



板蓝根超微粉体二元指纹图谱研究

冯小燕^{1,3}, 张水寒^{2,3*}, 蔡光先^{1,3*}, 黄一科^{1,3}, 邵怡^{1,3}

(1. 湖南中医药大学, 湖南 长沙 410013; 2. 湖南省中医药研究院, 湖南 长沙 410013;

3. 湖南省中药粉体与创新药物省部共建重点实验室, 湖南 长沙 410013)

[摘要] 目的:建立13批板蓝根超微粉体水溶性成分和氨基酸柱前衍生化双重HPLC指纹图谱。方法:采用RP-HPLC梯度洗脱,选择Hypersil BDS C₁₈色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm);水溶性成分HPLC指纹图谱的流动相为0.1%磷酸水溶液,流速0.5 mL·min⁻¹,柱温20℃,进样量10 μL;氨基酸成分HPLC指纹图谱样品经异硫氰酸苯酯试剂柱前衍生化处理后进样,流动相0.1 mol·L⁻¹醋酸钠缓冲溶液(pH 6.5)-乙腈,流速1.0 mL·min⁻¹,柱温30℃,进样量5 μL;检测波长均为254 nm。采用国家药典委员会“中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2.0版)”处理分析,建立板蓝根指纹图谱,同时测定了4种主要成分含量,并进行SPSS系统聚类分析。结果:建立了板蓝根超微粉体水溶性成分和氨基酸成分指纹图谱共有模式,确认了腺苷、表告依春和15种氨基酸的特征峰。聚类分析表明,不同产地板蓝根药材其主要成分含量存在差异。结论:建立了板蓝根超微粉体双重指纹图谱,色谱图中各个峰分离度较好、特征明显,为现阶段板蓝根超微粉体质量控制提供了科学依据。

[关键词] 板蓝根; 超微粉体; 水溶性成分; 异硫氰酸苯酯; 柱前衍生化; 氨基酸; 指纹图谱

板蓝根 *Isatis Radix* 为常用抗病毒中药,始载于《神农本草经》,至今已有2 000多年的历史,《中国药典》2010年版一部^[1]收载为十字花科植物 *Isatis indigotica* Fort. 的干燥根,具有清热解毒、凉血利咽之功效,广泛用于治疗多种疾病,如流感、腮腺炎、温病发热、发斑、风热感冒、咽喉肿痛、流行性乙型脑炎、肝炎等疾病^[2]。近年来对于板蓝根指纹图谱的研究较多^[3-8],但多为单张指纹图谱的研究,难以完整的反映其内在质量,且板蓝根成分较复杂,故需要建立多元指纹图谱。本文首次通过建立不同产地板蓝根超微粉体二元指纹图谱的研究,全面控制其质量,具有一定的创新性,为现阶段控制板蓝根超微粉体的质量奠定科学依据。

1 材料

BFM-T6BI型贝利微粉机(济南倍力粉体技术工程有限公司);Agilent 1200 HPLC(四元泵,自动进样器,紫外检测器);Agilent Technologies 1200 Compact LC 化学工作站;T-214型电子分析天平(北京

赛多利斯分析天平);HS-3120超声清洗器(江苏汉邦科技有限公司);美国MILLIPORE超纯水机(美国Millipore公司);旋涡混合器(金坛市大地自动化仪器厂)。

腺苷、表告依春对照品(含量测定用,中国药品生物制品检定所提供);天冬氨酸(Asp),谷氨酸(Glu),丝氨酸(Ser),甘氨酸(Gly),组氨酸(His),苏氨酸(Thr),丙氨酸(Ala),精氨酸(Arg),脯氨酸(Pro),缬氨酸(Val),异亮氨酸(Ile),亮氨酸(Leu),色氨酸(Trp),苯丙氨酸(Phe),赖氨酸(Ly)对照品(Sigma公司);甲醇、乙腈(色谱纯,Tedia公司生产);磷酸(色谱纯,天津市科密欧化学试剂开发中心);异硫氰酸苯酯(PITC,上海金山亭新化工试剂厂);无水乙酸钠、三乙胺、正己烷均为恒兴试剂,水为超纯水,其余试剂均为分析纯。

