

引用:杜娟,钟露苗,李劲平,龚年春,彭艳梅. 不同产地白术药材质量评价研究[J]. 湖南中医杂志,2020,36(5):151-154.

不同产地白术药材质量评价研究

杜娟^{1,2},钟露苗²,李劲平¹,龚年春³,彭艳梅³

(1. 中南大学湘雅药学院,湖南 长沙,410013;

2. 湖南省药品审评认证与不良反应监测中心,湖南 长沙,410013;

3. 湖南省中医药研究院中药研究所,湖南 长沙,410013)

[摘要] 目的:对浙江、湖南、安徽3个产地共9批白术药材进行质量对比研究、指纹图谱对比分析,为不同产地白术鉴别及质量评价提供参考。方法:按照《中华人民共和国药典》的要求对白术药材进行质量检验,比较3个不同产地白术药材质量差异;采用反相高效液相色谱法,测定白术指纹图谱,进行相似度分析及主成分分析。结果:3个产地的白术药材均符合标准要求;对9批白术药材的指纹图谱进行分析,选择稳定性好、吸收强、特征明显的色谱峰作为共有峰,结果共标定了7个共有指纹峰,9批样品之间的共有峰相似度>0.96。结论:浙江、湖南、安徽3个产地的白术药材均符合质量标准要求,指纹图谱也没有差异,证明3个产地的白术药材没有明显质量差异,无法鉴别区分。

[关键词] 白术;质量评价;指纹图谱;实验研究

[中图分类号] R284 **[文献标识码]** A DOI:10.16808/j.cnki.issn1003-7705.2020.05.061

Quality assessment of *Atractylodes macrocephala* from different producing areas

DU Juan^{1,2}, ZHONG Lumiao², LI Jinping¹, GONG Nianchun³, PENG Yanmei³

(1. Xiangya School of Pharmaceutical Sciences, Central South University, Changsha 410013, Hunan, China;

2. Hunan Center for Drug Evaluation and ADR Monitoring, Changsha 410013, Hunan, China;

3. Institute of Chinese Materia Medica, Hunan Academy of Chinese Medicine, Changsha 410013, Hunan, China)

[Abstract] Objective: To compare the quality and fingerprint of nine batches of *Atractylodes macrocephala* from three producing areas (Zhejiang, Hunan, and Anhui), and to provide a reference for the identification and quality assessment of *Atractylodes macrocephala* from different producing areas. Methods: Quality inspection was performed for *Atractylodes macrocephala* according to the requirements in Pharmacopoeia of The People's Republic of China. Reversed-phase high-performance liquid chromatography was performed to obtain the fingerprint of *Atractylodes macrocephala*, and a similarity analysis and a principal component analysis were performed. Results: *Atractylodes macrocephala* from the three producing areas all met the quality standard. The fingerprints of the nine batches of *Atractylodes macrocephala* were analyzed to select the chromatographic peaks with good stability, strong absorption, and marked features as common peaks. The results identified seven common peaks, and the similarity of the common peaks was > 0.96 between the nine batches. Conclusion: *Atractylodes macrocephala* from the three producing areas of Zhejiang, Hunan, Anhui meets the quality standard and has no difference in fingerprints, suggesting that there is no significant difference in their quality, and identification and differentiation cannot be performed.

[Keywords] *Atractylodes macrocephala*; quality assessment; fingerprint; experimental study

白术为菊科植物白术 *Atractylodes macrocephala* Koidz. 的干燥根茎,具有健脾益气、燥湿利水、止汗、安胎的作用,主要用于治疗脾虚食少、腹胀泄泻、痰饮悸眩、水肿、自汗、胎动不安等症^[1]。其主产于安徽、浙江、河北等地,自古以浙江为道地产区,后引种扩散至江西、湖南、河北等地^[2-3]。

白术的主要化学成分有挥发油(苍术酮等)、内酯类化合物(白术内酯 I、II、III等)、多糖、苷类成分、氨基酸及其他类化合物^[4]。目前,白术收载于《中华人民共和国药典(2015年版)》^[5],其质量控制主要为定性鉴别,尚无整体化学成分

的定量检测和指纹图谱研究。本实验对比不同产地的白术

基金项目:湖南省战略性新兴产业科技攻关项目(2016GK4050)

