

中图分类号: R917 文献标志码: A 文章编号: 1006-4931(2023)08-0056-05
doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2023.08.013



筋骨草配方颗粒高效液相色谱指纹图谱研究*

张辉^{1,2}, 黄凯伟^{1,2Δ}, 郑晓英^{1,2}, 赵伟志^{1,2}, 仝一丹^{1,2}, 谭沛^{1,2}

(1. 华润三九医药股份有限公司, 广东 深圳 518110; 2. 华润三九现代中药制药有限公司, 广东 惠州 516000)

摘要:目的 建立筋骨草配方颗粒的高效液相色谱(HPLC)指纹图谱。方法 采用 HPLC 法, 色谱柱为 Agilent ZORBAX Eclipse Plus C₁₈ 柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 流动相为甲醇 - 0.1% 磷酸溶液 (梯度洗脱), 流速为 1.0 mL/min, 检测波长为 207 nm, 柱温为 25 °C, 进样量为 10 μL。以乙酰哈巴苷峰为参照峰, 测定 15 批样品的 HPLC 指纹图谱。采用中药色谱指纹图谱相似度评价系统 (2012 版) 进行相似度评价, 确定共有峰, 并进行聚类分析和主成分分析。结果 15 批样品的 HPLC 指纹图谱有 8 个共有峰, 指认了其中 2 个。相似度均在 0.975 ~ 1.000。15 批样品可聚为 4 类, 共提取到两大主成分, 累积方差贡献率 85.367%, 其中峰 1 和峰 4 是对样品质量影响较大的主要成分。结论 建立的 HPLC 指纹图谱操作简单, 重复性和稳定性均良好, 能整体、全面、真实地反映制剂质量的差异, 可为其质量控制及整体性评价提供参考。

关键词: 筋骨草配方颗粒; 高效液相色谱法; 指纹图谱; 质量标准

HPLC Fingerprint of Jingucao Formula Granules

ZHANG Hui^{1,2}, HUANG Kaiwei^{1,2,Δ}, ZHENG Xiaoying^{1,2}, ZHAO Weizhi^{1,2}, TONG Yidan^{1,2}, TAN Pei^{1,2}

(1. China Resources Sanjiu Medical & Pharmaceutical Co., Ltd., Shenzhen, Guangdong, China 518110; 2. China Resources Sanjiu Modern Chinese Medicine Pharmaceutical Co., Ltd., Huizhou, Guangdong, China 516000)

Abstract: Objective To establish a high-performance liquid chromatography (HPLC) fingerprint of Jingucao Formula Granules. **Methods** HPLC method was adopted, and the chromatographic column was Agilent ZORBAX Eclipse Plus C₁₈ column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), the mobile phase was methanol - 0.1% phosphoric acid solution (gradient elution), the flow rate was 1.0 mL/min, the detection wavelength was 207 nm, the column temperature was 25 °C, and the injection volume was 10 μL. The HPLC fingerprints of 15 batches of samples were determined with the 8-acetylharpagide peak as the reference peak. The Similarity Evaluation System for Chromatographic Fingerprints of Traditional Chinese Medicine (Version 2012) was used to evaluate the similarity and identify common peaks, and the cluster analysis and principal component analysis were performed. The liquid chromatography tandem mass spectrometry (LC/MS/MS) method was used to identify common peaks. **Results** There were eight common peaks in the HPLC fingerprints of 15 batches of samples, and two of them were identified. The similarity was in the range of 0.975 - 1.000. The 15 batches of samples could be clustered into four categories, and two principal components were extracted, with a cumulative variance contribution rate of 85.367%. Among them, peak 1 and peak 4 were the principal components which had significant influence on the quality of the sample. **Conclusion** The established HPLC fingerprint is simple, with good repeatability and stability, and can reflect the quality differences of the preparation in a whole, comprehensive and true way. It also can provide a reference for the quality control and overall evaluation of the preparation.

