基于指纹图谱结合化学计量学与灰色关联度评价 5 种淫羊藿的质量

吴余钢[1#]，陈天鸿[1#]，李慧馨[2]，杨子璇[1]，黄春跃[1*]

（1. 中国医药工业研究总院有限公司，上海医药工业研究院有限公司，先导物成药性研究全国重点实验室，上海 201203；
2. 国药集团同济堂（贵州）制药有限公司，贵州贵阳 550009）

摘要：建立了淫羊藿和巫山淫羊藿的 HPLC 指纹图谱，结合相似度分析、化学计量学方法及灰色关联度法进行质量评价。采用 Welch Xtimate® C_{18} 柱，以 0.1%甲酸溶液为流动相 A，乙腈为流动相 B，梯度洗脱；流速 1.0 mL/min，柱温 30 ℃，检测波长 270 nm。分别建立了 5 种基原淫羊藿的 HPLC 指纹图谱，通过相似度分析、主成分分析（PCA）、偏最小二乘法 - 判别分析（PLS-DA）以及构建灰色关联度模型，评价其质量。结果显示，同基原淫羊藿的指纹图谱相似度较高，建立的指纹图谱专属性良好；PCA 和 PLS-DA 结果显示，不同基原淫羊藿的化学成分差异明显；灰色关联度分析显示，在受试样品中，淫羊藿和朝鲜淫羊藿的最优产地分别为甘肃省陇南市和吉林省通化市。该研究建立的指纹图谱结合化学计量学和灰色关联度的综合评价方法，为不同基原淫羊藿药材的质量评价提供了有效手段。

关键词：淫羊藿；巫山淫羊藿；指纹图谱；高效液相色谱法；化学计量学；灰色关联度法；质量评价

中图分类号：R917；R284.1　　**文献标志码**：A　　**文章编号**：1001-8255(2025)07-0915-14

引用：吴余钢，陈天鸿，李慧馨，等．基于指纹图谱结合化学计量学与灰色关联度评价 5 种淫羊藿的质量［J］．中国医药工业杂志，2025, **56**(7)：915-928．DOI：10.16522/j.cnki.cjph.2025.07.011

Quality Evaluation of Five Types of *Epimedium* Based on Fingerprint, Chemometrics and Grey Correlation Degree Method

WU Yugang[1#], CHEN Tianhong[1#], LI Huixin[2], YANG Zixuan[1], HUANG Chunyue[1*]

(*1. National Key Lab. of Lead Druggability Research, Shanghai Institute of Pharmaceutical Industry Co., Ltd., China State Institute of Pharmaceutical Industry Co., Ltd., Shanghai 201203; 2. China National Pharmaceutical Group Corporation Tongjitang (Guizhou) Pharmaceutical Co., Ltd., Guiyang 550009*)

ABSTRACT: The HPLC fingerprints of *Epimedium* and *Epimedii Wushanensis Folium* were established, and quality evaluation was carried out by combining similarity analysis, chemometric methods, and grey relational analysis. Separation was performed on a Welch Xtimate® C_{18} column with gradient elution (0.1% of formic acid as mobile phase A, and acetonitrile as mobile phase B) at a flow rate of 1.0 mL/min, the column temperature of 30 ℃, and detection wavelength of 270 nm. The HPLC fingerprints of five types of *Epimedium* were established. Quality evaluation was conducted through similarity analysis, principal component analysis (PCA), partial least squares discriminant analysis (PLS-DA), and grey relational analysis. The results showed that high similarity in fingerprints of the same origin and good specificity of the established fingerprints. The results of PCA and PLS-DA showed that there were significant differences in chemical composition among different origins. Grey relational analysis identified Longnan City (Gansu Province) and Tonghua City (Jilin Province) as the the optimal production areas for *E.brevicornu Maxim.* and *E. koreanum* Nakai, respectively, among the tested samples. The integrated method combining fingerprinting, chemometrics and grey relational analysis provided an effective means for the quality evaluation of *Epimedii Folium* from different origins.

Key Words: *Epimedium*; *Epimedii Wushanensis Folium*; fingerprint; high performance liquid chromatography; chemometric method; grey correlation degree method; quality evaluation

淫羊藿（*Epimedium*）又名刚前、仙灵脾，为我国大宗传统中药材，始载于《神农本草经》，被列为中品；具有补肾阳、强筋骨、祛风湿等功效，临床上常用于阳痿遗精、筋骨痿软、风湿痹痛以及麻木拘挛等病症的治疗[1]；主要含有黄酮类、多糖类、木脂素与生物碱等化学成分。现代药理学研究[2—3]表明，淫羊藿具有抗衰老、调节免疫、治疗骨质疏松和心脑血管疾病等活性。

我国是淫羊藿的地理分布中心，主要分布于贵州、四川、湖北、甘肃、重庆等地，有记录的品种多达 54 种[4]；目前药用以野生资源为主，作为药材流通的淫羊藿品种有 15 种之多[5]。ChP 2020 年版收录有巫山淫羊藿（*Epimedii Wushanensis Folium*）和淫羊藿 2 个品种；其中，淫羊藿为多基原药材，为小檗科淫羊藿属植物淫羊藿（*Epimedium brevicornu* Maxim.，也称心叶淫羊藿）、箭叶淫羊藿［*Epimedium sagittatum*（Sieb. et Zucc.） Maxim.］柔毛淫羊藿（*Epimedium pubescens* Maxim.）或朝鲜淫羊藿（*Epimedium koreanum* Nakai）的干燥叶[1]。由于淫羊藿入药时难以观察到花和花序等分类鉴定所需的重要特征，缺少专属的鉴别方法，造成市场上淫羊藿品种混杂严重、使用混乱的现象[6—9]。因此，淫羊藿的质量评价一直是国内外学者研究的热点和难点。

淫羊藿的质量控制研究多集中在淫羊藿苷、朝藿定 A ～ C 等黄酮醇苷类成分的含量测定及指纹图谱的建立方面[10—13]，存在试验用淫羊藿基原少、研究不够深入和方法专属性差的缺点。本课题组前期以 ChP 2020 年版收录的 5 种不同基原淫羊藿的多糖提取物为研究对象，通过酸水解结合 1- 苯基 -3- 甲基 -5- 吡唑啉酮（1-pheny-3-methyl-5-pyrazolone，PMP）柱前衍生化 -HPLC 法，建立了淫羊藿多糖的单糖指纹图谱评价方法[14]。本研究以 102 批淫羊藿样品为研究对象，继续开展 5 种淫羊藿的质量控制研究，建立不同基原淫羊藿的 HPLC 指纹图谱，结合化学计量学分析及构建灰色关联度模型，明确种间化学成分差异并初步评价不同来源淫羊藿样品的质量，以期为淫羊藿药材的质量研究提供科学依据。

1　仪器与试药

U3000 型高效液相色谱仪［赛默飞世尔科技（中国）有限公司］；MS 204TS 型电子天平和 MS 105DU 型电子天平［梅特勒 - 托利多仪器（上海）有限公司］。

淫羊藿新苷 A（批号 CFN90762）、朝藿定 A1（批号 CFN99145）、朝藿苷 E（批号 CNF95016）的对照品均购自武汉中标科技有限公司；朝藿定 C（批号 DST191004-063）、淫羊藿苷（批号 DSTDY009102）、宝藿苷Ⅰ（批号 DST190517-09）的对照品均购自成都德斯特技术有限公司；宝藿苷Ⅶ对照品（上海鸿永生物科技有限公司，批号 020215-202206）。以上所有对照品含量均≥ 98%。乙腈为色谱级，其余试剂均为分析纯，水为超纯水。

心叶淫羊藿（25 批，编号 S1 ～ S25）、朝鲜淫羊藿（25 批，编号 S26 ～ S50）、柔毛淫羊藿（23 批，编号 S51 ～ S73）、箭叶淫羊藿（11 批，编号 S74 ～ S84）和巫山淫羊藿（18 批，编号 S85 ～ S102），均由国药集团同济堂（贵州）制药有限公司提供，由上海医药工业研究院有限公司吴彤研究员鉴定为淫羊藿、朝鲜淫羊藿、柔毛淫羊藿、箭叶淫羊藿和巫山淫羊藿的干燥叶，药材详细信息如表 1 所示。

2　方法与结果

2.1　色谱条件

色谱柱 Welch Xtimate® C_{18} 柱（4.6 mm×250 mm，5 μm）；流动相 A 为 0.1%甲酸溶液，B 为乙腈，梯度洗脱（0—5 min，B 22%；5—50 min，B 22%—26%；50—51 min，B 26%—32%；51—61 min，B 32%；61—62 min，B 32%—43%；62—75 min，B 43%—45%）；流速 1 mL/min；柱温 30 ℃；进样量 5 μL；检测波长 270 nm。理论塔板数以淫羊藿苷计不低于 6 000。

[#] 对文章贡献等同。

收稿日期：2025-02-27

基金项目：中央引导地方科技发展资金项目（GZIM 202001-9-2）、国家自然科学基金项目（32270421）、上海市自然科学基金项目（21ZR1461800）

