

基于指纹图谱和多指标成分定量结合化学模式识别法评价不同产地地榆质量

张心一, 黄振阳, 何嘉伟, 江汉美, 刘 毅*, 邱江雪*

湖北中医药大学药学院, 湖北省药用植物研发中心, 湖北 武汉 430065

摘 要: **目的** 通过 HPLC 多成分含量测定与指纹图谱的多模式化学识别方法对地榆 *Sanguisorba officinalis* 进行不同产地质量分析研究, 为地榆质评控体系的构建及其潜在质量标志物的探索提供参考和依据。**方法** 采用 HPLC 法建立 10 批不同产地地榆指纹图谱, 测定地榆中的 7 个有效成分含量; 使用 SPSS 21.0 软件对地榆进行聚类分析(hierarchical cluster analysis, HCA)、主成分分析(principal component analysis, PCA), 使用 SIMCA 14.0 软件对地榆进行正交偏最小二乘法-判别分析(orthogonal partial least squares-discriminant analysis, OPLS-DA)。**结果** 建立了 10 批不同产地地榆药材的指纹图谱, 相似度为 0.816~0.976, 共标定 20 个共有峰, 指认了 7 个成分(没食子酸、儿茶素、表儿茶素、没食子酸乙酯、金丝桃苷、鞣花酸、槲皮素), 含量测定结果表明不同产地地榆中化学成分含量存在显著差异。HCA 分析结果显示, 当欧氏距离为 4 时, 将 10 批地榆分为 3 类; PCA 提取了 3 个主成分, 累积方差贡献率为 91.98%, 说明 3 个主成分在反映不同产地地榆样品共有成分关系中起主导作用。OPLS-DA 结果表明, 金丝桃苷、没食子酸、儿茶素可能是影响不同产地地榆药材质量的差异标志物。**结论** 通过建立地榆 HPLC 指纹图谱及 7 个成分含量测定, 结合化学模式识别法评价了不同产地地榆药材质量, 为地榆质量标准的研究及其潜在质量标志物的研究提供依据。

关键词: 地榆; 指纹图谱; 金丝桃苷; 没食子酸; 儿茶素; 聚类分析; 主成分分析; 正交偏最小二乘法-判别分析

中图分类号: R286.2 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2024)16-5649-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2024.16.026

Quality evaluation of *Sanguisorba officinalis* from different origins by fingerprint combined with multi-component quantification and chemical pattern recognition

ZHANG Xinyi, HUANG Zhenyang, HE Jiawei, JIANG Hanmei, LIU Yi, QIU Jiangxue

Hubei Research and Development Center of Medicinal Plants, College of Pharmacy, Hubei University of Chinese Medicine, Wuhan 430065, China

Abstract: Objective To analyse the quality of *Sanguisorba officinalis* from different origins by HPLC multi-component determination and fingerprint multi-mode chemical recognition method, and to provide a reference and basis for the construction of a quality control system for the quality assessment of *S. officinalis* and the exploration of its potential quality markers. **Methods** The fingerprints of 10 batches of *S. officinalis* from different origins were established by HPLC method, and the contents of seven active ingredients in *S. officinalis* were determined; SPSS 21.0 software was used to carry out hierarchical cluster analysis (HCA), principal component analysis (PCA) and orthogonal partial least squares-discriminant analysis (OPLS-DA) was performed using SIMCA 14.0 software. **Results** The fingerprints of 10 batches of *S. officinalis* medicinal herbs from different origins were established, and the similarity ranged from 0.816 to 0.976. A total of 20 common peaks were calibrated, and seven constituents (gallic acid, catechine, epicatechin, ethyl gallate, hyperoside, ellagic acid, quercetin) were identified, and the results of the content determination showed that there were significant differences in the contents of chemical components in *S. officinalis* from different origins. HCA showed that the 10 batches of *S. officinalis* were classified into three categories when the Euclidean distance was four. Three principal components were extracted from the PCA, and the cumulative variance contribution rate was 91.98%, indicating that the three principal components played a dominant role in reflecting the relationship between the shared components of the *S. officinalis* samples from different origins.

