

续断的 HPLC 指纹图谱研究

王秀军, 杨明利, 吴杰, 翁涛 (武汉生物工程学院制药工程系, 湖北武汉 430415)

摘要 建立了续断的 HPLC 指纹图谱分析方法, 为续断的质量控制提供了更全面的信息。

关键词 续断; HPLC; 指纹图谱; 质量控制

中图分类号 O657.7 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2009)26-12364-02

Study on HPLC Fingerprint of *Dipsacus asperoides*

WANG Xiu-jun et al (Pharmaceutical Engineering Department of Wuhan Bioengineering College, Wuhan, Hubei 430415)

Abstract The analysis method on HPLC fingerprint of *Dipsacus asperoides* was established. It provided more comprehensive information for quality control of *D. asperoides*.

Key words *Dipsacus asperoides*; HPLC; Fingerprint; Quality control

续断为川续断科植物续断(*D. asperoides*)的干燥根, 其性味苦、甘、辛, 性微温^[1]。具有补肝肾、行血脉、续折伤等功效。临床上多用于治疗跌扑损伤、金疮、崩漏下血、胎动欲堕、腰痛脚弱等症^[2]。为了有效控制续断中药材的质量, 笔者建立了续断的 RP-HPLC 指纹图谱分析方法。

1 材料与方

(1) 仪器: 电子天平 (AY220)、高效液相色谱仪 (LC-10ATvp)、紫外检测 (SPD-10Avp) 均为岛津公司产品, 超声波清洗器 (HS6150)。

(2) 试剂: 乙腈 (色谱纯, 批号 20050290), 纯化水 (新鲜制备), 氨水 (分析纯, 批号 20050220), 盐酸 (分析纯, 批号 20050220), 三氯甲烷 (分析纯, 批号 20050250)。

(3) 材料: 川续断皂苷 VI 对照品 (从续断中分离得到, 经光谱鉴定, 其结构与文献报道一致; 经 HPLC 面积归一化法测定, 其纯度为 100%), 4 种续断药材由产地采集或购自各地药材公司 (表 1), 经武汉生物工程学院制药工程系詹亚华教授鉴定。

表 1 试验用样品来源

Table 1 The sources of samples used in experiment

样品号	样品来源	备注
Sample No.	Sample sources	Remark
1	四川	商品药材
2	贵州	商品药材
3	湖北恩施	野生
4	云南	商品药材

1.2 方法

1.2.1 色谱条件。 色谱柱: MetaChem C18 (4.6 mm × 150 mm); 流动相: 乙腈-水 (30:70); 检测波长 212 nm; 柱温 40 °C; 流速 1 ml/min^[3]。

1.2.2 供试品溶液制备。 取 3 g 续断粉末, 加入浓氨试液 60 ml, 搅匀, 放置 1 h, 加氯仿 100 ml, 超声处理 30 min, 过滤, 滤液用 80 ml 盐酸溶液分次振摇提取, 提取液用浓氨调节 pH 值至 10, 再用氯仿 60 ml 分次振摇提取, 合并氯仿提取液, 浓缩至干后用 30 ml 乙腈-水 (30:70) 溶解, 取续滤液经微孔滤

膜 (0.45 μl) 过滤, 溶液备用。

1.2.3 对照品溶液制备。 精密称取川续断皂苷 VI 对照品 2.5 mg 至 25 ml 容量瓶中, 加乙腈-水 (30:70) 制成 0.100 mg/ml 的溶液, 作为参照物溶液。

1.3 方法学考察

1.3.1 流动相及洗脱方式的优化。 对照品用乙腈-水 (30:70) 体系洗脱 5 次, 均可得到相似度 > 0.99 的图谱, 说明仪器和流动相能很好地用来检测续断指纹图谱。

1.3.2 稳定性试验。 取同一批续断供试品溶液, 放置 0、3、5、8、12 h 连续进样 5 次, 每次进样 20 μl, 检测色谱峰, 测定共有峰的相对保留时间和相对峰面积。

