

黑果枸杞及其伪品白刺果的HPLC指纹图谱研究[△]

娄涛涛*, 陀扬凌, 金玲, 陈天强, 张旭*(成都中医药大学药学院/教育部中药材标准化重点实验室/中药资源系统研究与开发利用省部共建国家重点实验室培育基地, 成都 610075)

中图分类号 R927.1 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)09-1245-05
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.09.29

摘要 目的:建立黑果枸杞及其伪品白刺果的高效液相色谱(HPLC)指纹图谱。方法:采用HPLC法。色谱柱为Diamondsil ODS,流动相为乙腈-水(梯度洗脱),流速为0.8 ml/min,检测波长为270 nm,柱温为30 ℃,进样量为10 μl。以芦丁为参照物,对13批黑果枸杞与4批白刺果采用“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”软件进行相似度、主成分和聚类分析。结果:13批黑果枸杞有20个共有峰,其中12批黑果枸杞的相似度均>0.9,明显高于4批白刺果的相似度。13批黑果枸杞密集分布在一个区域,而4批白刺果分布在此区域外。13批黑果枸杞聚为一类,4批白刺果聚为一类;进一步运用聚类分析对13批黑果枸杞进行质量评价,总共可聚为4类。结论:所建立的指纹图谱可为黑果枸杞的鉴别和质量评价提供参考。

关键词 黑果枸杞;白刺果;高效液相色谱法;指纹图谱;化学计量学;质量控制

Study on the HPLC Fingerprint of *Lycium ruthenicum* and Its Adulterant *Nitraria tangutorum*

LOU Taotao, TUO Yangling, JIN Ling, CHEN Tianqiang, ZHANG Xu (College of Pharmacy, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine/Ministry of Education Key Laboratory of Standardization of Chinese Herbal Medicine, State Key Laboratory Breeding Base of Systematic Research, Development and Utilization of Chinese Medicine Resources, Chengdu 610075, Sichuan)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish the HPLC fingerprint of *Lycium ruthenicum* and its falsity *Nitraria tangutorum*. METHOD: HPLC was performed on the column of Diamondsil ODS with mobile phase of acetonitrile-water (gradient elution) at a flow rate of 0.8 ml/min, detection wavelength was 270 nm, column temperature was 30 ℃, and the injection volume was 10 μl. With the references of rutin, TCM chromatographic fingerprint similarity evaluation system was used for the similarity, principal component and cluster analysis of 13 batches of *L. ruthenicum* and 4 batches of *N. tangutorum*. RESULTS: There were totally 20 common peaks in 13 batches of *L. ruthenicum*, similarity of the 12 batches *L. ruthenicum* of higher than 0.9, which was significantly higher than the similarity of 4 batches of adulterants. 13 batches of *L. ruthenicum* was in a densely populated area, and the 4 batches of adulterants distributed outside this region. 13 batches of *L. ruthenicum* clustered together, and 4 batches of adulterants into one group; further cluster analysis was used for the quality evaluation of 13 batches of *L. ruthenicum*, total clustered into four categories. CONCLUSIONS: The established fingerprint can provide reference for identification and quality evaluation of *L. ruthenicum*.

KEYWORDS *Lycium ruthenicum*; *Nitraria tangutorum*; HPLC; Fingerprint; Chemometrics; Quality control

黑果枸杞 *Lycium ruthenicum* Murr. 为茄科枸杞属多年生灌木黑果枸杞的干燥成熟果实,主要分布区域为我国陕西北部、黄土高原、青海、甘肃、宁夏、新疆和西藏等地,另外欧洲、中亚和高加索等地亦有分布^[1]。黑果枸杞在藏药中称为“旁玛”,是一种独特的药食两用植物^[2-3]。《维吾尔药志》记载,黑果枸杞果实具有抗衰老、强肾、润肝、明目、健胃通经等作用^[2]。《晶珠本草》记载,黑果枸杞在治疗心脏病、心热病、月经不调、停经等方面具有显著疗效,民间常作为降压、滋补强壮补药使用^[4]。现代药理学研究也显示,其具有抗氧化、抗衰老、抗动脉粥样硬化、降血脂等作用^[5-8]。白刺果 *Nitraria tangutorum* Bobr. 是蒺藜科白刺属的干燥成熟果实,现代药理研究发现,白刺果具有抗疲劳、降血脂、降血压等功效。黑果枸杞与白刺果为两种科属且功效有一定差异的药材,但由于黑果枸杞市场价格昂贵,其与白刺果外观非常相近,故一些不法商家以次充

