

金莲花药材 HPLC 指纹图谱研究

马英丽, 胡冰, 田振坤, 苏连杰

(黑龙江中医药大学药学院, 黑龙江 哈尔滨 150040)

摘要:目的 建立金莲花药材的 HPLC 指纹图谱。方法 以葎草苷为内标物, 采用 HPLC 法分析 10 个不同产地金莲花样品的黄酮苷, 并进行相似度计算。色谱条件: Hypersil C₁₈ 柱 (200 mm × 4.6 mm, 5 μm), 流动相为甲醇-水梯度洗脱, 体积流量为 1.0 mL/min, 检测波长 340 nm, 柱温 45 ℃。结果 本研究建立的分析方法有较好的重复性, 不同产地的金莲花药材色谱峰面积比值有一定的差异。结论 本法操作简便, 重现性好, 可用于不同产地药材的指纹图谱的测定和质量评价。

关键词: 金莲花; 指纹图谱; 高效液相色谱法

中图分类号: R282.7

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2006)12-1873-03

HPLC Fingerprint of *Flos Trollii*

MA Ying-li, HU Bing, TIAN Zhen-kun, SU Lian-jie

(College of Pharmacy, Heilongjiang University of Traditional Chinese Medicine, Harbin 150040, China)

Key words: *Flos Trollii*; fingerprint; HPLC

金莲花为毛茛科植物金莲花 *Trollius chinensis* Bunge 的干燥花, 广泛分布于我国东北、华北和内蒙古地区。近年来研究表明, 金莲花有抑菌和抗病毒的作用, 其有效成分是黄酮类化合物^[1]。文献报道金莲花药材以总黄酮为定量指标, 也有人使用薄层扫描、高效液相色谱法通过测定葎草苷和牡荆苷的量来控制金莲花药材的质量^[2,3]。在大部活性成分尚不清楚的情况下, 而测定总成分或是一两个化学成分的量还不能真正反映原药材质量的稳定性。指纹图谱能够为科学评价与有效控制金莲花质量提供新方法, 因此笔者在多年对金莲花化学成分和提取工艺研究的基础上, 用 HPLC 法研究了不同产地金莲花药材的指纹图谱。这一研究将有助于金莲花药材以及提取物和制剂的质量控制。

1 实验材料

1.1 仪器试剂: 日本岛津 LC-2010A 液相色谱仪; 日本岛津化学工作站; SPD-10A 检测器; AB204-N 型 1/10 万电子分析天平; 甲醇 (色谱试剂, 美国 DIMA 公司); 磷酸 (色谱试剂, 天津市科密欧化学试剂开发中心)。

1.2 供试样品: 葎草苷样品为自制, 经结构鉴定、HPLC 分析, 质量分数为 98.3%; 金莲花样品共 10 批, 经黑龙江中医药大学药学教研室苏连杰教授

鉴定为毛茛科植物金莲花 *Trollius chinensis* Bunge 的干燥花, 见表 1。

表 1 金莲花样品来源

Table 1 Sample sources of *Flos Trollii*

样品号	样品来源	样品号	样品来源
1	河北围场	6	黑龙江东宁
2	黑龙江塔河	7	河北廊坊
3	内蒙牙克石	8	河北石家庄
4	内蒙赤峰	9	黑龙江黑河
5	河北沽源	10	内蒙古根河

2 方法与结果

2.1 对照品溶液的制备: 精密称取葎草苷对照品适量, 用甲醇配制成 0.2 mg/mL 的溶液。

2.2 供试品溶液的制备: 精密称取金莲花样品 3.0 g, 置于具塞三角瓶中, 加入 50 mL 甲醇, 浸泡 24 h, 称质量, 超声提取 40 min 后再称质量, 损失部分用甲醇补足, 滤过, 滤液定容于 50 mL 量瓶中, 过 0.45 μm 微孔滤膜, 备用。

2.3 色谱条件: Hypersil C₁₈ 柱 (200 mm × 4.6 mm, 5 μm) (大连依利特科学仪器有限公司), 流动相为水 (A)-甲醇 (B), 采用线性梯度洗脱程序: 0~30 min (8% B~15% B), 30~70 min (15% B~19% B), 70~130 min (19% B~45% B), 体积流量为 1.0 mL/min, 检测波长 340 nm, 柱温 45 ℃。

收稿日期: 2006-01-29

基金项目: 哈尔滨市科技攻关计划项目 (2004AA3CS170-1)

作者简介: 马英丽 (一), 女, 教授, 博士生导师。研究方向: 中药活性成分及质量标准化研究。

Tel: (0451) 82196178 E-mail: mylt666@sina.com

2.4 方法学考察

2.4.1 精密度试验:精密称取 1 号样品,按供试品溶液制备方法操作,连续进样 6 次,记录指纹图谱。结果表明,各色谱峰的相对保留时间和其相对峰面积比值基本一致,RSD 为 1.3%~2.8%,符合指纹图谱要求。

