

## 砂茴香 HPLC 特征图谱建立及不同部位化学模式识别研究

王青虎, 伊力奇, 朝 梁, 王光明, 宋亚伟, 明 慧  
内蒙古民族大学蒙医药学院, 内蒙古 通辽 028000

**摘要:** 目的 建立砂茴香 *Ferula bungeana* 的化学指纹图谱及定量分析方法, 并比较其不同部位化学成分差异性, 为其不同部位的功效和主治提供化学基础数据。方法 采用 HPLC 法建立 15 批砂茴香不同部位的化学指纹图谱, 采用“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”软件(2012 年 130723 版), 确定砂茴香不同部位各自的共有峰及其不同部位之间交叉共有峰。同时, 采用对照品法指认砂茴香不同部位之间交叉共有峰, 并进行主成分分析(principal component analysis, PCA)、偏最小二乘法判别分析(partial least squares discriminant analysis, PLS-DA)和方差分析, 确认其潜在差异成分。采用 HPLC 法测定 15 批砂茴香不同部位中宽叶阿魏醇和伞形戊烯内酯的含量。结果 建立了 15 批砂茴香不同部位的化学指纹图谱, 标定砂茴香全草共有峰为 18 个, 而其地上部位和根中标定了共有峰各为 16 个。其各自共有峰相似度均大于 0.9 以上, 说明砂茴香同一部位之间化学成分差异性较小。砂茴香不同部位之间交叉共有峰有 7 个, 鉴定了其中 1 号峰为砂茴香碱 A、8 号峰为砂茴香酮 A、15 号峰为砂茴香素 A、16 号峰为宽叶阿魏醇和 18 号峰为伞形戊醇内酯。PCA、PLS-DA 和方差分析结果显示, 砂茴香不同部位之间的差异成分主要有 3 个, 分别为砂茴香酮 A、宽叶阿魏醇和伞形戊醇内酯, 其 VIP 值分别为 1.364、1.119 和 1.015。含量测定结果显示, 宽叶阿魏醇和伞形戊醇内酯在 15 批砂茴香不同部位中含量变化分别为  $(2.235 \pm 0.025) \sim (9.481 \pm 0.133)$  mg/g 和  $(6.670 \pm 0.067) \sim (28.820 \pm 0.346)$  mg/g,  $(0.694 \pm 0.010) \sim (1.958 \pm 0.025)$  mg/g 和  $(0.138 \pm 0.002) \sim (1.784 \pm 0.020)$  mg/g,  $(5.113 \pm 0.077) \sim (13.550 \pm 0.176)$  mg/g 和  $(9.2460 \pm 0.102) \sim (32.760 \pm 0.524)$  mg/g, 说明不同来源砂茴香不同部位中宽叶阿魏醇和伞形戊醇内酯相对含量差异性较大。结论 从化学成分比较结果看, 砂茴香不同部位之间存在一定的差异性, 因此砂茴香不同部位药用价值各异具有合理性。

**关键词:** 砂茴香; 高效液相色谱; 化学指纹图谱; 化学模式识别; 宽叶阿魏醇; 伞形戊烯内酯

中图分类号: R286.2 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2024)19-6749-09

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2024.19.

## Establishment of high performance liquid chromatography fingerprint of *Ferula bungeana* and chemical pattern recognition study of its different parts

WANG Qinghu, YI Liqi, CHAO Liang, WANG Guangming, SONG Yawei, MING Hui  
Mongolian Medical College, Inner Mongolia Minzu University, Tongliao 028000, China

**Abstract: Objective** To establish a chemical fingerprint and quantitative analysis method for *Ferula bungeana* and compare the differences in chemical composition of its different parts, providing chemical basic data for the efficacy and treatment of different problems in its different parts. **Methods** HPLC method was used to establish the chemical fingerprint of different parts of 15 batches of *F. bungeana*. Then, the “similarity evaluation system for traditional Chinese medicine chromatographic fingerprints” software (2012 edition 130723) was used to determine the common peaks of different parts of *F. bungeana* and the cross common peaks between its different parts. At the same time, the reference method was used to identify the cross common peaks between different parts of *F. bungeana*, and their cross common peaks were subjected to principal component analysis (PCA), partial least squares discriminant analysis (PLS-DA), and analysis of variance to confirm their potential differential components. HPLC method was used to determine the content of conferyl and umbelliprenin in different parts of 15 batches of *F. bungeana*. **Results** The chemical fingerprint were established for

收稿日期: 2024-01-02

基金项目: 蒙药研发国家地方联合工程研究中心开放基金项目(MDK2023040); 内蒙古自治区中蒙药重点实验室开放基金项目(MYX2022-K06)

作者简介: 王青虎, 教授, 博士生导师, 从事蒙药有效物质基础及其药理研究。E-mail: wqh693@163.com

different parts of 15 batches of *F. bungeana*. Among 15 batches of the whole herb of *F. bungeana*, a total of 18 common peaks were identified, while 16 common peaks were identified in the aerial parts and roots of *F. bungeana*. The similarity of their respective common peaks was greater than 0.9, indicating that there was relatively little difference in chemical composition between the same part of *F. bungeana*. There were seven cross common peaks between different parts of *F. bungeana*, among which the first peak was identified as bungeanal alkaloid A, the 8th peak was identified as bungeanone A, the 15th peak was identified as bungeanin A, the 16th peak was identified as conferol and the 18th peak was identified as umbelliprenin. The results of PCA, PLS-DA and analysis of variance showed that there were three main components with differences between different parts of *F. bungeana*, namely bungeanone A, conferol and umbelliprenin, with VIP values of 1.364, 1.119, and 1.015, respectively. The content determination results showed that the content changes of conferol and umbelliprenin in different parts of 15 batches of *F. bungeana* were  $(2.235 \pm 0.025) - (9.481 \pm 0.133)$  mg/g,  $(6.670 \pm 0.067) - (28.820 \pm 0.346)$  mg/g,  $(0.694 \pm 0.010) - (1.958 \pm 0.025)$  mg/g,  $(0.138 \pm 0.002) - (1.784 \pm 0.020)$  mg/g,  $(5.113 \pm 0.077) - (13.550 \pm 0.176)$  mg/g and  $(9.2460 \pm 0.102) - (32.760 \pm 0.524)$  mg/g, respectively, indicating that there were significant differences in the relative content of conferol and umbelliprenin in different parts of *F. bungeana* from different sources.

