

基于指标成分和HPLC指纹图谱检测的决明子化学品质评价研究

王晶彬^{1,2}, 周旭¹, 胡志方², 任永申¹, 肖小河^{1*}

(1. 中国人民解放军第302医院 全军中药研究所, 北京 100039; 2. 江西中医学院, 江西 南昌 330004)

摘要:目的 客观评价决明子内在质量差异。方法 采用HPLC方法测定大黄酚的量;采用梯度洗脱法建立HPLC指纹图谱;指纹图谱色谱条件: C₁₈柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为乙腈和1%醋酸, 检测波长为254 nm, 柱温为室温, 体积流量为1 mL/min;利用中药色谱指纹图谱相似度评价软件对不同产地决明子指纹图谱进行相似度分析;以大黄酚的量和指纹图谱相似度为指标, 运用SAS软件进行聚类分析。结果 建立的指纹图谱精密度、重现性、稳定性好, 不同产地决明子的大黄酚的量及化学指纹图谱不尽相同, 化学成分差异与产地相关, 大黄酚质量分数为0.037%~0.170%, 指纹图谱相似度范围为0.864~0.962。结论 综合指标成分定量测定及化学指纹图谱分析方法, 能较全面地表征不同产地决明子的内在成分差异, 可为决明子内在质量控制提供参考。

关键词: 决明子; 大黄酚; 定量测定; 指纹图谱**中图分类号:** R282.7**文献标识码:** A**文章编号:** 0253-2670(2008)06-0917-03Quality evaluation of *Semen Cassiae* by both indicated component determination and HPLC fingerprintWANG Jing-bin^{1,2}, ZHOU Xu¹, HU Zhi-fang², REN Yong-shen¹, XIAO Xiao-he¹

(1. PLA Institute of Chinese Materia Medica, 302 Hospital of PLA, Beijing 100039, China; 2. Jiangxi College of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China)

Abstract: Objective To evaluate the quality of *Semen Cassiae* from different habitats objectively.

Methods To determine the content of chrysophanic according to *ChP* and establish HPLC fingerprints with the gradient elution solvent composed of acetonitrile and 1% HAC. A C₁₈ column (250 mm×4.6 mm, 5 μm) was used, flow rate: 1 mL/min, detecting wavelength: 254 nm, and the column temperature: room temperature. The clustering analysis was carried out by SAS software according to the content of chrysophanic and similarity of HPLC fingerprints obtained by the software of similarity analysis. **Results** The established HPLC fingerprint has desirable precision, reproducibility, and stability. The content of chrysophanic and HPLC fingerprints of *Semen Cassiae* from various habitats are different, which differs from the habitats. The content range of chrysophanic in *Semen Cassiae* is 0.037%—0.170% and the similarity is 0.864—0.962. **Conclusion** The method indicates the difference of the chemical component in *Semen Cassiae* from various habitats and can be used as a quality control method for *Semen Cassiae*.

Key words: *Semen Cassiae*; chrysophanic; quantitative determination; HPLC fingerprints

决明子为豆科植物决明 *Cassia obtusifolia* L. 或小决明 *C. tora* L. 的干燥成熟种子, 甘、苦、咸、微寒, 归肝、肾、大肠经, 具有清肝明目、润肠通便的功效^[1]。现代药理研究发现决明子具有降血压^[2]、降血脂^[3]等作用, 其主要有效成分是蒽醌类成分。《中国药典》2005年版以大黄酚作为决明子化学质量控制的指标, 不能全面反映不同产地决明子化学质量的差异, HPLC指纹图谱是一种表征中药整体成分特

征的分析方法, 而对决明子指纹图谱研究报道较少见。笔者建立了决明子HPLC指纹图谱分析方法, 并综合指标成分定量测定方法用于评价决明子内在质量差异性, 为不同产地决明子的鉴别提供技术支持。

1 仪器与试剂

Agilent 1100 高效液相色谱仪(美国), DAD 检测器, 电子天平(梅特勒-托利多仪器有限公司)。大黄酚对照品购于中国药品生物制品检定所(批号:

收稿日期: 2007-09-14

基金项目: 全军医药卫生科研课题(2006232003)

作者简介: 王晶彬(1982—), 男, 福建省泉州市人, 江西中医学院2005级硕士研究生, 主要从事中药制剂与质量分析研究。

* 通讯作者 肖小河 Tel: (010)66933322 E-mail: pharmacy302@126.com

110796-200513),乙腈、甲醇为色谱纯,无水乙醇、醋酸乙酯为分析纯,水为娃哈哈纯净水。

2 方法与结果

2.1 材料:决明子样品共10批,分别购自北京市各药材公司,并由解放军302医院全军中药研究所肖小河研究员鉴定为豆科植物决明 *C. obtusifolia* L. 的干燥成熟种子。其来源见表1。

表1 决明子样品来源

Table 1 Sources of *Semen Cassiae* samples

编号	产地	销售公司	生产日期
S-1	河北	同仁堂	07-01-02
S-2	河北	益人堂	07-01-10
S-3	河北	利君堂大药房	07-02-01
S-4	河北	嘉事堂	07-01-08
S-5	安徽	绿野药业	06-12-19
S-6	安徽	全新大药房	06-12-15
S-7	安徽	厚生堂药店	07-02-23
S-8	安徽	德威治大药房	07-01-12
S-9	广西	天安堂	07-01-11
S-10	广西	金象大药房	07-03-23

2.2^{*} 对照品溶液制备:精密称取大黄酚对照品适量,加无水乙醇-醋酸乙酯(2:1)制成19 μg/mL的溶液。

2.3 供试品溶液制备:取干燥药材粉末(过三号筛)约0.5 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入甲醇50 mL,称定质量,加热回流30 min,放冷,再称定质量,用甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过。取续滤液25 mL,蒸干,加10%盐酸溶液30 mL,置水浴中加热水解1 h,立即冷却,用三氯甲烷振荡提取4次,每次30 mL,合并三氯甲烷,回收溶剂至干,残渣用无水乙醇-醋酸乙酯(2:1)溶解,转移至10 mL量瓶中,并稀释至刻度,摇匀,0.45 μm滤膜滤过,取续滤液测定。

2.4 大黄酚的测定

2.4.1 色谱条件^[1]:Kromasil C₁₈(250 mm×4.6 mm,5 μm);流动相为甲醇-0.1%磷酸溶液(85:15);检测波长为254 nm;体积流量:1 mL/min;温度为室温。理论板数按大黄酚峰计算应不低于3 000。

2.4.2 线性关系考察:精密吸取对照品溶液2、4、8、10、15、20 μL,注入液相色谱仪,按上述色谱条件进行分析,记录色谱图。以峰面积为纵坐标,大黄酚的质量为横坐标,进行线性回归。结果大黄酚在0.038~0.38 μg线性关系良好,回归方程: $Y = 4\,969.4 X - 9.013\,2$, $R^2 = 0.999\,6$ 。

2.4.3 测定方法:精密吸取对照品溶液与供试品溶液各10 μL,注入液相色谱仪,按上述的色谱条件进行分析,记录色谱图,根据大黄酚的峰面积,利用外标一点法计算样品中大黄酚的量,S-5的HPLC图谱作为示范图谱,见图1。

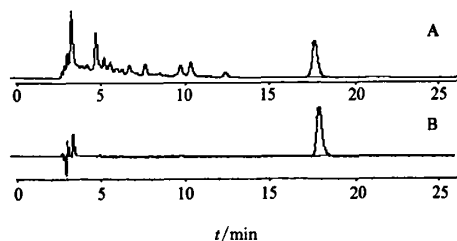


图1 决明子样品(A)和大黄酚对照品(B)色谱图

Fig. 1 HPLC Chromatogram of *Semen Cassiae* (A) and chrysophanol reference substance (B)

