

基于UPLC-PDA生物碱指标性成分含量和特征图谱的不同产区黄连(味连)整体质量表征研究*

彭平¹, 解素花¹, 彭平安², 冉孟国², 迟玉明³, 刘希⁴, 杜菁¹, 张蓓¹, 李东影¹, 田瑞华^{5**}

(1. 北京同仁堂科技发展股份有限公司 北京 100079; 2. 重庆旺隆黄连科技有限公司 重庆 409100; 3. 北京中研同仁堂医药研发有限公司 北京 100079; 4. 北京中医药大学 北京 100029; 5. 中国北京同仁堂(集团)有限责任公司 北京 100079)

摘要:目的 通过对不同产地黄连(味连)药材质量进行分析,得到黄连药材质量差异表征。方法 采用UPLC-PDA色谱法,建立黄连生物碱指标性成分含量合特征图谱分析方法,采用PLS-DA模型分析,找到不同产区黄连药材质量差异表征。结果 不同产区黄连药材特征图谱色谱峰数量和成分类型一致,以生物碱类成分和非生物碱类成分相对含量同时考量可将黄连药材分为3类:第1级黄连药材主要来源于四川、重庆产区,生物碱和非生物碱类成分含量均较高,9(酚类)号色谱峰成分相对含量为主要相关成分;第2级黄连药材主要来源于四川、重庆产区,生物碱和酚类成分含量较高,1(未知)、13(黄连碱)、2(酚类)、5(其他)、12(生物碱)号色谱峰成分相对含量为主要相关成分;第3级黄连药材主要来源于湖北、重庆、四川产区,生物碱和非生物碱含量较低,11(生物碱)、6(酚类)、8(未知)号色谱峰成分相对含量为主要相关成分。结论 不同产区黄连药材质量差异表征为:四川产黄连药材主要表现为生物碱类成分、其他类成分含量较高,与其他产区黄连差异较大;重庆产黄连主要表现为酚类成分含量较高;湖北产区黄连与重庆产区黄连相似。

关键词: 黄连 特征图谱 酚酸类 生物碱类

doi: 10.11842/wst.20181031003 中图分类号: R282.5 文献标识码: A

黄连为毛茛科植物黄连 *Coptis chinensis* Franch.、三角叶黄连 *Coptis deltoidea* C. Y. Cheng et Hsiao 或云连 *Coptis teeta* Wall. 的干燥根茎。以上3种分别习称“味连”、“雅连”、“云连”^[1]。由于黄连生产量与市场需求量关系,目前中药材市场中黄连的主要流通品种以“味连”为主。2015版《中华人民共和国药典》黄连项下,采用盐酸-甲醇提取液,磷酸盐缓冲流动相分析方法对“味连”进行质量控制,以盐酸小檗碱对照品峰面积为对照,分别计算表小檗碱、盐酸黄连碱、盐酸巴马汀的含量。研究发现,黄连中除了以生物碱为主的活

性成分之外,还含有多种其他类成分,如酚类、木质素类,黄连降血糖、抗菌等药效为各类成分的协同作用^[2-5]。因此,同时分析研究黄连中生物碱以及非生物碱成分,有助于更为全面的对黄连质量进行评价。现已有文献报道采用HPLC指纹图、UPLC-MA/MS指纹图谱等方法对黄连药材进行了较为全面的质量研究^[6-11],但未从黄连药材生物碱和非生物碱类成分同时整体评价黄连药材质量。基于此,本研究采用UPLC-PDA液相色谱法,首次建立了可同时分析测定黄连中生物碱和非生物碱类成分的特征图谱分析方法,对31

收稿日期:2019-08-16

修回日期:2019-09-18

* 国家科技部重点研发计划子课题(2017YFC1702604):黄连大品种开发,负责人:李学刚;国家中医药管理局国家中医药标准化项目(ZYB2H-C-BJ-03):安宫牛黄丸标准化建设,负责人:迟玉明。

** 通讯作者:田瑞华,高级工程师,主要研究方向:中药复方药物质量研究。

批次不同来源黄连药材进行整体质量分析,对比分析了四川、石柱、湖北等“味连”主产区黄连药材质量差异,为黄连药材的质量评价提供研究基础。

1 材料

1.1 仪器

Waters UPLC HCLASS-2998PDA detector(沃特世科技(上海)有限公司);纯水仪;KQ-250DE型数控超声波清洗机(昆山超声仪器有限公司);MettlerML204型电子分析天平(瑞士梅特勒-托利集团);MettlerXP205型电子分析天平(瑞士梅特勒-托利集团),0.22 μm 微孔滤膜(天津津腾实验设备有限公司)。

1.2 样品信息

黄连样品分2次收集了重庆产区15批次黄连药材,一次收集了湖北产区5批次药材,一次收集了四川产区11批次黄连药材样品,均为毛茛科植物黄连 *Coptis chinensis* Franch,味连(表1)。

1.3 对照品

表小檗碱对照品(含量98%,批号B20108;购自上海源叶生物有限公司),盐酸黄连碱(含量95.1%,批号:112026-201601)、盐酸巴马汀(含量86.8%,批号:110732-201611)、盐酸小檗碱(含量86.8%,批号:1107113-201613)均购自中国食品药品检定研究院。

1.4 对照品溶液的制备

取盐酸小檗碱、盐酸黄连碱、表小檗碱、盐酸巴马汀对照品适量,精密称定,加甲醇制成每1 mL含盐酸小檗碱75 μg 、盐酸黄连碱30 μg 、表小檗碱15 μg 、盐酸巴马汀30 μg 的混合溶液,即得。

1.5 供试品溶液的制备

取本品粉碎,过四号筛,取约0.1 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入甲醇50 mL,密塞,称定重量,超声处理(功率250 W,频率50 kHz)30 min,放冷,再称定重量,用甲醇补足减失的重量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2 方法与结果

2.1 色谱条件及系统适用性

色谱柱:Waters CORTECS Shield RP18 Column (2.1 mm $\times$ 100 mm, 1.6 μm);以乙腈为流动相A,0.3%磷酸溶液为流动相B,梯度洗脱(0-3 min, 2-13 % A;

