

败酱草指纹图谱研究

刘素香^{1,4}, 刘毅^{1,4}, 白雪¹, 余一鸣², 李翔宇³, 毕胜³, 张铁军^{1,4*}

1. 天津药物研究院, 天津 300193

2. 天津中医药大学, 天津 300193

3. 安徽济人药业有限公司, 安徽 亳州 236800

4. 中药现代制剂与质量控制技术国家地方联合工程实验室(天津), 天津 300193

摘要: **目的** 建立败酱草的 HPLC 指纹图谱。**方法** 采用 Orca C₁₈ 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 检测波长 230 nm; 柱温 35 °C。体积流量 1 mL/min, 以乙腈-0.05%磷酸溶液系统进行梯度洗脱, 测定了败酱草药材的 HPLC 指纹图谱。**结果** 在选定的色谱条件下, 得到败酱草的 HPLC 指纹图谱, 标定出 8 个共有峰, 且方法学考察符合规定。聚类分析表明, I 类药材 BJ1、BJ2、BJ3、BJ4、BJ5、BJ6、BJ7、BJ8、BJ9、BJ10、BJ13、BJ14 各批败酱草药材与对照指纹图谱间的相似度为 0.987~0.907, 表明各批次药材之间具有较好的一致性; II 类药材 BJ11、BJ12、BJ15 批败酱草药材与对照指纹图谱的差异较大。**结论** 该方法准确可靠、简便快捷, 可作为评价不同产地、不同品种的败酱草药材质量的有效手段。

关键词: 败酱草; 黄花败酱; 指纹图谱; HPLC; 聚类分析; 疏风解毒胶囊

中图分类号: R286.6 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2016)12-2074-04

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2016.12.009

Studies on fingerprint of *Patriniae Herba*

LIU Su-xiang^{1,4}, LIU Yi^{1,4}, BAI Xue¹, SHE Yi-ming², LI Xiang-yu³, BI Sheng³, ZHANG Tie-jun^{1,4}

1. Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300193, China

2. Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China

3. Anhui Jiren Pharmaceutical Co., Ltd., Bozhou 236800, China

4. National & Local United Engineering Laboratory of Modern Preparation and Quality Control Technology of Traditional Chinese Medicine (Tianjin), Tianjin 300193, China

Abstract: **Objective** To establish the HPLC fingerprint of herbs of *Patriniae Herba*. **Methods** The fingerprints of *Patriniae Herba* were built using Orca C₁₈ column and acetonitrile-0.05%phosphoric acid as mobile phase. The flow rate was 1.0 mL/min. The detecting wavelength was set at 230 nm. The temperature of column was at 35°C. **Results** Under the selected spectrum conditions, HPLC fingerprint of herbs of *Patriniae Herba* was established, and eight public peaks were shown in the HPLC fingerprint. The methodological study met the required standards. Cluster analysis showed that class I medical BJ1, BJ2, BJ3, BJ4, BJ5, BJ6, BJ7, BJ8, BJ9, both, BJ13, BJ14 each batch *Patriniae Herba* and control the similarity between fingerprints was 0.987—0.907, indicating that there are good consistency between batches of medicinal materials; class II medical BJ11, BJ12, and BJ15 group of *Patriniae Herba* and control fingerprint differences larger. **Conclusion** The method is accurate and reliable, simple and efficient, and can be used as the evaluation of *Patriniae Herba* from different origins and with different varieties.

Key words: *Patriniae Herba*; *Patrinia scabiosaefolia* Fisch.; fingerprint; HPLC; cluster analysis; Shufeng Jiedu Capsule

败酱草为一种传统中药, 古籍考证出自《神农本草经》, 《中国药典》1977 年版收载败酱草为败酱科植物黄花败酱 *Patrinia scabiosaefolia* Fisch. 或白花败酱 *Patrinia villosa* Juss. 的干燥全草^[1], 其性微寒, 味苦、辛, 归肺、大肠、肝经, 具有清热解毒、排脓破瘀之功效。近年来国内外学者对黄花败酱的化学成分进行了大量研究, 据文献报道^[2-4]黄花败酱

主要成分为三萜皂苷类化合物, 其次为环烯醚萜类、香豆素类和黄酮类化合物, 此外也含有少量挥发油和有机酸等, 其中以三萜皂苷和黄酮类为其主要活性成分。现代研究证明败酱草具有镇静、抗菌、抗病毒、抗肿瘤等多方面的药理作用, 临床上用于治疗流行性腮腺炎、鼻窦炎、慢性盆腔炎及阑尾脓肿和结肠炎等。

