

· 中药研究 ·

不同基原地骨皮 HPLC 指纹图谱与 4 种成分的 含量测定研究

高枫^{1,2}, 田芳¹, 曹长鸿¹, 钟文婷¹, 陈永安³, 梁焕健³, 吴孟华^{1,4},
张英^{1,2}, 曹晖^{1,2,4}, 马志国^{1,2*}

1. 暨南大学岭南传统中药研究中心, 广东 广州 510632; 2. 广东省中医药信息化重点实验室,
广东 广州 510632; 3. 广东经典名方科技有限公司, 广东 广州 511458;
4. 国家中药现代化工程技术研究中心岭南资源分中心, 广东 广州 510632

摘要 目的: 研究来源于枸杞 *Lycium chinense* Mill. 和宁夏枸杞 *Lycium barbarum* L. 的两种地骨皮的化学成分差异。方法: 采用 HPLC 法建立两种地骨皮的指纹图谱, 进行相似度分析并生成共有模式图; 建立咖啡酰丁二胺、东莨菪苷、地骨皮乙素、地骨皮甲素 4 个成分的含量测定方法, 并结合化学模式识别分析, 比较两种基原地骨皮的化学成分差异。结果: 建立了不同基原地骨皮 HPLC 指纹图谱, 枸杞地骨皮有 14 个共有峰, 宁夏枸杞地骨皮有 11 个共有峰, 并指认其中 5 个共有峰, 分别为咖啡酰丁二胺(1 号峰)、东莨菪苷(2 号峰)、地骨皮乙素(3 号峰)、地骨皮甲素(5 号峰)、东莨菪内酯(6 号峰); 建立的含量测定方法中 4 种成分的质量浓度分别在 $1.37 \sim 87.80 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ($r=0.9999$)、 $1.97 \sim 125.83 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ($r=0.9997$)、 $6.31 \sim 403.76 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ($r=0.9999$)、 $10.67 \sim 341.57 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ($r=0.9998$) 范围内线性关系良好, 平均回收率为 $100.52\% \sim 103.84\%$, RSD 为 $2.33\% \sim 3.42\%$; 含量测定结果显示宁夏枸杞地骨皮中 4 个成分平均百分含量均高于枸杞地骨皮; 化学模式识别分析可将两种基原地骨皮聚为两类, 并且咖啡酰丁二胺在模型构建中具有突出贡献。结论: 所建立的方法准确、可靠, 可用于区分两种基原的地骨皮, 也为地骨皮药材的质量控制提供参考。

关键词 地骨皮; 不同基原; 指纹图谱; 含量测定; 化学模式识别

中图分类号: R284.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-2392(2026)06-0025-10

DOI: 10.19664/j.cnki.1002-2392.260114

地骨皮是临床常用中药,《中国药典》2020 年版规定地骨皮为茄科植物枸杞 *Lycium chinense* Mill. 或宁夏枸杞 *Lycium barbarum* L. 的干燥根皮, 在中医理论中其具有清除血热、消退虚热、清肺泻火的功效, 常用于治疗阴虚潮热、骨蒸盗汗、肺热咳嗽、咯血、衄血、内热消渴等症^[1]。地骨皮中含生物碱、蒽醌、苯丙素等多类化学成分, 具有降血压、降血糖、解热和镇痛等多种药

理活性^[2-3]。枸杞地骨皮与宁夏枸杞地骨皮外观相似, 通过性状鉴别、显微鉴别等传统的鉴别方法很难对二者进行区分^[4-5]。

近年来, 在 DNA 水平上实现地骨皮基原鉴定的报道较多^[6-11], 尽管分子生物学方法在物种基原鉴定中具有特有优势, 但因其操作的复杂度、耗时较长、样本质量要求较高、检测成本较高、技术要求高等原因限制了实际应用。目前对地骨皮的研究多集中于单一成分分析或产地差异^[12-18], 暂无采用化学成分手段对不同基原地骨皮进行区分的报道。本研究拟通过 HPLC 指纹图谱与多种指标成分的含量测定, 结合化学模式识别分析, 建立地骨皮多指标质量评价方法, 寻找两种地骨皮的化学成分差异, 为不同基原地骨皮的区分别别提供新方法, 也为不同基原地骨皮药材的开发与利用提供理论依据。