收稿日期: 2024-02-02

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81772491); 湖北省技术创新专项(重大项目)(2016ACA146)

作者简介: 张心一(2000—), 女, 硕士研究生, 研究方向为中药物质基础及其作用机制。E-mail: zhang1.0@icloud.com

*通信作者: 刘 毅, 男, 硕士生导师, 副教授, 研究方向为中药物质基础及其作用机制。E-mail: zdsw2009@126.com

邱江雪, 女, 讲师, 研究方向为中药科研及管理工作。E-mail: 791424893@qq.com

The results of OPLS-DA analysis indicated that chrysin, gallic acid and catechin might be the differential markers affecting the quality of the *S. officinalis* medicinal herbs from different origins. **Conclusion** The quality of the *S. officinalis* medicinal herbs from different origins was evaluated by the establishment of HPLC fingerprints and the determination of the contents of the seven components, combined with the chemical pattern recognition method, which could provide a basis for the study of the quality standard of *S. officinalis* and its potential quality markers.

Key words: *Sanguisorba officinalis* L.; fingerprint; chrysin; gallic acid; catechin; hierarchical cluster analysis; principal component analysis; orthogonal partial least squares-discriminant analysis

地榆为蔷薇科植物地榆 *Sanguisorba officinalis* L. 或长叶地榆 *S. officinalis* L. var. *longifolia* (Bert.) Yü et Li 的干燥根。味苦、酸、涩，性微寒，归肝、大肠经。具有凉血止血、解毒敛疮之效，临床上常用于治疗便血、痔血、血痢、崩漏、水火烫伤、痈肿疮毒等症状^[1]。地榆中鞣质、三萜类和黄酮类化合物为其主要活性成分^[2]。现代药理学研究表明，地榆具有抗炎、抗菌、抗病毒、抗过敏、抗衰老、止血、抗氧化、抗急性肾损伤、抗肿瘤等药理作用^[2-3]。目前对地榆质量控制研究有其活性组分指纹图谱分析及含量测定^[4]，对地榆中个别成分的含量测定^[5-6]，但都未结合化学模式识别法对地榆药材进行进一步评价与分析，未能直观地反映不同产地地榆药材的差异标志物。

化学模式识别法包括聚类分析（hierarchical cluster analysis, HCA）、主成分分析（principal component analysis, PCA）以及正交偏最小二乘法-判别分析（orthogonal partial least squares-discriminant analysis, OPLS-DA）等^[7]，是使用分析软件对实验得到的数据更深入的分析方法。采用指纹图谱和化学模式识别相结合的方法，能够更全面的对药材质量进行评价，目前已有许多研究应用该方法对不同产地中药材进行质量控制与评价^[8-10]。本研究建立了不同产地地榆 HPLC 指纹图谱，结合多成分含量测定及化学模式识别法对地榆药材质量评价，为其质量控制以及进一步研究提供依据。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Agilent1260 型高效液相色谱仪（美国 Agilent 公司），ALC-210.2 型电子天平（北京赛多利斯天平有限公司），SYS 型渗源超纯水机（武汉渗源仪器设备有限公司），HE-S4 型数显恒温水浴锅（常州普天仪器制造公司），PS-40 型超声波清洗器（深圳市超艺达科技有限公司）。

1.2 材料

对照品没食子酸（批号 110831-200302，质量分数≥98%）、儿茶素（批号 877-200001，质量分数≥

98%）、表儿茶素（批号 110878-200102，质量分数≥98%）购买于中国食品药品检定研究院；金丝桃苷（批号 B20631-20 mg，质量分数≥98%）、没食子酸乙酯（批号 B20855-20 mg，质量分数≥98%）、鞣花酸（批号 B21073-20 mg，质量分数≥98%）、槲皮素（批号 B20527-20 mg，质量分数≥98%）购买于上海源叶生物科技有限公司。乙腈、甲醇（色谱纯，美国天地公司）；磷酸（色谱纯，国药集团化学试剂有限公司）；水为超纯水。

1.3 药材

本实验所用地榆共 10 批，分别采自安徽、四川、贵州等地。所有药材经湖北中医药大学杨红兵教授鉴定为蔷薇科植物地榆 *S. officinalis* L. 的干燥根。药材信息见表 1。

表 1 地榆药材信息

Table 1 Information of *S. officinalis*

编号	产地	来源	收集时间
S1	安徽亳州	自采	2020-02
S2	四川绵阳	自采	2020-02
S3	贵州贵阳	自采	2020-02
S4	陕西咸阳	自采	2021-03
S5	四川成都	自采	2021-03
S6	河南周口	自采	2021-03
S7	湖南长沙	自采	2022-02
S8	吉林长春	自采	2022-02
S9	甘肃天水	自采	2022-02
S10	广东佛山	自采	2022-02

