

几个道地产区茅苍术指纹图谱及苍术素含量测定研究

陈佳, 解小霞, 刘合刚*

(湖北中医药大学药学院, 武汉 430065)

[摘要] 目的: 结合茅苍术主要成分苍术素的含量测定与指纹图谱, 比较不同产地药材化学成分的差异性, 为科学评价不同产地茅苍术药材的质量提供依据。方法: 采用 HPLC 对各产地茅苍术药材进行分析, 采用“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”软件比较指纹图谱的相似度, 并用 SPSS 19.0 对 13 批样品进行聚类分析。采用药典方法测定苍术素含量。结果: 建立了茅苍术药材指纹图谱检测方法, 不同产地茅苍术药材指纹图谱有较大相似性。但苍术素的含量有较大的差异。聚类分析结果表明道地产区与主产区茅苍术药材存在一定差异, 但差别不是很大。结论: 所建立的 HPLC 指纹图谱具有良好的精密度、重复性和稳定性, 结合苍术素的含量, 为茅苍术质量评价的提供依据。

[关键词] 茅苍术; 高效液相色谱; 指纹图谱; 苍术素

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)10-0125-03

[doi] 10.11653/syfy2013100125

Study on the Fingerprints of *Atractylodes lancea* from Different Habitats and the Determination of Atractylodin by HPLC

CHEN Jia, XIE Xiao-xia, LIU He-gang*

(College of Pharmacy of Hubei University of Chinese Medicine, Wuhan 430065, China)

[Abstract] **Objective:** To study the HPLC fingerprints and establish a sensitive and specific method for the quality control of *Atractylodes lancea* from different habitats. **Method:** All 13 samples of *A. lancea* from different habitats were determined by RP-HPLC. Use Chromatographic Fingerprint Similarity Evaluation software to analyze data and evaluate HPLC fingerprint established. **Result:** The simple and specific method with good repeatability was established. There was different content of each component contained in habitat samples produced in individual area. The content of atractylodin had greater difference. **Conclusion:** The HPLC fingerprint can be used for the quality evaluation of *A. lancea*.

[Key words] *Atractylodes lancea* (Thunb.) DC; RP-HPLC; fingerprint; atractylodin

茅苍术为菊科植物茅苍术的干燥根茎, 具有燥湿健脾、祛风湿、明目之功效, 主治湿困脾胃、倦怠嗜卧、胸痞腹胀、食欲不振、呕吐泄泄、痰饮、湿肿、表证夹湿、头身重痛、痹证湿胜、肢节酸痛重着、痿痹、夜盲等症^[1-3]。苍术素具有保肝、抗缺氧、降血糖、抗炎抗肿瘤、治疗骨质疏松症等作用^[4-5], 为茅苍术药材的主要有效成分与质量评价指标。茅苍术主要成

分为脂溶性成分, 探讨茅苍术药材的脂溶性指纹图谱, 对考察目前市场上的茅苍术质量, 保证临床用药的稳定性和有效性具有一定意义^[6]。指纹图谱可评价原药材、半成品和成品质量专一性很稳定性^[7-8]。本实验针对道地产区与主产区茅苍术药材, 建立了高效液相色谱指纹图谱, 并采用药典方法对不同产地药材中苍术素的含量进行测定, 以期为茅苍术药材的质量评价提供科学依据。

1 材料

高效液相色谱仪(戴安 P680), 1/10 万分析天平(Sarforius BP 211D 型), 中草药粉碎机(FW177 型, 天津市泰斯特仪器有限公司), 超声仪(SK220H 型, 上海科岛超声仪器有限公司)

[收稿日期] 20121108(007)

[第一作者] 陈佳, 在读硕士, 从事中药资源及其品质的研究, Tel: 13407326020, E-mail: chenjia43@163.com

[通讯作者] * 刘合刚, 教授, 从事中药资源及其品质的研究, E-mail: liuhegang0626@126.com

苍术素(购自上海中药标准化研究中心,批号 17-2001),色谱甲醇(Fisher 公司,批号 110806),色谱乙腈(Tedia 公司,批号 110607),双蒸水(自制)。茅苍术药材样品信息见表 1。经湖北中医药大学刘合刚教授鉴定为茅苍术的干燥根茎,凭证标本存放于湖北中医药大学药用植物标本馆。药材经烘干后粉碎,过 40 目筛,备用。

表 1 不同产区苍术药材样品

No.	产地	道地性	来源	采收日期
S1	湖北英山草盘乡	非道地产区	栽培	2011-10
S2	湖北英山杨柳乡	非道地产区	栽培	2011-10
S3	湖北英山陶河乡	非道地产区	栽培	2011-10
S4	湖北英山南河乡	非道地产区	栽培	2011-10
S5	湖北蕲春横车镇	非道地产区	野生	2011-10
S6	湖北襄阳宝康	非道地产区	栽培	2011-11
S7	安徽霍山太平乡	非道地产区	栽培	2011-10
S8	安徽岳西来榜镇	非道地产区	栽培	2011-11
S9	安徽岳西莲花乡	非道地产区	栽培	2011-11
S10	江苏句容天王镇	道地产区	栽培	2011-11
S11	江苏句容茅山	道地产区	栽培	2011-11
S12	河南信阳浉河区	非道地产区	栽培	2011-11
S13	河南南阳桐柏县	非道地产区	栽培	2011-11

