

基于 HPLC 指纹图谱结合化学模式识别及多成分定量测定的当归酒炙前后质量评价

赵美茜¹, 姚雪莲¹, 杨明², 祝婧¹, 陆兔林³, 管咏梅², 兰智慧⁴, 刘乐灵², 赵子波², 臧振中^{2*}

1. 江西中医药大学药学院, 江西 南昌 330004

2. 江西中医药大学, 现代中药制剂教育部重点实验室, 江西 南昌 330004

3. 南京中医药大学药学院, 江苏 南京 210023

4. 江西中医药大学附属医院, 江西 南昌 330006

摘要: **目的** 建立生当归 *Angelicae Sinensis Radix* 及酒当归 HPLC 指纹图谱, 并结合多元统计分析和定量测定研究当归酒炙前后化学成分的变化, 为当归质量评价提供参考。 **方法** 采用 HPLC 法建立生当归及酒当归指纹图谱, 并测定其中 5-羟甲基糠醛 (5-hydroxymethylfurfural, 5-HMF)、绿原酸、香草醛、阿魏酸、藁本内酯的含量。采用中药色谱指纹图谱相似度评价系统计算相似度, 标定共有峰并进行指认及归属, 以当归酒炙前后共有峰峰面积为指标, 运用层次聚类分析 (hierarchical cluster analysis, HCA)、主成分分析 (principal component analysis, PCA) 及正交偏最小二乘-判别分析 (orthogonal partial least squares-discriminant analysis, OPLS-DA), 评价当归酒炙前后内在质量差异, 寻找其主要差异性成分。 **结果** 建立了 10 批次生当归和酒当归 HPLC 指纹图谱, 其中生当归共标定了 11 个共有峰, 酒当归共标定了 12 个共有峰, 生、酒当归指纹图谱相似度均 > 0.960。化学模式识别筛选出色谱峰 12 (藁本内酯)、7、11、6 号峰 (阿魏酸) 可能是影响当归酒炙前后质量差异的标志物。含量测定结果表明, 当归酒炙后新生成 5-HMF 成分, 阿魏酸、绿原酸、香草醛成分含量整体略微下降, 藁本内酯成分含量整体有所上升。 **结论** 建立的当归酒炙前后指纹图谱及多成分定量测定方法稳定、可靠, 可为生当归及酒当归的质量控制和综合利用提供参考。

关键词: 当归; 酒当归; HPLC; 指纹图谱; 化学计量学; 5-羟甲基糠醛; 绿原酸; 香草醛; 阿魏酸; 藁本内酯; 质量评价; 层次聚类分析; 主成分分析; 正交偏最小二乘-判别分析

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2026)01-0064-09

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2026.01.008

Quality evaluation of *Angelicae Sinensis Radix* before and after wine processing based on HPLC fingerprints combined with chemical pattern recognition and multi-component quantification

ZHAO Meixi¹, YAO Xuelian¹, YANG Ming², ZHU Jing¹, LU Tulin³, GUAN Yongmei², LAN Zhihui⁴, LIU Leling², ZHAO Zibo², ZANG Zhenzhong²

1. School of Pharmacy, Jiangxi University of Chinese Medicine, Nanchang 330004, China

2. Key Laboratory of Modern Traditional Chinese Medicine Preparation, Ministry of Education, Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China

3. College of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China

4. The Affiliated Hospital of Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330006, China

Abstract: Objective To establish HPLC fingerprint profiles of raw Danggui (*Angelicae Sinensis Radix*, ASR) and ASR processed with wine, and to study the changes in chemical components before and after wine processing by combining multivariate statistical analysis and quantitative determination, providing a reference for the quality evaluation of ASR. **Methods** HPLC was used to establish

收稿日期: 2025-09-18

基金项目: 国家重点研发计划项目 (2023YFC3504204); 全国重点实验室自主部署重点研发计划项目 (20243BCC31010); 博士科研启动基金项目 (2023WBZR007); 2023 年度中药学重点学科项目 (2023jzdxk016); 江西中医药大学科技创新团队项目 (CXTD22006)

作者简介: 赵美茜, 硕士研究生, 研究方向为中药炮制与质量标准研究。E-mail: 2113016447@qq.com

***通信作者:** 臧振中, 副教授, 硕士生导师, 博士, 主要从事中药炮制、中药制剂新工艺和新装备研究。E-mail: zangzhenzhongvip@163.com

the fingerprint profiles of raw ASR and ASR processed with wine, and the contents of 5-hydroxymethylfurfural (5-HMF), chlorogenic acid, vanillin, ferulic acid, and ligustilide were determined. The similarity of the profiles was calculated using the Chinese herbal medicine chromatographic fingerprint similarity evaluation system. Common peaks were calibrated, identified, and assigned. The peak areas of the common peaks before and after wine processing were used as indicators. Hierarchical cluster analysis (HCA), principal component analysis (PCA), and orthogonal partial least squares-discriminant analysis (OPLS-DA) were employed to evaluate the intrinsic quality differences between raw and wine-processed ASR and identify the main differential components. **Results** HPLC fingerprint profiles of ten batches of raw ASR and ASR processed with wine were established. A total of 11 common peaks were identified in raw ASR and 12 common peaks were calibrated in ASR processed with wine. The similarity of the profiles was greater than 0.960. Chemical pattern recognition indicated that peaks 12 (ligustilide), 7, 11, and 6 (ferulic acid) might be the markers of the quality differences before and after wine processing. The content determination results showed that 5-HMF was newly generated after wine processing, while the contents of ferulic acid, chlorogenic acid, and vanillin slightly decreased, and the content of ligustilide increased. **Conclusion** The established fingerprint profiles and multi-component quantitative determination methods for ASR before and after wine processing are stable and reliable, providing a reference for the quality control, comprehensive utilization, and clinical application of ASR and ASR processed with wine.

