

洗脱,由于检测波长较低,甲醇有末端吸收,用甲醇-水为流动相基线波动较大,选用乙腈-水系统可以消除溶剂的干扰,基线较平稳且色谱峰有较好的分离。使用等度洗脱时,有效成分出峰时间长且分离效果不够理想,梯度洗脱在60 min内可使色谱峰全部洗出,且多数峰达到基线分离。

3.3 本实验采用二极管阵列检测器对指纹图谱的检测波长进行了选择,从200~400 nm进行了紫外扫描,200、203 nm处所包含的信息量最大,同时各峰的响应较大,但是由于200 nm波长较短,基线波动较大,影响色谱峰型和分离度,所以选择203 nm为测定波长。另外在0~4 min时由于溶剂的影响以及色谱峰在203 nm的响应太大使色谱峰很难达到分离,所以选择波长为230 nm,可以改善各峰的分离度和峰形。

3.4 土贝母为单品种来源,主要考察产地的影响。不同产地土贝母药材所含各有效成分基本相同,但是各成分的量差别较大。由聚类结果可以看出,15个样品大致可以分为3大类,从地理分布考虑:第A

类样品的产地是陕西、宁夏、甘肃、青海,这些地区都属于西北地区气温较低且比较干燥;第B类样品的产地是河南、河北、山东、安徽、山西、四川、湖北,这些地区气温比较适中,并且此类又可分为两类,四川、湖北为一类与其他产地分开,说明四川、湖北的气候与其他产地有所不同,从而影响了土贝母药材的质量;第C类样品的产地是云南,气温较高且潮湿。由于药材的生长受到温度、光照和湿度的影响,所以不同产地的土贝母之间的内在质量存在一定的差异。由此可见如果要保证药材的一致性,应注意药材的产地。

#### References:

- [1] Ch P (中国药典) [S]. Vol 1. 2005.
- [2] Yu L J, Ma R D, Yu T X. Anti-tumor effect of tubeimosides I and II isolated from *Bolbostemma paniculatum* [J]. *China New Drugs* (中国新药杂志), 2002, 11(9): 692-694.
- [3] Wei Y L, Liang X M, Xu C G, et al. HPLC for determining tubeimoside I in *Bolbostemma paniculatum* [J]. *Northwest Pharm J* (西北药学杂志), 2000, 15(3): 107-108.
- [4] Miao A D, Sun D J. Application of microsoft excel 2002 to calculate the similarity in fingerprints of Chinese herbs [J]. *Prog Pharm Sci* (药学进展), 2003, 27(1): 51-54.

## 白术药材的指纹图谱研究

黎琼红,马兴田,谢 晨,龚秀琦

(广东康美药业股份有限公司,广东 普宁 515300)

**摘要:**目的 建立白术药材的高效液相指纹图谱分析方法。方法 采用Dikma Kromasil C<sub>18</sub>(250 mm×4.6 mm, 5 μm)色谱柱,以乙腈-水梯度洗脱(45%~100%乙腈),体积流量为1.0 mL/min,柱温25℃,检测波长242 nm。结果 通过对13批不同产地的白术样品的测定,标定了24个共有峰,并通过“中药指纹图谱计算机辅助相似度软件”和聚类分析等辅助手段,计算相似度等相关参数。结论 该方法准确可靠,重现性好,为更好地控制白术内在质量提供了科学依据。

**关键词:**白术;指纹图谱;高效液相色谱

**中图分类号:**R282.7

**文献标识码:**A

**文章编号:**0253-2670(2007)06-0929-03

### Fingerprints of *Rhizoma Atractylodis Macrocephalae*

LI Qiong-hong, MA Xing-tian, XIE Chen, GONG Xiu-qi

(Guangdong Kangmei Pharmaceutical Co., Ltd., Puning 515300, China)

**Key words:** *Rhizoma Atractylodis Macrocephalae*; fingerprint; HPLC

白术为菊科植物白术 *Atractylodes macrocephala* Koidz. 的干燥根,主产于浙江、安徽、湖北、湖南等省。其味甘、苦性温,具有健脾益气、燥湿利水、止

汗、安胎的功效<sup>[1]</sup>。主要含有挥发油成分和内酯类成分。为控制和保证产品质量的稳定性,本实验依据国家药品监督管理局颁布的《中药注射剂指纹图谱研

