

中图分类号: R932; R284.1 文献标志码: A 文章编号: 1006-4931(2026)10-0103-05
doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2026.10.021



鄂西地区不同产地有齿鞘柄木叶质量评价

蔡 恒, 张万涛

(湖北省恩施土家族苗族自治州中心医院, 湖北 恩施 445000)

摘要:目的 为加强鄂西地区不同产地有齿鞘柄木叶的质量控制提供参考。方法 采用高效液相色谱(HPLC)法, 色谱柱为 Kromasil 100-5 C₁₈ 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 流动相为乙腈-0.1% 磷酸水溶液(梯度洗脱), 流速为 1.0 mL/min, 检测波长为 332 nm, 柱温为 30 °C, 进样量为 10 μL。采用中药色谱指纹图谱相似度评价系统软件(2012.130723 版)建立药材 HPLC 指纹图谱, 标定共有峰, 指认成分, 并进行相似度评价; 结合化学计量学分析[聚类分析(CA)、主成分分析(PCA)、正交偏最小二乘-判别分析(OPLS-DA)]筛选差异标志物。结果 精密度、稳定性、重复性试验结果的 RSD 均小于 3%。10 批样品共标定 15 个共有峰, 并指认了 3 个成分, 分别为绿原酸、金丝桃苷、异槲皮苷。除 1 批样品外, 其余样品相似度均大于 0.9, 相似度良好。CA、PCA 和 OPLS-DA 均将样品分为 2 类, 并筛选出 11 个差异标志物, 包含绿原酸和异槲皮苷。结论 所建方法稳定性和重复性良好, 结果准确, 可用于齿鞘柄木叶的质量控制, 为鄂西不同地区齿鞘柄木叶资源开发提供参考。

关键词: 高效液相色谱法; 指纹图谱; 有齿鞘柄木叶; 化学计量学分析

Quality Evaluation of *Toricellia Angulata* Oliv. var. *Intermedia* (Harms.) Hu Leaves from Different Places of Production in Western Hubei Province

CAI Heng, ZHANG Wantao

(The Central Hospital of Enshi Tujia and Miao Autonomous Prefecture, Enshi, Hubei 445000, China)

Abstract: Objective To provide a reference for strengthening the quality control of *Toricellia angulata* Oliv. var. *intermedia* (Harms.) Hu leaves from different places of production in Western Hubei Province. **Methods** The high-performance liquid chromatography (HPLC) method was used. The chromatographic column was Kromasil 100-5 C₁₈ column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), the mobile phase was acetonitrile-0.1% phosphoric acid aqueous solution (gradient elution), the flow rate was 1.0 mL/min, the detection wavelength was 332 nm, the column temperature was 30 °C, and the injection volume was 10 μL. The *Traditional Chinese Medicine Chromatographic Fingerprint Similarity Evaluation System Software* (2012.130723 version) was used to establish the HPLC fingerprint of medicinal materials, mark the common peaks, identify the components, and evaluate the similarity; Differential markers were screened by combining with chemometrics analysis [Cluster Analysis (CA), Principal Component Analysis (PCA), and Orthogonal Partial Least Squares Discriminant Analysis (OPLS-DA)]. **Results** The RSDs of precision, stability and repeatability test results were lower than 3%. A total of 15 common peaks were marked for 10 batches of samples, and three components were identified, which were chlorogenic acid, hyperoside and isoquercitrin. Except for one batch of samples, the similarity of other samples was greater than 0.9, and the similarity was good. CA, PCA and OPLS-DA all divided the samples into two categories, and screened 11 differential markers, including chlorogenic acid and isoquercitrin. **Conclusion** The established method has good stability and repeatability, and the results are accurate, which can be used for the quality control of the *Toricellia angulata* Oliv. var. *intermedia* (Harms.) Hu leaves, and can provide a reference for the development of the resources of *Toricellia angulata* Oliv. var. *intermedia* (Harms.) Hu leaves in different places of Western Hubei Province.

