性试验:取同一供试品溶液(产地:西安),分别于配制后 0、2、4、6、8 h 依法测定,以第一次测定的色谱图作为参照,使用相似度计算软件计算相似度,相似度平均值为 0.999 6,RSD 为 0.051 7%。11、23、28、43 min 4 个对照峰峰面积平均值的 RSD 分别为 2.17%、1.14%、0.75%、0.73%。结果表明,供试品溶液在 8 h 内稳定。

2.4.3 重现性试验:按供试品制备及测定方法,对同一批号(产地:西安)样品 5 份进行测定,使用相似度计算软件计算相似度,相似度平均值为 0.999 3,RSD 为 0.082%。11、23、28、43 min 4 个对照峰峰面积平均值的 RSD 分别为 0.97%、2.39%、0.98%、2.98%。结果表明,测定方法的重现性良好。

2.5 指纹图谱分析软件:计算软件:采用国家药典会编写的“中药色谱指纹图谱相似度评价系统 2004A 版”。参数设置:(1)参照谱图:本品采用虎杖药材提取物(产地:云南)色谱图作为相似度计算时校正的参照谱图。(2)时间窗宽度:0.10。(3)数据剪切:未剪切。(4)校正方式:由于采用梯度洗脱的方式,各批次供试品指纹图谱中色谱峰保留时间可能不一致,故相似度计算时不宜采用自动校正方式,而应进行多点校正。校正色谱峰的确定:本品色谱图中主要色谱峰在 0~60 min 内基本分布均匀,为保证不同批次虎杖药材提取物指纹图谱匹配时校正的准确性,选择了 4 个主要指纹峰作为校正的 Mark 峰,其中 11 min 的峰为白藜芦醇苷,23 min 的峰为白藜芦醇。(5)对照谱图的生成:采用平均算法,由 10 批虎杖药材指纹图谱生成。(6)指纹图谱相似度计算结果:以对照谱图作为参照,各样品指纹图谱与对照谱图进行比较,计算得各批次虎杖药材指纹图谱相似

度值。
2.6 结果:各地虎杖药材图谱见图 1,生成的对照图谱见图 2。以对照谱图作为参照,各样品指纹图谱与对照谱图进行比较,计算得各批次虎杖药材指纹图谱相似度值,结果见表 1。

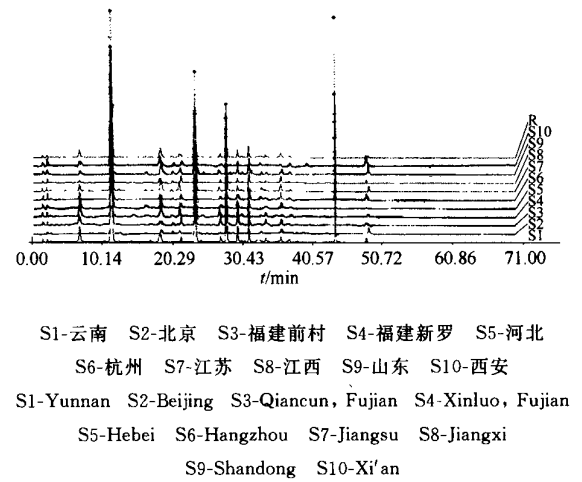


图 1 虎杖药材指纹图谱
Fig. 1 Fingerprint of *Phizoma Polygoni Cuspidate*

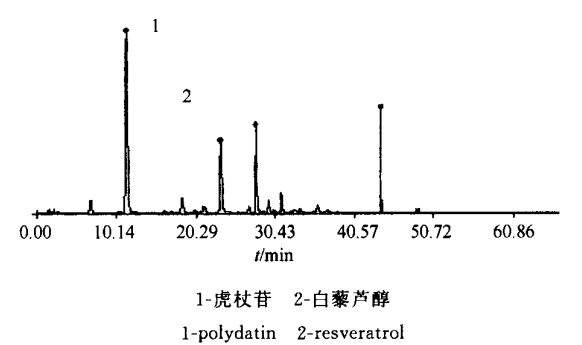


图 2 虎杖药材对照指纹图谱
Fig. 2 Compared fingerprint of *Rhizoma Polygoni Cuspidate*

表 1 10 批次虎杖药材相似度结果(n=2)
Table 1 Similarity of 10 batches of *Phizoma Polygoni Cuspidate* (n=2)

批号	产地	相似度(对照)	批号	产地	相似度(对照)
1	云南	0.981	6	杭州	0.993
2	北京	0.972	7	江苏	0.993
3	福建前材	0.975	8	江西	0.991
4	福建新罗	0.969	9	山东	0.996
5	河北	0.952	10	西安	0.962