作者简介：吴余钢，男，硕士研究生，专业方向：中药药效物质基础研究及质量分析。

陈天鸿，男，硕士研究生，专业方向：天然先导化合物发现及中药药效物质基础分析。

通信作者：黄春跃，女，副研究员，从事中草药的活性成分及质量控制研究。

E-mail：hcyspring@163.com。

表 1 样品信息表

Tab.1 Sample Information

编号	品种	产地	编号	品种	产地	编号	品种	产地
S1	心叶淫羊藿	甘肃省平凉市华亭县西华镇	S35	朝鲜淫羊藿	吉林省白山市抚松县	S69	柔毛淫羊藿	四川省
S2	心叶淫羊藿	甘肃省平凉市华亭县马峡镇	S36	朝鲜淫羊藿	吉林省白山市抚松县	S70	柔毛淫羊藿	四川省
S3	心叶淫羊藿	甘肃省平凉市崆峒区大寨乡大寨村	S37	朝鲜淫羊藿	吉林省通化市集安市	S71	柔毛淫羊藿	四川省
S4	心叶淫羊藿	甘肃省陇南市礼县城关镇	S38	朝鲜淫羊藿	吉林省通化市集安市	S72	柔毛淫羊藿	四川省
S5	心叶淫羊藿	甘肃省陇南市礼县石桥镇	S39	朝鲜淫羊藿	吉林省通化市集安市	S73	柔毛淫羊藿	四川省
S6	心叶淫羊藿	甘肃省陇南市礼县龙林镇	S40	朝鲜淫羊藿	吉林省通化市集安市	S74	箭叶淫羊藿	贵州省雷山县望丰乡五星村
S7	心叶淫羊藿	甘肃省天水市武山县洛门镇四门村	S41	朝鲜淫羊藿	吉林省通化市集安市	S75	箭叶淫羊藿	贵州省雷山县丹江镇桃子寨
S8	心叶淫羊藿	甘肃省定西市漳县四族镇四族村	S42	朝鲜淫羊藿	吉林省通化市	S76	箭叶淫羊藿	贵州省雷山县丹江镇桃子寨
S9	心叶淫羊藿	甘肃省定西市漳县三岔镇	S43	朝鲜淫羊藿	吉林省通化市	S77	箭叶淫羊藿	贵州省雷山县望丰乡五星村
S10	心叶淫羊藿	甘肃省定西市漳县殪虎桥镇东桥村	S44	朝鲜淫羊藿	吉林省通化市	S78	箭叶淫羊藿	贵州省雷山县丹江镇脚雄村
S11	心叶淫羊藿	甘肃省陇南市宕昌县理川镇	S45	朝鲜淫羊藿	吉林省通化市	S79	箭叶淫羊藿	贵州省雷山县望丰乡
S12	心叶淫羊藿	甘肃省陇南市宕昌县临江铺乡	S46	朝鲜淫羊藿	吉林省通化市	S80	箭叶淫羊藿	贵州省雷山县望丰乡五星村
S13	心叶淫羊藿	甘肃省陇南市宕昌县城关镇	S47	朝鲜淫羊藿	吉林省通化市	S81	箭叶淫羊藿	贵州省雷山县丹江镇脚雄村
S14	心叶淫羊藿	甘肃省甘南州卓尼县木耳镇大峪沟村	S48	朝鲜淫羊藿	吉林省通化市	S82	箭叶淫羊藿	贵州省雷山县丹江镇响楼村
S15	心叶淫羊藿	甘肃省定西市岷县西寨镇	S49	朝鲜淫羊藿	吉林省通化市	S83	箭叶淫羊藿	贵州省雷山县丹江镇响楼村
S16	心叶淫羊藿	甘肃省定西市陇西县首阳镇	S50	朝鲜淫羊藿	吉林省通化市	S84	箭叶淫羊藿	贵州省雷山县丹江镇脚雄村
S17	心叶淫羊藿	甘肃省定西市陇西县文峰镇东埔村	S51	柔毛淫羊藿	四川乐山市沙湾区	S85	巫山淫羊藿	贵州省雷山县基地
S18	心叶淫羊藿	甘肃省定西市陇西县文峰镇大道社	S52	柔毛淫羊藿	四川省达州市北山镇	S86	巫山淫羊藿	贵州省雷山县基地
S19	心叶淫羊藿	甘肃省陇南市荣昌县临江铺镇	S53	柔毛淫羊藿	四川省达州市北山镇	S87	巫山淫羊藿	贵州省雷山县基地
S20	心叶淫羊藿	甘肃省陇南市礼县白关镇	S54	柔毛淫羊藿	四川省达州市北山镇	S88	巫山淫羊藿	贵州省
S21	心叶淫羊藿	甘肃省陇南市礼县三峪镇	S55	柔毛淫羊藿	四川省乐山市	S89	巫山淫羊藿	贵州省
S22	心叶淫羊藿	甘肃省陇南市礼县太昌镇	S56	柔毛淫羊藿	四川省乐山市	S90	巫山淫羊藿	贵州省
S23	心叶淫羊藿	甘肃省陇南市礼县	S57	柔毛淫羊藿	四川省乐山市	S91	巫山淫羊藿	贵州省
S24	心叶淫羊藿	甘肃省陇南市礼县王坝乡	S58	柔毛淫羊藿	四川省乐山市	S92	巫山淫羊藿	贵州省
S25	心叶淫羊藿	甘肃省陇南市武都区安化镇	S59	柔毛淫羊藿	四川省乐山市	S93	巫山淫羊藿	贵州省
S26	朝鲜淫羊藿	吉林省通化县聚鑫开发区	S60	柔毛淫羊藿	四川省乐山市犍为县双溪镇	S94	巫山淫羊藿	贵州省
S27	朝鲜淫羊藿	吉林省白山市抚松县	S61	柔毛淫羊藿	四川省乐山市夹江县木城镇	S95	巫山淫羊藿	贵州省
S28	朝鲜淫羊藿	辽宁省本溪市	S62	柔毛淫羊藿	四川省乐山市沐川县芡竹乡	S96	巫山淫羊藿	贵州省
S29	朝鲜淫羊藿	吉林省白山市抚松县	S63	柔毛淫羊藿	四川省成都市双流镇	S97	巫山淫羊藿	贵州省
S30	朝鲜淫羊藿	吉林省白山市抚松县	S64	柔毛淫羊藿	四川省乐山市犍为县同兴乡	S98	巫山淫羊藿	贵州省
S31	朝鲜淫羊藿	吉林省白山市抚松县	S65	柔毛淫羊藿	四川省眉山市东坡区	S99	巫山淫羊藿	贵州省雷山县基地
S32	朝鲜淫羊藿	吉林省白山市抚松县	S66	柔毛淫羊藿	四川省眉山市本溪乡	S100	巫山淫羊藿	贵州省雷山县掌排村
S33	朝鲜淫羊藿	吉林省白山市抚松县	S67	柔毛淫羊藿	四川省眉山市青神县白果乡	S101	巫山淫羊藿	贵州省雷山县五星村
S34	朝鲜淫羊藿	吉林省白山市抚松县	S68	柔毛淫羊藿	四川省	S102	巫山淫羊藿	贵州省贵阳市修文县

2.2 溶液配制

对照品溶液：分别取淫羊藿新苷 A、朝藿定 A1、朝藿定 C、淫羊藿苷、朝藿苷 E、宝藿苷Ⅶ和宝藿苷Ⅰ对照品适量，精密称定，加甲醇分别制成质量浓度为 0.200、0.408、0.397、0.406、0.450、0.194、0.202 mg/mL 的对照品贮备液。精密吸取各对照品贮备液适量，混匀制成质量浓度为 28.57、58.29、56.71、58.00、64.29、27.71、28.91 μg/mL 的混合对照品溶液。

供试品溶液：取淫羊藿药材粉末（过 3 号筛，孔径 325 μm）约 0.2 g，精密称定，置具塞锥形瓶中，精密加入 50%乙醇 20 mL，称定后密塞，超声处理（功率 250 W，频率 40 kHz）1 h，放冷，再精密称定，用 50%乙醇补足减失的质量，摇匀，用 0.22 μm 微孔滤膜滤过，取续滤液，即得供试品溶液。

2.3 方法学考察

2.3.1 精密度试验

取柔毛淫羊藿样品（S52），按“**2.2**”项下方法

制备供试品溶液，按“**2.1**”项下色谱条件连续测定6次，分别计算各共有峰峰面积及保留时间的RSD。结果显示，8个共有峰峰面积的RSD（n=6）均小于1.9%，保留时间的RSD（n=6）均小于0.10%，说明仪器的精密度良好。

2.3.2 重复性试验

取柔毛淫羊藿样品（S52），按“**2.2**”项下方法平行制备6份供试品溶液，按“**2.1**”项下色谱条件测定，分别计算各共有峰峰面积及保留时间的RSD。结果显示，8个共有峰峰面积的RSD（n=6）均小于2.0%，保留时间的RSD（n=6）均小于1.2%，表明该方法有良好的重复性。

