

## 基于多成分定量及化学计量学的 4 种郁金特征性成分识别与质量评价

蓝振威<sup>1</sup>, 杨小露<sup>1</sup>, 孟江<sup>1\*</sup>, 季德<sup>2</sup>, 陆兔林<sup>2</sup>, 王淑美<sup>1</sup>

1. 广东药科大学中药学院, 国家中医药管理局中药数字化质量评价技术重点研究室, 广东高校(省)中药质量工程技术研究中心, 广东 广州 510006

2. 南京中医药大学药学院, 江苏 南京 210023

**摘要:** 目的 测定分别来自四川、浙江、广西 3 个产地的 4 种郁金共 20 批中的 12 种成分含量, 并评价其质量。方法 采用 HPLC 法测定 4 种郁金的化学成分谱, 并通过主成分分析法(principal component analysis, PCA)和正交偏最小二乘分析法(orthogonal partial least squares-discriminate analysis, OPLS-DA)进行分析, 识别 4 种郁金的特征成分, 建立综合评价模式。结果 4 种郁金的化学成分谱各具特征, 通过 PCA 得到 3 个新变量累计方差贡献率达 90.476%, 在组间差异成份的基础上采用因子得分表达式综合评价郁金质量: 黄丝郁金>温郁金>绿丝郁金>桂郁金, 并根据郁金主要药理作用相关的化合物评价 4 种郁金, 验证了评价模型的有效性。通过 OPLS-DA 模型的变量重要性投影(variable importance projection, VIP)值确定莪术二酮、吉马酮为种间差异的关键化合物, 并应用模型的回归系数识别了 4 种郁金各自的特征性成分。结论 建立的郁金多成分测定方法线性关系良好、稳定可靠, 通过化学计量学方法可以更全面、准确地评价郁金种间的优劣, 识别各自的特征性成分, 为郁金资源的合理应用和质量评价提供了理论与方向。

**关键词:** 化学计量学; 郁金; 主成分分析; 正交偏最小二乘分析法; 质量评价; 莪术二酮; 吉马酮

中图分类号: R286.2 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2024)02-0622-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2024.02.028

## Identification of characteristic components and quality evaluation of four kinds of *Curcumae Radix* based on multi-component quantification and chemometrics

LAN Zhenwei<sup>1</sup>, YANG Xiaolu<sup>1</sup>, MENG Jiang<sup>1</sup>, JI De<sup>2</sup>, LU Tulin<sup>2</sup>, WANG Shumei<sup>1</sup>

1. Engineering Technology Research Center for Chinese Materia Medica Quality of Universities in Guangdong Province, Key Laboratory of Digital Quality Evaluation of Chinese Materia Medica, National Administration of Traditional Chinese Medicine, School of Traditional Chinese Medicine, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China

2. School of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China

**Abstract: Objective** To determine the contents of 12 components in 20 batches of four kinds of Yujin (*Curcumae Radix*) from Sichuan, Zhejiang and Guangxi, and evaluate their quality. **Methods** The chemical component spectra of *Curcumae Radix* were determined by HPLC, a comprehensive evaluation model and the characteristic components of four kinds of *Curcumae Radix* were established and identified by principal component analysis (PCA) and orthogonal partial least squares discrimination analysis (OPLS-DA). **Results** The chemical composition spectrum of four kinds of *Curcumae Radix* had its characteristics, three new principal components was obtained by PCA and the cumulative variance contribution rate was 90.476%. On the basis of the different components between groups, the quality of *Curcumae Radix* was comprehensively evaluated by the factor score expression was in the sequence of Huangsi Yujin > Wen Yujin > Lvsi Yujin > Gui Yujin, and according to its compounds related to main pharmacological effects to evaluate *Curcumae Radix* to test and verify the validity of the evaluation model. The variable importance projection (VIP) values of OPLS-DA were used to identify curdione and germacrone as the key compounds of interspecific difference, and the characteristic components of four *Curcumae Radix* were identified by the regression coefficients of the model. **Conclusion** The established method for the determination of multiple components of *Curcumae Radix* is stable and reliable with a good linear relationship, and can be used to evaluate the advantages and disadvantages between species more comprehensively and accurately through chemometrics, and identify their characteristic components, which provides a theoretical and

收稿日期: 2023-05-06

基金项目: 2016 年度新兴产业重大工程中药标准化项目(ZYBZH-Y-SC-40); 广东省教育厅广东药科大学创新强校工程(2016KTSCX064, 2018KZDXM040); 广州市科技局项目(201707010170)

作者简介: 蓝振威(1997—), 男, 硕士研究生, 从事中药炮制原理与饮片质量标准研究。Tel: 17671243394 E-mail: 1046517519@qq.com

\*通信作者: 孟江, 教授, 从事中药炮制原理与饮片质量标准研究。Tel: (020)39352175 E-mail: jiangmeng666@126.com

direction for the rational application and quality evaluation of *Curcumae Radix*.

**Key words:** chemometrics; *Curcumae Radix*; principal component analysis; orthogonal partial least squares discrimination analysis; quality evaluation; curdione; germacrone

郁金 *Curcumae Radix* 为姜科植物温郁金 *Curcuma wenyujin* Y. H. Chen et C. Ling、姜黄 *Curcuma longa* L.、广西莪术 *Curcuma kwangsiensis* S. G. Lee et C. F. Liang 或蓬莪术 *Curcuma phaeocaulis* Val. 的干燥块根。前两者分别习称“温郁金”和“黄丝郁金”，其余按性状不同习称“桂郁金”或“绿丝郁金”。郁金具有利胆退黄、行气解郁、活血止痛、清心凉血之功，常用于治疗妇女痛经、癫痫发狂、黄疸尿赤、胸胁刺痛、乳房胀痛等症<sup>[1]</sup>。郁金主要活性成分为姜黄素类（去甲氧基姜黄素、双去甲氧基姜黄素、姜黄素）和挥发油类成分（吉马酮、莪术二酮、莪术烯、 $\beta$ -榄香烯、莪术烯醇、异莪术烯醇、呋喃二烯酮、莪术醇、呋喃二烯）<sup>[2]</sup>。目前郁金的质量分析主要依靠 GC 或 HPLC 测量单一挥发油类或姜黄素类成分<sup>[3-4]</sup>，很少将其质量与疗效联系，同时也没有量化的综合评价指标，难以体现不同品种间整体质量与药效区别<sup>[5-6]</sup>。本实验采用 HPLC 法测定了 4 种郁金共 20 批样品中的 12 个主要活性成分含量，并通过主成分分析（principal component analysis, PCA）和正交偏最小二乘法（orthogonal partial least squares-discriminate analysis, OPLS-DA），结合化合物的药理作用，对郁金进行了全面的分析。PCA 通过建立新的更少的变量来体现整体变量的变化规律<sup>[7]</sup>，OPLS-DA 可以过滤与样品分类不相干的变量，更好地寻找差异标志物<sup>[8]</sup>。通过以上方法了解了不同品种郁金的优劣，为综合评价郁金质量提供科学依据。

