

· 基础研究 ·

不同产地抱茎苦苣菜的 HPLC 指纹图谱研究[△]杨非凡¹, 张亚妮¹, 武媛媛¹, 李亚梅¹, 王燕秋², 李遇伯^{1*}

(1. 天津中医药大学 中药学院, 天津 300193; 2. 吉林通化华夏药业有限责任公司, 吉林 通化 134000)

[摘要] 目的: 建立抱茎苦苣菜药材的 HPLC 指纹图谱, 为抱茎苦苣菜药材的质量控制和评价提供依据。方法: 收集 19 批不同产地的抱茎苦苣菜, 建立 HPLC 指纹图谱检测方法, 使用中药色谱指纹图谱相似度评价系统计算相似度。结果: 所建立的分析方法经过精密度、稳定性和重复性考察, 均符合要求; 指认了 HPLC 指纹图谱中的 9 个共有峰, 经计算 19 批抱茎苦苣菜药材相似度高于 0.95。结论: 所建立的 HPLC 指纹图谱检测方法可为抱茎苦苣菜药材质量评价提供参考。

[关键词] 抱茎苦苣菜; 指纹图谱; 共有峰; 相似度; 仪器适用性

HPLC Fingerprinting Analysis of *Ixeris sonchifolia* from Different Producing AreasYANG Fei-fan¹, ZHANG Ya-ni¹, WU Yuan-yuan¹, LI Ya-mei¹, WANG Yan-qiu², LI Yu-bo^{1*}

(1. College of Traditional Chinese Materia Medica, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China; 2. Jilin Tonghua Huaxia Pharmaceutical Co., Ltd, Tonghua 134000, China)

[Abstract] **Objective:** The study is aimed to establish HPLC fingerprints of herbs of *Ixeris sonchifolia*, and provide a basis for quality control and evaluation of *I. sonchifolia*. **Methods:** 19 batches of *I. sonchifolia* were collected from different regions and an HPLC fingerprinting method was established. The similarity of the HPLC fingerprints was calculated by using Similarity Evaluation System of Chromatographic Fingerprint of Traditional Chinese Medicine. **Results:** The analytical methods established in this study were based on precision, stability and repeatability studies, all met the requirements. Nine common peaks in HPLC fingerprints were identified, and the similarities of 19 batches of *I. sonchifolia* were higher than 0.95. **Conclusion:** The HPLC fingerprinting method established in this study can provide a reference for the quality evaluation of *I. sonchifolia*.

[Keywords] *Ixeris sonchifolia*; fingerprinting; common peak; similarity; instrument suitability

doi:10.13313/j.issn.1673-4890.20180202002

抱茎苦苣菜具有清热解毒、镇痛抗炎、凉血消肿之功效, 为苦碟子(碟脉灵)注射液的原料药材。苦碟子注射液具有活血止痛、清热祛瘀的作用^[1], 临床常用于瘀血闭阻的胸痹、冠心病、心绞痛、脑梗死等。抱茎苦苣菜中的主要化学成分为黄酮类、有机酸类、核苷类、氨基酸类及倍半萜内酯类成分, 研究表明其具有抗动脉粥样硬化、扩张冠脉及降低冠脉血管阻力、抗肿瘤活性等药理作用^[2-5]。不同产地的抱茎苦苣菜各化学成分含量也有一定的差异, 这些差异进而对药效产生了直接影响, 因而产生了道地药材与非道地药材之分^[6]。有研究证明不同产地抱茎苦苣菜确实存在异质性的物质基础^[7], 随着

中药注射液安全性备受关注, 中药注射液安全性再评价指导原则对中药注射液原药材的质量控制提出了明确要求, 所以建立一个有效的中药材质量控制方法就成为了迫在眉睫的任务, 而中药指纹图谱作为现代中药质量标准体系的核心技术, 是多学科交叉、综合技术手段对复杂物质组成体系质量稳定性进行评价的检测方法^[8-15]。抱茎苦苣菜质量标准收载于卫生部药品标准^[16]中, 但因不同的检测机构及企业所具有的实验条件是不同的, 故在具体实验操作时可能存在仪器的不适用性等问题, 故本实验对不同产地的抱茎苦苣菜进行 HPLC 色谱分析, 并进行了仪器适用性考察, 在使用率最高的 Agilent、

[△] [基金项目] 吉林省科技发展计划项目(20170203006YY)

* [通信作者] 李遇伯, 教授, 研究方向: 代谢组学及药物分析方向; Tel: (022)59596191, E-mail: yaowufenxi001@sina.com

Waters、Shimadzu 三个型号的仪器上进行仪器精密度、方法重复性以及样品稳定性验证,均符合指纹图谱分析方法学要求,最终建立了抱茎苦苣菜的对照指纹图谱。

1 仪器与材料

Agilent Technologies 1200 高效液相色谱系统(含四元泵,自动进样器,柱温箱,1260 DAD 检测器;美国 Agilent 公司);Waters 2695 高效液相液相色谱仪(含四元泵,自动进样器,柱温箱,2698 DAD 检测器;美国 Waters 公司);Shimadzu LC-20AT 液相色谱仪(含二元泵,自动进样器,LC-20AT PDA 检测器;日本岛津公司);M320 型外接柱温箱(Tianjin Puxiang)。

乙腈(Sigma 公司,美国,色谱纯);甲醇(Sigma 公司,美国,色谱纯);磷酸(天津科密欧化学试剂有限公司);纯净水(杭州娃哈哈集团有限公司)。腺苷对照品(批号:110879-200202)、菊苣酸对照品(批号:111752-200902),均购买于中国食品药品检定研究院,纯度均大于 98%;木犀草素-7-O- β -D 葡萄糖醛酸苷对照品由通化华夏药业公司提供,纯度大于 98%。抱茎苦苣菜药材(通化华夏药业公司提供)均经天津中医药大学王玉明专家鉴定为菊科植物抱茎苦苣菜 *Ixeris sonchifolia* (Bge.) Hanc。样品清单如表 1 所示。

