

温莪术 HPLC 指纹图谱研究

兰泽伦¹, 李敏^{1,2*}, 李校奎², 刘德军², 贾君君¹, 张钰苓¹

(1. 成都中医药大学, 四川 成都 610075; 2. 温州医学院, 浙江 温州 325035)

摘要:目的 采用HPLC法建立温莪术药材的指纹图谱。方法 用Kromasil ODS-1(250 mm × 4.6 mm, 5 μm)色谱柱, 乙腈和水为流动相, 采用梯度洗脱, 体积流量: 0.8 mL/min, 柱温35℃, 检测波长244 nm。结果 建立了HPLC指纹图谱共有模式, 并对不同产区的温莪术药材进行了相似度比较。结论 温莪术药材中各成分均得到了较好的分离, 可作为温莪术药材专属性的指纹图谱。

关键词: 温莪术; HPLC; 指纹图谱

中图分类号: R284.1 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2008)06-0920-03

《中国药典》2005年版一部莪术的来源为姜科植物蓬莪术*Curcuma phaeocaulis* Val.、广西莪术*C. kwangsiensis* S. G. Lee et C. F. Liang 或温郁金*C. wenyujin* Y. H. Chen et C. Ling 的干燥根茎。后者习称“温莪术”^[1]。温莪术为我国商品莪术的主流品种之一, 浙江省著名的道地药材。其味辛苦, 性温, 归肝、脾经, 具有行气破血、消积止痛之功效, 主要成分为挥发油和姜黄素两大类成分, 挥发油中所含β-榄香烯、吉马酮、莪术二酮、莪术酮等成分具有较强的生理活性, 在抗肿瘤、抗菌、抗病毒等方面有较好的作用^[2]。根据指纹图谱技术要求, 采用HPLC法建立温莪术药材的指纹图谱, 可作为其内在质量控制的评价方法。

1 实验材料

1.1 样品来源: 见表1。样品经成都中医药大学中药鉴定与药用植物教研室李敏教授鉴定均为姜科植物温郁金*C. wenyujin* Y. H. Chen et C. Ling 的干燥根茎。

1.2 仪器与试剂: VARIAN 高效液相色谱仪。吉马酮对照品(中国药品生物制品检定所提供, 批号111665-200401); 莪术二酮对照品(澳门大学李绍平教授提供, 质量分数>98%)。乙腈为色谱纯, 水为重蒸水, 其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果^[3-5]

2.1 色谱条件: Kromasil ODS-1(250 mm × 4.6 mm, 5 μm)色谱柱; 检测波长: 244 nm; 体积流量: 0.8 mL/min; 柱温: 35℃; 流动相: 乙腈-水。梯度洗脱(0~20 min 乙腈比例为20%~55%; 20~40 min

表1 样品来源

Table 1 Sources of samples

编号	产地	采收时间
1	浙江省瑞安市陶山镇沙洲村	2006-12
2	浙江省瑞安市仙降镇	2006-12
3	浙江省瑞安市丰和镇	2006-12
4	浙江省瑞安市碧山镇	2006-12
5	浙江省瑞安市马屿镇	2006-12
6	浙江省苍南县金香镇	2006-12
7	浙江省乐清市	2006-12
8	浙江省永嘉县	2006-12
9	浙江省平阳县煤源乡	2006-12
10	广西壮族自治区贵港市桥圩镇	2006-12
11	福建省泉州市马甲镇	2006-12
12	浙江省瑞安市陶山镇沙洲村	2006-11
13	浙江省瑞安市陶山镇沙洲村	2006-11
14	浙江省瑞安市陶山镇沙洲村	2006-12
15	浙江省瑞安市陶山镇沙洲村	2006-12

