

基于指纹图谱和盐酸水苏碱、盐酸益母草碱含量测定的鲜益母草质量评价

刘燎原^{1,2}, 程钰洁², 张正², 洪婉敏², 卢彭信², 黄瑶², 张志鹏², 周林², 孙冬梅^{2*}

1. 广东省中医药研究开发重点实验室, 广东 广州 510095

2. 广东一方制药有限公司, 广东省中药配方颗粒企业重点实验室, 广东 佛山 528244

摘要: 目的 建立鲜益母草药材指标成分含量及指纹图谱测定方法, 结合药材安全性指标, 综合评价不同产地、不同采收期鲜益母草药材的整体质量。方法 收集不同产地23批鲜益母草药材, 测定各批次药材的UPLC指纹图谱、盐酸水苏碱和盐酸益母草碱的含量、5种重金属及有害元素的含量以及33种禁用农药残留量, 采用主成分分析(PCA)、聚类分析(HCA)以及正交偏最小二乘法判别分析(OPLS-DA)等化学模式识别方法与熵权TOPSIS法对采集的各指标数据进行多元分析; 同时收集3个产地不同采收期的鲜益母草药材, 测定各批次样品的UPLC指纹图谱、盐酸水苏碱和盐酸益母草碱的含量, 分析不同采收期鲜益母草化学成分的变化规律。结果 建立的鲜益母草药材指纹图谱共标定15个峰, 指认了6个峰, 分别为峰2(新绿原酸)、峰4(绿原酸)、峰8(盐酸益母草碱)、峰12(芦丁)、峰13(异槲皮苷)、峰15(槲树苷); 不同批次鲜益母草药材指纹图谱与指标成分的含量存在一定差异, 23批鲜益母草药材与对照指纹图谱的相似度 >0.9 , 盐酸益母草碱含量为 $0.17\sim 0.78\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$, 盐酸水苏碱含量为 $0.71\sim 5.82\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$; 铅、镉、砷、汞、铜的含量均符合《中国药典》对重金属及有害元素的一般限量要求, 33种禁用农药残留量均未检出。PCA和HCA均可将23批鲜益母草药材大致聚为3类, 采收期对鲜益母草药材的整体质量影响较大; OPLS-DA筛选出盐酸益母草碱的含量及峰1、峰5、峰7、峰8的峰面积是影响鲜益母草质量差异的主要因素; 熵权TOPSIS分析结果显示, 幼苗期的鲜益母草药材的整体质量较优; 4~7月份采收的鲜益母草中盐酸益母草碱、盐酸水苏碱含量及峰2~5、峰10~12、峰14的峰面积随时间延长均呈现下降趋势, 峰6、7、9、13、15的峰面积先上升后下降, 峰1的峰面积则呈现波动状态。结论 建立的鲜益母草药材指纹图谱和指标成分含量测定方法, 精密度高, 重复性好, 结果稳定可靠, 综合质量评价结果及不同采收期化学成分变化规律可为鲜益母草的采收及质量控制提供指导。

关键词: 鲜益母草; 盐酸益母草碱; 盐酸水苏碱; 指纹图谱; 质量评价; 采收期; 新绿原酸; 绿原酸; 盐酸益母草碱; 芦丁; 异槲皮苷; 槲树苷

中图分类号: R927.2

文献标志码: A

文章编号: 1674-6376(2024)12-2830-14

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2024.12.013

Study on quality evaluation of fresh *Leonurus japonicus* Houtt. based on fingerprint and component determination of leonurine hydrochloride and stachydrine hydrochloride

LIU Liaoyuan^{1,2}, CHENG Yujie², ZHANG Zheng², HONG Wanmin², LU Pengxin², HUANG Yao², ZHANG Zhipeng², ZHOU Lin², SUN Dongmei²

1. Guangdong Provincial Key Laboratory of Research and Development in Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510095 China

2. Guangdong Provincial Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine Formula Granule, Guangdong Yifang Pharmaceutical Co., Ltd., Foshan 528244 China

Abstract: **Objective** To establish a method for the determination of the index components and fingerprint of fresh *Leonurus japonicus*, and to comprehensively evaluate the overall quality of fresh *L. japonicus* from different origins and different harvest dates in combination with the drug safety index. **Method** A total of 23 batches of fresh *L. japonicus* in different regions were collected, the

收稿日期: 2024-05-10

基金项目: 广东省中医药研究开发重点实验室开放基金资助项目(KFKT02-007); 广东省中医药局科研项目(科研平台专项)(20233006)

第一作者: 刘燎原(1965—), 男, 湖南, 硕士, 副主任中药师, 研究方向为中药配方颗粒质量标准与技术管理。E-mail: 2493773973@qq.com

*通信作者: 孙冬梅, 主任中药师。E-mail: jishusundm@163.com

fingerprints, stachydrine hydrochloride content, 5 kinds of leonurine hydrochloride content, heavy metals and harmful elements content and 33 prohibited pesticide residues of each batch were determined, and the data of each index component were analyzed by chemical pattern recognition such as principal component analysis (PCA), hierarchical cluster analysis (HCA), orthogonal partial least squares discriminant analysis (OPLS-DA) and entropy weight TOPSIS method, at the same time, fresh *L. japonicus* from three regions at different harvest times were collected, and determined the fingerprints, stachydrine hydrochloride content and leonurine hydrochloride content, and analyzed the changes of chemical components of fresh *L. japonicus*. **Result** The established fingerprint spectrum of fresh *L. japonicus* was calibrated with 15 peaks, and 6 peaks were identified, which were peak 2 (neochlorogenic acid), peak 4 (chlorogenic acid), peak 8 (leonurus hydrochloride), peak 12 (rutin), peak 13 (isoquercetin), and peak 15 (tiliroside). There were some differences in fingerprints and content of index components of different batches of fresh *L. japonicus*, the similarity between the 23 batches of fresh *L. japonicus* and the control characteristic chromatography was greater than 0.9, the fluctuation range of leonurine hydrochloride content was 0.17 to 0.78 mg·g⁻¹, and the fluctuation range of stachydrine hydrochloride content was 0.71 to 5.82 mg·g⁻¹, the contents of lead, cadmium, arsenic, mercury and copper met the general limit requirements for heavy metals and harmful elements in the Pharmacopoeia, and 33 prohibited pesticide residues were not detected. PCA and HCA could aggregate 23 batches of fresh *L. japonicus* into three categories, and the harvest time had a great impact on the overall quality of fresh *L. japonicus*, OPLS-DA screened out that the content of leonurine hydrochloride and the peak areas of peaks 1, 5, 7, and 8 the main factors affecting the quality of fresh *L. japonicus*. The entropy weight TOPSIS method showed that the quality of fresh *L. japonicus* at seedling stage was better, the content of leonurine hydrochloride stachydrine hydrochloride and the peak areas of peak 2-5, peak 10-12 and peak 14 of fresh *L. japonicus* at different harvest times showed a downward trend, the peak areas of peak 6, 7, 9, 13 and 15 first increased and then decreased, and the peak area of peak 1 showed a fluctuating trend. **Conclusion** The method of establishing the fingerprint and content determination method of fresh *L. japonicus* was highly precise, reproducible and the results were stable and reliable, the results of comprehensive quality evaluation and the variation of chemical composition in different harvest periods can provide a reference for the comprehensive evaluation and control of the quality of fresh *L. japonicus*.

Key words: fresh *Leonurus japonicus* Houtt.; leonurine hydrochloride; stachydrine hydrochloride; fingerprint; quality evaluation; harvest periods; neochlorogenic acid; chlorogenic acid; leonurus hydrochloride; rutin; isoquercetin; tiliroside

益母草为唇形科植物益母草 *Leonurus japonicus* Houtt. 的新鲜或干燥地上部分,性微寒,味苦、辛,具有活血调经、利尿消肿、清热解毒的功效^[1],主要含有生物碱类、黄酮类、萜类、苯乙醇苷类和挥发油类成分^[2-3],素有“血家圣药”“经产良药”之称,鲜品于春季幼苗期至初夏花前期采割,是中医妇科常用药。鲜益母草始载于《神农本草经》,列为上品,历代本草均有记载,近年来,鲜益母草现代化制剂也逐渐被予以重视^[4]。现代研究表明,鲜益母草在治疗产后出血、恶露不净、月经不调及子宫复旧等症上具有显著疗效^[5-8]。《中国药典》2020年版一部收载的益母草项下,仅对鲜益母草的性状和鉴别进行规定,故鲜益母草的质量标准有较大的提升空间。此外,鲜益母草人工栽培和野生资源均较为丰富,且分布较广,采收期长,不同产地和不同采收期对鲜益母草的质量有明显影响^[9-11]。基于此,本研究采集了河南、山东、湖北等不同产地的23批鲜益母草药材,建立了指纹图谱和盐酸益母草碱、盐酸水苏碱的含量测定方法,同时结合5种重金属及有害元素含量以及33种禁用农药残留量等安全性评价指标,采用多化学模式识别和熵权 TOPSIS 法