Key words: Jingucao Formula Granules; HPLC; fingerprint; quality standard

筋骨草为唇形科植物筋骨草 *Ajuga decumbens* Thunb. 的干燥全草^[1], 主要分布于浙江、江苏、福建等地, 有清热解毒、凉血消肿功效, 常用于治疗咽喉肿痛、肺热咯血、跌打肿痛等病证。民间常称金疮小草, 其名始见于唐代《本草拾遗》^[2-5]。筋骨草主要含克罗烷二萜类、环烯醚萜类、黄酮类、糖苷类、甾酮类等化合物^[6-13]。2020年版《中国药典(一部)》筋骨草项下以环烯醚萜类成分乙酰哈巴苷含量作为质量控制指标, 但乙酰哈巴苷非其专属性成分, 筋骨草的很多近缘种类

也含该成分, 故单一成分检测不能全面反映筋骨草的特点和质量^[14-17]。有研究中建立了同时测定筋骨草中多个成分含量的方法, 以更全面地控制其质量, 但尚无筋骨草指纹图谱标准研究相关报道。筋骨草在临床还有配方颗粒剂型, 使用方便。在此, 建立该制剂指纹图谱标准, 通过相似度评价和系统聚类分析, 探讨不同产地样品的差异性, 并根据主成分分析评价, 寻找影响筋骨草质量的关键性成分, 为整体评价筋骨草配方颗粒质量提供参考。现报道如下。

* 基金项目: 广东省深圳市科技计划项目 [JSGG20191129093418578]。

第一作者: 张辉, 男, 大学本科, 高级工程师, 研究方向为中药配方颗粒工艺及质量标准, (电子信箱) ycahui@999.com.cn。

Δ 通信作者: 黄凯伟, 男, 硕士研究生, 主管药师, 研究方向为中药配方颗粒工艺及质量标准, (电子信箱) huangkaiwei3@999.com.cn。

1 仪器与试药

1.1 仪器

UltiMate 3000 型高效液相色谱系统, 包括 LPG - 3400A 型四元泵、WPS - 3000TSL 型自动进样器、DAD 二极管阵列检测器、色谱工作站(美国 Thermo Fisher Scientific 公司); Agilent 1260 型色谱系统, 包括 G1311B 型四元泵、G1367E 型自动进样器、G1316A 型 PDA 二极管阵列检测器、G1330B 型柱温箱、色谱工作站(美国 Agilent 公司); Waters e2695 型色谱系统, 包括 Alliance 2695 型四元梯度输液泵、120 位高性能自动进样器、原装进口色谱柱温箱、Waters 2998 型二极管阵列紫外检测器、Empower 色谱管理系统(美国 Waters 公司); EX125DZH 型电子天平(奥豪斯仪器 <上海> 有限公司, 精度为 0.01 mg); FA1104 型电子天平(上海良平仪器仪表有限公司, 精度为 0.1 mg); SCQ - 8201 型超声波清洗机(上海声彦超声波仪器有限公司)。

1.2 试药

筋骨草配方颗粒(华润三九医药股份有限公司, 其批号分别为 S1904001Y, S1904002Y, S1904003Y, S1904004Y, S1904005Y, S1904007Y, S1904008Y, S1904009Y, S1904010Y, S1904012Y, S1904013Y, S1904014Y, S1904015Y, S1904016Y, S1904017Y); 乙酰哈巴苷对照品(批号为 111925 - 201202, 含量 94.8%), 哈巴苷对照品(批号为 111729 - 201707, 含量 96.8%), 木犀草苷 - 7 - O - 二葡萄糖醛酸苷(批号为 111729 - 201707, 含量 96.8%), 芹菜素 - 7 - O - 二葡萄糖醛酸苷(批号为 111729 - 201707, 含量 96.8%), 毛蕊花糖(批号为 111530 - 201914, 含量 95.2%), 均购于中国食品药品检定研究院; 甲醇、磷酸均为色谱纯, 甲醇为分析纯, 水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: Agilent ZORBAX Eclipse Plus C₁₈ 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇(A) - 0.1% 磷酸溶液(B),

