

# 延胡索晒干品的 HPLC 指纹图谱

杜加秋<sup>1</sup>, 方滢芝<sup>2</sup>, 俞剑平<sup>3</sup>(1.浙江海正药业股份有限公司, 浙江 台州 318000; 2.浙江大学医学院附属邵逸夫医院, 杭州 310016; 3.浙江省食品药品检验研究院, 杭州 310004)

**摘要:** 目的 建立延胡索晒干品的 HPLC 指纹图谱, 为该药材质量的科学评价和有效控制提供可靠方法。方法 采用 Diamonsil C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm); 柱温为 25 °C; 流动相为乙腈(A)-0.1%磷酸溶液(三乙胺调节 pH 值至 6.0)(B), 梯度洗脱; 流速为 1.0 mL·min<sup>-1</sup>; 检测波长为 230 nm; 进样量 10 μL。结果 建立了不同产地延胡索的 HPLC 指纹图谱, 计算了相似度, 方法学考察的各项参数符合有关规定。结论 该分析方法准确可靠, 重复性好, 为更好地控制延胡索内在质量提供科学依据。

**关键词:** 延胡索; 高效液相色谱法; 指纹图谱

中图分类号: R917.101

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2015)03-0298-04

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2015.03.010

## HPLC Fingerprint of Corydalis Rhizoma Dry Goods

DU Jiaqiu<sup>1</sup>, FANG Yingzhi<sup>2</sup>, YU Jianping<sup>3</sup>(1.Zhejiang Hisun Pharmaceutical Co., Ltd., Taizhou 318000, China; 2.Affiliated Sir Run Run Shaw Hospital, Medicine College, Zhejiang University, Hangzhou 310016, China; 3.Zhejiang Institute for Food and Drug Control, Hangzhou 310004, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To establish a sensitive and specific HPLC method and a standard fingerprint for quality control of Corydalis Rhizoma dry goods. **METHODS** Diamonsil C<sub>18</sub> column(4.6 mm × 300 mm, 5 μm) was adopted, gradient elution was applied with mobile phase A(acetonitrile) and mobile phase B(triethylamine adjusted to pH 6.0). The flow rate was 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, the detective wavelength was 230 nm, the column temperature was 25 °C injection volume was 10 μL. **RESULTS** HPLC fingerprints of different source of the Corydalis Rhizoma were established. The semblance was calculated. The results of methodological study met the technical requirements for fingerprint. **CONCLUSION** This method is accurate, reproducible and provides a scientific basis for quality evaluation of the Corydalis Rhizoma.

**KEY WORDS:** Corydalis Rhizoma; HPLC; fingerprint

延胡索又名元胡、玄胡、玄胡索等, 为罂粟科植物延胡索 *Corydalis yanhusuo* W.T.Wang 的干燥块茎。延胡索产地广泛, 其中浙江产的延胡索被奉为道地药材, 是著名的浙八味之一<sup>[1]</sup>。中医理论认为延胡索具有活血化瘀、行气止痛的功效<sup>[2-3]</sup>, 现代药理认为延胡索具有催眠、抗溃疡、解痉和增加冠脉血流的作用, 在临床上使用广泛<sup>[4]</sup>。延胡索含有多种生物碱, 其中延胡索乙素是主要的活性成分<sup>[5]</sup>。延胡索已收载入中国药典 2010 年版一部, 其中来源为“夏初茎叶枯萎时采挖, 除去须根, 洗净, 置沸水中煮至恰无白心时取出, 晒干”。考虑延胡索在沸水煮时可能对部分化学成分有影响, 故本试验以新鲜延胡索, 洗净, 晒干后得延胡索药材晒干品, 考察不同产地的延胡索指纹图谱。建立延胡索的 HPLC 指纹图谱质量评价体系, 为延胡索药材质量的评价和控制提供依据。

## 1 仪器和试剂

### 1.1 仪器和试剂

Agilent 1100 系列高效液相色谱仪; Agilent Chemstation 色谱工作站; AG245 电子分析天平(梅特勒-托利多); 乙腈(色谱纯, 德国 Merck); 其他试剂均为分析纯。

