

· 研究简报 ·

不同茎叶比例的穿心莲药材中穿心莲内酯与脱水穿心莲内酯的 X 射线衍射定量分析方法的探讨

龚宁波, 吕丽娟, 刘超, 马林, 陈若芸, 吕扬*

(中国医学科学院、北京协和医学院药物研究所, 北京 100050)

关键词: 穿心莲中药材; 穿心莲内酯; 脱水穿心莲内酯; 粉末 X 射线衍射; 定量分析

中图分类号: R917

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870 (2010) 05-0673-04

A quantitation method for andrographolide and dehydroandrographolide by X-ray powder diffraction Fourier fingerprint pattern technique

GONG Ning-bo, LÜ Li-juan, LIU Chao, MA Lin, CHEN Ruo-yun, LÜ Yang*

(Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Beijing 100050, China)

Abstract: The powder X-ray diffraction Fourier fingerprint pattern technique was used to develop a new quantitation method for the analysis of andrographolide and dehydroandrographolide. And the high performance liquid chromatography method was used to evaluate the quantity of andrographolide and dehydroandrographolide. The relationship of diffraction peak intensity and content of andrographolide and dehydroandrographolide was investigated. The powder X-ray diffraction Fourier fingerprint pattern analysis technique can be used to evaluate the quantity of andrographolide and dehydroandrographolide in the herb simultaneously.

Key words: *Herba andrographitis*; andrographolide; dehydroandrographolide; powder X-ray diffraction analysis; quantitative analysis

穿心莲中药材为爵床科植物穿心莲 *Andrographis paniculata* (Burm. f.) Nees 的干燥地上部分。秋初茎叶茂盛时采割, 晒干。性味苦、寒, 归心、肺、大肠、膀胱经, 具有清热解毒、凉血、消肿的功能。穿心莲属常用中药材, 穿心莲内酯与脱水穿心莲内酯作为穿心莲药材的有效成分被收载到中国药典中, 其含量作为评价穿心莲药材质量的重要指标之一^[1, 2]。本研究拟建立一种不需要对穿心莲中药材进行任何化学处理, 直接对穿心莲药材中的穿心莲内酯及脱水穿心莲内酯进行定量检测的新方法。

本研究是利用粉末 X 射线衍射 (powder X-ray diffraction, PXRD) 的 Fourier 图谱分析方法^[3], 通过对不同茎叶比例穿心莲中药材样品中穿心莲内酯及

脱水穿心莲内酯成分研究, 获得它们特征性衍射数据; 利用高效液相色谱 (HPLC) 技术对不同茎叶比例穿心莲中药材样品中穿心莲内酯及脱水穿心莲内酯进行定量分析, 获得每个穿心莲样品中的穿心莲内酯及脱水穿心莲内酯的含量; 利用 HPLC 检测分析结果, 建立穿心莲中药材中与穿心莲内酯及脱水穿心莲内酯含量呈线性关系的特征标记峰。由此, 试图建立利用 PXRD 技术实现穿心莲中药材中穿心莲内酯及脱水穿心莲内酯含量测定的定量分析方法。

穿心莲内酯为穿心莲中提取得到的二萜内酯类化合物, 是中药穿心莲的主要活性成分之一, 在我国已作为穿琥宁、穿心莲注射液等解热镇痛药的原料大量生产。现代药理研究表明, 穿心莲内酯具有抗炎抗菌、抗病毒、抗肿瘤、免疫调节、治疗心脑血管疾病、保肝利胆、抗肿瘤等作用, 具有毒性小, 价格低的特点。2005 版中国药典规定, 穿心莲药材中含穿心莲内

收稿日期: 2009-10-23.

基金项目: 科技部科技基础性工作专项重点项目 (2007FY130100).