表1 梯度洗脱程序

Tab. 1 Gradient elution programs

| 时间(min) | A(%) | 时间(min) | A(%) |
|---------|-------|---------|--------|
| 0~20 | 8→22 | 75~76 | 39→100 |
| 20~30 | 22→28 | 76~80 | 100 |
| 30~45 | 28→29 | 80~81 | 100→8 |
| 45~75 | 29→39 | 81~87 | 8 |

梯度洗脱(洗脱程序见表1); 流速: 1.0 mL/min; 检测波长: 207 nm; 柱温: 25 °C; 进样量: 10 μL。

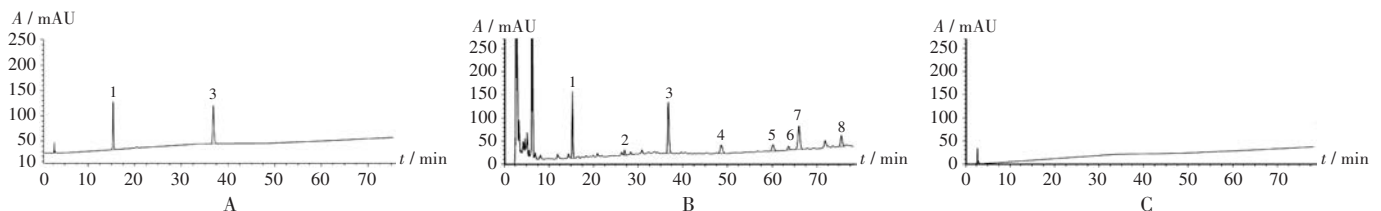
2.2 溶液制备

取哈巴苷对照品、乙酰哈巴苷对照品各适量, 精密称定, 加 50% 甲醇制成每 1 mL 分别含哈巴苷、乙酰哈巴苷 0.2 mg 的混合对照品溶液。取样品(研细)约 0.4 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 50% 甲醇 25 mL, 密塞, 超声(功率 250 W、频率 40 kHz, 下同)处理 45 min, 放冷, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得供试品溶液。按筋骨草配方颗粒处方及工艺制备不含筋骨草药材的阴性样品, 取适量, 按供试品溶液制备方法制得阴性对照品溶液。

2.3 方法学考察

专属性试验及系统适用性试验: 精密吸取 2.2 项下 3 种溶液各 10 μL, 按 2.1 项下色谱条件进样测定, 记录色谱图。结果供试品溶液色谱在与混合对照品溶液色谱相应位置有吸收峰, 理论板数按乙酰哈巴苷峰计应不低于 2 000, 分离度均大于 1.5, 且阴性对照无干扰, 表明专属性良好。详见图 1。

精密度试验: 日内精密度, 取同一份供试品溶液适量, 按 2.1 项下色谱条件在 1 d 内连续进样测定 6 次, 以 3 号峰为参照(s)峰(下同), 计算各共有峰的相对保留时间。结果各共有峰的 RSD 均小于 1.0% (n = 6), 表明方法日内精密度良好。中间精密度, 取同一批供试品溶液, 2 份, 分别由 2 名检验员在不同时间用同一台设备, 按 2.1 项下色谱条件进样测定, 计算各共有峰的相对保留时间。结果各共有峰相对保留时间的 RSD 均小



1. 哈巴苷 3. 乙酰哈巴苷
A. 对照品溶液 B. 供试品溶液 C. 阴性对照品溶液
图1 高效液相色谱图
1. Harpagide 3. 8 - Acetylharpagide
A. Reference solution B. Test solution C. Negative reference solution

Fig. 1 HPLC chromatograms

于 1.0% ($n = 6$), 表明方法的中间精密度良好。

稳定性试验:取同一批供试品溶液适量, 室温下分别于 0, 4, 8, 12, 18, 24 h 时按 2.1 项下色谱条件进样测定, 计算各共有峰的相对保留时间。结果各共有峰相对保留时间的 RSD 均小于 1.0% ($n = 6$), 表明供试品溶液室温下放置 24 h 内基本稳定。

