

苦豆子炮制过程中指纹图谱及颜色特征值变化规律研究



陈超杰, 陈赛赛, 曹恒涛, 赵江红, 曲 璐

安阳市食品药品检验检测中心 (河南安阳 455000)

【摘要】目的 分析苦豆子炮制过程中颜色特征与 HPLC 指纹图谱动态变化规律及其相关性。**方法** 采用 HPLC 法建立苦豆子炮制过程中指纹图谱, 分析其主要成分变化规律; 提取苦豆子炮制过程中颜色特征值并进行聚类分析, 对样品颜色特征值与指纹图谱色谱峰进行相关性分析。**结果** 随着炮制时间延长, 苦豆子指纹图谱相似度逐渐降低, *N*-甲基雀花碱、槐定碱、苦参碱、槐果碱等共有峰皆呈先增大后减小的趋势。红色 (R)、绿色 (G)、亮度 (I) 颜色特征值随着炮制时间延长而降低, 色调 (H) 特征值随着炮制时间延长逐渐升高。颜色特征值与指纹图谱色谱峰相关性分析显示, 指纹图谱共有峰峰 1、峰 5~ 峰 11 均与颜色特征有显著相关性。偏最小二乘法判别分析结果显示, 槐定碱、苦参碱、槐果碱等是苦豆子炮制过程中发生质量变化的主要指标。**结论** 苦豆子炮制过程中化学成分发生变化, 不同炮制时间苦豆子颜色特征值与 HPLC 指纹图谱密切相关, 可为苦豆子炮制减毒、发挥最佳临床药效以及质量评价提供参考。

【关键词】 苦豆子; 高效液相色谱; 炮制; 指纹图谱; 颜色特征; 化学成分; 相关性

【中图分类号】 R282

【文献标识码】 A

Research on the change of fingerprint and color characteristic value of *Sophora alopecuroides* L. during processing

CHEN Chaojie, CHEN Saisai, CAO Hengtao, ZHAO Jianghong, QU Lu

Anyang Food and Drug Inspection and Testing Center, Anyang 455000, Henan Province, China

Corresponding author: CHEN Saisai, Email: chen.sai1001@163.com

【Abstract】Objective To analyze the dynamic changes and correlation of color characteristics and fingerprints of HPLC during processing of *Sophora alopecuroides* L. **Methods** HPLC was used to establish the fingerprint spectrum of *Sophora alopecuroides* L. during processing and the changes of its main components were analyzed. The color eigenvalue in the processing of *Sophora alopecuroides* L. were extracted, and cluster analysis was conducted; correlation analysis between the characteristic values of the samples and the fingerprint chromatographic peaks were carried out. **Results** With the prolongation of the processing time, the similarity of the *Sophora alopecuroides* L. fingerprint gradually decreased, common peaks such as *N*-methylphenanthine, sophoridine, matrine, sophorine, etc. increased first and then decreased. The red (R), green (G) and intensity (I) color eigenvalues decreased with the extension of processing time, while the hue (H) eigenvalue gradually increased with the extension of processing time. The correlation analysis of color eigenvalue and fingerprint peaks showed that the

DOI: 10.12173/j.issn.2097-4922.202412087

基金项目: 安阳市科技计划项目 (2023C01SF034)

通信作者: 陈赛赛, 硕士, 高级工程师, Email: chen.sai1001@163.com

<https://yxqy.whuznhmedj.com>

common peaks 1 and peaks 5-11 of fingerprints were significantly correlated with color characteristics. The results of partial least squares discriminant analysis showed that sophoridine, matrine, sophorine, etc. were the main indexes of quality change in the processing of *Sophora alopecuroides* L. **Conclusion** The chemical composition of *Sophora alopecuroides* L. is constantly changing during processing, and the color eigenvalue of *Sophora alopecuroides* L. at different processing times are closely related to HPLC fingerprints, which can provide reference for attenuating the toxicity, maximizing the clinical efficacy and evaluating the quality of *Sophora alopecuroides* L...

【Keywords】 *Sophora alopecuroides* L.; High performance liquid chromatography; Processing; Fingerprint; Color characteristic; Chemical composition; Correlation

苦豆子是豆科槐属植物苦豆子 *Sophora alopecuroides* L. 的干燥成熟种子，能清热燥湿、止痛、杀虫，具有抗肿瘤、抗菌、降糖、镇痛等作用，现收录于《甘肃省中药材标准》^[1]。苦豆子药用范围广泛，但由于具有毒性，内服或作为口服液使用时均需进行炮制处理，以减轻其毒性^[2-3]。目前国内对苦豆子的研究多为提取、分离工艺及其浸提物投入制剂生产和各单体成分的药理作用应用，对苦豆子临床炮制研究较少，而炮制苦豆子用于临床配伍必不可少。根据《中国药典（2020年版）》四部炮制通则 0213^[4]，苦豆子传统的炮制要求“炒至冒烟，呈黑色”为度，对于炒制过程中的性状变化以及饮片质量多以感官判断为主，无具体量化指标及炮制参数限定，均凭经验进行，难以保证炮制到位，而苦豆子炒制减毒不合要求时临床可能会出现头晕、恶心、心慌等不良反应，对人体健康有较大影响。

随着图像处理与分析技术的不断发展，通过对图像颜色特征进行分析，为中药炮制饮片的质量控制提供了客观依据及有益参考^[5-6]。苦豆子经过炒制，颜色从生品的黄色或淡棕黄色转变为炮制后的黑色，其内在化学成分也发生了变化，而该变化和差异可通过指纹图谱得到反映。在陈静等^[7]对苦豆子化学成分及药理作用的研究基础上，参考康建国^[8]和安佳琳等^[9]对苦豆子指纹图谱的建立方法，本研究通过对苦豆子炮制过程中指纹图谱的建立和颜色特征值的提取，分析评价苦豆子在不同炮制时间指纹图谱色谱峰和颜色特征值的变化，阐释炮制过程中内在质量变化规律，为苦豆子炮制工艺的优化和质量评价提供参考。

1 材料

1.1 主要仪器

Waters e2695 高效液相色谱仪（美国 Waters

公司）；XS205DU 电子天平和 FE28 型酸度计购自瑞士梅特勒-托利多公司）；SB-5200DTD 型超声波清洗机（宁波新芝生物科技股份有限公司）；IKA A11 basic 型研磨机（德国 IKA 公司）；纷腾 h9 型扫描仪（上海中晶科技有限公司）；AS842A 型红外线测温仪（香港希玛仪器仪表有限公司）。