2 方法与结果

2.1 色谱条件

液相色谱分析柱：TSKgel Amide-80（250 mm×4.6 mm，5 μm，东曹株式会社，编号 0013071）；流动相为 0.1%磷酸水溶液（A）-甲醇（B），梯度洗脱：0~20 min，5%~15% B；20~35 min，15%~19% B；35~65 min，19%~25% B；65~70 min，25%~27% B；70~75 min，27%~35% B；75~100 min，35%~50% B；100~115 min，50%~70% B；体积流量 0.8 mL/min；柱温 25 ℃；进样量 10 μL；检测波长 270 nm。

2.2 溶液制备

2.2.1 供试品溶液的制备 取地榆粉末(过 80 目筛) 0.4 g, 精密称定, 置 50 mL 锥形瓶中, 加入 50% 甲醇 25 mL, 称定质量, 超声提取 30 min, 取出, 放冷, 再次称定质量, 用 50% 甲醇补足损失的质量, 摇匀, 滤过, 滤液于 80 °C 水浴锅中蒸干, 残渣用 50% 甲醇 2 mL 溶解, 过 0.45 μm 微孔滤膜, 即得。

2.2.2 混合对照品溶液的制备 取没食子酸、儿茶素、鞣花酸、表儿茶素、没食子酸乙酯、槲皮素、金丝桃苷对照品适量, 精密称定, 加 50% 甲醇溶解后稀释 20 倍, 制成质量浓度分别为 101.56、721.02、20.97、52.48、50.93、51.54、49.75 μg/mL 的混合对照品溶液, 即得。

2.3 地榆指纹图谱的建立及分析

2.3.1 精密度试验 取地榆样品(S3), 按照“2.2.1”项方法制备供试品溶液, 按照“2.1”项色谱条件重复进样 6 次, 记录色谱峰图, 以 3 号峰(没食子酸)为参照峰(S, 该峰分离度大于 1.5 且响应值大), 计算得到各共有峰相对保留时间的 RSD 均小于 0.32%, 相对峰面积 RSD 均小于 1.35%, 表明仪器精密度良好。

2.3.2 重复性试验 取地榆样品(S3), 按照“2.2.1”项方法平行制备 6 份供试品溶液, 按照“2.1”项色谱条件进样分析, 以 3 号峰(没食子酸)为参照峰(S), 测得各共有峰相对保留时间的 RSD 均小于 0.26%, 相对峰面积的 RSD 均小于 1.79%, 表明该方法重复性良好。

2.3.3 稳定性试验 取地榆样品(S3), 按照“2.2.1”项方法制备供试品溶液, 分别于制备后的 0、2、4、8、10、12 h 按照“2.1”项色谱条件进样分析, 以 3 号峰(没食子酸)为参照峰(S), 测得各共有峰相对保留时间的 RSD 均小于 0.47%, 相对峰面积的 RSD 均小于 2.08%, 表明供试品溶液在室温放置 12 h 内稳定性良好。

2.3.4 指纹图谱的建立 10 批地榆药材按“2.2.1”项方法制备成供试品溶液, 按照“2.1”项色谱条件进样分析, 记录色谱图。将 10 批地榆指纹图谱以 AIA 格式导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012)”软件中, 以 S3 样品为参照指纹图谱, 中位数为基准, 时间窗宽度设为 0.1, 经多点校正和自动匹配后生成对照指纹图谱。10 批地榆样品的 HPLC 叠加指纹图谱及对照图谱见图 1, 共标定 20 个共有峰。通过混合对照品(图 2)比对指认没食子酸(3

