

河北道地药材远志 HPLC-UV 指纹图谱研究

范丽芳, 张兰桐*, 景秀娟, 王巧, 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 建立河北道地药材远志的 HPLC-UV 指纹图谱, 获得对照图谱, 并与不同产地远志药材指纹图谱相比较, 为有效控制远志质量提供方法。方法 采用 HPLC-UV 法得到了 19 批远志样品指纹图谱。色谱条件: Waters 1525 高效液相色谱仪, C₁₈柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 乙腈-0.2% 甲酸溶液为流动相进行梯度洗脱, 检测波长 316 nm, 体积流量 1.0 mL/min, 柱温 35 °C。结果 建立了河北省远志药材 HPLC-UV 指纹图谱共有模式, 并对不同产地药材进行了相似度比较。结论 本方法操作简便、快速、准确, 为远志药材的鉴别和质量的全面控制提供了依据。

关键词: 远志药材; 高效液相色谱法; 紫外检测器; 指纹图谱

中图分类号: R282.7

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2008)04-0595-04

Fingerprints of genuine *Radix Polygalae* from Hebei Province with HPLC-UV

FAN Li-fang, ZHANG Lan-tong, JING Xiu-juan, WANG Qiao, HE Wei

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

Abstract: **Objective** To establish HPLC-UV fingerprints of genuine *Radix Polygalae* from Hebei Province and get the control fingerprint. To compare the fingerprints of genuine *Radix Polygalae* collected from different habitats with the control fingerprint so as to establish a specific method for the quality control of genuine *Radix Polygalae*. **Methods** The fingerprints of 19 batches of genuine *Radix Polygalae* were obtained from Waters 1525 pump. The chromatographic procedure was carried out with Diamonsil™ C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm) as an analytic column and a mixture consisting of acetonitrile and 0.2% formic acid in gradient as mobile phase. The detection wavelength was 316 nm. The flow rate was 1.0 mL/min. The temperature of column was 35 °C. **Results** The control fingerprint of HPLC-UV was set up. The fingerprints of genuine *Radix Polygalae* from different habitats were compared. **Conclusion** The operation of this method is simple, quick, accurate, and could be used for the identification and quality control of genuine *Radix Polygalae*.

Key words: *Radix Polygalae*; HPLC; UVD; fingerprint

远志为远志科植物远志 *Polygala tenuifolia* Willd. 或卵叶远志 *Polygala sibirica* L. 的干燥根, 有安神益智、祛痰、消肿的功效; 用于心肾不交引起的失眠多梦, 健忘惊悸, 神志恍惚, 咳痰不爽, 疮疡肿毒, 乳房肿痛等症^[1]。远志最早记载于《神农本草经》, 列为上品, 被视为养命要药; 《别录》中亦有记载。远志自古为医家所常用, 属常用中药; 其药用植物来源主要是细叶远志, 少数为卵叶远志。主要成分为皂苷类、甾酮类、寡糖酯类。本实验采用 HPLC-UV 的方法, 对 19 批远志药材 (包括 9 批河北产远志, 1 批中国药品生物制品检定所购得的对照药材) 进行了 HPLC 指纹图谱分析, 以河北和中国药品生物制品检定所的远志药材指纹图谱生成对照指纹图

谱, 与山西、陕西等来自不同产地的 9 批样品进行比较, 以确定河北远志药材质量。

1 仪器与试剂

Waters 1525 高效液相色谱仪, Waters 2487 紫外检测器, 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 (迪马公司), 水为二次蒸馏水, 其他溶剂均为分析纯。远志对照药材 (批号 120989-200304) 由中国药品生物制品检定所提供。远志样品经河北医科大学药学院生药教研室聂凤褪教授鉴定为 *Polygala tenuifolia* Willd., 来源见表 1 (1~10 为道地药材, 11~17 为不同产地远志)。

收稿日期: 2007-09-10

基金项目: 河北省自然科学基金项目 (303453)

