

使各生育时期标志性特征明显,且有利于白花蛇舌草栽培过程中各生育阶段的识别和管理。

白花蛇舌草干物质积累与氮、磷、钾吸收相一致,不同生育阶段干物质积累和氮、磷、钾吸收量不同,其中结果期干物质积累和氮、磷、钾吸收量最多,其次为分枝开花期和苗期。成熟期干物质仅有少量的积累,氮、磷养分也吸收较少,钾为负吸收,因此应注重在白花蛇舌草生长的分枝开花期和结果期施用氮、磷、钾肥,从而保证植株对氮、磷、钾的吸收,并有利于植株干物质的积累。

不同生育阶段氮、磷、钾在器官中的积累和分配不同。苗期和分枝开花期3种养分主要分配在叶和茎中,结果期和成熟期花果中则分配较多。氮素在苗期和分枝开花期多集中叶片中,茎中次之,磷、钾则茎中较多,叶中次之。结果期和成熟期氮、磷主要分布在花果中,茎中次之,钾肥则多集中在茎中,花果中次之。氮、磷、钾在不同生育阶段的这种变化特点,反映了白花蛇舌草不同生育阶段生长中心的转移。

生产中的施肥只有适应作物对氮、磷、钾的吸收分配特性,肥效才能达到最大。根据白花蛇舌草对氮、磷、钾的吸收分配特征,生产中应重施氮肥,多施钾肥,适当补施磷肥。白花蛇舌草在苗期对肥料要求不多,可适当少施。分枝开花期和结果期吸收量骤

增,要加大施肥用量,分枝开花期对氮的吸收开始快速增加,施肥应以氮肥为主,结果期对磷肥和钾肥要求较多,应适当补施磷肥和钾肥以满足此期果实生长的需要。

References:

- [1] Wang Q S, Wu C, Du X F. *Illustrated Handbooks of Genuine Chinese Medicinal Materials* (道地药材图典) [M]. Xi'an: Fujian Science and Technology Press, 2003.
- [2] Huang H L, Luo G M, Liu X W, et al. Research evolvement of *Hedyotis diffusa* [J]. *World Sci Technol-Mod Tradit Chin Herb Med* (世界科学技术—中医药现代化), 2003, 5(6): 37-39.
- [3] Li R, Zhao H R, Lin Y N, et al. Anti-tumor effect and protective effect on chemotherapeutic damage of water soluble extracts from *Hedyotis diffusa* [J]. *J Chin Pharm Sci* (中国药科学), 2002, 11(2): 54-58.
- [4] Zhou C, Wang L, Feng X Y. Content comparison of oleanolic acid and ursolic acid in *Hedyotis diffusa* and *Hedyotis corymbosa* [J]. *J Chin Mater Med* (中药材), 2002, 25(5): 313-314.
- [5] Ren F Z, Liu G S, Zhang L, et al. Study on chemical constituents of *Hedyotis diffusa* [J]. *Chin Pharm J* (中国药科学杂志), 2005, 40(7): 502-504.
- [6] Guo Q S, Wu C W, Du X F. Observation on biological characteristics of *Hedyotis diffusa* [J]. *J Chin Mater Med* (中药材), 2001, 24(10): 705-706.
- [7] Li C H, Huang T, Huang Z X. Preliminary report on artificial cultural test of *Hedyotis diffusa* [J]. *J Jiangsu Agric Sci* (江西农业学报), 2005, 17(2): 79-80.
- [8] Li Y K. *The Routine Analysis Method of Soil Chemistry* (土壤化学的常规分析法) [M]. Beijing: China Agriculture Press, 1994.

河北道地药材紫菀的指纹图谱研究

范丽芳,王巧,张兰桐*,郑旭光,何伟

(河北医科大学药学院 药物分析教研室,河北 石家庄 050017)

摘要:目的 研究河北道地药材紫菀的 HPLC-UV 指纹图谱以获取对照图谱,并比较不同产地紫菀药材指纹特征,测定其有效成分紫菀酮的量,为科学评价与有效控制紫菀药材质量提供方法。方法 色谱柱为 Diamonsil™ C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm);柱温为 30℃,检测波长为 200 nm,进样量 20 μL,流动相为乙腈-0.05%磷酸进行梯度洗脱,定量测定中流动相为乙腈等度洗脱,体积流量为 2.0 mL/min。结果 道地药材指纹图谱相似度均大于 0.95,不同产地药材存在较大差异。紫菀酮线性范围为 0.099~0.895 mg/mL ($r=0.9996$, $n=5$),平均回收率为 99.27%,RSD=1.15% ($n=6$)。结论 本方法操作简便、快速、准确,可作为紫菀药材的质量控制方法。

