

定差异,分别采用 13 批广陈皮均值与 12 批陈皮饮片均值为对照计算各批样品相似度,结果广陈皮与陈皮饮片的相似度有较大差异,但各批样品相似度仍大于 0.95;采用 25 批陈皮样品均值为对照,各批样品相似度均大于 0.98,表明广东多个来源的陈皮均具有相类似的主要成分。

#### 参考文献:

[1] 国家药典委员会编. 中国药典 2005 年版一部[S], 北京: 化学工

业出版社, 2005: 132.

[2] 王玫馨, 黄爱东, 郑毅, 等. 广陈皮化学成分的比较(1 挥发油的成分研究)[J]. 中药材, 1991, (14)3: 33-36.

[3] 黄远征, 吴云伦. 25 个品种的柑橘果皮精油的化学成分[J]. 天然产物研究与开发, 1998, 10(4): 48-53.

[4] 易伦朝, 谢培山, 梁逸曾, 等. GC/MS 和 HPLC 对陈皮“陈久者良”的验证[J]. 中国药学杂志, 2005, 40 (21): 1612-1614.

[5] 付玉梅, 张俐伟, 伍振峰, 等. 陈皮药材水提物的 HPLC 特征指纹图谱研究[J]. 中成药, 2006, 28 (1): 8-10.

(编辑: 方琴)

## 泽泻饮片的 HPLC-ELSD 指纹图谱研究

巩丽萍<sup>1</sup>, 王少云<sup>2</sup>, 张克<sup>3</sup> (1. 山东省药品检验所, 济南 250101; 2. 山东大学药学院, 济南 250012; 3. 山东恒信检测技术开发中心, 济南 250101)

**摘要:**目的 建立泽泻饮片甲醇提取液的高效液相指纹图谱(HPLC-FP), 为其鉴别提供依据。方法 在 Diamonsil TM C<sub>18</sub> 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm) 上以甲醇-水为流动相进行梯度洗脱, 流速: 0.5 mL · min<sup>-1</sup>; 记录时间 70 min; 蒸发光散射检测器(ELSD) 检测; 检测条件: 漂移管温度 82.5 °C, 雾化气体流速 1.9 L · min<sup>-1</sup>; 实验数据用聚类分析和相似度软件处理。结果 得到 15 个共有峰, 聚类分析和相似度分析结果显示 16 批泽泻饮片的指纹图谱存在差异。结论 结果重现性好, 为控制泽泻饮片的质量提供了可靠的分析方法。

**关键词:** 泽泻; 指纹图谱; 高效液相色谱; 蒸发光散射检测器

中图分类号: R284.1 文献标识码: A 文章编号: 1003-9783 (2007) 06-0461-04

### Development of Chromatographic Fingerprint of Rhizoma Alismatis Orientalitis by HPLC-ELSD

GONG Liping<sup>1</sup>, WANG Shaoyun<sup>2</sup>, ZHANG Ke<sup>3</sup> (1. Shandong Institute for Drug Control, Ji 'nan 250101; 2. College of Pharmacy, Shandong University, Ji 'nan 250012; 3. Shandong Hengxin Inspection Center Ji 'nan 250101)

**Abstract:** **Objective** A fingerprint of Rhizoma Alismatis Orientalitis' decoction pieces was established by HPLC-ELSD. **Methods** The gradient elution mode was applied in chromatographic separation by mobile phase of methanol and water at flow rate of 0.5 mL · min<sup>-1</sup> in a Diamonsil TM C<sub>18</sub> chromatographic column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), and recording time was 70 minute. The parameters of evaporative light scattering detector were set as follows: the temperature of the drift tube was 82.5 °C and gas flow rate was 1.9 L · min<sup>-1</sup>. The data was analyzed with cluster analysis and similarity calculation software. **Results** The fingerprint showing 15 common peaks was obtained. The results of cluster analysis and similarity calculation showed there existed differences in fingerprints of 16 batchers of medicinal slices of Rhizoma Alismatis Orientalitis. **Conclusion** The method is effective and reproducible for the quality control of medicinal slices of Rhizoma Alismatis Orientalitis.

