

不同气候因素对延胡索中 8 种生物碱含量的影响

张 桐¹, 李 凯¹, 曹晓燕¹, 原军宁², 黄亚亚¹

(1. 陕西师范大学, 西北濒危药材资源开发国家工程实验室/药用资源与天然药物化学教育部重点实验室, 陕西 西安 710062; 2. 陕西白云制药有限公司, 陕西 汉中 723200)

摘 要:测定了不同产地延胡索药材中 8 种生物碱(原阿片碱、盐酸巴马汀、脱氢紫堇碱、海罂粟碱、四氢小檗碱、盐酸小檗碱、延胡索甲素、延胡索乙素)的含量, 分析 8 种生物碱含量与不同气候因子之间的相关性, 以期对延胡索种植基地的选择提供指导。采用高效液相色谱法测定不同产地延胡索中的 8 种生物碱含量, 从中国气象数据网申请获取样品产地的气候信息, 利用 SPSS 22.0 软件对相关数据进行 Spearman 相关分析。结果: 低气温、低降水量、短日照时间及高海拔环境更适宜延胡索药材中生物碱的合成与积累。表明: 陕西地区的气候环境更适宜延胡索药材生长, 有利于生物碱成分的积累。

关键词:延胡索; 生物碱; 气候因子; 相关性; HPLC

中图分类号: S282.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 0488-5368(2022)05-0046-05

Effects of Different Climate Factors on Contents of Eight Alkaloids in *Corydalis Rhizoma*

ZHANG Tong¹, LI Kai¹, CAO Xiaoyan¹, YUAN Junning², HUANG Yaya¹

(1. National Engineering Laboratory for Resource Development of Endangered Crude Drugs in Northwest of China, Key Laboratory of the Ministry of Education for Medicinal Resources and Natural Pharmaceutical Chemistry, Shaanxi Normal University, Xi'an, Shaanxi 710062, China; 2. Shaanxi Baiyun Pharmaceutical Company, Hanzhong, Shaanxi 723200, China)

Abstract: To determine the contents of 8 alkaloids (protopine, palmatine chloride, dehydrocorydaline, glaucine, tetrahydroberberine, berberine, (+)-corydaline, and tetrahydropalmatine) in *Corydalis Rhizoma* from different origins and analyze the correlation between the contents of eight alkaloids and different climate factors, so as to provide guidance for the selection of *Corydalis Rhizoma* planting base. High performance liquid chromatography was used to determine the contents of 8 alkaloids in *Corydalis Rhizoma* from different origins. The climate information of the samples was obtained from the China Meteorological Data Network, and the relevant data were analyzed by Spearman with SPSS 22.0 software. The results showed that the low temperature, low precipitation, short sunshine time, and high altitude environment were more suitable for the synthesis and accumulation of alkaloids in *Corydalis Rhizoma*. So the climatic environment in Shaanxi is more suitable for the growth of *Corydalis Rhizoma*, and is conducive to the accumulation of alkaloids.

Key words: *Corydalis Rhizoma*; Alkaloids; Climate factor; Correlation; HPLC

中药延胡索(*Corydalis Rhizoma*)又名元胡, 来源于罂粟科植物延胡索 *Corydalis yanhusuo* W. T. Wang 的干燥块茎, 其功能主治为“活血、行气、止痛”, 为中医临床理气止痛之要药, 用于治疗胸胁、脘

腹疼痛、胸痹心痛、经闭痛经、产后瘀阻、跌扑肿痛等^[1]。延胡索与白术、白芍、浙贝母、杭白菊、玄参、笏麦冬、温郁金并称为“浙八味”^[2]。延胡索的主要活性成分为生物碱类物质, 尤其是叔氨碱和季氨碱

收稿日期: 2021-01-14 修回日期: 2021-04-20

基金项目: 陕西省社发领域重点项目(2017ZDXM-SF-005); 陕西高校青年创新团队。

第一作者简介: 张桐(1996-), 男, 湖北黄冈人, 硕士研究生。

通信作者: 黄亚亚。

类物质^[3],其中原阿片碱具有抗肝纤维化的作用^[4],能够治疗糖尿病心肌纤维化^[6],海罂粟碱可以降低癌细胞的多药耐药性,提高对癌细胞的化疗效能^[7],四氢小檗碱具有抗炎作用^[8],延胡索甲素和延胡索乙素具有镇静催眠、降血压以及钙拮抗作用^[9~10]。而在 2020 版《中国药典》规定的延胡索含量测定检测项下,仅以延胡索乙素的含量作为药材质量控制的指标^[1],无法实现全面客观控制药材质量,因此笔者研究中采用了多指标成分进行含量测定。

