

基于 HPLC 多指标成分测定及指纹图谱多模式识别的不同产地不同品种当归质量差异分析

张明惠¹, 朱田田^{1,2,3*}, 晋玲^{1,2,3}, 王富胜⁴, 徐丽¹, 康舒淇¹

1. 甘肃中医药大学, 甘肃 兰州 730000

2. 西北中藏药省部共建协同创新中心, 甘肃 兰州 730000

3. 甘肃省珍稀中药资源评价与保护利用工程研究中心, 甘肃 兰州 730000

4. 定西市农业科学研究院, 甘肃 定西 743000

摘要: 目的 建立当归 *Angelicae sinensis* 的 HPLC 指纹图谱并测定其主要有效成分的含量, 结合多种化学计量学分析, 确定不同产地不同品种(岷归 1 号、岷归 2 号)当归差异成分, 为当归药材质量控制提供参考。方法 采用 HPLC 法建立不同品种当归的指纹图谱, 并对指标成分进行含量测定。采用相似度评价、聚类分析(cluster analysis, CA)、因子分析、主成分分析(principal component analysis, PCA)、正交偏最小二乘法判别分析(orthogonal partial least squares discriminant analysis, OPLS-DA)、Fisher 线性判别分析进行数据分析。结果 HPLC 指纹图谱共标定了不同品种当归中的 16 个共有峰, 指认出绿原酸、阿魏酸、洋川芎内酯 I、洋川芎内酯 H、洋川芎内酯 A、阿魏酸松柏酯、藁本内酯、丁烯基苯酞 8 个色谱峰。岷县产区当归的 2 个品种当归间存在差异的成分是绿原酸($P < 0.01$)、洋川芎内酯 I($P < 0.01$)、洋川芎内酯 H($P < 0.01$)、藁本内酯($P < 0.01$)和丁烯基苯酞($P < 0.05$), 渭源产区的是洋川芎内酯 I($P < 0.01$)、洋川芎内酯 H($P < 0.01$)、洋川芎内酯 A($P < 0.01$)、藁本内酯($P < 0.01$); 临洮产区的是绿原酸($P < 0.01$)、阿魏酸($P < 0.01$)、阿魏酸松柏酯($P < 0.01$)、丁烯基苯酞($P < 0.05$); 通渭产区的是阿魏酸($P < 0.01$)、洋川芎内酯 H($P < 0.05$)、洋川芎内酯 A($P < 0.05$)、藁本内酯($P < 0.01$)。结论 建立的 HPLC 指纹图谱结合含量测定、CA、因子分析、PCA、OPLS-DA 分析可以客观、全面、有效地确定不同产地不同品种当归中主要有效成分的差异, 可为当归品种鉴别及质量控制提供有力支撑。

关键词: 当归; 品种差异; 绿原酸; 阿魏酸; 洋川芎内酯 I; 洋川芎内酯 H; 洋川芎内酯 A; 阿魏酸松柏酯; 藁本内酯; 丁烯基苯酞; HPLC 指纹图谱; 化学模式识别

中图分类号: R286.12 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2022)19-6187-13

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2022.19.025

Quality differences of different origins and varieties of *Angelicae sinensis* based on HPLC multi-index composition determination and multi-pattern recognition method of fingerprint

ZHANG Ming-hui¹, ZHU Tian-tian^{1,2,3}, JIN Ling^{1,2,3}, WANG Fu-sheng⁴, XU Li¹, KANG Shu-qi¹

1. Gansu University of Traditional Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China

2. Northwest Collaborative Innovation Center for Traditional Chinese Medicine Co-constructed by Gansu Province & MOE of PRC, Lanzhou 730000, China

3. Engineering Research Center for Evaluation, Protection, and Utilization of Rare Traditional Chinese Medicine Resources, Gansu Province, Lanzhou 730000, China

4. Dingxi Academy of Agricultural Sciences, Dingxi 743000, China

Abstract: Objective The HPLC fingerprint of *Angelicae sinensis* was established and the content of its main effective components was determined. Combined with a variety of stoichiometric analyses, the different components of different varieties (Mingui I and Mingui II) of *A. sinensis* were determined to provide a reference for its quality control. **Methods** HPLC method was used to establish the fingerprint of different

收稿日期: 2022-02-03

基金项目: 甘肃省科技厅创新基地和人才计划项目(20JR5RA182); 道地药材生态种植及质量保障项目项目(国中医药科技[2020]153号); 甘肃省教育厅“双一流”科研重点项目(GSSYLXM-05); 甘肃中医药大学科学研究与创新基金项目(2021KCZD-4); 西北中藏药省部共建协同创新中心开放基金资助项目(Xbzzy202207)

作者简介: 张明惠(1995—), 女, 硕士研究生, 主要从事中药资源保护、评价与可持续利用研究。Tel: 17367721554 E-mail: 2244670610@qq.com

***通信作者:** 朱田田, 副教授, 硕士生导师, 主要从事中药资源评价与分子生药学研究。Tel: (0931)5161169 E-mail: ztt0935@163.com

varieties of *A. sinensis* and determine the content of index components. The data were analyzed by similarity evaluation combined with cluster analysis (CA), factor analysis, principal component analysis (PCA), orthogonal partial least squares discriminant analysis (OPLS-DA), Fisher linear discriminant (FLDA). **Results** A total of 16 common peaks in *A. sinensis* from different origins were calibrated by HPLC fingerprint. Eight chromatographic peaks of chlorogenic acid, ferulic acid, senkyunolide I, senkyunolide H, senkyunolide A, coniferyl ferulate, ligustilide, and butenyl phthalide were identified. The differences between the two varieties of *A. sinensis* in the Min County were chlorogenic acid ($P < 0.01$), senkyunolide I ($P < 0.01$), senkyunolide H ($P < 0.01$), ligustilide ($P < 0.01$) and butenyl phthalide ($P < 0.01$), in Weiyuan, were senkyunolide I ($P < 0.01$), senkyunolide H ($P < 0.01$), senkyunolide A ($P < 0.01$), ligustilide ($P < 0.01$); In Lintao were chlorogenic acid ($P < 0.01$), ferulic acid ($P < 0.01$), coniferyl ferulate ($P < 0.01$), butenyl phthalide ($P < 0.05$); In Tongwei were ferulic acid ($P < 0.01$), senkyunolide H ($P < 0.05$), senkyunolide A ($P < 0.05$), and ligustilide ($P < 0.01$). **Conclusion** The established HPLC fingerprint combined with content determination, CA, factor analysis, PCA, OPLS-DA can objectively, comprehensively, and effectively determine the differences of main effective components in different varieties of *A. sinensis*, and it can provide strong support for the variety identification and quality control of *A. sinensis*.

Key words: *Angelicae sinensis* (Oliv.) Diels; variety differences; HPLC fingerprint; chlorogenic acid; ferulic acid; senkyunolide I; senkyunolide H; senkyunolide A; coniferyl ferulate; ligustilide; butenyl phthalide; chemical pattern recognition

当归 *Angelicae sinensis* (Oliv.) Diels 为“妇科圣药”，具有补血活血、调经止痛、润肠通便之功效^[1]，主要含有苯酞类、单萜和倍半萜类、芳香类化合物、脂肪烃及其衍生物、多糖、有机酸及其他类化学成分，具有抗炎、抗肿瘤、抗抑郁、增强心脑血管、糖尿病防治、保肝及其他作用^[2-6]。甘肃省为当归的道地产区，种植历史悠久。目前，甘肃省已选育出 6 个当归品种，为“岷归 1 号”~“岷归 6 号”，其中“岷归 1 号”叶深绿色、叶柄和茎淡紫色，“岷归 2 号”叶柄、叶脉和茎均为绿色^[7]。

当归是典型的生境主导型药材，其品质受产区生态环境影响显著^[8]，在甘肃定西市，品种来源相同的当归因栽培环境不同，药材品质也存在差别^[9]。但品种差异对药材的质量影响研究还不够深入。王明伟等^[10]以漳县地区不同栽培品种（品系）当归、引种朝鲜当归及不同产地的当归药材为研究对象，测定其浸出物、挥发油、阿魏酸、丁烯基苯酞、藁本内酯、欧当归内酯 A、多糖、总黄酮含量，借助 TOPSIS 法，建立构建评价当归药材质量的熵权 TOPSIS 模型；荔淑楠等^[11]采用 UPLC-Q-TOF-MS 技术对同一产地、同期采收的 5 个当归品种进行了代谢组学分析。而中药指纹图谱中潜藏着大量反映中药内在化学物质信息的数据和变量，对其挖掘和评价尤为关键^[12]。近年来，有文献对当归饮片^[13]、标准汤剂^[14]、不同药用部位^[15]、不同炮制品^[16]、不同产区^[17]等进行指纹图谱研究并结合含量测定评价样品质量，但对不同产地不同品种当归的质量特征研究未见报道。本研究以茎叶色差异最大的“岷归 2 号”与目前种植面积最大的“岷归 1 号”为研究对象，收集了 4 个产区且尽可能消

除了生态环境影响的当归样本，建立了不同品种当归药材的指纹图谱，定量分析了多个成分，从化学成分角度阐明不同产地不同品种当归药材的质量特征，为不同产地不同品种当归药材质量标准的建立提供参考。

