

桃儿七药材的 HPLC 指纹图谱研究 及其 4 种主要成分的含量测定

刘盈盈^{1,2,3}, 许显莉^{1,2,3}, 冯海生^{1,2}, 李彩霞^{1,2*}, 马世震^{1,2*}

¹中国科学院西北高原生物研究所; ²青海省青藏高原特色生物资源研究重点实验室, 西宁 810008;

³中国科学院大学, 北京 100049

摘要:为了建立桃儿七药材的 HPLC 指纹图谱,并同时测定其中 4 种主要成分含量。采用 JADE-PAK ODS(4.6 mm × 250 mm, 5 μm) 色谱柱; 以乙腈(A)-0.04% 甲酸水(B)为流动相进行梯度洗脱, 体积流量 1.0 mL/min, 检测波长 254 nm, 柱温 30 °C, 进样量 10 μL。最终建立了 12 批桃儿七样品的 HPLC 指纹图谱, 进行了相似度比较, 确定了 11 个共有峰, 并指认了其中 4'-去甲基鬼臼毒素、槲皮素、山奈酚、鬼臼毒素 4 种成分。建立了 4'-去甲基鬼臼毒素、槲皮素、山奈酚、鬼臼毒素 4 种成分同时测定方法, 该方法在进样量范围内与峰面积线性关系良好, 精密度、稳定性、重复性、加样回收率的 RSD 均符合要求。含量测定结果表明各产地桃儿七药材中 4 种主要成分含量差异明显, 西藏地区桃儿七中 4 种主要成分含量均达到最高。本研究建立了不同产地桃儿七药材 HPLC 指纹图谱结合多成分含量测定方法, 该方法专属性强、重复性好, 为完善桃儿七药材的质量控制提供了参考。

关键词:桃儿七; HPLC; 指纹图谱; 鬼臼毒素; 4'-去甲基鬼臼毒素; 山奈酚; 槲皮素

中图分类号: R284

文献标识码: A

文章编号: 1001-6880(2021) Suppl-0052-08

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2021.S.007

Study on HPLC fingerprint of *Sinopodophyllum hexandrum* and content determination of its four main constituents

LIU Ying-ying^{1,2,3}, XU Xian-li^{1,2,3}, FENG Hai-sheng^{1,2}, LI Cai-xia^{1,2*}, MA Shi-zhen^{1,2*}

¹Northwest Institute of Plateau Biology, Chinese Academy of Sciences;

²Qinghai Key Laboratory of Qinghai-Tibet Plateau Biological Resources, Xining 810008, China

³University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

Abstract: To establish the HPLC fingerprint of *Sinopodophyllum hexandrum*, and to determine the contents of four constituents. JADE-PAK ODS(4.6 mm × 250 mm, 5 μm) column was used. Acetonitrile (A)-0.04% formic acid (B) was used as the mobile phase for gradient elution. The flow rate was 1.0 mL/min. The eluate was monitored by UV absorption at 254 nm. The column temperature was 30 °C, and the injection volume was 10 μL. Results: HPLC fingerprint of *S. hexandrum* was established, and the similarity of 12 batches of *S. hexandrum* samples were compared. And 11 common peaks were identified, among which 4'-demethylpodophyllotoxin, quercetin, kaempferol and podophyllotoxin were identified. A method for simultaneous determination of 4'-demethylpodophyllotoxin, quercetin, kaempferol and podophyllotoxin was established, and the linear relationship between the peak area and the range of the injection volume was good, respectively. The RSD of precision, stability, repeatability, and sample recovery all meet the requirements. The content determination results showed that the contents of four main constituents in *S. hexandrum* from different regions were significantly different, and the contents of four main constituents in *S. hexandrum* from Tibet reached the highest level. This study established a method for HPLC fingerprint and multi-component content determination of *S. hexandrum* from different origins. This method has strong specificity and good repeatability, providing a reference for improving the quality control of *S. hexandrum*.

