

基于主成分分析-聚类分析法的不同商品规格白芍饮片中 5 种成分比较及质量评价研究

石延榜^{1,2}, 林秀敏^{1,2}, 王胜超¹, 张振凌^{1,2,3*}, 陈晶晶^{1,2}, 韩宁宁¹, 夏云岭¹, 王瑞生^{1,2}(1.河南中医药大学, 郑州 450046; 2.河南省中药特色炮制技术工程研究中心, 郑州 450046; 3.呼吸疾病中医药防治省部共建协同创新中心, 郑州 450046)

摘要: 目的 建立白芍中 5 种主要化学成分的 HPLC 测定方法, 综合评价不同等级白芍饮片的质量, 为白芍饮片的商品规格等级标准研究提供参考。方法 采用 HPLC, SunFire[®] C₁₈(4.6 mm×250 mm, 5 μm)色谱柱, 流动相乙腈(A)-0.05%磷酸水溶液(B)梯度洗脱。建立外标法同时测定没食子酸、芍药内酯苷、芍药苷、1,2,3,4,6-五没食子酰葡萄糖(1,2,3,4,6-penta-*O*-galloyl-β-*D*-glucose, β-PGG)和苯甲酰芍药苷 5 种成分含量; 采用主成分分析-聚类分析法的模式进行多元统计学分析。结果 一等、二等、三等、统货及鲜切饮片 5 种规格等级的样品中 5 种成分平均含量分别为没食子酸 1.000 9, 1.016 4, 0.949 6, 1.039 7, 0.974 7 mg·g⁻¹, 芍药内酯苷 5.000 6, 5.336 6, 6.124 0, 5.449 8, 9.922 2 mg·g⁻¹, 芍药苷 30.212 9, 29.478 3, 30.186 7, 29.516 6, 35.251 1 mg·g⁻¹, β-PGG 3.250 3, 2.498 1, 3.704 9, 3.736 9, 3.710 0 mg·g⁻¹ 和苯甲酰芍药苷 0.651 8, 0.754 7, 0.782 0, 0.711 3, 0.748 9 mg·g⁻¹。主成分分析结果表明, 以鲜切饮片相对较好, 其他等级饮片与饮片直径大小未体现较强的正相关性; 聚类分析结果表明, 判别距离<5 时, 分为 5 个大类, 11 批鲜切饮片单独一类, 其他等级交互成 4 类。结论 该含量测定方法重复性、仪器精密度、回收率表现良好; 以该 5 种成分的含量为指标, 基于多元统计分析评价不同等级白芍饮片质量, 为白芍饮片的商品规格等级标准研究提供参考。

关键词: 白芍; 等级规格; 主成分分析; 聚类分析; 含量测定

中图分类号: R284.1 文献标志码: B 文章编号: 1007-7693(2020)22-2708-07

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2020.22.004

引用本文: 石延榜, 林秀敏, 王胜超, 等. 基于主成分分析-聚类分析法的不同商品规格白芍饮片中 5 种成分比较及质量评价研究[J]. 中国现代应用药学, 2020, 37(22): 2708-2714.

Study on Comparison and Quality Evaluation of 5 Kinds of Components in Different Commercial Specifications Herb Pieces of *Paeoniae Radix Alba* Based on Principal Component Analysis Coupled with Cluster Analysis

SHI Yanbang^{1,2}, LIN Xiumin^{1,2}, WANG Shengchao¹, ZHANG Zhenling^{1,2,3*}, CHEN Jingjing^{1,2}, HAN Ningning¹, XIA Yunling¹, WANG Ruisheng^{1,2}(1.Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China; 2.Henan Research Center for Special Processing Technology of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China; 3.Co-construction Collaborative Innovation Center for Chinese Medicine and Respiratory Diseases by Henan & Education Ministry of P.R., Zhengzhou 450046, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish an HPLC method for determination of 5 kinds of chemical constituents in *Paeoniae Radix Alba*. Comprehensively evaluate the quality of different grades of *Radix Paeoniae Alba*, and provide a reference for the research on the commercial specification grade standard of *Radix Paeoniae Alba*. **METHODS** The HPLC were performed on a SunFire[®] C₁₈ column(4.6 mm×250 mm, 5 μm) with the gradient elution of acetonitrile(A)-0.05% phosphoric acid aqueous(B). An external standard method was established for simultaneous determination of 5 chemical components in *Radix Paeoniae Alba*, including gallic acid, albiflorin, paeoniflorin, 1,2,3,4,6-penta-*O*-galloyl-β-*D*-glucose(β-PGG) and benzoylpaeoniflorin. A principal component analysis(PCA)-cluster analysis(CA) model was used for multivariate statistical analysis. **RESULTS** The average contents of 5 components in 5 grades of *Paeoniae Radix Alba* slices samples(first-rate-quality product, second-rate-quality product, third-rate-quality product, gradeless and uniformly-priced goods and fresh cut pieces) were as follows: gallic acid(1.000 9, 1.016 4, 0.949 6, 1.039 7, 0.974 7 mg·g⁻¹), albiflorin(5.000 6, 5.336 6, 6.124 0, 5.449 8, 9.922 2 mg·g⁻¹), paeoniflorin(30.212 9, 29.478 3, 30.186 7, 29.516 6, 35.251 1 mg·g⁻¹), β-PGG(3.250 3, 2.498 1, 3.704 9, 3.736 9, 3.710 0 mg·g⁻¹) and benzoylpaeoniflorin(0.651 8, 0.754 7, 0.782 0, 0.711 3, 0.748 9 mg·g⁻¹), respectively. The results of PCA showed that the fresh cut pieces were relatively better, but the scores of other grades did not reflect the positive correlation with itself level. The

