

## 基于传统煎药工艺的黄芪药材 HPLC 指纹图谱及化学计量学质量评价研究

张倩<sup>1</sup>, 杨怀瑾<sup>2</sup>, 周悦<sup>1</sup>, 余亦婷<sup>1</sup>, 庄欣雅<sup>1</sup>, 毛春芹<sup>1</sup>, 谢辉<sup>1</sup>, 李林<sup>1</sup>, 陆兔林<sup>1</sup>, 严国俊<sup>1\*</sup>

1. 南京中医药大学药学院, 江苏 南京 210023

2. 南京市莫愁中等专业学校, 江苏 南京 210017

**摘要:** 目的 基于传统煎药工艺建立不同产地黄芪的 HPLC 指纹图谱, 用于黄芪药材质量的评价。方法 采用中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2004A版)对 15 批不同产地的黄芪药材的 HPLC 指纹图谱进行相似度评价, 并使用 SPSS22.0 软件进行聚类分析和主成分分析。结果 选取了 12 个色谱峰作为指纹图谱共有峰, 15 批样品的相似度计算结果均大于 0.990, 说明各产地黄芪药材具有较好的一致性; 通过聚类分析可将 15 批样品聚为 4 类; 主成分分析采用 3 个主成分对黄芪药材进行综合评价, 综合得分结果显示, 甘肃民乐县所产批号为 HQ-18001 (S1)、HQ-18002 (S2) 和甘肃岷县所产批号为 HQ-18007 (S7)、HQ-18006 (S6) 的黄芪药材在所有样品中的综合得分位于前 4 名。结论 建立基于传统煎药工艺的黄芪药材质量评价方法操作简单, 重复性好, 结果可靠, 可以用于黄芪药材的质量控制和评价。

**关键词:** 黄芪; HPLC; 指纹图谱; 质量评价; 化学计量学

中图分类号: R286.2 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2021)04-1128-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2021.04.026

## Fingerprints and quality evaluation of *Astragali Radix* by HPLC coupled with chemometrics based on traditional decoction process

ZHANG Qian<sup>1</sup>, YANG Huai-jin<sup>2</sup>, ZHOU Yue<sup>1</sup>, YU Yi-ting<sup>1</sup>, ZHUANG Xin-ya<sup>1</sup>, Mao Chun-qin<sup>1</sup>, XIE Hui<sup>1</sup>, LI Lin<sup>1</sup>, LU Tu-ling<sup>1</sup>, YAN Guo-jun<sup>1</sup>

1. School of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China

2. Nan jing MoChou Vocational School, Nanjing 210017, China

**Abstract: Objective** To establish a HPLC fingerprints evaluation method for the quality evaluation of *Astragali Radix* based on traditional decoction process taking water as solvent. **Methods** The fingerprints of 15 batches of *Astragali Radix* were further evaluated by chemometrics methods. The similarity analyzed with "Similarity Evaluation System for Chromatographic Fingerprint of Chinese Materia Medica 2004A", and hierarchical clustering analysis (HCA) and principal component analysis (PCA) were performed by SPSS 22.0. **Results** There were 12 common peaks, and the similarity degrees of 15 batches of samples were more than 0.990, which showed that all the samples from different origins were of good consistency. The samples were divided into four clusters by HCA. The result of PCA showed that the three factors were chosen, the quality of samples could be evaluated basically. According to the composite score, the quality of the batches of HQ-18001 (S1) and HQ-18002 (S2) of *Astragali Radix* produced in Minle County of Gansu Province and the batches of HQ-18007 (S7) and HQ-18006 (S6) produced in Minle County of Gansu Province, were the top four in all the samples. **Conclusion** The method is simple, reproducible, and reliable, which can be used for quality control and evaluation of *Astragali Radix* from different origins.

