

# 辣椒药材的HPLC指纹图谱建立及聚类分析和主成分分析<sup>Δ</sup>

冯 华<sup>1\*</sup>,王祥培<sup>2</sup>,王世俊<sup>1</sup>,郑鳳雅<sup>1</sup>,张 强<sup>1</sup>(1.遵义市食品药品检验所中药室,贵州遵义 563002;2.贵阳中医学院药学院,贵阳 550002)

中图分类号 R284 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2019)08-1078-05  
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2019.08.13

**摘要** 目的:建立辣椒药材的高效液相色谱(HPLC)指纹图谱,并进行聚类分析和主成分分析。方法:采用HPLC法。色谱柱为Agilent C<sub>18</sub>,流动相为甲醇-0.2%磷酸水溶液(梯度洗脱),流速为1.0 mL/min,检测波长为235 nm,柱温为30 ℃,进样量为15 μL。以辣椒素峰为参照,绘制15批药材样品的HPLC指纹图谱,采用《中药色谱指纹图谱相似度评价系统》(2004 A版)进行相似度评价,确定共有峰,并采用SPSS 19.0软件进行聚类分析和主成分分析。结果:15批药材样品的HPLC图谱相似度均在0.95以上;有12个共有峰,并指认了辣椒素峰;聚类分析结果显示,15批药材样品可聚为3类,S<sub>1</sub>、S<sub>3</sub>~S<sub>5</sub>、S<sub>7</sub>、S<sub>9</sub>~S<sub>13</sub>聚为一类,S<sub>2</sub>、S<sub>14</sub>、S<sub>15</sub>聚为一类,S<sub>6</sub>、S<sub>8</sub>聚为一类。经主成分分析,4个主成分因子的累积方差贡献率为94.093%,以S<sub>5</sub>药材样品的主成分因子综合得分最高、整体质量最好。结论:所建HPLC指纹图谱及聚类分析和主成分分析结果可为辣椒药材的质量控制提供参考。

**关键词** 辣椒;高效液相色谱法;指纹图谱;聚类分析;主成分分析

## Establishment of HPLC Fingerprint, Cluster Analysis and Principal Component Analysis of *Capsicum annuum*

FENG Hua<sup>1</sup>, WANG Xiangpei<sup>2</sup>, WANG Shijun<sup>1</sup>, ZHENG Huangya<sup>1</sup>, ZHANG Qiang<sup>1</sup> (1. TCM Section, Zunyi Institute for Food & Drug Control, Guizhou Zunyi 563002, China; 2. School of Pharmacy, Guiyang College of TCM, Guiyang 550002, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish HPLC fingerprint of *Capsicum annuum*, and to conduct cluster analysis and principal component analysis. METHODS: HPLC method was adopted. The determination was performed on Agilent C<sub>18</sub> column with mobile phase consisted of methanol-0.2% phosphoric acid solution (gradient elution) at the flow rate of 1.0 mL/min. The detection wavelength was set at 235 nm, and column temperature was 30 ℃. The sample size was 15 μL. Using capsaicin peak as reference, HPLC fingerprints of 15 batches of *C. annuum* from different production areas were determined. The similarity evaluation of

