

## 中药辛夷的 HPLC 指纹图谱研究

王红霞,张飞,陈随清\*,郑岩  
(河南中医学院药学院,郑州 450008)

**[摘要]** 目的:为辛夷药材望春花的应用、质量标准制定提供参考依据。方法:对辛夷药材望春花不同栽培品种进行 HPLC 指纹图谱法方法学考察,建立辛夷药材望春花不同栽培品种的 HPLC 指纹图谱质量控制标准。结果:以主要有效成分木兰脂素为标准,制定辛夷药材望春花不同栽培品种的指纹图谱,结果可为辛夷药材望春花不同栽培品种开发应用、品质评价、质量标准制定提供科学依据。结论:对辛夷药材望春花的应用和质量标准制定具有一定意义。

**[关键词]** 高效液相色谱法;辛夷药材;望春花;不同栽培品种;木兰脂素

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)15-0087-04

## Research on HPLC Fingerprint of Magnoliae Flos

WANG Hong-xia, ZHANG Fei, CHEN Sui-qing\*, ZHENG Yan

(Pharmaceutical College of Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450008, China)

**[Abstract]** **Objective:** To provide the reference for utilization and quality standards of Magnolia Flos. **Method:** Fingerprints of magnolia flower bud at different varieties were studied by HPLC, the quality control standard was established for HPLC fingerprint of magnolia flower bud at different varieties. **Result:** The fingerprints were established for magnolia flower bud of different spring varieties with main effective ingredient magnolin as standard to provide scientific basis for development application, the quality evaluation and quality standards of different magnolia varieties. **Conclusion:** There is some significance for the application and quality standard of herbs magnolia flos.

**[Key words]** HPLC; Yulan magnolia flower bud; Hope spring; different varieties; magnolin

中药辛夷来源于木兰科植物望春花 *Magnolia biondii* Pamp、玉兰 *M. denudata* Desr、武当玉兰 *M. sprengeri* Pamp 的干燥花蕾,具有散风寒、通肺窍的功效,主治风寒头痛、鼻塞、鼻渊、鼻流浊涕<sup>[1]</sup>。望春花为辛夷药材的主流品种,约占 80%,原产湖北,今分布于河南、湖北、陕西及四川等省,多为栽培,少有野生。在长期的应用和栽培的过程中,望春花种内

产生很大变异,出现了较多栽培品种,主要表现在形态学(原植物、性状、显微)特征、挥发油含量及木兰脂素等主要有效成分上具有较大差异。本文主要以有效成分木兰脂素为标准,制定辛夷药材望春花不同栽培品种的 HPLC 指纹图谱,为辛夷药材望春花不同栽培品种开发应用、品质评价、质量标准制定提供科学依据。

### 1 仪器与试剂

岛津 LC-20AT 高效液相色谱仪(CTO-40AS vp 型柱温箱、SPD-20A 型紫外检测器、CBM-102 型工作站)、KQ-500DV 数控超声波清洗器(昆明市超声仪器有限公司)、HP-01 型无油真空泵。木兰脂素对照品(110882-200605,中国药品生物制品检定所)、乙酸乙酯、甲醇、乙腈、四氢呋喃(天津四友天津四友精细化学品有限公司)均为色谱纯;水(双蒸水自制)。

**[收稿日期]** 20110312(001)

**[第一作者]** 王红霞,女,教授,本科,研究方向:主要从事中药品种整理与质量标准研究,Tel: 0371-66364376, E-mail: whx5510@163.com

**[通讯作者]** \* 陈随清,教授,研究方向:中药品种整理与质量标准,Tel: 0371-65676686, E-mail: suiqingchen@163.com

望春花不同栽培品种药材见表 1,经河南中医学院陈随清教授鉴定为木兰科木兰属多年生落叶灌木或小乔木植物望春花 *Magnolia biondii* Pamp 的干燥花蕾。

表 1 辛夷药材望春花不同品种

| No. | 品种   | 产地          | 采集时间       | 入药部位 |
|-----|------|-------------|------------|------|
| 1   | 五号桃  | 南召县皇后乡天桥村   | 2008-10-14 | 干燥花蕾 |
| 2   | 青把串鱼 | 南召县皇后乡天桥村   | 2008-10-14 | 干燥花蕾 |
| 3   | 黄梗串鱼 | 南召县皇后乡天桥村   | 2008-10-14 | 干燥花蕾 |
| 4   | 猴巴掌  | 南召县皇后乡天桥村   | 2008-10-14 | 干燥花蕾 |
| 5   | 大毛桃  | 南召县皇后乡天桥村   | 2008-10-14 | 干燥花蕾 |
| 6   | 二毛桃  | 南召县云阳镇西花园曲庄 | 2008-10-14 | 干燥花蕾 |
| 7   | 洋药   | 南召县云阳镇西花园村  | 2008-10-14 | 干燥花蕾 |
| 8   | 驴奶头  | 南召县云阳镇西花园村  | 2008-10-14 | 干燥花蕾 |
| 9   | 翻毛鸡  | 南召县云阳镇西花园村  | 2008-10-14 | 干燥花蕾 |
| 10  | 老鼠屎  | 南召县小店乡建坪村   | 2008-10-14 | 干燥花蕾 |

