

# Identification of *Arctium lappa* L. from Different Cultivation Places by HPLC Fingerprint

Jie Bin<sup>1</sup>, Jianlian Shi<sup>2</sup>, Shanshan Hu<sup>2</sup>, Mengjie Liang<sup>2</sup>, Yadong Guo<sup>2</sup>, Yanjun Lin<sup>2</sup>, Shuangfeng Wu<sup>2</sup>, Liang Deng<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Honghe Health Vocational College, Honghe Yunnan

<sup>2</sup>College of Pharmaceutical Sciences and Yunnan Key Laboratory of Pharmacology for Natural Products, Kunming Medical University, Kunming Yunnan

Email: \*dengliangkmmc@163.com

Received: Nov. 7<sup>th</sup>, 2017; accepted: Nov. 22<sup>nd</sup>, 2017; published: Nov. 29<sup>th</sup>, 2017

## Abstract

To study the fingerprints of *Arctium lappa* L. from different cultivation places. The HPLC conditions were employed by taking Shimadzu ODS (4.6 mm × 150 mm, 5 μm) and acetonitrile/water (gradient elution) as mobile phase, the rate of mobile phase was 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, the temperature of chromatographic column was 25°C, detection wavelength was 280 nm. There were eleven peaks owned by all samples. This study established the HPLC fingerprints of *Arctium lappa* L., it can be used as the special identification for *Arctium lappa* L. The similar degrees were greater than 0.99. It was shown that the uniformity of the samples was nice.

## Keywords

*Arctium lappa* L., HPLC, Fingerprint, Identification

# 不同产地牛蒡子的指纹图谱研究

宾 婕<sup>1</sup>, 施建莲<sup>2</sup>, 胡珊珊<sup>2</sup>, 梁梦洁<sup>2</sup>, 郭亚东<sup>2</sup>, 林彦君<sup>2</sup>, 吴双凤<sup>2</sup>, 邓 亮<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>红河卫生职业学院, 云南 红河

<sup>2</sup>昆明医科大学, 药学院暨云南省天然药物药理重点实验室, 云南 昆明

Email: \*dengliangkmmc@163.com

收稿日期: 2017年11月7日; 录用日期: 2017年11月22日; 发布日期: 2017年11月29日

\*通讯作者。

文章引用: 宾婕, 施建莲, 胡珊珊, 梁梦洁, 郭亚东, 林彦君, 吴双凤, 邓亮. 不同产地牛蒡子的指纹图谱研究[J]. 药物资讯, 2017, 6(5): 121-126. DOI: 10.12677/pi.2017.65020

## 摘要

应用HPLC对九个不同产地牛蒡子药材进行指纹图谱研究。使用岛津ODS柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm), 以乙腈-水为流动相, 梯度洗脱, 流动相流速: 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, 柱温: 25℃, 检测波长: 280 nm, 得到11个共有峰, 建立了牛蒡子药材的HPLC指纹图谱可用于牛蒡子药材的专属性鉴别, 九个不同产地牛蒡子药材HPLC指纹图谱中, 其相似度都大于0.99, 说明不同产地的牛蒡子其质量的均一性很好。

## 关键词

牛蒡子, 指纹图谱, 高效液相色谱, 鉴别

Copyright © 2017 by authors and Hans Publishers Inc.

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

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



Open Access

## 1. 引言

牛蒡(*Arctium lappa* L.)是菊科牛蒡属植物, 它的根在东亚国家是一种传统的药用植物, 也是一种蔬菜。牛蒡的种子叫牛蒡子, 是一种传统中药材, 性味苦, 寒, 辛, 具有疏散风热, 解毒消肿的作用, 临床上多用于治疗风热咳嗽, 咽喉肿痛, 疮疡肿毒等症, 在体外有抗氧化活性、清除自由基活性[1] [2] [3]。

