

不同主产地栽培茯苓质量评价

谢元彪， 李淞明， 詹常森*
(上海和黄药业有限公司，上海中药固体制剂创新工程技术研究中心，上海 201401)

摘要：目的 评价不同主产地栽培茯苓质量，为其产地确定提供依据。**方法** 采用 HPLC 法同时测定三萜类成分（茯苓酸、去氢茯苓酸、3-*O*-乙酰基-16 α -羟基-氢化松苓酸）含量，再以总灰分、浸出物、三萜类成分含量为变量，对 23 批样品进行主成分分析、聚类分析。**结果** 综合得分排名前 7 批样品的主产地为湖北省罗田县（3 批）、安徽省岳西县（2 批）及云南省景谷县（1 批）、剑川县（1 批），有 21 批样品归为 I 类，主产地为安徽省岳西县的 S14、S16 归为第 II 类。**结论** 湖北省罗田县、安徽省岳西县和金寨县、云南省景谷县和剑川县等主产地的茯苓质量稳定，无明显地域性差异。

关键词：栽培茯苓；主产地；质量；主成分分析；聚类分析

中图分类号：R282 **文献标志码：**B **文章编号：**1001-1528(2023)01-0328-06

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2023.01.061

茯苓为多孔菌科真菌茯苓 *Poria cocos* (Schw.) Wolf 的干燥菌核，具有利水渗湿、健脾、宁心的功效，用于水肿尿少、痰饮眩悸、脾虚食少等证^[1]。目前因野生茯苓资源的短缺及人工栽培规模的扩大，市场上流通的茯苓主要为栽培品种，其主产区主要在湖北、安徽和云南等省区，3 个主产省区的主产地集中于湖北省罗田县、安徽省岳西县和金寨县及云南省丽江市、大理州和普洱市等地^[2-4]。由于不同产地存在气候、生态环境等差异，会影响植物次生代谢产物的生物合成和积累，故产地来源是影响药材质量的关键因素之一^[5]。因此，如何对不同产地来源的茯苓质量进行评价并确定产地信息，是目前进行含茯苓的中药新药开发亟需解决的问题。

然而，2020 年版《中国药典》茯苓质量标准中，尚缺乏指标成分的含量测定项。茯苓三萜类化合物是茯苓的主要活性成分，具有抗肿瘤、抗菌、抗炎等作用^[6-8]。目前文献报道的茯苓含测指标成分主要为茯苓酸、去氢茯苓酸、去氢土莫酸等，因其对照品缺乏等原因，主要测定少数几种含量较高的三萜类成分进行茯苓的质量评价研究^[9-15]。

因此，本研究选择在湖北省罗田县、安徽省岳西县和金寨县、云南省景谷县和剑川县等主产地的 23 批栽培茯苓为样品，采用 HPLC 法同时测定茯苓中 3 种三萜类成分（茯苓酸、去氢茯苓酸、3-*O*-乙酰基-16 α -羟基-氢化松苓酸）的含量，并以总灰分、浸出物、三萜类成分含量作为变量，通过主成分分析和聚类分析比较不同主产地栽培茯苓的整体质量差异性，以期对中药 3.1 类中含茯苓产地的

确定提供参考依据。

1 材料

SK7200H 型超声波清洗器（上海科导超声仪器有限公司）；AL204 型分析天平 [万分之一，梅特勒-托利多仪器（上海）有限公司]；BT25S 型分析天平 [十万分之一，赛多利斯科学仪器（北京）有限公司]；HH-4 型数显恒温水浴锅（常州国华电器有限公司）；Agilent 1260 高效液相色谱仪（美国安捷伦公司）。

栽培茯苓共 23 批，经上海中药标准化研究中心吴立宏研究员鉴定为多孔菌科真菌茯苓 *Poria cocos* (Schw.) Wolf 的干燥菌核，具体见表 1。茯苓酸、去氢茯苓酸对照品（江苏永健医药科技有限公司，纯度 $\geq 98.5\%$ ，批号 CX0034、CX0032）；3-*O*-乙酰基-16 α -羟基-氢化松苓酸对照品（上海诗丹德标准技术服务有限公司，纯度 $\geq 98\%$ ，批号 6933）。乙腈、甲醇、磷酸均为色谱纯。

2 方法与结果

2.1 各成分含量测定

2.1.1 水分 取药材粉末（过 4 号筛）约 2 g，按 2020 年版《中国药典》四部通则 0832 水分测定法（烘干法）进行测定，结果见表 2。由此可知，23 批样品含水量均符合药典要求。

2.1.2 总灰分 取药材粉末（过 2 号筛）约 3 g，按 2020 年版《中国药典》四部通则 2302 灰分测定法进行测定，结果见表 2。由此可知，23 批样品总灰分含量均符合药典要求。

收稿日期：2022-03-24

基金项目：上海市科学技术委员会科研计划项目（19401902000）

作者简介：谢元彪（1991—），男，硕士，工程师，从事中药制药技术与新产品研发工作。Tel：（021）62506452，E-mail：xieyuanbiao@shpl.com.cn