收稿日期: 2020-10-21 接受日期: 2020-12-21

基金项目: 青海省应用基础研究(2019-ZJ-7061); 青海省重点实验室专项“青海省藏药药理学和安全性评价研究重点实验室”(2017-ZJ-Y08)

* 通信作者 E-mail: szma@nwipb.cas.cn, lcx@nwipb.cas.cn

Key words: *Sinopodophyllum hexandrum*; HPLC; fingerprint; podophyllotoxin; 4'-demethylpodophyllotoxin; kaempferol; quercetin

桃儿七 (*Sinopodophyllum hexandrum*) 属小檗科桃儿七属多年生草本植物,是一个分布范围较广、生态适应幅度大的物种,分布于喜马拉雅及邻近地区^[1],生于林下、林源湿地、灌丛中或草丛中,海拔 1 500 ~ 4 300 m^[2]。其味甘、性平,有小毒,具有活血化瘀和调经的功能,主要用于治疗血瘀、经闭和难产等^[3]。现代药理研究表明,桃儿七具有抗肿瘤、祛痰止咳、抗炎、抗病毒等多种作用^[4,5]。桃儿七中含有多种化学成分,主要包括木脂素类和黄酮类^[6],此外尚有皂苷、鞣质和多糖等,其中木脂素类主要为鬼臼毒素和 4'-去甲基鬼臼毒素,黄酮类主要为槲皮素和山奈酚。

近年来,有关桃儿七的研究主要集中在建立色谱方法定量分析鬼臼毒素含量及成分^[7-15]的研究,而对于桃儿七指纹图谱方面的研究文献资料报道较少。Zhang 等^[16]虽建立了桃儿七 HPLC 指纹图谱,但缺少青海道地产区样品。为了进一步客观、全面、高效的评价桃儿七药材质量,本研究采用 HPLC 方法建立不同产地的桃儿七指纹图谱,同时测定不同

产地桃儿七药材中 4 种主要成分进行对比研究,为完善桃儿七药材质量标准提供科学依据,对其进一步研究、开发和利用具有重要意义。

1 仪器与材料

ML2047 型电子天平(梅特勒-托利多仪器上海有限公司);SK3310LHC 型超声波清洗器(上海科导超声仪器有限公司);Agilent Infinity 1260 型高效液相色谱仪;JADE-PAK ODS (4.6 mm × 250 mm, 5 μm)。

不同产地的桃儿七药材(见表 1);鬼臼毒素标准品(纯度 ≥ 98%,批号:17112303)(成都普菲德生物技术有限公司);4'-去甲基鬼臼毒素(纯度 ≥ 99.2%)(中国药品生物制品检定所);山奈酚标准品(纯度 ≥ 98%,批号:18042303)(成都普菲德生物技术有限公司);槲皮素标准品(纯度 ≥ 98%)(北京中科质检生物有限公司);乙腈(色谱纯;德国默克股份两合公司);甲酸(色谱纯;天津市凯信化学工业有限公司);甲醇(色谱纯;山东禹王实业有限公司)。

表 1 桃儿七样品来源

Table 1 Source of *S. hexandrum* samples

样品编号 Sample No.	产地 Place of origin	样品来源 Sample source	采购时间 Purchasing time
S1	四川	购买	2019-09
S2	西藏	购买	2019-09
S3	四川汶川	购买	2019-10
S4	四川阿坝	购买	2019-09
S5	陕西	购买	2019-09
S6	青海湟中	采集	2019-09
S7	湖北	购买	2019-10
S8	甘肃	购买	2019-10
S9	青海玉树	采集	2018-08
S10	青海玉树	采集	2019-06
S11	青海玉树	采集	2019-07
S12	青海玉树	采集	2019-08

2 试验方法

2.1 色谱条件

采用 JADE-PAK ODS (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) 色谱柱;流动相:乙腈(A)-0.04% 甲酸水(B),梯度洗脱:0 ~ 5 min, 5% → 25% A; 5 ~ 15 min, 25% → 28% A; 15 ~ 30 min, 28% A; 30 ~ 40 min, 28% → 45% A; 40 ~ 60 min, 45% → 70% A。体积流量 1.0 mL/

min;检测波长 254 nm;柱温 30 °C;进样量 10 μL。

2.2 溶液的制备

2.2.1 混合对照品溶液的制备

分别精密称取鬼臼毒素、4'-去甲基鬼臼毒素、山奈酚、槲皮素的对照品适量,加甲醇制成各标准品浓度分别为 1、0.5、0.1、0.1 mg/mL 的混合对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液的制备

精确称取桃儿七根的干燥粉末 0.1 g, 粉末过 40 目筛, 置于具塞试管中, 根据实验室之前研究并已发表文章中的提取条件进行提取, 料液比为 1:40 (g/mL)、超声时间 21 min、超声温度 56 °C、以及甲醇体积分数为 82% 下提取, 共三次, 抽滤得提取液并定容至 25 mL 的容量瓶中, 过 0.22 μm 微孔滤膜, 得供试品溶液。

