

川射干指纹图谱建立

刘晓凤^{1,2}, 王 姚³, 周思敏³, 曾 尧³, 王 晨³, 刘 涛^{3*}
(1. 西藏大学, 西藏 拉萨 850000; 2. 四川天一学院, 四川 绵竹 618200; 3. 成都大学, 四川 成都 610106)

摘要: **目的** 建立川射干 HPLC、UV、IR 指纹图谱。**方法** HPLC 分析采用 Global Chromatography C₁₈ 柱 (4.6 mm×250 mm, 5 μm); 流动相乙腈-0.1% 磷酸, 梯度洗脱; 体积流量 1.0 mL/min; 柱温 30 ℃; 检测波长 280 nm。采用 UV 和 IR 建立川射干药材指纹图谱, 分别用相关系数法和双指标序列分析法对不同批次药材光谱图进行比对。**结果** 10 批川射干 HPLC 指纹图谱中有 7 个共有峰, 相似度均大于 0.995, 变异可接受范围为 0.798~1.000; 紫外指纹图谱相似度均大于 0.956, 变异可接受范围为 0.795~1.000; 20 批药材红外指纹图谱共有峰率为 65.22~100.00, 变异峰率为 0.00~27.78。**结论** 该方法简便全面, 稳定可靠, 可用于川射干药材的质量控制。

关键词: 川射干; 指纹图谱; HPLC; UV; IR

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** B **文章编号:** 1001-1528(2021)07-1950-06

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2021.07.051

川射干属于鸢尾科植物鸢尾 *Iris tectorum* Maxi. 的干燥根茎^[1], 主产于广西、广东、四川等地区, 为四川的道地药材, 气微, 味甘、苦, 归肺经, 具有清热解毒、消痰利咽的功效, 主治咽喉肿痛、痰咳气喘。现代药理学研究表明, 川射干在临床上还具有神经保护、抗肿瘤、抑菌等作用^[2-5], 具有良好的临床利用潜力。

2020 年版《中国药典》一部收载川射干质量标准为用 HPLC 法测定射干苷含量。据文献报道, 川射干中还含有鸢尾甲苷 A、鸢尾甲苷 B、野鸢尾苷、鸢尾苷元、鸢尾甲黄素 A、鸢尾甲黄素 B 等多种异黄酮成分^[6], 具有保护心肌细胞、抗炎、抗肿瘤等功效^[7-8], 因此, 选择单一的指标成分检测难以判别药材的优劣。本研究建立了川射干 HPLC、UV、IR 指纹图谱, 以期对该药材内在质量进行有效表征、综合评价和全面控制。

1 材料

P230 II 型高效液相色谱仪 (大连依利特分析仪器有限公司); TU-1810PC 型紫外可见分光光度计 (北京普析通用仪器有限公司); Spectrum Two 型傅里叶变换红外光谱仪 (美国 Perkin Elmer 公司); FA2004 分析电子天平 (上海良平仪器仪表有限公司); 101-1-S 型电热鼓风干燥箱 (成都雅源科技有限公司); PS-40 型超声波清洗器 (深圳得康清洁设备有限公司)。

川射干均购自四川逢春制药有限公司, 经成都大学刘涛研究员鉴定为鸢尾科植物鸢尾的干燥根茎, 批号分别为 170102、170108、170114、170123、170127、170206、170211、170221、170325、170331、170602、170608、170611、170615、

170621、170708、170715、170723、170728、170813, 分别编号为 S1~S20, 其中 S3~S10、S15~S18 产自阿坝金川县, 其他批次产自四川广元青川县。射干苷对照品, 批号 wkq16070103, 纯度≥98%, 购自四川省维克奇生物科技有限公司。甲醇和乙腈为色谱纯; 其余试剂均为分析纯; 水为纯净水。

2 方法与结果

2.1 HPLC 指纹图谱建立

2.1.1 色谱条件 Global Chromatography C₁₈ 柱 (4.6 mm×250 mm, 5 μm); 流动相乙腈 (A) -0.1% 磷酸 (B), 梯度洗脱 (0~15 min, 20%~24% A; 15~25 min, 24%~26% A; 25~36 min, 26%~30% A; 36~50 min, 30%~32% A; 50~70 min, 32%~20% A); 体积流量 1.0 mL/min; 柱温 30 ℃; 检测波长 280 nm; 进样量 10 μL。

2.1.2 对照品溶液制备 取射干苷对照品适量, 精密称定, 加 70% 乙醇制成质量浓度为 43 μg/mL 的溶液, 即得。

2.1.3 供试品溶液制备 取川射干 (过 3 号筛) 约 0.5 g, 精密称定, 具塞锥形瓶中, 精密加入 25 mL 甲醇, 密塞, 称定质量, 超声 (240 W、40 kHz) 处理 30 min, 放冷, 再称定质量, 补足, 摇匀, 滤过, 取续滤液 1 mL, 置 5 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 即得。

