

山东产区黄芩 HPLC 定量指纹图谱研究[△]

赵恒强¹, 王晓^{1*}, 周洁¹, 周思多^{1,2}, 东莎莎¹, 耿岩玲¹, 刘建华¹, 杨丙田³, 杨鹏³

- (1. 山东省科学院 中药过程控制研究中心/山东省大型精密分析仪器应用技术重点实验室/
山东省分析测试中心, 山东 济南 250014;
2. 山东农业大学 食品科学与工程学院, 山东 泰安 271018;
3. 济南三峰生物工程有限公司, 山东 济南 251400)

[摘要] 目的: 建立山东产区黄芩药材定量指纹图谱, 为黄芩药材的真伪鉴别及质量控制提供方法支持。方法: 采用 Agilent ZORBAX SB-C₁₈ 色谱柱, 乙腈-水(含 1% 甲酸、20 mmol·L⁻¹ 甲酸铵)为流动相进行梯度洗脱, 流速为 0.8 mL·min⁻¹, 柱温为 25 ℃, 检测波长为 274 nm, 进样量 5 μL, 进行了 10 批次黄芩药材的分析。结果: 该分析方法具有良好的精密度、重现性, 10 批黄芩指纹图谱有 17 个共有峰, 4 个特征峰, 采用 ESI-TOF/MS 对 4 个特征峰进行了指认, 10 个批次山东产黄芩样品中 6 种黄酮类化合物含量分布规律相似, 其相似度系数均大于 0.955 7。结论: 黄芩 HPLC 定量指纹图谱有望成为黄芩样品真伪鉴别及质量控制的有力工具。

[关键词] 黄芩; HPLC; 定量指纹图谱

Study On Quantitative HPLC Fingerprint of *Scutellaria baicalensis* Georgi

ZHAO Hengqiang¹, WANG Xiao¹, ZHOU Jie¹, ZHOU Siduo^{1,2}, DONG Shasha¹, GENG Yanling¹,
LIU Jianhua¹, YANG Bingtian³, YANG Peng³

- (1. Process Control Research Center of Traditional Chinese Medicine of Shandong Academy of Sciences,
Shandong Analysis and Test Center, Key Laboratory for Applied Technology of Sophisticated
Analytical Instruments of Shandong Province, Jinan 250014, China
2. College of Food Science and Engineering, Shandong Agricultural University, Taian 271018, China
3. Jinan Sanfeng Bioengineering Technology Company, Jinan 251400, China)

[Abstract] **Objective:** A quantitative high performance liquid chromatography (HPLC) fingerprinting method had been used for the quality evaluation and discrimination of *Scutellaria baicalensis* Georgi. **Methods:** The chromatographic fingerprints were determined by injecting 5 μL of the sample solution each time on C₁₈ column (Agilent ZORBAX SB-C₁₈ column) with the gradient elution solvent system composed of 20 mmol·L⁻¹ HCOONH₄ + 1% HCOOH and acetonitrile. The flow rate was 0.8 mL·min⁻¹, the column temperature was maintained at 25 ℃ and the signals were acquired at 274 nm. **Results:** It was indicated that the developed HPLC method was simple, accurate and reliable for the development of *S. baicalensis* fingerprint. The HPLC fingerprinting for ten batches samples tested contained the same seventeen peaks, and it could be used to discriminate different origins of *S. baicalensis* samples combined with similarity analysis. **Conclusion:** The HPLC fingerprinting technique is an important tool in identification and quality evaluation of *S. baicalensis*.

[△][基金项目] 国家重大新药创制——中药大品种脑心通胶囊技术改造研究(2011ZX09201-201-26); 山东省自然科学基金(ZR2013HL029); 山东省科学院科技发展基金项目[科基合字(2012)第15号]; 山东省科技攻关计划(2011GSF11908)

*[通信作者] 王晓, 博士, 研究员, 研究方向: 中药质量控制及资源; Tel: (0531)82605319, E-mail: wangx@sdas.org

