

# 五指毛桃入药膳的 HPLC 特征指纹图谱研究

石添香<sup>1</sup>, 林玉雅<sup>2</sup>, 罗明<sup>1</sup>, 魏平<sup>2</sup>, 刘东辉<sup>1</sup>, 林华燕<sup>1</sup>, 林微微<sup>1</sup>, 许日鑫<sup>1</sup>, 魏刚<sup>1</sup>

(1. 广州中医药大学医学信息工程学院, 广东广州 510006) (2. 广州至信药业有限公司, 广东广州 511430)

**摘要:** 采用高效液相色谱法建立五指毛桃入药膳的 HPLC 特征指纹图谱, 探讨药膳中可作为评价指标的目标药材。运用 HPLC 分析五指毛桃药膳的指纹图谱。色谱柱: Waters Shield RP C18 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为甲醇(A)-0.1%磷酸(B), 梯度洗脱; 流速 1.0 mL/min; 检测波长 246 nm; 柱温 30 °C, 测定 10 批五指毛桃药膳指纹图谱。在特征指纹图谱中, 确定 14 个共有峰, 其中补骨脂素含量最高; 十批样品相似度在 0.90~0.99, 且方法学考察符合规定的标准。五指毛桃入药膳后可以检测出相关特征成分, 可以作为药膳质量评价的对象。食材脂肪酸成分对五指毛桃特征成分的检出影响不大。

**关键词:** 五指毛桃; 药膳; HPLC; 指纹图谱

文章编号: 1673-9078(2013)1-401-404

## HPLC fingerprint of Radix Fici in medicated diet

SHI Tian-xiang<sup>1</sup>, LIN Yu-ya<sup>2</sup>, LUO Ming<sup>1</sup>, WEI Ping<sup>2</sup>, LIU Dong-hui<sup>1</sup>

LIN Hua-yan<sup>1</sup>, LIN Wei-wei<sup>1</sup>, XU Ri-xin<sup>1</sup>, WEI Gang<sup>1</sup>

(1. College of Medical Information Engineering, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China)

(2. Zhixin Pharmaceutical Company Ltd, Guangzhou 511430, China)

**Abstract:** The fingerprint of Radix Fici in medicated diet by HPLC was established and the medicinal materials that can be used as evaluation index of medicated diet were explored. Chromatographic conditions of HPLC were as follows: Waters Shield RP C18 column (250 mm×4.6 mm, 5 μm), methanol (A) and 0.1% phosphoric acid (B) as gradient mobile phases, flow rate 1.0 mL/min and detecting wavelength at 246 nm, and column temperature 30 °C. Fingerprint was established with 14 common peaks and determination of Psoralen was the highest. Similarity was in the range of 0.90-0.99 and methodology reached the required standard. Characteristic constituents of Radix Fici could be detected in the medicated diet, which was appropriate for the evaluation index of medicated diet. The impact of fatty acid on detection of characteristic constituents of Radix Fici was small.

**Key words:** Radix fici; medicated diet; HPLC; fingerprint

五指毛桃(*Radix fici*)为桑科植物粗叶榕*Ficus hirta* Vah.1的干燥根<sup>[1]</sup>。五指毛桃益气而不作火, 补气而不提气, 扶正而不碍邪, 兼能祛痰平喘、化湿行气、舒筋活络, 更加适合岭南多湿的气候特点, 民间认为功用和北芪<sup>[2-3]</sup>相当, 固有“南芪”之称<sup>[4]</sup>。本品为华南地区常用中药材, 在广东, 常用五指毛桃煲鸡、煲猪骨、猪脚作为保健汤饮, 是流传盛广的“煲汤料”。在文献中<sup>[5-7]</sup>, 关于五指毛桃指纹图谱的研究很多, 但对于五指毛桃入药膳, 与水鸭、猪肉等食材炖汤后, 特征成分进入汤液中的研究仍未见报道, 为建立评价含五指毛桃药材药膳的质量方法, 我们收集了不同产地的五指毛桃药材与水鸭、猪肉合煲, 制成药膳, 采用高效液相色谱法, 初步建立了五指毛桃入药膳后的特