* 通信作者：詹常森（1968—），男，博士，教授级高级工程师，从事中药现代研究和成果转化工作。Tel：（021）62509065，E-mail：zhanchangsen@shpl.com.cn

表 1 样品信息

| 编号 | 产地 | 生长年限/月 | 采收期 | 产地加工 |
|-----|--------------|--------|-------|-----------------|
| S1 | 湖北省罗田县 | 9 | 7~9 月 | 鲜茯苓-发汗-去皮-切丁-阴干 |
| S2 | 湖北省罗田县 | 9 | 7~9 月 | 鲜茯苓-发汗-去皮-切丁-阴干 |
| S3 | 湖北省罗田县 | 9 | 7~9 月 | 鲜茯苓-发汗-去皮-切丁-阴干 |
| S4 | 湖北省罗田县 | 9 | 7~9 月 | 鲜茯苓-发汗-去皮-切丁-阴干 |
| S5 | 湖北省罗田县 | 9 | 7~9 月 | 鲜茯苓-发汗-去皮-切丁-阴干 |
| S6 | 湖北省罗田县 | 9 | 7~9 月 | 鲜茯苓-发汗-去皮-切丁-阴干 |
| S7 | 湖北省罗田县 | 9 | 7~9 月 | 鲜茯苓-发汗-去皮-切丁-阴干 |
| S8 | 湖北省罗田县 | 9 | 7~9 月 | 鲜茯苓-发汗-去皮-切丁-阴干 |
| S9 | 湖北省罗田县 | 9 | 7~9 月 | 鲜茯苓-发汗-去皮-切丁-阴干 |
| S10 | 湖北省罗田县 | 9 | 7~9 月 | 鲜茯苓-发汗-去皮-切丁-阴干 |
| S11 | 湖北省罗田县 | 9 | 7~9 月 | 鲜茯苓-发汗-去皮-切丁-阴干 |
| S12 | 安徽省岳西县 | 9 | 7~9 月 | 鲜茯苓-发汗-去皮-切丁-阴干 |
| S13 | 安徽省岳西县 | 9 | 7~9 月 | 鲜茯苓-发汗-去皮-切丁-阴干 |
| S14 | 安徽省岳西县 | 9 | 7~9 月 | 鲜茯苓-发汗-去皮-切丁-阴干 |
| S15 | 安徽省岳西县 | 9 | 7~9 月 | 鲜茯苓-发汗-去皮-切丁-阴干 |
| S16 | 安徽省岳西县 | 9 | 7~9 月 | 鲜茯苓-发汗-去皮-切丁-阴干 |
| S17 | 安徽省金寨县 | 9 | 7~9 月 | 鲜茯苓-发汗-去皮-切丁-阴干 |
| S18 | 云南省景东彝族自治县 | 9 | 7~9 月 | 鲜茯苓-发汗-去皮-切丁-阴干 |
| S19 | 云南省景东彝族自治县 | 9 | 7~9 月 | 鲜茯苓-发汗-去皮-切丁-阴干 |
| S20 | 云南省景谷傣族彝族自治县 | 9 | 7~9 月 | 鲜茯苓-发汗-去皮-切丁-阴干 |
| S21 | 云南省景谷傣族彝族自治县 | 9 | 7~9 月 | 鲜茯苓-发汗-去皮-切丁-阴干 |
| S22 | 云南省剑川县 | 9 | 7~9 月 | 鲜茯苓-发汗-去皮-切丁-阴干 |
| S23 | 云南省昌宁县 | 9 | 7~9 月 | 鲜茯苓-发汗-去皮-切丁-阴干 |

表 2 水分、总灰分、浸出物含量测定结果 ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

| 编号 | 水分/% | 总灰分/% | 浸出物/% |
|-----|----------|-----------|----------|
| S1 | 15.0±0.2 | 0.5±0.007 | 3.2±0.03 |
| S2 | 17.5±0.1 | 0.2±0.001 | 2.6±0.02 |
| S3 | 16.3±0.2 | 0.3±0.004 | 3.2±0.05 |
| S4 | 13.5±0.3 | 0.3±0.007 | 3.0±0.05 |
| S5 | 16.4±0.1 | 0.2±0.005 | 3.0±0.07 |
| S6 | 15.4±0.2 | 0.2±0.001 | 2.6±0.06 |
| S7 | 17.4±0.2 | 0.2±0.004 | 3.2±0.06 |
| S8 | 15.2±0.2 | 0.2±0.003 | 3.0±0.07 |
| S9 | 15.4±0.1 | 0.2±0.001 | 3.7±0.06 |
| S10 | 17.0±0.2 | 0.2±0.003 | 3.0±0.06 |
| S11 | 16.0±0.4 | 0.3±0.003 | 2.9±0.03 |
| S12 | 12.3±0.3 | 0.2±0.005 | 2.8±0.02 |
| S13 | 12.0±0.3 | 0.1±0.001 | 3.1±0.04 |
| S14 | 17.9±0.1 | 0.2±0.002 | 5.1±0.11 |
| S15 | 16.6±0.4 | 0.1±0.004 | 2.9±0.02 |
| S16 | 16.5±0.5 | 0.2±0.006 | 4.3±0.08 |
| S17 | 15.6±0.6 | 0.2±0.004 | 3.7±0.05 |
| S18 | 9.5±0.4 | 0.1±0.001 | 3.4±0.08 |
| S19 | 17.7±0.2 | 0.2±0.003 | 2.8±0.04 |
| S20 | 11.1±0.2 | 0.2±0.002 | 3.4±0.05 |
| S21 | 14.8±0.5 | 0.1±0.002 | 2.5±0.06 |
| S22 | 15.3±0.3 | 0.3±0.004 | 3.3±0.08 |
| S23 | 12.8±0.3 | 0.2±0.003 | 2.6±0.06 |