1 材料与仪器

1.1 材料

样品来源于甘肃省 4 个产区的“岷归 1 号”（M1）和“岷归 2 号”（M2），每个产区的 2 个品种当归生境类似，栽培方式、生长年限相同。采用五点取样法在各样地采收当归样品，每产区每品种均随机选取 100 株，每 10 株为一个批次，共计 80 批次。采集后的样品贮存方式相同。经甘肃中医药大学中药资源教研室晋玲教授鉴定为伞形科植物当归 *A. sinensis* (Oliv.) Diels 的干燥根（表 1）。

1.2 试剂

对照品绿原酸（批号 A22GB158496）、阿魏酸（批号 G13S11L124423）、洋川芎内酯 I（批号 G27A11L122339）、洋川芎内酯 H（批号 S25GB162334）、洋川芎内酯 A（批号 A05GB157054）、阿魏酸松柏酯（批号 J29GB156316）、藁本内酯（批号 A26GB158725）、丁烯基苯酞（批号 Y21J10W88899）均购至上海源叶生物科技有限公司，质量分数均不低于 98%；冰醋酸（色谱纯，天津市大茂化学试剂厂，批号 20180917）；甲醇（色谱纯，默克股份两合公司，批号 I1147507117）；屈臣氏饮用水。

1.3 仪器

PL-S60 型超声波清洗仪（康士洁）；EX224ZH 型电子天平[奥豪斯仪器（常州）有限公司]；KC-08

表 1 80 批次当归药材样品的基本信息

Table 1 Detailed information of 80 batches of *A. sinensis* samples

编号	产区	品种名	生长年限/年	采收时间	采样点海拔/m	纬度 (N)	经度 (E)
M-M1-1~M-M1-10	甘肃省定西市岷县 (M)	岷归 1 号 (M1)	2	2020-10	2691	34°29'31"	104°11'17"
M-M2-11~M-M2-20	甘肃省定西市岷县 (M)	岷归 2 号 (M2)	2	2020-10	2691	34°29'31"	104°11'17"
W-M1-1~W-M1-10	甘肃省定西市渭源县 (W)	岷归 1 号 (M1)	2	2020-10	2507	35°2'39"	104°1'5"
W-M2-11~W-M2-20	甘肃省定西市渭源县 (W)	岷归 2 号 (M2)	2	2020-10	2507	35°2'39"	104°1'5"
L-M1-1~L-M1-10	甘肃省定西市临洮县 (L)	岷归 1 号 (M1)	2	2021-10	2552	35°37'2"	104°7'34"
L-M2-11~L-M2-20	甘肃省定西市临洮县 (L)	岷归 2 号 (M2)	2	2021-10	2552	35°37'2"	104°7'34"
T-M1-1~T-M1-10	甘肃省定西市通渭县 (T)	岷归 1 号 (M1)	2	2021-10	1970	35°24'2"	105°1'21"
T-M2-11~T-M2-20	甘肃省定西市通渭县 (T)	岷归 2 号 (M2)	2	2021-10	1970	35°24'2"	105°1'21"

型粉碎机 (北京开创同和科技发展有限公司); LC-2040C 3D 高效液相色谱仪 (DAD 检测器) (日本岛津公司); Shim-pack GIST-C₁₈ (50 mm×2.1 mm, 2 μm) 色谱柱 (日本岛津公司)。

2 方法

2.1 混合对照品溶液的制备

取对照品绿原酸、阿魏酸、洋川芎内酯 I、洋川芎内酯 H、洋川芎内酯 A、阿魏酸松柏酯、藁本内酯、丁烯基苯酞适量,精密称定,加入甲醇配制成质量浓度分别为 0.54、0.56、0.30、0.23、0.84、0.25、1.14、1.05 mg/mL 的混合对照品溶液,保存于冰箱备用。

2.2 供试品溶液的制备

称取当归样品粉末 4.0 g,置于 50 mL 棕色量瓶中,加入 40 mL 甲醇,称定质量;量瓶置于烧杯中,超声 45 min,取出后放凉至室温,再次称定质量,用甲醇补足失重,摇匀滤过,取续滤液进高效液相进行分析。

2.3 色谱条件

色谱条件参考徐小琼等^[8]的研究,经预实验后,得出本实验的最佳色谱条件。色谱柱为 Shim-pack GIST-C₁₈ (50 mm×2.1 mm, 2 μm) 流动相为 1%冰醋酸溶液 (A)-甲醇 (B),体积流量 0.1 mL/min;梯度洗脱,0~3 min, 5%~18% B; 3~4.5 min, 18%~35% B; 4.5~7 min, 35%~55% B; 7~13 min, 55%~70% B; 13~18 min, 70%~80% B; 18~23 min, 80% B, 23~25 min, 80%~100% B; 25~28 min, 100%~5%B; 28~35 min, 5%B;检测波长 270 nm;柱温 30 ℃;进样量 5 μL。

2.4 “岷归 1 号”与“岷归 2 号”样品 HPLC 指纹图谱研究

2.4.1 精密度试验

称取编号为 M-M2-12 的当归样品粉末 4.0 g,按“2.2”项下条件制备供试品溶液,按“2.3”项分析,连续进样 6 次,分别计算各共有峰的保留时间与峰面积。结果表明各共有峰保留时间的 RSD<0.31%,各共有峰峰面积的 RSD<1.5%,表明仪器精密度良好。

2.4.2 重复性试验 称取编号为 M-M2-12 的当归样品粉末 4.0 g,平行 6 份,按“2.2”项下条件制备供试品溶液,按“2.3”项分析,分别计算各共有峰的保留时间与峰面积,结果表明各共有峰的保留时间的 RSD<1.0%,各共有峰的峰面积的 RSD<2%。表明本方法重复性良好。

2.4.3 稳定性试验 称取编号为 M-M2-12 的当归样品粉末 4.0 g,按“2.2”项下条件制备供试品溶液,分别于 0、2、4、8、16、24 h 进样,按“2.3”项分析,计算各共有峰的保留时间及峰面积。结果各共有峰的保留时间的 RSD<0.30%,各共有峰的峰面积的 RSD<2.0%。表明供试品在 24 h 内稳定。

2.4.4 指纹图谱的建立及化学计量学分析 分别称取 80 批当归样品粉末各 4.0 g,按“2.2”项下条件制备成当归供试品溶液,按“2.3”项分析。将所得的样品数据全谱按产区差异分 4 次导入国家药典委员会组织定型的《中药色谱指纹图谱相似度评价系统 (2012 版)》软件中,采用中位数法,时间窗口设定为 0.5 min,分别选取 M-M1-1、W-M1-1、T-M1-1、L-M1-1 作为参照图谱 (R),生成当归药材中药指纹图谱,并进行相似度计算。将得到的 16 个共有峰的峰面积导入 SPSS (25.0 版本) 进行聚类分析 (cluster analysis, CA)、因子分析、Fisher 线性判别 (fisher linear discrimination analysis, FLDA),使用 SIMCA 14.1 进行主成分分析 (principal component analysis, PCA)、正交偏最小二乘法

判别分析 (orthogonal partial least squares discriminant analysis, OPLS-DA), 进行自动拟合求解。使用 Prism GraphPad 8.0 作图。

2.5 指标成分含量测定

2.5.1 线性关系 将“2.1”项下配制好的混合对照品溶液, 分别精密移取 1、2、3 mL 于 10 mL 棕色量瓶, 定容, 摇匀, 同法再移取后 2 份稀释后的对照品溶液各 3 mL 再次稀释, 最终配制成 6 份不同浓度的混合对照品溶液。按“2.3”项分析, 以对照品质量浓度为横坐标 (X), 各对照品峰面积为纵坐标 (Y) 绘制标准曲线, 计算回归方程及相关系数 (R^2), 结果见表 2, 各成分在浓度范围内线性关系良好。

表 2 标准曲线回归方程

Table 2 Regression equation of standard curve			
对照品	标准曲线	R^2	线性范围/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)
绿原酸	$Y=3\times 10^7 X+31\ 101$	0.999 8	9.72~540.00
阿魏酸	$Y=1\times 10^8 X-232\ 606$	0.999 6	10.8~560.00
洋川芎内酯 I	$Y=2\times 10^8 X+1\ 000\ 000$	0.998 9	5.4~300.0
洋川芎内酯 H	$Y=2\times 10^8 X+681\ 849$	0.999 1	4.14~230.00
洋川芎内酯 A	$Y=2\times 10^7 X+134\ 633$	0.998 6	15.12~840.00
阿魏酸松柏酯	$Y=2\times 10^8 X-175\ 965$	1.000 0	4.5~250.0
藁本内酯	$Y=5\times 10^7 X+298\ 780$	1.000 0	20.52~1 140.00
丁烯基苯酞	$Y=8\times 10^7 X+1\ 000\ 000$	0.999 7	18.90~1 050.00

2.5.2 精密度试验 称取编号为 M-M2-12 的当归样品粉末 4.0 g, 按“2.2”项下条件制备供试品溶液, 按“2.3”项分析, 连续进样 6 次, 分别计算各共有峰的保留时间与峰面积。结果表明绿原酸、阿魏酸、洋川芎内酯 I、洋川芎内酯 H、洋川芎内酯 A、阿魏酸松柏酯、藁本内酯、丁烯基苯酞 RSD 依次为 1.1%、0.54%、1.0%、0.35%、1.5%、0.88%、0.83%、0.47%。表明仪器精密度良好。

2.5.3 重复性试验 称取编号为 M-M2-12 的当归样品粉末 4.0 g, 平行 6 份, 按“2.2”项下条件制备供试品溶液, 按“2.3”项分析, 分别计算各共有峰的保留时间与峰面积, 结果表明各共有峰的保留时间的 RSD<1.0%, 各共有峰的峰面积的 RSD<1.2%。表明本方法重复性良好。