1.2 主要药品与试剂

N-甲基金雀花碱（批号：TC0660-231126，纯度 $\geq 98.0\%$ ）和金雀花碱（批号：TC2994-231228，纯度 $\geq 98.0\%$ ）购自四川精粹天成药物科技有限公司；槐定碱（批号：110784-202207，纯度 98.2%）、苦参碱（批号：110805-202010，纯度 98.7%）、槐果碱（批号：112052-202001，纯度 91.8%）、氧化苦参碱（批号：110780-202210，纯度 92.8%）、氧化槐果碱（批号：111652-202202，纯度 93.1%）均购自中国食品药品检定研究院；生苦豆子（产地：新疆）经安阳市食品药品检验检测中心鉴定为豆科槐属植物苦豆子 *Sophora alopecuroides* L. 的干燥成熟种子；其余试剂均为分析纯，水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 苦豆子样品的制备

生苦豆子：取苦豆子，去除杂质后即为生苦豆子（编号：S1）。炒苦豆子：参考相关文献^[10-12]，并结合苦豆子种子类药材质地坚硬的特点，以电热炉为火源，用红外测温仪监测炮制过程中温度的变化，将锅底温度设置为 330℃，按照《中国药典（2020年版）》通则 0213 中方法进行制备。取净制后的同一批苦豆子（编号：S1），每次取样 200 g。将炒锅加热至锅底温度约 330℃，投入生苦豆子，不断翻炒，炒制时间依次设定为 4、6、8、10、12、14、16、18、

20 min, 不同炒制时间各平行操作 3 份, 即为炒苦豆子 (编号: S2~S10)。

2.2 HPLC指纹图谱建立与分析

2.2.1 色谱条件

采用 Agela Technologies Durashell C1₈ (L) 色谱柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相 A 为 0.01 mol/L 乙酸铵 (氨水调 pH 至 9), 流动相 B 为甲醇-乙腈 (1 : 2), 梯度洗脱 (洗脱条件见表 1); 流速为 1.0 mL/min; 柱温为 37℃; 检测波长为 210 nm; 进样量为 10 μL。理论板数以苦参碱峰计不低于 5 000。

2.2.2 混合对照品溶液的制备

分别精密称取 *N*-甲基金雀花碱、槐定碱、苦参碱、槐果碱、金雀花碱、氧化苦参碱、氧化槐果碱对照品 11.35、10.26、10.84、10.11、10.07、10.80、10.28 mg, 加甲醇稀释, 制成质量浓度分别为 11.1、100.8、32.1、46.4、29.6、100.2、47.9 μg/mL 的混合对照品溶液。

2.2.3 供试品溶液的制备

取 S1~S10 饮片粉末 (过 50 目筛) 约 0.5 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇

30 mL、氨水 1 mL, 称定重量, 超声 (功率: 300 W, 频率: 50 kHz) 处理 30 min, 放冷, 用甲醇补足减失的重量, 摇匀, 滤过, 即得。

2.2.4 系统适用性试验

分别精密吸取空白试剂 (甲醇)、混合对照品溶液、生苦豆子 (编号: S1) 供试品溶液和炒苦豆子 (编号: S8) 供试品溶液, 按 “2.2.1” 项下色谱条件进样测定, 记录色谱图 (图 1)。空白试剂对测定无干扰, 表明该方法专属性良好。

2.2.5 精密度试验

精密吸取 “2.2.2” 项下的混合对照品溶液, 按 “2.2.1” 项下色谱条件连续进样 6 次, 以苦参碱为参照峰, 计算得相对保留时间的 *RSD* 为 0%~1.1% (*n*=6), 相对峰面积的 *RSD* 为 0.3%~1.3% (*n*=6), 表明仪器精密度良好。

表1 梯度洗脱条件

Table 1. The gradient elution condition		
时间 (min)	流动相A (%)	流动相B (%)
0 ~ 20	95	5
20 ~ 39	95→93	5→7
39 ~ 45	93→85	7→15
45 ~ 70	85→77	15→23
70 ~ 90	77→68	23→32

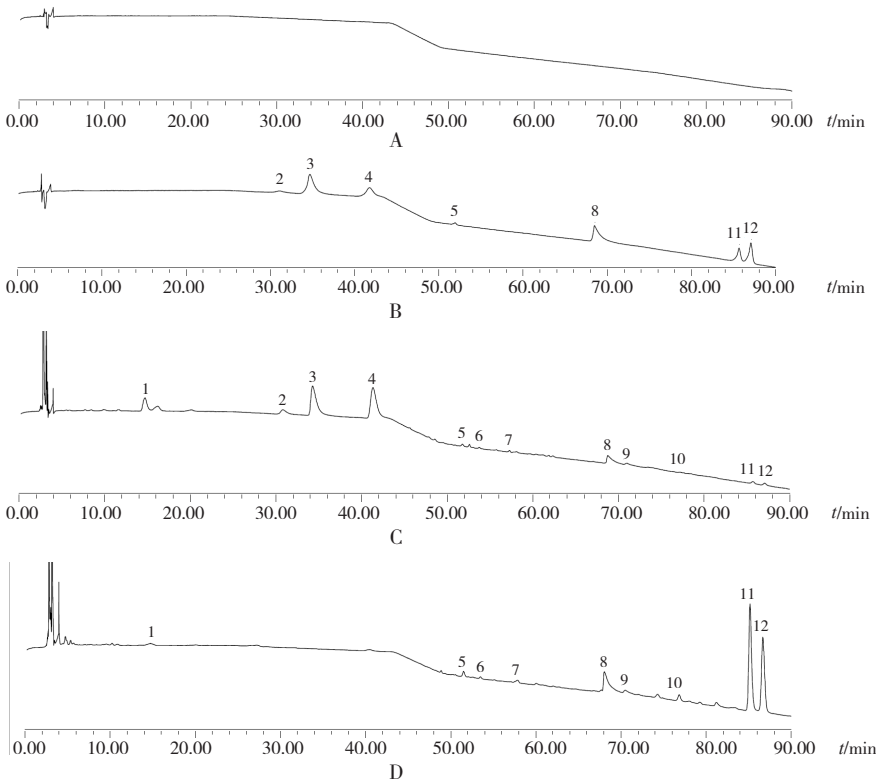


图1 苦豆子HPLC图谱

Figure 1. The HPLC chromatogram of *Sophora alopecuroides* L.

