

# 非线性化学指纹图谱技术结合高效液相色谱法鉴别 天麻产地及活性成分测定

方宣启, 王芳斌\*, 周彬彬, 周兴旺, 张建辉, 张继红  
(湖南省食品质量监督检验研究院, 长沙 410117)

**[摘要]** **目的:**利用非线性化学指纹图谱技术结合 HPLC 对天麻的产地进行鉴别,并对不同产地天麻中天麻素及整体活性成分进行定量分析。**方法:**采集了云南、湖北、贵州和东北三省 4 个产地天麻,利用非线性化学指纹图谱及 HPLC 指纹图谱对其产地进行鉴别。采用硫酸 + 硫酸锰 + 溴酸钠 + 丙酮 + 样品成分振荡体系,以天麻样本作振荡底物,建立天麻的非线性化学指纹图谱,结合图谱显著的直观差异及系统相似度模式识别对不同产地天麻进行鉴别评价,并测定不同产地天麻活性物质相对整体含量。同时,建立 4 个产地天麻的高效液相色谱指纹图谱,进行模糊聚类分析,并测定不同产地天麻的天麻素含量。**结果:**非线性指纹图谱法与 HPLC 指纹图谱分类结果一致,均能把天麻的产地给予溯源。活性成分相对含量的比较结果显示不同产地的天麻存在品质差异,两种方法相结合,既能对单个活性组分进行定性定量分析,又可获得活性成分整体含量的结果。**结论:**该研究为天麻的产地鉴别提供了一种简单、经济、快速的新方法,为科学表征天麻活性成分含量提供了新的技术手段。

**[关键词]** 非线性化学指纹图谱; 高效液相色谱法; 天麻; 产地鉴别; 天麻素; 整体活性成分含量  
**[中图分类号]** R284.1; R282.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2018)11-0054-07  
**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.20180921  
**[网络出版地址]** <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20180222.1654.005.html>  
**[网络出版时间]** 2018-02-26 8:47

## Identification of Origins and Active Components of Gastrodiae Rhizoma by Nonlinear Chemical Fingerprint Technology and HPLC

FANG Xuan-qi, WANG Fang-bin\*, ZHOU Bin-bin, ZHOU Xing-wang,  
ZHANG Jian-hui, ZHANG Ji-hong

(Hunan Institute of Food Quality Supervision Inspection and Research, Changsha 410117, China)

**[Abstract]** **Objective:** To identify the origins of Gastrodiae Rhizoma by nonlinear chemical fingerprint technology and HPLC, make a quantitative analysis of gastrodin and global active components in Gastrodiae Rhizoma. **Method:** Gastrodiae Rhizoma from Yunnan, Hubei, Guizhou and Northeast China were collected and identified by nonlinear fingerprint and HPLC fingerprint. With Gastrodiae Rhizoma sample as oscillation substrate,  $H_2SO_4 + MnSO_4 + NaBrO_3 + CH_3COCH_3 +$  sample compositions was taken as the oscillation system to establish the nonlinear chemical fingerprint of Gastrodiae Rhizoma. Based on the significant differences of the nonlinear fingerprint and system similarity model, Gastrodiae Rhizoma from different areas was identified successfully, and their global active components were detected. Meanwhile, HPLC fingerprints of Gastrodiae Rhizoma from 4 different origins were established. Then a fuzzy cluster analysis was made to study their quality difference, and gastrodin was

**[收稿日期]** 20171027(001)

**[基金项目]** 湖南省食品药品监督管理局食品药品安全科技项目(湘食药科 201606)

**[第一作者]** 方宣启, 硕士, 工程师, 从事中药质量控制和保健食品开发研究, Tel: 0731-89967560, E-mail: 258176684@qq.com

**[通信作者]** \*王芳斌, 博士, 研究员级高级工程师, 从事中药质量控制与评价、保健食品开发研究, Tel: 0731-89967560; E-mail: 1123222999@qq.com

detected. **Result:** The classification results by nonlinear chemical fingerprint and HPLC fingerprint were consistent, and can trace to the origins of *Gastrodiae Rhizoma*. The relative contents of functional components in *Gastrodiae Rhizoma* produced from different regions showed different quality. HPLC fingerprint and non-linear chemical fingerprint were combined to detect each single active component and obtain the result of global content of active components. **Conclusion:** This study provides a new economical and rapid method for identification of origins and quality evaluation of *Gastrodiae Rhizoma* and new ideas to represent active components in *Gastrodiae Rhizoma*.

