

不同产地博落回果化学成分指纹图谱研究

胡南希^{1,2}, 郑亚杰^{1,3*}, 唐 其^{1,3}, 刘兆颖^{1,2}, 刘 薇¹, 刘秀斌¹, 曾建国^{1,2,3*}

1. 湖南农业大学 兽用中药资源与中兽药创制国家地方联合工程研究中心, 湖南 长沙 410128

2. 湖南农业大学动物医学院, 湖南 长沙 410128

3. 湖南农业大学园艺园林学院, 湖南 长沙 410128

摘要: **目的** 构建博落回 *Macleaya cordata* 果化学成分指纹图谱, 建立博落回果品质评价方法。 **方法** 根据湖南省长沙市地方标准 2009 年版测定博落回中原阿片碱、别隐品碱、血根碱和白屈菜红碱含量; 采用高效液相色谱法构建基于不同产地的博落回果化学成分指纹图谱; 利用主成分分析和聚类分析方法, 分析博落回果中共有指纹峰、产地和药材品质的关联性。 **结果** 构建不同产地博落回果化学成分指纹图谱, 确定 11 个共有指纹峰; 主成分分析和聚类分析将 8 个产地的博落回果分为 2 大类, 其中共有峰 5、7、8、9 和 11 对指纹图谱差异贡献较大, 6 号峰是指纹图谱参照峰的最佳选择。 **结论** 本实验建立的博落回果化学成分指纹图谱具有良好的精密度、重复性和稳定性, 能够对不同产地博落回果进行品质评价。

关键词: 博落回果; 指纹图谱; 产地; 主成分分析; 聚类分析; 原阿片碱; 别隐品碱; 血根碱; 白屈菜红碱

中图分类号: R286.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2018)18-4417-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2018.18.029

Fingerprint profiling of *Macleaya cordata* fruits from different regions

HU Nan-xi^{1,2}, ZHENG Ya-jie^{1,3}, TANG Qi^{1,3}, LIU Zhao-ying^{1,2}, LIU Wei¹, LIU Xiu-bin¹, ZENG Jian-guo^{1,2,3}

1. National and Local Union Engineering Research Center for the Veterinary Herbal Medicine Resources and Initiative, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China

2. College of Veterinary Medicine, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China

3. College of Horticulture and Landscape, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China

Abstract: Objective To establish the fingerprint profiling of fruits of *Macleaya cordata* and study the method for its quality evaluation. **Methods** The fingerprint profiling of *M. cordata* fruits from different regions was established using high performance liquid chromatography (HPLC) based on the local standard which was the determination method of the content of protopine, allocryptopine, sanguinarine, and chelerythrine from Changsha of Hunan Province in 2009. The principal component analysis (PCA) and cluster analysis (CA) were performed to explore the correlation among the common fingerprint peaks, origins, and quality of *M. cordata* fruits. **Results** Eleven common fingerprint peaks were identified in the fingerprint profiling of chemical constituents of *M. cordata* fruits from different regions. *M. cordata* fruits produced from eight areas were classified into two classes by PCA and CA method, and there were five common peaks, including peak 5, 7, 8, 9, and 11 with significant contribution on the regional difference of the fingerprint. Also, common peak 6 was the right peak as the reference peak because of its less variation, appropriate retention time and intensity. **Conclusion** The fingerprint profiling of chemical constituents of *M. cordata* fruits established in this study has good precision, repeatability, and stability, which can be used to evaluate the quality of fruits of *M. cordata* from different producing areas.

Key words: *Macleaya cordata* (Willd.) R. Br.; fingerprint profiling; region; principal component analysis; cluster analysis; protopine; allocryptopine; sanguinarine; chelerythrine

收稿日期: 2018-02-28

基金项目: 国家重点研发计划资助 (2017YFD0501500); 国家自然科学基金资助项目 (31600238); 湖南省自然科学基金资助项目 (2016JJ4040); 湖南省教育厅科学研究项目 (16C0769)