[Key words] *Scutellaria baicalensis* Georgi; HPLC; Quantitative fingerprint

doi:10.13313/j.issn.1673-4890.2014.07.003

黄芩为唇形科植物黄芩 *Scutellaria baicalensis* Georgi 的干燥根,最早收载于《神农本草经》,为传统常用中药,具有清热燥湿,泻火解毒,止血,安胎功能^[1-2]。黄芩是我国中医临床常用大宗药材品种之一,山东省黄芩药材种植面积较大,全省种植面积在 6 667 hm² 以上^[3]。

目前,黄芩的质量控制方法主要是采用单指标成分对其进行质量控制,2010 版《中国药典》中采用黄芩苷含量作为质量控制指标^[1],但是单一的指标成分难以反映中药多成分、多靶点的特点。中药指纹图谱是一种综合的、可量化的鉴别手段,是当前符合中药特色的评价中药真实性、稳定性和一致性的质量控制模式,具有整体性、模糊性等特点,体现系统性、特征性和稳定性的基本原则^[4-6]。指纹图谱目前已广泛应用于中药质量控制中,在黄芩质量控制和真伪鉴别中也有大量应用^[7-9]。但是,已有的指纹图谱方法主要是对共有峰的指认及结合模式识别等方法对其进行质量评价和产地鉴别,缺少特征峰的含量信息。指纹图谱技术与多指标成分定量相结合可以更加全面地反应中药质量特点,是一种值得继续探索的中药质量控制模式,果德安等对其进行了大量研究工作^[10-11]。而有关多指标定量指纹图谱技术在黄芩质量控制中的研究应用未见报道。

本研究采用 HPLC 建立山东产区黄芩样品的多指标定量指纹图谱,为有效控制黄芩药材质量,保证建立符合规模化生产的黄芩基地及生产过程控制提供方法和技术支持。

1 仪器与材料

1.1 仪器

1200 型高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司),配有二极管阵列(DAD)检测器,四元泵,柱温箱,自动进样器等;G6520 型四级杆串联飞行时间质谱仪,配有电喷雾离子源(美国 Agilent 公司);KQ-400KDE 型超声波仪(昆山市超声仪器有限公司);Milli-Q(18.2 MΩ)超纯水处理系统(美国 Millipore 公司);THZ-8 恒温水浴锅(中国浙江嘉兴电热仪器厂)。

Agilent ZORBAX SB-C₁₈ 色谱柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm, 美国 Agilent 公司),Agilent Eclipse XDB-C₁₈ 色谱柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm, 美国 Agilent 公司),Waters XBridgeTM C₁₈(150 mm × 2.1 mm, 3.5 μm, 美国 Waters 公司),依利特 Hypersil ODS2(250 mm × 4.6 mm, 5 μm, 大连依利特)。

1.2 材料

黄芩苷(批号:110715-200514)、黄芩素(批号:111595-200905)、汉黄芩素(批号:111514-200403)对照品均购自中国食品药品检定研究院;汉黄芩苷(批号:20090319)、黄芩新素(批号:20090617)、千层纸素 A(批号:20091124)对照品均购自上海顺勃生物工程有限公司,纯度均大于 98.5%。甲醇、乙腈(色谱纯,美国 Fisher Scientific),甲醇(分析纯,天津市广成化学试剂有限公司),甲酸(色谱纯,天津市科密欧化学试剂有限公司),甲酸铵(色谱纯,天津市科密欧化学试剂有限公司),其余试剂均为分析纯,水为自制 Milli-Q 超纯水,其余试剂均为分析纯。

本研究采集的 10 个不同批次的黄芩样品分别于 2011~2012 年购自济南市各大药店及山东各 GAP 种植基地,经山东省分析测试中心王晓研究员鉴定为黄芩 *Scutellaria baicalensis* Georgi 的干燥根,样品详细信息见表 1。

表 1 黄芩样品信息

样品编号	来 源	产 地	采集(购买) 时间/年-月-日
1	建联大药店	山东	2012-09-29
2	漱玉平民大药房	山东	2012-10-09
3	宏济堂药店	山东	2012-10-09
4	平阴种植基地	山东平阴	2011-10-27
5	平阴种植基地	山东平阴	2011-09-28
6	平阴种植基地	山东平阴	2011-09-28
7	莱芜种植基地	山东莱芜	2011-09-28
8	莱芜种植基地	山东莱芜	2012-10-09
9	神农大药店	山东	2012-10-09
10	漱玉平民大药房	山东	2012-10-09