收稿日期: 2025-03-20 **修回日期:** 2025-06-24

基金项目: 广州市重点领域科技项目(2021ZD006); 全国名老中医药专家传承工作室项目(国中医药人教函[2022]75号); 广东省中医药信息化重点实验室项目(2021B1212040007)

作者简介: 高枫(2000-), 男, 硕士研究生, 主要从事中药质量分析研究。

*** 通信作者:** 马志国(1979-), 男, 博士, 教授, 博士生导师, 主要从事中药炮制与中药智能化研究。

1 材料

1.1 主要仪器

Thermo UltiMate 3000 DAD 型高效液相色谱仪(美国 Thermo Fisher Scientific 公司);FA - 2204B 型万分之一电子天平(上海佑科仪器仪表有限公司);EX225DZH 十万分之一天平(美国奥豪斯仪器有限公司);H1650 - W 离心机(湘潭湘仪仪器有限公司);T100 Thermal Cycle 扩增仪(美国 BIO - RAD 公司);KQ - 300 DB 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);Milli - Q EQ7000 超纯水纯化系统(美国 Merck 公司);GelDoc Go 凝胶成像系统(美国 BIO - RAD 公司);超微量紫外分光光度计(美国 Thermo Fisher Scientific 公司)。

1.2 试剂与药品

植物基因组 DNA 提取试剂盒(批号:Y1616),购自天根生化科技(北京)有限公司;地骨皮甲素(批号:RDD - D04002212005)、地骨皮乙素(批号:RDD - D04102307004),购自成都瑞芬思生物科技有限公司;咖啡酰丁二胺(批号:AFDC0501)、东莨菪苷(批号:AFBK2807),购自成都埃法生物科技有限公司。所有对照品的纯度均大于 98.0%。乙腈、三氟乙酸、甲醇、乙酸均为色谱纯,水为超纯水。

1.3 样品

共收集 30 批样品,经暨南大学岭南传统中药研究中心马志国教授通过性状鉴定,并参考文献方法^[9]进行分子鉴定,确定 N1 ~ N15 为茄科植物宁夏枸杞 *Lycium barbarum* L. 的干燥根皮,G1 ~ G15 为茄科植物枸杞 *Lycium chinense* Mill. 的干燥根皮,样品信息见表 1。本文以枸杞地骨皮、宁夏枸杞地骨皮代指来源于枸杞、宁夏枸杞的地骨皮。

表 1 样品信息			
编号	产地	拉丁学名	采集时间
N1	山西	<i>L. barbarum</i>	2023. 05. 11
N2	河北	<i>L. barbarum</i>	2023. 05. 11
N3	宁夏	<i>L. barbarum</i>	2023. 05. 13
N4	宁夏	<i>L. barbarum</i>	2023. 05. 13
N5	宁夏	<i>L. barbarum</i>	2023. 05. 13
N6	山西	<i>L. barbarum</i>	2023. 06. 19
N7	宁夏	<i>L. barbarum</i>	2023. 07. 05
N8	宁夏	<i>L. barbarum</i>	2023. 07. 05
N9	山西	<i>L. barbarum</i>	2023. 07. 14
N10	甘肃	<i>L. barbarum</i>	2023. 07. 14
N11	陕西	<i>L. barbarum</i>	2023. 07. 14
N12	甘肃	<i>L. barbarum</i>	2023. 08. 03
N13	甘肃	<i>L. barbarum</i>	2023. 08. 03
N14	不详	<i>L. barbarum</i>	2023. 08. 03
N15	宁夏	<i>L. barbarum</i>	2023. 11. 29

