

石菖蒲去油水煎液的 HPLC 指纹图谱研究

陈小露¹, 袁德俊², 赵小宁¹, 吴雪茹², 吴启端¹(1. 广州中医药大学第一附属医院, 广东 广州 510405; 2. 广州中医药大学附属骨伤科医院, 广东 广州 510240)

摘要: 目的 用 HPLC 法建立石菖蒲去油水煎液的指纹图谱。方法 采用 Diamonsil C₁₈ 色谱柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 甲醇-水为流动相, 线性梯度洗脱; 检测波长为 270 nm; 流速: 1.0 mL·min⁻¹; 柱温: 30 ℃。结果 初步建立了石菖蒲去油水煎液的 HPLC 指纹图谱, 共标定 14 个共有峰; 17 批样品相似度较好。结论 所建立方法的精密度、重复性、稳定性良好, 为石菖蒲的质量控制提供参考。

关键词: 石菖蒲; 去油水煎液; 高效液相色谱法; 指纹图谱

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 1003-9783(2014)03-0323-04

doi: 10.3969/j.issn.1003-9783.2014.03.021

HPLC Fingerprint of Deoiling Decoction of Rhizoma Acori Tatarinowii

CHEN Xiaolu¹, YUAN Dejun², ZHAO Xiaoning¹, WU Xueru², WU Qiduan¹(1. The First Affiliated Hospital of Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510405 Guangdong, China; 2. The Affiliated Orthopedics and Traumatology Hospital of Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510240 Guangdong, China)

Abstract: **Objective** To establish the fingerprint of deoiling decoction of Rhizoma Acori Tatarinowii by high performance liquid chromatography(HPLC). **Methods** The Diamonsil C₁₈ column(250 mm × 4.6 mm, 5 μm) was used, UV detection wavelength was set at 270 nm, and the column temperature was 30 ℃. The mobile phase was a linear gradient of methanol-water at the flow rate of 1.0 mL·min⁻¹. **Results** The HPLC fingerprint of deoiling decoction of Rhizoma Acori Tatarinowii was preliminarily established and 14 common peaks were displayed in the fingerprint. The 17 batches of samples had good similarity. **Conclusion** The precision, repeatability and stability of the measurement are subjecting to the standard, and this study will provide reference for quality control of Rhizoma Acori Tatarinowii.

Keywords: Rhizoma Acori Tatarinowii; Deoiling decoction; HPLC; Chromatographic fingerprint

石菖蒲为天南星科植物石菖蒲 *Acorus tatarinowii* Schott 的干燥根茎, 具有开窍豁痰、醒神益智、化湿开胃的功效, 用于神昏癫痫、健忘失眠、耳鸣耳聋、脘痞不饥、噤口下痢^[1]。石菖蒲除挥发油外, 尚含有黄酮、醌、生物碱、有机酸、氨基酸、糖及无机离子等成分^[2]。挥发油作为石菖蒲的有效部位, 已有人采用气相色谱法和气质联用技术对其指纹图谱和质量进行研究^[3-7], 而石菖蒲去油水煎液的指纹图谱研究鲜有报道。研究^[8-11]表明石菖蒲去油水煎液中

的物质具有益智、抗癫痫、抗抑郁和抗惊厥等多种功效, 且临床用药以传统汤剂为主, 所以建立石菖蒲去油水煎液指纹图谱, 完善石菖蒲药材的质量控制是非常有必要的。前期研究^[12]发现石菖蒲去油水煎液中至少含有 10 个以上的成分。林双峰等^[13]用液质联用色谱法分析发现石菖蒲去油水煎液中含有菖蒲碱甲、菖蒲碱乙、细辛醛、高良姜素等成分。笔者采用 HPLC 法对 17 批石菖蒲去油水煎液进行了测定, 初步建立了石菖蒲去油水煎液的 HPLC 指纹图谱。

收稿日期: 2013-11-08

作者简介: 陈小露, 硕士研究生, 研究方向: 中药分析与中药新药研发。Email: cxlnihao1989@126.com。通讯作者: 吴启端, 研究员, 硕士生导师, 研究方向: 中药分析与中药新药研发。Email: wuqiduan@126.com。

