

# 不同产地和商品等级延胡索中尿苷、鸟苷、腺苷的含量分析

张静, 周浓, 丁博, 张亚楠, 陈秀红, 祁俊生\*  
(重庆三峡学院 环境与化学工程学院, 重庆 404000)

**[摘要]** **目的:**建立高效液相色谱法同时测定延胡索药材中尿苷、鸟苷和腺苷3种核苷成分含量的方法,并比较不同产地、不同商品等级中3种核苷类成分含量的差异和各成分间的结构比。**方法:**采用 Venusil MP C<sub>18</sub>(2) 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),以甲醇(A)-水(B)为流动相梯度洗脱(0~10 min, 1%~5% A; 10~15 min, 5%~15% A; 15~22 min, 15%~17% A; 22~26 min, 17%~20% A; 26~32 min, 20%~24% A),流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>,柱温 35 °C,检测波长 260 nm。运用上述方法对 38 批延胡索药材进行测定,并对测定结果进行聚类分析。**结果:**测定了延胡索药材中 3 种核苷类成分的含量,在线性范围内线性关系良好( $r > 0.9998$ ),平均回收率为 99.63%~104.24%,RSD 为 0.7%~2.3%。38 批延胡索样品中尿苷、鸟苷和腺苷均可检测到,不同产地延胡索药材中尿苷、鸟苷、腺苷量及组成结构比差异显著;同一产地不同种植户的延胡索药材其 3 种成分量及组成结构比也存在明显差异。采用聚类分析能将不同产地的 38 批延胡索药材分为 3 类。**结论:**总体上来说,不同产地延胡索药材成分的组成存在显著性差异,不同商品等级延胡索中核苷类含量无明显差异,延胡索药材的质量受自然环境、栽培技术因素的影响。该方法适用于延胡索中尿苷、鸟苷和腺苷的含量测定,为其质量控制提供保证。

**[关键词]** 延胡索; 不同产地; 商品等级; 尿苷; 鸟苷; 腺苷; 高效液相色谱法; 聚类分析

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)13-0071-06

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2016130071

## Determination of Uridine, Guanosine and Adenosine Contents in *Corydalis Rhizoma* from Different Regions and Commercial Grades

ZHANG Jing, ZHOU Nong, DING Bo, ZHANG Ya-nan, CHEN Xiu-hong, QI Jun-sheng\*  
(College of Life Environment and Chemical Engineering, Chongqing Three Gorges University, Chongqing 404000, China)

**[Abstract]** **Objective:** To establish a HPLC method for simultaneously determining the contents of three nucleosides, namely uridine, guanosine and adenosine, and compare the content differences of the three nucleosides and the composition ratios in *Corydalis Rhizoma* from different regions and commercial grades. **Method:** A Venusil MP C<sub>18</sub>(2) chromatographic column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) was used, with methanol (A) -water (B) as the mobile phase for gradient elution (0-10 min, 1% -5% A; 10-15 min, 5% -15% A; 15-22 min, 15% -17% A; 22-26 min, 17% -20% A; 26-32 min, 20% -24% A), at a flow rate of 1.0 mL · min<sup>-1</sup>. UV detection wavelength was set at 260 nm, and the temperature of the column was maintained at 35 °C. The above HPLC method was applied to determine 38 batches of *Corydalis Rhizoma* and a cluster analysis was carried out for the results. **Result:** The contents of three nucleosides in *Corydalis Rhizoma* were determined, and showed a good linear relationship within the linear range ( $r > 0.9998$ ). The average recovery rate was in the range of 99.63% - 104.24%, with the RSD ranging from 0.7% to 2.3%. The three nucleosides could be detected in all 38 batches of *Corydalis Rhizoma*. There were significant differences in contents of uridine, guanosine and adenosine and the

**[收稿日期]** 20160104(001)

**[基金项目]** 重庆市应用开发计划项目(cstc2014yykfA 110024);重庆三峡学院大学生创新创业训练计划项目

**[第一作者]** 张静,在读硕士,从事药用植物栽培与生态环境调控,Tel:15923802360,E-mail:435280513@qq.com

**[通讯作者]** \* 祁俊生,博士,教授,从事药用植物栽培与生态环境调控,Tel:023-58102290,E-mail:1208986565@qq.com

composition ratios for *Corydalis Rhizoma* from different regions; there were significant differences in contents of the three nucleosides and composition ratios for *Corydalis Rhizoma* from different farmer households of a same region. 38 batches of *Corydalis Rhizoma* were divided into three categories by cluster analysis. **Conclusion:** Overall, the contents of three nucleosides in *Corydalis Rhizoma* showed significant difference while there was no significant difference in nucleosides content for the *Corydalis Rhizoma* with different commercial grades.