表1 黄连药材样品来源信息

编号	名称	产区	来源
s1	味连	重庆1	采集于重庆石柱县黄水镇枫木乡
s2	味连		采集于重庆石柱县黄水镇七龙乡
s3	味连		采集于重庆石柱县黄水镇泽润村
s4	味连		采集于重庆石柱县黄水镇泽润村
s5	味连		采集于重庆石柱县黄水镇徐家院
s6	味连		采集于重庆石柱县黄水镇大川乡
s7	味连		采集于重庆石柱县黄水镇箭竹乡
s8	味连		采集于重庆石柱县冷水镇八龙村
s9	味连	重庆2	采集于重庆石柱县黄水镇枫木乡
s10	味连		采集于重庆石柱县黄水镇万胜乡
s11	味连		采集于重庆石柱县沙子镇
s12	味连		采集于重庆石柱县沙子镇
s13	味连		采集于重庆石柱县黄水镇枫木乡
s14	味连		采集于重庆石柱县黄水镇枫木乡
s15	味连	湖北	采集于重庆石柱县黄水镇清河乡
s16	味连		采集于湖北恩施怀堂乡
s17	味连		采集于湖北宣恩沙道沟
s18	味连		采集于湖北利川箭竹镇
s19	味连		采集于湖北恩施太山庙
s20	味连	四川	采集于湖北恩施太山庙
s21	味连		采集于四川彭州市白鹿镇
s22	味连		采集于四川彭州市小鱼洞镇
s23	味连		采集于四川彭州市小鱼洞镇
s24	味连		采集于四川彭州市小鱼洞镇
s25	味连		采集于四川大邑县斜源镇
s26	味连		采集于四川绵阳安县
s27	味连		采集于四川绵阳安县秀水镇
s28	味连		采集于四川绵阳安县秀水镇
s29	味连		采集于四川达州宣汉县龙泉乡
s30	味连		采集于四川达州宣汉县龙泉乡
s31	味连		采集于四川达州宣汉县龙泉乡

3-15 min, 13-15%A; 15-20min, 15%A; 20-22min, 15-2%A)流速0.4 mL $\cdot$ min⁻¹,柱温35 $^{\circ}\text{C}$,检测波长为210 nm,进样体积1 μL ,理论板数按盐酸小檗碱峰计算应不低于6 000。色谱图见图1。

2.2 色谱峰化学成分类型归属

根据色谱峰DAD光谱图,结合对照品标定,对黄连征图谱中18个主要特征峰进行化学成分类型归属,指认了其中4个生物碱类成分色谱峰。其中6、9、10为酚类成分,11-18号色谱峰为生物碱类成分,其余为其他类成分

2.3 线性关系考察

精密称定盐酸小檗碱、盐酸黄连碱、表小檗碱、盐

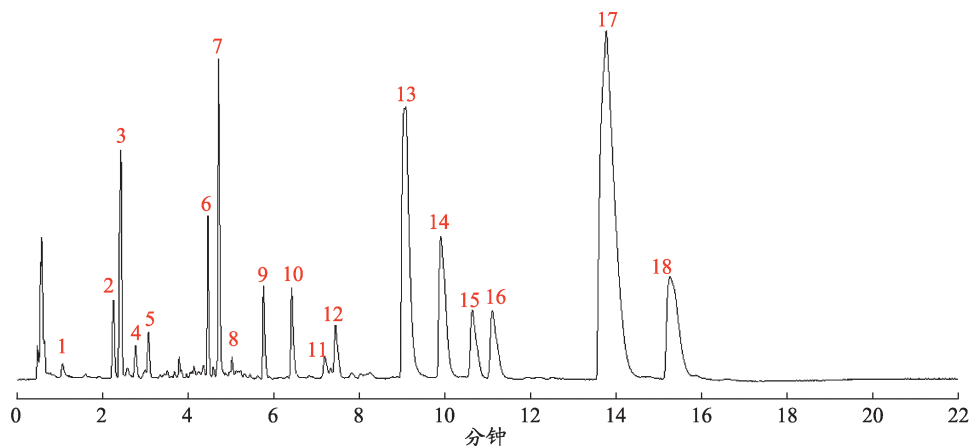


图1 黄连(味连)特征图谱

注:13 盐酸黄连碱;14 表小檗碱;17 盐酸小檗碱;18 盐酸巴马汀

表2 黄连特征图谱色谱峰信息

色谱峰编号	化学类型	相对保留时间(以盐酸小檗碱色谱峰为参比)
1	未知	0.078 8
2	未知	0.159 7
3	未知	0.168 1
4	未知	0.195 3
5	未知	0.219 9
6	酚类	0.318 9
7	未知	0.338 4
8	未知	0.356 2
9	酚类	0.413 1
10	酚类	0.461 7
11	生物碱类	0.512 7
12	生物碱类	0.540 1
13	生物碱类(黄连碱)	0.663 1
14	生物碱类(表小檗碱)	0.717 7
15	生物碱类	0.767 4
16	生物碱类	0.801 5
17	生物碱类(小檗碱)	1.000 0
18	生物碱类(巴马汀)	1.086 4

酸巴马汀对照品,配制成浓度分别为 $148.116\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、 $34.616\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、 $22.280\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、 $16.443\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的混标溶液,精密吸取混标溶液0.2、0.5、0.8、1.0、1.2、1.5 μL 分别平行进样两针,计算平均峰面积。以进样量 $X(\mu\text{g})$ 为横坐标,对照品峰面积 Y 为纵坐标,绘制标准曲线。建立色谱峰面积对进样量的回归方程(表3),结果表明,各成分在检测的浓度范围内线性关系良好。

2.4 精密度考察

取同一样品溶液,连续进样6次,进样量均为1 μL ,记录峰面积值,计算RSD值,结果盐酸小檗碱、盐酸黄连碱、表小檗碱、盐酸巴马汀峰面积的RSD分别为0.7%、0.8%、0.5%、0.8%,其他各色谱峰峰面积和相对保留时间精密度均小于3%,表明仪器精密度良好。

2.5 重复性考察

取样品6份,分别按样品处理方法制备样品溶液,并进样测定,记录峰面积,计算各指标性成分含量。结果盐酸黄连碱、表小檗碱、盐酸小檗碱、盐酸巴马汀平均含量分别为 17.32 、 9.63 、 56.95 、 $9.27\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$;RSD分别为1.4%、1.4%、1.0%、1.1%;其他色谱峰峰面积和相对保留时间重复性RSD值均小于3%。表明该方法重复性良好。

2.6 稳定性考察

取同一样品溶液,分别于0、3、6、9、12、24 h进样测定,进样量均为1 μL 。结果盐酸小檗碱、盐酸黄连碱、表小檗碱、盐酸巴马汀峰面积的RSD分别为1.3%、1.5%、1.1%、1.3%,其他各色谱峰峰面积和相对保留时间精密度均小于3%,表明样品溶液在24 h内基本稳定。

2.7 加样回收率考察

取已知4个生物碱指标性成分含量的黄连粉末6份,每份50 mg,每份分别加入用甲醇配制的混合对照品溶液50 mL(盐酸黄连碱、表小檗碱、盐酸小檗碱、盐酸巴马汀浓度分别为 $17.064\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、 $8.912\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、 $55.648\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、 $8.466\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$),称定重量,超声

