

青翘和老翘的HPLC指纹图谱比较及聚类分析、主成分分析[△]

王越欣^{1*}, 苗雨露¹, 王梅², 李宁¹, 武英茹², 张文智¹, 冯敏², 倪艳^{1#} (1. 山西省中医药研究院, 太原 030012; 2. 山西中医药大学中药与食品工程学院, 太原 030619)

中图分类号 R284.1 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2021)06-0663-06

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2021.06.04

摘要 目的: 建立青翘和老翘药材的指纹图谱并比较, 同时进行聚类分析和主成分分析。方法: 采用高效液相色谱法。色谱柱为 Hypersil C₁₈, 流动相为乙腈-0.1% 甲酸水溶液(梯度洗脱), 检测波长为 235 nm, 柱温为 25 ℃, 流速为 1.0 mL/min, 进样量为 10 μL。以连翘苷为参照, 绘制 8 批青翘(Q1~Q8)和 6 批老翘(L1~L6)药材的 HPLC 指纹图谱; 采用《中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012 版)》进行相似度评价, 确定共有峰; 采用 SPSS 23.0 软件进行聚类分析和主成分分析。结果: 青翘和老翘药材共有 19 个共有峰, 指认了其中 6 个, 分别为连翘酯苷 A、芦丁、松脂素-β-D-葡萄糖苷、连翘苷、槲皮素、连翘脂素; 青翘与老翘药材的相似度为 0.351~0.767。聚类分析结果显示, 青翘和老翘药材样品可聚为 4 类, 其中 L1~L6 聚为一类、Q1 聚为一类、Q2~Q6 聚为一类、Q7~Q8 聚为一类。主成分分析结果显示, 前 3 个主成分的累积方差贡献率为 83.14%, L1~L6 分布较近, Q2~Q6 分布较近, Q7~Q8 分布较近, Q1 分布较为独立, 与聚类分析结果一致。结论: 青翘和老翘的指纹图谱共有峰经相似度评价、聚类分析及主成分分析均有明显差异, 所建 HPLC 指纹图谱可用于综合评价和比较青翘和老翘药材的质量。

关键词 青翘; 老翘; 高效液相色谱法; 指纹图谱; 相似度分析; 聚类分析; 主成分分析

Comparison of HPLC Fingerprint, Cluster Analysis and Principle Component Analysis of Green *Forsythia suspensa* and Grown *F. suspensa*

WANG Yuexin¹, MIAO Yulu¹, WANG Mei², LI Ning¹, WU Yingru², ZHANG Wenzhi¹, FENG Min², NI Yan¹ (1. Shanxi Provincial Academy of TCM, Taiyuan 030012, China; 2. College of TCM and Food Engineering, Shanxi University of TCM, Taiyuan 030619, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish and compare HPLC fingerprints of green *Forsythia suspensa* and grown *F. suspensa*, and to conduct cluster analysis and principle component analysis. METHODS: HPLC method was adopted. The determination was performed on Hypersil C₁₈ column with mobile phase consisted of acetonitrile-0.1% formic acid (gradient elution). The detection wavelength was 235 nm and column temperature was 25 ℃ with the flow rate of 1.0 mL/min. The sample size was 10 μL. HPLC fingerprints of 8 batches of green *F. suspensa* (Q1-Q8) and 6 batches of grown *F. suspensa* (L1-L6) were drawn, with phillyrin as reference; the similarity evaluation was conducted by using *Similarity Evaluation System of TCM Chromatographic Fingerprint* (2012 edition), and common peak was confirmed. Cluster analysis and principal component analysis were carried out with SPSS 23.0 software. RESULTS: There were 19 common peaks for green *F. suspensa* and grown *F. suspensa*, among which 6 peaks were identified, i.e. forsythoside A, rutin, pinosresinol-β-D-glucoside, phillyrin, quercetin and phillygenin; the similarities of HPLC fingerprints from green *F. suspensa* and grown *F. suspensa* were 0.351-0.767; results of cluster analysis showed that green *F. suspensa* and grown *F. suspensa* were classified into 4 categories, among which L1-L6 were clustered into one category, Q1 was clustered into one category, Q2-Q6 were clustered into one category; Q7-Q8 were clustered into one category. The results of principal component analysis showed that the cumulative variance contribution rate of the first three principal components was 83.14%, L1-L6 distribution was close, Q2-Q6 distribution was close, Q7-Q8 distribution was close, and Q1 distribution was independent, which was consistent with the results of cluster analysis. CONCLUSIONS: There were significant differences in the common peaks of fingerprint of green *F. suspensa* and grown *F. suspensa* of similarity evaluation, cluster analysis and principle component