**Key words:** *Astragali Radix*; HPLC; fingerprint; quality evaluation; chemical metrology

黄芪 *Astragali Radix* 为豆科植物蒙古黄芪 *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. var. *mongholicus* (Bge.) Hsiao 或膜荚黄芪 *A. membranaceus* (Fisch.) Bge. 的干燥根<sup>[1]</sup>。作为常用传统中药之一, 黄芪味甘、性平, 具有补气固表、利

尿托毒、排脓、敛疮生肌等功效。现代化学研究发现, 黄芪中含有皂苷、黄酮、多糖以及氨基酸、亚油酸、生物碱、胆碱等多种化学成分<sup>[2-4]</sup>, 其中黄芪多糖、皂苷、黄酮<sup>[5]</sup>等化合物具有较强的生物活性。现代药理研究表明黄芪具有增强免疫力、抗疲劳、

收稿日期: 2020-04-06

基金项目: 国家重点研发计划资助(2019YFC1710603); 国家自然科学基金项目(81773910, 82074004); 江苏高校“青蓝工程”项目(2020)

作者简介: 张倩(1995—), 女, 硕士研究生, 研究方向为中药药剂学。Tel: 18260027862 E-mail: 1422943829@qq.com

\*通信作者: 严国俊, 教授, 主要从事中药新型剂型及质量评价方法研究。E-mail: yanguojun@njucm.edu.cn

降糖、抗病毒、调脂、改善神经内分泌因子分泌、利尿、强心、降压等多种作用<sup>[6]</sup>，临床主要用于气虚乏力、食少便溏、中气下陷、久泻脱肛、血虚萎黄、内热消渴等病的治疗<sup>[7]</sup>。

目前国内外报道的关于黄芪药材指纹图谱研究的文献较多<sup>[8-13]</sup>，但是指纹图谱研究所用的样品处理方法是采用有机溶剂提取，对基于传统煎药工艺提取所制的黄芪样品指纹图谱的研究尚属空白。本实验将沿用传统煎药工艺，以水为溶剂提取黄芪样品，结合高效液相色谱-蒸发光散射法(HPLC-ELSD)建立黄芪药材的指纹图谱，并运用化学模式识别技术如聚类分析和主成分分析<sup>[9,14]</sup>，对黄芪指纹图谱进行模式识别，对不同来源的黄芪药材进行有效直观地鉴别和质量评价，深度挖掘黄芪水提取物指纹图谱所蕴含的药效成分信息，合理评价黄芪药材指纹图谱的整体特征，为采用传统煎药工艺制备的制剂，如经典名方制剂的质量评价提供参考。

## 1 仪器与材料

### 1.1 仪器

Waters e2695 型高效液相色谱仪，包括四元泵、柱温箱、自动进样器和 Empower 工作站(美国 Waters 公司)；ELSD 2000ES 型蒸发光散射检测器；XWK-III 型空气发生器(天津市津分分析仪器制造有限公司)；MS-105D 型电子分析天平(瑞士梅特勒-托利多公司)；KQ-500E 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)；RE-52A 型旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂)；X-30R 型高速冷冻离心机(美国贝克曼库尔特公司)。

### 1.2 材料

黄芪甲苷(批号 110781-201717)和毛蕊异黄酮葡萄糖苷(批号 111920-201606)均购自中国食品药品检定研究院；黄芪皂苷 I(批号 H-038-181121)和黄芪皂苷 II(批号 H-037-171121)均购自成都瑞芬思生物有限公司；黄芪皂苷 III(批号 180419)购自南京森贝伽生物科技有限公司；毛蕊异黄酮(批号 20120111)购自上海源叶生物科技有限公司；芒柄花苷(批号 JBZ-0778)购自南京金益柏生物科技有限公司；刺芒柄花素(批号 P1415345)购自上海泰坦科技股份有限公司。所有对照品质量分数均大于 98%。冰乙酸(批号 D1918059，上海阿拉丁生化科技股份有限公司)；乙腈(HPLC 级，德国 Merck 公司)；实验用水为双蒸水；其他试剂均为分析纯。

本研究收集了甘肃省民乐县、岷县及渭源县 3 个产地的黄芪药材，共 15 批，见表 1。经笔者鉴定

为蒙古黄芪 *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. var. *mongholicus* (Bge.) Hsiao 或膜荚黄芪 *A. membranaceus* (Fisch.) Bge. 的干燥根，具体见表 1。