综合评价鲜益母草的质量;同时采集了3个产地不同采收期的鲜益母草药材,测定其指纹图谱和盐酸益母草碱、盐酸水苏碱的含量,并分析各化学成分的变化规律,以期为鲜益母草药材的采收、质量控制及标准的提升提供参考。

1 材料

1.1 仪器

Thermo Vanquish 型超高效液相色谱系统[赛默飞世尔科技(中国)有限公司]; Waters H-class 型超高效液相色谱系统、Waters Arc 型超高效液相色谱系统(美国 Waters 公司); MiliQ Direct 8 型超纯水机(德国默克密理博公司); XP26 百万分之一天平、ME204E 型万分之一天平(美国 Mettler Toledo 公司); KQ-500DE 型数控超声清洗器(昆山市超声仪器有限公司); HWS28 型电热恒温水浴锅(上海一恒科技有限公司); DHG-9147A 型电热恒温干燥箱(上海精宏实验设备有限公司)。

1.2 主要试剂

盐酸益母草碱对照品(批号 111823-201704, 质量分数 94.3%)、盐酸水苏碱对照品(批号 110712-201916, 质量分数 99.2%)、绿原酸(批号 110753-

202018, 质量分数 96.1%)、芦丁(批号 100080-201811, 质量分数 91.7%)、异槲皮苷(批号 111809-201804, 质量分数 97.2%)、槲树苷(批号 112000-201802), 均购自中国食品药品检定研究院; 新绿原酸(批号 wkq1803107, 质量分数 98%, 四川维克奇生物科技有限公司); 甲醇、乙腈(色谱级, 德国默克股份有限公司); 磷酸、冰醋酸(色谱级, 天津市科密欧化学试剂有限公司); 十二烷基磺酸钠(色谱级, 山东禹王和天下新材料有限公司); 水为超纯水, 其余试剂均为分析纯。

不同产地、采收期的鲜益母草药材经广东一方制药有限公司孙冬梅主任中药师鉴定为唇形科植物益母草 *L. japonicus* Houtt. 的新鲜地上部分, 来源信息见表 1、2。

2 方法与结果

2.1 5种重金属及有害元素测定

按《中国药典》2020年版(通则 2321 原子吸收分光光度法或电感耦合等离子体质谱法)铅、镉、砷、汞、铜测定法操作, 对 23 批鲜益母草药材进行重金属及有害元素测定, 结果见表 3。在《中国药典》

2020年版中规定的大部分品种中, 除矿物、动物、海洋类以外的中药材, 铅不得过 $5\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 镉不得过 $1\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 砷不得过 $2\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 汞不得过 $0.2\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 铜不得过 $20\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。结果表明, 23 批各产地的鲜益母草的铅、镉、砷、汞、铜的含量均符合要求。

2.2 33种禁用农残检查

按《中国药典》2020年版(通则 0212 药材和饮片检定通则和 2341 农药残留量测定法第五法), 对 23 批鲜益母草的 33 种禁用农药甲胺磷、苯线磷/亚砷、治螟磷、克百威/-3 羟基、胺苯磺隆、甲磺隆、氯磺隆、硫线磷、氯唑磷、甲拌磷/亚砷、蝇毒磷、硫环磷、磷胺、涕灭威/亚砷、久效磷、内吸磷、灭线磷、特丁硫磷/亚砷、水胺硫磷、杀虫脒、甲基异柳磷、六六六(总)、氟虫腈/亚砷/氟甲腈、艾氏剂、狄试剂、硫丹 $\alpha\beta$ 、滴滴涕(总)、甲基对硫磷、对硫磷、甲基硫环磷、除草醚、地虫硫磷和三氯杀螨醇进行了测定, 见表 3。结果表明, 23 批鲜益母草药材中 33 种禁用农药均未超过定量限, 均符合要求。

2.3 盐酸益母草碱含量测定

2.3.1 供试品溶液的制备 取鲜益母草药材适量,

表 1 不同产地鲜益母草药材来源信息

Table 1 Source information of fresh *L. japonicus* from different origins

编号	产地	采收时间	种植方式	编号	产地	采收时间	种植方式
S1	河南省驻马店市确山县	2021-04-10	家种	S13	湖北省随州市随县	2021-05-18	野生
S2	河南省驻马店市确山县	2021-04-10	家种	S14	湖北省随州市随县	2021-05-18	野生
S3	河南省驻马店市确山县	2021-04-10	家种	S15	河南省信阳市浉河区	2021-05-18	野生
S4	河南省驻马店市驿城区	2021-04-24	野生	S16	河南省信阳市浉河区	2021-05-18	野生
S5	河南省驻马店市确山县	2021-04-24	野生	S17	河南省信阳市浉河区	2021-05-18	野生
S6	河南省驻马店市确山县	2021-04-24	野生	S18	山东省临沂市蒙阴县	2021-05-25	野生
S7	河南省南阳市桐柏县	2021-05-18	野生	S19	山东省临沂市蒙阴县	2021-05-25	野生
S8	河南省南阳市桐柏县	2021-05-18	野生	S20	山东省临沂市蒙阴县	2021-05-25	野生
S9	河南省南阳市桐柏县	2021-05-18	野生	S21	河南省驻马店市确山县	2021-05-29	家种
S10	河南省南阳市桐柏县	2021-05-18	野生	S22	河南省驻马店市确山县	2021-05-29	家种
S11	湖北省随州市随县	2021-05-18	野生	S23	河南省驻马店市确山县	2021-05-29	家种
S12	湖北省随州市随县	2021-05-18	野生				

表 2 不同采收期鲜益母草药材来源信息

Table 2 Source information of fresh *L. japonicus* at different harvest times

产地	采收时间	产地	采收时间	产地	采收时间
河南省驻马店市	2022-04-15	河南省南阳市	2023-04-24	江苏省宿迁市	2023-04-21
	2022-05-08		2023-05-05		2023-05-04
	2022-05-24		2023-05-17		2023-05-15
	2022-06-09		2023-06-02		2023-05-29
	2022-07-29		2023-06-19		2023-06-19
	2022-04-15		2023-07-17		2023-07-03

表3 23批鲜益母草各指标测定结果
Table 3 Determination results of 23 batches of fresh *L. japonicus*

编号	水分/%	铅/ (mg·kg ⁻¹)	镉/ (mg·kg ⁻¹)	砷/ (mg·kg ⁻¹)	汞/ (mg·kg ⁻¹)	铜/ (mg·kg ⁻¹)	33种禁用农 药残留量	盐酸益母草 碱/(mg·g ⁻¹)	盐酸水苏碱/ (mg·g ⁻¹)
S1	88.24	1.031	0.042	0.503	0.009	12.657	未检出	0.435	5.460
S2	89.85	0.540	0.022	0.288	0.007	11.994	未检出	0.456	5.825
S3	88.57	0.825	0.048	0.528	0.009	10.477	未检出	0.430	5.509
S4	89.09	1.000	0.027	0.165	<0.003	7.361	未检出	0.187	1.190
S5	86.65	1.312	0.036	0.267	<0.003	8.615	未检出	0.341	1.477
S6	87.13	1.064	0.119	0.297	<0.003	5.839	未检出	0.501	3.495
S7	90.21	0.816	0.024	0.227	<0.003	8.531	未检出	0.247	1.659
S8	88.56	0.935	0.036	0.284	<0.003	10.097	未检出	0.456	1.800
S9	86.94	1.228	0.018	0.212	<0.003	5.668	未检出	0.223	1.198
S10	86.03	3.641	0.037	0.254	<0.003	7.292	未检出	0.186	0.872
S11	89.23	1.457	0.030	0.198	<0.003	8.151	未检出	0.196	1.240
S12	87.99	0.875	0.103	0.130	<0.003	6.693	未检出	0.321	1.761
S13	89.85	1.349	0.036	0.364	<0.003	9.972	未检出	0.166	1.052
S14	90.77	1.874	0.031	0.210	<0.003	9.451	未检出	0.173	0.706
S15	90.28	2.447	0.037	0.254	<0.003	8.171	未检出	0.202	0.897
S16	85.64	1.354	0.026	0.190	<0.003	13.162	未检出	0.315	1.092
S17	89.20	1.119	0.026	0.301	<0.003	10.647	未检出	0.284	1.173
S18	89.78	0.274	0.012	0.171	0.017	7.113	未检出	0.532	2.181
S19	88.47	0.708	0.022	0.257	0.012	7.650	未检出	0.672	3.020
S20	85.75	0.942	0.034	0.286	0.008	7.822	未检出	0.775	4.493
S21	89.03	0.388	<0.009	0.057	<0.003	6.466	未检出	0.271	1.643
S22	88.73	0.227	0.009	0.060	<0.003	6.109	未检出	0.282	1.893
S23	85.57	0.224	0.011	0.050	<0.003	7.011	未检出	0.342	2.417

切碎,取约1.0 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入70%乙醇50 mL,称定质量,加热回流1 h,取出,放冷,再称定质量,用70%乙醇补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.3.2 对照品溶液的制备 精密称取盐酸益母草碱对照品适量,精密称定,加70%乙醇制成20 μg·mL⁻¹的溶液,即得。

