

白茅根配方颗粒的HPLC特征图谱研究[△]

张云天*, 高颖, 段华琴, 晏小云, 徐以亮(江阴天江药业有限公司, 江苏 江阴 214434)

中图分类号 R286.0;R284.1 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)06-0813-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.06.32

摘要 目的:建立白茅根配方颗粒的高效液相色谱(HPLC)特征图谱。方法:采用HPLC法。色谱柱为Megres5-C₁₈,流动相为乙腈-0.05%磷酸水溶液(梯度洗脱),流速为1.0 ml/min,柱温为30℃,检测波长为327 nm,进样量为10 μl。以绿原酸峰为参照物,分析12批白茅根配方颗粒样品,采用《中药色谱指纹图谱相似度评价系统》进行相似度评价。结果:白茅根配方颗粒的特征图谱由5个共有峰构成,12批样品的相似度≥0.926。经验证,白茅根配方颗粒中的特征峰与白茅根饮片水煎液中的色谱峰能够一一对应。结论:所建立的特征图谱可为白茅根配方颗粒的鉴别和质量评价提供参考。

关键词 白茅根配方颗粒;特征图谱;高效液相色谱法;绿原酸

Study on HPLC Characteristic Chromatogram of *Imperata cylindrica* Granules

ZHANG Yun-tian, GAO Ying, DUAN Hua-qin, YAN Xiao-yun, XU Yi-liang (Jiangyin Tianjiang Pharmaceutical Co., Ltd., Jiangsu Jiangyin 214434, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish the HPLC characteristic chromatogram of *Imperata cylindrica* granule. METHODS: HPLC method was adopted. The determination was performed on Megres5-C₁₈ column with mobile phase consisted of acetonitrile-0.05% phosphate solution (gradient elution) at the flow rate of 1.0 ml/min. The column temperature was 30℃, and detection wavelength was set at and 327 nm. The sample size was 10 μl. Using the peak of chlorogenic acid as control, 12 batches of *I. cylindrica* granules were analyzed; TCM chromatogram fingerprint similarity evaluation system was adopted to evaluate similarity. RESULTS: There were 5 common peaks in the characteristic chromatogram of *I. cylindrica* granules, and the similarity of 12 batches of sample was higher than 0.926. There was one-to-one match between characteristic peaks of *I. cylindrica* granules and chromatogram peaks of *I. cylindrical* decoction pieces. CONCLUSIONS: The established characteristic chromatogram can provide reference for the quality control and identification of *I. cylindrica* granules.

KEYWORDS *Imperata cylindrica* granule; Characteristic chromatogram; HPLC; Chlorogenic acid

白茅根为禾本科植物白茅 *Imperata cylindrica* Beauv. 的干燥根茎,一般用于血热吐血、尿血、热淋涩痛等症^[1]。有药理研究表明,白茅根可抑制脂多糖诱导小鼠巨噬细胞产生一氧化氮^[2]。白茅根配方颗粒为白茅根饮片经现代制药技术制成的单味中药颗粒剂,供医师进行中医组方使用。关于白茅根配方颗粒的质量控制方法,目前尚无国家标准,也未见相关文献报导。中药特征图谱是一种综合的、量化的鉴别手段,可用于鉴别中药的真伪、评价中药质量的均一性和稳定性^[3]。为了更全面地控制白茅根配方颗粒的质量,本研究收集了12批白茅根配方颗粒的样品,采用高效液相色谱(HPLC)法建立了相关特征图谱,现报道如下。

1 材料

1.1 仪器

1200型HPLC仪,包括G1314B可变波长检测器、Chemstation B.04.02化学工作站(美国Agilent公司);AT-330型柱温箱(天津奥特赛恩斯科学仪器有限公司);十万分之一电子天平(瑞士梅特勒-托利多公司);超声波清洗器(无锡超声电子设备厂)。

[△] 基金项目:上海市中医药标准化研究项目(No. ZYSNXD-CC-BZH)

* 副主任药师,博士。研究方向:天然产物化学及中药质量标准。电话:0510-86408091。E-mail: zhangyt@tianjiang.com

1.2 药品与试剂

白茅根配方颗粒(批号:0807071、0902026、0904017、0905211、0906193、0911018、1103022、1105124、1106262、1108101、1111126、1206077,编号为S1~S12)由江阴天江药业有限公司提供;绿原酸对照品(批号:110753-200413)购自中国食品药品检定研究院;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