黄芩样品置于烘箱中 55 ℃ 鼓风干燥 4 h, 然后置于真空干燥箱中 55 ℃ 干燥 4 h 至干。干燥后粉碎, 过 40 目筛, 混合均匀, 制备成黄芩干粉样品, 密闭、避光、干燥、常温贮藏。

2 方法与结果

2.1 供试品溶液的制备

准确称取 0.5 g 黄芩干粉样品, 置于 100 mL 具塞锥形瓶中, 加入 25 mL 甲醇, 超声提取 10 min (提取功率 320 W, 频率 40 Hz), 在 52 ~ 55 ℃ 条件下将提取液旋转蒸发浓缩至干, 用甲醇重新溶解, 并定容至 5 mL, 过 0.22 μm 微孔滤膜后作为供试品溶液。

2.2 对照品溶液的制备

分别精密称取 5.0 mg 黄芩苷、黄芩素、汉黄芩苷、汉黄芩素、黄芩新素、千层纸素 A 对照品置 50 mL 量瓶中, 用甲醇溶解, 定容至刻度作为对照品溶液。

2.3 色谱条件

Agilent ZORBAX SB-C₁₈ 色谱柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 流动相 A: 1% 甲酸、20 mmol·L⁻¹ 甲酸铵的水溶液, 流动相 B: 乙腈, 流速为 0.8 mL·min⁻¹, 柱温 25 ℃, 检测波长为 274 nm, 进样量为 5 μL, 按表 2 进行梯度洗脱, 黄芩样品 HPLC 分析图见图 1。

2.4 质谱条件

ESI-MS 工作条件如下: 色谱柱后分流进入质谱的流动相流速为 0.4 mL·min⁻¹, 正离子电离模式, 雾化气压力 45 psi, 干燥气 (N₂) 流速 10.0 L·min⁻¹, 干燥气体温度 350 ℃, 毛细管电压 4 500 V, 裂解电压: 100 V; 锥孔电压: 60 V, 全扫描 (Scan) 质荷比 (m/z) 范围为 50 ~ 1 000。

表 2 流动相梯度条件

t/min	/%	
	乙腈	1% 甲酸 + 20 mmol·L ⁻¹ 甲酸铵
0	18	82
5	18	82
8	23	77
10	23	77
13	24	76
18	26	74
20	26	74
35	40	60
45	50	50
50	54	46

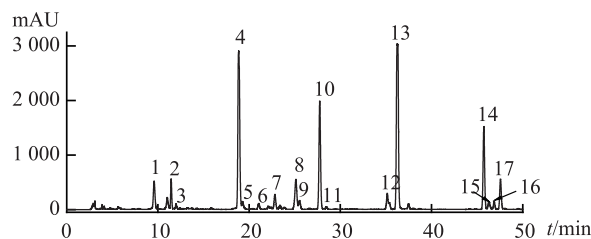


图 1 黄芩 HPLC-DAD 图谱 (274 nm)

2.5 方法学考察

2.5.1 标准曲线及检测限 按 2.3 色谱条件进样分析, 测定各不同质量浓度 (0.10, 0.20, 0.50, 1.00, 10.00, 50.00 μg·mL⁻¹) 混合对照品溶液中各化合物的峰面积, 以各化合物质量浓度 (μg·mL⁻¹) 为横坐标, 以峰面积为纵坐标, 绘制标准曲线, 并求得回归方程 (见表 3)。将标准溶液稀释至低浓度进样, 以 3 倍信噪比计算各成分的检测限, 以 10 倍信噪比计算定量限, 结果见表 3。

