

胡俊平, 杨 健, 任 云, 等. 不同产地连翘的电化学指纹图谱[J]. 江苏农业科学, 2017, 45(24): 173–175.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2017.24.046

不同产地连翘的电化学指纹图谱

胡俊平, 杨 健, 任 云, 刘 妍, 毕慧敏, 游富英

(邯郸学院化学化工与材料学院/邯郸学院化学化工省级本科实验教学示范中心, 河北邯郸 056005)

摘要:在 $\text{BrO}_3^- - \text{Mn}^{2+} - \text{H}^+ - \text{CH}_3\text{COCH}_3$ 振荡体系中加入连翘为反应底物, 通过电化学工作站测定柴胡的电化学指纹图谱。单因素试验确定柴胡加入量为 1.2 g、温度为 45 ℃、粒度为 80 目时, 可以取得理想的电化学指纹图谱; 在此测定条件下, 研究不同产地柴胡的电化学指纹图谱, 通过分析图谱中的特征物理参数, 达到鉴定柴胡真伪和对不同产地柴胡进行质量评价的目的。

关键词:电化学指纹图谱; 连翘; 质量评价; 单因素试验; 特征物理参数

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2017)24-0173-03

中草药的发展和研究在中国具有悠久的历史 and 深远的文化, 是中华名族不可或缺的瑰宝, 也是世界文化遗产的重要组成部分, 更为全世界人们的健康作出了不菲的贡献。众所周知, 中药是由多种化学成分组成的混合物, 只有多种成分相互作用才能达到治病的效果。因此, 很难通过测定药材某种成分达到评价中药专属性和有效性的目的^[1]。目前, 中药常用的检测方法有气相色谱指纹图谱法、高效液相指纹图谱法、红

外光谱法等^[2-3]。以上方法虽然能鉴定中草药的真伪, 但检测过程中必须对中草药进行分离、提纯等操作, 操作周期长、成本高、工作量大, 不适用于绝大多数复杂中草药的鉴别与评价。中药电化学指纹图谱在中药鉴别和质量评价方面具有可靠、快速、成本低的优点, 越来越受到人们的重视, 作为一种分析检测技术已经得到广泛的应用^[4-5]。

连翘(*Forsythia suspensa*)是落叶灌木, 属木樨科连翘属植物, 主要分布在河北、河南、陕西、辽宁、云南、四川等地。其干燥果实药性平, 味甘、苦, 具有清热解毒、消肿散结之功效, 主治痈疽、瘰癧、丹毒、风热感冒、温热入营、高热烦渴、热淋尿闭等症。连翘的化学成分为挥发油、连翘苷等木质素类, 齐墩果酸和熊果酸等三萜酸类等^[6]。本研究主要探讨连翘在 $\text{BrO}_3^- - \text{Mn}^{2+} - \text{H}^+ - \text{CH}_3\text{COCH}_3$ 体系中作振荡反应的电化学指纹图谱。其特征物理量为: (1) 诱导时间($t_{\text{诱导}}$), 从加入

收稿日期: 2017-05-18

基金项目: 河北省科技计划自筹经费项目(编号: 16272512); 河北省高等学校科学技术研究项目(编号: Z2017148); 邯郸学院项目(编号: 16208)。

作者简介: 胡俊平(1981—), 男, 河北邯郸人, 硕士, 讲师, 主要从事电化学方法对中草药质量评价的研究。Tel: (0310) 6260302; E-mail: 71917640@qq.com。

0.359 h⁻¹, 消除半衰期为 1.971 d, 停药后 24 d, 药物浓度低于检测限。

鱼类动物的体温会随着水温的变化而变化, 其采食量、新陈代谢也会随着水温的变化而改变, 鲫鱼最适合的生长温度在 20~28 ℃之间, 在非适性温度条件下, 其代谢强度明显下降, 进而影响消除速率^[8]。据统计, 在最适生长温度范围内鱼的体温每增加 1 ℃, 药物在鱼体内的代谢速率就增加 10%^[9]。药物在鱼体内的消除速度随水温的降低而减慢, 即药物的半衰期会随着水温的降低而延长^[10]。