好,用价值明显不如黑果枸杞的白刺果欺骗消费者,仅少数人能靠已有知识和经验进行鉴别,但二者所含成分究竟有何差异已引起了大家的关注。目前,有关黑果枸杞质量控制方法的研究已有一些报道,但其针对的仅是个别成分的含量测定,均未涉及高效液相色谱(HPLC)指纹图谱研究的报道。由于中药所含成分复杂,单一的指标成分难以有效地对药材进行真伪鉴别和质量控制^[9]。中药指纹图谱是运用现代分析技术对中药化学信息以图形的方式进行表征并加以描述,是一种综合分析多种成分的有效手段^[10]。当前,化学计量学在药材分类和质量控制中起到了非常重要的作用,已被广泛应用于中药的质量标准研究^[11]。因此,本试验对收集到的黑果枸杞建立了指纹图谱,并结合化学计量学方法对13批黑果枸杞和4批白刺果进行分析与鉴别。

1 材料

1.1 仪器

1200型HPLC仪,包括二极管阵列检测器(美国Agilent公司);Series1500型HPLC仪,包括二极管阵列检测器(美国SSI公司);AE240型电子天平(德国Satorius公司);KQ3200B型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

△ 基金项目:四川省教育厅重点项目(No.10ZA090)

* 硕士研究生。研究方向:中药化学和中药质量控制。E-mail: 1511384931@qq.com

通信作者:副教授,博士。研究方向:中药化学和中药质量控制。电话:028-61800231。E-mail:16429511@qq.com

1.2 试剂

原花青素 B₂ 对照品(中国科学院成都生物研究所,批号: MOST-15032610,纯度≥98%);芦丁对照品(中国食品药品检定研究院,批号:100080-200707,纯度≥98%);乙腈、甲醇为色谱纯,其余试剂均为分析纯,水为纯化水。

1.3 药材

17批药材购自药材市场或经产地采收(见表1),由成都中医药大学马逾英教授鉴定。

表1 17批药材来源

Tab 1 Sources of 17 batches of medicinal materials

编号	产地	收集地	鉴定结果
S1	青海	青海省西宁	黑果枸杞
S2	青海	青海格尔木1	黑果枸杞
S3	青海	青海玉树	黑果枸杞
S4	新疆	新疆阿克苏	黑果枸杞
S5	青海	成都市荷花池中药材市场	黑果枸杞
S6	青海	青海柴达木	黑果枸杞
S7	新疆	成都市荷花池中药材市场	黑果枸杞
S8	青海	新疆温宿	黑果枸杞
S9	青海	青海格尔木2	黑果枸杞
S10	青海	青海海西	黑果枸杞
S11	青海	成都市荷花池中药材市场	黑果枸杞
S12	青海	成都市荷花池中药材市场	黑果枸杞
S13	青海	成都市荷花池中药材市场	黑果枸杞
S14	新疆	成都市荷花池中药材市场	白刺果
S15	青海	成都市荷花池中药材市场	白刺果
S16	甘肃	成都市荷花池中药材市场	白刺果
S17	甘肃	成都市荷花池中药材市场	白刺果

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: Diamonsil ODS(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈(A)-水(B), 梯度洗脱(0~65 min, 5%→33% A; 65~70 min, 33%→100% A; 70~75 min, 100%→5% A); 流速: 0.8 ml/min; 检测波长: 270 nm; 柱温: 30 ℃; 进样量: 10 μl。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液 精密称取原花青素 B₂ 对照品 5 mg, 加甲醇溶解并稀释至 5 ml; 精密称取芦丁对照品 10 mg, 用甲醇溶解并稀释至 10 ml, 摇匀, 制成质量浓度分别为 1.0 mg/ml 的原花青素 B₂ 和芦丁单一对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液 精密称取药材粉末(过2号筛)1.0 g, 置于 25 ml 锥形瓶中, 加入甲醇 20 ml, 超声(功率: 250 W, 频率: 40 kHz)处理 30 min, 滤过, 用甲醇稀释至 25 ml, 摇匀, 用 0.22 μm 微孔滤膜滤过, 取续滤液, 即得。

2.3 方法学考察

2.3.1 精密度试验 取“2.2”项下对照品溶液和供试品溶液适量, 按“2.1”项下色谱条件连续进样测定 6 次, 以芦丁的保留时间和峰面积为参照, 记录各共有峰相对保留时间和相对峰面积。结果, 指纹图谱中单峰面积>5%的共有峰相对保留时间的 RSD<1.0% (n=6), 相对峰面积的 RSD<3.0% (n=6), 表明仪器精密度良好。