乙腈比例为55%~65%; 40~60 min 乙腈比例为65%~100%)。

2.2 对照品溶液的制备: 精密称取吉马酮对照品、莪术二酮对照品适量, 加甲醇制成吉马酮60 μg/mL, 莪术二酮0.25 mg/mL的溶液, 即得。

2.3 供试品溶液的制备: 取温莪术细粉0.5 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇25 mL, 称定质量, 超声提取1 h, 静置放冷, 再称定质量, 加甲醇补足减失的质量, 摇匀, 静置, 取上清液用微孔滤膜滤过, 即得。

2.4 测定方法: 分别吸取对照品溶液和供试品溶液各20 μL, 注入液相色谱仪, 结果见图1、2。空白溶剂对温莪术指纹图谱的检出无干扰。

2.5 方法学考察

* 收稿日期: 2007-09-29

基金项目: 浙江省科学技术厅重大科技项目(2005C13019)

作者简介: 兰泽伦(1982-), 男, 四川省成都市人, 硕士, 2007年毕业于成都中医药大学药学院, 主要研究方向为中药品种与质量研究。

* 通讯作者 李敏 Tel: 13980038316 E-mail: 028limin@163.com

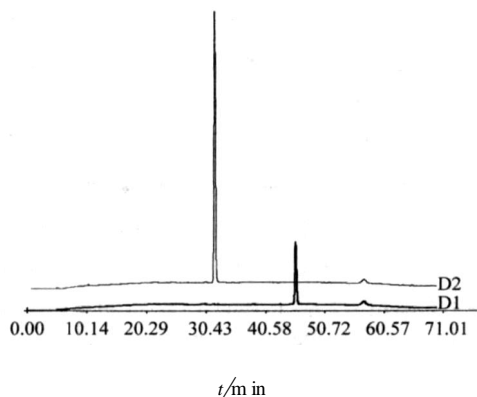


图1 对照品色谱图

Fig. 1 Chromatogram of reference substance

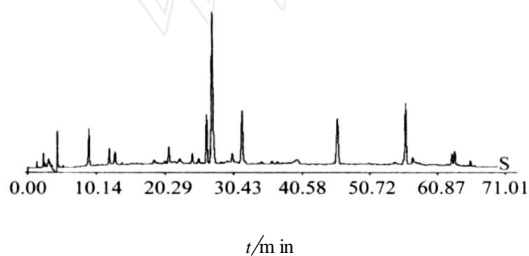


图2 供试品色谱图

Fig. 2 Chromatogram of sample tested

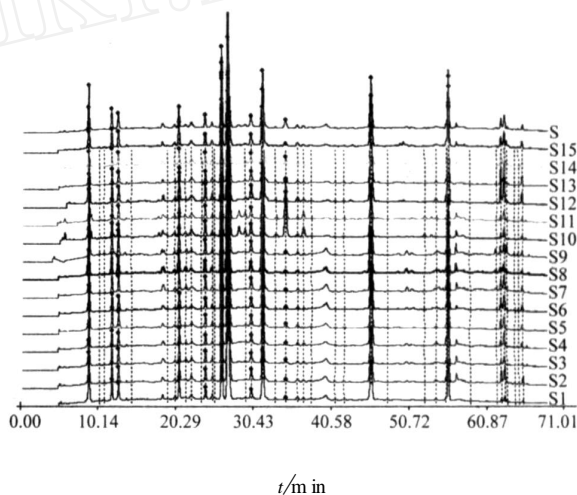
2.5.1 精密度试验: 取供试品溶液(批号1), 连续进样6次, 考察色谱峰保留时间的一致性, 各主要色谱峰保留时间的RSD值均小于2%, 同时考察各色谱峰的相似度, 用相似度评价软件计算, 测得的色谱指纹图谱与其所得的共有模式图的相似度分别为: 0.996, 0.997, 0.995, 0.997, 0.997, 0.998, 均大于0.99, 表明精密度良好。