Key words: HPLC; fingerprint; *Toricellia angulata* Oliv. var. *intermedia* (Harms.) Hu leaves; chemometrics analysis

有齿鞘柄木叶为山茱萸科鞘柄木属植物有齿鞘柄木 *Toricellia angulata* Oliv. var. *intermedia* (Harms.) Hu 的干燥叶, 有舒筋活血、祛风利湿等功效, 临床用于治疗骨折、跌打损伤、肠炎腹泻等病症^[1-3]。现代药理研究表明, 有齿鞘柄木叶提取物具有较好的抗炎、镇痛活性^[4-5]。目前对有齿鞘柄木的研究多集中于其根皮及树皮^[6-8], 该药材在 2018 年版《湖北省中药材质量标准》中也仅以根皮入药^[2], 对其叶的研究相对较少, 然而相

较有齿鞘柄根皮, 叶作为可再生资源, 具有产量大、易获得、采收周期短等优势, 具有开发潜力。有研究中建立了有齿鞘柄木叶醇提物的高效液相色谱(HPLC)指纹图谱, 另有研究中通过 HPLC 指纹图谱及化学计量学方法揭示了产地与不同采收期的化学成分差异及变化规律^[9-11], 为其质量评价提供了重要依据。鄂西地区因其独特的地形地貌及生物多样性, 可能对药用植物的次生代谢产物累积产生显著影响^[12-13], 目前尚无该地

第一作者: 蔡恒, 女, 硕士研究生, 主管药师, 研究方向为民族药的整理与开发, (电子信箱)113451651@qq.com。

区有齿鞘柄木叶 HPLC 指纹图谱研究的相关报道。鉴于此,本研究中拟构建相应图谱,结合聚类分析(CA)法、主成分分析(PCA)法、正交偏最小二乘-判别分析(OPLS-DA)法等化学计量学方法分析不同批次样品的内在质量,旨在为鄂西地区有齿鞘柄木叶质量控制、地方药材标准完善及药用资源开发利用提供参考。现报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

LC-20AD 型高效液相色谱仪(日本 Shimadzu 公司);KQ-500VDE 型恒温超声波清洗机(昆山市超声仪器有限公司);CPA225D 型、BSA224S-CW 型电子分析天平(赛多利斯科学仪器<北京>有限公司,精度分别为 0.01 mg 和 0.1 mg);KH3-LAB-L 型超纯水机(山东康辉水处理设备有限公司)。

1.2 试剂

10 批有齿鞘柄木叶样品(编号 S1-S10,来源信息见表 1),采集于鄂西不同产地,经湖北省恩施土家族苗族自治州中心医院药学部张思波主任药师鉴定为正品(去除杂质后,晒干备用)。金丝桃苷对照品(批号为 482-36-0,含量 98%),绿原酸对照品(批号为 327-97-9,含量 98%),异槲皮苷对照品(批号为 482-35-9,含量 98%),均购自成都埃法生物科技有限公司;乙腈为色谱纯,其余试剂均为分析纯,水为超纯水。

表 1 有齿鞘柄木叶样品来源信息

Tab. 1 Source information of *Torriceilia angulata* Oliv. var. *intermedia* (Harms.) Hu leaves samples

编号	产地	采集时间	编号	产地	采集时间
S1	宣恩县	2023-06-03	S6	恩施市	2023-06-05
S2	宣恩县	2023-06-03	S7	恩施市	2023-06-05
S3	宣恩县	2023-06-03	S8	利川市	2023-06-10
S4	恩施市	2023-06-02	S9	利川市	2023-06-10
S5	恩施市	2023-06-02	S10	利川市	2023-06-10

