

文章编号: 1001-6880(2007)02-0206-06

太子参中环肽 Pseudostellarin B 含量 HPCE 测定及其指纹图谱研究

李文龙¹, 陈军辉^{1,2}, 韩超³, 王小如^{1,3*}

国家海洋局第一海洋研究所现代分析技术及中药标准化重点实验室, 青岛 266061;

²中国海洋大学化学化工学院, 青岛 266003; ³厦门大学化学化工学院化学系现代分析科学教育部重点实验室, 厦门 361005

摘要:建立了测定太子参中环肽 Pseudostellarin B 含量的高效毛细管电泳 (HPCE) 分析方法, 对 10 种不同产地太子参中环肽 Pseudostellarin B 的含量进行了测定。HPCE 工作条件: 采用未涂层熔融石英毛细管 (内径 75 μm , 有效长度 50 cm), 分离电压为 15 kV, 柱温 20 $^{\circ}\text{C}$, 二极管阵列检测器 (DAD) 检测波长为 203 nm, 缓冲液为 20 mmol/L 硼砂 (pH = 9.3) 溶液。在选定的工作条件下, 环肽 Pseudostellarin B 浓度与其响应信号值之间具有较好的线性相关性 ($Y = 0.6357X + 2.546$, $R = 0.9985$), 加标回收率在 93.8% ~ 105.6% 之间。在此基础上进行了太子参 HPCE 指纹图谱研究, 采用中药指纹图谱相似度计算软件对不同太子参样品的 HPCE 指纹图谱进行相似度计算, 以系统生成的对照指纹图谱为对照模板, 10 份样品中有 8 份的相似度在 0.90 以上, 说明该方法可用于太子参质量控制。

关键词:太子参; 环肽 Pseudostellarin B; 高效毛细管电泳法; 指纹图谱

中图分类号: R284.2

文献标识码: A

Determination of Pseudostellarin B in *Pseudostellaria heterophylla* by HPCE and Study on Its Fingerprints Analysis

LI Wen-long¹, CHEN Jun-hui^{1,2}, HAN Chao³, WANG Xiao-ru^{1,3*}¹Qingdao Key Laboratory of Analytical Technology Development and Standardization of Chinese Medicines,First Institute Oceanography of SOA, Qingdao 266061, China; ²College of Chemistry and Chemical Engineering,Ocean University of China, Qingdao 266006, China; ³Department of Chemistry and the Key Laboratory of

Analytical Science of the MOE, College of Chemistry and Chemical Engineering, Xiamen University, Xiamen 361005, China

Abstract: A modern HPCE analysis method was developed for determining cyclic peptide Pseudostellarin B in *Pseudostellaria heterophylla* (Miq.) Pax. Separation and determination were carried out by HPCE under the following conditions: bare fused silica capillary (50 cm \times 75 μm i.d.), 20 mmol/L borate (pH = 9.3) as buffer, the run voltage is +15 kV, detection length of UV at 203 nm, and column temperature of 20 $^{\circ}\text{C}$. The results indicated that the developed method was simple, accurate and reliable for the determination of Pseudostellarin B with a good linearity ($Y = 0.6357X + 2.546$, $R = 0.9985$), and the recovery ranges of 93.8% ~ 105.6%. Based on this method, the HPCE fingerprints of *Pseudostellaria heterophylla* (Miq.) Pax were established. The fingerprints were compared by the software of the similarity evaluation system for chromatographic fingerprint. The fingerprint congruence coefficients of 8 electropherograms in 10 were above 0.90. The method of HPCE fingerprint is reliable and accurate.

