

表 5 3 种再纯化方法提取物得率和总黄酮含量

Tab 5 The yield and content of total flavonoid prepared by three different purify methods

纯化方法	提取物量/g	提取物得率/%	提取物总黄酮含量/%
D101 纯化	0.302	60.4	74.29
聚酰胺纯化	0.145	29.1	68.90
硅胶纯化	0.376	75.2	55.37

3.3.5 重复性结果 采用优化后的工艺条件进行纯化, 经重复性试验, 测得所得枇杷叶总黄酮提取物总黄酮含量为 73.28%。

3.4 ABTS 自由基清除作用结果

枇杷叶总黄酮提取物 ABTS 自由基清除作用的 IC_{50} 值为 $(6.92 \pm 0.08) \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, IC_{50} 值低于阳性对照维生素 C $[(7.20 \pm 0.07) \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}]$, 说明枇杷叶总黄酮提取物有较强的抗氧化清除自由基能力。

4 讨论

本研究对各种精制材料对枇杷叶总黄酮的吸附与解吸附特性进行了筛选和比较, 确定了枇杷叶总黄酮的纯化工艺为: D101 大孔树脂每 1 g 上样 5.0 mL 的提取液(相当于 1.5 g 原药材干品粉末), 水、10%乙醇、40%乙醇、95%乙醇分别洗脱, 洗脱流速为 $12 \text{ BV} \cdot \text{h}^{-1}$, 收集 40%乙醇洗脱液, 40%乙醇洗脱部分浓缩后上样 D101 树脂, 以同样条件洗脱, 收集 40%乙醇部分, 浓缩干燥得枇杷叶总黄酮提取物。大孔树脂 2 次上样工艺得到的枇杷叶总黄酮提取物含量较 1 次上样有了明显提高, 最终得到的提取物总黄酮含量达到 70%以上。经

重复性试验, 表明该精制方法有较好的重复性, 适合工厂放大生产。

抗氧化自由基试验提示枇杷叶黄酮提取物具有良好的抗氧化活性, 这一结果为枇杷叶总黄酮提取物进一步的利用开发提供了依据。

REFERENCES

[1] LI T, XU R Q, LINW J, et al. Establishment and optimization of ISSR reaction system for *Eriobotryae Folium* from Fujian [J]. *Chin J Mod Appl Pharm*(中国现代应用药学), 2012, 29(4): 315-319.

[2] STATE ADMINISTRATION OF TRADITIONAL CHINESE MEDICINE, "CHINESE MATERIA MEDICA" EDITORIAL BOARD. Chinese Herbal Medicine(中华本草) [M]. Vol IV. Shanghai: Shanghai Science and Technology Press, 1999: 140.

[3] SHA N, LIANG J Y. Development of *Eriobotrya japonica*(Thumb.) Lindl. [J]. *Strait Pharm J*(海峡药学), 2006, 18(1): 6-11.

[4] LU H, LI W L, PEI Y P, et al. Detection of flavonoids in *Eriobotrya japonica*(Thunb.) Lindl. by HPLC-MSⁿ [J]. *Res Pract Chin Med*(现代中药研究与实践), 2009, 22(6): 56-58.

[5] LUO M H, LU H, LI W L. Determination of total flavonol in leaves of *Eriobotrya japonica* by HPLC [J]. *Lishizhen Med Mater Med Res*(时珍国医国药), 2011, 22(3): 582-583.

[6] HUANG A L. Progress on the pharmacologic action of flavonoid [J]. *Anhui Agricult Sci Bull*(安徽农学通报), 2007, 3(10): 71-72.

[7] LIU Y, ZHU X T. Optimization of purification process for total flavonoids from leaves of *Eriobotrya japonica* by macroporous resin [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form*(中国实验方剂学杂志), 2012, 18(11): 55-57

[8] RER P N. Antioxidant activity applying an improved abts radical cation decolorization assay [J]. *Free Radic Biol Med*, 1999, 26(9/10): 1231-1237.