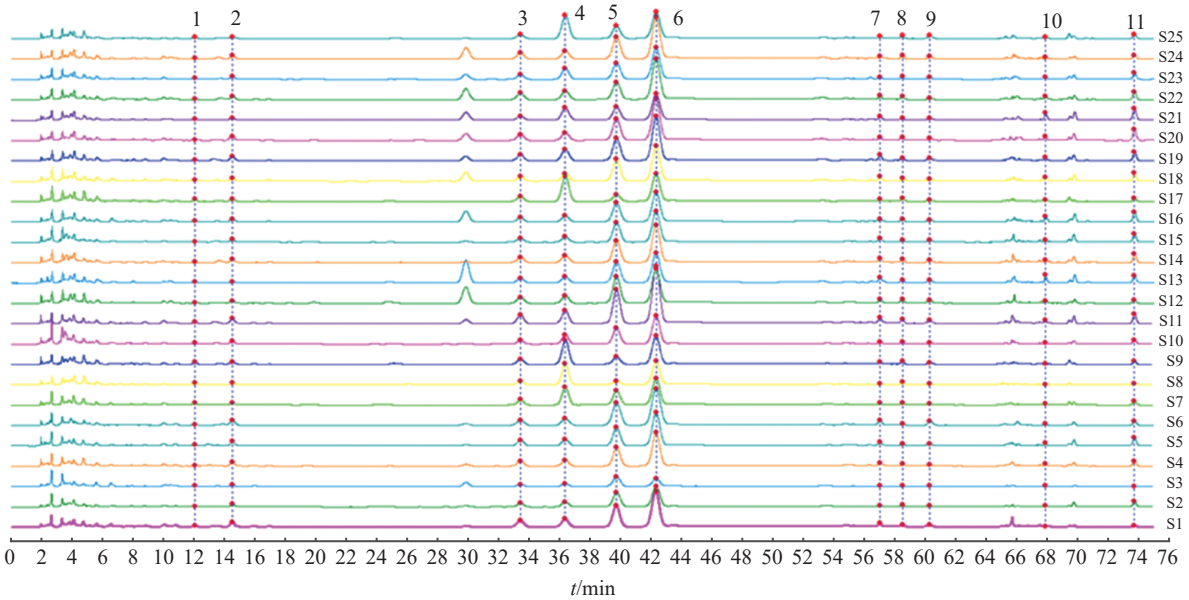
2.3.3 稳定性试验

取柔毛淫羊藿样品（S52），按“**2.2**”项下方法制备供试品溶液，按“**2.1**”项下色谱条件测定，分别于0、1.5、3、4.5、6、7.5、9、10.5、12、15、18、24 h时取样检测，计算各共有峰峰面积及保留时间的RSD。结果显示，8个共有峰峰面积的RSD（n=12）均小于2.0%，保留时间RSD（n=12）均小于0.40%，表明供试品在24 h内有良好的稳定性。

2.4 指纹图谱的建立及评价

2.4.1 不同基原淫羊藿指纹图谱的建立及相似度评价

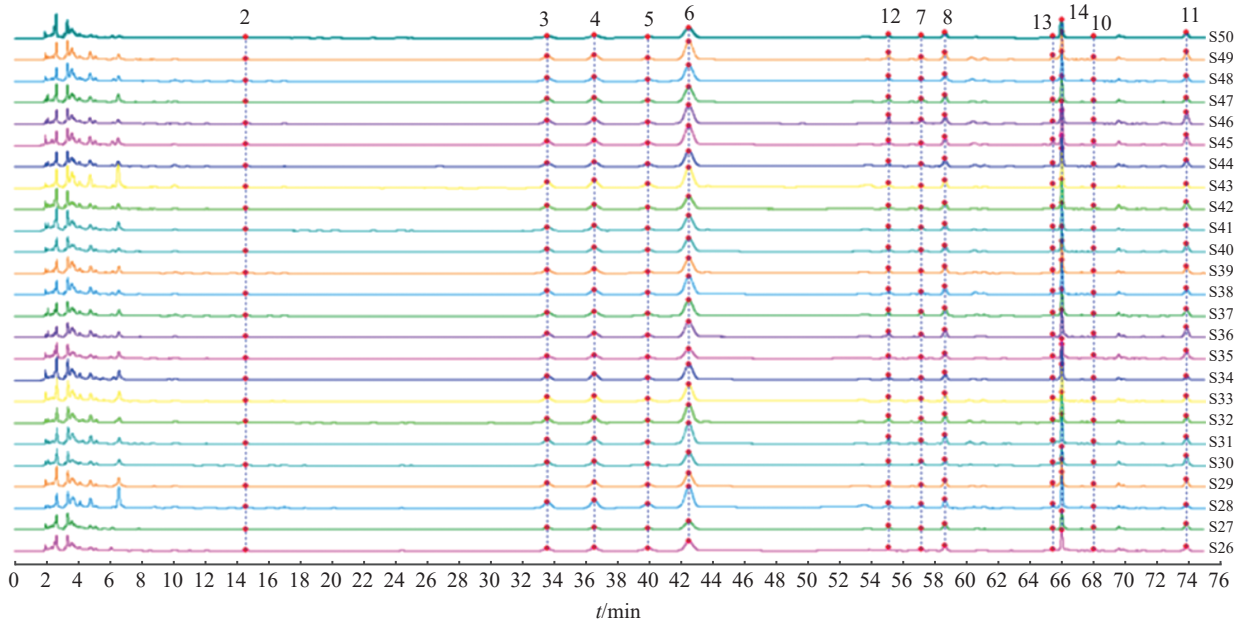
取102批淫羊藿样品，按“**2.2**”项下方法制备成供试品溶液，按“**2.1**”项下色谱条件测定，将HPLC图谱的原始数据转化成CDF格式文件，导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统2012版”软件，按不同基原，分别选中S1、S26、S51、S74和S85为参照图谱，采用中位数法，设定0.1 min为时间宽度，经过多点校正后进行匹配，分别得到5种淫羊藿的指纹图谱（图1～5）。心叶淫羊藿、朝鲜淫羊藿、柔毛淫羊藿、箭叶淫羊藿和巫山淫羊藿的指纹图谱中分别确定了11、12、8、9、7个共有峰，合计19个不同的化学成分。其中，峰1、峰9成分在心叶淫羊藿中普遍存在，峰12～峰14成分在朝鲜淫羊藿中普遍存在，峰15、峰16成分在箭叶淫羊藿中普遍存在，峰18、峰19成分在巫山淫羊藿中普遍存在，峰11成分在不同基原淫羊藿中普遍存在，峰3～峰6成分为5种淫羊藿的共有成分。通过与混合对照品色谱图中各色谱峰的紫外吸收光谱和保留时间比对（图6），指认出7个共有峰，分别为峰2（淫羊藿新苷A）、峰15（朝藿定A1）、峰5（朝藿定C）、



峰2—淫羊藿新苷A；峰5—朝藿定C；峰6—淫羊藿苷；峰8—朝藿苷E；峰10—宝藿苷Ⅶ；峰11—宝藿苷Ⅰ。

图1　心叶淫羊藿的指纹图谱

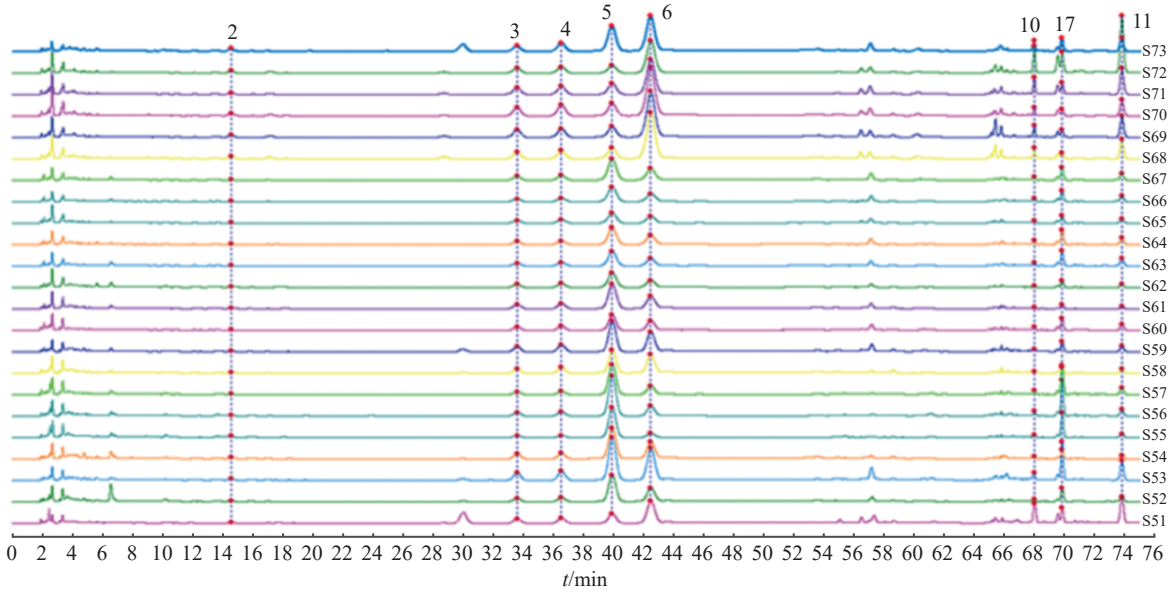
Fig.1　The Fingerprints of *E. brevicornu* Maxim.



