

表 3 10 批秦艽药材与共有模式的相似性
Table 3 Resemblance between common pattern
and ten batches of *G. macrophylla*

批号	Cs	Rs	批号	Cs	Rs
1	0.998 1	0.998 4	6	0.999 7	0.999 7
2	0.998 7	0.998 4	7	0.990 4	0.990 0
3	0.997 4	0.997 6	8	0.995 3	0.994 2
4	0.999 3	0.999 2	9	0.998 2	0.997 8
5	0.999 0	0.999 1	10	0.999 1	0.999 2

4 讨论

4.1 参照《中国药典》2005 年版^[1]一部秦艽药材供试品溶液的制备方法,在制备过程中主要考察了恒温水浴加热回流提取与超声提取的差异、不同提取时间、不同液料比、不同提取温度的差异,经正交试验设计,最终确定了供试品溶液的制备方法。

4.2 检测波长选择:通常作为一个色谱体系,从信息理论的角度而言,其测定方法的优劣可用分析体系中包含的化学组分所获得的精确度及总的分析效率来表示^[2]。本试验采用基于色谱峰面积、保留时间与理论塔板数的互信息,最终选择信息量值最大的 222 nm 作为检测波长。

4.3 根据 10 批秦艽供试品图谱的检测结果,标定秦艽药材的共有指纹峰。以龙胆苦苷峰为内参照峰,按照相对保留时间标定,共有 18 个共有指纹峰。考虑到线性及精密性是外标法定量的基础,所以首先

对这些峰进行了线性及精密度的试验,从而排除在定量准确性上存在问题的峰。最终筛选出线性试验中相关系数 $r > 0.995$ 且精密度试验中 $RSD < 5\%$ 的 9 个峰作最后的分析用。

4.4 按照《中药注射剂指纹图谱研究的技术要求(暂行)》^[3]对有规定的指纹峰分别做总结,结果可知,无论是共有峰还是非共有峰的参数,各批样品均基本能满足规定的要求。

4.5 峰重叠率是两相相互比较样品的各自峰数及两者共有峰数的基础上,从质的角度上考虑其相关性。本课题中 10 批秦艽药材色谱图的重叠率均在 80% 以上,说明这 10 批秦艽药材有较好的相似性。

4.6 以上计算结果从质和量的角度表明,10 批秦艽药材相关性很好,各主要组分的量差异较小。进而说明这 10 批秦艽药材制定的指纹图谱可用作青海麻花秦艽药材的质量控制。

References:

- [1] Ch P (中国药典) [S]. Vol I. 2005.
- [2] Zhang Q, Zhang X H, Chen J M. Application of chemometrics in the choice of the best detection wavelength of the fingerprints of *Fagopyrum tatarium* Gaertn. [J]. Chin Pharm J (中国药理学杂志), 2003, 38(6): 419-422.
- [3] Technical Requirements of the Fingerprint Research in Injecting of Chinese Materia Medica (Tentative Standard) 《中药注射剂指纹图谱研究的技术要求(暂行)》[S]. 2001.

太子参 HPLC 色谱指纹图谱研究

刘伟祥,胡海云,刘喜纯,段 启

(广东康美药业股份有限公司 技术研究中心,广东 普宁 515300)

摘要:目的 应用 HPLC 法建立太子参的指纹图谱,为太子参药材的质量控制提供依据。方法 采用 Dikma Kromasil 100A C₁₈ 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm),以乙腈-水梯度洗脱,体积流量,0.8 mL/min,检测波长 203 nm,测定 10 批太子参药材的色谱图,确立标准指纹图谱。结果 太子参药材有 7 个共有峰,并达到较好分离。该分析方法具有很好的精密度、重现性和稳定性,各批次间共有峰的相对保留时间的 RSD 均小于 1%,相对峰面积符合指纹图谱相关要求。结论 建立的 HPLC 指纹图谱法用于太子参药材的质量评价切实可行。

