

温郁金指纹图谱共有模式的建立

陈爱瑛, 徐世芳, 姜丽霞* (浙江省医学科学院药物研究所, 杭州 310013)

摘要:目的 根据温郁金所含化学成分的特性, 建立气相色谱指纹图谱共有模式, 为控制浙八味之一的温郁金药材质量提供一种新的思路。方法 HP-5 色谱柱 (30 m × 0.32 mm × 0.25 μm); FID 检测器; 柱温采取程序升温, 进样量 1 μL。结果 6 批温郁金药材得到的指纹图谱共有 22 个共有峰, 与对照品比较, 其中 S 峰为莪术醇。结论 温郁金药材指纹图谱特征性及专属性强, 可结合含量测定用于全面控制温郁金药材质量, 确保产品的均一性。

关键词: 温郁金; 莪术醇; 指纹图谱; 共有模式; 质量控制

中图分类号: R931.5 文献标识码: A 文章编号: 1007-7693(2007)04-0269-03

Establishment of the Mutual Mode Finger Print for Radix Curcumae

CHEN Ai-ying, XU Shi-fang, JIAN Li-xia* (*Institute of Medica Materia, Zhejiang Academy of Medicine, Hangzhou 310013, China*)

ABSTRACT: OBJECTIVE To provide a new method of quality control for radix curcumae which is among Zhe Ba Wei (eight famous Chinese crude drugs of Zhejiang Province), by establishing the mutual mode finger print of gas chromatogram according to the character of the chemical ingredient in radix curcumae. **METHODS** HPLC was used with HP-5 chromatogram column (30 m × 0.32 mm × 0.25 μm) and FID detector, temperature programming was used on column temperature, the amount of sample was 1 μL. **RESULTS** There were total 22 mutual peaks in the finger print of the 6 groups of radix curcumae, Compared with that of control samples, the S peak among them represented curcumenol. **CONCLUSION** The character and specificity of radix curcumae's finger print is remarkable, which can be combined with assaying in the quality control of radix curcumae as Chinese crude drug and ensuring the homogeneity of the production.

KEY WORDS: Radix Curcumae; curcumenol; finger print; mutual mode; quality control

基金项目: 浙江省中医药局项目 (2003Y009)

作者简介: 陈爱瑛, 女, 高级实验师 * 通讯作者: 姜丽霞, 女, 研究员 Tel: (0571) 88215618

药材温郁金为姜科植物温郁金的干燥块根,以该类植物作为原料之一制成的制剂莪术油葡萄糖注射液属于抗病毒药,有效成分主含莪术醇(curcumenol)^[1]。温郁金作为浙江的道地药材,在温州永嘉有种植。为了控制温郁金的质量,笔者按照国家药品监督管理局2002年颁发的关于中药材指纹图谱技术要求,运用相关软件,对温郁金进行了指纹图谱研究。实验证明,方法简便,可靠,重复性好,可作为温郁金药材及其制剂指纹图谱研究的基础,也为温郁金药材GAP生产基地建设提供理论依据和质量保证手段。

1 仪器与试剂

Agilent6890 气相色谱仪,AgilentG2613A 自动进样器;国家药典委员会中药色谱指纹图谱相似度评价系统软件;温郁金的干燥块根(由温州永嘉县桥下供销合作社提供6批,为不同乡村),由浙江中医学院张如松教授鉴定;莪术醇对照品购于中国生物制品检定所,批号10185-0104;甲醇、乙酸乙酯为分析纯。

2 方法

2.1 色谱条件

HP-5 色谱柱(30 m×0.32 mm×0.25 μm);FID 检测器;载气为氮气;柱前压10 psi;分流比1/50;氮气流量:1.0 mL·min⁻¹,氢气:45 mL·min⁻¹,空气:500 mL·min⁻¹;气化室温度为280℃;检测器温度为300℃;柱温采取程序升温,起始温度125℃(15'),升温速率40℃·min⁻¹,至175℃保持30 min,终止温度280℃,保持10 min;进样量1 μL。

