

# 基于 HPLC 指纹图谱不同产地板蓝根主要活性成分与其根际土壤理化性质的相关性研究

秦露<sup>1</sup>, 李健<sup>2,3</sup>, 耿燕楠<sup>3</sup>, 杨敏<sup>1</sup>, 刘广绪<sup>1</sup>, 冯帅<sup>1,2\*</sup>, 李峰<sup>1,2\*</sup>

1. 山东中医药大学药学院, 山东 济南 250355

2. 李峰名老中医工作室, 山东 济南 250355

3. 山东省中医医院 药学部, 山东 济南 250355

**摘要:**目的 分析不同产地板蓝根 *Isatidis Radix* 主要活性成分与其根际土壤理化性质的相关性, 探究土壤理化性质对板蓝根质量的影响。方法 采用 HPLC 建立板蓝根的指纹图谱, 测定板蓝根中胞苷、尿苷、腺苷、鸟苷和 (R, S)-告依春 5 个指标成分的含量; 应用 Origin 软件对板蓝根主要指标成分与其根际土壤理化性质进行相关性分析。结果 建立了 16 批板蓝根的 HPLC 指纹图谱, 指认了 5 个成分, 指纹图谱相似度为 0.858~0.998, 具有较好的相似性; 含量测定结果表明, 不同产地板蓝根药材中 5 个指标成分含量存在较大差异; 板蓝根主要活性成分胞苷含量与土壤有效磷含量呈显著正相关 ( $P<0.05$ ), 尿苷含量与 pH 呈显著负相关 ( $P<0.05$ ), 腺苷含量与含水量和速效钾含量呈显著正相关 ( $P<0.05$ )。结论 板蓝根主要活性成分含量与其根际土壤理化性质具有一定的相关性, 土壤 pH、含水量、有效磷、速效钾是影响板蓝根药材质量的主控因子。为进一步探讨板蓝根适宜的土壤环境和提升其质量标准提供一定依据, 为板蓝根药材的标准化种植与质量控制提供参考。

**关键词:** 板蓝根; 指纹图谱; 根际土壤; 胞苷; 尿苷; 腺苷; 鸟苷; (R, S)-告依春

中图分类号: R286.2 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2024)06-2077-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2024.06.029

## Correlation between main active components of *Isatidis Radix* from different producing areas and physicochemical properties of its rhizosphere soil based on HPLC fingerprint

QIN Lu<sup>1</sup>, LI Jian<sup>2,3</sup>, GENG Yannan<sup>3</sup>, YANG Min<sup>1</sup>, LIU Guangxu<sup>1</sup>, FENG Shuai<sup>1,2</sup>, LI Feng<sup>1,2</sup>

1. Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Ji'nan 250355, China

2. Li Feng famous old Chinese medicine studio, Ji'nan 250355, China

3. Pharmacy Department of Shandong Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Ji'nan 250355, China

**Abstract: Objective** To analyze the correlation between the main active components of Banlangen (*Isatidis Radix*) from different producing areas and the physicochemical properties of its rhizosphere soil, and to explore the effect of soil physicochemical properties on the quality of *Isatidis Radix*. **Methods** The fingerprint of *Isatidis Radix* was established by HPLC, and the contents of cytidine, uridine, adenosine, guanosine and (R, S)-goitrin in *Isatidis Radix* were determined. The correlation between the main index components of *Isatidis Radix* and the physicochemical properties of its rhizosphere soil was analyzed by Origin software. **Results** The HPLC fingerprints of 16 batches of *Isatidis Radix* were established, and 5 components were identified. The similarity of fingerprint ranged from 0.858 to 0.998, which showed good similarity. The results of content determination showed that there were significant differences in the contents of five index components in *Isatidis Radix* from different producing areas. The content of cytidine, the main active component of *Isatidis Radix*, was significantly positively correlated with the content of available phosphorus in soil ( $P<0.05$ ). The

收稿日期: 2023-11-08

基金项目: 山东省高校中药质量控制与全产业链建设协同创新中心课题 (CYLXTCX2021-08); 2022 年全国名老中医药专家传承工作室建设项目 (国中医药人教函 [2022] 75 号)

作者简介: 秦露 (1997—), 女, 硕士研究生, 研究方向为中药质量控制与资源研究。E-mail: 1348073155@qq.com

\*通信作者: 冯帅 (1986—), 女, 副教授, 硕士生导师, 研究方向为中药质量控制与资源研究。E-mail: fengshuaihappy@163.com

李峰 (1957—), 男, 教授, 博士生导师, 研究方向为中药质量控制与资源研究。E-mail: 13969141796@163.com

content of uridine was significantly negatively correlated with pH ( $P < 0.05$ ). The content of adenosine was significantly positively correlated with soil moisture content and available potassium content ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** The content of main active components in *Isatidis Radix* has a certain correlation with the physical and chemical properties of its rhizosphere soil. Soil pH, soil moisture content, available phosphorus and available potassium are the main controlling factors affecting the quality of *Isatidis Radix*. This study provides a basis for further exploring the suitable soil environment and improving the quality standard of *Isatidis Radix*, and provides a reference for the standardized cultivation and quality control of *Isatidis Radix*.

