

昔以及半乳糖醇含量在蒴果形成期及之前均能达到《中国药典》的标准,均可作为药用。

此外,水肥条件也是影响肉苁蓉和其寄主梭梭生长发育的重要因子,关于水肥条件对梭梭和肉苁蓉体内碳水化合物、有效成分含量的影响,以及梭梭肉苁蓉经济系数变化等相关问题还需要进一步研究探索。

## REFERENCES

[ 1 ] Ch. P (2010) Vol I (中国药典 2010年版,一部) [ S ]. 2010: 126  
[ 2 ] DIEN I A. *Pollination Ecology* [ M ]. New York: Oxford Univ Press 1992 1-57.  
[ 3 ] SONG Y X, GUO S H, NIU D L, *et al*. A study on breeding system of the endangered plant *Cistanche deserticola* [ J ]. *Bull Bot Res* (植物研究), 2008 28(3): 278-282 287.  
[ 4 ] WANG C L, TU P F, GUO Y H, *et al*. Chemical constituents in artificial cultivated *Cistanche tubulosa* [ J ]. *Chin Tradit Herb Drugs*(中草药), 2004 35(6): 676-679.

[ 5 ] CAO R, MA H, WANG Y C. Morphotype diversity of *Cistanche deserticola* [ J ]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2004, 29(1): 35-37.  
[ 6 ] GAO J F. *Plant Physiology and Lab Technology* (植物生理学实验技术) [ M ]. Xi'an World Publishing Press, 2000 145-148  
[ 7 ] VAN SOEST P, WINE R H. Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. IV. Determination of plant cell wall constituents [ J ]. *J Assoc Off Agric Chem*, 1967, 50(1): 50-55  
[ 8 ] CAI H, BAO Z, JIANG Y, *et al*. Qualification of active constituents in *Cistanche tubulosa* from various habitats [ J ]. *Chin Tradit Herb Drugs*(中草药), 2007, 38(3): 452-455  
[ 9 ] ZHENG G Q, SONG Y X, GUO S H, *et al*. Soluble sugar accumulation and the activities of sugar metabolism-related enzymes in *Cistanche deserticola* and its host *Haloxylon ammodendron* [ J ]. *Acta Bot Boreali-Occidentalia Sin* (西北植物学报), 2006 26(6): 1175-1182  
[ 10 ] YANG T X, LU Y X, GUO Y H, *et al*. Studied of dry matter accumulation and echinacoside content of *Cistanche tubulosa* in Huabei plain [ J ]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2006, 31(16): 1317-1320

(收稿日期: 2010-08-21)

## 沙苁蓉与肉苁蓉饮片 HPLC 指纹图谱鉴别研究

马志国 (暨南大学药学院, 暨南大学中药药效物质基础及创新药物研究广东省高校重点实验室, 广州 510632)

**摘要:** 目的 建立沙苁蓉饮片的 HPLC 指纹图谱并与肉苁蓉饮片比较。方法 基于 10 批沙苁蓉饮片, 采用 RP-HPLC, 色谱柱 Agilent C<sub>18</sub> (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相为甲醇-0.1% 甲酸水, 采用梯度洗脱, 流速 1.0 mL · min<sup>-1</sup>, 检测波长 330 nm 对不同批次的药材进行检测。结果 建立了沙苁蓉饮片的 HPLC 指纹图谱共有模式, 7 个共有峰被标定。并与不同来源的肉苁蓉饮片的 HPLC 指纹图谱进行比较, 结果具有明显差异。结论 所建立的沙苁蓉 HPLC 指纹图谱方法简便, 重复性好, 特征性强, 可用于沙苁蓉与肉苁蓉饮片的鉴别研究。

**关键词:** 沙苁蓉; 肉苁蓉; 高效液相色谱法; 指纹图谱; 鉴别

中图分类号: R917 文献标志码: A 文章编号: 1001-2494(2011)12-0899-04

## Differentiation of Processed *Cistanche sinensis* G. Beck and Herba *Cistanches* by HPLC Fingerprints

MA Zhiguo (College of Pharmacy, Jinan University, Guangdong Province Key Laboratory of Pharmacodynamic Constituents of TCM & New Drugs Research, Guangzhou 510632, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To establish the HPLC fingerprint for processed stems of *Cistanche sinensis* G. Beck and to compare with that of Herba *Cistanches*. **METHODS** The chromatographic separation was performed on an Agilent C<sub>18</sub> column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) with a mobile phase consisting of methanol-0.1% aqueous methanoic acid. Gradient elution was used at a flow rate of 1.0 mL · min<sup>-1</sup>. The absorbance was monitored 330 nm. **RESULTS** The mutual mode of HPLC-UV fingerprints was set up, and 7 mutual peaks were indicated. The fingerprints of 10 batches of *Cistanche sinensis* were obviously different with those of Herba *Cistanches* collected from different sources. **CONCLUSION** The method is stable and reliable with a good reproducibility, it can be applied for differentiation of processed stems of *Cistanche sinensis* and Herba *Cistanches*.

