

4. 92/88, 4. 65/87, 4. 49/89, 4. 41/86, 4. 33/85, 4. 25/84, 4. 18/86, 4. 06/86, 3. 99/88, 3. 88/82, 3. 82/78, 3. 67/83, 3. 33/54, 3. 26/49, 3. 18/48, 3. 13/50, —, 2. 974/55, 2. 901/47, 2. 846/46, 2. 749/42, 2. 696/43, 2. 606/45, 2. 498/47, 2. 399/41, 2. 354/46, 2. 318/38, 2. 270/38, 2. 097/32, 2. 079/34, 1. 987/31, 1. 961/30, 1. 930/29, 共 45个衍射峰

以上衍射数据中“—”表示衍射图谱存在但未标记的衍射峰值。

3 结论

3.1 比较 5个白芍样品的 X射线衍射 Fourier图谱,其几何拓扑图形规律一致,将 5个白芍样品的几何拓扑图形叠加平均后获得白芍的标准 X射线衍射 Fourier图谱(图 1中 27所示)。

3.2 经计算获得白芍 X射线衍射特征标记峰均值共 31个: 8. 56/36, 8. 05/39, 7. 35/45, 7. 06/48, 6. 39/60, 5. 96/83*, 5. 81/77*, 5. 32/93, 5. 20/

100, 5. 12/98, 4. 92/87, 4. 66/90, 4. 47/86, 4. 33/83, 4. 04/85, 3. 97/84, 3. 87/78, 3. 66/80*, 3. 12/48, 3. 03/44, 2. 976/53*, 2. 902/46, 2. 853/47, 2. 705/43, 2. 603/44, 2. 502/44*, 2. 407/40, 2. 358/44*, 2. 321/37, 2. 271/38, 2. 082/32*。

3.3 5个白芍样品中均有含量相近的一水草酸钙结晶。上述标准数据中的“*”表示一水草酸钙衍射峰。

3.4 实验分析结果表明:以标准 X射线衍射 Fourier图谱的几何拓扑图形与特征标记峰值可实现对中药材白芍的鉴定。同时也显示了 X射线衍射 Fourier图谱鉴定分析方法具有广阔的应用前景。

参考文献:

- [1] 中国药典[S]. 1995年版. 一部.
- [2] 吕扬,郑启泰. 中药材山萸的 X衍射 Fourier图谱分析[J]. 药学报, 1998, 33(8): 587-590.
- [3] 吕扬,郑启泰. 中药材牛黄的 X衍射 Fourier图谱分析[J]. 中国医学科学院学报, 1997, 19(5): 331-336.

三七及其混淆品的 HPLC指纹图谱鉴定

崔秀明^{1,2}, 董婷霞², 陈中坚¹, 詹华强²

(1. 云南省文山州三七研究所, 云南 文山 663000 2. 香港科技大学 生物系暨生物技术研究所以, 香港 九龙)

摘要:目的 建立三七及其混淆品的指纹图谱鉴定方法。方法 采用 HPLC方法,测定三七、人参、西洋参、姜状三七、三七不同部位及其 2种混淆品的指纹图谱。结果 三七与人参、西洋参、姜状三七及其 2种混淆品的指纹图谱有明显区别,三七不同部位也有差异。结论 HPLC皂苷指纹图谱鉴别三七及其混淆品具有重复性好、特征性强、方法简便等特点,可作为三七药材的鉴别方法。

关键词:三七;指纹图谱;混淆品;皂苷;HPLC

中图分类号: R282. 710. 3

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2002)10-0941-03

Identification on *Panax pseudo-ginseng* var. *notoginseng* and its adulterants by HPLC fingerprint chromatogram

CUI Xiu-ming^{1,2}, DONG Ting-xia², CHEN Zhong-jian¹, K. W. K. Tsim²

(1. Wenshan Prefecture Institute of Sanqi Science and Technology, Wenshan 663000, China; 2. Department of Biology and Institute of Biotechnology, Hong Kong University of Science and Technology, Jukong, Hong Kong, China)