关键词:紫菀;指纹图谱;紫菀酮;高效液相色谱法

中图分类号:R282.710.3

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2007)10-1566-05

Fingerprints of genuine *Radix Asteris* from Hebei Province

FAN Li-fang, WANG Qiao, ZHANG Lan-tong, ZHENG Xu-guang, HE Wei

(Department of Pharmaceutical Analysis, School of Pharmacy, Hebei Medical University, Shijiazhuang 050017, China)

Key words: *Radix Asteris*; fingerprints; shionone; HPLC

收稿日期:2007-01-20

基金项目:河北省自然科学基金资助项目(303453)

*通讯作者 张兰桐 Tel: (0311)86266419 E-mail: zhanglantong@263.net

紫菀为双子叶菊科植物紫菀 *Aster tataricus* L. f. 的根及根茎,为我国传统常用中药材,该药材性味辛、苦、温,归肺经,具有润肺下气、消痰止咳的功效,可用于痰多喘咳,新久咳嗽,劳嗽咳血等^[1]。一般认为,紫菀中含有的三萜类成分(紫菀酮、木栓酮、表木栓醇)为发挥药效的主要物质^[2],且紫菀酮为其祛痰的有效成分之一^[3]。河北省为紫菀药材的主要产区,安国产紫菀药材素有“祁紫菀”之称。由于受地理因素和生长环境的影响,不同产区紫菀的化学成分及紫菀酮的量不尽相同。本实验对来自不同产地的 17 批紫菀样品进行了 HPLC-UV 指纹图谱分析,以 10 批道地药材生成对照指纹图谱,同时对不同产地紫菀的指纹图谱进行了研究,并测定了 17 批药材中紫菀酮的量。方法重现性和精密度良好,有助于紫菀药材的标准化种植与道地药材的质量控制,同时为紫菀药材的鉴别提供依据。

1 仪器与试药

Waters 1525 高效液相色谱仪, Waters 2487 检测器(UV), Empower 工作站; SCQ-200 超声波清洗器(100 W, 25 kHz)(上海声谱超声波设备厂), SZ-93 自动双重纯水蒸馏器(上海亚荣生化仪器厂)。乙腈为色谱纯(美国迪马公司),水为二次重蒸水,其他溶剂均为分析纯。紫菀酮对照品(批号 111581-200302)、紫菀对照药材(批号 120956-200504; 0956-9903),均由中国药品生物制品检定所提供。不同产地紫菀 *Aster tataricus* L. f. 样品来源见表 1。

表 1 紫菀药材样品来源

Table 1 Sources of *Radix Asteris* samples

样品号	样品来源	采收季节
1	河北安国张庄	秋
2	河北安国冀庄	秋
3	河北安国姬庄	秋
4	河北安国姬庄	秋
5	河北安国姬庄	春
6	河北安国东山基地	秋
7	河北安国观音堂	秋
8	河北安国观音堂	春
9	河北安国城南	秋
10	河北安国西固	春
11	中国药品生物制品检定所	
12	中国药品生物制品检定所	
13	安徽亳州	
14	江西	
15	广西	
16	四川	
17	安徽六安	

本研究收集了 17 批不同产地不同采收期的紫菀药材样品,晾干。将样品切成小段,置烘箱内,于

40 ℃ 烘干 8 h, 取出, 用粉碎机粉碎, 过 3 号筛, 置于干燥器中, 备用。

2 方法与结果

2.1 对照品溶液: 取紫菀酮对照品适量, 精密称定, 加甲醇溶解并稀释制成 1 mg/mL 的溶液, 即得。

2.2 供试品溶液: 取药材粉末(过 3 号筛) 2.5 g, 精密称定, 置 25 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 称定质量, 超声提取 20 min, 取出, 放冷, 用甲醇补足质量, 摇匀, 微孔滤膜(0.45 μm)滤过, 即得。

