

成分分析

腹水草 HPLC 指纹图谱研究及香草酸等 6 种成分的含量测定*

马铭研, 陈维, 俞松林**

(浙江医药高等专科学校, 宁波 315000)

摘要 目的: 建立腹水草茎叶的 HPLC 指纹图谱和同时测定咖啡酸、香草酸、阿魏酸、原儿茶酸、木犀草素和金合欢素含量的方法, 为腹水草药材的质量控制提供可靠参考。方法: 采用 Zobax C₁₈ 色谱柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 以乙腈-0.1% 磷酸溶液为流动相, 进行梯度洗脱, 流速 1.0 mL · min⁻¹, 检测波长 230 nm, 柱温 30 °C, 建立腹水草茎叶指纹图谱, 使用中国药典委员会“中药色谱指纹图谱相似度评价系统 2004A 版”确定共有峰, 计算相似度; 并对咖啡酸、香草酸、阿魏酸、原儿茶酸、木犀草素和金合欢素的含量测定方法进行方法学验证。结果: 10 批不同产地腹水草茎叶指纹图谱中有 27 个共有峰, 与对照品比较, 指认其中咖啡酸、香草酸、阿魏酸、原儿茶酸、木犀草素和金合欢素 6 个成分, 10 批样品的相似度均在 0.900 以上; 上述 6 个成分含量测定方法经验证, 线性范围分别为 3.0~60.0、10.0~200.0、5.0~100.0、10.0~200.0、10.0~200.0 和 5.0~100.0 μg · mL⁻¹, 平均加样回收率分别为 102.0%、102.8%、101.2%、97.5%、98.0% 和 101.1%。10 批腹水草样品中咖啡酸、香草酸、阿魏酸、原儿茶酸、木犀草素和金合欢素含量分别在 22.1~38.4、39.9~58.8、23.8~59.1、43.6~68.0、53.8~89.6、36.6~62.7 μg · g⁻¹ 范围内。结论: 本文所建立的腹水草茎叶 HPLC 指纹图谱及主要成分含量测定方法, 可用于腹水草药材质量控制等研究。

关键词: 腹水草; 黄酮类化合物; 酚酸类化合物; 咖啡酸; 阿魏酸; 香草酸; 原儿茶酸; 木犀草素; 金合欢素; 指纹图谱; 高效液相色谱

中图分类号: R 917 文献标识码: A 文章编号: 0254-1793 (2017) 05-0763-08

doi: 10.16155/j.0254-1793.2017.05.03

Study on HPLC fingerprint and determination of six components including vanillic acid of the stems and leaves of *Veronicastrum axillare* Yamazaki*

MA Ming-yan, CHEN Wei, YU Song-lin**

(Zhejiang Pharmaceutical College, Ningbo 315000, China)

Abstract Objective: To establish an HPLC fingerprint, determine 6 components in the stems and leaves of *Veronicastrum axillare* Yamazaki including caffeic acid, vanillic acid, ferulic acid, protocatechuic acid, luteolin and acacetin and provide a reference for quality control. **Methods:** Zobax C₁₈ column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm)

* 国家自然科学基金青年科学基金 (21502172)

** 通信作者 Tel: (0574) 88223170; E-mail: 2290140894@qq.com

第一作者 Tel: (0574) 88223087; E-mail: 894025537@qq.com

was used, and the mobile phase consisted of acetonitrile–0.1% phosphoric acid solution with gradient elution at the flow rate of $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, the detection wavelength was set at 230 nm and the column temperature was $30 \text{ }^\circ\text{C}$. The HPLC fingerprint was evaluated by chromatographic fingerprint evaluation system software (2004A Edition) by determining the common peaks and calculating the similarity. Besides, the analytical method of caffeic acid, vanillic acid, ferulic acid, protocatechuic acid, luteolin and acacetin was validated. **Results:** The 27 common peaks of fingerprint from 10 batches were found, and caffeic acid, vanillic acid, ferulic acid, protocatechuic acid, luteolin and acacetin were identified by using standard chemicals. The similar degree of 10 batches samples were more than 0.900. In quality determination, the good linear was observed in the ranges of $3.0\text{--}60.0 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, $10.0\text{--}200.0 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, $5.0\text{--}100.0 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, $10.0\text{--}200.0 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, $10.0\text{--}200.0$ and $5.0\text{--}100.0 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, respectively, and the average recoveries were 102.0%, 102.8%, 101.2%, 97.5%, 98.0% and 101.1%, respectively. The content ranges of caffeic acid, vanillic acid, ferulic acid, protocatechuic acid, luteolin and acacetin were $22.1\text{--}38.4 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$, $39.9\text{--}58.8 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$, $23.8\text{--}59.1 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$, $43.6\text{--}68.0 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$, $53.8\text{--}89.6 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ and $36.6\text{--}62.7 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$, respectively. **Conclusion:** The HPLC fingerprint of *Veronicastrum axillare* Yamazaki and determination method of caffeic acid, vanillic acid, ferulic acid, protocatechuic acid, luteolin and acacetin are simple, accurate and reproducible, which can provide a reference for the quality control for *Veronicastrum axillare* Yamazaki.