目前从牛蒡子中分离得到的化合物主要有木脂素类、脂肪酸类, 挥发油等[4] [5]。中药指纹图谱是指不同产地的某种中药所共有的特征性的某类化学成分的色谱的特征图谱, 中药提取物的特征在于它是多种化学成分的混合物, 中药的药效不是来自单一的活性成分, 采用单一的活性成份或指标成份都难以准确地评判中药的质量优劣, 而色谱指纹图谱技术是全面、整体地控制中药质量有效的方法[6], 本文应用RP-HPLC方法, 对不同产地的牛蒡子进行指纹图谱研究, 为其药材鉴别和质量控制提供实验依据。

## 2. 材料与方法

### 2.1. 样品

牛蒡子样品购自全国九个不同省份当地药材市场。

### 2.2. 仪器和试剂

仪器为Agilent Technologies 1260 Infinity (美国), 检测器为G412B DAD, 数控超声波清洗器(型号KQ-700DB, 昆山市超声仪器有限公司), 100目标准检验筛(浙江上虞市华丰五金仪器有限公司), 超纯水(倍捷科技 MILLIPORE), 高速万能粉碎机(FW100, 天津市泰斯特仪器有限公司), 电子秤: 万分之一电子天平(BT224S), 滤膜: 0.22 μm 有机相针式滤器(上海市安谱实验科技股份有限公司)。乙腈和甲醇(色谱纯)(默克公司, 德国)。

### 2.3. 供试品制备

样品 100℃干燥后粉碎, 过 100 目筛, 每个样品各取 300 mg, 置 250 mL 锥形瓶中, 分别精密加入 50 mL 甲醇, 称重后超声处理(350 Hz) 40 min, 放冷后用甲醇补足重量, 0.22 μm 微孔滤膜过滤。

## 2.4. 对照品溶液制备

精确称量 5 mg 的牛蒡苷元于 10 mL 的容量瓶中,用甲醇定容,得到浓度为 0.5 mg/mL 的对照品溶液。

## 3. 结果与分析

### 3.1. 色谱条件

色谱柱: 岛津 ODS 柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm), 以乙腈-水为流动相, 梯度洗脱(表 1), 流动相流速: 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, 柱温: 25℃, 检测波长: 280 nm, 进样量 10 μL。

在上述色谱条件下进样分析, 得到对照品和样品的色谱图如图 1 所示。

Table 1. Gradient elution

表 1. 梯度洗脱程序

时间(min)	乙腈(%)	水(%)
0~5	1~10	99~90
5~14	10~15	90~85
14~17	15~20	85~80
17~55	20~45	80~55
55~70	45	55

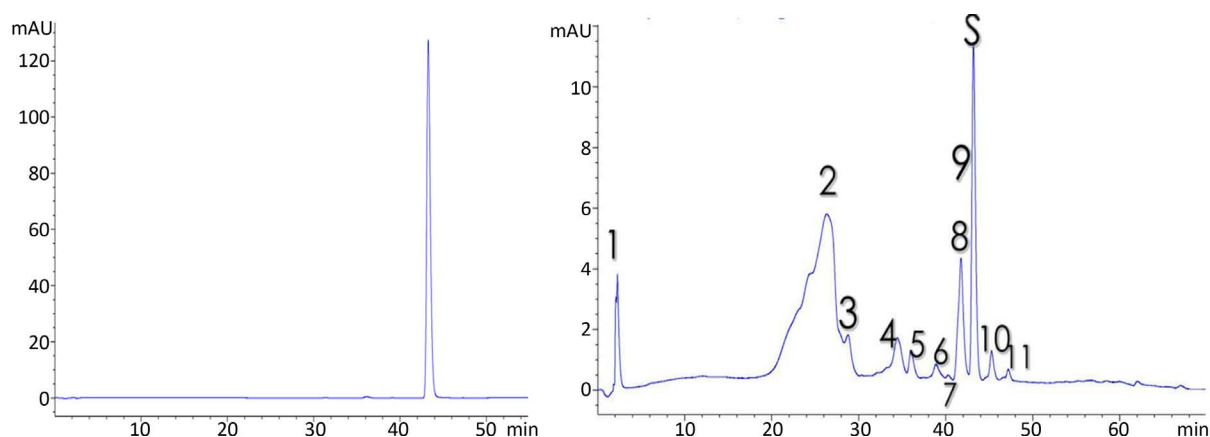


Figure 1. HPLC chromatograms of standard (left) and sample (right)