**Key words:** *Isatidis Radix*; fingerprint; rhizosphere soil; cytidine; 7-uridine; 9-adenosine; 10-guanosine; 11-(*R, S*)-goitrin

板蓝根为十字花科植物菘蓝 *Isatis indigotica* Fort. 的干燥根, 具有清热解毒、凉血利咽等功效<sup>[1]</sup>, 临床上常用于预防和治疗流行性感冒、肺炎、腮腺炎等疾病<sup>[2-3]</sup>。现代研究表明, 板蓝根具有抗炎、抗肿瘤、抗内毒素和免疫调节作用<sup>[4-7]</sup>。板蓝根的主要成分为生物碱类、有机酸类、蒽醌类、黄酮类、木脂素类、氨基酸类、多糖类、核苷等<sup>[8]</sup>, 其中, 腺苷、鸟苷、尿苷等核苷类成分是其抗病毒的主要活性成分, 能干扰病毒核酸的合成<sup>[9-10]</sup>。《中国药典》2020 年版仅规定了板蓝根中水溶性成分(*R, S*)-告依春作为其含量测定项, 药材质量难以全面把握<sup>[1]</sup>。

随着市场需求的不断上升, 目前菘蓝在全国各地广泛种植, 主产于河北、山东、安徽、河南、黑龙江等地, 但由于生态环境(气候因子、土壤因子、地形因子等)、栽培模式、采收加工等的影响, 不同产地板蓝根药材的质量和产量差异较大, 在一定程度上影响了临床疗效<sup>[11-14]</sup>。土壤作为植物生长的载体, 是药用植物的生长、繁育与品质形成所需物质基础的主要来源<sup>[15]</sup>。尤其是根际土壤, 直接接触植物根系, 与药用植物品质的形成密切相关<sup>[16]</sup>。长期以来, 国内外专家学者主要侧重板蓝根化学成分和药理作用的研究, 而对其生态环境中土壤因子研究颇少<sup>[17]</sup>, 因此, 为获得高品质的板蓝根药材, 亟需对板蓝根质量与土壤因子的相关性进行研究。

本实验选取 9 个不同产地的板蓝根药材, 采用 HPLC 建立指纹图谱, 结合化学模式识别方法对其质量进行分析, 同时测定板蓝根中胞苷、尿苷、腺苷、鸟苷和(*R, S*)-告依春 5 个指标成分的含量, 并应用 Origin 软件对板蓝根主要指标成分与其根际土壤理化性质进行相关性分析, 旨在为合理规范化种植药材提供参考, 也为菘蓝规范化栽培以及板蓝根药材质量和产量的提升提供参考。

## 1 材料与仪器

### 1.1 仪器

1260 Infinity II 型高效液相色谱仪(美国安捷伦公司)、FA2004B 型万分之一电子天平(上海天美

天平仪器有限公司)、KQ-500DB 型数控超声波清洗机(昆山市超声仪器有限公司)、TDL-5-A 型离心机(上海安亭科学仪器厂)、FW-80 型高速万能粉碎机(北京市永光明医疗仪器有限公司)。

### 1.2 试剂与试药

对照品尿苷(批号 N10M11W109430)、鸟苷(批号 J09GB154303)、(*R, S*)-告依春(批号 Z27N11X132307)、腺苷(批号 N24D11W135689)、胞苷(批号 T16J7X9000)购自上海源叶生物科技有限公司, 质量分数均 $\geq 98\%$ ; 甲醇(色谱纯, 批号 220655059)、乙腈(色谱纯, 批号 22065062)购自帝慈科国际贸易有限公司; 甲醇(分析纯, 批号 GB/T683-2006)、乙醇(分析纯, 批号 GB/T678-2002)、甲酸(批号 GB/T15896-1995)、磷酸(批号 Q/12KM4168-2018)购自天津市科密欧化学试剂有限公司。共收集板蓝根 16 批, 经山东中医药大学李峰教授鉴定为十字花科植物菘蓝 *I. indigotica* Fort. 的干燥根, 具体来源信息见表 1。

### 1.3 根际土壤样品的采集

采用五点采样法, 随机选取 5 组长势一致的健康菘蓝植株, 先将表面约 3 cm 的表层土去除, 用铁锹将整个根挖出, 采用抖根法<sup>[18]</sup>轻轻抖落大块土壤, 用软刷收集整个根表的根际土, 装入采样袋中, 注明产地, 运回实验室, 将每个产地的 5 组板蓝根根际土壤分别混匀为 1 个样品后自然风干, 研细过筛, 用于测定土壤理化性质。采样点信息见表 2。

## 2 方法与结果

### 2.1 HPLC 指纹图谱

**2.1.1 色谱条件** 色谱柱: ZORBAX SB-Aq (250 mm $\times$ 4.6 mm, 5.0  $\mu$ m); 流动相为甲醇-0.3%甲酸水; 梯度洗脱: 0~14 min, 0.5%甲醇; 14~24 min, 0.5%~10%甲醇; 24~35 min, 10%~20%甲醇; 35~50 min, 20%~35%甲醇; 50~55 min, 35%~50%甲醇; 55~60 min, 50%~55%甲醇; 体积流量 0.8 mL/min; 检测波长 254 nm; 柱温 30  $^{\circ}$ C; 进样量 12  $\mu$ L。

