

泽泻及其配方颗粒的HPLC指纹图谱研究

廖玉兰¹, 杨小松¹, 王祥培², 吴红梅^{1*}

¹贵州中医药大学药学院, 贵州 贵阳

²贵州民族大学民族医药学院, 贵州 贵阳

收稿日期: 2024年4月25日; 录用日期: 2024年5月23日; 发布日期: 2024年5月30日

摘要

目的: 建立泽泻药材及其配方颗粒的HPLC指纹图谱。方法: 色谱柱为ACQUITY HPLC BEH C₁₈ (2.1 mm × 100 mm, 1.7 μm), 流动相为0.05%磷酸水溶液 - 乙腈, 梯度洗脱, 流速为0.1 mL/min; 检测波长为210 nm; 柱温为30℃; 进样量为2 μL。建立泽泻及其配方颗粒指纹图谱, 并采用中药色谱指纹图谱评价系统进行相似度分析。结果: 20批泽泻药材及其配方颗粒的HPLC指纹图谱共确认13个共有峰, 泽泻药材及配方颗粒指纹图谱相似度在0.502~0.989之间, 两者化学成分存在一定差异。结论: 建立了稳定、可行的泽泻药材及配方颗粒指纹图谱, 可为泽泻药材及其配方颗粒质量与评价提供参考依据。

关键词

泽泻, HPLC指纹图谱, 配方颗粒

Study on HPLC Fingerprint of *Alisma plantago-aquatica* Linn. and Its Formula Granules

Yulan Liao¹, Xiaosong Yang¹, Xiangpei Wang², Hongmei Wu^{1*}

¹School of Pharmacy, Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang Guizhou

²School of Chinese Ethnic Medicine, Guizhou Minzu University, Guiyang Guizhou

Received: Apr. 25th, 2024; accepted: May 23rd, 2024; published: May 30th, 2024

Abstract

Objective: To establish HPLC fingerprint of *Alisma plantago-aquatica* Linn. and its formula gra-

*通讯作者。

文章引用: 廖玉兰, 杨小松, 王祥培, 吴红梅. 泽泻及其配方颗粒的 HPLC 指纹图谱研究[J]. 药物资讯, 2024, 13(3): 261-269. DOI: 10.12677/pi.2024.133031

nules. Methods: The chromatography was performed on ACQUITY HPLC BEH C18 (2.1 mm × 100 mm, 1.7 μm) column with mobile phase consisting of 0.05% phosphoric acid aqueous solution acetonitrile and gradient elution at the flow rate of 0.1 mL/min. The detection wavelength was 210 nm. The column temperature was 30°C. The sample size was 2 μL. The fingerprint of *Alisma plantago-aquatica* Linn. and its formula granules was established, and the similarity analysis was carried out by the TCM chromatographic fingerprint evaluation system. **Results:** A total of 13 common peaks were identified by HPLC fingerprints of 20 batches of *Alisma plantago-aquatica* Linn. and its formula granules. The similarity of fingerprints of *Alisma plantago-aquatica* Linn. and formula granules ranged from 0.502 to 0.989, and there were certain differences in chemical components between them. **Conclusion:** A stable and feasible fingerprint of *Alisma plantago-aquatica* Linn. and its formula granules was established, which can provide reference for the quality and evaluation of *Alisma plantago-aquatica* Linn. and its formula granules.