关键词:太子参药材;HPLC;梯度洗脱;指纹图谱

中图分类号:R282.7

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2007)05-0761-04

Fingerprint of *Radix Pseudostellariae* by HPLC

LIU Wei-xiang, HU Hai-yun, LIU Xi-chun, DUAN Qi

(Centre of Research and Development, Guangdong Kangmei Pharmaceutical Group Co., Ltd., Puning 515300, China)

Key words: *Radix Pseudostellariae*; HPLC; gradient elution; fingerprint

指纹图谱质量控制技术是保证中药功效,实现中药现代化的关键。控制中药饮片质量,首先要抓源头,控制中药材的质量。太子参为《中国药典》收载的常用补益中药,系石竹科植物孩儿参 *Pseudostellaria heterophylla* (Miq.) Pax ex Pax et Hoffm. 的干燥块根,具有益气健脾、生津润肺之功效,临床常用于脾虚体倦、食欲不振、病后虚弱、气阴不足、自汗口渴、肺燥干咳等。太子参含有环肽类、三萜皂苷类、多糖以及少量挥发性成分等;具有抗疲劳、抗缺氧、抗应激、抗衰老等药理作用。太子参主产于浙江、安徽、福建等地。参照“中药注射剂指纹图谱实验研究的技术要求(暂行)的通知(2000)”要求,并参考相关文献报道,对 10 批不同产地的太子参进行了指纹图谱研究,应用中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2004A)(国家药典委员会),对其所有峰和共有峰相似度进行评价。实验证明该方法简便、准确、重现性好,结合药材中共有峰和所有峰的相似度,可以为太子参的品质评价、质量控制、GAP 实施和发展道地药材提供有价值的资料。

1 仪器与试药

1.1 仪器:Agilent 1100 高效液相色谱仪(包括:二元泵、在线脱气机、柱温箱、DAD 检测器)。北京塞多利斯天平有限公司 Sartorius BS 400S—WEI 万分之一天平;色谱柱:Dikma Kromasil C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm)。

1.2 试药:乙腈(美国 Fisher 公司,色谱纯),甲醇、正丁醇均为分析纯(广州化学试剂厂)、乙醇(天津大茂化学试剂厂,分析纯),水为超纯水。HPLC 所有试剂均经过 0.45 μm 微孔滤膜滤过。太子参样品见表 1(10 批样品是专人到太子参道地和主产区采集,经江西中医学院龚千锋教授鉴定为《中国药典》规定的正品太子参)。

表 1 太子参样品来源

Table 1 Origin of *Radix Pseudostellariae* samples

编号	样品	采集时间	编号	样品	采集时间
S1	浙江缙云	2005-12-25	S6	福建宁德柘荣县山乡	2005-06-30
S2	浙江金华东阳	2005-06-25	S7	安徽郎溪县	2005-11-16
S3	浙江泰顺	2005-12-08	S8	安徽宣城黄渡乡	2005-12-01
S4	浙江苍南	2005-06-29	S9	江苏溧阳	2005-11-30
S5	福建柘荣县太子参市场	2005-06-29	S10	贵州施秉县牛大厂镇	2005-03-09

2 方法与结果

2.1 色谱条件:色谱柱:Dikma Kromasil C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm);以乙腈为流动相 A,以水为流动相 B,梯度洗脱程序为(A):0~25 min:0%~15%;25~40 min:15%~16%;40~45 min:16%~25%;45~75 min:25%~50%。体积流量:0.8 mL/

min;柱温:25℃;进样量:10 μL,检测波长:203 nm。

2.2 供试品溶液的制备:精密称取太子参样品(粗粉)1.0 g,加 50%乙醇 50 mL,超声 30 min(300 W),滤过,滤液蒸干,残渣加水 10 mL 溶解,用水饱和的正丁醇 30 mL 萃取,萃取液再用正丁醇饱和的水 20 mL 洗涤,正丁醇液蒸干,残渣用 50%甲醇溶解,并定容至 5 mL,摇匀。过 0.45 μm 微孔滤膜,即得。

