

## 成分分析

## 江西特色中药茶芎的质量评价方法研究\*

王堂勋<sup>1,2</sup>, 张观生<sup>1,2</sup>, 杨建波<sup>3</sup>, 陈杨<sup>1,2</sup>, 黄玉芳<sup>1,2</sup>,  
杨广迪<sup>2,4</sup>, 夏明艳<sup>1,2</sup>, 王灿坚<sup>1,2\*\*</sup>, 张国松<sup>1,2\*\*</sup>

(1. 江西中医药大学, 南昌 330006; 2. 中药固体制剂制造技术国家工程研究中心, 南昌 330006;

3. 中国食品药品检定研究院, 北京 100050; 4. 广西中医药大学, 南宁 530200)

**摘要** 目的: 建立茶芎的薄层色谱鉴别方法、HPLC 指纹图谱以及绿原酸、咖啡酸、阿魏酸、洋川芎内酯 I、洋川芎内酯 H、阿魏酸松柏酯、洋川芎内酯 A、正丁基苯酞、新蛇床内酯、Z-藁本内酯、丁烯基苯酞、欧当归内酯 A、亚油酸 13 个化学成分含量测定方法, 为茶芎药材的质量控制提供依据。方法: 采用薄层色谱法, 以正己烷-乙酸乙酯-冰醋酸(10:5:0.5)为展开剂, 对茶芎中洋川芎内酯 I、东莨菪内酯、阿魏酸、欧当归内酯 A、Z-藁本内酯进行鉴别; 采用 Acufex PA-C<sub>18</sub>(250 mm × 4.6 mm, 5 μm) 色谱柱, 以 0.1% 磷酸水溶液-乙腈为流动相, 进行梯度洗脱, 体积流量 1 mL · min<sup>-1</sup>, 柱温 30 °C, 进样量 10 μL, 检测波长 210、285 nm, 对 54 批茶芎药材进行指纹图谱构建; 采用 SPSS 和 SIMCA 软件进行化学模式识别分析, 同时测定 13 个化学成分的含量。结果: 建立了茶芎药材中洋川芎内酯 I、东莨菪内酯、阿魏酸、欧当归内酯 A、Z-藁本内酯的薄层色谱鉴别方法; 建立了茶芎的 HPLC 指纹图谱, 标定了 21 个共有峰, 指认出 13 个共有峰, 除 S47 号药材外, 其他批次药材相似度均 > 0.9; 聚类分析后可以按照采集时间和海拔分为 4 类; OPLS-DA 筛选出峰 17(Z-藁本内酯)、峰 13(洋川芎内酯 A)、峰 12(阿魏酸松柏酯)、峰 5(阿魏酸)、峰 6、峰 16(新蛇床内酯)、峰 2(绿原酸) 7 个差异性成分; 建立了茶芎中绿原酸、咖啡酸、阿魏酸、洋川芎内酯 I、洋川芎内酯 H、阿魏酸松柏酯、洋川芎内酯 A、正丁基苯酞、新蛇床内酯、Z-藁本内酯、丁烯基苯酞、欧当归内酯 A、亚油酸的含量测定方法, 其线性、精密度、稳定性、重复性、加样回收率均良好, 上述各成分在药材中含量范围分别为 0.03 ~ 3.80、0.004 ~ 0.055、0.17 ~ 0.82、0.08 ~ 0.57、0.01 ~ 0.19、0.04 ~ 2.51、1.37 ~ 11.64、0.15 ~ 0.58、0.18 ~ 4.22、2.69 ~ 9.53、0.15 ~ 0.59、0.07 ~ 0.62、0.31 ~ 6.04 mg · g<sup>-1</sup>。结论: 建立的茶芎薄层色谱鉴别、HPLC 指纹图谱及 13 个成分的含量测定方法操作简便, 准确可靠, 可为茶芎药材质量评价提供依据。

**关键词:** 茶芎; 薄层色谱; 高效液相色谱; 指纹图谱; 聚类分析; 主成分分析; 含量测定

中图分类号: R 917

文献标识码: A

文章编号: 0254-1793(2024)10-1665-14

doi: 10.16155/j.0254-1793.2024-0030

\* 江西中医药大学创新药物研究与开发创新团队(CXTD22001); 国家自然科学基金项目(82260771, 82360324); 江西省“双千计划”创新领军人才长期(青年)项目(jxsq2023101090); 江西省中医药标准化项目(2023A20); 江西省“科技+中医药”联合计划项目

\*\* 通信作者 张国松 Tel: (0791) 87119623; E-mail: zhgs81411@aliyun.com

王灿坚 Tel: (0791) 87119623; E-mail: wangcanjianabc@163.com

第一作者 Tel: 15170008028; E-mail: 2024747358@qq.com

## Study on the quality evaluation method of the characteristic traditional Chinese medicine *Ligusticum sinense* Oliv. cv. *Chaxiong* Mss. from Jiangxi Province\*

WANG Tang-xun<sup>1,2</sup>, ZHANG Guan-sheng<sup>1,2</sup>, YANG Jian-bo<sup>3</sup>,  
CHEN Yang<sup>1,2</sup>, HUANG Yu-fang<sup>1,2</sup>, YANG Guang-di<sup>2,4</sup>,  
XIA Ming-yan<sup>1,2</sup>, WANG Can-jian<sup>1,2\*\*</sup>, ZHANG Guo-song<sup>1,2\*\*</sup>

(1. Jiangxi University of Chinese Medicine, Nanchang 330006, China; 2. National Engineering Research Center of Chinese Medicine Solid Preparation Manufacturing Technology, Nanchang 330006, China; 3. National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 100050, China; 4. Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530200, China)

**Abstract Objective:** To establish a method of thin-layer chromatographic identification, HPLC fingerprints and a method of the content determination of 13 chemical constituents (chlorogenic acid, caffeic acid, ferulic acid, senkyunolide I, senkyunolide H, coniferyl ferulate, senkyunolide A, butylphthalide, sedanolide, *Z*-ligustralactone, butenylphthalide, levistilide A, and linoleic acid) in *Ligusticum sinense* Oliv. cv. *Chaxiong* Mss. and to provide a basis for the quality control of *Ligusticum sinense* Oliv. cv. *Chaxiong* Mss. **Methods:** Thin-layer chromatography was used for the qualitative identification of senkyunolide I, scopoletin, ferulic acid, levistilide A and *Z*-ligustilide in *Ligusticum sinense* Oliv. cv. *Chaxiong* Mss. using *n*-hexane, ethyl acetate and acetic acid (10:5:0.5) as the mobile phase. The separation was carried out on an Acutfex PA-C<sub>18</sub> column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), with gradient elution of 0.1% aqueous phosphoric acid solution and acetonitrile at a flow rate of 1 mL · min<sup>-1</sup>. The column temperature was 30 °C, the injection volume was 10 μL, and the detection wavelengths were 210 nm and 285 nm. The fingerprints of 54 batches of *Ligusticum sinense* Oliv. cv. *Chaxiong* Mss. were constructed. SPSS and SIMCA software were used for the chemical pattern recognition analysis, and 13 chemical components were determined at the same time. **Results:** A thin-layer chromatographic method was established for the identification of senkyunolide I, scopoletin, ferulic acid, levistilide A and *Z*-ligustilide in *Ligusticum sinense* Oliv. cv. *Chaxiong* Mss. The HPLC fingerprints of *Ligusticum sinense* Oliv. cv. *Chaxiong* Mss. were established, 21 common peaks were found, 13 common peaks were identified, and the similarities of all batches of the herbs were above 0.9, except sample S47. The herbs could be roughly divided into four groups according to the collection time and altitude by clustering analysis. OPLS-DA screened out seven differential constituents: peak 17 (*Z*-ligustilide), peak 13 (senkyunolide A), peak 12 (coniferyl ferulate), peak 5 (ferulic acid), peak 6, peak 16 (sedanolide), and peak 2 (chlorogenic acid). A method was established for the determination of chlorogenic acid, caffeic acid, ferulic acid, senkyunolide I, senkyunolide H, coniferyl ferulate, senkyunolide A, butylphthalide, sedanolide, *Z*-ligustralactone, butenylphthalide, levistilide A and linoleic acid in *Ligusticum sinense* Oliv. cv. *Chaxiong* Mss. with good linearity, precision, stability, reproducibility, and spiked recoveries. And the content ranges of the above-mentioned compounds in the herbs were 0.03–3.80 mg · g<sup>-1</sup>, 0.004–0.055 mg · g<sup>-1</sup>, 0.17–0.82 mg · g<sup>-1</sup>, 0.08–0.57 mg · g<sup>-1</sup>, 0.01–0.19 mg · g<sup>-1</sup>, 0.04–2.51 mg · g<sup>-1</sup>, 1.37–11.64 mg · g<sup>-1</sup>, 0.15–0.58 mg · g<sup>-1</sup>, 0.18–4.22 mg · g<sup>-1</sup>, 2.69–9.53 mg · g<sup>-1</sup>, 0.15–0.59 mg · g<sup>-1</sup>, 0.07–0.62 mg · g<sup>-1</sup> and 0.31–6.04 mg · g<sup>-1</sup>, respectively. **Conclusion:** The method of thin-layer chromatography, HPLC fingerprints, and the determination method of the 13 constituents in

*Ligusticum sinense* Oliv. cv. *Chaxiong* Mss. are simple, accurate and reliable, and can provide a basis for the evaluation of the quality of *Ligusticum sinense* Oliv. cv. *Chaxiong* Mss. .