表3 4种生物碱类成分的回归方程、相关系数和线性范围

物质名称	回归方程	相关系数	线性范围/ μg
盐酸小檗碱	$y = 18\,036\,427.656\,5x - 168\,885.071\,6$	$R^2 = 0.999\,9$	0.029 6 – 0.296
盐酸黄连碱	$y = 12\,193\,600.571\,9x - 39\,745.013\,5$	$R^2 = 0.999\,8$	0.006 92 – 0.069 2
表小檗碱	$y = 11\,308\,666.386\,7x - 25\,339.503\,9$	$R^2 = 0.999\,6$	0.004 46 – 0.044 6
盐酸巴马汀	$y = 25\,601\,463.493\,7x - 36\,570.040\,0$	$R^2 = 0.999\,7$	0.003 83 – 0.038 3

表4 4种生物碱成分含量测定方法回收率结果

成分名称	编号	样品中的含量/ μg	加入量/ μg	测得的量/ μg	回收率/%	平均值/%	RSD/%
黄连碱	1	0.901 3	0.853 2	1.738 1	98.08	100.42	1.65
	2	0.887 5	0.853 2	1.738 5	99.74		
	3	0.892 7	0.853 2	1.749 5	100.42		
	4	0.897 9	0.853 2	1.774 2	102.71		
	5	0.903 1	0.853 2	1.754	99.73		
	6	0.899 6	0.853 2	1.768 5	101.84		
表小檗碱	1	0.500 2	0.445 6	0.922 8	94.84	99.21	3.10
	2	0.492 5	0.445 6	0.935 7	99.46		
	3	0.495 4	0.445 6	0.943 1	100.47		
	4	0.498 2	0.445 6	0.949 7	101.32		
	5	0.501 1	0.445 6	0.930 1	96.27		
	6	0.499 2	0.445 6	0.957 7	102.89		
小檗碱	1	2.964 5	2.782 4	5.690 3	97.97	100.06	1.77
	2	2.919	2.782 4	5.707	100.20		
	3	2.936	2.782 4	5.703 9	99.48		
	4	2.953 1	2.782 4	5.778 5	101.55		
	5	2.970 2	2.782 4	5.712 5	98.56		
	6	2.958 8	2.782 4	5.813 5	102.60		
巴马汀	1	0.484 5	0.423 3	0.892 5	96.39	98.66	2.33
	2	0.477 1	0.423 3	0.896 7	99.13		
	3	0.479 9	0.423 3	0.894	97.83		
	4	0.482 7	0.423 3	0.907 4	100.33		
	5	0.485 5	0.423 3	0.892 8	96.22		
	6	0.483 6	0.423 3	0.915 6	102.06		

(250 w, 50 kHz)使溶解,放冷,用甲醇配制的混合对照品溶液补足重量,过滤,取续滤液,进样1 μL 测定。根据测得的各成分的量,计算各成分的加样回收率和RSD(表4)。

2.8 多批次黄连样品指标性成分含量测定结果

取31批次黄连粉末各0.1 g,精密称定,按照供试品溶液制备方法制得供试品溶液,进样1 μL ,测定峰面积,按照外标一点法计算各成分含量(表5)。

2.9 多批次黄连样品特征图谱质量表征结果

取31批次黄连粉末各0.1 g,精密称定,按照供试品溶液制备方法制得供试品溶液,进样1 μL ,记录黄连样品特征图谱及特征图谱峰面积值。对比31批次

特征图谱发现,31批次不同产地黄连药材特征图谱特征峰数量无明显差异,均检测到18个特征色谱峰,但特征峰峰面积值差异较大,1号、2号、4号、5号未知类成分色谱峰峰面积值可直观看出现明显差异(图2)。

以盐酸小檗碱为对照,分别计算黄连特征图谱中11、12、13、14号色谱峰对应生物碱类成分含量,并计算生物碱成分总含量(表6);以色谱峰面积值/称样量,计算黄连特征图谱中1-10号非生物碱类成分含量表征值(表7);以盐酸小檗碱色谱峰为参比,计算18个特征峰相对峰面积比值(表8)。

2.10 不同批次黄连药材整体质量表征差异分析

结合表6、表7中黄连药材生物碱类成分含量和非

表5 31批次黄连样品含量测定结果($n = 2$)

	黄连碱/($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)	表小檗碱/($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)	小檗碱/($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)	巴马汀/($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)
s1	14.21	11.27	48.86	12.22
s2	16.35	9.61	54.51	13.87
s3	20.14	12.20	57.92	11.18
s4	13.53	8.98	55.36	13.71
s5	19.19	11.20	56.73	12.72
s6	18.12	9.50	56.25	11.23
s7	14.50	9.49	48.71	10.15
s8	11.74	8.23	44.23	12.20
s9	10.00	7.51	35.76	9.12
s10	10.46	6.59	37.60	8.35
s11	13.82	8.53	45.88	11.77
s12	11.61	7.35	43.11	11.26
s13	15.90	11.38	49.22	12.16
s14	11.73	7.91	40.01	8.29
s15	13.77	9.97	46.97	9.56
s16	8.38	5.73	27.59	8.11
s17	17.06	11.47	55.83	13.33
s18	14.34	10.73	50.33	9.91
s19	11.12	6.53	43.05	10.02
s20	13.86	10.47	43.48	11.73
s21	14.60	8.95	49.17	11.12
s22	15.41	13.77	52.24	13.11
s23	13.45	10.53	50.51	13.41
s24	16.90	13.00	57.27	12.69
s25	17.57	11.93	58.51	16.88
s26	17.74	8.27	58.52	13.44
s27	16.70	9.31	50.51	14.36
s28	18.86	10.61	56.22	12.26
s29	16.56	10.99	48.42	10.97
s30	13.03	10.40	48.02	12.00
s31	18.37	14.96	64.07	15.75

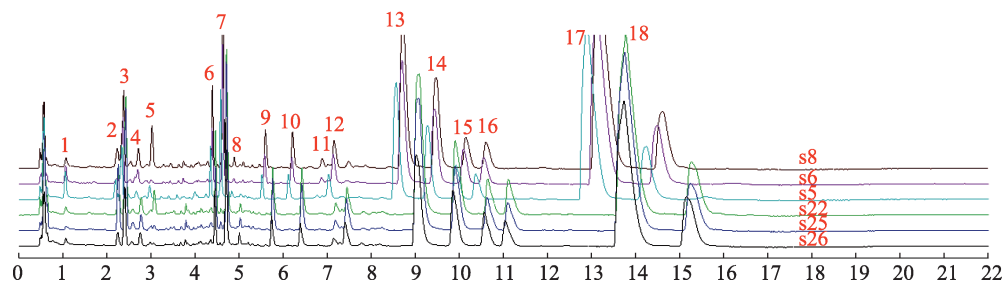


图2 编号s8、s6、s5、s22、s25、s26号黄连药材特征图谱对比图

生物碱类成分相对含量,对31批次黄连药材按质量差异分3次排列分类:①以生物碱类成分总含量为指标由低到高排列,取低于总样本中位值的黄连药材批次

归为第3级;②余下批次以酚类成分相对含量总和为指标由低到高排列,取值低于总样本中位值的黄连药材批次归为第2级;③余下批次以其他类成分相对含

表6 以盐酸小檗碱为对照的31批次黄连药材生物碱含量表征($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)

