

龙胆药材的HPLC指纹图谱研究

江蔚新, 钦浩, 何文顺

(哈尔滨商业大学药学院, 黑龙江 哈尔滨 150076)

摘要:目的 建立不同产地龙胆药材的HPLC指纹图谱,为整体控制和评价龙胆药材的质量提供依据。方法 采用HPLC测定10个不同产地的龙胆药材,制定指纹图谱。色谱条件:ODS柱,甲醇-水为流动相梯度洗脱,检测波长254 nm,体积流量1.0 mL/min,柱温25℃。结果 建立了龙胆药材HPLC指纹图谱的共有模式,并对不同产地的药材进行了相似度评价。结论 HPLC指纹图谱稳定性、重现性好,简便可行,适用于龙胆药材的标准化种植及质量控制。

关键词:龙胆药材;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)10-1563-03

HPLC Fingerprint of *Radix Gentianae*

JIANG Wei-xin, QIN Hao, HE Wen-shun

(Department of Pharmacy, Harbin University of Commerce, Harbin 150076, China)

Abstract: **Objective** To establish the HPLC fingerprint of methanol-resoluble component in *Radix Gentianae* collected from different habitats and accordingly offer the evidence for quality control and quality evaluation of *Radix Gentianae*. **Methods** Ten batches of *Radix Gentianae* were measured by the RP-HPLC, and their fingerprints were obtained. Chromatographic condition: ODS-column, gradient elution with methanol-water, the detection wavelength was at 254 nm, flow rate was at 1.0 mL/min, and the column temperature was 25℃. **Results** The mutual mode of *Radix Gentianae* was set up and then the similarity was compared with software which was published by the Committee of Pharmacopeia of China. **Conclusion** According to the analysis of statistics, this method is steady, accurate with good repeatability, and can be used as standardization implantation and quality control of *Radix Gentianae*.

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

龙胆为龙胆科植物龙胆 *Gentiana scabra* Bunge 的干燥根及根茎,性味苦寒,归肝、胆经,具有清热燥湿、泻肝胆火的作用,临床上适用于湿热黄疸、口苦、惊风、抽搐等症^[1]。龙胆的有效成分主要为裂环烯萜萜类化合物,如龙胆苦苷、当药苷及獐牙菜苦苷等。众所周知,单一指标的定量测定很难反映中药的整体质量,而指纹图谱具有系统性、特征性和重现性的特点^[2],能较全面地反映中药的品质,现已成为控制中药质量的有效途径之一。本实验以龙胆苦苷、当药苷及獐牙菜苦苷为指标成分^[3],采用HPLC法构建不同产地龙胆药材的指纹特征谱,为整体控制龙胆的质量和龙胆的标准化种植提供依据。

1 仪器与试药

1.1 仪器: Waters 高效液相色谱仪(Waters 2996

二极管阵列检测器, Waters 600 泵, Waters 717 自动进样器, Empower I 色谱工作站, AS3120 超声清洗器, R-202 旋转蒸发仪, W-201 恒温水浴锅, BS-110S 分析天平。

1.2 试剂: 甲醇为色谱纯(天津科密欧化学试剂有限公司), 水为娃哈哈纯净水, 其他试剂均为分析纯。

1.3 试药: 不同产地龙胆药材来源见表1, 龙胆苦苷(批号 11070-200611)、当药苷(批号 111742-200501)、獐牙菜苦苷(批号 0785-200203)对照品均由中国药品生物制品检定所提供, 全部药材经本院金哲雄教授鉴定为龙胆科植物龙胆 *G. scabra* Bunge 的干燥根及根茎。

2 方法与结果

2.1 色谱条件: 色谱柱为 Agilent Eclipse XDB-C₁₈

收稿日期: 2008-02-28

基金项目: 黑龙江省自然科学基金资助项目(120341)

作者简介: 江蔚新(1957—), 男, 黑龙江人, 硕士, 主要从事天然药物化学研究。

表1 龙胆药材的来源

Table 1 Origins of *Radix Gentianae*

样品号	产地	采集日期	种植方式
1	齐齐哈尔泰来农场	2007-08-26	栽培
2	加格达奇林业局种子园一号地	2007-08-27	栽培
3	吉林省清远县	2007-08-15	栽培
4	加格达奇林业局种子园二号地	2007-08-27	栽培
5	加格达奇林业局谷底苗圃	2007-08-27	栽培
6	加格达奇跃进农场	2007-08-27	栽培
7	吉林省清远县	2007-09-15	栽培
8	牡丹江新安岭后村	2006-10-02	栽培
9	齐齐哈尔泰来县	2007-09-15	栽培
10	辽宁省新宾县火石村	2007-07-12	栽培