### 1.2 对照品和药材

延胡索乙素(中国食品药品检定研究院, 批号: 110726-200409, 含量: 99.8%), 脱氢延胡索乙素(浙江省食品药品检验研究院, 标化, 纯度: 98.2%), 延胡索晒干品 15 批(编号和来源见表 3)均经林泉主任中药师鉴定为罂粟科植物延胡索 *Corydalis yanhusuo* w.T. Wang 的干燥块茎。

### 1.3 处理软件

中国色谱指纹图谱相似度评价系统(国家药典委员会, 2004A 版)。

基金项目: 浙江省中医药局资助项目(2006C052)

作者简介: 杜加秋, 男, 硕士, 工程师 Tel: (0571)81689188

E-mail: jqdu@hisunpharm.com

## 2 方法和结果

### 2.1 色谱条件

色谱柱: Diamonsil C<sub>18</sub> 柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm); 流动相: A 为乙腈, B 为 0.1%磷酸溶液(三乙胺调节 pH 值至 6.0); 梯度洗脱, 洗脱程序: 0.01~70 min, A 20%→80%; 流动相流速: 1.0 mL·min<sup>-1</sup>; 检测波长: 230 nm; 柱温: 25 °C; 进样量 10 μL。

### 2.2 供试品溶液的制备

取延胡索晒干品, 用粉碎机粉碎, 粉末过 3 号筛, 取延胡索细粉约 1 g, 精密称定, 精密加入浓氨试液-乙醇(1:20)混合液 20 mL, 称定重量, 冷浸 1 h 后加热回流 1 h, 放冷, 用浓氨试液-乙醇(1:20)混合液补足减失的重量, 用 0.45 μm 滤膜滤过, 取续滤液, 即得。

### 2.3 对照品溶液的制备

分别称取经五氧化二磷真空干燥 24 h 的延胡索乙素和脱氢延胡索乙素对照品适量, 精密称定, 加甲醇分别制成每 1 mL 约含 0.1 mg 的溶液。

### 2.4 方法学考察

**2.4.1 仪器精密度试验** 按“2.2”项下方法制备供试液(S1), 按“2.1”项下色谱条件连续进样 5 次。对其相似度进行评价, 以 5 次测定的平均值为模板, 计算相似度, 结果 RSD 为 0.04%, 说明仪器精密度良好。

**2.4.2 重复性试验** 取同一批山楂叶药材(S1), 按“2.2”项下方法制备 6 份供试液, 按“2.1”项下色谱条件测定。对其相似度进行评价, 以 6 次测定的平均值为模板, 计算相似度, RSD 为 0.1%, 表明其重复性较好。

**2.4.3 稳定性试验** 取同一批供试品溶液(S1), 分别于 0, 1, 2, 4, 6, 8, 25 h 进样测定, 记录色谱图。对其相似度进行评价, 以 7 次测定的平均值为模板, 计算相似度, RSD 为 0.3%, 表明供试品溶液在 25 h 内稳定性良好。

**2.4.4 耐用性试验** 取同一批供试品溶液(S1), 另外增加其他 4 台不同的 Agilent 和 Water HPLC 上检测, 对其相似度进行评价, 仪器配置见表 1, 以 5 台仪器测定的平均值为模板, 计算相似度 >0.99, 且指纹图谱色谱峰保留时间及分离度基本一致。表明其在不同仪器上耐用性较好。结果见表 2。

表 1 仪器配置

Tab. 1 Instrument configuration

仪器型号	厂家	泵	自动进样仪	柱温箱	检测器	相似度
1100	Agilent	G1311A	G1313A	G1316A	G1314A	1.0
1100	Agilent	G1312A	G1313A	G1316A	G1314A	1.0
1200	Agilent	G1312A	G1313A	G1316A	G1314A	1.0
1260	Agilent	G1312B	G1329B	G1316A	G1314F	0.99
2695	Waters	2695	2695	-	2487	1.0

