

文章编号 :1000-4025(2004)11-2092-04

# 藏药抱茎獐牙菜 HPLC 指纹图谱研究\*

纪兰菊, 保 怡, 马玉花, 陈桂琛

(中国科学院西北高原生物研究所, 西宁 810001)

**摘 要** 采用反相高效液相色谱-二极管阵列的检测方法, 对不同产地的 10 批野生和栽培抱茎獐牙菜药材的水溶性成分进行了分析, 建立了抱茎獐牙菜药材的指纹图谱。色谱柱为 V P-ODS C<sub>18</sub> 柱(5 μm, 150 mm × 4.6 mm), 流动相为甲醇-0.02% 的磷酸水溶液, 检测波长 254 nm。用文中的最佳条件可较全面地反映抱茎獐牙菜的主要成分, 为藏药抱茎獐牙菜的质量控制提供了科学依据。

**关键词** 藏药 抱茎獐牙菜 指纹图谱 反相高效液相色谱-二极管阵列的检测方法

中图分类号 Q 946.91 文献标识码 A

## Study on the chromatographic fingerprint of Tibet herb *Swertia franchetiana* by HPLC

JIL an-ju, BAO Yi, MA Yu-hua, CHEN Gui-chen

(Northwest Plateau Institute of Biology, Chinese Academy of Sciences, Xining 810001, China)

**Abstract** The chromatographic fingerprint of *Swertia franchetiana* H. Smith has been set up by high performance liquid chromatography-diode-array detection method for ten batches herbs collected in different districts of Qinghai-Tibet Plateau. The analysis was performed on a V P-ODS C<sub>18</sub> (5 μm, 150 mm × 4.6 mm) eluted with methanol and 0.02% aqueous phosphoric acid as mobile phase and with UV detection at 254 nm. A general fingerprint acquaintance of main constituents in *S. franchetiana* can be obtained by HPLC method, which provides scientific indexes for quality of *S. franchetiana*.

**Key words** Tibet herb *Swertia franchetiana* H. Smith chromatographic fingerprint high performance liquid chromatography-diode-array detection

抱茎獐牙菜(*Swertia franchetiana* H. Smith)为龙胆科(Gentianaceae)獐牙菜属植物, 分布于西藏、青海、四川及甘肃等地。为藏族民间常用的一种草药, 藏名为“蒂达”, 也泛称“藏茵陈”。本品性凉味苦, 有清热解毒, 利胆退黄之功能, 对黄疸性肝炎有显著疗效, 民间药用全草治疗肝胆系统疾病。抱茎獐牙菜药材已正式投产, 产品有单方和组方<sup>[1]</sup>。对抱茎獐牙菜药材的成分在植物中的分布及含量已有报道<sup>[2~4]</sup>, 但对其指纹图谱的研究未见报道, 为进一步评价其入药药材的质量和药理功能, 我们利用反相

高效液相对抱茎獐牙菜药材的指纹图谱进行了研究。

## 1 实验部分

### 1.1 仪器、试剂与材料

LC-10A TVP 二元泵(岛津) Rheodyne 7725 进样器(美国) SPD-M 10A VP 二极管阵列检测器(岛津) Class-VP 液相色谱工作站(岛津) 2200B 超声波仪; C<sub>18</sub> 硅胶小柱(1 mL, Waters)。

HPLC 级甲醇购自山东省禹王公司; 分析纯甲

\* 收稿日期 2003-12-09 修改稿收到日期 2004-06-22

基金项目 国家中西部专项“青藏高原重要藏药材产业化种植技术研究”(200BA901A47)

作者简介 纪兰菊(1952-), 女, 北京人, 副研究员, 主要从事藏药药化研究工作。

醇 磷酸购自上海化学试剂公司。

10 批成熟期抱茎獐牙菜药材分别采集：青海省平安县；商购；青海省青沙山；青海省大黑沟；青海省西宁栽培药材；青海省海东；青海省西宁市；西藏；青海省西宁大墩岭；10 青海省同仁县麦秀林场。

### 1.2 色谱分析条件

色谱柱：VP-ODS  $C_{18}$  柱 (5  $\mu\text{m}$ , 150 mm  $\times$  4.6 mm)；流动相：甲醇-0.02% 磷酸水溶液；流速：1.0 mL/min；检测波长：254 nm；柱温：室温；分析时间：70 min；进样量：20  $\mu\text{L}$ 。

