# 款冬花不同炮制品的 HPLC 指纹图谱比较

薛非非，王勃，吕辰子，何美菁，张朔生*
（山西中医药大学 中药学院，山西 晋中 030600）

［摘要］ **目的**：采用 HPLC 指纹图谱技术，综合运用相似度评价、聚类分析（CA）及主成分分析（PCA）对款冬花炮制前后化学成分变化进行研究。**方法**：采用 HPLC-DAD 建立 10 个产地款冬花不同炮制品的指纹图谱，流动相乙腈-0.03% 三氟乙酸水溶液梯度洗脱，检测波长 240 nm；运用“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”（2004A 版）软件，CA 及 PCA 综合探索款冬花不同炮制品的质量及成分变化规律。**结果**：建立了不同炮制品的 HPLC 共有模式，款冬花生品、蜜炙品、甘草炙品指纹图谱的相似度分别为 0.867 ~ 0.991，0.785 ~ 0.979，0.785 ~ 0.980。CA 将不同炮制品均分为 4 类，与相似度评价结果基本一致，表明不同产地间款冬花炮制品具有一定的相似性和稳定性。PCA 筛选出方差累计值达 74.230% 的 2 个主成分，并得到与之相关的成分群，不同产地炮制品的综合得分情况表明该成分群在生品、蜜炙品及甘草炙品中稳定存在。**结论**：指纹图谱技术结合相似度评价，CA，PCA 能对款冬花炮制品的质量进行系统评价，可为其他中药炮制品的评价提供参考。

［关键词］ 款冬花；炮制品；相似度评价；聚类分析；主成分分析；甘草
［中图分类号］ R22；R943.1；R283；R284；O657.7 ［文献标识码］ A ［文章编号］ 1005-9903(2018)14-0007-08
［doi］ 10.13422/j.cnki.syfjx.20181405

## Comparison of HPLC Fingerprints of Different Processed Products of Farfarae Flos

XUE Fei-fei, WANG Bo, LYU Chen-zi, HE Mei-jing, ZHANG Shuo-sheng*
(*College of Traditional Chinese Medicine*, *Shanxi University of Chinese Medicine*, *Jinzhong* 030600, *China*)

［**Abstract**］ **Objective**: To study on the changes of chemical composition before and after processing of Farfarae Flos by HPLC fingerprint, similarity evaluation, cluster analysis (CA) and principal component analysis (PCA). **Method**: HPLC-DAD was employed to establish the fingerprints of different processed products of Farfarae Flos from 10 areas. The similarity evaluation, CA and PCA were used to analyze the quality and the changes in composition of different processed products of Farfarae Flos. **Result**: The common mode of HPLC characteristic chromatographic profile of different processed products was established, the similarities of raw products, honey-fried products and Glycyrrhizae Radix et Rhizoma-fried products were 0.867-0.991, 0.785-0.979, 0.785-0.980, respectively. Different processed products were divided into four categories by CA, and the results were similar with the similarity evaluation, indicating that the different processed products from different areas had a certain similarity and stability. PCA result screened 2 principle components with accumulative contribution rate of 74.230%, and obtained the related components group, at the same time, the comprehensive score of these processed products from different areas showed that the components group was stable in different processed products of Farfarae Flos. **Conclusion**: HPLC fingerprint combined with similarity evaluation, CA, PCA can systematically evaluate the quality of processed products of Farfarae Flos, which can provide reference for evaluation of processed products of other Chinese medicines.

［**Key words**］ Farfarae Flos; processed products; similarity evaluation; cluster analysis; principal component analysis; Glycyrrhizae Radix et Rhizoma

［收稿日期］ 20171127(002)
［基金项目］ 2017 年度山西省研究生教育创新项目(2017SY078)
［第一作者］ 薛非非，在读硕士，从事中药炮制现代化研究，E-mail：18234046128@163.com
［通信作者］ * 张朔生，博士生导师，教授，从事中药炮制现代研究及新产品开发，E-mail：zhangshuosheng@aliyun.com

款冬花具有润肺下气、止咳化痰的功效,临床用于治疗新久咳嗽、喘咳痰多、劳嗽咳血[1]。款冬花在我国有 6 处古文献确证的优质产区,包括山西、甘肃、河北、陕西、四川等地区,且均为野生品[2]。款冬花早在南北朝时期已有用甘草水、蜜水炮制的方法,历代古籍[3]有关款冬花的炮制方法具体有净制(去枝梗、去皮、去萼、去蒂梗),切制(揉碎)和炮炙,其中炮炙方法较为多样,主要包括蜜炙及甘草炙,2015 年版《中国药典》中收录的款冬花炮制方法仅有净制及蜜炙。

因甘草饮片具有祛痰止咳(入肺经)的功效,本实验将《历代中药炮制法汇典(古代部分)》[3]中记载的甘草炙款冬花作为款冬花的 1 个炮制品种,采用 HPLC 指纹图谱对款冬花生品、蜜炙品、甘草炙品进行分析,比较不同产地款冬花药材的差异性,评价其不同炮制品的稳定性,以阐明款冬花不同炮制品中化学成分的变化规律,确定其主要成分群,为后期进行款冬花谱效关系研究提供参考,并为款冬花炮制工艺规范化研究提供实验依据。

