

# 不同商品规格羌活药材的 HPLC 指纹图谱分析

郭慧清, 李娅琦, 王梓轩, 张泽坤, 马长华\*

(北京中医药大学 中药学院, 北京 102488)

**[摘要]** **目的:**建立不同商品规格羌活药材的 HPLC 指纹图谱,为羌活商品等级的划分和羌活药材质量的控制提供实验依据。**方法:**通过市场调查和文献研究,了解羌活药材商品状况,按照基原结合药材形态将羌活划分为蚕羌、条羌和大头羌3种商品规格。采用高效液相色谱-光电二极管阵列检测技术(HPLC-PDA),以乙腈-0.3%乙酸水溶液为流动相进行梯度洗脱,建立不同商品规格羌活药材的指纹图谱;采用“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”(2004A版)进行共有峰确认及相似度评价;通过 SPSS 19.0 软件采用主成分分析对指纹图谱进行模式识别。**结果:**分别建立了蚕羌、条羌和大头羌3种商品规格羌活药材的指纹图谱,从蚕羌中标定了22个共有峰,条羌中标定了23个共有峰,大头羌中标定了29个共有峰。相似度评价结合主成分分析结果显示相同商品规格羌活质量较为稳定,不同商品规格羌活的化学成分组成和含量差异显著。**结论:**所建立的指纹图谱方法可以很好地区别不同商品规格的羌活,可为羌活商品等级的划分及其质量控制提供参考。

**[关键词]** 羌活;商品规格;指纹图谱;主成分分析;绿原酸;紫花前胡苷;异欧前胡素

**[中图分类号]** R22;R28;C37;O657.7;R943.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2019)07-0184-05

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.20182490

**[网络出版地址]** <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20180927.1141.018.html>

**[网络出版时间]** 2018-09-28 13:29

## HPLC Fingerprint Analysis of *Notopterygii Rhizoma et Radix* with Different Commercial Specifications

GUO Hui-qing, LI Ya-qi, WANG Zi-xuan, ZHANG Ze-kun, MA Chang-hua\*

(School of Chinese Materia Medica, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 102488, China)

**[Abstract]** **Objective:** To establish HPLC fingerprint of *Notopterygii Rhizoma et Radix* with different commercial specifications and to provide the basis for the division of commercial grades and the quality control of *Notopterygii Rhizoma et Radix* on the market. **Method:** The market investigation and literature research were used to understand the existing situation of *Notopterygii Rhizoma et Radix* goods. *Notopterygii Rhizoma et Radix* goods were divided into three commercial specifications according to the source and appearance, such as Canqiang, Tiaoqiang and Datouqiang. Fingerprint of *Notopterygii Rhizoma et Radix* with different commercial specifications was established by HPLC-PDA, the mobile phase was consisted of acetonitrile-0.3% acetic acid in a gradient elution mode. Similarity evaluation system for chromatographic fingerprint of traditional Chinese medicine (version of 2004A) was used to confirm the common peaks and evaluate the similarity. SPSS 19.0 statistical software was used to make principal component analysis (PCA) for HPLC fingerprint pattern. **Result:** The common mode of fingerprint for Canqiang, Tiaoqiang and Datouqiang were established separately. A total of 22 common peaks were marked in Canqiang, 23 common peaks were marked in Tiaoqiang, 29 common peaks were marked in Datouqiang. The result of similarity evaluation and PCA showed that the quality of *Notopterygii Rhizoma et Radix* with the same

**[收稿日期]** 20180529(007)

**[基金项目]** 国家中药标准化项目(ZYBZH-Y-GS-10-B)

**[第一作者]** 郭慧清,在读硕士,从事中药质量控制研究,E-mail:15811155687@163.com

**[通信作者]** \*马长华,教授,从事中药活性成分与质量标准研究,E-mail:machanghua60@sina.com

commercial specification was stable. There were great differences in chemical compositions and their contents among *Notopterygii Rhizoma et Radix* with different commercial specifications. **Conclusion:** The fingerprint method can well distinguish commercial specifications of *Notopterygii Rhizoma et Radix*, and it can provide the basis for the division of commercial grades and the quality control of *Notopterygii Rhizoma et Radix*.