Key words: *Angelicae Sinensis Radix*; *Angelicae Sinensis Radix* processed with wine; HPLC; fingerprint; chemometrics; 5-hydroxymethylfurfural; chlorogenic acid; vanillin; ferulic acid; ligustilide; quality evaluation; hierarchical cluster analysis; principal component analysis; orthogonal partial least squares-discriminant analysis

当归 *Angelicae Sinensis Radix* (ASR) 为伞形科当归属植物当归 *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels 的干燥根^[1], 被誉为“十方九归”的经典药材^[2]。当归始载于《神农本草经》, 位列中品, 因其“能使气血各有所归”而得名, 素有“血中圣药”之称。药性味甘、辛、温, 研究表明, 该药具有补血调经、通便润肠以及镇痛等诸多功效^[3]。当归中的化学成分主要包括挥发油类、有机酸类和多糖类成分, 目前临床上所使用当归的品类主要有生当归、酒炙当归、土炒当归、当归炭等, 当归经炮制后所含的有效化学成分的含量会发生变化^[4]。

《中国药典》2025 年版收载了当归炮制品为酒当归, 通过测定阿魏酸含量, 对当归进行质量控制, 但中药具有多成分、多靶点的特点, 单一成分的测定难以全面表征饮片的整体质量特征。中药指纹图谱技术能够全面表征中药材复杂化学成分的特征信息, 客观反映其内在质量的整体性和一致性, 已成为中药质量控制领域不可或缺的核心技术手段^[5-6]。化学模式识别将中药的复杂成分转变为对数据的解析, 更有利于从整体上对中药质量进行评价与控制, 在中药质量标志物筛选过程中, 扮演着至关重要的角色^[7-8]。

关于当归指纹图谱的研究已有相关报道^[9-15], 但是通过 HPLC 指纹图谱方法对于酒当归及炮制前后成分变化研究明显不足, 未能系统分析当归酒炙前后的成分变化规律, 结合多元统计分析对生品和炮制品区分判断报道较少。本实验通过 HPLC 构建

其指纹图谱, 并采用化学模式识别方法对当归酒炙前后进行判别分析, 旨在从整体水平探析当归酒炙前后化学成分的变化规律, 为当归炮制品的质量评价及炮制机制研究提供依据。

1 仪器与材料

1.1 仪器

Agilent 1260 型高效液相色谱仪, 美国安捷伦科技公司; KQ5200DE 型液晶超声波清洗器, 昆山洁力美超声仪器有限公司; DHG-9145A 型电热恒温鼓风干燥箱, 上海一恒科学仪器有限公司; 103B 型四两装高速中药粉碎机, 瑞安市永历制药机械有限公司; BS214D 型万分之一电子天平, 北京赛多利斯仪器系统有限公司; MS105DU 型十万分之一电子天平, 梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司。

1.2 材料

对照品藁本内酯(批号 24010804, 质量分数 98.38%)、5-羟甲基糠醛(5-hydroxymethylfurfural, 5-HMF, 批号 23052201, 质量分数 98.80%)、绿原酸(批号 22121606, 质量分数 99.35%)、香草醛(批号 24040807, 质量分数 99.86%)、阿魏酸(批号 22032207, 质量分数 99.95%), 均购自成都普菲德对照品科技有限公司; 乙腈、甲醇, 色谱纯, 武汉弗顿控股集团有限公司; 磷酸, 分析纯, 西陇科学股份有限公司; 水为超纯水, 实验室自制; 黄酒, 产品标准号 GB/T13662, 酒精度 12%vol, 绍兴三江酒厂。10 批当归药材来源信息见表 1, 经江西中医药大学药学院邓可众教授鉴定, 为伞形科当归属植

表 1 当归样品来源信息

Table 1 Information of ASR sample sources			
编号	产地	批次	厂家
S1	甘肃岷县	2408042	安徽益生源中药饮片科技有限公司
S2	甘肃定西	241101	湖北道地药材科技有限公司
S3	甘肃定西	241101	湖南省国卓中药饮片有限公司
S4	甘肃定西	240401	邵阳神农中药科技发展有限公司
S5	甘肃定西	241105	江西江中中药饮片有限公司
S6	甘肃定西	2412180	江西江中中药饮片有限公司
S7	甘肃定西	2412008	江西江中中药饮片有限公司
S8	甘肃定西	2502038	江西江中中药饮片有限公司
S9	甘肃定西	241013	江西江中中药饮片有限公司
S10	甘肃定西	2403001	江西汇仁药业股份有限公司

物当归 *A. sinensis* (Oliv.) Diels 的干燥根 (图 1)。

2 方法与结果

2.1 样品的制备

2.1.1 生当归 取当归饮片适量, 使用中药粉碎机粉碎, 过 3 号筛, 密封保存, 备用。

2.1.2 酒当归 取当归饮片适量, 加黄酒闷润 1 h 后, 置预热锅内, 用文火 (120 ℃) 炒 20 min, 取出, 置晾药盘内放凉, 即得酒当归饮片 (J1~J10, 图 1)。100 kg 当归用黄酒 10 kg。粉碎机分别粉碎后, 过 3 号筛, 密封保存, 备用。