2.3 道地药材指纹图谱的建立

2.3.1 色谱条件及系统适用性试验: 色谱柱为 Diamonsil™ C₁₈ 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm)(美国迪马公司); 乙腈-0.05% 磷酸溶液为流动相进行梯度洗脱, 流动相梯度洗脱程序见表 2; 检测波长 200 nm, 柱温 30 ℃, 进样量 20 μL, 理论板数按紫菀酮的色谱峰计算为 3 × 10⁵, 分离度大于 1.5。所有组分均在 90 min 内被检测完, 色谱图见图 1。

表 2 流动相梯度洗脱程序

Table 2 Gradient elution process of flow phase

时间/min	体积流量/(mL · min ⁻¹)	乙腈/%	0.05%磷酸/%
0	1	10	90
10	1	13	87
20	1	23	77
40	1	35	65
43	1	60	40
50	1	65	35
60	1	100	0
71	1	100	0
73	2.5	100	0
85	2.5	100	0
87	1	10	90

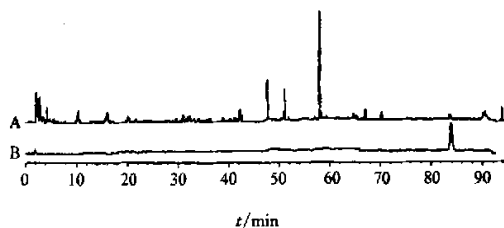


图 1 紫菀药材(A)与紫菀酮对照品(B)图谱对比

Fig. 1 Comparison of fingerprint between *Radix Asteris* (A) and shionone reference substance (B)

2.3.2 稳定性试验: 取紫菀药材 9 号样品粉末, 精密称定, 制备供试品溶液, 分别于 0、2、4、6、8、10、12、24 h 检测指纹图谱。利用中药色谱指纹图谱相似度评价系统 A 版软件计算相似度, 结果均大于 0.9, 各主要色谱峰相对保留时间和其相对峰面积比值无明显变化, 其 RSD 分别为 0.19%~1.7% 和 0.29%~2.1%, 说明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.3.3 精密度试验:取紫菀药材9号样品粉末,精密称定,制备供试品溶液,重复进样6次,记录指纹图谱。利用中药色谱指纹图谱相似度评价系统A版软件计算相似度,结果均大于0.9,各主要色谱峰相对保留时间和其相对峰面积比值无明显变化,其RSD分别为0.11%~1.3%和0.18%~1.5%,说明精密度良好。

2.3.4 重现性试验:取紫菀药材9号样品粉末6份,精密称定,制备供试品溶液,分别进样,记录指纹图谱。利用中药色谱指纹图谱相似度评价系统A版软件计算相似度,结果均大于0.9,各主要色谱峰相对保留时间和其相对峰面积比值无明显变化,其RSD分别为0.12%~1.1%和0.31%~2.91%,说明重现性良好。

2.3.5 河北道地紫菀药材指纹图谱的建立:取河北产紫菀药材(1~10号样品),制备供试品溶液,各取20 μ L 分别进样,进行HPLC分析,得到道地紫菀药材的指纹图谱及其20个共有峰,见图2,并生成对照图谱(R),见图3,计算其相似度,结果见表3。

2.3.6 不同产地紫菀药材指纹图谱的建立:取不同来源的紫菀药材(11~17号样品),制备供试品溶液,各取20 μ L 分别进样,进行HPLC分析,得到7批不同来源紫菀药材的指纹图谱,见图4,并计算其与对照指纹图谱比较的相似度,结果见表4。

2.3.7 结论分析:在17批药材中,10批河北道地药材相似度均在0.95以上,批间差异较小,春秋两季采收差异不大。但不同产地的药材与河北道地药材生成的对照指纹图谱相比,相似度相差较大,说明了不同产地的紫菀药材之间存在着较大的差异,其中包括中国药品生物制品检定所提供的对照药材,

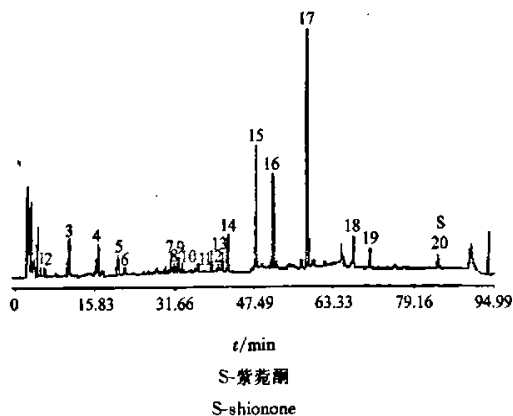
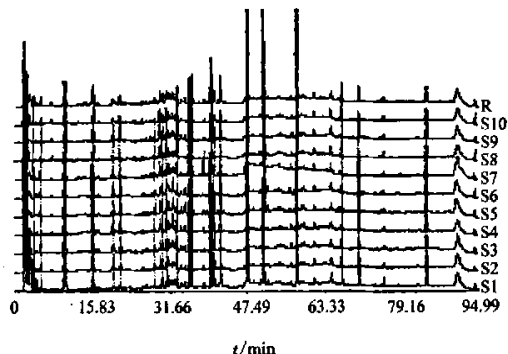