2.3.3 色谱条件 采用Agilent ZORBAX SB C₁₈(100 mm×2.1 mm,1.8 μm)色谱柱;流动相为乙腈-0.4%辛烷磺酸钠的0.1%磷酸溶液(24:76);检测波长为277 nm;体积流量0.2 mL·min⁻¹;柱温30 ℃;用紫外检测器检测;进样量1 μL。理论板数按盐酸益母草碱峰计算应不低于6 000。供试品溶液、盐酸益母草碱溶液与空白溶剂色谱图见图1。

2.3.4 线性关系考察 精密称取盐酸益母草碱对照品适量,精密称定,加70%乙醇制成155.124 μg·mL⁻¹的溶液,得到盐酸益母草碱对照品储备液。精密吸取储备液0.2、0.5、1.0、2.0、5.0 mL,置于10 mL量瓶

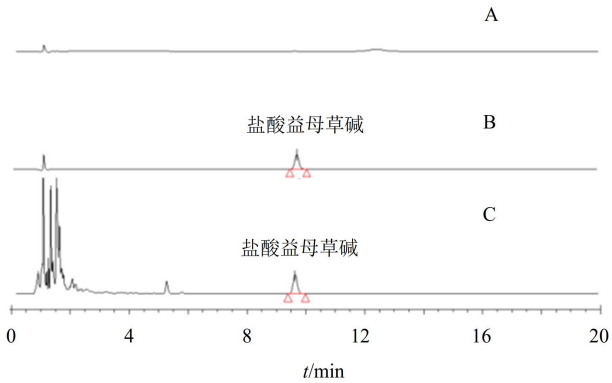


图1 空白溶剂(A)、盐酸益母草碱对照品溶液(B)和供试品溶液(C)HPLC图

Fig. 1 Chromatograms of blank solvent (A), reference solution of leonurus hydrochloride (B) and test sample solution (C) by HPLC

中,加70%乙醇定容,分别制成盐酸益母草碱3.102、7.756、15.512、31.025、77.562 μg·mL⁻¹的对照品溶液。精密吸取各质量浓度的对照品溶液,按“2.3.3”项下色谱条件分别进样测定,记录峰面

积。以对照品质量浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,绘制标准曲线,得回归方程 $Y=0.095X-0.036$, $R^2=0.9999$,结果表明盐酸益母草碱的质量浓度在 $3.102\sim 77.562\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 与峰面积线性关系良好。

2.3.5 精密度考察 取鲜益母草供试品溶液(S3),按“2.3.3”项下色谱条件连续进样6次,计算得到盐酸益母草碱峰面积的RSD为0.99%,表明仪器精密度良好。

2.3.6 稳定性考察 取鲜益母草供试品溶液(S3),按“2.3.3”项下色谱条件,分别在制备后0、2、4、6、12、18、24 h进样测定,计算得到盐酸益母草碱的峰面积的RSD为0.91%,表明供试品溶液在24 h内稳定性良好。

2.3.7 重复性考察 取鲜益母草供试品(S3)6份,按“2.3.1”项下方法制备供试品溶液,按“2.3.3”项下色谱条件进样测定,计算得到盐酸益母草碱的质量分数RSD为1.25%,表明方法重复性良好。

2.3.8 加样回收率考察 取已知含量的鲜益母草供试品(S3)9份,每份取样量减半,精密称定,置于锥形瓶中,平均分为3组。分别向3组锥形瓶中精密加入盐酸益母草碱对照品,对照品加入量与所取供试品中成分含量之比控制在0.5:1.0、1.0:1.0、1.5:1.0,按“2.3.1”项下方法制备供试品溶液,按“2.3.3”项下色谱条件进样测定,计算得盐酸益母草碱的平均加样回收率为102.18%,RSD为2.65%,表明该方法的准确度良好。

2.3.9 盐酸益母草碱含量测定 取23批鲜益母草药材,按“2.3.1”项下方法制备供试品溶液,按“2.3.3”项下色谱条件进样测定,结果见表3。结果显示,23批鲜益母草药材盐酸益母草碱质量分数为 $0.17\sim 0.78\ \text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$,均值为 $0.35\ \text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$,RSD为46.89%,不同批次鲜益母草药材盐酸益母草碱含量存在一定差异。

2.4 盐酸水苏碱含量测定

2.4.1 供试品溶液的制备 同“2.3.1”项。

2.4.2 对照品溶液的制备 取盐酸水苏碱对照品适量,精密称定,加70%乙醇制成 $160\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的溶液,即得。

2.4.3 色谱条件 采用 Agela Venusil hilic Column (250 mm×4.6 mm, 5 μm) 色谱柱;流动相为乙腈-0.2%冰醋酸溶液(80:20);体积流量 $1.0\ \text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$;柱温为 $30\ ^\circ\text{C}$;用蒸发光散射检测器检测。分别精密吸取对照品溶液5、10 μL ,供试品溶液5~10 μL ,注入液相色谱仪,测定,用外标两点法

对数方程计算。供试品溶液、盐酸水苏碱溶液与空白溶剂色谱图见图2。

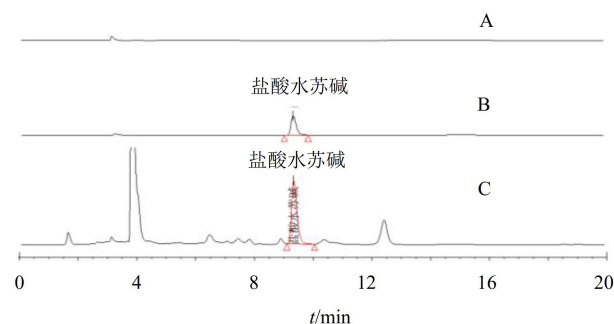


图2 空白溶剂(A)、盐酸水苏碱对照品溶液(B)和供试品溶液(C)HPLC图

Fig. 2 Chromatograms of blank solvent (A), reference solution of stachydrine hydrochloride (B) and test sample solution (C) by HPLC

2.4.4 线性关系考察 精密称取盐酸水苏碱对照品适量,精密称定,加70%乙醇制成 $312.758\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的溶液,得到盐酸水苏碱对照品储备液。分别精密吸取储备液0.5、1.0、2.0、5.0、10.0 mL,置于10 mL量瓶中,加70%乙醇定容,依次配制质量浓度为 15.638 、 31.276 、 62.552 、 156.379 、 $312.758\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的盐酸水苏碱对照品溶液。精密吸取各质量浓度的对照品溶液,按“2.4.3”项下色谱条件分别进样测定,记录峰面积。以对照品进样质量分数的对数为横坐标,峰面积的对数为纵坐标,绘制标准曲线,得回归方程 $Y=1.2567X-14.4029$, $R^2=0.9990$,结果表明盐酸水苏碱在 $15.638\sim 312.758\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时,对照品进样质量分数对数与峰面积对数线性关系良好。

2.4.5 精密度考察 取鲜益母草供试品溶液(S3),按“2.4.3”项下色谱条件连续进样6次,计算得到盐酸水苏碱峰面积的RSD为1.01%,表明仪器精密度良好。

2.4.6 稳定性考察 取鲜益母草供试品溶液(S3),按“2.4.3”项下色谱条件,分别在制备后0、2、4、6、12、18、24 h进样测定,计算得到盐酸水苏碱的峰面积的RSD为0.99%,表明供试品溶液在24 h内稳定性良好。

2.4.7 重复性考察 取鲜益母草供试品(S3)6份,按“2.4.1”项下方法制备供试品溶液,按“2.4.3”项下色谱条件进样测定,计算得到盐酸水苏碱的质量分数RSD为1.13%,表明方法重复性良好。

2.4.8 加样回收率考察 取已知含量的鲜益母草饮片供试品(S3)9份,每份取样量减半,精密称定,

置于锥形瓶中,平均分为3组。分别向3组锥形瓶中精密加入盐酸水苏碱对照品,对照品加入量与所取供试品中盐酸水苏碱含量之比控制在0.5:1.0、1.0:1.0、1.5:1.0,按“2.4.1”项下方法制备供试品溶液,按“2.4.3”项下色谱条件进样测定,计算得盐酸水苏碱的平均加样回收率为98.1%,RSD为4.05%,表明该方法的准确度良好。

2.4.9 盐酸水苏碱含量测定 取23批鲜益母草药材,按“2.4.1”项下方法制备供试品溶液,按“2.4.3”项下色谱条件进样测定,结果见表3。结果显示,23批鲜益母草盐酸水苏碱质量分数为0.71~5.82 mg·g⁻¹,均值为2.26 mg·g⁻¹,RSD为70.56%,不同批次鲜益母草药材盐酸水苏碱含量存在一定差异。