2.3.2 稳定性试验 取“2.2.2”项下供试品溶液(编号: S1)适量, 分别于放置 0、4、8、12、18、24 h 时进样测定, 以芦丁的保留时间和峰面积为参照, 记录各共有峰相对保留时间和相对峰面积。结果, 指纹图谱中单峰面积>5%的共有峰相对保留时间的 RSD<1.0% (n=6), 相对峰面积的 RSD<3.0% (n=6), 表明供试品溶液在 24 h 内基本稳定。

2.3.3 重复性试验 精密称取同一批样品(编号: S1)适量, 按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液, 共 6 份, 再按“2.1”项下色谱条件进样测定, 以芦丁的保留时间和峰面积为参照, 记录各共有峰相对保留时间和相对峰面积。结果, 指纹图谱中单峰面积>5%的共有峰相对保留时间的 RSD<1.0% (n=6), 相对峰面积的 RSD<3.0% (n=6), 表明本方法重复性良好。

2.4 指纹图谱的建立及共有峰的指认

2.4.1 指纹图谱的建立 取 17 批药材适量, 按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液, 再按“2.1”项下色谱条件进样测定, 得特征指纹叠加图谱, 详见图 1。

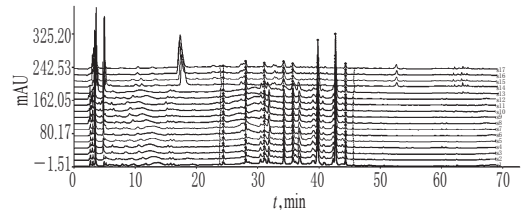


图1 17批药材高效液相色谱叠加图

Fig 1 HPLC overlay chromatograms of 17 batches of medicinal materials

2.4.2 对照图谱的生成 采用国家药典委员会颁布的《中药色谱指纹图谱相似度评价系统 2004 A 版》对 17 批药材进行比较分析, 指定参照图谱(芦丁)后进行自动匹配, 以平均数生成黑果枸杞和白刺果对照指纹图谱, 采用相对保留时间标定了其中的 20 个共有色谱峰, 详见图 2(13 号峰是芦丁)。

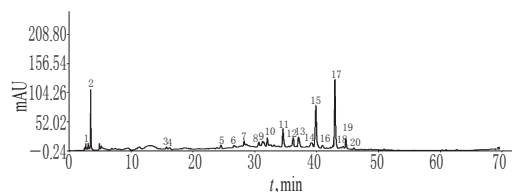


图2 17批药材共有峰高效液相色谱图

Fig 2 HPLC chromatograms of common peaks of 17 batches of medicinal materials

2.4.3 相似度分析 采用《中药色谱指纹图谱相似度评价系统 2004 A 版》对 17 批药材进行比较分析(将对照指纹图谱的相似度值定为 1)。结果, 13 批黑果枸杞相似度在 0.876~0.978 之间, 4 批白刺果相似度在 0.133~0.228 之间。结果表明, 与 4 批白刺果指纹图谱的相似度值比较, 13 批黑果枸杞指纹图谱的相似度值均明显偏高, 但各批黑果枸杞指纹图谱之间相似度值有一定差异, 表明各批次药材成分和质量存在一定的差别。相似度评价结果见表 2; 各共有峰的相对保留时间和相对峰面积的统计结果见表 3、表 4。

表2 17批药材相似度评价结果

Tab 2 Similarity evaluation results of 17 batches of medicinal materials

编号	相似度	编号	相似度
S1	0.908	S10	0.968
S2	0.911	S11	0.972
S3	0.910	S12	0.935
S4	0.913	S13	0.876
S5	0.906	S14	0.139
S6	0.938	S15	0.133
S7	0.942	S16	0.164
S8	0.944	S17	0.228
S9	0.978		

表3 13批黑果枸杞20个共有峰的相对保留时间

Tab 3 Relative retention time of the 20 common peaks of 13 batches of *L. ruthenicum*

