

槲寄生中黄酮类成分指纹图谱的建立及高圣草素-7-*O*- β -*D*-葡萄糖苷、高圣草素的定量检测

费舒宁^{1,2}, 穴卓¹, 李文兰², 笔雪艳^{1*}

1. 黑龙江省药品检验研究院, 黑龙江 哈尔滨 150088

2. 哈尔滨商业大学 药学院, 黑龙江 哈尔滨 150006

摘要: 目的 建立槲寄生黄酮类成分的特征指纹图谱, 同时测定槲寄生中高圣草素-7-*O*- β -*D*-葡萄糖苷、高圣草素的含量, 结合化学计量法分析, 为其质量控制提供参考。方法 采用 Agilent ZORBAX SB-C₁₈ 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μ m), 以乙腈-0.1%磷酸溶液为流动相, 梯度洗脱, 体积流量 1.0 mL·min⁻¹, 检测波长为 285 nm, 柱温 30 °C。建立 14 批槲寄生药材的黄酮类成分指纹图谱, 结合化学计量学软件进行聚类分析 (CA)、主成分分析 (PCA)、偏最小二乘法-判别分析 (PLS-DA)。在同一色谱条件下, 经方法学验证, HPLC 法同时测定 14 批槲寄生药材中高圣草素-7-*O*- β -*D*-葡萄糖苷、高圣草素。结果 建立了槲寄生药材黄酮类成分的特征指纹图谱, 标定了 7 个共有特征峰, 指认了其中 2 个峰: 峰 4 (高圣草素-7-*O*- β -*D*-葡萄糖苷)、峰 6 (高圣草素); 其中 12 批槲寄生药材相似度达到 0.9 以上, 聚类分析将 14 批样品分为 2 类; PCA 分析共得到 2 个主成分, 主成分 1 主要反映了特征峰 2~7 的信息, 主成分 2 主要反映特征峰 1 的信息, 峰 4 与峰 6 的峰面积较大, 且对第 1 主成分的贡献也较大; PLS-DA 结果表明, 3 个共有特征峰的变量重要性投影 (VIP) 值 > 1, 依次为峰 7、峰 6、峰 4。高圣草素-7-*O*- β -*D*-葡萄糖苷、高圣草素 2 个指标成分在一定质量浓度范围内线性关系良好, 平均加样回收率分别为 103.17%、101.47%, RSD 分别为 2.0%、0.7%, 方法学考察结果均符合相关要求, 14 批样品中 2 种成分总质量分数为 2.32~5.17 mg·g⁻¹。结论 建立的方法准确、简便、重现性好, 可为槲寄生药材的质量控制提供参考。

关键词: 槲寄生; HPLC; 指纹图谱; 黄酮类成分; 高圣草素; 高圣草素-7-*O*- β -*D*-葡萄糖苷; 化学计量法

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376 (2023) 06-1264-07

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2023.06.013

Establishment of HPLC fingerprint of flavonoids and content determination of homoeriodictyol-7-*O*- β -*D*-glycoside and homoeriodictyol in *Viscum coloratum*

FEI Shuning^{1,2}, XUE Zhuo¹, LI Wenlan², BI Xueyan¹

1. Heilongjiang Institute for Drug Control, Harbin 150088, China

2. Harbin University of Commerce, Harbin 150006, China

Abstract: Objective Under the same chromatographic conditions, establish a characteristic fingerprint of flavonoids in *Viscum coloratum*, and simultaneously determine the content of homoeriodictyol-7-*O*- β -*D*-glycoside and homoeriodictyol, combined with stoichiometric analysis, provides a reference for their quality control. **Methods** The separation was performed on a ZORBAX SB-C₁₈ column (250 mm × 4.6 mm, 5 μ m) using a gradient elution with acetonitrile-0.1% phosphoric acid aqueous solution, and the flow rate at 1.0 mL·min⁻¹, the detection wavelength at 285 nm, the column temperature was set at 30 °C. The flavonoids fingerprints of 14 batches of *Viscum coloratum* were established, and cluster analysis (CA), principal component analysis (PCA), partial least squares discriminant analysis (PLS-DA) were performed with chemometrics software. Under the same chromatographic conditions, after being validated by formula, HPLC method was used to simultaneously determine the content of homoeriodictyol-7-*O*- β -*D*-glycoside and homoeriodictyol. **Results** The fingerprint of flavonoids in *Viscum coloratum* was established, seven common peaks were demarcated, and two of them were identified. The similarity of 12 batches of mistletoe was all above 0.9. Cluster analysis divided the 14 batches of samples into two categories. PCA analysis obtained a total of two principal components. Principal component 1