作者简介: 范丽芳 (1980-), 女, 河北省故城县, 医学硕士学位, 研究方向为中药指纹图谱与药代动力学研究。

E-mail: lifangfan86@126.com

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

表 1 远志样品及来源

Table 1 Origins of *P. tenuifolia* samples

样品号	样品来源	样品号	样品来源
1	中国药品生物制品检定所	11	内蒙呼和浩特
2	河北武安	12	陕西
3	河北安国	13	陕西
4	河北武安	14	山西
5	河北沧州	15	山西
6	河北邢台	16	内蒙
7	河北安国	17	山西
8	河北安国	18	河北张家口(甘草水制)
9	河北安国	19	山西
10	河北张家口		

本研究收集了 19 批不同产地的远志药材,晾干,将样品切成小段,置烘箱内,于 40℃ 烘干 18 h,取出,用粉碎机粉碎,过 3 号筛,置干燥器中,备用。

2 方法与结果

2.1 供试品溶液的制备:取药材粉末(过 3 号筛)2.5 g,精密称定,置 25 mL 量瓶中,加 75% 甲醇至刻度,摇匀,称定质量,超声提取 20 min,取出,放冷,用 75% 甲醇补足质量,摇匀,微孔滤膜(0.45 μm)滤过,即得。

2.2 指纹图谱的建立

2.2.1 色谱条件与系统适用性试验:色谱柱为 Diamonsil™ C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm)(迪马公司);乙腈-0.2% 甲酸溶液为流动相,梯度洗脱程序见表 2,检测波长 316 nm,体积流量 1.0 mL/min,柱温 35℃,进样量 20 μL,除未达到基线分离的两峰合并外,其余各峰的分度均大于 1.0,所有组分均在 90 min 内检测完成。

表 2 梯度洗脱程序

Table 2 Gradient elution process

时间/min	流量/(mL·min ⁻¹)	乙腈/%	0.2%甲酸/%
0	1.0	20	80
10	1.0	24	76
30	1.0	28	72
35	1.0	31	69
45	1.0	31	69
46	1.0	38	62
85	1.0	38	62
89	1.0	45	55
90	1.0	20	80

2.2.2 稳定性试验:取 4 号远志药材粉末,精密称定,按“2.1”项下制备供试品溶液,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;以 5 号峰为内参比峰,各主要色谱峰相对保留时间和相对峰面积比值无明显变化,其 RSD 分别为 0.08%~1.5% 和 0.21%~2.0%,说明样品

在 24 h 内稳定。

2.2.3 精密度试验:取 4 号远志药材粉末制备供试品溶液 1 份,重复进样 6 次,记录指纹图谱,相似度均大于 0.9;各主要色谱峰相对保留时间和相对峰面积比值的 RSD 分别为 0.07%~1.7% 和 0.13%~1.6%,说明精密度良好。

2.2.4 重现性试验:取 4 号远志药材粉末制备供试品溶液 6 份,分别进样,记录指纹图谱。相似度均大于 0.9;各主要色谱峰相对保留时间和相对峰面积比值的 RSD 分别为 0.15%~2.5% 和 0.29%~2.7%,说明重现性良好。

2.2.5 河北道地远志药材指纹图谱的建立:取对照药材及河北产远志药材(1~10 号样品),按“2.1”项下制备供试品溶液,分别进样,进行 HPLC 分析,得到道地远志药材 24 个共有峰,见图 1;各指纹图谱及生成的对照图谱(R),见图 2;计算其相似度,结果见表 3。

