

非线性电化学指纹图谱鉴别党参与秦艽

邹桂华¹, 赵婷婷², 沈广志¹, 李守君³

(1. 牡丹江医学院药学院, 黑龙江牡丹江 157011; 2. 吉林省肝胆病医院, 长春 130021;
3. 佳木斯大学药学院, 黑龙江佳木斯 154007)

[摘要] 目的:建立党参与秦艽的非线性电化学鉴别方法。方法:在玻璃反应器中加入粒径小于0.125 mm的中草药粉一定量(准确到0.002 g)作为反应的底物,采用 $H^+ - Mn^{2+} - CH_3COCH_3 - BrO_3^-$ 为振荡体系,控制温度310 K和搅拌速度 $500 r \cdot min^{-1}$ 。以饱和甘汞电极作参比,铂电极作指示电极,采用电化学工作站记录化学振荡体系中电位 E 随时间 t 的变化,利用Origin 7.5软件绘制 $E-t$ 曲线,获得非线性电化学指纹图谱。考察图谱的特征参数:最高电位、诱导时间、振荡寿命、振荡周期,计算反应的活化能,运用聚类分析法对其进行研究。结果:非线性电化学指纹图谱的重复性良好,直观上看党参与秦艽的非线性电化学指纹图谱具有明显的差异,特征参数也有明显的不同,聚类分析将样品分为两类。结论:可以利用此方法鉴别党参与秦艽。

[关键词] 鉴别; 党参; 秦艽; 非线性电化学

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)07-0068-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2015070068

Identification of Codonopsis Radix and Gentianae Macrophylae Radix by Nonlinear Electrochemistry Fingerprint ZOU Gui-hua¹, ZHAO Ting-ting², SHEN Guang-zhi¹, LI Shou-jun³ (1. Pharmacy Department of Mudanjiang Medical University, Mudanjiang 157011, China; 2. Hepatology Hospital of Jilin Province, Changchun 130021, China; 3. Pharmacy Department of Jiamusi University, Jiamusi 154007, China)

[Abstract] **Objective:** To establish the method for identification of Codonopsis Radix and Gentianae Macrophylae Radix. **Method:** In a glass reactor with diameter less than 0.125 mm of Chinese herbal medicine powder (accurate to 0.002 g) as the substrate of reaction, the $H^+ - Mn^{2+} - CH_3COCH_3 - BrO_3^-$ for oscillation system. Temperature kept at 310 K and the stirring speed was $310 r \cdot min^{-1}$. With saturated calomel electrode as reference, the platinum electrode as indicator electrode, the electrochemical workstation records of chemical potential in the oscillation system, along with the change of time. Draw $E-t$ curve using Origin 7.5 software, get the non-linear electrochemical fingerprint. The character of parameters: the highest potential, induction time, oscillation oscillation cycle and service life, calculate the activation energy of reaction, using cluster analysis method to study. **Result:** The repeatability is good, the non-linear electrochemical fingerprint intuitively see the party to participate in the non-linear electrochemical fingerprint has obvious difference, also have obvious different characteristic parameters, sample cluster analysis divided into two categories. **Conclusion:** This method can be used to identify Codonopsis Radix and Gentianae Macrophylae Radix.

[Key words] identify; Codonopsis Radix; Gentianae Macrophylae Radix; nonlinear electrochemistry

中药秦艽为龙胆科植物秦艽、麻花秦艽、粗茎秦艽或小秦艽的干燥根,具有祛风湿、清湿热、止痹痛的功效。党参为桔梗科植物党参、素花党参或川党参的干燥根,具有补中益气、健脾益肺等功效。个头

较小的党参及其支根外观性状与小秦艽有相似之处,容易混淆。而二者功效完全不同,不能互混^[1]。因此有必要对其进行鉴别。所谓的“非线性”是指两个量之间的关系不是“直线”关系,在直角坐标系

[收稿日期] 20140209(001)

[基金项目] 黑龙江省自然科学基金项目(D200918)

