

基于指纹图谱和多指标成分定量结合化学计量法评价不同产地白术质量

董雪¹, 李静², 汪电雷¹, 夏成凯^{3,4*}

1. 安徽中医药大学药学院, 安徽 合肥 230031

2. 亳州市食品药品检验中心, 安徽 亳州 236800

3. 安徽省华佗中医药研究院, 安徽 亳州 236800

4. 亳州职业技术学院, 安徽中药材种植联合研究中心, 安徽 亳州 236800

摘要: **目的** 采用指纹图谱、多指标成分定量与化学计量法相结合的方法, 评价不同产地白术 *Atractylodes macrocephala* 的质量, 为白术的质量评价与质量控制体系的构建及其差异标志物的探索提供参考和依据。 **方法** 采用 UPLC 法, 建立 22 批不同产地白术指纹图谱, 测定白术中的 9 个指标性成分含量; 使用 Hiplot 科研绘图平台对白术进行聚类热图分析, 使用 SPSS 26.0 软件对白术进行主成分分析 (principal component analysis, PCA), 使用 SIMCA 14.0 软件对白术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 22 批白术药材的指纹图谱, 相似度为 0.781~0.997; 聚类热图分析结果显示, 22 批白术明显分为 2 类; PCA 得到 2 个主成分的累积方差贡献率为 76.536%, 说明这 2 个成分在反映不同产地白术样品共有成分关系中起到主导作用。 OPLS-DA 结果表明, 新绿原酸、隐绿原酸、绿原酸、阿魏酸、异绿原酸 C 这 5 个成分可能是影响白术药材的差异标志物。 **结论** 该方法专属性强、结果准确, 结合化学模式识别可有效区分不同产地白术, 为其质量标准完善及差异标志物发掘提供依据。

关键词: 白术; 指纹图谱; 多指标成分; 热图聚类分析; 主成分分析; 正交偏最小二乘法-判别分析; 新绿原酸; 隐绿原酸; 绿原酸; 阿魏酸; 异绿原酸 C

中图分类号: R286.2

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2025)23-8746-09

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.23.024

Evaluation of quality of *Atractylodis Macrocephalae Rhizoma* from different origins based on fingerprinting and multi-indicator component quantification combined with stoichiometry

DONG Xue¹, LI Jing², WANG Dianlei¹, XIA Chengkai^{3,4}

1. 1. College of Pharmacy, Anhui University of Traditional Chinese Medicine, Hefei 230031, China

2. Bozhou Food and Drug Inspection Centre, Bozhou 236800, China

3. Anhui Huatuo Institute of Traditional Chinese Medicine, Bozhou 236800, China

4. Bozhou Institute of Vocational Technology, Anhui Joint Research Centre of Chinese Materia Medica Plantation, Bozhou 236800, China

Abstract: Objective To evaluate the quality analysis of Baizhu (*Atractylodis Macrocephalae Rhizoma*, AMR) from different origins by combining fingerprinting, quantification of multiple indicator components and chemometrics, and to provide reference and basis for the construction of the quality evaluation and quality control system of AMR as well as the exploration of its potential quality markers. **Methods** The fingerprints of 22 batches of AMR from different origins were established by ultra performance liquid chromatography (UPLC) to determine the contents of nine index components in AMR, the clustering heat map analysis was performed on AMR by using Hiplot scientific research mapping platform, the principal component analysis (PCA) of AMR by using SPSS 26.0 software, and the orthogonal partial least squares-discriminant analysis (OPLS-DA) of AMR by using SIMCA 14.0 software. Discriminant analysis (OPLS-DA) using SIMCA 14.0 software. **Result** The

收稿日期: 2025-03-03

基金项目: 合肥综合性国家科学中心大健康研究院安徽中药材种植联合研究中心科研项目 (yjzx2023018); 安徽省高校学科 (专业) 拔尖人才学术资助项目 (gxbjZD2022139)

作者简介: 董雪 (1999—) 女, 硕士研究生, 研究方向为中药质量标准。E-mail: 17855623010@163.com

*通信作者: 夏成凯 (1982—) 男, 教授, 研究方向为中药质量标准。E-mail: 65005441@qq.com

fingerprints of 22 batches of AMR were established, and the similarities ranged from 0.781 to 0.997. The results of cluster heat map analysis showed that the 22 batches of AMR were divided into two groups; the cumulative variance contribution ratio of the two principal components obtained from the PCA was 76.536%, which indicated that the two components played a dominant role in reflecting the relationship between the common components of AMR samples from different origins. Neochlorogenic acid, cryptochlorogenic acid, chlorogenic acid, ferulic acid, and 4,5-dicaffeoylquinic acid are five components that may affect the potential quality markers of AMR herb quality. **Conclusion** This method is exclusive and accurate, and when combined with chemical pattern recognition, it can effectively differentiate AMR from different origins, providing a basis for improving its quality standard and discovering quality markers.