续表 1

编号	产地	拉丁学名	采集时间
G1	天津	<i>L. chinense</i>	2023. 05. 11
G2	甘肃	<i>L. chinense</i>	2023. 05. 11
G3	河南	<i>L. chinense</i>	2023. 05. 14
G4	陕西	<i>L. chinense</i>	2023. 06. 19
G5	陕西	<i>L. chinense</i>	2023. 07. 14
G6	甘肃	<i>L. chinense</i>	2023. 07. 14
G7	甘肃	<i>L. chinense</i>	2023. 07. 14
G8	甘肃	<i>L. chinense</i>	2023. 07. 14
G9	陕西	<i>L. chinense</i>	2023. 08. 03
G10	甘肃	<i>L. chinense</i>	2023. 08. 03
G11	甘肃	<i>L. chinense</i>	2023. 08. 03
G12	不详	<i>L. chinense</i>	2023. 08. 03
G13	河南	<i>L. chinense</i>	2023. 08. 20
G14	陕西	<i>L. chinense</i>	2023. 08. 21
G15	陕西	<i>L. chinense</i>	2023. 08. 21

2 方法与结果

2.1 指纹图谱

2.1.1 色谱条件

采用 Agilent TC - C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) 色谱柱,柱温 30 ℃,以 0.2% 三氟乙酸水溶液(C) - 乙腈(D) 为流动相,梯度洗脱(0 ~ 30 min, 86% C; 30 ~ 60 min, 86% ~ 50% C),流速 0.5 mL · min⁻¹,检测波长 296 nm,进样量 5 μL;在上述色谱条件下,理论塔板数按地骨皮乙素峰计算不低于 8000。

2.1.2 混合对照品溶液的制备

取咖啡酰丁二胺、东莨菪苷、地骨皮乙素、地骨皮甲素对照品适量,精密称定,加甲醇制成质量浓度分别为 87.80、125.83、403.76、341.57 μg · mL⁻¹ 的混合对照品储备液。

2.1.3 供试品溶液的制备

取地骨皮粉末(过四号筛)0.2 g,精密称定,置 100 mL 具塞锥形瓶中,精密加入 0.5% 醋酸的 50% 甲醇溶液 50 mL,密塞,称定重量,超声处理(功率 300 W,频率 40 kHz)20 min,放冷,再称定重量,用 0.5% 醋酸的 50% 甲醇溶液补足减失的重量,摇匀,过滤,即得。

2.1.4 方法学考察

2.1.4.1 精密度

取地骨皮样品粉末 1 份(N3),精密称定,按“2.1.3”项下方法制备供试品溶液,按照“2.1.1”项下的色谱条件,连续进样 6 次,以峰 3 为参照峰,其余各个共有

