

- 阻塞性肺疾病所致严重呼吸衰竭的研究[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2000, 23(4): 212-216.
- 14 伦演荏, 严建威, 林润培. 有创-无创序贯机械通气治疗在 COPD 急性加重期的应用[J]. 中国临床新医学, 2009, 2(2): 144-146.
- 15 Esteban A, Frutos-Vivar F, Ferguson ND, et al. Non invasive positive-pressure ventilation for respiratory failure after extubation[J]. N Engl J Med, 2004, 350(24): 2452-2460.
- 16 Nava S, Gregoretti C, Fanfulla F, et al. Noninvasive ventilation to prevent respiratory failure after extubation in high-risk patients[J]. Crit Care Med, 2005, 33(11): 2465-2470.
- 17 Ferrer M, Valencia M, Nicolas JM, et al. Early noninvasive ventilation averts extubation failure in patients at risk: a randomized trial[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2006, 173(2): 164-170.
- [收稿日期 2013-12-09][本文编辑 杨光 和 吕文娟]

课题研究·论著

滇桂艾纳香的高效液相色谱指纹图谱鉴别方法的研究

Leelakittisin Benjakarn, 蒋伟哲, 黄兴振

基金项目: 南宁市科学研究与技术开发计划项目(编号: 20124012)

作者单位: 530021 南宁, 广西医科大学药学院

作者简介: Leelakittisin Benjakarn(1988-), 女, 泰国硕士生, 研究方向: 新药研究与开发。E-mail: liangmeijun16188@foxmail.com

通讯作者: 蒋伟哲(1968-), 男, 医学博士, 教授, 博士生导师, 研究方向: 新药研究与开发。E-mail: jiangweizhe6812@163.com

[摘要] 目的 建立滇桂艾纳香的高效液相色谱(HPLC)指纹图谱鉴别方法。方法 采用高效液相色谱法。色谱条件包括 Phenomenex® Synergi 4 u Polar-RP 80A 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 4 μm), 甲醇-水(用冰乙酸调 pH 至 2.8)流动相系统, 梯度洗脱: 0~17 min, 10%~40% 甲醇; 18~37 min, 40%~60% 甲醇, 检测波长 256 nm, 柱温 25℃, 体积流量 1 ml/min。测定 12 批滇桂艾纳香的指纹图谱, 并作相似度比较分析。结果 12 批药材依法检测得到 256 nm 的 HPLC 指纹图谱, 确定了 11 个特征峰构成的滇桂艾纳香指纹图谱, 其中 2 号峰为原儿茶酸, 4 号峰为绿原酸。12 批的相似度>0.99, 说明 12 批药材性能良好。结论 该方法提供滇桂艾纳香的鉴别方法, 有助于推广滇桂艾纳香药材的应用以及为中成药的中间体质量控制打下良好的基础。

[关键词] 滇桂艾纳香; 指纹图谱; 高效液相色谱; 鉴别

[中图分类号] R 284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1674-3806(2014)05-0407-04

doi: 10.3969/j.issn.1674-3806.2014.05.07

Studies on identification of Blumea riparia (BI.) DC. by HPLC fingerprint LEELAKITTISIN Benjakarn, JIANG Wei-zhe, HUANG Xing-zhen. School of Pharmaceutical Science, Guangxi Medical University, Nanning 530021, China

[Abstract] **Objective** To establish qualitative chemical fingerprint of Blumea riparia (BI.) DC. by high-performance liquid chromatography (HPLC). **Methods** Phenomenex® Synergi 4 u Polar-RP 80A (250 mm×4.6 mm, 4 μm) column was used with 25℃ column temperature then gradient elution was performed by the mobile phase consisted of methanol-solution of acetic acid in water (pH 2.8) at 256 nm detecting wavelength with 1 ml/min flow rate. Determination of 12 batches of fingerprint chromatogram of Blumea riparia (BI.) DC. were performed, followed by using the computer-aided similarity evaluation system for similarity analysis of chromatograms. **Results** Medicinal materials composed of 12 different batches were examined by specified method then we figured out its HPLC chemical fingerprint at 256 nm detection wavelength. Peaks in the chemical fingerprint of Blumea riparia (BI.) DC. were evaluated and overall similarity index were analyzed and compared then 11 common peak were confirmed. This chemical fingerprint consist of 11 characteristic peaks including protocatechuic acid (the second peak) and chlorogenic acid