作者简介: 胡南希 (1993—), 女, 在读硕士研究生, 专业方向为中、兽药。Tel: 17373622062

***通信作者** 郑亚杰 E-mail: zhengyj4@126.com

曾建国 E-mail: ginkgo_1world@163.com

博落回 *Macleaya cordata* (Willd.) R. Br. 为罂粟科 (Papaveraceae) 博落回属多年生草本植物, 主要分布于我国湖南、湖北、广西和广东等地区。博落回主要药效成分为普罗托品类生物碱 (原阿片碱、别隐品碱) 和苯并菲啶类生物碱 (血根碱、白屈菜红碱) 等, 具有显著的抗炎、抑菌作用和体外抗肿瘤作用^[1-4]。同时博落回提取物还用于动物饲养、兽医临床治疗以及病虫害防治等方面, 具有广泛应用前景。博落回果作为主要药用部位, 目前其品质评价方法采用现行的湖南地方标准 (DB43/T497) 中收录的高效液相色谱法 (HPLC) 对血根碱和白屈菜红碱进行含量测定^[5], 并根据它们的含量之和对药材进行分级。随着市场对博落回果及其提取物需求的日益增长、野生资源减少及人工种植的兴起, 现行的博落回果的品质评价方法已经不能满足博落回果系统的品质评价及资源综合利用的需要。

受地域、气候和土壤等因素影响, 不同来源博落回果中生物碱种类和含量存在一定差异。基于此情况, 钟明等^[6]利用 UPLC-ESI-MS 建立了快速检测博落回各器官中主要生物碱含量的方法, 发现血根碱和白屈菜红碱在果荚中含量最多, 王曙光等^[7]利用 HPLC 建立了不同产地博落回根中血根碱和白屈菜红碱的含量测定方法。黄敬等^[8]利用 HPLC 建立了博落回不同部位原阿片碱和血根碱的含量检测方法。李文亮等^[9]利用“一测多评”测定博落回中原阿片碱、别隐品碱、血根碱和白屈菜红碱含量, 但是无法准确定位待测组分峰, 也无法避免检测器响应值变化引起的相对校正因子波动, 给实验数据带来误差^[10]。而“指纹图谱法”^[11]从化学物质基础的角度保证中药及其制剂的稳定和可靠, 具有专属性、整体性、模糊性等特点, 它综合反映了药材中各个主要成分及其相对含量, 能提供更加丰富的质量评价信息。

本研究利用 HPLC 对现行湖南地方标准中的含量检测方法 & 多指标评价方法进行比较, 发现多指标评价有利于对博落回果进行系统的品质评价。继续开展博落回果的化学成分指纹图谱研究, 借助主成分分析和聚类分析, 发现与药材系统的在品质评价具有密切关联的检测指标, 并提出较现行湖南地方标准更为科学的评价方法, 为制定博落回果品质评价标准及实际应用提供科学依据。

1 仪器与材料

1.1 仪器

Agilent 1260 Infinity LC 高效液相色谱系统, Agilent LC 1260 (Online) 工作站, 含四元梯度泵自动进样器和 Agilent 1260 Infinity DAD 检测器 (Agilent 公司); 移液枪 (德国 Eppendorf 公司), Milli-Q Advantage A10 系统 (美国 MILLIPORE 公司); mL204/02 型精密天平 (梅特勒-托利多仪器有限公司); HERMLE Z323K 型低温高速离心机 (Hermle 公司); KQ5200DE 型超声波清洗器 (昆山超声仪器有限公司)。

1.2 材料

对照品原阿片碱 (批号 110853-201404, 质量分数 99.7%)、盐酸血根碱 (批号 510001-201101, 质量分数 99.3%)、白屈菜红碱 (批号 117118-201402, 质量分数 80.5%) 购自中国食品药品检定研究院; 隐品碱 (质量分数 98.0%) 购自湖南南美可达生物资源有限公司。水为超纯水 (Milli-Q 水系统), 甲醇为分析纯 (安徽时联特种溶剂股份有限公司, HPLC/SPECTRO), 盐酸为分析纯 (国药集团化学试剂有限公司, 批号 20141126), 乙腈为色谱纯 (Merck 公司), 磷酸 (国药集团化学试剂有限公司生产, 批号 T20110805, 优级纯)。

1.3 药材

2013 年采集全国 8 个产地的博落回, 安徽池州 (S1-1~11)、广东韶关 (S2-1~5)、广西贺州 (S3-1~5)、湖北咸宁 (S4-1~7)、湖南益阳 (S5-1~4)、江西吉安 (S6-1~5)、浙江丽水 (S7-1~4)、江苏无锡 (S8-1~4), 经湖南农业大学曾建国教授鉴定为罂粟科 (Papaveraceae) 博落回属植物博落回 *Macleaya cordata* (Willd.) R. Br. 的干燥成熟果实。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱为 Agilent TC-C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 以 0.1% 磷酸乙腈 (A) -0.1% 磷酸水 (B) 为流动相, 梯度洗脱, 0~18 min, 15%~20% A; 18~30 min, 20%~25% A; 30~45 min, 25%~70% A; 45~60 min, 70%~100% A; 体积流量为 0.8 mL/min; 检测波长为 230 nm; 进样量为 10 μL; 柱温为 35 °C。在上述色谱条件下, 各色谱峰分离度良好, 达到基线分离。

