

# HPLC 指纹图谱结合化学计量法对比研究 博落回不同器官化学组分

杨敏<sup>1</sup>, 刘芙蓉<sup>1,2</sup>, 曾梅<sup>1</sup>, 周新茹<sup>1</sup>,  
王志辉<sup>1,2</sup>, 童巧珍<sup>1,2,3</sup>, 周日宝<sup>1,2,3\*</sup>, 刘湘丹<sup>1,2,3\*</sup>

<sup>1</sup>湖南中医药大学药学院; <sup>2</sup>湘产大宗道地药材种质资源及规范化种植重点实验室;

<sup>3</sup>湖南省普通高等学校中药现代化研究重点实验室, 长沙 410208

**摘要:**本研究采用 HPLC 法分别建立博落回根、叶、果、茎化学指纹图谱, 并测定其原阿片碱、别隐品碱、血根碱、白屈菜红碱 4 种生物碱含量; 采用正交偏最小二乘法-判别分析 (OPLS-DA) 对博落回根、叶、果进行质量评价。指纹图谱结果表明, 17 批根样品共标定 10 个共有峰, 14 批叶样品共标定 9 个共有峰, 14 批果样品共标定 9 个共有峰, 10 批茎样品共标定 6 个共有峰。博落回不同器官 4 种生物碱总含量高低顺序依次为: 果 > 根 > 叶 > 茎; 果中以上 4 种生物碱含量均较高, 根和叶中原阿片碱、别隐品碱含量高, 茎中以上 4 种生物碱含量均低; 博落回根资源量大且原阿片碱、别隐品碱含量高于果和叶, 可同博落回果、叶作为以上生物碱提取原料进行开发利用。OPLS-DA 结果以 VIP > 1 计, 别隐品碱及白屈菜红碱可作为博落回根潜在质量标志物; 血根碱、白屈菜红碱可作为博落回叶潜在质量标志物; 原阿片碱、别隐品碱、血根碱可作为博落回果的潜在质量标志物。本研究结果为博落回根、叶、果、茎的鉴别评价及博落回根的开发利用提供了研究依据。

**关键词:**博落回; 器官; HPLC 指纹图谱; 含量测定; 正交偏最小二乘法-判别分析

中图分类号: R917

文献标识码: A

文章编号: 1001-6880(2022)7-1098-12

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2022.7.002

## Comparative study of chemical components in different organs of *Macleaya cordata* by HPLC fingerprint and chemometrics

YANG Min<sup>1</sup>, LIU Xiao-rong<sup>1,2</sup>, ZENG Mei<sup>1</sup>, ZHOU Xin-ru<sup>1</sup>,  
WANG Zhi-hui<sup>1,2</sup>, TONG Qiao-zhen<sup>1,2,3</sup>, ZHOU Ri-bao<sup>1,2,3\*</sup>, LIU Xiang-dan<sup>1,2,3\*</sup>

<sup>1</sup>College of Pharmacy, Hunan University of Chinese Medicine;

<sup>2</sup>Key Research Laboratory of Germplasm Resources and Standardized

Planting of Genuine Regional Medicinal Materials Produced in Hunan Province;

<sup>3</sup>Key Laboratory of Modern Research of TCM, Education Department of Hunan Province, Changsha 410208, China

**Abstract:** In this study, the chemical fingerprints of roots, leaves, fruits and stems of *Macleaya cordata* were established by HPLC, and the contents of protopine, allocryptine, sanguinarine and chelerythrine were determined; orthogonal partial least squares discriminant analysis (OPLS-DA) was used to evaluate the quality of roots, leaves and fruits of *M. cordata*. The fingerprint results showed that 17 batches of root samples were calibrated with 10 common peaks, 14 batches of leaf samples were calibrated with 9 common peaks, 14 batches of fruit samples were calibrated with 9 common peaks, and 10 batches of stem samples were calibrated with 6 common peaks. The order of the total contents of four alkaloids in different organs of *M. cordata* is: fruit > root > leaf > stem; the contents of the above four alkaloids were higher in the fruit and were lower in the stem; the contents of protopine and allocryptine higher in the root and leaf. The resources of *M. cordata* roots are large, and the contents of protopine and allocryptine are higher than those of fruits and leaves, it can be developed and utilized with *M. cordata*.

收稿日期: 2022-02-23 接受日期: 2022-05-14

基金项目: 湖南省教育厅资助科研项目 (20A383); 湖南省现代农业产业技术体系建设项目 (湘农发[2019]105号); 2020年湖南省一流专业建设点: 中药资源与开发 (湘教通[2020]248号); 湖南中医药大学中药学一流学科项目 (编号: 校行科字[2018]3号)

\* 通信作者 Tel: 86-731-88458233; E-mail: 13973134355@139.com, paeonia\_dd@126.com

ta fruits and leaves as the above alkaloid extraction raw materials. The results of OPLS-DA showed that if  $VIP > 1$ , allocryptine and chelerythrine could be used as potential quality markers of *M. cordata* roots; sanguinarine and chelerythrine can be used as potential quality markers of *M. cordata* leaves; protopine, allocryptine and sanguinarine can be used as potential quality markers of *M. cordata* fruits. The results of this study provide a research basis for the identification and evaluation of the roots, leaves, fruits and stems of *M. cordata* and the development and utilization of *M. cordata* roots.

**Key words:** *Macleaya cordata*; organs; HPLC fingerprint; content determination; orthogonal partial least squares discriminant analysis

博落回 *Macleaya cordata* (Willd.) R. Br 为罂粟科博落回属多年生直立草本植物,最早收载于《本草拾遗》,主产于湖南、云南、江苏、浙江等地区<sup>[1]</sup>。博落回全草入药,有大毒,不可内服,外用具有祛风散寒、解毒止痛、杀虫等功效,用于治疗滴虫性阴道炎等各类炎症<sup>[2]</sup>。博落回主要活性成分为生物碱,包括原阿片碱(protopine, PRO)、别隐品碱(allocryptine, ALL)、白屈菜红碱(chelerythrine, CHE)、血根碱(sanguinarine, SAN)等异喹啉类生物碱<sup>[3]</sup>,其抗炎抗菌、抗肿瘤及改善肝功能等药理作用显著<sup>[4-8]</sup>。

博落回应用广泛,其作为特色中药材资源有着非常大的开发潜力和应用前景。目前市场以博落回生物碱研制并上市的兽药制剂主要有博落回散、博普总碱;博落回散,主成分为白屈菜红碱和血根碱<sup>[9]</sup>,有消炎抗菌、促进生长的作用;博普总碱,主要成分为原阿片碱及别隐品碱,有抗炎功效。博落回提取物还用作畜禽业的饲料添加剂,具有抗寄生虫、抗菌等功能<sup>[10]</sup>,能提高畜禽的生产性能、生长性能、改善肠道、增加免疫力等<sup>[11,12]</sup>。博落回还是新型生物农药的原材料<sup>[13]</sup>。

