

苦参的指纹图谱建立及差异性成分含量测定^Δ

董晓龙^{1,2*}, 沈佳捷^{1,2}, 朱佳钰^{1,2}, 王梦娇^{1,2}, 邹立思³, 潘林梅^{1,2,3,4#}(1. 南京中医药大学药学院, 南京 210023; 2. 江苏省植物药深加工工程研究中心, 南京 210023; 3. 江苏省中医药防治肿瘤协同创新中心, 南京 210023; 4. 江苏省经典名方工程研究中心, 南京 210023)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2023)03-0298-05
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2023.03.09



摘要 目的 建立不同产地苦参药材的指纹图谱, 筛选差异性成分, 并进行含量测定。方法 采用《中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012版)》建立12批苦参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SIMCA 14.1和SPSS 23.0软件进行化学模式识别分析[聚类分析(CA)、主成分分析(PCA)、正交偏最小二乘法-判别分析(OPLS-DA)], 并以变量重要性投影(VIP)值>1为标准筛选影响苦参药材质量的差异性成分; 采用同一HPLC法测定4种差异性成分的含量。结果 12批苦参药材的指纹图谱中共有17个共有峰, 相似度均大于0.96; 共指认了6个共有峰, 分别为氧化苦参碱(峰1)、氧化槐果碱(峰2)、苦参碱(峰10)、三叶豆紫檀苷(峰14)、苦参酮(峰16)、降苦参酮(峰17)。CA、PCA、OPLS-DA结果显示, 12批苦参药材可按不同产地聚为3类: S1~S7(陕西商州区)聚为一类, S8~S10(河南伊川县)聚为一类, S11~S12(内蒙古赤峰市)聚为一类。苦参碱、降苦参酮、苦参酮、氧化槐果碱以及峰11、峰9所代表的化学成分的VIP值均大于1。12批苦参药材中苦参碱、降苦参酮、苦参酮、氧化槐果碱的含量分别为2.65~4.93、1.54~3.44、9.63~12.94、5.08~6.10 mg/g。结论 本研究成功建立了苦参药材的HPLC指纹图谱, 并结合化学模式识别分析筛选出6种差异性成分, 可为该药材的质量控制提供参考。

关键词 苦参; 指纹图谱; 含量测定; 化学模式识别分析

Establishment of fingerprint and determination of differential components of *Sophora flavescens*

DONG Xiaolong^{1,2}, SHEN Jiajie^{1,2}, ZHU Jiayu^{1,2}, WANG Mengjiao^{1,2}, ZOU Lisi³, PAN Linmei^{1,2,3,4}(1. College of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China; 2. Jiangsu Research Center of Botanical Medicine Refinement Engineering, Nanjing 210023, China; 3. Jiangsu Collaborative Innovation Center for Tumor Prevention and Treatment with Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210023, China; 4. Jiangsu Province Engineering Research Center of Classical Prescription, Nanjing 210023, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE** To establish the fingerprint of *Sophora flavescens*, and to screen differential components and determine their contents. **METHODS** HPLC fingerprints of 12 batches of *S. flavescens* were established by using *Similarity Evaluation System of Chromatographic Fingerprints of TCM* (2012 edition); common peaks were identified and their similarities were evaluated. Chemical pattern recognition analysis [cluster analysis (CA), principal component analysis (PCA) and orthogonal partial least squares-discriminant analysis (OPLS-DA)] were performed with SIMCA 14.1 and SPSS 23.0 software, and differential components which influenced the quality of *S. flavescens* were screen with variable importance in the projection (VIP) >1 as standard. Meanwhile, the contents of 4 kinds of differential components were determined by the same HPLC method. **RESULTS** There were 17 common peaks in the fingerprints of 12 batches of *S. flavescens*, and their similarities were all higher than 0.96. A total of 6 common peaks were identified, i.e. oxymatrine (peak 1), oxysophocarpine (peak 2), matrine (peak 10), trifolirhizin (peak 14), kurarinone (peak 16) and norkurarinone (peak 17). Results of CA, PCA and OPLS-DA showed that 12 batches of *S. flavescens* were divided into 3 categories according to producing area, i.e. S1-S7 (Shangzhou District of Shaanxi Province) were grouped into one category, S8-S10 (Yichuan County of Henan Province) into one category and S11-S12 (Chifeng City of Inner Mongolia) into one category. VIPs of matrine, norkurarinone, kurarinone and oxysophocarpine and the chemical components represented by peak 11 and 9 were all greater than 1. The contents of matrine, norkurarinone, kurarinone and oxysophocarpine in 12 batches of *S. flavescens* were 2.65-4.93, 1.54-3.44, 9.63-12.94 and 5.08-6.10 mg/g, respectively. **CONCLUSIONS** HPLC fingerprint of *S. flavescens* is established successfully in the study, and can be used to screen 6 differential components by combining with chemical pattern recognition analysis, which can provide reference for quality control of *S. flavescens*.