2.1.3 浸出物 取药材粉末（过 2 号筛）约 4 g，按 2020 年版《中国药典》四部通则 2201 浸出物测定法中的醇溶性浸出物测定法项下的热浸法进行测定，以稀乙醇为溶剂，结果见表 2。由此可知，23 批样品浸出物含量均符合 2020

年版《中国药典》要求。

2.1.4 三萜类成分

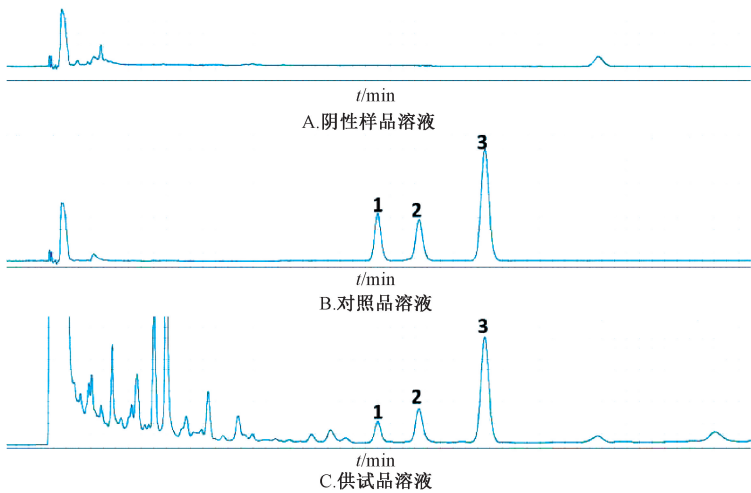
2.1.4.1 色谱条件 Agilent ZORBAX SB-C₁₈ 色谱柱（4.6 mm×250 mm，5 μm）；流动相乙腈-0.1% 磷酸（75：25）；体积流量 1 mL/min；柱温 30 ℃；检测波长 210 nm；进样量 10 μL。

2.1.4.2 对照品溶液制备 精密称取茯苓酸、去氢茯苓酸、3-*O*-乙酰基-16α-羟基-氢化松苓酸对照品适量，加甲醇制成每 1 mL 分别含三者 0.04、0.02、0.01 mg 的溶液，即得。

2.1.4.3 供试品溶液制备 取药材粉末（过 4 号筛）约 1.0 g，精密称定，置于具塞锥形瓶中，精密加入甲醇 50 mL，密封，称定质量，超声（功率 350 W，频率 53 kHz）处理 30 min，放冷，甲醇补足减失的质量，摇匀，滤过，精密移取 25 mL 续滤液至蒸发皿中，蒸干，残渣加甲醇溶解并转移至 5 mL 量瓶中，加甲醇至刻度，摇匀，滤过，取续滤液，即得。

2.1.4.4 系统适用性试验 取阴性样品（甲醇）、对照品、供试品溶液适量，在“2.1.4.1”项色谱条件下进样测定，结果见图 1。由此可知，阴性无干扰，各成分色谱峰与相邻峰之间的分离度均大于 1.5，理论塔板数均大于 18 000。

2.1.4.5 线性关系考察 精密吸取对照品溶液适量，甲醇稀释成 6 个质量浓度（稀释因子为 2），在“2.1.4.1”项色谱条件下进样测定。以峰面积为纵坐标（*Y*），进样量为横坐标（*X*）进行回归，结果见表 3。由此可知，各成分在各自范围内呈良好的线性关系。



1. 3-O-乙酰基-16α-羟基-氢化松苓酸 2. 去氢茯苓酸 3. 茯苓酸

图 1 各成分 HPLC 色谱图

表 3 各成分线性关系

| 成分 | 回归方程 | r | 线性范围/μg |
|----------------------|--------------------|---------|--------------|
| 茯苓酸 | Y=6.432 1X+0.746 0 | 0.999 9 | 0.051 6~1.65 |
| 去氢茯苓酸 | Y=3.982 2X-0.275 4 | 0.999 9 | 0.051 9~1.66 |
| 3-O-乙酰基-16α-羟基-氢化松苓酸 | Y=8.178 0X-0.229 7 | 0.999 9 | 0.043 2~1.38 |