**Conclusion** From the comparison of chemical components, it can be seen that there are certain differences between different parts of *F. bungeana*, so it may be reasonable for different parts of *F. bungeana* to have different medicinal values.

**Key words:** *Ferula bungeana* Kitag.; HPLC; chemical fingerprint; chemical pattern recognition; conferol; umbelliprenin

阿魏属植物在全球有 170 种, 其中 60 余种分布于中亚<sup>[1]</sup>。中国有 26 种, 其中 7 种为中国特有种, 13 种具有药用价值, 主要产于中国新疆和内蒙古<sup>[2-3]</sup>。倍半萜-香豆素杂合化合物<sup>[4-15]</sup>是阿魏属植物的特征性成分之一, 在抗菌、抗氧化和抗肿瘤等方面具有较好的生物活性。

砂茴香 *Ferula bungeana* Kitag., 又名硬阿魏, 是我国特有且具药用价值的阿魏属植物之一, 在内蒙古境内沙漠地区分布较广, 资源丰富。砂茴香以根、地上部分、全草入药, 而且其不同部位具有不同功效和治疗不同的病症。根具有解热、镇咳、祛痰等功效, 主治感冒、发热头痛、气管炎、咳嗽、喘息、胸闷; 地上部位具有理气健胃功效, 主治消化不良、急慢性胃炎; 全草具有祛风除湿功效, 主治风湿性关节炎。为此, 课题组关注砂茴香不同部位化学成分是否存在差异性? 经查阅相关文献报道<sup>[2,16-17]</sup>可知, 砂茴香化学成分及其指纹图谱研究尚未见报道。本研究拟将采用 HPLC 法建立 15 批砂茴香不同部位的化学指纹图谱, 并采用相似度评价结合化学模式法识别其不同部位之间潜在差异成分, 并以潜在差异成分为指标成分, 建立其含量测定方法, 为该药材不同部位质量评价及其不同部位具有不同药用价值的合理性提供化学基础。

## 1 材料

LC-20AT 型高效液相色谱仪 (日本岛津公司); AUW220D 型电子天平 (日本岛津公司); DWJZ-10L-Z 型超纯水机 (天津津立仪器设备科技发展有

限公司); KQ-600DB 型超声波清洗器 (天津津立仪器设备科技发展有限公司)。对照品砂茴香碱 A、砂茴香酮 A、砂茴香素 A、宽叶阿魏醇和伞形戊烯内酯对照品均为课题组从砂茴香全草中分离得到, 其质量分数大于 98%。甲酸和乙腈均为色谱纯, 水为超纯水, 其他溶剂均为分析纯。砂茴香药材采集了 15 批, 其采集信息见表 1。经内蒙古民族大学蒙药学院蒙药鉴定教研室红艳副教授鉴定为伞形科植物砂茴香 *F. bungeana* Kitagawa 的全草。将 15 批砂茴香药材不同部位分开, 分别得地上部位 (编号 SHX01-01~SHX15-01)、根 (编号 SHX01-02~SHX15-02)。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

ZORBAX Eclipse Plus C<sub>18</sub> (250 mm×4.6 mm, 5.0 μm), 流动相为乙腈 (A)-0.1%甲酸水溶液 (B), 梯度洗脱程序为 0~25 min, 45%~65% A; 25~55 min, 65%~75% A。柱温为 35 °C; 体积流量为 1.0 mL/min; 进样量为 10 μL; 检测波长为 261 nm。

### 2.2 供试品溶液的制备

分别称取 15 批砂茴香全草、地上部位和根的粉末 (过 3 号筛) 各约为 1.00 g, 精密称定, 加石油醚-醋酸乙酯 (1:1) 20 mL, 超声处理 30 min, 滤过, 滤液减压回收溶剂至干, 再加色谱甲醇 25 mL, 超声处理 30 min, 滤过, 滤液即为砂茴香全草供试液 SHX01~SHX15、砂茴香地上部位供试液 SHX01-01~SHX15-01 和砂茴香根供试液 SHX01-02~SHX15-02。

表 1 15 批砂茴香采集信息

Table 1 Collection information of 15 batches of *F. bungeana*

编号	采集地 (产地)	采集时间
SHX01	内蒙古自治区通辽市库伦旗茫汗苏木	2022-06-21
SHX02	内蒙古自治区通辽市科尔沁区森林公园	2022-07-08
SHX03	内蒙古自治区兴安盟科右中旗代钦塔拉苏木	2022-07-05
SHX04	内蒙古自治区通辽市科左后旗努古斯台嘎查	2023-06-19
SHX05	内蒙古自治区通辽市科尔沁区森林公园	2023-06-22
SHX06	内蒙古自治区通辽市科左后旗伊胡塔镇	2023-06-26
SHX07	内蒙古自治区通辽市库伦旗三家子镇上勿兰组	2023-06-28
SHX08	内蒙古自治区通辽市开鲁县东风镇	2023-06-23
SHX09	内蒙古自治区通辽市科尔沁区莫力庙	2023-06-23
SHX10	内蒙古自治区通辽市科左中旗希伯花镇大解放嘎查	2023-06-23
SHX11	内蒙古自治区通辽市科左中旗舍伯吐镇毛敦艾勒嘎查	2023-06-23
SHX12	内蒙古自治区兴安盟右翼中旗好腰苏木召沙嘎查	2023-06-23
SHX13	内蒙古自治区兴安盟右翼中旗新佳木苏镇后拉拉屯	2023-06-23
SHX14	内蒙古自治区扎鲁特旗道老杜苏木	2023-06-24
SHX15	内蒙古自治区赤峰市天山镇	2023-07-04

### 2.3 对照品溶液的制备

取对照品砂茴香碱 A、砂茴香酮 A、砂茴香素 A、宽叶阿魏醇和伞形戊醇内酯适量,精密称定,分别用色谱乙腈制成 0.50 mg/mL 的砂茴香碱 A、砂茴香酮 A、砂茴香素 A 贮备液和 2.00 mg/mL 的宽叶阿魏醇和伞形戊醇内酯贮备液。分别精密量取砂茴香碱 A、砂茴香酮 A、砂茴香素 A 贮备液各 200  $\mu$ L,而宽叶阿魏醇和伞形戊醇内酯贮备液 500  $\mu$ L 和 250  $\mu$ L 置于 10 mL 量瓶中,加色谱乙腈至刻度,制成含砂茴香碱 A、砂茴香酮 A、砂茴香素 A 各 10  $\mu$ g/mL,宽叶阿魏醇 100  $\mu$ g/mL 和伞形戊醇内酯 50  $\mu$ g/mL 的混合对照品溶液,摇匀,即得。