2.2 参照溶液的制备

取莪术醇对照品适量,用甲醇溶解并稀释,制成0.3997 mg·mL⁻¹溶液,摇匀,即得。气相色谱见图1。

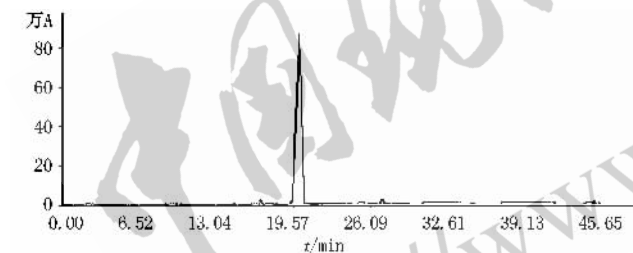


图1 莪术醇 GC 对照图谱

Fig 1 GC chemical reference substances of Curcumenol

2.3 供试溶液的制备

取温郁金片粉碎成最粗粉,过3号筛筛除细粉。精密称取100 g置具塞三角烧瓶中,加250 mL水浸泡过夜,按参考文献^[2]方法提取挥发油12 h,合并提取液,置10 mL量瓶中,并用醋酸乙酯稀释并定容至刻度,摇匀,经0.45 μm微孔滤膜过滤。气相色谱见图2。

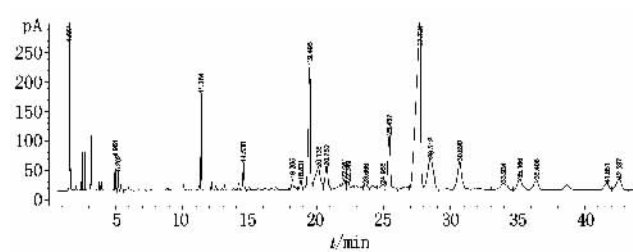


图2 温郁金药材 GC 图谱

Fig 2 GC of radix curcumae

2.4 精密度试验

取样品供试液,连续进样5次,主要特征峰(S)保留时间分别为19.5,19.6,19.2,19.3,19.7 min,保留时间RSD为1.1%。峰面积分别为1442,1270,1341,1181,1171,峰面积变异系数小于10%,说明仪器精密度良好。

2.5 稳定性试验

取样品供试液,分别在1,2,4,6,8,12 h进样,主要特征峰(S)保留时间分别为19.8,19.6,19.3,19.7,19.6 min,保留时间RSD为1.0%;峰面积分别为1342,1470,1141,1231,1151,RSD小于10%。方法稳定性良好。

2.6 重复性试验

取温郁金片样品5份,分别提取挥发油后,进样分析,主要特征峰(S)保留时间分别为19.5,20.0,19.2,19.4,19.6 min,保留时间RSD为1.5%;峰面积分别为1376,1128,1240,1167,1178,峰面积RSD小于10%。方法重复性良好。

3 指纹图谱分析

取各批次药材供试液依次进样,记录色谱图。6批温郁金药材样品的色谱图见图3,通过国家药典委中药色谱指纹图谱相似度评价系统软件,提取出药材的共有模式作为对照指纹图谱见图4,共有22个色谱峰是6批药材所共有的,因此,确定它们为共有指纹峰。其中S峰为参照物莪术醇(指标成分),其余共有峰与S峰相对保留时间与相对峰面积见表1。