2.5 鲜益母草药材指纹图谱的建立

2.5.1 供试品溶液的制备 同“2.3.1”。

2.5.2 对照品溶液的制备 取新绿原酸、绿原酸、盐酸益母草碱、芦丁、异槲皮苷、槲树苷对照品适量,精密称定,加70%乙醇制成每1毫升含新绿原酸5 μg、绿原酸15 μg、盐酸益母草碱20 μg、芦丁36 μg、异槲皮苷15 μg、槲树苷15 μg的混合溶液,作为对照品参照物溶液。

2.5.3 色谱条件 采用Waters ACQUITY HSS T3色谱柱(100 mm×2.1 mm, 1.8 μm)色谱柱;以乙腈(A)-0.1%磷酸水溶液(B)为流动相,梯度洗脱:0~11 min,3%~10% A;11~15 min,10%~11% A;15~22 min,11%~12% A;22~28 min,12%~16% A;28~30 min,16%~20% A;30~34 min,20%~22% A;34~40 min,22%~60% A;40~41 min,60%~3% A;41~50 min,3% A;体积流量0.25 mL·min⁻¹;柱温为30℃;检测波长为277 nm;进样量为1 μL。

2.5.4 精密度考察 取鲜益母草供试品溶液(S3),按“2.5.3”项下色谱条件连续进样6次,与绿原酸参照物峰相对应的峰为S1峰,计算特征峰1、峰2、峰3、峰5与S1峰的相对保留时间和相对峰面积;与盐酸益母草碱参照物峰相对应的峰为S2峰,计算特征峰6、峰7、峰9~15与S2峰的相对保留时间和相对峰面积,计算得到各共有峰的相对保留时间RSD在0.00%~0.08%,相对峰面积的RSD在0.00%~1.87%,表明该特征图谱的精密度较好。

2.5.5 稳定性考察 取鲜益母草各供试品溶液(S3),按“2.5.3”项下色谱条件,分别在制备后0、2、4、8、16、24 h进样测定,与绿原酸参照物峰相对应的峰为S1峰,计算峰1、峰2、峰3、峰5与S1峰的相对保留时间和相对峰面积;与盐酸益母草碱参照物

峰相对应的峰为S2峰,计算特征峰6、峰7、峰9~15与S2峰的相对保留时间和相对峰面积,计算得到各共有特征峰的相对保留时间RSD在0.00%~0.20%,相对峰面积RSD在0.30%~1.46%,均小于3.0%,表明供试品溶液在24 h内稳定。

2.5.6 重复性考察 取鲜益母草供试品(S3)6份,按“2.5.1”项下方法制备供试品溶液,按“2.5.3”项下色谱条件进样测定,与绿原酸参照物峰相对应的峰为S1峰,计算峰1、峰2、峰3、峰5与S1峰的相对保留时间和相对峰面积;与盐酸益母草碱参照物峰相对应的峰为S2峰,计算特征峰6、峰7、峰9~15与S2峰的相对保留时间和相对峰面积,计算得到各共有峰的相对保留时间RSD在0.00%~0.538%,相对峰面积的RSD在0.00%~2.89%,表明该特征图谱方法的重复性良好。

2.5.7 指纹图谱的建立及色谱峰的指认 取23批鲜益母草样品,按照“2.5.1”项下方法制备供试品溶液,按“2.5.3”项下色谱条件进样检测,记录各特征峰的峰面积值,并进行量化处理(峰面积/称样量),结果见表4。采用“中药色谱指纹图谱相似度评价系统2012版”软件进行数据处理,建立指纹图谱,并确立了15个共有峰,生成对照指纹图谱;通过与对照品比对,指认出其中6个主要成分,分别为峰2(新绿原酸)、峰4(绿原酸)、峰8(盐酸益母草碱)、峰12(芦丁)、峰13(异槲皮苷)和峰15(槲树苷),结果见图3、4。

2.5.8 相似度评价 采用“中药色谱指纹图谱相似度评价系统2012版”软件计算23批鲜益母草指纹图谱与对照指纹图谱的相似度,结果见表5。结果显示,23批鲜益母草药材与对照指纹图谱的相似度均>0.9,说明鲜益母草药材样品与对照特征图谱间的相似度较好。

2.6 不同产地鲜益母草质量评价

2.6.1 主成分分析(PCA)及聚类分析(HCA) 将23批鲜益母草药材盐酸益母草碱、盐酸水苏碱含量及指纹图谱共有峰的“峰面积/称样量”值导入SIMCA 14.0软件中进行PCA及HCA,结果见图5、6。

当特征值>1时,共提取了3个主成分因子,其特征值及方差贡献率见表6,前3个主成分可用于反映鲜益母草药材指纹图谱整体88.4%的信息。

由图6可知,23批鲜益母草药材在距离刻度为60时,可以将鲜益母草分为3类,第1类为4月上旬采收的S1~S3,第2类为4月下旬采收的S4~S5,

表4 23批鲜益母草各特征峰峰面积值

Table 4 Area values of characteristic peaks of 23 batches of fresh *L. japonicus*

编号	峰面积/称样量														
	峰1	峰2	峰3	峰4	峰5	峰6	峰7	峰8	峰9	峰10	峰11	峰12	峰13	峰14	峰15
S1	0.199	0.206	0.456	0.731	0.611	0.943	1.125	1.222	0.222	0.182	0.260	1.512	0.164	0.669	0.096
S2	0.200	0.197	0.416	0.653	0.539	1.098	1.104	1.478	0.219	0.173	0.249	1.495	0.120	0.671	0.092
S3	0.167	0.185	0.387	0.594	0.487	0.809	0.939	1.095	0.185	0.143	0.230	1.179	0.115	0.685	0.076
S4	0.079	0.197	0.450	0.742	0.203	0.665	0.980	0.659	0.522	0.353	0.637	0.974	0.382	0.326	0.212
S5	0.078	0.147	0.351	0.599	0.128	1.064	1.079	0.492	0.585	0.343	0.752	1.109	0.513	0.228	0.291
S6	0.074	0.156	0.367	0.675	0.213	0.724	0.934	1.757	0.582	0.338	0.700	0.864	0.228	0.321	0.256
S7	0.039	0.097	0.245	0.345	0.126	0.262	0.396	1.147	0.241	0.135	0.240	0.281	0.068	0.088	0.065
S8	0.053	0.093	0.222	0.351	0.119	0.714	0.515	0.542	0.258	0.173	0.233	0.360	0.136	0.201	0.106
S9	0.050	0.091	0.230	0.352	0.122	0.529	0.512	0.364	0.254	0.171	0.331	0.420	0.160	0.162	0.150
S10	0.038	0.105	0.247	0.379	0.138	0.286	0.351	0.532	0.162	0.119	0.093	0.114	0.033	0.136	0.059
S11	0.038	0.085	0.233	0.357	0.136	0.356	0.463	0.362	0.217	0.178	0.278	0.387	0.137	0.165	0.076
S12	0.081	0.128	0.377	0.496	0.196	0.539	0.646	0.467	0.390	0.291	0.387	0.709	0.278	0.197	0.182
S13	0.049	0.114	0.273	0.403	0.134	0.657	0.684	0.629	0.361	0.197	0.577	0.594	0.195	0.210	0.245
S14	0.049	0.103	0.250	0.384	0.125	0.563	0.593	0.416	0.287	0.181	0.265	0.356	0.127	0.136	0.157
S15	0.060	0.125	0.333	0.500	0.134	0.396	0.557	1.059	0.298	0.241	0.328	0.403	0.145	0.098	0.173
S16	0.063	0.116	0.299	0.458	0.143	0.625	0.492	0.657	0.248	0.204	0.465	0.601	0.252	0.202	0.139
S17	0.055	0.112	0.297	0.434	0.147	0.668	0.622	0.576	0.358	0.216	0.356	0.511	0.152	0.283	0.139
S18	0.017	0.051	0.177	0.251	0.091	0.415	0.292	1.201	0.141	0.090	0.094	0.340	0.050	0.185	0.060
S19	0.033	0.088	0.315	0.399	0.183	0.375	0.355	1.513	0.191	0.116	0.194	0.461	0.068	0.157	0.102
S20	0.058	0.116	0.415	0.577	0.225	0.647	0.522	1.746	0.261	0.180	0.328	0.801	0.150	0.275	0.150
S21	0.110	0.051	0.161	0.234	0.123	0.419	0.595	0.754	0.329	0.132	0.286	0.320	0.117	0.143	0.193
S22	0.085	0.036	0.095	0.162	0.077	0.620	0.452	0.749	0.238	0.096	0.096	0.133	0.045	0.121	0.143
S23	0.066	0.069	0.215	0.300	0.158	0.676	0.590	0.774	0.283	0.118	0.123	0.150	0.047	0.151	0.187

第3类为5月中下旬采收的S7~S23,说明不同时期采收的鲜益母草存在明显差异,而不同产地之间采收的样品均存在交叉的情况,质量差异不大,并未表现出明显产地优势。

2.6.2 正交偏最小二乘法判别分析(OPLS-DA)为筛选出各批次鲜益母草药材成分差异的主要标志性成分,将23批鲜益母草药材盐酸益母草碱、盐酸水苏碱含量及指纹图谱共有峰的“峰面积/称样量”值导入SIMCA 14.1进行OPLS-DA,得分图见图7。对各指标的变量投影重要度(VIP)值进行大小排列,选择VIP值大于1的指标作为筛选各批次鲜益母草的主要差异性指标,结果见图8。