### 2.4 方法学考察

**2.4.1 精密度试验** 吸取供试液 (SHX05) 适量,按“2.1”项色谱条件,进样,采集其 HPLC 图谱。以宽叶阿魏醇为参照峰 (S),计算其各共有峰的相对保留时间比和相对峰面积比的 RSD。同时,采用“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”软件 (2012 年 130723 版) 进行相似度评价。结果显示各共有峰的相对保留时间比和相对峰面积比的 RSD 均小于 3.0%,其相似度均大于 0.9。

**2.4.2 稳定性试验** 吸取供试液 (SHX05) 适量,按“2.1”项下确定的色谱条件下,分别于 0、2、6、10、12、24 h 进样,采集其 HPLC 图谱。以宽叶阿魏醇为参照峰 (S),计算其各共有峰的相对保留时间比和相对峰面积比的 RSD。同时,采用“中药色

谱指纹图谱相似度评价系统”软件 (2012 年 130723 版) 进行相似度评价。结果显示各共有峰的相对保留时间比和相对峰面积比的 RSD 均小于 3.0%,其相似度均大于 0.9。

**2.4.3 重复性试验** 取砂茴香全草 (SHX05) 6 份各 1.00 g,精密称定,按“2.2”项下建立的制备方法制备供试液,按“2.1”项下确定的色谱条件下,进样,采集其 HPLC 图谱。以宽叶阿魏醇为参照峰 (S),计算其各共有峰的相对保留时间比和相对峰面积比的 RSD。同时,采用“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”软件 (2012 年 130723 版) 进行相似度评价。结果显示各共有峰的相对保留时间比和相对峰面积比的 RSD 均小于 3.0%,其相似度均大于 0.9。

### 2.5 指纹图谱的建立及相似度评价

**2.5.1 砂茴香不同部位特征图谱的建立** 在“2.1”项色谱条件下,将 15 批砂茴香全草、地上部位和根的供试液,依次进样检测,记录其色谱图。将其色谱图用“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”软件 (2012 年 130723 版),以砂茴香 (SHX05) 的色谱图为参照图谱,时间窗宽度设为 0.5 min,经多点校正、全谱峰匹配、中位数法生成 15 批砂茴香全草、地上部位和根的指纹图谱叠加图及对照特征图谱 (R),15 批砂茴香全草中标定了共有峰为 18 个,而地上部位和根中标定了共有峰各为 16 个,见图 1~3。

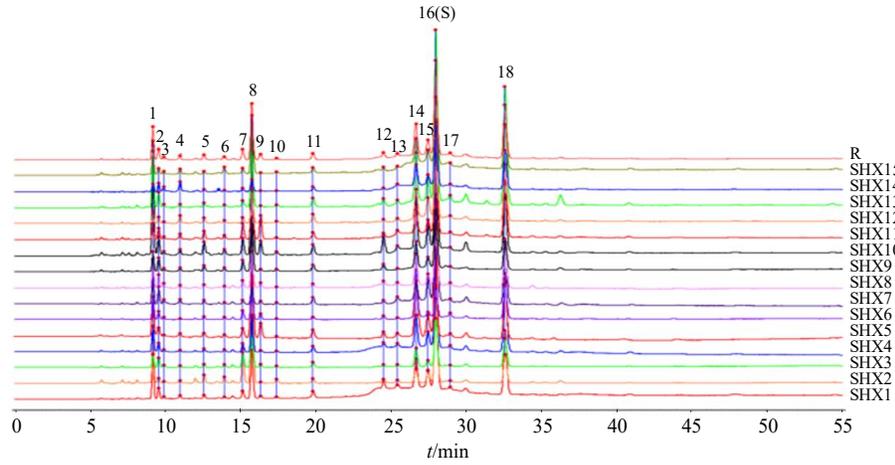


图 1 15批砂茴香全草 HPLC 指纹图谱

Fig. 1 HPLC fingerprint chromatogram of 15 batches of whole plant of *F. bungeana*

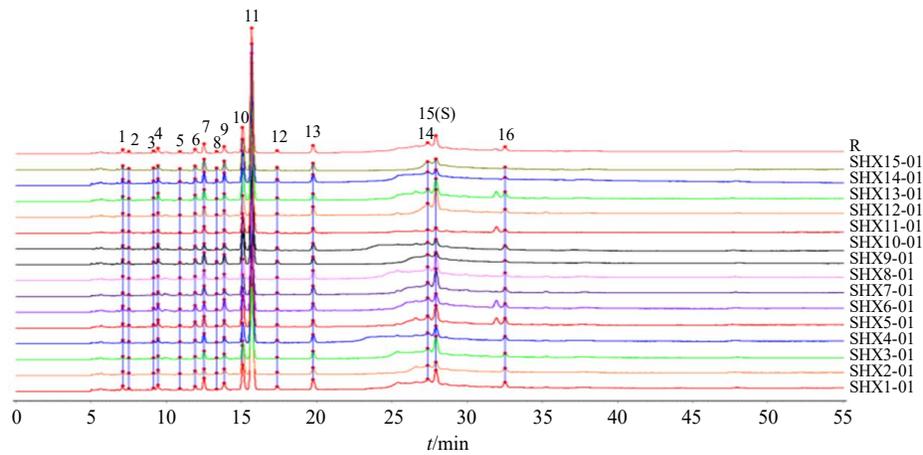


图 2 15批砂茴香地上部分 HPLC 指纹图谱

Fig. 2 HPLC fingerprint chromatogram of 15 batches of aerial part of *F. bungeana*