表 1 抱茎苦苣菜样品清单

批号	数量(g)	产地
1305001	500	河北玉田
1305002	500	河北玉田
1305003	500	天津蓟县
1306010	500	辽宁海城
1405001	500	天津蓟县
1405002	500	河北玉田
1405003	500	天津蓟县
1405004	500	河北玉田
1406010	500	辽宁海城
1406012	500	辽宁海城
1505001	500	河北玉田
1505002	500	天津蓟县
1506003	500	天津蓟县
1506004	500	河北玉田
1605001	500	河北玉田
1605002	500	天津蓟县
1606003	500	河北玉田
1606004	500	天津蓟县
1606006	500	辽宁海城

2 方法与结果

2.1 溶液制备

2.1.1 供试品溶液制备 取抱茎苦苣菜药材 10 g,去除泥土、树枝、伪品等杂物及发霉、变黑、带根的药材,挑选时应注意保护花、叶等药用部位,冲洗至净,切成 3~5 cm 的段。加 10 倍量纯净水浸泡 1 h,煎煮 1 h,第二次加 8 倍量纯净水煎煮 0.5 h,煎煮液合并,加纯净水配制成浓度为每 1 mL 相当于原生药 0.05 g 的生药提取液。取配制好的生药提取液(0.05 g·mL⁻¹),过 0.45 μ m 微孔滤膜,即得。

2.1.2 对照品溶液制备 取腺苷、木犀草素 7-O- β -D-葡萄糖醛酸苷和菊苣酸对照品适量,精密称定,加甲醇-水(25:75)配制成每 1 mL 含腺苷 5 μ g,木犀草素 7-O- β -D-葡萄糖醛酸苷 150 μ g,菊苣酸 60 μ g 的溶液,即得。所配制的溶液 4 $^{\circ}$ C 保存。

2.2 色谱条件

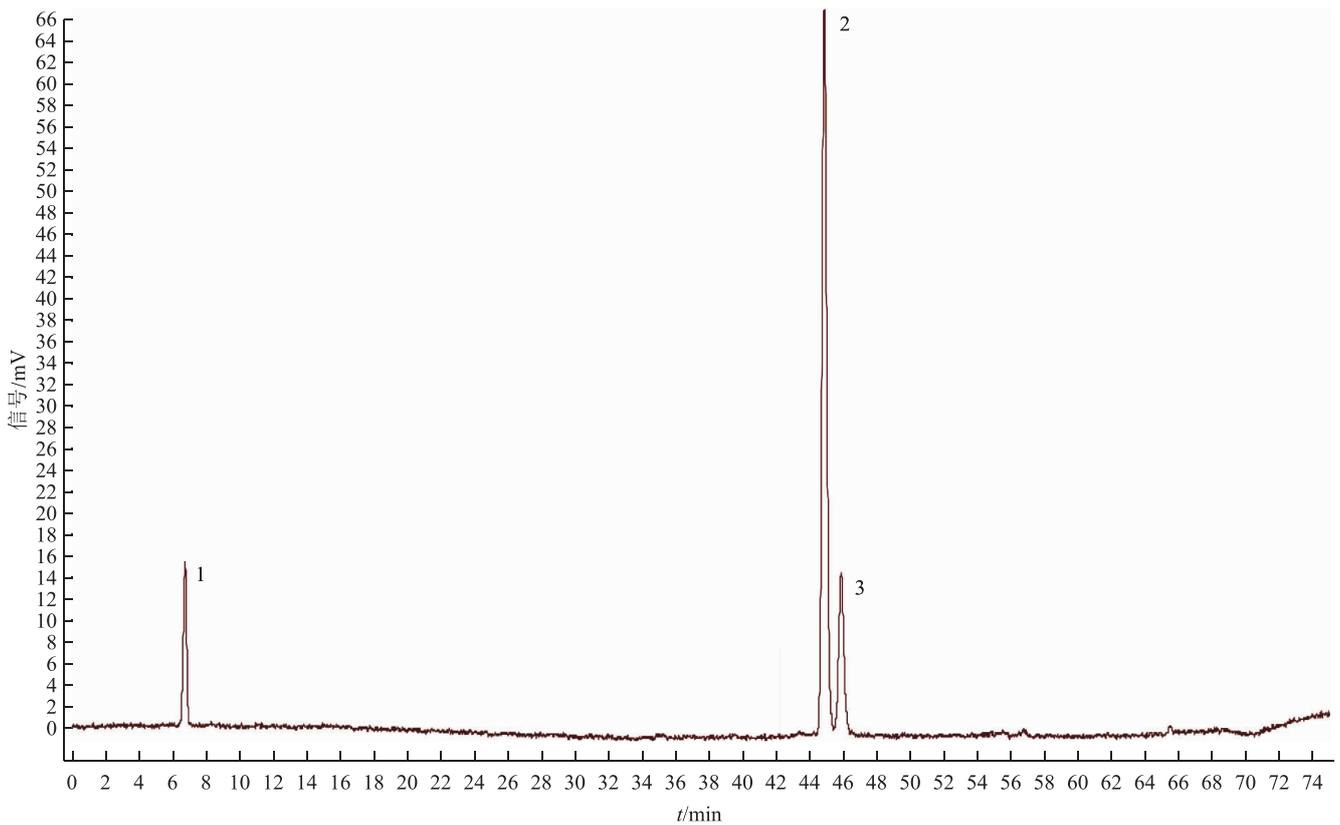
色谱柱:Waters Symmetry C₁₈ (4.6 mm \times 250 mm, 5 μ m), Part No. WAT054275, Lot No. 0294353071;检测波长:260 nm;流动相:0.2% 磷酸溶液(A)-乙腈(B),洗脱梯度如表 2 所示;流速:1.0 mL·min⁻¹;进样量:5 μ L;柱温:40 $^{\circ}$ C。

表 2 抱茎苦苣菜指纹图谱梯度洗脱程序

t/min	A(%)	B(%)
0.00	100	0
12.00	98	2
30.00	85	15
55.00	83	17
65.00	75	25
70.00	100	0
75.00	100	0

2.3 抱茎苦苣菜 HPLC 指纹图谱共有峰及参照峰筛选

将 3 个不同产地的抱茎苦苣菜按照 2.1.1 项下方法制备供试品溶液,按照 2.2 项下的色谱条件测定,采用中药色谱指纹图谱相似度评价软件(2.0 版,国家药典委员会,2010)进行分析,获得不同产地抱茎苦苣菜指纹图谱叠加图,自动指认共有峰,在已指认的共有峰中手动选择与药效相关的成分以及峰面积较高的 9 个成分为抱茎苦苣菜指纹图谱的共有色谱峰。按照 2.1.2 项下方法制备对照品溶液,照 2.2 项下色谱条件进行测定,选择腺苷、木犀草素 7-O- β -D-葡萄糖醛酸苷以及菊苣酸三个与药效有关的成分为参照色谱峰,见图 1。