[**Key words**] *Corydalis Rhizoma*; different regions; commercial grades; uridine; guanosine; adenosine; HPLC method; cluster analysis

延胡索具有活血、行气、止痛之功效,为我国传统地道药材“浙八味”之一,常用大宗药材<sup>[1-2]</sup>。延胡索适应性强,全国多地区均有分布,主产于浙江东阳、浙江磐安、陕西汉中的核心产区,重庆开县、安徽芜湖、江苏南通等小产区亦有分布<sup>[2-3]</sup>。现代研究表明,延胡索具有镇痛、降血压、抗心律失常、抗心肌缺血、抗实验性胃溃疡、抗肿瘤、保肝、增强免疫功能等生物活性<sup>[4]</sup>。核苷类物质具有调节免疫功能、促进肠道修复、降血压、抗心律失常、抗缺血性损伤、保肝、镇静等生物活性<sup>[5]</sup>,与延胡索的生物活性具有一定关联性,可作为延胡索药材的质量评价指标之一,推测其含量水平的高低可能影响延胡索制剂的疗效和质量。

据报道,延胡索中含有腺苷、尿苷、鸟苷、胞苷、胸苷和 2'-脱氧腺苷等核苷类物质<sup>[6]</sup>,含量较高的为尿苷、鸟苷、腺苷<sup>[3]</sup>。目前对延胡索质量评价主要集中在单体生物碱的含量分析和指纹图谱控制延胡索的整体质量<sup>[4]</sup>,而对延胡索主产区的不同商品等级的核苷类成分系统研究还未见报道。为此,本试验采用高效液相色谱法,对浙江、陕西、江苏、安徽、重庆 9 产地 38 批样品以尿苷、鸟苷、腺苷为指标成分,比较了不同产地、不同商品等级对其含量的影响,为筛选优良种质资源、规范化栽培和制订质量标准

提供理论依据。

### 1 材料

LC-20AT 型高效液相色谱仪(日本岛津),DZF-6050MBE 型电热恒温真空干燥箱(上海博讯实业有限公司),TDZ5-WS 型多管架自动平衡离心机(湖南赛特湘仪离心机仪器有限公司),CP225D 型分析天平(德国 Sartorius 公司)。

尿苷、腺苷对照品(中国食品药品检定研究院,批号 110887-200202,110879-200202);鸟苷对照品(南京都莱生物技术有限公司,纯度经 HPLC 峰面积归一化法计算 >98%,批号 961-07-9)。

延胡索新鲜块茎采集于重庆市开县大德镇九岭村等地,9 个产地随机采集当地的种植大户,每份样品均取自 50 株成熟植株块茎以保证样品代性,由重庆三峡学院周浓副教授鉴定为罂粟科植物延胡索 *Corydalis yanhusuo* 的干燥块茎,见表 1,根据药材大小不同分为一级和二级延胡索<sup>[6]</sup>,留样凭证存放于重庆三峡学院生物与食品基础实验教学中心。延胡索块茎清洗后,45℃ 条件下烘干,分别粉碎过 50 目筛,备用。甲醇色谱纯,水为娃哈哈纯净水。

### 2 方法与结果

**2.1 色谱条件** Venusil MP C<sub>18</sub>(2) 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相甲醇(A)-水(B)梯度

表 1 延胡索样品来源

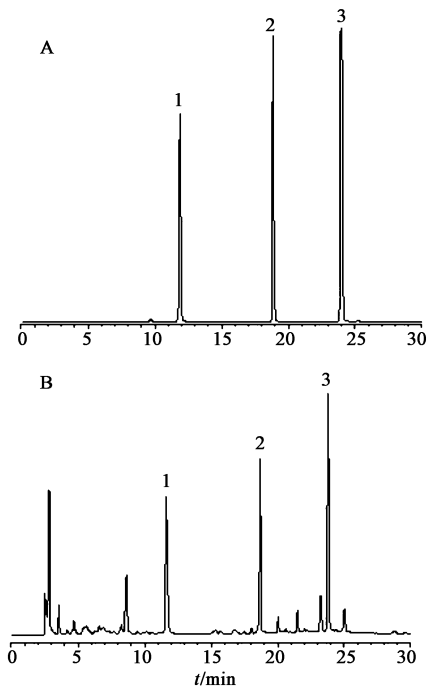
Table 1 Sample source of *Corydalis Rhizoma*

No.	采集地点	经纬度	海拔/m
CQDD	重庆市开县大德镇九岭村	108°22.59'/31°16.37'	882
CQGJ	重庆市开县郭家镇盆丰村	108°25.23'/31°18.23'	618
SXZJS	陕西省汉中市勉县周家山镇团结村	106°43.01'/33°09.53'	548
AHHQ	安徽省芜湖县花桥镇苗育村	118°37.02'/31°15.13'	1 400
ZJXW	浙江省磐安县新渥镇古竹村	120°23.27'/28°57.02'	337
ZJSH	浙江省磐安县尚湖镇小坑门	120°38.24'/29°06.58'	486
ZJRC	浙江省磐安县仁川镇半坑门	120°26.27'/28°53.11'	541
ZJQX	浙江省东阳市千祥镇东王村	120°06.49'/29°01.57'	169
JSZZ	江苏省通州区张芝镇启桥村	121°01.17'/31°56.27'	14

