壮药华佗豆不同极性部位HPLC指纹图谱的建立及其镇痛抗炎作用的谱效关系Δ

林　婧[1,2*]，梁　洁[1,3,4#]，黄春燕[5]，韦金玉[1]，黄冬芳[1]，胡　珏[1]，祁金丽[1]，陈辉华[1]（1.广西中医药大学药学院，南宁 530200；2.广西农业职业技术学院药学系，南宁　530007；3.广西壮瑶药工程技术研究中心，南宁　530200；4.广西优势中成药与民族药开发工程技术研究中心，南宁　530200；5.钦州市检验检测院，广西 钦州　535000）

中图分类号　R284.1；R285　　**文献标志码**　A　　**文章编号**　1001-0408（2021）17-2079-06
DOI　10.6039/j.issn.1001-0408.2021.17.06

摘　要　目的：建立壮药华佗豆不同极性部位的高效液相色谱（HPLC）指纹图谱，并研究其与镇痛抗炎作用的谱效关系。方法：制备华佗豆总部位及乙酸乙酯、正丁醇、水部位。采用HPLC法进行测定并结合《中药色谱指纹图谱相似度评价系统》（2012A版）建立不同极性部位的HPLC指纹图谱，并进行共有峰指认。以小鼠扭体次数和耳肿胀度为镇痛抗炎指标，考察华佗豆不同极性部位的镇痛抗炎活性；采用灰色关联度分析法、双关变量分析法、偏最小二乘法（PLS）分析各极性部位HPLC指纹图谱中共有峰与镇痛抗炎指标的相关性。结果：华佗豆不同极性部位共有11个共有峰，指认了5个成分，分别为新绿原酸（3号峰）、绿原酸（5号峰）、隐绿原酸（6号峰）、异绿原酸A（10号峰）、异绿原酸C（11号峰）。经灰色关联度分析发现，所有共有峰与镇痛抗炎作用的关联度均大于0.6（除6号峰与镇痛作用的关联度外），呈相关性；3、7、10号峰与镇痛抗炎作用的关联度均大于0.8，呈高度相关性。经双关变量分析发现，1、3、4、7、9、10、11号峰与镇痛抗炎作用的相关系数均大于0.6，呈相关性。经PLS分析发现，1、3、4、7、9、10、11号峰对镇痛抗炎作用的影响较大。结论：建立了华佗豆不同极性部位的HPLC指纹图谱并指认了5个共有峰成分；新绿原酸、异绿原酸A、异绿原酸C以及1、4、7、9号峰所代表的化学成分可能是华佗豆发挥镇痛抗炎作用的药效物质。

关键词　华佗豆；镇痛抗炎；指纹图谱；谱效关系

Establishment of HPLC Fingerprint of Different Polar Parts of Zhuang Medicine *Calonyction muricatum* and Spectrum-effect Relationship of Its Analgesic and Anti-inflammatory Effects

LIN Jing[1, 2], LIANG Jie[1, 3, 4], HUANG Chunyan[5], WEI Jinyu[1], HUANG Dongfang[1], HU Jue[1], QI Jinli[1], CHEN Huihua[1]（1. School of Pharmacy, Guangxi University of TCM, Nanning 530200, China; 2. Dept. of Pharmacy, Guangxi Agricultural Vocational College, Nanning 530007, China; 3.Guangxi Zhuang Yao Medicine Center of Engineering and Technology, Nanning 530200, China; 4. Guangxi Superior Chinese Patent Medicine and Ethnic Medicine Development Engineering Technology Center, Nanning 530200, China; 5. Qinzhou Inspection and Test Institute, Guangxi Qinzhou 535000, China）

ABSTRACT　OBJECTIVE: To establish HPLC fingerprints of different polar parts of Zhuang medicine *Calonyction muricatum*, and to study its spectrum-effect relationship with analgesic and anti-inflammatory effects. METHODS: The total part, ethyl acetate part, *n*-butanol part and water part of *C. muricatum* were prepared. HPLC fingerprints of different polar parts were established by HPLC method combined with the *Similarity Evaluation System of TCM Chromatogramtic Fingerprint* (2012A), and the common peaks were identified. Using writhing times and ear swelling degree in mice as analgesic and anti-inflammatory indexes, analgesic and anti-inflammatory activity of different polar parts of *C. muricatum* were investigated. The correlation of the common peaks of HPLC fingerprint with analgesic and anti-inflammatory indexes was analyzed by grey correlation analysis, bivariate correlation analysis and partial least square (PLS) method. RESULTS: There were 11 common peaks for the different polar parts of *C. muricatum*, and 5 components were identified by reference comparison, i.e. neochlorogenic acid (peak 3), chlorogenic acid (peak 5), cryptochlorogenic acid (peak 6), isochlorogenic acid A (peak 10), isochlorogenic acid C (peak 11). The grey correlation analysis showed that the correlation between all common peaks and analgesic and anti-inflammatory effects were greater than 0.6 (except the