建立的鲜益母草药材OPLS-DA模型中,自变量累积解释能力参数 R^2_x 为0.883,因变量累积解释能力参数 R^2_y 为0.797,预测能力参数 Q^2 为0.741,均大于0.5,说明所建模型具有较强的解释率和预测率。共提取5个VIP值大于1的指标,重要程度排名

依次为盐酸益母草碱含量以及峰8、峰1、峰5、峰7的“峰面积/称样量”,故以上5个指标为影响各批次鲜益母草药材质量差异的标志物。

2.6.3 基于熵权TOPSIS法的综合质量评价模型构建熵权法是计算指标的信息熵,利用指标自身的变异程度来衡量数据中包含的有效信息,从而确定其对应的指标权重,可以用于多指标评价系统中确定各指标权重,近年来,TOPSIS法已广泛应用于中药综合质量评价领域^[12-16]。以鲜益母草的盐酸益母草碱和盐酸水苏碱含量、共有峰总峰面积及重金属总量构建初始决策矩阵,参考文献报道^[17],按照公式(1)、(2)对各指标进行归一标准化处理,公式(1)为正向指标同向化处理,公式(2)为负向指标同向化处理,其中盐酸益母草碱、盐酸水苏碱含量及共有峰总峰面积为正向指标,重金属总量为负向指标;再按照公式(3)、(4)计算各指标的信息熵 e 及权重系数 w ,具体结果见表7。

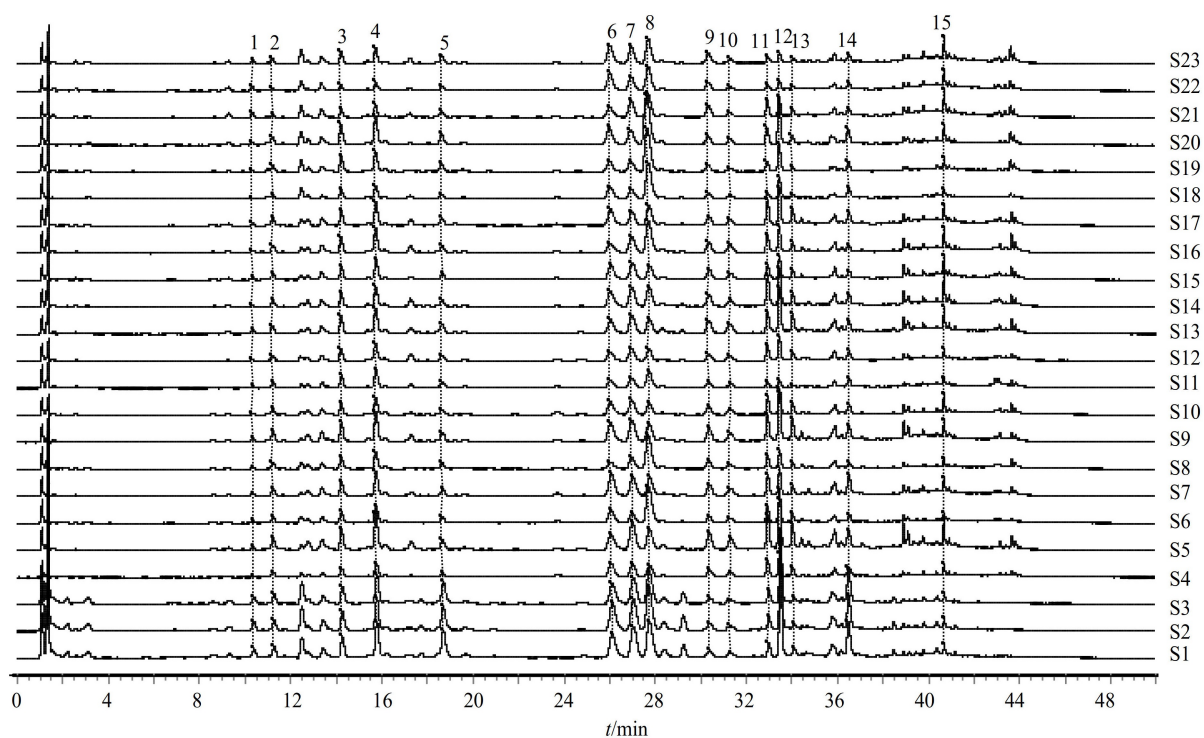
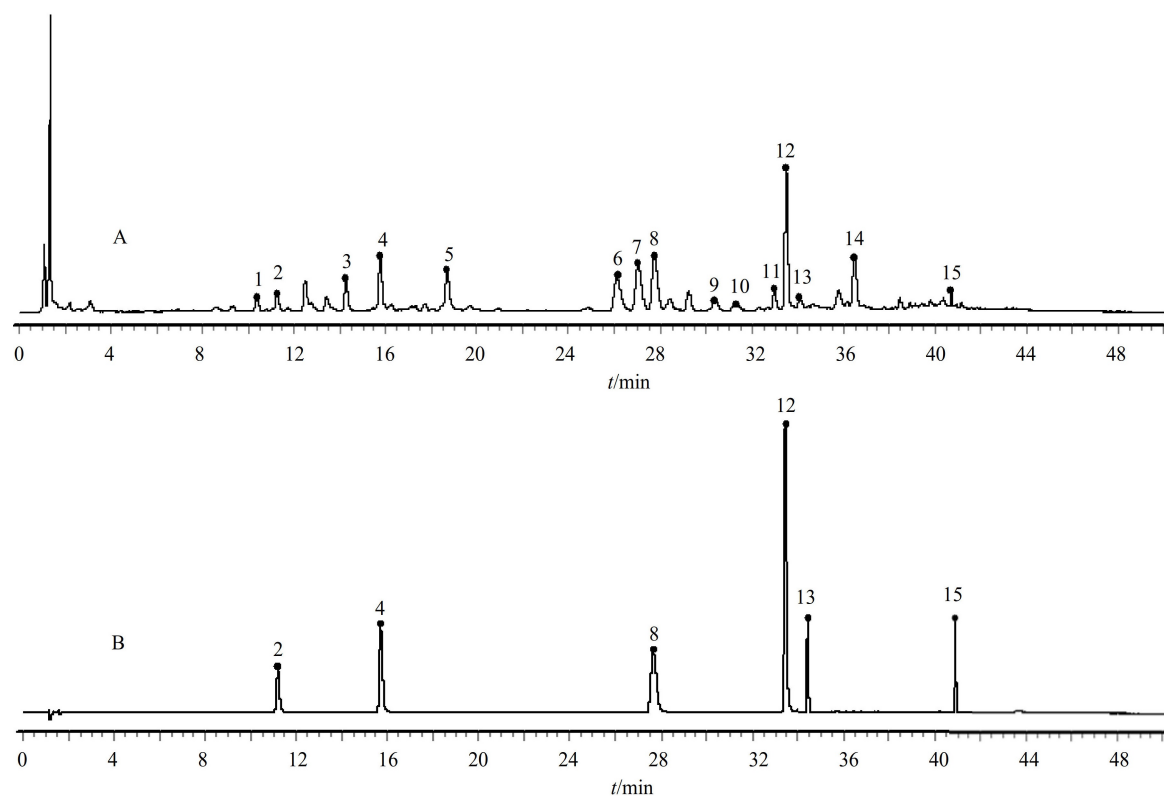


图3 23批鲜益母草UPLC指纹图谱叠加图

Fig. 3 Overlay of UPLC fingerprints of 23 batches of fresh *L. japonicus*



2-新绿原酸;4-绿原酸;8-盐酸益母草碱;12-芦丁;13-异槲皮苷;15-槲树苷。

2-neochlorogenic acid;4-chlorogenic acid;8-leonurus hydrochloride;12-rutin;13-isoquercetin;15-tiliroside.

