

DOI:10.13718/j.cnki.xsxb.2019.10.008

不同产地独活及其混伪品的质量差异性分析^①

韩 凤^{1,2}, 林茂祥¹, 罗 川¹,
肖 忠^{1,2}, 任星宇¹, 谭秋生¹, 章文伟¹

1. 重庆市药物种植研究所, 重庆 南川 408435; 2. 重庆市中药良种选育与评价工程技术中心, 重庆 南川 408435

摘要: 多点采样, 对不同来源的独活及其混伪品进行质量差异性分析. 测定不同产地独活及其混伪品总灰分、酸不溶性灰分、蛇床子素和二氢欧山芹醇当归酸酯质量分数, 并结合 HPLC 指纹图谱对不同产地独活及其混伪品开展质量评价. 结果表明, 不同产地独活除陕西样品的蛇床子素略低于《中华人民共和国药典》(以下简称《药典》)标准外, 其余样品均符合《药典》质量要求, 而独活混伪品的蛇床子素质量分数均远低于正品独活质量分数. 不同产地的独活 HPLC 指纹图谱有 25 个共有峰, 各独活样品的指纹图谱与对照图谱的相似度在 0.9 以上, 所建立的指纹图谱可用于独活的质量评价. 因此, 多指标的测定结果结合 HPLC 指纹图谱, 可有效对不同产地的独活质量进行差异性分析和评价; 混伪品蛇床子素的质量分数远低于正品独活, 蛇床子素的质量分数高低可作为正品独活区别于混伪品的一个重要特征指标.

关键词: 独活; 混伪品; 蛇床子素; 二氢欧山芹醇当归酸酯

中图分类号: S718.43

文献标志码: A

文章编号: 1000-5471(2019)10-0034-06

独活为重齿毛当归 *Angelica pubescens* Maxim. f. *biserrata* Shan et Yuan 的干燥根^[1]. 始载于《神农本草经》, 被列为上品, 其主要成分包括香豆素类、挥发油类、甾醇和糖类等^[2-4], 具有抗肿瘤、抗炎、镇痛镇静、降压、抗皮肤老化和增强骨折修复等作用^[5-11], 其祛风除湿、通痹止痛的效用明显, 自古被作为治疗风湿痹痛的要药. 历代本草对独活的植物来源诸说不一, 《中药大辞典》共收录了 13 种^[12], 《中药志》记载的独活种类也有 8 种^[13]; 据饶高雄等^[14]调查统计, 在我国及日、韩等地, 伞形科有 70 多种植物被作为独活、羌活使用, 这造成了市场上独活药材来源复杂、质量不一、真伪难辨. 本文测定蛇床子素和二氢欧山芹醇当归酸酯质量分数并结合 HPLC 指纹图谱, 比较独活及其混伪品之间蛇床子素和二氢欧山芹醇当归酸酯质量分数的差异性, 为独活的质量评价体系的完善以及混伪品鉴别提供依据.

1 材料与方法

1.1 材料

所用样品均经重庆市药物种植研究所刘正宇研究员鉴定, 结果详见表 1.

① 收稿日期: 2018-10-08

基金项目: 重庆市科委基本科研业务费项目(2015cstc-jbky-01319); 重庆市卫计委中医药科技项目(zy201702145).

作者简介: 韩 凤(1980-), 女, 高级农艺师, 主要从事药用植物栽培的研究.

通信作者: 章文伟, 副研究员.

1.2 方 法

1.2.1 样品加工

取不同采收期的独活样品置干燥箱中 40 °C 恒温干燥后, 除尽泥沙和杂质, 粉碎过 100 目筛备用.