收稿日期: 2022-12-13

基金项目: 寒地地道药材质量评价与开发利用关键技术研究及示范项目 (GZ20210092)

第一作者: 费舒宁, 女, 硕士研究生, 主要从事中药质量控制研究。E-mail: 1715366372@qq.com

*通信作者: 笔雪艳, 女, 副院长, 主要从事中药质量评价与控制研究。E-mail: hljbixueyan@sina.cn

mainly reflects the information of feature peaks 2—7, while principal component 2 mainly reflects the information of feature peak 1. The peak areas of peaks 4 and 6 were larger, and their contribution to the first principal component were also significant. The PLS-DA results indicate that the variable importance projection (VIP) values of the three common characteristic peaks are greater than 1, followed by peak 7, peak 6, and peak 4. The content determination results showed that the two index components of homoeriodictyol-7-*O*- β -*D*-glycoside and homoeriodictyol had good linear relationship within a certain mass concentration range. The average recoveries were 103.17% and 101.47%, and the RSDs were 2.0% and 0.7% respectively. The results of content determination methods met the relevant requirements, and the total content of two components in 14 batches of samples was 2.32—5.17 mg·g⁻¹. **Conclusion** The established method was accurate, simple and reproducible, which can provide an experimental basis for the overall evaluation and quality control of *Viscum coloratum*.

Key words: *Viscum coloratum* (Komar.) Nakai; HPLC; fingerprint; flavonoids; homoeriodictyol; homoeriodictyol-7-*O*- β -*D*-glycoside; stoichiometry

槲寄生为桑寄生科植物槲寄生 *Viscum coloratum* (Komar.) Nakai 的干燥带叶的茎枝^[1], 具有治疗风湿痹痛、腰膝酸软、胎动、胎漏及抗肿瘤、抗骨质疏松、降血压等功效^[2-6], 其药理作用广泛, 不良反应少, 是一种非常具有开发价值的药材。现代研究表明, 槲寄生中主要含有黄酮类、生物碱类、三萜类、甾醇类、苯丙素类、高分子类化合物成分, 其中黄酮类成分发挥主要作用^[7-10]。槲寄生基原复杂, 且是半寄生植物, 药材现行标准选择的指标成分为紫丁香苷, 缺少专属性的质量控制; 且槲寄生药材易受产地、寄主、采收季节等因素影响^[11], 其质量一致性是关注的重点, 因此建立客观全面的质量评价体系具有重要意义。本研究针对槲寄生药材的指标性成分高圣草素-7-*O*- β -*D*-葡萄糖苷和高圣草素进行了探索, 建立了其 HPLC 检测法, 通过方法学的考察, 符合《中国药典》规定, 可以作为槲寄生中高圣草素-7-*O*- β -*D*-葡萄糖苷和高圣草素含量测定方法。为了更全面地控制槲寄生药材质量, 本研究还建立了 14 批槲寄生药材的黄酮类成分指纹图谱, 并结合化学计量学软件对其进行聚类分析(CA)与主成分分析(PCA), 为槲寄生药材的总体评价及质量控制提供实验依据。

1 材料

1.1 样品

收集 14 批槲寄生样品, 经黑龙江省药品检验研究所笔雪艳教授鉴定为桑寄生科槲寄生属植物槲寄生 *Viscum coloratum* (Komar.) Nakai 的干燥带叶茎枝, 样品信息见表 1。

1.2 仪器与试剂

UltiMate 3000 型 HPLC 仪 (Thermo 公司); SX2510LHC 超声波清洗器 (上海科导超声仪器有限公司); XS205DU 电子天平 (瑞士 Mettler Toledo 公司); Milli-QA10 超纯水一体化系统 (默克密理博

表 1 槲寄生样品信息

Table 1 Information of *Viscum coloratum* sample

编号	产地	供样单位	批号
S1	俄罗斯	河北鹤州药业有限公司	22J2022B00008
S2	俄罗斯	绥芬河市宁北医药贸易有限公司	22J2021B00069
S3	俄罗斯	绥芬河市宁北医药贸易有限公司	22J2021B00073
S4	俄罗斯	河北鹤州药业有限公司	22J2021B00084
S5	俄罗斯	黑河市维塔斯药业有限公司	20211230'1
S6	俄罗斯	黑河市维塔斯药业有限公司	20211230'3
S7	俄罗斯	黑龙江厚沃德进出口有限公司	/
S8	广西	徽济堂药房	/
S9	黑龙江省鹤岗市	中华药都药材	/
S10	黑龙江省尚志市	一发土特产	/
S11	吉林	中华药都药材	/
S12	辽宁省锦州市	京皖大药房	/
S13	辽宁省本溪市	亳州李氏中药材	/
S14	甘肃	诚信滋补堂	/