2.4.2 重现性试验:精密称取 1 号样品 6 份,按供试品溶液制备方法操作,分别进样,记录指纹图谱。结果表明,各色谱峰的相对保留时间和其相对峰面积比值基本一致,RSD 为 1.7%~4.6%,符合指纹图谱要求。

2.4.3 稳定性试验:精密称取 1 号样品,按供试品溶液制备方法操作,分别在 0、4、8、12、24 h 测定,记录指纹图谱。结果表明,各色谱峰的相对保留时间和其相对峰面积比值基本一致,RSD 为 1.2%~3.9%,符合指纹图谱要求。

2.5 金莲花的指纹图谱:以 1 号药材为样品,按确

定条件测定其指纹图谱,共获得 21 个色谱峰(图 1)。测定了 10 个不同产地的金莲花样品,且 10 个样品的共有峰面积均在 90% 以上。其相对保留时间见表 2,典型色谱图见图 2。其中 7 号峰为金莲花主要指标成分荜草苷,将其作为内参比峰。以其色谱峰对内参比峰的相对保留时间定性,按下式计算各色谱峰相对于其内参比峰的峰面积比 X。

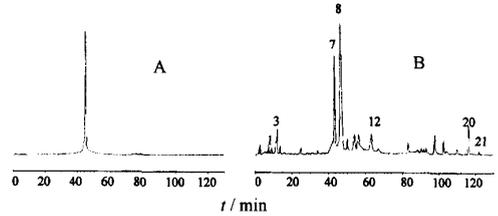


图 1 荜草苷 (A) 和金莲花样品 (B) 指纹图谱

Fig. 1 Fingerprint of orientin (A) and Flos Trollii (B)

$X = A_{ij} / A_{is} W_i$, A_{ij} :第 i 个样品第 j 个组分的峰面积, A_{is} :第 i 个样品的参比峰面积, W_i :样品质量 (g)。

表 2 10 批金莲花药材共有指纹峰的相对保留时间

Table 2 Relative retention time of common peaks for ten batches of Flos Trollii

共有峰 峰号	10 批药材相对保留时间										平均值
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
1	0.165	0.170	0.165	0.172	0.163	0.170	0.167	0.170	0.168	0.164	0.167
2	0.203	0.206	0.202	0.205	0.203	0.210	0.203	0.203	0.208	0.207	0.205
3	0.275	0.268	0.280	0.284	0.284	0.280	0.278	0.271	0.277	0.281	0.278
4	0.318	0.320	0.318	0.327	0.317	0.318	0.322	0.320	0.318	0.321	0.320
5	0.571	0.576	0.563	0.565	0.563	0.566	0.567	0.570	0.567	0.569	0.568
6	0.790	0.790	0.770	0.783	0.773	0.771	0.778	0.780	0.772	0.771	0.779
7	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
8	1.073	1.070	1.074	1.075	1.075	1.075	1.077	1.080	1.076	1.079	1.075
9	1.150	1.151	1.150	1.150	1.151	1.150	1.152	1.150	1.149	1.151	1.150
10	1.246	1.246	1.246	1.247	1.248	1.246	1.246	1.246	1.245	1.247	1.246
11	1.302	1.285	1.302	1.301	1.302	1.301	1.288	1.287	1.301	1.302	1.292
12	1.462	1.461	1.464	1.467	1.468	1.465	1.460	1.461	1.468	1.464	1.464
13	1.555	1.551	1.550	1.552	1.551	1.548	1.553	1.550	1.548	1.549	1.551
14	2.082	2.069	2.046	2.052	2.051	2.046	2.051	2.052	2.048	2.045	2.054
15	2.124	2.102	2.076	2.083	2.080	2.075	2.082	2.082	2.078	2.075	2.086
16	2.154	2.131	2.105	2.112	2.108	2.104	2.112	2.110	2.106	2.101	2.110
17	2.269	2.234	2.271	2.214	2.210	2.215	2.213	2.212	2.207	2.215	2.226
18	2.379	2.354	2.325	2.332	2.328	2.322	2.333	2.331	2.329	2.328	2.336
19	2.541	2.514	2.485	2.494	2.488	2.481	2.493	2.489	2.486	2.485	2.496
20	2.689	2.660	2.627	2.635	2.627	2.624	2.635	2.632	2.627	2.626	2.638
21	2.814	2.795	2.761	2.770	2.762	2.758	2.771	2.767	2.763	2.761	2.772

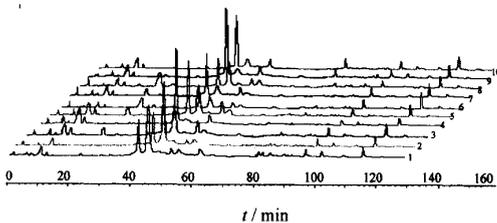


图 2 10 批金莲花样品指纹图谱

Fig. 2 Fingerprint of ten batches of Flos Trollii

2.6 相似度分析:指纹图谱表征的是样品整体的特征,进行指纹图谱比较,可以反映样品间的亲疏程度,但是单纯的直观比较指纹图谱的峰的多少和面积的大小,只是定性比较,而且又带有个人的主观性。相似度可以定量地描述指纹图谱,本实验用相似度分析对样品进行了比较,可以定量地、客观地对样品进行评价^[4]。用沈阳药科大学计算机中心编制的“指纹图谱相似度计算软件”以夹角余弦、相关系数