表 1 黄芪药材信息

Table 1 Sources of 15 batches of *Astragali Radix*

编号	批号	产地
S1	HQ-18001	甘肃省民乐县
S2	HQ-18002	甘肃省民乐县
S3	HQ-18003	甘肃省民乐县
S4	HQ-18004	甘肃省民乐县
S5	HQ-18005	甘肃省民乐县
S6	HQ-18006	甘肃省岷县
S7	HQ-18007	甘肃省岷县
S8	HQ-18008	甘肃省岷县
S9	HQ-18009	甘肃省岷县
S10	HQ-18010	甘肃省岷县
S11	HQ-18011	甘肃省渭源县
S12	HQ-18012	甘肃省渭源县
S13	HQ-18013	甘肃省渭源县
S14	HQ-18014	甘肃省渭源县
S15	HQ-18015	甘肃省渭源县

## 2 方法与结果

### 2.1 溶液的制备

**2.1.1 对照品溶液的制备** 取黄芪甲苷、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、毛蕊异黄酮、芒柄花苷、刺芒柄花素、黄芪皂苷 I、黄芪皂苷 II、黄芪皂苷 III 对照品适量，精密称定，加甲醇溶解定容，制得质量浓度分别为 1.024、1.960、1.019、1.034、1.241、1.068、0.999 0、1.058 mg/mL 的混合对照品溶液。

**2.1.2 供试品溶液的制备** 取黄芪药材粉末(过 10 号筛)约 30 g，精密称定，加 8 倍量水浸泡 30 min，加热回流 60 min，趁热 200 目滤布滤过；药渣再加 8 倍量水，加热回流 60 min，趁热滤过，合并 2 次滤液，待滤液冷却至室温后 8000 r/min 低温 25 °C 离心 10 min，全部上清液浓缩至 30 mL，浓缩液加甲醇 120 mL，混匀后静置 30 min，离心(参数同上)，上清液浓缩至 10 mL，浓缩液加甲醇 40 mL，混匀后静置 30 min，离心(参数同上)，上清液减压回收溶剂，残渣精密加入 80% 甲醇 5 mL，超声使溶解，0.45 μm 微孔滤膜滤过，即得。

**2.1.3 色谱条件** 色谱柱：Hedera ODS-2 柱(200 mm×4.6 mm，5 μm，江苏汉邦科技有限公司)；流动相：乙腈(A)-0.2%的冰乙酸水溶液(B)，梯度洗脱(0~16 min，15%~23% A；16~20 min，23%~28% A；20~25 min，28%~30% A；25~30 min，30% A；30~35 min，30%~32% A；35~45 min，32% A；45~50 min，32%~40% A；50~55 min，40%~45% A；

55~60 min, 45%~65% A; 60~65 min, 65%~95% A); 体积流量 1 mL/min; 柱温 30 °C; 进样量 20 μL; 载气体积流量 2.7 L/min; 漂移管温度 102 °C。

## 2.2 方法学考察

**2.2.1 精密度试验** 精密吸取同一供试品 (S1) 各 20 μL, 按“2.1.3”项下色谱条件, 连续进样 6 次测定, 记录谱图。以毛蕊异黄酮葡萄糖苷为参照峰, 考察共有峰相似度的一致性。结果显示, 各特征共有峰相对保留时间 RSD 均小于 1%, 相对峰面积的 RSD 均小于 5%, 表明所用仪器精密度良好。

**2.2.2 重复性试验** 取同一批号 (S1) 的黄芪药材粉末 6 份, 按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液, 按“2.1.3”项下色谱条件测定, 记录色谱峰。以毛蕊异黄酮葡萄糖苷为参照峰, 计算各共有峰的相对保留时间和相对峰面积。结果显示, 各共有峰的相对保留时间的 RSD 均小于 2%, 相对峰面积的 RSD 均小于 5%。

**2.2.3 稳定性试验** 将供试品溶液室温保存, 分别于 0、2、4、6、8、12、20、24 h 测定 HPLC 色谱图, 以毛蕊异黄酮葡萄糖苷为参照峰, 计算各共有峰的相对保留时间和相对峰面积。结果显示, 各共有峰相对保留时间的 RSD 均小于 2%, 相对峰面积的 RSD 均小于 5%。

