

间的延长呈增长的趋势,说明 10% PEG 6000 处理 1~16 h 可能不适宜用于模拟黄芩的干旱胁迫。20% PEG 6000 处理 4 h 后,主根长度、子叶短柄和茎的长度随着处理时间的增长均呈下降趋势,而根冠比却呈现上升的趋势。根冠比是衡量植物抗旱性的重要生理指标之一^[8],研究结果表明黄芩幼苗在模拟干旱的条件下对逆境进行了自我调节,可以选择 20% PEG 6000 处理黄芩种子 8 h 作为模拟干旱条件,用于幼苗黄芩抗旱材料的选育工作。

参考文献:

[1] 徐国钧,何宏贤,徐璐珊,等. 中国药材学 [M]. 北京:中国

医药科技出版社,1996.

- [2] 龚子端,李高阳. PEG 干旱胁迫对植物的影响 [J]. 河南林业科技, 2006, 26(3): 21-23.
- [3] 种子工作手册编写组. 种子 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1979.
- [4] International Seed Testing Association. International rules for seed testing [J]. *Seed Sci Technol*, 1999, 27(Suppl): 27-32.
- [5] 宋松泉,程红焱,龙春林,等. 种子生物学研究指南 [M]. 北京: 科学出版社, 2005.
- [6] 张百俊,杨和连,李贞霞,等. PEG 渗透西葫芦种子效应研究 [J]. 种子, 2006, 25(9): 76-78.
- [7] Gergely I. Polyethylene glycol induced water stress effects on apple seedlings [J]. *Am Soc Hort Sci*, 1980, 105: 854-857.
- [8] 张国萍,倪日群,赵新亮,等. 水引发对干旱胁迫下水稻种子发芽与幼苗生长的影响 [J]. 种子, 2002, 21(2): 20-22.

夏枯草 HPLC 指纹图谱的研究

刘 伟,丁海杰,孙曙光

(河南中医学院 分析测试中心,河南 郑州 450008)

摘 要: 目的 建立夏枯草 HPLC 指纹图谱分析方法。方法 采用高效液相色谱法,色谱柱为 Betasil C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) 柱,以乙腈-0.1% 磷酸梯度洗脱,0~50 min 时乙腈 10% → 25%,50~60 min 时乙腈 25% → 32%;体积流量为 0.7 mL/min;检测波长为 210 nm,柱温 25℃。结果 建立了夏枯草的指纹图谱,确定了 16 个共有峰,各夏枯草样品指纹图谱与对照指纹图谱相似度均在 0.95 以上,可以用于夏枯草药材的定性鉴别。结论 此方法简单、准确、重现性好,为夏枯草的质量控制标准提供了有效的方法。

关键词: 夏枯草; 高效液相色谱法; 指纹图谱

中图分类号: R 282.7

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2008)02-0272-03

Fingerprint analysis of *Spica Prunellae* by HPLC

L U Wei, D N G Hai-jie, SUN Shu-guang

(Center of Analysis and Measurement, Henan College of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450008, China)

Abstract Objective To establish a method of fingerprint analysis on *Spica Prunellae* by HPLC.

Methods The HPLC method was used, chromatographic conditions were Betasil C₁₈ column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), acetonitrile-0.1% phosphoric acid system as mobile phase, 0-50 min acetonitrile 10% → 25%, 50-60 min acetonitrile 25% → 32%; flow rate 0.7 mL/min; detective wavelength at 210 nm, column temperature 25℃. **Results** Establishing the fingerprint of *Spica Prunellae*, 16 common peaks were found in the HPLC fingerprint of *Spica Prunellae* and good similarities with correlation coefficients over 0.95 were found in the fingerprints between the herbs from different sources and standard fingerprint, which could be utilized for the identification of *Spica Prunellae*. **Conclusion** The method is accurate, simple, and could be used for the quality control of *Spica Prunellae*.

