

基于指纹图谱和化学成分结合化学计量学对不同产地茺蔚子的质量评价

万欣亚^{1,2}, 邢益添^{1,2}, 何民友^{2*}, 马懿飞², 丘 娴², 陈向东², 孙冬梅²

1. 广州中医药大学, 广东 广州 510006

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** 建立不同产地 17 批茺蔚子 *Leonuri Fructus* 药材指纹图谱, 对其进行成分研究并结合化学计量学分析进行质量评价。 **方法** 通过超高效液相色谱法 (UPLC), 以 YMC Trait C₁₈ (150 mm×2.1 mm, 1.9 μm) 为色谱柱, 乙腈-0.1%磷酸溶液为流动相, 梯度洗脱, 体积流量为 0.3 mL/min, 柱温为 28 °C, 检测波长为 205 nm, 进样体积为 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茺蔚子进行分析, 同时对益母草苷 B、刺桐碱、7R,8S-7',8'-二羟基-二氢脱氢松柏醇-9-O-β-D-葡萄糖苷、落叶松脂素-9-O-β-D-葡萄糖苷、环益母草肽 A 进行含量测定。 **结果** 建立的指纹图谱共标识出 11 个共有峰, 经与对照品比对, 指认 6 个成分; 经聚类分析和主成分分析 (principal component analysis, PCA), 可将不同茺蔚子聚为 3 类, 并通过正交偏最小二乘判别法 (orthogonal partial least squares-discriminant analysis, OPLS-DA) 筛选出峰 5、峰 4、峰 7 (刺桐碱)、峰 11 (环益母草肽 A)、峰 10 (落叶松脂素-9-O-β-D-葡萄糖苷)、峰 6 (益母草苷 B)、峰 9 (7R,8S-7',8'-二羟基-二氢脱氢松柏醇-9-O-β-D-葡萄糖苷) 和峰 8 可以作为区分不同产地茺蔚子药材的主要差异成分。17 批茺蔚子中益母草苷 B、刺桐碱、7R,8S-7',8'-二羟基-二氢脱氢松柏醇-9-O-β-D-葡萄糖苷、落叶松脂素-9-O-β-D-葡萄糖苷、环益母草肽 A 的含量范围分别为 11.434~57.262、2.386~7.825、0.068~0.236、0.101~0.439、0.732~1.604 mg/g; 经方法学考察, 各成分呈现良好的线性关系。 **结论** 建立的茺蔚子指纹图谱能反映不同产地的茺蔚子样品差异, 多成分含量测定方法稳定、可靠, 为茺蔚子质量评价提供参考。

关键词: 茺蔚子; 指纹图谱; 鸟苷; 益母草苷 B; 刺桐碱; (7R,8S)-7',8'-二羟基-二氢脱氢松柏醇-9-O-β-D-葡萄糖苷; 落叶松脂素-9-O-β-D-葡萄糖苷; 环益母草肽 A; 化学计量学

中图分类号: R286.2 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2025)20-7549-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.20.024

Quality evaluation of *Leonuri Fructus* from different origins based on fingerprint spectra and chemical composition combined with chemometrics

WAN Xinya^{1,2}, XING Yitian^{1,2}, HE Minyou², MA Yifei², QIU Xian², CHEN Xiangdong², SUN Dongmei²

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

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

Abstract: Objective To establish the fingerprint spectra of 17 batches of *Leonuri Fructus* (Chongweizi) from different origins. The components were studied and the quality was evaluated in combination with chemometrics analysis. **Methods** By ultra-performance liquid chromatography (UPLC), YMC Trait C₁₈ (150 mm × 2.1 mm, 1.9 μm) was used as the chromatographic column, and acetonitrile -0.1% phosphoric acid solution was used as the mobile phase, gradient elution was performed. The flow rate was 0.30 mL/min, the column temperature was 28 °C, the detection wavelength was 205 nm, and the injection volume was 2 μL. Traditional Chinese medicine (TCM) fingerprint similarity evaluation software was used for similarity evaluation, and chemometrics was applied to analyze *Leonuri Fructus* from different origins. Meanwhile, the contents of leonuriside B, lenticin, 7R,8S-7',8'-dihydroxydihydrodehydroconiferyl alcohol 9-O-β-D-glucopyranoside, lariciresinol-9-O-β-D-glucopyranoside, cycloleonuripeptide A were determined by similarity analysis and chemometrics analysis. **Results** The established fingerprint spectra identified a total of 11 common peaks. Through the identification of reference substances combined with the preparation and separation technology, a total of six components were identified by comparison with

收稿日期: 2025-05-02

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: 万欣亚 (2001—), 女, 硕士研究生, 从事中药化学成分研究。E-mail: 1753735571@qq.com