Abstract Object To establish the fingerprint chromatogram for the identification of *Panax pseudo-ginseng* var. *notoginseng* (Burkill) Hoo et Tseng and its adulterants. **Methods** Analysis fingerprint chromatogram of *P. pseudo-ginseng* var. *notoginseng* different parts and *P. ginseng* C. A. Mey., *P. quinquefolius* L., *P. zingiberensis* C. Y. Wu et K. M. Feng, *Curcuma wenyujin* Y. H. Chen et C. Ling, *Bletilla striata* (Thunb.) Reichb. f. and two adulterants was carried out by HPLC. **Results** It was found that there were great difference in fingerprint chromatogram among them. there was distinguish in different

* 收稿日期: 2002-03-21

基金项目: 云南省重点基础研究项目资助 (1999C0009Z)

作者简介: 崔秀明 (1963-), 男, 云南省文山州三七研究所高级农艺师, 所长, 1985年毕业于云南农业大学, 2001年 2-11月应邀到香港科技大学访问研究, 现为中国药科大学生药专业在读博士研究生, 研究方向为中药材鉴定、质量标准及 GAP研究, 现主持科技部项目 2项, 云南省中药现代化项目 1项, 云南省重点基础研究项目 1项, 发表论文 34篇, 2002年当选云南省技术创新人才。Tel 0876-2141062 E-mail sanqi30@hotmail.com

parts of *P. pseudo-ginseng* var. *notoginseng*. **Conclusion** This method is simple, rapid, stable and with good reproducibility. It may be used to identify *P. pseudo-ginseng* var. *notoginseng* and its adulterants.

Key words *Panax pseudo-ginseng* var. *notoginseng* (Burkill) Hoo et Tseng; fingerprint chromatogram; adulterants saponins; HPLC

三七 *Panax notoginseng* (Burk.) F. H. Chen 为五加科人参属名贵中药材,主要用于治疗冠心病、心绞痛等心脑血管系统疾病^[1]。三七中含有皂苷、黄酮、多糖等多种有效成分,其中皂苷含量最高,其药理活性研究也较为系统和全面^[2,3]。目前对三七药材的鉴别和质量控制仍然采用传统的物理和化学方法。近几年,指纹图谱鉴定技术得到了快速发展,越来越多的中药材开始采用指纹图谱进行鉴定和质量控制。本文参照《中药注射液指纹图谱研究的技术要求》和文献方法^[4],研究了三七、人参、西洋参及 2 种三七混淆品的 HPLC 指纹图谱,为制定三七药材和饮片质量标准提供科学依据。

1 材料和方法

1.1 仪器: WatersTM 600E 高效液相色谱仪, WatersTM 2487UV 检测器, WatersTM Millennium³² 色谱工作站, BRN ASON5200 超声仪器

1.2 试剂: 乙腈 HPLC 级, 甲醇分析级, 均为 Sigma 公司购买, 对照品人参皂苷 Rg₁、Rb₁、Rd, 三七皂苷 R₁ (中国药品生物制品检验所购买)。

1.3 药材: 三七的药材样品采自云南文山, 人参、西洋参、温郁金和白及样品购自香港。

1.4 测定方法:

1.4.1 色谱条件: 分析柱 Nova-Pak C₁₈ (3.9 mm×300 mm); 流动相: CH₃CN-50 mmol/L KH₂PO₄·H₂O (20:80), 二元梯度洗脱; 流速: 1.0 mL/min; UV 检测器, 检测波长 203 nm, 进样量 10 μL。

1.4.2 对照品溶液的制备: 分别取人参皂苷 Rg₁、Rb₁、Rd, 三七皂苷 R₁ 标准品 1 mg, 甲醇配成 1 mg/mL 对照品溶液。

1.4.3 供试样品溶液的制备: 取待测样品 5 g, 加入 50 mL 70% 甲醇溶液, 超声提取 2 h, 4 000 r/min 离心, 取上清液, 过 0.2 μm 滤膜, 滤液为供试样品溶液。