2.5.2 稳定性试验: 取供试品溶液(批号1), 分别在0, 2, 4, 6, 8, 12, 24 h进行检测, 考察各色谱峰保留时间的一致性, 各主要色谱峰保留时间的RSD值均小于2%, 同时考察各色谱峰的相似度, 用相似度评价软件计算, 测得的色谱指纹图谱与其所得的共有模式图的相似度分别为: 1.000, 0.998, 0.996, 0.999, 0.997, 0.996, 0.998, 均大于0.99, 表明供试品溶液在24 h内稳定。

2.5.3 重现性试验: 取温莪术药材(批号1)5份, 制备供试品溶液5份, 依法检测, 考察各色谱峰保留时间的一致性, 各主要色谱峰保留时间的RSD值均小于2%, 同时考察各色谱峰的相似度, 用相似度评价软件计算, 测得的色谱指纹图谱与其所得的共有模式图的相似度分别为: 0.997, 0.998, 0.997, 0.998, 0.996, 均大于0.99, 表明重现性好。

2.6 指纹图谱的建立: 取温莪术药材15批, 制备供

试品溶液, 依法检测, 得到244 nm的HPLC指纹图谱, 采用中药色谱指纹图谱相似度评价系统A版进行全谱的相似度评价及共有图谱拟合, 参照《中药注射剂指纹图谱研究的技术要求(暂行)》, 确定了11个特征峰构成温莪术的指纹图谱, 其中8[#]峰为莪术二酮, 10[#]峰为吉马酮。药材1~15号中位数相关系数依次为0.950, 0.936, 0.971, 0.904, 0.974, 0.965, 0.948, 0.973, 0.933, 0.908, 0.942, 0.954, 0.970, 0.963, 0.966, 均大于0.90, 相关性良好。色谱图见图3、4。



S1~S15-1~15批温莪术药材 R-共有模式图

S1-S15-Rhizoma Curcumae 1-15 R-common pattern

图3 15批药材HPLC指纹图谱

Fig. 3 HPLC Fingerprint of 15 batches of Rhizoma Curcumae

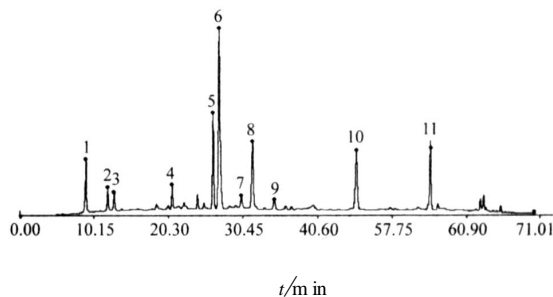


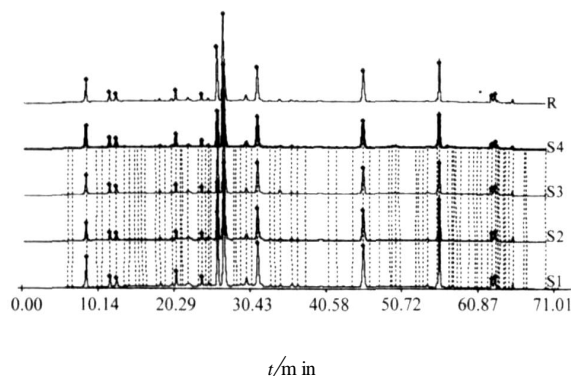
图4 共有模式图

Fig. 4 Common pattern

2.7 不同采收期温莪术HPLC指纹图谱比较: 采用相似度评价软件对11、12月不同采收期温莪术药材4批(12, 13, 14, 15号)进行相似度评价, 中位数相关系数依次为0.939, 0.980, 0.991, 0.992, 均大于0.90, 相关性良好。色谱图见图5。

3 结论与讨论

3.1 本研究首次建立了温莪术HPLC指纹图谱, 并采用中药色谱指纹图谱相似度评价系统A版对不同



S1~ S4-温莪术药材 12~ 15号 R-共有模式图

S1- S4-*Rhizoma Curcumae* 1- 15 R-common pattern

图5 不同采收期温莪术HPLC指纹图谱

Fig. 5 HPLC Fingerprint of *Rhizoma Curcumae* from different collection periods

产地的温莪术药材的HPLC指纹图谱进行相似度评价,结果表明其指纹图谱相互间较为吻合,虽然由于样品的个体差异,特征峰的相对量存在一定的差异,但整体轮廓均符合共有特征。同时从药材整体色谱