	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13	RSD
1	0.095 0	0.094 3	0.091 6	0.092 5	0.093 1	0.092 0	0.094 9	0.093 7	0.094 5	0.093 8	0.092 1	0.091 0	0.091 4	0.014 969
2	0.133 1	0.132 5	0.129 1	0.130 3	0.130 2	0.128 8	0.133 2	0.131 2	0.132 3	0.130 7	0.131 3	0.129 4	0.129 7	0.011 368
3	0.425 7	0.425 0	0.422 7	0.420 1	0.424 2	0.411 6	0.416 6	0.416 4	0.414 4	0.411 8	0.418 5	0.410 7	0.412 3	0.013 035
4	0.438 2	0.438 2	0.436 5	0.434 3	0.437 8	0.440 3	0.445 2	0.441 2	0.439 0	0.436 2	0.444 0	0.433 5	0.435 6	0.007 959
5	0.656 7	0.661 6	0.661 0	0.666 3	0.655 4	0.652 7	0.668 4	0.663 2	0.669 2	0.670 9	0.660 2	0.656 7	0.668 9	0.009 034
6	0.740 2	0.751 0	0.740 8	0.754 1	0.737 4	0.749 4	0.749 7	0.748 7	0.756 9	0.745 1	0.742 7	0.742 3	0.745 5	0.007 747
7	0.762 5	0.763 1	0.762 4	0.770 7	0.753 2	0.765 0	0.771 0	0.760 2	0.771 2	0.767 8	0.766 8	0.767 0	0.766 4	0.006 579
8	0.824 2	0.826 8	0.823 1	0.833 7	0.821 8	0.830 2	0.835 1	0.827 0	0.833 5	0.836 4	0.831 2	0.828 9	0.831 8	0.005 661
9	0.839 2	0.843 4	0.839 7	0.849 6	0.838 1	0.847 3	0.850 0	0.842 2	0.845 6	0.849 9	0.845 6	0.843 9	0.847 1	0.004 860
10	0.857 5	0.864 1	0.861 6	0.870 8	0.860 8	0.873 7	0.868 3	0.865 2	0.864 6	0.872 1	0.867 6	0.866 6	0.867 3	0.005 298
11	0.927 2	0.932 3	0.935 9	0.937 1	0.932 9	0.939 7	0.937 6	0.938 2	0.935 5	0.941 7	0.938 9	0.934 4	0.938 2	0.004 033
12	0.974 7	0.976 4	0.977 4	0.977 5	0.974 9	0.977 2	0.973 8	0.974 0	0.971 3	0.974 2	0.974 0	0.971 5	0.975 9	0.002 087
13	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	0.000 000
14	1.054 4	1.054 9	1.055 5	1.054 5	1.055 2	1.055 3	1.057 2	1.059 8	1.063 0	1.065 3	1.056 7	1.057 9	1.055 5	0.003 238
15	1.069 7	1.075 4	1.075 7	1.074 8	1.069 3	1.070 5	1.077 6	1.079 5	1.084 5	1.085 6	1.076 2	1.078 1	1.075 8	0.004 628
16	1.097 4	1.103 5	1.102 0	1.101 6	1.094 7	1.093 8	1.101 3	1.101 3	1.109 1	1.108 1	1.098 0	1.100 6	1.098 8	0.004 071
17	1.148 5	1.158 6	1.156 3	1.157 4	1.144 8	1.144 8	1.155 9	1.155 9	1.163 7	1.165 0	1.152 2	1.157 4	1.157 8	0.005 408
18	1.195 0	1.206 2	1.206 5	1.207 5	1.193 3	1.192 9	1.199 8	1.201 0	1.208 3	1.209 5	1.200 6	1.205 4	1.207 6	0.004 907
19	1.229 9	1.240 0	1.240 6	1.243 8	1.226 0	1.224 2	1.231 1	1.233 2	1.239 8	1.241 2	1.232 4	1.237 5	1.241 1	0.005 146
20	1.364 0	1.372 1	1.368 1	1.370 6	1.354 5	1.349 8	1.351 8	1.355 2	1.361 6	1.360 2	1.353 5	1.361 4	1.369 7	0.005 587