13批板蓝根药材购于不同药店及药材市场,经湖南中医药研究院温俊达副研究员鉴定为十字花科植物菘蓝 *I. indigotica* 的干燥根。样品来源见表1。

2 方法与结果

2.1 超微粉体样品制备

称取板蓝根药材200 g于贝利粉碎机中,在-10~10℃下超微粉碎16 min,即得板蓝根超微粉体。粒径分布为0.567~153.943 μm, D₅₀^[9] ≤ 9.684 μm, ≤ 775 μm的颗粒累积在98%以上。

2.2 板蓝根超微粉体水溶性成分指纹图谱的研究

[稿件编号] 20110328007

[基金项目] 中医药行业科研专项(200807054)

[通信作者] * 张水寒, E-mail: zhangshuihan0220@126.com; * 蔡光先, E-mail: hn-chaowei@163.com

[作者简介] 冯小燕,硕士研究生, Tel: (0731) 88881651, E-mail: fengxiaoyan1127@163.com

表1 13批不同产地板蓝根样品

No.	购买地点	批次	产地
1	楚仁堂大药房	20100325	四川
2	万众大药房	20100901	河北1
3	老百姓大药房	20100806	河南
4	芝林大药房	20100201	河北2
5	千金大药房	20101007	江苏
6	康寿大药房	20100810	黑龙江
7	康之源大药房	20100921	吉林
8	西安万寿路药材市场	20100711	陕西
9	太极绵阳制药有限公司	20100604	安徽阜阳
10	安国制药有限公司	20100425	安徽亳州1
11	四怡堂大药房	20100812	安徽宿州
12	海鑫制药有限公司	20100919	安徽亳州2
13	玉林中药材市场	20101023	甘肃

2.2.1 色谱分析条件 Hypersil BDS C_{18} 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μ m); 柱温 20 $^{\circ}$ C; 流动相 0.1% 磷酸水溶液 (A) - 乙腈 (B), 梯度洗脱, 0 ~ 10 min, 100% ~ 99% A; 10 ~ 20 min, 99% ~ 95% A; 20 ~ 55 min, 95% ~ 70% A; 55 ~ 60 min, 70% A。流速 0.5 mL · min⁻¹; 进样量 10 μ L; 检测波长 254 nm。

2.2.2 样品溶液制备 分别精密称取腺苷、表告依春对照品适量, 加超纯水制成每 1 mL 含腺苷 59.7 μ g, 含表告依春 22.7 μ g 的混合对照品溶液。

取不同产地及市售的 13 批板蓝根超微粉约 1.0 g 精密称定, 置 50 mL 三角锥形瓶中, 加超纯水超声提取 30 min, 冷却后补足失重, 离心取上清液, 0.45 μ m 微孔滤膜滤过, 取续滤液, 即得供试品溶液。

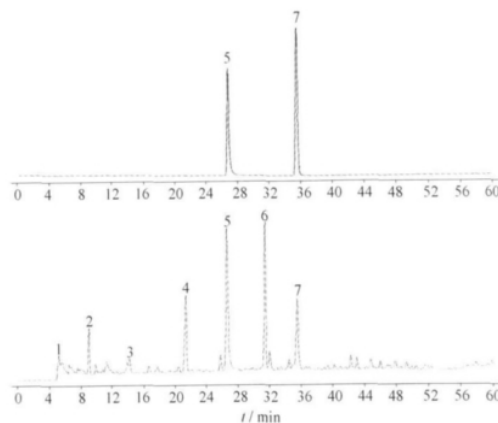
2.2.3 精密度试验 精密吸取同一供试品溶液 (No. 8) 10 μ L, 按以上色谱条件连续进样 6 次, 记录色谱图, 计算其各共有峰的相对保留时间及相对峰面积的 RSD 均小于 1.6%, 表明仪器精密度良好。

2.2.4 重复性试验 取板蓝根超微粉 (No. 8) 6 份, 分别按 2.2.2 项下方法制备供试品溶液, 按 2.2.1 项下方法进样, 记录色谱图, 计算其各共有峰的相对保留时间及相对峰面积的 RSD 均小于 1.8%, 表明该方法重复性良好。