## 1 仪器与材料

### 1.1 仪器

岛津 LC-20AT 高效液相色谱仪（日本岛津公司）（SPD-20A 检测器，CTO-10ASVP 柱温箱，LC

solution 色谱工作站），XB-C<sub>18</sub> 色谱柱[月旭科技（上海）股份有限公司]，RE-2000B 旋转蒸发仪（上海亚荣生化仪器厂），A1-1000S 水流抽气泵（日本 EYELA 公司），十万分之一电子天平（CPA225D，德国 Sartorius 公司）。

### 1.2 试药

莪术烯醇（批号 E-003-171216）、莪术烯（批号 E-008-161216），以上对照品均购自成都瑞芬思生物科技有限公司；异莪术烯醇（批号 CHB170822）、呋喃二烯（批号 CHB151009）、呋喃二烯酮（批号 CHB170624）、姜黄素（批号 CHB160901）、莪术醇（批号 CHB150914）、 $\beta$ -榄香烯（批号 CHB150901），以上对照品均购自成都克洛玛生物科技有限公司；双去甲氧基姜黄素（批号 yz15121603）、去甲氧基姜黄素（批号 yz16032302）、莪术二酮（批号 yz16070804），吉马酮对照品（批号 yz16012603），以上对照品均购自南京源植生物科技有限公司，所有对照品质量分数均 $\geq 95\%$ 。乙腈、甲醇（色谱纯），磷酸（上海阿拉丁生物科技有限公司），水为屈臣氏蒸馏水。

郁金药材分别来自中国广西、浙江、四川和缅甸，共计 20 批，经广东药科大学刘基柱副教授鉴定为姜科植物蓬莪术 *C. phaeocaulis* Val.、广西莪术 *C. kwangsiensis* S. G. Lee et C. F. Liang 或温郁金 *C. wenyujin* Y. H. Chen et C. Ling 的干燥块茎。详细产地信息见表 1。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

UltimateTM XB-C<sub>18</sub> 色谱柱（250 mm $\times$ 4.6 mm，5  $\mu$ m）。流动相为乙腈（A）-0.2%磷酸水溶

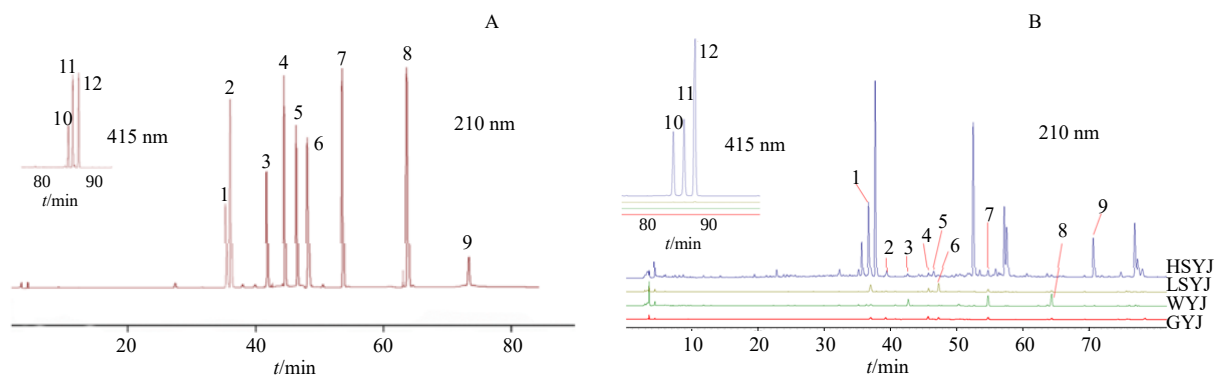
表 1 4 种郁金详细产地信息

Table 1 Detail origin information of four kinds of *Curcumae Radix*

| 品种   | 编号    | 产地 | 收集时间       | 品种   | 编号    | 产地 | 收集时间       |
|------|-------|----|------------|------|-------|----|------------|
| 黄丝郁金 | HSYJ1 | 四川 | 2018-05-21 | 绿丝郁金 | LSYJ1 | 四川 | 2018-05-27 |
|      | HSYJ2 | 四川 | 2018-05-21 |      | LSYJ2 | 四川 | 2018-05-27 |
|      | HSYJ3 | 四川 | 2018-05-21 |      | LSYJ3 | 四川 | 2018-05-11 |
|      | HSYJ4 | 四川 | 2018-05-21 |      | LSYJ4 | 四川 | 2018-05-11 |
|      | HSYJ5 | 四川 | 2018-05-21 |      | LSYJ5 | 四川 | 2018-05-11 |
| 温郁金  | WYJ1  | 浙江 | 2018-06-01 | 桂郁金  | GYJ1  | 广西 | 2018-05-27 |
|      | WYJ2  | 浙江 | 2018-06-01 |      | GYJ2  | 广西 | 2018-05-27 |
|      | WYJ3  | 浙江 | 2018-06-01 |      | GYJ3  | 缅甸 | 2018-05-10 |
|      | WYJ4  | 浙江 | 2018-06-01 |      | GYJ4  | 广西 | 2018-05-28 |
|      | WYJ5  | 浙江 | 2018-06-01 |      | GYJ5  | 广西 | 2018-05-28 |