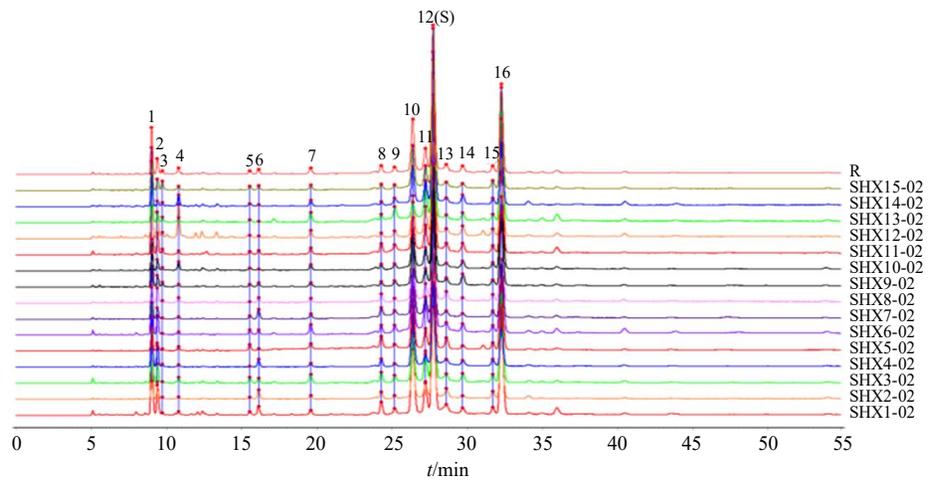


图 3 15批砂茴香根 HPLC 指纹图谱

Fig. 3 HPLC fingerprint chromatogram of 15 batches of root of *F. bungeana*

**2.5.2 砂茴香不同部位的相似度评价** 以砂茴香不同部位的对照特征图谱(R)为对照,采用“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”软件(2012年130723版),计算15批砂茴香不同部位的相似度。结果显示其相似度均大于0.9以上,说明砂茴香同一部位之间化学成分差异性较小。

**2.5.3 砂茴香不同部位间交叉共有峰的识别** 为了识别砂茴香不同部位交叉共有峰,选择砂茴香全草(SHX05)、地上部位(SHX05-01)和根(SHX05-02)的色谱图为比较图谱,采用《中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012版)》软件,时间窗宽度设为0.2 min,经多点校正、全谱峰匹配、中位数法生成砂茴香全草与地上部位、砂茴香全草与根及砂茴香全草与地上部位和根的比较指纹图谱,识别砂茴香不同部位交叉共有峰的数目和种类。从图4、5看出,砂茴香全草与地上部位共有峰10个,分别为15批砂茴香全草中共有峰1、2、5、7、8、10、11、15、16和18,而全草与共有根有11个,分别为共有峰1、2、8、11、12、13、14、15、16、17和18,但前者10个共有峰中第5、7和10峰在根中消失,同样后者11个共有峰中第12、13、14和17峰在地上部位中不存在。这一结果说明砂茴香不同部位化学成分有一定差异性。从图6看出,砂茴香全草与地上部位和根交叉共有峰7个,其中15批砂茴香全草中共有峰8在地上部位中峰高远高于根部,而第15、16和18在根中也远远高于地上部位。另外,直观分析可知,地上部位在保留时间5~20 min出现多个吸收峰,而根部在保留时间23~35 min出现多个色谱峰。这一结果说明砂茴香地上部位中偏亲水性化合物多,而根部中偏亲脂性化合物多,也进一步证实砂茴香不同部位化学成分的差异性。

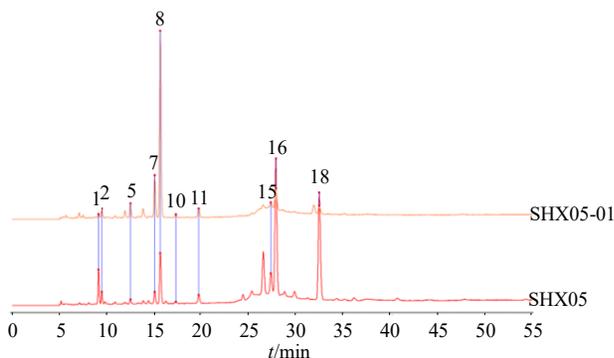


图4 砂茴香全草与地上部位比较指纹图谱

Fig. 4 Comparison fingerprint chromatogram between whole plant and aerial part of *F. bungeana*

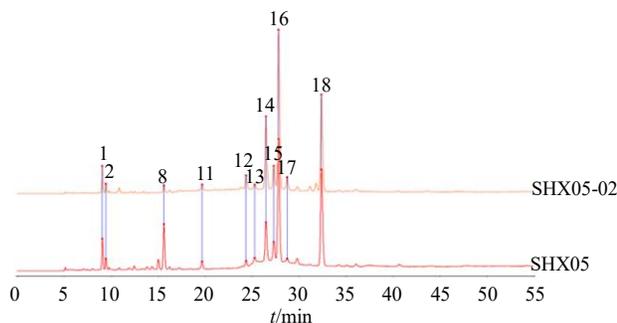


图5 砂茴香全草与根比较指纹图谱

Fig. 5 Comparison fingerprint chromatogram of whole plant and root of *F. bungeana*

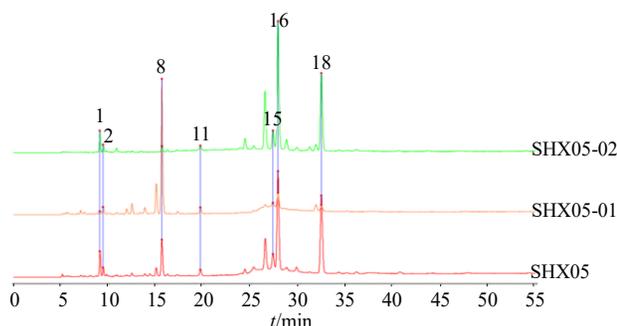
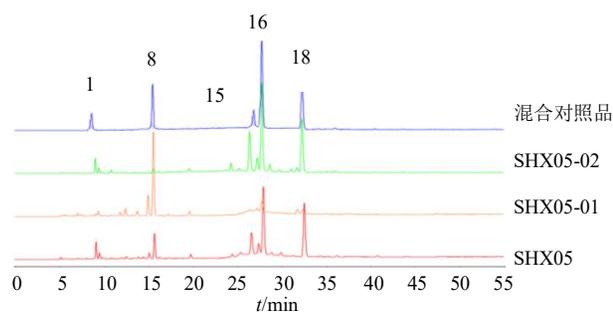


图6 砂茴香全草与地上部位、根比较指纹图谱

Fig. 6 Comparison fingerprint chromatogram of whole plant, aerial part and root of *F. bungeana*

**2.5.4 砂茴香不同部位交叉共有峰的确证** 采用对照品比对法识别了砂茴香不同部位中7个交叉共有峰的5个,分别是1号峰为砂茴香碱A、8号峰为砂茴香酮A、15号峰为砂茴香素A、16号峰为宽叶阿魏醇和18号峰为伞形戊醇内酯,见图7。



1-砂茴香碱A; 8-砂茴香酮A; 15-砂茴香素A; 16-宽叶阿魏醇; 18-伞形戊醇内酯。

1-bungeanal alkaliod A; 8-bungeanone A; 15-bungeanin A; 16-conferol; 18-umbelliprenin.

