

# 红丝线药材的HPLC指纹图谱研究<sup>△</sup>

曹庆玺\*, 邓洁媚, 姬生国, 王 东<sup>#</sup>(广东药科大学中药学院, 广州 510006)

中图分类号 R284.1 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)36-5130-03  
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.36.28

**摘要** 目的:建立红丝线药材的高效液相色谱(HPLC)指纹图谱。方法:采用HPLC法。色谱柱为ODS-C<sub>18</sub>,流动相为甲醇-水(梯度洗脱),流速为1.0 ml/min,检测波长为370 nm,柱温为30 ℃,进样量为20 μl。以2号色谱峰为参照峰,测定11批样品的HPLC图谱,采用《中药色谱指纹图谱相似度评价系统》(2004 A版)进行共有峰指认和相似度评价。结果:11批药材样品HPLC图谱有10个共有峰,相似度均≥0.965。经验证,11批样品HPLC图谱与对照图谱具有较好的一致性。结论:该试验所建立的HPLC指纹图谱专属性强、结果稳定,可作为红丝线药材质量评价的主要依据之一。

**关键词** 红丝线;指纹图谱;高效液相色谱法;质量评价

## Study on HPLC Fingerprint of *Lycianthes biflora*

CAO Qingxi, DENG Jiemei, JI Shengguo, WANG Dong (School of Traditional Chinese Medicine, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish the HPLC fingerprints of *Lycianthes biflora*. METHODS: HPLC was performed on the column of Dima ODS-C<sub>18</sub> with mobile phase of methanol-water (gradient elution) at a flow rate of 1.0 ml/min, the detection wavelength was 370 nm, column temperature was 30 ℃, and injection volume was 20 μl. Using chromatographic peak 2, the HPLC chromatograms of 11 batches were determined, and common peak identification and similarity evaluation were conducted by using *Fingerprint Similarity Evaluation System of Traditional Chinese Medicine* (version A in 2004). RESULTS: There were 10 common peaks in the HPLC chromatograms of 11 batches, the similarity was no lower than 0.965. According to the verification, the HPLC chromatograms of 11 batches and reference patterns had a good consistency. CONCLUSIONS: The established fingerprint is specific, stable, and can be used for one of the main basis of quality evaluation of *L. biflora*.

**KEYWORDS** *Lycianthes biflora*; Fingerprint; HPLC; Quality evaluation

红丝线 *Lycianthes biflora*, 又名山蓝、红蓝、观音草, 来源于爵床科红丝线草属植物红丝线 *Peristrophe roxburghiana* (Schult.) Brem.的全草, 主产于云南、四川南部、广西、广东、江西、福建、台湾等地。作为一种民间草药, 其常用于止咳祛痰和治咯血、跌打损伤等症。《常用中草药手册》载:“淡凉, 散瘀、止血, 治跌打淤肿、急性扭挫伤、内伤咳血”<sup>[1]</sup>。《全国中草药汇编》载:“甘、淡、凉。清肺止咳, 散瘀止血。治肺结核咯血、肺炎、糖尿病、跌打损伤肿痛”<sup>[2]</sup>。研究表明, 红丝线含有可食用的、无毒的天然色素<sup>[3-4]</sup>, 还具有多种活性成分<sup>[5]</sup>, 如生物碱<sup>[6]</sup>、萜类化合物<sup>[7]</sup>、有机酸<sup>[8]</sup>、黄酮类化合物<sup>[9]</sup>、挥发油<sup>[10]</sup>、脂肪族化合物及微量元素等<sup>[11]</sup>; 红丝线提取物具有降压<sup>[12]</sup>、保肝护肝<sup>[13]</sup>、镇咳止咳<sup>[14]</sup>、抗氧化<sup>[15]</sup>等药理作用。但目前市售红丝线药材质量参差不齐, 甚有掺假, 严重影响了用药的安全性和有效性。本课题组拟通过对红丝线药材的高效液相色谱(HPLC)指纹图谱进行研究, 为其质量评价提供依据。

## 1 材料

### 1.1 仪器

LC-20AT型HPLC仪(包括SPD-20A二极管阵列检测器)、BP211B型电子天平(日本Shimadzu公司); HH-4型恒温水浴锅(江苏省金坛市宏华仪器厂); KQ-500DE型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司, 功率: 500 W, 频率: 40 kHz);

<sup>△</sup> 基金项目: 广东省科技计划项目(No.2009B030801044)

