

飞蛾藤属植物的多指标含量测定及化学模式识别研究

曲彤¹, 杨媛媛², 胡静¹, 任慧¹, 崔小敏¹, 李宁¹, 王小彤³, 陈志永^{1*} (1.陕西省中医药研究院, 西安 710003; 2.西安市食品药品检验所, 西安 710054; 3.上海中医药大学中药学院, 上海 201203)

摘要:目的 建立 HPLC 测定飞蛾藤属植物多指标含量的方法, 为飞蛾藤属植物的质量控制提供参考。方法 采用 Agilent 5 TC-C₁₈ 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相乙腈-0.1%磷酸梯度洗脱, 体积流量 1.0 mL·min⁻¹, 柱温 25 °C, 检测波长 345 nm; 并结合聚类分析、主成分分析及偏最小二乘判别分析评价飞蛾藤属植物中 9 种成分的差异。结果 9 种成分在各自范围内线性关系良好($r>0.999\ 0$), 精密度、稳定性及重复性试验结果的 RSD 均<3.00%, 平均加样回收率为 97.29%~103.21%。聚类分析、主成分分析及偏最小二乘判别分析结果显示, 16 批飞蛾藤属植物可明显分开, 组内样品有很强的相似性, 而组间样品差异较大。通过 PLS-DA 中变量重要性投影分析发现 4 个差异性指标成分, 分别为绿原酸、异绿原酸 A、*N*-反式-阿魏酰酪胺和东莨菪内酯。结论 建立了简便、精密的飞蛾藤属植物多指标含量测定方法, 且通过统计方法证明绿原酸、异绿原酸 A、*N*-反式-阿魏酰酪胺和东莨菪内酯为飞蛾藤属植物质量差异性评价的指标成分, 为飞蛾藤属植物的区分及质量控制提供参考。

关键词: 质量控制; 聚类分析; 主成分分析; 偏最小二乘判别分析

中图分类号: R284.1 文献标志码: B 文章编号: 1007-7693(2022)19-2451-06

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2022.19.004

引用本文: 曲彤, 杨媛媛, 胡静, 等. 飞蛾藤属植物的多指标含量测定及化学模式识别研究[J]. 中国现代应用药学, 2022, 39(19): 2451-2456.

Multi-index Components Determination and Chemical Pattern Recognition of *Porana* Plants

QU Tong¹, YANG Yuanyuan², HU Jing¹, REN Hui¹, CUI Xiaomin¹, LI Ning¹, WANG Xiaotong³, CHEN Zhiyong^{1*} (1.Shaanxi Academy of Traditional Chinese Medicine, Xi'an 710003, China; 2.Xi'an Institute for Food and Drug Control, Xi'an 710054, China; 3.School of Pharmacy, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish an HPLC method for the determination of multiple indexes of *Porana* plants, and to provide reference for the quality control of *Porana* plants. **METHODS** The determination was performed on Agilent 5 TC-C₁₈ column with mobile phase consisted of acetonitrile-0.1% phosphate acid (gradient elution) at the flow rate of 1.0 mL·min⁻¹. The column temperature was 25 °C, and the detection wavelength was set at 345 nm. In addition, chemometrics methods including cluster analysis(CA), principal component analysis(PCA) and partial least squares discriminant analysis(PLS-DA) were used to evaluate the differences of 9 components between different *Porana* plants. **RESULTS** Nine components showed good linear relationships within their own ranges ($r>0.999\ 0$), the RSD of the precision, stability and repeatability test results were all < 3.00%, whose average recoveries were 97.29%–103.21%. The results of CA, PCA showed that 16 batches *Porana* plants could be separated obviously, and the composition of the samples within the groups had strong similarity, but the differences among the groups were great. According to the variable importance in project analysis of PLS-DA, 4 different index components were found, whose were chlorogenic acid and isochlorogenic acid A and *N*-trans-feruloyltyramine and scopoletin. **CONCLUSION** This simple and precise method can be used for determination of multiple indexes of *Porana* plants. The statistical method proves that chlorogenic acid, isochlorogenic acid A, *N*-trans-feruloyltyramine and scopoletin are the index components for the quality evaluation of *Porana* plants, which can provide reference for the distinction and quality control of *Porana* plants.