peak(the fourth peak). According to similarity index able to reflect its medicinal properties, our 12 batches's similarity index more than 0.99 so these 12 batches are high quality medicinal materials. **Conclusion** The novel reliable quantitative chemical fingerprint analysis could be both foundation of quality assurance at industry level and be an important step for further application of *Blumea riparia*(Bl.) DC.

[**Key words**] *Blumea riparia*(Bl.) DC.; Chemical fingerprint; High-performance liquid chromatography (HPLC); Identification

滇桂艾纳香系菊科植物[*Blumea riparia*(Bl.) DC.]的干燥全草,又名管牙、假东风草^[1,2],主产于广西西南部和云南东南部,是壮族民间草药,在广西已有较长使用历史^[3]。该植物具有补血、活血、敛血、止血之功效,用于治疗经期提前、产后血崩、产后水肿、不孕症、阴疮等^[2]。根据现有关于滇桂艾纳香的研究和成分研究资料证明,原儿茶酸和绿原酸是滇桂艾纳香中的两个重要成分^[4,5]。已有报道对滇桂艾纳香药材性状进行了薄层色谱(TLC)鉴别研究^[6],而采用高效液相色谱(HPLC)指纹图谱鉴别滇桂艾纳香的研究尚未见报道。对成分复杂又很难把握的中草药应有若干中草药研究选择指纹图谱方法^[7-9]。广西-桂西药业已推出妇血康颗粒,其销售量大,疗效好。为了确保民间用药的安全性,本研究采用高效液相指纹图谱法对滇桂艾纳香的样品鉴定进行初步探讨,以期对滇桂艾纳香质量控制和药材鉴别提供依据。

1 材料与方法

1.1 药材 滇桂艾纳香购于百色市田林县和凌云县等地,共12批样品(批号为:120801,120802,120804,120805,120806,120807,120808,120809,120810,120901,120902,120903),经广西医科大学药学院朱丹老师鉴定为菊科植物的干燥全草。

1.2 仪器 岛津 LC-20A 液相色谱仪(包括 LC-20AT 二元泵、SIL-20A 进样器、SPD-20A 检测器、LC Solution 液相色谱工作站,岛津公司);EL 204 天平(梅特勒-托利多);KQ-500DB 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);SHB-Ⅲ循环水式多用真空泵(郑州长城科工贸有限公司);《中药色谱指纹图谱相似度评价系统 A 版》(国家药典委员会)。

1.3 标准品与试剂 对照品原儿茶酸(中国药品生物制品检定研究院,批号 809-200102),绿原酸(中国药品生物制品检定研究院,批号 110753-200413),甲醇(美国 Fisher Scientific 公司,色谱纯),冰乙酸(成都市科龙化工试剂厂,分析纯),水为 I 级纯化水,其他试剂均为分析纯。

1.4 色谱条件 包括 Phenomenex® Synergi 4 u Polar-RP 80A 色谱柱(250 mm×4.6 mm,4 μm),甲

醇-水(用冰乙酸调 pH 至 2.8)流动相系统,梯度洗脱:0~17 min,10%~40% 甲醇;18~37 min,40%~60% 甲醇,检测波长 256 nm,柱温 25℃,体积流量 1 ml/min。

1.5 对照品溶液制备 精密称取原儿茶酸对照品、绿原酸对照品适量,加甲醇制成的浓度分别为 0.0475 mg/ml 和 0.0960 mg/ml 的混合对照品溶液。