### 2.5 指纹图谱的建立

将 10 批不同产地药材按“2.2”项下方法制成供试品溶液, 按“2.1”项下色谱条件进行分析, 记录色谱图。采用国家药典会提供的中药色谱指纹图谱相似度评价系统 A 版进行数据分析, 设定 S1 为参照图谱, 将其他样品的色谱图与参照图谱进行自动匹配, 以平均法生成其对照图谱, 并建立延胡索晒干品指纹图谱色谱峰叠加图, 结果见图 1。

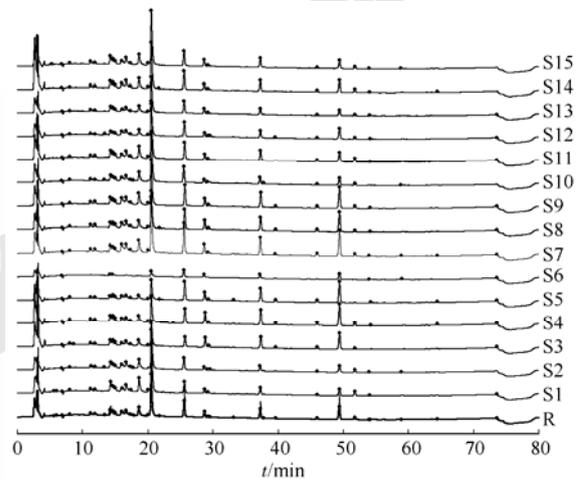


图 1 15 批延胡索晒干品 HPLC 叠加图

R-对照指纹图谱。

Fig. 1 Superposition chart of HPLC fingerprint of 15 batches of Corydalis Rhizoma dry goods  
R-the reference fingerprint.

### 2.6 共有峰的标定

将 15 批延胡索晒干品的指纹图谱进行匹配, 结果 1~9 号峰在 15 批样品色谱图中均出现, 结果见图 1。因此标定 9 个峰为共有指纹峰, 据此建立延胡索的 HPLC 指纹图谱, 结果见图 2。

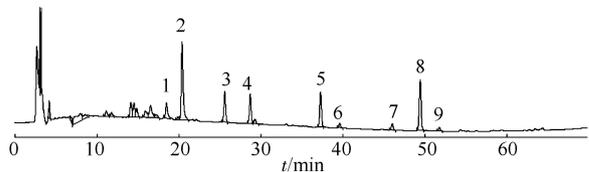


图 2 延胡索晒干品指纹图谱(编号依次为 1~9)

1~9-特征峰; 2-脱氢延胡索乙素; 5-延胡索乙素。

Fig. 2 The HPLC fingerprint of Corydalis Rhizoma dry goods  
1~9-characterized by peak; 2-dehydrogenation of tetrahydropalmatine;  
5-tetrahydropalmatine.

## 2.7 共有峰相关信息

色谱图中 5 号色谱峰(延胡索乙素)分离度良好, 保留时间适宜, 故选此峰为参照峰。根据 15 批延胡索样品的色谱图结果, 以参照峰峰面积为基准, 计算各共有峰与参照峰峰面积的比值, 结果见表 2。

表 2 15 批延胡索晒干品样品共有峰的相对峰面积比较

Tab. 2 Relative peak area comparison of common peaks from 15 batches of Corydalis Rhizoma dry goods