2.2.5 稳定性试验 精密吸取同一供试液 (No. 8) 10 μ L, 分别在 0, 6, 12, 24 h 进样, 记录色谱图, 计算其各共有峰的相对保留时间及相对峰面积的 RSD 均小于 1.3%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.2.6 混合对照与样品 HPLC 图谱测定 分别精

密吸取混合对照与供试品溶液 10 μ L, 注入高效液相色谱仪, 测定。色谱图见图 1, 样品共有 7 个特征峰。



5. 腺苷; 7. 表告依春。

图1 混合对照品 (A) 和板蓝根超微粉 (B) 的色谱图

2.2.7 指纹图谱的建立 采用相对保留时间标定共有指纹峰, 以图谱中表告依春色谱峰为参照物 S 峰, 分别计算 13 批板蓝根供试品指纹图谱中各色谱峰的相对保留时间和相对峰面积, 各色谱峰相对保留时间的 RSD 均小于 3%。其中 7 个色谱峰为各样品所共有, 故标定其为共有指纹峰。采用中国药典委员会出版的《中药色谱指纹图谱相似度评价》软件 (2.0 版) 进行相似度计算。设置第 1 批样品图谱为参照物图谱, 对照图谱生成方法采用中位数法, 时间窗宽度为 0.50, 多点校正后自动匹配, 生成对照指纹图谱, 13 批板蓝根超微粉体的共有模式指纹图谱见图 2。相似度计算结果表明, 13 批供试品的相似度分别为 0.897, 0.862, 0.950, 0.918, 0.984, 0.942, 0.959, 0.983, 0.888, 0.954, 0.983, 0.949, 0.730 均在 0.70 以上。

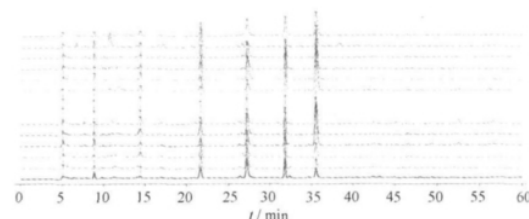


图2 13批板蓝根超微粉指纹图谱

应用软件 SPSS 16.0 系统聚类法, 对 13 批板蓝

根超微粉体的 HPLC 图谱中各特征峰的相对峰面积进行分析,以欧氏平方距离为测度的聚类图见图3。从树状图中可以看出,13个不同产地的板蓝根样品分为3类,1,2,3,4,5,6,7,8,10,11,12分为第I类;13分为第II类;9分为第III类。

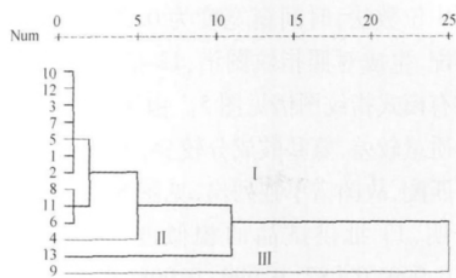


图3 13批板蓝根的系统聚类分析图

2.2.8 板蓝根超微粉主要成分的含量测定 分别精密吸取腺苷对照品溶液($24.8 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 2,4,6,8,10 μL ,注入高效液相色谱仪,测定。分别精密吸取表告依春对照品溶液($22.7 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 3,6,9,12,15 μL ,注入高效液相色谱仪,测定。以对照品进样量(ng)为横坐标,峰面积为纵坐标进行线性回归,腺苷回归方程为 $Y = 2.4355X + 0.4$ ($r = 0.9998$),线性范围49.6~248 ng ;表告依春回归方程为 $Y = 10.039X - 38.3$ ($r = 0.9994$),线性范围28.5~142.5 ng 。

精密吸取供试品溶液(No. 8) 10 μL ,重复进样6次,记录峰面积,腺苷、表告依春峰面积的RSD分别为1.2%,1.6%,表明仪器精密性良好。

取板蓝根超微粉(No. 8) 6份,按2.2.2项下方法进行处理后,各取10 μL 进样,结果腺苷、表告依春含量的RSD分别为2.1%,1.8%,表明方法重复性良好。