1.6 供试品溶液制备 (1)除去药材中的杂草等,取适量切成 4~5 cm 长,加水煎煮 2 次,第 1 次 15 倍水,煎煮 1.5 h,第 2 次 10 倍水,煎煮 1 h,合并煎煮液,滤过,滤液浓缩为稠膏再用烘至干膏(温度为 100℃),即得提取物粉末。(2)取滇桂艾纳香提取物粉末 1.5 g,精密称定置于 25 ml 容量瓶中,加入甲醇溶液 50 ml 精密称重,超声提取 30 min,室温静置 20 min,再称定其重量,用甲醇溶液补足失重,摇匀,静置,取上清液用 0.45 μm 的微孔滤膜滤过。

1.7 方法学考察

1.7.1 精密度试验 依法精密量取同一对照品溶液,连续进样 5 次,记录色谱图,以中国药典委员会主持开发的中药色谱指纹图谱相似度评价系统 A 版进行相似度评价,考察色谱峰相对保留时间和相对峰面积的一致性。结果指出原儿茶酸对照品和绿原酸对照品的计算相似度均在 0.99 以上(分别为 0.996 和 1.000)。

1.7.2 重复性试验 依法精密量取滇桂艾纳香样品 5 份,按“1.6”项下方法制备供试品溶液,考察色谱峰相对保留时间和相对峰面积的一致性。以原儿茶酸和绿原酸峰为参照峰,采用跟精密度试验相同的评价系统,计算出来的相似度在 0.99 以上(0.9978)。同时测定空白梯度和溶剂空白,发现体系内没有残留和干扰。

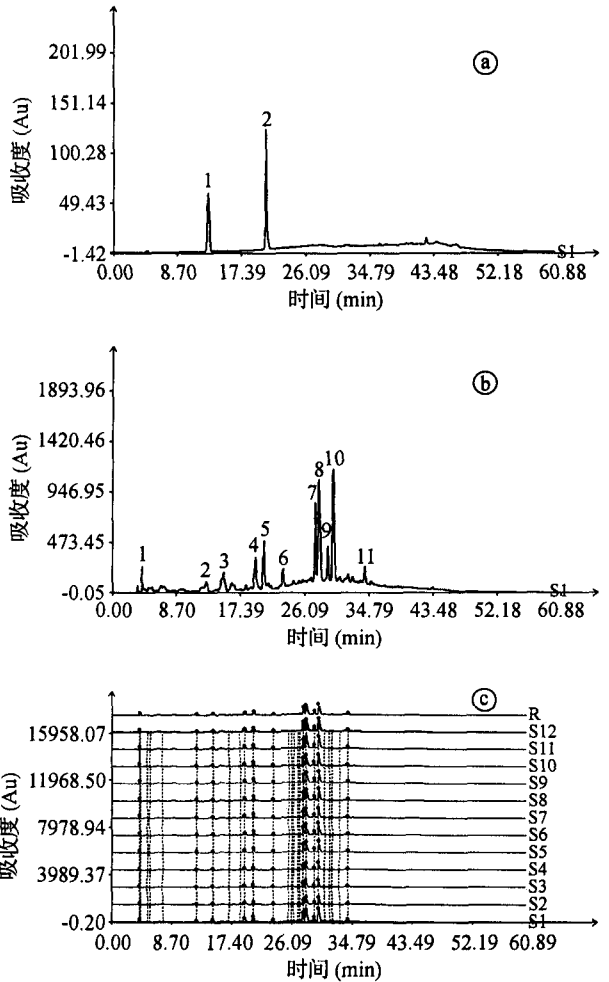
1.7.3 稳定性试验 依法提取滇桂艾纳香样品 1 份,按“1.6”项下方法制备供试品溶液,分别在 0、2、5、8、19 h 进样分析,考察色谱峰相对保留时间和相对峰面积的一致性。在 5 h 内,色谱峰相对保留时间偏差<3%(0.04%),大风(相对峰面积>5%)的面积相对比值偏差<3%(分别为 0.31,0.3,0.5,0.41,1.79,2.11,0.48,1.87),整体相似度>0.98