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:Kromasil 100-5 C₁₈柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm);流动相:乙腈(A)-0.1% 磷酸水溶液(B),梯度洗脱(0~5 min 时 10%A, 5~20 min 时 10%A → 15%A, 20~40 min 时 15%A → 40%A, 40~50 min 时 40%A → 60%A, 50~60 min 时 60%A);流速:1.0 mL/min;检测波长:332 nm;柱温:30 °C;进样量:10 μL。

2.2 溶液制备

混合对照品溶液:取绿原酸、金丝桃苷、异槲皮苷对照品各约 10 mg,精密称定,分别置 10 mL 容量瓶中,加甲醇溶液溶解,即得绿原酸、金丝桃苷、异槲皮苷质

量浓度分别为 982.94 μg/mL、1 104.46 μg/mL、1 156.40 μg/mL 的单一对照品贮备液;各精密量取 2 mL,置同一 25 mL 容量瓶中,加甲醇溶液定容,摇匀,即得绿原酸、金丝桃苷、异槲皮苷质量浓度分别为 78.64 μg/mL、88.36 μg/mL、95.51 μg/mL 的混合对照品溶液。

供试品溶液:取样品粉末(过 3 号筛)0.5 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入甲醇 25 mL,密塞,称定质量,超声处理(功率 240 W、频率 45 kHz,下同)30 min,放冷,再次称定质量,用甲醇补足减失的质量,摇匀,经 0.45 μm 微孔滤膜过滤,取续滤液,即得。

2.3 方法学考察

精密度试验:取同一批样品(S1)适量,按 2.2 项下方法制备供试品溶液,按 2.1 项下色谱条件连续进样测定 6 次,记录色谱图。以 5 号峰(金丝桃苷)为参照峰(保留时间适中,便于校准),计算各共有峰相对保留时间(RRT)和相对峰面积(RPA),结果的 RSD 分别小于 0.91% 和 2.95%(n=6),表明方法精密度良好。

稳定性试验:取同一批样品(S1)适量,按 2.2 项下方法制备供试品溶液,室温放置 0, 2, 4, 6, 8, 12, 18, 24 h 时按 2.1 项下色谱条件进样测定,记录色谱图。以 5 号峰(金丝桃苷)为参照峰,计算各共有峰的 RRT 和 RPA,结果的 RSD 分别小于 0.95% 和 2.66%(n=8),表明供试品溶液室温放置 24 h 内基本稳定。

重复性试验:取同一批样品(S1)适量,按 2.2 项下方法制备供试品溶液,平行 6 份,按 2.1 项下色谱条件进样测定,记录色谱图。以 5 号峰(金丝桃苷)为参照峰,计算各共有峰的 RRT 和 RPA,结果的 RSD 分别小于 0.88% 和 2.69%(n=6),表明方法重复性良好。

2.4 HPLC 指纹图谱建立及相似度评价

取 10 批样品适量,按 2.2 项下方法制备供试品溶液,按 2.1 项下色谱条件下进样测定,将所得色谱图导入中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012.130723 版),以样品编号 S1 为参照图谱,采用平均数法,时间窗宽度设为 0.1 min,以多点校正、Mark 峰匹配建立有齿鞘柄木叶的 HPLC 叠加指纹图谱(见图 1)及 HPLC 对照指纹图谱(见图 2),结果确定了 15 个共有峰,通过与混合对照品色谱图(见图 3)比对,指认出其中 3 个共有峰,分别为峰 1(绿原酸),峰 5(金丝桃苷),峰 6(异槲皮苷)。除参照峰外,其余 14 个共有峰 RPA 的 RSD 为 8.70%~74.47%,波动范围较大,表明不同样品之间的同一成分含量差异较大。详见表 2。10 批样品,除样品 S5 相似度较低(0.781)外,其余批次样品的相似度分别为 0.998, 0.990, 0.997, 0.997, 0.999, 0.998, 1.000, 0.962, 0.998, 均大于 0.9,相似度良好,表明绝大多数批次样品化学成分基本一致,质量相对稳定。

