

绿丝郁金 HPLC 指纹图谱初步研究

张娜^{1,2} 李敏² 俸世洪²

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

摘要: 目的: 采用 HPLC 法首次建立绿丝郁金药材的指纹图谱。方法: 用 Welchrom-C18 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) 色谱柱, 乙腈和水为流动相, 采用梯度洗脱, 流速 1.0 mL/min, 柱温 35 °C, 检测波长 244 nm。结果: 建立了 HPLC 指纹图谱共有模式, 并对不同采收期的绿丝郁金药材进行了相似度比较。结论: 绿丝郁金药材中各成分均得到了较好的分离, 可作为绿丝郁金药材专属性的指纹图谱。

关键词: 绿丝郁金; HPLC; 指纹图谱

中图分类号: R284.1

文献标识码: A

文章编号: 1004-0668 (2009) 04-0066-03

Study on HPLC Finger print of Radix Curcumae

Zhang Na, LIM in, Feng Shihong

(1. Zhongshan Bio-Tech Co., Ltd., Zhongshan 528437, China 2. Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 610075, China)

Abstract Objective The first time to establish the finger print of Radix Curcumae by HPLC. **Methods** chromatographic column Welchrom-C18 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), mobile phase acetonitrile and water gradient elution flow rate 1.0 mL/min, column temperature 35 centi-degree, detection wavelength 244nm. **Results** established the HPLC finger print common mode and compared Rhizoma Curcumae of different habitat. **Conclusion** each component of Radix Curcumae had a better isolation, can be a specificity finger print of Radix Curcumae.

Key word Radix Curcumae; HPLC; finger print

《中华人民共和国药典》2005年版一部郁金的来源为姜科植物温郁金 *Curcuma wenyujin* Y.H. Chen et C. Ling, 姜黄 *C. longa* L., 广西莪术 *C. kwangsiensis* S.G. Lee et C.F. Liang 或蓬莪术 *C. phaeocaulis* Val. 的干燥块根^[1]。商品上依次称为“温郁金”、“黄丝郁金”、“桂郁金”和“绿丝郁金”。绿丝郁金为我国商品川郁金的主流品种之一, 四川省著名的道地药材。具有行气化瘀、清心解郁、利胆退黄之功效, 主要成分为挥发油和姜黄素类两大类成分, 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。我们根据指纹图谱技术要求, 采用 HPLC 法建立绿丝郁金药材的指纹图谱, 可作为其内在质量的控制标准。

1 实验材料

1.1 样品来源

见表 1。

1.2 仪器与试剂

仪器: VARIAN 高效液相色谱仪。

对照品: 吉马酮对照品 (由中国药品生物制品检定所提供, 批号 111665-200401); 莪术二酮对照品 (由澳门大学李绍平教授提供)。

试剂: 乙腈为色谱纯, 水为重蒸水, 其余试剂均为分析纯。

基金项目: 四川省科技厅育种攻关项目 郁金规范化研究 (编号: 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 (编号: 06GGYB084SF-034)

作者简介: 张娜, 女, 1984年生, 硕士研究生, 研究方向: 中药材品种质量评价; 李敏, 女, 1963年生; 教授、硕士生导师, 长期从事中药材品种质量评价和中药材 GAP 研究。

2 实验部分^[3-5]

2.1 色谱条件

Welchrom-C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) 色谱柱; 检测波长: 244 nm; 流速: 1.0 mL/min; 柱温: 35 °C; 流动相: A. 乙腈; B. 水。梯度洗脱程序见表 2。

表 1 绿丝郁金药材来源

编号	产地来源	采收时间
1	四川省双流县金桥镇宋桥村	2006. 11. 18
2	四川省双流县金桥镇宋桥村	2006. 12. 18
3	四川省双流县金桥镇宋桥村	2007. 1. 18
4	四川省崇州三江镇宋桥村	2007. 1. 28
5	四川省双流县金桥镇金河村	2007. 1
6	四川省双流县金桥镇舟渡村	2007. 1
7	四川省崇州三江镇三桥村	2007. 1
8	四川省新津县花桥镇焦严村	2007. 1
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	2007. 12
12	四川省崇州市三江镇宋桥村	2008. 1
13	四川省崇州市三江镇三桥村	2008. 1
14	四川省双流县金桥镇舟渡村	2008. 1