公司)。

甲醇 (色谱纯)、乙腈 (色谱纯), Burdick and Jackson 公司; 磷酸 (色谱纯, 上海安谱实验科技股份有限公司); 盐酸 (分析纯)、正丁醇 (分析纯), 国药集团化学试剂有限公司; 超纯水。

高圣草素对照品 (批号 446-71-9, 质量分数 > 99.79%)、高圣草素-7-*O*- β -*D*-葡萄糖苷对照品 (批号 14982-11-7, 质量分数 > 98.84%), 购自成都植标化纯生物技术有限公司; 槲寄生对照药材 (批

号 121038-201906) 购自中国食品药品检定研究院。

2 方法与结果

2.1 色谱条件与系统适用性试验

色谱柱为 Agilent ZORBAX SB-C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相为乙腈(A)-0.1% 磷酸水(B); 洗脱梯度(0~15 min, 5%→18% A; 15~40 min, 18%→40% A; 40~58 min, 40%→90% A; 58~60 min, 90% A); 检测波长 285 nm; 体积流量 1.0 mL·min⁻¹; 柱温 30 °C; 进样体积 10 μL; 理论塔板数应大于 5 000。

2.2 溶液的制备

2.2.1 供试品溶液的制备 精密称取槲寄生药材粉末 2.0 g, 加入 70% 甲醇 50 mL, 称定质量, 超声(35 Hz、30 min), 放冷, 再次称定质量, 用 70% 甲醇补足减失质量, 摇匀滤过, 精密移取滤液 25 mL 于蒸发皿中, 置水浴锅上蒸干, 用 2% 盐酸 10 mL 溶解浸膏, 饱和正丁醇萃取 4 次(50、50、50、30 mL), 合并正丁醇液, 蒸干, 70% 甲醇定容至 25 mL 即得。

2.2.2 对照品溶液的制备 取高圣草素-7-*O*-β-*D*-葡萄糖苷、高圣草素对照品适量, 精密称定, 加 70% 甲醇制成高圣草素-7-*O*-β-*D*-葡萄糖苷 0.10 mg·mL⁻¹、高圣草素 0.05 mg·mL⁻¹ 的混合对照品溶液。

2.2.3 对照药材溶液的制备 精密称取槲寄生对照药材 2.0 g, 按“2.2.1”项下方法制备对照药材溶液。

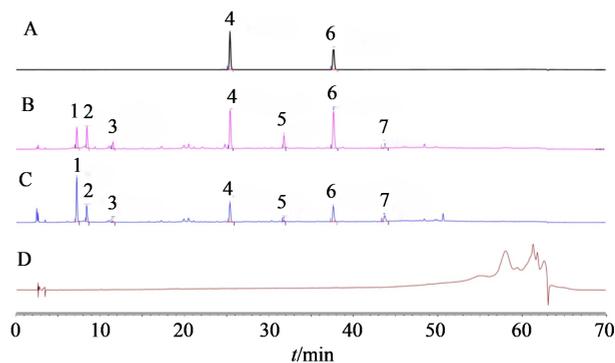
2.2.4 阴性样品溶液的制备 按“2.2.1”项下方法制备缺槲寄生药材的阴性样品溶液。

2.3 指纹图谱方法学研究

2.3.1 专属性试验 取槲寄生药材(编号 S5) 供试品溶液、“2.2.2”项下的混合对照品溶液, “2.2.3”项下的对照药材溶液与“2.2.4”项下的阴性样品溶液, 注入液相色谱仪, 结果表明阴性样品溶液对槲寄生药材的测定无干扰, 说明本法具有专属性(图 1)。

2.3.2 精密度试验 精密称取槲寄生药材粉末(编号 S5) 2.0 g, 按“2.2.1”项下的方法制备 1 份供试品溶液, 按照“2.1”项下的色谱条件进样分析, 连续进样 6 次。以 4 号峰(高圣草素-7-*O*-β-*D*-葡萄糖苷)为参照物峰, 计算得到其他 6 个峰的相对保留时间 RSD ≤ 0.1%, 相对峰面积的 RSD ≤ 1.6%, 说明仪器精密良好。

