

青海道地药材秦艽 HPLC 指纹图谱研究

张明锦¹, 吴启勋², 安燕²

(1. 青海师范大学 化学系, 青海 西宁 810008; 2. 青海民族学院 化学系, 青海 西宁 810007)

摘要:目的 利用高效液相色谱法建立了青海秦艽药材的色谱指纹图谱。方法 以青海产秦艽药材为分析对象, 通过正交试验设计、信息理论及化学计量学的相关方法, 确定适宜的色谱条件, 从而建立了10个不同产地青海秦艽药材样品的指纹图谱。结果 指纹图谱中共有峰面积及其精密度、稳定性及重现性均符合《中药注射指纹图谱研究的技术要求(暂行)》中的相关规定。结论 采用HPLC指纹图谱可有效控制秦艽的质量。

关键词: 麻花秦艽; 正交设计; 互信息; HPLC-FPS**中图分类号:** R282.7 **文献标识码:** A **文章编号:** 0253-2670(2007)05-0759-03HPLC-Fingerprint of Qinghai genuine medicinal herb—*Gentiana straminea*ZHANG Ming-jin¹, WU Qi-xun², AN Yan²

(1. Department of Chemistry, Qinghai Normal University, Xining 810008, China; 2. Department of Chemistry, Qinghai Nationalities College, Xining 810007, China)

Abstract: **Objective** To establish the fingerprint of *Gentiana straminea* from Qinghai Province by HPLC. **Methods** By orthogonal design and related methods based on information theories and chemometrics to optimize the proper HPLC conditions so that the fingerprint spectra of ten groups of different samples have been formed. **Results** The experimental results are the fact that the common fingerprint peaks, precision, and repeatability in the fingerprint totally meet the relative regulations required in *Technical Requirements of the Fingerprint Research in Injection of Chinese Materia Medica (Tentative Standard)*. **Conclusion** The chromatographic fingerprint can be used to identify and evaluate the quality of *G. straminea*.

Key words: *Gentiana straminea* Maxim.; orthogonal design; mutual information; HPLC-FPS

秦艽为常用中药, 为龙胆科龙胆属 [*Gentiana* (Tourn.) L.] 秦艽组 (Sect. Apteris) 植物秦艽 *G. macrophylla* Pall.、麻花秦艽 *G. straminea* Maxim.、粗茎秦艽 *G. crallicaulis* Duthie ex Burk. 或小秦艽 (或称达乌里秦艽) *G. dahutica* Fisch. 的干燥根, 主产青海、甘肃、四川等地区, 为《中国药典》2005年版所收载^[1]。青海是麻花秦艽药材一大产区, 故以麻花秦艽为研究对象, 以梯度洗脱法对其HPLC指纹图谱进行研究, 结果证明方法可操作性强, 重现性好, 可作为秦艽指纹图谱研究的基础。

1 仪器与试剂

仪器: Agilent 1100 高效液相色谱仪 [大连伊利特 Kromasil C₁₈ 分析柱 (250 mm × 4.6 mm), 二元梯度泵, DAD 检测器, 安捷伦 Chemstation 色谱工作站]。

试剂: 甲醇 (色谱纯, 山东禹王实业有限公司禹城化工厂); 其他试剂均为分析纯。

秦艽药材: 共10批, 经鉴定为麻花秦艽 *G. straminea* Maxim. 的干燥根, 按1~10编号分别来源于门源、祁连、互助、湟中、玉树、贵德、刚察、泽库、大通、海晏。

2 方法

2.1 色谱条件: 流动相选择甲醇(B)-0.04%磷酸水溶液(A), 梯度洗脱程序: 0 min: 10%B, 15 min: 20%B, 35 min: 30%B, 50 min: 35%B, 70 min: 35%B。

体积流量: 1 mL/min, **检测波长:** 222 nm, **柱温:** 30 °C, **进样量:** 4 μL, **采样时间:** 70 min。

2.2 供试品溶液的制备: 精密称取秦艽药材粉末 2.00 g, 置 50 mL 圆底小烧瓶中, 加入甲醇 30 mL, 40

收稿日期: 2006-08-20

基金项目: 青海省重点科技攻关资助项目 (2004-N-149)

作者简介: 张明锦 (1979—), 男, 青海门源人, 硕士, 主要从事化学计量学研究。

Tel: 013897457578 E-mail: majorzhang790603@163.com

℃水浴中回流 4 h, 滤过, 定容于 50 mL 量瓶中, 测定前用 0.45 μm 的微孔滤膜滤过, 即得供试品溶液。

2.3 对照品溶液的配制: 精密称取龙胆苦苷对照品适量, 加甲醇制成含 0.2 mg/mL 的溶液, 摇匀即得。

2.4 精密度试验: 取 1 号样品, 制备供试品溶液, 连续进样 5 次, 检测指纹图, 并计算各共有峰的 RSD, 结果可见, 样品共有峰的相对保留时间及相对峰面积的 RSD 均小于 3%, 符合指纹图谱研究技术的要求。

