

# 藏族药川西獐牙菜化学成分与生态因子的相关性分析

杜欢<sup>1</sup>, 莫家祺<sup>2</sup>, 徐僮<sup>2</sup>, 李琪<sup>1</sup>, 范刚<sup>2\*</sup>, 张艺<sup>2</sup>

(1. 成都中医药大学药学院, 成都 611137;

2. 成都中医药大学民族医药学院, 成都 611137)

**[摘要]** 目的: 建立川西獐牙菜的 HPLC 指纹图谱, 研究不同产地样品化学成分与生态因子的相关性。方法: 采用高效液相色谱法 (HPLC), 采用 Wondasil C<sub>18</sub> 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相甲醇-0.2% 磷酸溶液, 梯度洗脱, 柱温 30 °C, 流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, 检测波长 254 nm, 建立川西獐牙菜的指纹图谱, 结合国家药典委员会颁布的“中药色谱指纹图谱相似度评价系统 2004A 版”进行评价分析; 并收集各产地样品的气候、土壤等生态因子数据, 利用 DPS 数据处理系统, SPSS 21.0 统计软件对不同产地药材的化学成分与生态因子进行灰色关联度和双变量分析。结果: 建立了川西獐牙菜药材的 HPLC 指纹图谱, 共标定 12 个共有特征指纹峰, 确定了 7 个峰的化学成分; 川西獐牙菜中的獐牙菜苦苷、芒果苷等化学成分与生态因子具有显著的相关性, 对化学成分影响较大的为气候因子中的月均温范围、年降水量和降水季节性, 以及土壤因子中的土壤有机碳比例和土壤酸碱度。结论: 川西獐牙菜药材的化学成分与外部生态因子有一定的相关性, 研究结果为该药材的人工种植及藏族药“生地性”理论诠释提供了参考依据。

**[关键词]** 藏族药; 川西獐牙菜; 化学成分; 指纹图谱; 生态因子

**[中图分类号]** R284.1; R281; R282.5; R289 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2019)20-0141-06

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.20191611

**[网络出版地址]** <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.r.20190505.0907.001.html>

**[网络出版时间]** 2019-05-08 11:35

## Correlation Between Chemical Constituents and Ecological Factors of Tibetan Medicine *Swertia mussotii*

DU Huan<sup>1</sup>, MO Jia-qi<sup>2</sup>, XU Tong<sup>2</sup>, LI Qi<sup>1</sup>, FAN Gang<sup>2\*</sup>, ZHANG Yi<sup>2</sup>

(1. College Pharmacy, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine (TCM), Chengdu 611137, China;

2. School of Ethnic Medicine, Chengdu University of TCM, Chengdu 611137, China)

**[Abstract]** **Objective:** The HPLC fingerprinting of *Swertia mussotii* was established to study the correlation between chemical components and ecological factors in different areas. **Method:** The fingerprint of *S. mussotii* was established by high performance liquid chromatography (HPLC), and the evaluation and analysis were made based on the "Chinese Medicine Chromatographic Fingerprint Similarity Evaluation System 2004A Edition" promulgated by the National Pharmacopoeia Commission. The analysis was carried out on a Wondasil C<sub>18</sub> column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), with methanol-0.2% phosphoric acid as the mobile phase for gradient elution, and the column temperature was set at 30 °C. The flow rate was 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, and the detection wavelength was set at 245 nm. And data on ecological factors in each sample habitat, such as climate and soil, were collected. The gray correlation and bivariate analysis were carried out on the chemical constituents and ecological factors of medicinal materials in different areas using DPS data processing system and SPSS 21.0

**[收稿日期]** 20181103(018)

**[基金项目]** 四川省教育厅重点项目(17ZA0158); 成都中医药大学科技发展基金项目(ZRQN1637)

**[第一作者]** 杜欢, 在读硕士, 从事中药及民族药质量控制研究, Tel: 028-61800160, E-mail: Dave911dh@163.com

**[通信作者]** \* 范刚, 博士, 副研究员, 从事民族药质量控制及药效物质基础研究, Tel: 028-61800160, E-mail: fangang1111@163.com

statistical software. **Result:** The HPLC fingerprint of *S. mussotii* was established, a total of 12 common fingerprint peaks were marked, and the chemical constituent of the seven peaks were determined. The chemical constituents, such as swertiamain and mangiferin of *S. mussotii*, were significantly correlated with ecological factors. Moreover, the chemical constituents were obviously affected by the monthly average temperature range, annual precipitation, precipitation seasonality in the climatic factors, the soil organic carbon ratio and soil pH in the soil factors. **Conclusion:** The chemical constituents of *S. mussotii* have a correlation with the external ecological factors, the findings could provide a basis for the artificial planting of the medicinal material and the scientific connotation of the "environment-based" theory for Tibetan medicines.