Key words: *Atractylodes Macrocephalae Rhizoma*; fingerprinting; multi-indicator components; heat map cluster analysis; principal component analysis; orthogonal partial least squares-discriminant analysis; neochlorogenic acid; cryptochlorogenic acid; chlorogenic acid; ferulic acid; 4,5-dicaffeoylquinic acid

白术为菊科植物白术 *Atractylodes macrocephala* Koidz. 的干燥根茎, 具有健脾益气、燥湿利水、止汗、安胎等功效^[1], 在中医中被广泛用作补气药物。现代药理学研究表明, 白术具有多种药理活性, 包括抗肿瘤、抗炎镇痛、保肝以及免疫调节等作用^[2-4]。白术的种植分布广泛, 品种多样, 但栽培及采收加工不够规范, 导致饮片质量不稳定^[5]。目前关于白术酚酸类成分含量测定的研究相对较少, 且多集中在单一成分的定性或定量分析上。因此, 建立一种科学、有效的白术质量评价方法对于保证其临床疗效和安全性至关重要。近年来, 随着分析技术的发展, 指纹图谱结合多指标成分定量及化学计量学方法逐渐成为中药质量评价的重要手段。指纹图谱能够全面反映中药材的化学特征, 而多指标成分定量则可精准分析关键成分的含量差异^[6]。

在白术的研究中, 酚酸类^[7-9]成分因其具有显著的药理活性, 如抗氧化、抗菌、抗病毒、抗肿瘤、降血糖和免疫调节等作用, 成为重要的质量评价指标。张文芳等^[10]建立 UPLC 法测定白术中绿原酸、新绿原酸及隐绿原酸的含量, 初步为白术酚酸类质量控制提供了参考; 杨亮等^[11]采用超高效液相色谱-四极杆飞行时间串联质谱 (UPLC-Q-TOF-MSE) 对不同产地白术药材进行化学成分分析, 共鉴定出 53 个化学成分, 其中包括新绿原酸、绿原酸、咖啡酸、异绿原酸 A 等 11 个有机酸类, 为白术的酚酸类成分的开发利用提供了参考依据。本研究旨在利用 UPLC 指纹图谱和多指标成分定量结合化学计量学方法, 对不同产地白术中的 9 个酚酸类成分进行系统分析, 为白术的质量评价和标准制定提供科学依据。

1 仪器和材料

1.1 仪器

Waters Acquity TM UPLC (美国 Waters 公司,

PDA 检测器); KQ-500VDB.DP 型超声波清洗仪 (昆山市超声仪器有限公司); B/Z-BD-B-302 型电子分析天平 (上海铁路达实业有限公司); MCA3.6P-2CCN-M 型电子天平 (德国赛利得斯公司); JW-3022HR 型高速冷冻离心机 (安徽嘉文仪器装备有限公司); MiLi-Q 型纯水仪。

1.2 材料

咖啡酸 (批号 22092702)、阿魏酸 (批号 22032207)、1,3-二咖啡酰奎宁酸 (批号 23062006)、绿原酸 (批号 22121606)、新绿原酸 (批号 23103101)、隐绿原酸 (批号 24041504)、异绿原酸 B (批号 23081706)、异绿原酸 C (批号 23081505) 均购买于成都普菲德生物技术有限公司, 质量分数均 >98.7%; 异绿原酸 A (批号 23081705) 购买于成都格力普生物科技有限公司, 质量分数 >99%。磷酸为分析纯, 甲醇、乙腈为色谱纯, 水为超纯水。

1.3 药材

白术药材采自安徽、河南、湖北、河北、江西、海南、广西、浙江 8 个产区, 共 22 批 (覆盖 8 个产区), 经安徽中医药大学汪电雷教授鉴定为菊科植物白术 *A. macrocephala* Koidz. 的干燥根茎。白术样品具体信息见表 1。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱为 Acquity UPLC HSS T3 (100 mm × 2.1 mm, 1.8 μm); 流动相为乙腈 (A) -0.1% 磷酸水溶液 (B); 梯度洗脱: 0~3.2 min, 14%~19% A; 3.2~5.6 min, 19% A; 5.6~13.6 min, 19%~31% A; 13.6~14 min, 31%~90% A; 14~17 min, 90%~14% A; 17~18 min, 14%~19% A; 体积流量为 0.3 mL/min, 检测波长为 327 nm, 柱温为 22 °C, 进样量为 3 μL。

表 1 22 批白术样品信息

Table 1 Information on 22 batches of *Atractylodis Macrocephalae Rhizoma* (AMR) samples

编号	产地来源	经纬度	生长年限	规格	收集时间
S1	安徽省明光市	N 32°45'23", E 118°7'28"	两年生	栽培	2023-11
S2	安徽省明光市	N 32°48'14", E 118°15'43"	两年生	栽培	2023-11
S3	安徽省明光市	N 32°52'21", E 118°5'47"	两年生	栽培	2023-11
S4	安徽省黄山市	N 29°41'54", E 117°41'44"	多年生	野生	2024-11
S5	河南省周口市	N 33°58'5", E 115°16'35"	两年生	栽培	2023-11
S6	河南省周口市	N 33°57'12", E 115°15'43"	两年生	栽培	2023-11
S7	河南省周口市	N 33°56'59", E 115°29'23"	两年生	栽培	2023-11
S8	河南省周口市	N 33°53'18", E 115°29'47"	两年生	栽培	2023-11
S9	湖北省麻城市	N 31°12'17", E 114°46'38"	两年生	栽培	2023-11
S10	湖北省麻城市	N 31°13'1", E 114°46'26"	两年生	栽培	2023-11
S11	湖北省麻城市	N 31°13'3", E 114°47'16"	两年生	栽培	2023-11
S12	河北省石家庄市	N 38°25'7", E 113°35'47"	两年生	栽培	2023-11
S13	河北省石家庄市	N 38°11'16", E 114°36'13"	两年生	栽培	2023-11
S14	河北省石家庄市	N 38°7'16", E 114°35'6"	两年生	栽培	2023-11
S15	江西省鹰潭市	N 28°20'45", E 116°50'16"	两年生	栽培	2023-11
S16	江西省鹰潭市	N 28°13'7", E 116°57'52"	两年生	栽培	2023-11
S17	江西省鹰潭市	N 28°14'8", E 116°45'5"	两年生	栽培	2023-11
S18	海南省东方市	N 19°1'4", E 108°54'45"	两年生	栽培	2024-11
S19	广西省百色市	N 23°10'32", E 106°40'6"	两年生	栽培	2024-11
S20	浙江省绍兴市	N 29°23'46", E 120°56'10"	多年生	野生	2024-11
S21	浙江省绍兴市	N 29°22'33", E 120°52'29"	多年生	野生	2024-11
S22	浙江省绍兴市	N 29°27'53", E 120°54'34"	多年生	野生	2024-11