[△] 基金项目: 国家自然科学基金资助项目(No.81470169); 山西省基础研究项目(No.2015021196)

* 硕士研究生。研究方向: 方剂药效物质基础及制剂现代化。E-mail: 1492297329@qq.com

通信作者: 主任药师, 硕士生导师。研究方向: 方剂药效物质基础及制剂现代化。电话: 0351-4668028。E-mail: niyan_01@hotmail.com

analysis, the established HPLC fingerprint can be used for comprehensive evaluation and quality comparison of green *F. suspensa* and grown *F. suspensa*.

KEYWORDS Green *Forsythia suspensa*; Grown *Forsythia suspensa*; HPLC; Fingerprint; Similarity analysis; Cluster analysis; Principal component analysis

连翘为木犀科连翘属植物连翘 *Forsythia suspensa* (Thunb.) Vahl. 的干燥果实, 主产于我国山西、山东、河南、河北、陕西等地, 具有清热解毒、消肿散结的功效^[1]。现代药理研究发现, 连翘具有抗病毒、抗炎、抗过敏、抗氧化、抗肿瘤等药理作用, 且已被广泛用于肝炎、脑膜炎、呼吸道感染、急性肾炎等症的临床治疗^[2]。连翘含有多种化学成分, 如苯乙醇苷类、木脂素类、三萜类、黄酮类、酚酸类等, 因此仅以连翘苷和连翘酯苷 A 作为该药材质量评价的指标具有一定的局限性^[3]。

根据采收期的不同, 连翘分为青翘和老翘, 其中前者采收于果实初熟尚带绿色时, 后者则采收于果实熟透时^[4]。有研究指出, 青翘和老翘在很多方面存在差异, 首先在化学成分方面, 青翘中有多种成分的含量均明显高于老翘, 如黄酮类、木脂素类以及挥发油类成分^[5-7], 而老翘中微量元素的含量高于青翘^[8]; 其次在药效方面, 青翘与老翘均有抗炎、抗菌、抗肿瘤和抗氧化等作用, 其中青翘的抗氧化、抗炎作用优于老翘, 而老翘的抗菌作用与青翘相当, 甚至优于青翘^[9-10]。2015年版《中国药典》(一部) 仅对青翘和老翘的杂质、浸出物限度作了不同要求^[1]; 而2020年版《中国药典》(一部) 虽然增加了连翘中挥发油的含量测定, 但仅对青翘作了规定, 成分方面也仅对连翘酯苷 A 的含量进行了区分^[11]。因此, 进一步区分青翘和老翘的差异对于制定完善的连翘质量标准与临床用药规范具有重要的指导意义^[12]。

近年来, 因指纹图谱技术在反映中药材的物质特征中具有稳定性好和特征性强的优势, 而被广泛用于中药材的质量控制领域^[13]。虽然, 已有关于连翘高效液相色谱(HPLC)指纹图谱的报道^[14-15], 但这些研究主要是将不同产地、市售不同批次青翘药材或青翘不同极性部位的 HPLC 指纹图谱进行比较^[16-18], 或采用不同技术(如近红外光谱技术)对连翘进行鉴别^[19-20]; 同时, 目前尚未有将青翘和老翘药材指纹图谱进行对比的研究。基于此, 本研究建立了青翘和老翘的 HPLC 指纹图谱, 并采用聚类分析和主成分分析对两者质量进行评价, 旨在为青翘与老翘的质量控制提供参考。

1 材料

1.1 主要仪器

本研究所用的主要仪器有 UltiMate 3000 型 HPLC 仪(包括溶剂泵、自动进样器、柱箱、可变波长检测器、Chromleon™ 6.80 色谱工作站, 戴安中国有限公司)、FW-100 型高速万能粉碎机(北京中兴伟业仪器有限公司)、LC-300B 型数控超声波清洗机(山东济宁鲁超超声设备有限公司)、SE402F 型电子分析天平[奥豪斯仪器(上海)有限公司]等。