表 1 独活及其混伪品的来源

	中文名	拉丁文	中药名	产地	来源
1	重齿毛当归		独活	重庆巫山	栽培
2	重齿毛当归		独活	重庆巫溪	栽培
3	重齿毛当归	<i>A. pubescens</i> Maxim. f. <i>biserrata</i> Shan et Yuan	独活	甘肃华亭	栽培
4	重齿毛当归		独活	湖北巴东	栽培
5	重齿毛当归		独活	四川彭山	栽培
6	重齿毛当归		独活	陕西陇县	栽培
7	长尾叶当归	<i>A. longicaudata</i> Yuan et Shan	尾独活	重庆南川	野生
8	大叶当归	<i>A. megaphylla</i> Diels	独活	重庆南川	野生
9	芹菜当归	<i>A. pseudoselinum</i> Boiss	独活	重庆南川	野生
10	金山当归	<i>A. valida</i> Diels	乌独活	重庆南川	野生
11	城口独活	<i>Heracleum fargesii</i> Boiss	独活	重庆城口	野生
12	牛尾独活	<i>H. hemsleyanum</i> Diels	独活	重庆南川	野生
13	短毛独活	<i>H. moellendorffii</i> Hance	独活	重庆南川	野生
14	狭翅独活	<i>H. stenopterum</i> Diels	独活	重庆南川	野生
15	羌活	<i>Notopterygium incisum</i> Ting ex H. T. Chang	羌活	四川阿坝	栽培
16	卵叶羌活	<i>N. forbesii</i> de Boiss. var. <i>oviforme</i> (Shan) H. Y. Chang	独活	重庆南川	野生

1.2.2 指标成分

取供试品粉末约 0.5 g, 精密称定, 按《药典》2015 年版一部“独活”质量分数测定方法(高效液相色谱法)测定^[1].

1.2.3 灰分测定

1) 总灰分测定

称取样品粉末 3 g, 精密称定, 置恒质量的坩埚中, 加盖后, 置箱式电阻炉中, 缓慢升温(由 120 °C → 520 °C), 待完全碳化后, 升温至 650 °C, 连续加热 7h, 取出, 放冷后, 测定质量, 计算.

2) 酸不溶灰分测定法

“总灰分测定”实验后, 在含有总灰分的坩埚中小心加入稀盐酸约 10 mL, 用表面皿覆盖坩埚, 置水浴上加热 10 min, 表面皿用热水 5 mL 冲洗, 洗液并入坩埚中, 用无灰滤纸滤过, 坩埚内的残渣用水洗于滤纸上, 并洗涤至洗液不显氯化物反应为止. 将滤渣连同滤纸移置同一坩埚中, 干燥, 炽灼至恒质量. 根据残渣质量, 计算供试品中酸不溶性灰分的质量分数(%).

2 结果与分析

2.1 独活及混伪品种质资源的指标成分质量分数比较

从表 2 可知, 重齿毛当归中蛇床子素质量分数为 0.716 4%, 二氢欧山芹醇当归酸酯质量分数为 0.118 7%, 均高于《药典》标准. 长尾叶当归、大叶当归、芹菜当归、短毛独活、牛尾独活、城口独活药材都检测出了蛇床子素、二氢欧山芹醇当归酸酯; 金山当归、狭翅独活中只检测出二氢欧山芹醇当归酸酯, 未检出蛇床子素; 中药羌活未检测出蛇床子素、二氢欧山芹醇当归酸酯两个成分, 卵叶羌活中检测出了蛇床子素, 未检测出二氢欧山芹醇当归酸酯. 金山当归中二氢欧山芹醇当归酸酯质量分数为 0.777 4%, 高于正品重齿毛

当归中二氢欧山芹醇当归酸酯的质量分数, 更高于《药典》质量标准, 但单一的某个指标成分不能作为衡量质量的标准.

表 2 独活及混伪品指标成分质量分数 ($n=3$)