液(B), 梯度洗脱(0~5 min, 30% A; 5~35 min, 30%~60% A; 35~39 min, 60%~68% A; 39~43 min, 68% A; 43~49 min, 68%~80% B; 49~

69 min, 80%~95% A; 69~79 min, 95% A)。体积流量 0.2 mL/min, 柱温 25 ℃。进样量 10 μL。色谱图见图 1。



1-莪术烯醇, 2-莪术烯, 3-莪术二酮, 4-异莪术烯醇, 5-莪术醇, 6-呋喃二烯酮, 7-吉马酮, 8-呋喃二烯, 9-β-榄香烯, 10-双去甲氧基姜黄素, 11-去甲氧基姜黄素, 12-姜黄素。

1-curcumenol, 2-curcumene, 3-curcumedione, 4-isocurcumenol, 5-curcumenol, 6-furanodienone, 7-germacrone, 8-furanodiene, 9-β-elemene, 10-bisdemethoxycurcumin, 11-demethoxycurcumin, 12-curcumin.

图 1 对照品 (A) 和样品 (B) 的 HPLC 特征图谱

Fig. 1 HPLC characteristics of reference (A) and samples (B)

在定量分析中, 根据各化合物的全波长扫描确定检测波长, 双去甲氧基姜黄素、去甲氧基姜黄素和姜黄素在 415 nm 处有较好的响应, 其余化合物在 210 nm 处响应较好。

## 2.2 溶液配制

**2.2.1 对照品溶液配制** 分别精密称取莪术醇、呋喃二烯、β-榄香烯、莪术烯醇、莪术烯、莪术二酮、呋喃二烯酮、双去甲氧基姜黄素、去甲氧基姜黄素、姜黄素、吉马酮和异莪术烯醇各对照品适量, 用甲醇溶解并配成质量浓度分别为 5.50、10.87、3.45、3.74、7.50、7.22、6.92、0.37、0.24、0.26、2.05、0.316 g/L 的混合对照品储备液。

**2.2.2 供试品溶液制备** 取样品约 1 g, 精密称定,

置具塞锥形瓶中, 精密加入 8 mL 甲醇, 密塞, 称定质量, 常温下超声提取(功率 5 kW、频率 40 kHz) 45 min, 放至室温, 加甲醇补充质量, 0.22 μm 微孔滤膜滤过, 即得。

## 2.3 方法学考察

**2.3.1 线性范围、检测限和定量限** 精密量取“2.2.1”项下的混合对照品储备液, 用甲醇稀释成不同质量浓度的系列对照品溶液, 精密吸取 10 μL 按“2.1”项下色谱条件进行测定。以对照品母液中 12 个成分质量浓度为横坐标 (X), 峰面积为纵坐标 (Y), 利用加权小二乘法进行线性回归, 建立标准曲线见表。同时测定各个成分的检测限 (S/N=3) 和定量限 (S/N=10), 结果见表 2。

表 2 12 种化学成分的回归方程及线性范围

Table 2 Regression equation and linear range of 12 chemical constituents

| 成分       | 回归方程                         | 线性范围/(g·L <sup>-1</sup> ) | r       | 检测限/(μg·mL <sup>-1</sup> ) | 定量限/(μg·mL <sup>-1</sup> ) | 波长/nm |
|----------|------------------------------|---------------------------|---------|----------------------------|----------------------------|-------|
| 莪术烯醇     | $Y=1 \times 10^7 X-56\ 762$  | 0.003 70~0.750 00         | 0.999 3 | 0.18                       | 0.60                       | 210   |
| 莪术烯      | $Y=2 \times 10^7 X-15\ 711$  | 0.007 50~1.880 00         | 0.999 2 | 0.06                       | 0.21                       | 210   |
| 莪术二酮     | $Y=2 \times 10^7 X-50\ 917$  | 0.007 20~2.710 00         | 0.999 8 | 0.15                       | 0.50                       | 210   |
| 异莪术烯醇    | $Y=2 \times 10^7 X-11\ 663$  | 0.000 32~0.320 00         | 0.999 7 | 0.07                       | 0.22                       | 210   |
| 呋喃二烯酮    | $Y=4 \times 10^7 X-6\ 307.7$ | 0.006 90~2.600 00         | 0.999 8 | 0.03                       | 0.11                       | 210   |
| 莪术醇      | $Y=2 \times 10^7 X-193\ 973$ | 0.040 00~3.590 00         | 0.999 9 | 0.17                       | 0.57                       | 210   |
| 吉马酮      | $Y=4 \times 10^7 X+812\ 374$ | 0.200 00~1.440 00         | 0.999 8 | 0.05                       | 0.16                       | 210   |
| 呋喃二烯     | $Y=4 \times 10^7 X-19\ 611$  | 0.003 30~1.630 00         | 0.999 9 | 0.05                       | 0.18                       | 210   |
| β-榄香烯    | $Y=8 \times 10^6 X-21\ 191$  | 0.001 70~0.720 00         | 0.999 9 | 0.33                       | 1.08                       | 210   |
| 双去甲氧基姜黄素 | $Y=63\ 335 X-4\ 131.6$       | 0.000 35~0.004 20         | 0.999 8 | 0.06                       | 0.11                       | 415   |
| 去甲氧基姜黄素  | $Y=98\ 135 X-22\ 399$        | 0.000 72~0.015 00         | 0.999 9 | 0.12                       | 0.15                       | 415   |
| 姜黄素      | $Y=131\ 259 X-22\ 070$       | 0.000 26~0.032 00         | 0.999 8 | 0.01                       | 0.02                       | 415   |

**2.3.2 精密度试验** 取同一份供试品（HSYJ1）照“2.2.2”项下制备供试品，按“2.1”下色谱条件连续进样 6 次，记录待测成分峰面积，计算 RSD。12 种待测成分含量日内精密度 RSD 均小于 2.9%，日间精密度 RSD 均小于 2.7%，表明方法的精密度良好。