Δ 基金项目：广西科技基地和人才专项（No.桂科AD20238058）；广西高校高水平创新团队及卓越学者计划项目（No.桂教师范〔2019〕52号）；广西高等学校千名中青年骨干教师培育计划（No.桂教人〔2019〕5号）；广西中医药大学研究生教育创新计划项目（No.YCSY-2020012）；广西一流学科建设开放课题（No.2019XK121）

＊助教，硕士。研究方向：中药、民族药质量控制。电话：0771-4953513。E-mail：linjing20182018@126.com

＃通信作者：教授，硕士生导师，博士。研究方向：中药药效物质基础与质量控制。电话：0771-4953513。E-mail：liangjie1101@126.com

correlation between peak 6 and analgesic effects), showing correlation relationship; the correlation of peaks 3, 7 and 10 with analgesic and anti-inflammatory effects were all greater than 0.8, which was highly related. Bivariate correlation analysis showed that the correlation of peak 1, 3, 4, 7, 9, 10, 11 with analgesic and anti-inflammatory effects were all greater than 0.6, showing correlation relationship. PLS method showed that peaks 1, 3, 4, 7, 9, 10, 11 contributed greatly to playing an analgesic and anti-inflammatory role. CONCLUSIONS: HPLC fingerprints of different polar parts of *C. muricatum* is established and five common peak components were identified. Neochlorogenic acid, isochlorogenic acid A, isochlorogenic acid C and chemical components represented by peaks 1, 4, 7, 9 may be the pharmacodynamic substances of *C. muricatum* to exert analgesic and anti-inflammatory effects.

KEYWORDS *Calonyction muricatum*; Analgesic and anti-inflammatory; Fingerprint; Spectrum-effect relationship

华佗豆为旋花科植物丁香茄 *Calonyction muricatum*（Linn）G.Don.的种子，壮药名为跌打豆、丁香茄子，始载于《救荒本草》，分布于广西、海南等地[1]；其性寒、味苦，具有镇痛、抗炎、抑菌及止血等药效，是一味具有广西民族特色的中药材，民间常用于治疗跌打损伤、小儿肺炎[2]。研究表明，华佗豆中含生物碱、黄酮类、酚酸类等化学成分[3]。经本课题组前期药理研究发现，华佗豆具有明显的镇痛抗炎作用[4]，但哪些成分起到了主要的药效作用尚不明确。谱效学的广泛应用，为中药的药效物质研究提供了有利手段，通过数理统计模型对指纹图谱和药效指标进行相关分析，可寻找潜在的药效物质基础[5]。基于此，本研究采用高效液相色谱法（HPLC）建立华佗豆不同极性部位的指纹图谱，并考察其镇痛抗炎作用；同时，采用灰色关联度分析、双关变量分析以及偏最小二乘法（PLS）分析，研究华佗豆镇痛抗炎作用与指纹图谱共有峰之间的相关性，以期为进一步阐明华佗豆的药效物质基础提供参考。

1 材料

1.1 主要仪器

本研究所用的Waters 2695型HPLC仪，包括Waters 2998检测器、Empower色谱工作站，均购自美国Waters公司；H1650-W型医用离心机购自湘仪离心机仪器有限公司；KQ5200B型超声清洗仪购自昆山超声仪器有限公司；RE-52型旋转蒸发仪购自上海亚荣生化仪器厂；XSR205DU型十万分之一天平购自瑞士Mettler Toledo公司。

1.2 主要药品与试剂

华佗豆采自广西金秀县，经广西中医药大学药学院滕建北教授鉴定为旋花科植物丁香茄 *C. muricatum*（Linn）G. Don.的干燥种子；新绿原酸对照品（批号RP190416，纯度≥99.48%）、绿原酸对照品（批号RP190505，纯度≥99.97%）、隐绿原酸对照品（批号RP200117，纯度≥99.71%）、异绿原酸A对照品（批号RP190517，纯度≥98.91%）、异绿原酸C对照品（批号RP190609，纯度≥98%）均购自成都麦德生科技有限公司；醋酸地塞米松片（批号191030201，规格0.75 mg）购自辰欣药业股份有限公司；罗通定片（批号200201，规格30 mg）购自四川迪菲特药业有限公司；甲醇、乙腈均为色谱纯，其他试剂为分析纯，水为超纯水。