*通讯作者 Tel: 86-10-63165212, E-mail: luy@imm.ac.cn

酯和脱水穿心莲内酯的总量不得少于 0.80%，同时又规定穿心莲药材中叶的含量不得少于 30%。所以，对不同茎叶比例中穿心莲内酯及脱水穿心莲内酯含量的检测方法的研究对于中药材穿心莲的质量控制具有探索性的科学意义。

本研究采用 PXRD 获取 11 个不同茎叶比例的穿心莲中药材样品的全成分衍射 Fourier 指纹图谱，通过对穿心莲内酯对照品（中国药品生物制品检定所，0797-200106）及脱水穿心莲内酯对照品（中国药品生物制品检定所，110854-200306）单一成分的衍射 Fourier 图谱获取其特征标记峰；通过 HPLC 技术定量检测 11 个样品中的穿心莲内酯及脱水穿心莲内酯含量；分析计算穿心莲中药材粉末衍射 Fourier 图谱中的衍射特征峰与穿心莲内酯及脱水穿心莲内酯含量关系。

材料与方 法

样品制备 穿心莲中药材样品的编号、衍射图号、茎叶比例等信息见表 1 所示，穿心莲中药材经本所马林副研究员鉴定为来自广西的爵床科植物穿心莲 *Andrographis paniculata* (Burm. f.) Nees 的干燥地上部分。穿心莲样品经去泥沙、分拣按一定比例混匀。粉末 X 射线衍射实验用样品制备：将已混匀的样品粉碎并过 100 目筛，定量称取 100 mg；HPLC 实验用样品按照药典方法制备备用。

Table 1 Sample of *Andrographis paniculata*

No.	Figure No.	Ratio (stem : leaf)	No.	Figure No.	Ratio (stem : leaf)
1#	CXL-1	10 : 0	7#	CXL-8	4 : 6
2#	CXL-3	9 : 1	8#	CXL-9	3 : 7
3#	CXL-4	8 : 2	9#	CXL-10	2 : 8
4#	CXL-5	7 : 3	10#	CXL-11	1 : 9
5#	CXL-6	6 : 4	11#	CXL-2	0 : 10
6#	CXL-7	5 : 5			

仪器及实验条件 日本理学 Rigaku D/max-2550 粉末 X 射线衍射仪，CuK α 辐射，石墨单色器，管压 40 kV，管流 250 mA， 2θ 扫描范围 3~60°，扫描速度 8°/min，步长 0.02° 发散狭缝 1°，接收狭缝 0.3 mm，防散射狭缝 1°。

美国 Agilent 1200 高效液相色谱仪，四元泵，在线脱气机，二极管阵列 (DAD) 检测器。以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂，以甲醇-水 (52 : 48) 为流动相，穿心莲内酯检测波长为 225 nm，脱水穿心莲内酯检测波长为 254 nm。

数据分析 X 射线衍射实验数据以晶面间距 d (Å) 和衍射峰相对强度 I/I_0 表示，记为 $d/I/I_0$ 。

结果

1 X 射线衍射粉末衍射实验数据分析

图 1 为穿心莲药材粉末 X 射线衍射图谱。

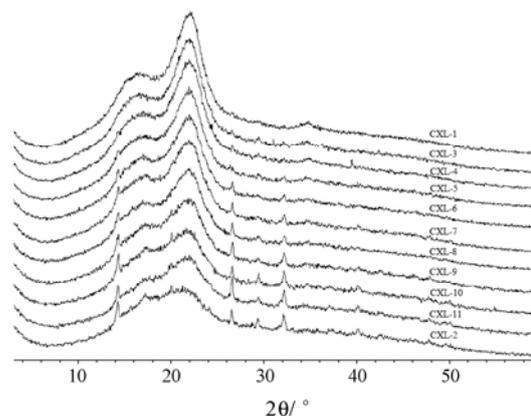


Figure 1 Powder X-ray diffraction (PXRD) Fourier fingerprint of *Andrographis paniculata*

1#: 图 1 CXL-1 所示为叶与茎比例 0 : 10 的穿心莲药材的 X 射线衍射图谱，共有 55 个衍射峰，其中穿心莲内酯的三强峰为：5.67/7.1, 3.34/15.1, 7.36/1.7；脱水穿心莲内酯的三强峰为：5.24/44.2, 6.92/12.4, 5.86/21.0。

