

中药材指纹图谱的一种产地信息研究新方法——雷达特征峰

靳维荣^{1,2}, 张凤娥², 杜方岭^{1*}

1. 山东省农业科学院 农产品研究所 药用植物研究中心, 山东 济南 250100

2. 聊城市人民医院, 山东 聊城 252000

摘要: 目的 对中药材色谱指纹图谱潜在信息进行发掘研究, 通过“雷达特征峰”表述指纹图谱蕴含的中药材产地信息。方法 采用黄芩指纹图谱研究数据和文献报道的其他药材指纹图谱数据进行“雷达特征峰”分析。结果 从指纹图谱中各化学成分的比例关系所映射出的“雷达图”中, 可以清晰地区别不同产区的黄芩。结论 通过“雷达特征峰”可以区别不同产地的药材。

关键词: 中药材; 指纹图谱; 产地; 雷达特征峰; 黄芩

中图分类号: R282.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2011)08-1620-05

A new method of origin information in fingerprints of traditional Chinese material medicines—Radar Feature Peaks

JIN Wei-rong^{1,2}, ZHANG Feng-e², DU Fang-ling¹

1. Centre of Medicinal Plants Research, Institute of Agro-Food Science & Technology, Shandong Academy of Agricultural Sciences, Jinan 250100, China

2. Liaocheng People's Hospital, Liaocheng 252000, China

Key words: traditional Chinese material medicines; fingerprints; origin; Radar Feature Peaks; *Scutellaria baicalensis* Georgi

中药指纹图谱作为一种能够从中药材及制剂中检出尽可能多的成分来反映其全貌的方法, 已经成为鉴别中药真伪, 控制中药质量的新技术, 得到了广泛应用^[1-3]。国际上已有很多国家把指纹图谱作为中药质量控制的一种手段。中国国家食品药品监督管理局专门下发了到 2004 年底所有中药注射剂都要有指纹图谱进行质量控制的规定, 中药指纹图谱经过大量研究与实际应用已经逐渐得到认可^[4]。

对于中药材指纹图谱数据分析研究, 往往局限于通过对比相关系数和相似度, 用相似系数来确定样品间的相近程度。此方法可以对中药进行较为准确的分类, 并将结果用数值表示出来, 但忽略了对指纹图谱数据中蕴含的药材产地信息更加全面直观的分析^[5]。针对此问题, 在分析中药材指纹图谱过程中得到的丰富数据的基础上, 本研究提出中药材指纹图谱的“雷达特征峰”(Radar Feature Peaks, RFP)这一概念, 通过 RFP 挖掘蕴藏于中药材指纹

图谱中的产地信息, 并以黄芩指纹图谱分析为例探讨方法的可行性。

由于物种基因遗传的稳定性, 使中药成分具有相对的稳定性, 同类中药含有类似的化学成分和相似的主要成分, 在指纹图谱中表现为共有峰, 如山东产和河南产的金银花都含有绿原酸、异绿原酸、木犀草素及木犀草苷等成分。由于产地环境的不同和物种的遗传变异等原因, 而使同类中药间的成分产生细微变化, 这种变化有时表现为化学成分种类的多少, 有时表现为同种成分量的增多和减少, 在指纹图谱中表现为共有峰和非共有峰。这种物种遗传的稳定性和变异性共同形成了中药自身的特性, 纵观目前中药指纹图谱研究, 绝大多数主要集中于同种中药共有成分, 即同类中药的共性研究, 而对同类中药间的这种变异性研究极少。近年来, 人们也开始从遗传稳定性和变异性两个方面来分析中药指纹图谱^[6], 对大量信息进行提取、加工、精炼,

收稿日期: 2010-11-23

基金项目: 山东省自然科学基金资助项目 (ZR2009CQ025)

作者简介: 靳维荣 (1974—), 男, 山东茌平人, 中药学博士, 主要从事中药质量、功能食品开发相关研究。E-mail: nkyjwr@163.com

*通讯作者 杜方岭 Tel: (0531)83179825 E-mail: jwr-bo@163.com

从多维角度揭示中药指纹图谱所具有的潜在信息特征^[7]。这种化学与基因指纹图谱相结合的中药材指纹体系有利于中药材质量的标准化、现代化,从而推动中药现代化、国际化进程^[8]。

