

陕西安康葛根药材的HPLC指纹图谱研究

宋丽明^{1,2}, 王文燕^{1*}, 张智超^{2*}

(1. 天津药物研究院 分析测试中心, 天津 300193; 2. 南开大学 元素有机化学国家重点实验室, 天津 300171)

摘要: 目的 采用高效液相色谱法建立陕西安康产葛根药材的HPLC指纹图谱。方法 选用Inertisil C₁₈色谱柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 甲醇-乙腈-0.25% 醋酸水溶液梯度洗脱, 体积流量1.0 mL/min, 检测波长为250 nm。结果 10批药材中各共有峰相对保留时间和峰面积的RSD均小于10%, 相似度均符合规定。结论 此方法可用于控制葛根药材和注射用冻干剂的质量。

关键词: 葛根药材; HPLC 指纹图谱; 质量控制

中图分类号: R282.7 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2008)03-0435-03

HPLC fingerprint of *Radix Puerariae* from Ankang, Shaanxi ProvinceSONG Li-ming^{1,2}, WANG Wen-yan¹, ZHANG Zhi-chao²

(1. Analyzing and Testing Centre, Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300193, China; 2. State Key Laboratory of Elemento-organic Chemistry, Nankai University, Tianjin 300171, China)

Abstract: **Objective** To establish HPLC fingerprint of *Radix Puerariae* from Ankang, Shaanxi Province. **Methods** Inertisil C₁₈ column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) was used, with methanol-acetonitrile-0.25% acetic acid solution as mobile phase in a gradient elution. Flow rate was 1.0 mL/min. The wavelength was 250 nm. **Results** For the relative retention time and relative area of common peaks, the RSD of ten batches of crude drug samples were below 10%. The similarities accorded with the regulation. **Conclusion** The analytical method can be used for the quality control of *Radix Puerariae* and of its sterilized powder for injection.

Key words: *Radix Puerariae*; HPLC fingerprint; quality control

葛根为常用中药,《神农本草经》中列为中品,为豆科植物野葛 *Pueraria lobata* (Willd.) Ohwi 或粉葛(甘葛藤) *P. thomsonii* Benth. 的干燥根。葛根具有解肌退热,生津,透疹,升阳止泻之功效。用于外感发热头痛,项强,口渴,消渴,麻疹不透,热痢,泄泻;高血压颈项强痛等^[1]。葛根素注射剂具有扩张外周血管,降低血黏稠度,抑制血小板聚集,阻断β受体,促进冠状动脉侧支循环的形成和开放,因而对缺血性心肌或脑组织有保护和修复作用。目前广泛用于缺血性心脑血管病、突发性耳聋等疾病的治疗。

陕西安康为葛根药材的主要产区。本实验选用陕西省安康产的野葛,建立原药材的高效液相指纹图谱,对葛根原药材及制剂进行质量控制。并使用国家药典委员会指定的《中药色谱指纹图谱相似度评价系统》软件,将10批药材的谱峰自动匹配,进行谱峰差异性评价和整体相似度评价,使色谱图对比结

果更直观,相似度计算结果更准确。

1 仪器与试剂

HP1100 高效液相色谱仪, Chemstations 色谱工作站。甲醇、乙腈为色谱纯(天津康科德科技有限公司),其他试剂为分析纯。葛根素对照品购于中国药品生物制品检定所(批号110752-200511)。用于指纹图谱研究的10批野葛药材采自陕西安康市葛根药材种植基地。

2 方法与结果

2.1 色谱条件: 色谱柱 Inertisil C₁₈(250 mm × 4.6 mm, 5 μm)(迪马公司); 流动相为 A(甲醇-乙腈40:60)-B(0.25% 醋酸水溶液), 梯度洗脱; 体积流量为 1.0 mL/min; 检测波长为 250 nm; 进样量为 20 μL。梯度洗脱程序为: 0~18 min 为 19% A, 至 40 min 换为 45% A, 至 50 min 换为 80% A, 至 60 min 换为 100% A。

* 收稿日期: 2007-06-10

基金项目: 国家科技支撑计划项目(2006BAI06A01-02)

作者简介: 宋丽明(1977—), 女, 大学本科, 天津人, 助理研究员, 主要从事药品研究与开发。

Tel: (022) 23006881 E-mail: sonny.song@hotmail.com

* 通讯作者 王文燕 Tel: (020) 23006878

张智超 Tel: (022) 23504741 E-mail: zczhang@nankai.edu.cn

2.2 对照品溶液的制备:精密称取葛根素对照品适量,用流动相溶解制成8 μg/mL的对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备:取葛根药材粗粉5 g,置圆底烧瓶中,精密加入80%乙醇100 mL,加热回流提取30 min,共提取3次。趁热滤过,合并滤液,定容至500 mL量瓶中,作为药材提取液。取该溶液1 mL用流动相稀释至25 mL。