峰 2—淫羊藿新苷 A；峰 5—朝藿定 C；峰 6—淫羊藿苷；峰 8—朝藿苷 E；峰 10—宝藿苷Ⅶ；峰 11—宝藿苷Ⅰ。

图 2　朝鲜淫羊藿的指纹图谱

Fig.2　The Fingerprints of *E. koreanum* Nakai



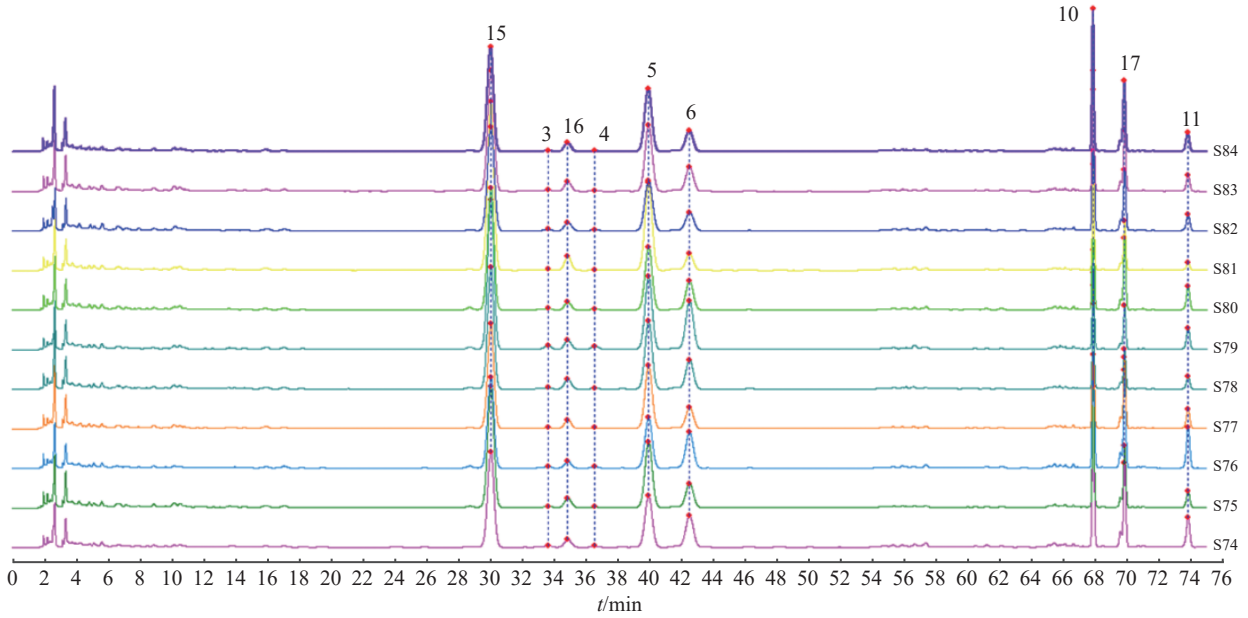
峰 2—淫羊藿新苷 A；峰 5—朝藿定 C；峰 6—淫羊藿苷；峰 10—宝藿苷Ⅶ；峰 11—宝藿苷Ⅰ。

图 3　柔毛淫羊藿的指纹图谱

Fig.3　The Fingerprints of *E. pubescens* Maxim.

峰 6（淫羊藿苷）、峰 8（朝藿苷 E）、峰 10（宝藿苷Ⅶ）和峰 11（宝藿苷Ⅰ）。

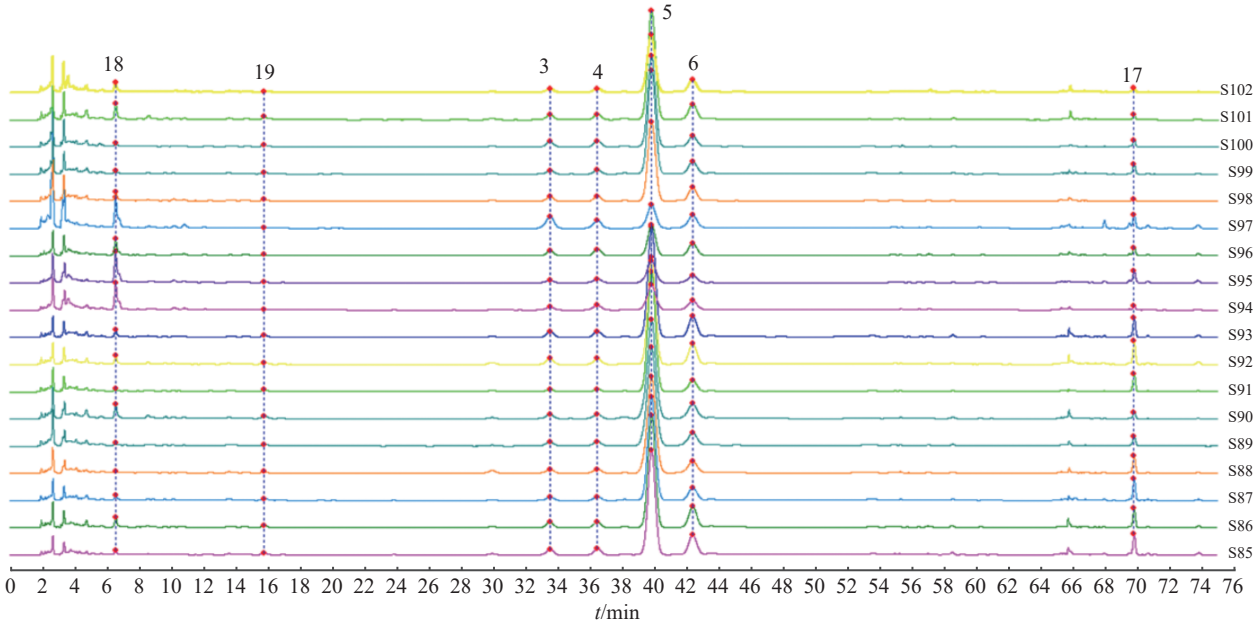
将特定基原淫羊藿的对照图谱与其他基原淫羊藿的色谱图进行匹配并计算相似度，进一步使用 OriginPro 2021 版软件将相似度结果绘制成柱状图（图 7 ～ 10），相似度结果如表 2 所示。



峰 5—朝藿定 C；峰 6—淫羊藿苷；峰 10—宝藿苷Ⅶ；峰 11—宝藿苷Ⅰ；峰 15—朝藿定 A1。

图 4　箭叶淫羊藿的指纹图谱

Fig.4　The Fingerprints of *E. sagittatum*（Sieb. et Zucc.）Maxim.

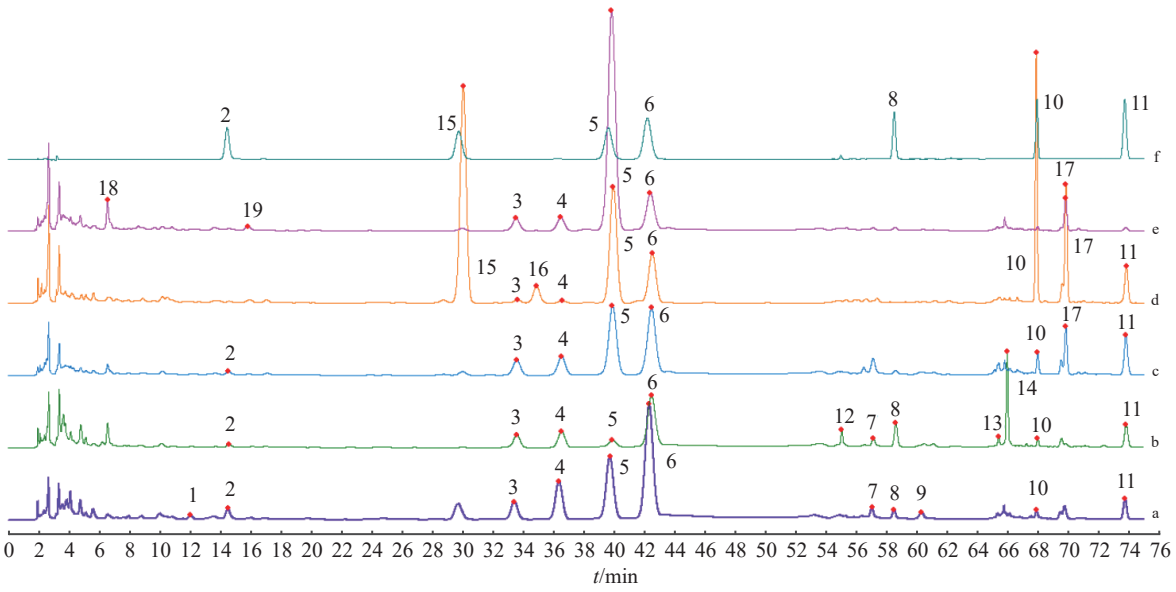


峰 5—朝藿定 C；峰 6—淫羊藿苷。

图 5　巫山淫羊藿的指纹图谱

Fig.5　The Fingerprints of *Epimedii Wushanensis Folium*

由图 7 ～ 9 可见，朝鲜淫羊藿、箭叶淫羊藿、巫山淫羊藿及心叶淫羊藿（除 S3）同种间样品的相似度较高，均在 0.91 ～ 1.00，说明同种淫羊藿药材的质量均一性较高。柔毛淫羊藿与心叶淫羊藿的相似度结果显示（图 10），除 4 批柔毛淫羊藿（S58、S68、S69、S71）的相似度大于 0.90 外，其余 19 批