表4 17批药材32个色谱峰的相对峰面积

Tab 4 Relative peak area of 32 peaks of 17 batches of medicinal materials

峰号	保留时间, min	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13	S14	S15	S16	S17
1	3.466	1.600	1.716	1.907	1.535	1.563	1.434	0.953	1.104	1.659	1.847	1.647	1.419	0.363	1.150	3.266	3.648	3.658
2	4.858	0.192	0.327	1.019	0.713	0.287	0.488	0.137	0.369	0.700	1.020	0.971	0.283	0.272	0.276	1.950	2.272	1.463
3	9.033	0.480	0.695	0.638	0.273	0.385	0.212	0.288	0.546	1.601	0.728	0.773	0.450	0.104	0.272	0.525	0.465	0.346
4	11.047	0.585	0.695	0.771	0.560	0.537	0.449	0.466	1.624	2.531	1.548	2.343	0.568	0.658	0.244	0.528	0.217	0.329
5	15.483	0.426	0.425	0.431	0.315	0.213	0.109	0.257	0.330	0.514	0.369	0.526	0.630	0.131	0.000	0.000	0.000	0.000
6	16.252	0.403	0.414	0.399	0.317	0.171	0.088	0.259	0.275	0.385	0.259	0.632	1.551	0.059	0.000	0.000	0.000	0.000
7	19.315	0.949	0.224	0.742	0.135	0.079	0.133	0.127	0.120	0.179	0.080	0.129	0.539	0.024	5.546	11.432	10.816	9.399
8	23.792	0.335	0.366	0.330	0.236	0.200	0.206	0.274	0.344	0.575	0.347	0.292	0.405	0.179	0.712	0.585	0.582	0.607
9	24.528	0.738	0.751	0.732	0.557	0.507	0.154	0.608	0.543	0.989	0.685	0.827	0.923	0.163	0.851	0.350	0.599	0.594
10	27.680	0.412	0.520	0.417	0.326	0.719	0.364	0.659	0.306	0.648	0.538	0.842	0.959	0.160	0.566	0.651	0.669	0.684
11	28.337	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
12	30.715	1.376	1.178	1.416	0.883	0.864	0.348	0.666	0.861	1.609	1.916	1.495	0.813	0.353	0.000	0.000	0.000	0.000
13	31.289	0.826	1.012	1.578	0.783	0.851	0.350	0.940	0.858	1.868	1.536	1.516	0.636	0.262	0.260	0.338	0.212	0.389
14	32.051	1.277	1.304	1.459	1.212	1.323	0.683	0.983	0.881	1.586	1.248	1.475	1.134	0.475	0.641	0.850	0.793	0.959
15	32.699	0.662	0.833	0.607	0.415	0.426	0.107	0.186	0.360	0.580	0.460	0.601	0.167	0.056	0.155	0.590	0.623	0.670
16	33.223	0.730	0.624	0.618	0.436	0.465	0.104	0.310	0.239	0.748	0.414	0.695	0.246	0.170	0.476	0.261	0.221	0.328
17	33.828	0.618	0.751	0.661	0.493	0.460	0.117	0.291	0.201	0.499	0.535	0.346	0.254	0.136	0.225	0.000	0.000	0.000
18	34.658	2.122	2.303	1.798	1.532	1.753	0.674	0.799	0.770	1.353	0.959	0.971	1.219	0.240	0.896	1.876	1.641	1.721
19	35.538	0.370	0.455	0.603	0.386	0.470	0.118	0.295	0.180	0.269	0.157	0.231	0.239	0.298	0.212	0.226	0.271	0.295
20	36.140	1.522	1.436	1.692	1.450	1.521	0.707	0.928	0.829	1.305	1.007	1.100	1.115	0.148	0.628	1.146	1.321	1.248
21	37.029	1.412	1.676	1.532	1.314	1.455	0.577	0.814	0.793	1.187	0.729	0.816	1.125	0.350	0.202	0.241	0.367	0.421
22	38.384	0.514	0.587	0.557	0.499	0.649	0.120	0.296	0.274	0.446	0.244	0.330	0.353	0.112	0.126	0.223	0.289	0.406
23	39.127	0.595	1.596	1.484	1.257	0.681	0.588	0.721	0.685	0.948	0.491	0.736	0.690	0.155	0.169	0.414	0.370	0.250
24	39.836	3.790	4.340	4.378	3.638	4.249	2.290	2.343	2.291	3.794	3.097	3.094	3.196	1.069	0.124	0.263	0.253	0.294
25	40.750	0.686	0.775	0.699	0.526	0.566	0.200	0.035	0.370	0.546	0.294	0.554	0.257	0.147	0.168	0.313	0.301	0.288
26	42.408	0.860	1.332	1.275	0.847	0.071	0.359	0.516	0.509	0.625	0.376	0.562	0.273	0.048	0.047	0.245	0.180	0.185
27	42.765	4.368	4.899	4.747	3.804	4.699	2.595	2.454	2.543	4.140	3.259	3.313	3.537	1.091	0.000	0.000	0.000	0.000
28	44.015	0.224	0.502	0.454	0.404	0.457	0.158	0.180	0.165	0.234	0.111	0.210	0.203	0.056	0.028	0.059	0.136	0.157
29	44.528	0.840	1.184	0.912	0.513	0.610	0.226	0.314	0.307	0.459	0.345	0.445	0.254	0.049	0.250	0.550	0.604	0.552
30	45.758	0.236	0.333	0.255	0.214	0.250	0.089	0.158	0.144	0.198	0.119	0.197	0.285	0.044	0.000	0.000	0.000	0.000
31	50.579	0.124	0.128	0.131	0.100	0.106	0.030	0.064	0.047	0.051	0.048	0.042	0.047	0.013	0.389	0.872	0.862	0.706
32	62.663	0.104	0.075	0.062	0.047	0.061	0.038	0.034	0.020	0.029	0.070	0.056	0.028	0.034	0.107	0.275	0.230	0.211