## 1 材料

U-3000 型高效液相色谱仪(美国 Thermo Fisher Scientific 公司),EX125ZH 型电子天平[奥豪斯仪器(常州)有限公司]。不同产地款冬花药材经山西中医药大学张朔生教授鉴定为菊科植物款冬 *Tussilago farfara* 的干燥花蕾,样品 1 ~ 10 的产地分别为新疆、安徽、甘肃、广西、河北、河南、山东、山西、陕西、浙江,生产日期分别为 2016-04, 2017-05, 2017-05, 2017-04, 2015-07, 2017-05, 2016-09, 2016-09, 2017-04, 2017-06;蜂蜜(上海冠生园蜂制品有限公司,批号 131300Y2),甘草饮片(河北安国药材市场,批号 150326,产地内蒙古,经山西中医药大学张朔生教授鉴定,符合 2015 年版《中国药典》的要求);绿原酸,隐绿原酸,异绿原酸 A,异绿原酸 B,异绿原酸 C,金丝桃苷对照品(成都曼思特生物科技有限公司,批号分别为 MUST-17030620, MUST-17022403, MUST-17030621, MUST-17021602, MUST-17021603, MUST-16102605,纯度依次为 99.39%, 99.07%, 98.82%, 99.05%, 99.84%, 99.76%);芦丁、阿魏酸、款冬酮对照品(中国食品药品检定研究院,批号分别为 100080-201610, 110773-201614, 111884-201704,纯度分别为 92.6%, 99.0%, 99.1%),水为纯化水,甲醇、乙腈为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

### 2.1 款冬花不同饮片的制备

**2.1.1** 辅料的制备[4-5] 取蜂蜜 200 mL 投于热锅内,煮沸,除去浮沫,煮至蜂蜜呈淡黄色有均匀气泡时即可出锅,加入炼蜜量一半的水稀释成蜜水,备用。取甘草饮片 20.0 g,加 10 倍量水煎煮 45 min,用纱布过滤,滤渣再加 8 倍量水继续煎煮 30 min,合并滤液,得甘草汁约 350 mL,备用。

**2.1.2** 炮制品的制备[6-7] 取不同产地原药材,除去灰尘、杂质,得款冬花生品,分别记为 S1 ~ S10,粉碎(过四号筛,下同),待用。取不同产地款冬花生品饮片 100.0 g,加蜜水 20 mL,闷润 1 h,投入烧热的锅内,于 130 ℃炒制 4 min,使款冬花表面呈黄色,略有焦斑,握之成团时出锅,晾凉,得蜜炙品,分别记为 M1 ~ M10,粉碎待用。取不同产地款冬花生品饮片 100.0 g,加甘草汁 20 mL,闷润 1 h,投入烧热的锅内,于 130 ℃炒制 4 min,使款冬花表面呈黄色,略有焦斑时出锅,晾凉,得甘草炙品,分别记为 G1 ~ G10,粉碎待用。

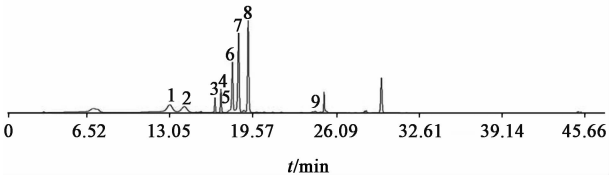
**2.2** 对照品溶液的制备 精密称取绿原酸,隐绿原酸,芦丁,金丝桃苷,阿魏酸,异绿原酸 A,异绿原酸 B,异绿原酸 C,款冬酮对照品适量,分别加甲醇定容至 5 mL,得质量浓度分别为 0.720, 0.908, 0.354, 0.486, 0.250, 0.812, 0.814, 0.662, 0.330 $g \cdot L^{-1}$的对照品溶液。精密吸取各对照品溶液 2.0 mL,得混合对照品溶液,经 0.45 μm 微孔滤膜滤过,备用。

**2.3** 供试品溶液的制备 称取 S1 ~ S10, M ~ M10 及 G ~ G10 粉末各 1.0 g,分别精密加入 95% 乙醇 20 mL,超声提取 1 h,滤过,取续滤液 5 mL 于蒸发皿中蒸干溶剂,加甲醇溶解并转移至 5 mL 量瓶中,摇匀,经 0.45 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液,即得。

**2.4** 色谱条件[8-10] Hypersil GOLD aQ $C_{18}$ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相乙腈(A)-0.03% 三氟乙酸水溶液(B)梯度洗脱(0 ~ 10 min, 7% ~ 9% A; 10 ~ 11 min, 9% ~ 21% A; 11 ~ 20 min, 21% ~ 31% A; 20 ~ 21 min, 31% ~ 70% A; 21 ~ 30 min, 70% ~ 80% A; 30 ~ 35 min, 80% ~ 85% A; 35 ~ 40 min, 85% ~ 90% A; 40 ~ 45 min, 90% ~ 7% A),流速 1 $mL \cdot min^{-1}$,柱温 35 ℃,检测波长 240 nm,进样量 10 μL。

**2.5** 数据处理 采用"中药色谱指纹图谱相似度评价系统"(2004A 版)软件及 SPSS 19.0 软件对 10 个产地款冬花不同炮制品 HPLC 的共有峰进行相似度评价、聚类分析及主成分分析。

**2.6** 样品的测定 分别按照 **2.4** 项下色谱条件对 **2.2** 项下混合对照品溶液及 **2.3** 项下各供试品溶液进行 HPLC 分析,见图 1 ~4。与对照品保留时间进行对比,指认了生品及甘草炙品中 9 个共有峰,蜜炙品中 8 个共有峰。