2.2 样品前处理

将采摘的果去除果梗等杂质, 于 50 °C 鼓风烘

干后粉碎过筛，低温干燥保存。

2.3 溶液的制备

2.3.1 对照品溶液的制备 分别精密称取对照品原阿片碱、别隐品碱、盐酸血根碱、白屈菜红碱适量，置于 50 mL 量瓶中，加含 1% 盐酸的甲醇-水（50：50）超声溶解并定容至刻度，配成含原阿片碱 0.17 mg/mL、别隐品碱 0.17 mg/mL、血根碱盐酸盐 0.25 mg/mL、白屈菜红碱盐酸盐 0.25 mg/mL 的溶液，摇匀，即得混合对照品储备液，于冰箱冷藏保存。

2.3.2 工作溶液的配制 精密移取适量上述储备液，用含 1% 盐酸的甲醇-水（50：50）按 1：2：4：10：25：125 稀释得到一系列浓度的工作溶液，用于标准曲线绘制；以标准曲线的中间浓度作为质量控制样品。

2.3.3 供试品溶液的制备 称取药材粉末约 0.20 g，置 50 mL 具塞锥形瓶中，精密加入含 1% 盐酸的甲醇-水（50：50）50 mL，密塞，超声处理（功率 400 W，频率 37 kHz）30 min，取出，放冷至室温。取适量提取液于 10 mL 离心管中，12 000 r/min 离心 10 min；吸取上清液 800 μ L 于 2 mL 离心管中，用含 1% 盐酸的甲醇-水（50：50）等体积稀释，12 000 r/min 离心 10 min，取上清液用 0.22 μ m 滤膜过滤，取续滤液于液相色谱小瓶中，备用。

2.4 方法学考察

2.4.1 精密度试验 取安徽池州产的博落回果样品粉末（编号为 S1-1）1 份，按“2.3.3”项下方法制备供试品溶液，在上述色谱条件连续进样 6 次，记录色谱图。以 6 号峰为参照峰，11 个共有峰的相对保留时间和相对峰面积的 RSD 分别小于 0.2% 和 2.75%。利用《中药色谱指纹图谱相似度评价系统（2012 年版）》对 6 次进样数据进行相似度评价均大于 0.999，表明仪器精密度良好。

2.4.2 重复性试验 精密称取编号为 S1-1 的博落回果样品粉末 6 份，按照“2.3.3”项下方法制备供试品溶液，在上述色谱条件下分别进样，记录色谱图。以 6 号峰为参照峰，11 个共有峰的相对保留时间和相对峰面积的 RSD 分别小于 0.6% 和 3.0%。利用《中药色谱指纹图谱相似度评价系统（2012 年版）》对 6 次进样数据进行相似度评价均大于 0.999，表明样品前处理及分析方法重复性良好。

2.4.3 稳定性试验 精密称取编号为 S1-1 的博落回果样品粉末 6 份，按照“2.3.3”项下方法制备供试品溶液，分别于 0、1、2、3、4、5、6、12 以及

24 h 按上述色谱条件进样，记录色谱图。以 6 号峰为参照峰，11 个共有峰的相对保留时间和相对峰面积的 RSD 分别小于 0.3% 和 3.0%。利用《中药色谱指纹图谱相似度评价系统（2012 年版）》对不同时间进样数据进行相似度评价均大于 0.999，表明博落回样品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.5 不同产地博落回果含量测定及品质评价

