

川明参不同加工品化学成分指纹图谱比较研究

赵波, 李宏, 任波, 刘军, 张伊, 彭成*, 张梅*

(成都中医药大学药学院, 中药材标准化教育部重点实验室, 中药资源系统研究与开发利用省部共建国家重点实验室培育基地, 四川成都 611137)

摘要:目的 对川明参不同加工品所含化学成分进行比较研究。方法 采用 RP-HPLC 法, 选用 Phenomenex Luna C₁₈ 色谱柱, 以乙腈-0.1%磷酸作流动相, 检测波长为 230 nm, 柱温:30℃, 测定 10 个不同产地批次川明参药材样品, 建立川明参药材的标准指纹图谱, 将其与同一色谱条件下分析测定的川明参不同加工品的 HPLC 色谱图进行比较。结果 川明参不同加工品中化学成分种类及含量均有较大差异。结论 所建立的指纹图谱能有效区分川明参药材及其加工品化学成分的差异, 研究结果为科学评价及有效控制川明参药材及产品的质量奠定了基础。

关键词:川明参; 加工品; 指纹图谱

中图分类号:R282.5

文献标志码:A

文章编号:1001-4528(2011)04-0557-03

川明参 *Chuanminshen villoaceum* Sheh et Shan. 为伞形科川明参属植物, 其干燥根为四川常用道地中药材, 具有润肺化痰、和胃、生津、解毒等功效, 主治肺热咳嗽、热病伤阴, 为滋阴要药^[1]。其主产区分布在四川金堂、巴中、苍溪、中江等地。作为可药食两用的药材, 川明参的市场需求量较大, 近年来开发出川明参条、川明参泥等各种加工品。作者前期已对川明参药效活性、化学成分及川明参药材质量标准等进行了初步研究^[2-6]。研究结果发现, 川明参所含化学成分复杂, 但除多糖外, 其他各类生理活性成分含量都较低, 很难采用某单一成分作为定量指标控制药材质量。因此, 为建立稳定可靠、能确切反映和综合评价川明参药材及其加工品的质量控制方法, 作者在前期工作基础上参考相关文献^[7-10], 采用反相高效液相色谱法, 研究并建立了川明参药材的标准指纹图谱, 并以此为标准考察了川明参不同加工品中化学成分的变化情况。

1 仪器和试剂

1.1 仪器 Angenlent 1200 高效液相色谱仪; BP121S 型 Sartorius 电子天平(北京 Sartorius 天平有限公司 十万分之一); Phenomenex Luna C₁₈ 色谱柱(250 mm × 4.6 mm 5 μm)。

1.2 试剂 5-异戊烯基-8-甲氧基补骨脂素(由本室制备, 纯度 > 98%); 乙腈、甲醇(色谱纯, 美国

Fisher 公司); 磷酸(优级纯); 高纯水(实验室自制); 其余所用试剂均为分析纯。

1.3 药材 川明参: 分别购自四川苍溪(No. 1~4)、中江(No. 5~6)、巴中(No. 7~8)、金堂(No. 9~10)共 10 批次, 由成都中医药大学郭平博士鉴定为伞形科川明参属植物川明参 *Chuanminshen villoaceum* Sheh et Shen. 的干燥根。川明参加工品: 川明参泥、川明参条、鲜品川明参(No. I~III), 产地为四川苍溪, 由四川广元市苍溪县龙山川明参(沙参)合作社提供。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱: Phenomenex Luna C₁₈ 色谱柱(250 mm × 4.6 mm 5 μm); 柱温: 30℃; 检测波长: 230 nm; 进样量: 10 μL; 流动相: A(0.1%磷酸), B(CH₃CN); 梯度洗脱程序见表 1。

