

白芷有效成分含量测定及其指纹图谱研究

席梅¹ 王欣² 陆艳³

(1 首都医科大学附属北京中医医院,北京,100010; 2 中国中医科学院广安门医院,北京,100053;

3 北京大学药学院实验教学中心,北京,100191)

摘要 目的:通过对白芷指纹图谱研究,分析判断不同产地、种属的白芷药材质量。方法:选取2012年3月北京中医医院购进的不同产地的白芷7批,按照种属不同分为4大组,并未每组内按采购批次分为7个小组。采用高效液相色谱法对其进行成分含量的测定,根据特征峰的选取原则进行白芷药材 HPLC 指纹图谱的建立,同时对7批白芷进行指纹图谱的测定确定4个峰为共有特征色谱峰并进行相似度比较,并判定白芷质量。结果:杭白芷20120305(重庆万州)、滇白芷20120307(云南)为伪品,其余批次品质为一般或优,其中禹白芷2个批次品质均为优,优于其他组别的批次。结论:白芷药材指纹图谱的建立可以对药材有效成分进行精准测量,该方法稳定性高,重现性好,对不同产地的白芷品质辨识提供有利的方法,达到快速、准确评价药材质量的目的,值得推荐。

关键词 白芷;有效成分含量测定;指纹图谱;特征峰

Determination of Effective Ingredient and Fingerprint of Dahurian Angelica Root

Xi Mei¹, Wang Xin², Lu Yan³

(1 Affiliated Beijing Chinese Medicine Hospital, Capital Medical University, Beijing 100010, China; 2 Guang'anmen Hospital, China Academy of Chinese Medical Science, Beijing 100053, China; 3 Experimental Teaching Center of College of Pharmacy at Peking University, Beijing 100191, China)

Abstract Objective: To determinate the effective ingredient and fingerprint of Dahurian Angelica Root. **Methods:** A total of 7 batches of Dahurian Angelica Root purchased in May 2012 in our hospital were divided into 4 major groups based on its batches. The effective ingredients were determined by high performance liquid chromatography and established HPLC fingerprint according to the principle of characteristic peaks of Dahurian Angelica Root. The 7 batches were determined by fingerprint and four peaks were determined and compared to evaluate Dahurian Angelica Root's quality. **Results:** Hang Dahurian Angelica Root (Chongqing Wanzhou) and Dian Dahurian Angelica Root (Yunnan) were fake the other batches were average or had good quality. Two batches of Yu Dahurian Angelica Root had better quality than the others. **Conclusion:** The result of the fingerprint detection can make accurate measurement of the effective components of medicinal materials, with high stability, good reproducibility, which is a reliable method on the quality of identification of Dahurian Angelica Root from different habitats. Its rapid and accurate evaluation of the quality of Chinese medicine is recommended.

Key Words Dahurian Angelica Root; Content determination; Fingerprint; Characteristic peaks

中图分类号:R284.1 文献标识码:A doi:10.3969/j.issn.1673-7202.2016.11.060

白芷 *Angelica dahurica*, 伞形科植物, 在传统医学中药用历史悠久, 其主要功能为解热、镇痛以及抗炎等^[1], 主要用其干燥根。随着白芷的药材植物来源、生态环境等因素的影响, 市场上越来越多的白芷代用品、类似品开始流通起来, 间接对使用白芷类药物治疗的病患产生不小影响^[2]。白芷根据其变种主要有以下4大类可入药, 祁白芷主产于河北, 禹白芷主产于河南, 杭白芷主产于四川、重庆、浙江等, 及滇白芷主产于云南。白芷主要成为为香豆素类, 其中欧前胡素与异欧前胡素为2种代表性香豆素化合物。目前, 建立全面以及系统地控制白芷质量的分析方法显得尤为重要。指纹图谱质量控制模式可以较为综合地反映药材中各主要成分及其相对含量,

能更全面地提供质量评价信息^[3]。鉴于此, 我们通过研究对不同产地白芷中的有效成分进行含量测定及其指纹图谱的建立, 通过相似度及特征峰比较提供一种药材品质的判断方法, 现总结报道如下。

1 资料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 仪器与试剂 岛津 LC-10ATVP 高效液相色谱仪; 岛津 SPD-10AVP 紫外检测器; TB328B 型电光分析天平(上海天平仪器厂); 欧前胡素对照品来源于中国药品生物制品鉴定所。甲醇为色谱纯, 水为重蒸水, 其余试剂为分析纯。