- ted ischemia/reperfusion injury[J]. *Pharmazie*, 2015, 70 (9):593-597.
- [13] 芦丽莉,王冬梅.瓜蒌皮提取液对实验性高血脂血症大鼠血清NO, SOD, MDA的影响[J]. *北华大学学报(自然科学版)*, 2008, 9(5):423-425.
- [14] LIAO P, SUN G, ZHANG C, et al. Bauhinia championii flavone attenuates hypoxia-reoxygenation induced apoptosis in H9c2 cardiomyocytes by improving mitochondrial dysfunction[J]. *Molecules*, 2016, 21(11):1469-1480.
- [15] 李立美,智光.心血管病理生理学[M].5版.北京:人民军医出版社,2013:122-144.
- [16] 郑显杰,庞力智,寇俊萍,等.中药抗心肌缺血再灌注损伤的信号通路研究进展[J]. *药学进展*, 2015, 39(6):425-436.
- [17] 高兆慧.瓜蒌皮干预大鼠急性心肌缺血药效学研究[D]. 济南:山东中医药大学,2015.
- [18] 孙娟.瓜蒌皮干预急性心肌梗死的药效与机制研究[D]. 济南:山东中医药大学,2013.
- [19] 汤蕾.槲皮素抗心肌缺血再灌注损伤的作用机制研究[D].南昌:南昌大学,2013.
- [20] 李小兰,方方,朱伟飞.不同状态下连二亚硫酸钠的稳定性研究[J]. *纺织科技进展*, 2014, 40(2):71-73.
- [21] YU MF, GORENNE I, SU X, et al. Sodium hydrosulfite contractions of smooth muscle are calcium and myosin phosphorylation independent[J]. *Am J Physiol*, 1998, 275 (5 Pt 1):L976-L982.
- [22] 石瑞丽,胡金凤,孔令雷,等.瓜子皂苷己对连二亚硫酸钠致氧糖剥夺/复供诱导PC12细胞凋亡的抑制作用[J]. *中国药理学通报*, 2013, 29(3):333-336.
- [23] DEL PG, VENDITTI A, DEL PM, et al. Amount of spontaneous apoptosis detected by Bax/Bcl-2 ratio predicts outcome in acute myeloid leukemia (AML)[J]. *Blood*, 2003, 101(6):2125-2131.

<sup>Δ</sup> 基金项目:贵州省科技计划项目(No.黔科合平台人才[2018]5744号);遵义市创新人才团队培养项目(No.遵市科合[2016]7号)

\* 副主任药师,硕士。研究方向:药品检验、新药研究。电话:0851-28928059。E-mail:fenghua781014@163.com

(收稿日期:2018-11-04 修回日期:2019-03-11)

(编辑:段思怡)

common peaks was evaluated by using the *TCM Chromatographic Fingerprint Similarity Evaluation System* (2004 A edition) to confirm common peaks. Cluster analysis and principal component analysis were performed by using SPSS 19.0 software. RESULTS: The similarities were more than 0.95 in HPLC chromatograms of 15 batches of *C. annuum*. There were 12 common peaks. Its HPLC fingerprint was in good agreement with that of control fingerprint. 15 batches can be divided into three sub-categories as S1, S3-S5, S7, S9-S13 sub-categorie, S2, S14, S15 sub-categorie and S6, S8 sub-categorie. Through the principal component analysis, the cumulative contribution rate of 4 main component factors was 94.093, and comprehensive score of S5 was the highest with the best quality. CONCLUSIONS: Established HPLC fingerprints, cluster analysis and principal component analysis results can provide reference for the quality control of *C. annuum*.

**KEYWORDS** *Capsicum annuum*; HPLC; Fingerprint; Cluster analysis; Principal component analysis

辣椒为茄科植物辣椒(*Capsicum annuum* L.)的干燥成熟果实,被2015年版《中国药典》(一部)和2003年版《贵州省中药材、民族药材质量标准》记载为药材品种<sup>[1-2]</sup>。辣椒具有温中散寒、开胃消食的功效,可用于治疗寒滞腹痛、呕吐、泻痢、冻疮<sup>[1-2]</sup>。辣椒素是辣椒中的一种辛辣成分,可通过结合辣椒素受体,使细胞内钙离子浓度升高,引起神经元及其纤维释放多种内啡肽,具有抗炎、镇痛、扩张心血管、抗肿瘤、保护胃黏膜、促进溃疡愈合、抑制幽门螺杆菌等作用<sup>[3-4]</sup>。目前辣椒的质量控制项目只有性状、显微及薄层鉴别、辣椒素和二氢辣椒素含量测定。其中2015年版《中国药典》(一部)仅对上述两个主成分的含量进行控制,这就难以全面评价其质量。

指纹图谱技术是整体表征中药所含成分的一种有效方法,是中药及其制剂质量控制的有效手段之一<sup>[3]</sup>。辣椒含有辣椒素、二氢辣椒素、降二氢辣椒碱、高辣椒碱、高二氢辣椒碱、辣椒红色素、辣椒玉红素等成分<sup>[4]</sup>。通过查阅文献发现,目前还未有体现辣椒整体化学信息的研究报道。为此,笔者采用高效液相色谱法(HPLC)建立了15批辣椒药材样品的指纹图谱,并结合聚类分析法进行综合评价,以期为其质量控制提供参考。