(1.00)。表明供试品溶液在 5 h 内稳定。

经三项的实验结果合格,证明该方法已通过方法学考察,可以进行下一步的 12 批样品的指纹图谱分析。

2 结果

2.1 指纹图谱分析共有峰确定结果 取滇桂艾纳香药材 12 批(批号为:120801,120802,120804,120805,120806,120807,120808,120809,120810,120901,120902,120903),按“1.6”项下方法制备供试品溶液,依法检测,得到 256 nm 的 HPLC 指纹图谱。采用以上的相似度评价系统,确定了 11 个特征峰构成滇桂艾纳香的指纹图谱,其中 2 号峰为原儿茶酸,4 号峰为绿原酸。药材提取物(潮膏)第 1~12 批的相似度依次为 1,0.993,0.992,0.990,0.995,0.994,0.993,0.995,0.991,0.989,0.989,0.988,0.997,均>0.99。色谱图见图 1。



③混合指标成分峰对照品的 HPLC 指纹图谱,1 = 原儿茶酸,2 = 绿原酸;④滇桂艾纳香水提取潮膏的 HPLC 指纹图谱的多点校正点,其中第 2 和第 4 峰分别是原儿茶酸和绿原酸;⑤12 批滇桂艾纳香水提取潮膏的 HPLC 指纹图谱叠加图

图 1 滇桂艾纳香 HPLC 图谱

2.2 指标图谱分析相似度计算结果 中药指纹图谱相似度计算方法有峰重叠率法(Nei 系数法)、峰重叠率与共有峰强度结合法(Nei 系数法改进)、夹角余弦法以及在此方法的基础上改进出新方法。由于相似度的计算比较复杂,易出误差,所以选用中国药典委员会主持开发的中药色谱指纹图谱相似度评价系统 A 版进行多点校正再计算相似度与进行 12 批的图谱评价。大体上,12 批的平均相似度>0.99 并生成了相似度 0.997 的对照指纹图谱,所以继续下一步的评价。关于具体指标评价,12 批里的各特征峰的匹配数目均等于 12,相对保留时间偏差(RSD%)匀等于 0,由此可见 12 批药材的相似性良好。结果见表 1。

表 1 各特征峰详细指标

特征峰序号	完整图谱里的峰号	保留时间(min)	12 批(RSD%) 相对保留时间偏差	匹配数目
1	4	3.936	0	12
2	20	12.301	0	12
3	22	14.752	0	12
4	28	19.398	0	12
5	29	20.669	0	12
6	34	23.531	0	12
7	46	27.895	0	12
8	47	28.375	0	12
9	48	29.497	0	12
10	49	30.209	0	12
11	57	34.434	0	12

3 讨论

本文是首次研究滇桂艾纳香提取物的指纹图谱作为鉴别方法,该方法简洁可行。对于供试品制备方法里的超声时间,本研究有考察不同的提取时间系列,得知采用 30 min 得出的实验结果最好。色谱条件的摸索,本研究有摸索最合适的柱温、色谱柱、流动相系统和检测波长。其中流动相系统和检测波长具体研究如下:(1)流动相:初始选用等度洗脱方案,体系分别为水-甲醇(体积比为 80:20),0.2%磷酸-乙腈(体积比为 93:7),甲醇-冰乙酸调 pH 至 2.8 的水(体积比为 80:20)。其中的乙腈系统还调过流速,但甲醇-冰乙酸调 pH 至 2.8 的水(体积比为 80:20)方案的结果有较好的趋势,所以用此方案继续进行梯度试验与考察最佳检测时间同步进行,时间分别为 20,30,45,60 和 75 min。然后再针对有较好趋势的检测时间进行下一步的详细调整。经过数次

考察,得出的最佳梯度洗脱方案是0~17 min,10%~40%甲醇;18~37 min,40%~60%甲醇。(2)检测波长:采用紫外吸收光度扫描仪器对供试品溶液在190~400 nm测定吸光度,寻找最大吸收波长,同时还用二极管阵列(PDA)检测器从200~400 nm检测供试品溶液的三维色谱图,结果指出250~300 nm区域的信号较高且不是进紫外区,经在这区域进行详细考察,结果选出256 nm能提供的信息较多而且信号较强,所以选为最合适的检测波长。