a—心叶淫羊藿；b—朝鲜淫羊藿；c—柔毛淫羊藿；d—箭叶淫羊藿；e—巫山淫羊藿；f—混合对照品溶液。

峰 2—淫羊藿新苷 A；峰 5—朝藿定 C；峰 6—淫羊藿苷；峰 8—朝藿苷 E；峰 10—宝藿苷Ⅶ；峰 11—宝藿苷Ⅰ；峰 15—朝藿定 A1。

图 6 典型色谱图

Fig.6 Typical Chromatograms

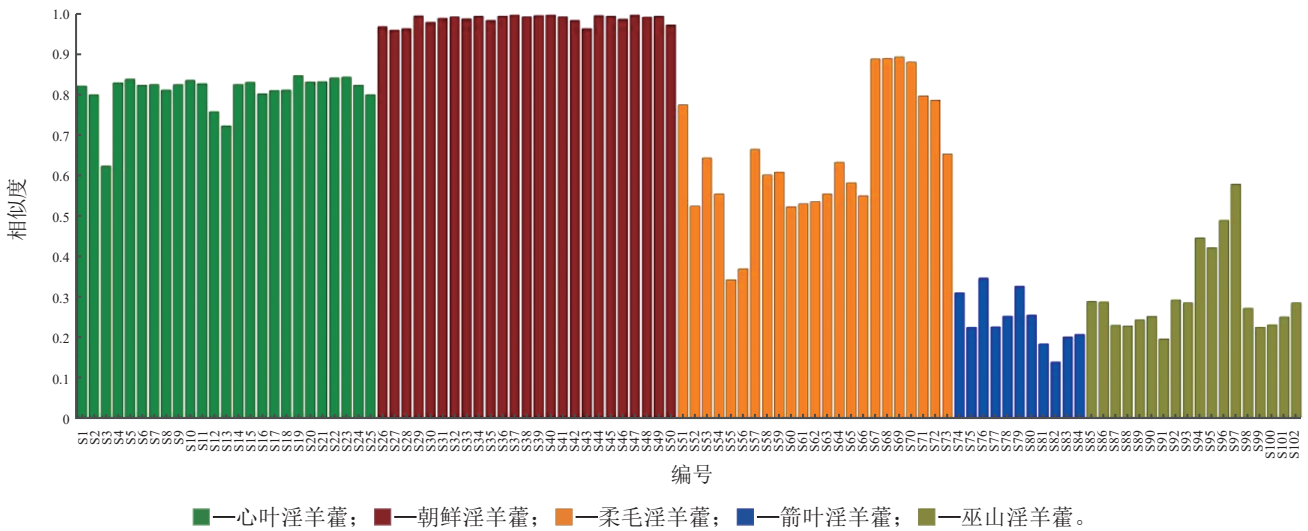


图 7 朝鲜淫羊藿与不同品种淫羊藿的相似度结果

Fig.7 Similarity Results between *E. koreanum* Nakai and Different Varieties of *Epimedium*

表 2 不同种淫羊藿的相似度范围

Tab.2 Similarity Results Range of Different Species of *Epimedium*

参照谱	品种				
	心叶淫羊藿	柔毛淫羊藿	箭叶淫羊藿	巫山淫羊藿	朝鲜淫羊藿
朝鲜淫羊藿	0.62 ～ 0.84	0.34 ～ 0.89	0.14 ～ 0.35	0.19 ～ 0.58	0.95 ～ 1.00
箭叶淫羊藿	0.18 ～ 0.76	0.28 ～ 0.62	0.96 ～ 1.00	0.47 ～ 0.53	0.19 ～ 0.27
巫山淫羊藿	0.23 ～ 0.82	0.80 ～ 0.89	0.47 ～ 0.54	0.94 ～ 1.00	0.20 ～ 0.36

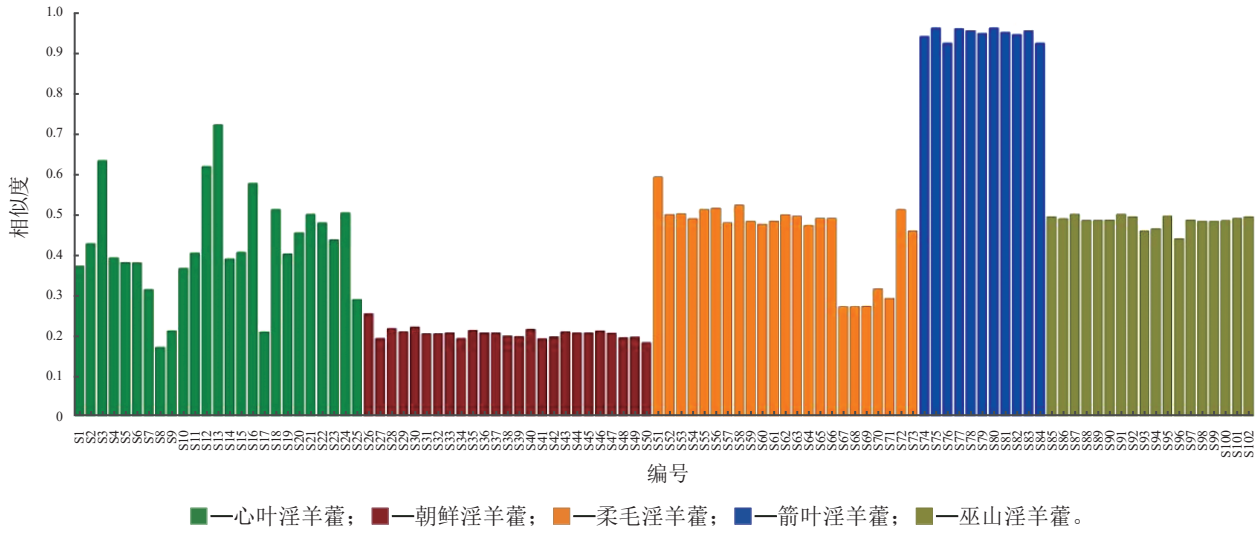


图 8　箭叶淫羊藿与不同品种淫羊藿的相似度结果

Fig.8　Similarity Results between *E. sagittatum*（Sieb. et Zucc.）Maxim. and Different Varieties of *Epimedium*

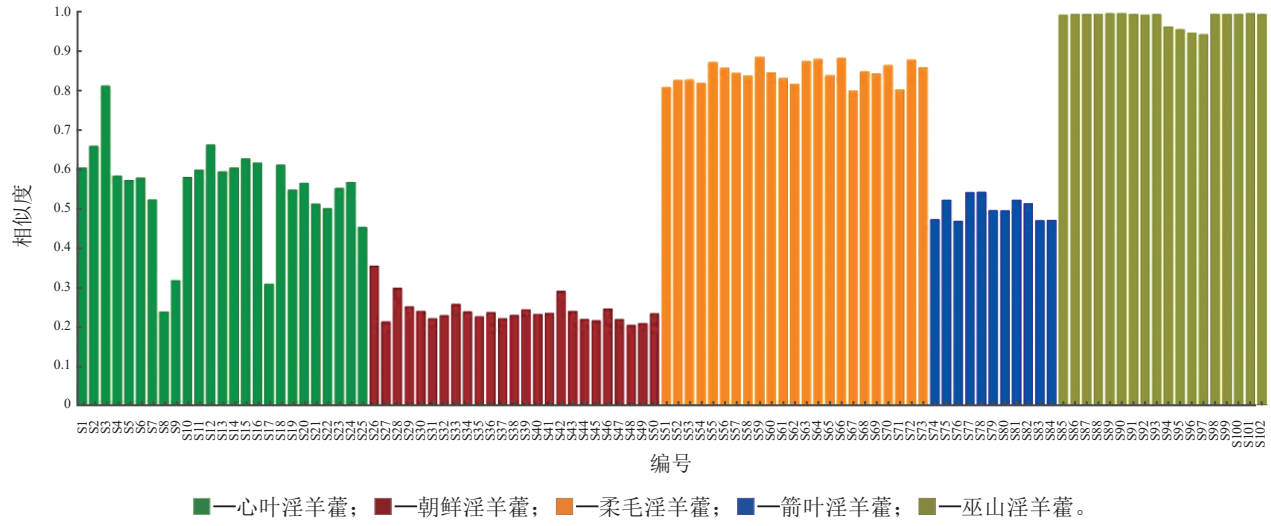


图 9　巫山淫羊藿与不同品种淫羊藿的相似度结果

Fig.9　Similarity Results between *Epimedii Wushanensis Folium* and Different Varieties of *Epimedium*

柔毛淫羊藿的相似度在 0.66 ～ 0.89，说明心叶淫羊藿与柔毛淫羊藿差异较明显。由表 2 可见，以朝鲜淫羊藿、箭叶淫羊藿和巫山淫羊藿的对照谱为参照谱，分析其余 4 种淫羊藿的相似度，结果各批样品相似度都低于 0.90，可见不同品种的淫羊藿之间具有较明显的差异。

2.4.2　数据可视化分析

为了进一步分析不同品种淫羊藿的差异，将 102 批样品中的共有峰（合计 19 个化学成分，记作 P1 ～ P19）峰面积数据导入 SPSS 26.0 软件进行标准化处理后，采用 OriginPro 2021 版软件进行可视化分析，绘制瀑布图，结果如图 11 和 12 所示。该法可直观看到 19 个化学成分在不同品种淫羊藿中的分布情况，P3、P4、P5（朝藿定 C）和 P6（淫羊藿苷）在 5 个品种的淫羊藿中均检出，P8（朝藿苷 E）、P12、P13 和 P14 为朝鲜淫羊藿明显区别于其他

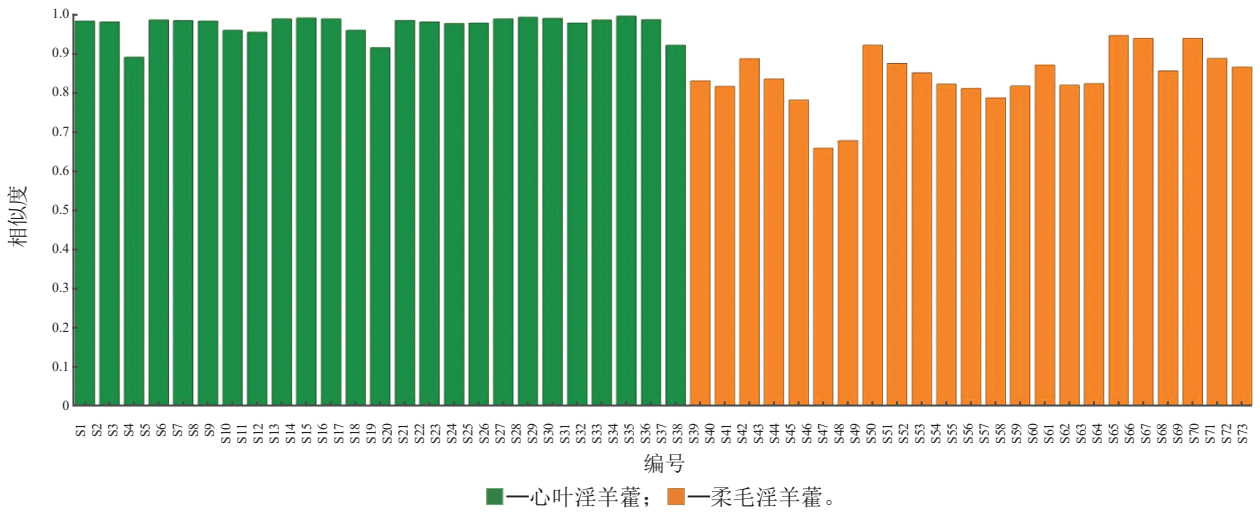


图 10 心叶淫羊藿与柔毛淫羊藿的相似度结果

Fig.10 Similarity Results between *E. brevicornu* Maxim. and *E. pubescens* Maxim.