1.3.3 精密度试验。 取同一批续断供试品溶液, 连续进样 6 次, 每次进行 20 μl, 检测色谱峰, 测定共有峰的相对保留时间和相对峰面积。

1.3.4 重复性试验。 取同一批续断供试品溶液 5 份, 在上述色谱条件下检测其色谱图。

1.4 指纹图谱测定

1.4.1 共有指纹峰的标定。 取 4 批续断原料样品, 分别按供试品制备方法进行处理, 在上述色谱条件下测定其色谱图。

1.4.2 指纹图谱的判定。 根据 4 批样品指纹图谱的测定结果, 确定续断原料指纹图谱的判定标准。

2 结果与分析

2.1 稳定性试验结果 经测定, 共有峰 1、2 号峰相对保留时间的 RSD 分别为 0.02% ~ 0.11%, 相对峰面积的 RSD 分别为 0.12% ~ 0.85%。供试品溶液常温下 0 ~ 12 h 内较稳定。

2.2 精密度试验结果 6 次进样结果表明, 共有峰 1、2 号峰相对保留时间的 RSD 分别为 0.02% ~ 0.06%, 相对峰面积的 RSD 分别为 0.08% ~ 0.69%, 符合指纹图谱检测要求 (RSD < 0.3%), 说明该测定方法的精密度较高。

2.3 重复性试验结果 5 份样品色谱峰的相对保留时间较稳定, 共有峰 1、2 号峰相对保留时间的 RSD 分别为 0.03% ~ 0.18%, 相对峰面积的 RSD 分别为 0.09% ~ 1.50%, 符合指纹图谱检测要求 (RSD < 0.3%), 说明该方法重复性较好。

