

黄丝郁金的 HPLC 指纹图谱研究

李敏¹ 张娜^{1,2} 俸世洪¹

(1. 成都中医药大学药学院 四川 成都 610075; 2. 中山生物工程有限公司 广东 中山 528437)

摘要: 目的 建立测定黄丝郁金药材指纹图谱的方法。方法 采用 HPLC 法, 色谱柱为 Welchrom - C₁₈ (250 mm × 4.6 mm 5 μm), 乙腈和水为流动相, 采用梯度洗脱, 流速为 1.0 mL·min⁻¹, 柱温为 35 °C, 检测波长为 244 nm。结果 建立了 HPLC 指纹图谱共有模式, 并对不同储藏期的黄丝郁金药材进行了相似度比较。结论 黄丝郁金药材中各成分均得到了较好的分离, 可作为黄丝郁金药材专属性的指纹图谱。

关键词: 黄丝郁金; 高效液相色谱法; 指纹图谱

中图分类号: R917

文献标志码: A

文章编号: 1006 - 0103 (2010) 03 - 0334 - 03

Study on HPLC fingerprint of Radix Curcumae

LI Min¹ ZHANG Na^{1,2} FENG Shi-hong¹

(1. College of Pharmacy, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu, Sichuan, 610075 P. R. China; 2. Zhongshan Bio-Tech Co., Ltd., Zhongshan, Guangdong 528437 P. R. China)

Abstract: **OBJECTIVE** To establish an HPLC fingerprint to determine Radix Curcumae. **METHODS** The chromatographic column was Welchrom - C₁₈ (250 mm × 4.6 mm 5 μm). Mobile phase was acetonitrile and water with gradient elution. Flow rate was 1.0 mL·min⁻¹ at 35 °C and detection wavelength was 244 nm. **RESULTS** The HPLC fingerprint common mode was established and compared among Radix Curcumae of different habitats. **CONCLUSION** Each component of Radix Curcumae had a better isolation. It can be a specificity fingerprint of Radix Curcumae.

Key words: Radix Curcumae; HPLC; Fingerprint

CLC number: R917

Document code: A

Article ID: 1006 - 0103 (2010) 03 - 0334 - 03

郁金为姜科植物温郁金 *Curcuma wenyujin* Y. H. Chen et C. Ling (温郁金)、姜黄 *C. longa* L (黄丝郁金)、广西莪术 *C. kwangsiensis* S. G. Lee et C. F. Liang (桂郁金) 或蓬莪术 *C. phaeocaulis* Val (绿丝郁金) 的干燥块根^[1]。黄丝郁金为中国商品川郁金的主流品种之一, 是四川省著名的道地药材^[2], 具有行气化痰、清心解郁、利胆退黄之功效, 主要成分为挥发油和姜黄素两大类。姜黄素、去甲氧基姜黄素、双去甲氧基姜黄素以及挥发油中所含 β - 榄香烯、吉马酮、莪术二酮、莪术酮等成分具有较强的生理活性, 在降血脂、抗菌、抗病毒等方面有较好的作用。黄丝郁金的质量标准是通过 TCL 进行定性鉴别, 测定黄丝郁金中的挥发油、总姜黄素、姜黄素以及浸出物等^[3]。文中根据指纹图谱的技术要求, 采用 HPLC 法建立了黄丝郁金药材的指纹图谱。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

VARIAN 高效液相色谱仪系统 (美国瓦里安)。

去甲氧基姜黄素、双去甲氧基姜黄素对照品 (成都思科华生物技术有限公司); 姜黄素 (批号: 0823 - 9802)、吉马酮 (批号: 111665 - 200401) 对照品 (中国药品生物制品检定所); 莪术二酮对照品 (澳门大学李绍平教授提供); 乙腈为色谱纯; 水为重蒸水; 其余试剂为分析纯; 样品来源见表 1, 均鉴定为姜科植物姜黄 *C. longa* L. 的干燥块根。

