

虎杖 HPLC 指纹图谱及抗痛风性关节炎活性谱效关系研究

孔德暄¹, 陈运中^{1,2}, 朱映睿¹, 朱蔚然¹, 傅敏¹, 陶彩霞¹, 王光忠^{1,2*}

1. 湖北中医药大学药学院, 湖北 武汉 430065

2. 湖北省中药炮制工程技术研究中心, 湖北 武汉 430065

摘要: 目的 建立虎杖 *Polygonum cuspidatum* 的 HPLC 指纹图谱, 研究虎杖醇提物的 HPLC 指纹图谱与抗痛风性关节炎活性之间的谱效关系, 初步明确虎杖抗痛风性关节炎主要活性成分。方法 采用 HPLC 法建立虎杖的指纹图谱; 使用“中药色谱指纹图谱相似度评价系统 (2004 A 版)”进行相似度评价; 以小鼠足垫厚度、血清尿酸含量为虎杖抗痛风性关节炎作用药效指标, 采用灰色关联度分析法分析其谱效关系。结果 虎杖发挥抗痛风性关节炎作用是多种成分共同作用的结果, 对抗痛风性关节炎作用贡献较大的特征峰有 7 号峰 (虎杖苷)、9 号峰 (槲皮素)、11 号峰 (白藜芦醇)、12 号峰 (槲皮苷)、13 号峰 (大黄素-8-*O*- β -D-葡萄糖苷)、16 号峰 (大黄素)、18 号峰 (大黄素甲醚)。结论 虎杖发挥抗痛风性关节炎作用的药效是多种成分共同作用的结果, 可为该药材质量控制与应用开发提供参考。

关键词: 虎杖; 指纹图谱; 灰色关联度; 痛风性关节炎; 谱效关系; 虎杖苷; 槲皮素; 白藜芦醇; 槲皮苷; 大黄素-8-*O*- β -D-葡萄糖苷; 大黄素; 大黄素甲醚

中图分类号: R286.2

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2022)02-0569-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2022.02.027

Study on relationship between HPLC fingerprint of *Polygonum cuspidatum* and active spectrum of anti gouty arthritis

KONG De-xuan¹, CHEN Yun-zhong^{1,2}, ZHU Ying-rui¹, ZHU Wei-ran¹, FU Min¹, TAO Cai-xia¹, WANG Guang-zhong^{1,2}

1. Pharmacy Faculty, Hubei University of Chinese Medicine, Wuhan 430065, China

2. Hubei Traditional Chinese Medicine Processing Engineering Technology Research Center, Wuhan 430065, China

Abstract: Objective To establish the HPLC fingerprint of *Polygonum cuspidatum* and to study the relationship between the HPLC fingerprint of *P. cuspidatum* alcohol extract and its anti gouty arthritis activity. **Methods** HPLC method was used to establish the fingerprint of *P. cuspidatum*; The “Fingerprint Similarity Evaluation System of Traditional Chinese Medicine Chromatogram (2004 A version)” was used to evaluate the similarity; The thickness of mouse foot pad and the content of serum uric acid were used as the pharmacodynamic indexes of *P. cuspidatum* in anti gouty arthritis, and the relationship between the spectrum and effect was analyzed by grey correlation analysis. **Results** The anti gouty arthritis effect of *P. cuspidatum* was the result of the joint action of many components. The characteristic peaks that contributed a lot to the anti gouty arthritis effect were No.7 peak (polydatin), No.9 peak (quercetin), No.11 peak (resveratrol), No.12 peak (quercetin-3-rhamnoside), No.13 peak (emodin-8-*O*- β -D-glucoside), No.16 peak (emodin), No.18 peak (emodin methyl ether). **Conclusion** The effect of *P. cuspidatum* on gouty arthritis is the result of many components. This study can provide reference for the quality control and application development of this medicine.

