

# 藏药鸭嘴花的指纹图谱建立、化学模式识别及含量测定<sup>△</sup>

干志强<sup>1,2,3\*</sup>,熊双凤<sup>4</sup>,钟 镞<sup>2,3,4</sup>,罗晴方<sup>2,3,4</sup>,张 艺<sup>2,3,4#</sup>(1.成都中医药大学药学院,成都 611137;2.成都中医药大学民族医药学术传承创新研究中心,成都 611137;3.成都中医药大学中成药质量评价重点实验室,成都 611137;4.成都中医药大学民族医药学院,成都 611137)

中图分类号 R917;R284 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2022)14-1712-06  
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2022.14.09



**摘 要** 目的 建立藏药鸭嘴花药材的指纹图谱,并测定鸭嘴花碱、鸭嘴花酮碱的含量,结合化学模式识别分析综合评价其质量。**方法** 以鸭嘴花碱为参照,采用《中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012版)》建立11批鸭嘴花药材的高效液相色谱(HPLC)指纹图谱,指认共有峰并进行相似度评价;采用SPSS 25、SIMCA 14.1软件进行聚类分析、主成分分析、正交偏最小二乘法-判别分析,以变量重要性投影(VIP)值>1.0为标准筛选影响鸭嘴花药材质量的差异性成分;采用HPLC法同时测定其中鸭嘴花碱、鸭嘴花酮碱的含量。**结果** 11批鸭嘴花样品共有23个共有峰,指认2号峰为鸭嘴花碱、4号峰为鸭嘴花酮碱;相似度为0.920~0.994。聚类分析结果显示,11批样品可分为3类(距离为14),S1~S8为一类(产地云南、西藏)、S9为一类(产地云南),S10~S11为一类(产地四川);主成分分析、正交偏最小二乘法-判别分析结果显示,S9、S10~S11分别为一类,S1~S8被进一步分为2类,S1、S4为一类,S2~S3、S5~S8为一类;VIP值>1.0的共有峰包括2、16、21、17、1、13号峰。11批样品中,鸭嘴花碱、鸭嘴花酮碱的含量分别为4.12~10.22、0.60~3.26 mg/g。**结论** 所建HPLC指纹图谱和含量测定方法操作简单、准确,结合化学模式识别分析可用于评价藏药鸭嘴花的整体质量。鸭嘴花碱等成分可能是影响药材质量的差异性成分。**关键词** 藏药;鸭嘴花;鸭嘴花碱;鸭嘴花酮碱;指纹图谱;化学模式识别;含量测定;高效液相色谱法

## Fingerprint establishment, chemical pattern recognition and content determination of Tibetan medicine *Adhatoda vasica*

GAN Zhiqiang<sup>1, 2, 3</sup>, XIONG Shuangfeng<sup>4</sup>, ZHONG Lu<sup>2, 3, 4</sup>, LUO Qingfang<sup>2, 3, 4</sup>, ZHANG Yi<sup>2, 3, 4</sup> (1. College of Pharmacy, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China; 2. Academic Inheritance and Innovation Research Center of Ethnic Medicine, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China; 3. Key Laboratory of Quality Evaluation of Chinese Patent Medicine, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China; 4. Ethnic Medicine School, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China)

**ABSTRACT** **OBJECTIVE** To establish the fingerprint of Tibetan medicine *Adhatoda vasica*, and determine the contents of vasicine and vasicinone, so as to comprehensively evaluate its quality combined with chemical pattern recognition. **METHODS** Using vasicine as control, HPLC fingerprints of 11 batches of *A. vasica* were established with *Similarity Evaluation System for Chromatographic Fingerprints of TCM* (2012 edition). The common peaks were identified and their similarities were evaluated. Cluster analysis (CA), principal component analysis (PCA) and orthogonal partial least squares-discriminant analysis (OPLS-DA) were performed by using SPSS 25 software and SIMCA 14.1 software. The variable importance in the projection (VIP) value>1.0 was used as the standard to screen the differential components affecting the quality of *A. vasica*; the contents of vasicine and vasicinone were determined by HPLC simultaneously. **RESULTS** A total of 23 common peaks were found, and peak 2 was identified as vasicine, and peak 4 was identified as vasicinone. Their similarities ranged 0.920-0.994. The results of CA showed that 11 batches of samples were clustered into 3 categories (distance was 14): S1-S8 as one category (origin: Yunnan, Tibet), S9 as one category (origin: Yunnan), S10-S11 as one category (origin: Sichuan); the results of PCA and OPLS-DA showed that S9 and S10-S11 were divided into one category respectively, and S1-S8 were further divided into 2 categories: S1, S4 as one category, S2-S3, S5-S8 as one category; the common peaks with VIP value>1.0 included peak 2, peak 16, peak 21, peak 17, peak 1 and peak 13. Among 11 batches of samples, contents of vasicine and vasicinone were 4.12-10.22 and 0.60-3.26 mg/g, respectively. **CONCLUSIONS** Established HPLC fingerprint and content determination method are simple

<sup>△</sup> 基金项目 国家重点研发计划-中医药现代化研究重点专项 (No.2017YFC1703900);四川省药品监督管理局中药(民族药)标准提升项目(No.510201201903121)  
\* 第一作者 硕士研究生。研究方向:中药、民族药药效物质基础及质量标准化。E-mail:931125098@qq.com  
# 通信作者 研究员,博士生导师。研究方向:民族药药效物质基础及质量标准化。电话:028-61932600。E-mail:zhangyi@cdutcm.edu.cn

and accurate, and can be used for the quality evaluation of Tibetan medicine *A. vasica*, by combining with chemical pattern recognition. Vasicine and other components may be the differential components that affect the quality of the drug.

