羌活薄层色谱和 HPLC 指纹图谱结合多成分含量测定的质量评价方法研究

彭任^{1,2}, 王君阳^{1,2}, 杨爱萍^{1,2}, 王翠翠^{1,2}, 胡杨², 陆兔林², 胡立宏^{1,2}, 王吓长^{1,2}

(1.南京中医药大学江苏省中药功效物质重点实验室,江苏 南京 210023;2.南京中医药大学药学院,江苏 南京 210023)

摘要:目的 建立薄层色谱、HPLC 指纹图谱、多成分含量测定分析方法,评价 18 批不同产地羌活市售药材,为提高羌活质量标准提供技术支持。方法 采用高效薄层色谱法对羌活进行鉴别;采用 HPLC-DAD 法建立羌活指纹图谱,运用相似度软件对 18 批药材进行质量评价,建立 HPLC 法测定羌活中多个有效成分(阿魏酸苯乙醇酯、羌活醇、异欧前胡素、镰叶芹二醇)的含量。结果 建立了高效便捷的羌活薄层鉴别方法;所建立的指纹图谱出峰时间适中、方法稳定,共标定了 14 个共有峰,并通过对照品比对指认了 6 个色谱峰。18 批市售药材指纹图谱相似度按共有峰计算在 0.887~0.992;建立羌活多类型有效成分含量测定方法,阿魏酸苯乙醇酯、羌活醇、异欧前胡素、镰叶芹二醇在该色谱条件下分离良好,线性关系良好($r>0.9998$),平均回收率分别为 95.3%、99.5%、98.5%、98.5%。结论 建立的羌活薄层鉴别方法和 HPLC 指纹图谱稳定可靠,能有效区别羌活、宽叶羌活及其易混淆品;同时建立了羌活中多个有效成分的 HPLC 含量测定方法,为全面提高羌活质量控制方法提供指导。

关键词:羌活;薄层色谱;指纹图谱;多成分含量测定;质量评价

中图分类号:R284 文献标志码:A 文章编号:1672-0482(2020)05-0629-06

DOI:10.14148/j.issn.1672-0482.2020.0629

引文格式:彭任,王君阳,杨爱萍,等.羌活薄层色谱和 HPLC 指纹图谱结合多成分含量测定的质量评价方法研究[J].南京中医药大学学报,2020,36(5):629-634.

Study on Quality Evaluation Methods of *Notopterygium Incisum* by HPTLC, HPLC Fingerprint and Multi-Components Quantitative Analysis

PENG Ren^{1,2}, WANG Jun-yang^{1,2}, YANG Ai-ping^{1,2}, WANG Cui-cui^{1,2}, HU Yang², LU Tu-lin², HU Li-hong^{1,2}, WANG Xia-chang^{1,2}

(1. Jiangsu Key Laboratory for Functional Substances of Chinese Medicine, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing, 210023, China; 2. School of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing, 210023, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish the HPTLC identification, HPLC fingerprint and multi-components quantitative analysis methods of *Notopterygium incisum* (NI), for the quality evaluation of 18 batches of NI from different origins and to provide a reference for improvement of NI quality standards. **METHODS** HPTLC method was applied for NI identification. HPLC-DAD method was used to establish the fingerprint of 18 batches of NI, their similarities were calculated for quality evaluation. HPLC method was performed for multiple active components (phenethyl ferulate, notopterol, isoimperatorin, falcariindiol) quantitative analysis in NI. **RESULTS** An efficient and convenient HPTLC method for NI identification was established. The established fingerprint had moderate running time and the method was proved to be stable. 14 common peaks were selected and 6 of them were identified by using standard substances. The similarity of 18 batches of NI was between 0.887 and 0.992. For the multi-components quantitative analysis in NI, HPLC method was established to detect phenethyl ferulate, notopterol, isoimperatorin and falcariindiol. These four peaks were separated well and had a good linear relationship ($r>0.9998$) under the condition. The average recovery rates were 95.3%, 99.5%, 98.5% and 98.5%, respectively. **CONCLUSION** The established HPTLC and HPLC fingerprints of NI are stable and reliable, and can be used to effectively distinguish *N. incisum*, *N. franchetii* and other confusable varieties. A HPLC method for multiple active components assay is also established and validated. This study provides the guidance for comprehensively improving the quality control method of NI.