收稿日期: 2016-03-24

作者简介: 刘素香 (1963—), 女, 副研究员, 主要从事中药新药以及中药已上市产品的二次开发研究。E-mail: liusx@tjipr.com

*通信作者 张铁军 Tel: (022)23006848 E-mail: tiezhang4@sina.com

疏风解毒胶囊是由虎杖、连翘、败酱草等药味组成，临床上用于治疗小儿急性上呼吸道感染^[5]，处方中败酱草的基原植物为败酱科植物黄花败酱的干燥全草，其药材的质量对于产品的质量及稳定性至关重要。现行的败酱草标准，仅规定了药材的性状、显微鉴别、理化鉴别、水分、总灰分检查等项目，较为简单。毛红梅等^[6]和刘海涛等^[7]采用 HPLC 同时测定败酱草中常春藤皂苷元、齐墩果酸和熊果酸的量以及同时测定败酱草中原儿茶酸、绿原酸及咖啡酸的量，也有以败酱草理化鉴别、薄层色谱鉴别和总皂苷的测定建立败酱草的质量标准，但所测定成分非败酱草的独有成分，理化鉴别的颜色反应专属性差，紫外方法测定总皂苷量代表性不强。

本实验利用 HPLC 法建立了败酱草药材的指纹图谱，分别对不同批次的败酱草的指纹图谱进行了测定，并通过聚类分析，为败酱草的全面评价提供依据。

1 仪器及材料

Agilent1100 高效液相色谱仪，电热恒温水浴锅（江苏省医疗器械厂），Mettler Toledo PB303-N 电子天平，Mettler Toledo AB204-N 电子天平（瑞士 Mettler Toledo 公司）。甲醇和乙腈（色谱纯，天津市康科德科技有限公司），磷酸（分析纯，天津市化学试剂三厂），娃哈哈纯净水。

败酱草药材由安徽济人药业有限公司提供，具体信息见表 1，经天津药物研究院张铁军研究员鉴定为黄花败酱 *Patrinia scabiossefolia* Fisch. 的干燥全草。

表 1 败酱草药材来源

Table 1 Sources of *Patriniae Herba*

编号	批号	产地	来源
BJ1	130301	湖北	安徽济人药业有限公司
BJ2	130801	湖北	安徽济人药业有限公司
BJ3	130501	湖北	安徽济人药业有限公司
BJ4	140401	湖北	安徽济人药业有限公司
BJ5	131001	湖北	安徽济人药业有限公司
BJ6	140201	湖北	安徽济人药业有限公司
BJ7	131201	湖北	安徽济人药业有限公司
BJ8	130701	湖北	安徽济人药业有限公司
BJ9	140301	湖北	安徽济人药业有限公司
BJ10	130401	湖北	安徽济人药业有限公司
BJ11	130901	湖北	安徽济人药业有限公司
BJ12	140101	湖北	安徽济人药业有限公司
BJ13	131101	湖北	安徽济人药业有限公司
BJ14	140513	湖北	安徽济人药业有限公司
BJ15	130601	湖北	安徽济人药业有限公司

2 方法

2.1 HPLC 色谱条件

色谱柱：Orca C₁₈ 柱（250 mm×4.6 mm，5 μm）；检测波长 230 nm；柱温 35 °C。体积流量 1 mL/min；流动相为乙腈（A）-0.05%磷酸水溶液（B）；梯度洗脱，0~7 min，0~7% A，7~17 min，7%~14% A，17~60 min，14%~35% A，60~70 min，35%~45% A，70~75 min，45%~80% A；进样量为 10 μL。

2.2 供试品溶液的制备

取败酱草药材粉碎过 40 目筛，取粉末约 1 g，精密称定，加入 70%甲醇 25 mL，置锥形瓶中，密塞，称定质量，回流提取 45 min，冷却至室温，再称定质量，用 70%甲醇补足减失的质量，摇匀滤过，取续滤液，即得。

2.3 方法学考察

2.3.1 精密度试验 按“2.2”项下的方法制备供试品溶液，在“2.1”项色谱条件下测定，连续进样 6 次，测定 HPLC 色谱图，以 3 号峰的保留时间和色谱峰面积为参照，计算出各色谱峰的相对保留时间和相对峰面积，其 RSD 值均小于 5%，符合指纹图谱的要求和规定。

2.3.2 稳定性试验 按“2.2”项下的方法制备供试品溶液，密闭，放置于室温，分别在 0、3、6、9、12、24 h 测定指纹图谱，以 3 号峰的保留时间和色谱峰面积为参照，计算出各色谱峰的相对保留时间和相对峰面积，其 RSD 值均小于 5%，符合指纹图谱的要求。本供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.3.3 重复性试验 取败酱草药材粉末约 1 g，按“2.2”项下的方法制备供试品溶液，制备 6 份，按法测定，记录色谱图，以 3 号峰的保留时间和色谱峰面积为参照，计算出各色谱峰的相对保留时间和相对峰面积，其 RSD 值均小于 5%，符合指纹图谱的要求。