注: A. 空白试剂; B. 混合对照品溶液; C. 生苦豆子供试品溶液; D. 炒苦豆子供试品溶液; 2. 金雀花碱; 3. 氧化苦参碱; 4. 氧化槐果碱; 5. *N*-甲基金雀花碱; 8. 槐定碱; 11. 苦参碱; 12. 槐果碱。

2.2.6 重复性试验

取样品粉末(编号: S1), 按“2.2.3”项下方法平行制备6份供试品溶液, 再按“2.2.1”项下色谱条件进样测定, 计算得相对保留时间的 RSD 为0.2%~1.2% ($n=6$), 相对峰面积的 RSD 为0.5%~1.8% ($n=6$), 表明方法重复性良好。

2.2.7 稳定性试验

取样品粉末(编号: S1), 按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液, 分别于室温条件下放置0、2、4、8、16、24 h后按“2.2.1”项下色谱条件进样测定, 计算得相对保留时间的 RSD 为0.2%~1.3% ($n=6$), 相对峰面积的 RSD 为0.9%~1.7% ($n=6$), 表明供试品溶液在室温条件下放置24 h内稳定性良好。

2.2.8 苦豆子炮制过程中指纹图谱及动态变化分析

按“2.2.3”项下方法制备苦豆子供试品溶液, 再按“2.2.1”项下色谱条件进样测定苦豆子样品的指纹图谱, 将数据导入中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012版), 以样品编号S1作为参照图谱, 设置时间宽度为0.1 min, 采用中位数法对色谱峰进行匹配, 得到S1~S10样品的叠加指纹图谱(图2)。标定了9个共有峰, 与对照品溶液色谱图进行比较, 共指认4个色谱峰, 其中峰5为 N -甲基金雀花碱, 峰8为槐定碱, 峰11

为苦参碱, 峰12为槐果碱。

将炮制品与生品图谱进行比较, 结果显示, 以S1为参照, 苦豆子炮制品相似度呈下降趋势, 且均小于0.50; 分别以S2~S10为参照, 炮制品相似度均大于0.96, 结果见表2。由此可知, 苦豆子炮制后, 化学成分发生了改变。

分别以炮制时间为横坐标(X)、色谱峰的单位峰面积为纵坐标(Y)进行回归分析, 结果见图3。由图可知, 随着炮制时间的延长, 各色谱峰峰面积均发生变化, 峰1和峰7呈先下降后上升的趋势, 其中峰1在炮制0~12 min时明显下降, 出现最低点后缓慢波动上升, 峰7在炮制0~8 min时下降, 10~20 min迅速升高; 峰2(金雀花碱)、峰3(氧化苦参碱)在炮制6~8 min后均难以检测到, 峰4(氧化槐果碱)在炮制4 min后大幅度降低; 其余峰皆先升高后降低, 其中峰5(N -甲基金雀花碱)呈缓慢上升趋势, 16~20 min后趋于平稳, 峰8(槐定碱)先上升后下降, 炮制10~20 min时下降较为明显, 峰10、峰11(苦参碱)、峰12(槐果碱)在炮制0~14 min时升高较为明显。

2.2.9 主成分分析

主成分分析可将苦豆子样品多个变量降维成较少数量的主成分因子进行分析。将S1~S10样品共有峰峰面积数据导入SPSS 27.0软件进行因

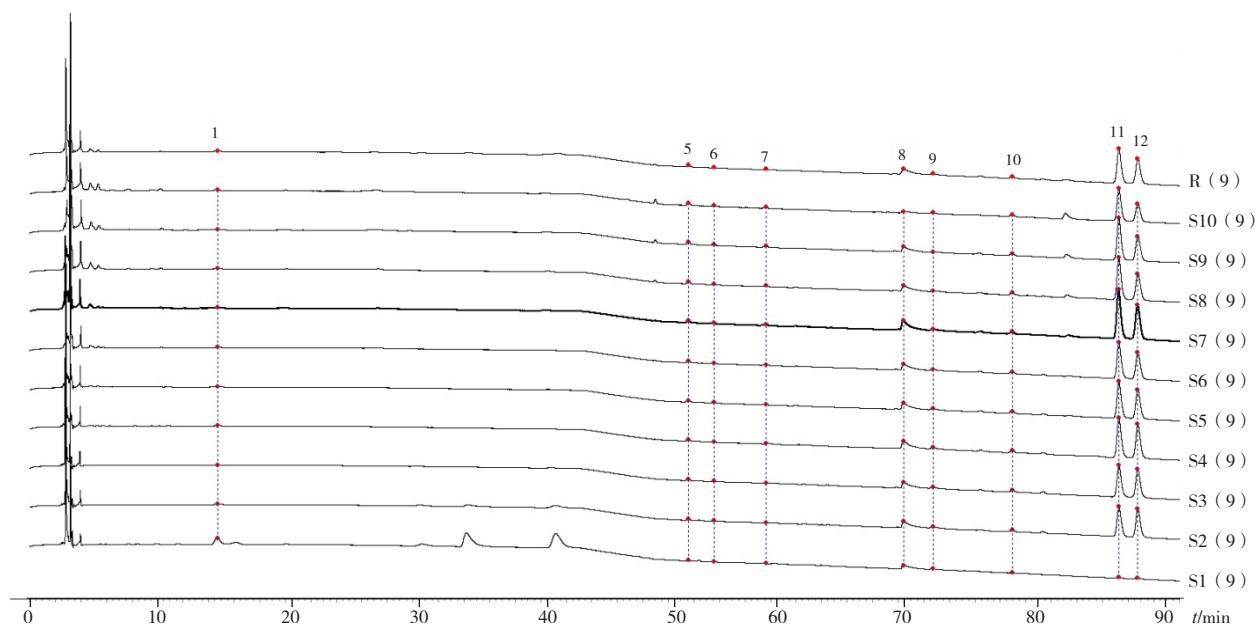


图2 苦豆子HPLC指纹图谱

Figure 2. The HPLC fingerprints of *Sophora alopecuroides* L.