	峰11	峰12	黄连碱	表小檗碱	峰15	峰16	盐酸小檗碱	巴马汀	生物碱总含量
s1	0.54	2.02	14.21	11.27	4.71	3.23	48.86	12.22	97.06
s2	0.40	2.39	16.35	9.61	4.95	3.97	54.51	13.87	106.05
s3	0.79	1.81	20.14	12.2	4.28	4.11	57.92	11.18	112.43
s4	0.60	1.53	13.53	8.98	4.91	4.03	55.36	13.71	102.65
s5	0.58	1.88	19.19	11.2	4.83	5.18	56.73	12.72	112.32
s6	0.55	2.61	18.12	9.5	4.57	4.08	56.25	11.23	106.90
s7	0.47	2.50	14.5	9.49	3.31	3.28	48.71	10.15	92.40
s8	0.45	1.98	11.74	8.23	4.76	3.75	44.23	12.20	87.33
s9	0.46	1.48	10.00	7.51	3.29	2.90	36.15	9.12	70.90
s10	0.41	1.05	10.46	6.59	2.90	2.38	37.50	8.35	69.64
s11	0.53	1.63	13.82	8.53	4.14	3.32	44.02	11.77	87.75
s12	0.39	1.54	11.61	7.35	3.97	3.50	47.53	11.26	87.16
s13	0.68	2.10	15.9	11.38	4.99	4.00	53.73	12.16	104.94
s14	0.44	1.47	11.73	7.91	3.38	2.95	43.27	8.29	79.45
s15	0.40	0.88	13.77	9.97	3.13	2.57	40.54	9.56	80.82
s16	0.40	1.35	8.38	5.73	2.79	2.31	27.96	8.11	57.03
s17	0.90	3.38	17.06	11.47	5.52	3.63	60.09	13.33	115.38
s18	0.73	2.48	14.34	10.73	3.02	2.90	53.07	9.91	97.17
s19	0.38	1.12	11.12	6.53	4.18	2.92	42.86	10.02	79.13
s20	0.47	1.61	13.86	10.47	4.56	3.59	48.18	11.73	94.46
s21	0.39	1.87	14.6	8.95	3.72	3.66	48.79	11.12	93.10
s22	0.29	1.89	15.41	13.77	4.29	3.60	52.19	13.11	104.55
s23	0.28	2.30	13.45	10.53	4.57	3.71	49.97	13.41	98.22
s24	0.51	2.55	16.9	13.00	4.15	3.69	58.87	12.69	112.36
s25	0.33	1.90	17.57	11.93	5.16	3.81	55.51	16.88	113.09
s26	0.62	1.67	17.74	8.27	6.30	3.83	58.52	13.44	110.39
s27	0.58	1.96	16.70	9.31	6.65	4.16	53.25	14.36	106.98
s28	0.35	2.95	18.86	10.61	4.70	3.62	54.70	12.26	108.04
s29	0.33	2.75	16.56	10.99	4.50	3.50	48.93	10.97	98.54
s30	0.13	2.04	13.03	10.4	4.50	3.44	48.07	12.00	93.62
s31	0.36	2.56	18.37	14.96	5.34	4.79	64.56	15.75	126.70
中位值	0.45	1.90	14.50	9.97	4.50	3.62	49.97	12.00	98.22

量总和为指标由低到高排列,取值高于总样本中位值归为第1级,余下批次归为第2级;排列结果见表9。关联黄连药材样品产区来源可知,第1级主要来源于四川和重庆1产区;第2级主要来源于四川产区和部分重庆1产区、湖北产区;第3级主要来源于重庆2产区、湖北产区和部分重庆1产区。

2.11 不同产区黄连药材整体质量表征差异分析

(1)不同产区黄连药材生物碱类成分含量表征差异分析

根据表6结果,分别对应黄连药材产地信息,以31批次黄连药材中各生物碱成分含量中位值为标准,统

计各产区高于中位值的黄连药材样本量,由表10可知,31批次黄连药材总样本量中,重庆1产区样品11号色谱峰生物碱成分含量高于中位值的黄连药材批次占比明显较其他产区多;四川产区样品12-18号色谱峰生物碱成分含量和生物碱成分总含量高于中位值的黄连药材批次占比较多,其次为重庆1产区;四川和重庆1产区黄连药材生物碱类成分含量较高。

(2)不同产区黄连药材非生物碱类成分含量表征差异分析

根据表7结果,分别对应黄连药材产地信息,以31批次黄连药材中各非生物碱类成分含量中位值为标

表7 31批次黄连药材非生物碱类成分含量质量表征值(AU·mg⁻¹)

编号	峰1	峰2	峰3	峰4	峰5	峰6 (酚类)	峰7	峰8	峰9 (酚类)	峰10 (酚类)	酚类成分 总和	其他类成分 总和
s1	68	42	582	104	55	354	939	48	259	352	965	1 839
s2	46	135	552	125	119	406	1 058	41	345	348	1 099	2 074
s3	17	307	959	140	145	322	1 129	75	341	473	1 135	2 772
s4	108	144	779	133	56	395	1 019	59	282	332	1 008	2 298
s5	52	324	955	142	142	432	1 071	35	368	430	1 231	2 723
s6	36	488	1 001	130	19	353	1 122	41	405	425	1 182	2 836
s7	62	141	731	141	33	362	944	35	272	355	989	2 087
s8	30	107	480	122	11	336	843	51	239	215	791	1 645
s9	62	82	532	86	50	356	795	44	234	236	826	1 652
s10	52	71	464	82	69	321	586	39	209	227	757	1 362
s11	66	108	712	114	36	319	926	31	267	292	878	1 993
s12	68	130	749	118	83	327	858	34	256	281	864	2 039
s13	70	119	830	148	54	469	1 066	75	324	357	1 150	2 362
s14	35	113	616	111	64	288	824	54	220	260	768	1 817
s15	61	86	630	83	15	252	682	54	197	296	745	1 611
s16	29	65	419	59	5	257	633	30	167	222	647	1 239
s17	104	104	834	186	45	427	1 060	49	345	292	1 064	2 383
s18	71	101	709	163	52	413	1 184	48	326	329	1 068	2 327
s19	51	33	626	123	12	353	649	71	224	308	884	1 564
s20	64	90	757	71	10	361	623	35	288	292	942	1 650
s21	79	122	706	142	58	366	835	44	309	283	958	1 986
s22	131	92	689	137	122	342	960	48	262	292	896	2 178
s23	135	61	563	160	24	300	823	21	220	226	747	1 787
s24	98	191	666	182	301	439	1 033	51	290	329	1 058	2 523
s25	116	111	639	85	10	321	919	32	249	315	885	1 912
s26	20	309	915	20	138	349	1 074	41	343	481	1 173	2 515
s27	31	357	1047	148	40	366	1 212	36	364	329	1059	2 872
s28	185	66	779	10	173	309	958	22	291	356	956	2 193
s29	140	128	782	103	132	369	707	54	251	317	937	2 046
s30	212	150	410	60	110	300	674	28	198	219	717	1 645
s31	222	174	878	210	119	457	1 262	54	301	359	1 116	2 921
中位值	66	113	709	123	55	353	939	44	272	315	956	2 046