收稿日期: 2012-10-14

基金项目: 番禺区科技计划项目 (2010-专-12-11)

作者简介: 石添香 (1987-), 女, 研究方向为中药新药研究与指纹图谱分析

通讯作者: 刘东辉

征指纹图谱分析方法, 为五指毛桃药膳的质量控制提供了实验方法。

### 1 仪器与材料

#### 1.1 仪器与试剂

岛津 LC-20AT (DAD) 高效液相色谱仪; T1000 型电子天平, 常熟市双杰测试仪器厂; GX-500A 药煲, 潮安县东凤镇广兴五金燃具厂; HWS<sub>24</sub> 型电热恒温水浴锅, 上海一恒科技有限公司; 补骨脂素对照品, 批号 110739-200309; 甲醇为色谱纯, 其他试剂为分析纯, 水为超纯水。

#### 1.2 材料

本实验所用五指毛桃具体来源见表 1, 均由广州中医药大学第一附属医院黄月纯主任中药师鉴定, 鉴定为桑科植物粗叶榕 *Ficus hirta* Vah.1 的干燥根。

### 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

Waters Shield RP C18 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为甲醇 (A) -0.1% 磷酸 (B), 梯度洗脱: 0~5 min, 5% A; 5~35 min, 5%~60% A; 35~40 min, 60% A; 40~50 min, 60%~100% A; 50~60 min, 100% A; 流速 1.0 mL/min; 柱温 30 °C; 检测波长 246 nm; 进样量为 10 μL。

表 1 样品来源

Table 1 Sources of the samples

编号	来源	编号	来源
S1	广西玉林	S6	广东韶关
S2	广西河池	S7	广东梅州
S3	广西桂林	S8	广东清远
S4	广西连平	S9	广东河源
S5	广西荔浦	S10	广东从化

### 2.2 对照品溶液的制备

精密称取补骨脂素对照品 1.5 mg, 加甲醇制成 0.0375 mg/mL 的溶液, 摇匀, 即得。

### 2.3 供试品溶液的制备

#### 2.3.1 药膳的制备

称取五指毛桃 6 g, 红枣 2 g, 水鸭 45 g, 猪肉 30 g, 加水 300 mL, 武火加热 30 min, 文火慢炖 120 min, 取出, 趁热过滤, 放冷, 至 250 mL 量瓶中, 加水至刻度, 得五指毛桃药膳。

#### 2.3.2 药膳供试品溶液的制备

精密吸取药膳 50 mL, 蒸干, 残渣加甲醇溶解并定容至 5 mL, 静置, 取上清液, 加甲醇稀释并定容至 5 mL。

#### 2.3.3 食材供试品溶液的制备

称取水鸭 45 g, 猪肉 30 g, 按“2.3.1”与“2.3.2”项下方法同法制备, 即的。

#### 2.3.4 药材供试品溶液的制备

称取五指毛桃 6 g, 按“2.3.1”与“2.3.2”项下方法同法制备, 即的。

### 2.4 药膳、食材、药材供试品溶液 HPLC 图谱的对比

分别精密吸取上述各供试品溶液各 10 μL, 按“2.1”项下的方法进样分析, 结果见图 1。结果显示, 五指毛桃药膳色谱峰主要来自五指毛桃药材。五指毛桃与水鸭、猪肉炖汤后, 特征成分进入药膳汤液中, 通过分析可检测出相关特征成分, 因此可以作为药膳质量评价的研究对象。食材脂肪酸成分的色谱峰主要集中在前 8 min, 且分离效果差。另外, 由于五指毛桃的色谱峰主要在 8 min 之后, 因此, 食材脂肪酸成分对五指毛桃特征成分的检出影响不大。

