

基于指纹图谱和多指标成分定量结合化学计量法延胡索不同产地质量评价

王 洋¹, 魏永孝^{1#}, 谷雨薇¹, 陈思懿¹, 王秦莉¹, 金 怡³, 代 敏^{2*}, 蒲忠慧^{1,2*}

1. 成都医学院检验医学院, 四川 成都 610500

2. 四川省动物源性食品兽药残留防控技术工程实验室, 四川 成都 610500

3. 浙江省东阳市良种推广中心, 浙江 东阳 322100

摘要: 目的 采用指纹图谱、多指标成分定量与化学计量法相结合的方法, 评价不同产地延胡索 *Corydalis yanhusuo* 的质量, 为其进一步开发利用提供依据。方法 采用 HPLC 法, 流动相为乙腈-0.1 mol/L 磷酸水溶液进行梯度洗脱, 柱温 30 ℃, 体积流量 0.8 mL/min, 检测波长 280 nm, 对 14 批不同产地延胡索药材建立指纹图谱及原阿片碱、延胡索乙素、盐酸药根碱、盐酸巴马汀、脱氢紫堇碱 5 种有效成分含量测定, 运用聚类分析 (hierarchical cluster analysis, HCA)、主成分分析 (principal component analysis, PCA) 和正交偏最小二乘法-判别分析 (orthogonal partial least squares-discriminant analysis, OPLS-DA) 对延胡索进行化学计量分析。结果 建立了 14 批延胡索药材的指纹图谱, 相似度为 0.739~0.991, 共标定 16 个共有峰, 指认了 5 个成分, 含量测定结果表明不同产地延胡索中化学成分含量存在明显差异; HCA 分析 14 批延胡索明显分为 2 类; PCA 得到 4 个主成分的累积方差贡献率为 86.751%; OPLS-DA 表明延胡索乙素和脱氢紫堇碱可能是影响延胡索药材质量的差异标志物。结论 建立的延胡索 HPLC 指纹图谱及 5 个成分含量测定方法的专属性强, 且准确、可靠, 结合化学计量法可用于延胡索的药材鉴别和质量控制。

关键词: 延胡索; 指纹图谱; 多指标成分; 化学计量法; 质量评价; 原阿片碱; 延胡索乙素; 盐酸药根碱; 盐酸巴马汀; 脱氢紫堇碱

中图分类号: R286.2

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2024)19-6730-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2024.19.025

Quality evaluation of *Corydalis Rhizoma* from different areas based on fingerprint and multi-index component quantification combined with chemometric analysis

WANG Yang¹, WEI Yongxiao¹, GU Yuwei¹, CHEN Siyi¹, WANG Qinli¹, JIN Yi³, DAI Min², PU Zhonghui^{1,2}

1. College of Laboratory Medicine, Chengdu Medical College, Chengdu 610500, China

2. Sichuan Provincial Engineering Laboratory for Prevention and Control Technology of Veterinary Drug Residue in Animalorigin Food, Chengdu 610500, China

3. Breed Promotion Center of Zhejiang Dongyang, Dongyang 322100, China

Abstract: Objective Based on the method of HPLC fingerprint, multi-index component quantification and chemometric analysis, the quality of Yanhusuo (*Corydalis Rhizoma*) from different habitats was evaluated to provide a basis for its further development and utilization. **Methods** HPLC method was used with acetonitrile-0.1 mol/L phosphoric acid water solution as the mobile phase for gradient elution. The column temperature was 30 ℃, the flow rate was 0.8 mL/min, and the detection wavelength was 280 nm. The fingerprints were established for 14 batches of *Rhizoma corydalis* from different habitats and contents of five effective components of protopine, tetrahydropalmatine, jatrorrhizine hydrochloride, palmatine hydrochloride and dehydrocorydaline were determined. The hierarchical cluster analysis (HCA), principal component analysis (PCA) and orthogonal partial least squares-discriminant analysis

收稿日期: 2024-02-02

基金项目: 四川省博士后科学基金资助项目 (TB2023050); 四川省中医药管理局专项课题 (2023MS084; 2023ZD02); 国家级大学生创新创业计划项目 (202413705031); “成医英才”登峰计划人才项目 (2024qnGzn14)

作者简介: 王 洋 (2003—), 男, 四川遂宁人, 在读本科, 主要从事中药质量分析。E-mail: 2273412395@qq.com

#共同第一作者: 魏永孝 (2001—), 女, 四川茂县人, 在读本科, 主要从事中药质量分析。E-mail: 2379228280@qq.com

*通信作者: 蒲忠慧 (1982—), 女, 四川万源人, 博士, 副教授, 主要从事中药质量分析及药效研究。E-mail: zhonghui.pu@163.com

代 敏 (1974—), 女, 四川达州人, 博士, 教授, 主要从事中药抗耐药菌机制研究。E-mail: daimin1015@163.com

(OPLS-DA) were used to analyze the stoichiometry of *Corydalis Rhizoma*. **Results** The fingerprints of 14 batches of *Corydalis Rhizoma* were established, with similarity ranging from 0.739 to 0.991. A total of 16 common peaks were identified, and five components were identified. The results of content determination showed that there were significant differences in the content of chemical components in *Corydalis Rhizoma* from different habitats. HCA analysis showed that 14 batches of *Corydalis Rhizoma* were clearly divided into two categories. PCA obtained four principal components with a cumulative contribution rate of 86.751%. OPLS-DA indicated that tetrahydropalmatine and dehydrocorydaline may be the markers of quality difference of *Corydalis Rhizoma*. **Conclusion** The established HPLC fingerprint and content determination method of five components of *Corydalis Rhizoma* had strong specificity, accuracy, and reliability, and can be used for identification and quality control of *Corydalis Rhizoma* by combining chemometric analysis.