**2.3.3 重复性试验** 取同一份供试品（HSYJ1）6 份，按照“2.2.2”项下制备供试液，按“2.1”项下色谱条件测定，记录峰面积。结果显示 12 种待测成分峰面积的 RSD 均小于 2.8%，表明该方法的重复性良好。

**2.3.4 稳定性试验** 取同一份供试品（HSYJ1）溶液，分别于制样后 0、2、4、8、12、18、24、36、48 h 进行分析，记录待测成分峰面积。结果显示 12

种待测成分峰面积的 RSD 值均小于 2.86%，表明样品在 24 h 内稳定性良好。

**2.3.5 加样回收率试验** 精密称取已知含量的郁金药材粉末 6 份，每份约 0.5 g，置具塞锥形瓶中，按照 1：1 比例分别精密加入等量对照品溶液，照“2.2.2”项下制备供试液，进行分析，计算各待测成分的回收率和 RSD 值。12 种成分的平均回收率分别为 95.38%~103.26%，RSD 均小于 3.0%。

**2.4 含量测定**

精密称取 4 种郁金粉末各 5 批，按照“2.2.2”项下方法制备供试品溶液，按“2.1”下色谱条件进行测定。测定各成分峰面积，使用外标法计算样品含量，结果见表 3。

表 3 不同来源郁金含量测定结果  
Table 3 Results of determination of *Curcumae Radix* from different sources

| 编号    | 质量分数/(mg·g <sup>-1</sup> ) |         |          |         |         |         |         |          |          |         |         |         |
|-------|----------------------------|---------|----------|---------|---------|---------|---------|----------|----------|---------|---------|---------|
|       | 双去甲氧基姜黄素                   | 去甲氧基姜黄素 | 姜黄素      | 莪术醇     | 吉马酮     | 呋喃二烯    | β 榄香烯   | 莪术烯醇     | 莪术烯      | 莪术二酮    | 异莪术烯醇   | 呋喃二烯酮   |
| HSYJ1 | 1.952 0                    | 8.831 6 | 11.186 7 | —       | 0.045 5 | 0.061 0 | 0.346 3 | 11.778 1 | 12.594 8 | 0.950 4 | 0.292 2 | 0.143 6 |
| HSYJ2 | 2.114 0                    | 9.186 5 | 11.339 2 | —       | —       | 0.093 2 | 0.344 8 | 12.389 9 | 11.537 6 | 0.953 2 | 0.193 4 | 0.226 8 |
| HSYJ3 | 1.935 4                    | 9.383 2 | 11.178 2 | —       | —       | 0.452 1 | 0.975 0 | 0.933 5  | 11.468 2 | 1.114 1 | 0.200 4 | 0.059 3 |
| HSYJ4 | 1.900 4                    | 8.593 5 | 11.078 9 | —       | 0.032 7 | 0.119 5 | 0.927 2 | 12.162 2 | 12.531 8 | 0.944 9 | 0.281 1 | 0.140 2 |
| HSYJ5 | 0.500 0                    | 2.411 7 | 2.686 8  | 0.163 6 | 0.190 1 | 0.100 9 | 0.674 9 | 1.041 1  | 5.488 9  | 0.939 5 | 0.351 4 | 0.565 2 |
| LSYJ1 | —                          | 0.007 6 | 0.003 7  | 0.002 1 | —       | 0.111 2 | 0.110 4 | 0.188 7  | 0.923 6  | 0.693 7 | 0.078 0 | 0.404 6 |
| LSYJ2 | 0.001 7                    | 0.007 9 | 0.004 9  | —       | —       | 0.045 5 | 0.043 7 | 0.136 5  | 0.450 1  | 0.641 1 | 0.060 3 | 0.153 9 |
| LSYJ3 | —                          | 0.007 7 | 0.003 7  | 0.003 4 | —       | 0.114 2 | 0.107 0 | 0.191 6  | 0.998 7  | 0.699 6 | 0.080 5 | 0.435 4 |
| LSYJ4 | —                          | 0.013 0 | 0.012 1  | —       | —       | 0.136 1 | 0.167 5 | 0.239 4  | 1.468 2  | 0.650 4 | 0.099 2 | 0.849 9 |
| LSYJ5 | 0.002 3                    | 0.007 0 | 0.009 3  | —       | —       | 0.144 6 | 0.158 2 | 0.186 3  | 1.375 2  | 0.654 1 | 0.098 6 | 0.676 4 |
| WYJ1  | 0.001 6                    | 0.009 7 | 0.006 7  | 0.043 4 | 0.495 9 | 0.808 0 | 0.175 6 | 0.474 3  | 0.318 0  | 1.742 0 | 0.020 6 | 0.050 5 |
| WYJ2  | 0.001 3                    | 0.007 4 | 0.004 6  | 0.019 1 | 0.067 6 | 0.328 4 | 0.069 5 | 0.216 3  | 0.158 6  | 1.021 2 | 0.020 9 | 0.018 7 |
| WYJ3  | 0.001 3                    | 0.005 9 | 0.003 4  | —       | —       | 0.132 9 | 0.023 0 | 0.199 8  | 0.091 0  | 0.813 9 | 0.013 5 | 0.015 5 |
| WYJ4  | 0.001 3                    | 0.005 9 | 0.003 5  | 0.031 8 | 0.319 4 | 0.731 6 | 0.278 2 | 0.413 4  | 0.204 6  | 1.377 1 | 0.021 2 | 0.042 0 |
| WYJ5  | 0.001 3                    | 0.005 8 | 0.002 7  | 0.084 9 | 0.615 2 | 1.057 3 | 0.170 1 | 0.460 2  | 0.260 7  | 1.628 5 | 0.033 6 | 0.036 3 |
| GYJ1  | —                          | —       | —        | 0.015 5 | —       | 0.028 2 | 0.047 7 | 0.125 5  | 0.306 7  | 0.645 2 | 0.076 4 | 0.099 9 |
| GYJ2  | —                          | —       | —        | 0.025 0 | —       | 0.053 2 | 0.081 0 | 0.130 5  | 0.385 9  | 0.647 7 | 0.085 5 | 0.168 9 |
| GYJ3  | —                          | —       | 0.004 0  | —       | —       | 0.043 3 | 0.049 9 | 0.136 3  | 0.258 8  | 0.637 8 | 0.032 7 | 0.006 5 |
| GYJ4  | —                          | 0.007 1 | 0.004 4  | —       | —       | 0.050 1 | 0.058 2 | 0.130 0  | 0.208 1  | 0.640 4 | 0.027 1 | 0.010 7 |
| GYJ5  | —                          | —       | 0.003 9  | —       | —       | 0.041 5 | 0.045 6 | 0.134 8  | 0.236 1  | 0.638 4 | 0.017 9 | 0.090 0 |

“—” 未检出。  
“—” Not detected.