## 1 材料

### 1.1 仪器

LC-1260型HPLC仪,包括四元泵、二极管阵列检测器、柱温箱、自动进样器、Agilent1260型工作站(美国Agilent公司);AB204-S型电子分析天平(瑞士Mettler-Toledo公司);KQ-500DV型数控超声波清洗机(昆山市超声仪器有限公司);YF-111型中药粉碎机(浙江瑞安永历制药机械有限公司)。

### 1.2 药品与试剂

辣椒素对照品(中国食品药品检定研究院,批号:1110839-201403,纯度:100%);甲醇(色谱纯,天津市科密欧化学试剂有限公司);其余试剂均为分析纯,水为纯化水。

### 1.3 药材

15批药材样品均于2017年9月采集于贵州省遵义市,经遵义市食品药品检验所邓顺超副主任药师鉴定为茄科植物辣椒(*Capsicum annuum* L.)的干燥成熟果实。

样品来源见表1。

表1 辣椒药材样品来源

Tab 1 Sources of *C. annuum*

编号	采集地点	编号	采集地点
S1	遵义湄潭永兴镇	S9	遵义虾子辣椒基地
S2	遵义汇川区牛蹄镇	S10	遵义虾子辣椒基地
S3	遵义虾子辣椒基地	S11	遵义虾子辣椒基地
S4	遵义虾子辣椒基地	S12	遵义虾子辣椒基地
S5	遵义湄潭县黄家坝镇	S13	遵义虾子辣椒基地
S6	遵义务川县丰乐镇	S14	遵义播州区团溪镇
S7	遵义新蒲新区新舟镇	S15	遵义桐梓县坡渡镇
S8	遵义凤冈县绥阳镇		

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

色谱柱:Agilent C<sub>18</sub>(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:甲醇(A)-0.2%磷酸水溶液(B),梯度洗脱(0~10 min, 10% A→20% A; 10~20 min, 20% A→40% A; 20~35 min, 40% A→70% A; 35~50 min, 70% A; 50~55 min, 70% A→10% A; 55~60 min, 10% A);流速:1.0 mL/min;检测波长:235 nm;柱温:30 °C;进样量:15 μL<sup>[5-8]</sup>。

### 2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液 精密称取辣椒素对照品适量,加甲醇制成每1 mL含辣椒素0.05 mg的溶液,即得。

2.2.2 供试品溶液 取样品粉末(过2号筛)约2.0 g,精密称定,置于具塞锥形瓶中,加甲醇20 mL,称定质量,超声(功率:250 w,频率:40 kHz)提取50 min,放至室温,用甲醇补足减失的质量,经0.45 μm微孔滤膜滤过,取续滤液,即得。

### 2.3 方法学考察

2.3.1 精密度试验 取“2.2.2”项下供试品溶液(编号:S3)适量,按“2.1”项下色谱条件连续进样测定6次,以辣椒素峰为参照,记录各共有峰的相对保留时间和相对峰面积。结果,12个共有峰相对保留时间和相对峰面积的RSD均小于3%,表明本方法精密度良好。

2.3.2 稳定性试验 取“2.2.2”项下供试品溶液(编号:S3)适量,分别于室温下放置0、2、4、8、12、16、24 h时按“2.1”项下色谱条件进样测定,以辣椒素峰为参照,记录各共有峰的相对保留时间和相对峰面积。结果,12个共有峰相对保留时间和相对峰面积的RSD均小于3%

( $n=7$ ),表明供试品溶液在室温下放置 24 h 内基本稳定。

2.3.3 重复性试验 取样品粉末(编号:S3)6份,每份约 2.0 g,精密称定,按“2.2.2”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,以辣椒素峰为参照,记录各共有峰的相对保留时间和相对峰面积。结果,12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。