和欧氏距离作为测度,分别计算各样本的相似度,结果见表 3。可知相似度在 0.90~1.00 的 3、4、5、7、8 号样品相似性较好,可评价为质量较好的一类。

表 3 相似度计算结果

Table 3 Similarity degree of samples

样品号	欧氏距离	夹角余弦	相关系数	样品号	欧氏距离	夹角余弦	相关系数
1	0.86	0.94	0.93	6	0.74	0.83	0.87
2	0.82	0.91	0.92	7	1.00	0.99	0.99
3	0.94	0.96	0.95	8	0.99	1.00	1.00
4	0.92	0.94	0.94	9	0.88	0.93	0.95
5	0.98	1.00	0.99	10	0.86	0.94	0.95

3 讨论

3.1 供试品提取溶剂及提取方法的考察:试验中笔者考察了水、60% 乙醇、95% 乙醇、甲醇 4 种提取溶剂,水煎煮、索氏提取、超声提取 3 种提取方法,最后选定使用甲醇作为提取溶剂进行超声提取的方法,该法所得色谱峰较多,且分离度较好。

3.2 流动相的确定:金莲花药材的成分较复杂,主要为黄酮类化合物,选择单一的流动相无法分离,采用梯度洗脱可以在整个分析时间内(130 min),各

色谱峰的峰型、分离效果均好。本实验过程中选择了甲醇-水(H₃PO₄调至不同 pH)、乙腈-水(H₃PO₄调至不同 pH)、甲醇-乙腈-水(H₃PO₄调至不同 pH)、甲醇-水、乙腈-水、甲醇-乙腈-水 6 种流动相系统,结果甲醇-水系统分离效果最好。

3.3 参照物的确定:金莲花中含有的有效成分为黄酮苷类化合物。鉴于指纹图谱的目的是鉴别药材和成药的质量,选定金莲花活性成分中量较高的荜草苷作为本指纹图谱技术要求的参照物。

References:

- [1] Editorial Board of China Herbal, State Administration of Traditional Chinese Medicine, China. *China Herbal* (中华本草) [M]. Shanghai: Shanghai Scientific and Technical Publishers, 1999.
- [2] Su L J, Li C H, Liu L J, et al. Determination of orientin and vitexin from *Trollius macropetalus* Fr. *Schm* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1997, 28(3): 151-152.
- [3] Huang W Z, Liang X. Determination of two flavone glycosides in *Trollius ledebourli* by HPLC [J]. *Chin Pharm J* (中国药学杂志), 2000, 35(10): 658-659.
- [4] Wang X, Wang W Y, Zhang K R, et al. Approaching the study on the similarity analysis of HPLC fingerprints spectra for traditional Chinese medicines [J]. *J Shenyang Pharm Univ* (沈阳药科大学学报), 2003, 20(5): 360-362.

管花秦艽的生药学研究

赵志礼¹, 苏洁^{1*}, 王峥涛²

(1. 上海中医药大学生药学教研室, 上海 201203; 2. 上海中医药大学中药研究所, 上海 201203)

摘要:目的 对甘肃秦艽习用品——管花秦艽 *Gentiana siphonantha* 进行生药学研究。方法 形态学、组织学及理化鉴定方法。结果 管花秦艽的叶较窄,子房、果实有柄,可与其近缘种秦艽 *G. macrophylla* 相区别;其根的组织结构中出現中柱裂分现象;理化特征与麻花苳 *G. straminea* 十分相似。结论 可为管花秦艽药材的研究及秦艽新资源的开发提供资料。

关键词:龙胆属;管花秦艽;生药学研究

中图分类号:R282.7

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2006)12-1875-04

Pharmacognostical studies on root of *Gentiana siphonantha*

ZHAO Zhi-li¹, SU Jie¹, WANG Zheng-tao²

(1. Department of Pharmacognosy, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China; 2. Institute of Chinese Materia Medica, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China)

Key words: *Gentiana* L.; the roots of *Gentiana siphonantha* Maxim. ex Kusnez.; pharmacognostical study

《中国药典》规定,秦艽原植物来源为龙胆科植物秦艽 *Gentiana macrophylla* Pall.、麻花苳 *G. straminea* Maxim.、粗茎秦艽 *G. crassicaulis* Duthie

ex Burk. 或小秦艽 *G. dahurica* Fisch.,其根入药,具祛风湿、清湿热、止痹痛之功效^[1]。秦艽为常用中药,临床应用广泛。但长期以来的过度采挖,以及生

收稿日期:2006-02-16

作者简介:赵志礼(1956—),男,甘肃兰州人,理学博士,教授,主要从事中药资源学与中药品评价研究。

Tel: (021) 51322202 E-mail: zhilzhao@sohu.com

* 2006 届硕士生