[**Key words**] *Notopterygii Rhizoma et Radix*; commercial specification; fingerprint; principal component analysis; chlorogenic acid; nodakenin; isoimperatorin

羌活按照形态划分为“蚕羌”和“竹节羌”，宽叶羌活分为“条羌”和“大头羌”<sup>[1]</sup>。该药材临床上常用于治疗风寒感冒、风湿痹痛、肩臂酸痛等。羌活主产于四川等地，宽叶羌活主产于甘肃、青海等地<sup>[2]</sup>。羌活的商品等级仅在 1984 年制定的《七十六种药材商品规格标准》上有规定，但该标准后续并未更新，已不能适应市场变化。目前有的学者按形态将羌活分为蚕羌、竹节羌、大头羌、条羌和须根<sup>[3-4]</sup>；有的分为蚕羌、条羌和大头羌，其中条羌包括竹节羌和尾羌<sup>[5]</sup>；还有人分为蚕羌、尾羌、竹节羌、疙瘩头和条羌<sup>[6]</sup>，从主要化学成分入手开展质量等级标准研究，可见羌活商品规格的划分极为混乱，有待于建立科学合理的商品规格等级标准，以规范羌活药材市场<sup>[7]</sup>。

中药指纹图谱具有稳定性、系统性的特点，可较为全面反映中药所含化学成分的种类和数量<sup>[8-9]</sup>。考虑到 2 种不同基原羌活的化学成分含量差异很大<sup>[10-12]</sup>，本实验参照市场现状，按照基原结合药材形态将羌活划分为蚕羌、条羌和大头羌 3 种商品规格（竹节羌由于形态上与蚕羌相差不大，也归为蚕羌），采用 HPLC 建立不同商品规格羌活的指纹图谱，并进行相似度评价和主成分分析，为科学划分羌活商品等级、全面控制该药材质量提供参考依据。

### 1 材料

2695 型高效液相色谱仪（美国 Waters 公司），CPA225D 型电子天平（德国 Sartorius 公司），DFT-50A 型粉碎机（温岭市林大机械有限公司）。绿原酸、阿魏酸、羌活醇、异欧前胡素对照品（成都曼思特生物科技有限公司，批号分别为 MUST-17030620，MUST-17010908，MUST-17040110，MUST-17030420，纯度均 >98%），紫花前胡苷对照品（上海源叶生物科技有限公司，批号 ZN1122BB13，纯度 >98%），水为娃哈哈纯净水，乙腈为色谱纯，其他试剂均为分析纯。从道地产区和药材市场共收集 10 批羌活（样品 S1 ~ S10）和 20 批宽叶羌活（样品 S11 ~ S30），经北京中医药大学马长华教授鉴定为伞形科植物羌活 *Notopterygium incisum* 或宽叶羌活 *N. franchetii* 的

干燥根茎及根。参照市场现状，按照基原结合药材形态进行商品规格划分，见表 1。

表 1 羌活药材样品的信息

Table 1 Information of *Notopterygii Rhizoma et Radix* samples

样品	规格	产地	样品	规格	产地
S1	蚕羌	四川	S16	条羌	甘肃
S2	蚕羌	四川	S17	条羌	甘肃
S3	蚕羌	四川	S18	条羌	甘肃
S4	蚕羌	四川	S19	条羌	甘肃
S5	蚕羌	青海	S20	条羌	甘肃
S6	蚕羌	四川	S21	大头羌	甘肃
S7	蚕羌	四川	S22	大头羌	甘肃
S8	蚕羌	四川	S23	大头羌	甘肃
S9	蚕羌	四川	S24	大头羌	甘肃
S10	蚕羌	四川	S25	大头羌	甘肃
S11	条羌	甘肃	S26	大头羌	甘肃
S12	条羌	甘肃	S27	大头羌	甘肃
S13	条羌	甘肃	S28	大头羌	甘肃
S14	条羌	甘肃	S29	大头羌	甘肃
S15	条羌	甘肃	S30	大头羌	甘肃