2.3 方法学考察

2.3.1 精密度试验

称取桃儿七样品 (S1), 按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液, 按“2.1”项下色谱条件连续进样 6 次, 测定 HPLC 色谱图, 以 7 号峰 (鬼臼毒素) 为对照, 计算所有共有峰的相对保留时间和相对峰面积。

2.3.2 稳定性试验

称取桃儿七样品 (S1) 桃儿七根样品, 按“2.2.2”项下制备供试液, 按“2.1”项下色谱条件分别于 0、2、4、8、12、24 h 进样测定, 测定 HPLC 色谱图, 以 7 号峰 (鬼臼毒素) 的相对保留时间和相对峰面积为参照, 计算出各共有峰的相对保留时间和相对峰面积。

2.3.3 重复性试验

称取 S1 号桃儿七粉末 6 份, 按“2.2.2”项下方法制备供试液, 按“2.1”项下色谱条件一次进样分

析, 测定 HPLC 色谱图, 以 7 号峰 (鬼臼毒素) 的保留时间和色谱峰面积为参照, 计算出各共有峰的相对保留时间和相对峰面积。

2.4 桃儿七指纹图谱的建立

取 12 批不同产地的桃儿七药材样品, 每份约 0.1 g, 精密称定, 按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液, 按“2.1”项下色谱条件进样测定, 记录 12 批桃儿七根药材的 HPLC 指纹图谱。将其导入国家药典委员会开发的《中药色谱指纹图谱相似度评价体系 2012A 版》软件进行分析, 以 S1 桃儿七样品的指纹图谱为参照图谱, 以平均数法生成对照图谱, 时间窗宽度为 0.1 s, 经多点校正、自动匹配后生成桃儿七根药材指纹图谱的共有模式, 并建立 12 批桃儿七药材的指纹图谱。

2.5 含量测定

2.5.1 色谱条件

采用 JADE-PAK ODS (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) 色谱柱; 流动相: 乙腈 (A)-0.04% 甲酸水 (B), 梯度洗脱: 0 ~ 5 min, 5% → 25% A; 5 ~ 15 min, 25% → 28% A; 15 ~ 30 min, 28% A; 30 ~ 40 min, 28% → 45% A; 40 ~ 60 min, 45% → 70% A。体积流量 1.0 mL/min; 检测波长 254 nm; 柱温 30 °C; 进样量 10 μL。在该条件下各色谱峰分离情况良好, 见图 1。

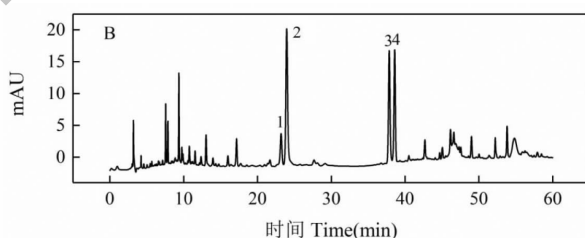
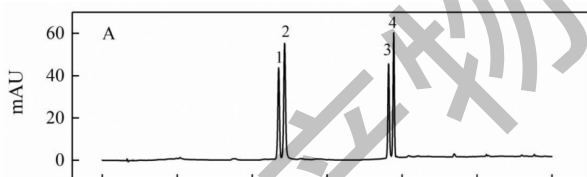


图 1 混合对照品溶液 (A) 和桃儿七样品 (S1) 溶液 (B) 的 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC analysis of mixed control solution (A) and *S. hexandrum* sample (S1) solution (B)

注: 1. 4'-去甲基鬼臼毒素; 2. 槲皮素; 3. 山奈酚; 4. 鬼臼毒素。Note: 1. 4'-Demethylpodophyllotoxin; 2. Quercetin; 3. Kaempferol; 4. Podophyllotoxin.