Keywords: *Veronicastrum axillare* Yamazaki; flavonoid; phenolic acid; caffeic acid; vanillic acid; ferulic acid; protocatechuic acid; luteolin; acacetin; fingerprint; HPLC

腹水草 (*Veronicastrum axillare* Yamazaki) 为玄参科腹水草属植物, 在浙江、安徽、江苏、江西、福建和广东等地广泛分布, 味苦, 微寒, 归肝、脾、肾经^[1], 具有逐水消肿, 消炎解毒等功效^[2], 多以茎叶入药。临床上利用其茎叶水煎剂治疗肝硬化^[3]、胸腔积液^[4]、急性慢性肾炎^[2]。据报道^[5-7], 腹水草中含有黄酮、萜、生物碱、酚酸、多糖等类有效成分, 本文研究的咖啡酸、香草酸、阿魏酸、原儿茶酸属于酚酸类成分, 木犀草素和金合欢素属于黄酮类成分, 均具有不同程度的抗菌、抗氧化、抗病毒等活性, 其中木犀草素和阿魏酸还具有一定的抗肿瘤作用。现有的文献仅有关于不同腹水草属和腹水草根部中熊果酸的薄层扫描检测方法^[8-9], 未见其他关于腹水草成分含量测定的报道, 已有检测方法专属性不强, 控制成分单一, 不能反映腹水草药材的整体质量。指纹图谱是基于对中药物质群整体作用的认识, 借助于波谱和色谱等技术获得中药化学成分的光谱或色谱图, 是实现鉴别中药真实性, 评价质量一致性和产品稳定性的可行模式^[10], 在中药制剂^[11]和中药材^[12-13]的质量控制研究中广泛应用。本研究采用高效液相色谱法建立腹水草茎叶的指纹图谱, 并对其中咖啡酸、香草酸、阿魏酸、原儿茶酸、木犀草素和金合欢素 6 个主要成分进行含量测定方法的研究, 为腹水草质量控制提供可靠

依据。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

安捷伦公司 Agilent 1260 高效液相色谱仪、Agilent DAD 检测器及 Agilent Chemstation 色谱工作站, 安捷伦公司 Agilent Zobax ($250 \text{ mm} \times 4.6 \text{ mm}$, $5 \mu\text{m}$; 填料: 十八烷基硅烷键合硅胶), 梅特勒托利多国际有限公司 BS124S 电子分析天平, 密理博中国有限公司 Millipore 超纯水机, 广东固特超声股份有限公司 GT-2227QTS 固特超声清洗器。

1.2 试剂

对照品咖啡酸 (批号 20160505)、香草酸 (批号 20160721)、阿魏酸 (批号 20150925)、原儿茶酸 (批号 20151021)、木犀草素 (批号 20160702) 和金合欢素 (批号 20160716), 均购自 Soarbio 公司, 纯度均大于 98.0%。

乙腈为色谱纯, 超纯水为自制, 乙醇、磷酸等试剂为分析纯。

腹水草茎叶通过采集和购买的形式进行收集, 具体采集和购买地点及产地见表 1, 所有腹水草药材经浙江医药高等专科学校杨雄志教授鉴定为玄参科腹水草 *Veronicastrum axillare* Yamazaki 的茎叶。

表 1 腹水草药材来源

Tab. 1 Origins of the stems and leaves of *Veronicastrum axillare*

样品编号 (sample No.)	收集地点 (supplier)	产地 (origin)
1	鄞州药材公司 (Yinzhou TCM Material Company)	福建 (Fujian Province)
2	鄞州药材公司 (Yinzhou TCM Material Company)	安徽 (Anhui Province)
3	宁波药材公司 (Ningbo TCM Material Company)	浙江 (Zhejiang Province)
4	南京药材公司 (Nanjing TCM Material Company)	江苏 (Jiangsu Province)
5	广州药材公司 (Guangzhou TCM Material Company)	江西 (Jiangxi Province)
6	宁波容和大药房 (Ningbo Ronghe Drug store)	安徽 (Anhui Province)
7	安徽亳州药材市场 (Bozhou TCM Market)	江西 (Jiangxi Province)
8	浙江金华 (Jinhua, Zhejiang)	浙江 (Zhejiang Province)
9	浙江温州 (Wenzhou, Zhejiang)	浙江 (Zhejiang Province)
10	浙江黄岩 (Huangyan, Zhejiang)	浙江 (Zhejiang Province)