柱(150 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相A为水,流动相B为甲醇,线性梯度洗脱:0 min(15%B)→24 min(15%B)→34 min(44%B)→49 min(53%B)→60 min(79%B)→70 min(100%B)→98 min(100%B);检测波长254 nm;柱温25℃;体积流量1.0 mL/min;进样量5 μL。理论塔板数以龙胆苦苷峰计算不低于3 000,峰的分离度均符合要求,所有组分在73 min内检测完毕。

2.2 对照品溶液的制备:精密称取龙胆苦苷、当药苷和獐牙菜苦苷对照品各10 mg,分别置于10 mL量瓶中,用甲醇定容,制成质量浓度为1 mg/mL的对照品溶液,然后各吸引1 mL加入到10 mL量瓶中,用甲醇定容,制成质量浓度为0.1 mg/mL的混合对照品溶液,备用。

2.3 供试品溶液的制备:龙胆药材粉末过50目筛,精密称取过筛后的龙胆药材0.5 g,置于锥形瓶中,加入甲醇40 mL,密封、超声处理30 min,置冷、用甲醇补足减失的质量,滤过,取滤液,减压回流至干,用甲醇溶解,定容至10 mL量瓶中备用。

2.4 方法学考察

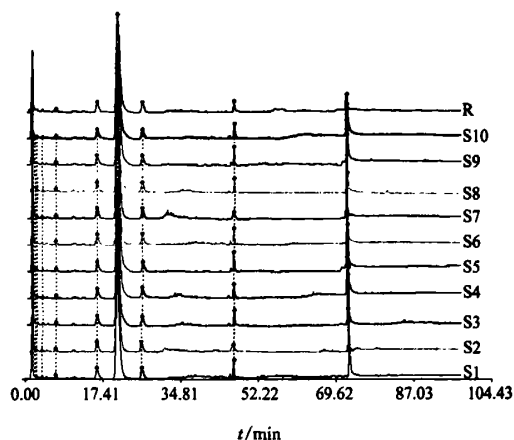
2.4.1 稳定性试验:取同一批次样品(样品号4)制备供试品溶液,在室温下放置,分别于0、2、4、6、8、10、12、24、36 h检测,记录色谱图,用“中药色谱指纹图谱相似度评价系统2004A版”计算,其主要色谱峰相对保留时间及其相对峰面积比值无明显变化,RSD分别为0.00%~0.2%和0.00%~1.87%,符合指纹图谱的要求,稳定性良好。

2.4.2 精密度试验:取同一批供试品(样品号4)溶液连续进样5次,记录色谱图,用“中药色谱指纹图谱相似度评价系统2004A版”计算,其主要色谱峰相对保留时间及其相对峰面积比值无明显变化,RSD分别0.00%~0.3%和0.00%~1.46%,符合指纹图谱的要求,精密度良好。

2.4.3 重现性试验:取同一批样品(样品号4),分别

制备5份供试品溶液,记录色谱图。用“中药色谱指纹图谱相似度评价系统2004A版”计算,其主要色谱峰相对保留时间及其相对峰面积比值无明显变化,RSD分别0.00%~0.02%和0.00%~1.22%,符合指纹图谱的要求,重现性良好。

2.5 样品的测定:在上述色谱条件下,依次测定10批供试品,记录HPLC色谱图,结果见图1。



S1~S10-样品图谱 R-对照图谱
S1~S10-fingerprints of samples
R-fingerprints of control

图1 10批龙胆药材的指纹图谱

Fig. 1 Fingerprints of ten batches of *Radix Gentianae*

2.6 共有峰的确定及龙胆指纹图谱共有模式的建立:考察10批龙胆的色谱峰,用“中药色谱指纹图谱相似度评价系统2004A版”以S1为参照图谱,经过多点校正,自动匹配,以中位数法,生成对照图谱R,由匹配数据的输出结果得到共有峰共11个,经过与对照品的紫外图谱及保留时间的比较,确认7号峰为獐牙菜苦苷,8号峰为龙胆苦苷,10号峰为当药苷,其中龙胆苦苷的峰面积比例超过40%,因此选作参照峰,建立龙胆HPLC指纹图谱共有模式见图2。