Key words: *Corydalis Rhizoma*; fingerprint; multi-index components; chemometric analysis; quality evaluation; protopine; tetrahydropalmatine; jatrorrhizine hydrochloride; palmatine hydrochloride; dehydrocorydaline

延胡索又名元胡，为罂粟科紫堇属植物多年生草本延胡索 *Corydalis yanhusuo* W. T. Wang 的干燥块茎，最早记载于《神农本草经》，列为中品，味苦辛，性辛温，归肝及脾经，具有活血、行气、散瘀、止痛等功效，常用于胸胁、脘腹疼痛、胸痹心痛、经闭痛经、产后瘀阻、跌扑肿痛等^[1]。现代研究表明延胡索具有镇痛、镇静、抗心肌缺血、抗心律失常、抗肿瘤、抗炎、抗菌及抗病毒等作用，其主要的药效物质基础多为生物碱类成分^[2-4]。延胡索是著名的“浙八味”之一，主产于浙江省东阳、磐安及陕西汉中等地，近年来在河南、江苏、山东等地大量栽培，也有多种同属植物的块茎在部分地区作为元胡药用，种类繁多。

《中国药典》2020 年版仅以延胡索乙素作为延胡索的质控指标，但延胡索乙素专属性不强^[5]，相关文献报道^[6-7]多以延胡索乙素、原阿片碱等主要生物碱类成分含量作为研究指标，指纹图谱^[8-9]多集中于延胡索指纹图谱单一分析，尚无运用指纹图谱与正交偏最小二乘法-判别分析（orthogonal partial least-squares discrimination analysis, OPLS-DA）相结合对延胡索进行质量评价报道。因此，本研究采用指纹图谱和多指标成分定量结合 OPLS-DA 等化学计量法综合分析浙江、陕西 2 大主产区延胡索药材的成分差异，明确其产地差异及成分特征，为延胡索基原优选和质量控制提供参考依据。

1 仪器和材料

1.1 仪器

Agilent 1260 Infinity II 高效液相色谱仪（美国 Agilent 公司）；BI-800A 型拜杰多功能粉碎机（德清拜杰电器有限公司）；BSA124S 型万分之一分析天平（赛多利斯上海贸易有限公司）；SB25-12D 型超声波清洗仪（宁波新艺超声设备有限公司）；MiLi-

Q 型纯水仪（美国 milipore 公司）。

1.2 材料

原阿片碱（批号 MUST-22092404）、延胡索乙素（批号 MUST-23022711）盐酸药根碱（批号 MUST-23091518）、盐酸巴马汀（批号 MUST-22101410）、脱氢紫堇碱（批号 MUST-23071017），以上对照品均购自成都曼思特生物科技有限公司，质量分数≥98%；乙腈（色谱级，Sigma 公司）；其余试剂均为分析纯。

1.3 药材

2022 年 5 月集中采集延胡索药材 14 批，分别来自主产区浙江（9 批）、陕西（5 批）等地，所有药材经成都医学院药学院李羿教授鉴定为罂粟科植物延胡索 *C. yanhusuo* W. T. Wang 的干燥块茎。具体信息见表 1。

表 1 延胡索药材来源信息

Table 1 Source information of medicinal materials of *Corydalis Rhizoma*

编号	产地	来源	采集时间
S1	浙江东阳东江	自采	2023-05
S2	浙江东阳马宅	自采	2023-05
S3	浙江东阳横店	自采	2023-05
S4	浙江磐安冷水	自采	2023-05
S5	浙江磐安方前	自采	2023-05
S6	浙江磐安新屋	自采	2023-05
S7	浙江天古斜山	自采	2023-05
S8	浙江仙居横溪	自采	2023-05
S9	浙江永康古山	自采	2023-05
S10	陕西城固文川	自采	2023-05
S11	陕西城固龙头	自采	2023-05
S12	陕西城固五堵	自采	2023-05
S13	陕西城固三合	自采	2023-05
S14	陕西汉白区	自采	2023-05

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: Eclipse Plus C₁₈ (150 mm×4.6 mm, 3.5 μm); 流动相为 0.1 mol/L 磷酸 (A)-乙腈 (B); 梯度洗脱: 0~15 min, 90%~10% B; 15~65 min, 10%~17% B; 65~85 min, 17%~30% B; 85~105 min, 30%~55% B; 105~115 min, 55%~80% B; 116~130 min, 80%~10% B。体积流量 0.8 mL/min, 检测波长 280 nm, 柱温 30 ℃, 进样量 10 μL。