\* 硕士研究生。研究方向: 中药质量控制。E-mail: caoqingxi\_0223@163.com

<sup>#</sup> 通信作者: 副教授, 硕士。研究方向: 中药质量分析。电话: 020-39352181。E-mail: jsgwdx@126.com

RE-2000B型旋转蒸发仪(上海亚荣生化仪器厂)。

### 1.2 试剂

甲醇为色谱纯, 乙醇为分析纯, 水为重蒸水。

### 1.3 药材

11批样品(见表1)经广东药学院中药学院姬生国教授鉴定为真品。样品经低温干燥后粉碎过60目筛, 保存于密封袋内, 置于干燥器中, 备用。

表1 红丝线药材来源

Tab 1 Source of *L. biflora*

编号	来源	收集地	批号/采集日期
S1	广东	增城市	2013.8
S2	广东	真之野生百草店	2014.1
S3	广东	增城市	2012.8
S4	广东	真之野生百草店	2014.9
S5	广东	增城市	2014.8
S6	广东	广州市万松园市场第2033档	2014.8
S7	广西	广州南北行中药饮片有限公司	120817J302
S8	广东	佛山市中药饮片厂有限公司	20120201
S9	广东	广州穗霖药店	2014.8
S10	广西	广州市万松园市场第2043档	2014.8
S11	广东	鸿生草药店	2014.8

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

色谱柱: ODS-C<sub>18</sub> (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇(A)-水(B), 梯度洗脱(0~60 min, 20%→90% A); 流速: 1.0 ml/min; 检测波长: 370 nm; 柱温: 30 ℃; 进样量: 20 μl。

### 2.2 供试品溶液的制备

精密称取样品粉末1 g,置于锥形瓶中,加75%乙醇20 ml,超声处理60 min,冷却至室温,减压抽滤,滤液以旋转蒸发仪蒸干,以5 ml 80%甲醇溶解,经0.45 μm微孔滤膜滤过,即得。

### 2.3 方法学考察

2.3.1 精密度试验 取“2.2”项下供试品溶液适量,按“2.1”项下色谱条件连续进样测定6次,以2号峰的保留时间和峰面积为参照,记录各共有峰相对保留时间和相对峰面积。结果,各共有峰相对保留时间和相对峰面积的RSD均<3%(n=6),表明方法精密度良好。

2.3.2 稳定性试验 取“2.2”项下供试品溶液(批号:120817J302)适量,分别于室温下放置0、2、4、6、8 h时按“2.1”项下色谱条件进样测定,以2号峰的保留时间和峰面积为参照,记录各共有峰相对保留时间和相对峰面积。结果,各共有峰相对保留时间和相对峰面积的RSD均<3%(n=5),表明供试品溶液在室温放置8 h内基本稳定。

2.3.3 重复性试验 精密称取同一批样品(批号:120817J302)适量,按“2.2”项下方法制备供试品溶液,共6份,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,以2号峰的保留时间和峰面积为参照,记录各共有峰相对保留时间和相对峰面积。结果,各共有峰相对保留时间和相对峰面积的RSD均<3%(n=6),表明本方法重复性良好。

### 2.4 指纹图谱的建立与对照图谱的生成

2.4.1 指纹图谱的建立 取11批样品适量,按“2.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,得特征指纹图谱,详见图1。

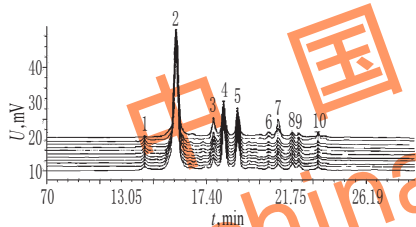


图1 11批样品高效液相色谱指纹图谱

Fig 1 HPLC chromatograms fingerprint of 11 batches of samples

2.4.2 对照图谱的生成 采用国家药典委员会发布的《中药色谱指纹图谱相似度评价系统》(2004 A版)对11批样品HPLC图谱进行图谱拟合,生成对照图谱,详见图2。结果表明,11批样品HPLC图谱共有特征峰10个,其中2号色谱峰的峰形好、分离度高、含量高,因此选择作为参照峰。

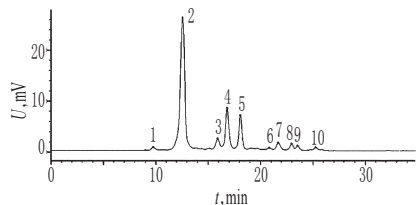


图2 11批样品高效液相色谱对照图谱

Fig 2 HPLC chromatograms control of 11 batches of samples

### 2.5 相似度分析

采用《中药色谱指纹图谱相似度评价系统》(2004 A版)对11批样品HPLC图谱进行相似度分析,结果见表2。表2显示,11批样品HPLC图谱虽然共有峰面积存在一定的差异,但整体特征相似,其相似度均≥0.965,说明11批样品HPLC图谱与对