Key words: *Pseudostellaria heterophylla* (Miq.) Pax; Pseudostellarin B; HPCE; fingerprint

太子参又名孩儿参、童参, 为双子叶植物药石竹科 (Caryophyllaceae) 植物异叶假繁缕属植物 *Pseudostellaria heterophylla* (Miq.) Pax 的块根。具有

补益脾肺, 益气生津的功效, 主治肺虚咳嗽, 脾虚食少, 心悸, 怔忡等^[1]。环肽是指氨基酸以酰胺键互相连接而形成的环状化合物, 生物活性环肽能形成限制性构象, 与相应线性肽相比在生物体内具有更好的抗酶解和抗化学降解的能力。最近几年发现石竹科环肽有较广泛的生物活性^[2-5]。2005 版《中国药典》中还没有明确太子参的指标性成分以及太子

收稿日期: 2006-08-16 接受日期: 2006-09-30

基金项目: 国家自然科学基金项目 (20235020); 国家科技部攻关项目 (2003BA759C)

*通讯作者 Tel: 86-532-88963253; E-mail: m2elp@foxmail.com

参质量控制方法。中药色谱指纹图谱是一种综合的、量化的色谱鉴定手段。借以鉴别真伪,评价原料药材、半成品和成品质量均一性和稳定性。其基本属性是“整体性”和“模糊性”。在有效成分不完全明确的前提下,制定中药材的指纹图谱,对有效控制中药材的质量,具有重要意义^[6,7]。目前国内仅有一篇文献利用 HPLC 对太子参进行指纹图谱研究^[8],但是该文对各指纹峰均未进行定性定量分析。HPCE 是一种基于不同质荷比的离子在同一电场下迁移速度不同的分离手段,具有分离效率高,分析速度快等特点,已成为除 GC, HPLC 之外进行复杂样品分离分析的一种新的选择,目前广泛用于中药中有效成分的测定及中药材指纹图谱研究^[9-11]。国内外利用 HPCE 定量测定太子参环肽 Pseudostellarin B 及太子参 HPCE 指纹图谱研究尚未见有文献报道。本文探索采用 HPCE 对太子参药材进行活性成分测定及其指纹图谱研究,以本实验室分离、纯化所得的环肽 Pseudostellarin B 纯品为对照品,建立了高效毛细管电泳法测定太子参中环肽 Pseudostellarin B 的方法;并在此基础上得到了太子参的 HPCE 指纹图谱,对所得指纹图谱进行了相似度计算,结果满意。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

美国 Agilent 公司 G1062A 型 HPCE 仪(配有二极管阵列检测器(DAD)),未涂层熔融石英毛细管(内径 75 μm ,有效长度 50 cm),SK200LH 型超声波仪(上海科导超声仪器有限公司),旋转蒸发器 R201(上海申生科技有限公司)。

硼砂(分析纯),1 mol/L NaOH 溶液,甲醇(优级纯),乙酸乙酯(优级纯),实验用水为 Milli-Q 超纯水。

太子参环肽 Pseudostellarin B 对照品由本实验室分离纯化所得(含量测定用)。所有试剂溶液及试样进入 HPCE 系统前均经过 0.2 μm 微孔滤膜过滤。

本文所采用的太子参样品:福建、江苏、贵州、湖南产太子参由厦门倍尔思生化科技有限公司提供;山东、浙江、安徽产太子参购于药材公司。

1.2 HPCE 工作条件

采用压力进样方式,压力 50 bar,进样时间 5 s,分离电压 15 kV,紫外检测波长 203 nm,带宽 8 nm,参比波长 450 nm,带宽 20 nm。运行缓冲液为 20 mmol/L 的硼砂溶液(用 1 mol/L 的 NaOH 溶液调

pH 值至 9.3),试样进入毛细管前,均需过 0.2 μm 微孔滤膜过滤,分析开始前,依次用 1 mol/L NaOH,超纯水和缓冲液冲洗毛细管各 20 min,分析过程中,及时更换缓冲液瓶中的缓冲溶液,以保证两缓冲液瓶中缓冲液组分一致,保证分析精度。

1.3 对照品及供试品溶液制备

准确称取 10.0 mg 环肽 Pseudostellarin B 对照品,放入 10 mL 容量瓶中,用超纯水溶解定容,制成 1 g/L 的储备液。

供试样品(粉碎,过 60 目筛)在 50 $^{\circ}\text{C}$ 烘箱中干燥 12 h,准确称取 1.0 g,以甲醇为溶剂,超声辅助提取 3 次(3 \times 10 mL),每次提取 60 min。合并各次提取液过滤,滤液经旋转蒸发器浓缩至干,用超纯水溶解定容到 10 mL 容量瓶中,过 0.20 μm 滤膜后作为供试品溶液。

