

# DNA 条形码鉴定与功效组分测定在紫草质量评价中的应用

任阳阳<sup>1,2</sup>, 姜春丽<sup>2,3</sup>, 张鹏<sup>2</sup>, 樊佳佳<sup>1,2</sup>, 李西文<sup>2</sup>, 刘霞<sup>1\*</sup>, 孙奕<sup>2\*</sup>

(1. 武汉理工大学 化学化工与生命科学学院, 武汉 430070;

2. 中国中医科学院 中药研究所, 北京 100700; 3. 淮北师范大学, 安徽 淮北 235000)

**[摘要]** 目的:利用 DNA 条形码技术对中药紫草进行基源鉴定,并建立紫草的功效多组分含量测定方法,为全面评价紫草药材质量提供依据。方法:对不同产地紫草进行 DNA 条形码基原鉴定;采用高效液相色谱法测定紫草中萘醌类成分与含量, Thermo BDS Hypersil C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相 0.2% 冰乙酸-乙腈梯度洗脱, 流速 0.8 mL·min<sup>-1</sup>, 检测波长 275 nm, 柱温 35 °C。结果:经 DNA 条形码鉴定了 11 批药材, 均为紫草科植物新疆紫草 *Arnebia euchroma* 的干燥根;测定了 11 批新疆紫草的 8 种萘醌类功效组分含量, 各组分均显示良好分离;不同成分在线性范围内线性关系良好, 平均回收率在 95.26% ~ 101.40%, RSD 均在 0.7% ~ 1.8% (n=6)。结论:DNA 条形码鉴定确保了新疆紫草药材基源的准确性, 组分含量测定方法准确可靠、重复性好, 二者结合可作为紫草的质量控制方法。

**[关键词]** 紫草; DNA 条形码; 分子鉴定; 萘醌类成分; 质量评价

**[中图分类号]** R282.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2017)12-0038-06

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2017120038

**[网络出版地址]** <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20170324.1411.022.html>

**[网络出版时间]** 2017-03-24 14:11

## Quality Evaluation in *Arnebiae Radix* by Determination of Bioactive Components and DNA Barcoding Identification

REN Yang-yang<sup>1,2</sup>, JIANG Chun-li<sup>2,3</sup>, ZHANG Peng<sup>2</sup>, FAN Jia-jia<sup>1,2</sup>, LI Xi-wen<sup>2</sup>, LIU Xia<sup>1\*</sup>, SUN Yi<sup>2\*</sup>

(1. School of Chemistry, Chemical Engineering and Life Science, Wuhan University of Technology, Wuhan 430070, China; 2. Institute of Chinese Meteria Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China; 3. College of Life Sciences, Huaibei Normal University, Huaibei 235000, China)

**[Abstract]** **Objective:** To establish the quality evaluation method for *Arnebiae Radix* based on using DNA barcoding technique, and quantification methods for determination of the active components by HPLC, in order to evaluate the quality of *Arnebiae Radix*. **Method:** To identify comfrees collected from different resources by DNA barcoding technique, and analyze the naphthoquinones of *Arnebiae Radix* by chromatography method. Thermo BDS Hypersil C<sub>18</sub> column was used with Acetonitrile-pure water-0.2% acetic acid as mobile phase in gradients elution. The flow rate was 0.8 mL·min<sup>-1</sup>. The UV detector was monitored at 275 nm, and the column temperature was 35 °C. **Result:** The 11 herbs of different resources were identified as *Arnebiae Radix* by DNA barcoding techniques. The active components from *Arnebiae Radix* were analyzed by HPLC chromatography. The components

**[收稿日期]** 20161220(016)

**[基金项目]** 国家“重大新药创制”科技重大专项(2014ZX09304307001-002-006)

**[第一作者]** 任阳阳, 在读硕士, 从事中药资源与分子鉴定的研究, Tel:13026382724, E-mail:1129136658@qq.com

**[通讯作者]** \* 刘霞, 硕士生导师, 副教授, 从事中药资源鉴定的研究, Tel:13871187567, E-mail:lrx1125@126.com;

\* 孙奕, 副研究员, 从事天然药物化学的研究, Tel:010-64021051, E-mail:sylotus@hotmail.com

were separated completely under chromatography, and the average recoveries were from 95.26% to 101.40%, its RSD values are between 0.7% and 1.8% ( $n = 6$ ). **Conclusion:** The methods of molecular identification and HPLC chromatography were combined to evaluate the quality of medicinal materials of shikonin, which are simple and easy to operate. It can be used as quality control methods for shikonin.