2.1 色谱条件

色谱柱: Megres5-C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相: 乙腈(A)-0.05%磷酸水溶液(B),梯度洗脱(0~10 min, 8% A; 11~15 min, 8%→9% A; 16~30 min, 9%→16% A; 31~35 min, 16%→18% A; 36~40 min, 18%→21% A; 41~45 min, 21%→25% A; 46~60 min, 25%→70% A; 61~70 min, 70% A);进样量: 10 μl;流速: 1.0 ml/min;检测波长: 327 nm;柱温: 30℃。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液 取绿原酸对照品适量,精密称定,加50%甲醇制成每1 ml含绿原酸10 μg的溶液,即得。

2.2.2 供试品溶液 取本品适量,研细,取约0.2 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入30%乙醇20 ml,密塞,称定质量,超声(功率: 250 W,频率: 50 kHz)处理30 min,放冷,再次精

密称定,用30%乙醇补足减失的质量,摇匀,滤过,即得。

2.3 方法学考察

2.3.1 精密度试验 取样品(S10)适量,精密称定,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件连续进样6次,记录峰面积。结果,RSD<2%(n=6),表明仪器精密度良好。

2.3.2 稳定性试验 精密称取样品(S10)适量,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,分别于放置0、2、4、8、16、24 h时按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果,RSD<3%(n=6),表明供试品稳定性良好。

2.3.3 重复性试验 精密称取样品(S10)适量,按“2.2.2”项下方法平行制备6份供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果,RSD<3%(n=6),表明该方法重复性良好。

2.4 特征图谱的构建与评价

2.4.1 特征峰的确定 按“2.1”项下色谱条件对12批白茅根配方颗粒进行测定,记录色谱图,详见图1。由图1可见,色谱峰1~5为12批样品的共有峰,因此确定色谱峰1~5为白茅根配方颗粒的特征峰。其中,2号峰经指认为绿原酸,该峰面积占各色谱峰总面积的比例较高,且含量稳定,故选择该峰作为参照峰(s)。12批白茅根配方颗粒样品的特征图谱见图2。

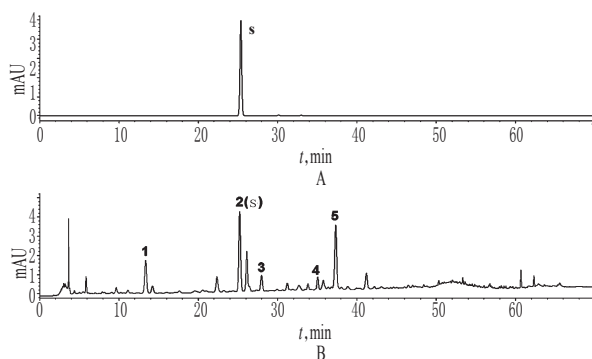


图1 12批白茅根配方颗粒的共有峰
A.绿原酸对照品;B.白茅根配方颗粒;s.绿原酸

Fig 1 Common peaks of 12 batches of *I. cylindrica* granules

A.chlorogenic acid control;B.*I. cylindrica* granules;s.chlorogenic acid

表1 12批白茅根配方颗粒特征图谱相似度评价结果

Tab 1 Similarity evaluation of characteristic chromatograms of 12 batches of *I. cylindrica* granule

编号	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	相似度
S1		0.763	0.921	0.971	0.913	0.969	0.761	0.762	0.902	0.928	0.987	0.980	0.926
S2	0.763		0.930	0.872	0.934	0.823	0.963	0.961	0.912	0.902	0.790	0.811	0.932
S3	0.921	0.930		0.967	0.979	0.969	0.902	0.900	0.949	0.959	0.927	0.929	0.985
S4	0.971	0.872	0.967		0.975	0.971	0.874	0.873	0.955	0.971	0.971	0.977	0.981
S5	0.913	0.934	0.979	0.975		0.949	0.931	0.931	0.945	0.954	0.911	0.932	0.985
S6	0.969	0.823	0.969	0.971	0.949		0.807	0.808	0.912	0.935	0.958	0.949	0.953
S7	0.761	0.963	0.902	0.874	0.931	0.807		0.997	0.918	0.906	0.788	0.837	0.935
S8	0.762	0.961	0.900	0.873	0.931	0.808	0.997		0.921	0.908	0.791	0.839	0.935
S9	0.902	0.912	0.949	0.955	0.945	0.912	0.918	0.921		0.997	0.935	0.944	0.970
S10	0.928	0.902	0.959	0.971	0.954	0.935	0.906	0.908	0.997		0.952	0.958	0.977
S11	0.987	0.790	0.927	0.971	0.911	0.958	0.788	0.791	0.935	0.952		0.987	0.934
S12	0.980	0.811	0.929	0.977	0.932	0.949	0.837	0.839	0.944	0.958	0.987		0.951
相似度	0.926	0.932	0.985	0.981	0.985	0.953	0.935	0.935	0.970	0.977	0.934	0.951	

