

基于主成分分析及聚类判别模式的木香 UPLC 指纹图谱研究

黎晓丽, 孙冬梅, 罗宇琴, 梁 慧, 杨晓东, 霍文杰*

广东一方制药有限公司, 广东 佛山 528244

摘要:目的 建立木香药材 UPLC 指纹图谱及 3,5-*O*-二咖啡酰基奎宁酸含量测定方法, 对不同产地木香的质量进行较全面的评价。方法 采用 YMC Trait C₁₈ (100 mm×2.1 mm, 1.9 μm) 色谱柱, 以乙腈-0.05%磷酸水溶液为流动相梯度洗脱, 指纹图谱检测波长为 254 nm, 3,5-*O*-二咖啡酰基奎宁酸含量测定检测波长为 327 nm, 柱温 30 ℃, 体积流量 0.30 mL/min。采用相似度评价、聚类分析和主成分分析对 13 批木香药材指纹图谱进行研究。结果 建立了木香药材的 UPLC 指纹图谱, 确定了 8 个共有峰; 相似度评价、聚类分析和主成分分析结果表明, 13 批木香药材质量存在差异, 不同产地以及同一产地药材均有一定差异。结论 本研究为木香药材的质量控制提供了较为全面、有效的快速评价方法。

关键词: 木香; 指纹图谱; 3,5-*O*-二咖啡酰基奎宁酸; 主成分分析; 聚类分析; 超高效液相色谱

中图分类号: R282.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2019)20-5040-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.20.028

Study on fingerprint of *Aucklandiae Radix* based on principal component analysis coupled with cluster analysis

LI Xiao-li, SUN Dong-mei, LUO Yu-qin, LIANG Hui, YANG Xiao-dong, HUO Wen-jie

Guangdong Yifang Pharmaceutical Co., Ltd., Foshan 528244, China

Abstract: Objective To establish a UPLC fingerprint method and a method for the content determination of 3,5-*O*-dicaffeoylquinic acid of *Aucklandiae Radix*, and provide a comprehensive evaluation of the drug from different habitats. **Methods** UPLC analysis was performed on a YMC Trait C₁₈ (100 mm×2.1 mm, 1.9 μm), with a mobile phase consisting of acetonitrile-0.05% phosphoric acid at the flow rate of 0.30 mL/min. The fingerprint detection wavelength was 254 nm and the content determination detection wavelength of 3,5-*O*-dicaffeoylquinic acid was 327 nm, meanwhile, the column temperature was controlled at 30 ℃. Similarity analysis, hierarchical clustering analysis, and principal component analysis were undertaken to investigate the fingerprints of 13 batches of *Aucklandiae Radix*. **Results** UPLC fingerprint of *Aucklandiae Radix* was established and eight common peaks were designated. The results showed that the quality of the batches of samples were not stable. Samples collected from the same region and different regions both had certain differences, as well as the content determination of 3,5-*O*-dicaffeoylquinic acid. **Conclusion** The proposed method offered a fast, holistic, and effective method for the quality control of *Aucklandiae Radix*.

Key words: *Aucklandiae Radix*; fingerprint; 3,5-*O*-dicaffeoylquinic acid; principal component analysis; cluster analysis; UPLC

木香为菊科木香属植物木香 *Aucklandia lappa* Decne. 的干燥根, 其味辛、苦, 性温; 归脾、胃、大肠、三焦、胆经。木香生品具有行气止痛、健脾消食之功效^[1]。明代《本草纲目》曰:“凡人理气药只生用, 不见火, 若实大肠, 宜面煨熟用”, 木香是治疗胃肠疾病的常用药。木香始载于《神农本草经》, 列为上品^[2], 历代本草也均有记载, 药用历史悠久。木香原产于印度, 因曾引种到云南, 故又称云木香,

在云南、四川、甘肃、广西、西藏、陕西及中南诸省均有引种栽培。目前云南产量最大, 为道地品种^[3-4]。现为《中国药典》2015 年版收载品种。现代中药学表明, 木香含有萜类、甾体、配糖体、生物碱、糖、氨基酸、脂肪酸及其酯等成分^[5-7]。

近年来, 木香药材种植产地不断增加, 大部分文献都以木香脂溶性成分木香烯内酯及去氢木香烯内酯含量作为木香质量评价指标, 水溶性成分检测

收稿日期: 2019-05-09

基金项目: 广东省省级科技计划项目 (科技基础条件建设领域) (2018B030323004)

