

苗药云实皮超高效液相色谱指纹图谱研究*

骆勇¹, 何燕玲^{2,3}, 姚成芬^{2,3}, 马雪², 杨畅⁴, 谭安菊^{3,4}, 李勇军^{2Δ}

(1. 贵州省食品药品检验所, 贵州 贵阳 550004; 2. 贵州医科大学·民族药与中药开发应用教育部工程研究中心, 贵州 贵阳 550004; 3. 贵州医科大学药学院, 贵州 贵阳 550004; 4. 贵州省药物制剂重点实验室, 贵州 贵阳 550004)

摘要:目的 建立苗药云实皮的超高效液相色谱(UPLC)指纹图谱。方法 运用 Waters 超高效液相色谱仪, Acquity UPLC BEH C₁₈ 色谱柱(150 mm × 2.1 mm, 1.7 μm), 乙腈(A) - 0.1% 甲酸水溶液(B)为流动相进行梯度洗脱, 流速为 0.3 mL/min, 检测波长为 266 nm, 柱温为 45 ℃。结果 建立了贵州苗药云实皮的 UPLC 指纹图谱, 标定了 14 个共有峰, 指认了 2 个峰, 分别为二氢红花菜豆酸苷和(±)原苏木素 B。结论 建立的云实皮指纹图谱稳定、可靠、重复性好, 可为云实皮药材的质量控制提供科学依据。

关键词:云实皮; 超高效液相色谱; 指纹图谱; 质量控制

中图分类号: R932; R284.1

文献标识码: A

文章编号: 1006-4931(2018)20-0004-03

Study on UPLC Fingerprint of *Caesalpinia Decapetala*

Luo Yong¹, He Yanling^{2,3}, Yao Chengfen^{2,3}, Ma Xue², Yang Chang⁴, Tan Anju^{3,4}, Li Yongjun²

(1. Guizhou Institute for Food and Drug Control, Guiyang, Guizhou, China 550004; 2. Engineering Research Center for the Development and Application of Ethnic Medicine and TCM, Ministry of Education, Guizhou Medical University, Guiyang, Guizhou, China 550004; 3. School of Pharmacy, Guizhou Medical University, Guiyang, Guizhou, China 550004; 4. Guizhou Provincial Key Laboratory of Pharmaceutics, Guiyang, Guizhou, China 550004)

Abstract: Objective To establish an UPLC fingerprint of *Caesalpinia decapetala*. **Methods** Waters UPLC was adopted with Acquity UPLC BEH C₁₈ column(150 mm × 2.1 mm, 1.7 μm), the mobile phase was acetonitrile(A) - 0.1% formic acid - water solution(B) with gradient elution, the flow rate was 0.3 mL/min, the detection wavelength was 266 nm, and the column temperature was 45 ℃.

Results The UPLC fingerprint of *Caesalpinia decapetala* in Guizhou was established with fourteen common peaks, and two of them were identified: (1'R, 3'S, 5'R, 8'S, 2E, 4E) - dihydrophaseic acid - 3'-O-β-D-glucopyranoside and (±) protosappanin B.

Conclusion The established UPLC fingerprint of *Caesalpinia decapetala* was stable, reliable and reproducible, which can provide a scientific basis for the quality control of *Caesalpinia decapetala*.

Key words: *Caesalpinia decapetala*; UPLC; fingerprint; quality control

云实皮为豆科植物云实 *Caesalpinia decapetala* (Roxb.) Alston 的干燥根或根皮, 俗名阎王刺(贵州)、雷公刺、刺木草等, 分布于我国贵州、广东、海南等地^[1-2]。其收载于 2003 年版《贵州省中药材、民族药材质量标准》, 为贵州省民间常用药材, 民间使用较广泛, 苗药“云实感冒合剂”“马兰感寒胶囊”等均含有该药材。其具有祛风除湿、解毒消肿的功效, 可用于治疗感冒发热、咳嗽、咽喉肿痛、牙痛等症^[3]。云实主要含萜类和黄酮类化学成分, 有良好的抗疟疾活性及抗病毒等生物活性^[4-7]。前期研究对云实皮抗炎作用活性部位的化学成分进行了研究^[8], 并选用活性部位含量较高且具有代表性和专属性的二氢红花菜豆酸苷和(±)原苏木素 B 为对照品, 对云实皮药材进行了含量测定^[9]。为从整体上控制药材的质量和确保药材的一致性, 在前期研究基础上,