[ **Key words** ] Arnebiae Radix; DNA barcode; molecular identification; naphthoquinones; quality evaluation

紫草始载于《神农本草经》,谓其:“主心腹邪气五疸,补中益气,利九窍,通水道”,具有清热凉血,活血解毒,透疹消斑之功效<sup>[1]</sup>。2015 年版《中国药典》一部中记载其来源为紫草科植物新疆紫草 *Arnebia euchroma* 或内蒙古紫草(黄花软紫草) *A. guttata* 的干燥根<sup>[1]</sup>。其中,新疆紫草为软紫草,主产于新疆、西藏等地;内蒙古紫草为硬紫草,主产于内蒙古、东北等地。紫草是我国常用传统中药材之一,其质量关系到用药的安全性和有效性。但是,市场上不同产地来源的紫草质量存在很大差异,紫草混伪品多为紫草科植物滇紫草、紫草、西藏紫草、天山紫草等<sup>[2-3]</sup>;而误用不同基源的植物当作紫草入药势必会影响到紫草药材及其相关中成药的质量与品质。近年来,随着 DNA 条形码鉴定技术在中药材基源鉴定方面广泛应用,该方法已纳入 2015 年版《中国药典》一部。其不仅能够不受药材性状和外界因素影响,而且可从基因水平上提供一种鉴别依据,尤其适用于中药材的鉴定与质量评价<sup>[4-7]</sup>。

紫草的主要功效组分为一类脂溶性较强的萘醌类化合物,包括紫草素,去氧紫草素,乙酰紫草素, $\beta$ -羟基异戊酰紫草素等,这些成分具有杀菌抗炎、抗氧化、抗肿瘤、抗病毒、止血和保肝等作用<sup>[8-11]</sup>。在以往对紫草药材质量评价中,大多文献依据《中国药典》进行传统的药材含量测定,或对紫草中的  $\beta$ - $\beta'$ -二甲基丙烯酸酯阿卡宁等 1~3 种特征性成分进行含量测定<sup>[3,12-15]</sup>,还有文献报道将紫草与其愈伤组织中的萘醌类成分进行比较<sup>[16]</sup>,而对于试验使用紫草药材的真伪及其质量之客观评价,则亟待完善和提高。值得一提的是,目前尚没有关于中药紫草 DNA 条形码鉴定方面的报道。本实验对 11 批紫草科植物进行分子鉴定,同时分析测定了 11 批紫草中 8 种萘醌类成分的含量,并首次测定了紫草中紫草氰苷的含量。本文还建立 DNA 条形码技术对紫草药材基源鉴定与多种萘醌类功效组分含量测定相结合的方法,对中药紫草的真伪及其质量进行了较为系统的评价研究。通过本研究,可为紫草药材质量评价体系的建立提供有力的依据。

## 1 材料

本研究所采购的新疆紫草药材共 11 份,收集样本均经中国中医科学院中药研究所李西文研究员鉴定为紫草科植物新疆紫草 *A. euchroma* 的干燥根,凭证标本保存于中国中医科学院中药研究所。样品详情见表 1。

表 1 紫草样品信息

Table 1 Summary of Arnebiae Radix samples

No.	药材来源
ZC-1	新疆乌鲁木齐
ZC-2	新疆乌鲁木齐
ZC-3	河北安国市场
ZC-4	西藏
ZC-5	西藏
ZC-6	河北安国市场
ZC-7	新疆伊宁
ZC-8	河北安国市场
ZC-9	新疆巴州
ZC-10	新疆巴州
ZC-11	新疆乌鲁木齐