参照湖南地方标准中检测方法^[5]，对上述不同产地的博落回果样品中生物碱的含量进行测定（表 1），结果表明所有上述样品中血根碱与白屈菜红碱的百分比含量之和均大于 0.5，依据该标准中的药材分级标准，上述样品均符合标准中的含量规定。但是对表 1 中不同产地样品中生物碱的含量数据进行分析，以 2 个生物碱（血根碱和白屈菜红碱）为判定指标质量分数在 1.91%~3.73%，以 4 个生物碱（血根碱、白屈菜红碱、原阿片碱和别隐品碱）质量分数为判定指标在 3.33%~5.94%，不同产地样品间生物碱含量存在较大的差异；相同产地样本间以 2 个生物碱为判定指标含量 RSD 在 17%~57%，以 4 个生物碱为判定指标含量 RSD 在 7%~30%，其中湖北咸宁样本间以 2 个生物碱为判定指标含量的 RSD 高达 57%，提示相同产地样本的含量差异也比较显著。尽管依据现行湖南地方标准采用两种生物碱作为评价指标所有样本均符合含量规定，但是不同产地甚至同一产地的博落回果品质具有明显差别。不同评价指标比较表明以总生物碱为评价指标较以 2 种生物碱为评价指标显示样品间差异性减少，多指标评价更有利于对药材品质进行更为全面客观地评价。

进一步对产自湖北咸宁（S4）的博落回果生物碱含量差异较大的样品色谱图进行比较分析，发现色谱图呈现的指纹特征也有较大差异（图 1）。在 S4-5 样品的保留时间 13.16 min 处的响应高的色谱

表 1 不同产地博落回果样品中生物碱检测结果

Table 1 Contents of alkaloids in samples from different regions

样本	(血根碱+白屈菜红碱)/%		总生物碱/%	
	质量分数	RSD	质量分数	RSD
S1-1~11	2.26	29	4.74	15
S2-1~5	2.54	46	5.30	7
S3-1~5	2.34	19	4.44	10
S4-1~7	1.91	57	3.33	29
S5-1~4	3.73	33	5.94	15
S6-1~5	2.29	13	4.61	17
S7-1~4	2.95	32	5.29	30
S8-1~4	2.08	17	3.54	19

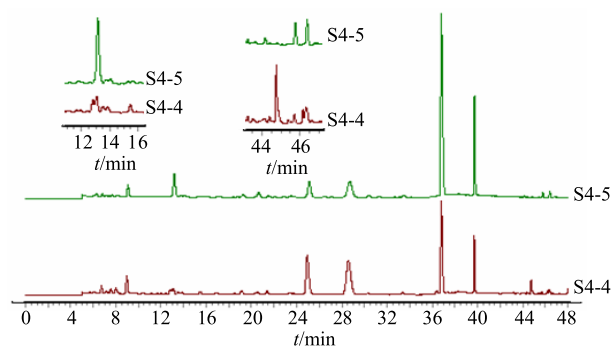


图 1 相同产地样品间的色谱图差异比较

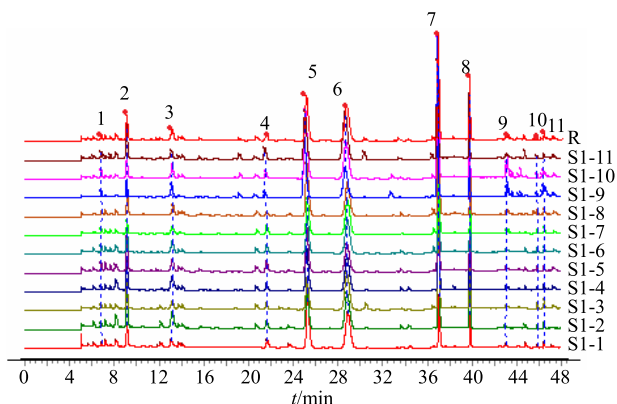
Fig. 1 Comparative HPLC chromatogram of samples from same region

峰在 S4-4 样品中几乎不存在；在 23.00~42.00 min 的 4 个色谱峰的变化趋势相反，在 S4-4 样品色谱图 24~30 min 色谱峰响应高于 S4-5，而在 32~42 min 内的 2 个色谱峰响应低于后者，这些谱图上的差异能够很好地解释 2 个生物碱和 4 个生物碱进行药材品质评价结果间差异较大的原因。对比分析结果再次提示仅凭借有限数量的指标成分检测进行博落回果的品质评价不能全面地反映其内在品质。