[**Key words**] Tibetan medicine; *Swertia mussotii*; chemical constituent; fingerprint; ecological factors

藏族医药历史悠久,在长期的实践过程中形成了自己独特的理论体系,如“三因学说”“五源学说”“生地性”等理论。其中,“生地性”是藏族药基础理论的重要组成部分,为藏族药本质性能之一,其核心内容在《晶珠本草》中得到阐述<sup>[1]</sup>:“生长在雪山、高山的阴凉之地的药物,具有月亮之力,非常寒凉;生于该地的凉药是药生适地,质佳,为上品;生于该地的热药是生不适地,效力很差,不可入药。生于山坡之阳和山沟温暖地方的药物,具有太阳之力,非常温暖;生于该地的热药是药生适地,质佳,为上品;生于该地的凉药是生不适地,效力很差,不可入药。”从“药生适地”“生不适地”等词语可以看出,藏族药理论特别强调药物生地(生长地方)的重要性,认为药材的质量与所生长之地的自然环境有密切的关系。因此,研究藏族药材的化学成分与生态因子的相关性,对于传承和发展藏族药“生地性”理论有重要的意义。

川西獐牙菜为临床常用藏族药材<sup>[2-4]</sup>,是“蒂达”主流基原品种之一,收载于《部颁标准·藏药分册》。川西獐牙菜具有清肝利胆、退诸热的功效,常用于治疗黄疸性肝炎、病毒性肝炎、胆囊炎等疾病<sup>[5]</sup>。现代药理学研究表明<sup>[6-7]</sup>,川西獐牙菜对肝损伤性黄疸、急性肝损伤、免疫性肝损伤等均有较好的保护作用,并能抑制乙酸所致的炎性疼痛。此外,川西獐牙菜已被证明含有多种不同类型的化合物<sup>[8]</sup>,如獐牙菜苦苷、芒果苷、龙胆苦苷等。目前,川西獐牙菜药材的质量评价主要是以这些成分为指标进行含量测定或指纹图谱研究<sup>[9-15]</sup>。然而,不同产地药材的化学成分与生长环境相关性研究还未见文献报道。本文建立了川西獐牙菜药材的 HPLC 指纹图谱,并采用统计学方法,对不同产地药材的化学成分与生态因子进行相关性研究,为诠释藏族药“生地性”理论及川西獐牙菜药材的人工种植提供科学依据。

## 1 材料

1260 型高效液相色谱仪(配备二极管阵列(DAD)检测器 Agilent);BP121s 型电子天平(北京赛多利斯科学仪器有限公司);ULUP-I-10T 型优普超纯水机(成都超纯科技有限公司);CQ-250 型超声波清洗器(上海必能信有限公司);TDZ5-WS 型台式低速离心机(湖南湘仪实验室仪器开发有限公司)。獐牙菜苦苷、獐牙菜苷、龙胆苦苷对照品(成都瑞芬思生物科技有限公司,批号分别为 Z-002-170426,Z-009-161216,L-005-170824),芒果苷,8-羟基-1,3,5-三甲氧基吡啶,1,8-二羟基-3,7-二甲氧基吡啶,1,8-二羟基-3,5-二甲氧基吡啶对照品由重庆市中药研究院罗维早研究员提供,经 HPLC 检测纯度均 >98%。磷酸、乙醇均为分析纯,甲醇为色谱纯,实验用水为超纯水。本研究共收集了 20 批药材,主要来自于西藏、青海、四川等地,经成都中医药大学范刚副研究员鉴定为龙胆科獐牙菜属川西獐牙菜 *Swertia mussotii* 的干燥全草,详见表 1。