图4 鲜益母草对照指纹图谱(A)及混合对照品色谱图(B)

Fig. 4 Fingerprint of fresh *L. japonicus* (A) and chromatogram of mixed reference substance (B)

表5 23批鲜益母草与对照指纹图谱的相似度评价结果
Table 5 Similarity evaluation results of fingerprints of 23 batches of fresh *L. japonicus* and control

编号	相似度	编号	相似度
S1	0.957	S13	0.950
S2	0.966	S14	0.966
S3	0.961	S15	0.960
S4	0.960	S16	0.969
S5	0.947	S17	0.979
S6	0.926	S18	0.901
S7	0.960	S19	0.903
S8	0.917	S20	0.953
S9	0.959	S21	0.972
S10	0.959	S22	0.920
S11	0.947	S23	0.943
S12	0.969		

$$R_{ij} = [X_{ij} - \min(X_{1j}, X_{2j}, \dots, X_{mj})] / [\max(X_{1j}, X_{2j}, \dots, X_{mj}) - \min(X_{1j}, X_{2j}, \dots, X_{mj})] \quad (1)$$

$$R_{ij} = [\min(X_{1j}, X_{2j}, \dots, X_{mj}) - X_{ij}] / [\max(X_{1j}, X_{2j}, \dots, X_{mj}) - \min(X_{1j}, X_{2j}, \dots, X_{mj})] \quad (2)$$

$$E_j = -k \sum_{i=1}^m R_{ij} \ln R_{ij} \quad (3)$$

$$k = \frac{1}{\ln m}, \text{ 当 } R_{ij}=0 \text{ 时, 令 } R_{ij} \ln R_{ij}=0$$
$$w_j = \frac{1-E_j}{\sum_{j=1}^n (1-E_j)} \quad (\sum_{j=1}^n w_j = 1) \quad (4)$$

TOPSIS法是系统工程中有限方案多目标决策

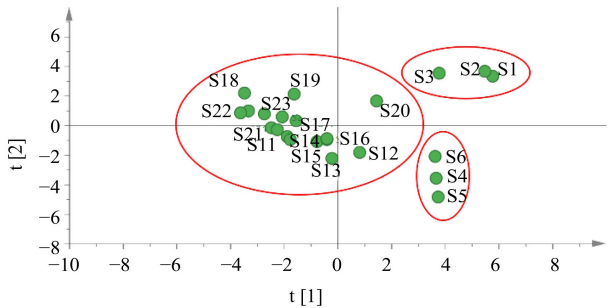


图5 鲜益母草PCA得分图
Fig. 5 PCA score plot of fresh *L. japonicus*

分析的一种综合评价方法,基本原理是通过计算评价样本与正理想解和负理想解的距离来进行排序,能充分利用原始数据的信息,精确地反映各评价方案之间的差距。模型构建方法参考文献报道^[17]。根据标准化决策矩阵和各指标的权重系数 w ,按照公式(5)建立加权决策矩阵,确定最优向量与最劣向量,并按照公式(6)、(7)计算每个样品与最优向量和最劣向量的距离 D 以及最优解的欧氏贴近度 C_i ,根据 C_i 的大小对评价样本进行排序,结果见表8。

$$Z = (R_{ij} \times w_j) m \times n \quad (5)$$

$$D_i^+ = \sqrt{\sum_{j=1}^n (Z_{ij} - Z_j^+)^2} \quad D_i^- = \sqrt{\sum_{j=1}^n (Z_{ij} - Z_j^-)^2} \quad (6)$$

$$C_i = \frac{D_i^-}{D_i^+ + D_i^-} \quad (7)$$

D_i^+ 为与正理想解距离, D_i^- 为与负理想解的距离; C_i 为欧式贴近度

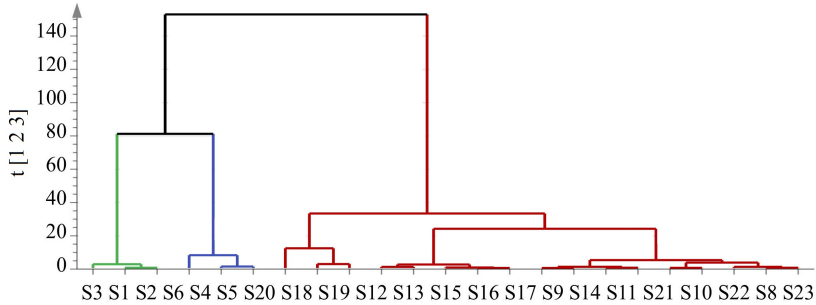


图6 鲜益母草HCA
Fig. 6 HCA of fresh *L. japonicus*

表6 鲜益母草主成分特征值及方差贡献率
Table 6 Principal component characteristic values and variance contribution rate of fresh *L. japonicus*

主成分	特征值	方差贡献率/%	累积方差贡献率/%
1	8.74	51.40	51.40
2	4.76	28.00	79.40
3	1.53	8.97	88.40

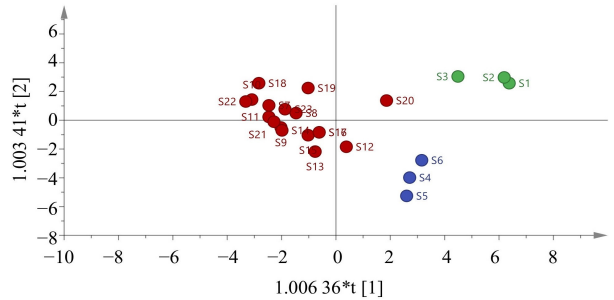
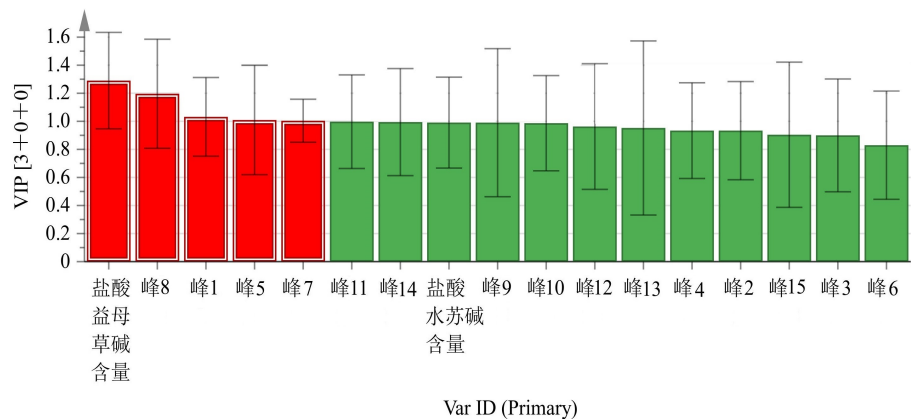


图7 鲜益母草OPLS-DA评分
Fig. 7 OPLS-DA score plot of fresh *L. japonicus*



峰2-新绿原酸;峰4-绿原酸;峰8-盐酸益母草碱;峰12-芦丁;峰13-异槲皮苷;峰15-槲皮素。
Peak 2-neochlorogenic acid;Peak 4-chlorogenic acid;Peak 8-leonurus hydrochloride;Peak 12-rutin;Peak 13-isoquercetin;Peak 15-tiliroside.

图8 鲜益母草VIP分析图

Fig. 8 VIP histogram of fresh *L. japonicus*

表7 鲜益母草熵权法权重计算结果

Table 7 Calculation results of entropy weight method
weight of fresh *L. japonicus*

指标项	信息熵值(<i>e</i>)	权重系数(<i>w</i>)/%
盐酸益母草碱含量	0.910 2	5.68
盐酸水苏碱含量	0.865 4	8.52
峰1	0.899 8	6.34
峰2(新绿原酸)	0.937 7	3.94
峰3	0.957 4	2.69
峰4(绿原酸)	0.946 7	3.37
峰5	0.845 9	9.75
峰6	0.943 5	3.57
峰7	0.917 2	5.24
峰8(盐酸益母草碱)	0.904 8	6.02
峰9	0.923 7	4.83
峰10	0.902 5	6.16
峰11	0.920 5	5.03
峰12(芦丁)	0.911 8	5.58
峰13(异槲皮苷)	0.914 7	5.39
峰14	0.829 6	10.77
峰15(槲皮素)	0.930 8	4.38
总重金属	0.956 5	2.75

由表8可知,质量排名前3的为4月上旬采收的S1~S3,排名第4~6的为4月下旬采收的S4~S6,5月采收的鲜益母草排名靠后,说明采收期对鲜益母草的质量影响较大,幼苗期的鲜益母草质量整体较优。5月采收的鲜益母草排名为第7~23名,不同产地的鲜益母草药材质量未表现出明显的优劣。可见,TOPSIS法评价结果与PCA及HCA的结果较为一致。

2.7 不同采收期鲜益母草化学成分变化规律

鲜益母草质量评价研究结果显示,不同产地鲜益母草药材质量未表现出明显的优劣,而幼苗期的鲜益母草质量整体较优,原因可能是采收期对鲜益

表8 鲜益母草TOPSIS模型质量评价情况

Table 8 Quality evaluation of TOPSIS model of fresh *L. japonicus*

编号	<i>D</i> _i ⁺	<i>D</i> _i ⁻	<i>C</i> _i	排名
S1	0.100	0.189	0.653	2
S2	0.085	0.222	0.723	1
S3	0.113	0.173	0.604	3
S4	0.154	0.147	0.489	4
S5	0.180	0.124	0.407	6
S6	0.146	0.136	0.481	5
S7	0.207	0.072	0.258	15
S8	0.200	0.067	0.252	17
S9	0.221	0.045	0.168	22
S10	0.243	0.021	0.080	23
S11	0.211	0.052	0.197	19
S12	0.181	0.092	0.338	10
S13	0.183	0.102	0.358	7
S14	0.197	0.077	0.280	13
S15	0.190	0.097	0.338	9
S16	0.213	0.053	0.199	18
S17	0.182	0.083	0.312	12
S18	0.212	0.077	0.267	14
S19	0.199	0.093	0.318	11
S20	0.180	0.099	0.354	8
S21	0.201	0.070	0.258	16
S22	0.223	0.052	0.191	20
S23	0.222	0.045	0.168	21