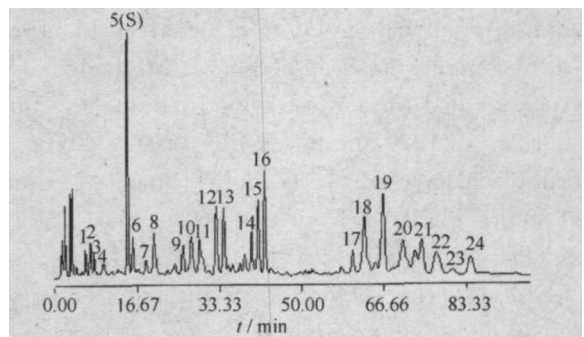
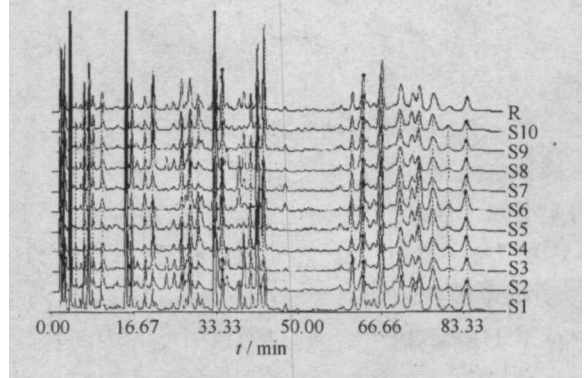


图 1 道地远志药材指纹图谱及共有峰标识
(21:两峰合并)

Fig. 1 Fingerprint of genuine *Radix Polygalae* and markings of common peaks (21: incorporation of two peaks)



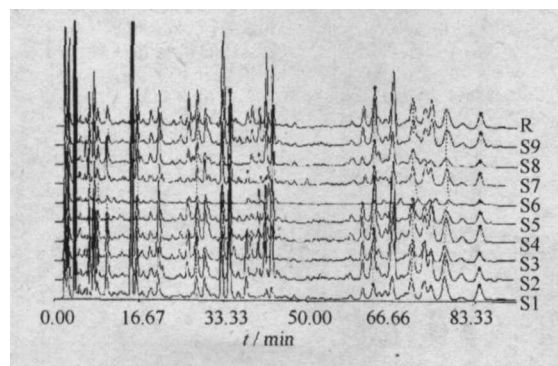
S1~S10-样品 1~10 R-对照指纹图谱

S1—S10-samples 1—10 R-control fingerprint

图 2 10 批道地药材指纹图谱及生成的共有模式(R)

Fig. 2 Fingerprints of ten batches of genuine *Radix Polygalae* and common pattern (R)

2.2.6 不同产地远志药材指纹图谱的建立:取不同来源的远志药材(11~19号样品),按“2.1”项下制备供试品溶液,分别进样,进行 HPLC 分析,得到 9 批不同来源远志药材的指纹图谱,见图 3。并计算其与对照指纹图谱比较的相似度,结果见表 3。



S1~S9-样品 11~19 R-对照指纹图谱

S1—S9-samples 11—19 R-control fingerprint

图 3 不同产地远志药材指纹图谱

Fig. 3 Fingerprints of *Radix Polygalae* samples from different habitats

表 3 远志药材指纹图谱与对照图谱的相似度结果

Table 3 Similarities of fingerprints of *Radix Polygalae* samples compared with control fingerprint

样品号	相似度软件	欧式距离	夹角余弦	相关系数
1	0.907	0.956	0.941	0.944
2	0.942	0.973	0.961	0.963
3	0.938	0.968	0.926	0.917
4	0.945	0.972	0.941	0.930
5	0.853	0.866	0.860	0.859
6	0.909	0.960	0.931	0.943
7	0.956	0.976	0.964	0.961
8	0.958	0.973	0.957	0.956
9	0.978	0.985	0.987	0.991
10	0.911	0.963	0.910	0.896
11	0.805	0.838	0.825	0.814
12	0.938	0.949	0.950	0.853
13	0.904	0.967	0.979	0.954
14	0.899	0.910	0.946	0.851
15	0.897	0.890	0.922	0.974
16	0.543	0.434	0.838	0.688
17	0.863	0.890	0.947	0.861
18	0.918	0.921	0.887	0.853
19	0.953	0.954	0.973	0.926