2.1.4 方法学考察

2.1.4.1 精密度试验 取同一供试品溶液, 在“2.1.1”项色谱条件下进样 6 次, 测得各共有峰相对保留时间 RSD 均小于 0.5%, 各共有峰相对峰面积 RSD 均小于 3.0%, 表明仪器精密度良好。

收稿日期: 2020-01-22

基金项目: 四川省科技支撑计划项目 (2015FZ0003)

作者简介: 刘晓凤 (1987—), 女, 从事中成药质量评价研究

* 通信作者: 刘 涛 (1976—), 男, 博士, 研究员, 从事中成药新药开发与再评价研究

2.1.4.2 重复性试验 取同一批样品，按“2.1.2”项下方法平行制备供试品溶液 6 份，在“2.1.1”项色谱条件下进样，测得各共有峰相对保留时间 RSD 均小于 0.5%，相对峰面积 RSD 均小于 3.5%，表明该方法重复性良好。

2.1.4.3 稳定性试验 取同一供试品溶液，于 0、2、4、6、8、12 h 在“2.1.1”项色谱条件下进样，测得各共有峰相对保留时间 RSD 均小于 0.3%，相对峰面积 RSD 均小于 4.5%，表明溶液在 12 h 内稳定性良好。

2.1.5 图谱采集 取 10 批样品，按“2.1.2”项下方法平行制备供试品溶液，在“2.1.1”项色谱条件下进样，结果见图 1。

2.1.6 图谱生成 采用中国药典委员会“中药色谱指纹图谱相似度评价系统（2004A 版）”，对 10 批样品的指纹图谱进行分析，生成对照指纹图谱。取射干苷对照品溶液，在“2.1.1”项色谱条件下测定，共确定 7 个共有峰，1 号峰为射干苷，结果见图 1。

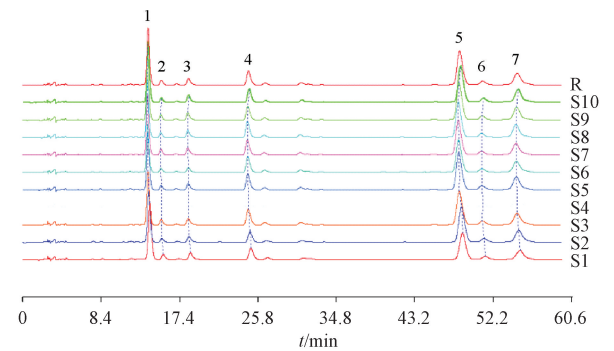


图 1 10 批样品 HPLC 指纹图谱

2.1.7 共有峰相对保留时间及相对峰面积 在 HPLC 指纹图谱中，1 号峰在各批样品中均有出现，分离度良好，峰面积大，故选作参照峰，将其保留时间和峰面积记为 1.000 0，其他共有峰相对保留时间、相对峰面积分别见表 1~2。

表 1 10 批样品共有峰的相对保留时间

编号	峰 1	峰 2	峰 3	峰 4	峰 5	峰 6	峰 7
S1	1.000 0	1.103 5	1.316 0	1.787 1	3.438 5	3.616 0	3.886 8
S2	1.000 0	1.103 5	1.317 9	1.797 9	3.464 5	3.643 0	3.916 1
S3	1.000 0	1.105 2	1.319 6	1.795 1	3.468 3	3.651 3	3.926 2
S4	1.000 0	1.104 9	1.323 1	1.796 4	3.473 7	3.657 8	3.930 9
S5	1.000 0	1.104 9	1.320 5	1.792 8	3.465 6	3.649 6	3.922 3
S6	1.000 0	1.105 9	1.323 9	1.796 7	3.472 1	3.657 0	3.931 4
S7	1.000 0	1.105 6	1.320 9	1.793 7	3.472 1	3.656 9	3.930 5
S8	1.000 0	1.105 7	1.322 4	1.796 3	3.474 6	3.659 2	3.933 4
S9	1.000 0	1.105 4	1.321 1	1.797 4	3.478 5	3.661 7	3.933 5
S10	1.000 0	1.103 9	1.319 0	1.798 1	3.468 8	3.648 1	3.923 4
RSD/%	0	0.08	0.18	0.18	0.32	0.36	0.36