图7 砂茴香不同部位对照指纹图谱和混合对照品溶液图谱

Fig. 7 Comparison fingerprint chromatogram of different parts of *F. bungeana* and mixed reference solution chromatogram

## 2.6 化学模式识别分析

**2.6.1 主成分分析 (principal component analysis, PCA)** 先把 15 批砂茴香不同部位的 7 个交叉共有峰的峰面积导入 SIMCA-P 软件, 采用自动规格化 (unit variance scaling, UV) 数据处理, 进行 PCA 分析。结果 (图 8) 所示, 砂茴香地上部位的样品与砂茴香全草和根有较好的分离, 并且个样品间较集中, 然而砂茴香全草和根的样品比较分散, 同时存在离群值, 故进一步采用有监督模式进行分析。

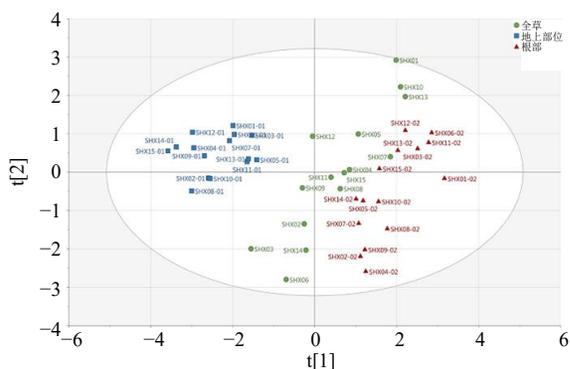


图 8 砂茴香不同部位的 PCA 得分图

Fig. 8 PCA score plot of different parts of *F. bungeana*

**2.6.2 偏最小二乘法判别分析 (partial least squares discriminant analysis, PLS-DA)** 为了消除组内差异的影响, 精准分析砂茴香不同部位的差异性, 本研究采用 PLS-DA 进一步对砂茴香不同部位样品进行分析。结果 (图 9) 显示, PLS-DA 模型中检验参数为  $R^2_X=99.1\%$ 、 $Q^2=75.1\%$ , 表明建立的模型较稳定且预测性良好。PLS-DA 分类结果比 PCA 更清晰, 除根部样品 (SHX03-12) 外, 砂茴香不同部位的样品分类为 3 类, 说明砂茴香不同部位的样品间化学成分存在一定的差异。

同时, 以模型变量投影 (variable importance in projection, VIP) 值为指标, 对砂茴香不同部位样品间产生差异的成分进行分析。由图 10 可知, 按 VIP 值由大到小排列分别为 8 号峰 (砂茴香酮 A) > 18 号峰 (伞形戊醇内酯) > 16 号峰 (宽叶阿魏醇) > 1 号峰 (砂茴香碱 A) > 2 号峰 > 15 号峰 (砂茴香素 A) > 11 号峰, 其中砂茴香酮 A、伞形戊醇内酯和宽叶阿魏醇的 VIP > 1, 可作为砂茴香不同部位的潜在差异成分。虽然砂茴香酮 A 对组间差异贡献最大, 但其含量在砂茴香不同部位变化较大, 而且在色谱图中其保留时间不在分析段的中间, 故本研究选用宽叶阿魏醇为的参照峰。

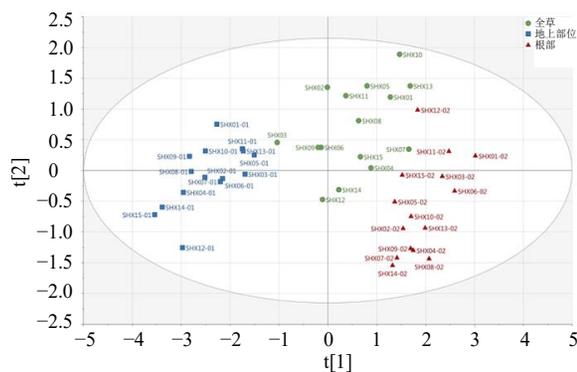


图 9 砂茴香不同部位的 PLS-DA 得分图

Fig. 9 PLS-DA score plot of different parts of *F. bungeana*

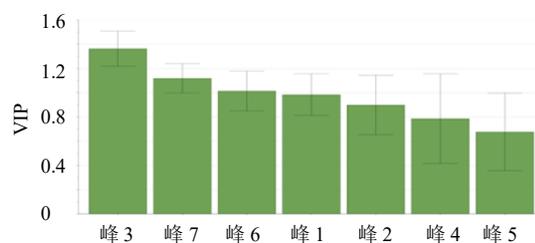


图 10 潜在种间差异成分的 VIP 值

Fig. 10 VIP value of potential interspecies differential components

**2.6.3 方差分析** 为了验证 PLS-DA 分析中得到的潜在差异成分是否具有统计学意义, 采用 GraphPad Prism 11.0 软件对 PLS-DA 发现的 3 个潜在不同部位间差异成分在砂茴香不同部位中的峰面积进行正态分布检验 ( $P > 0.1$ , 符合正态性), 再进行单因素方差分析和 Tukey's 多重比较。由图 11 可知, 3 号峰、伞形戊醇内酯和宽叶阿魏醇在不同部位间有显著差异 ( $P < 0.01$ ), 可作为砂茴香不同部位间差异标志物。

## 2.7 砂茴香不同部位中宽叶阿魏醇和伞形戊醇内酯的含量测定

宽叶阿魏醇和伞形戊醇内酯等倍半萜-香豆素杂合化合物是砂茴香的特征性成分, 也是有效成分之一, 并且在该植物中相对含量较高, 而砂茴香碱 A、砂茴香酮 A 和砂茴香素 A 的相对含量较低, 故本研究就以宽叶阿魏醇和伞形戊醇内酯为指标成分, 建立了砂茴香不同部位中宽叶阿魏醇和伞形戊醇内酯的含量测定方法。