## 2 方法与结果

**2.1 色谱条件** 采用 Wondasil C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 250 mm,5 μm),柱温 30 ℃,流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>,检测波长 254 nm,流动相 0.2% 磷酸水溶液(A)-甲醇(B)梯度洗脱(洗脱程序为 0~20 min,25%~55% B;20~30 min,55%~80% B;30~40 min,80%~95% B),进样量 10 μL,采样时间 50 min。

**2.2 对照品溶液的制备** 称取各对照品适量,精密称定,分别用甲醇溶解制成每 1 mL 含有芒果苷 0.474 mg,獐牙菜苦苷 0.346 mg,獐牙菜苷 0.929 mg,龙胆苦苷 0.378 mg,8-羟基-1,3,5-三甲氧基吡啶 0.898 mg,1,8-二羟基-3,7-二甲氧基吡啶 0.711 mg,1,8-二羟基-3,5-二甲氧基吡啶 0.018 mg 的混合对照品溶液,摇匀,过 0.45 μm 微孔滤膜,取续滤液,即得,储存在 4 ℃ 的冰箱中,备用。

**2.3 供试品溶液的制备** 取川西獐牙菜药材粉末

表 1 不同产地川西獐牙菜药材来源

Table 1 Source of different area of *Swertia mussotii*

No.	采集地	经度	纬度	海拔/m
CXZ-1	青海省玉树州仲达乡	99°22'57"	31°50'29"	3 580
CXZ-2	青海省玉树州通天河	97°14'84"	33°00'49"	3 490
CXZ-3	四川省阿坝州马尔康县城后山	102°22'43"	31°89'93"	2 733
CXZ-4	四川省阿坝州马尔康县梦笔山	102°16'47"	31°49'15"	2 896
CXZ-5	青海省大通县宝库乡	101°50'05"	37°24'11"	2 441
CXZ-6	四川石渠县洛须区正斗乡	97°39'29"	32°22'99"	3 420
CXZ-7	青海省大通县达坂山	101°76'84"	37°18'79"	3 178
CXZ-8	四川省甘孜州康定县	101°57'37"	30°01'62"	2 690
CXZ-9	四川省甘孜州道孚县孔色乡	100°94'07"	31°14'37"	2 946
CXZ-10	西藏昌都地区柴维乡	97°15'36"	31°54'32"	3 326
CXZ-11	四川阿坝州红原县刷经寺	102°55'84"	32°09'44"	3 429
CXZ-12	四川甘孜州康定县新都桥	101°84'54"	30°09'03"	3 011
CXZ-13	青海省门源县花儿沟	101°68'26"	37°71'23"	2 795
CXZ-14	青海省泽库县麦秀乡	102°41'66"	35°42'87"	3 065
CXZ-15	青海省果洛州玛沁县大武镇	100°45'03"	34°69'17"	3 734
CXZ-16	四川甘孜州康定县雅拉乡	101°83'72"	30°28'31"	3 226
CXZ-17	四川甘孜州康定县折多山	102°25'34"	30°60'24"	3 216
CXZ-18	四川省甘孜州炉霍县仁达乡	100°43'72"	31°47'86"	3 145
CXZ-19	青海省果洛州玛沁县拉加镇	101°05'45"	35°12'36"	3 292
CXZ-20	青海省大通县老谷山	102°16'76"	37°55'24"	2 903

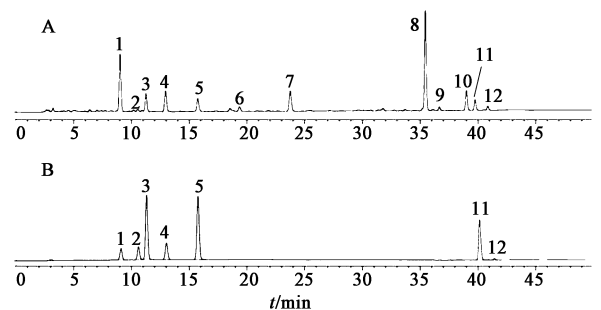
0.2 g, 精密称定, 置锥形瓶中, 加入 70% 甲醇溶液 30 mL, 称定质量, 超声提取 45 min, 放冷, 用 70% 甲醇溶液补足质量, 离心处理 (4 000 r · min<sup>-1</sup>, 10 min), 取上清液 10 mL, 过 0.45 μm 微孔滤膜, 取续滤液, 即得。