KEYWORDS: quality control; cluster analysis; principal component analysis; partial least squares discriminant analysis

飞蛾藤属(*Porana*)植物, 全世界约 20 余种, 主要分布于亚洲热带及亚热带, 在非洲及邻近岛屿、大洋洲、美洲也有分布。中国有飞蛾藤属植

物 14 种, 主产于云南, 有些种类分布在长江以南各省, 一种延伸至陕西、甘肃^[1]。飞蛾藤属植物有广泛的药用记载, 如大果飞蛾藤(*Porana sinensis*

基金项目: 国家自然科学基金项目(81973419, 81603264); 陕西省中医药管理局青年培优项目(2021-PY-003)

作者简介: 曲彤, 女, 硕士, 中药师
18829014325@163.com

E-mail: 328127279@qq.com

*通信作者: 陈志永, 男, 博士, 副研究员

E-mail:

Henmsl.)已经成为商品丁公藤药材的主流替代品种,用于风湿性关节炎、跌打损伤等的治疗^[2-3];据《全国中草药汇编》记载,飞蛾藤(*Porana racemosa* Roxb.)以全草入药,具有发表、消食积的功效,主治伤风感冒、食积不消^[4],以茎、根入药用于治疗风湿病^[5]。Chen等^[6]对大果飞蛾藤抗炎镇痛功效、化学成分及生物活性进行研究,结果表明大果飞蛾藤中含有大量的绿原酸类和香豆素类,其40%乙醇提取物具有抗炎、镇痛作用,口服给药安全性高。笔者所在课题组前期通过UPLC-Q-Exactive Focus-MS/MS技术对飞蛾藤属植物的化学成分进行分析,发现其所含成分主要为绿原酸类、香豆素类、酰胺类、甾体类、黄酮类型化合物,并辨认出了新绿原酸、东莨菪苷、绿原酸、隐绿原酸、东莨菪内酯、异绿原酸B、异绿原酸A、异绿原酸C、*N*-反式-阿魏酰酪胺等成分。基于此,本研究以新绿原酸、东莨菪苷、绿原酸、隐绿原酸、东莨菪内酯、异绿原酸B、异绿原酸A、异绿原酸C、*N*-反式-阿魏酰酪胺9种成分为指标成分,对不同产地采集到的不同飞蛾藤属植物(大果飞蛾藤、近无毛飞蛾藤、飞蛾藤、蒙自飞蛾藤、三裂飞蛾藤)及飞蛾藤样品的茎、叶、花、全草部位进行含量测定。采用SPSS 20.0和Markerlynx^{XS}软件对16批飞蛾藤属植物样品进行聚类分析、主成分分析及偏最小二乘判别分析,对比飞蛾藤属植物中成分的差异,为该属植物入药部位选择提供依据,以整体提升该属植物的质量控制水平,推动飞蛾藤属植物合理药用开发。

1 仪器与试剂

Agilent 1260 高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司);KQ-100 型超声波清洗机(昆山市超声仪器有限公司);BS210S 型万分之一和 BT25S 型十万分之一电子分析天平均购自北京赛多利斯天平有限公司。

对照品新绿原酸(批号:17062003;纯度 $\geq 98\%$)、东莨菪苷(批号:16040805;纯度 $\geq 98\%$)、绿原酸(批号:1701904;纯度 $\geq 98\%$)、隐绿原酸(批号:17061401;纯度 $\geq 98\%$)、东莨菪内酯(批号:161208;纯度 $\geq 98\%$)、异绿原酸B(批号:17121201;纯度 $\geq 98\%$)、异绿原酸A(批号:18090301;纯度 $\geq 98\%$)、异绿原酸C(批号:18070401;纯度 $\geq 98\%$)均购自上海圻明生物科技有限公司;*N*-反式-阿魏酰酪胺(批号:W01D9Z6497;纯度 $\geq 98\%$)购自上

海源叶生物科技有限公司;乙腈为色谱纯,其余试剂为分析纯,水为超纯水。样品信息见表1,所有批次样品经陕西省中医药研究院陈志永副研究员鉴定,样品标本存放于陕西省中医药研究院中药研究所。

表1 样品信息

Tab. 1 Information of samples

编号	名称	采收地	采收时间	批号
S1	大果飞蛾藤	广西南宁	2013-01-20	20130120
S2	大果飞蛾藤	广东佛山	2011-08-29	20110829
S3	大果飞蛾藤	广西南宁	2013-09-16	20130916
S4	大果飞蛾藤	广西南宁	2013-07-17	20130717
S5	近无毛飞蛾藤	广西南宁	2014-08-25	20140825
S6	飞蛾藤-茎	湖北恩施	2020-10-27	J20201027
S7	飞蛾藤-叶	湖北恩施	2020-09-28	Y20200928
S8	飞蛾藤-花	湖北恩施	2020-10-29	H20201029
S9	飞蛾藤-全草	湖北恩施	2020-10-17	C20201017
S10	飞蛾藤-叶	云南昆明	2020-09-16	Y20200916
S11	飞蛾藤-茎	云南昆明	2020-10-16	J20201016
S12	飞蛾藤-全草	云南昆明	2020-09-10	C20200910
S13	飞蛾藤-茎	云南文山	2020-07-11	J20200711
S14	大果飞蛾藤	广西南宁	2021-07-26	20210726
S15	蒙自飞蛾藤	云南文山	2020-08-01	20200801
S16	三裂飞蛾藤	广西南宁	2020-08-13	20200813