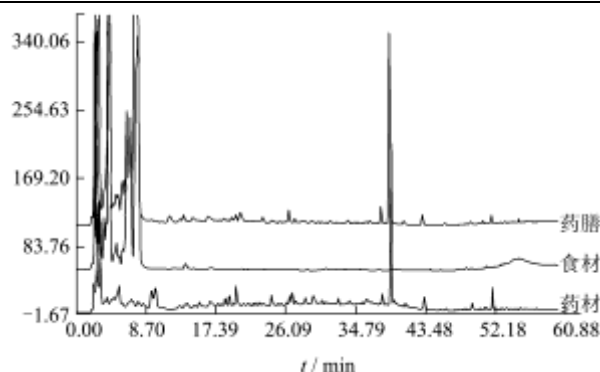


图 1 供试品溶液 HPLC 图谱

Fig.1 HPLC chromatogram of the sample

### 2.5 方法学考察

#### 2.5.1 精密度试验

精密吸取同一药膳供试品溶液, 连续进样 6 次, 检测指纹图谱, 计算主要色谱峰的相对保留时间和相对峰面积的 RSD, 结果表明各色谱峰相对保留时间的 RSD<0.08%, 相对峰面积的 RSD<3.0%, 符合指纹图谱的要求, 表明仪器的精密度良好。

#### 2.5.2 稳定性试验

精密吸取同一药膳供试品溶液, 分别在 0、2、4、8、12、24 h 进样, 检测指纹图谱, 计算主要色谱峰的相对保留时间和相对峰面积的 RSD, 结果表明各色谱峰的相对保留时间的 RSD<0.5%, 相对峰面积的 RSD<3.0%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

#### 2.5.3 重复性试验

取同一药膳溶液 6 份, 同法制备成供试品溶液, 按“2.1”项下色谱条件分别进样检测, 记录色谱图, 结果表明, 各共有峰的相对保留时间 RSD 均<0.8%, 相对峰面积 RSD 均<3.0%, 说明本实验方法的重复性良好, 符合指纹图谱要求。

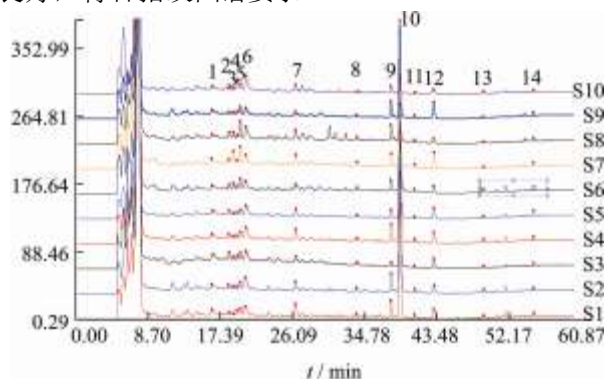


图 2 10 批五指毛桃药膳的 HPLC 指纹图谱

Fig.2 HPLC chromatogram of 10 batches of Radix Fici in medicated diet

### 2.6 指纹图谱的建立及共有峰的确定

#### 2.6.1 共有峰的标记

分别制备 10 批五指毛桃药膳供试品溶液, 按以上

色谱条件测定,记录色谱图。对 10 批五指毛桃药膳进行指纹图谱分析,标定了 14 个共有峰,分别是 1 号(16.440 min)、2 号(18.443 min)、3 号(18.971 min)、4 号(19.433 min)、5 号(19.840 min)、6 号(20.473 min)、7 号(26.459 min)、8 号(33.836 min)、9 号(37.951 min)、10 号(38.988 min)、11 号(40.770 min)、12 号(43.087 min)、13 号(49.073 min)和 14 号(55.090 min),10 号峰为补骨脂素。10 批五指毛桃药膳共有特征峰见图 1,共有模式的对照指纹图谱见图 2,相对保留时间与相对峰面积结果见表 2 和表 3。