表 1 黄丝郁金药材来源

Table 1 The source of Radix Curcumae

编号	产地来源	采收时间
1	四川省双流县金桥镇金河村	2007 - 01
2	四川省新津县花桥镇焦严村	2007 - 01
3	四川省双流县金桥镇舟渡村	储藏期一年
4	四川省崇州三江镇三桥村	2007 - 03
5	四川省崇州三江镇宋桥村	2007 - 03
6	四川省乐山市沐川县大楠片区	2007 - 03
7	四川省乐山市犍为县铁炉乡兴隆村	2007 - 03
8	四川省乐山市犍为县榨鼓乡观塘村	2007 - 03
9	四川省崇州市三江镇宋桥村	2007 - 12
10	四川省崇州市三江镇三桥村	2007 - 12
11	四川省双流县金桥镇舟渡村	储藏期 0 年
12	四川成都荷花池药材市场市售	储藏期半年
13	四川省双流县金桥镇舟渡村	储藏期两年

基金项目: 四川省科技厅育种攻关项目: 郁金规范化研究 (2006yzgg12 - 82); 成都市科技局项目: 郁金种质资源评价研究及其质量标准规范化研究 (06GGYB084SF - 034)

作者简介: 李敏, 女, 四川成都, 教授, 从事中药材品种质量评价和中药材 GAP 研究工作。Email: 028limin@163.com

1.2 方法与结果

1.2.1 色谱条件与系统适用性^[4-6] 色谱柱为 Welchrom - C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) 检测波长为 244 nm 流速为 1.0 mL·min⁻¹ 柱温为 35 °C 流动相 A 为乙腈, B 为水。梯度洗脱程序见表 2。分别吸取 20 μL 对照品溶液、供试品溶液和空白溶液, 注入液相色谱仪测定。结果表明: 溶剂对黄丝郁金指纹图谱的检出无干扰 (图 1)。

表 2 梯度洗脱条件
Table 2 Conditions of gradient elution

T/min	A/%	B/%	T/min	A/%	B/%
0	28	72	50	60	40
10	32	68	70	80	20
15	35	65	75	100	0
20	45	55	95	100	0
45	50	50			

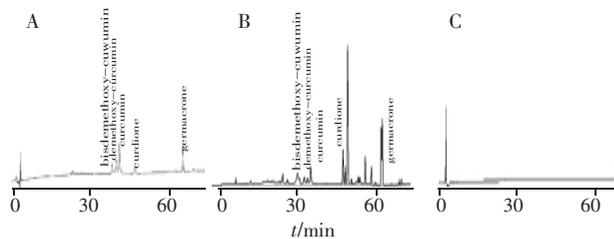


图 1 对照品 (A)、供试品 (B) 和空白 (C) 溶液的色谱图
Fig 1 Chromatograms of control solution (A), sample solution (B) and blank solution (C)

1.2.2 溶液的制备 分别精密称取适量姜黄素、去甲氧基姜黄素、双去甲氧基姜黄素、吉马酮、莪术二酮等对照品, 加甲醇制成 50 mg·mL⁻¹ 姜黄素、去甲氧基姜黄素、双去甲氧基姜黄素、吉马酮、莪术二酮的对照品溶液。取 5.0 g 黄丝郁金细粉 精密称定, 置具塞锥形瓶中 精密加入 25 mL 甲醇 称定重量, 超声提取 1 h 静置放冷 再称定重量 加甲醇补足减失的重量 摇匀 静置 取上清液 用微孔滤膜过滤, 即得供试品溶液。

1.2.3 精密度试验 取供试品溶液, 连续进样 6 次, 考察色谱峰保留时间的一致性, 计算各主要色谱峰保留时间的 RSD 均小于 2%。同时考察了各色谱峰的相似度, 用相似度评价软件计算测得的色谱指纹图谱与其所得共有模式图, 其相似度分别为 0.999、0.997、0.995、0.998、0.996、0.997, 均大于 0.99 表明仪器稳定 精密度良好。