编号	1 号峰	2 号峰	3 号峰	4 号峰	5 号峰	6 号峰	7 号峰	8 号峰	9 号峰
S1	0.471	2.239	0.829	0.812	1.000	0.127	0.194	1.557	0.107
S2	0.454	1.807	0.938	0.695	1.000	0.097	0.194	1.612	0.198
S3	0.305	1.565	1.390	0.604	1.000	0.143	0.198	1.788	0.056
S4	0.904	3.108	1.354	0.50	1.000	0.088	0.158	1.628	0.188
S5	0.604	2.722	1.358	0.663	1.000	0.108	0.189	1.608	0.120
S6	1.461	5.725	1.585	0.511	1.000	0.051	0.167	1.039	0.391
S7	0.937	4.653	1.990	0.560	1.000	0.118	0.158	1.730	0.201
S8	1.201	5.784	1.877	0.754	1.000	0.042	0.176	1.083	0.197
S9	1.180	4.598	1.692	0.536	1.000	0.061	0.185	1.286	0.319
S10	2.369	9.526	1.624	0.562	1.000	0.041	0.142	1.087	0.697
S11	0.213	1.496	1.642	0.742	1.000	0.151	0.197	1.729	0.077
S12	0.813	3.363	1.743	0.541	1.000	0.093	0.172	1.666	0.150
S13	2.186	9.507	2.197	0.526	1.000	0.094	0.171	1.427	0.507
S14	1.380	6.000	1.549	0.689	1.000	0.044	0.151	1.006	0.216
S15	1.780	8.372	2.405	0.502	1.000	0.032	0.163	1.357	0.343

表 3 15 批延胡索样品测定结果

Tab. 3 The results of 15 batches of Corydalis Rhizoma dry goods

序号	来源产地	相似度
S1	浙江东阳(1)	0.964
S2	江苏如皋	0.950
S3	甘肃(1)	0.951
S4	甘肃(2)	0.929
S5	陕西汉中	0.884
S6	陕西洋县	0.732
S7	陕西南郑县	0.987
S8	甘肃陇西	0.978
S9	甘肃兰州	0.989
S10	浙江磐安(1)	0.987
S11	浙江磐安(2)	0.955
S12	浙江东阳	0.985
S13	浙江缙云	0.972
S14	浙江永康	0.996
S15	浙江义乌	0.975

## 3 讨论

### 3.1 流动相的选择

以 Diamonsil C<sub>18</sub>(4.6 mm×250 mm, 5 μm)为色谱柱, 分别考察了甲醇(或乙腈)-0.1%磷酸溶液

## 2.8 延胡索晒干品指纹图谱相似度评价

选择 15 批次延胡索样品测定, 对 15 批不同产地延胡索晒干品的 HPLC 数据进行处理, 与对照指纹图谱相匹配, 结果陕西汉中和陕西洋县 2 批样品相似度<0.90, 其余产地的延胡索样品相似度均>0.90, 结果见表 3。

(三乙胺调节 pH 值至 6.0)、甲醇(或乙腈)-0.1%磷酸溶液系统等度或梯度系统, 结果显示: 与乙腈系统峰形明显好于甲醇系统; 三乙胺调节 pH 值至 6.0 后能明显改善峰拖尾; 梯度洗脱较等度脱法色谱峰分离度更好, 且数量增加。

### 3.2 检测波长的选择

以 HPLC-DAD 联用技术测定, 结果表明本品在 230 nm 处检测的指纹图谱响应多, 因此选择该波长测定。

### 3.3 不同柱温的考察

考察 20, 25, 30, 35, 40 °C 不同柱温, 结果表明 5 个温度下, 生物碱类成分均能很好的分离, 故选择柱温为 25 °C。

### 3.4 不同流速的考察

考察 0.8, 0.9, 1.0, 1.1, 1.2 mL·min<sup>-1</sup> 不同流速, 结果在 5 种流量下, 生物碱类成分均能很好分离, 最终选择常用的流量为 1.0 mL·min<sup>-1</sup>。

### 3.5 参照物选择

延胡索主要含有生物碱类成分, 而延胡索乙素为其主要成分, 在 230 nm 处有较大的响应值, 且其他成分响应值也较大, 根据指纹图谱研究技

术要求, 选择以延胡索乙素为参照物较合适。

### 3.6 相关峰成分的确

通过供试品溶液色谱中色谱峰的保留时间、光谱与相应对照品色谱峰保留时间、光谱比较, 确证保留时间为 20 min 的峰为脱氢延胡索乙素、37 min 的峰为延胡索乙素。

### REFERENCES

[1] 卢赣鹏. 常用中药材传统鉴别[M]. 北京: 人民军医出版社,

2005.