表 1 川明参药材 HPLC 梯度洗脱程序

时间/min	A/%	B/%
0	98	2
20	70	30
35	50	50
40	30	70
50	20	80
55	0	100
65	0	100

2.2 对照品溶液的制备 精密称取 5-异戊烯基-8-

收稿日期: 2010-03-11

基金项目: 四川省中医药管理局科研基金资助项目(2004A16 2007A05)

作者简介: 赵波(1984-)男, 硕士生, 研究方向: 药物分析

* 通信作者: 彭成, 男, 教授, 研究方向: 疾病动物模型与中药复方药理学。Tel: (028) 61800232, E-mail: pengchengcao@126.com

张梅, 女, 教授, 研究方向: 中药及其复方物质基础及质量标准。E-mail: zhangmei63@yahoo.com.cn

甲氧基补骨脂素适量于 10 mL 量瓶中,加甲醇超声溶解并定容,稀释后制得浓度为 0.225 mg/mL 的对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备 取编号为 No. 1 ~ 10 的川明参药材粉末(过四号筛)及编号为 No. I ~ III 的川明参加工品(鲜品川明参需先烘干)约 2.0 g,精密称定。置 100 mL 圆底烧瓶中,加甲醇 20 mL,回流提取 2 次,每次 2 h。提取液过滤,滤液减压浓缩至干,用甲醇溶解并转移至 5 mL 量瓶中,稀释至刻度。进样前用微孔滤膜(0.45 μm)滤过。

2.4 精密度实验 取编号为 No. 10 的川明参药材供试品溶液进样 5 次,记录色谱图(见图 1),比较各主要共有峰的相对保留时间和相对峰面积,计算结果 RSD 值均小于 5.0%,表明仪器测试精度符合要求。

2.5 重复性试验 取同一批号川明参药材 5 份,按供试品溶液制备方法制备,分别进样,记录色谱图,比较各主要共有峰的相对保留时间和相对峰面积,

RSD 值均小于 5.0%,表明其重复性较好。

2.6 稳定性试验 取同一川明参药材供试品溶液,分别在 0、3、6、9、12、24 h 进样,记录色谱图,比较主要共有峰的相对保留时间和相对峰面积,RSD 值均小于 5.0%,表明供试品溶液在 12 h 内稳定。

2.7 川明参药材标准指纹图谱 按以上选定方法检测 10 批川明参药材的指纹图谱。将 10 个批次的川明参样品的测试数据导入国家药典委员会“中药指纹图谱相似度评价系统(2004A)”软件,经校正,将谱峰自动匹配,生成对照图谱(见图 2),通过中药指纹图谱相似度计算软件得川明参 HPLC 指纹谱共有模式图(见图 3)。测定结果表明,其中有 13 个主要色谱峰(占总峰面积 91.25%)是 10 批川明参药材所共有的,第 10 号峰为对照品 5-异戊烯基-8-甲氧基补骨脂素(见图 3、4)。以其中峰面积最大的 1 号峰作为参照峰 S,各共有指纹峰的相对保留时间和相对峰面积统计结果分别见表 2、表 3。

表 2 川明参药材指纹图谱共有峰相对峰面积

峰号	各批次药材相对峰面积										均值
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
2	0.32	0.32	0.64	0.64	0.63	0.64	0.47	0.47	0.29	0.29	0.47
3	0.34	0.34	0.39	0.40	0.39	0.39	0.34	0.34	0.23	0.23	0.34
4	0.26	0.26	0.25	0.25	0.25	0.24	0.24	0.24	0.13	0.13	0.23
5	0.65	0.64	0.24	0.24	0.24	0.24	0.49	0.50	0.28	0.28	0.38
6	0.33	0.33	0.08	0.08	0.09	0.08	0.29	0.29	0.02	0.02	0.16
7	0.81	0.81	0.85	0.85	0.86	0.86	0.48	0.48	0.63	0.63	0.73
8	0.51	0.51	0.96	0.96	0.96	0.96	0.47	0.47	0.56	0.56	0.69
9	0.23	0.23	0.02	0.02	0.02	0.02	0.23	0.23	0.14	0.14	0.13
10	0.31	0.31	0.22	0.22	0.22	0.22	0.40	0.40	0.19	0.19	0.27
11	0.46	0.46	0.33	0.33	0.33	0.33	0.45	0.45	0.34	0.34	0.31
12	0.33	0.33	0.55	0.55	0.55	0.55	0.35	0.35	0.32	0.32	0.42
13	0.43	0.43	0.90	0.91	0.91	0.91	0.43	0.43	0.29	0.29	0.59