收稿日期: 2013-06-28

珍稀药源植物蛇足石杉中石杉碱甲的免疫学快速检测

余宇燕, 张淑玲, 邹艳辉, 滕海英, 邱亚利(福建中医药大学药学院, 福州 350122)

摘要: 目的 制备石杉碱甲单克隆抗体, 分析其免疫学特性, 建立蛇足石杉中石杉碱甲的 ELISA 检测方法。方法 用石杉碱甲人工抗原免疫 Balb/c 小鼠, 采用杂交瘤技术筛选获 4 株单克隆抗体 3E02、4B01、5D03 和 4C04, 对单克隆抗体纯度、亚型、灵敏度、特异性等进行鉴定, 建立 ELISA 检测方法。结果 4 株抗体亚型分别为 IgG2b, IgG2b, IgG1 和 IgG1。ELISA 检测方法的标准曲线方程为 $Y=0.373 \ 6X-0.236$, $r=0.996 \ 5$, 线性范围为 $5 \sim 1 \ 000 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$, 检测限 $4.387 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。石杉碱甲的平均回收率为 99.5%, RSD 为 0.68%($n=6$)。结论 ELISA 法快速灵敏, 可用于蛇足石杉中石杉碱甲的含量测定。

关键词: 石杉碱甲; 单克隆抗体; ELISA; 蛇足石杉

中图分类号: R962 文献标志码: B 文章编号: 1007-7693(2014)01-0044-05

基金项目: 国家自然科学基金项目(81202914); 福建省科技计划项目(2011Y0035); 福建省教育厅(JA12171)

作者简介: 余宇燕, 女, 博士, 副教授 Tel: 1370507331 E-mail: yyyfj@163.com

Establishment of Immunology Rapid Test Method for Huperzine A in Rare Source Plant *Huperzia Serrata*

YU Yuyan, ZHANG Shuling, ZOU Yanhui, TENG Haiying, QIU Yali(College of Pharmacy, Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou 350122, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To prepare and characterize monoclonal antibodies against huperzine A by establishing a determination method for huperzine A in *Huperzia serrata*. **METHODS** Balb/c mice were immunized by the conjugation of huperzine A and BSA successfully, and monoclonal antibodies were generated by hybridoma technique. Then hybridomas were cloned by the limiting dilution method and four hybridomas producing McAb reactive to huperzine A named 3E02, 4B01, 5D03 and 4C04 were obtained, an enzyme-linked immunosorbent assay for huperzine A was established successfully. **RESULTS** McAb isotype were IgG2b, IgG2b, IgG1 and IgG1. The ELISA standard curve was $Y=0.373\ 6X-0.236$, $r=0.996\ 5$, and the range of linearity was $5-1\ 000\ \text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$, and the limit of detection was $4.387\ \text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$. The recovery was 96.6%–103.8%, RSD was 0.68%($n=6$). **CONCLUSION** The ELISA method provided a rapid, sensitive and accurate procedure for the determination of HupA in *Huperzia serrata* samples.

KEY WORDS: huperzine A; monoclonal antibody; ELISA; *Huperzia serrata*

石杉碱甲(huperzine A)是从蛇足石杉(*Huperzia serrata*)中分离得到的一种新型石松类生物碱^[1],是具有低毒、高效、可逆和高选择性等优点的乙酰胆碱酯酶(AChE)抑制剂,对于治疗重症肌无力、中老年痴呆及提高记忆力具有良好的疗效^[2],并对抑制有机磷酸中毒有一定的作用^[3]。蛇足石杉因其独特的药用价值,正日益受到国内外学者的重视,其含量测定具有重大的实践意义。免疫分析法具有简单、灵敏度高、特异性强的特点,不需要繁琐的样品处理步骤,可用于高通量样品的筛选。本研究自制具免疫原性的石杉碱甲人工抗原^[4],使免疫小鼠获得石杉碱甲单克隆抗体,并建立了石杉碱甲免疫学快速检测方法,可用于蛇足石杉中石杉碱甲的含量测定。

1 材料

石杉碱甲(中国药品生物制品检定所,批号:100243-200401,含量>99%); 3,3',5,5'-四甲基联苯胺(TMB)、吐温-20(美国 Sigma 公司); Sepharose Protein G(GE 公司); 羊抗鼠酶标二抗(上海友科生物技术有限公司,批号:20120624); 透析袋(厦门鹭隆生物科技发展有限公司); 水为高纯水; 其他试剂均为国产分析纯。

清洁级 Balb/c 小鼠,♀,6~8 周龄,来自福建中医药大学实验动物中心,实验动物合格证号:2007000537785; SP2/0 鼠骨髓瘤细胞(上海友科生物技术有限公司)。实验药材蛇足石杉采自福建省连城县冠豸山,由福建中医药大学杨成梓副教授鉴定为 *Huperzia serrata* 的全草。