2.1.4.6 稳定性试验 取在室温下放置的同一份供试品溶液，于0、2、4、6、12、24、36 h在“2.1.4.1”项色谱条件下进样测定，测得茯苓酸、去氢茯苓酸、3-O-乙酰基-16α-羟基-氢化松苓酸含量 RSD 分别为 0.31%、0.74%、1.06%，表明溶液在 36 h 内稳定性良好。

2.1.4.7 精密度试验 取同一份对照品溶液，在“2.1.4.1”项色谱条件下进样测定 6 次，测得茯苓酸、去氢茯苓酸、3-O-乙酰基-16α-羟基氢化松苓酸峰面积 RSD 分别为 0.28%、0.20%、0.06%，表明仪器精密度良好。

2.1.4.8 重复性试验 取同一批药材粉末（过 4 号筛），按“2.1.4.3”项下方法平行制备 6 份供试品溶液，在“2.1.4.1”项色谱条件下进样测定，测得茯苓酸、去氢茯苓酸、3-O-乙酰基-16α-羟基-氢化松苓酸含量 RSD 分别为 1.32%、1.72%、1.42%，表明该方法重复性良好。

2.1.4.9 中间精密度试验 取同一批药材粉末（过 4 号筛），由不同实验员按“2.1.4.3”项下方法各平行制备 2 份供试品溶液，不同仪器上在“2.1.4.1”项色谱条件下进样测定，测得茯苓酸、去氢茯苓酸、3-O-乙酰基-16α-羟基-氢化松苓酸含量 RSD 分别为 0.04%、1.24%、3.46%，表明该方法中间精密度良好。

2.1.4.10 加样回收率试验 精密称取同一批各成分含量已知的药材粉末（过 4 号筛）0.5 g，平行 9 份，分别按 50%、100%、150% 水平加入适量对照品溶液，每个水平平行 3 份，按“2.1.4.3”项下方法制备供试品溶液，在“2.1.4.1”项色谱条件下进样测定，计算回收率，结果见表 4。

2.1.4.11 耐用性考察 考察 Agilent Eclipse XDB-C₁₈

（4.6 mm × 250 mm，5 μm）、Agilent ZORBAX SB-C₁₈（4.6 mm×250 mm，5 μm）、DIAMONSIL C₁₈（4.6 mm × 250 mm，5 μm）色谱柱对各成分含量的影响，结果见表 5。由此可知，不同色谱柱上测得各成分含量 RSD 均小于 5%，表明该方法耐用性良好。

2.1.4.12 样品含量测定 取同一批药材，按“2.1.4.3”项下方法平行制备 2 份供试品溶液，在“2.1.4.1”项色谱条件下进样测定，外标法计算含量（扣除表 2 中的含水量，以干燥品计），结果见表 6。由此可知，各成分含量依次为茯苓酸>去氢茯苓酸>3-O-乙酰基-16α-羟基-氢化松苓酸，并且茯苓酸含量大于其他 2 种成分含量之和；罗田县（S1~S11）、岳西县和金寨县（S12~S17）、景谷县和剑川县等（S18~S23）产药材中茯苓酸平均含量分别为 0.061 1%、0.058 8%、0.060 9%，RSD 为 2%；总含量分别为 0.095 7%、0.091 6%、0.093 8%，RSD 为 2%，表明当地药材中各成分含量稳定，无明显地域性差异。

2.2 主成分分析

2.2.1 主成分因子相关分析 以 23 批样品中总灰分、浸出物、三萜类成分含量为变量，采用 SPSS16.0 软件进行主成分分析。由 KMO 和 Bartlett 球形检验可知，KMO 值为 0.631，Bartlett 球形检验的显著性 $P<0.001$ ，表明各变量之间存在显著相关性。由表 7 可知，以特征值大于 1 为提取标准，得到 2 个主成分 PC1、PC2，可反映不同产地药材大部分信息。由表 8 可知，茯苓酸、总灰分、3-O-乙酰基-16α-羟基-氢化松苓酸、去氢茯苓酸含量对 PC1 的贡献率较高，浸出物含量对 PC2 的贡献率较高。