## 2 方法与结果

**2.1 色谱条件** Phenomenex Hydro ODS  $C_{18}$  色谱分析柱 (4.6 mm × 250 mm, 5  $\mu$ m); 流动相乙睛 (A) - 1.54% 四氢呋喃水 (B); 梯度洗脱 0 ~ 12 min 75% B, 12 ~ 21 min 70% B, 21 ~ 31.00 min 70% - 65% B, 31 ~ 56 min 65% - 65% B, 56 ~ 80 min 65% ~ 59% B; 检测波长 278 nm; 流速 1.2 mL·min<sup>-1</sup>; 柱温 30 ℃。

**2.2 供试品溶液的制备** 取样品粗粉约 1 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加乙酸乙酯 20 mL,称重,浸泡 30 min,超声处理 30 min,放置至室温,再称重,并用甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,精密量取滤液 3 mL,置 25 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,滤过。取续滤液,过 0.45  $\mu$ m 滤膜,取续滤液 10  $\mu$ L 进样,进行 HPLC 分析。

**2.3 对照品溶液的制备** 辛夷望春花药材按供试品溶液方法制备,经 HPLC 分析出现多个色谱峰,选用木兰脂素为参照物。精密称取在 60 ℃ 减压干燥至恒重的对照品木兰脂素适量,加甲醇制成每 1 mL 含木兰脂素 0.96 mg 的溶液,即得。作为对照品溶液。见图 1。

**2.4 各色谱峰相对保留时间和面积计算** 选定色谱图中第 8 号 (木兰脂素) 峰为参照峰,令其保留时间和相对峰面积分别为 1,其他各峰的保留时间和相对峰面积分别与参照峰保留时间和相对峰面积相比,比值作为各峰的相对保留时间 (RT) 和相对峰面

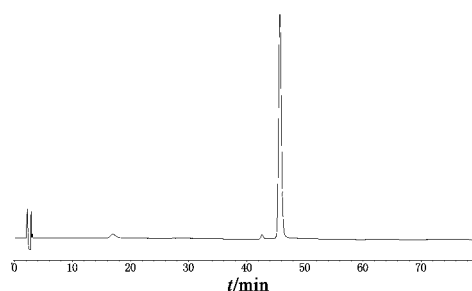


图 1 木兰脂素对照品 HPLC

积的 (RS)。见图 2。

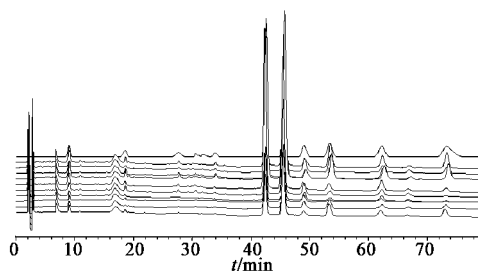


图 2 10 批辛夷药材 HPLC 指纹图谱重叠图

## 2.5 方法学考察

**2.5.1 精密度试验** 取 6 号辛夷望春花药材粉末,精密称定,按样品溶液方法制备,取供试品溶液 10  $\mu$ L,连续进样 5 次,结果各主要色谱的相对保留时间和其相对峰面积的 RSD 分别在 0 ~ 0.06% 和 0 ~ 2.05%,结果稳定,RSD 均 < 3.0%,符合色谱指纹图谱要求,提示精密度良好。

**2.5.2 稳定性实验** 取 6 号辛夷望春花药材粉末 1 g,精密称定,按样品溶液方法制备,取供试品溶液,吸取 10  $\mu$ L,分别在 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12 h 检测指纹图谱,结果各主要色谱的相对保留时间和其相对峰面积的 RSD 分别在 0 ~ 0.20% 和 0 ~ 2.94%,结果稳定,RSD 均 < 3.0%,符合色谱指纹图谱要求,提示 12 h 内供试品溶液内稳定性良好。

**2.5.3 重复性实验** 取 6 号辛夷望春花药材 6 份,各称取约 1 g,精密称定,按样品溶液方法制备,取供试品溶液,进样分析,结果各主要色谱的相对保留时间和其相对峰面积的 RSD 分别在 0 ~ 1.42% 和 0 ~ 2.76% 之间,结果稳定,RSD 均 < 3.0%,符合色谱指纹图谱要求,提示重复性良好。