基金项目: 国家中药标准化项目(ZYBZH-Y-AH-03)

作者简介: 石延榜, 男, 高级实验师 Tel: 15638422081 E-mail: lxmmyl091675@163.com *通信作者: 张振凌, 女, 教授 Tel: 13803816758 E-mail: zhangzl6758@163.com

results of CA showed that the samples were divided into 5 categories while the judging distance was <5, and the 11 batches of fresh cut slices were clustered into a single category and other levels interact into 4 categories. **CONCLUSION** The method has good repeatability, accuracy and recovery. Using the 5 component content as indexes to evaluate the quality of different *Paeoniae Radix Alba* slices samples based on PCA-CA can provide the reference for the products of standard specifications of commodities of *Paeoniae Radix Alba*.

KEYWORDS: *Paeoniae Radix Alba*; specification and grade; principal component analysis; cluster analysis; content determination

白芍为毛茛科植物芍药 *Paeonia lactiflora* Pall. 的干燥根。其性微寒，味苦、酸，具有养血柔肝、敛阴止汗、平抑肝阳之功效；多用于血虚萎黄、月经不调、自汗、盗汗、胁痛、腹痛、四肢挛痛、头痛眩晕等症^[1]。现代研究表明，白芍含有鞣酸、单萜及其苷类等化学成分，主要有没食子酸、芍药苷、芍药内酯苷、苯甲酰芍药苷、1, 2, 3, 4, 6-五没食子酰葡萄糖(1, 2, 3, 4, 6-penta-*O*-galloyl- β -*D*-glucose, β -PGG)等成分^[2-3]，主要具有抗炎、镇痛、调节免疫、抗肿瘤、保肝、补血等作用^[4]。白芍是常用 40 种大宗药材之一，流通量大，主产于浙江杭州、安徽亳州、四川中江、山东菏泽等地，杭州产者为杭白芍，质量较优；四川产者称为川白芍；安徽产者称为亳白芍，产量最高^[5]。目前亳州药材市场的白芍饮片等级繁多，常用等级多以直径片型大小划分(6, 10, 14, 18, 20 mm)，又依据质地颜色、片径、有无硫磺熏等，分为硫磺片、无硫片、精致饮片、统片、选片等，不区分鲜切片和润切饮片，但以趁鲜切制的饮片常见。

中药饮片规格等级的划分由来已久，早于唐宋时期便有对饮片等级的区分，而且等级的划分主要以药物的来源、颜色、性味等为依据，根茎类药材通常把长度和直径作为指标评价药材及饮片品质优劣^[6-7]。目前有研究发现，白芍的等级划分与内在化学成分含量的相关性不一致，缺少适合饮片等级划分和控制各个等级饮片生产的规范标准^[8]。较多学者认为中药药效与化学成分相关，中药饮片商品规格应当与药效具有统一性，不同规格等级的价格与品质的变化应与疗效的差异相统一^[9]。由于中药成分的多样性和复杂性，多成分同时测定已成为中药质量控制的方法^[10-11]，中国药典 2015 年版一部^[1]白芍项下仅以芍药苷单成分作为质控指标，无法体现出饮片的全面性和整体性。因此本研究采用 HPLC 建立外标法同时测定白芍饮片中没食子酸、芍药内酯苷、芍药苷、 β -PGG 和苯甲酰芍药苷 5 种化学成分含量，直观分析单成分指标，对比不同等级白芍饮片中芍药苷等 5

种主要化学成分，并利用多元统计学方法，主成分分析与聚类分析结合法(principal component analysis-cluster analysis, PCA-CA)对不同规格等级的亳州白芍饮片进行质量评价，为白芍饮片的商品规格等级标准研究提供参考。

1 仪器与试剂

600 型高效液相色谱仪(美国 Waters 公司，含 2487 型紫外检测器，Empower Pro 化学工作站)。SunFire[®]C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μ m, Waters 公司); KQ-500DV 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司); UPT-II-10T 优普系列超纯水器(成都超纯科技有限公司); FW-200 万能粉碎机(北京中兴伟业仪器有限公司); CPA26P 百万分之一天平、BT25S 十万分之一天平均购自赛多利斯(北京)科学仪器有限公司。

没食子酸(批号: PS0258-0050)、芍药苷(批号: PS0220-0025)、芍药内酯苷(批号: PS010200)、苯甲酰芍药苷(批号: PS-13011802)对照品均购自成都普斯生物科技有限公司，纯度均 $\geq 98.5\%$ ； β -PGG 对照品(成都曼斯特生物科技有限公司，批号: MUST-16061211；纯度 $\geq 98.5\%$)；水为超纯水；乙腈、甲醇均为色谱纯；其他试剂为分析纯。