Keywords

Alisma plantago-aquatica Linn., HPLC Fingerprint, Formula Granule

Copyright © 2024 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

泽泻为泽泻科植物泽泻 *Alisma plantago-aquatica* Linn.的干燥块茎，主产于福建和四川等地[1]，其气微，味微苦，具有利水渗湿，泄热，化浊降脂的功效[2]，常用于治疗小便不利，水肿胀满，高脂血症，泄泻尿少，热淋涩痛等症[3]。现代研究表明，泽泻主要含有三萜类和倍半萜类化学成分[4]，其醇提物、水提物及单体化合物具有降血糖、调血脂[5]、保肝、利尿、抗氧化损伤[6]、抗炎、抗肿瘤等多种药理作用。泽泻配方颗粒是以泽泻饮片为原料，经过提取、分离、浓缩、干燥、制粒等生产工艺，加工制成的具有一定规格的新型配方颗粒[7]。但由于地理来源、气候条件、加工方式和环境等因素的不同[8]，泽泻中各成分的种类和含量有一定差异[9]。且不同产地的泽泻药材指纹图谱分析显示，其药材质量存在差异[10]。但针对泽泻药材及其配方颗粒的指纹图谱的差异性研究尚未见报道。HPLC 指纹图谱分析因其优势和通用性一直被视为首选，能够较全面地反映和评估中药中多类成分的整体特征[11]，进而对中药及制剂进行质量评估。因此，本研究建立泽泻药材及其配方颗粒的 HPLC 指纹图谱，以期为泽泻药材及其配方颗粒的质量控制提供参考依据。

2. 实验材料

2.1. 仪器

ACQUITY HPLC(美国 Waters 公司)；AL204-IC/万分之一分析天平(METTLE RTOLEDO 仪器有限公司)；KQ-100E 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

2.2. 试剂

甲醇，乙腈为色谱纯(默克股份两合公司，德国)，磷酸(国药集团化学试剂有限公司)，水为娃哈哈纯净水(贵州娃哈哈集团有限公司)，其余试剂均为分析纯。

2.3. 药材

10 批泽泻药材经贵州民族大学民族医药学院王祥培教授鉴定，均为泽泻科植物泽泻 *Alisma plantago-aquatica* Linn. 的干燥块茎，20 批泽泻药材及其配方颗粒均来源于广东一方制药有限公司，样品来源见表 1。

Table 1. Source of *Alisma plantago-aquatica* Linn. and its formula granules

表 1. 泽泻药材及配方颗粒的来源

NO	类型	批号	NO	类型	来源
S1	药材	J2019010305-01	S11	配方颗粒	广东一方制药有限公司
S2	药材	J2019020101-01	S12	配方颗粒	广东一方制药有限公司
S3	药材	J2019020102-01	S13	配方颗粒	广东一方制药有限公司
S4	药材	J2019020101-02	S14	配方颗粒	广东一方制药有限公司
S5	药材	J2019020103-01	S15	配方颗粒	广东一方制药有限公司
S6	药材	J2019010304-01	S16	配方颗粒	广东一方制药有限公司
S7	药材	J2019020104-01	S17	配方颗粒	广东一方制药有限公司
S8	药材	J2018100303-01	S18	配方颗粒	广东一方制药有限公司
S9	药材	J2018100301-01	S19	配方颗粒	广东一方制药有限公司
S10	药材	J20181000302-01	S20	配方颗粒	广东一方制药有限公司

3. 实验方法

3.1. 色谱条件

ACQUITY HPLC BEH C₁₈ (2.1 mm × 100 mm, 1.7 μm)色谱柱；流速 0.1 mL·min⁻¹；检测波长 210 nm；柱温 30°C；进样量 2 μL；流动相 0.05% 磷酸水溶液(A)-乙腈(C)，梯度洗脱程序见表 2。

Table 2. Mobile phase gradient elution table

表 2. 流动相梯度洗脱程序

时间(t)	0.05% 磷酸水(A)	乙腈(C)
0	95	5
5	90	10
15	85	15
20	65	35
30	45	55
35	30	70
40	25	75
65	25	75

3.2. 供试品溶液的制备

取 10 批泽泻药材，粉碎，过 4 号筛，各取约 1 g，精密称定，置锥瓶中，加甲醇 25 mL，称定重量，

超声提取(功率 250 W, 频率 35 kHz) 45 min, 放冷, 加甲醇补足减失的重量, 摆匀, 过滤, 取续滤液经 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 即得泽泻药材供试品溶液; 取 10 批泽泻配方颗粒, 研细, 各取约 1.0 g, 精密称定, 置 25 mL 量瓶中, 按药材供试品溶液制备方法制备泽泻配方颗粒供试品溶液。