琼脂糖 (Spain Sunshine Bio 公司,批号 111860),植物基因组 DNA 提取试剂盒 (Tiangen Biotech 公司,批号 P4816), $2 \times Taq$  PCR MasterMix (Aidlab Biotechnologies 公司,批号 261630AX)。对照品  $\beta$ -乙酰氧基异戊酰阿卡宁 ( $\beta$ -acetoxy-isovalerylshikonin) (上海源叶生物科技有限公司,批号 P20N6F6331,纯度  $\geq 98.0\%$ );紫草氰苷 (lithospermoside,批号 BCTG-0862,纯度  $\geq 98.0\%$ ),异戊酰紫草素 (isovalerylshikonin,批号 Q104145,纯度  $\geq 98.0\%$ ),左旋紫草素 (shikonin,批号 Z-017-150525,纯度  $\geq 98.0\%$ ),乙酰紫草素 (acetylshikonin,批号 14071423,纯度  $\geq 97.0\%$ ),异丁酰紫草素 (isobutyryl shikonin,批号 20160125,纯度  $\geq 98.0\%$ ),去氧紫草素 (deoxyshikonin,批号 AV21-ARJN,纯度  $\geq 98.0\%$ ), $\beta$ - $\beta'$ -二甲基丙烯酸酯阿卡宁 ( $\beta$ - $\beta'$ -dimethylacrylalkanin,批号 AV11-010E,纯

度 $\geq 90.0\%$ )均由中药固体制剂制造技术国家工程研究中心提供;乙腈(色谱纯,天津康科德科技有限公司),水(纯化水,杭州娃哈哈公司),其他试剂均为分析纯为(北京化工厂)。

Scientz-48 型高通量组织研磨仪(宁波新芝生物科技有限公司),ABI3730XL 型测序仪(美国 Applied Biosystems 公司),1260 系列高效液相色谱仪(美国安捷伦公司),BS214S 型电子天平(北京赛多利斯仪器公司,0.01 g),YP502N 型电子天平(上海精密科学仪器有限公司,0.000 1 g),RH-800 型高速多功能粉碎机(浙江荣浩工贸有限公司),KQ5200B 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司),BDS Hypersil C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm $\times$ 250 mm,5  $\mu$ m)(美国 Thermo Scientific 公司)。

## 2 方法与结果

**2.1 DNA 提取与 PCR 扩增、测序** 每批次紫草样本基源鉴定检测按《中国药典》2015 年版四部附录 IIA“药材和饮片取样法”<sup>[17]</sup> 取样,采用天根植物基因组试剂盒提取 DNA,ITS2 序列扩增正向引物,ITS2F:5'-ATGCGATACTTGTTGTGAAT-3';反向引物 ITS3R:5'-GACGCTTCTCCAGACTACAAT-3'(20 bp)。PCR 扩增程序为 94  $^{\circ}$ C,5 min;94  $^{\circ}$ C,30 s;56  $^{\circ}$ C,30 s;72  $^{\circ}$ C,45 s;35~40 个循环;72  $^{\circ}$ C,10 min。使用 DNA 测序仪(ABI,3730),对目的条带进行双向测序,PCR 扩增引物作为测序引物<sup>[8]</sup>。

**2.2 数据处理** 序列拼接采用 Condoncode Aligner 进行序列拼接校对,采用基于隐马尔科夫模型的 HMMer 注释方法去除两端的 5.8 S rRNA 区域和 28 S rRNA 区域,从而获得完整的 ITS2 序列。

将获得的序列在中药材 DNA 条形码鉴定系统(<http://www.tcmbarcode.cn>)中应用 BLAST(Basic Local Alignment Search Tool)方法进行鉴定分析,与《中国药典中药材 DNA 条形码标准序列》中的新疆紫草 ITS2 标准序列通过 MEGA5.0 进行比对分析。

### 2.3 ITS2 序列分析与鉴定

**2.3.1 紫草药材的 ITS2 序列特征** 新疆紫草 *Arnebiae Radix* 共 11 条 ITS2 序列,比对后序列长度为 223 bp,存在 5 个变异位点,分别为 200 位点的 C-T 变异,203,213 位点的 T-C 变异,217 位点的 A-C 变异,218 位点的 C-G 变异。存在一处碱基缺失,为 220 位点的 A 碱基缺失。其主导序列单倍型如下: CACATCGCGTCACCCCATCCAAAATAATGTTGGATG TGGTGGATTGTGAC(50 bp), CTCCTGTGTCTTGA GATGCAGTTGCTCGAAATTCGAGTCCGGAGCTTAGG

(100 bp), ACTTCACGACAAGTGGTGGTTGGATAAC AACTCGCGTCATGTCTGTGCC(150 bp), AAGCCT CCGTGTCTCCGTAGACCCTAAGGCGCGTGCTTTCCA ACTCGTTC(200 bp), GTTGGGAAACCGTGCTACG ACCG(223 bp)。