参考文献

- 1 中国科学院中国植物编辑委员会. 中国植物[M]. 北京:科学出版社,1979:73-75.
- 2 广西壮族自治区卫生厅. 广西中药材标准(第二册)[M]. 南宁:广西科学技术出版社,1996:274-278.
- 3 江苏省植物研究所,中国科学院昆明植物研究所,中国医学科学院药用植物资源开发研究所,等. 新华本草纲要(第三册)[M]. 上海:上海科学技术出版社,1990:395.
- 4 雷婷,林翠梧,陈海燕,等. 反相高效液相色谱法测定滇桂艾纳香中绿原酸的含量[J]. 时珍国医国药,2008,19(9):2073-2074.
- 5 谢培德,桑彤,龚秀珍. 反相高效液相色谱法测定滇桂艾纳香中原儿茶酸的含量[J]. 中国中药杂志,2000,25(4):227.
- 6 宁小清,谈远锋,李耀华,等. 白花九里明与滇桂艾纳香的薄层色谱对比研究[J]. 广西中医学院学报,2010,13(4):52-54.
- 7 Zhang Y, Cao G, Ji JY, et al. Simultaneous chemical fingerprinting and quantitative analysis of crude and processed *Radix Scrophulariae* from different locations in China by HPLC [J]. J Sep Sci, 2011, 34(12):1429-1436.
- 8 Duan BZ, Huang LF, Chen SL. Chemical fingerprint analysis of *Fritillaria delavayi* Franch by high-performance liquid chromatography [J]. J Sep Sci, 2012, 35(4):513-518.
- 9 Zhang RT, Chen JH, Shi G, et al. Quality control method for commercially available wild *Jujube* leaf tea based on HPLC characteristic fingerprint analysis of flavonoid compounds [J]. J Sep Sci, 2014, 37(1-2):45-52.

[收稿日期 2014-02-26][本文编辑 黄晓红 蓝斯琪]

课题研究·论著

事件相关电位 P300 对早期血管性痴呆的诊断价值

洪雁, 梁智, 方芳, 刘英, 黄文越, 苏宁

基金项目: 广西南宁市科学研究与技术开发计划项目(编号:ZC20123002)

作者单位: 530022 广西,南宁市第一人民医院神经内科

作者简介: 洪雁(1968-),女,医学硕士,副主任医师,研究方向:脑血管疾病的诊治。E-mail:397153663@qq.com

[摘要] 目的 探讨事件相关电位 P300 对早期血管性痴呆的诊断价值。方法 选择 50 例血管性痴呆患者(血管性痴呆组)、49 例动脉硬化症无痴呆患者(动脉粥样硬化组)和 48 名健康人(健康人组)分别进行 P300 检查,比较三组的检查结果。结果 血管性痴呆组 P300 潜伏期较动脉粥样硬化组、健康人组明显延长,波幅降低,差异有统计学意义($P < 0.01$)。结论 事件相关电位 P300 检测在血管性痴呆早期诊断中具有较高的应用价值。

[关键词] 事件相关电位 P300; 血管性痴呆; 诊断

[中图分类号] R 74 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1674-3806(2014)05-0410-04

doi:10.3969/j.issn.1674-3806.2014.05.08

The value of event related potential P300 in early diagnosis of vascular dementia HONG Yan, LIANG Zhi, FANG Fang, et al. Department of Neurology, the First People's Hospital of Nanning, Guangxi 530022, China

[Abstract] **Objective** To explore the value of event related potential P300 in early diagnosis of vascular dementia. **Methods** Inspection of P300 was performed between 50 cases of patients with vascular dementia (group of dementia), 49 arteriosclerosis patients without dementia (group of arteriosclerosis) and 48 healthy people (group of healthy people). **Results** The P300 incubation period of the group of dementia was prolonged significantly and am-