注：峰1. 腺苷；峰2. 木犀草素-7-O-β-D-葡萄糖醛酸苷；峰3. 菊苣酸。

图1 Agilent 仪器参照物色谱指纹图谱

2.4 Agilent 仪器方法学验证

2.4.1 精密度试验 取1605001批抱茎苦苣菜药材10.00 g，按2.1.1项下方法制备供试品溶液，按照2.2项下所示的色谱条件连续进样6次，各特征峰的峰面积RSD均小于2.8%，精密度良好。

2.4.2 重复性试验 取1605001批抱茎苦苣菜药材，按2.1.1项下方法平行制备6份供试品溶液，按照2.2项下所示的色谱条件进样分析，各特征峰的峰面积RSD均小于2.9%，重复性良好。

2.4.3 稳定性试验 取1605001批抱茎苦苣菜药材10.00 g，按2.1.1项下方法制备供试品溶液，按照2.2项下所示的色谱条件在样品制备后0、2、4、8、12、24 h进样分析，各特征峰的峰面积RSD均小于2.4%，样品放置24 h稳定。

2.5 Waters 仪器方法学验证

2.5.1 精密度试验 取1605001批抱茎苦苣菜药材10.00 g，按2.1.1项下方法制备供试品溶液，按照2.2项下所示的色谱条件连续进样6次，各特征峰的峰面积RSD均小于2.9%，精密度良好。

2.5.2 重复性试验 取1605001批抱茎苦苣菜药材，

按2.1.1项下方法平行制备6份供试品溶液，按照2.2项下所示的色谱条件进样分析，各特征峰的峰面积RSD均小于2.8%，重复性良好。

2.5.3 稳定性试验 取1605001批抱茎苦苣菜药材10.00 g，按2.1.1项下方法制备供试品溶液，按照2.2项下所示的色谱条件在样品制备后0、2、4、8、12、24 h进样分析，各特征峰的峰面积RSD均小于2.9%，样品放置24 h稳定。

2.6 Shimadzu 仪器方法学验证

2.6.1 精密度试验 取1605001批抱茎苦苣菜药材10.00 g，按2.1.1项下方法制备供试品溶液，按照2.2项下所示的色谱条件连续进样6次，各特征峰的峰面积RSD均小于2.7%，精密度良好。

2.6.2 重复性试验 取1605001批抱茎苦苣菜药材，按2.1.1项下方法平行制备6份供试品溶液，按照2.2项下所示的色谱条件进样分析，各特征峰的峰面积RSD均小于2.7%，重复性良好。

2.6.3 稳定性试验 取1605001批抱茎苦苣菜药材10.00 g，按2.1.1项下方法制备供试品溶液，按照2.2项下所示的色谱条件在样品制备后0、2、4、8、

12、24 h 进样分析, 各特征峰的峰面积 RSD 均小于 2.7%, 样品放置 24 h 稳定。

2.7 HPLC 分析及数据导出

将 19 批药材按 2.1.1 项下方法制备供试品溶液, 按照 2.2 项下所示的色谱方法用 Agilent、Waters、Shimadzu 三台液相色谱仪分析检验, 通过仪器自带工作站处理并导出 AIA 格式色谱数据, 仪器的积分参数设置为如下:

Agilent: Slope Sensitivity (斜率灵敏度) 5, Peak Width (峰宽) 0.05, Area Reject (最小峰面积) 1, Height Reject (最小峰高) 1;

Waters: 阈值 50, 峰宽 30, 最小峰面积 1000, 最小峰高 0;

Shimadzu: 斜率 2000, 半峰宽 5, 最小峰面积/峰高 1000。

2.8 对照指纹图谱建立

打开中药色谱指纹图谱相似度评价软件 (2.0 版, 国家药典委员会, 2010), 工作模式选择生成对照, 导入仪器所分析的原始数据; 参照图谱参数设置分别为: 参照图谱编号为 S1, 对照图谱生成方法为中位数法, 时间窗宽度默认为 0.1; 在多点校正模块下选择 9 个共有特征峰; 峰匹配方式选择 Mark 峰匹配; 匹配完成后点击生成对照, 即可得到对照指纹图谱, 将所得的对照图谱保存, 以备分析检验时

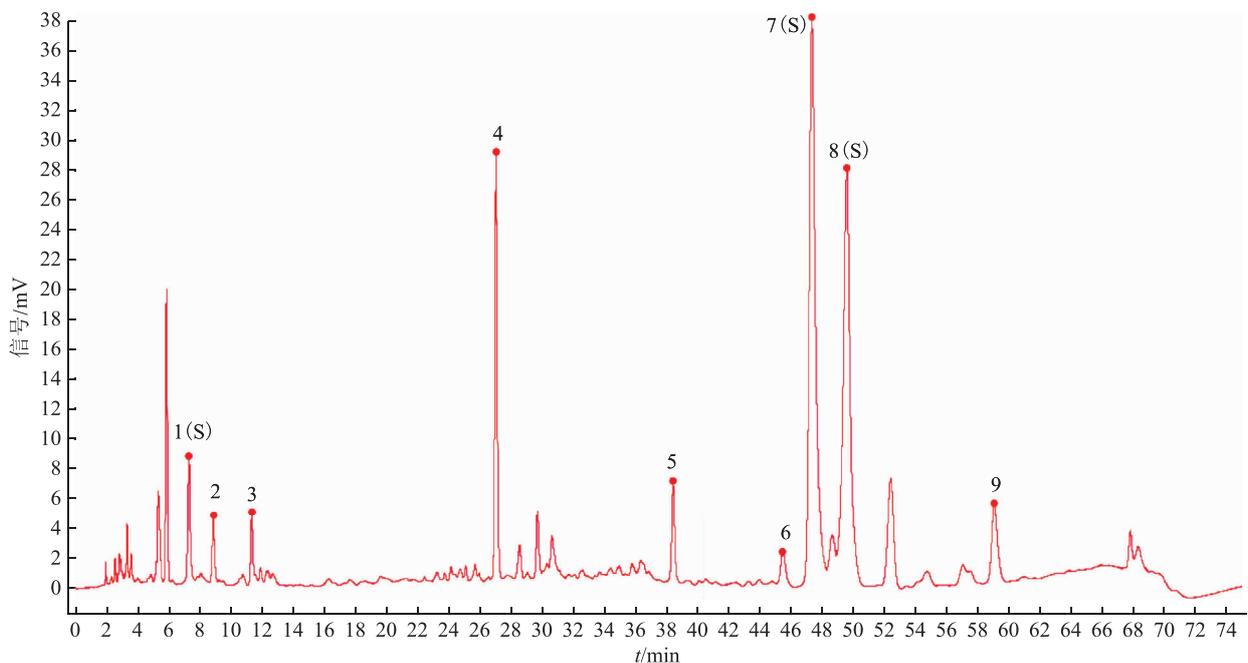
使用。点击匹配数据和计算相似度按钮, 查看并保存匹配结果。抱茎苦苣菜对照指纹图谱如图 2 所示。