## 2.3 HPLC 指纹图谱的建立

**2.3.1 黄芪药材 HPLC 指纹图谱的测定** 分别取 15 批来源不同的黄芪药材 30 g, 按照“2.1.2”项下方法制备供试品溶液, 按照“2.1.3”项下色谱条件进行测定, 记录色谱峰 (图 1)。

将 15 批黄芪药材的 HPLC 色谱图导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”2004A 版进行色谱峰匹配, 对获得的指纹图谱进行处理后共标定并指认 12 个共有峰, 经过与对照品溶液色谱图比对后, 确认样品图谱中 1 号峰为毛蕊异黄酮葡萄糖苷, 6 号峰为黄芪黄芪皂苷 II, 9 号峰为黄芪皂苷 III, 见图 2。

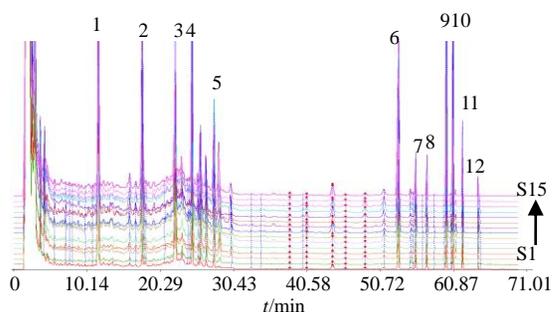
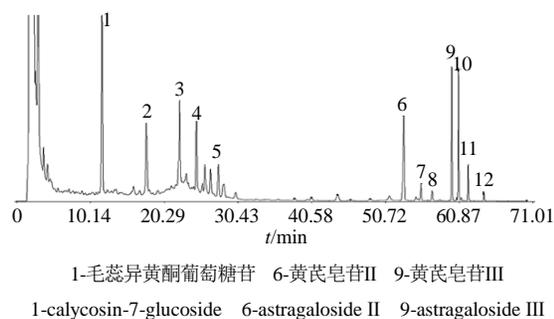


图 1 15 批黄芪药材的 HPLC 指纹图谱

Fig. 1 HPLC fingerprints of 15 batches of *Astragali Radix*



1-毛蕊异黄酮葡萄糖苷 6-黄芪皂苷 II 9-黄芪皂苷 III

1-calycosin-7-glucoside 6-astragaloside II 9-astragaloside III

图 2 黄芪药材 HPLC 色谱图

Fig. 2 HPLC fingerprints of *Astragali Radix*

**2.3.2 相似度评价** 将 15 批黄芪药材样品指纹图谱数据导入中药色谱指纹图谱相似度评价系统 (2004A), 利用中位数法, 以 S1 号样品色谱图为参照谱图, 采用多点校正后进行自动匹配, 生成对照谱图, 以此作为黄芪药材的对照指纹图谱, 进行相似度评价, S1~S15 的相似度分别为 0.996、0.995、0.999、0.998、0.999、0.996、0.999、0.999、0.991、0.999、0.993、0.998、0.998、0.997、0.998。15 批黄芪药材的相似度计算结果均大于 0.99, 说明各产地的药材具有较好的一致性, 可以用于综合评价黄芪药材的整体质量。

## 2.4 聚类分析

将不同产地的黄芪药材 HPLC 指纹图谱的 12 个共有峰的峰面积为特征, 得到 15×12 阶原始数据矩阵, 运用 SPSS22.0 分析软件对其进行聚类分析, 采用组间连接法, 以欧氏平方距离为测度, Z 标准化, 对样品进行聚类分析, 结果见图 3。15 个黄芪药材样品总共可以聚为 4 类, 批号为 S1、S2、S3、S4 聚为第 1 类; 批号为 S7、S10、S5、S13、S15、S11、S12、S8 聚为第 2 类; 批号为 S6、S9 为第 3 类, 批号为 S14 单独成一类为第 4 类。从聚