第一作者:杜娟,女,工程师,研究方向:药品审评与认证

通讯作者:彭艳梅,女,研究员,研究方向:中药研究与开发, E-mail:271853145@qq.com

药材质量,采用高效液相色谱法(HPLC)建立白术的指纹图谱,为该药材的质量控制提供更全面、更可靠的评价方法^[6-9]。

1 仪器与试剂

Aglient 1260II 型高效液相色谱仪(美国安捷伦科技有限公司);分析天平[梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司];烘箱(北京兰贝石恒温技术有限公司);薄层色谱仪(CAMAG TLC Visualizer);超声波清洗器(宁波新芝生物科技股份有限公司)。白术对照药材(中国食品药品检定研究院,批号:120925);甲醇,乙腈为色谱纯,水为重蒸水;其余试剂均为分析纯。不同产地白术药材样品信息见表 1,经湖南省中医药研究院中药研究所刘浩老师鉴定为菊科植物白术 *Atractylodes macrocephala* Koidz。

表 1 白术药材信息表

药材编号	产地
S1	浙江省东阳市
S2	浙江省金华市磐安县安文镇
S3	浙江省金华市磐安县大盘镇
S4	湖南省邵阳市隆回县
S5	湖南省邵阳市邵东县
S6	湖南省岳阳市平江县
S7	安徽省亳州市利辛县
S8	安徽省亳州市谯城区
S9	安徽省亳州市蒙城县

2 实验方法

2.1 药材质量检验 按照《中华人民共和国药典》白术质量标准的要求对白术药材进行检验,检验项目包括:薄层鉴别、水分、总灰分、二氧化硫残留、色度、浸出物。

2.2 白术药材指纹图谱研究

2.2.1 色谱条件 色谱柱为 Ultimate XB-C₁₈(4.6 mm×250 mm,5 μm);以乙腈(A)-0.1%磷酸(B)为流动相,梯度洗脱程序为 0~15 min,0~12% A;15~25 min,12%~70% A;25~40 min,70% A;40~55 min,70%~90% A;55~56 min,90%~0% A;56~70 min,0% A。流速:1.0 ml/min,柱温:30℃,检测波长:240 nm;进样量:10 μl。

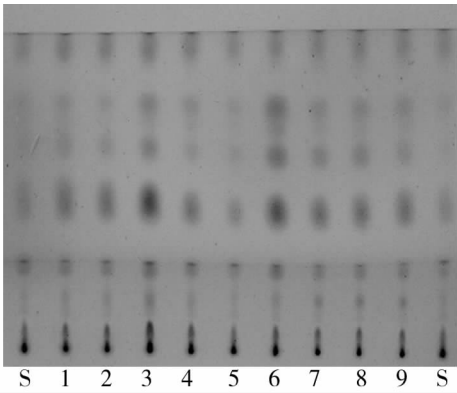
2.2.2 供试品溶液制备 称取 1.0 g 白术药材粗粉,置于 25 ml 容量瓶中,加入 50% 甲醇-水(V/V)溶液至刻度,摇匀后超声提取 30 min 取出,放冷,再次用 50% 甲醇-水(V/V)溶液定容,摇匀,3000 rpm 离心 10 min,离心后的上清液用 0.22 μm 有机系过滤头滤过,滤液供 HPLC 分析。

3 实验结果

3.1 药材质量检验结果 按照《中华人民共和国药典》白术质量标准的要求对白术药材进行检验,结果如表 2 及图 1 所示。《中华人民共和国药典》要求白术药材,水分≤15%,总灰分≤5%,二氧化硫残留量≤400 mg/kg,浸出物≥35%。9 批药材全部符合以上要求,检验结果没有明显差异。因此无法根据检验结果鉴别区分白术药材的产地。

表 2 白术法定质量指标对比

样品编号	TLC 鉴别	水分(%)	总灰分(%)	二氧化硫残留	色度	浸出物(%)
S1	符合要求	10.59	3.39	未检出	符合要求	39.82
S2	符合要求	11.14	3.11	未检出	符合要求	44.81
S3	符合要求	11.30	2.76	未检出	符合要求	36.18
S4	符合要求	12.15	2.85	未检出	符合要求	35.69
S5	符合要求	11.16	3.75	未检出	符合要求	38.88
S6	符合要求	12.64	3.74	未检出	符合要求	45.28
S7	符合要求	10.98	3.43	未检出	符合要求	37.96
S8	符合要求	11.55	4.34	未检出	符合要求	41.07
S9	符合要求	11.26	4.15	未检出	符合要求	40.51%



S—白术对照药材 1~3—白术药材(购自浙江)
4~6—白术药材(购自湖南) 7~9—白术药材
(购自安徽)

