

## 荒漠肉苁蓉的 HPLC 指纹图谱研究

谢洁娜<sup>1</sup>, 赵明波<sup>2</sup>, 吴凤薇<sup>1</sup>, 屠鹏飞<sup>2\*</sup>

(1. 广州中一药业有限公司, 广东 广州 510140; 2. 北京大学医学部药学院, 北京 100083)

**摘要:**目的 建立荒漠肉苁蓉 *Cistanche deserticola* 的 HPLC 指纹图谱, 评价不同来源的荒漠肉苁蓉药材的内在质量差异。方法 采用 HPLC 梯度洗脱的方法建立指纹图谱, “计算机辅助相似度评价系统”软件进行数据处理, 据此对不同来源的药材进行比较分析。结果 方法精密度、稳定性、重现性较好; 不同来源的药材指纹图谱差异较大。结论 不同来源的荒漠肉苁蓉药材的内在质量差异较大, 该方法可用于评价肉苁蓉药材的质量。

**关键词:**荒漠肉苁蓉; 指纹图谱; HPLC

中图分类号: R282.71

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2005)02-0268-04

### Chromatographic fingerprint of *Cistanche deserticola* by HPLC

XIE Jie-na<sup>1</sup>, ZHAO Ming-bo<sup>2</sup>, WU Feng-wei<sup>1</sup>, TU Peng-fei<sup>2</sup>

(1. Guangzhou Zhongyi Pharmaceutical Corporation, Guangzhou 510140, China; 2. School of Pharmaceutical Science, Health Science Center, Peking University, Beijing 100083, China)

**Abstract: Objective** To establish chromatographic fingerprint of *Cistanche deserticola* by HPLC and evaluate the difference of inner qualities of samples from different habitats. **Methods** HPLC gradient elution was applied to establish the chromatographic fingerprint and “Computer Aimed Similarity Evaluation System” was used in data analysis. **Results** This chromatographic fingerprint method has good precision, stability, and repeatability; the fingerprints of the samples from different habitats were quite different. **Conclusion** There are notable differences in inner qualities of the samples from different habitats. This chromatographic fingerprint method can be used to evaluate the quality of *C. deserticola*.

**Key words:** *Cistanche deserticola* Y. C. Ma; fingerprint; HPLC

肉苁蓉为列当科多年生寄生植物, 主要寄生于固沙植物梭梭、柽柳、盐爪爪、珍珠柴等的根部, 分布于沙漠、荒漠等干旱地带, 我国的内蒙古、新疆、甘肃和宁夏一带多有分布<sup>[1]</sup>。肉苁蓉具有极高的药用价值, 有“沙漠人参”之美誉, 是我国传统的名贵中药材。肉苁蓉主要含苯乙醇苷类、环烯醚萜及其苷类、木脂素苷类、多元醇、多糖等成分, 其中苯乙醇苷类为其补肾阳主要有效成分<sup>[2]</sup>。前期研究表明, 因来源、产地不同, 肉苁蓉药材有效成分的种类和含量有一定的差异<sup>[3]</sup>。为了有效控制肉苁蓉药材的质量, 本实验在建立肉苁蓉药材指纹图谱检测方法的基础上, 对《中华人民共和国药典》2000 年版一部载载的肉苁蓉即荒漠肉苁蓉 *Cistanche deserticola* Y. C. Ma 进行了系统的指纹图谱研究, 考察了不同来源肉苁蓉药材内在品质的差异, 为肉苁蓉的质量控制提供依据。

### 1 仪器和材料

Agilent 1100 series 型高效液相色谱仪: 四元泵、在线脱气机、柱温箱、自动进样器、DAD 检测器(美国安捷伦公司), 旋转蒸发仪(日本 EYELA 公司)。松果菊苷(echinacoside)和洋丁香酚苷(类叶升麻苷, acteoside)对照品均由北京大学药学院天然药物学系制备, 纯度均大于 95%。乙腈为色谱纯, 水为高纯水, 甲醇、磷酸为分析纯。肉苁蓉药材由北京大学药学院屠鹏飞教授鉴定为荒漠肉苁蓉 *C. deserticola* Y. C. Ma 的干燥肉质茎。药材来源见表 1。