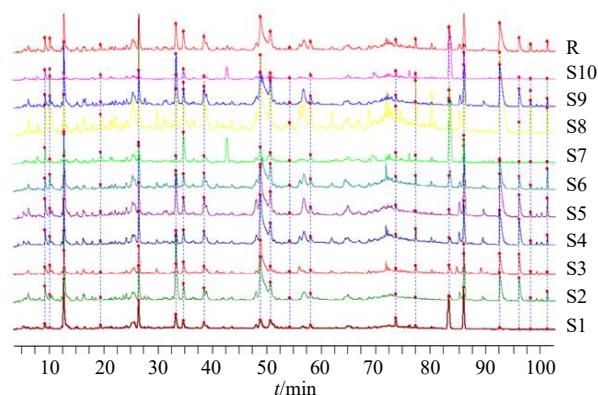
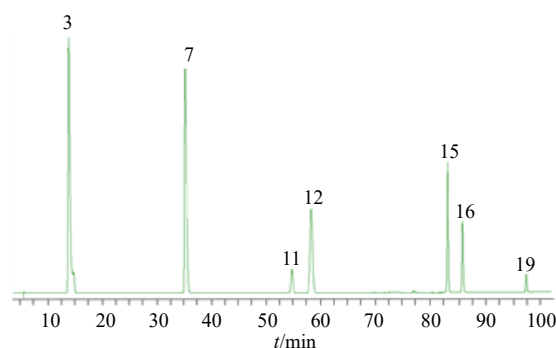


图 1 10 批地榆样品的 HPLC 叠加指纹图谱及对照图谱(R)

Fig. 1 HPLC superimposed fingerprints and control fingerprint (R) of 10 batches of *S. officinalis* samples



3-没食子酸; 7-儿茶素; 11-表儿茶素; 12-没食子酸乙酯; 15-金丝桃苷; 16-鞣花酸; 19-槲皮素。

3-gallic acid; 7-catechine; 11-epigallocatechin; 12-ethyl gallate; 15-hyperoside; 16-ellagic acid; 19-quercetin.

图 2 混合对照品 HPLC 色谱图

Fig. 2 HPLC chromatogram of reference substances

号峰)、儿茶素(7 号峰)、表儿茶素(11 号峰)、没食子酸乙酯(12 号峰)、金丝桃苷(15 号峰)、鞣花酸(16 号峰)、槲皮素(19 号峰)。

2.3.5 相似度评价 以生成的对照指纹图谱为标准, 计算 10 批地榆样品的相似度(表 2), 10 批地榆样品相似度为 0.816~0.976, 说明 10 批地榆样品具有较高的相似性, 药材质量相对稳定, 但由于生长环境不同, 不同产地地榆有效成分含量之间存在一定差异。

2.4 HCA

以 10 批地榆样品中 20 个共有峰的峰面积为变量, 导入 SPSS 21.0 软件, 采用组间联接、平方欧式距离法进行 HCA 分析, 结果如图 3 所示, 当欧

表 2 10 批地榆 HPLC 图谱相似度
Table 2 Similarity of HPLC profiles of 10 batches of *S. officinalis*

编号	相似度	编号	相似度
S1	0.829	S6	0.913
S2	0.927	S7	0.885
S3	0.902	S8	0.913
S4	0.940	S9	0.927
S5	0.976	S10	0.816

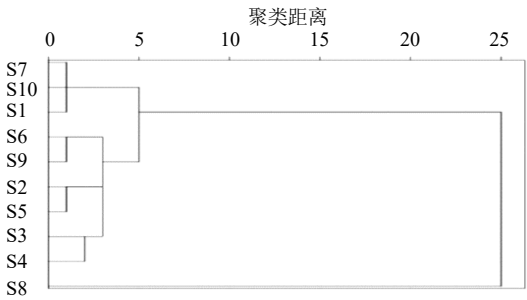


图 3 地榆的系统聚类分析图
Fig. 3 Systematic cluster analysis of *S. officinalis*

氏距离为 4 时,地榆样品可聚为 3 类, S1、S7、S10 为第 1 类, S2~6、S9 为第 2 类, S8 为第 3 类。HCA 结果表明,不同产地地榆药材的质量存在一定地域性差异。

2.5 PCA

2.5.1 特征值与方差贡献率 将 10 批地榆指纹图谱中 20 个共有峰的峰面积导入 SPSS 21.0 软件进行 PCA,以主成分特征值>1 为提取标准,得到 3 个主成分(表 3)。第 1 主成分特征值为 12.771,方差贡献率为 63.857%;第 2 主成分特征值为 4.447,方差贡献率为 22.234%;第 3 主成分特征值为 1.178,方差贡献率为 5.888%;3 个主成分的累积方差贡献率为 91.980%,说明 3 个主成分在反映不同产地地榆样品共有成分关系中起主导作用。

