

其他批次间的相似度较低。

指纹图谱是对中药质量的一种模糊性和整体性的评价方法,它实现了中药由单一成分测定上升为对内在质量的全面控制,是中药质量评价的发展趋势。本研究的样品均采自地黄的道地产区,所得到的怀鲜地黄的指纹图谱分离较好,基线平稳,信息量丰富,两个波长下标定的特征峰可以作为怀鲜地黄质量控制的参考。

参考文献:

- [1] 刘彦飞,赵宇,武卫红,等.地黄的化学成分及其在加工炮制过程中的变化[J].国外医药·植物药分册,2007,22(3):102-103.
- [2] 王慧森,李更生,刘明,等.鲜地黄中环烯醚萜甙的分离鉴定[J].中医研究,2005,18(4):18-19.
- [3] 王宏洁,刘婷,梁爱华,等.鲜地黄化学成分的分离鉴定及活性作用初探[J].中国实验方剂学杂志,2007,13(1):15.

- [4] 李更生,于震,王慧森.地黄化学成分与药理研究进展[J].国外医学中医中药分册,2004,26(2):74.
- [5] 张昭,李志亮,肖培根.浅议鲜用植物药的研究现状及发展方向[J].中草药,1998,29(11):782.
- [6] 梁爱华,薛宝云,王金华,等.鲜地黄与干地黄止血和免疫作用比较研究[J].中国中药杂志,1999,24(11):663-666.
- [7] 李计萍,马华,王跃生,等.鲜地黄与干地黄中梓醇、糖成分含量的比较[J].中国药学杂志,2001,36(5):300.
- [8] 杨桦,郝近大,李计萍,等.地黄鲜榨汁保鲜技术研究[J].中国中药杂志,2003,28(12):1154-1148.
- [9] 段红福,卢锰,崔瑛,等.速冻冷藏对鲜地黄汁中梓醇含量的影响[J].中药材,2009,32(6):859.
- [10] 张振凌,张庆岭,李琪玲.鲜地黄色素的稳定性研究[J].食品研究与开发,2007,28(1):40-42.
- [11] 王毅,张仲景应用地黄剖析[J].中国中医基础医学杂志,2006,12(12):943.
- [12] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:2010年版一部[S].北京:中国医药科技出版社,2010:115-117.

荆芥饮片 HPLC 指纹图谱研究

钱雯,单鸣秋,丁安伟*

(南京中医药大学、江苏省方剂研究重点实验室,江苏南京 210046)

摘要:目的 利用高效液相色谱法,建立荆芥饮片的指纹图谱。方法 色谱条件为 Agilent Extend C₁₈ 柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm);流动相 A:0.5%三氟乙酸-B:乙腈;洗脱方法为 0~40 min, A 为 95%~60%;40 min~60 min, A 为 60%~40%;60~61 min, A 为 40%~95%,保持 4 min;体积流量为 1.0 mL/min;柱温为 30 °C;检测波长 270 nm;进样量 20 μL。结果 对 10 批荆芥饮片进行测定,标定共有峰,采用《中药色谱指纹图谱相似度评价系统 2004A 版》软件计算出其相似度范围在 0.971~0.992,并得出了荆芥饮片的对照指纹图谱。结论 该法准确,重现性好,可作为荆芥饮片质量控制方法。

关键词:荆芥;指纹图谱;HPLC

中图分类号:R284.1

文献标志码:A

文章编号:1001-1528(2011)05-0733-05

HPLC fingerprint of *Schizonepeta Herba*

QIAN Wen, SHAN Ming-qiu, DING An-wei*

(Nanjing University of Chinese Medicine, Jiangsu Key Laboratory for TCM Formulae Research, Nanjing 210046, China)

ABSTRACT: AIM To establish an HPLC fingerprint of *Schizonepeta Herba*. **METHODS** The analysis was carried out with Agilent Extend-C₁₈ column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm); The mobile phase consisted of 0.5% tri-fluoroacetic acid (A) and acetonitrile (B) with elution method as A concentration A ratio decreased from 95% to 60% in 0-40 min, and from 60% to 40% in 40-60 min, and then increased from 40% to 95% in 60-61 min, keeping 4 min; flow rate was 1.0 mL/min. Wavelength was set at 270 nm and temperature was 30 °C. The injection