2 方法与结果

2.1 溶液配制

2.1.1 供试品溶液 取本品粉末(过3号筛)约10.0 g,精密称定,置于具塞锥形瓶中,加入75%乙醇水溶液100 mL,称量,回流提取30 min,放冷至室温,称量后用75%乙醇水溶液补足减失的量,摇匀,用微孔滤膜过滤,收集续滤液,即得。

2.1.2 混合对照品储备液 分别称取咖啡酸、香草酸、阿魏酸、原儿茶酸、木犀草素和金合欢素的对照品适量,精密称定,用75%乙醇水溶液配制成混合溶液(咖啡酸 $0.3 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$,香草酸 $1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$,阿魏酸 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$,原儿茶酸 $1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$,木犀草素 $1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$,金合欢素 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$),即得。

2.1.3 空白溶液 75%乙醇水溶液。

2.2 色谱条件

色谱柱: Agilent Zobax C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈(A)-0.1%磷酸溶液(B),梯度洗脱(0~60 min, 0 → 40%A; 60~70 min, 40%A → 100%A; 70~80 min, 100% A); 流速: $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$; 检测波长: 230 nm; 柱温: 30 °C; 进样量: 10 μL。

2.3 HPLC 指纹图谱的建立

2.3.1 精密度试验 取同一供试品溶液,按上述色谱条件连续进样6次,以金合欢素为参比峰,测得27个共有峰的相对保留时间RSD分别为0.13%、0.32%、0.28%、0.20%、0.09%、0.26%、0.53%、0.57%、0.26%、0.17%、0.10%、0.27%、0.53%、0.30%、0.25%、0.41%、0.33%、0.52%、0.19%、0.34%、0.50%、0.34%、0.65%、0.46%、0.09%、0.10%、0.21%,相对峰面积的RSD

分别为0.79%、0.66%、0.82%、0.91%、0.58%、0.02%、0.39%、0.39%、0.65%、0.73%、0.82%、0.96%、0.56%、0.47%、0.69%、0.87%、0.97%、1.31%、0.76%、1.13%、0.59%、0.90%、0.38%、1.77%、0.72%、0.86%、0.54%,表明仪器的精密度良好。

2.3.2 重复性试验 取同一批腹水草样品,按照“2.1.1”项下方法制备供试品溶液,并按上述色谱条件分析,以金合欢素为参比峰,测得27个共有峰的相对保留时间RSD分别为0.25%、0.37%、0.18%、0.42%、0.65%、0.06%、0.95%、1.16%、0.93%、0.31%、0.99%、1.05%、0.34%、0.66%、1.22%、1.87%、1.14%、0.83%、0.19%、0.72%、1.03%、1.56%、0.87%、0.76%、0.08%、0.21%、0.17%,相对峰面积的RSD分别为0.56%、0.43%、0.78%、0.24%、0.19%、0.06%、0.10%、0.97%、0.75%、0.05%、1.22%、1.87%、0.15%、0.12%、0.36%、0.93%、1.02%、1.37%、0.21%、1.67%、1.98%、1.56%、1.17%、1.23%、0.31%、0.22%、0.41%,表明指纹图谱测定方法重复性好,符合技术要求。

2.3.3 稳定性试验 取同一供试品溶液,在室温放置0、2、4、8、12、24 h后分别进样,以金合欢素为参比峰,测得27个共有峰的相对保留时间RSD分别为0.10%、0.25%、0.37%、0.98%、0.42%、0.65%、0.06%、0.35%、0.16%、0.64%、0.12%、0.42%、1.33%、0.33%、0.25%、0.43%、0.52%、0.36%、0.27%、0.20%、0.67%、0.97%、0.78%、0.24%、0.09%、0.10%、0.22%,相对峰面积的RSD分别为0.16%、0.13%、0.78%、0.04%、0.09%、0.16%、1.10%、0.37%、0.02%、1.17%、1.57%、0.10%、0.08%、0.53%、1.05%、1.24%、1.34%、1.86%、

0.17%、0.64%、2.10%、1.55%、1.43%、0.88%、0.21%、0.64%、0.78%，表明供试品溶液在室温放置 24 h 测定结果稳定。

2.3.4 指纹图谱的建立 取 10 批腹水草样品，按照“2.1”项下方法制备供试品溶液，并按上述色谱条件分析，见图 1。将 10 批样品的色谱图导入中国药典委员会“中药色谱指纹图谱相似度评价系统 2004A 版”，建立腹水草 HPLC 指纹图谱的共有模式，标定