表 2 10 批样品共有峰的相对峰面积

编号	峰 1	峰 2	峰 3	峰 4	峰 5	峰 6	峰 7
S1	1.000 0	0.097 3	0.141 8	0.291 5	0.914 1	0.105 1	0.449 6
S2	1.000 0	0.089 5	0.137 4	0.311 7	1.419 0	0.151 7	0.622 7
S3	1.000 0	0.104 7	0.141 6	0.426 9	1.267 7	0.138 9	0.606 7
S4	1.000 0	0.081 7	0.130 3	0.305 2	1.183 6	0.133 8	0.586 8
S5	1.000 0	0.082 1	0.136 3	0.387 7	1.279 9	0.156 0	0.623 9
S6	1.000 0	0.093 1	0.114 0	0.461 6	1.342 6	0.152 2	0.624 8
S7	1.000 0	0.102 8	0.145 3	0.356 6	1.171 2	0.115 7	0.538 2
S8	1.000 0	0.098 3	0.139 8	0.396 2	1.218 1	0.136 4	0.567 8
S9	1.000 0	0.080 3	0.127 3	0.288 1	1.073 3	0.112 8	0.477 1
S10	1.000 0	0.083 1	0.143 7	0.312 5	1.165 3	0.122 8	0.533 4
RSD/%	0	10.12	7.03	17.36	11.74	13.51	11.13

2.1.8 相似度评价 采用中国药典委员会“中药色谱指纹图谱相似度评价系统（2004A 版）”，将 10 批样品的指纹图谱与对照指纹图谱进行相似度分析，结果分别为 0.990、0.997、0.999、0.999、1.000、0.998、0.999、1.000、0.997、0.999，平均值 0.998。将相似度平均值 80% ~ 120% 作为相似度变异可接受范围，拟规定两者相似度应大于 0.798。

2.1.9 验证试验 另取 10 批样品，按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液，在“2.1.1”项色谱条件下进样。运用

中国药典委员会“中药色谱指纹图谱相似度评价系统（2004A 版）”，将 10 批样品的指纹图谱与对照指纹图谱进行相似度分析，结果分别为 0.995、0.997、1.000、0.999、1.000、0.999、0.999、1.000、0.999、1.000，符合上述规定，相对保留时间、相对峰面积分别见表 3~4。

2.2 紫外指纹图谱建立

2.2.1 光谱扫描条件 以 95%乙醇为空白调整基线，扣除基底影响。光谱扫描条件为光度模式，光谱带宽 2.00 nm，扫描范围 200.00~800.00 nm，扫描间隔 1.0 nm，快速扫描。

表 3 10 批样品（验证）共有峰的相对保留时间

编号	峰 1	峰 2	峰 3	峰 4	峰 5	峰 6	峰 7
S11	1.000 0	1.104 1	1.317 7	1.792 9	3.453 1	3.633 3	3.905 4
S12	1.000 0	1.104 2	1.317 3	1.790 0	3.448 8	3.632 1	3.903 6
S13	1.000 0	1.105 3	1.320 2	1.792 2	3.456 0	3.639 5	3.911 3
S14	1.000 0	1.105 3	1.321 3	1.791 5	3.452 2	3.636 6	3.907 5
S15	1.000 0	1.105 5	1.320 8	1.789 6	3.450 0	3.634 2	3.904 6
S16	1.000 0	1.105 6	1.320 1	1.791 3	3.441 4	3.625 0	3.965 5
S17	1.000 0	1.105 1	1.319 9	1.783 3	3.430 5	3.615 1	3.883 6
S18	1.000 0	1.105 5	1.320 6	1.785 0	3.433 6	3.618 0	3.886 5
S19	1.000 0	1.105 4	1.320 4	1.786 1	3.428 3	3.612 2	3.880 6
S20	1.000 0	1.104 9	1.318 9	1.784 1	3.426 4	3.606 3	3.875 0
RSD/%	0	0.05	0.10	0.20	0.33	0.32	0.66

表 4 10 批样品（验证）共有峰的相对峰面积

编号	峰 1	峰 2	峰 3	峰 4	峰 5	峰 6	峰 7
S11	1.000 0	0.091 5	0.141 1	0.297 5	1.136 7	0.123 8	0.400 2
S12	1.000 0	0.094 9	0.146 4	0.301 6	1.047 0	0.116 2	0.522 0
S13	1.000 0	0.100 1	0.140 6	0.365 7	1.324 4	0.139 8	0.576 2
S14	1.000 0	0.084 4	0.133 3	0.308 7	1.312 7	0.144 3	0.631 2
S15	1.000 0	0.095 3	0.139 7	0.367 7	1.220 7	0.136 1	0.590 8
S16	1.000 0	0.100 7	0.118 9	0.438 5	1.295 8	0.133 4	0.643 9
S17	1.000 0	0.100 7	0.139 0	0.366 2	1.129 2	0.124 9	0.549 9
S18	1.000 0	0.081 8	0.133 5	0.349 0	1.293 5	0.141 6	0.604 8
S19	1.000 0	0.083 5	0.120 6	0.374 6	1.305 4	0.139 8	0.635 7
S20	1.000 0	0.094 6	0.141 7	0.332 0	1.241 3	0.155 6	0.596 1
RSD/%	0	7.81	6.74	12.19	7.77	8.46	12.59

