桦褐孔菌药材的薄层色谱鉴别和HPLC指纹图谱建立及化学模式识别分析Δ

段雨晴[1,2*]，朱田密[2]，陈树和[2#]，段雪云[2]，王思萌[1,2]（1.湖北中医药大学药学院，武汉 430065；2.湖北省中医院/湖北中医药大学附属医院/湖北省中医药研究院药事部，武汉 430061）

中图分类号 R917 **文献标志码** A **文章编号** 1001-0408（2023）01-0052-05
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2023.01.10

摘 要 目的 建立桦褐孔菌药材的薄层色谱鉴别方法和高效液相色谱（HPLC）指纹图谱，并结合化学模式识别分析评价桦褐孔菌药材的质量。**方法** 采用薄层色谱法对桦褐孔菌药材中的栓菌酸、桦褐孔菌醇进行定性鉴别；建立桦褐孔菌药材的HPLC指纹图谱，根据《中药色谱指纹图谱相似度评价系统（2012版）》确定共有峰并进行相似度评价；采用SPSS 23.0软件和SIMCA14.1软件对22批桦褐孔菌药材的指纹图谱数据进行化学模式识别分析（聚类分析、主成分分析和正交偏最小二乘法-判别分析）。**结果** 薄层色谱鉴别结果显示，供试品色谱和对照品色谱在相应位置上显相同颜色斑点。22批桦褐孔菌药材的HPLC指纹图谱共有10个共有峰，相似度为0.942～0.995；指认出3号峰为栓菌酸，4号峰为桦褐孔菌醇，9号峰为麦角甾醇，10号峰为羊毛甾醇。聚类分析结果显示，S1～S15、S19、S21、S22聚为第1类，S16～S18、S20聚为第2类。主成分分析结果显示，综合得分排名前4位的样品分别为S17、S18、S16、S20。正交偏最小二乘法-判别分析结果显示，以变量重要性投影（VIP）值＞1为标准，筛选出4号峰（桦褐孔菌醇，VIP值＝1.86）、3号峰（栓菌酸，VIP值＝1.62）、7号峰（VIP值＝1.27）3个影响桦褐孔菌药材质量的标志性成分。**结论** 成功建立了桦褐孔菌药材的薄层色谱鉴别方法及HPLC指纹图谱，结合化学模式识别分析可为桦褐孔菌药材的质量控制提供参考。

关键词 桦褐孔菌；薄层色谱法；指纹图谱；高效液相色谱法；化学模式识别分析

Establishment of TLC identification and HPLC fingerprint of *Inonotus obliquus* and analysis of chemical pattern recognition

DUAN Yuqing[1,2], ZHU Tianmi[2], CHEN Shuhe[2], DUAN Xueyun[2], WANG Simeng[1,2] (1. School of Pharmacy, Hubei University of Chinese Medicine, Wuhan 430065, China; 2. Dept. of Pharmaceurical Affair, Hubei Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine/the Affiliated Hospital of Hubei University of Chinese Medicine/Hubei Institute of Traditional Chinese Medicine, Wuhan 430061, China)

ABSTRACT OBJECTIVE To establish thin-layer chromatography (TLC) identification method and high-performance liquid chromatography (HPLC) fingerprint of *Inonotus obliquus*, and to evaluate the quality of *I. obliquus* by chemical pattern recognition. **METHODS** TLC method was used to identify trametenolic acid and inotodiol in *I. obliquus* qualitatively. HPLC fingerprint of *I. obliquus* was established; *Similarity Evaluation System for Chromatographic Fingerprint of Traditional Chinese Medicine (2012 edition)* was used to determine the common peaks and evaluate the similarity; chemical pattern recognition analysis [cluster analysis, principal component analysis and orthogonal partial least squares-discriminant analysis (OPLS-DA)] of 22 batches of *I. obliquus* was performed with SPSS 23.0 software and SIMCA14.1 software. **RESULTS** In the TLC, the same color spots were found at the same position in the chromatograms of test sample and substance control. A total of 10 common peaks were marked in the HPLC fingerprints of 22 batches of *I. obliquus*, with similarities of 0.942-0.995. No. 3 peak was identified as trametenolic acid, No.4 peak as inotodiol, No. 9 peak as ergosterol and No. 10 peak as lanosterol. Results of cluster analysis showed that S1-S15, S19, S21 and S22 could be clustered into the first category, and S16-S18 and S20 were clustered into the second category. Results of principal component analysis showed that top 4 samples in the list of comprehensive score were S17, S18, S16 and S20. Results of OPLS-DA showed that three marking components that may affect the quality of *I. obliquus* were screened according to the standard of VIP＞1, i.e. No. 4 peak (inotodiol, VIP value of 1.86), No. 3 peak (trametenolic acid, VIP value of 1.62) and No. 7 peak (VIP value of 1.27). **CONCLUSIONS** This study establishes TLC method and HPLC fingerprint of *I. obliquus* successfully, which can provide reference for the quality control of *I. obliquus* by combining with chemical pattern recognition.

