

# 铁包金根、茎特征图谱的研究

谢明容<sup>1</sup>,周伟平<sup>1</sup>,徐煜纯<sup>1</sup>,董雷<sup>2</sup>,严寒静<sup>3</sup>,高晓霞<sup>1\*</sup>

(1. 广东药学院药科学院,广州 510006; 2. 北京汇诚瑞祥医药技术有限公司,北京 101111;  
3. 广东药学院中药学院,广州 510006)

**[摘要]** 目的:建立铁包金根、茎 HPLC 特征图谱,为该药材质量评价研究提供参考。方法:采用 HPLC 构建 24 批不同产地不同种类铁包金根、茎的特征图谱,通过聚类分析和主成分分析对特征图谱进行化学模式识别。结果:以 11 个共有峰为特征指纹信息构建 HPLC 特征图谱,9 批细叶勾儿茶和多叶勾儿茶根为一类,12 个细叶勾儿茶和多叶勾儿茶的茎和 3 个多叶勾儿茶的根聚为一类。结论:HPLC 特征图谱的构建为铁包金根、茎的质量评价研究提供参考依据。

**[关键词]** 铁包金根、茎; HPLC 特征图谱; 模式识别

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)24-0160-05

**[doi]** 10.11653/syfy2013240160

## HPLC Characteristic Fingerprint for Roots and Stems of *Berchem lineata*

XIE Ming-rong<sup>1</sup>, ZHOU Wei-ping<sup>1</sup>, XU Yu-chun<sup>1</sup>, DONG Lei<sup>2</sup>, YAN Han-jing<sup>3</sup>, GAO Xiao-xia<sup>1\*</sup>

(1. College of Pharmacy, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China;

2. Beijing Novelpharm Consulting Co. Ltd., Beijing 101111, China;

3. College of Traditional Medicine, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China)

**[Abstract]** **Objective:** To establish a HPLC characteristic fingerprints for the determination of the roots and stems of *Berchem lineata*. **Method:** The characteristic fingerprints of 24 batches of roots and stems of *B. Lineata* and *B. floribunda*, which were belong to different kinds and collected from different places, were established by HPLC. A chemical pattern recognition method was constructed by using cluster analysis and principal components analysis (PCA) method. **Result:** 11 common peaks were found in the HPLC characteristic fingerprints. 24 samples were divided into two branches. 9 batches of roots of *B. Lineata* and *B. floribunda* clustered to a clade. 3 roots of *B. floribunda*, 12 stems of *B. Lineata* and *B. floribunda* were first clustered together as a sister clade to roots of *B. Lineata* and *B. floribunda*. **Conclusion:** The established method can be used for quality control of the roots and stems of *B. lineata*.

**[Key words]** roots and stems of *Berchem lineata*; HPLC characteristic fingerprint; chemical pattern recognition

铁包金为广西壮族和西南少数民族常用的民族药。《中国大辞典》和《中华本草》收录的铁包金为

鼠李科勾儿茶属细叶勾儿茶 *Berchemia lineata* (L.) DC. 和光枝勾儿茶 *B. polyphylla* Wall. ex Lawson 的茎藤或根<sup>[1-2]</sup>, 主要分布于我国广西、广东、西南及陕西、福建、湖北、湖南等地区, 具有止血止痛、化痰镇咳、祛风湿、消肿毒等功效<sup>[1-4]</sup>。《广西中药材标准》收录的铁包金为细叶勾儿茶干燥根<sup>[3]</sup>。由于细叶勾儿茶资源越来越少, 地下部分很难收集, 民间出现了多叶勾儿茶 *B. polyphylla* Wall. ex Laws、多花勾儿茶 *B. floribunda* (Wall) Brongn 根、茎替代细叶勾

**[收稿日期]** 20130329(020)

**[第一作者]** 谢明容, 硕士, 从事药物分析研究, Tel: 020-39352136, E-mail: tsemingyung@163.com

**[通讯作者]** \* 高晓霞, 博士, 副教授, 硕士研究生导师, 从事中药制剂质量控制研究, Tel: 020-39352136, E-mail: gaomiaxia91@yahoo.com.cn

儿茶根、茎入药的现象<sup>[5]</sup>。

本文采用 HPLC 建立细叶勾儿茶、多叶勾儿茶根、茎特征图谱,通过主成分分析(PCA)进行模式识别,初步探讨细叶勾儿茶、多叶勾儿茶根、茎化学成分比例上的差别,以阐述细叶勾儿茶根茎能否一起入药,多叶勾儿茶能否替代细叶勾儿茶入药,以完善铁包金的临床质量标准。

