

## 黔产辣蓼及其混淆品高效液相指纹图谱研究

冯 华<sup>1</sup>, 刘英波<sup>2\*</sup>, 刘 亮<sup>2</sup>, 潘年松<sup>2</sup>, 周德权<sup>3</sup>

1. 遵义市食品药品检验所, 贵州 遵义 563002
2. 遵义医药高等专科学校, 贵州 遵义 563000
3. 遵义绿普森农业有限公司, 贵州 遵义 563003

**摘要:** 目的 研究并建立黔产辣蓼 *Polygonum hydropiper* 药材指纹图谱。方法 采用 HPLC 法, Hypersil ODS2 C<sub>18</sub> 柱, 以乙腈-0.2%磷酸水溶液为流动相进行梯度洗脱, 检测波长为 260 nm, 柱温 25 °C, 对 22 批不同产地辣蓼药材及其混淆品进行检测。结果 建立辣蓼药材 HPLC 指纹图谱共有模式, 标定 12 个共有峰。并对 15 批不同产地辣蓼药材及其 7 批混淆品进行了相似度比较。15 批辣蓼药材相似度均大于 0.95, 7 批混淆品均小于 0.50。结论 辣蓼药材 HPLC 指纹图谱具有重复性好、特征性强、方法简便等特点, 可作为黔产辣蓼药材的识别方法。

**关键词:** 辣蓼; 荳草; 丛枝蓼; 高效液相色谱; 指纹图谱

中图分类号: R286.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2015)19-2943-03

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2015.19.021

## HPLC fingerprints of *Polygonum hydropiper* and its adulterants

FENG Hua<sup>1</sup>, LIU Ying-bo<sup>2</sup>, LIU Liang<sup>2</sup>, PAN Nian-song<sup>2</sup>, ZHOU De-quan<sup>3</sup>

1. Zunyi Institute for Food & Drug Control, Zunyi 563002, China
2. Zunyi Medical and Pharmaceutical College, Zunyi 563000, China
3. Zunyi Green and Sampson Agricultural Limited Company, Zunyi 563003, China

**Abstract: Objective** To study and establish the fingerprints of polygoniltherba the aerial pevtrts of *Polygonum hydropiper* by HPLC.

**Methods** The fingerprints of *P. hydropiper* from different origins were built using Hypersil ODS2 C<sub>18</sub> column and acetonitrile-0.2%phosphoric acid as mobile phase. The flow rate was 1.0 mL/min. The detecting wavelength was set at 260 nm. The temperature of column was at 25 °C. Total 22 *Polygonum Herba* samples and adulterants were detected. **Results** The mutual mode to HPLC fingerprints was set up, and the 12 common peaks were obtained. The similarities in 15 batches of *Polygonum Herba* samples were all above 0.95 and those of seven batches of adulterants were below 0.50. **Conclusion** The method is simple, stable, and reproducible, which can be used to identify *Polygonum Herba* and its adulterants.

**Key words:** *Polygonum hydropiper* L.; *Polygonum orientale* L.; *Polygonum caespitosum* L.; HPLC; fingerprints

黔产辣蓼 *Polygonum Herba* 为蓼科植物水蓼 *Polygonum hydropiper* L. 干燥的地上部分(又名蓼子草)<sup>[1-4]</sup>, 被 2003 年版《贵州省中药材、民族药材质量标准》记载为贵州民族药材<sup>[1]</sup>。其具有行滞化湿、散瘀止血、解毒等功效, 性辛、苦、温, 无毒。用于痢疾、食滞、小儿疳积、痛经等症的治疗。辣蓼品种相当复杂, 疗效相似。近年来, 人们以荳草、丛枝蓼冒充辣蓼药材, 荳草、丛枝蓼与辣蓼药材属同科植物, 外形相似极易混

淆。辣蓼药材中主要成分含金丝桃苷、芦丁、槲皮素、山柰酚等黄酮类有效成分<sup>[5]</sup>。本实验对辣蓼药材进行 HPLC 指纹图谱研究, 建立辣蓼 HPLC 指纹图谱的共有模式, 以此识别其混淆品, 以避免同科植物品种的伪充。