实验用 55 批白芍饮片均由安徽亳州市沪谯药业有限公司提供(参照亳州市场常用等级规格生产，主要依据片径大小分级)，其中 BYTH 批为鲜切饮片，其他 4 个规格均为润切饮片，见表 1，经河南中医药大学炮制学科张振凌教授鉴定为毛茛科植物芍药 *Paeonia lactiflora* Pall. 的干燥根切制的饮片。

表 1 55 批白芍饮片来源

Tab. 1 Source of 55 batches of *Paeoniae Radix Alba* sample

批号	等级规格	片径/mm	产区	批数
BNS-1~BNS-11	统货	不限制	安徽亳州	11
BI-1~BI-11	一等	14~18	安徽亳州	11
BII-1~BII-11	二等	8~14	安徽亳州	11
BIII-1~BIII-11	三等	6~12	安徽亳州	11
BYTH-1~BYTH-11	鲜切	不限制	安徽亳州	11

2 方法与结果

2.1 色谱条件

SunFire[®] C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm); 流动相为乙腈(A)-0.05%磷酸水溶液(B), 梯度洗脱(0~30 min, 8%→20% A; 30~55 min, 20%→40% A; 55~60 min, 40%→45% A; 60~65 min, 45%→8% A); 采集时间 70 min; 进样量 20 μL; 流速 1.0 mL·min⁻¹; 柱温 30 °C; 检测波长 230 nm。色谱图见图 1。

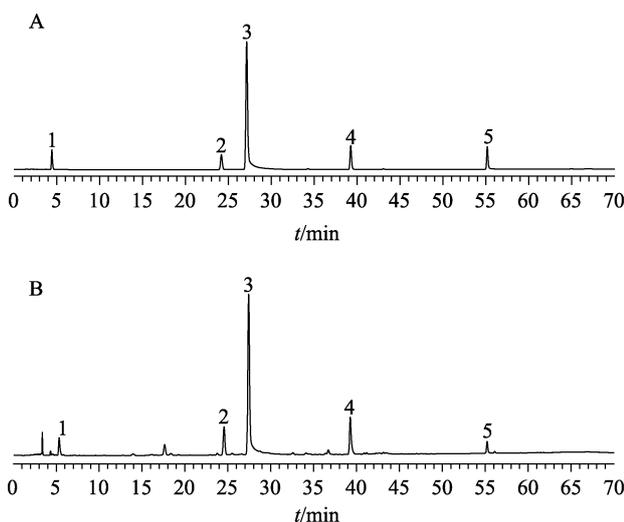


图 1 高效液相色谱图

A-对照品溶液; B-供试品溶液; 1-没食子酸; 2-芍药内酯苷; 3-芍药苷; 4-β-PGG; 5-苯甲酰芍药苷。

Fig. 1 HPLC chromatograms

A-standard solution; B-sample solution; 1-gallic acid; 2-albizflorin; 3-paeoniflorin; 4-β-PGG; 5-benzoylpaeoniflorin.

2.2 供试品溶液的制备

参照中国药典 2015 年版“白芍”项下样品处理方法^[1]。精密称定白芍粗粉 0.1 g, 置 50 mL 量瓶内, 加稀乙醇 35 mL, 超声(500 W, 50 Hz)30 min, 放冷, 加稀乙醇定容, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 过 0.22 μm 微孔滤膜, 即得。

2.3 混合对照品溶液的制备

精密称定对照品没食子酸、芍药内酯苷、β-PGG 和苯甲酰芍药苷, 各为 3.28, 6.48, 4.02, 2.70 mg, 分别置于 10 mL 量瓶中, 色谱甲醇定容, 得质量浓度分别为 0.328, 0.648, 0.402, 0.270 mg·mL⁻¹ 的对照品母液, 另精密称定芍药苷 3.86 mg, 色谱甲醇定容于 1 mL 量瓶内, 配制成浓度为 3.86 mg·mL⁻¹ 母液。分别精密量取各对照品母液 1.00 mL, 置于 10 mL 量瓶内, 色谱甲醇定容, 配制成没食子酸、芍药内酯苷、芍药苷、β-PGG 和苯甲酰芍药苷质量浓度分别为 0.032 8, 0.064 8,

0.386 0, 0.040 2, 0.027 0 mg·mL⁻¹ 的混合对照品溶液。

2.4 方法学考察

2.4.1 线性和范围 取“2.3”项下混合对照品溶液, 稀释成 7 个不同浓度, 按“2.1”项下色谱条件测定, 进样 5 μL, 各 3 次取峰面积平均值, 以进样量(μg)为横坐标, 峰面积为纵坐标, 绘制标准曲线, 见表 2。

表 2 回归方程

Tab. 2 Regression equation

化合物	回归方程	r	线性范围/μg
没食子酸	$Y=2.90 \times 10^6 X - 3.55 \times 10^3$	0.999 0	0.032 8~0.270 0
芍药内酯苷	$Y=1.11 \times 10^6 X - 7.10 \times 10^3$	0.999 8	0.064 8~0.558 0
芍药苷	$Y=1.37 \times 10^6 X - 7.57 \times 10^4$	0.999 4	0.386 2~3.717 0
β-PGG	$Y=2.95 \times 10^6 X - 1.66 \times 10^4$	0.999 1	0.040 2~0.361 7
苯甲酰芍药苷	$Y=2.65 \times 10^6 X - 3.09 \times 10^3$	0.999 8	0.027 0~0.243 2