**2.3.2 紫草药材的鉴定** 序列拼接后共得到新疆紫草 ITS2 序列 11 条,经 BLAST 方法比对结果显示 11 批样品序列与网上已上传新疆紫草 ITS2 序列相似度均 $>96\%$ ,则表明 11 批样品均为紫草科植物新疆紫草 *A. euchroma* 的干燥根。

**2.4 色谱条件的建立** Thermo BDS Hypersil C<sub>18</sub> 液相色谱柱(4.6 mm $\times$ 250 mm,5  $\mu$ m),柱温 35  $^{\circ}$ C,流速 0.8 mL $\cdot$ min<sup>-1</sup>,检测波长 275 nm,进样量 10  $\mu$ L,流动相 0.2% 冰乙酸(A)-乙腈(B)梯度洗脱(0~5 min,20% B;5~10 min,20%~35% B;10~20 min,35%~75% B;20~35 min,75%~80% B;35~45 min,80%~85% B;45~55 min,85%~90% B;55~60 min,90% B)。在测定条件的选择方面,结合文献报道<sup>[13,15-16]</sup> 比较了多种流动相与梯度条件,结果所选系统分离效果较好,分离度较高,且出峰时间稳定。

**2.5 对照品溶液的制备** 分别精密称定  $\beta$ -乙酰氧基异戊酰阿卡宁 1.1 mg,紫草甙苷 1.1 mg,异戊酰紫草素 4.8 mg,左旋紫草素 1.6 mg,乙酰紫草素 1.0 mg,异丁酰紫草素 1.8 mg,置于 1 mL 量瓶中,使用甲醇溶解,定容;分别精密称定去氧紫草素 3.0 mg, $\beta$ - $\beta'$ -二甲基丙烯酰阿卡宁 4.3 mg,置于 5 mL 量瓶中,用甲醇致刻度,超声使溶解,定容,制成质量浓度分别为 1.1,1.1,4.8,1.6,1.0,1.8,0.6,0.86 g $\cdot$ L<sup>-1</sup> 的对照品溶液。精密称定  $\beta$ -乙酰氧基异戊酰阿卡宁 6.2 mg,紫草甙苷 7.5 mg,异戊酰紫草素 12.5 mg,左旋紫草素 1.7 mg,乙酰紫草素 1.7 mg,异丁酰紫草素 1.5 mg,去氧紫草素 4.5 mg, $\beta$ - $\beta'$ -二甲基丙烯酰阿卡宁 4.0 mg,置于 5 mL 量瓶中,用甲醇溶解,摇匀后,定容,制得混合对照品溶液。避光、冷藏备用。

**2.6 供试品溶液的制备** 精密称取所收集样品粉末粉末(过 4 号筛)约 0.5 g,置具塞锥形瓶中,精密加入石油醚(60~90  $^{\circ}$ C)25 mL,称定质量,超声处理 30 min,放冷,称定质量,用石油醚(60~90  $^{\circ}$ C)补足减失的质量,摇匀,滤过。精密吸取续滤液 10 mL,蒸干,残渣加色谱甲醇溶解,转移至 10 mL 量瓶中,加色谱甲醇至刻度,摇匀,即得。

**2.7 线性关系考察** 将 2.5 项下所配制的混合对照品溶液进行稀释,分别稀释到原溶液的 0.001,

0.01, 0.07, 0.8, 1.0 倍, 用 1 mL 量瓶定容。经 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 注入高效液相色谱仪, 按照浓度由小到大的顺序上样, 每个样品的进样量为 10 μL, 按 2.4 项下色谱条件进行梯度洗脱。记

录各自的峰面积, 以色谱峰面积 (Y) 对进样量 (X) 进行线性回归, 得回归方程, 绘制标准曲线。结果表明在进样量范围内混合对照品线性关系良好。见表 2。

表 2 新疆紫草样品各成分回归方程与线性范围

Table 2 Determination and linear relation investigation of eight components of Arnebiae Radix

成分	回归方程	r	线性范围/μg
β-乙酰氧基异戊酰阿卡宁	$Y = 1\,788.6X + 67.25$	1.000 0	0.012 4 ~ 12.400
紫草氰苷	$Y = 778.32X + 813.8$	0.999 9	0.015 0 ~ 15.000
异戊酰紫草素	$Y = 321.73X + 9.65$	0.999 5	0.025 0 ~ 25.000
左旋紫草素	$Y = 2\,090.3X - 9.68$	1.000 0	0.003 4 ~ 3.400
乙酰紫草素	$Y = 1\,493.6X + 100.21$	0.999 7	0.003 4 ~ 3.400
异丁酰紫草素	$Y = 855.83X + 30.52$	1.000 0	0.003 0 ~ 3.000
去氧紫草素	$Y = 2\,936.1X + 34.08$	1.000 0	0.009 0 ~ 9.000
β-β'-二甲基丙烯酰阿卡宁	$Y = 1\,658.2X + 43.13$	0.999 9	0.008 0 ~ 8.000

