

基于指纹图谱和多指标成分含量测定结合化学计量学评价不同产地决明子质量

张雨晴^{1,3}, 何民友^{3*}, 栗春枝^{2,3}, 周湘媛³, 马懿飞³, 罗文汇³, 孙冬梅³

1. 中国药科大学, 江苏 南京 211198

2. 广州中医药大学, 广东 广州 510006

3. 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** 建立决明子 *Cassiae Semen* 的指纹图谱和多指标成分含量测定方法, 结合化学计量学进行不同产地决明子的质量评价。 **方法** 采用 Waters HSS T3 C₁₈ (150 mm×3.0 mm, 1.8 μm) 色谱柱, 以乙腈-甲醇 (3:1) 为流动相 A, 0.1%磷酸水溶液为流动相 B, 梯度洗脱, 体积流量 0.4 mL/min, 柱温 40 °C, 检测波长 285 nm, 进样量 2 μL。采用中药指纹图谱相似度评价软件进行相似度评价, 运用化学计量学对不同产地决明子进行分析, 同时测定决明子中的 11 个指标成分含量。 **结果** 建立的指纹图谱共标识出 26 个共有峰, 经对照品指认出 13 个成分; 经聚类分析和主成分分析 (principal component analysis, PCA) 可将不同决明子聚为 4 类, 并通过正交偏最小二乘判别法 (orthogonal partial least squares-discriminant analysis, OPLS-DA) 以变量权重值 (variable importance projection, VIP) >1 为指标筛选出峰 3 (大黄酚-1-O-β-D-四吡喃葡萄糖苷)、峰 6 (决明子苷)、峰 7 (红链霉素-6-O-β-龙胆二糖苷)、峰 8 (橙黄决明素-6-O-葡萄糖苷)、峰 9 (决明子苷 C)、峰 10、峰 17 (橙黄决明素)、峰 21 和峰 23 (红链霉素) 作为区分不同产地决明子药材的差异标志物。18 批决明子中异红链霉素龙胆二糖苷、决明子苷 B2、决明子苷、红链霉素-6-O-β-龙胆二糖苷、橙黄决明素-6-O-葡萄糖苷、决明子苷 C、决明子苷 B、橙黄决明素、黄决明素、红链霉素和大黄酚的质量分数分别为 0.425~1.315、4.129~8.790、0.453~1.849、2.617~4.739、0.792~2.372、1.424~3.533、0.496~1.439、0.630~1.359、0.483~2.298、2.130~9.516、2.006~3.841 mg/g; 经方法学考察, 各成分呈现良好的线性关系。 **结论** 建立的决明子指纹图谱结合化学模式识别可有效区分不同产地的决明子, 多成分含量测定方法稳定、可靠, 为决明子药材的质量评价与控制提供参考。

关键词: 决明子; 指纹图谱; 异红链霉素龙胆二糖苷; 决明子苷 B2; 决明子苷; 红链霉素-6-O-β-龙胆二糖苷; 橙黄决明素-6-O-葡萄糖苷; 决明子苷 C; 决明子苷 B; 橙黄决明素; 黄决明素; 红链霉素; 大黄酚; 化学计量学

中图分类号: R282.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2026)15-6085-11

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2026.15.025

Quality evaluation of *Cassiae Semen* from different origins based on fingerprint and multi-indicator component content determination combined with chemometrics

ZHANG Yuqing^{1,3}, HE Minyou³, SU Chunzhi^{2,3}, ZHOU Xiangyuan³, MA Yifei³, LUO Wenhui³, SUN Dongmei³

1. China Pharmaceutical University, Nanjing 211198, China

2. Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China

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

Abstract: Objective To establish a fingerprint and multi-indicator component content determination method for Juemingzi (*Cassiae Semen*), and combine it with chemometrics to evaluate the quality of *Cassiae Semen* from different origins. **Methods** Waters HSS T3 C₁₈ (150 mm×3.0 mm, 1.8 μm) was used as the chromatographic column, acetonitrile-methanol (3:1) was used as mobile phase

收稿日期: 2026-03-02

基金项目: 2022 年佛山市南海区重点领域科技攻关专项 (南科[2023]20 号-18)

作者简介: 张雨晴 (2002—), 女, 硕士研究生, 从事中药化学成分研究。E-mail: 3324081994@stu.cpu.edu.cn

*通信作者: 何民友 E-mail: 675844585@qq.com

A, 0.1% phosphoric acid solution was used as mobile phase B, and gradient elution was performed. The flow rate was 0.40 mL/min, the column temperature was 40 °C, the detection wavelength was 285 nm, and the injection volume was 2 µL. Traditional Chinese medicine fingerprint similarity evaluation software was used for similarity evaluation, chemometrics was applied to analyze *Cassiae Semen* from different origins, and the content of 11 indicator components in *Cassiae Semen* was determined. **Results** The established fingerprint identified a total of 26 common peaks, and 13 components were identified through reference standards. Through cluster analysis and principal component analysis (PCA), different *Cassiae Semen* samples can be clustered into 4 categories, and through the application of orthogonal partial least squares-discriminant analysis (OPLS-DA) method with VIP > 1 as the criterion, peaks 3 (emodin-1-*O*- β -D-glucoside), 6 (cassiaside), 7 (rubrofusarin-6-*O*- β -gentiobioside), 8 (aurantio-obtusin-6-*O*-D-glucoside), 9 (cassiaside C), 10, 17 (aurantio-obtusin), 21, and 23 (rubrofusarin) were selected as differential markers for distinguishing *Cassiae Semen* from different origins. The content ranges of isorhamnetin-3-*O*- β -D-glucopyranoside, cassiaflavone B2, cassiaflavone, isorhamnetin-6-*O*- β -D-glucopyranoside, chrysin-6-*O*-glucoside, cassiaflavone C, cassiaflavone B, chrysin, chrysin-3-*O*- β -D-glucopyranoside, isorhamnetin, and chrysophanol in 18 batches of *Cassiae Semen* were 0.425—1.315, 4.129—8.790, 0.453—1.849, 2.617—4.739, 0.792—2.372, 1.424—3.533, 0.496—1.439, 0.630—1.359, 0.483—2.298, 2.130—9.516, and 2.006—3.841 mg/g, respectively. According to the methodology, each component exhibited a good linear relationship. **Conclusion** The established fingerprint of *Cassiae Semen*, combined with the chemical pattern recognition, can effectively distinguish *Cassiae Semen* from different origins. The multi-component content determination method is stable and reliable, providing a reference for the quality evaluation and control of *Cassiae Semen*.