延胡索的传统道地产区为浙江省东阳、磐安等地区^[11],从 20 世纪九十年代开始,延胡索的种植产地逐渐从浙江沿海地区迁移到陕西、安徽和湖北等地,其中陕西逐渐发展为延胡索的主产区。不同的环境(尤其是气候因子)决定着中药材中的指标成分的高低,例如温度、湿度、光照等气候条件,都是影响药用植物生长的关键因素,对植物的自然分布以及适应性起着决定性左右^[12~13]。笔者研究在对浙江和陕西等地的延胡索进行调查、收集的基础上,对来自 13 个采集地点的延胡索药材中 8 种生物碱成分进行含量测定,并结合收集到的产地相关气候因子进行相关性分析,探究气候因子对延胡索药材中生物碱含量的影响,为进一步指导延胡索最适宜的种植条件,从而提高药材的整体质量提供参考。

1 仪器与材料

1.1 仪器与设备

LC-20A 型高效液相色谱仪(日本岛津);KQ5200 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);Milli 2Q 超纯水仪(Millipore 公司);Agilent 5 TC-C18(250mm×4.6mm,5 μ m)色谱柱(美国 Agilent)。

1.2 材料及试剂

延胡索新鲜的块茎于 2019 年 5 月采集于陕西省和浙江省的 13 个地点,具体地址见表 1。收集后洗净泥土,置于 50℃ 烘箱下烘干,粉碎过 80 目筛。

盐酸巴马汀具有抗胃溃疡的作用^[5],脱氢紫堇碱所用对照品的相关信息见表 2,乙腈、甲醇均为色谱纯,购自美国 Fisher 公司;水为超纯水;其他试剂均为分析纯。

表 1 2019 年延胡索药材采集地点及时间

产地编号	采集地点	采集时间(月-日)
1	陕西省城固县董家营村	5-15
2	陕西省城固县胡广营村	5-15
3	陕西省洋县砖庙村	5-16
4	陕西省洋县王家山村	5-16
5	陕西省南郑县升仙村	5-17
6	陕西省南郑县南华村	5-17
7	陕西省勉县团结村	5-17
8	陕西省勉县继光村	5-17
9	浙江省仙居	5-10
10	浙江省永康后岗头	5-10
11	浙江省东阳马宅	5-10
12	浙江省磐安冷水乡	5-10
13	浙江省磐安新渥	5-10

表 2 实验所用对照品相关信息

对照品名称	批号	质量分数/%	来源
原阿片碱	06M18	≥98	天津西玛科技有 限公司
盐酸巴马汀	06Z18	≥98	
盐酸小檗碱	05Z18	≥98	
脱氢紫堇碱	06Z18	≥98	
海罂粟碱	06Y18	≥98	
延胡索乙素	12M17	≥98	
四氢小檗碱	06M18	≥98	
延胡索甲素	06Z18	≥98	

文中所涉及到的延胡索 13 个采集点归属于 8 个产地,8 个产地的相关气候因子信息均是从中国气象数据网(<http://data.cma.cn/>)申请获得,具体信息见表 3。