了 26 个共有峰，见图 2。以金合欢素为参比峰，计算 27 个共有峰的相对保留时间 RSD 分别为 0.15%、0.22%、0.27%、0.05%、0.07%、0.26%、0.17%、0.54%、0.45%、0.01%、0.28%、0.46%、0.05%、0.10%、0.22%、0.16%、0.19%、0.14%、0.08%、0.37%、0.24%、0.36%、0.28%、0.19%、0.08%、0.12%、0.19%，符合指纹图谱的要求。

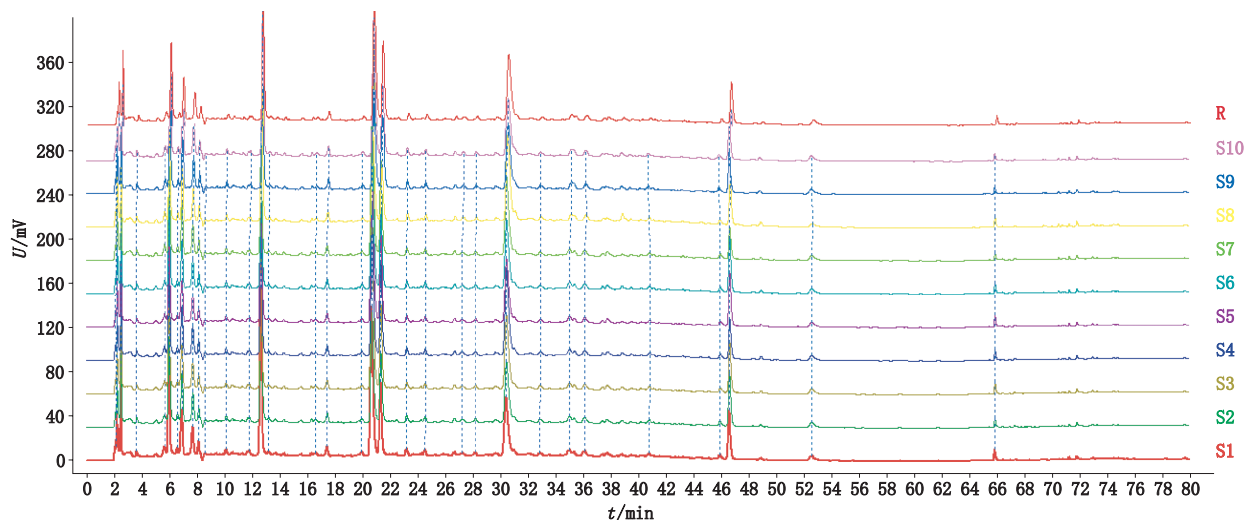


图 1 10 批腹水草的 HPLC 指纹图谱

Fig. 1 HPLC fingerprint of 10 batches of the stems and leaves of *Veronicastrum axillare*

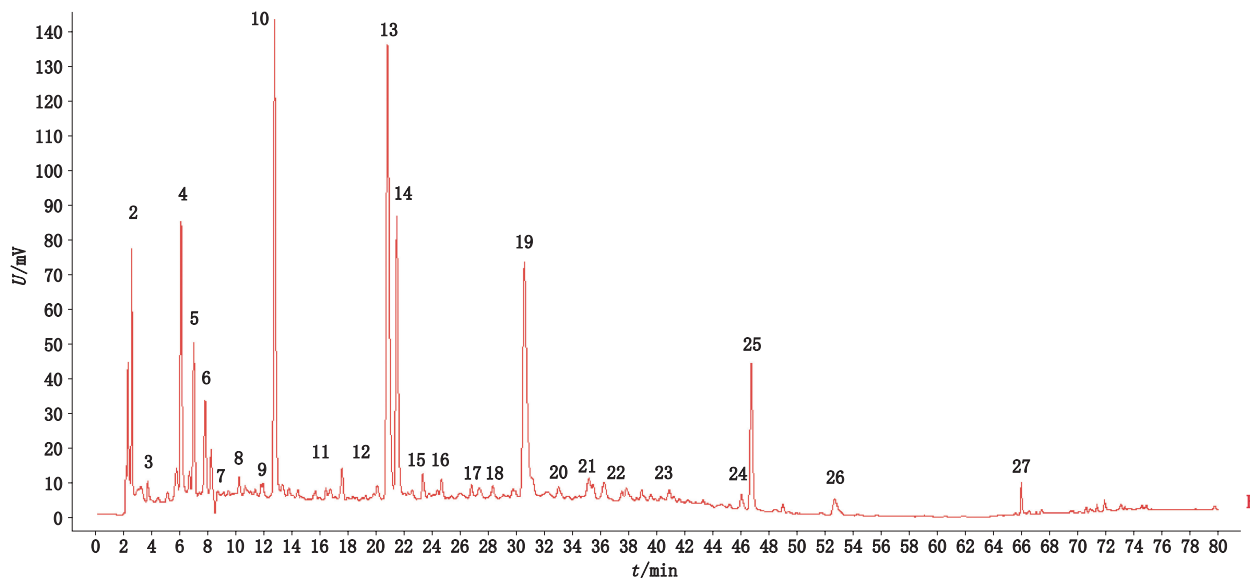


图 2 腹水草的对照指纹图谱

Fig. 2 HPLC standard fingerprint of the stems and leaves of *Veronicastrum axillare*