基金项目: 广州中医药大学中医药科研创新基金项目(10CX064)。

1 仪器与试药

Waters e2695 高效液相色谱仪(四元泵, 在线脱气机, 自动进样器, Waters 柱温箱)、Waters 2489 紫外/可见光检测器、Empower 3 工作站, 美国 Waters 公司。SB-5200 DTD 超声清洗机, 宁波新芝生物科技股份有限公司; 甲醇, 为色谱纯, 天津市四友精细化学品有限公司; 水为超纯水, 美国 Millipore 超纯水机制备; 17 批样品来源于四川、湖南、广西, 由广州中医药大学附属骨伤科医院吴雪茹主任中药师鉴定均为天南星科植物石菖蒲 *Acorus tatarinowii* Schott 的干燥根茎, 见表 1。

表 1 石菖蒲药材的来源

Table 1 The origin and batch number of *A. tatarinowii*

编号	产地	批号	编号	产地	批号
S1	四川	100801	S10	广西	130401
S2	四川	68612611	S11	广西	120901
S3	四川	121102041	S12	广西	130501
S4	四川	121108831	S13	广西	101101
S5	四川	121201	S14	广西	130101
S6	四川	121204051	S15	广西	130301
S7	四川	120201-15	S16	广西	130701
S8	四川	120201-10	S17	广西	121001
S9	湖南	070108			

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱: Diamonsil C₁₈ 色谱柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-水, 线性梯度洗脱, 洗脱程序: 0→20 min, 甲醇为 4%→10%, 20→45 min, 甲醇为 10%→80%, 50→60 min, 甲醇为 80%→4%, 60→63 min, 甲醇为 4%; 进样量: 10 μL; 流速: 1.0 mL·min⁻¹; 检测波长: 270 nm; 柱温: 30 ℃。

2.2 样品制备 称取石菖蒲药材 150 g, 加 8 倍水, 浸泡 1 h, 采用《中国药典》^[1] 挥发油项下甲法操作, 提取至挥发油不增加为止, 收集圆底烧瓶中的水液, 过滤, 置 4 ℃冰箱保存。取适量上清液过 0.45 μm 微孔滤膜, 为供试品溶液。

2.3 方法学考察

2.3.1 精密度试验 精密吸取同一批供试品溶液 10 μL, 按 2.1 项下色谱条件连续进样 6 次, 记录色谱图, 计算各主要共有峰的相对峰面积和相对保留时间。结果各主要共有峰的相对保留时间 RSD<0.38%, 相对峰面积 RSD<3.37%, 表明仪器的精密度良好。

2.3.2 重复性试验 取同一批石菖蒲药材, 按 2.2 项

下方法平行制备 6 个供试品, 并各吸取 10 μL, 按 2.1 项下色谱条件分别测定, 记录色谱图, 计算各主要共有峰的相对峰面积和相对保留时间。结果各主要共有峰的相对保留时间 RSD<0.50%, 相对峰面积 RSD<4.66%, 表明方法的重复性良好。

2.3.3 稳定性试验 精密吸取同一批供试品溶液 10 μL, 按 2.1 项下测定, 分别在 0, 6, 12, 24 h 进样, 记录色谱图, 计算各主要共有峰的相对峰面积和相对保留时间。结果各主要共有峰的相对保留时间 RSD<1.54%, 相对峰面积 RSD<3.50%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.4 样品检测 分别精密吸取 17 批石菖蒲去油水煎液供试品溶液各 10 μL, 按 2.1 项下色谱条件进样, 记录所得到的石菖蒲去油水煎液的色谱图。

2.5 指纹图谱的构建

2.5.1 共有峰的确定 采用中药色谱指纹图谱相似度评价系统 2004A 版软件对 17 批石菖蒲去油水煎液的色谱图的相关参数进行自动匹配, 共标定 14 个色谱峰为共有峰。保留时间在 48.111 min 左右的峰面积较大, 但不是 17 批样品所共有, 故未编号。17 批样品共有峰的峰面积平均占总峰面积的 87.9%。最终生成的 17 批石菖蒲去油水煎液的指纹图谱(对照指纹图谱 R)和色谱叠加图, 分别见图 1、图 2。