1.2.4 稳定性试验 取供试品溶液, 分别在 0、2、4、8、12、24 h 时检测, 考察各色谱峰保留时间的一致性。计算得各主要色谱峰保留时间的 RSD 均小于 2%。按“1.2.4”项方法计算相似度分别为 0.999、0.998、0.996、0.997、0.995、0.996, 均大于

0.99 表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

1.2.5 重复性试验 取黄丝郁金药材 6 份, 照“1.2.2”项下方法制备供试品溶液, 依法检测, 考察各色谱峰保留时间的一致性。计算得各主要色谱峰保留时间的 RSD 均小于 2%。按“1.2.4”项方法计算相似度分别为 0.999、0.997、0.995、0.998、0.996、0.997, 均大于 0.99 表明提取和检测方法的重复性均好。

1.2.6 指纹图谱的建立 取 13 批黄丝郁金药材, 照“1.2.2”项下方法制备供试品溶液, 依法检测, 得到 244 nm 的 HPLC 指纹图谱。采用中药色谱指纹图谱相似度的评价系统 (A 版) 进行全谱的相似度评价及共有图谱拟合, 参照《中药注射剂指纹图谱研究的技术要求 (暂行)》确定了 16 个特征峰构成黄丝郁金的指纹图谱, 其中 S3 为双去甲氧基姜黄素、S4 为去甲氧基姜黄素、S5 为姜黄素、S6 为莪术二酮、S11 为吉马酮。药材 1 ~ 13 号中位数的相关系数依次为 0.903、0.918、0.972、0.925、0.932、0.956、0.919、0.987、0.979、0.964、0.956、0.928、0.912, 均大于 0.90 相关性良好 (图 2)。

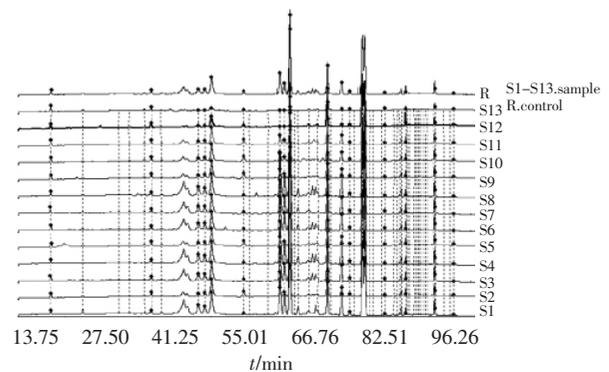


图 2 13 批药材的 HPLC 指纹图谱及共有模式图
Fig 2 HPLC fingerprints and common pattern diagrams of 13 batches of approved medicines

1.2.7 不同储藏期黄丝郁金 HPLC 指纹图谱的比较 采用相似度评价软件对 4 批 (3 号、11 号、12 号、13 号) 不同储藏期黄丝郁金药材进行相似度评价, 其中位数的相关系数依次为 0.933、0.951、0.921、0.917, 均大于 0.90 相关性良好。

2 讨论

文中首次建立了黄丝郁金的 HPLC 指纹图谱, 并对不同产区的黄丝郁金药材进行了质量评价。结果表明: 其指纹图谱相互间较为吻合, 虽然由于样品的个体差异 特征峰的相对含量存在一定的差异, 但整体轮廓均符合共有特征。从药材整体色谱图入手, 选取了 16 个特征峰构成了黄丝郁金的指纹图

谱,以共有模式作为黄丝郁金的鉴别标准,能提供全面的质量控制信息。实验证明:所用方法操作性强、重复性好,可作为黄丝郁金内在质量的控制标准,同时也可作为郁金主成分制剂指纹图谱研究的基础。

曾对提取溶剂、提取方法(超声、回流)等进行了考察,确定了文中供试品溶液的制备方法。虽然不同采收期黄丝郁金样品的成分含量有差异,但其色谱概貌一致,符合黄丝郁金药材的指纹特征。

参考文献:

[1] 中华人民共和国国家药典委员会. 中国药典 [S]. 北京:化学

工业出版社, 2005:144.