注: R. 苦豆子炮制过程中共有峰模式; 5. N -甲基金雀花碱; 8. 槐定碱; 11. 苦参碱; 12. 槐果碱。

表2 相似度测定结果
Table 2. The result for similarity determination

编号	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	R
S1	1.000										
S2	0.356	1.000									
S3	0.314	0.999	1.000								
S4	0.328	0.999	1.000	1.000							
S5	0.317	0.997	0.999	0.999	1.000						
S6	0.301	0.994	0.997	0.998	1.000	1.000					
S7	0.337	0.994	0.996	0.997	0.999	0.999	1.000				
S8	0.290	0.983	0.988	0.989	0.994	0.996	0.995	1.000			
S9	0.266	0.978	0.984	0.985	0.991	0.994	0.993	0.999	1.000		
S10	0.229	0.960	0.968	0.968	0.976	0.981	0.977	0.991	0.993	1.000	
R	0.360	0.996	0.996	0.997	0.999	0.998	0.999	0.994	0.991	0.976	1.000

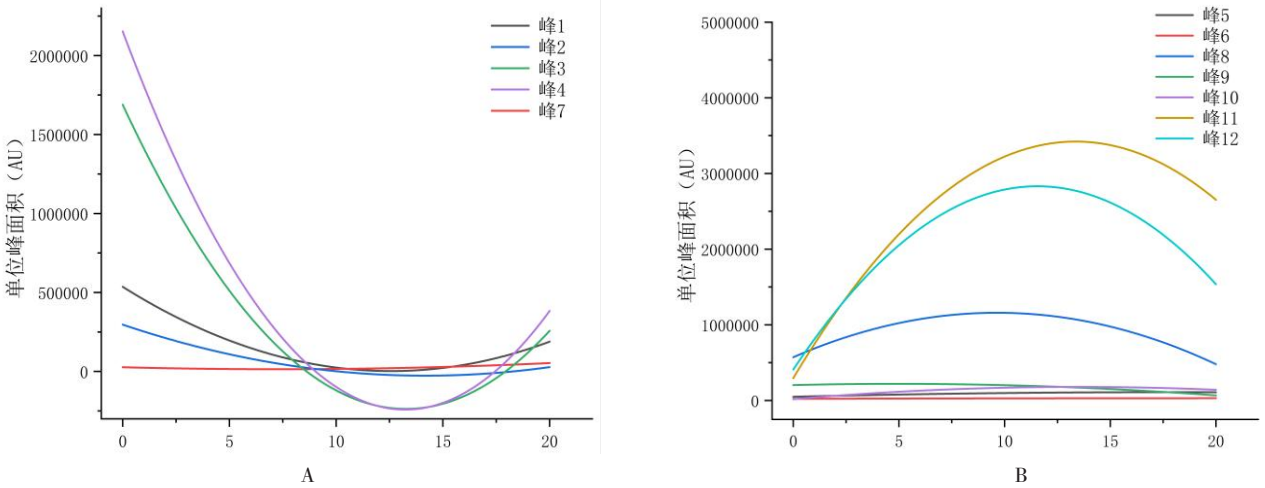


图3 苦豆子炮制过程中色谱峰面积与炮制时间的回归性分析
Figure 3. The regression analysis of chromatographic peak area and processing time during processing of *Sophora alopecuroides* L.

注：A. 炮制过程前期呈下降趋势的成分；B. 炮制过程前期呈上升趋势的成分。

子分析，结果见表3。提取大于1的特征值，得到前2个主成分的累计方差贡献率为87.577%，基本可以用于表征苦豆子指纹图谱的大部分信息。第一主成分主要反映峰1、峰5（*N*-甲基金雀花碱）、峰6、峰8（槐定碱）、峰10、峰11（苦参碱）、峰12（槐果碱）的信息，第二主成分主要反映峰7、峰9的信息，结果见表4。通过计算两个主成分的得分，得出综合评分较高的是S7~S9，表明苦豆子炮制时间为14~18 min时效果最好，主成分得分和综合得分见表5，得分散点图见图4。

2.3 苦豆子炮制样品颜色特征值分析

2.3.1 苦豆子样品图像采集

取不同炮制时间的苦豆子样品（编号：S1~S10，炮制时间：0、4、6、8、10、12、14、16、18、20 min）置于扫描仪上，平铺厚度约

1 cm，将扫描仪分辨率设置为600 dpi进行1:1扫描，扫描苦豆子RGB图像并以BMP格式储存，结果见图5。

表3 不同炮制时间苦豆子特征值和方差贡献率
Table 3. The eigenvalues and variance contribution rates of *Sophora alopecuroides* L. in different processing time

成分	特征值	方差贡献率 (%)	累计方差贡献率 (%)
1	5.259	58.437	58.437
2	2.623	29.140	87.577
3	0.794	8.826	96.403
4	0.214	2.379	98.782
5	0.078	0.863	99.646
6	0.022	0.246	99.892
7	0.008	0.088	99.980
8	0.002	0.018	99.998
9	0.000	0.002	100.000

表4 苦豆子初始因子载荷矩阵
Table 4. Initial factor loading matrix of *Sophora alopecuroides* L.

化合物	成分1	成分2
峰1	-0.788	0.311
峰5	0.897	0.329
峰6	0.803	0.515
峰7	0.155	0.956
峰8	0.597	-0.513
峰9	-0.152	-0.896
峰10	0.995	-0.022
峰11	0.989	-0.050
峰12	0.903	-0.412

表5 苦豆子炮制过程中各样品主成分得分和综合得分
Table 5. The principal component scores and comprehensive scores of each sample during the processing of *Sophora alopecuroides* L.

编号	主成分1得分	主成分2得分	综合得分	排名
S7	3.13	-0.10	1.80	1
S9	1.78	2.18	1.68	2
S8	1.50	2.25	1.53	3
S4	1.01	-1.74	0.08	4
S10	-0.87	1.49	-0.07	5
S5	0.28	-1.14	-0.17	6
S6	0.08	-0.83	-0.20	7
S3	-0.69	-1.54	-0.85	8
S2	-0.82	-1.69	-0.97	9
S1	-5.40	1.12	-2.83	10

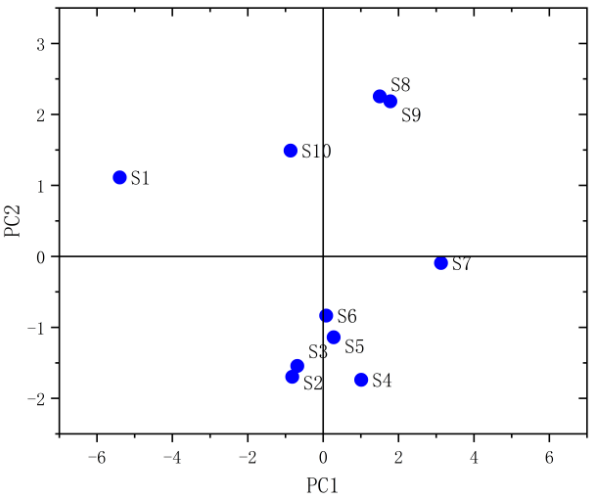


图4 苦豆子炮制过程中各样品主成分得分散点图
Figure 4. The principal component score plot of samples during *Sophora alopecuroides* L. processing