洗脱 (0 ~ 10 min, 1% ~ 5% A; 10 ~ 15 min, 5% ~ 15% A; 15 ~ 22 min, 15% ~ 17% A; 22 ~ 26 min, 17% ~ 20% A; 26 ~ 32 min, 20% ~ 24% A), 检测波长 260 nm, 体积流量 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, 进样量 20 μL, 柱温 35 °C。按照上述色谱条件进行分析, 各成分分离度良好, 对照品和药材色谱图见图 1。

**2.2 对照品溶液的制备** 分别精密称取减压干燥至恒重的尿苷、鸟苷、腺苷对照品适量, 加纯净水溶解并制成质量浓度分别为 1.212, 0.804, 1.200 g·L<sup>-1</sup> 的对照品贮备液。

**2.3 供试品溶液的制备** 精密称取延胡索粉末 (过 50 目筛) 1.0 g, 置 50 mL 具塞锥形瓶中, 精密加纯净水 10 mL, 称定质量, 混匀, 密封, 室温下超声提取 30 min (超声功率 300 W, 工作频率 40 kHz), 取出, 放至室温, 用纯净水补足减失质量, 倒入离心管中, 4 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 10 min, 取上清液以 0.22 μm 微孔滤膜滤过, 即得。



1. 尿苷; 2. 鸟苷; 3. 腺苷

图 1 混合对照品 (A) 及延胡索 S13 样品 (B) 的 HPLC  
Fig. 1 Mixed reference (A) and S13 sample's of Corydalis Rhizoma (B) HPLC

**2.4 线性关系考察** 取各对照品贮备液适量, 加纯净水定容至 10 mL 制成混合对照品溶液, 得到一系列不同质量浓度的 3 种核苷混合对照品溶液, 尿苷、鸟苷、腺苷质量浓度分别为 242.40, 160.80, 120.00; 181.80, 120.60, 90.00; 121.20, 80.40, 60.00; 60.60, 40.20, 30.00; 24.24, 16.08, 12.00;

12.12, 8.04, 6.00 mg·L<sup>-1</sup>; 置于 4 °C 冰箱内, 临用前以 0.22 μm 微孔滤膜滤过, 供分析用。以各对照品的质量浓度 (X, mg·L<sup>-1</sup>) 为横坐标, 相应的峰面积积分值 (Y) 为纵坐标, 绘制标准曲线, 尿苷、鸟苷、腺苷的回归方程分别为  $Y = 5.06 \times 10^4 X - 1.20 \times 10^5$  ( $r = 0.9999$ ),  $Y = 4.80 \times 10^4 X - 7.33 \times 10^4$  ( $r = 0.9998$ ),  $Y = 6.85 \times 10^4 X - 6.56 \times 10^4$  ( $r = 0.9999$ )。结果表明尿苷、鸟苷、腺苷分别在 12.12 ~ 242.40, 8.04 ~ 160.80, 6.00 ~ 120.00 mg·L<sup>-1</sup> 线性关系良好。

**2.5 精密度试验** 取同一混合对照品溶液, 在上述色谱条件下进样测定, 连续进样 6 次, 记录各核苷的色谱峰面积。结果尿苷、鸟苷、腺苷峰面积的 RSD 分别是 0.4%, 0.5%, 0.3%, 表明本方法精密度良好。

**2.6 重复性试验** 取同一延胡索样品 6 份 (S23), 每份 1.0 g, 精密称定, 依 2.3 项下方法平行制备供试品溶液, 在上述色谱条件下进样测定, 记录各核苷的色谱峰面积。结果尿苷、鸟苷、腺苷峰面积的 RSD 分别是 1.1%, 1.0%, 0.6%, 表明样品制备方法重复性良好。

**2.7 稳定性试验** 将制成的供试品溶液 (S23) 在室温条件下密闭放置, 分别在 0, 2, 4, 8, 16, 24 h 进样 6 次, 记录各核苷的色谱峰面积。结果尿苷、鸟苷、腺苷峰面积的 RSD 分别是 0.7%, 1.4%, 1.3%, 表明样品溶液 24 h 内稳定性良好。

**2.8 加样回收率试验** 取已知含量 (尿苷、鸟苷、腺苷的质量分数分别为 0.346 2, 0.216 2, 0.241 3 mg·g<sup>-1</sup>) 的 S23 延胡索粉末约 0.50 g, 共 6 份, 精密称定, 分别依次加入 2.2 项下各核苷对照品贮备液适量, 按 2.3 项下方法制备供试品溶液, 在上述色谱条件下进样测定, 计算加样回收率, 结果见表 2。

**2.9 样品含量测定** 按 2.3 项下方法制备 38 批样品的供试品溶液, 平行 3 份, 在上述色谱条件下进样测定, 测定延胡索中 3 种核苷类化合物的含量, 结果见表 3。

**2.10 聚类分析** 分别取不同产地延胡索药材中尿苷、鸟苷和腺苷的含量测定结果进行聚类分析。采用 SPSS 19.0 统计软件的 Ward 法, 选取平方 Euclidean 距离作为样品度量标准, 对 38 批样品进行系统聚类分析, 绘出树状图, 结果见图 2。