**Keywords:** *Ligusticum sinense* Oliv. cv. *Chaxiong* Mss. ; thin - layer chromatography; HPLC; fingerprints; cluster analysis; principal component analysis; content determination

茶芎来源于伞形科植物茶芎 *Ligusticum sinense* Oliv. cv. *Chaxiong* Mss. 的干燥根茎<sup>[1]</sup>,是江西省特色中药材之一,主产于江西九江地区,其味辛,性温,归肝、心经,具有活血行气、祛风止痛等功效<sup>[2]</sup>。茶芎古代名抚芎,与川芎、西芎等合称为芎,最早出现于《神农本草经》之中,当地人将其与茶叶一起泡水饮用,可治疗感冒头痛,故名茶芎<sup>[3-4]</sup>。目前从茶芎中分离得到苯酞类、有机酸类、黄酮类、香豆素类、挥发油、生物碱类等化学成分,现代药理研究表明,茶芎在中枢神经系统、心血管系统、子宫平滑肌等方面具有显著的药理作用,可用于治疗头痛、风湿痹痛、痛经、闭经、产后淤阻腹痛等疾病。有研究经过染色体核型分析发现茶芎是与川芎同源的三倍体植物<sup>[5]</sup>,临床上常与川芎混用。

茶芎现收载于《江西省中药材标准》(2014年版),其中仅对欧当归内酯 A 进行了薄层色谱鉴别,以正丁基苯酞为含量测定指标<sup>[6]</sup>,该标准对茶芎药材质量评价具有一定的局限性。指纹图谱作为一种中药质量控制模式,可以结合化学模式识别分析对药材进行有效分析,并结合薄层色谱鉴别及多种化学成分的含量测定对药材质量进行评价<sup>[7]</sup>。因此,本研究基于对茶芎质量评价的完善,收集来自江西九江地区的茶芎样品 54 批,采用薄层色谱对茶芎中洋川芎内酯 I、东莨菪内酯、阿魏酸、欧当归内酯 A、Z-藁本内酯 5 个成分进行鉴别,构建了茶芎的 HPLC 指纹图谱并建立了绿原酸、咖啡酸、阿魏酸、洋川芎内酯 I、洋川芎内酯 H、阿魏酸松柏酯、洋川芎内酯 A、正丁基苯酞、新蛇床内酯、Z-藁本内酯、丁烯基苯酞、欧当归内酯 A、亚油酸 13 个化学成分的含量测定方法,为茶芎药材的整体质量评价提供依据。

## 1 仪器与材料

### 1.1 仪器

MS 105DU 型万分之一分析天平(METTLER TOLEDO 公司);KQ-250V 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);REPROSTAR-3 薄层色谱成像仪(卡玛公司);岛津 LC-20 AT 高效液相色谱仪(岛津

公司);HC-3016R 高速冷冻离心机(安徽中科中佳科学仪器有限公司);RT-02 B 粉碎机(泓荃制药机械公司)。

### 1.2 试药

对照品绿原酸(批号 110753-202119)、阿魏酸(批号 110773-201915)、咖啡酸(批号 110885-201703)、欧当归内酯 A(批号 111826-202107)、亚油酸(批号 111622-202105)购自中国食品药品检定研究院,洋川芎内酯 I(批号 Y08501904030),阿魏酸松柏酯(批号 A00111811003)、洋川芎内酯 A(批号 RFS-Y08301903021)、正丁基苯酞(批号 RFS-Z03702108010)、新蛇床内酯(批号 X05802102001)、丁烯基苯酞(批号 RFS-D05701905006)购自成都瑞芬思生物科技有限公司,洋川芎内酯 H(批号 5846)购自上海诗丹德标准技术服务有限公司,Z-藁本内酯(批号 DST230307-007)、东莨菪内酯(批号 DST210304-064)购自成都乐美天医药科技有限公司,以上对照品质量分数均 $\geq 98\%$ ;乙腈为色谱纯,其余试剂为分析纯,水为娃哈哈矿泉水。

### 1.3 药材

54 批药材均采集或收集于江西德安、武宁、瑞昌 3 个县,经江西中医药大学钟国跃教授鉴定为茶芎 *Ligusticum sinense* Oliv. cv. *Chaxiong* Mss. 的根茎。去除泥沙和须根后烘干,样品来源信息见表 1。

## 2 方法和结果

### 2.1 薄层色谱鉴别

**2.1.1 供试品溶液的制备** 称取 S54 号茶芎药材粉末(过 4 号筛)约 1 g,加入甲醇 25 mL 超声(功率 250 W,频率 40 kHz)提取 30 min,滤过,滤液浓缩至干,残渣加入甲醇 1 mL 溶解,即得。

**2.1.2 对照品溶液及混合对照品溶液的制备** 称取洋川芎内酯 I、东莨菪内酯、阿魏酸、欧当归内酯 A、Z-藁本内酯的对照品适量,分别加甲醇制成质量浓度分别为 1、0.1、1、1、3  $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  的对照品溶液;依次吸取上述各对照品溶液 1、0.2、1、1、2 mL,混合均匀,即得混合对照品溶液。