重复性试验:取同一批供试品溶液 6 份, 按 2.1 项下色谱条件进样测定, 并计算各共有峰的相对保留时间。结果各共有峰相对保留时间的 RSD 均小于 1.0%

($n = 6$), 表明方法重复性良好。

2.4 指纹图谱的建立及分析

2.4.1 指纹图谱的建立及相似度评价

取 15 批样品各适量, 按 2.2 项下方法制备供试品溶液, 再按 2.1 项下色谱条件进样测定, 记录色谱图, 导入中药色谱指纹图谱相似度评价系统 (2012 版), 采用中位数法, 时间窗宽度设置为 0.1 min, 运用多点校正 Mark 峰匹配, 生成对照指纹图谱。结果见图 2、图 3 及表 2。

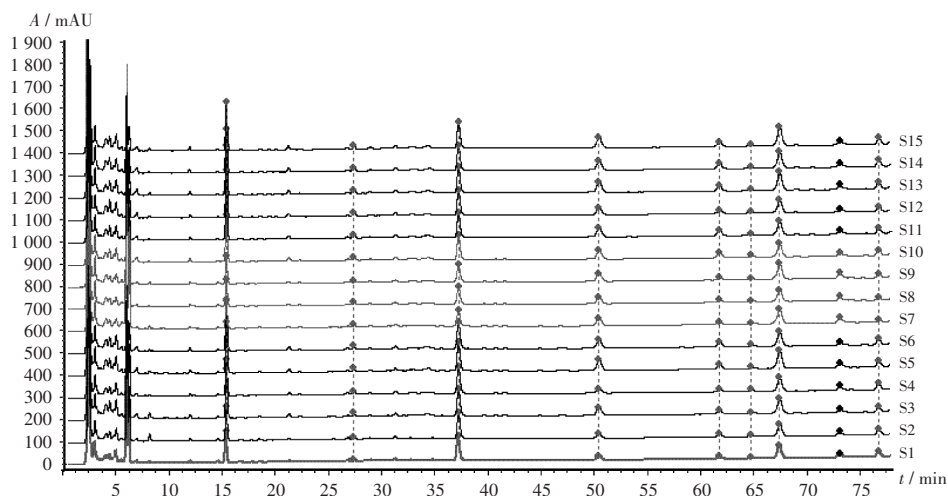


图 2 15 批筋骨草配方颗粒的高效液相色谱叠加指纹图谱

Fig. 2 HPLC superimposed fingerprints of 15 batches of Jinggucao Formula Granules

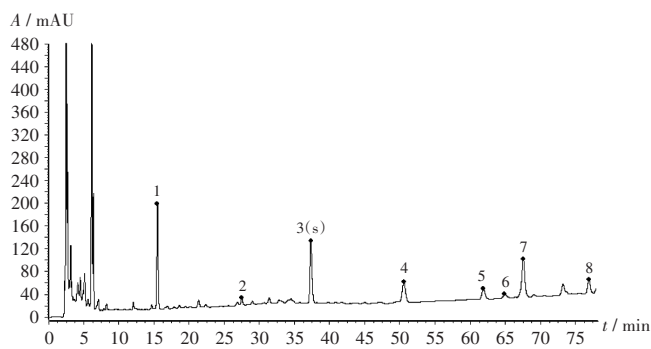


图 3 筋骨草配方颗粒高效液相色谱对照指纹图谱

Fig. 3 HPLC reference fingerprint of Jinggucao Formula Granules

对照指纹图谱呈现 8 个色谱峰。其中 1, 3 号峰的保留时间应与相应混合对照品溶液色谱峰的保留时间相对应, 各色谱峰的相对保留时间应在规定值 $\pm 10\%$ 范围内。规定值为 0.74 (峰 2)、1.35 (峰 4)、1.66 (峰 5)、1.74 (峰 6)、1.81 (峰 7)、2.06 (峰 8)。利用中药色谱指纹图谱相似度评价系统 (2012 版), 供试品指纹图谱与对照指纹图谱经 Mark 峰相似度计算, 相似度不得低于 0.90, 结果见表 2。

