

[科研报道]

基于多指标成分含量结合化学计量学评价不同产地浙贝母质量

唐 瑞¹, 杜伟锋^{1,2,3}, 孙贝贝¹, 赵明方¹, 李亚飞¹, 方可儿¹, 张海瑞¹, 李昌煜^{1,4*}, 葛卫红^{1,2*}

(1. 浙江中医药大学药学院, 浙江 杭州 310053; 2. 浙江中医药大学中药炮制技术研究中心, 浙江 杭州 311401; 3. 浙江中医药大学中药饮片有限公司, 浙江 杭州 311400; 4. 浙江中医药大学中医药科学院, 浙江 杭州 311401)

摘要: 目的 评价不同产地浙贝母质量。方法 采用 UV-Vis、HPLC-ELSD、HPLC-DAD 法测定总生物碱含量, 贝母素甲、贝母素乙总含量, 水溶性成分(尿嘧啶、胞苷、尿苷、2-脱氧尿苷、肌苷、腺嘌呤、胸苷、腺苷、2-脱氧腺苷)总含量, 主成分分析(PCA)、偏最小二乘法-判别分析(OPLS-DA)评价质量。结果 浙江产浙贝母中总生物碱含量, 贝母素甲、贝母素乙总含量, 9种水溶性成分总含量均高于湖南安化、湖北宜昌产, 其中舟山产样品中9种水溶性成分总含量、总生物碱含量, 象山产样品中贝母素甲、贝母素乙总含量显著高于其他浙江产地样品中。结论 浙江产浙贝母质量较好, 以舟山、象山产更明显。本实验可为该药材采购产地选择及优良新品种选育提供参考。

关键词: 浙贝母; 产地; 总生物碱; 贝母素甲; 贝母素乙; 水溶性成分; 主成分分析(PCA); 偏最小二乘法-判别分析(OPLS-DA)

中图分类号: R283

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2023)07-2317-06

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2023.07.035

浙贝母为百合科植物浙贝母 *Fritillaria thunbergii* Miq. 的干燥鳞茎, 又名浙贝、珠贝、大贝、元宝贝、象贝^[1], 是浙江省传统的道地药材之一, 具有清热化痰止咳、解毒散结消痈的功效, 临床主要用于风热咳嗽、痰火咳嗽、肺痈、乳痈、瘰疬、疮毒等症^[2]。现代研究发现, 浙贝母主要活性成分包括生物碱、水溶性成分、皂苷类、多糖类、萜类等^[3-5], 具有止咳祛痰^[6]、抗炎^[7]、抗肿瘤^[8]、抗病毒^[9]等作用。

浙贝母野生药材多见于林荫处, 现多为人工栽培, 主要分布于浙江、江苏、湖北、湖南等地, 浙江省作为全国浙贝母的主产区, 种植面积和产量约占全国90%以上, 目前浙贝母主产区在鄞州、磐安、东阳、定海等地, 生产基本稳定^[10]。

近些年其他省份也逐渐引种浙贝母, 但与道地产区相比, 各省份种植的浙贝母年产量及药材质量都有较大差异^[11]。对于浙贝母的质量控制研究, 主要以贝母素甲、贝母素乙作为定量指标^[2], 也对浙贝母所含的其他有效指标进行了检测^[12-15], 水溶性成分、总生物碱含量、多糖等均可作为评价浙贝母质量的指标。浙贝母的主要有效成分为

生物碱类, 另外, 考虑到临床应用时主要采用水煎, 本研究综合总生物碱含量, 贝母素甲、贝母素乙总含量, 水溶性成分总含量3个指标对浙贝母品质进行评价, 并结合化学统计分析明确不同产地的主要差异成分, 为浙贝母的道地性形成机制提供依据。

1 材料

1.1 药材 浙贝母由各地药农采收, 共45批, 统一加工, 经浙江中医药大学葛卫红教授鉴定为百合科贝母属植物浙贝母 *Fritillaria thunbergii* Miq. 的干燥鳞茎, 具体见表1。

1.2 仪器 U3000型高效液相色谱仪(美国 Thermo Fisher 公司); ELSD 6600型蒸发光散射检测器、LQB-30L型空气压缩机(苏州林恩色谱科技有限公司); UPLC-Triple-TOF/MS系统、AcquityTM ultra型高效液相色谱仪(美国 Waters 公司); Triple TOF 5600+型飞行时间质谱(美国 AB SCIEX 公司); UV 2450型紫外分光光度计(日本岛津公司); ME-204E型、NT-xs105型电子分析天平(瑞士梅特勒-托利多公司); TG16-WS型台式高速离心机(上海卢湘仪离心机仪器有限公司)。

收稿日期: 2023-01-01

基金项目: 浙江省自然科学基金项目(TGN23H280002); 浙江省中医药科技计划中医药现代化专项项目(2020ZX006); 杭州市农业与社会发展科研重点项目(202204A06); 宁波市“科技创新2025”重大专项(2020Z089, 20201ZDYF020069)