1. 绿原酸;2. 隐绿原酸;3. 芦丁;4. 金丝桃苷;5. 阿魏酸;6. 异绿原酸 B;7. 异绿原酸 A;8. 异绿原酸 C;9. 款冬酮

**图 1 混合对照品的 HPLC**

**Fig. 1 HPLC of mixed reference**

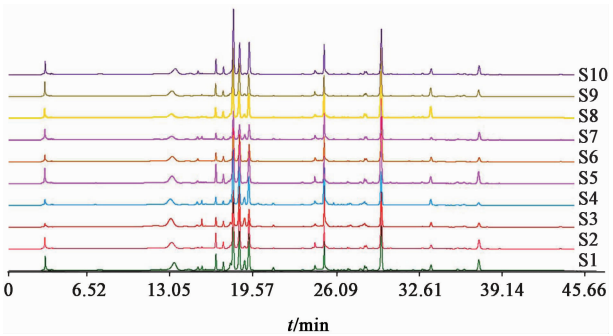



**图 2 不同产地款冬花生品的 HPLC 指纹谱**

**Fig. 2 HPLC fingerprint of raw products of Farfarae Flos from different areas**

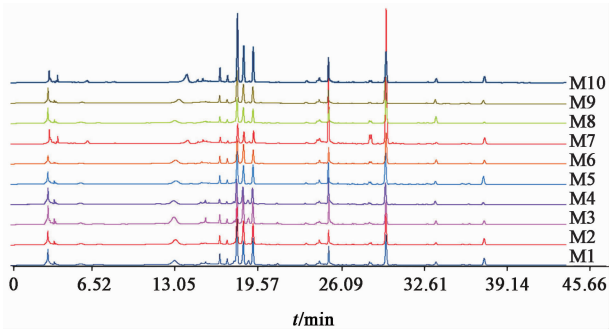



**图 3 不同产地款冬花蜜炙品的 HPLC 指纹谱**

**Fig. 3 HPLC fingerprint of honey-fried products of Farfarae Flos from different areas**

在以上图谱中,异绿原酸 A 色谱峰位置居中、峰面积较大、分离度良好且为所有样品共有,故选取其为参照峰。采用"中药色谱指纹图谱相似度评价系统"(2004A 版)软件分析 10 个产地不同炮制品的 HPLC 指纹图谱,分别以 S1,M3,G7 的图谱为参照图谱,经过多点校正、自动匹配,生成各对照图谱,见图 5。以参照峰计算得到不同样品中各共有峰的

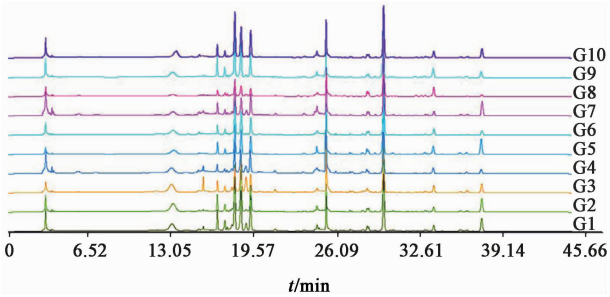
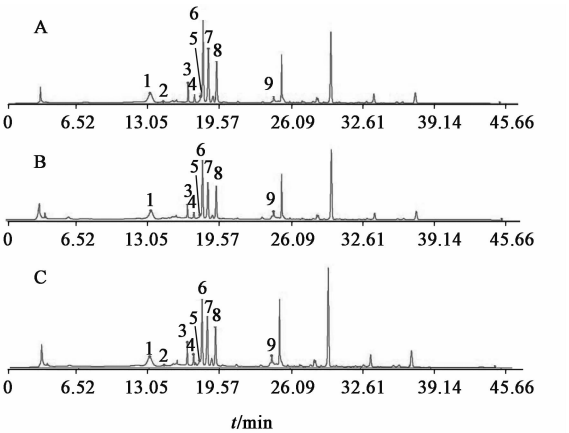



**图 4 不同产地款冬花甘草炙品的 HPLC 指纹谱**

**Fig. 4 HPLC fingerprint of Glycyrrhizae Radix et Rhizoma-fried products of Farfarae Flos from different areas**

相对保留时间及相对峰面积,见表 1 ~6。结果发现各炮制品相对保留时间的 RSD 均 <3%,而相对峰面积的 RSD 偏大,说明各炮制品的共有成分相对含量有一定差别。




A. 生品;B. 蜜炙品;C. 甘草炙品

**图 5 款冬花不同炮制品的共有模式**

**Fig. 5 Common patterns of different processed products of Farfarae Flos**

**2.7** HPLC 指纹图谱的方法学考察

**2.7.1** 精密度考察 取编号为 S1 的款冬花生品,按 **2.3** 项下色谱条件制备供试品溶液,按照 **2.4** 项下方法测定,连续进样 6 次,以参照峰的保留时间及峰面积为依据,计算各共有峰相对保留时间的 RSD 0.01% ~ 0.08%,相对峰面积的 RSD 0.2% ~ 1.9%,表明仪器精密度好。

**2.7.2** 稳定性考察 按 **2.3** 项下方法制备编号为 S1 的款冬花生品供试品溶液,分别于室温下放置 0,2,4,8,12,24 h 后照 **2.4** 项下方法测定,结果 24 h 内各共有峰相对保留时间的 RSD 0.01% ~0.6%,相对峰面积的 RSD 0.2% ~1.6%,表明在 24 h 内供试品溶液稳定。