2.3 方法学考察

2.3.1 精密度试验:取同一供试品溶液(编号 1),连续进样 5 次,测定 HPLC 色谱图,选择 7 个共有峰进行比较,结果表明共有峰相对保留时间 RSD 为 0.017%~0.052%,共有峰的相似度均大于 0.985,表明仪器精密度良好。

2.3.2 稳定性试验:取同一供试品溶液(编号 1),分别于 0、2、4、8、24、36 h 检测,其共有峰相对保留时间 RSD 为 0.104%~0.261%。共有峰的相似度均大于 0.987,结果表明:供试品在 36 h 内稳定。

2.3.3 重现性试验:取同一批次的供试品 5 份(编号 1),按照 2.2 项供试品溶液的制备方法制备供试品溶液,分别进样,测定其共有峰的相对保留时间的 RSD 为 0.028%~0.085%,共有峰的相似度均大于 0.988,表明重现性良好。

以上结果表明指纹图谱中各色谱峰的相对保留时间和面积基本一致,相似度较高,符合指纹图谱研究的技术要求。

2.4 太子参药材 HPLC 指纹图谱的建立:依照 2.1、2.2 项下的条件和方法测定 10 批原药材的 HPLC 图谱,根据所给出的相关参数,太子参原药材的色谱峰在 75 min 之内全部出现。共标示出 7 个特征峰,从指纹图谱中可以看出 1 号峰(保留时间 17.287 min)峰面积适中、峰形好、纯度高,故选其为参照峰。将各指纹峰保留时间与同一图谱中参照物的保留时间比较,其比值为各指纹峰的相对保留时间。计算 10 批药材指纹图谱中各指纹峰的相对保留时间(表 2,图 1、2),10 批药材中各共有峰的相对保留时间值的 RSD 均小于 0.5%。

从 10 批太子参药材图谱可看出,不同产地样品差别较大,S3(浙江泰顺)、S4(浙江苍南)、S5 和 S6(福建柘荣)具有更大的相似度;S2(浙江金华)、S8(贵州施秉)、S9(江苏溧阳)、S10(安徽宣城)虽分布在 4 个省,却有更多的共性;S1、S2、S3、S4 虽产于浙江,但差异比较明显,特别是 50 min 以后的峰,基本不具有共性。这可能与太子参生长环境等多种因素有关。综合以上因素,将 43 min 以内的 7 个峰定为共有峰。

表 2 10 批太子参药材共有峰相对保留时间 α 值

Table 2 Relative retention time (α value) of common peaks for ten batches of *Radix Pseudostellariae*

样品编号	共有峰相对保留时间(α)						
	1	2	3	4	5	6	7
S1	1.000	1.100	1.501	1.752	1.770	2.114	2.386
S2	1.300	1.105	1.507	1.760	1.779	2.123	2.395
S3	1.000	1.099	1.500	1.753	1.771	2.116	2.387
S4	1.000	1.098	1.498	1.748	1.766	2.112	2.382
S5	1.000	1.098	1.497	1.749	1.767	2.111	2.382
S6	1.000	1.097	1.497	1.750	1.768	2.112	2.383
S7	1.000	1.098	1.500	1.752	1.771	2.116	2.387
S8	1.000	1.098	1.501	1.753	1.772	2.117	2.388
S9	1.000	1.099	1.500	1.751	1.770	2.113	2.385
S10	1.000	1.097	1.497	1.749	1.767	2.110	2.383
平均	1.000	1.099	1.500	1.752	1.770	2.114	2.386
RSD/%	0.00	0.208	0.186	0.200	0.208	0.174	0.168