作者简介: 唐 瑞(1999—), 女, 硕士生, 从事中药炮制、药理研究。Tel: 18389577281, E-mail: 1289810974@qq.com

* 通信作者: 李昌煜(1965—), 男, 教授, 从事中药药理及其相关新产品开发研究。Tel: (0571) 86613537, E-mail: lcyzemu@sina.com

葛卫红(1969—), 男, 教授, 从事中药药理及其相关新产品开发研究。Tel: (0571) 87195895, E-mail: geweihong@hotmail.com

表1 样品信息

编号	产地	编号	产地	编号	产地
XS-1	浙江省象山县河东村1	PA-7	浙江省磐安县冷水村	YK-1	浙江省永康县岩后村1
XS-2	浙江省象山县河东村2	PA-9	浙江省磐安县岩潭村	YK-2	浙江省永康县岩后村2
XS-3	浙江省象山县官山村	PA-10	浙江省磐安县双峰村	YK-3	浙江省永康县岩后村3
XS-4	浙江省象山县泗洲头村	PA-11	浙江省磐安县溪下村	ZS-1	浙江省舟山市金塘岛1
XS-5	浙江省象山县国永农场	PA-13	浙江省磐安县流岸村	ZS-2	浙江省舟山市河平村1
YZ-1	浙江省鄞县鄞江猫头桥	JY-1	浙江省缙云县白竹村	ZS-3	浙江省舟山市河平村2
YZ-7	浙江省鄞县王家潭村	JY-2	浙江省缙云县潜陈村	NH-1	浙江省宁海县七市村1
YZ-8	浙江省鄞县吕家	JY-3	浙江省缙云县杨桥头村	NH-2	浙江省宁海县七市村2
YZ-9	浙江省鄞县下吕家	JY-4	浙江省缙云县白竹村2	NH-3	浙江省宁海县七市村3
YZ-10	浙江省鄞县富农	LX-1	浙江省兰溪市下吴村1	HN-1	湖南省安化仙溪镇1
PA-1	浙江省磐安县庄基村	LX-2	浙江省兰溪市下吴村2	HN-2	湖南省安化仙溪镇2
PA-2	浙江省磐安县新渥村1	LX-3	浙江省兰溪市下吴村3	HN-3	湖南省安化仙溪镇3
PA-3	浙江省磐安县新渥村2	ZJ-1	浙江省诸暨市禾矸1	HB-1	湖北省宜昌五峰镇1
PA-4	浙江省磐安县大树下村	ZJ-2	浙江省诸暨市禾矸2	HB-2	湖北省宜昌五峰镇2
PA-5	浙江省磐安县黄余田村	ZJ-3	浙江省诸暨市湍浦村	HB-3	湖北省宜昌五峰镇3

1.3 试剂 贝母素甲对照品(纯度98.7%,批号110750-201913)、贝母素乙对照品(纯度97.7%,批号110751-201712)、胸苷(纯度99.0%,批号101215-201401)均购自中国食品药品检定研究院;尿酸啶(纯度98.0%,批号RZ1060-5g)、胞苷(纯度99.0%,批号RZ1051-5g)、尿苷(纯度99.0%,批号RZ1061-5g)、2-脱氧尿苷(纯度99.0%,批号RZ1110-5g)、肌苷(纯度99.0%,批号RZ1077-10g)、腺嘌呤(纯度98%,批号RZ1006-5g)、腺苷(纯度99.0%,批号RZ1042-5g)均购自上海瑞永生物科技有限公司;2-脱氧腺苷(纯度98.0%,批号U3874)购自西亚化学科技(山东)有限公司。乙腈、甲醇为色谱纯;其余试剂均为分析纯;水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 总生物碱含量测定

2.1.1 对照品溶液制备 取贝母素乙对照品适量,精密称定,加甲醇制成质量浓度为134 μg/mL的溶液,即得。

2.1.2 供试品溶液制备 取浙贝母粉末(过4号筛)2 g,精密称定,置于具塞锥形瓶中,加入浓氨溶液4 mL浸润1 h,精密加入氯仿-甲醇(4:1)混合溶液40 mL,称定质量,混合均匀,80℃水浴加热回流2 h,放冷,混合溶液补足减失的质量,精密加入6 mL无水乙醇,摇匀后过滤,即得。

2.1.3 测定方法 精密量取供试品溶液1 mL,水浴蒸干,精密加入5 mL邻苯二甲酸氢钾-氢氧化钠缓冲液(取0.2 mol/L邻苯二甲酸氢钾100 mL,约50 mL 0.2 mol/L氢氧化钠溶液调节pH值至5.0,即得),超声溶解,加入4 mL显色剂溶液(取溴甲酚绿0.20 g,精密加入3.5 mL 0.05 mol/L氢氧化钠溶液溶解,加水稀释至200 mL,即得),密塞,剧烈振摇后精密加入15 mL三氯甲烷,振摇后转移至分液漏斗中静置1 h。取三氯甲烷溶液,0.2 g干燥无水硫酸钠脱水30 min,以三氯甲烷为空白,采用紫外-可见分光光度法在410 nm波长处测定吸光度,计算质量浓度。