2.3.3 重复性试验 取槲寄生药材(编号 S5), 按“2.2.1”项下的方法平行制备 6 份供试品溶液, 根据“2.1”项下的色谱条件进样分析, 记录色谱图。以



4-高圣草素-7-*O*-β-*D*-葡萄糖苷; 6-高圣草素
4-homoeriodictyol-7-*O*-β-*D*-glycoside; 6-homoeriodictyol

图 1 对照品(A)、对照药材(B)、供试品(C)、阴性样品溶液(D)的HPLC色谱图

Fig. 1 HPLC chromatogram of reference substance (A), reference medicine (B), sample solution (C) and negative sample (D)

4号峰(高圣草素-7-*O*-β-*D*-葡萄糖苷)为参照物峰, 计算其他 6 个峰的相对保留时间和相对峰面积的 RSD 值。结果表明, 其相对保留时间的 RSD 均 ≤ 0.1%, 相对峰面积的 RSD ≤ 1.0%, 本方法的重复性较好。

2.3.4 稳定性试验 按“2.2.1”项下的方法制备槲寄生(编号 S5) 供试品溶液 1 份, 于常温保存, 在 1 d 内分别于 0、3、7、13、19、24 h 内测定, 考察日内稳定性。以 4 号峰(高圣草素-7-*O*-β-*D*-葡萄糖苷)为参照物峰, 计算得到其他 6 个峰的相对保留时间 RSD ≤ 0.1%, 相对峰面积的 RSD ≤ 1.8%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.4 指纹图谱的建立与相似度分析

取 14 批槲寄生样品, 按“2.2.1”项下的方法制成供试品溶液, 再按“2.1”项下的色谱条件进行测定。采用 2012 版“中药色谱指纹图谱相似度评价软件系统”进行结果分析, 以编号为 S1 的样品为参照色谱图, 与槲寄生药材图谱比对, 确定在 14 批槲寄生药材指纹图谱中出峰时间基本一致, 峰面积较大的 7 个共有特征峰进行相似度计算(表 2), 采用平均数法经多点校正后生成对照指纹图谱(图 2)。课题组前期采用超高效液相色谱-四极杆飞行时间质谱(UPLC-Q-TOF/MS)技术对槲寄生样品进行在线分离分析及对照品定位可知, 其中 4 号峰为高圣草素-7-*O*-β-*D*-葡萄糖苷, 6 号峰为高圣草素。其中 4 号峰(高圣草素-7-*O*-β-*D*-葡萄糖苷)保留时间适中, 色谱峰分离度和峰形较好, 峰面积相对较大, 故选择其作为参照物峰(S)。

结果表明, 14 批样品中除黑龙江省的 2 批(S9、

表2 相似度评价结果
Table 2 Similarity evaluation results

编号	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13	S14	R
S1	1.000	0.922	0.919	0.951	0.976	0.838	0.977	0.871	0.896	0.899	0.94	0.928	0.807	0.943	0.968
S2	0.922	1.000	0.978	0.987	0.93	0.951	0.878	0.97	0.789	0.797	0.886	0.976	0.949	0.894	0.985
S3	0.919	0.978	1.000	0.966	0.891	0.951	0.841	0.93	0.769	0.757	0.863	0.919	0.922	0.851	0.957
S4	0.951	0.987	0.966	1.000	0.953	0.948	0.912	0.966	0.796	0.814	0.886	0.975	0.916	0.917	0.989
S5	0.976	0.93	0.891	0.953	1.000	0.817	0.986	0.872	0.915	0.945	0.961	0.955	0.795	0.981	0.975
S6	0.838	0.951	0.951	0.948	0.817	1.000	0.761	0.966	0.584	0.607	0.715	0.893	0.945	0.745	0.906
S7	0.977	0.878	0.841	0.912	0.986	0.761	1.000	0.824	0.912	0.944	0.943	0.917	0.738	0.956	0.943
S8	0.871	0.97	0.93	0.966	0.872	0.966	0.824	1.000	0.671	0.68	0.784	0.964	0.976	0.821	0.948
S9	0.896	0.789	0.769	0.796	0.915	0.584	0.912	0.671	1.000	0.973	0.983	0.828	0.627	0.951	0.863
S10	0.899	0.797	0.757	0.814	0.945	0.607	0.944	0.68	0.973	1.000	0.971	0.838	0.603	0.961	0.871
S11	0.94	0.886	0.863	0.886	0.961	0.715	0.943	0.784	0.983	0.971	1.000	0.907	0.745	0.977	0.937
S12	0.928	0.976	0.919	0.975	0.955	0.893	0.917	0.964	0.828	0.838	0.907	1.000	0.925	0.933	0.987
S13	0.807	0.949	0.922	0.916	0.795	0.945	0.738	0.976	0.627	0.603	0.745	0.925	1.000	0.749	0.906
S14	0.943	0.894	0.851	0.917	0.981	0.745	0.956	0.821	0.951	0.961	0.977	0.933	0.749	1.000	0.949
R	0.968	0.985	0.957	0.989	0.975	0.906	0.943	0.948	0.863	0.871	0.937	0.987	0.906	0.949	1.000