1 材料与方法

1.1 材料

收集了18批黄芩药材,经山东中医药大学石俊英教授鉴定,均为黄芩 *Scutellaria baicalensis* Georgi 的干燥根,样品产地分别为:山东日照莒县、山东泰安肥城、山东临沂平邑、山东潍坊临朐、山东日照五莲、山东淄博鼎立、山东泰安下巷、山东莱芜口镇、山东临沂沂水、山东青岛平度、山东淄博沂源和四川成都郊区野生、山西绛县、陕西韩城、内蒙古赤峰、陕西丹凤、甘肃陇西。黄芩对照药材(批号120955-200406)、黄芩苷(批号110715-200212)、黄芩素(批号111595-200402)、汉黄芩素(批号1514-200202)、野黄芩苷(批号110842-200403)对照品均购于中国药品生物制品检定所;汉黄芩苷(批号060312,质量分数为99.0%)、千层纸素A(批号060530,质量分数为99.9%)对照品均购于上海友思生物技术有限公司。甲醇为色谱纯,水为重蒸水,其余试剂均为分析纯。

1.2 仪器

Agilent 1100 高效液相色谱仪, Agilent DAD 检测器, Agilent Chemstation 工作站(美国安捷伦科技公司)。

1.3 对照品溶液制备

精密称取黄芩苷、黄芩素、汉黄芩苷、汉黄芩素、野黄芩苷、千层纸素A对照品适量,用甲醇配制成质量浓度分别为61.0、30.0、20.0、11.4、148.8、15.0 μg/mL 的混合对照品溶液。

1.4 供试品溶液制备

精密称定各黄芩样品及黄芩对照药材0.2 g,加入70%乙醇25 mL,称定质量,加热回流3.0 h,放冷,用70%乙醇补足减失质量,取上清液用0.45 μm 滤膜滤过,取续滤液作为供试品溶液。

1.5 色谱条件

色谱柱: Phenomenex Prodigy ODS3-C₁₈ 柱(250 mm×4.60 mm, 5 μm); 流动相 A(甲醇)-B(水)-C(2%磷酸), 三相梯度洗脱: 0 min(30:60:10), 10 min(40:50:10), 30 min(50:40:10), 40 min(60:30:10), 60 min(80:10:10)。检测波长276 nm, 体积流量为1.0 mL/min, 柱温35 °C, 进

样量5 μL。

1.6 数据处理

利用 Microsoft Office Excel 2007 中不同产地各指纹峰的数据进行统计, 绘制成雷达图。

2 结果

2.1 黄芩药材指纹图谱相对峰面积分析

在山东产黄芩药材指纹图谱研究的基础上^[9], 对18个不同产地黄芩药材的指纹图谱中15个峰的相对峰面积进行分析, 发现山东产黄芩药材中的第1、5、9、13、15号峰的相对峰面积和其他产地的相对峰面积差异明显。结果见表1。

2.2 黄芩药材“雷达特征峰”研究

在雷达图(图1)中, 第1共有峰相对峰面积比值在0.016 2~0.030 7的样品皆为山东产黄芩药材, 而其他样品相对峰面积比值在0.033 9~0.063 1。

第5共有峰相对峰面积比值在0.035 9~0.054 7的样品皆为山东产黄芩药材, 而其他产地的黄芩样品(包括14号山东莒县野生黄芩样品)相对峰面积比值在0.055 1~0.106 2。

第9共有峰相对峰面积比值在0.036 7~0.079 5的样品皆为山东产黄芩药材, 而其他样品(包括14号山东莒县野生黄芩样品)相对峰面积比值在0.080 0~0.120 2。

第13共有峰相对峰面积比值在0.022 8~0.053 2的样品皆为山东产黄芩药材, 而其他样品(包括14号山东莒县野生黄芩样品)相对峰面积比值在0.079 7~0.303 9。

第15共有峰相对峰面积比值在0.013 2~0.036 1的样品皆为山东产黄芩药材, 而其他样品(包括14号山东莒县野生黄芩样品)相对峰面积比值在0.041 8~0.128 1。

除上述1、5、9、13、15共有峰外的其他峰, 相对峰面积比值系数均相互交叉, 没有明显的界限。根据这5个峰的相对峰面积系数的范围, 可以清楚地区分黄芩的产地是否为山东, 因而将这5个特殊峰称为山东黄芩的“雷达特征峰”。14号黄芩样品产地虽然也是山东, 但由于野生环境的影响使其产生了不同于黄芩栽培品种的雷达特征图。