Key words: *Spica Prunellae*; HPLC; fingerprint

夏枯草是唇形科夏枯草属植物夏枯草 *Prunella vulgaris* L. 干燥果穗,有时也以全草入药,因“此草夏至后即枯”故名,为中医临床常用的一味中药。夏枯草始载于《神农本草经》,列为下品,其味“苦辛寒,

治寒热瘰癧,鼠瘻头痛,破症,散瘰结气,脚肿湿痹,轻身,一名乃东,生川谷”。其味苦、性寒、辛,具有清肝、明目、散结、消肿、止痛之功效。用于目赤肿痛、目珠夜痛、羞明流泪、头痛眩晕、瘰癧、瘰癧、乳痈肿

痛^[1]。临床多用于治疗甲状腺肿大、淋巴结核、乳腺增生、高血压、肺结核、急性黄疸型传染性肝炎等疾病^[2]。夏枯草中主要含有熊果酸、齐墩果酸、迷迭香酸、黄酮类及糖类等多种成分。本实验采用高效液相色谱法建立夏枯草的指纹图谱分析方法,为科学控制夏枯草质量提供参考。

1 仪器与试剂

D D N E X Summ it 系统高效液相色谱仪(美国)(P680 HPLC pump);D D N E X A S I- 100 自动进样器;D D N E X P D A - 100 检测器;D D N E X Chrom eleon 色谱工作站;KQ - 500 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);M ettler A E240 十万分之一天平(瑞士);FA 2004A 万分之一天平。

迷迭香酸对照品(批号: 1231-050419, 中药固体制剂制造技术国家工程研究中心);夏枯草药材,经河南中医学院药学院陈随清教授鉴定为夏枯草,样品来源见表 1。乙腈为色谱纯,水为双蒸水,其他试剂均为分析纯。

表 1 样品来源

Table 1 Sources of samples

样品编号	来 源	样品编号	来 源
1	河南省栾川县	9	江苏省苏州市
2	河南省桐柏县	10	四川省南充市
3	河南省桐柏县	11	贵州省贵阳市
4	河南省泌阳县	12	湖南省益阳市
5	河南省西峡县	13	湖北省宜昌市
6	河南省卢氏县	14	河北省安国市
7	安徽省黄山市	15	山东省临沂市
8	安徽省亳州市	16	广东省广州市

2 方法与结果

2.1 色谱条件: 色谱柱 Betasil C₁₈ (200 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-0.1% 磷酸梯度洗脱, 0~50 min 时乙腈 10% → 25%, 50~60 min 时乙腈 25% → 32%; 记录时间为 60 min; 体积流量: 0.7 mL/min; 柱温: 25 °C; 检测波长: 210 nm; 进样体积: 10 μL。

2.2 供试品溶液制备: 1~16 号夏枯草样品粉末(过 2 号筛)各 1 g, 精密称定, 置于 100 mL 锥形瓶中, 用移液管精密加入甲醇 50 mL, 称定质量, 超声提取 1 h, 冷却, 再称定质量, 用甲醇补足减失的质量, 摇匀, 滤过。精密量取续滤液 25 mL, 浓缩定容至 5 mL 量瓶中。用微孔滤膜(0.45 μm)滤过, 滤液作为供试品溶液。

2.3 对照品溶液制备: 精密称取迷迭香酸对照品 4.40 mg, 置于 10 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 作为对照品溶液。

2.4 稳定性试验: 取同一批供试品溶液, 在相同的条件下分别于 0、2、4、8、12 h 进样分析, 采用国家药典委员会指纹图谱评价软件计算出相似度均在 0.99 以上, 主要峰相对面积的 RSD 值均小于 3.0%。

2.5 精密度试验: 取同一供试品溶液, 在相同条件下分别进样 5 次, 计算出相似度均在 0.99 以上, 主要峰相对面积的 RSD 值均小于 1.0%。

2.6 重现性试验: 取同一批样品, 在相同条件下分别称取 5 份, 制备供试品溶液, 进样, 记录结果, 计算出相似度均在 0.99 以上, 主要峰的相对峰面积的 RSD 值均小于 2.0%。