表 3 6 种黄酮 HPLC 分析回归方程、线性范围及检测限、定量限测定结果

化合物	回归方程	线性范围/μg·mL ⁻¹	r	检测限/μg·mL ⁻¹	定量限/μg·mL ⁻¹
黄芩新素	$Y = 79.225X + 5.417$	0.10 ~ 50	0.999 9	0.016	0.053
汉黄芩苷	$Y = 137.191X - 7.253$	0.10 ~ 50	0.999 9	0.010	0.033
黄芩素	$Y = 96.212X + 9.426$	0.20 ~ 50	0.999 1	0.013	0.043
黄芩苷	$Y = 157.255X + 8.333$	0.20 ~ 50	0.999 6	0.023	0.077
汉黄芩素	$Y = 118.031X + 6.382$	0.20 ~ 50	0.999 7	0.010	0.033
千层纸素 A	$Y = 68.291X + 4.266$	0.20 ~ 50	0.999 9	0.024	0.079

2.5.2 精密度试验 按照 2.1 供试样品的制备方法制备供试溶液, 按照 2.3 色谱条件, 重复进样 6 次测定, 分别测得其中 4 个主要峰 (分别为峰 4, 10, 13, 14) 的峰面积和保留时间, 分别计算其 RSD。4 个主峰峰面积和保留时间的 RSD 值在 0.12% ~

0.78% 和 0.09% ~ 0.25%, 表明仪器精密度良好。

2.5.3 重复性试验 精密称取同一黄芩样品 6 份, 按照 2.1 供试样品的制备方法分别制成供试品溶液, 按照 2.3 的色谱条件, 进行色谱分析, 测得 4 个特征峰的峰面积和保留时间, 并计算其 RSD, 4 个主

要峰(分别为峰 4, 10, 13, 14)峰面积和保留时间的 RSD 值分别在 1.42% ~ 3.58% 和 0.11% ~ 0.21%, 表明该方法重复性良好。

2.5.4 稳定性试验 按照 2.1 供试样品的制备方法制备供试溶液, 按照 2.3 的色谱条件, 分别在 0, 1, 3, 6, 12, 24, 48, 72 h 进样测定, 结果显示黄芩提取物溶液的峰面积和保留时间无明显变化, 4 个主要峰(分别为峰 4, 10, 13, 14)峰面积和保留时

间的 RSD 值分别在 1.67% ~ 3.90% 和 0.59% ~ 2.09%, 说明供试品溶液在 72 h 内化学性质稳定。

2.5.5 加样回收率试验 精密称取已知含各对照品含量的黄芩样品 0.50 g, 按高、中、低 3 种浓度分别准确加入黄芩苷、黄芩素、汉黄芩苷、汉黄芩素、黄芩新素、千层纸素 A 对照品适量, 按照供试品溶液制备方法处理 6 份, 按上述色谱条件进样分析, 测定各对照品峰面积, 计算平均加样回收率, 结果见表 4。

表 4 黄芩中各成分加样回收率试验

指标成分	称样量/g	样品中含量/mg	对照品加入量/mg	测得量/mg	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
黄芩苷	0.500 1	63.69	40.0	101.67	95.46	95.32	2.15
	0.499 7	63.69	40.0	103.25	96.23		
	0.500 3	63.70	60.0	119.59	94.75		
	0.500 2	63.69	60.0	120.22	94.81		
	0.499 7	63.68	80.0	140.78	96.77		
	0.500 2	63.69	80.0	139.15	95.82		
黄芩素	0.500 3	4.45	2.0	6.49	98.95	98.69	2.27
	0.500 7	4.46	2.0	6.38	97.23		
	0.500 5	4.46	4.0	8.46	99.31		
	0.499 8	4.45	4.0	8.32	97.26		
	0.500 3	4.46	6.0	10.33	97.85		
	0.499 6	4.46	6.0	10.42	98.17		
汉黄芩苷	0.500 2	13.86	10.0	23.02	95.37	94.30	3.71
	0.500 5	13.87	10.0	23.13	94.89		
	0.500 3	13.86	13.0	25.74	93.45		
	0.499 7	13.86	13.0	25.92	94.77		
	0.500 3	13.86	16.0	29.64	95.15		
	0.499 8	13.85	16.0	29.67	95.63		
汉黄芩素	0.499 7	1.635	1.2	2.79	96.33	97.50	4.28
	0.500 4	1.635	1.2	2.76	95.95		
	0.500 3	1.635	1.6	3.27	98.21		
	0.499 6	1.635	1.6	3.15	97.13		
	0.500 3	1.635	2.0	3.70	98.25		
	0.499 7	1.635	2.0	3.53	96.57		
黄芩新素	0.500 1	0.715	0.5	1.23	101.57	103.20	3.71
	0.500 0	0.715	0.5	1.24	103.87		
	0.499 7	0.715	0.7	1.39	102.55		
	0.500 2	0.715	0.7	1.46	104.32		
	0.500 4	0.715	1.0	1.77	105.17		
	0.499 8	0.715	1.0	1.76	104.21		
千层纸素 A	0.500 2	1.295	1.0	2.27	95.75	94.80	2.93
	0.499 7	1.293	1.0	2.26	96.23		
	0.500 3	1.295	1.3	2.48	92.19		
	0.500 4	1.294	1.3	2.56	95.37		
	0.499 8	1.295	1.6	2.78	94.21		
	0.500 3	1.295	1.6	2.79	93.77		