表 4 各成分加样回收率试验结果 (n=9)

| 成分 | 称样量/g | 原有量/mg | 加入量/mg | 测得量/mg | 回收率/% | 平均回收率/% | RSD/% |
|----------------------|---------|---------|---------|---------|--------|---------|-------|
| 茯苓酸 | 0.502 4 | 0.222 9 | 0.123 8 | 0.340 4 | 94.90 | 98.90 | 2.06 |
| | 0.504 3 | 0.223 7 | 0.123 8 | 0.346 8 | 99.40 | | |
| | 0.504 1 | 0.223 6 | 0.123 8 | 0.347 4 | 99.90 | | |
| | 0.505 6 | 0.224 3 | 0.247 7 | 0.476 1 | 101.60 | | |
| | 0.504 8 | 0.223 9 | 0.247 7 | 0.473 1 | 100.60 | | |
| | 0.503 7 | 0.223 4 | 0.247 7 | 0.469 7 | 99.40 | | |
| | 0.505 1 | 0.224 1 | 0.371 5 | 0.585 1 | 97.20 | | |
| | 0.503 2 | 0.223 2 | 0.371 5 | 0.592 2 | 99.30 | | |
| | 0.503 5 | 0.223 4 | 0.371 5 | 0.585 7 | 97.50 | | |
| 去氢茯苓酸 | 0.502 4 | 0.102 1 | 0.041 5 | 0.141 5 | 95.00 | 100.10 | 2.70 |
| | 0.504 3 | 0.102 5 | 0.041 5 | 0.144 2 | 100.50 | | |
| | 0.504 1 | 0.102 4 | 0.041 5 | 0.144 7 | 101.70 | | |
| | 0.505 6 | 0.102 7 | 0.083 0 | 0.189 7 | 104.70 | | |
| | 0.504 8 | 0.102 6 | 0.083 0 | 0.186 4 | 101.00 | | |
| | 0.503 7 | 0.102 4 | 0.083 0 | 0.184 1 | 98.50 | | |
| | 0.505 1 | 0.102 6 | 0.124 6 | 0.226 0 | 99.00 | | |
| | 0.503 2 | 0.102 3 | 0.124 6 | 0.228 6 | 101.50 | | |
| | 0.503 5 | 0.102 3 | 0.124 6 | 0.225 4 | 98.80 | | |
| 3-O-乙酰基-16α-羟基-氢化松苓酸 | 0.502 4 | 0.028 8 | 0.015 3 | 0.042 5 | 89.70 | 94.20 | 5.92 |
| | 0.504 3 | 0.028 9 | 0.015 3 | 0.043 9 | 98.60 | | |
| | 0.504 1 | 0.028 9 | 0.015 3 | 0.044 9 | 104.90 | | |
| | 0.505 6 | 0.028 9 | 0.030 6 | 0.057 6 | 93.70 | | |
| | 0.504 8 | 0.028 9 | 0.030 6 | 0.059 4 | 99.80 | | |
| | 0.503 7 | 0.028 8 | 0.030 6 | 0.056 7 | 91.30 | | |
| | 0.505 1 | 0.028 9 | 0.045 8 | 0.070 4 | 90.40 | | |
| | 0.503 2 | 0.028 8 | 0.045 8 | 0.070 3 | 90.50 | | |
| | 0.503 5 | 0.028 8 | 0.045 8 | 0.069 6 | 89.00 | | |

表 5 耐用性考察结果

| 色谱柱 | 含量/(mg·g ⁻¹) | | |
|--|--------------------------|---------|---------------------|
| | 茯苓酸 | 去氢茯苓酸 | 3-O-乙酰基-16α-羟基氢化松苓酸 |
| Agilent Eclipse XDB-C ₁₈ (4.6 mm×250 mm,5 μm) | 0.448 1 | 0.197 9 | 0.057 2 |
| Agilent ZORBAX SB-C ₁₈ (4.6 mm×250 mm,5 μm) | 0.455 8 | 0.203 8 | 0.055 4 |
| DIAMONSIL C ₁₈ (4.6 mm×250 mm,5 μm) | 0.447 6 | 0.190 8 | 0.053 6 |
| RSD/% | 1.02 | 3.30 | 3.25 |

表 6 各成分含量测定结果

| 编号 | 茯苓酸/% | 去氢茯苓酸/% | 3-O-乙酰基-16α-羟基氢化松苓酸/% | 总含量/% |
|-----|---------|---------|-----------------------|---------|
| S1 | 0.080 9 | 0.026 7 | 0.018 4 | 0.126 0 |
| S2 | 0.052 8 | 0.024 0 | 0.004 1 | 0.080 9 |
| S3 | 0.077 5 | 0.039 1 | 0.011 8 | 0.128 4 |
| S4 | 0.054 8 | 0.024 9 | 0.011 2 | 0.090 9 |
| S5 | 0.069 8 | 0.026 7 | 0.005 2 | 0.101 7 |
| S6 | 0.046 8 | 0.024 6 | 0.007 2 | 0.078 6 |
| S7 | 0.053 9 | 0.023 9 | 0.006 7 | 0.084 5 |
| S8 | 0.061 7 | 0.023 9 | 0.003 4 | 0.089 0 |
| S9 | 0.063 1 | 0.028 7 | 0.008 2 | 0.100 0 |
| S10 | 0.052 2 | 0.023 2 | 0.006 3 | 0.081 7 |
| S11 | 0.058 7 | 0.024 0 | 0.007 9 | 0.090 6 |
| S12 | 0.069 4 | 0.027 6 | 0.009 5 | 0.106 5 |
| S13 | 0.058 6 | 0.023 2 | 0.007 8 | 0.089 6 |
| S14 | 0.055 1 | 0.033 1 | 0.005 2 | 0.093 4 |
| S15 | 0.054 9 | 0.022 1 | 0.007 7 | 0.084 7 |
| S16 | 0.054 9 | 0.021 7 | 0.006 3 | 0.082 9 |
| S17 | 0.059 8 | 0.021 4 | 0.011 0 | 0.092 2 |
| S18 | 0.059 8 | 0.023 9 | 0.008 2 | 0.091 9 |
| S19 | 0.060 0 | 0.023 4 | 0.008 1 | 0.091 5 |
| S20 | 0.064 8 | 0.025 0 | 0.011 3 | 0.101 1 |
| S21 | 0.052 8 | 0.021 0 | 0.008 4 | 0.082 2 |
| S22 | 0.070 2 | 0.023 5 | 0.013 1 | 0.106 8 |
| S23 | 0.058 0 | 0.021 9 | 0.009 3 | 0.089 2 |