2.2.7 结果分析:本实验用 HPLC-UV 法对 19 批远志药材进行了测定,体现了远志皂苷,呋喃及寡糖酯类等多种化学成分的指纹图谱特征,分离度较好。10 批道地药材,有 24 个共有峰,化学成分基本保持一致,4 种相似度计算结果亦趋于一致,均在 0.85 以上,说明河北产远志药材质量稳定;9 批不同产地药材中山西、陕西产远志相似度也在 0.85 以上,说明两地远志质量稳定,且与河北产远志无明显差异。

甘草制远志化学成分的量相对较低,但各成分基本与道地药材一致,相似度也较高,因此甘草制远志并没有影响远志原药材的内在质量。但内蒙产远志化学成分的量较低或有成分的缺失,导致相似度较低,在药材选用中应加以区分。

由图 2、3 可见,第 16 批内蒙产远志各种化学成分均较低,其余各批药材的指纹图谱中 5 号峰均最高,50 min 后各峰面积比例差异较小;各批间的差异主要体现为 16.67 min 与 50 min 之间各峰的比例关系。因此对于不同产地远志药材的药效差异的研究,该段化学成分应作为研究的重点。

50 min 以后主要为皂苷类成分^[2],在紫外检测器中的响应值相对较小,本研究亦针对该组分做了 HPLC-ELSD 研究,相对响应值较高,弥补了该缺陷,另文发表。

3 讨论

据记载^[3]远志主要分布于山西、陕西、河北等地,以山西、陕西两地产量最大,传统也认为这两地产的质量最好。而河北省与两省邻近,同样作为远志的生产大省,且有文献^[2]证实几批河北产远志所含化学成分与陕西产基本一致,有必要对河北省产远志药材的质量作一鉴定,以有助于河北远志药材的标准化种植及远志道地药材的质量控制。

远志皂苷是远志的主要成分,目前针对远志皂苷的研究较多。远志皂苷 3D 可能是远志祛痰作用的主要活性成分^[4],2D 和 3C 则为镇咳作用的主要成分,作用甚至强于等剂量的可待因和咳必清;远志皂苷 2D、3D 对大肠杆菌和金葡萄菌的生长有抑制作用,5D 还抑制变形杆菌,3C 仅抑制金葡萄菌;亦有文献^[5]证明远志皂苷还可对心脏呈依剂量的抑制作用,但不影响冠脉流量。但远志皂苷不能完全解释远志表现出的多种的生理活性。随着国内外研究人员对呋喃、寡糖酯类成分的多方面研究,它们已成为远志属植物中不容忽视的两类重要成分。

本实验用不同的数据处理方法对数据进行分析,由得出的相似度结果可知,19 个样本间有较好的相关性,采用 4 种不同检验方法,结果趋于一致,得到 4 种不同方法之间的相互认证,结合使用效果更好,为指纹图谱的分析提供了强有力的依据。

本实验采用 316 nm 作为检测波长。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。由于远志中尚未有市售单一有效成分,本研究仅以位于 15.2 min 的 5 号峰为内参照峰,进行各主要色谱峰相对保留时间

和相对峰面积比值以及 Excel 表中相似度公式的计算,该成分在各批药材中的量均最高且分离良好。

本实验以尽可能多体现远志化学成分为原则,设计样品溶液制备方法。比较了不同提取溶剂(75% 甲醇、50% 甲醇、乙醇)的水浴回流,超声提取,同时还考察了不同提取时间的提取效果。结果表明,以 75% 甲醇为提取溶剂,当超声提取 20 min 时,各色谱峰数量及响应值不再增加,且方法简单,

稳定,重现性好。最终确定提取条件为 75% 甲醇超声提取 20 min。

参考文献:

- [1] 中国药典[S]. 一部. 2005.
- [2] 姜勇,张娜,崔振,等. 远志药材的 HPLC 指纹图谱[J]. 药学学报, 2006, 41(2): 179-183.
- [3] 张培轩,段瑞,黄鹏. 中国远志属药用植物资源及地理分布[J]. 基层中药杂志, 2002, 16(6): 42-43.
- [4] 彭汶铎,许实波. 四种远志皂苷的镇咳和祛痰作用[J]. 中国药理学杂志, 1998, 33(8): 491.
- [5] 彭汶铎. 远志皂苷 H 对离体平滑肌与心脏的作用[J]. 中国药理学杂志, 1999, 34(4): 241-243.

