

用高效液相色谱法鉴别小叶菝葜

黄慧莲 刘丽莎 刘荣华 邵峰 任刚 舒积成 林涛

(江西中医学院现代中药制剂教育部重点实验室,南昌,330004)

摘要 目的:利用高效液相色谱法鉴别 4 种不同产地的小叶菝葜。方法:利用 HPLC 方法,Thermon C₁₈ 分析柱(250 mm×4.6 mm,5 μm);柱温为 35℃;流动相为乙腈-0.2% 磷酸水梯度洗脱;流速 1.0 mL·min⁻¹;检测波长 330 nm。结果:小叶菝葜药材色谱图中有 18 个分离度较好的共有峰。结论:该方法可为小叶菝葜的鉴别研究提供参考。

关键词 菝葜科;HPLC;小叶菝葜

The Identification of Smilax Microphylla by HPLC

Huang Huilian, Liu Lisha, Liu Ronghua, Shao Feng, Ren Gang, Shu Jicheng, Lin Tao

(Key Laboratory of Modern Preparation of TCM, Ministry of Education, Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang, Post code: 330004)

Abstract Objective: To identify four kinds of Smilax microphylla produced in different places with the method of HPLC. **Methods:** The HPLC analysis was performed on a Thermon C₁₈ (150 mm×4.6 mm, 5 μm) column with gradient mobile phase of acetonitrile-0.2% phosphoric acid at 35℃, the detection wavelength was set at 330 nm with the flow rate of 1 mL·min⁻¹. **Results:** Eighteen main characteristic peaks in Smilax microphylla were selected. **Conclusions:** The method can be used to provide the reference for the identification of Smilax microphylla.

Key Words Smilacaceae; HPLC; Smilax microphylla

doi:10.3969/j.issn.1673-7202.2013.01.035

小叶菝葜为菝葜属植物小叶菝葜 *Smilax microphylla* C. H. Wright 的根茎,其味甘、苦,性平,临床上普遍用于治疗痛风性关节炎、支气管炎、肺结核咳嗽等疾患。现代药理研究表明,口服小叶菝葜提取物可以明显促进高尿酸血症模型大鼠的尿酸排泄,降低血液中的尿酸水平^[1-2]。我们在本试验对 4 种小叶菝葜进行考察,通过对高效液相色谱图进行分析比较,可为其鉴别研究提供一定的参考。

1 仪器与试剂

Agilent Technologies 1200 Series 高效液相色谱仪(G1322A 在线脱气、G1311A 四元泵、G1316A TCC、G1314B VWD)(美国 Agilent 公司);实验用小叶菝葜(样品编号为 1~4)分别采自湖南省永顺县、桑植县、保靖县及古丈县,经江西中医学院赖学文副教授鉴定为小叶菝葜。

2 方法与结果^[3-5]

2.1 色谱条件

色谱柱:Thermon C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相为乙腈-0.2% 磷酸水梯度洗脱,分析时间 82 min,浓度梯度为 0~15 min (5%~15%), 15~55 min (15%~25%), 55~82 min (25%~60%);流速为

1.0 mL·min⁻¹;检测波长为 330 nm;柱温为 35℃;进样量为 10 μL。

2.2 供试品溶液

分别取各药材适量,粉碎,过 3 号筛,精密称取 3.0 g,置 25 mL 具塞锥形瓶中,加入 10 mL 甲醇,密塞,称重,超声(工作频率 80 kHz)提取 60 min,放置冷却,补足重量,用 0.22 μm 微孔滤膜过滤,即得。

2.3 测定方法

精密吸取供试品溶液 10 μL,注入液相色谱仪,记录 82 min 的色谱图。

2.4 方法学考察

2.4.1 空白试验 精密吸取空白溶液 10 μL,注入高效液相色谱仪,按“2.1”项下规定的梯度条件洗脱,结果表明空白不干扰测定。

2.4.2 精密度考察 取样品编号为 2 的小叶菝葜 1 份,制备供试品溶液,重复进样 6 次,记录色谱图,考察各共有峰的相对保留时间以及相对峰面积比值的一致性,结果显示,共有峰的相对保留时间的 RSD 值均小于 0.2%,相对峰面积的 RSD 值均小于 3.8%,色谱峰的相似度高 0.994,表明该方法精密度良好。

2.4.3 重复性考察 取样品 2 的小叶菝葜 6 份,每份

表1 小叶菝葜相对保留时间

峰号 编号	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
1	0.12	0.61	0.61	0.65	1.00	1.19	1.40	1.54	1.81	1.89	2.25	2.40	2.53	2.59	2.70	2.91	2.48	2.98
2	0.12	0.61	0.61	0.65	1.00	1.19	1.40	1.54	1.81	1.89	2.26	2.40	2.53	2.60	2.70	2.91	2.48	2.98
3	0.12	0.61	0.61	0.65	1.00	1.20	1.40	1.54	1.81	1.89	2.26	2.40	2.53	2.59	2.70	2.91	2.48	2.98
4	0.12	0.60	0.61	0.65	1.00	1.20	1.40	1.55	1.81	1.90	2.26	2.40	2.54	2.59	2.71	2.92	2.47	2.99
平均值	0.12	0.61	0.61	0.65	1.00	1.20	1.40	1.54	1.81	1.89	2.26	2.40	2.53	2.59	2.70	2.91	2.48	2.98
RSD%	0.14	0.18	0.21	0.14	0	0.27	0.12	0.14	0.11	0.16	0.14	0.07	0.12	0.09	0.11	0.07	0.12	0.07