2.5 PCA 结果

**2.5.1 数据处理结果** 为了消除不同权重对数据分析的影响，通过 SPSS 软件对数据进行标准化预处理后进行 PCA，计算相关矩阵的特征值和特征向量<sup>[7]</sup>，得到特征值的方差贡献，计算得到的前 3 个因子的

累积方差贡献率为 90.476%>80%，说明 3 个新变量可对原始变量的 90.476%进行解释，见表 4。

**2.5.2 因子载荷矩阵分析** 根据特征值的方差贡献率结果，选取 3 个主成分对整体样品进行分析，结果见表 5，第 1 主成分（解释整体样品 50.97%）影

表 4 主成分的特征值与贡献率  
Table 4 Characteristic value and contribution rate of principal component

| 成分 | 特征根                    | 方差贡献率/%                | 累积方差贡献率/% |
|----|------------------------|------------------------|-----------|
| 1  | 6.116                  | 50.968                 | 50.968    |
| 2  | 3.248                  | 27.070                 | 78.038    |
| 3  | 1.493                  | 12.438                 | 90.476    |
| 4  | 0.548                  | 4.571                  | 95.046    |
| 5  | 0.436                  | 3.636                  | 98.682    |
| 6  | 0.085                  | 0.711                  | 99.394    |
| 7  | 0.031                  | 0.257                  | 99.651    |
| 8  | 0.030                  | 0.250                  | 99.901    |
| 9  | 0.011                  | 0.094                  | 99.994    |
| 10 | 0.001                  | 0.005                  | 100.000   |
| 11 | $4.825 \times 10^{-5}$ | 0.000                  | 100.000   |
| 12 | $1.443 \times 10^{-6}$ | $1.203 \times 10^{-5}$ | 100.000   |

表 5 郁金中各成分因子载荷矩阵  
Table 5 Factor loading matrix of each component in *Curcumae Radix*

| 化合物          | 主成分        |            |            |
|--------------|------------|------------|------------|
|              | 1 (50.97%) | 2 (27.07%) | 3 (12.44%) |
| 双去甲氧基姜黄素     | 0.985      | 0.033      | -0.141     |
| 去甲氧基姜黄素      | 0.984      | 0.040      | -0.133     |
| 姜黄素          | 0.986      | 0.035      | -0.144     |
| 莪术醇          | -0.054     | 0.591      | 0.686      |
| 吉马酮          | -0.204     | 0.953      | 0.057      |
| 呋喃二烯         | -0.169     | 0.934      | -0.131     |
| $\beta$ -榄香烯 | 0.813      | 0.264      | 0.237      |
| 莪术烯醇         | 0.861      | -0.025     | -0.179     |
| 莪术烯          | 0.998      | 0.019      | -0.012     |
| 莪术二酮         | 0.087      | 0.968      | -0.130     |
| 异莪术烯醇        | 0.852      | -0.019     | 0.484      |
| 呋喃二烯酮        | 0.013      | -0.326     | 0.777      |

响较大的因子有双去甲氧基姜黄素、去甲氧基姜黄素、姜黄素、 $\beta$ -榄香烯、莪术烯醇、莪术烯和异莪术烯醇，因子载荷均在 0.8 以上，是 4 种郁金种间差异的重要来源；第 2 主成分对整体样品解释了 27.07%，主要来自莪术醇、吉马酮、呋喃二烯和莪术二酮的影响，其中吉马酮和莪术二酮是郁金重要的活性成分，因子载荷均大于 0.9，是该方向上 4 种郁金的潜在差异标志物；第 3 主成分占总解释程

度的 12.44%，主要来自莪术醇和呋喃二烯酮，是一个影响较小的分量。

通过每个因子的得分系数矩阵，经过凯撒正态化最大方差法旋转后，得到 3 个新变量的得分表达式。

$$F_1=0.166 X_{\text{双去甲氧基姜黄素}}+0.166 X_{\text{去甲氧基姜黄素}}+0.166 X_{\text{姜黄素}}-0.018 X_{\text{莪术醇}}-0.014 X_{\text{吉马酮}}-0.002 X_{\text{呋喃二烯}}+0.131 X_{\beta\text{-榄香烯}}+0.146 X_{\text{莪术烯醇}}+0.163 X_{\text{莪术烯}}+0.04 X_{\text{莪术二酮}}+0.123 X_{\text{异莪术烯醇}}-0.031 X_{\text{呋喃二烯酮}}$$

$$F_2=-0.001 X_{\text{双去甲氧基姜黄素}}+0.001 X_{\text{去甲氧基姜黄素}}-0.001 X_{\text{姜黄素}}+0.180 X_{\text{莪术醇}}+0.295 X_{\text{吉马酮}}+0.289 X_{\text{呋喃二烯}}+0.071 X_{\beta\text{-榄香烯}}-0.017 X_{\text{莪术烯醇}}-0.006 X_{\text{莪术烯}}+0.297 X_{\text{莪术二酮}}-0.018 X_{\text{异莪术烯醇}}-0.103 X_{\text{呋喃二烯酮}}$$

$$F_3=-0.086 X_{\text{双去甲氧基姜黄素}}-0.081 X_{\text{去甲氧基姜黄素}}-0.089 X_{\text{姜黄素}}+0.460 X_{\text{莪术醇}}+0.039 X_{\text{吉马酮}}-0.087 X_{\text{呋喃二烯}}+0.166 X_{\beta\text{-榄香烯}}-0.113 X_{\text{莪术烯醇}}-0.001 X_{\text{莪术烯}}-0.084 X_{\text{莪术二酮}}+0.330 X_{\text{异莪术烯醇}}+0.519 X_{\text{呋喃二烯酮}}$$

得到的各因子表达式以其对应的方差贡献率作为权重，对 3 个主成分进行线性加权，得到了 1 个全面的评价函数： $F=0.509\ 68\ F_1+0.270\ 70\ F_2+0.124\ 38\ F_3$ 。