1.2 主要药品与试剂

连翘苷对照品(批号 110821-201112, 纯度 96.8%)、

连翘酯苷 A 对照品(批号 111810-201606, 纯度 93.4%)、芦丁对照品(批号 100080-201408, 纯度 90.2%)、槲皮素对照品(批号 100081-200907, 纯度 97.4%) 均购自中国食品药品检定研究院, 连翘脂素对照品(批号 141107, 纯度 98.0%)、松脂素-β-D-葡萄糖苷对照品(批号 140325, 纯度 98.0%) 均购自成都普菲德生物技术有限公司; 乙腈、甲酸为色谱纯, 甲醇等其余试剂均为分析纯, 水为纯化水。

8 批青翘(编号 Q1~Q8) 和 6 批老翘(编号 L1~L6) 药材经山西省中医药研究院倪艳教授鉴定均为木犀科植物连翘 *F. suspensa* (Thunb.) Vahl. 的干燥果实。其中, 青翘质硬、多不开裂, 表面呈绿褐色, 突起的灰白色小斑点较少; 种子多数呈黄绿色且细长, 一侧有翅。老翘质脆自顶端开裂或裂成两瓣, 表面呈黄棕色或红棕色, 内表面多为浅黄棕色, 平滑, 具一纵隔; 种子呈棕色, 多已脱落。8 批青翘和 6 批老翘药材样品信息来源见表 1。

表 1 8 批青翘和 6 批老翘药材样品信息来源

Tab 1 Sample information of 8 batches of green *F. suspensa* and 6 batches of grown *F. suspensa*

编号	药材	产地	采收日期	来源
Q1	青翘	山西	2014年9月	购自亳州成源中药饮片有限公司
Q2	青翘	山西平顺	2014年9月	购自亳州成源中药饮片有限公司
Q3	青翘	山西沁源	2015年9月	采自山西沁源
Q4	青翘	山西平顺	2015年9月	购自亳州成源中药饮片有限公司
Q5	青翘	河南栾川	2015年7月	采自河南栾川
Q6	青翘	陕西旬邑	2015年12月	采自陕西旬邑
Q7	青翘	陕西商州	2015年7月	采自陕西商州
Q8	青翘	山西	2014年10月	购自亳州成源中药饮片有限公司
L1	老翘	山西	2014年9月	购自亳州成源中药饮片有限公司
L2	老翘	山西长治	2014年10月	购自亳州成源中药饮片有限公司
L3	老翘	山西平顺	2015年10月	购自亳州成源中药饮片有限公司
L4	老翘	陕西商州	2015年11月	采自陕西商州
L5	老翘	陕西延安	2016年10月	采自陕西延安
L6	老翘	山西	2016年10月	购自亳州成源中药饮片有限公司

2 方法与结果

2.1 色谱条件

以 Hypersil C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm) 为色谱柱, 以乙腈(A)-0.1% 甲酸水溶液(B) 为流动相进行梯度洗脱(0~20 min, 10% A→20% A; 20~50 min, 20% A→40% A; 50~55 min, 40% A→65% A; 55~65 min, 65% A→90% A), 检测波长为 235 nm, 流速为 1.0 mL/min, 柱温为 25 °C, 进样量为 10 μL。

2.2 混合对照品溶液的制备

精密称取连翘苷、连翘酯苷 A、芦丁、槲皮素、连翘脂素、松脂素-β-D-葡萄糖苷对照品适量, 置于 5 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 制成每 1 mL 含连翘苷 0.2 mg 和连翘酯苷 A、芦丁、槲皮素、连翘脂素、松脂素-β-D-葡萄糖苷各 0.1 mg 的混合对照品溶液, 摇匀, 于 4 °C 贮藏, 备用。

2.3 供试品溶液的制备

精密称取样品粉末(过五号筛)约0.5 g,置于具塞锥形瓶中,精密加入70%甲醇15 mL,密塞,称定质量,超声(功率250 W,频率40 kHz)处理30 min,放冷,再次称定质量,用70%甲醇补足缺失的质量,摇匀,经0.45 μm微孔滤膜滤过,取续滤液,即得。

2.4 方法学考察

2.4.1 精密度考察 取“2.3”项下供试品溶液(编号Q1)适量,按“2.1”项下色谱条件连续进样测定6次,以连翘苷为参照,记录各共有峰的相对保留时间和相对峰面积。结果,19个共有峰相对保留时间和相对峰面积的RSD均小于3%($n=6$),表明本方法精密度良好。

2.4.2 稳定性考察 取“2.3”项下供试品溶液(编号Q1)适量,分别于室温下放置0、2、4、8、12、24 h时按“2.1”项下色谱条件进样测定,以连翘苷为参照,记录各共有峰的相对保留时间和相对峰面积。结果,19个共有峰相对保留时间和相对峰面积的RSD均小于3%($n=6$),表明供试品溶液于室温下放置24 h内稳定性良好。