2.3.2 图像颜色特征值提取与分析

RGB 颜色空间是一种应用广泛的颜色模型，模型中的各种颜色以红色（red，R）、绿色（green，G）、蓝色（blue，B）为基本色进行叠加而来，在量化后所得的数值范围为 0~255，其中 0 为颜色最暗时的数值，255 为颜色最亮时的数值。HSI 颜色空间反映人的视觉系统对彩色的感知，能分离色调（hue，H）、饱和度（saturation，S）和亮度（intensity，I）颜色特征参数。以 RGB 颜色

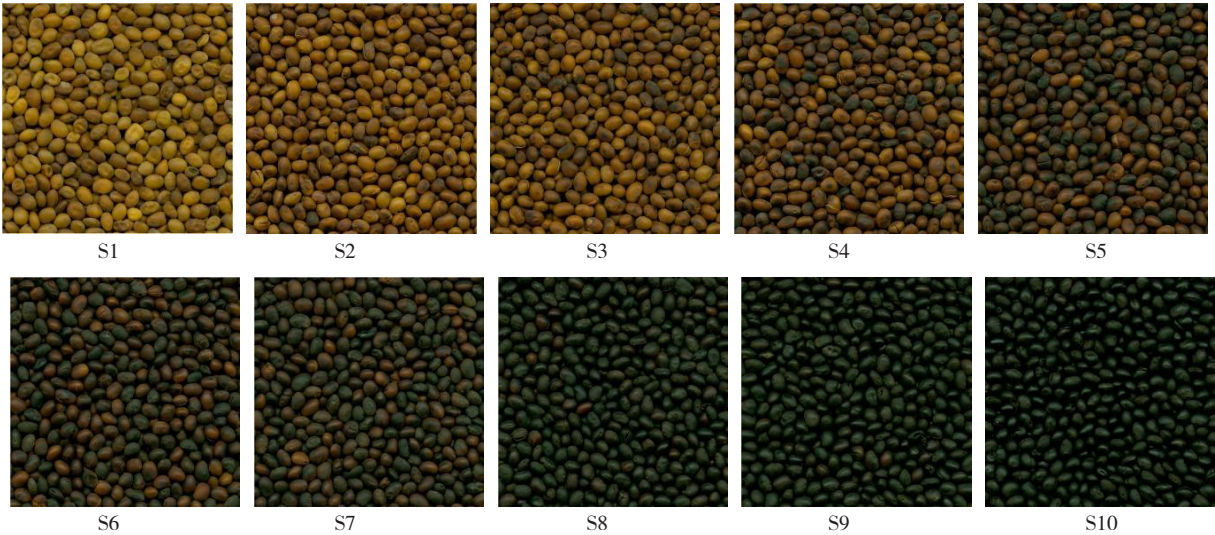


图5 不同炮制时间苦豆子RGB图像
Figure 5. The RGB images of *Sophora alopecuroides* L. at different processing times

空间为基准，通过 MATLAB R2014a 软件对样本图像进行颜色特征提取，分别得到 R、G、B 分量值，同时将 RGB 颜色空间模型转化为 HSI 颜色空间模型，提取得到 H、S、I 分量值。

为保证样品代表性和均匀性，对苦豆子不同炮制时间样品进行颜色特征参数提取，平行采集 3 次后取平均值，结果见表 6。由表可知，在 RGB 颜色空间中，R、G 颜色特征值均随着炮制

时间延长而降低, B 特征值先降低后增高再降低, 推测是苦豆子种皮破裂后露出黄色种仁造成, 由此可根据两者颜色特征值大小判断炮制时间的长短。在 HSI 颜色空间中, H 特征值随着炮制时间延长逐渐升高、I 特征值随着炮制时间延长而逐渐变低, 说明苦豆子由淡棕黄色逐渐转变为黑色, 亮度也逐渐降低, S 特征值整体趋势下降, 但在后期略有升高, 可能与苦豆子炮制后饱和度区别不大而出现数据接近有关。

2.3.3 聚类分析

运用 SPSS27.0 软件对颜色空间特征值进行聚类分析, 采用组间连接法, 以欧氏距离为测度,

当欧氏距离为 25 时, 样品可分为两类, 结果见图 6。S1~S4 (炮制 0~8 min) 聚为一类, S5~S10 (炮制 10~20 min) 聚为一类, 炮制 10 min 后苦豆子表面黄色特征减少, 棕色加深, 开始出现明显黑色斑块。第一类样品 R、G、B 特征值分别在 68~107、49~79、17~19 范围, H、S、I 特征值分别在 0.12~0.16、0.70~0.79、0.17~0.27 范围, 第二类样品 R、G、B 特征值分别在 16~52、25~42、13~21 范围, H、S、I 特征值分别在 0.18~0.37、0.63~0.70、0.07~0.15 范围, 两者差异较为明显, 且 R、G 颜色特征值在任一组内变化幅度均最大, 在总颜色空间中起主要鉴别作用。

表6 不同炮制时间苦豆子的颜色特征值

Table 6. The color eigenvalues of *Sophora alopecuroides* L. at different processing times

编号	炮制时间 (min)	R	G	B	H	S	I
S1	0	106.987 ± 1.330	78.476 ± 1.034	18.928 ± 0.697	0.125 ± 0.002	0.784 ± 0.010	0.267 ± 0.003
S2	4	91.715 ± 1.029	62.232 ± 0.755	15.820 ± 0.616	0.129 ± 0.002	0.793 ± 0.007	0.222 ± 0.003
S3	6	85.256 ± 1.323	59.087 ± 0.751	16.034 ± 0.654	0.127 ± 0.001	0.771 ± 0.007	0.210 ± 0.003
S4	8	68.202 ± 0.658	49.610 ± 0.456	17.999 ± 0.429	0.152 ± 0.002	0.708 ± 0.007	0.178 ± 0.003
S5	10	51.960 ± 1.055	41.987 ± 0.614	19.104 ± 0.414	0.181 ± 0.003	0.639 ± 0.007	0.148 ± 0.003
S6	12	43.598 ± 0.903	39.085 ± 0.696	19.840 ± 0.439	0.208 ± 0.003	0.598 ± 0.006	0.134 ± 0.002
S7	14	40.456 ± 0.710	38.523 ± 0.649	20.311 ± 0.507	0.224 ± 0.003	0.580 ± 0.008	0.130 ± 0.002
S8	16	25.121 ± 0.562	32.247 ± 0.642	17.313 ± 0.423	0.305 ± 0.002	0.600 ± 0.008	0.098 ± 0.002
S9	18	21.625 ± 0.480	30.423 ± 0.470	15.963 ± 0.403	0.326 ± 0.002	0.631 ± 0.009	0.089 ± 0.002
S10	20	16.321 ± 0.313	25.615 ± 0.442	13.606 ± 0.172	0.367 ± 0.004	0.691 ± 0.003	0.073 ± 0.001