1.3 动物

本研究所用动物为SPF级昆明种小鼠，体质量18～22 g，购自湖南斯莱克景达实验动物有限公司，动物生产许可证号为SCXK（湘）2019-0004。小鼠饲养于广西中医药大学实验动物中心，饲养期间均自由摄食、饮水。实验过程遵守《广西中医药大学实验动物管理条例》。所有小鼠均适应性喂养7 d后进行后续实验。

2 方法与结果

2.1 华佗豆不同极性部位的制备

将华佗豆粉碎，过二号筛，称取其粉末4 kg，加入7倍量（按L/kg计）的80%乙醇，回流提取3次，每次2 h；过滤，取滤液，经减压浓缩、水浴蒸干后，得总部位浸膏（W_1）778.75 g。将总部位浸膏加入适量水溶解后，依次加入乙酸乙酯、正丁醇萃取3次，将各部位萃取液分别合并，经减压浓缩、水浴蒸干后，得乙酸乙酯部位浸膏（W_2）123.48 g、正丁醇部位浸膏（W_3）50 g、水部位浸膏（W_4）259.07 g，于4 ℃条件下保存。动物实验时，取不同极性部位浸膏适量，加入2%聚山梨酯80制成混悬液，备用。

2.2 华佗豆不同极性部位的HPLC指纹图谱建立

2.2.1 色谱条件 色谱柱为Aigenlun Eclipse PLus C_{18}（250 mm×4.6 mm，4.0 μm）；流动相为乙腈（A）-0.1%磷酸溶液（B），梯度洗脱（0～16 min，5%A→10%A；16～25 min，10%A→12%A；25～32 min，12%A→15%A；32～38 min，15%A→20%A；38～65 min，20%A→30%A；65～70 min，30%A→60%A；70～75 min，60%A→90%A；75～95 min，90%A）；流速为0.6 mL/min；柱温为30 ℃；检测波长为246 nm；进样量为10 μL。

2.2.2 供试品溶液的制备 取“2.1”项下华佗豆不同极性部位浸膏适量，分别加入80%甲醇超声（功率200 W，频率40 kHz）溶解，定容，制成质量浓度均为14 mg/mL

母液（均以浸膏质量计）。取上述母液，以13 000 r/min离心15 min；取上清液，以0.45 μm的微孔滤膜过滤，即得供试品溶液。

2.2.3　混合对照品溶液的制备　分别精密称定新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、异绿原酸A、异绿原酸C的对照品各适量，置于同一量瓶中，以80%甲醇溶解、定容，制成上述成分质量浓度分别为0.035、0.88、0.036、0.08、0.055 mg/mL的混合对照品溶液。

2.2.4　精密度试验　取“2.1”项下华佗豆总部位浸膏适量，按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液，再按“2.2.1”项下色谱条件连续进样测定6次。以5号峰为参照峰（色谱峰峰形较好，下同），计算各共有峰的相对峰面积和相对保留时间。结果显示，各共有峰相对峰面积的RSD为0.03%～2.47%，相对保留时间的RSD为0.01%～1.99%（n=6），表明仪器精密度良好。

2.2.5　重复性试验　取“2.1”项下华佗豆总部位浸膏适量，再按“2.2.2”项下方法平行制备供试品溶液6份，按“2.2.1”色谱条件进样测定，以5号峰为参照峰，计算各共有峰的相对峰面积和相对保留时间。结果，各共有峰的相对峰面积的RSD为0.53%～1.56%，相对保留时间的RSD为0.01%～0.08%（n=6），表明该制备方法重复性良好。

2.2.6　稳定性试验　取“2.1”项下华佗豆总部位浸膏适量，再按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液，于室温下放置0、2、4、8、16、24 h时，再按“2.2.1”项下色谱条件进样测定。以5号峰为参照峰，计算各共有峰相对峰面积和相对保留时间。结果显示，各共有峰相对峰面积的RSD为0.03%～2.88%，相对保留时间的RSD为0.09%～1.45%（n=6），表明该供试品溶液在室温下放置24 h内稳定性良好。