*通信作者: 何民友, 男, 副主任药师, 从事中药新药研发及中药质量评价研究。E-mail: 675844585@qq.com

reference substances. Through cluster analysis and principal component analysis, different *Leonuri Fructus* can be clustered into three categories, and through OPLS-DA, peaks 5, 4, 7 (lenticin), 11 (cycloleonoripeptide A), 10 (lariciresinol-9-*O*- β -D-glucopyranoside), 6 (leonuriside B), 9 (7*R*,8*S*-7',8'-dihydroxydihydrodehydroconiferyl alcohol 9-*O*- β -D-glucopyranoside), 8 were screened out as the main differential components for distinguishing the medicinal materials of *Leonuri Fructus* from different origins. The contents ranged of leonuriside B, lenticin, 7*R*,8*S*-7',8'-dihydroxydihydrodehydroconiferyl alcohol 9-*O*- β -D-glucopyranoside, Lariciresinol-9-*O*- β -D-glucopyranoside and cycloleonoripeptide A in the 17 batches of *Leonuri Fructus* were 11.434—57.262, 2.386—7.825, 0.068—0.236, 0.101—0.439, 0.732—1.604 mg/g. According to the methodology, each component showed a good linear relationship. **Conclusion** The fingerprint spectra of *Leonuri Fructus* established in this paper can reflect the differences of *Leonuri Fructus* samples from different origins, and established multi-component content determination method is stable and reliable, which can provide a reference for the quality evaluation of *Leonuri Fructus*.

Key words: *Leonuri Fructus*; fingerprint; guanosine; leonuriside B; lenticin; 7*R*,8*S*-7',8'-dihydroxydihydrodehydroconiferyl alcohol 9-*O*- β -D-glucopyranoside; lariciresinol-9-*O*- β -D-glucopyranoside; cycloleonoripeptide A; chemometrics

菟蔚子为唇形科植物益母草 *Leonurus japonicus* Houtt. 的干燥成熟果实^[1], 别名益母草子、苦草子、小胡麻、野黄麻^[2]。益母草为常用药材, 在我国广泛分布, 常见于山野荒地、田埂、河滩、草地、路旁、溪边等自然环境, 部分地区有人工栽培^[3]。现代化学成分分析表明, 菟蔚子富含生物碱、黄酮类、二萜类等次生代谢产物, 同时含有多元脂肪酸、必需氨基酸及丰富的矿质元素^[4]。其药理活性与《中国药典》2020 年版记载的活血调经、清肝明目功效相契合, 目前临床主要应用于妇科经期症候群及眼科疾病的治疗^[5]。

在中医药现代化进程中, 中药材质量控制的科学化与标准化已成为保障临床疗效和用药安全的核心问题^[6]。中药所包含的化学成分具有多样性且复杂化, 传统单一的指标成分难以全面评价中药的整体质量, 而通过指纹图谱可以更直观地反映中药材特征性成分及含量, 得到国内外研究者的普遍认可^[7-8]。目前, 关于菟蔚子质量标准方面的研究多集中于药典所规定的盐酸水苏碱的含量测定^[9-10], 但难以反映药材整体化学特征; 虽已有学者尝试构建指纹图谱进行产地鉴别^[11], 但其研究多聚焦于宏观模式识别, 缺乏对特征化学成分的解析, 导致图谱信息利用率不足。这种现状不仅影响质量评价的全面性, 也制约了药材资源开发与临床合理应用。

本研究通过建立菟蔚子 UPLC 指纹图谱, 优化色谱分离条件实现特征成分有效分离; 运用质谱和核磁共振分析技术, 对主要色谱峰进行鉴定, 阐明其物质基础; 结合主成分分析 (principal component analysis, PCA) 和正交偏最小二乘判别分析 (orthogonal partial least squares-discriminant analysis, OPLS-DA) 等化学计量学方法, 评价不同产地的菟蔚子质量差异; 并对益母草苷 B、刺桐碱、

7*R*,8*S*-7',8'-二羟基-二氢脱氢松柏醇-9-*O*- β -D-葡萄糖苷、落叶松脂素-9-*O*- β -D-葡萄糖苷、环益母草肽 A 这 5 种化学成分进行含量测定。建立更全面的菟蔚子质量评价方法, 为菟蔚子的质量控制提供科学依据。

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); HWS28 型恒温水浴锅 (上海一恒科技股份有限公司)。

1.2 材料

YMC Trait C₁₈ (150 mm×2.1 mm, 1.9 μ m) 色谱柱; 反向柱填料 ODS (日本 YMC 公司, L 粒径: 50 μ m); 对照品鸟苷 (批号 111977-202202, 质量分数 88.6%) 购自中国食品药品检定研究院; 对照品刺桐碱 (批号 wkq21092603, 质量分数 $\geq$ 98.0%) 购自四川省维克奇生物科技有限公司; 益母草苷 B、7*R*,8*S*-7',8'-二羟基-二氢脱氢松柏醇-9-*O*- β -D-葡萄糖苷、落叶松脂素-9-*O*- β -D-葡萄糖苷和环益母草肽 A 均为实验室自制, 质量分数大于 98%。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 17 批菟蔚子药材分别产自江苏、黑龙江、河南、山东, 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药师鉴定为唇形科植物益母草 *L. japonicus* Houtt. 的干燥成熟果实。