本研究建立了云实皮药材的指纹图谱测定方法, 确定了 14 个共有峰, 并鉴定了其中 2 个峰, 为进一步提高云实皮药材的质量控制提供了试验基础。

1 仪器与试药

1.1 仪器

Waters Acquity UPLC 超高效液相色谱仪(包括二元梯度泵、真空脱气机、自动进样器、柱温箱、二极管阵列检测器、Empower 2 工作站); AE240 型电子天平(梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司); TDL80-2B 型离心机(上海安亭科学仪器厂); 超纯水机(四川沃特科技有限公司)。

1.2 试药

(±)原苏木素 B 对照品, 二氢红花菜豆酸苷对照品(本实验室自制并鉴定, HPLC 面积归一化法计算, 纯

*基金项目: 贵州省优秀青年科技人才培养对象专项资金[黔科合人字(2015)11 号]; 贵州省科技计划项目[黔科合平台人才(2016)5613/黔科合平台人才(2016)5677]。

第一作者: 骆勇, 男, 大学本科, 副主任药师, 研究方向为中药质量控制, (电子信箱)153152675@qq.com。

Δ通信作者: 李勇军, 男, 博士研究生, 教授, 研究方向为中药药效物质基础及质量控制, (电话)0851-86908468(电子信箱)liyongjun026@126.com。

度>98%);乙腈和甲酸为色谱纯,甲醇为分析纯,水为纯净水。32批云实皮药材采收于贵州省各地(见表1),由贵州医科大学药用植物与生药学教研室龙庆德副教授鉴定为豆科植物云实 *Caesalpinia decapetala* (Roxb.) Alston 的干燥根茎。

表1 32批云实皮样品来源

编号	产地	批号	编号	产地	批号
S1	贵州贵阳药用植物园	2011041503	S17	贵州关岭	2012031114
S2	贵州贵阳	2011031501	S18	贵州兴义	2012031111
S3	贵州贵阳药用植物园	2011061201	S19	贵州兴义	2012010204
S4	贵州贵阳	2011062601	S20	贵州兴义	2012031102
S5	贵州贵阳	2012010207	S21	贵州兴义	2012031104
S6	贵州贵阳	2012031101	S22	贵州兴义	2012031110
S7	贵州孟关	2012031103	S23	贵州镇宁	2012010202
S8	贵州贵阳	2012031108	S24	贵州镇宁	2012010205
S9	贵州贵阳	2011121001	S25	贵州镇宁	2012010209
S10	贵州贵阳	2012040901	S26	贵州镇宁	2012031105
S11	贵州贵阳	2012042601	S27	贵州镇宁	2012031106
S12	贵州关岭	2012010201	S28	贵州镇宁	2012031111
S13	贵州关岭	2012010203	S29	贵州从江县	2011041501
S14	贵州关岭	2012010206	S30	贵州从江县	2011041502
S15	贵州关岭	2012031107	S31	贵州从江县	2012010210
S16	贵州关岭	2012031109	S32	贵州从江县	2012010211

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:Acquity UPLC BEH C₁₈ 柱(150 mm×2.1 mm, 1.7 μm);流动相:乙腈(A)-0.1% 甲酸水溶液(B),梯度洗脱(0~12 min, 5% A; 12~30 min, 5%~14% A; 30~32 min, 14%~20% A);流速:0.3 mL/min;柱温:45℃;检测波长:266 nm;进样量:1 μL。

2.2 溶液制备

对照品溶液:分别称取(±)原苏木素B、二氢红花菜豆酸苷适量,精密称定,用50% 甲醇配制成质量浓度分别为2.400 mg/mL和0.796 mg/mL的混合对照品溶液。

供试品溶液:称取云实皮粉末(过40目筛)约2 g,精密称定,置圆底烧瓶中,加入70% 乙醇25 mL,称定质量,加热回流提取2 h,置室温,用70% 乙醇补足减失的质量,滤过,取续滤液,以10 000 r/min的速率离心10 min,取上清液,即得。

2.3 方法学考察

精密度试验:取同一批云实皮样品,按2.2项下方法制备供试品溶液,按2.1项下色谱条件连续进样6次,记录色谱图,采用国家药典委员会的“中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2004年A版)”计算相似度。结果均