## 2 方法与结果

**2.1 色谱条件** 采用 ZORBAX SB-C<sub>18</sub> 色谱柱（4.6 mm × 250 mm, 5 μm），流动相乙腈（A）-0.3% 乙酸水溶液（B）梯度洗脱（0 ~ 10 min, 15% ~ 26% A；10 ~ 20 min, 26% ~ 28% A；20 ~ 30 min, 28% ~ 35% A；30 ~ 60 min, 35% ~ 85% A；60 ~ 70 min, 85% A），柱温 25 °C，流速 1 mL·min<sup>-1</sup>，检测波长 325 nm，进样量 10 μL。

**2.2 对照品溶液的制备** 精密称定绿原酸、紫花前胡苷、阿魏酸、羌活醇、异欧前胡素对照品适量，加甲醇制成质量浓度分别为 0.296, 0.433, 0.373, 0.500, 0.412 g·L<sup>-1</sup> 的混合对照品贮备液。

**2.3 供试品溶液的制备** 取本品粉末（过三号筛，下同）约 0.4 g，精密称定，置具塞锥形瓶中，精密加入甲醇 50 mL，称定质量，超声处理（功率 250 W，

频率 50 kHz) 30 min, 放冷, 再称定质量, 用甲醇补足  
减失的质量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 进样前过  
0.45 μm 微孔滤膜, 作为羌活药材供试品溶液。

## 2.4 羌活药材 HPLC 指纹图谱的建立

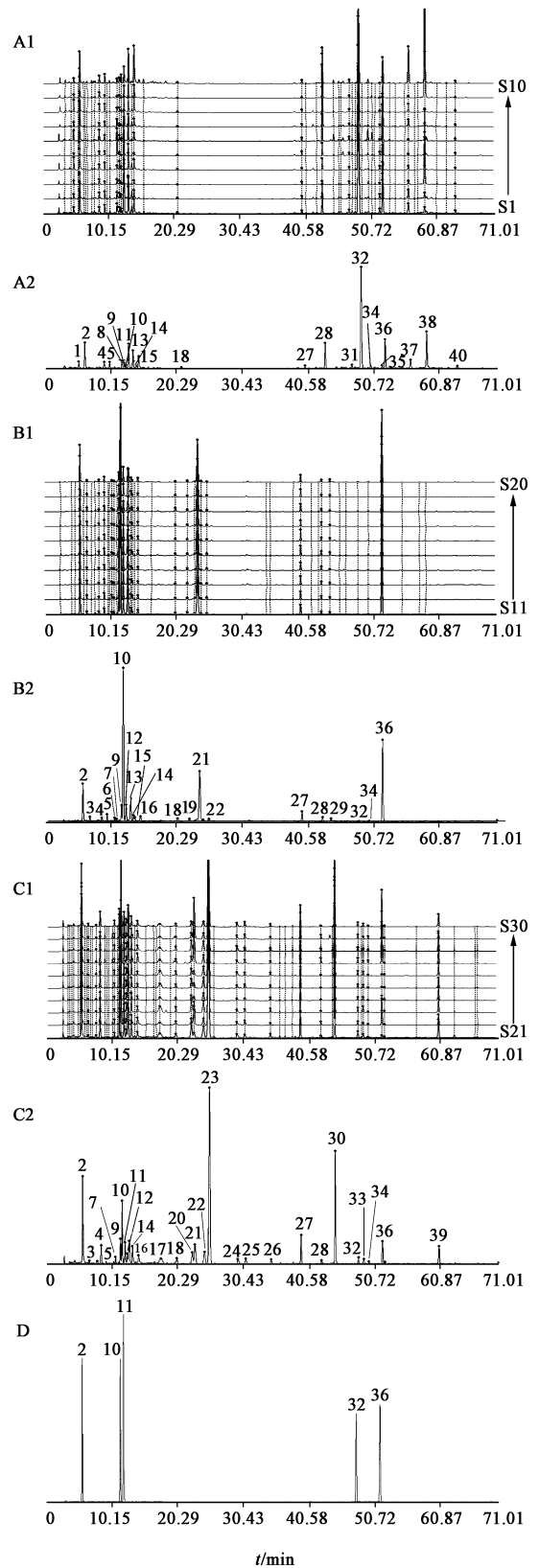
**2.4.1 精密度考察** 精密吸取同一份羌活药材  
(样品 S1) 供试品溶液 10 μL, 按 2.1 项下色谱条件  
连续进样 6 次, 以阿魏酸为参照峰, 计算各共有峰相  
对峰面积和相对保留时间的 RSD 分别为 < 4.5%  
和 < 0.1%, 表明仪器精密度良好。