图2 紫菀药材指纹图谱及共有峰标识

Fig.2 Fingerprints of *Radix Asteris* from Hebei Province and marking of common peaks



S1~S10-样品1~10 R-对照指纹图谱

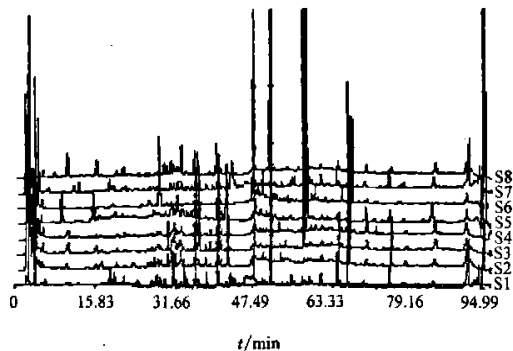
S1-S10-samples 1-10 R-reference fingerprint

图3 10批道地紫菀药材指纹图谱及生成的共有模式
Fig.3 Fingerprints of ten batches of *Radix Asteris* and their plot of mutual modes

表3 10批河北道地紫菀药材指纹图谱与共有模式比较的相似度

Table 3 Similarities among ten batches of *Radix Asteris* samples from Hebei Province compared with reference fingerprints

批号	相似度	批号	相似度
1	0.951	6	0.986
2	0.998	7	0.991
3	0.991	8	0.968
4	0.993	9	0.995
5	0.992	10	0.968



S1~S7-样品11~17 S8-对照指纹图谱

S1-S7-samples 11-17 S8-reference fingerprints

图4 不同产地紫菀药材指纹图谱
Fig.4 Fingerprints of *Radix Asteris* samples from different habitats

其相似度也较低。据《现代中医药大辞典》所载紫菀主产于河北与安徽等省,由表3、4可知,河北与安徽产的紫菀药材相似度有一定差异,但差异不是很大。

2.4 紫菀药材中紫菀酮的测定:用高效液相色谱法同时测定紫菀中活性成分之一紫菀酮的量,并对不同来源紫菀药材样品的测定结果进行分析比较。

表4 7批不同产地紫菀药材指纹图谱与共有模式比较的相似度

Table 4 Similarities among seven batches of *Radix Asteris* samples from different habitats compared with reference fingerprints

批号	相似度	批号	相似度
11	0.224	15	0.850
12	0.230	16	0.413
13	0.924	17	0.824
14	0.874		

2.4.1 色谱条件:采用 C_{18} 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μ m), 以乙腈为流动相, 体积流量 2.0 mL/min, 检测波长 200 nm, 柱温 30 $^{\circ}$ C。

2.4.2 系统适用性试验:在上述确定的色谱条件下, 吸取上述选定的提取方法制备的供试品溶液 20 μ L, 注入 HPLC 色谱仪, 记录 20 min 内的色谱图, 理论板数按紫菀酮峰计算为 9 800, 与其他色谱峰的分度大于 1.5。

2.4.3 标准曲线制备:取紫菀酮对照品适量, 精密称定, 加甲醇溶解并稀释制成质量浓度为 1 mg/mL 的溶液, 作为对照品储备液。分别精密吸取 1、3、5、7、9 mL, 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀。吸取上述溶液 20 μ L 注入液相色谱仪, 记录峰面积。以质量浓度 (Y) 为横坐标, 峰面积 (X) 为纵坐标, 绘制标准曲线, 经回归处理得回归方程为: $Y = 2.5 \times 10^{-3} + 9.8 \times 10^{-5} X$, $r = 0.9996$, 紫菀酮在 0.099~0.895 mg/mL 呈良好的线性关系。