表1 样品来源信息

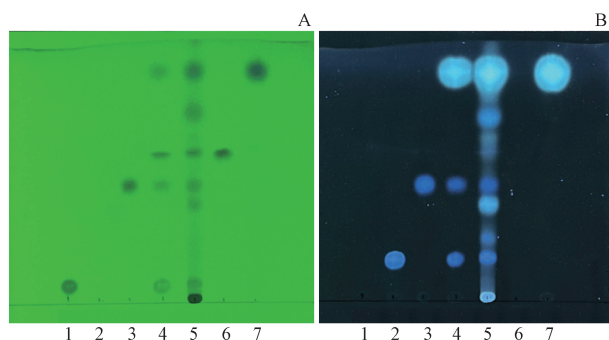
Tab. 1 Information of sample source

样品编号 (sample No.)	地点 (habitat)	时间 (time)	经度 (longitude)	纬度 (latitude)	海拔 (altitude)/m
S1	德安县邹桥乡付山村(Fushan Village,Zouqiao Township,De'an County)	2023.7	115°31'11"	29°27'38"	306.1
S2	德安县邹桥乡付山村(Fushan Village,Zouqiao Township,De'an County)	2023.7	115°31'10"	29°27'36"	301.0
S3	德安县邹桥乡付山村(Fushan Village,Zouqiao Township,De'an County)	2023.7	115°31'10"	29°27'36"	300.8
S4	德安县邹桥乡付山村(Fushan Village,Zouqiao Township,De'an County)	2023.7	115°31'8"	29°27'36"	302.3
S5	武宁县鲁溪镇夏宕村(Xiadang Village,Luxi Township,Wuning County)	2023.7	115°12'24"	29°28'18"	370.1
S6	武宁县鲁溪镇夏宕村(Xiadang Village,Luxi Township,Wuning County)	2023.7	115°12'23"	29°28'18"	369.7
S7	武宁县鲁溪镇夏宕村(Xiadang Village,Luxi Township,Wuning County)	2023.7	115°12'23"	29°28'18"	369.8
S8	武宁县鲁溪镇夏宕村(Xiadang Village,Luxi Township,Wuning County)	2023.7	115°12'24"	29°28'18"	369.5
S9	武宁县鲁溪镇夏宕村(Xiadang Village,Luxi Township,Wuning County)	2023.7	115°12'5"	29°28'28"	404.4
S10	武宁县鲁溪镇夏宕村(Xiadang Village,Luxi Township,Wuning County)	2023.7	115°12'3"	29°28'29"	406.7
S11	武宁县鲁溪镇北屏村(Beiping Village,Luxi Township,Wuning County)	2023.7	115°11'19"	29°28'47"	473.65
S12	武宁县鲁溪镇北屏村(Beiping Village,Luxi Township,Wuning County)	2023.7	115°11'16"	29°28'46"	484.7
S13	武宁县鲁溪镇北屏村(Beiping Village,Luxi Township,Wuning County)	2023.7	115°11'10"	29°28'53"	488.7
S14	武宁县鲁溪镇北屏村(Beiping Village,Luxi Township,Wuning County)	2023.7	115°11'19"	29°28'51"	487.4
S15	武宁县鲁溪镇北屏村(Beiping Village,Luxi Township,Wuning County)	2023.7	115°11'17"	29°28'48"	480.8
S16	武宁县鲁溪镇北屏村(Beiping Village,Luxi Township,Wuning County)	2023.7	115°11'21"	29°28'46"	473.2
S17	武宁县鲁溪镇北屏村(Beiping Village,Luxi Township,Wuning County)	2023.7	115°11'19"	29°28'47"	468.4
S18	武宁县鲁溪镇北屏村(Beiping Village,Luxi Township,Wuning County)	2023.7	115°11'18"	29°28'47"	481.6
S19	武宁县鲁溪镇北屏村(Beiping Village,Luxi Township,Wuning County)	2023.7	115°11'15"	29°28'46"	490.4
S20	武宁县鲁溪镇北屏村(Beiping Village,Luxi Township,Wuning County)	2023.7	115°10'45"	29°29'0"	481.4
S21	武宁县鲁溪镇北屏村(Beiping Village,Luxi Township,Wuning County)	2023.7	115°10'45"	29°29'0"	473.4
S22	武宁县鲁溪镇北屏村(Beiping Village,Luxi Township,Wuning County)	2023.7	115°10'45"	29°29'0"	462.3
S23	武宁县鲁溪镇北屏村(Beiping Village,Luxi Township,Wuning County)	2023.7	115°10'45"	29°29'0"	479.5
S24	武宁县鲁溪镇北屏村(Beiping Village,Luxi Township,Wuning County)	2023.7	115°10'45"	29°29'1"	473.2
S25	武宁县鲁溪镇北屏村(Beiping Village,Luxi Township,Wuning County)	2023.7	115°10'40"	29°29'1"	478.6
S26	武宁县鲁溪镇北屏村(Beiping Village,Luxi Township,Wuning County)	2023.7	115°10'41"	29°29'0"	473.5
S27	武宁县鲁溪镇北屏村(Beiping Village,Luxi Township,Wuning County)	2023.7	115°10'41"	29°29'0"	474.7
S28	瑞昌市乐园乡张坊村(Zhangfang Village,Leyuan Township,Ruichang City)	2023.7	115°7'35"	29°35'10"	478.0
S29	瑞昌市乐园乡张坊村(Zhangfang Village,Leyuan Township,Ruichang City)	2023.7	115°10'41"	29°30'48"	470.8
S30	瑞昌市乐园乡张坊村(Zhangfang Village,Leyuan Township,Ruichang City)	2023.7	115°10'40"	29°30'49"	470.6
S31	瑞昌市南义镇和平村(Heping Village,Nanyi Township,Ruichang City)	2023.7	115°18'26"	29°30'19"	456.3
S32	瑞昌市南义镇和平村(Heping Village,Nanyi Township,Ruichang City)	2023.7	115°18'26"	29°30'17"	471.6
S33	瑞昌市南义镇和平村(Heping Village,Nanyi Township,Ruichang City)	2023.7	115°18'34"	29°30'17"	479.6
S34	瑞昌市南义镇和平村(Heping Village,Nanyi Township,Ruichang City)	2023.7	115°18'35"	29°30'21"	485.4
S35	瑞昌市南义镇杨墩村(Yangduan Village,Nanyi Township,Ruichang City)	2023.7	115°22'9"	29°31'53"	498.1
S36	瑞昌市南义镇杨墩村(Yangduan Village,Nanyi Township,Ruichang City)	2023.7	115°22'7"	29°31'53"	501.1
S37	瑞昌市南义镇杨墩村(Yangduan Village,Nanyi Township,Ruichang City)	2023.7	115°22'10"	29°31'52"	498.4
S38	瑞昌市南义镇杨墩村(Yangduan Village,Nanyi Township,Ruichang City)	2023.7	115°22'14"	29°31'58"	493.0
S39	武宁县鲁溪镇夏宕村(Xiadang Village,Luxi Township,Wuning County)	2023.6	115°12'3"	29°28'29"	406.7
S40	武宁县鲁溪镇北屏村(Beiping Village,Luxi Township,Wuning County)	2023.6	115°11'19"	29°28'47"	473.65
S41	瑞昌市南义镇和平村(Heping Village,Nanyi Township,Ruichang City)	2023.6	115°18'26"	29°30'19"	456.3
S42	瑞昌市乐园乡张坊村(Zhangfang Village,Leyuan Township,Ruichang City)	2023.6	115°10'41"	29°30'48"	470.8

表 1(续)

样品编号 (sample No.)	地点 (habitat)	时间 (time)	经度 (longitude)	纬度 (latitude)	海拔 (altitude)/m
S43	德安县邹桥乡付山村(Fushan Village,Zouqiao Township,De'an County)	2023.6	115°31'11"	29°27'38"	306.1
S44	德安县邹桥乡付山村(Fushan Village,Zouqiao Township,De'an County)	2023.6	115°31'8"	29°27'36"	302.3
S45	武宁县鲁溪镇夏岩村(Xiadang Village,Luxi Township,Wuning County)	2023.5	115°12'3"	29°28'29"	406.7
S46	武宁县鲁溪镇北屏村(Beiping Village,Luxi Township,Wuning County)	2023.5	115°11'19"	29°28'47"	473.65
S47	瑞昌市乐园乡张坊村(Zhangfang Village,Leyuan Township,Ruichang City)	2023.5	115°10'41"	29°30'48"	470.8
S48	德安县邹桥乡付山村(Fushan Village,Zouqiao Township,De'an County)	2023.5	115°31'8"	29°27'36"	302.3
S49	武宁县鲁溪镇夏岩村(Xiadang Village,Luxi Township,Wuning County)	2022.7	-	-	-
S50	武宁县鲁溪镇北屏村(Beiping Village,Luxi Township,Wuning County)	2022.7	-	-	-
S51	德安县邹桥乡付山村(Fushan Village,Zouqiao Township,De'an County)	2022.7	-	-	-
S52	瑞昌市(Ruichang City)	2022.7	-	-	-
S53	瑞昌市和平乡(Heping Township,Ruichang City)	2021.7	-	-	-
S54	江西江中药饮片有限公司(Jiangxi Jiangzhong Prepared Slices of Chinese Crude Drugs Co.)	2022.5	-	-	-

**2.1.3 薄层色谱条件** 参照 2020 年版《中华人民共和国药典》四部 0502 薄层色谱法,分别吸取“2.1.2”项下洋川芎内酯 I、东莨菪内酯、阿魏酸、欧当归内酯 A 的对照品溶液各 1  $\mu\text{L}$ , Z-藜本内酯对照品溶液、混合对照品溶液、供试品溶液 3  $\mu\text{L}$ , 点于同一 GF<sub>254</sub> 薄层板上,以正己烷-乙酸乙酯-冰醋酸(10:5:0.5)为展开剂,饱和 10 min,展开 8~9 cm,取出,晾干,分别置于紫外光 254 nm 和 365 nm 下检视,结果如图 1 所示。样品色谱中,在与对照品色谱相对应的位置上显示相同颜色的荧光斑点。54 批药材薄层图谱见图 2。



1. 洋川芎内酯 I 对照品 (senkyunolide I reference substance) 2. 东莨菪内酯对照品 (scopoletin reference substance) 3. 阿魏酸对照品 (ferulic acid reference substance) 4. 混合对照品 (mixed reference substances) 5. 样品 (S54) (sample) 6. 欧当归内酯 A 对照品 (levistilide A reference substance) 7. Z-藜本内酯对照品 (Z-ligustilide reference substance)

A. 254 nm B. 365 nm

图 1 薄层色谱图

Fig. 1 Thin-layer chromatograms

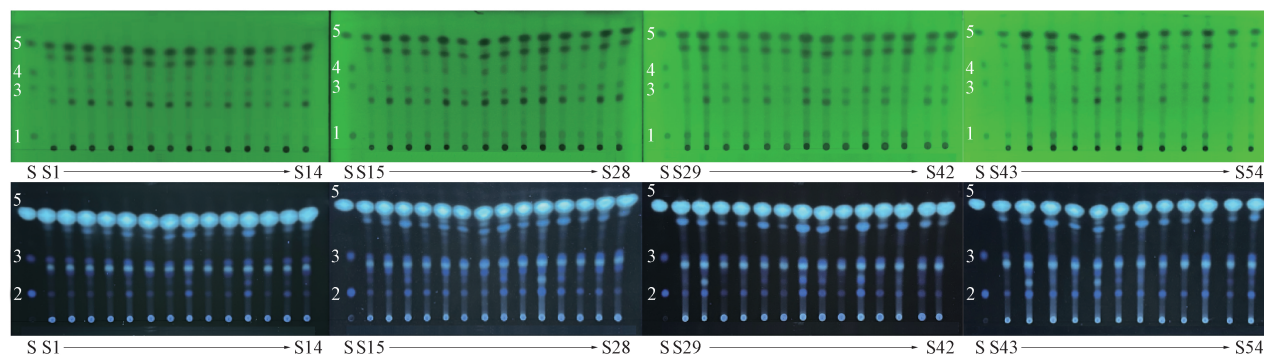
## 2.2 指纹图谱的建立

**2.2.1 供试品溶液的制备** 取 S54 号茶芎药材粉末(过 4 号筛)约 0.5 g,精密称定,加入甲醇 25 mL,称量,超声(功率 250 W,频率 40 kHz)处理 45 min,放冷后,再称量,用甲醇补足减失量,5 000  $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心 5 min,0.45  $\mu\text{m}$  微孔滤膜滤过,取续滤液,即得。

**2.2.2 混合对照品溶液的制备** 分别取绿原酸、咖啡酸、阿魏酸、洋川芎内酯 I、洋川芎内酯 H、阿魏酸松柏酯、洋川芎内酯 A、正丁基苯酞、新蛇床内酯、Z-藜本内酯、丁烯基苯酞、欧当归内酯 A、亚油酸的对照品,精密称定,置于 10 mL 量瓶中,加甲醇制成质量浓度分别含 3.15、2.13、25.80、19.03、7.04、78.38、405.83、32.69、252.75、421.12、25.69、17.27、188.42  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  的混合对照品溶液。