**2.7.1 标准曲线的绘制** 吸取“2.3”项下宽叶阿魏醇和伞形戊醇内酯对照品贮备液适量, 用色谱乙腈配制宽叶阿魏醇不同质量浓度系列标准溶

液 (0.02、0.06、0.10、0.20、0.30、0.40 mg/mL), 伞形戊醇内酯不同质量浓度系列标准溶液 (0.01、0.05、0.25、0.75、1.25、1.50 mg/mL)。在上述色谱条件下, 精密吸取宽叶阿魏醇和伞形戊醇内酯

不同质量浓度系列标准溶液各 10 μL, 进样, 测定, 以质量浓度为横坐标 (X), 以峰面积为纵坐标 (Y) 绘制其标准曲线并计算其回归方程, 结果见表 2。

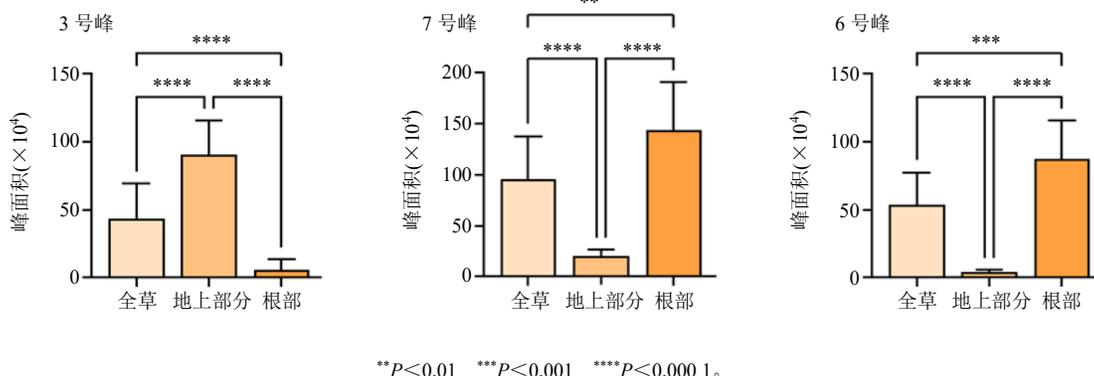


图 11 潜在种间差异成分的方差分析结果 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

Fig. 11 Analysis of variance results of potential interspecies differential components ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

表 2 宽叶阿魏醇和伞形戊醇内酯的回归方程和线性范围

Fig. 2 Regression equation and linear range of conferyl and umbelliprenin

成分	回归方程	r	线性范围/(mg·mL <sup>-1</sup> )
宽叶阿魏醇	$Y=4.00 \times 10^6 X-23\ 591$	0.999 3	0.02~0.40
伞形戊醇内酯	$Y=1.00 \times 10^6 X+10\ 742$	0.999 7	0.01~1.50

**2.7.2 精密度试验** 在“2.1”项色谱条件下, 吸取宽叶阿魏醇和伞形戊醇内酯对照品溶液 10 μL, 进样 6 次, 计算宽叶阿魏醇和伞形戊醇内酯峰面积的 RSD 分别 0.47%、0.53%。

**2.7.3 稳定性试验** 分别吸取同一样品溶液 (SHX05) 10 μL, 在“2.1”项色谱条件下, 于不同时间点 (0、2、6、8、10、12 h) 进样测定, 计算宽叶阿魏醇和伞形戊醇内酯峰面积的 RSD, 分别为 1.8%和 1.7%, 表明供试品溶液在 12 h 内基本稳定。

**2.7.4 重复性试验** 称取同一样品 (SHX05) 6 份, 每份 0.10 g, 精密称定, 照“2.2”项下制备样品溶液, 进样, 测定, 计算宽叶阿魏醇和伞形戊醇内酯质量分数的 RSD, 分别为 1.6%和 1.4%。

**2.7.5 加样回收率试验** 取样品 (SHX05) 6 份, 每份约 0.5 g, 精密称定, 按原有量与对照品比例为 1 : 1 分别加入宽叶阿魏醇和伞形戊醇内酯对照品适量, 按“2.2”项下制备样品溶液。在上述色谱条件下, 进样、测定, 并计算加样回收率和 RSD, 宽叶阿魏醇和伞形戊醇内酯加样回收率分别为 97.8%、97.6%; RSD 值为 1.0%、1.1%。

**2.7.6 含量测定** 在“2.1”项色谱条件下, 吸取 15 批砂茴香全草、地上部位和根的供试液, 进样、测定, 记录宽叶阿魏醇和伞形戊醇内酯的峰面积并计算供试液含量, 结果见表 3。

### 3 讨论

#### 3.1 色谱条件的优化

本研究考察了流动相组成 (甲醇-水、甲醇-0.1% 甲酸水溶液、乙腈-水和乙腈-0.1% 甲酸水溶液) 和检测波长 (203、217、238、254、261 和 316 nm), 结果表明以乙腈-0.1% 甲酸水溶液为流动相、检测波长为 261 nm 时, 色谱峰出峰数多, 并其主要色谱峰的分离度也较好, 故确定流动相组成为乙腈-0.1% 甲酸水溶液和检测波长为 261 nm。

#### 3.2 提取条件的优化

根据课题组砂茴香全草化学成分提取分离前期研究结果可知, 其化学成分主要分布于二氯甲烷萃取物, 醋酸乙酯萃取物中虽然分得一些化合物, 但与前者化合物均重叠, 而正丁醇萃取物中分得一些糖类外, 没分得其他化合物。为了砂茴香化学成分充分体现在 HPLC 指纹图谱中, 本研究以超声为提取方法, 选择丙酮、醋酸乙酯、二氯甲烷、石油醚、

表 3 样品含量测定结果 ( $n=3$ )