**2.4 精密度考察** 取同一批样品 (批号 CXZ-1), 按 2.3 项下方法制备, 并在上述色谱条件下, 连续测定 6 次, 记录各共有色谱峰的相对保留时间和相对保留峰面积, 各共有峰的相对保留时间 RSD 均 < 0.1%; 共有峰相对峰面积 RSD 均 < 1.2%, 证明仪器精密度良好, 符合指纹图谱技术要求。

**2.5 稳定性考察** 取同一批样品 (批号 CXZ-1), 按 2.3 项下方法制备, 并在上述色谱条件下分别在 0, 2, 4, 8, 12, 24 h 进行分析, 记录各共有色谱峰的相对保留时间和相对保留峰面积, 各共有峰的相对保留时间 RSD 均 < 0.1%; 共有峰相对峰面积 RSD 均 < 1.7%, 证明样品在 24 h 内稳定, 符合指纹图谱技术要求。

**2.6 重复性考察** 取同一批样品 (批号 CXZ-1) 6 份, 按 2.3 项下方法制备, 并在上述色谱条件下进行分析, 记录各共有色谱峰的相对保留时间和相对保留峰面积, 各共有峰的相对保留时间 RSD 均 < 0.2%; 共有峰相对峰面积 RSD 均 < 2.8%, 符合指纹图谱技术要求。

**2.7 川西獐牙菜药材 HPLC 指纹图谱的建立** 按 2.3 项下方法制备 20 批川西獐牙菜药材的供试品溶液, 并在上述的色谱条件下进行测定。将得到的 20 批川西獐牙菜的色谱图的 AIA 数据文件导入国家药典委员会“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”2004A 版系统评价软件, 设置多点校正, 采用中位数法生成对照图谱, 时间窗宽度为 1.0 s, 自动匹配, 生成对照指纹图谱。此外, 选择稳定性、重复性和分离度较好的色谱峰为共有峰, 最终标定 12 个特征峰, 其共有峰峰面积占总峰面积的 90% 以上。通过与对照品比对, 确定其中 1 号峰为獐牙菜苦苷, 2 号峰为龙胆苦苷, 3 号峰为獐牙菜苷, 4 号峰为芒果苷, 5 号峰为 8-羟基-1,3,5-三甲氧基吡啶, 11 号峰为 1,8-二羟基-3,7-二甲氧基吡啶, 12 号峰为 1,8-二羟基-3,5-二甲氧基吡啶, 标准指纹图谱见图 1。由于 4 号峰分离度好, 无杂质干扰, 峰面积与出峰时间适中并且化学性质稳定, 故以 4 号色谱峰 (芒果苷峰) 为参照峰 (S), 指定其相对峰面积值为 1.000, 计算指纹图谱中其他共有特征峰的相对峰面积, 见表 2。



A. 标准指纹谱; B. 混合对照品; 1. 獐牙菜苦苷; 2. 龙胆苦苷; 3. 獐牙菜苷; 4. 芒果苷; 5. 8-羟基-1,3,5-三甲氧基吡啶; 11. 1,8-二羟基-3,7-二甲氧基吡啶; 12. 1,8-二羟基-3,5-二甲氧基吡啶

图 1 川西獐牙菜药材 HPLC 指纹谱

Fig. 1 HPLC fingerprint of *Swertia mussotii*

**2.8 不同产地川西獐牙菜生态因子数据的收集** 研究使用的 33 个生态因子, 其中 19 个气候因子 (将海拔暂归于气候因子中, 便于比较) 来源于全球气候数据库 (Worldclim; <http://www.worldclim.org/>) 1950—2000 年监测数据的平均值, 精度 2.5