2.4.3 重复性考察 取药材样品(编号Q1)适量,按“2.3”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,以连翘苷为参照,记录各共有峰的相对保留时间和相对峰面积。结果,19个共有峰相对保留时间和相对峰面积的RSD均小于3%($n=6$),表明本方法重复性良好。

2.5 青翘和老翘HPLC指纹图谱的建立

2.5.1 指纹图谱的建立 取8批青翘(编号Q1~Q8)和6批老翘(编号L1~L6)样品适量,按“2.3”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录色谱图。以连翘苷为参照,采用《中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012版)》进行分析,采用中位系数法对各色谱峰进行多点校正并自动匹配生成对照谱图(R)和HPLC叠加指纹图谱,详见图1、图2。

2.5.2 共有峰的指认 对青翘和老翘药材样品指纹图谱进行数据匹配,共有19个共有峰。通过与混合对照品色谱图(见图3,取“2.2”项下混合对照品溶液,按“2.1”项下色谱条件进样所得)比对,指认出了其中6个共有峰,分别为连翘酯苷A(11号峰)、芦丁(12号峰)、松脂素-β-D-葡萄糖苷(13号峰)、连翘苷(17号峰)、槲皮素(18号峰)和连翘脂素(19号峰)。因17号峰(连翘苷)的含量相对较高且分离度较好,故以其为参照峰。

2.5.3 相似度评价 采用《中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012版)》进行相似度评价。结果,8批青翘药材样品的相似度分别为0.867、0.983、0.968、0.982、0.982、0.980、0.867、0.937,6批老翘药材样品的相似度分别为0.909、0.875、0.946、0.910、0.949、0.948;青翘与老翘药材样品的相似度为0.351~0.767,且青翘与老翘对照指纹