究的技术要求(暂行)》和国家药典委员会印发的《中药注射剂指纹图谱实验研究技术指南(试行)》对 13 批不同产地药材进行了指纹图谱测定,该方法可操作性强,重现性好,为更好地控制白术药材质量提供了科学依据。

## 1 仪器与试药

美国 Agilent 1100 高效液相色谱仪,二级阵列检测器,1100 色谱工作站。乙腈和甲醇均为色谱纯,水为纯净水。13 批样品分别为浙江、安徽、江西、湖南、湖北的药材,药材来源见表 1(13 批样品是专人采集,经江西中医学院龚千锋教授鉴定为《中国药典》规定的正品白术)。

表 1 13 批药材产地和批号

Table 1 Source and lot numbers of 13 batches of *Rhizoma Atractylodis Macrocephalae*

| 样品 | 来源   | 批号     | 样品  | 来源   | 批号     |
|----|------|--------|-----|------|--------|
| S1 | 江西修水 | 051110 | S8  | 浙江磐安 | 041012 |
| S2 | 江西修水 | 060615 | S9  | 重庆酉阳 | 051126 |
| S3 | 浙江东阳 | 060602 | S10 | 湖南岳阳 | 050605 |
| S4 | 浙江缙云 | 060602 | S11 | 湖北利川 | 051130 |
| S5 | 浙江磐安 | 060526 | S12 | 浙江金华 | 050625 |
| S6 | 浙江新昌 | 060526 | S13 | 湖北恩施 | 051201 |
| S7 | 浙江缙云 | 051225 |     |      |        |

## 2 方法和结果

2.1 色谱条件: Dikma Kromasil C<sub>18</sub> (250 mm×4.6 mm, 5 μm) 色谱柱, 以乙腈为流动相 A, 以水为流动相 B, 梯度洗脱程序为 (A): 0~25 min, 45%~80%; 25~40 min, 80%~100%; 40~55 min, 100%。体积流量为 1.0 mL/min, 柱温 25 ℃, 检测波长 242 nm。

2.2 供试品溶液的制备: 精密称取白术药材粗粉约 2 g, 置于锥形瓶中, 精密加入甲醇 40 mL, 密塞, 称质量。超声 30 min 后放冷, 称质量, 补足减失质量。滤过, 吸取续滤液, 过 0.45 μm 滤膜, 即得。

2.3 测定方法: 分别精密吸取参照物溶液和供试品溶液 10 μL, 注入液相色谱仪, 记录 55 min 的色谱图, 即得。供试品色谱图中, 以色谱峰 (S 峰) 的保留时间和峰面积为 1, 计算各指纹峰的相对保留时间和峰面积比值。

2.4 分析时间考察: 吸取供试品 S8 溶液 10 μL, 注入高效液相色谱仪, 运行 120 min, 记录色谱图, 发现 55 min 以后已无明显色谱峰, 因此分析时间定为 55 min。

2.5 空白试验: 吸取甲醇空白溶液 10 μL, 注入高效液相色谱仪, 记录色谱图, 结果溶剂出峰少, 对检测基本无干扰。

2.6 精密度试验: 取同一批供试品溶液, 连续进样 6 次, 分别对共有峰的相对保留时间和峰面积比值进行考察。结果表明, 各共有峰的相对保留时间 RSD 小于 0.1%, 峰面积比值 RSD 小于 2.0%, 符合指纹图谱分析要求。

2.7 重现性试验: 取供试品药材粉末 6 份, 制备供试品溶液, 分别对共有峰的相对保留时间和峰面积比值进行考察。结果表明, 各共有峰相对保留时间 RSD 小于 0.1%, 峰面积比值 RSD 小于 3.0%, 符合指纹图谱分析要求。

2.8 稳定性试验: 取供试品溶液分别于 0、3、6、9、12、15、18、21、24 h 进样分析, 考察共有峰的相对保留时间和峰面积比值。结果表明, 各共有峰相对保留时间 RSD 小于 0.1%, 峰面积比值 RSD 小于 4.0%, 表明供试品溶液在 24 h 内基本稳定。