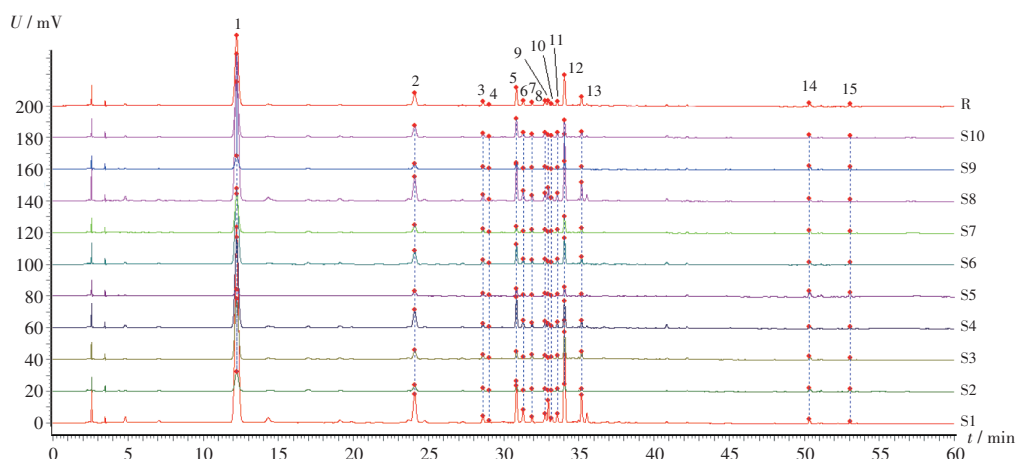


图1 10批样品的高效液相色谱叠加指纹图谱

Fig. 1 HPLC overlap fingerprint of 10 batches of samples

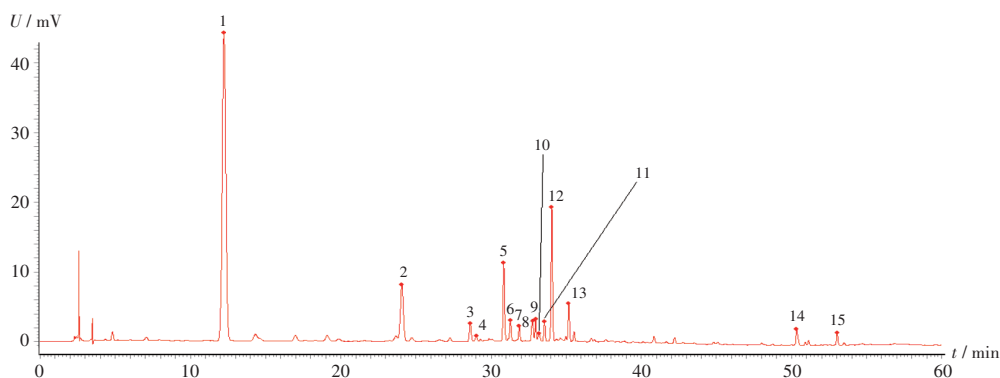
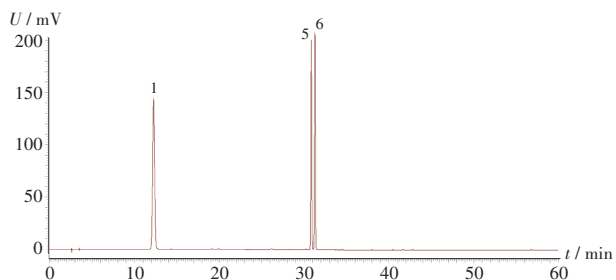