[ **Key words** ] nonlinear chemical fingerprint; HPLC; *Gastrodiae Rhizoma*; origin identification; gastrodin; global active component

中药材成分十分复杂且大多未知,功效成分也非单一组分,而是多种活性成分甚至非活性成分协同作用方能产生药效。整体或群集表征的分析方法对中药及其制剂的鉴别及质量控制发挥了重要的作用。目前, HPLC 指纹图谱<sup>[1-2]</sup>, GC 指纹图谱<sup>[3]</sup>, GC-MS 指纹图谱<sup>[4-5]</sup>, LC-MS 指纹图谱<sup>[6]</sup>等,因既可作为中药化学成分的群集表征并利用夹角余弦、主成分分析及模糊聚类等手段对中药的产地进行鉴别或质量的稳定性进行评价,亦可通过对对照品已知的功效成分进行定量分析,已经成为国际公认的控制中药和天然药物质量的有效手段<sup>[7]</sup>。其缺点就是仪器较昂贵,需要对样品进行提取分离等处理,处理过程复杂,所获得的指纹图谱直观性不强,需借助数学手段对数据进行挖掘再处理,可获得单个组分的定性定量信息,却无法综合表达活性物质的整体含量。而非线性化学指纹图谱技术是一种基于远离平衡条件下的非线性动力学反应的全新技术,其通过样品成分参与或影响化学振荡或化学湍流反应而获得样品活性成分的整体表征。该技术无需分离和提纯等预处理,具有图谱直观特征性强、能体现活性成分整体含量,操作简单,分析快速的特点<sup>[8-10]</sup>。其缺点就是无法对中药中的单个活性成分进行定性定量分析。上述 2 种方法相结合,既能分析单个活性成分的含量,又能对药材中所含活性成分的相对整体含量进行评价,为中药的质量评价提供了更加科学的方法依据。

天麻为兰科植物天麻的干燥块茎,味甘、性温,具有祛风定惊、平肝息风等功效,是我国常用的名贵中药之一<sup>[11]</sup>。天麻产地分布较广,主要有云南、四川、贵州、湖北和东北地区等。不同产地天麻品质不一,但通过外观性状及显微鉴别难以实现产地溯源,尤其是对经过加工炮制后的碎片及粉末更是无能为力。本研究拟应用非线性化学指纹图谱技术结合高效液相色谱指纹图谱对不同产地的天麻进行研究,测定不同产地天麻中天麻素的含量及天麻活性

成分相对整体含量,建立了一种经济、快速、科学的药材产地鉴别及质量评价方法。

## 1 材料

MZ1B-2 型非线性化学指纹图谱测定仪(湖南尚泰测控科技有限公司),1260 系列高效液相色谱仪(配有在线脱气机、四元泵、自动进样器、柱温箱、二极管阵列检测器,美国安捷伦公司)。

天麻素对照品(中国食品药品检定研究院,批号 110807-201507,纯度  $\geq 95.4\%$ )。天麻药材从云南、贵州、湖北及东北地区等原产地通过购买采集,由湖南省药品检验研究院研究员级高工杨友良鉴定为兰科植物天麻 *Gastrodia elata* 的干燥块茎,其编号分别为云南(YN-1 ~ YN-5),贵州(GZ-1 ~ GZ-4),湖北(HB-1 ~ HB-5),东北地区(DB-1 ~ DB-4)。甲醇(色谱纯, Fisher 公司),硫酸、丙酮(国药集团化学试剂有限公司),硫酸锰(台山市粤侨试剂塑料有限公司),溴酸钠(天津市科密欧化学试剂有限公司),水为蒸馏水,其他试剂为分析纯。

## 2 方法与结果

**2.1 天麻非线性化学指纹图谱的测定方法** 精密称取经 50 °C 干燥至恒重并过 400 目筛的样品 0.8 g 于带恒温水浴的反应杯中,准确加入 1.0 mol·L<sup>-1</sup> 硫酸溶液 25.0 mL,0.100 mol·L<sup>-1</sup> 硫酸锰溶液 15.0 mL 及 10% 丙酮溶液 10.0 mL,盖好带注射孔和电极的反应杯盖,开启仪器,设置水浴温度为 50.0 °C,磁力搅拌器转速为 1 000 r·min<sup>-1</sup>,打开数据采集软件开始采集数据,待反应进行到 5.0 min 时通过注射器迅速加入 0.800 mol·L<sup>-1</sup> 溴酸钠溶液 5.00 mL。以 10 个点每秒的速度记录测得的电位  $E$  和反应时间  $t$ ,并绘制  $E-t$  曲线,至反应器溶液电位不随时间变化为止。