图 1 白术药材薄层鉴别图

3.2 不同产地白术药材的指纹图谱分析 记录 9 批白术药材和 1 批白术对照药材的指纹图谱(见图 2),将 9 批白术药材的指纹图谱导入中药色谱指纹图谱相似度评价系统软件(V2.0),经校准,以均值法自动生成“对照图谱”(见图 3)。对 9 批白术药材的指纹图谱进行分析,选择稳定性好、吸收强、特征明显的色谱峰作为共有峰,共标定了 7 个共有指纹峰。其中 6 号峰峰面积大且比较稳定,将其作为参照峰(S),分别计算各峰与其相对保留时间和相对峰面积,结果见表 3、4。7 个峰的相对保留时间相对标准偏差(RSD)均<0.3%,表明不同产地的白术药材成分相似;相对峰面积的 RSD 较大,说明白术药材中各成分的相对含量差异大。

3.3 指纹图谱相似度计算 将 9 批白术药材的指纹图谱导入中药色谱指纹图谱相似度评价系统软件(V2.0),经校准,以均值法自动生成“对照图谱”(见图 3),分别以对照图谱和对照药材指纹图谱作为参照图谱,分析 9 批白术药材的相似度,结果见表 5。根据结果可知,9 批白术药材与对照图谱的相似度大于 0.96,与对照药材谱图的相似度大于 0.98,9 批白术药材的相似度高,说明不同产地白术药材的指纹图谱没有明显差异,无法区分。