图2 样品的高效液相色谱对照指纹图谱

Fig. 2 HPLC reference fingerprint of sample



1. 绿原酸 5. 金丝桃苷 6. 异槲皮苷

图3 混合对照品溶液高效液相色谱图

1. Chlorogenic acid 5. Hyperoside 6. Isoquercitrin

Fig. 3 HPLC chromatogram of mixed reference solution

2.5 化学计量学分析

CA:以10批样品的15个共有峰峰面积为变量建立样本,导入SPSS 21.0统计学分析软件,采用组间连接系统聚类法,以平方欧氏距离为测度进行CA,CA树状图见图4。可见,当平方欧氏距离为10时,10批样品可聚为2类,其中S1、S8为I类;S2-S7、S9-S10为II类,表明10批样品指纹图谱存在组间差异。

PCA:以15个共有峰的峰面积为变量,导入SIMCA 14.1软件进行PCA。PCA模型中所有数据点均在95%置信区间内,模型解释率参数 $R^2X(cum) = 0.999$,模型

预测力参数 $Q^2(cum) = 0.978$, R^2 和 Q^2 均不小于0.5^[14-15],表明模型稳定可靠并具有良好的预测性,10批有样品可分为2类,与CA结果基本一致。详见图5。

OPLS-DA:在PCA结果的基础上,以15个共有峰峰面积为变量,导入SIMCA 14.1软件进行OPLS-DA分析。结果共提取2个主成分,主成分模型参数 $R^2X(cum) = 0.984$, $R^2Y(cum) = 0.896$, $Q^2(cum) = 0.818$, R^2 和 Q^2 均不小于0.5,表明模型有效可靠。10批样品可分为2类,区分明显,与PCA结果一致。详见图6。15个共有峰变量重要性投影(VIP)值见图7。以VIP值大于1且误差线不超过原点^[16]的成分作为影响鄂西不同产地有齿鞘柄木叶药材差异标志物,结果提取了11个差异标志物,VIP值从大到小依次为峰9、峰13、峰12、峰10、峰1(绿原酸)、峰3、峰4、峰2、峰11、峰6(异槲皮苷)和峰8。经过200次置换检验, R^2 与 Q^2 的回归线与Y轴的截距分别为 $0.276 < 0.4$ 、 $-0.889 < 0.05$ ^[17],说明该模型不存在过拟合,模型验证有效。详见图8。

3 讨论

3.1 检测条件选择

预试验中考察了不同流动相(甲醇-水、甲醇-

表2 10批样品中15个共有峰RPA测定结果

Tab.2 RPA determination results of 15 common peaks in 10 batches of samples

峰号	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	RSD(%)
1	10.968 0	7.980 5	19.433 9	6.772 3	1.769 0	8.961 3	13.677 6	9.271 4	4.513 1	6.978 3	54.39
2	1.314 4	1.997 9	2.268 3	1.096 7	1.189 7	1.304 4	2.097 6	1.219 4	1.536 3	1.238 3	28.21
3	0.212 8	0.691 5	0.702 3	0.180 5	0.392 8	0.271 9	0.680 8	0.198 6	0.527 8	0.257 2	53.15
4	0.067 4	0.196 0	0.219 0	0.062 3	0.160 4	0.092 5	0.202 6	0.063 3	0.168 9	0.080 8	48.65
5(S)	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	0
6	0.325 4	0.251 1	0.264 8	0.265 2	0.255 4	0.277 4	0.254 2	0.302 4	0.259 7	0.276 7	8.70
7	0.122 8	0.318 4	0.562 9	0.152 1	0.124 3	0.197 1	0.462 2	0.148 7	0.243 2	0.184 6	60.21
8	0.251 3	0.554 6	0.640 0	0.242 5	0.359 2	0.315 8	0.590 0	0.253 7	0.441 8	0.291 2	38.57
9	0.456 2	0.124 0	0.124 7	0.110 2	0.206 6	0.112 3	0.123 4	0.317 7	0.166 2	0.110 4	62.26
10	0.137 7	0.169 5	0.294 5	0.075 5	0.062 1	0.117 5	0.227 3	0.118 0	0.105 8	0.088 7	51.94
11	0.198 3	0.384 3	0.450 4	0.180 5	0.231 0	0.230 3	0.407 2	0.199 3	0.303 8	0.211 6	35.61
12	2.410 9	1.261 1	3.593 0	0.859 9	1.146 5	1.344 9	2.439 2	1.798 6	1.206 7	0.924 2	51.26
13	0.630 1	0.433 8	0.922 7	0.232 7	0.258 3	0.355 7	0.678 2	0.476 8	0.339 6	0.265 9	48.51
14	0.112 2	0.728 1	0.641 4	0.093 5	0.892 4	0.194 0	0.653 9	0.104 4	0.816 7	0.191 0	74.47
15	0.052 1	0.448 6	0.384 4	0.075 1	0.554 0	0.131 8	0.423 5	0.060 4	0.506 9	0.137 3	73.18