2.2 溶液的制备

2.2.1 供试品溶液制备 参考《中国药典》2020 年版方法^[1]: 取 0.5 g 干燥延胡索药材粉末 (过 60 目筛), 精密称定, 加入浓氨试液-甲醇 (1:20) 混合溶液 50 mL, 称定质量, 冷浸 1 h 后加热回流 1 h, 放冷, 再称定质量, 用浓氨试液-甲醇 (1:20) 混合溶液补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 精密吸取续滤液 25 mL, 旋转蒸发仪回收溶剂, 残渣加甲醇溶解, 定容至 5 mL, 用 0.45 μm 滤膜滤过, 取续滤液备用。

2.2.2 混合对照品溶液 分别精密称定原阿片碱、延胡索乙素、盐酸药根碱、盐酸巴马汀、脱氢紫堇碱对照品适量, 加入色谱甲醇溶解并定容, 配成质量浓度分别为 7.43、48.82、31.99、42.97、34.66、91.36 μg/mL 的混合对照品储备液, 备用。

2.2.3 空白溶液 以样品的提取溶剂浓氨试液-甲醇 (1:20) 混合溶液作为空白溶液。

2.3 指纹图谱的建立及分析

2.3.1 精密度试验 精密称取延胡索药材粉末 (S9) 约 0.5 g (过 60 目筛), 按“2.2.1”项下方法

制备供试品, 按“2.1 项下”色谱条件测定, 连续进样 6 次, 记录色谱图, 以 13 号峰 (脱氢紫堇碱) 为参照峰 (S, 该峰分离良好, 保留时间合适), 计算得到各共有峰的相对保留时间的 RSD 均小于 0.78%, 相对峰面积 RSD 均小于 1.09%, 表明仪器精密度良好。

2.3.2 重复性试验 精密称取同一延胡索药材粉末 (S9) 约 0.5 g (过 60 目筛), 按“2.2.1”项下方法平行制备 6 份供试品溶液, 按“2.1”项下色谱条件测定, 以 13 号峰脱氢紫堇碱为参照峰 (S), 计算得到各共有峰的相对保留时间的 RSD 均小于 0.96%, 相对峰面积 RSD 均小于 1.19%, 表明方法重复性好。

2.3.3 稳定性试验 取同一延胡索供试品溶液, 按“2.1”项下色谱条件测定, 分别在 0、2、4、8、12、24 h 进行测定, 以 13 号峰脱氢紫堇碱为参照峰 (S), 计算得到各共有峰的相对保留时间的 RSD 均小于 1.07%, 相对峰面积 RSD 均小于 1.47%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.3.4 指纹图谱建立及相似度评价 精密称取 14 批延胡索粉末各 0.5 g, 按照“2.2.1”项下方法制备供试品溶液, 然后分别按照“2.1”项下色谱条件进样测定, 记录色谱图。将 14 批延胡索样品的 HPLC 图谱导入《中药色谱指纹图谱相似度评价系统 (2008A 版)》中, 以 S5 号样品的色谱图为参照图谱, 时间窗宽度为 0.3 min 中位数法生成对照图谱 (R), 经多点校正后进行色谱峰匹配生成样品叠加指纹图谱 (图 1); 然后以对照指纹图谱为参照, 进行各样品图谱的相似度评价。同时, 通过将对照

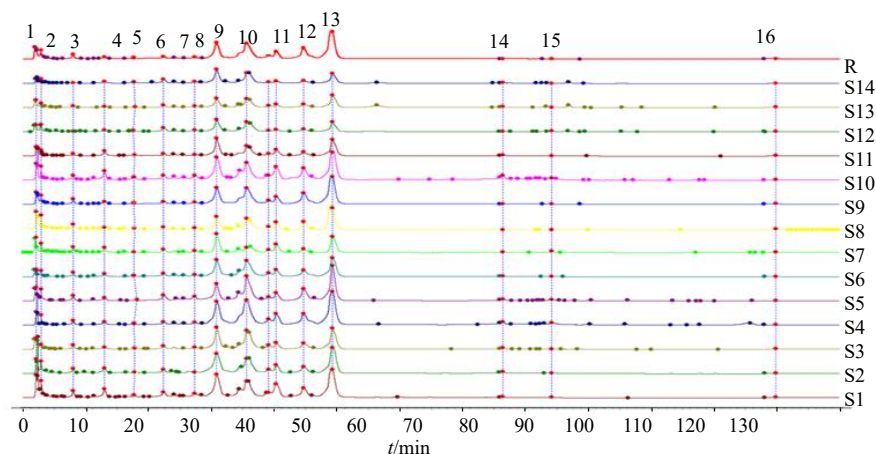


图 1 14 批延胡索样品的 HPLC 叠加指纹图谱和对照指纹图谱 (R)

Fig. 1 HPLC superimposed fingerprint of 14 batches of *Corydalis Rhizoma* and control fingerprint (R)

