

## 耳叶牛皮消和戟叶牛皮消的谱学对比分析

刘政波<sup>1</sup>, 毕研文<sup>1</sup>, 杨永恒<sup>1</sup>, 宫俊华<sup>1</sup>, 陈宝芳<sup>1</sup>, 孙印石<sup>2</sup> (1. 山东省泰安市农业科学研究院, 山东 泰安 271000; 2. 山东农业大学农学院, 山东 泰安 271018)

**摘要:** **目的** 研究耳叶牛皮消和戟叶牛皮消二者谱学性质上的差异。**方法** 综合运用紫外-可见光谱(UV-Vis)、红外光谱(FT-IR)和高效液相色谱法(HPLC)研究耳叶牛皮消和戟叶牛皮消在石油醚、氯仿、乙酸乙酯、甲醇和水5种不同提取溶剂中的谱学行为, 宏观比较谱图中峰的数目、形状和强度, 以及4种主要活性物质的相对含量。**结果** 在紫外光谱对比分析中, 耳叶牛皮消和戟叶牛皮消的石油醚和水提取部位有较大差别。在红外光谱对比分析中, 耳叶牛皮消和戟叶牛皮消的石油醚、氯仿和水提取部位波谱形状差别较大。在液相色谱对比分析中, 二者所含主要成分的种类基本相同, 但是, 不同类成分的含量有较大差异。**结论** 确定了耳叶牛皮消和戟叶牛皮消谱学性质的差别, 为耳叶牛皮消和戟叶牛皮消的化学手段鉴别提供了理论依据和技术支持。

**关键词:** 耳叶牛皮消; 戟叶牛皮消; 谱学对比

**中图分类号:** R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2013)05-0496-05

**doi:** 10.3969/j.issn.1003-9783.2013.05.018

### Spectrophotometry and Chromatography Analysis of *Cynanchum bungei* and *Cynanchum auriculatum*

LIU Zhengbo<sup>1</sup>, BI Yanwen<sup>1</sup>, YANG Yongheng<sup>1</sup>, GONG Junhua<sup>1</sup>, CHEN Baofang<sup>1</sup>, SUN Yinshi<sup>2</sup> (1. Agricultural Science Research Institute of Tai'an, Tai'an 271000 Shandong, China; 2. College of Agronomy, Shandong Agricultural University, Tai'an 271018 Shandong, China)

**Abstract: Objective** To investigate the differences of characteristic spectrum of *Cynanchum auriculatum* Royle ex Wight and *Cynanchum bungei* Decne. **Methods** Ultraviolet-visible spectrum(UV-Vis), Fourier transform infrared spectroscopy(FT-IR) and high performance liquid chromatography(HPLC) were applied to investigate the spectral behavior such as peak amount, peak shape and peak intensity as well as relative content of four major bioactive substances in five different extracted parts of *C. auriculatum* and *C. bungei*. **Results** The results of UV-Vis analysis showed that petroleum ether extract and water extract of the two kinds of medicinal material showed significant difference. FT-IR analysis indicated that great differences of peak shape were shown among the petroleum ether extract, chloroform extract and water extract of the two kinds of medicinal material. HPLC results indicated that the main substances in *C. auriculatum* and *C. bungei* were basically the same, but the variation of the contents between them was great. **Conclusion** Spectral differences in *C. auriculatum* and *C. bungei* have been demonstrated, and the results will provide the theoretical basis and technical support for the chemical identification of *C. auriculatum* and *C. bungei*.

**Keywords:** *Cynanchum auriculatum* Royle ex Wight; *Cynanchum bungei* Decne; Spectroscopic comparison

白首乌主要来源为萝藦科鹅绒藤属的3种植物, 即戟叶牛皮消 *Cynanchum bungei* Decne、耳叶牛皮消 *Cynanchum auriculatum* Royle ex Wight 和隔山消

*Cynanchum wilfordii*(Maxim) Hemsl 的块根, 具有补肝肾、强筋骨、益精血、乌须发等功效<sup>[1-2]</sup>。1977年版《中华人民共和国药典》以戟叶牛皮消为白首乌的正品

收稿日期: 2013-04-15

作者简介: 刘政波, 女, 农艺师, 研究方向: 中草药的栽培、育种及质量评价。Email: liuzhengbo2000@163.com。通讯作者: 孙印石, 讲师, 研究方向: 天然活性成分的研究与开发。Email: sunyinshi2002@163.com。

基金项目: 山东省高等学校科技计划项目(J11LC24); 山东省泰安市中药现代化科技专项(5012100999)。

来源<sup>[3]</sup>。由于该种资源较少，之后的各版药典均未收载。戟叶牛皮消主产于山东泰山，又称为泰山白首乌。耳叶牛皮消主产于江苏滨海，又称为滨海白首乌<sup>[4]</sup>。目前，泰山白首乌产量低，人工栽培困难、野生资源采挖严重，物种资源已岌岌可危<sup>[5]</sup>。而江苏滨海县栽培耳叶牛皮消已有 300 余年历史，现已大面积种植<sup>[6]</sup>。因此，近年来市场上常常出现耳叶牛皮消冒充戟叶牛皮消的情况，加之两种植物外部形态和药材性状非常相近，给临床鉴别上带来了很大的困难。

为了较好地评价和鉴别两种白首乌的药材资源，本文综合运用了紫外-可见光谱(UV-Vis)、红外光谱(FT-IR)和高效液相色谱(HPLC)等方法，系统地研究了戟叶牛皮消和耳叶牛皮消 5 种不同提取部位的谱学行为。

## 1 仪器与试药

UV-2450 双光束紫外可见分光光度计(日本岛津公司); IR-200 红外分光光度计、FI-IR 傅立叶-红外变换(NICOLET 公司), 包括中红外 DTGS 检测器; DF-4 型压片机(天津市港东科技发展有限公司); Waters 600E 高效液相色谱仪(美国 Waters 公司), 包括 600E 四元梯度泵, 2996 光电二极管正列(PDA)检测器, 中文 Empowers 色谱管理系统, 四通道脱气机。SZ-93 自动双重蒸馏水器(上海亚荣化仪器厂); FW177 型中草药粉碎机(天津泰斯特仪器有限公司); KQ5200D 数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

对照品 4-羟基苯乙酮, 2, 5-二羟基苯乙酮, 2, 4-二羟基苯乙酮, 白首乌二苯酮均为本实验室自制。甲醇(分析纯, 天津永大试剂厂), 水为二次蒸馏水。耳叶牛皮消和戟叶牛皮消均采自泰安市农业科学研究院中药园。

## 2 方法与结果

### 2.1 戟叶牛皮消和耳叶牛皮消前处理方法

称取戟叶

牛皮消和耳叶牛皮消干燥样品各 5 g, 分别用石油醚、氯仿、乙酸乙酯、甲醇、水超声提取 30 min。提取液浓缩至干, 用甲醇定容至 25 mL 容量瓶中。取提取液分别以紫外-可见光谱(UV-Vis)、傅里叶变换红外光谱(FT-IR)及高效液相色谱(HPLC)进行对比分析, 寻找两种白首乌在谱学上的差异。

### 2.2 紫外光谱对比分析

**2.2.1 石油醚提取部位比较** 耳叶牛皮消和戟叶牛皮消石油醚提取部位, 波谱形状相近, 最大吸光度差别较大, 耳叶牛皮消为 2.190, 戟叶牛皮消为 0.388, 最大吸收波长均为 292 nm, 见图 1A。

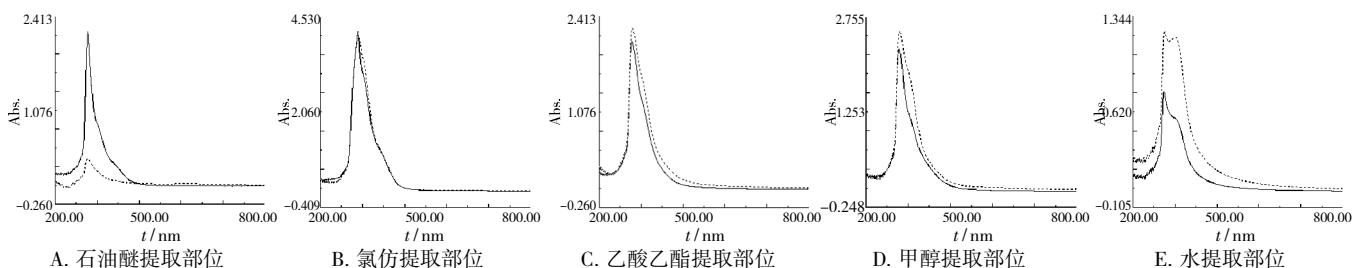
**2.2.2 氯仿、乙酸乙酯、甲醇提取部位比较** 耳叶牛皮消和戟叶牛皮消氯仿、乙酸乙酯、甲醇提取部位, 波谱形状几乎相同, 最大吸收波长差别很小, 均在 2 nm 以内。吸光度差别均小于 10%, 见图 1B-D。

**2.2.3 水提取部位比较** 耳叶牛皮消和戟叶牛皮消水提取部位, 波谱形状差别较大, 最大吸光度差别较大, 耳叶牛皮消为 0.770, 戟叶牛皮消为 1.223, 最大吸收波长耳叶牛皮消 294 nm(320 nm 为一肩峰), 戟叶牛皮消 290 nm 和 322 nm, 见图 1E。

### 2.3 红外光谱对比分析

**2.3.1 石油醚提取部位比较** 耳叶牛皮消和戟叶牛皮消的石油醚提取部位, 波谱形状差别较大, 尤其在 2358 cm<sup>-1</sup> 和 2340 cm<sup>-1</sup> 处, 戟叶牛皮消有吸收, 但耳叶牛皮消没有吸收。这预示着在戟叶牛皮消提取物中可能存在着 -C≡C- 和 -C≡N- 官能团或者累积双键。另外, 在 3427 cm<sup>-1</sup> 处的耳叶牛皮消吸收峰很强, 而戟叶牛皮消的吸收相对较弱。同时, 结合我们前期的研究工作进一步证明了耳叶牛皮消和戟叶牛皮消中含有大量的酚羟基化合物<sup>[7]</sup>, 而且, 在戟叶牛皮消中的含量相对较高, 见图 2A。

**2.3.2 氯仿提取部位比较** 耳叶牛皮消和戟叶牛皮消的氯仿提取部位, 波谱形状差别也比较大, 尤其在 2358 cm<sup>-1</sup> 和 2340 cm<sup>-1</sup> 处, 耳叶牛皮消有吸收, 而戟



注: 图中的实线为耳叶牛皮消, 虚线为戟叶牛皮消。

图 1 耳叶牛皮消和戟叶牛皮消的紫外光谱图

Figure 1 UV spectra of extracts from *C. auriculatum* and *C. bungei*

耳叶牛皮消没有吸收。这预示着在耳叶牛皮消氯仿提取物中可能存在着  $-C\equiv C-$  和  $-C\equiv N-$  官能团和累积双键, 这个结论与二者石油醚提取物正好相反。二者在  $3000\text{ cm}^{-1}\sim 2800\text{ cm}^{-1}$  区间的吸收都很强, 为饱和烃的 C-H 伸缩振动区。耳叶牛皮消在  $1710\text{ cm}^{-1}$  和  $993\text{ cm}^{-1}$  处的吸收峰略强于戟叶牛皮消的吸收峰, 而戟叶牛皮消在  $2851\text{ cm}^{-1}$  处的吸收峰略强于耳叶牛皮消的吸收峰, 见图 2B。

**2.3.3 乙酸乙酯、甲醇提取部位比较** 耳叶牛皮消和戟叶牛皮消的乙酸乙酯和甲醇提取部位, 波谱形状相

近, 吸收强度差别也比较小, 分别从此两种提取部位的红外光谱来看, 二者之间几乎没有差别, 见图 2C-D。

**2.3.4 水提取部位比较** 耳叶牛皮消和戟叶牛皮消的水提取部位, 波谱形状差别较大, 尤其在  $1415\text{ cm}^{-1}$  和  $1271\text{ cm}^{-1}$  处, 戟叶牛皮消有较强的吸收峰, 而耳叶牛皮消很弱, 甚至没有。在  $1800\text{ cm}^{-1}\sim 400\text{ cm}^{-1}$  区间戟叶牛皮消的吸收强度普遍比耳叶牛皮消大, 见图 2E。

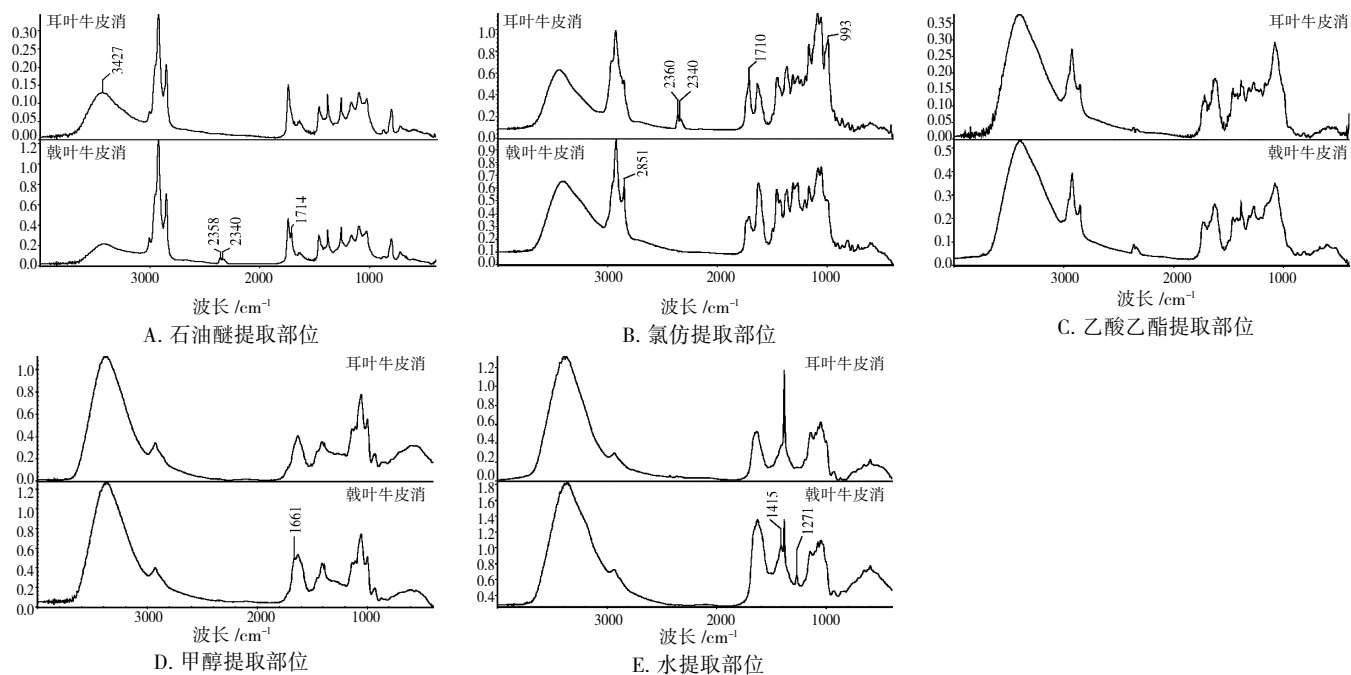


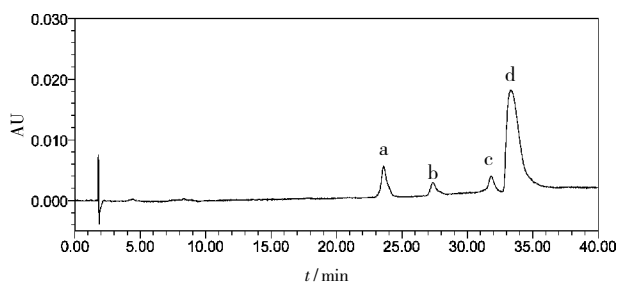
图 2 耳叶牛皮消和戟叶牛皮消的红外光谱图

Figure 2 FT-IR spectra of extracts from *C. auriculatum* and *C. bungei*

**2.4 液相色谱对比分析**

**2.4.1 液相色谱条件** 色谱柱: Symmetry-C<sub>18</sub> (4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>; 测定温度为 30 °C; PDA 检测器, 检测波长 254 nm; 进样 20 μL; HPLC 梯度二元洗脱, 0→40 min, CH<sub>3</sub>OH 10%→40%, 40→80 min, CH<sub>3</sub>OH 40%→80%。对照品色谱图见图 3。

**2.4.2 不同提取物液相色谱比较** 在液相色谱分析中, 我们比较了耳叶牛皮消和戟叶牛皮消的石油醚、氯仿、乙酸乙酯、甲醇和水共 5 个不同提取溶剂。4 种苯乙酮相对含量见表 1。耳叶牛皮消和戟叶牛皮消中总共检测到 25 个组分。在耳叶牛皮消中检测出 21 个组分, 其中, 石油醚部分 4 个, 氯仿 11 个, 乙酸乙酯 9 个, 甲醇 7 个, 水 5 个; 4 种苯乙酮在不同提取溶剂中的总量分别为 0 %、



a. 4-羟基苯乙酮; b. 2, 5-二羟基苯乙酮; c. 2, 4-二羟基苯乙酮; d. 白首乌二苯酮

图 3 4 种苯乙酮对照品的液相色谱图(254 nm)

Figure 3 Chromatograms of a mixture of four acetophenone standards

33.15 %、16.83 %、57.17 %、7.63 %。在戟叶牛皮消中检测出 25 个组分, 其中, 石油醚部分 12 个, 氯仿 9 个, 乙酸乙酯 5 个, 甲醇 20 个, 水 3

表 1 耳叶牛皮消和戟叶牛皮消的不同提取物色谱峰的相对含量

Table 1 Relative content of peak area of different extracts from *C. auriculatum* and *C. bungei*.

序号	保留时间 /min	耳叶牛皮消					戟叶牛皮消				
		石油醚	氯仿	乙酸乙酯	甲醇	水	石油醚	氯仿	乙酸乙酯	甲醇	水
1	2.001	87.31					4.78				36.52
2	2.967	4.40				54.91	4.00			11.20	
3	3.343	2.64				8.76				13.10	
4	6.438			20.85			62.24				
5	7.705		1.02				5.58			2.50	
6	8.167		1.56				5.46		8.57	3.56	
7	8.705									3.50	
8	12.151			7.97						0.82	
9	13.217									1.07	
10	14.372									0.98	
11	21.133			17.42	26.64						55.31
12	22.4			10.61					18.20		
13	23.298		2.96					3.04		24.8	
14	26.818		5.59	5.01	20.52		2.76	1.70		2.78	
15	30.11									1.21	8.17
16	31.241		0.87	11.82	36.65	7.63	2.36	1.72	24.8	5.97	
17	32.333		23.73				1.85	31.63		17.9	
18	35.088			2.27		12.14	5.55				
19	44.125		1.22	5.73					12.92	1.02	
20	47.654		0.51							0.25	
21	50.97				2.57			0.80		1.83	
22	52		8.70					0.44		0.89	
23	55.449				1.46		3.17	7.23		0.38	
24	58.069	5.65	0.99		0.88	16.56	1.59	1.40		0.80	
25	59.701		52.76	17.92	11.27		0.66	52.03	35.52	4.81	

个；4 种苯乙酮在不同提取部位中的总量分别为 6.97 %、38.09 %、24.8 %、51.45 %、0 %。通过液相色谱分析比较发现，耳叶牛皮消和戟叶牛皮消所含主要成分的种类基本相同，但是不同部位的成分含量存在差异。

### 3 讨论

**3.1 紫外光谱对比分析** 耳叶牛皮消和戟叶牛皮消不同提取部位紫外光谱对比分析中，在相同浓度下，发现 5 个提取部位的紫外波谱形状都很相近，只是在石油醚和水提取部位二者吸收强度有较大差别。以石油醚为提取溶剂时，耳叶牛皮消的最大吸光度为 2.190，戟叶牛皮消的最大吸光度为 0.388；以水为提取溶剂时，耳叶牛皮消的最大吸光度为 0.770，戟叶牛皮消的最大吸光度为 1.223。

**3.2 红外光谱对比分析** 在耳叶牛皮消和戟叶牛皮消不同提取部位红外光谱的对比分析中，石油醚、氯仿和水提取部位波谱形状差别较大，尤其是在 2300~2400  $\text{cm}^{-1}$  内，以石油醚为提取溶剂时，戟叶牛皮消

有吸收，而耳叶牛皮消没有吸收；以氯仿为提取溶剂时，耳叶牛皮消有吸收，而戟叶牛皮消没有吸收。以水为提取溶剂时，波谱形状差别也较大，在 1415  $\text{cm}^{-1}$  和 1271  $\text{cm}^{-1}$  处，戟叶牛皮消有较强的吸收峰，而耳叶牛皮消很弱，甚至没有。乙酸乙酯和甲醇提取部位波谱形状和吸收强度差别不大。

**3.3 液相色谱对比分析** 在液相色谱分析中，比较了耳叶牛皮消和戟叶牛皮消的石油醚、氯仿、乙酸乙酯、甲醇、水等 5 个不同提取部位分别在检测波长为 254 nm 下的色谱过程，也对不同提取物色谱峰的相对含量进行了研究。从二者色谱图可以看出，耳叶牛皮消中的组分较少，各组分含量也较低，主要成分的保留时间主要集中在 22~32 min 和 50~60 min；而戟叶牛皮消中的组分较多，各组分含量也比耳叶牛皮消高，主要成分的保留时间主要集中在 5~14 min、22~32 min 和 50~60 min。另外，4 种苯乙酮类成分(22~32 min)在甲醇提取物中含量都非常高。

## 参考文献:

- [1] 肖培根. 新编中药志[M]. 北京: 化学工业出版社, 2002: 521.
- [2] 李军, 徐国钧, 徐璐珊, 等. 中药首乌类的研究—II. 原植物调查和商品鉴定[J]. 中草药, 1995, 26(1): 33.
- [3] 中华人民共和国卫生部药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1997: 178.
- [4] 印敏, 冯煦, 董云发, 等. 白首乌化学成分与药理活性研究进展[J]. 中国野生植物资源, 2004, 23(2): 8.
- [5] 张宁, 闫滨, 徐星航, 等. 不同来源白首乌 rDNA ITS 序列分析[J]. 中国中药杂志, 2010, 35(12): 1537.
- [6] 王冬艳, 张洪泉. 江苏地产药白首乌的研究现状及进展[J]. 中国野生植物资源, 2005, 24(4): 13.
- [7] 刘政波. 三种鹅绒藤属植物中苯乙酮类化合物的高速逆流色谱法分离(白首乌、牛皮消、徐长卿)[D]. 泰安: 山东农业大学, 2009.

(编辑: 宋威)

## 洋参养胃颗粒的质量标准研究

梁锦杰, 李苑新, 朱盛山, 黄娟萍, 柴金珍, 吴燕红(广东药学院中药开发研究所, 广东 广州 510006)

**摘要:** 目的 建立洋参养胃颗粒的质量控制标准。方法 采用薄层色谱法对洋参养胃颗粒中的西洋参进行定性鉴别, 采用高效液相色谱法对颗粒中西洋参人参皂苷  $R_{g_1}$ 、人参皂苷 Re 和人参皂苷  $R_{b_1}$  进行含量测定。结果 建立洋参养胃颗粒中的西洋参薄层色谱鉴别方法, 薄层斑点清晰, 分离效果较好; 人参皂苷  $R_{g_1}$  进样量在 0.1~2.0  $\mu\text{g}$  ( $r=0.9998$ ), 人参皂苷 Re 进样量在 0.4~8.0  $\mu\text{g}$  ( $r=0.9996$ ), 人参皂苷  $R_{b_1}$  进样量在 1.0~20.0  $\mu\text{g}$  ( $r=0.9998$ ) 范围内, 呈良好的线性关系, 总皂苷的平均回收率为 98.77%, RSD 为 0.52%。结论 本实验所建立的定性定量方法简便、准确, 重复性好, 可用于洋参养胃颗粒的质量控制。

**关键词:** 洋参养胃颗粒; 薄层色谱法; 高效液相色谱法; 质量标准

**中图分类号:** R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2013)05-0500-04

**doi:** 10.3969/j.issn.1003-9783.2013.05.019

Study on Quality Standard of *Yangshen Yangwei* Granula

LIANG Jinjie, LI Yuanxin, ZHU Shengshan, HUANG Juanping, CHAI Jinzhen, WU Yanhong (Research & Development Institute of Chinese Materia Medica, Guangdong College of Pharmacology, Guangzhou 510006 Guangdong, China)

**Abstract: Objective** To establish the quality standard of *Yangshen Yangwei* granula. **Methods** Radix Panacis Quinquefolii was identified by thin layer chromatography (TLC). The contents of Ginseng saponins in the *Yangshen Yangwei* granula were determined by high performance liquid chromatography (HPLC). **Results** Radix Panacis Quinquefolii could be identified by TLC, and TLC spots were clear without interference of the negative control. Ginsenoside  $R_{g_1}$  was linear in the range of 0.1~2.0  $\mu\text{g}$  ( $r=0.9998$ ), ginsenoside Re was linear in the range of 0.4~8.0  $\mu\text{g}$  ( $r=0.9996$ ), ginsenoside  $R_{b_1}$  was linear in the range of 1.0~20.0  $\mu\text{g}$  ( $r=0.9998$ ), and the average recovery of ginseng saponins was 98.77% with RSD being 0.52%. **Conclusion** The established methods are simple, accurate, sensitive, reproducible, and can be used for quality control of the *Yangshen Yangwei* granula.

**Keywords:** *Yangshen Yangwei* granula; Thin layer chromatography; High performance liquid chromatography; Quality standard

洋参养胃颗粒是由西洋参、玉竹、山楂等 5 味中药组成的制剂, 具有扶正固本、滋阴清热、生津养胃、行气消滞等功效, 兼能防癌变、抗肿瘤。主治萎

缩性胃炎、慢性胃炎、胃癌等。本品对中医辨证属胃阴不足者尤为适宜, 临床用于胃脘胀痛伴灼热感、口干而苦、食少纳差、形体消瘦等。西洋参功效明

收稿日期: 2013-04-12

作者简介: 梁锦杰, 男, 硕士研究生, 研究方向: 中药制剂的研究与开发。Email: 631955460@qq.com。通讯作者: 吴燕红, 高级工程师, 研究方向: 中药新药的研究与开发。Email: 876482143@qq.com。