2.4.2 聚类分析

采用 SPSS 23.0 统计学软件, 以共有峰的峰面积为变量, 采用组间联接法、平方欧式距离对 15 批样品进行

聚类分析, 结果可聚为 4 类, 详见图 4。原料产地, 第一类 (S7, S8, S9) 为贵州省遵义市播州区, 第二类 (S1, S2, S3) 为河南省驻马店市确山县, 第三类 (S10, S14, S15) 为贵州省黔南布依族苗族自治州独山县, 第四类 (S4, S5, S6, S11, S12, S13) 为距离较近的四川省广元市剑阁县 (S5, S13) 及青川县 (S4, S6, S11, S12)。聚类分析结果基本与产地分布特点一致。

2.4.3 主成分分析

采用 SPSS 23.0 统计学软件, 以 8 个共有峰的峰面积为变量进行主成分分析, 结果见表 3。提取原则为特征值 > 1 和累积贡献率 $> 85\%$, 结果主成分 1, 2 的特征值分别为 4.705, 2.124, 贡献率分别为 58.811%, 26.556% (累积贡献率为 85.367%)。对成分矩阵进行了具有 Kaiser 标准化的正交旋转, 得到 8 个指标 (峰) 在 2 个主成分旋转成分矩阵。成分载荷矩阵的数值及正负代表变量在主成分中的载荷, 载荷越大, 表明该化合物在主成分分析中作用越大。结果显示, 峰 1 (哈巴苷) 对主成分 1 的影响较大, 峰 4 (木犀草苷 - 7 - O - 二葡萄糖醛酸苷) 对主成分 2 的影响较大。详见表 4、图 5。

3 讨论

3.1 色谱条件优选

检测波长, 预试验中比较了色谱峰信息较多的 4 个

表2 15批筋骨草配方颗粒指纹图谱相似度评价结果

Tab. 2 Similarity evaluation results of the fingerprints of 15 batches of Jingucao Formula Granules

| 编号 | S1 | S2 | S3 | S4 | S5 | S6 | S7 | S8 | S9 | S10 | S11 | S12 | S13 | S14 | S15 | R |
|-----|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| S1 | 1.000 | 0.998 | 0.985 | 0.999 | 0.984 | 0.982 | 0.952 | 0.975 | 0.952 | 0.979 | 0.978 | 0.982 | 0.977 | 0.983 | 0.980 | 0.988 |
| S2 | 0.998 | 1.000 | 0.987 | 1.000 | 0.980 | 0.983 | 0.940 | 0.967 | 0.939 | 0.976 | 0.977 | 0.985 | 0.972 | 0.979 | 0.974 | 0.985 |
| S3 | 0.985 | 0.987 | 1.000 | 0.985 | 0.995 | 0.999 | 0.957 | 0.978 | 0.953 | 0.995 | 0.997 | 1.000 | 0.991 | 0.995 | 0.991 | 0.996 |
| S4 | 0.999 | 1.000 | 0.985 | 1.000 | 0.980 | 0.982 | 0.944 | 0.969 | 0.943 | 0.976 | 0.976 | 0.984 | 0.973 | 0.979 | 0.975 | 0.986 |
| S5 | 0.984 | 0.980 | 0.995 | 0.980 | 1.000 | 0.997 | 0.979 | 0.992 | 0.977 | 0.997 | 0.996 | 0.993 | 0.999 | 0.999 | 0.999 | 1.000 |
| S6 | 0.982 | 0.983 | 0.999 | 0.982 | 0.997 | 1.000 | 0.961 | 0.979 | 0.957 | 0.998 | 0.999 | 0.999 | 0.994 | 0.998 | 0.993 | 0.997 |
| S7 | 0.952 | 0.940 | 0.957 | 0.944 | 0.979 | 0.961 | 1.000 | 0.994 | 0.999 | 0.965 | 0.962 | 0.951 | 0.982 | 0.975 | 0.985 | 0.977 |
| S8 | 0.975 | 0.967 | 0.978 | 0.969 | 0.992 | 0.979 | 0.994 | 1.000 | 0.992 | 0.982 | 0.980 | 0.974 | 0.991 | 0.988 | 0.994 | 0.991 |
| S9 | 0.952 | 0.939 | 0.953 | 0.943 | 0.977 | 0.957 | 0.999 | 0.992 | 1.000 | 0.961 | 0.957 | 0.947 | 0.980 | 0.972 | 0.983 | 0.975 |
| S10 | 0.979 | 0.976 | 0.995 | 0.976 | 0.997 | 0.998 | 0.965 | 0.982 | 0.961 | 1.000 | 1.000 | 0.995 | 0.996 | 0.998 | 0.994 | 0.996 |
| S11 | 0.978 | 0.977 | 0.997 | 0.976 | 0.996 | 0.999 | 0.962 | 0.980 | 0.957 | 1.000 | 1.000 | 0.997 | 0.995 | 0.998 | 0.993 | 0.996 |
| S12 | 0.982 | 0.985 | 1.000 | 0.984 | 0.993 | 0.999 | 0.951 | 0.974 | 0.947 | 0.995 | 0.997 | 1.000 | 0.989 | 0.993 | 0.988 | 0.994 |
| S13 | 0.977 | 0.972 | 0.991 | 0.973 | 0.999 | 0.994 | 0.982 | 0.991 | 0.980 | 0.996 | 0.995 | 0.989 | 1.000 | 0.999 | 1.000 | 0.998 |
| S14 | 0.983 | 0.979 | 0.995 | 0.979 | 0.999 | 0.998 | 0.975 | 0.988 | 0.972 | 0.998 | 0.998 | 0.993 | 0.999 | 1.000 | 0.998 | 0.999 |
| S15 | 0.980 | 0.974 | 0.991 | 0.975 | 0.999 | 0.993 | 0.985 | 0.994 | 0.983 | 0.994 | 0.993 | 0.988 | 1.000 | 0.998 | 1.000 | 0.998 |
| R | 0.988 | 0.985 | 0.996 | 0.986 | 1.000 | 0.997 | 0.977 | 0.991 | 0.974 | 0.996 | 0.996 | 0.994 | 0.998 | 0.999 | 0.998 | 1.000 |