2.1.4 线性关系考察 精密量取“2.1.1”项下对照品溶液0.4、0.8、1.0、1.2、1.5、2.0 mL,按“2.1.3”项下方法测定。以对照品质量浓度为横坐标(X),吸光度为纵坐标(A)进行回归,得方程为 $A=0.0458X+0.0038$ ($r=0.9999$),在2.062~10.308 μg/mL范围内线性关系良好。

2.1.5 精密度试验 取浙贝母粉末(HB-1)2 g,精密称定,按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液,按“2.1.3”项下方法测定6次,测得贝母素乙吸光度RSD为0.83%,表明仪器精密度良好。

2.1.6 重复性试验 取同一批浙贝母粉末(HB-1)6份,每份2 g,按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液,每份精密量取1 mL,按“2.1.3”项下方法测定,测得贝母素乙吸光度RSD为2.00%,表明该方法重复性良好。

2.1.7 稳定性试验 取“2.1.2”项下供试品溶液(HB-1)适量,于120 min内按“2.1.3”项下方法测定,测得贝母素乙吸光度RSD为0.31%,表明溶液在2 h内稳定性良好。

2.1.8 加样回收率试验 取浙贝母(HB-1)粉末6份,每份约1 g,精密称定,加入浓氨试液4 mL浸润1 h,加入对照品溶液适量,按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液,按“2.1.3”项下方法测定,计算回收率。结果,贝母素乙平均加样回收率为100.43%,RSD为1.53%。

2.2 贝母素甲/乙含量测定

2.2.1 对照品溶液制备 精密称取贝母素甲、贝母素乙对照品适量,甲醇制成两者质量浓度分别为202.10、146.20 μg/mL的溶液,即得。

2.2.2 供试品溶液制备 取浙贝母粉末(过4号筛)2 g,精密称定,置于具塞锥形瓶中,加入浓氨溶液4 mL浸润1 h,精密加入氯仿-甲醇(4:1)混合溶液40 mL,称定质量,混合均匀,80℃水浴加热回流2 h,放冷,混合溶液补足减失的质量,滤过,取续滤液10 mL至蒸发皿中蒸干,甲醇溶解后定容至2 mL,10 000 r/min离心10 min,转移至进

样瓶中,即得。

2.2.3 色谱条件 Agilent Eclipse C₁₈色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5.0 μm); 流动相乙腈-水-二乙胺(70:30:0.03); 体积流量1.0 mL/min; 柱温25℃; 蒸发光散射检测器; 空气体积流量2.3 L/min; 漂移管温度90℃; 进样量30 μL。色谱图见图1。

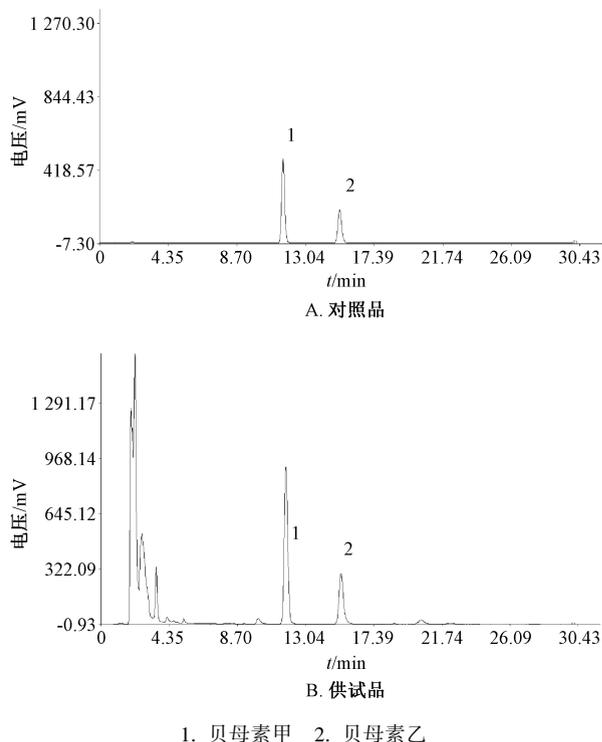


图1 贝母素甲、贝母素乙 HPLC-ELSD 色谱图

2.2.4 线性关系考察 精密吸取“2.2.1”项下对照品溶液适量,在“2.2.3”项色谱条件下进样测定(进样量10、20、30 μL)。以进样量对数为横坐标(X),峰面积对数为纵坐标(Y)进行回归,结果见表2,可知各成分在各自范围内线性关系良好。