母草药材的质量影响较大,故采集了来自3个不同产地4~7月的鲜益母草药材进行采收期研究。

取不同采收期的鲜益母草药材,按照“2.3.1”项下制备供试品溶液,按照“2.3.3”“2.4.3”“2.5.3”项下色谱条件进行含量与指纹图谱测定。以采收时间为横坐标,指标测定含量和特征峰面积(以干燥品计)为纵坐标,绘制折线图,见图9。结果显示,随着

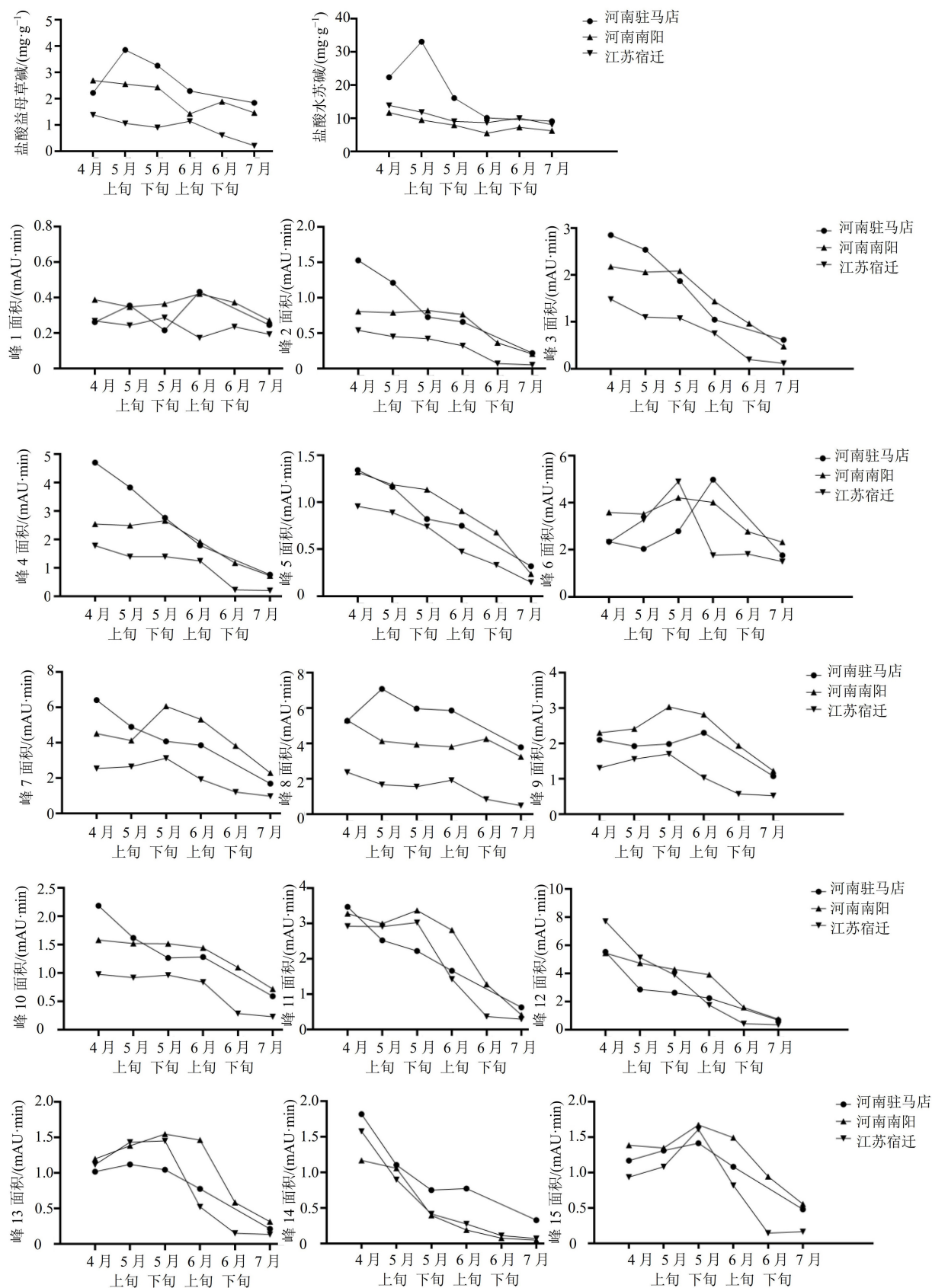


图9 不同采收期鲜益母草成分含量与峰面积变化

Fig. 9 Variation of content and peak area of fresh *L. japonicus* in different harvest periods

采收时间的推迟,采自河南南阳和江苏宿迁的鲜益母草盐酸益母草碱、盐酸水苏碱含量均呈现下降趋势,而采自河南驻马店的鲜益母草含量4月含量稍低,5月上旬达到峰值后开始逐渐下降,原因可能是驻马店的鲜益母草播种较晚,长势较南阳与宿迁的慢。图谱中采自3个产地的药材特征峰2~5、峰10~12、峰14的峰面积均呈现明显下降趋势,峰6、7、9、13、15的峰面积先呈现上升趋势,约在5月达到峰值,之后开始下降,峰1的峰面积则呈现波动状态,采收时间对其影响不大。

3 讨论

本实验分别考察了提取方式(回流、超声)、提取溶剂(50%甲醇、70%甲醇、甲醇、50%乙醇、70%乙醇、乙醇、水)、提取时间(0.5、1.0、1.5、2.0 h)、溶剂用量(25、50、100 mL)对含量测定及指纹图谱色谱峰的峰型及峰面积的影响,结果显示鲜益母草样品前处理时加入70%乙醇50 mL回流提取1.0 h效果整体更佳。另外,本实验还考察了不同流动相对指纹图谱峰型的影响,采用乙腈-0.1%醋酸水为流动相时,色谱峰峰型较差,采用乙腈-0.1%甲酸水溶液时,部分色谱峰不对称,峰型较差,采用乙腈-0.1%磷酸水为流动相的洗脱效果较好,色谱图基线平稳,故最终确定0.1%磷酸水作为流动相。在上述实验条件下,进一步对不同检测波长进行考察,结果显示320、277、254 nm下色谱峰峰型、分离度均无明显差异,但277 nm下主要色谱峰吸收强度高,因此波长选择277 nm。

中药指纹图谱是对中药物质群整体作用的认知,可以在整体水平阐明中药的化学成分组成,也是中药质量控制的重要指标之一。益母草化学物质丰富,涵盖生物碱类、黄酮类、萜类、苯乙醇苷类和挥发油类等多种化合物^[2-3],为了更全面地表征鲜益母草主要化学成分的整体特征,本研究采用UPLC-UV的方式建立了鲜益母草药材的指纹图谱,图谱中主要为生物碱类、黄酮类及有机酸类成分。同时,考虑到盐酸益母草碱和盐酸水苏碱具有广泛且较强的药理活性,是益母草的主要活性成分^[18],已成为鲜益母草及其制剂控制的主要成分指标,因盐酸水苏碱没有紫外吸收,指纹图谱中无法体现,故本研究在建立指纹图谱方法的基础上,增加盐酸益母草碱和盐酸水苏碱作为含量测定的指标成分,通过指纹图谱与含量测定结合的方式,更全面地体现鲜益母草的内在品质。

中药历来有“道地药材”的说法,不同产地的光

照、温度、水分、空气、土壤等均具有差异,与药材的生长发育、品质与药效密切相关^[19]。本研究表明,产自山东、河南、湖北的鲜益母草药材聚类 and 综合评分均存在交叉的情况,质量差异不大,并未表现出明显产地优势。益母草资源丰富,全国大部分地区均产,但由于鲜药保鲜、运输、储藏较为困难,本研究收集的鲜益母草未能覆盖大部分产区,因此关于不同产地鲜益母草药材质量评价的结果是否具有更广泛的代表性,还有待进一步研究。

孙思邈在《千金翼方》中记载:“夫药采取不知时节,不以阴暴干,虽有药名,终无药实”,历代本草、《中药材生产质量管理规范》及现行药典对采收期相关内容均有规定,现代研究也表明,不同采收期的药材有效成分含量差异较大^[20-21]。由于采收时间不同,温度、降雨量、日照时数等外部气候因素也不同,从而影响有效成分含量;此外,不同采收期的鲜益母草长势悬殊,茎叶比例差异较大,而研究表明,益母草不同部位含量有明显差异^[3,11],其中叶的含量最高,茎的含量较低。因此,本实验对于不同采收期的鲜益母草进行检测分析,PCA、HCA结果均显示,不同采收期的鲜益母草样品分为3类,熵权TOPSIS分析结果显示幼苗期的鲜益母草质量整体较优,说明采收时间对鲜益母草质量有明显影响,与文献研究结果一致^[9]。进一步考察不同采收期鲜益母草药材的各化学成分的动态分布情况,发现随着采收期的延长,鲜益母草中盐酸益母草碱、盐酸水苏碱含量逐渐降低,指纹图谱中除峰1外其余特征峰的峰面积在5月下旬抽茎之后均呈下降趋势,可见4~5月的鲜益母草质量较优。《名医别录》也有记载,云:“茺蔚生海滨池泽,五月采”,与本研究结果一致。