**2.7.3** 重复性考察 按 **2.3** 项下方法平行制备编

**表 1　共有峰在款冬花生品 HPLC 指纹图谱中的相对保留时间**

**Table 1　Relative retention times of commom peaks in HPLC fingerprint of raw products of Farfarae Flos**

| 共有峰 | S1 | S2 | S3 | S4 | S5 | S6 | S7 | S8 | S9 | S10 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 0. 709 | 0. 709 | 0. 707 | 0. 705 | 0. 711 | 0. 712 | 0. 710 | 0. 709 | 0. 711 | 0. 711 |
| 2 | 0. 776 | 0. 775 | 0. 769 | 0. 767 | 0. 775 | 0. 775 | 0. 775 | 0. 772 | 0. 777 | 0. 775 |
| 3 | 0. 900 | 0. 899 | 0. 900 | 0. 900 | 0. 899 | 0. 899 | 0. 899 | 0. 900 | 0. 899 | 0. 899 |
| 4 | 0. 931 | 0. 918 | 0. 931 | 0. 932 | 0. 931 | 0. 919 | 0. 919 | 0. 931 | 0. 923 | 0. 931 |
| 5 | 0. 962 | 0. 963 | 0. 961 | 0. 961 | 0. 963 | 0. 962 | 0. 961 | 0. 962 | 0. 963 | 0. 962 |
| 6 | 0. 974 | 0. 974 | 0. 974 | 0. 974 | 0. 974 | 0. 974 | 0. 974 | 0. 974 | 0. 973 | 0. 974 |
| 7 | 1. 000 | 1. 000 | 1. 000 | 1. 000 | 1. 000 | 1. 000 | 1. 000 | 1. 000 | 1. 000 | 1. 000 |
| 8 | 1. 041 | 1. 041 | 1. 041 | 1. 041 | 1. 041 | 1. 041 | 1. 041 | 1. 041 | 1. 041 | 1. 041 |
| 9 | 1. 323 | 1. 323 | 1. 324 | 1. 325 | 1. 322 | 1. 323 | 1. 323 | 1. 324 | 1. 324 | 1. 322 |

**表 2　共有峰在款冬花生品 HPLC 指纹图谱中的相对峰面积**

**Table 2　Relative peak areas of commom peaks in HPLC fingerprint of raw products of Farfarae Flos**

| 共有峰 | S1 | S2 | S3 | S4 | S5 | S6 | S7 | S8 | S9 | S10 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 0. 685 | 0. 629 | 0. 807 | 0. 606 | 0. 680 | 0. 715 | 0. 781 | 0. 443 | 0. 540 | 0. 746 |
| 2 | 0. 079 | 0. 060 | 0. 030 | 0. 055 | 0. 081 | 0. 066 | 0. 077 | 0. 046 | 0. 046 | 0. 082 |
| 3 | 0. 264 | 0. 245 | 0. 147 | 0. 133 | 0. 286 | 0. 208 | 0. 282 | 0. 219 | 0. 240 | 0. 307 |
| 4 | 0. 160 | 0. 122 | 0. 092 | 0. 096 | 0. 158 | 0. 139 | 0. 142 | 0. 155 | 0. 111 | 0. 177 |
| 5 | 0. 061 | 0. 093 | 0. 043 | 0. 125 | 0. 085 | 0. 054 | 0. 082 | 0. 140 | 0. 084 | 0. 089 |
| 6 | 1. 642 | 1. 306 | 0. 800 | 1. 215 | 1. 488 | 1. 075 | 1. 509 | 1. 793 | 1. 287 | 1. 813 |
| 7 | 1. 000 | 1. 000 | 1. 000 | 1. 000 | 1. 000 | 1. 000 | 1. 000 | 1. 000 | 1. 000 | 1. 000 |
| 8 | 0. 885 | 0. 672 | 0. 400 | 0. 653 | 0. 786 | 0. 577 | 0. 910 | 0. 800 | 0. 628 | 0. 928 |
| 9 | 0. 104 | 0. 098 | 0. 053 | 0. 108 | 0. 111 | 0. 086 | 0. 193 | 0. 069 | 0. 092 | 0. 086 |

**表 3　共有峰在款冬花蜜炙品 HPLC 指纹图谱中的相对保留时间**

**Table 3　Relative retention times of commom peaks in HPLC fingerprint of honey-fried products of Farfarae Flos**

| 共有峰 | M1 | M2 | M3 | M4 | M5 | M6 | M7 | M8 | M9 | M10 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 0. 707 | 0. 711 | 0. 705 | 0. 705 | 0. 713 | 0. 711 | 0. 719 | 0. 708 | 0. 721 | 0. 699 |
| 3 | 0. 900 | 0. 899 | 0. 900 | 0. 900 | 0. 899 | 0. 899 | 0. 893 | 0. 900 | 0. 899 | 0. 892 |
| 4 | 0. 931 | 0. 931 | 0. 932 | 0. 932 | 0. 931 | 0. 931 | 0. 923 | 0. 914 | 0. 931 | 0. 923 |
| 5 | 0. 961 | 0. 961 | 0. 961 | 0. 961 | 0. 961 | 0. 961 | 0. 959 | 0. 962 | 0. 962 | 0. 959 |
| 6 | 0. 974 | 0. 973 | 0. 974 | 0. 974 | 0. 974 | 0. 973 | 0. 974 | 0. 974 | 0. 973 | 0. 973 |
| 7 | 1. 000 | 1. 000 | 1. 000 | 1. 000 | 1. 000 | 1. 000 | 1. 000 | 1. 000 | 1. 000 | 1. 000 |
| 8 | 1. 041 | 1. 041 | 1. 041 | 1. 041 | 1. 041 | 1. 041 | 1. 041 | 1. 041 | 1. 040 | 1. 040 |
| 9 | 1. 324 | 1. 323 | 1. 325 | 1. 326 | 1. 322 | 1. 323 | 1. 320 | 1. 324 | 1. 327 | 1. 321 |

号为 S1 的款冬花生品供试品溶液 6 份,按照 **2. 4** 项下方法测定,结果各共有峰相对保留时间的 RSD 0. 01% ~0. 6%,相对峰面积的 RSD 0. 9% ~1. 4%,表明该方法的重复性良好。