2.4.2 仪器精密度试验 取混合对照品溶液, 按“2.1”项下色谱条件进样 5 μL, 连续测定 6 次, 计算没食子酸、芍药内酯苷、芍药苷、β-PGG 和苯甲酰芍药苷峰面积的 RSD(n=6)分别为 0.33%, 0.40%, 0.42%, 0.42%, 0.48%, 表明仪器精密度良好。

2.4.3 重复性试验 精密称取白芍饮片(批号: BIII-6)样品 6 份, 各 0.1 g, 按“2.2”项下方法制备供试品溶液, 按“2.1”项下色谱条件测定, 结果没食子酸、芍药内酯苷、芍药苷、β-PGG 和苯甲酰芍药苷的 RSD 分别为 4.20%, 1.62%, 4.61%, 3.68%, 4.64%, 表明方法重复性好。

2.4.4 稳定性试验 取同一供试品溶液(批号: BIII-6), 分别在制备后 0, 2, 4, 8, 12, 24 h 按“2.1”项下色谱条件进样分析, 结果没食子酸、芍药内酯苷、芍药苷、β-PGG 和苯甲酰芍药苷的 RSD 分别为 2.00%, 3.65%, 0.53%, 2.19%, 1.88%, 表明供试品溶液 24 h 内基本稳定。

2.4.5 加样回收试验 精密称取已知各指标成分含量的白芍样品(批号: BI-1) 6 份, 各 0.05 g。精密称定没食子酸、芍药内酯苷、芍药苷、β-PGG 和苯甲酰芍药苷, 分别为 4.40, 2.62, 14.71, 1.23, 3.41 mg, 分别置于 100 mL(没食子酸、芍药内酯苷、β-PGG 和苯甲酰内酯苷)和 10 mL(芍药苷)量瓶中, 加稀乙醇溶解定容, 使成 0.044 0, 0.262 0, 1.471 0, 0.123 0, 0.034 1 mg·mL⁻¹。取上述对照品储备液各 1 mL, 加入 6 份样品中, 按“2.2”项下方法制备供试品溶液, 按“2.1”项下色谱条件测定, 计算加样回收率。结果表明, 没食子酸、芍药内酯苷、芍药苷、β-PGG 和苯甲酰芍药苷平

均加样回收率分别为 98.37%, 100.92%, 98.73%, 99.31%, 100.49%, RSD 分别为 1.51%, 2.37%, 2.22%, 1.74%, 2.30%(n=6)。

2.5 样品含量测定与处理

取统货、一等、二等、三等和鲜切统货白芍

饮片, 每种等级各 11 批次, 共 55 批样, 按“2.2”项下方法制备供试品溶液, 按“2.1”项下色谱条件测定, 外标法计算含量, 结果见表 3。采用 Graphpad Prism 6.0 软件对 55 批样品做雨点分布图, 见图 2。

表 3 不同等级白芍饮片测定结果(n=3)