峰的相对保留时间 $RSD < 0.15\%$, 相对峰面积的 $RSD < 2.97\%$, 表明仪器精密度良好。

2.1.4.2 稳定性

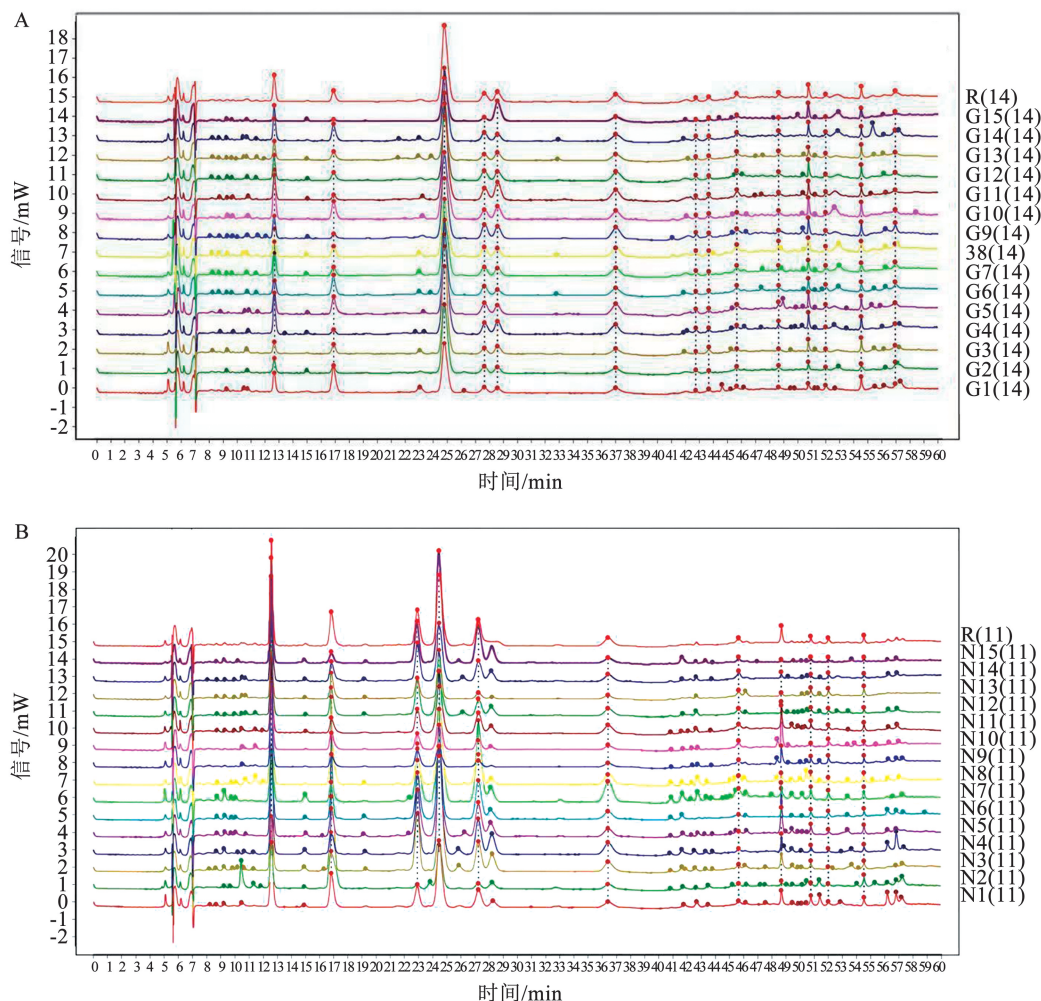
取地骨皮样品粉末 1 份(N3), 精密称定, 按“2.1.3”项下方法制备供试品溶液, 按照“2.1.1”项下的色谱条件, 分别于 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24 h 进样, 以峰 3 为参照峰, 其余各个共有峰的相对保留时间 $RSD < 1.63\%$, 相对峰面积的 $RSD < 3.92\%$, 表明该供试品溶液在 24 h 内测定具有良好的稳定性。

2.1.4.3 重复性

取地骨皮药材粉末(N3) 6 份, 精密称定, 按照“2.1.3”项下方法制备供试品溶液, 按照“2.1.1”项下的色谱条件, 分别进样, 以峰 3 为参照峰, 其余各个共有峰的相对保留时间 $RSD < 0.12\%$, 相对峰面积的 $RSD < 4.50\%$, 表明该方法重现性良好。

2.1.5 指纹图谱的建立及相似度评价

取 30 批地骨皮样品粉末, 按“2.1.3”项下方法制备供试品溶液, 按“2.1.1”项下色谱条件依次进样, 在 296 nm 波长下检测, 使用《中药色谱指纹图谱相似度评价系统》软件(2012 年版), 建立两种地骨皮指纹图谱叠加图, 并生成对照图谱, 见图 1。枸杞地骨皮有 14 个共有峰, 宁夏枸杞地骨皮有 11 个共有峰, 经与对照品比对保留时间和紫外光谱图, 确定 1 号峰为咖啡酰丁二胺, 2 号峰为东莨菪苷, 3 号峰为地骨皮乙素, 5 号峰为地骨皮甲素, 6 号峰为东莨菪内酯; 以 3 号峰地骨皮乙素为参照峰(S) 计算各样品的相似度, 结果显示枸杞地骨皮样品相似度均 > 0.948 ; 宁夏枸杞地骨皮除 N2(0.626) 外, 其余样品相似度均 > 0.849 , 表明不同批次的宁夏枸杞地骨皮质量差异较大, 而枸杞地骨皮质量较为稳定。



