

UHPLC 同时测定不同产地和不同采收期裸花紫珠及同属植物中 9 种活性成分的含量与质量评价

杨祖凡^{1,2}, 杨 扬³, 杨义芳³, 康兴东⁴, 李小峰⁴, 吴永忠⁴, 肖军平⁴, 王 稳¹, 贾强强^{1*}, 周 斌^{3*}

1. 青海大学三江源生态与高原农牧业国家重点实验室, 青海 西宁 810016

2. 青海大学医学院, 青海 西宁 810001

3. 上海医药工业研究院, 上海 201203

4. 江西普正药业有限公司, 江西 吉安 331409

摘要: 目的 利用 UHPLC-UV 建立裸花紫珠 *Callicarpa nudiflora* 药材中 9 个活性成分同时定量的方法, 并测定其在不同产地及不同采收期裸花紫珠中的含量, 用于裸花紫珠药材的质量评价及产地、采收期的选择。方法 采用 Phenomenex kintex XB-C₁₈ 色谱柱 (150 mm×2.1 mm, 1.7 μm), 以乙腈 (A)-0.1% 磷酸水溶液 (B) 为流动相进行梯度洗脱; 体积流量 0.3 mL/min; 检测波长 332 nm 和 210 nm; 柱温为 45 °C; 测定了 83 批裸花紫珠和 7 批同属不同种紫珠属样品中的 9 个活性成分含量。结合主成分分析及正交偏最小二乘法判别分析 (orthogonal partial least squares discriminant analysis, OPLS-DA) 对裸花紫珠进行全面分析。结果 建立了裸花紫珠中 9 个活性成分含量同时测定的方法。其中咖啡酸、木犀草苷、连翘酯苷 B、毛蕊花糖苷、木犀草素-4'-O-β-D-吡喃葡萄糖苷、木犀草素-3'-O-β-D-吡喃葡萄糖苷、木犀草素、藜香黄酮醇和熊果酸分别在 1.240~124.0、2.040~204.0、1.020~101.6、5.100~510.0、0.904 0~90.40、0.982 0~98.20、0.872 0~87.20、0.822 0~82.20、2.280~228.0 μg/mL 内线性关系良好, 精密度、重复性、稳定性 RSD 值均小于 3.00%, 平均加样回收率在 95.58%~101.73%, 回收率 RSD 值均小于 2.50%。主成分分析筛选出 2 个主成分, 其累积方差贡献率为 77.33%, 表明这 2 个主成分可包含原有数据的大多数信息; OPLS-DA 法标记出裸花紫珠药材中的 4 个差异性成分, 分别为咖啡酸、连翘酯苷 B、毛蕊花糖苷和熊果酸。结论 建立的多成分含量测定方法适用于裸花紫珠的质量评价, 为裸花紫珠质量控制及相关经典名方开发提供参考。

关键词: 裸花紫珠; UHPLC-UV; 主成分分析; 多成分含量测定; 苯丙烯酸类; 黄酮类; 咖啡酸; 木犀草苷; 连翘酯苷 B; 毛蕊花糖苷; 木犀草素-4'-O-β-D-吡喃葡萄糖苷; 木犀草素-3'-O-β-D-吡喃葡萄糖苷; 木犀草素; 藜香黄酮醇; 熊果酸

中图分类号: R286.2 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2023)14-4631-10

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2023.14.024

Quality evaluation of *Callicarpa nudiflora* from different origins, picking stages and other plants of *Callicarpa* based on simultaneous determination of nine active components by UHPLC

YANG Zu-fan^{1,2}, YANG Yang³, YANG Yi-fang³, KANG Xing-dong⁴, LI Xiao-feng⁴, WU Yong-zhong⁴, XIAO Jun-ping⁴, WANG Wen¹, JIA Qiang-qiang¹, ZHOU Bin³

1. State Key Laboratory of Plateau Ecology and Agriculture, Qinghai University, Xining 810016, China

2. Medical College of Qinghai University, Xining 810001, China

3. Shanghai Institute of Pharmaceutical Industry, Shanghai 201203, China

4. Jiangxi Puzheng Pharmaceutical Co., Ltd., Ji'an 331409, China

Abstract: Objective An UHPLC-UV method was established for simultaneously determination of nine active components in *Callicarpa nudiflora*, and compare samples from different origins and picking stages. **Methods** Phenomenex Kintex XB-C₁₈

收稿日期: 2022-12-06

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (31460082); 国家自然科学基金资助项目 (R1402824); 国家中医药管理局 (ZYBZH-C-JX-40); 青海省科技厅国际合作项目 (2022-HZ-812)

作者简介: 杨祖凡 (1998—), 女, 硕士研究生, 主要从事药物分析。E-mail: 1011724401@qq.com

*通信作者: 贾强强, 男, 博士, 副教授, 主要从事药物分析。E-mail: jia1108029@163.com

周 斌, 男, 博士, 研究员, 主要从事医药产业经济政策与医药政策法规策略。E-mail: zhoubin@sinopharm.com

column were performed on HPLC analysis, the mobile phase was acetonitrile (A)-0.1% phosphoric acid (B) for gradient elution. The flow rate was 0.3 mL/min, the wavelength was 280 nm and 332 nm and the column temperature was 45 °C. The contents of nine active components in 83 batches of *C. nudiflora* and seven batches of different species of medicinal plants of *Callicarpa* were measured simultaneously, combined with principal component analysis and orthogonal partial least squares discriminant analysis (OPLS-DA), which were applied in the comprehensive analysis of *C. nudiflora*. **Results** A method for simultaneous quantification of nine active components in *C. nudiflora* was established. Caffeic acid, luteoloside, forsythoside B, acteoside, luteolin-4'-O- β -D-glucopyranoside, luteolin-3'-O- β -D-glucopyranoside, luteolin, pachypodol and ursolic acid had good linearity in the range of 1.240—124.0 μ g/mL, 2.040—204.0 μ g/mL, 1.020—101.6 μ g/mL, 5.100—510.0 μ g/mL, 0.9040—90.40 μ g/mL, 0.9820—98.20 μ g/mL, 0.8720—87.20 μ g/mL, 0.8220—82.20 μ g/mL and 2.280—228.0 μ g/mL, respectively. The RSD of precision, repeatability and stability was less than 3.00% and the average recovery value was between 95.58%—101.73%, with RSD less than 2.50%. Principal component analysis screened out two ingredients, and the cumulative variance contribution rate was 77.33%, indicating that the main ingredients contained the most information of the raw statistics. OPLS-DA screened out four differential components, including caffeic acid, forsythoside B, acteoside and ursolic acid. **Conclusion** The established method of multi-component quantitative analysis can be applied to the quality assessment of *C. nudiflora*, which also can provide reference for the quality control and the development of related prescriptions of *C. nudiflora*.

Key words: *Callicarpa nudiflora* Hook. et Arn.; UHPLC-UV; principal component analysis; multi-component quantitative analysis; phenylacrylic acids; flavonoids; caffeic acid; luteoloside; forsythoside B; acteoside; luteolin-4'-O- β -D-glucopyranoside; luteolin-3'-O- β -D-glucopyranoside; luteolin; pachypodol; ursolic acid

裸花紫珠 *Callicarpa nudiflora* Hook. et Arn. 是马鞭草科紫珠属 *Callicarpa* L. 植物, 其干燥叶可入药, 生长于海拔 1200 m 及以下的平原、山坡、谷地、林地中, 主要分布在中国广东、广西、海南、江西等地^[1-2], 其提取物具有抗炎、抗菌、保护神经、抗氧化和镇痛等作用^[3-12]。对裸花紫珠有效成分的研究已有文献报道, 主要集中在利用比色法^[13]、分光光度法^[14-17]对总黄酮含量进行测定, 或使用 HPLC 对毛蕊花糖苷、木犀草苷等少数指标成分进行定量^[18-20]。但由于药材成分复杂, 单一指标成分专属性不强, 难以反映药材的整体质量。因此, 有必要建立中药裸花紫珠多指标成分含量测定的方法。