根据聚类分析结果, 将 38 批样品分为 3 类: 第一类有 34 批药材, 即 S1 ~ S11, S13 ~ S14, S16 ~ S34, S37 ~ S38, 此类药材中 3 种核苷含量与均值相差不大, 因此总含量与平均值也相差不大; 第二类有

表 2 延胡索中 3 个核苷类成分的加样回收率

Table 2 Recovery rate investigation of 3 nucleosides in Corydalis Rhizoma

成分	样品中量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
尿苷	0.173 1	0.181 8	0.361 3	103.52	104.24	2.1
	0.173 1	0.181 8	0.367 7	107.03		
	0.173 2	0.181 8	0.362 7	104.25		
	0.173 3	0.181 8	0.366 6	106.35		
	0.173 1	0.181 8	0.356 5	100.90		
	0.173 2	0.181 8	0.361 1	103.37		
鸟苷	0.108 1	0.120 6	0.228 7	99.96	99.63	2.3
	0.108 1	0.120 6	0.228 3	99.69		
	0.108 2	0.120 6	0.226 6	98.19		
	0.108 2	0.120 6	0.224 1	96.11		
	0.108 1	0.120 6	0.230 5	101.47		
	0.108 1	0.120 6	0.231 5	102.34		
	腺苷	0.120 7	0.120 0	0.242 6		
0.120 7	0.120 0	0.241 6	100.74			
0.120 7	0.120 0	0.240 9	100.15			
0.120 8	0.120 0	0.243 2	102.04			
0.120 7	0.120 0	0.242 4	101.38			
0.120 7	0.120 0	0.242 8	101.73			

3 批药材,即 S12, S15 和 S36, 此类药材中腺苷含量远高于均值,而尿苷与鸟苷与均值相差不大,导致总含量亦高于平均值;第三类有 1 批药材,即 S35, 此类药材的鸟苷含量远高于均值,而尿苷和腺苷含量与平均值相差不大,同时总含量也是高于均值,但低于第二类总含量均数,结果见表 4。

### 3 讨论

**3.1 供试品溶液制备方法的选择** 目前文献中多采用回流提取法<sup>[7]</sup>和超声提取法<sup>[8]</sup>,结果超声提取法效果显著高于回流提取法,且方便宜行,故选择超声提取法。对提取溶剂(蒸馏水,15% 甲醇,30% 甲醇,50% 甲醇,70% 甲醇,甲醇)、料液比(1:10,1:20,1:30,1:40 g·mL<sup>-1</sup>)、提取时间(10,20,30,40 min)及提取次数(1,2,3 次)进行了单变量因素的考察。结果表明,以蒸馏水为提取溶剂,提取时间 30 min,料液比 1:10 g·mL<sup>-1</sup>,超声提取 1 次,即可将延胡索中的尿苷、鸟苷、腺苷基本提取完全。该方法步骤简单,操作容易,误差较小,更能真实客观地反映出延胡索药材中核苷类成分的含量。

**3.2 色谱条件的优化** 核苷类化合物极性大,较难

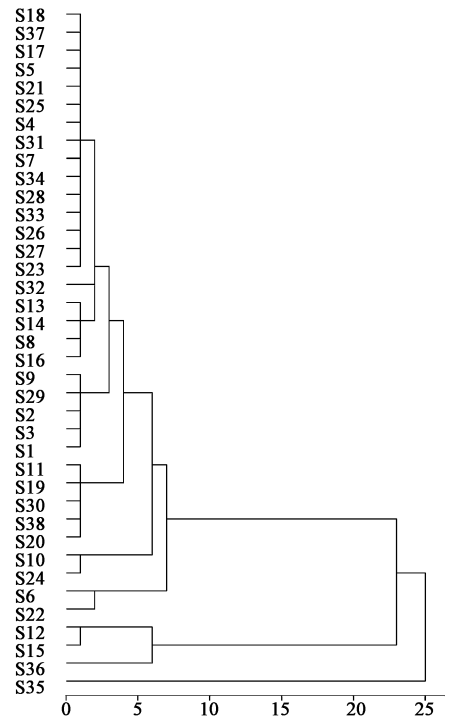


图 2 HPLC 同时测定延胡索中 6 种生物碱含量的聚类分析

Fig. 2 Dendrogram of HPLC method for simultaneous determination of six kinds of alkaloids in Corydalis Rhizoma cluster analysis

分离,比较了以下 Innoval AQ C<sub>18</sub> (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), Venusil XBP C<sub>18</sub> (L) (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), Durashell C<sub>18</sub> (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) 和 Venusil MP C<sub>18</sub> (2) (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) 4 种色谱柱。结果表明, Venusil MP C<sub>18</sub> (2) 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) 对 3 种核苷类成分达到了良好的分离,第 2~3 种色谱柱不能很好的分离 3 种核苷类成分,而第 1 种色谱柱峰形较差。同时比较了不同的流动相组成如乙腈-水、甲醇-水、乙腈-甲酸水溶液和甲醇-甲酸水溶液对样品的分离效果,发现甲醇-水做流动相时分析物的分离效果较好。因此最终选择了 Venusil MP C<sub>18</sub> (2) 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) 和甲醇-水系统梯度洗脱。在 190~400 nm 下用 PDA 检测器对混合对照品进行光谱扫描并保存全光谱,可以观测到尿苷、鸟苷和腺苷在 260 nm 处都有较大的吸收峰,故选择 260 nm 作为其检测波长。