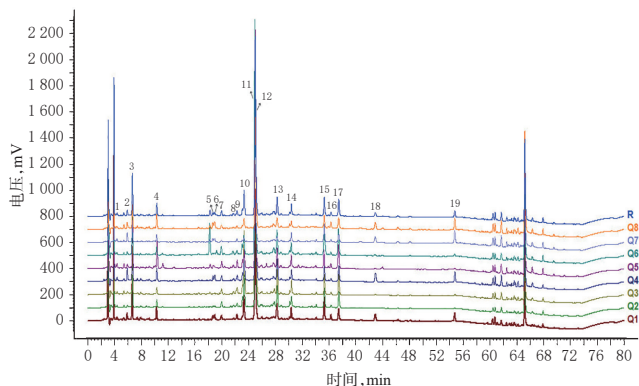


图1 8批青翘药材样品的HPLC叠加指纹图谱

Fig 1 HPLC superimposed fingerprint of 8 batches of green *F. suspensa*

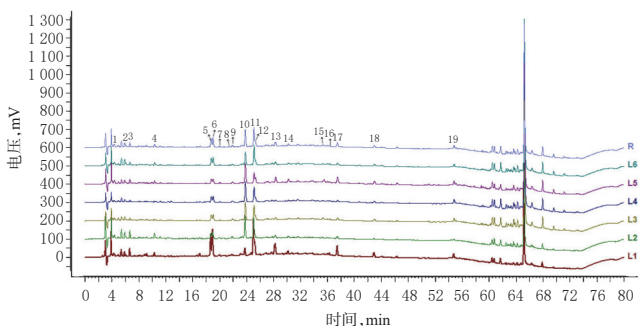


图2 6批老翘药材样品的HPLC叠加指纹图谱

Fig 2 HPLC superimposed fingerprint of 6 batches of grown *F. suspensa*

图谱的相似度为0.609,表明两者成分存在明显差异。8批青翘与6批老翘药材样品的相似度结果见表2。

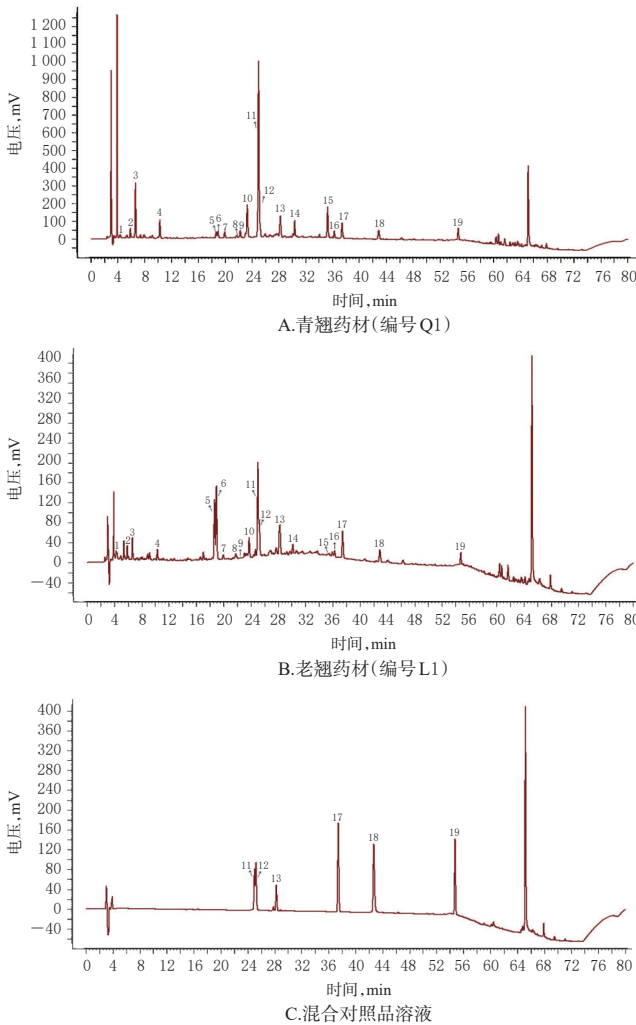
2.6 聚类分析

将8批青翘和6批老翘药材样品的19个共有峰峰面积导入SPSS 23.0软件,采用组间连接法以欧氏平方距离为测度进行聚类分析。结果,8批青翘和6批老翘可聚为4类,其中L1~L6聚为一类、Q1聚为一类、Q2~Q6聚为一类、Q7~Q8聚为一类,详见图4。

2.7 主成分分析

将8批青翘和6批老翘药材样品的19个共有峰峰面积导入SPSS 23.0软件,对经标准化处理后的共有峰峰面积进行主成分分析。结果,以特征值>1为提取标准^[21],得到前3个成分(即主成分)的累积方差贡献率,为83.14%,表明这3个主成分可以代表青翘和老翘药材样品指纹图谱中19个共有峰的大部分信息,详见表3。

主成分载荷矩阵反映了各变量对主成分的贡献大小和作用方向^[17]。采用SPSS 23.0软件对8批青翘和6批老翘药材样品中的19个共有峰主成分进行载荷矩阵分析。结果,共有峰3、7~8、13~17对主成分1贡献较大,且与其成正相关;共有峰5~6对主成分2贡献较大,且与其成正相关;共有峰19对主成分3贡献最大,且与其成负相关,详见表4。



注: 11. 连翘酯苷 A; 12. 芦丁; 13. 松脂素-β-D-葡萄糖苷; 17. 连翘苷; 18. 槲皮素; 19. 连翘脂素

Note: 11. forsythoside A; 12. rutin; 13. pinoresinol-β-D-glucoside; 17. phillyrin; 18. quercetin; 19. phillygenin

图3 青翘和老翘药材样品和混合对照品的高效液相色谱图

Fig 3 HPLC chromatograms of green *F. suspensa*, grown *F. suspensa* and mixed control

表2 8批青翘与6批老翘药材样品的相似度评价结果
Tab 2 Evaluation results of similarity between 8 batches of green *F. suspensa* and 6 batches of grown *F. suspensa*

编号	Q1	Q2	Q3	Q4	Q5	Q6	Q7	Q8
L1	0.580	0.597	0.564	0.607	0.594	0.570	0.710	0.656
L2	0.534	0.577	0.556	0.565	0.541	0.526	0.651	0.561
L3	0.432	0.450	0.421	0.456	0.512	0.477	0.705	0.641
L4	0.416	0.389	0.351	0.398	0.477	0.437	0.767	0.688
L5	0.472	0.494	0.463	0.495	0.544	0.518	0.745	0.640
L6	0.455	0.460	0.419	0.472	0.518	0.479	0.767	0.645

采用 SPSS 23.0 软件对上述主成分载荷值进行分析,以各自主成分载荷向量除以各自主成分特征值的算术平方根得到主成分系数,各主成分的线性模型如下:
 $Y_1 = -0.225X_1 - 0.094X_2 + 0.266X_3 + 0.169X_4 - 0.057X_5 -$