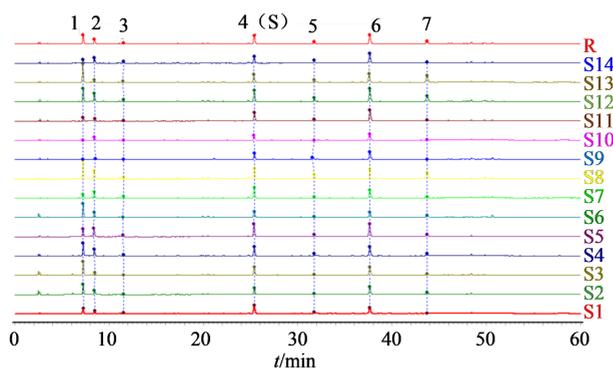


图2 槲寄生药材黄酮类成分指纹图谱
Fig. 2 Flavonoid's fingerprints of *Viscum coloratum*

S10)外,相似度均>0.9,表明大部分不同来源的槲寄生药材化学组成较为一致,质量稳定,对于保证临床用药疗效的稳定性具有重要意义。

2.5 聚类分析

以槲寄生药材的7个共有峰面积为变量,运用SPSS 25.0软件,以组间联接、皮尔逊相关性为测度进行聚类分析,结果见图3。14批样品可分为2类,即S1、S5、S7、S9~S11、S14聚为第1类;其余聚为第2类。可看出不同产地及同一产地不同批次的槲寄生分类存在交叉现象,说明不同产地及批次间的槲寄生质量有一定差异性。

2.6 主成分分析(PCA)

以槲寄生药材的7个共有峰峰面积为变量,采用IBM SPSS Statistics 25.0分析软件,以特征值>

1.0为筛选标准进行PCA,共得到2个主成分(表3、图4),累积方差贡献率达到79.053%,可用于反映槲寄生药材黄酮类成分的大部分信息。由表4中的因子载荷矩阵可知,主成分1主要反映了特征峰2~7的信息,主成分2主要反映特征峰1的信息,表明槲