3.3. 方法学考察

3.3.1. 精密度试验

取同一批次泽泻药材样品, 按“3.2.”项下方法制备供试品, 按“3.1.”项下色谱方法连续进样 6 次, 并记录各共有峰的保留时间和峰面积, 计算各共有峰的相对保留时间和相对峰面积的 RSD 均小于 3.0%, 表明仪器精密度良好。

3.3.2. 稳定性试验

取同一批次泽泻药材样品, 按“3.2.”项下方法制备供试品, 按“3.1.”项下色谱方法分别于 0, 2, 4, 8, 12 和 24 h 进样测定, 并记录各共有峰的保留时间和峰面积, 计算各共有峰的相对保留时间和相对峰面积的 RSD 均小于 3.0%, 表明样品溶液在 24 h 内稳定。

3.3.3. 重复性试验

取同一批次泽泻药材样品 6 份, 按“3.2.”项下方法平行制备供试品溶液 6 份, 按“3.1.”项下色谱方法分别进样, 并记录各共有峰的保留时间和峰面积, 计算各共有峰的相对保留时间和相对峰面积的 RSD 均小于 3.0%, 表明该方法重复性良好。

4. 实验结果

4.1. HPLC 指纹图谱的建立

指纹图谱的建立, 按“3.2.”项下的方法制备分析样品, 按“3.1.”项下的色谱条件分别对 10 批泽泻药材、10 批泽泻配方颗粒进行测定, 得到各批次样品 HPLC 色谱图, 分别导入中药指纹图谱相似度评价系统(2004A), 得到泽泻药材、泽泻配方颗粒、泽泻药材及配方颗粒色谱指纹图谱及对照色谱指纹图谱(见图 1~6)。

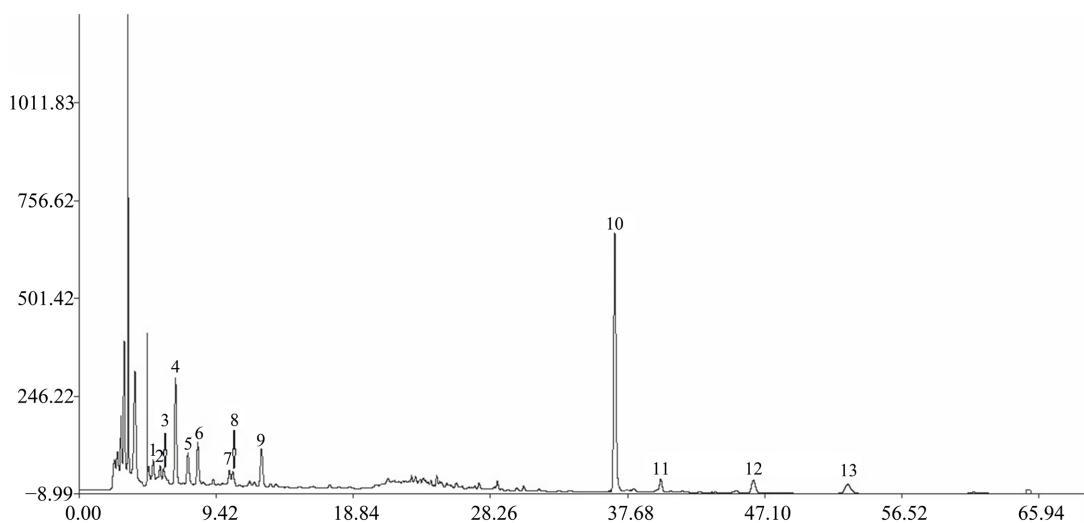


Figure 1. HPLC fingerprint of 10 batches of *Alisma plantago-aquatica* Linn.