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.2020:302-303.
Pharmacopoeia of the People's Republic of China [S]. Volume I. 2020: 302-303.
- [2] 王新雅,孙文松,张艳红,等.益母草及其产品研究进展[J].辽宁农业科学,2022(2):48-53.
Wang X Y, Sun W S, Zhang Y H, et al. Progress on *Herba Leonuri* and its products [J]. Liaoning Agric Sci, 2022(2): 48-53.
- [3] 乔晶晶,吴啟南,薛敏,等.益母草化学成分与药理作用研究进展[J].中草药,2018,49(23):5691-5704.
Qiao J J, Wu Q N, Xue M, et al. Research progress on

- chemical components and pharmacological effects of *Leonurus japonicas* [J]. *Acupunct Res*, 2018, 49(23): 5691-5704.
- [4] 徐杰, 张志鹏, 陈丹燕, 等. 中药鲜药的现代应用与研究进展 [J]. *中国现代中药*, 2022, 24(1): 160-168.
- Xu J, Zhang Z P, Chen D Y, et al. Fresh herbs of Chinese medicine: A review of modern application [J]. *Mod Chin Med*, 2022, 24(1): 160-168.
- [5] 杨丽青, 赵霞, 陈燕, 等. 复方生化汤联合鲜益母草胶囊对人流术后子宫复旧的作用观察 [J]. *中国中医药科技*, 2023, 30(1): 78-79.
- Yang L Q, Zhao X, Chen Y, et al. Effect of compound Shenghua decoction combined with fresh motherwort capsule on uterine involution after induced abortion [J]. *Chin J Tradit Med Sci Technol*, 2023, 30(1): 78-79.
- [6] 黄芬芳. 鲜益母草胶囊联合屈螺酮炔雌醇片治疗人工流产术后出血临床研究 [J]. *新中医*, 2022, 54(15): 118-122.
- Huang F F. Clinical study on Xian Yimucao Capsules combined with drospirenone and ethinylestradiol tablets for hemorrhage after artificial abortion [J]. *New Chin Med*, 2022, 54(15): 118-122.
- [7] 顾志娟, 孙丹, 康美杰, 等. 鲜益母草胶囊联合五加生化胶囊治疗剖宫产后恶露不净临床研究 [J]. *中国药业*, 2019, 28(18): 67-69.
- Gu Z J, Sun D, Kang M J, et al. Clinical study on Xian Yimucao Capsules combined with Wujiashenghua capsules in the treatment of postpartum lochiorrhea after cesarean section [J]. *China Pharm*, 2019, 28(18): 67-69.
- [8] 章根琴. 鲜益母草胶囊对人工流产术后患者的临床疗效及其对血清HCG、E2和P水平影响 [J]. *中成药*, 2019, 41(5): 1200-1202.
- Zhang G Q. Clinical effect of fresh motherwort capsule on patients after induced abortion and its influence on serum HCG, E2 and P levels [J]. *Chin Tradit Pat Med*, 2019, 41(5): 1200-1202.
- [9] 杨帆, 吴梦丽, 何秋梅, 等. 瑶药童子益母草与益母草药材多指标成分含量差异评价 [J]. *中草药*, 2020, 51(3): 757-762.
- Yang F, Wu M L, He Q M, et al. Evaluation on content difference of multi-index components between Yao medicine Young *Leonurus heterophyllus* and *Leonurus japonicus* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs*, 2020, 51(3): 757-762.
- [10] 李宝辉, 赵光, 倪永年. 近红外光谱联合化学计量学在益母草药材质量控制中的应用 [J]. *山东中医药大学学报*, 2020, 44(6): 679-684.
- Li B H, Zhao G, Ni Y N. Application of near infrared spectroscopy combined with chemometrics in quality control of Yimucao (*Leonuri Herba*) [J]. *J Shandong Univ Tradit Chin Med*, 2020, 44(6): 679-684.
- [11] 朱启亮, 黄玉梅, 高明, 等. 不同产地、部位和采收期益母草中药效成分研究 [J]. *中药材*, 2017, 40(12): 2828-2831.
- Zhu Q L, Huang Y M, Gao M, et al. Study on the pharmacological components of *Leonurus japonicas* from different origins, parts, and harvesting periods [J]. *J Chin Med Mater*, 2017, 40(12): 2828-2831.
- [12] 张志鹏, 邓李红, 李美洲, 等. 基于化学模式识别和熵权TOPSIS法分析槐角不同部位的差异 [J]. *中药材*, 2021, 44(6): 1415-1421.
- Zhang Z P, Deng L H, Li M Z, et al. Study on the differences of *Sophorae Fructus* with different parts based on chemical pattern recognition and entropy TOPSIS method [J]. *J Chin Med Mater*, 2021, 44(6): 1415-1421.
- [13] 周湘媛, 李振雨, 马懿飞, 等. 基于化学计量学和熵权TOPSIS法对不同产地白茅根药材的质量评价 [J]. *中药材*, 2023, 46(4): 940-945.
- Zhou X Y, Li Z Y, Ma Y F, et al. Quality evaluation of *Baimao root* medicinal materials from different origins based on chemometrics and entropy weight TOPSIS method [J]. *J Chin Med Mater*, 2023, 46(4): 940-945.
- [14] 赵鑫, 李君君, 权文越, 等. 基于熵权TOPSIS评价半夏不同干燥方法对的影响 [J]. *中药材*, 2022, 45(2): 327-330.
- Zhao X, Li J J, Quan W Y, et al. Evaluation of the influence of different drying methods on *Pinellia ternata* based on entropy weight TOPSIS [J]. *J Chin Med Mater*, 2022, 45(2): 327-330.
- [15] 徐建华, 周虹, 李志明, 等. 基于一测多评结合化学模式识别法及加权TOPSIS与灰色关联度融合模型评价不同产地凤尾草的质量 [J]. *中草药*, 2024, 55(19): 6738-6748.
- Xu J h, Zhou H, Li Z m, et al. Quality evaluation of *Pteris multifida* from different producing areas based on QAMS combined with chemical pattern recognition method and weighted TOPSIS and grey correlation degree fusion model [J]. *Chin Tradit Herb Drugs*, 2024, 55(19): 6738-6748.
- [16] 丁曼, 毛艳, 赵学佳, 等. 基于指纹图谱和一测多评联合化学计量学及熵权TOPSIS法对顶羽菊药材质量评价 [J]. *中草药*, 2024, 55(16): 5627-5638.
- Ding M, Mao Y, Zhao X J, et al. Quality evaluation of *Acroptilon repens* based on fingerprints and QAMS method combined with chemometrics and EW-TOPSIS method [J]. *Chin Tradit Herb Drugs*, 2024, 55(16): 5627-5638.

- [17] 程钰洁, 文珊, 邓怡芳, 等. 正交试验设计结合熵权TOPSIS优选阿胶珠炮制工艺 [J]. 中国现代中药, 2023, 25(2): 361-368.
- Cheng Y J, Wen S, Deng Y F, et al. Optimization of the processing technology of beads of *Asini Corii Colla* by orthogonal experimental design and entropy weight-TOPSIS method [J]. Mod Chin Med, 2023, 25(2): 361-368.
- [18] 李艳, 苗明三. 益母草药理作用研究进展 [J]. 中华中医药学刊, 2023, 41(5): 102-106.
- Li Y, Miao M S. Research progress of pharmacological action of *Yimucao (Herba Leonuri)* [J]. Chin Arch Tradit Chin Med, 2023, 41(5): 102-106.
- [19] 赵露颖, 施梦瑶, 张巧艳, 等. 道地药材品质特征及形成机制研究进展 [J]. 中草药, 2022, 53(21): 6931-6947.
- Zhao L Y, Shi M Y, Zhang Q Y, et al. Research progress on quality characteristics and formation mechanism of genuine medicinal materials [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2022, 53(21): 6931-6947.
- [20] 刘锦芮, 赖长江生, 梁嫌, 等. 中药采收期的机理与控制方法的研究进展 [J]. 中药材, 2022, 45(8): 2019-2025.
- Liu J R, Lai C J S, Liang X, et al. Research progress on the mechanism and control methods of traditional Chinese medicine harvesting period [J]. J Chin Med Mater, 2022, 45(8): 2019-2025.
- [21] 高伟城, 王小平, 方瑞燕, 等. 不同采收期及气候因子对枇杷叶品质的影响研究 [J]. 中药材, 2022, 45(8): 1908-1913.
- Gao W C, Wang X P, Fang R Y, et al. Effect study of quality of *eriobotryae folium* with different harvesting period and climatic factors [J]. J Chin Med Mater, 2022, 45(8): 1908-1913.

[责任编辑 兰新新]