2 方法与结果

2.1 色谱条件

Agilent 5 TC-C₁₈ 柱(250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μ m),流动相乙腈(A)-0.1%磷酸水溶液(B),梯度洗脱(0~15 min, 5% $\rightarrow$ 15%A; 15~70 min, 15% $\rightarrow$ 25%A; 70~90 min, 25%A);体积流量 1.0 mL $\cdot$ min⁻¹;柱温 25 $^{\circ}$ C;检测波长 345 nm;进样量 10 μ L。在此色谱条件下,大果飞蛾藤、近无毛飞蛾藤、飞蛾藤、蒙自飞蛾藤、三裂飞蛾藤中成分分离度良好,色谱图结果见图1。

2.2 供试品溶液的制备

精密称取不同批次的样品粉末 0.5 g(过 40 目筛),置 100 mL 具塞锥形瓶中。精密加入 80%甲醇 50 mL,称定质量。常温下超声处理 30 min,放冷,用 80%甲醇补足减失质量。摇匀,过滤,取续滤液 5 mL 转移至 10 mL 量瓶中,40%甲醇定容。过 0.45 μ m 微孔滤膜即得。

2.3 对照品溶液的制备

精密称取各对照品适量,置于 10 mL 量瓶中,加 80%甲醇制成含新绿原酸 37.32 μ g $\cdot$ mL⁻¹、东莨菪苷 57.72 μ g $\cdot$ mL⁻¹、绿原酸 65.22 μ g $\cdot$ mL⁻¹、隐绿

原酸 65.32 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、东莨菪内酯 20.28 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、异绿原酸 B 40.28 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、异绿原酸 A 112.00 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、异绿原酸 C 22.93 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、*N*-反式-阿魏酰酪胺 53.36 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的混合对照品溶液。

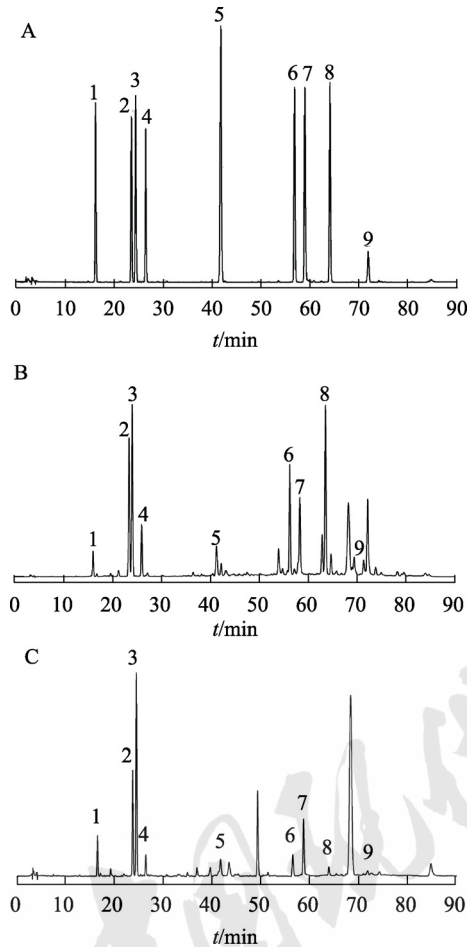


图1 高效液相色谱图

A-对照品溶液; B-大果飞蛾藤供试品溶液; C-飞蛾藤供试品溶液; 1-新绿原酸; 2-东莨菪苷; 3-绿原酸; 4-隐绿原酸; 5-东莨菪内酯; 6-异绿原酸 B; 7-异绿原酸 A; 8-异绿原酸 C; 9-*N*-反式-阿魏酰酪胺。

Fig. 1 HPLC chromatograms

A-mixed reference substance; B-sample solution of *P. sinensis*; C-sample solution of *P. racemosa*; 1-neochlorogenic acid; 2-scopolin; 3-chlorogenic acid; 4-cryptochlorogenic acid; 5-scopoletin; 6-isochlorogenic acid B; 7-isochlorogenic acid A; 8-isochlorogenic acid C; 9-*N*-trans-feruloyltyramine.