注: A. 枸杞地骨皮; B. 宁夏枸杞地骨皮。

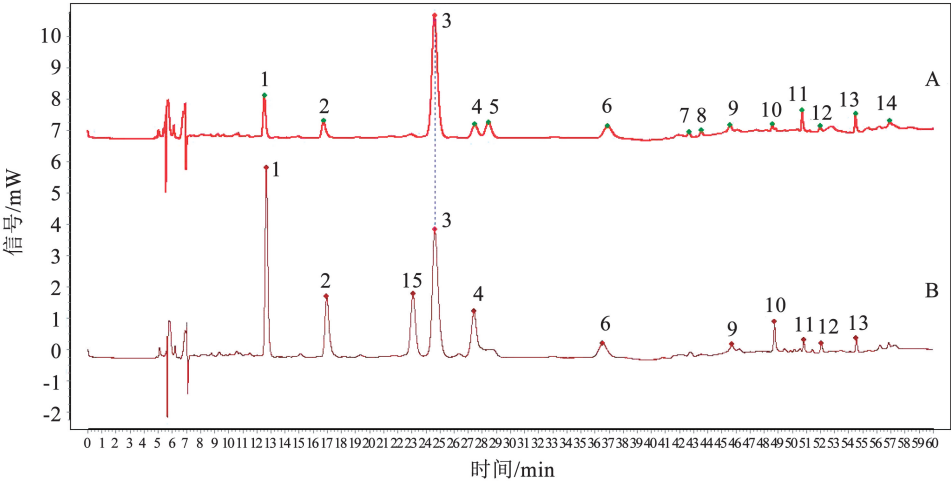
图 1 地骨皮指纹图谱叠加图

将两种地骨皮共有模式图(图 2)进行对比分析可知, 5、7、8、14 号峰仅存在于枸杞地骨皮共有模式图

中, 但部分批次宁夏枸杞地骨皮也存在, 15 号峰仅存在于宁夏枸杞地骨皮共有模式图中, 但部分批次枸杞

地骨皮中也存在,因不同基原地骨皮批次间的差异性,共有模式图中的差异峰不能作为区分两种地骨皮的依据。两种地骨皮共有模式图的相似度为 0.922,说明

二者化学轮廓相似,但个别成分在不同批次样品的分布和含量有区别,造成两种地骨皮特征图谱共有峰存在差异。



注:A. 枸杞地骨皮;B. 宁夏枸杞地骨皮;1. 咖啡酰丁二胺;2. 东莨菪苷;3. 地骨皮乙素;5. 地骨皮甲素;6. 东莨菪内酯。

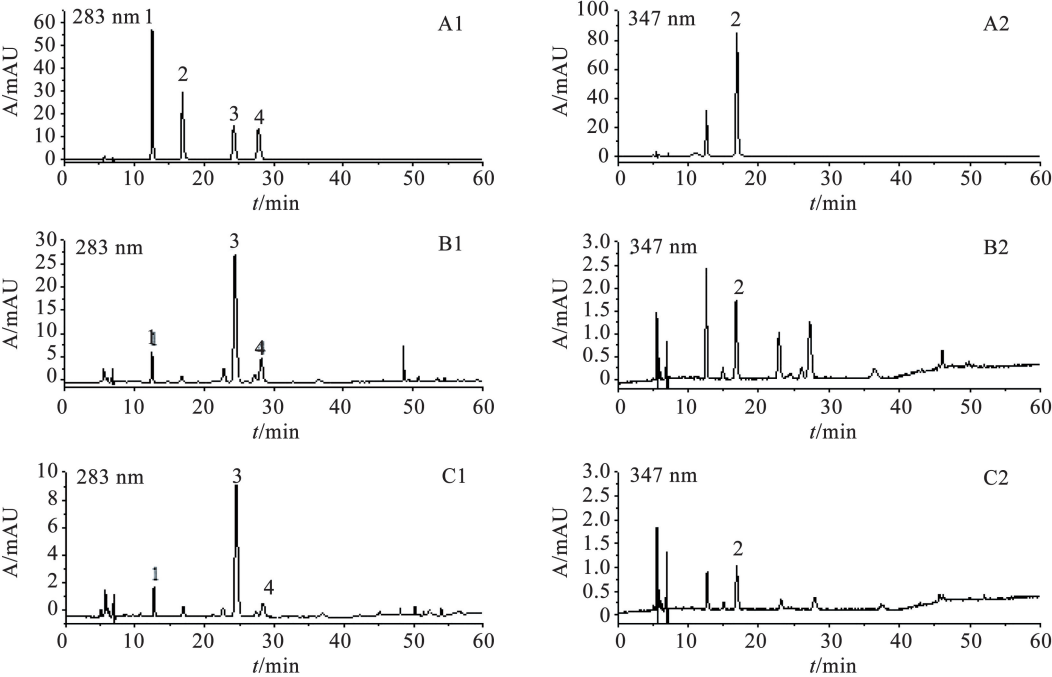
图 2 地骨皮共有模式图

2.2 含量测定

2.2.1 色谱条件

检测波长 283 nm (检测咖啡酰丁二胺、地骨皮甲

素、地骨皮乙素), 347 nm (检测东莨菪苷), 其余色谱条件同“2.1.1”。代表性色谱图见图 3。



注:A. 混合对照品溶液;B. 宁夏枸杞地骨皮;C. 枸杞地骨皮。1. 咖啡酰丁二胺;2. 东莨菪苷;3. 地骨皮乙素;4. 地骨皮甲素。

图 3 HPLC 代表性图谱

2.2.2 方法学考察

2.2.2.1 线性关系考察

精密吸取“2.1.2”项下混合对照品储备液适量,用甲醇梯度稀释 2、4、8、16、32、64 倍,并配制 6 个不

同质量浓度的混合对照品溶液,按“2.2.1”项下色谱条件进行检测,以对照品质量浓度(X)为横坐标,峰面积(Y)为纵坐标进行线性回归。通过注入不同浓度的一系列对照品稀释溶液,得到各成分定量限(LOQ,

S/N = 10) 与检测限 (LOD, S/N = 3), 结果见表 2。

表 2 各成分线性关系