Key words: *Cassiae Semen*; fingerprint; isorhamnetin-6-*O*- β -D-glucopyranoside; cassiaside B2; cassiaside; rubrofusarin-6-*O*- β -gentiobioside; aurantio-obtusin-6-*O*-glucoside; cassiaside C; cassiaside B; aurantio-obtusin; chryso-obtusin; rubrofusarin; chrysophanol; chemometrics

决明子为豆科植物钝叶决明 *Cassia obtusifolia* L. 或决明（小决明）*C. tora* L. 的干燥成熟种子，别名草决明、假绿豆、野青豆、瞳子、羊明等，性味甘、苦、咸，微寒；归肝、大肠经，具有清肝明目、润肠通便之功效^[1]；始载于《神农本草经》，被列为上品。其在我国分布广泛，主产于安徽、湖北、云南等地，野生与栽培资源丰富^[2-3]。现代药理研究表明，决明子含蒽醌类、萘并吡喃酮类、多糖等多种化学成分，在调压降脂、保肝护目、抗糖尿病及改善肾功能等方面作用显著，是眼部疾病、高血压、高脂血症和糖尿病等病症防治的常用药材，且食品保健领域的应用也日益拓展，药用与经济价值显著^[4-6]。

中医药现代化背景下，中药质量控制已从传统感官鉴别、单一成分测定，逐步转向基于整体化学成分表征的系统质量评价模式^[7-8]。中药指纹图谱作为一种契合中药多成分、多靶点特点的质控技术，能较为全面地反映药材化学特征，已广泛应用于各类中药质量评价^[9]。目前，关于决明子的质量控制研究仍存在明显的局限性，《中国药典》2025 年版规定决明子药材含大黄酚不得少于 0.20%，含橙黄决明素不得少于 0.080%，现有标准多聚焦于大黄酚、橙黄决明素、大黄素等个别蒽醌类成分的含量测定^[10-13]，单一指标成分难以表征决明子药材整体化学组成；已有的指纹图谱研究多停留在产地模式识别层面，缺乏对特征化学成分的系统解析及不同

产地化学成分的系统对比分析^[14-15]。且现有学者在决明子化学计量学的应用多限于聚类或主成分分析^[16]，缺乏基于变量权重值（variable importance projection, VIP）的差异标志物系统筛选，重模式识别而轻差异溯源。这种现状使得现有质控方法无法全面、精准地评价决明子药材质量，制约了其标准化应用与产业发展。

本研究通过建立决明子 UPLC 指纹图谱，优化色谱分离条件实现特征成分有效分离；采用主成分分析（principal component analysis, PCA）、正交偏最小二乘判别法（orthogonal partial least squares-discriminant analysis, OPLS-DA）结合 VIP 值，系统筛选导致产地差异的关键标志物，突破既往研究“重模式、轻溯源”的局限。在含量测定指标的选择上，基于预试验与文献研究，确定 11 种涵盖蒽醌类、萘并吡喃酮类等结构类型的活性成分，使指标选择兼具化学代表性与药理活性相关性。本研究旨在构建“指纹图谱定性-化学计量学区分-多指标定量验证”的三层递进评价体系，将整体图谱信息与个体成分含量有机结合，为决明子药材的全面质量评价提供了新的技术路径，为其质量控制与标准化应用提供科学依据。

1 仪器与材料

1.1 仪器

Waters H-Class 型超高效液相色谱仪（美国沃特世科技有限公司）；ME 204 E 型万分之一电子分

析天平（梅特勒-托利多公司）；XP 26 型百万分之一电子分析天平（梅特勒-托利多公司）；JJ 600 型电子天平（常熟市双杰测试仪器厂）；Milli-Q Direct 型超纯水机（默克股份公司）；KQ-500 DE 型数控超声波清洗器（昆山市超声仪器有限公司）；HWS 28 型恒温水浴锅（上海一恒科技股份有限公司）。

1.2 材料

Waters HSS T3 C₁₈ (150 mm×3.0 mm, 1.8 μm) 色谱柱；对照品异红镰霉素龙胆二糖苷（批号 20072403，质量分数 98.5%）、决明子苷 B（批号 19090401，质量分数 98.96%）、大黄酚-1-*O*-β-*D*-四吡喃葡萄糖苷（批号 18032107，质量分数 95.03%）均购自成都普菲德生物公司；对照品决明子苷 B2（批号 CFS202002，质量分数≥98.0%）购自 Chem Faces 公司；对照品橙黄决明素-6-*O*-葡萄糖苷（批号 DST211106-234，质量分数 99.3%）购自乐美天医药公司；对照品决明子苷 C（批号 9673，质量分数≥98.0%）、红链霉素（批号 14996，质量分数≥98.0%）均购自上海诗丹德标准技术服务公司；对照品橙黄决明素（批号 111900-202006，质量分数 99%）、大黄素（批号 110756-201913，质量分数 96%）、大黄酚（批号 110796-202423，质量分数 99.8%）均购自中国食品药品检定研究院；对照品决明子苷（批号 wkq17032307，质量分数≥98.0%）、黄决明素（批号 wkq18052201，质量分数≥98.0%）、红链霉素-6-*O*-β-龙胆二糖苷（批号 wkq17101201，质量分数 98.0%）均购自四川省维克奇生物公司。甲醇（西陇科学股份有限公司）、乙腈（默克股份有限公司）为色谱级；磷酸（天津市科密欧化学试剂有限公司）为分析级；水为超纯水（实验室自制）。

本研究所用的 18 批决明子药材分别产自河南、安徽、河北、湖北、云南，产地信息见表 1 所示，经广东一方制药有限公司孙冬梅主任中医师鉴定为豆科植物钝叶决明 *C. obtusifolia* L. 的干燥成熟种子。

2 方法与结果

2.1 对照品溶液的制备

精密称取异红镰霉素龙胆二糖苷、决明子苷 B2、大黄酚-1-*O*-β-*D*-四吡喃葡萄糖苷、决明子苷、红链霉素-6-*O*-β-龙胆二糖苷、橙黄决明素-6-*O*-葡萄糖苷、决明子苷 C、决明子苷 B、橙黄决明素、黄决明素、大黄素、红链霉素及大黄酚对照品适量，置于 10 mL 量瓶中，加 70% 甲醇溶解并定容，制成

表 1 18 批决明子药材产地信息

Table 1 Origin information of 18 batches of *Cassiae*

Semen			
编号	产地	编号	产地
S1	湖北襄阳宜城市	S10	河南省洛阳市洛宁县
S2	河南省洛阳市洛宁县	S11	河南省洛阳市洛宁县
S3	安徽省阜阳市太和县	S12	河北省安国市
S4	安徽省阜阳市太和县	S13	河北省安国市
S5	安徽省阜阳市太和县	S14	河北省安国市
S6	安徽省阜阳市太和县	S15	河北省安国市
S7	湖北襄阳宜城市	S16	云南省昆明市
S8	湖北襄阳宜城市	S17	云南省昆明市
S9	湖北襄阳宜城市	S18	云南省昆明市

质量浓度分别为 156.00、140.75、271.75、8.12、25.13、47.60、45.20、42.84、44.04、43.28、48.16、22.28、50.84 μg/mL 的对照品溶液，备用。

2.2 供试品溶液的制备

取决明子粉末（过三号筛）约 0.5 g，精密称定，置具塞锥形瓶中，加 70% 乙醇 25 mL，加热回流 30 min，放冷，补足失去质量，摇匀，滤过，取续滤液即得供试品溶液。