2.9 仪器适用性考察

2.9.1 Agilent 仪器 将 19 批药材按 2.1.1 项下方法制备供试品溶液, 按照 2.2 项下所示的色谱方法用 Agilent 液相色谱仪分析检验, 通过仪器自带工作站处理并导出 AIA 格式色谱数据, 仪器的积分参数设置为如 2.4 项所示, 按照 2.8 项下的方法建立对照指纹图谱, 19 批药材匹配色谱图如图 3 所示, 共有峰相对峰面积如表 3 所示。

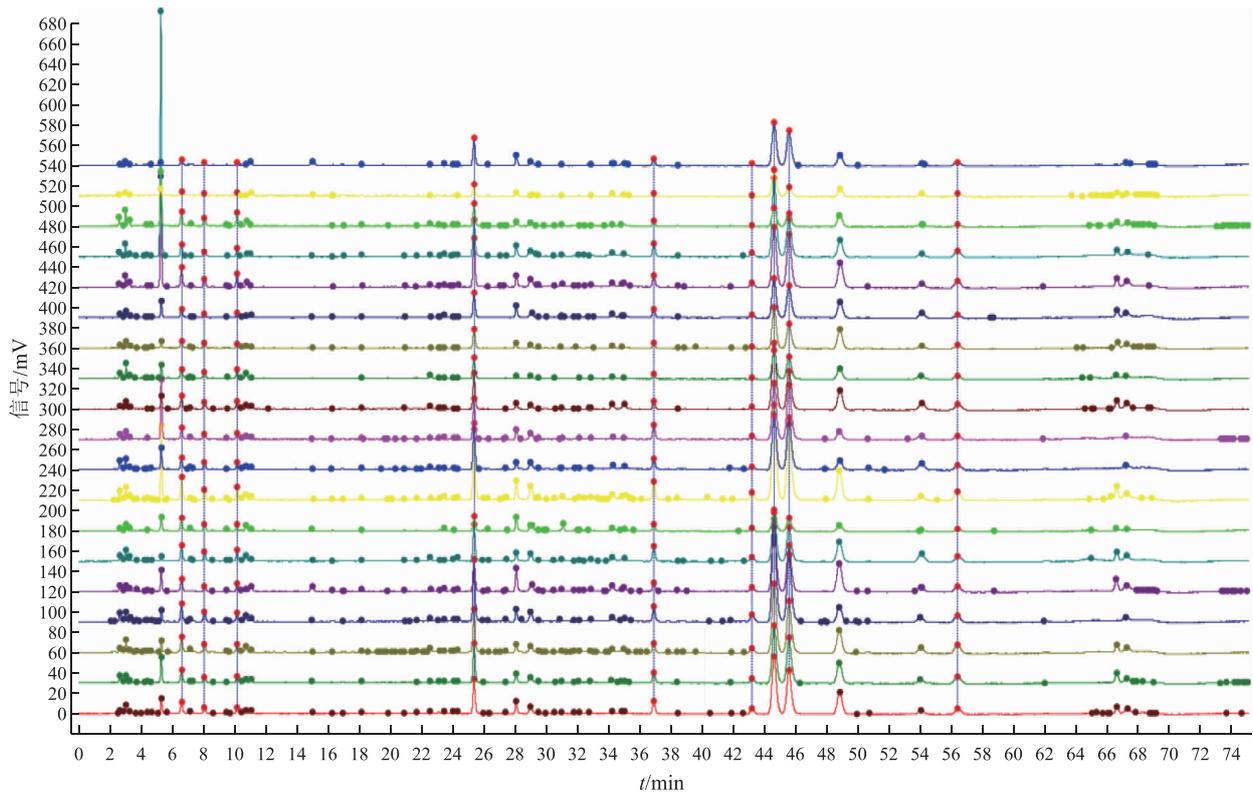
2.9.2 Waters 仪器 将 19 批药材按 2.1.1 项下方法制备供试品溶液, 按照 2.2 项下所示的色谱方法用 Waters 液相色谱仪分析检验, 通过仪器自带工作站处理并导出 AIA 格式色谱数据, 仪器的积分参数设置为如 2.5 项所示, 按照 2.8 项下的方法建立对照指纹图谱, 19 批药材匹配色谱图如图 4 所示, 共有峰相对峰面积如表 4 所示。

2.9.3 Shimadzu 仪器 将 19 批药材按 2.1.1 项下方法制备供试品溶液, 按照 2.2 项下所示的色谱方法用 Shimadzu 液相色谱仪分析检验, 通过仪器自带工作站处理并导出 AIA 格式色谱数据, 仪器的积分参数设置为如 2.4 项所示, 按照 2.5 项下的方法建立对照指纹图谱, 19 批药材匹配色谱图如图 5 所示, 共有峰相对峰面积如表 5 所示。