指纹图谱与对照品色谱图进行比对，进行色谱峰的指认。结果，14 批延胡索样品中共标定了 16 个共有峰；通过与对照品色谱图比对，指认了其中 5 个成分，分别为原阿片碱（7 号峰）、延胡索乙素（8 号峰）、盐酸药根碱（9 号峰）、盐酸巴马汀（12 号峰）、脱氢紫堇碱（13 号峰）。各样品图谱与对照指纹图谱的相似度为 0.739~0.991，说明 14 批延胡索样品具有很高的相似性，相似度评价结果见表 2。

表 2 14 批延胡索样品 HPLC 指纹图谱相似度评价结果
Table 2 HPLC fingerprint similarity evaluation results of 14 batches of *Corydalis Rhizoma*

编号	相似度														
	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13	S14	R
S1	1.000														
S2	0.933	1.000													
S3	0.774	0.88	1.000												
S4	0.955	0.926	0.832	1.000											
S5	0.664	0.752	0.892	0.795	1.000										
S6	0.965	0.894	0.731	0.976	0.739	1.000									
S7	0.951	0.869	0.674	0.947	0.770	0.978	1.000								
S8	0.96	0.909	0.807	0.991	0.706	0.983	0.942	1.000							
S9	0.96	0.871	0.763	0.955	0.763	0.989	0.986	0.961	1.000						
S10	0.969	0.902	0.799	0.976	0.759	0.968	0.959	0.971	0.954	1.000					
S11	0.906	0.913	0.905	0.953	0.840	0.910	0.845	0.960	0.862	0.922	1.000				
S12	0.899	0.892	0.838	0.968	0.748	0.938	0.903	0.965	0.904	0.937	0.954	1.000			
S13	0.882	0.909	0.837	0.873	0.728	0.848	0.827	0.859	0.812	0.859	0.859	0.849	1.000		
S14	0.756	0.888	0.940	0.843	0.827	0.753	0.791	0.819	0.792	0.778	0.896	0.886	0.826	1.000	
R	0.978	0.948	0.834	0.991	0.726	0.983	0.960	0.989	0.963	0.982	0.953	0.962	0.898	0.838	1.000

2.4 化学模式识别

2.4.1 聚类分析 (hierarchical cluster analysis, HCA) 采用多元统计分析软件 SIMCA-P 14.0 对 14 批样品中 16 个共有峰的标准化峰面积 HCA，结果见图 2。样品被分 2 类：第 1 类为 S1~S9，浙江产区；第 2 类为 S10~S14，陕西产区。HCA 结果表明浙江和陕西延胡索药材的质量存在一定地域差异性。

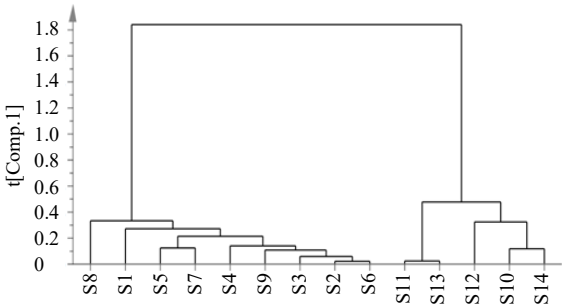


图 2 14 批延胡索药材样品的聚类分析图
Fig. 2 Cluster analysis of 14 batches of *Corydalis Rhizoma*

2.4.2 主成分分析 (principal component analysis, PCA) 进一步探讨 2 个主产区延胡索化学成分之间的差异，将 14 批样品 16 个共有峰的峰面积导入 SPSS.26 软件进行 PCA，计算相关矩阵的特征值及

其方差贡献率^[12]。以特征值>1 为提取标准，得到延胡索药材指纹图谱共有峰特征值（表 3），4 个主成分的累积方差贡献率达到 86.751%，说明 4 个主成分在反映 3 个主产地延胡索样品共有成分关系中起到主导作用。其中第 1~4 个主成分贡献率分别为为 52.342%、17.648%、9.422%和 7.339%。由主成分矩阵（表 4）可知各个共有峰对 4 个主成分不同的独立方差贡献率，第 1 主成分主要代表了峰 8、11、13；第 2 主成分主要代表了峰 1、9、10；第 3 主成分代表了峰 15、16；第 4 主成分代表了峰 1、2。

2.4.3 OPLS-DA 在 PCA 的基础上进一步选择有监督模式的 OPLS-DA 对不同产区 14 份延胡索样品进行分析，筛选出对引起组间差异贡献率较大的成分。

表 3 14 批延胡索样品主成分特征值及贡献率
Table 3 Characteristic value and concentration rate of 14 batches of *Corydalis Rhizoma*

主成分	特征值	方差贡献率/%	累积贡献率/%
1	8.375	52.342	52.342
2	2.824	17.648	69.990
3	1.507	9.422	79.412
4	1.174	7.339	86.751