2.5.2 因子载荷矩阵 由因子载荷矩阵(表 4)可得各样品中 20 个共有峰对 3 个主成分不同的独立方差贡献率,第 1 个主成分主要反映了 1、2、4、

表 3 特征值和累积方差贡献率
Table 3 Eigenvalues and cumulative variance contribution

主成分因子	特征值	方差贡献率/%	累积方差贡献率/%
1	12.771	63.857	63.857
2	4.447	22.234	86.092
3	1.178	5.888	91.980

表 4 初始因子载荷矩阵
Table 4 Initial factor loading matrix

共有峰	载荷		
	1	2	3
1	0.885	0.085	-0.080
2	0.964	-0.186	-0.099
3	0.162	0.871	0.410
4	0.864	-0.443	0.038
5	0.966	-0.080	-0.028
6	0.349	0.685	0.411
7	0.843	-0.380	-0.052
8	0.970	0.171	0.081
9	0.740	0.419	-0.370
10	0.972	0.048	0.084
11	0.906	0.083	-0.169
12	0.985	-0.132	0.012
13	0.659	-0.638	0.330
14	0.902	-0.325	-0.235
15	-0.090	-0.911	0.287
16	0.676	0.562	0.745
17	0.981	0.084	-0.009
18	0.095	0.881	-0.436
19	0.966	-0.178	-0.034
20	0.824	0.356	0.062

5、7~14、17、19、20 号色谱峰;第 2 个主成分主要反映了 3、6、15、18 号色谱峰;第 3 个主成分主要反映了 16 号色谱峰。

2.5.3 综合评价 运用 SPSS 21.0 软件计算 10 批地榆样品的主成分得分,以各主成分对应的贡献率为权重系数计算综合得分并进行排序,结果见表 5。通过对各批药材的综合评分排名,可以反映出各批药材的优劣品质,排名愈高品质愈好。综合得分第 1 的为 S8,排名 2~7 的为 S5、S9、S2、S6、S4、S3,排名 8~10 的为 S7、S1、S10,说明 S8 的样品质量较好。

2.6 OPLS-DA

以 10 批地榆样品共有峰峰面积为变量,导入 SIMCA14.1 软件进行 OPLS-DA,得分矩阵图见图 4。该 OPLS-DA 模型, $R^2=0.867$, $Q^2=0.925$,模型稳定可靠,可用于不同产区样品的分析。从得分图来看,3 类样本点完全被分开,样本点之间没有交叉。10 批地榆样品分为 3 类, S2~S6、S9 样品聚为一类, S1、S7、S10 样品聚为一类, S8 样品单独为一类。

表 5 10 批地榆的主成分因子得分及排序

Table 5 Principal component factor scores and ranking of 10 batches of *S. officinalis*

样品	主成分 1 得分	主成分 2 得分	主成分 3 得分	综合得分	排序
S1	-2.697 572 414	-1.671 701 987	1.487 253 959	-2.006 705 523	9
S2	-0.509 888 895	2.815 257 237	0.270 492 692	0.316 271 152	4
S3	-2.265 160 330	0.078 088 535	-1.922 482 149	-1.542 296 976	7
S4	-0.231 715 699	1.441 232 205	-1.649 189 236	0.075 372 612	6
S5	0.779 449 585	2.619 561 421	0.735 752 714	1.123 487 528	2
S6	0.174 501 505	0.405 162 038	0.176 370 526	0.211 899 850	5
S7	-1.499 326 365	-2.936 006 617	-0.085 037 728	-1.615 223 569	8
S8	9.446 024 122	-1.789 288 180	-0.141 617 392	5.625 778 858	1
S9	-0.017 582 376	1.507 384 983	1.140 721 149	0.391 090 061	3
S10	-3.178 693 398	-2.469 668 548	-0.012 275 389	-2.579 647 123	10