表2 贝母素甲、贝母素乙线性关系

成分	回归方程	r	线性范围/(μg·mL ⁻¹)
贝母素甲	$Y=1.6552X+0.7507$	1.0000	2.021~6.063
贝母素乙	$Y=1.6238X+0.6848$	1.0000	1.462~4.396

2.2.5 精密度试验 取浙贝母粉末(HB-1)约2g,精密称定,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,在“2.2.3”项色谱条件下进样测定6次,测得贝母素甲、贝母素乙峰面积RSD分别为0.61%、1.12%,表明仪器精密度良好。

2.2.6 重复性试验 取浙贝母粉末(HB-1)2g,共6份,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,在“2.2.3”项色谱条件下进样测定,测得贝母素甲、贝母素乙峰面积RSD分别为1.52%、1.73%,表明该方法重复性良好。

2.2.7 稳定性试验 取“2.2.2”项下供试品溶液(HB-1),于0、2、4、6、8、12、24 h在“2.2.3”项色谱条件下进样测定,测得贝母素甲、贝母素乙峰面积RSD分别为0.55%、1.21%,表明溶液在24 h内稳定性良好。

2.2.8 加样回收率试验 取各成分含量已知的浙贝母粉末(HB-1)6份,每份约1g,精密称定,加入对照品溶液适量,在“2.2.3”项色谱条件下进样测定,计算回收率。结果,贝母素甲、贝母素乙平均加样回收率分别为102.76%、103.63%,RSD分别为0.83%、1.54%。

2.3 水溶性成分总含量测定

2.3.1 对照品溶液制备 取尿嘧啶、胞苷、尿苷、2-脱氧尿苷、肌苷、腺嘌呤、胸苷、腺苷、2-脱氧腺苷适量,精密称定,10%甲醇制成质量浓度分别为1.008、0.960、7.640、0.840、0.932、0.516、1.964、4.980、1.344 μg/mL的溶液,即得。

2.3.2 供试品溶液制备 取浙贝母粉末(过4号筛)约2g,精密称定,置于具塞锥形瓶中,加蒸馏水40 mL,称定质量,混合均匀,60℃水浴加热0.5 h,放冷,蒸馏水补足减失的质量,滤过,取续滤液,摇匀,0.45 μm微孔滤膜过滤,即得。

2.3.3 色谱条件 Inertsil ODS-SP-C₁₈色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5.0 μm); 流动相水(A)-甲醇(B),梯度洗脱(0~10 min, 1%~5% B; 10~15 min, 5%~15% B; 15~20 min, 15%~20% B; 20~30 min, 20% B; 30~35 min, 20%~100% B); 体积流量1 mL/min; 柱温25℃; 检测波长260 nm; 进样量10 μL。色谱图见图2。

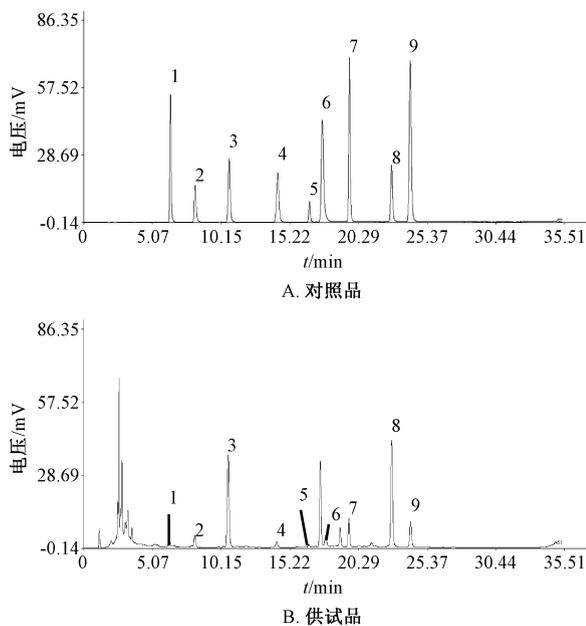


图2 各水溶性成分 HPLC-DAD 色谱图

2.3.4 线性关系考察 精密吸取“2.3.1”项下对照品溶液适量,在“2.3.3”项色谱条件下进样测定(进样量分别为尿嘧啶1、10、30、50、80、100 μL,胞苷1、10、20、40、60、80 μL,尿苷10、20、30、40、50、60 μL,2-脱氧尿苷1、10、20、30、40、60 μL,肌苷5、20、40、60、80、100 μL,腺嘌呤10、20、40、60、80、100 μL,胸苷10、20、30、40、50、60 μL,腺苷10、20、30、40、50、60 μL,2-脱氧腺苷1、10、30、50、80、100 μL)。以进样量对数为横坐标(X),峰面积对数为纵坐标(Y)进行回归,结果见表3,可知各成分在各自范围内线性关系良好。

60 μL, 2-脱氧腺苷 10、20、30、40、60、80 μL)。以进样量为横坐标 (X), 峰面积为纵坐标 (Y) 进行回归, 结果见表 3, 可知各水溶性成分在各自范围内线性关系良好。