## 2.4 HPLC 指纹图谱生成与相似度、共有峰相关分析

2.4.1 HPLC 指纹图谱的生成 取 15 批药材样品各适量,按“2.2.2”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。采用《中药色谱指纹图谱相似度评价系统》(2004 A 版)对 15 批药材样品的 HPLC 指纹图谱进行分析,得 HPLC 指纹图谱,详见图 1、图 2。

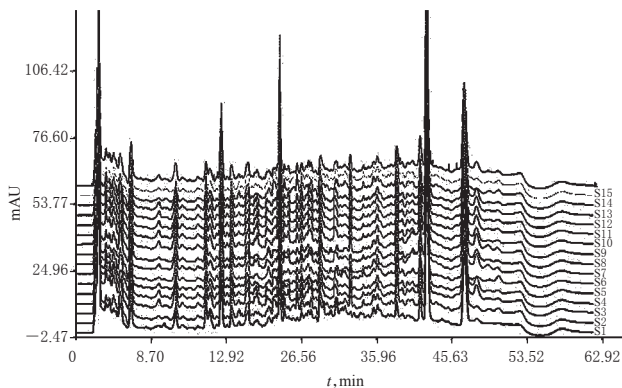


图 1 15 批药材样品的 HPLC 叠加指纹图谱

Fig 1 HPLC superimposed fingerprints of 15 batches of medicinal materials

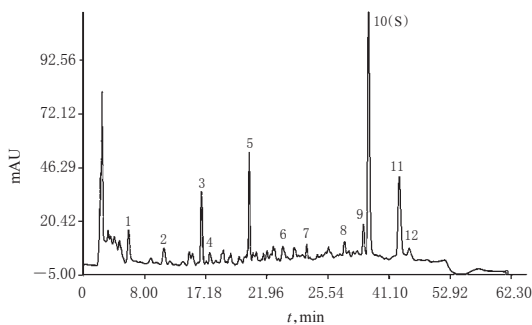


图 2 药材样品的 HPLC 对照指纹图谱

Fig 2 HPLC reference fingerprints of medicinal materials

2.4.2 相似度分析 采用《中药色谱指纹图谱相似度评价系统》(2004A 版)对样品进行整体相似度分析。结果显示,15 批药材样品的相似度均大于 0.95,且与对照指纹图谱具有较好的一致性,表明样品间成分差异较小、质量稳定性良好,详见表 2。

2.4.3 共有峰的指认及相关分析 15 批药材样品共有 12 个共有峰,通过与对照品 HPLC 图(见图 3)对比,指认出 10 号峰为辣椒素峰。由于该峰峰面积大,且为所有样品共有,故以其保留时间和峰面积为参照,计算其他峰

相对于该成分峰的相对保留时间和相对峰面积,详见表 3、表 4。

表 2 15 批药材样品相似度评价结果

Tab 2 Similarity evaluation results of 15 batches of medicinal materials

编号	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13	S14	S15	平均值
S1	1	0.968	0.977	0.787	0.975	0.961	0.964	0.964	0.964	0.976	0.976	0.977	0.978	0.975	0.968	0.985
S2	0.968	1	0.967	0.818	0.969	0.937	0.959	0.959	0.959	0.967	0.969	0.967	0.968	0.969	0.960	0.984
S3	0.977	0.967	1	0.763	0.998	0.967	0.938	0.976	0.938	0.935	0.942	0.946	0.975	0.998	0.967	0.996
S4	0.915	0.928	0.956	1	0.941	0.926	0.941	0.943	0.928	0.944	0.974	0.918	0.946	0.963	0.952	0.995
S5	0.975	0.969	0.998	0.753	1	0.966	0.941	0.973	0.941	0.998	0.998	0.998	0.998	0.965	0.969	0.969
S6	0.961	0.937	0.967	0.818	0.966	1	0.932	0.958	0.932	0.965	0.963	0.967	0.967	0.966	0.937	0.962
S7	0.964	0.959	0.938	0.805	0.941	0.932	1	0.944	1	0.935	0.938	0.938	0.938	0.941	0.959	0.980
S8	0.964	0.959	0.976	0.797	0.973	0.958	0.944	1	0.944	0.973	0.974	0.976	0.975	0.973	0.959	0.961
S9	0.964	0.959	0.938	0.805	0.941	0.932	0.946	0.944	1	0.935	0.938	0.938	0.938	0.941	0.959	0.995
S10	0.976	0.967	0.945	0.759	0.998	0.965	0.935	0.973	0.935	1	0.945	0.934	0.999	0.998	0.967	0.996
S11	0.976	0.969	0.956	0.760	0.998	0.963	0.938	0.974	0.938	0.925	1	0.964	0.999	0.998	0.969	0.995
S12	0.977	0.967	0.954	0.763	0.998	0.967	0.938	0.976	0.938	0.982	0.980	1	0.840	0.998	0.967	0.994
S13	0.978	0.968	0.960	0.764	0.998	0.967	0.938	0.975	0.938	0.999	0.999	0.978	1	0.998	0.968	0.997
S14	0.975	0.969	0.998	0.753	0.974	0.966	0.941	0.973	0.941	0.998	0.998	0.998	0.998	1	0.969	0.984
S15	0.968	0.967	0.967	0.818	0.969	0.937	0.959	0.959	0.959	0.967	0.969	0.967	0.968	0.969	1	0.988