2 方法与结果

2.1 色谱条件 Agilent HC-C₁₈ Analytical 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),检测波长 335 nm,流速 1.0 mL·min⁻¹,柱温 25 °C,流动相 A 相为水,B 相为乙腈,梯度洗脱(0 ~ 5 min, 30 ~ 35% B; 5 ~ 7 min, 35 ~ 55% B; 7 ~ 30 min, 55 ~ 70% B; 30 ~ 45 min, 70 ~ 75% B),进样量 10 μL。见图 1 ~ 2。

2.2 供试品溶液的制备 称取样品粉末(过 40 目筛)0.5 g,精密称定,置 50 mL 具塞锥形瓶中,精密加入甲醇 50 mL,密塞,称定质量,超声处理 1 h,放冷,再次称定质量,加甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液过 0.45 μm 微孔滤膜,即得^[9]。

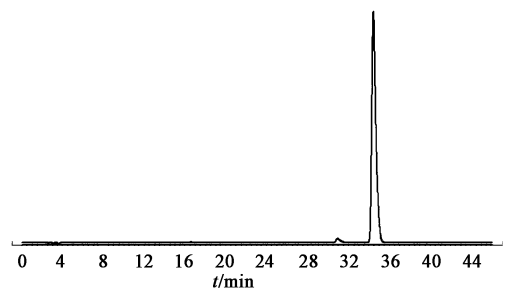


图 2 苍术素对照品

即得^[10]。

2.4 精密度试验 取同一批次茅苍术药材粉末,按 2.2 项方法,制备供试品溶液,连续进样 5 次,测得其各共有峰相对保留时间 RSD < 0.1%,相对峰面积 RSD 均 < 3%,表明精密度良好。

2.5 稳定性试验 取同一批次茅苍术药材粉末,制备供试品溶液,分别在 0, 2, 4, 8, 24 h 时间段进样,进行测定,其各共有峰相对保留时间 RSD 均 < 0.3%,相对峰 RSD 均 < 5%,说明样品溶液在 24 h 稳定。

2.6 重复性试验 取同一茅苍术样品粉末 5 份,按 2.2 项方法,进样测定。测得其共有峰相对保留时间 RSD 均 < 0.1%,相对峰面积的 RSD 均 < 6%,表明重复性良好。

2.7 指纹图谱相似度分析 利用中国药典委员会颁布的中药色谱指图谱相似度评价系统软件,使用中位数法计算,对所得的 HPLC 指纹图谱全谱进行相似度计算^[11],其结果见图 3,表 2。13 批茅苍术药材除 S6, S13, S8 的相似度 < 0.90,其余 10 个产地相似度均 > 0.95,药材品质比较一致。

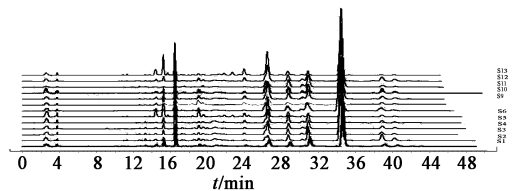


图 3 不同产地茅苍术指纹图谱

表 2 13 种苍术药材相似度计算结果

样品	相似度	样品	相似度
S1	0.969	S8	0.861
S2	0.983	S9	0.986
S3	0.997	S10	0.957
S4	0.995	S11	0.958
S5	0.996	S12	0.991
S6	0.635	S13	0.558
S7	0.964		

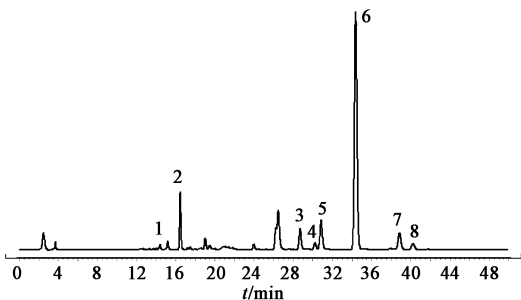


图 1 标准指纹图谱

2.3 对照品溶液的制备 取苍术素对照品适量,精密称定,加甲醇制成每 1 mL 含 20 μg 的溶液,

2.8 13个产地茅苍术共有峰面积聚类分析^[12]

从图3可以看出,匹配后共有8个共有峰,其中6号峰为苍术素色谱峰。对所有共有峰峰面积与称样量加以量化,用SPSS 19.0进行聚类分析,以欧氏距离平方作为度量方法,离差平方和作为聚类方法。选择凝聚状态表生成聚类树形图。发现S6和S13以及S8与其他距离较远,这与相似度分析结果一致。