**Keywords:** Rhizoma Alismatis Orientalitis; Fingerprint; HPLC; Evaporative light scattering detector (ELSD)

泽泻为泽泻科植物泽泻 *Alisma orientalis* (Sam.) Juzep 的干燥块茎, 性味甘、淡、寒, 在历代本草中

均有记载, 我国各版药典中均有收载。现代药理学研究表明, 泽泻具有利尿、降血脂、降血压等作用<sup>[1]</sup>。

收稿日期: 2007-08-30

作者简介: 巩丽萍(1979-), 女, 硕士研究生, 从事药物质量控制与分析工作。Email: gongliping\_lp@163.com。

文献报道<sup>[2-5]</sup>泽泻的有效成分多为无紫外吸收的萜类化合物,用 HPLC 法测定其有效成分含量及对其进行指纹图谱分析时多选择 205~210 nm 作为检测波长。ELSD 为质量通用型检测器,具有易消除流动相配比变化对基线的影响,支持梯度洗脱等优点<sup>[6]</sup>,本文以 23-乙酰泽泻醇 B 为参照物,采用 HPLC-ELSD 法对 16 个不同来源的泽泻饮片进行指纹图谱分析,为泽泻饮片的鉴别及质量控制提供参考。

## 1 仪器与试剂

日本岛津 LC-10AT 型高效液相色谱仪;美国 Alltech2000 蒸发光散射检测器;淄博宏润 HGF-30 空气压缩机;HS3120 型超声清洗机;中药色谱指纹图谱相似度软件系统(中国药典委员会)。23-乙酰泽泻醇 B 对照品(南京中医药大学植物药深加工工程研究中心)。饮片购于各地药材公司、药店,来源见表 1。经本院生药学教研室陈沪宁副教授鉴定均为正品泽泻饮片,拉丁名为 *Alisma orientalis*。甲醇为色谱纯,实验用水为二次蒸馏水。

## 2 方法与结果

**2.1 色谱条件** 色谱柱: Diamonsil TM C<sub>18</sub> 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm);流动相:按表 2 的条件进行梯度洗脱;流速:0.5 mL · min<sup>-1</sup>;蒸发光散射检测器参数:漂移管温度为 82.5 °C,雾化气体流速为 1.9 L · min<sup>-1</sup>。进样量:20 μL,记录时间 70 min。

**2.2 对照品溶液的制备** 精密称取 23-乙酰泽泻醇 B 对照品适量,加甲醇制成 110.0 μg · mL<sup>-1</sup>。用 0.45 μm 滤膜过滤,取续滤液,即得。

表 1 不同地区泽泻饮片的来源及规格

样品编号	购入地点	产地	加工工艺
1	山东济南	福建	生制
2	广西桂林 I	广西	生制
3	四川成都 I	四川	炒制
4	江苏南京	江西	生制
5	山东淄博	福建	盐制
6	四川成都 II	四川	炒制
7	广西桂林 II	广西	炒制
8	山东桓台	广西	生制
9	山东桓台	四川	生制
10	江苏南京	福建	炒制
11	北京 I	福建	生制
12	北京 II	福建	炒制
13	山东青岛 I	四川	炒制
14	山东青岛 II	四川	炒制
15	江西抚州 I	江西	炒制
16	江西抚州 II	江西	炒制

表 2 流动相梯度条件

t/min	A(甲醇)/%	B(水)/%
0	50	50
7	65	35
11	75	25
30	84	16
70	84	16

**2.3 供试品溶液的制备** 精密称取泽泻粉末(过 65 目筛)约 2.5 g 置 50 mL 具塞锥形瓶中,加甲醇 10 mL,超声提取 20 min,过滤;残渣加甲醇 10 mL 同法提取(每次提取后称重并补足减失的重量),过滤,合并滤液。用 0.45 μm 滤膜过滤,取续滤液,即得。