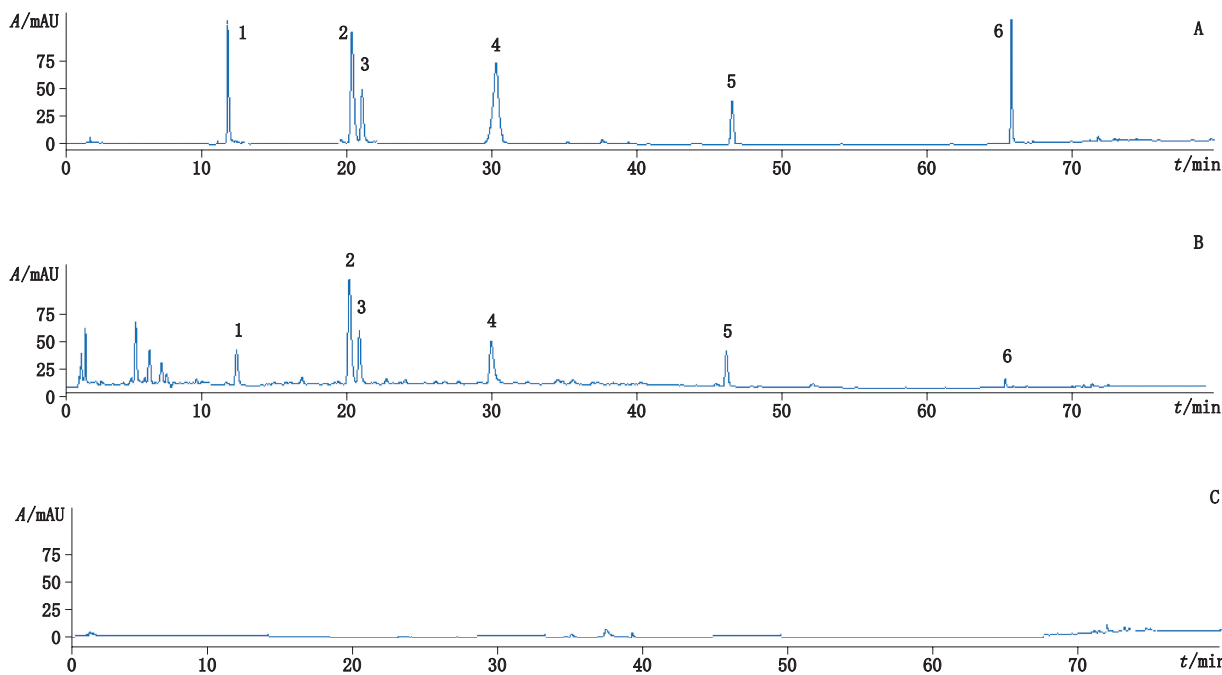
2.3.5 指纹图谱相似度分析 将 10 批样品的色谱图导入中国药典委员会“中药色谱指纹图谱相似度评价系统 2004A 版”，计算 10 批样品与混合对照品

的相似度分别为 0.981、0.969、0.973、0.952、0.990、0.983、0.931、0.943、0.966、0.959，均大于 0.93，说明不同产地的腹水草质量相对稳定。

2.4 腹水草中 6 个成分含量测定

(见图 3),各待测物色谱峰的分度大于 1.5,理论塔板数大于 5 000,拖尾因子在 0.9~1.1 之间。

2.4.1 系统适用性试验 取供试品溶液、混合对照品溶液和空白溶液,按“2.2”项下色谱条件采集色谱图



1. 香草酸 (vanillic acid) 2. 原儿茶酸 (protocatechuic acid) 3. 咖啡酸 (caffeic acid) 4. 阿魏酸 (ferulic acid) 5. 木犀草素 (luteolin) 6. 金合欢素 (acacetin)

图 3 混合对照品 (A)、腹水草供试品 (B) 和空白溶液 (C) HPLC 谱图

Fig. 3 HPLC chromatograms of mix standard chemicals (A), *Veronicastrum axillare* sample (B) and blank (C)

2.4.2 线性关系考察 将“2.1.2”项下混合对照储备液以 75% 乙醇水溶液稀释至 5、10、20、50、100 倍,制成系列混合对照品溶液,分别进样,以色谱峰峰面积