2.7 指纹图谱的相似度评价:使用国家药典委员会

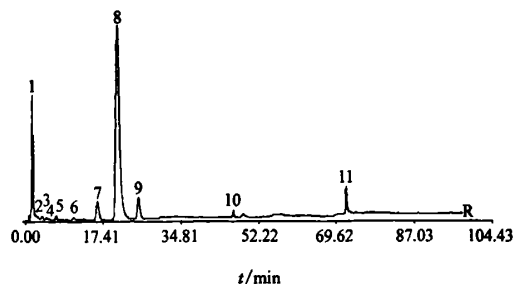


图2 龙胆HPLC指纹图谱共有模式

Fig. 2 Mutual mode of HPLC fingerprints of *Radix Gentianae*

“中药色谱指纹图谱相似度评价系统 2004A 版”进行相似度分析,将10批龙胆图谱的AIA格式的原始数据导入该软件系统,以S1为参照图谱,经过多点校正,自动匹配,以中位数法,生成对照图谱R,然后进行相似度分析,结果见表2。一般成品的指纹图谱相似度计算结果应在0.9~1.0,符合要求。由表2可知,10批样品相似度除第10批样品以外,其他9批均符合要求。由于来源、产地、气候、采收季节的不同,龙胆药材所含的有效成分的种类和量有一定的差别。

表2 与共有模式比较的龙胆样品的相似度

Table 2 Comparison of similarity in samples and mutual mode

样品号	相似度	样品号	相似度
1	0.995	6	0.997
2	0.996	7	0.959
3	0.914	8	0.972
4	0.968	9	0.986
5	0.953	10	0.852

3 讨论

3.1 制备方法的选择:本实验考察了不同提取溶剂(甲醇、乙醇、水)及不同提取方法(回流提取、索氏提取、超声提取)的提取效果,以龙胆苦苷的峰面积和峰的数目为指标,最后确定甲醇超声提取法较好。同时还考察了此方法的不同提取时间(20、30、40 min)的提取效果,30 min 提取较完全且不浪费时间,因此采用甲醇超声提取 30 min。

3.2 色谱条件的选择及优化:在流动相系统的选择中,分别对甲醇-水系统及乙腈-水系统进行考察。结果表明,甲醇-水系统分离效果较好,各峰的保留时间适中,分离度较好,且基线稳定,有利于指纹图谱的分析,因此采用甲醇-水系统。

3.3 检测波长及分析时间的选择:对样品进行全波长扫描,獐牙菜苦苷的最大吸收为 239 nm,龙胆苦苷的最大吸收为 273 nm,当药苷的最大吸收为 245 nm。采用这3个波长提取色谱,发现基线均不平稳,峰的数目较少,峰面积较小,且各峰分离度不好。而在 254 nm 下提取的色谱基线稳定,峰的数目较多,峰的分离度较好,因此选择 254 nm 为检测波长。本实验测定样品4,设定运行时间为2 h。由所得图谱可知,在 73 min 以后没有峰出现,考虑到样品之间因为采集时间和地点的不同,存在差异性,因此选择 104 min 作为分析时间。

3.4 本实验研究不同产地龙胆药材的指纹图谱,实验的精密度、稳定性、重现性较好,10批不同产地的龙胆药材的特征峰的特征性和专属性很强,11个共有峰稳定性较好,平均相似度为 0.959,符合国家有关部门的要求,也符合指纹图谱的要求。

参考文献:

- [1] 中国药典[S]. 一部. 2005.
- [2] 谢培山. 中药色谱指纹图谱[M]. 北京:人民卫生出版社, 2004.
- [3] 肖培根. 新编中药志[M]. 北京:化学工业出版社, 2004.

菌根真菌对人工栽培金线莲糖类和无机元素的影响

唐明娟,孟志霞,郭顺星*

(中国医学科学院北京协和医学院 药用植物研究所,北京 100093)

摘要:目的 在人工栽培条件下,研究金线莲促生菌根真菌AR-18对台湾金线莲和福建金线莲苗中糖类成分和无机元素量的影响。方法 台湾金线莲和福建金线莲无菌苗经盆栽接种AR-18,以不接菌为对照,分别移栽于草炭土或蛭石基质中。采用比色法和等离子光谱法分别对栽培1年后的两种金线莲苗的糖类成分和无机元素进行分析测定。结果 接菌栽培的金线莲苗中果糖、蔗糖、多糖和可溶性总糖的量均高于不接菌栽培的金线莲苗。在所检测的11种无机元素中,菌根真菌对两种金线莲中无机元素吸收的影响随金线莲种类和栽培基质不同而变化。结论 菌根真菌AR-18不但促进了金线莲的生长,而且提高了其中糖类成分的量,并影响其对无机元素的吸收。

关键词:台湾金线莲;福建金线莲;菌根真菌;糖类成分;无机元素

中图分类号:R282.2

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2008)10-1565-04

台湾金线莲 *Anoectochilus formosanus* Hay. 和福建金线莲 *A. roxburghii* (Wall.) Lindl. 同属兰科

(Orchidaceae)开唇兰属濒危药用植物。近年来,由于金线莲对高血压、糖尿病及肿瘤等疑难病症疗效独

收稿日期:2008-01-27

基金项目:国家自然科学基金资助项目(39970018);国家杰出青年科学基金资助项目(30325047)