文 名	灰 分		蛇床子素 / % ($\geq 0.50\%$)	二氢欧山芹醇当归酸酯 / % ($\geq 0.080\%$)
	总灰分 ($\leq 8.0\%$)	酸不溶性总灰分 ($\leq 3.0\%$)		
重齿毛当归(巫溪)	4.84±0.23	0.11±0.02	0.716 4±0.004	0.118 7±0.002
长尾叶当归	6.25±0.64	1.22±0.15	0.000 4±0.001	0.024 7±0.001
大叶当归	5.61±0.21	0.11±0.04	0.000 9±0.003	0.031 9±0.004
芹菜当归	7.10±0.33	1.31±0.12	0.090 4±0.002	0.037 4±0.012
金山当归	5.59±0.34	0.27±0.06	—	0.777 4±0.080
城口独活	7.69±0.16	0.61±0.08	0.000 5±0.001	0.001 0±0.001
牛尾独活	5.71±0.25	0.69±0.21	0.002 6±0.001	0.003 9±0.001
短毛独活	7.82±0.26	1.26±0.13	0.005 4±0.001	0.001 4±0.001
狭翅独活	5.88±0.24	1.43±0.18	—	0.008 8±0.001
羌活	5.08±0.32	1.58±0.11	—	—
卵叶羌活	5.63±0.18	0.76±0.07	0.002 9±0.001	—

注: 括号中数据为《药典》标准, “—”表示未检出.

2.2 不同产地独活指标成分质量分数比较

从表 3 中可以看出, 不同产地的正品独活样品中蛇床子素质量分数差异较大, 除了甘肃产蛇床子素质量分数 ($< 0.50\%$) 没有达到《药典》标准要求外, 其他的均达到要求, 其中巫山产地质量分数最高, 为 0.941 5%, 其次是湖北、巫溪, 分别为 0.784 6% 和 0.716 4%; 不同产地独活样品中二氢欧山芹醇当归酸酯质量分数以甘肃样品中质量分数最高, 为 0.338 1%, 其他产地的质量分数差别不大, 但均达到《药典》标准要求. 这可能与产区的生态环境(土壤、气候、海拔等)有关^[15].

表 3 不同产地正品独活指标成分质量分数 ($n=3$)

不同产地	灰 分		蛇床子素 / % ($\geq 0.50\%$)	二氢欧山芹醇当归酸酯 / % ($\geq 0.080\%$)
	总灰分 ($\leq 8.0\%$)	酸不溶性总灰分 ($\leq 3.0\%$)		
甘肃华亭	4.59±0.51	0.01±0.01	0.468 2±0.007	0.338 1±0.001
四川彭山	4.27±0.48	1.47±0.13	0.624 6±0.005	0.134 4±0.001
湖北巴东	6.73±0.43	1.23±0.22	0.784 6±0.006	0.130 6±0.004
重庆巫溪	4.84±0.37	0.11±0.06	0.716 4±0.004	0.118 7±0.002
重庆巫山	5.09±0.30	0.48±0.09	0.941 5±0.002	0.125 7±0.003
陕西陇县	7.97±0.54	2.16±0.29	0.616 0±0.003	0.130 8±0.002

注: 括号中数据为《药典》标准.

2.3 独活 HPLC 指纹图谱的比较

2.3.1 独活共有峰的确定及指纹图谱的建立

样品按《药典》2015 年版一部“独活”质量分数测定方法(高效液相色谱法)进行供试品溶液的制备. LC-20AT 色谱仪, SHIMADZU VP-ODS 色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μ m). 流速 1 mL/min, 柱温 30 $^{\circ}$ C, 进样量 10 μ L, 检测波长 254 nm, 乙腈与 0.2% 醋酸水溶液梯度洗脱. 梯度洗脱程序见表 4.

表 4 梯度洗脱程序

时间/min	乙腈/%	0.2%醋酸水溶液/%
0	15	85
20	27	73
45	27	73
56	30	70
70	50	50
95	15	85
102	15	85

记录独活样品的色谱图, 从不同产地独活样品的 HPLC 图谱中确定了 25 个共有峰(图 1), 其中 23 号峰、25 号峰保留时间及紫外光谱与蛇床子素、二氢欧山芹当归酸酯相吻合, 23 号、25 号特征峰分别为蛇床子素、二氢欧山芹当归酸酯。以峰面积较大、峰分离较好的二氢欧山芹当归酸酯为参照峰, 计算其他各峰的相对保留时间, 结果表明, 25 个共有峰的相对保留时间的 *RSD* 均在 0.8% 以下, 各样品的共有峰谱图比较一致。25 个共有指纹峰结果可靠, 可以用于建立独活 HPLC 指纹图谱, 建立的独活指纹图谱见图 2。对照图谱中各共有峰的保留时间分别为 7.461, 9.488, 11.566, 16.901, 18.628, 19.648, 21.049, 27.395, 30.193, 41.853, 48.152, 52.195, 54.872, 56.637, 60.089, 62.319, 67.445, 67.982, 69.287, 70.185, 74.216, 82.545, 84.742, 88.175, 90.537 min。