现有文献报道苯丙素类、黄酮类和萜类等化合物为裸花紫珠药材的主要活性成分^[21-26]。结合本团队前期对裸花紫珠指纹图谱的研究结果^[27-28], 最终确定使用 UHPLC-UV 方法对裸花紫珠中 9 个主要活性成分同时进行定量分析, 包括 3 个苯丙烯酸类(咖啡酸、连翘酯苷 B、毛蕊花糖苷), 5 个黄酮类(木犀草苷、木犀草素-4'-O- β -D-吡喃葡萄糖苷、木犀草素-3'-O- β -D-吡喃葡萄糖苷、木犀草素和藜香黄酮醇), 以及 1 个三萜类(熊果酸)化合物。本研究分别优化了供试品提取条件与色谱条件, 开发了 9 种活性成分同时定量的方法, 并进行了全面的方法学验证。最后, 利用该方法对不同产地及采收时间的 83 批裸花紫珠和同一时期采收的 7 批同属不同种

紫珠属样品进行了比较分析, 探索了各活性成分的差异和变化规律, 对其内在质量进行整体评价。相较于以往的报道^[29-30], 本研究在多指标成分定量分析时选择的指标成分更多, 收集样本更全, 研究数据更丰富。并采用了化学模式识别分析, OPLS-DA 法标记出裸花紫珠药材中的 4 个差异性成分, 可能是导致裸花紫珠质量产生差异的关键因素, 可以更好的为裸花紫珠的质量评价研究提供参考。

1 仪器与材料

1.1 仪器

Waters ACQUITY ARC 型超高效液相色谱仪, 配有二元高压梯度泵、真空脱气机、自动进样器、柱温箱、二极管阵列检测器(美国沃特世公司); CPA225D 型十万分之一天平(塞多利斯科学仪器有限公司); PB1501-N 型万分之一天平(瑞士梅特勒-托利多公司); KQ-500DE 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司); 800Y 型高速多功能粉碎机(浙江省永康市铂欧五金制品有限公司)。

1.2 材料

乙腈、甲酸(美国 ACS 公司, 色谱纯); 甲醇(上海泰坦科技股份有限公司, 分析纯); 屈臣氏蒸馏水(北京屈臣氏蒸馏水有限公司)。毛蕊花糖苷(批号 M-011-170315, 质量分数>98.0%)和连翘酯苷 B(批号 L-013-170421, 质量分数>98.0%)对照品均购于成都瑞芬思生物科技有限公司; 木犀草苷(批号 PR F8030242, 质量分数>98.0%)和咖啡酸(批

号 PR F7102121, 质量分数>98.0%) 对照品均购于成都普瑞法科技开发有限公司; 熊果酸对照品 (批号 PR F8002125, 质量分数>98.0%) 对照品购于宝鸡辰光生物科技有限公司; 木犀草素-4'-O-β-D-吡喃葡萄糖苷、木犀草素-3'-O-β-D-吡喃葡萄糖苷、木犀草素和藜香黄酮醇对照品为实验室自制, 质量分数均≥98%; 83 批不同产地和不同采收时间的裸花紫珠样品 (S1~S83) 经江西普正制药有限公司吴永忠研究员鉴定为马鞭草科裸花紫珠 *Callicarpa nudiflora* Hook. et Arn. 的干燥叶, 另外 7 批同属不同种紫珠属样品 (S84~S90) 也由吴永忠研究员鉴定为大叶紫珠 *C. macrophylla* Vahl.、广东紫珠 *C. kwang-tungensis* Chun、杜虹花紫珠 *C. formosana* Rolfe、小叶紫珠 *C. dichotoma* (Lour.) K. Koch 和枇杷叶紫珠 *C. kochiana* Makino 的干燥叶, 密封后保存于阴凉干燥处, 样品信息见表 1。

2 方法与结果

2.1 溶液的配制

2.1.1 对照品溶液制备 精密称取咖啡酸、木犀草苷、连翘酯苷 B、毛蕊花糖苷、木犀草素-4'-O-β-D-吡喃葡萄糖苷、木犀草素-3'-O-β-D-吡喃葡萄糖苷、木犀草素、藜香黄酮醇和熊果酸对照品一定量, 溶于 80% 甲醇配制混标溶液。精密吸取混标溶液 0.1、0.25、0.5、1、2.5、5 mL 置于 10 mL 量瓶中, 摇匀, 经 0.22 μm 的微孔滤膜滤过, 作为储备液, 保存于 4 °C 下。

2.1.2 供试品溶液制备 裸花紫珠样品粉碎, 过 40 目筛, 称取样品粉末约 0.5 g, 置具塞锥形瓶中, 加入 80% 甲醇水溶液 25 mL, 称定质量, 超声 (功率 500 W、频率 40 kHz) 提取 45 min, 放冷, 80% 甲醇补足质量, 摇匀, 过 0.22 μm 微孔滤膜, 取续滤液, 即得供试品溶液。

表 1 裸花紫珠及 7 批同属不同种植物的样品信息

Table 1 Sample information of *C. nudiflora* and seven batches of different species of *Callicarpa*

编号	种	产地	采收日期	编号	种	产地	采收日期	编号	种	产地	采收日期
S1	裸花紫珠	海南白沙	2016-09-15	S31	裸花紫珠	海南五指山	2016-12-30	S61	裸花紫珠	江西上犹	2016-12-15
S2	裸花紫珠	海南白沙	2016-10-15	S32	裸花紫珠	海南五指山	2017-03	S62	裸花紫珠	广东	2016-03-30
S3	裸花紫珠	海南白沙	2016-10-20	S33	裸花紫珠	海南五指山	2017-04-15	S63	裸花紫珠	广东惠东	2014
S4	裸花紫珠	海南白沙	2016-10-25	S34	裸花紫珠	海南五指山	2017-08-12	S64	裸花紫珠	广东惠东	2014-11
S5	裸花紫珠	海南白沙	2016-11-18	S35	裸花紫珠	海南五指山	2017-08-20	S65	裸花紫珠	广东惠东	2016-07-30
S6	裸花紫珠	海南白沙	2016-11-30	S36	裸花紫珠	海南白沙	2015-11-30	S66	裸花紫珠	广东惠东	2016-10-30
S7	裸花紫珠	海南白沙	2016-12-15	S37	裸花紫珠	海南白沙	2015-12-15	S67	裸花紫珠	广东惠东	2017-04-22
S8	裸花紫珠	海南白沙	2016-12-30	S38	裸花紫珠	海南白沙	2015-12-30	S68	裸花紫珠	广东惠东	2017-08-20
S9	裸花紫珠	海南白沙	2017-01	S39	裸花紫珠	海南白沙带杆	2017-04-10	S69	裸花紫珠	广东惠州	2016-11
S10	裸花紫珠	海南白沙	2017-01-12	S40	裸花紫珠	海南白沙惠芬	2016-09	S70	裸花紫珠	广东惠州绿天然	2016-11
S11	裸花紫珠	海南白沙	2017-02	S41	裸花紫珠	海南白沙智丰	2016-09	S71	裸花紫珠	广东惠州绿天然	2017-01
S12	裸花紫珠	海南白沙	2017-02-01	S42	裸花紫珠	海南五指山	2015-12-30	S72	裸花紫珠 (带枝)	广东惠州绿天然	2016-11-21
S13	裸花紫珠	海南白沙	2017-03-15	S43	裸花紫珠	海南五指山机场	2016-04-20	S73	裸花紫珠	江西安福彭锦云	2016-06
S14	裸花紫珠	海南白沙	2017-03-20	S44	裸花紫珠	江西普正药业菜园	2016-09-14	S74	裸花紫珠	江西赣州	2016-07
S15	裸花紫珠	海南白沙	2017-04	S45	裸花紫珠	江西普正药业菜园	2016-10-15	S75	裸花紫珠	江西赣州	2016-07-31
S16	裸花紫珠	海南白沙	2017-04-01	S46	裸花紫珠	江西普正药业菜地	2016-11-15	S76	裸花紫珠	江西峡江	2015-11-01
S17	裸花紫珠	海南白沙	2017-04-12	S47	裸花紫珠	江西普正药业菜园	2016-11-29	S77	裸花紫珠	江西峡江	2014-11-08
S18	裸花紫珠	海南白沙	2017-04-15	S48	裸花紫珠	江西普正药业菜地	2016-12-15	S78	裸花紫珠	江西峡江	2016-10
S19	裸花紫珠	海南白沙	2017-08-01	S49	裸花紫珠	江西普正药业药园	2016-12-29	S79	裸花紫珠	江西峡江	2016-11
S20	裸花紫珠	海南白沙	2017-08-15	S50	裸花紫珠	江西普正药业药园	2016-09-14	S80	裸花紫珠	江西峡江	2016-11-29
S21	裸花紫珠	海南白沙	2017-08-20	S51	裸花紫珠	江西普正药业药园	2016-10-15	S81	裸花紫珠	江西峡江	2016-12-15
S22	裸花紫珠	海南五指山	2016-09-15	S52	裸花紫珠	江西普正药业药园	2016-10-31	S82	裸花紫珠	江西峡江	2017-07-25
S23	裸花紫珠	海南五指山	2016-09-15	S53	裸花紫珠	江西普正药业药园	2016-11-15	S83	裸花紫珠	江西峡江药园	2017-06-06
S24	裸花紫珠	海南五指山	2016-09-30	S54	裸花紫珠	江西普正药业药园	2016-11-29	S84	大叶紫珠带枝	贵州	2017-06
S25	裸花紫珠	海南五指山	2016-10-25	S55	裸花紫珠	江西普正药业药园	2016-12-29	S85	大叶紫珠全叶	贵州	2017-06
S26	裸花紫珠	海南五指山	2016-10-30	S56	裸花紫珠	江西上犹	2016-09-15	S86	杜虹花紫珠	云南昭通	2017-06
S27	裸花紫珠	海南五指山	2016-11-15	S57	裸花紫珠	江西上犹	2016-10-15	S87	广东紫珠	峡江药园	2017-06-06
S28	裸花紫珠	海南五指山	2016-11-30	S58	裸花紫珠	江西上犹	2016-11-01	S88	枇杷叶紫珠	峡江药园	2017-06-06
S29	裸花紫珠	海南五指山	2016-12-15	S59	裸花紫珠	江西上犹	2016-11-10	S89	小叶紫珠大叶型	峡江药园	2017-06-06
S30	裸花紫珠	海南五指山	2016-12-15	S60	裸花紫珠	江西上犹	2016-12-01	S90	小叶紫珠	峡江药园	2017-06-06