Tab. 3 Determination result of <i>Paoniae Radix Alba</i> pieces of different grades(n=3)						mg·g ⁻¹					
样品	没食子酸	芍药内酯苷	芍药苷	β-PGG	苯甲酰芍药苷	样品	没食子酸	芍药内酯苷	芍药苷	β-PGG	苯甲酰芍药苷
BNS-1	0.719 0	4.137 9	21.364 4	1.680 3	0.565 1	BII-8	1.003 3	5.577 9	29.313 6	2.418 5	0.687 4
BNS-2	1.025 0	6.477 3	28.335 7	3.908 7	0.674 7	BII-9	0.928 0	6.421 6	29.151 1	2.949 6	0.678 2
BNS-3	1.205 9	6.415 5	36.118 4	4.373 9	0.707 6	BII-10	1.421 6	4.536 6	27.724 4	2.489 2	0.873 8
BNS-4	0.988 4	5.572 8	28.509 5	3.524 3	0.665 3	BII-11	1.068 3	5.594 5	30.181 9	2.577 3	0.786 0
BNS-5	1.072 2	5.434 0	28.755 9	4.005 6	0.657 4	平均	1.016 4	5.336 6	29.478 3	2.498 1	0.754 7
BNS-6	0.913 4	4.982 6	31.350 2	3.464 6	0.636 1	BIII-1	0.606 0	4.480 2	28.532 0	1.779 7	1.103 9
BNS-7	1.049 6	5.491 6	28.935 8	3.824 7	0.736 5	BIII-2	1.052 8	6.878 4	28.904 9	3.940 2	0.689 0
BNS-8	0.984 7	4.392 0	26.174 5	4.257 2	0.777 0	BIII-3	0.882 1	6.236 1	29.985 2	3.163 1	0.841 2
BNS-9	1.116 8	6.377 6	35.528 4	2.913 0	0.758 6	BIII-4	1.084 2	6.411 2	29.503 0	3.824 1	0.700 4
BNS-10	1.274 2	4.952 6	29.225 1	5.378 5	0.879 4	BIII-5	1.175 3	7.224 1	31.414 0	4.672 2	0.743 6
BNS-11	1.086 9	5.713 4	30.384 7	3.774 7	0.766 4	BIII-6	0.887 4	6.038 6	30.127 3	2.997 9	0.837 5
平均	1.039 7	5.449 8	29.516 6	3.736 9	0.711 3	BIII-7	0.863 8	5.262 9	30.450 5	3.314 1	0.784 3
BI-1	0.799 1	5.234 2	28.993 9	2.345 1	0.562 9	BIII-8	0.960 6	5.733 1	29.286 0	3.312 6	0.672 3
BI-2	1.052 1	6.070 3	31.673 0	3.915 8	0.625 7	BIII-9	0.903 4	6.259 0	34.441 3	5.736 8	0.753 7
BI-3	1.267 5	5.121 8	30.828 0	4.068 9	0.739 2	BIII-10	1.046 4	6.569 0	29.185 1	3.894 5	0.696 9
BI-4	1.136 8	6.243 2	30.983 5	4.118 5	0.638 0	BIII-11	0.983 4	6.271 5	30.224 2	4.118 3	0.779 4
BI-5	0.810 0	4.255 6	28.992 0	2.454 5	0.653 6	平均	0.949 6	6.124 0	30.186 7	3.704 9	0.782 0
BI-6	1.118 2	5.752 8	31.460 6	3.752 6	0.680 5	BYTH-1	1.008 1	9.492 7	36.393 8	3.765 7	0.730 7
BI-7	0.836 1	4.062 5	28.082 8	2.081 0	0.623 3	BYTH-2	0.969 5	11.194 4	33.613 1	4.008 3	0.751 5
BI-8	1.438 8	5.561 4	31.076 0	5.040 8	0.844 6	BYTH-3	1.002 4	10.118 1	36.545 9	3.753 3	0.855 7
BI-9	0.727 8	3.850 2	30.541 2	2.673 4	0.544 2	BYTH-4	1.015 8	9.466 1	34.905 0	3.949 3	0.645 4
BI-10	0.833 0	3.978 2	28.469 2	1.926 6	0.582 5	BYTH-5	0.995 9	11.373 2	35.094 6	4.100 5	0.801 5
BI-11	0.939 9	4.427 4	29.430 7	2.912 7	0.606 5	BYTH-6	0.918 7	11.357 1	34.915 8	4.444 7	0.790 5
平均	1.000 9	5.000 6	30.212 9	3.250 3	0.651 8	BYTH-7	0.977 0	9.619 3	35.658 7	3.562 8	0.791 7
BII-1	0.890 9	4.845 7	24.570 4	3.113 3	0.612 8	BYTH-8	0.870 4	8.595 7	33.708 6	2.992 8	0.701 4
BII-2	0.996 2	5.961 5	32.899 1	1.951 3	0.709 0	BYTH-9	0.996 2	8.365 8	35.123 7	2.909 6	0.729 3
BII-3	0.871 1	5.935 3	33.490 6	2.164 4	0.723 8	BYTH-10	0.908 1	9.375 8	36.150 2	3.351 6	0.674 7
BII-4	1.135 9	4.308 5	27.129 6	2.924 3	0.823 1	BYTH-11	1.059 6	10.185 5	35.652 7	3.971 3	0.765 6
BII-5	0.613 4	3.769 1	27.079 9	1.658 2	0.932 9	平均	0.974 7	9.922 2	35.251 1	3.710 0	0.748 9
BII-6	1.160 2	6.300 1	34.355 6	2.323 4	0.735 9	RSD/%	16.32	31.62	10.46	27.09	14.58
BII-7	1.091 4	5.451 9	28.365 3	2.909 7	0.739 2						

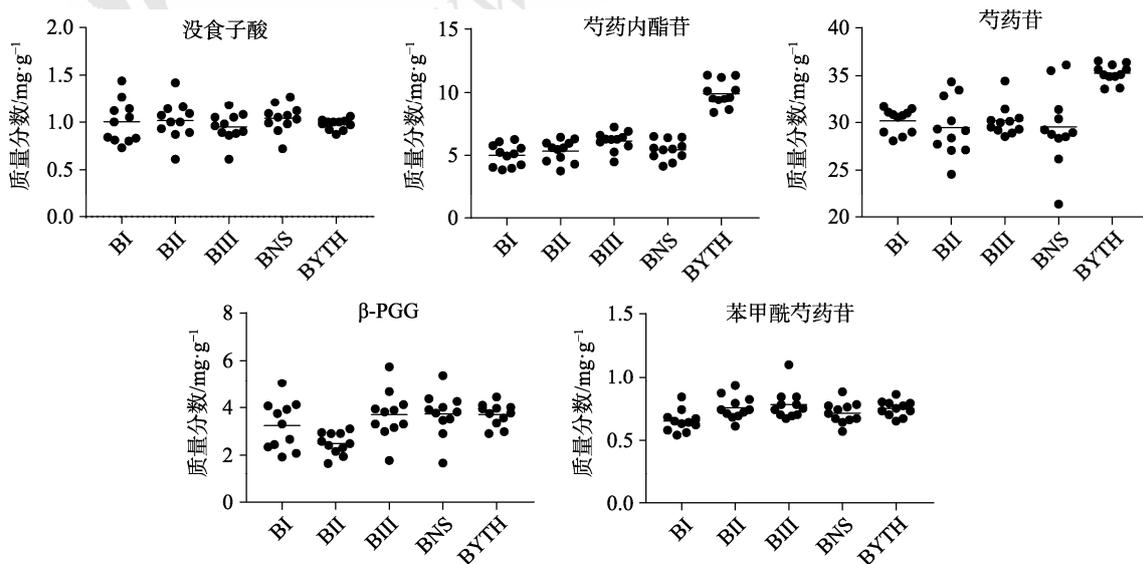


图 2 55 批不同等级白芍饮片中 5 种成分含量

Fig. 2 Contents of 5 components in 55 batches of *Paoniae Radix Alba* pieces of different grade