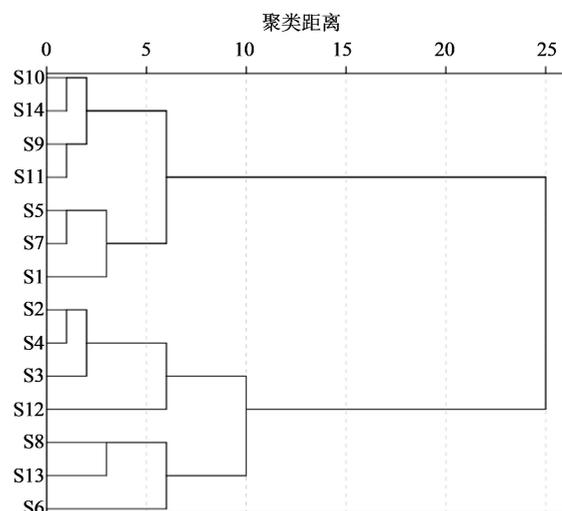


图3 聚类分析
Fig. 3 Hierarchical cluster analysis

表3 特征值及方差贡献率

主成分	特征值	方差贡献率/%	累积贡献率/%
1	4.190	59.850	59.850
2	1.344	19.203	79.053

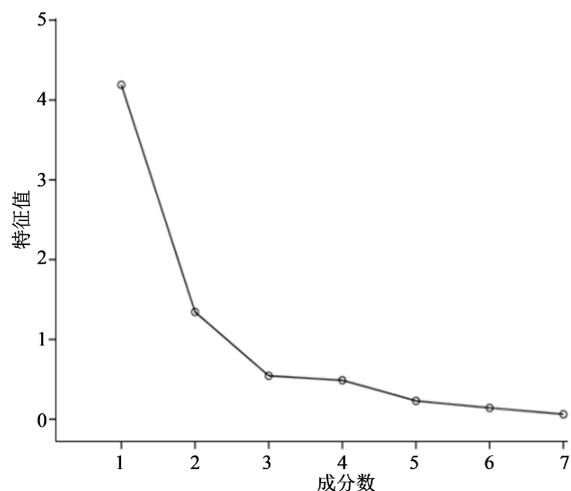


图4 碎石图

Fig. 4 Common factor gravel plot

表4 初始因子核载矩阵

Table 4 Initial factor kernel load matrix

主成分	主成分1	主成分2
1	0.523	0.804
2	0.823	-0.148
3	0.848	-0.285
4	0.843	-0.307
5	0.847	0.013
6	0.748	-0.346
7	0.729	0.617

寄生药材质量受多种成分共同影响。峰4与峰6的峰面积较大,且对第1主成分的贡献也较大,故可将4号峰(高圣草素-7-O-β-D-葡萄糖苷)与6号峰(高圣草素)作为后续槲寄生药材的质控指标。

根据主成分得分公式计算14批槲寄生药材的主成分得分及综合得分值,结果见表5。

综合评分表明,辽宁锦州所产S12、俄罗斯所产S5、S8的综合得分较高。不同批次的槲寄生药材中黄酮类成分含量差异较大,这可能是由于产地不同、采收季节不同等原因造成的。

2.7 偏最小二乘法-判别分析(PLS-DA)

为了进一步明确不同批次槲寄生药材的差异性成分,采用SIMCA14.1软件对14批槲寄生药材的7个共有峰峰面积进行PLS-DA。以变量重要性投影(VIP)值>1为筛选条件,确定对样品有影响的差异变量,结果见图5。可见3个共有特征峰的VIP值>1,依次为峰7、峰6(高圣草素)、峰4(高圣草素-7-O-β-D-葡萄糖苷),表明这3个成分对槲寄生药材质量差异影响较大。

表5 主成分得分及综合得分

Table 5 Principal component scores and synthesis score

序号	主成分得分1	主成分得分2	综合得分	综合排序
S1	-3.38	-0.75	-2.16	8
S2	-6.14	1.14	-3.46	10
S3	-6.18	0.98	-3.51	11
S4	5.22	-0.03	3.12	4
S5	9.20	-2.12	5.10	3
S6	-7.25	1.97	-3.96	12
S7	1.57	-1.85	0.58	6
S8	12.16	1.82	7.63	2
S9	-9.02	-0.81	-5.55	13
S10	-13.23	-0.50	-8.02	14
S11	-3.60	-1.24	-2.39	9
S12	16.39	-0.29	9.75	1
S13	3.94	3.04	2.94	5
S14	0.32	-1.37	-0.07	7

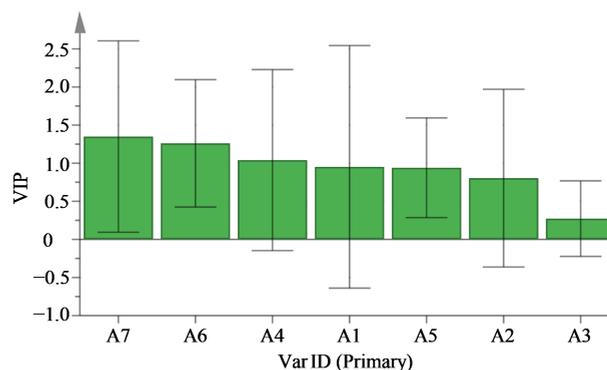


图5 槲寄生药材PLS-DA模型的VIP值

Fig. 5 VIP values of PLS-DA model of *Viscum coloratum*

2.8 高圣草素-7-O-β-D-葡萄糖苷及高圣草素的含量测定

2.8.1 对照品溶液的制备 分别精密称取高圣草素-7-O-β-D-葡萄糖苷、高圣草素对照品适量,加70%甲醇制成高圣草素-7-O-β-D-葡萄糖苷0.399 7 mg·mL⁻¹、高圣草素0.201 2 mg·mL⁻¹的混合对照品溶液。