表 7 各成分特征值、方差贡献率

| 成分 | 初始特征值 | | | 提取载荷平方和 | | |
|----|--------|---------|-----------|---------|---------|-----------|
| | 特征值 | 方差贡献率/% | 累积方差贡献率/% | 特征值 | 方差贡献率/% | 累积方差贡献率/% |
| 1 | 2. 507 | 50. 137 | 50. 137 | 2. 507 | 50. 137 | 50. 137 |
| 2 | 1. 250 | 24. 994 | 75. 131 | 1. 25 | 24. 994 | 75. 131 |
| 3 | 0. 641 | 12. 825 | 87. 956 | | | |
| 4 | 0. 373 | 7. 457 | 95. 412 | | | |
| 5 | 0. 229 | 4. 588 | 100. 000 | | | |

表 8 主成分因子载荷矩阵

| 主成分 | 茯苓酸含量 | 总灰分含量 | 3-O-乙酰基-16α-羟基-氢化松苓酸含量 | 去氢茯苓酸含量 | 浸出物含量 |
|-----|---------|---------|------------------------|---------|--------|
| PC1 | 0. 881 | 0. 840 | 0. 796 | 0. 600 | 0. 172 |
| PC2 | -0. 046 | -0. 181 | -0. 389 | 0. 596 | 0. 842 |

2.2.2 综合质量评分 根据标准化数据、特征值、特征向量，得到 PC1、PC2 方程分别为 $F_1 = 0.556 \times Z_{\text{茯苓酸}} + 0.31 \times Z_{\text{总灰分}} + 0.503 \times Z_{\text{3-O-乙酰基-16}\alpha\text{-羟基-氢化松苓酸}} + 0.379 \times Z_{\text{去氢茯苓酸}} + 0.109 \times Z_{\text{浸出物}}$ 、 $F_2 = -0.041 \times Z_{\text{茯苓酸}} - 0.162 \times Z_{\text{总灰分}} - 0.348 \times Z_{\text{3-O-乙酰基-16}\alpha\text{-羟基-氢化松苓酸}} + 0.533 \times Z_{\text{去氢茯苓酸}} + 0.753 \times Z_{\text{浸出物}}$ ，再计算综合得分 F ，公式为 $F = 0.501 \ 37 \times F_1 + 0.249 \ 94 \times F_2$ ，其数值越高，药材质量越好，结果见表 9。由此可知，综合得分较高的前 7 批样品为 S3、S1、S14、S22、S9、S12、S20，其中 S3、S1、S9 产地为罗田县，S14、S12 产地为岳西县，S22、S20 产地分别为景谷县、剑川县，表明当地药材中各成分含量稳定，无明显地域性差异。

表 9 各批样品主成分得分、排序

| 编号 | F_1 | F_2 | F | 排序 |
|-----|---------|---------|---------|----|
| S1 | 4. 772 | -1. 457 | 2. 028 | 2 |
| S2 | -1. 479 | -0. 362 | -0. 832 | 21 |
| S3 | 3. 465 | 1. 255 | 2. 051 | 1 |
| S4 | 0. 511 | -0. 683 | 0. 086 | 9 |
| S5 | 0. 141 | 0. 302 | 0. 146 | 8 |
| S6 | -1. 345 | -0. 584 | -0. 820 | 20 |
| S7 | -0. 906 | 0. 110 | -0. 427 | 16 |
| S8 | -0. 932 | 0. 166 | -0. 426 | 15 |
| S9 | 0. 473 | 1. 172 | 0. 530 | 5 |
| S10 | -1. 182 | -0. 187 | -0. 639 | 19 |
| S11 | 0. 162 | -0. 598 | -0. 068 | 11 |
| S12 | 0. 821 | -0. 290 | 0. 339 | 6 |
| S13 | -1. 120 | -0. 063 | -0. 577 | 18 |
| S14 | 0. 151 | 3. 893 | 1. 049 | 3 |
| S15 | -1. 520 | -0. 434 | -0. 870 | 22 |
| S16 | -0. 902 | 1. 264 | -0. 136 | 12 |
| S17 | 0. 005 | -0. 064 | -0. 014 | 10 |
| S18 | -0. 859 | 0. 364 | -0. 340 | 13 |
| S19 | -0. 407 | -0. 645 | -0. 365 | 14 |
| S20 | 0. 661 | -0. 032 | 0. 324 | 7 |
| S21 | -1. 728 | -1. 152 | -1. 154 | 23 |
| S22 | 1. 748 | -0. 760 | 0. 687 | 4 |
| S23 | -0. 532 | -1. 214 | -0. 570 | 17 |