2.3 色谱条件

色谱柱为 Waters HSS T3 C₁₈ 色谱柱（150 mm×3.0 mm, 1.8 μm）；流动相 A 为乙腈-甲醇（3：1），流动相 B 为 0.1% 磷酸溶液；梯度洗脱：0~10 min，25%~28% A；10~15 min，28% A；15~20 min，28%~38% A；20~25 min，38%~45% A；25~28 min，45%~53% A；28~33 min，53%~60% A；33~35 min，60%~65% A；35~38 min，65%~80% A；38~45 min，80% A；体积流量为 0.4 mL/min；柱温为 40 °C；检测波长为 285 nm；进样量为 2 μL。

2.4 决明子药材指纹图谱的建立

2.4.1 精密度试验 取决明子供试品溶液（S1），按“2.3”项色谱条件连续进样 6 次。以 17 号峰（橙黄决明素）为参照峰（S），计算各共有峰的相对保留时间与相对峰面积。结果显示，相对保留时间的 RSD 均小于 1.01%，相对峰面积的 RSD 均小于 1.68%，表明仪器精密度良好。

2.4.2 稳定性试验 取同一样品溶液（S1），按“2.3”项色谱条件分别于 0、2、4、6、10 及 18 h 进样分析。以 17 号峰（橙黄决明素）为参照峰（S），计算各共有峰的相对保留时间的 RSD 均小于 1.52%，相对峰面积的 RSD 均小于 2.67%，表明供试品溶液

在 18 h 内稳定性良好。

2.4.3 重复性试验 取同一批次决明子粉末 (S1) 适量, 精密称定 6 份, 分别按“2.2”项方法制备供试品溶液, 按“2.3”项色谱条件进样分析。以 17 号峰 (橙黄决明素) 为参照峰 (S), 计算各共有峰与 S 峰的相对保留时间 RSD 值均小于 1.89%, 相对峰面积的 RSD 值均小于 2.93%, 表明该方法重复性良好。

2.4.4 UPLC 指纹图谱的建立及相似度评价 取 18 批决明子粉末, 精密称定, 按“2.2”项方法制备 18 份供试品溶液, 按“2.3”项色谱条件进样分析, 得到各批次样品指纹图谱, 并导出色谱图。将色谱数据导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统软件” (2012 版) 进行分析, 选择供试品 (S1) 色谱图为参考图谱, 进行多点校正和峰匹配, 生成决明子药材对照指纹图谱, 18 批决明子样品的指纹图谱叠加图和对照图谱 (R) 见图 1 所示。结果显示, 决明子

指纹图谱共标识 26 个共有色谱峰。计算与对照图谱的相似度, 结果如表 2 所示, 18 批决明子药材指纹图谱的相似度均在 0.95 以上, 说明不同批次的决明子药材化学组成相似度较高, 整体性较好, 该指纹图谱可以用于决明子药材的质量控制。取“2.1”项下对照品溶液 1 mL (分 2 组) 置 10 mL 量瓶中, 加 70% 甲醇制成混合对照品溶液。通过将对照指纹图谱与对照品色谱图进行比对, 进行色谱峰指认, 指认出 13 个共有峰 (图 2), 其中有 7 个萘并吡喃酮类成分, 分别为峰 1 (异红镰霉素龙胆二糖苷)、峰 2 (决明子苷 B2)、峰 6 (决明子苷)、峰 7 (红链霉素-6-O-β-龙胆二糖苷)、峰 9 (决明子苷 C)、峰 11 (决明子苷 B)、峰 23 (红链霉素), 6 个蒽醌类成分, 分别为峰 3 (大黄酚-1-O-β-D-四吡喃葡萄糖苷)、峰 8 (橙黄决明素-6-O-葡萄糖苷)、峰 17 (橙黄决明素)、峰 20 (黄决明素)、峰 22 (大黄素)、峰 26 (大黄酚)。

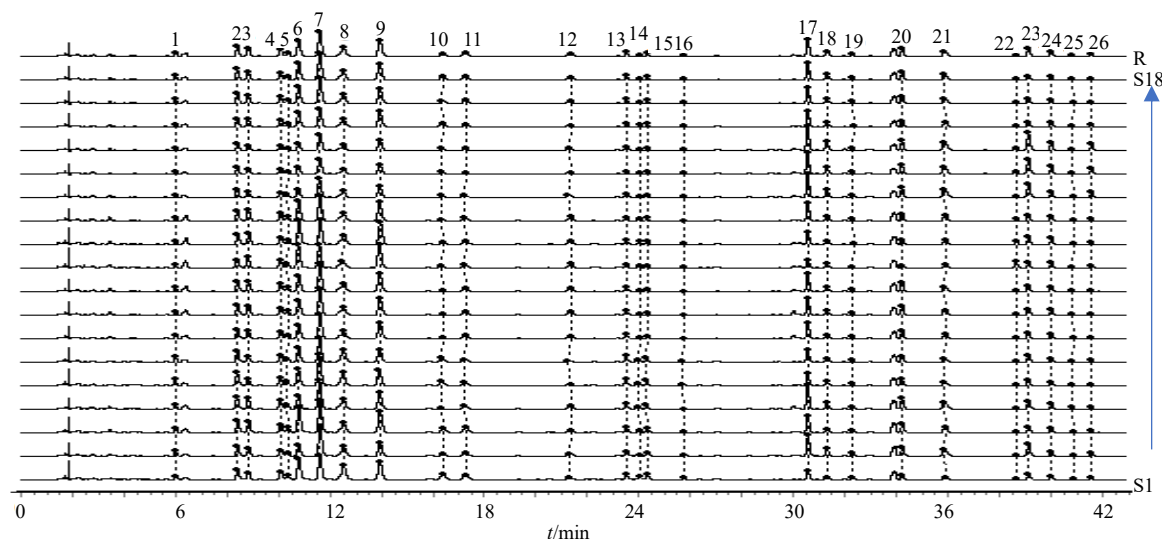


图 1 18 批决明子药材 UPLC 叠加图谱及对照图谱

Fig. 1 UPLC overlay chromatograms and reference chromatogram of 18 batches of *Cassiae Semen*