表 3 气候因子统计

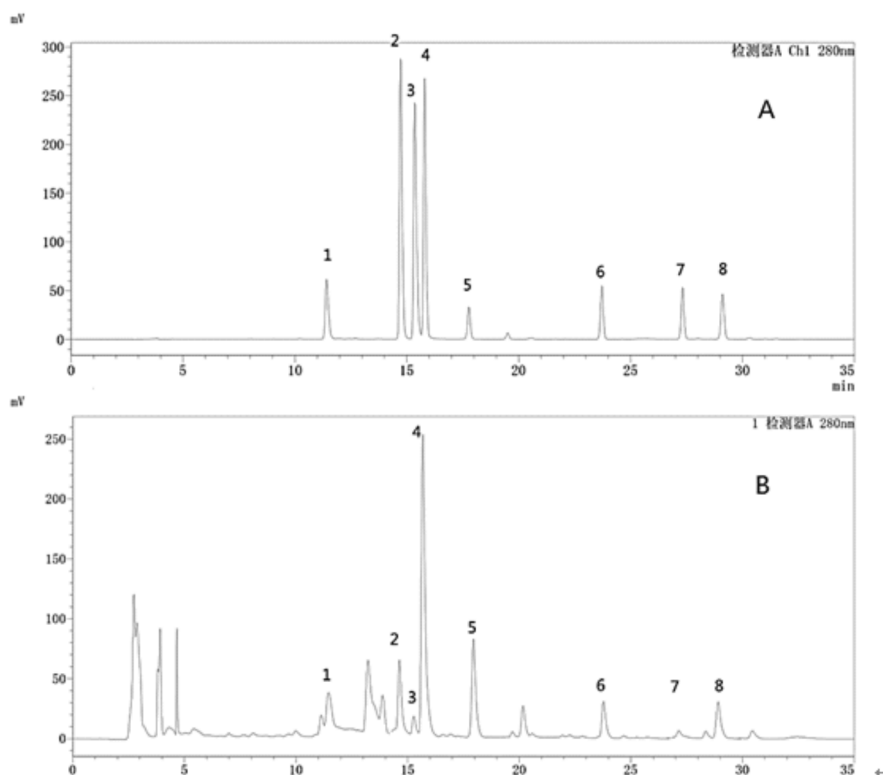
地区	年均气温 /℃	1 月份平均 气温/℃	7 月份平均 气温/℃	年均降水量 /mm	年均相对 湿度/%	年均日照时长 /h	东经 度数	北纬 度数	海拔高度 /m
磐安	17.8	5.5	29.5	1 445.7	74.5	18 237	119°4'	29°1'	62.6
永康	17.9	5.7	29.7	1 450.9	74.2	17 284	120°0'	28°5'	102.9
仙居	17.6	5.3	29.6	1 402.1	73.6	17 714	120°1'	29°2'	89.9
东阳	17.6	5.3	29.6	1 402.1	73.6	17 714	120°1'	29°2'	89.9
勉县	14.4	2.8	25.1	787.2	77.4	14 569	106°4'	33°1'	548.1
城固	14.4	2.4	25.6	781.5	80.0	15 203	107°2'	33°1'	486.4
南郑	14.4	2.5	25.3	903.1	81.2	14 333	106°6'	33°0'	536.5
洋县	11.7	0.8	21.9	904.8	70.9	16 613	107°6'	33°1'	827.2

2 方法

2.1 色谱条件^[2]

采用 Agilent 5 TC-C18 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相 A 为乙腈、流动相 B 为 0.

1%的磷酸溶液(三乙胺调 pH 为 6.0), 梯度洗脱(0~15 min, 20% A; 15~35 min, 20%~80% A); 检测波长为 280 nm; 流速为 1.0 mL/min; 柱温 30℃; 进样量为 10 μL。上述色谱条件下, 各组分分离度好, 色谱图见图 1。



1—原阿片碱; 2—盐酸巴马汀; 3—盐酸小檗碱; 4—脱氢紫堇碱;
5—海罂粟碱; 6—延胡索乙素; 7—四氢小檗碱; 8—延胡索甲素

图 1 混合标准品(A)和样品(B)的高效液相色谱

2.2 溶液制备

2.2.1 对照品溶液的制备 分别精密称定原阿片碱 5.24 mg、盐酸巴马汀 5.18 mg、盐酸小檗碱 5.16 mg、脱氢紫堇碱 5.06 mg、海罂粟碱 1.13 mg、延胡索乙素 4.60 mg、四氢小檗碱 5.11 mg、延胡索甲素 5.14 mg, 一起混和加入到 10 mL 的容量瓶中, 加入甲醇定容, 摇匀, 即得混标溶液。

2.2.2 样品溶液的制备 取延胡索药材, 粉碎机粉碎, 过 80 目筛, 精密称取 0.5 g, 加入到圆底烧瓶里, 加入浓氨试液—甲醇(1:20)的混合溶液 50 mL, 称定重量, 冷浸 1 h 后加热回流 1 h, 放冷后, 再次称定重量, 用浓氨试液—甲醇(1:20)混合溶液补足损失的重量, 摇匀, 滤过。精密量取滤液 25 mL, 蒸干, 残渣加甲醇溶解, 转移到 5 mL 容量瓶中, 并稀释至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得供试