**3.3 结果分析** 从表 3 可以看出,38 批延胡索药材均含有尿苷、鸟苷和腺苷,表明不同产地延胡索中核苷类成分较为相似,且含量较高,与陈东东等<sup>[3]</sup>的研究结果相一致。9 个不同产地延胡索的 3 种成分的量各不相同:其中 AHHQ, JSZZ 的 3 种分量

表 3 不同产地延胡索药材中尿苷、鸟苷、腺苷的质量分数及结构比 ( $n=3$ )

Table 3 Amount and structure alignment of Uridine, Guanosine and Adenosine in corydalis from different places ( $n=3$ )

No.	产地	商品规格	尿苷 ( $\bar{x} \pm s$ ) /mg·g <sup>-1</sup>	鸟苷 ( $\bar{x} \pm s$ ) /mg·g <sup>-1</sup>	腺苷 ( $\bar{x} \pm s$ ) /mg·g <sup>-1</sup>	尿苷 + 鸟苷 + 腺苷 ( $\bar{x} \pm s$ ) /mg·g <sup>-1</sup>	尿苷-鸟苷- 腺苷的结构比
S1	CQDD	一级	0.244 2 ± 0.065 6 <sup>6,7,8</sup>	0.263 3 ± 0.008 3 <sup>3,4,5,6</sup>	0.361 5 ± 0.151 2 <sup>2,3</sup>	0.869 1 ± 0.083 8 <sup>3,4,5</sup>	1.0:1.1:1.5
S2		二级	0.334 9 ± 0.007 6 <sup>4</sup>	0.238 8 ± 0.021 3 <sup>5,6,7,8</sup>	0.390 9 ± 0.215 7 <sup>2,3</sup>	0.964 6 ± 0.079 5 <sup>2,3,4,5</sup>	1.0:0.7:1.2
S3	CQDD	一级	0.321 7 ± 0.107 5 <sup>4,6,7</sup>	0.309 9 ± 0.091 4 <sup>3,4</sup>	0.402 6 ± 0.028 0 <sup>2,3</sup>	1.034 2 ± 0.049 9 <sup>2,3,4,5</sup>	1.0:1.0:1.3
S4		二级	0.325 2 ± 0.275 1 <sup>4,6,7</sup>	0.263 2 ± 0.031 6 <sup>3,4,5,6</sup>	0.304 9 ± 0.002 6 <sup>3</sup>	0.893 3 ± 0.159 5 <sup>3,4,5</sup>	1.0:0.8:0.9
S5	CQGJ	一级	0.324 3 ± 0.001 6 <sup>4,6,7</sup>	0.283 3 ± 0.019 1 <sup>3,4,5</sup>	0.325 7 ± 0.007 0 <sup>2,3</sup>	0.933 3 ± 0.003 9 <sup>2,3,4,5</sup>	1.0:0.9:1.0
S6		二级	0.300 3 ± 0.011 2 <sup>6</sup>	0.517 8 ± 0.028 3 <sup>2</sup>	0.369 7 ± 0.014 2 <sup>2,3</sup>	1.187 8 ± 0.425 0 <sup>1,2,3,4</sup>	1.0:1.7:1.2
S7	CQGJ	一级	0.360 4 ± 0.036 9 <sup>2,3,4</sup>	0.289 5 ± 0.073 6 <sup>3,4,5</sup>	0.199 6 ± 0.062 7 <sup>3</sup>	0.849 4 ± 0.071 1 <sup>3,4,5</sup>	1.0:0.8:0.6
S8		二级	0.421 0 ± 0.183 3 <sup>1,2,3</sup>	0.249 3 ± 0.018 5 <sup>4,6,7</sup>	0.380 8 ± 0.245 5 <sup>2,3</sup>	1.051 1 ± 0.167 1 <sup>2,3,4,5</sup>	1.0:0.6:0.9
S9	SXZJS	一级	0.273 6 ± 0.023 0 <sup>6,7</sup>	0.249 8 ± 0.007 6 <sup>4,6,7</sup>	0.485 0 ± 0.216 4 <sup>2,3</sup>	1.008 4 ± 0.244 0 <sup>2,3,4,5</sup>	1.0:0.9:1.8
S10		二级	0.221 5 ± 0.023 8 <sup>6,7</sup>	0.192 2 ± 0.001 0 <sup>8</sup>	0.152 0 ± 0.063 5 <sup>3</sup>	0.565 7 ± 0.079 8 <sup>4,5</sup>	1.0:0.9:0.7