收稿日期:2010-09-28

基金项目:国家“十一五”科技攻关项目(2006BAI09B05-1)

作者简介:钱雯(1986—)女,硕士生,研究方向:中药学、药物分析。Tel:13813961530, E-mail:qian_wen1986@sina.com

*通信作者:丁安伟(1950—)男,教授,博士生导师,研究方向:中药新药研究与开发。Tel:(025)85811523, E-mail:awding105@163.com

tion volume was 20 μ L. **RESULTS** The common peaks had been marked and the similarity between ten batches of *Schizonepeta Herba* was 0.971-0.992 which was analyzed with the *Estimating System of Similarity of 2004A Version based on the Chinese Medicine Fingerprint Chromatography*. The fingerprint chromatography of *Schizonepeta Herba* was established. **CONCLUSION** The contents of pulegone and hesperidin in *Schizonepeta Herba* collected from Hebei province is the highest of 10 batches and the quality is the best; and the contents of pulegone and hesperidin *Schizonepeta Herba* collected from Anhui province is the least. The method can be used in quality control of *Schizonepeta Herba* with accuracy and better reproducibility.

KEY WORDS: *Schizonepeta Herba*; HPLC; fingerprint

荆芥为唇形科一年生草本植物荆芥 *Schizonepeta tenuifolia* Briq. 的干燥地上部分^[1]。为临床常用中药,性温、味辛,也有人认为其性平或凉^[2],生品具有祛风解表、宣毒透疹、散瘀止血之功效^[3-5],主治风寒感冒、咽喉肿痛及多种皮肤病^[6-8],荆芥炒后具有祛风理血的作用,炒炭主要用于止血,为临床常用药物。荆芥的主要成分有挥发油、单萜苷、黄酮、有机酸、三萜、甾体类等^[9-11]。现代研究表明荆芥经炒后其中鞣质、挥发油、橙皮苷等成分发生明显的变化^[12-13]。

中药指纹图谱能基本反映中药全貌,使其质量控制指标由原有的对单一成分的测定上升为对整个中药内在品质的检测,实现对中药内在质量的综合评价和整体物质的全面控制^[14],目前对于荆芥饮片的质量控制是测定挥发油和胡薄荷酮^[1,15],但尚未见应用液相色谱建立荆芥的指纹图谱。

1 材料与方法

1.1 仪器 Waters 515 高效液相色谱系统;Waters2996 检测器;Empower 色谱工作站;FA1104N 电子天平($d=0.1$ mg,上海精密科学仪器有限公司);KQ-500B 超声清洗仪;EPED-T 型超纯水器(南京易普易达科技有限公司)。

1.2 试药 橙皮苷对照品(购自中国药品生物制品检定所,批号 110721-200613);乙腈(色谱纯,美国 Fisher 公司);其余试剂均为分析纯;水为超纯水。

1.3 供试样品 经南京中医药大学药学院中药鉴定教研室吴启南教授鉴定为唇形科植物荆芥 *Schizonepeta tenuifolia* Briq. 干燥地上部分。10 批荆芥饮片,均粉碎过 2 号筛。产地和批号见表 1。

1.4 数据处理软件 用中药色谱指纹图谱相似度评价系统 2004A 版(国家药典委员会)将测试数据导入该软件,经选峰,设定匹配模板,将谱峰自动匹配,然后设定标准模板,进行谱峰差异性评价和整体相似性评价。

表 1
Tab. 1 样品编号
Sample numbers

编号	产地	原批号
S1	江苏	100430
S2	山西	100130
S3	安徽	080712
S4	河南	100118
S5	河北	090920
S6	湖南	090826
S7	湖北	090722
S8	广西	100923
S9	浙江	091020
S10	山东	100304

2 方法与结果

2.1 供试品溶液的制备 取供试品粉末 2.5 g,精密称定,置于 50 mL 具塞锥形瓶中,精密加入甲醇 25 mL 称定质量,超声处理 1 h,取出,放冷,补足质量,滤过,即得供试品溶液。