品溶液。

2.3 样品含量测定

取 13 个采集地的延胡索样品适量, 按照“2.2.2”项下的方法制备供试品溶液, 在“2.1”项的色谱条件下进行含量测定, 采用“外标法”通过记录峰面积计算各生物碱成分的含量, 并使用 SPSS 22.0 软件中的 ANOVA 分析, 对不同产地的同一生物碱含量进行差异显著性分析。

2.4 相关性分析

采用 SPSS 22.0 软件分析中的双变量分析(Spearman 相关系数, 双尾检验)分析各产地延胡索中 8 种生物碱含量与不同的气候因子的相关性。当 $P < 0.01$ 时, 表面两者之间存在极显著相关; 当 $P < 0.05$ 时, 表面两者之间存在显著相关; 反之, 则不相关。

3 结果与分析

3.1 不同产地延胡索中生物碱含量测定结果

采用“2”中的高效液相色谱方法,对 13 个采集地区的延胡索药材进行含量测定,并利用 SPSS 22.0 软件中的 ANOVA 分析进行差异显著性分析,结果如表 5 所示。测定结果显示,在 13 个产地的样品中,脱氢紫堇碱在所测的 8 种生物碱中含量均为最高,而四氢小檗碱的含量均为最低。陕西的

8 个产地(编号 1~8)中,除了海罂粟碱和四氢小檗碱在个别产地间存在显著差异外,其余 6 种生物碱含量在陕西的 8 个产地之间均没有显著性差异;浙江的 5 个产地(编号 9~13)中,同一种生物碱含量在 5 个产地之间均不存在显著性差异;除了盐酸巴马汀以外,其余 7 种生物碱含量在陕西和浙江的样品之间均存在显著性差异,其中陕西 8 个产地的样品中海罂粟碱的含量均显著高于浙江产地样品。

表 4 不同产地延胡索生物碱含量测定结果

(mg/g)

产地编号	原阿片碱	盐酸巴马汀	盐酸小檗碱	脱氢紫堇碱	海罂粟碱	延胡索乙素	四氢小檗碱	延胡索甲素
1	1.10±0.02 ^{ab}	0.80±0.01 ^a	1.66±0.05 ^{ab}	3.21±0.09 ^{ab}	2.35±0.11 ^a	1.51±0.06 ^a	0.19±0.00 ^{ab}	2.15±0.04 ^a
2	0.85±0.02 ^{ab}	0.65±0.02 ^a	1.18±0.09 ^{ab}	2.49±0.12 ^{ab}	1.98±0.05 ^a	1.26±0.11 ^a	0.21±0.03 ^{ab}	1.76±0.03 ^a
3	1.06±0.07 ^{ab}	0.83±0.02 ^a	1.87±0.15 ^{ab}	3.23±0.14 ^{ab}	2.07±0.15 ^{ab}	1.68±0.09 ^a	0.29±0.02 ^a	1.93±0.13 ^a
4	0.96±0.03 ^{ab}	0.66±0.03 ^a	1.02±0.06 ^{ab}	2.26±0.14 ^{ab}	1.63±0.06 ^{ab}	0.99±0.01 ^a	0.14±0.00 ^a	1.24±0.04 ^a
5	1.23±0.03 ^a	0.78±0.01 ^a	1.53±0.02 ^{ab}	3.01±0.01 ^{ab}	1.89±0.02 ^b	1.29±0.08 ^{ab}	0.21±0.02 ^{ab}	1.39±0.01 ^{ab}
6	1.04±0.00 ^a	0.71±0.01 ^a	1.16±0.04 ^{ab}	2.56±0.08 ^{ab}	1.67±0.12 ^b	1.10±0.08 ^{ab}	0.17±0.02 ^{ab}	1.31±0.05 ^{ab}
7	1.05±0.01 ^{ab}	0.74±0.01 ^a	1.60±0.03 ^a	3.09±0.06 ^a	2.12±0.04 ^{ab}	1.43±0.01 ^a	0.13±0.01 ^b	1.97±0.02 ^a
8	1.04±0.01 ^{ab}	0.77±0.03 ^a	1.79±0.06 ^a	2.97±0.09 ^a	2.14±0.02 ^{ab}	1.43±0.04 ^a	0.08±0.01 ^b	1.69±0.03 ^a
9	0.94±0.02 ^{ab}	0.78±0.01 ^a	1.11±0.08 ^{ab}	2.39±0.09 ^{ab}	0.84±0.04 ^c	1.16±0.03 ^{ab}	0.17±0.01 ^{ab}	0.80±0.02 ^b
10	0.84±0.03 ^b	0.89±0.02 ^a	1.05±0.08 ^{ab}	2.25±0.04 ^{ab}	0.87±0.02 ^c	1.21±0.05 ^{ab}	0.12±0.01 ^{ab}	0.69±0.03 ^b
11	1.03±0.03 ^{ab}	0.78±0.01 ^a	1.03±0.05 ^{ab}	2.42±0.10 ^{ab}	0.69±0.01 ^c	0.84±0.04 ^b	0.10±0.00 ^b	0.83±0.03 ^b
12	0.95±0.02 ^b	0.83±0.01 ^a	1.04±0.02 ^b	2.28±0.14 ^b	0.82±0.01 ^c	0.91±0.03 ^b	0.15±0.00 ^{ab}	1.64±0.04 ^{ab}
13	0.70±0.03 ^b	0.61±0.01 ^a	0.84±0.09 ^b	1.64±0.10 ^b	0.77±0.02 ^c	0.80±0.03 ^b	0.13±0.01 ^{ab}	0.92±0.03 ^{ab}