本实验对 15 批不同产地来源辣蓼药材和 7 批混淆品进行相似度评价比较, 建立 HPLC 指纹图谱共有模式, 可作为辣蓼药材及其混淆品新的识别方法。

收稿日期: 2015-02-15

基金项目: 贵州省科技合作专项资金项目(省市科合[2013]40号)

作者简介: 冯 华(1977—), 男, 贵州沿河人, 从事药品检验及新药研究。Tel: (0851)28928059 15085016387 E-mail: fenghua781014@163.com

\*通信作者 刘英波, 男, 副教授, 从事中药-民族药新剂型与新制剂研究。Tel: 13312308769 E-mail: gzliuyb@126.com

## 1 仪器与材料

Agilent LC-1260 高效液相色谱仪 (包括四元泵, 二极管矩阵检测器, 柱温箱, 自动进样器, Agilent 工作站), Hypersil ODS2 C<sub>18</sub> 柱 (200 mm×4.6 mm, 5 μm); AB204-S 型梅特勒电子天平 (梅特勒有限公司), 中药粉碎机 (上海海久中药机械制造有限公司)。对照品槲皮素 (批号 0081-9304) 购于中国食品药品检定研究院, 供测定使用, 乙腈为色谱纯, 水为娃哈哈纯净水, 其余试剂均为分析纯。

黔产辣蓼药材及其混淆品采集于 10 月下旬至 11 月上旬, 15 批不同产地辣蓼药材及其 7 批混淆品经遵义市食品药品检验所邓顺超副主任中药室鉴定, 鉴定结果和来源见表 1。将上述药材粉碎, 过三号筛, 备用。

表 1 辣蓼药材及其混淆品来源  
Table 1 Origins of *Polygonum Herba* and its adulterants

编号	样品来源	名称
1	遵义赤水市金沙沟	辣蓼 <i>Polygonum hydropiper</i>
2	遵义绥阳县城附近	辣蓼
3	遵义汇川高坪工业园区	辣蓼
4	遵义凤冈县天桥镇	辣蓼
5	遵义湄潭县两河口	辣蓼
6	遵义湄潭复兴镇	辣蓼
7	贵阳乌当区情人谷	辣蓼
8	贵州毕节威宁草海	辣蓼
9	贵州铜仁梵净山	辣蓼
10	贵州六盘水盘县丹霞	辣蓼
11	贵州黔西南贞丰山岔河	辣蓼
12	贵州黔东南西江苗寨	辣蓼
13	贵州安顺市黄果树	辣蓼
14	贵州黔南荔波小七孔	辣蓼
15	遵义牛蹄镇	辣蓼
16	遵义市红花岗区	荭草 <i>P. orientale</i>
17	遵义市周水桥附近	荭草
18	遵义市汇川区董公寺	荭草
19	遵义市绥阳县城	荭草
20	遵义市高桥镇	荭草
21	遵义湄潭县复兴镇	丛枝蓼 <i>P. caespitosum</i>
22	遵义市绥阳县城附近	丛枝蓼

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件<sup>[6-7]</sup>

Hypersil ODS2 C<sub>18</sub> (200 mm×4.6 mm, 5 μm) 柱; 流动相为乙腈 (A) -0.2% 磷酸水溶液 (B), 梯度洗脱, 线性洗脱程序为 0~15 min, 5%~15% A; 15~25 min, 15%~20% A; 25~40 min, 20%~30% A; 40~50 min, 30%~5% A。检测波长为 260 nm;

体积流量 1.0 mL/min, 柱温 25 °C, 进样量 10 μL。

### 2.2 对照品溶液的制备

精密称取槲皮素对照品适量, 加甲醇配制成质量浓度为 64.0 μg/mL 的对照品溶液。

### 2.3 供试品溶液的制备

精密称取辣蓼药材粉末约 1.0 g, 置于锥形瓶中, 精密加入甲醇-25% 盐酸溶液 (4:1) 20 mL, 密塞, 称定质量, 回流 1 h, 取出, 放置至室温, 再次称定质量, 用甲醇-25% 盐酸溶液 (4:1) 补足质量, 滤过, 取续滤液, 即得。