**KEYWORDS** Tibetan medicine; *Adhatoda vasica*; vasicine; vasicinone; fingerprint; chemical pattern recognition; content determination; HPLC

藏药鸭嘴花(藏文名ཁྱེལ་ཁྱེལ་)是爵床科鸭嘴花属植物鸭嘴花 *Adhatoda vasica* Nees.的干燥枝和叶。藏医药著作《晶珠本草》记载,鸭嘴花味苦性凉,具有清血热、肝热的功效<sup>[1]</sup>,已被广泛用于高血压、高血脂、肝胆疾病等的治疗<sup>[2]</sup>;同时,该药也是七十味珍珠丸、三十五味沉香丸等多种藏成药的配伍成分。目前,有关鸭嘴花化学成分的报道主要涉及喹唑啉类生物碱和黄酮类成分<sup>[3-6]</sup>。现代药理学研究报道,该药具有抗炎、抗肿瘤、抗菌等作用<sup>[6-9]</sup>,具有一定的药用价值。

本课题组前期调查发现,鸭嘴花在各地藏医院、制药企业的实际使用中存在着基原复杂、多品种混用的现象<sup>[10]</sup>,且该药现有质量标准(2005年版《云南省中药材标准(第3册)》)只有薄层鉴别和水分、浸出物检查,没有含量测定等内容<sup>[11]</sup>;同时,通过查询中国知网发现,其质量评价的相关文献较少。这使得其质量难以得到有效控制,给制剂生产和临床应用造成了一定的安全隐患。本课题组前期以鸭嘴花为对象,依次开展了本草考证、药效物质基础研究等一系列工作<sup>[10,12]</sup>,得出了生物碱类成分较符合其药性、药效特点这一结论<sup>[13]</sup>,并进一步对其质量标准进行了完善<sup>[14]</sup>。在此基础上,本研究结合现有文献报道<sup>[15]</sup>,选用鸭嘴花中含量相对较高且研究相对集中的药效成分鸭嘴花碱、鸭嘴花酮碱作为指标,建立高效液相色谱(high performance liquid chromatograph, HPLC)指纹图谱并测定其含量,同时结合化学模式识别方法进一步分析,以期能够综合、全面地评价鸭嘴花药材的质量,为有效控制其品质提供参考。

1 材料

1.1 主要仪器

本研究所用主要仪器包括 LC-2030C 3D Plus 型 HPLC 仪(日本 Shimadzu 公司)、SB5200D 型超声清洗仪(宁波新艺超声设备有限公司)、D2-8 型超纯水制备仪(成都宝赛思科技有限公司)、BP121S 型电子天平[赛多利斯科学仪器(北京)有限公司]、AE224 型电子分析天平(上海舜宇恒平科学仪器有限公司)等。

1.2 主要药品与试剂

11 批鸭嘴花药材采集或购买自我国西藏、四川、云南 3 个省份,经成都中医药大学民族医药学院张艺研究员鉴定为爵床科鸭嘴花属植物鸭嘴花 *A. vasica* Nees.的干燥枝和叶(具体来源信息见表 1);鸭嘴花碱对照品(批号 Y-164-190701,纯度>98%)购自成都瑞芬思生物科技有限公司;鸭嘴花酮碱对照品为本课题组前期分离所得(结构经核磁共振氢谱、核磁共振碳谱确证,纯度>98%)<sup>[13]</sup>;甲醇为色谱醇,其余试剂均为分析纯,水为超纯水。

表 1 11 批鸭嘴花样品的来源信息

编号	来源	采集/购买时间	备注
S1	四川成都市荷花池药材市场	2019 年 10 月	商品,产自西藏林芝市
S2	云南西双版纳州景洪市南药园	2019 年 8 月	自采
S3	云南西双版纳州景洪市嘎洒镇	2019 年 8 月	自采
S4	西藏拉萨市	2019 年 7 月	商品,产自西藏山南市
S5	云南普洱市墨江县	2019 年 10 月	自采
S6	云南西双版纳州傣医医院	2019 年 8 月	商品,产自云南西双版纳州
S7	云南西双版纳州景洪市勐养镇	2019 年 10 月	自采
S8	云南西双版纳州景洪市嘎洒镇嘎洒村	2019 年 10 月	自采
S9	云南西双版纳州勐海县勐宋乡三迤上寨	2019 年 10 月	自采
S10	四川成都市四川大学华西药学院药用植物园	2019 年 10 月	自采
S11	四川成都市成都中医药大学药用植物园	2019 年 5 月	自采