**2.2.3 色谱条件** 采用 Acutfex PA-C<sub>18</sub>(250 mm × 4.6 mm, 5  $\mu\text{m}$ ) 色谱柱,以 0.1% 磷酸水溶液(A)-乙腈(B)为流动相,梯度洗脱(0~35 min, 10%B→30%B; 35~40 min, 30%B→50%B; 40~65 min, 50%B; 65~70 min, 50%B→80%B; 70~80 min, 80%B→90%B; 80~81 min, 90%B→100%B; 81~90 min, 100%B),体积流量 1.0  $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$ ,柱温 30  $^{\circ}\text{C}$ ,进样量 10  $\mu\text{L}$ ,检测波长 210 nm 和 285 nm。

**2.2.4 精密度试验** 取茶芎药材(编号 S54),按照“2.2.1”项下方法制备供试品溶液,按照“2.2.3”项下色谱条件连续进样 6 次,检测,记录色谱图。各成分中 Z-藜本内酯的响应值最高,峰形及分离度良好,故以 Z-藜本内酯的保留时间和峰面积为参照,



1. 洋川芎内酯 I (senkyunolide I) 2. 东莨菪内酯 (scopoletin) 3. 阿魏酸 (ferulic acid) 4. 欧当归内酯 A (levistolide A) 5. Z-藜本内酯 (Z-ligustilide)

S. 混合对照品 (mixed reference substance) S1 ~ S54. 样品 (samples)

A. 254 nm B. 365 nm

图 2 不同批次药材薄层色谱图

Fig. 2 Thin layer chromatograms of different batches of herbs

计算各共有峰的相对保留时间及相对峰面积<sup>[8]</sup>。相对保留时间的 RSD 均 < 0.13%, 相对峰面积的 RSD 均 < 3.5%, 表明仪器精密度良好。

**2.2.5 稳定性试验** 取茶芎药材 (编号 S54), 按照“2.2.1”项下方法制备供试品溶液, 分别于溶液制备后 0、2、4、8、16、24 h, 按照“2.2.3”项下色谱条件进样检测, 记录色谱图, 以 Z-藜本内酯的保留时间和峰面积为参照, 计算各共有峰的相对保留时间及相对峰面积。相对保留时间的 RSD 均 < 0.53%, 相对峰面积的 RSD 均 < 2.7%, 表明茶芎供试品溶液稳定性良好。

**2.2.6 重复性试验** 取同一批茶芎药材 (编号 S54), 按照“2.2.1”项下方法平行制备 6 份供试品溶液, 按照“2.2.3”项下色谱条件进样检测, 记录色谱图, 以 Z-藜本内酯的保留时间和峰面积为参照, 计算各共有峰的相对保留时间及相对峰面积。相对保留时间的 RSD 均 < 0.063%, 相对峰面积的 RSD 均 < 3.8%, 表明该试验重复性良好。

**2.2.7 HPLC 指纹图谱的建立** 将 54 批次 (S1 ~ S54 号) 的茶芎药材, 按照“2.2.1”项下方法制备供试品溶液, 按照“2.2.3”项下色谱条件进样检测, 记录色谱图, 将色谱图数据 (AIA 文件) 导入《中药色谱指纹图谱相似度评价系统 (2012 版)》软件中, 分别输出各批次色谱图 (TXT 文件)<sup>[9]</sup>, 0 ~ 55 min 选择 285 nm 波长下的色谱图数据, 55 min 后选择 210 nm 波长下的色谱图数据, 将整合后的 54 批次茶芎药材色谱图数据再导入软件, 设 S54 号样品色谱图参

照图谱, 时间窗宽度 0.1 min, 采用平均数法, 经多点校正、峰匹配后得到 54 批次茶芎药材 HPLC 叠加指纹图谱及对照指纹图谱 R, 共确定了 21 个共有峰, 如图 3。通过文献查阅以及与对照品的紫外吸收光谱图和保留时间进行比对<sup>[10]</sup>, 共识别了 13 个峰, 其中 2 号峰为绿原酸, 3 号峰为咖啡酸, 5 号峰为阿魏酸, 8 号峰为洋川芎内酯 I, 9 号峰为洋川芎内酯 H, 12 号峰为阿魏酸松柏酯, 13 号峰为洋川芎内酯 A, 14 号峰为正丁基苯酞, 16 号峰为新蛇床内酯, 17 号峰为 Z-藜本内酯, 18 号峰为丁烯基苯酞, 20 号峰为欧当归内酯 A, 21 号峰为亚油酸。

**2.2.8 相似度评价** 将 54 批次茶芎药材的绝对峰面积数据导入《中药色谱指纹图谱相似度评价系统 (2012 版)》软件中, 计算各批次茶芎药材指纹图谱与所生成的对照指纹图谱 R 的相似度<sup>[11]</sup>, 54 批茶芎样品相似度在 0.872 ~ 0.999, 除 S47 外, 其他批次药材相似度均 > 0.9, 表明不同批次茶芎药材相似度较高, 质量相对稳定。

### 2.3 化学模式识别分析

**2.3.1 聚类分析** 将 S1 ~ S54 号茶芎药材的共有峰绝对峰面积导入 SPSS 27.0 数据统计软件, 以 21 个共有峰为变量, 采用组间聚类方法, 选择平方欧氏距离, 以 Z 得分标准化后进行系统聚类分析, 结果见图 4 所示。当欧式距离为 5 时, 大致可以分为 6 类, S45、S47、S48、S53 号药材为一类, S1 ~ S7、S9 号药材为一类, S36、S40 ~ S42、S44、S46、S49、S51、S54 号药材为一类, S50 号药材为一类, S52 号药材为一类,

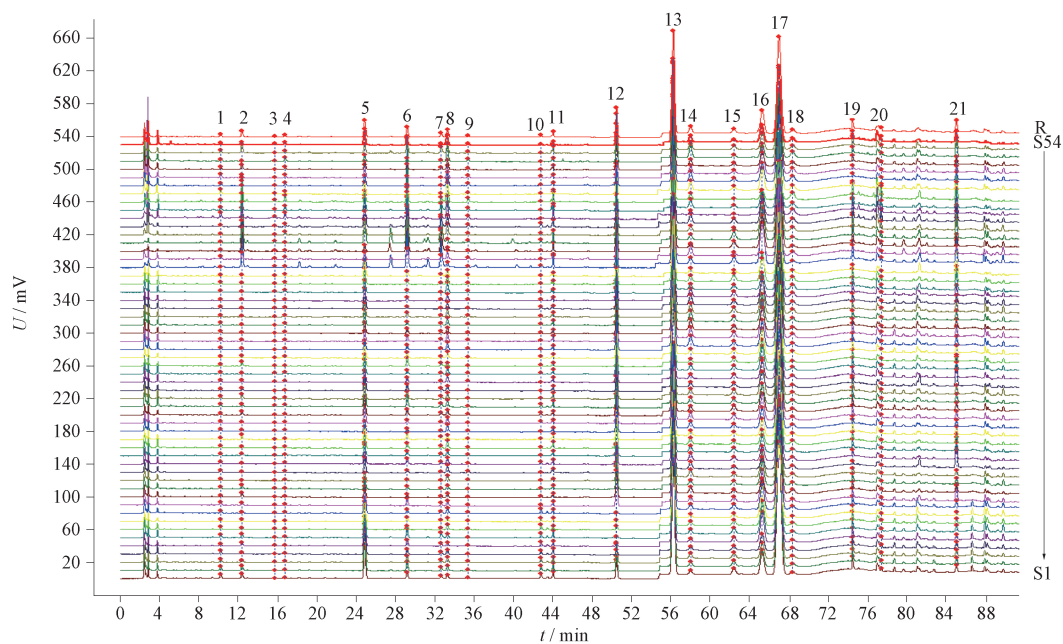


图3 54批茶芍药材的HPLC叠加指纹图谱及对照指纹图谱(R)

Fig. 3 Overlay HPLC fingerprints and reference fingerprint (R) of 54 batches of *Ligusticum sinense* Oliv. cv. *Chaxiong* Mss.

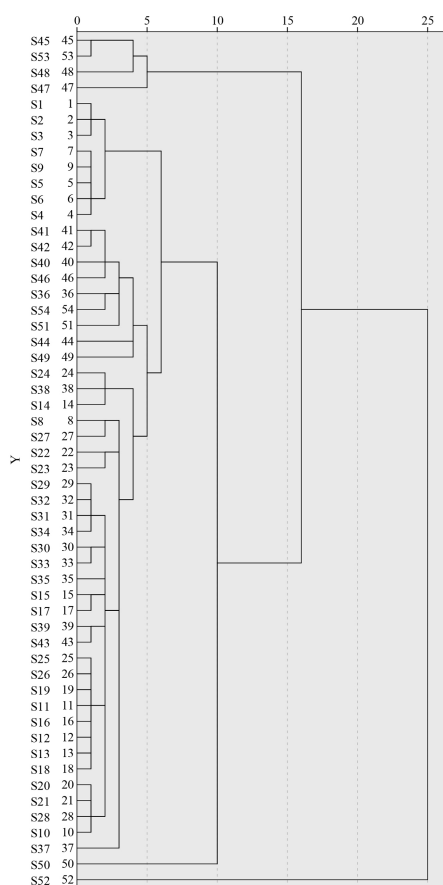


图4 54批次茶芍样品的聚类分析树状图

Fig. 4 Dendrogram of hierarchical cluster analysis for 54 batches of *Ligusticum sinense* Oliv. cv. *Chaxiong* Mss.