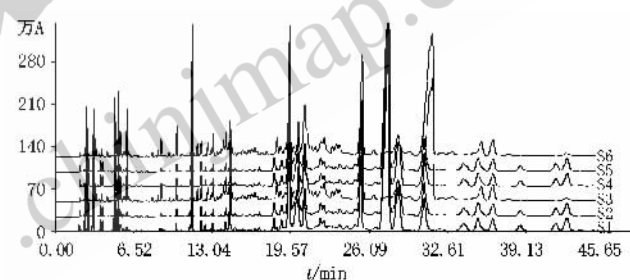


图3 6批温郁金药材指纹图谱叠加图

Fig 3 Finger print of 6 batch reference medicinal of radix curcumae

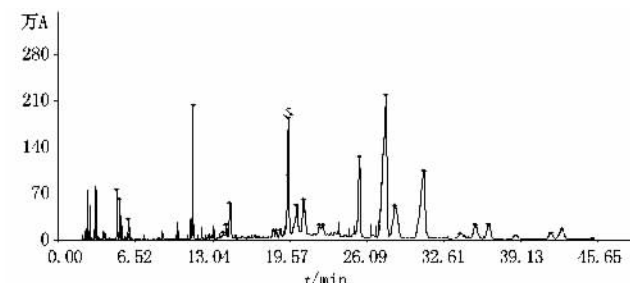


图4 温郁金药材对照指纹图谱

Fig 4 GC finger print of radix curcumae substances

4 讨论

4.1 药材前处理条件

挥发油提取过程中,细粉会产生大量泡沫,严重影响挥发油的提取得率。而粗颗粒状药材提取产生的泡沫相对比较小,但需增加提取次数。

表1 各共有峰与指标成分(S)相对保留时间和峰面积

Tab 1 The relative retention time and area of mutual peak and target ingredient

各共有峰	相对于 S 峰	峰面积	相对于 S 峰
保留时间	保留时间		峰面积
4.8	0.24	82	0.05
4.9	0.25	193	0.12
5.2	0.27	113	0.07
11.4	0.58	668	0.41
14.2	0.21	89	0.06
14.5	0.74	331	0.21
14.9	0.76	88	0.06
18.2	0.93	196	0.12
18.8	0.96	203	0.13
19.5(S 峰)	1	1598	1
20.2	1.03	1009	0.63
20.7	1.06	673	0.42
22.1	1.13	169	0.11
25.4	1.30	1400	0.88
27.7	1.42	7022	4.4
28.5	1.46	1064	0.66
30.7	1.57	1190	0.74
33.9	1.73	463	0.29
35.2	1.81	523	0.33
36.4	1.87	428	0.27
41.6	2.13	300	0.19
42.6	2.18	527	0.33

4.2 色谱方法的选择

笔者曾试用高效液相色谱来建立指纹图谱,结果挥发油样品出峰较少,不能实现图谱的多指标控制,不能反映该药材特有的色谱指纹图谱全貌。而采用气相色谱则符合指纹图谱的建立原则。

4.3 色谱条件的优化

温郁金挥发油成分复杂,选择恒定的温度无法使各成分很好的分离,而采用程序升温可以使样品各成分在整个分析时间段内充分分离。在中药色谱指纹图谱中,在首先保证指标成分(如参照物)完全分离的前提下,应尽可能的使所有色谱峰多能分离,以便准确的反映各色谱峰对应的成分的含量信息。试验中先后考察了不同柱子、不同温度程序等条件,最后确定了如“2.1”色谱条件,获得了分离度较好的升温程序。

4.4 共有峰的确定

对于共有峰的确定,指纹图谱指导原则并没有明确的规定。本实验选用莪术醇(S 峰)为参照物,超过其峰面积 5% 色谱峰,同时依据国家颁布的《中药注射剂指纹图谱研究的技术要求(暂行)》,通过采用不同批次温郁金药材样品,建立其共有模式作为对照指纹图谱,根据对照指纹图谱的特征以及其指标成分(莪术醇),确定共有峰。而非共有峰面积之和小于总峰面积 5%。

4.5 药材评价优点

以指纹图谱共有模式为标准,对药材进行评价,比以对单一有效成分作含量测定控制质量更为全面。可以保证不同批次之间药材质量的稳定可控。对于指导温郁金 GAP 基地建设和药材质量控制提供了新的手段。

参考文献

[1] Ch. P(2005) Vol II (中国药典 2005 年版. 二部)[S]. 2005: 591-592.

[2] XIE Y, HAN L J, ZHANG Z X, *et al.* Com parison of curcuml contents in essential oil from four species of rhizoma CurcRmae L [J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药),2001,32(7):600-602.