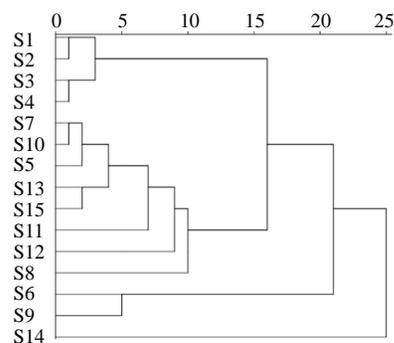


图 3 15 批黄芪药材指纹图谱的聚类分析树状图

Fig. 3 Hierarchical cluster analysis for 15 batches of *Astragali Radix*

类分析的结果来看, 黄芪药材的指纹图谱与其地理位置、外界环境具有一定的相关性, 但不绝对相关。

### 2.5 主成分分析

主成分分析是最常用的多指标线性降维压缩和多变量分析方法。它可将原有众多具有一定相关性的变量, 重新组合成一组新的、相互无关的综合指标来代替原有的变量, 从而实现以最少的主成分尽可能多的体现原变量的信息, 以揭示数据结构特征, 提取化学信息, 已广泛应用于中药材的品质综合评价与分类。

采用 SPSS22.0 统计软件对 15 批的黄芪药材的指纹图谱数据进行主成分分析, 将 15 批样品 12 个共有峰峰面积导入 SPSS22.0 软件, 进行主成分分析。对于黄芪药材共有峰峰面积 Z 标准化处理后,

计算相关系数矩阵, 主成分特征值、累积贡献率及主成分综合得分等。

**2.5.1 相关性分析** 相关系数矩阵见表 2。1 号峰为毛蕊异黄酮葡萄糖苷, 6 号峰为黄芪皂苷 II、9 号峰为黄芪皂苷 III。峰 1 (毛蕊异黄酮葡萄糖苷) 与色谱峰 3 具有较大的正相关性; 峰 2、4、5 具有较大的正相关性; 峰 6 和峰 7 具有较大的正相关性; 峰 9 (黄芪皂苷 III)、峰 10、11 和色谱峰 12 相互之间均有较大的正相关性。

**2.5.2 特征值、方差贡献率** 相关系数的特征值和方差贡献率见表 3 和图 4。以特征值 > 1 为提取标准, 得到前 3 个主成分的累积方差贡献率为 90.268% > 85%, 故选取前 3 个主成分即可进行评价, 它代表了黄芪药材中 12 个成分量的 90.268% 的信息量, 具有很好的代表性, 足以评价黄芪药

表 2 相关系数矩阵

Table 2 Matrix of correlation coefficients

峰号	相关系数											
	峰 1	峰 2	峰 3	峰 4	峰 5	峰 6	峰 7	峰 8	峰 9	峰 10	峰 11	峰 12
1	1.000	0.826	0.932	0.921	0.408	0.650	0.270	0.259	0.034	0.139	0.188	0.235
2	0.826	1.000	0.735	0.919	0.492	0.560	0.010	-0.189	0.218	0.153	0.072	0.290
3	0.932	0.735	1.000	0.843	0.411	0.580	0.307	0.332	0.017	0.202	0.283	0.241
4	0.921	0.919	0.843	1.000	0.520	0.703	0.224	0.106	0.237	0.266	0.245	0.375
5	0.408	0.492	0.411	0.520	1.000	0.822	0.566	0.272	0.647	0.641	0.556	0.209
6	0.650	0.560	0.580	0.703	0.822	1.000	0.776	0.566	0.657	0.731	0.714	0.488
7	0.270	0.010	0.307	0.224	0.566	0.776	1.000	0.906	0.656	0.837	0.908	0.499
8	0.259	-0.189	0.332	0.106	0.272	0.566	0.906	1.000	0.336	0.608	0.763	0.361
9	0.034	0.218	0.017	0.237	0.647	0.657	0.656	0.336	1.000	0.927	0.812	0.682
10	0.139	0.153	0.202	0.266	0.641	0.731	0.837	0.608	0.927	1.000	0.968	0.738
11	0.188	0.072	0.283	0.245	0.556	0.714	0.908	0.763	0.812	0.968	1.000	0.727
12	0.235	0.290	0.241	0.375	0.209	0.488	0.499	0.361	0.682	0.738	0.727	1.000