不同杀菌剂组合对人参光合特性的影响

王秀全¹,杨雨春¹,徐怀友²,杨世海¹,包京姗¹,陈春宇¹

(1. 吉林农业大学,吉林 长春 130118; 2. 吉林参王植保技术有限公司,吉林 抚松 134504)

摘要:目的 研究不同杀菌剂组合对人参叶片光合特性的影响。方法 应用 CI-340 型光合作用测定系统,对施用新型药剂组合的人参上举斜立叶片、施用常规药剂组合的人参平展有药斑叶片和清洗后平展无药斑叶片进行光合速率日变化、光响应曲线和 CO₂ 响应曲线测定。结果 五年生人参叶片的净光合速率日变化呈双峰曲线,10:00 出现第一个峰值,15:00 出现第二个峰值。上举斜立叶片、平展无药斑叶片和平展有药斑叶片的光补偿点 (LCP) 分别为 11.5、21.7、41.7 mol/(m²·s),光饱和点 (LSP) 分别为 1 008、961、954 μmol/(m²·s),CO₂ 补偿点 (CCP) 分别为 239、240、300 μmol/mol,CO₂ 饱和点 (CSP) 分别为 1 260、1 289、1 300 μmol/mol。结论 上举斜立叶片的日光合产物高,对光和 CO₂ 环境的适应性强,叶面上的药斑对人参光合作用有负作用。

关键词: 人参; 杀菌剂组合; 光合特性

中图分类号: R282.2

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2008)04-0598-04

Effects of various fungicides combination on photosynthetic characteristics of *Panax ginseng*

WANG Xiu-quan¹, YANG Yu-chun¹, XU Huai-you², YANG Shi-hai¹, BAO Jing-shan¹, CHEN Chun-yu¹

(1. Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China; 2. Jilin Shen-wang Technology of Plant Protection Co., Ltd., Fusong 134504, China)

Abstract: **Objective** The effects of various fungicides combination on photosynthetic characteristics of *Panax ginseng* were studied. **Methods** The diurnal variation of photosynthetic rate, the light response curve, and the CO₂ response curve of the ascending and oblique ginseng leaf blades with new fungicides combination application, spotted flat ginseng leaf blades with routine fungicides combination application, and flat leaf blades without drug spot after cleaning were measured by using the CI-340 photosynthetic determination system. **Results** The results showed that the diurnal variation of the net photosynthetic rate was two-peak curve on five-year-old *P. ginseng* leaf blades. The first peak occurred at 10:00 a. m., the second at 15:00 p. m. The light compensation points (LCP) of ascending and oblique leaf blades, flat leaf blades without drug spot, and the spotted flat leaf blades were 11.5, 21.7, and 41.7 μmol/(m²·s), respectively. The light saturation points (LSP) were 1 008, 961, and 954 mol/(m²·s), respectively. The CO₂ compensation points (CCP) were 239, 240, and 300 μmol/mol, respectively. The CO₂ saturation points (CSP) were 1 260, 1 289, and 1 300 μmol/mol, respectively. **Conclusion** The ascending and oblique leaf blades are higher than the others in the daily outcome of photosynthesis and more adaptable to light and CO₂ environment, the drug spot on leaf blades of *P. ginseng* has the negative effects on photosynthesis.

Key words: *Panax ginseng* C. A. Meyer; fungicides combination; photosynthetic characteristics

收稿日期: 2007-09-11

基金项目: 吉林省科技厅资助重大项目 (20010202-10)

作者简介: 王秀全 (1962—), 男, 吉林省长春市人, 硕士, 教授, 现从事药用植物栽培与育种, 多次获奖。

Tel: (0431) 84533317 E-mail: jlwqx@126.com