**2.4.2 重复性考察** 精密称取羌活药材(样品 S1)  
粉末 6 份, 按 2.3 项下方法制备供试品溶液, 按 2.1  
项下色谱条件测定, 以阿魏酸为参照峰, 计算各共有  
峰相对峰面积和相对保留时间的 RSD 分别为 <  
4.2% 和 < 0.2%, 表明该方法重复性良好。

**2.4.3 稳定性考察** 精密吸取同一份羌活药材  
(样品 S1) 供试品溶液, 分别在制备后 0, 3, 6, 9, 12,  
24 h 按 2.1 项下色谱条件进样分析, 以阿魏酸为参  
照峰, 计算各共有峰相对峰面积和相对保留时间的  
RSD 分别为 < 4.2% 和 < 0.7%, 表明供试品溶液在  
24 h 内较为稳定。

**2.4.4 不同商品规格羌活指纹图谱的建立** 分别  
取 10 批蚕羌药材(样品 S1 ~ S10), 10 批条羌药材  
(样品 S11 ~ S20) 和 10 批大头羌药材(样品 S21 ~  
S30), 按 2.3 项下方法制备供试品溶液, 按 2.1 项下  
色谱条件测定, 蚕羌、条羌和大头羌样品的数据依次  
采用“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”(2004A  
版) 进行评价, 分别生成蚕羌、条羌和大头羌的  
HPLC 指纹图谱及对照图谱, 见图 1。计算样品 S1 ~  
S10 与蚕羌对照图谱的相似度分别为 0.995, 0.995,  
0.656, 0.992, 0.964, 0.987, 0.991, 0.986, 0.239 和  
0.908; 样品 S11 ~ S20 与条羌对照图谱的相似度分  
别为 0.997, 0.989, 0.998, 0.998, 0.993, 0.999,  
0.998, 0.998, 0.994, 0.998; 样品 S21 ~ S30 与大头  
羌对照图谱的相似度分别为 0.994, 0.898, 0.988,  
0.998, 0.997, 0.988, 0.833, 0.983, 0.753 和 0.998;  
表明相同商品规格的不同批次羌活具有较高的相  
似性。

**2.4.5 不同商品规格羌活共有峰的标定** 采用相  
对保留时间分别从 10 批蚕羌中标定了 22 个共有  
峰, 10 批条羌中标定了 23 个共有峰, 10 批大头羌中  
标定了 29 个共有峰, 相同保留时间下的色谱峰标记  
为同一峰号。每批样品中的非共有峰面积占总峰面  
积的比值均 < 10%, 符合指纹图谱技术要求。通过  
与对照品比对并结合 PDA 光谱, 确定其中 2 号峰为



A1. 10 批蚕羌; A2. 蚕羌对照谱; B1. 10 批条羌; B2. 条羌对照谱;  
C1. 10 批大头羌; C2. 大头羌对照谱; D. 混合对照品; 2. 绿原酸;  
10. 紫花前胡苷; 11. 阿魏酸; 32. 羌活醇; 36. 异欧前胡素  
图 1 蚕羌、条羌和大头羌样品的 HPLC 指纹谱及对照指纹谱  
Fig.1 HPLC fingerprint chromatograms of Canqiang, Tiaoqiang  
and Datouqiang and their control fingerprint chromatograms