### 2 方法与结果

2.1 色谱条件: 色谱柱为 Agilent Zorbax Extend-C<sub>18</sub> (150 mm × 4.6 mm, 5 μm); 检测波长 330 nm; 体积流量: 1 mL/min; 柱温为 30 °C; 流动相: A 相为 0.095% 磷酸水溶液, B 相为 0.095% 磷酸乙腈溶液, 线性梯度洗脱, 0~18 min, 96% A-4% B; 18~40

min, 88%A-12%B; 40 ~ 65 min, 85%A-15%B; 65 ~ 75 min, 85%A-15%B; 75 ~ 90 min, 80%A-20%B; 90 ~ 100 min, 80%A-20%B; 100 min, 96%A-4%B。

表 1 样品产地及来源

Table 1 Habitats and resources of samples

样品号	产地	来源
1	甘肃省天祝县	兰州药业公司
2	甘肃省	甘肃兰州太阳药房
3	新疆	甘肃兰州药房
4	新疆	西安药材公司
5	新疆昌吉吉木沙尔	新疆千岁堂公司
6	新疆北疆	新疆乌鲁木齐药材市场
7	新疆北疆	新疆乌鲁木齐药材公司
8	内蒙古阿拉善	宁夏银川药店
9	宁夏甘草种植场栽培	北京大学药学院天然药物学系自采
10	宁夏甘草种植场栽培	北京大学药学院天然药物学系自采
11	内蒙古阿拉善左旗张泰乡	北京大学药学院天然药物学系自采
12	内蒙古阿拉善左旗张泰乡	北京大学药学院天然药物学系自采
13	内蒙古阿拉善左旗张泰乡	北京大学药学院天然药物学系自采
14	哈萨克斯坦	新疆博州药品检验所
15	内蒙古	内蒙古集宁药店
16	内蒙古	内蒙古集宁药店

2.2 流动相以及洗脱梯度的选择:文献报道采用乙腈-醋酸系统作为流动相检测肉苁蓉药材。由于肉苁蓉成分复杂,在文献方法采用的梯度条件下,存在色谱峰重叠的情况。另外,醋酸体积分数较高,长期使用影响色谱柱的使用寿命。因此,比较了甲醇-水系统、乙腈-水系统,最后确定了 0.095%乙腈-0.095%磷酸水溶液系统(pH 约为 2.3)作为流动相。经试验采用梯度进行洗脱,得到的信息量较丰富,各成分峰形尖锐且分离度良好。

2.3 检测波长的选择:利用 DAD 检测器的全波长扫描,在 210~380 nm 选取不同波长,比较肉苁蓉药材在 230、280、330、370 nm 不同检测波长下的 HPLC 图谱。结果表明:在 330 nm 处,色谱峰信息最多,且各峰分离良好。

2.4 供试品溶液的制备:将肉苁蓉样品粉碎,过 60 目筛,精密称取药材粉末约 1.0 g,用甲醇超声提取 3 次(30、20、20 mL),每次 15 min。滤过,合并滤液,浓缩至干。用 10%乙腈定容至 10.0 mL,摇匀,0.45 μm 滤膜滤过,取续滤液,即得。

2.5 数据处理软件的使用:使用中南大学开发的“计算机辅助相似度评价系统”软件进行数据处理。该软件可将多个色谱图进行汇总比较,经计算机辅助计算得到可全面反映多个色谱图特征的对照模式