2.3 聚类分析 采用 SPSS16.0 软件，以总灰分、浸出物、三萜类成分含量为变量，采用组间联接、平方欧氏距离法，对 23 批样品进行聚类分析，结果见图 2。由此可知，当平

方欧氏距离为 10 时，不同批次样品共被分为 2 类，21 批归为Ⅰ类，包括罗田县、岳西县和金寨县、景谷县和剑川县等主产地，表明当地药材中各成分含量稳定，无明显地域性差异，与主成分分析结果一致；主产地为岳西县的 S14、S16 批归为Ⅱ类，可能是由于这 2 批样品取样不均匀所致。

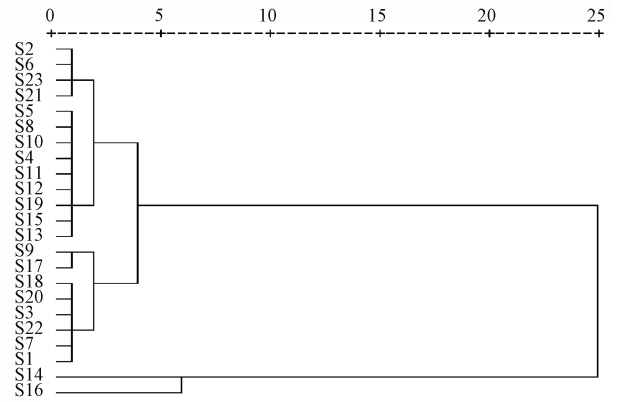


图 2 23 批样品聚类分析图

3 讨论

3.1 检测波长筛选 去氢茯苓酸的最大紫外吸收波长为 244 nm；茯苓酸、3-O-乙酰基-16α-羟基氢化松苓酸在 194 nm 处有最大紫外吸收，而在 244 nm 处无吸收；三者 在 210 nm 处均有吸收。为了提高该方法的通用性，本实验选 择检测波长为 210 nm。

3.2 茯苓质量评价指标的选择 在满足 2020 年版《中国 药典》标准的基础上，为提高茯苓的质量评价标准，本研 究增加了茯苓指标成分的含量测定项。茯苓多糖和三萜类 成分是茯苓质量标志物的重要筛选指标，因其多糖类成分 的复杂性、高极性和无紫外吸收等特性，使其定量分析具 有一定的困难性；目前常采用 UV-Vis 法进行测定，但误差 大、缺少专属性，无法有效表征多糖类成分的组成差异^[16-17]，不满足质量标志物可测性的专属性要求^[18]；而三 萜类成分是茯苓的重要次生代谢产物，容易受地理环境的 变化而变化，是其特有成分和传统药效的物质基础，且可 采用色谱法进行定量分析，具有可测性^[8]。

目前文献报道的茯苓含测指标成分主要为茯苓酸、去 氢茯苓酸、去氢土莫酸、松苓新酸、3-O-乙酰基-16α-羟基-

氢化松苓酸等^[9-15]。其中, 茯苓酸是茯苓三萜类成分的重要代表, 具有抗肿瘤、抗氧化、镇静催眠等作用; 去氢茯苓酸具有神经伸展促进活性, 证实羊毛甾烷二烯三萜型可以用于治疗神经疾病^[8]。考虑到对照品的可及性和三萜类成分含量的正相关性^[11], 最终选择茯苓酸、去氢茯苓酸、3-*O*-乙酰基-16 α -羟基-氢化松苓酸作为含量测定的指标成分。

3.3 主产地选择及质量差异性分析 目前栽培茯苓的主产区主要为湖北省、安徽省和云南省, 且又集中于湖北省罗田县、安徽省岳西县和金寨县及云南省丽江市、大理州和普洱市等地^[4], 故选择湖北省罗田县、安徽省岳西县和金寨县及云南省景谷县和剑川县等主产地的栽培茯苓作为研究样品。

研究表明, 栽培茯苓质量无明显地域性差异, 其原因可能为①茯苓作为菌类药材不同于植物药材, 其对不同气候和土壤等自然环境有着较强的耐受性^[9,19]; ②目前全国范围主要采用茯苓纯菌种进行培育, 且产业化种植基地能对菌种的母种和原种的来源进行把控和规范, 保障了不同产地栽培茯苓的源头质量^[20-21]。