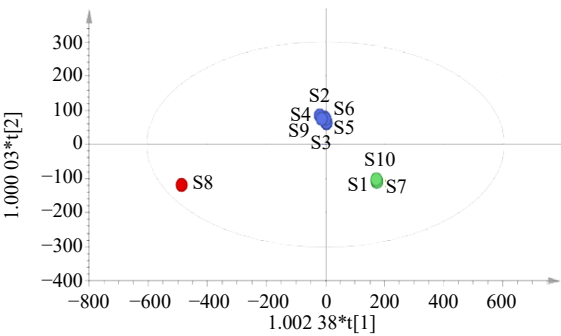


图 4 10 批地榆药材 OPLS-DA 得分图

Fig. 4 OPLS-DA score of 10 batches of *S. officinalis*

结合变量重要性投影值 (variable importance in the projection, VIP) 见图 5, 采用 VIP 值的判定方法筛选差异组分, 以 $VIP>1.0$ 作为标准筛, 选出对模型上 3 组间分类贡献较大的 7 个变量, VIP 大小排序依次为 17 号峰 $>$ 9 号峰 $>$ 15 号峰 (金丝桃苷) $>$ 3 号峰 (没食子酸) $>$ 5 号峰 $>$ 18 号峰 $>$ 7 号峰 (儿茶素), 这些成分是引起不同产区地榆间成分差异的主要标志性成分, 值得多加关注。

表 6 地榆药材中 7 种成分线性关系结果

Table 6 Linearity results of seven components in *S. officinalis*

成分	回归方程	R^2	线性范围/ μg	LOQ/ μg	LOD/ μg
没食子酸	$Y=3\,885.0\,X-207.7$	0.999 7	0.203~4.062	0.005 7	0.001 7
儿茶素	$Y=498.17\,X-80.664$	0.999 9	1.442~28.841	0.016 0	0.004 8
表儿茶素	$Y=700.03\,X-9.621\,2$	0.999 7	0.402~8.039	0.005 6	0.001 7
没食子酸乙酯	$Y=3\,441.0\,X-6.479$	0.999 9	0.105~2.099	0.000 8	0.000 3
金丝桃苷	$Y=2\,522.4\,X-29.851$	0.999 9	0.102~2.037	0.001 1	0.000 3
鞣花酸	$Y=32\,960.0\,X+1\,042.4$	0.999 5	0.103~2.062	0.001 0	0.000 3
槲皮素	$Y=361.29\,X-15.469$	0.999 9	0.100~1.990	0.001 2	0.000 3

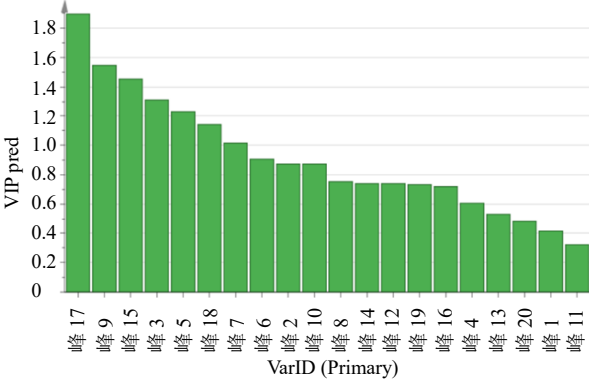


图 5 OPLS-DA 的 VIP 值

Fig. 5 VIP value of OPLS-DA

2.7 地榆中 7 种有效成分含量测定

2.7.1 线性关系考察 精密移取“2.2.2”项下混合对照品溶液 2、6、10、15、20、25、30、35、40 μL , 按照“2.1”项下色谱条件进行测定并分析, 以混合对照品进样量为横坐标 (X), 以对照品峰面积为纵坐标 (Y) 绘制标准曲线, 以信噪比为 10:1 计算定量限 (LOQ), 信噪比为 3:1 计算检测限 (LOD), 进行线性回归, 得到 7 种成分的回归方程, 结果见表 6。

2.7.2 精密度试验 取地榆药材 (S3), 按照“2.2.1”项下方法制备供试品溶液, 按照上述“2.1”项下色谱条件进行 HPLC 分析, 连续进样 6 次, 记录各成分峰面积, 结果没食子酸、儿茶素、表儿茶素、没食子酸乙酯、金丝桃苷、鞣花酸、槲皮素峰面积 RSD 值依次分别为 0.74%、1.73%、1.29%、0.96%、1.23%、1.44%、0.89%, 表明仪器精密度良好。

2.7.3 稳定性试验 取地榆药材 (S3), 按照“2.2.1”项下方法制备供试品溶液, 室温下放置, 分别在 0、2、4、8、12、24 h 后按照“2.1”项下色谱条件进样分析, 记录各成分峰面积, 记录各成分峰面积, 结果没食子酸、儿茶素、表儿茶素、没食子酸乙酯、金丝桃苷、鞣花酸、槲皮素峰面积 RSD 值依次分别为 1.26%、0.73%、0.69%、1.56%、1.43%、0.77%、1.81%, 表明样品 24 h 内稳定。