2.3 “雷达特征峰”研究模式的适用性例证

通过文献检索, 对其他学者研究的有关中药材指纹图谱数据采用“雷达特征峰”模式进行数据信息发掘, 验证通过RFP是否能提示药材产地的

表 1 18 批不同产地黄芩药材指纹图谱中 15 个共有峰相对峰面积比值
Fig. 1 Relative area ratio of 15 common peaks in 18 kinds of *Scutellaria Radix* from different habitats

序号	产地	各共有峰相对峰面积														
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11 (S)	12	13	14	15
1	山东日照莒县	0.016 9	0.171 6	0.133 4	0.068 4	0.052 0	3.500 3	0.303 6	0.097 3	0.045 0	0.172 4	1	0.048 2	0.028 7	0.068 0	0.036 7
2	山东泰安肥城	0.016 5	0.114 8	0.080 0	0.059 7	0.042 7	2.938 1	0.231 8	0.081 1	0.058 4	0.154 2	1	0.043 4	0.022 8	0.063 0	0.035 3
3	山东潍坊临朐	0.026 8	0.126 6	0.081 4	0.066 6	0.057 4	3.353 6	0.198 8	0.095 6	0.048 0	0.212 8	1	0.031 7	0.031 1	0.070 5	0.036 1
4	山东日照五莲	0.025 9	0.139 8	0.098 9	0.062 5	0.054 0	3.086 0	0.270 6	0.095 9	0.050 6	0.195 7	1	0.048 4	0.036 4	0.085 3	0.022 5
5	山东淄博鼎立	0.027 6	0.108 7	0.080 8	0.059 6	0.044 0	3.311 2	0.205 1	0.098 7	0.050 7	0.196 4	1	0.037 7	0.028 3	0.075 2	0.024 8
6	山东泰安下巷	0.017 5	0.125 3	0.086 8	0.041 7	0.036 5	3.128 9	0.206 2	0.096 2	0.067 5	0.266 6	1	0.031 0	0.031 3	0.057 7	0.013 2
7	山东莱芜口镇	0.028 0	0.132 7	0.107 7	0.082 5	0.058 6	3.187 8	0.273 0	0.082 7	0.051 0	0.167 0	1	0.034 9	0.038 9	0.031 9	0.034 1
8	山东临沂沂水	0.030 7	0.115 2	0.085 6	0.050 3	0.116 3	2.895 6	0.232 9	0.077 8	0.079 5	0.271 1	1	0.026 9	0.022 8	0.076 8	0.021 3
9	山东临沂平邑	0.016 2	0.107 9	0.074 1	0.042 1	0.035 9	3.094 5	0.190 0	0.089 7	0.050 2	0.171 9	1	0.038 6	0.023 3	0.082 3	0.014 8
10	山东青岛平度	0.016 5	0.143 6	0.107 5	0.061 9	0.052 6	3.016 8	0.252 5	0.089 4	0.061 1	0.193 6	1	0.034 6	0.040 8	0.181 4	0.020 1
11	山东淄博沂源	0.035 4	0.131 0	0.095 8	0.073 8	0.054 7	3.488 0	0.244 2	0.078 4	0.036 7	0.270 2	1	0.029 1	0.053 2	0.138 8	0.028 9
12	四川成都郊区野生	0.045 6	0.164 5	0.112 2	0.101 0	0.106 3	3.513 2	0.261 8	0.074 7	0.092 8	0.429 5	1	0.032 1	0.079 7	0.432 9	0.041 8
13	山东日照莒县野生	0.019 3	0.147 0	0.100 4	0.069 4	0.083 9	3.491 3	0.290 8	0.084 8	0.096 8	0.333 8	1	0.041 0	0.092 7	0.252 3	0.058 7
14	山西绛县	0.033 9	0.131 5	0.088 8	0.053 9	0.068 7	3.454 0	0.274 3	0.068 9	0.095 6	0.308 7	1	0.037 3	0.146 6	0.016 2	0.093 2
15	陕西韩城	0.044 3	0.137 5	0.091 0	0.072 3	0.056 2	3.323 2	0.240 0	0.065 8	0.080 0	0.282 0	1	0.031 6	0.193 7	0.027 4	0.114 0
16	内蒙古赤峰	0.033 5	0.132 7	0.085 5	0.065 8	0.055 1	3.075 1	0.231 3	0.074 2	0.100 4	0.255 5	1	0.027 6	0.166 3	0.031 8	0.095 8
17	陕西丹凤	0.033 9	0.128 2	0.083 5	0.059 5	0.088 8	3.257 3	0.231 7	0.079 3	0.099 1	0.255 1	1	0.026 8	0.251 9	0.025 9	0.098 0
18	甘肃陇西	0.063 1	0.132 9	0.085 2	0.097 8	0.104 2	3.456 0	0.249 8	0.074 7	0.104 5	0.362 1	1	0.022 3	0.303 9	0.026 8	0.128 1