2.2 色谱条件 色谱柱为 Agilen Extend-C₁₈ 柱(4.6 mm \times 250 mm, 5 μ m);流动相 A 为 0.5% 三氟乙酸, B 为乙腈;洗脱方法:0~40 min, A 为 95%~60%;40~60 min, A 为 60%~40%;60~61 min, A 为 40%~95%,保持 4 min;体积流量:1.0 mL/min;柱温:30 $^{\circ}$ C;检测波长:270 nm;进样量:20 μ L。

2.3 HPLC 指纹图谱方法学考察

2.3.1 精密度试验 取 2 号供试品溶液,按上述色谱条件连续进样 6 次,每次进样 20 μ L,记录各共有色谱峰的保留时间和峰面积。以 3 号峰(橙皮苷)的保留时间和峰面积为参照,计算出各共有峰的相对保留时间、相对峰面积及 RSD。结果:RSD 均小于 3%,采用《中药色谱指纹图谱相似度评价系统 2004A 版》软件计算得 6 张色谱图相似度在 0.99 以上,证明仪器精密度良好,符合指纹图谱研究要求^[16]。见图 1~2。

2.3.2 稳定性试验 取 1 号供试品溶液,按上述色谱条件分别于 0、1、2、4、6、8、10、12 h 各进一针,共 8

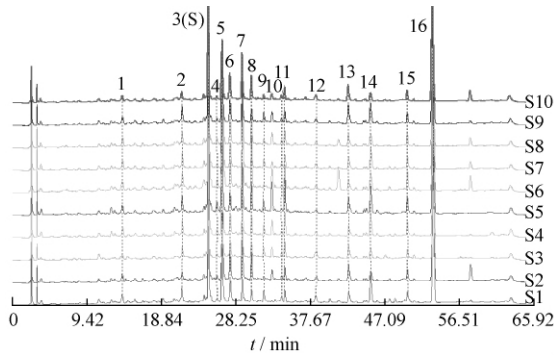


图1 10批荆芥饮片叠加图

Fig.1 The fingerprint chromatogram of 10 batches of *Schizonepeta Herba*

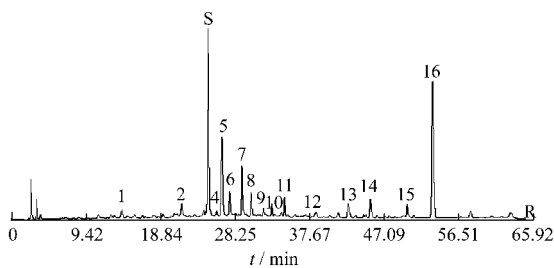


图2 荆芥共有模式图

Fig.2 The standard fingerprints chromatogram of 10 batches of *Schizonepeta Herba*

次,每次进样 20 μ L,记录各共有色谱峰的保留时间和峰面积。以橙皮苷的保留时间和峰面积为参照,

表2

10批荆芥饮片指纹图谱分析结果

Tab.2 The data of the fingerprint chromatogram of 10 batches of *Schizonepeta Herba*

峰号	相对保留时间	相对峰面积										RSD/%
		S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	
1	0.562	0.078	0.059	0.078	0.049	0.056	0.051	0.065	0.062	0.067	0.059	0.159
2	0.866	0.116	0.046	0.082	0.081	0.087	0.058	0.094	0.075	0.127	0.070	0.294
3(S)	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.000
4	1.043	0.020	0.025	0.028	0.026	0.039	0.023	0.021	0.024	0.020	0.021	0.241
5	1.070	0.509	0.640	0.488	0.609	0.777	0.512	0.621	0.672	0.774	0.572	0.167
6	1.110	0.187	0.223	0.151	0.137	0.102	0.111	0.180	0.167	0.196	0.217	0.249
7	1.172	0.147	0.363	0.284	0.160	0.208	0.371	0.243	0.389	0.261	0.327	0.316
8	1.219	0.077	0.195	0.120	0.097	0.125	0.179	0.111	0.163	0.102	0.164	0.295
9	1.281	0.070	0.020	0.083	0.046	0.047	0.007	0.048	0.022	0.064	0.028	0.555
10	1.372	0.028	0.026	0.036	0.021	0.013	0.011	0.024	0.023	0.027	0.033	0.321
11	1.388	0.070	0.080	0.136	0.120	0.181	0.078	0.071	0.077	0.078	0.089	0.373
12	1.549	0.063	0.041	0.104	0.024	0.015	0.024	0.032	0.026	0.040	0.046	0.624
13	1.713	0.096	0.163	0.170	0.071	0.108	0.055	0.105	0.098	0.204	0.157	0.392
14	1.825	0.262	0.096	0.125	0.172	0.166	0.092	0.180	0.113	0.217	0.093	0.383
15	2.012	0.071	0.075	0.074	0.075	0.080	0.068	0.064	0.069	0.077	0.078	0.068
16	2.141	1.369	1.989	0.877	0.899	1.195	0.921	1.114	0.901	1.776	1.428	0.314
出峰总数/个		105	92	96	97	103	99	102	92	102	92	
共有峰比例/%		77.14	89.13	86.46	88.66	82.52	83.84	80.39	82.61	88.33	85.87	

