

4.1 通过一系列对大黄粉碎度、不同提取溶剂、提取方法(包括超声、索氏提取)等方面的考察以及结合有关文献确定了以上供试品的制备方法。

4.2 采用DAD对最佳检测波长进行了比较研究,确立280 nm为最佳检测波长^[1]。

4.3 目前虽有文献报道有关大黄药材的指纹图谱的研究,但对于其指纹谱特征峰的辨认采用的方法有待商榷^[2],按本方法不仅能将大黄中的成分较好的分离,对指纹谱特征峰的辨认也采用了新的分析系统,能较好的体现图谱间的相似性,可以为药材质量的分析与控制提供可靠的依据。按照国家药典委员会关于“中药注射剂指纹图谱研究的技术要求(暂行)的通知”,以HPLC梯度洗脱法对大黄原药材进行了指纹图谱研究,实验证明,该方法可操作性强、重现性好,可作为大黄药材及含大黄主成分制剂指纹图谱研究的基础。

4.4 以线性梯度洗脱法进行检测得到的液相色谱图,可作为大黄原药材及其制剂的指纹图谱,该方法对注射剂(TY719注射液)可直接取样配制,中间

环节少、操作过程引入的误差较小^[3]。

4.5 按本方法建立的共有模式提示不仅对同品种不同产地的大黄样品,也可对不同品种的大黄样品乃至大黄伪品如河套大黄和土大黄进行相似度计算,可反映其内在质量,从而鉴别。

4.6 从药材整体色谱图入手,选取特征峰,并大致判断其峰位和比例关系,构成该药材特有的色谱指纹图谱全貌,本文模拟的共有模式比以单一化学对照品作为鉴别标准更全面,能提供更多质控的信息。对提高中药质控科技含量具有重要的现实意义。

致谢:浙江大学程翼宇教授、范晓辉博士提供指纹图谱相似度计算软件。

References:

- [1] Liu J, Wang Y H, Fu C X. Studies on determine ginsenosides using HPLC-photosensitive diode array method [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1998, 29(4): 228.
- [2] Hong X K, Wang Z H, Li X. HPLC-relatively retain fingerprint chromatography distinguishes the rhubarb [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 1993, 18(11): 650-652.
- [3] Yan Y Z, Lin Q L, Xie P S. Studies on thin layer fingerprinting chromatography of *Coptis chinensis* [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 1993, 18(6): 329-331.

黄芪质量的化学模式识别研究

马英丽¹, 赵怀清², 田振坤¹, 王学娅², 曲 燕², 崔洪斌^{3*}

(1. 黑龙江中医药大学药学院, 黑龙江 哈尔滨 150040; 2. 沈阳药科大学药学院, 辽宁 沈阳 110016; 3. 哈尔滨医科大学公共卫生学院, 黑龙江 哈尔滨 150010)

摘要:目的 建立黄芪质量评价的化学模式识别方法。方法 用甲醇回流提取黄芪中皂苷类成分,以氯仿-甲醇水(65:30:10)为展开剂,采用双波长薄层扫描法,在 $\lambda_s=390\text{ nm}$, $\lambda_R=590\text{ nm}$ 下,对18个产地的黄芪样品进行了定量分析,以黄芪甲苷为指标成分,用系统聚类分析对其进行了化学模式识别研究。结果 蒙古黄芪和膜荚黄芪中的黄芪甲苷含量较高,这与《中华人民共和国药典》2000年版将蒙古黄芪和膜荚黄芪列为正品相一致。结论 此方法可用于黄芪质量评价。

关键词:黄芪;黄芪甲苷;薄层扫描;化学模式识别

中图分类号:R282.4 文献标识码:A 文章编号:0253-2670(2003)05-0460-03

Studies on chemical pattern recognition of quality assessment of *Radix Astragali*

MA Ying-li¹, ZHAO Hua-qing², TIAN Zhen-kun¹, WANG Xue-ya², QU Yan², CUI Hong-bin³

(1. School of Pharmacy, Heilongjiang University of TCM, Harbin 150040, China; 2. School of Pharmacy, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China; 3. College of Public Health, Harbin University of Medical Science, Harbin 150010, China)

Abstract: Object To establish a method for chemical pattern recognition on the quality assessment of *Radix Astragali*. **Methods** The contents of astragaloside in 18 samples of *Astragalus* Linn. in different

* 收稿日期:2002-12-12

基金项目:黑龙江省自然科学基金项目(B9803)

作者简介:马英丽(1954-),女,哈尔滨人,黑龙江中医药大学药学院教授、博士生导师,主要从事中药有效成分与质量评价方法研究。

Tel: (0451) 2114402 E-mail: MYLT666@163.net

species and origins were determined by dual-wavelength TLCS method. The developing solvent was CHCl_3 -MeOH-H₂O (65:30:10), the UV detection was set at $\lambda_s=390\text{ nm}$; $\lambda_R=590\text{ nm}$. Astragaloside was regarded as the quality assurance of medicinal *Radix Astragalus*. Based on the TLCS method, the chemical data were obtained. Hierarchical clustering analyses were applied to the chemical pattern recognition. **Results** The content of astragaloside in *Astragalus mongholicus* (Bge.) Hsiao and *A. membranaceus* (Fisch.) Bge. was relatively higher than that in the other samples. This is consistent with the Pharmacopoeia of the People's Republic of China in which the two sorts of *Astragalus* Linn. were regarded as goods. **Conclusion** This method is a practicable in the quality assessment of *Radix Astragali*.