KEYWORDS *Sophora flavescens*; fingerprint; content determination; chemical pattern recognition analysis

Δ 基金项目 国家重点研发计划课题(No.2017YFC1700602); 国家自然科学基金资助项目(No.81930117)

* 第一作者 硕士研究生。研究方向: 中药制药技术与产品开发。
E-mail: xl15003337992@163.com

通信作者 教授, 硕士生导师, 博士。研究方向: 中药制剂。E-mail: linmeip@njucm.edu.cn

苦参为豆科植物苦参 *Sophora flavescens* Ait. 的干燥根,主产于我国河南、山东、安徽等地,始记于《神农本草经》。苦参性寒、味苦,具有镇痛、抗菌、抗肿瘤等多种功效^[1]。现代研究发现,苦参主要活性成分为生物碱类和黄酮类化合物。其中,生物碱类物质包括氧化苦参碱、氧化槐果碱和苦参碱等,均有较好的镇痛、抗肿瘤作用,尤以苦参碱的作用最为显著;黄酮类物质包括三叶豆紫檀苷、苦参酮和降苦参酮等,其中三叶豆紫檀苷具有较好的抗菌活性,苦参酮和降苦参酮均具有较好的抗肿瘤作用^[2-3]。可见,这些成分可能是苦参的主要活性成分。

随着中药事业的飞速发展,中药质量参差不齐等一系列问题也日益突显。药材质量对临床用药的安全性和有效性有着直接影响。中药指纹图谱可以反映出各种化学成分的整体状态,对评估药材质量优劣、真伪及保证其质量的一致性、稳定性具有突出贡献。中药指纹图谱与化学模式识别分析相结合,可从多个方面评价药材质量。常用的化学模式识别分析方法有聚类分析、主成分分析、正交偏最小二乘法-判别分析等^[4-6]。基于此,本研究采用高效液相色谱(HPLC)法建立12批苦参药材的指纹图谱,同时,结合3种化学模式识别分析方法对影响苦参药材质量的差异性成分进行含量测定,以期对苦参药材质量控制提供依据。

1 材料

1.1 主要仪器

Waters e2695型HPLC仪及配套的Waters 2998检测器均购自美国Waters公司;BBA224S-CW型电子天平购自赛多利斯科学仪器(北京)有限公司;TGL-16C型离心机购自上海安亭科学仪器厂;ARIUM-COMFOT-I型超纯水一体机购自南京易普易达科技发展有限公司;AP-01P型真空泵购自天津奥特赛恩斯仪器有限公司;KH-500V型超声波清洗器购自昆山禾创超声仪器有限公司。

1.2 主要药品与试剂

降苦参酮(批号DSTDK003001,纯度 $\geq 95\%$)、苦参酮对照品(批号DST200303-020,纯度 $\geq 98\%$)均购自成都德思特生物技术有限公司;三叶豆紫檀苷、氧化槐果碱、苦参碱、氧化苦参碱对照品(批号分别为Y11J11H10-8216、P07M10S82334、T03F9F54046、Y30S6Y17043,纯度均不低于98%)均购自上海源叶生物科技有限公司。本研究所用苦参药材共12个批次(编号为S1~S12,其中S1~S7产自陕西商州区、S8~S10产自河南伊川县、S11~S12产自内蒙古赤峰市),经南京中医药大学药学院刘圣金教授鉴定均为豆科植物苦参 *S. flavescens* Ait. 的干燥根。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