**2.8 精密度考察** 精确吸取 2.5 项下配制的混合对照品溶液 1 mL, 经 0.45 μm 滤膜滤过, 注入高效液相色谱仪, 连续进样 6 次, 进样量 10 μL, 按 2.4 项下梯度色谱条件进行检测, 计算峰面积 RSD。结果 β-乙酰氧基异戊酰阿卡宁、紫草氰苷、异戊酰紫草素、左旋紫草素、乙酰紫草素、异丁酰紫草素、去氧紫草素和 β-β'-二甲基丙烯酰阿卡宁的峰面积的 RSD 分别为 0.7%, 1.1%, 0.7%, 0.8%, 0.7%, 0.8%, 0.7%, 0.8%, 表明仪器精密度良好。

**2.9 重复性试验** 分别按 2.6 项下供试品制备的方法, 精密称取同一样品 6 份, 并按供试品的制备方法制备样品, 经 0.45 μm 滤膜滤过, 注入高效液相色谱仪, 进样量 10 μL, 按 2.4 项下梯度色谱条件进行检测, 记录 β-乙酰氧基异戊酰阿卡宁、紫草氰苷、异戊酰紫草素、左旋紫草素、乙酰紫草素、异丁酰紫草素、去氧紫草素和 β-β'-二甲基丙烯酰阿卡宁的峰面积并计算 RSD 分别为 0.7%, 0.4%, 0.8%, 0.9%, 0.8%, 1.0%, 1.1%, 1.0%, 表明该方法重复性良好。

**2.10 稳定性试验** 精密称取收集样品 ZC-2 1 份, 按 2.6 项下方法制备同一样品的供试品溶液, 经 0.45 μm 滤膜滤过, 按 2.4 项下梯度色谱条件, 在 0, 4, 8, 20, 28, 48 h 进样, 测定 β-乙酰氧基异戊酰阿卡宁、紫草氰苷、异戊酰紫草素、左旋紫草素、乙酰紫草素、异丁酰紫草素、去氧紫草素和 β-β'-二甲基丙烯酰阿卡宁的峰面积, 计算 RSD 均 < 2%, 表明样品常温放置在 48 h 内基本稳定。

**2.11 回收率试验** 采用加样回收法, 取已知含量的 ZC-2 样品提取液, 精密称取 6 份, 精密加入相应对照品后按 2.4 项下梯度色谱条件测定含量, 计算 β-乙酰氧基异戊酰阿卡宁、紫草氰苷、异戊酰紫草素、左旋紫草素、乙酰紫草素、异丁酰紫草素、去氧紫草素和 β-β'-二甲基丙烯酰阿卡宁的峰面积平均回收率及 RSD, 结果见表 3。

表 3 紫草样品各成分加样回收率测定

Table 3 Experiment on recovery of Arnebiae Radix samples %

成分	平均回收率	RSD
β-乙酰氧基异戊酰阿卡宁	97.08	1.3
紫草氰苷	98.61	1.4
异戊酰紫草素	101.40	1.8
左旋紫草素	99.91	0.7
乙酰紫草素	98.90	1.1
异丁酰紫草素	95.26	0.8
去氧紫草素	99.23	1.6
β-β'-二甲基丙烯酰阿卡宁	96.75	1.1

**2.12 样品含量测定** 将收集到的新疆紫草药材按 2.6 项下方法制备供试品溶液, 按 2.4 项下梯度色谱条件下, 分别进样 10 μL, 同时取相应浓度的对照品溶液 10 μL 进样测定, 按外标法分别测定 11 批新疆紫草药材中 β-乙酰氧基异戊酰阿卡宁、紫草氰苷、异戊酰紫草素、左旋紫草素、乙酰紫草素、异丁酰紫草素、去氧紫草素与 β-β'-二甲基丙烯酰阿卡宁的质量分数, 平行进样 3 次, RSD 均 < 3%, 结果见表 4。