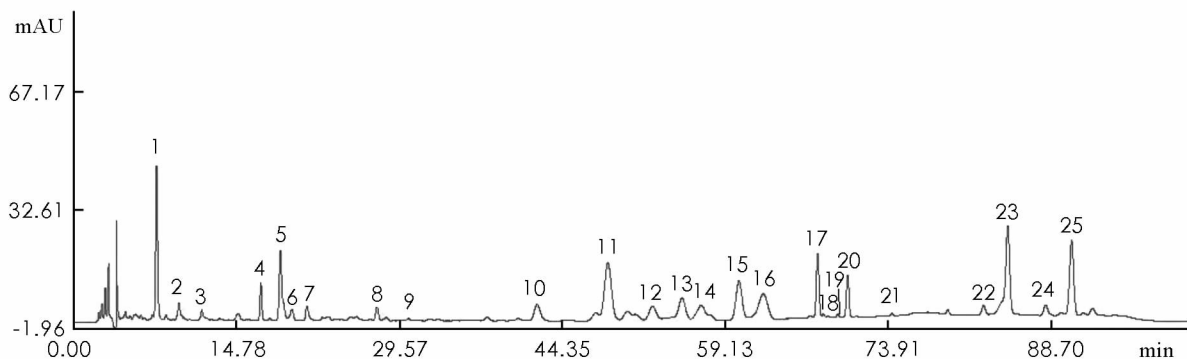
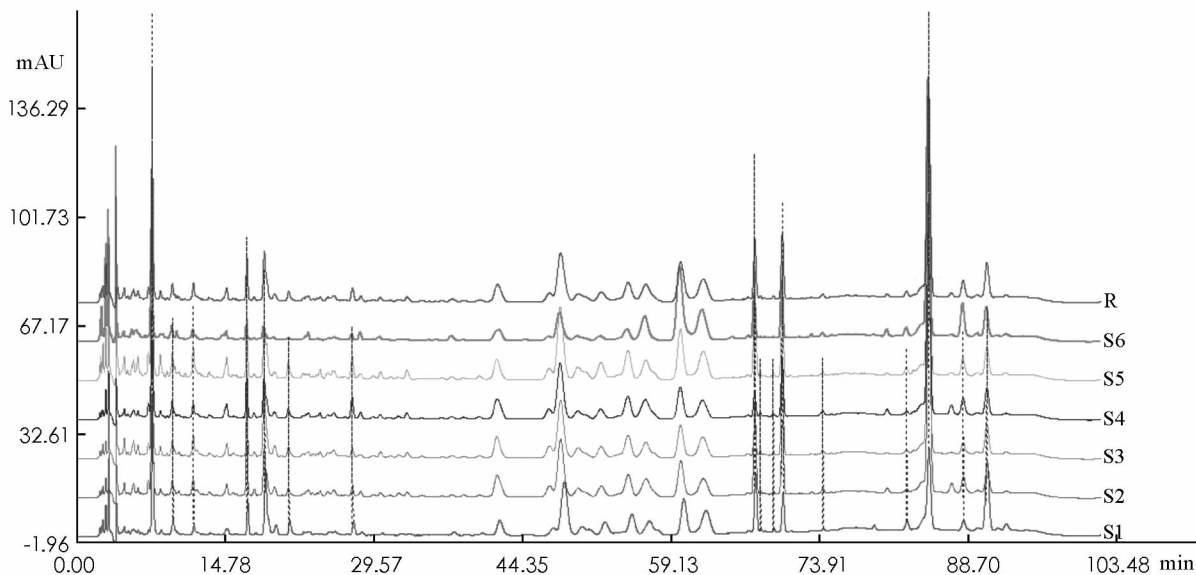