准,统计各产区高于中位值的黄连药材样本量,由表11可知,31批次总样本量中,四川产区样品1、5号色谱峰表征值高于中位值的黄连药材批次占比明显较其他产区多;四川和重庆1产区样品2、4、7、9、10号色谱峰表征值,酚类成分含量表征总和,其他成分含量表征总和,高于中位值的黄连药材批次占比均较多;4个产区样品3、6、8号色谱峰表征值高于中位值的黄连药材批次占比相近;四川和重庆1产区黄连药材非生物碱类成分含量表征较高,重庆1产区酚类成分含量略高于四川产区,四川产区其他类成分含量略高于重

庆1产区。

(3)不同产区黄连药材整体质量表征差异分析

以31批黄连药材特征图谱相对峰面积值为数据,采用SIMCA-P12.0统计软件PLS-DA模型,以黄连药材不同产区为分类,经统计分析得到PLS-DA得分散点图和载荷散点图、变量重要性因子分布图(表7,图3,图4,图5)。

从得分图中可以看出样品的聚集以及离散程度,即样品分布点越聚集,这些样品中所含有的成分含量比值越接近,反之样品点较分散时,则说明成分含量

表8 以盐酸小檗碱为参比的31批次黄连药材特征图谱特征峰相对峰面积值

编号	峰1	峰2	峰3	峰4	峰5	峰6	峰7	峰8	峰9	峰10	峰11	峰12	峰13	峰14	峰15	峰16	峰17	峰18
s1	0.009 0	0.005 5	0.076 3	0.013 7	0.007 2	0.046 4	0.123 1	0.006 3	0.034 0	0.046 2	0.011 0	0.041 3	0.351 6	0.224 7	0.096 4	0.066 2	1.000 0	0.261 7
s2	0.005 4	0.015 8	0.064 9	0.014 7	0.013 9	0.047 7	0.124 2	0.004 8	0.040 6	0.040 9	0.007 4	0.043 9	0.362 6	0.171 7	0.090 8	0.072 8	1.000 0	0.266 4
s3	0.001 8	0.034 0	0.106 0	0.015 4	0.016 0	0.035 6	0.124 9	0.008 3	0.037 7	0.052 2	0.013 6	0.031 2	0.420 3	0.205 2	0.073 9	0.071 0	1.000 0	0.202 0
s4	0.012 5	0.016 6	0.090 2	0.015 4	0.006 5	0.045 7	0.117 9	0.006 8	0.032 6	0.038 4	0.010 9	0.027 6	0.295 3	0.158 1	0.088 8	0.072 9	1.000 0	0.259 2
s5	0.005 9	0.036 6	0.107 8	0.016 1	0.016 1	0.048 8	0.120 9	0.004 0	0.041 6	0.048 5	0.010 2	0.033 1	0.408 9	0.192 3	0.085 2	0.091 4	1.000 0	0.234 7
s6	0.004 1	0.055 6	0.113 9	0.014 8	0.002 1	0.040 1	0.127 7	0.004 6	0.046 1	0.048 3	0.009 7	0.046 4	0.389 4	0.164 6	0.081 2	0.072 5	1.000 0	0.208 9
s7	0.008 1	0.018 6	0.096 0	0.018 5	0.004 3	0.047 5	0.124 1	0.004 6	0.035 8	0.046 7	0.009 6	0.051 4	0.359 8	0.189 9	0.067 9	0.067 3	1.000 0	0.218 2
s8	0.004 3	0.015 5	0.069 5	0.017 7	0.001 5	0.048 7	0.122 1	0.007 4	0.034 6	0.031 1	0.010 2	0.044 7	0.320 9	0.181 3	0.107 5	0.084 7	1.000 0	0.288 6
s9	0.011 0	0.014 5	0.094 3	0.015 2	0.008 9	0.063 0	0.140 9	0.007 7	0.041 5	0.041 9	0.012 6	0.040 9	0.325 2	0.205 0	0.091 0	0.080 3	1.000 0	0.270 1
s10	0.008 9	0.012 1	0.079 2	0.014 0	0.011 7	0.054 9	0.100 0	0.006 7	0.035 7	0.038 7	0.010 8	0.028 0	0.320 3	0.164 8	0.077 2	0.063 5	1.000 0	0.236 3
s11	0.009 6	0.015 7	0.103 6	0.016 6	0.005 3	0.046 5	0.134 7	0.004 5	0.038 9	0.042 5	0.012 1	0.037 1	0.346 3	0.179 2	0.094 0	0.075 4	1.000 0	0.261 8
s12	0.009 1	0.017 5	0.100 9	0.015 9	0.011 1	0.044 1	0.115 6	0.004 6	0.034 5	0.037 8	0.008 2	0.032 5	0.304 1	0.159 4	0.083 6	0.073 6	1.000 0	0.272 5
s13	0.008 4	0.014 2	0.098 9	0.017 6	0.006 5	0.055 9	0.127 0	0.009 0	0.038 6	0.042 5	0.012 6	0.039 1	0.380 2	0.223 9	0.092 9	0.074 5	1.000 0	0.254 1
s14	0.005 1	0.016 7	0.091 1	0.016 5	0.009 5	0.042 6	0.121 9	0.008 1	0.032 5	0.038 4	0.010 2	0.034 0	0.333 6	0.189 3	0.078 1	0.068 2	1.000 0	0.225 1
s15	0.009 7	0.013 5	0.099 5	0.013 0	0.002 4	0.039 8	0.107 7	0.008 5	0.031 2	0.046 8	0.009 9	0.021 8	0.297 0	0.119 1	0.077 2	0.063 4	1.000 0	0.231 2
s16	0.006 6	0.014 8	0.096 0	0.013 5	0.001 2	0.058 9	0.145 0	0.006 9	0.038 3	0.050 9	0.014 1	0.048 3	0.367 2	0.202 5	0.099 9	0.082 4	1.000 0	0.307 6
s17	0.011 1	0.011 1	0.088 9	0.019 9	0.004 8	0.045 5	0.112 9	0.005 2	0.036 8	0.031 2	0.015 0	0.056 2	0.369 4	0.200 3	0.091 9	0.060 4	1.000 0	0.249 9
s18	0.008 6	0.012 1	0.085 5	0.019 7	0.006 2	0.049 8	0.142 8	0.005 8	0.039 3	0.039 7	0.013 7	0.046 6	0.333 7	0.202 1	0.056 9	0.054 7	1.000 0	0.202 4
s19	0.007 6	0.004 9	0.093 6	0.018 4	0.001 7	0.052 7	0.096 9	0.010 7	0.033 4	0.046 0	0.008 9	0.026 2	0.301 0	0.148 6	0.097 5	0.068 1	1.000 0	0.255 8
s20	0.008 5	0.012 0	0.100 6	0.009 4	0.001 3	0.048 0	0.082 8	0.004 6	0.038 3	0.038 8	0.009 7	0.033 4	0.377 2	0.235 5	0.094 6	0.074 4	1.000 0	0.287 4
s21	0.010 4	0.016 0	0.092 7	0.018 6	0.007 6	0.048 1	0.109 5	0.005 8	0.040 6	0.037 1	0.007 9	0.038 2	0.358 8	0.177 3	0.076 3	0.075 1	1.000 0	0.236 7
s22	0.016 1	0.011 3	0.084 5	0.016 8	0.014 9	0.042 0	0.117 8	0.005 9	0.032 1	0.035 8	0.005 5	0.036 3	0.356 6	0.256 8	0.082 2	0.069 0	1.000 0	0.262 7
s23	0.017 3	0.007 8	0.072 1	0.020 5	0.003 0	0.038 5	0.105 5	0.002 7	0.028 2	0.029 0	0.005 6	0.046 0	0.321 8	0.203 2	0.091 5	0.074 2	1.000 0	0.277 9
s24	0.010 7	0.020 8	0.072 5	0.019 8	0.032 7	0.047 8	0.112 4	0.005 5	0.031 5	0.035 7	0.008 7	0.043 2	0.356 8	0.221 2	0.070 6	0.062 7	1.000 0	0.232 0
s25	0.013 4	0.012 8	0.073 7	0.009 8	0.001 2	0.037 0	0.106 0	0.003 7	0.028 7	0.036 4	0.005 9	0.034 2	0.362 9	0.198 6	0.093 0	0.068 6	1.000 0	0.301 9
s26	0.002 1	0.033 7	0.099 9	0.002 1	0.015 0	0.038 1	0.117 2	0.004 5	0.037 5	0.052 5	0.010 6	0.028 5	0.366 5	0.137 7	0.107 6	0.065 4	1.000 0	0.240 3
s27	0.003 8	0.042 9	0.125 9	0.017 8	0.004 8	0.044 0	0.145 7	0.004 4	0.043 8	0.039 5	0.010 9	0.036 8	0.399 6	0.179 6	0.124 9	0.078 2	1.000 0	0.297 5
s28	0.021 7	0.007 8	0.091 2	0.001 1	0.020 2	0.036 2	0.112 1	0.002 6	0.034 1	0.041 6	0.006 3	0.054 0	0.405 5	0.183 8	0.085 9	0.066 1	1.000 0	0.228 3
s29	0.018 3	0.016 8	0.102 3	0.013 5	0.017 3	0.048 3	0.092 6	0.007 0	0.032 9	0.041 4	0.006 8	0.056 3	0.413 5	0.221 2	0.092 1	0.071 5	1.000 0	0.237 1
s30	0.028 2	0.020 0	0.054 7	0.007 9	0.014 7	0.039 9	0.089 9	0.003 8	0.026 3	0.029 2	0.002 8	0.042 5	0.328 0	0.211 0	0.093 6	0.071 7	1.000 0	0.261 5
s31	0.022 1	0.017 3	0.087 1	0.020 8	0.011 8	0.045 3	0.125 2	0.005 4	0.029 8	0.035 6	0.005 6	0.039 6	0.346 7	0.227 6	0.082 7	0.074 2	1.000 0	0.257 3