**2. 8**　款冬花不同炮制品指纹图谱的建立

**2. 8. 1**　相似度评价　10 个产地不同炮制品整体相似度评价见表 7。结果表明除产地 7,8 外,其余产地款冬花样品炮制前后及产地间均表现出了较高的相似性与稳定性。

**2. 8. 2**　聚类分析　对 10 个产地款冬花生品、蜜炙品及甘草炙品的共有峰峰面积进行系统聚类分析,见图 6 ~8。由图 6 可知,除 S7 外,可区分生品与蜜

**表 4　共有峰在款冬花蜜炙品 HPLC 指纹图谱中的相对峰面积**

**Table 4　Relative peak areas of commom peaks in HPLC fingerprint of honey-fried products of Farfarae Flos**

| 共有峰 | M1 | M2 | M3 | M4 | M5 | M6 | M7 | M8 | M9 | M10 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 0. 688 | 0. 735 | 0. 868 | 0. 708 | 0. 648 | 0. 705 | 0. 808 | 0. 548 | 0. 796 | 0. 687 |
| 3 | 0. 305 | 0. 241 | 0. 207 | 0. 201 | 0. 299 | 0. 247 | 0. 423 | 0. 264 | 0. 276 | 0. 291 |
| 4 | 0. 217 | 0. 153 | 0. 144 | 0. 143 | 0. 187 | 0. 205 | 0. 198 | 0. 215 | 0. 168 | 0. 155 |
| 5 | 0. 165 | 0. 082 | 0. 036 | 0. 048 | 0. 068 | 0. 078 | 0. 119 | 0. 114 | 0. 092 | 0. 040 |
| 6 | 1. 649 | 1. 368 | 0. 896 | 1. 244 | 1. 560 | 1. 126 | 1. 471 | 1. 340 | 1. 500 | 1. 668 |
| 7 | 1. 000 | 1. 000 | 1. 000 | 1. 000 | 1. 000 | 1. 000 | 1. 000 | 1. 000 | 1. 000 | 1. 000 |
| 8 | 0. 975 | 0. 787 | 0. 629 | 0. 794 | 0. 926 | 0. 656 | 1. 017 | 0. 774 | 0. 788 | 0. 916 |
| 9 | 0. 138 | 0. 222 | 0. 136 | 0. 192 | 0. 198 | 0. 159 | 0. 425 | 0. 146 | 0. 167 | 0. 142 |

**表 5　共有峰在款冬花甘草炙品 HPLC 指纹图谱中的相对保留时间**

**Table 5　Relative retention times of commom peaks in HPLC fingerprint of Glycyrrhizae Radix et Rhizoma-fried products of Farfarae Flos**

| 共有峰 | G1 | G2 | G3 | G4 | G5 | G6 | G7 | G8 | G9 | G10 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 0. 706 | 0. 710 | 0. 704 | 0. 705 | 0. 713 | 0. 709 | 0. 710 | 0. 710 | 0. 710 | 0. 709 |
| 2 | 0. 768 | 0. 774 | 0. 766 | 0. 767 | 0. 774 | 0. 774 | 0. 774 | 0. 775 | 0. 774 | 0. 773 |
| 3 | 0. 899 | 0. 899 | 0. 900 | 0. 900 | 0. 900 | 0. 899 | 0. 899 | 0. 900 | 0. 899 | 0. 899 |
| 4 | 0. 931 | 0. 931 | 0. 931 | 0. 919 | 0. 931 | 0. 931 | 0. 931 | 0. 926 | 0. 931 | 0. 931 |
| 5 | 0. 961 | 0. 963 | 0. 961 | 0. 961 | 0. 962 | 0. 962 | 0. 961 | 0. 961 | 0. 963 | 0. 964 |
| 6 | 0. 974 | 0. 974 | 0. 974 | 0. 974 | 0. 974 | 0. 974 | 0. 974 | 0. 974 | 0. 974 | 0. 973 |
| 7 | 1. 000 | 1. 000 | 1. 000 | 1. 000 | 1. 000 | 1. 000 | 1. 000 | 1. 000 | 1. 000 | 1. 000 |
| 8 | 1. 041 | 1. 041 | 1. 041 | 1. 041 | 1. 041 | 1. 041 | 1. 041 | 1. 041 | 1. 041 | 1. 041 |
| 9 | 1. 324 | 1. 324 | 1. 324 | 1. 325 | 1. 322 | 1. 323 | 1. 323 | 1. 325 | 1. 324 | 1. 322 |

**表 6　共有峰在款冬花甘草炙品 HPLC 指纹图谱中的相对峰面积**

**Table 6　Relative peak areas of commom peaks in HPLC fingerprint of Glycyrrhizae Radix et Rhizoma-fried products of Farfarae Flos**

| 共有峰 | G1 | G2 | G3 | G4 | G5 | G6 | G7 | G8 | G9 | G10 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 0. 655 | 0. 656 | 0. 931 | 0. 748 | 0. 536 | 0. 766 | 0. 733 | 0. 526 | 0. 476 | 0. 737 |
| 2 | 0. 068 | 0. 046 | 0. 041 | 0. 079 | 0. 053 | 0. 095 | 0. 096 | 0. 087 | 0. 049 | 0. 093 |
| 3 | 0. 334 | 0. 249 | 0. 236 | 0. 235 | 0. 300 | 0. 262 | 0. 496 | 0. 338 | 0. 363 | 0. 271 |
| 4 | 0. 233 | 0. 139 | 0. 154 | 0. 173 | 0. 148 | 0. 206 | 0. 302 | 0. 285 | 0. 219 | 0. 181 |
| 5 | 0. 035 | 0. 068 | 0. 074 | 0. 171 | 0. 048 | 0. 083 | 0. 205 | 0. 032 | 0. 089 | 0. 086 |
| 6 | 1. 433 | 0. 981 | 0. 719 | 1. 017 | 1. 049 | 1. 276 | 1. 736 | 1. 142 | 1. 250 | 1. 279 |
| 7 | 1. 000 | 1. 000 | 1. 000 | 1. 000 | 1. 000 | 1. 000 | 1. 000 | 1. 000 | 1. 000 | 1. 000 |
| 8 | 0. 833 | 0. 581 | 0. 518 | 0. 792 | 0. 655 | 0. 684 | 1. 177 | 0. 612 | 0. 646 | 0. 789 |
| 9 | 0. 099 | 0. 122 | 0. 091 | 0. 244 | 0. 235 | 0. 111 | 0. 375 | 0. 369 | 0. 133 | 0. 136 |