**2.2 非线性化学指纹图谱相似度计算方法** 本研究提取天麻非线性化学指纹图谱的最小电位( $E_{\min}$ ),峰顶电位( $E_{\text{pet}}$ ),峰顶时间( $t_{\text{pet}}$ ),诱导时间( $t_{\text{ind}}$ ),起振电位( $E_{\text{ind}}$ ),停振电位( $E_{\text{unc}}$ ),停振时间

( $t_{unc}$ ), 平均振荡周期 ( $T_{und}$ ), 振荡寿命 ( $t_{und}$ ), 最大振幅 ( $E_{max}$ ) 和振荡波数 ( $n_{wav}$ ) 共 11 个特征参数, 利用作者前期研究中发表的非线性化学指纹图谱系统相似度原理及计算方法计算相应非线性化学指纹图谱之间的系统相似度<sup>[12-13]</sup>。系统相似度计算公式<sup>[12-13]</sup> :

$$Q = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \frac{\min(a_i, b_i)}{\max(a_i, b_i)} \quad (1)$$

式中  $n$  为指纹图谱特征参数的个数,  $a_i$  和  $b_i$  分别表示非线性化学指纹图谱 A 和 B 中的第  $i$  个特征参数, 而  $\min(a_i, b_i)$ ,  $\max(a_i, b_i)$  则分别表示两个参数的较小者和较大者。

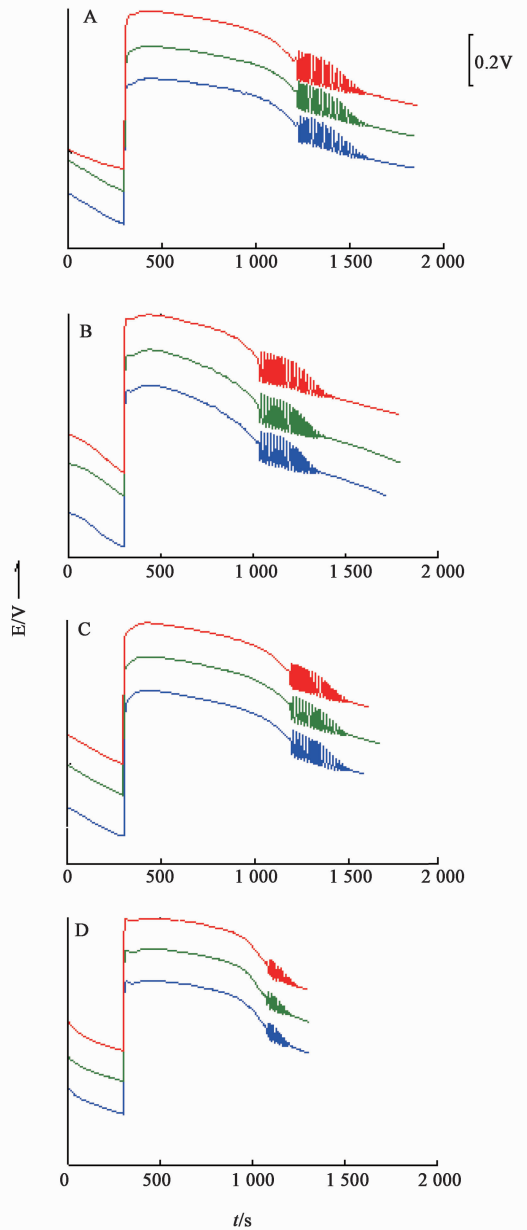
### 2.3 天麻非线性化学指纹图谱方法学考察

**2.3.1 重复性试验** 取 6 份东北产天麻 (DB-1) 为供试品, 以平行测得的非线性化学指纹图谱进行重复性考察。提取指纹图谱特征参数信息, 并以 6 次平行测定的指纹图谱特征参数信息的平均值作为参照, 6 份样品指纹图谱的系统相似度分别为 0.998 3, 0.997 7, 0.996 9, 0.995 4, 0.995 8 和 0.997 1, 表明该方法具有良好重复性

**2.3.2 稳定性试验** 以东北产天麻 (DB-1) 为供试品, 按 2.1 项下非线性化学指纹图谱测定方法分别在 0, 4, 8, 12, 24, 48 h 检测其指纹图谱, 以 6 次试验的指纹图谱参数的平均值为参照, 其系统相似度分别为 0.997 8, 0.996 6, 0.997 3, 0.995 1, 0.997 2, 0.998 9, 表明供试品在 48 h 内稳定。