以Agilent ZORBAX SB-C₁₈(250 mm \times 4.6 mm, 5 μ m)为色谱柱;以乙腈(A)-20 mmol/L磷酸二氢钾溶液

(pH7.5)(B)为流动相进行梯度洗脱(0~13 min, 10%A \rightarrow 23%A; 13~23 min, 23%A \rightarrow 29%A; 23~42 min, 29%A \rightarrow 48%A; 42~50 min, 48%A \rightarrow 52%A; 50~60 min, 52%A \rightarrow 60%A; 60~65 min, 60%A \rightarrow 10%A);检测波长为260 nm;流速为0.8 mL/min;柱温为30 $^{\circ}$ C;进样量为10 μ L。

2.2 混合对照品溶液的制备

取降苦参酮、苦参酮、三叶豆紫檀苷、氧化槐果碱、苦参碱、氧化苦参碱对照品各适量,分别置于10 mL容量瓶中,加甲醇溶解并定容,即得各对照品贮备液。分别取适量上述6种对照品贮备液,置于同一10 mL容量瓶中,加甲醇稀释并定容,制得上述成分质量浓度分别为81.6、55.2、67.2、72.3、108.3、84.9 μ g/mL的混合对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备

取苦参药材粉末(过三号筛)0.5 g,精密称定,放入100 mL锥形瓶中,加入20 mL甲醇,称质量;超声(功率250 W,频率40 kHz)提取30 min,用甲醇补足减失的质量,摇匀,离心(8 000 r/min, 10 min);取上清液,于70 $^{\circ}$ C水浴条件下蒸干,用甲醇复溶至1 mL,摇匀,以0.45 μ m微孔滤膜滤过,即得。

2.4 苦参药材HPLC指纹图谱的建立

2.4.1 精密度试验 取“2.3”项下供试品溶液(编号S1)适量,再按“2.1”项下色谱条件连续进样6次。以10号峰为参照(该峰分离度较好、峰面积较大,下同),计算得各共有峰相对保留时间的RSD $< 0.28\%$ 、相对峰面积的RSD $< 5\%$ ($n=6$),表明仪器精密度高。

2.4.2 稳定性试验 取“2.3”项下供试品溶液(编号S1)适量,于室温放置0、4、8、12、16、20、24 h时,再按“2.1”项下色谱条件进样分析。以10号峰为参照,计算得各共有峰相对保留时间的RSD $< 0.24\%$ 、相对峰面积的RSD $< 5\%$ ($n=7$),表明该供试品溶液在室温放置24 h内稳定性良好。

2.4.3 重复性试验 精密称取苦参药材(编号S1)粉末(过三号筛)6份,按“2.3”项下方法平行制备供试品溶液6份,再按“2.1”项下色谱条件进样分析。以10号峰为参照,计算得各共有峰相对保留时间的RSD $< 0.14\%$ 、相对峰面积的RSD $< 4\%$ ($n=6$),表明该方法重复性较好。

2.4.4 指纹图谱的建立与相似度分析 将12批苦参药材按“2.3”项下方法制备成供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件进样分析,记录色谱图。将图谱输入《中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012A版)》,设置编号S1的样品图谱为参照,采取中位数法,将时间窗宽度设置为0.2,进行多点校正^[7],建立苦参药材的HPLC指纹图谱和对照指纹图谱R(见图1)。结果显示,12批苦参药材共有17个共有峰,与各单一对照品溶液图谱(见图2)比较,指认出峰1为氧化苦参碱、峰2为氧化槐果碱、峰10为苦参碱、峰14为三叶豆紫檀苷、峰16为苦参酮、峰17为降苦参酮。