### 2.4 方法学考察

**2.4.1 空白试验** 精密吸取甲醇-25% 盐酸溶液 (4:1) 10 μL 作为空白溶液, 注入高效液相色谱仪, 按“2.1”项下色谱条件进行测定。结果表明, 空白溶液对测定结果无干扰。

**2.4.2 精密度试验** 取同一批辣蓼样品粉末, 精密称定, 按“2.3”项下方法制备供试品溶液, 重复进样 6 次, 记录指纹图谱。进行相似度评价比较, 相似度均高于 0.98, 说明仪器精密度良好。

**2.4.3 稳定性试验** 取同一供试品溶液 10 μL, 分别在 0、2、4、6、8、10、12、24 h 进样测定, 计算 24 h 内所得的指纹图谱相似度。结果表明在 24 h 内进样所得指纹图谱的相似度均高于 0.96, 结果表明稳定性良好。

**2.4.4 重复性试验** 取同一批辣蓼样品粉末 6 份, 精密称定, 按“2.3”项下方法制备供试品溶液, 分别进样, 记录指纹图谱。指纹图谱的相似度均高于 0.97, 表明该方法重复性好。

## 3 指纹图谱的建立及分析

### 3.1 不同产地辣蓼药材指纹图谱建立

取 1~15 号辣蓼药材样品粉末, 按“2.3”项下方法制备供试品溶液, 精密吸取各溶液 10 μL 注入高效液相色谱仪, 按照“2.1”项下色谱条件测定, 记录各样品在 50 min 内指纹图谱, 总峰数为 16 个, 12 个共有峰被标定, 以 11 号峰槲皮素为参照峰 (S) (图 1)。15 批不同来源辣蓼药材的指纹图谱匹配后的图谱 (图 2)。取其混淆品 (16~22 号) 粉末同法制备为供试品溶液, 进样量 10 μL, 7 批不同来源混淆品药材的指纹图谱见图 3。

### 3.2 相似度分析

采用“中药色谱指纹图谱相似度评价系统 2004A 版”软件对从各地采集的辣蓼药材及混淆品高效液相指纹图谱进行数据处理, 生成对照指纹图谱 (R),

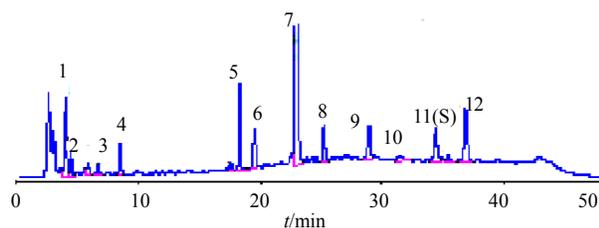


图 1 辣蓼共有峰色谱图

Fig. 1 HPLC of common peaks of *Polygonum Herba*

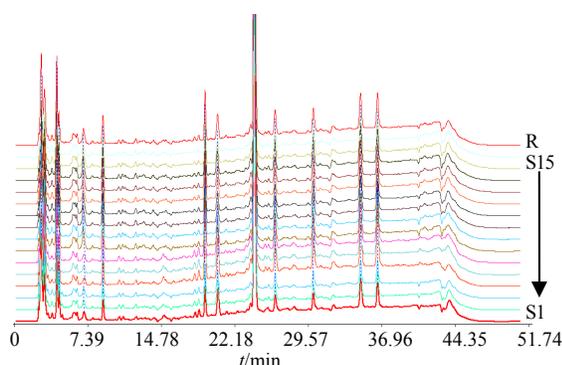


图 2 15 批不同来源的辣蓼药材指纹图谱

Fig. 2 HPLC fingerprints of 15 batches of *Polygonum Herba* from different origins