**2.4 天麻非线性化学指纹图谱的重复性及特征差异** 按 2.1 项下天麻非线性化学指纹图谱的测定方法, 分别称取东北天麻 (DB-1), 湖北天麻 (HB-1), 贵州天麻 (GZ-1), 云南天麻 (YN-1) 1.000 g 于反应杯中, 平行测定 3 次, 获得的指纹图谱置于同一  $X$  坐标内并在  $Y$  轴方向上以一定间距排列, 见图 1, 表明同一样品的指纹图谱具有良好的重复性。不同产地的天麻, 因同种同属, 其化学成分的种类基本相同, 因此其电位随时间曲线 ( $E-t$  曲线) 的起伏趋势、振荡波形具有高度的相似性。而不同产地天麻因生长环境不同活性成分的含量也不同, 指纹图谱的直观形状又有明显的特征差异, 道地药材云南天麻与另外 3 个产地的天麻指纹图谱的差异尤为明显, 其振荡寿命、振幅明显小很多, 见表 1。这就为天麻道地药材的鉴别提供了简单明了、直观形象的新方法。

**2.5 天麻产地的系统相似度模式识别** 精密称取东北天麻 (DB-1 ~ DB-4), 湖北天麻 (HB-1 ~ HB-5), 贵州天麻 (GZ-1 ~ GZ-4), 云南天麻 (YN-1 ~ YN-5)



A. 东北; B. 湖北; C. 贵州; D. 云南

图 1 天麻非线性化学指纹图谱的重复性

Fig. 1 Reproducibility of non-linear chemical fingerprint of *Gastrodia Rhizoma*

各 0.800 g, 测定其非线性化学指纹图谱并提取振荡周期、振荡寿命等特征参数, 见表 1。分别以东北、湖北、贵州、云南 4 个产地天麻指纹图谱的特征参数平均值为共有模式参数, 计算天麻间的系统相似度, 见表 2。结果表明, 同一产地天麻的非线性化学指纹图谱的相似度较高, 均  $\geq 0.984 0$ , 而不同产地天麻相似度均  $\leq 0.949 1$ 。值得注意的是东北、湖北、贵州三地天麻之间的系统相似度均  $\geq 0.929 5$ , 而与道地药材云南天麻的相似度均  $< 0.81$ , 这显示了道地药材与非道地药材的品质有明显的差异, 通过相

表 1 不同产地天麻样品的非线性化学指纹图谱特征参数

Table 1 Main characteristic parameters values of nonlinear chemical fingerprints of some Gastrodiae Rhizoma samples produced from different origin

编号	$E_{\min}/V$	$t_{\text{pet}}/s$	$E_{\text{pet}}/V$	$T_{\text{ind}}/s$	$E_{\text{ind}}/V$	$T_{\text{und}}/s$	$t_{\text{unc}}/s$	$E_{\text{unc}}/V$	$t_{\text{und}}/V$	$E_{\text{max}}/s$	$n_{\text{wav}}$
DB-1	0.506 7	435.5	1.084 0	1 231.2	0.846 6	19.1	1 628.2	0.771 4	407.1	0.100 4	22
DB-2	0.489 3	432.5	1.092 5	1 228.4	0.840 3	19.3	1 633.2	0.767 2	404.8	0.106 7	22
DB-3	0.490 0	431.3	1.097 3	1 224.5	0.832 3	19.2	1 628.3	0.761 9	403.8	0.111 5	22
DB-4	0.506 2	440.8	1.083 7	1 222.2	0.859 7	18.9	1 630.4	0.776 6	408.2	0.112 1	22
HB-1	0.482 2	431.2	1.052 8	1 068.0	0.783 9	17.3	1 493.8	0.717 4	425.8	0.116 0	23
HB-2	0.506 4	423.6	1.060 4	1 069.8	0.851 8	17.1	1 490.2	0.727 3	420.4	0.111 3	23
HB-3	0.480 2	428.4	1.070 7	1 042.4	0.850 3	16.8	1 473.2	0.722 7	430.8	0.118 1	24
HB-4	0.477 8	439.0	1.088 0	1 050.6	0.841 1	16.7	1 482.2	0.744 0	431.6	0.115 7	22
HB-5	0.461 0	429.8	1.101 4	1 062.2	0.894 9	17.4	1 491.2	0.732 8	429.0	0.113 2	23
GZ-1	0.480 3	425.9	1.054 4	1 196.7	0.803 9	16.6	1 533.1	0.741 6	336.4	0.100 7	21
GZ-2	0.476 6	425.8	1.084 5	1 207.0	0.822 6	16.7	1 547.8	0.755 8	340.8	0.104 2	20
GZ-3	0.480 0	430.0	1.094 9	1 194.2	0.842 8	16.8	1 527.6	0.774 5	333.4	0.099 8	20
GZ-4	0.483 4	431.2	1.109 9	1 183.4	0.822 2	16.4	1 521.4	0.767 5	338.0	0.109 2	20
YN-1	0.504 8	453.1	1.136 4	1 080.9	0.910 5	14.2	1 234.9	0.865 3	154.0	0.060 9	12
YN-2	0.505 6	456.4	1.135 6	1 088.4	0.914 4	14.3	1 238.0	0.860 1	149.6	0.060 1	12
YN-3	0.520 2	449.2	1.131 1	1 086.2	0.884 1	14.0	1 238.8	0.853 7	152.6	0.059 2	12
YN-4	0.510 9	458.9	1.133 9	1 098.4	0.890 2	14.0	1 251.2	0.847 7	152.8	0.059 9	12
YN-5	0.518 5	452.4	1.136 1	1 087.6	0.914 2	14.2	1 236.8	0.854 8	149.2	0.059 6	12