表 3 特征值和方差贡献率

Table 3 Characteristic value and variance contribution rate

峰号	初始特征值			提取平方和载入		
	总计	方差的贡献率/%	累积贡献率/%	总计	方差的贡献率/%	累积贡献率/%
1	6.533	54.439	54.439	6.533	54.439	54.439
2	3.103	25.862	80.302	3.103	25.862	80.302
3	1.196	9.966	90.268	1.196	9.966	90.268
4	0.831	6.927	97.194			
5	0.176	1.469	98.664			
6	0.077	0.641	99.305			
7	0.043	0.355	99.659			
8	0.021	0.176	99.835			
9	0.013	0.108	99.944			
10	0.006	0.047	99.990			
11	0.001	0.008	99.998			
12	0	0.002	100.000			

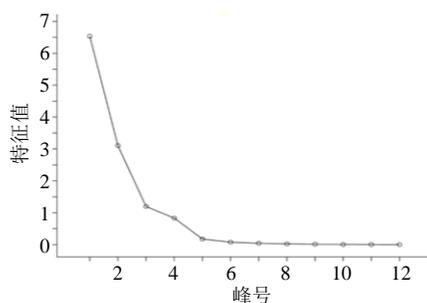


图4 公共因子碎石图

Fig. 4 Macadam figure of common factor

材的品质。

根据因子荷载矩阵, 推测影响黄芪药材质量差异的并不是单一成分, 而是多成分的协同作用的结果。从表4和图5中可以看出, 第1主成分的信息主要来自于色谱峰5、6、7、9、10、11、12; 第2主成分的信息主要来自色谱峰1、2、3、4; 第3主成分主要来自色谱峰8的信息。

**2.5.3 不同产地黄芪药材的综合评价** 用3个主成分对黄芪药材进行综合评价, 将得到的特征向量与标准化后的数据相乘, 得到主成分表达式, 再以每个主成分所对应的特征值占提取主成分的特征值之和的比例作为权重得到了主成分综合模型, 根据主成分综合模型计算15批黄芪药材的主成分得分及综合得分值, 见表5。综合得分越高, 表明质量越

表4 初始因子荷载矩阵

Table 4 Component matrix

峰号	主成分		
	1	2	3
1	0.617	0.734	0.242
2	0.530	0.774	-0.318
3	0.623	0.653	0.325
4	0.679	0.702	-0.074
5	0.756	0.071	-0.231
6	0.942	0.097	0.015
7	0.826	-0.431	0.322
8	0.632	-0.406	0.655
9	0.745	-0.432	-0.480
10	0.857	-0.465	-0.181
11	0.858	-0.477	0.049
12	0.673	-0.222	-0.271

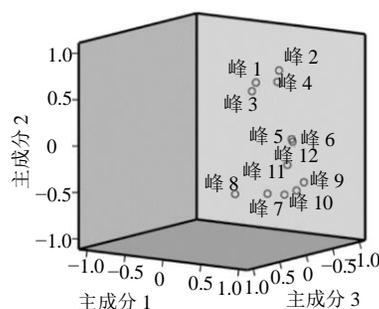


图5 样本在3个主成分的平面分布图

Fig. 5 Samples in planar distribution of three main components

表5 主成分得分、综合得分排序

Table 5 Rank of principal component scores and comprehensive scores

序号	主成分1得分	主成分2得分	主成分3得分	综合得分	排名
S1	0.544 4	0.258 6	0.099 7	1.150 0	1
S2	1.088 8	0.517 2	0.199 3	1.090 0	2
S3	1.633 2	0.775 9	0.299 0	0.030 0	6
S4	2.177 6	1.034 5	0.398 6	0.150 0	14
S5	2.722 0	1.293 1	0.498 3	-0.180 0	12
S6	3.266 3	1.551 7	0.598 0	0.400 0	4
S7	3.810 7	1.810 3	0.697 6	-0.130 0	3
S8	4.355 1	2.069 0	0.797 3	-0.690 0	15
S9	4.899 5	2.327 6	0.896 9	-1.330 0	13
S10	5.443 9	2.586 2	0.996 6	-0.180 0	7
S11	5.988 3	2.844 8	1.096 3	-0.630 0	5
S12	6.532 7	3.103 4	1.195 9	0.160 0	10
S13	7.077 1	3.362 1	1.295 6	-0.070 0	11
S14	7.621 5	3.620 7	1.395 2	0.290 0	8
S15	8.165 9	3.879 3	1.494 9	-0.070 0	9