2.7 指纹图谱的建立: 精密吸取供试品溶液 10 μL, 进样, 其中 16 号峰为迷迭香酸的峰, 以 7 号峰为参照标示出夏枯草的 HPLC 指纹图谱中 16 个共有峰作为可以构成指纹图谱稳定的特征峰, 样品色谱图见图 1。将所得的色谱图数据导入国家药典委员会指纹图谱评价系统, 3、7、12、16 号峰作为 Marker 峰, 进行色谱峰匹配, 结果见图 2。16 批夏枯草药材 HPLC 指纹图谱共有峰的相对保留时间 RSD 值最大为 1.51%, 最小为 0.152%, 均小于 2%, 其共有峰的相对峰面积差别较大。16 批夏枯草药材 HPLC 指纹图谱与对照指纹图谱(16 批夏枯草药材指纹图谱形成的)相似度评价结果见表 2。

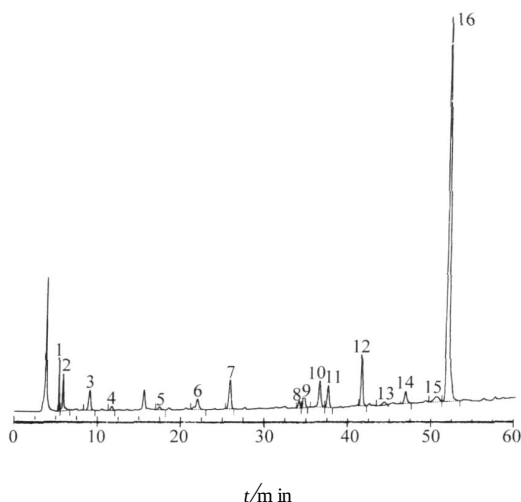


图 1 夏枯草(5号样品)HPLC 指纹图谱

Fig. 1 HPLC Fingerprint of Spica Prunellae (No. 5)

3 讨论

3.1 样品处理方法的选择: 曾采用 80% 甲醇、水、95% 乙醇、甲醇、乙醚作为提取溶剂。结果发现水为提取溶剂所得的供试品溶液峰数甚多, 很难完全分离, 而且特征性不明显; 乙醚为提取溶剂的样品溶液所得的供试品峰数甚少, 80% 甲醇和 95% 乙醇为

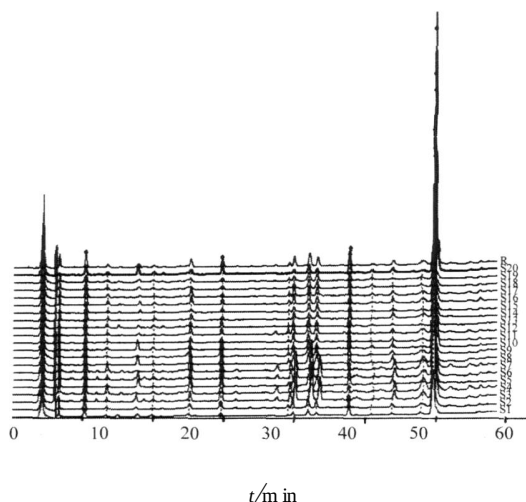


图2 16批样品匹配色谱图

Fig. 2 Matched chromatograms of 16 batches of sample

表2 相似度评价结果

Table 2 Results of similarity evaluation

样品号	相似度	样品号	相似度	样品号	相似度	样品号	相似度
1	0.995	5	0.997	9	0.990	13	0.987
2	0.999	6	0.997	10	0.997	14	0.969
3	0.997	7	0.999	11	0.998	15	0.988
4	0.997	8	0.998	12	0.998	16	0.973

溶剂所得供试品溶液色谱峰与甲醇为溶剂所得供试品溶液色谱峰差别不大,为利于操作,采用甲醇作为提取溶剂。采用甲醇作为提取溶剂用超声波振荡提取法和水浴加热回流提取法进行试验,结果显示两种提取方法所得图谱中峰数与各峰面积未见明显差别。考虑到采用超声波振荡提取法简便易行,所以采用超声波振荡提取法进行供试品溶液的制备。

3.2 色谱条件的选择:本实验所用高效液相色谱条件是在参考有关文献的基础上^[3~7]经过多次优化、筛选而确定的。实验采用二极管阵列紫外检测器作为检测工具,首先在上述色谱条件下采用全波长进行测定,并采集其三维色谱图,通过察看该三维色谱