我国规定阿苯达唑在鱼组织中的休药期为 500 ℃·d, 本研究在 (20±1) ℃水温条件下, 鲫鱼多剂量口服给药阿苯达唑 (12 mg/kg 体质量), 连续用药 5 d, 停药后 24 d 阿苯达唑亚砷低于最低残留限量标准, 结果与我国的休药期相符合。但是对于其他种类的鱼来说, 还需要试验进一步验证。

参考文献:

- [1] 蔡 军, 潘保良. 丙硫咪唑的药动力学及其应用[J]. 辽宁畜牧兽医, 2000(4): 29–30.
- [2] 沙先宜, 马 燕, 张学农, 等. 阿苯达唑纳米球大鼠体内药动力学[J]. 中国药学杂志, 2005, 40(16): 1254–1257.

- [3] 邱银生, 王大菊, 周祖坤, 等. 氧阿苯达唑和阿苯达唑在绵羊体内代谢物的比较药动力学[J]. 华中农业大学学报, 2000, 19(5): 461–464.
- [4] 肖昭彭, 骆学农, 才学鹏, 等. 高效液相色谱法测定羊体内的丙硫咪唑缓释弹代谢产物的血药浓度[J]. 分析测试技术与仪器, 1997, 3(4): 250–253.
- [5] Chiavarino B, Crestoni M E, di Marzio A, et al. Determination of sulfonamide antibiotics by gas chromatography coupled with atomic emission detection[J]. Journal of Chromatography: B – Biomedical Sciences and Applications, 1998, 706(2): 269–277.
- [6] 林海丹, 谢守新, 吴映璇. 固相萃取高效液相色谱法测定乳粉中苯并咪唑类药物残留[J]. 分析实验室, 2005, 24(1): 27–29.
- [7] 陈杖榴. 兽医药理学[M]. 2 版. 北京: 中国农业出版社, 2001: 269–271.
- [8] 刘婉莹. 北方养殖鱼类的安全越冬[J]. 黑龙江水产, 2001(4): 33–36.
- [9] Ellis A E, Roberts R J, Tytler P. The anatomy and physiology of teleost[C]//Roberts R J. Fish physiology. London: Balliere Tindall, 1978: 13–54.
- [10] Haug T, Hals P A. Pharmacokinetics of oxytetracycline in Arctic char (*Salvelinus alpinus* L.) in fresh water at low temperature[J]. Aquaculture, 2000, 186: 175–191.

试剂到振荡发生的时间;(2)振荡寿命($t_{\text{振荡}}$),振荡开始到振荡结束的时间;(3)最高电位(E_{max}),振荡曲线的电位最高值;(4)平衡电位($E_{\text{平衡}}$),振荡结束时所对应的电位。研究温度、药材粉末粒度、药材加入量等对电化学指纹图谱的影响,分析不同产地连翘电化学指纹图谱的特征。结果表明,不同产地连翘的电化学指纹图谱有明显区别,该方法可用于连翘药材的产地鉴别^[7-8]。

1 仪器与材料

1.1 仪器

WK-600A 高速药物粉碎机(山东省青州市精诚机械有限公司);DF-101S 聚热式恒温加热磁力搅拌器(河南省巩义市予华仪器有限公司);电化学工作站(瑞士万通 204);烧杯;容量瓶;玻璃棒;滴管。

1.2 试剂与材料

硫酸锰(优级纯,天津市津科精细化工研究所);硫酸(分析纯,山东莱阳经济技术开发区精细化工厂);溴酸钠(分析纯,国药集团化学试剂有限公司);丙酮(分析纯,山东莱阳经济技术开发区精细化工厂);蒸馏水。