表 2 川西獐牙菜 HPLC 指纹图谱共有峰相对峰面积

Table 2 Relative peak area of common peaks in fingerprint of *Swertia mussotii*

No.	1	2	3	5	6	7	8	9	10	11	12
CXZ-1	0.007	0.024	0.048	0.133	0.000	0.000	0.026	0.117	0.037	0.105	0.020
CXZ-2	0.010	0.101	0.100	0.217	0.005	0.000	0.054	0.093	0.041	0.085	0.022
CXZ-3	2.132	0.081	0.723	0.580	0.250	0.826	2.761	0.113	0.956	0.496	0.131
CXZ-4	1.105	0.250	0.092	0.692	0.379	0.178	2.188	0.092	1.230	0.561	0.151
CXZ-5	2.223	0.096	0.701	0.546	0.218	0.881	3.898	0.116	1.024	0.667	0.167
CXZ-6	0.016	0.188	0.096	0.194	0.000	0.023	0.028	0.113	0.065	0.142	0.059
CXZ-7	0.012	0.106	0.156	0.174	0.005	0.000	0.044	0.092	0.026	0.051	0.021
CXZ-8	0.012	0.106	0.112	0.200	0.000	0.000	0.042	0.105	0.041	0.125	0.024
CXZ-9	0.036	0.517	0.064	0.220	0.000	0.000	0.073	0.197	0.011	0.055	0.000
CXZ-10	1.387	0.038	0.511	0.400	0.318	1.095	4.531	0.223	1.454	1.130	0.295
CXZ-11	2.282	0.143	0.745	0.701	0.246	0.459	4.153	0.092	0.698	0.490	0.180
CXZ-12	0.019	0.066	0.152	0.176	0.000	0.000	0.042	0.142	0.035	0.087	0.027
CXZ-13	0.020	0.062	0.107	0.208	0.012	0.000	0.046	0.127	0.042	0.120	0.024
CXZ-14	0.013	0.022	0.025	0.185	0.002	0.000	0.057	0.083	0.033	0.105	0.025
CXZ-15	2.368	0.108	0.793	0.625	0.237	1.067	3.893	0.149	0.817	0.429	0.168
CXZ-16	0.014	0.091	0.176	0.166	0.000	0.034	0.132	0.041	0.000	0.103	0.033
CXZ-17	0.025	0.133	0.055	0.210	0.000	0.000	0.090	0.146	0.097	0.155	0.059
CXZ-18	0.020	0.085	0.113	0.224	0.000	0.000	0.046	0.161	0.045	0.132	0.026
CXZ-19	0.340	0.122	0.172	0.314	0.032	0.073	0.527	0.152	0.144	0.176	0.081
CXZ-20	0.014	0.030	0.009	0.213	0.000	0.000	0.061	0.095	0.021	0.121	0.050

注:4 号峰均为 1.000。

弧分; 14 个土壤数据来自世界土壤数据库 (Harmonized World Soil Database; <http://web.archive.iiasa.ac.at/Re...TML/index.html?sb=1>)。上述数据坐标系为 WGS84, 图层栅格大小约为 1 km, 生态因子中温度数值(℃)为实际数值的 10 倍。

**2.9 不同产地川西獐牙菜化学成分与生态因子相关性** 收集整理 20 批样品的气候因子以及土壤因子数据, 以川西獐牙菜 HPLC 指纹图谱中共有峰的峰面积和生态因子为变量, 对两者进行灰色关联度以及双变量相关性分析。灰色关联度采用 DPS 数据处理系统分析, 双变量相关性采用 SPSS 21.0 统计软件分析。借助两种相关性分析结果进行相互补充论证, 进而为川西獐牙菜化学成分与生态因子相关性提供准确、科学的数据支撑。

**2.9.1 灰色关联度分析** 运用灰色关联法分别计算 12 个化学成分的峰面积与 19 个气候因子, 14 个土壤因子的关联系数与关联度并排序, 最终根据上述关联度与关联序的数据, 整理出与指纹图谱中各峰峰面积

关联度最大的 10 个气候因子和 10 个土壤因子, 见表 3。其中气温季节性、海拔、土壤有机碳比例和土壤酸碱度对川西獐牙菜化学成分的影响最大。

表 3 关联度最大的 10 个气候因子和 10 个土壤因子

Table 3 Top 10 climatic factors and top 10 soil factors with highest correlation

相关序数	气候因子	土壤因子
1	气温季节性	土壤中有机碳比例(T_OC_100)
2	海拔	土壤酸碱度(T_PH_H2O_1)
3	最湿季均温	土壤导电率(T_ECE_10)
4	最干季均温	土壤中阳离子交换总量(T_TEB_10)
5	最暖月均温	土壤质地(T_USDA_TEX)
6	降水季节性	土壤基础饱和度(T_BS)
7	月均温范围	土壤的容积密度(T_REF_BULK)
8	最干季降水	土壤中泥沙比例(T_SILT)
9	最冷季均温	土壤中黏粒组的阳离子交换能力(T_CEC_CLAY)
10	年降水量	土壤中可交换的钠离子(T_ESP)