2.4.4 主成分分析 主成分分析也称主分量分析,旨在利用降维的思想,把多指标转化为少数几个综合指标,通常是选取

样本中与问题相关的某些特征来进行分类,常应用于中药材的鉴别方面^[1]。笔者采用SPSS 19.0软件对表1中17批药材进

行主成分分析, 详见图3。结果表明, 13批黑果枸杞密集分布在一个区域, 而4批白刺果分布在另一个区域。由各批次药材在空间分布密集程度分析可知, 13批黑果枸杞与4批白刺果的化学成分存在较大的差异。

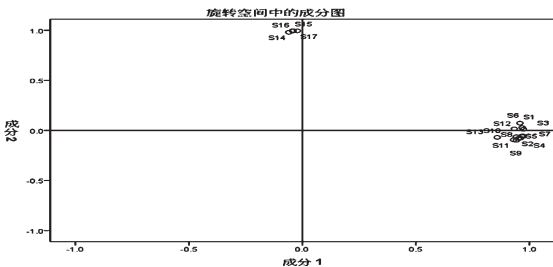


图3 17批药材指纹图谱的二维主成分投影图

Fig 3 Two-dimensional projection of the main components of 17 batches of medicinal materials

2.5 聚类分析

聚类分析是根据客观事物间的特征、亲疏程度、相似性, 通过建立相似关系对客观事物进行聚类的分析方法。目前, 更多的应用在中药真伪鉴别与量评价等各个方面^[12]。本试验采用聚类分析法对表4中17批药材进行真伪鉴别, 并对13批黑果枸杞进行质量评价。笔者采用SPSS 19.0软件, 通过欧式距离对17批药材进行聚类分析。结果表明, 13批黑果枸杞(S1~S5, S6~S8, S9~S11, S12~S13)聚为一类, 4批白刺果(S14~S17)则聚为另一类。对比相似度分析结果, 总体分析结果相一致, 详见图4。13批黑果枸杞可聚为4类, S9~S11聚为一类; S1~S5聚为一类; S6~S8、S12聚为一类; S13单独聚为一类。直观分析上述4类药材的指纹图谱发现, 第1类药材(S9~S11)的指纹图谱在15~20 min内色谱峰的峰面积明显小于其他3类药材指纹图谱在该时间段内色谱峰的峰面积; 第2类药材(S1~S5)与第3类药材(S6~S8, S12)比较, 指纹图谱在15~20 min内缺失了1个色谱峰; 第4类药材(S13)与其他3类药材相比在43~46 min内色谱峰较小, 详见图5。

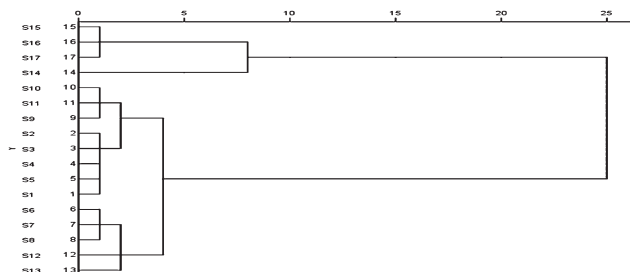


图4 17批药材的聚类树状图

Fig 4 Dendrograms of 17 batches of medicinal materials

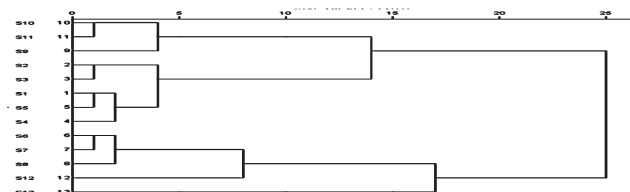


图5 13批黑果枸杞的聚类树状图

Fig 5 Dendrograms of 13 batches of *L. ruthenicum*

3 讨论

3.1 提取条件的考察

本试验考察了不同提取溶剂如乙醇、甲醇、水, 不同的提取时间(10、20、30、40、50、60 min), 不同的料液比(1:10、1:20、

1:30、1:40、1:50), 超声提取、加热回流两种不同的提取方法。结果表明, 以甲醇(按料液比1:20)超声提取30 min时的有效成分提取率较优, 峰形最佳。