2.7.4 重复性试验 取地榆药材 (S3), 按照“2.2.1”项下方法制备供试品溶液 6 份, 照上述“2.1”项下色谱条件进行 HPLC 分析, 记录色谱峰面积, 测得各成分含量, 结果没食子酸、儿茶素、

表儿茶素、没食子酸乙酯、金丝桃苷、鞣花酸、槲皮素峰质量分数 RSD 值依次分别为 1.12%、0.83%、1.39%、0.86%、1.31%、0.75%、0.92%。

2.7.5 加样回收率试验 取地榆药材 (S3) 9 份, 每份 0.4 g, 加入混合对照品溶液适量, 按“2.2.1”项下方法制备供试品溶液, 按“2.1”项下色谱条件测定, 记录色谱峰峰面积, 计算回收率和 RSD 值。结果表明, 没食子酸、儿茶素、表儿茶素、没食子酸乙酯、金丝桃苷、鞣花酸、槲皮素的平均回收率分别为 96.47%、97.57%、101.56%、98.13%、100.47%、99.45%、101.05%, RSD 值分别为 0.88%、0.79%、1.42%、1.58%、1.11%、0.95%、0.91%。

2.7.6 样品含量测定 取 10 批地榆药材, 分别按“2.2.1”项下方法制备供试品溶液, 按“2.1”项下色谱条件进行测定, 计算各成分含量, 结果见表 7。通过结果可得, 不同产地地榆化学成分含量存在明显差异。其中, 吉林长春地区地榆药材中儿茶素、表儿茶素、没食子酸乙酯、槲皮素的含量较高; 四川地区地榆药材中没食子酸含量较高; 安徽亳州地区地榆药材中金丝桃苷含量较高。

表 7 10 批地榆中 7 个成分含量测定结果

Table 7 Results of determination of content of seven components in 10 batches of *S. officinalis*

编号	质量分数/(mg·g ⁻¹)						
	没食子酸	儿茶素	表儿茶素	没食子酸乙酯	金丝桃苷	鞣花酸	槲皮素
S1	0.470	0.691	0.084	0.051	0.612	0.038	0.085
S2	0.711	1.434	0.167	0.101	0.047	0.057	0.234
S3	0.236	1.136	0.147	0.042	0.112	0.015	0.179
S4	0.474	1.172	0.228	0.137	0.062	0.043	0.283
S5	0.854	1.449	0.130	0.139	0.083	0.074	0.355
S6	0.558	1.249	0.303	0.151	0.109	0.045	0.319
S7	0.065	3.127	0.070	0.124	0.535	0.021	0.039
S8	0.340	5.101	0.499	0.460	0.405	0.071	3.319
S9	0.649	1.528	0.167	0.144	0.085	0.060	0.463
S10	0.060	1.032	0.029	0.061	0.585	0.020	0.035

3 讨论

通过考察甲醇-0.1%磷酸、甲醇-0.2%磷酸、甲醇-0.5%磷酸、乙腈-0.1%磷酸、乙腈-0.2%磷酸为流动相体系进行梯度洗脱, 结果显示以甲醇-0.1%磷酸作为流动相时, 各色谱峰分离度较好, 基线较平稳; 通过考察地榆样品在波长为 270、277、280 nm 下检测结果, 可得在 270 nm 下出峰更多, 峰面积更大, 因此选择以甲醇-0.1%磷酸作为流动相, 检测波长为

270 nm 条件下对地榆样品进行检测。

通过考察不同提取溶剂 (40%、50%、60%、70% 甲醇)、不同提取时间 (30、35、40 min) 对地榆药材指纹图谱色谱图的影响, 结果显示, 50% 甲醇提取出的成分更多, 色谱峰更多, 不同提取时间无明显差异, 因此选择 50% 甲醇超声提取 30 min 为最佳制备方法。