## 1 仪器与材料

### 1.1 仪器 Shimadzu SCL-10AVP 高效液相色谱仪

AB204-N 型电子分析天平(Mettler Toledo),KQ-500DE 型超声波清洗器。

**1.2 试剂** 槲皮素(批号 100081-200907)、大黄酚(批号 110796-201017)对照品购自中国药品生物制品鉴定所。乙腈为色谱纯(德国 Merck 公司),水为超纯水,其余试剂均为国产分析纯。

24 批铁包金药材由广东药学院严寒静副教授鉴定为鼠李科勾儿茶属植物细叶勾儿茶 *B. lineata* 和多叶勾儿茶 *B. floribunda* 的干燥根或茎,见表 1。

表 1 细叶勾儿茶和多叶勾儿茶根、茎来源

No.	样品	采集地	采集时间	No.	样品	采集地	采集时间
S1	细叶勾儿茶根	广东番禺	2011-09	S13	细叶勾儿茶茎	广东番禺	2011-09
S2	细叶勾儿茶根	广东番禺	2011-09	S14	细叶勾儿茶茎	广东番禺	2011-09
S3	细叶勾儿茶根	广东番禺	2011-09	S15	细叶勾儿茶茎	广东番禺	2011-09
S4	细叶勾儿茶根	广东肇庆	2011-01	S16	细叶勾儿茶茎	广东番禺	2011-11
S5	细叶勾儿茶根	广东肇庆	2011-01	S17	细叶勾儿茶茎	广东番禺	2011-11
S6	细叶勾儿茶根	广东肇庆	2011-01	S18	细叶勾儿茶茎	广东番禺	2011-11
S7	多叶勾儿茶根	广东番禺	2011-09	S19	多叶勾儿茶茎	广东肇庆	2011-12
S8	多叶勾儿茶根	广东番禺	2011-09	S20	多叶勾儿茶茎	广东肇庆	2011-12
S9	多叶勾儿茶根	广东番禺	2011-09	S21	多叶勾儿茶茎	广东肇庆	2011-12
S10	多叶勾儿茶根	广东肇庆	2011-01	S22	多叶勾儿茶茎	广东番禺	2011-09
S11	多叶勾儿茶根	广东肇庆	2011-01	S23	多叶勾儿茶茎	广东番禺	2011-09
S12	多叶勾儿茶根	广东肇庆	2011-01	S24	多叶勾儿茶茎	广东番禺	2011-09

## 2 方法

**2.1 色谱条件** 色谱柱 Diamonsil C<sub>18</sub> 柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相为乙腈(A)-0.2% 磷酸水溶液(B)梯度洗脱(0~20 min, 10%~15% A; 20~35 min, 15% A; 35~50 min, 15%~26% A; 50~90 min, 26%~60% A; ; 90~130 min, 60%~80% A; ; 130~140 min, 80% A)。流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, 检测波长 280 nm, 进样量 10 μL, 柱温 25 ℃, 运行时间 140 min。

**2.2 对照品溶液的制备** 精密称取槲皮素对照品、大黄酚对照品适量, 加甲醇-盐酸溶液使溶解, 制成每 1 mL 各含 15 μg 的混合溶液, 摇匀, 即得。

**2.3 供试品溶液的制备** 取本品粉末(过四号筛)约 0.2 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇-盐酸(4:1)10 mL, 密塞, 称定质量, 超声处理(功率 250 W, 频率 50 kHz)40 min, 放冷, 再称定质量, 用甲醇-盐酸(4:1)溶液补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