### 2.4 方法学考察

**2.4.1 系统适用性实验** 理论塔板数以峰 23(Q3-乙酰泽泻醇 B,  $t_R = 62.647$  min) 计算,不低于 15000。15 个共有色谱峰(峰 13 除外)与前后相邻峰间的分离度大于 1.5,峰 13 与峰 12 的分离度为 1.3。

**2.4.2 仪器精密度** 取 5 号样品按 2.3 项下方法制备供试品溶液,重复进样 5 次。以 23-乙酰泽泻醇 B 为参照物,计算峰面积大于总峰面积 5% 的色谱峰(7, 13, 20, 23, 24 号峰)的相对保留时间和相对峰面积, RSD 分别小于 0.43% 和 2.7%。

**2.4.3 方法重复性** 取 5 号样品 5 份,同法制备、进样并计算,上述 5 个色谱峰的相对保留时间的 RSD 小于 0.56%,相对峰面积的 RSD 小于 2.9%。

**2.4.4 稳定性实验** 取同一供试品溶液,分别于 0, 4, 8, 12, 24 h 进样,同法考察 5 个色谱峰的相对保留时间和相对峰面积, RSD 分别小于 0.54% 和 2.5%,表明溶液在 24 h 内稳定。

**2.5 指纹图谱的建立** 取不同来源样品分别按 2.3 项下方法制备供试品溶液,进样并记录色谱图,共记录 25 个色谱峰(图 1)。比较 16 个样品的色谱图发现,主要差异表现为色谱峰的峰强度不同。峰 19, 20, 21 的峰强度在各样品中相对变化最小;样 2, 8~10, 12 和 14 中峰 23, 24 的峰强度相对减小,其中样 2, 8 中两峰强度减小较其他明显;样 3 中峰 7 的峰强度明显减小;样 3, 4, 6, 13 中峰 17 的峰强度相对减小。经比较,选定 15 个共有峰(峰 1~7, 13, 15, 17, 19~21, 23, 24)作为指纹图谱的特征峰(图 2),共有峰在各样品中大小各异,构成了泽泻饮片的指纹图谱。

**2.6 系统聚类分析和相似度分析** 计算各样品色谱峰的相对保留时间和相对峰面积,应用 SPSS 11.0 软

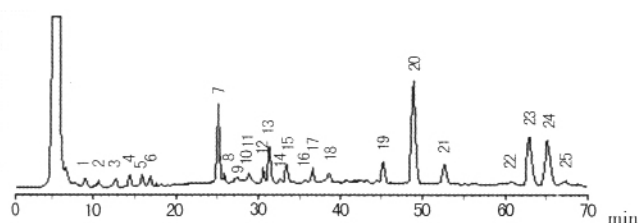


图 1 泽泻样品 HPLC 指纹图谱(1 号样品)  
(23 号峰: 23-乙酰泽泻醇 B)

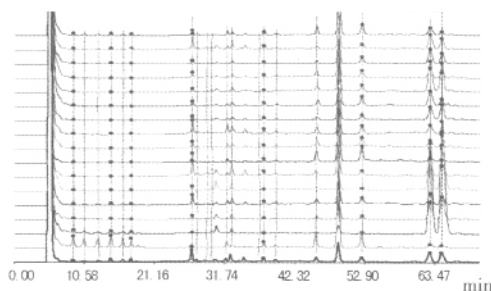


图 2 16 批泽泻样品 HPLC 指纹图谱

件,采用类间平均链锁法,选用夹角余弦为测度进行聚类分析,16 个样品被分为 3 类,其中 2, 8, 9, 10, 12, 14 号聚为第 I 类,1, 5, 7, 11, 15, 16 号为第 II 类,3, 4, 6, 13 号归为第 III 类。比较 16