其他药材为一类。结合采集信息来看,茶芍药材按照采集时间和产地呈现差异性。

**2.3.2 主成分分析** 将S1~S54号茶芍药材的共有峰绝对峰面积导入SPSS 27.0数据统计软件,进行主成分分析,以特征值>1为标准,共得到4个主成分,累计方差贡献率达到82.449%,详见表2。由主成分矩阵(表3)可知各个共有峰对主成分的贡献率,峰2、6、7、11、13、15~17、19对主成分1贡献较大,峰3、4、8、9、18、20、21对主成分2贡献较大,峰1、5、10、12对主成分3贡献较大,峰14对主成分4贡献较大<sup>[12]</sup>。

**2.3.3 正交偏最小二乘法判别分析** 以S1~S54号茶芍药材中共有峰的绝对峰面积为变量,导入SIMCA统计软件,进行正交最小二乘法判别分析(OPLS-DA),建立OPLS-DA模型,见图5,该模型 $R^2X=0.922, R^2Y=0.642, Q^2=0.513$ ,均>0.5,说明该模型稳定可靠<sup>[13]</sup>。为防止该模型出现假阳性结果,对其进行200次交叉验证,结果显示 $R^2$ 截距为0.11, $Q^2$ 截距为-0.266,说明该模型可靠,未出现过拟合现象<sup>[14]</sup>,见图6。对OPLS-DA得分图进行分析,54批茶芍药材根据采集时间和海拔大致分为4类,别是低海拔(300 m)、中海拔(370~400 m)、高海拔(470 m以上)以及非当季茶芍,该结果与SPSS聚类结果较为相似。以变量重要性投影(variable importance in the projection, VIP)>1为标准,筛选出

表2 主成分特征值及方差贡献率

Tab. 2 Characteristic values and variance contribution rates of principal components

主成分 (principal component)	特征值 (eigen value)	方差贡献率 (variance contribution rate)/%	累积方差贡献率 (cumulative variance contribution rate)/%
1	7.404	35.257	35.257
2	5.707	27.176	62.433
3	2.523	12.015	74.449
4	1.68	8.001	82.449

表3 主成分矩阵

Tab. 3 Matrix of principal components

峰号 (peak No.)	主成分 (principal component)			
	1	2	3	4
15	0.892	-0.142	-0.106	0.168
7	0.819	0.476	-0.054	-0.188
19	0.806	0.245	0.209	0.069
6	0.798	0.502	-0.042	-0.19
13	0.793	-0.02	-0.189	0.427
11	0.779	0.378	0.378	0.009
16	0.767	0.144	-0.285	0.158
17	0.767	-0.196	-0.009	0.416
2	0.749	0.534	-0.038	-0.268
9	-0.246	0.907	0.177	0.143
4	-0.449	0.833	0.179	0.155
8	-0.514	0.78	0.203	0.241
20	-0.025	0.774	0.335	0.07
3	0.271	0.76	0.054	-0.172
21	-0.034	0.651	0.066	-0.436
18	-0.611	0.649	0.094	0.359
5	0.408	-0.379	0.759	0.122
12	0.342	0.278	-0.701	0.349
10	0.503	-0.341	0.695	0.221
1	-0.249	-0.271	0.548	0.339
14	-0.328	0.323	-0.343	0.605

7个差异性标志物,见图7,它们的色谱峰分别是峰17、峰13、峰12、峰5、峰6、峰16、峰2,该7个成分可能是影响茶芎质量的主要化学成分。

## 2.4 13个成分的含量测定

**2.4.1 供试品溶液的制备** 同“2.2.1”项下方法。

**2.4.2 混合对照品溶液的制备** 同“2.2.2”项下方法。

**2.4.3 色谱条件** 同“2.2.3”项。在本文色谱条件

下,混合对照品及样品的色谱图见图8。

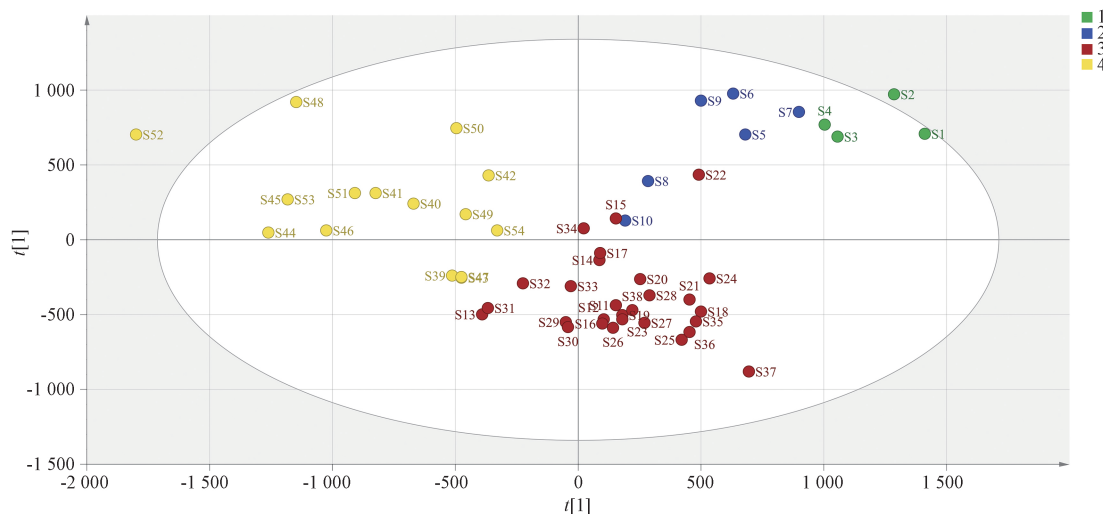
**2.4.4 线性关系考察** 精密吸取“2.4.2”项下混合对照品溶液0.4、1、2、5、10 mL,分别置于10 mL量瓶中,加甲醇稀释得到不同质量浓度的混合对照品溶液,按“2.4.3”项下色谱条件进样检测,以待测成分的质量浓度( $X$ )为横坐标,峰面积( $Y$ )为纵坐标,进行线性回归,得线性回归方程。结果表明各对照品线性关系良好, $r$ 均在0.999以上,结果见表4。

**2.4.5 精密度试验** 取“2.4.4”项下稀释5倍的混合对照品溶液,按照“2.4.3”项下色谱条件连续进样6次,记录峰面积,计算各成分峰面积的RSD。结果绿原酸、咖啡酸、阿魏酸、洋川芎内酯I、洋川芎内酯H、阿魏酸松柏酯、洋川芎内酯A、正丁基苯酞、新蛇床内酯、 $Z$ -藁本内酯、丁烯基苯酞、欧当归内酯A、亚油酸峰面积的RSD分别为1.6%、1.9%、1.1%、1.0%、1.2%、1.1%、0.85%、2.0%、0.86%、0.82%、1.6%、0.84%、1.9%,表明仪器精密度良好。

**2.4.6 稳定性试验** 取茶芎药材(编号S54),按照“2.4.1”项下方法制备供试品溶液,分别于室温下放置0、2、4、8、12、24、48 h,按照“2.4.3”项下色谱条件进样检测,记录峰面积,计算各成分峰面积的RSD。结果绿原酸、咖啡酸、阿魏酸、洋川芎内酯I、洋川芎内酯H、阿魏酸松柏酯、洋川芎内酯A、正丁基苯酞、新蛇床内酯、 $Z$ -藁本内酯、丁烯基苯酞、欧当归内酯A、亚油酸峰面积的RSD分别为3.6%、2.6%、2.5%、2.2%、2.4%、1.9%、2.0%、2.8%、1.9%、1.9%、2.7%、2.0%、3.9%,表明供试品溶液在48 h内稳定性良好。

**2.4.7 重复性试验** 取茶芎药材(编号S54),按照“2.4.1”项下方法平行制备6份供试品溶液,按照“2.4.3”项下色谱条件进样检测,记录峰面积,分别计算各成分的含量及其RSD。结果表明绿原酸、咖啡酸、阿魏酸、洋川芎内酯I、洋川芎内酯H、阿魏酸松柏酯、洋川芎内酯A、正丁基苯酞、新蛇床内酯、 $Z$ -藁本内酯、丁烯基苯酞、欧当归内酯A、亚油酸平均含量分别为0.04、0.03、0.27、0.26、0.08、0.93、4.83、0.31、1.61、4.86、0.35、0.26、2.25  $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ,RSD分别为2.9%、3.1%、3.5%、2.1%、1.6%、3.7%、1.7%、1.9%、1.7%、1.7%、2.4%、2.0%、3.2%,表明试验重复性良好。

**2.4.8 加样回收率试验** 取已知含量的茶芎药材(编号S54)粉末约0.25 g,精密称定,共6份,分别加入与样品中待测成分含有量相当的各对照品



1. 低海拔 (low altitude) 2. 中海拔 (middle altitude) 3. 高海拔 (high altitude) 4. 非当季茶苧 (out-of-season Chaxiong)

图5 茶苧 OPLS-DA 得分图

Fig. 5 OPLS-DA scores plot of *Ligusticum sinense* Oliv. cv. Chaxiong Mss.