2.4.2 相似度评价 经《中药色谱指纹图谱相似度评价系统 2004A 版》分析,得到 10 批荆芥饮片样

计算出各共有峰的相对保留时间、相对峰面积及 RSD。结果:RSD 均小于 3% ,8 张色谱图相似度在 0.99 以上,表明 12 h 内供试品溶液的成分稳定,符合指纹图谱研究要求。

2.3.3 重复性试验 取 6 号供试品粉末共 6 份,精密称定,每份约 2.5 g,按照 2.1 项下供试品溶液的制备方法制备,同法检测。记录各共有色谱峰的保留时间和峰面积。以橙皮苷的保留时间和峰面积为参照,计算出各共有峰的相对保留时间、相对峰面积及 RSD。结果,RSD 均小于 3% ,6 张色谱图相似度在 0.99 以上,表明实验重复性良好,符合指纹图谱研究要求。

2.4 HPLC 指纹图谱的建立及相似度评价

2.4.1 共有峰的标定 取 10 批供试品粉末,按 2.1 项下的供试品制备方法制备供试品溶液,同法检测。将所得的色谱数据依次导入《中药色谱指纹图谱相似度评价系统 2004A 版》软件,以 1 号样品谱图作为参照谱进行指纹匹配,3(S)峰为内参比峰,计算相对保留时间及相对峰面积。根据高效液相色谱图的测定结果结合相似度计算及匹配结果,从共有峰中选取 16 个峰作为指纹图谱的特征峰,其总峰面积占所有峰总峰面积的 90% 以上,将共有特征峰编号为 1~16。结果见表 2。

品指纹图谱共有模式(R)及样品相似度,见表 3、图 1。根据中药指纹图谱研究技术^[16],峰面积占指纹

图谱色谱峰总面积 10% 或 20% 以上的峰尚需标定其与参照峰峰面积的比值。7 号峰峰面积超过总峰面积的 10% ,规定其与 3 号峰的相对比值为 0.617 ,

允许误差范围($\pm 25%$)0.463 ~ 0.771 ;16 号峰峰面积超过总峰面积的 20% ,规定其与 3 号峰的相对比值为 1.247 ,允许误差范围($\pm 20%$)0.998 ~ 1.496。

建立共有模式的 10 批荆芥的相似度数据

Tab. 3 Data based on similarity in ten batches of *Schizonepeta Herba* in common mode

	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	R
S1	1.000	0.976	0.965	0.972	0.978	0.960	0.987	0.950	0.989	0.988	0.988
S2	0.976	1.000	0.927	0.925	0.955	0.937	0.961	0.924	0.990	0.987	0.973
S3	0.965	0.927	1.000	0.989	0.977	0.989	0.987	0.987	0.946	0.971	0.981
S4	0.972	0.925	0.989	1.000	0.990	0.983	0.993	0.986	0.953	0.967	0.986
S5	0.978	0.955	0.977	0.990	1.000	0.975	0.993	0.980	0.978	0.981	0.994
S6	0.960	0.937	0.989	0.983	0.975	1.000	0.987	0.994	0.945	0.974	0.982
S7	0.987	0.961	0.987	0.993	0.993	0.987	1.000	0.987	0.978	0.988	0.998
S8	0.950	0.924	0.987	0.986	0.980	0.994	0.987	1.000	0.943	0.966	0.982
S9	0.989	0.990	0.946	0.953	0.978	0.945	0.978	0.943	1.000	0.991	0.987
S10	0.988	0.987	0.971	0.967	0.981	0.974	0.988	0.966	0.991	1.000	0.994
R	0.988	0.973	0.981	0.986	0.994	0.982	0.998	0.982	0.987	0.994	1.000