电泳仪、垂直电泳槽(美国 Bio-Rad 公司); Rio-Rad 酶标仪 680(美国 Bio-Rad 公司); KQ-400

超声波清洗器(昆山市超声波仪器有限公司)。

2 方法与结果

2.1 对照品溶液的配制

精密称取石杉碱甲对照品 25 mg,用甲醇溶解并定容至 25 mL,摇匀,作为贮备液,使用时逐级稀释。

2.2 供试溶液的配制

取蛇足石杉新鲜植株的根、茎、叶分离并洗净,于 50℃ 烘干至恒重。精密称取 0.2 g,加入 2% 的酒石酸 5 mL,浸泡过夜,超声提取 1 h,离心取上清液,残渣再加入 2% 的酒石酸 5 mL,超声提取 1 h,离心,合并 2 次滤液,作为蛇足石杉提取液。

2.3 单克隆抗体的制备

以自制纯化后人工抗原石杉碱甲-BSA 免疫 Balb/c 纯种小鼠,♀,5 只,采用腹股沟、背部等皮下多点注射免疫原,首次免疫为免疫原($0.5\ \text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 以载体蛋白计算)和弗氏完全佐剂等体积混合,充分乳化后免疫小鼠,以后每次加强免疫均为免疫原与弗氏不完全佐剂等体积混合。每次加强免疫后 1 周,从眼球静脉采血($100\sim 200\ \mu\text{L}\cdot\text{只}^{-1}$),监测抗血清的效价。取效价和特异性都较好的一只小鼠进行冲击免疫,石杉碱甲-BSA 溶于 PBS 进行腹腔免疫($1\ \text{次}\cdot\text{d}^{-1}$),3 d 后取脾细胞与 SP 2/0 骨髓瘤细胞进行细胞融合,经过筛选、亚克隆得到能稳定分泌抗体的杂交瘤细胞株分别为 3E02、4B01、4B01、5D03 和 4C04,并制备腹水。腹水 $3\ 000\ \text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 30 min,弃去上层的石蜡油、脂肪以及下层的沉淀红细胞、血细胞,小心收集中层淡黄色清亮的腹水,分装冻

存于-80℃，并取少量腹水进行间接竞争酶联免疫法(ELISA)^[5]检测效价。采用 Protein G 免疫亲和层析法^[6]对腹水进行纯化，蒸馏水透析后冻干，-20℃冰箱保存。

2.4 单克隆抗体的鉴定及分析

2.4.1 抗体的效价 采用 ELISA 法对纯化前后的抗体效价进行检测，分别从 1：2 000 倍开始进行适当梯度稀释，以吸光值大于相对应的阴性对照吸光值的 2.1 倍，且吸光值>0.2，判定为阳性(最大的稀释倍数为效价)。结果 3E02、4B01、5D03 和 4C04 纯化前的效价分别为 1：256 000、1：128 000、1：128 000 和 1：128 000，纯化后的效价为 1：128 000、1：32 000、1：32 000 和 1：32 000。

2.4.2 抗体的纯度 由 3E02、4B01、5D03 和 4C04 制备的腹水经 Protein G 亲和层析法纯化后，采用 SDS-PAGE 电泳法^[7]检测其纯度。结果见图 1。

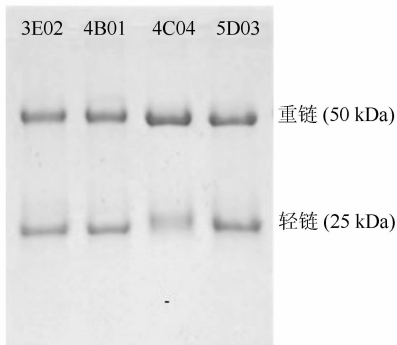


图 1 单克隆抗体的 SDS-PAGE 分析

Fig 1 SDS-PAGE analysis of monoclonal antibody

2.4.3 抗体的亚型鉴定 利用小鼠单克隆抗体亚

型快速鉴定试剂盒检测 4 株抗体蛋白亚型。结果：3E02 的亚类为 IgG2b, kappa；4B01 的亚类为 IgG2b, kappa；5D03 的亚类为 IgG1, kappa；4C04 的亚类为 IgG1, lamda。

2.4.4 抗体的蛋白质含量 根据 Bradford 法检测 Protein G 亲和层析法纯化后的单克隆抗体 3E02，4B01，5D03，4C04 的浓度分别为 0.643，0.503，0.905 和 0.548 mg·mL⁻¹。