2.9 指纹图谱相似性评价<sup>[2]</sup>: 分别将 13 批样品进样分析, 记录色谱图, 保留时间 ( $t_R$ ) 为 36.13 min 的峰面积均较稳定, 且分离度好, 设为参照物峰 S, 以其保留时间和峰面积为 1, 计算各峰的相对保留时间 ( $\alpha/T_r$ ) 和峰面积比值。图 1 为 13 批白术药材的指纹图谱。

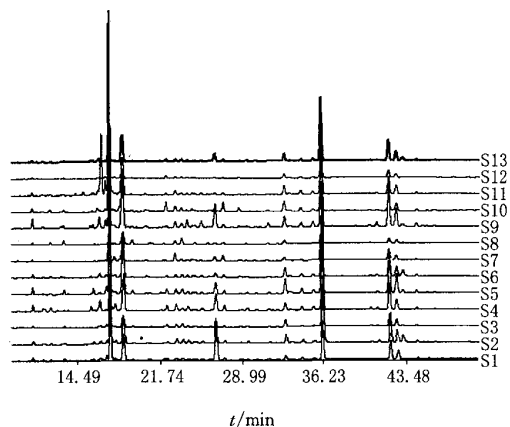


图 1 13 个不同产地样品指纹图谱

Fig. 1 Fingerprints of samples from 13 habitats

2.9.1 聚类分析: 将样品所有出峰的相对保留值导入 SPSS 软件, 以余弦夹角作为距离测度方式, 建立样品间相似性聚类。结果见图 2。将各类之间的距离标定至 1~25, 可见在距离约为 5~10 时, 可将样品分成 4 类, 除 S8、S1、S11 自成一类外, 其他样品具有较好的相似性, 归于一类, 而在 3~5, S2、S6、S5、S9、S13 较相似, S10、S12、S4、S7 较相似。将 S8、S1、S11 3 批排除, 其他 10 批样品参与共有模式的建立。

2.9.2 共有模式的建立及相似性分析: 依据聚类分析后的结果, 将 10 批药材出峰数据导入“中药指纹

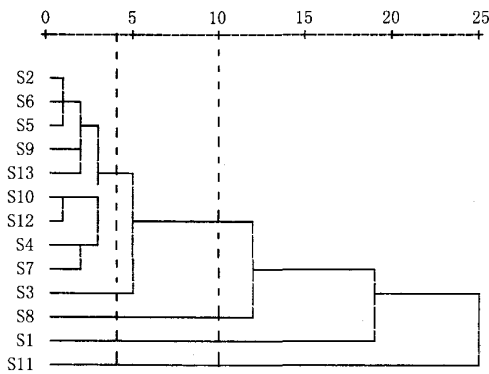


图 2 13 批样品聚类分析树状图

Fig. 2 Dendrogram of hierarchical clustering analysis for 13 samples

图谱计算机辅助相似度计算软件”，经过峰点校正和数据匹配，以中位数法建立对照指纹图谱即共有模式，见图 3。各样品与共有模式之间的相似度在 0.95 以上，结果见表 2。结合样品出峰情况及匹配结果，有 24 个峰为 10 批样品共有，但在各产地中丰度差异较大。其他各峰在不同产地中出现率差异较大。确定该 24 个峰为共有峰，其相对保留时间和相对峰面积范围结果见表 3。经统计共有峰面积占总峰面积百分比为 93.27%~98.30%，非共有峰面积与总峰面积的百分比为 2%~7%。符合指纹图谱研究的非共有峰占总峰面积百分比<10%的技术要求。

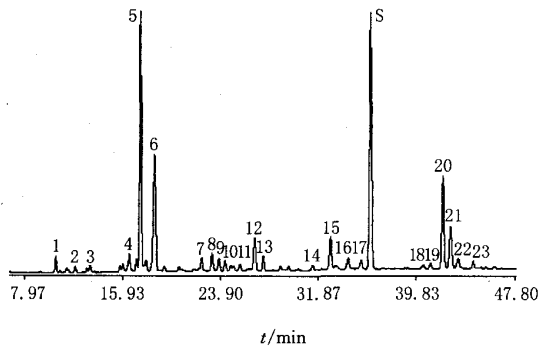


图 3 白术药材共有模式指纹图谱

Fig. 3 Reference fingerprint of *Rhizoma Atractylodis Macrocephalae*

表 2 10 批样品的相似度结果

Table 2 Similarity of ten samples

| 样 品 | 相似度   | 样 品 | 相似度   |
|-----|-------|-----|-------|
| S2  | 0.99  | S7  | 0.98  |
| S3  | 0.978 | S9  | 0.988 |
| S4  | 0.977 | S10 | 0.982 |
| S5  | 0.996 | S12 | 0.98  |
| S6  | 0.995 | S13 | 0.989 |