表 3 各水溶性成分线性关系

成分	回归方程	r	线性范围/(μg·mL ⁻¹)
尿嘧啶	Y=0.050 3X-0.004 6	1.000 0	0.001~0.101
胞苷	Y=0.020 1X-0.001 3	0.999 9	0.001~0.077
尿苷	Y=0.213 5X-0.007 8	1.000 0	0.076~0.461
2-脱氧尿苷	Y=0.025 3X-0.009 7	0.999 9	0.001~0.050
肌苷	Y=0.017 3X-0.009 5	1.000 0	0.005~0.093
腺嘌呤	Y=0.033 3X-0.008 3	1.000 0	0.005~0.052
胸苷	Y=0.048 1X-0.029 1	0.998 9	0.020~0.118
腺苷	Y=0.190 3X+0.005 5	1.000 0	0.050~0.299
2-脱氧腺苷	Y=0.048 4X+0.097 5	0.999 9	0.013~0.108

2.3.5 精密度试验 精密称取“2.3.2”项下供试品溶液(HB-1)适量,在“2.3.3”项色谱条件下进样测定6次,测得尿嘧啶、胞苷、尿苷、2-脱氧尿苷、肌苷、腺嘌呤、胸苷、腺苷、2-脱氧腺苷峰面积RSD分别为1.38%、1.86%、0.61%、1.78%、1.24%、0.76%、0.57%、0.21%、0.20%,表明仪器精密度良好。

2.3.6 重复性试验 取“2.3.2”项下供试品溶液(HB-1)6份,在“2.3.3”项色谱条件下进样测定,测得尿嘧啶、胞苷、尿苷、2-脱氧尿苷、肌苷、腺嘌呤、胸苷、腺苷、2-脱氧腺苷峰面积RSD分别为2.88%、2.81%、0.66%、1.55%、2.13%、2.17%、1.84%、1.27%、1.27%,表明该方法重复性良好。

2.3.7 稳定性试验 取“2.3.2”项下供试品溶液(HB-1)适量,于0、2、4、6、8、12、24 h在“2.3.3”项色谱条件下进样测定,测得尿嘧啶、胞苷、尿苷、2-脱氧尿苷、肌苷、腺嘌呤、胸苷、腺苷、2-脱氧腺苷峰面积RSD分别为2.19%、1.05%、0.56%、1.41%、1.95%、1.17%、1.24%、1.02%、1.14%,表明溶液在24 h内稳定性良好。

2.3.8 加样回收率试验 精密称取各成分含量已知的浙贝母粉末(HB-1)6份,每份2 g,分别加入尿嘧啶、胞苷、尿苷、2-脱氧尿苷、肌苷、腺嘌呤、胸苷、腺苷、2-脱氧腺苷对照品溶液适量,按“2.3.2”项下方法制备供试品溶液,在“2.3.3”项色谱条件下进样测定,计算回收率。结果,尿嘧啶、胞苷、尿苷、2-脱氧尿苷、肌苷、腺嘌呤、胸苷、腺苷、2-脱氧腺苷平均加样回收率分别为103.56%、99.26%、104.98%、100.35%、101.39%、103.57%、103.00%、102.71%、101.29%,RSD均小于2.0%。

2.4 浙贝母有效成分含量变化

2.4.1 总生物碱含量 结果见表4、图3。由此可知,浙江产样品中总生物碱含量显著高于湖南安化、湖北宜昌产样品中;象山、缙云、诸暨、舟山产样品中总生物碱含量较高,兰溪、永康、宁海次之,宁波鄞县、金华磐安较低,可能是由于同一块地长年种植浙贝母导致总生物碱含量相比省内其他新产地偏低;湖南安化、湖北宜昌产样品中总生物碱含量较低,可能是种植技术不够成熟、浙贝母生态

适宜性低等原因所致。

表 4 总生物碱含量测定结果 (%)

编号	总生物碱含量	编号	总生物碱含量	编号	总生物碱含量
XS-1	0.356	PA-7	0.200	YK-1	0.261
XS-2	0.351	PA-9	0.148	YK-2	0.273
XS-3	0.222	PA-10	0.213	YK-3	0.243
XS-4	0.194	PA-11	0.201	ZS-1	0.351
XS-5	0.209	PA-13	0.232	ZS-2	0.301
YZ-1	0.196	JY-1	0.332	ZS-3	0.346
YZ-7	0.218	JY-2	0.225	NH-1	0.419
YZ-8	0.286	JY-3	0.312	NH-2	0.185
YZ-9	0.253	JY-4	0.318	NH-3	0.176
YZ-10	0.249	LX-1	0.227	HN-1	0.137
PA-1	0.324	LX-2	0.244	HN-2	0.173
PA-2	0.261	LX-3	0.254	HN-3	0.157
PA-3	0.226	ZJ-1	0.274	HB-1	0.184
PA-4	0.190	ZJ-2	0.317	HB-2	0.178
PA-5	0.240	ZJ-3	0.289	HB-3	0.186