KEYWORDS *Inonotus obliquus*; thin-layer chromatography; fingerprint; high-performance liquid chromatography; chemical pattern recognition

Δ **基金项目** 湖北省科技重大专项-重点研发计划项目（No. 2020ACA007）；湖北省自然科学基金创新发展联合基金项目（No. 2022CFD162）

＊**第一作者** 硕士研究生。研究方向：中药物质基础及作用机制。E-mail：840487292@qq.com

＃**通信作者** 主任药师，硕士生导师。研究方向：中药物质基础及作用机制。E-mail：chenshuhe606@163.com

桦褐孔菌为锈革孔菌科真菌桦褐孔菌 *Inonotus obliquus*（Fr.）Pilat的干燥菌核，菌核全年均可采收，为硬木质，不易腐烂[1－3]。桦褐孔菌主要分布于北半球北纬40°～50°地区，如俄罗斯的西伯利亚和远东地区，日本的北海道及芬兰、波兰等地；在我国，主要分布于黑龙江省小兴安岭和吉林省长白山等地[4]。现代研究表明，桦褐孔菌化学成分主要包含多糖类、多酚类、三萜类、甾醇类和叶酸衍生物类等，具有抗肿瘤、降血糖、降血脂、抗氧化、抗病毒等多种药理作用[5－6]。

桦褐孔菌是一种新来源的真菌类药材，在历代医药典籍中均无记载，但在地方标准《山东省中药材标准》（2012版）和《湖北省中药材质量标准》（2018版）中收载[1－2]。目前，国内外对桦褐孔菌的研究主要集中在化学成分和药理作用方面，缺乏对桦褐孔菌药材质量控制的全面研究。《山东省中药材标准》（2012版）仅从性状、显微鉴别、浸出物等方面对桦褐孔菌药材质量进行控制，未规定指标性成分；《湖北省中药材质量标准》（2018版）含量测定项下仅以栓菌酸为质量控制的指标，较为单一，难以全面有效地反映桦褐孔菌药材的质量。故本研究建立桦褐孔菌药材中三萜类成分栓菌酸、桦褐孔菌醇的薄层色谱鉴别方法和桦褐孔菌药材的高效液相色谱（HPLC）指纹图谱，并应用化学模式识别分析（聚类分析、主成分分析、正交偏最小二乘法-判别分析）评价该药材的质量，以期为其质量控制提供参考。

1 材料

1.1 主要仪器

本研究所用主要仪器有Alliance e2695型高效液相色谱仪、2998型二极管阵列检测器（美国Waters公司），ES225SM-DR型电子天平（瑞士Precisa公司），UPT-11-10T型超纯水机（深圳优普特技术有限公司），KQ-500VDE型双频数控超声波清洗器（昆山市超声仪器有限公司）。

1.2 主要药品与试剂

栓菌酸对照品由本实验室自制，纯度为93.9%；桦褐孔菌醇、羊毛甾醇对照品均购自上海源叶生物科技有限公司（批号分别为B50360、B27054，纯度均不低于95%）；麦角甾醇对照品购自中国食品药品检定研究院（批号111845-202105，纯度≥96.6%）。本研究所用桦褐孔菌药材（S1～S18为商品药材，购自湖北辰美中药有限公司、保和堂制药有限公司、广州康和药业有限公司；S19～S22为笔者亲自采摘后晾干得到）经湖北省中医院药事部陈树和主任药师鉴定为锈革孔菌科真菌桦褐孔菌*I. obliquus*（Fr.）Pilat的干燥菌核，样品信息见表1。