随着原阿片碱、别隐品碱、白屈菜红碱、血根碱等成分的市场需求量的不断增加,人工种植博落回已具规模,目前市场主要以博落回叶和果作为相关生物碱提取原料,博落回根和茎则未被利用。博落回为多年生宿根草本,一般三年重种1次,具有量大的地下根系和地上茎,进行博落回根、茎、叶、果化学组分对比研究并进行质量评价,可为充分利用博落

回资源提供依据,具有十分重要的研究意义。

## 1 仪器及材料

### 1.1 仪器

高效液相色谱仪(Agilent1260 二极管阵列检测器,德国安捷伦公司);ZORBAX Eclipse Plus  $C_{18}$  色谱柱(250 mm × 4.6 mm, 5  $\mu$ m);冰箱(BCD-452WDPF,青岛海尔服务有限公司);实验室纯水系统(Eco-S15,上海和泰仪器有限公司);电子分析天平(ME204E/02,梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司);中药粉碎机(LG-08A,浙江瑞安市百信药器械厂);电热鼓风干燥机(101-3AB,天津市泰斯特仪器有限公司)。

### 1.2 材料

原阿片碱对照品(19052101,纯度 $\geq 98\%$ ,成都普菲德生物技术有限公司)、别隐品碱对照品(19052104,纯度 $\geq 98\%$ ,成都普菲德生物技术有限公司)、血根碱对照品(19060502,纯度99.94%,成都普菲德生物技术有限公司)、白屈菜红碱对照品(20051408,纯度99.77%,成都普菲德生物技术有限公司样品信息)、磷酸(天津市恒心化学试剂制造有限公司,分析纯)、甲醇(国药集团化学试剂有限公司,分析纯)、盐酸(湖南汇虹试剂有限公司,分析纯)、乙腈(色谱纯)。

### 1.3 药材

本研究收集了17批博落回根样品,14批博落回果实样品,14批博落回叶样品,10批博落回茎样品,具体信息见表1。

表1 样品信息表

Table 1 Information of samples

编号 No.	品种 Variety	器官 Organ	产地 Producing area	生长方式 Growth pattern	采集时间 Harvest time
S1	博落回 湘6号	根	湖南常德(湖南省棉科所基地)	栽培	2020年9月
S2	博落回 农9JS	根	湖南常德(湖南省棉科所基地)	栽培	2020年9月
S3	博落回 新22JS	根	湖南常德(湖南省棉科所基地)	栽培	2020年9月
S4	博落回 农6JS	根	湖南常德(湖南省棉科所基地)	栽培	2020年9月

续表 1 (Continued Tab. 1)

编号 No.	品种 Variety	器官 Organ	产地 Producing area	生长方式 Growth pattern	采集时间 Harvest time
S5	博落回 CK JS	根	湖南常德(湖南省棉科所基地)	栽培	2020年9月
S6	博落回	根	湖南津市	栽培	2021年4月
S7	博落回	根	湖南浏阳文家市	栽培	2021年4月
S8	博落回	根	湖南永州宁远县	栽培	2021年5月
S9	博落回	根	湖南永州江华县	栽培	2021年5月
S10	博落回	根	贵州黔南惠水县	栽培	2021年5月
S11	博落回	根	湖南大围山	野生	2021年5月
S12	博落回	根	湖南岳阳君山区许市镇横山岭村	野生	2021年6月
S13	博落回	根	湖南常德鼎城区谢家铺镇古龙村	野生	2021年6月
S14	博落回	根	湖南常德鼎城区谢家铺镇菖藤桥村	野生	2021年6月
S15	博落回	根	湖南大围山	野生	2021年6月
S16	博落回	根	湖南新化县木瓜村	野生	2021年6月
S17	博落回	根	湖南长沙(湖南农业大学)	野生	2021年6月
S18	博落回	果	湖南邵阳新宁	栽培	2021年9月
S19	博落回湘6号	果	湖南常德(湖南省棉科所基地)	栽培	2020年9月
S20	博落回农9 JS	果	湖南常德(湖南省棉科所基地)	栽培	2020年9月
S21	博落回新22 JS	果	湖南常德(湖南省棉科所基地)	栽培	2020年9月
S22	博落回农6 JS	果	湖南常德(湖南省棉科所基地)	栽培	2020年9月
S23	博落回 CK JS	果	湖南常德(湖南省棉科所基地)	栽培	2020年9月
S24	博落回	果	湘西古丈万草药业	栽培	2020年9月
S25	博落回	果	湖南浏阳(美可达生物资源股份有限公司)	栽培	2020年9月
S26	博落回	果	湖南浏阳(美可达生物资源股份有限公司)	栽培	2020年9月
S27	博落回	果	湖南浏阳(美可达生物资源股份有限公司)	栽培	2020年9月
S28	博落回	果	湖南浏阳(美可达生物资源股份有限公司)	栽培	2020年9月
S29	博落回	果	湖南大围山	野生	2020年9月
S30	博落回	果	湖南长沙(湖南农业大学)	野生	2021年6月
S31	博落回	果	湖南邵阳洞口	野生	2021年7月
S32	博落回湘6号	叶	湖南常德(湖南省棉科所基地)	栽培	2020年9月
S33	博落回农9 JS	叶	湖南常德(湖南省棉科所基地)	栽培	2020年9月
S34	博落回新22 JS	叶	湖南常德(湖南省棉科所基地)	栽培	2020年9月
S35	博落回农6 JS	叶	湖南常德(湖南省棉科所基地)	栽培	2020年9月
S36	博落回 CK JS	叶	湖南常德(湖南省棉科所基地)	栽培	2020年9月
S37	博落回	叶	湖南岳阳君山区许市镇横山岭村	野生	2021年6月
S38	博落回	叶	湖南常德鼎城区谢家铺镇古龙村	野生	2021年6月
S39	博落回	叶	湖南常德鼎城区谢家铺镇菖藤桥村	野生	2021年6月
S40	博落回	叶	湖南大围山	野生	2021年6月
S41	博落回	叶	湖南长沙(湖南农业大学)	野生	2021年6月
S42	博落回	叶	湖南隆回县光龙村	野生	2021年6月
S43	博落回	叶	湖南新化县木瓜村	野生	2021年6月

续表 1 (Continued Tab. 1)