**2.9.2 双变量分析** 拟用双变量相关性分析方法,进一步探究川西獐牙菜中化学成分与生态因子的相关性,以不同地区川西獐牙菜的 HPLC 指纹图谱峰面积数据为  $X$  值,并按照出峰顺序表示为  $X_1, X_2, X_3, \dots, X_{12}$ ;以各个不同的生态因子参数为  $Y_1 \dots Y_n$  值。用 SPSS 21.0 统计软件进行双变量相关分析,整理归纳与化学成分具有显著相关性的生态因子,详细 Pearson 相关系数见表 4,5。

表 4 各色谱峰与气候因子的 Pearson 相关系数

Table 4 Pearson correlation coefficient of chromatographic peak and climatic factors

峰号	最暖月最高	月均温范围	年降水量	等温性	降水季节性
1	0.282	0.526 <sup>1)</sup>	0.003	0.357	-0.487 <sup>1)</sup>
2	-0.187	-0.251	0.421	-0.058	0.326
3	0.225	-0.212	0.326	-0.147	-0.068
4	-0.048	-0.468 <sup>1)</sup>	-0.026	-0.515 <sup>1)</sup>	0.375
5	0.014	-0.395	-0.099	-0.541 <sup>1)</sup>	0.313
6	0.485 <sup>1)</sup>	0.515 <sup>1)</sup>	-0.145	0.384	-0.601 <sup>2)</sup>
7	0.162	0.494 <sup>1)</sup>	0.037	0.280	-0.498 <sup>1)</sup>
8	0.335	0.533 <sup>1)</sup>	-0.126	0.371	-0.557 <sup>1)</sup>
9	-0.257	-0.530 <sup>1)</sup>	0.045	-0.550 <sup>1)</sup>	0.480 <sup>1)</sup>
10	0.446 <sup>1)</sup>	0.510 <sup>1)</sup>	-0.184	0.373	-0.626 <sup>2)</sup>
11	0.114	-0.290	-0.263	-0.479 <sup>1)</sup>	-0.074
12	-0.150	-0.232	-0.449 <sup>1)</sup>	-0.451 <sup>1)</sup>	0.104

注: <sup>1)</sup>  $P < 0.05$ , <sup>2)</sup>  $P < 0.01$  (表 5 同)。

表 5 各色谱峰与土壤因子的 Pearson 相关系数

Table 5 Pearson correlation coefficient of chromatographic peak and soil factors

峰号	T_CACO3_10	T_CEC_SOIL	T_ESP	T_TEB_10	T_OC_100	T_PH_H2O_1
1	-0.296	0.580 <sup>2)</sup>	-0.203	0.578 <sup>2)</sup>	0.586 <sup>2)</sup>	-0.265
2	0.004	-0.280	0.133	-0.222	-0.264	0.010
3	0.048	0.192	0.409	0.218	0.205	0.015
4	0.591 <sup>2)</sup>	-0.232	0.492 <sup>1)</sup>	-0.263	-0.245	0.484 <sup>1)</sup>
5	0.536 <sup>1)</sup>	-0.150	0.457 <sup>1)</sup>	-0.153	-0.157	0.461 <sup>1)</sup>
6	-0.199	0.395	-0.110	0.392	0.395	-0.128
7	-0.271	0.559 <sup>1)</sup>	-0.272	0.542 <sup>1)</sup>	0.568 <sup>2)</sup>	-0.314
8	-0.308	0.382	-0.245	0.378	0.386	-0.259
9	0.442	-0.301	0.269	-0.326	-0.317	0.345
10	-0.197	0.442	-0.150	0.444 <sup>1)</sup>	0.440	-0.134
11	0.321	0.015	0.097	0.012	-0.019	0.328
12	-0.035	-0.079	-0.090	-0.039	-0.085	-0.039

注: T\_CACO3\_10. 土壤中碳酸钙含量; T\_CEC\_SOIL. 土壤的阳离子交换能力; T\_ESP. 土壤中可交换的钠离子; T\_TEB\_10. 土壤中总可交换碱; T\_OC\_100. 土壤中有机碳比例; T\_PH\_H2O\_1. 土壤酸碱度。