绿原酸,10 号峰为紫花前胡苷,11 号峰为阿魏酸,32 号峰为羌活醇,36 号峰为异欧前胡素,见图 1。由于阿魏酸在各批次羌活中均有出现,分离度良好且峰面积较大,故选择阿魏酸为参照峰(S)。

**2.4.6 不同商品规格羌活的指纹图谱比较** 将 30 批羌活样品数据用“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”(2004A 版)进行分析,生成指纹图谱和对照图谱,见图 2。计算 30 批羌活样品指纹图谱与对照指纹图谱的相似度处于 0.119 ~ 0.559,表明 3 种商品规格羌活指纹图谱差异很大,不适合相似度分析。

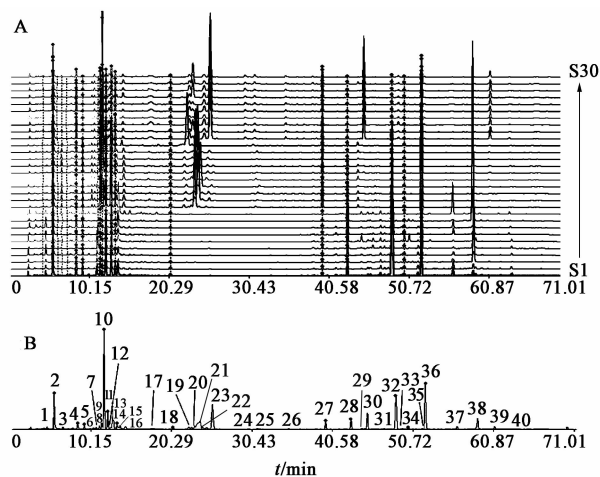


图 2 30 批羌活药材样品的 HPLC 指纹谱 (A) 及对照指纹谱 (B)  
Fig.2 HPLC fingerprint chromatograms (A) of 30 batches of Notopterygii Rhizoma et Radix and their control fingerprint chromatograms (B)

**2.4.7 主成分分析 (PCA)** 采用 SPSS 19.0 统计软件对 30 批羌活药材指纹图谱中标定的 40 个色谱峰峰面积 (若在该保留时间下无色谱峰,则将其峰面积记为 0) 进行 PCA 处理,以特征值 > 1 为提取标准,得到前 5 个主成分累计贡献率 90.448%,见表 2。根据初始因子载荷矩阵,确定第 1 主成分中载荷量最大的前 5 个变量,分别为 22,12,30,23,26 号峰,说明第 1 主成分主要反映了这几个成分指标的信息;同理,第 2 主成分主要反映了 10,21,19,36,29 号峰这几个成分指标的信息,其中 10 号峰为紫花前胡苷,36 号峰为异欧前胡素。根据每个样本第 1,2 主成分的得分,绘制散点图,见图 3。结果发现 30 批羌活药材被分为 3 组,与商品规格一致。以 5 个主成分所对应的特征值占所提取主成分的特征值总和的比例作为权重计算主成分综合模型为  $Y = 0.4636PC1 + 0.3947PC2 + 0.0627PC3 + 0.0491PC4 + 0.0298PC5$ ,通过该模型计算每个样本的综合主成分得分,按分值的高低对样本进行排序,见表

3。从综合得分情况来看,条羌得分最高,大头羌次之,蚕羌最低。

表 2 羌活指纹图谱中 5 个主成分的特征值及贡献率

Table 2 Characteristic values and contribution rates of five principal components in fingerprint of Notopterygii Rhizoma et Radix

主成分	特征值	贡献率/%	累计贡献/%
PC1	16.774	41.936	41.936
PC2	14.281	35.701	77.638
PC3	2.268	5.671	83.308
PC4	1.776	4.441	87.749
PC5	1.080	2.699	90.448