2.4.4 测定结果:按供试品制备的方法制备10批药材的样品液,每一批平行制备3份,依定量测定的色谱条件进行分析,测定大黄酚的量,结果见表2。不同产地的决明子中大黄酚的量存在较大差异。

表2 决明子药材中大黄酚的测定结果($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 2 Content of chrysophanol in ten batches of *Semen Cassiae* ($\bar{x} \pm s, n=3$)

批次	大黄酚/%	批次	大黄酚/%
S-1	0.128±0.001 69	S-6	0.088±0.001 21
S-2	0.125±0.002 24	S-7	0.077±0.001 44
S-3	0.170±0.003 95	S-8	0.142±0.003 21
S-4	0.130±0.001 76	S-9	0.039±0.001 11
S-5	0.082±0.001 55	S-10	0.037±0.001 01

2.5 决明子指纹图谱

2.5.1 色谱条件:Kromasil C₁₈(250 mm×4.6 mm,5 μm);流动相为A(乙腈)-B(1%醋酸),梯度洗脱,分析时间75 min;0~15 min B从79%~69%,15~20 min B从69%变化到61%,20~32 min B从61%变化到71%,32~40 min B从71%变化到70%,40~45 min B从70%变化到60%,45~65 min B从60%变化到40%,65~70 min B从40%变化到50%;柱温为室温;体积流量:1 mL/min;检测波长为254 nm。

2.5.2 指纹图谱的建立:精密吸取对照品溶液与供试品溶液各10 μL,注入液相色谱仪,按指纹图谱的色谱条件进行指纹图谱分析,记录色谱图,结果显示,不同产地决明子含有的组分基本一致,10批样品共有13个共有峰,大黄酚的峰位以S表示,以S-5的HPLC指纹图谱作为示范图谱,见图2。

2.5.3 精密度试验:取任一供试品溶液,按指纹图谱的色谱条件,等量重复进样6次,以大黄酚的保留时间和峰面积为参照,根据样品共有峰的相对保留时间和相对峰面积,计算RSD。结果显示,各共有峰的相对保留时间和相对峰面积的RSD均小于3%,因此决明子药材指纹图谱精密度试验符合要求^[4]。

2.5.4 稳定性试验:取任一供试品溶液,分别于配

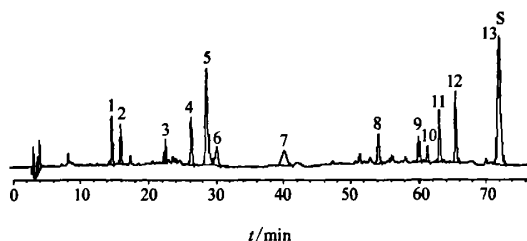


图2 决明子HPLC指纹图谱

Fig. 2 HPLC Fingerprint of Semen Cassiae

制后0、4、8、12、16、24 h 进样测定,以大黄酚的保留时间和峰面积为参照,根据不同时间指纹图谱的共有峰的相对峰面积和相对保留时间,计算RSD。结果显示,各共有峰的相对保留时间和相对峰面积的RSD均小于3%,因此决明子药材指纹图谱稳定性试验符合要求。

2.5.5 重现性试验:同一批决明子药材分别称取6份,制备供试品溶液,分别进样,以大黄酚的保留时间和峰面积为参照,根据各共有峰的相对保留时间和相对峰面积结果,计算RSD。结果显示,各共有峰的相对保留时间和相对峰面积的RSD均小于3%,因此决明子药材指纹图谱重现性试验符合要求。

2.5.6 相似度测定:采用中药色谱指纹图谱相似度评价系统对10批药材进行相似度分析,结果见表3。

表3 10批决明子药材指纹图谱与参照图谱的相似度

Table 3 Similarity of fingerprints in ten batches of Semen Cassiae

批次	相似度	批次	相似度
S-1	0.956	S-6	0.874
S-2	0.962	S-7	0.864
S-3	0.914	S-8	0.922
S-4	0.958	S-9	0.915
S-5	0.875	S-10	0.917