2.2 色谱条件

采用 Agilent 1260 型高效液相色谱仪; 色谱柱

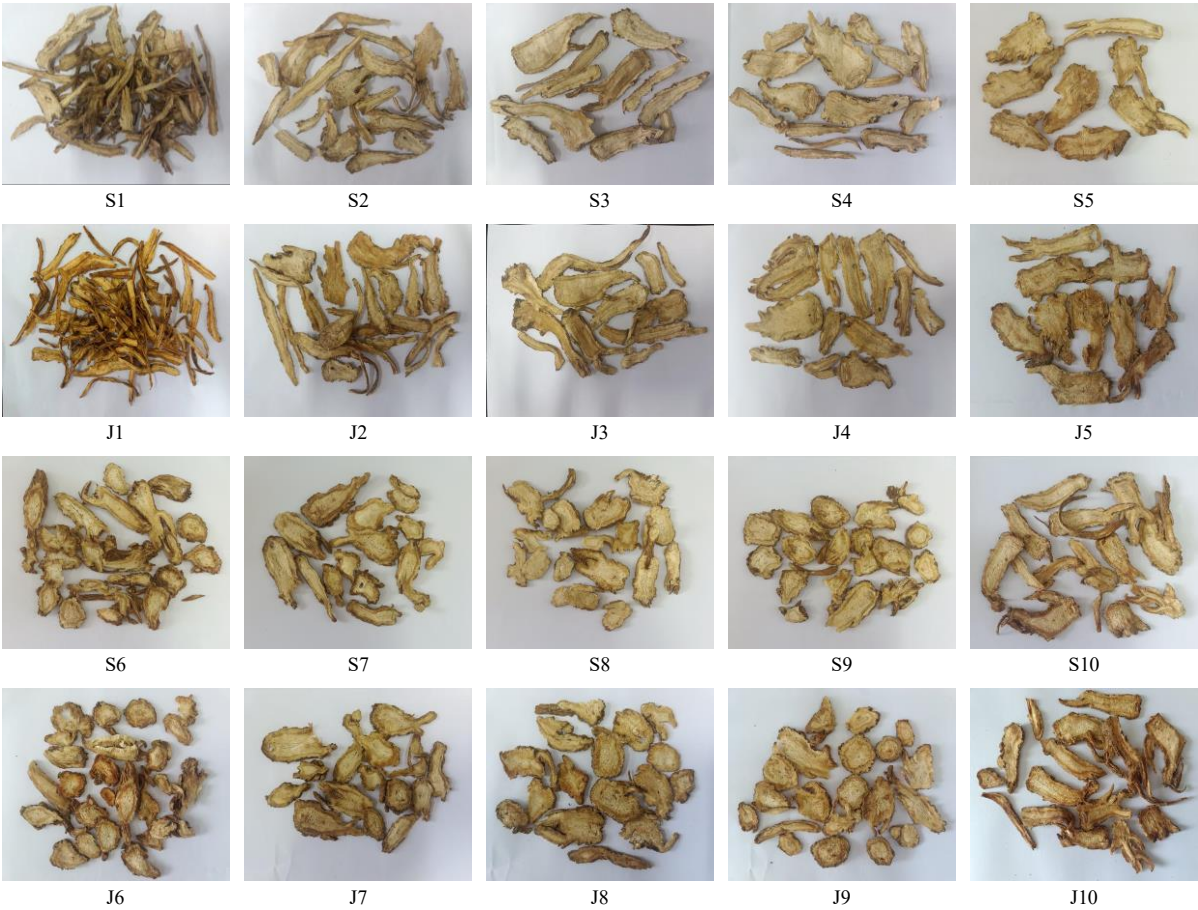


图 1 当归酒炙前、后饮片外观图

Fig. 1 Appearance of ASR slices before and after wine processing

为 Zafex Supperfex ZY-C₁₈ 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为 0.2%磷酸水溶液-乙腈, 梯度洗脱: 0~3 min, 10%~12%乙腈; 3~15 min, 12%~30%乙腈; 15~20 min, 30%~55%乙腈; 20~30 min, 55~80%乙腈; 30~35 min, 80%~10%乙腈; 检测波长 280 nm; 柱温 30 ℃; 体积流量 1.0 mL/min; 进样体积 10 μL。

2.3 对照品溶液的制备

精密称取 5-HMF、绿原酸、香草醛、阿魏酸、藁本内酯对照品适量, 置于 10 mL 量瓶中, 加入 70% 甲醇并定容至刻度, 制成质量浓度分别为 15.6、20.6、10.4、31.0、59.6 μg/mL 的混合对照品溶液。

2.4 供试品溶液的制备

精密称定各生当归、酒炙当归饮片样品粉末

(过三号筛) 0.8 g, 精密称定, 置于 50 mL 具塞锥形瓶中, 加入 70% 甲醇溶液 25 mL, 超声处理 40 min (功率 100 W、频率 40 kHz), 冷却, 用 70% 甲醇补足减失的质量, 摇匀, 取续滤液, 过 0.22 μ m 微孔滤膜, 即得供试品溶液。

2.5 阴性对照溶液的制备

根据“2.4”项下供试品溶液的提取溶剂, 取 70% 甲醇, 作为阴性对照溶液。

2.6 指纹图谱方法学考察

2.6.1 专属性考察 分别吸取“2.3”项下对照品溶液、“2.4”项下供试品溶液及“2.5”项下阴性对照溶液, 分别参照“2.2”项下色谱条件进样检测, 结果见图 2。结果表明, 溶剂对当归中色谱峰无干扰。

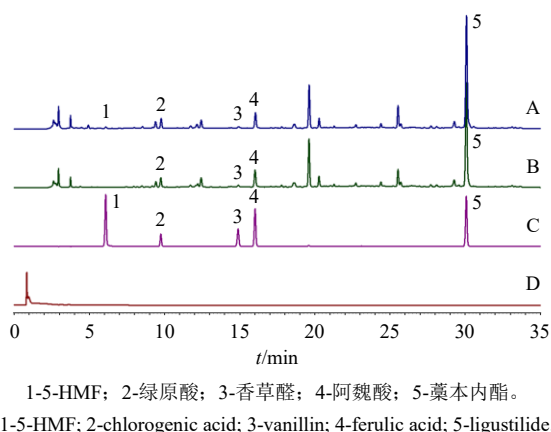


图 2 酒当归供试品溶液 (A)、生当归供试品溶液 (B)、混合对照品溶液 (C) 及空白溶剂 (D) 的 HPLC 图

Fig. 2 HPLC chromatograms of ASR processed with wine test solution (A), raw ASR test solution (B), mixed reference substance solution (C), and blank solvent (D)

2.6.2 参照峰的选择 按照“2.4”项下供试品溶液制备方法以及“2.2”项下色谱条件, 分析 S1 号样品, 对各色谱峰进行编号, 经分析, 3 号峰保留时间适中, 分离度较好, 故选择 3 号峰定为参照峰。与各混合对照品图谱 (图 2) 比对, 结果表明, 样品中 3 号峰保留时间与绿原酸对照品一致, 故将样品中绿原酸定为参照峰。

2.6.3 精密度试验 取酒当归样品粉末 (J1), 按照“2.4”项下方法制备供试品溶液, 按照“2.2”项下色谱条件连续进样测定 6 次, 以 3 号 (绿原酸) 色谱峰为参照峰, 计算得到各共有峰相对保留时间的 RSD 值 $\leq 0.03\%$, 相对峰面积的 RSD 值 $\leq 2.76\%$, 结果表明该仪器精密度良好。