表 1 板蓝根药材样品收集信息  
Table 1 Collecting information of *Isatidis Radix* samples

| 编号  | 产地                         | 来源 | 纬度 (N)      | 经度 (E)       | 海拔/m  | 采集日期    |
|-----|----------------------------|----|-------------|--------------|-------|---------|
| S1  | 山东省济南市莱芜区                  | 自采 | 36.3415433° | 117.9041087° | 451   | 2022-10 |
| S2  | 山东省济南市长清区 (山东中医药大学药圃试验田 1) | 自采 | 36.5662229° | 116.8010128° | 54    | 2022-10 |
| S3  | 山东省济南市章丘区                  | 自采 | 36.5912896° | 117.3879225° | 251   | 2022-10 |
| S4  | 山东省泰安市岱岳区                  | 自采 | 36.1179124° | 117.0764244° | 166   | 2022-10 |
| S5  | 安徽省亳州市谯城区                  | 自采 | 33.9613144° | 115.6308245° | 42    | 2022-10 |
| S6  | 黑龙江省大庆市大同区                 | 自采 | 46.1467054° | 124.6220302° | 135   | 2022-10 |
| S7  | 山东省济南市马山镇                  | 自采 | 36.3850821° | 116.7306256° | 89    | 2022-10 |
| S8  | 山东省威海市环翠区                  | 自采 | 37.5285722° | 122.0406291° | 79    | 2022-10 |
| S9  | 陕西省商洛市丹凤县                  | 自采 | 33.4819750° | 110.3489878° | 858   | 2022-10 |
| S10 | 山东省济南市长清区 (神秀谷)            | 自采 | 36.3824047° | 116.7366335° | 85    | 2022-10 |
| S11 | 山东省济南市长清区 (山东中医药大学药圃试验田 2) | 自采 | 36.5655254° | 116.8012366° | 54    | 2022-10 |
| S12 | 山东省济南市长清区 (山东中医药大学药圃试验田 3) | 自采 | 36.5652670° | 116.8014672° | 54    | 2022-10 |
| S13 | 山东省济南市长清区 (山东中医药大学药圃试验田 4) | 自采 | 36.5650258° | 116.8013009° | 54    | 2022-10 |
| S14 | 陕西省商洛市商州区                  | 自采 | 33.9612039° | 109.9941047° | 788   | 2022-10 |
| S15 | 甘肃省酒泉市金塔县                  | 自采 | 39.9753173° | 98.9461404°  | 1 268 | 2022-11 |
| S16 | 甘肃省张掖市高台县                  | 自采 | 39.4454301° | 99.7322434°  | 1 345 | 2022-11 |

表 2 板蓝根根际土壤采样地点地理信息  
Table 2 Geographic information of sampling sites of *Isatidis Radix* rhizosphere soil

| 采样地点  | 纬度 (N)      | 经度 (E)       | 海拔/m | 土壤类型 |
|-------|-------------|--------------|------|------|
| 山东莱芜  | 36.3415433° | 117.9041087° | 451  | 砂质壤土 |
| 山东长清  | 36.5662229° | 116.8010128° | 54   | 棕壤土  |
| 山东章丘  | 36.5912896° | 117.3879225° | 251  | 褐土   |
| 山东泰安  | 36.1179124° | 117.0764244° | 166  | 棕壤土  |
| 安徽亳州  | 33.9613144° | 115.6308245° | 42   | 黄棕壤  |
| 黑龙江大庆 | 46.1467054° | 124.6220302° | 135  | 灰化土  |
| 山东马山  | 36.3850821° | 116.7306256° | 89   | 沙壤土  |
| 山东威海  | 37.5285722° | 122.0406291° | 79   | 棕壤土  |
| 陕西商洛  | 33.4819750° | 110.3489878° | 858  | 黄褐土  |

**2.1.2 供试品溶液的制备** 精密称取板蓝根粉末 0.5 g, 置于具塞锥形瓶中, 精密加水 10 mL, 称定质量并记录, 超声提取 60 min (100 W、60 kHz), 放冷, 用水补足减失质量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 过 0.45 μm 微孔滤膜, 得供试品溶液。

**2.1.3 混合对照品溶液的制备** 分别精密称取胞苷、尿苷、腺苷、鸟苷、(R,S)-告依春对照品 1.03、1.51、1.26、1.02、4.52 mg, 加水溶解并定容至 25 mL, 制成质量浓度分别为 41.20、60.40、50.40、40.80、180.80 μg/mL 的混合对照品溶液。

**2.1.4 精密度试验** 取“2.1.3”项下混合对照品溶液, 按“2.1.1”项下色谱条件, 连续进样 6 次, 记录色谱图。结果显示, 该方法的峰面积与相对保留时间 RSD 均小于 2%, 表明仪器精密度良好。

**2.1.5 稳定性试验** 精密称取板蓝根 (S4) 样品 1

份, 按“2.1.2”项下方法制成供试品溶液, 按“2.1.1”项下色谱条件分别在 0、2、4、8、16、24 h 进样, 记录色谱图。结果显示, 峰面积与相对保留时间 RSD 均小于 2%, 表明该方法在 24 h 内稳定。

**2.1.6 重复性试验** 称取同一批次样品 6 份, 按“2.1.2”项下方法制成供试品溶液。按“2.1.1”项下色谱条件分别进样, 记录色谱图。结果显示, 峰面积与相对保留时间 RSD 均小于 2%, 表明该方法重复性较好。

**2.1.7 相似度评价** 称取 16 批板蓝根样品的粉末, 按“2.1.2”项下的方法制备供试品溶液, 按“2.1.1”项下的色谱条件进样, 得到板蓝根的指纹图谱。将 16 批板蓝根的色谱图以 AIA 格式依次导入《中药色谱指纹图谱相似度评价系统软件》(2012 版) 进行指纹图谱相似度分析, 得到吸收强、特征明显且

稳定性较好的 14 个共有峰。以 S4 为参照图谱, 选取“时间窗宽度”为 0.5, 采用平均数法计算, 经多点校正和 Mark 峰匹配后生成对照指纹图谱 (R) [19-20], 对照指纹图谱和 16 批样品的 HPLC 指纹图谱见图 1、图 2。通过与混合对照品溶液的色谱图比对, 指认出 5 个共有峰, 分别为胞苷 (2 号峰)、尿苷 (7 号峰)、腺苷 (9 号峰)、鸟苷 (10 号峰)、(R,S)-告依春 (11 号峰)。以生成的对照指纹图谱为标准, 计算得到 16 批药材样品的 HPLC 指纹图谱与对照图谱的相似度分别为 0.967、0.984、0.991、0.978、0.992、0.998、0.996、0.932、0.985、0.973、0.987、0.971、0.987、0.971、0.858、0.859, 均  $>0.85$ , 表明各产地间的板蓝根有较高的一致性。