2010年版《中国药典》(一部)仅对白茅根药材的性状和鉴别作了描述,但无指标成分的含量测定^[1];笔者查阅文献,发现报道的指标成分主要有白茅素、芦竹素^[4]、Siderin^[5-6]、绿原酸^[7-8]

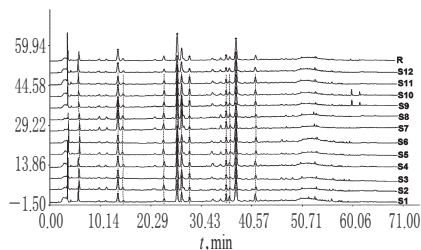


图2 12批白茅根配方颗粒的特征图谱

Fig 2 Characteristic chromatograms of 12 batches of *I. cylindrica* granules

2.4.2 相似度评价 将所得到的色谱数据导入《中药色谱指纹图谱相似度评价系统》(2004 A版)中进行数据处理,设定参照图谱,采用多点校正将色谱峰自动匹配,然后生成对照图谱,进行相似度评价,结果见表1。由表1可见,12批样品的相似度 ≥ 0.926 ,说明该12批的白茅根配方颗粒的相似度很高。

2.4.3 相关性验证 将白茅根配方颗粒的特征图谱与白茅根饮片水煎液HPLC图谱进行比较。结果显示,白茅根配方颗粒中的特征峰与白茅根饮片水煎液中的色谱峰能够一一对应,详见图3。

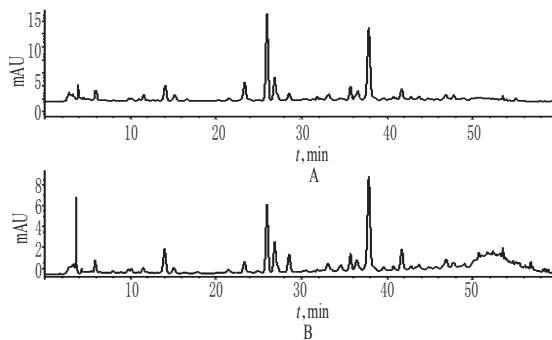


图3 白茅根饮片和白茅根配方颗粒的相关性验证
A.白茅根饮片;B.白茅根配方颗粒

Fig 3 Relativity validation of *I. cylindrica* decoction pieces and *I. cylindrica* granule

A. *I. cylindrica* decoction pieces; B. *I. cylindrica* granules

3 讨论

和联苯双酯^[9]等。白茅根配方颗粒是以水为溶剂加工制成的,绿原酸的含量高于上述几种脂溶性成分,并且其抗菌、抗病毒和保肝利胆等药理作用与白茅根的效用一致,因此本研究选

畚药小香勾中补骨脂素的定性鉴别与含量测定^Δ

余华丽*, 王伟影#, 毛菊华, 陈张金(丽水市食品药品检验所, 浙江 丽水 323000)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)06-0815-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.06.33

摘要 目的:建立畚药小香勾中补骨脂素的定性鉴别和含量测定方法。方法:采用薄层色谱(TLC)法进行定性鉴别,并采用高效液相色谱法进行含量测定。色谱柱为Agilent Zorbax XDB-C₁₈,流动相为甲醇-水(55:45, V/V),流速为1.0 ml/min,柱温为30 ℃,检测波长为246 nm,进样量为10 μl。结果:小香勾的TLC图斑点清晰、分离度好;补骨脂素的质量浓度在0.645 6~21.52 μg/ml范围内与峰面积呈良好的线性关系($r=0.999\ 9$);精密性、稳定性、重复性试验的RSD<2%;平均加样回收率为99.61%,RSD=1.37%($n=6$)。结论:该方法简便易行、准确、重复性好,可用于畚药小香勾的质量控制。