作者简介: 黎晓丽, 研究员, 从事中药质量标准的研究。Tel: (0757)85128602 E-mail: lixiaolizj@126.com

*通信作者 霍文杰, 研发工程师, 从事中药质量标准的研究。Tel: (0757)85128602 E-mail: 987552004@163.com

鲜有报道,这一问题亟待解决。中药成分复杂,仅以几个化合物的含量作为质量的评价指标亦是不全面的。中药指纹图谱是指中药材或中药制剂经适当处理后采用一定的分析手段,得到能够标示其化学特征的色谱图或光谱图^[8-11]。由于 UPLC 具有分离效能高、选择性好、灵敏度高、分析速度快、应用范围广等特点,所以目前在中药指纹图谱技术中 UPLC 已经得到广泛应用。本实验建立木香 UPLC 指纹图谱,并在指纹图谱的条件下同时检测其水溶性成分 3,5-*O*-二咖啡酰基奎宁酸的含量,并结合相似度分析、聚类分析和主成分分析对不同产地木香药材的质量进行评价。

1 仪器与试药

1.1 仪器

Waters 超高效液相色谱仪(沃特斯公司), Agilent 超高效液相色谱仪(安捷伦公司), YMC Trait C18 (100 mm×2.1 mm, 1.9 μm) 色谱柱, ME204E 型万分之一天平(梅特勒-托利多公司), XP26 型百万分之一天平(梅特勒-托利多公司)。数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

1.2 试药

木香药材来源于全国 5 个产地,经广东一方制药有限公司魏梅主任中药师鉴定为木香 *Aucklandia lappa* Decne. 的干燥根,具体信息见表 1。绿原酸(质量分数 99.3%,批号 110753-201716)、紫丁香苷(质量分数 98.3%,批号 111574-201605)、3,5-*O*-二咖啡酰基奎宁酸(质量分数 97.3%,批号 111782-201706)、木香烃内酯(质量分数 99.8%,批号 110753-201816)、去氢木香烃内酯(质量分数 99.5%,批号 110753-201515)对照品来自中国食品

药品检定研究院。乙腈为色谱级、水为超纯水,其他试剂为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

以 YMC Trait (100 mm×2.1 mm, 1.9 μm) 为色谱柱,以乙腈(A)-0.05%磷酸水溶液(B)为流动相进行梯度洗脱,0~6 min, 8%~20% A; 6~8 min, 20%~23% A; 8~13 min, 23%~40% A; 13~16 min, 40%~80% A; 16~20 min, 80%~90% A; 20~20.1 min, 90%~8% A; 20.1~25.0 min, 8% A。体积流量为 0.30 mL/min; 柱温为 30 °C; 指纹图谱检测波长为 254 nm, 3,5-*O*-二咖啡酰基奎宁酸含量测定检测波长为 327 nm。进样体积为 1 μL。

2.2 对照品溶液的制备

取紫丁香苷、绿原酸、木香烃内酯、去氢木香烃内酯对照品适量,精密称定,加甲醇制成分别含紫丁香苷、绿原酸、木香烃内酯、去氢木香烃内酯 20、10、15、15 μg/mL 的溶液。精密称取 3,5-*O*-二咖啡酰基奎宁酸对照品 5.227 mg,置 25 mL 量瓶中,用 80%甲醇稀释至刻度,摇匀,制成 203.454 3 μg/mL 的贮备液;精密吸取 1.0 mL 贮备液置 10 mL 量瓶中,加 80%甲醇稀释至刻度,摇匀,即得含 3,5-*O*-二咖啡酰基奎宁酸 20.345 4 μg/mL 的溶液。

2.3 供试品溶液的制备

取木香药材粉末(过 4 号筛)约 0.5 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入 80%甲醇 25 mL,称定质量,超声处理 30 min,放冷,再称定质量,用 80%甲醇补足损失的质量,摇匀,0.22 μm 滤膜滤过,取续滤液,即得。