2.5.4 稳定性试验 称取编号为 M-M2-12 的当归样品粉末 4.0 g, 按“2.2”项下条件制备供试品溶液, 分别于 0、2、4、8、12、24 h 进样, 按“2.3”项分析, 计算各共有峰的保留时间及峰

面积。结果各共有峰的保留时间的 RSD<1.8%, 各共有峰的峰面积的 RSD<2.0%。表明供试品在 24 h 内稳定。

2.5.5 加样回收率试验 称取编号为 M-M2-12 的当归样品粉末 4.0 g, 共计 6 份, 以近 1:1 的比例加入相应化学成分的对照品, 按“2.2”项下条件制备供试品溶液, 按“2.3”项分析, 分别记录各共有峰的保留时间与峰面积, 计算各成分的加标回收率和 RSD 值。绿原酸、阿魏酸、洋川芎内酯 I、洋川芎内酯 H、洋川芎内酯 A、阿魏酸松柏酯、藁本内酯、丁烯基苯酞的平均加样回收率分别为 99.1%、100.9%、102.2%、95.4%、99.2%、102.4%、100.1%、98.4%; RSD 值分别为 1.5%、1.5%、2.8%、1.8%、2.3%、3.0%、1.7%、1.8%。

2.5.6 样品测定 按“2.2”项下条件制备供试品溶液, 每个样品平行制备 2 份, 按“2.3”项分析, 记录峰面积, 按标准曲线计算各待测成分的含量。

3 结果与分析

3.1 HPLC 指纹图谱的建立

将 80 批次样品色谱数据按样品产区差异分 4 批导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”, 建立 80 批样品的 HPLC 指纹图谱 (图 1), 分别选取 M-M1-1、W-M1-1、T-M1-1、L-M1-1 作为参照图谱 (R), 时间窗口设定为 0.5 min, 以中位数法建立对照图谱, 共得到稳定性较好的 16 个色谱峰作为共有峰 (图 2, 以 M-M1-1 为例)。取当归样品溶液, 按“2.3”项分析, 通过与混合对照品溶液色谱图比对、查阅文献资料共指出 8 个色谱峰, 其中 2 号峰为绿原酸, 3 号峰为阿魏酸, 5 号峰为洋川芎内酯 I, 6 号峰为洋川芎内酯 H, 9 号峰为洋川芎内酯 A, 10 号峰为阿魏酸松柏酯, 12 号峰为藁本内酯, 13 号峰为丁烯基苯酞。

3.2 相似度评价

采用《中药色谱特征图谱相似度评价系统软件 (2012 版)》对 80 批次的当归药材色谱数据进行分析, 生成指纹图谱, 并计算得到相似度评价结果见表 3。结果表明, 4 个产区当归品种内和品种间相似度均值均在 0.9 以上, 其中渭源产区“岷归 2 号”种内的相似度均值 (0.979) 略低于当归品种间相似度均值 (0.983), 其他品种内相似度均值均高于相应的品种间相似度均值, 品种间相似度均值最高的是渭源产区 (0.983), 最低的是临洮产区 (0.960)。

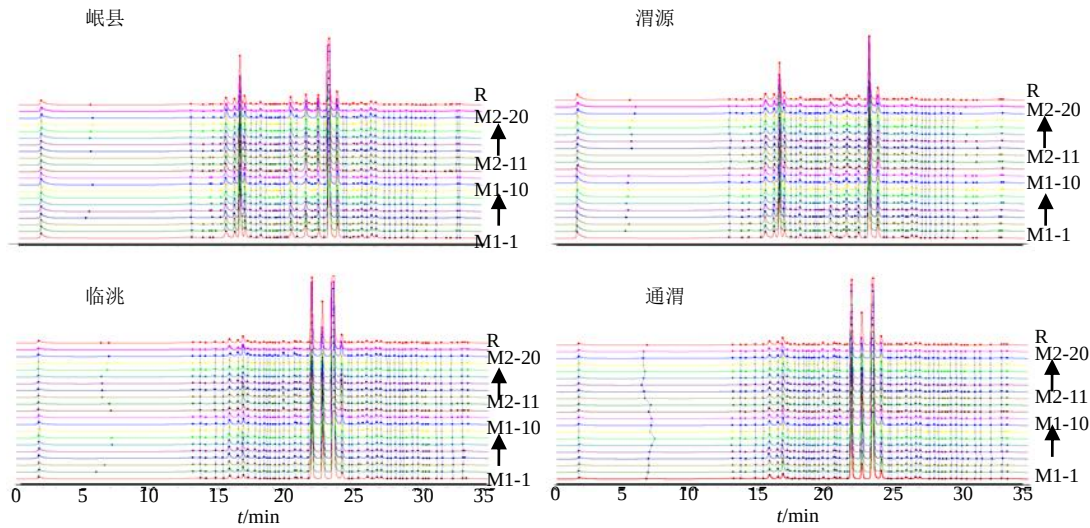


图 1 80 批次当归 HPLC 指纹图谱
Fig. 1 HPLC fingerprint of 80 batches of *A. sinensis*

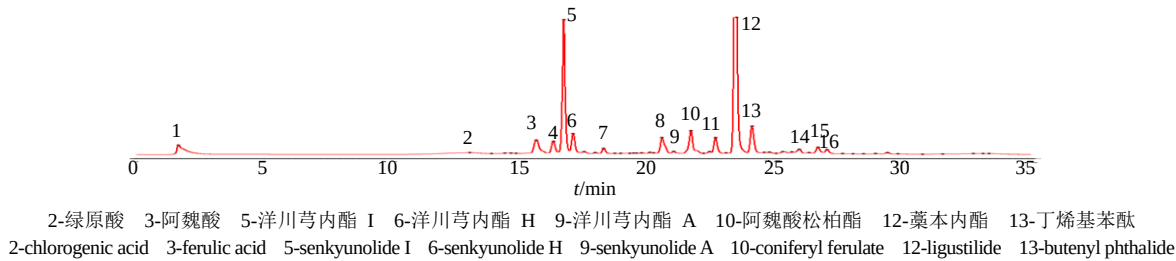


图 2 当归药材 HPLC 对照指纹图谱 (中位数法) 示例
Fig. 2 Reference HPLC fingerprint of *A. sinensis* (median method)

表 3 相似度评价结果

Table 3 Similarity evaluation results

产区	M1 品种内相似度	M1 品种内相似度平均值	M2 品种内相似度	M2 品种内相似度平均值	品种间相似度	品种间相似度平均值
岷县	0.969~0.999	0.991	0.982~1.000	0.995	0.903~0.996	0.962
渭源	0.992~0.999	0.996	0.939~0.997	0.979	0.945~0.996	0.983
临洮	0.985~0.999	0.995	0.953~1.000	0.990	0.939~0.982	0.960
通渭	0.948~1.000	0.986	0.948~1.000	0.990	0.927~0.997	0.975

3.3 “岷归 1 号”与“岷归 2 号”的化学模式识别

3.3.1 CA 使用 SPSS 25.0 版软件，以 4 个产区的 80 批当归指纹图谱的 16 个共有峰峰面积为变量，采用组间平均连接法，以欧氏距离平方作为样品的测度，对 80 批药材采用系统聚类分析法进行模式识别分析，探讨 4 个产区 2 个品种之间样品成分含量的一致性，结果见图 3。岷县产区的 CA 距离图显示，当距离刻度为 25 时，20 批当归样品基本按品种分为 2 类，其中岷县“岷归 1 号”的 3、4 号样品与“岷归 2 号”的 10 批样品聚为一类，剩余的 8 批“岷归 1 号”样品聚为一类。渭源产区的 CA 距离图显示，当距离刻度为 25 时，20 批当归样品同样基本按品种分为 2 类，其中“岷归 2 号”的 13、17 和 20 号样品与“岷归 1 号”的 10 批样品聚为一类，剩余的 7

批“岷归 2 号”样品聚为一类。临洮产区的 CA 距离图显示，当距离刻度为 25 时，20 批当归样品完全按品种分为 2 类。通渭产区的 CA 距离图显示，当距离刻度为 25 时，20 批当归样品同样基本按品种分为 2 类，其中“岷归 1 号”的 1、2 号样品与“岷归 2 号”的 10 批样品聚为一类，剩余的 8 批“岷归 1 号”样品聚为一类。

3.3.2 PCA 采用多元统计分析软件 SIMCA 14.1 对 16 个共有峰进行 PCA 分析，得分矩阵图（岷县 R^2_X 为 0.823，预测能力 (Q^2) 为 0.649；渭源 R^2_X 为 0.977， Q^2 为 0.684；临洮 R^2_X 为 0.993， Q^2 为 0.851；通渭 R^2_X 为 0.993， Q^2 为 0.857；）见图 4。整体上看，聚类并不明显，但可以看出聚类趋势是 80 批样品按品种沿 X 轴（渭源、临洮、通渭）或 Y 轴（岷县）聚为 2 类。