2.4 方法学考察

2.4.1 线性关系考察 精密吸取混合对照品溶液适量, 加 80% 甲醇稀释制成 6 个系列浓度的混合对照品溶液, 按“2.1”项下色谱条件进样测定, 以浓度为横坐标(*X*), 峰面积为纵坐标(*Y*)进行线性回归, 得到回归方程, 结果见表 2。9 个成分在一定浓度范围内与峰面积的线性关系良好。

2.4.2 仪器精密度试验 取“2.3”项下对照品溶液, 按“2.1”项下色谱条件进样 6 次, 测得新绿

表 2 各成分的线性关系

Tab. 2 Linear relationships of various constituents

成分	回归方程	<i>r</i>	线性范围/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$
新绿原酸	$y=17.18x+0.33$	0.999 4	0.187 0~37.320 0
东莨菪苷	$y=15.91x+3.85$	0.999 3	0.289 0~57.720 0
绿原酸	$y=19.27x+0.38$	0.999 5	0.326 0~65.220 0
隐绿原酸	$y=15.83x+0.32$	0.999 1	0.327 0~65.320 0
东莨菪内酯	$y=31.61x+35.2$	0.999 0	0.102 0~20.280 0
异绿原酸 B	$y=23.10x+0.46$	0.999 3	0.202 0~40.280 0
异绿原酸 A	$y=26.73x+19.00$	0.999 0	0.560 0~112.000 0
异绿原酸 C	$y=24.97x+0.50$	0.999 3	0.115 0~22.930 0
<i>N</i> -反式-阿魏酰酪胺	$y=9.04x+0.18$	0.999 5	0.267 0~53.360 0

原酸、东莨菪苷、绿原酸、隐绿原酸、东莨菪内酯、异绿原酸 B、异绿原酸 A、异绿原酸 C 和 *N*-反式-阿魏酰酪胺峰面积 RSD 分别为 0.78%, 0.50%, 0.81%, 0.83%, 0.46%, 0.63%, 0.63%, 0.71%, 0.52%, 表明该仪器精密度良好。

2.4.3 稳定性试验 精密吸取同一供试品溶液 10 μL , 在室温下放置 0, 2, 4, 8, 12, 24 h, 按“2.1”项下色谱条件进样, 测得新绿原酸、东莨菪苷、绿原酸、隐绿原酸、东莨菪内酯、异绿原酸 B、异绿原酸 A、异绿原酸 C 和 *N*-反式-阿魏酰酪胺峰面积 RSD 分别为 0.63%, 0.49%, 0.40%, 0.38%, 1.34%, 0.42%, 0.73%, 1.57%, 2.64%。表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.4.4 重复性试验 精密称取同一供试品适量, 按“2.2”项下方法平行制备供试品溶液, 按“2.1”项下色谱条件进样测定。测得新绿原酸、东莨菪苷、绿原酸、隐绿原酸、东莨菪内酯、异绿原酸 B、异绿原酸 A、异绿原酸 C 和 *N*-反式-阿魏酰酪胺峰面积 RSD 分别为 0.27%, 0.31%, 0.49%, 0.49%, 0.90%, 0.40%, 0.35%, 0.62%, 2.24%。表明该方法重复性良好。

2.4.5 加样回收率试验 精密称取已知 9 个化合物含有量的大果飞蛾藤样品 0.25 g, 共称取 6 份, 精密称定, 置 100 mL 具塞锥形瓶中, 分别精密加入各对照品适量。按“2.2”项下方法制备供试品溶液, 按“2.1”项下色谱条件进样, 计算各待测成分的加样回收率, 结果见表 3。

2.5 样品含量测定

分别取 16 批不同种大果飞蛾藤、近无毛飞蛾藤、飞蛾藤、蒙自飞蛾藤、三裂飞蛾藤粉末各 0.5g, 精密称定, 按“2.2”项下方法制备供试品溶液, 按“2.1”项下色谱条件进样, 计算 9 种成分的含量。结果见表 4。