(Y) 为纵坐标,浓度 (X, $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) 为横坐标,制作标准曲线,得咖啡酸、香草酸、阿魏酸、原儿茶酸、木犀草素和金合欢素的回归方程和线性范围,结果见表 2。

表 2 6 个对照品的线性关系和范围

Tab. 2 Regression equations and linear ranges of six reference substances

成分 (ingredient)	回归方程 (regression equation)	r	线性范围 (linear range) / ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)
咖啡酸 (caffeic acid)	$Y=1.633X+2.078$	0.999 4	3.0~60.0
香草酸 (vanillic acid)	$Y=25.67X-5.374$	0.999 2	10.0~200.0
阿魏酸 (ferulic acid)	$Y=15.582X+2.307$	0.999 6	5.0~100.0
原儿茶酸 (protocatechuic acid)	$Y=32.70X-3.578$	0.999 5	10.0~200.0
木犀草素 (luteolin)	$Y=17.21X-1.498$	0.999 3	10.0~200.0
金合欢素 (acacetin)	$Y=6.025X-0.439$	0.999 4	5.0~100.0

2.4.3 精密度试验 取混合对照品储备液稀释 20 倍,连续进样 6 次,记录咖啡酸、香草酸、阿魏酸、原儿茶酸、木犀草素和金合欢素的峰面积,计算上述各待测物峰面积的 RSD 分别为 0.23%、0.56%、0.30%、0.18%、0.20%、0.09%,表明仪器精密度良好。

2.4.4 重复性试验 取同一批腹水草样品,按照“2.1.1”项下方法制备供试品溶液,并按上述色谱条件分析,将峰面积带入标准曲线回归方程,计算咖啡酸、香草酸、阿魏酸、原儿茶酸、木犀草素和金合欢素的含量分别为 27.6、52.3、39.7、62.2、83.9 和

41.1 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$,各成分含量的RSD分别为0.92%、1.27%、1.59%、1.82%、1.16%和1.04%,表明方法的重复性良好。

2.4.5 加样回收率试验 取已知含量的采腹水草样

品约5.0 g,共6份,精密称定,分别加入一定量对照品,按“2.1.1”项下方法制备供试溶液,按“2.2”项下色谱条件进行测定,计算回收率,见表3。

表3 6个成分的加样回收率($n=6$)

Tab. 3 The recoveries of the six constituents

成分 (component)	样品中含量 (sample content)/ μg	加入量 (added amount)/ μg	测得量 (detected amount)/ μg	回收率 (recovery)/%	平均回收率 (average recovery)/%	RSD/ %
咖啡酸 (caffeic acid)	276.2	276.5	550.4	99.2	102.0	2.32
	276.3		561.3	103.1		
	277.8		567.9	104.9		
	277.4		557.5	101.3		
	274.8		562	103.9		
	275.6		550.6	99.5		
香草酸 (vanillic acid)	523.3	523.7	1 039.9	98.6	102.8	3.46
	524.7		1 047.5	99.8		
	522.8		1 082.6	106.9		
	522.2		1 083.5	107.2		
	525.9		1 065.3	103.0		
	523.6		1 053.4	101.2		
阿魏酸 (ferulic acid)	397.8	397.4	812.3	104.3	101.2	3.52
	399.0		819.1	105.7		
	398.1		798.6	100.8		
	395.6		786.4	98.3		
	396.3		779.5	96.4		
	397.5		801.3	101.6		
原儿茶酸 (protocatechuic acid)	622.4	622.6	1 256.8	101.9	97.5	5.11
	629.6		1 278.3	104.2		
	626.8		1 236.9	98.0		
	623.0		1 199.5	92.6		
	616.5		1 217.8	96.6		
	615.1		1 186.3	91.7		
木犀草素 (luteolin)	839.6	839.5	1 648.9	96.4	98.0	3.57
	803.3		1 670.1	103.2		
	866.5		1 667.5	95.4		
	828.7		1 681.2	101.6		
	847.9		1 639.8	94.3		
	840.0		1 657.4	97.4		
金合欢素 (acacetin)	411.5	411.3	818.6	99.0	101.1	4.63
	413.7		806.5	95.5		
	414.2		812.3	96.8		
	410.5		839.7	104.4		
	409.7		850.2	107.1		
	414.9		842.3	103.9		

2.4.6 稳定性试验 取同一供试品溶液,在室温放置 0、2、4、8、12、24 h 后分别进样,记录咖啡酸、香草酸、阿魏酸、原儿茶酸、木犀草素和金合欢素的峰面积,计算峰面积的 RSD 分别为 0.22%、0.41%、0.54%、0.47%、0.38% 和 0.53%,说明 6 个待测成分在供试品

溶液中 24 h 内稳定,不影响测定。

2.4.7 含量测定 取各药材粉末,按“2.1.1”项下方法制备供试品溶液,每个样品平行 2 份,并按“2.2”项下色谱条件进行测定,将峰面积带入标准曲线回归方程计算各样品中 6 个成分的含量,结果见表 4。