KEYWORDS: *Notopterygium incisum*; HPTLC; fingerprint; multi-components quantitative analysis; quality evaluation

羌活是一种临床常用中药,2015 版《中国药典》 收录了 2 种基原,分别为伞形科羌活属植物羌活

收稿日期:2020-08-08

基金项目:国家重点研发计划(2018YFC1707900,2019YFC1711500,2018YFC1707000)

第一作者:彭任,女,硕士研究生,E-mail:20181295@njucm.edu.cn

通信作者:王吓长,男,教授,博士生导师,主要从事中药质量标准研究,E-mail:xiachangwang@njucm.edu.cn

Notopterygium incisum Ting ex H. T. Chang 和宽叶羌活 *N. franchetii* H. de Boissieu^[1]。羌活用药历史悠久,药性辛、苦、温,归膀胱经、肾经,能散表寒、祛风湿、利关节。现代药理学研究表明羌活具有抗炎、解热、镇痛、抗心律失常、抗菌等作用^[2-4]。

薄层色谱法具有高效经济且准确性高的特点,是中药鉴别的主要方法之一。2015 版《中国药典》羌活薄层鉴别项下采用的检测指标为紫花前胡苷,该成分也是紫花前胡的鉴别指标,作为羌活药材薄层鉴别的指标专属性不强,也无法区分羌活和宽叶羌活 2 种不同基原的植物。张远芳^[5]建立了具有较强专属性的羌活薄层鉴别方法,但采用了有毒试剂苯,且需展开 15 cm。《中国药典》收录了以羌活醇、阿魏酸苯乙醇酯、异欧前胡素、镰叶芹二醇 4 个成分为检测指标的羌活特征图谱,不能将羌活和宽叶羌活区分,也不能体现羌活复杂的整体特性。张远芳等^[6]分别建立了羌活和宽叶羌活的 HPLC 指纹图谱,获得 9 个羌活共有峰,指认了其中 2 个。含量测定研究集中在香豆素和阿魏酸、绿原酸等一些常见的酚酸类成分^[7-8],忽视了羌活中其他活性较强的化合物^[3],未能反映羌活多功效多靶点的特征。近年来羌活和宽叶羌活在成分和活性方面的差异逐渐引起关注^[9-10]。一方面羌活和宽叶羌活在药效上有所差别,二甲苯致小鼠耳肿的体内抗炎实验表明^[11],不同商品规格中,基原为宽叶羌活的条羌无显著抗炎活性,基原为羌活的蚕羌抗炎活性较为显著;另一方面,国际上特别是欧、美药典只认可单一基原的植物作为药材标准,羌活和宽叶羌活在成分、药效上均有较大差异,把两者混为一谈很难被国际认可,不利于中药的国际化发展,因此羌活质量控制有必要建立能区分不同羌活基原、表征羌活化学轮廓和多类型有效成分的整体质量控制方法,用于全面客观评价羌活质量。

本研究从薄层鉴别、HPLC 指纹图谱、多类型有效成分含量测定多个层面,建立了羌活的质量控制方法,并应用于多批次不同产地的市售羌活药材,为全面客观的羌活质量控制提供依据。

1 材料

1.1 仪器

全自动薄层色谱仪(CAMAG, ATS4/ADC2/TLC Visualizer2);高效液相色谱仪(Waters e2695, PDA 2998 检测器, Empower 3 工作站);色谱柱

Thermol Prazis C₁₈(4.6 mm×250 mm, 5 μm);十万分之一天平(METTLER TOLEDO, New Classic MF);万分之一天平(Sartorius, BSA124S);超声清洗仪(昆山市超声仪器有限公司, KQ-500DE);鼓风干燥箱(上海喆图, TGF-9070A);pH 计(Sartorius, meter PB-10);指纹图谱相似度评价软件(国家药典委员会, 2012 版)。

1.2 试剂与药品

对照品:羌活醇(>98.0%, 诗丹德, st06260120);异欧前胡素(>98.8%, 诗丹德, RS03181020);阿魏酸苯乙醇酯(>98.0%, 诗丹德, ST58150105);佛手柑内酯(>98.0%, 诗丹德, ST03730120MG);镰叶芹二醇(>98.0%, 成都洛克玛, CHB180726);紫花前胡苷(>99.6%, 中检院, 111821-201604),羌活对照药材(中检院, 120935-201408);王草质为课题组从羌活中提取分离得到,经 HPLC-MS 和 NMR 检测确定化合物为王草质,纯度大于 98%。