2.2 色谱条件

色谱分离采用 Phenomenex kintex XB-C₁₈ 色谱柱 (150 mm×2.1 mm, 1.7 μm)。流动相为 (A) 0.1%磷酸水溶液和 (B) 乙腈。梯度洗脱: 0~5 min, 8%~13% B; 5~15 min, 13% B; 15~20 min, 13~16% B; 20~35 min, 16%~22% B; 35~45 min, 22%~30% B; 45~50 min, 30%~50% B; 50~55 min, 50%~65% B; 55~65 min, 65%~100% B; 65~75 min, 100% B。体积流量为 0.3 mL/min; 柱温 45 °C, 进样量 2 μL。检测波长为 332 nm 和 210 nm。混合对照品及样品的色谱图见图 1。

2.3 方法学考察

2.3.1 线性范围、检测限 (LOD) 与定量限 (LOQ) 分别精密吸取“2.1.1”项下 7 个不同质量浓度的混合对照品溶液各 2 μL, 按“2.2”项色谱条件进样, 记录色谱图。以质量浓度为横坐标 (X), 峰面积为纵坐标 (Y) 绘制传统曲线。回归方程、相关系数及线性范围见表 2。将混合对照品溶液逐步稀释, 分别以信噪比 (S/N) = 3 和 S/N = 10 时各对照品的质量浓度作为 LOD 和 LOQ, 结果见表 2。

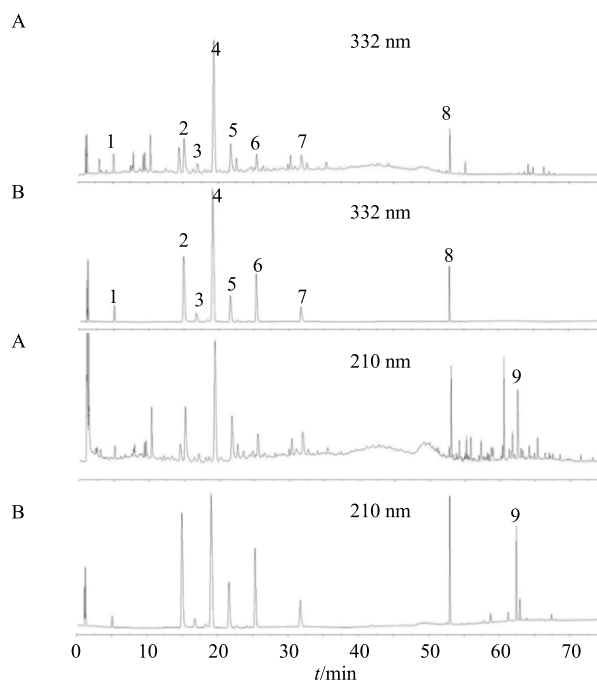
2.3.2 精密度考察 精密称取 S1 样品粉末 0.5 g, 按“2.1.2”项制备供试品溶液, 按“2.2”项色谱条件重复进样 6 次, 记录色谱图, 计算各组分峰面积的 RSD, 9 个组分的 RSD 值依次为咖啡酸 0.81%、木犀草苷 0.35%、连翘酯苷 B 1.24%、毛蕊花糖苷 0.49%、木犀草素-4'- O - β -D-吡喃葡萄糖苷 0.31%、木犀草素-3'- O - β -D-吡喃葡萄糖苷 0.35%、木犀草素 1.03%、藜香黄酮醇 0.50%、熊果酸 0.67%, 表明仪器精密度良好。

2.3.3 重复性考察 精密称取 S1 样品粉末 6 份, 每份 0.5 g, 按“2.1.2”项平行制备 6 份供试品溶液。

表 2 裸花紫珠中 9 个成分的回归方程、相关系数和线性范围、LOQ 和 LOD

Table 2 Regression equations, correlation coefficients and linearity ranges, limit of quantitation and limit of detection of nine components in *C. nudiflora*

对照品	标准曲线	R^2	线性范围/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	LOQ/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	LOD/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)
咖啡酸	$Y=31\,210.60\,X+12.19$	0.999 8	1.240 0~124.00	0.041	0.012
木犀草苷	$Y=14\,012.38\,X+10.82$	0.999 5	2.040 0~204.00	0.170	0.051
连翘酯苷 B	$Y=9\,390.23\,X+1.27$	0.999 4	1.020 0~101.60	0.171	0.051
毛蕊花糖苷	$Y=10\,431.76\,X+16.20$	0.999 6	5.100 0~510.00	0.341	0.102
木犀草素-4'- O - β -D-吡喃葡萄糖苷	$Y=14\,428.02\,X+2.31$	0.999 5	0.904 0~90.40	0.149	0.045
木犀草素-3'- O - β -D-吡喃葡萄糖苷	$Y=15\,482.63\,X+5.59$	0.999 7	0.982 0~98.20	0.165	0.049
木犀草素	$Y=21\,512.33\,X-4.97$	0.999 9	0.872 0~87.20	0.144	0.044
藜香黄酮醇	$Y=16\,056.27\,X+6.16$	0.999 8	0.822 0~82.20	0.055	0.012
熊果酸	$Y=3\,127.13\,X+7.48$	0.999 4	2.280 0~228.00	0.190	0.051