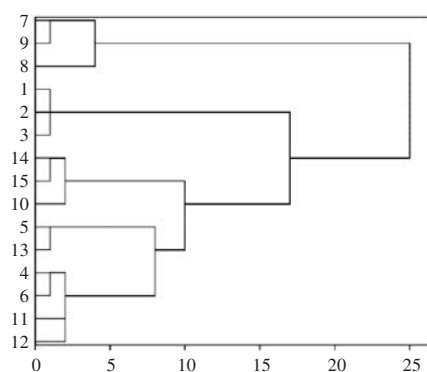


图4 系统聚类分析

Fig. 4 System cluster analysis

表3 主成分的特征值和方差贡献率

Tab. 3 Eigenvalues and variance contribution rates of principal components

| 成分 | 初始特征值 | | | 提取载荷平方和 | | |
|----|-------|-----------|-----------|---------|-----------|-----------|
| | 总计 | 方差百分比 (%) | 累积百分比 (%) | 总计 | 方差百分比 (%) | 累积百分比 (%) |
| 1 | 4.705 | 58.811 | 58.811 | 4.705 | 58.811 | 58.811 |
| 2 | 2.124 | 26.556 | 85.367 | 2.124 | 26.556 | 85.367 |
| 3 | 0.605 | 7.558 | 92.925 | | | |
| 4 | 0.290 | 3.623 | 96.549 | | | |
| 5 | 0.225 | 2.811 | 99.360 | | | |
| 6 | 0.044 | 0.551 | 99.911 | | | |
| 7 | 0.006 | 0.073 | 99.984 | | | |
| 8 | 0.001 | 0.016 | 100.000 | | | |

波长(207, 230, 280, 330 nm)的色谱图,发现波长为207 nm时,特征图谱的峰信息量较大,且各峰响应值相

表4 旋转成分矩阵

Tab. 4 Rotation component matrix

| 峰号 | 成分1 | 成分2 | 峰号 | 成分1 | 成分2 | 峰号 | 成分1 | 成分2 |
|----|-------|--------|----|-------|--------|----|-------|--------|
| 1 | 0.968 | -0.011 | 4 | 0.623 | 0.763 | 7 | 0.557 | 0.680 |
| 2 | 0.873 | 0.113 | 5 | 0.907 | 0.213 | 8 | 0.745 | -0.441 |
| 3 | 0.814 | -0.517 | 6 | 0.516 | -0.748 | | | |