2 方法与结果

2.1 指纹图谱的建立

2.1.1 色谱条件 以 Thermo Hypersil Gold™ C<sub>18</sub> (250 mm×4.6 mm, 5 μm) 为色谱柱,以甲醇为流动相 A、0.1% 磷酸溶液为流动相 B 进行梯度洗脱(0~10 min, 5% A; 10~30 min, 5% A→15% A; 30~47 min, 15% A→25% A; 47~92 min, 25% A→30% A);检测波长为 283 nm;流速为 1.0 mL/min;柱温为 30 ℃;进样量为 10 μL。

2.1.2 供试品溶液的制备 精密称取鸭嘴花药材(编号 S10)粉末(过四号筛,下同)0.5 g,置于 25 mL 锥形瓶中,精密加入 50% 甲醇 20 mL,密塞,称定质量,超声(功率 720 W,频率 40 kHz)处理 30 min,放冷,称定质量,用相同溶剂补足减失的质量,摇匀,以 0.45 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液,即得。

2.1.3 混合对照品溶液的制备 精密称取鸭嘴花碱、鸭嘴花酮碱对照品适量,加 50% 甲醇,分别制成每 1 mL 含鸭嘴花碱 0.809 mg、鸭嘴花酮碱 0.746 mg 的单一储备液。分别吸取上述储备液 1、0.5 mL,用 50% 甲醇定容于 10 mL 量瓶中,得两种成分质量浓度分别为 0.080 9、0.037 3 mg/mL 的混合对照品溶液。

2.1.4 精密度试验 精密称取同一批样品(编号 S10) 0.5 g,照“2.1.2”项下方法制备供试品溶液,照“2.1.1”项下色谱条件连续进样 6 次,以鸭嘴花碱为参照峰,计算各共有峰的相对保留时间、相对峰面积。结果显示,各共有峰相对保留时间、相对峰面积的 RSD 分别为 0.30%~2.18%、0.29%~2.96% (n=6),说明方法精密度较好。

2.1.5 重复性试验 精密称取同一批样品(编号 S10) 0.5 g,共 6 份,照“2.1.2”项下方法制备供试品溶液,照“2.1.1”项下色谱条件进样分析,以鸭嘴花碱为参照峰,计算各共有峰的相对保留时间、相对峰面积。结果显示,各共有峰相对保留时间、相对峰面积的 RSD 分别为 0.21%~2.90%、0.46%~2.98% (n=6),说明方法重复性较好。

2.1.6 稳定性试验 精密称取同一批样品(编号S10) 0.5 g,照“2.1.2”项下方法制备供试品溶液,分别在室温下放置0、2、4、8、12、24 h时照“2.1.1”项下条件进样分析,以鸭嘴花碱为参照峰,计算各共有峰的相对保留时间、相对峰面积。结果显示,各共有峰相对保留时间、相对峰面积的RSD分别为0.87%~2.56%、0.71%~2.75%( $n=6$ ),说明样品在室温下放置24 h内稳定。

2.1.7 指纹图谱的建立 取11批鸭嘴花样品,照“2.1.2”项下方法制备供试品溶液,照“2.1.1”项下色谱条件进样分析。将所得各批次样品的色谱数据导入《中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012版)》,以时间窗宽度0.1 min为条件、S10(色谱响应适中且采样量大)图谱为参照,采用平均数法,经多点校正后生成指纹图谱的共有模式<sup>[16]</sup>,得叠加指纹图谱和对照指纹图谱(R),结果见图1。

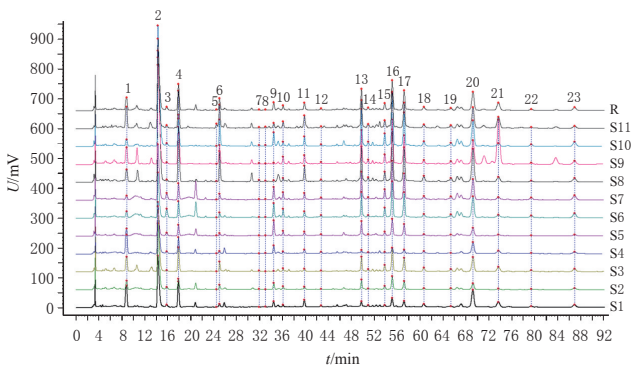
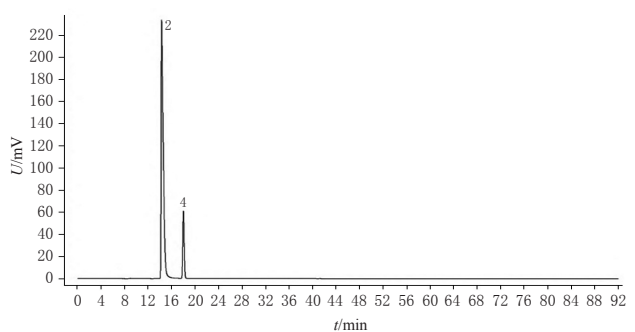