2.5.2 对照品溶液的制备

同“2.2.1”项。

2.5.3 供试品溶液的制备

同“2.2.2”项。

2.5.4 线性关系的考察

吸取“2.2.1”项下配置的标准品溶液, 过 0.22 μm 微孔滤膜滤过, 依次设定进样量为 2、4、6、8、10、12、14 和 16 μL, 按 2.5.1 项下的色谱条件进行测定分析。以峰面积 (Y) 为纵坐标, 对照品质量 (X) 为横坐标, 进行线性回归。

2.5.5 精密度试验

精密吸取对照品溶液 10 μL, 重复进样 5 次, 记录色谱图。

2.5.6 重复性试验

取同一批桃儿七样品 (S1) 6 份, 每份约 0.1 g, 精密称定, 按“2.5.3”项下方法制备供试品溶液, 按“2.5.1”项下色谱条件进样测定, 记录色谱图。

2.5.7 稳定性试验

取同一批桃儿七样品 (S1) 约 0.1 g, 精密称定, 按“2.5.3”项下方法制备供试品溶液, 按“2.5.1”项

下色谱条件分别于 0、2、4、6、8、12、24 h 进样测定,记录色谱图。

2.5.8 加样回收率试验

取已知成分含量的桃儿七样品(S1)9份,每份约 0.1 g,精密称定,按样品中含量-对照品量 = 1:0.5、1:1、1:1.5,分别加入各对照品溶液,按“2.5.3”项下方法制备供试品溶液,按“2.5.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积,计算回收率。

2.5.9 样品含量的测定

取 12 批桃儿七样品提取物,平行三组,按“2.5.3”项下方法制备供试品溶液,按“2.5.1”项下色谱条件进样测定,计算样品中 4 种成分的含量。

3 结果与分析

3.1 指纹图谱方法学考察结果

3.1.1 精密度试验结果

由“2.3.1”项下计算其 RSD 均小于 2.7%,表明仪器精密度良好。

3.1.2 稳定性试验结果

由“2.3.2”项下计算其 RSD 均小于 3.0%,表明该方法重复性良好。

3.1.3 重复性试验结果

由“2.3.3”项下计算其 RSD 均小于 3.0%,表明该方法的重复性良好。

3.2 桃儿七根指纹图谱的建立与分析

3.2.1 指纹图谱的建立

由“2.4”项下得不同产地桃儿七色谱图,建立 12 批桃儿七药材的指纹图谱(见图 2)。根据 12 批桃儿七根药材指纹图谱的检测结果,利用《中药色谱指纹图谱相似度评价体系 2012A 版》的数据匹配

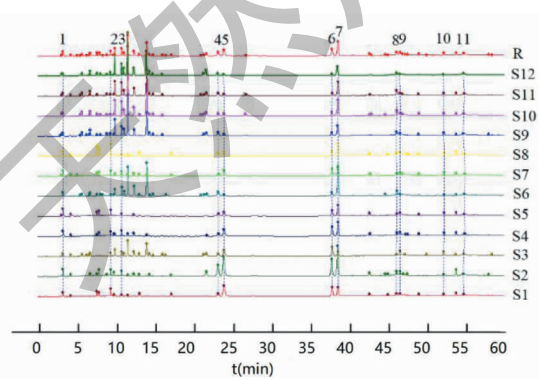


图 2 12 批桃儿七 HPLC 叠加图谱 (S1 ~ S12) 及对照图谱 (R)

Fig. 2 HPLC overlay diagram (S1-S12) and control diagram (R) of 12 batches of *S. hexandrum*

功能,在对照指纹图谱上共标定出 11 个共有色谱峰,并指认了其中的 4 个共有峰,分别为 4'-去甲基鬼臼毒素、槲皮素、山奈酚和鬼臼毒素。在样品图谱中选择峰面积较大的 7 号鬼臼毒素色谱峰作为参照峰,以参照峰的保留时间和峰面积作为 1,计算得到 12 批样品中各共有峰的相对保留时间差异较小,但相对峰面积差异较大,说明样品中成分含量具有一定差异。

3.2.2 相似度结果

相似度结果见表 2。

表 2 相似度结果

Table 2 Results of similarity

批次 Batch	相似度 Similarity
S1	0.737
S2	0.795
S3	0.887
S4	0.844
S5	0.797
S6	0.901
S7	0.834
S8	0.786
S9	0.879
S10	0.864
S11	0.87
S12	0.823

3.2.3 系统聚类分析

将 12 批桃儿七样品的 HPLC 指纹图谱中 11 个共有峰的峰面积导入 SPSS19.0 统计分析软件,采用组间联接法,以欧式平方距离对样品进行聚类分析,结果见图 3,第 1 类为 S6、S9、S10、S11、S12,各个批