1-咖啡酸 2-木犀草苷 3-连翘酯苷 B 4-毛蕊花糖苷 5-木犀草素-4'- O - β -D-吡喃葡萄糖苷 6-木犀草素-3'- O - β -D-吡喃葡萄糖苷 7-木犀草素 8-藜香黄酮醇 9-熊果酸, 图 3 同
1-caffeic acid 2-Luteoloside 3-forsythoside B 4-acteoside
5-luteolin-4'- O - β -D-glucopyranoside 6-luteolin-3'- O - β -D-glucopyranoside
7-luteolin 8-pachypodol 9-ursolic acid, same as Fig. 3

图 1 混合对照品 (A) 和供试品溶液 (B) 的 UHPLC 色谱图
Fig. 1 UHPLC chromatogram of mixed standards (A) and samples (B)

每份供试品溶液按“2.2”项色谱条件进行测定, 记录色谱图。测得各成分质量浓度的 RSD 值分别为咖啡酸 1.29%、木犀草苷 2.95%、连翘酯苷 B 2.02%、毛蕊花糖苷 1.20%、木犀草素-4'- O - β -D-吡喃葡萄糖苷 2.24%、木犀草素-3'- O - β -D-吡喃葡萄糖苷 2.27%、木犀草素 1.27%、藜香黄酮醇 1.18%、熊果酸 2.89%, 表明该方法重复性良好。

2.3.4 稳定性考察 精密称取 S1 样品粉末 0.5 g, 按“2.1.2”项制备 1 份供试品溶液。分别于 0、2、4、6、12、24 h 按“2.2”项色谱条件进样测定, 记录色谱图, 计算各组分峰面积的 RSD。依次为咖啡酸 2.50%、木犀草素 1.52%、连翘酯苷 B 0.89%、毛蕊花糖苷 2.37%、木犀草素-4'-O- β -D-吡喃葡萄糖苷 1.39%、木犀草素-3'-O- β -D-吡喃葡萄糖苷 0.90%、木犀草素 2.45%、藜香黄酮醇 1.26%、熊果酸 0.62%, 表明供试品溶液在 24 h 内能够保持稳定。

2.3.5 加样回收率试验 精密称取各指标成分含量已知的样品粉末 6 份, 每份 0.25 g, 按照样品含量的 100% 水平分别加入咖啡酸、木犀草素、连翘酯苷 B、毛蕊花糖苷、木犀草素-4'-O- β -D-吡喃葡萄糖苷、木犀草素-3'-O- β -D-吡喃葡萄糖苷、木犀草素、藜香黄酮醇和熊果酸峰对照品, 按“2.1.2”项制备供试品溶液, 并按“2.2”项下色谱条件进样测定, 计算各指标成分的回收率。计算得咖啡酸、木犀草素、连翘酯苷 B、毛蕊花糖苷、木犀草素-4'-O- β -D-

吡喃葡萄糖苷、木犀草素-3'-O- β -D-吡喃葡萄糖苷、木犀草素、藜香黄酮醇和熊果酸的平均加样回收率分别为 101.60%、101.35%、97.30%、98.38%、100.64%、95.58%、98.14%、101.37% 和 97.43%。对应的 RSD 分别为 2.02%、1.83%、2.50%、1.78%、1.87%、0.83%、1.69%、1.70% 和 1.88%。

2.4 供试品溶液提取条件的优化

采用单因素变量法, 精密称取 7 份裸花紫珠样品粉末 0.5 g, 进行提取溶剂优化 (溶剂分别为 25 mL 纯水、20% 甲醇、40% 甲醇、50% 甲醇、60% 甲醇、80% 甲醇、纯甲醇, 40 kHz、500 W 超声提取 30 min)、超声时间优化 (40 kHz、500 W 分别超声提取 15、30、45、60、75、90 min)、提取液固比的优化 (分别加入 10、25、40、50、65、75 mL 50% 甲醇, 40 kHz、500 W 超声提取 30 min), 按“2.2”项色谱条件进样测定, 分别对峰面积进行比较, 评价提取效果。最终确定最佳提取条件为 0.5 g 裸花紫珠样品粉末加入 25 mL 80% 甲醇, 超声 45 min。结果如图 2 所示。

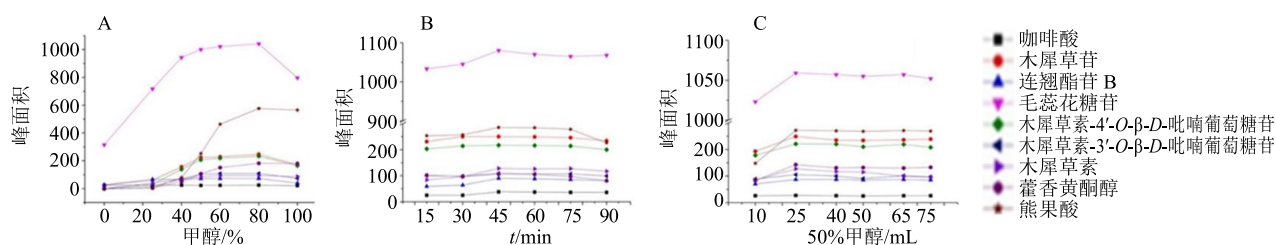


图 2 供试品溶液提取条件提取溶剂 (A)、超声时间优化 (B) 不同提取液固液比 (C) 优化

Fig. 2 Optimization of extraction conditions of extraction solvent (A), ultrasonic time (B) and different extraction liquid-solid ratio (C) of test solution

2.5 化学模式识别分析

2.5.1 主成分分析 使用 SPSS21.0 软件对 83 批裸花紫珠药材中 9 种活性成分进行主成分分析, 得到 83×9 阶数据矩阵, 以主成分特征值 >1 为标准, 提取得到了 2 个主成分, 其累积贡献率为 77.33%。第 1 主成分特征值为 3.53, 方差贡献率为 49.20%, 根据因子载荷矩阵反映各主成分与原始变量之间的相关系数, 可知第 1 主成分主要反映了毛蕊花糖苷、连翘酯苷 B 和咖啡酸的信息, 表明其对第 1 主成分的影响较大, 可为裸花紫珠的质量评价提供参考依据; 第 2 主成分特征值为 1.63, 方差贡献率为 28.13%, 主要反映了熊果酸和木犀草素的信息。分析结果表明, 裸花紫珠的前 2 个主成分可概括原有数据的绝大部分信息。计算 83 批裸花紫珠样品的主成分得分, 以各主成分对应的贡献率为权重系数计算综合

得分 (Y_1 为第 1 主成分得分, Y_2 为第 2 主成分得分, Y 为综合得分), 并进行排序, 结果见表 3。综合得分较高的前 4 位分别为批次 S19、S83、S77 和 S55, 其综合得分均大于 1, 说明这 4 个批次的裸花紫珠样品质量较好, 与其他样品差异较大。

2.5.2 正交偏最小二乘法判别分析 (orthogonal partial least squares discriminant analysis, OPLS-DA) 以 83 批裸花紫珠的 9 个活性成分峰峰面积为变量, 使用 SIMCA 14.1 软件进行 OPLS-DA 分析, 结果如图 3-A 所示。OPLS-DA 载荷图中的每个圆点代表一个化合物, 化合物越远离原点, 表示其在组间的差异性越大。从图中可以看出, 化合物 1 (咖啡酸)、化合物 3 (连翘酯苷 B)、化合物 4 (毛蕊花糖苷) 和化合物 9 (熊果酸) 明显偏离主化合物群, 与主成分分析结果一致。通过设置 VIP 值大于 1 筛选出

表 3 83 批裸花紫珠的主成分因子得分和排序

Table 3 Factor scores and sorting of principal component factors of 83 batches of *C. nudiflora*