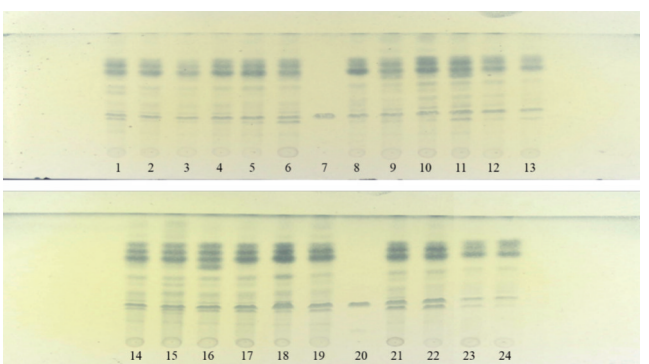
2 方法与结果

2.1 桦褐孔菌药材的薄层色谱鉴别

2.1.1 栓菌酸的薄层色谱鉴别 取桦褐孔菌药材粉末（过四号筛）1 g，加异丙醇20mL，超声（频率45 kHz，功率400 W）处理20 min，滤过，滤液蒸干，残渣加甲醇3 mL使溶解，作为供试品溶液。取栓菌酸对照品，加甲醇制成质量浓度为0.5 mg/mL的对照品溶液。按照2020年版《中国药典》（四部）通则0502薄层色谱法，吸取上述供试品溶液10 μL、对照品溶液5 μL，分别点于同一硅胶G薄层板上，以三氯甲烷-甲苯-乙酸乙酯-甲醇（体积比为10∶4∶1∶1）为展开剂，展开，取出，晾干，喷5%磷钼酸乙醇溶液，在105 ℃条件下加热至斑点显色清晰。结果显示，供试品溶液色谱在与对照品溶液色谱相应位置上显相同颜色的斑点。结果见图1。

表1 22批桦褐孔菌药材的样品信息

批号	产地	收集时间	批号	产地	收集时间
S1	东北	2021年1月27日	S12	吉林辽源市	2021年9月1日
S2	黑龙江伊春市	2021年3月25日	S13	东北	2021年9月1日
S3	黑龙江伊春市	2021年3月25日	S14	俄罗斯	2021年9月1日
S4	吉林白山市抚松县	2021年3月31日	S15	东北	2021年9月1日
S5	吉林白山市抚松县	2021年3月31日	S16	俄罗斯	2021年9月6日
S6	吉林长白山	2021年4月20日	S17	吉林长白山	2021年9月6日
S7	吉林桦甸市	2021年6月7日	S18	朝鲜	2021年9月6日
S8	东北	2021年8月26日	S19	吉林延边朝鲜族自治州	2021年10月14日
S9	俄罗斯	2021年8月26日	S20	吉林延边朝鲜族自治州	2021年10月14日
S10	吉林	2021年9月1日	S21	黑龙江牡丹江市	2021年10月27日
S11	黑龙江	2021年9月1日	S22	黑龙江牡丹江市	2021年10月27日



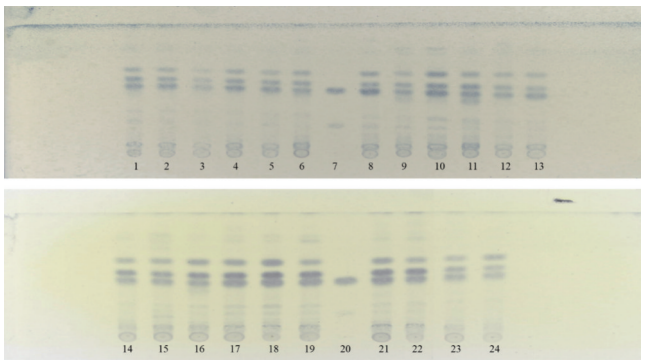
1～6：S1～S6样品；7：栓菌酸对照品；8～19：S7～S18样品；20：栓菌酸对照品；21～24：S19～S22样品