注: 峰 1(S). 腺苷; 峰 7(S). 木犀草素-7-O- β -D-葡萄糖醛酸苷; 峰 8(S). 菊苣酸。

图 2 抱茎苦苣菜对照指纹图谱



注：峰1(S). 腺苷；峰7(S). 木犀草素-7-O-β-D-葡萄糖醛酸苷；峰8(S). 菊苣酸。

图3 Agilent 仪器19 批药材匹配色谱图

表3 Agilent 仪器19 批抱茎苦苣菜共有峰相对峰面积

批号	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1305001	0.102 0	0.066 6	0.042 5	0.309 5	0.138 2	0.092 4	1	0.848 6	0.170 1
1305002	0.115 8	0.059 0	0.051 5	0.339 0	0.125 5	0.077 2	1	0.876 2	0.196 2
1305003	0.097 0	0.061 2	0.049 0	0.351 8	0.096 9	0.076 5	1	0.839 1	0.172 5
1306010	0.093 7	0.056 9	0.041 7	0.338 9	0.101 8	0.074 0	1	0.800 1	0.105 8
1405001	0.089 8	0.040 4	0.043 8	0.238 5	0.088 6	0.051 2	1	0.701 8	0.125 0
1405002	0.162 9	0.098 6	0.087 3	0.376 9	0.196 5	0.096 0	1	0.742 3	0.166 9
1405003	0.302 2	0.185 2	0.124 8	0.391 2	0.220 9	0.211 9	1	0.735 5	0.194 2
1405004	0.123 4	0.058 2	0.058 3	0.384 7	0.127 1	0.077 4	1	0.884 1	0.146 4
1406010	0.114 9	0.080 5	0.055 5	0.441 2	0.136 5	0.063 5	1	1.067 0	0.141 5
1406012	0.095 1	0.052 6	0.047 0	0.376 3	0.156 2	0.066 0	1	1.063 0	0.123 1
1505001	0.100 5	0.062 7	0.054 8	0.282 3	0.080 7	0.035 4	1	0.638 8	0.142 3
1505002	0.177 4	0.125 2	0.127 2	0.370 6	0.103 3	0.035 9	1	0.876 3	0.190 5
1506003	0.099 0	0.071 3	0.041 0	0.249 3	0.095 6	0.056 0	1	0.682 4	0.137 2
1506004	0.116 1	0.064 7	0.054 0	0.326 0	0.129 1	0.086 0	1	0.898 3	0.161 9
1605001	0.164 8	0.083 6	0.095 3	0.421 7	0.130 3	0.080 8	1	0.970 3	0.150 9
1605002	0.077 4	0.041 5	0.045 6	0.251 5	0.105 5	0.059 9	1	0.549 2	0.119 1
1606003	0.352 8	0.249 3	0.265 1	0.617 5	0.197 2	0.083 4	1	0.767 4	0.188 9
1605004	0.083 2	0.054 6	0.050 7	0.233 1	0.075 0	0.024 1	1	0.425 6	0.159 9
1605006	0.070 7	0.043 2	0.027 5	0.330 1	0.104 6	0.062 1	1	0.906 3	0.148 4