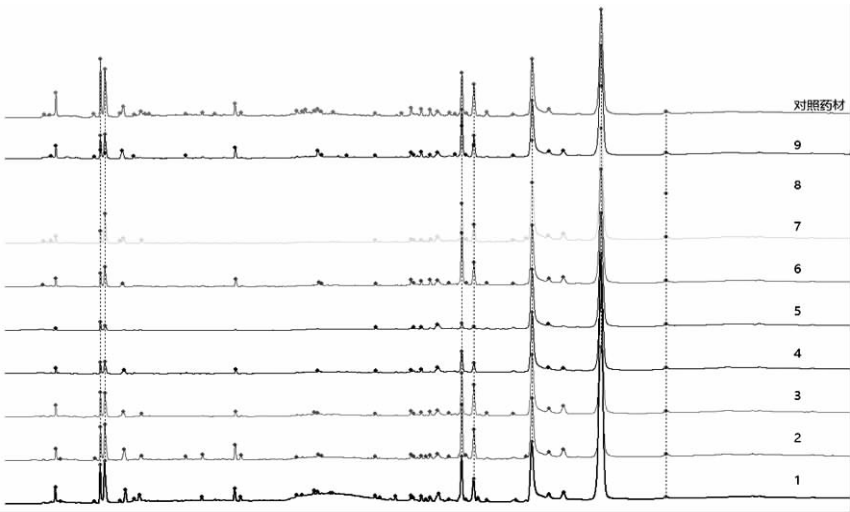


图2 白术药材的指纹图谱

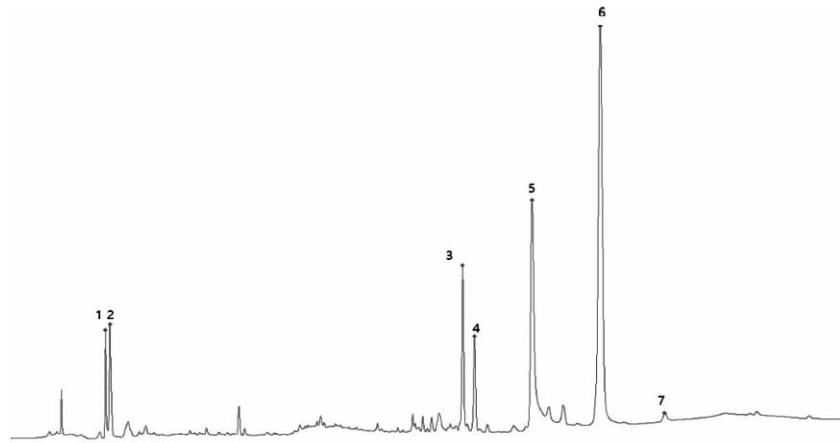


图3 白术药材生成的对照指纹图谱

表3 白术药材样品各峰的相对保留时间

色谱峰	样品编号									RSD (%)
	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S	
1	0.1602	0.1602	0.1601	0.1600	0.1599	0.1600	0.1598	0.1601	0.1603	0.0965
2	0.1677	0.1674	0.1673	0.1678	0.1670	0.1675	0.1665	0.1674	0.1676	0.2492
3	0.7666	0.7662	0.7661	0.7661	0.7662	0.7664	0.7664	0.7666	0.7667	0.0294
4	0.7866	0.7864	0.7865	0.7862	0.7864	0.7865	0.7867	0.7870	0.7869	0.0310
5	0.8841	0.8840	0.8840	0.8841	0.8841	0.8843	0.8844	0.8844	0.8845	0.0226
6	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	0.0000
7	1.1093	1.1096	1.1099	1.1097	1.1097	1.1098	1.1097	1.1099	1.1098	0.0170

表4 白术药材样品各峰的相对峰面积

色谱峰	样品编号									RSD (%)
	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S	
1	0.0910	0.0614	0.0308	0.0214	0.0361	0.0316	0.1213	0.0641	0.1497	66.2623
2	0.1529	0.0959	0.0510	0.0228	0.0744	0.1038	0.1870	0.1035	0.2089	55.2592
3	0.2287	0.1722	0.0850	0.0226	0.2058	0.1509	0.2980	0.1966	0.1819	46.7356
4	0.1335	0.1397	0.0443	0.0116	0.1009	0.0743	0.2416	0.1011	0.1451	60.3514
5	0.5171	0.5088	0.5165	0.5001	0.4874	0.4929	0.4920	0.4904	0.5012	2.2359
6	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	0.0000
7	0.0207	0.0176	0.0187	0.0180	0.0184	0.0185	0.0168	0.0182	0.0175	5.8403

表5 白术药材的相似度评价结果

参照峰	样品编号								
	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9
对照药材 指纹图谱	0.961	0.997	0.992	0.978	0.965	0.988	0.989	0.992	0.993
对照指纹 图谱	0.980	0.996	0.998	0.993	0.985	0.998	0.999	0.983	0.999

3.4 主成分分析 为了更直观地揭示不同产地白术药材之间的差异,进一步验证相似度分析结果的正确性,运用 Matlab 软件将指纹图谱数据进行规一化处理,对 9 批白术药材的 7 个共有峰进行主成分分析,经数据标准化处理后,分别以第一、第二、第三主成分为坐标轴建立空间坐标系(见图 4)。以第一、第二主成分为坐标轴建立二维坐标系(见图 5)。从图 4 可知,PC1、PC2、PC3 对方差的贡献率分别为 88.5%、7.7%、2.8%,累计贡献率 99.0%,因而这 3 个主成分包含了被分析样本的绝大部分信息。图中无法对 9 批白术药材进行分类,没有明显的区域划分,由此可证明 9 批白术药材的指纹图谱没有明显差异,无法鉴别区分。分析结果与相似度分析结构一致。

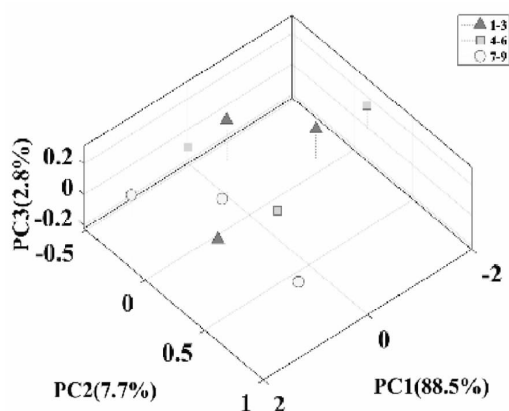


图4 白术药材的PCA三维得分图

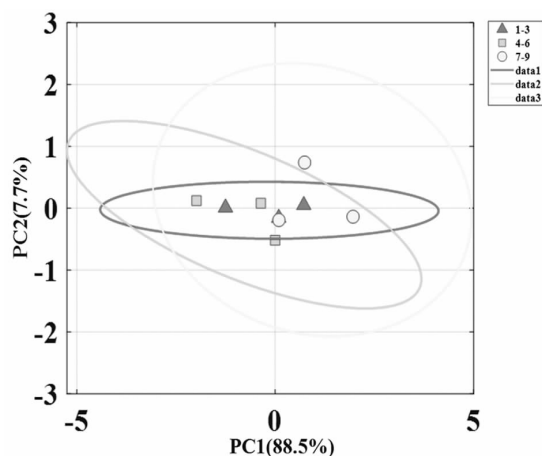


图5 白术药材的PCA二维得分图

4 讨 论

本研究在建立白术药材指纹图谱条件的研究中比较了不同检测波长(210、220、240、250、260、270、280、290、300 nm)条件下的色谱图,检测波长设置为240 nm时,色谱图基线噪音较低,特征峰响应度较高,各成分色谱信息较丰富,因此选择240 nm作为本实验的检测波长。通过对