2.9 苍术素的含量测定^[10] 精密称取13个产地的13份茅苍术药材粉末各0.2 g,按2.2项方法制备供试品,在Agilent HC-C₁₈ Analytical色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm),流动相甲醇-水(79:21),流速1 mL·min⁻¹,检测波长340 nm,柱温25℃。结果见表3。

表3 不同产地药材苍术素含量 %

No.	产地	苍术素	No.	产地	苍术素
S1	湖北英山草盘乡	1.16	S8	安徽岳西来榜镇	0.41
S2	湖北英山杨柳乡	0.78	S9	安徽岳西莲花乡	1.03
S3	湖北英山陶河乡	0.35	S10	江苏句容天王镇	0.64
S4	湖北英山南河乡	0.47	S11	江苏句容茅山	0.61
S5	湖北蕲春横车镇	1.22	S12	河南信阳浉河区	0.64
S6	湖北襄阳宝康	0.15	S13	河南南阳桐柏县	0.11
S7	安徽霍山太平乡	0.46			

从表3中直观看出除了S6和S13苍术素含量低于药典规定的0.30%,其他产地茅苍术均高于药典要求。

3 讨论

本实验对测定波长进行考察,选择代表性波长203,210,290,300,320,325,335,340 nm进行检测,结果显示335 nm处色谱图信号比较丰富,各色谱峰分布比较均匀。利用RP-HPLC梯度洗脱,先考察60 min色谱图,发现45 min以后没有峰,所以选定保留时间为45 min。图1显示句容天王镇样品的所有出峰情况,共有15个峰,通过对13个样品的测定分析,发现有8个共有峰(图1)。

在相似度分析中,岳西来榜样品在药材前期烘干过程中温度过高,可能对其成分造成破坏,导致其相似度降低。通过聚类分析,句容天王镇样品与湖北英山等地聚为一类,经查证可能是由于句容天王镇的茅苍术是从湖北英山引种,且引种年限不长,故其品质还未发生太大改变。

此次研究仅标示出苍术素一个特征峰,后期研究可以结合液质联用等现代技术对其他共有峰加以指认。

数据显示不同产地茅苍术药材苍术素含量有较

明显的差别;而河南南阳、湖北襄阳等地的茅苍术苍术素含量较低。对13批不同产地样品聚类分析显示,由于实验样品均采自茅苍术药材的主产区,多为栽培,各主产地之间有相互引种现象,故其质量较为接近,这与相似度和聚类分析结果也比较一致。近年来,道地产区茅苍术药材稀缺,实验结果显示其他主产区与道地产区茅苍术药材质量较为相似,这能否缓解茅苍术道地药材供应紧张的局面有待进一步考证。而河南南阳、湖北襄阳以及安徽岳西来榜距离最远,可能与所处地理环境以及后期采收加工过程有一定关系。

[参考文献]

- [1] 陈炎明,俞桂新,王峰涛. RP-HPLC测定茅苍术中β-桉叶醇的含量[J]. 中国中药杂志, 2007, 32(21):2265.
- [2] 赵爱梅. 苍术的药理作用研究[J]. 光明中医, 2009, 24(1):181.
- [3] 欧阳臻,江涛涛,缪亚东,等. 苍术的化学成分、道地性和药理活性研究进展[J]. 时珍国医国药, 2006, 17(10):1936.
- [4] Guo F Q, Huang L F, Zhou S Y, et al. Comparison of the volatile compounds of *Atractylodes medicinal plants* by headspace solidphase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry [J]. *Anal Chim Acta*, 2006, 570:73.
- [5] 张怡文,汪六英,张颖,等. 苍术类药材提取物体外对成骨细胞增殖及酶活性的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(22):226.
- [6] 张贝贝,方婧,许海玉,等. HPLC测定道地产地和主产地茅苍术中β-桉叶醇及其他成分的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(8):116.
- [7] 刘永利,李冬梅,冯丽,等. 银黄系列品种高效液相指纹图谱[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(20):102.
- [8] 刘布鸣,刘倡翔,林霄,等. 十大功劳 HPLC 指纹图谱及聚类分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(4):95.
- [9] 葛晓郡,张亚中,黄丽丹,等. 苍术药材 HPLC 特征指纹图谱研究[J]. 山西中医学院学报, 2011, 12(5):19.
- [10] 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, 2010:150.
- [11] 聂磊,曹进,罗国安,等. 中药指纹图谱相似度评价方法的比较[J]. 中成药, 2005, 27(3):249.
- [12] 欧阳臻,杨凌,宿树兰,等. 茅苍术挥发油的气相色谱-质谱指纹图谱研究[J]. 药学学报, 2007, 42(19):968.

[责任编辑 顾雪竹]