图 1. 10 批泽泻药材 HPLC 指纹图谱

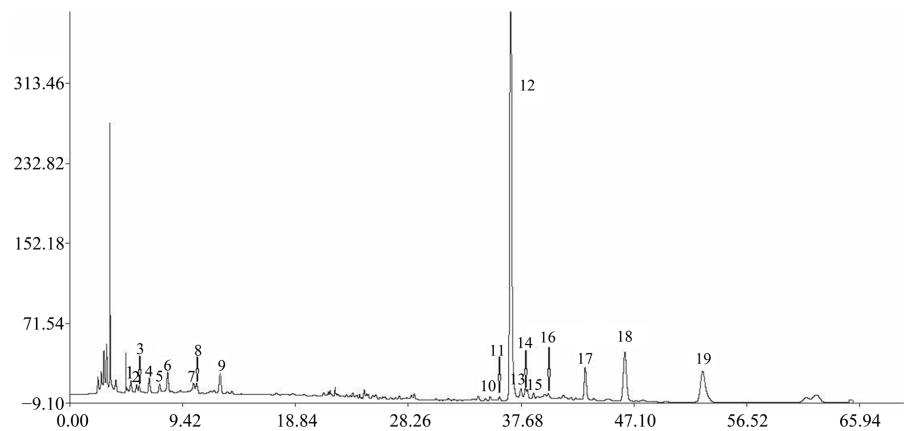


Figure 2. HPLC fingerprint of 10 batches of *Alisma plantago-aquatica* Linn. formula granules
图 2. 10 批泽泻配方颗粒 HPLC 指纹图谱

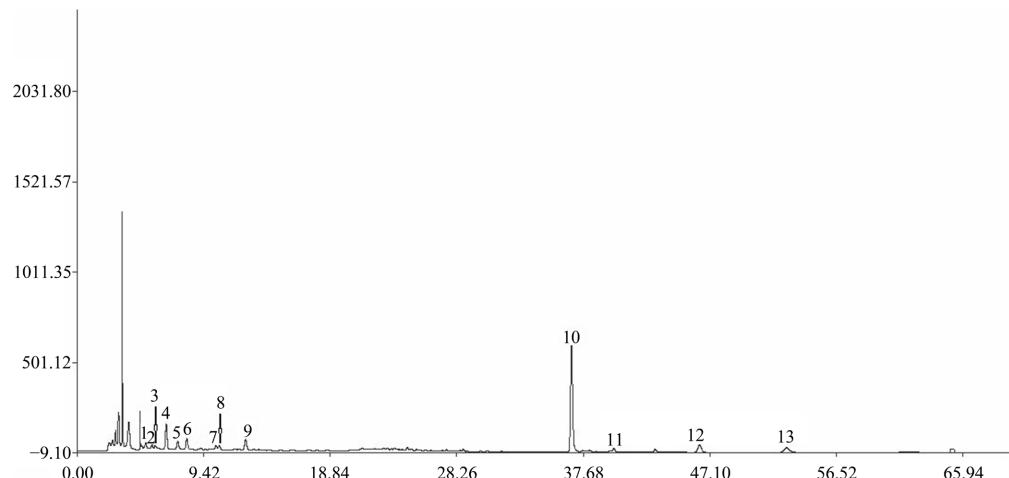


Figure 3. HPLC fingerprint of 20 batches of *Alisma plantago-aquatica* Linn. and its formula granule
图 3. 20 批泽泻药材及配方颗粒 HPLC 指纹图谱