由表 4 可以看出,各色谱峰峰面积与诸多气候因子中的最暖月最高温、月均温范围、等温性、年降水量以及降水季节性有显著的相关性,其中最暖月最高温与峰 6 和峰 10 有显著地相关性,月均温范围与峰 1,4,8,9,10 有着显著的相关性(其中 1 号峰为獐牙菜苦苷,4 号峰为芒果苷),年降水量与峰 12 有显著的相关性(12 号峰为 1,8-二羟基-3,5-二甲氧基酮),等温性与峰 4,5,9,11,12 有显著的相关性(5 号峰为 8-羟基-1,3,5-三甲氧基酮,11 号峰为 1,8-二羟基-3,7-二甲氧基酮),降水季节性与峰 1,7,8,9 有显著的相关性,与峰 6 和峰 10 有着极显著的相关性,总体来看,峰 1,4,9,10 的峰面积受气候因子的影响更大。

从表 5 可以看出,各色谱峰峰面积与诸多土壤因子中的土壤中碳酸钙含量、土壤的阳离子交换能力、土壤中可交换的钠离子、土壤中总可交换碱、土壤中有机碳比例、土壤酸碱度有显著的相关性,其中土壤中碳酸钙含量与峰 4,峰 5 有显著的相关性,土壤的阳离子交换能力、土壤中有机碳比例与峰 1,7 有显著的相关性;土壤中总可交换碱与峰 1,7 和 10 有显著的相关性,土壤酸碱度与峰 4,5 有显著相关性。可见川西獐牙菜药材中的獐牙菜苦苷含量受这三种土壤因子的影响十分明显,总的来说,峰 1,4,5,7,10 峰面积要受土壤因子的影响更大。

结合灰色关联度与双变量分析结果可看出,在 33 个生态因子中,川西獐牙菜化学成分(尤其是峰 1,4,10,1 号峰为獐牙菜苦苷,4 号峰为芒果苷)峰面积受月均温范围、降水季节性、年降水量、土壤酸碱度和土壤中有机碳比例的影响更大,而其他生态因子与化学成分也具有一定的相关性。

### 3 讨论

为建立川西獐牙菜的 HPLC 指纹图谱,本研究对样品提取方法、提取溶媒等条件进行了考察,结果发现冷浸效率较低,而回流与超声提取效果并无明显差异,故最终选择超声提取;提取溶媒考察了不同比例的甲醇、乙醇溶液和水等溶剂,结果发现 70% 甲醇提取效果最佳。本研究对 HPLC 色谱条件进行了优化,分别考察样品在 215,254,280,320 nm 检测波长下的吸收情况,最终发现在 254 nm 波长的吸收最佳;此外,还考察了甲醇-纯水、甲醇-0.2% 磷酸溶液、乙腈-纯水、乙腈-0.2% 磷酸溶液等不同流动相对川西獐牙菜化学成分分离效果的影响,结果发现甲醇-0.2% 磷酸溶液作为流动相最佳。

通过灰色关联度和双变量分析,本研究发现川

西獐牙菜中的大部分化学成分均与外部生态因子有不同程度的相关性,其中以獐牙菜苦苷、芒果苷相关性最大,表明这两个成分的含量明显受外部生态因子的影响。据文献报道<sup>[16-20]</sup>,獐牙菜苦苷、芒果苷均具有明显的保肝利胆作用,被认为是川西獐牙菜药材的主要有效成分。因此,不同产地川西獐牙菜生态因子的改变,可引起有效成分发生变化,从而影响药材的质量。此外,可将獐牙菜苦苷、芒果苷作为评价指标,进一步研究各生态因子对川西獐牙菜化学成分的代谢、积累的影响机制。

藏族药“生地性”理论的核心思想旨在强调藏药材外部生长环境对药材质量的影响。本文以川西獐牙菜药材为研究对象,收集了不同产地药材的气候、土壤等生态因子数据,并与川西獐牙菜药材 HPLC 指纹图谱中 12 个特征峰的峰面积进行相关性分析。结果表明 19 个气候因子和 14 个土壤因子均与川西獐牙菜中的化学成分有不同程度的相关性,其中以月均温范围、年降水量、土壤有机碳比例等相关性最为显著。由此可见,川西獐牙菜的化学成分的确受到外部生态因子的影响,初步阐释了藏族药“生地性”理论的科学内涵。此外,本研究发现了几个明显影响川西獐牙菜化学成分的生态因子,这可为其人工种植选址、栽培条件选择和优质培育提供参考。

#### [参考文献]

[1] 蒂玛尔·丹增彭措. 晶珠本草[M]. 毛继祖, 罗尚达, 王振华, 等. 译. 上海: 上海科学技术出版社, 1986.