由于川射干主要成分为黄酮类，其吸光度在紫外光区，故对照指纹图谱及相似度均以 200~400 nm 处的吸光度为标准进行建立并计算。

2.2.2 供试品溶液制备 取药粉约 0.5 g，精密称定，具塞锥形瓶中，精密加入 25 mL 95%乙醇，密塞，称定质量，超声（240 W，40 kHz）处理 30 min，放冷，再次称定质量，补足，摇匀，滤过（续滤液稀释 312.5 倍时，图谱吸光度均处于 0.2~0.8 之间），摇匀，即得。

2.2.3 方法学考察

2.2.3.1 精密度考察 取同一供试品溶液，在“2.2.1”项条件下连续扫描 6 次，得 210、240、266 nm 处紫外吸光度 RSD 分别为 0.08%、0.52%、0.30%，表明仪器精密度良好。

2.2.3.2 重复性考察 取同一批样品，按“2.2.2”项下方法平行制备供试品溶液 6 份，在“2.2.1”项条件下进行扫描，测得 210、240、266 nm 处紫外吸光度 RSD 分别为 2.95%、2.74%、3.20%，表明该方法重复性良好。

2.2.3.3 稳定性考察 取同一供试品溶液，于 0、0.5、1、1.5、2、3 h 在“2.2.1”项条件下进行扫描，测得 210、240、266 nm 处紫外吸光度 RSD 分别为 2.06%、2.02%、3.07%，表明溶液在 3 h 内稳定性良好。

2.2.4 图谱采集 取 10 批样品，按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液，在“2.2.1”项条件下测定，紫外光谱叠加图见图 2。

2.2.5 图谱生成 将“2.2.4”项下紫外图谱各波长下的吸光度取平均值，并以其建立对照指纹图谱^[9]，见图 3。

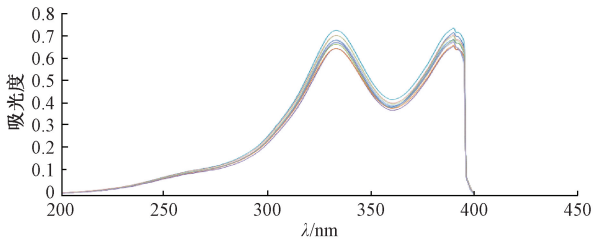


图 2 10 批样品紫外指纹图谱

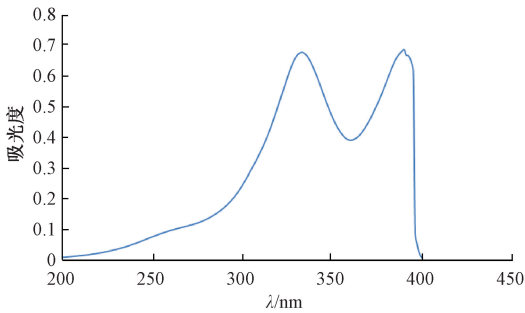


图 3 紫外对照指纹图谱

2.2.6 相似度分析 将 10 批样品的紫外指纹图谱与对照紫外指纹图谱经 IBM SPSS statistics 软件中双变量相关“Kendall 的 tau-b”分析计算相似度^[10]。结果，相似度分别为 0.991、0.995、0.993、0.996、0.998、0.996、0.990、0.996、0.994、0.995，平均值为 0.994，将其平均值的 80%~120%作为变异可接受范围，拟规定两者相似度应大于 0.795。

2.2.7 验证试验 另取 10 批样品，按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液，在“2.2.1”项条件下扫描，所得紫外

图谱与对照指纹图谱各波长下吸光度经数据处理软件 IBM SPSS statistics 中双变量相关“Kendall 的 tau-b 分析”计算相似度。结果,相似度分别为 0.960、0.961、0.959、0.956、0.956、0.960、0.959、0.960、0.957、0.957、0.957,符合上述规定。

2.3 红外指纹图谱建立

2.3.1 供试品溶液制备 取药材约 0.5 g,精密称定,具塞锥形瓶中,精密加入 25 mL 95%乙醇,密塞,称定质量,超声(240 W、40 kHz)处理 30 min,放冷,补足减失质量,摇匀,滤过。精密移取 0.2 mL 续滤液于玛瑙研钵中,吹干溶剂,与约 0.1 g 干燥 KBr 粉末研磨均匀,于 14 MPa 真空环境中压片 1.5 min,即得。