2.4 数据处理

利用中药色谱指纹图谱相似度评价软件、ORIGIN 8.5 和 SPSS 20.0 对 4 个产地木香 UPLC 数据进行处理分析。

2.5 指纹图谱方法学考察

2.5.1 精密度试验 取木香供试品(S11)溶液,按“2.1”项色谱条件下重复进样 6 次。以 3,5-*O*-二咖啡酰基奎宁酸为参照峰,计算相对保留时间及相对峰面积,结果表明,8 个共有峰的相对保留时间 RSD 均小于 2%,相对峰面积 RSD 均小于 5%。

2.5.2 稳定性试验 取木香供试品(S11)溶液,按“2.1”项所述色谱条件分别在 0、1、2、4、8、12 h 进样分析。以 3,5-*O*-二咖啡酰基奎宁酸为参照峰,计算相对保留时间及相对峰面积,结果表

表 1 药材来源

Table 1 Sources of materials

编号	产地	品种
S1	云南大理市	木香
S2	云南大理市	木香
S3	云南大理市	木香
S4	云南省迪庆藏族自治州	木香
S5	云南省迪庆藏族自治州	木香
S6	云南省迪庆藏族自治州	木香
S7	四川省雅安市	木香
S8	四川省雅安市	木香
S9	四川省雅安市	木香
S10	重庆市	木香
S11	重庆市	木香
S12	重庆市	木香
S13	湖北省恩施市	木香

明, 8 个共有峰的相对保留时间 RSD 均小于 2%, 相对峰面积 RSD 均小于 5%。

2.5.3 重复性试验 取木香药材(S11)6 份, 按“2.3”项供试品溶液的配制方法处理, 按“2.1”项所述色谱条件测定。以 3,5-*O*-二咖啡酰基奎宁酸为参照峰, 计算相对保留时间及相对峰面积, 结果表明, 8 个共有峰相对保留时间 RSD 均小于 2%, 相对峰面积 RSD 均小于 5%。表明该方法重复性良好。

2.6 样品的测定

精密吸取对照品溶液及供试品溶液各 1 μ L, 按拟定方法进行样分析。

2.7 木香药材指纹图谱的建立

2.7.1 共有峰的确定 取 13 批木香药材样品, 按“2.3”项下确定的供试品溶液制备方法, 制备供试品溶液, 按“2.1”项下确定的色谱条件, 进样测定, 得到木香药材及对照品溶液图谱见图 1, 使用《中药色谱指纹图谱相似度评价软件》对 13 批木香药材特征图谱进行共有峰标识, 并产生对照图谱。结果见图 2、3。

2.7.2 各产地药材指纹图谱相似度评价 以 4 个产地木香生成的共有模式(S0)为对照指纹图谱, 13 批次木香药材与对照指纹图谱的相似度为 0.797~0.994, 除了 S2(云南大理)和 S5(云南迪庆)与对照指纹图谱相似度小于 0.9 以外, 其他各批次药材与对照指纹图谱的相似度均在 0.9 以上, 说明其

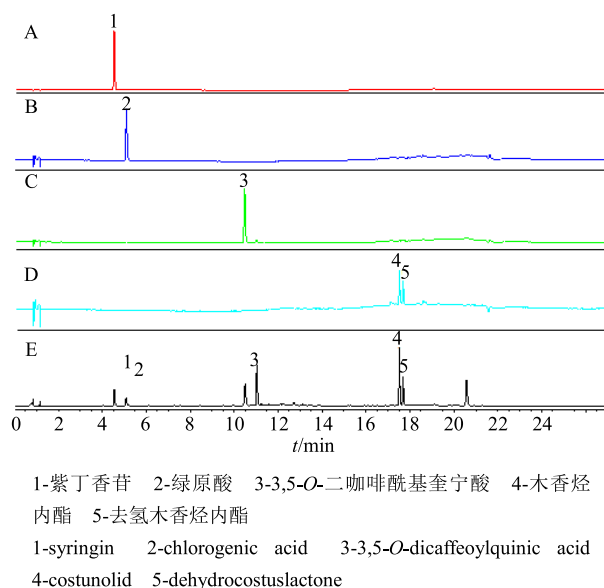


图 1 对照品 (A、B、C、D) 和木香药材 (E) UPLC 图谱
Fig. 1 UPLC specific chromatogram of reference substances (A, B, C, D) and *Aucklandiae Radix* (E)