2.2 供试品溶液的制备

称取白术粉末约 1 g, 精密称定后, 置于锥形瓶中, 加入 50%甲醇 20 mL, 称定质量, 超声提取 60 min (500 W、45 kHz), 取出, 放冷, 称定质量, 以 50% 甲醇补足减失质量, 摇匀, 以 6 000 r/min 离心 10 min, 取上清液过 0.22 μm 微孔滤膜, 取续滤液, 备用。

2.3 混合对照品溶液的制备

分别精密称定新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、咖啡酸、1,3-二咖啡酰奎宁酸、阿魏酸、异绿原酸 B、异绿原酸 A、异绿原酸 C 对照品适量, 置量瓶中, 加色谱甲醇溶解, 定容, 依次制成质量浓度为 50.67、251.76、51.27、5.09、20.53、10.26、5.12、20.15、20.55 μg/mL 的混合对照品溶液, 备用。

2.4 指纹图谱的建立

2.4.1 精密度试验 取同一批白术粉末, 按“2.2”项下制备供试品溶液, 按“2.1”色谱条件连续进样 6 次。以分离度良好、保留时间适宜的绿原酸为参照峰, 计算各共有峰的相对保留时间的 RSD 均小于 0.3%, 相对峰面积的 RSD 均小于 0.9%, 表明仪器精密度良好。

2.4.2 重复性试验 取同一批白术粉末, 按“2.2”项下平行制备 6 份供试品溶液, 按“2.1”项色谱条件连续进样 6 次, 以分离度良好、保留时间适宜的绿原酸为参照峰, 计算各共有峰的相对保留时间的 RSD 均小于 0.6%, 相对峰面积的 RSD 均小于 0.9%, 表明方法重复性良好。

2.4.3 稳定性试验 取同一批白术粉末, 按“2.1”项下色谱条件分别在 0、2、4、8、12、24 h 进行测定, 以分离度良好、保留时间适宜的绿原酸为参照峰, 计算各共有峰的相对保留时间的 RSD 均小于 2.92%, 相对峰面积的 RSD 均小于 1.9%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.4.4 指纹图谱建立及分析 取 22 批白术粉末, 每份 2 g, 精密称定, 按“2.2”项下方法制备供试品溶液, 按“2.1”项下色谱条件进行 UPLC 分析。将所得色谱图谱数据导入《中药色谱指纹图谱相似度评价系统 (2012 版)》中, 以 S5 号样品作为参照图谱, 采用 0.3 min 时间宽度的中位数法生成对照图谱 (R), 经多点校正后进行色谱峰匹配, 构建叠加指纹图谱 (图 1); 以 R 为参照, 进行各样品图谱的相似度评价。同时, 通过将对照指纹图谱与

性差异,在该聚类中阿魏酸、新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸的红色颜色较深,表明所含成分含量相对较高;而 S1~S19 具有较高的相似性,无明显的区域性差异,在该聚类中,1,3-二咖啡酰奎宁酸、异绿原酸 A、异绿原酸 C、咖啡酸和异绿原酸 B 的颜色整体偏红色,表明所含成分含量相对较高,且热图显示这几种成分在不同产地中呈现出明显的区域性特征。通过聚类热图分析,可将不同产地的白术进行区分。

2.5.2 主成分分析 (principal component analysis, PCA) 进一步探讨 8 个主产区白术化学成分之间的差异,将 22 批白术药材中已确认的 9 个共有峰峰面积进行标准化处理后,导入 SPSS 26.0 软件进行 PCA 分析,计算相关矩阵的特征值及其方差贡献率^[14-15],以主成分特征值>1 为提取标准,提取出 2 个主成分,累积方差贡献率达到 76.536%,说明 2 个主成分在反映 8 个主产地共有成分关系中起到主导作用;且碎石图显示,2 种主成分坡度较陡,是评价药材质量的标志性成分,碎石图、特征值及贡献率见图 3 和表 3。运用 SPSS 26.0 软件计算 22 批白术样品的主成分得分,以各主成分对应的贡献率为权重计算综合得分,并进行排序,以此评价各产地白术的质量,结果见表 4。结果表明,浙江以及河北这 2 个产地白术样品的整体综合得分位居前 5,而海南、广西这 2 批样品的综合得分偏低。因此说明浙江、河北这 5 个批次白术样品质量较优,海南、广西所产白术的质量较次。同时利用 SIMCA 软件,将 22 批白术 9 个成分共有峰峰面积进行分析,由得分图可知,22 批白术药材整体分为 2 类,与聚类热图结果基本一致,结果见图 4。