表 4 腹水草样品的测定 ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, $n=2$)

Tab. 4 Determination of samples

编号 (No.)	咖啡酸 (caffeic acid)	香草酸 (ferulic acid)	阿魏酸 (vanillic acid)	原儿茶酸 (protocatechuic acid)	木犀草素 (luteolin)	金合欢素 (acacetin)
1	35.2	46.9	23.8	57.5	68.4	40.6
2	27.3	52.6	40.0	62.1	83.7	41.0
3	22.1	41.2	42.5	43.6	53.0	36.5
4	29.5	57.3	59.1	55.8	72.7	62.7
5	27.3	45.6	46.3	39.8	64.5	48.6
6	31.9	39.9	48.5	59.6	72.5	51.6
7	38.4	51.8	29.0	63.5	89.6	47.6
8	25.6	46.0	51.5	68.0	53.8	49.8
9	32.2	53.5	29.8	65.1	62.9	36.6
10	24.3	58.8	41.5	57.9	75.4	47.1

3 讨论

3.1 提取方法的选择

分别考察提取溶剂(甲醇、75%乙醇、50%甲醇和 50%乙醇溶液)、提取时间(30、45、60、90、120 min)、提取方式(超声、回流),以色谱峰个数多及含量较高为指标,确定 75%乙醇溶液回流 30 min 制备供试品溶液。

3.2 色谱条件的选择

使用 DAD 检测器在 190~400 nm 全波长扫描光谱图,并采集 230、254 和 265 nm 处样品色谱图,比较色谱峰数量、基线平稳程度、色谱峰面积、含量测定成分与相邻色谱峰的分离度等因素,确定 230 nm 为最佳测定波长;分别考察甲醇和乙腈作为有机相,0.1%醋酸水溶液、0.1%磷酸水溶液、醋酸钠缓冲液、磷酸二氢钾缓冲液作为水相,不同组合之后所得的色谱图,以分离度、分析时间为指标,最后确定 0.1%磷酸水-乙腈梯度洗脱最为合适。

3.3 相似度评价

将 10 批腹水草样品的 HPLC 指纹图谱导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统 2004A 版”,设定不同参考图谱,对共有峰的识别影响不大,所以以鄞州药材公司购买的产地为福建的腹水草 HPLC 指纹图谱为参照,分别提取面积百分比大于 0.1%、

0.2%、0.3%、0.4%、0.5% 的峰作为有效峰组成相应样本,进行共有峰识别,以共有峰数目并结合 DAD 光谱吸收曲线为衡量项目,确定提取面积百分比大于 0.3% 的峰作为有效峰组成相应样本。由相似度计算结果可知,不同产地腹水草具有较好的质量相关性。

3.4 含量测定

采用建立的 HPLC 方法测定了 10 批 5 个不同产地的腹水草样品,不同产地相同成分含量差异明显,相同产地同一成分的含量也存在一定差异,所以对腹水草质量进行严格控制至关重要。目前针对腹水草的药效学研究主要集中在治疗水液代谢失调疾病如胃溃疡、胸腔积液^[14-15],若能找到有效成分,下一步以 HPLC 指纹图谱为基础,建立谱效关系档案,将对中药腹水草质量控制和合理应用开发具有更重要的价值。

4 结论

本研究所建立的腹水草指纹图谱方法能够较准确反映药材的质量情况,又同时测定了其中咖啡酸、香草酸、阿魏酸、原儿茶酸、木犀草素和金合欢素的含量,方法简便。利用腹水草指纹图谱和 6 个成分含量同时测定的方法,可以为更加准确灵敏地控制腹水草药材的质量提供参考。