2.5 重现性试验: 取 1 号样品 5 份, 制备供试品溶液, 检测指纹图, 并计算各共有峰的 RSD, 结果可见, 样品共有峰的相对保留时间及相对峰面积的 RSD 均小于 3%, 符合指纹图谱研究技术的要求。

2.6 稳定性试验: 取 1 号样品, 制备供试品溶液, 分别在 0、4、8、24、48 h 检测指纹图, 结果表明各共有峰的 RSD 均小于 5%, 说明样品在 48 h 内稳定。

3 秦艽药材指纹图谱的建立

3.1 秦艽药材 HPLC 指纹图谱的测定: 取秦艽药材 1~10 号样品共 10 批, 按上述供试品溶液的制备方法制备供试品溶液, 在已确定的色谱条件下取 4 μL 注入高效液相色谱仪进行分析测定, 即得样品 HPLC 色谱图。其特征指纹峰见图 1。

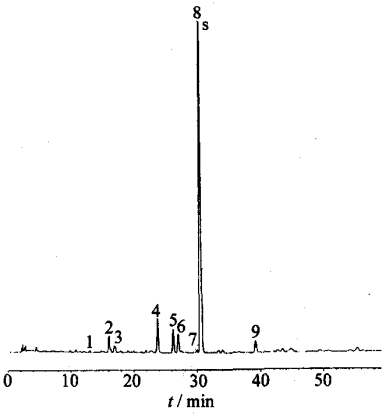


图 1 1 号样品色谱指纹图谱

Fig. 1 Fingerprint of sample No. 1

3.2 秦艽药材指纹图谱的建立: 按各色谱峰相对保留时间(α 值)的大小次序排序, 在每个 α 项下标出该组分的相对峰面积值, 即组成了样品的高效液相色谱—指纹谱(HPLC—FPS)。秦艽药材特征指纹峰的相对保留时间及其 HPLC-FPS 见表 1、2。

3.3 相似度评价: 选用共有模式生成法中的平均矢量算法建立其共有模式, 并计算各批样品与共有模式的夹角余弦(Cs)与相关系数(Rs), 结果见表 3。

表 1 10 批麻花秦艽的共有指纹峰 α 值

Table 1 Relative retention times (α value) of common fingerprint peaks for ten batches of *G. macrophylla*

样品	特征共有峰 α 值								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	0.353 0	0.524 2	0.552 6	0.775 6	0.855 5	0.881 3	0.982 7	1.000 0	1.285 0
2	0.352 2	0.523 8	0.552 4	0.775 6	0.855 9	0.881 7	0.981 8	1.000 0	1.283 9
3	0.351 8	0.523 2	0.551 6	0.775 1	0.855 7	0.881 6	0.982 1	1.000 0	1.285 8
4	0.351 2	0.523 2	0.553 7	0.774 8	0.855 7	0.881 7	0.982 1	1.000 0	1.285 8
5	0.351 7	0.523 0	0.556 5	0.774 7	0.855 0	0.881 1	0.982 1	1.000 0	1.283 9
6	0.351 4	0.523 1	0.554 7	0.773 9	0.854 8	0.880 9	0.981 4	1.000 0	1.285 7
7	0.351 7	0.523 0	0.555 0	0.774 2	0.855 1	0.881 1	0.980 9	1.000 0	1.285 7
8	0.351 7	0.523 3	0.551 5	0.774 7	0.856 0	0.882 1	0.981 8	1.000 0	1.287 7
9	0.352 1	0.523 3	0.558 2	0.774 8	0.855 1	0.880 9	0.982 6	1.000 0	1.284 7
10	0.351 6	0.523 7	0.551 9	0.774 8	0.854 9	0.880 8	0.982 6	1.000 0	1.286 8
平均	0.351 8	0.523 4	0.553 8	0.774 8	0.855 4	0.881 3	0.982 0	1.000 0	1.285 5
RSD/%	0.142 6	0.075 2	0.408 4	0.068 8	0.051 4	0.049 3	0.057 7	0.000 0	0.092 8

表 2 10 批麻黄秦艽的高效液相色谱指纹图谱

Table 2 HPLC-Fingerprint for ten batches of *G. macrophylla*

样品	特征共有峰相对峰面积								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	0.004 6	0.024 9	0.011 7	0.085 0	0.038 2	0.044 2	0.005 9	1.000 0	0.022 8
2	0.004 8	0.035 3	0.023 4	0.089 8	0.062 3	0.051 5	0.009 1	1.000 0	0.037 1
3	0.004 1	0.020 3	0.012 3	0.070 9	0.050 2	0.053 9	0.007 2	1.000 0	0.016 5
4	0.004 1	0.019 8	0.017 3	0.170 4	0.048 1	0.041 6	0.006 8	1.000 0	0.023 5
5	0.005 6	0.025 4	0.035 5	0.168 9	0.097 8	0.041 3	0.006 5	1.000 0	0.029 0
6	0.005 7	0.026 3	0.036 5	0.123 0	0.074 4	0.045 2	0.007 5	1.000 0	0.027 2
7	0.005 7	0.025 9	0.025 9	0.256 4	0.154 1	0.041 7	0.007 5	1.000 0	0.029 0
8	0.005 3	0.022 0	0.019 6	0.229 2	0.022 2	0.051 0	0.011 8	1.000 0	0.020 7
9	0.005 6	0.029 4	0.031 0	0.084 2	0.088 7	0.045 6	0.006 2	1.000 0	0.027 3
10	0.004 9	0.017 4	0.020 3	0.119 5	0.027 9	0.048 0	0.006 7	1.000 0	0.023 4
平均	0.005 0	0.024 7	0.023 3	0.139 7	0.066 4	0.046 4	0.007 5	1.000 0	0.025 6
RSD/%	12.555 7	21.059 2	37.860 1	46.138 7	59.584 9	9.745 8	23.251 6	0.000 0	21.927 5