取同一批供试品溶液(No. 8)于制备后0,6,12,24 h进样,腺苷、表告依春峰面积的RSD分别为0.60%,1.3%,表明供试品在24 h内稳定。

精密称取已知含量的样品(No. 8) 6份,分别精密加入一定量的腺苷与表告依春对照品溶液,按2.2.2项下方法制备样品溶液。依法测定,结果腺苷、表告依春的平均回收率分别为97.1%,98.5%,RSD分别为1.5%,2.1%。

分别精密吸取各批板蓝根超微粉的供试品溶液10 μL ,按2.2.1项下色谱条件进行测定,计算腺苷

与表告依春的含量,见表2。

表2 不同产地板蓝根超微粉体中腺苷、表告依春的质量分数 %

No.	腺苷	表告依春
1	0.10	0.02
2	0.12	0.01
3	0.08	0.02
4	0.07	0.06
5	0.11	0.03
6	0.07	0.03
7	0.08	0.02
8	0.09	0.05
9	0.05	0.08
10	0.12	0.03
11	0.07	0.03
12	0.08	0.02
13	0.03	0.02

2.3 板蓝根超微粉氨基酸柱前衍生化指纹图谱的研究

2.3.1 色谱分析条件 Hypersil BDS C_{18} 色谱柱(4.6 mm $\times$ 250 mm, 5 μm);柱温30 $^{\circ}\text{C}$;流动相0.1 mol $\cdot$ L^{-1} 醋酸钠水溶液(A, pH 6.5)-乙腈(B) 梯度洗脱 0~10 min 97% A; 10~30 min 97%~94% A; 30~40 min 94% A; 40~50 min 94%~82% A; 50~70 min 82%~64% A。流速1.0 mL $\cdot$ min^{-1} ;进样量5 μL ;检测波长254 nm。

2.3.2 样品溶液制备 配制0.1 mol $\cdot$ L^{-1} 异硫氰酸苯酯(PITC)-乙腈溶液(12:988) 适量于棕色瓶中,摇匀,作为衍生化试剂,需每日更换。配制1.0 mol $\cdot$ L^{-1} 三乙胺-乙腈溶液(139:861) 作为干燥试剂。

分别精密称取 Asp, Glu, Ser, Gly, His, Thr, Ala, Arg, Pro, Val, Ile, Leu, Trp, Phe, Ly 各适量,根据各样品含量,用50%甲醇配制适宜的混合对照品溶液,备用。

精密吸取混合对照品2 mL于10 mL离心管中,加入衍生化试剂1 mL,干燥试剂1 mL,旋涡混合1 min,放置1 h,加入正己烷4 mL,旋涡混合1 min,静置10 min,吸取下层溶液过0.45 μm 微孔滤膜,即得对照品衍生化溶液^[9]。

精密吸取50%甲醇2 mL于10 mL离心管中,处理方法同上,吸取下层溶液过0.45 μm 微孔滤膜,即得空白样品溶液。

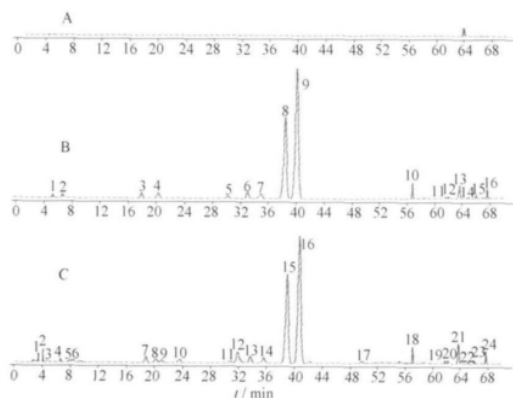
取板蓝根超微粉约1 g,精密称定,加50%甲醇50 mL,精密称定,超声60 min,放冷补足失重,离心取上清液,精密吸取上清液2 mL于10 mL离心管中,同对照品处理方法,吸取下层溶液过0.45 μm 微孔滤膜,即得供试品溶液。

2.3.3 精密度试验 精密吸取同一供试品溶液(No.9)10 μL ,按2.3.1项色谱条件连续进样6次,记录色谱图,计算其各共有峰的相对保留时间及相对峰面积的RSD均小于1.5%,表明仪器精密度良好。