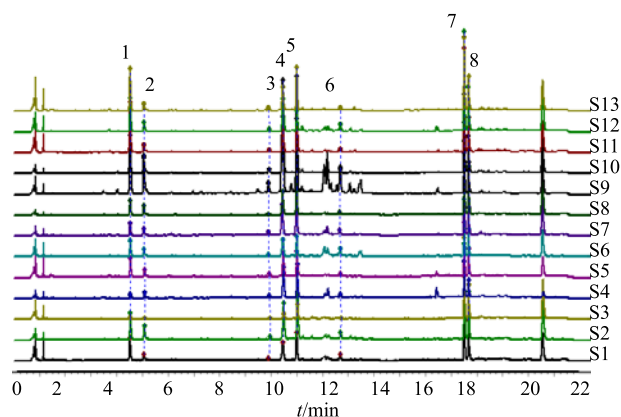


图 2 13 批木香药材 UPLC 指纹图谱叠加图
Fig. 2 Superposition chart of UPLC specific chromatogram of 13 batches of *Aucklandiae Radix*

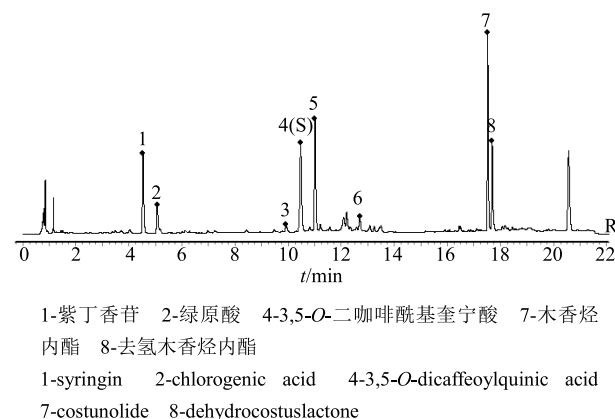


图 3 13 批木香药材 UPLC 指纹图谱共有模式
Fig. 3 Common UPLC specific chromatogram of 13 batches of *Aucklandiae Radix*

他各产地药材表现出了良好的相似度。其中四川的 3 批样品相似度较接近, 质量稳定; 云南的 6 批相似度差异较大, 质量各异; 重庆的 3 批相似度有差异, 质量各异。结果见表 2。13 批木香药材中有 11 批的指纹图谱相似度在 0.9 以上, 只有 2 批药材的相似度小于 0.9, 说明不同产地的木香药材质量比较一致。其中四川的 3 批样品相似度较接近, 质量稳定; 云南的 6 批相似度差异较大, 质量各异。

2.7.3 木香样品聚类分析 运用 SPSS 20.0 软件对 4 个产地木香样品进行系统聚类, 采用组间平均数联结法, 以夹角余弦作为样品相似度的距离公式。聚类分析将木香样品分为 6 类, I 类包括 S7、S8、S9、S11、S13, 即四川样品与 1 批重庆及湖北样品聚为一类; II 类包括 S1、S4、S12, 即 2 批云南样品及 1 批重庆样品聚为一类; III 类包括 S3、S6, 即 2 批云南样品聚为一类; IV 类包括 S10; V 类包括 S5; VI 类包括 S2, 即 1 批重庆样品及 2 批云南

样品各聚为一类。总体看来，四川的木香药材质量大体相近，其他产地的差别较大，表明即使是同一产地所产木香药材，质量也不尽相同，与相似度分析的评价结果相一致。具体结果见图 4。从聚类分

析结果可知，3 批四川样品聚为一类，可见四川样品较稳定；6 批云南样品聚为 4 类，3 批重庆样品聚为 2 类，可见即便是同一产地，也有个别批次药材质量有较大差异。