陕西洛南连翘、河南卢氏连翘、云南丽江连翘、辽宁凤城连翘(均在邯郸仁泰大药房购买),河北涉县连翘(德路康中药材种植有限公司)。

2 方法与结果

2.1 电化学指纹图谱的测定

在转速为 460 r/min 的磁力搅拌下,控制反应温度为 $(40.00 \pm 0.05)^\circ\text{C}$,分别加入 1.200 0 g 干燥至恒质量的柴胡粉末、0.40 mol/L 丙酮溶液 5 mL 和 0.04 mol/L 硫酸锰溶液 5 mL 于恒温反应器中,开启电化学工作站,10 min 后通过注射器迅速加入 0.2 mol/L 溴酸钾溶液 10 mL,立即开始记录数据,测定反应电压和时间曲线至振荡反应结束。即获得电化学指纹图谱,如图 1 所示。

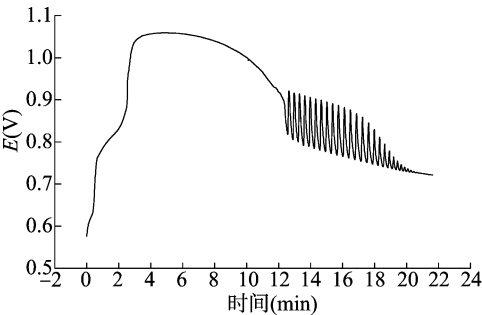


图1 陕西洛南连翘电化学指纹图谱

2.2 电化学指纹图谱的重现性

按照“2.1”的步骤,平行测定连翘电化学指纹图谱 5 次,如图 2 所示。相同产地的连翘粉末在相同试验条件下,电化学指纹图谱的各种特征物理参数基本 $RSD \leq 1.50\%$,具体数据见表 1,结果显示了试验的重现性良好。

2.3 温度对振荡体系的影响

精确称量 1.000 0 g 过 60 目筛的河北涉县连翘粉末,分别在 30、35、40、45 $^\circ\text{C}$ 温度下测定其电化学指纹图谱,结果见图 3。结果表明,随温度的变化, $E-t$ 曲线的特征数据也随之

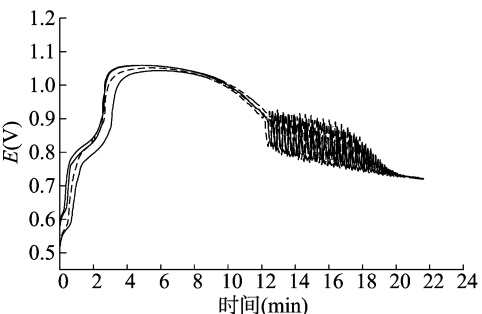


图2 连翘电化学指纹图谱的重现性

表 1 连翘电化学指纹图谱参数的重现性

试验序号	$t_{\text{诱导}}(\text{s})$	$t_{\text{振荡}}(\text{s})$	$E_{\text{max}}(\text{V})$	$E_{\text{平衡}}(\text{V})$
1	740.000	496.100	1.057	0.730
2	739.200	502.900	1.056	0.725
3	724.500	503.400	1.058	0.727
4	752.100	499.000	1.059	0.725
5	750.100	487.000	1.054	0.728
RSD(%)	1.470	1.340	0.180	0.290

注: $t_{\text{诱导}}$ 为诱导时间; $t_{\text{振荡}}$ 为振荡寿命; E_{max} 为最大电位; $E_{\text{平衡}}$ 为平衡电位。

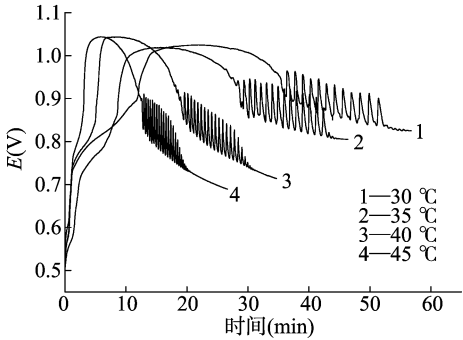


图3 温度对电化学指纹图谱的影响

改变,诱导时间和振荡时间的变化颇为明显。由图 3 可见,当温度为 30 $^\circ\text{C}$ 时,3 000 s 时振荡仍未停止,随着温度的升高,诱导时间和振荡寿命变短,表明温度对本试验的影响较大。后续试验选择诱导时间较短的 45 $^\circ\text{C}$ 进行,以使测定连翘的电化学指纹图谱用时较短,提高试验的时间成本。