对较高,同时,筋骨草药材有效成分环烯醚萜类的最大吸收波长为200~210 nm,综合考虑,选择207 nm为该方法的检测波长。流动相,考察了甲醇-0.1%磷酸溶液、0.1%醋酸-甲醇、0.1%甲酸-甲醇对色谱峰的分离效果,发现以甲醇-0.1%磷酸溶液为流动相时,各色谱峰对称性较好,且基线较平稳,并进一步考察了该流动相使用不同体积分数(0.05%,0.1%,0.2%)磷酸的效果,结果各色谱峰的系统适用性参数无明显差异,因此,确定流动相为甲醇-0.1%磷酸溶液体系。还考察了不同流速(0.8,1.0,1.2 mL/min)及不同柱温(20,25,30℃)下色谱峰分离的效果,结果流速为1.0 mL/min、柱温为25℃时,各色谱峰信息量较大且分离效果较好,故选择。

3.2 供试品溶液制备方法优选

提取方式,比较了超声和加热回流提取方法,结果差异不大,选择更方便的超声提取,进一步考察超声功率为200~300 W的效果,效果均较好,而250 W较常见;溶剂类型,考察了水、甲醇、乙醇、30%甲醇、50%甲醇、70%甲醇,发现甲醇及乙醇对前端色谱峰的峰形影响较大,乙醇会造成峰缺失情况,而50%甲醇为溶剂时

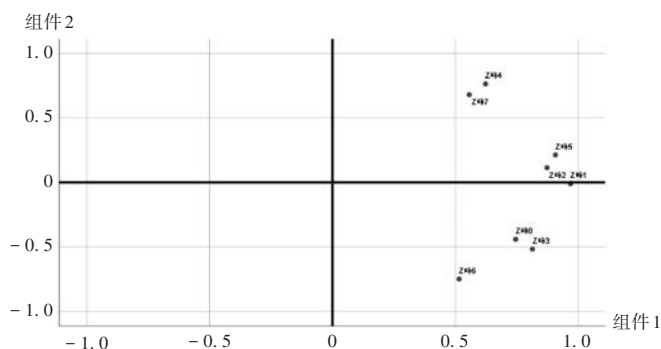


图5 旋转成分载荷图

Fig. 5 Rotation component loading diagram

色谱峰的信息量较多,且响应值较大,故选择50%甲醇为提取溶剂;提取时间,考察了15,30,45,60 min,当提取时间在30~60 min时,色谱峰的总峰面积差异不大,选择45 min,因此时样品基本溶解完全;取样量,考察范围0.2~1.0 g,发现取样量在0.2~0.8 g范围内时各特征成分能被完全提取,考虑到色谱峰的响应值,取样量选择0.4 g;溶剂用量,考察范围15~50 mL,该范围内各特征成分均能被完全提取,考虑到峰的响应值,溶剂用量选择25 mL。

3.3 评价结果分析

15批样品的相似度均大于0.95,样品之间的相似度较高,并且通过了多批次样品的分析,确定8个共有峰,并对其相对保留时间进行明确规定。本研究中建立的指纹图谱在特征峰的个数和分离度方面明显优于文献[12-13,16-17]的报道,主要因为筋骨草药材近缘品种较多,基源方面缺乏考证,导致应用混乱。目前文献报道的多为其近似品种白毛夏枯草 *Ajuga ciliata* Bunge.、紫背金盘 *Ajuga nipponensis* Makino.,而本研究中主要对2020年版《中国药典(一部)》筋骨草项下明确的基源金疮小草 *Ajuga decumbens* Thunb. 进行系统研究,因此,建立的指纹图谱更能针对性地反映其化学成分特点和质量情况。