样品批号	质量分数/( $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ )	
	宽叶阿魏醇	伞形戊醇内酯
SHX01	8.789±0.105	17.14±0.240
SHX02	4.844±0.044	6.670±0.067
SHX03	2.892±0.038	6.744±0.094
SHX04	8.265±0.124	19.61±0.216
SHX05	8.527±0.136	13.81±0.207
SHX06	2.235±0.025	8.297±0.100
SHX07	9.481±0.133	15.66±0.235
SHX08	4.886±0.059	9.275±0.148
SHX09	3.935±0.051	7.338±0.088
SHX10	8.276±0.116	15.82±0.174
SHX11	5.393±0.065	13.53±0.244
SHX12	5.478±0.055	13.89±0.208
SHX13	10.580±0.116	28.82±0.346
SHX14	3.673±0.062	9.263±0.139
SHX15	4.850±0.053	10.72±0.118
SHX01-01	1.303±0.018	0.880±0.013
SHX02-01	1.129±0.014	0.684±0.012
SHX03-01	1.947±0.029	1.269±0.024
SHX04-01	1.341±0.021	0.663±0.086
SHX05-01	1.920±0.027	1.784±0.020
SHX06-01	1.570±0.019	0.681±0.012
SHX07-01	1.632±0.021	0.640±0.012
SHX08-01	1.303±0.016	0.642±0.008
SHX09-01	0.694±0.010	0.160±0.002
SHX10-01	0.925±0.014	0.811±0.013
SHX11-01	1.648±0.023	1.180±0.020
SHX12-01	1.958±0.025	0.661±0.008
SHX13-01	1.648±0.025	1.180±0.012
SHX14-01	0.974±0.013	0.138±0.002
SHX15-01	1.055±0.015	0.176±0.003
SHX01-02	5.513±0.094	28.78±0.374
SHX02-02	12.81±0.205	16.38±0.229
SHX03-02	5.113±0.077	24.90±0.423
SHX04-02	7.779±0.124	9.246±0.102
SHX05-02	13.550±0.176	19.23±0.250
SHX06-02	6.742±0.108	32.76±0.524
SHX07-02	8.889±0.160	13.74±0.165
SHX08-02	6.323±0.082	20.40±0.347
SHX09-02	6.589±0.066	17.18±0.258
SHX10-02	9.665±0.164	29.49±0.383
SHX11-02	12.73±0.165	22.66±0.317
SHX12-02	11.28±0.135	22.68±0.272
SHX13-02	9.376±0.178	32.04±0.352
SHX14-02	7.811±0.102	17.40±0.226
SHX15-02	12.73±0.153	16.66±0.267

石油醚-醋酸乙酯 (1:1)、石油醚-丙酮 (1:1)、二氯甲烷-醋酸乙酯 (1:1) 和二氯甲烷-丙酮 (1:1) 为提取溶剂, 考察了其提取效果, 结果显示石油醚-醋酸乙酯 (1:1) 提取效果最好; 考察了溶剂用量 10、15、20、25、30、35 mL, 结果发现溶剂用量 30 mL 提取效率与 35 mL 基本一致, 并高于其他溶剂用量; 考察了 10、20、30、40、50 min 提取

时间, 结果显示 30 min 提取率最佳。

### 3.3 指纹图谱的建立及模式识别分析

砂茴香以根、地上部分、全草入药, 而且其不同部位具有不同功效和治疗不同的病症。为了解析砂茴香不同部位和不同部位间的化学成分差异性, 采用 HPLC 法建立砂茴香不同部位的化学指纹图谱。结果显示, 15 批砂茴香全草中标定了共有峰为 18 个, 而其地上部位和根中标定了共有峰各为 16 个。砂茴香不同部位相似度均大于 0.9 以上, 说明砂茴香同一部位之间化学成分差异性较小。

砂茴香不同部位间交叉共有峰的识别过程中发现砂茴香全草与地上部位共有峰 10 个, 而与根有 11 个, 但有些吸收峰在根中消失, 还有些吸收峰在地上部位中消失。另外, 对比较图谱的直观分析可知, 地上部位在保留时间 5~20 min 出现多个吸收峰, 而根部在保留时间 23~35 min 出现多个色谱峰。根据砂茴香全草化学成分研究可知, 保留时间在 5~20 min 的多个吸收峰经分离鉴定为生物碱或二萜, 其中多数为新化合物, 而保留时间 23~35 min 的多个色谱峰经分离鉴定为倍半萜-香豆素杂合化合物。这些结果说明砂茴香不同部位之间化学成分有一定差异性, 砂茴香地上部位主含生物碱或二萜, 而其根主含倍半萜-香豆素杂合化合物。砂茴香不同部位之间交叉共有峰 7 个, 指认了其中 1 号峰为砂茴香碱 A、8 号峰为砂茴香酮 A、15 号峰为砂茴香素 A、16 号峰为宽叶阿魏醇和 18 号峰为伞形戊醇内酯。经 7 个交叉共有峰的 PCA、PLS-DA 和方差分析, 结果发现砂茴香不同部位之间的差异成分主要有 3 个, 即为砂茴香酮 A、伞形戊醇内酯和宽叶阿魏醇, 其 VIP 值分别为 1.364、1.119 和 1.015。

生物碱或二萜具有抗菌、抗氧化、抗肿瘤、免疫调节等生物活性<sup>[18-21]</sup>, 而伞形戊醇内酯和宽叶阿魏醇等倍半萜-香豆素杂合化合物也具有抗炎、抗菌、抗肿瘤等生物活性<sup>[22-25]</sup>。这说明砂茴香地上部位和根具有不同功效可能与这些化合物在砂茴香不同部位中分布不同有关联, 但其功效不同有待于进一步其药理研究。

### 3.4 含量测定

方法学考察结果显示, 宽叶阿魏醇和伞形戊醇内酯分别在 0.02~0.40 mg/mL 和 0.01~1.50 mg/mL 内显示良好的线性关系 ( $r$  为 0.999 3 和 0.999 7)。该方法精密度、稳定性和重复性较好, RSD 均小于 2.0%。宽叶阿魏醇和伞形戊醇内酯的加样回收率分

别为 97.8%和 97.6%，RSD 为 1.0%和 1.1%。含量测定结果显示，宽叶阿魏醇和伞形戊醇内酯在 15 批砂茴香全草、地上部位和根中质量分数变化分别为  $(2.235 \pm 0.025) \sim (9.481 \pm 0.133)$  mg/g 和  $(6.670 \pm 0.067) \sim (28.820 \pm 0.346)$  mg/g,  $(0.694 \pm 0.010) \sim (1.958 \pm 0.025)$  mg/g 和  $(0.138 \pm 0.002) \sim (1.784 \pm 0.020)$  mg/g,  $(5.113 \pm 0.077) \sim (13.550 \pm 0.176)$  mg/g 和  $(9.2460 \pm 0.102) \sim (32.760 \pm 0.524)$  mg/g, 说明砂茴香不同部位中宽叶阿魏醇和伞形戊醇内酯相对含量差异性较大。