2.6.4 稳定性试验 取酒当归样品粉末 (J1), 按照“2.4”项下方法制备供试品溶液, 分别于制备后 0、

2、4、6、8、12 h 进样测定, 以 3 号 (绿原酸) 色谱峰为参照峰, 计算得到各共有峰相对保留时间的 RSD 值 $\leq 0.16\%$, 相对峰面积的 RSD 值 $\leq 2.15\%$, 结果表明供试品溶液在 12 h 内稳定性良好。

2.6.5 重复性试验 取酒当归样品粉末 (J1), 按照“2.4”项下方法平行制备 6 份供试品溶液, 按照“2.2”项下色谱条件连续进样测定, 以 3 号 (绿原酸) 色谱峰为参照峰, 计算得到各共有峰相对保留时间的 RSD 值 $\leq 0.07\%$, 相对峰面积的 RSD 值 $\leq 2.39\%$, 结果表明该方法重复性良好。

2.7 指纹图谱的建立及相似度评价

取生当归及酒当归饮片各 10 批, 按照“2.4”项下方法制备样品溶液, 按照“2.2”项下色谱条件进样测定, 记录色谱图, 将所得各 10 批样品色谱图数据导入《中药色谱指纹图谱相似度评价系统》(2012 年版), 分别以 S1 样品、J1 样品的色谱图作为参照图谱, 采用中位数法, 时间宽度设定为 0.1 min, 对各 10 批样品选择信号吸收优异、峰形清晰、峰宽适宜、稳定性良好且分辨性能高的色谱峰作为共有峰进行多点校正和标记峰匹配, 生成对照特征图谱 (R) 和 HPLC 叠加指纹图谱, 结果如图 3 所示。生当归和酒当归指纹图谱中分别标定 11、12 个共有峰, 通过与混合对照品溶液进样检测并比对出峰时间, 生当归中指认出了 4 个共有峰, 分别为峰 1 (5-HMF)、3 (绿原酸)、5 (香草醛)、6 (阿魏酸); 酒当归中指认出了 5 个共有峰, 分别为峰 1 (5-HMF)、3 (绿原酸)、5 (香草醛)、6 (阿魏酸)、12 (藁本内酯)。混合对照品图谱见图 4。

10 批生当归 (S1~S10)、酒当归 (J1~J10) 指纹图谱, 与其对照指纹图谱的相似度分别为 0.967、0.992、0.994、0.984、0.998、0.997、0.998、0.987、0.998、0.989 和 0.980、0.989、0.999、0.978、0.997、0.998、0.998、0.984、0.999、0.982, 分别在 0.967~0.998 与 0.978~0.999, 相似度均大于 0.960, 可分别表明二者品质各批次间均较为稳定, 质量一致性良好。同时在运用相似度评价软件, 将当归酒炙前、后所有批次样品 (S1~S10、J1~J10) 色谱图导入其中, 进行多点校正和全谱峰匹配, 计算其相似度分别为 0.964、0.985、0.993、0.970、0.997、0.997、0.997、0.987、0.997、0.987、0.976、0.981、0.998、0.967、0.997、0.997、0.998、0.982、0.998、0.980, 均大于 0.960, 表明当归酒炙前、后二者各自指纹图谱相似度较好, 但不能体现当归酒炙前后的区分

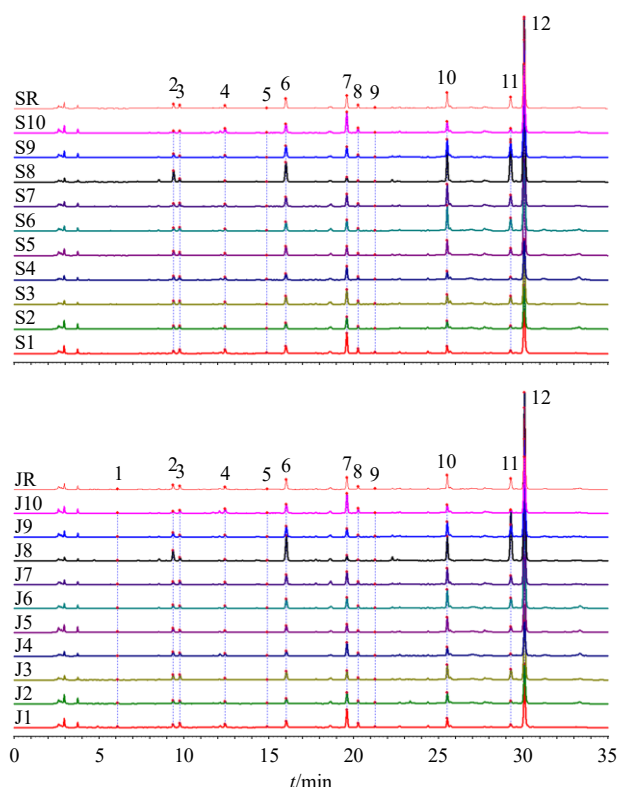
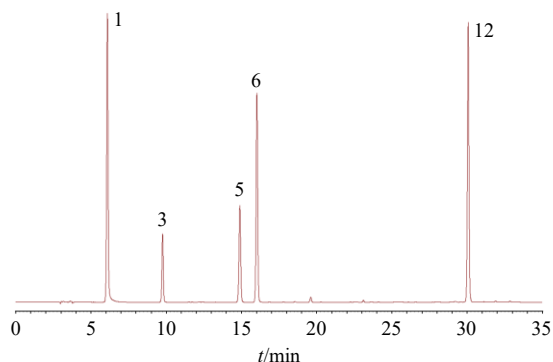


图 3 10 批生当归 (S1~S10) 和酒当归 (J1~J10) 的 HPLC 指纹图谱及其对照指纹图谱 (SR, JR)

Fig. 3 HPLC fingerprints of ten batches of raw ASR (S1—S10) and ASR processed with wine (J1—J10) and their reference fingerprints (SR, JR)



1-5-HMF; 3-绿原酸; 5-香草醛; 6-阿魏酸; 12-藁本内酯。
1-5-HMF; 3-chlorogenic acid; 5-vanillin; 6-ferulic acid; 12-ligustilide.