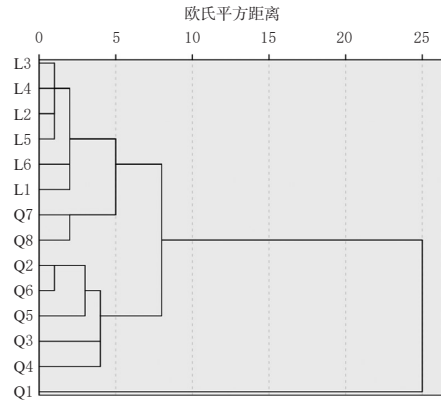


图4 8批青翘和6批老翘药材样品的聚类分析树状图
Fig 4 Cluster analysis dendrogram of 8 batches of green *F. suspensa* and 6 batches of grown *F. suspensa*

表3 8批青翘和6批老翘药材样品的主成分特征值与贡献率

Tab 3 Eigen values and contribution rate of 8 batches of green *F. suspensa* and 6 batches of grown *F. suspensa*

主成分	特征值	方差贡献率, %	累积方差贡献率, %
1	9.365	49.29	49.29
2	4.452	23.43	72.72
3	1.979	10.42	83.14
4	0.916	4.82	87.96
5	0.814	4.29	92.25
6	0.526	2.77	95.01
7	0.325	1.71	96.72
8	0.304	1.60	98.32
9	0.181	0.95	99.27
10	0.052	0.28	99.55
11	0.040	0.21	99.76
12	0.029	0.15	99.91
13	0.016	0	100

$0.025X_6 + 0.265X_7 + 0.303X_8 + 0.226X_9 - 0.191X_{10} + 0.216X_{11} + 0.217X_{12} + 0.279X_{13} + 0.313X_{14} + 0.280X_{15} + 0.282X_{16} + 0.309X_{17} - 0.252X_{18} - 0.023X_{19}$; $Y_2 = 0.300X_1 + 0.325X_2 - 0.091X_3 + 0.248X_4 + 0.428X_5 + 0.428X_6 + 0.185X_7 + 0.145X_8 - 0.061X_9 + 0.252X_{10} - 0.341X_{11} - 0.063X_{12} - 0.149X_{13} + 0.081X_{14} - 0.156X_{15} + 0.150X_{16} + 0.003X_{17} + 0.222X_{18} + 0.022X_{19}$; $Y_3 = 0.205X_1 - 0.066X_2 + 0.130X_3 + 0.144X_4 - 0.075X_5 + 0.107X_6 + 0.188X_7 - 0.012X_8 + 0.358X_9 + 0.266X_{10} + 0.107X_{11} + 0.213X_{12} + 0.203X_{13} + 0.014X_{14} - 0.184X_{15} - 0.190X_{16} - 0.065X_{17} - 0.281X_{18} - 0.643X_{19}$ 。其中, Y_1 、 Y_2 、 Y_3 分别表示第 1、2、3 个主成分得分, $X_1 \sim X_{19}$ 分别表示 19 个共有峰峰面积的标准化的数据。将 $X_1 \sim X_{19}$ 数据代入上述线性模型后,得到各批样品的主成分得分,结果见表 5。

将表 5 中的数据录入 SPSS 23.0 软件,绘制主成分得分图。结果, L1~L6 分布较近,表明 6 批老翘药材样品的质量较为接近; 8 批青翘中, Q2~Q6 分布较近, Q7~

表4 8批青翘和6批老翘药材样品中的19个共有峰主成分的载荷矩阵分析结果

Tab 4 Loading matrix analysis results of 19 common peak principal components in 8 batches of green *F. suspensa* and 6 batches of grown *F. suspensa*

共有峰	载荷值		
	主成分1	主成分2	主成分3
1	-0.689	0.634	0.288
2	0.288	0.685	-0.093
3	0.814	-0.191	0.183
4	0.517	0.524	0.202
5	0.175	0.904	-0.105
6	0.075	0.903	0.150
7	0.812	0.390	0.265
8	0.927	0.305	-0.017
9	0.691	-0.128	0.504
10	-0.584	0.531	0.374
11	0.660	-0.719	0.150
12	0.665	-0.133	0.299
13	0.854	-0.314	0.286
14	0.959	0.171	0.019
15	0.857	-0.329	-0.259
16	0.863	0.317	-0.268
17	0.946	0.007	-0.092
18	0.772	0.469	-0.396
19	0.071	0.047	-0.904