表2 小叶菝葜相对峰面积

峰号 编号	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
1	0.07	0.43	0.05	0.07	1.00	0.19	0.37	0.31	0.28	0.56	0.77	0.04	0.15	0.35	0.20	0.22	0.11	0.27
2	0.06	0.23	0.13	0.13	1.00	0.11	0.28	0.74	0.11	0.35	0.43	0.24	0.08	0.15	0.13	0.14	0.67	0.16
3	0.02	0.15	0.10	0.11	1.00	0.04	0.23	0.21	0.15	0.25	0.32	0.44	0.07	0.10	0.10	0.08	1.21	0.15
4	0.01	0.04	0.82	0.23	1.00	0.03	0.13	0.25	0.23	0.19	0.21	0.57	0.05	0.19	0.08	0.04	1.20	0.04
平均值	0.04	0.21	0.27	0.13	1.00	0.10	0.25	0.38	0.19	0.34	0.43	0.32	0.09	0.20	0.13	0.12	0.8	0.15

3.0g, 制备供试品溶液, 在结果显示, 各共有峰的相对保留时间的 *RSD* 值均小于 0.4%, 相对峰面积的 *RSD* 值均小于 3.8%, 相似度高于 0.994。表明该方法重复性良好。

2.4.4 稳定性考察 取样品编号为 2 的小叶菝葜 1 份, 制备供试品溶液, 在放置 0、2、4、8、12、24 h 后进样, 记录色谱图, 结果显示, 各共有峰的相对保留时间的 *RSD* 值均小于 0.3%, 相对峰面积的 *RSD* 值均小于 4.2%; 相似度高于 0.98; 表明供试品在 24 h 内稳定。

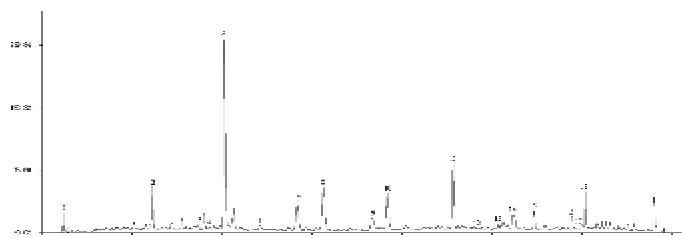
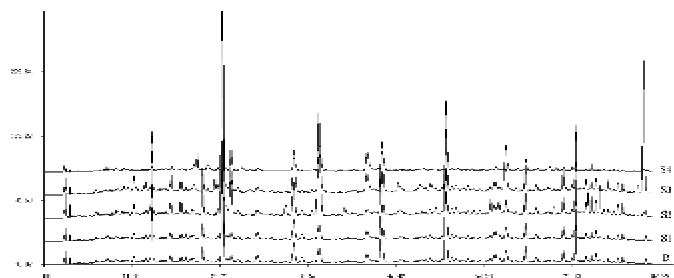


图1 小叶菝葜对照色谱图 (t/min)



S1 - S4 分别代表表中 1 - 4 号样品, R 为共有指纹图谱 (t/min)

图2 小叶菝葜样品的 HPLC 色谱图

2.5 小叶菝葜 HPLC 图谱共有模式的建立^[6-8]

在“2.1”项下色谱条件, 对 4 批小叶菝葜进行分析, 记录色谱图, 可以确定 18 个共有峰, 其中 5 号峰含量较高, 且峰形较好, 将其作为参照峰, 计算各峰对它

的相对保留时间、相对峰面积。结果见表 1 和表 2。采用“中药指纹图谱相似度计算软件 2004 年 A 版”, 将 4 批小叶菝葜药材图谱数据导入, 生成对照指纹图谱, 见图 1, 各批次药材与对照指纹图谱的相似度分别为 0.899、0.913、0.94、0.966, 基本符合药典规定的相似度要求。

3 讨论

本实验采用 HPLC 法测定了 4 批小叶菝葜的色谱图, 该方法稳定可靠, 重现性好, 可借助指纹图谱相关分析方法比较不同产地小叶菝葜的异同。本研究通过建立包括 18 个共有峰的小叶菝葜色谱图, 基本反映其化学背景特征, 这对小叶菝葜的鉴别提供了一定的参考依据。

参考文献

- [1] Giachetti D, Taddei I, Taddei E. Effects of Smilax macrophylla Vers. in normal or hyperuricemic and hyperuricosuric rats[J]. Pharmacol Res Commun, 1988, 20(Suppl 5): 59 - 62.
- [2] 黄慧莲, 黄会平, 邵峰, 等. 抗痛风性关节炎中草药小叶菝葜根茎总皂苷含量的测定[J]. 江西中医药大学学报, 2010, 22(5): 58 - 60.
- [3] 杨立勇, 李丽生, 王祥军, 等. 菝葜药材 HPLC 指纹图谱的鉴定[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(8): 104 - 107.
- [4] 周艳林, 严海, 钟小清, 等. 菝葜药材脂溶性成分指纹图谱研究[J]. 中草药, 2008, 39(8): 1246 - 1248.
- [5] 李珂, 张宏桂, 孙毅坤, 等. 土茯苓药材 HPLC 指纹图谱研究[J]. 中华中医药杂志, 2007, 22(4): 206 - 208.
- [6] 谢红, 杨娟, 王道平, 等. 透骨香药材 HPLC 指纹图谱研究[J]. 中成药, 2011, 33(4): 549 - 552.
- [7] 陈根顺, 徐丽芳, 李鹏. 草珊瑚的 HPLC 指纹图谱研究[J]. 中草药, 2011, 42(2): 293 - 296.
- [8] 杨洋, 蒋林, 郑国栋, 等. 道地药材广陈皮的 HPLC 指纹图谱研究[J]. 中药材, 2011, 34(2): 191 - 195.

(2012 - 07 - 30 收稿)