注:同一列字母不完全相同或相同表明含量不具有显著差异;字母完全不同时表明 $P < 0.05$ 水平下具有显著差异。

3.2 不同气候因子与各生物碱成分之间的相关性分析

研究中采用 SPSS 22.0 软件分析中的双变量分析(Spearman 相关系数,双尾检验)对年均气温、1 月份平均气温、7 月份平均气温、年均降水量、年均日照时长、年均相对湿度、经度、纬度、海拔与各生物碱含量进行了相关分析,结果如表 5 显示,年均相对湿度和生物碱的含量之间不存在相关性,即年均相对湿度不影响这 8 种生物碱的合成和积累;年均气温和原阿片碱、脱氢紫堇碱和四氢小檗碱存在显著负相关($P < 0.05$),1 月份平均气温和脱氢紫堇碱、海罂粟碱、延胡索甲素及四氢小檗碱存在显著负相关($P < 0.05$),7 月份平均气温和脱氢紫堇碱、海罂粟碱及延胡索甲素存在显著负相关($P < 0.05$),即气温越低,原阿片碱、脱氢紫堇碱、海罂粟碱、延胡索甲素及四氢小檗碱的含量积累越多;年均降水量和盐酸小檗碱及延胡索乙素存在显著

负相关($P < 0.05$),和脱氢紫堇碱、海罂粟碱及延胡索甲素存在极显著负相关($P < 0.01$),即低降水量有利于脱氢紫堇碱、海罂粟碱、延胡索甲素、盐酸小檗碱及延胡索乙素的积累;年均日照时长和原阿片碱、盐酸小檗碱、脱氢紫堇碱及延胡索乙素存在显著负相关($P < 0.05$),和海罂粟碱之间存在极显著负相关($P < 0.01$),即长时间的日照会使原阿片碱、盐酸小檗碱、脱氢紫堇碱、延胡索乙素及海罂粟碱的积累变少;海拔高度和盐酸小檗碱、脱氢紫堇碱及延胡索乙素存在显著正相关关系($P < 0.05$),和海罂粟碱存在极显著正相关关系($P < 0.01$),即高海拔可促进盐酸小檗碱、脱氢紫堇碱、延胡索乙素及海罂粟碱的积累。综上,除了盐酸巴马汀,其他生物碱的积累均与气候因子之间存在一定的相关性;除了年均相对湿度以外,其他环境因子均与脱氢紫堇碱含量之间存在相关性,即脱氢紫堇碱的积累更容易受到环境因素的控制。

表 5 气候因子与各生物碱含量的相关性分析

指标	年均气温	1 月份 平均气温	7 月份 平均气温	年均 降水量	年均 日照时长	年均 相对湿度	经度	纬度	海拔
原阿片碱	-0.641*	-0.501	-0.471	-0.542	-0.613*	0.362	-0.567*	0.570*	0.502
盐酸巴马汀	0.223	0.223	0.285	0.329	0.198	-0.243	0.324	-0.243	-0.114
盐酸小檗碱	-0.449	-0.482	-0.504	-0.681*	-0.648*	0.338	-0.643*	0.572*	0.582*
脱氢紫堇碱	-0.596*	-0.607*	-0.562*	-0.729**	-0.662*	0.346	-0.623*	0.642*	0.585*
海罂粟碱	-0.537	-0.615*	-0.637*	-0.837**	-0.737**	0.421	-0.798**	0.717**	0.693**
延胡索甲素	-0.471	-0.582*	-0.615*	-0.770**	-0.476	0.388	-0.698**	0.667*	0.465
四氢小檗碱	-0.601*	-0.618*	-0.273	-0.345	-0.256	0.225	-0.136	0.371	0.206
延胡索乙素	-0.455	-0.522	-0.499	-0.644*	-0.599*	0.227	-0.577*	0.612*	0.632*