2 结果与讨论

2.1 提取方法及 HPCE 分离条件优化

2.1.1 不同提取方法对提取效率的影响

本文采用了回流法和超声辅助提取两种方法对样品进行提取,结果显示,回流法提取效率稍高于超声法,后者约为前者的 95%,相差不大。回流法操作复杂,且加热过程可能会引起其它组分的变化,而超声法方便快捷,因而选用超声法进行提取。

以 Pseudostellarin B 的提取率为指标,检验了 3 种提取溶剂:超纯水,乙酸乙酯和甲醇的提取效率(因后两者在环肽 Pseudostellarin B 的检测波长 203 nm 处有吸收,干扰了其测定,因此必须将其提取液旋转蒸干后用超纯水重新溶解进行进样测定),结果表明,甲醇的提取效率最高,超纯水和乙酸乙酯的提取效率分别为甲醇的 55% 和 71%,故本文采用甲醇作为提取溶剂。

2.1.2 缓冲液浓度及 pH 值和分离电压对分离过程的影响

对 HPCE 分离过程中的三个参数缓冲液浓度及 pH 值和分离电压进行正交实验设计,结果表明:

随着硼砂溶液浓度的升高,样品中各峰的保留时间差别逐渐增大,分离效果也越好,但浓度过高,噪音也明显增大,电流显著增加,产生热量较多,不利于分离,因此选择 20 mmol/L 的硼砂溶液作为缓冲液,各峰得到较好的分离。

太子参环肽 Pseudostellarin B 在较高 pH 值的缓冲溶液中完全电离成阴离子,能够有效抑制管壁吸

附,离子在分离过程中由正极向负极泳动,与电渗流速度相同,其表观速度为电泳速度与电渗流速度的矢量和,二者方向相同,有利于增加分析速度,缩短每次进样分析的周期,pH为9.3时,分离效果较好,且分析时间较短。

在10~30 kV的范围内,电压越高,分析速度越快,但在较高电压下,分离效果及峰形较差,且噪音明显增大,不利于分析,因而选用较为适中的15 kV作为分离电压,效果较好。

2.1.3 检测波长的选择

由于太子参环肽 Pseudostellarin B 中不存在发色团,只是在紫外末端有较大吸收,且随着检测吸收波长的增大,样品吸收急剧下降,见图1,本文选用203 nm作为检测波长,仪器易于稳定,基线平稳,噪音较小,有利于太子参环肽 Pseudostellarin B 的检测。

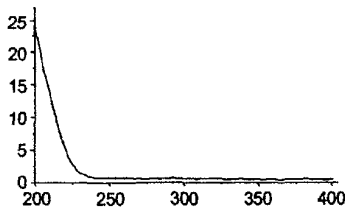


图1 太子参环肽 Pseudostellarin B 的 DAD扫描光谱图

Fig. 1 DAD scan spectrum of Pseudostellarin B peak

2.1.4 样品分离效果

采用优化后的提取方法和 HPCE 工作条件,测定对照品溶液和供试品溶液,比较太子参环肽 Pseudostellarin B 对照品溶液及供试品溶液液相色谱图(见图2),可以看出在1.2所述的仪器工作条件下色谱峰峰形较好,可准确测定其峰面积及峰高并进行定量分析。

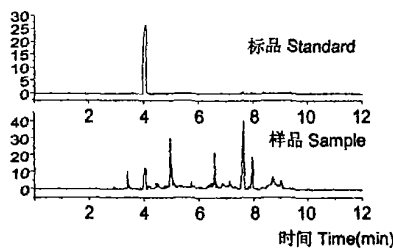


图2 对照品和供试品的 HPCE 色谱图

Fig. 2 Electropherogram of Pseudostellarin B standard and extract of *Pseudostellaria heterophylla* (Miq.) Pax