2.4 样品指纹图谱测定结果 2 号峰的保留时间与川续断皂苷 VI 对照品峰的保留时间一致, 可作为参照物峰。综合 4

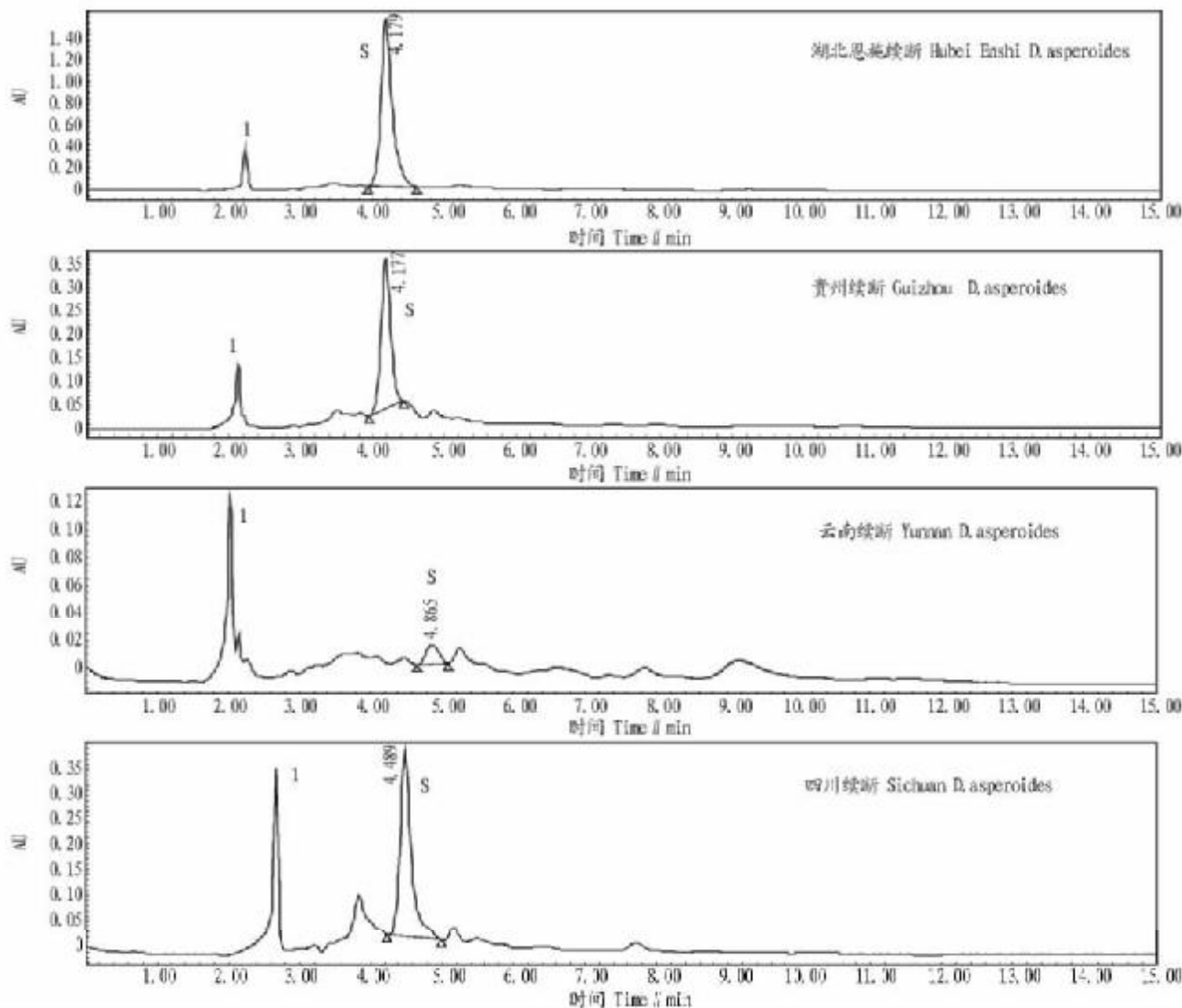
基金项目 武汉市教育局 200769 号项目。

作者简介 王秀军 (1979-), 男, 山西原平人, 助教, 从事天然药物化学教学与科研工作。

收稿日期 2009-05-11

批样品的色谱图,发现其中 2 个峰为 4 批样品所共有,因此确定为共有指纹峰;经计算,各色谱图中共有峰总面积占有所有色谱峰面积的 95% 以上。根据 4 批样品色谱峰面积的平均值,以保留时间与川续断皂苷 VI 对照品峰一致的 2 号峰为参照峰,标定了 2 个共有指纹峰及其相对保留时间(0.5(1)、1.00(s))。

均值,以保留时间与川续断皂苷 VI 对照品峰一致的 2 号峰为参照峰,标定了 2 个共有指纹峰及其相对保留时间(0.5(1)、1.00(s))。



续断原料指纹图谱的判定标准为:续断原料样品指纹图谱应出现 2 个共有峰,其相对保留时间分别为 0.50(1)、1.00(s),其差值不得超过 $\pm 10\%$;非共有峰的总面积不得大于总峰面积的 5%。

3 结论与讨论

(1) 续断样品中有效成分川续断皂苷 VI(S) 和化合物 1 的含量达 90% 以上,所以指纹图谱中特征峰数目较少,增加供试品溶液浓度后,特征峰仍较少,说明该提取方法提取的续断成分较少。

(2) 通过比较 4 批样品的 HPLC 指纹图谱,发现云南产续断中川续断皂苷 VI 含量最低,质量相对较差,而恩施、贵

州、四川产续断中川续断皂苷 VI 含量均超过或达到 40%,能很好的反应续断的指纹图谱。

(3) 以上结果表明,利用 HPLC 指纹图谱控制续断质量是可行的,该方法为续断的质量控制提供了更加全面、客观的信息。

参考文献

- [1] 全国中草药汇编编写组. 全国中草药汇编(下册)[M]. 北京:人民卫生出版社, 2000: 135.
- [2] 龚晓健,季晖,王青,等. 川续断总生物碱对妊娠大鼠子宫的抗致痉及抗流产作用[J]. 中国药科大学学报, 1997, 29(6): 459.
- [3] 国家药典委员会. 中国药典: 2005 版一部[S]. 北京: 化学工业出版社, 2005: 270.