2.8.2 线性关系考察 精密量取“2.8.1”项下的对照品溶液0.1、0.2、1.0、2.5、5.0 mL分别置于10 mL量瓶中,用70%甲醇稀释至刻度,摇匀,即得。根据“2.1”项下色谱条件进样分析,以质量浓度为横坐标,以峰面积为纵坐标,得高圣草素-7-O-β-D-葡萄糖苷线性回归方程 $y = 266.32x + 0.2824$, $R^2 = 0.9999$;高圣草素线性回归方程为 $y = 412.5x + 0.1512$, $R^2 = 1.000$ 。

2.8.3 精密密度试验 根据“2.3.2”项下精密密度试验计算得到高圣草素-7-*O*- β -*D*-葡萄糖苷与高圣草素峰面积的RSD分别为0.3%、0.4%，表明仪器精密密度良好。

2.8.4 重复性试验 根据“2.3.3”项下重复性试验计算得到高圣草素-7-*O*- β -*D*-葡萄糖苷与高圣草素质量分数的RSD分别为1.5%、1.7%，表明该方法重复性良好。

2.8.5 稳定性试验 根据“2.3.4”项下稳定性试验计算得到高圣草素-7-*O*- β -*D*-葡萄糖苷与高圣草素峰面积的RSD分别为0.4%、0.4%，表明供试品溶液在室温下24 h内稳定性良好。

2.8.6 加样回收率试验 取已知含量的槲寄生样品1.0 g(编号S5),精密称定,共6份,分别加入精密量取的一定量的混合对照品溶液,按“2.2.1”项下的方法制备供试品溶液,按“2.1”项下的色谱条件进样分析,记录峰面积,高圣草素-7-*O*- β -*D*-葡萄糖苷、高圣草素平均加样回收率分别为99.79%~104.69%、100.16%~102.05%,RSD分别为2.0%、0.7%。

2.8.7 样品测定 取不同批次的槲寄生粉末各2.0 g,按“2.2.1”项下方法制备槲寄生的供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件进样测定,结果见表6,2种成分的总质量分数在2.27~5.17 mg·g⁻¹,且可看出不同批次槲寄生药材中高圣草素-7-*O*- β -*D*-葡萄糖苷与高圣草素的质量分数有较大差异。

3 讨论

槲寄生药材中主含黄酮类成分,黄酮呈弱酸性,故选用酸性系统作为流动相。实验中分别采用了甲醇-磷酸、乙腈-磷酸等不同浓度、不同比例的流动相进行梯度洗脱对比,结果显示,流动相为乙腈-0.1%磷酸溶液程序梯度洗脱,对各组分能进行很好地分离。

采用DAD检测器,取槲寄生供试品溶液进样,并于190~400 nm进行全波长扫描,结果显示,在285 nm有较好的紫外吸收,色谱信息也最为丰富,因此选择285 nm作为检测波长。

本研究考察了不同提取溶剂、提取时间、提取方式、盐酸浓度、萃取溶剂、定容溶剂对提取效果的影响,最终选择了“2.2.1”项下的供试品溶液制备方法。

从含量测定和黄酮类指纹图谱的整体结果来看,黑龙江产地的槲寄生整体质量偏低。14批槲寄生药材黄酮类成分整体面貌基本一致,但在共有成分的含量上具有一定的差异性。化学成分含量的不同说明不同槲寄生药材的临床应用效果可能会

表6 14批样品高圣草素-7-*O*- β -*D*-葡萄糖苷、高圣草素质量分数测定($n=3$)

Table 6 Determination results of homoeriodictyol-7-*O*- β -*D*-glycoside and gaoshencao content in 14 batch samples ($n=3$)

序号	高圣草素-7- <i>O</i> - β - <i>D</i> -葡萄糖苷/(mg·g ⁻¹)	高圣草素/(mg·g ⁻¹)	2种成分总和/(mg·g ⁻¹)
S1	2.03	1.14	3.17
S2	1.50	1.39	2.89
S3	1.92	1.49	3.41
S4	2.19	1.70	3.89
S5	2.93	2.24	5.17
S6	1.42	0.85	2.27
S7	2.46	1.43	3.89
S8	2.33	1.66	3.99
S9	1.43	1.41	2.84
S10	1.18	1.14	2.32
S11	2.00	2.01	4.01
S12	2.67	2.44	5.11
S13	1.86	1.56	3.42
S14	1.61	1.73	3.34
均值	1.97	1.59	3.55
RSD/%	26.07	27.22	24.71