2.4 结果与分析

2.4.1 对照药材指纹图谱的生成 取 15 批败酱草药材进行指纹图谱测定，将 15 批药材的指纹图谱数据导入《中药色谱指纹图谱相似度评价系统》中，以表 2 中色谱峰较多，峰面积大小适中的 BJ1 号败酱草药材的指纹图谱为参照图谱，采用多样本平均数矢量综合作为共有模式矢量，时间宽度设定为 0.10，多点校正后，确定了 8 个主要的色谱特征峰为共有峰。选取峰面积较大、出峰时间适中且稳定的 3 号峰作为参照峰（S），计算各色谱峰相对峰面

积。数据见表 2，15 批药材的指纹图谱见图 1。根据对 15 批败酱草药材的聚类分析结果，从中选取属于 I 类的 12 批药材的色谱图生成对照指纹图谱，见图 2。

2.4.2 聚类分析 将各色谱峰占总色谱峰的峰面积量化，得到 15×8 阶原始数据矩阵，运用 SPSS 软件对其进行聚类分析。聚类分析将 15 个败酱草样品分为 2 大类，可判定败酱草内在质量具有差异性。

表 2 15 批败酱草药材指纹图谱测定结果

Table 2 Fingerprint results of 15 batches of *Patriniae Herba*

样品	相对峰面积							
	1	2	3 (S)	4	5	6	7	8
BJ1	0.14	0.36	1.00	0.17	0.21	0.73	0.09	0.35
BJ2	0.35	1.22	1.00	0.39	0.56	1.03	0.34	0.43
BJ3	1.28	0.70	1.00	0.35	1.21	2.15	0.93	1.12
BJ4	0.89	0.67	1.00	0.29	0.78	1.16	0.61	0.45
BJ5	0.48	0.28	1.00	0.09	0.58	0.91	0.42	0.42
BJ6	0.74	0.72	1.00	0.15	0.95	1.58	0.76	0.88
BJ7	0.10	0.09	1.00	0.05	0.24	0.74	0.14	0.38
BJ8	0.27	0.96	1.00	0.55	0.91	1.77	0.71	0.72
BJ9	0.21	0.59	1.00	0.34	0.69	0.95	0.38	0.36
BJ10	0.09	0.30	1.00	0.17	0.33	0.57	0.38	0.19
BJ11	1.68	0.34	1.00	0.12	1.18	0.79	2.54	0.43
BJ12	0.40	0.07	1.00	0.07	0.29	0.37	0.57	0.16
BJ13	0.30	0.60	1.00	0.25	0.54	0.87	0.51	0.32
BJ14	0.66	0.96	1.00	0.32	0.80	1.65	1.30	0.66
BJ15	1.07	0.28	1.00	0.10	0.29	0.86	0.29	0.05

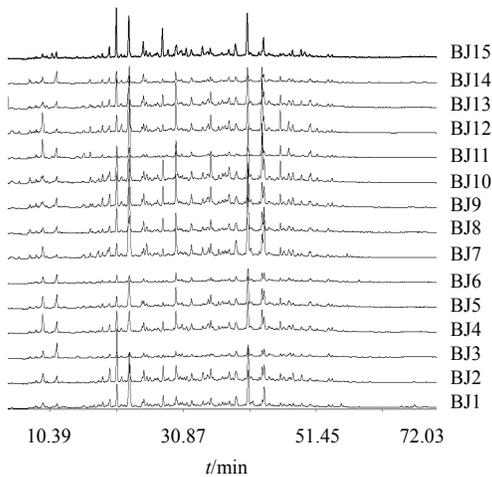


图 1 15 批败酱草药材 HPLC 指纹图谱

Fig. 1 HPLC fingerprints of 15 batches of *Patriniae Herba*

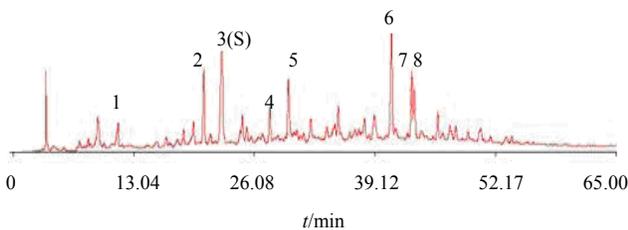


图 2 败酱草药材 HPLC 对照指纹图谱

Fig. 2 Control fingerprint of *Patriniae Herba*

聚类分析图见图 3。其中，样品号为 BJ1、BJ2、BJ3、BJ4、BJ5、BJ6、BJ7、BJ8、BJ9、BJ10、BJ13、BJ14 的样品属于 I 类，样品号为 BJ11、BJ12、BJ15 的样品属于 II 类。