[第一作者] 邹桂华, 硕士, 讲师, 从事药物分析研究, Tel:0453-6984380, E-mail:zou_gui_hua@163.com

中成一条曲线。应用化学振荡技术,中草药为振荡反应的底物,采用电化学工作站,测定其体系中电位的变化值,获得了各具特色的 $E-t$ 曲线,将其称为非线性电化学指纹图谱。电化学指纹图谱是一项较新的中药质量控制技术,控制反应条件不变,改变作为反应底物的中草药得到的非线性电化学指纹图谱具有指纹特征可作为鉴别的依据,并且该方法操作简便,样品无需预处理。利用此方法检测中草药已见报道^[2-9]。但对秦艽与党参的测定未见报道。本文采用秦艽与党参作为反应底物,在恒定的测定条件下测定了它们的非线性电化学指纹图谱。测定了它们的特征参数:最高电位、诱导时间、振荡寿命、振荡周期,计算了反应的活化能。通过对特征参数的比较进行鉴别,运用聚类分析法对数据进行分析。证明该方法可用来鉴别党参与秦艽。

1 材料

HK-2A 型超级恒温水浴(宁波海曙天恒仪器厂),5-I 型磁力搅拌器(中外合深深圳天南海北有限公司),217 型饱和甘汞电极,213 型铂电极(上海精密科学仪器有限公司),LK2005 电化学工作站(天津市兰力科化学电子高科技有限公司),带恒温夹套的玻璃反应器(自制)。

H_2SO_4 ($1 \text{ mol} \cdot L^{-1}$), $KBrO_3$ ($0.2 \text{ mol} \cdot L^{-1}$), CH_3COCH_3 ($0.6 \text{ mol} \cdot L^{-1}$), $MnSO_4$ ($0.02 \text{ mol} \cdot L^{-1}$) (均为分析纯用二次蒸馏水配制);党参、秦艽(市售,各 5 批,购自当地药店)。

2 方法与结果

2.1 方法 将草药烘干至恒重,粉碎,得到粒径小于 0.125 mm 的中草药粉末。取一定量的中草药粉末(准确到 0.002 g),加入玻璃反应器中,分别加入 H_2SO_4 , CH_3COCH_3 , $MnSO_4$, $KBrO_3$, 控制温度和搅拌速度。以 217 饱和甘汞电极作参比电极,213 型铂电极作指示电极。加入 $KBrO_3$ 时开始计时,记录电化学振荡体系中电位(E)随时间(t)的变化,用 Origin 7.5 软件绘制 $E-t$ 曲线。即得到非线性电化学指纹图谱。

2.2 非线性电化学指纹图谱及其特征参数 非线性电化学指纹图谱的 $E-t$ 曲线可分为 3 个部分:诱导曲线、振荡曲线、停振曲线。开始时电位都会快速上升,到达最高点开始缓慢的下降,此过程称为诱导期。经过一段时间后电位开始变化,表现为电位的振荡(升高→下降→再升高→再下降),称为振荡期。然后以类似阻尼振荡的方式逐渐消亡,振幅逐渐减小直至电位不再变化,即为停振期。其特征参

数如图 1 所示。本文选取了 4 个典型的参数对图谱进行考察。诱导时间(s):从反应开始到振荡开始的时间。振荡周期(s):完成 1 次振荡循环所需要的时间(以前 10 个周期的平均值为振荡周期)。振荡寿命(s):从振荡开始到振荡结束的时间。最高电位(V):诱导曲线的电位最高值。

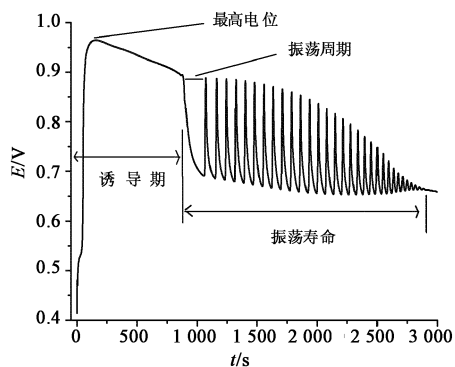


图 1 非线性电化学指纹图谱及其特征参数

Fig.1 Non-linear electrochemical fingerprint and its characteristic parameters

2.3 试验条件 综合各种因素选择的条件为:温度 310 K (接近人体的体温 $37 \text{ }^\circ\text{C}$), 搅拌速率 $500 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$, 搅拌时间 10 min 。实验体系组分浓度为: $[H^+] = 2 \text{ mol} \cdot L^{-1}$, $[Mn^{2+}] = 0.005 \text{ mol} \cdot L^{-1}$, $[CH_3COCH_3] = 0.15 \text{ mol} \cdot L^{-1}$, $[BrO_3^-] = 0.05 \text{ mol} \cdot L^{-1}$, 中草药 $= 0.02 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