信息, 结果再次证实 RFP 研究模式的可行性和适用性。

根据文献报道^[10], 1 号、3 号峰是检测多叶棘豆的产地是否为内蒙古的“雷达特征峰”, 在“雷达特征峰”中相对峰面积比值以 0.302 72 为界, 大于 0.302 72 均为内蒙古多叶棘豆, 小于 0.302 72 均为西藏多叶棘豆。

根据文献报道^[11], 2 号、5 号峰是能够检测空心莲子草的产地是否为浙江的“雷达特征峰”, 在“雷达特征峰”中相对峰面积比值以 0.200 0 为界, 小于 0.200 0 均为浙江产空心莲子草, 其他产地的空心莲子草均大于 0.200 0; 同样在“雷达特征峰”中, 1 号峰相对峰面积比值以 0.697 1 为界, 4 号峰相对峰面积比值以 1.572 2 为界, 可以清晰地判定莲子草的产地是否为江苏。

根据文献报道^[12], 7 号、8 号、10 号峰是检测黄连产地是云南还是西藏的“雷达特征峰”, 在“雷达特征峰”中 7 号峰相对峰面积比值以 0.045 为界、8 号峰相对峰面积比值以 0.556 为界、10 号峰相对峰面积比值以 0.038 为界, 小于临界线的均为西藏产黄连, 大于临界线的均为云南产黄连。

3 讨论

3.1 雷达特征峰

通过对不同产地的黄芩指纹图谱的数据分析, 本课题组发现在黄芩药材共有峰中, 有几个峰的相对峰面积和产地具有一定的相关性, 中药材指纹图谱共有峰数据经雷达图标示后, 这种特征更加明显和直观。鉴于此, 本课题组提出中药材指纹图谱的“雷达特征峰”这一概念, 并将这些与产地具有一定的相关性的峰称为“雷达特征峰”。同时也蕴含雷达“探测”之意, 通过对中药指纹图谱中相关雷达峰的分析, 能够探测到有关此类中药的产地信息。

3.2 “雷达特征峰”是深入挖掘中药材指纹图谱数据的模式

道地药材是中医临床长期实践而产生的、公认的优质中药材, 它的形成与我国特有的地理生态环境、文化背景及中医药理论有关。由于道地药材独特的优良品质, 其经济价值往往不同一般^[13]。因为形成道地药材的影响因素复杂, 致使中药材的道地性研究进展缓慢, 如果通过中药指纹图谱中“雷达特征峰”来研究药材的产地进而确定其道地性, 也是一种很好的研究模式探讨。