编号	Y_1	Y_2	Y	排名	编号	Y_1	Y_2	Y	排名
S1	0.35	0.23	0.18	50	S43	0.42	0.23	0.21	43
S2	0.35	0.18	0.17	54	S44	0.81	0.12	0.34	29
S3	0.22	0.29	0.14	58	S45	0.21	0.04	0.09	73
S4	0.28	0.26	0.16	55	S46	0.59	-0.14	0.21	45
S5	0.07	0.31	0.08	75	S47	0.58	0.10	0.25	40
S6	0.23	0.01	0.09	71	S48	1.28	-0.26	0.45	20
S7	0.29	0.01	0.12	63	S49	1.78	-0.47	0.61	14
S8	0.30	0.00	0.12	62	S50	0.57	0.23	0.27	37
S9	1.32	0.15	0.54	16	S51	0.41	0.25	0.21	44
S10	0.59	0.22	0.27	35	S52	0.28	0.03	0.12	64
S11	1.08	0.11	0.44	21	S53	0.78	0.11	0.33	31
S12	1.14	0.10	0.47	19	S54	1.29	0.03	0.51	17
S13	0.35	0.26	0.18	48	S55	2.74	-0.23	1.03	4
S14	0.44	0.22	0.21	42	S56	0.53	0.15	0.23	41
S15	0.39	0.26	0.20	46	S57	0.69	-0.08	0.26	38
S16	0.36	0.22	0.18	49	S58	0.73	-0.08	0.27	34
S17	1.01	0.10	0.41	24	S59	0.71	0.09	0.29	33
S18	0.34	0.24	0.18	51	S60	1.27	-0.17	0.47	18
S19	4.17	-0.48	1.55	1	S61	1.94	-0.11	0.74	11
S20	0.32	0.26	0.17	53	S62	2.16	-0.30	0.79	8
S21	0.82	0.18	0.35	27	S63	0.20	0.23	0.12	61
S22	0.17	0.22	0.11	68	S64	0.18	0.33	0.13	59
S23	0.19	0.30	0.13	60	S65	1.88	-0.03	0.73	13
S24	0.13	0.03	0.06	78	S66	0.81	0.17	0.35	28
S25	0.11	0.01	0.04	83	S67	0.40	0.21	0.19	47
S26	0.13	0.03	0.06	78	S68	0.94	0.19	0.40	25
S27	0.11	0.04	0.05	82	S69	0.47	0.34	0.25	39
S28	0.15	0.28	0.11	66	S70	0.81	0.28	0.37	26
S29	0.12	0.03	0.05	80	S71	2.04	0.04	0.81	6
S30	0.12	0.03	0.05	80	S72	2.23	0.01	0.88	5
S31	0.22	0.30	0.14	57	S73	0.27	0.24	0.15	56
S32	1.08	0.11	0.44	21	S74	0.07	0.27	0.08	76
S33	1.99	-0.03	0.77	9	S75	0.11	0.24	0.09	74
S34	1.05	0.17	0.44	23	S76	0.72	-0.08	0.27	36
S35	0.33	0.24	0.17	52	S77	3.07	-0.25	1.16	3
S36	1.90	-0.06	0.73	12	S78	0.14	0.26	0.10	70
S37	1.50	0.02	0.59	15	S79	0.17	0.23	0.11	67
S38	2.09	-0.08	0.80	7	S80	0.18	0.23	0.11	65
S39	0.72	0.11	0.30	32	S81	0.12	0.32	0.11	69
S40	0.06	0.24	0.07	77	S82	1.98	-0.09	0.76	10
S41	0.09	0.31	0.09	72	S83	3.33	-0.32	1.25	2
S42	0.80	0.13	0.34	30					

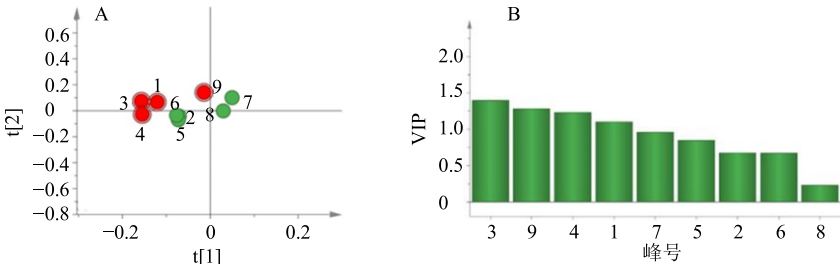


图 3 83 批裸花紫珠中 9 个化合物的 OPLS-DA 载荷图 (A) 和 VIP 图 (B)

Fig. 3 OPLS-DA loadings plot (A) and VIP plot (B) of nine components of *C. nudiflora*

影响裸花紫珠成分差异的标志性成分, 结果见图 3-B。初步筛选出咖啡酸、连翘酯苷 B、毛蕊花糖苷和熊果酸 4 个差异成分, 这与载荷图的结果相一致。表明以上成分可能是导致裸花紫珠质量产生差异的关键因素。

2.6 裸花紫珠多成分含量测定

按照已验证的定量方法, 对 83 批不同产地和不同采收时间的裸花紫珠样品 (S1~S83) 进行比较分析, 结果见表 4。通过比较海南白沙和五指山 8 月采收的样品可知, 海南白沙 9 个成分总质量分数为 9.492 1%,