参考文献

- [1] 南京中医药大学. 中药大辞典. 下册[M]. 第2版. 上海: 上海科学技术出版社, 2006: 3514
Nanjing University of Chinese Traditional Medicine. The Dictionary of Medicinal Plant. The Second Volume [M]. 2nd Ed. Shanghai: Shanghai Science and Technology Publishers 2006: 3514
- [2] 党旋, 赵兵, 高昂, 等. 腹水草属药学研究概况[J]. 安徽农业科学, 2011, 39(32): 19801
DANG X, ZHAO B, GAO A, *et al.* Pharmaceutical research of *Veronicastrum* [J]. *Anhui Agric Sci*, 2011, 39(32): 19801
- [3] 舒军. 过路黄腹水草治疗肝硬化 110 例[J]. 实用中医内科杂志, 2005, 19(2): 148
SHU J. The clinical observation of 110 cases of cirrhosis treated by *Veronicastrum axillare* [J]. *J Pract Tradit Chin Intern Med*, 2005, 19(2): 148
- [4] 吴金辉. 腹水草治疗胸腔积液[J]. 浙江中医杂志, 2003, 38(1): 11
WU JH. The treatment of pleural effusion by *Veronicastrum axillare* [J]. *Zhejiang J Tradit Chin Med*, 2003, 38(1): 11
- [5] 邓雪红. 腹水草(爬岩红)的化学成分及抗炎活性研究[D]. 福州: 福建中医药大学, 2013
DENG XH. Study on Chemical Constituents and Anti-inflammatory Activity of *Veronicastrum axillare* [D]. Fuzhou: Fujian University of Traditional Chinese Medicine, 2013
- [6] 刘玥, 王峥涛, 徐国均, 等. 爬岩红的化学成分研究[J]. 中草药, 1999, 30(7): 490
LIU Y, WANG ZT, XU GJ, *et al.* Study on chemical constituents of *Veronicastrum axillare* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs*, 1999, 30(7): 490
- [7] 邓雪红, 郑呈剑, 吴宇, 等. 爬岩红化学成分研究[J]. 中国药学杂志, 2013, 48(10): 777
DENG XH, ZHENG CJ, WU Y, *et al.* Chemical constituents of whole plant of *Veronicastrum axillare* (Sieb. et Zucc.) Yamazaki [J]. *Chin Pharm J*, 2013, 48(10): 777
- [8] 赵焕霞, 刘玥, 宋哲, 等. 薄层扫描法测定 7 种腹水草属植物中熊果甙的含量[J]. 中国野生植物资源, 1997, 16(3): 30
ZHAO HX, LIU Y, SONG Z, *et al.* Determination of arbutin in 7 species of *Veronicastrum* herbs by TLC scanning [J]. *Chin Wild Plant Resour*, 1997, 16(3): 30
- [9] 赵焕霞, 石延榜. 薄层扫描法测定腹水草根部熊果苷的含量[J]. 河南中医学院学报, 2007, 22(4): 33
ZHAO HX, SHI YB. Content determination of arbutin in villosulous *veronicastrum* herb or root by LSM [J]. *J Henan Univ Chin Med*, 2007, 22(4): 33
- [10] 李强, 杜思邈, 张忠亮, 等. 中药指纹图谱技术进展及未来发展方向展望[J]. 中草药, 2013, 44(22): 3095
LI Q, DU SM, ZHANG ZL, *et al.* Progress in fingerprint technology on Chinese materia medica and prospect of its future development [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* 2013, 44(22): 3095
- [11] 朱林燕, 谢建峰, 孔子铭, 等. 藏药二十一味寒水石丸的 HPLC 指纹图谱研究[J]. 药物分析杂志, 2015, 35(8): 1430
ZHU LY, XIE JF, KONG ZM, *et al.* Study on HPLC fingerprint of Ershiyiwei Hanshuishi pills [J]. *Chin J Pharm Anal*, 2015, 35(8): 1430
- [12] 刘吉成, 陈大建. 黑草药材 HPLC 指纹图谱的研究[J]. 药物分析杂志, 2013, 33(3): 424
LIU JC, CHEN DJ. HPLC fingerprint study of the herb of *Buchnera cruciata* [J]. *Chin J Pharm Anal*, 2013, 33(3): 424
- [13] 潘伟东, 杜义龙, 赵胜男, 等. 韩信草的高效液相色谱指纹图谱及化学模式识别[J]. 药物分析杂志, 2015, 35(2): 250
PAN WD, DU YL, ZHAO SN, *et al.* HPLC fingerprint and chemical pattern recognition of *Scutellaria indica* [J]. *Chin J Pharm Anal*, 2015, 35(2): 250
- [14] 娄勤进, 徐艳山, 赵伟春, 等. 水液代谢在胃黏膜损伤中的调控及腹水草的干预作用研究[J]. 浙江中医药大学学报, 2016, 40(1): 1
LOU QJ, XU YS, ZHAO WC, *et al.* Study on the regulation roles of water metabolism in gastric mucosa injury induced by ethanol and the effect of *Veronicastrum axillare* [J]. *J Zhejiang Chin Med Univ*, 2016, 40(1): 1
- [15] 徐艳山, 赵伟春, 王丹伊, 等. 腹水草对人胃上皮细胞 GES-1 的保护作用及其对 PKA、CREB、AQP1 的调控研究[J]. 浙江中医药大学学报, 2016, 40(3): 173
XU YS, ZHAO WC, WANG DY, *et al.* Protective effect of *Veronicastrum axillare* on human gastric epithelial cells (GES-1) and its modulation on the PKA, CREB and AQP1 [J]. *J Zhejiang Chin Med Univ*, 2016, 40(3): 173

(本文于 2016 年 8 月 5 日收到)