照图谱具有较好的一致性;不同批次药材虽有差异但仍具有较好的相关性。

表2 11批样品的相似度评价结果

Tab 2 Similarity evaluation results of 11 batches of samples

峰号	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	R
S1	1.000	0.999	0.978	0.998	0.997	0.999	0.969	0.998	0.999	0.997	0.999	1.000
S2	0.999	1.000	0.973	0.997	0.996	1.000	0.965	0.997	1.000	0.996	1.000	0.999
S3	0.978	0.973	1.000	0.987	0.982	0.972	0.997	0.986	0.973	0.984	0.973	0.976
S4	0.998	0.997	0.987	1.000	0.998	0.996	0.980	1.000	0.996	0.998	0.997	0.998
S5	0.997	0.996	0.982	0.998	1.000	0.995	0.976	0.996	0.995	1.000	0.995	0.996
S6	0.999	1.000	0.972	0.996	0.995	1.000	0.962	0.997	1.000	0.995	1.000	0.999
S7	0.969	0.965	0.997	0.980	0.976	0.962	1.000	0.979	0.964	0.978	0.965	0.967
S8	0.998	0.997	0.986	1.000	0.996	0.997	0.979	1.000	0.997	0.997	0.997	0.998
S9	0.999	1.000	0.973	0.996	0.995	1.000	0.964	0.997	1.000	0.995	1.000	0.999
S10	0.997	0.996	0.984	0.998	1.000	0.995	0.978	0.997	0.995	1.000	0.995	0.996
S11	0.999	1.000	0.973	0.997	0.995	1.000	0.965	0.997	1.000	0.995	1.000	0.999
R	1.000	0.999	0.976	0.998	0.996	0.999	0.967	0.998	0.999	0.996	0.999	1.000

### 2.6 变质样品的检测

取样品适量,按“2.2”项下方法制备供试品溶液,共6份,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录色谱并与对照图谱进行叠加对比,详见图3。图3表明,两者图谱差异明显,变质的药材样品HPLC图谱与对照图谱的相似度仅为0.609,远小于规定的0.90。

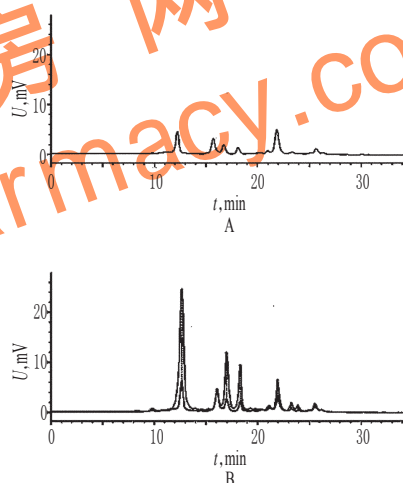


图3 变质样品与正品的高效液相色谱图

A.变质样品;B.变质样品与正品叠加图谱

Fig 3 HPLC chromatograms of degenerate sample and genuine sample

A.degenerate sample; B.superposed of degenerate sample and genuine sample

### 3 讨论

试验初期,笔者以蒸馏水,60%、100%甲醇和30%、50%、70%、75%、95%乙醇这8种溶剂作为提取溶剂进行比较,结果显示,以75%乙醇作为提取溶剂,所得供试品溶液出峰数相对较多。故最终选取75%乙醇作为提取溶剂。

以甲醇-水、乙腈-水作为流动相进行比较,发现乙腈-水系统洗脱的共有峰分离度不高,几个共有峰融合为一个峰,故选用分离度相对较好的甲醇-水为流动相进行试验;并选取了能使基线稳定、各峰均能有所体现的370 nm作为检测波长。

本试验所构建的红丝线药材HPLC指纹图谱有10个共有色谱峰,相似度均≥0.965,说明该指纹图谱可以代表红丝线药材的鉴别特征;通过与变质样品的HPLC图谱比较,可以很直观地看出变质样品的各色谱峰与对照图谱相似度差别很大,

# 近红外漫反射光谱法测定谷维素片的含量<sup>Δ</sup>

黄丽丽\*,朱健萍(广西壮族自治区食品药品检验所,南宁 530022)

中图分类号 R927 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)36-5132-03  
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.36.29