编号 No.	品种 Variety	器官 Organ	产地 Producing area	生长方式 Growth pattern	采集时间 Harvest time
S44	博落回	叶	湖南隆回县小沙江镇	野生	2021 年 6 月
S45	博落回	叶	湖南邵阳洞口	野生	2021 年 7 月
S46	博落回 湘 6 号	茎	湖南常德(湖南省棉科所基地)	栽培	2020 年 9 月
S47	博落回 农 9 JS	茎	湖南常德(湖南省棉科所基地)	栽培	2020 年 9 月
S48	博落回 新 22 JS	茎	湖南常德(湖南省棉科所基地)	栽培	2020 年 9 月
S49	博落回 农 6 JS	茎	湖南常德(湖南省棉科所基地)	栽培	2020 年 9 月
S50	博落回 CK JS	茎	湖南常德(湖南省棉科所基地)	栽培	2020 年 9 月
S51	博落回	茎	湖南大围山	野生	2020 年 9 月
S52	博落回	茎	湖南隆回县光龙村	野生	2021 年 6 月
S53	博落回	茎	湖南新化县木瓜村	野生	2021 年 6 月
S54	博落回	茎	湖南隆回县小沙江镇	野生	2021 年 6 月
S55	博落回	茎	湖南邵阳洞口	野生	2021 年 7 月

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

色谱柱为 ZORBAX Eclipse Plus C<sub>18</sub> 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 以乙腈为流动相 A, 以 0.1% 磷酸水溶液为流动相 B, 采用梯度洗脱(0 ~ 5 min, 20% A; 5 ~ 22 min, 20% → 40% A; 22 ~ 37 min, 40% → 60% A; 37 ~ 39 min, 60% → 25% A; 39 ~ 40 min, 25% → 20% A; 40 ~ 42 min, 20% A); 柱温 30 °C; 进样体积: 10 μL, 检测波长: 284 nm。

### 2.2 博落回不同器官指纹图谱研究

#### 2.2.1 对照品溶液制备

精密称取原阿片碱、别隐品碱、血根碱、白屈菜红碱对照品适量, 用甲醇溶解制得浓度为 0.1 mg/mL 的对照品溶液, 经 0.45 μm 微孔滤膜过滤, 密封, 低温避光保存, 备用。

#### 2.2.2 供试品溶液制备

取过 60 目筛博落回样品约 0.3 g, 精密称定, 分别置于 250 mL 具塞锥形瓶中, 加入甲醇-1% 盐酸水溶液(1:1) 30 mL, 称定重量, 超声提取 1 h 后取出冷却至室温, 补足失重, 离心, 取上清液经 0.45 μm 滤膜过滤, 制得样品溶液。

#### 2.2.3 精密度试验

精密称取 S3 号样品 0.3 g, 按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液, 在“2.1”项色谱条件下连续进样 6 次, 记录色谱图。以血根碱为参照峰, 测得 10 个共有峰相对保留时间的 RSD 在 0.15% ~ 0.67%, 相对峰面积的 RSD 在 0.11% ~ 4.24%, 表明仪器精

密度良好。

#### 2.2.4 重复性试验

精密称取 6 份 0.3 g 的 S3 号样品, 按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液, 在“2.1”项色谱条件下进样, 记录色谱图。以血根碱为参照峰, 测得 10 个共有峰相对保留时间的 RSD 在 0.01% ~ 0.12%, 相对峰面积的 RSD 在 1.76% ~ 4.82%, 表明该方法重复性良好。

#### 2.2.5 稳定性试验

精密称取 S3 号样品 0.3 g, 按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液, 在“2.1”项色谱条件下, 分别于 0、2、4、8、12、24 h 进样, 进行色谱分析, 记录色谱图。以血根碱为参照峰, 测得 10 个共有峰相对保留时间的 RSD 在 0.02% ~ 0.09%, 相对峰面积的 RSD 在 1.20% ~ 4.49%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

#### 2.2.6 参照峰选择

在各批次博落回样品色谱图中血根碱峰分离良好, 峰形稳定, 峰面积较大且为所有样品共有, 故确定血根碱峰为参照峰(S)。

#### 2.2.7 博落回不同器官 HPLC 指纹图谱的建立及相似度评价

取各批博落回样品, 按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液, 按“2.1”项下色谱条件进样, 记录各批样品的色谱图, 采用国家药典委员会“中药色谱指纹图谱相似度评价系统软件”(2012.130723 版) 分别对博落回不同器官样品 HPLC 色谱图进行多点矫