2#: 图 1 CXL-3 所示为叶与茎比例 1 : 9 的穿心莲药材的 X 射线衍射图谱，共有 59 个衍射峰，其中穿心莲内酯的三强峰为：5.66/9.4, 3.34/16.3, 7.38/2.2；脱水穿心莲内酯的三强峰为：5.23/38.5, 6.90/11.1, 5.81/18.1。

3#: 图 1 CXL-4 所示为叶与茎比例 2 : 8 的穿心莲药材的 X 射线衍射图谱，共有 58 个衍射峰，其中穿心莲内酯的三强峰为：5.64/10.8, 3.35/24.0, 7.38/6.1；脱水穿心莲内酯的三强峰为：5.22/33.3, 6.95/9.7, 5.86/14.5。

4#: 图 1 CXL-5 所示为叶与茎比例 3 : 7 的穿心莲药材的 X 射线衍射图谱，共有 57 个衍射峰，其中穿心莲内酯的三强峰为：5.66/11.9, 3.34/28.6, 7.37/6.2；脱水穿心莲内酯的三强峰为：5.24/30.6, 6.92/8.9, 5.86/14.3。

5#: 图 1 CXL-6 所示为叶与茎比例 4 : 6 的穿心莲药材的 X 射线衍射图谱，共有 59 个衍射峰，其中穿心莲内酯的三强峰为：5.65/14.4, 3.34/50.7, 7.38/6.2；脱水穿心莲内酯的三强峰为：5.21/32.2, 6.91/7.6,

5.91/11.9。

6#: 图 1 CXL-7 所示为叶与茎比例 5 : 5 的穿心莲药材的 X 射线衍射图谱, 共有 58 个衍射峰, 其中穿心莲内酯的三强峰为: 5.66/15.4, 3.35/67.1, 7.37/10.2; 脱水穿心莲内酯的三强峰为: 5.24/27.7, 6.91/6.6, 5.87/8.8。

7#: 图 1 CXL-8 所示为叶与茎比例 6 : 4 的穿心莲药材的 X 射线衍射图谱, 共有 57 个衍射峰, 其中穿心莲内酯的三强峰为: 5.65/16.9, 3.34/68.2, 7.34/9.8; 脱水穿心莲内酯的三强峰为: 5.23/23.8, 6.91/5.4, 5.84/9.0。

8#: 图 1 CXL-9 所示为叶与茎比例 7 : 3 的穿心莲药材的 X 射线衍射图谱, 共有 58 个衍射峰, 其中穿心莲内酯的三强峰为: 5.65/19.0, 3.34/81.8, 7.39/13.3; 脱水穿心莲内酯的三强峰为: 5.21/15.9, 6.91/4.1, 5.86/7.2。

9#: 图 1 CXL-10 所示为叶与茎比例 8 : 2 的穿心莲药材的 X 射线衍射图谱, 共有 57 个衍射峰, 其中穿心莲内酯的三强峰为: 5.65/20.4, 3.35/86.3, 7.39/16.2; 脱水穿心莲内酯的三强峰为: 5.23/13.5, 6.93/3.5, 5.84/7.0。

10#: 图 1 CXL-11 所示为叶与茎比例 9 : 1 的穿心莲药材的 X 射线衍射图谱, 共有 60 个衍射峰, 其中穿心莲内酯的三强峰为: 5.64/22.5, 3.35/100.0, 7.36/17.9; 脱水穿心莲内酯的三强峰为: 5.23/11.1, 6.90/2.0, 5.86/6.9。

11#: 图 1 CXL-2 所示为叶与茎比例 10 : 0 的穿心莲药材的 X 射线衍射图谱, 共有 56 个衍射峰, 其中穿心莲内酯的三强峰为: 5.65/24.8, 3.36/100.0, 7.34/ 19.1; 脱水穿心莲内酯的三强峰为: 5.23/8.8, 6.92/1.3, 5.85/5.4。