图1 11批鸭嘴花样品的HPLC叠加指纹图谱和对照指纹图谱

2.1.8 共有峰的指认 综合11批样品的色谱信息,选择分离度、稳定性、重复性较好的色谱峰为共有峰,共标定了23个共有峰。经与混合对照品溶液的HPLC图(图2)比对,指认了其中2个色谱峰,分别为鸭嘴花碱(2号峰)和鸭嘴花酮碱(4号峰)。因鸭嘴花碱的峰面积较大且分离度较好,故选其为参照峰。



2:鸭嘴花碱;4:鸭嘴花酮碱

图2 混合对照品溶液的HPLC图

2.1.9 相似度评价 采用《中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012版)》对11批鸭嘴花样品进行相似度评价。结果显示,与对照指纹图谱(R)相比,所有样品的相似度均不低于0.920,表明11批鸭嘴花药材的整体品质较稳定。结果见表2。

表2 11批鸭嘴花样品的相似度评价结果

编号	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	R
S1	1.000	0.906	0.958	0.979	0.850	0.836	0.850	0.930	0.894	0.899	0.937	0.948
S2	0.906	1.000	0.961	0.926	0.876	0.805	0.859	0.972	0.864	0.978	0.887	0.959
S3	0.958	0.961	1.000	0.938	0.909	0.894	0.926	0.988	0.929	0.977	0.970	0.994
S4	0.979	0.926	0.938	1.000	0.809	0.769	0.795	0.907	0.845	0.888	0.889	0.920
S5	0.850	0.876	0.909	0.809	1.000	0.960	0.971	0.911	0.854	0.930	0.924	0.941
S6	0.836	0.805	0.894	0.769	0.960	1.000	0.992	0.877	0.841	0.891	0.930	0.920
S7	0.850	0.859	0.926	0.795	0.971	0.919	1.000	0.919	0.861	0.935	0.941	0.948
S8	0.930	0.972	0.988	0.907	0.911	0.877	0.919	1.000	0.909	0.990	0.951	0.989
S9	0.894	0.864	0.929	0.845	0.854	0.841	0.861	0.909	1.000	0.891	0.940	0.940
S10	0.899	0.978	0.977	0.888	0.930	0.891	0.935	0.990	0.891	1.000	0.934	0.985
S11	0.937	0.887	0.970	0.889	0.924	0.930	0.941	0.951	0.940	0.934	1.000	0.975
R	0.948	0.959	0.994	0.920	0.941	0.920	0.948	0.989	0.940	0.985	0.975	1.000

2.2 化学模式识别分析

2.2.1 聚类分析 将11批鸭嘴花样品指纹图谱共有峰的峰面积导入SPSS 25软件进行聚类分析,采用组间连接法,以平方欧氏距离为测度<sup>[17]</sup>,结果见图3。由图3可知,当距离为25时,11批鸭嘴花样品被分为2类,即S1~S8为一类,S9~S11为一类;当距离为14时,S9与S10~S11被进一步区分。上述结果表明,产自相同省份的鸭嘴花药材成分普遍较为一致(西藏产的S1、S4,云南产的S2、S3、S5~S8,四川产的S10、S11),且产自西藏与云南的鸭嘴花药材具有一定的相似性;但当距离不同时,来源相同的鸭嘴花药材品质也可能存在差异(产自云南的S8和S9)。结合鸭嘴花的指纹图谱可以看出,S8样品中的11、13、16、17、20号峰普遍高于其他批次鸭嘴花样品,S9样品中的21号峰与其他批次样品存在明显差异,这可能是造成这2批样品区别于其他批次样品的主要原因。

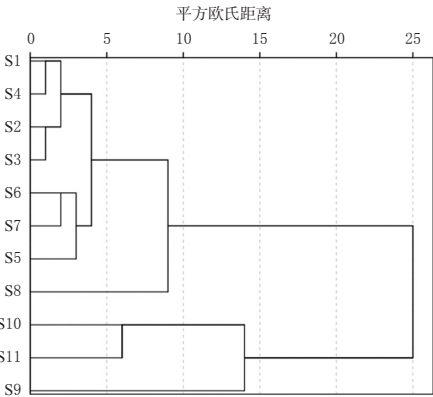


图3 11批鸭嘴花样品的聚类分析树状图

2.2.2 主成分分析 为进一步探讨这11批鸭嘴花样品化学成分之间的差异,本研究应用SIMCA 14.1软件对鸭嘴花指纹图谱共有峰的峰面积进行了主成分分析,结果得分矩阵图的解释率参数 $R^2X$ 为0.997,累计解释能力参数 $Q^2$ 为0.723,以上参数均大于0.5,表明模型稳定且预测准确性较好<sup>[18]</sup>。由得分图(图4)可知,S9、S10~S11分别为一类,S1~S8被进一步分为较为接近的2类(S1、S4为一类,S2~S3、S5~S8为一类),基本证实了聚类分析的结果。