[2] 钟国跃, 王昌华, 刘翔, 等. 常用藏药“蒂达(藏茵陈)”的资源与使用现状调查[J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2010, 12(1): 122-128.

[3] 文检, 张艺, 刘川, 等. 藏药“蒂达”的基原、药效及功效的考证[J]. 中国中药杂志, 2016, 41(4): 609-612.

[4] 董永波, 罗瑶, 祝聪, 等. 遥感和 GIS 在四川省中藏药川西獐牙菜适宜性分布研究中的应用[J]. 中国中药杂志, 2017, 42(22): 4387-4394.

[5] 中华人民共和国卫生部药典委员会. 中华人民共和国卫生部药品标准·藏药. 第一册[M]. 北京: 中华人民共和国卫生部药典委员会, 1995.

[6] 杨红霞, 李岑, 高婷婷, 等. 野生和栽培川西獐牙菜醇提物红外光谱分析及药效比较研究[J]. 天然产物研究与开发, 2016, 28(1): 112-119.

[7] 孟宪华, 陈德道, 张樱山, 等. 川西獐牙菜的化学成分、药理作用和临床应用研究进展[J]. 现代药物与临床, 2012, 27(2): 176-179.

[8] 井灵, 张玉娟, 陈志. 川西獐牙菜的化学成分及药理研究进展[J]. 青海农林科技, 2014(4): 55-57.

[9] 田成旺, 张铁军, 蒋伶活. 藏药川西獐牙菜的质量标准研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(4): 75-78.

[10] 范刚, 周向东, 罗维早, 等. 川西獐牙菜的<sup>1</sup>H-NMR 指纹图谱研究[J]. 成都中医药大学学报, 2013, 36(3): 1-3.

[11] FAN G, LUO W Z, LUO S H, et al. Metabolic discrimination of *Swertia mussotii* and *Swertia chirayita* known as “Zangyinchen” in traditional Tibetan medicine by <sup>1</sup>H-NMR-based metabolomics[J]. J Pharm Biomed Anal, 2014, 98: 364-370.

[12] 马玉花, 陈桂琛, 吉文鹤, 等. 川西獐牙菜中不同部位 3 种药用成分的反相高效液相色谱测定[J]. 药物分析杂志, 2005, 25(9): 1079-1081.

[13] 杨红霞, 马芳, 杜玉枝, 等. 藏药川西獐牙菜及其不同提取物的红外光谱分析[J]. 光谱学与光谱分析, 2014, 34(11): 2973-2977.

[14] 杨红霞, 魏立新, 杜玉枝, 等. 不同海拔川西獐牙菜中药用成分的 HPLC 分析[J]. 中药材, 2010, 33(6): 867-869.

[15] YANG H, DING C, DUAN Y, et al. Variation of active constituents of an important Tibet folk medicine *Swertia mussotii* Franch. (Gentianaceae) between artificially cultivated and naturally distributed [J]. J Ethnopharmacol, 2005, 98(1/2): 31-35.

[16] 卫双连, 汪杰, 李德民. 獐牙菜苦苷对大鼠胆汁淤积性肝损伤肝纤维化的抑制作用[J]. 世界华人消化杂志, 2016, 24(23): 3482-3487.

[17] 白梅荣, 巴根那, 拉喜那木吉拉, 等. 地格达-4 味汤中獐牙菜苦苷在急性肝损伤模型大鼠体内药代动力学研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(6): 125-128.

[18] 陈康, 吴涛, 宋红萍. 獐牙菜苦苷的药理作用研究进展[J]. 现代药物与临床, 2016, 31(10): 1684-1688.

[19] 田成旺. 藏茵陈的利胆退黄药效物质鉴定及其药物代谢和药理作用研究[D]. 天津: 天津大学, 2014.

[20] 廖洪利, 吴秋业, 叶光明, 等. 芒果苷药理研究进展[J]. 天津药学, 2005, 17(2): 50-52.

[责任编辑 顾雪竹]