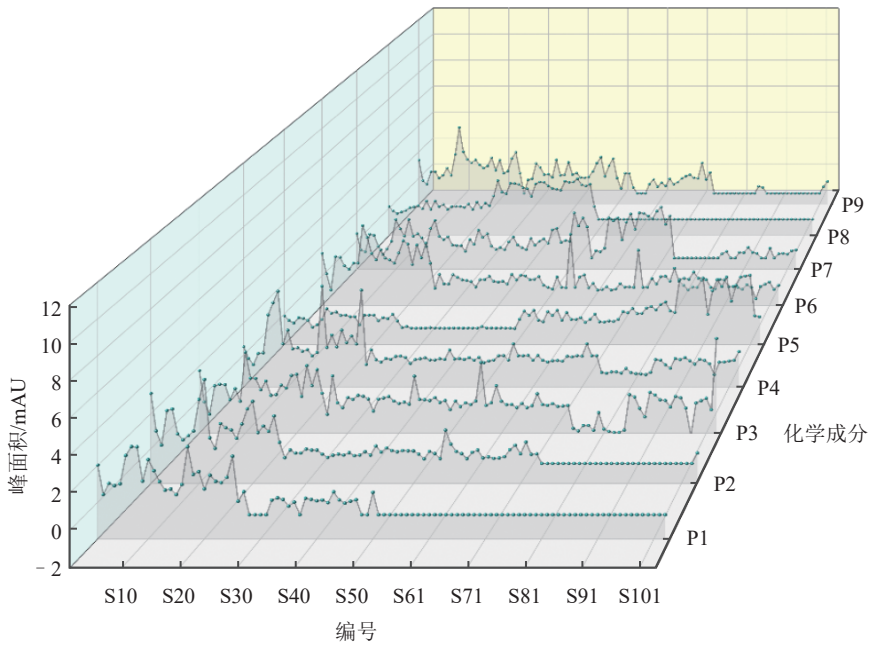


图 11 不同品种淫羊藿的 P1 ～ P9 色谱峰的峰面积瀑布图

Fig.11 Peak Area Waterfall Diagram of P1 – P9 Chromatographic Peaks of Different Varieties of *Epimedium*

品种淫羊藿的成分，P10（宝藿苷Ⅶ）、P15（朝藿定A1）、P16 和 P17 为箭叶淫羊藿明显区别于其他品种淫羊藿的成分，P5 和 P19 为巫山淫羊藿明显区别于其他品种淫羊藿的成分，P1 和 P2（淫羊藿新苷 A）为淫羊藿区别于其他品种淫羊藿的成分。

2.4.3 PCA 和 PLS-DA 分析结果

为了进一步分析 5 种淫羊藿中化学成分的差异，将 102 批淫羊藿中 19 个化学成分峰的峰面积通过 SPSS 26.0 软件进行标准化处理，所得数据导入 SIMCA-P13.0 统计分析软件，以 19 个色谱峰峰

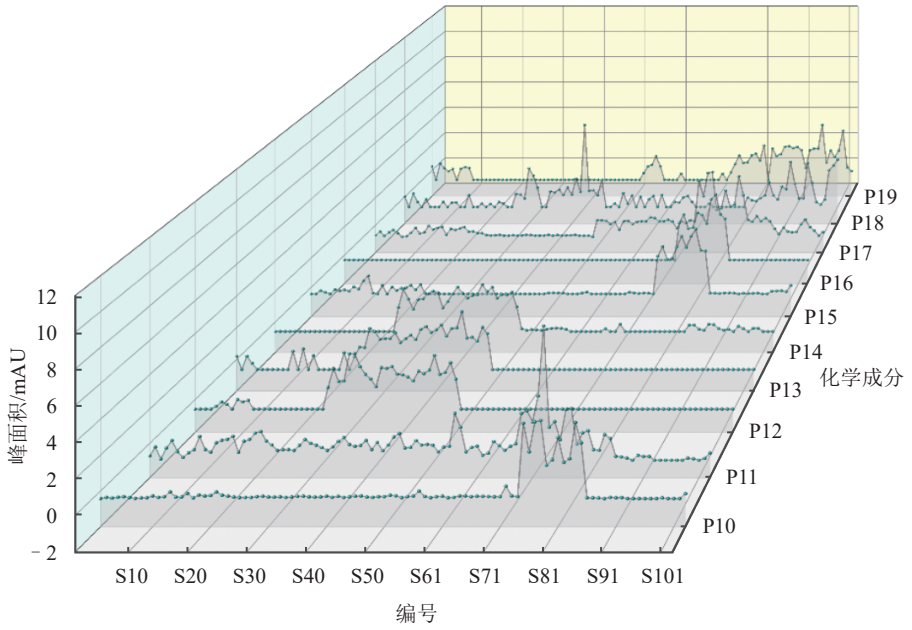
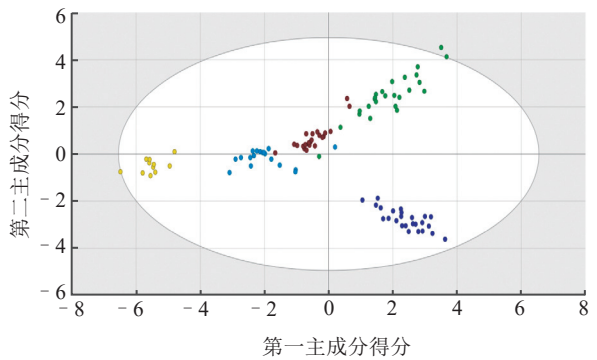


图 12　不同品种淫羊藿的 P10 ～ P19 色谱峰的峰面积瀑布图

Fig.12　Peak Area Waterfall Diagram of P10－P19 Chromatographic Peaks of Different Varieties of *Epimedium*

面积标准化后的值为 *X* 变量、各样品编号为 *Y* 变量，进行 PCA 和 PLS-DA 分析，结果如图 13 和 14 所示，PLS-DA 分析得到的变量重要性投影（variable importance in projection，VIP）如图 15 所示。

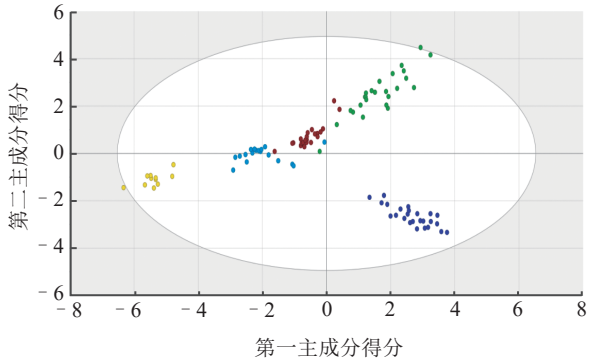
由图 13 可见，朝鲜淫羊藿和箭叶淫羊藿分别各为一类，说明这 2 种基原淫羊藿的化学成分特征明显；心叶淫羊藿、巫山淫羊藿与柔淫羊藿之间的仅个别批次有交叉，说明基原内品种也相对稳定，差异不大。通过 PLS-DA 分析结果图（图 14）可见 5 种基原淫羊藿基本分离开，说明不同基原之间化学成分差异较明显。VIP 值是筛选差异性化合物的重要指标，VIP 值越高，对组间差异的影响越大。图 15 中以 VIP 值 >1 为阈值，筛选出 11 个化学成分，提示不同品种淫羊藿之间的差异成分较多。按 VIP 值大小排序依次为峰 7> 峰 5（朝藿定 C）> 峰 1> 峰 14> 峰 15（朝藿定 A1）> 峰 16> 峰 12> 峰 10（宝藿苷