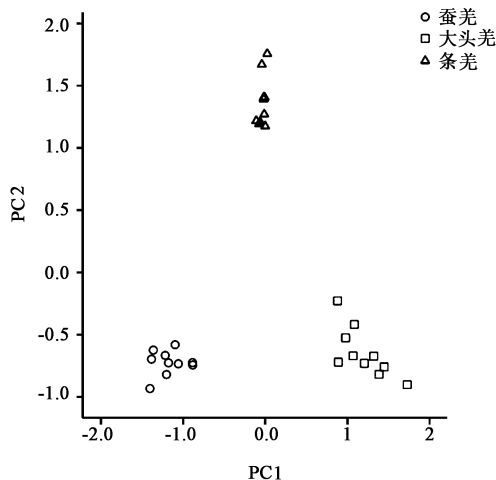


图 3 羌活样品的 PCA 得分  
Fig.3 PCA score of Notopterygii Rhizoma et Radix samples

### 3 讨论

**3.1 色谱条件的优化** 在建立分析条件前,对流动相组成(乙腈-水,甲醇-水,乙腈-乙酸,乙腈-磷酸),乙酸的质量分数(0.1%,0.2%,0.3%),色谱柱(ZORBAX SB-C<sub>18</sub>,Dikma Diamonsil C<sub>18</sub>,Venusil XBP C<sub>18</sub>),柱温(25,30℃)和检测波长进行了考察,最后确定乙腈-0.3%乙酸水溶液作为流动相,采用 ZORBAX SB-C<sub>18</sub> 色谱柱,柱温 25℃,在 325 nm 处羌活所含的主要成分有机酸、香豆素类有较强的吸收,出峰数量最多。

**3.2 样品分析** 由相似度评价结果可知,3 种商品规格羌活药材相似度极低,化学成分组成和含量差异十分显著,PCA 筛选出了 10 个特征成分,找出了决定因素,分别为紫花前胡苷、异欧前胡素和未知的 22,12,30,23,26,21,19,29 号峰;相同商品规格羌活的相似度较高,化学成分组成较为一致,只有小部

表 3 羌活样品的主成分得分及其综合得分排序

Table 3 Principal component scores of *Notopterygii Rhizoma et Radix* samples and rank of their comprehensive scores

样品	PC1	PC2	PC3	PC4	PC5	综合得分/分
S15	0.024 5	1.756 1	0.948 4	0.527 7	1.080 1	0.822 1
S12	-0.041 8	1.670 8	0.357 7	0.183 7	0.497 5	0.686 4
S11	-0.007 0	1.406 0	0.343 3	-0.022 8	-0.280 3	0.563 8
S13	-0.018 6	1.392 2	-0.116 0	0.039 5	-0.141 4	0.531 3
S16	-0.018 4	1.406 4	-0.196 0	-0.336 8	-0.183 4	0.512 3
S19	-0.001 3	1.175 9	0.253 2	0.215 1	-0.148 8	0.485 6
S23	1.727 1	-0.901 6	0.769 9	-0.078 2	-0.862 7	0.463 6
S21	1.446 5	-0.759 0	0.684 7	0.170 9	-0.098 1	0.419 5
S18	-0.011 9	1.270 4	-0.710 9	-0.278 6	-0.678 7	0.417 4
S14	-0.061 6	1.208 6	-0.302 1	-0.076 9	-0.393 3	0.414 0
S27	1.083 8	-0.418 8	0.610 8	0.275 6	0.803 8	0.413 0
S20	-0.109 5	1.218 3	-0.359 7	-0.194 6	0.230 5	0.404 9
S17	-0.074 4	1.193 7	-0.566 5	-0.215 6	-0.027 3	0.389 7
S28	1.320 3	-0.673 4	0.315 2	0.063 9	-0.008 0	0.369 0
S26	1.384 7	-0.819 4	0.087 8	-0.066 5	-0.525 9	0.305 2
S25	1.207 4	-0.729 8	0.048 7	0.195 7	0.325 9	0.294 1
S22	0.978 0	-0.525 9	-0.103 3	0.133 5	0.743 5	0.268 1
S29	0.881 2	-0.227 8	-0.634 6	-0.448 6	0.067 1	0.258 8
S30	1.069 0	-0.670 1	-0.205 4	0.060 6	0.380 9	0.232 6
S24	0.890 5	-0.721 0	-0.960 7	-0.256 2	-0.320 1	0.045 9
S8	-1.177 4	-0.726 8	0.681 6	1.355 7	0.459 4	-0.709 7
S10	-1.384 4	-0.697 1	0.816 4	3.577 3	-1.217 7	-0.726 5
S4	-1.096 3	-0.581 1	0.999 9	-0.701 3	-0.824 8	-0.734 0
S9	-0.882 9	-0.743 8	-3.249 9	1.828 5	0.093 9	-0.814 1
S7	-1.057 7	-0.734 2	-0.589 8	-0.127 2	-0.475 0	-0.837 6
S6	-1.402 8	-0.933 0	1.139 5	-0.367 2	4.166 8	-0.840 9
S2	-1.217 4	-0.666 6	1.252 4	-1.057 8	-1.449 2	-0.844 2
S3	-0.885 6	-0.724 9	-1.928 4	-0.836 3	0.319 7	-0.849 2
S1	-1.362 3	-0.624 1	1.713 1	-1.032 2	-1.409 3	-0.863 3
S5	-1.202 1	-0.819 9	-1.099 1	-2.531 0	-0.124 8	-1.077 9