表 2 木香样品指纹图谱相似度评价

Table 2 Similarity of fingerprints of *Aucklandiae Radix*

编号	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13	对照
S1	1.000	0.827	0.942	0.981	0.851	0.957	0.943	0.952	0.916	0.849	0.965	0.988	0.98	0.984
S2	0.827	1.000	0.678	0.89	0.445	0.693	0.840	0.932	0.883	0.548	0.886	0.839	0.844	0.797
S3	0.942	0.678	1.000	0.905	0.911	0.957	0.810	0.832	0.825	0.805	0.884	0.956	0.917	0.938
S4	0.981	0.89	0.905	1.000	0.775	0.922	0.928	0.976	0.943	0.803	0.977	0.966	0.981	0.966
S5	0.851	0.445	0.911	0.775	1.000	0.951	0.781	0.719	0.754	0.928	0.797	0.837	0.848	0.893
S6	0.957	0.693	0.957	0.922	0.951	1.000	0.909	0.890	0.908	0.937	0.935	0.948	0.967	0.985
S7	0.943	0.840	0.810	0.928	0.781	0.909	1.000	0.965	0.951	0.890	0.956	0.921	0.961	0.957
S8	0.952	0.932	0.832	0.976	0.719	0.890	0.965	1.000	0.979	0.810	0.989	0.940	0.975	0.954
S9	0.916	0.883	0.825	0.943	0.754	0.908	0.951	0.979	1.000	0.855	0.984	0.912	0.973	0.953
S10	0.849	0.548	0.805	0.803	0.928	0.937	0.890	0.810	0.855	1.000	0.853	0.809	0.891	0.914
S11	0.965	0.886	0.884	0.977	0.797	0.935	0.956	0.989	0.984	0.853	1.000	0.959	0.990	0.978
S12	0.988	0.839	0.956	0.966	0.837	0.948	0.921	0.940	0.912	0.809	0.959	1.000	0.968	0.974
S13	0.980	0.844	0.917	0.981	0.848	0.967	0.961	0.975	0.973	0.891	0.990	0.968	1.000	0.994
对照	0.984	0.797	0.938	0.966	0.893	0.985	0.957	0.954	0.953	0.914	0.978	0.974	0.994	1.000

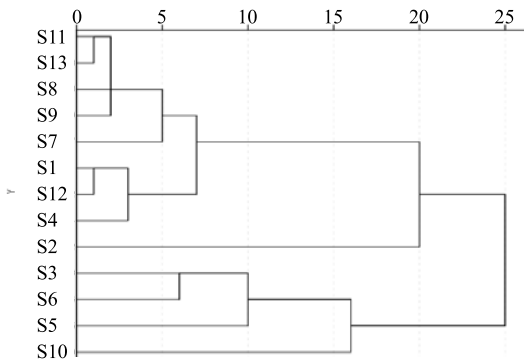


图 4 聚类分析结果

Fig. 4 Result of cluster analysis

2.7.4 主成分分析

(1) 共有峰主成分分析：以 13 批样品中的 8 个共有峰的峰面积为数据，用 SPSS 20.0 软件对其进行主成分分析，得出相关矩阵的特征值及其方差，见表 3，碎石图见图 5。由表 3 可知，前 2 个成分的特征值大于 1，即 5.290 和 1.853，对总方差的累积贡献率达 89.288%，故选择成分 1 和 2 作为第 1 和第 2 主成分，可代表木香指纹图谱共有峰的大部分信息。同时结合观察碎石图可见主成分分析中特征值的变化情况，图中曲线存在一个明显的拐点，说明前 2 个主成分的分析结果基本显示出了不

表 3 主成分特征值及方差

Table 3 Analysis of principal components and variance

成分	初始特征值			提取平方和载入			旋转平方和载入		
	合计	方差贡献率	累积贡献率/%	合计	方差贡献率/%	累积贡献率/%	合计	方差贡献率/%	累积贡献率/%
1	5.290	66.126	66.126	5.290	66.126	66.126	5.285	66.057	66.057
2	1.853	23.162	89.288	1.853	23.162	89.288	1.858	23.231	89.288
3	0.360	4.504	93.792						
4	0.237	2.960	96.752						
5	0.182	2.272	99.024						
6	0.046	0.581	99.606						
7	0.023	0.288	99.893						
8	0.009	0.107	100.000						

同批次木香药材之间的相似度和差异性。初始因子载荷矩阵见表 4，由表 4 可见，第 1 主成分主要反映了来自原始指标色谱峰 1、2、3、4、5 和 6 的信息，第 2 主成分主要反映了来自原始指标色谱峰 7 和峰 8 的信息，故仅用前 2 个主成分就可表示原

UPLC 数据的主要信息。以第 1、2 主成分为变量，得到二维投影图，见图 6。以 X 轴为例，在投影图中选取距离原点较远的几个点，得到第 1 主成分中变量的权重值，权重值越大，该化合物在木香药材中的作用越大。其中，前 3 名变量的权重值分别为