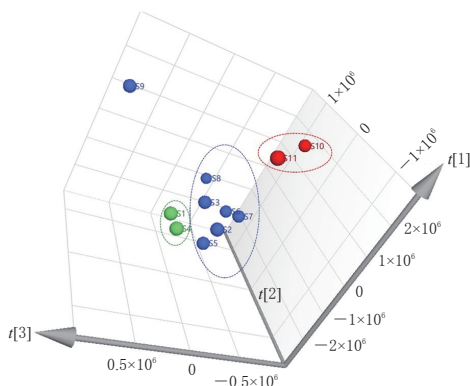


图4 11批鸭嘴花样品的主成分分析得分图

2.2.3 正交偏最小二乘法-判别分析 在“2.2.2”项下主成分分析的基础上,本研究以共有峰峰面积为变量,采用SIMCA 14.1 软件进一步对不同批次的鸭嘴花样品进行了正交偏最小二乘法-判别分析。在建立的正交偏最小二乘法-判别分析模型中,解释率参数 $R^2X$ 为0.999,区分参数 $R^2Y$ 为0.983,累计解释能力参数 $Q^2$ 为0.743,以上参数均大于0.5,表明模型稳定且预测准确性较好<sup>[18]</sup>。从得分图(图5)来看,11批鸭嘴花样品可分为4类,呈现出与聚类分析和主成分分析类似的结果。

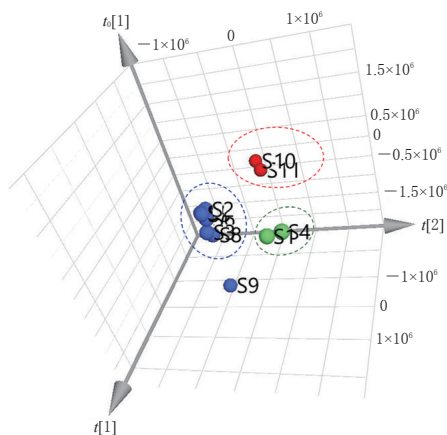


图5 11批鸭嘴花样品的正交偏最小二乘法-判别分析得分图

本研究进一步以变量重要性投影(variable importance in the projection, VIP)值 $>1.0$ 为标准<sup>[19-20]</sup>,以11批样品的共有峰峰面积为变量,筛选影响各批次样品质量的差异性成分。由各共有峰的VIP值(图6)可知,VIP值 $>1.0$ 的共有峰分别为2、16、21、17、1、13号峰,其对应的成分可能是造成11批鸭嘴花样品质量差异的主要原因,为差异性成分。

## 2.3 含量测定

采用HPLC法测定鸭嘴花药材中药效成分鸭嘴花碱、鸭嘴花酮碱的含量。

2.3.1 色谱条件 以Thermo Hypersil Gold™ C<sub>18</sub> (250 mm×4.6 mm, 5 μm)为色谱柱,以甲醇-0.1%磷酸溶液(5:95, V/V)为流动相;检测波长为283 nm;流速为1.0 mL/min;柱温为30 ℃;进样量为10 μL;检测时间为30 min。

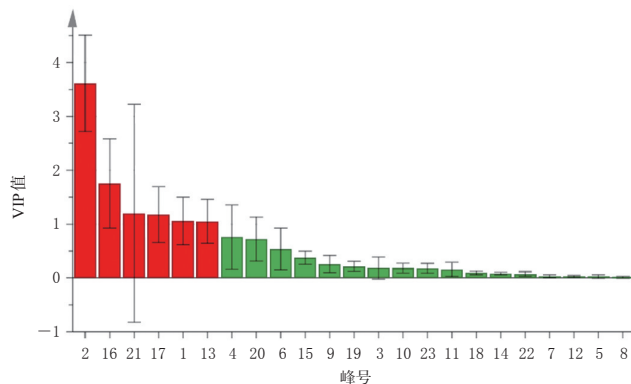


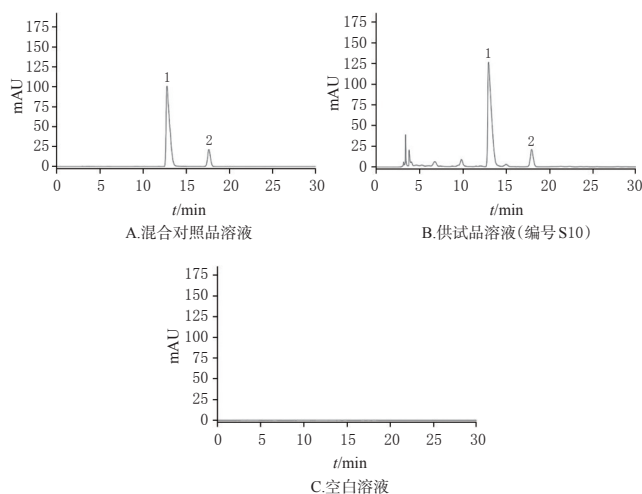
图6 11批鸭嘴花样品各共有峰的VIP图

2.3.2 供试品溶液的制备 同“2.1.2”项。

2.3.3 混合对照品溶液的制备 同“2.1.3”项。

2.3.4 空白溶液的制备 取50%甲醇适量,作为空白溶液。

2.3.5 系统适用性试验 分别取“2.3.2”“2.3.3”“2.3.4”项下供试品溶液(编号S10)、混合对照品溶液、空白溶液,照“2.3.1”项下色谱条件进样分析,记录色谱图。由所得色谱图(图7)可知,各待测成分色谱峰的分离度均不低于1.5,理论板数均不低于3 000,空白溶液对2种成分的测定无干扰。