以上样品经笔者鉴定均为姜科植物莪术 *C. phaeocaulis* Val. 的干燥块根

表 2 梯度洗脱条件

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

2.2 对照品溶液的制备

精密称取吉马酮对照品、莪术二酮对照品适量, 加甲醇制成每 1 mL 含姜黄素、去甲氧基姜黄素、双去甲氧基姜黄素、吉马酮、莪术二酮 50 mg 的溶液, 即得。

2.3 供试品溶液的制备

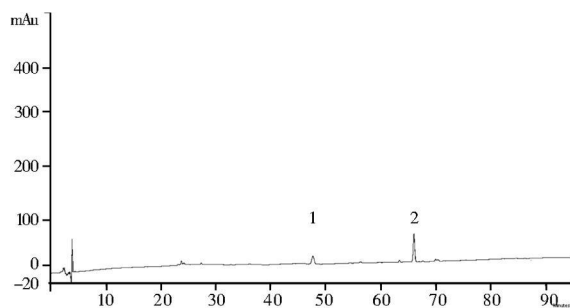
取绿丝郁金细粉 5.0 g 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇 25 mL, 称定重量, 超声提取 1 h 静置放冷, 再称定重量, 加甲醇补足减失的重量, 摇匀, 静置, 取上清液用微孔滤膜滤过, 即得。

2.4 测定方法

分别吸取对照品溶液和供试品溶液各 20 μL, 注入液相色谱仪, 结果见图 1、图 2。另吸取溶剂 20 μL 作为空白溶液注入高效液相色谱仪 (结果见图 3), 结果表明, 溶剂对绿丝郁金指纹图谱的检出无干扰。

2.5 方法学考察

2.5.1 精密度试验



(1. 莪术二酮; 2. 吉马酮)

(1. curdione 2. gemanone)

图 1 对照品色谱图

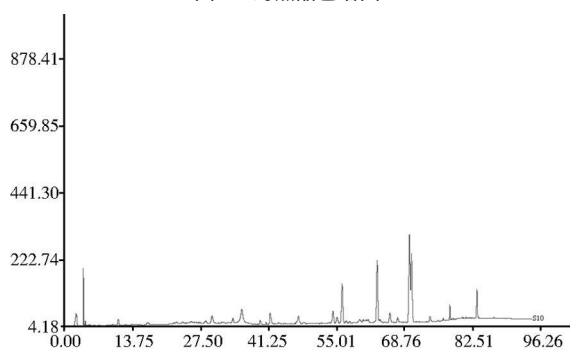


图 2 供试品色谱图

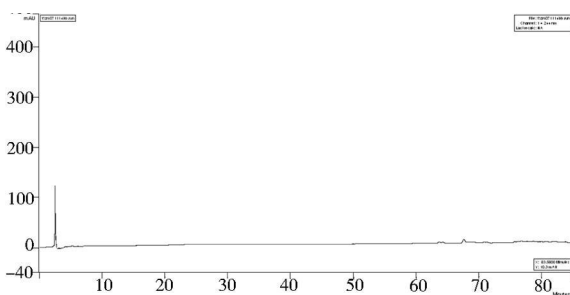


图 3 空白溶剂

取供试品溶液 (批号 10), 连续进样 6 次, 考察色谱峰保留时间的一致性, 各主要色谱峰保留时间的 *RSD* 值均小于 2%, 同时考察各色谱峰的相似度, 用相似度评价软件计算, 测得的色谱指纹图谱与其所得的共有模式图的相似度分别为: 0.995、0.997、0.998、0.996、0.997、0.998, 均大于 0.99, 表明仪器稳定, 精密度良好。

2.5.2 稳定性试验

取供试品溶液 (批号 10), 分别在 0 h、2 h、4 h、6 h、8 h、12 h、24 h 7 个不同的时间点进行检测, 考察各色谱峰保留时间的一致性, 各主要色谱峰保留时间的 *RSD* 值均小于 2%, 同时考察各色谱峰的相似度, 用相似度评价软件计算, 测得的色谱指纹图谱与其所得的共有模式图的相似度分别为: 1.000、0.998、0.999、0.996、0.997、0.996、0.998, 均大于 0.99, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