图1 桦褐孔菌药材中栓菌酸的薄层色谱图

2.1.2 桦褐孔菌醇的薄层色谱鉴别 按照“2.1.1”项下方法制备供试品溶液。取桦褐孔菌醇对照品，加甲醇制成质量浓度为0.5 mg/mL的对照品溶液，作为对照品溶液。按照2020年版《中国药典》（四部）通则0502薄层色谱法，吸取上述供试品溶液10 μL、对照品溶液5 μL，分别点于同一硅胶G薄层板上，以二氯甲烷-甲苯-乙酸乙酯-甲醇（体积比为10∶4∶0.3∶0.3）为展开剂，展开，取出，晾干，喷5%磷钼酸乙醇溶液，在105 ℃条件下加热至斑点显色清晰。结果显示，供试品溶液色谱在与对照品溶液色谱相应位置上显相同颜色的斑点。结果见图2。

2.2 桦褐孔菌药材的HPLC指纹图谱研究

2.2.1 色谱条件 色谱柱为Agilent 5 TC-C_{18}（250 mm×4.6 mm，5 μm）；流动相为乙腈（A）-水（B），梯度洗脱（0～12 min，90%A→95%A；12～15 min，95%A；15～16 min，95%A→100%A；16～39 min，100%A；39～40 min，100%A→90%A）；流速为1.0 mL/min；柱温为30 ℃；检测波长为203 nm；进样量为20 μL。



1～6：S1～S6样品；7：桦褐孔菌醇对照品；8～19：S7～S18样品；20：桦褐孔菌醇对照品；21～24：S19～S22样品

图2　桦褐孔菌药材中桦褐孔菌醇的薄层色谱图

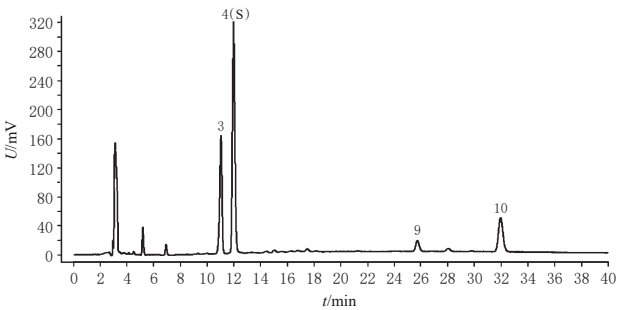
2.2.2　溶液的制备　(1)供试品溶液的制备。取桦褐孔菌药材粉末(过四号筛)2 g，精密称定，置于具塞锥形瓶中，精密加入三氯甲烷20 mL，密塞，超声处理30 min；放冷，滤过，滤液蒸干，残渣加甲醇溶解，转移至5 mL容量瓶中，加甲醇定容至刻度，摇匀，过0.45 μm微孔滤膜，取续滤液，即得供试品溶液。(2)对照品溶液的制备。取栓菌酸、桦褐孔菌醇、麦角甾醇、羊毛甾醇对照品适量，精密称定，加甲醇溶解并定容，制成上述成分质量浓度分别为368.84、201.02、390.37、285.76 μg/mL的单一对照品溶液。精密吸取各单一对照品溶液2、5.5、0.5、2 mL，置于同一10 mL容量瓶中，混匀，过0.45 μm微孔滤膜，取续滤液，即得栓菌酸、桦褐孔菌醇、麦角甾醇、羊毛甾醇质量浓度分别为73.77、110.56、19.52、57.15 μg/mL的混合对照品溶液。

2.2.3　精密度考察　取供试品溶液(S3号样品)，按照“2.2.1”项下色谱条件重复进样6次，记录色谱图。以桦褐孔菌醇为参照峰，计算各共有峰的相对保留时间和相对峰面积。结果表明，各共有峰的相对保留时间RSD均小于0.49%，相对峰面积RSD均小于3.99%(n=6)，表明仪器精密度良好。

2.2.4　稳定性考察　取供试品溶液(S3号样品)于室温放置0、2、4、8、12、24 h时，按照“2.2.1”项下色谱条件进样测定，记录色谱图。以桦褐孔菌醇为参照峰，计算各共有峰的相对保留时间和相对峰面积。结果表明，各共有峰的相对保留时间RSD均小于0.88%，相对峰面积RSD均小于2.89%(n=6)，表明样品溶液在室温放置24 h内稳定。