**摘要** 目的:基于近红外光谱分析技术建立谷维素片的含量测定方法。方法:采集样品的近红外漫反射光谱,利用OPUS 6.5定量分析软件建立其光谱数据与含量的数学模型,并将通过该模型获得的预测值与紫外-可见分光光度法实际测定值进行比较,以验证该模型的可靠性。结果:根据46批校正集样品的相关数据经内部交叉验证建立的定量分析模型,交叉验证决定系数为92.78%,交叉验证均方根误差为0.364%。用19批验证集样品进行外部验证,预测均方根误差为0.295%,预测值与实际测定值的相关系数达0.948 1;预测值的平均回收率为99.81%。结论:建立的定量分析模型及方法用于谷维素片的含量测定简便、快捷,结果准确。

**关键词** 近红外漫反射光谱法;谷维素片;定量分析模型;含量

## Content Determination of Oryzanol Tablet by Near Infrared Diffuse Reflectance Spectrophotometry

HUANG Lili, ZHU Jianping (Institute of Food and Drug Control, Guangxi Zhuang Autonomous Region, Nanning 530022, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish a method for the content determination of Oryzanol tablet based on near infrared (NIR) spectroscopy. METHODS: Collecting spectrums and content values of samples, mathematics model for spectrum and content was established by using OPUS 6.5, and the predicted values obtained by the model were compared with the measured values of the ultraviolet visible spectrophotometry to verify the reliability of the model. RESULTS: The coefficient of determination of established quantitative analysis model based on 46 batches of samples by cross-calibration was 92.78%, root mean square error of cross validation was 0.364%. Based on the validation of 19 batches of samples, the root mean square of prediction was 0.295%, the correlation coefficient of predicted values and measured values was 0.948 1. The mean recovery of predicted values was 99.81%. CONCLUSIONS: The established quantitative analysis model and method is simple, rapid and accurate in the content determination of Oryzanol tablet.

**KEYWORDS** Near infrared diffuse reflectance spectroscopy; Oryzanol tablet; Quantitative analysis model; Content

而这也作为变质药材品质评价的指标。综上所述,本试验所建立的HPLC指纹图谱专属性强、结果稳定,可作为红丝线药材质量评价的主要依据之一。

### 参考文献

- [1] 广州部队后勤卫生部.常用中草药手册[M].北京:人民卫生出版社,1969:852-853.
- [2] 谢宗万.全国中草药汇编[M].北京:人民卫生出版社,1996:266.
- [3] 姚小青,刘晓明,杨朝竣,等.山蓝中红丝线素的分离纯化研究与含量测定[J].中国药学杂志,2012,47(19):1 535.
- [4] 谢运昌.红丝线色素的提取和应用研究[J].广西轻工业,1993(3):29.
- [5] 刘同方,于华忠,刘建兰,等.红丝线化学成分及药理活性研究进展[J].广东农业科学,2013(19):116.
- [6] 暴惠宾.红丝线化学成分研究[D].南宁:广西大学,2009.
- [7] 陈伯财,钟锐,姬生国.十萼茄的生药学研究[J].广东药学院学报,2009,25(3):259.
- [8] 徐玉琳,张尚荣,张少欢,等.HPLC法测定红丝线草中红丝线素含量[J].中药材,2008,31(8):1 180.
- [9] 蒋红芝,陆春何.分光光度法测定红蓝草中总黄酮的含量[J].广西轻工业,2009(9):18.
- [10] 郭夫江,李援朝.麻栗坡红丝线中的酚类和酰胺类成分[J].中国中药杂志,2011,36(18):2 507.
- [11] 谢运昌,程菊英,蒋跃华,等.红丝线色素中的微量元素[J].广西轻工业,1994(3):24.
- [12] 徐玉琳,李英,林秋晓,等.红丝线草醇提取物的降压作用研究[J].今日药学,2011,21(2):77.
- [13] 秦树森,刘笑甫,张可锋.红丝线多糖对大鼠急性肝损伤的保护作用[J].华西药学杂志,2010,25(5):559.
- [14] 林志云,利红宇.红丝线的镇咳祛痰和免疫药效研究[J].广东药学,2004,14(1):37.
- [15] 杨朝竣,刘晓明,晋兴华,等.山蓝中的色素成分鉴定及体外抗氧化活性研究[J].食品工业科技,2012,33(18):156.

<sup>Δ</sup>基金项目:广西壮族自治区食品药品监督管理局食品药品安全科研项目(No.桂食药监科评[2016]8号)

\* 主管药师,硕士。研究方向:药物质量控制与评价。电话:0771-5828448。E-mail:huanglili9802@aliyun.com

(收稿日期:2015-12-31 修回日期:2016-02-28)

(编辑:张 静)