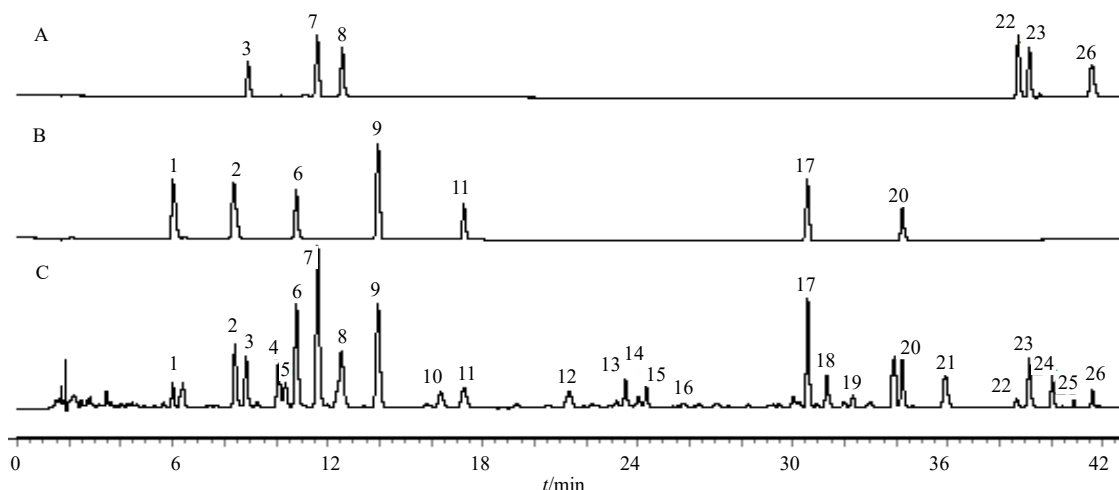
表 2 决明子样品相似度评价结果

Table 2 Similarity evaluation results of *Cassiae Semen* samples

样品编号	相似度	样品编号	相似度
S1	0.961	S10	0.959
S2	0.980	S11	0.973
S3	0.988	S12	0.992
S4	0.987	S13	0.951
S5	0.975	S14	0.986
S6	0.977	S15	0.979
S7	0.996	S16	0.991
S8	0.995	S17	0.997
S9	0.995	S18	0.995

2.5 不同产地决明子药材的化学计量学分析

2.5.1 聚类热图分析 将 18 批决明子药材 UPLC 指纹图谱中所有共有峰的峰面积导入 Hplot Pro 平台; 聚类方法为 ward.D2; 行列距离方法选择 euclidean, 并采用列标准化数据; 生成聚类热图结果见图 3。18 批决明子样品可分为 4 类, 其中云南、湖北、河南省样品各自聚为一类; 河北省和安徽省样品聚为一类。26 个共有峰被聚为 3 组, 峰 1、2、7、8、10、13、15、16、19 为第 1 组; 峰 3~6、9、11、12、14、22、25 为第 2 组; 峰 17、18、20、21、



1-异红链霉素龙胆二糖苷; 2-决明子苷 B2; 3-大黄酚-1-O-β-D-吡喃葡萄糖苷; 6-决明子苷; 7-红链霉素-6-O-β-龙胆二糖苷; 8-橙黄决明素-6-O-葡萄糖苷; 9-决明子苷 C; 11-决明子苷 B; 17-橙黄决明素; 20-黄决明素; 22-大黄素; 23-红链霉素; 26-大黄酚。
1-isorubrofusarin gentiobioside; 2-cassiaside B2; 3-emodin-1-O-β-D-glucoside; 6-cassiaside; 7-rubrofusarin-6-O-β-gentiobioside; 8-aurantio-obtusin-6-O-D-glucoside; 9-cassiaside C; 11-cassiaside B; 17-aurantio-obtusin; 20-chryso-obtusin; 22-emodin; 23-rubrofusarin; 26-chrysophanol.

图 2 混合对照品 (A、B) 和决明子 UPLC 对照指纹图谱 (C) 色谱图

Fig. 2 UPLC fingerprint chromatogram of mixed reference standards (A, B) and *Cassiae Semen* (C)

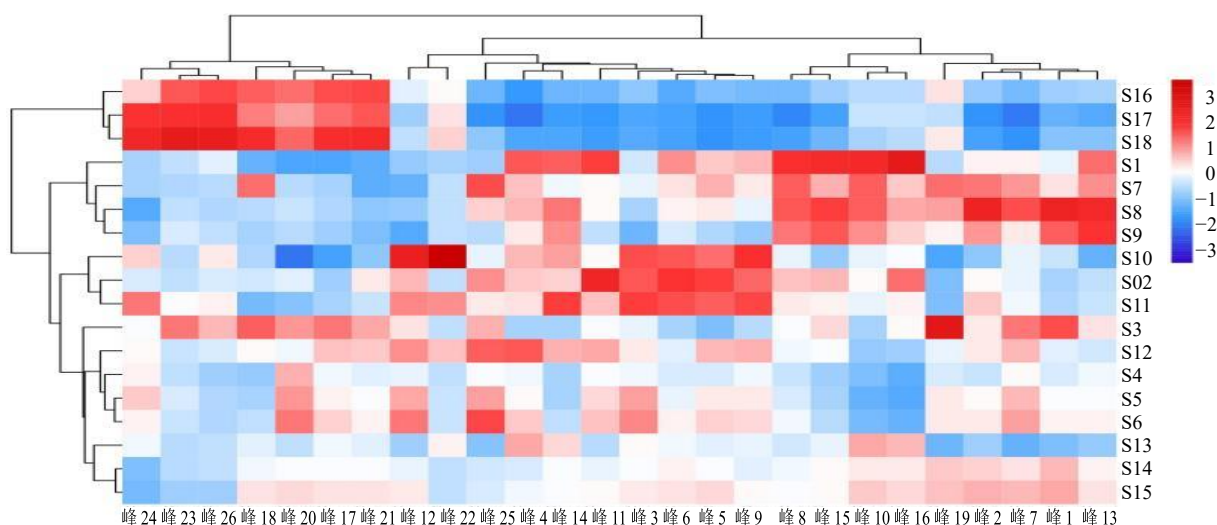


图 3 18 批决明子药材聚类热图分析结果

Fig. 3 Cluster heatmap analysis of 18 batches of *Cassiae Semen*

23、24、26 为第 3 组。在指纹图谱共有峰 1、2、8、10、13、15、16 号峰代表的化学成分中,湖北省产地明显高于其他省产地;在峰 3、5、6、9 号峰代表的化学成分中,河南省产地明显高于其他省产地;但整体而言所收集的 18 批决明子药材中,云南省产地药材所含以上成分含量明显小于其他省产地药材;而在峰 17、18、21、23、24、26 号峰代表的化学成分中,云南省产地明显高于其他省产地。聚类热图(图 3)显示,5 个不同产

地的决明子药材与 26 个共有峰的聚类呈现明显关联,表明基于化学成分差异可区分不同产地的决明子。

2.5.2 PCA 基于 SIMCA 14.1 软件,对 18 批样品 26 个共有峰的峰面积数据进行“降维”处理,采用非监督模式识别方法建立 PCA 模型,结果如图 4 和表 3 所示。以成分特征值>1 为筛选标准,提取 3 个主成分,得到模型方差累积贡献率 R^2_X 为 84.538,表明这 3 个主成分能够代表样品大部分信息,在 PCA