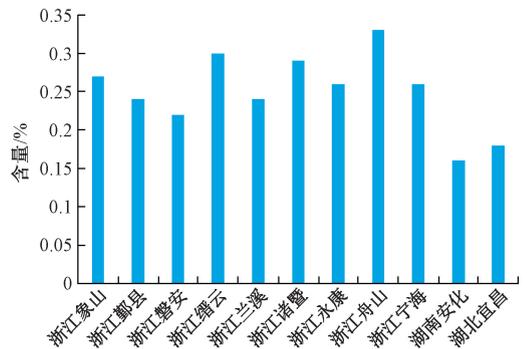


图 3 总生物碱含量比较

2.4.2 贝母素甲、贝母素乙总含量 表5显示,各地样品中贝母素甲、贝母素乙总含量检测结果均符合2020年版《中国药典》规定,含量比较结果见图4。由此可知,浙江省产样品中贝母素甲、贝母素乙含量总体高于湖南安化、湖北宜昌产样品中;象山产样品中两者总含量显著高于其他产地样品中,诸暨次之;宁海产样品中两者总含量较低。

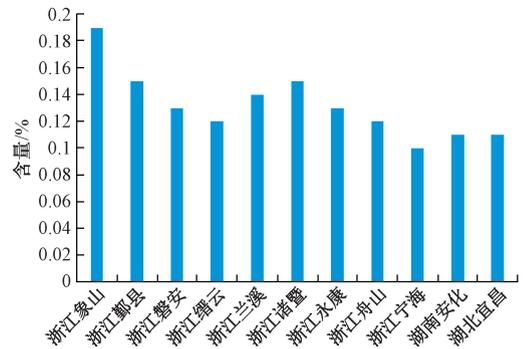


图 4 贝母素甲、贝母素乙总含量比较

2.4.3 水溶性成分总含量 结果见表6。由此可知,浙贝母中水溶性成分总含量较低,尿苷、腺苷较高,分别为0.025%~0.053%、0.018%~0.042%,可能是主要成分。对照品、供试品溶液色谱图见图2,含量比较结果见图5,

表5 贝母素甲、贝母素乙总含量测定结果 (%)

编号	贝母素甲、贝母素乙总含量	编号	贝母素甲、贝母素乙总含量	编号	贝母素甲、贝母素乙总含量
XS-1	0.259	PA-7	0.118	YK-1	0.130
XS-2	0.238	PA-9	0.137	YK-2	0.131
XS-3	0.167	PA-10	0.170	YK-3	0.139
XS-4	0.153	PA-11	0.114	ZS-1	0.131
XS-5	0.137	PA-13	0.136	ZS-2	0.087
YZ-1	0.160	JY-1	0.156	ZS-3	0.130
YZ-7	0.128	JY-2	0.135	NH-1	0.109
YZ-8	0.189	JY-3	0.115	NH-2	0.097
YZ-9	0.157	JY-4	0.082	NH-3	0.092
YZ-10	0.130	LX-1	0.141	HN-1	0.110
PA-1	0.162	LX-2	0.134	HN-2	0.104
PA-2	0.103	LX-3	0.133	HN-3	0.114
PA-3	0.098	ZJ-1	0.130	HB-1	0.113
PA-4	0.124	ZJ-2	0.183	HB-2	0.092
PA-5	0.119	ZJ-3	0.136	HB-3	0.121

表6 水溶性成分总含量测定结果 (%)

编号	水溶性成分总含量	编号	水溶性成分总含量	编号	水溶性成分总含量
XS-1	0.103	PA-7	0.105	YK-1	0.121
XS-2	0.136	PA-9	0.129	YK-2	0.105
XS-3	0.137	PA-10	0.126	YK-3	0.110
XS-4	0.094	PA-11	0.107	ZS-1	0.166
XS-5	0.095	PA-13	0.120	ZS-2	0.131
YZ-1	0.122	JY-1	0.102	ZS-3	0.131
YZ-7	0.111	JY-2	0.107	NH-1	0.105
YZ-8	0.126	JY-3	0.105	NH-2	0.105
YZ-9	0.109	JY-4	0.113	NH-3	0.191
YZ-10	0.120	LX-1	0.105	HN-1	0.091
PA-1	0.121	LX-2	0.103	HN-2	0.098
PA-2	0.121	LX-3	0.102	HN-3	0.082
PA-3	0.111	ZJ-1	0.094	HB-1	0.091
PA-4	0.121	ZJ-2	0.112	HB-2	0.083
PA-5	0.116	ZJ-3	0.130	HB-3	0.088