●—心叶淫羊藿；●—朝鲜淫羊藿；●—柔毛淫羊藿；●—箭叶淫羊藿；●—巫山淫羊藿。

图 13　不同样品的 PCA 得分图

Fig.13　PCA Score Plot of Samples



●—箭叶淫羊藿；●—朝鲜淫羊藿；●—心叶淫羊藿；●—巫山淫羊藿；●—柔毛淫羊藿。

图 14　不同样品的 PLS-DA 得分图

Fig.14　PLS-DA Score Plot of Samples

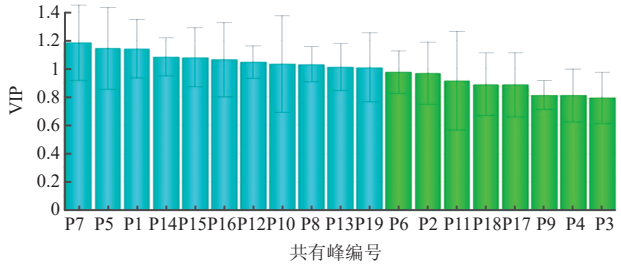


图 15 共有峰的 VIP 值

Fig.15 VIP Values of Common Components

Ⅶ)> 峰 8(朝藿苷 E)> 峰 13> 峰 19，提示这 11 个成分是 5 种淫羊藿样品的主要差异成分。

2.4.4 灰色关联度分析 [15—17]

为了进一步对来自不同产地的淫羊藿药材进行评价，本研究以 19 个共有化学成分峰面积为评价指标，将 102 个样品按基原分成五个评价单元序列 $\{X_{ik}\}$ 进行灰色关联度分析。将原始数据组成评价单元序列后，由于不同基原各评价指标间数据差异较大，故不同基原先通过 Excel 2019 软件对原始数据采用均值法进行规格化处理，规格化处理公式为 $Y_{ik}=X_{ik}/X_k$，式中 Y_{ik} 为规格化处理后的数据，X_{ik} 为原始数据，X_k 为第 m 个样品第 k 个指标的均值。在指纹图谱峰面积指标中，峰面积值越高表现越好，因而选择各指标峰面积的最大值组成最优参考序列，以最小值组成最差参考序列。按公式 $\xi ik(s)=\frac{\Delta min+\rho\Delta max}{|Y_{ik}-Y_{sk}|+\rho\Delta max}$ 和 $\xi ik(s)=\frac{\Delta' min+\rho\Delta' max}{|Y_{ik}-Y_{sk}|+\rho\Delta' max}$ 分别计算各评价单元相对于最优、最差参考序列的关联系数。按关联度公式 $ri(s)=\frac{1}{n}\sum_{k=1}^{n}\xi ik(s)$、$ri(t)=\frac{1}{n}\sum_{k=1}^{n}\xi ik(t)$ 分别计算各评价单元相对于最优和最差参考序列的关联度，即求每个样品 n 项评价指标关联系数的均值。相对于最优参考序列的关联度 $r_{i(s)}$ 越大，同时相对于最差参考序列的关联度 $r_{i(t)}$ 越小，则所评价单元序列的结果越理想。根据相对关联度（计算公式为 $ri=\frac{ri(s)}{ri(s)+ri(t)}$）的大小对评价单元序列进行排序，最终得到的评价结果如表 3 所示。

由表 3 各样品相对关联度排序结果可见，心叶淫羊藿的相对关联度介于 0.316 ～ 0.579，朝鲜淫羊藿的相对关联度介于 0.333 ～ 0.613，柔毛淫羊藿的相对关联度介于 0.285 ～ 0.469，箭叶淫羊藿的相对关联度介于 0.375 ～ 0.531，巫山淫羊藿的相对关联度介于 0.307 ～ 0.585。从上述区间差值结果可见，本试验中箭叶淫羊藿的质量最稳定，柔毛淫羊藿次之，均符合药材产地信息规律。基于本次结果可得出，在 25 批甘肃省产心叶淫羊藿样品中，陇南产淫羊藿在 5 个市州产地中的平均位次最优，之后依次为甘南、定西、平凉，天水（S7）质量排名最末。比较吉林省 3 个市产 24 批朝鲜淫羊藿的平均质量位次，通化的质量要优于吉林白山；此外，辽宁本溪产的 1 批（S28）质量欠佳。由于柔毛淫羊藿样品中部分批次的详细产地不明，仅比较了四川达州市和四川乐山市产的样品，结果达州市优于乐山市。11 批箭叶淫羊藿产地较近，因此区间内质量较稳定，最优批次来自贵州省雷山县望丰乡（S79）。同样，巫山淫羊藿样品中部分批次详细产地不明，其中 6 批产地为贵州省黔东南苗族侗族自治州雷山县，其相对关联度介于 0.395 ～ 0.517，关联度均值为 0.46，而最优批次为 S102 采自贵州省贵阳市修文县（关联度 0.585），两地气候类型相同、年降水量相近，修文县位于贵州中部，温度变化区间（－3 ～ 30 ℃）较雷山县（－8.9 ～ 35.6 ℃）更窄，若仅比较两地，修文县可能是巫山淫羊藿的更优产地。

3 讨论

本研究考察了提取方式（超声法和回流法）、提取时间（30、60、90 min）和提取溶剂（50%甲醇、30%乙醇、50%乙醇和 70%乙醇）对淫羊藿化学成分提取效果的影响，确定了供试品溶液的制备方法。还考察了不同流动相系统（0.1%甲酸 - 乙腈、0.1%磷酸 - 乙腈、水 - 乙腈）对各色谱峰的分离效果。指纹图谱研究结果显示，朝鲜淫羊藿、箭叶淫羊藿和巫山淫羊藿基原内批次的相似度均大于 0.900，反映了朝鲜淫羊藿、箭叶淫羊藿和巫山淫羊藿基原内的药材质量稳定性较好。柔毛淫羊藿与心叶淫羊藿对照指纹图谱相似度大于 0.900 的占比为 17.39%，说明柔毛淫羊藿与心叶淫羊藿之间有一定的相似性，与文献 [18] 研究结果一致。

5 种淫羊藿的 19 个共有化学成分的峰面积可视化分析、PCA、PLS-DA 及灰色关联度分析结果显

表 3　102 批淫羊藿的相对关联度及质量排序

Tab.3　Relative Correlation Degrees and Quality Ranking of 102 Batches of *Epimedii Folium*

基原	编号	最优参考序列	最差参考序列	相对关联度	质量排序	基原	编号	最优参考序列	最差参考序列	相对关联度	质量排序	基原	编号	最优参考序列	最差参考序列	相对关联度	质量排序
心叶淫羊藿	S1	0.537	0.581	0.48	3	朝鲜淫羊藿	S35	0.469	0.683	0.407	23	柔毛淫羊藿	S69	0.504	0.666	0.431	7
心叶淫羊藿	S2	0.375	0.813	0.316	25	朝鲜淫羊藿	S36	0.532	0.528	0.502	10	柔毛淫羊藿	S70	0.563	0.675	0.455	3
心叶淫羊藿	S3	0.432	0.819	0.345	24	朝鲜淫羊藿	S37	0.501	0.553	0.475	14	柔毛淫羊藿	S71	0.499	0.595	0.456	2
心叶淫羊藿	S4	0.436	0.654	0.4	17	朝鲜淫羊藿	S38	0.556	0.515	0.519	5	柔毛淫羊藿	S72	0.511	0.657	0.437	5
心叶淫羊藿	S5	0.442	0.661	0.4	18	朝鲜淫羊藿	S39	0.477	0.568	0.457	16	柔毛淫羊藿	S73	0.524	0.632	0.453	4
心叶淫羊藿	S6	0.464	0.623	0.427	13	朝鲜淫羊藿	S40	0.511	0.558	0.478	13	箭叶淫羊藿	S74	0.492	0.629	0.439	6
心叶淫羊藿	S7	0.426	0.786	0.352	23	朝鲜淫羊藿	S41	0.477	0.565	0.458	15	箭叶淫羊藿	S75	0.433	0.647	0.401	10
心叶淫羊藿	S8	0.463	0.704	0.397	19	朝鲜淫羊藿	S42	0.482	0.576	0.456	17	箭叶淫羊藿	S76	0.559	0.644	0.465	5
心叶淫羊藿	S9	0.45	0.673	0.401	16	朝鲜淫羊藿	S43	0.745	0.471	0.613	1	箭叶淫羊藿	S77	0.577	0.623	0.481	2
心叶淫羊藿	S10	0.671	0.487	0.579	1	朝鲜淫羊藿	S44	0.521	0.513	0.504	9	箭叶淫羊藿	S78	0.424	0.707	0.375	11
心叶淫羊藿	S11	0.541	0.615	0.468	4	朝鲜淫羊藿	S45	0.65	0.459	0.586	3	箭叶淫羊藿	S79	0.626	0.552	0.531	1
心叶淫羊藿	S12	0.537	0.573	0.484	2	朝鲜淫羊藿	S46	0.697	0.467	0.599	2	箭叶淫羊藿	S80	0.448	0.615	0.422	9
心叶淫羊藿	S13	0.55	0.631	0.466	5	朝鲜淫羊藿	S47	0.525	0.526	0.5	11	箭叶淫羊藿	S81	0.572	0.628	0.477	3
心叶淫羊藿	S14	0.486	0.628	0.436	11	朝鲜淫羊藿	S48	0.465	0.628	0.426	21	箭叶淫羊藿	S82	0.55	0.709	0.437	7
心叶淫羊藿	S15	0.433	0.728	0.373	22	朝鲜淫羊藿	S49	0.557	0.538	0.509	7	箭叶淫羊藿	S83	0.537	0.611	0.468	4
心叶淫羊藿	S16	0.512	0.596	0.462	6	朝鲜淫羊藿	S50	0.442	0.702	0.386	24	箭叶淫羊藿	S84	0.473	0.613	0.435	8
心叶淫羊藿	S17	0.454	0.739	0.38	21	柔毛淫羊藿	S51	0.524	0.685	0.433	6	巫山淫羊藿	S85	0.563	0.525	0.517	4
心叶淫羊藿	S18	0.466	0.646	0.419	14	柔毛淫羊藿	S52	0.448	0.758	0.371	13	巫山淫羊藿	S86	0.579	0.504	0.535	3
心叶淫羊藿	S19	0.501	0.611	0.451	7	柔毛淫羊藿	S53	0.472	0.702	0.402	11	巫山淫羊藿	S87	0.485	0.651	0.427	11
心叶淫羊藿	S20	0.495	0.646	0.434	12	柔毛淫羊藿	S54	0.423	0.694	0.379	12	巫山淫羊藿	S88	0.454	0.729	0.384	16
心叶淫羊藿	S21	0.499	0.641	0.438	9	柔毛淫羊藿	S55	0.396	0.848	0.318	18	巫山淫羊藿	S89	0.609	0.517	0.541	2
心叶淫羊藿	S22	0.493	0.618	0.444	8	柔毛淫羊藿	S56	0.481	0.66	0.422	8	巫山淫羊藿	S90	0.563	0.55	0.506	5
心叶淫羊藿	S23	0.422	0.675	0.384	20	柔毛淫羊藿	S57	0.465	0.69	0.403	10	巫山淫羊藿	S91	0.517	0.632	0.45	7
心叶淫羊藿	S24	0.476	0.614	0.437	10	柔毛淫羊藿	S58	0.382	0.769	0.332	17	巫山淫羊藿	S92	0.436	0.688	0.388	15
心叶淫羊藿	S25	0.484	0.675	0.418	15	柔毛淫羊藿	S59	0.461	0.653	0.414	9	巫山淫羊藿	S93	0.442	0.683	0.393	13
朝鲜淫羊藿	S26	0.407	0.816	0.333	25	柔毛淫羊藿	S60	0.405	0.793	0.338	15	巫山淫羊藿	S94	0.417	0.752	0.357	17
朝鲜淫羊藿	S27	0.676	0.519	0.565	4	柔毛淫羊藿	S61	0.392	0.779	0.335	16	巫山淫羊藿	S95	0.542	0.65	0.455	6
朝鲜淫羊藿	S28	0.449	0.614	0.422	22	柔毛淫羊藿	S62	0.358	0.869	0.292	22	巫山淫羊藿	S96	0.444	0.699	0.388	14