### 2.4 方法学考察

**2.4.1 精密度实验** 取 S1 批次样品供试品溶液,

按 2.1 项下色谱条件连续进样 6 次, 测定各共有峰峰面积的 RSD < 3%, 说明仪器精密度良好。

**2.4.2 重复性试验** 取 S1 批次样品 6 份, 按 2.2 项下方法制备, 供试品溶液分别测得各共有峰峰面积 RSD < 3%, 说明方法重复性良好。

**2.4.3 稳定性试验** 取 S1 批次样品制备供试品, 分别在 0, 4, 8, 12, 24, 48 h 测定, 测得各峰峰面积的 RSD 均 < 3%, 说明供试品溶液在 48 h, 室温保存内稳定。

### 2.5 数据处理软件

**2.5.1 相似度计算** 按《中国药典》委员会《中药色谱指纹图谱相似度评价系统》软件(2004A)进行计算。

**2.5.2 模式识别** 使用 SIMCA-P + 12.0 软件通过聚类分析和主成分分析(PCA)对指纹图谱进行化学模式识别。

## 3 结果

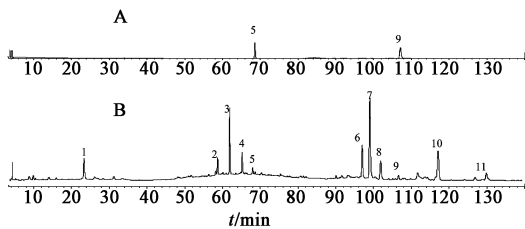
**3.1 铁包金特征图谱的测定及共有峰标记** 精密吸取对照品溶液适量, 在 2.1 项色谱条件下进行测

定,得槲皮素、大黄酚对照品图谱(图 1A)。精密吸取各供试品溶液适量,在 2.1 项色谱条件下进行测

定。共标定 11 个特征峰(图 1B),各特征峰相对百分含量结果见表 2。

表 2 各共有峰的相对百分含量

样品	峰 1	峰 2	峰 3	峰 4	峰 5	峰 6	峰 7	峰 8	峰 9	峰 10	峰 11
S1	0.028 5	0.023 9	0.022 1	0.008 5	0.026 8	0.031 8	0.112 7	0.018 8	0.015 0	0.032 8	0.012 2
S2	0.040 5	0.020 5	0.015 3	0.007 2	0.020 5	0.029 9	0.102 5	0.019 7	0.012 2	0.028 6	0.010 6
S3	0.028 4	0.018 1	0.017 0	0.008 2	0.022 5	0.033 2	0.093 0	0.022 9	0.015 5	0.031 9	0.011 1
S4	0.032 0	0.016 4	0.016 1	0.009 7	0.020 6	0.028 3	0.065 6	0.025 8	0.034 9	0.030 1	0.010 2
S5	0.028 4	0.018 2	0.021 9	0.008 6	0.020 8	0.048 5	0.087 2	0.028 9	0.026 4	0.056 0	0.016 4
S6	0.028 8	0.020 2	0.024 9	0.008 1	0.020 1	0.042 3	0.108 1	0.025 4	0.023 5	0.051 0	0.015 1
S7	0.032 3	0.011 5	0.015 1	0.013 4	0.019 0	0.025 9	0.035 4	0.017 5	0.007 5	0.019 6	0.018 8
S8	0.020 8	0.017 2	0.014 6	0.008 4	0.017 1	0.044 0	0.032 5	0.025 0	0.016 0	0.035 7	0.030 3
S9	0.021 1	0.018 0	0.014 9	0.008 8	0.016 1	0.044 1	0.028 7	0.025 4	0.014 8	0.036 1	0.029 3
S10	0.019 8	0.018 7	0.026 9	0.015 8	0.017 1	0.000 5	0.012 9	0.000 2	0.013 6	0.000 2	0.001 8
S11	0.019 7	0.017 3	0.025 4	0.015 6	0.011 0	0.000 7	0.014 5	0.000 1	0.020 1	0.000 8	0.000 1
S12	0.013 3	0.022 0	0.032 9	0.017 4	0.011 5	0.000 7	0.027 9	0.000 2	0.025 4	0.000 1	0.001 7
S13	0.021 3	0.014 9	0.054 6	0.007 8	0.049 9	0.002 0	0.035 3	0.000 8	0.015 6	0.002 6	0.002 4
S14	0.021 8	0.015 0	0.060 9	0.012 2	0.046 1	0.001 6	0.035 0	0.000 8	0.018 0	0.001 8	0.000 8
S15	0.015 5	0.015 6	0.052 8	0.011 4	0.048 8	0.001 0	0.028 2	0.000 3	0.025 5	0.001 7	0.003 9
S16	0.035 0	0.016 9	0.037 9	0.010 3	0.027 4	0.000 2	0.059 4	0.000 1	0.009 3	0.000 5	0.000 9
S17	0.033 9	0.025 3	0.063 3	0.011 5	0.030 6	0.000 5	0.068 2	0.000 1	0.016 3	0.000 5	0.001 0
S18	0.038 1	0.023 9	0.059 8	0.010 6	0.028 6	0.000 4	0.060 1	0.000 1	0.014 7	0.000 4	0.001 1
S19	0.013 8	0.013 4	0.019 7	0.027 9	0.011 6	0.000 3	0.015 8	0.000 1	0.011 9	0.000 3	0.001 4
S20	0.022 0	0.009 7	0.021 3	0.032 8	0.016 7	0.000 6	0.018 9	0.000 2	0.014 5	0.000 8	0.001 3
S21	0.020 9	0.006 4	0.020 5	0.031 9	0.016 9	0.000 6	0.017 1	0.000 2	0.015 2	0.000 8	0.001 4
S22	0.014 1	0.019 5	0.049 9	0.006 9	0.004 0	0.008 6	0.214 4	0.000 6	0.027 9	0.000 4	0.003 9
S23	0.019 2	0.024 3	0.049 9	0.009 6	0.006 2	0.009 0	0.240 0	0.001 0	0.027 9	0.000 7	0.002 4
S24	0.014 1	0.019 5	0.049 9	0.006 4	0.014 1	0.001 7	0.214 4	0.004 2	0.027 9	0.000 4	0.003 9