个泽泻饮片样品的色谱指纹图谱,可以看出 3, 4, 6, 13 号样品与其他样品的差异主要表现在峰 16, 17, 20, 21 的相对峰强度上。在 3, 4, 6, 13 号样品中,峰 16 的相对峰面积(相对于 23-乙酰泽泻醇 B 峰面积)均小于 0.005,其他样品中相对峰面积值均大于 0.01;峰 17 的相对峰面积小于 0.04,其他样品均大于 0.07;峰 20 相对峰面积小于 0.80,其他样品大于 1.20;峰 21 相对峰面积小于 0.18,其他样品大于 0.27;由于以上峰的差异,使 3, 4, 6, 13 号 4 个样品单独归为一类。2, 8, 9, 10, 12, 14 号样品的不同主要体现在 24 号峰上,在这 6 个样品中 24 号峰的相对峰面积值小于 0.58,而在其他样品中此峰的相对峰面积值大于 0.71,从而这 6 个样品归为一类。

2.7 运用中药色谱指纹图谱相似度评价系统 2004 A 版软件进行分析 用中国药典委员会推荐的“中药色谱指纹图谱相似度评价软件”,分别以 I, II, III 类为共有模式计算各样品之间的相似度。结果见表 3。

表 3 与共有模式比较的各泽泻样品的相似度评价

I 类样品号	结果			II 类样品号	结果			III 类样品号	结果		
	I / I	I / II	I / III		II / I	II / II	II / III		III / I	III / II	III / III
2	0.955	0.775	0.412	1	0.823	0.964	0.836	3	0.243	0.664	0.943
8	0.985	0.799	0.438	5	0.902	0.982	0.803	4	0.618	0.583	0.987
9	0.993	0.873	0.550	7	0.830	0.969	0.818	6	0.336	0.739	0.972
10	0.955	0.871	0.545	11	0.841	0.977	0.882	13	0.676	0.590	0.980
12	0.954	0.947	0.700	15	0.874	0.981	0.851				
14	0.966	0.954	0.702	16	0.815	0.980	0.862				

注: I / II 表示以 II 类样品为共有模式,对 I 类样品计算的相似度值,其余类同。

表 3 显示 I、II 类样品之间的相似性大于 III 类,可能与 III 类样品中峰 7 及峰 17 的峰面积较小且峰 12 与 13 分离度相对较差有关。若从第 I 类样品中任选 4 个,II 类与 III 类中各任选 3 个建立共有模式并计算相似度,则 I、II 类样品的相似度值为 0.993 ~ 0.906,III 类样品相似度值为 0.806 ~ 0.422。与表 3 的计算结果比较,可见共有模式建立时样品的选择对相似度计算结果有明显的影响。

2.8 利用 Excel 软件,运用公式计算相似度<sup>[7]</sup> 分别采用欧氏距离、相关系数和夹角余弦作为测度,以泽泻饮片聚类结果的各类样本为标准样品,以其中位数矢量作为共有模式,计算所有样品的相似度,结果见表 4。由表可见,用 Excel 表按公式计算的饮片和药材的相似度结果与相似度软件计算结果有所

不同,但趋势基本一致,其结果与系统聚类结果也相符。

### 3 讨论

在样品溶液的制备中比较了不同溶剂(甲醇、乙醇、丙酮、乙酸乙酯)、提取时间(10, 20, 30, 40 min)和提取次数(1, 2, 3 次)的提取效率。以甲醇每次 10mL,超声提取 2 次,每次 20 min 提取效果最好。

泽泻中的多数萜类化合物仅在紫外末端有吸收<sup>[4]</sup>,本实验曾在相同梯度洗脱条件下,分别用 PDA 与 ELSD 进行检测。结果表明,在 210 nm 检测时,流动相比例的改变导致基线漂移严重,而 ELSD 检测时无明显基线漂移,应用 ELSD 对泽泻进行指纹图谱分析更具有优势。