2.4.4 精密度试验:取紫菀药材 9 号样品适量, 精密称定, 制备供试品溶液, 吸取 20 μ L, 注入液相色谱仪, 重复进样 6 次, 按已确定的色谱条件记录峰面积, 紫菀酮质量分数的 RSD 为 1.4%。

2.4.5 稳定性试验:取紫菀药材 9 号样品适量, 精密称定, 制备供试品溶液, 分别于 0、2、4、6、8、10、12、24 h 吸取 20 μ L, 按已确定的色谱条件记录峰面积, 紫菀酮质量分数的 RSD 为 0.66%, 说明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.4.6 重现性试验:取紫菀药材 9 号样品适量, 精密称取 6 份, 制备供试品溶液, 吸取各 20 μ L, 注入液相色谱仪, 按已确定的色谱条件记录峰面积, 紫菀酮质量分数的 RSD 为 3.2%, 方法重现性良好。

2.4.7 回收率试验:取紫菀药材 9 号样品约 1.25 g, 共 6 份, 精密称定, 分别精密量取 4 mg/mL 紫菀酮对照品溶液 1.0 mL (约相当于紫菀药材含紫菀酮的 50%), 依次加入上述 6 份药材中, 制备供试品溶液, 吸取各 20 μ L, 注入液相色谱仪, 按已确定的色

谱条件记录峰面积, 紫菀酮的平均回收率为 99.27%, RSD 为 1.1% ($n=6$)。

2.4.8 最低检测限:精密称取紫菀酮对照品, 加甲醇溶解并逐步稀释至所得色谱图中紫菀酮峰高为噪音的 3 倍, 得紫菀酮的最低检测限为 1.4 ng。

2.4.9 样品测定:取河北道地 (1~10 号) 与不同产地紫菀药材 (11~17 号), 制备供试品溶液, 吸取 20 μ L, 注入液相色谱仪, 按已确定的色谱条件记录峰面积并计算, 结果见表 5。

表5 17批紫菀药材中紫菀酮的量

Table 5 Shionone in 17 batches of *Radix Asteris*

批号	紫菀酮/%	批号	紫菀酮/%
1	0.239 3	10	0.388 0
2	0.266 6	11	0.262 2
3	0.345 1	12	0.110 1
4	0.411 1	13	0.260 8
5	0.353 7	14	0.256 2
6	0.340 0	15	0.314 4
7	0.235 4	16	0
8	0.241 1	17	0.173 3
9	0.362 9		

2.4.10 结论分析:《中国药典》2005 年版规定紫菀中紫菀酮的量不得低于 0.1%, 本实验所测 17 批紫菀药材中, 有 16 批量高于 0.1%, 这其中有道地的, 也有非道地的。在四川采收的川紫菀其相似度较低, 实验中几乎检测不到紫菀酮所对应的色谱峰。总体而言, 不同来源紫菀药材中紫菀酮的量有很大差别。

3 讨论

本实验采用 HPLC-UV 法, 对来自不同产地的 17 批紫菀样品进行了指纹图谱分析, 利用相似度软件以 10 批道地紫菀指纹图谱生成对照指纹图谱, 并对不同产地间药材的差异进行了研究。同时对 17 批紫菀样品中的紫菀酮进行了量的测定。建立了河北道地药材紫菀的指纹图谱, 以紫菀酮为参照进行了定量, 有助于紫菀药材的标准化种植及紫菀道地药材的质量控制, 同时为紫菀的鉴别提供依据。

从研究结果可以看出, 紫菀酮的量的高低与其相似度并非成对应关系, 也就是说紫菀酮量的高低不一定能完全说明该药材的质量好坏, 应在紫菀酮的量达到要求的情况下, 相似度越高说明药材质量越好。结果表明, 河北安国产紫菀药材质量稳定, 紫菀酮量较高, 相似度相差不大; 安徽、江西、广西产紫菀中紫菀酮量稍低, 相似度也存在一定差异; 中国药品生物制品检定所提供的两批药材与四川产的川紫菀, 紫菀酮的量与相似度均很低, 疑为非道地药材, 建议中国药品生物制品检定所应明确标定对照药材

的来源并确定为道地药材。

本实验比较了不同提取溶剂(95%乙醇、70%乙醇、45%乙醇、50%甲醇、甲醇)的水浴回流、索氏提取、超声提取等不同提取方法的提取效果,同时还考察了不同提取时间的提取效果。结果表明,以甲醇为提取溶剂,当超声提取 20 min 时,各色谱峰的响应值不再增加,且方法稳定,重现性好。