2.2 标准曲线的绘制

吸取一定量的对照品储备液,用超纯水稀释,配制成1、5、10、15、20、25、30 mg/L 的标准溶液。按照1.2所述工作条件分别进样分析,测定太子参环肽 Pseudostellarin B 的峰面积,以峰面积为横坐标,对照品浓度(mg/L)为纵坐标,绘制标准曲线。环肽 Pseudostellarin B 的线性回归方程及相关系数为: $Y = 0.6357X + 2.546$, $R = 0.9985$ 。结果表明,在1~30 mg/L 范围内,浓度与峰面积呈良好线性关系。

2.3 方法学考察

2.3.1 精密性试验

按照1.2 HPCE 工作条件,对环肽 Pseudostellarin B 对照品溶液进行6次重复进样分析,测得其峰面积和保留时间,分别计算其标准偏差,峰面积和保留时间 RSD 值分别为0.32%和0.18%,表明仪器精密性良好。

2.3.2 稳定性试验

将供试品溶液按照1.2 HPCE 工作条件,分别在0、2、4、8、12、24、36、48 h 时进样测定,结果显示供试品溶液中环肽 Pseudostellarin B 在48 h 内峰面积和保留时间无明显变化,峰面积和保留时间的 RSD 值分别为1.21%和0.46%,说明供试品溶液在48 h 内化学性质稳定。

2.3.3 重现性试验

精密称取同一样品五份,按1.3处理方法制成供试品溶液,按照1.2的 HPCE 工作条件进样测定,测得环肽 Pseudostellarin B 峰面积和保留时间,并计算其标准偏差,峰面积和保留时间的 RSD 值分别为2.55%和0.62%,表明该方法重现性良好。

2.3.4 回收率试验

精密称取1.0 g 已知环肽 Pseudostellarin B 含量的太子参样品5份,定量加入对照品,按1.3处理方法将其制成供试品溶液,按1.2的 HPCE 工作条件测定加标回收率,每份样品平行进样3次,结果取平均值,并计算 RSD%,结果见表1。结果表明,本法回收率高,测定结果准确,方法可行。

2.3.5 色谱峰的定位

本文主要根据对照品的保留时间对样品进行色谱峰定性,实验中以适量的标准储备液加入样品溶液中,通过对比各峰的吸光度,确认吸光度明显增大的峰为对照品峰,并将其 UV 谱图与相应已知标准品图谱进行比较印证,以确定与对照品相应的峰位。

表 1 太子参环肽 Pseudostellarin B 加样回收率实验结果 ($n=3$)

Table 1 Recovery test of the added Pseudostellarin B standard ($n=3$)

样品 Sample	样品含量 Content (μg)	加入量 Added (μg)	测出总量 Found (μg)	回收率 Recovery (%)	RSD (%)
1	9.6	5.00	14.32	94.4	1.96
2	17.3	10.00	27.35	100.5	2.06
3	48.5	20.00	69.62	105.6	3.10
4	122.7	50.00	169.6	93.8	2.44
5	212.5	100.00	310.2	97.7	1.93

2.3.6 环肽 Pseudostellarin B 的检测限

将样品逐级稀释进样,测定其峰高响应值及基线噪音强度,以 3 倍信噪比计算其检测限,结果表明,在选定的仪器工作条件下,环肽 Pseudostellarin B 检测限达到 0.6 mg/L。

2.4 不同产地太子参样品中环肽 Pseudostellarin B 的含量测定结果

取不同产地太子参,按 1.4 处理方法将其制成供试品溶液,按 1.2 HPCE 工作条件,测定其中太子参环肽 Pseudostellarin B 的含量,每批样品进行了三次平行测定,结果见表 2。可见不同产地太子参样品中环肽 Pseudostellarin B 含量差异较大,5 号太子参样品(安徽产)环肽 Pseudostellarin B 含量最高,而湖南和山东产太子参中环肽 Pseudostellarin B 含量较低,样品中环肽 Pseudostellarin B 的平均含量为 158.43 $\mu\text{g/g}$ 。

表 2 不同太子参样品中环肽 Pseudostellarin B 的含量 ($n=3$)

Table 2 Contents of Pseudostellarin B in *Pseudostellaria heterophylla* (Miq.) Pax collected from different regions ($n=3$)