硅胶 GF254 薄层板(Merck);甲醇(分析纯, 泰坦);甲醇(色谱纯, Honeywell);乙腈(色谱纯, Honeywell);磷酸(分析纯, 广东光华科技股份有限公司);环己烷、乙酸乙酯、三乙胺(分析纯, 国药集团);三氟乙酸(TFA, 色谱纯, 国药集团);水为娃哈哈纯净水。

1.3 样品

本研究共收集了 18 批羌活药材(四川和青海产),3 批宽叶羌活药材(安徽栽培基地),以及 4 种羌活易混滑品(地榆、虎杖、藁本、臭羌)。药材均经南京中医药大学胡杨博士鉴定, No.1~18 为伞形科植物羌活 *Notopterygium incisum* Ting ex H. T. Chang 的根及根茎, No.19~21 为伞形科植物宽叶羌活 *N. franchetii* H. de Boissieu 的根及根茎;样品来源信息见表 1。18 批羌活经 2015 版《中国药典》羌活项下规定进行检测,结果均符合规定。

2 方法与结果

2.1 薄层鉴别

2.1.1 对照品及对照药材溶液的制备 取羌活醇和异欧前胡素适量,加甲醇制成各含羌活醇和异欧前胡素 0.2 mg/mL 的混合对照品溶液;取羌活对照药材约 0.2 g,加甲醇 20 mL,超声 30 min(功率 250 W,频率 50 kHz),过滤,取上清液为对照药材溶液。

表 1 羌活及其易混淆品来源信息

编号	基原	批号	产地	编号	基原	批号	产地
1	羌活	190307-1	青海	14	羌活	200420-3	青海
2	羌活	190307-2	四川	15	羌活	200420-4	青海
3	羌活	190506-1	四川	16	羌活	200608-1	青海
4	羌活	190506-2	四川阿坝	17	羌活	200608-2	青海
5	羌活	190506-3	四川阿坝	18	羌活	200608-3	四川
6	羌活	190506-4	四川青海交界	19	宽叶羌活	200720-1	安徽
7	羌活	191021-1	四川	20	宽叶羌活	200720-2	安徽
8	羌活	191021-2	四川阿坝	21	宽叶羌活	200720-3	安徽
9	羌活	191021-3	四川阿坝	22	地榆	200625-1	甘肃陇西
10	羌活	191021-4	四川阿坝	23	虎杖	200625-2	广东仁化
11	羌活	191021-5	青海	24	藁本	190901	辽宁
12	羌活	200420-1	四川青海交界	25	臭羌	190307	四川
13	羌活	200420-2	青海				

2.1.2 供试品溶液的制备 取药材粉末约 0.2 g, 加甲醇 20 mL, 超声 30 min (功率 250 W, 频率 50 kHz), 过滤, 取上清液为供试品溶液。

2.1.3 薄层色谱方法的建立及样品测定 按“2.1.2”项下方法分别制备羌活、宽叶羌活、地榆、虎杖、藁本、臭羌药材的供试品溶液, 照薄层色谱法(通则 0502)实验, 吸取羌活混合对照品溶液、对照药材溶液和各供试品溶液各 5 μ L, 分别点于同一硅胶 GF254 薄层板上, 以环己烷: 乙酸乙酯(7: 3)为展开剂, 预饱和时间为 10 min, 展开高度为 85 cm, 取出, 吹干溶剂, 置紫外灯(366 nm)检视。

2.1.4 结果 18 批羌活供试品薄层色谱中, 在与对照品及对照药材相应的位置上, 显相同颜色的斑点(图 1)。羌活样品与宽叶羌活、臭羌、地榆、虎杖、藁本薄层色谱图具有较为明显的差别(图 2)。所建立的薄层色谱能有效鉴别羌活和宽叶羌活(红色方框部分), 以及其他易混淆品, 且避免了药典使用的管制试剂三氯甲烷, 分析方法简单高效、稳定可靠。

2.2 指纹图谱

2.2.1 色谱条件 Thermol C₁₈ 色谱柱(4.6 mm $\times$ 250 mm, 5 μ m); 流动相: 乙腈(A)-0.1% TFA 水溶液(B), 梯度洗脱(0~30 min, 10%~27% A; 30~33 min, 27%~50% A; 33~55 min, 50% A; 55~75 min, 50%~90% A; 75~80 min, 90% A); 流速为 0.8 mL/min; 检测波长为 310 nm; 柱温为 30 $^{\circ}$ C; 进样量为 10 μ L。