2.2.7　指纹图谱建立　取华佗豆不同极性部位浸膏适量，分别按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液，再按“2.2.1”项下色谱条件进样测定，记录色谱图，见图1。将上述华佗豆不同极性部位的色谱图导入到《中药色谱指纹图谱相似度评价系统》（2012A版）中，以华佗豆总部位的图谱为参照（其峰形较好、峰面积适中、分离度较好），设置时间宽度为0.1 s，经多点校正后进行全峰匹配，得到华佗豆不同极性部位的指纹图谱，详见图2。采用中位数法生成对照图谱R，详见图3。

由图2、图3可知，华佗豆不同极性部位共有11个共有峰。取“2.2.3”项下混合对照品溶液，按“2.2.1”项下色谱条件进样测定，记录色谱图，见图4。通过与图3进行比对，指认共有峰中3号峰为新绿原酸、5号峰为绿原酸、6号峰为隐绿原酸、10号峰为异绿原酸A、11号峰为异绿原酸C。

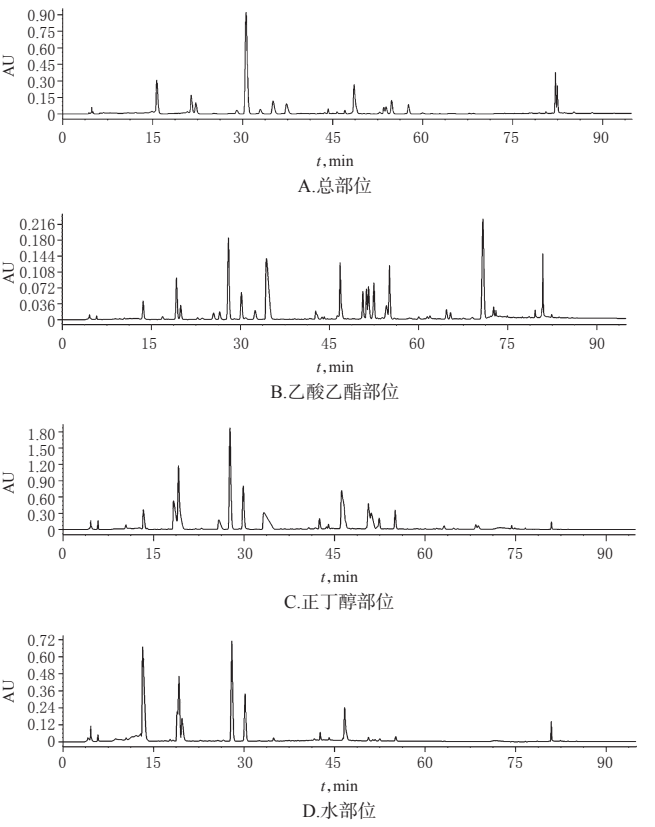


图1　华佗豆不同极性部位的HPLC图

Fig 1　HPLC chromatogram of different polar parts of *C. muricatum*

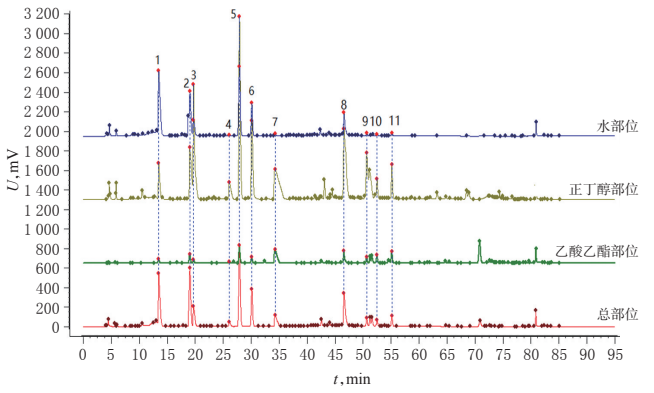


图2　华佗豆不同极性部位的HPLC叠加指纹图谱

Fig 2　HPLC superimposed fingerprint of different polar parts of *C. muricatum*

2.3　华佗豆不同极性部位的镇痛作用考察

将60只小鼠分为空白组、罗通定组（0.03 g/kg）、华佗豆总部位组（25 g/kg，以生药量计，下同）、华佗豆乙酸乙酯部位组（25 g/kg）、华佗豆正丁醇部位组（25 g/kg）、华佗豆水部位组（25 g/kg），每组10只。上述各给药剂量均参考本课题组前期实验结果设置[4]。空白组小鼠灌胃水，其余各组小鼠灌胃相应药物，灌胃体积为2 mL/g，每天1次，连续给药3 d。末次给药后1 h，各组小鼠腹腔注射0.7%醋酸溶液，并观察其20 min内的扭体次数。采