图 1. 对照品(左)和样品(右)的色谱图

### 3.2. 精密度试验

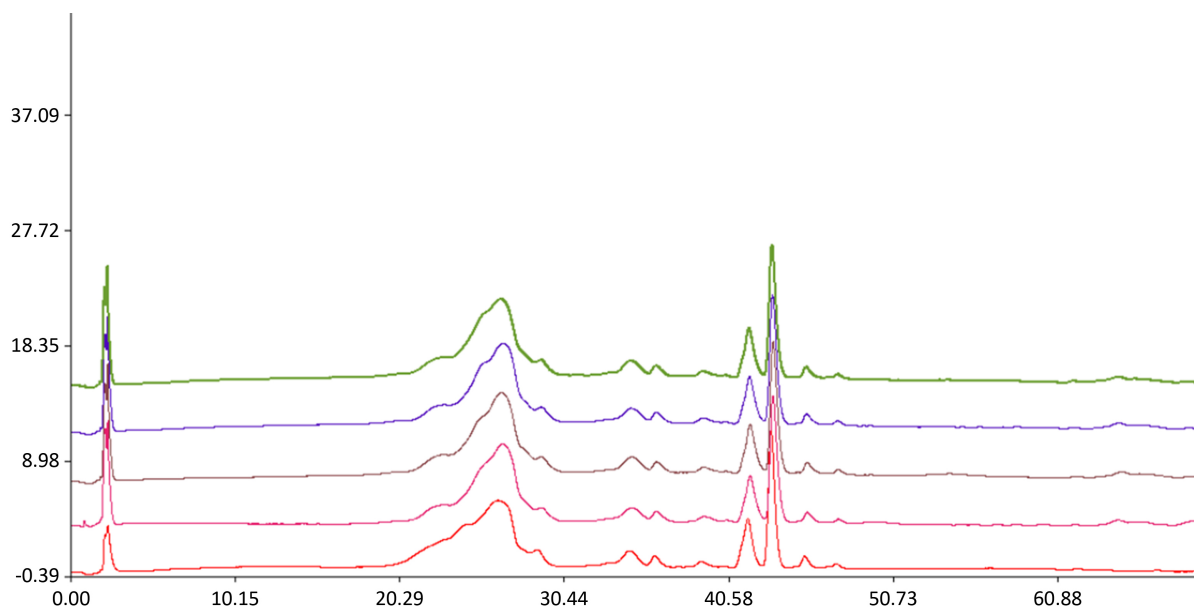
取同一供试品溶液, 连续进样 5 次, 分别对共有峰的保留时间和峰面积比值进行考察。结果表明, 各共有峰的相对保留时间的相对标准偏差(RSD) < 0.10%, 相对峰面积的 RSD < 0.60%。说明精密度良好(见图 2)。