**2.5.3 郁金药材质量评价标准的建立** 在郁金中，姜黄素类和挥发油类是 2 种重要的药效成分，不同的化合物具有不同的药效，基于治疗效果和全面评价函数对 4 种郁金进行了质量评价：莪术醇、莪术二酮和  $\beta$ -榄香烯可以改善血液粘稠度，减少血小板聚集<sup>[9-10]</sup>，姜黄素能通过调节血管紧张素酶与血管紧张素Ⅱ受体的双重作用，抑制心肌纤维化，改善心功能<sup>[11-12]</sup>，因此，将这些化合物的总量作为心血管保护作用效果对药材进行排名，计排名 A；莪术稀醇<sup>[13]</sup>、莪术二酮、吉马酮<sup>[14]</sup>、莪术醇和姜黄素具有抗炎镇痛作用<sup>[15-16]</sup>，5 种成分作为抗炎镇痛的代表性化合物进行排名，计排名 B；抗肿瘤是郁金的重要作用之一，研究表明，这一疗效的实现主要与  $\beta$ -榄香烯、莪术二酮、莪术醇、吉马酮、呋喃二烯和姜黄素类化合物有关<sup>[9-18]</sup>，其总量的排名代表药材抗肿瘤活性，计排名 C；将具有抗病毒作用的莪术醇<sup>[9]</sup>、莪术二酮<sup>[10]</sup>、吉马酮<sup>[14]</sup>和姜黄素类化合物<sup>[11]</sup>总量计排名 D，用以比较不同种郁金的抗病毒作用。最后通过全面评价函数对药材进行全面评价，计排名 E。在计算总量之前首先对数据进行归一化处理，结果见表 6。

表 6 20 批郁金药材的综合得分与排名

Table 6 Comprehensive score and ranking of 20 batches of *Curcumae Radix*

| 编号    | $F_1$    | $F_2$    | $F_3$    | 综合得分 ( $F$ ) | 排名 A | 排名 B | 排名 C | 排名 D | 排名 E |
|-------|----------|----------|----------|--------------|------|------|------|------|------|
| HSYJ1 | 1.898 2  | -0.312 8 | -0.412 5 | 0.83         | 4    | 2    | 3    | 3    | 4    |
| HSYJ2 | 1.812 3  | -0.373 0 | -0.618 0 | 0.75         | 2    | 1    | 1    | 2    | 5    |
| HSYJ3 | 1.723 8  | 0.389 9  | -0.413 9 | 0.93         | 1    | 4    | 2    | 1    | 2    |
| HSYJ4 | 2.135 4  | -0.136 7 | -0.135 4 | 1.03         | 3    | 3    | 4    | 4    | 1    |
| HSYJ5 | 0.478 2  | 0.634 0  | 3.501 1  | 0.85         | 5    | 5    | 5    | 5    | 3    |
| LSYJ1 | -0.521 6 | -0.623 6 | 0.304 2  | -0.40        | 14   | 13   | 13   | 12   | 13   |
| LSYJ2 | -0.564 3 | -0.651 1 | -0.312 4 | -0.50        | 18   | 16   | 16   | 17   | 16   |
| LSYJ3 | -0.521 2 | -0.624 1 | 0.387 8  | -0.39        | 13   | 12   | 11   | 11   | 12   |
| LSYJ4 | -0.509 3 | -0.824 3 | 1.325 2  | -0.32        | 11   | 11   | 9    | 13   | 10   |
| LSYJ5 | -0.497 1 | -0.741 9 | 0.948 8  | -0.34        | 12   | 14   | 10   | 15   | 11   |
| WYJ1  | -0.463 3 | 2.153 4  | -0.482 5 | 0.29         | 6    | 7    | 7    | 7    | 7    |
| WYJ2  | -0.560 4 | 0.226 5  | -0.655 8 | -0.31        | 9    | 9    | 12   | 9    | 9    |
| WYJ3  | -0.602 7 | -0.352 1 | -0.837 4 | -0.51        | 10   | 10   | 15   | 10   | 17   |
| WYJ4  | -0.445 4 | 1.444 3  | -0.496 4 | 0.10         | 8    | 8    | 8    | 8    | 8    |
| WYJ5  | -0.494 5 | 2.680 6  | -0.016 6 | 0.47         | 7    | 6    | 6    | 6    | 6    |
| GYJ1  | -0.549 0 | -0.573 8 | -0.189 9 | -0.46        | 17   | 17   | 17   | 16   | 15   |
| GYJ2  | -0.532 8 | -0.527 2 | 0.104 6  | -0.40        | 15   | 15   | 14   | 14   | 14   |
| GYJ3  | -0.583 5 | -0.587 8 | -0.707 1 | -0.54        | 19   | 19   | 20   | 20   | 18   |
| GYJ4  | -0.588 3 | -0.577 6 | -0.714 0 | -0.55        | 16   | 18   | 19   | 18   | 19   |
| GYJ5  | -0.614 3 | -0.622 6 | -0.579 8 | -0.55        | 20   | 20   | 18   | 19   | 20   |

从 5 个排名整体上看, 对应不同的疗效, 4 种郁金的优劣有明显的趋势, 从优到劣, 黄丝郁金>温郁金>绿丝郁金>桂郁金。从排名 C 和 E 可以看出, 温郁金和绿丝郁金有个别的交错。从药效成分的含量来看, 黄丝郁金和温郁金各成分含量高, 而桂丝郁金相对较低; 同一郁金品种内综合评价方程得到的结果与 A、B、C、D 的排名基本一致, 只有少数几个样品变化较大, 如 HSYJ2 的综合评价为 5 批黄丝郁金中最差, 但是在前 4 个排名中为 1、2, 而本排名 3、4 的 HSYJ4 其综合排名为 1; WYJ3 前 4 个排名中的均值为 11.25, 但是综合排名降至 17, 这是因为 PCA 从新变量的角度给予了不同化合物全新的权重, 一些潜在的具有微弱作用的化合物被纳入评价方程, 郁金之间的优劣得到了进一步的全面评价, 所以某些批次的产品排名发生了较大变化; 综合评价方程对郁金种间的整体评价与以药效成分进行评价的结果是一致的, 说明基于郁金主要化学成分建立的该评价模式虽然重新给予了 12 种化合物含量不同的贡献度, 但是这种差异仍然能体现其药效成分的差异。