Key words: *Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc.; fingerprint; gray correlation; gouty arthritis; spectrum effect relationship; polydatin; quercetin; resveratrol; quercetin-3-rhamnoside; emodin-8-*O*- β -D-glucoside; emodin; emodin methyl ether

虎杖为蓼科植物虎杖 *Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc. 的干燥根茎和根。具有利湿退黄、清热解毒、散瘀止痛、止咳化痰的功效。可用于湿热黄疸、风湿痹痛、跌打损伤、肺热咳嗽等病症^[1]。《太平圣惠方》卷二十二记载:“虎杖散处方有虎

杖、桂心、当归等中药; 主治白虎风, 血脉结滞, 骨髓疼痛, 发作无时。而《医学正传·痛风》中记载:“所谓痛痹者, 即今之痛风也”。诸方书又谓白虎历节风, 以其走痛于四肢骨节如虎咬之状, 而以其名之耳^[2]。现代研究显示, 虎杖中主要含有蒽醌

收稿日期: 2021-08-09

基金项目: 国家重点研发计划中医药现代化研究重点专项资助项目 (2017YFC1701003)

作者简介: 孔德暄, 硕士研究生, 主要从事中药炮制工艺及质量标准研究。E-mail: 674819052@qq.com

*通信作者: 王光忠, 博士, 教授, 博士生导师, 主要从事中药饮片及其制剂物质基础和质量控制研究。

Tel: (027)68890231 E-mail: wgzhong4067@sina.com

类、黄酮类、二苯乙烯类、多糖等化合物，其具有多种药理作用，包括抗炎、抗病毒、抗菌、保护心脑血管系统、抗氧化、抗肿瘤、治疗阿尔茨海默病和抗艾滋病病毒等作用^[3]。刘峻承等^[4]发现红藤虎杖复方免煎剂有较好的抗炎、镇痛、降低尿酸的效果，对治疗急性痛风性关节炎有很好的效果。任丽^[5]通过实验发现虎杖提取物治疗实验大鼠痛风性关节炎的疗效较好，同时具有良好成药性。马天红等^[6]发现虎杖醇提物可以通过调控寡聚化结构域样受体蛋白 3 (NOD-like receptor protein 3, NLRP3) /ASC/ 天冬氨酸蛋白水解酶 (cysteiny aspartate specific proteinase, Caspase-1) 轴在基因和蛋白水平上的表达来治疗小鼠急性痛风性关节炎。目前，有关虎杖抗痛风性关节炎药效的研究及其指纹图谱研究较多^[6-11]。但关于二者相关性的研究较少。本研究通过建立不同批次虎杖的指纹图谱，探讨指纹图谱特征峰（主要色谱峰）与抗痛风性关节炎作用的关系，为虎杖抗痛风性关节炎作用的物质基础研究及临床应用提供参考。

1 材料

1.1 仪器

安捷伦 1260 高效液相色谱仪 (VWD 检测器)；色谱柱：Agilent Extend C₁₈ 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm)；SK7200HP 型超声清洗器 (上海科导超声仪器有限公司)；XSE105DU 型十万分之一分析天平 (瑞士 Mettler Toledo 公司)，AL204 型万分之一电子天平 (梅特勒-托利多仪器有限公司)。

1.2 试药

虎杖药材样品来源见表 1。经湖北中医药大学生药教研室余坤教授鉴定为蓼科植物虎杖 *P. cuspidatum* Sieb. et Zucc. 的干燥根茎和根。

表 1 虎杖饮片样品来源

Table 1 Source of samples for decoction pieces of *P. cuspidatum*

编号	批号	产地
S1	151201	湖北英山
S2	181012	湖北房县
S3	150803	山东菏泽
S4	171221	江西抚州
S5	161124	河北安国
S6	181013	湖北狮子岩
S7	181014	湖北狮子岩
S8	181015	湖北木瓜
S9	181016	湖北木瓜
S10	181017	湖北顺发

1.3 试剂

批号虎杖苷 (批号 H-012-161216)、白藜芦醇 (批号 B-002-170426)、大黄素-8-*O*-β-*D*-葡萄糖苷 (批号 D-018-171216) 均购于成都瑞芬思生物科技有限公司，质量分数≥98.0%；大黄素 (批号 151215)、大黄素甲醚 (批号 151024) 均购于四川省维克奇生物科技有限公司，质量分数≥98.0%；槲皮素 (批号 C20J6Y1722)、槲皮苷 (批号 P01MF30364) 均购于上海源叶生物科技有限公司，质量分数≥98.0%。尿酸检测试剂盒 (南京建成生物工程研究所)；黄嘌呤氧化酶测试盒 (南京建成生物工程研究所)，水为重蒸馏水，乙腈、甲醇为色谱级乙腈，其他试剂均为分析纯。