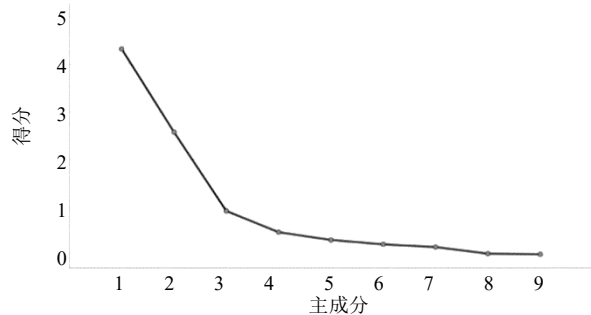


图 3 PCA 碎石图
Fig. 3 PCA lithotripsy diagram

表 3 特征值及方差贡献率
Table 3 Eigenvalues and variance contribution rates

主成分因子	特征值	方差贡献率/%	累积方差贡献率/%
1	4.316	47.951	40.889
2	2.573	76.536	76.536

表 4 22 批白术药材的主成分因子得分和排序
Table 4 Principal component factor scores and rankings of 22 batches of AMR medicinal materials

编号	得分			排序
	主成分 1	主成分 2	综合	
S1	-0.450	-0.180	-0.324	14
S2	-0.584	0.025	-0.300	13
S3	-0.620	0.231	-0.223	12
S4	0.036	-0.294	-0.118	11
S5	0.112	0.457	0.273	7
S6	-0.136	0.454	0.139	8
S7	-0.125	0.081	-0.029	9
S8	-0.641	-0.493	-0.572	17
S9	-0.783	-0.670	-0.731	20
S10	-0.081	-0.143	-0.110	10
S11	-0.536	-0.113	-0.339	15
S12	0.861	2.688	1.712	1
S13	-0.834	-0.547	-0.700	19
S14	-0.119	2.432	1.070	2
S15	-0.800	0.021	-0.418	16
S16	-0.712	-0.663	-0.689	18
S17	0.161	1.261	0.674	6
S18	-0.783	-1.110	-0.935	22
S19	-0.675	-0.987	-0.821	21
S20	2.245	-0.824	0.815	4
S21	2.293	-0.800	0.852	3
S22	2.172	-0.828	0.774	5

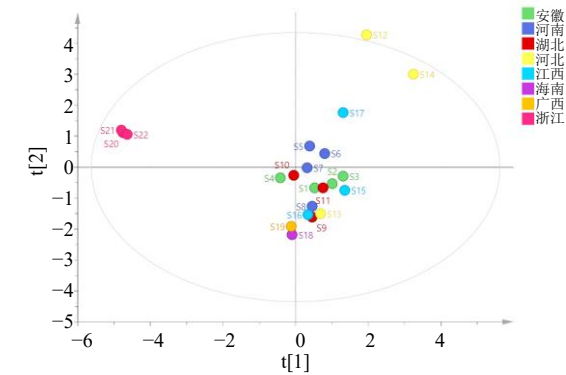


图 4 22 批白术药材的 PCA 得分图
Fig. 4 PCA scores of 22 batches of AMR medicinal materials

2.5.3 正交偏最小二乘法判别分析 (orthogonal partial least squares-discriminant analysis, OPLS-DA) 将 22 批白术样品的 9 个共有峰峰面积导入 SIMCA14.0 软件分析, 筛选出对引起组间差异贡献率较大的成分^[16], 建立 OPLS-DA 模型, X 矩阵解释率 R^2_X 为 0.764, 模型稳定性参数 R^2_Y 为 0.207, 模型预测能力参数 Q^2 表明模型预测能力为 0.074, 表明所建立的 OPLS-DA 模型解释率良好, 且预测能达到预测目的, 见图 5。对以上数据的差异性进行整体分析变量重要性投影值 (variable importance projection, VIP)^[17], 结果见图 6。根据模型中 VIP 筛选出具有统计学意义的差异标志物, 在 0.95 的置信区间内, 选取 $VIP>1.0$ 的 5 个化合物作为差异性标志物, 按 VIP 大小排序依次为新绿原酸>隐绿原酸>绿原酸>阿魏酸>异绿原酸 C, 这些成分是区分不同产地白术差异的差异标志性物。

2.6 含量测定

2.6.1 线性关系考察 精密称取新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、咖啡酸、1,3-二咖啡酰奎宁酸、阿魏酸、异绿原酸 B、异绿原酸 A、异绿原酸 C 对照品适量, 用甲醇稀释, 配制成 6 个质量浓度系列的对照品溶液, 按“2.1”项色谱条件测定。以对照品质量浓度为横坐标 (X), 峰面积为纵坐标 (Y), 绘制标准曲线, 进行线性回归, 结果见表 5。