1.1.2 中药材 白芷药材由北京大学药学院实验中心标本室提供, 经鉴定为白芷 *Angelica dahurica* 的

干燥根。白芷7个批次根据种属不同分为祁白芷、禹白芷、杭白芷、滇白芷,具体产地详见表1。

表1 不同种属白芷的批次和产地

种	批次	产地
祁白芷	20120301	河北安国
禹白芷	20120302	河南长葛
禹白芷	20120303	河南禹县
杭白芷	20120304	四川安县
杭白芷	20120305	重庆万州
杭白芷	20120306	浙江杭州
滇白芷	20120307	云南

1.2 研究方法

1.2.1 供试品溶液制备 将10批次白芷药材每批选取1g药材制成粗粉,过12目筛,精密称定。于50 mL圆底烧瓶中加入25 mL甲醇溶液超声提取30 min。取滤液减压蒸干,并用甲醇溶液精密定容至50 mL容量瓶种,用45 μm微孔滤膜取20 mL,做好批号待用。

1.2.2 对照品溶液制备 精密称取欧前胡素对照品5 mg,异欧前胡素对照品2 mg,置于50 mL量瓶中,使用甲醇溶解并定容待用。

1.2.3 色谱条件 流速为0.8 mL/min,检测波长为254 nm,色温为室温,每次进样量50 μL。平衡色谱柱时间为10 min。洗脱总时间为80 min,流动相为甲醇:水,梯度洗脱,甲醇体积百分比从15%增加到90%。

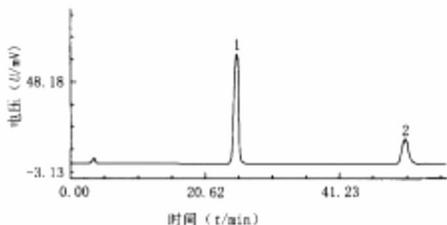


图1 欧前胡素和异欧前胡素对照品色谱图

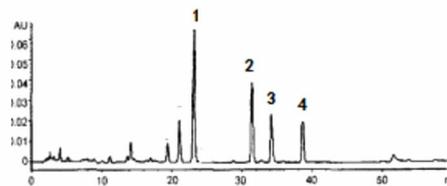


图2 白芷高效液相色谱4个特征指纹峰

1.2.4 方法 将7批次药材按种属不同分为祁白芷组、禹白芷组、杭白芷组、滇白芷组4个组别,每组里每批药材分别制备供试品溶液进行HPLC分析,分析各个样品的指纹特征峰及相似度。

选取白芷特征图谱中指纹峰占总峰面积10%以上的4个特征峰。详见图2。标记为1号、2号、3

号和4号峰。比较不同批次种4个指纹峰的相对峰面积。

1.3 判断标准 通过以下标准进行判定^[5]:若相似度在0.900以上,则判定为优质药材;若相似度在0.800~0.900之间,则判定为药材质量一般;若相似度低于0.800,则判定为伪品。

1.4 统计学方法 采用SPSS 13.0统计软件分析。数据比较采用χ²检验。以P<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 4个组别相似度比较 杭白芷20120305(重庆万州)、滇白芷20120307(云南)为伪品,其余批次品质为一般或优,其中禹白芷2个批次品质均为优,优于其他组别的批次。

表2 4个组别各批次相似度及品质结果比较

组别	批次	相似度	品质
祁白芷	20120301	0.821	一般
禹白芷	20120302	0.917	优
禹白芷	20120303	0.926	优
杭白芷	20120304	0.838	一般
	20120305	0.781	伪品
	20120306	0.884	一般
滇白芷	20120307	0.792	伪品

2.2 4个组别共有特征峰相对峰面积比较 与2.1中药材品质相对应,伪品的2个批次种特征峰面积较小,与其他组别差异有统计学意义(P<0.05),优质品与一般品特征峰面积差异有统计学意义(P<0.05)。

表3 2个组别共有指纹峰相对峰面积的RSD

组别	批次	特征峰相对峰面积			
		1	2	3	4
祁白芷	20120301	0.721	0.572	0.478	0.468
禹白芷	20120302	0.789	0.581	0.492	0.482
	20120303	0.791	0.604	0.481	0.491
杭白芷	20120304	0.694	0.502	0.402	0.399
	20120305	0.442	0.391	0.287	0.301
	20120306	0.704	0.524	0.413	0.401
滇白芷	20120307	0.672	0.383	0.297	0.322

3 讨论

白芷因其药材来源、种属的不同,采收、炮制的差异,生长环境的差异,不同产地的白芷必然存在显著的差异。白芷根据其种属不同可分为四大类,因此需要建立起一种有效的质量控制方法以区别不同产品白芷的品质。白芷药材指纹图谱的建立及检测效果显著,方法稳定,具有重复性,在检测白芷质量方面有积极作用^[8]。目前,由于白芷在药