### 1.3 供试品溶液的制备

分别取上述不同产地的抱茎獐牙菜药材，全株剪碎，置超微粉碎机中粉碎 20 min，精密称取 0.5 g，置 100 mL 锥形瓶中，加甲醇 20 mL，置 80  $^{\circ}\text{C}$  水浴锅上回流 2 h，放冷至室温，过滤，滤液于 25 mL 容量瓶中，用甲醇定容，摇匀后经  $C_{18}$  硅胶小柱做脱脂处理，即先用 5 mL 蒸馏水活化小柱，即用 5 mL 甲

醇预先淋洗，再用 10 mL 蒸馏水洗脱后，将样品提取液直接上柱，弃取初滤液，收集续滤液为供试品溶液。

## 2 结果与分析

### 2.1 流动相及检测波长的选择

精密吸取供试品溶液 20  $\mu\text{L}$  进样，分别以甲醇-水、甲醇-醋酸水溶液 (0.02% ~ 0.1%)、甲醇-磷酸水溶液 (0.02% ~ 0.1%)、乙腈-磷酸水溶液 (0.02% ~ 1%)，进行不同比例的等度及梯度试验，记录 190 ~ 370 nm 波长处的色谱图。结果表明，以甲醇-磷酸水溶液 0.02%，梯度洗脱程序为 0~18 min，甲醇的体积分数 (下同) 由 25% 线性增加至 35%；18~40 min，甲醇由 40% 线性增加至 50%；40~70 min，甲醇由 55% 线性增加至 100% 的洗脱条件和检测波长为 254 nm 条件为佳。供试品中各色谱分离峰基本达到基线分离 (图 1)。

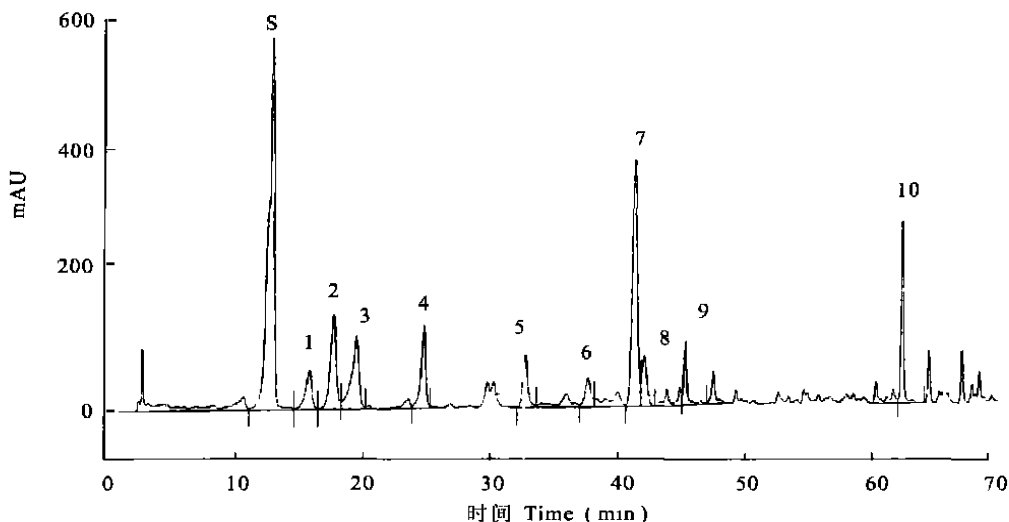


图 1 样品色谱图

Fig 1 Chromatogram of samples

### 2.2 精密度试验

以同一供试品溶液进样，每次 20  $\mu\text{L}$ ，重复 5 次，检测供试品药材中的各共有峰的保留时间和峰

面积，计算峰号 1~10 的相对保留时间 ( $R_{RT}$ ) 的 RSD (%) 和峰面积 ( $R_A$ ) 的 RSD (%)，结果见表 1。

表 1 精密度测定

Table 1 Determination of precision

峰号 No. of peak	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
$R_{RT}$ 的 RSD RSD of $R_{RT}$ (%)	0.92	1.28	1.57	2.50	2.52	2.62	4.49	2.56	2.78	2.86
$R_A$ 的 RSD RSD of $R_A$ (%)	3.52	3.31	3.72	1.97	4.08	2.81	2.59	3.07	4.32	3.76

### 2.3 稳定性试验

取上述供试品溶液,分别间隔 2 h 进样,每次 20  $\mu$ L,重复 5 次,计算峰号 1~ 10 的相对保留时间

( $R_{RT}$ )的 RSD (%)和峰面积( $R_A$ )的 RSD (%),结果见表 2 .