本研究建立了砂茴香不同部位的化学指纹图谱及其含量测定方法，从实验结果得出的结论是砂茴香不同部位之间化学成分存在一定的差异性，因此从化学角度来说，砂茴香不同部位具有不同药用价值具有合理性，但其不同部位的不同功效有待于进一步药理及药效学研究。本研究所建立的化学指纹图谱及其含量测定方法可为砂茴香不同部位的质量控制及评价提供参考。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

#### 参考文献

- [1] Iranshahi M, Rezaee R, Najaf Najafi M, et al. Cytotoxic activity of the genus *Ferula* (Apiaceae) and its bioactive constituents [J]. *Avicenna J Phytomed*, 2018, 8(4): 296-312.
- [2] 王路, 孙睿, 徐萌, 等. 阿魏化学成分、药理作用及毒理研究进展 [J]. *世界中医药*, 2020, 15(24):3887-3897.
- [3] Motai T, Kitanaka S. Sesquiterpenoids from *Ferula fukanensis* and their inhibitory effects on nitric oxide production [J]. *J Nat Med*, 2006, 60(1): 54-57.
- [4] 许琼明, 李国强, 刘艳丽, 等. 阜康阿魏中倍半萜香豆素类化学成分研究 [J]. *中国药学杂志*, 2009, 44(4): 255-257.
- [5] Yang J R, An Z, Li Z H, et al. Sesquiterpene coumarins from the roots of *Ferula sinkiangensis* and *Ferula teterrima* [J]. *Chem Pharm Bull*, 2006, 54(11): 1595-1598.
- [6] Meng H, Li G Y, Huang J, et al. Sesquiterpene coumarin and sesquiterpene chromone derivatives from *Ferula ferulaeoides* (Steud.) Korov [J]. *Fitoterapia*, 2013, 86: 70-77.
- [7] Liu T, Wang S Y, Xu L L, et al. Sesquiterpenoids with Anti-MDR *Staphylococcus aureus* activities from *Ferula ferulioides* [J]. *Chem Biodivers*, 2015, 12(4): 599-614.
- [8] Kojima K, Isaka K, Ondognii P, et al. Sesquiterpenoid derivatives from *Ferula ferulaeoides* [correction of ferulioides]. IV [J]. *Chem Pharm Bull*, 2000, 48(3): 353-356.
- [9] Liu T, Osman K, Kaatz G W, et al. Antibacterial

sesquiterpenoid derivatives from *Ferula ferulaeoides* [J]. *Planta Med*, 2013, 79(8): 701-706.

- [10] Wang J C, Wang H J, Zhang M, et al. Sesquiterpene coumarins from *Ferula sinkiangensis* K.M.Shen and their cytotoxic activities [J]. *Phytochemistry*, 2020, 180: 112531.
- [11] Motai T, Kitanaka S. Sesquiterpene phenylpropanoids from *Ferula fukanensis* and their nitric oxide production inhibitory effects [J]. *J Nat Prod*, 2005, 68(3): 365-368.
- [12] 邢亚超, 汤迎湛, 潘英, 等. 新疆阿魏树脂的化学成分研究 [J]. *现代药物与临床*, 2013, 28(1): 11-13.
- [13] 李广志, 李晓瑾, 曹丽, 等. 新疆阿魏种子化学成分的研究 [J]. *中草药*, 2015, 46(12): 1730-1736.
- [14] 胡跃, 李晓东, 李国玉, 等. 阿魏的化学成分研究 [J]. *中国现代中药*, 2009, 11(7): 18-19.
- [15] 李肖宇, 李国玉, 王航宇, 等. 大果阿魏化学成分的研究 [J]. *中国现代中药*, 2010, 12(8): 17-20.
- [16] 杨秀伟. 阿魏属药用植物的物质基础 [J]. *中国现代中药*, 2018, 20(2): 123-144.
- [17] 邢亚超, 李宁, 薛洁. 阿魏属植物化学成分研究进展 [J]. *沈阳药科大学学报*, 2012, 29(9): 730-741.
- [18] 陈阳, 马嘉仪, 张健榕, 等. 黄连中生物碱类成分抗溃疡性结肠炎的作用机制研究进展 [J]. *南京中医药大学学报*, 2023, 12: 1260-1266.
- [19] 何琴慧, 姜雨辰, 王文玲, 等. 茶藤生物碱成分的分离鉴定与抗肿瘤活性研究 [J]. *中草药*, 2023, 54(3): 704-710.
- [20] 吴昊, 宋京疯, 范莹, 等. 云南罗芙木根中呋喃生物碱及其抗菌活性 [J]. *中草药*, 2023, 54(4): 1033-1042.
- [21] 夏凡, 汤楚明, 赵建军, 等. 鼠尾草属植物中松香烷型和意烯萜烷型二萜及其生物活性的研究进展 [J]. *云南中医药大学学报*, 2023, 46(1): 91-101.
- [22] Xing Y C, Li N, Zhou D, et al. Sesquiterpene coumarins from *Ferula sinkiangensis* act as neuroinflammation inhibitors [J]. *Planta Med*, 2017, 83(1/2): 135-142.
- [23] Teng L, Ma G Z, Li L, et al. Karatavicinol a, a new anti-ulcer sesquiterpene coumarin from *Ferula sinkiangensis* [J]. *Chem Nat Compd*, 2013, 49(4): 606-609.
- [24] Zhang L J, Si J Y, Li G Z, et al. Umbelliprenin and larciresinol isolated from a long-term-used herb medicine *Ferula sinkiangensis* induce apoptosis and G0/G1 arresting in gastric cancer cells [J]. *RSC Adv*, 2015, 5(110): 91006-91017.
- [25] Motai T, Daikonya A, Kitanaka S. Sesquiterpene coumarins from *Ferula fukanensis* and their proinflammatory cytokine gene expression inhibitory effects [J]. *Chem Pharm Bull*, 2013, 61(6): 618-623.

[责任编辑 时圣明]