2.3.2 光谱扫描条件 取按“2.3.1”项下方法制备的供试品薄片,放入傅里叶变换红外光谱仪中扫描,并扣除空气干扰,扫描范围 4 000~400 cm⁻¹。

2.3.3 方法学考察

2.3.3.1 精密度试验 取药材粉末约 0.5 g,按“2.3.1”项下方法制备供试品溶液,在“2.3.2”项条件下连续扫描 6 次。取图谱中吸收强度最强的 10 个峰作为特征峰,测得特征峰波数 RSD^[11]均小于 0.02%,表明仪器精密度良好。

2.3.3.2 重复性试验 取同一批样品,按“2.3.1”项下方法平行制备供试品溶液 6 份,在“2.3.2”项条件下扫描,测得特征峰波数 RSD 均小于 0.25%,表明该方法重复性良好。

2.3.3.3 稳定性试验 取药材粉末约 0.5 g,按“2.3.1”

项下方法制备供试品溶液,在“2.3.2”项条件下于 0、0.5、1、1.5、2、3 h 扫描,测得特征峰波数 RSD 均小于 0.02%,表明溶液在 3 h 内稳定性良好。

2.3.4 图谱生成 将 20 批样品按“2.3.1”项下方法制备供试品溶液,在“2.3.2”项条件下扫描,红外光谱叠加图见图 4,各批次吸收峰的波数见表 5。

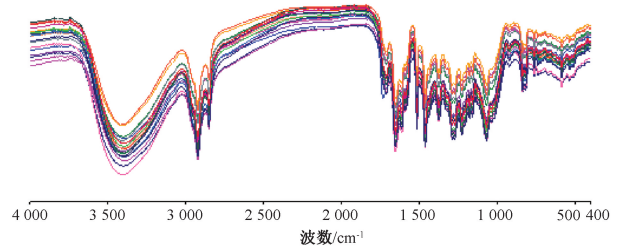


图 4 20 批样品红外指纹图谱

2.3.5 共有峰确定 若组内吸收峰的波数最大差异显著小于与其相邻组之间的平均波数差,就确定该组峰是一组共有峰,反之为变异峰^[12-13]。

2.3.6 双指标序列分析法鉴定指标 双指标序列为以某一批次样品作参考,计算其他样品红外指纹图谱的共有峰率和变异峰率,并依次排列而成的序列。

2.3.7 双指标序列分析 对 20 批样品进行双指标序列分析,结果表明,红外指纹图谱共有峰率 65.22%~100.00%,变异峰率 0~27.78%。其中,产自阿坝金川县的样品之间共有峰率 78.26%~100.00%,变异峰率 0~22.22%;产自四川广元青川县的样品间共有峰率 73.91%~100.00%,变异峰率 0~16.67%,表明同一产地样品之间共有峰率高,

表 5 20 批样品红外吸收峰波数 (cm⁻¹)

编号	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10
1	3 401.13	3 411.68	3 400.23	3 392.32	3 400.92	3 400.78	3 400.79	3 400.62	3 400.28	3 399.77
2	2 925.11	2 925.06	2 924.60	2 925.03	2 924.86	2 924.55	2 924.78	2 924.70	2 924.58	2 925.10
3	2 853.69	2 853.48	2 853.22	2 853.63	2 853.36	2 853.10	2 853.28	2 853.23	2 853.21	2 853.84
4	1 711.65	1 711.42	1 711.60	1 711.68	1 711.74	1 711.48	1 711.47	1 711.26	1 711.47	1 734.09
5	1 655.99	1 655.11	1 655.48	1 655.59	1 655.39	1 655.44	1 655.34	1 655.57	1 655.77	1 655.78
6	1 613.28	1 614.23	1 613.37	1 613.15	1 613.24	1 613.15	1 613.36	1 613.15	1 613.19	1 613.08
7	1 590.01	-	1 589.99	1 589.76	1 589.98	1 590.16	1 590.02	1 589.94	1 589.64	-
8	1 516.09	1 516.09	1 516.16	1 516.12	1 516.10	1 516.08	1 516.11	1 516.10	1 516.12	1 516.25
9	1 463.12	1 463.22	1 463.20	1 463.04	1 463.09	1 463.21	1 463.09	1 463.15	1 463.07	1 463.36
10	1 375.04	1 374.98	1 375.38	1 375.21	1 375.37	1 375.43	1 375.13	1 375.19	1 374.96	1 374.97
11	-	1 289.49	1 289.58	1 289.48	1 289.49	1 289.57	1 289.73	1 289.42	1 289.45	-
12	1 273.33	-	1 273.26	1 273.35	1 273.13	1 272.94	1 272.85	1 273.24	1 273.06	1 272.07
13	1 227.27	1 227.23	1 226.84	1 226.96	1 226.57	1 226.89	1 227.09	1 226.76	1 226.06	1 228.59
14	1 176.40	1 176.10	1 176.04	1 176.19	1 176.06	1 176.11	1 176.13	1 176.02	1 176.27	1 175.68
15	1 158.94	1 158.93	1 158.89	1 158.83	1 158.85	1 158.90	1 158.96	1 158.93	1 158.79	-
16	1 068.92	1 068.17	1 068.37	1 068.27	1 068.23	1 068.23	1 068.71	1 068.36	1 068.35	1 068.47
17	924.06	925.04	923.64	925.02	923.21	922.34	924.72	922.91	923.86	-
18	838.05	838.12	838.19	838.08	837.90	838.38	838.35	838.11	838.01	838.33
19	-	-	819.61	-	-	-	-	819.03	819.20	817.45
20	761.98	762.08	761.82	761.66	761.73	761.16	761.62	761.88	761.67	762.35
21	739.93	740.20	739.52	739.82	739.82	738.18	739.20	739.56	739.89	739.73
22	586.23	587.17	585.99	585.82	585.95	585.86	585.70	586.41	586.06	586.35
23	534.25	535.15	534.02	534.20	534.48	534.80	533.51	534.13	533.91	510.08