样品 Sample	产地 Origin	环肽 ($\mu\text{g/g}$) Pseudostellarin B	RSD %
1	江苏 1	132.9	0.99
2	江苏 2	271.6	1.87
3	福建 1	48.5	2.66
4	福建 2	212.5	2.02
5	安徽 1	283.4	3.14
6	安徽 2	227.6	2.11
7	贵州	258.2	2.53
8	湖南	9.6	3.29
9	浙江	122.7	2.56
10	山东	17.3	1.29

2.5 不同太子参样品指纹图谱的建立

按照现行的中药注射剂指纹图谱研究的技术要求,制定 HPCE 指纹图谱所需的技术参数主要有三个:一,必须根据参照物的迁移时间,计算指纹峰的相对保留时间,标定中药材的共有指纹峰;二,以参照物的峰面积作为 1,计算各共有指纹峰面积与参照物峰面积的比值,各共有指纹峰面积比值必须相对固定;三,中药材供试品的图谱与指纹图谱比较,非共有峰总面积不得大于总峰面积的 10%。

本文对 10 批次太子参甲醇提取物在 1.2 HPCE 工作条件下进样分析,每个样品进行三次平行分析,其色谱图共有 11 个共有峰,其峰面积总和占总峰面积的 98% 以上,其中 2 号峰确认为太子参环肽 Pseudostellarin B,选择该峰作为参照峰,分别求出各特征峰的相对保留时间()和相对峰面积。

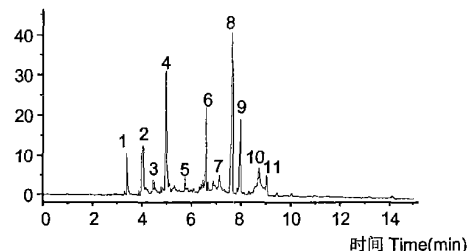


图 3 太子参甲醇提取物的共有指纹图谱

Fig. 3 Mutual fingerprints of extract of *Pseudostellaria heterophylla* (Miq.) Pax

2.6 指纹图谱相似度分析

在化学计量学中,常采用相关系数和相合系数(矢量间的夹角余弦)作为评价指纹图谱相似度的度量^[12],浙江大学制药工程研究所计算机辅助中药分析实验室研发的“中药指纹图谱相似度计算软件”采用夹角余弦作为相似度的评价指标,是国家药典委员会推荐使用的指纹图谱相似度计算软件^[13]。本文采用该软件对测定结果进行图谱比对,评价供试样品指纹图谱与系统生成的对照指纹图谱(各样品谱图峰面积的平均值)的相似性,对照共有图计算得到 10 批太子参药材提取物的相似度,结果见表 4。从表 4 可见,除 8 号样品与 10 号样品外,其他 8 批样品色谱图的相似度均在 0.90 以上,从太子参环肽 Pseudostellarin B 的测试结果来看,8 号样品与 10 号样品的含量也较低,这在相似度的计算结果中得到了反映。

表 3 10批太子参甲醇提取物的特征峰的相对保留时间及相对峰面积

Table 3 Relative retention time () and relative peak area of extracts of 10 *Pseudostellaria heterophylla* (Miq.) Pax

No	RSD%	10批样品的相对峰面积										
		Relative peak area of the extract of 10 <i>Pseudostellaria heterophylla</i> (Miq.) Pax										
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
1	0.839	0.34	0.85	0.71	0.33	0.33	0.33	0.52	0.31	0.58	1.09	0.29
2	1	0.00	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
3	1.135	0.62	0.07	0.08	0.12	0.11	0.15	0.05	0.16	0.05	0.15	0
4	1.2	0.73	0.22	0.41	0.55	0.55	0.6	0.69	0.22	0.59	3.1	0.1
5	1.416	0.84	0.2	0.24	0.11	0.12	0.19	0.36	0.36	0.38	0.33	0.09
6	1.646	1.12	0.24	0.77	0.2	0.25	0.29	0.09	0.36	0.09	0.29	0.73
7	1.753	0.89	0.27	0.34	0.27	0.27	0.33	0.16	0	0.19	0.3	0.26
8	1.87	1.61	1.45	0.93	0.46	0.48	0.46	1.06	1.27	1.11	1.48	2.17
9	1.956	1.64	0.81	0.76	0.22	0.15	0.18	1.04	1	1.11	0.94	0.31
10	2.211	1.15	0.15	0.14	0	0.13	0.19	0.54	0.25	0.59	0.19	0.16
11	2.32	1.36	0.11	0.12	0.16	0.15	0.15	0.06	0.23	0.07	0.25	0.22