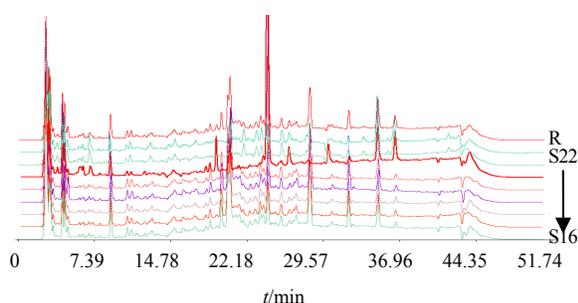


图 3 7 批混淆品的指纹图谱

Fig. 3 HPLC fingerprints of seven batches of adulterants

并计算相似度, 结果见表 2。根据相似度分析结果, 15 批辣蓼药材的相似度均大于 0.95, 7 批混淆品的相似度均小于 0.50。

#### 4 讨论

辣蓼中槲皮素、金丝桃苷、槲皮苷和芦丁为辣蓼中主要成分, 标定的 12 个共有峰中, 以 11 号峰槲皮素为参照峰, 15 批辣蓼药材相似度均在 0.95 以上。结果表明, 各样品中主要的色谱峰基本一致, 但各峰面积差异较大。可见不同产地辣蓼中有效成分的量有一定的差异, 可能是生长环境和成熟程度影响, 也说明了中药材成分的复杂性。

本实验收集的混淆品的相似度均在 0.50 以下, 可能混淆品与辣蓼药材同属同科植物, 通过对照指纹

表 2 相似度评价

Table 2 Similarity evaluation

编号	相似度	编号	相似度
1	0.998	12	0.984
2	0.996	13	0.975
3	0.991	14	0.990
4	0.997	15	0.978
5	0.997	16	0.461
6	0.981	17	0.453
7	0.985	18	0.455
8	0.992	19	0.451
9	0.995	20	0.461
10	0.998	21	0.474
11	0.996	22	0.480

图谱分析, 辣蓼药材指纹图谱峰数明显多于混淆品指纹图谱峰的数目, 也能很好区别辣蓼药材和混淆品。本实验收集到的药材有限, 对辣蓼药材其他混淆品的指纹图谱有待进一步研究。

本实验对提取溶剂进行考察, 比较了甲醇和不同体积分数盐酸溶液为提取溶剂。以甲醇-25%盐酸溶液提取液的出峰个数较多, 峰形好, 且基线较平整, 故提取溶剂选择甲醇-25%盐酸溶液 (4 : 1) 20 mL。对不同回流提取时间的考察结果表明 1 h 后各时间提取率基本一致, 故选择回流提取时间为 1 h。

对甲醇-水、乙腈-水、乙腈-不同体积分数的磷酸溶液、乙腈-不同浓度冰醋酸溶液 4 个系统的流动相进行考察, 结果发现乙腈-0.2%磷酸水溶液梯度洗脱效果最好。同时采用 DAD 检测器进行紫外区全波长扫描, 在 260、360 nm 波长下有最大吸收, 在 360 nm 下色谱峰数目较少, 丰度较高, 考虑兼顾各组分的检测信号强度和检测灵敏度在 260 nm 波长下色谱图基线噪音较低, 峰的数目多, 丰度降低, 各峰的保留时间适中, 分离度较好, 且基线稳定, 有利于指纹图谱分析。

#### 参考文献

- [1] 黔省食品药品监督管理局. 黔省中药材、民族药材质量标准 [S]. 2003.
- [2] 中国科学院植物研究所. 中国高等植物图鉴 (第 1 册) [M]. 北京: 科学出版社, 1972.
- [3] 王国强. 全国中草药汇编 (第 2 卷) [M]. 第 3 版. 北京: 人民卫生出版社, 2014.
- [4] 田怡涛, 高扬, 陈千良, 等. 陕西产辣蓼的品质鉴定 [J]. 甘肃农业大学学报, 2014, 49(4): 73-77.
- [5] 黄健, 侯朋艺, 吴立军, 等. 水蓼化学成分分离与鉴定 [J]. 沈阳药科大学学报, 2012, 29(1): 22-25.
- [6] 罗杰, 陆霞. HPLC 法测定水蓼中芦丁的含量 [J]. 中草药, 2004, 35(3): 285-287.
- [7] 何立美, 陈玉婷, 刘洪梅, 等. 高效液相色谱法同时测定辣蓼提取物中 6 种黄酮成分的含量 [J]. 广东农业科学, 2014(13): 94-98.