图在所有波长下的出峰的多少,和各成分的分离情况以及各色谱峰的丰度等综合考虑,最后选定检测波长为210 nm。曾采用甲醇-水、乙腈-水、乙腈-磷酸水作为流动相进行洗脱,以乙腈-0.1%磷酸水为流动相得到的图谱中色谱峰较多,峰形和分离度都较好,故选定乙腈-0.1%磷酸水作为流动相。考察体积流量时发现流动相体积流量为1.0 mL/min时,有些峰始终分不开,流动相为0.7 mL/min时,各峰均有较好分离,故采用流动相为0.7 mL/min。

3.3 夏枯草指纹图谱与地域的关系:本实验所用夏枯草药材主要采自于河南、安徽、江苏、湖南等10个省。结果表明,不同产地的夏枯草药材色谱图中各共有峰相对保留时间对应得非常好,但共有峰相对峰面积差别较大,这可能与药材的产地土壤条件、种植方法以及采集时间等因素有关。这表明,夏枯草中各成分的量与产地和种植方法有密切关系。

3.4 夏枯草指纹图谱的专属性:从16批药材的整体看来,各样品中共有峰的相对保留时间严格一致,各个共有峰的相对峰面积变化趋势也一致。因此,可以说明该夏枯草指纹图谱具有专属性,可以为夏枯草药材的品质评价、质量标准制定提供依据。

参考文献:

- [1] 中国药典[S]. 一部. 2005.
- [2] 江苏新医学院. 中药大辞典[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1997.
- [3] 韩志慧, 赵玉丛, 孟 腾. 山茱萸脂溶性成分的高效液相色谱指纹图谱分析[J]. 郑州大学学报, 2006, 41(3): 475-477.
- [4] 徐长根, 李 涛, 傅 强. 女贞子药材HPLC指纹图谱的初步研究[J]. 中药新药与临床药理, 2005, 16(5): 368-371.
- [5] 杨雪梅, 刘 旭, 严铁琛. 三七药材指纹图谱的研究[J]. 第一军医大学学报, 2004, 24(12): 1410-1411.
- [6] 刘训红, 陈 斌, 蔡宝昌. 徐长卿HPLC指纹图谱的初步研究[J]. 现代中药研究与实践, 2005, 19(3): 29-30.
- [7] 王祝举, 赵玉英, 张庆英, 等. 夏枯草中迷迭香酸含量分析方法研究[J]. 药物分析杂志, 2006, 26(3): 399-400.

2008 海峡两岸 CSNR 全国第八届天然药物资源学术研讨会通知(第一轮)

2008 海峡两岸 CSNR 全国第八届天然药物资源学术研讨会拟定于2008年7月中旬在贵州省贵阳市召开,会期3天。本届学术研讨会由CSNR 天然药物资源专业委员会、中国药材GAP研究促进会(香港)主办,贵州信邦制药股份有限公司承办,贵州中医学院等协办。现在开始进行学术研讨会报名和学术论文征集工作。

1 主题: 加强产学研结合,促进中药资源产业化发展。

2 交流研讨内容: 中药资源调查的新技术、新方法研究进展; 中药资源生态及适宜区划研究; 中药材GAP研究与实践; 中药材生产基地的规范化建设; 中药资源产业区域经济发展与产学研结合的有效模式和机制研究; 中药及天然药物资源化学与资源高效利用研究; 民族药物资源的研究现状与进展; 中药及天然药物资源学科基础研究与学科建设。

3 会议论文征集: 会议论文可围绕主题和研讨内容,其内容包括前瞻性综述、学科现状、前沿及展望、系统性研究成果、原创性研究等工作等。

4 征文要求: 请向会议提供Word软件录入的论文电子版。并同时提供论文打印稿一份,请打印在A4纸上,上下各空3 cm,左右空2.2 cm,用激光打印机输出。

5 会议时间和地点: 具体时间和地点请见第二轮通过。也可登陆CSNR 天然药物资源专业委员会网站(<http://202.195.210.136>)或致电查询会议通知。

联系地址: 江苏省南京仙林大学城仙林大道138号 邮政编码: 210046 南京中医药大学药学院CSNR 天然药物资源专业委员会办公室

电 话: 025-85811133, 025-85811132, 025-85811511 传 真: 025-85811524

联系人: 陈丽红 乐 巍 电子信箱: tryw2008@126.com