表 4 10批太子参样品提取物指纹图谱相似性分析结果

Table 4 Similarity analysis result of extracts of 10 *Pseudostellaria heterophylla* (Miq.) Pax

No	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
相似度 Similarity	0.923	0.951	0.924	0.948	0.933	0.982	0.917	0.776	0.940	0.829

目前,中药材的分类及鉴别在很大程度上仍依赖于经验和外观分析,缺乏从定性定量分析数据中获取评价依据的统一、实用的方法。相似度计算方法数学概念简单,数据处理过程简便、快速,在定量计算色谱指纹图谱相似性方面有其优势。在指纹图谱相似性计算中,一般将所选取的色谱峰同时作比较计算,反映指纹图谱的整体相似性,可对中药产品质量做出较全面、准确的评价。本文以不同太子参样品的平均峰面积作为对照模板,进行相似度计算,优点是能较全面反映不同太子参样品的整体特征。如果利用多种地道药材的标准提取物建立了标准谱图,则通过计算待测样品与标准谱图的相似性,可以对样品质量进行正确评价,这也是今后进一步研究的目标。

3 结论

本文所建立的太子参中环肽 Pseudostellarin B 含量 HPLC测定的方法前处理简便易操作,分析速度快,具有良好的重现性、稳定性,可作为太子参中环肽 Pseudostellarin B 含量的检测方法及用于太子参产品的质量控制在。在此基础上所建立的太子参中环肽 Pseudostellarin B HPLC指纹图谱研究方法分析时间短,提取物中共有峰数目较少,便于进行质量控

制,将其用于实际的提取物鉴定工作中,方法快捷,结果可靠。

参考文献

- Li SH (李仕海), Liu XH (刘训红). Analysis of amino acid and trace element in radix pseudostellariae grown in Jiangsu province *Lishizhen Med Mater Med Res* (时珍国医国药), 2001, 12: 199-200
- Kirk RG, Raymond CS, Jr Lewis KP, et al Circulins A and B. Novel human immunodeficiency virus (HIV)-inhibitory macrocyclic peptides from the tropical tree *Chassalia parvifolia* *J Am Chem Soc*, 1994, 116: 9337-9338
- Yahara S, Shigeyama C, Nohara T. Structures of anti-ace and rennin peptides from *Lycii radices cortex*. *Tetrahedron Lett*, 1989, 30: 6041-6042
- Morita H, Yun YS, Takeya K, et al Conformational analysis of a cyclic hexapeptide, segetalin A from *Vaccaria segetalis* *Tetrahedron*, 1995, 51: 5987-6002
- Hirosi M, Takashi K, Hideyuki K, et al Pseudostellarins A-C, new tyrosinase inhibitory cyclic peptides from *Pseudostellaria heterophylla* *Tetrahedron*, 1994, 50: 6797-6804
- Xie PS (谢培山). A feasible strategy for applying chromatography fingerprint to assess quality of Chinese herbal medicine Guangzhou: The Proceedings of International Symposium of Herbal Drug Quality Assessment by Chromatographic Fingerprint, 2001.
- Gong F, Liang YZ, Xie PS, et al Information theory applied to chromatographic fingerprint of herbal medicine for quality control *J Chromatogr A*, 2003, 1002: 25-40

(下转第 239 页)

2. 90 (1H, m, H-5), 2. 17 (1H, m, H-6), 1. 88 ~ 1. 92 (2H, m, H-6 and H-14), 6. 64 (1H, d, $J = 6. 4$ Hz, H-9), 6. 56 (1H, dd, $J = 8. 0, 6. 4$ Hz, H-10), 6. 60 (1H, d, $J = 8. 0$ Hz, H-11), 1. 26 (1H, d, $J = 12. 0$ Hz, H-14), 3. 15 (1H, m, H-15), 1. 88 (1H, s, H-16), 4. 36 (1H, s, H-17), 1. 66 (3H, d, $J = 6. 4$ Hz, H-18), 5. 28 (1H, br d, $J = 6. 4$ Hz, H-19), 3. 41 ~ 3. 58 (2H, m, H-21 and H-21), 3. 01 (3H, s, N-CH₃). The ¹³C NMR data see Table 2. Compound 15 was determined to be 12-hydroxymauisiene^[4,9].