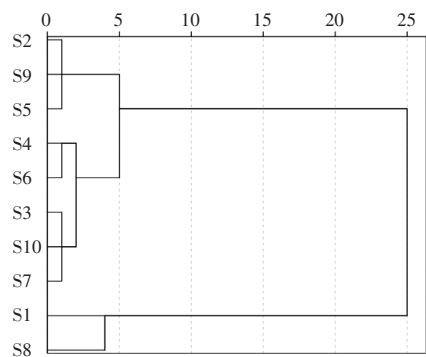


图4 聚类分析树状图
Fig.4 Dendrogram of CA

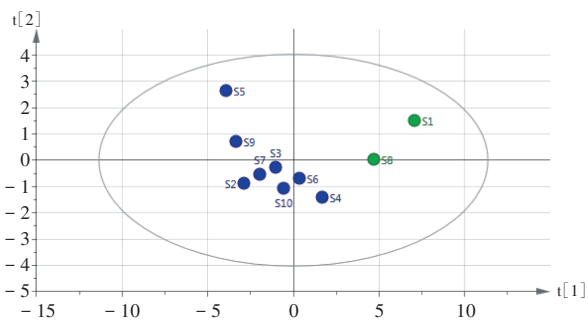


图5 PCA得分图
Fig.5 PCA score plot

0.1% 磷酸水溶液、乙腈 - 水、乙腈 - 0.1% 磷酸水溶液)对检测结果的影响,结果以乙腈 - 0.1% 磷酸水溶液洗脱时色谱信息丰富,基线平稳,各色谱峰分离较好,故选择。采用全波长同步分析,考察了不同波长对检测结果的影响,结果以332 nm波长下色谱峰较多,分离度较好,基线平稳,故选择。此外,还考察了不同柱温(20 °C, 25 °C, 30 °C, 35 °C)和流速(0.8 mL/min,