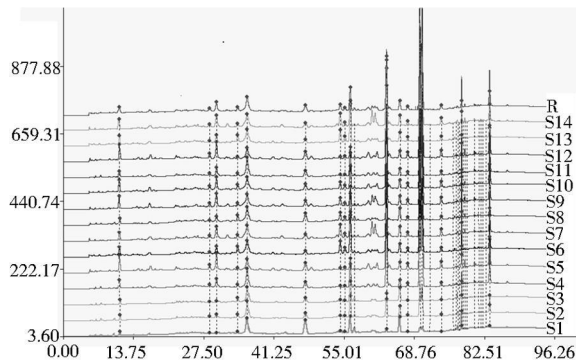
2.5.3 重复性试验

取绿丝郁金药材 (批号 10) 5 份, 照“2.3

项”下方法制备供试品溶液 5 份, 依法检测, 考察各色谱峰保留时间的一致性, 各主要色谱峰保留时间的 *RSD* 值均小于 2%, 同时考察各色谱峰的相似度, 用相似度评价软件计算, 测得的色谱指纹图谱与其所得的共有模式图的相似度分别为: 0.998 0.995、0.997、0.998、0.996, 均大于 0.99, 表明提取和检测方法重现性好。

2.6 指纹图谱的建立

取绿丝郁金药材 14 批, 照“2.3 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 15 个特征峰构成绿丝郁金的指纹图谱, 其中 6# 莪术二酮, 11# 峰为吉马酮。药材 1~14 号中位数相关系数依次为 0.944、0.925、0.932、0.959、0.963、0.966、0.957、0.921、0.940、0.979、0.945、0.957、0.912、0.953, 均大于 0.90 相关性良好。色谱图见图 4、图 5。



S1~S14. 1~14 批绿丝郁金药材; R. 共有模式图
S1~S14. medicinal substances 1~14 R. common ideograph
图 4 14 批药材 HPLC 指纹图谱

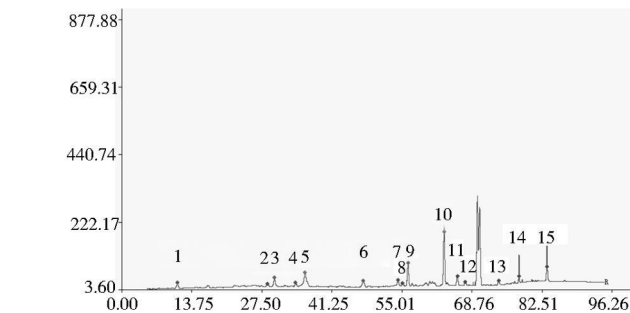
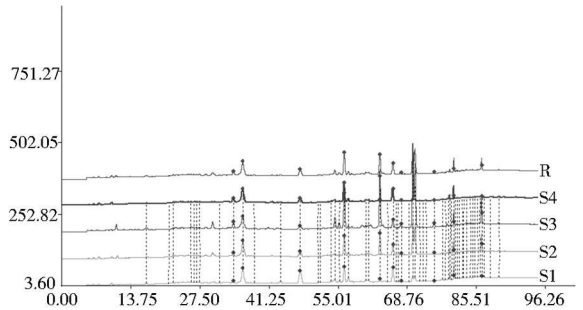


图 5 共有模式图

2.7 不同采收期绿丝郁金 HPLC 指纹图谱比较

采用相似度评价软件对不同采收期绿丝郁金药材 4 批 (1 号、2 号、3 号、4 号) 进行相似度评

价, 中位数相关系数依次为 0.911、0.943、0.971、0.907, 均大于 0.90 相关性良好。色谱图见图 6。



(S1~S4. 绿丝郁金 1~4 号; R. 共有模式图)

S1~S4. medicinal substances 1~4; R. common ideograph

图 6 不同采收期绿丝郁金 HPLC 指纹图谱

3 结论与讨论

3.1 本研究首次建立了绿丝郁金 HPLC 指纹图谱, 并对不同产区的绿丝郁金药材进行质量评价, 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 15 个特征峰构成了绿丝郁金的指纹图谱, 以共有模式作为绿丝郁金的鉴别标准, 能提供更全面的质量控制信息。实验证明该方法操作性强, 重现性好, 可以作为绿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。

3.2 实验中对提取溶剂、提取方法 (包括超声、回流) 等进行了考查, 确定了以上供试品溶液的制备方法。

3.3 不同采收期绿丝郁金样品虽然成分含量有差异, 但其色谱概貌一致, 符合绿丝郁金药材的指纹特征。

参考文献

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 2005 年版一部 [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] 谢培山. 中药色谱指纹图谱 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2004. 278-282.
[4] 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.
[5] 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: 2009-06-28)