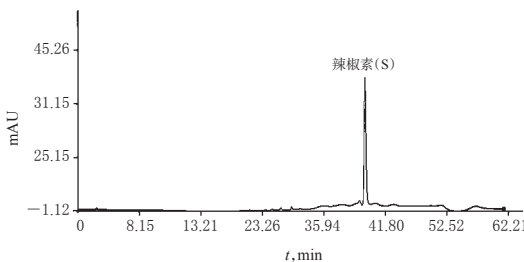


图 3 对照品的 HPLC 图

Fig 3 HPLC chromatograms of substance control

表 3 15 批药材样品 HPLC 图谱共有峰的相对保留时间

Tab 3 Relative retention time of common peaks of 15 batches of medicinal materials

峰号	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13	S14	S15	RSD, %
1	0.159	0.158	0.157	0.158	0.158	0.158	0.157	0.158	0.159	0.155	0.155	0.157	0.156	0.158	0.159	0.13
2	0.284	0.281	0.282	0.286	0.284	0.283	0.281	0.282	0.281	0.283	0.282	0.281	0.284	0.284	0.283	0.15
3	0.372	0.370	0.371	0.372	0.375	0.374	0.376	0.371	0.372	0.374	0.370	0.372	0.374	0.369	0.368	0.23
4	0.415	0.412	0.413	0.416	0.415	0.413	0.416	0.415	0.417	0.416	0.413	0.412	0.410	0.415	0.416	0.20
5	0.444	0.442	0.446	0.445	0.447	0.442	0.443	0.446	0.441	0.446	0.442	0.441	0.440	0.443	0.442	0.22
6	0.581	0.583	0.584	0.585	0.582	0.586	0.581	0.585	0.584	0.580	0.584	0.580	0.581	0.584	0.586	0.21
7	0.643	0.642	0.643	0.645	0.646	0.647	0.642	0.645	0.643	0.642	0.645	0.642	0.643	0.641	0.643	0.17
8	0.699	0.700	0.697	0.696	0.697	0.701	0.697	0.702	0.696	0.698	0.696	0.695	0.694	0.697	0.693	0.25
9	0.914	0.912	0.915	0.916	0.917	0.915	0.916	0.913	0.914	0.915	0.916	0.914	0.913	0.915	0.914	0.14
10	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
11	1.108	1.106	1.107	1.103	1.109	1.018	1.107	1.105	1.104	1.109	1.106	1.102	1.104	1.107	1.103	0.23
12	1.143	1.142	1.140	1.145	1.143	1.142	1.142	1.146	1.145	1.141	1.140	1.140	1.142	1.141	1.143	0.19

## 2.5 聚类分析

以各共有峰的峰面积原始数据为变量,采用 SPSS 19.0 软件对原始数据进行标准化,以欧氏距离为测度进行聚类分析,详见图 4。由图 4 可知,15 批药材样品可聚为 3 类:S1、S3~S5、S7、S9~S13 聚为一类,S2、S14、S15 聚为一类,S6、S8 聚为一类。

