

# 基于HPLC特征图谱的蜡梅花与其易混淆品梅花的鉴别研究

廖明丽<sup>1</sup>, 李争<sup>1</sup>, 李思远<sup>1</sup>, 张诗华<sup>1</sup>, 刘良娟<sup>1</sup>, 李雯媛<sup>1</sup>, 高晗<sup>1\*</sup>, 李军山<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>神威药业集团有限公司, 河北 石家庄

<sup>2</sup>云南神威施普瑞药业有限公司, 云南 昆明

收稿日期: 2024年7月10日; 录用日期: 2024年7月22日; 发布日期: 2024年8月26日

## 摘要

目的: 建立蜡梅花药材的HPLC特征图谱, 并对蜡梅花与梅花药材进行鉴别。方法: 采用了Waters Cortecs T3 (100 mm × 2.1 mm, 1.6 μm) 色谱柱, 检测波长为355 nm, 流动相为甲醇-0.2%磷酸的梯度洗脱, 柱温为35°C, 流速为每分钟0.3 mL, 建立了10批次蜡梅花药材的特征图谱, 并进行了相似度分析。同时对5批梅花药材进行特征图谱的检测, 并进行了相似度分析。结果: 建立了蜡梅花的HPLC特征图谱, 并且方法学考察符合要求。通过使用该方法对蜡梅花与其易混淆品梅花进行特征图谱检测, 两种药材存在明显差异, 10批蜡梅花药材相似度均大于0.90, 5批梅花药材相似度均小于0.60。结论: 采用HPLC特征图谱可有效鉴别蜡梅花与其易混淆品梅花, 本研究为蜡梅花的质量评价提供了有效方法。

## 关键词

蜡梅花, 梅花, 鉴别, 特征图谱

# Identification of Flos Chimonanthi and Its Confused Product Mume Flos Based on HPLC Characteristic Chromatograms

Mingli Liao<sup>1</sup>, Zheng Li<sup>1</sup>, Siyuan Li<sup>1</sup>, Shihua Zhang<sup>1</sup>, Liangjuan Liu<sup>1</sup>, Wenyuan Li<sup>1</sup>, Han Gao<sup>1\*</sup>, Junshan Li<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Shineway Pharmaceutical Group Limited Company, Shijiazhuang Hebei

<sup>2</sup>Yunnan Shineway Spirin Pharmaceutical Co., Ltd., Kunming Yunnan

Received: Jul. 10<sup>th</sup>, 2024; accepted: Jul. 22<sup>nd</sup>, 2024; published: Aug. 26<sup>th</sup>, 2024

\*通讯作者。

文章引用: 廖明丽, 李争, 李思远, 张诗华, 刘良娟, 李雯媛, 高晗, 李军山. 基于HPLC特征图谱的蜡梅花与其易混淆品梅花的鉴别研究[J]. 药物化学, 2024, 12(3): 250-257. DOI: 10.12677/hjmce.2024.123028

## Abstract

**Objective:** To establish HPLC characteristic chromatograms for the identification of Flos Chimonanthi, for the identification of Flos Chimonanthi and Mume Flos. **Methods:** The column was Waters Cortecs T3 (100 mm × 2.1 mm, 1.6 μm). The detection wavelength was 355 nm. The mobile phase was methanol-0.2% phosphoric acid in gradient elution with a flow rate of 0.3 mL/min. The column temperature was 35°C. The characteristic chromatograms of 10 batches of Flos Chimonanthi were established, and the similarity was analyzed. The characteristic chromatograms of 5 batches of Mume Flos were detected, and the similarity was analyzed. **Results:** The HPLC characteristic chromatograms of Flos Chimonanthi were established. Methodological investigation met the requirements. By using this method to detect the characteristic chromatograms of Flos Chimonanthi and its confused product Mume Flos, there are significant differences between the two medicinal materials. The similarity of 10 batches of Flos Chimonanthi is greater than 0.90, and the similarity of 5 batches of Mume Flos is less than 0.60. **Conclusion:** Flos Chimonanthi and Mume Flos can be identified by HPLC characteristic chromatograms, the study can provide an effective method for quality evaluation of Flos Chimonanthi.