似度计算能很好的对天麻的道地性进行鉴别。

## 2.6 不同产地天麻的整体活性成分含量的测定

以 5 个云南天麻(YN-1 ~ YN-5)供试品粉末等比例混和作为道地药材样本,设定其活性成分整体含量为 1。分别称取 0.200,0.300,0.400,0.500,0.600,0.700,0.800 g 按 2.1 项下方法测得系列非线性化学指纹图谱,其振荡寿命分别为 460.4,406.5,368.8,309.7,251.2,208.9,150.3 s。结果显示,振荡寿命与检测用量在 0.200 ~ 0.800 g 呈良好的线性关系,相关系数为 0.998 9,线性回归方程为  $t_{\text{os}} = -515.4m + 565.67$ 。见图 2。

由表 1 及公式可计算出各产地天麻的整体活性成分相对含量,见表 3。由表 3 可知,道地药材云南天麻的活性成分整体含量最高,贵州天麻次之,东北天麻和湖北天麻含量相当,东北天麻略高。

**2.7 HPLC 色谱条件** 采用  $C_{18}$  色谱柱(4.6 mm × 250 mm,5.0 μm),流动相 0.5% 乙酸水溶液(A)-甲醇(B),梯度洗脱(0 ~ 20 min,5% ~ 35% B;20 ~ 25 min,35% ~ 60% B;25 ~ 35 min;60% ~ 90% B,35 ~ 45 min;90% B;45 ~ 48 min,90% ~ 5% B;48 ~ 60 min,5% B)。流速设定 1 mL·min<sup>-1</sup>,紫外检

测波长 270 nm,进样量 10 μL,柱温 30 ℃。

**2.8 对照品溶液制备** 精密称取适量天麻素对照品适量,加 60% 甲醇溶液配制成 0.368 g·L<sup>-1</sup> 的对照品储备液,采用倍半稀释法获得 6 个对照品溶液。

**2.9 供试品溶液制备** 将经 50 ℃ 干燥至恒重的供试品粉碎,过 200 目筛,置于干燥器中保存。精密称取天麻粉末(0.800 0 ± 0.050 0)g,加入 60% 甲醇约 8 mL,超声提取 15 min,静置过夜,定容至 10.0 mL,漩涡混匀,取上清液离心后过有机膜(0.22 μm),得滤液并装入样品瓶备用。

## 2.10 HPLC 方法学考察

**2.10.1 线性关系** 分别吸取 2.8 项下的 6 个对照品溶液 10 μL,按 2.7 项下色谱条件进样,以峰面积(A)为纵坐标,浓度(C)为横坐标,绘制标准曲线,其线性回归方程为  $A = 15 531C - 2 435.56$ ,相关系数为 0.999 1,线性关系良好。

**2.10.2 精密度试验** 取 DB-1 天麻供试品溶液 10 μL,重复进样 6 次,记录主要共有峰的保留时间和峰面积,其 RSD 分别 < 0.4%,3.2%,表明仪器精密度良好。

**2.10.3 重复性试验** 取 DB-1 天麻粉末 6 份,分别

表 2 不同产地天麻的系统相似度

Table 2 System similarity of *Gastrodiae Rhizoma* produced from different origins