**2.6 样品检测** 取 10 批辛夷药材望春花不同栽培品种样品,按样品溶液方法制备供试品溶液,分别进样,在上述色谱条件下进行分析。

## 2.7 指纹图谱的建立与分析

**2.7.1 共有峰的确定** 取 10 批辛夷药材样品分析

结果,辛夷药材供试品标出 12 个共有峰。以峰 8 (木兰脂素) 为参照峰,计算辛夷药材望春花不同栽培品种各共有峰的相对保留时间和相对峰面,结果见表 2。

表 2 10 批辛夷药材 HPLC 指纹图谱分析

| 峰号 | 保留时间  | 相对保留面积            |
|----|-------|-------------------|
| 1  | 9.13  | 1.315 6 ± 0.006 1 |
| 2  | 18.66 | 0.962 4 ± 0.670 4 |
| 3  | 27.68 | 0.645 5 ± 0.454 5 |
| 4  | 30.61 | 0.861 0 ± 0.159 1 |
| 5  | 31.78 | 0.993 2 ± 0.516 5 |
| 6  | 33.91 | 1.391 9 ± 1.699 5 |
| 7  | 42.51 | 1.965 1 ± 1.365 4 |
| 8  | 45.59 | 1.070 5 ± 0.744 1 |
| 9  | 49.09 | 0.866 6 ± 0.433 4 |
| 10 | 53.46 | 1.488 4 ± 1.111 9 |
| 11 | 62.35 | 1.123 4 ± 0.490 5 |
| 12 | 73.3  | 2.120 8 ± 1.328 8 |

**2.7.2 相似度分析** 取 10 批辛夷药材样品,按样品溶液方法制备供试品溶液,分别进样,在上述色谱条件下进行分析,记录 80 min 的色谱图。获得辛夷药材望春花不同栽培品种高效液相指纹图谱。采用由国家药典委员会中药色谱指纹图谱相似度评价系统软件(2004A 版),计算相似度。以 10 批辛夷药材样品指纹图谱生成的共有模式为对照,分别计算 10 批辛夷药材样品的相似度,结果 10 批辛夷药材样品的相似度均 > 0.94,说明了辛夷药材各批号间相似性良好,而且代表性指纹图谱的选择较为合理。见表 3。10 批辛夷药材 HPLC 指纹图谱重叠图及共有模式见图 2、3。

表 3 10 批辛夷药材指纹图谱的相似度

| No. | 相似度     | No. | 相似度     |
|-----|---------|-----|---------|
| 对照品 | 1       | 6   | 0.939 9 |
| 1   | 0.983 2 | 7   | 0.954 6 |
| 2   | 0.964 5 | 8   | 0.978 8 |
| 3   | 0.987 4 | 9   | 0.974 6 |
| 4   | 0.994 0 | 10  | 0.975 8 |
| 5   | 0.973 5 |     |         |

### 3 讨论

**3.1 色谱条件选择** 检测波长选定 258, 278, 298 nm 来进行考察,在这 3 种检测波长下的 HPLC

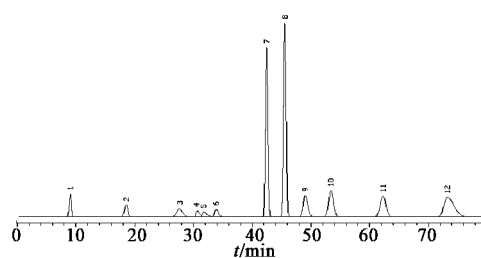


图 3 10 批辛夷药材 HPLC 指纹图谱共有模式

图谱中均有多个色谱峰,在 278 nm 处各个色谱峰的吸收最强,故选定 278 nm 作为指纹图谱的测定波长。流动相先选用了甲醇-四氢呋喃水梯度洗脱,分离效果不理想;后用乙腈-四氢呋喃水为流动相洗脱系统作对照,能较好地使样品中各个色谱峰分离且出峰较多,分析时间为 80 min。检测流速将供试品溶液进行流速 1.0, 1.2 mL·min<sup>-1</sup> 的考察,在相同的时间和峰形不变化的前提内,1.2 mL·min<sup>-1</sup> 的情况下时间更短。检测柱温将供试品溶液进行柱温 20, 30 °C 的考察,结果在 80 min 内的情况下,柱温 30 °C 的情况下峰形更好。