2.6 指纹图谱的建立与分析

2.6.1 指纹图谱的建立 取 10 批黄芩样品, 按 2.1 供试品溶液制备方法将其制备成供试品溶液, 按 2.3 HPLC 色谱条件进样分析, 记录色谱图, 建立黄芩样品的 HPLC 指纹图谱, 10 批黄

芩样品的色谱图见图 2。从图 2 可以看出 10 批黄芩样品的指纹图谱差异不大, 因此, 10 批黄芩样品均可用于共有峰的确定。10 批黄芩样品 HPLC 指纹图谱的共有峰有 17 个(较大的峰, 已扣除溶剂峰)。

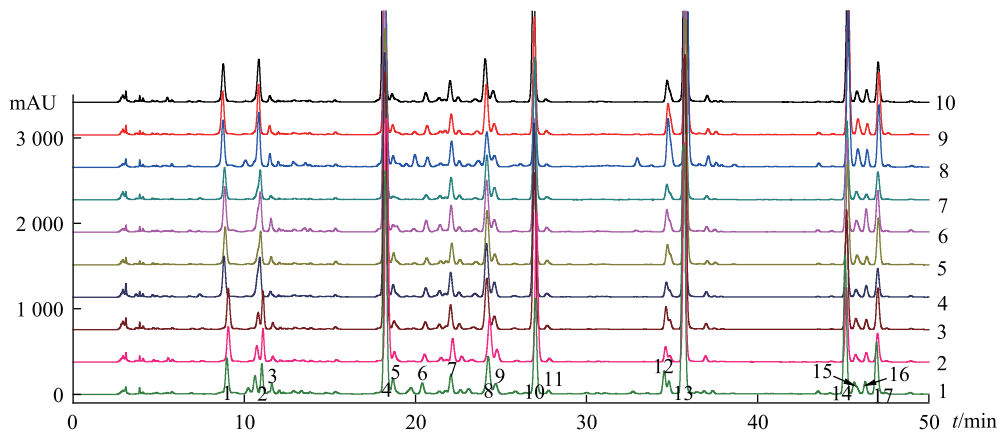


图 2 山东产区 10 批黄芩 HPLC 指纹图谱

在本研究所建立的分析系统下, 黄芩甲醇提取物各成分出峰时间主要在 50 min 之前, 特征性明显的主要有 4 个色谱峰, 这 4 个色谱峰即构成黄芩 HPLC 指纹图谱的特征峰(分别为峰 4, 10, 13, 14), 其中以峰高最高的 10 号峰为指标峰, 该峰化学性质稳定, 保留时间以及峰面积重复性良好, 与其他相邻峰分离良好, 采用化学工作站计算该峰的纯度表明该峰为一纯化合物。因此选择 10 号峰为指标峰(保留时间和峰面积均设为 1), 用于计算各共有峰相对保留时间和相对峰面积。结果表明, 山东

产区 10 批黄芩样品各共有峰保留时间的 RSD 均在 5% 以内, 各共有峰相对峰面积的 RSD 相差较大, 但其谱图轮廓一致。

2.6.2 特征峰的指认 采用对照品和高效液相色谱-电喷雾飞行时间质谱联用技术(HPLC-ESI-TOF/MS)对黄芩指纹图谱中的特征峰进行分析, HPLC 工作条件同 2.3 色谱条件, 在选定的实验条件下对黄芩甲醇提取物进行分析, 获得其总离子流色谱图, 黄芩指纹图谱中的 4 个特征峰的精确质量测量结果见表 5。