## 2.6 OPLS-DA 结果

为了进一步了解 4 种郁金药材的重要差异化合物, 采用 OPLS-DA 法对成分进行分析, 与偏最小二乘法相比, 它能提供更多的解释性和减少结果误差。本实验将 20 批样品的 12 个成分标准化数据导入 SIMCA-p 13.0 软件中, 进行正交偏最小二乘分析, 得到的模型结果: 质量参数  $R^2_X$  为 0.874,  $R^2_Y$  为 0.693,  $Q^2$  为 0.626。模型的得分图 (图 2-A) 中, 黄丝郁金和温郁金是区分较大的 2 组, 而桂郁金和绿丝郁金重叠性很大, 难以区分。计算了变量的重要性投影 (variable importance projection, VIP) 值, 图 2-B 用红色表示了 8 个对分类有统计学意义的分量 (VIP 值>1), 其影响能力从大到小依次是呋喃二烯酮>莪术二酮>吉马酮>呋喃二烯>莪术烯>姜黄素类化合物。可见, 莪术二酮、吉马酮和呋喃二烯酮具有分类上较强的影响力, 莪术二酮和吉马酮同时是保护心血管, 抗肿瘤和抗炎镇痛作用的共同化合物, 既具有对郁金药材的区分能力, 又具有质量评价的潜力, 是很好的特征标志物。

进而对模型整体的回归系数进行分析(图 3), 该回归系数解释了每一个成分变量对该品种郁金的影响, 可见在黄丝郁金中, 姜黄素类化合物、 $\beta$ -榄香烯和异莪术烯醇是其独特的优势成分, 其中姜黄素类化合物的高表达印证了中国药典中对黄丝郁金“气芳香, 味辛辣”的描述, 同时也是各种药理作用重要的药效成分; 在温郁金中, 吉马酮、呋喃二烯和莪术二酮是该品种含量比其他 3 种郁金更多的化合物, 其中吉马酮和莪术二酮的系数为正, 其余 3 种郁金在 2 种成分上的系数为负, 可作为该品种的特征性成分, 并且该品种姜黄素类化合物的含量仅次于黄丝郁金, 对应了该品种破血力较强的特点; 绿丝郁金中呋喃二烯酮的含量远高于其他品种, 是区别于其他郁金品种的特征化合物, 据报道呋喃二烯酮具有一定的抗癌活性<sup>[19]</sup>, 当以该

化合物为目的使用郁金时, 绿丝郁金的这种特征能在郁金的合理应用中给予指导; 桂郁金在大多数数成分的含量上没有很好的表现, 但是其中作为最有效的成分之一的莪术醇含量显著<sup>[20]</sup>, 因此该品种也具有其独特的优势, 即当需要突出莪术醇的活性使用郁金时, 桂郁金是很好的选择, 然而由于其莪术醇含量与黄丝郁金相似, 故桂郁金没有明显的特征性成分。综上所述, 郁金种间重要的性差异化合物为莪术二酮和吉马酮, 4 种郁金各自的特征性成分为: 黄丝郁金中的姜黄素类化合物, 莪术醇,  $\beta$ -榄香烯和异莪术烯醇; 温郁金中的吉马酮、呋喃二烯和莪术二酮; 绿丝郁金中的呋喃二烯和呋喃二烯酮; 桂郁金中的莪术醇。

### 3 讨论

郁金作为牛黄清心丸、牛黄降压片和抗病毒口

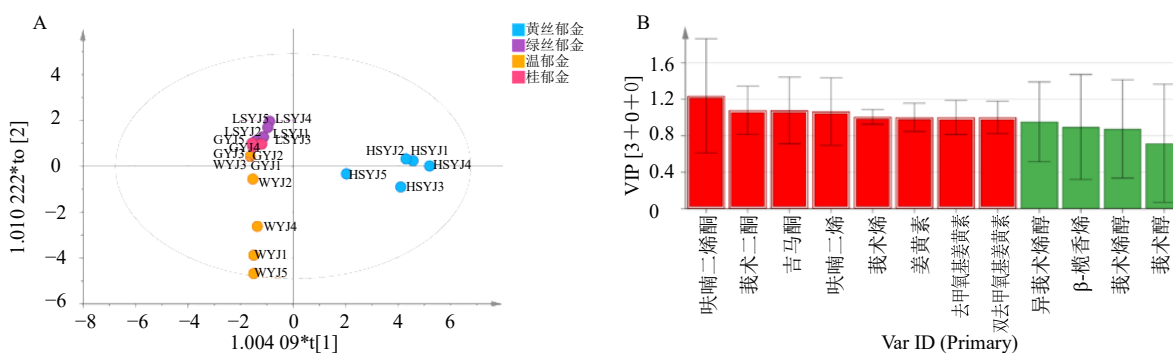


图 2 OPLS-DA 得分散点 (A) 和 VIP (B) 图

Fig. 2 OPLS-DA score plot (A) and VIP plot (B)

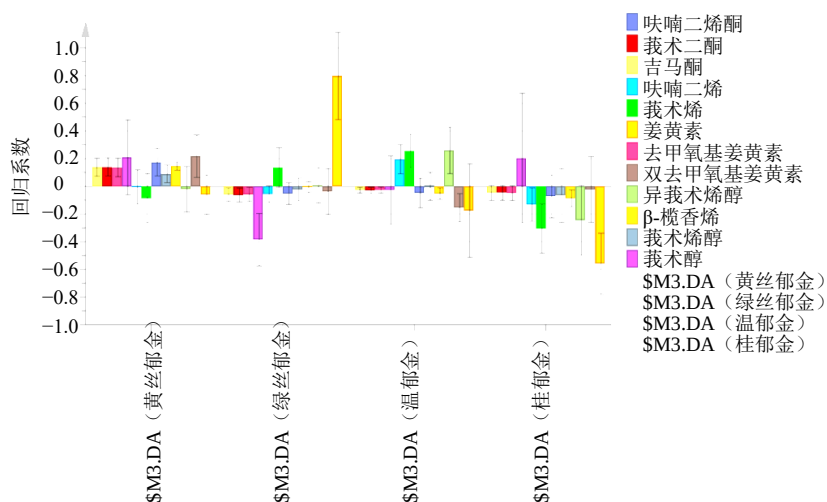


图 3 OPLS-DA 模型整体回归系数图

Fig. 3 Integral regression coefficient diagram of OPLS-DA

服液等多种经典制剂的原料药，市场需求很大，但是郁金的品种较多，含有多种药效成分，且种间差异较大，通过测定一个或几个指标难以对郁金进行科学的区分和全面的质量评价，尤其在中药制剂中难以确定以何种郁金作为原材料，容易造成郁金单品和成方制剂的药效不一致。因此，建立能区分和反映不同种郁金活性成分含量的综合评价模式，并探究其各自的特征是郁金质量评价与应用的关键性问题。