2.6 博落回果化学成分指纹图谱研究

2.6.1 博落回果化学成分指纹图谱的建立 选取安徽池州产博落回果样品，按“2.3.3”项下方法制备该产区各批次样品的供试品溶液，按“2.1”项下色谱条件进行测定，记录色谱图。为了排除溶剂峰的干扰，且在 48 min 之后没有新的色谱峰出现，本实验所有色谱图均选取 5~48 min 的谱图，“时间窗宽度”设定为 0.5 min，对照图谱的生成采用“中位数”方法，将谱图导入《中药色谱指纹图谱相似度评价系统（2012 年版）》进行峰匹配和生成对照指纹图谱（图 2）。安徽池州各批次样品图谱共包含有 11 个共有峰，按出峰时间依次标记为 1~11 号峰。

通过对照品的 HPLC 谱图比对，明确保留时间为 25.170、28.778、36.950、39.775 min 的色谱峰分别对应原阿片碱（5 号峰）、别隐品碱（6 号峰）、血根碱（7 号峰）和白屈菜红碱（8 号峰）。因 6 号峰（28.78 min，别隐品碱）保留时间居中、分离度好和不易受其他色谱峰干扰，确定为参照峰（S）；计算上述 11 个共有峰与参照峰的相对峰面积（表 2）和相对保留时间（表 3）。运用《中药色谱指纹图谱相似度评价系统（2012 年版）》软件对安徽池州产区的 11 个样品进行分析，建立该产区博落回果指纹图谱的对照图谱（R）（图 2）。各样品指纹图谱与对



5-原阿片碱 6-别隐品碱 7-血根碱 8-白屈菜红碱
5-protopine 6-alloclryptopine 7-sanguinarine 8-chelerythrine

图 2 安徽池州产区博落回果样品 (S1-1~S1-11) 色谱叠加图和对照图谱 (R)

Fig. 2 Overlay HPLC chromatograms and HPLC common pattern (R) of fingerprint chromatogram of *M. cordata* (S1-1—S1-11) produced in Chizhou of Anhui Province

照图谱进行比较，并计算它们的相似度，结果显示该产区各批次样品与对照谱图的相似度均大于 0.94（表 4），表明该产地样品品质的均一性良好，且基于该产地样品构建的指纹图能够对博落回果进行科学地品质评价。

2.6.2 不同产地博落回果化学成分指纹图谱比较 取上述不同产地博落回果样品，按“2.3.3”项下方法制备各产区各批次样品的供试品溶液，按上述色谱条件进行测定，记录色谱图。以基于安徽池州产博落回果建立的对照图谱为参照谱图，将其他各产地的色谱图导入到《中药色谱指纹图谱相似度评价系统（2012 年版）》进行峰匹配及相似度计算。从表 5 中可知，除广东韶关和湖南益阳的部分样品外，大部分样品与对照图谱的相似度均大于 0.9，表明上述大部分博落回果内在品质均一性良好。

结合上述不同产地含量数据检测结果，发现广东韶关和湖南益阳产博落回果中指标成分含量相对较高，但是与对照指纹图谱的匹配相似度偏低。提示产地对博落回果中积累的代谢产物种类及其含量有着较大的影响，造成不同产地药材的品质差异，致使指纹图谱在整体上呈现出明显的差别。

2.7 主成分分析与聚类分析

为了探究博落回果中生物碱种类及其品质与产地之间的关联性，利用 SPSS 17.0 对上述不同产地样本的峰面积进行主成分分析。经标准化处理后的样本数据共提取得到 6 个主成分，它们的特征值依

表 2 安徽池州产博落回果共有峰的相对峰面积

Table 2 Relative peak areas of common peaks of fruit of *M. cordata* in Chizhou of Anhui Province

峰号	共有峰相对峰面积											RSD/%
	S1-1	S1-2	S1-3	S1-4	S1-5	S1-6	S1-7	S1-8	S1-9	S1-10	S1-11	
1	0.041	0.031	0.040	0.026	0.030	0.061	0.054	0.038	0.023	0.046	0.042	32.22
2	0.252	0.232	0.398	0.289	0.309	0.335	0.223	0.124	0.209	0.150	0.174	34.36
3	0.172	0.108	0.284	0.140	0.260	0.192	0.177	0.110	0.145	0.161	0.174	32.50
4	0.099	0.109	0.093	0.070	0.090	0.162	0.102	0.111	0.038	0.073	0.070	39.32
5	0.781	0.846	0.679	0.532	0.764	0.819	0.621	0.625	0.953	1.048	0.837	19.79
6 (S)	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.00
7	1.030	0.506	1.127	0.909	1.268	1.557	0.905	0.631	1.545	0.918	0.970	32.05
8	0.369	0.189	0.427	0.436	0.477	0.415	0.462	0.330	0.419	0.199	0.337	26.67
9	0.027	0.029	0.029	0.024	0.023	0.037	0.026	0.022	0.027	0.027	0.027	14.79
10	0.022	0.015	0.016	0.033	0.019	0.022	0.022	0.020	0.026	0.016	0.032	26.88
11	0.043	0.029	0.030	0.068	0.031	0.027	0.031	0.042	0.060	0.047	0.076	40.12