1.4.4 稳定性试验: 取同一份样品溶液, 分别在 0、1、2、4、8、12、24、36、48 h 进行测定, 考察色谱峰面积和保留时间的一致性。

1.4.5 精密度试验: 取同一份供试样品溶液, 连续进样 5 次, 考察色谱峰面积和保留时间的一致性。

1.4.6 重现性试验: 取 5 份样品, 按测定方法测定,

考察色谱峰面积和保留时间的一致性。

2 结果与分析

2.1 方法学验证

2.1.1 药材的提取方法比较: 比较了文献^[1]常用的甲醇提取、大孔树脂纯化与甲醇超声提取后离心两种药材提取方法, 虽然前者所得的指纹图谱杂质干扰较少, 但费时, 且人为操作影响较大, 重现性较差。后者有一定的杂质干扰, 但重复性较好, 且快速, 所得的指纹图谱有代表性, 故我们采用甲醇超声提取法作为药材样品的提取方法。

2.1.2 稳定性试验结果: 取同一份样品溶液, 分别在 0、1、2、4、8、12、24、36、48 h 进行测定, 色谱峰面积和保留时间的 RSD 分别为 1.5% 和 0.43%, 表明试验方法稳定。

2.1.3 精密度试验结果: 取同一份供试样品溶液, 连续进样 5 次, 色谱峰面积和保留时间的 RSD 分别为 1.76% 和 0.52%, 说明仪器的精密度良好。

2.1.4 重现性试验结果: 取 5 份样品, 按测定方法测定, 色谱峰面积和保留时间的 RSD 分别为 1.64% 和 0.38%, 重现性好。

2.2 三七及混淆品的指纹图谱分析

2.2.1 三七的 HPLC 指纹特征峰: 试验条件下, 三七块根和根茎样品在 10~19 min 均出现 5 个明显的共有特征峰, 经与标准品对照, 我们确定其中的 4 个共有特征峰, 按出峰顺序分别为三七皂苷 R₁、人参皂苷 Rg₁、Rb₁ 和 Rd; 按峰面积大小排列为: Rg₁>Rb₁>Rd>R₁, 与文献报道的结果一致^[5,6]。

2.2.2 三七不同部位指纹图谱: 三七的部位不同, 所含的皂苷成分也不一样, 如地下部分人参三醇型皂苷比人参二醇型皂苷高, 地上部分仅含有人参二醇型皂苷。试验条件下的 HPLC 指纹图谱, 可以明显看出地下部分与地上部分的差异。地上部分的三七花和三七茎叶共有 10 个特征峰, 且峰面积较小; 地下部分的根茎、主根、大根的特征峰很一致, 但峰面积有差异, 表现为根茎的峰面积>主根>大根, 毛根的峰面积较小, 特别是 Rb₁ 的峰面积很小, 如图 1 所示, 可以通过 4 个皂苷的峰高和峰面积的比例很容易地将三七各部位区别开来。

2.2.3 三七、人参、西洋参及三七常见混淆品的指

纹图谱比较: 人参属植物最大的共同点是都含有人参皂苷, 且植物学形态十分相似, 但药用功效却各有不同, 如何鉴别是合理使用的前提。本试验条件下三七、人参、西洋参和姜状三七的 HPLC 指纹图谱明显不同, 峰的数量、峰面积和峰高都有显著差异 (图 2), 三七含有三七皂苷 R_1 , 人参、西洋参和姜状三七则没有; 人参皂苷 R_{g1} 、 R_{b1} 虽然三者都含有, 但峰

高明显不一样, 三七是 R_{g1} 比 R_{b1} 高, 人参二者相当, 西洋参 R_{b1} 略比 R_{g1} 高; 姜状三七与三七、人参和西洋参的图谱差别更大。试验表明, 通过 HPLC 指纹图谱, 可以很容易地将它们相互区别开来。同样, 三七与其 2 个常见混淆品温郁金和白及的指纹图谱差别十分明显。温郁金和白及不含皂苷, 在相应的位置就没有皂苷峰出现。