结果表明,不同等级饮片间鲜切饮片(BYTH)组的芍药苷和芍药内酯苷含量均高于其他规格饮片,而苯甲酰芍药苷、 β -PGG、没食子酸的含量相对稳定,波动较小;但5种化学成分单指标含量的高低与等级之间未体现明显的正相关性。不同规格等级的白芍饮片中,鲜切饮片不同批次间5种成分含量相差不大,润切饮片可能是由于加水润切的因素导致不同批次间5种成分含量的差异,其中没食子酸、芍药苷和 β -PGG受影响较大。芍药内酯苷和苯甲酰芍药苷含量指标在同一组别中表现的差异较小,分布较为集中,提示该类成分可作为质量控制的稳定质控指标,结果见图2。

2.6 主成分分析

对55组样品5个成分的含量使用Graphpad Prism 6.0软件进行Grubbs检验,排除异常值。采用SPSS 19.0软件对54组数据进行主成分分析,共得到3个主成分因子,特征值分别为2.308, 1.239, 0.765, 方差贡献率分别为46.169%, 24.779%, 15.292%,前3个主成分因子累计方差贡献率为86.240%,提示主成分因子1, 2, 3可作为不同等级白芍饮片的评价指标。故取主成分因子1, 2, 3为指标对54批白芍饮片进行评价,结果见表4和表5。结果显示,主成分因子1包含了所有原始变量信息,其中芍药苷、芍药内酯苷、 β -PGG具有较高的载荷值,因此主成分因子1可用于主控白芍质量的描述指标,见表4。主成分因子2主要包含了原始变量没食子酸和苯甲酰芍药苷的信息,可用于酚酸类化学成分在影响白芍质量中的描述指标。主成分因子3中苯甲酰芍药苷表现较高的载荷值,可作为白芍质量变异的描述指标。主成分因子1得分在BYTH 1~BYTH 11间得分较高,表明其对白芍趁鲜切制饮片的影响显著;主成分因子2, 3对润切饮片的影响较明显,表明润切主要影响白芍化学成分中的酚酸类成分,结果见表5。

表4 主成分载荷矩阵

Tab. 4 Component matrix

成分	主成分因子1	主成分因子2	主成分因子3
芍药苷	0.773	-0.497	0.014
芍药内酯苷	0.766	-0.547	0.021
β -PGG	0.721	0.302	-0.433
没食子酸	0.560	0.673	-0.198
苯甲酰芍药苷	0.540	0.386	0.733

表5 54批白芍饮片样品的主成分分析综合得分

Tab. 5 Principal component analysis scores of 54 batches of *Paeoniae Radix Alba* pieces

编号	样品	主成分因子1 综合得分	主成分因子2 综合得分	主成分因子3 综合得分
1	BNS-1	-2.81	-0.34	-0.26
2	BNS-2	-0.19	0.34	-0.97
3	BNS-3	1.15	0.29	-1.06
4	BNS-4	-0.52	0.27	-0.67
5	BNS-5	-0.25	0.65	-1.22
6	BNS-6	-0.55	-0.35	-0.83
7	BNS-7	-0.10	0.78	-0.16
8	BNS-8	-0.41	1.39	0.10
9	BNS-9	0.57	-0.15	0.57
10	BNS-10	1.11	2.56	0.07
11	BNS-11	0.21	0.79	0.15
12	BI-1	-1.53	-1.09	-0.86
13	BI-2	0.01	-0.06	-1.45
14	BI-3	0.46	1.46	-0.68
15	BI-4	0.20	0.39	-1.61
16	BI-5	-1.39	-0.49	0.06
17	BI-6	0.12	0.42	-0.90
18	BI-7	-1.68	-0.44	-0.10
19	BI-8	1.44	2.55	-0.43
20	BI-9	-1.65	-1.21	-1.18
21	BI-10	-1.83	-0.69	-0.44
22	BI-11	-0.45	0.12	-0.55
23	BII-1	-1.50	0.23	-0.96
24	BII-2	-0.42	-0.60	0.78
25	BII-3	-0.46	-1.02	0.98
26	BII-4	-0.43	1.62	1.13
27	BII-5	-1.48	-0.03	4.03
28	BII-6	0.24	-0.08	0.64
29	BII-7	-0.41	0.75	0.34
30	BII-8	-0.74	-0.02	0.24
31	BII-9	-0.57	-0.32	-0.08
32	BII-10	0.09	2.54	1.51
33	BII-11	-0.21	0.53	1.15
34	BIII-2	0.03	0.33	-0.79
35	BIII-3	-0.08	0.09	1.68
36	BIII-4	0.05	0.47	-0.65
37	BIII-5	0.94	0.78	-0.88
38	BIII-6	-0.14	0.10	1.76
39	BIII-7	-0.34	0.00	0.93
40	BIII-8	-0.53	-0.02	-0.48
41	BIII-9	1.05	-0.03	-0.97
42	BIII-10	0.02	0.39	-0.64
43	BIII-11	0.27	0.44	0.23
44	BYTH-1	1.22	-1.20	-0.08
45	BYTH-2	1.29	-1.23	0.07
46	BYTH-3	1.67	-0.92	1.42
47	BYTH-4	0.92	-1.22	-1.12
48	BYTH-5	1.69	-1.14	0.53
49	BYTH-6	1.63	-1.34	0.34
50	BYTH-7	1.21	-1.08	0.77
51	BYTH-8	0.23	-1.48	0.27
52	BYTH-9	0.59	-1.06	0.45
53	BYTH-10	0.71	-1.82	-0.33
54	BYTH-11	1.52	-0.89	0.17