1.4 实验动物

SPF 级昆明种小鼠，雄性，体质量 22~25 g，购自湖北省实验动物研究中心，许可证号 SCXK (鄂) 2017-0012。动物实验经过湖北中医药大学伦理委员会批准 (批号 2020123)。

2 方法与结果

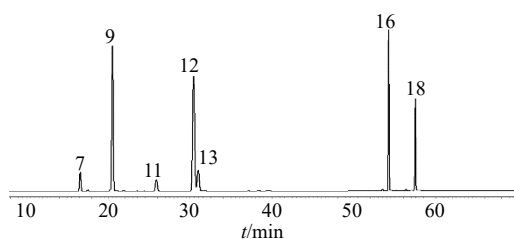
2.1 指纹图谱的建立

2.1.1 供试品溶液的制备 取各批虎杖粉末 (过 50 目筛) 1.0 g，精密称定，置 50 mL 圆底烧瓶中，加 70%乙醇 30 mL，称定质量，加热回流提取 30 min，冷却至室温，称定质量，用 70%乙醇补足失重，摇匀，经 0.45 μm 滤膜滤过，取续滤液为供试品溶液。

2.1.2 对照品溶液的制备 分别称取虎杖苷、白藜芦醇、大黄素-8-*O*-β-*D*-葡萄糖苷、大黄素、大黄素甲醚、槲皮素、槲皮苷 5.11、5.08、4.75、2.25、2.40、5.03、5.32 mg，置 7 个 10 mL 量瓶中，加甲醇溶解并稀释至刻度，摇匀，得到单一对照品溶液；从 5 种对照品溶液中各取 2 mL，置 10 mL 量瓶中，加甲醇溶解并稀释至刻度，摇匀，即得混合对照品溶液。

2.1.3 色谱条件 色谱柱为 Agilent Extend C₁₈ 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm)，流动相为乙腈 (A) -0.1% 磷酸水溶液 (B)，体积流量为 1 mL/min，进样量为 10 μL，检测波长为 290 nm，柱温为 40 °C。线性梯度洗脱程序：0~20 min，10.0%~25.0% A；20~45 min，25.0%~38.0% A；45~55 min，38.0~100.0% A；55~60 min，100.0% A。混合对照品色谱图见图 1。

2.1.4 精密度试验 取适量虎杖饮片 (S1)，按照“2.1.1”项制得供试品溶液，按“2.1.3”项下色谱条件，连续进样 6 次，将图谱导入“中药色谱指纹



7-虎杖苷 9-槲皮素 11-白藜芦醇 12-槲皮苷 13-大黄素-8-O-β-D-葡萄糖苷 16-大黄素 18-大黄素甲醚

7-polydatin 9-quercetin 11-resveratrol 12-quercetin-3-rhamnoside 13-emodin-8-O-β-D-glucoside 16-emodin 18-emodin methyl ether

图 1 虎杖对照品色谱图

Fig. 1 Chromatogram of *P. cuspidatum* reference

图谱相似度评价系统 (2004A 版)”, 得到各图谱的相似度均大于 0.94, 计算 18 个主要共有峰相对保留时间 RSD<2%, 峰面积 RSD<2%。

2.1.5 稳定性试验 取适量虎杖饮片 (S1), 按照 “2.1.1” 项制得供试品溶液, 分别在 0、2、4、6、8、12、24 h, 按 “2.1.3” 项色谱条件进行测定, 将所得数据导入 “中药色谱指纹图谱相似度评价系统 (2004A 版)”, 得到各图谱的相似度均大于 0.94, 计算 18 个主要共有峰相对保留时间 RSD<2%, 峰面积 RSD<2%。