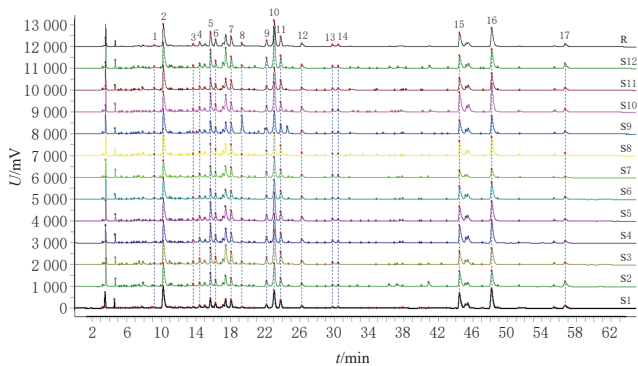
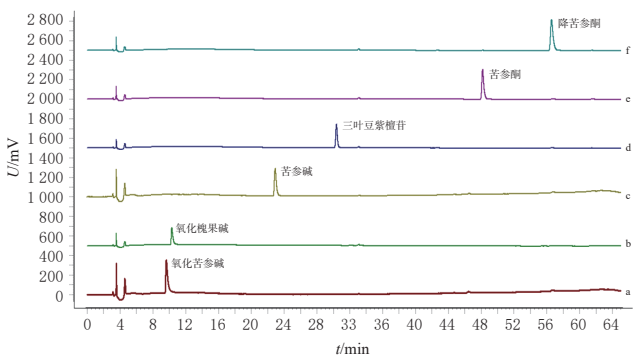


图1 12批苦参药材的HPLC指纹图谱和对照指纹图谱R



a: 氧化苦参碱对照品溶液; b: 氧化槐果碱对照品溶液; c: 苦参碱对照品溶液; d: 三叶豆紫檀苷对照品溶液; e: 苦参酮对照品溶液; f: 降苦参酮对照品溶液

图2 各单一对照品溶液的HPLC图

采用《中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012版)》对12批苦参药材进行相似度评价。结果显示,12批苦参药材和对照指纹图谱R之间的相似度均大于0.96,这表明各批次苦参药材的相似性较好,整体质量差异不大。以分离度较好、峰面积较大的苦参碱为参照峰,得到12批苦参药材17个共有峰相对保留时间的RSD为0.01%~0.43%($n=17$),提示各批次苦参药材共有峰的保留时间较稳定;17个共有峰相对峰面积的RSD为5.16%~46.79%($n=17$),提示各批次苦参药材在部分成分的含量上可能存在差异。

2.5 苦参药材的化学模式识别分析

2.5.1 聚类分析 以12批苦参药材的17个共有峰峰面积为变量,将其输入SPSS 23.0软件中,采取组间连接法,选择平方欧氏距离为测度进行聚类分析^[8]。结果显示,当平方欧氏距离为15时,12批苦参药材可聚为3类:S1~S7(陕西商州区)聚为一类,S8~S10(河南伊川县)聚为一类,S11~S12(内蒙古赤峰市)聚为一类。结果见图3。

2.5.2 主成分分析 采用主成分分析法^[9],将12批苦参药材的17个共有峰峰面积导入SIMCA 14.1软件中,绘制主成分得分图(图4)。结果显示,S1~S7(陕西商州区)聚为一类,S8~S10(河南伊川县)聚为一类,S11~S12(内蒙古赤峰市)聚为一类,与聚类分析结果一致。