剂制作上的需求较多,多种多样的白芷开始出现在市场上。杭白芷为白芷商品药材的主流品种,其数量约占白芷产量的70%。四大类白芷虽然杭白芷产量最大,但是否品质最佳,含有效成分较高,这亟待分析^[7]。

我们通过建立完整的白芷药材高效液相色谱指纹图谱对不同产地、种属的白芷进行分析和评价,发现指纹图谱具有较高的精准度。这与 TabitCE 等人^[9-10]的报道相一致,表明指纹图谱分析方法稳定,可靠,能直观地反映出白芷的有效成分,符合张慧等人^[8]的报道,表明指纹图谱检测具有见较高的重复性以及稳定性^[11-12]。通过对特征指纹峰分析及相似度分析,不难看出河南地区白芷质量最佳,其次为河北地区,虽然杭白芷产量较高,但重庆地区所产白芷因其有效成分含量远低于其他种属,应为伪品,滇白芷也不应入药。

我们认为指纹图谱根据产地不同,选择的共有模式结合系统聚类分析结果,保证了共有模式建立的代表性和科学性,导致指纹图谱检测结果清晰可信,为多批次同科属药材的分析提供了客观科学的方法。

综上所述,白芷药材指纹图谱的建立可以对药材有效成分进行精准测量,该方法稳定性高,重现性好,对不同产地的白芷品质辨识提供有利的方法,达到快速、准确评价药材质量的目的,值得推荐。

参考文献

- [1] 陆洋,白洁,王玥,等. 正交试验结合药效学实验优选复方南星止痛膏处方提取工艺[J]. 中国中医杂志,2013,38(16):2590-2593.
- [2] 赵亮,曹红. 白芷有效成分提取工艺的优化及其中药材质量研究[J]. 现代生物医学进展,2011,11(14):2759-2766.
- [3] 郑光雅,米小琴,郭沛琳,等. 白芷提取物的 HPLC 指纹图谱研究[J]. 华西药理学杂志,2013,28(4):398-400.
- [4] 张翠珍,陈雅民. 牵正散治疗面瘫误区探析[J]. 河北中医,2012,34(1):57-58.
- [5] 李玲,邓才富,罗川,等. 渝产白芷质量综合分析和评价[J]. 时珍国医国药,2013,24(10):2515-2516.
- [6] 李小芳,陈锡林. 浙江地产药材香白芷生药学鉴定研究[J]. 浙江中医杂志,2013,48(8):614-615.
- [7] 卢晓琳,马羚,马逾英,等. 与熏硫加工相关的白芷化学成分研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2013,19(22):74-78.
- [8] 张慧,吕洁丽,张崇,等. 白芷药材水提液指纹图谱的研究[J]. 天然产物研究与开发,2013,25(4):506-510.
- [9] Tabit CE, Chung W B, Hamburg NM, et al. Endothelial dysfunction in diabetes mellitus: molecular mechanisms and clinical implications [J]. Rev Endocr Metab Disord, 2010,11(1):61-74.
- [10] Endemann DH, Schiffrin EL. Endothelial dysfunction. [J]. J Am Soc Nephrol, 2010, 15(8):1983-1992.
- [11] Izzard AS, Rizzoni D, Agabiti-Rosei E, et al. Small artery structure and hypertension: adaptive changes and target organ damage [J]. J Hypertens, 2011,23(2):247-250.
- [12] Nicolls MR, Haskins K, Flores S C. Oxidant stress, immune dysregulation, and vascular function in type I diabetes [J]. Antioxid Redox Signal, 2012,9(7):879-889.

(2016-08-26 收稿 责任编辑:洪志强)

投稿须知:关于摘要与关键词

摘要:论著类的文章,均须附中文和英文摘要。中、英文摘要的内容要一致。采用第三人称撰写,不用“本文”等主语。论著类文稿的摘要形式使用结构式。结构式摘要主要分目的(Objective)、方法(Methods)、结果(Results)和结论(Conclusion)4部分。

关键词:选词要规范,应尽量从美国国立医学图书馆编辑的最新版 Index Medicus 的 Medical Subject Heading (MeSH) 词表中选用规范用词,中文译名可参照中国医学科学院医学信息研究所编译的《医学主题词注释字顺表》。中医药词汇以中国中医研究院图书情报研究所编著的《中医药学主题词表》为准。未被词表收录的词,如确有必要可作为关键词标注。关键词数目一般3~5个,关键词之间用“;”分隔。无摘要的文稿,只需标注中文关键词,关键词置于正文之前;附中英文摘要的文稿须中英文关键词,中文关键词置于中文摘要下方;英文关键词应与中文词相对应,置于英文摘要下方。