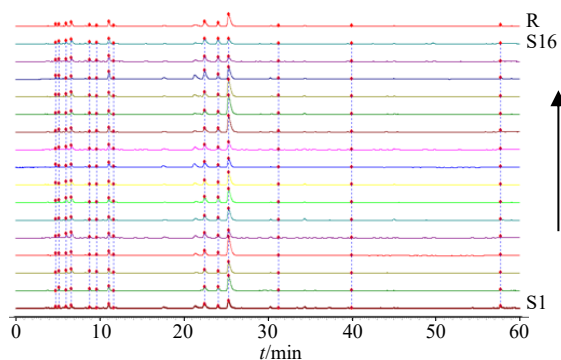
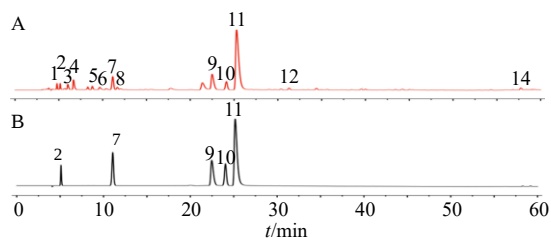


图 1 16 批板蓝根 HPLC 指纹图谱

Fig. 1 HPLC fingerprint of 16 batches of *Isatidis Radix*



2-胞苷, 7-尿苷, 9-腺苷, 10-鸟苷, 11-(R,S)-告依春。

2-cytidine, 7-uridine, 9-adenosine, 10-guanosine, 11-(R,S)-goitrin.

图 2 板蓝根的对照指纹图谱 (A) 和混合对照品指纹图谱 (B)

Fig. 2 Control fingerprint (A) and mixed reference fingerprint (B) of *Isatidis Radix*

**2.1.8 聚类分析** 选取 (R,S)-告依春 (峰 11) 为参考峰, 对板蓝根的共有峰的峰面积进行归一化, 然后将其导入 Origin Pro 2022 软件作图。结果显示, 16 批样品按照产地可分为 3 类, 第 I 类包括莱芜 (S1)、陕西 (S9、S14)、神秀谷 (S10)、威海 (S8); 第 II 类包括长清 (S2、S11~S13)、泰安 (S4)、章丘 (S3)、黑龙江 (S6)、马山 (S7)、亳州 (S5); 第 III 类包括甘肃 (S15、S16), 聚类分析热图如图 3 所示。

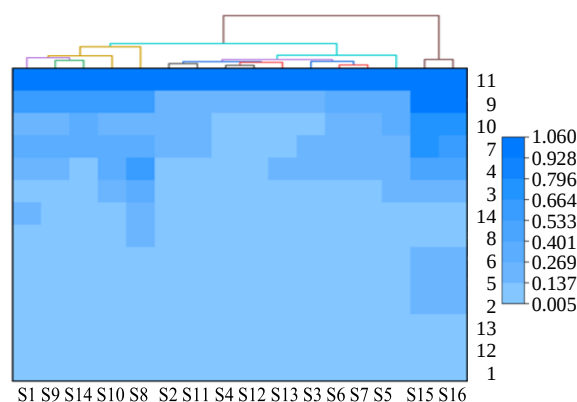


图 3 16 批板蓝根聚类分析图

Fig. 3 Cluster analysis of 16 batches of *Isatidis Radix*

**2.1.9 主成分分析 (principal component analysis, PCA)** 为进一步探讨不同产地板蓝根化学成分的差异, 在 HPLC 指纹图谱匹配结果中, 选取峰 11 (R,S)-告依春为参考峰, 对各色谱峰峰面积进行归一化处理, 计算不同保留时间下归一化峰面积值。将生成的匹配数据导入 Origin Pro 2022 软件, 建立主成分分析模型, 见图 4; 选择特征值大于 1 的前 3 个主成分, 计算贡献率 (表 3), 它们的贡献率分别是 64.21%、14.07%、8.40%, 前 3 位主成分累积贡献率达到 86.65%, 证明模型拟合能力良好。主成分因子载荷结果 (表 4) 表明, 主成分 1 的信息主要来源于峰 1~7、9、10; 主成分 2 的信息主要来源于峰 8、14; 主成分 3 的信息主要来源于峰 12、13。由 16 批板蓝根 PCA 分析图 (图 4) 可以看出, 不同产地的样本分类效果较好, 尤其是甘肃产地 (S15、S16) 与其他地区有明显的区别, 总体结果与聚类分析结果保持一致。

## 2.2 5 个指标成分含量测定

**2.2.1 色谱条件** 同“2.1.1”项。

**2.2.2 供试品溶液的制备** 同“2.1.2”项。

**2.2.3 对照品溶液的制备** 同“2.1.3”项。

**2.2.4 线性关系考察** 分别精密量取胞苷、尿苷、腺苷、鸟苷、(R,S)-告依春对照品溶液适量, 逐级稀释成一定浓度的混合对照品溶液, 进样分析, 在波长 254 nm 下测定并记录峰面积。以质量浓度为横坐标 (X), 峰面积为纵坐标 (Y), 求得胞苷、尿苷、腺苷、鸟苷、(R,S)-告依春的回归方程、线性范围及回归方程见表 5。

**2.2.5 精密度试验** 取“2.1.3”项下混合对照品溶液, 按“2.1.1”项下色谱条件, 连续进样 6 次, 记

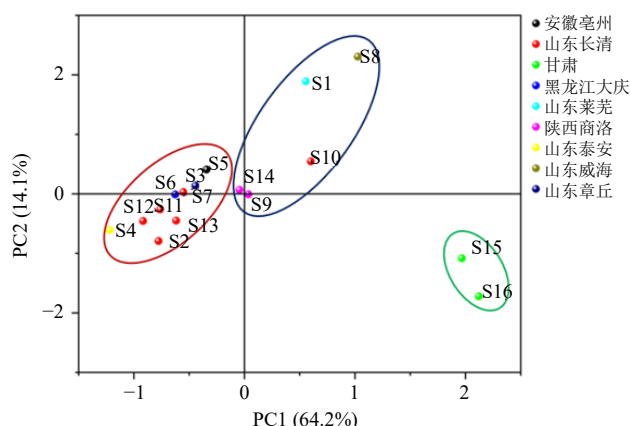


图 4 16 批板蓝根主成分分析图

Fig. 4 Principal component analysis of 16 batches of *Isatidis Radix*

表 3 主成分权重结果

Table 3 Principal component weight results table

| 成分 | 特征值   | 方差贡献率/% | 累积方差贡献率/% |
|----|-------|---------|-----------|
| 1  | 8.347 | 64.207  | 64.207    |
| 2  | 1.829 | 14.068  | 78.275    |
| 3  | 1.090 | 8.379   | 86.654    |