可知浙江产样品中水溶性成分总含量显著高于湖南安化、湖北宜昌产样品中；舟山产样品中水溶性成分总含量最高，宁海次之，其他产地样品无显著差异。

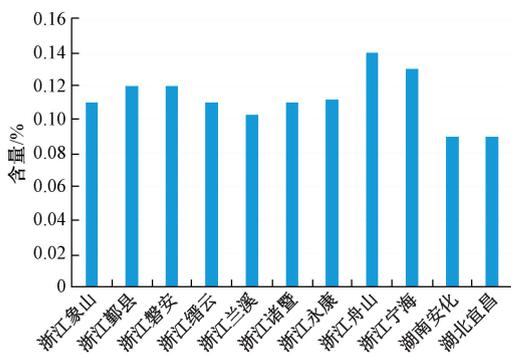


图5 水溶性成分总含量比较

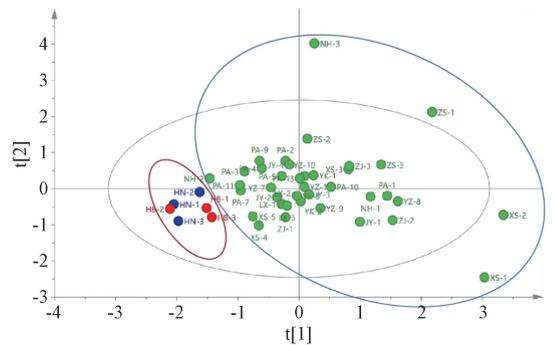


图6 PCA 得分散点图

2.5 化学计量学分析

2.5.1 主成分分析 (PCA) 本实验将 45 批样品中总生物碱含量，贝母素甲、贝母素乙总含量，水溶性成分总含量导入 SIMCA 14.1 软件中，发现 2 种主成分累积贡献率达 79.9%，可综合反映浙贝母成分含量情况，得分散点图见图 6。由此可知，样品自然划分为 2 类，浙江省内为一类，浙江省外为一类。

2.5.2 偏最小二乘法-判别分析 (OPLS-DA) 在

“2.5.1”项下结果基础上，进行有监督模式的 OPLS-DA，结果见图 7。由此可知，45 批样品聚类情况与 PCA 一致；仅有 2 批不在 95% 置信区间内，其余产地样品均可明显区分。以变量投影重要性 (VIP) > 1 为标准，结果见图 8，可知贡献值较大者为总生物碱含量 (VIP = 1.157)、水溶性成分总含量 (VIP = 1.049)，即为对不同产地浙贝母质量产生较大影响的质控指标。

3 讨论

本研究采用 UV-Vis、HPLC-ELSD、HPLC-DAD 法，分别测定不同产地浙贝母的总生物碱含量，贝母素甲、贝母素乙总含量，水溶性成分 (尿嘧啶、胞苷、尿苷、2-脱氧尿苷、肌苷、腺嘌呤、胸苷、腺苷、2-脱氧腺苷) 的含量。

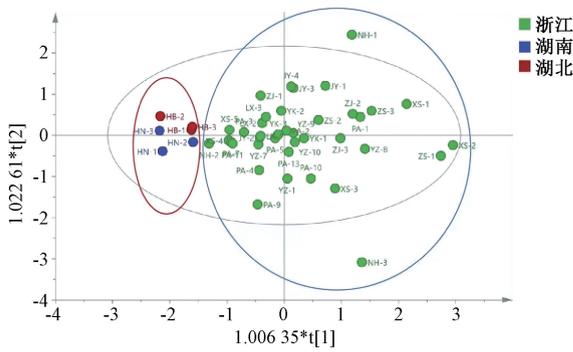


图7 OPLS-DA 得分散点图

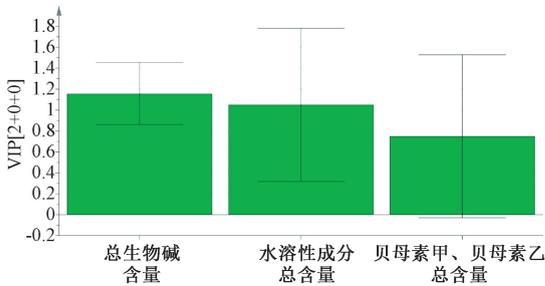


图8 各成分 VIP 值

测定水溶性成分时，曾考察流动相乙腈-水、甲醇-0.1%磷酸、甲醇-水，柱温 25、30℃，吸收波长 220、260、290 nm，最终确定流动相甲醇-水，柱温 25℃，检测波长 260 nm，分离效果、待测成分峰形较好。再通过与对照品比对，共指认出 9 种水溶性成分。

中药材的品质与产地具有密切相关性^[16]。研究表明，不同产地的浙贝母品质存在一定的差异^[13,17-21]。本研究结果显示，浙江省内浙贝母中总生物碱含量，贝母素甲、贝母素乙含量，水溶性成分总含量均高于湖南安化、湖北宜昌样品中；其中浙江舟山浙贝母中水溶性成分总含量、总生物碱含量显著高于其他产地样品中，浙江象山浙贝母中贝母素甲、贝母素乙总含量显著高于其他产地样品中，总生物碱含量也较高。通过 PCA 与 OPLS-DA 分析，可将浙贝母样品分为两类，浙江省内浙贝母为一类，浙江省外（湖南、湖北）为一类。