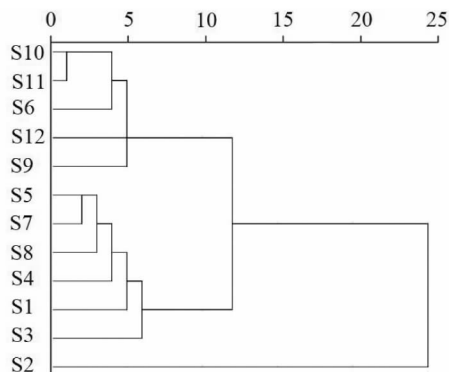


图 3 系统聚类分析结果

Fig. 3 Results of systematic cluster analysis

次的样品相似度较高(0.823 ~ 0.901),第2类为S1、S3、S4、S5、S7、S8,各个批次的样品相似度较低(0.737 ~ 0.887),第3类为S2,相似度中等(0.795)。通过与指纹图谱的相似度分析结果比较,系统聚类分析结果与其基本一致。系统聚类分析结果显示第1类为S6、S9、S10、S11、S12,分别是青海湟中县和玉树地区的桃儿七,第2类为S1、S3、S4、S5、S7、S8,分别是四川、陕西、湖北、甘肃地区的

桃儿七,第3类为S2,是西藏地区,所以不同地区的桃儿七质量品质是不同的。

3.3 含量测定结果

3.3.1 线性关系考察结果

由“2.4”项下得回归方程和线性范围,4种成分在相应的进样量范围内与峰面积的线性关系良好,见表3。

表3 线性关系

Table 3 Linear relationship

序号 No.	成分 Component	回归方程 The regression equation	<i>r</i>	线性范围 Linear range(μg)
1	4'-去甲基鬼臼毒素	$Y = 638.31X + 66.732$	0.999 9	1 ~ 8
2	槲皮素	$Y = 4975.2X - 0.1536$	0.999 9	0.2 ~ 1.6
3	山奈酚	$Y = 3113.8X + 4.4679$	0.999 8	0.2 ~ 1.6
4	鬼臼毒素	$Y = 337.91X + 108.67$	0.999 9	2 ~ 16

3.3.2 精密度试验结果

由“2.5.5”项下计算得到上述4种成分峰面积RSD分别为0.20%、0.39%、0.26%、0.21%,表明仪器精密度良好。

3.3.3 重复性试验结果

由“2.5.6”项下计算得到上述4种成分含量的RSD分别为1.07%、2%、1.86%、3%,表明该方法重复性良好。

3.3.4 稳定性试验结果

由“2.5.7”项下计算得到上述4种成分峰面积的RSD分别为0.52%、0.96%、0.86%、0.42%,表明供试品溶液在24 h内稳定性良好。

3.3.5 加样回收率试验结果

由“2.5.8”项下计算得到上述4种成分的平均加样回收率分别为97.95%、101.3%、102.3%、97.34%,RSD分别为2.9%、3.2%、2.3%、3.0%,表明该方法准确度良好。结果见表4。

表4 加样回收率试验($n=9$)

Table 4 Sample recovery test ($n=9$)

化合物 Compound	称样量 The sample quantity(g)	样品中的量 Quantity in sample(mg)	加入量 Add the amount(mg)	测得量 Measured the amount(mg)	回收率 The rate of recovery(%)	平均回收率 Average recovery(%)	RSD(%)
4'-去甲基鬼臼毒素 4'-Demethylpodophyllotoxin	0.1003	0.086	0.046	0.130	96.49	97.95	2.9
	0.1004	0.087	0.046	0.130	94.30		
	0.1008	0.086	0.046	0.130	96.49		
	0.1003	0.087	0.080	0.170	104.0		
	0.1007	0.090	0.080	0.170	100.3		
	0.1004	0.091	0.080	0.170	99.00		
	0.1005	0.090	0.134	0.220	97.02		
	0.1007	0.090	0.134	0.220	97.02		
	0.1007	0.090	0.134	0.220	97.02		
槲皮素 Quercetin	0.1003	0.200	0.104	0.300	96.15	101.3	3.2
	0.1004	0.200	0.104	0.300	96.15		
	0.1008	0.212	0.104	0.320	103.9		

续表 4 (Continued Tab. 4)