(上接第150页)加入大黄素对照品溶液(浓度为0.08 mg/ml) 2 ml,按2.2.3项下供试品溶液制备方法处理,依法测定,大黄素的平均回收率为99.51%,RSD为1.52%。结果表明,本方法加样回收率好。

2.2.7 样品含量测定 分别取3批(20170516、20180225、20180512)巴布膏样品,照上述含量测定方法分别测定并计算大黄素含量。经测定,3批样品中大黄素含量分别为34、33、37 mg/g,平均含量达34.6 mg/g。

3 讨 论

由于巴布膏性状黏稠,样品本身不容易处理,指标成分难以溶出,多次尝试后在供试品溶液制备及样品处理时,加入了适量硅藻土混合研磨,使膏体疏松并分散均匀,有助于后续的成分提取^[3]。研究中曾以蛇床子素等指标探索独活的鉴别条件;以阿魏酸等为指标,摸索了当归的鉴别条件;

提取溶剂的种类、用量、提取时间和提取方法等因素的考察,结果表明,用50%甲醇超声提取30 min的提取效果最好。

本研究建立了白术药材HPLC指纹图谱方法,对浙江、湖南、安徽3个产地的9批白术药材从指纹图谱的相对保留时间和相对峰面积分析可知,其所含成分基本一致,含量高低稍有区别。9批药材指纹图谱相似度大于0.96,主成分分析结果也无法鉴别区分这9批药材。因此可认为3个产地的白术药材没有质量差异。

参考文献

- [1] 李伟,文红梅,张爱华,等. 白术质量标准研究——HPLC法测定2种白术内酯的含量[J]. 药物分析杂志,2001,21(3):170-172.
- [2] 杨舒婷,龚华栋,赵云鹏,等. 产地与种源对白术药材质量的影响[J]. 中药材,2013,36(6):890-892.
- [3] 彭华胜,王德群. 白术道地药材的形成与变迁[J]. 中国中药杂志,2004,29(12):1133-1135.
- [4] 李伟,文红梅,崔小兵,等. 白术健脾有效成分研究[J]. 南京中医药大学学报,2006,22(6):366-367.
- [5] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(2015年版)[M]. 北京:中国医药科技出版社,2015:103-104.
- [6] 刘青,申洁,肖苏萍,等. 基于多成分含量测定及色谱指纹图谱技术提升白术药材质量标准[J]. 中国现代中药,2019,21(8):1062-1067.
- [7] SUN X, WENG HM. Qualitative evaluation of *Atractylodes Macrocephalae* Rhizoma from different habitats by HPLC-PDA fingerprint combined with UFLC-Q-TOF/MS qualitative identification[J]. Chinese Traditional & Herbal Drugs, 2016, 47(19):3494-3501.
- [8] 寿旦,俞忠明,章建民. 白术高效液相色谱指纹图谱的建立及种源差异分析[J]. 中华中医药杂志,2009,25(3):148-151.
- [9] 陈向东,张光大,兰小勇,等. HPLC指纹图谱对白术药材的质量评价研究[J]. 中药材,2013,36(2):208-212.

(收稿日期:2020-03-12)

以马兜铃酸I为指标,摸索了细辛的鉴别条件;以羟基红花黄色素A为指标,摸索了红花的鉴别条件,均未获得满意结果。考虑其原因在于筋骨痛巴布膏的处方组成较复杂,部分药材指标成分经提取后有所损失,导致含量过低,无法鉴别;其次是巴布膏采用的是水溶性基质,工艺以水煎煮提取为主,成分若为脂溶性成分,则无法充分提取。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中国药典(四部)通则0502[S]. 北京:中国医药科技出版社,2015.
- [2] 方彬,吕凤莲,刘传玲,等. 高效液相色谱法测定虎杖中大黄素的含量[J]. 中国药事,2005,19(2):106-107.
- [3] 詹强,陈红梅,俞忠明,等. 痹痛消巴布膏的质量标准研究[J]. 中国现代应用药学,2018,35(7):1050-1053.

(收稿日期:2020-02-03)