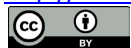
## Keywords

Flos Chimonanthi, Mume Flos, Identification, Characteristic Chromatograms

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

蜡梅花始载于《救荒本草》，为蜡梅科植物蜡梅 *Chimonanthus praecox* (L.) Link 的干燥花蕾，收载于《卫生部药品标准中药材第一册》1992 年版中[1]。蜡梅花的化学成分主要包括黄酮类、挥发油类化合物，具有解暑生津的功效[2]。常用于医治久咳、支气管炎等。现代研究提示蜡梅具有抗氧化、抗抑郁及保护受损器官等作用[3] [4]。

梅花始载于《本草纲目》，为蔷薇科植物梅 *Prunus mume* (Sieb.) Sieb. et Zucc. 的干燥花蕾，主要含有黄酮类、挥发油、苯丙素类等化学成分[5]，收载于《中国药典》2020 年一部，有着疏肝和中、化痰散结的功效[6]。现代研究表明具有抗氧化、抗抑郁、抗黑色素生成和抗血小板凝集的现代药理作用[7]。

蜡梅花与梅花在名称与性状上相似，多存在混淆使用的现象，它们具有不同的功效。目前的研究主要依靠性状和鉴别来区分这两种药材[8]，文中的薄层鉴别未使用对照品或对照药材作参照，无法判断样品与参照物之间的对应关系。中药特征图谱能高效鉴定药材真伪，准确评判药材的质量优劣[9]，具有良好的稳定性和均一性，已成为中药材鉴别的重要手段。本研究旨在通过 HPLC 特征图谱对蜡梅花与易混淆品梅花进行深入比较，为蜡梅花质量控制提供科学依据，确保其在中药临床应用中的安全性和有效性。

## 2. 仪器与材料

### 2.1. 仪器

Waters H-Class 型高效液相色谱仪(检测器: 二极管阵列, 美国 Waters); 数控超声波清洗器(KH7200DE 型; 昆山禾创超声仪器有限公司); Sartorius CPA225D 型分析天平(德国赛多利斯)。

## 2.2. 材料

芦丁对照品(批号: 100080-202012)、山柰酚对照品(批号: 110861-202214)、槲皮素对照品(批号: 100081-201610)均购自中国食品药品检定研究院。蜡梅花对照药材(批号: DSTYL009201), 购自成都德斯特生物技术有限公司。乙醇、磷酸为分析纯, 甲醇为色谱纯, 水为超纯水。15 批蜡梅花、梅花药材由原河北省药品医疗器械检验研究院的孙宝惠老师鉴定, 样品信息见表 1。

**Table 1.** 15 batches of medicinal material sample information

**表 1.** 15 批药材样品信息

编号	产地	名称	拉丁名
S1	河南	蜡梅花	<i>Chimonanthus praecox</i> (L.) Link
S2	湖北	蜡梅花	<i>Chimonanthus praecox</i> (L.) Link
S3	湖南	蜡梅花	<i>Chimonanthus praecox</i> (L.) Link
S4	湖北	蜡梅花	<i>Chimonanthus praecox</i> (L.) Link
S5	河南	蜡梅花	<i>Chimonanthus praecox</i> (L.) Link
S6	湖北	蜡梅花	<i>Chimonanthus praecox</i> (L.) Link
S7	湖南	蜡梅花	<i>Chimonanthus praecox</i> (L.) Link
S8	湖北	蜡梅花	<i>Chimonanthus praecox</i> (L.) Link
S9	湖北	蜡梅花	<i>Chimonanthus praecox</i> (L.) Link
S10	广东	蜡梅花	<i>Chimonanthus praecox</i> (L.) Link
S11	-	蜡梅花对照药材	<i>Chimonanthus praecox</i> (L.) Link
S12	广东	梅花	<i>Prunus mume</i> (Sieb.) Sieb. et Zucc.
S13	安徽	梅花	<i>Prunus mume</i> (Sieb.) Sieb. et Zucc.
S14	湖南	梅花	<i>Prunus mume</i> (Sieb.) Sieb. et Zucc.
S15	安徽	梅花	<i>Prunus mume</i> (Sieb.) Sieb. et Zucc.
S16	安徽	梅花	<i>Prunus mume</i> (Sieb.) Sieb. et Zucc.