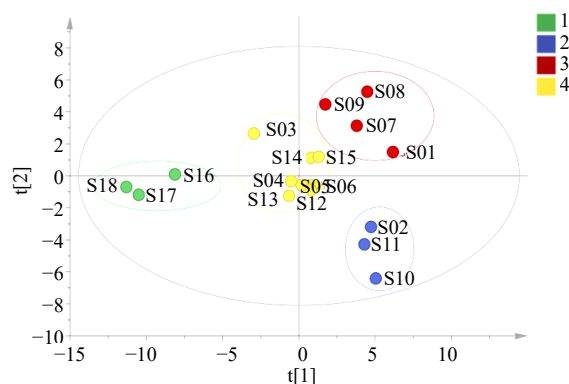


图4 不同产地决明子样品 PCA 得分图

Fig. 4 PCA score plot of *Cassiae Semen* samples from different origins

表3 不同产地决明子样品 PCA 特征值及方差贡献率

Table 3 Eigenvalues and variance contribution rates of PCA for *Cassiae Semen* samples from different origins

主成分	特征值	方差贡献率/%	累积方差贡献率/%
1	13.097	50.374	50.374
2	5.622	21.624	71.998
3	3.260	12.539	84.538

中占主导地位, 累积预测率 Q^2 为 $0.744 > 0.5$, 表明模型有效。18 批不同产地决明子药材总体可分为 4 类, PCA 结果与聚类热图相互印证, 证实了分析结论的可靠性。

2.5.3 OPLS-DA 为进一步验证分析结果的可靠性, 运用 SIMCA 14.1 软件将 18 批样品进行 OPLS-DA, 以筛选对组间差异贡献较大的标志性成分, 结果见图 5。在 OPLS-DA 模型中, 拟合优度参数 R^2_X 与 R^2_Y 分别为 0.936 和 0.875, 预测能力参数 Q^2 为 0.606, 三者均大于 0.5, 表明所建模型稳定性良好,

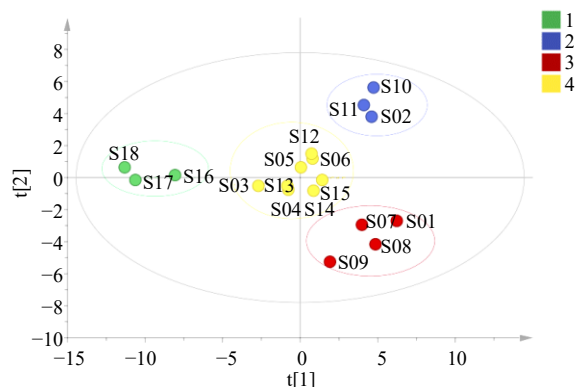


图5 不同产地决明子样品 OPLS-DA 得分图

Fig. 5 OPLS-DA score plot of *Cassiae Semen* samples from different origins

预测能力有效。通过 OPLS-DA 可将 18 批决明子按照产地聚为 4 类, 与之前的聚类结果和主成分分析结果相互佐证。

依据 VIP 值 > 1.0 的筛选标准, 共鉴定出 9 个对组间差异具有重要贡献的关键成分。结果见图 6, 包括峰 3 (大黄酚-1- O - β -D-四吡喃葡萄糖苷)、峰 6 (决明子苷)、峰 7 (红链霉素-6- O - β -龙胆二糖苷)、峰 8 (橙黄决明素-6- O -葡萄糖苷)、峰 9 (决明子苷 C)、峰 10、峰 17 (橙黄决明素)、峰 21、峰 23 (红链霉素), 提示这 9 个成分可以作为区分不同产地决明子药材的主要差异成分。利用 200 次置换检验对 OPLS-DA 模型进行内部验证, 如图 7 所示, R^2 和 Q^2 的回归线斜率为正值, 且 Q^2 回归线与左侧纵轴的交点小于 0, 没有出现拟合现象, 证明所建模型的有效性, 该结果可用于决明子的差异成分鉴别分析。

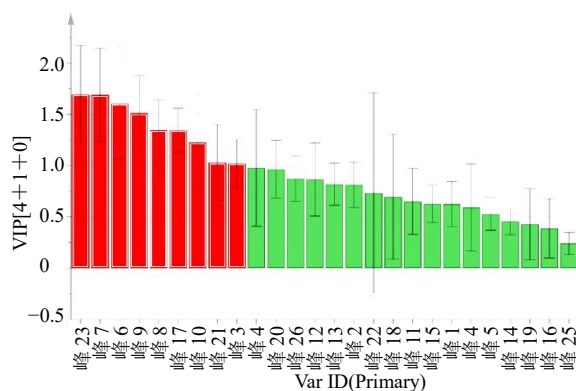


图6 不同产地决明子样品 OPLS-DA VIP 值

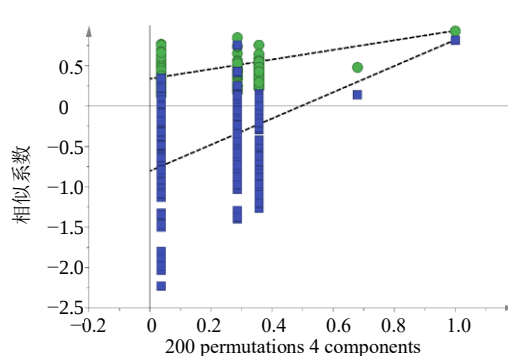
Fig. 6 VIP values of OPLS-DA for *Cassiae Semen* samples from different origins

图7 不同产地决明子样品 OPLS-DA 模型置换检验

Fig. 7 Permutation test of OPLS-DA for *Cassiae Semen* samples from different origins

2.6 多指标成分含量测定

2.6.1 线性关系考察 精密吸取“2.1”项下对照品溶液适量，以 70% 甲醇逐级稀释，制备成不同浓度的系列对照品溶液，并按“2.3”色谱条件进样测定，

记录相应色谱图。以 11 种化学成分的峰面积 (Y) 对其质量浓度 (X) 进行线性回归，所得回归方程见表 4。结果表明，各成分在相应线性范围内均呈现良好的线性关系。

表 4 线性关系考察结果

Table 4 Investigation results of linear relationship

化学成分	线性回归方程	r	线性范围/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)
异红镰霉素龙胆二糖苷	$Y=10\,041.16 X+12\,582.65$	0.999 6	1.56~156
决明子苷 B2	$Y=4\,707.14 X-15\,614.11$	0.999 4	1.41~140.75
决明子苷	$Y=44\,797.94 X-46.39$	0.999 9	0.16~8.12
红链霉素-6- O - β -龙胆二糖苷	$Y=10\,902.32 X+642.26$	0.999 9	0.50~25.13
橙黄决明素-6- O -葡萄糖苷	$Y=25\,926.04 X+3\,440.80$	0.999 6	0.95~47.60
决明子苷 C	$Y=24\,794.93 X+3\,146.23$	0.999 5	0.90~45.20
决明子苷 B	$Y=16\,206.58 X+2\,065.43$	0.999 5	0.86~42.84
橙黄决明素	$Y=38\,260.67 X+4\,965.57$	0.999 6	0.88~44.04
黄决明素	$Y=15\,291.56 X-22\,441.21$	0.999 7	0.87~43.28
红链霉素	$Y=7\,211.55 X+9\,842.64$	0.999 5	0.45~22.28
大黄酚	$Y=35\,234.25 X-769\,005$	0.999 7	1.02~50.84