化合物 Compound	称样量 The sample quantity (g)	样品中的量 Quantity in sample (mg)	加入量 Add the amount (mg)	测得量 Measured the amount (mg)	回收率 The rate of recovery (%)	平均回收率 Average recovery (%)	RSD (%)
山奈酚 Kaempferol	0.1003	0.200	0.208	0.410	101.0	102.3	2.3
	0.1007	0.212	0.208	0.430	104.8		
	0.1004	0.213	0.208	0.430	104.3		
	0.1005	0.212	0.312	0.530	101.9		
	0.1007	0.213	0.312	0.530	101.6		
	0.1007	0.212	0.312	0.530	101.9		
	0.1003	0.204	0.115	0.320	100.9		
	0.1004	0.204	0.115	0.320	100.9		
	0.1008	0.214	0.115	0.330	100.9		
	0.1003	0.212	0.230	0.450	103.5		
	0.1007	0.213	0.230	0.450	103.0		
	0.1004	0.214	0.230	0.440	98.26		
	0.1005	0.213	0.345	0.570	103.5		
	0.1007	0.212	0.345	0.570	103.8		
0.1007	0.214	0.345	0.580	106.1			
鬼臼毒素 Podophyllotoxin	0.1003	0.839	0.528	1.390	104.4	97.34	3.0
	0.1004	0.894	0.528	1.410	97.73		
	0.1008	0.898	0.528	1.410	96.97		
	0.1003	0.894	1.056	1.900	95.27		
	0.1007	0.898	1.056	1.910	95.83		
	0.1004	0.899	1.056	1.940	98.58		
	0.1005	0.839	1.590	2.350	95.03		
	0.1007	0.894	1.590	2.400	94.72		
	0.1007	0.899	1.590	2.450	97.55		

3.3.6 样品含量测定结果

由“2.5.9”项下计算样品中 4 种成分的含量, 结果见表 5。

表 5 12 批桃儿七提取物中 4 种成分的含量测定结果

Table 5 Determination results of 4 components in extracts of 12 batches of *S. hexandrum* (mg/g)

编号 No.	4'-去甲基鬼臼毒素 4'-Demethylpodophyllotoxin	槲皮素 Quercetin	山奈酚 Kaempferol	鬼臼毒素 Podophyllotoxin
S1	1.421	2.012	2.023	13.586
S2	13.844	3.493	3.868	62.548
S3	1.031	1.142	2.013	2.881
S4	1.178	1.343	2.075	24.069
S5	1.303	0.793	1.217	17.315
S6	4.188	0.296	0.871	59.722
S7	0.336	1.065	1.561	15.642
S8	2.124	0.814	1.183	20.256

续表 5 (Continued Tab. 5)

编号 No.	4'-去甲基鬼臼毒素 4'-demethylpodophyllotoxin	槲皮素 Quercetin	山奈酚 Kaempferol	鬼臼毒素 Podophyllotoxin
S9	3.081	0.310	0.565	15.125
S10	1.176	0.426	0.700	26.540
S11	2.38	0.371	0.614	24.284
S12	1.182	0.267	0.375	12.720

4 讨论

4.1 色谱条件的选择

试验前期发现波长在 210 nm 时,4'-去甲基鬼臼毒素、槲皮素达到最大吸收值,吸收波长在 290 nm 时只有鬼臼毒素的吸收值最大,而波长在 254 nm 时,槲皮素、山奈酚和鬼臼毒素有最大吸收。经过比较不同波长下的色谱图,为最大可能的兼顾 4 个成分的峰形及灵敏度,试验最终选择 254 nm 为检测波长^[17]。选择了不同比例的甲醇-水、乙腈-水、甲醇-甲酸水、乙腈-甲酸水、乙腈-磷酸水、甲醇-磷酸水等流动相,通过比较色谱图中各成分峰形情况,最终确定乙腈-0.04% 甲酸水为流动相,进行梯度洗脱,这一研究结果与 Ye 等^[18]的研究结果相一致。比较使用 Agilent ZORBAX Eclipse Plus C₁₈ 和 JADE-PAK ODS 柱的色谱图,在相同色谱条件下,前者色谱图的峰少且 4'-去甲基鬼臼毒素和槲皮素分离度较差,故最终选择 JADE-PAK ODS 色谱柱。