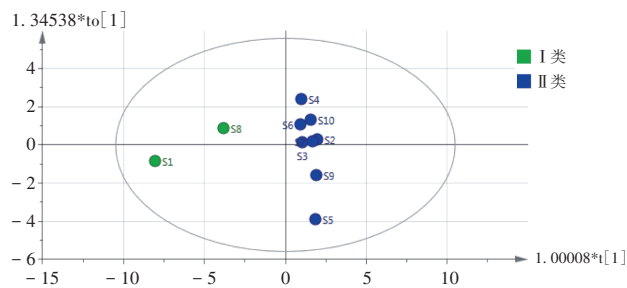


图6 OPLS-DA得分图
Fig.6 OPLS-DA score plot

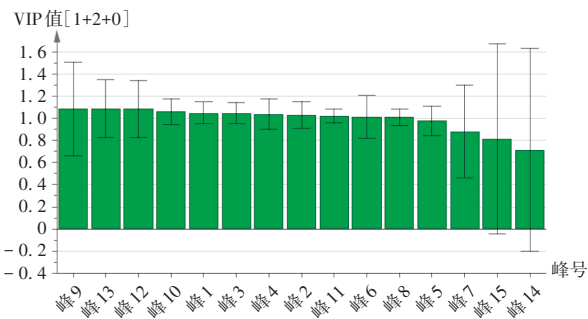


图7 VIP值图
Fig.7 VIP value plot

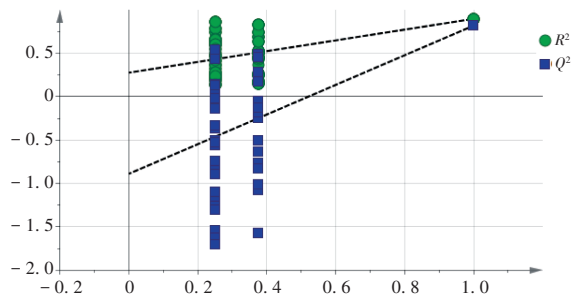


图8 模型置换保留度图
Fig.8 Model replacement retention graph

1.0 mL/min, 1.2 mL/min)对检测结果的影响,结果以30 °C, 1.0 mL/min得到的色谱图显示效果较好,故选择。

3.2 HPLC 指纹图谱

本研究中以鄂西不同产地有齿鞘柄木叶为研究对象,所建立的HPLC指纹图谱共提取了15个共有峰,指认了绿原酸、金丝桃苷、异槲皮苷3个成分峰。除样品S5外,与对照图谱的相似度均大于0.9,15个共有峰相对峰面积RSD值为8.70%~74.47%,提示鄂西不同产地有齿鞘柄木叶药材的化学成分基本一致,但不同产地间药材的化学成分含量存在较大差异。样品S5与对照图谱的相似度为0.781,相对较低,结合表2,可知与峰1(绿原酸)的含量高低有较大关系。绿原酸含量高低可能与地理环境、采收加工过程关联度较高,特别是采收过程中老叶与嫩叶比例的高低,叶的大小、生长时间等因素,均可能对药材成分含量产生影响,在后续研究中将进一步探索。

3.3 化学计量学

PCA、OPLS-DA与CA结果均显示,10批有齿鞘柄木叶药材可分为2类,S1(产自宣恩县)、S8(产自利川市)为一类,其余批次样品为一类,表明在鄂西地区不同产地的有齿鞘柄木叶药材质量存在一定的相似性,但同一产地的不同群居药材也存在一定差异性。OPLS-DA筛选出11个差异性标志物,包含绿原酸(峰1)和异槲皮苷(峰6),是引起不同产地的有齿鞘柄木叶药材质量差异的重要因素,其中HPLC指纹图谱中指认的金丝桃苷(峰5)VIP值为0.9782,不符合作为差异标志物的基本条件,故未纳入,但韩忠耀等^[10]在对黔产有齿鞘柄木叶进行差异标志物筛选时,纳入了金丝桃苷,而未纳入异槲皮苷,这可能与生态环境、地理位置等因素有关,提示不同地区之间有齿鞘柄木叶药材质量有一定差异性。另外,VIP值结果中,14号峰和15号峰的误差线较长,超过原点,提示两个共有成分的含量相较于其他共有成分在不同产地中差异较大,这与表2中峰14和峰15 RPA的RSD值较高一致。有研究表明,异槲皮苷具有抗炎、抗菌、抗氧化、抗抑郁、抗病毒等多种生物活性^[18],绿原酸具有调节免疫、抗肿瘤、抗氧化、抑菌等多种生物活性^[19-20],且两者的生物活性与有齿鞘柄木叶药材的传统功效、适应证也具有一定的关联性。因此,绿原酸和异槲皮苷可能为有齿鞘柄木叶的活性成分,可将其作为指标性成分用于有齿鞘柄木叶药材的质量控制。