续表 5

编号	S11	S12	S13	S14	S15	S16	S17	S18	S19	S20
1	3 418. 01	3 400. 96	3 410. 40	3 412. 68	3 400. 32	3 400. 93	3 401. 19	3 401. 35	3 401. 29	3 409. 29
2	2 924. 34	2 924. 26	2 924. 74	2 924. 70	2 924. 58	2 924. 66	2 924. 50	2 924. 65	2 924. 68	2 924. 68
3	2 852. 71	2 852. 81	2 853. 14	2 853. 16	2 853. 05	2 853. 14	2 852. 96	2 853. 10	2 853. 16	2 853. 15
4	1 711. 67	1 711. 48	1 711. 12	1 711. 84	1 711. 26	1 711. 28	1 711. 25	1 711. 56	1 711. 50	1 711. 36
5	1 655. 86	1 655. 97	1 655. 53	1 655. 46	1 655. 25	1 655. 37	1 655. 48	1 655. 52	1 655. 71	1 655. 52
6	1 614. 65	1 614. 24	1 614. 65	1 614. 25	1 613. 28	1 613. 18	1 613. 60	1 613. 80	1 613. 80	1 613. 72
7	—	1 590. 27	—	—	1 590. 14	1 590. 40	1 590. 27	1 590. 11	1 590. 36	1 590. 52
8	1 516. 21	1 516. 18	1 516. 22	1 516. 19	1 516. 20	1 516. 80	1 516. 20	1 516. 19	1 516. 17	1 516. 17
9	1 463. 41	1 463. 32	1 463. 36	1 463. 29	1 463. 15	1 463. 17	1 463. 26	1 463. 22	1 463. 30	1 463. 23
10	1 374. 68	1 375. 41	1 375. 28	1 375. 12	1 375. 34	1 375. 51	1 375. 17	1 375. 19	1 375. 28	1 375. 00
11	1 290. 24	1 289. 51	1 289. 87	1 289. 84	1 289. 72	1 289. 61	1 289. 73	1 289. 74	1 289. 68	1 289. 68
12	—	—	—	—	1 273. 08	1 272. 93	1 273. 14	1 273. 07	1 273. 13	1 273. 16
13	1 227. 06	1 227. 18	1 227. 33	1 227. 36	1 227. 17	1 226. 84	1 227. 44	1 227. 27	1 227. 13	1 227. 35
14	1 175. 87	1 176. 53	1 176. 23	1 176. 33	1 176. 17	1 176. 17	1 176. 41	1 176. 22	1 176. 14	1 176. 16
15	1 159. 94	1 158. 91	1 159. 19	1 159. 21	1 158. 95	1 158. 79	1 159. 04	1 159. 13	1 159. 29	1 159. 30
16	1 069. 19	1 068. 91	1 068. 44	1 068. 43	1 068. 44	1 068. 31	1 068. 74	1 068. 31	1 068. 63	1 068. 60
17	924. 07	925. 64	922. 04	924. 05	924. 14	923. 13	923. 18	923. 31	922. 37	922. 57
18	836. 89	838. 44	838. 60	838. 28	838. 10	837. 94	838. 31	838. 02	838. 34	838. 27
19	—	—	—	—	—	819. 17	820. 39	818. 17	—	—
20	763. 78	761. 80	761. 93	761. 44	761. 66	761. 79	761. 92	761. 80	761. 60	762. 09
21	736. 67	738. 00	—	740. 32	738. 26	739. 11	739. 52	839. 42	739. 47	740. 22
22	587. 54	585. 53	586. 80	585. 32	586. 49	586. 06	585. 97	586. 25	586. 73	585. 80
23	—	536. 19	—	534. 52	534. 77	534. 65	534. 20	534. 43	535. 51	535. 37