图 1 独活特征图谱(23 为蛇床子素; 25 为二氢欧山芹当归酸酯)

2.3.2 相似度评价

将独活药材样品与对照指纹图谱相比较, 利用相似度评价软件对不同产地的独活药材的 HPLC 图谱进行分析, 甘肃华亭、四川彭山、湖北巴东、重庆巫溪、重庆巫山、陕西陇县指纹图谱的相似度分别为 0.901, 0.991, 0.989, 0.998, 0.985, 0.950。结果表明不同产地独活药材图谱与对照指纹图谱间具有高度相似性, 所建立健全的指纹图谱稳定、可靠, 能够对独活药材进行评价和质量控制。



R 对照谱图, 采用中位法, 2 点校正建立。S1 为甘肃华亭, S2 为四川彭山,

S3 为湖北巴东, S4 为重庆巫溪, S5 为重庆巫山, S6 为陕西陇县。

图 2 不同产地独活 HPLC 指纹图谱

3 结论与讨论

以指标成分质量分数结合中药指纹图谱对中药材进行质量评价或控制,既有别于化学药单一成分定量的质量控制模式,又可以完善表述中药的整体特征,符合中医药整体性的思想.本实验采集不同产地独活进行系统的质量分析,建立多指标与指纹图谱相结合的质量评价体系.在独活的主产区采集样品,用 HPLC 建立指纹图谱,所建立的对照指纹图谱有 6 个共有峰,不同产地独活的指纹图谱与对照指纹图谱的相似度均在 0.9 以上,可以作为不同产地独活药材评价和质量控制的科学依据.

蛇床子素、二氢欧山芹醇当归酸酯属于香豆素类化合物,是正品独活中的主要成分,现代药理研究表明具有较强的抗炎、抗肿瘤等^[2]多种活性.本实验中正品独活除甘肃样品的蛇床子素质量分数略低于《药典》要求外,其余样品的蛇床子素质量分数、二氢欧山芹醇当归酸酯质量分数均高于《药典》标准;而混伪品中的蛇床子素质量分数远低于正品独活中的质量分数,这是独活正品区别于混伪品的一个重要特征.因此,可以根据蛇床子素、二氢欧山芹醇当归酸酯质量分数作为独活内在质量判定依据,而以蛇床子素质量分数作为独活正品和混伪品鉴别的重要化学指标.

本实验表明,产地对独活药材的质量影响较大,不同产地的独活指标成分质量分数存在较大差异,综合其中两个成分的质量分数结果可以看出重庆巫山的独活质量较优,这与石红艳等^[16]研究结果相似.由高到低依次为巫山产地,湖北产地,巫溪产地,四川产地,陕西产地,甘肃产地,从这顺序中可以看出具有地域性,故有必要建立不同地域的独活的质量标准,以确保合理、安全用药.甘肃产独活蛇床子素没有到达《药典》标准要求,这可能由于生态环境(土壤、海拔、气候等)、种植技术等因素的不同而导致该区域所产的独活在蛇床子素成分质量分数上还存在差异,从而影响到了药材质量,关于这一问题有待于进一步研究.