表 4 通过公式计算的泽泻样品的相似度

样品号	I 类样品建立的共有模式			II 类样品建立的共有模式			III 类样品建立的共有模式		
	欧式距离	相关系数	夹角余弦	欧式距离	相关系数	夹角余弦	欧式距离	相关系数	夹角余弦
1	0.708	0.815	0.862	0.934	0.971	0.977	0.822	0.616	0.679
2	0.806	0.933	0.945	0.621	0.718	0.794	0.299	0.025	0.367
3	0.481	0.184	0.311	0.800	0.571	0.628	0.978	0.996	0.995
4	0.501	0.205	0.374	0.816	0.591	0.683	0.981	0.997	0.995
5	0.749	0.919	0.936	0.966	0.994	0.995	0.816	0.532	0.619
6	0.511	0.271	0.407	0.827	0.650	0.711	0.981	0.993	0.994
7	0.683	0.820	0.868	0.952	0.972	0.981	0.839	0.563	0.642
8	0.832	0.975	0.970	0.734	0.786	0.814	0.219	0.049	0.394
9	0.938	0.995	0.996	0.742	0.865	0.899	0.623	0.164	0.504
10	0.862	0.959	0.966	0.774	0.857	0.903	0.649	0.124	0.491
11	0.724	0.836	0.874	0.915	0.965	0.970	0.823	0.668	0.723
12	0.811	0.973	0.979	0.910	0.955	0.962	0.771	0.374	0.660
13	0.513	0.260	0.409	0.829	0.634	0.709	0.964	0.985	0.987
14	0.816	0.945	0.941	0.812	0.900	0.893	0.695	0.266	0.634
15	0.711	0.895	0.921	0.955	0.976	0.983	0.839	0.566	0.644
16	0.709	0.885	0.914	0.961	0.984	0.987	0.849	0.626	0.690

由两种相似度评价结果得出：不同的评价方法，其结果的表达方式及其具体数值可能会有所不同，但其结果均趋于一致，这说明指纹图谱相似度评价标准与药材品质有较好的一致性，同时也说明了不同来源的同植物药材之间存在着较大的差异，需要我们制订规范的药材质量标准来加以控制。

不同泽泻饮片的指纹图谱中各成分的峰面积及相对峰面积存在较大差异，可能与药材产地、采收时间、贮藏时间、方式及饮片炮制等因素有关。饮片是用于配方制剂的主要形式，其质量直接影响疗效，可见加强中药饮片的质量控制势在必行<sup>[8]</sup>。

参考文献：

[1]徐晖. 泽泻药理作用研究进展[J]. 湖南中医杂志, 2004, 20(3): 77.

[2]龚树生, 张建军, 曹广智, 等. 泽泻的历史及生物活性成分研究进展[J]. 山西中医学院学报, 2000, 1(1): 28.  
 [3]王立新, 吴启南, 彭国平. 泽泻中泽泻醇 B-23 乙酸酯的含量测定研究[J]. 南京中医药大学学报(自然科学版), 2002, 18(3): 105.  
 [4]彭国平, 楼凤昌. 四川产泽泻中三萜成分的研究[J]. 天然产物研究与开发, 2001, 13(4): 1.  
 [5]许研, 杨松. 泽泻指纹图谱的初步研究[J]. 时珍国医国药, 2003, 14(12): 727.  
 [6]赵新宇, 李曼玲. 蒸发光散射检测器在中药成分分析中的应用[J]. 中国中药杂志, 2003, 28(10): 913.  
 [7]苗爱东, 孙殿甲. Excel2002 在中药指纹图谱相似度计算中的应用[J]. 药学进展, 2003, 27(1): 51.  
 [8]文窑先. 中药材及其饮片质量控制的研究[J]. 时珍国医国药, 2005, 16(9): 925.

(编辑：方琴)

· 征订 ·

《中国药学文摘》2008 年征订启事

《中国药学文摘》(ISSN1003-3521/CN11-2529/R)是由国家食品药品监督管理局主管, 国家食品药品监督管理局信息中心主办, 国内外公开发行的医药科技专业性期刊。月刊, 16 开本, 每期 220 页左右, 每期约 60 万字。读者对象: 医药生产、科研、教学、流通、医院、药店、药检、情报和监管单位和个人。

联系方式:

单位名称: 国家食品药品监督管理局信息中心期刊处  
 开户名称: 国家食品药品监督管理局信息中心  
 开户银行: 建设银行北京展览路支行 账 号: 11001016700056002517  
 通讯地址: 北京市西城区北礼士路甲 38 号 邮 编: 100810  
 电 话: 010-62214715、62214665、88330061 传 真: 010-62214866 电子邮件: zgyxwz@163.com