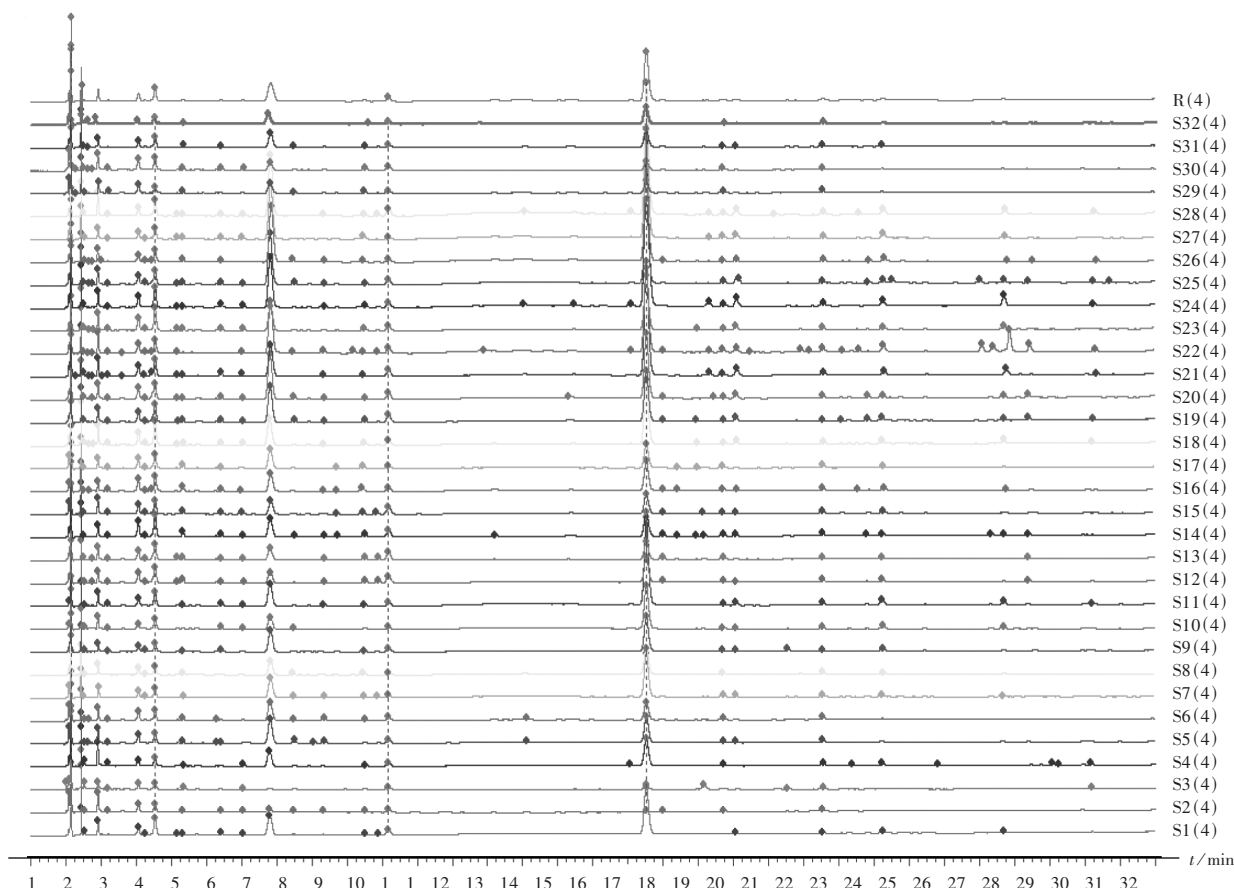


图1 32批云实皮超高效液相色谱指纹图谱及对照指纹图谱

大于 0.99,表明仪器精密度良好。

重复性试验:取同一批云实皮样品,依法平行制备供试品溶液 6 份,依法测定,记录色谱图,同法计算相似度。结果均大于 0.99,表明方法重复性良好。

稳定性试验:取同一批云实皮样品,依法制备供试品溶液,分别于 2,4,8,12,24 h 时按相同色谱条件进样测定,记录色谱图,同法计算相似度。结果均大于 0.99,表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.4 指纹图谱的建立及相似度计算

2.4.1 指纹图谱的建立

取 32 批云实皮药材,依法分别制备供试品溶液,以相同色谱条件进样检测,依法评价相似度,利用中位数法进行自动匹配生成对照图谱 R。详见图 1。

2.4.2 指纹图谱的相似度评价

采用同一系统分析了 32 批不同产地云实皮药材的指纹图谱与对照指纹图谱的相似度,结果见表 2。可见,指纹图谱相似度除贵阳药用植物园 2 批药材(编号为 S1 和 S3)低于 0.5,贵州从江 1 批药材(编号为 S30)低于 0.8 外,其余批次均在 0.860~1.000 之间,说明贵州产云实皮药材含有的化学成分较一致。