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.
- [2] 王志学,沈玉强,陈英杰,等. 中药独活活性成分的研究 [J]. 沈阳药学院学报, 1988, 5(3): 183-188.
- [3] 杨秀伟,郭庆梅,张才煜,等. 独活化学成分的进一步研究 [J]. 解放军药学报, 2008, 24(5): 389-392.
- [4] 丁希飞,冯煦,董云发,等. 中药独活化学成分的研究 [J]. 中药材, 2008, 31(4): 516-518.
- [5] 林黎,钱晓萍,刘宝瑞. 中药独活的化学成分及其抗肿瘤活性的研究进展 [J]. 现代肿瘤医学, 2011, 19(2): 373-376.
- [6] 朱艳,李繁,刘庆阳. 中药独活本草及药理学研究进展 [J]. 辽宁经济管理干部学院学报, 2010(1): 68-69.
- [7] 周刚,马宝花. 中药独活的研究进展 [J]. 中国当代医药, 2012, 19(16): 15-16.
- [8] YAO L, LU P, LI Y M, et al. Osthole Relaxes Pulmonary Arteries through Endothelial Phosphatidylinositol 3-kinase/Akt-eNOS-NO Signaling Pathway in Rats [J]. European Journal of Pharmacology, 2013, 699(1-3): 23-32.
- [9] YAO L, YANG Y X, HE G H, et al. Global Proteomics Deciphered Novel-Function of Osthole Against Pulmonary Arterial Hypertension [J]. Scientific Reports, 2018, 8(1): 5556.
- [10] CHEN D K, DU Z Y, LIN Z R, et al. The Chemical Compositions of Angelica Pubescens Oil and Its Prevention of UV-B Radiation-Induced Cutaneous Photoaging [J]. Chemistry & Biodiversity, 2018, 15(10): e1800235.
- [11] ZHANG Z R, LEUNG W, LI G, et al. Osthole Enhances Osteogenesis in Osteoblasts by Elevating Transcription Factor Osterix Via cAMP/CREB Signaling in Vitro and in Vivo [J]. Nutrients, 2017, 9(6): 588.
- [12] 江苏新医学院. 中药大辞典:上册 [M]. 上海:上海人民出版社, 1977: 1703.
- [13] 中国医学科学院药物研究所. 中药志 [M]. 2 版. 北京:人民卫生出版社, 1984: 453.
- [14] 饶高雄,杨祺. 中药独活,羌活的本草沿革和植物来源 [J]. 云南中医学院学报, 1994, 17(4): 11-16.
- [15] 坚玲玲,高洁,张建菲,等. 不同产地及不同部位黑龙骨中杠柳毒苷质量分数变化 [J]. 西南大学学报(自然科学

版), 2017, 39(2): 8-13.

- [16] 石燕红, 赵森森, 王 瑞, 等. RP-HPLC 同时测定独活中蛇床子素和二氢欧山芹醇当归酸酯的含量 [J]. 中国药学杂志, 2010, 45(16): 1270-1273.

On Quality Diversity Analysis of *Angelica Pubescens* f. *Biserrata* in Different Habitats and its Adulterants

HAN Feng^{1,2}, LIN Mao-xiang¹, LUO Chuan¹,
XIAO Zhong^{1,2}, REN Xing-yu¹, TAN Qiu-sheng¹, ZHANG Wen-wei¹

1. The Research Institute of Medicine Plantation of Chongqing, Nanchuan Chongqing 408435, China;

2. Chongqing Engineering Research Center for Fine Variety Breeding Techniques of Chinese Materia Medica, Nanchuan Chongqing 408435, China

Abstract: Using multi-sampling method, different analysis on sources of *Angelica* in different habitats and its adulterants was conducted. Determining the content of the totalash, acid-insoluble ash, ostholethe, columbianadin and the HPLC fingerprint in *Angelica pubeseas* from different habitats and its adulterants, a research on the quality evaluation has been made. Results show that the contents of the samples examined complies with the requirement of the pharmacopoeia, except for Shanxi samples that the content of the ostholethe was slightly lower than the Pharmacopoeia. And the contents of the ostholethe of *Angelica* adulterants were considerably lower than *Angelica*. The HPLC fingerprinting was established from the samples, the data showed 25 characteristic peaks and the similarity of the fingerprints is greater than 0.9 in *Angelica* from different habitats for use as index peaks for qualitative identification. It is concluded that, combined with the HPLC fingerprint and the determination results of several indexes, we can get the difference analysis and evaluation of *Angelica* from different habitats. Content of the osthol in adulterants were considerably lower than certified *A. pubescens* f. *biserrata*, it was able to distinguish effectively the fake and quality goods.

Key words: *Angelica pubescens* Maxim. f. *biserrata* Shan et Yuan; adulterants; Osthol; Columbianadin

责任编辑 周仁惠