表 3 10 批白术样品共有峰

Table 3 Common peaks of ten batches of *Rhizoma Atractylodis Macrocephalae* samples

| 峰号 | 相对保留时间 | 相对峰面积       | 峰号 | 相对保留时间 | 相对峰面积       |
|----|--------|-------------|----|--------|-------------|
| 1  | 0.291  | 0.019~0.069 | 13 | 0.758  | 0.027~0.173 |
| 2  | 0.335  | 0.006~0.057 | 14 | 0.870  | 0.011~0.039 |
| 3  | 0.369  | 0.007~0.027 | 15 | 0.910  | 0.099~0.174 |
| 4  | 0.456  | 0.019~0.148 | 16 | 0.950  | 0.032~0.065 |
| 5  | 0.481  | 0.482~0.994 | 17 | 0.979  | 0.027~0.057 |
| 6  | 0.512  | 0.305~0.624 | S  | 1.000  | 1.000       |
| 7  | 0.618  | 0.009~0.139 | 18 | 1.118  | 0.004~0.026 |
| 8  | 0.641  | 0.035~0.207 | 19 | 1.134  | 0.008~0.032 |
| 9  | 0.657  | 0.031~0.081 | 20 | 1.162  | 0.258~0.408 |
| 10 | 0.670  | 0.017~0.065 | 21 | 1.179  | 0.153~0.189 |
| 11 | 0.704  | 0.012~0.057 | 22 | 1.196  | 0.011~0.129 |
| 12 | 0.738  | 0.023~0.292 | 23 | 1.229  | 0.021~0.030 |

3 讨论

3.1 本实验用梯度洗脱的方法使白术药材得到了较好的分离。对 13 批药材进行测定和聚类分析，结果表明 3 批差异大不归入一类，其他 10 批相似，但各峰量上表现出较大差异，可初步分为 3 类。全面考虑各产地因素，因此筛选该 10 批样品参与共有模式的建立。经过比较各样品的出峰情况，标定了 24 个特征峰，建立白术指纹图共有模式。各样品之间的相似度均在 0.9 以上，与共有模式的相似度均在 0.95 以上，说明样品间整体出峰相似，以这些样品建立共有模式较为可靠。通过实验证实该测定方法稳定，可用于白术药材真伪鉴别。

3.2 色谱条件优化：对甲醇-水、0.5%磷酸水-乙腈、乙腈-水系统进行了考察，结果表明乙腈-水系统分离良好，峰形佳，故选择乙腈-水系统进行梯度洗脱；比较了 203、220、242、276、300 nm 5 个波长下的色谱图，发现 203 和 300 nm 峰信号少，220 和 276 nm 处有几个出峰信号大，但其他峰信号太小，而 242 nm 处出峰多且信号整体较为明显，因此选择 242 nm 为检测波长。

3.3 供试品提取方式选择：分别考察了甲醇、乙醇、醋酸乙酯、丙酮等不同提取溶剂，超声、回流等不同提取方式，并进行了提取时间为 30 min、1 h、2 h，提取次数为一次、两次的考察，结果表明，以甲醇超声 30 min 一次即可提取完全，与长时间的提取结果相差很小，因此确定该提取方法。

References:

[1] Ch P (中国药典) [S]. Vol 1. 2005.  
[2] Ma L Y, Lu W H. HPLC Fingerprint of *Herba Galii Veri* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2006, 11(37): 1723-1726.