2.2.2 对照品溶液的配制 取紫花前胡苷、佛手柑内酯、阿魏酸苯乙醇酯、羌活醇、异欧前胡素、王草质对照品适量, 加甲醇制成浓度分别为 131、112、60、55、98、70 μ g/mL 的混合溶液。

注: S1. 对照品; S2. 羌活对照药材; A. 异欧前胡素; B. 羌活醇; 1~18. 羌活样品

图 1 18 批羌活药材薄层色谱图

注: S1. 对照品; S2. 羌活对照药材; A. 异欧前胡素; B. 羌活醇; 1~3. 宽叶羌活; 4. 羌活; 5. 地榆; 6. 藁本; 7. 虎杖; 8. 臭羌

图 2 羌活、宽叶羌活及其易混淆品薄层色谱图

2.2.3 供试品溶液的配制 取药材粉末约 0.2 g, 加甲醇 20 mL, 超声处理(功率 250 W, 频率 50 kHz) 30 min, 0.22 μ m 微孔滤膜过滤, 作为供试品溶液。

2.2.4 指纹图谱方法学考察

2.2.4.1 精密度试验 取羌活供试品溶液(14 号)按“2.2.1”项下色谱条件, 连续进样 6 次, 记录色谱图。以 12 号色谱峰羌活醇为参照峰, 计算各共有峰相对保留时间, RSD 均小于 0.10%, 相对峰面积 RSD 均小于 1.2%, 表明仪器精密度良好。

2.2.4.2 重复性试验 同一批羌活药材(14 号)6 份, 按“2.2.3”项下方法平行制备 6 份供试液, 按“2.2.1”项下色谱条件测定, 记录色谱图。以 12 号色

谱峰羌活醇为参照峰,计算各共有峰相对保留时间, *RSD* 均小于 0.12%, 相对峰面积 *RSD* 均小于 2.5%。表明该方法的重复性良好。

2.2.4.3 稳定性试验 取 1 份羌活药材(14 号), 按“2.2.3”项下方法制备供试液, 按“2.2.1”项下色谱条件, 分别在 0、2、4、8、12、24 h 进样分析, 记录色谱图。结果显示, 以 12 号色谱峰羌活醇为参照峰, 各共有峰相对保留时间 *RSD* 均小于 0.28%, 相对峰面积 *RSD* 均小于 3.3%。表明供试液常温下在 24 h 内稳定。

2.2.5 市售羌活药材相似度分析及特征峰指认 18 批羌活药材及其易混淆品按“2.2.3”项下方法制备供试液, 按“2.2.1”项下色谱条件进行测定。混合对照品、羌活及其易混淆品 HPLC 结果见图 3, 18 批羌活指纹图谱见图 4。将测定结果导入《中药色谱指纹图谱相似度评价系统》2012 版进行分析, 以 1 号羌活药材作为参照进行匹配, 时间窗口设为 0.1 min, 以中位数法建立羌活 HPLC 对照指纹图谱(图 4A), 共标定出 14 个共有峰, 并通过对照品比对指认其中 6 个成分, 分别为紫花前胡苷(峰 5)、佛手柑内酯(峰 9)、阿魏酸苯乙醇酯(峰 11)、羌活醇(峰 12)、异欧前胡素(峰 13)和王草质(峰 14)。结果表明, 不同批次羌活之间有一定差异, 按照共有峰计算相似度为 0.887~0.992。见表 2。

2.3 含量测定

2.3.1 色谱条件 Thermol C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm); 流动相: 40% 乙腈(A)-60% 磷酸三乙胺缓冲溶液(B), 等度洗脱; 流速为 0.8 mL/min; 检测波长为 210 nm; 柱温为 30 °C; 进样量为 10 μL。

2.3.2 磷酸三乙胺缓冲盐的配制 7 mL 三乙胺和 4 mL 磷酸加入 50% 甲醇水溶液 1 L, 用磷酸调 pH = 3.2 即得。

2.3.3 对照品溶液的配制 取阿魏酸苯乙醇酯、羌活醇、异欧前胡素、镰叶芹二醇对照品适量, 精密称定, 加甲醇制成每 1 mL 分别含阿魏酸苯乙醇酯 119.07 μg, 羌活醇 240.02 μg, 异欧前胡素 267.89 μg, 镰叶芹二醇 225.238 μg 的混合溶液, 即得。