穿心莲内酯对照品 图 2 CXLNZ 给出了穿心莲内酯对照品的 X 射线衍射图谱, 40 个衍射峰为: 18.10/12.3, 9.00/12.9, 7.37/17.3, 6.43/3.9, 5.99/14.4, 5.90/3.8, 5.64/100.0, 5.07/9.7, 5.01/10.0, 4.80/13.1, 4.61/11.7, 4.48/3.2, 4.03/4.8, 3.92/12.6, 3.67/2.3, 3.55/0.7, 3.42/3.4, 3.33/24.4, 3.27/5.0, 3.20/2.6, 3.03/3.7, 2.972/7.3, 2.855/4.2, 2.803/0.7, 2.694/0.9, 2.653/3.0, 2.562/0.7, 2.485/1.2, 2.372/0.7, 2.249/0.7, 2.198/1.0, 2.117/1.6, 2.054/1.0, 1.994/1.2, 1.956/0.8, 1.915/2.2, 1.832/0.9, 1.743/0.3, 1.627/0.5, 1.554/0.4。

脱水穿心莲内酯对照品 图 2 TSCXLNZ 给出了脱水穿心莲内酯对照品的 X 射线衍射图谱, 43 个衍射峰为: 13.97/38.0, 10.04/9.0, 8.01/34.3, 6.92/94.7,

6.20/8.0, 5.85/85.3, 5.59/2.9, 5.45/13.2, 5.22/100.0, 5.02/81.3, 4.71/37.2, 4.60/31.5, 4.37/12.8, 4.06/37.9, 3.98/53.9, 3.82/36.1, 3.74/17.5, 3.45/18.8, 3.38/6.6, 3.29/12.8, 3.16/4.6, 3.04/6.3, 3.01/18.4, 2.836/10.5, 2.738/13.0, 2.636/5.9, 2.606/4.7, 2.456/8.8, 2.411/4.5, 2.352/2.9, 2.308/4.4, 2.264/6.9, 2.199/4.2, 2.160/3.4, 2.134/4.0, 2.085/3.6, 2.047/2.6, 2.024/2.3, 1.987/2.3, 1.963/3.9, 1.871/1.8, 1.821/3.5, 1.678/1.8。

穿心莲内酯的三强峰为 5.64/100.0, 3.33/24.4, 7.37/17.3, 图 2 中以*表示; 脱水穿心莲内酯的三强峰为 5.22/100.0, 6.92/94.7, 5.85/85.3, 图 2 中以△表示。按照物相分析原则, 分别选取穿心莲内酯及脱水穿心莲内酯各组的三强峰作为穿心莲药材粉末中穿心莲内酯及脱水穿心莲内酯的定量分析特征衍射峰值, 希望获得衍射峰强与穿心莲内酯及脱水穿心莲内酯含量之间的线性关系。

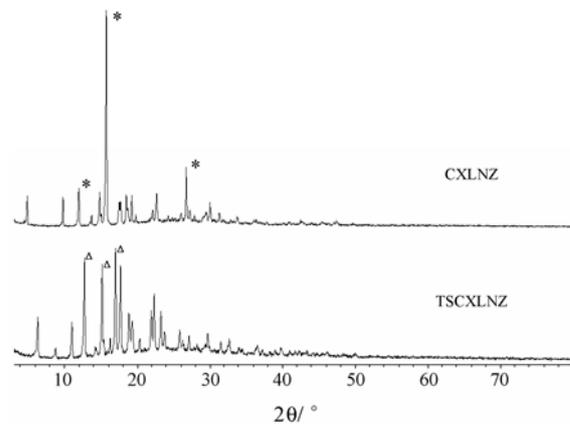


Figure 2 Powder X-ray diffraction Fourier fingerprint of andrographolide (CXLNZ) and dehydroandrographolide (TSCXLNZ)

2 穿心莲内酯及脱水穿心莲内酯衍射特征峰强与含量之间的定量分析

将 HPLC 法测定的穿心莲药材中穿心莲内酯及脱水穿心莲内酯含量与粉末 X 射线衍射分析中的穿心莲内酯主强峰 5.64/100.0 及脱水穿心莲内酯特征次强峰 6.92/94.7 的相对强度比较, 数据见表 2。