表 1 17 批茺蔚子药材产地信息
Table 1 Information of 17 batches of *Leonuri Fructus*

样品编号	产地	样品编号	产地
S1	江苏盐城	S10	江苏宿迁
S2	江苏宿迁	S11	山东临沂
S3	黑龙江绥化	S12	山东临沂
S4	河南洛阳	S13	山东临沂
S5	黑龙江绥化	S14	河南洛阳
S6	黑龙江绥化	S15	河南信阳
S7	河南南阳	S16	河南信阳
S8	河南南阳	S17	河南信阳
S9	河南南阳		

2 方法与结果

2.1 茺蔚子药材指纹图谱的建立

2.1.1 对照品溶液的制备 精密称取对照品鸟苷、益母草苷 B、刺桐碱、7R,8S-7',8'-二羟基-二氢脱氢松柏醇-9-O-β-D-葡萄糖苷、落叶松脂素-9-O-β-D-葡萄糖苷、环益母草肽 A 适量，置 10 mL 量瓶中，分别加入 30% 甲醇溶解并稀释至刻度，摇匀，即得。

2.1.2 供试品溶液的制备 取茺蔚子样品粉末（过三号筛）约 1 g，置具塞锥形瓶中，加 30% 甲醇 20 mL，加热回流 30 min，放冷，摇匀，滤过，取续滤液，即得。

2.1.3 色谱条件 采用 YMC Trait C₁₈（150 mm×2.1 mm，1.9 μm）色谱柱；以乙腈（A）-0.1% 磷酸溶液（B）为流动相；梯度洗脱（0~5 min，0~3% A；5~14 min，3%~5% A；14~25 min，5%~12% A；25~32 min，12%~20% A；32~44 min，20%~30% A；44~50 min，30%~45% A；50~53 min，45% A）；体积流量为 0.3 mL/min；柱温为 28 ℃；检测波长为 205 nm；进样体积为 2 μL。

2.1.4 精密度试验 取茺蔚子供试品溶液（S1）按“2.1.3”项下色谱条件进样分析，连续进样 6 次，以刺桐碱参照物相应的峰为参照峰 S，计算各色谱峰与 S 峰的相对保留时间和相对峰面积的 RSD 值，均小于 2%，表明仪器精密度良好。

2.1.5 稳定性试验 取茺蔚子供试品溶液（S1）按“2.1.3”项下色谱条件进样分析，分别在 0、2、4、6、10、18 h 进样分析，以刺桐碱参照物相应的峰为参照峰 S，计算各色谱峰与 S 峰的相对保留时间和相对峰面积的 RSD 值，均小于 3%，表明供试品溶液在 18 h 内稳定性良好。

2.1.6 重复性试验 取茺蔚子样品（S1）适量，平

行 6 份，精密称定后，按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液，按“2.1.3”项下色谱条件进样分析，以刺桐碱参照物相应的峰为参照峰（S），计算各色谱峰与 S 峰的相对保留时间和相对峰面积的 RSD 值，均小于 5%，表明该方法重复性良好。

2.1.7 指纹图谱的建立 取 17 批茺蔚子药材，按“2.1.2”项下方法制备 17 份供试品溶液，按“2.1.3”项下色谱条件测定样品指纹图谱，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（2012 版）”软件进行分析，选择 S1 供试品色谱图为参考图谱，进行多点校正和峰匹配，生成茺蔚子药材对照指纹图谱，17 批茺蔚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，茺蔚子指纹图谱共标识 11 个共有色谱峰。

以刺桐碱（峰 7）为参照峰 S，计算其余色谱峰的相对保留时间和相对峰面积，其相对保留时间均值分别为 0.220（峰 1）、0.372（峰 2）、0.455（峰 3）、0.533（峰 4）、0.584（峰 5）、0.941（峰 6）、1.087（峰 8）、1.294（峰 9）、1.638（峰 10）、2.166（峰 11）；相对峰面积均值分别为 0.642（峰 1）、0.044（峰 2）、0.136（峰 3）、0.327（峰 4）、0.370（峰 5）、4.297（峰 6）、0.616（峰 8）、0.203（峰 9）、0.540（峰 10）、1.421（峰 11）；计算各批次茺蔚子药材指纹图谱与对照图谱的相似度，结果如表 2 所示。17 批茺蔚子药材指纹图谱的相似度均在 0.90 以上，表明该指纹图谱可以作为共性特征用于茺蔚子药材的质量控制。