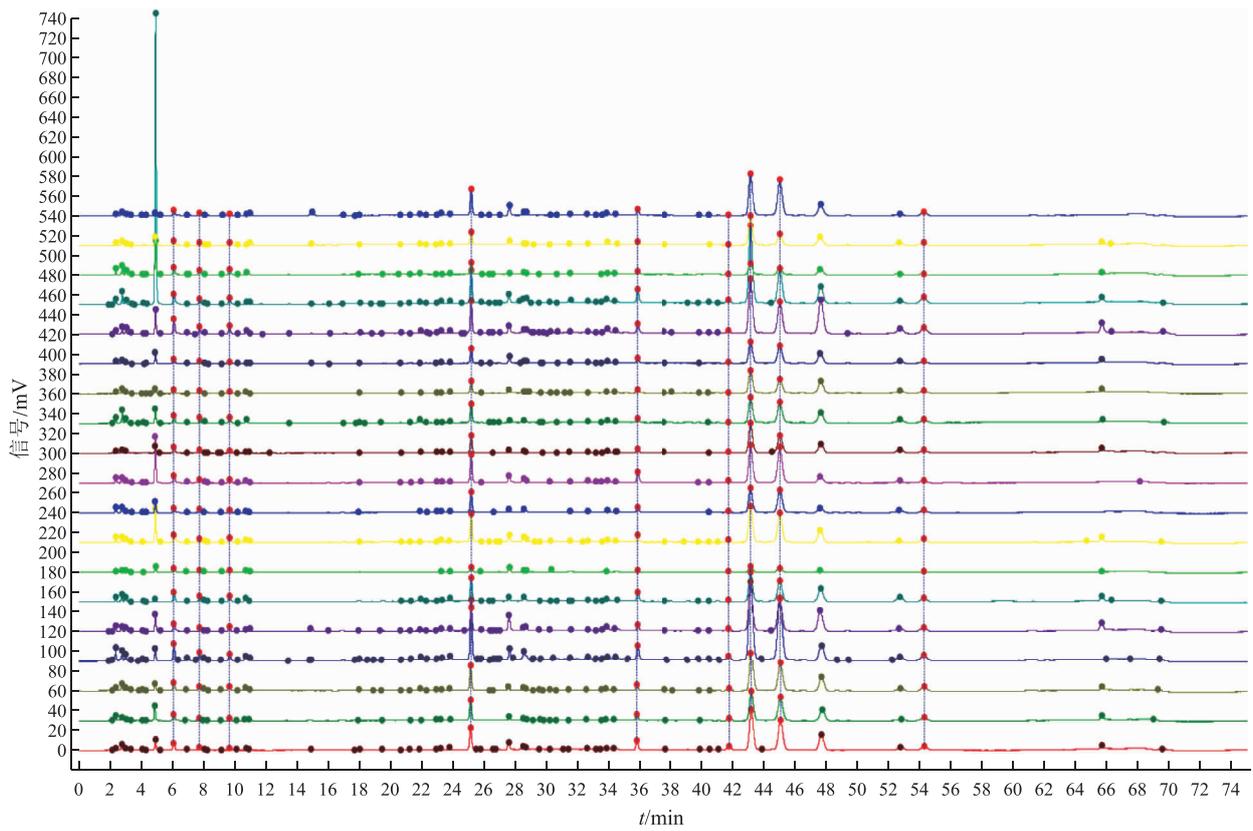


图4 Waters 仪器19 批药材匹配色谱图

表4 Waters 仪器19 批抱茎苦苣菜共有峰相对峰面积

批号	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1305001	0.249 0	0.036 1	0.020 4	0.276 7	0.036 9	0.020 8	1	1.627 0	0.616 4
1305002	0.117 3	0.060 9	0.052 9	0.474 8	0.101 8	0.030 4	1	1.081 0	0.174 4
1305003	0.086 4	0.063 8	0.047 0	0.426 0	0.070 1	0.028 2	1	1.014 0	0.161 7
1306010	0.084 5	0.056 0	0.035 2	0.409 7	0.084 2	0.045 3	1	0.911 5	0.091 4
1405001	0.073 1	0.041 6	0.052 8	0.310 5	0.063 1	0.035 4	1	0.883 2	0.115 5
1405002	0.156 2	0.108 8	0.095 9	0.546 0	0.164 9	0.056 2	1	0.957 9	0.164 9
1405003	0.437 3	0.284 0	0.200 4	0.784 7	0.219 2	0.089 9	1	1.143 0	0.245 3
1405004	0.093 3	0.058 9	0.058 0	0.496 0	0.113 3	0.060 5	1	1.088 0	0.130 2
1406010	0.109 2	0.086 2	0.051 9	0.594 8	0.117 9	0.031 3	1	1.321 0	0.137 7
1406012	0.085 3	0.057 0	0.044 9	0.542 7	0.135 7	0.023 8	1	1.417 0	0.105 7
1505001	0.104 4	0.066 7	0.044 1	0.403 8	0.065 7	0.019 7	1	0.831 0	0.131 1
1505002	0.167 1	0.152 3	0.142 6	0.590 3	0.083 0	0.035 9	1	1.184 0	0.190 3
1506003	0.078 1	0.074 8	0.041 3	0.362 6	0.073 5	0.024 8	1	0.698 6	0.149 4
1506004	0.106 4	0.064 0	0.057 3	0.480 6	0.122 0	0.036 5	1	1.160 0	0.143 5
1605001	0.138 8	0.078 7	0.093 0	0.476 2	0.120 2	0.113 8	1	1.097 0	0.150 0
1605002	0.053 6	0.034 4	0.043 7	0.274 3	0.095 6	0.037 9	1	0.597 1	0.114 1
1606003	0.214 3	0.165 9	0.184 0	0.525 0	0.176 2	0.090 2	1	0.731 4	0.147 2
1605004	0.066 7	0.047 7	0.035 9	0.285 4	0.048 7	0.023 6	1	0.499 5	0.141 9
1605006	0.044 7	0.031 0	0.014 0	0.357 3	0.088 9	0.068 5	1	1.023 0	0.125 2