## 3. 方法与结果

### 3.1. 色谱条件

色谱柱: Waters CORTECS T3 2.1 mm × 100 mm, 1.6 μm; 流速: 0.3 mL/min; 柱温: 35℃; 检测波长: 355 nm; 流动相: 甲醇(A)-0.2%磷酸溶液(B), 梯度洗脱(0~3 min, 25% A; 3~4 min, 25% → 72% A; 4~13 min, 27% → 29% A; 13~14 min, 29% → 36% A; 14~30 min, 36% → 42% A)。

### 3.2. 对照品溶液的制备

精密称取芦丁对照品、槲皮素对照品、山柰酚对照品适量, 加入甲醇制成每 1 mL 含芦丁 80 μg、槲皮素 50 μg、山柰酚 20 μg 的混合对照品溶液, 作为对照品参照物溶液。

### 3.3. 供试品溶液的制备

取药材样品粉末(过三号筛)约 0.5 g, 加入 70%乙醇 50 ml, 加热回流 1 小时后, 放冷, 摇匀, 滤过,

取续滤液，即得。

### 3.4. 方法学考察

#### 3.4.1. 精密度试验

取药材样品(S1)，依照“3.3”项下的方法制备成供试品溶液，并且按“3.1”项下的色谱条件连续进样6次，同时记录色谱图结果，以芦丁对照品作为参照峰，计算蜡梅花6个共有峰的相对保留时间和相对峰面积的RSD均小于3%，说明了仪器精密度良好。

#### 3.4.2. 重复性试验

取药材供试品(S1)，依照“3.3”项下方法制备成供试品溶液，并且按“3.1”项下的色谱条件制备供试品溶液6份，同时记录色谱图结果，以芦丁对照品作为参照峰，计算蜡梅花6个共有峰的相对保留时间和相对峰面积的RSD均小于3%，说明了该方法重复性良好。

#### 3.4.3. 稳定性试验

取药材样品(S1)，依照“3.3”项下的方法制备成供品溶液，并且按“3.1”项下的色谱条件，分别于0 h、2 h、6 h、8 h、10 h、12 h、18 h、24 h进样检测，记录色谱图结果，以芦丁对照品作为参照峰，计算蜡梅花6个共有峰的相对保留时间及相对峰面积的RSD均小于3%，说明了供试品溶液在24小时内稳定性良好。

### 3.5. 特征图谱分析与评价

#### 3.5.1. 特征图谱的建立

精密吸取“3.2”项下的各对照品溶液，并且按“3.1”项下的色谱条件进样检测，记录各对照品色谱图。

将蜡梅花对照药材依照“3.3”项下方法制备成对蜡梅花对照药材溶液，并且按“3.1”项下的色谱条件进样检测，得到了蜡梅花对照药材色谱图。

将10批蜡梅花药材特征图谱数据导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012年版)”中，选择S11蜡梅花对照药材的色谱图作为参照图谱，用平均数法作为对照图谱生成方式，时间窗宽度设为0.1 min，多点校正，在Mark峰匹配模式下生成6个共有峰，并生成对照图谱R，见图1。