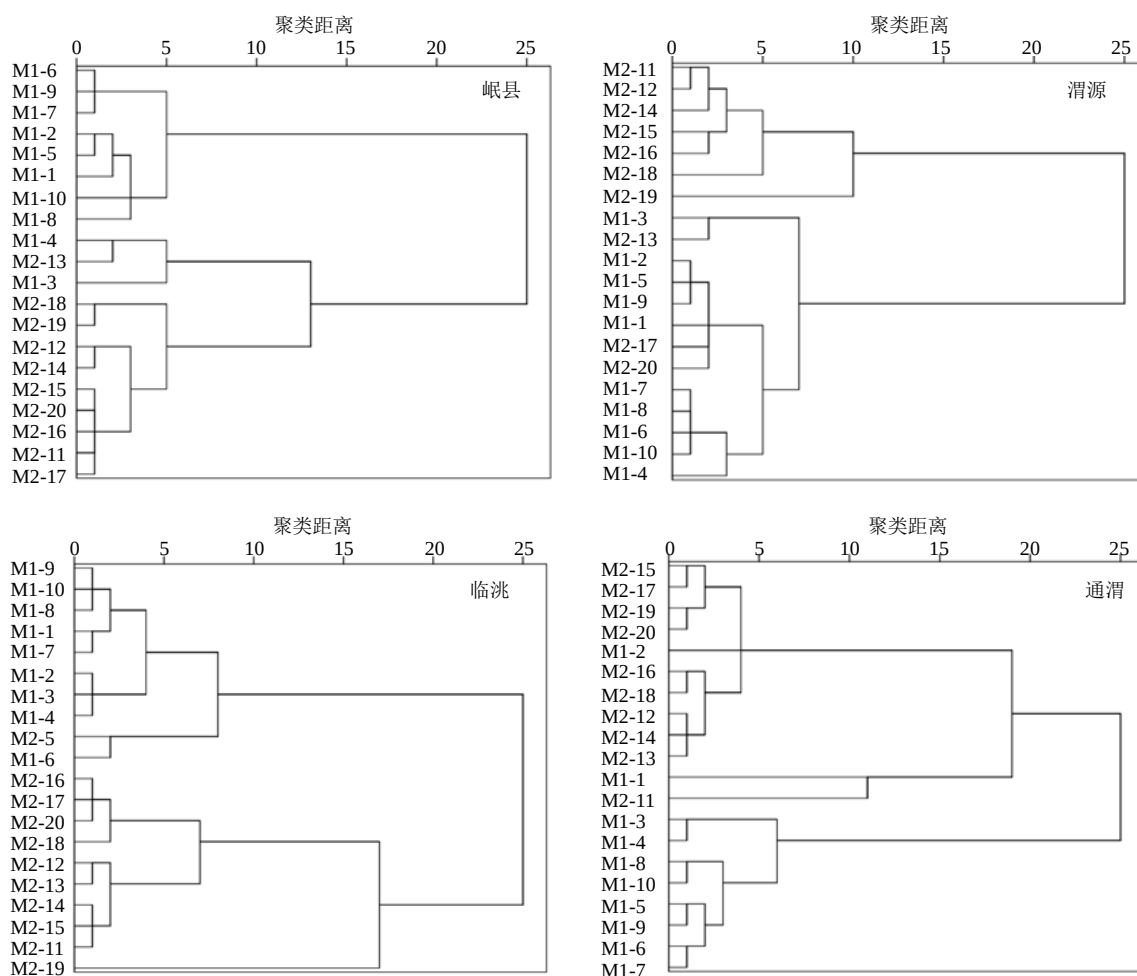


图 3 不同品种当归聚类分析树状图

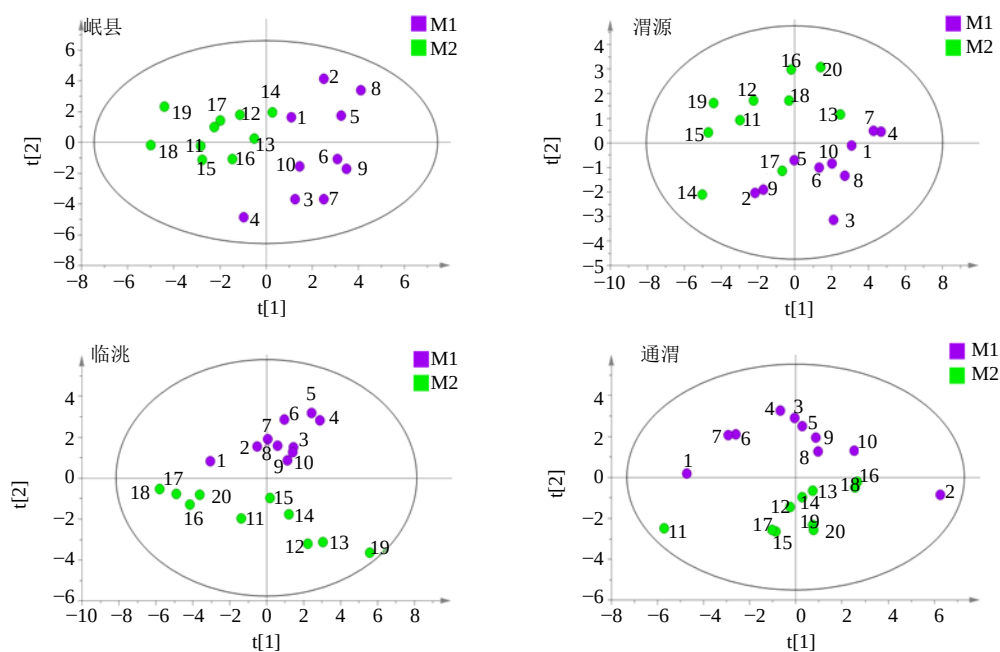
Fig. 3 Cluster analysis dendrogram of two varieties of *A. sinensis*

图 4 80 批次当归 PCA 分析

Fig. 4 Principal component analysis of 80 batches of *A. sinensis*

3.3.3 因子分析 通过 SPSS 25.0 版软件进行因子分析,使用主成分分析法,岷县提取了 2 个特征值大于 1 的主成分,渭源、临洮各提取了 3 个特征值大于 1 的主成分,通渭提取了 4 个特征值大于 1 的主成分。由当归药材指纹图谱共有峰特征值和累积方差贡献率表(表 4)可知,4 个产区特征值大于 1 的主成分的累积方差贡献率分别达到 82.334%、82.408%、91.818%、89.497%,说明这些主成分是反映 2 个当归品种差异的关键因素。

表 4 特征值和累积方差贡献率

Table 4 Eigenvalues and cumulative variance contribution rates

产区	主成分因子	特征值	方差贡献率/%	累积方差贡献率/%
岷县	1	7.383	46.144	46.144
	2	5.790	36.191	82.334
渭源	1	8.621	53.884	53.884
	2	3.004	18.775	72.659
	3	1.560	9.749	82.408
临洮	1	8.837	55.232	55.232
	2	4.444	27.774	83.006
	3	1.410	8.812	91.818
通渭	1	7.147	44.669	44.669
	2	4.051	25.322	69.991
	3	2.118	13.240	83.231
	4	1.003	6.266	89.497

采用最大方差法得到旋转后的成分矩阵,由矩阵(表 5)可知各个共有峰对特征值大于 1 的主成分的贡献率,岷县地区第 1 主成分主要代表了峰 2、峰 4~7、峰 13;第 2 主成分主要代表了峰 10~12、峰 14~16。渭源地区第 1 主成分主要代表了峰 3、峰 8、峰 10、峰 14~15;第 2 主成分主要代表了峰 1、峰 5、峰 6、峰 9、峰 11;第 3 主成分的信息主要来自峰 2、峰 7、峰 13。临洮地区第 1 主成分主要代表了峰 4~6、峰 9~10、峰 13~16;第 2 主成分主要代表了峰 1、峰 3、峰 7~8;第 3 主成分的信息主要来自峰 12。通渭地区第 1 主成分主要代表了峰 4~5、峰 7~8、峰 10、峰 13~14;第 2 主成分主要代表了峰 3、峰 11~12、峰 15~16;第 3 主成分主要代表了峰 1;第 4 主成分的信息主要来自峰 9。

3.3.4 OPLS-DA 以 80 批当归样品共有峰峰面积为变量,导入 SIMCA 14.1 软件进行 OPLS-DA 分析,得分矩阵图见图 5。各产区所建模型对 X 和 Y 矩阵的解释率(R^2_X 和 R^2_Y)及模型的 Q^2 见表 6,各模型的 R^2_X 、 R^2_Y 及 Q^2 值均大于 0.5;置换检验 200 次,结果如图 6。4 个模型均稳定可靠,可用于 2 个品种当归样品的分析。