**3.2 供试品溶液的制备** 分别选用乙酸乙酯、甲醇制备供试品溶液进样,进行 HPLC 分析。乙酸乙酯提取物图谱信息比较丰富,能较好反应药材指纹特征,故确定乙酸乙酯作为辛夷望春花指纹图谱的提取溶剂。

**3.3 对照品溶液的制备** 辛夷望春花药材经上述方法提取后,经 HPLC 分析出现多个色谱峰,选用木兰脂素加甲醇制成每 1 mL 含木兰脂素 0.96 mg 的溶液作为对照品溶液。

**3.4 10 种样品的液相指纹图谱的建立检测器选择** 基于目标成分木兰脂素类化合物的化学性质,我们选择了紫外检测器作为 10 种样品指纹图谱建立检测器。

**3.5 方法学考察结果表明** 该色谱条件专属性强、重现性及精密度良好。

**3.6 本实验结果** 辛夷药材望春花不同栽培品种在上述色谱条件下分析所获得的指纹图谱,以共有模式为参照进行相似度分析,10 批辛夷药材样品的相似度均大于 0.94,说明了辛夷药材各批号间相似性良好,而且代表性指纹图谱的选择较为合理;10 批供试品各共有峰的保留时间及相对保留时间、峰面积及相对峰面积均具有较好的重现性,所选择的共有峰可以较为全面的反映样品中化学成分的信

## HPLC 同时测定安渴胶囊中马钱苷和葛根素的含量

牛晓静\*, 施钧瀚

(河南中医学院第一附属医院药学部, 郑州 450000)

**[摘要]** 目的: 建立同时测定安渴胶囊中马钱苷和葛根素含量的高效液相色谱法。方法: 色谱柱为 Agilent Eclipse XDB-C<sub>18</sub> 柱, 流动相乙腈-水(12:88), 检测波长 240、250 nm, 流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>。结果: 马钱苷进样量在 0.31~2.175 μg 与峰面积积分值呈良好的线性关系, 葛根素进样量在 0.164~1.148 μg 与峰面积积分值呈良好的线性关系。马钱苷平均回收率为 100.39%, RSD 0.72% (n=6); 葛根素平均回收率为 97.99%, RSD 1.98% (n=6)。结论: 高效液相色谱法简便可行、专属性强、重复性好, 可较好地控制安渴胶囊的质量。

**[关键词]** 安渴胶囊; 高效液相色谱法; 马钱苷; 葛根素

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)15-0090-03

## Simultaneous Determination of Loganin and Puerarin in Anke Capsule by HPLC

NIU Xiao-jing\*, SHI Jun-han

(The First Affiliated Hospital of Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450000, China)

**[Abstract]** **Objective:** To establish the method for the assaying of loganin and puerarin in Anke capsule with HPLC method. **Method:** The chromatographic column was Agilent Eclipse XDB-C<sub>18</sub>. The mobile phase was consisted of acetonitrile-water (12:88). The detection wavelength was 240 nm and 250 nm. The flow rate was 1.0 mL·min<sup>-1</sup>. The injection volume was 10 μL. **Result:** Loganin was linear in the range of 0.31-2.175 μg (r = 0.999 9). Puerarin was a linear in the range of 0.164-1.148 μg (r = 0.999 9). The average recovery of loganin

**[收稿日期]** 20110308(005)

**[通讯作者]** \* 牛晓静, 硕士, 研究方向: 药物制剂及其质量标准, Tel: 0371-66233639, E-mail: niuxiaojing314@163.com

息。但望春花不同栽培品种间各共有峰相对峰面积的 RSD 亦存在着明显差异。

望春花为辛夷药材的主流品种, 在长期的应用和栽培的过程中, 种内产生很大变异, 对望春花质量稳定性和市场商品质量的一致性的判别及药材优选、监控市场流通等环节都产生直接影响。本实验以有效成分木兰脂素为标准所建立的望春花不同栽培品种指纹图谱, 可为望春花不同栽培品种开发应用、品质评价、质量标准制定提供一定科学依据。

### [参考文献]

- [1] 中国药典. 一部[S]. 2005: 126.
- [2] 明·李时珍. 本草纲目. 下册[M]. 金陵版排印体, 北京: 人民卫生出版社, 1999: 1744.

- [3] 李和, 李佩文, 丁振华. 食品香料化学——杂环香味化合物[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1992: 120.
- [4] 忘文魁, 沈映君, 齐云, 等. 望春花油的抗炎机理[J]. 中国兽医学报, 2005, 25(3): 302.
- [5] 孙雪鹏, 汪年松, 薛勤, 等. 辛夷挥发油抑制糖尿病肾病大鼠血清及肾组织 P——选择素蛋白表达[J]. 中西医结合学报, 2008, 6(5): 524.
- [6] 陈志东, 王锋, 汪年松, 等. 辛夷挥发油对内皮细胞与中性粒细胞黏附的抑制作用[J]. 陕西中医, 2005, 26(10): 1119.
- [7] 王少莉. 辛夷治疗过敏性鼻炎 80 例[J]. 时珍国医国药, 1999, 10(8): 599.
- [8] 姜静, 尚宁, 范欣生. 中药辛夷雾化吸入治疗支气管哮喘[J]. 临床肺科杂志, 2001, 6(2): 17.

[责任编辑 蔡仲德]