10 批地榆样品的 HPLC 叠加指纹图谱中共标

识出 20 个共有峰, 通过对照品指认 7 个有效成分, 分别为没食子酸、儿茶素、表儿茶素、没食子酸乙酯、金丝桃苷、鞣花酸、槲皮素, 其中没食子酸、儿茶素、金丝桃苷的含量较高, 色谱峰分离度较好, 现代药理学研究表明, 三者均具有抗肿瘤、抗氧化、抗炎等作用^[11-15], 其可能为地榆发挥药效的主要成分; 同时根据 OPLS-DA 结果显示, 金丝桃苷、没食子酸、儿茶素 VIP 值均>1.0, 因此金丝桃苷、没食子酸、儿茶素可能是地榆药材的差异标志物。此外, HCA、PCA 以及 OPLS-DA 分析结果一致, 都将 10 批地榆药材归为 3 类, 安徽、湖南、广东地区为第 1 类, 四川、贵州、陕西、河南、甘肃地区为第 2 类, 吉林地区为第 3 类; 吉林地区的金丝桃苷、没食子酸、儿茶素三者含量总和最高, PCA 综合得分排名第 1, 由此可得三者含量总和与地榆药材质量呈正相关, 因此, 选择金丝桃苷、没食子酸、儿茶素作为地榆质量评价的指标性成分是可靠的。

综上, 本实验采用指纹图谱结合化学模式识别的方法对不同产地地榆药材进行综合分析, 使用 OPLS-DA 筛选出了不同产地地榆的差异标志物, 为更全面地评价不同产地地榆药材的质量提供参考。

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: 130.
- [2] 吴龙龙, 徐昊阳, 张刘强, 等. 地榆化学成分及药理作用研究进展 [J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2022, 24(01): 360-378.
- [3] 王英英, 朱洁, 鲁兰, 等. 中药地榆的成分以及其药理作用研究进展 [J]. 四川中医, 2022, 40(8): 216-222.
- [4] 韩康, 李天骄, 包永睿, 等. 地榆活性成分指纹图谱建立及多指标成分含量测定研究 [J]. 辽宁中医杂志, 2022, 49(04), 154-157+224.
- [5] 朱前恒, 廖梅香, 丁芸, 等. HPLC 同时测定地榆中没食子酸和金丝桃苷的含量 [J]. 广东化工, 2021, 48(19): 179-180.
- [6] 王雪, 戴衍朋, 徐波, 等. 不同产地地榆饮片中地榆皂苷 I 和地榆皂苷 II 的含量测定及比较分析 [J]. 中南药学, 2018, 16(3): 400-404.
- [7] 赵娟, 谢世静, 赵兴华, 等. 中药指纹图谱质控方法研究进展 [J]. 云南中医药杂志, 2020, 41(1): 82-86.
- [8] 宋奇, 刘宏, 王添敏, 等. HPLC 指纹图谱和多成分定量结合化学模式识别法评价不同产地胡桃楸叶质量 [J]. 中草药, 2022, 53(7): 2143-2149.
- [9] 谢苏梦, 季巧遇, 吕尚, 等. 不同产地野菊花 HPLC 指纹图谱建立及化学模式识别研究 [J]. 中草药, 2021, 52(24): 7616-7623.
- [10] 陈肖, 管红梅, 陈梦林, 等. 基于指纹图谱和多指标成分定量结合化学模式识别法评价不同产地草果质量 [J]. 中草药, 2022, 53(11): 3472-3479.
- [11] 杭佳, 张梦美, 叶晓川, 等. 白藜药效成分没食子酸抑制人肝癌 HepG2 细胞生长及作用机制研究 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(1): 291-295.
- [12] Peng C C, Hsieh C L, Wang H E, *et al.* Ferulic acid is nephrodamaging while gallic acid is renal protective in long term treatment of chronic kidney disease [J]. *Clin Nutr*, 2012, 31(3): 405-414.
- [13] Wang X H, Zhao H Q, Ma C H, *et al.* Gallic acid attenuates allergic airway inflammation via suppressed interleukin-33 and group 2 innate lymphoid cells in ovalbumin-induced asthma in mice [J]. *Int Forum Allergy Rhinol*, 2018, 8(11): 1284-1290.
- [14] 徐先祥. 儿茶素的药理作用研究综述 [J]. 郑州轻工业学院学报: 自然科学版, 2012, 27(4): 60-64.
- [15] 杨诗婷, 王晓倩, 廖广辉. 金丝桃苷的药理作用机制研究进展 [J]. 中国现代应用药学, 2018, 35(6): 947-951.

[责任编辑 时圣明]