表 3 10 批秦艽药材与共有模式的相似性
Table 3 Resemblance between common pattern
and ten batches of *G. macrophylla*

批号	Cs	Rs	批号	Cs	Rs
1	0.998 1	0.998 4	6	0.999 7	0.999 7
2	0.998 7	0.998 4	7	0.990 4	0.990 0
3	0.997 4	0.997 6	8	0.995 3	0.994 2
4	0.999 3	0.999 2	9	0.998 2	0.997 8
5	0.999 0	0.999 1	10	0.999 1	0.999 2

4 讨论

4.1 参照《中国药典》2005 年版^[1]一部秦艽药材供试品溶液的制备方法,在制备过程中主要考察了恒温水浴加热回流提取与超声提取的差异、不同提取时间、不同液料比、不同提取温度的差异,经正交试验设计,最终确定了供试品溶液的制备方法。

4.2 检测波长选择:通常作为一个色谱体系,从信息理论的角度而言,其测定方法的优劣可用分析体系中包含的化学组分所获得的精确度及总的分析效率来表示^[2]。本试验采用基于色谱峰面积、保留时间与理论塔板数的互信息,最终选择信息量值最大的 222 nm 作为检测波长。

4.3 根据 10 批秦艽供试品图谱的检测结果,标定秦艽药材的共有指纹峰。以龙胆苦苷峰为内参照峰,按照相对保留时间标定,共有 18 个共有指纹峰。考虑到线性及精密性是外标法定量的基础,所以首先

对这些峰进行了线性及精密度的试验,从而排除在定量准确性上存在问题的峰。最终筛选出线性试验中相关系数 $r > 0.995$ 且精密度试验中 $RSD < 5\%$ 的 9 个峰作最后的分析用。

4.4 按照《中药注射剂指纹图谱研究的技术要求(暂行)》^[3]对有规定的指纹峰分别做总结,结果可知,无论是共有峰还是非共有峰的参数,各批样品均基本能满足规定的要求。

4.5 峰重叠率是两相相互比较样品的各自峰数及两者共有峰数的基础上,从质的角度上考虑其相关性。本课题中 10 批秦艽药材色谱图的重叠率均在 80% 以上,说明这 10 批秦艽药材有较好的相似性。

4.6 以上计算结果从质和量的角度表明,10 批秦艽药材相关性很好,各主要组分的量差异较小。进而说明这 10 批秦艽药材制定的指纹图谱可用作青海麻花秦艽药材的质量控制。

References:

- [1] Ch P (中国药典) [S]. Vol I. 2005.
- [2] Zhang Q, Zhang X H, Chen J M. Application of chemometrics in the choice of the best detection wavelength of the fingerprints of *Fagopyrum tatarium* Gaertn. [J]. Chin Pharm J (中国药理学杂志), 2003, 38(6): 419-422.
- [3] Technical Requirements of the Fingerprint Research in Injecting of Chinese Materia Medica (Tentative Standard) 《中药注射剂指纹图谱研究的技术要求(暂行)》[S]. 2001.

太子参 HPLC 色谱指纹图谱研究

刘伟祥,胡海云,刘喜纯,段 启

(广东康美药业股份有限公司 技术研究中心,广东 普宁 515300)

摘要:目的 应用 HPLC 法建立太子参的指纹图谱,为太子参药材的质量控制提供依据。方法 采用 Dikma Kromasil 100A C₁₈ 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm),以乙腈-水梯度洗脱,体积流量,0.8 mL/min,检测波长 203 nm,测定 10 批太子参药材的色谱图,确立标准指纹图谱。结果 太子参药材有 7 个共有峰,并达到较好分离。该分析方法具有很好的精密度、重现性和稳定性,各批次间共有峰的相对保留时间的 RSD 均小于 1%,相对峰面积符合指纹图谱相关要求。结论 建立的 HPLC 指纹图谱法用于太子参药材的质量评价切实可行。

关键词:太子参药材;HPLC;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(2007)05-0761-04

Fingerprint of *Radix Pseudostellariae* by HPLC

LIU Wei-xiang, HU Hai-yun, LIU Xi-chun, DUAN Qi

(Centre of Research and Development, Guangdong Kangmei Pharmaceutical Group Co., Ltd., Puning 515300, China)

Key words: *Radix Pseudostellariae*; HPLC; gradient elution; fingerprint