2.4 中草药粒度对体系的影响

精确称量 1.200 0 g 河北涉县连翘粉末,分别选用 40、60、80 目粒度的粉末测定其电化学指纹图谱(图 4)。

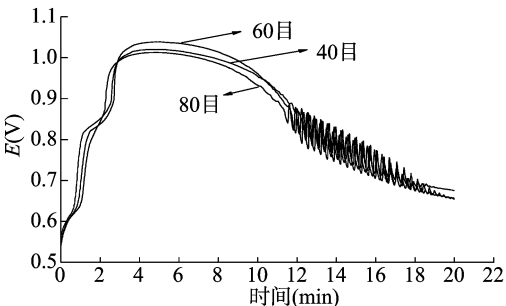


图4 粒度对电化学指纹图谱的影响

由图 4 可知,随着粉末粒度的减小,图谱的稳定性逐渐增大,当粒度大于 60 目时,图谱基本不变。

2.5 样品加入量对振荡体系的影响

分别加入过 60 目筛的河北涉县连翘粉末 0.5、0.8、1.0、1.2、1.4、1.5 g,测定其相应的电化学指纹图谱见图 5,数据见表 2。

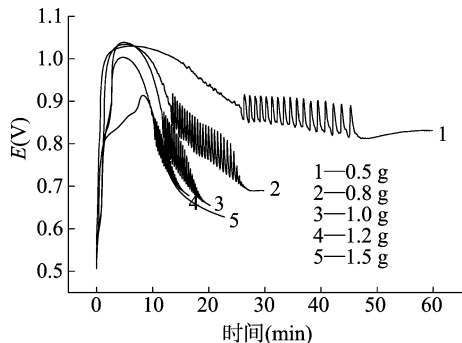


图5 连翘加入量对电化学指纹图谱的影响

表 2 连翘加入量对特征物理量的影响

连翘加入量 (g)	$t_{\text{诱导}}(\text{s})$	$t_{\text{振荡}}(\text{s})$	$E_{\text{max}}(\text{V})$	$E_{\text{平衡}}(\text{V})$
0.5	1 540	1 287	1.029	0.831
0.8	1 290	809	1.034	0.690
1.0	994	462	1.038	0.655
1.2	601	325	1.003	0.678
1.5	548	199	0.931	0.683

通过图 6 可以看出,随着中草药加入量的增多,诱导时间和振荡寿命在逐渐减小。进一步分析表 2 数据可推出,诱导时间和振荡寿命与连翘加入量之间具有一定的线性关系。根据表 2 可知,以连翘用量(m)与诱导时间、振荡寿命之间的关系进行分析。试验数据回归结果表明,停振时间和振荡寿命与连翘用量均有良好的线性关系,线性方程分别为

$t_{\text{诱导}} = -1\,092.07\,m + 2\,090.07 (r = -0.975)$, $t_{\text{振荡}} = -1\,104.83\,m + 1\,721.23 (r = -0.959)$ 。线性范围为 0.5 ~ 1.5 g。

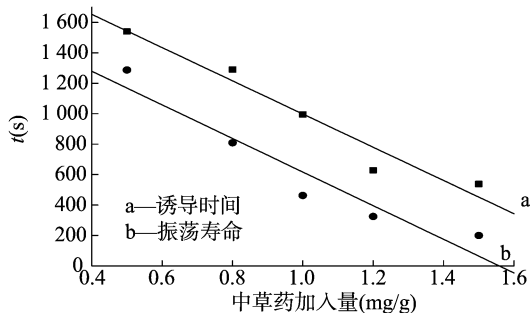


图6 诱导时间和振荡寿命的线性关系

2.6 不同产地连翘的鉴别

分别在加入量为 1.200 0 g、过 60 目筛的条件下,测定河北涉县连翘、陕西洛南连翘、河南卢氏连翘、云南丽江连翘、辽宁凤城连翘的电化学指纹图谱,测定结果见图 7,特征物理参数见表 3。