表4 15批样品HPLC图谱共有峰的相对峰面积

Tab 4 Relative peak area of common peaks of 15 batches of samples

峰号	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13	S14	S15	RSD,%
1	0.149	0.253	0.152	0.078	0.148	0.176	0.150	0.586	0.060	0.220	0.170	0.170	0.149	0.141	0.149	1.20
2	0.078	0.065	0.093	0.038	0.080	0.071	0.097	0.171	0.035	0.097	0.077	0.044	0.085	0.087	0.045	2.30
3	0.055	0.054	0.310	0.089	0.054	0.055	0.098	0.325	0.066	0.142	0.080	0.083	0.055	0.056	0.052	0.12
4	0.271	0.148	0.071	0.112	0.273	0.279	0.460	0.217	0.076	0.033	0.109	0.152	0.260	0.055	0.051	0.29
5	0.046	0.050	0.231	0.299	0.261	0.046	0.039	0.039	0.277	0.407	0.051	0.045	0.046	0.285	0.125	0.19
6	0.263	0.408	0.027	0.050	0.027	0.266	0.234	0.677	0.017	0.056	0.470	0.164	0.292	0.271	0.206	0.44
7	0.027	0.032	0.106	0.084	0.064	0.028	0.039	0.107	0.017	0.174	0.028	0.036	0.026	0.027	0.035	0.03
8	0.065	0.075	0.081	0.041	0.053	0.053	0.079	0.126	0.060	0.150	0.127	0.085	0.067	0.065	0.068	0.04
9	0.115	0.070	0.139	0.073	0.201	0.110	0.127	0.120	0.076	0.130	0.078	0.084	0.109	0.039	0.034	0.14
10	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
11	0.427	0.606	0.605	0.385	0.445	0.424	0.501	0.561	0.419	0.443	0.601	0.343	0.734	0.435	0.504	1.05
12	0.048	0.038	0.035	0.045	0.049	0.052	0.039	0.097	0.084	0.065	0.056	0.109	0.085	0.053	0.062	0.22

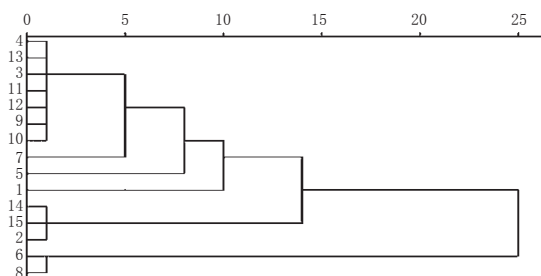


图4 15批药材样品聚类分析树状图

Fig 4 Cluster analysis dendrogram of 15 batches of medicinal materials

2.6 主成分分析

2.6.1 主成分因子特征值、方差贡献率分析 采用SPSS 19.0软件进行主成分因子分析,其特征值和方差贡献率详见表5。由表5可知,以特征值>1为标准,得到前4个主成分因子的特征值分别为56.299、16.826、13.591、7.377,方差贡献率分别为56.299%、16.826%、13.591%、7.377%,累积方差贡献率为94.093%,表明前4个主成分即可以代表样品94%以上的信息,提示该组数据有突出的成分可作为依据,适用于主成分分析。

表5 4个主成分因子的特征值和方差贡献率

Tab 5 Eigenvalue and variance contribution rate of 4 main component factors

主成分因子	特征值	方差贡献率,%	累积方差贡献率,%
1	6.756	56.299	56.299
2	2.019	16.826	73.125
3	1.631	13.591	86.716
4	0.885	7.377	94.093

采用前4个主成分因子为指标对15批药材样品进行评价,详见表6。由表6可知,主成分因子1可反映成分2、3、4、5、6、7、8、10、11、12的信息,主成分因子2可反映成分1、9、12的信息,主成分因子3可反映成分1、6、7的信息,主成分因子4可反映成分1、2、3的信息。