2.3.4 供试品溶液的配制 取本品粉末(过 3 号筛)约 0.1 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇 20 mL, 称定质量, 超声处理(功率 250 W, 频率 50 kHz)60 min, 放冷, 再称定质量, 用甲醇补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 过 0.22 μm 微孔滤膜, 即得。

注: S1.羌活; S2.地榆; S3.藜蘆; S4.虎杖; S5.宽叶羌活; S6.臭羌

图 3 混合对照品、羌活及其易混淆品叠加图

图 4 羌活对照指纹图谱(A)和 18 批羌活指纹图谱叠加图(B)

表 2 18 批羌活指纹图谱相似度评价结果

编号	相似度	编号	相似度	编号	相似度
1	0.992	7	0.887	13	0.975
2	0.976	8	0.976	14	0.960
3	0.985	9	0.979	15	0.960
4	0.986	10	0.925	16	0.991
5	0.903	11	0.990	17	0.982
6	0.989	12	0.936	18	0.948

2.3.5 多成分含量测定

2.3.5.1 专属性考察 取空白溶液、混合对照品溶液及供试品溶液, 按照“2.3.1”项下色谱条件分别进样分析。结果表明, 空白溶液对阿魏酸苯乙醇酯、羌活醇、异欧前胡素、镰叶芹二醇这 4 个特征成分没有干扰(图 5), 说明该方法专属性良好。

2.3.5.2 线性范围 取阿魏酸苯乙醇酯、羌活醇、异欧前胡素、镰叶芹二醇浓度分别为 477、993、998、1 066 μg/mL 的对照品混合溶液, 逐级稀释, 按“2.3.1”项下色谱条件进样测定。以对照品质量浓度(X, μg/mL)为横坐标、峰面积(Y)为纵坐标进行线性回归计算。结果表明, 阿魏酸苯乙醇酯在 19.08~

477 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 内呈良好线性关系,回归线性方程 $Y = 28.007X + 13.272 (r^2 = 0.9999)$;羌活醇在 39.72~993 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 内呈良好线性关系,回归线性方程 $Y = 30.451X + 61.499 (r^2 = 0.9999)$;异欧前胡素在 39.92~998 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 内呈良好线性关系,回归线性方程 $Y = 33.685X + 74.331 (r^2 = 0.9999)$;镰叶芹二醇在 42.64~1066 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 内呈良好线性关系,回归线性方程 $Y = 24.461X + 120.76 (r^2 = 0.9998)$ 。

将最低浓度对照品溶液进行逐级稀释,以信噪比为 10 的浓度作为定量限,测定阿魏酸苯乙醇酯、羌活醇、异欧前胡素和镰叶芹二醇的定量限分别为 0.76、1.58、1.59、1.71 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

2.3.5.3 精密度试验 取羌活供试品溶液(14号)按“2.3.1”项下色谱条件,连续进样6次,计算阿魏酸苯乙醇酯、羌活醇、异欧前胡素和镰叶芹二醇含量 RSD 分别为 0.62%、0.64%、0.76% 和 0.24%,表明仪器精密度良好。

注:1.阿魏酸苯乙醇酯;2.羌活醇;3.异欧前胡素;4.镰叶芹二醇

图5 空白溶液(A)、混合对照品溶液(B)和供试品溶液(C)色谱图

2.3.5.4 重复性试验 取同一批羌活药材(14号)6

份,精密称定,按“2.3.4”项下方法平行制备6份供试品溶液,按“2.3.1”项下色谱条件进样测定,计算阿魏酸苯乙醇酯、羌活醇、异欧前胡素和镰叶芹二醇含量 RSD 分别为 1.3%、0.42%、1.2% 和 0.73%。表明该方法重复性良好。

2.3.5.5 稳定性试验 取同一批羌活药材(14号),按“2.3.4”项下方法制备供试品溶液,按“2.3.1”项下色谱条件,分别在 0、2、4、8、12、24 h 进样分析,计算阿魏酸苯乙醇酯、羌活醇、异欧前胡素和镰叶芹二醇含量 RSD 分别为 1.4%、1.8%、0.68% 和 0.98%,表明供试品溶液常温下在 24 h 内稳定。