2.5 ELISA 最佳工作条件的确定

2.5.1 最佳抗体的选择 根据纯化后抗体的效价结果，选择 OD₄₅₀ 值接近 1.0 的抗体稀释倍数作为 ELISA 工作条件，其余步骤同 ELISA 法基本程序，选择 IC₁₀ 最低的单克隆抗体作为最佳抗体。

结果 3E02、4B01、5D03 和 4C04 IC₁₀ 分别为 16.027，10.084，5.163 和 5.744，其中 5D03 的 IC₁₀ 最低，选择 5D03 为最佳抗体。

2.5.2 包被抗原和抗体稀释倍数的确定 包被抗原的浓度过高，会互相作用，影响抗原在酶标板上的吸附，但若浓度过低，板上有大量未吸附抗原的位点，会增加非特异性反应。所以必需对抗原抗体的最佳浓度进行选择。用方阵试验分别对 ELISA 法中抗原及抗体工作浓度进行筛选和认定。包被缓冲液梯度稀释包被抗原后纵向加入酶标板，4℃包被过夜；PBST 梯度稀释抗体后横向加入酶标板，其余步骤同 ELISA 法，比较反应后各组的 OD₄₅₀ 值，以 OD₄₅₀ 值接近 1.0 时的包被抗原和抗体稀释倍数为 ELISA 最佳工作条件，其结果见表 1。

表 1 包被抗原与抗体稀释倍数的确定

Tab 1 The selection of the diluted multiple of coating antigen and huperzine A-McAb

包被浓度	OD ₄₅₀							
	1：1 000	1：2 000	1：3 000	1：4 000	1：5 000	1：60 00	1：7 000	1：8 000
1：100	1.815	1.596	1.370	1.148	1.036	0.890	0.790	0.600
1：200	1.814	1.543	1.270	1.094	0.997	0.870	0.783	0.606
1：400	1.800	1.451	1.114	1.016	0.937	0.873	0.759	0.555
1：800	1.760	1.424	1.010	0.970	0.941	0.851	0.751	0.551
1：1 000	1.720	1.420	1.339	0.930	0.921	0.842	0.741	0.532

结果，发现有 1：100(1：5 000)、1：200(1：5 000)、1：400(1：4 000)及 1：800(1：3 000)的 OD₄₅₀ 值在 1.0 左右，出于节约抗原等原因考虑，选择包被抗原稀释倍数为 1：200，抗体稀释倍数为 1：5 000 作为最佳工作条件。

2.5.3 酶标二抗稀释倍数的选择 按上述确定的

最佳反应条件，选择酶标二抗的稀释度为 1：5 000、1：10 000、1：15 000、1：20 000，其余步骤依据 ELISA 法。以 OD₄₅₀ 值接近 1.0 时的酶标二抗稀释倍数为最佳 ELISA 工作条件，在此稀释浓度下，抗原抗体具有最大的抑制率。本研究选择酶标二抗稀释倍数为 1：10 000，其结果见表 2。

表 2 酶标二抗最佳稀释倍数的选择

Tab 2 The selection of the diluted multiple of HRP-IgG

酶标二抗 稀释倍数	OD ₄₅₀		
	空白对照 (PBST)	阴性对照 (1:1 000)	阳性对照 (1:5 000)
1:5 000	0.011	0.120	1.245
1:10 000	0.013	0.101	1.044
1:15 000	0.008	0.091	0.899
1:20 000	0.008	0.089	0.583

2.5.4 TMB 底物作用时间的选择 按上述确定的最佳工作反应条件进行 ELISA 实验, 至加入 TMB 底物反应液, 分别孵育 5, 10, 15, 20 min 显色, 终止。根据每组阳、阴性的 OD₄₅₀ 值的比值(P/N), 确定 TMB 底物的最佳作用时间。本研究选择 TMB 底物作用时间为 15 min。

2.6 ELISA 方法学考察

2.6.1 标准曲线的建立 按“2.5”中确定的 ELISA 最佳工作体系, 对不同浓度的石杉碱甲标准液(1, 5, 10, 50, 100, 500, 1 000, 2 500 ng·mL⁻¹)进行检测。以石杉碱甲标准品浓度(ng·mL⁻¹)的对数为横坐标, 抑制率 B/B₀ 为纵坐标(B 为添加药物竞争后的 OD₄₅₀ 值, B₀ 为对照样品的 OD₄₅₀ 值), 绘制标准工作曲线, 得回归方程 $Y=0.373\ 6X-0.236$, $r=0.996\ 5$ 。结果表明, 石杉碱甲标准品浓度在 5~1 000 ng·mL⁻¹ 内时, 其浓度对数值与抑制率具有良好的线性关系, 是检测石杉碱甲最理想的检测区域。