作者简介:唐明娟(1972-),女,四川达县人,博士,从事植物分子生物学研究。

* 通讯作者 郭顺星 Tel:(010)62829619 E-mail:sxguo2006@yahoo.com.cn

龙胆药材的HPLC指纹图谱研究

作者: [江蔚新](#), [钦浩](#), [何文顺](#), [JIANG Wei-xin](#), [QIN Hao](#), [HE Wen-shun](#)
作者单位: [哈尔滨商业大学药学院, 黑龙江, 哈尔滨, 150076](#)
刊名: [中草药](#) [ISTIC](#) [PKU](#)
英文刊名: [CHINESE TRADITIONAL AND HERBAL DRUGS](#)
年, 卷(期): 2008, 39(10)
被引用次数: 3次

参考文献(3条)

1. [中国药典\(一部\)](#) 2005
2. [谢培山](#) [中药色谱指纹图谱](#) 2004
3. [肖墙根](#) [新编中药志](#) 2004

本文读者也读过(10条)

1. [阎正](#), [于趁](#), [张智慧](#), [蔡立鹏](#), [王春云](#), [苑若瑶](#), [王继坤](#), [YAN Zheng](#), [YU Chen](#), [ZHANG Zhi-hui](#), [CAI Li-peng](#), [WANG Chun-yun](#), [YUAN Ruo-yao](#), [WANG Ji-kun](#) [鹿茸的HPLC指纹图谱](#)[期刊论文]-[河北大学学报\(自然科学版\)](#) 2010, 30(2)
2. [张翠英](#), [常断玲](#), [周应群](#), [陈士林](#), [ZHANG Cui-ying](#), [CHANG Duan-ling](#), [ZHOU Ying-qun](#), [CHEN Shi-lin](#) [乌拉尔甘草水溶性成分的HPLC指纹图谱研究](#)[期刊论文]-[北京中医药大学学报](#) 2009, 32(12)
3. [许传梅](#), [张春红](#), [董琦](#), [胡风祖](#), [XU Chuan-mei](#), [ZHANG Chun-hong](#), [DONG Qi](#), [HU Feng-zu](#) [藏药提宗龙胆花的化学成分研究](#)[期刊论文]-[西北植物学报](#) 2008, 28(12)
4. [宋丽明](#), [王文燕](#), [张智超](#), [SONG Li-ming](#), [WANG Wen-yan](#), [ZHANG Zhi-chao](#) [陕西安康葛根药材的HPLC指纹图谱研究](#)[期刊论文]-[中草药](#) 2008, 39(3)
5. [汪金玉](#), [帅欧](#), [林励](#), [廖辛莉](#), [WANG Jinyu](#), [SHUAI Ou](#), [LIN Li](#), [LIAO Xinli](#) [橘叶HPLC指纹图谱研究](#)[期刊论文]-[中药新药与临床药理](#) 2011, 22(1)
6. [沈涛](#), [金航](#), [王元忠](#), [张金渝](#), [袁天军](#), [杨维泽](#), [赵振玲](#), [杨涛](#) [中药龙胆化学成分研究进展](#)[期刊论文]-[安徽农业科学](#) 2010, 38(30)
7. [邬云霞](#), [吴启南](#), [WU Yun-xia](#), [WU Qi-nan](#) [淡竹叶HPLC指纹图谱研究](#)[期刊论文]-[南京中医药大学学报](#) 2009, 25(3)
8. [刘涛](#), [才谦](#), [付玉芹](#), [杨松松](#) [中药龙胆的研究进展](#)[期刊论文]-[辽宁中医杂志](#) 2004, 31(1)
9. [刘妍](#), [游富英](#), [毕慧敏](#) [陕西祖师麻药材HPLC指纹图谱研究](#)[期刊论文]-[安徽农业科学](#) 2010, 38(7)
10. [尹秀莲](#), [游庆红](#), [杨欢欢](#) [野马追药材HPLC指纹图谱的研究](#)[期刊论文]-[安徽农业科学](#) 2010, 38(19)

引证文献(3条)

1. [曹悦](#), [左代英](#), [刘敬武](#), [孙启时](#) [GAP生产基地龙胆的质量控制及评价](#)[期刊论文]-[中草药](#) 2010(5)
2. [张嫚丽](#), [霍长虹](#), [刘丽](#), [李力更](#), [王于方](#), [史清文](#) [土木香药材HPLC指纹图谱研究及土木香内酯和异土木香内酯测定](#)[期刊论文]-[中草药](#) 2010(9)
3. [邵建强](#) [中药指纹图谱的研究进展](#)[期刊论文]-[中草药](#) 2009(6)

本文链接: http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_zcy200810038.aspx