2.3.5.6 加样回收率 取 0.05 g 羌活药材粉末(14号)9份,精密称定,以 80%、100%、120% 的比例分别加入对照品混合溶液,每个水平平行3份,每份平行测定2次。按照“2.3.1”项下色谱条件,依次进样测定,计算回收率。结果显示,阿魏酸苯乙醇酯、羌活醇、异欧前胡素和镰叶芹二醇平均回收率依次是 95.3%、99.5%、98.5% 和 98.5%。RSD 值均小于 2.4%,表明建立的方法准确度良好。

2.3.5.7 样品测定 取 18 批羌活药材粉末,按照“2.3.4”项下制备供试品溶液,和“2.3.3”项下制备的对照品溶液按“2.3.1”项下液相条件分别进样测定,记录峰面积,分别计算 18 批羌活药材(以干燥品计)中 4 个指标性成分的含量,结果见表 3。18 批药材中阿魏酸苯乙醇酯百分含量为 0.33%~0.94%,羌活醇百分含量为 0.56%~1.89%,异欧前胡素百分含量为 0.10%~1.06%,镰叶芹二醇百分含量为 2.21%~6.24%,结果表明不同批次之间羌活成分含量波动较大。

3 讨论

本实验建立了高效便捷的羌活药材薄层色谱鉴别方法,并考察了不同薄层板、不同展开体系、不同显色条件,最终选择 Merck 公司 GF254 高效薄层板、展开剂为环己烷-乙酸乙酯、在紫外灯 366 nm 下视检为最佳条件,该方法能有效区分羌活、宽叶羌活及其易混淆品。为了建立 HPLC 指纹图谱和含量测定的最佳提取方式和色谱条件,本实验分别考察了不同提取溶剂(50%、80%、100% 甲醇),不同提取方式(超声、回流、震荡),不同提取时间(30、45、60 min),不同品牌色谱柱(Agilent Zorbax SB-C₁₈、汉邦 Dubhe C₁₈、Thermol Prazis C₁₈),不同柱温(25、30、35 $^{\circ}\text{C}$),不同流速(0.8、1.0、1.2 mL/min)和不同流动相体系(0.1%甲酸水溶液-乙腈、0.1% TFA

水溶液-乙腈、0.1%磷酸水溶液-乙腈、磷酸三乙胺缓冲溶液-乙腈、磷酸三乙胺缓冲溶液-甲醇、0.1%TFA水溶液-甲醇),最终选择甲醇超声 30 min 提取、0.1%TFA 水溶液-乙腈体系、流速 0.8 mL/min、检测波长 310 nm、柱温 30 °C 为指纹图谱的条件。含量测定选择甲醇超声 60 min、磷酸三乙胺缓冲溶液-乙腈体系、流速 0.8 mL/min、检测波长 210 nm、柱温 30 °C,在该条件下各色谱峰峰型和分离度良好。

表 3 18 批羌活药材 4 个成分含量测定实验结果(%)

编号	阿魏酸苯乙醇酯	羌活醇	异欧前胡素	镰叶芹二醇
1	0.71	1.40	0.66	4.11
2	0.61	1.45	0.73	4.15
3	0.94	1.75	0.62	4.96
4	0.59	1.36	0.60	4.69
5	0.59	1.08	0.34	5.28
6	0.78	1.89	0.71	4.81
7	0.48	0.60	0.10	5.56
8	0.62	1.44	1.06	4.50
9	0.72	1.80	0.82	4.23
10	0.33	0.56	0.13	6.24
11	0.44	1.26	0.76	2.87
12	0.45	1.74	1.03	3.56
13	0.42	0.59	0.52	2.25
14	0.37	0.81	0.59	3.78
15	0.58	0.69	0.80	3.22
16	0.46	0.71	0.44	2.21
17	0.77	1.07	0.69	4.07
18	0.36	0.67	0.30	2.22

在选择羌活含量测定指标时,应尽可能覆盖羌活主要功效和不同成分类型。香豆素、烯炔、酚酸和酚酸酯类化合物是羌活中的主要成分类型,香豆素类异欧前胡素和羌活醇是《中国药典》和《香港中药材标准》中的指标性成分,具有较强的抗炎活性。镰叶芹二醇是羌活中烯炔类化合物的主要成分,在药材中含量较高,能显著抑制 NO 分泌,产生抗炎作用^[12],同时具有较强的抗菌^[13]和抗病毒活性^[14]。酚酸酯类的阿魏酸苯乙醇酯是羌活中抗氧化^[15]和抗血栓^[16-17]的主要活性成分。本实验针对羌活不同成分类型中活性较强的化合物建立多成分含量测定,尽可能覆盖羌活多种药理活性,以全面评价羌活质量。