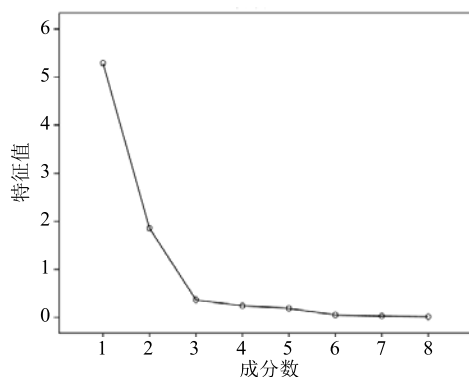


图 5 碎石图

Fig. 5 Gravel plot

表 4 主要因子载荷矩阵

Table 4 Main factors loading matrix

峰号	载荷	
	1	2
1	0.877	0.108
2	0.978	0.056
3	0.959	-0.222
4	0.981	-0.003
5	0.912	0.161
6	0.920	0.005
7	-0.015	0.941
8	-0.076	0.937

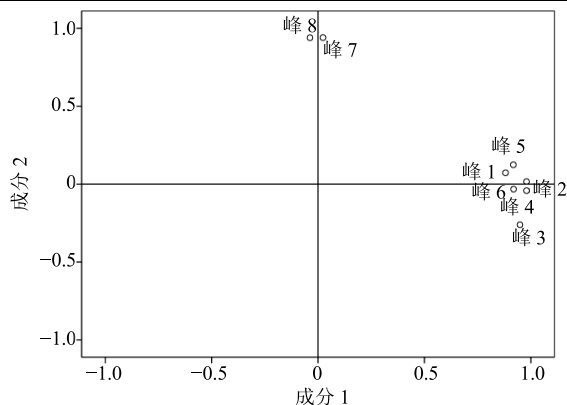


图 6 旋转空间中的成分图

Fig. 6 Component plot in rotated space

0.981、0.978、0.959，对应峰 4（3,5-*O*-二咖啡酰基奎宁酸）、峰 2（绿原酸）和峰 3。与上述分析结果一致，即可判定峰 4、2、3 在区分各产地木香指纹图谱中占了决定性作用。

（2）不同产地木香药材的综合评价：针对前 2 个主成分对木香药材进行综合评价，计算综合得分，结果见表 5。由表 5 可知，排名前 3 的样品中，云南 3 批；排名前 6 的样品中，云南、四川各 3 批，分别占其总样品数的 50%及 100%；排名前 9 的样品中，云南、四川、重庆产地的样品各 4、3、2 批。

表 5 综合得分排序

Table 5 Sorting meter of comprehensive scores

编号	产地	综合得分	排名
S5	云南省迪庆藏族自治州	1.948	1
S1	云南大理市	0.498	2
S6	云南省迪庆藏族自治州	0.372	3
S9	四川省雅安市	0.170	4
S7	四川省雅安市	0.127	5
S8	四川省雅安市	-0.136	6
S4	云南省迪庆藏族自治州	-0.151	7
S10	重庆市	-0.170	8
S12	重庆市	-0.217	9
S13	湖北恩施	-0.487	10
S11	重庆市	-0.521	11
S2	云南大理市	-0.659	12
S3	云南大理市	-0.776	13

总体来说，云南产地的木香药材质量不是很均匀，综合排名居首和尾；四川产地的木香整体上质量较优且稳定。从主成分分析结果可知，13 批木香药材中 8 个特征变量降维至 2 个主成分，且这 2 个主成分代表了木香药材指纹图谱的大部分信息，由 13 份木香样品主成分得分图可知，排名前 6 的样品中，云南、四川各 3 批，分别占其总样品数的 50%及 100%，说明四川产地样品质量较好且稳定；主成分分析的结果与聚类分析及相似度分析结果一致。

2.8 3,5-*O*-二咖啡酰基奎宁酸含量测定

2.8.1 系统适应性考察 取木香药材，按照“2.3”项下确定的供试品溶液制备方法进行处理，按“2.1”项下色谱条件测定木香药材及 3,5-*O*-二咖啡酰基奎宁酸，色谱图见图 7。