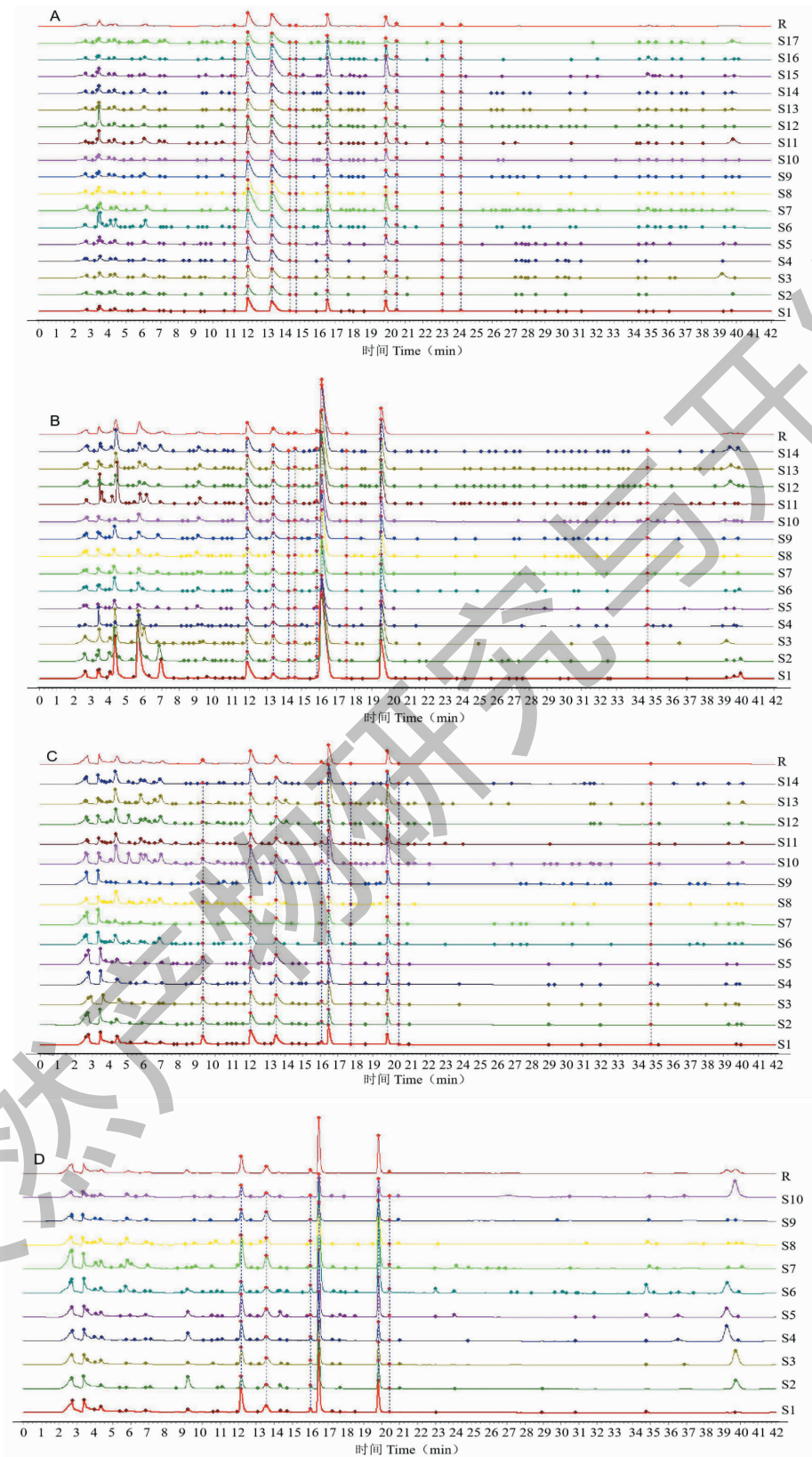


图1 博落回不同器官 HPLC 指纹图谱图

Fig. 1 HPLC fingerprints of different organs of *M. cordata*

注: A-根; B-果; C-叶; D-茎。 Note: A-Root; B-Fruit; C-Leaf; D-Stem.

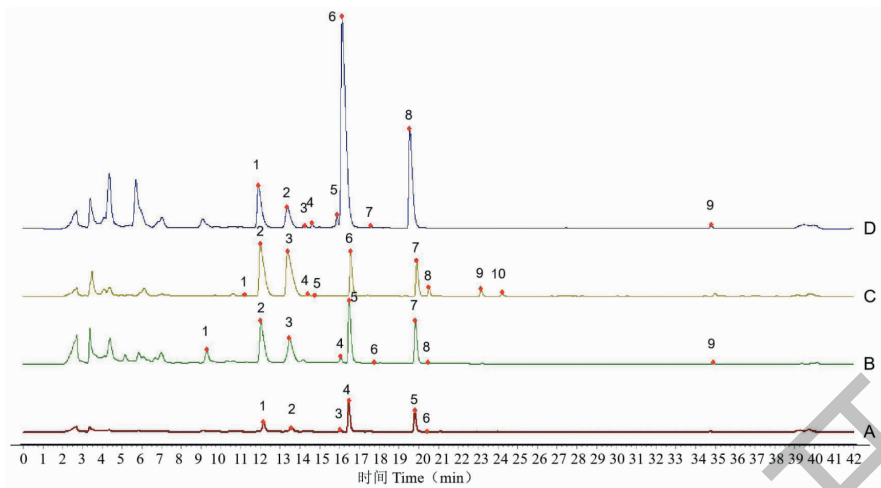


图 2 博落回不同器官对照特征图谱

Fig. 2 Control fingerprint of different organs of *M. cordata*

注: A-茎; B-叶; C-根; D-果。 Note: A-Stem; B-Leaf; C-Root; D-Fruit.

正和色谱峰匹配(时间宽度为 0.10),用中位数法生成对照图谱 R,计算相似度,并建立博落回不同器官的特征图谱。结果发现,17 批根样品共标定了 10 个共有峰,14 批果样品共标定了 9 个共有峰,14 批叶样品共标定了 9 个共有峰,10 批茎样品共标定了

6 个共有峰。博落回不同器官样品与其对照图谱的相似度均 >0.9,说明大部分来源博落回样品相似度良好。博落回不同器官色谱叠加图见图 1,博落回不同器官对照特征图谱见图 2(标出的峰为共有峰),不同器官样品相似度评价结果见表 2。

表 2 样品相似度评价结果

Table 2 Similarity evaluation results of samples

样品 Sample	相似度 Similarity	样品 Sample	相似度 Similarity	样品 Sample	相似度 Similarity	样品 Sample	相似度 Similarity
S1	0.996	S15	0.959	S29	0.999	S43	0.996
S2	0.984	S16	0.995	S30	0.999	S44	0.906
S3	0.997	S17	0.994	S31	0.999	S45	0.986
S4	0.981	S18	0.992	S32	0.974	S46	0.988
S5	0.995	S19	0.994	S33	0.983	S47	0.996
S6	0.978	S20	0.995	S34	0.988	S48	0.983
S7	0.997	S21	0.999	S35	0.979	S49	0.968
S8	0.991	S22	0.998	S36	0.947	S50	0.997
S9	0.988	S23	0.994	S37	0.987	S51	0.969
S10	0.962	S24	0.997	S38	0.97	S52	0.997
S11	0.995	S25	0.998	S39	0.981	S53	0.932
S12	0.984	S26	0.998	S40	0.946	S54	0.919
S13	0.999	S27	0.990	S41	0.955	S55	0.984
S14	0.999	S28	0.999	S42	0.955		