2.6.2 精密度试验 取决明子供试品溶液 (S1)，按“2.3”项色谱条件连续进样 6 次，记录峰面积。计算异红镰霉素龙胆二糖苷、决明子苷 B2、决明子苷、红链霉素-6- O - β -龙胆二糖苷、橙黄决明素-6- O -葡萄糖苷、决明子苷 C、决明子苷 B、橙黄决明素、黄决明素、红链霉素和大黄酚峰面积的 RSD 值，分别为 1.12%、0.83%、0.65%、1.04%、1.27%、0.43%、0.92%、1.37%、0.89%、0.71%、1.38%，表明仪器精密度良好。

2.6.3 稳定性试验 取决明子供试品溶液 (S1)，按“2.3”项下色谱条件进样分析，分别在 0、2、4、6、10、18 h 进样分析，记录峰面积。计算异红镰霉素龙胆二糖苷、决明子苷 B2、决明子苷、红链霉素-6- O - β -龙胆二糖苷、橙黄决明素-6- O -葡萄糖苷、决明子苷 C、决明子苷 B、橙黄决明素、黄决明素、红链霉素和大黄酚峰面积的 RSD 值，分别为 1.02%、1.36%、0.56%、0.87%、1.39%、1.80%、0.91%、0.84%、1.25%、1.66%、1.48%，表明供试品溶液在 18 h 内稳定性良好。

2.6.4 重复性试验 取同一批次决明子粉末 (S1) 适量，精密称定 6 份，分别按“2.2”项方法制备供试品溶液，按“2.3”项色谱条件进样分析，记录峰面积。计算异红镰霉素龙胆二糖苷、决明子苷 B2、决明子苷、红链霉素-6- O - β -龙胆二糖苷、橙黄决明素-6- O -葡萄糖苷、决明子苷 C、决明子苷 B、橙黄

决明素、黄决明素、红链霉素和大黄酚的平均质量分数分别为 0.712、0.632、1.508、4.222、2.372、2.764、1.232、1.086、0.773、2.724、2.312 mg/g，RSD 值分别为 2.11%、1.65%、1.38%、2.23%、1.76%、0.98%、1.13%、2.06%、2.83%、2.36%、1.45%，结果表明该方法的重复性良好。

2.6.5 加样回收率试验 取同一批次决明子粉末 (S1) 适量，精密称定 0.25 g，平行 3 组，每组 3 份，按 1:0.8、1:1、1:1.2 的比例加入对照品，按“2.2”项方法制备供试品溶液 9 份，再按“2.3”项色谱条件进样分析，记录峰面积。计算异红镰霉素龙胆二糖苷、决明子苷 B2、决明子苷、红链霉素-6- O - β -龙胆二糖苷、橙黄决明素-6- O -葡萄糖苷、决明子苷 C、决明子苷 B、橙黄决明素、黄决明素、红链霉素和大黄酚的平均加样回收率分别为 96.85%、99.13%、101.26%、103.42%、95.47%、98.12%、96.39%、99.37%、102.24%、100.56%、97.34%，RSD 值分别为 1.89%、2.13%、1.96%、2.58%、2.96%、1.47%、2.64%、2.30%、2.96%、2.41%、1.82%，结果表明该方法的准确性良好，可用于测定决明子样品中该 11 种成分的含量。

2.6.6 样品含量测定 取 18 批决明子药材粉末，分别按“2.2”项方法制备供试品溶液，各平行 3 份，再按“2.3”项色谱条件进样测定，记录峰面积。计算各批次中 11 种化学成分的含量，结果见表 5。

表 5 18 批决明子药材含量测定结果 ($n=3$)Table 5 Content determination results of 18 batches of *Cassiae Semen* ($n=3$)

编号	质量分数/($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)										
	异红镰霉素龙胆二糖苷	决明子苷B2	决明子苷	红链霉素-6-O- β -龙胆二糖苷	橙黄决明素-6-O-葡萄糖苷	决明子苷C	决明子苷B	橙黄决明素	黄决明素	红链霉素	大黄酚
S1	0.708	6.315	1.513	4.222	2.372	2.761	1.299	1.086	0.774	2.724	2.313
S2	0.866	7.792	1.849	3.930	1.809	3.177	1.439	1.024	1.902	2.807	3.072
S3	1.120	6.384	0.803	4.739	1.575	2.071	0.900	1.277	1.825	6.515	2.436
S4	0.660	5.669	0.995	3.928	1.395	2.356	0.911	0.883	1.730	2.792	2.343
S5	0.740	6.284	1.055	4.178	1.455	2.510	0.989	0.990	1.854	3.268	2.866
S6	0.768	6.437	1.150	4.031	1.559	2.631	1.040	1.070	1.975	2.959	2.924
S7	0.801	7.533	0.981	3.583	1.792	2.515	0.916	1.359	2.298	4.371	2.670
S8	1.315	8.790	1.161	3.849	2.201	2.310	0.921	1.116	1.248	2.862	2.088
S9	1.087	7.242	0.980	4.054	2.078	1.891	0.790	0.947	1.188	3.315	2.054
S10	0.634	5.139	1.704	3.086	1.533	3.533	0.914	0.630	0.483	2.651	3.841
S11	0.578	6.757	1.726	3.195	1.665	3.359	1.035	0.854	0.995	3.899	3.455
S12	0.679	6.426	1.462	3.672	1.557	2.840	1.089	1.114	1.406	2.969	3.531
S13	0.473	5.294	1.061	2.617	1.443	2.339	0.776	0.998	1.199	2.705	2.672
S14	0.901	6.626	1.169	3.548	1.569	2.278	0.871	1.197	1.447	2.605	2.841
S15	0.928	6.999	1.213	4.445	1.579	2.439	0.928	1.136	1.598	2.130	2.451
S16	0.554	5.170	0.538	3.677	1.114	1.726	0.623	1.141	1.985	7.159	2.233
S17	0.425	4.129	0.456	3.141	0.792	1.424	0.496	0.920	1.803	8.054	2.086
S18	0.491	4.371	0.453	3.312	0.942	1.445	0.513	1.068	2.040	9.516	2.006
平均值	0.763	6.298	1.126	3.734	1.579	2.422	0.914	1.045	1.542	4.072	2.660