4.2 不同地区样品对指纹图谱的影响

由图 2 可知,12 批桃儿七的化学成分组成基本一致,指纹图谱中的共有峰相对保留时间基本一致,但相对峰面积有一定差异,表明各化合物含量之间的差异较大,说明不同地区对桃儿七中化学成分含量影响较大,不同生长环境也能对桃儿七的质量品质产生一定影响。Zou 等^[19]和 Xiong 等^[20]研究发现不同批次桃儿七的化学成分组成一致,指纹图谱中的共有峰保留时间基本一致,但相对峰面积略有差异,表明批次间含量有一定差异,推测与生长年限及生长环境有关。Chen 等^[21]和 Ye 等^[22]发现化学成分含量的高低主要取决于药材本身,而环境因素对药材各组分含量影响较大,说明桃儿七药材化学成分及含量受海拔高度以及气候条件的影响较大。因此,不同的生长环境包括海拔、气温、降水量等因素与桃儿七的质量之间的关系是仍需进一步研究的科学问题。

4.3 不同地区桃儿七含量对比分析

通过含量测定结果分析,不同地区桃儿七中 4

种化学成分均在一定范围内波动,其中 4'-去甲基鬼臼毒素含量在 0.336 ~ 13.844 mg/g 之间,槲皮素含量在 0.310 ~ 3.493 mg/g 之间,山奈酚含量 0.375 ~ 3.868 mg/g 之间,鬼臼毒素含量在 2.881 ~ 62.548 mg/g 之间。同时,由表 5 可知,4 种主要成分中,鬼臼毒素含量最高。对比不同产地 4 种主要成分含量,西藏地区 4 种主要成分含量均最高,湖北地区 4'-去甲基鬼臼毒素含量最低,青海玉树地区槲皮素和山奈酚含量最低,四川汶川地区鬼臼毒素含量最低。Ye 等^[22]通过对指纹图谱共有峰峰面积进行主成分综合分析,对药材各成分进行综合评分,产自西藏的药材得分最高,质量最好,这一结论与本文研究得到西藏地区主要成分含量最高相一致,说明产自西藏的桃儿七质量较好。

5 结论

本研究采用 HPLC 法建立了不同产地桃儿七药材 HPLC 指纹图谱结合多成分含量测定方法,其精密度、稳定性、重复性、加样回收率的 RSD 均符合要求。不同产地桃儿七的 HPLC 指纹图谱中,标定了 11 个共有峰,指定了 4'-去甲基鬼臼毒素、槲皮素、山奈酚、鬼臼毒素 4 个共有峰。聚类结果分析显示第 1 类为青海湟中县和玉树地区的桃儿七,第 2 类是四川、陕西、湖北、甘肃地区的桃儿七,第 3 类是西藏地区,而相似度显示结果与其相同。12 批桃儿七的化学成分组成基本一致,指纹图谱中的共有峰相对保留时间基本一致,但相对峰面积有一定差异,表明各化合物含量之间的差异较大。同时各产地桃儿七中 4 种主要成分含量差异明显,不同产区中,西藏地区所产桃儿七中 4 种主要成分含量为最高。本研究对桃儿七药材的真伪性、质量均一性和稳定性具有重要的指导意义。

参考文献

- Li YL, Xu WH, Zhou GY, et al. Determination of two lignans in Qinghai cultivated and wild *Sinopodophyllum hexandrum*