炙品,且均可分为 2 类。由图 7 可知,除样品 4,5,8 的生品与甘草炙品在不同类别中,其余产地生品与甘草炙品均分在同一类中,即只能区分出样品 4,5,8 的生品与甘草炙品。由图 8 可知,除 M7 外,可区分蜜炙品与甘草炙品,且均可分为 2 类。表明是否使用辅料及辅料的种类对款冬花化学成分有影响,而聚为一类的样品则说明样品之间有一定的相似性。

**2. 8. 3**　主成分分析(PCA)　对 10 个产地款冬花生品、蜜炙品及甘草炙品共有峰进行 PCA,得到主成分的特征值表及载荷矩阵表、碎石图及载荷图,见表 8,9 和图 9,10。在表 8 中以共有峰 1 为提取标准,

**表 7　款冬花不同炮制品的相似度评价**

**Table 7　Similarity evaluation of different processed products of Farfarae Flos**

| 样品 | 生品 | 蜜炙品 | 甘草炙品 |
|---|---|---|---|
| 1 | 0.958 | 0.949 | 0.973 |
| 2 | 0.978 | 0.961 | 0.936 |
| 3 | 0.867 | 0.916 | 0.924 |
| 4 | 0.945 | 0.909 | 0.902 |
| 5 | 0.972 | 0.966 | 0.944 |
| 6 | 0.991 | 0.979 | 0.905 |
| 7 | 0.953 | 0.785 | 0.814 |
| 8 | 0.965 | 0.955 | 0.785 |
| 9 | 0.984 | 0.952 | 0.966 |
| 10 | 0.973 | 0.940 | 0.980 |

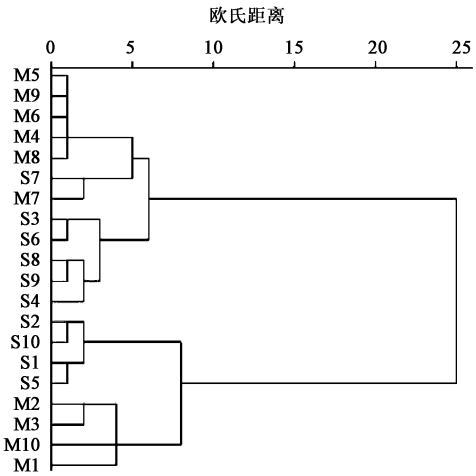



**图 6　不同产地款冬花生品-蜜炙品的聚类分析树状**

**Fig. 6　Cluster analysis dendrogram of raw and honey-fired products of Farfarae Flos in different areas**

款冬花不同炮制品前 2 个因子的特征值分别为 5.181，1.500，方差累计值 74.230%，同时在碎石图 9 中，有 1 个明显拐点，说明前 2 个因子可作为第 1，2 主成分反映款冬花不同产地炮制品的大部分信息。由表 9 可知，第 1 主成分主要代表了绿原酸，芦丁，金丝桃苷，异绿原酸 B，异绿原酸 A 和异绿原酸 C 的信息，第 2 主成分主要代表了款冬酮的信息，再次说明可以用前 2 个因子表示款冬花不同产地炮制品 HPLC 指纹图谱的大部分信息。对前 2 个主成分计算得到不同产地各炮制品的主成分得分、综合得分及排序情况，见表 10。综合得分排名前 9 的样品中，包括 S1，S2，S5，S10，M1，M2，M3，M10 及 G1，代表产地分别为新疆、安徽、甘肃、河北、浙江，与生品-蜜炙品聚类分析结果一致，表明上述 5 个产地样品

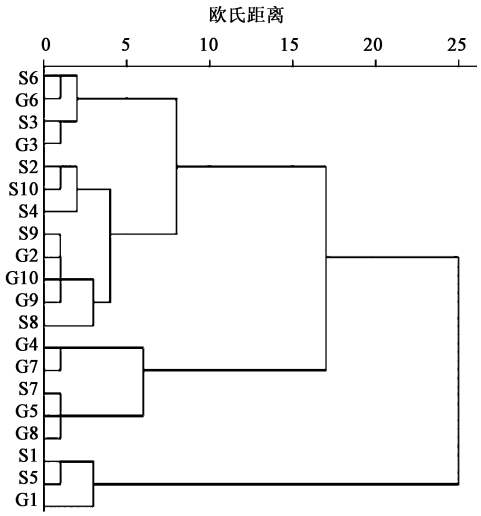



**图 7　不同产地款冬花生品-甘草炙品的聚类分析树状**

**Fig. 7　Cluster analysis dendrogram of raw and Glycyrrhizae Radix et Rhizoma-fired products of Farfarae Flos in different areas**

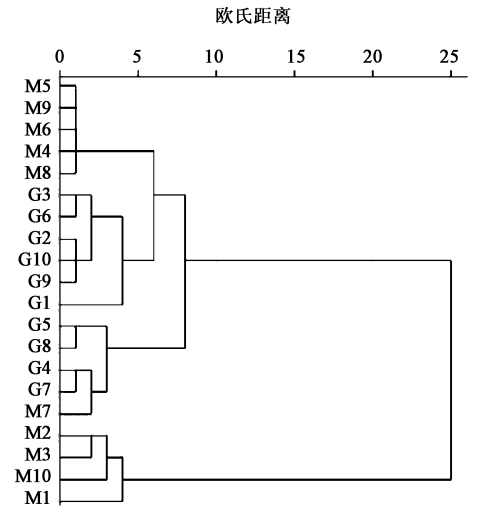



**图 8　不同产地款冬花蜜炙品-甘草炙品的聚类分析树状**

**Fig. 8　Cluster analysis dendrogram of honey-fired and Glycyrrhizae Radix et Rhizoma-fired products of Farfarae Flos in different areas**