表 3 各成分加样回收率试验结果

Tab. 3 Results of recovery tests for various constituents

成分	原有量/ mg	加入量/ mg	测得量/ mg	平均回 收率/%	RSD/ %
新绿原酸	0.187 6	0.188 2	0.374 2	99.13	2.60
东莨菪苷	1.081 2	1.056 7	2.109 3	97.29	1.20
绿原酸	1.210 7	1.215 2	2.420 3	99.54	1.32
隐绿原酸	0.421 3	0.402 4	0.817 2	99.39	2.22
东莨菪内酯	0.189 0	0.183 3	0.374 2	97.83	1.74
异绿原酸 B	0.689 4	0.680 2	1.391 4	103.21	2.41
异绿原酸 A	0.639 3	0.631 2	1.277 6	101.13	2.33
异绿原酸 C	1.105 1	1.102 1	2.203 1	99.63	2.25
N-反式-阿魏酰酪胺	0.306 4	0.292 8	0.591 3	97.31	1.02

2.6 聚类分析

以 16 批飞蛾藤属植物样品中 9 个成分的含量为变量,运用 SPSS 20.0 软件,采用 Ward 联接法,欧式距离平方测度方法进行聚类分析,结果见图 2。16 批飞蛾藤属植物可以聚为 4 类,Ⅰ类包括 S1 大果飞蛾藤(广西南宁)、S6 飞蛾藤-茎(湖北恩施)、S10 飞蛾藤-叶(云南昆明)、S11 飞蛾藤-茎(云南昆明)、S12 飞蛾藤-全草(云南昆明)、S13 飞蛾藤-茎(云南文山)、S16 三裂飞蛾藤(广西南宁);Ⅱ类包括 S8 飞蛾藤-花(湖北恩施)、S9 飞蛾藤-全草(湖北恩施)、S15 蒙自飞蛾藤(云南文山);Ⅲ类包括 S2 大果飞蛾藤(广东佛山)、S3 大果飞蛾藤(广西南宁)、S4 大果飞蛾藤(广西南宁)、S5 近无毛飞蛾藤(广西南宁)、S14 大果飞蛾藤(广西南宁);Ⅳ类包括 S7 飞蛾藤-叶(湖北恩施)。

表 4 样品含量测定结果

Tab. 4 Results of sample determination

样品 编号	新绿原酸	东莨菪苷	绿原酸	隐绿原酸	东莨菪内酯	异绿原酸 B	异绿原酸 A	异绿原酸 C	$\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ N-反式-阿魏 酰酪胺
S1	0.000 0	0.932 0	1.133 6	0.101 9	0.074 8	0.108 5	2.308 3	1.205 5	0.000 0
S2	0.377 0	2.142 8	2.311 1	0.804 4	0.282 0	1.367 8	1.040 0	1.988 8	0.673 0
S3	1.065 8	3.535 2	2.608 7	1.726 1	0.697 1	1.933 5	2.159 3	3.056 9	0.549 0
S4	2.257 1	1.598 2	4.601 3	3.666 4	0.774 3	2.383 8	2.256 4	4.049 6	0.591 3
S5	0.000 0	5.769 0	5.659 5	0.329 2	0.824 3	1.451 4	1.519 1	3.662 7	0.000 0
S6	0.195 4	0.582 9	1.014 3	0.096 1	0.044 4	0.186 8	0.267 8	0.050 8	0.143 3
S7	0.359 9	0.665 9	10.018 6	0.790 4	0.000 0	1.712 0	4.309 2	0.460 4	0.000 0
S8	0.000 0	0.000 0	4.328 5	0.000 0	0.000 0	0.000 0	0.374 5	0.000 0	0.000 0
S9	0.265 6	0.548 5	8.926 6	0.451 4	0.000 0	0.910 0	2.268 9	0.243 6	0.000 0
S10	0.114 1	0.071 4	0.995 5	0.252 3	0.000 0	0.128 8	0.000 0	0.066 7	0.000 0
S11	0.033 3	0.129 7	0.111 0	0.000 0	0.023 7	0.000 0	0.000 0	0.000 0	0.070 4
S12	0.052 6	0.164 5	0.308 7	0.069 3	0.028 7	0.043 1	0.000 0	0.024 2	0.080 3
S13	0.000 0	0.071 8	0.067 8	0.000 0	0.029 6	0.074 3	0.000 0	0.118 0	0.000 0
S14	0.620 1	0.849 0	1.948 6	0.988 2	0.560 1	2.601 1	3.159 9	2.747 5	1.034 3
S15	0.658 8	0.000 0	5.060 3	0.796 2	0.127 6	2.159 1	4.167 4	2.827 4	0.000 0
S16	0.275 7	0.091 0	1.021 2	0.333 8	0.076 6	0.061 8	0.148 6	0.126 5	0.000 0