好。综合得分显示, 甘肃民乐县所产 S1、S2 和甘肃岷县所产 S7、S6 的黄芪药材在所有样品中的综合得分位于前4名, 表明该4个批号的黄芪药材质量较好, 对应药材指纹图谱信息, 该4个批号的黄

芪药材的指纹图谱中主要成分1、2、3、4、5、6、7、8的峰面积值均较大, 结果也证明了主成分分析时提取的3个主成分能够基本体现指纹图谱的所有信息。综合聚类分析结果分析, 第2类黄芪药材质

量较差,其余批号的黄芪药材质量较好,且甘肃省民乐县所产 S1 的黄芪药材质量最好。主成分综合分析结果与聚类分析的结果相互得以印证。15 个不同产地的黄芪药材的质量的差异,分析原因可能是不同的生态环境(包括土壤、气候、水分、矿物质分布情况等)对中药材的质量产生一定的影响。自然生态环境与中药资源的质量(有效成分的形成和积累)、数量密切相关,是其生态适宜性评价的客观基础,也是药材生产区划分的关键所在。不同批号的黄芪药材再按综合主成分得分值进行聚类分析,聚类结果见图 6。15 批黄芪药材分为 3 类,综合得分排名第 1、2 名的甘肃民乐县所产 S1 和 S2 的黄芪聚为第 1 类;S8、S9、S11 的黄芪药材聚为第 2 类;其他批号的黄芪药材具为第 3 类,其中 S7 和 S6 批号的黄芪综合得分排名第 3、4 名,与上述聚类分析结果基本一致,略有不同。

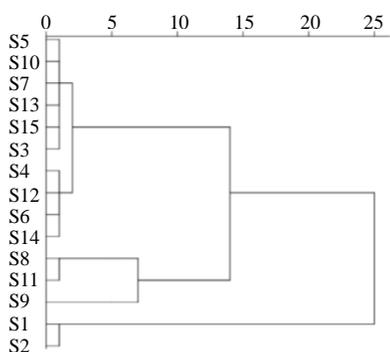


图 6 15 批黄芪药材指纹图谱主成分聚类图

Fig. 6 Hierarchical cluster analysis of principal component for 15 batches of *Astragalus Radix*

### 3 讨论

本实验采用 HPLC-ELSD 法对黄芪药材指纹图谱的色谱条件进行深入摸索,获得的 HPLC 图谱重现性及精密度、稳定性均较好,有利于指纹图谱的进一步分析。

在流动相系统的选择中,分别以乙腈-水、乙腈-甲酸、乙腈-磷酸、乙腈-0.1%冰乙酸、乙腈-0.2%冰乙酸等不同体积分数、不同比例的流动相系统进行梯度洗脱实验。结果表明,乙腈-0.2%冰乙酸进行梯度洗脱为最佳,基线相对平稳,各主要峰之间能够基本实现基线分离,且峰形良好,在调整好流动相的不同时间洗脱比例之后,各峰的保留时间适中,重复性和精密度较好,有助于指纹图谱的分析。

本实验分别考察了柱温在 25、30、35 °C 时对色谱峰的分离影响。结果表明,随着柱温的升高,

各色谱峰的保留时间稍有迁移;当柱温为 25、30 °C 时,部分保留时间段内的色谱峰出峰比较接近,未能完全分离;当柱温为 30 °C 时,各色谱峰的分离效果比柱温在 25、30 °C 较好,且整体保留时间较为适中。综合考虑,故最终选择 30 °C 作为黄芪药材 HPLC 指纹图谱的检测温度。