关键词 畚药;小香勾;补骨脂素;薄层色谱法;高效液相色谱法

Qualitative Identification and Content Determination of Psoralen in Traditional She Medicine Xiaoxianggou

YU Hua-li, WANG Wei-ying, MAO Ju-hua, CHEN Zhang-jin(Lishui Institute for Food and Drug Control, Zhejiang Lishui 323000, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish the method for qualitative identification and content determination of psoralen in traditional She medicine Xiaoxianggou. METHODS: TLC method was adopted for qualitative identification, and HPLC method was used for the content determination. The determination was performed on Agilent Zorbax XDB-C₁₈ column with mobile phase consisted of methanol-water (55:45, V/V) at flow rate of 1.0 ml/min. The column temperature was 30 ℃, and detection wavelength was set at 246 nm. The sample size was 10 μl. RESULTS: TLC spots of Xiaoxianggou were clear and well-separated. The linear range of psoralen were 0.645 6-21.52 μg/ml ($r=0.999\ 9$) with average recovery of 99.61% (RSD=1.37%, $n=6$). RSDs of precision, stability and reproducibility tests were lower than 2%. CONCLUSIONS: The method is simple, accurate and reproducible, and can be used for the quality control of traditional She medicine Xiaoxianggou.

KEYWORDS Traditional She medicine; Xiaoxianggou; Psoralen; TLC; HPLC

择绿原酸作为白茅根配方颗粒特征图谱中的指标成分。

笔者曾比较了Megres5-C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm)、Lichrospher-C₁₈(200 mm×4.6 mm, 5 μm)及ZORBAX Eclipse XDB-C₁₈(100 mm×4.6 mm, 5 μm)3种色谱柱的分离效果,结果Megres5-C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm)的分离效果更为理想。笔者又筛选了甲醇-水、乙腈-水、乙腈-0.05%磷酸水溶液等不同流动相系统,结果以乙腈-0.05%磷酸水溶液进行梯度洗脱,所得色谱图的基线平稳、峰形良好、分离度高。在供试品溶液的制备过程中,笔者比较了不同溶剂(甲醇、70%甲醇、50%甲醇、30%甲醇、70%乙醇、50%乙醇和30%乙醇)的提取效果,结果表明,30%乙醇作为提取溶剂测得样品中绿原酸的含量最高。

综上所述,本研究所建立的特征图谱精密性、稳定性、重复性良好,可为白茅根配方颗粒的鉴别和质量评价提供参考。

参考文献

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[S]. 2010年

^Δ 基金项目:丽水市科技局资助项目(No.2012CXTD09-05; 2012CXTD11-03)

* 主管中药师。研究方向:中药材(饮片)质量控制及分析。电话:0578-2183956。E-mail:516739410@qq.com

通信作者:主管中药师。研究方向:中药材(饮片)质量控制及分析。电话:0578-2183956。E-mail:onlyying0508@gmail.com

版.北京:中国医药科技出版社,2010:99.

[2] 廖晖, Linda KB, David NL. 12味止血中药对脂多糖诱导小鼠巨噬细胞产生一氧化氮的抑制作用[J]. 中国药房, 2007, 18(9):649.

[3] 胡汉昆, 刘薇芝, 刘萍, 等. 中药特征图谱技术在中药鉴定中的应用[J]. 中国医院药学杂志, 2009, 29(11):936.

[4] 路金才, 孙启时, 王明雷, 等. 白茅根中芦竹素和白茅素的含量测定[J]. 沈阳药科大学学报, 1996, 13(4):290.

[5] 赵燕燕, 曹悦, 孙启时. RP-HPLC法测定白茅根中Siderin含量[J]. 沈阳药科大学学报, 2007, 24(2):86.

[6] 赵燕燕, 贾凌云, 孙启时. 白茅根药材的指纹图谱[J]. 沈阳药科大学学报, 2002, 19(5):352.

[7] 王海侠, 姚青春, 时维静, 等. 白茅根中绿原酸的提取与含量测定[J]. 中国中医药科技, 2010, 17(4):331.

[8] 冯丽华, 江丰, 汪玢, 等. HPLC法测定白茅根中绿原酸的含量[J]. 江西化工, 2005(4):104.

[9] 焦昌梅, 乔善宝, 崔冬梅, 等. HPLC法测定不同产地白茅根中联苯双酯的含量[J]. 广东化工, 2011, 38(6):203.

(收稿日期:2014-06-07 修回日期:2014-11-21)

(编辑:孙冰)