### 3.3. 重复性试验

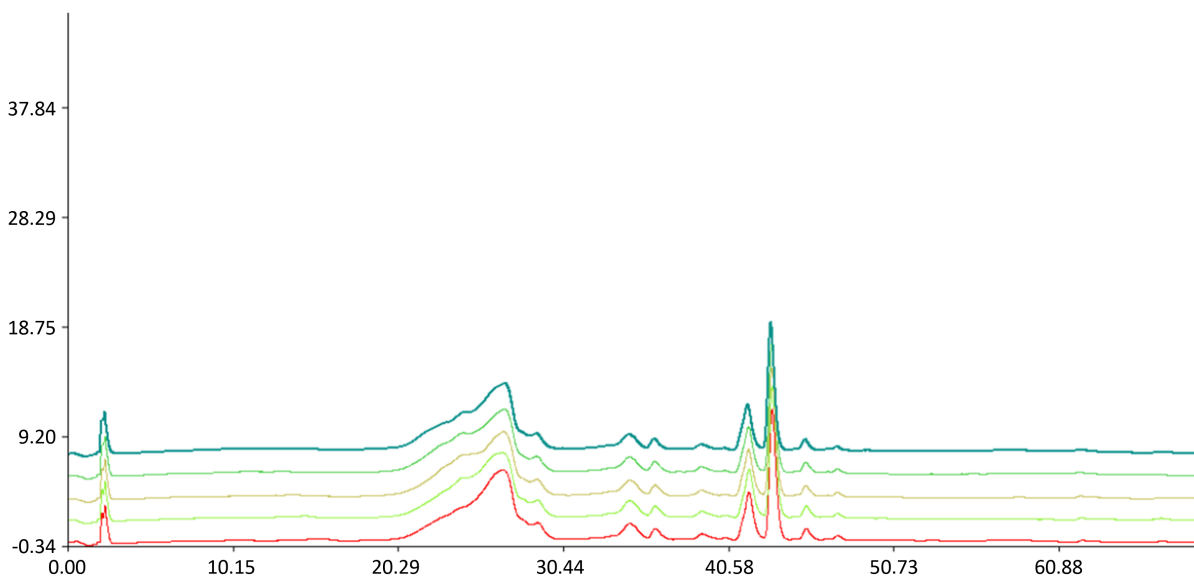
取同一批样品 5 份, 精密称定, 按 1.3 项下方法制备供试品溶液, 分别进样测定各共有峰相对保留时间的 RSD < 0.10%, 相对峰面积的 RSD < 0.30%。说明重复性很好(见图 3)。

### 3.4. 稳定性试验

取同一供试品溶液, 室温放置, 分别于 0 h, 2 h, 4 h, 6 h, 8 h, 10 h, 12 h, 24 h, 36 h 进样测定,



**Figure 2.** HPLC chromatogram of precision  
**图 2.** 精密度试验色谱图



**Figure 3.** HPLC chromatogram of repeatability  
**图 3.** 重复性试验色谱图

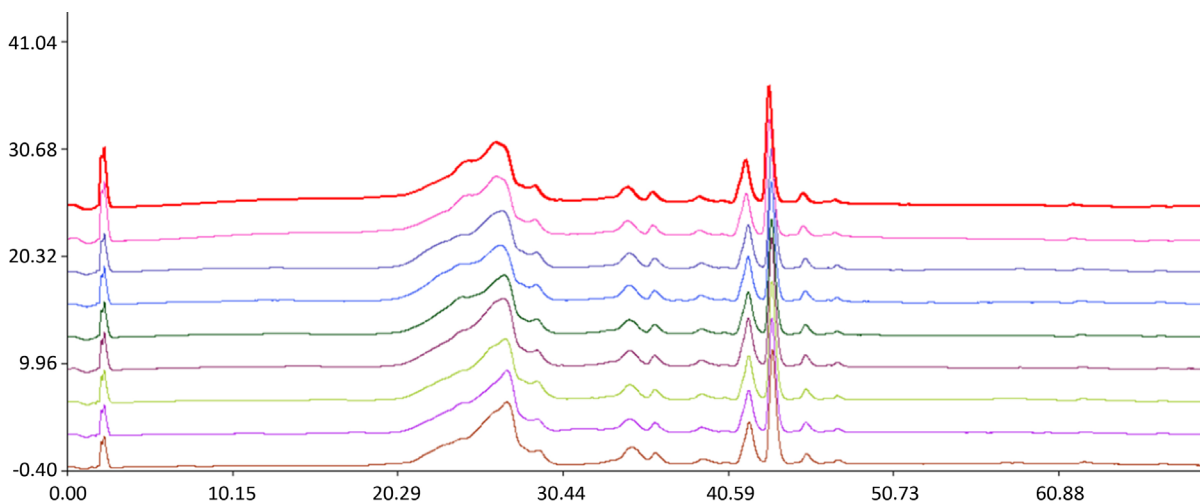
各共有峰相对保留时间的 RSD < 0.10%，峰面积 RSD < 3.00%。说明稳定性好(见图 4)。