表 4 因子载荷系数

Table 4 Factor load coefficient table

| 峰号 | PC1   | PC2    | PC3    |
|----|-------|--------|--------|
| 1  | 0.252 | 0.126  | -0.234 |
| 2  | 0.332 | -0.146 | -0.102 |
| 3  | 0.283 | 0.205  | 0.126  |
| 4  | 0.302 | 0.150  | 0.163  |
| 5  | 0.304 | -0.212 | -0.156 |
| 6  | 0.298 | -0.310 | -0.126 |
| 7  | 0.333 | -0.090 | -0.156 |
| 8  | 0.163 | 0.560  | -0.198 |
| 9  | 0.334 | -0.047 | -0.132 |
| 10 | 0.313 | -0.264 | -0.101 |
| 11 | 0.000 | 0.000  | 0.000  |
| 12 | 0.230 | -0.044 | 0.613  |
| 13 | 0.232 | 0.149  | 0.594  |
| 14 | 0.141 | 0.547  | -0.180 |

表 5 回归方程及相关系数

Table 5 Regression equation and correlation coefficient

| 化学成分       | 回归方程                    | 线性范围/( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) | $R^2$   |
|------------|-------------------------|-------------------------------------------|---------|
| 胞苷         | $Y=14\,990\,X+0.083\,5$ | 4.12~41.2                                 | 0.999 9 |
| 尿苷         | $Y=32\,221\,X-0.189\,1$ | 6.04~60.4                                 | 0.999 9 |
| 腺苷         | $Y=46\,887\,X-16.459$   | 5.04~50.4                                 | 0.999 8 |
| 鸟苷         | $Y=38\,803\,X+1.113\,2$ | 4.08~40.8                                 | 0.999 9 |
| (R, S)-告依春 | $Y=38\,502\,X+5.157\,9$ | 18.08~180.8                               | 0.999 9 |

录峰面积。结果显示，胞苷、尿苷、腺苷、鸟苷、(R, S)-告依春峰面积的 RSD 值分别为 0.17%、0.09%、0.15%、0.05%、0.34%，均小于 2%，表明仪器精密度良好。

**2.2.6 稳定性试验** 精密称取板蓝根 S4 样品 0.5 g，按“2.1.2”项下方法制成供试品溶液，按“2.1.1”项下色谱条件分别在 0、2、4、8、16、24 h 进样，记录峰面积。结果显示，胞苷、尿苷、腺苷、鸟苷、(R, S)-告依春峰面积的 RSD 值分别为 0.40%、0.97%、1.58%、0.35%、0.19%，均小于 3%，表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

**2.2.7 重复性试验** 精密称取 6 份 S4 板蓝根粉末 0.5 g，按“2.1.2”项下方法制成供试品溶液。按“2.1.1”项下色谱条件分别进样，记录峰面积。结果显示，胞苷、尿苷、腺苷、鸟苷、(R, S)-告依春峰质量分数的 RSD 值分别为 0.15%、2.11%、0.55%、0.22%、0.12%，均小于 3%，表明该方法重复性良好。

**2.2.8 加样回收率试验** 称取已测定的板蓝根粉末 6 份，每份称量 0.25 g，分别精密加入混合对照品适量，按“2.1.2”项下方法制成供试品溶液，进样分析，胞苷、尿苷、腺苷、尿苷和(R, S)-告依春的加样回收率分别为 103.35%、98.05%、98.11%、96.08%、95.21%，RSD 分别为 0.89%、0.23%、0.18%、0.25%、0.17%，符合要求。

**2.2.9 样品含量测定** 按照“2.1.2”项下方法分别制备 16 批板蓝根供试品的溶液，按“2.1.1”项下的色谱条件分别测定其中的胞苷、尿苷、腺苷、鸟苷、(R, S)-告依春含量，每个样品平行测定 3 次，取平均值，见表 6。16 批药材样品中胞苷、尿苷、腺苷、鸟苷、(R, S)-告依春的质量分数分别为 0.152 0~0.299 4、0.290 2~0.666 1、0.316 5~0.855 2、0.167 4~0.525 8、0.615 0~2.844 8 mg/g，不同产地不同批次的板蓝根药材中的 5 种成分含量差异明显，均具有显著性差异 ( $P<0.05$ )，说明板蓝根不同种植地区对其质量影响较大。

## 2.3 土壤理化性质测定及分析

收集 9 个不同产地板蓝根（山东莱芜、山东长清、山东章丘、山东泰安、安徽亳州、黑龙江大庆、山东马山、山东威海、陕西商洛）根际土壤，测定土壤理化性质，测定方法参考《土壤农化分析》<sup>[21]</sup>，其中土壤含水量 (soil moisture content, SMC) 的测定方法为烘干法；土壤 pH 值的测定方法为水浸提 (水土比 2.5 : 1) -电位法测定；有机质 (organic