2.1.8 色谱峰的确认 根据质谱和核磁共振分析

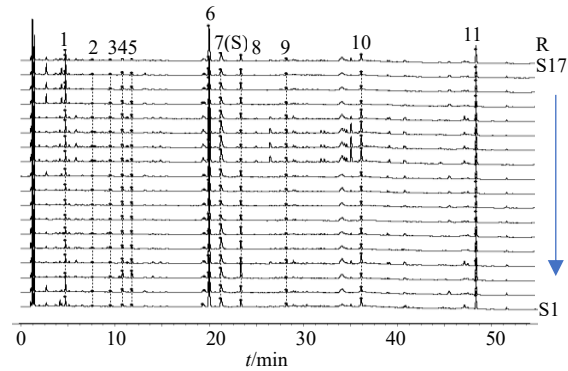


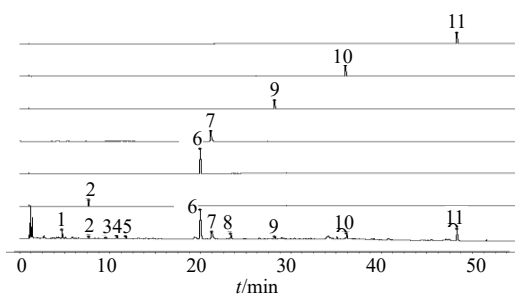
图 1 17 批茺蔚子药材 UPLC 叠加图谱及对照图谱
Fig. 1 UPLC overlaid chromatograms and reference chromatogram of 17 batches of *Leonuri Fructus*

表 2 茺蔚子样品相似度评价结果

Table 2 Similarity evaluation results of *Leonuri Fructus* samples

样品编号	相似度	样品编号	相似度
S1	0.998	S10	0.995
S2	0.997	S11	0.983
S3	0.903	S12	0.990
S4	0.996	S13	0.989
S5	0.903	S14	0.996
S6	0.935	S15	0.950
S7	0.996	S16	0.974
S8	0.996	S17	0.953
S9	0.998		

鉴定出 6 个色谱峰,其中包括实验室自制分离得到 4 个化合物分别对应 6 号峰益母草苷 B、9 号峰 7*R*,8*S*-7',8'-二羟基-二氢脱氢松柏醇-9-*O*- β -*D*-葡萄糖苷、10 号峰落叶松脂素-9-*O*- β -*D*-葡萄糖苷和 11 号峰环益母草肽 A,根据对照品分别指认出 2 号峰鸟苷和 7 号峰刺桐碱。将上述化合物加 30%甲醇制成分别含 25 μ g/mL 益母草苷 B、鸟苷、刺桐碱、7*R*,8*S*-7',8'-二羟基-二氢脱氢松柏醇-9-*O*- β -*D*-葡萄糖苷、落叶松脂素-9-*O*- β -*D*-葡萄糖苷和环益母草肽 A 各 50 μ g/mL 对照品溶液,按照“2.1.3”项下的色谱条件进行分析,结果见图 2。结果表明,茺蔚子指纹图谱中的色谱峰 2、6、7、9、10、11 与分离所得到的 4 个化合物及鸟苷对照品和刺桐碱对照品保留时间基本保持一致,同时紫外可见吸收光谱也完全一致。



2-鸟苷; 6-益母草苷 B; 7-刺桐碱; 9-7*R*,8*S*-7',8'-二羟基-二氢脱氢松柏醇-9-*O*- β -*D*-葡萄糖苷; 10-落叶松脂素-9-*O*- β -*D*-葡萄糖苷; 11-环益母草肽 A。
2-guanosine; 6-leonuriside B; 7-lenticin; 9-7*R*,8*S*-7',8'-dihydroxydihydrodehydroconiferyl alcohol 9-*O*- β -*D*-glucopyranoside; 10-lariciresinol-9-*O*- β -*D*-glucopyranoside; 11-cycloleonuripeptide A.

图 2 茺蔚子 UPLC 指纹图谱及对照品图谱

Fig. 2 UPLC fingerprint chromatogram of *Leonuri Fructus* and reference substance

2.2 不同产地茺蔚子药材的化学计量学分析

2.2.1 聚类热图分析 将 17 批茺蔚子样品指纹图谱的 11 个共有峰峰面积导入 Hiplot Pro 网站,聚类方法为 ward.D2,距离方法选择 euclidean,并采用列标准化数据,绘制聚类热图,结果见图 3。17 批茺蔚子样品可分为 3 类,其中山东省样品聚为一类;黑龙江省样品聚为一类;江苏省和河南省样品聚为一类。11 个共有峰被聚为 4 组,峰 8 为第 1 组;峰 4、5 为第 2 组;峰 2、3、7、11 为第 3 组;峰 1、6、9、10 为第 4 组。