A. 对照品; B. 供试品; 5. 槲皮素 9. 大黄酚

图 1 细叶勾儿茶根的 HPLC 特征图谱

3.2 特征图谱聚类分析 以 24 批不同产地的铁包金根、茎为研究对象,进行特征图谱研究,获得 11 个共有色谱峰,以 11 个色谱峰的百分含量作为原始数据矩阵,运用 SIMCA-P + 12.0 统计学分析软件<sup>[6]</sup>进行系统聚类分析。图 2 为聚类分析的分析图,图 2A 中细叶勾儿茶和多叶勾儿茶根样品 S7, S8, S9, S5, S6, S1, S4, S2, S3 聚为一支,剩下的 3 个多叶勾

儿茶根、6 个细叶勾儿茶根和 6 个多叶勾儿茶茎样品聚为一支,这两个分支互为姐妹类群。把图 2A 结果中聚为一类的铁包金根样品再做聚类分析(图 2B),发现细叶勾儿茶根样品聚为一支,多叶勾儿茶根样品聚为另一平行支。

3.3 铁包金特征图谱主成分分析(PCA) 将 24 批铁包金根茎采用非监督模式识别方法 PCA 来观察样品的自然聚集,PCA 能够将分散在诸多变量中的信息集中到主成分上,来定量描述数据内部结构,具有相似化学组成特征的样本往往处于相似的位置<sup>[6]</sup>。图 3 为 PCA 两组样本的得分矩阵图,得分图中每一个点代表了一批样本,可以直观地给出各样本在空间上的位置。该模型中有 8 个主成分,用 PC1 对 PC2 作图,从得分图可见铁包金的根和铁包

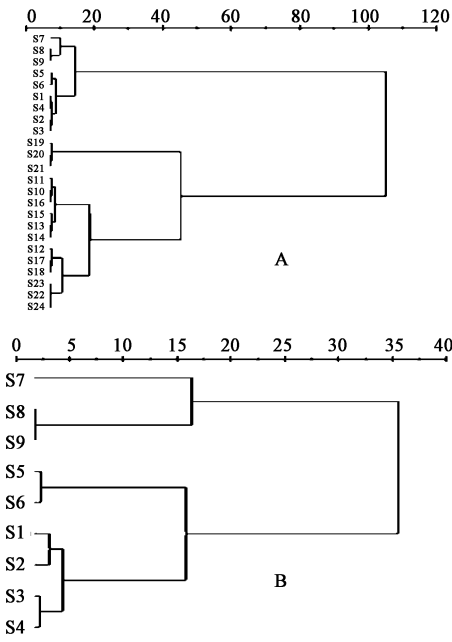


图2 铁包金根、茎聚类分析图(A)、铁包金根聚类分析(B)

金的茎两组样本能较明显区分,由PCA结果分析可知,前5个主成分累计贡献率可达91.1%,其中前3个成分贡献较大78.0%。将提取的8个成分和对应的特征值做散点图(图4),观察散点图发现前5个成分的斜率非常陡,而剩余的其他成分之间的斜率则较为平缓。斜率越陡贡献率越大,斜率越平缓,贡献率越小。