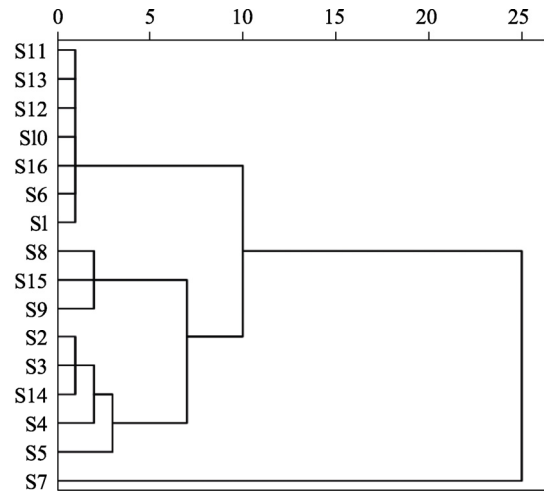


图 2 聚类分析图

Fig. 2 Cluster analysis plot

2.7 主成分分析

运用 SPSS 20.0 软件,以 16 批样品中 9 个成分含量为变量,进行主成分分析,得出相关矩阵的特征值及其方差贡献率,特征值和方差贡献率结果见表 5,以特征值>1 为提取标准,得到 3 个主成分,前 3 个成分特征值分别为 5.271, 1.290, 1.022, 累计方差贡献率为 58.562%, 79.897%, 91.249%。因子载荷矩阵结果见表 6。主成分 1 中东莨菪内酯、异绿原酸 B、异绿原酸 C 具有较高载荷值,主成分 2 中绿原酸、异绿原酸 A、新绿原酸具有较高载荷值,主成分 3 中异绿原酸 A、东莨菪苷、绿原酸具有较高载荷值。利用 Markerlynx^{XS} 软件进行主成分分析,绘制主成分分析得分见图 3,此分类结果与聚类分析结果一致。

表 5 样品主成分特征值及方差贡献率

Tab. 5 Sample principal component eigenvalue and variance contribution rate

成分	特征值	方差贡献率/%	累计方差贡献率/%
1	5.271	58.562	58.562
2	1.920	21.335	79.897
3	1.022	11.351	91.249

表 6 样品主成分因子载荷矩阵

Tab. 6 Sample principal component factor loading matrix

成分	主成分 1	主成分 2	主成分 3
新绿原酸	0.758	0.307	-0.567
东莨菪苷	0.689	-0.467	0.386
绿原酸	0.139	0.890	0.326
隐绿原酸	0.813	0.283	-0.492
东莨菪内酯	0.935	-0.320	-0.021
异绿原酸 B	0.916	0.174	0.086
异绿原酸 A	0.566	0.643	0.398
异绿原酸 C	0.905	-0.173	0.149
N-反式-阿魏酰酪胺	0.830	-0.399	0.121

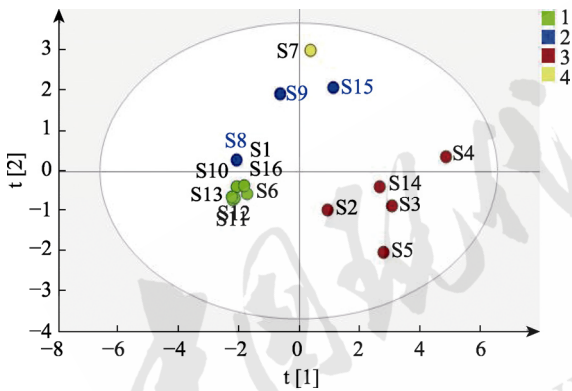


图 3 主成分分析得分图

Fig. 3 Principal component analysis score plot

2.8 偏最小二乘判别分析

为进一步筛选出对上述样品分类贡献较大的变量,本实验采用 Markerlynx^{XS} 软件,16 批样品为自变量,以 9 种成分含量为因变量,进行有监督模式识别的偏最小二乘判别分析,得到偏最小二乘判别分析模型得分图见图 4~5。该分类结果与聚类分析、主成分分析的结果基本一致。进一步对模型进行变量重要性投影(variable importance in the projection, VIP)分析,筛选出引起组间差异贡献率较大的成分,以 VIP>1 为标准,VIP 值>1 的成分有绿原酸、异绿原酸 A、N-反式-阿魏酰酪胺和东莨菪内酯,表明这 4 个成分可作为区分飞蛾藤属植物的差异特征成分。