2.6.2 精密度试验 取同一批白术粉末, 按“2.2”项制备供试品溶液, 按照“2.1”项下色谱条件连续进样 6 次, 测各成分峰面积并计算 RSD 值。结果显示, 新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、咖啡酸、1,3-二咖啡酰奎宁酸、阿魏酸、异绿原酸 B、异绿原酸 A、异绿原酸 C 峰面积的 RSD 分别为 1.64%、0.15%、0.98%、1.07%、2.52%、0.71%、0.12%、0.22%、0.27%;

表 5 白术中 9 种化学成分的线性关系考察结果

化学成分	回归方程	R^2	线性范围/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)
新绿原酸	$Y=15\,012\,X-2\,187.7$	0.999 4	1.27~50.67
绿原酸	$Y=19\,025\,X+19\,306$	0.999 0	1.57~251.76
隐绿原酸	$Y=21\,169\,X-5\,939.6$	0.999 6	1.28~51.27
咖啡酸	$Y=40\,295\,X-1\,899.1$	0.999 4	0.13~5.09
1,3-二咖啡酰奎宁酸	$Y=22\,681\,X-1\,590.5$	0.999 5	0.26~20.53
阿魏酸	$Y=36\,218\,X-2\,522.8$	0.999 6	0.26~10.26
异绿原酸 B	$Y=22\,143\,X-2\,805.7$	0.999 6	0.13~5.12
异绿原酸 A	$Y=24\,873\,X-31\,432$	0.995 1	0.50~20.15
异绿原酸 C	$Y=24\,905\,X-3\,858.7$	0.999 9	0.51~20.55

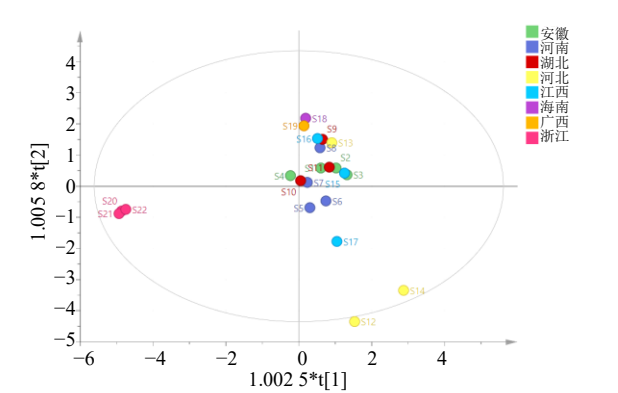


图 5 22 批白术 OPLS-DA 得分图
 Fig. 5 Score plot of OPLS-DA for 22 batches of AMR

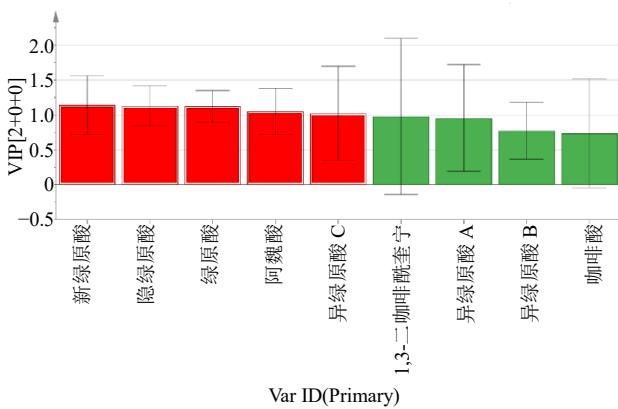


图 6 22 批白术药材的 VIP 值
 Fig. 6 VIP of 22 batches of AMR medicinal materials

表明仪器精密度良好。

2.6.3 重复性试验 取同一批白术粉末, 按照“2.2”项下平行制备供试品溶液 6 份, 按“2.1”项下色谱条件进样测定, 测各成分峰面积并计算 RSD 值。结果显示, 新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、咖啡酸、

1,3-二咖啡酰奎宁酸、阿魏酸、异绿原酸 B、异绿原酸 A、异绿原酸 C 峰面积的 RSD 分别为 3.08%、0.94%、1.56%、1.58%、1.35%、2.22%、1.82%、1.58%、2.11%；表明方法重复性良好。

2.6.4 稳定性试验 取同一批白术粉末，按“2.1”项下色谱条件分别于 0、2、4、8、12、24 h 进样测定，测各成分峰面积并计算 RSD 值。结果显示，新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、咖啡酸、1,3-二咖啡酰奎宁酸、阿魏酸、异绿原酸 B、异绿原酸 A、异绿原酸 C 峰面积的 RSD 分别为 2.37%、2.75%、2.07%、2.85%、2.16%、1.54%、1.88%、2.94%、3.02%；表明供试品溶液在 24 h 内较稳定。

2.6.5 加样回收率试验 取已知 9 个化合物成分含量的白术样品 6 份，精密称定，每份约 0.5 g，按样品各成分的含量加入等量的对照品新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、咖啡酸、1,3-二咖啡酰奎宁酸、阿魏酸、异绿原酸 B、异绿原酸 A、异绿原酸 C 溶液，按“2.1”项下色谱条件测定，计算各成分的回收率以及 RSD 值。新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、咖啡酸、1,3-二咖啡酰奎宁酸、阿魏酸、异绿原酸 B、异

绿原酸 A、异绿原酸 C 的平均加样回收率分别为 97.6%、95.4%、98.01%、106.1%、94.3%、93.7%、103.0%、100.7%、98.4%；RSD 值分别为 2.02%、2.04%、2.62%、1.11%、2.66%、2.98%、2.12%、2.95%、2.47%。