**KEY WORDS** *Cistanche sinensis* G. Beck; herba *cistanches*; HPLC; fingerprint; differentiation

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30902001)

作者简介: 马志国, 男, 讲师 研究方向: 中药新药研究与中药炮制原理研究 Tel (020) 85223784 E-mail mzg79@hotmail.com

肉苁蓉为列当科植物肉苁蓉 (*Cistanche deserticola* Y. C. Ma) 或管花肉苁蓉 [*Cistanche tubulosa* (Schrenk) Wight] 的干燥带鳞叶的肉质茎, 具有补肾阳、益精血、润肠通便等功效, 用于肾阳不足, 精血亏虚, 阳痿不孕, 腰膝酸软, 筋骨无力, 肠燥便秘等症<sup>[1]</sup>。资源调查表明<sup>[2]</sup>, 我国有肉苁蓉属 (*Cistanche*) 植物 4 种 1 变种, 本属植物外观性状相似, 加之资源紧缺, 因此目前商品肉苁蓉饮片中, 除了《中国药典》收录的肉苁蓉和管花肉苁蓉外, 本属其他植物在部分地区仍作为肉苁蓉的代用品流通和使用。经笔者调查, 市场上存在将沙苁蓉充当肉苁蓉流通和使用的现象, 在广东和山东两省随机购买的 19 批商品肉苁蓉饮片中, 有 10 批为沙苁蓉。沙苁蓉为列当科植物沙苁蓉 (*Cistanche sinensis* G. Beck) 的干燥带鳞叶的肉质茎, 沙苁蓉的化学成分主要为苯乙醇苷类、环烯醚萜苷类以及多糖类化合物<sup>[3]</sup>, 而有关沙苁蓉指纹图谱研究未见报道, 因此, 本实验采用 HPLC 对 10 批沙苁蓉饮片及不同来源的肉苁蓉饮片进行了指纹图谱的比较, 探讨一种能够快速鉴别沙苁蓉与正品肉苁蓉的方法, 并为沙苁蓉的质量研究和开发提供初步的研究基础。

## 1 仪器与试剂

Agilent1200 型高效液相色谱仪, VWD 多波长检测器, 四元低压梯度泵, 在线真空脱气机, 柱温箱 (Agilent 公司); KQ-250E 型超声波清洗器 (昆山市超声仪器有限公司); DFY-200 摇摆式高级中药粉碎机 (温苓市中德中药机械有限公司)。国家药典委员会“中药色谱指纹图谱相似度评价系统” (2004 版) 软件。

松果菊苷、毛蕊花糖苷为实验室自制 (利用 <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR, MS 等波谱技术鉴定了化学结构), HPLC 检出纯度均大于 99%。沙苁蓉 (*Cistanche sinensis* G. Beck)、肉苁蓉 (*Cistanche deserticola* Y. C. Ma)、管花肉苁蓉 (*Cistanche tubulosa* (Schrenk) Wight) 饮片分别购自山东省、广东省各地药店, 具体来源见表 1, 均经中国中医科学院中医药发展研究中心图雅教授鉴定。色谱纯甲醇, 纯净水, 其他试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

色谱柱 Agilent 公司 Agilent TC-C<sub>18</sub> (4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇 (A) - 0.1% 甲酸 (B)

梯度洗脱 (0 min, 15% A; 75 min, 52.5% A), 流速 1.0 mL · min<sup>-1</sup>; 柱温: 25 °C; 检测波长: 330 nm; 进样量: 20 μL。

### 2.2 对照品溶液的制备

取毛蕊花糖苷对照品适量, 精密称定, 加体积分数 50% 甲醇制成每 1 mL 含 0.2 mg 的溶液, 即得。

### 2.3 供试品溶液的制备

取药材粉末 (过四号筛) 约 1 g 精密称定, 置 100 mL 棕色量瓶中, 精密加入体积分数 50% 甲醇 50 mL, 密塞, 摇匀, 称定重量, 浸泡 30 min, 超声处理 40 min (250 W, 频率 35 kHz), 放冷, 再称定重量, 加体积分数 50% 甲醇补足减失的重量, 摇匀, 静置, 取上清液, 滤过, 取续滤液, 即得。

### 2.4 方法学考察

**2.4.1 精密度实验** 取同一供试品溶液 (S1), 连续进样 6 次, 测得各共有峰相对保留时间和相对峰面积比值的 RSD 值分别为 0.04% ~ 0.10% 和 0.97% ~ 2.15% 之间, 表明该方法精密度良好。

**2.4.2 稳定性实验** 取同一供试品溶液 (S1), 分别在 0, 6, 12, 18, 24, 30 h 检测, 测得各共有峰相对保留时间和相对峰面积比值的 RSD 值分别在 0.04% ~ 0.12% 和 1.04% ~ 3.03% 之间, 表明供试品溶液在 30h 内测定稳定。

**2.4.3 重复性实验** 取同一批沙苁蓉药材 (S1) 6 份, 按“2.3”项下制备供试品溶液, 分别进行检测,

表 1 样品来源

Tab. 1 Sources of samples

No.	Breed	Buy place	Buy time
S1	<i>Cistanche sinensis</i> G. Beck	Guangzhou	2009.11
S2	<i>Cistanche sinensis</i> G. Beck	Guangzhou	2010.03
S3	<i>Cistanche sinensis</i> G. Beck	Guangzhou	2010.03
S4	<i>Cistanche sinensis</i> G. Beck	Yantai	2010.02
S5	<i>Cistanche sinensis</i> G. Beck	Yantai	2010.02
S6	<i>Cistanche sinensis</i> G. Beck	Yantai	2010.02
S7	<i>Cistanche sinensis</i> G. Beck	Guangzhou	2010.07
S8	<i>Cistanche sinensis</i> G. Beck	Guangzhou	2010.07
S9	<i>Cistanche sinensis</i> G. Beck	Guangzhou	2010.07
S10	<i>Cistanche sinensis</i> G. Beck	Guangzhou	2010.07
S11	<i>Cistanche deserticola</i> Y. C. Ma	Macao	2010.03
S12	<i>Cistanche deserticola</i> Y. C. Ma	Macao	2010.03
S13	<i>Cistanche deserticola</i> Y. C. Ma	Yantai	2010.02
S14	<i>Cistanche deserticola</i> Y. C. Ma	Jinan	2010.07
S15	<i>Cistanche deserticola</i> Y. C. Ma	Jinan	2010.07
S16	<i>Cistanche deserticola</i> Y. C. Ma	Jinan	2010.07
S17	<i>Cistanche tubulosa</i> (Schrenk) Wight	Yantai	2010.02
S18	<i>Cistanche tubulosa</i> (Schrenk) Wight	Guangzhou	2010.07
S19	<i>Cistanche tubulosa</i> (Schrenk) Wight	Jinan	2010.07

测得各共有峰的相对保留时间和相对峰面积比值的RSD值分别在 0.02% ~ 0.12% 和 1.28% ~ 3.11% 之间, 表明该方法重复性良好。

## 2.5 指纹图谱分析及评价

### 2.5.1 不同来源沙苻蓉饮片指纹图谱的建立

取沙苻蓉饮片, 按“2.3”项下方法制备供试品溶液, 精密吸取供试品溶液各 20  $\mu$ L, 注入高效液相色谱仪, 按“2.1”项下的色谱条件, 进行检测, 10批样品指纹图谱见图 1。

### 2.5.2 沙苻蓉饮片共有模式指纹图谱的建立

分别将 10批沙苻蓉的 HPLC 数据导入“国家药典委员会中药色谱指纹图谱相似度评价系统软件(2004A版)”, 生成沙苻蓉饮片共有模式指纹图谱(图 2), 其中共有色谱峰 7 个, 选择 3号峰毛蕊花糖苷为内参峰(S峰), 以其保留时间和峰面积为 1, 分别计算各共有峰的相对保留时间和相对峰面积, 结果见表 2、3。

表 2 10批沙苻蓉饮片共有峰相对保留时间

Tab. 2 Relative retention time of common peaks for 10 batches of processed stems of *Cistanche sinensis*

Sample No.	Peak						
	1	2	3(S)	4	5	6	7
S1	0.523	0.537	1.000	1.089	1.110	1.160	1.243
S2	0.522	0.537	1.000	1.089	1.111	1.160	1.244
S3	0.525	0.540	1.000	1.088	1.110	1.158	1.241
S4	0.520	0.534	1.000	1.089	1.111	1.161	1.245
S5	0.522	0.536	1.000	1.089	1.111	1.159	1.241
S6	0.521	0.536	1.000	1.089	1.112	1.161	1.244
S7	0.522	0.537	1.000	1.090	1.112	1.161	1.244
S8	0.522	0.537	1.000	1.090	1.112	1.161	1.245
S9	0.522	0.537	1.000	1.090	1.112	1.160	1.243
S10	0.523	0.538	1.000	1.091	1.112	1.161	1.245
Mean	0.522	0.537	1.000	1.089	1.111	1.160	1.244
RSD%	0.25	0.28	0.00	0.07	0.07	0.07	0.11

表 3 10批沙苻蓉饮片共有峰相对峰面积

Tab. 3 Relative areas of common peaks for 10 batches of processed stems of *Cistanche sinensis*

Sample No.	Peak						
	1	2	3(S)	4	5	6	7
S1	0.087	0.115	1.000	6.588	0.334	0.436	3.396
S2	0.181	0.239	1.000	10.273	0.785	0.311	4.832
S3	0.214	0.280	1.000	9.653	0.506	0.218	3.699
S4	0.102	0.137	1.000	7.540	0.166	0.253	3.035
S5	0.189	0.253	1.000	7.960	0.309	0.533	6.480
S6	0.164	0.211	1.000	7.095	0.130	0.267	3.629
S7	0.096	0.123	1.000	3.444	0.321	0.185	2.112
S8	0.259	0.322	1.000	9.813	0.237	0.403	5.224
S9	0.309	0.395	1.000	14.665	0.355	0.255	5.508
S10	0.178	0.237	1.000	4.976	0.282	0.471	1.001

### 2.5.3 沙苻蓉饮片相似度评价

以共有模式为标准, 进行整体相似度评价, S1~S10 指纹图谱相似度分别为 0.993, 0.998, 0.996, 0.997, 0.967, 0.999, 0.979, 0.999, 0.994, 0.927, 10批沙苻蓉饮片的指纹图谱相似度均大于 0.92, 说明各批间相似性良好, 而且代表性指纹图谱的选择较为合理。

## 2.6 沙苻蓉与肉苻蓉饮片的指纹图谱比较

取 6 批肉苻蓉和 3 批管花肉苻蓉饮片, 按“2.3”项下方法制备供试品溶液, 按“2.1”项下的色谱条件, 进行检测后, 将 HPLC 数据导入“国家药典委员会中药色谱指纹图谱相似度评价系统软件(2004A版)”, 分别生成肉苻蓉、管花肉苻蓉饮片的共有模式指纹图谱, 并与沙苻蓉饮片的共有模式指纹图谱进行比较, 见图 3。从图 3 中可以看出, 沙苻蓉与正品肉苻蓉的 HPLC 指纹图谱呈现明显差异, 1 号峰果聚菊苷 ( $t_R$  约为 44.4 min) 不是沙苻蓉的共有特征峰, 是肉苻蓉和管花肉苻蓉中最重要的特征峰;

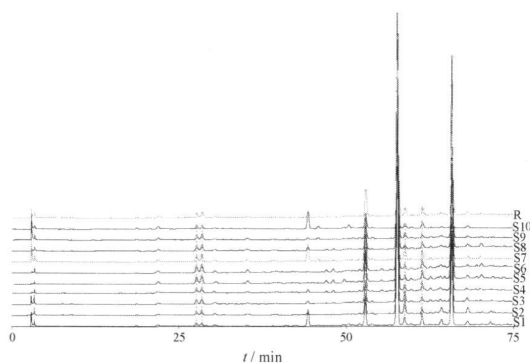


图 1 沙苻蓉饮片 HPLC 指纹图谱

S1~S10 - 样品; R - 共有模式指纹图谱

Fig. 1 Fingerprints of 10 batches of processed stems of *Cistanche sinensis*

S1-S10 - samples; R - common pattern

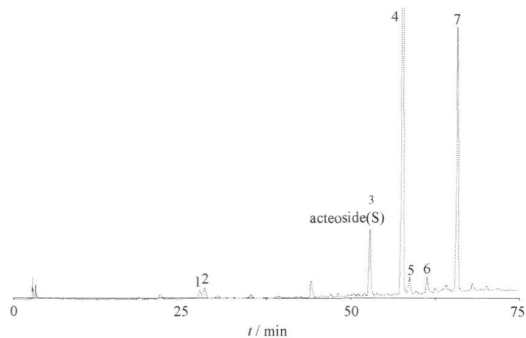


图 2 沙苻蓉饮片共有模式图

Fig. 2 Common pattern of *Cistanche sinensis*

2号峰 ( $t_R$ 约为 57.7 min)和 3号峰 ( $t_R$ 约为 65.7 min)为沙苁蓉中最重要的 2个共有特征峰,而在肉苁蓉和管花肉苁蓉中含量极低或无法检测到;以上 3个色谱峰可以作为区分沙苁蓉和正品肉苁蓉的特征峰。

### 3 讨论

#### 3.1 样品提取条件的选择

参考《中国药典》一部肉苁蓉项下的供试品溶液的制备方法,比较了体积分数 30% 甲醇、50% 甲醇、70% 甲醇、乙醇等不同溶剂及超声提取 30、40、50 min不同时间对药材提取效果的影响,结果以体积分数 50%的甲醇超声提取 40 min可提取完全,色谱信息最丰富,且方法稳定,重复性好。故作为上述供试品的制备方法。

#### 3.2 色谱条件的选择

在实验中以甲醇-0.1% 甲酸水溶液为流动相系统,考察了不同比例的梯度洗脱条件,结果以甲醇(A)-0.1% 甲酸水(B)梯度洗脱(0 min, 15% A;

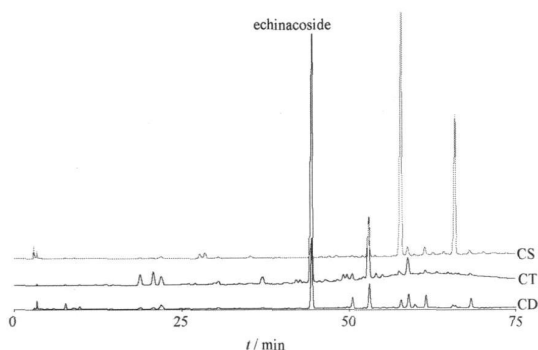


图 3 沙苁蓉与肉苁蓉指纹图谱  
CS-沙苁蓉; CT-管花肉苁蓉; CD-肉苁蓉

Fig 3 Fingerprints of *C. sinensis*, *C. tubulosa* and *C. deserticola*

CS- *C. sinensis*; CT- *C. tubulosa*; CD- *C. Deserticola*

75 min, 52.5% A)各成分分离度好,峰形对称性好,基线稳定;采用多波长检测器对检测波长进行考察,记录并比较 350、330、310、290、270、250、230、210 nm 8个不同波长下的色谱图,结果在检测波长低于 290 nm时色谱图基线不平稳且主要色谱峰信号减弱,在 330 nm时色谱图中色谱峰信号丰富且明显,基线平稳,故采用 330 nm检测波长。

#### 3.3 沙苁蓉饮片指纹图谱的专属性

本试验采用 HPLC对沙苁蓉饮片进行分析,部分样品 HPLC 指纹图谱虽存在一定差异,但均具有相同的色谱特征峰。结果显示,共有色谱峰为 7个,相似度评价结果均大于 0.92 说明 10个不同批次沙苁蓉饮片相似度较好,无明显差异,沙苁蓉指纹图谱具有专属性,能为沙苁蓉饮片的质量控制提供一定的参考。

#### 3.4 沙苁蓉与正品肉苁蓉饮片指纹图谱的差异

本实验所购 19批商品肉苁蓉饮片中,经鉴定有 10批为沙苁蓉,6批为肉苁蓉,3批为管花肉苁蓉,表明沙苁蓉在广东、山东两省肉苁蓉商品市场上占有相当的比例。通过与正品肉苁蓉的指纹图谱比较发现,沙苁蓉与两种正品肉苁蓉在化学成分上均存在明显的差异,因此沙苁蓉能否作为肉苁蓉的代用品应用于临床,有待于进一步研究。通过建立其指纹图谱不但可用于沙苁蓉与正品肉苁蓉的品种鉴定,并为沙苁蓉的质量研究和开发提供初步的研究基础。

### REFERENCES

- [1] *Ch. P* (2010) Vol I (中国药典 2010年版,一部) [S]. 2010 126.
- [2] TU P F, HE Y P, LOU Z C. Survey and protection of medicinal resources of desert living cistanche [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1994, 25(4): 205-208
- [3] TU P F, SHI H M, SONG Z H, *et al*. Chemical constituents of *Cistanche sinensis* [J]. *J Asian Nat Prod Res* (亚洲天然产物研究), 2007, 9(1): 79-84

(收稿日期: 2010-08-17)

## 关于收取稿件处理费的通知

本刊来稿收取稿件处理费,每篇 50元,请作者在寄发稿件的同时将处理费通过邮局寄汇本刊(请勿在稿件中夹带现金),收款地址:北京市朝阳区建外大街四号建外 SOHO九号楼 1803室《中国药理学杂志》编辑部,邮编:100022

汇款单位上请注明论文题目及第一作者姓名。

[本刊讯]