S11	AHHQ	一级	0.425 7 ± 0.008 0 <sup>1,2,3</sup>	0.287 5 ± 0.018 0 <sup>3,4,5</sup>	0.052 6 ± 0.080 0 <sup>3</sup>	0.765 9 ± 0.007 8 <sup>3,4,5</sup>	1.0:0.7:0.1
S12		二级	0.371 1 ± 0.015 3 <sup>2,3</sup>	0.289 3 ± 0.073 8 <sup>3,4,5</sup>	0.885 7 ± 0.781 5 <sup>2</sup>	1.546 1 ± 0.465 1 <sup>1,2</sup>	1.0:0.8:2.4
S13	AHHQ	一级	0.427 2 ± 0.040 0 <sup>1,2</sup>	0.321 5 ± 0.000 2 <sup>3,4</sup>	0.396 4 ± 0.043 9 <sup>2,3</sup>	1.145 1 ± 0.006 1 <sup>1,2,3,4</sup>	1.0:0.8:0.9
S14		二级	0.466 7 ± 0.021 9 <sup>1</sup>	0.318 7 ± 0.000 1 <sup>3,4</sup>	0.382 4 ± 0.044 6 <sup>2,3</sup>	1.167 8 ± 0.005 9 <sup>1,2,3,4</sup>	1.0:0.7:0.8
S15	AHHQ	一级	0.438 4 ± 0.040 1 <sup>1,2</sup>	0.260 6 ± 0.013 9 <sup>3,4,5,6</sup>	0.963 2 ± 0.199 6 <sup>1</sup>	1.662 3 ± 0.102 9 <sup>1</sup>	1.0:0.6:2.2
S16		二级	0.425 9 ± 0.039 1 <sup>1,2</sup>	0.291 3 ± 0.014 3 <sup>3,4,5</sup>	0.349 7 ± 0.043 6 <sup>2,3</sup>	1.066 9 ± 0.144 0 <sup>2,3,4,5</sup>	1.0:0.7:0.8
S17	ZJXW	一级	0.403 4 ± 0.003 3 <sup>1,2,3</sup>	0.277 6 ± 0.029 9 <sup>3,4,5,6</sup>	0.310 8 ± 0.090 6 <sup>2,3</sup>	0.991 9 ± 0.038 1 <sup>2,3,4,5</sup>	1.0:0.7:0.8
S18		二级	0.385 1 ± 0.001 7 <sup>1,2,3</sup>	0.276 1 ± 0.063 4 <sup>3,4,5,6</sup>	0.278 4 ± 0.022 3 <sup>3</sup>	0.939 6 ± 0.024 5 <sup>2,3,4,5</sup>	1.0:0.7:0.7
S19	ZJXW	一级	0.377 2 ± 0.002 1 <sup>2,3</sup>	0.291 5 ± 0.014 4 <sup>3,4,5</sup>	0.085 1 ± 0.014 3 <sup>3</sup>	0.753 8 ± 0.155 1 <sup>3,4,5</sup>	1.0:0.8:0.2
S20		二级	0.358 9 ± 0.200 5 <sup>2,3,4</sup>	0.263 4 ± 0.032 2 <sup>3,4,5,6</sup>	0.150 3 ± 0.004 2 <sup>3</sup>	0.772 6 ± 0.170 9 <sup>3,4,5</sup>	1.0:0.7:0.4
S21	ZJXW	一级	0.309 5 ± 0.005 7 <sup>6,7</sup>	0.284 9 ± 0.007 3 <sup>3,4,5</sup>	0.343 4 ± 0.135 4 <sup>2,3</sup>	0.937 8 ± 0.049 9 <sup>2,3,4,5</sup>	1.0:0.9:1.1
S22		二级	0.467 7 ± 0.019 1 <sup>1,2</sup>	0.486 5 ± 0.028 3 <sup>2</sup>	0.382 4 ± 0.112 4 <sup>2,3</sup>	1.336 6 ± 0.017 7 <sup>1,2,3</sup>	1.0:1.0:0.8
S23	ZJSH	一级	0.346 2 ± 0.043 2 <sup>3,4</sup>	0.216 2 ± 0.081 7 <sup>6,7,8</sup>	0.241 3 ± 0.046 6 <sup>3</sup>	0.803 7 ± 0.054 6 <sup>3,4,5</sup>	1.0:0.6:0.7
S24		二级	0.193 6 ± 0.003 3 <sup>7</sup>	0.132 7 ± 0.020 8 <sup>9</sup>	0.074 8 ± 0.004 2 <sup>3</sup>	0.401 2 ± 0.255 2 <sup>5</sup>	1.0:0.7:0.4
