

湘玉竹 HPLC 指纹图谱研究

刘 婷 钟晓红 周 舟

(湖南农业大学园艺园林学院, 湖南 长沙 410128)

摘 要 采用高效液相色谱法对湘玉竹进行了指纹图谱分析。采用 Welchrom-C8(4.6 mm×250 mm, 5 μm) 色谱柱, 0.2% 磷酸水-乙腈为流动相, 梯度洗脱。结果表明, 建立湘玉竹 HPLC 指纹图谱, 标定 10 个共有指纹峰。该方法准确、可靠、有效, 可为评价湘玉竹提供科学依据。

关键词 湘玉竹, 高效液相色谱法, 指纹图谱

中图分类号 S567.23

文献标识码 A

文章编号 1006-060X(2011)13-0137-02

Analysis of Fingerprint for *Polygonatum odoratum* by HPLC

LIU Ting, ZHONG Xiao-hong, ZHOU Zhou

(College of Horticulture and Landscape, HNAU, Changsha 410128, PRC)

Abstract: Using high performance liquid chromatographic (HPLC) method to conduct the analysis of fingerprint for *Polygonatum odoratum*. The method use Welchrom-C8 (4.6 mm×250 mm, 5 μm) chromatographic column, 0.2% phosphoric acid-acetonitrile solution as mobile phase with a gradient elution to establish the HPLC fingerprint of *Polygonatum odoratum*, in which 10 common peaks in fingerprint were demarcated. This method is accurate, reliable and effective which provides an important basis for evaluating *Polygonatum odoratum*.

Key words: *Polygonatum odoratum*; HPLC; fingerprint

玉竹(*Polygonatum odoratum*(Mill.) Druce), 别名铃铛菜、尾参、地管子、甜草根, 是百合科黄精属多年生草本植物, 药材为干燥的根茎。玉竹为湖南省地道药材, 其中猪屎尾参应用最广, 商品药材称为湘玉竹。玉竹的分布较广, 在黑龙江、吉林、辽宁、河北、山西、内蒙古、甘肃、青海、山东、河南、湖北、湖南、安徽、江西、江苏、台湾等地均可生长^[1-2]。玉竹含有氨基酸、微量元素、多糖、苷类、甾醇、挥发油等其他成分。玉竹的功能表现在养阴润燥, 除烦, 止渴, 可治热病伤阴、咳嗽烦渴、虚劳发热、消谷易饥等症^[3]。近年来药理研究表明, 除上述功效外, 玉竹的甾醇提取物能增强免疫力, 煎剂有扩张血管、抗急性心肌缺血、降压、抗衰老、抗菌等作用, 注射液有降血脂、抗动脉粥样硬化、抗肿瘤的作用^[4]。近年来有很多关于玉竹化学、药理等方面的研究, 本试验采用高效液相色谱法^[5-6]对玉竹的 HPLC 指纹图谱进行了研究, 可为其鉴别、质量评价以及质量标准制定提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材 料

收稿日期 2011-04-02

作者简介 刘 婷(1986-), 女, 湖南长沙市人, 硕士研究生, 研究方向为园艺植物功能成分的研究与利用。

1.1.1 供试材料 玉竹药材, 10 批药材均采自于湖南省的不同地方。

1.1.2 试剂与仪器 试剂: 薯蓣皂苷对照品购自成都曼斯特生物科技有限公司, 纯度大于或等于 98%; 乙腈为色谱纯, 其余试剂均为分析纯, 水为重蒸馏水。

仪器: 岛津 LC-20AT 高效液相色谱仪; DAD 检测器; R-1001 型旋转蒸发仪; AL104 型电子分析天平。

1.2 方 法

1.2.1 色谱条件 色谱柱: Welchrom-C8(4.6×250 mm, 5 μm) 柱; 流动相: 乙腈(A)—0.2%磷酸水(B); 洗脱梯度 0.01~45 min, 1%A~65%A, 45~55 min, 65%A~90%A, 55~65 min, 90%A~100%A; 体积流量 1.0 mL/min; 柱温 25℃; 检测波长 203 nm; 运行时间 70 min。

1.2.2 供试品溶液的制备 取玉竹粉末 2 g, 精密称定, 置平底烧瓶中, 加甲醇 40 mL, 超声提取 0.5 h, 提取 3 次, 过滤, 滤液浓缩, 残渣加甲醇溶解并定容至 10 mL。用微孔滤膜(0.45 μm)过滤, 取续滤液, 即得。

1.2.3 试验设计 (1)精密度试验: 分别精密吸取同一供试品溶液, 连续进样 5 次, 每次 20 μL, 按上述方法色谱条件测定。计算各峰峰面积, 如 RSD

值 $\leq 3\%$ 表明该方法精密度良好。(2)稳定性试验:取同一供试品溶液,分别在 0, 2, 6, 12, 24 h 检测,测得各共有峰相对保留时间和相对峰面积比值的 RSD 值 $\leq 3\%$,表明供试品溶液在 24 h 内稳定。(3)重复性试验:取同一批玉竹药材,按 1.2.2 方法制备供试品溶液 5 份,分别进样,每次 20 μL ,按上述方法色谱条件测定。计算各峰峰面积,如 RSD 值 $\leq 3\%$,表明该方法重复性良好。