在色谱分析基础上,本研究中还采用聚类分析对筋骨草配方颗粒进行质量评价,可分为4类,此结果趋势与不同产地有一定关系。主成分分析确定峰1和峰4对筋骨草配方颗粒质量的影响较大。龚明等^[13]发现,筋骨草属植物均含乙酰哈巴苷和哈巴苷,因此,2020年版《中国药典(一部)》筋骨草的含量测定项^[3]仅以乙酰哈巴苷为指标,不能真实反映筋骨草的质量水平。本研究中发现木犀草苷-7-O-二葡萄糖醛酸苷也对样品质量的影响较大,但目前尚无该成分对筋骨草属植物质量影响的报道。下一步拟从该特征性成分出发,寻找筋骨草属不同品种的差异,建立专属性较好的含量测定方法。

综上所述,本研究中建立筋骨草配方颗粒的HPLC指纹图谱,并使用化学计量技术分析了不同产地原料制得样品的质量,明确了具体成分对样品质量的影响,可为进一步加强该制剂的质量控制提供参考。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 361.
- [2] 戴子启, 李云耀, 易刚强, 等. 筋骨草属几种易混植物本草考证及鉴定[J]. 中国医药导报, 2010, 7(3): 104-105.
- [3] 刘开全, 邓洪平, 马学萍. 国产唇形科筋骨草属(*Ajuga*)研究概况[J]. 曲靖师范学院学报, 2010, 29(6): 32-35.
- [4] 郭巧生, 陈宇航. 夏枯草基原植物及其食疗历史考证[J]. 中国中药杂志, 2011, 36(21): 3057-3062.
- [5] 王勇庆, 王智, 刘浩, 等. 湖南金疮小草资源调查研究[J]. 中国现代中药, 2016, 18(6): 724-729.
- [6] 桑巴曙, 黄祖华, 闵知大. 金疮小草中新的 neo-克罗烷的分离[J]. 中国天然药物, 2005, 3(5): 284-286.
- [7] 孙占平, 桂丽萍, 郭远强, 等. 金疮小草化学成分分离与鉴定[J]. 沈阳药科大学学报, 2012, 29(10): 758-764.
- [8] AMANO T, NISHIDA R, KUWAHARA Y. Ajugatakasins A and B, New Diterpenoids from *Ajuga decumbens*, and Feeding Stimulative Activity of Related Neoclerodane Analogs toward the Turnip Sawfly [J]. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 1997, 61(9): 1518-1522.
- [9] HUANG XC, QIN S, GUO YW, et al. Four New Neoclerodane Diterpenoids from *Ajuga decumbens* [J]. *Helvetica Chimica Acta*, 2008, 91(4): 628-634.
- [10] LYU H, LUO J, KONG L. A new neo-clerodane diterpene from *Ajuga decumbens* [J]. *Natural Product Research*, 2014, 28(3): 196-200.
- [11] 郭新东, 黄志纾, 鲍雅丹, 等. 筋骨草的化学成分研究[J]. 中草药, 2005, 36(5): 646-648.
- [12] 王森, 管敏. 高效液相色谱波长切换法同时测定筋骨草中5种成分含量[J]. 中国药业, 2021, 30(6): 47-50.
- [13] 龚明, 陈林, 李娟, 等. 筋骨草属药材中哈巴苷和乙酰哈巴苷的含量测定[J]. 湖南中医杂志, 2017, 33(5): 172-174.
- [14] 温彬宇, 李建荣. HPLC-ELSD同时测定筋骨草药材中乙酰哈巴苷和哈巴苷含量[J]. 中国中医药信息杂志, 2014, 21(7): 89-92.
- [15] 王锦玉, 全燕, 王智民, 等. RP-HPLC法同时测定筋骨草药材中哈巴苷和乙酰哈巴苷含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2009, 15(11): 26-28.
- [16] 张慧, 夏厚林, 杨孟妮, 等. HPLC测定美花筋骨草中三种黄酮的含量[J]. 中药与临床, 2017, 8(2): 19-21.
- [17] 聂万松, 汪艳, 占晓敏, 等. 液相色谱法测定筋骨草胶囊特征图谱研究[J]. 安徽医药, 2019, 23(1): 46-49.

(收稿日期: 2022-08-05; 修回日期: 2022-10-15)