2.6.2 综合质量评分 以上述4个主成分因子对15批药材样品质量进行综合评分(综合得分=相应的因子得分×√相应主成分因子的特征值,综合得分越高表示药材

样品整体质量越好<sup>[9]</sup>),结果见表7。由表7可知,S5药材样品主成分因子综合得分最高,该批样品中成分2、3、4、5、6、7、8、10、11、12的含量相对较高,整体质量相对较好。

表6 旋转后的主因子载荷矩阵表

Tab 6 Main cause subload matrix table after rotation

成分	主成分因子1	主成分因子2	主成分因子3	主成分因子4
1	0.079	0.714	0.492	0.433
2	0.890	-0.139	0.022	0.307
3	0.492	0.081	-0.669	0.447
4	0.875	-0.414	-0.001	0.123
5	0.870	0.123	-0.342	-0.244
6	0.724	0.072	0.637	-0.048
7	0.936	0.120	0.298	-0.042
8	0.714	-0.455	0.099	-0.400
9	-0.099	0.912	-0.166	-0.327
10	0.812	0.230	-0.502	0.008
11	0.959	-0.014	0.195	0.089
12	0.833	0.432	-0.046	-0.225

表7 15批药材样品主成分因子得分及排序

Tab 7 Main component factor score and ranking of 15 batches of medicinal materials

编号	主成分因子1得分	主成分因子2得分	主成分因子3得分	主成分因子4得分	综合得分	排序
S1	-0.817	-1.411	-1.791	0.344	-6.091	14
S2	-0.530	1.195	1.510	-0.664	1.625	8
S3	0.926	-0.168	0.064	0.360	2.589	5
S4	-2.178	-0.035	0.691	2.429	-2.544	12
S5	0.972	-0.103	0.097	0.353	2.836	1
S6	-1.342	-1.198	-0.071	-0.926	-6.152	15
S7	-0.324	1.559	-1.625	-0.565	-1.232	10
S8	-0.365	-1.587	0.605	-2.122	-4.427	13
S9	-0.324	1.559	-1.625	-0.565	-1.232	11
S10	0.884	-0.185	0.189	0.374	2.628	4
S11	0.839	-0.467	0.183	0.564	2.281	7
S12	0.926	-0.168	0.064	0.360	2.589	6
S13	0.890	-0.082	0.100	0.369	2.671	3
S14	0.972	-0.103	0.097	0.353	2.836	2
S15	-0.530	1.195	1.510	-0.664	1.625	9

3 讨论

3.1 指纹图谱相关参数考察

笔者通过采用二极管阵列检测器在190~400 nm波长范围内进行紫外全波长扫描,扫描结果发现在225、235、280 nm波长处有最大吸收,其中在235 nm波长处色谱图基线噪音较低,各峰的保留时间适中,分离度较好,基线稳定,有利于指纹图谱分析,考虑兼顾各成分的检测信号强度和检测灵敏度,故选择检测波长为235 nm。笔者通过考察不同浓度甲醇、乙醇为提取溶剂发现,以甲醇提取时的出峰个数较多、峰形好,且基线平整,故选择甲醇为提取溶剂。又通过比较超声、浸渍、回流提取3种不同提取方法对色谱图的影响,结果3种提取方法下所得色谱图没有差异,考虑到超声操作省时、方便,故选择提取方法为超声提取;进一步对30、40、50、60 min等不同提取时间进行考察,结果发现提取50 min后提取效果基本接近,故选择提取时间为50 min。此外

通过对甲醇-磷酸、甲醇-水、乙腈-水3个流动相系统(等度洗脱)进行考察,结果各峰分离度均达不到分离要求;进一步选择梯度洗脱后发现,以甲醇-0.2%磷酸水溶液洗脱效果最好,出峰数最多,基线平稳,各峰分离度均达到分离要求<sup>[10-11]</sup>。

### 3.2 参照峰的选择

辣椒主要成分为辣椒素和二氢辣椒素<sup>[12]</sup>,笔者以辣椒素和二氢辣椒素为参照时发现,辣椒素峰靠中、峰面积大,而二氢辣椒素峰靠后、峰面积相对较小,故通过色谱定位,指认10号峰为辣椒素。