表 4 83 批裸花紫珠样品的含量测定结果

Table 4 Results of determination of content of 83 batches of *C. nudiflora*

编号	质量分数/%										总量
	咖啡酸	木犀草苷	连翘酯苷 B	毛蕊花糖苷	木犀草素-4'-O-β-D-吡喃葡萄糖苷	木犀草素-3'-O-β-D-吡喃葡萄糖苷	木犀草素	藜香黄酮醇	熊果酸		
S1	0.005 1	0.106 6	0.018 5	0.452 6	0.099 3	0.042 8	0.020 1	0.046 8	0.542 8	1.334 6	
S2	0.001 9	0.088 5	0.021 9	0.498 4	0.097 0	0.032 6	0.018 8	0.048 4	0.461 4	1.268 9	
S3	0.003 2	0.068 5	0.011 6	0.258 4	0.041 1	0.026 6	0.025 9	0.059 4	0.575 2	1.069 9	
S4	0.004 4	0.070 8	0.014 8	0.367 1	0.067 1	0.022 4	0.025 2	0.050 8	0.581 0	1.203 6	
S5	0.000 0	0.012 4	0.000 0	0.032 0	0.006 9	0.003 9	0.042 2	0.056 2	0.576 1	0.729 7	
S6	0.002 3	0.079 6	0.014 7	0.360 2	0.066 4	0.027 4	0.020 2	0.050 0	0.038 4	0.659 2	
S7	0.003 7	0.108 5	0.017 2	0.426 8	0.095 1	0.033 3	0.014 6	0.053 6	0.049 6	0.802 4	
S8	0.004 9	0.102 7	0.019 9	0.442 5	0.102 3	0.034 7	0.020 6	0.059 0	0.037 7	0.824 3	
S9	0.099 9	0.159 7	0.218 9	2.192 2	0.125 5	0.054 9	0.043 7	0.044 3	0.603 4	3.542 5	
S10	0.010 3	0.081 3	0.039 5	0.979 8	0.077 5	0.026 6	0.022 6	0.057 5	0.594 5	1.889 6	
S11	0.027 0	0.163 1	0.144 8	1.835 7	0.123 7	0.041 1	0.036 4	0.052 5	0.506 3	2.930 6	
S12	0.026 2	0.284 9	0.135 9	1.844 3	0.140 7	0.042 4	0.040 4	0.051 6	0.488 1	3.054 5	
S13	0.005 8	0.095 9	0.019 1	0.461 5	0.087 2	0.030 2	0.026 9	0.048 8	0.592 4	1.367 8	
S14	0.011 3	0.097 8	0.024 9	0.650 0	0.094 3	0.031 0	0.023 5	0.046 8	0.559 0	1.538 6	
S15	0.017 9	0.169 9	0.028 3	0.426 4	0.123 5	0.056 0	0.052 2	0.046 6	0.541 2	1.462 0	
S16	0.018 1	0.096 6	0.028 0	0.448 9	0.156 2	0.035 9	0.037 8	0.046 0	0.544 7	1.412 2	
S17	0.010 8	0.197 1	0.154 9	1.622 1	0.141 9	0.056 6	0.018 9	0.039 4	0.492 0	2.733 7	
S18	0.004 6	0.076 7	0.053 6	0.454 8	0.070 7	0.027 0	0.025 4	0.035 6	0.552 5	1.300 9	
S19	0.009 5	0.300 5	0.227 7	8.184 2	0.171 1	0.104 6	0.013 9	0.050 5	0.430 1	9.492 1	
S20	0.003 4	0.131 7	0.023 0	0.351 4	0.114 5	0.049 4	0.028 4	0.067 7	0.547 6	1.317 1	
S21	0.003 0	0.138 4	0.088 1	1.359 5	0.097 4	0.038 7	0.012 3	0.050 3	0.613 1	2.400 8	
S22	0.001 2	0.043 2	0.004 7	0.188 1	0.051 1	0.015 3	0.018 2	0.046 4	0.478 8	0.847 0	
S23	0.001 3	0.056 6	0.006 1	0.169 7	0.059 8	0.041 2	0.019 8	0.051 0	0.607 5	1.013 0	
S24	0.001 7	0.059 6	0.005 7	0.181 0	0.053 1	0.019 7	0.018 7	0.047 6	0.049 1	0.436 2	
S25	0.001 4	0.044 8	0.004 6	0.174 2	0.042 5	0.015 5	0.017 7	0.047 5	0.000 0	0.348 2	
S26	0.001 3	0.053 1	0.006 3	0.189 8	0.049 6	0.018 1	0.019 8	0.049 2	0.044 8	0.432 0	
S27	0.000 9	0.050 2	0.004 9	0.137 9	0.057 1	0.017 2	0.022 4	0.054 6	0.048 4	0.393 6	
S28	0.001 1	0.049 1	0.002 9	0.126 5	0.056 3	0.017 0	0.023 9	0.047 2	0.584 1	0.908 1	
S29	0.001 3	0.050 2	0.004 9	0.164 3	0.057 7	0.017 1	0.020 6	0.048 8	0.042 3	0.407 2	
S30	0.001 3	0.050 2	0.004 9	0.164 3	0.057 7	0.017 1	0.020 6	0.048 8	0.042 3	0.407 2	
S31	0.002 9	0.064 6	0.005 0	0.211 5	0.069 8	0.050 4	0.026 2	0.054 2	0.593 9	1.078 5	
S32	0.034 0	0.189 6	0.118 5	1.792 2	0.154 2	0.055 8	0.062 6	0.036 0	0.498 9	2.941 8	
S33	0.025 6	0.180 0	0.224 5	3.655 6	0.134 7	0.058 6	0.016 5	0.041 5	0.584 2	4.921 2	
S34	0.014 8	0.217 1	0.097 2	1.708 4	0.150 8	0.062 4	0.029 2	0.057 6	0.615 9	2.953 4	
S35	0.004 3	0.119 1	0.012 4	0.401 8	0.098 3	0.041 3	0.027 0	0.054 5	0.525 5	1.284 2	
S36	0.046 4	0.211 3	0.214 8	3.422 6	0.187 6	0.062 2	0.026 7	0.045 7	0.482 4	4.699 7	
S37	0.042 9	0.186 9	0.136 3	2.673 9	0.153 2	0.046 0	0.004 7	0.048 1	0.520 5	3.812 5	
S38	0.054 4	0.234 6	0.158 2	3.833 0	0.193 6	0.069 1	0.038 5	0.046 9	0.494 9	5.123 2	
S39	0.009 6	0.129 2	0.217 5	1.051 4	0.119 8	0.041 4	0.026 3	0.030 9	0.403 0	2.029 1	
S40	0.000 0	0.016 2	0.000 0	0.039 8	0.009 2	0.006 6	0.044 7	0.048 1	0.433 9	0.598 5	
S41	0.000 2	0.014 9	0.002 1	0.068 0	0.010 6	0.004 3	0.016 5	0.052 6	0.617 2	0.786 4	
S42	0.026 1	0.129 7	0.044 8	1.351 6	0.131 0	0.038 4	0.017 9	0.048 7	0.514 9	2.303 1	
S43	0.011 0	0.106 1	0.043 7	0.577 1	0.095 8	0.039 0	0.029 6	0.040 3	0.559 1	1.501 7	
S44	0.005 1	0.148 1	0.102 1	1.359 0	0.061 1	0.039 5	0.007 5	0.048 0	0.457 8	2.228 2	
S45	0.005 0	0.093 3	0.008 0	0.302 7	0.063 9	0.037 5	0.034 3	0.051 9	0.037 8	0.634 4	
S46	0.005 1	0.091 9	0.025 1	0.987 3	0.316 1	0.042 6	0.005 8	0.044 5	0.042 9	1.561 3	
S47	0.004 8	0.066 9	0.010 3	1.056 7	0.018 2	0.033 0	0.003 2	0.031 1	0.345 9	1.570 1	
S48	0.003 0	0.075 1	0.041 2	2.238 7	0.701 4	0.042 2	0.002 1	0.032 3	0.363 0	3.499 0	
S49	0.001 1	0.091 8	0.084 6	3.075 9	1.128 6	0.028 5	0.005 7	0.030 2	0.447 1	4.893 5	
S50	0.015 6	0.280 1	0.097 9	0.626 5	0.125 0	0.074 6	0.018 9	0.057 0	0.509 1	1.804 7	
S51	0.009 0	0.219 5	0.028 0	0.400 6	0.153 2	0.080 0	0.022 0	0.054 0	0.546 6	1.512 9	
S52	0.006 1	0.129 7	0.021 0	0.363 4	0.111 8	0.044 0	0.048 7	0.060 0	0.047 4	0.832 1	
S53	0.009 4	0.153 4	0.071 8	1.275 8	0.146 4	0.039 0	0.004 1	0.050 4	0.480 7	2.231 0	
S54	0.009 2	0.179 8	0.083 6	2.289 0	0.162 3	0.051 0	0.005 2	0.047 2	0.493 0	3.320 3	