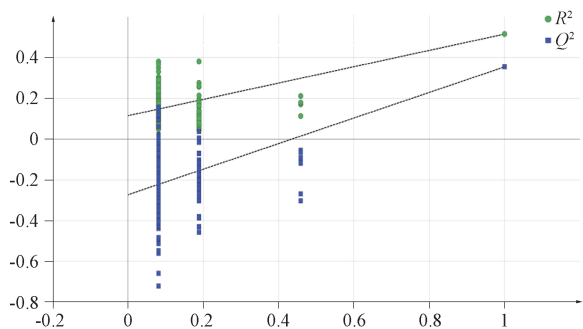


图6 茶苧药材交叉验证图

Fig. 6 Cross validation plot of *Ligusticum sinense* Oliv. cv. Chaxiong Mss.

溶液,按照“2.4.1”项下方法制备供试溶液,按照“2.4.3”项下色谱条件进样检测,记录峰面积,计算各成分的加样回收率。结果显示绿原酸、咖啡酸、阿魏酸、洋川芎内酯 I、洋川芎内酯 H、阿魏酸松柏酯、洋川芎内酯 A、正丁基苯酞、新蛇床内酯、Z-藁本内酯、丁烯基苯酞、欧当归内酯 A、亚油酸的平均回收率分别为 93.5%、93.9%、101.0%、103.5%、94.7%、96.8%、102.1%、95.1%、97.9%、94.1%、94.3%、104.0%、97.2%,其 RSD 分别为 2.4%、1.5%、2.9%、2.4%、2.3%、3.3%、2.9%、1.8%、2.9%、3.0%、2.6%、1.7%、2.6%,表明该实验方法良好。

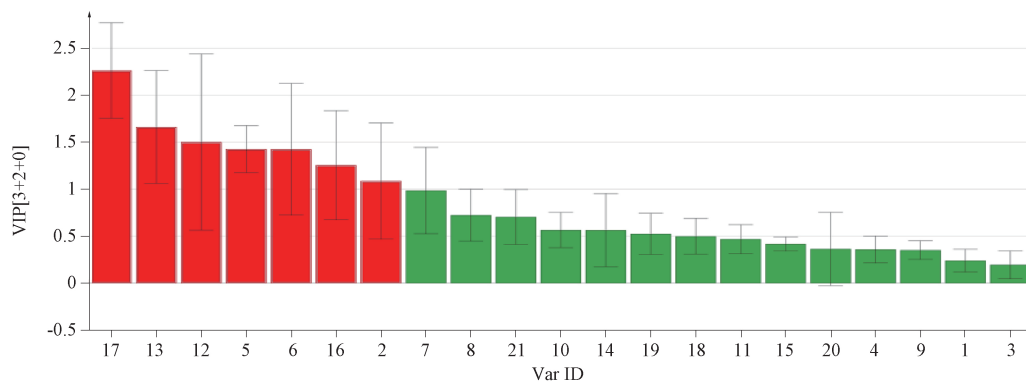


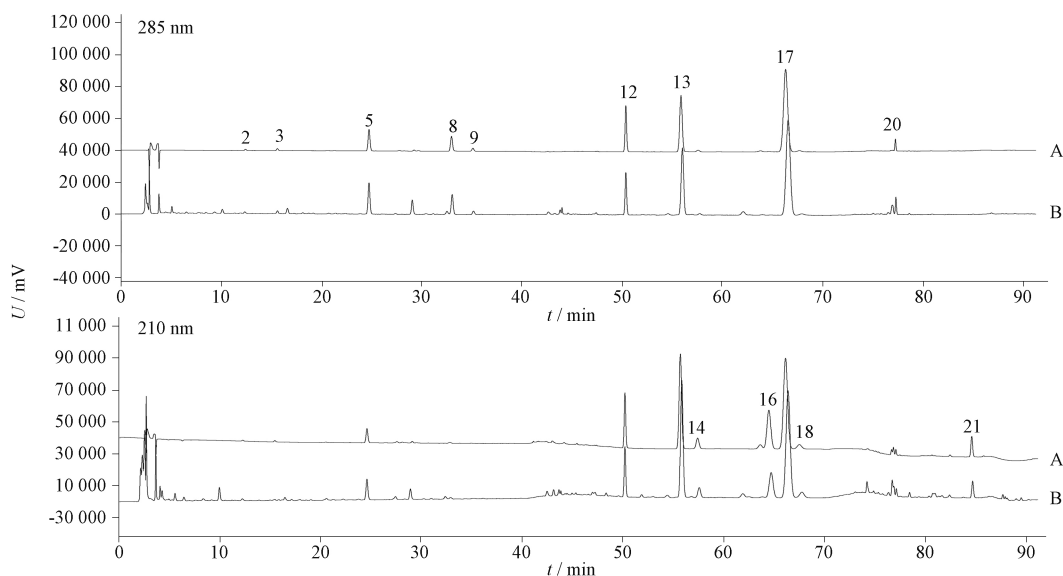
图7 茶苧药材 VIP 图

Fig. 7 VIP plot of *Ligusticum sinense* Oliv. cv. Chaxiong Mss.

## 2.5 样品测定

将 54 批次茶苧药材按照“2.4.1”项下方法制备供

试品溶液,按照“2.4.3”项下色谱条件进样检测,记录峰面积,根据线性回归方程计算各成分含量,见表 5。



1. 绿原酸(chlorogenic acid) 2. 咖啡酸(caffeic acid) 3. 阿魏酸(ferulic acid) 4. 洋川芎内酯 I(senkyunolide I) 5. 洋川芎内酯 H(senkyunolide H) 6. 阿魏酸松柏酯(coniferyl ferulate) 7. 洋川芎内酯 A(senkyunolide A) 8. 正丁基苯酞(butylphthalide) 9. 新蛇床内酯(sedanolide) 10. Z-藜本内酯(Z-ligustilide) 11. 丁烯基苯酞(butylidenephthalide) 12. 欧当归内酯 A(levistilide A) 13. 亚油酸(linoleic acid)

图 8 混合对照品(A)和样品 S54(B)的 HPLC 图

Fig. 8 HPLC chromatograms of mixed reference substances (A) and sample S54 (B)

表 4 13 个成分的线性关系

Tab. 4 Linear relationship of 13 components

成分(component)	回归方程(regression equation)	<i>r</i>	线性范围(linear range)/( $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )
绿原酸(chlorogenic acid)	$Y = 12\ 683X + 620.84$	0.999 5	0.13 ~ 3.15
咖啡酸(caffeic acid)	$Y = 35\ 086X + 245.27$	0.999 5	0.085 ~ 2.13
阿魏酸(ferulic aci)	$Y = 40\ 560X - 13\ 291$	0.999 9	1.03 ~ 25.80
洋川芎内酯 I(senkyunolide I)	$Y = 39\ 237X - 7\ 954.9$	0.999 9	0.76 ~ 19.03
洋川芎内酯 H(senkyunolide H)	$Y = 21\ 411X - 1\ 290.2$	1.000	0.28 ~ 7.04
阿魏酸松柏酯(coniferyl ferulate)	$Y = 21\ 879X - 13\ 224$	1.000	3.14 ~ 78.38
洋川芎内酯 A(senkyunolide A)	$Y = 8\ 655.9X - 31\ 619$	1.000	16.23 ~ 405.83
正丁基苯酞(butylphthalide)	$Y = 31\ 761X - 13\ 289$	0.999 9	1.31 ~ 32.69
新蛇床内酯(sedanolide)	$Y = 20\ 053X - 53\ 564$	0.999 9	10.11 ~ 252.75
Z-藜本内酯(Z-ligustilide)	$Y = 20\ 151X - 71\ 949$	1.000	16.84 ~ 421.12
丁烯基苯酞(butylidenephthalide)	$Y = 24\ 892X - 6\ 958.6$	0.999 9	1.03 ~ 25.69
欧当归内酯 A(levistilide A)	$Y = 18\ 815X - 4\ 732.9$	0.999 9	0.69 ~ 17.27
亚油酸(linoleic acid)	$Y = 4\ 951X + 17\ 350$	0.999 9	7.54 ~ 188.42

### 3 讨论

#### 3.1 薄层色谱条件的优化

为建立茶芎的薄层色谱鉴别方法,分别考察了甲醇、乙酸乙酯、乙醚、正己烷 4 种不同提取溶剂的提取效果,结果表明甲醇提取的样品斑点更加清晰。同时也考察了甲苯-冰醋酸-甲醇、石油醚-乙酸乙酯、正己烷-乙酸乙酯、正己烷-乙酸乙酯-甲

酸、正己烷-乙酸乙酯-冰醋酸等不同类型及比例的展开剂,结果表明当展开剂为正己烷-乙酸乙酯-冰醋酸(10:5:0.5)时展开效果最好。此外,也对温度(4、25℃)、湿度(18%、58%、88%)、点样量(1、2、3、4、5  $\mu\text{L}$ )等进行了考察,确定建立了茶芎中洋川芎内酯 I、东莨菪内酯、阿魏酸、欧当归内酯 A、Z-藜本内酯的薄层色谱鉴别方法。

表 5 54 批茶芎药材中 13 个成分的含量  
 Tab. 5 Contents of 13 components in 54 batches of *Ligusticum sinense Oliv. cv. Chaxiong Mss.*