2.6.7 样品含量分析 由表 5 可知, 18 批决明子中异红镰霉素龙胆二糖苷、决明子苷 B2、决明子苷、红链霉素-6-O- β -龙胆二糖苷、橙黄决明素-6-O-葡萄糖苷、决明子苷 C、决明子苷 B、橙黄决明素、黄决明素、红链霉素和大黄酚的质量分数分别为 0.425~1.315、4.129~8.790、0.453~1.849、2.617~4.739、0.792~2.372、1.424~3.533、0.496~1.439、0.630~1.359、0.483~2.298、2.130~9.516、2.006~3.841 mg/g , 按平均含量由高至低排序, 这 11 种成分的顺序依次为决明子苷 B2>红链霉素>红链霉素-6-O- β -龙胆二糖苷>大黄酚>决明子苷 C>橙黄决明素-6-O-葡萄糖苷>黄决明素>决明子苷>橙黄决明素>决明子苷 B>异红镰霉素龙胆二糖苷。所测得的 11 种化学成分中异红镰霉素龙胆二糖苷、决明子苷 B2、决明子苷、红链霉素-6-O- β -龙胆二糖苷、决明子苷 C、决明子苷 B 和红链霉素为萘并吡喃酮类化合物, 橙黄决明素-6-O-葡萄糖苷、橙黄决明素、黄决明素、和大黄酚为蒽醌类化合物。湖北、河南、安徽、河北和云南决明子药材中的萘并吡喃酮类成分平均质量分数分别为 17.833、16.668、17.693、17.078、15.397 mg/g , 蒽醌类成分平均质量分数为 6.896、7.087、

6.043、7.038、6.934 mg/g 。通过分析含量测定结果, 如图 8 箱线图结果表明, 相较于蒽醌类成分含量趋于集中稳定, 萘并吡喃酮类成分呈现出显著含量差异, 其中样本间最大差异倍数达 4.8 倍, 并且决明子苷 B2 和红链霉素的含量占比最高; 如图 8 柱形图结果表明, 来自 5 个不同产地的决明子药材之间在这 11 个成分含量方面存在差异, 揭示了药材产地的不同对各化学成分含量有影响。

3 讨论

本研究以 18 批符合《中国药典》2025 年版质控要求的决明子药材为研究对象, 在建立指纹图谱时, 系统考察了甲醇、乙腈、不同浓度磷酸溶液等流动相体系, 结果选择以乙腈-甲醇 (3:1)-0.1%磷酸溶液为流动相进行梯度洗脱时, 各色谱峰分离度良好, 基线平稳。同时对比了不同提取方式 (超声处理、加热回流)、不同提取溶剂 (70%甲醇、50%甲醇、30%甲醇、70%乙醇、50%乙醇、30%乙醇) 及不同提取时间 (15、30、45 min), 以各色谱峰的峰型、分离效果及“总峰面积/称样量”比值为评价指标, 发现采用 70%乙醇超声处理 30 min 效果最佳, 最终确定了供试品溶液的制备方法。

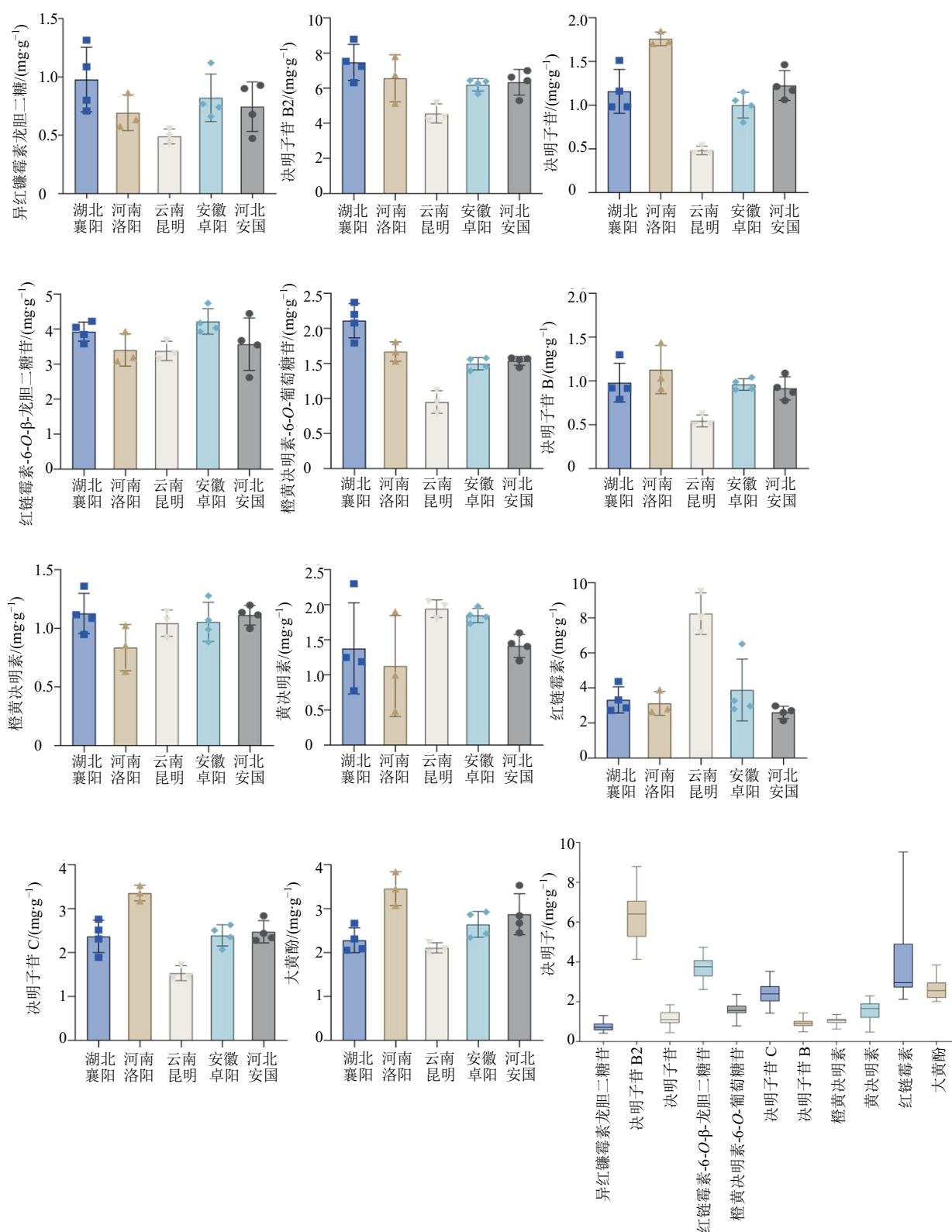


图 8 不同产地决明子药材中 11 个化学成分的含量比较

Fig. 8 Comparison of the contents of 11 chemical components in *Cassiae Semen* from different origins

本研究建立了决明子药材的 UPLC 指纹图谱，个蔡并吡喃酮类成分和 6 个蒽醌类成分，18 批样品的相似性均大于 0.95，说明不同产地药材所含成分基

本一致,而各共有峰的峰面积存在差异,提示其化学成分含量因产地不同而有所区别。文献报道蒽醌类化合物为决明子中主要成分,且游离态蒽醌为其主要活性物质,包括橙黄决明素、黄决明素、大黄酚等。现代药理研究表明,橙黄决明素有降血糖、调血脂、抗二磷酸腺苷等作用;大黄酚有抑制肿瘤作用^[17];大黄素展现出潜在的降血糖活性^[18]。茛菪甾酮类作为决明子的特征性成分,具有保肝、调血脂及抗氧化等多种药理作用^[4]。基于指纹图谱辨识出的 13 个成分均为已知活性成分,且药效关联分析证实其与决明子的整体药理作用相符,提示蒽醌类及茛菪甾酮类成分很可能构成决明子发挥药效的关键物质基础。