变异峰率低。

3 讨论

现有对川射干在质量控制方面的研究，多采用 HPLC 方法测定一种或者多种有效成分含量，方法较为繁琐，且中药化学成分复杂，测定单一指标成分并不能完全代表该药材的品质。而指纹图谱就是研究以反映中药的整体化学特征为立论依据，对药品质量进行整体评价的方法。HPLC 指纹图谱是在确定中药化学成分的基础上对中药进行整体控制，广泛应用于中药材及中成药的真伪优劣鉴别^[14-17]。紫外指纹图谱可反映中药中具有不饱和化学键及其共轭体系基本物质的吸收情况，并以此控制中药质量^[18-19]。红外指纹图谱可反映中药中多种化合物成分饱和和键的吸收，并确定该中药中的各种化学基团，以此控制中药质量^[11-13]。

本实验建立了 HPLC、UV、IR 指纹图谱，其中 HPLC、UV、IR 指纹图谱特征均有一定差异，故将多种分析方法联合或许能够减少单一检测分析方式在某些方面的不足而造成的误差，使川射干药材能得到简便、可靠、完整、健全的质量控制。但此方法不能确定药材中的化学成分及药理活性的关系，有待进一步研究。

参考文献：

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典：2020 年版一部 [S]. 北京：中国医药科技出版社，2020.

[2] 潘 静. 川射干化学成分及体外抗肿瘤活性的研究 [D]. 武汉：湖北中医学院，2009.

[3] 韩 梅，金光洙，朴惠顺. 异黄酮类成分抗肿瘤作用研究进展 [J]. 中草药，2006，37(9)：附 1-附 3.

[4] 于 颖. 川射干异黄酮类化学成分的神经保护作用 [D]. 泰安：泰山医学院，2013.

[5] 刘铁秋，曾宪垠，刘杨红，等. 川射干抑菌成分提取及对番茄灰霉抑菌作用研究 [J]. 中国抗生素杂志，2014，39 (11)：813-818.

[6] 陈 帅，袁崇均，罗 森，等. 不同产地川射干中异黄酮成分含量比较研究 [J]. 药物分析杂志，2018，38(7)：1280-1284.

[7] 王金凤，薄华本，孟祥颖，等. 鸢尾苷元对急性心肌梗死小鼠心肌的保护作用 [J]. 中国新药与临床杂志，2010，29(2)：99-103.

[8] 张 琳，张 妮. 川射干的化学及药理研究进展 [J]. 陕西中医学院学报，2014，37(5)：91-93.

[9] 刘 涛，杨 丹，郑 燕，等. 基于紫外—可见、红外及物理方法联用的参附注射液指纹图谱方法学建立 [J]. 成都大学学报（自然科学版），2019，38(1)：16-19；37.

[10] 刘 涛，郑 燕，杨 丹，等. 基于紫外—可见与红外指纹图谱的金银花与山银花品质差异研究 [J]. 成都大学学报（自然科学版），2018，37(4)：356-360.

[11] 周蔚昕，刘 涛，张 佳，等. 川芎饮片标准汤剂指纹图谱研究 [J]. 中草药，2018，49(10)：2401-2409.

[12] 陈 勇，魏后超，韦 韬，等. 磨盘草药材红外指纹图谱共有峰率和变异峰率双指标序列分析法 [J]. 中华中医药杂志，2015，30(3)：709-712.

[13] 杨新周. 臭灵丹红外指纹图谱共有峰率和变异峰率双指标序列分析法 [J]. 西南农业学报，2017，30(4)：887-893.

[14] 宋九华，杨文钰，陈兴福，等. HPLC 指纹图谱结合灰色关联度分析综合评价云南丽江秦艽资源 [J]. 化学研究与应用，2014，26(8)：1249-1254.

[15] 杨锦玲, 梅文莉, 余海谦, 等. 国产沉香 HPLC 指纹图谱研究[J]. 中草药, 2014, 45(23): 3456-3461.

[16] 袁丽君, 尹 衡, 斯 琴, 等. 湖北产落新妇的 HPLC 指纹图谱及模式识别研究[J]. 华西药学杂志, 2019, 34(4): 405-409.

[17] 黄 洋, 邵慧凯, 路 丽, 等. 不同采收期小叶榕叶 HPLC 指纹图谱研究[J]. 中草药, 2014, 45(2): 271-275.

[18] 王玲娇, 孙国祥, 戴 娜, 等. 光谱指纹定量法评价木香顺气丸质量[J]. 中国药业, 2019, 28(4): 1-5.

[19] 杨新周. 臭灵丹紫外指纹图谱共有峰率和变异峰率双指标序列分析法[J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(20): 43-48.