S25	ZJSH	一级	0.316 7 ± 0.002 3 <sup>7</sup>	0.312 6 ± 0.010 8 <sup>9</sup>	0.336 7 ± 0.002 4 <sup>3</sup>	0.966 0 ± 0.003 6 <sup>5</sup>	1.0:1.0:1.1
S26		二级	0.296 1 ± 0.055 8 <sup>6</sup>	0.210 7 ± 0.003 9 <sup>7,8</sup>	0.241 0 ± 0.006 1 <sup>3</sup>	0.747 7 ± 0.022 9 <sup>3,4,5</sup>	1.0:0.7:0.8
S27	ZJSH	一级	0.302 6 ± 0.003 7 <sup>6,7</sup>	0.239 8 ± 0.008 9 <sup>5,6,7,8</sup>	0.249 4 ± 0.001 9 <sup>3</sup>	0.791 9 ± 0.001 9 <sup>3,4,5</sup>	1.0:0.8:0.8
S28		二级	0.345 9 ± 0.007 1 <sup>3,4</sup>	0.252 6 ± 0.031 3 <sup>4,6,7</sup>	0.240 2 ± 0.011 1 <sup>3</sup>	0.838 7 ± 0.009 2 <sup>3,4,5</sup>	1.0:0.7:0.7
S29	ZJRC	一级	0.334 8 ± 0.058 1 <sup>4,5</sup>	0.284 0 ± 0.002 1 <sup>3,4,5</sup>	0.496 3 ± 0.093 1 <sup>2,3</sup>	1.115 1 ± 0.095 5 <sup>1,2,3,4</sup>	1.0:0.8:1.5
S30		二级	0.420 0 ± 0.000 6 <sup>1,2,3</sup>	0.312 1 ± 0.021 9 <sup>3,4</sup>	0.144 6 ± 0.012 3 <sup>3</sup>	0.877 6 ± 0.004 1 <sup>2,3,4,5</sup>	1.0:0.7:0.3
S31	ZJRC	一级	0.363 7 ± 0.039 5 <sup>2,3,4</sup>	0.249 8 ± 0.002 0 <sup>4,6,7</sup>	0.303 3 ± 0.031 6 <sup>2,3</sup>	0.916 7 ± 0.004 7 <sup>2,3,4,5</sup>	1.0:0.7:0.8
S32		二级	0.305 6 ± 0.031 5 <sup>6,7</sup>	0.147 7 ± 0.014 2 <sup>9</sup>	0.258 2 ± 0.003 5 <sup>3</sup>	0.711 5 ± 0.308 3 <sup>3,4,5</sup>	1.0:0.5:0.8
S33	ZIQX	一级	0.374 0 ± 0.036 7 <sup>2,3</sup>	0.265 1 ± 0.002 8 <sup>3,4,5,6</sup>	0.236 7 ± 0.002 9 <sup>3</sup>	0.875 8 ± 0.001 9 <sup>3,4,5</sup>	1.0:0.7:0.6
S34		二级	0.355 7 ± 0.003 3 <sup>3,4</sup>	0.280 9 ± 0.003 0 <sup>3,4,5,6</sup>	0.219 9 ± 0.380 2 <sup>3</sup>	0.856 5 ± 0.100 0 <sup>3,4,5</sup>	1.0:0.8:0.6
S35	JSZZ	一级	0.118 0 ± 0.002 3 <sup>8</sup>	0.798 3 ± 0.028 3 <sup>1</sup>	0.223 3 ± 0.003 1 <sup>3</sup>	1.139 6 ± 0.095 5 <sup>1,2,3,4</sup>	1.0:6.8:1.9
S36		二级	0.384 6 ± 0.007 6 <sup>1,2,3</sup>	0.305 6 ± 0.021 9 <sup>3,4,5</sup>	0.641 6 ± 0.021 8 <sup>1,2,3</sup>	1.331 7 ± 0.017 7 <sup>1,2,3</sup>	1.0:0.8:1.7
S37	JSZZ	一级	0.394 6 ± 0.007 1 <sup>1,2,3</sup>	0.274 8 ± 0.007 3 <sup>3,4,5,6</sup>	0.273 2 ± 0.009 9 <sup>3</sup>	0.942 7 ± 0.008 0 <sup>2,3,4,5</sup>	1.0:0.7:0.7
S38		二级	0.419 5 ± 0.000 5 <sup>1,2,3</sup>	0.322 9 ± 0.024 6 <sup>3</sup>	0.186 0 ± 0.014 2 <sup>2,3</sup>	0.928 4 ± 0.275 0 <sup>2,3,4,5</sup>	1.0:0.8:0.4