比值差异越大。图中可见4个产区黄连药材有所交叉。其中四川产区黄连药材质量相对较为集中区别于其他产区主要集中在第三、四象限,部分分散与第一象限与重庆1产区交叉;重庆1产区分为两部分,一部分分布于第一象限与四川产区交叉,一部分分布于第二象限与重庆2和湖北产区交叉;重庆2产区和湖北产区都聚集于第二象限,相互交叉(图3)。

在载荷图中,每一个点代表一个成分相对峰面积值,距离原点(0,0)较远的点,决定样品区分中的作用越大;由图4结合图5变量重要性投影(VIP)值,VIP值大于1的色谱峰有9个。第一象限主成分有9号色谱峰;第二象限主成分有11、6、8号色谱峰;第三象限主

成分有1号色谱峰;第四象限主成分有13、2、5、12号色谱峰(图4)。

综上所述可知,重庆1产区和四川产区部分黄连药材以第一象限主成分9号色谱峰相对含量为主要相关成分;湖北、重庆2、重庆1产区黄连药材以第二象限主成分11、6、8号色谱峰相对含量为主要相关成分;四川产区黄连药材以第三、四象限主成分1、13、2、5、12号色谱峰相对含量为主要相关成分。

(4)不同批次黄连药材质量分类关联不同产区黄连药材整体质量表征差异分析

关联不同批次黄连质量分类结果和不同产区黄连药材质量PLS-DA分析结果,如图6所示,第一级黄

表9 31批黄连药材分类结果

编号	生物碱类成分含量总和	酚类成分相对含量总和	其他类成分相对含量总和	分类
s27	106.98	0.127 3	0.3453	第1级
s6	106.90	0.134 5	0.3228	
s5	112.32	0.138 9	0.3073	
s3	112.43	0.125 5	0.306 4	
s13	104.94	0.137 0	0.281 5	
s26	110.39	0.128 1	0.274 6	
s2	106.05	0.129 1	0.243 7	第2级
s29	98.54	0.122 6	0.267 8	
s4	102.65	0.116 6	0.265 8	
s24	112.36	0.115 1	0.274 4	
s17	115.38	0.113 4	0.253 9	
s28	108.04	0.111 9	0.256 7	
s31	126.70	0.110 7	0.289 7	
s22	104.55	0.109 9	0.267 3	
s25	113.09	0.102 1	0.220 6	
s23	98.22	0.095 7	0.228 9	
s18	97.17	0.128 9	0.280 8	第3级
s1	97.06	0.126 5	0.241 0	
s20	94.46	0.125 2	0.219 3	
s30	93.62	0.095 5	0.219 2	
s21	93.10	0.125 8	0.260 7	
s7	92.40	0.130 0	0.274 3	
s11	87.75	0.127 8	0.290 0	
s8	87.33	0.114 4	0.238 1	
s12	87.16	0.116 4	0.274 8	
s15	80.82	0.117 7	0.254 5	
s14	79.45	0.113 6	0.268 8	
s19	79.13	0.132 1	0.233 7	
s9	70.90	0.146 4	0.292 6	
s10	69.64	0.129 3	0.232 6	
s16	57.03	0.148 1	0.283 8	
总样本中位值	98.22	0.125 5	0.267 8	