Key words: *Radix Astragali*; astragaloside; TLCS; chemical pattern recognition

中药的质量评价一直是中药研究与应用的难点和重点问题,如何有效地评价中药的质量,如何保证中药的疗效是一个迫切需要解决的问题。我国传统中药及制剂由于缺乏科学、先进、可行的质量标准,难以有效地控制内在质量,既不能满足人民卫生保健的需要,也不符合国际医药市场的要求。只有对中药材进行科学地质量控制,才能更好地保证中药饮片和成药的质量,实现中药的安全、有效、稳定、可控,为中药走向世界奠定良好的基础^[1,2]。

近十年来,模式识别方法已逐渐深入地应用于中药品质评价,划分中药材质量等级,鉴别真伪、优劣等。至今,有众多文献报道,化学模式识别方法已经成为该领域卓有成效的方法^[3-5]。本实验利用薄层扫描法对不同产地的黄芪进行了定量分析,以黄芪甲苷为指标成分获得了化学数据,并以聚类分析对其进行了化学模式识别研究,结果令人满意。

1 仪器与试剂

CS-930 薄层扫描仪(日本岛津公司),黄芪甲苷对照品(中国药品生物制品检定所),硅胶 HF₂₅₄(青岛海洋化工厂);甲醇、氯仿均为分析纯(山东省禹王实业总公司化工厂),蒸馏水(本校自制),黄芪药材购自全国各地,由沈阳药科大学生药教研室鉴定。

2 方法与结果

2.1 薄层色谱条件:展开剂:氯仿-甲醇水(65:30:10);显色剂:5%的硫酸乙醇溶液;薄层板:硅胶 HF₂₅₄20 g,加入 60 mL 0.3% CMG-Na 溶液,研匀,手动涂铺 5 cm × 20 cm 板 8 块,自然干燥后,备用;仪器参数: $\lambda_s=390\text{ nm}$, $\lambda_R=590\text{ nm}$,反射锯齿扫描。

2.2 线性范围考察:精密称取黄芪甲苷对照品约 10 mg,溶于 50 mL 的无水甲醇溶液中,充分溶解。分别吸取 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 5.0, 10.0 μL 点于同一块薄层板上,用氯仿-甲醇水(65:30:10)展开剂展开,挥去展开剂,喷 5% H₂SO₄ 显色剂,晾干,105 °C 显色,在薄层扫描仪上扫描,记录对应的峰面积值。

以黄芪甲苷的峰面积值为纵坐标,黄芪甲苷的点样量为横坐标绘制标准曲线,结果表明,黄芪甲苷在 0.1~2 μg 线性关系良好,回归方程为 $Y=3.566 \times 10^3 X - 78.002$, $r=0.9989$ 。

2.3 精密密度试验:精密吸取内蒙古样品溶液 6 μL ,于同一块薄层板上点 6 个点,用以上的展开剂展开、显色、扫描,其黄芪甲苷峰面积的 $RSD=4.40\%$ 。

2.4 重现性实验:精密称定同一批样品按样品溶液制备方法分别制备 5 份供试品溶液,分别测定。结果黄芪甲苷含量的 RSD 为 2.36%,重现性良好。

2.5 稳定性试验:精密吸取内蒙古样品溶液 6 μL ,点于一块薄层板上,用以上的展开剂展开、显色,每间隔 0.5 h 扫描,取 3 h 内的测定结果($n=12$),计算峰面积值的相对偏差,其中 0~1.5 h 的 $RSD=3.5\%$,因此薄层显色后,1.5 h 内测定,其结果较稳定。

2.6 回收率试验:精密称取已知含量的内蒙古黄芪粉末 3.018 0 g,准确加入黄芪甲苷对照品溶液(0.132 mg/mL) 20 mL,同含量测定方法操作,测得回收率为 98.38%, $RSD=1.86\%$ ($n=9$)。

2.7 样品含量测定:精密称取黄芪样品粉末(过 60 目) 7 g,置索氏提取器中,加入甲醇 80 mL,于 80 °C 水浴回流提取 4 h,减压回收甲醇,残渣用 20 mL 水溶解,继续加入 10% NaOH 溶液 15 mL 摇匀,再用水饱和的正丁醇溶液 20 mL 萃取 2 次,旋转蒸发回收正丁醇,残渣用无水甲醇充分溶解后定容至 10 mL 的容量瓶中,作为供试品溶液。

精密吸取供试品溶液 6 μL 及黄芪甲苷对照品溶液 2 和 0.5 μL 点在同一块薄层板上,用氯仿-甲醇水(65:30:10)作为展开剂展开,待展开到一定距离,取出薄层板,记录前沿距离,挥去展开剂,用 5% 的硫酸乙醇溶液显色,待显色剂挥干后,将薄层板放在 105 °C 的烘箱中显色 5~10 min,在薄层板上再盖一块玻璃板封严, $\lambda_s=390\text{ nm}$, $\lambda_R=590\text{ nm}$ 下扫