3 结果与讨论

3.1 提取方式的考察 采取了 4 种方法:①石油醚脱脂,甲醇索氏提取;②甲醇索氏提取;③甲醇回流提取;④甲醇超声提取。以出峰数目、峰形和大小为指标来优选提取方法,结果表明以甲醇 25 mL 超声 1 h 为最佳。

3.2 流动相的选择 本实验前期利用高效液相色谱法(HPLC)对指纹图谱的条件进行了初步摸索,实验尝试了甲醇-水、甲醇-酸水、乙腈-水、乙腈-酸水 4 个系统的流动相。发现乙腈-酸水系统分离度较好,保留时间稳定,另外从保护色谱柱与仪器角度出发,我们选择了酸度较低,出峰最多的乙腈-0.5%三氟乙酸系统。

3.3 检测波长的选择 通过 PDA 检测器对样品进行波长 210 ~ 400 nm 扫描,综合比较信号强度、峰数,选择 270 nm 为本实验的检测波长。

3.4 参照物的考察 液相图谱表明,橙皮苷的色谱峰面积和峰高在色谱图中较大,且橙皮苷的性质稳定,故选择橙皮苷为参照物。另外标定的 16 号峰经过比对,为胡薄荷酮。

3.5 经中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2004) A 版对所测数据进行分析,10 批荆芥样品相似度全部大于 90%;与对照指纹图谱的相似度范围在 0.973 ~ 0.998。16 个特征共有峰相对保留时间波动非常小,RSD 最大不超过 1%;而相对峰面积范围波动很大,RSD 大都超过 20%,最小为 6.754%。这表明 10 批次的荆芥饮片指纹图谱中主要峰群的整体图貌基本一致,各产地样品在化学成分种类上没有区别即所含物质基本相同,而在所含的量上却相

差很大。由于未对这 10 批供试品进行药效学研究,故无法就其相对质量的优劣及药材的道地性做出确切结论。因此,应在深入研究荆芥指纹图谱与药效的关系上,进一步完善其指纹图谱研究。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:2010 年版一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010:216.
- [2] 李 栓. 荆芥药性质疑[J]. 河南中医,1986;6(6):44.
- [3] 周丽娜. 荆芥的化学成分及药理作用研究[J]. 中医学刊,2004,22(10):1935.
- [4] 李军晖,曾 南,沈映君. 荆芥的药理作用[J]. 四川生理科学杂志,2004,26(3):133-136.
- [5] 曾 南,沈映君,任永欣,等. 荆芥挥发油抗炎作用机理的实验研究[J]. 中药材,2006,29(4):359-362.
- [6] 刘学茂,罗瑞林. 荆芥防风药对的临床应用举隅[J]. 中医药导报,2008,14(7):107.
- [7] 侯 敏,马秀敏,丁剑冰. 唇形科植物抗炎、抗过敏和抗氧化活性研究进展[J]. 科技导报,2009,27(4):98-101.
- [8] 钟爱莹,李 娟,谢红伟. 荆芥连翘汤治疗亚急性湿疹及对血清 IL-2、IL-4 水平的影响[J]. 陕西中医,2010,31(9):1159-1161.
- [9] 吴 婷,丁安伟,张 丽. 荆芥现代研究概况[J]. 江苏中医药,2004,25(10):64-66.
- [10] 张援虎,胡 峻,石任兵,等. 荆芥化学成分的研究[J]. 中国中药杂志,2006,31(13):1118-1119.
- [11] 杨 帆,张仁延,杨崇仁,等. 中药荆芥的单萜类化合物[J]. 中草药,2002,33(1):8-11.
- [12] 左美玲. 荆芥生品及不同炮制品的质量考察[J]. 中国药业,2009,18(2):26-27.
- [13] 董翠弘,刘 波,朱 晓. 荆芥炭最佳炮制程度的研究[J]. 齐鲁药事,2006,25(9):559-560.
- [14] 任德权. 中药质量控制的里程碑——中药指纹图谱[J]. 中成药,2001,23(1):122.