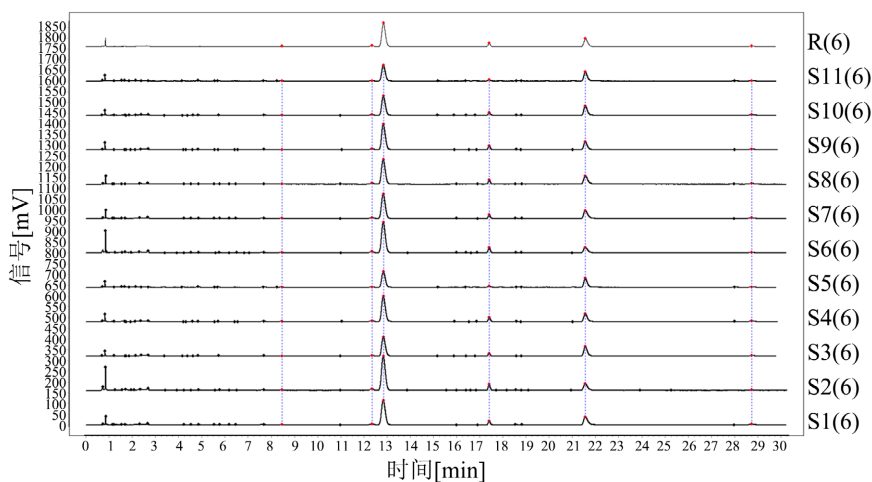


Figure 1. 10 batches of Flos Chimonanthe characteristic chromatograms

图 1. 10 批蜡梅花特征图谱

梅花色谱峰呈现 4 个与蜡梅花共有的特征峰, 将 5 批梅花药材导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012 版)”中, 选择 S1 梅花药材的色谱图作为参照图谱, 见图 2。将 10 批蜡梅花药材与 5 批梅花药材同时导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012 版)”中, 选择 S11 蜡梅花对照药材的色谱图作为参照图谱, 见图 3。