由图 7 可知,不同产地或来源的中药对振荡反应的影响不同,导致 $E-t$ 曲线的诱导时间、振荡寿命、最大电位、起振电位、振荡周期、停振时间、平衡电位、最大振幅等可量化信息和诱导曲线、振荡曲线、振荡波形等直观信息的变化不同,即各种中药均具有特征性的电化学指纹图谱。所以,电化学指纹图谱可以方便地对不同产地连翘进行鉴定。

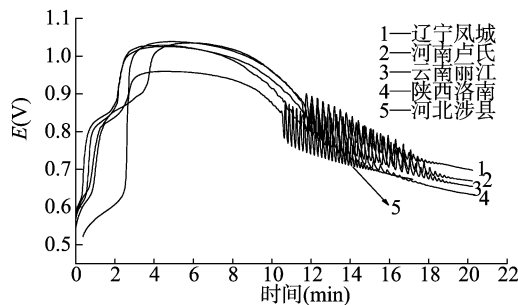


图7 不同产地连翘电化学指纹图谱

通过比较表 3 中不同产地连翘电化学指纹图谱的参数可知,河北涉县地区连翘的电化学指纹图谱诱导时间最短,仅为 606 s,振荡寿命也最短,为 315 s。而其他 4 个产地的连翘的电化学指纹图谱的诱导时间在 700 s 左右,振荡寿命在 400 s 左右,由此可见河北省涉县产地的连翘参加反应的有效成分较多,其反应最为迅速。由此可初步推断,河北省涉县产地连翘质量较好。

表 3 不同产地连翘电化学指纹图谱参数

产地	$t_{\text{诱导}}(\text{s})$	$t_{\text{振荡}}(\text{s})$	$E_{\text{max}}(\text{V})$	$E_{\text{平衡}}(\text{V})$
陕西洛南	668.0	388.0	1.029 1	0.655 2
河南卢氏	689.0	437.0	1.034 7	0.693 4
云南丽江	695.0	481.0	1.038 6	0.657 1
辽宁凤城	701.0	470.0	1.025 6	0.673 9
河北涉县	606.0	315.0	1.009 1	0.678 4

3 结论与讨论

利用封闭体系中的丙二酸为耗散物的 B-Z 振荡体系,详细研究不同产地连翘的电化学指纹图谱,并对电化学指纹图谱测定条件及定量分析进行讨论。研究表明,电化学指纹图谱适用于不同产地连翘的鉴别,且具有操作简单、重现性好和直观等特点。电化学指纹图谱体现了中药材中所有成分对振荡体系的综合影响,包含了丰富的定量定性信息。因此,中药电化学指纹图谱技术是一种通用、经济、简便、易行、有效的鉴别和评价中药的方法,具有广阔的前景。

参考文献:

[1] 张南平,肖新月,张 萍,等. 中药材质量评价与标准研究进展[J]. 中国药事,2005,19(1):47-50.
[2] 谢塔山. 色谱指纹图谱分析是中药质量控制的可行策略[J]. 中药新药与临床药理,2001,12(3):141-151.
[3] 李 燕,吴然然,于佰华,等. 红外光谱在中药定性定量分析中的应用[J]. 光谱学与光谱分析,2006,26(10):1846-1849.
[4] 张泰铭,梁逸曾,袁 斌,等. 中药电化学指纹图谱的原理、特点和用途[J]. 科学通报,2007,52(13):1513-1522.
[5] 张泰铭,梁逸曾,袁 斌,等. 中药电化学指纹图谱的检测方法和条件因素[J]. 科学通报,2007,52(9):1012-1020.
[6] 张 炜,张汉明,郭美丽,等. 连翘的药理学研究[J]. 中国现代应用药学,2000,17(1):7-10.
[7] 杜宝中,屈敏佳,马国营. 基于 $\text{BrO}_3^- - \text{MnSO}_4 - \text{H}_2\text{SO}_4$ - 丙二酸体系的中药电化学指纹图谱[J]. 科学通报,2012,57(11):904-909.
[8] 程旺兴,陈 佳,管 艺,等. 不同产地菊花的电化学指纹图谱研究[J]. 中药材,2011,34(6):885-888.