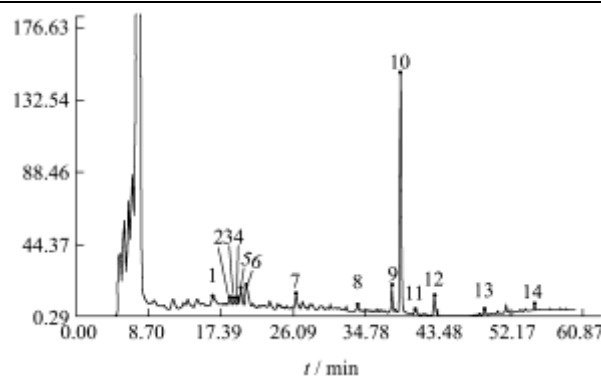


图 3 五指毛桃药膳的 HPLC 指纹图谱生成的对照图谱

Fig.3 HPLC fingerprint for common fingerprint peaks

表 2 各共有峰相对保留时间

Table 2 Relative retention time of common peaks

峰号	相对保留时间										平均值	RSD/%
	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10		
1	0.421	0.420	0.424	0.422	0.424	0.421	0.420	0.421	0.421	0.423	0.422	0.369
2	0.473	0.472	0.473	0.473	0.473	0.473	0.473	0.473	0.473	0.474	0.473	0.086
3	0.486	0.486	0.487	0.487	0.487	0.486	0.487	0.487	0.486	0.486	0.486	0.060
4	0.498	0.498	0.499	0.498	0.498	0.498	0.499	0.499	0.498	0.498	0.498	0.054
5	0.510	0.508	0.510	0.509	0.510	0.507	0.508	0.508	0.508	0.509	0.509	0.192
6	0.524	0.523	0.525	0.525	0.526	0.523	0.525	0.525	0.526	0.526	0.525	0.194
7	0.678	0.678	0.679	0.679	0.679	0.678	0.679	0.678	0.678	0.678	0.678	0.049
8	0.867	0.867	0.868	0.867	0.867	0.867	0.868	0.868	0.867	0.868	0.867	0.046
9	0.973	0.973	0.973	0.973	0.973	0.973	0.973	0.973	0.973	0.973	0.973	0.015
10	0.999	1.000	1.000	1.000	1.000	0.999	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.015
11	1.045	1.046	1.045	1.045	1.045	1.045	1.046	1.037	1.020	1.009	1.038	1.276
12	1.105	1.105	1.105	1.105	1.105	1.104	1.105	1.105	1.105	1.105	1.105	0.024
13	1.258	1.259	1.259	1.258	1.258	1.258	1.258	1.258	1.257	1.259	1.258	0.038
14	1.413	1.413	1.412	1.413	1.412	1.413	1.413	1.412	1.412	1.412	1.413	0.025

表 3 各共有峰相对峰面积

Table 3 Relative peak areas of common peaks

峰号	相对峰面积										$\bar{x} \pm S$
	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	
1	0.121	0.150	0.229	0.108	0.136	0.161	0.184	0.348	0.169	0.306	0.191±0.080
2	0.043	0.059	0.116	0.052	0.071	0.071	0.081	0.273	0.073	0.072	0.091±0.067
3	0.152	0.155	0.150	0.150	0.150	0.153	0.162	0.216	0.157	0.158	0.160±0.020
4	0.043	0.038	0.069	0.034	0.046	0.049	0.053	0.126	0.059	0.129	0.165±0.035
5	0.064	0.084	0.112	0.069	0.081	0.135	0.075	0.075	0.134	0.076	0.091±0.027
6	0.124	0.189	0.224	0.144	0.178	0.171	0.233	0.206	0.178	0.213	0.186±0.035
7	0.086	0.064	0.056	0.078	0.079	0.056	0.098	0.090	0.047	0.096	0.075±0.018
8	0.024	0.033	0.044	0.022	0.026	0.032	0.075	0.072	0.037	0.075	0.044±0.022
9	0.082	0.108	0.120	0.069	0.050	0.079	0.142	0.115	0.159	0.119	0.104±0.034
10	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000±0.000
11	0.018	0.018	0.019	0.013	0.019	0.018	0.019	0.018	0.020	0.019	0.018±0.002
12	0.063	0.061	0.057	0.060	0.054	0.065	0.055	0.056	0.052	0.054	0.058±0.004
13	0.028	0.022	0.017	0.016	0.030	0.029	0.029	0.028	0.029	0.029	0.026±0.005
14	0.012	0.012	0.015	0.012	0.012	0.015	0.012	0.012	0.019	0.012	0.018±0.002

表4 十批五指毛桃药膳相似度分析

Table 4 Similarity of 10 batches of Radix Fici in medicated diet

	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10
平均数	0.998	0.971	0.987	0.995	0.991	0.999	0.997	0.997	0.999	0.902
中位数	0.998	0.971	0.988	0.994	0.988	0.999	0.998	0.998	1.000	0.901