编号 (No.)	含量(content)/(mg·g <sup>-1</sup> )												
	绿原酸 (chlorogenic acid)	咖啡酸 (caffeic acid)	阿魏酸 (ferulic acid)	洋川芎内酯 I (senkyun- olide I)	洋川芎内酯 H (senkyun- olide H)	阿魏酸松柏酯 (coniferyl ferulate)	洋川芎 内酯 A (senkyunolide A)	正丁基苯酞 内酯 (butylph- thalide)	新蛇床 内酯 (sedanolide)	Z-藜本内酯 (Z-ligust- tilide)	丁烯基苯酞 (butylidene- phthalide)	欧当归 内酯 A (levistilide A)	亚油酸 (linoleic acid)
S1	0.29	0.004	1.62	0.09	0.03	0.92	7.65	0.19	2.20	9.44	0.20	0.15	0.99
S2	0.29	0.009	1.29	0.11	0.04	0.47	7.26	0.20	1.64	8.81	0.23	0.14	0.85
S3	0.12	0.005	1.41	0.13	0.05	0.63	7.39	0.24	1.69	8.52	0.24	0.14	0.94
S4	0.10	0.008	0.85	0.13	0.04	0.18	5.33	0.18	1.67	7.20	0.23	0.13	0.87
S5	0.21	0.009	0.88	0.10	0.03	0.17	6.79	0.18	3.21	7.17	0.19	0.10	0.71
S6	0.23	0.014	0.80	0.10	0.03	0.08	7.03	0.20	3.18	6.97	0.19	0.09	0.86
S7	0.09	0.014	0.85	0.13	0.04	0.16	6.20	0.20	2.46	7.49	0.25	0.12	0.59
S8	0.11	0.009	0.52	0.08	0.03	0.08	5.25	0.15	3.02	4.96	0.15	0.07	0.31
S9	0.07	0.011	1.01	0.14	0.05	0.67	5.42	0.24	2.28	5.18	0.24	0.09	2.62
S10	0.14	0.009	1.82	0.14	0.05	1.50	7.70	0.24	3.12	7.21	0.23	0.11	2.31
S11	0.08	0.015	1.71	0.18	0.06	1.41	6.88	0.35	1.59	6.44	0.31	0.11	1.21
S12	0.28	0.017	1.40	0.11	0.04	1.05	6.04	0.23	2.55	6.13	0.26	0.10	0.88
S13	0.04	0.020	1.52	0.17	0.05	1.27	7.67	0.37	2.92	5.77	0.31	0.08	0.86
S14	0.04	0.005	0.52	0.20	0.07	0.14	4.23	0.35	1.26	4.62	0.28	0.07	5.10
S15	0.07	0.013	1.22	0.17	0.06	0.70	5.92	0.34	1.57	5.86	0.29	0.10	1.49
S16	0.11	0.013	1.65	0.14	0.05	1.35	6.51	0.32	1.74	6.37	0.27	0.10	1.22
S17	0.10	0.010	1.34	0.19	0.06	1.00	5.10	0.31	1.52	6.03	0.31	0.11	1.39
S18	0.35	0.019	1.31	0.10	0.04	0.95	4.17	0.25	1.75	6.59	0.26	0.13	1.33
S19	0.09	0.021	1.58	0.18	0.06	1.33	5.30	0.31	2.08	6.85	0.31	0.13	0.93
S20	0.10	0.011	1.76	0.16	0.05	1.31	8.27	0.33	2.55	7.48	0.27	0.12	1.03
S21	0.23	0.012	2.06	0.13	0.04	1.59	9.07	0.25	2.76	8.27	0.24	0.14	1.10
S22	0.15	0.025	2.01	0.17	0.05	1.55	8.67	0.27	1.89	7.89	0.27	0.15	1.16
S23	0.26	0.027	2.26	0.15	0.05	1.92	8.53	0.27	3.46	8.31	0.27	0.16	1.22
S24	0.19	0.008	1.02	0.12	0.04	0.53	5.76	0.23	1.61	6.01	0.23	0.09	4.71
S25	0.11	0.020	1.89	0.18	0.06	1.63	5.51	0.21	1.79	7.26	0.28	0.15	1.17
S26	0.08	0.020	1.91	0.16	0.05	1.60	6.94	0.25	2.23	6.65	0.25	0.12	0.85
S27	0.31	0.009	1.35	0.08	0.03	1.01	5.65	0.17	2.48	6.03	0.18	0.10	1.02



表 5(续)

编号 (No.)	含量(content)/(mg·g <sup>-1</sup> )												
	绿原酸 (chlorogenic acid)	咖啡酸 (caffeic acid)	阿魏酸 (ferulic acid)	洋川芎内酯 I (senkyun- olide I)	洋川芎内酯 H (senkyun- olide H)	阿魏酸松柏酯 (coniferyl ferulate)	洋川芎 内酯 A (senkyunolide A)	正丁基苯酚 (butylph- thalide)	新蛇床 内酯 (sedanolide)	Z-藜本内酯 (Z-ligusa- tilide)	丁烯基苯酚 (butylidene- phthalide)	欧当归 内酯 A (levistilide A)	亚油酸 (linoleic acid)
S28	0.13	0.011	1.77	0.16	0.05	1.51	6.57	0.24	2.55	7.14	0.27	0.14	1.06
S29	0.10	0.012	1.65	0.18	0.06	1.40	6.75	0.48	2.57	7.08	0.28	0.13	1.32
S30	0.13	0.013	2.03	0.20	0.07	1.76	7.63	0.48	3.58	8.38	0.33	0.15	1.53
S31	0.06	0.009	1.60	0.16	0.05	1.33	7.05	0.50	2.27	5.53	0.25	0.08	1.44
S32	0.06	0.006	1.67	0.17	0.06	1.37	6.69	0.51	2.63	6.01	0.29	0.09	1.40
S33	0.04	0.015	1.56	0.21	0.07	1.22	6.33	0.47	3.38	7.18	0.33	0.12	1.60
S34	0.05	0.011	1.34	0.17	0.05	0.86	7.33	0.49	2.78	6.54	0.30	0.09	1.22
S35	0.08	0.008	1.68	0.17	0.06	1.40	4.23	0.40	1.87	7.39	0.35	0.12	1.54
S36	0.05	0.020	1.52	0.25	0.08	1.21	4.05	0.25	1.64	7.23	0.42	0.17	3.02
S37	0.09	0.011	2.26	0.18	0.04	1.89	6.91	0.27	2.67	8.82	0.35	0.15	2.31
S38	0.07	0.010	0.74	0.16	0.06	0.35	3.61	0.23	1.58	4.52	0.29	0.08	5.55
S39	0.65	0.010	1.67	0.23	0.08	0.04	5.77	0.34	1.71	5.87	0.35	0.14	1.52
S40	0.04	0.017	1.41	0.29	0.09	0.87	8.24	0.45	2.23	6.19	0.41	0.11	0.94
S41	0.04	0.014	0.96	0.37	0.12	1.58	5.79	0.50	2.00	5.17	0.49	0.10	1.21
S42	0.03	0.013	0.98	0.29	0.10	1.61	5.57	0.35	2.59	6.02	0.44	0.11	0.85
S43	0.29	0.007	1.30	0.25	0.09	1.05	4.64	0.31	1.49	4.87	0.36	0.11	1.16
S44	0.04	0.015	1.18	0.43	0.13	2.51	5.88	0.58	1.44	4.62	0.49	0.12	2.85
S45	2.49	0.033	0.41	0.14	0.06	0.60	11.64	0.30	0.18	8.58	0.21	0.17	3.49
S46	0.41	0.023	1.05	0.22	0.08	0.95	6.43	0.47	3.23	5.03	0.36	0.10	1.29
S47	2.00	0.028	1.77	0.10	0.05	0.30	6.68	0.20	3.20	7.78	0.17	0.18	1.87
S48	3.80	0.038	2.18	0.12	0.05	1.09	10.79	0.23	4.22	9.53	0.20	0.22	3.17
S49	0.47	0.016	1.44	0.29	0.10	0.66	5.08	0.27	2.97	6.60	0.34	0.35	2.89
S50	0.40	0.015	3.01	0.31	0.10	0.76	9.29	0.45	3.11	9.28	0.43	0.44	2.51
S51	0.29	0.007	1.30	0.25	0.09	1.08	4.64	0.31	1.49	4.87	0.36	0.11	1.16
S52	0.04	0.015	1.18	0.43	0.13	1.01	5.88	0.58	1.44	4.62	0.49	0.12	2.85
S53	0.65	0.046	0.86	0.11	0.15	1.46	1.46	0.22	1.85	3.78	0.49	0.59	3.65
S54	0.05	0.038	1.36	0.27	0.08	1.07	5.13	0.32	1.76	5.25	0.34	0.26	1.59

### 3.2 指纹图谱及含量测定的建立

为建立茶芎药材的指纹图谱及 13 个成分的含量测定方法,考察了甲醇-水、乙腈-水、甲醇-0.1% 磷酸水、乙腈-0.1% 磷酸水等不同流动相体系,从出峰数量、峰分离度、基线、拖尾因子等因素判断,最终选择乙腈-0.1% 磷酸水为流动相体系;因 13 个成分在单一检测波长下不能同时出峰,根据最大吸收波长大致可分为 2 类,故选择 285 nm 和 210 nm 2 个波长同时检测;通过对洗脱梯度的优化,确定了分离度、峰形良好的梯度洗脱程序;同时考察了茶芎药材的提取溶剂(水、25% 甲醇、50% 甲醇、75% 甲醇、甲醇)、提取方式(超声提取、回流提取)、提取时间(15、30、45、60 min),以 Z-藁本内酯的含量为评价指标,确定了茶芎药材的最佳处理方式用甲醇超声提取 45 min。建立了茶芎药材的指纹图谱,共发现了 21 个共有峰,通过与对照品进行比对,共识别了 13 个峰;相似度评价结果显示除个别批次药材外,其余相似度均 > 0.9,表明不同批次茶芎药材具有高度相似性。然后建立了 13 个成分的含量测定方法。