表 4 14 批延胡索样品共有峰成分矩阵

Table 4 Component matrix of common peaks of 14 batches of *Corydalis Rhizoma*

峰号	共有峰	主成分			
		1	2	3	4
1	未指认	0.376	0.406	-0.513	0.553
2	未指认	0.565	-0.688	0.015	0.396
3	未指认	0.837	0.189	-0.057	0.400
4	未指认	0.798	-0.418	-0.317	-0.021
5	未指认	0.822	-0.400	-0.139	-0.187
6	未指认	0.713	-0.227	0.110	0.198
7	原阿片碱	0.669	-0.186	-0.433	-0.192
8	延胡索乙素	0.914	0.134	-0.082	0.012
9	盐酸药根碱	0.801	0.418	0.185	-0.305
10	未指认	0.449	0.816	0.153	-0.139
11	未指认	0.852	0.229	-0.380	-0.157
12	盐酸巴马汀	0.826	0.385	0.230	-0.032
13	脱氢紫堇碱	0.890	0.341	0.114	-0.144
14	未指认	0.685	-0.539	0.169	-0.310
15	未指认	0.597	-0.501	0.449	-0.043
16	未指认	0.493	0.109	0.645	0.429

在建立的 OPLS-DA 模型中, 累计解释能力参数 R^2_X 和 R^2_Y 分别为 0.860 和 0.955, 预测能力参数 (Q^2) 为 0.863, 提示本实验所建立 OPLS-DA 模型的稳定性及预测能力较好。由 OPLS-DA 得分图 3 可知, 样品被分为 2 类, 浙江产地聚为一类, 与 HCA 结果一致, 陕西产地中 S10 (陕西城固文川) 离散度偏大, 该结果与 HCA 有一定差异, 究其原因可能与该产地中 5 种指标成分均在陕西产地中含量最高有关, 具体原因有待进一步探究。对以上数据的差异性进行整体分析变量重要性投影值 (variable importance in projection, VIP)。VIP 表明该色谱峰的贡献度, 值越大, 贡献度越大。在 0.95 的置信区间内, 提取模型中 16 个变量的 VIP, 见图 4。选取

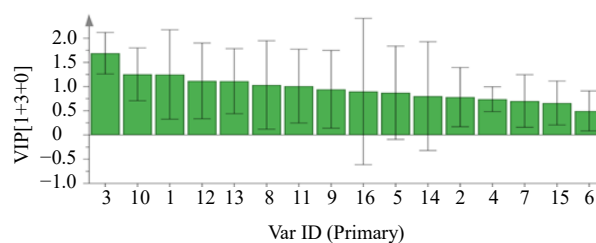


图 4 14 批次延胡索 16 个共有峰 VIP 值

Fig. 4 VIP value of 16 common peaks of 14 batches of *Corydalis Rhizoma*

VIP > 1 的 7 个化合物作为差异性标志物, 按 VIP 大小排序依次为 3 号峰 > 10 号峰 > 1 号峰 > 12 (盐酸巴马汀) > 13 号峰 (脱氢紫堇碱) > 8 号峰 (延胡索乙素) > 11 号峰, 这些成分是区分不同产地延胡索差异的主要标志性物。

2.5 含量测定

2.5.1 专属性试验 取“2.2.1”项下制备供试品溶液、混合对照品溶液以及空白溶液, 0.45 μm 滤膜滤过, 分别按“2.1”项下色谱条件进样分析, 记录色谱图。结果表明, 在该色谱条件下, 混合对照品溶液和供试品溶液中原阿片碱、延胡索乙素、盐酸药根碱、盐酸巴马汀、脱氢紫堇碱的色谱峰与相邻色谱峰间的分离度均大于 1.5, 以各成分计的理论板数均在 8 000 以上, 且空白溶液对测定无干扰, 说明此方法专属性良好。专属性试验的 HPLC 色谱图见图 5。

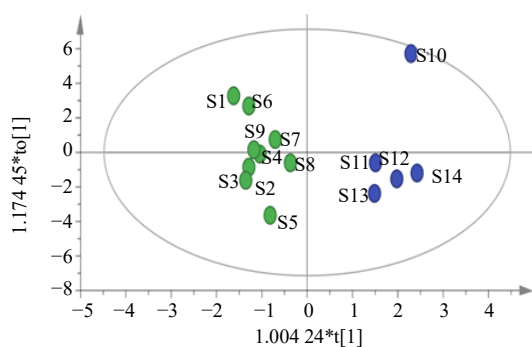
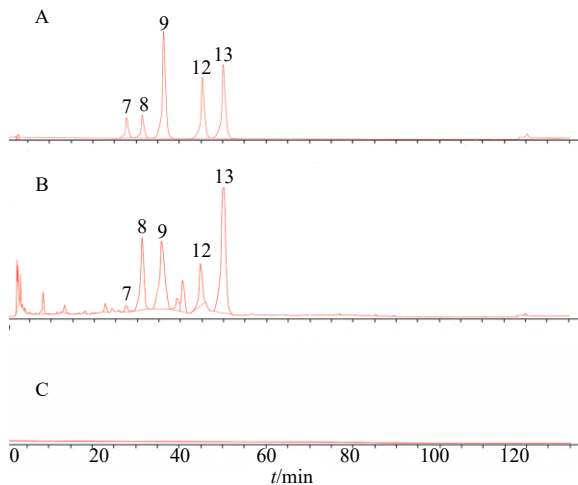


图 3 14 批延胡索药材 OPLS-DA 分析得分图

Fig. 3 OPLS-DA score plot of 14 batches of *Corydalis Rhizoma*



7-原阿片碱; 8-延胡索乙素; 9-盐酸药根碱; 12-盐酸巴马汀; 13-脱氢紫堇碱。
7-protopine; 8-tetrahydropalmatine; 9-jatrorrhizine hydrochloride; 12-palmatine hydrochloride; 13-dehydrocorydaline.