图 4 混合对照品溶液的 HPLC 图

Fig. 4 HPLC chromatogram of mixed reference substance solution

性与质量差异,无法有效区分生当归与酒当归。由于指纹图谱中主要峰群的整体相似,因此,需要进一步采用化学计量学方法分析其差异与主要差异性标志物。

2.8 化学模式识别分析

2.8.1 层次聚类分析 (hierarchical cluster analysis,

HCA) 当归饮片酒炙前后的差异^[16] 将生当归、酒当归指纹图谱中共有峰的峰面积数据 (缺失峰面积以 0 计) 导入 IBM SPSS 27.0 软件,以平均值为 1 对共有峰面积进行标准化处理,采用组间联接法,以平方欧氏距离作为测量区间进行 HCA,结果见图 5。当聚类距离为 7 时,除 S8、J8 外,其余样品可被明显分为 2 类,即生当归样品聚为一类,酒当归样品聚为一类,表明与生品相比,酒炙品成分含量存在一定的差异,生当归与酒当归各自的不同批次间也呈现出差异性,这可能源于药材原产地、采收时间等因素的影响。

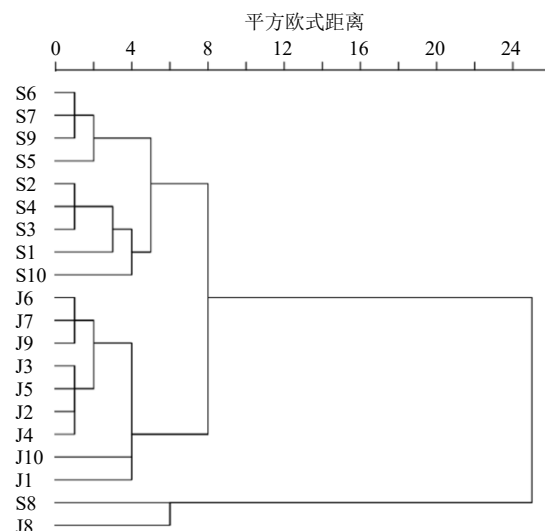


图 5 生当归、酒当归样品聚类分析

Fig. 5 Cluster analysis of raw and wine-processed ASR samples

2.8.2 主成分分析 (principal component analysis, PCA) 当归饮片酒炙前后的差异^[17-18] 以生当归、酒当归指纹图谱中共有峰的峰面积数据 (缺失峰面积以 0 计) 为变量,导入 IBM SPSS 27.0 软件,经过 KMO 和巴特利特球形度检验, $KMO=0.593 > 0.5$, $P < 0.05$,表明数据符合因子分析条件,可以进行 PCA。将峰面积标准化值作为变量进行 PCA,以特征值 > 1 为标准,共提取出了 3 个主成分,累积方差贡献率为 85.515%,说明这 3 个主成分可代表 12 个共有峰的大部分信息,故选取 3 个主成分的共有峰数据导入 SMICA 14.1 软件,绘制 PCA 得分图,结果见图 6。

主成分特征值及方差贡献率结果见表 2。因子载荷矩阵见表 3,主成分 1 与色谱峰 2、6、10~12 有较强相关性,主成分 2 与色谱峰 4、7、8 有较强相关性,主成分 3 与色谱峰 3、5、9 有较强相关性。

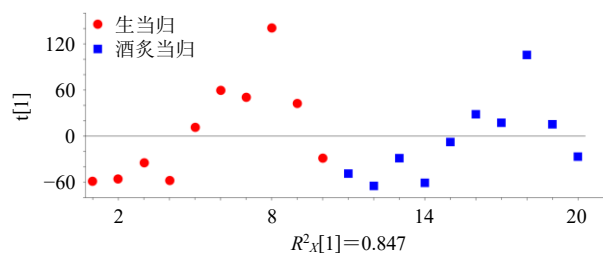


图 6 PCA 得分图

Fig. 6 PCA score plot

表 2 主成分特征值及方差贡献率

Table 2 Eigenvalues and variance contribution rates of principal components

主成分因子	特征值	方差贡献率/%	累积方差贡献率/%
1	5.727	47.726	47.726
2	2.450	20.416	68.142
3	2.085	17.373	85.515

表 3 主成分因子载荷矩阵

Table 3 Principal component factor loading matrix

峰号	载荷矩阵			峰号	载荷矩阵		
	主成分 1	主成分 2	主成分 3		主成分 1	主成分 2	主成分 3
1	-0.329	-0.519	-0.282	7	-0.333	0.925	0.082
2	0.796	-0.448	0.157	8	-0.272	0.936	0.054
3	-0.129	-0.038	0.832	9	0.196	0.099	0.917
4	-0.276	0.907	-0.025	10	0.889	-0.264	-0.168
5	-0.304	0.145	0.860	11	0.932	-0.266	0.008
6	0.975	0.000	-0.015	12	0.900	-0.109	-0.257

说明当归酒炙后发生的质量变化可能是以上多种成分共同作用产生的。

2.8.3 正交偏最小二乘-判别分析(orthogonal partial least squares-discriminant analysis, OPLS-DA) 当归饮片酒炙前后主要差异性标志物^[19-20] 将生当归、酒当归指纹图谱中共有峰的峰面积数据(缺失峰面积以 0 计)导入 SIMCA 14.1 软件,进行有监督模式的 OPLS-DA,得到 OPLS-DA 模型,结果见图 7。OPLS-DA 得分图(图 7-A)显示,生当归、酒当归呈现明显的分类聚集现象,说明二者的化学成分存在明显差异,模型累积解释能力参数 $R^2_X=0.981$, $R^2_Y=0.961$, 预测能力参数 $Q^2=0.705$, 均大于 0.5, 表明该模型具有较好的稳定性,且预测能力较强。为确保所建立的 OPLS-DA 模型的准确性,故进行内部置换检验,检验次数设置为 200 次,200 次置换检验的结果(图 7-C)表明 R^2 和 Q^2 的截距值分别为 0.267 (<0.3) 和 -0.741 (<0.05), 右上角 R^2 和 Q^2 的纵坐标的值高于最左边的 R^2 和 Q^2 , 斜率为