2 结果与分析

2.1 指纹图谱的建立^[7-8]

精密吸取供试品溶液各 20 μL ,注入高效液相色谱仪,进行检测。同一试验条件下,测定 10 批玉竹供试品 HPLC 色谱图,结果如图 1 所示,在 10 批玉竹的指纹图谱中含有 9 个共有峰,其中 6 号峰属于皂苷,是特征峰。

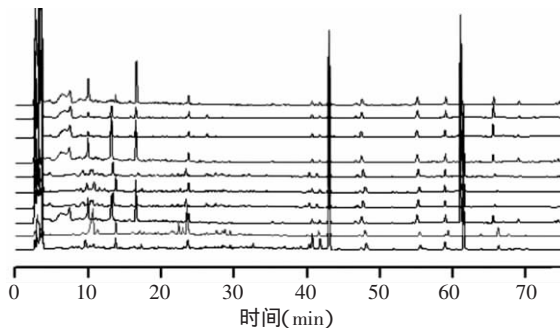


图 1 10 批湘玉竹的指纹图谱

2.2 共有指纹峰的标定

对各色谱峰的相对保留时间进行了计算,结果如表 1 所示,10 批玉竹药材色谱峰相对保留时间稳定,RSD 为 0.147%~1.786%,符合指纹图谱

表 1 指纹图谱共有峰的相对保留时间比较

样品号	峰号								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	0.227	0.320	0.552	0.946	0.970	1	1.378	1.426	1.536
2	0.233	0.321	0.552	0.946	0.971	1	1.376	1.426	1.533
3	0.231	0.319	0.553	0.947	0.970	1	1.378	1.425	1.533
4	0.232	0.322	0.558	0.944	0.972	1	1.372	1.424	1.535
5	0.226	0.321	0.558	0.943	0.972	1	1.373	1.424	1.536
6	0.227	0.318	0.554	0.945	0.970	1	1.375	1.424	1.540
7	0.220	0.318	0.555	0.945	0.971	1	1.374	1.423	1.541
8	0.226	0.320	0.551	0.942	0.973	1	1.378	1.420	1.538
9	0.225	0.320	0.552	0.939	0.974	1	1.377	1.419	1.539
10	0.223	0.322	0.554	0.948	0.973	1	1.377	1.418	1.537
均值	0.227	0.320	0.554	0.944	0.972	1	1.376	1.423	1.537
RSD	1.786	0.453	0.446	0.279	0.147	1	0.160	0.202	0.178

RSD $\leq 3\%$ 要求。

2.3 相似度的计算

将测定结果导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”(中国药典委员会 2004A 版)进行计算,得到 10 批玉竹药材与对照指纹图谱相似度的结果均大于 0.9,表明各批次玉竹药材之间具有良好的一致性。本方法可用于综合评价药材的整体质量。

3 讨论

(1)提取方法的确定:本试验中考察了 2 种提取方法,即超声提取、回流提取,依法操作,超声法提取方法提取的供试品溶液的特征峰较多,因此选用回流的方法。

(2)流动相的选择:本试验曾用乙腈-水、甲醇-水、乙腈-0.1%磷酸水、乙腈-0.2%磷酸水、乙腈-0.3%磷酸水系统进行梯度洗脱,结果发现,乙腈-0.2%磷酸水系统进行梯度洗脱可以达到较好的分离效果。

(3)检测波长的选择:试验中考察了波长 203、210、254、289、310 nm 下的色谱图,综合分析,选择 203 nm 波长作为本指纹谱的测定波长。

(4)相似度的评价:本试验将 10 批玉竹药材的指纹图谱导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统 2004A 版”软件,结果表明 10 批玉竹药材的色谱图相似度均大于 0.9,相似度较好。该试验用了 10 批药材,保证了试验方法具有代表性,可通过本方法制定标准指纹图谱来控制玉竹药材质量。

参考文献:

- [1] 江苏新医学院. 中药大辞典[M]. 上海:上海人民出版社,1977.
- [2] 陈礼刚,刘情,谢晶,等. 玉竹保健内酯豆腐制作工艺的初步研究[J]. 湖南农业科学,2011(2):101-103.
- [3] 黄兆胜. 中药学[M]. 北京:人民卫生出版社,2002.
- [4] 周晔,唐铨,高翔,等. 中药玉竹的研究进展[J]. 天津医科大学学报,2005,11(2):328-330.
- [5] 余海兰,方京京. 高效液相色谱法同步测定蔬菜中硝酸盐和亚硝酸盐含量[J]. 湖南农业科学,2010(4):97-99.
- [6] 王明军,郭治友. 高效液相色谱法对黔南产 3 种野菜维生素 C 含量的测定[J]. 广东农业科学,2010,37(8):251-252.
- [7] 张芬,李达,吕长平,等. 兰花 SRAP 指纹图谱的构建[J]. 湖南农业科学,2011(2):129-132.
- [8] 蔡利,李秋潼,黎洪利,等. 烟用香精指纹图谱相似度评价方法的选择[J]. 安徽农业科学,2010(23):12925-12926.

(责任编辑:石君)