（续表 3）

基原	编号	最优参考序列	最差参考序列	相对关联度	质量排序	基原	编号	最优参考序列	最差参考序列	相对关联度	质量排序	基原	编号	最优参考序列	最差参考序列	相对关联度	质量排序
朝鲜淫羊藿	S29	0.486	0.645	0.429	20	柔毛淫羊藿	S63	0.369	0.852	0.302	21	巫山淫羊藿	S97	0.385	0.869	0.307	18
朝鲜淫羊藿	S30	0.568	0.527	0.519	6	柔毛淫羊藿	S64	0.379	0.813	0.318	19	巫山淫羊藿	S98	0.487	0.613	0.443	9
朝鲜淫羊藿	S31	0.542	0.543	0.499	12	柔毛淫羊藿	S65	0.354	0.89	0.285	23	巫山淫羊藿	S99	0.479	0.619	0.436	10
朝鲜淫羊藿	S32	0.526	0.51	0.508	8	柔毛淫羊藿	S66	0.375	0.833	0.31	20	巫山淫羊藿	S100	0.521	0.638	0.45	8
朝鲜淫羊藿	S33	0.473	0.624	0.431	18	柔毛淫羊藿	S67	0.395	0.764	0.341	14	巫山淫羊藿	S101	0.453	0.693	0.395	12
朝鲜淫羊藿	S34	0.465	0.613	0.431	19	柔毛淫羊藿	S68	0.542	0.613	0.469	1	巫山淫羊藿	S102	0.744	0.529	0.585	1

示，朝鲜淫羊藿明显区别于其他淫羊藿的成分有 4 个，其中包括朝藿苷 E；箭叶淫羊藿明显区别于其他淫羊藿的成分有 4 个，其中包括朝藿定 A1 和宝藿苷Ⅶ；巫山淫羊藿明显区别于其他淫羊藿的成分有 2 个，其中包括朝藿定 C；心叶淫羊藿区别于其他淫羊藿的成分有 2 个，其中包括淫羊藿新苷 A。本研究结果表明，不同品种淫羊藿存在种间差异，具有各自明显的特征成分，与文献[19—20]报道一致。本研究尚有不足之处，19 个共有化学成分中仅指认出 7 个成分，后续可借助超高效液相色谱四极杆飞行时间串联质谱技术、对照品比对及文献比对等方法，对其他化学成分进行鉴定。此外，本研究所用样品的产地、采收季节及生境等信息的收集还不够充分，后续可加强收集这些影响淫羊藿生长的关键因素信息，为研究淫羊藿的质量控制提供更多的数据支撑。

本研究结果表明，通过建立对照指纹图谱的方法（与对照指纹图谱相似度大于 0.900）可以对朝鲜淫羊藿、箭叶淫羊藿及巫山淫羊藿进行质量控制。心叶淫羊藿及柔毛淫羊藿在化学成分组成上具有一定的相似性，在实际使用中可以通过提高相似度要求，同时结合化学计量学方法来加强对药材的质量控制。本研究构建的综合评价方法可较全面地对不同基原淫羊藿药材的质量进行控制，为淫羊藿的质量评价和临床使用提供科学依据。

参考文献：

[1] 丁志远, 杨 娟, 谢 燕. 淫羊藿总黄酮纳米混悬剂的制备及体外评价 [J]. 中国医药工业杂志, 2023, **54**(3): 395-403.

[2] 龚华乾, 高 敏, 柴艺汇, 等. 淫羊藿化学成分与药理作用研究进展 [J]. 湖北民族大学学报, 2021, **38**(4): 75-78.

[3] 欧阳慧子, 何 俊. 淫羊藿化学成分分析及其药代动力学研究进展 [J]. 天津中医药大学学报, 2019, **38**(3): 219-227.

[4] 韦启迪, 莫远琪, 黎小冰, 等. 中国淫羊藿种质资源分布特点及其药理作用研究进展 [J/OL]. 分子植物育种, https://kns.cnki.net/kcms/detail//46.1068.S.20221206.1838.003.html.

[5] 袁 航, 曹树萍, 陈抒云, 等. 淫羊藿的化学成分及质量控制研究进展 [J]. 中草药, 2014, **45**(24): 3630-3640.

[6] 邓爱平, 方文韬, 周青罡, 等. 淫羊藿质量影响因素及质控对策分析 [J]. 中国中药杂志, 2018, **43**(5): 1062-1070

[7] 田祥木, 李天娇, 李 强, 等. 不同基原淫羊藿和巫山淫羊藿药材的化学成分差异研究 [J]. 中南药学, 2024, **22**(2): 368-375.

[8] 邹立思, 易东阳, 潘雅楠, 等. 9 种淫羊藿叶的微性状与显微鉴别研究 [J]. 中国药学杂志, 2024, **59**(9): 776-788.

[9] 罗 俊, 袁丛军, 丁访军, 等. 贵州淫羊藿属资源现状及品质影响因素研究进展 [J]. 中国野生植物资源, 2024, **43**(2): 84-90.

[10] CHEN X J, JI H, ZHANG Q W, *et al*. A rapid method for simultaneous determination of 15 flavonoids in Epimedium using pressurized liquid xtractionan dultra-performance liquid chromatography [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2008, **46**(2): 226-235.

[11] 刘 鑫, 何小英, 刘柏龙, 等. UPLC 结合一测多评法测定药典中淫羊藿的 13 种化学成分 [J]. 中国中药杂志, 2024, **49**(4): 981-988.

[12] 康 帅, 张 炜, 郑 健, 等. 淫羊藿黄酮苷类成分的指

纹图谱与含量测定研究 [J]. 中国药品标准, 2018, **19**(5): 359-375.

[13] CHEN Y, ZHANG J, FENG J, *et al*. Holistic quality evaluation method of *Epimedii Folium* based on NIR spectroscopy and chemometrics [J]. *Phytochem Anal*, 2024, **35**(4): 10-12.

[14] 黄春跃, 杨子璇, 孙宜春, 等. 基于 PMP 柱前衍生化 - HPLC 法的淫羊藿多糖的单糖指纹图谱研究 [J]. 中国医药工业杂志, 2024, **55**(1): 81-88.

[15] 范耀耀, 罗宇琴, 李国卫, 等. 基于灰色关联度分析与 TOPSIS 模型的不同产地射干标准汤剂质量评价 [J]. 中药材, 2022, **45**(3): 659-663.

[16] 严　露, 蒲婧哲, 杨　勇, 等. 基于指纹图谱联合化学计量学评价不同产地百蕊草质量的研究 [J]. 药物分析杂志, 2023, **43**(1): 141-152.

[17] 于佳禾, 金重先, 刘金凤, 等. 基于指纹图谱结合化学计量学方法评价不同产地野生与栽培赤芍质量 [J]. 上海中医药大学学报, 2023, **37**(5): 31-38.

[18] 孙礼堂, 刘明川, 曹　健, 等. 基于多指标定量指纹图谱和化学计量学的淫羊藿质量标准提高研究 [J]. 化学试剂, 2023, **45**(11): 117-125.

[19] 李　真. 不同基原淫羊藿化学成分差异及谱效关系研究 [D]. 长春: 吉林大学硕士学位论文, 2023.

[20] 边帅杰, 康忠禹, 赵大庆, 等. 基于 UHPLC-Q ExactiveOrbitrap/MS 结合多元统计方法分析不同基原淫羊藿化学成分的差异 [J]. 中药材, 2024, **47**(1): 106-110.