表 5 黄芩甲醇提取物中 4 个化合物的 HPLC-ESI-TOF/MS 精确质量测量结果

峰号	保留时间/min	化合物	选择离子	元素组成	理论值 m/z	实验值 m/z	误差/ $\times 10^{-6}$	最大吸收波长/nm
4	18.5	汉黄芩苷	$[M+H]^+$	$C_{23}H_{22}O_{11}$	475.123 5	475.123 8	0.84	281
10	27.8	黄芩素	$[M+H]^+$	$C_{22}H_{20}O_{11}$	461.107 8	461.108 5	1.52	284
13	36.5	黄芩苷	$[M+H]^+$	$C_{21}H_{18}O_{11}$	447.092 2	447.093 1	2.01	278
14	46.3	汉黄芩素	$[M+H]^+$	$C_{16}H_{12}O_5$	285.075 7	285.075 2	-1.75	275

2.6.3 相似度评价 通过《中药色谱指纹图谱相似度评价系统》(《中国药典》2004 A 版)对 10 批黄芩样品进行相似度分析。首先将色谱工作站数据导入中药指纹图谱相似度计算软件, 选定上述 17 个共有峰进行谱峰匹配, 采用共有模式作为对照指纹图谱, 用于 10 批黄芩样品相似度评价, 见表 6。

表 6 山东产区 10 批黄芩药材相似度评价结果

样品编号	S	样品编号	S
1	0.992 5	6	0.987 6
2	0.962 7	7	0.987 6
3	0.955 7	8	0.993 7
4	0.996 9	9	0.988 8
5	0.996 9	10	0.966 3

从表 6 可以看出, 10 批山东产区的黄芩样品指纹图谱相似度较高, 均在 0.955 7 以上。研究结果为山东产区黄芩药材的质量控制研究提供了依据。

2.7 黄芩样品测定

按 2.1 供试品溶液制备方法制备样品溶液, 按

2.3 色谱条件分别进样分析, 获得山东产区 10 批黄芩样品中 6 个共有峰所对应化合物的色谱峰面积, 将测得结果代入表 3 线性回归方程, 计算黄芩样品中各化合物的质量分数(见表 7)。从表 7 可以看出, 山东产区 10 个批次的黄芩样品中 6 种黄酮类化合物质量分数分布规律相似。

表 7 山东产区 10 批黄芩中 6 种黄酮类化合物的测定($n=3$)

样品编号	黄芩新素(峰 2)	汉黄芩苷(峰 4)	黄芩素(峰 10)	黄芩苷(峰 13)	汉黄芩素(峰 14)	千层纸素 A(峰 15)
1	0.102 ± 0.002	2.577 ± 0.065	1.307 ± 0.035	12.663 ± 0.105	0.274 ± 0.009	0.138 ± 0.005
2	0.058 ± 0.002	2.314 ± 0.032	1.215 ± 0.026	10.375 ± 0.067	0.215 ± 0.005	0.257 ± 0.007
3	0.118 ± 0.002	2.278 ± 0.069	1.438 ± 0.043	15.247 ± 0.232	0.182 ± 0.004	0.117 ± 0.003
4	0.073 ± 0.001	1.905 ± 0.040	1.003 ± 0.025	12.703 ± 0.255	0.194 ± 0.003	0.183 ± 0.004
5	0.135 ± 0.003	2.177 ± 0.019	1.107 ± 0.026	13.250 ± 0.235	0.237 ± 0.003	0.281 ± 0.009
6	0.147 ± 0.005	2.565 ± 0.089	0.947 ± 0.029	14.771 ± 0.343	0.315 ± 0.002	0.173 ± 0.003
7	0.153 ± 0.006	2.351 ± 0.055	1.318 ± 0.019	15.269 ± 0.475	0.217 ± 0.005	0.193 ± 0.003
8	0.069 ± 0.001	2.059 ± 0.042	1.659 ± 0.026	11.339 ± 0.291	0.189 ± 0.005	0.221 ± 0.008
9	0.143 ± 0.001	2.772 ± 0.049	0.892 ± 0.008	12.738 ± 0.415	0.327 ± 0.005	0.259 ± 0.006
10	0.057 ± 0.001	2.047 ± 0.021	1.447 ± 0.034	16.119 ± 0.166	0.253 ± 0.007	0.173 ± 0.003