1:鸭嘴花碱;2:鸭嘴花酮碱

图7 混合对照品溶液、鸭嘴花供试品溶液和空白溶液的HPLC图

2.3.6 线性关系考察 取“2.3.3”项下储备液适量,加50%甲醇,制成鸭嘴花碱质量浓度分别为0.020、0.040、0.080、0.161、0.323、0.647 mg/mL,鸭嘴花酮碱质量浓度分别为0.009、0.018、0.037、0.074、0.149、0.298 mg/mL的系列混合线性工作溶液,照“2.3.1”项下色谱条件进样分析,记录峰面积。以待测成分峰面积为纵坐标(Y)、质量浓度为横坐标(X)进行线性回归,得鸭嘴花碱回归方程为 $Y=3\times10^7X+60\ 576$  ( $r=0.999\ 5$ )、鸭嘴花酮碱回归方程为 $Y=1\times10^7X-21\ 892$  ( $r=0.999\ 1$ )。结果显示,鸭嘴花碱在0.020~0.647 mg/mL、鸭嘴花酮碱在0.009~

0.298 mg/mL 范围内线性关系良好。

2.3.7 精密度试验 取“2.3.2”项下供试品溶液(编号 S10),照“2.3.1”项下色谱条件进样 6 次,记录峰面积。结果显示,鸭嘴花碱、鸭嘴花酮碱峰面积的 RSD 分别为 0.72%、0.57% ( $n=6$ ),表明方法精密度较好。

2.3.8 稳定性试验 精密称取同一批样品(编号 S10) 0.5 g,照“2.3.2”项下方法制备供试品溶液,分别在室温下放置 0、2、4、8、12、24 h 时照“2.3.1”项下色谱条件进样分析,记录峰面积。结果显示,鸭嘴花碱、鸭嘴花酮碱峰面积的 RSD 分别为 0.98%、0.78% ( $n=6$ ),表明供试品在室温下放置 24 h 内稳定性较好。

2.3.9 重复性试验 精密称取同一批样品(编号 S10) 0.5 g,共 6 份,照“2.3.2”项下方法制备供试品溶液,照“2.3.1”项下色谱条件进样分析,记录峰面积并采用标准曲线法计算各成分含量。结果显示,鸭嘴花碱、鸭嘴花酮碱含量的 RSD 分别为 1.07%、0.71% ( $n=6$ ),说明方法重复性较好。

2.3.10 加样回收率试验 称取已知含量的鸭嘴花样品(编号 S10),共 6 份,分别按已知量的 100% 加入混合对照品溶液(按“2.3.3”项下方法制得)适量,照“2.3.2”项下方法制备供试品溶液,照“2.3.1”项下色谱条件进样分析,记录峰面积并计算加样回收率。试验结果(表 3)显示,鸭嘴花碱、鸭嘴花酮碱的平均加样回收率分别为 99.99% (RSD=1.53% ,  $n=6$ )、99.06% (RSD=1.83% ,  $n=6$ ),说明方法准确性较好。

表 3 鸭嘴花碱和鸭嘴花酮碱的加样回收率试验结果 ( $n=6$ )

待测成分	已知量/mg	加入量/mg	测得量/mg	加样回收率/%	平均加样回收率/%	RSD/%
鸭嘴花碱	1.056 2	1.054 0	2.110 0	99.98	99.99	1.52
	1.055 4	1.054 0	2.090 1	98.17		
	1.054 5	1.054 0	2.111 3	100.27		
	1.053 3	1.054 0	2.101 2	99.42		
	1.057 1	1.054 0	2.139 9	102.73		
	1.053 7	1.054 0	2.101 0	99.36		
鸭嘴花酮碱	0.398 0	0.402 8	0.789 4	97.17	99.06	1.83
	0.397 8	0.402 8	0.793 6	98.26		
	0.397 3	0.402 8	0.795 9	98.96		
	0.396 9	0.402 8	0.808 7	102.23		
	0.398 1	0.402 8	0.792 2	97.84		
	0.397 0	0.402 8	0.799 3	99.88		

2.3.11 样品含量测定 取 11 批鸭嘴花样品粉末 0.5 g,照“2.3.2”项下方法制备供试品溶液,照“2.3.1”项下色谱条件平行进样测定 2 次,记录峰面积并采用标准曲线法计算各成分含量。由检测结果(表 4)可知,11 批鸭嘴花样品中,鸭嘴花碱、鸭嘴花酮碱的含量分别为 4.12~10.22、0.60~3.26 mg/g,提示不同产地鸭嘴花药材中上述化学成分的含量差异较大。