表3 安徽池州产博落回果共有峰的相对保留时间

Table 3 Relative retention time of common peaks of fruit of *M. cordata* in Chizhou of Anhui Province

峰号	共有峰相对保留时间											RSD/%
	S1-1	S1-2	S1-3	S1-4	S1-5	S1-6	S1-7	S1-8	S1-9	S1-10	S1-11	
1	0.238	0.238	0.237	0.237	0.238	0.238	0.238	0.238	0.237	0.237	0.237	0.145
2	0.317	0.317	0.316	0.317	0.317	0.317	0.317	0.318	0.316	0.316	0.316	0.170
3	0.455	0.459	0.459	0.458	0.459	0.459	0.459	0.460	0.456	0.458	0.456	0.355
4	0.753	0.751	0.751	0.751	0.751	0.752	0.752	0.752	0.745	0.750	0.746	0.337
5	0.878	0.876	0.876	0.875	0.875	0.877	0.877	0.876	0.868	0.874	0.869	0.358
6 (S)	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.000
7	1.287	1.284	1.284	1.284	1.283	1.285	1.285	1.284	1.281	1.284	1.280	0.144
8	1.383	1.382	1.382	1.382	1.382	1.382	1.382	1.382	1.381	1.381	1.380	0.057
9	1.494	1.493	1.500	1.501	1.496	1.501	1.496	1.496	1.501	1.500	1.494	0.211
10	1.592	1.591	1.592	1.592	1.592	1.592	1.592	1.591	1.591	1.591	1.591	0.038
11	1.613	1.613	1.613	1.613	1.613	1.613	1.613	1.613	1.611	1.611	1.611	0.054

表4 安徽池州产博落回果的指纹图谱相似度结果

Table 4 Similarity of fruits of *M. cordata* in Chizhou of Anhui Province[illegible]

表 5 不同产地样品的相似度

Table 5 Similarity of samples from different regions

样品来源	样品编号	相似度	样品来源	样品编号	相似度
安徽池州	S1-1	0.988	湖北咸宁	S4-3	0.978
	S1-2	0.947		S4-4	0.893
	S1-3	0.989		S4-5	0.958
	S1-4	0.985		S4-6	0.985
	S1-5	0.991		S4-7	0.988
	S1-6	0.964	湖南益阳	S5-1	0.355
	S1-7	0.994		S5-2	0.357
	S1-8	0.977		S5-3	0.248
	S1-9	0.978		S5-4	0.266
	S1-10	0.968	江西吉安	S6-1	0.973
	S1-11	0.992		S6-2	0.966
广东韶关	S2-1	0.965		S6-3	0.957
	S2-2	0.922	浙江丽水	S6-4	0.993
	S2-3	0.371		S6-5	0.968
	S2-4	0.412		S7-1	0.976
	S2-5	0.407		S7-2	0.971
广西贺州	S3-1	0.985		S7-3	0.979
	S3-2	0.973		S7-4	0.992
	S3-3	0.977	江苏无锡	S8-1	0.948
	S3-4	0.970		S8-2	0.980
	S3-5	0.955		S8-3	0.971
湖北咸宁	S4-1	0.990		S8-4	0.975
	S4-2	0.934			

次为 2.63、2.19、1.91、1.36、0.91 和 0.58，方差贡献率依次为 23.93%、19.86%、17.37%、12.33%、8.27% 和 5.30%，累积贡献率达到 87.06%，基本包含了博落回果指纹图谱的大部分信息。选取方差贡献率较大的 3 个主成分进行主成分分析，得到主成分三维投影图（图 3），共分为 2 组，相似度小于 0.9 的样本包括来自广东韶关（S2-3 和 S2-4）、湖北咸宁（S4-4）和湖南益阳（S5-1~S5-3）（红色方框标记）集中在同一组。该结果表明博落回果化学成分指纹图谱差异的因素与主成分具有某种内在的关联性。