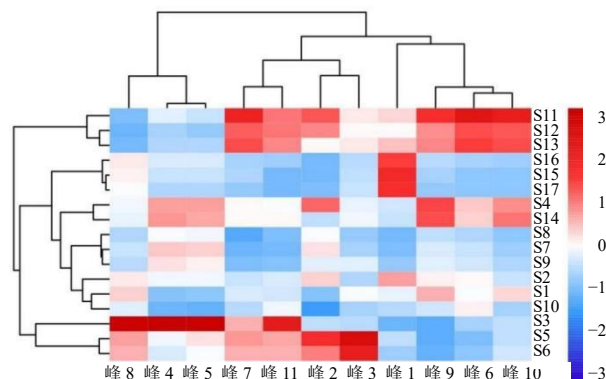


图 3 17 批茺蔚子药材聚类热图分析结果

Fig. 3 Cluster heatmap analysis of 17 batches of *Leonuri Fructus*

在指纹图谱共有峰 1、6、9、10 号峰代表的化学成分中,山东省产地明显高于黑龙江省产地;在峰 2、3、7、11 号峰代表的化学成分中,山东省和黑龙江省 2 个产地明显高于江苏省和河南省 2 个产地;在峰 4、5、8 号峰代表的化学成分中,黑龙江省产地明显高于山东省产地。从聚类热图中可见,17 批茺蔚子与 11 个共有峰的聚类之间有一定的关联性,表明不同产地茺蔚子的分类可通过所含化学成分的差异进行区分。

2.2.2 PCA 运用 SIMCA 14.1 软件对 17 批样品的 11 个共有峰的峰面积数据采用非监督模式识别方法建立 PCA 模型,结果见图 4 和表 3。以特征值 > 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 0.835,表明这 3 个主成分能够代表样品大部分信息,累积预测率 Q^2 为 0.38,虽然模型的预测能力较低,但 17 批不同产地茺蔚子药材总体可分为 3 类,与聚类结果一致,推测不同产地各批次间的成分差异可能与产地的气候、环境等因素有关。

2.2.3 OPLS-DA 为了进一步验证分析结果的可靠性,运用 SIMCA 14.1 软件将 17 批样品进行 OPLS-

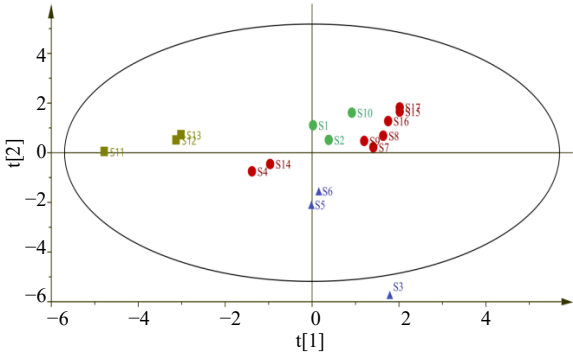


图 4 不同产地茺蔚子样品 PCA 得分图
Fig. 4 PCA score plot of *Leonuri Fructus* samples from different origins

表 3 不同产地茺蔚子样品 PCA 特征值及方差贡献率
Table 3 Eigenvalues and variance contribution rates of PCA for *Leonuri Fructus* samples

主成分	特征值	方差贡献率/%	累积方差贡献率/%
1	4.13	0.375	0.375
2	3.42	0.311	0.686
3	1.64	0.149	0.835

DA, 筛选差异贡献较大的成分, 结果见图 5。在 OPLS-DA 模型中, 模型拟合参数 R^2_X 为 0.783, R^2_Y 为 0.789, 预测能力参数 Q^2 , 均大于 0.5, 提示所建立的模型稳定可靠且预测良好。通过 OPLS-DA 可将 17 批茺蔚子按照产地聚为 3 类, 与之前的聚类结果和 PCA 结果相互佐证。

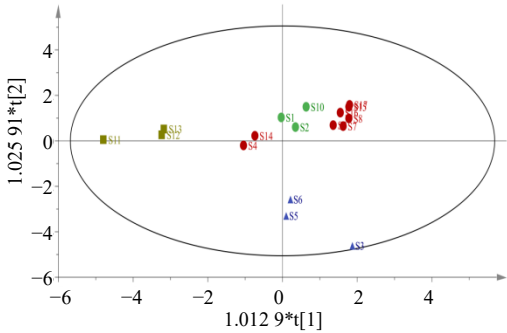


图 5 不同产地茺蔚子样品 OPLS-DA 得分图
Fig. 5 OPLS-DA score plot of *Leonuri Fructus* samples from different origins