### 3.5. 样品测定

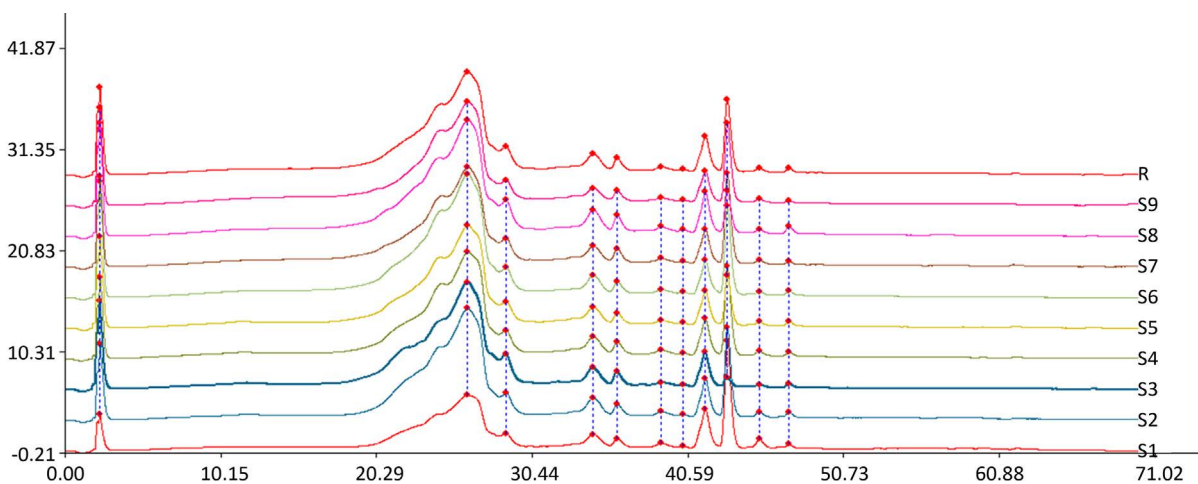
九个不同产地的样品在上述色谱条件下测定，结果见图 5 和表 2~表 4。

## 4. 讨论

使用梯度洗脱分析了九个不同产地牛蒡子药材 HPLC 指纹图谱，色谱条件的优化中参考文献[7]。使用了甲醇 - 水和乙腈 - 水二个系统，最后选择乙腈 - 水，通过梯度洗脱可以得到比较满意的结果，其指纹图谱



**Figure 4.** HPLC chromatogram of stability  
**图 4.** 稳定性试验色谱图



S1 云南; S2 重庆; S3 山东; S4 吉林; S5 山西; S6 广西; S7 黑龙江; S8 甘肃; S9 江西

**Figure 5.** HPLC chromatogram of the samples from different cultivation places  
**图 5.** 不同产地牛蒡子的指纹叠加图谱

**Table 2.** The retention times of Common fingerprint peaks for nine samples/min  
**表 2.** 九个批次牛蒡子共有指纹峰的保留时间/分

1	2.274	26.335	28.778	34.455	36.008	38.884	40.296	41.755	43.188	45.265	47.195
2	2.283	26.120	28.753	34.429	36.000	38.874	40.285	41.738	43.173	45.247	47.185
3	2.289	26.095	28.747	34.409	35.987	38.845	40.271	41.725	43.163	45.219	47.172
4	2.294	26.301	28.728	34.403	35.980	38.842	40.262	41.724	43.158	45.231	47.174
5	2.283	26.265	28.724	34.395	35.975	38.834	40.261	41.715	43.152	45.217	47.159
6	2.280	26.104	28.719	34.388	35.975	38.833	40.256	41.709	43.150	45.209	47.151
7	2.278	26.305	28.724	34.395	35.975	38.826	40.249	41.707	43.141	45.201	47.147
8	2.276	26.268	28.710	34.364	35.955	38.814	40.218	41.684	43.120	45.174	47.123
9	2.277	26.331	28.695	34.360	35.946	38.796	40.230	41.674	43.113	45.176	47.114
平均值	2.282	26.236	28.731	34.399	35.977	38.838	40.258	41.714	43.151	45.215	47.158
RSD%	0.285	0.382	0.086	0.086	0.054	0.070	0.061	0.060	0.055	0.066	0.057