描,记录每一个扫描图谱,利用外标两点法测定黄芪甲苷的含量,结果见表 1。

表 1 不同地区黄芪中黄芪甲苷的含量(n=3)

Table 1 Content of astragaloside of *Astragalus* Linn. from different habitats (n=3)

样号	地区	含量/(mg·100g ⁻¹)	RSD/%
1	哈尔滨(蒙古黄芪)	159.60	2.24
2	长春市医院	59.50	3.45
3	吉林二道江	19.23	2.67
4	长春市人民药店	58.16	4.13
5	河北	41.39	2.64
6	山西	106.06	4.54
7	内蒙包头	39.86	1.01
8	黑龙江五大连池	47.47	5.59
9	大兴安岭	63.80	2.72
10	吉林四平	105.79	1.32
11	黑龙江呼兰	106.18	4.15
12	河北	52.63	2.01
13	山东	58.48	4.07
14	安徽亳州	33.10	2.09
15	甘肃陇西	153.70	2.06
16	四川阿坝	9.14	1.22
17	内蒙赤峰	107.96	3.89
18	河南	137.70	1.30

2.8 聚类分析结果:本实验对所测的化学数据进行标准化处理,选用中位数法(median clustering)进行聚类,用余弦法(cosine)计算样品间相似性程度,聚类分析结果见图 1。

3 讨论

本实验对黄芪中黄芪皂苷类成分黄芪甲苷进行了提取分离,并以黄芪甲苷为指标成分,采用双波长薄层扫描法,建立了黄芪甲苷的含量测定方法。结果表明,此法简便易行,可用于药材中该成分的定量分析方法。

本实验用系统聚类分析方法对 18 个产地的黄芪样品进行了化学模式识别研究,建立了只通过 TLC 分析即对黄芪质量作出评价的模型。系统聚类分析将样品分为 3 类,根据传统中药生态学鉴定的结果,将黄芪质量分为较好、一般和较差。由聚类结

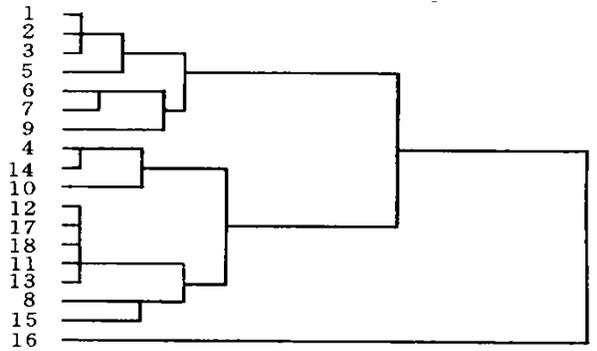


图 1 聚类分析树状图

Fig 1 Dendric drawing of clustering analysis

果看出,大多数产地的黄芪被聚为 1 类或 2 类,即质量较好或一般。结果表明,蒙古黄芪和膜荚黄芪被列为优等品,该结果与《中华人民共和国药典》2000 年版将蒙古黄芪和膜荚黄芪列入正品相一致。

本研究在传统中药生药学鉴定的基础上,以整体化学成分信息为依据,采用化学模式识别方法建立了中药材黄芪的质量评价方法。该方法在一定程度上反应了黄芪质量的优劣,如果结合药理实验对其药效进行验证,则黄芪的化学模式识别研究会更加完善和科学。

References:

- [1] Xiao P G, Xiao X H. The 21th Century and modernization of Chinese materia medica [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2000, 25(2): 67-70.
- [2] Zhang L. A superficial review on the mind of reformation standardization and industrialization of traditional Chinese medicine [J]. *Chin J Inf Tradit Chin Med* (中国中医药信息杂志), 1999, 6(9): 9-10.
- [3] Bi K S, Luo X, Wang X, et al. Quality assessment of ginseng by chemical fuzzy pattern recognition [J]. *Acta Pharm Sin* (药学学报), 1992, 27(1): 48-51.
- [4] Wei M J, Luo X, Wang X, et al. Study of chemical pattern recognition as applied to quality assessment of the traditional Chinese medicine "Wei Ling Xian" [J]. *Acta Pharm Sin* (药学学报), 1991, 26(10): 772-776.
- [5] Lang Y Z, Gong F, Yu R Q, et al. Application of chemical doseology in studies on traditional Chinese medicine [J]. *Prog Chem* (化学进展), 1999, 11(2): 208-212.

美国 ALPHA 实验室认可
美中国际合作中国企业

葡萄籽提取物

(原花青素 ≥95%)

专业生产厂家

电话: 0086-022-26721040; 26723305; 26737125 传真: 0086-022-26721041

网址: <http://www.jf-natural.com>

Tianjin Jianfeng Natural Product R & D Co., Ltd

天津尖峰天然产物公司

天津北辰科技园科园路