产地	编号	东北	湖北	贵州	云南
东北	1	0.990 4	0.937 6	0.943 8	0.785 2
	2	0.994 7	0.944 9	0.948 2	0.777 8
	3	0.990 7	0.949 1	0.947 0	0.775 6
	4	0.988 7	0.946 1	0.938 3	0.784 1
湖北	5	0.937 5	0.986 3	0.932 0	0.777 3
	6	0.948 6	0.986 2	0.935 5	0.792 1
	7	0.933 2	0.987 1	0.930 0	0.782 8
	8	0.947 2	0.985 9	0.942 3	0.793 0
	9	0.940 2	0.984 0	0.929 5	0.789 9
贵州	10	0.939 1	0.937 3	0.986 5	0.795 1
	11	0.946 5	0.936 5	0.993 1	0.798 6
	12	0.944 0	0.934 7	0.988 2	0.809 6
	13	0.944 9	0.938 8	0.986 6	0.806 8
云南	14	0.781 0	0.788 4	0.803 0	0.992 6
	15	0.780 2	0.786 7	0.802 1	0.993 9
	16	0.781 2	0.787 8	0.802 9	0.992 3
	17	0.782 9	0.787 6	0.804 8	0.993 4
	18	0.777 8	0.784 3	0.799 6	0.994 7

表 3 不同产地天麻的活性成分相对整体含量

Table 3 Global content of active components in *Gastrodiae Rhizoma*

编号	活性成分 相对整体含量	编号	活性物质 相对整体含量
DB-1	0.384 6	GZ-1	0.556 0
DB-2	0.390 2	GZ-2	0.545 4
DB-3	0.392 6	GZ-3	0.563 3
DB-4	0.381 9	GZ-4	0.552 2
HB-1	0.339 2	YN-1	0.998 4
HB-2	0.352 3	YN-2	1.009 1
HB-3	0.327 1	YN-3	1.001 8
HB-4	0.325 2	YN-4	1.001 3
HB-5	0.331 5	YN-5	1.010 1

项下制备的对照品溶液 5.00 mL,按 2.9 项下供试品溶液制备方法制备,按 2.7 项下色谱条件测定,结果天麻素的平均加样回收率为 99.3%,RSD 1.8%。

**2.11 不同产地天麻的 HPLC 指纹图谱及天麻素含量的测定** 分别取东北 (DB-1 ~ DB-4),湖北 (HB-1 ~ HB-5),贵州 (GZ-1 ~ GZ-4),云南 (YN-1 ~ YN-5)4 个产地共 18 个天麻样品按 2.9 项下方法制备供试品溶液,按 2.7 项下色谱条件测定,其色谱图见图 3。将数据导入国家药典委员会“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”2004A 版,设置时间窗宽度为 0.10 进行峰匹配,有 17 个共有峰,以中位数计算法获得其共有模式,见图 4。相同条件下,测得天麻素对照品的高效液相色谱图,经天麻素对照品定性可确定 6 号峰为天麻素峰。按 2.10.1 项下测得的标准曲线外标法定量,测得的 18 批次不同产地天麻的天麻素含量见表 4。结果显示,4 个产地天麻供试品的天麻素含量均达到 2015 年版《中国药典》不低于 0.2% 的规定。湖北、东北、贵州及云南天麻中天麻素含量的平均值分别为 0.243%,0.327%,0.443% 和 0.803%,表明受生长环境及气候条件等的影响,不同产地天麻的天麻素含量有较大差异,其中道地药材云南天麻的天麻素含量最高。

**2.12 聚类分析** 本研究采用 SPSS 17.0 软件对东北 (DB-1 ~ DB-4),湖北 (HB-1 ~ HB-5),贵州 (GZ-1 ~ GZ-4),云南 (YN-1 ~ YN-5)4 个产地共 18 个天麻 HPLC 指纹图谱进行聚类分析,以 17 个共有峰为变量,用系统分类法进行模糊聚类,结果见图 5。由图 5 可知,18 个样品可分为 4 类,每类与实际

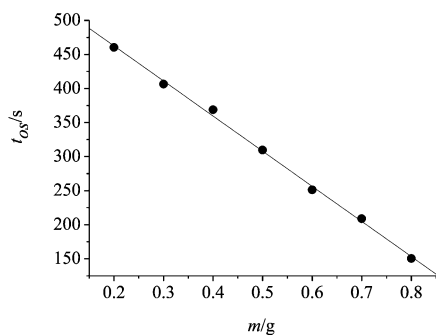


图 2 天麻非线性化学指纹图谱振荡寿命与检测用量的关系

Fig. 2 Relationship of oscillation time of non-linear chemical fingerprint of *Gastrodiae Rhizoma* and dosage