**Table 3.** The peak area of Common fingerprint peaks for nine samples  
**表 3.** 九批次不同产地牛蒡子共有指纹峰的峰面积

批次	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1	75.58	1312.80	70.84	87.36	32.72	24.28	4.35	169.32	323.33	31.67	13.28
2	204.93	2715.71	118.96	143.96	44.55	24.89	6.07	163.39	269.11	19.08	12.72
3	185.62	2682.79	166.01	106.25	47.65	19.48	6.03	149.04	30.54	7.77	11.45
4	216.59	1441.86	117.69	142.69	47.36	24.40	5.29	158.38	269.90	15.29	11.34
5	251.64	1431.35	108.95	135.49	39.80	21.72	5.44	148.02	150.68	13.48	15.79
6	283.02	1775.34	129.10	134.36	43.16	21.39	5.83	148.90	264.74	8.68	12.09
7	222.93	1305.00	116.79	131.97	49.64	23.28	4.98	147.41	270.65	12.30	8.97
8	210.82	1626.54	154.59	159.47	56.90	24.14	7.19	173.93	129.09	15.89	20.30
9	177.57	1364.13	97.53	79.35	35.96	17.95	4.28	133.72	233.16	10.58	5.29
平均值	203.19	1739.50	120.05	124.54	44.19	22.39	5.50	154.68	215.69	14.97	12.33
RSD%	0.283	0.324	0.236	0.219	0.166	0.108	0.166	0.082	0.431	0.481	0.341

**Table 4.** The results of the similar degrees  
**表 4.** 相似度计算结果

批号	相似度	批号	相似度
S1	0.999	S6	0.994
S2	0.999	S7	0.997
S3	0.997	S8	0.996
S4	0.998	S9	0.998
S5	0.998	S	1.000

的重复性，稳定性都令人满意，可以用于牛蒡子药材的专属性鉴别，九个不同产地的样品其相似度都大于0.99，说明来自不同产地的牛蒡子其质量的均一性很好，说明色谱指纹图谱用于鉴定同种药材的质量结果可靠。

### 基金项目

云南省教育厅科学研究基金项目资助(2017ZDX074)，云南省科技厅 - 昆明医科大学应用基础研究联合专项资金项目【2017FE468(-186)】。

### 参考文献 (References)

- [1] 赵华. 药用植物牛蒡化学成分和药理活性研究述要[J]. 辽宁中医学院学报, 2005, 7(2): 128-129.
- [2] 袁莉, 康廷国. 牛蒡子的临床研究述要[J]. 中国当代医药, 2009, 16(6): 73-74.
- [3] Duh, P.D. (1998) Antioxidant Activity of Burdock (*Arctium lappa* Linne): Its Scavenging Effect on Free-Radical and Active Oxygen. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, **75**, 455-461.
- [4] 蔡恩博, 郭雪, 赵岩, 等. 牛蒡子化学成分研究进展[J]. 人参研究, 2015(1): 45-48.
- [5] 秦智彬, 丁林芬, 李兰, 等. 牛蒡子化学成分的研究[J]. 天然产物研究与开发, 2015(12): 2050-2055.
- [6] 谢培山. 中药色谱指纹图谱[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2005.
- [7] 雷海民, 毕葳, 李强, 等. 不同产地牛蒡子药材 RP-HPLC 指纹图谱研究[J]. 中药材, 2006, 29(11): 1166.

**知网检索的两种方式：**

1. 打开知网页面 <http://kns.cnki.net/kns/brief/result.aspx?dbPrefix=WWJD>  
下拉列表框选择：[ISSN]，输入期刊 ISSN：2160-441X，即可查询
2. 打开知网首页 <http://cnki.net/>  
左侧“国际文献总库”进入，输入文章标题，即可查询

投稿请点击：<http://www.hanspub.org/Submission.aspx>

期刊邮箱：[pi@hanspub.org](mailto:pi@hanspub.org)