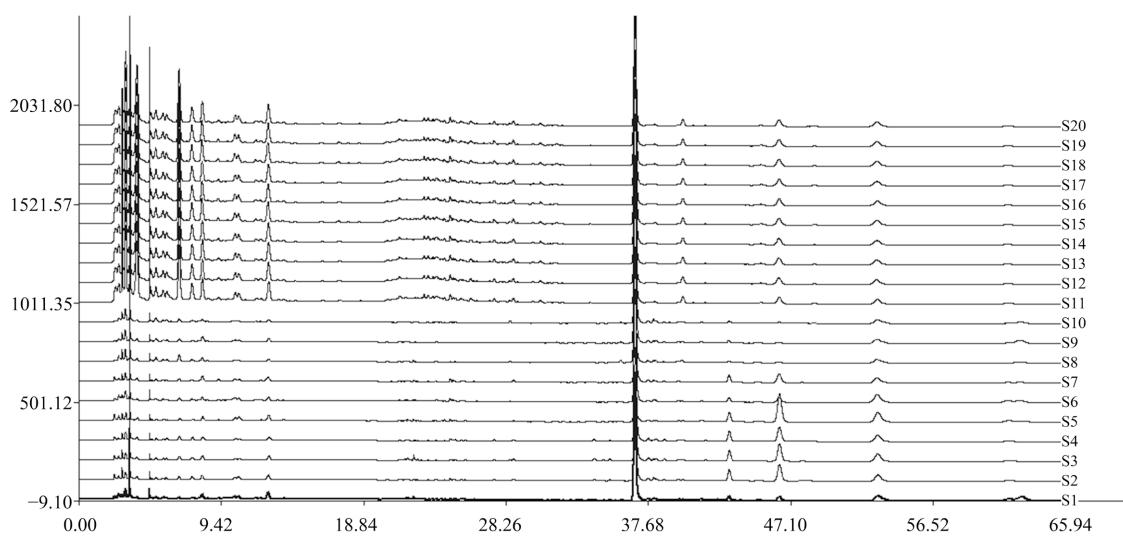


Figure 4. HPLC control spectrum of *Alisma plantago-aquatica* Linn.
图 4. 泽泻药材 HPLC 对照图谱

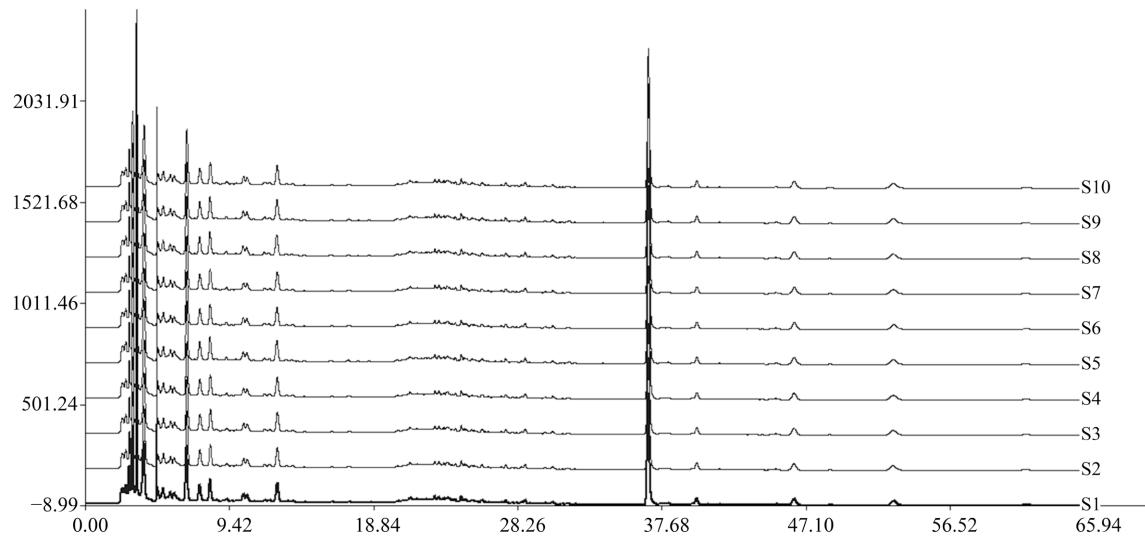


Figure 5. HPLC control spectrum of *Alisma plantago-aquatica* Linn. formula granules
图 5. 泽泻配方颗粒 HPLC 对照图谱