由 OPLS-DA 得分图(图 5)可知,2 个品种当

表 5 旋转后的成分矩阵

Table 5 Loading factor of principal components

峰号	载荷(岷县)		峰号	载荷(渭源)			峰号	载荷(临洮)			峰号	载荷(通渭)			
	1	2		1	2	3		1	2	3		1	2	3	4
2	0.947	0.051	15	0.843	0.280	0.290	15	0.947	0.282	0.064	4	0.887	0.073	0.265	0.337
4	0.942	-0.004	14	0.842	0.336	0.305	14	0.903	0.315	0.130	7	0.881	0.22	0.325	0.139
6	0.931	-0.264	8	0.804	-0.045	0.301	16	0.883	0.355	0.183	14	0.869	0.297	-0.243	0.168
5	0.925	-0.259	10	0.792	0.213	0.075	9	0.862	0.420	-0.219	5	0.866	-0.299	0.257	0.242
7	0.915	0.195	3	0.778	0.203	0.184	6	0.828	0.171	-0.508	10	0.848	0.087	-0.345	0.062
13	0.818	0.203	16	0.681	0.630	0.225	10	0.786	-0.582	-0.055	13	0.830	-0.22	-0.390	0.129
1	0.582	-0.564	1	0.027	0.969	0.095	5	0.779	0.172	-0.554	8	0.778	0.061	0.338	0.299
14	0.067	0.966	9	-0.066	-0.850	0.368	4	0.778	0.436	-0.405	11	-0.035	0.924	0.113	-0.250
15	-0.223	0.952	5	0.301	0.820	0.254	13	0.777	-0.357	-0.404	12	-0.459	0.830	-0.204	-0.039
16	0.211	0.910	6	0.369	0.763	0.254	1	0.096	0.959	0.203	15	0.491	0.828	-0.190	0.083
10	-0.164	0.848	11	0.638	0.703	0.020	3	0.076	0.896	0.130	3	-0.050	0.816	0.283	-0.058
12	-0.653	0.714	12	0.625	0.626	-0.168	8	0.492	0.803	-0.081	16	0.556	0.766	-0.053	0.180
11	-0.678	0.700	7	0.139	0.075	0.925	7	0.589	0.747	-0.241	1	0.001	0.076	0.976	0.058
8	0.544	0.679	2	0.114	0.042	0.874	2	0.390	0.696	0.551	9	0.192	-0.139	0.053	0.865
3	0.561	0.624	13	0.443	-0.053	0.795	12	-0.222	0.093	0.774	6	0.457	-0.239	0.515	0.630
9	0.461	0.464	4	0.396	0.528	0.574	11	0.113	0.628	0.699	2	0.373	0.482	-0.173	0.554

2-绿原酸 3-阿魏酸 5-洋川芎内酯 I 6-洋川芎内酯 H 9-洋川芎内酯 A 10-阿魏酸松柏酯 12-藜本内酯 13-丁烯基苯酐

2-chlorogenic acid 3-ferulic acid 5-senkyunolide I 6-senkyunolide H 9-senkyunolide A 10-coniferyl ferulate 12-ligustilide 13-butenyl phthalide

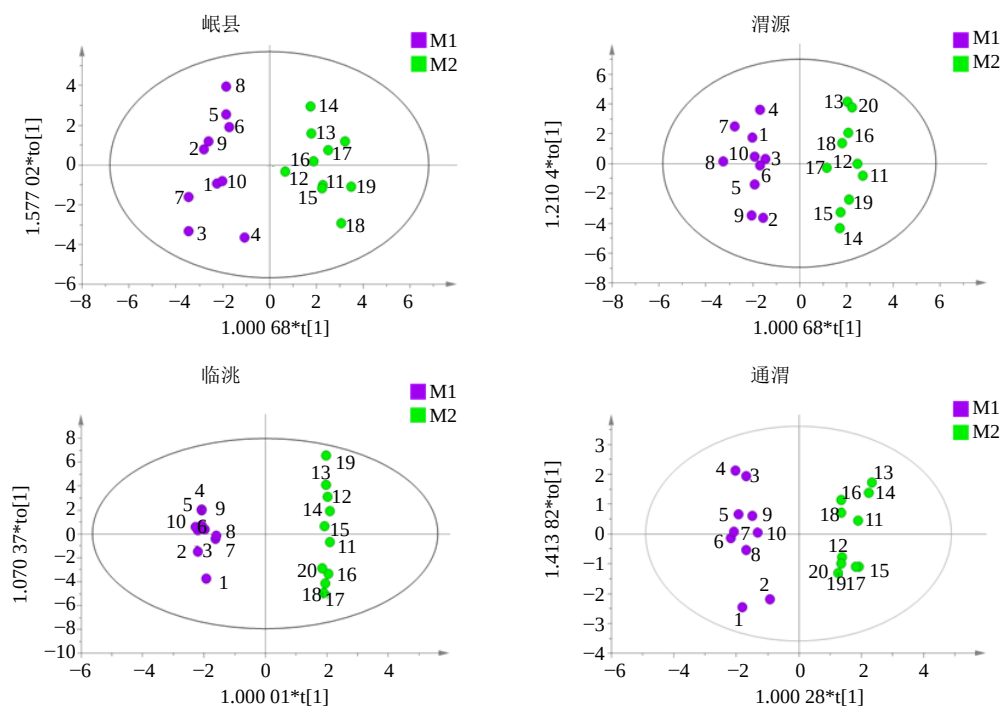


图 5 80 批当归 OPLS-DA 得分图

Fig. 5 OPLS-DA score plot of 80 batches of *A. sinensis*

表 6 4 个产区 OPLS-DA 模型的解释率及预测能力

Table 6 Interpretation rate and prediction ability of OPLS-DA model in four producing areas

产区	$R^2 X$	$R^2 Y$	Q^2
岷县	0.876	0.902	0.814
渭源	0.809	0.947	0.890
临洮	0.985	0.993	0.985
通渭	0.801	0.955	0.712

归可明显区分,与 PCA 结果一致,且组别间分离效果更加显著,进一步通过计算各个共有峰的变量重要性投影(variable importance in the projection, VIP)值(图 7),以 VIP 值大于 1 为标准,筛选可以作为品种间相互区分的差异性指标,结果显示岷县地区依次为峰 12、11、1、5、6、15、4、2;渭源地区依次为峰 1、9、11、16、5、6、12、4;临洮地区依次为峰 11、2、1、3、13;通渭地区依次为峰 11、12、15、16、6、5、3。

3.4 不同产区当归的化学成分含量测定及判别分析验证

3.4.1 当归中 8 个指标成分含量测定 当归中含有多种有效成分,通过查阅文献^[9,17]及筛选出的 VIP 值大于 1 的差异性指标确定了其中的 8 种成分作为鉴别“岷归 1 号”和“岷归 2 号”的指标成分,结果见表 7。由表可以看出不同品种当归中所选的 8 个指标成分含量存在差异。通过分析含量测定结果

柱形图(图 8),可以明确不同当归品种中差异显著的指标成分,如《中国药典》2020 年版中规定检测的阿魏酸含量在岷县和渭源地区 2 品种间无显著差异,而在临洮和通渭地区存在极显著和显著差异,且“岷归 1 号”均高于“岷归 2 号”。

3.4.2 FLDA 利用 SPSS 25.0 统计软件的 Fisher 线性判别分析验证所选的 8 个指标成分作为当归品种识别的适用性,对来自“岷归 1 号”和“岷归 2 号”的 80 批样本按品种进行分组建模,以绿原酸(a)、阿魏酸(b)、洋川芎内酯 I(c)、洋川芎内酯 H(d)、洋川芎内酯 A(e)、阿魏酸松柏酯(f)、藁本内酯(g)、丁烯基苯酞(h)作为判别变量,4 个产区分别各自建立 1 个判别函数(discriminant function, DF),且各判别函数的 Lambda 检验显著性 P 均小于 0.05(表 8)。

由样本自身验证及交叉验证结果,自身验证判别中只有渭源产区中“岷归 2 号”一个样本被误判为“岷归 1 号”,样本总正确判别率达 95%,其他 3 产区样本总正确判别率均为 100%;样本交叉验证结果中岷县产区中“岷归 1 号”中 2 个样本被误判为“岷归 2 号”,样本总正确判别率达 90%;渭源产区中“岷归 1 号”中 2 个样本被误判为“岷归 2 号”,“岷归 2 号”中 3 个样本被误判为“岷归 1 号”,样本总正确判别率达 75%;临洮地区样本