### 3.3 化学识别模式分析及指标成分的确定

据前期实地考察得知,茶芎一般于冬至前后种植,次年小暑大暑前后采挖,通过采用 SPSS 和 SIM-CA 软件对检测结果进行分析,54 批茶芎药材根据采集时间和地点大致可以分为 4 类,分别是低海拔(300 m)、中海拔(370 ~ 400 m)、高海拔(470 m 以上)以及非当季采摘茶芎。通过 OPLS-DA 筛选出峰 17(Z-藁本内酯)、峰 13(洋川芎内酯 A)、峰 12(阿魏酸松柏酯)、峰 5(阿魏酸)、峰 6、峰 16(新蛇床内酯)、峰 2(绿原酸)这 7 个化学成分可能是影响茶芎药材质量的主要成分。文献报道苯酐类化合物是茶芎的主要化学成分,包括 Z-藁本内酯、正丁基苯酐、丁烯基苯酐、新蛇床内酯等。有研究表明<sup>[15-16]</sup>,苯酐类化合物在抗血栓、改善局部脑缺血引起的脑水肿、抗惊厥、治疗脑卒中等方面有良好疗效。此外,阿魏酸、绿原酸等有机酸类化合物在茶芎中同样有较高的含量,研究表明该类化合物是活血化瘀的主要有效成分<sup>[17]</sup>,因此本研究最终确定了以洋川芎内酯 I、东莨菪内酯、阿魏酸、欧当归内酯 A、Z-藁本内酯作为茶芎的薄层色谱鉴别的指标性成分,以绿原酸、咖啡酸、阿魏酸、洋川芎内酯 I、洋川芎内酯 H、阿魏酸松柏酯、洋川芎内酯

A、正丁基苯酐、新蛇床内酯、Z-藁本内酯、丁烯基苯酐、欧当归内酯 A、亚油酸作为茶芎药材含量测定的指标性成分。

本实验建立了茶芎中洋川芎内酯 I、东莨菪内酯、阿魏酸、欧当归内酯 A、Z-藁本内酯 5 个成分的薄层色谱鉴别方法,建立了茶芎的指纹图谱及 13 个成分的含量测定方法,方法稳定可靠,可用于茶芎药材质量评价和资源开发利用。

### 参考文献

- [1] 熊志刚,袁桂平. 江西特色中药茶芎饮片质量标准研究[J]. 江西中医药, 2013, 44(9):52  
XIONG ZG, YUAN GP. Research on the quality standard of *Ligusticum sinense* Oliv cv. *Chaxiong* decoction pieces of Jiangxi specialty Chinese medicine[J]. Jiangxi J Tradit Chin Med, 2013, 44(9):52
- [2] 钟应淮, 奉建芳, 夏明艳, 等. UPLC-MS/MS 测定茶芎苯酐类有效部位及其  $\beta$ -CD 包合物中 5 种成分的药动学研究[J]. 中国中药杂志, 2021, 46(4):972  
ZHONG YH, FENG JF, XIA MY, et al. Pharmacokinetic study on five components in phthalide target areas of *Chaxiong* and its  $\beta$ -CD inclusion compounds based on UPLC-MS/MS[J]. China J Chin Mater Med, 2021, 46(4):972
- [3] 范崔生. 江西特产中药茶芎(抚芎)的初步研究[J]. 中国药理学杂志, 1982, 17(7):8  
FAN CS. A preliminary study on the Chinese medicine *Chaxiong* (*Fuxiong*), a specialty of Jiangxi Province[J]. Chin Pharm J, 1982, 17(7):8
- [4] 罗永明. 茶芎的研究进展[J]. 江西中医学院学报, 1998, 10(2):40  
LUO YM. Research progress on *Ligusticum sinense* Oliv. cv. *Chaxiong*[J]. J Jiangxi Coll Tradit Chin Med, 1998, 10(2):40
- [5] 张纯霞. 茶芎中化学成分分离及活性研究[D]. 厦门: 厦门大学, 2020  
ZHANG CX. Study on Separation and Activity of Chemical Components in *Ligusticum sinense* Oliv cv. *Chaxiong*[D]. Xiamen: Xiamen University, 2020
- [6] 江西省食品药品监督管理局. 江西省中药材标准[S]. 2014: 220  
Jiangxi Food and Drug Administration. Chinese Medicinal Material Standards of Jiangxi Province [S]. 2014: 220
- [7] 任慧, 胡静, 崔小敏, 等. 基于指纹图谱结合化学模式识别及多酚类成分含量测定的大盘龙七质量评价[J]. 中草药, 2023, 54(19):6452  
REN H, HU J, CUI XM, et al. Quality evaluation of *Bergeniae Scopulosae* Rhizoma based on fingerprints combination with chemical pattern recognition and content determination of phenolic compounds[J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2023, 54(19):6452

- [ 8 ] 孙庆妹, 王琼晓, 尤金玲, 等. 基于 HPLC 指纹图谱和多成分定量的玄参质量评价研究[J]. 中草药, 2023, 54(20):6827  
SUN QM, WANG QX, YOU JL, *et al.* Quality evaluation of *Scrophularia ningpoensis* based on HPLC fingerprint and multi-component content determination[J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2023, 54(20):6827
- [ 9 ] 李俊, 屈晓萍, 李兆奎. 婴儿健脾散的高效液相色谱双波长指纹图谱研究[J]. 中药新药与临床药理, 2022, 33(9):1261  
LI J, QU XP, LI ZK. HPLC dual-wavelength chromatographic fingerprint analysis of Ying'er Jianpi powder[J]. Tradit Chin Drug Res Clin Pharmacol, 2022, 33(9):1261
- [ 10 ] 龚伟伟, 罗光明, 秦倩, 等. 茶芎 HPLC 指纹图谱的建立及差异性成分的含量测定[J]. 中国药房, 2022, 33(16):1968  
GONG WW, LUO GM, QIN Q, *et al.* Establishment of HPLC fingerprint and content determination of differential components in *Ligusticum sinense*[J]. China Pharm, 2022, 33(16):1968
- [ 11 ] 江洁怡, 杨敏娟, 汤瑞茵, 等. 中药蝴蝶果 UPLC 指纹图谱及含量测定[J]. 药物分析杂志, 2024, 44(2):233  
JIANG JY, YANG MJ, TANG RY, *et al.* Study on UPLC fingerprint and simultaneous determination of 5 components in Fructus Aceris Fabri[J]. Chin J Pharm Anal, 2024, 44(2):233
- [ 12 ] 贾玉倩, 王晶晶, 袁诗农, 等. 蛇床子饮片 HPLC 指纹图谱及 7 个香豆素类成分含量测定[J]. 药物分析杂志, 2022, 42(8):1371  
JIA YQ, WANG JJ, YUAN SN, *et al.* Study on HPLC fingerprint chromatogram and quantitation method of seven coumarins in Cnidii Fructus decoction pieces[J]. Chin J Pharm Anal, 2022, 42(8):1371
- [ 13 ] 张新博, 汪芸兰, 雷璇, 等. 基于指纹图谱及化学模式识别方法优选蜜枇杷叶药材产地[J]. 药物分析杂志, 2024, 44(2):340  
ZHANG XB, WANG YL, LEI X, *et al.* Fingerprinting and chemical pattern recognition methods for preferential selection of the habitat of honeyed Eriobotryae Folium[J]. Chin J Pharm Anal, 2024, 44(2):340
- [ 14 ] 李鹏辉, 龙慧玲, 蔡媛, 等. 特征图谱结合化学模式识别筛选不同产地茯苓药材差异质量标志物[J]. 中国新药杂志, 2023, 32(21):2184  
LI PH, LONG HL, CAI Y, *et al.* Screening of differential quality markers of *Poria* from different regions by characteristic fingerprints and chemical pattern recognition[J]. Chin J New Drugs, 2023, 32(21):2184
- [ 15 ] 杨建波, 魏倩, 王爱国, 等. 茶芎地上部分的化学成分研究[J]. 中药材, 2018, 41(10):2339  
YANG JB, WEI J, WANG AG, *et al.* Chemical constituents from the aerial parts of *Ligusticum sinense*[J]. J Chin Med Mater, 2018, 41(10):2339
- [ 16 ] 韩炜. 茶芎的化学成分和药理作用研究进展[J]. 中国医药导报, 2017, 14(26):45  
HAN W. Advances in the chemical constituents and pharmacological effects of *Ligusticum sinense* Oliv cv. *Chaxiong*[J]. China Med Her, 2017, 14(26):45
- [ 17 ] 罗永明, 张金海, 潘家祜, 等. 特产中药茶芎化学成分的研究[J]. 中国药学杂志, 1994, 29(12):714  
LUO YM, ZHANG JH, PAN JY, *et al.* The constituents of *Ligusticum sinense* Oliv cv. *Chaxiong*[J]. Chin Pharm J, 1994, 29(12):714

(本文于 2024 年 1 月 15 日收到)