[15] Chun M H, Kim E K, Lee K R, et al. Quality control of *Schizonepeta tenuifolia* Briq by solid-phase microextraction gas chromatography/mass spectrometry and principal component analysis

[J]. *Microchem J*, 2010, 95: 25-31.

[16] 周玉新. 中药指纹图谱研究技术[M]. 北京: 化学工业出版社, 2001.

红毛五加皮的 HPLC 指纹图谱研究

钟世红¹, 卫莹芳², 古 锐^{2*}, 熊玲娟¹

(1. 成都医学院药学院, 四川 成都 610083; 2. 成都中医药大学, 四川 成都 611131)

摘要:目的 建立红毛五加皮的 HPLC 指纹图谱。方法 Welchrom C₁₈ 色谱柱, 乙腈-0.3% 磷酸二氢钠水溶液梯度洗脱系统(加磷酸调节 pH 值约为 3.5) 检测波长 207 nm; 柱温 35 °C。结果 对 47 批红毛五加皮指纹图谱进行评价, 确定了 17 个共有峰, 指认了第 8、9、13 号色谱峰分别对应为绿原酸、刺五加苷 B 和刺五加苷 E, 其中刺五加苷 E 为第一大色谱峰。从峰面积比较, 林窗样品总峰面积大于林下样品; 两年生茎皮中刺五加苷 E 峰面积远大于一年生样品。结论 本研究可为红毛五加皮质量控制提供参考。日照有利于红毛五加皮中成分的积累, 刺五加苷 E 在茎皮生长的第二年积累迅速。

关键词:红毛五加皮; 指纹图谱; HPLC; 刺五加苷 E; 绿原酸

中图分类号: R284.1

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2011)05-0737-05

HPLC fingerprint of *Acanthopanax giraldii* Cortex

ZHONG Shi-hong¹, WEI Ying-fang², GU Rui^{2*}, XIONG Ling-juan¹

(1. Pharmaceutical School, Chengdu Medical College, Chengdu 610083, China; 2. Chengdu University of TCM, Chengdu 611131, China)

ABSTRACT: **AIM** To establish an HPLC fingerprint of *Acanthopanax giraldii* Cortex. **METHODS** Separation was performed on Welchrom-C₁₈ chromatographic column, acetonitrile-0.3% sodium dihydrogen phosphate as mobile phase with gradient elution. The detection wavelength was set at 207 nm, the column temperature was 35 °C. **RESULTS** Seventeen common chromatographic peaks were set up among forty-seven batches of *Acanthopanax giraldii* Cortex. The identified peaks No. 8, 9, 13 were chlorogenic acid, eleutheroside B and eleutheroside E, respectively. The peak of eleutheroside E was the greatest one in the fingerprint chromatogram. The total peaks area of the samples from the forest gap were larger than those from the wood land, and the peak area of eleutheroside E of biennial samples was far away larger than those of annual samples. **CONCLUSION** The study can provide reference material for the quality control of *Acanthopanax giraldii* Cortex. Sunshine is good for its component accumulation, the amount of eleutheroside E accumulates quickly in stem bark during the growth of the second year.

KEY WORDS: *Acanthopanax giraldii* Cortex; fingerprint; HPLC; eleutheroside E; chlorogenic acid

红毛五加皮为五加科红毛五加 *Acanthopanax giraldii* Harms 密生刺毛的茎皮, 收载于《四川省中药材标准》^[1], 具有祛风湿、强筋骨、利关节之功效, 现代研究证实具有抗炎、抗肿瘤、增强免疫、抗辐射等作用。本品为四川地区的习用药材和岷江上游羌

民族特色药材^[2], 亦大量出口日韩, 极具开发价值。

红毛五加皮中主要含有苷类和多糖等, 其中苷类成分为红毛五加皮抗炎的主要活性成分^[3]。目前, 红毛五加皮的质量控制方法多为测定其中某种或某类成分^[4-6]。中药材的指纹图谱具有整体性与

收稿日期: 2010-04-01

作者简介: 钟世红(1980—), 女, 讲师, 研究方向: 中药品种、质量与资源。

* 通信作者: 古 锐(1979—), 男, 副研究员, 研究方向: 民族药可持续开发与利用。Tel: 15108237310