表 4 鸭嘴花药材含量测定结果 ( $n=2$ , mg/g)

编号	鸭嘴花碱	鸭嘴花酮碱	编号	鸭嘴花碱	鸭嘴花酮碱
S1	4.12	1.44	S7	6.91	0.93
S2	10.22	0.60	S8	9.44	3.26
S3	6.70	1.36	S9	4.83	2.86
S4	5.60	0.92	S10	4.22	1.59
S5	9.22	0.60	S11	4.57	1.06
S6	5.65	0.95			

3 讨论

3.1 指标成分的确定

通过查阅文献发现,藏药鸭嘴花的现代药理学研究报道较少,相关化合物的药理学研究主要集中在抗炎、抗肿瘤、抗菌作用等方面,其中鸭嘴花碱和鸭嘴花酮碱被证实具有显著的抗炎、抗菌活性<sup>[6]</sup>;同时,鸭嘴花碱被证实能够有效地降低血压,而鸭嘴花酮碱具有较强的抗过敏作用<sup>[21]</sup>,与藏药鸭嘴花的传统功效相符。本课题组前期研究发现,鸭嘴花的化学成分以生物碱类成分为主,此类成分最能体现其“苦味”药性,其中鸭嘴花碱被预测为鸭嘴花治疗类风湿性关节炎的潜在标志物,且该成分与鸭嘴花酮碱均在鸭嘴花中具有相对较高的含量<sup>[13]</sup>,故本研究选择鸭嘴花碱、鸭嘴花酮碱作为藏药鸭嘴花的质量评价指标成分。

3.2 色谱条件的确定

本课题组前期对色谱条件进行了系统考察,通过全波长扫描确定了检测波长,并对比了不同流动相体系(甲醇-水,乙腈-0.1%磷酸溶液、甲醇-0.1%磷酸溶液)、不同流速(0.8、1.0、1.2 mL/min)、不同柱温(25、30、35 ℃)等条件的分离效果,最终确定了适用于鸭嘴花指纹图谱分析和含量测定的最优色谱条件,并通过方法学考察验证了上述方法的可行性。

3.3 指纹图谱及化学模式识别分析

本研究从整体性的角度出发,采用 HPLC 指纹图谱技术结合化学模式识别分析方法对不同来源的 11 批鸭嘴花样品进行评价,结果表明,11 批不同产地的鸭嘴花样品呈现出较好的相似性。通过建立 HPLC 指纹图谱、对比混合对照品图谱,共确定了 23 个稳定性、分离度皆好的共有峰。通过聚类分析、主成分分析、正交偏最小二乘法-判别分析发现,这 11 批鸭嘴花样品均可得以明显区分。相似的结果提示,上述 3 种分析方法均可有效区分不同产地的鸭嘴花药材。其中,云南产鸭嘴花与西藏产鸭嘴花样品的品质较为接近,而四川产鸭嘴花与云南、西藏产鸭嘴花样品则有所区别;同时,化学模式识别分析结果还提示,产自同一省份的样品并不完全一致,如同产于云南的 S9 样品与 S2~S3、S5~S8 样品之间存在一定的差异。

从指纹图谱结果可知,鸭嘴花 S9 样品中 21 号峰对应成分的含量明显高于其他产地的鸭嘴花样品。通过 VIP 值分析结果可以看出,21 号峰对 11 批鸭嘴花样品间的差异有较大的贡献,结合以上信息可推测 21 号峰对应

成分可能是造成鸭嘴花 S9 样品异于其他云南产鸭嘴花样品的原因。然而,导致鸭嘴花 S9 样品中 21 号峰对应成分含量较高的原因可能为该地地理环境特殊,也可能由取样误差所致,具体原因尚有待进一步研究。

为进一步探索造成不同样品间差异的原因,本研究以 VIP 值>1.0 为筛选标准,得到了 6 个色谱峰,即 2、16、21、17、1、13 号峰,提示其对应的 6 个成分为影响鸭嘴花质量的差异性成分。通过比对混合对照品溶液的 HPLC 图发现,2 号峰为鸭嘴花碱。定量分析结果显示,该成分与另一含量相对较高的鸭嘴花酮碱(4 号峰)的含量分别为 4.12~10.22、0.60~3.26 mg/g,该结果表明不同产地的鸭嘴花样品中上述 2 种成分的含量存在明显差异,此差异是否会影响其药效仍有待进一步实验证实。从定量结果来看,云南产鸭嘴花样品中鸭嘴花碱的含量普遍高于四川产鸭嘴花样品,但与西藏产鸭嘴花样品相近,提示即使鸭嘴花碱对造成不同样品间差异的贡献较大,但仅凭单一成分评价药材品质具有一定的局限性,有待后续研究进一步完善。