2.7 聚类分析

以所测 5 种成分的含量作为原始数据, 采用 SPSS 19.0 软件标准化处理数据, 以 Ward 接法结合 Squared Euclidean Distance 距离计算方法对 54 组饮片进行 R 型聚类分析, 结果见图 3。当判定距离 <25 时, 样本被分为 2 大类, 即鲜切白芍饮片 (BYTH) 聚为一类, 润切饮片 (BI、BII、BIII、BNS) 聚为一类。判别距离为 12~15 时, 样本被分为 3 个大类, 即全部 BYTH 级饮片一类, 5 批样的一等饮片 (BI-1, 5, 7, 9, 10) 与 1 批样二等饮片 (BII-1) 及 1 批样统货级 (BNS-1) 聚为一类, 剩余批样 (BI-2, 3, 4, 6, 8, 11; BII-2~11; BIII-2~11; BNS-2~11) 为一类。判别距离 <10 时, 样本被分为 4 个大类, 上一层次的剩余批样类分为 2 个新类, 即 10 个批样的二等饮片 (BII-2~11) 与 3 批样的三等饮片 (BIII-3, 6, 7) 及 1 个统货 (BNS-9) 批样聚为一类, 剩余批样 (BI-2, 3, 4, 6, 8, 11; BIII-2, 4, 5, 8~11; BNS-2~8, 10, 11) 聚为一类。判别距离 <5 时, 样本可分为 5 类, 分别为全部 BYTH 级饮片一类, 5 批样的一等饮片 (BI-1, 5, 7, 9, 10) 与 1 批样二等饮片 (BII-1) 及 1 批样统货级 (BNS-1) 批样聚为一类, 10 批样的二等饮片 (BII-2~11) 与 3 批样的三等饮片 (BIII-3, 6, 7) 及 1 个统货 (BNS-9)

批样聚为一类, 4 批样一等饮片 (BI-2, 4, 6, 11) 与 4 批样三等饮片 (BIII-2, 4, 8, 10) 及 4 批样统货饮片 (BNS-2, 4, 5, 6) 聚为一类, 5 批样统货饮片 (BNS-3, 7, 8, 10, 11) 与 3 批样三等饮片 (BIII-5, 9, 11) 及 2 批样一等饮片 (BI-3, 8) 为一类。

3 讨论

本研究前期通过对甲醇-磷酸、甲醇-甲酸、乙腈-甲酸、乙腈-磷酸等流动相考察, 最终确定乙腈-0.05%磷酸为流动相梯度洗脱, 各峰分离度、峰型均较好。通过对不同波长 214, 230, 254 nm 等出峰的考察, 发现 230 nm 时基线稳定, 出峰数目较多, 且各峰之间分离度良好, 故选 230 nm 为检测波长。

通过对不同规格等级的白芍饮片 5 种化学成分含量分析发现, 润切白芍的不同等级饮片间未呈现显著性差异, 未体现与等级相一致的正相关性。但鲜切饮片中芍药内酯苷与芍药苷含量较润切饮片组明显高, 表明不同炮制加工方法处理对白芍饮片的影响较大。因此, 仅依据饮片直径大小, 而未限定各等级的内在化学成分指标含量及饮片加工炮制工艺等因素, 可能无法全面评价和区分各等级饮片。芍药内酯苷和苯甲酰芍药苷在不同等级白芍饮片中均体现显著性差异, 其中芍