2.2.5　重复性考察　精密称取S3号桦褐孔菌药材粉末2 g，按“2.2.2”项下方法平行制备供试品溶液6份，按照“2.2.1”项下色谱条件进样测定，记录色谱图。以桦褐孔菌醇为参照峰，计算各共有峰的相对保留时间和相对峰面积。结果表明，各共有峰的相对保留时间RSD均小于0.75%，相对峰面积RSD均小于4.06%(n=6)，表明方法重复性良好。

2.2.6　HPLC指纹图谱的建立　取22批桦褐孔菌药材粉末2 g，按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液，再按“2.2.1”项下色谱条件进样测定，记录色谱图。将22批桦褐孔菌药材的色谱图导入《中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012版)》进行分析。选取S17号样品作为参照图谱，时间窗宽度设为0.1 min，经多点矫正，生成桦褐孔菌药材的HPLC叠加指纹图谱和对照指纹图谱。另外，取“2.2.2”项下混合对照品溶液适量，按“2.2.1”项下色谱条件进样测定，记录色谱图。结果显示，22批桦褐孔菌药材共有10个共有峰；与混合对照品色谱图对比后，指认出3号峰为栓菌酸，4号峰为桦褐孔菌醇，9号峰为麦角甾醇，10号峰为羊毛甾醇。结果见图3、图4。



3：栓菌酸；4：桦褐孔菌醇；9：麦角甾醇；10：羊毛甾醇

图3　混合对照品溶液HPLC色谱图

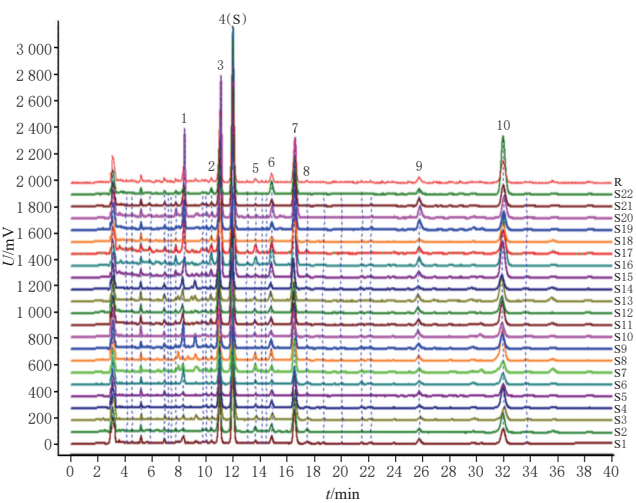


图4　桦褐孔菌药材HPLC叠加指纹图谱

2.2.7　相似度评价　采用《中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012版)》计算22批桦褐孔菌药材HPLC图谱的相似度。结果显示，与对照指纹图谱相比，各批桦褐孔菌药材样品图谱的相似度在0.942～0.995之间，表明各批样品间相似度良好。

2.3　桦褐孔菌药材的化学模式识别分析

2.3.1　聚类分析　以22批桦褐孔菌药材指纹图谱中10个共有峰峰面积为参量，采用SPSS 23.0软件进行聚类分析，采用组间平均数联结法，以平方欧氏距离为度量标准进行聚类，并绘制树状图(图5)。结果显示，当平方欧氏距离＞10时，22批桦褐孔菌样品可以分为两类，其中S1～S15、S19、S21、S22聚为第1类，S16～S18、S20聚为第2类。该聚类分析结果提示，桦褐孔菌药材间存在一定差异。

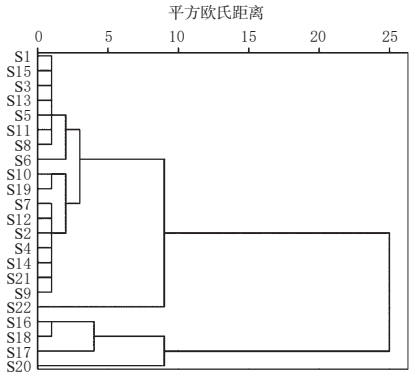


图5　22批桦褐孔菌药材的聚类分析树状图

2.3.2　主成分分析　为综合评价不同批次间桦褐孔菌药材质量的差异，将22批样品10个共有峰的峰面积作为原始数据，采用SPSS 23.0软件进行主成分分析。以特征值＞1为标准，共得到3个主成分，其特征值分别为5.927、1.711、1.318，对总方差的累积贡献率为89.522%，说明这3个主成分可以反映22批桦褐孔菌药材大部分的信息，提示桦褐孔菌药材的质量差异是由多种化学成分共同引起的。由表2可知，主成分1可以反映共有峰2、3（栓菌酸）、4（桦褐孔菌醇）、6、7、10（羊毛甾醇）的信息，主成分2可以反映共有峰1、9（麦角甾醇）的信息，主成分3可以反映共有峰5、8的信息。