表 6 16 批板蓝根中 5 种成分的含量

Table 6 Composition content table

| 编号  | 质量分数/(mg·g <sup>-1</sup> ) |         |         |         |           |
|-----|----------------------------|---------|---------|---------|-----------|
|     | 胞苷                         | 尿苷      | 腺苷      | 鸟苷      | (R,S)-告依春 |
| S1  | 0.172 9                    | 0.413 1 | 0.496 8 | 0.210 5 | 0.955 2   |
| S2  | 0.298 7                    | 0.458 0 | 0.462 7 | 0.374 6 | 2.143 0   |
| S3  | 0.181 3                    | 0.321 8 | 0.316 5 | 0.167 4 | 1.473 7   |
| S4  | 0.190 6                    | 0.394 4 | 0.474 1 | 0.246 5 | 2.802 9   |
| S5  | 0.229 8                    | 0.392 2 | 0.497 5 | 0.252 6 | 0.950 3   |
| S6  | 0.175 8                    | 0.310 8 | 0.434 4 | 0.244 1 | 1.571 8   |
| S7  | 0.262 6                    | 0.440 3 | 0.561 3 | 0.525 8 | 1.967 1   |
| S8  | 0.152 0                    | 0.347 6 | 0.442 5 | 0.251 6 | 1.754 5   |
| S9  | 0.153 5                    | 0.473 1 | 0.535 0 | 0.234 4 | 1.185 7   |
| S10 | 0.198 0                    | 0.440 4 | 0.487 6 | 0.260 2 | 1.032 3   |
| S11 | 0.264 3                    | 0.406 5 | 0.417 0 | 0.354 4 | 2.378 0   |
| S12 | 0.187 6                    | 0.290 2 | 0.416 5 | 0.233 4 | 2.844 8   |
| S13 | 0.183 1                    | 0.406 2 | 0.516 0 | 0.202 0 | 2.530 1   |
| S14 | 0.299 4                    | 0.666 1 | 0.855 2 | 0.451 9 | 1.674 5   |
| S15 | 0.249 6                    | 0.497 9 | 0.550 8 | 0.448 7 | 0.615 0   |
| S16 | 0.270 6                    | 0.454 9 | 0.529 4 | 0.499 0 | 0.637 9   |

matter, OM) 的测定方法为外加热重铬酸钾氧化容量法; 有效磷 (available phosphorus, AP) 的测定方法为碳酸氢钠浸提-钼锑抗比色法; 速效钾 (available potassium, AK) 的测定方法为醋酸铵浸提-火焰光度法; 铵态氮 (ammonium nitrogen, NH<sup>4+</sup>-N) 的测定方法为靛蓝比色法; 硝态氮 (nitrate nitrogen, NO<sup>3-</sup>-N) 的测定方法为 2 mol/L KCl 浸提后用碱解扩散法, 每个样品平行测定 3 次, 取平均值。

测定结果如图 5 所示, 9 个产地的板蓝根根际土壤理化性质有较大差异。其中土壤 pH 范围在 5.86~8.00, 除陕西的土壤偏酸性以外, 其余产地均偏碱性, 亳州的土壤碱性最强, 陕西的土壤 pH 值显著低于其他产地 ( $P<0.05$ ); 含水量范围为 7.86%~21.15%, 亳州最高, 威海最低, 差异性显著 ( $P<0.05$ ); 有机质质量分数为 6.50~31.51 g/kg, 黑龙江最高, 威海最低, 具有显著差异 ( $P<0.05$ )。铵态氮质量分数为 25.32~67.59 mg/kg, 亳州最高,

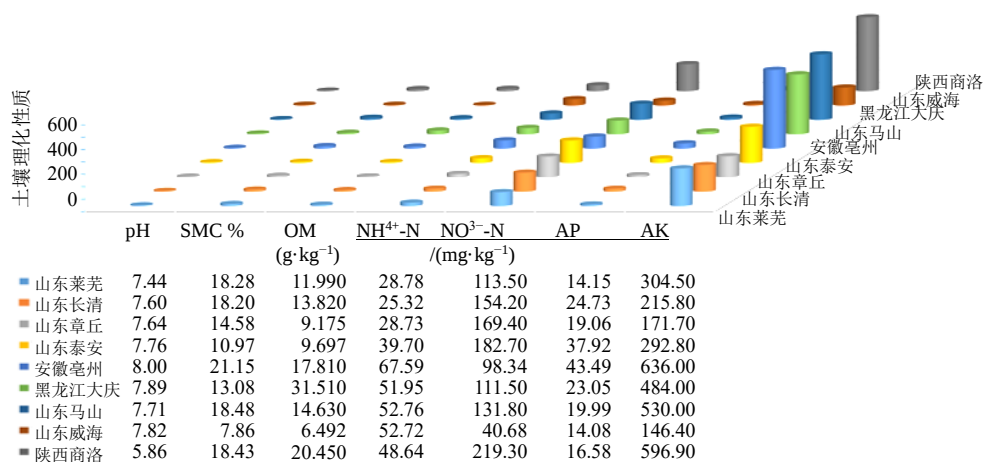


图 5 土壤理化性质汇总图

Fig. 5 Summary map of soil physical and chemical properties

长清最低; 硝态氮质量分数为 40.68~219.30 mg/kg, 除莱芜与黑龙江的含量无显著性差异外, 其余产地含量均有显著性差异 ( $P<0.05$ ); 有效磷质量分数在 14.08~43.49 mg/kg, 亳州 (S5) 最高, 威海最低; 速效钾质量分数为 146.40~636.00 mg/kg, 亳州最高, 威海最低, 9 个产地均具有显著性差异 ( $P<0.05$ )。在 9 个产地中, 亳州产地的 pH 值、含水量、铵态氮、有效磷和速效钾 5 个理化性质的含量较其他产地显著偏高, 威海产地的含水量、有机质、硝态氮、有效磷和速效钾 5 个理化性质的含量较其他产地显著偏低。

## 2.4 相关性分析

将板蓝根药材样品 (S1~S9) 活性成分含量测

定数据及与之对应的板蓝根根际土壤样品理化性质测定数据导入 Origin Pro 2022 软件进行相关性分析, 结果如图 6。胞苷含量与 pH、含水量、有机质、硝态氮、有效磷、速效钾含量呈正相关, 与铵态氮含量呈负相关; 尿苷含量与含水量、有机质、硝态氮、速效钾含量呈正相关, 与 pH、铵态氮、有效磷、含量呈负相关; 腺苷含量与含水量、有机质、铵态氮、硝态氮、有效磷、速效钾含量呈正相关, 与 pH 呈负相关; 鸟苷含量与 pH、含水量、有机质、铵态氮、有效磷、速效钾含量呈正相关, 与硝态氮含量呈负相关; (R,S)-告依春含量与 pH、硝态氮、有效磷含量呈正相关, 与含水量、有机质、