2.4 重复性试验 按照试验方法和选择的试验条件对某一中草药的非线性电化学指纹图谱连续测定 5 次,计算其特征参数诱导时间(s)、振荡周期(s)、振荡寿命(s)、最高电位(V)的 RSD 均不超过 2.5%,并且将数据导入 MATLAB 数据库,经 MATLAB 计算其图谱的相关系数和夹角余弦,结果均 > 0.9 ,可以证明重复性良好,数据稳定可靠。

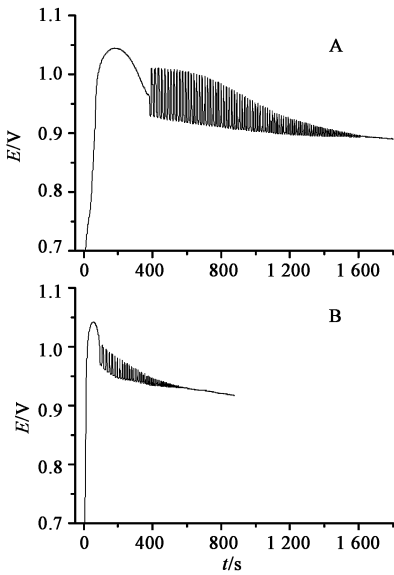
2.5 党参和秦艽的非线性电化学指纹图谱 按照 2.1 试验测定方法,2.3 项试验条件测定党参和秦艽的非线性电化学指纹谱见图 2。

2.6 党参与秦艽的鉴别

2.6.1 整体性比较 从整体上看党参与秦艽的诱导曲线都是先上升再下降有些相似,但振荡曲线有明显的不同。

2.6.2 特征参数比较 制备党参与秦艽的非线性电化学指纹图谱 5 组,计算其最高电位(V)、诱导时间(s)、振荡周期(s)、振荡寿命(s)四项特征参数,见表 1,2。

从表中的数据可以看出党参(1~5)与秦艽



A. 秦艽; B. 党参

图 2 秦艽和党参的非线性电化学指纹图谱

Fig. 2 Non-linear electrochemical fingerprint of *Codonopsis Radix* and *Gentiana Macrophylae Radix*

表 1 党参非线性电化学指纹图谱的特征参数

Table 1 Characteristic parameters of *Codonopsis Radix*

编号	最高电位/V	诱导时间/s	振荡周期/s	振荡寿命/s
1	1.041 9	92	16.2	480
2	1.041 8	91	16.3	480
3	1.041 7	91	16.2	481
4	1.041 9	92	16.3	481
5	1.041 9	91	16.2	482

表 2 秦艽非线性电化学指纹图谱的特征参数

Table 2 Characteristic parameters of *Gentiana Macrophylae Radix*

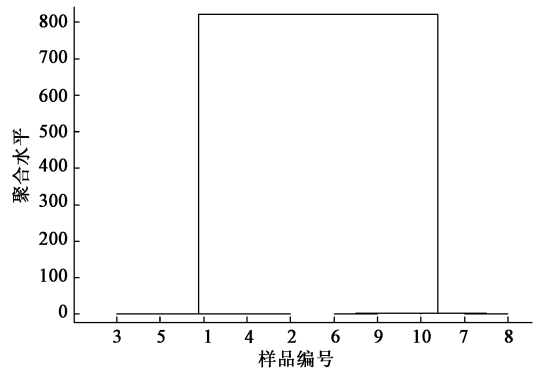
编号	最高电位/V	诱导时间/s	振荡周期/s	振荡寿命/s
1	1.044 5	378	18.2	1 252
2	1.044 5	378	18.3	1 250
3	1.044 6	379	18.2	1 250
4	1.044 4	377	18	1 253
5	1.044 6	376	18.2	1 251

(6~10)的特征参数除最高电位相近外,诱导时间、振荡寿命、振荡周期都明显不同。结果表明非线性电化学指纹图谱具有明显差异。

2.6.3 振荡反应活化能的比较 按照试验方法和选择的试验条件,选择不同的温度对党参与秦艽绘制非线性电化学指纹图谱。并将 $\ln(1/t_{in})$ 对 $(1/T)$ 进行线性拟合,线性关系良好, $r_{党参} = 0.998\ 86$,

$r_{秦艽} = 0.998\ 15$ 。对照 Arrhenius 经验公式, $\ln(1/t_{in})$ 和 $(1/T)$ 的关系为: $\ln(1/t_{in}) = -\frac{E_{in}}{RT} + A$ 。其中 A 为常数,经计算可知 $E_{in(党参)} = 110.27\ \text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$, $E_{in(秦艽)} = 114.8\ \text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ 。