表 2 32 批药材指纹图谱相似度评价结果

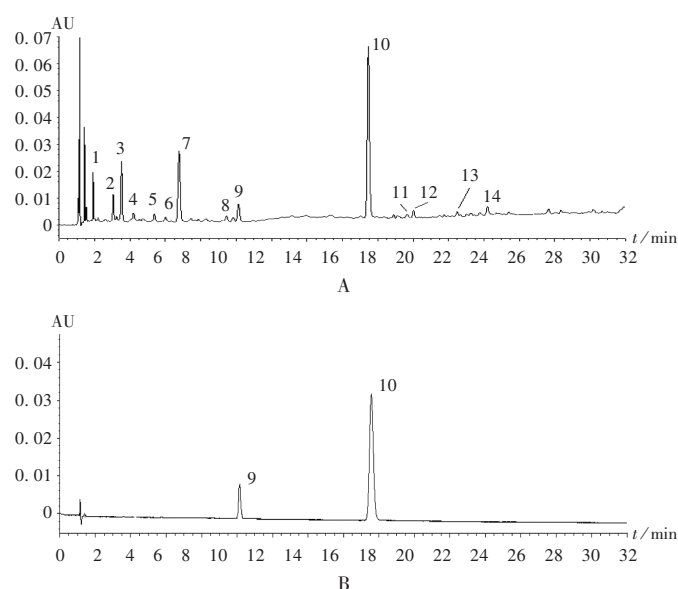
编号	相似度	编号	相似度	编号	相似度
S1	0.478	S12	0.999	S23	0.938
S2	0.999	S13	0.996	S24	0.864
S3	0.426	S14	1.000	S25	0.925
S4	0.976	S15	0.994	S26	0.931
S5	0.990	S16	0.994	S27	0.991
S6	0.950	S17	0.997	S28	0.974
S7	0.998	S18	0.983	S29	0.957
S8	0.989	S19	0.979	S30	0.767
S9	0.996	S20	0.997	S31	0.927
S10	0.997	S21	0.988	S32	0.936
S11	0.984	S22	0.984		

2.4.3 共有峰的指认

通过比较 32 批云实皮药材的指纹图谱,确定了 14 个共有峰。通过与混合对照品溶液色谱图的比对,指认出 2 个峰,其中 9 号峰为二氢红花菜豆酸苷,10 号峰为(±)原苏木素 B。详见图 2。

3 讨论

本试验中测定了贵州 32 批云实皮药材的 UPLC 指纹图谱,确定了 14 个共有峰,并通过对照品指认了二氢红花菜豆酸苷和(±)原苏木素 B 2 个主要特征峰。总体来看,各批药材整体峰形相似,而峰面积存在一定差异。除贵阳药用植物园 2 批和从江 1 批药材相似度小于



9. 二氢红花菜豆酸苷 10. (±)原苏木素 B
A. 云实皮药材供试品溶液 B. 混合对照品溶液
图 2 云实皮指纹图谱

0.800 外,其余指纹图谱的相似度均较高,说明贵州不同产地云实皮药材整体化学成分组成差异较小,含量有一定差异,这与云实的生长环境、采收时间,云实皮的加工处理及贮藏方法有关。方法学考察结果表明,本试验中建立的 UPLC 法操作简便,所建立的指纹图谱峰分离度、精密度、稳定性、重复性均好,可用于控制云实皮药材的质量一致性。

参考文献:

- [1] 陈龙珠,何顺志,胡剑波,等. 中国云实属药用植物种类与分布[J]. 中国中药杂志,1999,24(10):582-584.
- [2] 陈丽萍,宋捷民. 中药云实的本草考证[J]. 中国民族民间医药,2010,19(21):47-48.
- [3] 贵州省药品监督管理局. 贵州省中药材、民族药材质量标准[M]. 贵阳:贵州科学技术出版社,2003:75.
- [4] 魏小华. 云实化学成分研究进展[J]. 广州化工,2012,40(6):25-27.
- [5] 马国需,孙忠浩,李朋飞,等. 云实种子中 1 个新颖卡山烷二萜类化合物[J]. 中草药,2016,47(11):1838-1940.
- [6] 魏华,郑杰,刘一涵,等. 云实种子中的二萜类化学成分[J]. 药学报,2016,51(9):1441-1444.
- [7] 向芳芳,刘一涵,王建霞,等. 云实种子的二萜类成分研究[J]. 中草药,2017,48(23):4836-4839.
- [8] 刘俊宏,刘佳,刘丽娜,等. UPLC 测定云实皮中二氢红花菜豆酸苷和原苏木素 B 的含量[J]. 中国实验方剂学杂志,2013,19(20):77-80.
- [9] 刘俊宏,汪石丽,胡露,等. 云实皮抗炎活性部位的化学成分[J]. 中国实验方剂学杂志,2014,20(20):110-113.

(收稿日期:2018-04-22)