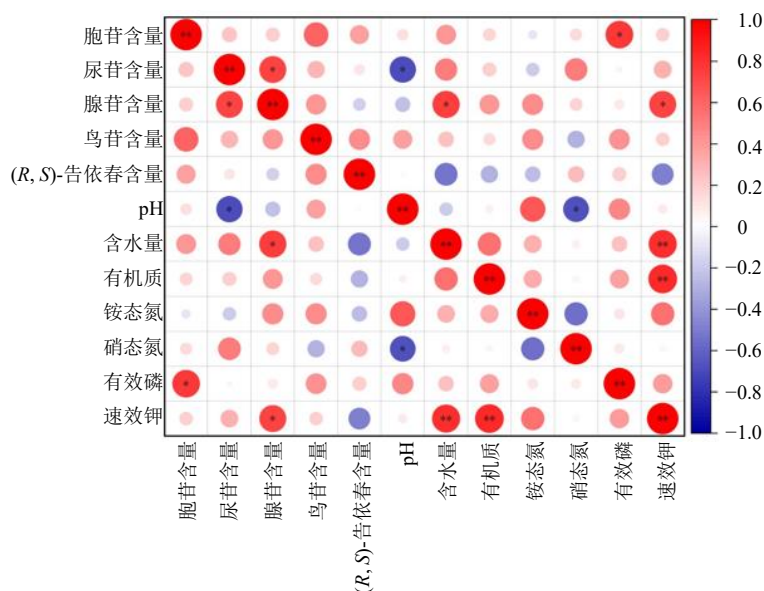


图 6 板蓝根活性成分与土壤理化性质相关性图

Fig. 6 Correlation diagram of active components of medicinal materials and soil physicochemical properties

铵态氮、速效钾含量呈负相关。其中，胞苷含量与有效磷含量呈显著正相关 ( $P < 0.05$ )；尿苷含量与 pH 呈显著负相关 ( $P < 0.05$ )；腺苷含量与含水量和速效钾含量呈显著正相关 ( $P < 0.05$ )。尿苷含量与腺苷含量呈显著正相关 ( $P < 0.05$ )。pH 与硝态氮含量呈显著负相关 ( $P < 0.05$ )；速效钾含量与含水量和有机质含量呈极显著正相关 ( $P < 0.01$ )。由此可见，土壤理化性质与板蓝根药材主要化学成分含量具有一定的相关性，其中土壤 pH、含水量、有效磷、速效钾是影响板蓝根药材质量的主控因子。

### 3 讨论

控制中药的质量是保证其发挥药效的前提，也是中药产业实现现代化需面对的问题。目前，随着中药材种植区域范围的逐渐扩大，中药材的质量更加难以保障，不仅影响了中药在临床中发挥疗效，也使中医药走向国际化的发展受阻。板蓝根作为常用的大宗药材，是很多制剂的主要原料，但存在不同产地或同一产地不同批次板蓝根质量参差不齐的现象。本研究含量测定结果表明，板蓝根药材中的 5 种成分含量在不同产地不同批次间差异较大，不同种植地区对板蓝根的质量影响较大。HPLC 指纹图谱结合化学模式识别法已广泛应用于中药材质量评价等方面。本研究运用 HPLC 指纹图谱对不同产地不同批次的板蓝根进行相似度分析，并结合化学模式识别方法，对不同来源的样品进行分类和鉴别，更为全面的表征板蓝根的质量。为了确保 HPLC 指

纹图谱和含量测定的准确可靠，本研究分别对提取方法（超声、回流）、提取时间（30、45、60 min）、提取溶剂（水、甲醇、乙醇）、流动相（甲醇-水、乙腈-水、甲醇-0.1%磷酸、甲醇-0.1%甲酸、甲醇-0.3%甲酸）、检测波长（248、254、260、270 nm）、体积流量（0.6、0.8、1.0 mL/min）、柱温（25、30、35 °C）及洗脱程序进行考察，优选出最佳的实验条件。结果显示，超声和回流 2 种提取方法图谱相似，但超声提取方法简单，操作简便，效率更高；提取时间 60 min 所得图谱的整体峰面积更大；以水作提取溶剂所得峰面积更大，更安全；以甲醇-0.3%甲酸为流动相时色谱峰分布均匀，分离度最好；检测波长 254 nm 处整体峰面积更大，色谱峰较丰富且分布均匀、峰形好；0.8 mL/min 的体积流量分离度更佳；柱温 30 °C 时色谱峰分离度更好且峰形完整。

生态环境对药用植物的生长、繁育和有效成分的积累具有至关重要的影响<sup>[22-23]</sup>。研究表明，除了地域和气候之外，土壤理化性质、土壤污染程度等对药用植物的生长及药效都有很大影响<sup>[24]</sup>。土壤质地是决定药用植物资源分布的主要影响因素<sup>[25]</sup>。陈贝贝等<sup>[26]</sup>采用不同土壤含水量梯度，分析沙棘的繁殖能力与种群特征关系，发现土壤含水量可以限制药用植物的生态分布。Xu 等<sup>[27]</sup>研究连作下影响三七存活率的土壤因素，发现土壤磷酶、速效氮、pH 等 6 个土壤参数均与三七成活率相关，且三七生长的最佳 pH 约为 6.5。我国幅员辽阔，全国各地区的