表 3 川明参药材指纹图谱共有峰相对保留时间

峰号	各批次药材相对保留时间										均值
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
2	1.14	1.14	1.13	1.14	1.14	1.14	1.13	1.14	1.14	1.14	1.14
3	2.57	2.57	2.57	2.57	2.58	2.58	2.58	2.58	2.58	2.58	2.58
4	3.75	3.75	3.76	3.76	3.76	3.76	3.75	3.75	3.75	3.75	3.75
5	4.77	4.77	4.78	4.78	4.78	4.78	4.78	4.78	4.78	4.78	4.78
6	5.74	5.74	5.75	5.75	5.75	5.75	5.75	5.75	5.75	5.75	5.75
7	7.24	7.24	7.23	7.23	7.23	7.23	7.23	7.23	7.23	7.23	7.23
8	11.5	11.5	11.5	11.5	11.5	11.5	11.5	11.5	11.5	11.5	11.5
9	16.0	16.0	16.0	16.0	16.0	16.0	16.0	16.0	16.0	16.0	16.0
10	16.4	16.4	16.4	16.4	16.4	16.4	16.4	16.4	16.4	16.4	16.4
11	17.5	17.5	17.5	17.5	17.5	17.5	17.5	17.5	17.5	17.5	17.5
12	20.4	20.4	20.4	20.4	20.4	20.4	20.4	20.4	20.4	20.4	20.4
13	23.2	23.2	23.2	23.2	23.2	23.2	23.2	23.2	23.2	23.2	23.2

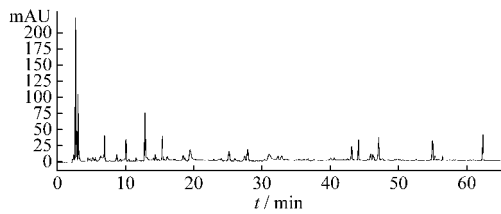


图1 川明参药材指纹图谱

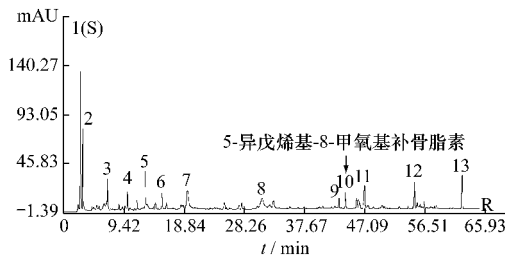


图2 川明参药材对照图谱

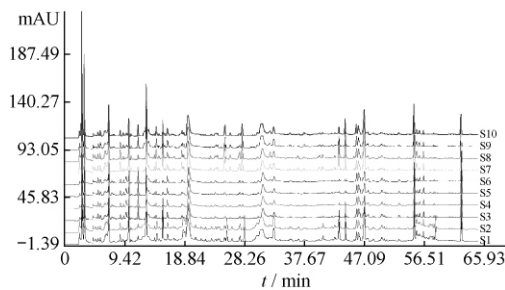


图3 10批川明参药材共有模式

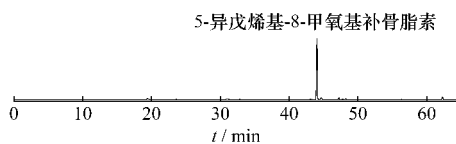


图4 对照品色谱图

2.8 样本指纹图谱相似度分析 将10批药材样本图谱与对照图谱相比较计算相似度。结果显示这10批川明参药材的指纹图谱的相似度均大于0.936,符合国家药品监督管理局对中药指纹图谱相似度的要求。分别将No. I~III样本图谱与对照图谱相比较相似度,川明参泥、川明参条、鲜品川明参的相似度分别为0.918、0.873、0.705(见图5)。