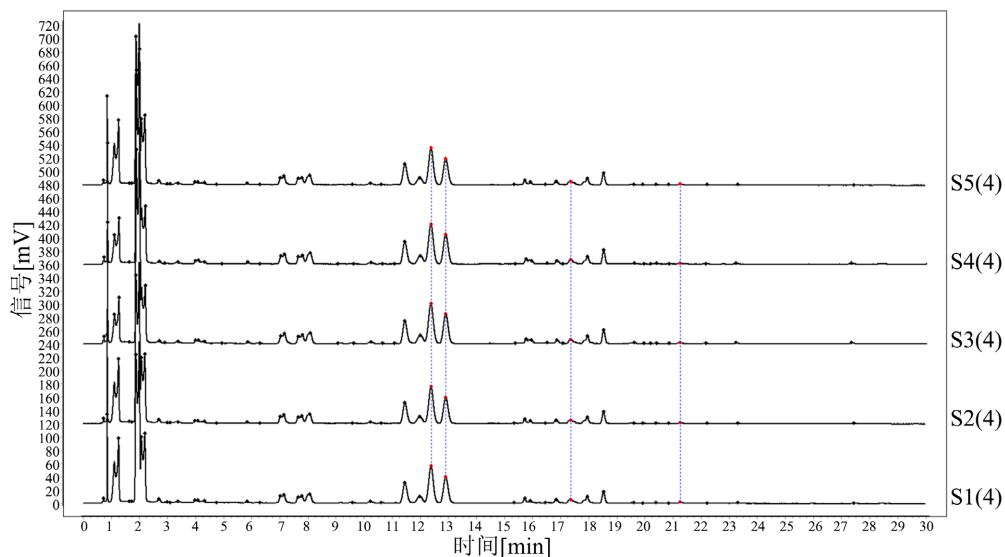


Figure 2. 5 batches of Mume Flos characteristic chromatograms

图 2. 5 批梅花特征图谱

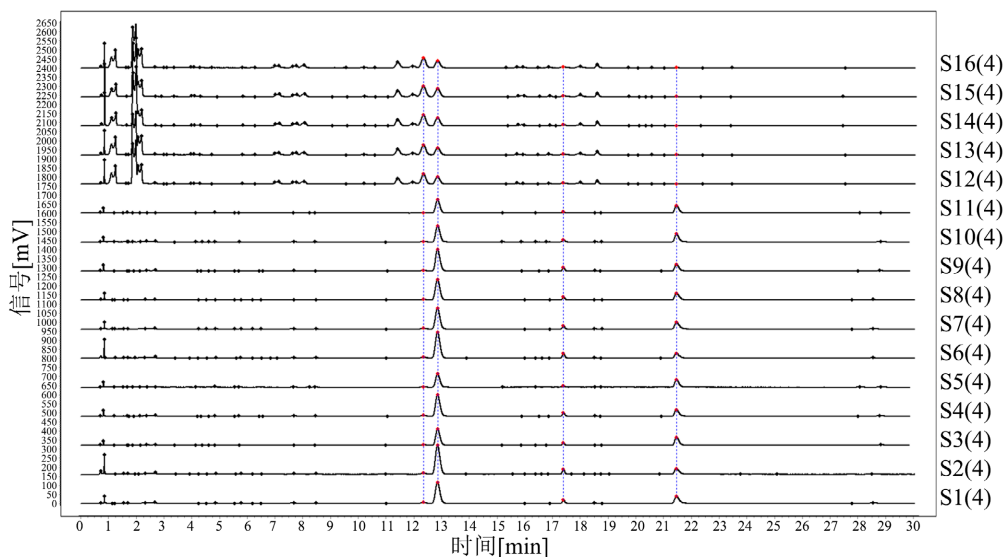
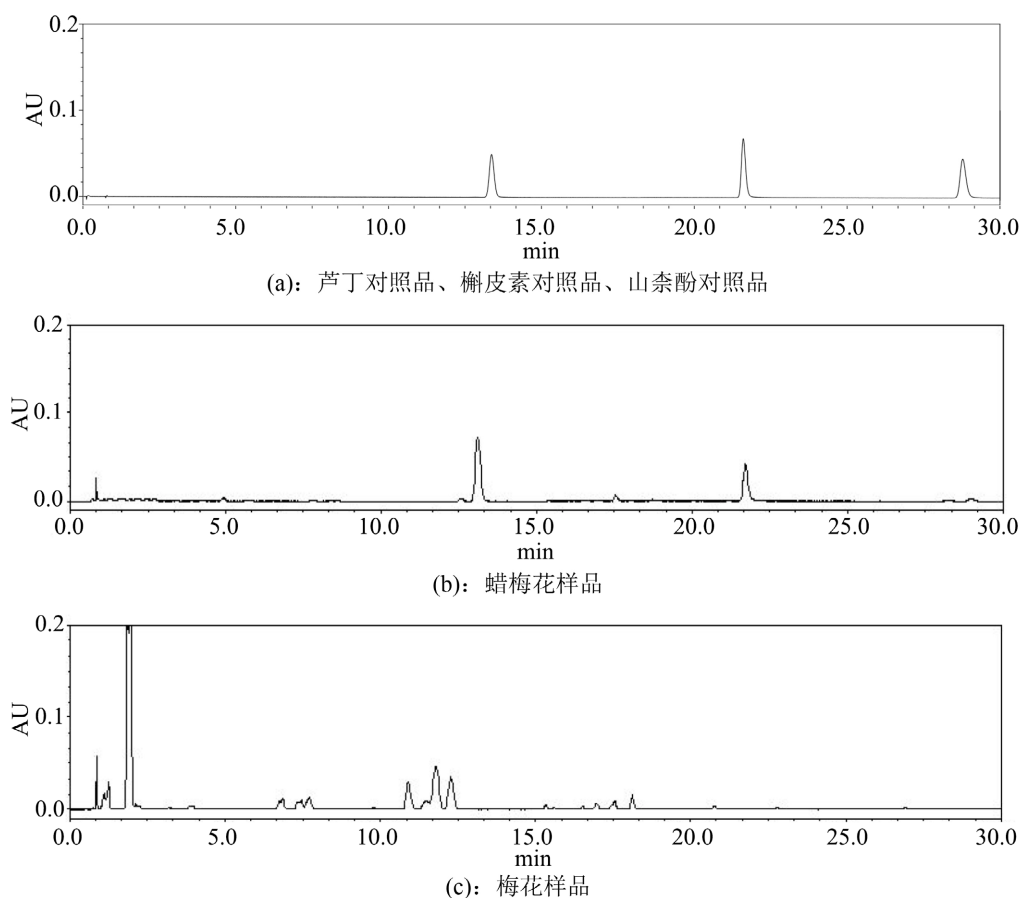