按 2.9 项下方法制备供试品溶液并进样分析,记录主要共有峰的保留时间和峰面积,其 RSD 分别 < 0.4% 和 4.4%,表明方法重复性好。

**2.10.4 稳定性试验** 取 DB-1 天麻供试品溶液,分别于 0,6,12,18,24,48 h 进样分析,记录主要共有指纹峰的保留时间和峰面积,其 RSD 分别 < 0.5% 和 5.0%,供试品 48 h 内稳定。

**2.10.5 加样回收率试验** 取已知天麻素含量的 DB-1 天麻样品 6 份,置于具塞锥形瓶中,加入 2.8

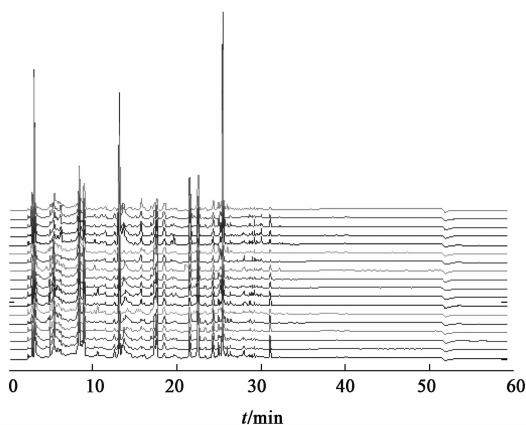
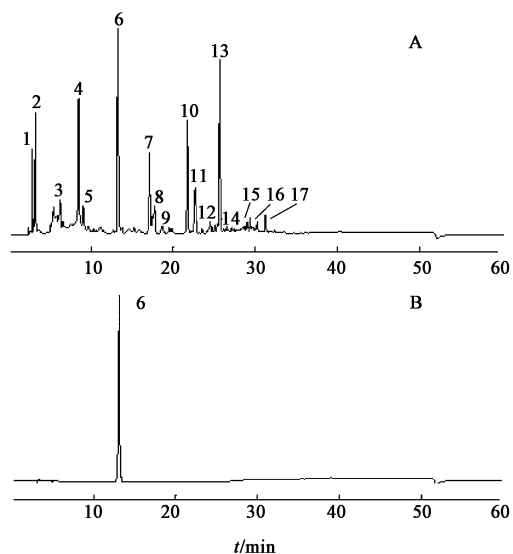


图 3 18 批次不同产地天麻的 HPLC

Fig. 3 HPLC fingerprint of *Gastrodiae Rhizoma* produced from different origin



6. 天麻素

图 4 天麻对照色谱指纹谱 (A) 及天麻素对照品的 HPLC 色谱 (B)

Fig. 4 Reference HPLC fingerprint of *Gastrodiae Rhizoma* (A) and gastrodin (B)

产地吻合。其中, 贵州与湖北天麻 HPLC 指纹图谱的欧氏距离最小, 云南天麻与另外 3 个产地的欧式距离最大, 表明不同产地的天麻存在品质差异。云南天麻与其他产地的差异最大, 这种差异主要体现在天麻化学成分的含量上, 见图 3, 表 3, 4。

### 3 讨论

色谱指纹图谱是国际上公认的中药材的质量控制及产地鉴别方法, 利用高效液相色谱指纹图谱对天麻的产地进行鉴别, 对天麻素、鸟苷、腺苷、尿苷等几个组分的含量进行测定已见报道<sup>[14-16]</sup>, 但获得的指纹图谱直观特征性不强, 需要借助数学手段进行处理方可实现产地鉴别, 且不能对天麻中的整体活

表 4 不同产地天麻的天麻素质量分数

Table 4 Content of gastrodin in *Gastrodiae Rhizoma* produced from different origin

编号	天麻素	编号	天麻素
HB-1	0.230	GZ-1	0.425
HB-2	0.235	GZ-2	0.433
HB-3	0.241	GZ-3	0.444
HB-4	0.254	GZ-4	0.471
HB-5	0.257	YN-1	0.695
DB-1	0.275	YN-2	0.753
DB-2	0.293	YN-3	0.819
DB-3	0.327	YN-4	0.856
DB-4	0.414	YN-5	0.891

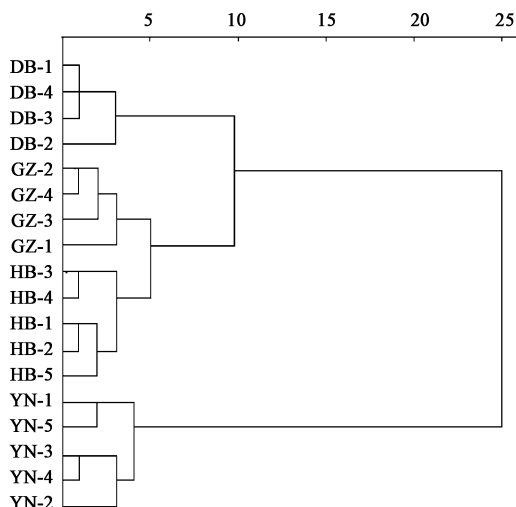


图 5 18 批次天麻 HPLC 指纹图谱系统聚类分析

Fig. 5 Cluster analysis result of 18 *Gastrodiae Rhizoma* produced from different origin