沙棘与 2 种易混淆品的鉴别

雷 蕾¹, 谭 鹏², 文永盛¹, 罗 霄¹, 代 琪¹, 张 继³, 杨小艳^{1*}

(1. 成都市食品药品检验研究院, 国家药品监督管理局中药材质量监测评价重点实验室, 四川 成都 610045; 2. 四川省中医药科学院, 国家中医药管理局中药质量生物评价重点实验室, 四川 成都 610041; 3. 中国食品药品检定研究院, 北京 100050)

摘要: **目的** 鉴别沙棘 *Hippophae rhamnoides* L. 及其 2 种混淆品。**方法** 采用传统性状鉴定、光学显微技术、薄层色谱和高效液相色谱, 从外观形状、显微特征、化学成分等方面区分沙棘及其 2 种混淆品。**结果** 在性状特征中, 沙棘具短小果梗或果梗痕, 种子为褐色, 呈斜卵形, 中间有一纵沟; 2 种混淆品无果梗, 种子黄棕色, 呈狭卵形, 上有数个蜂窝状凹陷, 先端渐尖, 有 3 条双线形裂缝。在显微特征中, 沙棘具盾状毛, 果皮表皮细胞无气孔; 混淆品具单细胞非腺毛, 果皮表皮细胞有气孔; 两者均含有黄酮类成分, 但在化学成分上存在一定差异。**结论** 该方法可有效区分沙棘与其混淆品, 可为相关鉴别提供参考。

关键词: 沙棘; 混淆品; 白刺; 性状鉴别; 显微鉴别; TLC; HPLC

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** B **文章编号:** 1001-1528(2021)07-1955-05

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2021.07.052

沙棘为蒙古族、藏族习用药材, 是胡颓子科植物沙棘 *Hippophae rhamnoides* L. 的干燥成熟果实, 有活血散瘀、止咳祛痰、健脾消食的功效, 临床治疗脾虚食少、食积腹痛、胸痹心痛等症^[1]。沙棘主要含有黄酮类^[2-3]、有机酸类及酚类^[4-6]、三萜和甾体类^[7-8]、油和脂肪酸类^[9-10]及维生素^[11-12]等成分, 具有抗氧化^[13-14]、抗心肌缺血^[15-16]、降血糖^[17-18]、增强免疫力^[19-20]和保护肝脏^[21-22]等药理作用。沙棘是国家卫健委公布的第一批药食两用中药材之一, 目前已被开发成保健食品^[23-24]和饮料^[25-26]。

目前, 国内外对沙棘的质量评控方法主要有 DNA 条形码^[30]、超高压液相色谱飞行时间质谱仪^[33]、高分辨质谱法^[31,34]、红外光谱法^[32]等。课题组通过对国内主要药材市场调研发现, 有 2 种沙棘的易混淆品被当做沙棘正品在药材市场流通, 尤其是南方地区药材市场的药材商贩对其真伪难以区分。经初步鉴定, 这 2 种沙棘的易混淆品为蒺藜科白刺属植物不同种的果实。本实验尝试采用传统性状鉴别、显微鉴别、TLC 和 HPLC 相结合的方法区分沙棘及

其易混淆品, 找出相应的鉴别要点, 以期对沙棘及其易混淆品的鉴别研究提供参考。

1 材料

Nikon D810 照相机、Nikon Eclipse 50i 型实体显微镜及数码成像系统 [尼康 (中国) 有限公司]; ATS 4 全自动点样仪、TLC Visualizer 薄层色谱数码成像系统 (瑞士 Camag 公司); Waters 高效液相色谱仪 (美国 Waters 公司, 配置 Waters e2695 Separations Module、2998 PDA 检测器)。

乙腈 (色谱纯, 美国 Fisher 公司); 水合氯醛 (天津市科密欧化学试剂有限公司); 甲醇 (广东光华科技股份有限公司); 磷酸 (广东光华科技股份有限公司); 其他试剂均为分析纯; 水为超纯水。

沙棘对照品 (批号 121519-201302) 购自中国食品药品检定研究院。6 批沙棘收集于新疆、西藏和青海等地; 2 种沙棘的易混淆品共 4 批, 收集于四川省成都市; 1 批白刺收集于甘肃民勤县, 以上样品均由中国食品药品检定研究院原中药标本馆张继主任中药师鉴定, 药材标本现保存于

收稿日期: 2020-06-15

基金项目: 成都市食品药品检验研究院中药数字标本馆项目 (BM201908211525)

作者简介: 雷 蕾 (1983—), 女, 硕士, 主管中药师, 从事中药材鉴定、中药大数据分析研究。Tel: (028) 85362592, E-mail: 80730275@qq.com

* 通信作者: 杨小艳 (1988—), 女, 硕士, 主管中药师, 从事中药材鉴定研究。Tel: (028) 85362592, E-mail: 563472045@qq.com