成分	回归方程	r	线性范围/($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	LOQ/($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	LOD/($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)
咖啡酰丁二胺	$Y=0.1498X-0.0718$	0.9999	1.37~87.80	0.69	0.22
东莨菪苷	$Y=0.1134X-0.1276$	0.9997	1.97~125.80	0.99	0.30
地骨皮乙素	$Y=0.0355X-0.0895$	0.9999	6.31~403.76	6.31	1.91
地骨皮甲素	$Y=0.0215X-0.0848$	0.9998	10.67~341.60	10.67	3.23

2.2.2.2 精密度

精密吸取“2.2.2.1”项下混合对照品溶液, 按“2.2.1”项下色谱条件连续进样 6 次, 计算各成分峰面积的 *RSD* 分别为 0.76%、0.21%、0.64%、0.84%, 表明仪器精密度良好。

2.2.2.3 稳定性

取地骨皮样品粉末 1 份(N3), 精密称定, 按“2.1.3”项下方法制备供试品溶液, 按照“2.2.1”项下的色谱条件, 分别于 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24 h 进样, 各成分峰面积的 *RSD* 分别为 0.75%、4.03%、0.23%、2.63%, 表明该供试品溶液在 24 h 内测定具有良好的稳定性。

2.2.2.4 重复性

取地骨皮药材粉末 (N3) 6 份, 精密称定, 按照“2.1.3”项下方法制备供试品溶液, 按照“2.2.1”项下

的色谱条件进样测定, 记录 4 个成分峰面积, 计算得到咖啡酰丁二胺、东莨菪苷、地骨皮乙素、地骨皮甲素 4 个成分平均百分含量分别为 0.27%、0.11%、10.31%、3.07%, *RSD* 分别为 1.14%、1.43%、1.11%、1.06%, 表明该方法重复性良好。