续表 4

编号	质量分数/%										总量
	咖啡酸	木犀草苷	连翘酯苷 B	毛蕊花糖苷	木犀草素-4'-O-β-D-吡喃葡萄糖苷	木犀草素-3'-O-β-D-吡喃葡萄糖苷	木犀草素	藜香黄酮醇	熊果酸		
S55	0.007 1	0.151 4	0.395 4	5.213 6	0.101 0	0.035 6	0.006 2	0.048 7	0.472 8	6.431 8	
S56	0.014 4	0.031 7	0.054 2	0.868 0	0.105 6	0.056 4	0.034 7	0.054 0	0.424 9	1.643 9	
S57	0.008 5	0.138 9	0.027 6	1.221 9	0.129 5	0.048 2	0.014 5	0.037 7	0.034 2	1.661 0	
S58	0.021 9	0.140 9	0.027 6	1.300 7	0.119 7	0.044 1	0.020 9	0.031 7	0.040 5	1.748 0	
S59	0.010 7	0.101 8	0.038 0	1.234 8	0.077 0	0.034 3	0.010 9	0.034 9	0.399 3	1.941 7	
S60	0.008 7	0.162 0	0.066 6	2.350 9	0.155 2	0.082 1	0.020 7	0.035 2	0.044 0	2.925 4	
S61	0.012 9	0.146 3	0.139 3	3.675 7	0.111 6	0.075 5	0.008 8	0.030 8	0.412 9	4.613 8	
S62	0.012 1	0.204 4	0.435 3	3.892 0	0.152 4	0.085 8	0.013 8	0.043 7	0.034 7	4.874 2	
S63	0.002 0	0.068 2	0.001 4	0.213 9	0.067 6	0.028 5	0.052 4	0.034 4	0.470 2	0.938 6	
S64	0.000 7	0.065 0	0.008 0	0.142 9	0.060 7	0.039 8	0.034 5	0.058 7	0.646 8	1.057 1	
S65	0.013 0	0.129 3	0.715 5	3.078 4	0.111 7	0.056 4	0.017 0	0.035 5	0.485 5	4.642 3	
S66	0.015 4	0.154 3	0.114 7	1.263 8	0.152 1	0.054 9	0.047 7	0.041 9	0.542 7	2.387 5	
S67	0.005 2	0.111 8	0.046 0	0.518 3	0.101 4	0.042 5	0.029 6	0.036 8	0.515 2	1.406 8	
S68	0.004 8	0.179 5	0.061 4	1.551 7	0.123 5	0.064 6	0.017 2	0.054 8	0.638 4	2.695 9	
S69	0.002 5	0.060 3	0.073 3	0.706 9	0.051 3	0.023 8	0.074 9	0.048 8	0.745 3	1.787 1	
S70	0.052 4	0.148 5	0.068 6	1.271 1	0.107 1	0.062 3	0.048 9	0.064 7	0.701 9	2.525 5	
S71	0.109 4	0.231 8	0.231 4	3.589 1	0.173 1	0.077 5	0.030 3	0.047 0	0.648 5	5.138 1	
S72	0.053 0	0.149 2	0.600 9	3.835 8	0.106 7	0.060 0	0.014 9	0.040 6	0.675 2	5.536 3	
S73	0.002 4	0.073 1	0.008 7	0.335 8	0.071 8	0.050 4	0.062 1	0.036 4	0.467 7	1.108 4	
S74	0.000 0	0.015 5	0.000 0	0.042 7	0.014 0	0.006 4	0.023 6	0.054 4	0.510 2	0.666 8	
S75	0.000 2	0.030 8	0.000 0	0.086 5	0.040 2	0.012 8	0.024 9	0.046 3	0.484 1	0.725 8	
S76	0.025 1	0.145 9	0.020 3	1.299 9	0.084 6	0.045 9	0.022 0	0.032 5	0.003 2	1.679 4	
S77	0.042 9	0.247 9	0.341 9	5.761 4	0.161 0	0.086 9	0.024 0	0.057 4	0.456 4	7.179 8	
S78	0.002 3	0.021 3	0.004 8	0.185 6	0.015 9	0.006 0	0.033 0	0.063 2	0.495 6	0.827 7	
S79	0.002 1	0.028 3	0.006 6	0.234 9	0.024 8	0.009 3	0.035 6	0.053 8	0.451 6	0.847 0	
S80	0.001 0	0.043 5	0.034 6	0.198 8	0.015 3	0.015 4	0.018 0	0.029 1	0.486 3	0.842 0	
S81	0.001 4	0.017 9	0.000 0	0.115 7	0.012 3	0.005 3	0.014 2	0.057 3	0.637 4	0.861 5	
S82	0.005 7	0.188 1	0.157 0	3.719 4	0.114 1	0.060 0	0.004 6	0.035 3	0.471 0	4.755 2	
S83	0.034 1	0.155 8	0.214 9	6.563 1	0.148 8	0.052 7	0.031 2	0.059 9	0.486 3	7.746 8	

毛蕊花糖苷占比 86.22%，熊果酸占比 4.53%，木犀草苷占比 3.16%，连翘酯苷 B 苷占比 2.40%，木犀草素-4'-O-β-D-吡喃葡萄糖苷占比 1.80%，木犀草素-3'-O-β-D-吡喃葡萄糖苷占比 1.10%，其他 3 个成分共占比 0.78%，毛蕊花糖苷量高达 8.1842%。而海南五指山 9 个成分总含量为 4.921 2%，毛蕊花糖苷占比 74.28%，熊果酸占比 11.87%，连翘酯苷 B 苷占比 4.56%，木犀草苷占比 3.66%，木犀草素-4'-O-β-D-吡喃葡萄糖苷占比 2.74%，其他 4 个成分共占比 2.89%。海南白沙 8 月份总含量比其他采集时间明显更高，此时毛蕊花糖苷含量达到峰值，且均高于海南五指山的含量。由以上分析可知海南白沙裸花紫珠的品质总体比海南五指山高出许多。

将江西地区同年 9 月到 12 月样品进行比较分析可知，12 月样品其总含量比其它采集时间明显更高，江西普正药业菜园、药园和江西上犹 9 个成分总含量分别为 4.893 5%、6.431 8% 和 4.613 8%，且毛蕊花糖苷、木犀草素-4'-O-β-D-吡喃葡萄糖苷、熊果酸和木犀草苷这 4 个成分含量比其他采集时间明

显更高。且海南白沙 11~12 月 9 个成分总含量与江西上犹和普正药业药园 11~12 月 9 个成分总含量趋势相似。12 月在海南白沙中 9 个成分总含量为 5.123 2%。

此外，本实验还测定了另外 22 批其他产地的裸花紫珠样品（S62~S83），按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液，按“2.2”项下色谱条件测定，计算样品含量，测定结果均在线性范围内（除咖啡酸、连翘酯苷）。且江西峡江 2016 年 10 月到 12 月样品中 9 个活性成分的总含量与江西以南其它地区吉安、上犹不尽相同，而 2017 年和 2014 年总含量变化也基本遵循吉安、上犹规律。

通过对 5 种紫珠属其他样品的 9 种活性成分进行初步比较分析（表 5），其咖啡酸、木犀草苷、连翘酯苷 B、毛蕊花糖苷、木犀草素-4'-O-β-D-吡喃葡萄糖苷、木犀草素-3'-O-β-D-吡喃葡、木犀草素、藜香黄酮醇和熊果酸的质量分数分别为 0~0.034 1%、0.000 6%~0.322 9%、0.0070%~1.549 4%、0.541 0%~6.563 1%、0.001 3%~1.140 0%、0.001 6%~0.0527%、

表 5 紫珠属其他药用植物的 9 种成分的含量测定结果

Table 5 Results of content determination of nine components of other plants of *Callicarpa*

编号	质量分数/%								
	咖啡酸	木犀草苷	连翘酯苷	毛蕊花糖苷	木犀草素-4'-O-β-D-吡喃葡萄糖苷	木犀草素-3'-O-β-D-吡喃葡萄糖苷	木犀草素	藜香黄酮醇	熊果酸
S84	0.000 0	0.009 1	0.172 1	0.849 6	0.001 6	0.007 2	0.005 8	0.020 0	0.143 2
S85	0.001 2	0.046 3	0.066 9	3.303 7	0.007 9	0.017 7	0.010 1	0.024 8	0.212 9
S86	0.003 9	0.224 0	0.032 3	1.802 0	0.509 2	0.026 5	0.006 6	0.001 0	0.557 6
S87	0.000 0	0.000 6	1.549 4	0.541 0	0.001 3	0.001 6	0.004 3	0.005 8	0.350 3
S88	0.000 0	0.001 4	0.008 4	0.751 9	0.095 9	0.003 7	0.002 3	0.025 0	0.326 6
S89	0.000 1	0.322 9	0.007 0	2.501 5	1.140 0	0.003 0	0.009 9	0.000 0	0.579 7
S90	0.000 0	0.177 0	0.196 7	5.321 8	1.027 9	0.008 8	0.002 5	0.012 8	0.648 9

0.002 3%~0.031 2%、0~0.059 9%和 0.143 1%~0.648 9%。可知同属不同种紫珠属植物所含化学成分种类基本一致，但成分含量存在一定差异性。与其他同属不同种紫珠属药用植物相比裸花紫珠药材中 9 种活性成分的总含量和毛蕊花糖苷含量均相对较高。

3 讨论

采用 Waters UHPLC 系统，用梯度洗脱法在较短的时间内同时进行裸花紫珠中咖啡酸、木犀草苷、连翘酯苷 B、毛蕊花糖苷、木犀草素-4'-O-β-D-吡喃葡萄糖苷、木犀草素-3'-O-β-D-吡喃葡萄糖苷、木犀草素、藜香黄酮醇和熊果酸共 9 个活性成分含量同时测定的方法。本实验在进行前期色谱条件优化实验时，通过采集 200~400 nm 全波长色谱图并比较各化合物的紫外吸收强度，发现除熊果酸外其它化合物的最大吸收峰均在 332 nm 附近，并且在 332 nm 的色谱图中这些化合物分离最好。而熊果酸在 210 nm 附近的吸收峰最高，但在 332 nm 波长下无紫外吸收。因此本实验最终采用双波长进行定量，即在 332 nm 波长下定量除熊果酸外的 8 个指标成分，在 210 nm 波长下定量熊果酸。在进行提取溶剂比例优化、超声时间优化、提取液固比的优化预试验后，比常用的 HPLC^[31]节省时间，大大提高了工作效率且减少了溶剂的消耗。并进行了方法学考察，结果表明 9 个活性成分在各自的线性范围内线性良好 ($R^2 > 0.9993$)，精密度、重复性和稳定性的 RSD 值均小于 3.00%，平均加样回收率在 95.58%~101.73%，回收率的 RSD 值均小于 2.50%。