以模型中各化学成分的变量重要性投影 (variable importance projection, VIP) > 1.0 为原则, 筛选出 8 个关键差异性成分, 结果见图 6, 包括峰 5、峰 4、峰 7 (刺桐碱)、峰 11 (环益母草肽 A)、峰 10 (落叶松脂素-9-O-β-D-葡萄糖苷)、峰 6 (益母草苷 B)、峰 9 (7R,8S-7',8'-二羟基-二氢脱氢松柏醇-9-O-β-D-葡萄糖苷)、峰 8, 提示以上 8 个成分可以作为区分不同产地茺蔚子药材的主要差异成分。

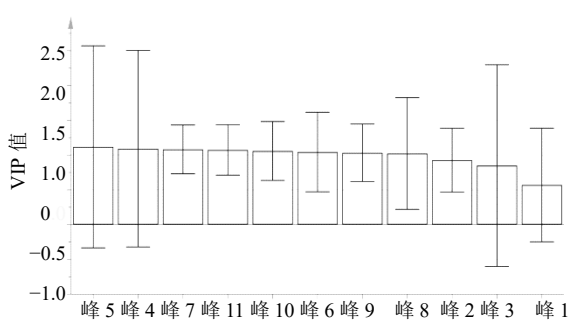


图 6 不同产地茺蔚子样品 OPLS-DA VIP 值
Fig. 6 VIP values of OPLS-DA for *Leonuri Fructus* samples from different origins

醇-9-O-β-D-葡萄糖苷)、峰 8, 提示以上 8 个成分可以作为区分不同产地茺蔚子药材的主要差异成分。

2.3 有效成分的测定

2.3.1 对照品溶液的制备 分别精密称取益母草苷 B、刺桐碱、7R,8S-7',8'-二羟基-二氢脱氢松柏醇-9-O-β-D-葡萄糖苷、落叶松脂素-9-O-β-D-葡萄糖苷、环益母草肽 A 对照品适量, 加 30% 甲醇溶解制成对照品储备液。精密量取上述各对照品储备液适量, 加 30% 甲醇稀释, 制成质量浓度分别为 459.44、458.5、398.266、400.48、460.5 μg/mL 的混合对照品溶液。

2.3.2 线性关系考察 精密吸取适量“2.3.1”项下的混合对照品溶液, 用 30% 甲醇稀释成不同质量浓度梯度的混合对照品溶液, 按“2.1.3”项下色谱条件进样测定, 记录色谱图。以 5 种化学成分的峰面积为纵坐标 (Y), 质量浓度为横坐标 (X) 进行线性回归, 得回归方程, 见表 4。结果表明 5 种化学成分在线性范围内呈良好线性关系。

2.3.3 精密度试验 取茺蔚子供试品溶液 (S1), 按“2.1.3”项下色谱条件连续进样 6 次, 记录峰面积。计算益母草苷 B、刺桐碱、7R,8S-7',8'-二羟基-二氢脱氢松柏醇-9-O-β-D-葡萄糖苷、落叶松脂素-9-O-β-D-葡萄糖苷、环益母草肽 A 峰面积的 RSD 值, 结果分别为 0.32%、0.56%、0.34%、0.41%、0.76%。表明仪器精密度良好。

2.3.4 重复性试验 取茺蔚子样品 (S1) 适量, 精密称定, 平行 6 份, 按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液, 按“2.1.3”项下色谱条件进样分析, 记录峰面积。计算益母草苷 B、刺桐碱、7R,8S-7',8'-二羟基-二氢脱氢松柏醇-9-O-β-D-葡萄糖苷、落叶松脂素-9-O-β-D-葡萄糖苷、环益母草肽 A 峰面积的 RSD 值, 计算得到 5 种化学成分的 RSD 值分别为 0.15%、

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^2	线性范围/(\(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}\))
益母草苷 B	$Y=1\,989.62\,X-2\,762.77$	0.999 5	4.594 4~229.720 0
刺桐碱	$Y=2\,623.63\,X-8\,407.48$	0.999 8	4.585 0~229.250 0
7R,8S-7',8'-二羟基-二氢脱氢松柏醇-9-O-\(\beta\)-D-葡萄糖苷	$Y=16\,866.19\,X-5\,961.58$	0.999 9	3.982 7~199.133 0
落叶松脂素-9-O-\(\beta\)-D-葡萄糖苷	$Y=33\,426.23\,X-9\,371.77$	0.999 9	4.004 8~200.240 0
环益母草肽 A	$Y=15\,752.02\,X-9\,670.15$	0.999 9	4.605 0~230.250 0

0.39%、0.57%、0.52%、0.37%。

2.3.5 稳定性试验 取茺蔚子供试品溶液 (S1) 按“2.1.3”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。计算益母草苷 B、刺桐碱、7R,8S-7',8'-二羟基-二氢脱氢松柏醇-9-O-\(\beta\)-D-葡萄糖苷、落叶松脂素-9-O-\(\beta\)-D-葡萄糖苷、环益母草肽 A 峰面积的 RSD 值, 结果分别为 0.25%、0.37%、0.54%、0.89%、0.42%。