根据以上试验结果,并结合“中药注射剂指纹图谱研究的技术要求(暂行)”的规定,暂定本品指纹图谱应与对照提取物指纹图谱一致,相似度值不得低于 0.90。

3 结论

3.1 用 HPLC 法建立虎杖药材的指纹图谱,方法

简便,重现性、稳定性、精密度良好。各地虎杖药材的峰形及峰数相似度良好。虎杖药材 HPLC 法指纹图谱的建立,使虎杖药材的质量标准更加全面、直观。

3.2 流动相考察:曾试验了乙腈-水(18:82);乙腈-0.4%冰醋酸(18:82);0~60 min:乙腈0%~100%,0.4%冰醋酸100%~0%等流动相条件,最终从液相图谱可以看出本实验所选的梯度条件分离效果最佳。

3.3 白藜芦醇和白藜芦醇苷经紫外全波长扫描(溶

剂:乙醇)确定最大吸收波长为 303 nm。

3.4 白藜芦醇和虎杖苷为虎杖中的有效成分,但不是仅有的有效成分,无法用 HPLC 法测定其中每一个有效成分来控制其质量,指纹图谱弥补了这个不足,有力补充了虎杖药材的质量标准。

References:

- [1] Yin J. *Modern Research and Clinical Practice of Chinese Materia Medica* (中药现代研究与临床应用) [M]. Beijing: Academy Press, 1994.
- [2] *Ch P* (中国药典) [S]. Vol. I 2005.

三七果实发育中生理生化的动态研究

安娜^{1,2}, 崔秀明³, 萧凤回^{1,2}, 陈中坚³, 段承俐^{1,2*}

(1. 云南农业大学中药材研究所 云南省中药材规范化种植技术指导中心, 云南 昆明 650201; 2. 云南农业大学农学与生物技术学院, 云南 昆明 650201; 3. 云南文山三七科学技术研究所, 云南 文山 663000)

摘要:目的 对三七果实发育过程中的生理生化变化进行研究。方法 对三七果实发育过程中的生长情况、干鲜质量变化、含水量变化及可溶性糖、淀粉和蛋白质的量进行动态测定。结果 在三七果实的发育过程中含水量先升后降,于成熟时达到 73.37%;果实的鲜、干质量随果实发育逐渐增加,发育前期质量增加明显;淀粉和蛋白质的量同样随果实发育而逐渐增加,但发育后期质量增加较快;而可溶性糖的量则先升后降,到后期又略有上升。结论 三七果实于盛花期后 80 d 达到成熟;在发育过程中,含水量的下降伴随着果实鲜、干质量的不断增加,而果实内营养物质的贮存及利用与果实的发育程度密切相关。

关键词:三七;果实发育;生理生化变化

中图分类号:R282.7

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2006)07-1086-03

Dynamic studies on physiological and biochemical changes during fruit development of *Panax notoginseng*

AN Na^{1,2}, CUI Xiu-ming³, XIAO Feng-hui^{1,2}, CHEN Zhong-jian³, DUAN Cheng-li^{1,2}

(1. Institute of Chinese Medicinal Materials, Yunnan Agricultural University; Yunnan Provincial GAP Center of Chinese Medicinal Materials, Kunming 650201, China; 2. Faculty of Agronomy and Biotechnology, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China; 3. Wenshan Institute of Notoginseng Science and Technology, Wenshan 663000, China)

Abstract: Objective The physiological and biochemical changes were studied during the *Panax notoginseng*'s fruit development. **Methods** Dynamic changes of fruits size, fresh and dry weight, moisture content and soluble sugar, starch and protein contents were investigated. **Results** The moisture content was increased first and then dropped to 73.37% at maturity. The fresh and dry weight, starch and protein contents of *P. notoginseng*'s fruits were increased with the fruit development. The soluble sugar content was raised first, then decreased, and increased slightly at the lateral stage of fruit development. **Conclusion** The *P. notoginseng*'s fruits are mature at 80 d after peak anthesis; the decrease of moisture content is accompanied with the gradual increasing of fruit fresh and dry weight during the fruit development. The storage and utilization of nutrients in *P. notoginseng*'s fruits are closely related with the fruit development.

收稿日期:2005-10-17

基金项目:国家自然科学基金资助项目[30260057]

作者简介:安娜(1979—),女,山西阳曲人,在读研究生,主要从事三七种子生理研究。

*通讯作者 段承俐 Tel:(0871)5227160 E-mail:chengliduan@hotmail.com