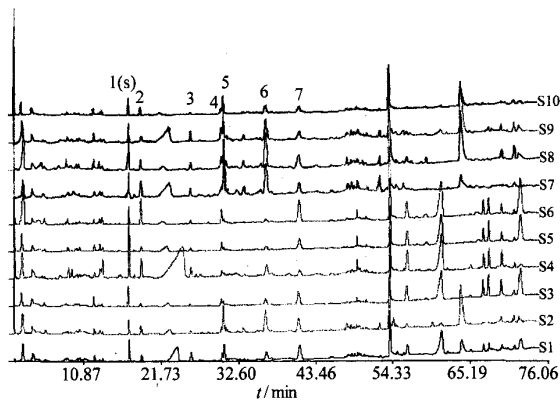


图 1 10 批太子参药材指纹图谱

Fig. 1 Fingerprint of ten batches of *Radix Pseudostellariae*

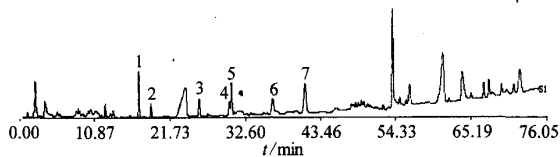


图 2 太子参药材对照指纹图谱

Fig. 2 Compared fingerprint of *Radix Pseudostellariae*

3 聚类分析

首先采用同一积分条件对 10 批药材图谱进行相对峰面积数据处理,结果采用 SPSS11.0 统计软件进行聚类分析,结果见图 3。聚类结果显示:1、3、4、5、6 号样品归为一类;2、7、8、9、10 号样品归为一类。表明 1、3、4、5、6 号样品化学成分间的差异相对较小,2、7、8、9、10 号样品化学成分间的差异较小。

4 讨论

4.1 在供试品溶液制备方法考察中,对提取条件(溶媒、提取方法)及色谱条件(流动相、体积流量、进样量)进行了单因素平行优选。不同溶媒(不同比例甲醇、乙醇、水饱和正丁醇)中以 50%甲醇和 50%乙醇提取物效果较好,但考虑到甲醇对人体危害较大,故选用 50%乙醇作为提取溶剂。对超声、回流、索氏

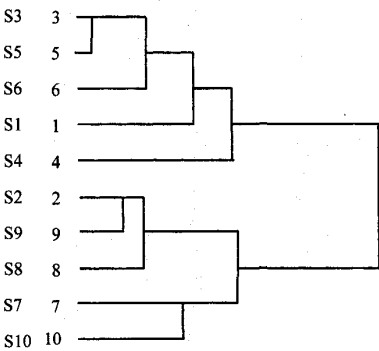


图 3 聚类分析图

Fig. 3 Dendrogram of cluster analyses

提取方法比较,结果 3 者图谱并无明显差异,但超声处理较为方便、快速,故选用超声提取法,考察了 50%乙醇 15、30、45 min 提取效果,分析比较后发现 30 min 提取效果为好。

4.2 色谱条件的选择:(1)色谱柱的初步选择:考察了 Kromasil 100A C₁₈、AgilentSB-18、Thermo ODS hypersil,结果表明太子参样品色谱峰在 Kromasil 100A C₁₈色谱柱上有较好的分离效果,指纹图谱实验选用 Kromasil 100A C₁₈柱。(2)流动相的考察:曾试验了乙腈-水(梯度洗脱)、乙腈-磷酸(梯度洗脱)、乙腈-冰醋酸(梯度洗脱)等条件,最终从液相图谱可以看出所选的梯度条件分离效果最佳。(3)检测波长的选择:经 DAD 全波长扫描得出在 203 nm 下太子参药材出峰数目较多,信息较丰富,故选择 203 nm 为测定波长。(4)柱温的选择:根据柱温在 20、25、30、35、40 ℃的色谱图进行比较,发现并无明显差异,但因本实验室温度一直控制在 25 ℃左右,故选 25 ℃。(5)进样量的选择:分别进样 5、10、20 μ L,但由于太子参成分紫外吸收较弱,5 μ L 峰面积太低,进样 20 μ L 除浙江苍南产地样品外其他产地色谱峰均达到较好分离,进样 10 μ L 时,所有产地样品色谱峰达到了较好的分离,基本满足实验要求。为实验条

件的一致性,故选进样量为 10 μ L。

4.3 在目前太子参活性成分或指标性化学成分尚不明确的情况下,制定指纹图谱时,没有适宜的对照品参照,故以供试品中峰面积适中、峰形好、纯度好、较稳定的 1 号峰作为参照峰来标定其他各共有指纹峰的相对保留时间。