表10 不同产区黄连药材生物碱类含量差异分析

	产区	峰11	峰12	峰13 (黄连碱)	峰14 (表小檗碱)	峰15	峰16	峰17 (小檗碱)	峰17 (巴马汀)	生物碱 总含量
高于中位值 样本量(n)	重庆1	7	5	6	3	6	6	5	5	5
	重庆2	3	1	1	2	1	1	1	1	1
	湖北	3	2	1	3	1	1	2	1	1
	四川	3	8	9	8	8	8	8	8	8

连药材主要聚集于第一象限,主成分为9(酚类)号色谱峰;第二级黄连药材主要聚集于第三、四象限,主成分为1(未知)、13(黄连碱)、2(酚类)、5(其他)、12(生物碱)色谱峰;第三级黄连药材主要聚集于第二象限,

主成分为11(生物碱)、6(酚类)、8(未知)号色谱峰。

3 讨论

综上所述可知,不同产区黄连药材质量表征为,

表 11 不同产区黄连药材非生物碱类成分相对含量表征差异分析

	产区	峰 1	峰 2	峰 3	峰 4	峰 5	峰 6	峰 7	峰 8	峰 9	峰 10	酚类成分 总和	其他类成分 总和
高于中位值 样本量(n)	重庆1	2	6	4	6	5	6	6	4	6	7	7	6
	重庆2	2	3	3	1	3	2	1	4	1	1	1	1
	湖北	2	0	3	3	0	4	2	3	3	1	2	2
	四川	9	7	5	6	8	5	6	5	6	6	6	7

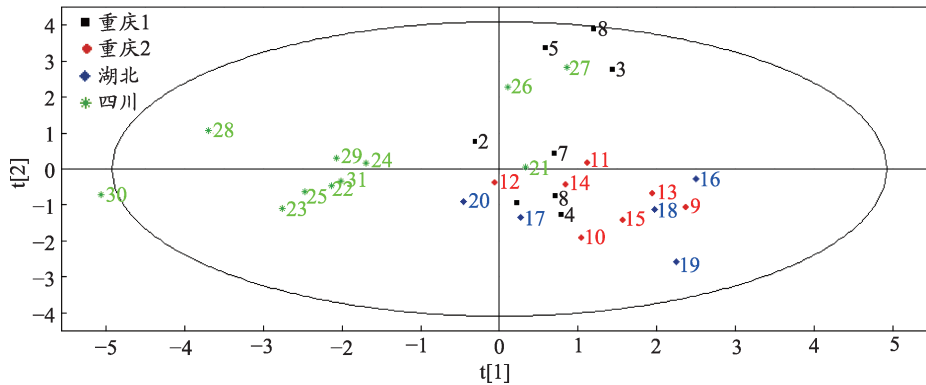


图 3 不同产区黄连药材质量 PLS-DA 分析得分分布图

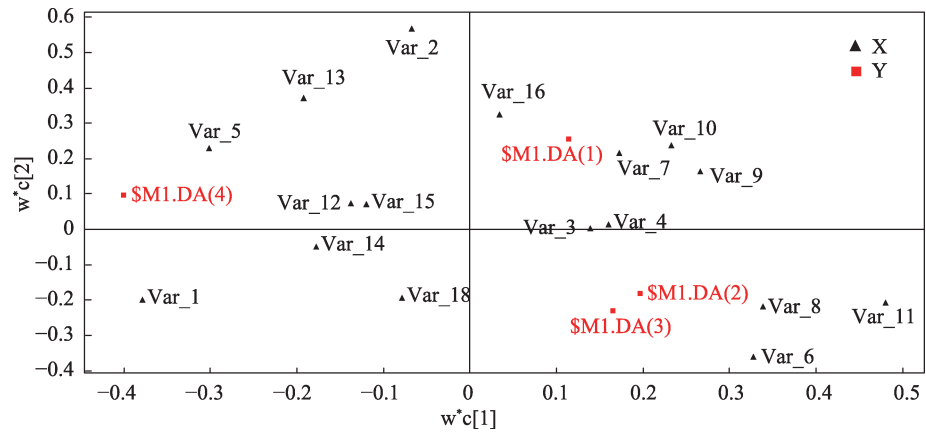


图 4 不同产区黄连药材质量分析 PLS-DA 分析成分矩阵散点图

四川产区黄连药材生物类成分、其他类成分高含量占比较多,重庆1产区黄连药材酚类成分高含量占比较多,其中四川产区样品具有明显1、5号色谱峰成分高含量特征,重庆1产区样品具有明显11号色谱峰成分高含量特征;以生物碱类成分含量和非生物碱类成分相对含量同时考量,可将黄连药材分为3类:第一级黄连药材主要来源于四川、重庆产区,以盐酸小檗碱为参比的9(酚类)号色谱峰成分相对含量为主要相关成分;第二级黄连药材主要来源于四川、重庆产区,以盐酸小檗碱为参比的1(未知)、13(黄连碱)、2(酚类)、5(其他)、12(生物碱)号色谱峰成分相对含量为

主要相关成分;第三级黄连药材主要来源于湖北、重庆、四川产区,以盐酸小檗碱为参比的11(生物碱)、6(酚类)、8(未知)号色谱峰成分相对含量为主要相关成分。

黄连药材以生物碱类成分为主要有效物质基础,生物碱类成分含量可达10%以上,其中以小檗碱含量为主,但研究发现黄连药材药效作用与其不同生物碱类成分含量比例相关,与生物碱和非生物碱类成分比例相关,因此,黄连药材质量评价不能单以小檗碱成分含量高低作为单一指标^[3,5,11],根据黄连药材整体质量相对含量差异,将黄连药材分为3类,包括了黄连