色谱图,并以此模式为基准,计算每个色谱图与之比较的相似度。本实验采用相关系数(均数)进行评价。2.6 精密度试验:取同一个肉苁蓉供试样品,制备供试品溶液,连续进样 5 次,检测指纹图谱,“计算机辅助相似性评价系统”进行评价,结果都在 0.98 以上(n=5),表明仪器的精密度良好。

2.7 稳定性试验:取同一个肉苁蓉供试样品,制备供试品溶液,分别在 0、2、4、8、16、24 h 进样,检测指纹图谱,“计算机辅助相似性评价系统”进行评价,结果都在 0.98 以上(n=6),表明样品的稳定性良好。

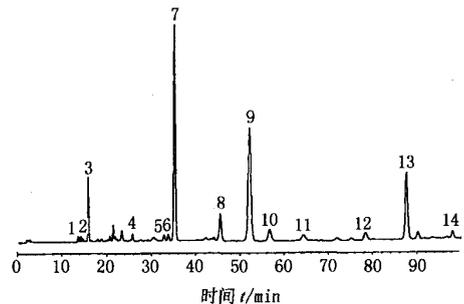
2.8 重现性试验:取同一批肉苁蓉药材 5 份,分别精密称定,制备供试品溶液,分别进样,检测指纹图谱,“计算机辅助相似性评价系统”进行评价,结果都在 0.98 以上(n=5),表明方法重现性较好。

2.9 样品分析:精密吸取供试品溶液 10 μL,注入液相色谱仪,采集 100 min 的 HPLC 图谱,其主要色谱峰的保留时间见表 2,色谱图见图 1。不同来源的荒漠肉苁蓉指纹图谱见图 2。经“计算机辅助相似度评价系统”软件进行数据处理,结果见表 3。

表 2 荒漠肉苁蓉 HPLC 指纹图谱特征峰的保留时间

Table 2 Retention time of characteristic peak in HPLC fingerprint of *C. deserticola*

峰号	保留时间/min	峰号	保留时间/min
1	13.5	8	45.6
2	14.2	9	52.1
3	15.8	10	56.7
4	25.7	11	64.3
5	32.8	12	78.4
6	33.8	13	87.6
7	35.2	14	98.0



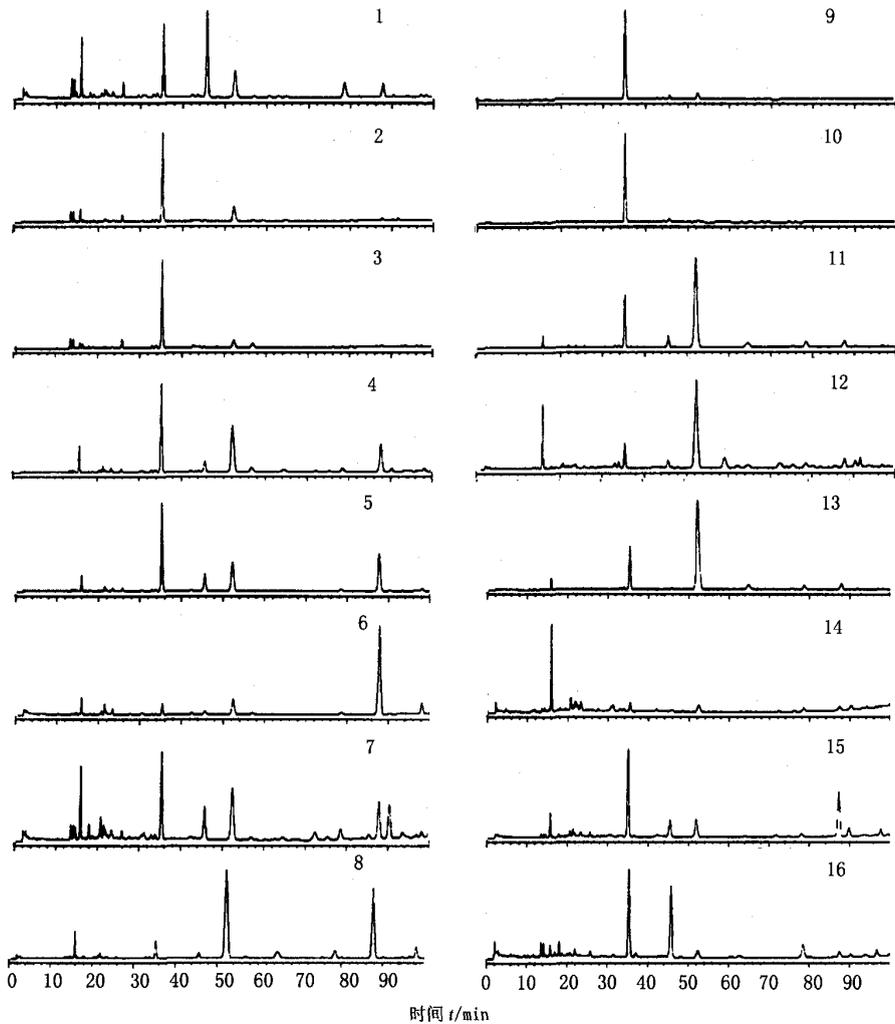
7-松果菊苷 9-洋丁香酚苷  
7-echinacoside 9-acteoside