以上述3个主成分对22批桦褐孔菌药材进行综合评价，参考文献[7]方法，计算主成分得分：$Z_1=-0.185x_1+0.212x_2+0.060x_3+0.212x_4+0.114x_5+0.196x_6+0.091x_7-0.088x_8-0.065x_9+0.316x_{10}$；$Z_2=0.508x_1-0.057x_2+0.188x_3-0.054x_4-0.087x_5-0.025x_6+0.154x_7+0.006x_8+0.384x_9-0.253x_{10}$；$Z_3=0.058x_1+0.019x_2+0.142x_3-0.008x_4+0.351x_5-0.052x_6+0.089x_7+0.629x_8-0.184x_9-0.288x_{10}$。其中，$Z_1$、$Z_2$、$Z_3$代表主成分1、2、3的得分值；$x_1$～$x_{10}$代表主成分因子的10个共有峰峰面积标准化的数值。根据各主成分的贡献率与3个主成分总贡献率之比计算权重系数[8]，再计算主成分综合得分（$Z_{综}$）：$Z_{综}=59.267/89.522\times Z_1+17.108/89.522\times Z_2+13.178/89.522\times Z_3$，主成分综合得分越高说明质量越好[9]，结果见表3。结果显示，主成分综合得分排名前4位的样品分别为S17、S18、S16、S20。

表2　主要因子载荷矩阵

峰号	主成分1	主成分2	主成分3
1	0.075	0.962	0.031
2	0.932	0.248	0.145
3（栓菌酸）	0.720	0.605	0.275
4（桦褐孔菌醇）	0.920	0.252	0.104
5	0.590	0.019	0.607
6	0.869	0.291	0.027
7	0.775	0.569	0.205
8	−0.057	−0.090	0.937
9（麦角甾醇）	0.288	0.844	−0.292
10（羊毛甾醇）	0.898	−0.090	−0.295

表3　22批桦褐孔菌药材主成分得分和综合得分

批号	Z_1	Z_2	Z_3	综合得分	排名
S17	3.307	−0.113	−0.140	2.15	1
S18	1.052	1.001	2.306	1.23	2
S16	1.344	0.554	0.717	1.1	3
S20	−0.087	3.496	−0.675	0.51	4
S22	1.389	−1.050	−2.129	0.41	5
S14	0.137	−0.148	−0.196	0.03	6
S12	0.128	−0.312	−0.047	0.02	7
S9	0.169	−0.865	0.046	−0.05	8
S2	−0.149	−0.654	1.084	−0.06	9
S8	−0.336	−0.421	1.573	−0.07	10
S10	−0.580	0.611	0.732	−0.16	11
S4	−0.043	−0.796	−0.243	−0.22	12
S19	−0.588	1.351	−0.947	−0.27	13
S7	−0.079	−0.932	−0.817	−0.35	14
S3	−0.496	−0.583	0.540	−0.36	15
S13	−0.511	−0.297	−0.159	−0.42	16
S1	−0.685	−0.156	0.132	−0.46	17
S21	−0.481	0.550	−1.726	−0.47	18
S15	−0.787	−0.316	0.196	−0.55	19
S5	−0.815	−0.480	0.322	−0.58	20
S11	−0.781	−0.200	−0.872	−0.68	21
S6	−1.108	−0.240	0.302	−0.74	22

将22批桦褐孔菌药材10个共有峰峰面积导入SIMCA14.1软件绘制主成分得分图（图6）。结果显示，S16～S18、S20样品可与其他样品区分开，说明这4批样品与其他样品存在差异，且与聚类分析结果相印证。