同时运用 SIMCA 14.1 软件，选取 Ward 分析法，利用 6 个主成分对上述不同产地样品进行层聚类分析（图 4），由图 4 可见所有样品可以分为 2 类，聚类结果与主成分分析结果一致。利用 SPSS 17.0 软件在主成分分析中继续进行主轴因子提取法，经过平均正交旋转，迭代 7 次后得到主成分载荷矩阵模型，按照从大到小顺序依次排列出各共有峰（1~11 号峰）对 3 个主成分的贡献系数（表 6）。从表 6 中可知共有指纹峰 7 号峰和 8 号峰对主成分 1 的贡献最大，11 号峰对主成分 2 的贡献最大，以此类推

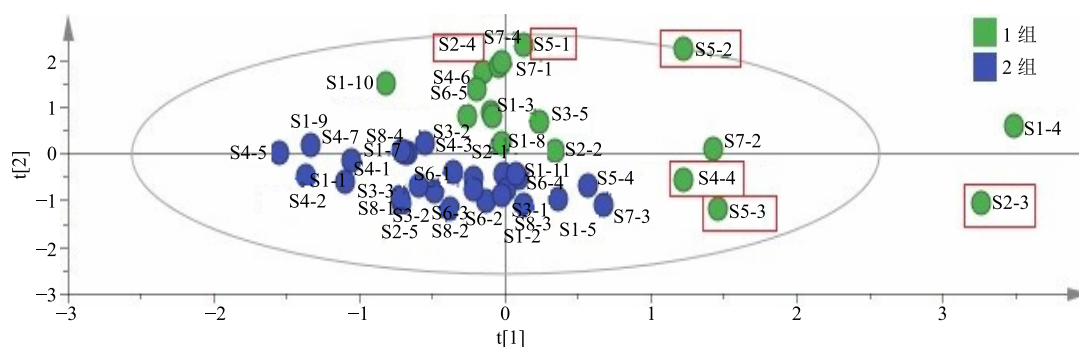


图 3 PCA 三维投影图

Fig. 3 Score scatter 3D lot of PCA

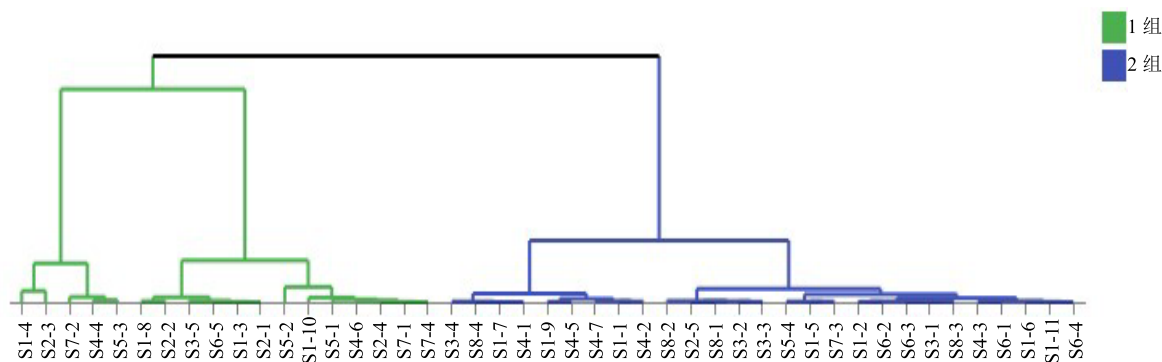


图 4 层聚类分析图

Fig. 4 Results of HCA cluster analysis

表 6 主成分载荷因子模型^a
Table 6 Contribution plot of principal component^a

峰号	主成分					
	1	2	3	4	5	6
8	0.926					
7	0.864					
11		0.916				
10	0.505	0.697				
9			0.885			
2	0.357	-0.410	0.662			
1	0.324	-0.388	0.631			-0.354
5				0.963		
6				0.669	0.606	
4					0.881	
3						0.914

^a 表格仅列出大于 0.3 的得分系数

^a table only lists score factors greater than 0.3

可知共有指纹峰 7、8、11、9 和 5 号峰等对不同产地博落回果指纹图谱差异的贡献值较大。相比上述各共有指纹峰，6 号峰对不同产地博落回果指纹图谱差异的贡献值较小，因其保留时间适中，适宜作为指纹图谱的参照峰。利用对照品经液相色谱法比对，确认 5、6、7 和 8 号峰分别为原阿片碱、别隐品碱、血根碱和白屈菜红碱，9 和 11 号峰为未知峰。因此，为了更好地全面评价不同产地博落回果的品质，需要进一步利用质谱等手段对 9 和 11 号峰进行确定。