3.2 色谱条件的优化

试验中考察了甲醇-水、甲醇-0.1%甲酸、乙腈-水、乙腈-0.1%甲酸流动相系统, 也对柱温和流速进行了考察, 结果以乙腈-水为流动相、柱温30℃、流速0.8 ml/min时得到的图谱色谱峰多且稳定。供试品用二极管阵列检测器进行全波长扫描, 比较各波长下的色谱图, 结果在270 nm波长处所得图谱信息量大、出峰较好, 故选择270 nm为检测波长。

3.3 不同批次黑果枸杞指纹图谱的共性

通过比较可以发现, 13批黑果枸杞图谱中主要色谱峰的群体面貌基本一致, 各批次黑果枸杞的相似度几乎都在0.9以上, 说明各批次的指纹图谱相似度较高, 药材品质较为稳定。13个共有峰相对峰面积符合程度较好, 非共有峰面积在图谱中所占比例相对较小, 且13批黑果枸杞指纹图谱的相似度较高, 体现了黑果枸杞内在质量的相对稳定。同时, 也验证了王智民等^[13]建立一测多评法的科学性, 为测定黑果枸杞中标志性成分含量提供了科学依据。

3.4 17批药材的真伪鉴别和质量评价

本试验是建立在一定生药学鉴别的基础之上, 再通过对黑果枸杞药材以及伪品白刺果的HPLC指纹图谱的研究, 并结合主成分分析法成功地对17批药材进行了真伪鉴别, 同时17批药材聚类分析的结果也证实了这一结论。对13批黑果枸杞进行聚类分析, 总共可聚为4类。通过对4类药材指纹图谱的直观分析, 发现4类药材所含的成分及质量均存在一定的差异。笔者对17批药材进行主成分分析法和聚类分析, 发现13批黑果枸杞与4批白刺果的化学成分存在较大的差异。本研究为黑果枸杞的质量控制、品种鉴别提供了理论和技术支撑。

参考文献

- [1] 匡可任, 路安民. 中国植物志[M]. 北京: 科学出版社, 1978:10.
- [2] 张绘芳, 李霞, 王建刚, 等. 塔里木河下游植物群落结构特征分析[J]. 生态环境, 2007, 16(4): 1 219.
- [3] Zheng J, Ding CX, Wang LS, *et al.* Anthocyanins composition and antioxidant activity of wild *Lycium ruthenicum* Murr. from Qinghai-Tibet plateau[J]. *Food Chem*, 2011, 126(3): 859.
- [4] 新疆生物土壤沙漠研究所. 新疆中草药[M]. 乌鲁木齐: 新疆人民出版社, 1976:326.
- [5] Liu ZG, Dang J, Wang QL, *et al.* Optimization of polysaccharides from *Lycium ruthenicum* fruit using RSM and its anti-oxidant activity[J]. *Int J Biol Macromol*, 2013, 61: 127.
- [6] 林丽, 李进, 吕海英, 等. 黑果枸杞花色苷对小鼠动脉粥样硬化的影响[J]. 中国中药杂志, 2012, 37(10): 1 460.
- [7] 贾琦珍, 陶大勇, 陈瑛, 等. 黑果枸杞色素对巨噬细胞的激活作用研究[J]. 中兽医医药杂志, 2008(1): 29.
- [8] 陶大勇, 陈佳娟, 陈瑛, 等. 黑果枸杞色素对小鼠抗衰老作用的研究[J]. 中兽医医药杂志, 2008(1): 11.
- [9] 谢培山. 中药色谱指纹图谱鉴别的概念、属性、技术与应用[J]. 中国中药杂志, 2001, 26(10): 653.
- [10] 刘文, 蒋世云. 中药指纹图谱研究与应用进展[J]. 中国药房, 2011, 22(19): 1 820.

ICP-MS/ICP-OES法结合化学计量学分析法比较不同产地牡丹皮药材中无机元素的含量^Δ

蒋磊^{1,2*}, 胡云飞³, 裴月梅⁴, 徐国兵^{1,3,4#}, 吴德玲¹, 徐倩¹(1.安徽中医药大学药学院, 合肥 230031; 2.亳州市食品药品检验中心, 安徽亳州 236800; 3.国家中药材产品质量监督检验中心, 安徽亳州 236800; 4.安徽省食品药品检验研究院, 合肥 230051)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)09-1249-05