2.1.6 重复性试验 取适量虎杖饮片 (S1), 按照 “2.1.1” 项下方法平行制得 6 份供试品溶液, 按 “2.1.3” 项色谱条件进行测定, 将数据导入 “中药色谱指纹图谱相似度评价系统 (2004A 版)”, 得到各图谱的相似度均大于 0.94, 计算 18 个主要共有峰相对保留时间 RSD<2%, 峰面积 RSD<2%。

2.1.7 指纹图谱的建立 将 10 批虎杖饮片按 “2.1.1” 项下方法制得供试品溶液, 按照 “2.1.3” 项下的色谱条件进样测定, 并记录各批次样品色谱数据。将 10 批虎杖醇提物 HPLC 图谱数据导入到 “中药色谱指纹图谱相似度评价系统 (2004A 版)”, 设定参照图谱, 将谱峰自动匹配, 生成叠加图谱见图 2, 得到的 18 个共有峰见图 3, 通过对照品色谱图指认, 确定 7 号峰为虎杖苷, 9 号峰为槲皮素, 11 号峰为白藜芦醇, 12 号峰为槲皮苷, 13 号峰为大黄素-8-O-β-D-葡萄糖苷, 16 号峰为大黄素, 18 号峰为大黄素甲醚。其中 13 号峰分离度好, 峰形良好, 含量稳定, 故将其作为参照峰, 计算得到 10 批虎杖样品指纹图谱共有峰的相对保留时间的 RSD 值均<1%, 相对峰面积的 RSD 值均<2%, 说明不同来源虎杖样品化学成分差异较小, 见表 2、3。

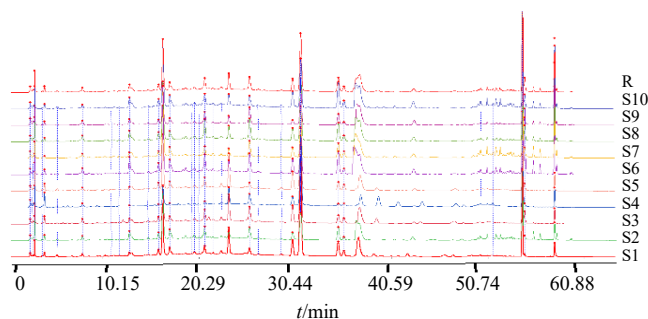
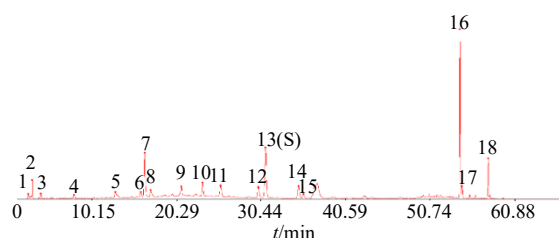


图 2 10 批虎杖醇提物 HPLC 指纹图谱叠加图和对照图谱 (R)

Fig. 2 HPLC fingerprint overlay and reference (R) of 10 batches of *P. cuspidatum* alcohol extract



7-虎杖苷 9-槲皮素 11-白藜芦醇 12-槲皮苷 13-大黄素-8-O-β-D-葡萄糖苷 16-大黄素 18-大黄素甲醚

7-polydatin 9-quercetin 11-resveratrol 12-quercetin-3-rhamnoside 13-emodin-8-O-β-D-glucoside 16-emodin 18-emodin methyl ether

图 3 10 批虎杖醇提物 HPLC 指纹图谱共有峰

Fig. 3 Common peaks in HPLC fingerprints of 10 batches of *P. cuspidatum* alcohol extract

2.1.8 相似度评价 将 10 批虎杖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 版)” 进行相似度分析, 结果见表 4。10 批天麻样品与对照图谱的相似度为 0.837~0.987, 说明各批虎杖质量较稳定。

2.2 虎杖抗痛风性关节炎作用

2.2.1 试药的制备 取分别取 10 批适量虎杖饮片, 加 10 倍量的 70%乙醇, 回流提取 2 次, 第 1 次 1 h, 第 2 次 0.5 h, 合并滤液, 提取液旋蒸后减压干燥, 制成干粉, 得到虎杖醇提物。虎杖醇提物加水溶解, 混匀, 配成 0.02 g/mL 的虎杖醇提物试药^[6], 并标号 S1~S10。