2.6.6 样品含量测定分析 精密称取 22 批白术粉末约 1.0 g，分别按“2.2”项下方法制备样品溶液，按“2.1”项下色谱条件进样测定；由表 6 可知，新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、咖啡酸、1,3-二咖啡酰奎宁酸、阿魏酸、异绿原酸 B、异绿原酸 A、异绿原酸 C 的质量分数分别为 5.625~395.011、18.616~1 011.329、6.428~276.345、0.717~3.684、2.352~26.861、1.188~31.133、2.191~21.835、14.360~135.790、1.687~36.320 μg/g，22 批不同产地白术中 9 个成分含量差异显著。通过分析含量测定结果，如图 7 箱线图表明，白术中 9 个成分含量平均含量高低依次为绿原酸>新绿原酸>隐绿原酸>异绿原酸 A>异绿原酸 C>阿魏酸>1,3-二咖啡酰奎宁酸>异绿原酸 B>咖啡酸，显示各成分含量存在一定的差异。

表 6 22 批白术药材中 9 个成分的含量测定结果
Table 6 Determination results of nine components in 22 batches of AMR medicinal materials

编号	质量分数/(μg·g ⁻¹)								
	新绿原酸	绿原酸	隐绿原酸	咖啡酸	1,3-二咖啡酰奎宁酸	阿魏酸	异绿原酸 B	异绿原酸 A	异绿原酸 C
S1	28.771	97.874	23.424	1.384	4.419	2.348	7.619	34.870	12.398
S2	6.921	28.008	7.376	2.927	6.869	4.213	6.718	35.101	5.683
S3	5.625	18.616	6.428	2.732	11.146	3.020	5.345	33.429	8.569
S4	127.018	439.732	71.296	0.742	15.513	7.936	4.948	135.790	1.687
S5	78.226	158.598	66.182	2.043	11.293	3.638	9.446	32.039	12.528
S6	43.769	118.206	37.490	2.072	10.063	4.690	7.912	37.087	15.248
S7	29.074	78.337	24.939	3.216	5.342	8.658	6.433	28.295	8.610
S8	21.055	52.650	20.899	1.603	3.718	2.439	5.290	23.950	8.764
S9	20.327	61.098	15.847	0.827	2.352	1.310	6.916	25.901	9.247
S10	27.930	103.139	22.064	0.744	5.522	11.432	7.261	40.329	13.915
S11	24.826	79.788	24.455	1.325	7.784	2.216	7.513	29.489	11.465
S12	80.431	340.663	72.859	2.696	26.861	4.836	14.932	75.439	27.113
S13	10.158	46.410	10.895	0.717	4.806	1.188	6.129	32.196	8.596
S14	34.658	114.680	36.017	2.981	13.419	2.693	21.835	82.487	36.320
S15	8.136	33.686	10.043	1.003	2.391	2.391	5.313	33.226	10.346
S16	12.157	35.249	12.193	0.770	2.530	3.165	4.416	24.231	7.613
S17	62.643	178.851	56.244	3.684	7.563	3.297	9.791	52.891	22.732
S18	46.343	65.301	36.619	1.382	7.931	1.359	3.940	24.154	8.060
S19	49.947	137.591	39.777	1.679	7.098	1.708	2.617	32.749	11.285
S20	394.823	999.259	267.425	2.830	4.022	30.996	2.213	14.718	4.372
S21	395.011	1 011.329	276.345	2.880	4.119	31.133	2.213	14.826	4.664
S22	385.896	981.166	270.919	2.800	4.054	28.948	2.191	14.360	4.493