[2] 李敏. 中药材规范化生产与管理(GAP)方法及技术 [M]. 北京:中国医药科技出版社, 2004:709-727.

[3] 李敏,张娜,林琪宇,等. 黄丝郁金的质量标准研究 [J]. 成都中医药大学学报, 2008, 31(1): 55-59.

[4] 谢培山. 中药色谱指纹图谱 [M]. 北京:人民卫生出版社, 2004:22-75.

[5] 李敏,周娟. 中药材质量与控制 [M]. 北京:中国医药科技出版社, 2005:242-244.

[6] 李敏,李校堃. 中药材市场动态与应用前景 [M]. 北京:中国医药科技出版社, 2005:196-200.

收稿日期:2009-11-18

HPLC 测定替加氟的含量及其有关物质

江 生

(重庆市药品检验所,重庆 401121)

摘要:目的 采用 HPLC 测定替加氟的含量及其有关物质。方法 色谱柱为惠普 C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm),流动相为甲醇-乙腈-水(10:5:85),流速为 1.0 mL·min⁻¹,检测波长为 271 nm。结果 标准曲线的线性范围为 0.537~214.8 μg·mL⁻¹ (r=0.9999);替加氟的检测限和定量限分别为 0.33、1.1 ng;替加氟与其降解产物氟尿嘧啶的分离度为 5.9,与酸、碱、光照、氧化、高温降解产物也有良好的分离。结论 所用方法简便、准确、灵敏,可用于替加氟的常规分析。

关键词:高效液相色谱法;替加氟;氟尿嘧啶;有关物质

中图分类号:R917

文献标志码:A

文章编号:1006-0103(2010)03-0336-03

Determination of Tegafur and its related substances by HPLC

JIANG Sheng

(Chongqing Institute for Drug Control, Chongqing, 401121 P. R. China)

Abstract: **OBJECTIVE** To develop an HPLC method to determine Tegafur and its related substances. **METHODS** The C₁₈ column(250 mm×4.6 mm, 5 μm) was used as analytical column. Mobile phase consisted of methanol-acetonitrile-water(10:5:85) and flow rate was 1.0 mL·min⁻¹. The detection wavelength was set at 271 nm. **RESULTS** The standard curve was linear in the concentration range from 0.537 to 214.8 μg·mL⁻¹ for Tegafur(r=0.9999). The limit of detection and quantitation for the assay were 0.33 and 1.1 ng, respectively. Under the chromatographic condition, the resolution between Tegafur and its fluorouracil was 5.9, and Tegafur could also be well separated from its degradation products by acidic, basic hydrolysis and light degradation. **CONCLUSION** The method is simple, accurate and sensitive, and can be used for the routine analysis of resveratrol.

Key words: HPLC; Tegafur; Fluorouracil; Related substances

CLC number: R917

Document code: A

Article ID: 1006-0103(2010)03-0336-03

替加氟是治疗胃癌、胆道癌、直肠癌、结肠癌、胰腺癌、肝癌、乳腺癌、肺癌及头颈部癌的药物。现行药典的含量测定采用可见-紫外分光光度法^[1],其专属性不强,不能有效地区分替加氟与其主要降解产物氟尿嘧啶;有关物质采用薄层色谱测定,灵敏度达不到测定要求。文中采用 HPLC 法测定了替加氟的含量及其有关物质,用所建方法对两个厂家 6 批样品进行测定,取得了满意的效果。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

HP-1100 高效液相色谱系统(美国 Agilent); 2695、2996、ZQ-2000 高效液相质谱系统(美国 Waters)。替加氟(批号:100468-200401)、氟尿嘧啶(批号:0187-9501)对照品(中国药品生物制品检定所);替加氟(齐鲁天、惠世制药有限公司);甲醇、

作者简介:江生(1973)男,高级工程师,从事药品检验工作。Email:JS731210@163.com