3 讨论

指纹图谱作为中药材品质评价的有效手段，在实际中可以利用模糊数学等手段进行精确的定性定量分析，可以从整体上对不同产地中药材品质的差异性进行评判，结合多变量统计方法能有效地识别具有产地差异特异性的标志成分。

本研究构建的不同产地博落回果指纹图谱具有良好的精密性、重复性和稳定性，可用于构建基于产地差异的中药材品质评价方法。相似度评价分析得到 10 批药材中，除广东韶关和湖南益阳外，其指纹图谱相似度均大于 0.9，提示大部分博落回果内在品质均一性良好，利用标准品溶液经液相色谱比对后，指认了其中 4 个共有峰，分别为原阿片碱（5 号峰）、别隐品碱（6 号峰）、血根碱（7 号峰）和白屈菜红碱（8 号峰）；聚类分析和主成分分析得到样品之间的相关性，经主成分分析提取 6 个主成分，选取 Ward 分析法对不同产地样品进行层聚类分析，结果与聚类分析一致；通过主成分载荷因子模型得出血根碱、白屈菜红碱、原阿片碱等对不同产地博

落回果指纹图谱差异的贡献值较大，下一步将通过质谱等手段，将其他未知共有峰确定，同时进一步研究产地对博落回果代谢产物种类及其含量的影响，阐明代谢产物与博落回果内在品质的关系。

在实际工作当中，应当结合生产需要选择合适的品质评价方法。比如，实际生产以提取博落回果中血根碱和白屈菜红碱为目的，应参考现行湖南省地方标准对提取药材原料进行检测；以生物碱作为有效部位的生产工艺，应考虑选择上述 4 个生物碱为评价指标，对博落回果原料进行考察；在判别药材真伪优劣、产地区分以及药材综合利用等方面，需要结合指纹图谱进行综合评价。

参考文献

- [1] 汪学军, 闵长莉, 韩彭垒. 博落回不同部位提取物对大肠菌群的抑菌作用研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2016, 28(2): 247-250.
- [2] 王朝元, 童胜兰, 胡鑫. 博落回生物碱成分及其抗菌活性的研究 [J]. 中南民族大学学报: 自然科学版, 2015, 34(1): 39-42.
- [3] 邹惠亮, 李红玉, 余绍福, 等. 博落回的生物碱成分及细胞毒活性研究 [J]. 中国中药杂志, 2015, 40(3): 458-462.
- [4] Liu M, Lin Y L, Chen X R, et al. *In vitro* assessment of *Macleaya cordata* crude extract bioactivity and anticancer properties in normal and cancerous human lung cells [J]. *Exper Toxic Pathol J Gesell Fur Toxikol Path*, 2013, 65(6): 775-787.
- [5] 湖南省中药材标准. 博落回果 [S]. DB43/T497-2009, 2009.
- [6] 钟明, 黄可龙, 曾建国, 等. 采用 UPLC-ESI-MS 快速测定博落回各器官中主要生物碱的含量 [J]. 中南大学学报: 自然科学版, 2011, 42(7): 1899-1905.
- [7] 王曙光, 滑培玲, 王涵磊, 等. HPLC 法测定不同产地博落回中白屈菜红碱和血根碱含量 [J]. 安徽医药, 2011, 15(4): 434-436.
- [8] 黄敬, 曾建国, 罗卫梅, 等. HPLC 法同时测定博落回不同部位原阿片碱、别隐品碱的含量 [J]. 湖南中医药大学学报, 2010, 30(1): 41-42.
- [9] 李文亮, 曾建国, 刘发宝, 等. 一测多评法测定博落回果实中原阿片碱、别隐品碱、血根碱和白屈菜红碱的含量 [J]. 湖南中医药大学学报, 2011, 31(7): 25-28.
- [10] 陆兔林, 石上梅, 蔡宝昌, 等. 基于一测多评的中药多成分定量研究进展 [J]. 中草药, 2012, 43(12): 2525-2529.
- [11] 李倩, 罗祖良, 杨小丽, 等. 中药质量控制方法研究述评 [J]. 中医学报, 2012, 27(4): 448-451.