土壤理化性质差异巨大, 本研究发现土壤理化性质与板蓝根主要活性成分含量有一定的相关性, 胞苷含量与有效磷含量呈显著正相关 ( $P < 0.05$ ), 尿苷含量与 pH 呈显著负相关 ( $P < 0.05$ ), 腺苷含量与含水量和速效钾含量呈显著正相关 ( $P < 0.05$ ), 土壤 pH、含水量、有效磷、速效钾含量是影响板蓝根药材质量的主控因子。适当施加磷肥、钾肥, 适当增加土壤水分, 适当调节土壤 pH 可能会增加板蓝根药材中有效成分的积累, 后期将扩大样本量, 筛选出更加适宜菰蓝生长的生态环境, 寻找适合板蓝根有效成分积累的土壤环境, 从源头上保障药材质量, 为中医临床用药的有效性提供基础。

**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: 214.
- [2] Chen J, Zhu Z P, Gao T H, et al. *Isatidis Radix* and *Isatidis Folium*: A systematic review on ethnopharmacology, phytochemistry and pharmacology [J]. *J Ethnopharmacol*, 2022, 283: 114648.
- [3] 李咸慰, 宋沁洁, 杨新荣, 等. 板蓝根多糖抗病毒作用及其机制研究进展 [J]. *中草药*, 2022, 53(19): 6227-6233.
- [4] Shin E K, Kim D H, Lim H, et al. The anti-inflammatory effects of a methanolic extract from *Radix Isatidis* in murine macrophages and mice [J]. *Inflammation*, 2010, 33(2): 110-118.
- [5] 麦提敏·麦提萨伍尔, 赖梦亭, 段金彪, 等. 基于文献计量学和专利分析的板蓝根研究现状剖析及产业化前景展望 [J]. *中草药*, 2024, 55(2): 563-574.
- [6] Zhao Y L, Wang J B, Shan L M, et al. Effect of *Radix Isatidis* polysaccharides on immunological function and expression of immune related cytokines in mice [J]. *Chin J Integr Med*, 2008, 14(3): 207-211.
- [7] Xue J P, Xu Y P, Jin L J, et al. Effects of traditional Chinese medicine on immune responses in abalone, *Haliotis discus Hannai* Ino [J]. *Fish Shellfish Immunol*, 2008, 24(6): 752-758.
- [8] 黄远, 董福越, 李楚源, 等. 一测多评法测定板蓝根中 6 种化学成分的含量 [J]. *中草药*, 2021, 52(3): 845-851.
- [9] 林丽君, 聂黎行, 戴忠, 等. 板蓝根的研究概况 [J]. *中国药业*, 2015, 24(21): 1-4.
- [10] 杨建昕, 李峰, 李娜, 等. 板蓝根抗病毒活性成分研究进展 [J]. *辽宁中医药大学学报*, 2016, 18(7): 141-143.
- [11] 黄勇, 邓乔华. 施肥对菰蓝农艺性状及产量的影响 [J]. *河南农业科学*, 2013, 42(7): 109-111.
- [12] 王雨田, 何玉成, 闫桂权, 等. 我国中药材产地市场整合研究——以金银花、枸杞子、板蓝根和太子参为例 [J]. *中草药*, 2020, 51(6): 1669-1676.
- [13] 任丽华, 高秋美, 孟庆峰, 等. 遮荫对板蓝根生长、光合及保护酶活性的影响 [J]. *山东农业科学*, 2017, 49(4): 60-63.
- [14] 李晓琴, 马栋, 晋玲, 等. 甘肃板蓝根品质与产区气候因子相关性研究 [J]. *中国中医药信息杂志*, 2023, 30(3): 102-106.
- [15] 韩颖, 冯婉庆, 张婷婷, 等. 生态因子对药用植物资源分布的影响 [J]. *中华中医药杂志*, 2023, 38(4): 1450-1453.
- [16] 全妙华, 余朝文, 陈东明, 等. 基于高通量测序的两种典型忽地笑栽培土壤根际真菌群落多样性 [J]. *微生物学通报*, 2018, 45(10): 2105-2111.
- [17] 施霞, 倪华, 刘云海. 板蓝根化学成分及其药理活性研究进展 [J]. *中国医院药学杂志*, 2006, 26(11): 1397-1399.
- [18] 秦艳秋, 史晓艺, 谷子谦, 等. 不同植物根际土壤有益细菌种类及其功能鉴定 [J]. *北京农学院学报*, 2023, 38(2): 31-37.
- [19] 罗燕玉, 黄晓丹, 苏金平, 等. 不同产地的板蓝根药材的指纹特征研究 [J]. *中国现代药物应用*, 2015, 9(18): 280-281.
- [20] 何洁英, 何洁宝, 王汝上. 板蓝根总生物碱 HPLC 指纹图谱 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2015, 21(12): 62-64.
- [21] 鲍士旦. 土壤农化分析 [M]. 第 3 版. 北京: 中国农业出版社, 2000: 1-114.
- [22] 袁媛, 魏渊, 于军, 等. 表观遗传与药材道地性研究探讨 [J]. *中国中药杂志*, 2015, 40(13): 2679-2683.
- [23] 任雪, 尹海波, 邓聪, 等. 龙胆质量与生态因子的相关性研究 [J]. *中药材*, 2020, 43(8): 1842-1847.
- [24] 张博, 班小军, 于喆源, 等. 甘肃民乐黄芪品质与土壤关系的研究 [J]. *药学实践杂志*, 2020, 38(2): 156-160.
- [25] 兰朝辉, 邬兰, 向丽, 等. 基于 GMPGIS 分析芍药的全球生态适宜产区 [J]. *中药材*, 2022, 45(11): 2587-2591.
- [26] 陈贝贝, 曾诚, 高海银, 等. 中国沙棘人工林持久性对土壤水分状况的响应 [J]. *中南林业科技大学学报*, 2016, 36(7): 67-71.
- [27] Xu W, Wu F, Wang H, et al. Key soil parameters affecting the survival of *Panax notoginseng* under continuous cropping [J]. *Sci Rep*, 2021, 11(1): 5656.

[责任编辑 时圣明]