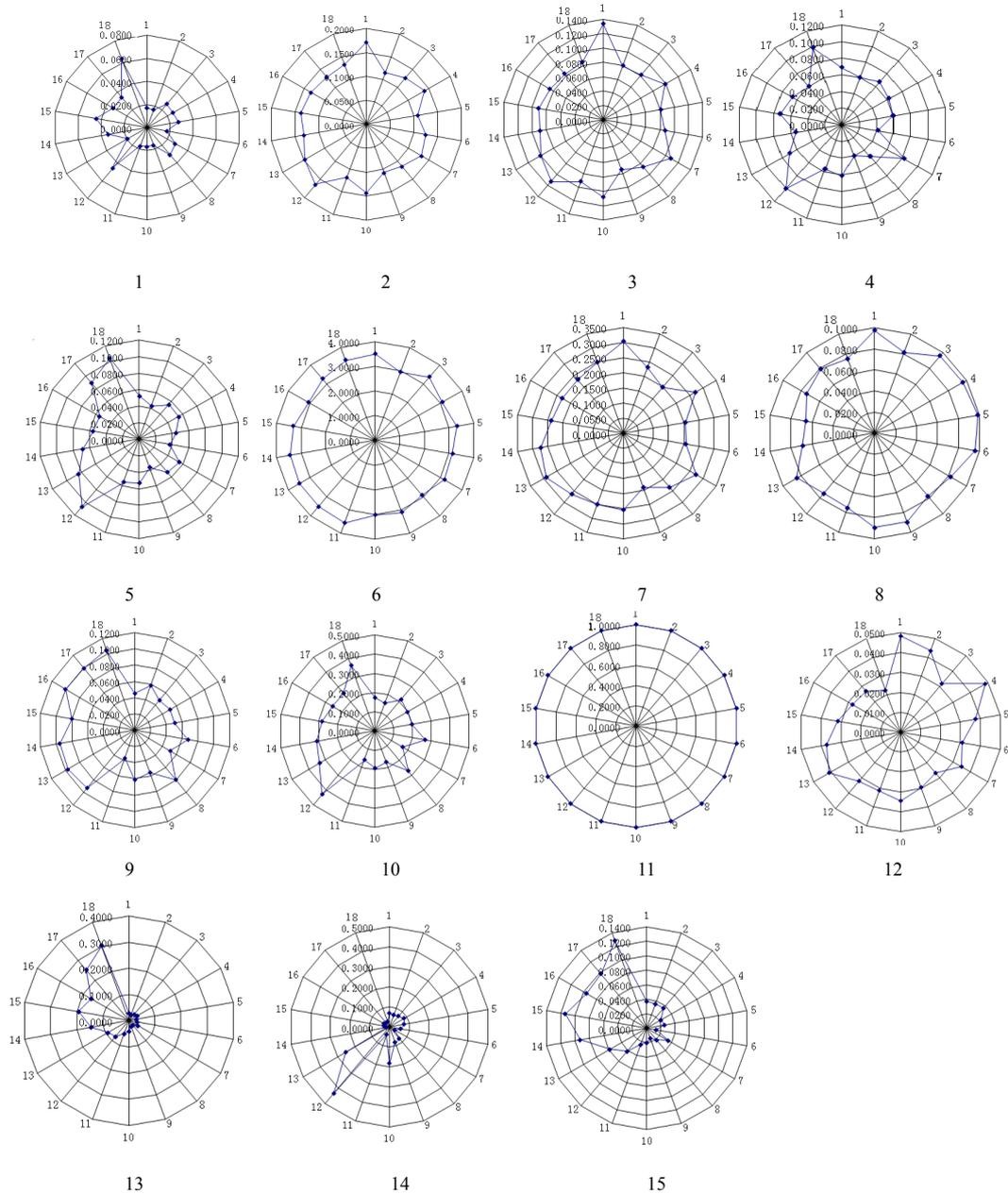


图 1 不同产地黄芩药材指纹图谱共有峰 1~15 的雷达图

Fig. 1 Radar of common peaks 1—15 of *Sulfellaria Radix* from different habitats

通过对黄芩药材指纹图谱的研究，提出“雷达特征峰”的概念，并建立了研究模式，进而鉴别黄芩药材产地是否为山东。此研究方法是在黄芩药材指纹图谱研究中发现的一种规律，此规律的普遍性和适用性有待于扩大到不同种类中药指纹图谱研究中加以验证。

参考文献

[1] 王云龙, 李延雪, 邵礼梅, 等. 元胡止痛片 HPLC 指纹图谱研究 [J]. 中草药, 2011, 42(3): 495-497.
 [2] 陈根顺, 徐丽芳, 李 鹏, 等. 草珊瑚的 HPLC 指纹图

谱研究 [J]. 中草药, 2011, 42(2): 293-296.
 [3] Shen Z, Zheng W T, Hua Y F, et al. Fingerprint analysis of four variants of *Chrysanthemi Morifoli Flos* By RP-HPLC [J]. *Chin Herb Med*, 2010, 2(2): 153-156.
 [4] 葛万霞, 张艳秋, 董根玲. 中药指纹图谱的研究与应用 [J]. 中国药房, 2007, 38: 附 3-附 4.
 [5] 张依倩, 王 玉, 黄之娟, 等. 基于 HPLC-DAD-MS 的道地产区大黄药材质量评价研究 [J]. 药物评价研究, 2011, 34(3):179-183.
 [6] 邹华彬. 中药质量控制多维指纹图谱共有峰率和变异峰率双指标序列分析法研究 [D]. 济南: 山东中医药大