分批次间存在含量差异,质量相对稳定。本文建立了不同商品规格羌活的指纹图谱,所建立的指纹图谱方法可以很好地区别不同商品规格的羌活药材,为羌活商品等级的划分、药材市场的规范提供实验

依据。综合得分结果提示从化学成分角度来看,条羌质量最好,大头羌次之,蚕羌最差,但是药材的安全性和有效性是评价药材质量的 2 个重要核心,后续将结合化学成分和药理药效 2 个方面进行研究,以全面评价羌活药材的质量。

[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,2015:182-183.

[2] 李石平,沙龙,赵祎武,等. 近 30 年来中药羌活化学成分研究进展[J]. 中国中药杂志,2015,40(15):2952-2963.

[3] 刘卫根,王亮生,徐文华,等. 不同商品等级羌活中有有机酸和香豆素类化合物的测定[J]. 中成药,2012,34(11):2181-2186.

[4] 刘卫根,周国英,徐文华,等. 不同商品等级羌活挥发油的比较研究[J]. 中药材,2012,35(7):1042-1045.

[5] 蒋舜媛,孙洪兵,孙辉,等. 羌活药材商品规格与质量等级的对应分析[J]. 中国中药杂志,2016,41(5):793-801.

[6] 陈虹宇,尹显梅,陈玲,等. 不同商品等级羌活中羌活醇和异欧前胡素的含量测定[J]. 成都中医药大学学报,2016,39(1):18-21.

[7] 陈小红,陈康,潘超美,等. 化橘红药材商品规格等级标准分析[J]. 中国实验方剂学杂志,2017,23(11):23-28.

[8] 宋九华,杨文钰,陈兴福,等. HPLC 指纹图谱结合灰色关联度分析综合评价云南丽江秦艽资源[J]. 化学研究与应用,2014,26(8):1249-1254.

[9] 张藏蔓,卢敬光,谢启师,等. 基于 UHPLC-TOF-MS 技术建立金线莲的指纹图谱及金线莲苷的含量测定方法[J]. 中国实验方剂学杂志,2018,24(1):31-37.

[10] WANG Y P, HUANG L F. Comparison of two species of *Notopterygium* by GC-MS and HPLC [J]. *Molecules*, 2015,20(3):5062-5073.

[11] 朱美晓. 羌活药材质量标准研究[D]. 泸州:泸州医学院,2010.

[12] LI Y H, JIANG S Y, GUAN Y L, et al. Quantitative determination of the chemical profile of the plant material “Qiang-huo” by LC-ESI-MS-MS [J]. *Chromatographia*,2006,64(7/8):405-411.

[责任编辑 刘德文]