图 5 混合对照品溶液 (A)、供试品溶液 (B) 及阴性对照 (C) 的 HPLC 图
Fig. 5 HPLC chromatograms of mixed substance solution (A), test solution (B) and negative control (C)

2.5.2 线性关系考察 精密吸取“2.2.2”项下的混合对照品溶液适量, 用甲醇稀释制成系列浓度的混取续滤液 10 μL , 按“2.1”项下色谱条件进样分析, 记录峰面积。以进样量为横坐标 (X), 峰面积为纵坐标 (Y), 进行线性回归, 结果, 各待测成分均在其相应质量范围内与其峰面积的线性关系良好 (r 均不低于 0.999 1), 见表 5。

2.5.3 精密度试验 取混合对照品储备液适量, 按“2.1”项下色谱条件连续进样测定 6 次, 记录峰面积。计算得到原阿片碱、延胡索乙素、盐酸药根碱、盐酸巴马汀、脱氢紫堇碱峰面积的 RSD 分别为 0.81%、1.37%、0.96%、1.01%、1.09%。

2.5.4 重复性试验 精密称取同一产地 (S9) 的延胡索粉末 1.0 g, 按“2.2”项下方法平行制备 6 份供试品溶液, 再按“2.1”项下色谱条件连续测定 6 次, 记录峰面积并按标准曲线法计算样品中 5 种成分含量。结果, 原阿片碱、延胡索乙素、盐酸药根碱、盐酸巴马汀、脱氢紫堇碱峰面积质量分数的 RSD 分别为 1.01%、1.41%、0.91%、1.19%、0.93%, 表明方法重复性良好。

表 5 延胡索药材中 5 个成分线性关系考察

Table 5 Investigation of linear relationship of five components in *Corydalis Rhizoma*

成分	回归方程	r	线性范围/ μg
原阿片碱	$Y=11.96 X-12.477$	0.999 4	0.05~1.00
延胡索乙素	$Y=11.023 X-118.12$	0.999 1	0.50~2.20
盐酸药根碱	$Y=45.736 X+654.87$	0.999 1	0.25~2.00
盐酸巴马汀	$Y=27.385 X-72.158$	0.999 5	0.025~2.00
脱氢紫堇碱	$Y=38.61 X-15.838$	0.999 9	0.02~2.00

2.5.5 稳定性试验 取延胡索供试品溶液 (S9) 适量, 按“2.1”项下色谱条件分别于 0、2、4、8、12、24 h 进样测定, 记录峰面积。结果, 原阿片碱、合对照品溶液溶液。经 0.45 μm 微孔滤膜滤过后, 延胡索乙素、盐酸药根碱、盐酸巴马汀、脱氢紫堇碱峰面积的 RSD 分别为 0.98 %、1.73%、1.45%、1.11%、1.47%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.5.6 样品含量测定 精密称取 14 批不同产地延胡索药材粉末 (过 60 目筛) 2.0 g, 分别按“2.2.1”项下方法制备样品溶液, 按“2.1”项下色谱条件进样测定, 由表 6 可知, 14 批不同产地延胡索中 5 种成分含量差异显著。图 6 箱线图表明, 延胡索中 5

种成分含量平均含量高低依次为延胡索乙素>脱氢紫堇碱>盐酸巴马汀>盐酸药根碱>原阿片碱。其中原阿片碱在浙江和陕西延胡索中质量分数分别为 0.121 5~0.397 1、0.056 5~0.402 0 mg/g, 浙江产地整体明显高于陕西; 延胡索乙素和盐酸巴马汀在两产地的含量几乎相当, 尤其以浙江磐安新屋 (S6) 和陕西城固文川 (S10) 质量分数最高, 二者分别达 4.650 9、4.154 4、1.022 5、0.837 1 mg/g; 陕西产区的盐酸药根碱含量整体高于浙江产区; 浙江产区脱氢紫堇碱含量明显高于陕西产区。由此可见, 原阿片碱和脱氢紫堇碱可作为浙江延胡索标志性成分; 盐酸药根碱可作为陕西延胡索的指标性成分; 延胡索乙素和盐酸巴马汀在浙江和陕西延胡索中无明显

表 6 延胡索中 5 个成分的含量测定
Table 6 Contents determination of five components of *Corydalis Rhizoma*