3 讨论

3.1 提取条件优化

本研究采用 2.3 色谱条件, 采用超声提取技术, 首先对黄芩不同提取溶剂(水、25% 甲醇、50% 甲醇、75% 甲醇、100% 甲醇)提取物溶液进行分析, 结果显示, 当水或 25% 甲醇作为提取溶剂时, 中间段色谱峰峰高较低, 提取较差; 后三者相比, 100% 甲醇作为提取溶剂时, 所得色谱图色谱峰信号较强, 且各峰分离度好、基线平稳, 指纹特征明显, 因此选择 100% 甲醇作为黄芩指纹图谱样品提取溶剂。

在优化的提取溶剂条件下, 考察了不同料液比(1:20、1:50、1:80)对提取率的影响, 结果表明, 当料液比为 1:50 时, 黄芩各成分提取率较高。进一步考察了不同提取时间(5, 10, 15 min)对黄芩成分提取率的影响, 结果表明当提取时间为 10 min 时, 黄芩各成分已基本提取完全。

3.2 色谱条件优化

黄芩甲醇提取物化学成分复杂, 采用等度洗脱的方法很难将黄芩醇提物中的多种化合物分离开, 因此采用线性梯度洗脱方式进行分离。本研究对仪器与试药中所列的 4 根不同生产厂家的色谱柱进行了比较, 结果表明, 使用 Agilent ZORBAX SB-C₁₈ 色

谱柱获得的黄芩醇提物指纹图谱各峰分离度高, 色谱峰分布均匀, 峰型较好, 具有较好的代表性, 因此选择 Agilent ZORBAX SB-C₁₈ 柱用于黄芩药材的指纹图谱研究。在此基础上, 比较了甲醇-水、乙腈-水作为流动相时的色谱图效果, 发现乙腈-水效果明显优于甲醇-水。黄芩含有多种化学成分, 其中黄酮类化合物为主要有效成分, 其大多呈弱酸性, 因此实验中加入甲酸、甲酸铵调节流动相 pH 以改善分离度和色谱峰形, 结果发现以 1% 甲酸、20 mmol·L⁻¹ 甲酸铵水溶液-乙腈为流动相时, 色谱指纹图谱效果最好。通过二极管阵列检测器全波段扫描(190~400 nm), 考察了不同检测波长对指纹图谱的影响, 结果表明, 在 UV 274 nm 条件下检测获得的色谱指纹图谱信息量大, 指纹峰特征性强, 具有较好的代表性, 因此选择 274 nm 作为黄芩 HPLC 指纹图谱研究的检测波长(见图 1)。

3.3 指纹图谱评价

本研究在多批次样品分析的基础上, 建立了山东产区黄芩样品的 HPLC 指纹图谱, 选取了 17 个稳定性好, 特征性明显的峰作为共有峰, 并采用对照品和 ESI-TOF/MS 技术对 4 个特征峰进行了指认, 分

(下转第 541 页)

有最佳作用剂量,并非剂量越大越好。

本实验研究镇痛的动物模型采用了醋酸致痛小鼠扭体实验及热板实验。扭体实验是常用来筛选非甾体类抗炎药镇痛作用的一种敏感而简便的方法,与外周神经镇痛有很大的关系,常用一些化学刺激物如强酸等给入动物体内造成疼痛模型。热板实验是常用于筛选中枢镇痛药的一种动物模型,中枢镇痛药可相对延长热板刺激的反应时间,而外周镇痛药则不能,主要通过对动物施加一定的伤害性刺激如热、电等引起疼痛反应。牛大力水提取物在这两个模型中均表现出较好的镇痛作用,能够显著减少醋酸致痛小鼠的扭体次数,明显提高热刺激致痛小鼠的痛阈值,表明牛大力水提取物对物理和化学因素引起的疼痛均有明显的对抗作用,具有一定的外周镇痛及中枢镇痛作用,可缓解临床炎症反应引起的疼痛。