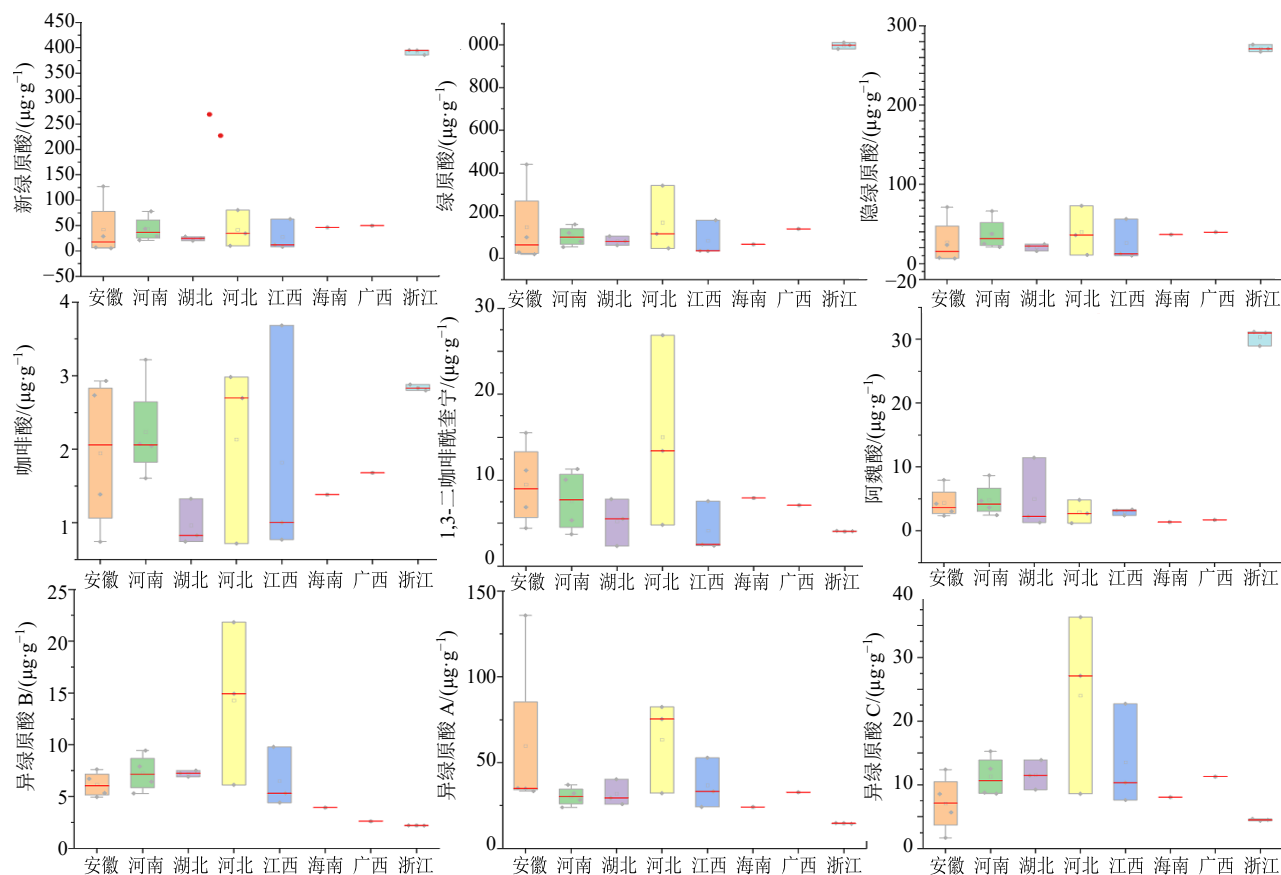


图 7 UPLC 指纹图谱 9 个指标成分含量测定箱线图

Fig. 7 Box plots for determination of content of nine index components in UPLC fingerprint

3 讨论

3.1 指纹图谱及化学模式识别分析

3.1.1 指纹图谱分析 本实验建立了白术 UPLC 指纹图谱, 22 批样品共确定了 24 个共有峰, 指认了其中 9 个酚酸类成分, 22 批样品指纹图谱与对照指纹图谱的相似度为 0.781~0.997, 说明 22 批白术样品一致性良好。指纹图谱对供试品溶液制备方法进行了考察, 包括不同的提取方式(超声、加热回流), 不同提取溶剂(30%、50%、75%甲醇); 不同的提取时间(30、45、60、70 min), 不同的流动相与添加剂(乙腈-水、乙腈-0.1%甲酸水、乙腈-0.1%磷酸水), 发现采用 50% 甲醇超声提取 60 min、乙腈-0.1% 磷酸水为流动相的效果最佳; 在本试验色谱条件优化过程中, 采用了 PDA 检测器对 9 个酚酸类成分的混标进行 210~400 nm 全波长扫描, 结果表明 9 个成分在 327 nm 吸收最强, 且色谱峰峰型较好, 基线平稳, 适合指纹图谱的研究, 且能兼顾指标性成分的含量测定, 因此选择 327 nm 作为检测波长。

3.1.2 化学模式识别分析 聚类热图显示, 22 批白

术明显聚集为 2 组, 呈现一定的品种及产区差异, 且存在产地交叉现象, 同一产区、不同产地白术药材质量均存在差异, 可能与产地的气候、土壤地质等因素相关。PCA 结果表明, 2 个主成分特征值分别为 5.730、2.006, 方差贡献率分别为 63.671%、86.629%, 对白术的质量评价具有很好的代表性; FA 结果显示 22 批白术主成分综合得分在 -0.935~1.712, 根据平均综合排名来看, 其中浙江野生白术平均综合排名最高; 河北平均综合得分排名位于第 2; 江西、河南、安徽、湖北平均综合得分居中, 位于排名第 3; 广西、海南平均综合得分最低, 排名居于第 4。为探索引起不同产地的白术质量差异的主要因子, 对 22 批白术进行 OPLS-DA 分析, 结果显示新绿原酸、隐绿原酸、绿原酸、阿魏酸、异绿原酸 C 的 VIP 值均大于 1, 可能是白术质量差异的潜在标志物。

3.2 多成分含量测定

本研究采用 UPLC 法对共 22 批白术(覆盖 8 个产区)进行 9 个成分的含量测定分析, 结果表明,

酚酸类成分呈现出显著含量差异,其中绿原酸(18.616~1 011.329 $\mu\text{g/g}$)和新绿原酸(5.625~395.011 $\mu\text{g/g}$)质量分数最高;隐绿原酸(6.428~276.345 $\mu\text{g/g}$)和异绿原酸 A(14.360~135.790 $\mu\text{g/g}$)次之;咖啡酸(0.717~3.684 $\mu\text{g/g}$)成分质量分数最低。其中,样本间最大差异倍数达 57 倍,揭示不同产地药材质量存在显著波动。浙江(野生)以及河北白术总体排名总体靠前,浙江原属于白术道地药材,亦称为“杭白术”,而河北所产的白术亦称为“祁白术”,浙江白术和河北白术的优良质量与其生长环境密切相关。浙江白术^[18]主要产于磐安、安国等地,这些地区昼夜温差大,有利于白术中有效成分的积累,且土壤多为沙质土壤,透气性好,适合白术根茎的生长。