存在差异,这与其采收季节、生长环境、寄主有很大关系,因此考虑样品本身的原因,所建立的槲寄生黄酮类成分指纹图谱及含量测定的方法是具有参考性价值的。本课题组还测定了不同药用部位中的2种黄酮类成分含量,均是叶中的含量较高,说明不同药用部位对其含量有一定影响。其中黑河市维塔斯药业有限公司提供的俄罗斯进口槲寄生S6与来自黑龙江的2批槲寄生药材S9与S10的含量较低,其对应的相似度也较低,整体质量较差,这与PCA结果一致。

本实验收集的药材样本比较局限,应该扩大收集范围,收集不同省、地区的更多批次的药材,来进行更进一步的研究。且目前只对槲寄生黄酮类成分指纹图谱中标定的7个特征峰中的2个进行了归属,其他色谱峰所对应的化学成分还需进一步的研究鉴定。

本实验在同一色谱条件下,既建立了槲寄生黄酮类成分的特征指纹图谱,又同时测定槲寄生中高圣草素-7-*O*- β -*D*-葡萄糖苷、高圣草素的含量,方法简单省时,具有定性分析和定量分析的双重作用。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

[1] 中国药典[S].一部.2020.

- Pharmacopoeia of the People's Republic of China [S]. Volume I. 2020.
- [2] Baek J H, Jeon Y, Han K W, et al. Effect of mistletoe extract on tumor response in neoadjuvant chemoradiotherapy for rectal cancer: A cohort study [J]. World J Surg Onc, 2021, 19(1): 178.
- [3] Schnell-Inderst P, Steigenberger C, Mertz M, et al. Additional treatment with mistletoe extracts for patients with breast cancer compared to conventional cancer therapy alone - efficacy and safety, costs and cost-effectiveness, patients and social aspects, and ethical assessment [J]. Ger Med Sci, 2022, 20: Doc10.
- [4] Pietrzak W, Nowak R, Gawlik-Dziki U, et al. LC-ESI-MS/MS identification of biologically active phenolic compounds in mistletoe berry extracts from different host trees [J]. Molecules, 2017, 22(4): 624.
- [5] Kim B K, Choi M J, Park K Y, et al. Protective effects of Korean mistletoe lectin on radical-induced oxidative stress [J]. Biol Pharm Bull, 2010, 33(7): 1152-1158.
- [6] 刘爽, 曹正民, 吕文良. 槲寄生在肝癌治疗中的作用研究进展 [J]. 中国医药导报, 2020, 17(32)33-35, 43
Liu S, Cao Z M, Lyu W L. Research progress of mistletoe in the treatment of liver cancer [J]. China Med Her, 2020, 17(32)33-35, 43
- [7] 曹朵, 韩畅, 高雯, 等. 槲寄生化学成分研究 [J]. 中草药, 2016, 47(24): 4313-4317.
- Cao D, Han C, Gao W, et al. Research on chemical constituents from branches and twigs with leaves of *Viscum coloratum* [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2016, 47(24): 4313-4317.
- [8] Chen Y Y, Hou J P, Huang L, et al. Chemical constituents of *Viscum coloratum* (Kom.) Nakai and their cytotoxic activities [J]. Nat Prod Res, 2022, 36(8): 1927-1933.
- [9] 马玉英, 陈岩君, 范荣华, 等. 槲寄生药材中9种黄酮类成分在大鼠体内的组织分布 [J]. 沈阳药科大学学报, 2015, 32(12): 980-987.
Ma Y Y, Chen Y J, Fan R H, et al. Tissue distribution of 9 flavonoids in mistletoe in rats [J]. J Shenyang Pharm Univ, 2015, 32(12): 980-987.
- [10] 关玥, 孙长波, 李慧萍, 等. 槲寄生的化学成分及药理作用研究进展 [J]. 上海中医药杂志, 2016, 50(5): 102-105.
Guan Y, Sun C B, Li H P, et al. Research progress on chemical constituents and pharmacological effects of mistletoe [J]. Shanghai J Tradit Chin Med, 2016, 50(5): 102-105.
- [11] 宋川. 槲寄生的质量表征及寄主对其影响的初探 [D]. 北京: 中国中医科学院, 2022.
Song C. Quality characterization of mistletoe and the influence of host on it [D]. Beijing: China Academy of Chinese Medical Sciences, 2022.

[责任编辑 兰新新]