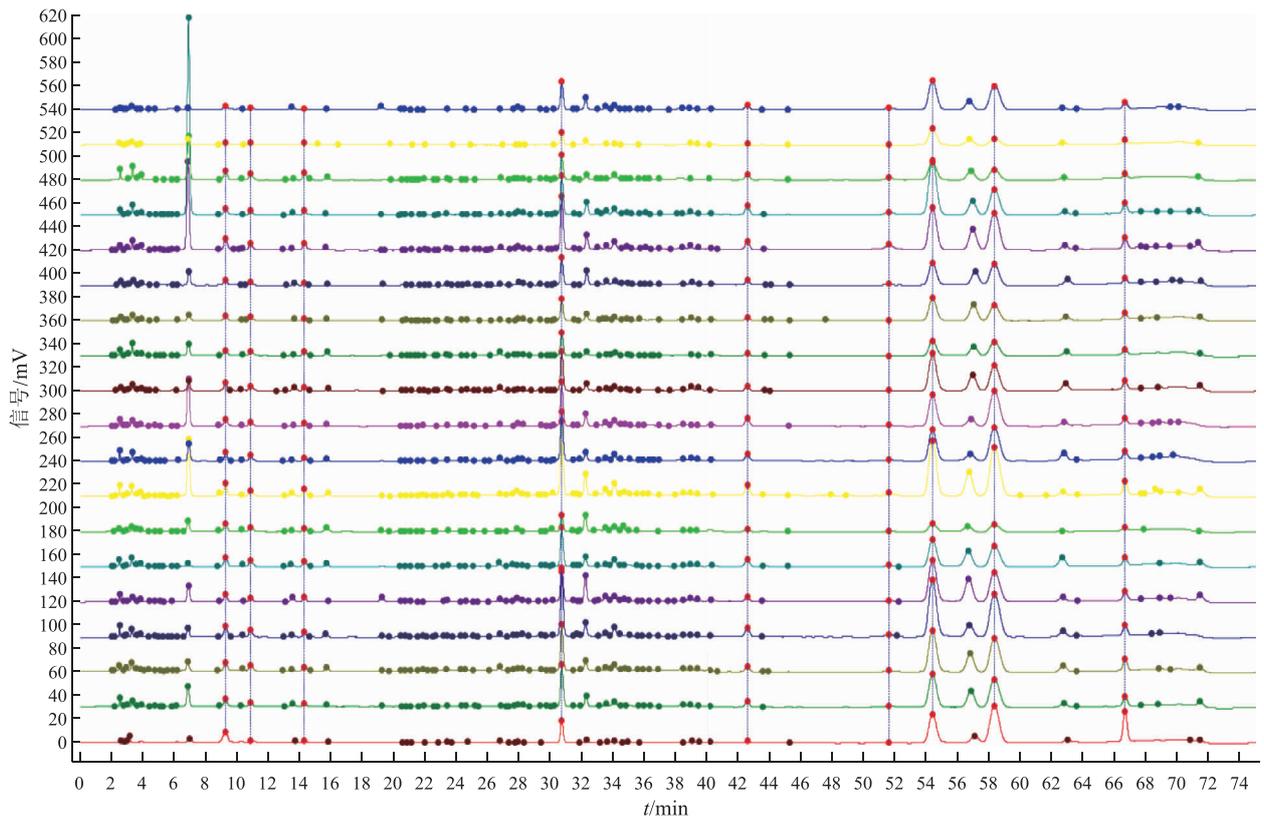


图5 Shimadzu 仪器 19 批药材匹配色谱图

表5 Shimadzu 仪器 19 批抱茎苦苣菜共有峰相对峰面积

批号	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1305001	0.078 0	0.033 9	0.031 2	0.292 1	0.136 7	0.095 0	1	0.843 2	0.138 0
1305002	0.105 3	0.042 1	0.047 3	0.376 4	0.116 8	0.061 1	1	0.890 4	0.171 0
1305003	0.100 5	0.045 8	0.049 6	0.347 8	0.086 1	0.059 6	1	0.846 4	0.160 0
1306010	0.095 4	0.044 1	0.044 7	0.360 8	0.097 8	0.045 8	1	0.843 4	0.091 9
1405001	0.095 3	0.034 2	0.050 3	0.252 0	0.074 5	0.037 5	1	0.786 6	0.116 7
1405002	0.157 2	0.075 5	0.092 1	0.405 4	0.173 4	0.042 8	1	0.793 5	0.161 9
1405003	0.339 0	0.128 6	0.149 4	0.466 9	0.209 3	0.132 1	1	0.799 8	0.085 4
1405004	0.139 1	0.046 6	0.064 5	0.411 9	0.120 7	0.049 9	1	0.921 9	0.130 3
1406010	0.097 2	0.060 0	0.052 2	0.445 9	0.132 6	0.045 1	1	1.065 0	0.114 8
1406012	0.095 4	0.035 9	0.041 9	0.390 2	0.162 0	0.058 0	1	1.091 0	0.095 2
1505001	0.093 6	0.045 7	0.053 3	0.302 3	0.081 5	0.034 8	1	0.691 4	0.128 2
1505002	0.156 3	0.092 5	0.133 1	0.394 7	0.097 1	0.030 6	1	0.914 6	0.169 8
1506003	0.086 9	0.051 5	0.045 3	0.273 2	0.077 3	0.028 2	1	0.701 5	0.135 0
1506004	0.106 1	0.053 3	0.056 4	0.368 1	0.140 0	0.059 8	1	0.965 4	0.137 1
1605001	0.134 4	0.056 8	0.082 8	0.316 4	0.100 2	0.054 9	1	0.685 0	0.164 0
1605002	0.079 7	0.028 0	0.046 3	0.235 7	0.103 6	0.042 4	1	0.520 7	0.112 0
1606003	0.307 2	0.163 2	0.236 7	0.533 6	0.194 6	0.059 0	1	0.651 0	0.115 9
1605004	0.070 9	0.048 8	0.041 2	0.228 9	0.058 8	0.014 1	1	0.413 1	0.144 2
1605006	0.056 3	0.028 2	0.021 8	0.335 0	0.093 3	0.025 0	1	0.982 1	0.128 6

2.10 小结

Agilent、Waters 和 Shimadzu 三台仪器中 19 批药材与对照指纹图谱的相似度见表 6。

表 6 各批次药材与对照指纹图谱相似度结果

批号	Agilent	Waters	Shimadzu
1305001	0.998 0	0.997 0	0.926 0
1305002	0.998 0	1.000 0	0.994 0
1305003	0.999 0	0.999 0	0.996 0
1306010	0.998 0	0.999 0	0.998 0
1405001	0.992 0	0.995 0	0.998 0
1405002	0.992 0	0.996 0	0.993 0
1405003	0.970 0	0.976 0	0.949 0
1405004	1.000 0	0.999 0	0.993 0
1406010	0.995 0	0.994 0	0.977 0
1406012	0.994 0	0.992 0	0.971 0
1505001	0.989 0	0.994 0	0.999 0
1505002	0.996 0	0.997 0	0.982 0
1506003	0.991 0	0.993 0	0.994 0
1506004	0.998 0	0.998 0	0.990 0
1605001	0.997 0	0.993 0	0.992 0
1605002	0.978 0	0.973 0	0.984 0
1606003	0.952 0	0.958 0	0.978 0
1605004	0.953 0	0.950 0	0.970 0
1605006	0.998 0	0.996 0	0.994 0
对照指纹图谱	1	1	1

可见经 Agilent、Waters 和 Shimadzu 仪器分析的各批次药材指纹图谱中均出现了与腺苷、木犀草素-7-O- β -D-葡萄糖醛酸苷以及菊苣酸三个参照色谱峰保留时间一致的色谱峰，并出现了 9 个共有峰，以 1(S)、2、3、4、5、6、7(S)、8(S)、9 号峰为标记，经中药色谱指纹图谱相似度评价系统软件计算，与对照指纹图谱相比较，相似度均大于 0.95。

3 讨论

本实验建立了抱茎苦苣菜的 HPLC 指纹图谱，综合抱茎苦苣菜中与药效相关的黄酮类、氨基酸类、有机酸类及核苷酸类成分的吸收波长，选择各类成分均有吸收的波长，最终确定检测波长为 260 nm；并进行了仪器精密性、方法重复性、样品稳定性以及仪器适用性验证，符合指纹图谱分析方法学要求。目前对于中药材指纹图谱的研究已经非常广泛，但针对不同仪器间的差异进行考察的还鲜有报道，但

众所周知不同仪器的检测结果会有一定差异，故本实验对来自天津蓟县、辽宁海城、河北玉田的 19 个批次药材在 Agilent、Waters 和 Shimadzu 三台仪器中进行指纹图谱检测，均出现了与腺苷、木犀草素-7-O- β -D-葡萄糖醛酸苷以及菊苣酸三个参照色谱峰保留时间一致的色谱峰，并指认了 9 个共有峰，经中药色谱指纹图谱相似度评价系统软件计算，与对照指纹图谱相比较，相似度均大于 0.95，说明所建立的对照指纹图谱可以用于不同仪器的抱茎苦苣菜指纹图谱分析检验，为该药材的质量鉴定及真伪鉴别奠定了基础，具有很强的实用价值。本实验中用到的三个产地的抱茎苦苣菜都是地道药材，故虽相似度有所差异但都符合要求，后期可用本实验建立的指纹图谱对其他地区的抱茎苦苣菜进行检测，作为其真伪鉴别的依据。