Acknowledgements The authors are grateful to their colleagues in the group of Analytical Instrument in the State Key Laboratory of Phytochemistry and Plant Resources in West China, Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, for measuring NMR and MS data.

References

- 1 Ying XX, Yu HA, Hua YQ, *et al.* Chinese Bencao. Shanghai: Science and Technology Press, 1999, 6, 302-307.
- 2 Maurice M I, William EC. Root Alkaloids of *Rauwolfia vomitoria* Afz. *Planta Med*, 1977, 32: 88-98.
- 3 Yu DQ, Yang JS. Analytic Chemistry Handbook, 2nd ed. Beijing: Chemical Industry Press, 1999. 256-258, 703-704.
- 4 Reija J, Mauri L. A ¹H and ¹³C NMR study of seven Ajmaline-type alkaloids. *Planta Med*, 1996, 62: 577-579.
- 5 Bruno D, Giovanni P, Giuliana SR. ¹³C NMR of some ajmaline alkaloids. *Tetrahedron Letters*, 1981, 22: 4007-4008.
- 6 Dan S, Else L, Jette C, *et al.* Leishmanicidal, antiplasmodial and cytotoxic activity of indole alkaloids from *Corynanthe pachyceras*. *Planta Med*, 2000, 66: 531-536.
- 7 Atta UR, Abida S, Farzana N, *et al.* Alkaloids from *Vinca major*. *Phytochemistry*, 1995, 38: 1057-1061.
- 8 Lucilia K, Raquel MB, Ingrid K, *et al.* Indole alkaloids from *Rauwolfia bahiensis* A. DC. (Apocynaceae). *Phytochemistry*, 2002, 60: 315-320.
- 9 Christiane K, Pierre P, Siew KK, *et al.* Indole alkaloids from *Rauwolfia media*. *Phytochemistry*, 1986, 25: 1783-1784.
- 10 Hiroko S, Akihito H, Tohru H. The ¹H- and ¹³C-Nuclear magnetic resonance spectra of Harman. Reinvestigation of the assignments by one- and two-dimensional methods. *Chem Pharm Bull*, 1993, 41: 1169-1172.
- 8 Tang BL (唐宝莲), Xin SQ (辛绍祺), Cai BC (蔡宝昌), *et al.* HPLC fingerprint chromatography study of *rudix pseudostellariae heterophyllae*. *J Nanjing Univ Tradit Chin Med, Nat Sci* (南京中医药大学学报, 自科版), 2005, 21: 171-172.
- 9 Liu HQ (刘慧琼), Guo SH (郭书好). Modern apparatus and fingerprint of traditional Chinese medicine. *Acta Chin Med Pharmacol* (中医药学报), 2002, 30: 35-38.
- 10 Sun Y (孙沂), Sui Y (隋因), Guo T (郭涛), *et al.* Study on the fingerprints of flos carthami from different sources by HPCE. *Chin Pharm J* (中国药学杂志), 2003, 38: 176-178.
- 11 Wang GL (王钢力), Dai Z (戴忠), Lu J (鲁静), *et al.* HPCE Fingerprints of 11 species of plants for medicinal use of selaginella. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 2002, 24: 137-139.
- 12 Xie PS (谢培山). Chromatographic Fingerprints of Traditional Chinese Medicine (中药色谱指纹图谱). Beijing: People's Medical Publishing House, 2004. 131.
- 13 Liu YS (刘永锁), Meng QH (孟庆华), Jiang SM (蒋淑敏), *et al.* Similarity system theory to evaluate similarity of chromatographic fingerprints of traditional Chinese medicine. *Chin J Chromatogr* (色谱), 2005, 23: 158-163.

(上接第 210页)