2.5.2 样品共有峰相对保留时间、相对峰面积计算 选择编号为 S1 的色谱图作为参照图谱, 以中位数法作

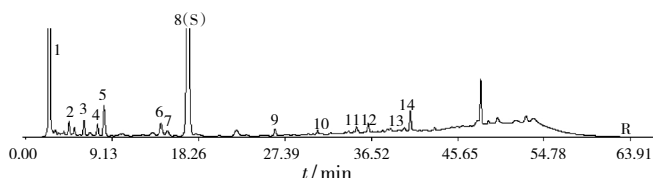


图 1 石菖蒲去油水煎液的 HPLC 指纹图谱

Figure 1 HPLC fingerprint of deoiled decoction of *A. tatarinowii*

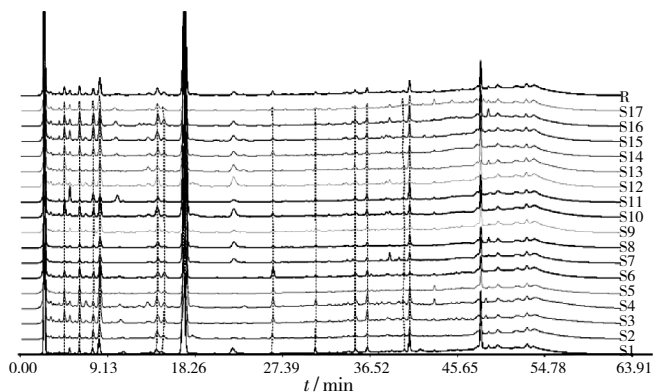


图 2 17 批石菖蒲去油水煎液的 HPLC 色谱叠加图

Figure 2 HPLC overlapping chromatograms for seventeen batches of deoiled decoction of *A. tatarinowii*

为对照图谱的生成方法，设定时间窗宽度为 0.20 min，生成石菖蒲去油水煎液的对照图谱。保留时间在 17.174 min 的 8 号峰保留时间固定，峰面积大且较稳定，在色谱图上容易辨认，故将该峰作为参照峰。以参照峰的保留时间和峰面积作为 1，分别计算各样品共有峰的相对保留时间和相对峰面积，见表 2 和表 3。

2.5.3 相似度计算 将 17 批石菖蒲去油水煎液的实

验数据导入到中药色谱指纹图谱相似度评价系统 2004A 软件中进行相似度计算，结果 17 批石菖蒲去油水煎液与相应对照图谱的相似度均在 0.72 以上，其中有 11 个批次药材的相似度达到了 0.93 以上。石菖蒲去油水煎液相似度评价结果见表 4。

3 讨论

本实验考察了 Waters XBridge C₁₈ 色谱柱、Waters SunFire™ C₁₈ 色谱柱、Waters Symmetry Shield RP18 色