表5 8批青翘和6批老翘药材样品主成分得分结果

Tab 5 PCA score results of 8 batches of green *F. suspensa* and 6 batches of grown *F. suspensa*

编号	Y_1	Y_2	Y_3
Q1	1.881	3.300	-0.676
Q2	0.669	-1.310	1.116
Q3	1.119	-0.330	3.126
Q4	1.236	-0.419	-0.133
Q5	2.189	-2.353	0.500
Q6	1.335	-2.561	0.158
Q7	-1.489	-0.851	-2.399
Q8	0.126	-0.885	-2.314
L1	-1.275	1.452	-0.413
L2	-0.995	1.606	0.639
L3	-2.253	0.526	-0.420
L4	-2.013	-0.184	-0.542
L5	1.363	0.592	1.600
L6	-1.893	1.417	-0.241

Q8分布较近,表明对应批次青翘药材样品质量较为接近;而Q1分布较为独立,表明其与其他药材质量相差甚远。上述结果与聚类分析结果一致,详见图5。

3 讨论

由于采收连翘药材的过程中“抢青”现象严重,加之老翘资源减少,使得青翘和老翘常混用不分^[22]。尽管2020年版《中国药典》(一部)对青翘和老翘的质量控制作出了不同规定,但两者的功能与主治并未区分。经成分学分析发现,老翘有效成分的含量常低于青翘^[23],这

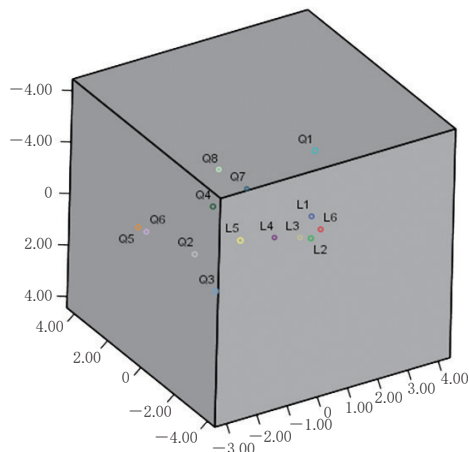


图5 8批青翘和6批老翘中前3个主成分得分图

Fig 5 The first three principal components PCA scores plot of 8 batches of green *F. suspensa* and 6 batches of grown *F. suspensa*

对于青翘和老翘的质量控制和临床用药都会造成不小的困扰。

本研究试验前期对不同流动相体系(乙腈-0.1%冰醋酸水溶液、乙腈-0.1%磷酸水溶液、乙腈-0.1%甲酸水溶液)进行考察。结果,以乙腈-0.1%甲酸水溶液为流动相进行梯度洗脱时,所得色谱峰的峰形较好,且峰数量较多,故选择乙腈-0.1%甲酸水溶液为流动相。

连翘质量评价的有效办法之一就是建立系统、全面、特征性强的指纹图谱^[24]。本研究所建指纹图谱中,青翘和老翘药材共有19个共有峰,但相似度较低,为0.351~0.767,其原因可能为各色谱峰保留时间基本一致,但峰面积相差较大,提示两者成分可能存在差异。后期可扩大样本量,采用分离、制备液相色谱结合液质联用、核磁共振技术等对其化学结构进行分析。

聚类分析结果显示,青翘和老翘药材样品可聚为4类,其中L1~L6聚为一类、Q1聚为一类、Q2~Q6聚为一类、Q7~Q8聚为一类,可能与采收时间过长致样品质量发生变化,或采集时间、地理位置差异有关^[25]。此外,Q1与其他批次样品差异较大,由青翘指纹图谱(图2)推测,可能与Q1图谱中多数色谱峰峰面积明显大于其余7批青翘药材有关。主成分分析结果显示,前3个主成分的累积方差贡献率为83.14%,即青翘和老翘全部化学成分信息的83.14%可由这3个主成分代表,其中第1主成分方差贡献率最大(为49.29%),青翘和老翘药材化学成分的相似性基本可以由其(第1主成分)包含的化学成分反映出来^[26]。主成分得分图显示,L1~L6分布较近,Q2~Q6分布较近,Q7~Q8分布较近,而Q1分布较为独立,该结果与聚类分析一致。