图入手,选取了11个特征峰构成了温莪术的指纹图谱,以共有模式作为温莪术的鉴别标准,能提供更全面的质量控制信息。实验证明该方法操作性强,重现性好,可以作为温莪术内在质量控制的评价方法,同时也可作为莪术主成分制剂指纹图谱研究的基础。

3.2 不同产地温莪术药材指纹图谱的相关系数均大于0.90,相关性良好,表明虽然产地不同,但化学成分却相对稳定,反应了其具有较高的遗传稳定性。

3.3 不同采收期温莪术样品虽然成分的量有差异,但其色谱概貌一致,符合温莪术药材的指纹特征。

参考文献:

- [1] 中国药典[S]. 一部. 2005.
- [2] 李敏. 中药材规范化生产与管理(GAP)方法及技术[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2004.
- [3] 谢培山. 中药色谱指纹图谱[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2004.
- [4] 李敏, 周娟. 中药材质量与控制[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2005.
- [5] 李敏, 李校堃. 中药材市场动态与应用前景[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2005.

不同种源鱼腥草中甲基正壬酮变异规律研究

吴令上¹, 斯金平^{1*}, 周慧¹, 诸燕¹, 蓝云龙²

(1. 浙江林学院天然药物研发中心, 浙江 临安 311300; 2. 丽水市林业科学研究所, 浙江 丽水 323000)

摘要:目的 揭示全国主产区鱼腥草种质资源甲基正壬酮量变异规律, 为鱼腥草优良品种选育提供基础。方法 用气相色谱法测定23个种源鱼腥草中甲基正壬酮的量, 并分析形态特征、地理位置、生长性状与甲基正壬酮的关系。结果 不同种源鱼腥草中甲基正壬酮存在显著差异, 与纬度呈正相关, 与植物形态存在一定的关系, 与植株高度和地径没有显著的相关性。结论 鱼腥草种质资源甲基正壬酮的量存在一定的变异规律, 针对鱼腥草甲基正壬酮选择新品种时, 应优先考虑在纬度高、生长快的种源中选择。

关键词: 鱼腥草; 种源; 甲基正壬酮; 气相色谱法

中图分类号: R284.1

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2008)06-0922-04

鱼腥草 *Houttuynia cordata* Thunb. 具有清热解毒、消痈排脓、利尿通淋等功能, 用于肺痈吐脓、痰热喘咳、热淋、热痢、痈肿疮毒等症^[1], 是常用的大宗药材。建立鱼腥草GAP基地是保证原料供应及成药“安全、有效、稳定、可控”的关键, 而开展鱼腥草种质资源遗传多样性研究, 选育有效成分高且稳定的优良品种是建立GAP基地的基础。本实验用气相色谱法对立地条件、栽培时间、田间管理、施肥种类、施肥时间与数量、采收与加工方法等方面均一致的23

个全国主产区鱼腥草种源药材中甲基正壬酮进行测定, 评价全国鱼腥草主产区种质资源, 并研究其遗传变异规律, 为选育鱼腥草优良品种提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 供试样品: 试验用的鱼腥草包括江西、贵州、福建、云南、浙江、河南、湖南、广西、重庆、四川、安徽等省23个种源, 根据生长期的主要形态特征(表1), 可将其分为两个类型(表2); 类型1主要表现为生长

* 收稿日期: 2007-09-21

基金项目: 浙江省科技计划项目(2005C32052)

作者简介: 吴令上(1984-), 女, 浙江平阳县人, 硕士研究生, 从事药用植物遗传育种。E-mail: shang2002012@163.com

* 通讯作者 斯金平 E-mail: lssjp@163.com