以 HPLC 测定的含量 (x) 为横坐标, 以粉末 X 射线衍射衍射峰相对强度 (y) 为纵坐标回归, 相互线性关系 (衍射特征峰的线性方程) 分别为: 穿心莲内酯 5.64Å, $y = 8.454x + 5.4913, r^2 = 0.9918$; 脱水穿心莲内酯 6.92Å, $y = 101.63x - 1.4186, r^2 = 0.9933$ 。

结果表明, $d = 5.64\text{Å}$ 和 $d = 6.92\text{Å}$ 衍射峰相对强度分别与穿心莲药材中穿心莲内酯和脱水穿心莲内酯含量呈现良好的线性关系, 同时也表明, 利用粉末 X 射线衍射 Fourier 图谱分析方法, 可实现对穿心莲

Table 2 Comparison between HPLC and PXRD for analyzing andrographolide and dehydroandrographolide in *Andrographis paniculata* (%)

Sample No.	HPLC		PXRD (I/I_0)	
	CXLNZ	TSCXLNZ	5.64Å	6.92Å
1#	0.224	0.135	7.1	12.4
2#	0.404	0.124	9.4	11.1
3#	0.577	0.112	10.8	9.7
4#	0.780	0.098	11.9	8.9
5#	1.048	0.087	14.4	7.6
6#	1.268	0.076	15.4	6.6
7#	1.406	0.069	16.9	5.4
8#	1.529	0.059	19.0	4.1
9#	1.838	0.050	20.4	3.5
10#	1.937	0.036	22.5	2.0
11#	2.261	0.022	24.8	1.3

中药材中的有效成分穿心莲内酯及脱水穿心莲内酯的定量分析。

讨论

分析 1#~11#穿心莲中药材粉末样品的 X 衍射 Fourier 图谱可以看出,穿心莲药材的叶茎的衍射图谱存在一定的差异,这种差异来源于其所含成分的不同,穿心莲内酯主要存在于叶中,脱水穿心莲内酯主要存在于茎中。

从穿心莲中药材样品中的穿心莲内酯及脱水穿心莲内酯的含量与叶茎比例的关系来看,此批次样品中,叶茎比例大于 30%的样品的穿心莲内酯与脱水穿心莲内酯的含量大于 0.80%,由此说明,药典中规定穿心莲药材中叶的比例必须大于 30%的合理性。

粉末 X 射线衍射 Fourier 指纹图谱分析方法是利用中药材中的成分对 X 射线的衍射效应而进行的鉴定分析,部分衍射峰可能由于成分的相互干扰形成重叠,在利用穿心莲中药材 X 射线衍射图谱中的特征标记峰进行穿心莲内酯及脱水穿心莲内酯定量分析时,应挑选其他成分无干扰的衍射峰作为其定量特征峰,因此选择最强峰 $d = 5.64 \text{ \AA}$ 为穿心莲内酯定量特征峰,其相关系数为 0.991 8;选择次强峰 $d = 6.92 \text{ \AA}$ 为脱水穿心莲内酯定量特征峰,其相关系数为 0.993 3。通过分析发现,粉末 X 射线 Fourier 指纹图谱中 $d = 5.64 \text{ \AA}$ 与 $d = 6.92 \text{ \AA}$ 衍射峰相对强度可以用于穿心莲中药材中的穿心莲内酯及脱水穿心莲内酯的定量分析。

中药材是一个复杂的多相体系,其所含的成分种类繁多,各种成分对 X 射线的衍射能力存在较大的差异,在实际应用中应针对不同的样品及不同的成分具体分析。

References

- [1] China Pharmacopoeia Committee. Pharmacopoeia of the People's Republic of China (中华人民共和国药典) [M]. 2005ed. Beijing: Chemical Industry Press, 2005: 189.
- [2] Xie ZW. The Collection of Chinese Traditional and Herbal Drugs (全国中草药汇编) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1996: 586.
- [3] Lü Y, Zheng QT, Wu N, et al. Studies on X ray diffraction pattern of traditional Chinese medicinal materials [J]. Acta Pharm Sin (药学报), 1997, 32: 193-198.