2.6.2 灵敏度试验 进行标准工作曲线实验的同时, 随机选择 10 个孔按确定的 ELISA 法检测石杉碱甲标准品零含量, X 即所得 10 个孔 OD₄₅₀ 值的平均值, SD 是标准差, 标准抑制曲线上对应 (B₀-3SD)/B₀ 即为最低检测限, 结果检测限为 4.387 ng·mL⁻¹。

2.6.3 精密度试验 依据已确立的反应体系和 ELISA 标准工作曲线, 随机选择 3 块酶标板, 每块抽出 5 孔, 测定 50 ng·mL⁻¹ 标准溶液的 OD₄₅₀ 值, 计算其变异系数。结果分别为 1.2%, 1.0%, 1.2%, 在允许范围之内, 结果较为可靠。

2.6.4 重复性试验 制备蛇足石杉样品 6 份, 每份样品平行 5 次, 测定样品溶液的 OD₄₅₀ 值, 计算其含量和变异系数。6 份的含量平均值为 0.509 mg·g⁻¹, 变异系数为 7.1%, 变异系数在允许范围之内, 结果较为可靠。

2.6.5 回收率试验 精密称取蛇足石杉药材细粉 6 份, 每份 1 g, 分别加入 0.005 mg·mL⁻¹ 对照品供试液 100 mL, 按已建立的 ELISA 方法, 制备加样回收供试液进行测定, 计算回收率, 结果见表 3。

表 3 回收试验结果(n=6)

Tab 3 Results of recovery determination(n=6)

样品含量/ mg·g ⁻¹	加入量/ mg·g ⁻¹	测定总量/ mg·g ⁻¹	回收率/ %	平均回 收率/%	RSD/ %
0.502	0.5	0.989	97.4	99.5	0.68
0.496	0.5	0.991	99.0		
0.505	0.5	1.008	100.6		
0.501	0.5	0.998	99.4		
0.498	0.5	1.017	103.8		
0.504	0.5	0.987	96.6		

2.7 样品测定

取蛇足石杉的提取液进行适当稀释, 用已建立的 ELISA 方法进行检测, 平行测 3 次, 根据 OD₄₅₀ 值计算蛇足石杉中石杉碱甲的含量。结果蛇足石杉根、茎、叶中的石杉碱甲含量分别为 0.217, 0.508, 0.636 mg·g⁻¹。

3 讨论

本实验采用有限稀释法进行数次亚克隆, 分离出 4 株可稳定分泌石杉碱甲单克隆抗体的杂交瘤细胞株 3E02、4B01、5D03 和 4C04, 进行分离纯化和效价检测, 纯化前的效价分别为 1:256 000, 1:128 000, 1:128 000 和 1:128 000, 纯化后的效价分别为 1:128 000, 1:32 000、1:32 000 和 1:32 000。纯化后的腹水效价较纯化前有所下降, 可能是在纯化时进行适当的稀释和透析, 使其效价降低。纯化后的抗体纯度较高, 抗体二硫键断开后的重链分子质量约为 50 kDa, 轻链分子质量约为 25 kDa, 可用于分析相关特性。

通过分别改变 ELISA 反应体系中某一条件, 对 ELISA 进行反应条件的优化, ELISA 检测效果最佳的工作条件为: 选择 5D03 为最佳抗体; 包被抗原稀释倍数为 1:200; 抗体稀释倍数为 1:5 000; 酶标二抗稀释倍数为 1:10 000; TMB 底物作用时间为 15 min。在样品测定中, 通过比较, 蛇足石杉中以叶中石杉碱甲含量较高, 茎次之。表明石杉碱甲的根茎叶都可能作为提取石杉碱甲的原料药材, 为其开发利用提供参考。