2.4 测定方法:取供试品溶液、对照品溶液各20 μL,注入高效液相色谱仪,记录色谱图。

2.5 方法学考察

2.5.1 精密度试验:取药材供试品溶液(1号药材)连续进样6次,测得共有峰11个,其中>3%的共有峰7个,各共有峰相对保留时间和相对峰面积的RSD<2%,表明精密度良好。

2.5.2 重现性试验:取1号药材6份,按2.3项下方法制备药材溶液,分别进样,测得各共有峰相对保留时间和相对峰面积的RSD<5%,表明重现性良好。

2.5.3 稳定性试验:取药材供试品溶液(1号药材),分别在0、2、4、8、12、24 h进样,测得各共有峰相对保留时间和相对峰面积的RSD<5%,表明溶液在24 h内稳定。

2.6 指纹图谱分析及评价

2.6.1 共有指纹峰的指定:在葛根药材的HPLC

色谱中共分离出约20个色谱峰,根据10批药材供试品溶液HPLC谱的比较,选取其中>3%的7个共有峰作为指纹图谱的特征峰。见图1。

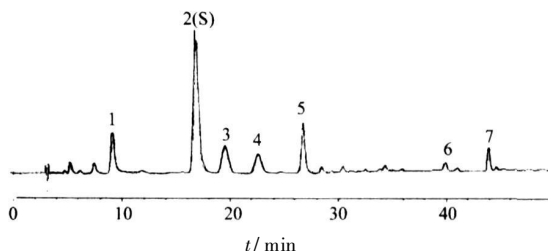


图1 葛根药材HPLC指纹图谱(2-葛根素峰)
Fig. 1 HPLC Fingerprint of *Radix Puerariae* (2-gegenin)

2.6.2 共有峰的相对保留时间、相对峰面积比:葛根素为葛根中主要成分,以其作为参照峰,计算>3%的7个共有峰相对保留时间和相对峰面积(表1)。由计算结果看出10批药材中各共有峰相对保留时间和相对峰面积RSD均小于10%,符合指纹图谱的有关规定。

2.6.3 相似度评价:将测试数据导入国家药典委员会指定的《中药色谱指纹图谱相似度评价系统》软件,经选参照峰,设定匹配参数,将10批药材的谱峰自动匹配,进行谱峰差异性评价和整体相似度评价(图2,表2)。

表1 10批药材相对保留时间和相对峰面积计算结果

Table 1 Relative retentions times and relative areas of ten batches of *Radix Puerariae*

批号	相对保留时间							相对峰面积						
	1	s	3	4	5	6	7	1	s	3	4	5	6	7
1	0.541	1	1.153	1.334	1.563	2.329	2.554	0.200	1	0.228	0.158	0.195	0.094	0.083
2	0.543	1	1.153	1.337	1.578	2.357	2.590	0.202	1	0.230	0.161	0.196	0.077	0.077
3	0.538	1	1.154	1.335	1.556	2.312	2.533	0.168	1	0.196	0.146	0.175	0.076	0.076
4	0.538	1	1.153	1.334	1.558	2.316	2.537	0.194	1	0.238	0.152	0.191	0.077	0.080
5	0.537	1	1.154	1.334	1.556	2.312	2.532	0.201	1	0.247	0.158	0.202	0.090	0.078
6	0.537	1	1.153	1.333	1.551	2.302	2.521	0.170	1	0.209	0.148	0.193	0.079	0.073
7	0.537	1	1.152	1.333	1.554	2.308	2.528	0.201	1	0.226	0.153	0.196	0.084	0.090
8	0.546	1	1.173	1.357	1.582	2.351	2.574	0.190	1	0.214	0.155	0.191	0.080	0.070
9	0.538	1	1.152	1.334	1.559	2.319	2.540	0.166	1	0.187	0.137	0.185	0.072	0.070
10	0.538	1	1.153	1.334	1.557	2.320	2.540	0.185	1	0.215	0.153	0.186	0.086	0.084
RSD/%	0.57		0.55	0.55	0.66	0.78	0.85	7.8		8.46	4.60	4.26	8.39	8.27

表2 样品相似度

Table 2 Similarity of samples

批次	相似度	批次	相似度
1	0.991	6	0.999
2	0.991	7	1.000
3	1.000	8	0.997
4	1.000	9	0.999
5	0.999	10	0.999