表 2 稳定性测定

Table 2 Detem ination of stability

峰号 No. of peak	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
$R_{RT}$ 的 RSD RSD of $R_{RT}$ (%)	0.09	0.21	0.44	0.63	0.63	0.67	0.75	0.67	0.81	0.85
$R_A$ 的 RSD RSD of $R_A$ (%)	4.05	4.22	3.76	2.82	2.25	4.52	2.03	2.24	2.13	1.20

### 2.4 重复性试验

按供试品溶液制备方法分别制备 5 份样品,分

别测定,计算峰号 1~ 10 的相对保留时间( $R_{RT}$ )的 RSD (%)和峰面积( $R_A$ )的 RSD (%),结果见表 3 .

表 3 重复性测定

Table 3 Detem ination of repeat

峰号 No. of peak	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
$R_{RT}$ 的 RSD RSD of $R_{RT}$ (%)	0.30	0.40	1.30	0.94	1.03	1.08	1.30	0.99	1.13	1.61
$R_A$ 的 RSD RSD of $R_A$ (%)	3.88	3.45	3.10	2.20	3.24	1.64	0.57	3.96	3.30	1.34

### 2.5 抱茎獐牙菜药材的指纹图谱及技术参数

2.5.1 指纹图谱的选择及特征峰的标定 按照中药指纹图谱研究技术<sup>[5]</sup>要求,根据 10 批供试品的 HPLC 图谱所给出的相关参数,抱茎獐牙菜药材中水溶性的所有成分色谱峰在 70 min 之内全部出现,

由于在 12 min 左右出现的峰为主要峰,选择此峰为参考峰(s),其它特征峰依次标号为 1~ 10(图 1)同时对 10 批药材的色谱分离图进行叠加比较(图 2) . 根据色谱归一化分析,抱茎獐牙菜药材 HPLC 指纹图谱的共有特征峰面积总和> 90% .

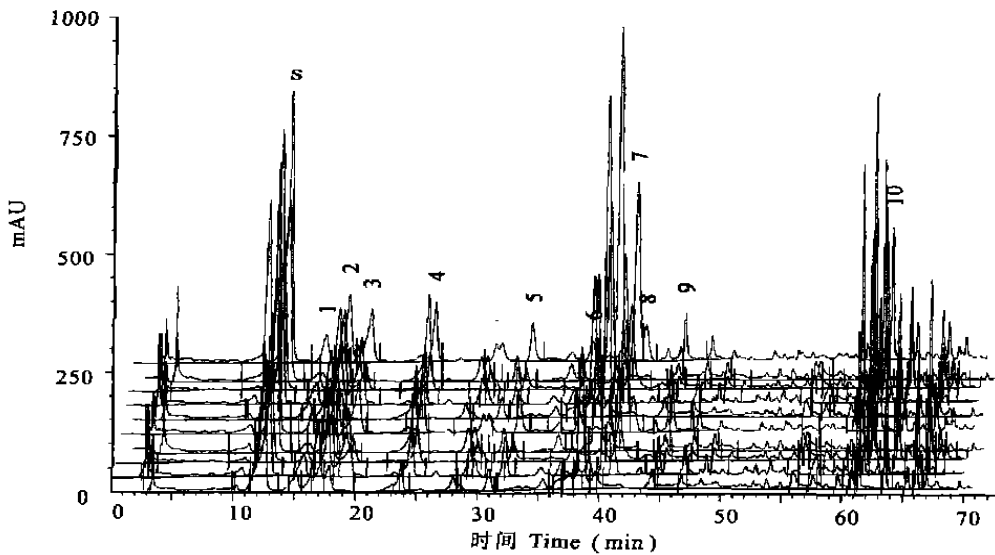


图 2 10 批抱茎獐牙菜药材色谱分离叠加图  
(色谱分离图从下到上依次为样品 1~ 10)

Fig 2 Overlap chromatogram of separation ten batches of herbs  
(From below to top chromatogram of separation 1~ 10)

2.5.2 特征峰相对保留时间及相对峰面积积分比值 以保留时间为 12 min 左右的峰为参考峰(S),对 10 批供试品中,各指纹特征峰进行相对保留时间( $R_{RT}$ )及相对峰面积( $R_A$ )的计算(表 4、表 5)。