本实验采用 200 nm 作为检测波长。紫菀酮的结构特殊^[4],具有末端吸收。有文献报道^[5]在 316 nm 下进行检测,紫菀酮在此波长下无吸收,所得图谱不能涵盖紫菀中的特征成分。本研究经 HPLC-DAD 分析,得到三维全波长紫外扫描图,根据图谱选择各成分紫外吸收均较强的波长,除突出紫菀酮色谱峰特征外,也同时突出其他特征。

中药化学成分的多多样性与复杂性是其发挥疗效的物质基础,在其有效成分尚未被阐明的情况下,只

采用单一或少数几个成分做指标进行质量评价,往往不能全面反映其质量情况。而仅仅通过指纹图谱又不能阐明其成分的确切含量,本实验以有效成分之一的紫菀酮为内参照进行定量并结合指纹图谱进行全面评价,为全面评价中药材质量提供了一种有效手段。

References:

- [1] Ch P (中国药典) [S]. Vol 1. 2005.
- [2] Lu Y H, Wang Z T, Ye W C, et al. Research on chemical composition of *Aster tataricus* L. f. [J]. *J China Pharm Univ* (中国药科大学学报), 1998, 29(2): 97.
- [3] Lu Y H, Dai Y, Wang Z T, et al. Effective position and constituents of disphlegm and codein from *Aster tataricus* L. f. [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1999, 30(5): 360.
- [4] Xiao P G. *Modern Chinese Materia Medica* (新编中药志) [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2000.
- [5] Zhou J H, Wu W P, Xie Z M, et al. HPLC Fingerprints of *Radix Asteris* and quantitation assay [J]. *J Chin Med Mater* (中药材), 2004, 27(8): 562.

牛膝营养器官中蜕皮甾酮的积累动态研究

李金亭^{1,2}, 滕红梅¹, 胡正海^{1*}

(1. 西北大学生命科学学院, 陕西 西安 710069; 2. 河南师范大学生命科学学院, 河南 新乡 453007)

摘要:目的 揭示蜕皮甾酮在牛膝不同营养器官中的积累规律。方法 高效液相色谱法。结果 在牛膝根、茎和叶 3 种营养器官中都含有蜕皮甾酮,但不同器官中蜕皮甾酮的量有显著差异。幼嫩的器官中蜕皮甾酮的量较高,随着营养器官发育成熟,其蜕皮甾酮的量随物候期的变化差异显著。至采收期(11月)时,牛膝营养器官中蜕皮甾酮的量为:叶>根>茎。结论 牛膝根中蜕皮甾酮的量高峰与其产量高峰一致,都在 11 月初地上部分枯萎时,因此,此时应为牛膝的适宜采收期,与传统的牛膝采收期相吻合。但此时叶和茎中也含有较高量的蜕皮甾酮,因此,建议对牛膝地上部分进行综合开发利用。

关键词:牛膝;营养器官;蜕皮甾酮;高效液相色谱

中图分类号:R282.2

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2007)10-1570-04

Accumulation dynamic of ecdysterone in vegetative organs of *Achyranthes bidentata*

LI Jin-ting^{1,2}, TENG Hong-mei¹, HU Zheng-hai¹

(1. College of Life Sciences, Northwest University, Xi'an 710069, China; 2. College of Life Sciences, Henan Normal University, Xinxiang 453007, China)

Key words: *Achyranthes bidentata* Blume; vegetative organs; ecdysterone; HPLC

牛膝是苋科的多年生草本植物牛膝 *Achyranthes bidentata* Blume 的干燥根,主产于河南省怀庆府地区,故称为怀牛膝。具有补肝肾、强筋骨、活血逐瘀、引血下行之功效。牛膝根内含有皂苷类、甾酮

类、多糖类、甜菜碱等多种药用成分,其中蜕皮甾酮为其主要活性成分之一。蜕皮甾酮广泛存在于 80 个科的植物中^[1],具有促进蛋白质的合成、抑制由于药物引起的血糖升高、降低血浆胆固醇作用、使受损的

收稿日期:2007-01-17

基金项目:陕西省教育厅专项科研基金资助项目(JK177);河南省自然科学基金资助项目

作者简介:李金亭(1962-),女,河南新乡人,高级实验师,博士研究生,主要从事药用植物学研究。 E-mail: Ljt66882004@126.com

* 通讯作者 胡正海 Tel: (029)88302684