编号	质量分数/(mg·g ⁻¹)				
	原阿片碱	延胡索乙素	盐酸药根碱	盐酸巴马汀	脱氢紫堇碱
S1	0.397 1	3.981 1	0.225 0	0.638 4	1.917 8
S2	0.216 7	2.401 8	0.156 1	0.384 0	1.243 9
S3	0.167 1	2.857 5	0.569 2	0.198 3	0.809 7
S4	0.186 7	2.589 8	0.161 4	0.363 4	1.677 0
S5	0.121 5	2.468 7	0.111 4	0.366 7	0.851 6
S6	0.206 7	4.650 9	0.939 7	1.022 5	2.145 6
S7	0.222 2	2.918 2	0.673 3	0.641 1	1.860 6
S8	0.167 1	1.225 3	0.179 6	0.504 8	1.588 1
S9	0.167 2	2.867 0	0.245 8	0.587 9	1.033 8
S10	0.402 0	4.154 4	0.520 1	0.837 1	1.078 4
S11	0.056 5	3.5790	0.406 4	0.474 4	1.329 1
S12	0.1848	2.210 1	0.607 2	0.355 1	1.160 2
S13	0.148 7	2.154 9	0.339 6	0.632 2	1.427 0
S14	0.068 3	2.806 7	0.235 7	0.221 0	0.931 0

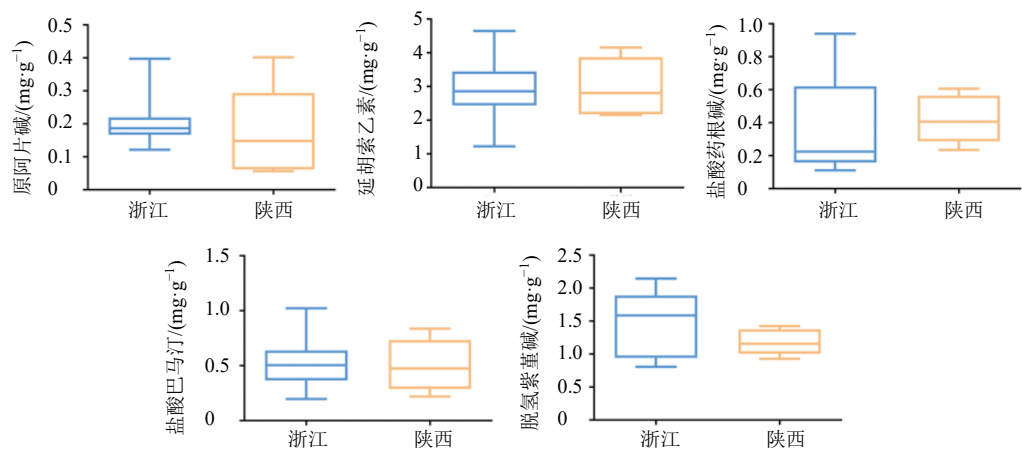


图 6 HPLC 指纹图谱 5 种指标成分含量测定箱线图
Fig. 6 Box diagram for determination of five index components of HPLC fingerprint

差异。

3 讨论

延胡索化学组分复杂，其主要活性成分为生物碱类，以叔氨碱和季氨碱为主，但目前延胡索药材及其中成药制剂大多仅采用原小檗碱型叔氨碱延胡索乙素作为单一质控指标，不足以真实反映延胡索药材的内在质量^[10]。原托品碱型原阿片碱和季氨碱盐酸药根碱、盐酸巴马汀和脱氢紫堇碱为延胡索主要生物碱类成分，在延胡索药效中也发挥着十分重要的作用。原阿片碱具有显著的镇痛、抑制血小板聚集、松弛平滑肌等作用^[11-12]；盐酸药根碱以其清

热燥湿、泻火解毒的特性而闻名，具有较强的抗菌、调血脂、降血糖等药理作用^[13]；盐酸巴马汀具有显著的抗肿瘤、降血糖、调血脂效果^[14]；脱氢紫堇碱不仅能活血、行气、镇痛、抗肿瘤，还能抑制乙酰胆碱酯酶和抗血小板聚集^[15]。近年来，指纹图谱和多指标成分定量结合化学计量法成为一种独特的评价技术^[16-17]。因此，本研究结合文献报道^[18]记载延胡索的道地产区，在延胡索采收季节（每年 5 月）采集了浙江和陕西延胡索 2 大主产区共计 14 批样品，对不同产地延胡索药材进行特征指纹图谱质量控制模式定性，选择原阿片碱、延胡索乙素、盐酸

药根碱、盐酸巴马汀和脱氢紫堇碱 5 个成分作为定量分析指标, 结合 OPLS-DA 等化学计量法全面评价不同产地延胡索的质量, 为延胡索整体质量提供参考依据。

指纹图谱结果表明, 14 批延胡索质量差异较小, 相似度在 0.739~0.991, 标定了 16 个共有峰, 建立的指纹图谱方法专属性强、简便准确。在指纹图谱基础上建立了延胡索中 5 种生物碱的含量测定方法, 在流动相选择上发现乙腈-0.1 mol/L 的磷酸梯度洗脱体系色谱峰峰形更佳, 响应值更高。含量测定结果表明, 5 种生物碱中延胡索乙素含量在浙江和陕西 2 产地均为最高, 质量分数为 1.225 3~4.650 9 mg/g, 整体高于文献报道^[19-20]的不同产地延胡索中延胡索乙素质量分数 (0.58~1.05 mg/g、0.987~1.625 mg/g)。不同产地的延胡索药材中 5 种生物碱的含量有明显差异, 浙江产地延胡索中原阿片碱和脱氢紫堇碱的平均含量相对陕西产地较高, 质量分数分别为 0.121 5~0.397 1 mg/g 和 0.809 7~2.145 6 mg/g, 可作为浙江延胡索标志性成分; 延胡索乙素和盐酸巴马汀在 2 产地的含量相当; 陕西产区的盐酸药根碱含量整体高于浙江产区, 可作为陕西延胡索的指标性成分。14 批延胡索样品中 5 种生物碱含量, 在同产为浙江的 9 批和同产于陕西的 5 批样品之间也呈现一定差异, 推测可能与采集样本量不够大或当地农户从市场上买种植有关。由此可见, 延胡索中以上 5 种生物碱含量与延胡索药材基原、气候、环境以及药农的栽培等因素密切相关。