图 1 荒漠肉苁蓉指纹图谱

Fig. 1 Fingerprint of *C. deserticola*

### 3 讨论

3.1 对不同产地的荒漠肉苁蓉的指纹图谱进行分析可以看出,其指纹图谱具有以下特征:(1)在保留



1~16 为表 1 中样品号

1-16 samples of Table 1

图 2 不同来源的荒漠肉苁蓉指纹图谱

Fig. 2 Fingerprint of *C. deserticola* from different habitats

表 3 不同来源的荒漠肉苁蓉相似度评价结果

Table 3 Similarities of *C. deserticola* from different habitats

样品号	相似度	样品号	相似度
1	0.69	9	0.61
2	0.77	10	0.81
3	0.70	11	0.84
4	0.98	12	0.75
5	0.94	13	0.79
6	0.58	14	0.67
7	0.90	15	0.65
8	0.70	16	0.88

时间 35~53 min 有 3 个明显的色谱峰,其中 7 号峰(松果菊苷,保留时间约 35 min)和 9 号峰(洋丁香酚苷,保留时间约 52 min)为相对峰面积较大的色谱峰,8 号峰(肉苁蓉苷 A,保留时间约 45 min)峰面

积一般小于 7 号和 9 号峰,形成两边高中间低的明显特征峰。在化学结构上,因松果菊苷比洋丁香酚苷多连接一个糖,易发生水解,转化为洋丁香酚苷,如果药材干燥时间长或霉变,则 7 号峰降低,而 9 号峰升高。(2)1 号峰和 2 号峰分别为 2 个色谱峰组成,有时两峰未达到基线分离。此两峰为国产荒漠肉苁蓉的特征峰。

3.2 不同来源的荒漠肉苁蓉指纹图谱差异较大。首先,不同药材色谱峰数有明显差异,有些样品出现特征峰的缺失,说明化合物的种类有明显差异;其次,信号强度差异很大,信号范围从 50 到 2500 mAU 不等,说明所含化合物差异很大。其中购自新疆乌鲁木齐药材市场的样品(6 号)和哈萨克斯坦进口的样品(14 号)色谱图中,松果菊苷和洋丁香酚苷

对照品峰信号很低,与大多数药材有明显差异;而宁夏甘草种植场栽培的样品(9、10号),松果菊苷量极高,这可能与栽培场的药材干燥速度快,松果菊苷未发生转化有关。产地相同的不同药材,如阿拉善左旗张泰乡的样品(11~13号)也有较大差异,提示除产地来源外,还有其他因素影响肉苁蓉的质量。