采用本方法对不同产地及采收期的 83 批裸花紫珠药材进行比较分析。以 9 种活性成分含量为基础构建裸花紫珠的质量评价函数进行了主成分分析，可知江西峡江和海南白沙综合评分较高，裸花紫珠质量较好，其中丙烯酸类占总含量的 85%以上，

黄酮类占 7%左右。但江西地区裸花紫珠药材的数据只有 9 月到 12 月的数据，因此对于江西地区裸花紫珠药材质量的变化规律有待进一步研究。此外，活性成分的积累规律与采收时间相关，毛蕊花糖苷等在春夏两季积累较多，秋冬两季较少，藜香黄酮醇、熊果酸含量随采收时间变化不大。

综上所述，产地和采收时间对活性成分含量影响极大，在不同样本间活性成分虽然大致相同，但各成分含量相距甚远。为了确保裸花紫珠产品及新药研发一致性，必须从药材源头严把关，建立药材产地 GAP 种植基地及饮片加工 GMP 建设及相关配套设施。而本研究建立的活性成分含量测定方法灵敏、稳定、准确，可用于裸花紫珠药材的质量分析。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志(第四十一卷) [M]. 北京: 科学出版社, 2006: 263.
- [2] 宋潇, 黄胜, 袁莉, 等. 裸花紫珠资源、化学成分及药理作用研究近况 [J]. 中国医药导报, 2017, 14(6): 45-48.
- [3] 张绮玲, 庞玉新, 杨全, 等. 裸花紫珠的本草考证 [J]. 广东药学院学报, 2014, 30(5): 667-671.
- [4] 陈学武, 姜靖雯, 张永杰, 等. 裸花紫珠对结肠癌细胞上皮间质转化、增殖及迁移的影响 [J]. 中国临床药理学杂志, 2021, 37(16): 2155-2158.
- [5] 胡高文, 张荣珍, 黄昊. 酒精中毒的中医药治疗最新研究进展 [J]. 中国中医急症, 2016, 25(1): 110-113.
- [6] 杨建琼, 李亚梅, 杨义芳, 等. 裸花紫珠叶的化学成分研究 [J]. 中药材, 2020, 43(7): 1617-1621.
- [7] 孔凤利. 阿昔洛韦联合裸花紫珠分散片治疗带状疱疹 40 例 [J]. 中国药业, 2010, 19(5): 50-51.
- [8] 李晓为. 裸花紫珠分散片联合复方多粘菌素 B 软膏治疗寻常痤疮临床疗效观察 [J]. 山西卫生健康职业学院学报, 2020, 30(5): 24-26.
- [9] 杨帆, 邓慧鸣, 倪盼丽, 等. 飞机草-裸花紫珠联合用于止

- 血抗炎的药效学研究 [J]. 广州化工, 2017, 45(5): 44-46.
- [10] 杜梦斐, 窦欣, 陈勇. 裸花紫珠颗粒联合注射用哌拉西林钠他唑巴坦钠治疗下肢丹毒的效果及对炎症因子水平的影响 [J]. 中国民间疗法, 2021, 29(12): 93-95.
- [11] 刘静瑛. 裸花紫珠胶囊治疗儿童 EB 病毒感染临床观察 [J]. 河北医学, 2016, 22(7): 1217-1218.
- [12] 李亚梅, 杨扬, 杨义芳, 等. 裸花紫珠抗菌作用的谱效学研究 [J]. 中国现代应用药学, 2021, 38(11): 1294-1301.
- [13] 颜小捷, 谷陟欣, 卢凤来, 等. FOLIN-酚比色法测定裸花紫珠中总酚含量 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(18): 74-78.
- [14] 王红刚, 潘利明. 分光光度法测定 5 种紫珠属中药总黄酮的含量 [J]. 四川中医, 2013, 31(3): 57-58.
- [15] 宋永强, 谌乐刚. 分光光度法测定裸花紫珠片中总黄酮含量 [J]. 海南医学, 2005, 16(6): 152.
- [16] 谌乐刚, 宋永强. 分光光度法测定裸花紫珠药材水提物中总黄酮的含量 [J]. 华西药学杂志, 2005, 20(5): 449-450.
- [17] 李俊, 陈红波, 王英瑛, 等. GC-MS 测定坎地沙坦酯中微量的 *N*-亚硝基二甲胺和 *N*-亚硝基二乙胺 [J]. 中国现代应用药学, 2020, 37(13): 1615-1620.
- [18] 颜祥云, 毛忠华, 黄文新, 等. HPLC 同时测定裸花紫珠叶中金石蚕苷、阿克苷和木犀草苷含量 [J]. 哈尔滨医科大学学报, 2017, 51(2): 127-130.
- [19] Shi Y T, Wu C Y, Chen Y H, *et al.* Comparative analysis of three *Callicarpa* herbs using high performance liquid chromatography with diode array detector and electrospray ionization-trap mass spectrometry method [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2013, 75: 239-247.
- [20] Huang H, Tang C P, Ke C Q, *et al.* 3, 4-seco-isopimarane and 3, 4-seco-pimarane diterpenoids from *Callicarpa nudiflora* [J]. *Chin J Nat Med*, 2021, 19(8): 632-640.
- [21] 李亚梅, 杨扬, 杨义芳, 等. 基于 UPLC-Q-TOF MS/MS 技术的裸花紫珠不同溶剂提取物的成分分析 [J]. 中药材, 2020, 43(11): 2707-2712.
- [22] 李亚梅, 杨扬, 杨义芳, 等. 裸花紫珠抗菌作用的谱效学研究 [J]. 中国现代应用药学, 2021, 38(11): 1294-1301.
- [23] 李亚梅, 杨义芳, 康兴东, 等. 基于降低血管通透性的裸花紫珠收敛作用的谱效关系研究 [J]. 中华中医药杂志, 2021, 36(9): 5589-5594.
- [24] Fu H Z, Ma Y Y, Ma S C, *et al.* Two new iridoid glycosides from *Callicarpa nudiflora* [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2020, 22(3): 264-270.
- [25] 冯世秀, 张旻, 易博, 等. 裸花紫珠化学成分与药理活性研究进展 [J]. 中草药, 2017, 48(5): 1015-1026.
- [26] Huang B, Fu H Z, Chen W K, *et al.* Hepatoprotective triterpenoid saponins from *Callicarpa nudiflora* [J]. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*, 2014, 62(7): 695-699.
- [27] 邓杰仁, 杨义芳, 李小锋, 等. 裸花紫珠 UPLC 指纹图谱的建立 [J]. 中成药, 2020, 42(7): 1926-1930.
- [28] Li Y M, Yang Y F, Kang X D, *et al.* Study on the anti-inflammatory effects of *Callicarpa nudiflora* based on the spectrum-effect relationship [J]. *Front Pharmacol*, 2022, 12: 806808.
- [29] 何艳, 胡小祥, 胡雯婷, 等. HPLC 同时测定裸花紫珠系列制剂中 6 种成分的含量 [J]. 中国现代应用药学, 2021, 38(22): 2815-2819.
- [30] 李秀敏, 王勇, 张俊清, 等. HPLC 法同时测定裸花紫珠中 3 种苯乙醇苷类成分的含量 [J]. 广州化工, 2019, 47(11): 104-106.
- [31] Zheng D K, Chen W K, Ma S C, *et al.* Study on HPLC fingerprint of *Callicarpa nudiflora* and determination of ten components [J]. *China J Chin Mater Med*, 2015, 40(9): 1776-1782.

[责任编辑 时圣明]