2.3.4 重复性试验 取板蓝根超微粉(No.9)6份,分别按2.3.2项下方法制备供试品溶液,按2.3.1项下方法进样,记录色谱图,计算其各共有峰的相对保留时间及相对峰面积的RSD均小于2.1%,表明该实验方法重复性较好。

2.3.5 稳定性试验 精密吸取同一供试液(No.9)10 μL ,分别在0,6,12,24,48 h进样,记录色谱图,计算其各共有峰的相对保留时间及相对峰面积的RSD均小于1.9%,表明供试品溶液在48 h内测定稳定。

2.3.6 混合对照与样品HPLC图谱测定 分别精密吸取空白样品、混合对照品与供试品溶液各5 μL ,注入高效液相色谱仪,测定,色谱图见图4,共有24个特征峰。



1. 天冬氨酸; 2. 谷氨酸; 3. 丝氨酸; 4. 甘氨酸; 5. 组氨酸; 6. 苏氨酸; 7. 丙氨酸; 8. 精氨酸; 9. 脯氨酸; 10. 缬氨酸; 11. 异亮氨酸; 12. 亮氨酸; 13. 溶剂峰; 14. 苯丙氨酸; 15. 色氨酸; 16. 赖氨酸。

图4 空白样品(A)、混合对照品(B)和板蓝根超微粉(C)的色谱图

2.3.7 指纹图谱的建立 采用相对保留时间标定共有指纹峰,以图谱中精氨酸色谱峰为参照物S峰,分别计算13批板蓝根供试品指纹图谱中各色谱峰

的相对保留时间和相对峰面积,各色谱峰相对保留时间的RSD均小于3%。其中24个色谱峰为各样品所共有,故标定它们为共有指纹峰。

采用中国药典委员会出版的《中药色谱指纹图谱相似度评价》软件(2.0版)进行相似度计算。设置第2批样品图谱为参照物图谱,对照图谱生成方法采用中位数法,时间窗宽度为0.50,多点校正后自动匹配,生成对照指纹图谱,12批板蓝根超微粉体的共有模式指纹图谱见图5。由于甘肃产地板蓝根样品质量较差,氨基酸成分较少,不能与其他批样品较好匹配,故图谱单独列出,见图6。相似度计算结果表明,13批供试品的相似度分别为0.996, 0.999, 0.999, 0.982, 0.999, 0.998, 0.994, 0.999, 0.997, 0.999, 0.997, 0.989, 0.720, 均在0.70以上。