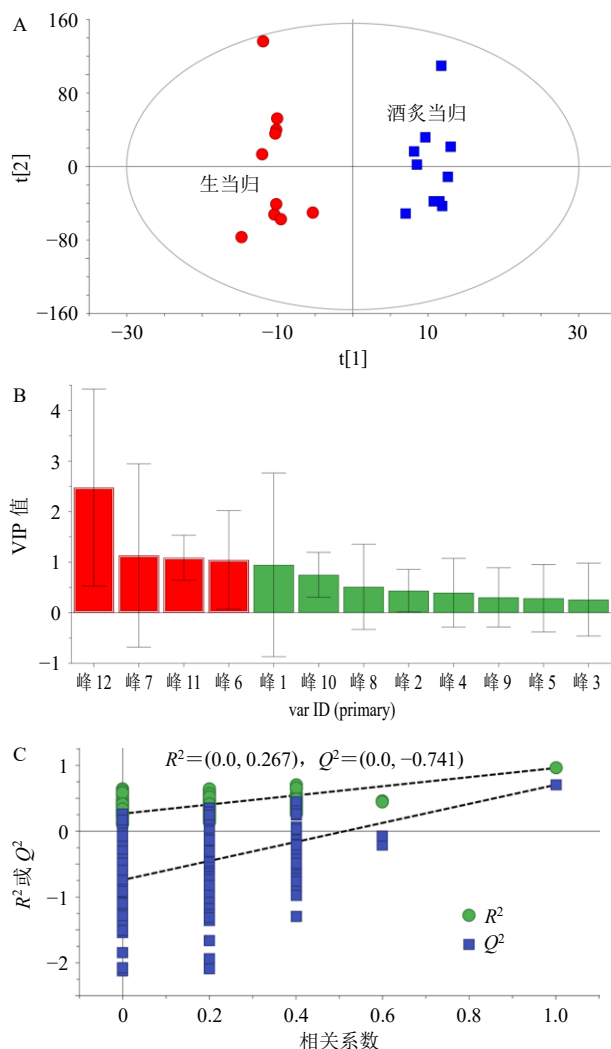


图 7 当归、酒当归 OPLS-DA 得分图 (A)、VIP 值图 (B) 及模型 200 置换检验结果 (C)

Fig. 7 OPLS-DA score plot (A), VIP plot (B), and 200 permutation test results of model (C) for raw ASR and ASR processed with wine

正值, Q^2 点的蓝色回归线与纵轴(左侧)相交点低于 0 点, 说明该模型没有出现过拟合, 模型稳定可靠, 可用于差异标志物的筛选。

将 12 个共有峰的变量重要性投影(variable importance projection, VIP)值进行排序, 筛选 VIP 值 >1 的成分, 筛选对于酒炙当归化学成分差异影响较大的成分, 结果(图 7-B)得到 4 个共有峰, 分别为 12 号峰(藁本内酯, VIP 值为 2.476 4)、7 号峰(VIP 值为 1.132 7)、11 号峰(VIP 值为 1.087 4)、6 号峰(阿魏酸, VIP 值为 1.044 5), 表明这 4 个化学成分对于当归和酒当归的分类具有明显的影响, 是引起当归酒炙前后质量标准差异的潜在的标志成分。

2.9 含量测定

2.9.1 线性关系考察 取 5 个成分 5-HMF、绿原酸、香草醛、阿魏酸、藁本内酯对照品适量，精密称定，用 70% 甲醇为溶剂，分别稀释成相应质量浓度梯度对照品溶液，按照“2.2”项下色谱条件进样测定，以对照品溶液的质量浓度为横坐标 (X)，峰面积为纵坐标 (Y)，绘制标准曲线，进行线性回归，得回归方程：5-HMF $Y=68.278 X-3.352 3$ ， $R^2=1.000 0$ ，线性范围 0.20~20.00 $\mu\text{g/mL}$ ；绿原酸 $Y=13.917 X-10.898$ ， $R^2=0.999 3$ ，线性范围 0.792~79.200 $\mu\text{g/mL}$ ；香草醛 $Y=38.997 X-3.992 5$ ， $R^2=1.000 0$ ，线性范围 0.384~38.400 $\mu\text{g/mL}$ ；阿魏酸 $Y=26.988 X-9.706$ ， $R^2=1.000 0$ ，线性范围 0.99~99.00 $\mu\text{g/mL}$ ；藁本内酯 $Y=18.351 X+165.670$ ， $R^2=0.999 8$ ，线性范围 78.10~781.00 $\mu\text{g/mL}$ ；结果发现各对照品线性关系良好， R^2 均在 0.999 以上。

2.9.2 精密度试验 取混合对照品溶液，按照“2.2”项下色谱条件连续进样测定 6 次，计算得到 5-HMF、绿原酸、香草醛、阿魏酸、藁本内酯峰面积的 RSD 分别为 0.27%、0.10%、0.11%、0.53%、0.08%，结果表明该仪器精密度良好。

2.9.3 稳定性试验 取生当归 (S1) 及酒当归 (J1) 供试品溶液，分别于制备后 0、2、4、6、8、12 h 进样测定，按照“2.2”项下色谱条件进样测定，记录峰面积，计算得到生当归中绿原酸、香草醛、阿魏酸、藁本内酯峰面积的 RSD 分别为 2.01%、1.36%、1.48%、0.70%，酒当归中 5-HMF、绿原酸、香草醛、阿魏酸、藁本内酯峰面积的 RSD 分别为 2.69%、0.82%、2.22%、1.32%、0.08%，结果表明供试品溶液在 12 h 内稳定性良好。

2.9.4 重复性试验 取同一批生当归 (S1) 及酒当归 (J1) 样品各 6 份，按照“2.4”项下方法制备供试品溶液，按照“2.2”项下色谱条件进样测定，以 5 个待测成分色谱峰面积计算其含量，得到生当归中绿原酸、香草醛、阿魏酸、藁本内酯质量分数的 RSD 值分别为 1.45%、1.41%、0.74%、0.95%，酒当归中 5-HMF、绿原酸、香草醛、阿魏酸、藁本内酯质量分数的 RSD 值分别为 0.49%、0.94%、1.49%、1.85%、0.81%，均小于 2.0%，结果表明该方法重复性良好。

2.9.5 加样回收率试验 取生当归 (S1) 及酒当归 (J1) 供试品粉末各 6 份，每份 0.4 g，分别加入与样品中各成分含量相当的各对照品，按照“2.4”项