表 2 17 批石菖蒲去油水煎液共有峰的相对保留时间

编号	峰1	峰2	峰3	峰4	峰5	峰6	峰7	峰8	峰9	峰10	峰11	峰12	峰13	峰14
S1	0.1436	0.2695	0.3613	0.4424	0.4834	0.8330	0.8652	1.0000	1.5381	1.8056	2.0497	2.1230	2.3505	2.3818
S2	0.1429	0.2692	0.3615	0.4441	0.4840	0.8338	0.8717	1.0000	1.5355	1.7988	2.0398	2.1127	2.3382	2.3712
S3	0.1434	0.2694	0.3605	0.4438	0.4845	0.8333	0.8740	1.0000	1.5349	1.7945	2.0339	2.1076	2.3256	2.3653
S4	0.1434	0.2684	0.3605	0.4428	0.4845	0.8304	0.8750	1.0000	1.5349	1.7945	2.0349	2.1076	2.3246	2.3653
S5	0.1442	0.2691	0.3611	0.4453	0.4850	0.8345	0.8751	1.0000	1.5343	1.7938	2.0329	2.1055	2.3242	2.3639
S6	0.1433	0.2691	0.3611	0.4453	0.4840	0.8345	0.8741	1.0000	1.5343	1.7928	2.0329	2.1055	2.3281	2.3630
S7	0.1434	0.2684	0.3615	0.4448	0.4845	0.8353	0.8750	1.0000	1.5349	1.7945	2.0339	2.1066	2.3304	2.3643
S8	0.1434	0.2694	0.3615	0.4448	0.4855	0.8343	0.8750	1.0000	1.5349	1.7945	2.0339	2.1076	2.3323	2.3653
S9	0.1434	0.2694	0.3624	0.4458	0.4855	0.8362	0.8750	1.0000	1.5358	1.7945	2.0349	2.1076	2.3323	2.3653
S10	0.1445	0.2696	0.3618	0.4462	0.4850	0.8332	0.8749	1.0000	1.5354	1.7954	2.0359	2.1077	2.3327	2.3666
S11	0.1445	0.2696	0.3618	0.4442	0.4850	0.8361	0.8749	1.0000	1.5354	1.7944	2.0349	2.1067	2.3279	2.3657
S12	0.1445	0.2696	0.3618	0.4452	0.4850	0.8322	0.8749	1.0000	1.5354	1.7954	2.0359	2.1077	2.3337	2.3666
S13	0.1446	0.2699	0.3621	0.4456	0.4854	0.8340	0.8748	1.0000	1.5359	1.7961	2.0359	2.1087	2.3349	2.3679
S14	0.1456	0.2699	0.3621	0.4456	0.4854	0.8369	0.8748	1.0000	1.5368	1.7971	2.0378	2.1096	2.3271	2.3688
S15	0.1438	0.2692	0.3625	0.4451	0.4850	0.8338	0.8746	1.0000	1.5374	1.7978	2.0388	2.1117	2.3304	2.3703
S16	0.1446	0.2699	0.3621	0.4456	0.4845	0.8378	0.8738	1.0000	1.5368	1.7961	2.0368	2.1096	2.3320	2.3669
S17	0.1451	0.2697	0.3612	0.4440	0.4830	0.8374	0.8705	1.0000	1.5384	1.8003	2.0428	2.1158	2.3329	2.3758
$\bar{x} \pm s$	0.1440±0.0008	0.2694±0.0004	0.3616±0.0006	0.4447±0.0011	0.4846±0.0007	0.8345±0.0019	0.8737±0.0025	1.0000±0.0000	1.5358±0.0013	1.7962±0.0031	2.0368±0.0042	2.1095±0.0044	2.3316±0.0062	2.3679±0.0048