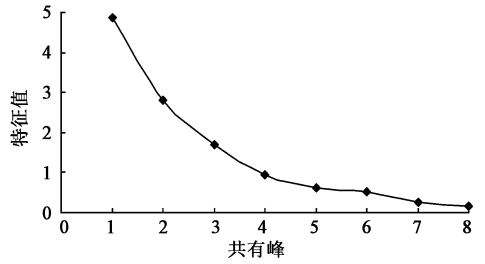


图4 铁包金根、茎特征值散点

0.964,0.878,0.859,0.853,0.860。在聚类分析中另一个分支的15批样品(多叶勾儿茶和细叶勾儿茶茎12个、多叶勾儿茶根3个)S10,S11,S12,S13,S14,S15,S16,S17,S18,S19,S20,S21,S22,S23,S24相似度分别为0.675,0.854,0.726,0.777,0.812,0.758,0.882,0.872,0.862,0.693,0.682,0.670,0.726,0.757,0.757。把S1~S9相似度作为一组,S10~S24相似度作为另一组做显著性差异分析( $P < 0.05$ ),从结果可以看出,不同种类不同产地的铁包金根、茎在其成分比例上有差异很大,且相对铁包金茎来说,根的化学成分比例较为稳定。

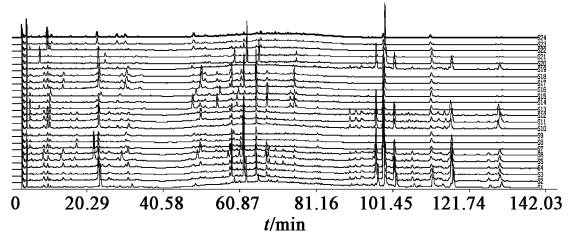


图5 铁包金根或茎的HPLC特征图谱纵向叠加

#### 4 讨论

铁包金主要含黄酮、蒽醌类等成分<sup>[7-8]</sup>,曾采用不同溶剂(甲醇、乙醇、50%甲醇、80%乙醇<sup>[9]</sup>、甲酸-冰醋酸4:1、甲醇-盐酸4:1<sup>[10]</sup>)提取,发现甲醇-盐酸4:1溶剂所提取的溶液色谱峰较多且峰型更好,故加入酸使黄酮、蒽醌等更好的游离,同时使黄酮苷和蒽醌苷水解而峰强度增高。流动相的选择时,考察了甲醇-0.1%磷酸水溶液、甲醇-0.2%磷酸<sup>[9]</sup>水溶液、乙腈-0.2%磷酸水溶液等流动相系统,以乙腈-0.2%磷酸水溶液系统可使色谱峰较好分离,基线更平滑,故选择该流动相系统。

张荣祥等<sup>[11]</sup>对铁包金茎、叶中槲皮素含量测定研究结果表明:叶中槲皮素的含量高于茎,茎部位水解前后槲皮素的含量变化较小而叶部位水解前后槲皮素的含量变化明显,建议茎、叶分别入药。民间铁包金用药通常根、茎不分,笔者发现即使同一品种(细叶勾儿茶、多叶勾儿茶)同一产地铁包金根、茎组织的化学组成差异也较大,考虑用药的安全性,建

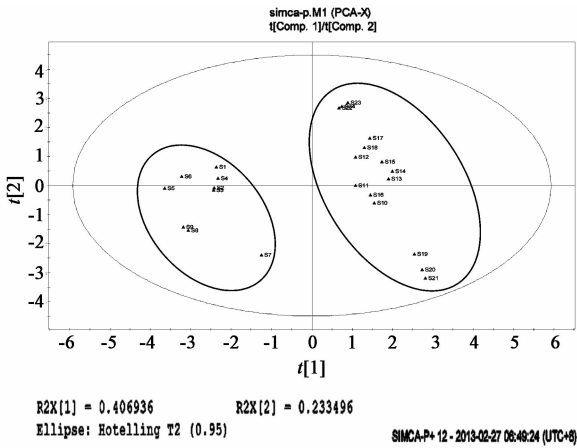


图3 主成分平面得分

**3.4 特征图谱相似度分析** 将24批药材(多叶勾儿茶和细叶勾儿茶的干燥根或茎)数据导入《中药指纹图谱相似度评价系统》软件(2004A)进行色谱峰的匹配,得到24批多叶勾儿茶和细叶勾儿茶的干燥根或茎的HPLC特征图谱纵向叠加图(图5),其中在聚类分析中聚为一支的9批(多叶勾儿茶和细叶勾儿茶的干燥根)样品:S1,S2,S3,S4,S5,S6,S7,S8,S9的相似度分别为0.964,0.920,0.949,0.966,