- (Royle) Ying by HPLC[J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发),2015,27:94-98.
- 2 Qu Z, Qu Y. Research progress of *Sinopodophyllum hexandrum* at home and abroad[J]. North Hortic(北方园艺), 2013(18):183-185.
 - 3 Liu SW, Huang SZ. Analysis on volatile oil from *Sinopodophyllum emodi* by GC-MS[J]. J Anhui Agr Sci(安徽农业科学), 2012,40:17075-17076.
 - 4 Qin Y. Studies on chemical constituents of *Sinopodophyllum emodi* Wall[D]. Changchun: Jilin University(吉林大学), 2009.
 - 5 Liu YY, Li CX, Feng HS, et al. Optimization of ultrasonic extraction of podophyllotoxin from *Sinopodophyllum hexandrum* by response surface methodology[J]. Chin Wild Plant Res(中国野生植物资源), 2020,39(4):11-16.
 - 6 Shang MY, Li J, Cai SQ, et al. Studies on the chemical constituents of the fruit of *Sinopodophyllum emodi*[J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2000,31:569-571.
 - 7 Zhang L, Wang W, Li YZ, et al. Simultaneous determination of eight compounds in *Sinopodophylli Radix et Rhizoma* by HPLC[J]. J Pharm Anal(药物分析杂志), 2017,37:1461-1468.
 - 8 Li YL, Ning Y, Xu WH, et al. Dynamic study on two lignans contents in different parts of *Sinopodophyllum hexandrum*[J]. Chin J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2015,40:1837-1841.
 - 9 Li M, Zhong GY, Wu AL, et al. Correlation research on contents of podophyllotoxin and total lignans in *Sinopodophyllum hexandrum* and ecological factors[J]. Chin J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2015,40:1831-1836.
 - 10 Liu SW, Ding JH. The content of podophyllotoxin in *Sinopodophyllum hexandrum* was determined by HPLC[J]. J Ningxia Teach Univ(宁夏师范学院学报), 2012,33(6):48-49.
 - 11 Huang K, Jiang W, Zhao JW, et al. Determination of podophyllotoxin and total lignin in endangered medicinal plant *Sinopodophyllum hexandrum*[J]. Chin J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2012,37:1360-1365.
 - 12 Xiong WY, Wei SN, Yue M. The content of podophyllotoxin in *Sinopodophyllum hexandrum* was analyzed by HPLC[J]. Chin Tradit Pat Med(中成药), 2010,32:875-878.
 - 13 Qin Y, Gui MY, Yu LN, et al. RP-HPLC determination of lignans in *Sinopodophyllum emodi* Wall[J]. J Pharm Anal(药物分析杂志), 2009,29:1490-1492.
 - 14 Zhang LF, Chen YG, Han LY, et al. Simultaneous determination of five ligans in *Podophyllum hexandrum* and *Dysosma versipellis* by HPLC[C]. 2009 National Forum on Innovation and Research in Chinese Medicine Academic Papers(2009 全国中药创新与研究论坛学术论文集), 2009:395-399.
 - 15 Chen Y, De J, Liu QL, et al. Identification and determination of podophyllotoxin in *Sinopodophyllum* fruit[J]. West China J Pharm Sci(华西药理学杂志), 2009,24(1):93-94.
 - 16 Zhang L, Wang W, Wang F, et al. HPLC fingerprint of *Sinopodophylli Radix et Rhizoma*[J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2017,48:2752-2756.
 - 17 Jiang XM. Studies of chemical fingerprints of Guijiu plants from Shennongjia[D]. 中国科学院研究生院(武汉植物园)(University of Chinese Academy of Sciences(Wuhan Botanical Garden)), 2015.
 - 18 Ye YH, Ma YX, Zhang EH, et al. Study on toxic medicine *Radix Podophylli* and *Fructus Podophylli* by HPLC fingerprint, compare their toxicity[J]. Chin J Exp Tradit Med Form(中国实验方剂学杂志), 2014,20(18):80-84.
 - 19 Zou YL, Wang PL, Liu S, et al. Study on HPLC fingerprint of the rhizome of *Sinopodophyllum hexandrum* (Royle) Ying[J]. J Pharm Anal(药物分析杂志), 2014,34:912-917.
 - 20 Xiong WY, Wei SN, Yue M. HPLC fingerprint of *Sinopodophyllum hexandrum* (Royle) Ying[J]. Chin Tradit Pat Med(中成药), 2010,32:1850-1854.
 - 21 Chen Y, De J, Liu YH, et al. Study on HPLC fingerprint of *Sinopodophyllum hexandrum* fruit of Tibetan medicine[J]. Chin Tradit Pat Med(中成药), 2010,32:708-711.
 - 22 Ye YH, Ma YX, Ying YB, et al. Study on Tibetan medicine of *Sinopodophyllum hexandrum* fingerprint by HPLC for chemical region identification and quality evaluation[J]. Chin J Exp Tradit Med Form(中国实验方剂学杂志), 2013,19(24):97-101.
- (上接第 51 页)
- 35 Millar JG. Rapid and simple isolation of zingiberene from ginger essential oil[J]. J Nat Prod, 1998,61:1025-1026.
 - 36 Meng LL, Liu HX, Wu HE. Study on the chemical constituent of volatile oil from the leaves of *Mangifera persiciformis*[J]. Guihaia(广西植物), 2011,31:278-280.
 - 37 Guo YH, Ye HJ, Fang W, et al. Study on volatile constituents of 4 cultivars of litchi with different resistant ability to *Conopomorpha sinensis* Bradley[J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发), 2013,25:1218-1221.
 - 38 Denyer CV, Jackson P, Loakes DM, et al. Isolation of antirrhinovoral sesquiterpenes from ginger (*Zingiber officinale*)[J]. J Nat Prod, 1994,57:658-662.