# 白术药材的指纹图谱研究

作者：[黎琼红](#)，[马兴田](#)，[谢晨](#)，[龚秀琦](#)，[LI Qiong-hong](#)，[MA Xing-tian](#)，[XIE Chen](#)，[GONG Xiu-qi](#)  
作者单位：[广东康美药业股份有限公司, 广东, 普宁, 515300](#)  
刊名：[中草药](#) [ISTIC](#) [PKU](#)  
英文刊名：[CHINESE TRADITIONAL AND HERBAL DRUGS](#)  
年，卷(期)：2007, 38 (6)  
被引用次数：9次

## 参考文献(2条)

1. [中华人民共和国药典\(一部\)](#) 2005
2. [Ma L Y;Lu W H](#) [HPLC Fingerprint of Herba Galii Veri](#)[期刊论文]-[中草药](#) 2006 (11)

## 本文读者也读过(8条)

1. [段启](#). [马兴田](#). [李彩萍](#) [白术GC-MS指纹图谱研究](#)[期刊论文]-[中草药](#)2008, 39 (8)
2. [叶燕](#). [程雪梅](#). [俞桂新](#). [王峥涛](#) [白术药材HPLC指纹图谱研究](#)[期刊论文]-[江苏中医药](#)2009, 41 (4)
3. [于超](#). [阳勇](#). [刘世尧](#). [王志川](#). [张小梅](#). [王婷婷](#). [YU Chao](#). [YANG Yong](#). [LIU Shi-yao](#). [BAI Zhi-chuan](#). [ZHANG Xiao-mei](#). [WANG Ting-ting](#) [白术药材HPLC色谱指纹图谱研究](#)[期刊论文]-[中草药](#)2006, 37 (5)
4. [左坚](#). [纪从兰](#). [ZUO Jian](#). [JI Cong-lan](#) [白术高效毛细管电泳指纹图谱的建立和产地差异分析](#)[期刊论文]-[现代中药研究与实践](#)2008, 22 (1)
5. [黄艳萍](#). [袁萍](#). [HUANG Yan-ping](#). [YUAN Ping](#) [白术不同炒制品HPLC指纹图谱研究](#)[期刊论文]-[中国实验方剂学杂志](#) 2010, 16 (7)
6. [魏海](#). [曹建敏](#). [王巧娥](#) [中药川芎的指纹图谱分析](#)[期刊论文]-[现代中药研究与实践](#)2004, 18 (z1)
7. [田兰](#). [毕开顺](#). [孙稳健](#). [赵少春](#). [武国芳](#). [吕颖](#) [白术的化学模式识别](#)[期刊论文]-[中国中药杂志](#)2003, 28 (2)
8. [王宁](#). [左坚](#) [不同产地白术中主要化学成分的含量比较](#)[期刊论文]-[中国中医药现代远程教育](#)2010 (18)

## 引证文献(9条)

1. [黄艳萍](#). [袁萍](#) [白术不同炒制品HPLC指纹图谱研究](#)[期刊论文]-[中国实验方剂学杂志](#) 2010 (7)
2. [马鞭草HPLC-PDA指纹图谱研究](#)[期刊论文]-[中草药](#) 2009 (12)
3. [陈伟薇](#). [李俊](#). [宋珏](#). [李飞龙](#) [玉屏风药材汤剂HPLC指纹图谱的建立](#)[期刊论文]-[安徽医科大学学报](#) 2010 (2)
4. [陈向东](#). [张光大](#). [兰小勇](#). [刘法锦](#). [魏梅](#) [HPLC指纹图谱对白术药材的质量评价研究](#)[期刊论文]-[中药材](#) 2013 (2)
5. [白岩](#). [陈磊](#). [王晓妮](#). [杨潮锋](#). [何福基](#). [田薇](#) [白术不同采收期内酯 I、II 和III量的动态变化研究](#)[期刊论文]-[中草药](#) 2010 (1)
6. [纪明慧](#). [李国伟](#). [郭飞燕](#). [杨淑玉](#). [李钻丹](#) [海南黄灯笼辣椒中辣椒碱的含量测定](#)[期刊论文]-[中国调味品](#) 2011 (8)
7. [张礼菊](#) [色谱指纹图谱在中药质量标准体系中的应用](#)[期刊论文]-[安徽医药](#) 2009 (11)
8. [寿旦](#). [戴诗文](#). [章建民](#). [李洪玉](#). [俞忠明](#) [微管液相色谱法同时测定白术中的白术内酯III、白术内酯I和苍术酮](#)[期刊论文]-[色谱](#) 2008 (5)
9. [朱秀卿](#). [阎克里](#). [赵丽](#) [白术挥发油中极性和非极性成分的高效液相色谱法特征图谱研究](#)[期刊论文]-[中国药物与临床](#) 2011 (8)