2.2.8 部分特征峰指认

进一步确认博落回样品特征峰的化学信息,采用 HPLC 对博落回样品对照特征图谱中共有峰中的

4 个色谱峰进行了指认;通过与对照品对照,分别鉴定为原阿片碱、别隐品碱、血根碱、白屈菜红碱,结果见图 3。

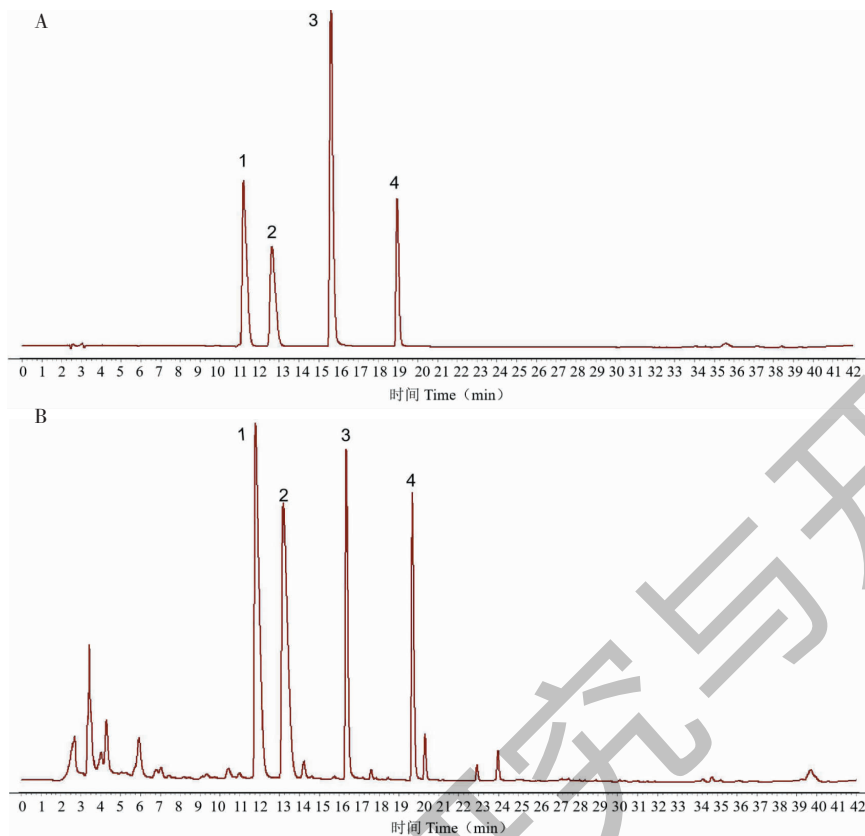


图3 混合对照品(A)和S1样品(B)的HPLC图

Fig. 3 HPLC chromatograms of reference substance(A) and S1 sample(B)

注:1-原阿片碱;2-别隐品碱;3-血根碱;4-白屈菜红碱。Note:1-PRO;2-ALL;3-SAN;4-CHE.

## 2.3 不同器官4种化学成分含量测定

### 2.3.1 色谱条件

色谱条件同“2.1”项

### 2.3.2 对照品溶液制备

精密称取生物碱对照品适量,用甲醇溶解分别制得浓度为1.0 mg/mL 原阿片碱、别隐品碱,浓度为0.4 mg/mL 血根碱、白屈菜红碱对照品溶液,经0.45 μm 微孔滤膜过滤,密封,低温避光保存,备用。

### 2.3.3 供试品溶液制备

取过60目筛博落回样品约0.2 g,精密称定,分别置于250 mL的具塞锥形瓶中,加入甲醇-1%盐酸水溶液(1:1)20 mL,称定重量,超声提取1 h后取出冷却至室温,补足失重,离心,取上清液经0.45 μm 滤膜过滤,制得样品溶液。

### 2.3.4 线性关系考察

精密量取“2.3.2”项下原阿片碱、别隐品碱、血根碱、白屈菜红碱对照品储备液适量,加甲醇溶液成倍数稀释,配制不同浓度对照品溶液,按“2.1”项下色谱条件测定各对照品峰面积。以各对照品峰面

积为纵坐标、各生物碱质量浓度为横坐标绘制标准曲线,得各生物碱线性回归方程;原阿片碱: $y = 10\ 996\ 354.38x + 60\ 697.60$  ( $R^2 = 0.999\ 9$ );别隐品碱: $y = 6\ 497\ 302.54x + 30\ 215.55$  ( $R^2 = 0.999\ 9$ );血根碱: $y = 32\ 264\ 068.75x + 99\ 772.67$  ( $R^2 = 0.999\ 6$ );白屈菜红碱: $y = 27\ 972\ 245.40x + 1\ 339.45$  ( $R^2 = 0.999\ 9$ )。结果表明,原阿片碱、别隐品碱质量浓度在0.012 ~ 0.800 mg/mL 内线性关系良好;血根碱、白屈菜红碱质量浓度在0.005 ~ 0.400 mg/mL 内线性关系良好。

### 2.3.5 精密度实验

精密称取S3号样品0.2 g,按“2.3.3”项下方法制备供试品溶液,在“2.1”项色谱条件下连续进样6次并记录峰面积。计算原阿片碱、别隐品碱、血根碱、白屈菜红碱峰面积RSD分别为0.35%、0.54%、0.38%、0.28%,说明仪器精密度良好。

### 2.3.6 重复性试验

精密称取6份0.2 g的S3号样品,按“2.3.3”项下方法制备供试品溶液,在“2.1”项色谱条件下



进样并记录峰面积。计算原阿片碱、别隐品碱、血根碱、白屈菜红碱峰面积 RSD 分别为 1.73%、1.80%、2.62%、2.64%，说明该方法重复性良好。

### 2.3.7 稳定性试验

精密称取 S3 号样品 0.2 g，按“2.3.3”项下方法制备供试品溶液，在“2.1”项下色谱条件，分别在 0、2、4、8、12、24 h 进样并记录峰面积。计算原阿片碱、别隐品碱、血根碱、白屈菜红碱峰面积 RSD 分别为 0.96%、0.12%、2.65%、0.99%，表明样品在 24 h 内稳定。

### 2.3.8 加样回收实验

分别精密称定已知含量 6 份样品各 0.1 g，并加入适量对照品溶液，按“2.3.3”项下方法制备供试品溶液，在“2.1”项色谱条件下进样，记录色谱图，计算加样回收率。结果表明原阿片碱的平均回收率为 103.74% (RSD = 2.61%)，别隐品碱的平均回收率为 97.18% (RSD = 0.67%)，血根碱的平均回收率为 105.20% (RSD = 2.13%)，白屈菜红碱的平均回收率为 101.71% (RSD = 2.71%)，结果见表 3。表明该方法的回收率良好。

表 3 回收率试验结果 ( $n=6$ )  
Table 3 The results of recovery test ( $n=6$ )

成分 Ingredient	样品编号 Sample	取样量 Sampling amount(g)	原有量 Original amount (mg)	加入量 Addition amount (mg)	测得量 Measured amount (mg)	回收率 Recovery rate(%)	平均回收率 Average recovery rate(%)	RSD (%)
PRO	14 号	0.100 2	0.814 6	0.800 0	1.600 7	98.258 3	103.744 9	2.61
		0.100 2	0.814 6	0.800 0	1.651 9	104.664 7		
		0.100 2	0.814 6	0.800 0	1.652 6	104.744 7		
		0.100 2	0.814 6	0.800 0	1.650 4	104.478 0		
		0.100 3	0.815 4	0.800 0	1.653 7	104.789 8		
		0.100 2	0.814 6	0.800 0	1.658 9	105.533 6		
ALL	3 号	0.100 2	1.376 7	1.300 0	2.652 1	98.107 7	97.210 3	0.67
		0.100 2	1.376 7	1.300 0	2.641 9	97.323 1		
		0.100 2	1.376 7	1.300 0	2.626 0	96.100 0		
		0.100 2	1.376 7	1.300 0	2.637 8	97.007 7		
		0.400 3	1.378 1	1.300 0	2.643 6	97.346 2		
		0.100 2	1.376 7	1.300 0	2.642 6	97.376 9		
SAN	6 号	0.100 2	0.429 9	0.400 0	0.833 8	100.994 1	105.195 8	2.13
		0.100 2	0.429 9	0.400 0	0.849 6	104.933 4		
		0.100 2	0.429 9	0.400 0	0.855 8	106.485 8		
		0.100 2	0.429 9	0.400 0	0.851 6	105.435 2		
		0.100 3	0.430 3	0.400 0	0.853 6	105.817 5		
		0.100 2	0.429 9	0.400 0	0.859 9	107.508 9		
CHE	16 号	0.100 2	0.271 3	0.300 0	0.565 0	97.898 0	101.712 0	2.71
		0.100 2	0.271 3	0.300 0	0.587 7	105.476 4		
		0.100 2	0.271 3	0.300 0	0.584 1	104.288 4		
		0.100 2	0.271 3	0.300 0	0.575 4	101.394 3		
		0.100 3	0.271 6	0.300 0	0.572 5	100.286 9		
		0.100 2	0.271 3	0.300 0	0.574 0	100.927 9		