本实验对黄芪药材的指纹图谱进行了相似度评价、聚类分析及主成分分析。根据 15 个不同产地的黄芪药材指纹图谱的分析结果可以看出,15 批药材的相似度计算结果均大于 0.990,说明各产地的药材有较好的一致性。聚类分析将 15 批黄芪药材的指纹图谱聚为 4 类,聚类结果表明黄芪药材的指纹图谱与其地理位置、外界环境具有一定的相关性,但是不绝对相关。用提取的 3 个主成分对黄芪药材进行综合评价,综合得分结果显示,甘肃民乐县所产批号为 S1、S2 和甘肃岷县所产批号为 S6、S7 的黄芪药材在所有样品中的综合得分位于前 4 名;综合聚类分析,第 2 类黄芪药材的质量较差,其余批号的黄芪药材质量较好,且甘肃省民乐县产 S1 的黄芪药材质量最好。

本实验运用指纹图谱结合化学计量学对不同产地的黄芪药材质量进行评价,并采用传统煎药工艺进行黄芪药材样品的处理,较单一的含量测定更为全面准确,对综合评价和控制黄芪药材质量具有一定的参考意义,尤其是对以黄芪为原料采用传统水煎煮工艺制备的制剂质量评价具有很好的指导意义。

### 参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2015: 302.
- [2] 杨玲. 黄芪的化学成分及其质量研究 [D]. 北京: 首都师范大学, 2008.
- [3] 牟佳佳, 陈芳, 陈党辉, 等. 黄芪中 5 种黄酮类成分的含量测定及其指纹图谱研究 [J]. 药物评价研究, 2019, 42(5): 900-906.
- [4] 史鑫波, 唐志书, 刘妍如, 等. HPLC-UV-ELSD 法同时测定黄芪中黄芪皂苷和黄酮类成分 [J]. 天然产物研究与开发, 2019, 31(3): 434-440.
- [5] 刘靖丽, 于海东, 梁艳妮. 中药黄芪中黄酮类化合物抗氧化活性的 DFT 研究 [J]. 化学与生物工程, 2019, 36(1): 36-40.
- [6] 刘焰东, 蔡小丽, 张伟安. 中药黄芪的药理作用及临床应用效果研究 [J]. 心电图杂志: 电子版, 2019, 8(3): 37-39.
- [7] 王青, 赵林华, 邸莎. 黄芪的临床应用及其用量探究 [J]. 吉林中医药, 2018, 38(12): 1450-1454.

- [8] 汪海斌, 石岩, 李芳, 等. 中药黄芪指纹图谱的研究进展 [J]. 中国药房, 2017, 28(33): 4749-4752.
- [9] 苏碧茹, 邓慧敏, 马宏亮, 等. HPLC-DAD-ELSD 指纹图谱的化学模式识别用于黄芪质量评价 [J]. 中国中药杂志, 2013, 38(19): 3319-3323.
- [10] 李婷婷, 舒志恒, 于良, 等. 不同产地黄芪 HPLC/DAD 指纹图谱及主要黄酮成分含量测定 [J]. 中国医院药学杂志, 2015, 35(13): 1182-1187.
- [11] 芮雯, 冯毅凡, 石忠峰, 等. 不同产地黄芪药材的 UPLC/Q-TOF-MS 指纹图谱研究 [J]. 药物分析杂志, 2012, 32(4): 607-611.
- [12] 严治学, 何永志, 王颖. 黄芪 HPLC-ELSD 指纹图谱的建立及分析 [J]. 天津中医药大学学报, 2017, 36(2): 142-145.
- [13] 王迪, 刘磊, 李科, 等. 基于内切-1,3- $\beta$ -葡聚糖酶水解的黄芪糖指纹图谱的建立及不同种质资源黄芪鉴别 [J]. 中草药, 2018, 49(10): 2320-2327.
- [14] 聂韡, 朱培林, 房海灵, 等. HPLC 指纹图谱结合化学计量学评价不同产地广东紫珠药材的质量 [J]. 中草药, 2017, 48(1): 185-191.

[责任编辑 时圣明]