HCA 和 PCA 将 18 批不同产地决明子样品分为 4 类,该分类与地理来源高度吻合,其原因可能超越了简单的地理相邻性,而更多地反映了气候生态位的相似性^[19]。云南省的样品在得分图上显著偏离其他群体,这可能与其高海拔、强紫外辐射的生境相关,紫外辐射是诱导植物积累酚类及蒽醌类化合物(天然防晒剂)的关键环境信号^[20]。通过 OPLS-DA 模型筛选出 9 个差异标志物,其中茛菪甾酮类(如红链霉素、决明子苷)占主导地位,这一发现揭示了现行质量标准可能低估了茛菪甾酮类作为产地溯源标志物的价值;其中峰 3(大黄酚-1-*O*- β -D-四吡喃葡萄糖苷)等糖苷类成分在区分产地中贡献较大,反映不同产地土壤水分和养分条件可能对植物糖基转移酶活性有影响^[21]。含量测定结果进一步验证了 18 批决明子药材中茛菪甾酮类成分呈现出含量显著差异,揭示了不同产地药材质量存在波动。从代谢生物学角度看,茛菪甾酮类是决明属植物特征性的聚酮类次生代谢产物,其生物合成受环境胁迫高度调控,因此与更为保守的蒽醌类基础代谢物相较,呈现出更大的产地间变异性^[22];从药效物质基础角度看,这些差异标志物多数具有明确的药理活性,红链霉素、决明子苷具有保肝及抗氧化作用,橙黄决明素、大黄酚具有降脂活性^[23],提示产地间化学成分差异可能导致药理效应的强弱分化。通过含量测定结果与主成分分析综合分析发现,湖北襄阳与河南洛阳产决明子质量较好,前者茛菪甾酮类成分含量较高,后者蒽醌类成分积累更显著,而云南昆明样品因特殊生境导致的成分特征使其质量综合评价较低。

综上所述,本研究建立了决明子的 UPLC 指纹

图谱和多指标成分含量测定,实现了“指纹图谱定性-化学计量学区分-多指标定量验证”递进式质量控制体系,可有效弥补《中国药典》单一指标评价方法的不足,为决明子的质量控制、产地溯源及优质药材筛选提供了科学依据。由于筛选出的 9 个关键差异标志物中有 2 个成分(色谱峰 10、21)尚未完成结构指认,提示决明子中可能存在未知的产地差异物质。课题组下一步将借助 LC-MS 技术进行结构鉴定。此外,可结合高分辨质谱、网络药理学与代谢组学及药理学研究,基于药效-成分相关性分析,验证差异标志物含量波动与清肝明目等药效指标的相关性,进一步揭示决明子的药效物质基础与作用机制。

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. 2025: 155-156.
- [2] 敖礼林,任火英,周煜钧,等. 决明子丰产优质栽培关键技术 [J]. 新农村, 2024(7): 21-23.
- [3] 卢铭洁,马恩耀,谢珊珊,等. 不同产地决明子的质量评价研究 [J]. 现代食品, 2025(13): 210-214.
- [4] 袁有才,李力恒,李岩,等. 决明子化学成分及药理作用研究进展 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2025, 27(10): 199-208.
- [5] 毛琳,余黎,许增智,等. 决明子的药理学作用及其在食品领域应用研究进展 [J]. 食品工业科技, 2024, 45(16): 425-438.
- [6] 翟俊杰,郭梦茹,蒋倩倩,等. 决明子本草考证 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2024, 26(6): 166-171.
- [7] 中华中医药学会《中药质量标志物研究技术指南》编写组. 中药质量标志物研究技术指南 [J]. 中草药, 2025, 56(7): 2249-2252.
- [8] 李天娇,包永睿,王帅,等. 中药质量控制与评价创新方法研究进展及应用 [J]. 中草药, 2022, 53(20): 6319-6327.
- [9] 张建锋,侯长周,侯晓杰,等. 基于谱效关联技术的中药质量控制研究进展 [J]. 中华中医药学刊, 2025, 43(3): 205-209.
- [10] 吴晓辉. 决明子的化学成分、质量控制以及体内代谢研究 [D]. 武汉: 华中科技大学, 2010.
- [11] 郭威. 决明子鉴别及其主要有效成分含量测定的研究 [D]. 济南: 山东大学, 2008.
- [12] 王秋燕. 决明子提取物的制备工艺、质量控制及抗糖尿病作用研究 [D]. 武汉: 华中科技大学, 2019.
- [13] 周德勇,骆宜,苏磊,等. 决明子茛菪甾酮类对照提取物研究及其在决明子药材质量控制中的应用 [J]. 中国中药杂志, 2017, 42(17): 3385-3390.

- [14] 陈鸿平, 刘飞, 郭换, 等. 两基原中药决明子 UPLC 指纹图谱研究 [J]. 中草药, 2017, 48(18): 3826-3832.
- [15] 王晶彬, 周旭, 胡志方, 等. 基于指标成分和 HPLC 指纹图谱检测的决明子化学品质评价研究 [J]. 中草药, 2008, 39(6): 917-919.
- [16] 尉捷, 张蕊, 赵晨宇, 等. 基于主成分分析和聚类分析评价决明子质量 [J]. 中华中医药杂志, 2019, 34(12): 5695-5699.
- [17] 刘超祥, 王蓉. 决明子蒽醌类化学成分及药理活性研究进展 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2026, 28(5): 7-11.
- [18] 董玉洁, 蒋沅岐, 刘毅, 等. 决明子的化学成分、药理作用及质量标志物预测分析 [J]. 中草药, 2021, 52(9): 2719-2732.
- [19] 龙远春, 张欣, 万国栋, 等. 不同产地决明子蒽醌化合物组成及其抗氧化活性测定 [J]. 食品科学, 2017, 38(16): 145-151.
- [20] 王红星, 杨同文, 李景原. 增强 UV-B 辐射对芦荟蒽醌类物质含量和超微结构的影响 [J]. 应用生态学报, 2010, 21(1): 260-264.
- [21] Hussain S, Verma B, Devi R, *et al.* Biochemical versatility and stress modulation: UGTs in the Fabaceae family [J]. *Planta*, 2025, 262(4): 96.
- [22] 巢牡香, 叶波平. 环境非生物因子对植物次生代谢产物合成的影响 [J]. 药物生物技术, 2013, 20(4): 365-368.
- [23] 耿丹丹, 刘灵娣, 欧阳艳飞, 等. 决明子中茚并-吡喃酮类化学成分及其生物活性研究进展 [J]. 特产研究, 2017, 39(3): 64-67.

[责任编辑 时圣明]