### 3.3 不同产地辣椒药材成分比较

笔者通过建立辣椒HPLC指纹图谱,并对15批药材样品进行比较时发现,辣椒对照指纹图谱共有峰保留时间、相对峰面积与各产地辣椒样品非常吻合,15批药材样品相似度均在0.95以上;从15批药材样品指纹图谱12个共有峰可以看出,峰面积大小差异较大,说明不同产地辣椒共有成分虽一致,但含量存在差异,这可能与其生长环境因素有关<sup>[13-14]</sup>。

### 3.4 辣椒药用情况

以往辣椒主要在食品方面研发较多,在药用方面研究较少。其实早在《全国中草药汇编》中已将辣椒纳入药用,而自从辣椒被2010年版《中国药典》(一部)收载为药材品种后,其药用开发开始受到重视。目前有辣椒风湿膏、复方辣椒碱乳膏、辣椒碱乳膏等药字号品种上市。辣椒是遵义市的一项传统优势产业,有近两百多年的种植历史。遵义辣椒1960年被评为全国七大名椒之一,2001年荣获中国农业博览会“名牌产品”<sup>[15]</sup>。遵义产辣椒品种较多,笔者只针对茄科植物辣椒(*C. annuum* L.)这个药典品种进行研究,后续拟扩大品种研究范围,以期为遵义辣椒深度开发与应用打下基础。

综上所述,本研究所建HPLC指纹图谱、聚类分析、主成分分析结果可为辣椒药材的质量控制提供参考。

### 参考文献

[1] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S].2015年

版.北京:中国医药科技出版社,2015:370.

- [2] 贵州省食品药品监督管理局.贵州省中药材、民族药材质量标准[S].2003年版.贵阳:贵州科技出版社,2003:406.
- [3] 梁晨,韩盛玺.辣椒素临床应用的研究进展[J].华西药学杂志,2008,23(2):185-187.
- [4] 蒋海清,侯奕,黄晓焰,等.辣椒治疗胃黏膜损伤及溃疡的实验与临床研究[J].赣南医学院学报,2003,23(4):369-372.
- [5] 张晶,佟全胜,石磊岭,等.辣椒的化学成分研究进展[J].中成药,2009,31(12):1906-1912.
- [6] 刘东方,赵丽娜,李银峰,等.中药指纹图谱技术的研究进展及应用[J].中草药,2016,47(22):4085-4094.
- [7] 冯华,石尚友,罗秀琼,等.黔产大菟丝子药材高效液相色谱指纹图谱的鉴别研究[J].时珍国医国药,2017,28(3):634-635.
- [8] 冯华,石尚友,罗秀琼,等.黔产见血清药材薄层色谱与HPLC指纹图谱识别[J].时珍国医国药,2017,28(10):2423-2425.
- [9] 朱星宇,陈勇强.SPSS多元统计分析方法及应用[M].北京:清华大学出版社,2011:241-247.
- [10] 范莉,侯小龙,王文清,等.指纹图谱结合一测多评模式在藤茶质量评价中的应用研究[J].中草药,2016,47(22):4076-4081.
- [11] 冯华,刘英波,刘亮,等.黔产辣蓼及其混淆品高效液相指纹图谱研究[J].中草药,2015,46(19):2943-2945.
- [12] 张晶,孙长波,石磊岭,等.RP-HPLC法测定辣椒中辣椒素、二氢辣椒素和降二氢辣椒素含量[J].药物分析杂志,2011,31(2):244-246.
- [13] 付文婷,詹永发,何建文,等.10个贵州地方辣椒品种品质评价[J].中国瓜菜,2018,31(12):37-40.
- [14] 张建,杨瑞东,陈蓉,等.贵州遵义辣椒矿质元素含量与其品质相关性分析[J].食品科学,2018,39(10):215-220.
- [15] 封兴智,詹永发,杨红,等.遵义市辣椒产业发展的现状、问题与对策[J].辣椒杂志,2007,5(2):5-7,10.

(收稿日期:2018-04-23 修回日期:2019-03-19)

(编辑:余庆华)

《中国药房》杂志——中国科技核心期刊,欢迎投稿、订阅