4.4 目前指纹图谱已经成为国际公认的控制中药或天然药物质量的最有效手段,以不同产地太子参的相对保留时间作为对照模板,进行相似度计算,优点是能较全面反映太子参药材的整体特征。如果利用道地药材的标准提取物建立标准图谱,则通过待

测样品与标准图谱相似度的比较,有可能判断样品的品种,这也是今后进一步研究的目标^[1]。总之,中药指纹图谱技术对提高中药质量控制的科技含量,提高中药工业整体水平,实现中药走向世界,具有非常重要的现实意义^[2]。

References:

- [1] Chen J H, Xie M Y, Wang H Q, et al. Determination of ginsenosides in *Panax quinquefolium* L. by HPLC and study on their fingerprints analysis [J]. *Food Sci* (食品科学), 2005, 26(11): 200-206.
- [2] Yang G M, Cai B C, Pan Y, et al. Study on the fingerprint of *Ligusticum chuangxiang* and comparison of producing areas (1) [J]. *J Nanjing Univ Tradit Chin Med* (南京中医药大学学报), 2002, 18(3): 172-173.

国产 11 种蒿属药用植物种子微形态特征研究

贺学礼^{1,2*}, 孙会忠³

(1. 河北大学生命科学学院, 河北 保定 071002; 2. 西北农林科技大学生命科学院, 陕西 杨凌 712100;

3. 河南科技大学农学院, 河南 洛阳 471003)

摘要:目的 为了积累蒿属(*Artemisia* L.)植物种子微形态特征方面的分类学资料,以探讨和解决其分类学中的一些问题。方法 对其 11 种植物的种子进行了光学显微镜(LM)和扫描电子显微镜(SEM)下的比较观察研究,其电镜资料为首次报道。结果 种子微形态特征具有一致性,种子形态为长椭圆、倒卵形至矩圆形;颜色为灰褐色至黑色;表面纹饰以脑纹状、纵条纹-网状和搓板状梯形为主。在大小、颜色、表面纹饰的次级结构等方面仍存在种间特异性。结论 蒿属 11 种植物的种子微形态特征存在细微的种间差异,对该属植物的系统分类具有一定参考价值。

关键词:蒿属;扫描电子显微镜;种子微形态特征

中图分类号:R282.7

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2007)05-0764-03

Microstructure characteristics of seed from 11 plants of *Artemisia* L. in China

HE Xue-li^{1,2}, SUN Hui-zhong³

(1. College of Life Science, Hebei University, Baoding 071002, China; 2. College of Life Science, Northwest

Sci-Tech University of Agriculture and Forestry, Yangling 712100, China; 3. College

of Agronomy, Henan Sci-Tech University, Luoyang 471003, China)

Key words: *Artemisia* L.; scanning electron microscope (SEM); microstructure characteristics of seed

蒿属(*Artemisia* L.)隶属于菊科(Compositae)春黄菊族(*Anthemideae* L.),为一、二年生或多年生草本,少数为半灌木或小灌木,全世界 300 余种,我国约有 200 种,各省均有分布。该属植物在医药上多有清热解毒、抗菌消炎、祛风除湿、通经活络、活血、止血等功效^[1]。自从 20 世纪 70 年代中国科学家从黄花蒿 *A. annua* L. (惯称青蒿)中提取出具有抗疟

成分青蒿素(artemisinin),掀起了世界医药学界对蒿属植物药用价值开发的研究高潮,称为天然药物研究的一个热点领域^[2]。目前人们对青蒿素及其衍生物在抗疟作用、抗疟作用原理、抗肿瘤以及其他方面都取得了可喜的成就^[3~5]。2005 年 11 月在广州举行了题为“国际菊科艾蒿类植物系统演化与资源利用”的研讨会,凸显了学界和医药界对蒿类植物开发

收稿日期:2006-09-19

基金项目:国家自然科学基金项目(30470133)

作者简介:孙会忠(1976—),博士研究生,主要从事植物系统学和植物资源学研究。

* 通讯作者 贺学礼 E-mail:xuelh1256@yahoo.com.cn