表 4 不同新疆紫草中 8 种功效成分的质量分数

成分	ZC-1	ZC-2	ZC-3	ZC-4	ZC-5	ZC-6	ZC-7	ZC-8	ZC-9	ZC-10	ZC-11	mg·g <sup>-1</sup>
$\beta$ -乙酰氧基异戊酰阿卡宁	0.21	0.80	0.12	0.13	1.55	1.55	0.11	0.12	0.46	2.75	1.13	
紫草甙昔	70.52	15.00	69.93	70.75	12.50	12.50	12.50	13.50	15.00	15.00	64.54	
异戊酰紫草素	35.96	61.50	18.65	19.52	7.00	2.40	97.00	10.00	34.50	97.00	122.24	
左旋紫草素	0.85	1.15	0.37	0.40	0.09	0.04	1.05	0.26	0.17	0.75	1.03	
乙酰紫草素	1.63	10.50	0.98	0.84	0.50	0.17	9.50	1.20	9.00	13.50	13.89	
异丁酰紫草素	0.68	13.50	0.36	0.41	0.70	0.48	3.40	1.65	8.50	10.00	0.41	
去氧紫草素	0.14	0.16	0.19	0.05	0.12	0.14	0.45	0.23	0.24	0.10	0.12	
$\beta$ - $\beta'$ -二甲基丙烯酰阿卡宁	6.44	9.50	3.12	3.96	0.75	0.16	8.50	0.46	6.00	10.50	3.68	

2.13 各成分液相峰指认 将混标及新疆紫草样品按照 2.4 项下梯度色谱条件进行检测,共标定 8 个峰(图 1),1~8 号峰依次为左旋紫草素(1),紫草甙昔(2),乙酰紫草素(3), $\beta$ -乙酰氧基异戊酰阿卡宁(4),去氧紫草素(5),异丁酰紫草素(6), $\beta$ - $\beta'$ -二甲基丙烯酰阿卡宁(7),异戊酰紫草素(8)。

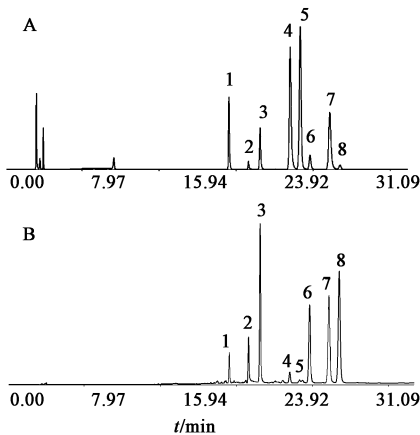


图 1 紫草样品 HPLC  
Fig.1 HPLC chart of *Arnebiae Radix*

### 3 讨论

3.1 紫草药材的获取及其 DNA 提取 紫草药材依照 2015 年版《中国药典》为紫草科新疆紫草或内蒙古紫草的植物根,但由于目前的紫草资源较少且市场较为混乱,笔者对本实验的 11 种紫草科植物进行了分子鉴定,结果均为新疆紫草 *A. euchroma* 的干燥根。

由于紫草科植物具有色素含量很高而致 DNA 含量较低的特点,笔者在提取 DNA 的过程中为了防止色素对结果造成干扰,在紫草样品取样时尽量取植物木质部作为试验样本提取部位,并且在利用试剂盒提取之前使用核分试剂洗 2~3 次。用以上方

法可降低紫草中的色素含量,提高了提取 DNA 的效率。

3.2 紫草药材 DNA 条形码鉴定 本实验中的紫草药材分别来源于不同产地,本实验室人员鉴定样品后,经其他实验室人员重复该鉴定试验,所获得结果一致。本次试验证明使用 DNA 条形码鉴定技术能够准确鉴定紫草药材基源,保证紫草药材用药安全。