表 3 17 批石菖蒲去油水煎液共有峰的相对峰面积

编号	峰1	峰2	峰3	峰4	峰5	峰6	峰7	峰8	峰9	峰10	峰11	峰12	峰13	峰14
S1	0.4559	0.0090	0.0284	0.0322	0.0940	0.0441	0.0202	1.0000	0.0080	0.0266	0.0312	0.0431	0.0115	0.0918
S2	0.4146	0.0137	0.0173	0.0307	0.0608	0.0481	0.0180	1.0000	0.0149	0.0052	0.0098	0.0142	0.0098	0.0263
S3	1.8860	0.1283	0.1765	0.1115	0.3937	0.1828	0.0896	1.0000	0.0897	0.0360	0.1242	0.1466	0.0560	0.2061
S4	0.5547	0.0373	0.0543	0.0180	0.1520	0.0535	0.0259	1.0000	0.0370	0.0158	0.0300	0.0339	0.0120	0.0512
S5	3.3477	0.0555	0.0820	0.0719	0.1542	0.1104	0.0570	1.0000	0.0874	0.0171	0.0314	0.0415	0.0462	0.0164
S6	3.2079	0.1194	0.1395	0.0857	0.2813	0.1576	0.1397	1.0000	0.1845	0.0232	0.0744	0.0813	0.0369	0.0468
S7	0.6619	0.0087	0.0125	0.0063	0.0410	0.0290	0.0098	1.0000	0.0123	0.0047	0.0107	0.0170	0.0041	0.0283
S8	0.5865	0.0080	0.0143	0.0109	0.0496	0.0424	0.0085	1.0000	0.0057	0.0060	0.0102	0.0162	0.0049	0.0431
S9	0.3033	0.0161	0.0319	0.0231	0.0895	0.0606	0.0162	1.0000	0.0142	0.0144	0.0173	0.0249	0.0168	0.0451
S10	0.3035	0.0362	0.0247	0.0187	0.0495	0.0353	0.0087	1.0000	0.0086	0.0028	0.0086	0.0104	0.0051	0.0179
S11	4.2566	0.0980	0.0768	0.2594	0.2040	0.1990	0.0634	1.0000	0.0457	0.0320	0.1031	0.1551	0.0660	0.4268
S12	0.2722	0.0327	0.0235	0.0169	0.0471	0.0335	0.0081	1.0000	0.0082	0.0025	0.0046	0.0090	0.0046	0.0151
S13	0.7447	0.0491	0.0118	0.0116	0.0497	0.0393	0.0095	1.0000	0.0093	0.0164	0.0252	0.0329	0.0117	0.0890
S14	0.7974	0.0494	0.0451	0.0424	0.1018	0.0621	0.0318	1.0000	0.0311	0.0079	0.0104	0.0219	0.0117	0.0306
S15	0.7310	0.0659	0.0665	0.0721	0.1163	0.0711	0.0193	1.0000	0.0153	0.0041	0.0104	0.0223	0.0117	0.0489
S16	1.8187	0.1262	0.1459	0.1393	0.2066	0.1843	0.1106	1.0000	0.0201	0.0100	0.0666	0.0718	0.0299	0.1409
S17	5.1037	0.2189	0.2550	0.3141	0.5162	0.3607	0.1765	1.0000	0.1206	0.0775	0.1219	0.1450	0.2102	0.2924
$\bar{x} \pm s$	1.4968±1.5389	0.0631±0.0577	0.0709±0.0695	0.0744±0.0891	0.1534±0.1341	0.1008±0.0893	0.0478±0.0517	1.0000±0.0000	0.0419±0.0502	0.0178±0.0185	0.0406±0.0413	0.0522±0.0503	0.0323±0.0497	0.0951±0.1137

表 4 17 批石菖蒲去油水煎液的相似度计算结果

Table 4 Results of similarity analysis for the 17 batches of decoiled decoction of *A. tatarinowii*

编号	相似度	编号	相似度
S1	0.955	S10	0.950
S2	0.975	S11	0.743
S3	0.868	S12	0.941
S4	0.988	S13	0.997
S5	0.784	S14	0.997
S6	0.792	S15	0.997
S7	0.997	S16	0.892
S8	0.995	S17	0.723
S9	0.931		

谱柱、Kromasil KP100-5 C₁₈ 色谱柱和 Diamonsil C₁₈ 色谱柱。结果表明,采用 Diamonsil C₁₈ 色谱柱出峰最多,分布均匀且分离度最好。检测波长选择:分别采用紫外检测器考察了 254, 270, 280, 300, 320, 340 nm 等波长,在270 nm 检测波长下,色谱图的出峰信息多,各峰吸收信号较强。考察溶剂峰时我们取一个空白样品,按 2.1 项下色谱条件进样,结果发现在 50 min 左右有几个小峰,所以在共有峰确定时没有进行匹配。样品进样运行时间的确定:取供试品溶液按 2.1 项下色谱条件进样考察 120 min,结果样品在 60 min 之后不再出峰,保持 3 min 等度洗脱使基线稳定以便下一针连续进样,故将运行时间设为 63 min。

本实验建立了石菖蒲去油水煎液的指纹图谱,经方法学验证合理可行,且试验条件容易重复。相似度结果表明,大部分样品的相似度较好,个别样品相似度偏低。相似度偏低的原因可能是土壤、气候等自然条件,或者是炮制、包装和储运过程等引起药材质量的差异。17 批石菖蒲药材购自 6 家药业公司,且购买时间跨度大,能在一定程度上保证指

纹图谱的广泛性和代表性。但由于石菖蒲药材的产地较多,本实验只收集了 3 个产地的石菖蒲药材,故所得的指纹图谱存在一定的局限性,课题组拟收集更多地区的药材进行验证,使石菖蒲去油水煎液的指纹图谱更全面。

参考文献:

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(1 部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 85.