质量好，并且经过炮制后质量稳定，与相似度评价结果相符。

## 3　讨论

参照文献[11]，流动相比较了甲醇-0.5% 乙酸、乙腈-0.1% 磷酸水溶液与乙腈-0.03% 三氟乙酸水溶液，结果发现乙腈-0.03% 三氟乙酸水溶液洗脱能得到尖锐的色谱峰，且随着流动相梯度的变化色谱峰基线较平稳。对比 220，240，254，326 nm 处的色谱峰情况，结果发现在 240 nm 处色谱峰数量最多，有较好的分离度。相似度评价中样品 7 的款冬花经蜜炙、甘草炙后与生品相似度差别较大，样品 8 的款冬花甘草炙后与生品、蜜炙品相似度差别较大，通过

**表 8　款冬花不同炮制品的 PCA 特征值**

**Table 8　PCA characteristic values of different processed products of Farfarae Flos**

| 成分 | 初始特征值 | | | 方差贡献率 | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 总计 | 方差比/% | 方差累计值/% | 总计 | 方差比/% | 方差累计值/% |
| 1 | 5.181 | 57.568 | 57.568 | 5.181 | 57.568 | 57.568 |
| 2 | 1.500 | 16.662 | 74.230 | 1.500 | 16.662 | 74.230 |
| 3 | 0.882 | 9.799 | 84.029 | | | |
| 4 | 0.622 | 6.914 | 90.943 | | | |
| 5 | 0.410 | 4.558 | 95.501 | | | |
| 6 | 0.261 | 2.895 | 98.396 | | | |
| 7 | 0.083 | 0.924 | 99.320 | | | |
| 8 | 0.051 | 0.570 | 99.800 | | | |
| 9 | 0.010 | 0.110 | 100.000 | | | |

**表 9　款冬花不同炮制品旋转后的因子载荷矩阵**

**Table 9　Rotated component matrix of different processed products of Farfarae Flos**

| 成分 | 成分 1 | 成分 2 |
|---|---|---|
| 绿原酸 | 0.788 | 0.112 |
| 隐绿原酸 | 0.156 | -0.889 |
| 芦丁 | 0.896 | 0.128 |
| 金丝桃苷 | 0.851 | 0.172 |
| 阿魏酸 | 0.485 | -0.127 |
| 异绿原酸 B | 0.936 | -0.011 |
| 异绿原酸 A | 0.904 | 0.001 |
| 异绿原酸 C | 0.955 | 0.153 |
| 款冬酮 | 0.297 | 0.830 |

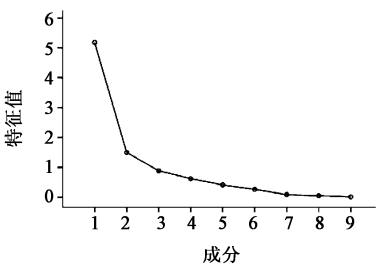
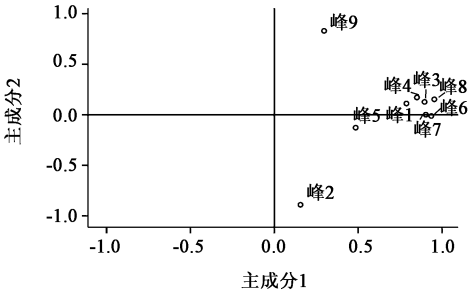



**图 9　款冬花不同炮制品的碎石分析**

**Fig. 9　Scree plot of different processed products of Farfarae Flos**

分析 M7,G7,G8 样品的共有峰数目及相应的峰面积,发现这 3 份样品共有成分峰面积均较其余样品小,其相似度偏差可能受炮制辅料及操作过程的影响。聚类分析结果按辅料类别及产地因素对样品进行了分类,与相似度评价结果较吻合,但分类结果更加精细,为评价不同炮制品的内在质量及特性提供




峰 1. 绿原酸;峰 2. 隐绿原酸;峰 3. 芦丁;峰 4. 金丝桃苷;峰 5. 阿魏酸;峰 6. 异绿原酸 B;峰 7. 异绿原酸 A;峰 8. 异绿原酸 C;峰 9. 款冬酮