注：* 表示 $P < 0.05$, 相关性显著(双尾); ** 表示 $P < 0.01$, 相关性极显著(双尾)。

4 讨论

目前关于不同产地延胡索中生物碱类成分含量的测定及分析已有相关报道,如,张颖等^[14]分析测定了全国各产地的 21 批延胡索药材中原阿片碱、去氢紫堇碱及延胡索乙素的含量;张静等^[15]采用 HPLC 同时测定了不同产地、不同商品等级的延胡索药材中原阿片碱、盐酸黄连碱、盐酸巴马汀、盐酸小檗碱、脱氢紫堇碱和延胡索乙素等 6 种生物碱的含量。实验室前期建立了同时测定延胡索药材中 8 种生物碱含量的高效液相色谱法^[2],能够在 35 min 之内完成出峰,耗时较短,大大节省了试剂消耗和时间成本,因此笔者研究利用该方法对不同产地延胡索药材中的 8 种生物碱含量进行了同时测定,以期更全面、更客观地分析不同产地延胡索药材的质量。

药材的质量往往与其所处环境的气候密切相关,气候因子会通过影响药材的生长和代谢,进而影响药材中次生代谢产物的积累,而药材中大多数有效成分是其次级代谢产物。因此,不同产地的药材会因为气候因素的不同,其有效成分的含量差异显著。研究首次分析了不同气候因子与各生物碱含量的相关性,结果显示,低气温、低降水量、短日照时间及高海拔环境更适宜延胡索药材中生物碱的合成与积累,陕西地区的气候环境较浙江地区更适宜延胡索药材中生物碱含量的积累,推测这也是导致延胡索的主产区由之前的浙江磐安等地向陕西汉中地区转移的原因之一。目前,陕西地区所产的延胡索占全国市场的 70% 左右。

关于影响延胡索药材生物碱含量的因素已有相关研究报道,如,徐珂等^[16]研究分析了土壤养分和延胡索品质的相关性,发现延胡索乙素的含量与土壤中速效 K 成显著性正相关;徐雪琴等^[17]调查

分析了不同产地的延胡索采收时间的差异,结果发现虽然延胡索的采收时间集中在 5 月份,但是由于南北气候的差异以及栽培面积的不同,完成采集时间不完全一致,并且存在拖后或提前采收的情况;杨阳等^[18]研究分析了延胡索中延胡索乙素的含量与延胡索块茎内生真菌菌群结构的相关性,发现木霉属内生真菌 T83 与延胡索乙素含量呈正相关。这些表明气候差异只是导致延胡索中生物碱含量差异的原因之一。就延胡索乙素这一指标成分来说,研究所测浙江地区延胡索中的延胡索乙素含量范围为 0.80~1.21 mg/g,陕西地区的含量范围为 0.99~1.68 mg/g,即陕西样品中延胡索乙素的含量整体高于浙江。有相关研究报道^[19]所测的浙江磐安地区延胡索药材中的延胡索乙素含量为 1.61 mg/g,大于笔者研究中所测的数值,推测其可能是采收当年的气候因素差异所导致的。

研究初步采用相关性分析的方法,研究不同的气候因子对于延胡索药材中生物碱含量的影响,最后得出低气温、低降水量、短日照时间及高海拔环境更适宜延胡索药材中部分生物碱的合成与积累,进而推测气候因素是导致延胡索的主产区从浙江磐安等地区向陕西汉中地区转移的原因之一,可为今后全面评价不同产地延胡索药材品质提供有价值的经验。

参 考 文 献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 145-146.
- [2] 李凯,原军宁,彭晶晶,等. 不同规格延胡索中 8 种生物碱比较[J]. 中成药, 2020, 42(05): 1 244-1 249.
- [3] 赵丽沙,董宇,寿旦. 延胡索生物碱类化学成分及质量控制研究进展[J]. 中华中医药学刊, 217, 35 (02): 299-302.

(下转第 72 页)