目前, 虽已有文献^[9-12]报道以茯苓中 4~10 种三萜类成分的含量评价茯苓的质量差异性, 但只对三萜类指标成分含量的差异性进行比较, 无法体现不同产地茯苓的整体质量。而本研究与文献报道的有所不同, 可为不同产地茯苓的整体质量评价提供参考价值。

4 结论

本研究为评价不同主产地栽培茯苓质量的差异性, 本实验在 2020 年版《中国药典》的基础上增加了茯苓中 3 种三萜类成分含量的测定项, 提高了茯苓的质量评价标准, 能较好地客观评价不同主产地栽培茯苓整体质量的差异性。通过对 23 批主产地栽培茯苓的整体质量分析, 发现栽培茯苓在罗田县、岳西县、金寨县、景谷县和剑川县等主产地的整体质量相对稳定, 无明显地域上的差异, 这为中药 3.1 类中含茯苓产地的确定提供了科学依据。

参考文献:

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2020 年版一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 251.

[2] 董晓旭, 刘 艺, 蔡梦如, 等. 经典名方中茯苓的本草考证[J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(12): 176-181.

[3] 陈卫东, 彭 慧, 王妍妍, 等. 茯苓的历史沿革与变迁[J]. 中草药, 2017, 48(23): 5032-5038.

[4] 程 磊, 侯俊玲, 王文全, 等. 我国茯苓生产技术现状调查分析[J]. 中国现代中药, 2015, 17(3): 195-199.

[5] 冯冰薇, 陈淑娜, 成秋香, 等. 化学模式识别结合指纹特征图谱与三萜酸含量测定探讨茯苓质量与产地的关系[J]. 中药新药与临床药理, 2021, 32(10): 1506-1512.

[6] 崔鹤蓉, 王睿林, 郭文博, 等. 茯苓的化学成分、药理作用及临床应用研究进展[J]. 西北药学杂志, 2019, 34(5): 694-700.

[7] 张 年, 李兆星, 李 娟, 等. 茯苓的化学成分与生物活性研究进展[J]. 世界科学技术 (中医药现代化), 2019, 21(2): 220-233.

[8] 邓桃妹, 彭代银, 俞年军, 等. 茯苓化学成分和药理作用研究进展及质量标志物的预测分析[J]. 中草药, 2020, 51(10): 2703-2717.

[9] 万 鸣, 黄 超, 杨玉莹, 等. 不同产地茯苓中 7 种三萜类成分含量的测定及聚类分析[J]. 中国药房, 2020, 31(17): 2101-2106.

[10] 潘 馨, 董芳妮, 陈艺涵, 等. 茯苓中 6 个活性成分含量的 TOPSIS 综合分析法考察[J]. 时珍国医国药, 2021, 32(3): 559-561.

[11] 田双双, 刘晓谦, 冯伟红, 等. 基于特征图谱和多成分含量测定的茯苓质量评价研究[J]. 中国中药杂志, 2019, 44(7): 1371-1380.

[12] 王妍妍, 施晓艳, 张 越, 等. 一测多评法测定不同产地茯苓中 4 种三萜类成分的含量[J]. 中草药, 2018, 49(20): 4899-4904.

[13] 彭 灿, 余生兰, 张 静, 等. HPLC 同时测定茯苓中 4 种三萜酸的含量[J]. 中药材, 2017, 40(7): 1643-1646.

[14] 刘校妃, 李健康, 唐 怡, 等. 茯苓中去氢土莫酸和茯苓酸含量的高效液相色谱波长切换法同时测定[J]. 时珍国医国药, 2016, 27(3): 516-518.

[15] 孙宇飞, 甄晓宇, 刘天舒, 等. 基于“体外-体内”多维化学物质组关联网络的茯苓质量标志物发现及质量评价研究[J]. 中草药, 2019, 50(19): 4562-4568.

[16] 王 悦, 田双双, 刘晓谦, 等. 茯苓多糖的提取、结构及药理作用研究进展[J]. 世界中医药, 2021, 16(17): 2548-2555.

[17] 刘 洁, 徐云辉, 张倩倩, 等. 茯苓配方颗粒、猪苓配方颗粒标准汤剂的质量评价[J]. 中成药, 2020, 42(8): 2003-2008.

[18] 张铁军, 白 钢, 刘昌孝. 中药质量标志物的概念、核心理论与研究方法[J]. 药学学报, 2019, 54(2): 187-196.

[19] 蔡丹凤, 陈丹红. 松莩栽培茯苓主要营养成分的累积特性[J]. 中华中医药杂志, 2018, 33(1): 373-375.

[20] 刘顺才. 茯苓种质资源的收集与评价[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2017.

[21] 林哲人, 汪 琦, 罗远菊, 等. 茯苓菌株培育研究[J]. 中华中医药杂志, 2019, 34(8): 3755-3759.