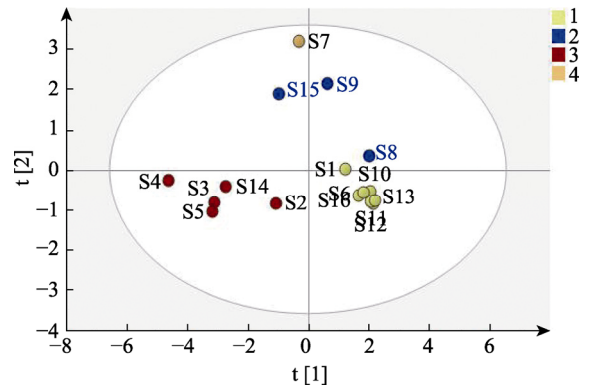


图 4 偏最小二乘判别分析得分图

Fig. 4 Partial least squares discriminant analysis score plot

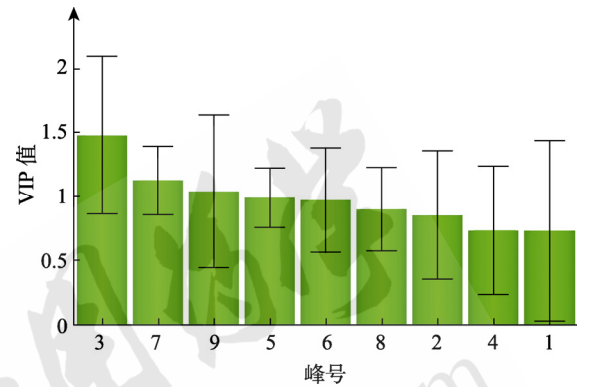


图 5 偏最小二乘判别分析 VIP 值图

Fig. 5 Partial least squares discriminant analysis VIP value diagram plot

3 讨论

3.1 色谱条件的优化

本实验考察了乙腈-水、甲醇-水作为洗脱系统对样品分离度的影响,结果发现乙腈-水分离效果明显好于甲醇-水;又考察了不同浓度甲酸、磷酸对分离效果的影响,结果发现磷酸的分离效果更优,最终确定 0.1%磷酸溶液作为水相。综上,选择乙腈-0.1%磷酸溶液为流动相进行梯度洗脱。前期实验发现在 345 nm 检测波长下峰形好、分离度高,故确定 345 nm 作为检测波长^[7]。

3.2 化学模式识别分析

化学模式识别分为无监督模式分析和有监督模式分析,无监督模式分析包括聚类分析、主成分分析等,有监督模式分析包括偏最小二乘判别分析、正交偏最小二乘判别分析等^[8]。聚类分析是利用样本之间的距离最近原则进行聚类,将距离最近的分为一类,然后再根据类与类之间的距离再进行聚类,一直重复此过程,直至聚类结束^[9]。本研究对飞蛾藤属植物中 9 种成分含量测定的结果进行了聚类分析,以 9 种成分含量为变量,将 16 批

样品分成了 4 类。主成分分析是通过多个变量之间的相关性, 提取出少数几个主要的成分来进行分析^[9], 本研究中提取出了 3 个主成分进行分析, 且该分类结果与聚类分析分类结果一致。为了进一步筛选对样品分类贡献较大的变量, 本研究采用偏最小二乘判别分析模型中 VIP 分析, VIP 值是筛选差异性化合物的重要指标, VIP 值越高, 表示对应化合物对组间质量差异的影响越大^[8,10]。以 VIP>1 为标准, 本研究提取到了 4 个差异特征成分, 分别是绿原酸、异绿原酸 A、N-反式-阿魏酰酪胺和东莨菪内酯, 这 4 个差异特征成分同时也是载荷值较高的成分, 因此推断这 4 个成分可能是飞蛾藤属植物不同批次及部位间分类的主要影响因素。研究报道, 东莨菪内酯具有消肿、抗炎、镇痛等药理作用, 是抗风湿的有效成分^[11]; 也有研究指出绿原酸、异绿原酸 A 是广泛存在于植物中的多酚类次生代谢产物, 具有很强的抗炎、抗氧化特性^[12], 可与东莨菪内酯等协同发挥抗风湿作用^[13-14]。同时有研究报道, N-反式-阿魏酰酪胺具有多种生物活性, 尤其是以抗氧化和抗炎等药理作用为主^[15-16]。藤类中药在民间使用多以茎部位入药, 本研究结果发现, 只有在云南文山飞蛾藤的茎部位中测得 N-反式-阿魏酰酪胺的含量, 叶、花等部位并未检测到 N-反式-阿魏酰酪胺的含量, 且茎中香豆素类成分含量高于其他部位, 飞蛾藤叶中的绿原酸类成分含量明显高于其他部位。从所得的 9 种成分综合含量来看: 大果飞蛾藤>近无毛飞蛾藤>飞蛾藤>蒙自飞蛾藤>三裂飞蛾藤。