- [2] 段好刚, 魏玉辉, 李波霞, 等. 疏乳消块胶囊的质量考察[J]. 中国医院药学杂志, 2013, 33(14): 1193-1194.
- [3] YANG Y, SUN Y M, XU J Z, et al. Comparison of analgesic effect of *Corydalis yanhusuo* decoction pieces by processing integration and traditional processing [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2013, 30(10): 1074-1077.
- [4] 王红, 田明, 王淼, 等. 延胡索现代药理及临床研究进展[J]. 中医学报, 2010, 38(6): 108-111.
- [5] 贺凯, 高建莉, 赵光树. 延胡索化学成分、药理作用及质量控制研究进展[J]. 中草药, 2007, 38(12): 1909-1912.

收稿日期: 2014-07-08

## 黄姜有效成分薯蓣皂素结晶工艺研究

张艳, 吴永江, 王龙虎, 杜文俊, 刘雪松\* (浙江大学药学院, 杭州 310058)

**摘要:** 目的 研究并确定黄姜提取液中薯蓣皂素的最佳结晶工艺参数。方法 以晶体纯度和析出率为指标, 采用单因素实验法考察结晶温度、结晶时间、降温速度和搅拌速度 4 个因素对产品的影响。结果 最佳的工艺条件为: 结晶温度为 30 ℃、静置时间为 2 h、降温速度为 33~50 ℃·h<sup>-1</sup>、搅拌速度为 60 r·min<sup>-1</sup> 时, 该工艺条件使产品纯度达到 98% 以上, 析出率为 75%~80%。结论 该方法可靠、稳定, 可为工业生产提供参考数据。

**关键词:** 黄姜; 薯蓣皂素; 结晶

中图分类号: R284.2

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2015)03-0301-04

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2015.03.011

### Research on Crystallization Technique of Diosgenin

ZHANG Yan, WU Yongjiang, WANG Longhu, DU Wenjun, LIU Xuesong\* (College of Pharmaceutical Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To investigate the different parameters influenced on the process of crystallization of dioscorea and determine the optimal conditions. **METHODS** Based on the crystal purity and precipitation rate, the influences of crystallization temperature, crystallization time, cooling rate and stirring rate on product were investigated by single factor experiment. **RESULTS** When the crystallization temperature was 30 ℃, the holding time was 2 h, cooling rate was 33~50 ℃·h<sup>-1</sup> and the stirring speed was 60 r·min<sup>-1</sup>, the product purity could achieve more than 98% and the precipitation rate was 75%~80%. **CONCLUSION** The method is reliable and stable, and can provide reference data for industrial production.

**KEY WORDS:** dioscorea; diosgenin; crystallization

盾叶薯蓣(*Dioscorea zingiberensis* C.H. Wright) 为薯蓣科薯蓣属多年生藤本植物, 俗称黄姜, 以根状茎入药, 是我国传统常用中药材, 具有清肺止咳、利湿通淋、通络止痛、解毒消肿的功能, 同时具有治疗皮肤急性化脓性感染、软组织损伤、降血脂等功效, 也有降低胆固醇、抗炎抗菌、抗肿瘤等药理作用<sup>[1]</sup>。其根茎中的薯蓣皂素含量达 2%

以上, 是目前世界上薯蓣皂素含量最高的薯蓣种。

薯蓣皂素, 又称薯蓣皂苷元, 是薯蓣属植物薯蓣皂苷的水解产物, 是合成甾体激素药物的基础原料和起始中间体<sup>[2]</sup>。应用薯蓣皂素可以合成生产肾上腺皮质激素、性激素、蛋白同化激素共 200 多种药物, 以薯蓣皂素为基础几乎可以合成所有的甾体激素药物, 故有“激素之母”之称<sup>[3]</sup>。20

作者简介: 张艳, 女, 硕士生 Tel: 13588482036 E-mail: zywdxf@163.com

\*通信作者: 刘雪松, 男, 博士, 博导 Tel:

(0571)88208621 E-mail: liuxuesong@zju.edu.cn