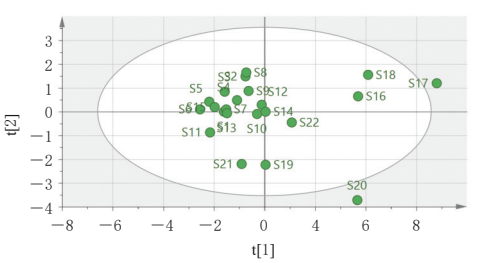


图6　22批桦褐孔菌药材主成分得分图

2.3.3　正交偏最小二乘法-判别分析　为更好地考察引起不同批次桦褐孔菌药材质量差异的主要标志性成分，笔者以22批桦褐孔菌药材指纹图谱共有峰峰面积为变量，进一步采用正交偏最小二乘法-判别分析对样品进行分析。结果显示，建立的正交偏最小二乘法-判别分析模型中，累计解释能力参数R^2X和R^2Y分别为0.953和0.918，预测能力参数Q^2为0.869，均大于0.5，提示本研究所建模型的稳定性及预测能力较好。设置分类矩阵变量随机排列200次做置换检验，所得R^2和Q^2截距值分别为0.167、−0.751（均小于置换检验模型右上方的真实R^2和Q^2值），说明建立的正交偏最小二乘法-判别分析模型不存在过度拟合现象，可用于判别分析[10]。变量重要性投影（variable importance in projection，VIP）值是筛选差异性化合物的重要指标，值越大，表明该色谱峰的贡献越大[11]。以VIP值大于1为标准，筛选出4号峰（桦褐孔菌醇，VIP值＝1.86）、3号峰（栓菌酸，VIP值＝1.62），7号

峰（VIP值＝1.27）可能是影响不同批次间桦褐孔菌质量的标志性成分。

3 讨论

3.1 薄层色谱鉴别时提取溶剂和展开剂的选择

桦褐孔菌药材薄层色谱鉴别时，分别考察了不同提取溶剂（甲醇、异丙醇、三氯甲烷）对药材提取效果的影响。结果发现，以三氯甲烷为提取溶剂时，其对栓菌酸、桦褐孔菌醇的薄层色谱斑点有干扰；以甲醇为提取溶剂时，其对栓菌酸、桦褐孔菌醇的提取效果较差，薄层色谱斑点不清晰；以异丙醇为提取溶剂时，其对栓菌酸、桦褐孔菌醇的提取效果较好，薄层色谱斑点清晰无干扰，故本实验采用异丙醇为提取溶剂。另外，本实验还考察了石油醚（60～90 ℃）-乙酸乙酯、三氯甲烷-乙酸乙酯-乙醚、二氯甲烷-甲苯-甲酸-甲醇、三氯甲烷-甲苯-乙酸乙酯-甲醇等不同展开剂对栓菌酸、桦褐孔菌醇分离的影响。结果发现，以三氯甲烷-甲苯-乙酸乙酯-甲醇（体积比为10∶4∶1∶1）为展开剂时，栓菌酸的分离效果较好，比移值适中，斑点清晰；以二氯甲烷-甲苯-乙酸乙酯-甲醇（体积比为10∶4∶0.3∶0.3）为展开剂时，桦褐孔菌醇的分离效果较好。

3.2 HPLC指纹图谱研究时提取溶剂及色谱条件的选择

在制备供试品溶液时，笔者考察了异丙醇、甲醇、三氯甲烷等提取溶剂对桦褐孔菌药材HPLC图的影响。结果发现，采用极性较大的甲醇、异丙醇为提取溶剂时，杂质峰较大，且栓菌酸等成分色谱峰的响应较差；以三氯甲烷为提取溶剂时，杂质峰较小，特征色谱峰数量增多，响应更强，且更易于识别，故本实验采用三氯甲烷为提取溶剂。

本实验比较了不同流动相（甲醇-水、乙腈-0.1%磷酸溶液、乙腈-水）对各色谱峰分离的影响。结果发现，以乙腈-水为流动相时，各色谱峰峰形尖锐，分离效果较好。另外，通过全波长扫描发现，当检测波长为203 nm时，HPLC图可最大程度化地反映各色谱峰的信息，故本研究选择203 nm作为检测波长。