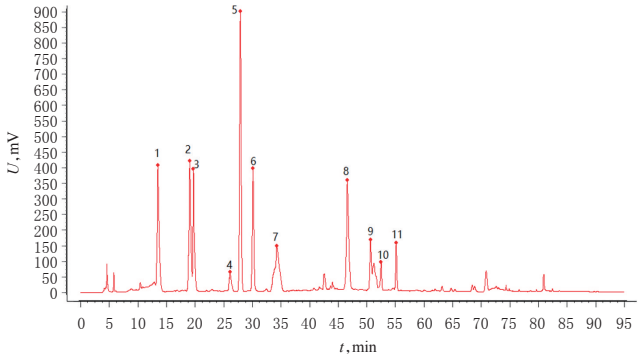
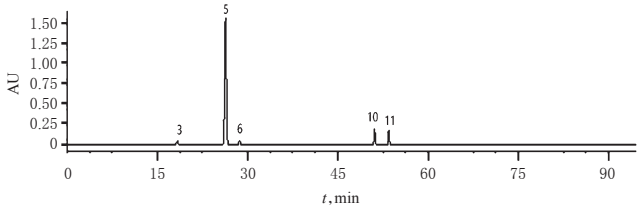


图3　华佗豆不同极性部位的HPLC对照图谱R

Fig 3　HPLC control fingerprint R of different polar parts of *C. muricatum*



注：3.新绿原酸；5.绿原酸；6.隐绿原酸；10.异绿原酸A；11.异绿原酸C

Note：3. neochlorogenic acid；5. chlorogenic acid；6. cryptochlorogenic acid；10. isochlorogenic acid A；11. isochlorogenic acid C

图4　混合对照品溶液的HPLC图

Fig 4　HPLC chromatogram of mixed substance control

用SPSS 21.0软件对数据进行统计分析，数据以$\bar{x}\pm s$表示；多组间数据比较采用单因素方差分析，组间两两比较采用LSD-t检验；检验水准为$\alpha=0.05$。结果显示，与空白组比较，华佗豆各极性部位组小鼠扭体次数均显著减少（$P<0.05$或$P<0.01$），详见表1。

表1　华佗豆不同极性部位的镇痛、抗炎作用考察结果（$\bar{x}\pm s$，$n=10$）

Tab 1　Analgesic and anti-inflammatory effects of different polar parts of *C. muricatum* ($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

组别	扭体次数，次	耳肿胀度，mg
空白组	38.6±6.48	7.37±1.26
罗通定组/醋酸地塞米松组	14.8±2.60**	2.53±0.85**
华佗豆总部位组	23.0±4.73*	3.62±1.48*
华佗豆乙酸乙酯部位组	18.4±4.76*	3.53±2.17*
华佗豆正丁醇部位组	16.4±5.99**	2.98±0.79**
华佗豆水部位组	31.4±4.22*	5.48±1.79*

注：与空白组比较，*$P<0.05$，**$P<0.01$

Note：vs. blank group，*$P<0.05$，**$P<0.01$

2.4　华佗豆不同极性部位的抗炎作用考察

将60只小鼠分为空白组、醋酸地塞米松组（0.006 g/kg）、华佗豆总部位组（25 g/kg，以生药量计，下同）、华佗豆乙酸乙酯部位组（25 g/kg）、华佗豆正丁醇部位组（25 g/kg）、华佗豆水部位组（25 g/kg），每组10只。上述各给药剂量均参考本课题组前期实验结果设置[4]。各组小鼠按“2.3”项下方法灌胃给药或水，连续给药7 d。抗炎实验前小鼠禁食不禁水12 h；末次给药后45 min，滴二甲苯溶液0.05 mL于小鼠右耳廓致炎；15 min后脱颈椎处死小鼠，沿双耳对称的耳根部剪下双耳，以6 mm打孔器在两耳相同位置打下耳片，以分析天平称耳片质量，并计算耳肿胀度（耳肿胀度＝右耳片质量－左耳片质量）。按“2.3”项下统计学方法处理数据。结果显示，与空白组比较，华佗豆各极性部位组小鼠耳肿胀度均显著降低（$P<0.05$或$P<0.01$），详见表1。