4 结语

藏药鸭嘴花现有文献中关于质量评价方法的研究较少,难以有效为其质量控制提供参考。本研究通过指纹图谱技术确定了 11 批藏药鸭嘴花药材中的 23 个共有峰,并结合化学模式识别分析有效地区分了不同产地的鸭嘴花样品,直观地反映了不同产地鸭嘴花药材的相似性与差异性;进一步通过 VIP 值筛选出了造成样品间质量差异的主要成分,为其质量控制提供了参考,也为其后研究提供了方向。本研究的不足之处在于样品收集的数量有限且未能通过已有文献鉴定出更多的未知成分。在后续研究中,本课题组将深入开展鸭嘴花药材的化学成分研究,重点关注 16、21、17、1、13 号峰对应成分的具体结构,并结合药效学实验进一步探究这些成分成为鸭嘴花药材质量标志物的可能性。

参考文献

[ 1 ] 帝玛尔·丹增彭措.晶珠本草[M].毛继祖,罗达尚,王振华,等译注.上海:上海科学技术出版社,1986:82.

[ 2 ] 贾敏如,张艺.中国民族药辞典[M].北京:中国医药科技出版社,2016:701.

[ 3 ] 朱萍.傣药莫哈蒿和管底的化学成分研究[D].昆明:云南中医学院,2016.

[ 4 ] SINGH A, KUMAR S, RADDY T J, et al. Screening of tricyclic quinazoline alkaloids in the alkaloidal fraction of *Adhatoda beddomei* and *Adhatoda vasica* leaves by high-performance liquid chromatography/electrospray ionization quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry[J]. Rapid Commun Mass Spectrom, 2015, 29(6): 485-496.

[ 5 ] SINGH A, KUMAR S, BAJPAI V, et al. Structural characterization of flavonoid C- and O-glycosides in an extract

of *Adhatoda vasica* leaves by liquid chromatography with quadrupole time-of-flight mass spectrometry[J]. Rapid Commun Mass Spectrom, 2015, 29(12): 1095-1106.

[ 6 ] SINGH B, SHARMA R A. Anti-inflammatory and antimicrobial properties of pyrroloquinazoline alkaloids from *Adhatoda vasica* Nees[J]. Phytomedicine, 2013, 20(5): 441-445.

[ 7 ] 朱小牧,陈雄,王曙.藏药巴夏嘎中鸭嘴花碱的体外抗肿瘤活性研究[J].华西药理学杂志, 2013, 28(3): 328-329.

[ 8 ] DEY T, DUTTA P, MANNA P, et al. Anti-proliferative activities of vasicinone on lung carcinoma cells mediated via activation of both mitochondria-dependent and independent pathways[J]. Biomol Ther (Seoul), 2018, 26(4): 409-416.

[ 9 ] WANKHEDE T B. Antioxidant and antimicrobial properties of *Adhatoda vasica* L. Nees.[J]. Int J Life Sci, 2015, 3(2): 152-156.

[10] 仁真旺甲,文成当智,余羊羊,等.藏药“巴夏嘎”品种考证、药性分析与用药规律研究[J].世界科学技术-中医药现代化, 2020, 22(11): 4044-4051.

[11] 云南省食品药品监督管理局.云南省中药材标准:第 3 册[S].昆明:云南科技出版社, 2005: 71-72.

[12] 罗晴方,王文祥,干志强,等.藏药鸭嘴花的化学成分研究[J].中药材, 2020, 43(8): 1890-1893.

[13] 罗晴方.基于“性-效-物”的藏药鸭嘴花质量标志物发现及质量控制研究[D].成都:成都中医药大学, 2020.

[14] 四川省药品监督管理局.四川省藏药材标准: 2020 年版[S].成都:四川科学技术出版社, 2020: 173-177.

[15] 范治国,黄毅岚,谢川黔.鸭嘴花化学成分和药理作用研究进展[J].中国药房, 2008, 19(6): 464-465.

[16] 梁慧,潘晓君,吕渭升,等.不同基原藁本药材的指纹图谱建立及其化学计量学分析[J].中国药房, 2021, 32(19): 2358-2362.

[17] 李慧峰,田凡玉,孟霜,等.酒五味子的指纹图谱建立及化学模式识别分析[J].中国药房, 2021, 32(24): 3008-3013.

[18] 李妍,何文媛,王康宇,等.基于 HPLC 多指标成分测定及指纹图谱多模式识别方法的北细辛质量分析[J].中草药, 2022, 53(1): 238-243.

[19] 赵峰,高太祥,石莉尧,等.越婢加术汤的 HPLC 指纹图谱建立、含量测定及化学模式识别分析[J].中国药房, 2021, 32(22): 2724-2730.

[20] 钟镭,刘川,何青秀,等.藏药二十五味驴血丸的指纹图谱建立、含量测定及化学模式识别分析[J].中国药房, 2021, 32(4): 453-459.

[21] DHULEY J N. Antitussive effect of *Adhatoda vasica* extract on mechanical or chemical stimulation-induced coughing in animals[J]. J Ethnopharmacol, 1999, 67(3): 361-365.

(收稿日期:2022-02-25 修回日期:2022-06-06)  
(编辑:张元媛)