下方法制备供试品溶液，按照“2.2”项下色谱条件进样测定，计算得到生当归中绿原酸、香草醛、阿魏酸、藁本内酯的平均加样回收率分别为 104.77%、99.95%、104.61%、97.45%，RSD 分别为 2.49%、3.69%、1.73%、1.20%；酒当归中 5-HMF、绿原酸、香草醛、阿魏酸、藁本内酯的平均加样回收率分别为 98.92%、105.77%、102.74%、101.95%、99.84%，RSD 分别为 2.55%、2.15%、1.86%、2.26%、1.02%，结果表明该方法准确可行。

2.9.6 样品含量测定 取 10 批生当归及 10 批酒当归粉末，按照“2.4”项下方法制备供试品溶液，按照“2.2”项下色谱条件进样测定，记录峰面积，采用外标法计算各样品中 5-HMF、绿原酸、香草醛、阿魏酸、藁本内酯的含量，结果见表 4。与生当归相比，酒当归中新生成 5-HMF 成分，阿魏酸、绿原酸、香草醛成分含量整体略微下降，藁本内酯成分含量整体有所上升，表明炮制对其含量变化有所影响。

表 4 10 批生当归及 10 批酒当归样品中各指标成分的含量测定结果

Table 4 Determination results of index components in 10 batches of raw ASR and 10 batches of ASR wine samples

编号	质量分数/($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)				
	5-HMF	绿原酸	香草醛	阿魏酸	藁本内酯
S1	—	0.508	0.037	0.479	4.038
S2	—	0.383	0.030	0.397	3.956
S3	—	0.449	0.020	0.542	5.148
S4	—	0.418	0.031	0.413	3.687
S5	—	0.383	0.018	0.582	8.583
S6	—	0.428	0.016	0.583	11.870
S7	—	0.417	0.014	0.624	11.415
S8	—	0.438	0.021	1.248	14.694
S9	—	0.214	0.013	0.735	10.458
S10	—	0.238	0.015	0.558	6.191
J1	0.017	0.557	0.033	0.433	5.426
J2	0.017	0.401	0.025	0.295	3.539
J3	0.016	0.325	0.018	0.412	6.238
J4	0.016	0.312	0.030	0.289	3.805
J5	0.014	0.320	0.016	0.439	8.862
J6	0.020	0.381	0.015	0.567	11.643
J7	0.017	0.391	0.015	0.539	10.906
J8	0.016	0.279	0.017	1.078	14.965
J9	0.017	0.192	0.013	0.569	10.136
J10	0.016	0.281	0.013	0.563	7.653

“—”表示未检出。

“—” means not checked out.

3 讨论

当归作为大宗中药品种之一，酒炙是其常用的炮制方法，借助酒温升散寒、缓和其温燥之性，更好地发挥活血作用，使药效更偏向于养血和血、调理经脉。本研究旨在建立一套科学、可靠的质量评价方法，以便揭示当归酒炙前、后的化学成分变化规律。

3.1 HPLC 分析方法的建立与优化

为全面反映当归中的化学成分信息，系统优化了 HPLC 分析条件，前期考察了不同色谱柱、检测波长（250、270、280、320 nm）、柱温（25、30、35 ℃）、进样量（5、10、15 μL ）等条件，其次，以色谱图出峰个数、峰形、分离度为主要依据进行提取条件优化，考察了不同甲醇体积分数（60%、70%、80%、100%）及不同提取时间（30、40、60 min），结果表明，将生当归及酒当归样品用 70% 甲醇超声提取 40 min 后，采用 Zafex Supperfex ZY-C₁₈ 色谱柱，在 280 nm 检测波长、柱温 30 ℃、进样 10 μL 所得指纹图谱的色谱峰数量多、分离度好、峰形对称，为后续的指纹图谱分析和化学计量学评价奠定了坚实的方法学基础。

3.2 指纹图谱与化学计量学分析

通过建立 10 批生当归和 10 批酒当归的 HPLC 指纹图谱，并进行相似度评价，发现各组内样品相似度较高，表明供试品的整体质量较为稳定。然而，仅凭相似度评价难以区分生品与炮制品。为此，本研究引入化学计量学方法进行深度数据挖掘。HCA 与 PCA 结果显示，生当归和酒当归样品能够被清晰地聚为 2 类，表明酒炙工艺确实引起了药材化学成分的改变。进一步采用 OPLS-DA 模型，不仅成功区分了 2 组样品，还筛选出 4 个对区分贡献最大的差异标志物，即色谱峰 6（阿魏酸）、12（藁本内酯）以及峰 7 和峰 11。这说明，指纹图谱技术与化学计量学联用，能够有效、直观地揭示当归酒炙前后的内在质量差异。

3.3 差异标志物的变化规律与炮制机制探讨

对筛选出的差异标志物进行分析，是阐释炮制科学内涵的关键。实验中选定的 5 种有效成分属于有机酸类、苯酚类、醛类成分，阿魏酸和藁本内酯为代表的有机酸类和苯酚类成分是当归活血止痛的重要物质基础。研究发现，当归中的阿魏酸以游离态（阿魏酸）和结合态（阿魏酸松柏酯）共存，且以后者为主。结合态成分性质不稳定，在甲醇、

强酸、弱碱、受热或光照等条件下，易分解为阿魏酸和松柏醇，酒炙后阿魏酸含量呈现下降趋势，可能与酒炙过程中该成分受热不稳定，使其结构遭到破坏有关。

相反，藁本内酯含量的增加可能与王莹等^[21]的研究发现相符，即酒炙过程促进了某些苯酚类二聚体的水解，从而生成了更多的单体藁本内酯。这一“降”一“升”的变化，可能正是当归酒炙后活血作用增强的物质基础之一。当归酒炙后新生成 5-HMF 成分，是糖类在加热条件下脱水或降解的产物，常作为中药炮制过程中发生美拉德反应或焦糖化反应的标志性成分。绿原酸是存在于植物体内的天然有机酸，具有抗菌、抗炎等药理作用，此外，当归中还有一类的核心活性成分是多糖类^[22-23]，后期课题组也将不断完善，为当归质量评价提供更加全面的理论依据。