2.5　华佗豆不同极性部位镇痛抗炎作用的谱效关系分析

2.5.1　镇痛抗炎指标的数据转化　将“2.3”“2.4”项下各组小鼠的扭体次数、耳肿胀度进行数据转化，分别计算镇痛率[镇痛率＝（空白组扭体次数－给药组扭体次数）/空白组扭体次数×100%]和肿胀抑制率[肿胀抑制率＝（空白组肿胀度－给药组肿胀度）/空白组肿胀度×100%]，结果见表2。

表2　镇痛抗炎指标的数据转化结果

Tab 2　Data transformation result of analgesic and anti-inflammatory indexes

组别	镇痛率，%	肿胀抑制率，%
空白组		
罗通定组/醋酸地塞米松组	61.66	65.7
华佗豆总部位组	40.41	50.9
华佗豆乙酸乙酯部位组	52.33	52.1
华佗豆正丁醇部位组	57.51	59.6
华佗豆水部位组	18.54	25.6

2.5.2　灰色关联度分析　灰色关联度分析是研究因素间发展趋势的相似或相异程度、衡量不同因素间关联程度的方法，适用于评价中药化学成分与药效之间的关联程度[6]。本研究以镇痛率和肿胀抑制率为参考序列，以华佗豆各极性部位HPLC指纹图谱的共有峰峰面积为比较序列，计算参考序列与比较序列的灰色关联系数（即关联度），并对关联度大小进行排序。若关联度＞0.6，则表明该共有峰与药效指标呈相关性；若关联度＞0.8，则表明该共有峰与药效指标呈高度相关性[7]。结果显示，除了6号峰外，其余10个共有峰与镇痛作用的关联度均大于0.6，且对镇痛作用影响大小的排序为3号峰（新绿原酸）＞7号峰＞10号峰（异绿原酸A）＞9号峰＞11号峰（异绿原酸C）＞1号峰＞4号峰＞2号峰＞8号峰＞5号峰（绿原酸）＞6号峰。所有共有峰与抗炎作用的关联度均大于0.6，且对抗炎作用影响大小的排序为3号峰（新绿原酸）＞10号峰＞7号峰＞5号峰（绿原酸）＞9号峰＞11号峰（异绿酸C）＞1号峰＞4号峰＝6号峰＞8号峰＞2号峰。其中，3号峰（新绿原酸）、7号峰、10号峰

（异绿原酸A）与镇痛抗炎作用的关联度均大于0.8，呈高度相关性，详见表3。

表3　华佗豆不同极性部位共有峰与镇痛抗炎作用的灰色关联度分析结果

Tab 3　Grey correlation analysis result of common peaks and analgesic and anti-inflammatory effects of different polar parts of *C. muricatum*

关联序	镇痛作用		抗炎作用	
	峰号	关联度	峰号	关联度
1	3	0.909	3	0.891
2	7	0.839	10	0.872
3	10	0.825	7	0.851
4	9	0.738	5	0.783
5	11	0.726	9	0.777
6	1	0.722	11	0.734
7	4	0.706	1	0.689
8	2	0.658	4	0.669
9	8	0.628	6	0.669
10	5	0.615	8	0.663
11	6	0.589	2	0.656

2.5.3　双变量相关分析　双变量相关分析可以描述两变量间的相关性，所得相关系数的大小可反映两变量相关性的大小：若相关系数绝对值$|r|\geq0.8$，则表明两变量呈显著相关性；若$|r|\geq0.6$，则表明两变量呈相关性；且$|r|$越接近1，则表明两变量相关性越强[8-9]。本研究以华佗豆各极性部位HPLC指纹图谱的共有峰峰面积为自变量，以镇痛率和肿胀抑制率为因变量，采用SPSS 21.0软件对数据进行双变量相关分析，得到华佗豆不同极性部位共有峰与药效指标的相关系数，详见表4。