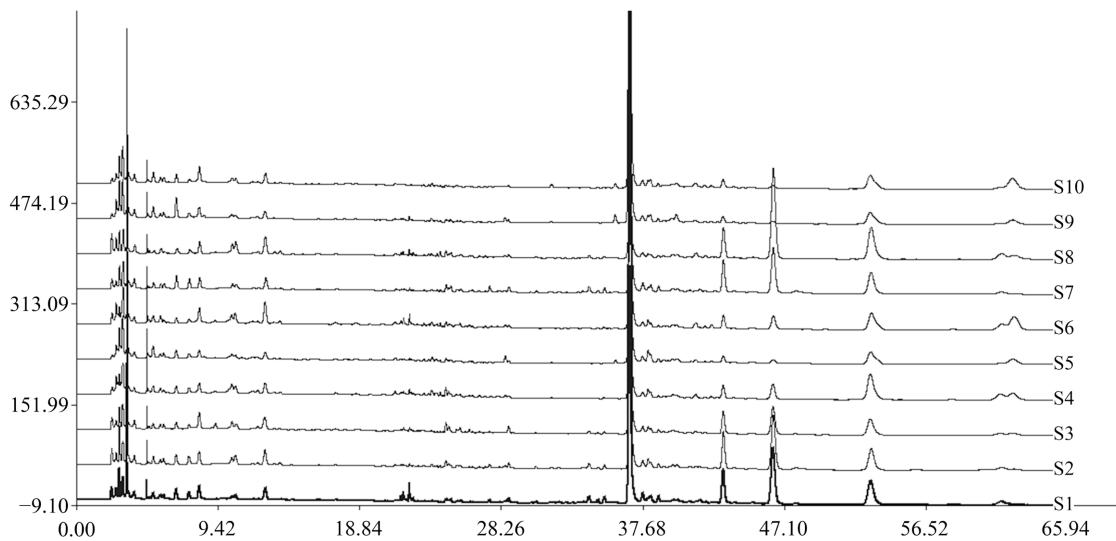


Figure 6. HPLC control spectrum of *Alisma plantago-aquatica* Linn. and its formula granules
图 6. 泽泻药材与配方颗粒 HPLC 对照图谱

4.2. 共有峰的确定

建立的泽泻药材及其配方颗粒的指纹图谱中, 10 批泽泻药材确定 19 个共有色谱峰, 10 批泽泻配方颗粒确定 13 个共有色谱峰, 10 批泽泻药材与 10 批配方颗粒确定 13 个共有峰。计算各共有峰的相对保留时间与相对峰面积, 见表 3、表 4。

4.3. 相似度评价

采用《中药色谱指纹图谱相似度评价系统软件》(2004 版), 以生成的对照谱图为参照, 各批次供试品指纹图谱与对照谱图进行比较, 分别计算 10 批药材、10 批配方颗粒、10 批药材及 10 批配方颗粒的相似度。S1~S10 为泽泻药材、S11~S20 为泽泻配方颗粒。结果见表 5、表 6。

Table 5. Evaluation of similarity of *Alisma plantago-aquatica* Linn. and formula granules
表 5. 泽泻药材、泽泻配方颗粒的相似度

泽泻药材	相似度	泽泻配方颗粒	相似度
S1	0.944	S11	0.994
S2	0.979	S12	0.998
S3	0.994	S13	0.997
S4	0.996	S14	1.000
S5	0.997	S15	0.991
S6	0.995	S16	0.997
S7	0.980	S17	1.000
S8	0.500	S18	0.994
S9	0.996	S19	0.990
S10	0.996	S20	0.996

Table 6. Evaluation of similarity of *Alisma plantago-aquatica* Linn. and formula granules
表 6. 泽泻药材及配方颗粒的相似度

泽泻药材	相似度	泽泻配方颗粒	相似度
S1	0.865	S11	0.954
S2	0.851	S12	0.950
S3	0.833	S13	0.946
S4	0.851	S14	0.970
S5	0.502	S15	0.988
S6	0.867	S16	0.974
S7	0.862	S17	0.965
S8	0.869	S18	0.983
S9	0.843	S19	0.989
S10	0.862	S20	0.942