议铁包金根、茎不能做同一药材使用,应分别入药。同时不同种铁包金根的聚类分析结果(图 2B)和特征图谱相似度结果(多叶勾儿茶相似度在 0.853 ~ 0.860)表明,多叶勾儿茶根与细叶勾儿茶根成分比例上存在一定的差异,故认为多叶勾儿茶根不能替代细叶勾儿茶根。从细叶勾儿茶根、茎不能做同一药材使用,多叶勾儿茶不能替代细叶勾儿茶的结果来看,笔者比较认同《广西中药材标准》收录的铁包金为细叶勾儿茶干燥根。

聚类分析(图 2A)中 3 个多叶勾儿茶根(S10, S11, S12)与 12 个茎聚为一支,从各共有特征峰相对百分含量分析(表 2),可能是因为峰 6, 8, 10, 11 的面积百分含量与其他根差别很大,而与茎的面积百分含量接近,故峰 6, 8, 10, 11 可作为细叶勾儿茶的化学标记物。

随着细叶勾儿茶资源日益稀少,应寻找更好的细叶勾儿茶种植方法,或者寻找其他的药材作为替代品,而对于细叶勾儿茶根、茎之间的疗效差异,应做进一步的药理学研究。本实验建立的 HPLC 法分析铁包金根、茎特征图谱,能够使铁包金根、茎的共有成分在色谱图中体现,所建立的分析方法具有较好的稳定性和可控性,可用于铁包金的质量控制。

## [参考文献]

- [1] 江苏新医学院. 中药大辞典[M]. 2 版. 上海:上海科学技术出版社,2000:2607.
- [2] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草. 第 13 卷[M]. 上海:上海科学技术出版社,1999:232.
- [3] 广西壮族自治区卫生厅. 广西中药材标准[S]. 南宁:广西科学技术出版社,1990:79,260.
- [4] 广西壮族自治区中医药研究所. 广西药用植物名录[M]. 南宁:广西人民出版社,1986:293.
- [5] 梁启成,钟鸣. 中国壮药学[M]. 南宁:广西民族出版社,2005:432.
- [6] 徐雅静,汪远征. 主成分分析应用方法的改进[J]. 数学的实践与认识,2006,23(6):234.
- [7] 杨娟,潘琪,魏东法,等. 光枝勾儿茶化学成分研究(II)[J]. 中国药学杂志,2006,41(2):255.
- [8] 陈立,董俊兴. 勾儿茶属植物化学成分及其生物活性研究进展[J]. 中草药,2006,37(4):627.
- [9] 滕红丽,郭力城,李鑫. 光枝勾儿茶高效液相色谱指纹图谱研究[J]. 时珍国医国药,2011,22(5):1232.
- [10] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:化学工业出版社,2005:214.
- [11] 张荣祥,阮婧华,王道平. 反相高效液相色谱法测定铁包金中鞣皮素的含量[J]. 贵州教育学院学报,2009,12(20):4.

[责任编辑 邹晓翠]

## 《中国中药杂志》2014 年征订启事

《中国中药杂志》系中国科协主管,中国药学会主办,中国中医科学院中药研究所承办的综合性中药学术期刊。创刊于 1955 年 7 月,是创刊最早、发行量最大的中药学术刊物。《中国中药杂志》全面反映我国中医科研最高学术水平,主要报道该领域新成果、新技术、新方法与新思路,内容包括栽培、资源与鉴定、炮制、药剂、化学、药理、不良反应、临床等。设有专论、综述、研究论文、研究报告、临床、学术探讨、药事管理、经验交流、信息等栏目。主要读者对象为医药领域各级管理部门、研究所、大专院校、企业以及医院等从事医药科研、管理、生产、医院制剂及临床研究等方面的专业人员。

《中国中药杂志》现为半月刊,128 页,2014 年定价每期 30 元,全年 24 期定价为 720 元。国内刊号 11-2272/R,国际刊号 1101-5302。

本刊现已全面实现网络编辑办公,如欲投稿或联系本刊、获取本刊各种信息动态请登录中国中药杂志网站 [www.cjcm.com.cn](http://www.cjcm.com.cn) 或 [www.中国中药杂志.com](http://www.中国中药杂志.com)。

联系电话:稿件查询 010-64045830 转 602;主任电话 010-64058556;资源与栽培栏编辑:010-64048925;制剂栏编辑:010-64040392;化学栏编辑:010-64040113;药理栏编辑:010-84022522;临床栏编辑:010-64059766;电子杂志制作发行及网上维护:010-64030625。