参考文献

- [1] 廖星,于丹丹,谢雁鸣,等. 碟脉灵苦碟子注射液上市后安全性监测:一项 30233 例真实世界注册登记研究[J]. 中国中药杂志,2017,42(15):2857-2863.
- [2] 戴锦娜,尹然,陈晓辉,等. 苦碟子化学成分和药理作用研究进展[J]. 西北药学杂志,2006,21(2):94-96.
- [3] 封锡志. 抱茎苦苣菜的化学成分和生物活性研究[D]. 沈阳:沈阳药科大学,2001.
- [4] Suh J,Jo Y,Kim N D, et al. Cytotoxic constituents of the leaves of Ixeris sonchifolia [J]. Arch Pharm Res,2002,25(3):289-292.
- [5] 吴晶晶,李天祥,李庆和,等. 抱茎苦苣菜化学成分和药理作用的研究进展[J]. 天津中医药,2015,32(4):247-252.
- [6] 王璐,丁家昱,刘秀秀,等. 附子中胺醇型二萜生物碱的鉴定及其强心活性研究[J]. 药学学报,2014,49(12):1699-1704.
- [7] 邓皓月,武媛媛,袁磊,等. 基于 UPLC-Q-TOF-MS 分析不同产地抱茎苦苣菜化学成分的差异[J]. 中国实验方剂学杂志,2016,22(17):37-42.
- [8] 涂兴明,吴涵,吴康郁,等. 中药指纹图谱的研究与应用[J]. 海峡医学,2016,28(5):1-3.
- [9] 杨玲,孙耀志,高松,等. 香薷水煎液 HPLC 指纹图谱[J]. 中国实验方剂学杂志,2017,23(24):96-99.
- [10] 杨健,蒋超,金艳,等. 密银花对照药材标定标准的研究[J]. 中国中药杂志,2017,42(19):3718-3722.
- [11] 邓哲,张凡,章军,等. 益母草饮片标准汤剂研究[J]. 中国中药杂志,2017,42(18):3523-3529.

(下转第 1109 页)

CH₃COOH 比色法,发现 NaNO₂-Al(NO₃)₃-NaOH 比色法在显色后样品稳定性较差,不适合作为人面果叶总黄酮含量的测定方法。在进行 AlCl₃-CH₃COONa/CH₃COOH 比色法研究过程中,分别比较了以芦丁和 Fukugetin 为对照品的显色情况,发现 Fukugetin 的最大吸收波长能更好地与供试品重合,且 Fukugetin 系从人面果叶中分离得到的双黄酮单体化合物,具有良好的降血糖作用,所以采用 Fukugetin 作为该法对照品,以提高方法的专属性。优化了 AlCl₃-CH₃COONa/CH₃COOH 比色法的显色条件,确立了人面果叶总黄酮含量测定方法,为后续人面果叶质量标准研究提供了依据。

参考文献

- [1] 林艳芳,依专,赵应红.中国傣医药彩色图谱[M].云南:云南民族出版社,2003:6.
- [2] Konoshima M, Ikeshiro Y, Miyahara S, et al. The constitution of biflavonoids from *Garcinia* plants[J]. Tetrahedron Lett. 1970, 48(11):4203-4206.
- [3] Baslas R K, Kumar P. Chemical examinaion of the fruits of *Garcinia xanthochymus*[J]. Curr Sci, 1979, 48:814-815.
- [4] Baslas R K, Kumar P. Isolation and characterisation of biflavanone and xanthenes in the fruits of *Garcinia xanthochymus*[J]. Acta Ciencia Indica, 1981, 7(5):31-34.
- [5] Singh M P, Parveen N, Khan N, et al. Constituents of *Garcinia xanthochymus*[J]. Fitoterapia, 1991, 62:286-289.
- [6] Chanmahasathien W, Li Y S, Satake M, et al. Prenylated xanthenes with NGF-potentiating activity from *Garcinia xanthochymus*[J]. Phytochemistry, 2003, 64(5):981-986.
- [7] Chanmahasathien W, Li Y S, Satake M, et al. Prenylated Xanthenes from *Garcinia xanthochymus*[J]. Chem. Pharm. Bull, 2003, 51(11):1332-1334.
- [8] Han Q B, Qiao C F, Song J Z, et al. Cytotoxic prenylated phenolic compounds from the twig bark of *Garcinia xanthochymus*[J]. Chem. & Biodivers, 2007, 4(5):940-946.
- [9] 刘流,李芸芳,甘飞,等.人面果叶的化学成分研究[J].中国中药杂志,2016,41(11):2098-2104.
- [10] 付蒙,胡鑫,徐婧,等.人面果叶、根部、果实提取物体外抗糖尿病活性成分研究[J].天然产物研究与开发, 2014, 26(2):255-259.
- [11] Li Y F, Chen Y, Xiao C Y, et al. Rapid screening and identification Of α -amylase inhibitors from *Garcinia xanthochymus* using enzyme-immobilized magnetic nanoparticles coupled with HPLC and MS[J]. J. Chromatogr. B, 2014, 960:166-173.
- [12] Li Y F, Xu J, Chen Y, et al. Screening of inhibitors of glycogen synthase kinase-3 β From traditional Chinese Medicines using enzyme-immobilized magnetic beads combined with high-performance liquid chromatography[J]. J. Chromatogr. A, 2015, 1425:8-16.
- [13] 郑健,陈焕文,刘宏伟,等.紫外可见分光光度法在药物分析中的应用[J].分析科学学报, 2002, 18(2):158-163.
- [14] 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,2015:396-397.
- [15] 迟玉新,窦德强.楮实子与构树叶中总黄酮含量测定[J].中国现代中药,2008,10(11):16-17.

(收稿日期 2018-03-14)

(上接第 1104 页)

- [12] 肖娟,蔡萍,万丹,张水寒.不同粉体二妙丸 HPLC 指纹图谱对比研究[J].中国现代中药,2015,17(12):1331-1335.
- [13] 康馨元,刘睿,李春楠,等.山羊角药材的 HPLC 指纹图谱研究[J].中国现代中药,2015,17(5):453-457.
- [14] 李光,陈曦,李宜航,等.不同产地肾茶 HPLC 指纹图谱研究[J].中国现代中药,2013,15(6):448-451.
- [15] 宋健,王颖,石俊英.山东地产药材桔梗的 HPLC 指纹图谱研究[J].中国现代中药,2011,13(9):21-23.
- [16] 国家药典委员会.中华人民共和国卫生部药品标准:蒙药分册[M].1998:25.

(收稿日期 2018-02-02)