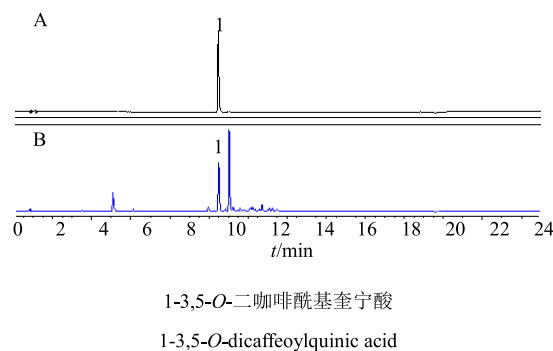


图 7 对照品 (A) 和木香药材 (B) 色谱图

Fig. 7 Chromatogram of content determination of reference substance (A) and *Aucklandiae Radix* (B)

2.8.2 线性关系考察 分别精密吸取 3,5-*O*-二咖啡酰基奎宁酸对照品贮备溶液 5、2、1、0.5、0.2 mL 置 10 mL 量瓶中,加 80%甲醇稀释至刻度,摇匀,同对照品贮备液分别按照“2.1”项下色谱条件依次进样 1 μ L,记录色谱峰面积。以对照品峰面积为纵坐标 (Y),对照品浓度为横坐标 (X)。线性回归方程及相关系数为 $Y=13\,773.763\,66\,X+7\,181.033\,56$, $r^2=0.999\,97$ 。结果表明,在 4.069 1~203.454 3 μ g/mL, 3,5-*O*-二咖啡酰基奎宁酸浓度与峰面积呈良好的线性关系。

2.8.3 精密度试验 精密吸取 3,5-*O*-二咖啡酰基奎宁酸对照品溶液(质量浓度 20.345 4 μ g/mL) 1 μ L,按“2.1”项所述色谱条件下重复进样 6 次。结果表明,3,5-*O*-二咖啡酰基奎宁酸峰面积的 RSD 为 0.13%,表明仪器精密度良好。

2.8.4 稳定性试验 精密称取木香药材(S11)约 0.5 g,按照“2.3”项下供试品溶液制备方法制备供试品溶液,按照“2.1”项下色谱条件,分别在 0、1、2、4、8、12 h 进样,进样体积 1 μ L,结果表明,样品中 3,5-*O*-二咖啡酰基奎宁酸峰面积的 RSD 为 0.60%,表明供试品溶液在 12 h 内稳定。

2.8.5 重复性试验 取木香药材(S11)6 份,按“2.3”项供试品溶液的配制方法处理,按“2.1”项所述色谱条件测定,并计算 3,5-*O*-二咖啡酰基奎宁酸的含量。结果表明,样品中 3,5-*O*-二咖啡酰基奎宁酸质量分数的 RSD 为 0.97%,表明该分析方法的重复性良好。

2.8.6 加样回收率试验 取已测定木香药材(S11)约 0.25 g,精密称定,分为 3 组,每组平行称定 3 份,3 组分别按 1:0.5、1:1、1:1.5 加入 3,5-*O*-二咖啡酰基奎宁酸对照品,按“2.3”项下确定的供试品溶液制备方法,制备供试品溶液 9 份。每份精密吸取 1 μ L 按“2.1”项下色谱条件测定,计算 3,5-*O*-二咖啡酰基奎宁酸加样回收率。实验结果显示 3,5-*O*-二咖啡酰基奎宁酸回收率为 93.04%,RSD 为 3.93%。表明回收率良好。

2.8.7 样品测定 取 13 批不同产地木香药材,按照“2.3”项下确定的供试品溶液制备方法进行处理,按“2.1”项下色谱条件测定,并计算 3,5-*O*-二咖啡酰基奎宁酸的含量结果见表 6。从 13 批木香样品中可知,云南产地药材含量差异较大,而四川、重庆、湖北各产地含量差异并不大。

表 6 木香药材中 3,5-*O*-二咖啡酰基奎宁酸含量测定结果
Table 6 Result of content determination of 3,5-*O*-dicaffeoylquinic acid of *Aucklandiae Radix*

编号	产地	3,5- <i>O</i> -二咖啡酰基奎宁/(mg·g ⁻¹)
S1	云南大理市	2.249
S2	云南大理市	0.300
S3	云南大理市	1.813
S4	云南省迪庆藏族自治州	1.420
S5	云南省迪庆藏族自治州	7.397
S6	云南省迪庆藏族自治州	3.452
S7	四川省雅安市	1.438
S8	四川省雅安市	1.146
S9	四川省雅安市	2.053
S10	重庆市	2.163
S11	重庆市	1.110
S12	重庆市	1.911
S13	湖北省恩施市	1.398