综上所述,青翘和老翘的指纹图谱共有峰经相似度评价、聚类分析及主成分分析均有明显差异,所建HPLC

指纹图谱可用于综合评价青翘和老翘药材的质量,可为连翘药材的质量控制及质量标准建立提供数据参考。

参考文献

- [1] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S]. 2015年版.北京:中国医药科技出版社,2015:170-171.
- [2] 李双,王东强,李志军.连翘主要有效成分的提取与药理作用[J].黑龙江中医药,2011,40(2):46-48.
- [3] 秦宇,张文丽,林媛媛,等.连翘化学成分与抗氧化活性研究[J].中国实验方剂学杂志,2013,19(10):149-152.
- [4] 魏国栋.不甘寂寞的连翘[J].全国药材信息,2014(20):11.
- [5] 孙迎娜,班书贤,王瑞明,等.青翘与老翘挥发油化学成分的比较研究[J].中国药房,2016,27(15):2087-2090.
- [6] 张颖娟.青翘与老翘主要活性成分及连翘苷与连翘酯苷A活性比较[D].太原:山西中医学院,2015.
- [7] 杨立功,郑晓珂,张艳丽,等.高效液相色谱法测定连翘中连翘苷、芦丁和槲皮素的含量[J].中国药学杂志,2011,46(22):1756-1758.
- [8] 岳晓华,史静超,薛慧清,等. HPLC测定山西安泽青翘,老翘主要成分含量[J].中国实验方剂学杂志,2013,19(7):95-97.
- [9] 吴艳芳,王新胜,陈蓉,等.连翘药材提取物体外清除自由基的作用[J].新乡医学院学报,2012,29(3):6.
- [10] 武月红.连翘不同部位提取物抑菌效果的比较分析[J].食品研究与开发,2014,35(21):44-48.
- [11] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S]. 2020年版.北京:中国医药科技出版社,2020:177-178.
- [12] 白关亚,孙迎娜,王玉娥,等.“一体二用”中药的比较研究概况及质控思考[J].中药材,2017,40(2):504-508.
- [13] 洪燕,韩燕全,夏伦祝,等.不同产地苍耳子HPLC指纹图谱研究[J].中国中药杂志,2013,38(11):1766-1771.
- [14] 闵宇航.中药柴胡、何首乌、连翘、枸杞子的质量标准提高研究[D].北京:北京中医药大学,2014.
- [15] 庄花.色谱法和光谱法结合化学计量学在某些食品和中药质量分析中的应用[D].南昌:南昌大学,2014.
- [16] 李敏,王德民,冯甜甜,等.不同产地连翘药材指纹图谱的研究[J].山东化工,2018,47(15):86-93.
- [17] 张洪峰,张学强,于丽霞,等.基于HPLC指纹图谱与聚类分析对不同产地连翘质量评价[J].江苏中医药,2018,50(4):78-80.
- [18] 周琳琳,郝敏,白雁,等.河南连翘不同极性部位的HPLC指纹图谱[J].中国实验方剂学杂志,2017,23(7):52-59.
- [19] 朱建光,郝敏,白雁,等.近红外漫反射光谱法快速鉴别不同连翘饮片[J].中国实验方剂学杂志,2016,22(8):83-86.
- [20] 刘绍勇,薛东升,潘建超,等.基于近红外光谱技术的连翘药材质量控制方法研究[J].药物分析杂志,2014,34(4):681-685.
- [21] 徐男,孙蓉,李元媛,等.基于HPLC指纹图谱、多成分定量结合化学计量学方法评价不同产地三棱药材的质量[J].中草药,2019,50(7):1682-1689.
- [22] 范圣此,张立伟.连翘产业现状的分析及其相关问题的对策研究[J].中国现代中药,2018,20(4):371-376.
- [23] 王姝君,李石飞,张立伟.连翘含量测定方法优化及青(老)翘质量控制标准建立探讨[J].中国中药杂志,2018,43(15):3157-3162.
- [24] 李强,杜思邈,张忠亮,等.中药指纹图谱技术进展及未来发展方向展望[J].中草药,2013,44(22):3095-3104.
- [25] 王琳,贺献林,张海新,等.产地、采收期及干燥方式对连翘药用成分含量的影响[J].湖南农业科学,2020(2):76-78.
- [26] 蒋永梅,黎刚,蒋奉秦,等.不同产地石上柏指纹图谱及主要双黄酮含量测定[J].中国实验方剂学杂志,2018,24(6):61-65.

(收稿日期:2020-11-28 修回日期:2021-01-19)

(编辑:陈宏)

《中国药房》杂志——中文核心期刊,欢迎投稿、订阅