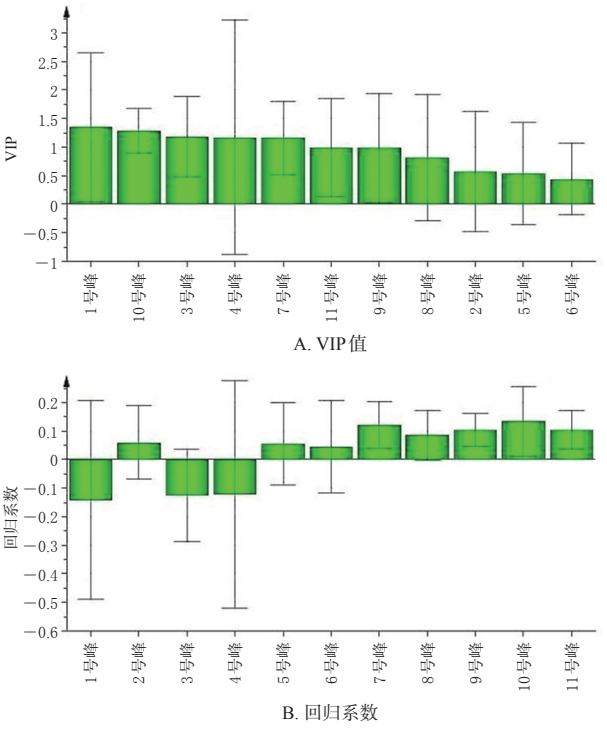
表4　华佗豆不同极性部位共有峰与镇痛抗炎作用的双变量相关分析结果

Tab 4　Bivariate correlation analysis result of common peaks and analgesic and anti-inflammatory effects of different polar parts of *C. muricatum*

关联序	镇痛作用		抗炎作用	
	峰号	*r*	峰号	*r*
1	10	0.827	10	0.810
2	7	0.752	7	0.731
3	11	0.640	11	0.665
4	9	0.634	9	0.622
5	8	0.525	8	0.559
6	2	0.369	2	0.450
7	5	0.345	5	0.404
8	6	0.283	6	0.356
9	4	−0.756	1	−0.751
10	3	−0.766	3	−0.800
11	1	−0.872	4	−0.813

由表4可知，1、3（新绿原酸）、4、7、9、10、11（异绿原酸C）号峰与镇痛抗炎的$|r|$均大于0.6，表明这些共有峰与镇痛抗炎相关，可能是镇痛抗炎的药效物质。

2.5.4　PLS分析　在PLS分析中，回归系数的绝对值可反映共有峰对药效指标的贡献程度，其数值越大，则贡献越大；变量投影重要性（VIP）值表示自变量对因变量的重要程度，当VIP＞1时，则表明自变量对因变量是重要的[10]。本研究以华佗豆不同极性部位HPLC指纹图谱的共有峰峰面积为自变量，以镇痛率和肿胀抑制率为因变量，采用SIMCA 14.1软件进行PLS模型拟合，得到回归系数和VIP值，详见图5、图6。



A. VIP值

B. 回归系数

图5　华佗豆不同极性部位共有峰与镇痛作用的PLS分析结果

Fig 5　PLS analysis result of common peaks and analgesic effects in different polar parts of *C. muricatum*

由图5、图6可知，除了2、5、6、8号共有峰外，其余各共有峰（1、3、4、7、9、10、11号峰）的回归系数的绝对值均较大，且其VIP值均大于1，表明这7个共有峰对镇痛抗炎作用均有显著影响。该分析结果与双变量相关分析结果一致。

3　讨论

中药化学成分是一个复杂的体系，并非所有成分在疾病治疗中，都能发挥同样重要的功效，故需应用一种可量化的方法进行研究，以便明确在药效学中贡献较多的成分[11]。本研究采用HPLC法建立华佗豆不同极性部位的指纹图谱，共获得11个共有峰，并指认3号峰为新绿原酸、5号峰为绿原酸、6号峰为隐绿原酸、10号峰为异绿原酸A、11号峰为异绿原酸C；同时，采用灰色关联度分析法、双关变量分析法以及PLS分析了华佗豆不同极性部位HPLC指纹图谱与镇痛抗炎作用的相关性。结