为了进一步区分不同产地延胡索化学成分之间的差异, 基于含量测定结果, 采用 HCA、PCA 和 OPLS-DA 等化学计量法将延胡索区分为 2 类, 4 个主成分累计方差贡献率为 86.751%; 通过变量权重排序发现共有峰 3、10、1、12 (盐酸巴马汀)、13 (脱氢紫堇碱)、8 (延胡索乙素)、11 等成分可作为区分和鉴别不同产区延胡索药材质量标志物。本课题组后续将采用液质联用技术对新增共有峰及其他差异标志物进一步分析, 以期评价延胡索药材的品质及其道地性提供更为全面地参考。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 145-146.
- [2] 陈斯. 延胡索化学成分和药理作用研究进展 [J]. 中医药信息, 2021, 38(7): 78-82.

- [3] Tian B, Tian M, Huang S M. Advances in phytochemical and modern pharmacological research of *Rhizoma Corydalis* [J]. *Pharm Biol*, 2020, 58(1): 265-275.
- [4] 冯自立, 赵正栋, 刘建欣. 延胡索化学成分及药理活性研究进展 [J]. 天然产物研究与开发, 2018, 30(11): 2000-2008.
- [5] 蒋濛. 醋制对延胡索主要活性成分含量及药效学影响研究 [D]. 武汉: 湖北中医药大学, 2016.
- [6] 黄涛, 刘丽, 张笑敏, 等. 夏天无 HPLC 指纹图谱及多指标含量测定研究 [J]. 中草药, 2019, 50(10): 2474-2479.
- [7] 王欢, 毕福钧, 林彤, 等. 延胡索 HPLC 指纹图谱研究及 9 种生物碱含量测定 [J]. 中药材, 2017, 40(3): 624-629.
- [8] 李强, 程艳芹, 崔晓博, 等. 延胡索 HPLC 指纹图谱评价及含量测定研究 [J]. 药学研究, 2023, 42(1): 18-22.
- [9] 宋艺君, 郭涛, 孙婧, 等. 陕产延胡索产地加工与炮制一体化 HPLC 指纹图谱研究 [J]. 中医药信息, 2018, 35(5): 49-54.
- [10] 李兴华, 马志鑫. 延胡索醋炙前后饮片和煎剂中延胡索乙素的含量比较 [J]. 药学研究, 2017, 36(2): 75-76.
- [11] 高振华, 王超然, 郭秀洁, 等. 延胡索中叔胺碱和季铵碱类组分的高效分离及镇痛活性鉴定 [J]. 天然产物研究与开发, 2020, 32(3): 507-514.
- [12] 陈斯. 延胡索化学成分和药理作用研究进展 [J]. 中医药信息, 2021, 38(7): 78-82.
- [13] 胡蕊, 尹丽, 陶晓倩, 等. 药根碱的研究进展 [J]. 山东化工, 2021, 50(21): 78-79.
- [14] 肖培根, 肖伟, 许利嘉, 等. 黄连及含小檗碱类生物碱的中草药 [J]. 中国现代中药, 2016, 18(11): 1381-1385.
- [15] 高风, 郭丽君, 王安铸, 等. 脱氢紫堇碱的药理作用研究现状与展望 [J]. 中华中医药杂志, 2023, 38(11): 5377-5380.
- [16] 余一鸣, 胡永慧, 韩立云, 等. 中药质量控制的研究进展 [J]. 中草药, 2017, 48(12): 2557-2563.
- [17] 陈丽华, 肖发林, 黄诗雨, 等. 中药质量评价研究思路及创新发展趋势 [J]. 中草药, 2021, 52(9): 2541-2547.
- [18] 王梦苒, 王朝辉, 郑险峰, 等. 延胡索干物质累积及氮、磷、钾养分吸收规律 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(7): 45-50.
- [19] 程井, 孙爱玲, 孙凤娟, 等. UPLC-MS/MS 法测定不同产地延胡索中原阿片碱、盐酸巴马汀、脱氢紫堇碱、延胡索乙素和延胡索甲素 [J]. 现代药物与临床, 2022, 37(6): 1239-1243.
- [20] 徐容, 施天慧. 基于 HPLC 指纹图谱、多指标成分含量测定及化学计量学的延胡索不同炮制品质量评价 [J]. 药物分析杂志, 2022, 42(5): 856-865.

[责任编辑 时圣明]