2.3.6 加样回收率试验 取茺蔚子样品 (S1) 适量, 精密称定 0.5 g, 平行 3 组, 每组 3 份, 按 1:0.5、1:1、1:1.5 的比例加入对照品, 按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液 9 份, 按“2.1.3”项下色谱条件进样分析, 记录峰面积。计算益母草苷

B、刺桐碱、7R,8S-7',8'-二羟基-二氢脱氢松柏醇-9-O-\(\beta\)-D-葡萄糖苷、落叶松脂素-9-O-\(\beta\)-D-葡萄糖苷、环益母草肽 A 的平均加样回收率分别为 101.08%、98.73%、99.12%、102.44%、96.83%, RSD 值分别为 2.15%、0.75%、1.97%、2.59%、2.86%。结果表明该方法可用于测定茺蔚子中该 5 种化学成分的含量。

2.3.7 样品含量测定 取 17 批茺蔚子药材粉末, 按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液, 各平行制备 3 份, 按“2.1.3”项下色谱条件进样测定, 记录峰面积。计算各批次样品中 5 种化学成分的含量, 结果见表 5。结果表明不同产地茺蔚子药材中 5 种化学成分具有一定的差异性。

表 5 17 批茺蔚子药材含量测定结果

Table 5 Content determination results of 17 batches of *Leonuri Fructus* medicinal materials

编号	质量分数/(\(\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}\))				
	益母草苷 B	刺桐碱	7R,8S-7',8'-二羟基-二氢脱氢松柏醇-9-O-\(\beta\)-D-葡萄糖苷	落叶松脂素-9-O-\(\beta\)-D-葡萄糖苷	环益母草肽 A
S1	24.492	4.058	0.173	0.227	0.915
S2	25.400	3.819	0.145	0.150	0.946
S3	16.057	5.398	0.068	0.144	1.604
S4	30.470	4.522	0.219	0.288	1.008
S5	11.434	5.789	0.067	0.144	1.195
S6	12.985	5.421	0.072	0.158	1.178
S7	19.186	2.693	0.120	0.118	0.732
S8	16.440	2.386	0.109	0.106	0.763
S9	19.903	2.888	0.125	0.129	0.768
S10	26.320	3.609	0.116	0.123	0.982
S11	57.262	7.825	0.236	0.439	1.283
S12	43.280	6.440	0.185	0.340	1.293
S13	45.070	6.706	0.192	0.347	1.254
S14	29.326	4.486	0.215	0.310	1.020
S15	13.345	3.460	0.098	0.101	0.732
S16	15.796	3.446	0.108	0.118	0.821
S17	13.183	3.173	0.094	0.104	0.737

3 讨论

《中国药典》2020 版规定茺蔚子药材含盐酸水苏碱不得少于 0.05%, 本研究所用的 17 批药材经测定均符合要求。本研究在建立指纹图谱时, 采用 PDA 检测器对茺蔚子的供试品溶液在 190~400 nm 范围内进行全波长扫描, 比较不同波长 (205、220、254、278、330 nm) 下色谱图的峰信号、响应值及分离度, 以信息量大、峰响应高、基线平稳、干扰

较小且分离效果好为评价指标, 最终选择 205 nm 为测定波长。同时考察了供试品溶液的制备方法, 采用不同的提取溶剂 (70% 甲醇、50% 甲醇、30% 甲醇、70% 乙醇、50% 乙醇、30% 乙醇), 通过对比不同色谱峰“峰面积/称样量”比值, 结果使用 30% 甲醇作为提取溶剂时色谱峰“峰面积/称样量”最大, 故选择 30% 甲醇为提取溶剂; 采用超声提取和加热回流提取 2 种提取方式, 对比各色谱峰的峰形、分离效

果及“总峰面积/称样量”比值,结果使用加热回流提取方式较优,故选择加热回流作为提取方式;考察不同的提取时间(15、30、45 min),结果 11 个色谱峰的峰形及分离效果无明显差别,各色谱峰的“峰面积/称样量”无明显区别,因此为确保提取充分,选择提取时间为 30 min;最终确定了供试品溶液的制备方法。