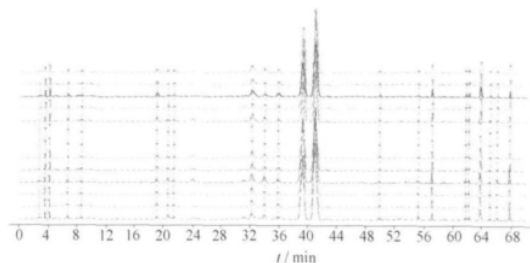


图5 12批板蓝根超微粉指纹图谱

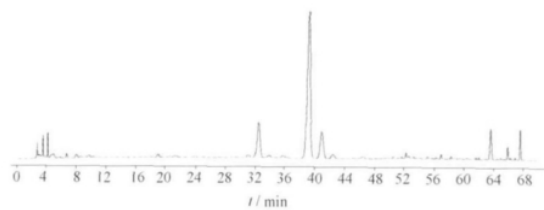


图6 甘肃板蓝根超微粉指纹图谱

应用软件SPSS 16.0系统聚类法,对13批板蓝根药材的HPLC图谱中各特征峰的相对峰面积进行分析,以欧氏平方距离为测度的聚类图见图7。

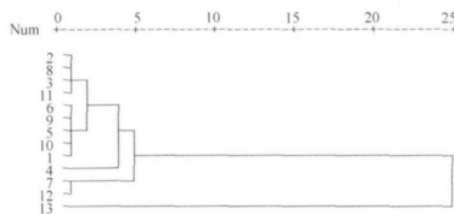


图7 系统聚类分析图

2.3.8 板蓝根超微粉主要成分的含量测定 分别精密吸取精氨酸对照品溶液($0.884\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$) $2\text{ }\mu\text{L}$, $8\text{ }\mu\text{L}$, $10\text{ }\mu\text{L}$ 注入高效液相色谱仪测定。分别精密吸取脯氨酸对照品溶液($0.336\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$) $1\text{ }\mu\text{L}$, $2\text{ }\mu\text{L}$, $6\text{ }\mu\text{L}$, $8\text{ }\mu\text{L}$ 注入高效液相色谱仪测定。以对照品进样量为横坐标,峰面积为纵坐标进行线性回归,精氨酸回归方程为 $Y=783.37X-21.4$ ($r=0.999\ 3$),线性范围 $1.768\sim8.84\text{ }\mu\text{g}$;脯氨酸回归方程为 $Y=3\ 285.8X+110.12$ ($r=0.999\ 4$),线性范围 $0.338\sim2.704\text{ }\mu\text{g}$ 。

精密吸取供试品溶液(No. 9) $10\text{ }\mu\text{L}$,重复进样6次,记录峰面积,结果精氨酸与脯氨酸峰面积的RSD分别为1.5%、0.90%,表明仪器精密度良好。

取板蓝根超微粉(No. 9) 6份,按2.3.2项下供试品溶液制备方法进行处理后,各取 $10\text{ }\mu\text{L}$ 进样,精氨酸与脯氨酸含量的RSD分别为2.5%、2.3%,表明试验方法重复性较好。

取同一批供试品溶液(No. 9)于制备后0、6、12、24 h进样,精氨酸与脯氨酸峰面积的RSD分别为1.7%、1.4%,表明供试品在24 h内测定稳定。

精密称取已知含量的样品(No. 9) 6份,分别精密加入一定量的精氨酸与脯氨酸对照品溶液,按2.3.2项下方法制备样品溶液。依法测定,结果精氨酸、脯氨酸的平均回收率分别为95.1%、94.5%,RSD分别为2.5%、2.3%。

分别精密吸取各批板蓝根超微粉的供试品溶液 $5\text{ }\mu\text{L}$,按2.3.1项下色谱条件进行测定,计算精氨酸与脯氨酸的含量,见表3。

表3 不同产地板蓝根超微粉体中精氨酸及脯氨酸的质量分数/%

No.	精氨酸	脯氨酸
1	5.81	1.68
2	3.08	1.15
3	3.02	1.09
4	5.81	1.34
5	4.02	1.37
6	2.87	0.90
7	3.49	1.51
8	4.29	1.60
9	3.59	1.07
10	6.40	2.16
11	3.03	1.17
12	2.94	1.40
13	4.00	0.15

3 讨论

3.1 提取方法及溶剂的选择

3.1.1 水溶性成分 对不同浓度的提取溶剂(甲醇、50%甲醇、水)、提取方法(超声、回流)进行了考察。纯水超声提取峰分离较好,达到基线分离,效果最好。因此,选择纯水超声提取,并且处理方法操作简便、快速可行。

3.1.2 氨基酸成分 预试验比较了煎煮和超声法以及不同溶剂水、50%甲醇对氨基酸含量的影响。结果表明,50%甲醇超声法简便、快捷,且氨基酸含量较高,故选用超声法提取。

3.2 内参照峰的选定

3.2.1 水溶性成分 板蓝根药材中含有腺苷、表告依春等化学成分,在本实验条件下,采用腺苷作为内参照峰,所得相似度结果均大于0.70,各特征色谱峰均能很好地对齐。

3.2.2 氨基酸成分 板蓝根药材含有15种氨基酸,其中以精氨酸和脯氨酸色谱峰在图谱中所占比例较大,约占71%~82%,且精氨酸位于图谱中部,较稳定,故选择其为内参照峰。

3.3 聚类分析 2类成分相对峰面积系统聚类分析结果比较可知13号(甘肃产地)均单独归为一类,与含量结果相吻合,其质量较差;9号、7号、12号样品在2类成分的系统聚类分析中归属有差别,其余样品归属均相同。2类成分含量测定结果表明,10号(安徽亳州1)总体含量最高,质量最好,13号(甘肃产地)含量最低,质量最差,其余样品质量一般。

本文定量分析了不同产地13批板蓝根样品中腺苷、表告依春和精氨酸、脯氨酸4种成分,由于其余13种氨基酸成分含量较低,故只进行了定性指认。从试验结果可以看出不同产地板蓝根药材其腺苷、表告依春和精氨酸、脯氨酸的含量差距明显,要保证各类板蓝根制剂的有效性和可靠性,就必须严格控制药材的产地及其他生态条件,本文建立的板蓝根粉体二元指纹图谱,为全面、有效控制板蓝根粉体质量提供了实验依据,也为其市场开发和广泛应用奠定科学基础。

[参考文献]

- [1] 中国药典. 一部[S]. 2010: 191.
- [2] 国家中医药管理局中华本草编委会. 中华本草. 上册[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1998: 699.