[2] 欧阳恩鸿. 石菖蒲非挥发性成分研究进展[J]. 中国民族民间医药杂志, 2010, (2): 40-41.

[3] 黄月纯, 魏刚. 石菖蒲挥发油的气相色谱指纹图谱研究[J]. 中国药房, 2005, 16(21): 1676-1677.

[4] 任洪耀, 王莹, 蒋海强, 等. 石菖蒲挥发油纯化品气相色谱指纹图谱及模式识别研究[J]. 山东中医药大学学报, 2013, 37 (2): 160-161, 170.

[5] 魏刚, 林双峰, 方永奇, 等. GC-MS 建立石菖蒲挥发油质量标准研究[J]. 中国中药杂志, 2005, 30(10): 794-796.

[6] 吴启端, 王淑英, 袁德俊, 等. 石菖蒲挥发油质量研究[J]. 广州中医药大学学报, 2013, 30(1): 72-77.

[7] 李艳艳, 姜志恒, 尹建元, 等. 两产地石菖蒲挥发油中主成分及其含量的比较[J]. 特产研究, 2011, (1): 44-45, 62.

[8] 顾健, 胡锦官, 谭睿. 石菖蒲及其有效成分对小鼠学习记忆的作用及 α- 细辛醚药物动力学研究[J]. 世界科学技术- 中医药现代化, 2003, 5(1): 53-57, 83.

[9] 林双峰, 邹衍衍, 李小兵, 等. 石菖蒲不同部位对戊四唑点燃大鼠药效学研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(9): 158-161.

[10] 季宁东, 李娟好, 李明亚, 等. 柴胡皂苷对石菖蒲醇沉液抗抑郁作用的影响[J]. 中外医疗, 2008, (5): 27-28.

[11] 鲁效慧, 赵芬琴. 石菖蒲多糖的抗惊厥作用研究[J]. 中国医药导报, 2009, 6(26): 39-40.

[12] 吴启端, 方永奇, 魏刚, 等. 石菖蒲去油水煎液的高效液相色谱分析[J]. 时珍国医国药, 2002, 13(7): 385-387.

[13] 林双峰, 邹衍衍, 李小兵, 等. 石菖蒲去挥发油水提液的 LC-MS 分析[J]. 现代生物医学进展, 2010, 10(15): 2952-2957, 2960.

(编辑: 梁进权)

国家药品不良反应监测年度报告 (2013 年) ——基本药物监测情况

国家食品药品监督管理总局 <http://www.sda.gov.cn/WS01/CL0051/99774.html>

2013 年全国药品不良反应监测网络共收到国家基本药物的不良反应 / 事件报告 53.0 万例, 其中严重报告 2.6 万例, 占 4.9 %。国家基本药物不良反应 / 事件报告中, 化学药品和生物制品报告数量排名前五位的均为抗微生物药, 分别是左氧氟沙星、头孢曲松、头孢呋辛、青霉素和头孢唑林。中成药注射剂排名前五位的品种分别是: 清开灵注射液、参麦注射液、血塞通注射液、注射用血塞通(冻干)和丹参注射液; 中成药口服制剂排名前五位的品种分别是: 鼻炎康片、双黄连合剂(口服液、颗粒、胶囊、片)、复方丹参片(颗粒、胶囊、滴丸)、六味地黄丸(颗粒、胶囊)和黄连上清丸(颗粒、胶囊、片)。

配合《国家基本药物目录》(2012 年版)的发布实施, 国家食品药品监督管理总局调整了基本药物不良反应监测平台, 开展了对新目录品种的监测工作, 并加大对基本药物的预警监测力度。总体上看, 2013 年国家基本药物安全状况继续保持平稳态势。

(编辑部辑录)