本实验采用高效薄层色谱和指纹图谱鉴别羌活不同基原,方法高效简便,结果表明羌活和宽叶羌活成分差异明显,18 批羌活之间有一定差异。在指纹图谱全面表征羌活化学轮廓的基础上,结合羌活多

功效多靶点的特征建立多类型有效成分含量测定方法。含量测定结果发现不同批次羌活成分含量有一定差异,同一成分的含量波动也较大,后续可考虑根据不同产地、不同生长年限和商品规格对羌活成分进行聚类分析,建立羌活等级划分标准及检测方法,为全面提高羌活质量控制方法提供指导。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[S]. 北京:中国医药科技出版社, 2020:190.
- [2] 谢恒韬,王娟,贾一帆,等. 羌活水提物预先给药对 CCI 大鼠神经病理性疼痛的预防作用及机制研究[J]. 中国中医急症, 2019, 28(3): 414-417.
- [3] 李鸿昌. 对中药羌活化学成分及药理作用的研究[J]. 当代医药论丛, 2019, 17(15): 195-197.
- [4] DING H, YAO J, CHANG W, et al. Anti-osteoporosis effect of *Notopterygium incisum* Ting ex HT Chang extract in rats[J]. Trop J Pharm Res, 2019, 18(10): 2051-2055.
- [5] 张远芳. 羌活质量评价体系的建立[D]. 太原:山西中医药大学, 2019.
- [6] 张远芳,连云岚,郝云芳,等. 羌活与宽叶羌活的 GC/HPLC 指纹图谱研究[J]. 中国药事, 2019, 33(5): 519-527.
- [7] 唐国琳,黄凤,高天元,等. HPLC 同时测定宽叶羌活药材中 5 种成分含量[J]. 中药与临床, 2018, 9(6): 14-17.
- [8] 郑东浪. HPLC 法测定羌活中阿魏酸的含量[J]. 海峡药学, 2017, 29(4): 74-76.
- [9] XU KJ, JIANG SY, ZHOU Y, et al. Discrimination of the seeds of *Notopterygium incisum* and *Notopterygium franchetii* by validated HPLC-DAD-ESI-MS method and principal component analysis[J]. J Pharm Biomed Anal, 2011, 56(5): 1089-1093.
- [10] CHEN JB, FAN J, WANG D, et al. Rapid and intelligent discrimination of *Notopterygium incisum* and *Notopterygium franchetii* by infrared spectroscopic fingerprints and electronic olfactory fingerprints[J]. Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc, 2020, 232: 118176.
- [11] 郭慧清. 不同商品规格羌活药材的化学成分差异及谱效关系研究[D]. 北京:北京中医药大学, 2019.
- [12] BLUNDER M, LIU X, KUNERT O, et al. Polyacetylenes from *Radix et Rhizoma Notopterygii incisii* with an inhibitory effect on nitric oxide production *in vitro*[J]. Planta Med, 2014, 80(5): 415-418.
- [13] 佐藤规子. 羌活中抑制金黄色葡萄球菌的活性成分[J]. 国外医学中医中药分册, 2002, 24(4): 249.
- [14] NAM NH, HUONG HTT, KIM HM, et al. Cytotoxic constituents from *Notopterygium incisum*[J]. Proc PSK Conf, 2000, 3(1): 178.
- [15] ZSCHOCKE S, LEHNER M, BAUER R. 5-Lipoxygenase and cyclooxygenase inhibitory active constituents from *Qianghuo* (*Notopterygium incisum*)[J]. Planta Med, 1997, 63(3): 203-206.
- [16] WU XW, WEI W, YANG XW, et al. Anti-inflammatory phenolic acid esters from the roots and rhizomes of *Notopterygium incisum* and their permeability in the human caco-2 monolayer cell model[J]. Molecules, 2017, 22(6): E935.
- [17] 张明发,沈雅琴. 羌活药理学研究[J]. 中国执业药师, 2008, 5(5): 28-30.

(编辑:杨巍敏)