## 2.3.9 样品含量测定与分析

## 2.3.9.1 样品含量测定

将各批博落回样品按“2.3.3”项下方法制备供

试品溶液,在“2.1”项下色谱条件进样,记录色谱图,代入线性回归方程,计算各生物碱含量,结果如表4。

表4 博落回不同器官4种化学成分含量

Table 4 Content of four chemical constituents from different organs of *M. cordata*

编号 No.	4种化学成分含量 Content of four chemical constituent(%)				编号 No.	4种化学成分含量 Content of four chemical constituent(%)			
	PRO	ALL	SUN	CHE		PRO	ALL	SUN	CHE
S1	1.070	1.554	0.235	0.266	S29	1.711	1.695	2.868	1.726
S2	0.829	1.828	0.063	0.088	S30	1.017	0.727	3.156	1.675
S3	0.841	1.374	0.131	0.117	S31	2.297	0.953	3.944	1.771
S4	0.820	1.272	-	0.052	S32	1.535	1.754	0.368	0.212
S5	1.325	2.185	0.215	0.188	S33	0.998	1.528	0.257	0.221
S6	2.813	3.349	0.429	0.217	S34	1.256	2.045	0.453	0.305
S7	4.283	6.807	0.476	0.489	S35	1.789	1.658	0.388	0.215
S8	1.173	2.313	0.141	0.138	S36	1.352	1.926	0.208	0.216
S9	5.522	4.676	0.468	0.212	S37	0.892	0.894	0.212	0.185
S10	2.016	4.747	0.477	0.725	S38	1.251	1.058	0.228	0.154
S11	1.076	2.559	0.223	0.260	S39	1.837	2.309	0.258	0.277
S12	1.926	3.643	0.148	1.466	S40	1.390	1.217	0.379	0.287
S13	2.436	3.483	0.242	0.160	S41	0.512	0.715	0.096	0.157
S14	0.813	2.680	0.193	0.278	S42	1.658	1.467	0.861	0.756
S15	2.036	4.437	0.356	0.367	S43	0.940	1.073	0.505	0.493
S16	1.146	2.096	0.209	0.271	S44	1.239	1.400	0.355	0.323
S17	1.190	2.408	0.121	0.118	S45	0.864	1.064	0.766	0.486
S18	0.696	0.818	1.750	0.848	S46	0.223	0.173	0.167	0.109
S19	0.734	0.748	1.041	0.523	S47	-	-	0.113	0.093
S20	0.854	1.303	1.635	0.987	S48	0.142	0.175	0.101	0.074
S21	0.792	0.962	1.161	0.588	S49	0.165	-	0.117	0.061
S22	0.691	0.882	1.708	0.852	S50	0.204	0.208	0.179	0.137
S23	1.180	1.290	1.766	0.752	S51	-	0.12	0.355	0.282
S24	1.633	1.639	1.702	0.780	S52	0.371	0.337	0.271	0.257
S25	1.711	1.491	2.623	1.200	S53	-	0.153	0.092	0.196
S26	1.469	1.307	2.156	0.947	S54	-	0.209	0.027	0.070
S27	1.668	1.397	2.499	1.113	S55	-	-	0.038	0.061
S28	1.720	1.332	3.069	1.238					

注:“-”表示样品中相关成分含量低于本方法的检测限

Note:“-” means content of relevant components in the sample is below the detection limit of this method

## 2.3.9.2 不同栽培品种博落回生物碱含量对比分析

对采自湖南常德(湖南省棉科所基地)的5个博落回栽培品种根、果、叶、茎中以上4种生物碱总含量进行对比分析,结果见图4。

## 2.3.9.3 野生博落回与栽培博落回不同器官生物碱含量对比分析

分别对野生博落回与栽培博落回根、茎、叶、果中以上4种生物碱及总生物碱均值进行对比分析,

结果见图5。

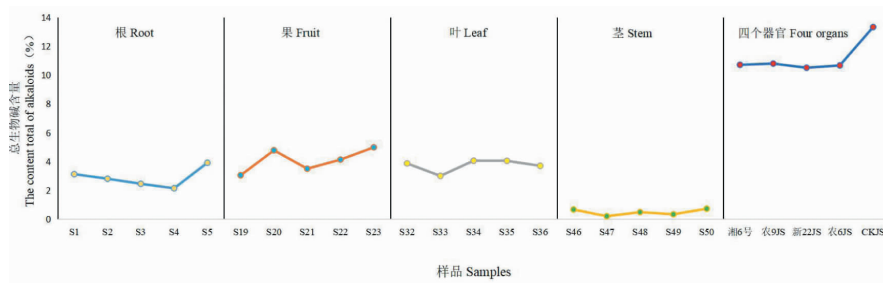


图4 不同栽培品种博落回生物碱总含量对比分析图

Fig. 4 Comparative and analysis of total alkaloid content of *M. cordata* in different cultivars

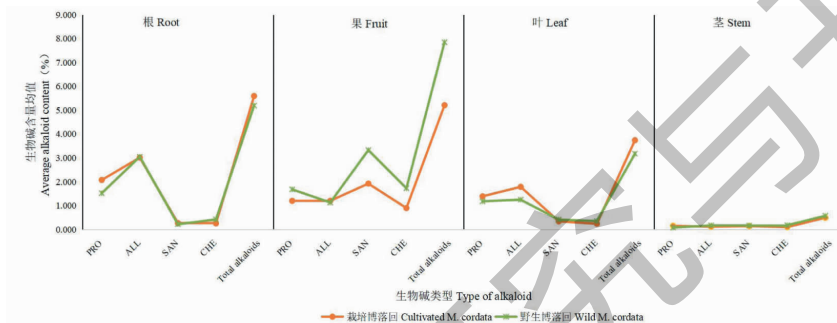


图5 野生博落回与栽培博落回不同器官生物碱含量对比分析图

Fig. 5 Comparison and analysis of alkaloid content in different organs of wild *M. cordata* and cultivated *M. cordata*