注:同列数据中上角数字不同者表示差异显著 ( $P < 0.05$ )。

整体较高, SXZJS, ZJSH 的 3 种成分量均最低, 且各产地中尿苷、鸟苷、腺苷 3 种成分内在的结构比 (成分之间含量的比) 均有很大差别。此结果表明延胡索药材因产地不同其核苷类成分量及结构比均具有较大差异。据报道, 不同组成及不同比例的核苷 (尿苷、鸟苷、腺苷) 对免疫系统具有截然相反的作用

[9-10], 说明成分间的结构比 (成分之间含量的比) 与药效具有密切相关性。推测这种组分结构比的差异可能是造成延胡索药材药效差异的根本原因。综合文献结论及实验结果得出, 为保证临床疗效, 建议延胡索药材的质量应从成分量和结构比两方面进行严格控制。

表 4 不同产地延胡索中 3 种核苷类含量聚类分析的不同组别各组的平均质量分数 ( $n=3$ )

Table 4 Average content by cluster analyzed of three kinds of nucleoside in different groups and in different place of production ( $n=3$ )

分类	产地	尿苷	鸟苷	腺苷	总含量
1	S1 ~ S11, S13 ~ S14, S16 ~ S34, S37 ~ S38	0.350 5	0.278 2	0.282 5	0.907 5
2	S12, S15, S36	0.398 0	0.285 2	0.830 2	1.513 4
3	S35	0.118 0	0.798 3	0.223 3	1.139 6

结果表明,9 个不同产地延胡索药材中尿苷、鸟苷、腺苷 3 种成分的量及组分结构比均存在较大差异。其中 ZJXW, ZJSH, ZJRC, ZJQX 的 3 种成分的量及组成结构比较相似,分别为 1.0:0.8:0.7, 1.0:0.8:0.8, 1.0:0.7:0.8 和 1.0:0.7:0.6。推测原因可能是浙江省 4 个产地地域相近,生长环境相似。表明浙江磐安、浙江东阳及其周边地区产延胡索的品质优于其他产地,进一步支持了浙江磐安、浙江东阳为我国道地延胡索传统认识,支持游修琪等<sup>[11]</sup>的观点。

同时,19 批不同产地延胡索一级样品中尿苷、鸟苷、腺苷及总含量的平均值为 0.339 8, 0.303 3, 0.330 8, 0.973 8  $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ , 结构比为 1.0:0.9:1.0, 19 批不同产地延胡索二级样品中尿苷、鸟苷、腺苷及总含量的平均值为 0.358 0, 0.281 7, 0.317 6, 0.949 1  $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ , 结构比为 1.0:0.8:0.9, 可见不同商品等级延胡索中尿苷、鸟苷、腺苷及总含量的量相近,不同等级延胡索中核苷类成分含量差异不显著,表明延胡索商品等级与核苷类成分的量没有相关性,与孙婷婷等<sup>[12]</sup>的研究结果相一致。

结果显示,来源于同一栽培区域不同种植基地的延胡索中尿苷、鸟苷、腺苷及总量的含量亦不相同。其中以安徽省芜湖县花桥镇苗育村(AHHQ)中(S11)与(S15)核苷总量相差 2 倍多,可能与栽培技术、田间管理等<sup>[13-14]</sup>有关。进一步表明需加大对延胡索的人工栽培技术研究,以确保延胡索药材资源可持续利用和延胡索医药产业可持续发展。

[参考文献]

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010;130-131.

[2] 周晓龙. 延胡索产销分析[J]. 中国现代中药,2013, 15(4):340-341.

[3] 陈东东,陈亚运,周萍,等. HPLC 同时测定延胡索中 6 个核苷成分含量[J]. 天然产物研究与开发,2015, 27(9):1571-1575.

[4] 陈东东,周萍,白钢钢,等. 基于 HPLC 中药指纹图谱技术延胡索药材及其制剂的质量控制探讨[J]. 中国中药杂志,2015,40(12):2470-2473.

[5] 张雪梅,杨丰庆,夏之宁. 食品中核苷类成分的药理作用研究进展[J]. 食品科学,2012,33(9):277-282.

[6] 陈斌龙,周晓龙. 浙江省地方标准:延胡索生产技术规程, DB33/T 382-2013[S]. 杭州:浙江省质量技术监督局,2013.

[7] 周菊峰,黄兰芳,郭方迺. LC-ESI-MS 快速同时测定冬虫夏草中主要核苷类成分[J]. 中国中药杂志,2009, 34(18):2349-2352.

[8] Duan B Z, Wang L Z, Dai X H, et al. Identification and quantitative analysis of nucleosides and nucleobases in aqueous extracts of *Fritillaria cirrhosa* D. DON. using HPLC-DAD and HPLC-ESI-MS[J]. Anal Lett, 2011, 44(15):2491-2502.

[9] 李绍平,杨丰庆. 免疫增强药用核苷组合物及其在制备药物或功能食品中的应用:中国, CN101306005-A [P]. 2008-11-19.

[10] 李绍平,杨丰庆,余黎. 免疫抑制药用核苷组合物及其在制备免疫抑制药物中的应用:中国, CN101306004-A [P]. 2008-11-19.

[11] 游修琪,顾雪竹,毛淑杰,等. 延胡索产地不同加工品 HPLC 指纹图谱研究[J]. 中成药,2009, 31(10): 1481-1484.

[12] 孙婷婷,龚千锋,李烧烧,等. 延胡索指标性成分延胡索乙素的影响因素分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013,19(3):89-92.

[13] 许翔鸿,王峥涛,余国奠. 光照对延胡索生长及生物碱积累影响的初步研究[J]. 中药材,2004, 27(11): 804-805.

[14] 马月光,岳显可,曹岗,等. 不同产地延胡索饮片炮制前后有效成分含量的测定[J]. 中药材,2013, 36(11):1754-1758.

[责任编辑 顾雪竹]