本实验所建立的 ELISA 法测定蛇足石杉中石杉碱甲含量, 结果可信, 检测限低, 灵敏度高。

可实现高通量筛选以及可用于现场检测, 可望成为测定中药及其制剂中石杉碱甲含量的强有力工具, 为进行质量控制和药理标准化研究提供理论依据。

REFERENCES

- [1] MA X, TAN C, ZHU D, et al. Is there a better source of huperzine A than *Huperzia serrate*? Huperzine A content of *Huperziaceae* species in China [J]. J Agric Food Chem, 2005, 53(5): 1393-1398.
- [2] ZHOU Y Q, DENG X P, GU Z L. The effects of huperzine A on oxygen-derived free radicals [J]. Chin Wild Plant Resour(中国野生植物资源), 2004, 23(2): 44-45.
- [3] XU M, SONG X B, ZHANG L J. Advances in research on huperzine A [J]. Drug Eval Res(药物评价研究), 2010, 33(6): 442-446.
- [4] TENG H Y, YU Y Y, LU L, et al. Synthesis of huperzine A artificial antigens by glutaraldehyde and its identification [J]. J Fujian Univ Tradit Chin Med(福建中医药大学学报), 2012, 22(6): 41-44.
- [5] ZHOU X W, HU X F. Instrumental Analysis and Experimental Technology of Biochemistry(生物化学仪器分析与实验技术) [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2003: 273.
- [6] ANDREW S M, TITUS J A. Purification of immunoglobulin G [J/OL]. Curr Protoc Immunol, 2001, Chapter 2: Unit 2.7. Doi: 10.1002/0471142735.im0207s21.
- [7] HAYAT A, BARTHELMEBS L, MARTH J L. Enzyme-linked immunosensor based on super paramagnetic nanobeads for easy and rapid detection of okadaic acid [J]. Anal Chim Acta, 2011, 690(2): 248-252.

收稿日期: 2013-05-24

不同药性中药与石膏配伍后有效成分的煎出量变化

王丽秋, 张振秋* (辽宁中医药大学药学院, 辽宁 大连 116600)

摘要: 目的 通过测定升麻、桂枝、甘草、黄芩分别与石膏配伍后有效成分煎出量变化, 对中药药性理论进行研究。方法 采用 Agilent Eclipse XDB-C₁₈(4.6 mm×150 mm, 5 μm)色谱柱, 以乙腈-1%磷酸水(13:87)为流动相, 在 316 nm 波长测定咖啡酸, 阿魏酸, 异阿魏酸; 以乙腈-1%磷酸水(32:68)为流动相, 检测波长为 290 nm 测定肉桂酸、肉桂醛; 以甲醇-水-磷酸(47:53:0.2)为流动相, 在 277 nm 波长测定黄芩苷; 采用 Agilent Eclipse XDB-C₁₈(4.6 mm×250 mm, 5 μm)色谱柱, 1%磷酸水-乙腈梯度洗脱, 在波长 237 nm 测定甘草酸, 甘草苷。结果 寒性药黄芩、凉性药升麻与石膏配伍后有效成分煎出量增加; 热性药桂枝、温性药甘草与石膏配伍后有效成分煎出量降低。结论 寒性药石膏能增加寒凉药黄芩、升麻的有效成分煎出, 而降低温热药桂枝、甘草有效成分的煎出。

关键词: 药性; 石膏; 黄芩; 升麻; 桂枝; 甘草; 煎出量变化

中图分类号: R283.1

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2014)01-0048-06

Changes of Quantity of Effective Constituent in Different Medicinal Properties Medicines after Compatibility with Gypsum Fibrosum

WANG Liqui, ZHANG Zhenqiu* (College of Pharmacy, Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Dalian 116600)

ABSTRACT: OBJECTIVE To study the changes of quantity of effective constituent after compatibility of Cimicifugae Rhizoma, Cinnamomi Ramulus, Glycyrrhiza Radix et Rhizome, Scutellariae Radix respectively with Gypsum Fibrosum by HPLC to research the theory of traditional Chinese medicine. **METHODS** Agilent Eclipse XDB-C₁₈(150 mm×4.6 mm, 5 μm) was adopted; the mobile phase was acetonitrile-water of 0.1% phosphoric acid(13:87); the detection wavelength was 316 nm for caffeic acid, ferulic acid and isoferulic acid. The mobile phase was acetonitrile-water of 0.1% phosphoric acid(32:68); the detection wavelength was 290 nm for cinnamic aldehyde and cinnamic acid. the mobile phase was methanol-H₂O-phosphoric acid(47:53:0.2), the detection wavelength was 277 nm for baicalin. Agilent Eclipse XDB-C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm) was adopted; the mobile phase was 0.1% phosphoric acid solution(A)-acetonitrile(B) with gradient elution, the detection wavelength was 237 nm for liquiritin and glycyrrhizic acid. **RESULTS** The quantity of chemical components in compatibility of

作者简介: 王丽秋, 女, 硕士生 Tel: (0411)87586110 E-mail: 770470619@qq.com
(0411)87586058 E-mail: zhangzhenqiu@sina.com

*通信作者: 张振秋, 男, 博导, 教授 Tel: