

丹皮紫外指纹图谱共有峰率和 变异峰率双指标序列分析*

□袁久荣 岳春华 (山东中医药大学药学院 济南 250014)

邹华彬** (山东大学化学化工学院东校区 济南 250100)

王爱武 (山东省立医院 济南 250021)

摘要: 目的: 采用指纹图谱共有峰率和变异峰率双指标序列分析法分析丹皮类药材紫外指纹图谱。方法: 本文用3种溶剂氯仿、无水乙醇及水, 系统提取丹皮等不同极性区间成分, 测定其紫外指纹图谱, 研究样品的异同。结果: 该方法可以准确对丹皮类药材进行细致的鉴别。结论: 利用共有峰率和变异峰率双指标序列分析法可以对两个或多个样本进行可靠的鉴别。

关键词: 紫外指纹图谱 双指标法 共有峰率 变异峰率 序列分析

丹皮是芍药科植物牡丹 (*Paeonia Suffruticosa Andr.*) 的根皮, 味辛、苦, 性凉, 具有清热凉血, 活血消瘀的功能, 治热入血分、吐血、阑尾炎初起、跌打损伤等^[1]。关于丹皮的质量控制, 目前主要采用性状、显微、理化鉴别^[2-5]。单溶剂提取物的紫外指纹图谱也用于丹皮的鉴别研究^[4-5]。丹皮提取物的三氯化铁、浓硝酸及浓硫酸检验, 可以区别性质相差大的药材, 但对同类丹皮药材或其同科属植物缺乏精细的鉴别能力。单溶剂提取物紫外指纹图谱鉴别, 由于提取物不能全面反映其中所含的全部成分, 鉴别

能力不强。上述方法中, 也没有对测试数据的严格分析方法。由于中药药效是基于所含的多种成分, 在对单一中药成分及它们的综合药理药效没有全面深入研究的情况下, 依据全成分对中药进行科学的质量评价是中药质量控制的正确发展之路。

本文利用共有峰率和变异峰率双指标序列分析法^[6-7], 分析了几种丹皮样品的氯仿、无水乙醇、水系统溶剂提取物的紫外指纹图谱。还考察了与丹皮性质相近、含有多种相同成分的赤芍、白芍的鉴别问题。测试并分析了赤芍、白芍的3种溶剂系统提取物的紫外指纹图谱。实验结果表明, 丹皮药材与赤芍、白芍两种不同品种的药材的共有峰率和变异

收稿日期: 2004-08-25

修回日期: 2004-09-27

* 山东省自然科学基金项目(Y2002C07): 中药全息指纹图谱智能质量控制方法学研究, 负责人: 袁久荣。

** 联系人: 邹华彬, 副教授, 博士, 从事中药及其复方化学成分与质量控制研究, Tel: 0531-8566978, Fax: 0531-8364464, E-mail: huabin-zou@hotmail.com。

峰率有显著的差异；由于赤芍与丹皮功能相近，同具有清热凉血、活血化瘀的功能，故二者的共有峰率大于丹皮与白芍的共有峰率。白芍与赤芍，前者为种植，后者为野生芍药，它们之间也具有明显的差异。山东菏泽与安徽亳州产的丹皮无明显差异。

一、实验部分

1. 仪器

760CRT 双通道紫外分光光度仪(上海分析仪器厂,带工作站),KQ-250E 超声清洗仪,10⁻⁴ 分析天平。

2. 药材及试剂

氯仿(A·R)、无水乙醇(A·R)、2次蒸馏水、丹皮等药材样品,见表1。

3. 测试样品制备及测试条件

样品加入各种提取溶剂,各在室温下采用超声方法提取1h可达到最大且稳定的提取率。测定波长190nm~400nm,狭缝1.0nm,采样间隔0.2nm。

4. 紫外指纹图谱测试液制备

将药材样品在60℃烘干2h,粉碎过60目筛,精密称取药材粉末0.250g,平行3份,置于具塞50ml锥形瓶中,精密加入20.00ml氯仿,超声提取1h,过滤,用氯仿洗涤,收集洗涤液,定容至25.00ml,作为待测液,挥干样品所带氯仿,加入20.00ml无水乙醇,超声提取1h,过滤、洗涤得25.00ml无水乙醇提取液,水提取液方法同。赤芍、白芍测试液制备方法同上。氯仿测定原液或稀释20倍,无水乙醇提取液稀释20倍,水提取液稀释10倍(使吸收度A<1或接近1),在这样的吸光度范围内,峰的最大吸收波长基本不随浓度变化而变化,以对应的

溶剂为参比溶液进行紫外指纹图谱测定。

5. 实验条件

(1)最佳提取时间。

实验表明:采用超声提取法,氯仿、无水乙醇、水在1h可达到最大且稳定的提取率。

(2)指纹图谱时间稳定性实验。

实验结果表明:3种溶剂提取液保存在0℃~4℃,在24h内保持稳定。

6. 丹皮等药材的紫外指纹图谱测定

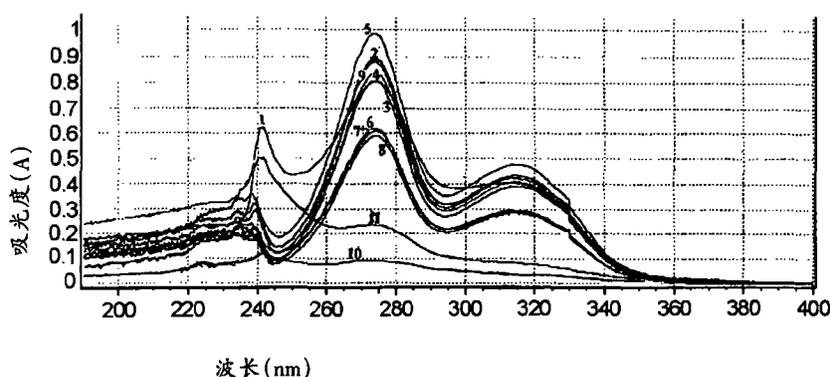
见图1~3

表1 丹皮药材样品的来源

样品	名称	来源	采集时间
S1	Paeonia Suffruticosa Andr.	连丹皮* 菏泽市牡丹区黄堤乡米庄(东)	2003.10初
S2	Paeonia Suffruticosa Andr.	连丹皮 菏泽市牡丹区黄堤乡米庄(西)	2003.10初
S3	Paeonia Suffruticosa Andr.	连丹皮 菏泽市牡丹区黄堤乡米庄(南)	2002.10初
S4	Paeonia Suffruticosa Andr.	粉丹皮 菏泽市牡丹区黄堤乡米庄	2003.10初
S5	Paeonia Suffruticosa Andr.	粉丹皮 菏泽市牡丹区黄堤乡米庄	2002.10初
S6	Paeonia Suffruticosa Andr.	粉丹皮饮片** 安徽亳州	2003.10初
S7	Paeonia Suffruticosa Andr.	粉丹皮** 安徽亳州	2003.10初
S8	Paeonia Suffruticosa Andr.	粉丹皮 菏泽市牡丹区小留乡庄村	2003.10初
S9	Paeonia Suffruticosa Andr.	粉丹皮 菏泽市牡丹区黄堤乡葛庄村	2003.10初
S10	Paeonia lactiflora Pall.	白芍* 济南建联药店	2004.2
S11	Paeonia lactiflora Pall.	赤芍* 济南建联药店	2004.3

* 来自菏泽的连丹皮与粉丹皮药材是由菏泽牡丹医药有限责任公司提供的地道药材“风丹白”。白芍、赤芍样品购自济南建联药店,由姚廷芝主任药师鉴定。

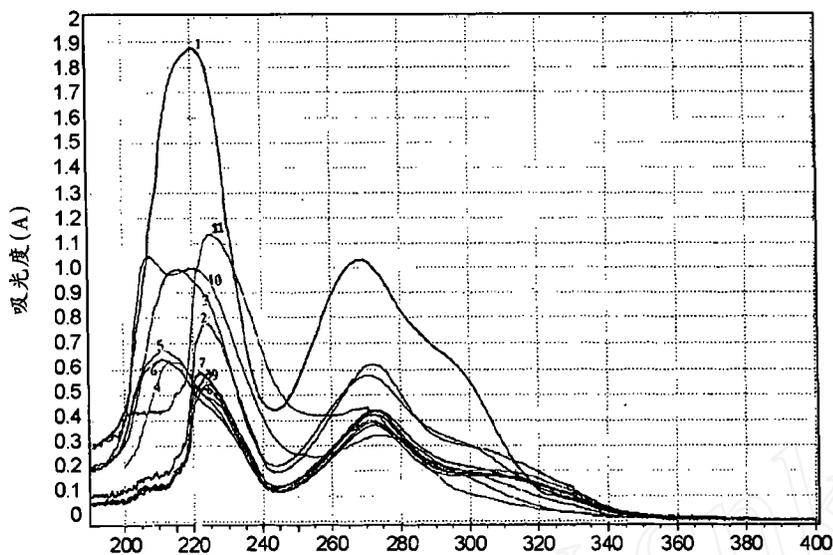
** 来自安徽亳州的粉丹皮由济南建联药店姚廷芝主任药师提供及鉴定。



狭缝:1.00nm 扫描速度:快速 采样间隔:0.2nm

1 = S1 ~ 9 = S9 丹皮、10 = S10 白芍、11 = S11 赤芍

图1 9种丹皮1种白芍1种赤芍氯仿提取液紫外指纹图谱

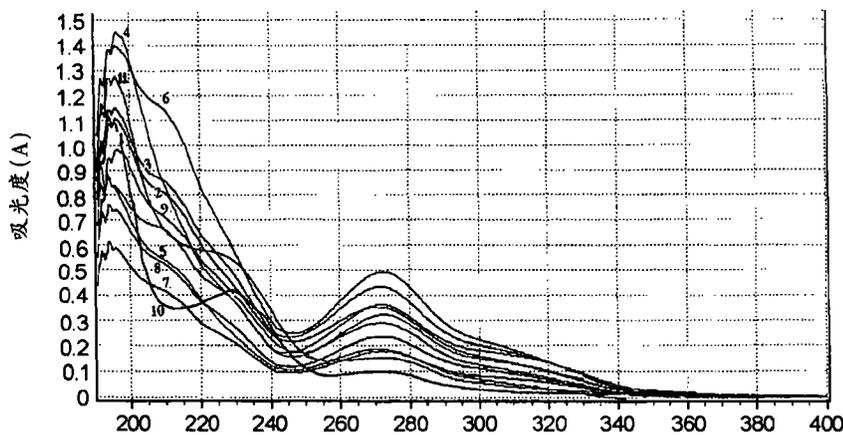


波长 (nm)

狭缝: 1.00nm 扫描速度: 快速 采样间隔: 0.2nm

1 = S1 ~ 9 = S9 丹皮、10 = S10 白芍、11 = S11 赤芍

图 2 9 种丹皮 1 种白芍 1 种赤芍无水乙醇提取液紫外指纹图谱



波长 (nm)

狭缝: 1.00nm 扫描速度: 快速 采样间隔: 0.2nm

1 = S1 ~ 9 = S9 丹皮、10 = S10 白芍、11 = S11 赤芍

图 3 9 种丹皮 1 种白芍 1 种赤芍水提取液紫外指纹图谱

二、实验结果分析

1. 紫外指纹图谱共有峰的确

对于紫外光谱指纹图谱, 同一吸收峰在不同的图谱中最大吸收波长一般没有一个固定的变化范围, 有

些峰的变化范围较大, 可采用中药指纹图谱共有峰的理论识别方法 W 正态分布检验判别法^[8], 对各种共有峰进行识别。而对于一组非常接近的吸收峰, 它们相差很小, 但不满足正态分布, 可采用如下方法确定共有峰: 对于一组吸收峰, 若组内吸收峰波长的最大差异显著小于该组与相邻组之间的平均波数差, 就确定该组峰是一组共有峰。结果见表 2。

2. 指纹图谱共有峰率和变异峰率双指标序列分析

丹皮、赤芍及白芍药材紫外指纹图谱共有峰率和变异峰率双指标序列分析结果如下(见表 3)。

从上述共有峰率和变异峰率双指标序列分析结果看, 相对于丹皮、白芍样品 S10 和赤芍样品 S11, 除了 S11 在 S7 样品序列中处于近中间的位置外, 在其它丹皮序列中都处于序列的后部, 即二者与丹皮的共有峰率很小, 其中白芍与丹皮之间的共有峰率 $\leq 50\%$, 赤芍与丹皮之间的共有峰率在 $36.36\% \sim 66.7\%$, 也很小。从变异峰率看, 相对于二者, 丹皮的变异峰率都非常大, 丹皮相对于白芍的变异峰率在 $100\% \sim 350\%$, 丹皮相对于赤芍的变异峰率在 $50\% \sim 125\%$, 这说明白芍样品 S10 和赤芍样品 S11 与丹皮之间存在着极其显著的差异。对于白芍与赤芍, 它们之间的共有峰率处于其序列的次最近位置, 且它们之间的变异峰率分别为 $33.3\%、100\%$, 这说明二者关系非常接近; 白芍样品 S10 和赤芍样品 S11 二者的共有峰率仅为 42.86% , 也明显低于绝大多数丹皮之间的共有峰率, 这说明白芍与赤芍之间有很大的差异。

另外, 从 11 种样品序列看, 有少数几种丹皮处

表2 丹皮等药材氯仿、无水乙醇和水提取液紫外指纹图谱的共有峰的识别结果

样品	吸收峰波长 λ (nm)		
	chloroform	alcohol	water
S1	240.94, 274.44, 314.37;	217.53*, 268.08;	191.61, 192.38, 193.75, 271.83
S2	239.61, 273.80, 312.47;	223.73, 272.26;	191.60, 192.38, 193.68, 195.59, 270.35
S3	236.33, 272.60, 310.93;	213.80, 269.73;	193.80, 195.60, 271.00, 309.60
S4	239.72, 274.05, 315.23;	214.81, 272.74;	191.73, 192.38, 193.70, 196.40, 271.63
S5	238.07, 273.43, 313.93;	211.40, 270.67;	191.60, 193.87, 271.01
S6	273.93, 312.46;	211.27, 271.53;	191.60, 193.80, 195.70, 271.98
S7	239.59, 274.07, 314.49;	223.38, 272.97;	191.62, 194.12, 195.28, 271.72
S8	274.11, 314.49;	222.34, 272.22;	191.63, 192.38, 193.72, 195.59, 271.17
S9	274.05, 314.40;	223.88, 270.43;	191.45, 192.41, 193.72, 195.59, 271.74
S10	240.07,	206.90, 273.47;	191.60, 193.69
S11	240.60,	225.20, 267.40;	191.60, 193.80, 196.00

* 同一列中的吸收峰为共有峰

于白芍样品 S10 或赤芍样品 S11 位置之后, 穿插于二者之间, 这说明白芍样品 S10 和赤芍样品 S11 与丹皮之间确实存在着一定的亲缘关系, 但已经有了显著的差异。

丹皮样品之间的共有峰率一般大于 60%, 个别情况下在 50% ~ 60% 之间。说明丹皮之间的相似性较大, 差异不明显。比较不同序列的共有峰率发现, 丹皮样品 S3 与其它产地同为菏泽牡丹区黄堤乡米庄、葛庄、小留乡郟村的丹皮的最大共有峰率低 16% ~ 27%, 说明该样品与其它菏泽产丹皮有较明显的差异。同时可以发现, 产自安徽亳州的两种丹皮样品与菏泽牡丹区丹皮之间的最大共有峰率同在 70% ~ 100%。这说明安徽亳州产丹皮药材与菏泽丹皮药材之间无明显的差异。

上述共有峰率和变异峰率双指标序列分析实验结果表明, 连丹皮与粉丹皮药材之间没有明显的差异。两份产自 2002 年 10 月的丹皮药材 S3、S5, 产地相同, 从共有峰序列看, 它们与同一地区的丹皮药材之间的最大共有峰率较其它菏泽 2003 年, 10 月产的丹皮药材之间的最大共有峰率低, 说明同一地区不同年份的丹皮药材之间也有一定的差异。

不同丹皮药材最相近样品组对如下:

A: S8: S9{100.00% (0.00)} S2{90.00% (11.11)};

S9: S8{100.00% (0.00)} S2{90.00% (11.11)};
 B: S1: S4[90.00% (11.11)]* S5[88.89% (0.00)];
 S2: S9[90.00% (0.00)] S8[90.00% (0.00)]
 S7 [90.00% (0.00)]
 S4: S1[90.00% (0.00)]
 S5: S1[88.89% (12.50)]
 S7: S2[90.00% (11.11)]
 C: S6: S4[80.00% (25.00)] S5[77.78% (14.29)]
 D: S3: S4[72.73% (25.00)] S6[70.00% (14.29)]
 S5[70.00% (14.29)]

在中药生产过程中, 一般采用同一品种的药材。通过上述分析发现, 即使同品种药材, 它们之间由于生产年份不同而存在着较明显的差异, 因此, 只以同品种药材进行中成药生产或组方, 从上述分析结果看, 这种方法不能保证中成药质量的稳定性, 也不能保证中药处方的质量。通过上述最相近关系组对, 可以确定各种样品的最相近样品, 在中药生产及处方过程中, 采用该方法选择药材, 可以显著提高中成药及中药处方的质量稳定性, 为中药现代化提供可靠的保证。

三、结 论

本文采用共有峰率和变异峰率双指标序列分析

表3 丹皮、赤芍及白芍药材紫外指纹图谱共有峰率和变异峰率双指标序列分析结果

S1:	S4[90.00% (11.11)]*	S5[88.89% (0.00)]	S2[72.73% (25.00)]	S6[70.00% (14.29)]
S9[63.64% (28.57)]	S8[63.64% (28.57)]	S7[63.64% (28.57)]	S3[63.64% (28.57)]	
S10[44.44% (0.00)]	S11[36.36% (50.00)]			
S2:	S9[90.00% (0.00)]	S8[90.00% (0.00)]	S7[90.00% (0.00)]	S4[81.82% (11.11)]
S1[72.73% (12.50)]	S6[63.64% (14.29)]	S5[63.64% (14.29)]	S11[60.00% (0.00)]	
S3[58.33% (28.57)]	S10[27.27% (33.33)]			
S3:	S4[72.73% (25.00)]	S6[70.00% (14.29)]	S5[70.00% (14.29)]	S7[63.64% (28.57)]
S1[63.64% (28.57)]	S2[58.33% (42.86)]	S9[50.00% (50.00)]	S8[50.00% (50.00)]	
S10[44.44% (0.00)]	S11[36.36% (50.00)]			
S4:	S1[90.00% (0.00)]	S2[81.82% (11.11)]	S6[80.00% (0.00)]	S5[80.00% (0.00)]
S9[72.73% (12.50)]	S8[72.73% (12.50)]	S7[72.73% (12.50)]	S3[72.73% (12.50)]	
S11[45.45% (20.00)]	S10[40.00% (0.00)]			
S5:	S1[88.89% (12.50)]	S4[80.00% (25.00)]	S6[77.78% (14.29)]	S7[70.00% (28.57)]
S3[70.00% (28.57)]	S2[63.64% (42.86)]	S9[54.55% (50.00)]	S8[54.55% (50.00)]	
S10[50.00% (0.00)]	S11[40.00% (50.00)]			
S6:	S4[80.00% (25.00)]	S5[77.78% (14.29)]	S9[70.00% (28.57)]	S8[70.00% (28.57)]
S7[70.00% (28.57)]	S3[70.00% (28.57)]	S1[70.00% (28.57)]	S2[63.64% (42.86)]	
S11[40.00% (50.00)]	S10[33.33% (33.33)]			
S7:	S2[90.00% (11.11)]	S9[80.00% (12.50)]	S8[80.00% (12.50)]	S4[72.73% (25.00)]
S6[70.00% (14.29)]	S5[70.00% (14.29)]	S11[66.67% (0.00)]	S3[63.64% (28.57)]	
S1[63.64% (28.57)]	S10[30.00% (33.33)]			
S8:	S9[100.00% (0.00)]	S2[90.00% (11.11)]	S7[80.00% (12.50)]	S4[72.73% (25.00)]
S6[70.00% (14.29)]	S1[63.64% (28.57)]	S5[54.55% (33.33)]	S11[50.00% (20.00)]	
S3[50.00% (50.00)]	S10[18.18% (100.00)]			
S9:	S8[100.00% (0.00)]	S2[90.00% (11.11)]	S7[80.00% (12.50)]	S4[72.73% (25.00)]
S6[70.00% (14.29)]	S1[63.64% (28.57)]	S5[54.55% (33.33)]	S11[50.00% (20.00)]	
S3[50.00% (50.00)]	S10[18.18% (100.00)]			
S10:	S5[50.00% (100.00)]	S3[44.44% (125.00)]	S1[44.44% (125.00)]	S11[42.86% (100.00)]
S4[40.00% (150.00)]	S6[33.33% (166.67)]	S7[30.00% (200.00)]	S2[27.27% (233.33)]	
S9[18.18% (350.00)]	S8[18.18% (350.00)]			
S11:	S7[66.67% (50.00)]	S2[60.00% (66.67)]	S9[50.00% (80.00)]	S8[50.00% (80.00)]
S4[45.45% (100.00)]	S10[42.86% (33.33)]	S6[40.00% (100.00)]	S5[40.00% (100.00)]	
S3[36.36% (125.00)]	S1[36.36% (125.00)]			

* S1: S4[90.00% (11.11)]: 指4号样品S4与1号样品S1的共有峰率是90.00%, 4号样品相对于1、4号样品的共有峰的变异峰率为11.11%。

法分析了丹皮、白芍和赤芍的氯仿、无水乙醇、水系统提取物的紫外指纹图谱, 该分析方法可以充分揭示不同样品之间的丰富细致关系。分析结果表明, 该分析方法可以在整体和局部区分不同品种的药

材、同品种野生和种植芍药、同一品种同一产地不同年份的丹皮药材。本研究结果表明, 山东菏泽与安徽亳州产丹皮药材之间不存在明显的差异。同时, 该方法可以确定各样品的最近似样品, 如果在中药生产及处方用药中采用最近似样品取代用同品种药材, 就可以极大地提高它们的质量稳定性, 促进中药的现代化发展。

参考文献

- 1 江苏新医学院. 中药大辞典, 上海: 上海科学技术出版社, 1995, 706, 1093, 1127~1130.
- 2 陈方. 一种牡丹皮伪品的鉴别. 基层中药杂志, 1999, 13(2): 35~36.
- 3 于占发, 毕淑英, 于秀中等. 丹皮与常见伪品的系统鉴别. 黑龙江医药, 1999, 12(2): 93, 95.
- 4 朱天明. 牡丹皮饮片及其伪品的鉴别. 中成药, 1998, 20(9): 48.
- 5 司俊文, 罗兴平, 宋至顺等. 紫斑牡丹皮与牡丹皮的比较鉴别. 中药材, 1998, 21(8): 395~396.
- 6 邹华彬, 袁久荣. 共有峰率和变异峰率双指标指纹图谱分析法分析马甲三维HPLC指纹图谱. 世界科学技术—中医药现代化, 2003, 5(4): 36~43.
- 7 邹华彬, 袁久荣, 吕清涛等. 共有峰率和变异峰率双指标序列分析法分析甘草紫外指纹图谱. 中药材, 2003, 26(9): 625~629.
- 8 邹华彬, 袁久荣, 王伟. 中药指纹图谱共有峰的理论识别—W检验判别法. 世界科学技术—中医药现代化, 2004, 6(2): 50~56.

(责任编辑: 丁镡新)

Tsinghua University, Beijing 100084)

The pharmacokinetics of Chinese medicines requires that the *in vivo* dynamics process of the complex system of multi – components of Chinese medicines should be comprehensively characterized by analytical methods. It is the key to study to what extent one component or some more can represent or characterize the process of *in vivo* dynamics of the total components. This article gives a rather deep exploration of this subject on the basis of the authors' study, in combination with related literatures and taking the *in vivo* dynamics of puerarin and the flavone of the root of kudzu vine as an example. The result shows that the process of the *in vivo* dynamics of puerarin is quite similar to that of the flavone of the root of kudzu vine and therefore, the former is able to characterize the latter. And the characteristics of *in vivo* dynamics of non – definite components of the latter's like are greatly interrelated and can characterize the latter's pharmacokinetics as well.

Key Words: puerarin, flavone of the root of kudzu vine, pharmacokinetics

Sequential Analysis of Double Indexes of Common and Variant Peak Ratios in Ultraviolet Fingerprint of Paeonia Suffruticosa Andr. Root Bark

Yuan Jiurong and Yue Chunhua

(*School of Materia Medica, Shandong University of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica, Jinan 250014*)

Zou Huabin

(*School of Chemistry and Chemical Engineering, Shandong University, Jinan 250100*)

Wang Aiwu

(*Shandong Provincial Hospital, Jinan 250021*)

Objective: To analyze the ultraviolet fingerprint of the root bark of Paeonia Suffruticosa Andr. and other medicinal crops of its kind by the method of sequential analysis of the double indexes of common and variant peak ratios in ultraviolet fingerprint. **Method:** In this article three solvents—Chloroform, absolute ethel alcohol and water are introduced to systematically extract the components of the root bark of Paeonia Suffruticosa Andr. and other medicinal plants of its kind in different polar zones, examine their ultraviolet fingerprints and study the differences of the samples. **Result:** This method is able to accurately identify the root bark of Paeonia Suffruticosa Andr. and other medicinal plants of its kind in detail. **Conclusion:** Tow or several samples can be reliably identified by the method of sequential analysis of the double indexes of common and variat peak ratios.

Key Words: ultraviolet fingerprint, method of double indexes, ratio of common peak, ratio of variant peak, sequential analysis

{ *World Science and Technology / Modernization of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica* } 83