性成分的含量进行评价。本试验利用非线性化学指纹图谱法对东北、湖北、贵州和云南 4 个产地天麻进行研究, 结果表明天麻的非线性化学指纹图谱的直观特征差异显著, 提取其特征参数进行系统相似度模式分析, 同一产地的相似度均  $\geq 0.9840$ , 而不同产地天麻相似度均  $\leq 0.9491$ , 鉴别的结果与同时建立的 HPLC 指纹图谱系统聚类分析结果一致, 均与实际产地吻合。利用非线性化学指纹图谱振荡寿命与检测用量的关系测得不同产地天麻的整体活性成分相对含量与 HPLC 测得的天麻素的含量尽管在数值上不能一一对应, 但含量的大小趋势一致的, 均显示道地药材的活性成分含量最高。实际上也表明了天麻素是天麻的主要活性成分, 但天麻作用效果应为天麻素及其他活性成分共同作用的结果。2 种方

法相结合,既可对单个组分进行定性定量分析,又可获得所有组分综合表达的结果(即活性成分整体含量),为临床正确精准用药提供参考。

[参考文献]

[1] 周琳琳,郝敏,白雁,等. 河南连翘不同极性部位的 HPLC 指纹图谱[J]. 中国实验方剂学杂志,2017,23(7):52-59.

[2] 王丽霞,王超展,耿信笃. 淫羊藿属药材反相高效液相色谱指纹图谱及质量评估研究[J]. 化学学报,2006,64(6):551-555.

[3] 袁敏,曾志,宋力飞,等. 气相色谱指纹图谱用于连翘的质量控制[J]. 分析化学,2003,31(4):455-458.

[4] LI Y P, HU Z, HE L C. An approach to develop binary chromatographic fingerprints of the total alkaloids from *Caulophyllum robustum* by high performance liquid chromatography/diode array detector and gas chromatography/mass spectrometry [J]. J Pharm Biomed Anal,2007, 43(5):1667-1672.

[5] YAN S, YANG Y, WU Y, et al. Chemical fingerprinting and quantitative analysis of volatiles in Shexiang Baoxin pill by gas chromatography with flame ionization and mass spectrometric detection [J]. J Anal Chem,2009, 64(2):149-155.

[6] 张炜,盛彧欣,张金兰,等. 应用 HPLC-DAD/MS 技术评价中药天麻的质量[J]. 药学报,2007,42(4):418-423.

[7] 王夏炎. 现代分析技术在中药指纹图谱研究中的应用[J]. 中草药,2004,35(7):127-129.

[8] 方宣启,张泰铭,赵哲,等. 非线性化学指纹图谱技术

在鉴别和评价甘草及其临床应用中的作用[J]. 科学通报,2010,55(17):1661-1669.

[9] 张泰铭,赵哲,方宣启,等. 利用样本成分耗散物的非线性化学指纹图谱的检测方法、条件、特点和应用[J]. 中国科学:化学,2011,41(9):1521-1539.

[10] XIANG F Q, FANG X Q, ZHANG T M, et al. Nonlinear chemical fingerprint and system similarity and their applications in authenticity identification, producing area differentiation and quality evaluation of *Salvia Miltiorrhiza*[J]. J Chem Soc,2013,107:209-222.

[11] 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,2015:58-59.

[12] 张泰铭,赵哲,方宣启,等. 利用样本成分耗散物的非线性化学指纹图谱原理及相似度计算与评价[J]. 中国科学:化学,2011,41(10):1604-1621.

[13] ZHOU J F, FANG X Q, ZHANG T M, et al. Quantitative similarity assessment of non-linear chemical fingerprint of traditional Chinese medicine by similarity system theory [J]. J Cent South Univ T, 2011, 18(2):343-352.

[14] 麻印莲,肖永庆,耿立冬,等. 天麻饮片的 HPLC 指纹图谱鉴别[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(19):104-107.

[15] 刘红,陈燕芹,罗树常,等. 反相高效液相色谱法同时测定天麻中天麻素和3种核苷[J]. 中国实验方剂学杂志,2014,20(17):81-83.

[16] 李西林,米健芳,马晓悦,等. HPLC 法对不同产地天麻药材的质量分析[J]. 中国实验方剂学杂志,2010,16(8):96-97.

[责任编辑 顾雪竹]