3.4 方法评价

本研究建立的方法稳定性和重复性良好,结果准确,可用于有齿鞘柄木叶的质量控制,为鄂西不同地区有齿鞘柄木叶资源开发提供参考。

参考文献

- [1] 王国强. 全国中草药汇编(卷二)[M]. 3版. 北京:人民卫生出版社,2014:92-93.
- [2] 湖北省药品监督管理局. 湖北省中药材质量标准(2018年版)[M]. 北京:中国医药科技出版社,2019:12-13.
- [3] 方志先,廖朝林. 湖北恩施药用植物志(下册)[M]. 武汉:湖北科学技术出版社,2006:161-162.
- [4] 韩忠耀,黄春丽,陆廷祥,等. 水冬瓜叶乙醇提取物不同萃取部位抗炎镇痛活性研究[J]. 山东化工,2022,51(14):11-13.
- [5] 韩忠耀,张涛,黄春丽,等. 不同采收期水冬瓜叶的主成分分析及抗炎镇痛谱效关系研究[J]. 化学试剂,2022,44(3):442-449.
- [6] 伍小艳,石伟,韩忠耀. 大接骨丹树皮药材质量标准研究[J]. 山东化工,2023,52(20):150-153.
- [7] 韩忠耀,张涛,李燕,等. 不同采收期大接骨丹HPLC指纹图谱建立及化学模式识别[J]. 中成药,2021,43(2):547-551.
- [8] 韩忠耀,曹芳,江品良,等. 基于高效液相色谱指纹图谱和化学模式识别法评价不同采收期水冬瓜树皮药材质量[J]. 理化检验(化学分册),2021,57(3):204-209.
- [9] 韩忠耀,张涛,宋义勇,等. 不同采收期水冬瓜叶HPLC指纹图谱研究及质量标志物预测分析[J]. 中国测试,2022,48(7):60-66.
- [10] 韩忠耀,向军,陈建宇,等. 不同产地水冬瓜叶HPLC指纹图谱建立、化学模式识别分析及含量测定[J]. 中国药房,2021,32(10):1224-1229.
- [11] 张秋瑾,王志华,韩忠耀,等. 大接骨丹叶醇提取物高效液相色谱指纹图谱研究[J]. 中国药业,2023,32(11):39-43.
- [12] 杨启池,李亭亭,汪正祥,等. 鄂西北珍稀濒危植物及物种多样性空间尺度分析[J]. 植物科学学报,2019,37(4):464-473.
- [13] 贾廷莎,张雪佳,谭宁华. 中药材中化学成分时空特异性的研究进展[J]. 中草药,2024,55(24):8580-8588.
- [14] 李艳荣,杜义龙,沈莹,等. 指纹图谱、多成分定量分析及化学模式识别相结合的心安胶囊质量评价[J]. 中国药房,2022,33(6):706-712.
- [15] 刘东升,姚世霞,朱旭江,等. 四消丸HPLC指纹图谱及化学模式识别研究[J]. 中国医院药学杂志,2022,42(22):2340-2345.
- [16] 李艳荣,段丽颖,魏红,等. 指纹图谱结合一测多评法评价山楂叶质量[J]. 中国药房,2023,34(22):2727-2733.
- [17] 邢鸿儒,丁爱华,陈玲玲,等. 暹罗平颗粒高效液相色谱指纹图谱建立及化学计量学分析[J]. 中国药业,2025,34(2):76-80.
- [18] 王叶情,王宇红,邹蔓妹,等. 槲皮素及其糖苷衍生物抗抑郁作用及其机制的研究进展[J]. 中草药,2022,53(5):1548-1557.
- [19] 宋帅涛,张逸,张羽飞,等. 绿原酸衍生物的制备及其活性研究进展[J]. 中国食品学报,2024,24(4):469-479.
- [20] 赵书琪,张宇硕,吴丽飞,等. 绿原酸类化合物的种类、提取和生物活性研究进展[J]. 食品工业科技,2025,46(18):435-445.

(收稿日期:2025-03-11;修回日期:2025-11-20)