3.4 对现行质量标准的思考与展望

《中国药典》2025 年版目前仍以阿魏酸作为当归的含量测定指标，当归酒炙后阿魏酸含量下降，难以全面反映酒炙“增强活血”的炮制目的，也无法体现炮制前后药材的差异性。因此，建立涵盖多种活性成分（如苯酚类、有机酸类）的多元指标质量控制体系，引入能反映整体变化的指纹图谱，对科学评价当归及其炮制品的质量至关重要。

然而，本研究尚存在一定的局限性。筛选出的 4 个关键差异标志物中，仍有 2 个（色谱峰 7、11）的化学成分有待明确。为进一步深化研究，课题组后续将采用 UPLC-Q-TOF-MS 等高分辨质谱联用技术，对色谱峰 7、11 等未知差异标志物进行结构鉴定。同时，将结合网络药理学预测及药效学实验，深入探究这些化学成分变化与当归活血功效增强之间的构效关系，以期更全面、系统地阐明当归酒炙的炮制科学内涵，为当归质量标准的完善提供更有力的实验依据。

4 结论

本研究成功建立了生当归与酒当归的 HPLC 指纹图谱分析方法，并结合化学计量学模型（HCA、PCA、OPLS-DA）系统评价了酒炙对当归化学成分的影响。研究表明，该方法能够有效区分生当归与酒当归，并成功筛选出包括阿魏酸、藁本内酯在内的 4 个关键差异标志物。研究系统揭示了当归经酒炙炮制后化学成分的含量变化规律，为当归饮片的质量控制提供了一种更科学、全面的方法，也为其

他中药炮制品的质量研究提供了方法学借鉴。

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: 142.
- [2] 丁羽, 戴慧莲, 姜德利, 等. 基于智能感官和近红外光谱技术结合化学计量学的酒当归炮制程度快速辨识研究 [J]. 中草药, 2025, 56(1): 68-78.
- [3] 张玲. 中药当归经不同炮制方法炮制后对其化学成分的影响分析 [J]. 中国处方药, 2019, 17(11): 18-19.
- [4] 马燕, 张育贵, 石露萍, 等. 当归炮制品及其化学成分和药理作用研究进展 [J]. 中国中药杂志, 2023, 48(22): 6003-6010.
- [5] 陆美霞, 邓红, 施林峰, 等. 天麻姜制前后的 HPLC 指纹图谱比较以及 6 种成分含量测定 [J]. 时珍国医国药, 2023, 34(2): 333-337.
- [6] 李鹏飞, 岳倩侠, 孙叶芬, 等. 基于指纹图谱与化学计量学的白芍酒炙前后差异性标志物研究 [J]. 中草药, 2023, 54(8): 2398-2407.
- [7] 王淑, 张翠翠, 郭凤丹, 等. 基于 UPLC 多指标含量测定和指纹图谱的不同种质金银花药材质量评价研究 [J]. 中草药, 2024, 55(3): 947-955.
- [8] 崔艺彤, 王乐, 王朝慧, 等. 基于 HPLC 指纹图谱和多成分定量结合化学模式识别的槐枝药材质量评价 [J]. 药物评价研究, 2025, 48(4): 928-935.
- [9] 王永春, 刘宇心, 孟珈同, 等. 经典名方温经汤中酒当归炮制工艺优化及其指纹图谱的研究 [J]. 中国新药杂志, 2023, 32(3): 283-293.
- [10] 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.
- [11] 刘彩凤, 梁军, 杨海菊, 等. 基于指纹图谱及化学模式对当归酒洗前后的比较分析 [J]. 北京中医药大学学报, 2020, 43(3): 234-241.
- [12] 张明惠, 朱田田, 晋玲, 等. 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 [J]. 中草药, 2022, 53(19): 6187-6199.
- [13] 党文飞, 张红伟, 周洁, 等. 基于 HPLC 指纹图谱及色度值的当归与油当归比较研究 [J]. 中国中医药信息杂志, 2024, 31(5): 112-117.
- [14] 李天媛, 李坤玉, 李爽, 等. HPLC 指纹图谱-化学计量学筛选岷当归质量评价因子研究 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2025, 27(4): 49-53.
- [15] 孟子盈, 杨倩倩, 石玉存, 等. HPLC 指纹图谱结合化学计量学研究当归土炒前后主要成分变化 [J]. 中国药理学杂志, 2025, 60(5): 522-531.
- [16] 林秀敏, 张振凌, 王胜超, 等. 白芍饮片的 HPLC 指纹图谱建立及聚类分析、主成分分析 [J]. 中国药房, 2019, 30(24): 3375-3382.
- [17] Zheng C, Li W T, Yao Y, *et al.* Quality evaluation of *Atractylodis Macrocephalae Rhizoma* based on combinative method of HPLC fingerprint, quantitative analysis of multi-components and chemical pattern recognition analysis [J]. *Molecules*, 2021, 26(23): 7124.
- [18] 刘宇婷, 赵梦薇, 王玉霞, 等. HPLC 指纹图谱和多成分定量结合化学模式识别法对地骨皮饮片的质量评价 [J]. 时珍国医国药, 2025, 36(6): 1070-1075.
- [19] Ma Q D, Chen X X, Zhang K, *et al.* Chemical fingerprint analysis for discovering markers and identifying *Saussurea involucrata* by HPLC coupled with OPLS-DA [J]. *J Anal Methods Chem*, 2020, 2020: 7560710.
- [20] Huang B M, Zha Q L, Chen T B, *et al.* Discovery of markers for discriminating the age of cultivated ginseng by using UHPLC-QTOF/MS coupled with OPLS-DA [J]. *Phytomedicine*, 2018, 45: 8-17.
- [21] 王莹, 孙嘉辰, 李霞, 等. 基于建立成分活性权重函数的当归酒炙工艺评价研究 [J]. 中草药, 2022, 53(10): 3014-3021.
- [22] 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.
- [23] Liu W J, Li Z Z, Feng C X, *et al.* The structures of two polysaccharides from *Angelica sinensis* and their effects on hepatic insulin resistance through blocking RAGE [J]. *Carbohydr Polym*, 2022, 280: 119001.

[责任编辑 郑礼胜]