本研究通过 UPLC 指纹图谱结合对照品指认,确认了峰 2 (鸟苷)和峰 7 (刺桐碱)为菰薹子特征成分,同时实验室分离得到 4 个化合物,经鉴定分别为 1 个苯乙醇苷(益母草苷 B)、2 个木脂素苷(7R,8S-7',8'-二羟基-二氢脱氢松柏醇-9-O-β-D-葡萄糖苷和落叶松脂素-9-O-β-D-葡萄糖苷)及 1 个环肽(环益母草肽 A)。其中益母草苷 B 经过保留时间和紫外吸收光谱比对,对应指纹图谱中的峰 6,是首次在菰薹子中发现的成分,丰富了菰薹子化学成分研究,为菰薹子进一步开发利用提供了基础。药效关联分析显示,鸟苷和刺桐碱分别具有抗病毒^[12]和抗炎^[13]作用;苯乙醇苷类成分具一定抗氧化作用,与其酚羟基取代模式相关^[14];木脂素苷类成分的肝细胞保护作用^[15]与《中国药典》2020 年版菰薹子项下记载的“清肝明目”功效具有显著相关性;环肽类成分经大鼠离体血管实验证实有一定的舒张血管作用^[16],从现代药理学角度佐证了菰薹子“活血调经”的传统功效。上述结果表明,木脂素苷与环肽类成分可能是菰薹子的关键药效物质基础。

本研究通过化学计量学方法系统分析了不同产地菰薹子的质量差异。热图分析显示,17 批样品可明确分为 3 类,其中黑龙江省产地菰薹子药材聚为一类,山东省产地菰薹子药材聚为一类,江苏省和河南省产地菰薹子药材共同聚为一类,聚类结果与 PCA 和 OPLS-DA 结论相一致。从热图分析可知,黑龙江省产地菰薹子药材中峰 2、3、4、5、7、8、11 所代表成分含量较高,山东省产地菰薹子药材中峰 2、6、7、9、10、11 所代表成分含量较高,而河南洛阳产地菰薹子药材中峰 6、9、10 以及河南信阳产地菰薹子药材中峰 1 含量较高,但整体而言所收集的 17 批菰薹子药材中,河南省和江苏省产地药材所含以上成分含量明显小于黑龙江省和山东省产地药材,通过以上对比可初步区分菰薹子药材所属产地,通过 VIP 值分析(VIP>1)筛选出 8 个关键差异成分,并测定了其中益母草苷 B、刺桐碱、7R,8S-7',8'-二羟基-二氢脱氢

松柏醇-9-O-β-D-葡萄糖苷、落叶松脂素-9-O-β-D-葡萄糖苷、环益母草肽 A 这 5 种主要影响产地差异的化学成分含量。后续将对峰 4、峰 5 和峰 8 进行分析和鉴定,从而更加全面和准确评价菰薹子药材质量,为产地溯源和优质药材筛选提供参考。

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.2020:252.
- [2] 张莲珠,王会弟.菰薹子研究进展[J].长春中医药大学学报,2012,28(5):920-921.
- [3] 黎耀东,贾芸,卢军.品种、产地及采收期对野生益母草中生物碱成分的影响[J].中成药,2011,33(10):1764-1767.
- [4] 王盼.益母草优良品种选育及种植质量控制技术初步研究[D].成都:成都中医药大学,2017.
- [5] 邓仙梅.菰薹子及炒菰薹子质量标准的研究[D].广州:广东药科大学,2016.
- [6] 郭兵.中药材和饮片质量控制方法及质量标准体系优化研究[J].实验室检测,2025(5):27-29.
- [7] 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.
- [8] 曾健,李聪,熊磊,等.中药质量现状的研究及思考[J].基层中医药,2025,4(2):120-125.
- [9] 杨小露,李水清,王淑美,等.基于主成分分析的不同产地菰薹子质量评价研究[J].广东药科大学学报,2017,33(4):461-465.
- [10] 邵璐彬,徐建中,罗页思,等.不同产地益母草种质 HPLC 指纹图谱分析[J].浙江中西医结合杂志,2019,29(8):691-694.
- [11] 吴世蓉,张波,吴文平,等.不同产地菰薹子饮片超高效液相色谱指纹图谱研究[J].中国药业,2021,30(13):74-78.
- [12] 舒锦荣,卜兆祥.抗病毒新药:无环鸟苷的实验药理及临床应用[J].中国人民解放军军医进修学院学报,1985,6(4):404-408.
- [13] 蔡维维,侯豹,陈旭红,等.王不留行中刺桐碱的分离鉴定及抗炎活性研究[J].天然产物研究与开发,2018,30(4):616-620.
- [14] 薛景,王英爱,贾献慧,等.苯乙醇苷类化合物的分类及研究进展[J].药学研究,2018,37(5):282-290.
- [15] 刘娟汝,彭成,何育霖,等.菰薹子中木脂素类化学成分及肝细胞保护作用研究[J].天然产物研究与开发,2022,34(10):1699-1706.
- [16] Morita H, Iizuka T, Gonda A, et al. Cycloleonoripeptides E and F, cyclic nonapeptides from *Leonurus heterophyllus* [J]. *J Nat Prod*, 2006, 69(5): 839-841.

[责任编辑 时圣明]