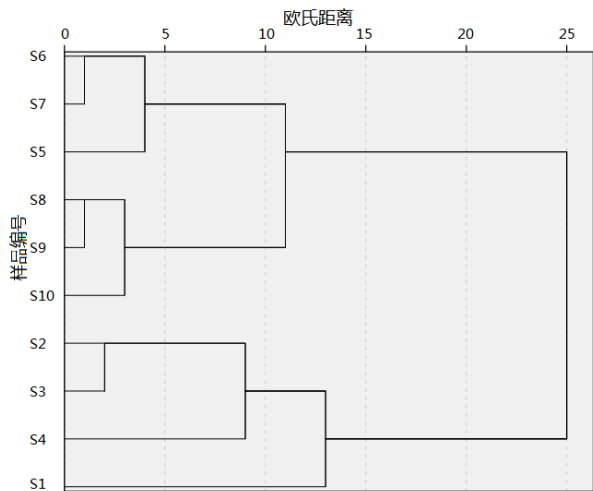


图6 不同炮制时间的颜色空间聚类分析

Figure 6. The color space cluster analysis of different processing times

2.4 颜色特征值与指纹图谱峰的关联性分析

2.4.1 Pearson相关性分析

苦豆子在炮制过程中, 随着时间的延长, 颜色空间特征值与指纹图谱峰的峰面积均发生了变

化。为探索其是否具有相关性, 将 S1~S10 样品指纹图谱共有峰峰面积、已知成分非共有峰峰面积与 R、G、B、H、S、I 颜色特征值导入 SPSS 27.0 软件进行 Pearson 相关性分析, 根据结果制作热图并标记具有有统计学意义的 Pearson 相关系数, 结果见图 7。由图可知, 指纹图谱共有峰峰 5 (N-甲基金雀花碱)、峰 6、峰 10、峰 11 (苦参碱) 与 R、G、S、I 颜色特征值均呈显著负相关, 峰 9 与 H 颜色特征值呈显著负相关; 峰 1 与 G 颜色特征值呈显著正相关, 峰 5 (N-甲基金雀花碱)、峰 7 与 H 颜色特征值呈显著正相关, 峰 8 (槐定碱) 与 B 颜色特征值呈显著正相关, 峰 9 与 R 颜色特征值呈显著正相关。已知成分非共有峰峰 2 (金雀花碱)、峰 3 (氧化苦参碱)、峰 4 (氧化槐果碱) 与 G、I 颜色特征值均呈显著正相关, 峰 2 (金雀花碱)、峰 3 (氧化苦参碱) 与 R 颜色特征值呈显著正相关, 峰 2 (金雀花碱) 与 S 颜色特征值呈显著正相关。

2.4.2 偏最小二乘判别分析

为进一步探索不同炮制时间的苦豆子指纹

图谱特征峰及颜色特征的关联性，采用 SIMCA 14.1 软件进行偏最小二乘法判别分析。模型中 $R^2Y=0.874$ ， $Q^2=0.826$ （ R^2Y 表示模型在 Y 轴方向上的累积解释能力， Q^2 表示模型的累积预测能力），表明该模型拟合程度好，偏最小二乘判别分析得分散点图分布规律与主成分分析结果一致，结果见图 8。以该模型中指标的变量投影重要性大于 1 作为评价标准进行分析，发现峰 8（槐定碱）、峰 9、峰 11（苦参碱）、峰 12（槐果碱）是苦豆子炮制过程中引起外观和内在质量差异的主要指标，与主成分分析中主成分占比及其所反应信息一致，结果见图 9。

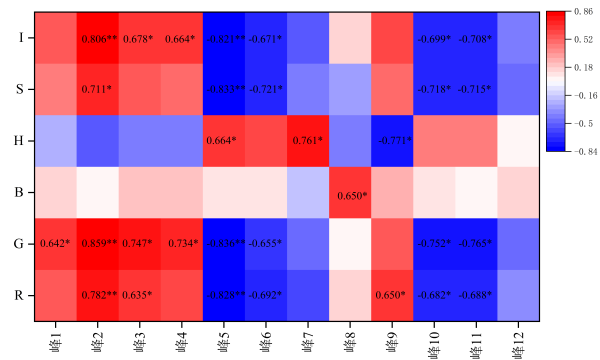


图7 不同炒制时间苦豆子样品峰面积与颜色特征值相关性分析

Figure 7. The correlation analysis between eigenvalues peak area and color eigenvalues of *Sophora alopecuroides* L. samples with different roasting time

注：* $P < 0.05$ ，** $P < 0.01$ 。

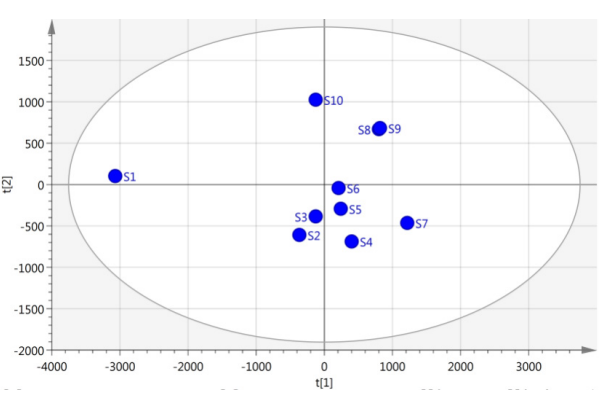


图8 不同炮制时间苦豆子的偏最小二乘法判别分析得分散点图

Figure 8. Scatter plot of the scores of the partial least square discriminant analysis of *Sophora alopecuroides* L. with different processing time

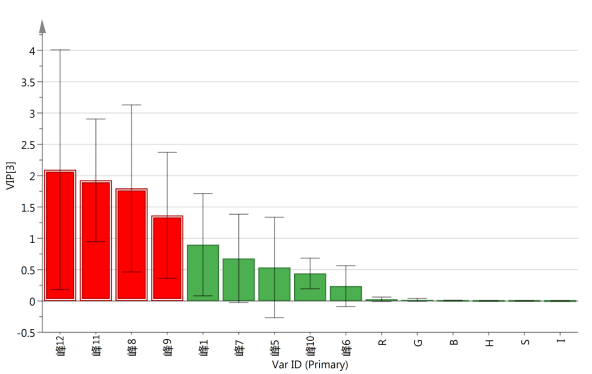


图9 指纹图谱共有峰和颜色特征值的变量投影重要性图

Figure 9. The variable importance in projection plot of common peaks and color eigenvalues in the fingerprint spectrum