## 2.4 正交偏最小二乘判别分析(OPLS-DA)

分别将博落回根、果、叶样品共有峰面积导入SIMCA 14.1 数据统计软件,采用 OPLS-DA 程序进行分析,获得相应的模型(见图6)。结果发现,累积解释能力参数( $R^2X$ )分别为0.937、0.896、0.758,累积解释能力参数( $R^2Y$ )分别为0.854、0.983、0.904,预测能力参数( $Q^2$ )分别为0.602、0.757、0.616,均大于0.5,表明该模型稳定可靠、预测能力强,可用于区别博落回根、果、叶。由图6A可知,各地博落回根药材较分散,说明各个产地的博落回根样品存在一定差异;由图6B可知,博落回果主要分为两大类,由图6C可知,博落回叶也主要分为两大类。综合图6中的三个图可得出,采自常德棉科所的根、果、叶样品均分别聚在一簇。

OPLS-DA 模型中变量重要性投影(VIP)图(见图7)。以VIP值>1.0为筛选标准,由图7A可知,博落回根共得到4个共有峰VIP值大于1,按VIP值大小排序为峰9>峰7(白屈菜红碱)>峰1>峰3(别隐品碱);由图7B可知,博落回果共得到4个共有峰VIP值大于1,按VIP值大小排序为峰1(原阿片碱)>峰2(别隐品碱)>峰4>峰6(血根碱);由

图7C可知,博落回叶共得到5个共有峰VIP值大于1,按VIP值大小排序为峰1>峰4>7(白屈菜红碱)>峰5(血根碱)>峰9。说明这些化学成分对博落回根、果、叶具有显著影响,是引起其质量差异的主要潜在标志性成分。

## 3 讨论

### 3.1 检测波长的选择

本研究共考察了270、284及300 nm三个检测波长,研究发现,284 nm时原阿片碱、别隐品碱、血根碱、白屈菜红碱均能有较好吸收,且能检测到样品中更多的成分峰,各成分分离度及峰形均良好,故本研究选择284 nm作为检测波长。

### 3.2 不同来源、不同器官博落回药材化学组分对比分析及质量评价

本研究分别建立了博落回根、茎、叶、果化学指纹图谱,结果表明不同器官化学组分存在一定差异;从图1可得,根和果中的化学成分种类较多,其次为叶,茎中检测到的化学成分相对最少。本研究比较分析了博落回根、茎、叶、果中原阿片碱、别隐品碱、血根碱、白屈菜红碱含量,结果表明不同器官的以上4种生物碱含量存在差异,各器官4种生物碱总量高低顺序依次为果

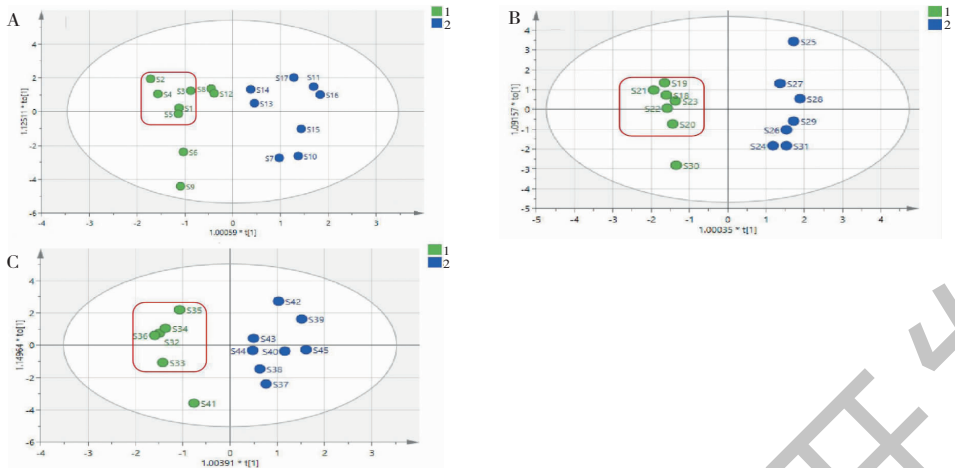


图6 样品 OPLS-DA 得分图

Fig. 6 OPLS-DA score plot of samples

注:A-根;B-果;C-叶。Note:A-Root;B-Fruit;C-Leaf.

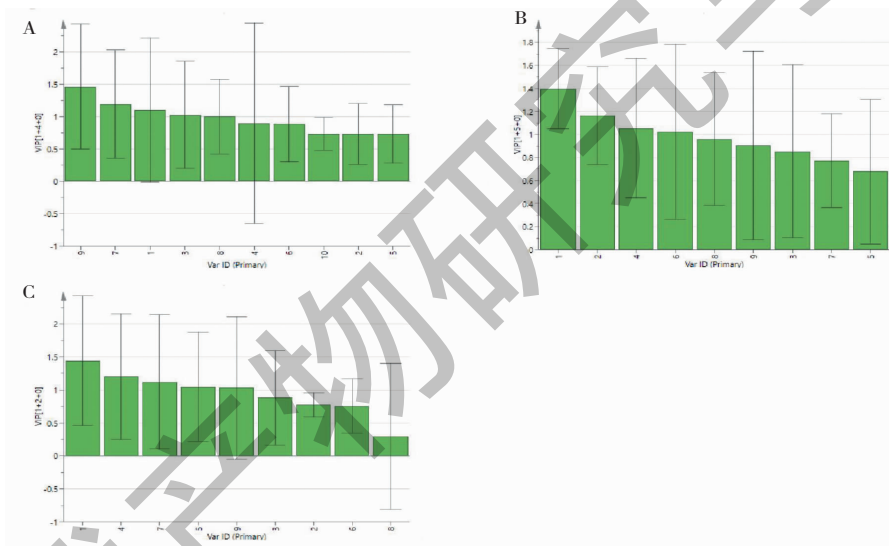


图7 重要性变量投影图

Fig. 7 VIP plot of OPLS-DA

注:A-根;B-果;C-叶。Note:A-Root;B-Fruit;C-Leaf.