进一步利用SPSS 23.0软件,以特征值(λ_i)>1为标准^[10],共提取3个主成分,方差贡献率分别为53.934%、

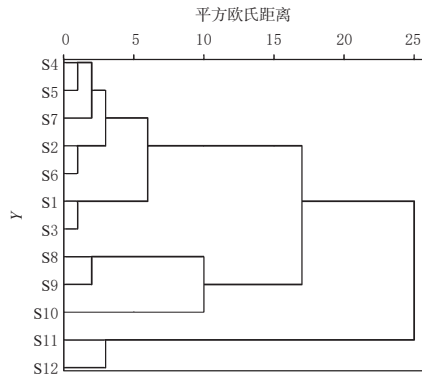


图3 12批苦参药材的聚类分析结果

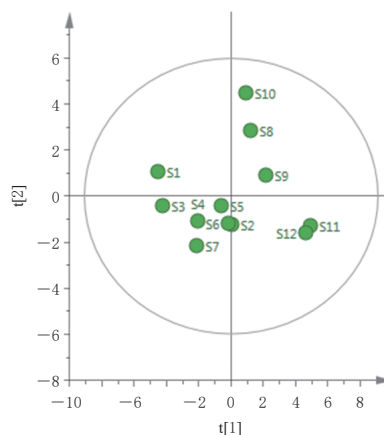


图4 12批苦参药材的主成分得分图

23.249%、9.189%,累计方差贡献率达86.372%,这表明所提取的3个主成分可代表苦参药材指纹图谱中17个共有峰的主要信息,可用于反映不同产地苦参药材的整体质量。由因子载荷矩阵及权重系数可知,第1主成分主要体现了3~6、8~16号峰,第2主成分主要体现了1、2、7号峰,第3主成分主要体现了17号峰。对各因子进行标准化处理,结合上述特征值及因子矩阵,得到反映苦参药材质量的主成分得分($Y_1 \sim Y_3$)表达式^[11]:

$$Y_1 = 0.039X_1 + 0.069X_2 + 0.321X_3 + 0.318X_4 + 0.298X_5 + 0.289X_6 + 0.189X_7 + 0.194X_8 + 0.308X_9 + 0.323X_{10} + 0.267X_{11} + 0.294X_{12} + 0.298X_{13} + 0.302X_{14} + 0.024X_{15} + 0.051X_{16} + 0.064X_{17}$$

$$Y_2 = 0.408X_1 + 0.374X_2 - 0.025X_3 - 0.040X_4 - 0.192X_5 - 0.104X_6 + 0.302X_7 + 0.179X_8 + 0.049X_9 + 0.036X_{10} + 0.222X_{11} - 0.083X_{12} - 0.110X_{13} - 0.079X_{14} - 0.456X_{15} - 0.479X_{16} + 0.074X_{17}$$

$$Y_3 = 0.024X_1 - 0.098X_2 + 0.132X_3 - 0.095X_4 - 0.046X_5 - 0.235X_6 - 0.362X_7 + 0.209X_8 + 0.258X_9 + 0.123X_{10} - 0.088X_{11} - 0.235X_{12} - 0.108X_{13} + 0.200X_{14} - 0.102X_{15} + 0.098X_{16} + 0.717X_{17}$$

根据上述方程式,与相匹配的3个主成分的方差贡献率做内积并与累计方差贡献率相除,可获得苦参药材质量的综合得分(Y): $Y = (Y_1 \times 53.934\% + Y_2 \times 23.249\% + Y_3 \times 9.189\%) / 86.372\%$,根据该公式计算不同产地苦参药材的Y值,并进行排序;Y值越高说明该批次药材整体质量越好^[12],结果见表1。由表1可知,来自内蒙古赤峰市的S12、S11批次的苦参药材质量较好。

表1 主成分综合得分及排名

批次	Y_1	Y_2	Y_3	Y	排名
S12	4.603	1.584	3.143	3.635	1
S11	4.908	1.312	-1.303	3.279	2
S9	2.177	-0.899	-0.754	1.037	3
S2	0.012	1.251	-0.904	0.248	4
S6	-0.215	1.197	-0.842	0.098	5
S8	1.318	-2.823	-0.745	-0.016	6
S5	-0.656	0.394	-0.762	-0.385	7
S10	0.915	-4.500	0.694	-0.566	8
S7	-2.155	2.150	0.491	-0.715	9
S4	-2.112	1.053	-0.562	-1.095	10
S3	-4.236	0.381	0.515	-2.488	11
S1	-4.558	-1.101	1.029	-3.033	12