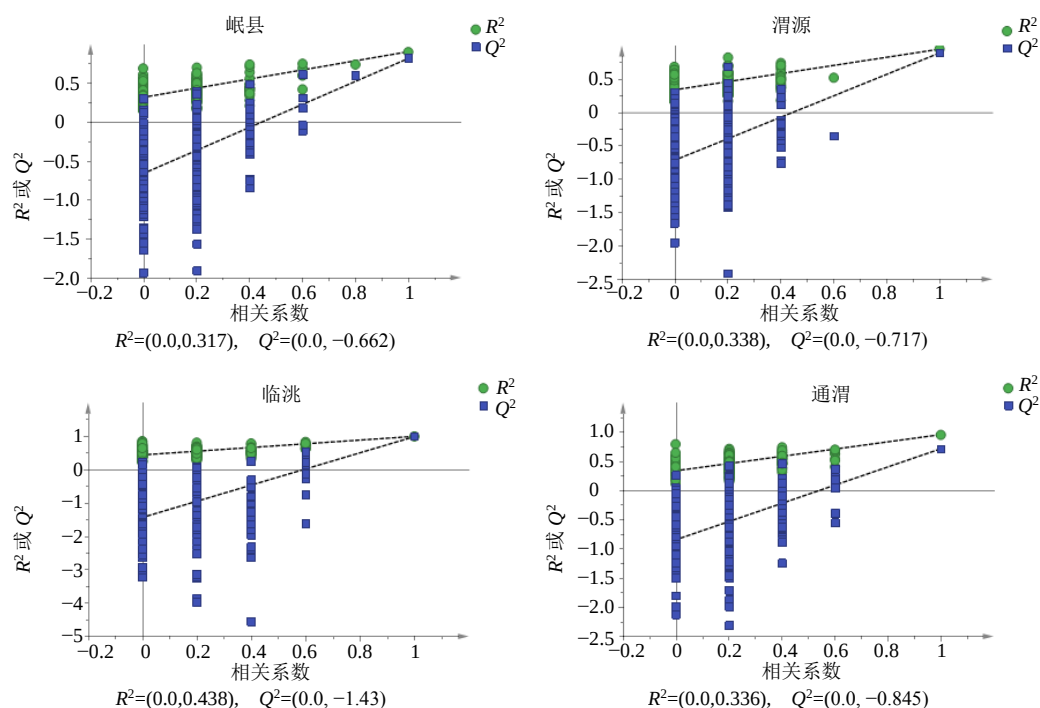
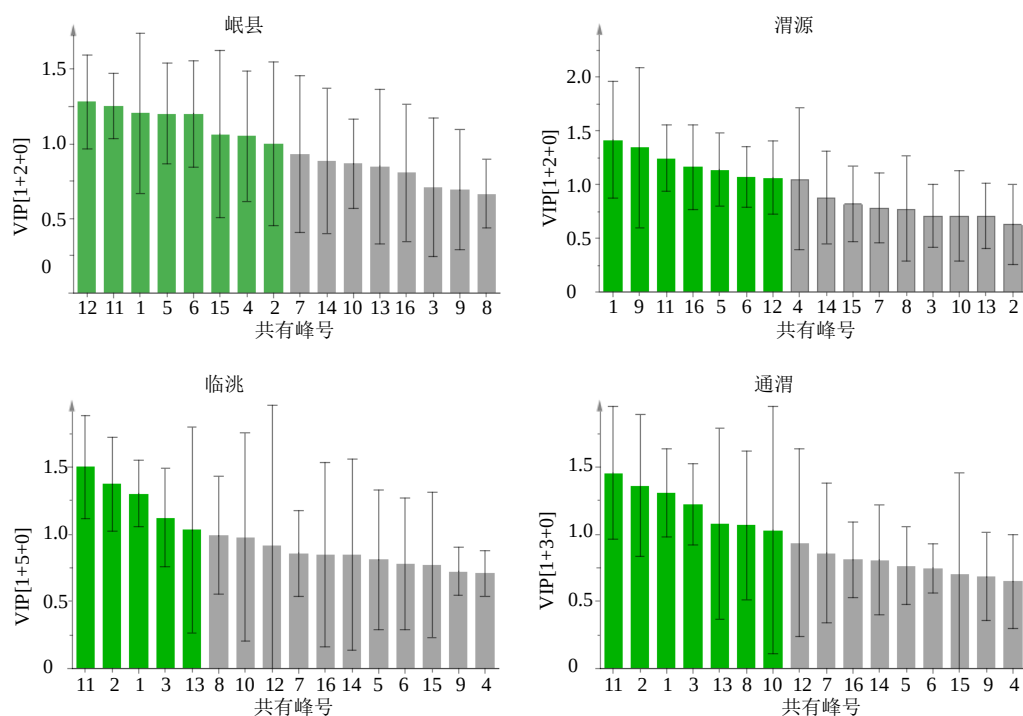


图 6 OPLS-DA 模型置换检验结果

Fig. 6 OPLS-DA model permutation test results



2-绿原酸 3-阿魏酸 5-洋川芎内酯 I 6-洋川芎内酯 H 9-洋川芎内酯 A 10-阿魏酸松柏酯 12-藜本内酯 13-丁烯基苯酐 绿色表示 VIP 值大于 1

2-chlorogenic acid 3-ferulic acid 5-senkyunolide I 6-senkyunolide H 9-senkyunolide A 10-coniferyl ferulate 12-ligustilide 13-butenyl phthalide the VIP value was highlighted in green if it was greater than one

图 7 OPLS-DA 的 VIP 值

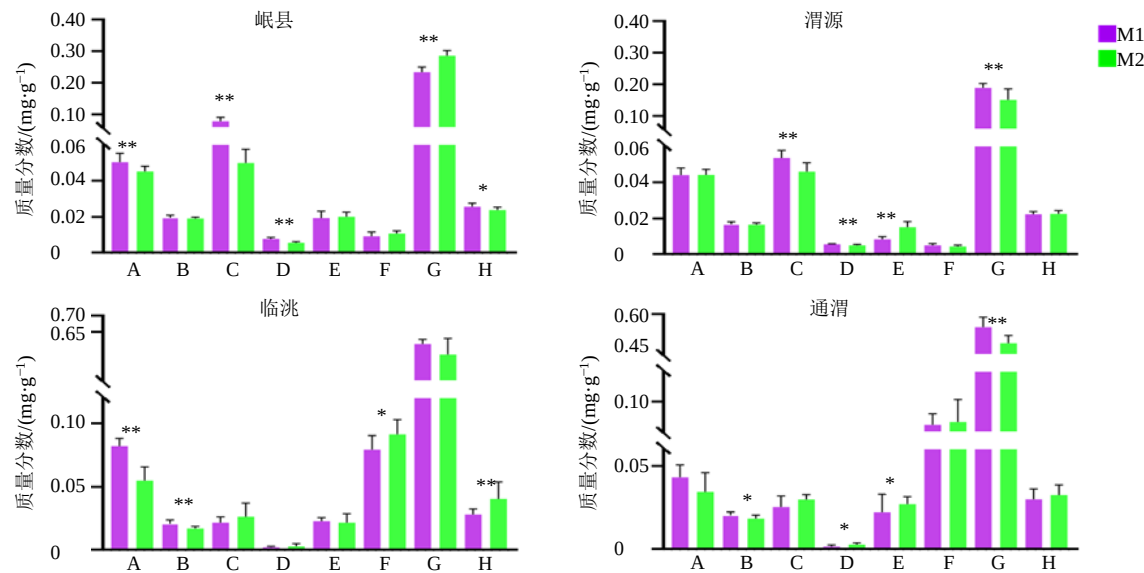
Fig. 7 VIP plot of OPLS-DA

表 7 当归中指标成分测定结果 ($n=2$)Table 7 Determination results of marker components in *A. sinensis* ($n=2$)