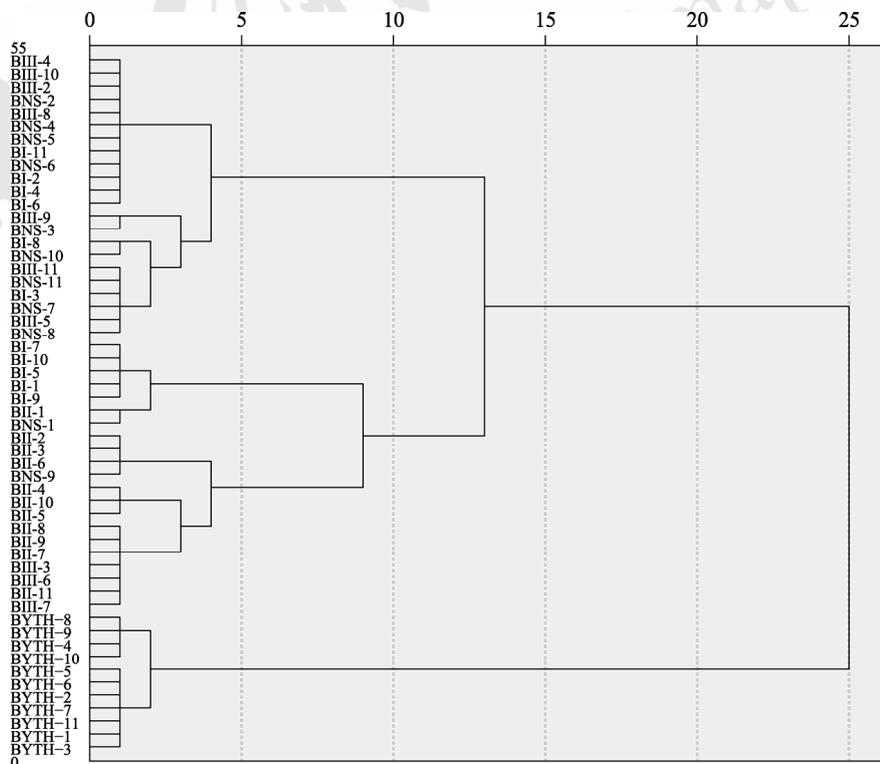


图 3 54 批白芍饮片聚类分析结果

Fig. 3 Cluster analysis result of 54 batches of Paeoniae Radix Alba pieces

药内酯苷组内差异小, 但各组之间差异较大 (RSD=31.63%), 因此建议以芍药内酯苷为等级划分的辅助指标。各个等级批次的饮片中以鲜切饮片相对较好, 其他等级饮片可能由于未将内在指标含量与“气”“色”“味”等主观指标相结合, 切制饮片的原料药材未严格区分优劣等级, 炮制加工过程不同, 产地品种不同, 以片径区分存在误差等因素, 使得某些指标存在组内个体差异大、组间差异不够明显, 区分不同饮片等级规格困难。

对白芍饮片进行 PCA-CA, 结果能将鲜切饮片和润切饮片完全区分, 表明鲜切饮片与其他规格的饮片具有明显的不同, 可能由于趁鲜加工流程简化, 成分流失较低, 使得饮片质量稳定, 说明不同炮制加工工艺对饮片的质量影响较大, 在划分等级过程中需界定说明。

本研究主要以亳州白芍饮片为研究对象, 优化了 HPLC 同时测定白芍中芍药苷、芍药内酯苷、没食子酸、苯甲酰芍药苷、 β -PGG 等 5 种主要化学成分的测定条件方法, 综合分析当前不同等级白芍饮片的质量情况, 并为饮片分级提供了参考。另外, 如何将传统规格等级与内在化学成分、外观、工艺等综合统一, 确定区分等级的指标, 体现“按质论价”的要求, 有待进一步深入研究。

REFERENCES

- [1] 中国药典. 一部[S]. 2015: 105.
- [2] 南京中医药大学. 中药大辞典[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2006: 946, 1438.
- [3] ZHENG N, LU H Q, LAN S M, et al. Influence of total glucosides of paeony on serum levels of MMPs expression in patients with different syndromes of Rheumatoid Arthritis [J]. Pharm Today(今日药理学), 2015, 25(11): 781-783.
- [4] ZHANG L. Pharmacological effect of Radix Paeoniae Alba and its progress in modern research [J]. Clin J Chin Med(中医临床研究), 2014, 6299: 25-26.
- [5] Editorial Committee. Chinese Herbs [M]. Shanghai: Shanghai Science and Technology Press, 1999: 3515-3521.
- [6] LI P Y, WANG H Y, LI J, et al. Formation and evolution of commodity specification and grade of traditional Chinese medicine [J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2016, 41(5): 764-768.
- [7] KANG C Z, ZHOU T, GUO L P, et al. Analysis of commodity specifications and classification standards of root and rhizomatous Chinese medicinal materials [J]. Guizhou Agr Sci (贵州农业科学), 2014, 42(8): 217-222.
- [8] ZHANG L H, GU X Z, NIU Z R, et al. Relativity between internal components and traditional classification of Paeoniae Radix Alba [J]. Chin Tradit Pat Med(中成药), 2012, 34(3): 535-538.
- [9] DU W F, HU S Z, WU F, et al. Simultaneous determination of three active constituents in different grades of Hangzhou white peony [J]. Chin Tradit Pat Med(中成药), 2014, 36(2): 358-362.
- [10] ZHANG Y, ZHANG T, WANG W. Optimization of the determination method of multi index content in Daqili San by multi wavelength HPLC combined with CCD response surface [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2019, 36(7): 841-845.
- [11] ZHAO X M, YANG Z J, YUAN W J, et al. Fingerprint analysis and determination of alkaloids in Aconitum excelsum Reichb by HPLC [J]. Chin J New Drugs(中国新药杂志), 2019, 28(22): 2776-2782.

收稿日期: 2019-07-05
(本文责编: 李艳芳)