3.3 小结

本实验建立的含量测定方法简便, 结果准确, 可用于测定飞蛾藤属植物中 9 种成分的含量, 结合化学模式识别分析法, 能够较好地反映其质量, 此研究为飞蛾藤属植物入药品种、产地、用药部位的选择及质量分析评价提供参考。

REFERENCES

- [1] PENG Y, TAO H X, YANG Y Y, et al. Chemical compositions, pharmacological activities, quality control studies of *Erycibes* plants, and the development of their substitutes[J]. *Phytother Res*, 2021, 35(8): 4049-4074.
- [2] REN H, YANG Y Y, CUI X M, et al. Recent advances and prospects of *Porana sinensis*[J]. *Res Pract Chin Med*(现代中
- [3] 药研究与实践), 2019, 33(3): 81-86.
- [4] LI B, CHEN Y Y, LI S X. Progress in chemical constituents and pharmaceutical activities of *Porana* genus plants[J]. *Sci Tech Rev*(科技导报), 2013, 31(11): 74-79.
- [5] 王国强. 全国中草药汇编[M]. 第 3 版. 北京: 人民卫生出版社, 2014.
- [6] 柳克铃, 李顺祥. 黄乌龙的化学成分研究[J]. *湖南中医杂志*, 1997, 13(6): 46.
- [7] CHEN Z Y, LIAO L P, ZHANG Z J, et al. Comparison of active constituents, acute toxicity, anti-nociceptive and anti-inflammatory activities of *Porana sinensis* Hemsl., *Erycibe obtusifolia* Benth. and *Erycibe schmidtii* Craib[J]. *J Ethnopharmacol*, 2013, 150(2): 501-506.
- [8] ZHANG C H, QIU X W, SHAN X M, et al. Simultaneous determination of eight constituents in Dieda Tablets by HPLC-ELSD[J]. *Chin Tradit Pat Med*(中成药), 2016, 38(4): 801-806.
- [9] ZHOU X, ZHANG L, MAO C, et al. HPLC fingerprints research on decoction pieces of *Citri Reticulatae Pericarpium* based on chemometrics methods combined with orthogonal partial least square discriminate analysis[J]. *Chin Tradit Herb Drugs*(中草药), 2019, 50(9): 2194-2200.
- [10] LI M X. Research on difference of urban regional development based on multivariate analysis-taking regional development of Tianjin as an example[J]. *J Wuhan Eng Inst*(武汉工程职业技术学院学报), 2021, 33(4): 35-39.
- [11] WANG M H, ZHAO H T, PAN M X, et al. HPLC fingerprint analysis and multi-component determination of substance benchmark of *Yiweitang*[J]. *Chin J Exp Tradit Med Form*(中国实验方剂学杂志), 2021, 27(17): 9-15.
- [12] 叶惠珍, 范椰新, 刘植蔚, 等. 丁公藤抗风湿有效成分的研究[J]. *中草药*, 1981, 12(5): 5-7.
- [13] WANG Q H, DU T T, ZHANG Z H, et al. Advances in research on the pharmacological effects and mechanism of action of chlorogenic acid[J]. *Acta Pharm Sin*(药科学报), 2020, 55(10): 2273-2280.
- [14] CHEN Z Y, TAO H X, LIAO L P, et al. Quick identification of xanthine oxidase inhibitor and antioxidant from *Erycibe obtusifolia* by a drug discovery platform composed of multiple mass spectrometric platforms and thin-layer chromatography bioautography[J]. *J Sep Sci*, 2014, 37(16): 2253-2259.
- [15] NA X X, ZHANG W T, TAN Y F, et al. Research progress on the pharmacological effects and adverse reactions of chlorogenic acid and its isomers[J]. *J Liaoning Univ Tradit Chin Med*(辽宁中医药大学学报), 2018, 20(3): 140-144.
- [16] HU L, CHEN N N, HU Q, et al. An unusual piceatannol dimer from *Rheum austral* D. Don with antioxidant activity[J]. *Molecules*, 2014, 19(8): 11453-11464.
- [17] AL-Taweel A M, PERVEEN S, EL-SHAFAE A M, et al. Bioactive phenolic amides from *Celtis africana*[J]. *Molecules*, 2012, 17(3): 2675-2682.

收稿日期: 2021-12-27

(本文责编: 蔡珊珊)