3.3 紫草药材中 8 种功效组分的含量比较与质量评价 本文在参考文献报道的基础上,比较了多种流动相系统,其所选的流动相体系分离度好、重复性高,能够在 35 min 内完成 8 种萘醌类成分的含量测定。所选的提取方法参照了 2015 年版《中国药典》一部标准,能够有效地提取该类萘醌类成分,较为简便。此外,在以往的新疆紫草质量研究中大多是通过紫草素, $\beta$ - $\beta'$ -二甲基丙烯酰阿卡宁等成分的含量测定对其进行质量评价,而本文同时测定了紫草中 8 种萘醌类成分的含量,并首次测定了各批紫草中紫草甙昔的含量。笔者通过分析紫草中 8 种萘醌类成分发现紫草甙昔和异戊酰紫草素的含量明显高于紫草中的其他成分,ZC-2 和 ZC-10 中各成分相对其他样品含量较高;且不同来源各批次紫草之间的萘醌类成分含量差别较大,这可能是由于药材的采收或采购地点不同而造成对质量有一定的影响。萘醌类成分具有明显的抗炎、抗氧化、抗肿瘤等活性,对其进行定量分析,对于综合评价紫草的主要功效作用具有一定的参考价值。

本试验采用 DNA 条形码鉴定与质量分析相结合的方法对新疆紫草进行分子鉴定及其功效组分测定,为紫草药材的质量控制与评价提供了科学依据。

#### [参考文献]

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[M].

- 北京:中国医药科技出版社, 2015:340.
- [ 2 ] 程敏, 莫启贵, 汤俊, 等. 紫草中  $\beta$ - $\beta'$ 二甲基丙烯酰阿卡宁的含量测定及不同来源药材质量评价的初步研究[J]. 中国药师, 2013, 16(6): 798-801.
- [ 3 ] 陈征, 陈文明, 任卫琼, 等. 不同市场紫草相关质量的比较研究[J]. 中国当代医药, 2015, 22(10): 7-9.
- [ 4 ] 陈士林, 姚辉, 韩建萍, 等. 中药材 DNA 条形码分子鉴定指导原则[J]. 中国中药杂志, 2013, 38(2): 141-148.
- [ 5 ] CHEN S L, YAO H, HAN J P, et al. Validation of the ITS2 region as a novel DNA barcode for identifying medicinal plants species [J]. PLoS One, 2010, 5(1): e8613.
- [ 6 ] 陈士林. 中药 DNA 条形码分子鉴定[M]. 北京:人民卫生出版社, 2012: 14-16.
- [ 7 ] 王俊, 刘霞, 张亚琴, 等. 苍耳子药材及其混伪品 ITS2 序列鉴定研究[J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2014, 16(2): 329-334.
- [ 8 ] Stickle E, Seitz H K. The efficacy and safety of comfrey [J]. Public Health Nutr, 2000, 3(4A): 501-508.
- [ 9 ] Kim J Y, Jeong H J, Park J Y, et al. Selective and slow-binding inhibition of shikonin derivatives isolated from *Lithospermum erythrorhizon* on glycosyl hydrolase 33 and 34 sialidases [J]. Bioorg Med Chem, 2012, 20(5): 1740-1748.
- [ 10 ] CHENG Y W, CHANG C Y, LIN K L, et al. Shikonin derivatives inhibited LPS-induced NOS in RAW264.7 cells via downregulation of MAPK /NF- $\kappa$ B signaling [J]. J Ethnopharmacol, 2008, 120(2): 264-271.
- [ 11 ] 赵海青, 刘军锋, 刘珂. 新疆紫草羟基萘醌类化学成分的研究及对 PDE-4 的抑制作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(10): 96-99.
- [ 12 ] 澜兰·艾则孜, 马依热·买买提, 帕丽达·纳斯木. RP-HPLC 法测定紫草中左旋紫草素的含量[J]. 新疆中医药, 2015, 32(6): 47-49.
- [ 13 ] 曾祖平, 韩旭阳, 王宏, 等. HPLC 法测定紫草中萘醌类成分[J]. 解放军药学学报, 2013, 29(5): 453-455.
- [ 14 ] 陈璐璐, 周若龙, 杨柳, 等. 紫草中萘醌类化合物的质谱鉴别及 3 种成分的 UPLC 同时测定[J]. 中药新药与临床药理, 2012, 23(1): 77-80.
- [ 15 ] 韩洁, 朱利民, 翁新楚, 等. RP-HPLC 法同时测定紫草中紫草素、异丁酰紫草素和  $\beta$ - $\beta'$ 二甲基丙烯酰紫草素的含量[J]. 药物分析杂志, 2008, 28(1): 6-8.
- [ 16 ] 郝鹤, 李鹏跃, 叶和春, 等. 新疆紫草 7 中萘醌类成分的同时测定[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(18): 108-112.
- [ 17 ] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 四部[M]. 北京:中国医药科技出版社, 2015:附录 II A.

[责任编辑 邹晓翠]