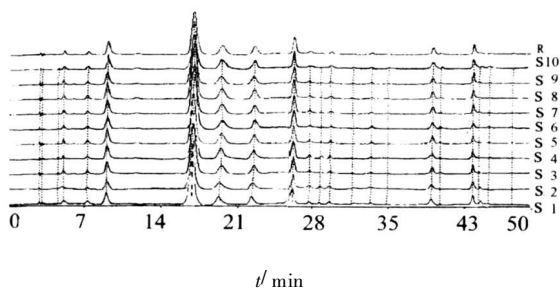


图2 10批药材HPLC指纹图谱比较
Fig. 2 HPLC Fingerprint of ten batches of *Radix Puerariae*

3 讨论

色谱指纹图谱将常规的以单一指标成分或活性成分为质量控制指标提升到通过指纹图谱得到的量

化参数,以判断产品质量是否稳定和一致。在中药新药研制工作中,指纹图谱可以在很大程度上将新药研制所用的药材、工艺、贮存过程中化学成分的变化情况通过指纹图谱表达,更有效地进行新药研究的全程跟踪,使研制的新药质量更趋于稳定和一致,从而减少不良反应的发生。

文献中报道的液相色谱条件多采用甲醇-水、乙腈-水梯度洗脱^[2-4],本试验采用甲醇-乙腈-0.25%醋酸水溶液梯度洗脱系统,使葛根药材主要黄酮类成分能在50 min内得到较好的分离和较完整的指纹图谱。从方法学考察结果看,本色谱条件精密度和重现性好,可用来评价葛根药材和制剂的质量。

陕西安康为葛根药材的主要产区。本实验所用药材来自陕西安康葛根种植基地,从指纹图谱结果

分析,10批样品具有较好的相似性,平均共有峰总面积在95%以上。因此建立野生药材种植生产基地能很好地保证药材质量稳定。通过对原药材指纹图谱的研究与监控,可避免只以有效成分的量定性、定量评价的片面性。对提高中药质量,降低不良反应发生率具有较大的意义。该方法也为国际公认的控制天然药物质量的最有效手段。

参考文献:

- [1] 郑虎占,董泽宏,余靖. 中药现代研究与应用[M]. 第五卷. 北京:学苑出版社,1998,4302-4329.
- [2] 何春年,李敏,曹志高,等. 葛根药材HPLC指纹图谱研究[J]. 中国中药杂志,2003,28(12):1141-1145.
- [3] 陈士林,陈四保,杨大坚,等. 葛根高效液相指纹图谱研究[J]. 中草药,2003,34(7):661-663.
- [4] 陈斌,刘训红,蔡宝昌. 葛根高效液相色谱指纹图谱的研究[J]. 时珍国医国药,2005,16(5):384-385.

应用近红外光谱技术鉴别红参药材

王钢力,聂黎行,张继,梁锡猛*,徐纪民,林瑞超

(中国药品生物制品检定所,北京 100050)

摘要:目的 应用近红外光谱(NIRS)技术鉴别红参及其伪品。方法 收集300份中国红参及多种红参伪品的近红外漫反射光谱,采用判别分析法对其进行定性鉴别。结果 近红外光谱法可正确鉴别红参与其伪品。结论 该方法快速、准确,可用于红参类药材的鉴别。

关键词: 近红外光谱(NIRS);红参药材;判别分析

中图分类号:R282.7

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2008)03-0438-03

Identification of *Radix Ginseng Rubra* by near infrared spectroscopy

WANG Gang-li, NIE Li-xing, ZHANG Ji, LIANG Xi-meng, XU Ji-min, LIN Rui-chao

(National Institute for Control of Pharmaceutical and Biological Products, Beijing 100050, China)

Abstract: **Objective** To indentify *Radix Ginseng Rubra* from its counterfeit by near infrared spectroscopy (NIRS). **Methods** Diffuse reflectance spectra of *Radix Ginseng Rubra* from China and the counterfeit were collected and then identified by discriminant analysis. **Results** *Radix Ginseng Rubra* was distinguished from its counterfeit by NIRS. **Conclusion** NIRS Method is rapid, accurate, and can be used for the identification and quality control of *Radix Ginseng Rubra*.

Key words: near infrared spectrum (NIRS); *Radix Ginseng Rubra*; discriminant analysis

人参系五加科植物人参 *Panax ginseng* C. A. Mey. 的根和根茎,为传统名贵药材^[1]。红参是由人参经蒸制加工而成。由于价格和销量的原因,市场上常见其伪品,主要有枰兰、华山参、山萸苣、桔梗、野豇豆、商陆等。目前红参及其伪品的鉴别主要采用经验鉴别和理化鉴别的方法^[2]。近红外光谱技

术是一种最近发展起来的新型分析技术。该法操作方便,样品不必经过提取、稀释等预处理过程,可直接进行分析;且漫反射技术可直接测定固体样品,无须破坏样品或进行样品溶液的制备,操作简便、快速,是一种理想的质量控制和质量保证的方法^[3]。此法已运用在高丽参药材鉴别研究中^[4]。本实验采集

* 收稿日期:2007-06-13

* 桂林医学院2007级本科毕业实习生。Tel:13901380612