编号	质量分数/(mg·g ⁻¹)								编号	质量分数/(mg·g ⁻¹)							
	A	B	C	D	E	F	G	H		A	B	C	D	E	F	G	H
M-M1-1	0.049 0	0.021 0	0.077 0	0.007 5	0.017 4	0.011 9	0.254 1	0.026 0	L-M1-1	0.073 0	0.015 3	0.014 1	0.000 9	0.017 2	0.076 4	0.590 2	0.022 7
M-M1-2	0.052 4	0.022 1	0.086 2	0.008 1	0.019 9	0.013 4	0.250 6	0.027 6	L-M1-2	0.082 2	0.017 4	0.018 2	0.001 8	0.021 7	0.083 2	0.618 0	0.024 2
M-M1-3	0.045 1	0.017 9	0.056 1	0.006 1	0.017 1	0.009 0	0.219 1	0.026 1	L-M1-3	0.088 0	0.018 4	0.021 5	0.002 2	0.024 1	0.090 6	0.621 7	0.030 8
M-M1-4	0.041 2	0.017 6	0.059 2	0.006 5	0.012 9	0.007 9	0.243 8	0.022 1	L-M1-4	0.092 3	0.023 4	0.027 0	0.003 1	0.027 4	0.082 4	0.639 2	0.026 5
M-M1-5	0.053 1	0.020 3	0.085 8	0.008 1	0.026 2	0.011 2	0.247 7	0.027 8	L-M1-5	0.087 1	0.024 7	0.029 0	0.003 3	0.026 4	0.063 6	0.618 5	0.024 3
M-M1-6	0.051 8	0.018 2	0.088 1	0.008 1	0.022 0	0.007 1	0.222 1	0.027 0	L-M1-6	0.079 8	0.024 1	0.025 9	0.002 8	0.022 9	0.058 3	0.594 9	0.026 1
M-M1-7	0.050 3	0.018 4	0.084 4	0.008 1	0.016 4	0.007 2	0.204 7	0.023 0	L-M1-7	0.078 4	0.021 0	0.020 7	0.002 2	0.021 9	0.076 0	0.602 2	0.027 2
M-M1-8	0.059 1	0.020 3	0.092 8	0.009 0	0.023 5	0.010 2	0.238 0	0.026 7	L-M1-8	0.075 7	0.020 6	0.020 1	0.002 1	0.022 2	0.084 9	0.616 4	0.028 5
M-M1-9	0.053 4	0.018 7	0.086 4	0.008 1	0.020 6	0.006 5	0.219 3	0.026 3	L-M1-9	0.079 0	0.020 9	0.020 1	0.002 2	0.022 0	0.090 4	0.607 5	0.035 8
M-M1-10	0.049 1	0.020 1	0.078 8	0.007 3	0.017 5	0.008 1	0.235 3	0.024 0	L-M1-10	0.085 9	0.021 9	0.020 8	0.002 4	0.021 9	0.088 2	0.611 6	0.034 7
M-M2-11	0.045 5	0.019 7	0.044 1	0.005 1	0.019 0	0.010 6	0.289 5	0.024 1	L-M2-11	0.054 3	0.014 8	0.024 5	0.002 7	0.020 9	0.098 9	0.608 2	0.038 8
M-M2-12	0.048 7	0.020 1	0.058 8	0.006 4	0.016 1	0.011 4	0.276 5	0.024 2	L-M2-12	0.063 6	0.015 5	0.036 5	0.004 9	0.027 0	0.103 6	0.587 7	0.059 4
M-M2-13	0.049 0	0.019 1	0.055 3	0.006 1	0.021 7	0.009 0	0.253 0	0.023 7	L-M2-13	0.067 5	0.017 2	0.040 7	0.005 7	0.027 7	0.101 1	0.571 4	0.061 2
M-M2-14	0.048 0	0.019 6	0.061 4	0.006 4	0.023 8	0.009 9	0.273 3	0.026 6	L-M2-14	0.066 3	0.018 5	0.031 2	0.003 9	0.026 2	0.099 0	0.611 1	0.046 3
M-M2-15	0.042 3	0.018 7	0.049 0	0.005 4	0.019 4	0.010 6	0.284 5	0.021 5	L-M2-15	0.065 4	0.020 3	0.025 6	0.002 9	0.023 9	0.095 6	0.619 3	0.039 5
M-M2-16	0.043 6	0.018 2	0.053 3	0.005 9	0.019 6	0.009 0	0.285 6	0.023 8	L-M2-16	0.046 0	0.015 4	0.016 9	0.001 4	0.015 5	0.084 2	0.585 4	0.029 4
M-M2-17	0.046 5	0.019 1	0.049 5	0.005 6	0.021 2	0.011 1	0.299 0	0.025 7	L-M2-17	0.045 2	0.016 3	0.014 2	0.000 8	0.014 1	0.080 9	0.596 9	0.026 4
M-M2-18	0.041 1	0.017 8	0.038 7	0.004 5	0.016 2	0.012 1	0.298 3	0.021 6	L-M2-18	0.045 1	0.016 4	0.013 9	0.000 5	0.012 5	0.072 9	0.578 3	0.021 7
M-M2-19	0.041 8	0.019 5	0.040 1	0.004 5	0.021 5	0.013 9	0.309 1	0.024 5	L-M2-19	0.057 9	0.018 3	0.041 9	0.006 4	0.033 2	0.101 4	0.445 2	0.048 8
M-M2-20	0.045 7	0.019 1	0.049 8	0.005 7	0.022 3	0.009 9	0.290 4	0.023 1	L-M2-20	0.038 1	0.017 5	0.018 2	0.001 2	0.015 1	0.075 6	0.596 8	0.032 4
W-M1-1	0.042 2	0.017 4	0.053 2	0.005 7	0.008 1	0.006 3	0.181 7	0.022 8	T-M1-1	0.050 5	0.017 3	0.016 4	0.000 3	0.014 0	0.072 4	0.563 0	0.029 5
W-M1-2	0.040 1	0.015 4	0.049 8	0.005 3	0.011 9	0.003 7	0.168 1	0.020 3	T-M1-2	0.054 2	0.018 3	0.040 8	0.003 2	0.025 4	0.096 9	0.451 0	0.045 8
W-M1-3	0.037 6	0.018 3	0.050 6	0.005 5	0.006 3	0.005 9	0.210 1	0.019 8	T-M1-3	0.037 0	0.023 0	0.025 4	0.001 7	0.014 6	0.082 9	0.570 5	0.027 3
W-M1-4	0.050 3	0.019 3	0.060 8	0.006 0	0.007 9	0.006 3	0.184 7	0.023 3	T-M1-4	0.039 5	0.023 8	0.024 2	0.001 1	0.013 1	0.079 6	0.574 7	0.025 6
W-M1-5	0.041 6	0.015 4	0.050 6	0.005 4	0.009 6	0.005 2	0.173 0	0.022 7	T-M1-5	0.044 4	0.021 6	0.025 9	0.001 4	0.020 5	0.088 5	0.567 0	0.030 0
W-M1-6	0.043 9	0.016 5	0.056 7	0.005 7	0.009 0	0.004 3	0.204 9	0.023 5	T-M1-6	0.034 8	0.019 8	0.019 5	0.000 6	0.013 0	0.081 0	0.564 3	0.025 5
W-M1-7	0.049 7	0.017 4	0.055 4	0.005 8	0.008 5	0.005 0	0.200 6	0.024 0	T-M1-7	0.032 5	0.020 3	0.019 2	0.000 6	0.012 3	0.076 9	0.559 4	0.024 9
W-M1-8	0.047 4	0.016 8	0.053 2	0.005 6	0.007 3	0.005 5	0.197 5	0.021 8	T-M1-8	0.044 8	0.019 7	0.025 9	0.001 6	0.034 0	0.089 1	0.539 8	0.032 0
W-M1-9	0.043 0	0.015 2	0.047 6	0.005 0	0.007 5	0.003 6	0.177 6	0.021 0	T-M1-9	0.043 6	0.020 3	0.026 0	0.002 6	0.036 2	0.087 6	0.576 7	0.027 9
W-M1-10	0.044 3	0.016 0	0.058 2	0.005 9	0.008 0	0.004 1	0.192 4	0.023 8	T-M1-10	0.051 6	0.020 2	0.029 7	0.002 8	0.040 1	0.091 2	0.554 1	0.032 2
W-M2-11	0.045 1	0.016 5	0.043 0	0.004 7	0.014 2	0.004 7	0.154 6	0.022 0	T-M2-11	0.017 4	0.019 0	0.022 7	0.002 2	0.031 2	0.046 3	0.516 4	0.019 0
W-M2-12	0.045 7	0.016 3	0.042 4	0.004 7	0.014 6	0.004 8	0.148 1	0.022 5	T-M2-12	0.030 2	0.016 7	0.027 8	0.001 5	0.028 9	0.095 2	0.494 8	0.039 3
W-M2-13	0.043 5	0.017 3	0.048 7	0.005 3	0.014 6	0.005 9	0.216 3	0.024 2	T-M2-13	0.035 9	0.021 2	0.030 0	0.001 8	0.030 3	0.096 8	0.511 6	0.039 3
W-M2-14	0.036 6	0.015 8	0.043 0	0.004 7	0.011 8	0.003 6	0.141 5	0.019 1	T-M2-14	0.036 9	0.021 3	0.030 2	0.001 9	0.024 9	0.093 6	0.498 7	0.037 3
W-M2-15	0.044 3	0.014 7	0.040 9	0.004 3	0.013 0	0.004 3	0.125 2	0.021 2	T-M2-15	0.020 1	0.015 5	0.031 3	0.001 9	0.019 5	0.090 5	0.467 6	0.031 9
W-M2-16	0.045 0	0.016 3	0.045 6	0.005 0	0.018 4	0.004 5	0.130 5	0.025 2	T-M2-16	0.047 5	0.020 1	0.033 1	0.004 2	0.030 4	0.094 6	0.530 6	0.034 6
W-M2-17	0.042 0	0.017 1	0.054 5	0.005 9	0.010 3	0.003 5	0.185 1	0.022 2	T-M2-17	0.021 6	0.015 6	0.030 9	0.001 9	0.019 2	0.089 4	0.469 0	0.031 8
W-M2-18	0.047 4	0.017 5	0.053 9	0.005 8	0.017 9	0.004 2	0.128 3	0.023 0	T-M2-18	0.047 2	0.019 1	0.033 1	0.004 1	0.029 6	0.094 8	0.519 4	0.034 7
W-M2-19	0.045 1	0.015 4	0.041 2	0.004 7	0.017 9	0.003 3	0.099 6	0.021 3	T-M2-19	0.044 0	0.018 2	0.029 8	0.003 9	0.029 0	0.082 8	0.454 0	0.028 7
W-M2-20	0.047 4	0.017 8	0.046 3	0.005 1	0.019 3	0.004 6	0.184 4	0.024 9	T-M2-20	0.043 5	0.018 0	0.030 3	0.003 9	0.028 7	0.081 5	0.450 1	0.029 8

A-绿原酸 B-阿魏酸 C-洋川芎内酯 I D-洋川芎内酯 H E-洋川芎内酯 A F-阿魏酸松柏酯 G-藁本内酯 H-丁烯基苯酞

A-chlorogenic acid B-ferulic acid C-senkyunolide I D-senkyunolide H E-senkyunolide A F-coniferyl ferulate G-ligustilide H-butenyl phthalide



A-绿原酸 B-阿魏酸 C-洋川芎内酯 I D-洋川芎内酯 H E-洋川芎内酯 A F-阿魏酸松柏酯 G-藁本内酯 H-丁烯基苯酞 **P*<0.05 ***P*<0.01
A-chlorogenic acid B-ferulic acid C-senkyunolide I D-senkyunolide H E-senkyunolide A F-coniferyl ferulate G-ligustilide H-butenyl phthalide **P*<0.05 ***P*<0.01

图 8 HPLC 指纹图谱各指标成分含量测定柱形图

Fig. 8 Determination results of marker components of HPLC fingerprint from *A. sinensis*

表 8 4 个产区不同品种当归的判别函数

Table 8 Discriminant functions of different varieties of *A. sinensis* from four producing areas

产区	判别函数	组质心处的函数		Lambda 检验
		M1	M2	
岷县	DF=-19.16+326.72 a+319.85 b-178.08 c+260.48 d+141.47 e-484.65 f+64.43 g-303.14 h	-3.087	3.087	<i>P</i> <0.05
渭源	DF=4.05+111.39 a-1141.78 b+87.74 c+1766.47 d-215.11 e+868.91 f+9.95 g-310.55 h	1.919	-1.919	<i>P</i> <0.05
临洮	DF=-16.9-233.6 a+200.47 b+1 161.89 c-2 372.16 d-715.58 e+268.19 f+14.43 g-236.56 h	-4.955	4.955	<i>P</i> <0.05
通渭	DF=14.78-297.369 a+256.02 b-770.37 c+3 755.04 d-29.05 e+22.75f-24.23 g+522.46 h	-2.790	2.790	<i>P</i> <0.05