本实验采用 HPLC 法建立了郁金 12 种药效成分含量测定方法，并应用化学计量学方法建立综合评价模式，识别郁金的特征性成分。通过 PCA 选取了最能解释原始变量的 3 个新变量，在无监督区分的基础上建立了综合评价方程，并以各种活性成分的含量为指标，验证该综合评价方程能准确反应整体质量，得出 4 种郁金质量排序为黄丝郁金>温郁金>绿丝郁金>桂郁金。但是整体的排序并不能反应 4 种郁金各自的特点，需要进一步发掘各品种郁金的特征性成分，为合理区分和使用不同品种郁金提供依据。继而采用 OPLS-DA 方法寻找和识别了 4 种郁金种间的质量差异标志物，呋喃二烯酮、莪术二酮和吉马酮，当以区分不同种郁金为目的，呋喃二烯酮因具有最大的 VIP 值，故为最佳选择；当以用药的成分含量为指标，莪术二酮和吉马酮作为郁金中活性显著的成分，是很好的质量差异标志物。应用建立的整体回归系数寻找 4 种郁金各自的特征标志物，发现姜黄素类化合物， $\beta$ -榄香烯和异莪术烯醇可作为黄丝郁金的特征标志物；吉马酮和莪术二酮可作为温郁金的特征标志物；呋喃二烯酮可作为绿丝郁金的特征标志物；桂郁金虽然莪术醇含量较多，但是该成分含量与黄丝郁金相似，故不建议将莪术醇作为该品种的特征标志物。本实验建立的综合质量评价模式及不同种属郁金的特征成分为郁金资源质量控制和临床应用提供了科学的理论依据。

**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. 2015: 36.
- [2] 刘睿, 高丹丹, 崔涛, 等. 郁金及其近缘药材的研究进展及质量标志物 (Q-marker) 的预测分析 [J]. 中草药, 2019, 50(2): 273-280.
- [3] 彭非, 薛健, 刘慧灵, 等. 郁金饮片质量标准研究 [J]. 中药材, 2007, 30(11): 1462-1464.
- [4] 刘雯雪. 中药黄丝郁金的质量控制及其抗炎活性的初步研究 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2019.
- [5] 朱晶晶, 张清哲, 王智民, 等. 郁金质量标准研究 [J]. 中国中药杂志, 2010, 35(16): 2106-2109.
- [6] 叶永浩, 杨全, 蔡宇忆, 等. 广东产广西莪术鲜、干品挥发油的含量测定及其 GC-MS 分析 [J]. 广东药学院学报, 2016, 32(3): 307-310.
- [7] Stacklies W, Redestig H, Scholz M, et al. pcaMethods: A bioconductor package providing PCA methods for incomplete data [J]. *Bioinformatics*, 2007, 23(9): 1164-1167.
- [8] 杨国栋. 基于变量筛选的偏最小二乘回归方法及其应用 [D]. 长沙: 中南大学, 2013.
- [9] 王莉, 徐锐, 王常伟, 等. 莪术醇的抗癌作用研究进展 [J]. 国际药学研究杂志, 2019, 46(3): 176-181.
- [10] 吴丽敏, 徐志, 顾青青, 等. 莪术二酮的研究进展 [J]. 药物生物技术, 2011, 18(4): 369-371.
- [11] 余美荣, 蒋福升, 丁志山. 姜黄素的研究进展 [J]. 中草药, 2009, 40(5): 828-831.
- [12] Tan J W, Zheng M C, Duan S S, et al. Chemical profiling and screening of the marker components in the fruit of *Cassia fistula* by HPLC and UHPLC/LTQ-orbitrap MS<sup>n</sup> with chemometrics [J]. *Molecules*, 2018, 23(7): 1501.
- [13] 陈丽霞, 邱峰, 赵烽, 等. 莪术烯醇微生物转化衍生物及其制备方法和用途: 中国, CN104497001 B [P]. 2016-11-02.
- [14] 陈琼芳, 王钢, 李钊飞, 等. 吉马酮药理作用的研究进展 [J]. 中华中医药学刊, 2017, 35(9): 2312-2315.
- [15] 赵志梅, 张立杰, 夏天, 等. 莪术主要单体成分抗炎、抗肿瘤作用研究进展 [J]. 药物评价研究, 2017, 40(1): 119-124.
- [16] 狄建彬, 顾振纶, 赵笑东, 等. 姜黄素的抗氧化和抗炎作用研究进展 [J]. 中草药, 2010, 41(5): 854-857.
- [17] 陈雨. 呋喃二烯抗肿瘤作用及其机制的初步研究 [D]. 广州: 广东药学院, 2015.
- [18] 金海峰, 王楼蕾, 吕宾. 郁金抗肿瘤作用的研究进展 [J]. 医药导报, 2009, 28(12): 1565-1568.
- [19] 江莹, 密玉帅, 王小琴, 等. 呋喃二烯酮对结直肠癌 RKO 细胞的促凋亡作用 [J]. 中国新药与临床杂志, 2018, 37(4): 223-228.
- [20] 吕宾. 郁金抗肿瘤作用及其机制的研究进展 [A] // 首届浙江省消化病学术大会论文汇编 [C]. 杭州: 中国中西医结合学会消化系统疾病专业委员会, 2008: 255.

[责任编辑 时圣明]