Figure 3. Overlay diagram of 15 batches of samples

图 3. 15 批样品叠加图

根据对照品指认, 蜡梅花特征图谱中的峰 3、峰 5、峰 6 分别是芦丁、槲皮素、山柰酚。见图 4。可观察到, 在保留时间 27~30 min 内, 蜡梅花特征图谱中峰 6 与山柰酚对照品参照物峰的保留时间相对应, 而梅花特征图谱中未出现山柰酚; 此外, 蜡梅花在保留时间为 11.0~14.0 分钟范围内显示出两个主要色谱峰, 而梅花则显示出 4 个色谱峰。



**Figure 4.** Characteristic chromatograms of Flos Chimnanthi, Mume Flos and Reference substance  
**图 4.** 对照品、蜡梅花、梅花特征图谱

### 3.5.2. 相似度评价

将 10 批蜡梅花药材和 5 批梅花药材特征图谱分别导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012 年版)”中,并分别计算两类样品色谱图与参照图谱的相似度,蜡梅花参照图谱为 S11 蜡梅花对照药材,梅花参照图谱为 S12 梅花对照药材,计算结果见表 2 和表 3。据相似度测定结果可见,10 批蜡梅花药材相似度均大于 0.90,5 批梅花药材相似度均大于 0.90 两种药材品种内的相似度均大于 0.90。

**Table 2.** Evaluation results of similarity between 10 batches of Flos Chimnanthi and Flos Chimnanthi control medicinal materials

**表 2.** 10 批蜡梅花与蜡梅花对照药材相似度评价结果

蜡梅花样品	相似度
S1	0.988
S2	0.954
S3	0.998
S4	0.975
S5	0.997
S6	0.949

续表

S7	0.985
S8	0.995
S9	0.977
S10	0.995
S11 (蜡梅花对照药材)	1.000

**Table 3.** Evaluation results of similarity between 5 batches of Mume Flos and Mume Flos No.12**表 3.5** 批梅花与梅花药材 12 相似度评价结果

梅花样品	相似度
S12	0.976
S13	0.985
S14	0.982
S15	0.981
S16	0.990

将 10 批蜡梅花药材和 5 批梅花药材特征图谱同时导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012 年版)”中, 参照图谱为 S11 蜡梅花对照药材, 计算结果见表 4。据相似度测定结果可知, 10 批蜡梅花药材相似度均大于 0.90, 5 批梅花药材相似度均小于 0.60, 两种药材品种之间的相似度差异较大。

**Table 4.** Evaluation results of similarity between 10 batches of Flos Chimnanthi and 5 batches of Mume Flos and Flos Chimnanthi as control medicinal materials**表 4.10** 批蜡梅花和 5 批梅花与蜡梅花对照药材相似度评价结果

药材样品	相似度
S1	0.988
S2	0.954
S3	0.998
S4	0.975
S5	0.997
S6	0.949
S7	0.985
S8	0.995
S9	0.977
S10	0.995
S11 (蜡梅花对照药材)	1.000
S12	0.549
S13	0.566
S14	0.560
S15	0.558
S16	0.571



关于梅花与蜡梅花中山柰酚的差异,通过调研文献两种药材化学成分的差异,夏玮[10]、曾冬明[11]、马雪梅[12]等报道,均从蜡梅花中鉴定出了山柰酚等黄酮类化合物;钟春琳[13]等建立了药材特征图谱,指认了芦丁、槲皮素和山柰酚特征峰。而张清华[14]、严辉、王灿灿[15]等多篇研究,从梅花中分离得到的黄酮类化合物,均未提及山柰酚的存在。建议继续对蜡梅花与梅花药材中的有效化学成分进行研究,例如种属之间的差异、采收时间等影响因素的研究,为保障药品安全有效提供有力支撑。