3.3 肉苁蓉中含有苯乙醇苷类化合物,其中以松果菊苷和洋丁香酚苷的量较高,并且为重要的活性成分,以这2个化合物为对照品,可以很好地代表肉苁蓉药理作用的化学物质基础,使药材的质量评价与其药理作用能够彼此对应,提高了质量评价的针对性。

3.4 由指纹图谱可见各峰分离较好,实验中利用

DAD 检测器采用归一化比较法对 HPLC 图中主要色谱峰进行纯度检查,结果显示各主要峰纯度较好,故本方法除了可以用于定性考察药材质量外,也可用于多种单一成分的一次同时定量检测,使测定更加简便快捷。

References:

[1] Jiangsu New Medical College. *Dictionary of Chinese Materia Medica* (中药大辞典) [M]. Shanghai: Shanghai People's Publishing House, 1975.  
 [2] Lei L, Song Z H, Tu P F. Advances in research of chemical constituents in plants of *Cistanche Hoffing.* et Link [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2003, 34(5): 473-476.  
 [3] Tu P F, Chu S W, Zhang Z G, et al. Analysis of phenylethanoid glycosides of *Herba Cistanchis* by RP-HPLC [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 1997, 32(4): 294-300.

## 广藿香茎发育及不同发育期挥发油的分布

冯承浩<sup>1,2</sup>, 吴 鸿<sup>2\*</sup>

(1. 韶关学院 英东生物工程学院 农业工程系, 广东 韶关 512005; 2. 华南农业大学 生命科学学院 药用植物研究中心, 广东 广州 510642)

**摘要:**目的 揭示广藿香茎的发育及不同发育阶段挥发油在其内的分布,为合理的取药、用药提供理论和实践上的指导。方法 石蜡切片法、半薄切片法、组织化学法。结果 在广藿香茎的原分生组织中,未观察到有挥发油分布;在茎的初生、分生组织和初生结构形成早期,挥发油主要分布在茎表皮上着生的腺毛中;在茎的初生结构中,挥发油主要分布在皮层薄壁组织细胞中;在茎的次生结构中,挥发油则主要分布在残存的皮层薄壁组织细胞中。结论 广藿香茎内的挥发油主要分布在茎的皮部,广藿香茎皮的厚薄可作为优良品种的选育指标。

**关键词:**广藿香; 茎; 发育; 挥发油; 分布

中图分类号:R282.6

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2005)02-0271-04

## Stem development and essential oil distribution in different development stages of *Pogostemon cablin*

FENG Cheng-hao<sup>1,2</sup>, WU Hong<sup>2</sup>

(1. Department of Agricultural Engineering, Yingdong College of Bioengineering, Shaoguan College, Shaoguan 512005, China; 2. Research Center of Medicinal Plant Development, College of Life Science, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

**Abstract: Objective** To study the stem development and essential oil distribution in different development stages of *Pogostemon cablin* and to provide theoretical information and practical guidance for reasonable harvest and use of this medicinal plant. **Methods** Paraffin method, semi-thin sectioning, and histochemical method were used. **Results** Essential oil was not found in the promeristem of stem; in the primary meristem of stem and the early stage of stem's primary structure, the essential oil was mainly distributed in glandular hairs; in the primary structure of stem, the essential oil was mainly distributed in cortex parenchyma cells; in the secondary structure of stem, the essential oil was mainly distributed in remaining cortex parenchyma cell. **Conclusion** The essential oil is mainly distributed in the stem bark, so the thickness of a stem bark can be used as a standard of selective breeding index.

收稿日期:2004-06-02

基金项目:广东省中医药管理局基金资助项目(F01032); 广东省科技攻关项目(C20147)

作者简介:冯承浩(1973—),男,山东省泰安市人,韶关学院农业工程系讲师,硕士,主要从事药用植物学方面的研究。

Tel: (0751) 8121376 E-mail: fchenghao@163.com

\* 通讯作者