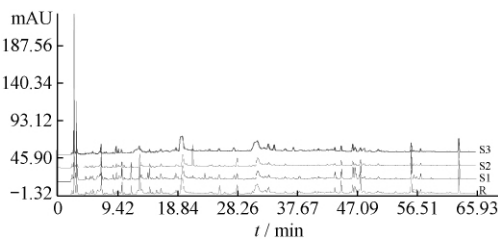


图5 川明参加工品与对照图谱(R)的比较

3 讨论

3.1 作者前期研究表明,川明参祛痰止咳,滋阴强

体药效活性部位中主要含各种香豆素类成分^[1]。因此作者选择由本研究室从川明参药材中分离得到的香豆素类成分5-异戊烯基-8-甲氧基补骨脂素(纯度>98%)作为对照进行指纹图谱研究。但由于其含量较低,峰面积较小,所以又选择了在拟定的分析条件下峰面积最大的1号峰作为参照峰。

3.2 川明参药材中含有较多的酸类物质,在选择流动相的过程中,采用了乙腈-冰醋酸、乙腈-磷酸,结果表明,乙腈-0.1%磷酸的分离效果最好,加入磷酸量过多或过少都会影响分离效果。

3.3 图5中,R为川明参药材对照图谱,S1、S2、S3分别表示川明参泥、川明参条、鲜品川明参,与对照图谱相比,相似度分别为0.918、0.873、0.705。从图5中可以看出,S1与对照图谱基本一致;S2在21min的位置明显多出了一个色谱峰,由于S2在加工过程中采用了硫熏的炮制方法,可能导致了药材中的物质发生变化;S3在加工过程中,采用水煎煮药材,导致了药材中的化学成分有不同程度的损失,所以各个峰的峰面积都比对照图谱低很多,相似度只有0.705。研究结果表明,采用作者建立的指纹图谱,可以充分体现川明参各加工品化学成分的差异,为建立川明参药材及其加工品的质量控制方法奠定了良好的实验基础。

参考文献:

- [1] 四川省中药材标准[S].1987:11-42.
- [2] 张梅,苏筱琳,雨田,等.川明参药理作用初步研究[J].中药药理与临床,2007,23(2):49-50.
- [3] 陈胡兰,苏筱琳,邓赞,等.川明参药效活性部位化学成分研究[J].中成药,2008,30(9):1334-1336.
- [4] 谔立巍,刘静,赵波,等.紫外分光光度法测定川明参中总香豆素类成分含量[J].成都医学院学报,2008,3(3):188-190.
- [5] 苏筱琳,张梅,雨田,等.川明参对小鼠T淋巴细胞增殖反应的影响[J].中药药理与临床,2008,24(3):78-79.
- [6] 刘静,李宏,郭平,等.川明参质量标准初步研究[J].中成药,2010,32(2):329-331.
- [7] 陈胡兰,赵波,刘静,等.川明参的HPLC指纹图谱[J].华西药学杂志,2008,23(5):596-598.
- [8] 倪小兰,徐国良,肖兵华,等.肿节风浸膏中的总黄酮和香豆素部位的谱图指纹差异研究[J].中成药,2008,30(5):628-631.
- [9] 石铨,郑顺亮,程星焯,等.感冒一小时胶囊中总香豆素、总黄酮、总生物碱三类成分的指纹图谱研究[J].中成药,2008,30(11):1561-1565.
- [10] 林乐维,蒋林,郝大庆,等.不同产地广佛手药材HPLC指纹图谱的研究[J].中成药,2009,31(12):1805-1808.