#### 4. 讨论

本研究成功建立了蜡梅花(*Flos Chimonanthi*)的 HPLC 特征图谱,并详细分析了蜡梅花及其易混淆品梅花(*Mume Flos*)之间的显著化学成分差异,研究结果显示,蜡梅花的色谱图显示出 6 个特征峰,而梅花的色谱图则呈现了 4 个与蜡梅花共有的特征峰,特别是,蜡梅花特征图谱中峰 6 与山柰酚对照品参照物峰的保留时间相对应,进一步确认了山柰酚的存在,而梅花的特征图谱中未检测到山柰酚的存在;此外,蜡梅花在保留时间为 11.0~14.0 分钟范围内显示出两个主要色谱峰,而梅花则显示出 4 个色谱峰。通过对 15 批样品的 HPLC 特征图谱与对照药材图谱的比对分析,本研究成功将样品分为两类:10 批蜡梅花样品的相似度均大于 0.90,5 批梅花样品的相似度均小于 0.60。两种药材品种内的相似度均大于 0.90,品种之间的相似度差异较大。

基于特征图谱、对照药材比对和相似度分析的结果,本研究能够客观、准确地鉴别蜡梅花药材的真伪,为其质量控制提供了科学依据。研究所建立的特征图谱评价方法简便易行、稳定、重复性均较好,为进一步提高蜡梅花的质量提供了科学依据。

#### 基金项目

云南省配方颗粒重点实验室(202105AG070014);云南省重大科技专项计划(202102AA310027);石家庄市中药配方颗粒产业技术研究院(228790779A)。

#### 参考文献

- [1] 中华人民共和国卫生部药典委员会. 中华人民共和国卫生部药品标准: 中药材第 1 册[M]. 1992: 98.
- [2] 肖炳坤, 刘耀明. 蜡梅属植物分类、化学成分和药理作用研究进展[J]. 现代中药研究与实践, 2003, 17(2): 59-61.
- [3] 李帅岚, 邹峥嵘. 蜡梅属植物中黄酮和香豆素类成分及药理活性研究进展[J]. 中草药, 2018, 49(14): 3425-3431.
- [4] 刘丽玲, 沈校, 邓宝琴, 等. 蜡梅属黄酮类和香豆素类化合物及其药理活性研究进展[J]. 时珍国医国药, 2018, 29(5): 1196-1200.
- [5] 陈秀敏. 梅花与蜡梅花的古今研究及临床应用分析[J]. 微量元素与健康研究, 2021, 38(1): 35-36, 41.
- [6] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 一部[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 324.
- [7] 严辉, 蓝锦珊, 濮宗进, 等. 梅花化学成分与药理活性研究进展[J]. 中草药, 2021, 52(11): 3453-3461.
- [8] 张旭葵, 杜秀芬, 徐艳红, 等. 梅花与蜡梅花的鉴别[J]. 时珍国医国药, 2003, 14(8): 480.
- [9] 周宝玉, 虞文妹. 中药特征图谱技术在中药鉴定中的应用[J]. 世界中医药, 2017(A1): 134.
- [10] 夏玮, 古丽加玛丽·阿比斯, 潘晨, 等. 蜡梅花中黄酮类化合物的 UHPLC/QTOF-MS 分析[J]. 中成药, 2014, 36(11): 2345-2349.
- [11] 曾冬明, 何群. 蜡梅花化学成分研究[J]. 亚太传统医药, 2013, 9(9): 31-32.
- [12] 马雪梅, 吴朝峰, 彭仁海. 蜡梅的研究进展[J]. 安徽农业科学, 2010, 38(34): 19279-19280, 19283.
- [13] 钟春琳, 何嘉莹, 邱韵静, 等. 蜡梅花药材 UPLC 特征图谱及黄酮类成分含量测定研究[J]. 广东药科大学学报, 2023, 39(6): 65-69.
- [14] 张清华, 张玲, 尚立霞, 等. 白梅花的化学成分研究[J]. 中药材, 2008, 31(11): 1666-1668.
- [15] 王灿灿, 张伟, 吴德玲, 等. 白梅花化学成分及其药理作用研究进展[J]. 广州化工, 2017, 45(24): 40-42, 72.