3.3 化学模式识别分析

本研究将22批桦褐孔菌药材的HPLC指纹图谱与化学模式识别分析相结合，以评价其质量。结果显示，聚类分析可将22批桦褐孔菌药材聚为两类，即S16～S18、S20为一类，其余样品为另一类；进一步由主成分综合得分可知，S16～S18、S20这4批样品的综合得分排名靠前，表明这4批样品质量较好。经笔者前期观察也发现，这4批样品质地坚硬沉重，菌肉颜色较深，而综合得分较低的药材质地轻泡松软，颜色较浅，这提示桦褐孔菌药材质量可能与质地色泽存在一定相关性。研究表明，在桦褐孔菌的生长过程中，其色泽由淡黄逐渐变成深褐色[12]。但由于桦褐孔菌均为野生，无法实现规模化的人工栽培[3]，故无法推知其具体生长年限。因此，后续可将桦褐孔菌药材菌肉颜色和质地作为其质量评价依据。本研究采用正交偏最小二乘法-判别分析筛选出3个影响桦褐孔菌药材质量的标志性成分，分别为桦褐孔菌醇、栓菌酸及色谱峰7所代表的化学成分。研究表明，桦褐孔菌醇具有抗肿瘤、抗氧化、抗炎等药理作用[13－14]，栓菌酸具有抗炎、抗肿瘤、抗胃溃疡、降糖、神经保护等药理作用[15－16]。因此，后续研究可将上述3种成分作为桦褐孔菌药材质量控制的评价指标。

综上所述，本研究成功建立了桦褐孔菌药材的薄层色谱鉴别方法及HPLC指纹图谱，结合化学模式识别分析可为桦褐孔菌药材的质量控制提供参考。

参考文献

[1] 山东省食品药品监督管理局.山东省中药材标准[S].济南：山东科学技术出版社，2013：232-234.

[2] 湖北省药品监督管理局.湖北省中药材质量标准[S].北京：中国医药科技出版社，2019：182.

[3] 谷妲，包海鹰.栽培与野生桦褐孔菌菌核的生药学比较[J].中国食用菌，2010，29(3)：40-42.

[4] 李艳婷，郭尚，徐莉娜，等.桦褐孔菌资源分布及其地域环境条件分析[J].中国林副特产，2019(4)：60-65.

[5] 刘迎秋，包海鹰.桦褐孔菌*Inonotusn obliquus*化学成分及药理作用[J].中国食用菌，2008，27(4)：34-39.

[6] 黄年来.俄罗斯神秘的民间药用真菌：桦褐孔菌[J].中国食用菌，2002，21(4)：7-8.

[7] 张勇，李传峰，高桂花，等.半夏野生品和栽培品中8种核苷类成分的含量测定方法建立及差异分析[J].中国药房，2021，32(13)：1583-1588.

[8] 张梦晨，谢辉，陆兔林，等.基于指纹图谱、化学计量学、网络药理学的半夏汤洗前后质量评价[J].中草药，2021，52(10)：2897-2908.

[9] 李思毅，李宏，刘陶世.轻身调脂消渴片的指纹图谱建立、化学模式识别及含量测定[J].中国药房，2022，33(10)：1204-1212.

[10] 梁慧，潘晓君，杨文惠，等.基于UPLC指纹图谱和一测多评法的虎杖药材质量评价[J].中国药房，2021，32(15)：1842-1848.

[11] 陈肖，管红梅，陈梦林，等.基于指纹图谱和多指标成分定量结合化学模式识别法评价不同产地草果质量[J].中草药，2022，53(11)：3472-3479.

[12] 吴珊姣.桦褐孔菌对木材不同腐朽阶段真菌群落研究及其人工栽培[D].哈尔滨：东北林业大学，2013.

[13] 张旭，赵芬琴，韩光，等.桦褐孔菌的化学成分及抗炎活性[J].天然产物研究与开发，2010，22(3)：433-436.

[14] 赵芬琴，邓丽颖，杨灿宇，等.桦褐孔菌中的活性化合物桦褐孔菌醇[J].药学服务与研究，2009，9(6)：455-458.

[15] KIM J，YANG S C，HWANG A Y，et al. Composition of triterpenoids in *Inonotus obliquus* and their anti-proliferative activity on cancer cell lines[J]. Molecules，2020，25(18)：4066.

[16] 史非凡.栓菌酸调节HSP90s诱导肿瘤细胞自噬作用机制及利用研究[D].宜昌：三峡大学，2021：9-10.

（收稿日期：2022-06-28　修回日期：2022-10-29）

（编辑：唐晓莲）