综上所述，浙江产浙贝母品质总体优于湖南安化、湖北宜昌产，其中舟山、象山产最佳，这也体现了浙贝母的道地优势，可为科研和生产过程中药材采购的产地选择及优良新品种选育提供参考。

参考文献:

[1] 何翠林, 刘悠然, 陈东林. 浙贝母鳞茎化学成分的研究[J]. 华西药学杂志, 2022, 37(2): 111-114.
 [2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2020年版一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020.
 [3] 徐朗希, 范琳资, 姜爽, 等. 贝母属植物的化学成分和药理作用研究进展[J]. 中国药物化学杂志, 2022, 32(1): 61-73.

[4] 孙禹, 梁伟. 浙贝母的化学成分、药理作用及临床应用研究进展[J]. 特产研究, 2022, 44(1): 87-92.
 [5] 罗益远, 崔明超, 王翰华, 等. UHPLC-Q-TOF-MS/MS 分析浙贝母不同部位化学成分[J]. 中国现代应用药学, 2022, 39(15): 1984-1991.
 [6] 王翰华, 陈雁虹, 姜雨辰. 浙贝母-知母药对的止咳、化痰及平喘作用研究[J]. 中华中医药杂志, 2019, 34(6): 2474-2476.
 [7] Kim J H, Yang W K, Lee S W, et al. Experimental study on anti-inflammatory, antitussive, and expectoration effects of *Fritillariae Thunbergii* bulbus[J]. *J Int Korean Med*, 2020, 41(3): 339-349.
 [8] Kardan M, Yazdani Z, Morsaljahani Z, et al. Cytotoxic effect of methanolic extracts of *Fritillaria imperialis* bulbs and *Eryngium caucasicum* leaves on hepatoma and colon cancer cells[J]. *Asian Pac J Trop Bio*, 2019, 9(8): 353-358.
 [9] Kim M, Nguyen D V, Heo Y, et al. Antiviral activity of *Fritillaria thunbergii* extract against human influenza virus H1N1 (PR8) *in vitro*, *in ovo* and *in vivo*[J]. *J Microbiol Biotechnol*, 2020, 30(2): 172-177.
 [10] 孙彩霞, 宗侃侃, 戴芬, 等. 浙贝母国内外农药残留限量标准比较[J]. 浙江农业科学, 2018, 59(9): 1607-1609.
 [11] 孙贝贝, 杜伟锋, 康显杰, 等. 浙贝母的本草考证及产地变迁[J]. 中华中医药杂志, 2022, 37(9): 5142-5146.
 [12] 何琛晖, 张春椿, 李石清, 等. 浙贝母品质现状及中药材生态适宜性的研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(2): 220-225.
 [13] 汪少华, 乔家法. 不同产地浙贝母多糖含量的比较[J]. 中国现代应用药学, 2014, 31(10): 1256-1258.
 [14] 杜伟锋, 张浩, 岳显可, 等. 高效液相色谱法同时测定浙贝母硫熏前后 8 个水溶性成分的含量[J]. 中国药学杂志, 2016, 51(8): 659-662.
 [15] 崔明超, 张加余, 陈少军, 等. 浙贝母植株各部位中生物碱和黄酮的 LC-LTQ-Orbitrap MSⁿ 分析[J]. 中国中药杂志, 2016, 41(11): 2124-2130.
 [16] 刘艳萍, 王云, 贾哲, 等. 基于 GC-MS 和多元统计方法分析不同产地金银花挥发性成分的差异[J]. 中国中药杂志, 2022, 47(20): 5508-5519.
 [17] 姚德中, 闵会, 何厚洪, 等. 不同产地浙贝母总生物碱含量测定与比较[J]. 中国现代应用药学, 2014, 31(10): 1249-1251.
 [18] 赵顺鑫, 周浓, 杨琳琳, 等. 不同产地浙贝母中 10 种核苷类成分含量分析[J]. 中国野生植物资源, 2020, 39(10): 35-40.
 [19] 朱广磊, 睢宁, 张春椿, 等. 不同产地浙贝母药材 HPLC-ELSD 指纹图谱的研究[J]. 浙江中医药大学学报, 2017, 41(5): 352-361.
 [20] 吴秋丽, 嵇元烨, 董莉莉, 等. 不同产地浙贝母生物碱含量及其合成相关基因表达研究[J]. 广西植物, 2020, 40(12): 1755-1763.
 [21] 李小平, 陈渝珂, 朱明. 不同产地的贝母中主要生物碱的含量比较及其毒性评价[J]. 中国饲料, 2022(17): 95-99.