3 讨论

3.1 供试品制备方法考察

本实验对不同料液比、不同提取溶剂、不同提取方式及不同提取时间进行考察,以色谱峰信息最大化,提取效率最高,方法稳定作为指标,最终确定以 0.5 g:25 mL 作为料液比,80%甲醇作为提取溶剂,超声处理 30 min 作为样品的制备方法。

3.2 色谱条件考察

本实验对色谱条件中的色谱柱、流动相体系、检测波长、柱温及流速进行了考察。经比较发现,YMC Trait C₁₈ 柱分离效果最好,峰型更好;乙腈-0.05%磷酸各色谱峰分离效果最好,选择 254 nm 作为木香药材指纹图谱检测波长、327 nm 作为 3,5-*O*-二咖啡酰基奎宁酸含量测定波长。3 个柱温对木香药材 3,5-*O*-二咖啡酰基奎宁酸含量测定基本无影响,对指纹图谱相对保留时间基本无影响,而对相对峰面积影响较大,体积流量微小的变动能满足系统适应性要求。

本实验运用相似度分析、聚类分析和共有峰主成分分析 3 种方法对不同产地的木香药材 UPLC 指纹图谱进行分析。目前,对于木香药材大部分选用木香烯内酯和去氢木香烯内酯做为其含量测定指标,评价木香药材质量。本实验首次建立 3,5-*O*-二咖啡酰基奎宁酸含量测定方法,木香烯内酯和去氢木香烯内酯为脂溶性成分较难转移至煎液中,而 3,5-*O*-二咖啡酰基奎宁酸因其亲水性较强,能很好地转移至煎液

中。且 3,5-*O*-二咖啡酰基奎宁酸的抗氧化活性及抑菌作用^[12-13]，可能是木香治疗胃肠疾病的药理活性成分，本次实验未对其展开研究，有待更深入的探究。本研究运用 3 种指纹图谱分析方法以及以 3,5-*O*-二咖啡酰基奎宁酸含量作为指标，较全面地评价了不同产地木香的质量，为木香的质量控制研究奠定基础。

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [2] 中国药典 [S]. 一部. 2005.
- [3] 张建春, 蔡雅明, 周德斌, 等. 木香的研究进展 [J]. 甘肃科技, 2010, 26(20): 170-173.
- [4] 杨 辉, 谢金伦, 孙汉董. 云木香化学成分及药理作用研究概况 [J]. 天然产物研究与开发, 1997, 10(2): 90-98.
- [5] Singh I P, Talwar K K, Arora J K, *et al.* A biologically active guaianolide from *Saussurea lappa* [J]. *Phytochemistry*, 1992, 31(7): 2529-2531.
- [6] Talwar K K, Singh I P, Kalsi P S. A sesquiterpenoid with plant growth regulatory activity from *Saussurea lappa* [J]. *Phytochemistry*, 1992, 31(1): 336-338.
- [7] 林明峡. 木香的药理及临床研究概况 [J]. 中医药信息, 2005, 22(3): 18-19.
- [8] 周玉新. 中药指纹图谱研究技术 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2002.
- [9] 吕露阳, 张吉仲, 张志锋, 等. 木香川木香药材 UPLC 特征指纹图谱建立及鉴别研究 [J]. 中国中药杂志, 2014, 39(14): 2699-2703.
- [10] 彭 亮, 杨冰月, 张 琳, 等. 野生与栽培远志 HPLC 指纹图谱及化学模式识别研究 [J]. 中草药, 2018, 49(21): 4998-5003.
- [11] 易跃能, 程雪梅, 刘令安, 等. 木香药材水提液的 HPLC 指纹图谱 [J]. 中国医药工业杂志, 2011, 42(12): 925-929.
- [12] 侯彩平, 韩利文, 张 凤, 等. 异绿原酸 A 的抗氧化活性研究 [J]. 食品工业科技, 2017, 38(12): 72-76.
- [13] 周志娥, 罗秋水, 熊建华, 等. 绿原酸、异绿原酸 A 对大肠杆菌的抑菌机制 [J]. 食品科技, 2014, 39(3): 228-232.