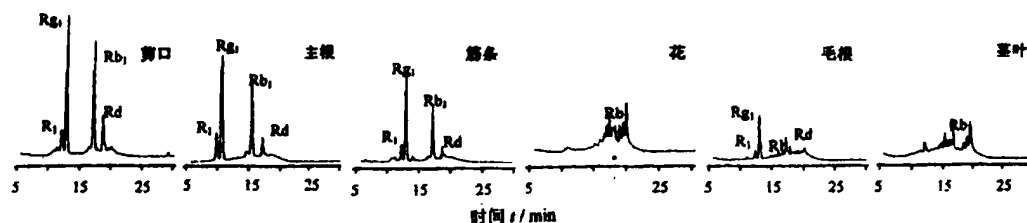


图 1 三七不同部位的皂苷指纹图谱

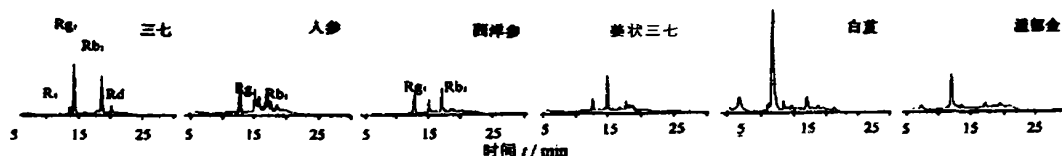


图 2 三七、人参、西洋参及三七混淆品的指纹图谱

3 讨论

3.1 采用指纹图谱鉴别中药材 (中药饮片或中成药) 的真伪具有明显优势。本试验条件下三七有 4 个明显的特征峰, 我们把它作为三七“共同特征”的三七皂苷 HPLC 指纹图谱, 可以清楚地表达三七指纹图谱鉴别的专属性, 与人参属的其他种和三七的 2 个混淆品的指纹图谱比较, 可以十分明显地看出他们之间的差异, 很容易地将三七与其他混淆品区别开。本试验条件下的三七指纹图谱作为三七药材和饮片的鉴别无疑是一种可靠的方法。

3.2 三七的各部位均可作为药用, 但药理作用却各不相同, 如花和茎叶对中枢神经有抑制作用, 根和根茎则表现为兴奋作用^[2]; 在用途上也各异, 主根入药, 根茎为副产物, 主要为工业提取皂苷的原料, 毛根作食品, 如三七汽锅鸡配料等。生产中混用的现象时有发生。在原料粉碎后, 采用常规的物理和化学方法很难鉴别。采用 HPLC 指纹图谱, 可以较好地

将它们区别开来。

3.3 本文建立的三七皂苷 HPLC 指纹图谱方法, 快速、简便, 重现性和稳定性均很好, 特征性强, 可作为三七药材和饮片鉴别的依据。

参考文献:

- [1] 任德权. 中药指纹图谱质控技术的意义与作用 [J]. 中药新药与临床药理, 2001, 12(3): 135-140.
- [2] 魏均娴, 杜元冲. 三七现代科学研究与应用 [M]. 昆明: 云南科技出版社, 1996.
- [3] 郑光植, 杨崇仁. 三七生物学及其应用 [M]. 北京: 科学出版社, 1994.
- [4] 屠鹏飞. 中药指纹图谱制度的方法学探讨 [A]. 国际色谱指纹图谱评价中药质量研讨会组委会. 国际色谱指纹图谱评价中药质量研讨会论文集 [C]. 广州: 2001.
- [5] 王颖, 陈新发, 盛龙生. 三七注射液指纹图谱的 LC/MS 测定 [J]. 中药新药与临床药理, 2001, 12(3): 160-161.
- [6] 盛龙生, 王颖, 彭建和, 等. LC/MS 在中药指纹图谱测定中的应用 [A]. 国际色谱指纹图谱评价中药质量研讨会组委会. 国际色谱指纹图谱评价中药质量研讨会论文集 [C]. 广州: 2001.

通 知

为了便于国际交流, 本刊决定从 2003 年第 1 期起, 文内的图题、表题、图注、表注及文后的参考文献一律用中、英文两种文字表示。请投稿时按以上要求撰写。