2.2.2 动物分组与给药 采用随机数字表法将 96 只昆明种小鼠分为 12 组 (S1~S12, 每组 8 只)。适应性饲养 1 周后开始造模, S1~S11 组小鼠 sc 25 μL (1.25 mg) 无内毒素的尿酸钠 (monosodium urate, MSU) 晶体悬液进入右侧足垫诱导炎症; 造模 24 h 后, 开始给药。S1~S10 组分别给予

表 2 10 批虎杖样品 HPLC 指纹图谱共有峰相对保留时间

Table 2 Relative retention time of common peaks in HPLC fingerprint of 10 batches of *P. cuspidatum* samples

共有峰	相对保留时间										RSD/%
	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	
1	0.080	0.080	0.080	0.080	0.080	0.080	0.080	0.080	0.080	0.080	0.000
2	0.096	0.096	0.096	0.096	0.096	0.095	0.096	0.096	0.096	0.096	0.003
3	0.128	0.128	0.129	0.128	0.128	0.129	0.128	0.128	0.128	0.128	0.003
4	0.257	0.259	0.259	0.256	0.256	0.259	0.257	0.256	0.257	0.256	0.005
5	0.423	0.418	0.427	0.423	0.422	0.428	0.422	0.415	0.416	0.416	0.011
6	0.514	0.518	0.518	0.513	0.514	0.519	0.514	0.514	0.515	0.515	0.004
7	0.529	0.531	0.532	0.528	0.528	0.532	0.529	0.529	0.529	0.529	0.003
8	0.552	0.555	0.556	0.552	0.551	0.556	0.552	0.553	0.553	0.553	0.003
9	0.671	0.674	0.674	0.671	0.671	0.675	0.672	0.672	0.672	0.672	0.002
10	0.754	0.756	0.756	0.755	0.755	0.756	0.756	0.755	0.756	0.756	0.001
11	0.822	0.827	0.827	0.824	0.824	0.827	0.824	0.824	0.824	0.825	0.002
12	0.972	0.973	0.972	0.973	0.972	0.972	0.973	0.973	0.973	0.973	0.001
13 (S)	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.000
14	1.128	1.127	1.127	1.127	1.127	1.128	1.128	1.128	1.128	1.127	0.000
15	1.202	1.200	1.198	1.202	1.201	1.200	1.185	1.202	1.201	1.201	0.004
16	1.747	1.747	1.748	1.749	1.752	1.748	1.754	1.753	1.755	1.754	0.002
17	1.755	1.755	1.757	1.758	1.761	1.757	1.762	1.761	1.764	1.762	0.002
18	1.851	1.852	1.854	1.855	1.858	1.854	1.860	1.762	1.861	1.860	0.016

表 3 10 批虎杖样品 HPLC 指纹图谱共有峰相对峰面积

Table 3 Relative peak area of common peaks in HPLC fingerprint of 10 batches of *P. cuspidatum* samples

共有峰	相对峰面积										RSD/%
	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	
1	0.013	0.065	0.042	0.066	0.022	0.058	0.137	0.032	0.067	0.059	0.613
2	0.040	0.229	0.080	0.105	0.075	0.084	0.149	0.075	0.106	0.112	0.494
3	0.025	0.096	0.056	0.115	0.050	0.073	0.052	0.043	0.072	0.056	0.411
4	0.020	0.123	0.049	0.046	0.027	0.110	0.107	0.078	0.103	0.061	0.511
5	0.035	0.392	0.039	0.016	0.048	0.082	0.162	0.204	0.226	0.273	0.847
6	0.051	0.199	0.050	0.022	0.067	0.186	0.140	0.100	0.110	0.133	0.561
7	0.391	1.402	0.329	0.232	0.491	1.125	1.819	0.739	0.862	1.046	0.607
8	0.078	0.352	0.065	0.023	0.085	0.298	0.286	0.152	0.184	0.232	0.645
9	0.083	0.394	0.118	0.034	0.101	0.396	0.318	0.260	0.290	0.258	0.585
10	0.202	0.219	0.271	0.195	0.295	0.171	0.229	0.179	0.169	0.201	0.197
11	0.062	0.418	0.179	0.148	0.070	0.402	0.554	0.349	0.468	0.201	0.612
12	0.152	0.289	0.200	0.126	0.210	0.341	0.360	0.190	0.121	0.349	0.399
13 (S)	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.000
14	0.153	0.503	0.106	0.036	0.104	0.520	0.501	0.308	0.343	0.553	0.641
15	0.350	0.962	0.351	0.203	0.126	0.735	2.219	0.463	0.717	0.614	0.892
16	0.479	2.141	1.313	1.545	1.010	2.743	2.230	1.947	2.234	1.774	0.385
17	0.033	0.121	0.111	0.043	0.068	0.754	0.246	0.180	0.153	0.185	1.106
18	0.074	0.327	0.082	0.119	0.089	1.076	1.055	0.467	0.836	0.673	0.845

表 4 10 批虎杖样品 HPLC 指纹图谱与共有模式对照图谱的相似度

Table 4 Similarity of HPLC fingerprints of 10 batches of *P. cuspidatum* samples with consensus mode control spectrum

编号	相似系数										对照
	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	
S1	1.000										
S2	0.773	1.000									
S3	0.900	0.859	1.000								
S4	0.788	0.781	0.947	1.000							
S5	0.947	0.860	0.982	0.917	1.000						
S6	0.691	0.843	0.834	0.792	0.812	1.000					
S7	0.609	0.896	0.691	0.674	0.707	0.734	1.000				
S8	0.806	0.965	0.934	0.886	0.913	0.888	0.870	1.000			
S9	0.774	0.895	0.902	0.848	0.880	0.893	0.745	0.942	1.000		
S10	0.806	0.982	0.877	0.798	0.880	0.869	0.897	0.973	0.915	1.000	
对照	0.870	0.948	0.963	0.911	0.959	0.905	0.837	0.987	0.946	0.965	1.000

S1~S10 号虎杖醇提物试药，第 11 组和第 12 组分别作为模型组和对照组给予等体积生理盐水，连续给药 3 d。

2.2.3 足垫厚度的测定 每日定时使用游标卡尺测量各组小鼠右侧足垫厚度，监控各组小鼠在造模前后其右侧足垫厚度的变化。测定结果见图 4。

2.2.4 尿酸含量测定 在实验结束时，小鼠摘眼球取血，血清分离。参照尿酸试剂盒测定方法测定各组小鼠血清中尿酸的含量，测定结果见图 5。

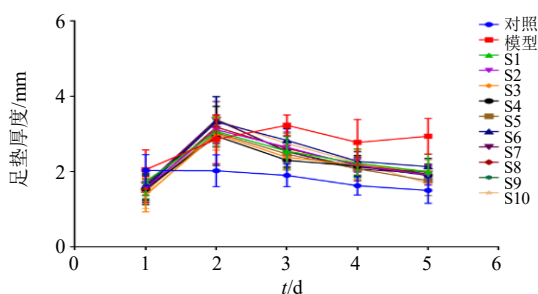
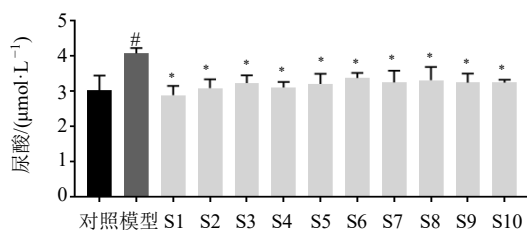


图 4 各组小鼠足垫厚度变化 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Fig. 4 Changes of footpad thickness in mice of each group ($\bar{x} \pm s, n=6$)



与对照组比较: # $P<0.05$; 与模型组比较: * $P<0.05$

$P<0.05$ vs control group; * $P<0.05$ vs model group

图 5 各组小鼠血清中尿酸含量 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Fig. 5 Uric acid content in serum of mice in each group ($\bar{x} \pm s, n=6$)

2.3 灰色关联度分析

2.3.1 原始数据的无量纲化处理^[12-14] 原始数据的变换采用初值化变换法。变换的母序列记为 $\{X_0(t)\}$ ，子序列记为 $\{X_i(t)\}$ 。将虎杖醇提物抗痛风性关节炎作用不同的药效指标作为母序列，虎杖各批次的特征峰峰面积作为子序列。

2.3.2 绝对差序列及关联系数的计算^[12-14] 在 $t=k$ 时 (k 为峰号)，母序列记为 $\{X_0(k)\}$ ，子序列记为 $\{X_i(k)\}$ ，母序列与子序列的绝对差序列 $\Delta_{0i}(k)=|X_0(k)-X_i(k)|(1 \leq i \leq m)$ 。计算在 $t=k$ 时母序列与子序列的关联系数 $[\eta(k)]$ 。

$$\eta(k) = [\min_{\min} |Y_0(k) - Y_i(k) + \rho \max_{\max} |Y_0(k) - Y_i(k)|] / [|Y_0(k) - Y_i(k)| + \rho \max_{\max} |Y_0(k) - Y_i(k)|]$$

$Y_0(k)$ 为虎杖醇提物抗痛风性关节炎作用不同的药效指标； $Y_i(k)$ 为虎杖醇提物各批次的特征峰峰面积归一化数值； k 为峰号； ρ 为分辨系数，作用是削弱最大绝对差数值的失真，提高关联系数之间的显著性差异， $\rho \in (0, 1)$ ，本实验中 ρ 取 0.5； $|Y_0(k) - Y_i(k)|$ 为母序列与子序列的绝对差值； $\min_{\min} |Y_0(k) - Y_i(k)|$ 为绝对差值的最小值，又记为 $\Delta_{\min}$ ； $\max_{\max} |Y_0(k) - Y_i(k)|$ 为绝对差值的最大值，又记为 $\Delta_{\max}$ 。

2.3.3 关联度 (r) 的计算^[12-14] r 实质上是对时间序列几何关系的比较，是母序列与子序列各个时刻的关联系数的平均值。

$$r = \sum_{k=1}^n \eta / n$$

n 为子序列的数据个数

计算得到的各组结果见表 5、6。由表 5 可知，18 个共有峰与足垫厚度关联度均大于 0.5，其关联度大小依次为峰 7>6>8>9>2>12>14>15>3>4>5>10>13>16>1>17>18>11。其中 7 号峰的贡献最大，其关联度为 0.836 0。由表 6 可知，与尿酸含量关联度大于 0.5 的峰有 11 个，其关

表 5 足垫厚度与各特征峰峰面积的关联度

Table 5 Correlation between footpad thickness and peak area of each characteristic peak

峰号	关联系数	峰号	关联系数
7	0.836 0	4	0.690 2
6	0.804 0	5	0.684 1
8	0.798 8	10	0.668 6
9	0.788 3	13	0.662 6
2	0.770 7	16	0.651 9
12	0.759 4	1	0.586 1
14	0.744 6	17	0.584 9
15	0.716 5	18	0.573 5
3	0.711 8	11	0.571 3

表 6 尿酸含量与各特征峰峰面积的关联度

Table 6 Correlation between uric acid content and peak area of each characteristic peak

峰号	关联系数	峰号	关联系数
4	0.664 3	11	0.510 5
15	0.604 5	1	0.502 5
7	0.596 1	12	0.497 0
16	0.584 4	17	0.486 2
9	0.584 3	3	0.485 7
2	0.571 8	13	0.467 7
6	0.555 8	10	0.402 1
8	0.554 5	5	0.358 9
14	0.513 9	18	0.325 3

联度大小依次为峰 4>15>7>16>9>2>6>8>14>11>1。

3 讨论

实验前期分别考察了不同提取方法（超声、回流）、不同提取溶剂（甲醇、乙醇、70%乙醇及水）、不同提取时间（30、60、90 min），最终确定虎杖样品的处理方法为加 70%乙醇 30 mL 加热回流提取 30 min。分别考察了不同流动相（甲醇-水、乙腈-水、乙腈-0.1%磷酸溶液），发现乙腈-0.1%磷酸溶液分离效果最好，色谱峰峰形对称、重复性好，故以其为流动相。在检测波长的选择过程中，考察了不同波长下的色谱图，分别在 254、280、290 nm 波长下对同一样品进行检测，结果在 290 nm 处发现虎杖的主要化学有效成分白藜芦醇苷和大黄素均有较强的吸收，且大多数峰的峰面积值较大，因此色谱图的检测波长确定为 290 nm。

实验在不同批次虎杖提取物 HPLC 指纹图谱特征峰与其抗痛风性关节炎作用数据量化的基础上，采用灰色关联度分析法对虎杖指纹图谱特征峰与抗痛风性关节炎作用的大小进行相关性研究。结果显示，各特征峰的关联度均大于 0.5，说明虎杖

的抗痛风性关节炎作用可能是多成分共同作用的结果。在足垫厚度数据中，对抗痛风性关节炎作用贡献较大的特征峰主要有峰 7（虎杖苷）、峰 9（槲皮素）、峰 11（白藜芦醇）、峰 12（槲皮苷）、峰 13（大黄素-8-O-β-D-葡萄糖苷）、峰 16（大黄素）、峰 18（大黄素甲醚），关联度均大于 0.5；在尿酸数据中，对抗痛风性关节炎作用贡献较大的特征峰主要有 7（虎杖苷）、峰 9（槲皮素）、峰 11（白藜芦醇）、峰 16（大黄素），关联度大于 0.5。虎杖特征峰对 2 个药效指标贡献率不同的原因可能是虎杖对由 sc 无内毒素的 MSU 晶体悬液诱导炎症痛性关节炎的各个指标的治疗途径和机制不一样。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 126.
- [2] 明·虞抟著 张丽君, 丁侃校注. 医学正传 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2011: 83.
- [3] 时圣明, 潘明佳, 王文倩, 等. 虎杖的化学成分及药理作用研究进展 [J]. 药物评价研究, 2016, 39(2): 317-321.
- [4] 刘峻承, 郑德勇. 红藤虎杖复方免煎剂治疗急性痛风性关节炎的实验研究 [J]. 云南中医中药杂志, 2018, 39(9): 75-76.
- [5] 任丽. 虎杖提取物治疗痛风性关节炎的初步成药性研究 [D]. 遵义: 遵义医学院, 2017.
- [6] 马天红, 盛涛, 田崇梅, 等. 虎杖醇提物通过 NLRP3/ASC/caspase-1 轴干预小鼠急性痛风性关节炎的作用研究 [J]. 中国中药杂志, 2019, 44(3): 546-552.
- [7] 谢招虎, 解静, 李兆福, 等. 虎杖治疗痛风的作用机制及临床应用研究进展 [J]. 辽宁中医杂志, 2019, 46(5): 1111-1113.
- [8] 刘慧文, 王国凯, 储宣宁, 等. 不同产地虎杖 HPLC 指纹图谱及 6 种成分含量测定 [J]. 现代中药研究与实践, 2018, 32(3): 13-17.
- [9] 蔺红伟, 朴淑娟, 江春霞, 等. 虎杖饮片指纹图谱的研究及其耐用性考察 [J]. 药学实践杂志, 2016, 34(2): 174-176.
- [10] 李钟, 韩彬, 黄惠珠, 等. 虎杖-桂枝药对配伍对急性痛风性关节炎大鼠 TLR4/MyD88 信号转导通路的影响 [J]. 广州中医药大学学报, 2015, 32(6): 1040-1046.
- [11] 成守玲, 廖彩霞, 郑太华, 等. 虎杖药材的高效液相指纹图谱研究 [J]. 世界中西医结合杂志, 2014, 9(2): 165-168.
- [12] 白关亚, 何盼, 李媛媛, 等. 青翘不同极性部位抗炎作用的谱效关系分析 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(11): 1-6.
- [13] 林梦雅, 张玉萍, 李雅, 等. 基于灰色关联度分析的丹参提取物抗炎作用谱效关系研究 [J]. 中草药, 2017, 48(16): 3447-3452.
- [14] 瞿领航, 曹国胜, 涂济源, 等. 基于灰色关联度与正交偏最小二乘法分析的苍术挥发油燥性谱效关系研究 [J]. 中草药, 2019, 50(1): 150-156.

[责任编辑 时圣明]