**图 10　款冬花不同炮制品的载荷分析**

**Fig. 10　Loading analysis of different processed products of Farfarae Flos**

**表 10　款冬花不同炮制品的 PCA 得分**

**Table 10　PCA score of different processed products of Farfarae Flos**

| 样品 | 产地 | 主成分 1 得分 | 主成分 2 得分 | 综合得分 | 排序 |
|---|---|---|---|---|---|
| M10 | 浙江 | 4.98 | 1.95 | 4.30 | 1 |
| M1 | 新疆 | 3.71 | 0.84 | 3.07 | 2 |
| S5 | 河北 | 4.11 | -1.55 | 2.84 | 3 |
| M3 | 甘肃 | 2.49 | 1.86 | 2.35 | 4 |
| S1 | 新疆 | 3.05 | -1.45 | 2.04 | 5 |
| M2 | 安徽 | 1.38 | 2.31 | 1.59 | 6 |
| G1 | 新疆 | 2.07 | -0.87 | 1.41 | 7 |
| S2 | 安徽 | 1.73 | -1.19 | 1.07 | 8 |
| S10 | 浙江 | 1.55 | -1.62 | 0.84 | 9 |
| S4 | 广西 | 0.76 | -1.13 | 0.33 | 10 |
| M9 | 陕西 | 0.09 | 1.06 | 0.31 | 11 |
| M5 | 河北 | -0.07 | 1.44 | 0.27 | 12 |
| M6 | 河南 | -0.23 | 1.14 | 0.08 | 13 |
| G2 | 安徽 | 0.003 | -0.31 | -0.07 | 14 |
| G9 | 陕西 | -0.10 | -0.28 | -0.14 | 15 |
| S9 | 陕西 | -0.33 | -0.87 | -0.45 | 16 |
| S3 | 甘肃 | -0.33 | -0.91 | -0.46 | 17 |
| M4 | 广西 | -1.04 | 1.48 | -0.47 | 18 |
| S8 | 山西 | -0.30 | -1.30 | -0.52 | 19 |
| M8 | 山西 | -0.95 | 0.60 | -0.60 | 20 |
| G10 | 浙江 | -0.55 | -1.08 | -0.67 | 21 |
| G4 | 广西 | -1.41 | -0.05 | -1.11 | 22 |
| G3 | 甘肃 | -1.36 | -0.56 | -1.18 | 23 |
| S6 | 河南 | -1.45 | -1.11 | -1.38 | 24 |
| M7 | 山东 | -2.39 | 10.00 | -1.39 | 25 |
| G7 | 山东 | -1.90 | 0.37 | -1.39 | 26 |
| G6 | 河南 | -2.25 | -1.18 | -2.01 | 27 |
| G5 | 河北 | -2.94 | 0.44 | -2.18 | 28 |
| S7 | 山东 | -3.47 | -0.41 | -2.78 | 29 |
| G8 | 山西 | -4.84 | 0.28 | -3.69 | 30 |

注:综合得分 = 5.181/(5.181 + 1.500) × 主成分 1 得分 + 1.500/(5.181 + 1.500) × 主成分 2 得分。

了客观依据,提示蜜炙对款冬花药材整体化学成分的影响较甘草炙影响大。

PCA 得到与款冬花不同炮制品关系密切的成分为绿原酸,芦丁,金丝桃苷,异绿原酸 B,异绿原酸 A,异绿原酸 C 及款冬酮,此成分群为酚酸类、黄酮类与倍半萜类。不同产地各炮制品的综合得分表明,该成分群在款冬花生品、蜜炙品及甘草炙品中稳定存在,可以用来表征款冬花不同炮制品的质量优劣。2015 年版《中国药典》中仅将倍半萜类成分款冬酮作为款冬花质量评价的指标成分,现代药理研究中多将款冬酮作为蜜炙后止咳的关键成分[12],由于中药中各类成分的相互作用,需要采用整体分析的方法来提高结论的可靠性。近几年代谢组学技术及一测多评方法的应用为款冬花整体质量分析提供了思路[13-16],而款冬花在临床应用中多以蜜炙品为主,现有研究尚未明确款冬花炮制品的质量标准,同时针对现代研究模式中有关中药炮制前后化学成分的研究仅考虑单一成分含量变化的情况,本实验采用相似度评价、聚类分析与 PCA 相结合的方式,得到款冬花不同炮制品中的成分群,可将该成分群应用于款冬花炮制品的质量评价,为其他炮制品的质量评价提供参考。

**[参考文献]**

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2015:332-333.
[2] 刘毅,王允,万德光,等. 款冬花本草考证[J]. 中药材,2010,33(4):634-636.
[3] 王孝涛. 历代中药炮制法汇典(古代部分)[M]. 南昌:江西科学技术出版社,1998:204.
[4] 吴国瑞,鲜洁晨,林晓,等. 中药辅料炼蜜物理性状参数表征及参数间相关关系分析[J]. 中国实验方剂学杂志,2014,20(6):1-5.
[5] 史辑,景海漪,卢莹,等. 综合评分法优选辅料甘草汁的制备工艺[J]. 中国医药指南,2014,12(8):40-41.
[6] 龚千锋. 中药炮制学[M]. 北京:中国中医药出版社,2012:277.
[7] 李明晓,周臻,田素英,等. 正交试验优选甘草制款冬花的炮制减毒工艺[J]. 中国实验方剂学杂志,2016,22(18):17-20.
[8] 马致洁,董红红,李振宇,等. 不同款冬花药材中槲皮素和山柰素的定量分析及 HPLC 指纹图谱研究[J]. 中草药,2009,40(8):1305-1308.
[9] 薛水玉. 基于色谱技术的款冬植物代谢组学研究[D]. 太原:山西大学,2012.
[10] 刘玉峰,杨秀伟. 款冬花药材的 HPLC 化学成分指纹图谱研究[J]. 药学学报,2009,44(5):510-514.
[11] 曹娟,王福刚,刘克,等. 蜜炙款冬花 HPLC 指纹图谱研究[J]. 中药材,2012,35(1):33-36.
[12] 曹坤,徐溢,王昌瑞,等. 款冬花活性成分的分离纯化和质量控制研究进展[J]. 天然产物研究与开发,2014,26(4):619-625.
[13] 李红军,王增绘,李文涛,等. UPLC-Q-TOF/MS 法分析款冬花蜜炙前后的化学成分变化[J]. 中国药房,2015,26(6):792-794.
[14] 郭慧,崔扬,王秋红,等. 基于代谢组学技术的中药复方研究近况[J]. 中国实验方剂学杂志,2017,23(1):213-219.
[15] 李娟,张松,秦雪梅,等. 基于 NMR 代谢组学技术的款冬花生品与蜜炙品化学成分比较[J]. 中草药,2015,46(20):3009-3016.
[16] 凌珊,易炳学,龚千锋,等. 款冬花传统规格等级与芦丁含量的相关性分析[J]. 中国实验方剂学杂志,2013,19(16):147-150.

**[责任编辑 刘德文]**