综上所述,牛大力水提取物具有抗炎镇痛作用,为临床用于炎症反应提供了实验依据,但关于其药理作用机制可能是多方面的,尚有待于进一步探讨。

参考文献

- [1] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草[M]. 上海:上海科学技术出版社,1999:571-572.
- [2] 戴义龙,戴义石,余汉平,等. 袖珍草药图本[M]. 福州:福建科学技术出版社,2000:428.
- [3] 刘丹丹,唐立海,王艳,等. 牛大力祛痰、镇咳和平喘作用的实验研究[J]. 广州中医药大学学报,2009,26(3):266-269.
- [4] 韦翠萍,刘丹丹,唐立海,等. 牛大力对小鼠免疫功能的影响[J]. 广州中医药大学学报,2009,26(6):539-542.
- [5] 周添浓,刘丹丹,唐立海,等. 牛大力对四氯化碳及酒精所致小鼠急性肝损伤的保护作用[J]. 时珍国医国药,2009,20(10):2585-2587.
- [6] 肖萍,黄兴振,覃柳珍. 咽喉汤抗炎抗菌作用的实验考察[J]. 中国药师,2013,16(4):626-628.
- [7] 赵杰,余林中,方芳,等. 麻黄-甘草药对的抗炎作用及机制研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(15):163-166.
- [8] 韦锦斌,周劲帆,冯洁,等. 两面针叶不同提取部位的抗炎镇痛作用研究[J]. 中药新药与临床药理,2013,24(2):122-125.

(收稿日期 2014-03-31)

(上接第 533 页)

别为:峰 4(汉黄芩苷)、峰 10(黄芩素)、峰 13(黄芩苷)、峰 14(汉黄芩素)。采用相似度分析对山东产区的 10 批黄芩样品进行了对比,结果表明,相似度系数均大于 0.955 7。定量分析结果表明,山东产区的 10 批黄芩样品中 6 种黄酮类化合物含量分布规律相似。黄芩为大宗常用中药材,本研究建立的山东产区黄芩 HPLC 多指标定量指纹图谱,为山东产区黄芩药材的质量控制研究提供了方法和技术支持。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中国药典[S]. 一部. 北京:中国医药科技出版社,2010:282.
- [2] 周永妍,程秀民,于海英,等. 黄芩药材中主要黄酮类成分含量测定及指纹图谱研究[J]. 中华中医药杂志,2009,24(7):882-885.
- [3] 赵瀚年,高燕,丁晓彦. 山东栽培黄芩的指纹图谱研究

[J]. 时珍国医国药,2009,20(5):1243-1245.

- [4] 李强,李超. 中药指纹图谱研究综述[J]. 齐鲁药事,2010,29(3):158-161.
- [5] 孙磊,乔善义,赵毅民. 中药指纹图谱应用研究进展[J]. 国际药学研究杂志,2009,36(3):194-198.
- [6] 王小如,黎先春,李磊. 中药及中药材质量控制关键技术[M]. 北京:化学工业出版社,2006:146.
- [7] 肖蓉,张志斐,袁志芳,等. 河北道地药材黄芩指纹图谱的研究[J]. 药物分析杂志,2007,27(7):1018-1023.
- [8] 王健,张晓军,郑淑艳. 黄芩药材 RP-HPLC 指纹图谱研究[J]. 现代中西医结合杂志,2008,17(16):2456-2457.
- [9] 肖丽和,王红燕,李发美,等. 不同来源黄芩药材 HPLC 指纹图谱比较[J]. 沈阳药科大学学报,2004,21(1):28-31.
- [10] 果德安. 中药质量控制研究的思路与方法[J]. 中国天然药物,2009,7(1):1.
- [11] 刘荣霞,叶敏,果德安. 中药质量控制研究的思路与方法[J]. 中国天然药物,2006,4(5):332-337.

(收稿日期 2013-10-17)