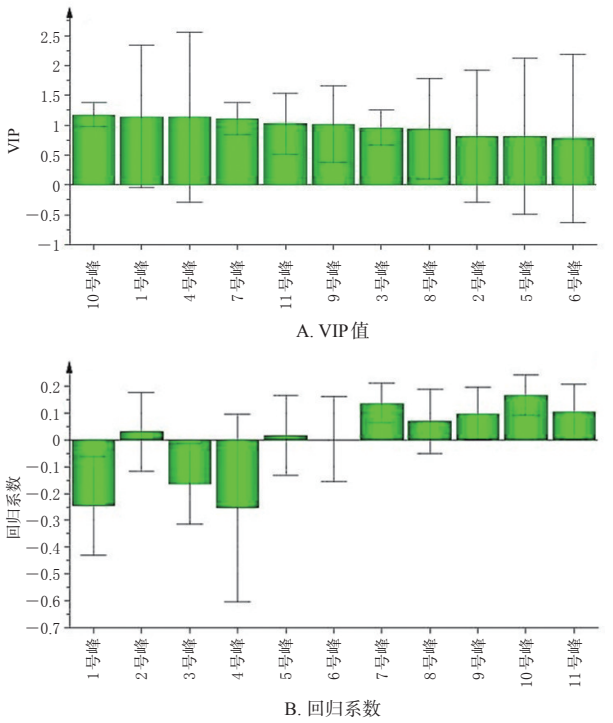


图6　华佗豆不同极性部位共有峰与抗炎作用的PLS分析结果

Fig 6　PLS analysis result of common peaks and anti-inflammatory effects in different polar parts of *C. muricatum*

果显示，经灰色关联度分析法分析发现，所有共有峰与镇痛抗炎作用的关联度均大于0.6（除6号峰与镇痛作用的关联度外），呈相关性；3、7、10号峰与镇痛抗炎作用的关联度均大于0.8，呈高度相关性。经双关变量分析发现，1、3、4、7、9、10、11号峰与镇痛抗炎作用的相关系数均大于0.6，呈相关性。经PLS分析发现，1、3、4、7、9、10、11号峰对镇痛抗炎作用的影响较大。由此可知，1、3、4、7、9、10、11号峰可能是华佗豆发挥镇痛抗炎作用的药效物质，且这些峰主要在华佗豆的总部位、正丁醇部位和乙酸乙酯部位中富集，这与本课题组前期相关研究结果基本一致[4]。另外，目前已有相关研究报道，3、10、11号峰所对应的化学成分（新绿原酸、异绿原酸A、异绿原酸C）具有抗炎作用[12]。故笔者推测，华佗豆的药效物质成分可能是其中等极性成分，且其发挥镇痛抗炎作用可能是其多种成分相互协同作用的结果。

综上所述，本研究建立了华佗豆不同极性部位的HPLC指纹图谱并指认了5个共有峰成分；新绿原酸、异绿原酸A、异绿原酸C以及1、4、7、9号峰所代表的化学成分可能是华佗豆发挥镇痛抗炎作用的药效物质。

参考文献

[1] 广西壮族自治区食品药品监督管理局.广西瑶族习用药材质量标准：第一卷[S].南宁：广西科学技术出版社，2013：50-52.

[2] 王超，雷雨欣，彭彩云，等.月光花属植物化学成分及药理作用研究进展[J].湖南中医药大学学报，2020，40(5)：635-640.

[3] 梁洁，翁翎，温海成，等.壮药华佗豆化学成分的初步研究[J].广西中医药大学学报，2014，17(1)：62-64.

[4] 梁洁，吕松林，林辰，等.华陀豆不同提取部位抗炎镇痛的实验研究[J].中药材，2015，38(5)：1030-1033.

[5] 张赞，黄逯，张慧，等.壮药玉叶金花抗炎镇痛作用的谱效关系研究[J].中国药理学通报，2020，36(6)：870-874.

[6] 刘雯，刘云，刘进宝，等.基于灰色关联分析的藤茶不同极性部位在小鼠体内抗炎作用的谱-效关系研究[J].中国药房，2020，31(19)：2382-2386.

[7] 梁洁，麦嘉妮，徐晖，等.龙眼叶抗氧化和抑制α-葡萄糖苷酶活性的谱效关系研究[J].中药材，2019，42(6)：1328-1333.

[8] 张建勇，高冉，胡骏，等.灰色关联度和Pearson相关系数的应用比较[J].赤峰学院学报（自然科学版），2014，30(11)：1-2.

[9] 陶旸，汤国安，王春，等.基于语义和剖面特征匹配的地形粗糙度模型评价[J].地理研究，2011，30(6)：1066-1076.

[10] 张智敏，阚雨村，江豪杰，等.枳壳挥发油抑菌活性的谱效关系[J].中成药，2020，42(12)：3269-3275.

[11] 商利娜，王亚静，赵鑫，等.基于谱-效关系探究黄芩抑制白色念珠菌的质量标志物[J].中成药，2020，42(5)：1357-1361.

[12] 何兵，杨世艳，张燕.银花提取物多指标成分含量及指纹图谱同时检测研究[J].中国药学杂志，2012，47(16)：1280-1284.

（收稿日期：2021-04-07　修回日期：2021-06-10）

（编辑：唐晓莲）

《中国药房》杂志——中文核心期刊，欢迎投稿、订阅