总正确判别率为 100%；通渭产区中“岷归 1 号”中 1 个样本被误判为“岷归 2 号”，“岷归 2 号”中 1 个样本被误判为“岷归 1 号”，样本总正确判别率达 90%。表明绿原酸、阿魏酸、洋川芎内酯 I、洋川芎内酯 H、洋川芎内酯 A、阿魏酸松柏酯、藁本内酯、丁烯基苯酞可以作为品种区分的指标成分。

4 讨论

4.1 指纹图谱及模式识别分析

本实验对于多批次当归药材指纹图谱的评价不仅仅局限于相似度评价，还采用了 CA、因子分析、PCA、OPLS-DA 分析，最后还利用 Fisher 线性判别分析验证所选的 8 个指标成分作为当归品种识别的适用性，更加全面客观地评价药材质量。

各产区 2 个品种内部和品种间的相似度均大于 0.9，说明当归药材的整体质量是相对稳定的，但是品种间相似度值普遍低于品种内部，这说明 2 品种之间还是存在差异；CA 聚类图也表明 2 品种存在差异，在距离刻度为 25 时，4 个产区的当归基本按品种分为了 2 类，这就说明了 2 品种是存在差异的，但也有少量样品未按品种聚类，这说明当归药材的整体质量是稳定的；PCA 得分图也反映了这种现象，在得分图中聚类不是特别明显，但可以看出趋势是按品种聚类。

根据因子分析和 OPLS-DA 分析中特征值或 VIP 值大于 1 筛选出“岷归 1 号”与“岷归 2 号”成分差异的主要影响因子。因子分子中采用最大方差法得到旋转后的成分矩阵，所选 16 个共有峰的

荷载值均较高;在 OPLS-DA 分析中 VIP 值大于 1 的成分有峰 1、峰 2(绿原酸)、峰 3(阿魏酸)、峰 4、峰 5(洋川芎内酯 I)、峰 6(洋川芎内酯 H)、峰 9(洋川芎内酯 A)、峰 11、峰 12(藁本内酯)、峰 13(丁烯基苯酐)、峰 15、峰 16。说明所选的 8 个有效成分均可以作为当归品种差异的指标成分。

4.2 多成分含量测定

目前甘肃省的主要栽培品种为“岷归 1 号”,而“岷归 2 号”近年来逐步开始推广种植,随着“岷归 2 号”种植面积不断增加,不同品种当归对市场流通的当归药材品质的影响将会逐步增加。所以,明确“岷归 1 号”与“岷归 2 号”的有效成分含量差异对当归质量评价、品种鉴别及指导临床应用药具有非常重要的作用。

本实验收集了 4 个产区的共 80 批的“岷归 1 号”与“岷归 2 号”的当归样品,所选样品的生长环境、栽培方式和存贮方式一致,尽量消除环境对测定结果的影响。测定结果经正态分布检验和方差齐性检验,选择适合的差异检验方法,对符合方差分析条件的数据进行了方差分析,剩余的数据采用独立样本 Mann-Whitney U 检验。2 个当归品种在 4 个产区中有 4~5 种成分的差异,各产区差异的成分不尽相同,通过 Fisher 线性判别分析,构建了各产区的当归品种判别函数,由样本自身验证及交叉验证结果,除渭源产区的样本交叉验证正确判别率略低(75%)外,其他验证的正确判别率均不低于 90%,说明所选的 8 种有效成分非常适合作为当归品种鉴别的指标成分,也可以为当归品种鉴别提供一些参考。

一个值得注意的问题是,在本实验的检测结果中,岷县和渭源产区当归的藁本内酯和阿魏酸松柏酯的含量较低,而在临洮和通渭产区的含量较高,其他学者的研究中也显示藁本内酯和阿魏酸松柏酯应该是在此 8 种有效成分含量较高的 2 种成分^[8, 16-17],推测主要原因是岷县渭源 2 产区的样品比临洮通渭 2 产区的样品存贮时间多了一年,而阿魏酸松柏酯性质很不稳定,在甲醇、强酸性、强碱性、光照及高温等环境下易转化为阿魏酸与松柏醇^[18],藁本内酯具有不稳定的苯酐结构,易发生氧化、脱氢、水解等或异构化为其他结构相似的苯酐类化合物。房鑫等^[19]报道藁本内酯室温放置 1 个月后采用色谱法测定转化物,基本全部转化为 14 个组分,其中主要包括 7'-羧基-芎藭呋内酯、欧

当归内酯 A、洋川芎内酯 I、Z-丁烯基苯酐和洋川芎内酯 A 等。本实验中岷县渭源产区中较高的洋川芎内酯 I 和洋川芎内酯 A 也符合推测。

本研究通过 HPLC 建立了 2 个品种当归的指纹图谱并同时测定其中 8 种成分的含量,结合多种模式识别分析,对“岷归 1 号”与“岷归 2 号”的质量差异做出了较为全面的分析,但还是存在很多不足之处:一是岷县渭源产区的样品与临洮通渭样品的存储时间不一致,如能保持一致,就能消除藁本内酯和阿魏酸松柏酯转化带来的影响;二是判别函数的验证,虽然经过了样本自身验证及交叉验证,但还需要收集更多的样本进行验证;三是所选的指标成分不够全面,本实验中选定的 8 种有效成分属于有机酸类和苯酐类成分,而当归中还有一类的重要的活性成分是多糖类^[20-21],后期课题组会不断完善,为当归质量评价提供更加全面的理论依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 139.
- [2] 冯慧敏, 李玥, 罗旭东, 等. 当归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]. 中华中医药学刊, 2022, 40(4): 159-166.
- [3] 宫文霞, 周玉枝, 李肖, 等. 当归抗抑郁化学成分及药理作用研究进展 [J]. 中草药, 2016, 47(21): 3905-3911.
- [4] Ma J C, Zhang H L, Huang H P, et al. Antidepressant-like effects of Z-ligustilide on chronic unpredictable mild stress-induced depression in rats [J]. *Exp Ther Med*, 2021, 22(1): 677.
- [5] Yang F, Lin Z W, Huang T Y, et al. Ligustilide, a major bioactive component of *Angelica sinensis*, promotes bone formation via the GPR30/EGFR pathway [J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 6991.
- [6] Zhong L J, Hua Y L, Ji P, et al. Evaluation of the anti-inflammatory effects of volatile oils from processed products of *Angelica Sinensis Radix* by GC-MS-based metabolomics [J]. *J Ethnopharmacol*, 2016, 191: 195-205.
- [7] 晋玲. 当归生产加工适宜技术 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2018: 6-10.
- [8] 徐小琼, 陈博, 张小波, 等. 甘肃各主产区当归 UPLC 多成分含量测定及评析 [J]. 天然产物研究与开发, 2020, 32(6): 1014-1022.
- [9] 徐小琼, 朱田田, 席少阳, 等. 道地产区当归药材品质区域划分 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(5): 132-139.

- [10] 王明伟, 李硕, 李敏, 等. 基于熵权 TOPSIS 模型对当归不同栽培品种 (品系) 药材质量的综合评价 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(5): 63-68.
- [11] 荔淑楠, 王引权, 王富胜, 等. 基于 UPLC-Q-TOF-MS 技术的不同品种当归代谢组学分析 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2020, 26(8): 138-147.
- [12] 李洋, 陈健, 张越, 等. 基于指纹图谱结合化学模式识别及多成分含量测定的白芍药材质量评价研究 [J]. 中草药, 2022, 53(1): 231-237.
- [13] 石海培, 包贝华, 黄胜良, 等. 当归饮片指纹图谱及模式识别研究 [J]. 时珍国医国药, 2019, 30(2): 364-368.
- [14] 陈健, 张越, 王洪兰, 等. 当归标准汤剂 HPLC 指纹图谱及多指标成分定量研究 [J]. 中草药, 2019, 50(20): 4942-4949.
- [15] 吴国霞, 杨秀娟, 邓毅, 等. 当归不同药用部位水煎液指纹图谱及成分分析 [J]. 中成药, 2018, 40(4): 890-894.
- [16] 严维花, 曹虹虹, 郭爽, 等. 当归不同炮制品的 UPLC 指纹图谱与多成分含量测定研究 [J]. 中国中药杂志, 2019, 44(12): 2499-2510.
- [17] 杨燕, 于春强, 郭子娴, 等. 基于 HPLC 指纹图谱及多指标成分定量分析的不同产地当归质量特征研究 [J]. 中草药, 2021, 52(15): 4666-4674.
- [18] Lu G H, Chan K, Leung K, *et al.* Assay of free ferulic acid and total ferulic acid for quality assessment of *Angelica sinensis* [J]. *J Chromatogr A*, 2005, 1068(2): 209-219.
- [19] 房鑫, 熊智, 林晓, 等. 藁本内酯的稳定性及其主要转化产物研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2014, 26(9): 1339-1344.
- [20] Liu W J, Xiao K M, Ren L, *et al.* Leukemia cells apoptosis by a newly discovered heterogeneous polysaccharide from *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels [J]. *Carbohydr Polym*, 2020, 241: 116279.
- [21] Zhang T, Liu W J, Fu Cheng Y, *et al.* Structures and anti-melanoma activities of two polysaccharides from *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels [J]. *Int J Biol Macromol*, 2021, 183: 972-981.

[责任编辑 时圣明]