不同产地、批次的决明子的相似度大小存在差异,说明不同产地的决明子化学质量存在差异。

2.6 聚类分析:以10批决明子样品的相似度和大黄酚的量为聚类指标,采用SAS软件对10批样品进行聚类,结果共聚为3类,S-1、S-2、S-4、S-3、S-8归为一类(I类),S-5、S-6、S-7归为一类(II类),S-9、S-10归为一类(III类),III类大黄酚的量低于《中国药典》要求,I、II类大黄酚的量符合《中国药典》要求。结果基本将不同产地决明子分开,不同产地的决明子中大黄酚的量存在差异,其中广西产决明子中大黄酚的量偏低;不同产地决明子整体化学成分特征存在差异,同一产区决明子化学质量比较稳定,表明化学指纹图谱能将不同产区的决明子相区分,有助于评价不同产地决明子化学质量差异,为地道药

材化学质量控制提供借鉴;安徽产(I)与广西产(II)决明子相似系数较接近,而I、II与III的相似系数相差较大,这与决明子南北地域性差异相符;I、II类的量符合《中国药典》要求,整体成分存在较大差异,综合大黄酚的量及化学指纹图谱的分析方法可更灵敏地表征决明子的整体成分差异,为决明子的质量控制提供参考及商品规格划分依据的定量化提供借鉴。结果见图3。

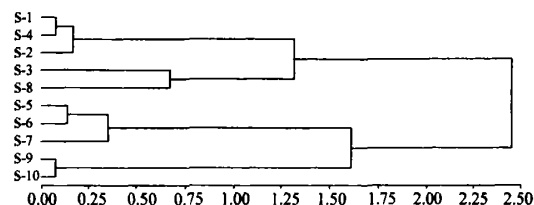


图3 用大黄酚的量和相似度系数进行聚类分析的树状图

Fig. 3 Dendrogram of cluster analysis according to both contents of chrysophanol and similarity of fingerprints

3 讨论

3.1 建立不同产地决明子HPLC指纹图谱及大黄酚的量分析表明,不同产地的决明子不仅在大黄酚的量上存在差异,在其他成分量亦存在较大差异,进一步表明决明子的化学质量的产地特异性,为保证药材质量的一致性从而维持临床疗效的稳定,应固定药材的产地及采收时间。综合指标成分定量测定及化学指纹图谱分析方法,实现定量控制与模糊表征的统一,不同以化学药质控模式为核心的中药质量评价与控制模式的现状,可作为决明子的质量评价与控制的新方法,既能评价药材质量,又能有效地辨别不同产区药材,对于决明子药材的质量控制及其制剂的稳定、安全具有重要意义。

3.2 色谱条件优化时考察了不同的流动相系统:甲醇-水、乙腈-水、乙腈-1%醋酸,结果乙腈-1%醋酸系统显示的图谱峰形好、基线平稳、分离度好,因此选定该系统为决明子药材指纹图谱检测的流动相。

3.3 本试验采用二极管阵列检测器进行全波长扫描,结果表明,在254 nm峰数及响应值均较理想,因此选择254 nm为检测波长。

参考文献:

- [1] 中国药典[S].一部.2005.
- [2] 沈奇桂.决明子对实验性高胆固醇血症和动脉粥样硬化的抑制作用及其机理探讨[J].浙江医科大学学报,1993,22(6):246-249.
- [3] 陈卫星,刁国俊,蒋文娟,等.决明子对高胆固醇血症小鼠模型的影响[J].中草药,1991,22(2):72.
- [4] 中药注射剂色谱指纹图谱实验研究操作规程指南(试行)[S].2001.