3 讨论

苦豆子用途广泛，但其具有毒性，临床使用前需通过清炒法炒制以减轻毒性并发挥其最佳药效，合理控制苦豆子炮制时间对保证其药用质量具有重要意义。本文建立了苦豆子炮制过程中的 HPLC 指纹图谱方法，分析了炮制过程中苦豆子的化学成分、指纹图谱及颜色特征值的变化及相关性。结果显示，苦豆子炮制后，指纹图谱相似度降低明显，表明苦豆子炮制过程中化学成分发生了较大改变，样品 S7~S9 主成分分析综合得分最高；随着炮制时间的延长，苦豆子颜色特征值发生了明显变化，其中 R、G 特征值在各组中变化明显，经聚类分析，苦豆子被分为两类，其中 S1~S4 为一类（炮制 0~8 min），该类别中苦豆子种皮开始破裂，表面由黄色或淡棕黄色逐渐向棕褐色转变，但距离炮制要求仍显不足，S5~S10 为一类（炮制 10~20 min），该类别中苦豆子外表出现明显黑色斑块，内部呈现焦褐色，并随炮制时间加长呈现外表黑色斑块变多和内部颜色变深的趋势，炮制 20 min 时样品已炭化，提示通过颜色特征值可以为苦豆子炮制提供较好参考；苦豆子指纹图谱共有峰与颜色特征值具有显著 Pearson 相关性；样品 S8~S10 偏最小二乘判别分析得分最高，峰 8（槐定碱）、峰 11（苦参碱）、峰 12（槐果碱）等是引起苦豆子炮制前后发生质量变化的主要指标。炮制不及，难以达到要求，太过则会导致药性损失，违背“炒炭存性”传统理念，因此苦豆子炮制 14~18 min 较为合适，此时颜色特征值为 R（21~41）和 G（30~39），苦豆子种

皮破裂,外表呈黑色,内部焦褐色,与传统炮制要求一致。

苦豆子炮制后,共有峰峰 1、峰 7 皆先下降后上升,峰 5(*N*-甲基金雀花碱)、峰 8(槐定碱)、峰 11(苦参碱)、峰 12(槐果碱)及其余共有峰皆呈先增大后减小趋势;非共有峰峰 2(金雀花碱)、峰 3(氧化苦参碱)及峰 4(氧化槐果碱)在炮制后大幅度降低甚至难以检测到。相关研究表明,氧化苦参碱、苦参碱、氧化槐果碱、槐果碱、槐定碱皆为苦参碱衍生物,金雀花碱与 *N*-甲基金雀花碱为金雀花碱衍生物,存在成分间相互转化的现象^[13-14]。药理作用方面,氧化苦参碱具有抗肿瘤、抗病毒、抗炎等作用,苦参碱具有抗肿瘤、抗炎、抗心律失常、免疫抑制等作用^[15-16];氧化槐果碱具有抑制肝癌细胞、大肠癌细胞的增殖等作用,槐果碱具有抗炎、镇痛、抗肿瘤等药理作用,槐定碱有抗肿瘤、镇痛、调节免疫能力等功效^[17-19];金雀花碱能够抑制破骨细胞活性、影响中枢神经系统,*N*-甲基金雀花碱对结肠炎可起到治疗作用^[14]。苦豆子中生物碱既是有效成分,也是引起毒性反应的成分,不同类别生物碱的毒性强度也有差别,且苦豆子不同提取方法及不同给药方法也对小鼠半数致死量有影响^[20-21]。而苦豆子炮制后指纹图谱相似度的降低、化学成分的变化,可能是苦豆子炮制后减轻毒副作用、扩大治疗范围的原因。但苦豆子其他化学成分如黄酮类、挥发油类等,在炮制过程中的变化规律,与毒性大小之间是否具有相关性,还需进一步进行验证。

综上所述,通过研究苦豆子炮制过程中外观颜色与内在化学成分的变化规律,能够客观评价其炮制程度,从而达到减毒增效和更好应用于临床的目的,也为建立苦豆子外观-内在化学成分-临床药效之间的质量评价体系,提升苦豆子炮制监控技术及快速评价其质量指标提供科学依据。

参考文献

- 1 甘肃省中药材标准(2020年版)[S]. 2020: 249–253.
- 2 赵国平,戴慎,陈仁寿,主编. 中药大辞典. 第2版[M]. 上海: 中国科技出版社, 2005: 1773–1775.
- 3 田继业,吴里明,许冠英,等. 一种苦豆子口服液及其制备方法: 中国, 105030889B[P]. 2019–05–21.
- 4 中国药典 2020 年版. 四部[S]. 2020: 31–32.
- 5 余欣彤,甘力帆,邓桂海,等. 不同炮制时间茜草炭的色度值与特征图谱的相关性研究[J]. 中国药学杂志, 2023,