>根>叶>茎(见图5)。博落回茎中以上4种生物碱含量差异最小但均极低,博落回果中以上4种生物碱含量差异较小均较高,博落回根、叶中4种生物碱含量差异较大,其中原阿片碱和别隐品碱含量相对较高;分析发现,根中原阿片碱与别隐品碱含量均值分别大于果、叶中原阿片碱与别隐品碱含量均值(见图5)。博落回为多年生草本植物,其根系发达,产量较高,根据研究结果博落回根可以作为原阿片碱、别隐品碱提取原料,以充分利用博落回资源。

生物碱类成分为植物生长过程不断合成的次生代谢产物,结合表4和图5可知,不同生长方式对博落回

根、茎、叶生物碱的积累影响较小,果中的生物碱积累量在野生和栽培两种生长方式下有一定差别,野生博落回果生物碱含量高于栽培博落回果生物碱含量。根据湖南省博落回果、叶地方标准<sup>[14,15]</sup>,博落回果及叶分别以血根碱与白屈菜红碱之和、原阿片碱与别隐品碱之和作为等级划分指标,博落回果血根碱与白屈菜红碱之和>1.5为一等品,博落回叶原阿片碱与别隐品碱之和>1.5为一等品。结果表明,本研究的野生与栽培果样品血根碱与白屈菜红碱之和均>1.5,野生与栽培叶样品原阿片碱与别隐品碱之和均>1.5。由此可知,栽培博落回适应性较好,可以通过人工栽培以满足市

场对于博落回原料的需求。结合图 4 分析可知,采自常德棉科所的 5 个不同品种中博落回 CK JS 样品不同器官总生物碱含量均为最高,在后续栽培生产过程中可选育该品种进行推广种植。

### 3.3 博落回根、叶、果潜在质量标志物分析

本研究发现,博落回茎总生物碱含量低,且所含成分种类较少,未对其进行化学计量学分析。基于“2.4”项 OPLS-DA 分析结果可知,以 VIP 值 >1 为计,别隐品碱及白屈菜红碱可作为博落回根潜在质量标志物;原阿片碱、别隐品碱、血根碱可作为博落回果潜在质量标志物;血根碱、白屈菜红碱可作为博落回叶潜在质量标志物,其他标定的未知共有峰需进一步研究指正。

## 4 结论

本文对博落回根、茎、叶、果的 HPLC 指纹图谱进行比较分析,研究发现博落回不同器官化学组分存在差异,博落回根、果、叶中化学组分较丰富,茎中化学组分较少。进行了博落回不同器官原阿片碱、别隐品碱、血根碱、白屈菜红碱 4 种生物碱含量测定,结果表明,野生博落回与栽培博落回的根、茎、叶的生物碱含量接近,果中生物碱含量差异较大,但均能达到博落回果和叶湖南省地方标准要求,提示栽培的博落回适应性、品质好。

目前市场主要以博落回叶、果作为生物碱的提取原料,根和茎未被利用;博落回为多年生宿根草本,具有量大的地下根系和地上茎;研究发现博落回茎中以上 4 种生物碱含量低,利用价值较低,而根中原阿片碱、别隐品碱含量高于果和叶,且资源量大,其可作为原阿片碱、别隐品碱的提取原料,以充分利用博落回资源。上述研究结果可为博落回的质量控制和根的开发利用提供依据和参考。

## 参考文献

- 1 Editorial Committee of Flora of Traditional Chinese Medicine, Chinese Academy of Sciences. Flora of China: Vol 32(中国植物志:32 卷)[M]. Beijing: Science Press, 1999: 078.
- 2 State Administration of Traditional Chinese Medicine" Chinese Materia Medica" Editorial Board. Chinese Materia Medica(中华本草)[M]. Shanghai: Shanghai Science and Technology Press, 1999: 389.
- 3 Khin M, Jnoes AM, Cech NB, et al. Phytochemical analysis and antimicrobial efficacy of *Macleaya cordata* against extensively drug-resistant *Staphylococcus aureus* [J]. Nat Prod Commun, 2018, 13: 1479-1483.

- 4 Park H, Bergeron E, Senta H, et al. Sanguinarine induces apoptosis of human osteosarcoma cells through the extrinsic and intrinsic pathways[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2010, 399: 446-451.
- 5 Wang CY, Tong SL, Hu X. Studies on the alkaloid ingredients of *Macleayacordata* and their antibacterial activity [J]. J South-Cent Minzu Univ; Nat Sci(中南民族大学学报: 自科版), 2015, 34(1): 39-42.
- 6 Meng YY, Liu Y, Hu ZF, et al. Sanguinarine attenuates lipopolysaccharide-induced inflammation and apoptosis by inhibiting the TLR4/NF-kappa B pathway in H9c2 cardiomyocytes [J]. Curr Med Sci, 2018, 38: 204-211.
- 7 Chmura SJ, Dolan ME, Cha A, et al. *In vitro* and *in vivo* activity of protein kinase C inhibitor chelerythrine chloride induces tumor cell toxicity and growth delay *in vivo* [J]. Clin Cancer Res, 2000, 6: 737-742.
- 8 Zeng JG, Xiao L, Wang YH, et al. Experimental study on antagonizing liver fibrosis of *Macleaya cordata* extract [J]. Chin J Exp Tradit Med Form(中国实验方剂学杂志), 2012, 18(1): 134-140.
- 9 Wang XM, Liu ZX. Research progress of *Macleaya Cordata* in livestock and poultry feed [J] Swine Prod(养猪) 2021(5): 12-14.
- 10 Han TG, Yang HQ, Xin JG, et al. The *in vitro* antibacterial activity of *Macleaya cordata* extract against four common pathogenic bacteria in pig farms [J]. J Yunnan Agr Univ; Nat Sci(云南农业大学学报: 自科版), 2021, 36: 616-622.
- 11 Qu HJ, Sun GC, Zhu YB, et al. Effects of *Macleaya cordata* extract combined with glucose oxidase enzyme on production performance, antioxidant capacity and economic benefits of laying hens during late period of laying [J]. Feed Ind(饲料工业), 2020, 41(14): 7-11.
- 12 Zhang TW. Effect of *Macleaya cordata* extract on growth performance, nutrient apparent digestibility, serum biochemical indexes and immune function of calves [J]. Feed Res(饲料研究), 2021, 44(15): 28-31.
- 13 Liu YH, Li J, Wang D, et al. Alkaloids from the stem of *Macleaya cordata* against *Exserohilum turcicum* [J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发), 2021, 33: 977-981.
- 14 DB43/T497-2009, Fructus *Macleaya cordata* (Willd.) R. Br. (博落回果) [S]. Hunan: Hunan Provincial Bureau of Quality and Technical Supervision(湖南省质量技术监督局), 2009: 3.
- 15 DB43/T498-2009, Folium *Macleaya cordata* (Willd.) R. Br. (博落回叶) [S]. Hunan: Hunan Provincial Bureau of Quality and Technical Supervision(湖南省质量技术监督局), 2009: 3.