2.6.4 聚类分析 将党参与秦艽各 5 个样品按实验方法测定其非线性电化学指纹图谱,并将其特征参数以平均欧氏距离为度量准则,以组间连接法“linkage”命令为分组原则,用 MATLAB7.0 对数据进行聚类分析^[4],结果见图 3。



1~5. 党参; 6~10. 秦艽

图 3 党参与秦艽特征数据的聚类分析

Fig. 3 Clustering analysis of *Codonopsis Radix* and *Gentiana Macrophylae Radix*

聚类分析结果表明,10 个样品明显的聚为两类,与非线性电化学指纹图谱得到的结果相同。证明了非线性电化学指纹图谱可以用来鉴别党参与秦艽。

3 讨论

经过前期大量的试验表明:任何一种反应物的浓度发生变化,测得的图谱都会相应的发生变化,甚至得不到图谱,特征参数也会发生改变,所以在进行检测时必须固定测定条件。结果表明:反应体系的温度升高,反应的诱导时间和振荡周期均缩小。搅拌时间增加诱导时间随搅拌时间增加而缩短,搅拌时间对振荡周期没有明显的影响。搅拌的速率过大体系不稳定。

试验表明硫酸、硫酸锰、丙酮、溴酸钾、中草药缺少任何一种物质振荡都不会发生。并且物质的浓度都在一定的范围内振荡才能发生。中草药是被氧化的有机底物(organic substrate-OS)。溴酸钾是氧化剂,与有机底物发生氧化还原反应,生成氧化产物(organic product-OP)。硫酸的作用是调节溶液的酸度,使氧化还原反应能够发生。硫酸锰是催化剂。

反应过程中会产生 Br_2 , 过量 Br_2 存在会抑制反应的发生, 丙酮起的作用是除去过量的 Br_2 , 即丙酮 + $\text{Br}_2 \rightarrow$ 溴代丙酮 + Br^- , 使反应能够顺利的进行。

只改变反应底物, 不改变其他的反应条件得到的振荡曲线就是该草药的电化学指纹图谱, 由于每种中药的成分不同, 得到的电化学指纹图谱各具特色, 因此可以利用此方法鉴别中草药。非线性电化学指纹图谱重复性良好, 测定时样品无需预处理, 只需将中草药粉碎, 操作方法简便。图谱体现的是中草药的群集信息。可以从整体上对中药进行鉴别和评价。本文测定了党参与秦艽的非线性电化学指纹图谱, 从结果可以看出, 党参与秦艽的非线性振荡曲线具有各自的指纹特征, 具有各自的特征参数, 振荡反应诱导期的活化能也不相同, 聚类分析的结果也表明实验数据明显的分为两类。试验证明利用非线性电化学指纹图谱可以用来鉴别党参与秦艽。

[参考文献]

[1] 马昕. 党参与秦艽的生药学鉴别[J]. 中国冶金工业医学杂志, 2012, 29(5): 620.

[2] 李守君, 邹桂华, 黄金宝, 等. 应用电化学指纹图谱技术鉴别几组易混中药材[J]. 中药材, 2009, 32(11): 1680-1683.

[3] 邹桂华, 李守君, 沈广志. 苍术电化学指纹图谱实验研究[J]. 中医研究, 2011, 24(8): 12-14.

[4] 邹桂华, 李守君, 沈广志. 半夏的电化学指纹图谱研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(17): 100-102.

[5] 陈效忠, 邹桂华, 李守君, 等. 电化学指纹图谱鉴别几种贝母药材的新方法[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(2): 73-75.

[6] 孙长海, 王瑜, 徐明亮, 等. 不同产地莪术电化学振荡指纹图谱的研究[J]. 中国现代应用药学, 2010, 27(10): 912-915.

[7] 李祖君, 邹桂华, 李守君, 等. 甘草参与的 B-Z 振荡反应研究[J]. 分子科学学报, 2011, 27(1): 14-18.

[8] 李守君, 黄金宝, 邹桂华, 等. 电化学振荡反应在黄芩提取工艺优化中的应用[J]. 分析化学, 2010, 38(9): 1353-1356.

[9] 王惠娟, 侯大平, 王慧丽. 应用电化学指纹图谱技术鉴别几组易混中草药[J]. 辽宁中医杂志, 2010, 37(4): 703-705.

[责任编辑 顾雪竹]