2.5.3 正交偏最小二乘法-判别分析 本研究采用SIMCA 14.1软件,以17个共有峰峰面积为数据阵,对12批苦参药材进行正交偏最小二乘法-判别分析。结果显示,模型 X 矩阵的解释参数(R^2X)、稳定性参数(R^2Y)及预测能力参数(Q^2)分别为0.854、0.883、0.718,均大于0.7,表明建立的模型拟合较好,具有较高的稳定性和预测性,可用于分析不同产地苦参药材间的质量差异^[13]。正交偏最小二乘法-判别分析得分图(图5)显示,12批苦参药材可分为3类,与聚类分析、主成分分析结果一致。

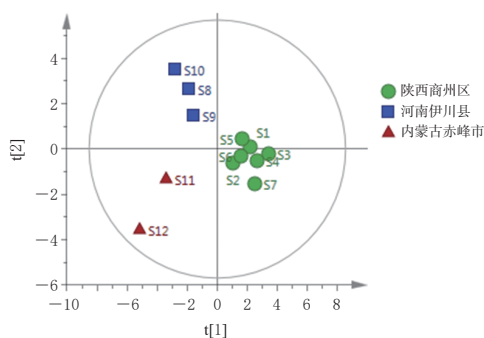


图5 12批苦参药材的正交偏最小二乘法-判别分析得分图

变量重要性投影(variable importance in the projection, VIP)值能够表示变量对模型的整体贡献程度,以VIP值大于1筛选影响苦参药材质量的差异性成分^[14]。结果显示,影响苦参药材质量的差异性成分依次为峰10(苦参碱, VIP=2.024)、峰17(降苦参酮, VIP=1.695)、峰16(苦参酮, VIP=1.681)、峰2(氧化槐果碱, VIP=1.157)、峰11(VIP=1.112)、峰9(VIP=1.074)。

2.6 苦参药材4种差异性成分的含量测定

根据上述结果,选择VIP值排名前4位的差异性成分——苦参碱、降苦参酮、苦参酮和氧化槐果碱进行含量测定。

2.6.1 色谱条件 色谱条件同“2.1”项。

2.6.2 对照品溶液的制备 取苦参碱、降苦参酮、苦参酮、氧化槐果碱对照品各适量,分别置于1 mL容量瓶中,加甲醇溶解并定容,制得上述成分质量浓度分别为3.6、2.7、1.8、2.4 mg/mL的对照品溶液。

2.6.3 供试品溶液的制备 制备方法同“2.3”项。

2.6.4 专属性试验 取“2.6.2”“2.6.3”项下对照品溶液及供试品溶液,按照“2.6.1”项下色谱条件进样测定,记录色谱图(图略)。结果显示,各成分色谱峰分离良好,提示该方法专属性良好。

2.6.5 线性关系考察 取“2.6.2”项下对照品溶液,逐级稀释0、2、4、8、16、32倍,按照“2.6.1”项下色谱条件进行测定。以各差异性成分的质量浓度为横坐标(X)、峰面积为纵坐标(Y)绘制标准曲线。另外,以信噪比3:1、10:1计算检测限和定量限。结果见表2。

表2 4种差异性成分的线性关系和灵敏度考察结果

化合物	标准曲线	R^2	线性范围/ (mg/mL)	定量限/ (mg/mL)	检测限/ (mg/mL)
苦参碱	$Y=3\ 332.071\ 3X+634\ 207.268\ 7$	0.996 9	0.113 0~3.600	3.61×10^{-4}	1.58×10^{-4}
降苦参酮	$Y=22\ 149.189\ 6X-2\ 395\ 790.468\ 0$	0.998 4	0.084 0~2.700	8.10×10^{-4}	1.25×10^{-4}
苦参酮	$Y=12\ 071.462\ 1X-1\ 186\ 496.109\ 0$	0.995 3	0.056 0~1.800	9.01×10^{-4}	1.42×10^{-4}
氧化槐果碱	$Y=5\ 382.841\ 3X-624\ 718.333\ 3$	0.996 2	0.075 0~2.400	7.20×10^{-4}	1.23×10^{-4}

2.6.6 精密度的试验 取“2.6.3”项下供试品溶液(S1),按“2.6.1”项下色谱条件连续进样6次,记录各差异性成分的峰面积。结果显示,苦参碱、降苦参酮、苦参酮、氧化槐果碱峰面积的RSD分别为2.06%、2.98%、0.97%、1.29%($n=6$),表明仪器精密度良好。