- [3] 肖雪, 罗国安, 王义明, 等. 中药板蓝根高效液相色谱法指纹图谱研究[J]. 江西中医学院学报, 2010, 22(3): 67.
- [4] 李友, 马莉, 龚慕辛, 等. 板蓝根切制工艺的优选及切制前后指纹图谱的变化研究[J]. 中国中药杂志, 2009, 34(17): 2177.
- [5] 孔维军, 赵艳玲, 山丽梅, 等. 不同来源板蓝根药材醋酸乙酯提取物 HPLC 指纹图谱分析[J]. 解放军药学报, 2008, 24(2): 165.
- [6] 赵艳玲, 曹琳, 王伽伯, 等. 板蓝根正丁醇部位指纹图谱的聚类分析及抑菌活性相关分析[J]. 中药材, 2005, 28(12): 1079.
- [7] 林文艳, 莫建霞, 于荣敏, 等. 板蓝根药材 HPLC 指纹图谱研究[J]. 中药与天然药物, 2005, 22(5): 378.
- [8] 陈勇, 杨文清, 蔡敏, 等. 板蓝根药材的 HPLC 特征指纹图谱研究[J]. 中医药学报, 2003, 31(3): 18.
- [9] 蔡光先. 中药粉体工程学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2008: 170.

Study on double fingerprints of Isatidis Radix micropower

FENG Xiaoyan^{1,3}, ZHANG Shuihan^{2,3*}, CAI Guangxian^{2,3*}, HUANG Yike^{1,3}, SHAO Yi^{1,3}

(1. Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410013, China;

2. Hunan Academy of Chinese Medicine, Changsha 410013, China;

3. Hunan Innovation Team of Teaches hall Chinese Medicine Powder Technology, Hunan Key Laboratory of Chinese Medicine Powder and Innovation Drug Province Department Co-construction, Changsha 410013, China)

[Abstract] **Objective:** To establish the double HPLC fingerprints of water-soluble composition and amino acids precolumn derivative reagent of 13 batches of Isatidis Radix micropower. **Method:** The gradient elution was adopted with Hypersil BDS C₁₈ column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm). Water-soluble ingredients were detected with acetonitrile-0.1% phosphoric acid solution as mobile phase, flow rate 0.5 mL · min⁻¹, column temperature 20 °C, and the injection volume 10 μL. Amino acid ingredient were derived by PITC, and then were detected with mobile phase of 0.1 mol · L⁻¹ sodium acetate buffer solution (pH 6.5) -acetonitrile, flow rate 1.0 mL · min⁻¹, column temperature 30 °C, and the injection volume 5 μL. Both of the absorption wavelengths were 254 nm. Pharmacopoeia Commission "Chinese chromatographic fingerprint evaluation system (version 2.0)" was adopted to analyse fingerprints of Isatidis Radix micropower were established, at the same time 4 main ingredients were recognized by the SPSS cluster analysis. **Result:** Common mode of Fingerprint to water-soluble and amino acids ingredient of Isatidis Radix micropower was established, then adenosine, epigotrin and 15 amino acids were identified as characteristic peaks. Cluster analysis showed that different kinds of the herbal Isatidis Radix micropower from different areas were different levels in the main ingredients. **Conclusion:** Double fingerprints of Isatidis Radix micropower is established. Each peak is optimally separated in chromatogram, which provides a scientific basis for quality control of Isatidis Radix micropower.

[Key words] Isatidis Radix; micropower; water-soluble ingredient; PITC; precolumn derivative reagent; amino acids; fingerprint

doi: 10.4268/cjcmm20112212

[责任编辑 马超一]