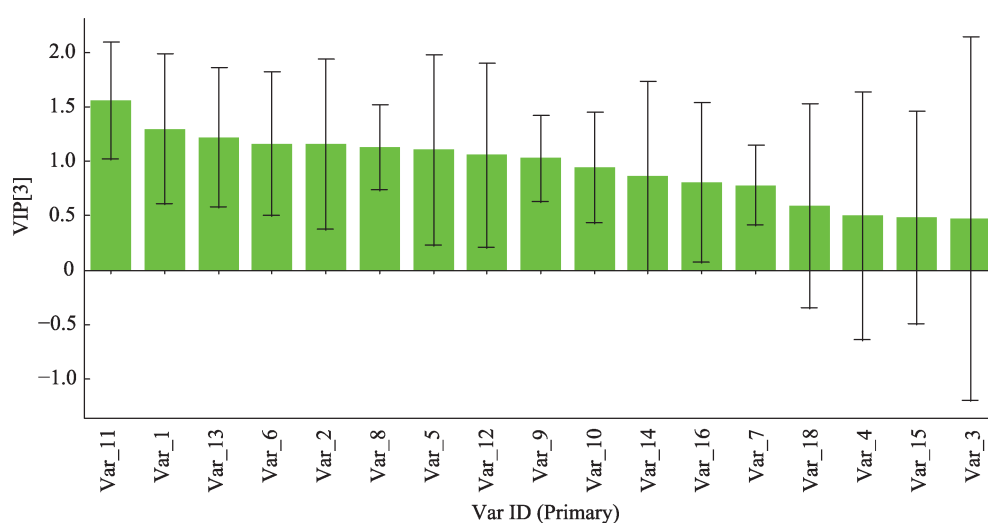


图5 不同产区黄连药材质量分析变量重要性投影(VIP)值图

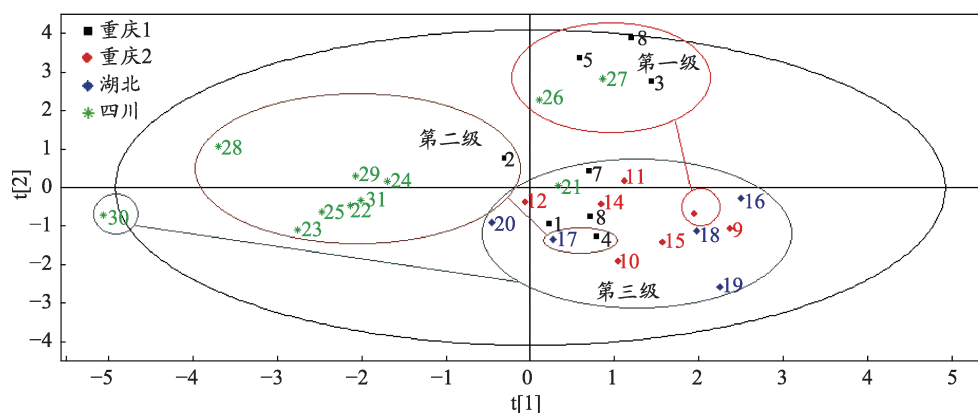


图6 不同批次黄连药材质量分类结合不同产区黄连药材质量PLS-DA分析得分分布图

“味连”药材3大主要产区黄连药材的质量类型,后续可针对对不同质量表征类型黄连药材开展药效表征研究,加以评价黄连药材质量。

本文建立了UPLC-PDA测定黄连药材生物碱和

非生物碱类成分特征图谱,已成功用于多批次不同产区黄连药材质量差异分析,该方法简捷、稳定、准确,可在20分钟内完成黄连药材整体质量分析,可为黄连药材质量评价提供方法。

参考文献

- 1 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部). 北京: 中国医药科技出版社, 2015.
- 2 张丹, 钟国跃, 瞿显友, 等. 不同生长年限黄连不同部位中酚酸类成分动态的研究. 世界科学技术-中医药现代化, 2015, 17(5): 1025-1030.
- 3 朱家颖, 岑晓凤, 陈星, 等. 黄连生物碱降糖活性协同作用研究. 时珍国医国药, 2010, 21(9): 2282-2284.
- 4 陈亮, 王磊, 张庆文, 等. 黄连非生物碱类化学成分研究. 中国中药杂志, 2012, 37(9): 1241-1244.
- 5 李佳川, 孟宪丽, 范昕建, 等. 黄连改善胰岛素抵抗药效物质基础研究. 中国中药杂志, 2010, 35(14): 1855-1858.
- 6 唐超玲, 杨惠华, 黄湘媚, 等. 岩黄连 HPLC 指纹图谱研究及多成分定量分析. 中华中医药杂志, 2019, 34(1): 100-104.
- 7 布赫, 王立乾, 唐振球, 等. UPLC-ESI-Q-TOF-MS-E 快速鉴定黄连中生物碱类成分. 化学工程师, 2018, 32(2): 21-24+31.
- 8 张春艳, 成睿珍, 刘海. 黄连 HPLC Maxplot 指纹图谱的建立. 天津中医药, 2017, 34(8): 570-573.
- 9 李蒙. 黄连、黄黄连标准饮片制备技术规范及其主要成分抗肿瘤活性研究. 湖北: 湖北中医药大学硕士研究生论文, 2017.

- 10 张建锋, 刘文, 张石宇, 等. 黄连的 UPLC-MS/MS 指纹图谱研究. 中药新药与临床药理, 2016, 27(1): 97-101.
- 11 李俊贤. 基于成分敲出/敲入的中药(黄连)药效物质辨识和质量控制模式的研究. 云南: 昆明理工大学硕士研究生论文, 2013.

Study on the Overall Quality Characterization of *Rhizoma Coptidis* in Different Regions Based on UPLC-PDA Characteristic Chromatogram and Alkaloid Component Content

Peng Ping¹, Xie Suhua¹, Peng Pingan², Ran Mengguo², Chi Yuming³, Liu Xi⁴, Du Jing¹, Zhang Bei¹,
Li Dongying¹, Tian Ruihua⁵

(1. Tong Ren Tang Technology Co., Ltd, Beijing 100079, China; 2. Chongqing Wang Long Huang Lian Technology Co., Ltd, Chongqing 409100, China; 3. Beijing Zhongyan Tongrentang Medical Research Corporation, Beijing 100079, China; 4. Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 102446, China; 5. Beijing Tongrentang Group Co., Ltd, Beijing 100075, China)

Abstract: Objective To analyze the quality of *Rhizoma coptidis* from different regions, and to obtain the quality difference characterization of *Rhizoma coptidis*. Methods The UPLC-PDA chromatography was used to establish the method for analyzing the content of alkaloids in *Rhizoma coptidis* and the PLS-DA model was used to identify the quality differences of *Rhizoma coptidis* in different regions. Results The results showed that the number of characteristic peaks and the type of components were the same in every batch. Based on the relative content of alkaloids and non-alkaloids, *Rhizoma coptidis* can be divided into 3 categories: the first grade mainly comes from Sichuan and Chongqing, the content of alkaloids and non-alkaloids was high, and the relative content of peak 9 (phenols) was the main related component; the second grade mainly comes from Sichuan and Chongqing, the content of alkaloids and phenols was high, and the relative content of peak 1 (unknown), 13 (berberine), 2 (phenols), 5 (others), 12 (alkaloids) was the main related component; the third grade mainly comes from Hubei and Chongqing, the content of alkaloids and non-alkaloids was low, and the relative content of peak 11 (alkaloids), 6 (phenols), 8 (unknown) was the main related component. Conclusion The quality differences of *Rhizoma coptidis* in different producing areas were as follows: *Rhizoma coptidis* in Sichuan mainly showed higher content of alkaloids and other components, which was significantly different from *Rhizoma coptidis* in other producing areas. *Rhizoma coptidis* produced in Chongqing was characterized by high content of phenolic components. *Rhizoma coptidis* in Hubei is similar to *Rhizoma coptidis* in Chongqing.

Keywords: *Rhizoma coptidis*, Characteristic chromatogram, Phenolic acids, Alkaloids

(责任编辑: 周阿剑, 责任译审: 邹建华)