5. 结论

本文建立的泽泻药材指纹图谱, 泽泻配方颗粒指纹图谱, 其相似度分别在 0.500~0.997、0.990~1.000 之间, 表明药材间和配方颗粒间其化学成分相关性良好; 泽泻药材及配方颗粒指纹图谱相似度在 0.502~0.989 之间, 说明泽泻药材到配方颗粒这一系列制备过程中会有一些化学成分含量发生变化。泽泻药材及配方颗粒指纹图谱中有 13 个共有峰, 表明这 13 个特征成分在泽泻配方颗粒制备全过程中可以进行追溯。通过对泽泻药材、泽泻配方颗粒的 HPLC 指纹图谱进行相关性研究, 阐明了泽泻药材、泽泻配方颗粒、泽泻药材及其配方颗粒在化学成分上的相关性, 3 者的指纹图谱特征峰变化较大, 说明药材经过提取和浓缩等工艺制成配方颗粒后化学成分会有所改变, 因此可以将指纹图谱用于中药配方颗粒全过程监控, 可以反映生产过程各环节的量质传递变化规律, 从而为泽泻的质量控制提供参考依据。

中药配方颗粒是以传统中药饮片为原料, 运用现代技术制成的新型配方用药, 具有能够满足临床医师按照病人的症状下药, 方便使用和携带, 并通过对病人症状的轻重缓急确定剂量的优点。泽泻配方颗粒是由泽泻饮片加工制成, 且其现在被广泛应用于临幊上, 但是泽泻的来源复杂, 故对泽泻配方颗粒的

质量进行控制是有必要的，而中药指纹图谱的整体性、系统性特征为质量评价提供了新的方法。本研究建立了泽泻药材及其配方颗粒的HPLC指纹图谱，该方法稳定，信息量大，重复性好，操作简单且快速，从整体性和模糊性角度评价泽泻药材及其配方颗粒质量的一致性，以期为泽泻及其配方颗粒的质量控制与临床应用提供参考依据。

致 谢

本研究得到的贵州省一流课程重点建设项目(项目合同编号：黔教高发[2017]158)和2022年度贵州省级“金课”(证书编号：2022JKXX0018)的资助。非常感谢所有在我完成这篇论文过程中提供帮助和支持的人。

参 考 文 献

- [1] 赵璐璐,林龙,先蕊,等.中药材泽泻的商品规格等级划分现状调查与分析[J].成都中医药大学学报,2024,47(2): 75-80.
- [2] 缪晓冬,李才堂.基于网络药理学-分子对接技术探讨泽泻抗炎作用的分子机制[J].实用中西医结合临床,2023,23(16): 1-5+10.
- [3] 罗静心,简丽娜,夏凡,等.泽泻活性成分改善非酒精性脂肪性肝病的作用机制进展[J].中国药业,2024,33(7): 1-7.
- [4] 林娟,周霞,张美,等.不同干燥方法对川泽泻化学成分的影响[J].中药材,2022,45(11): 2597-2602.
- [5] 邓艳萍,金沐阳,张露,等.基于网络药理学及分子对接技术探讨泽泻治疗动脉粥样硬化作用机制[J].新中医,2023,55(7): 21-27.
- [6] 刘珊珊,郭杰,李宗艾,等.泽泻化学成分及药理作用研究进展[J].中国中药杂志,2020,45(7): 1578-1595.
- [7] 邓芸,叶惠煊,谭真鲁鲁,等.正交试验法优选泽泻配方颗粒水提工艺[J].中南药学,2016,14(9): 953-957.
- [8] 刘德文,龚千锋,刘强,等.泽泻的采收、产地加工、炮制及质量评价研究概况[J].中国实验方剂学杂志,2018,24(16): 203-211.
- [9] 李春沁,凌海燕,开拓,等.泽泻高效液相色谱指纹图谱研究[J].中药新药与临床药理,2020,31(12): 1470-1477.
- [10] 胡珊梅,许瑜瑜.建泽泻、川泽泻及江泽泻HPLC特征图谱比较研究[J].药物分析杂志,2010,30(3): 409-414.
- [11] 黄涛,邱盼子,欧阳波,等.香芪生乳合剂的HPLC指纹图谱建立[J].中医药导报,2024,30(1): 31-34.