- 58(23): 2157–2164. [Yu XT, Gan LF, Deng GM, et al. Correlation between chromaticity value and characteristic map of different processing time of carbon-ized rubiae radix et rhizoma[J]. Chinese Pharmaceutical Journal, 2023, 58(23): 2157–2164.] DOI: 10.11669/cpj.2023.23.008.
- 6 陈维玲,陈倩茹,孟江,等. 基于机器视觉系统佛手炮制前后的判别及颜色-成分相关性分析[J]. 广东药科大学学报, 2024, 40(1): 22–29. [Chen WL, Chen QR, Meng J, et al. Discrimination and color component correlation analysis of citrus medica before and after processing based on machine vision system[J]. Journal of Guangdong Pharmaceutical University, 2024, 40(1): 22–29.] DOI: 10.16809/j.cnki.2096–3653.2023110603.
- 7 陈静,刘洋,支文冰,等. 苦豆子化学成分及其药理作用的研究进展[J]. 特产研究, 2023, 45(1): 162–173, 179. [Chen J, Liu Y, Zhi WB, et al. Research progress of sophora alopecuroides chemical constituents and pharmacological activities of sophora alopecuroides[J]. Special Wild Economic Animal and Plant Research, 2023, 45(1): 162–173, 179.] DOI: 10.16720/j.cnki.tcyj.2023.012.
- 8 康建国,李芳,牛淳,等. 苦豆子提取物指纹图谱建立及其抗炎作用谱效关系研究[J]. 中国野生植物资源, 2024, 43(7): 35–43. [Kang JG, Li F, Niu C, et al. Fingerprinting of sophora alopecuroides extract and its anti-inflammatory action spectrum-effect relationship[J]. Chinese Wild Plant Resources, 2024, 43(7): 35–43.] DOI: 10.3969/j.issn.1006–9690.2024.07.006.
- 9 安佳琳,李勇,董川,等. 新疆不同产地苦豆子种子中生物碱含量测定与分析[J]. 山西大学学报(自然科学版), 2023, 46(5): 1188–1195. [An JL, Li Y, Dong C, et al. Determination and analysis of alkaloids in seeds of sophora alopecuroides Lin different regions of Xinjiang[J]. Journal of Shanxi University (Natural Science Edition), 2023, 46(5): 1188–1195.] DOI: 10.13451/j.sxu.ns.2023009.
- 10 燕娜娜,李丹,魏敏,等. 不同火力炒制对白术成分含量的影响[J]. 中药材, 2023, 43(2): 323–327. [Yan NN, Li D, Wei M, et al. The influence of stir-frying with different firepower on the component content of Atractylodes macrocephala Koidz[J]. Journal of Chinese Medicinal Materials, 2023, 43(2): 323–327.] DOI: 10.13863/j.issn1001–4454.2020.02.013.
- 11 严林,宋亚南,贾哲,等. HS–GC–IMS 结合化学计量学分析栀子炭炮制过程中挥发性成分的变化[J/OL]. 中国实验方剂学杂志, 2024–10–31. [Yan L, Song YN, Jia Z, et al. Analysis of volatile component changes during processing of Gardeniae fructus carbonisat by HS–GC–IMS combined with chemometrics[J/OL]. Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae, 2024–10–31.] DOI: 10.13422/j.cnki.syfjx.20250867.
- 12 岳春雨,陈迎迎,王丽霞,等. 炒桑白皮炮制过程中色谱及色度值的变化规律研究[J]. 中国中药杂志, 2024, 49(7): 1865–1871. [Yue CY, Chen YY, Wang LX, et al. Changes in fingerprint and chromaticity values of Mori Cortex during stir-frying process[J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2024, 49(7): 1865–1871.] DOI: 10.19540/j.cnki.cjmm.20240110.302.
- 13 席宇,申光焕,崔琳琳,等. 苦参碱类衍生物的合成及其活性

- 研究进展[J]. 合成化学, 2024, 32(4): 381–392. [Xi Y, Shen GH, Cui LL, et al. Research progress on synthesis and activity of matrine derivatives[J]. Chinese Journal of Synthetic Chemistry, 2024, 32(4): 381–392.] DOI: [10.15952/j.cnki.cjsc.1005-1511.23051](https://doi.org/10.15952/j.cnki.cjsc.1005-1511.23051).
- 14 周青青, 谢晓艳, 张燕霞, 等. 天然金雀花碱及其衍生物的化学结构和药理作用研究进展[J]. 中国中药杂志, 2023, 48(10): 2679–2698. [Zhou QQ, Xie XY, Zhang YX, et al. Research progress on chemical structures and pharmacological effects of natural cytisine and its derivatives[J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2023, 48(10): 2679–2698.] DOI: [10.19540/j.cnki.cjcm.20220623.202](https://doi.org/10.19540/j.cnki.cjcm.20220623.202).
- 15 毕珺辉, 张静怡, 修俭. 苦参碱对心血管系统疾病药理作用及机制的研究进展[J]. 中医药学报, 2024, 52(3): 95–99. [Bi JH, Zhang JY, Xiu J. Progress in the study of pharmacological effect and mechanism of matrine in cardiovascular system disease[J]. Acta Chinese Medicine and Pharmacology, 2024, 52(3): 95–99.] DOI: [10.19664/j.cnki.1002-2392.240061](https://doi.org/10.19664/j.cnki.1002-2392.240061).
- 16 郭健, 曾华婷, 陈彦. 氧化苦参碱药理作用及其新型给药系统的研究进展[J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2022, 24(12): 4633–4643. [Guo J, Zeng HT, Chen Y. Emerging research in pharmacology effects and novel drug delivery systems of oxymatrine[J]. World Science and Technology-Modernization of Traditional Chinese Medicine, 2022, 24(12): 4633–4643.] DOI: [10.11842/wst.20210903004](https://doi.org/10.11842/wst.20210903004).
- 17 季宇彬, 赵贺, 王福玲. 槐果碱药理作用研究进展[J]. 中草药, 2018, 49(20): 4945–4948. [Ji YB, Zhao H, Wang FL. Research progress on pharmacological effects of sophocarpine[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2018, 49(20): 4945–4948.] DOI: [10.7501/j.issn.0253-2670.2018.20.035](https://doi.org/10.7501/j.issn.0253-2670.2018.20.035).
- 18 张明发, 沈雅琴. 槐果碱和氧化槐果碱抗肿瘤药理作用的研究进展[J]. 抗感染药学, 2020, 17(3): 305–309. [Zhang MF, Shen YQ. Research advances on pharmacological effects of sophocarpine and oxysophocarpine against tumors[J]. Anti-Infection Pharmacy, 2020, 17(3): 305–309.] DOI: [10.13493/j.issn.1672-7878.2020.03-001](https://doi.org/10.13493/j.issn.1672-7878.2020.03-001).
- 19 李俊达, 宁星, 刘震, 等. 槐定碱对骨癌痛小鼠的影响及其作用机制[J]. 中国癌症防治杂志, 2023, 15(2): 138–143. [Li JD, Ning X, Liu Z, et al. Effect of Sophoridine in mice with bone cancer pain and its mechanism[J]. Chinese Journal of Oncology Prevention and Treatment, 2023, 15(2): 138–143.] DOI: [10.3696/j.issn.1674-5671.2023.02.04](https://doi.org/10.3696/j.issn.1674-5671.2023.02.04).
- 20 苏永霞. 苦豆子种子成分分析与毒性评价及生物碱抗小鼠结肠炎的作用研究[D]. 陕西杨凌: 西北农林科技大学, 2021. DOI: [10.27409/d.cnki.gxbnu.2021.000426](https://doi.org/10.27409/d.cnki.gxbnu.2021.000426).
- 21 刘学楠. 苦豆子不同提取物化学成分分析及其肝毒性研究[D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2021. DOI: [10.27025/d.cnki.ggsnu.2021.000203](https://doi.org/10.27025/d.cnki.ggsnu.2021.000203).

收稿日期: 2024 年 12 月 23 日 修回日期: 2025 年 06 月 12 日
本文编辑: 钟巧妮 李 阳