### 3 结 论

选用反相高效液相色谱法与二级管阵列检测器

联用方法,对中药材进行指纹图谱的研究,解决了中药缺乏测定标准品的难题,同时可获得全面反映药材特性的色谱分离图,制定出系统性、特征性和稳定性均较好的药材指纹图谱,并转换成稳定、易于比较的共有模式参数,为中药材的质量标准检测和品质评价,提供了快速、准确、全面的分析方法。

表 4 抱茎獐牙菜药材的 HPLC 特征峰  $R_{RT}$

Table 4 HPLC  $R_{RT}$  of *Swertia franchetiana*

样品号 No. of sample	S	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	1.00	1.23	1.38	1.46	1.96	2.58	3.15	3.22	3.33	3.72	5.17
2	1.00	1.23	1.38	1.52	1.93	2.54	2.91	3.20	3.36	3.54	4.86
3	1.00	1.23	1.38	1.53	1.95	2.57	2.95	3.25	3.45	3.56	4.91
4	1.00	1.22	1.38	1.53	1.96	2.57	3.07	3.25	3.43	3.56	4.97
5	1.00	1.24	1.39	1.54	1.98	2.59	3.12	3.27	3.41	3.81	5.00
6	1.00	1.19	1.38	1.45	1.97	2.60	3.18	3.25	3.36	3.76	5.23
7	1.00	1.24	1.39	1.61	2.04	2.61	3.12	3.34	3.48	3.70	5.16
8	1.00	1.20	1.39	1.48	1.97	2.59	3.17	3.24	3.34	3.72	5.16
9	1.00	1.24	1.38	1.52	1.97	2.58	2.96	3.26	3.31	3.64	5.04
10	1.00	1.24	1.39	1.56	2.02	2.61	3.13	3.31	3.45	3.65	5.17

表 5 抱茎獐牙菜药材的 HPLC 特征峰  $R_A$

Table 5 HPLC  $R_A$  of *Swertia franchetiana*

样品号 No. of sample	S	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	1.00	0.15	0.53	0.15	0.14	0.10	0.13	0.77	0.12	0.09	0.39
2	1.00	0.08	0.35	0.30	0.16	0.10	0.05	0.88	0.05	0.06	0.40
3	1.00	0.04	0.44	0.20	0.20	0.13	0.10	0.57	0.04	0.06	0.40
4	1.00	0.05	0.05	0.25	0.28	0.16	0.04	1.29	0.05	0.04	0.99
5	1.00	0.13	0.27	0.31	0.18	0.14	0.05	1.90	0.06	0.04	0.24
6	1.00	0.11	0.84	0.18	0.37	0.21	0.32	1.03	0.15	0.09	1.26
7	1.00	0.07	0.17	0.22	0.13	0.09	0.04	1.07	0.02	0.08	0.15
8	1.00	0.04	0.40	0.19	0.37	0.09	0.04	0.71	0.09	0.06	0.41
9	1.00	0.11	0.25	0.26	0.19	0.12	0.08	0.67	0.12	0.09	0.26
10	1.00	0.08	0.08	0.16	0.17	0.12	0.04	1.11	0.03	0.05	0.38

抱茎獐牙菜药材的指纹图谱应具有自身的化学条码特征,是其内在化学成分种类与数量的反映,我们对不同产地的 10 批抱茎獐牙菜药材的水溶性成

分的 HPLC 指纹图谱进行了技术参数的分析,建立了抱茎獐牙菜药材的指纹图谱。

#### 参考文献:

- [1] 中国科学院西北高原生物研究所. 藏药志[M]. 西宁:青海人民出版社,1991:110-111.
- [2] DING J Y(丁经业),FAN SH F(樊淑芬),HU B L(胡伯林),SUN H F(孙洪发). Isolation and identification of the xanthone constituents from *Swertia franchetiana* H. Smith[J]. *Acta Biologica Plateau Sinica*(高原生物学集刊),1982,5:267-270(in Chinese).
- [3] SONG Y L(宋娅莉),HU F Z(胡凤祖),LIN P CH(林鹏程), et al. Determination of xanthones in *Swertia mussoitii* and *Swertia franchetiana* by high performance liquid chromatography[J]. *Chinese Journal of Chromatography*(色谱),2004,22(1):51-53(in Chinese).
- [4] GAO G Y(高光跃),LI M(李 鸣),FENG Y X(冯毓秀),TAN P(谭 沛). Determination of effective constituents in 11 *Swertia* and related plants by HPLC[J]. *Acta Pharmaceutica Sinica*(药学报),1994,29(12):910-914(in Chinese).
- [5] 周玉新. 中药指纹图谱研究技术[M]. 北京:化学工业出版社,2002:108-109.