### 2.6.2 相似度分析

运用中药色谱指纹图谱相似度评价软件,将10批次五指毛桃药膳图谱数据导入,生成对照图谱,并以10批样品生成的对照谱图(平均数法和中位数)作为对照模板,计算其相似度,结果见表4。在相似度计算结果中,平均数相似度和中位数相似度均在0.900~0.999,同一样品中这两者得出的值不完全一样,但差异不大。不同样品相似度存在一定差异,说明不同来源的药材制备的到的药膳质量不一致。

## 3 讨论

### 3.1 样品制备方法的考察

由于食材的影响,药膳中油脂类成分较多,故样品处理考察了石油醚萃取去脂与不去脂两种制备方法。结果发现,用石油醚萃取去脂得到的样品,其指标性成分补骨脂素强度明显减弱,考虑补骨脂素为脂溶性成分,因此样品处理时不用石油醚先去除油脂。此外,食材的色谱峰主要集中在前8 min,五指毛桃特征成分的色谱峰主要在8 min之后,因此,食材脂肪酸成分对药膳中五指毛桃特征成分的检出影响不大。

### 3.2 色谱条件的优化

试验尝试了多种流动相体系,甲醇-水,甲醇-醋酸水,甲醇-磷酸水体系,结果表明,甲醇-0.1%磷酸水体系分离的效果较好。另外,试验比较了Kromasil 100-5 C18、Agilent XDB C18、Waters Shield C18 3种色谱柱,其中Waters Shield C18分离效果最佳。

补骨脂素是五指毛桃主要活性成分<sup>[8-9]</sup>,文献报道其有较强的药理作用,如抗菌抗病毒、抑制肿瘤、免疫调节、雌激素样作用和影响药物代谢等作用<sup>[10-11]</sup>。在药膳中补骨脂素(10号峰)的含量最高,为药膳作用的发挥提供物质基础。

## 4 结论

本实验对10批五指毛桃药膳进行了HPLC指纹

图谱构建,标定了14个共有峰,十批样品相似度在0.90~0.99,发现不同产地的五指毛桃药材与水鸭、猪肉合煲制成的药膳其整体色谱峰峰形相似,相似度较高。五指毛桃入药膳后可以检测出相关特征成分,可以作为药膳质量评价的对象,食材脂肪酸成分对五指毛桃特征成分的检出影响不大。但因实验条件限制,本实验未能收集更多产地更多批次的样品进行试验,现阶段初步建立了五指毛桃入药膳后的特征指纹图谱分析方法,为五指毛桃药膳的质量控制提供了实验方法。

### 参考文献

- [1] 广东省食品药品监督管理局.广东省中药药材标准,第1册[S].广州:广东科技出版社,2004
- [2] 黄芪多糖的分离纯化和抗肿瘤活性研究[J].现代食品科技,2007,27(4):376-379
- [3] 黄芪总黄酮的醇提工艺研究[J].现代食品科技,2006,22(3):158-160
- [4] 唐铁军.邓铁涛教授运用岭南草药经验介绍[J].新中医,2003,35(5):7-8
- [5] 席萍,黄耀海,黄月纯,等.五指毛桃药材高效液相指纹图谱的实验研究[J].时珍国医国药,2009,3(20):572-573
- [6] 陶敬奇,闻莹莹,王辉等.五指毛桃指纹图谱的高效液相色谱-质谱联用研究[J].华南师范大学学报,2011,3(8):78-81
- [7] 钟小清.五指毛桃药材质量的研究[D].广州:广州中医药大学,2001
- [8] 魏刚,刘春玲,何建雄等.五指毛桃GC-MS特征指标成分群探讨[J].中医药学刊,2005,23(7):1249-1251
- [9] 刘春玲,魏刚,何建雄等.五指毛桃不同采收部位挥发油及醇提物成分的分析[J].广州中医药大学学报,2004,21(3):204-210
- [10] 吴少华,张仲海,赵建斌.补骨脂素体内外抗癌活性实验研究[J].中国中药杂志,1998,23(5):303-305
- [11] 熊友健,杨玉明,姜松,等.呋喃香豆素类成分及其药理作用研究进展[J].中成药,2010,10(32):1764-1770