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.09.30

摘要 目的:比较不同产地15批牡丹皮药材中无机元素的含量,为牡丹皮道地药材的鉴别提供依据。方法:采用电感耦合等离子体质谱(ICP-MS)/电感耦合等离子体发射光谱(ICP-OES)法测定不同产地15批牡丹皮药材中无机元素的含量。ICP-MS条件:功率为1 200 W,雾化气压力为1.6 bar,分子泵电机电流为2 A,分子泵转速为1 000 Hz,炬箱调谐参数为Load 59, Tune 190。ICP-OES条件:功率为1 300 W,等离子炬气流量为15 L/min,辅助冷却气流量为0.2 L/min,雾化器流量为0.8 L/min,读数时间(自动)为1~5 s,进样量为1.5 ml/min。采用SPSS 19.0统计软件对15批牡丹皮药材进行聚类分析;采用SIMCA-P 11.0软件联合主成分分析(PCA)法、偏最小二乘聚类判别模式分析(PLS-DA)法对15批牡丹皮药材进行主要元素分析。结果:聚类分析显示道地产区(铜陵)与非道地产区可较好分为两类;PCA法可将不同产地牡丹皮药材分别聚成不同组别;PLS-DA法显示牡丹皮药材中主要无机元素为锂、锌、铅、铁、钾。结论:牡丹皮道地药材与非道地药材在无机元素的含量与种类上存在一定的差异。

关键词 牡丹皮;电感耦合等离子体质谱;电感耦合等离子体发射光谱;无机元素;主成分分析;偏最小二乘法-判别模式分析

Comparison of Inorganic Elements in *Paeonol saffurucosa* from Different Origins by ICP-MS/ICP-OES Combined with Chemometrics Technology

JIANG Lei^{1,2}, HU Yunfei³, PEI Yuemei⁴, XU Guobing^{1,3,4}, WU Deling¹, XU Qian¹(1.School of Pharmacy, Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230031, China; 2.Anhui Bozhou Institute for Food and Drug Control, Anhui Bozhou 236800, China; 3.National Quality Supervision and Inspection Center for Chinese Medicinal Materials Products, Anhui Bozhou 236800, China; 4.Anhui Institute for Food and Drug Control, Hefei 230051, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To compare and analyze the contents of inorganic elements in 15 kinds of *Paeonol saffurucosa* from different origins, and to lay the foundation for the discrimination of its genuine regional drug. METHODS: ICP-MS and ICP-OES were conducted to determine the contents of inorganic elements in 15 kinds of *P. saffurucosa*. ICP-MS determination conditions: the powder was 1 200 W, atomizer pressure was 1.6 bar, molecular pump motor current was 2 A, molecular pump speed was 1 000 Hz, bake box tuning parameters were Load 59 and Tune 190; ICP-OES determination conditions: the powder was 1 300 W, plasma gas flow rate was 15 L/min, auxiliary cooling gas flow was 0.2 L/min, atomizer flow rate was 0.8 L/min, reading time (automatic) was 1-5 s, and the injection volume was 1.5 ml/min. SPSS 19.0 software was conducted for the cluster analysis of 15 batches of samples; SIMCA-P 11.0 software was combined with principal component analysis (PCA) and partial least squares discriminant analysis (PLS-DA) to analyze the main elements in 15 batches of samples. RESULTS: Cluster analysis showed specific areas (Tongling) and non-specific area may be better and divided into two types; PCA can cluster the medicines from different origins into different groups; PLS-DA shows the main elements in samples were lithium, zinc, lead, iron and potassium. CONCLUSIONS: The contents of inorganic elements in *P. saffurucosa* genuine regional drug and non-genuine regional drug one show certain differences with the types.

KEYWORDS *Paeonol saffurucosa*; ICP-MS; ICP-OES; Inorganic elements; Principal component analysis; PLS-DA

[11] 申明金,贾飞云,柴震.化学计量学在中药研究中的应用[J].山西医药杂志,2010,39(17):795.

Δ 基金项目:安徽省自然科学基金项目(No.1308085MH171)

* 副主任中药师,硕士研究生。研究方向:中药活性成分与质量控制。E-mail:9717491@qq.com

通信作者:主任药师,硕士生导师,博士。研究方向:中药活性成分与质量控制。电话:0551-63710027。E-mail:xgb119@163.com

[12] 朱晓勤,尹莲.化学模式识别在中药分类和质量评价中的应用[J].中华中医药学刊,2007,25(10):2 111.

[13] 王智民,钱忠直,张启伟.一测多评建立的技术指南[J].中华中药杂志,2011,36(6):657.

(收稿日期:2015-09-17 修回日期:2015-12-16)

(编辑:张静)