吴晓莹等^[19]采用 UPLC-Q-TOF-MS 对白术生品及其 4 种炮制品的成分进行快速分析及鉴定,其中鉴定出,有机酸类成分 7 个(包括酚酸类),并推测出绿原酸的裂解方式。而肖炯昌等^[20]建立 15 批白术 UPLC 特征图谱,确定 9 个共有峰,指认绿原酸、新绿原酸等 7 个主要成分,并未对其成分做含量测定分析,以有机酸类物质为指标对不同产地白术药材的质量做出综合评价,为白术药材的进一步研究提供了可靠的依据。本研究通过建立白术指纹图谱,确定了 22 个共有峰,指认了 9 个成分,并对其进行含量测定;聚类热图显示,22 批白术明显聚集为 2 组;PCA 结果筛选了 2 个主成分方差贡献率;FA 结果显示浙江野生白术平均综合排名最高;OPLS-DA 分析筛选了 5 个成分,可为白术质量差异的潜在标志物。后续进一步完成以下几个方面验证完善结果:一是扩大海南、广西以及野生样本数量,以提高研究结果的可靠性和普适性,优化指纹图谱和化学计量法的结合方法,以提高白术质量评价的准确性和可靠性;二是针对在化学分析的基础上,增加生物活性研究,以此为白术提供更全面的质量评价依据;三是建立更加完善的白术质量评价体系,将酚酸类成分作为白术质量评价是重要指标。所建立的 UPLC 指纹图谱及 9 个成分的含量测定方法专属性强,且准确、可靠,结合化学模式识别法评价了不同产地白术药材质量,为白术质量标准的研究及其差异标志物的研究提供可靠的依据。

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.2025:145-146.

- [2] 张晓娟,左冬冬.白术化学成分及药理作用研究新进展[J].中医药信息,2018,35(6):101-106.
- [3] Zhu B, Zhang Q L, Hua J W, *et al.* The traditional uses, phytochemistry, and pharmacology of *Atractylodes macrocephala* Koidz.: A review [J]. *J Ethnopharmacol*, 2018, 226: 143-167.
- [4] 张朝杰,杨建宇,李杨,等.道地药材浙白术的研究近况[J].光明中医,2020,35(19):3127-3130.
- [5] 赵帅,赵喜进.中药材白术市场前景分析及规模化种植技术[J].特种经济动植物,2018,21(1):17-20.
- [6] Qin L L, Yu M, Zhang H X, *et al.* Quality markers of Baizhu dispensing granules based on multi-component qualitative and quantitative analysis combined with network pharmacology and chemometric analysis [J]. *J Ethnopharmacol*, 2022, 288: 114968.
- [7] 王庆华,杜婷婷,张智慧,等.绿原酸的药理作用及机制研究进展[J].药学报,2020,55(10):2273-2280.
- [8] 熊乐文,金莹,王彦予,等.金银花酚酸类化学成分、药理活性及体内代谢研究进展[J].中成药,2022,44(3):864-871.
- [9] 刘隽文,何莉莉,崔娜,等.白术化学成分、药理作用研究进展及质量标志物预测[J].中医药信息,2024,41(1):65-78.
- [10] 张文芳,胡梅,陈锦霞,等.UPLC 法测定不同产地白术中绿原酸、绿原酸和隐绿原酸的含量[J].广东药科大学学报,2020,36(4):479-483.
- [11] 杨亮,于洋,康舒宇,等.基于 UPLC-MS^E 的白术化学成分分析及产地差异研究[J].中草药,2024,55(4):1344-1353.
- [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] 崔小敏,晋玥妮,任慧,等.正心降脂片多指标成分的含量测定及聚类热图分析[J].中国药房,2021,32(22):2743-2747.
- [14] 王洋,魏永孝,谷雨薇,等.基于指纹图谱和多指标成分定量结合化学计量法延胡索不同产地质量评价[J].中草药,2024,55(19):6730-6737.
- [15] 朱静平,刘梦云,贾梦雪,等.基于 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小茴香饮片质量[J].中草药,2024,55(24):8564-8573.
- [16] 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苹果质量[J].中草药,2022,53(11):3472-3479.
- [17] 陈伟英,陈秀萍,邝晓岚,等.基于化学成分、指纹图谱和化学计量学筛选夏枯草的质量标志物及质量评价[J].中药新药与临床药理,2024,35(11):1751-1758.
- [18] 赵璐,吴卫刚,郭亮,等.中国白术产区变迁研究[J].中国现代中药,2023,25(11):2434-2444.
- [19] 吴晓莹,张安然,杨丹阳,等.基于 UPLC-Q-TOF-MS 分析白术及其不同炮制品化学成分及其差异[J].时珍国医国药,2023,34(10):2395-2403.
- [20] 肖炯昌,张文芳,胡梅,等.白术药材 UPLC 特征图谱方法构建及模式识别研究[J].亚太传统医药,2023,19(2):31-37.

[责任编辑 时圣明]