2.4.3 相似度分析 利用《中药色谱指纹图谱相似度评价系统》对上述 15 批样品与对照指纹图谱进行

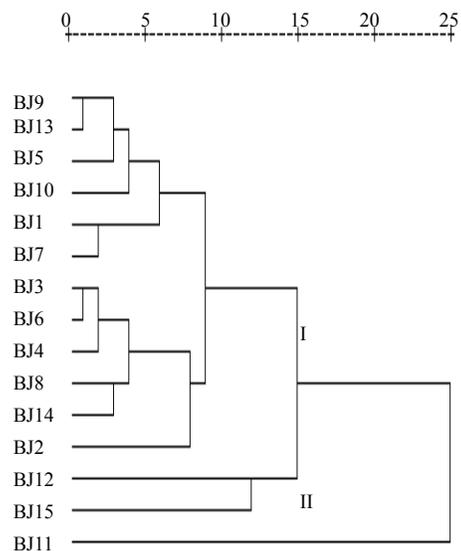


图 3 败酱草药材聚类分析图

Fig. 3 Cluster analysis of 15 batches of *Patriniae Herba*

匹配, 进行相似度评价, 结果见表 3。结果表明 I 类药材 BJ1、BJ2、BJ3、BJ4、BJ5、BJ6、BJ7、BJ8、BJ9、BJ10、BJ13、BJ14 各批败酱草药材与对照指纹图谱间的相似度为 0.987~0.907, 表明各批次药材之间具有较好的一致性; II 类药材 BJ11、BJ12、BJ15 批败酱草药材与对照指纹图谱的差异较大。

表 3 败酱草药材相似度评价

Table 3 Fingerprint similarity of *Patriniae Herba*

批号	相似度	批号	相似度
BJ1	0.926	BJ9	0.987
BJ2	0.945	BJ10	0.945
BJ3	0.907	BJ11	0.674
BJ4	0.958	BJ12	0.878
BJ5	0.970	BJ13	0.984
BJ6	0.951	BJ14	0.924
BJ7	0.907	BJ15	0.570
BJ8	0.958		

本研究中相似度评价结果表明药材败酱草的 HPLC 色谱图很相似, 通过聚类分析可以看到不同批次的败酱草在主要分量上有一定差别, 并根据这种差别可以将其分为 2 大类。

3 讨论

采用二极管阵列检测器分析比较各波长下的色谱图中特征峰, 确定在 230 nm 下, 色谱峰较多, 各峰分离良好, 且峰型较好; 考察提取条件和方式, 确定了样品的处理方法。通过研究, 建立了败酱草

药材标准指纹图谱, 标记了其中 8 个主要色谱峰。测定了 15 批次的败酱草样品, 由败酱草相似度评价结果可以看出, 各批败酱草与对照指纹图谱间的相似度值存在较大的差异, 可能受品种、生长环境、生长时间、采收时间等因素的影响。本实验对败酱草药材 HPLC 指纹图谱的构建进行了研究, 可用于疏风解毒胶囊的原材料败酱草药材的质量控制。本研究建立的败酱草指纹图谱方法, 具有准确可靠、重复性好、特征性强、方法简便等特点, 对败酱草药材的质量评价具有重要的意义。

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 1977.
- [2] 李延芳, 楼凤昌, 唐于平, 等. 败酱属植物的研究概况 [J]. 天然产物研究与开发, 2001, 13(3): 71-75.
- [3] 姜泓, 初正云, 王虹霞, 等. 黄花败酱化学成分 [J]. 中草药, 2003, 34(11): 978-980.
- [4] 李延芳, 李明慧, 楼凤昌, 等. 黄花败酱的化学成分研究 [J]. 中国药科大学学报, 2002, 33(2): 101-103.
- [5] 湖南省中药材标准 [S]. 1993.
- [6] 毛红梅, 平欲晖, 宗星星, 等. HPLC 同时测定败酱草中常春藤皂苷元、齐墩果酸和熊果酸的含量 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(15): 89-92.
- [7] 刘海涛, 雷鹏, 刘英慧, 等. 双波长 HPLC 法同时测定败酱草中原儿茶酸、绿原酸及咖啡酸的含量 [J]. 药物分析杂志, 2013, 33(4): 611-615.