基于指标成分和HPLC指纹图谱检测的决明子化学品质评价研究

作者：[王晶彬](#)，[周旭](#)，[胡志方](#)，[任永申](#)，[肖小河](#)，[WANG Jing-bin](#)，[ZHOU Xu](#)，[HU Zhi-fang](#)，[REN Yong-shen](#)，[XIAO Xiao-he](#)

作者单位：[王晶彬, WANG Jing-bin\(中国人民解放军第302医院, 全军中药研究所, 北京, 100039; 江西中医学院, 江西, 南昌, 330004\)](#)，[周旭, 任永申, 肖小河, ZHOU Xu, REN Yong-shen, XIAO Xiao-he\(中国人民解放军第302医院, 全军中药研究所, 北京, 100039\)](#)，[胡志方, HU Zhi-fang\(江西中医学院, 江西, 南昌, 330004\)](#)

刊名：[中草药](#) **ISTIC** **PKU**

英文刊名：[CHINESE TRADITIONAL AND HERBAL DRUGS](#)

年，卷(期)：2008, 39(6)

被引用次数：1次

参考文献(4条)

1. [中华人民共和国药典\(一部\)](#) 2005
2. [沈奇桂](#) [决明子对实验性高胆固醇血症和动脉粥样硬化的抑制作用及其机理探讨](#) 1993(06)
3. [陈卫星](#). [刁国俊](#). [蒋文娟](#) [决明子对高胆固醇血症小鼠模型的影响](#) 1991(02)
4. [中药注射剂色谱指纹图谱实验研究操作规程指南\(试行\)](#) 2001

本文读者也读过(9条)

1. [唐力英](#). [王祝举](#). [郭秋萍](#). [赫炎](#). [黄璐琦](#). [TANG Li-ying](#). [WANG Zhu-ju](#). [WU Qiu-ping](#). [HE Yan](#). [HUANG Lu-qi](#) [HPLC测定决明子中红镰霉素龙胆二糖苷的含量](#)[期刊论文]-[中国中药杂志](#)2008, 33(4)
2. [沈永兰](#). [韦田福](#). [施贵宁](#). [韦莲](#). [毛洪鑫](#). [韦文贞](#) [自制决明子袋在疝修补术后加压伤口中的应用](#)[期刊论文]-[护士进修杂志](#)2008, 23(10)
3. [张玲](#). [蔡洪信](#). [夏作理](#) [决明子芽富硒培育研究](#)[期刊论文]-[中药材](#)2008, 31(5)
4. [鄢海燕](#). [邹纯才](#). [方洪壮](#). [赵梅](#). [YAN Hai-yan](#). [ZOU Chun-cai](#). [FANG Hong-zhuang](#). [ZHAO Mei](#) [决明子袋泡剂及其特征图谱考察](#)[期刊论文]-[中国医院药学杂志](#)2008, 28(1)
5. [田立元](#). [TIAN Li-yuan](#) [决明子的不同提取物及炮制品对四氯化碳致小鼠急性肝损伤的保护作用](#)[期刊论文]-[时珍国医国药](#)2008, 19(8)
6. [唐力英](#). [王祝举](#). [赫炎](#). [付梅红](#). [方婧](#). [吴宏伟](#). [黄璐琦](#) [决明子中苷类化学成分研究](#)[期刊论文]-[中国实验方剂学杂志](#)2009, 15(7)
7. [郑捷捷](#). [陈兴国](#). [贾伟](#). [邱明丰](#). [徐朝晖](#) [高效毛细管电泳法测定决明子及决明子茶中大黄素和芦荟大黄素的含量](#)[期刊论文]-[中草药](#)2004, 35(8)
8. [蒋亚莉](#). [舒志明](#). [王建](#) [不同炮制方法对决明子中蒽醌含量的影响](#)[期刊论文]-[军事医学科学院院刊](#)2010, 34(4)
9. [阎君宝](#). [金龙](#). [汪江碧](#). [丁永辉](#). [郑天珍](#). [瞿颂仪](#). [李伟](#) [决明子抑制营养性肥胖大鼠体重增加的作用](#)[期刊论文]-[中药材](#)2004, 27(4)

引证文献(1条)

1. [李亚杰](#). [覃大吉](#). [杨永康](#). [龙澜](#). [向极钎](#) [道地药材的品质评价现状](#)[期刊论文]-[湖北民族学院学报\(自然科学版\)](#) 2010(4)

本文链接：http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_zcy200806039.aspx