- 学, 2004.
- [7] Sun G X, Hou Z F, Bi Y Y, *et al.* The digital criterion of the potential information characteristics of the traditional Chinese medicine chromatographic fingerprints [J]. *Acta Pharm Sin*, 2006, 41(9): 857-862.
- [8] 李晓波, 屠鹏飞. 中药材指纹体系 [J]. 中草药, 2003, 34(5): 385-387.
- [9] 靳维荣, 石俊英, 张会敏, 等. 山东产黄芩药材高效液相色谱指纹图谱研究 [J]. 中草药, 2007, 38(增刊): 233-236.
- [10] 刘淑琴. 蒙药多叶棘豆高效液相色谱指纹图谱研究 [D]. 通辽: 内蒙古民族大学, 2007.
- [11] 范文乾. 空心莲子草抗病毒活性成分及指纹图谱研究 [D]. 武汉: 湖北中医学院, 2007.
- [12] 杨林. 云南黄连和西藏黄连的 HPLC 指纹图谱研究 [D]. 成都: 四川大学, 2007.
- [13] 黄璐琦, 陈美兰, 肖培根. 中药材道地性研究的现代生物学基础及模式假说 [J]. 中国中药杂志, 2004, 29(6): 494-496.

欢迎订阅《中草药》杂志 1996—2009 年增刊

为了扩大学术交流, 提高新药研究水平, 经国家新闻出版主管部门批准, 我部从1996年起, 每年出版增刊一册。

1996年增刊: 特邀了国内知名专家就中药新药研究的方向、法规及如何与国际接轨等热点问题撰文阐述。

1997年增刊: 包括紫杉醇的化学成分、提取工艺及组织培养等方面的科研论文, 并特邀国内从事紫杉醇研究的知名专家撰写综述文章, 充分反映了紫杉醇研究方面的新成果、新进展和新动态。

1998年增刊: 以当今国际研究的热点银杏叶为专论重点, 包括银杏叶的化学成分、提取工艺、质量控制、药理作用及临床应用等方面, 充分反映了国内银杏叶开发研究方面的新成果、新进展和新动态。

1999年增刊: 为“庆祝《中草药》杂志创刊30周年”会议论文集, 特邀中国工程院院士、国家药品监督管理局药品评审中心及知名专家就中药新药研究热点问题撰写了综述文章。

2000年增刊: 以“中药新理论、新剂型、新工艺和新技术”为主要内容。

2001年增刊: 特邀了中国工程院院士、专家就加快中药现代化的进程, 我国入世后中药产业的发展新对策及西部药用植物资源的保护、开发和利用等撰写综述文章。

2002年增刊: 以“中药现代化”和“中药指纹图谱”为主要内容。

2003—2008年增刊: 包括中药创新药物开发的思路和方法、中药现代化研究、中药知识产权保护、中药专利的申请及中药走向国际等热点内容。

2009年增刊: 为庆祝“《中草药》杂志创刊40周年”和“《中草药》英文版 (*Chinese Herbal Medicines*, CHM) 创刊”, 以中药创新药物开发的思路和方法、活性天然产物的发现及其作用机制研究、中药代谢组学研究、生药学研究、中药的安全性评价和不良反应监控、中药新药审评法规的最新进展、中药知识产权保护和专利的申请、民族药研究为主要内容; 学术水平高, 内容丰富, 信息量大。

以上各卷增刊选题广泛、内容新颖、学术水平高、科学性强, 欢迎广大读者订阅。以上增刊为我部自办发行, 邮局订阅《中草药》不含增刊, 但能提供订阅凭证者, 购买增刊7折优惠, 款到寄刊。

地址: 天津市南开区鞍山西道308号

邮编: 300193

网址: www.tipress.com; www.中草药杂志社.中国

电话: (022)27474913 23006821

传真: (022)23006821

E-mail: zcy@tipress.com

《中草药》杂志编辑部