2.6.7 稳定性试验 取“2.6.3”项下供试品溶液(S1),于室温放置0、4、8、12、16、20、24 h时,按“2.6.1”项下色谱条件进样分析,记录各差异性成分的峰面积。结果显示,苦参碱、降苦参酮、苦参酮、氧化槐果碱峰面积的RSD分别为2.62%、1.41%、2.77%、0.79%($n=7$),表明各差异性成分在室温放置24 h内稳定性较好。

2.6.8 重复性试验 精密称取苦参药材(S1)粉末6份,按“2.6.3”项下方法平行制备供试品溶液6份,再按“2.6.1”项下色谱条件进样分析,记录各差异性成分的峰面积,并根据标准曲线计算含量。结果显示,苦参碱、降苦参酮、苦参酮、氧化槐果碱含量的RSD分别为3.06%、2.82%、1.45%、2.67%($n=6$),表明该方法重复性良好。

2.6.9 加样回收率试验 精密称取苦参药材(S1)粉末0.25 g,平行称取6份,分别加入含有氧化槐果碱1.4 mg、苦参碱0.7 mg、苦参酮3.1 mg、降苦参酮0.6 mg的对照品溶液20 mL,按“2.6.3”项下方法制备供试品溶液,再按“2.6.1”项下色谱条件进样分析,记录各差异性成分的峰面积,并计算平均加样回收率。结果显示,苦参碱、降苦参酮、苦参酮、氧化槐果碱的平均加样回收率分别为101.4%、98.5%、99.4%、102.0%,RSD分别为1.75%、1.70%、1.85%、2.69%($n=6$),表明该方法准确度良好。

2.6.10 含量测定 取12批不同产地的苦参药材粉末0.5 g,精密称定,按照“2.6.3”项下方法制备供试品溶液,再按“2.6.1”项下条件进样分析,记录各差异性成分的峰面积,并根据标准曲线计算苦参碱、降苦参酮、苦参酮、氧化槐果碱的含量。平行测定3次,取平均值。结果见表3。

表3 12批苦参药材中4种差异性成分的含量测定结果
($n=3$, mg/g)

批次	苦参碱	降苦参酮	苦参酮	氧化槐果碱
S1	2.67	2.07	11.01	5.25
S2	3.34	1.68	9.63	5.34
S3	2.65	1.87	10.40	5.13
S4	3.24	1.97	10.49	6.10
S5	3.29	1.79	10.39	5.75
S6	3.69	1.78	10.48	5.82
S7	3.09	1.84	10.10	5.79
S8	3.49	1.56	11.49	5.08
S9	3.98	1.54	11.36	5.38
S10	4.05	1.91	12.94	5.09
S11	4.79	1.56	10.36	6.03
S12	4.93	3.44	10.64	5.95

3 讨论

3.1 提取方法及提取条件的考察

本研究在前期研究中分别考察了回流提取法与超声提取法对主要色谱峰的影响。结果显示,2种提取方法对主要色谱峰的影响差别不显著。为提高效率,本研究选择了超声提取法。同时,本研究还分别考察了不同提取时间(15、30、45、60、90 min)、不同提取溶剂(水、25%甲醇、50%甲醇、75%甲醇、甲醇)对供试品溶液色谱峰的数量及响应值的影响。结果显示,以甲醇超声提取30 min所得供试品溶液的色谱峰数量较多且响应较强。

3.2 色谱条件优化

本研究在210~440 nm进行了全波长扫描,结果发现在260 nm波长下,待测样品所得色谱信息较为全面,特征峰响应较强,因此设置检测波长为260 nm。另外,本研究还考察了6种不同流动相[乙腈-水、甲醇-水、乙腈-0.1%氨水、甲醇-0.1%氨水、乙腈-20 mmol/L磷酸二氢钾溶液(pH7.5)、甲醇-20 mmol/L磷酸二氢钾溶液(pH7.5)]对色谱峰分离的影响。结果显示,选用乙腈-20 mmol/L磷酸二氢钾溶液(pH7.5)作为流动相可较好地分离各色谱峰,且基线平稳。

3.3 HPLC指纹图谱及化学模式识别分析

12批苦参药材共有17个共有峰,与对照指纹图谱R的相似度均大于0.96,表明不同产地苦参药材质量趋于一致。聚类分析、主成分分析、正交偏最小二乘法-判别分析结果均显示,陕西商州区样品S1~S7聚为一类,河南伊川县样品S8~S10聚为一类,内蒙古赤峰市样品S11~S12聚为一类。进一步分析发现,内蒙古赤峰市产苦参药材质量较好。

3.4 差异性成分的筛选及含量分析

本研究共筛选出苦参碱、降苦参酮、苦参酮、氧化槐果碱以及峰11、峰9代表的化学成分共6种差异性成分,对苦参碱、降苦参酮、苦参酮、氧化槐果碱4个差异性成分进行含量测定发现,苦参碱含量为2.65~4.93 mg/g、降苦参酮含量为1.54~3.44 mg/g、苦参酮含量为9.63~12.94 mg/g、氧化槐果碱含量为5.08~6.10 mg/g。其中,

苦参碱及降苦参酮均以内蒙古赤峰市样品最高,苦参酮含量以河南伊川县样品最高,氧化槐果碱含量以陕西商州区样品最高。由此可知,这些差异性成分可用于区分不同产地的苦参药材,可为该药材质量控制提供参考。

综上所述,本研究成功建立了苦参药材的HPLC指纹图谱,并结合化学模式识别分析筛选出6种差异性成分,可为该药材的质量控制提供参考。

参考文献

- [1] 王圳伊,王露露,张晶.苦参的化学成分、药理作用及炮制方法的研究进展[J].中国兽药杂志,2019,53(10):71-79.
- [2] 姚梅芬,张思巨,李琳,等.苦参中黄酮类成分及其药理作用研究现状[J].中国中医药信息杂志,2013,20(3):110-112.
- [3] 于娜,范红艳.苦参黄酮类化合物药理作用的研究进展[J].吉林医药学院学报,2021,42(4):304-307.
- [4] 胡婷,邹成梅,江吉周.苦丁茶主物质提取及其HPLC指纹图谱分析[J].华中师范大学学报(自然科学版),2021,55(1):61-71.
- [5] 梁霜,兰庆同,陈宗燕,等.全国中药特色技术传承项目在医院中药饮片验收中的应用[J].中成药,2019,41(9):2274-2276.
- [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] 杜义龙,李赛,李艳荣,等.半枝莲标准汤剂的指纹图谱建立与抗氧化活性成分的化学模式识别[J].中国药房,2022,33(4):425-432.
- [8] 王梦娇,唐婷婷,潘林梅,等.基于HPLC指纹图谱和化学模式识别评价不同产地瓜蒌质量[J].中国现代应用药学,2021,38(8):919-924.
- [9] 李慧峰,孔祥鹏,孟霜,等.复方茵芹颗粒的指纹图谱建立、化学模式识别及多成分含量测定[J].中国药房,2022,33(21):2627-2631.
- [10] 宋奇,刘宏,王添敏,等.HPLC指纹图谱和多成分定量结合化学模式识别法评价不同产地胡桃楸叶质量[J].中草药,2022,53(7):2143-2149.
- [11] 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.
- [12] 龚伟伟,罗光明,秦倩,等.茶芍HPLC指纹图谱的建立及差异性成分的含量测定[J].中国药房,2022,33(16):1968-1973.
- [13] 陈婷,胡芳,唐樑,等.基于HPLC指纹图谱及定量测定的益气逐瘀利水方质量评价研究[J].中国医院药学杂志,2022,42(7):707-712.
- [14] 潘宏春,阳勇,秦伟瀚,等.基于多元统计学方法的亚香棒虫草与冬虫夏草化学差异研究[J].中草药,2020,51(16):4316-4324.

(收稿日期:2022-07-06 修回日期:2022-11-26)

(编辑:唐晓莲)