2.2.2.5 加样回收试验

取 9 份已知含量的地骨皮样品 (N3) 粉末约 0.1 g, 精密称定, 按表 3 依次加入低、中、高 3 种不同质量浓度的混合对照品溶液适量, 用 0.5% 醋酸的 50% 甲醇水溶液补足至 50 mL, 按“2.1.3”项下方法制备供试品溶液, “2.2.1”项下色谱条件进样测定, 计算加样回收率。咖啡酰丁二胺、东莨菪苷、地骨皮乙素、地骨皮甲素的平均回收率分别为 100.52%、101.97%、103.84%、100.66%, *RSD* 值均 < 3.50%。

表 3 加样回收试验结果

成分	含有量/mg	加入量/mg	测得量/mg	回收率/%	平均回收率/%	<i>RSD</i> /%
咖啡酰丁二胺	0.2510	0.1493	0.3998	99.67	100.52	2.33
	0.2490	0.1493	0.3946	97.52		
	0.2490	0.1493	0.3994	100.74		
	0.2495	0.2488	0.4894	96.42		
	0.2510	0.2488	0.5010	100.48		
	0.2498	0.2488	0.5027	101.65		
	0.2493	0.2986	0.5545	102.21		
	0.2490	0.2986	0.5544	102.28		
	0.2495	0.2986	0.5591	103.68		
东莨菪苷	0.1061	0.0631	0.1731	106.18	101.97	3.42
	0.1053	0.0631	0.1711	104.28		
	0.1053	0.0631	0.1719	105.55		
	0.1055	0.1052	0.2073	96.77		
	0.1061	0.1052	0.2113	100.00		
	0.1056	0.1052	0.2080	97.34		
	0.1054	0.1262	0.2375	104.68		
	0.1053	0.1262	0.2322	100.55		
	0.1055	0.1262	0.2347	102.38		

续表 3

成分	含有量/mg	加入量/mg	测得量/mg	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
地骨皮乙素	9.588 0	5.701 5	15.704 4	107.28	103.84	3.40
	9.512 1	5.701 5	15.658 1	107.80		
	9.512 1	5.701 5	15.587 0	106.55		
	9.531 1	9.502 6	18.820 7	97.76		
	9.588 0	9.502 6	19.139 8	100.52		
	9.540 5	9.502 6	19.055 0	100.13		
	9.521 6	11.403 1	21.463 7	104.73		
	9.512 1	11.403 1	21.504 7	105.17		
	9.531 1	11.403 1	21.460 8	104.62		
地骨皮甲素	2.854 8	1.697 6	4.557 7	100.31	100.66	3.03
	2.832 2	1.697 6	4.477 7	96.93		
	2.832 2	1.697 6	4.515 4	99.15		
	2.837 9	2.829 4	5.665 5	99.94		
	2.854 8	2.829 4	5.603 6	97.15		
	2.840 7	2.829 4	5.707 5	101.32		
	2.835 0	3.395 2	6.241 6	100.34		
	2.832 2	3.395 2	6.422 9	105.76		
	2.837 9	3.395 2	6.402 8	105.00		

2.2.3 含量测定结果

取 30 批地骨皮药材粉末,按“2.1.3”项下方法制备供试品溶液,“2.2.1”项下色谱条件进样测定,采用外标一点法计算各成分的百分含量,结果见表 4。

表 4 样品含量测定结果(%)

编号	咖啡酰丁二胺	东莨菪苷	地骨皮乙素	地骨皮甲素
N1	0.18	0.14	4.76	0.75
N2	0.09	0.57	3.50	0.78
N3	0.27	0.11	10.31	3.07
N4	0.20	0.09	8.12	2.52
N5	0.36	0.15	8.41	1.53
N6	0.23	0.09	4.76	0.93
N7	0.26	0.11	9.80	1.30
N8	0.32	0.33	5.14	0.60
N9	0.16	0.05	1.36	+
N10	0.15	0.08	1.55	0.41
N11	0.15	0.06	4.65	0.78
N12	0.24	0.11	4.84	0.97
N13	0.12	0.10	0.90	+
N14	0.21	0.09	4.31	1.15
N15	0.20	0.06	8.54	1.85
平均值	0.21±0.07	0.14±0.14	5.39±3.02	1.28±0.78

续表 4

编号	咖啡酰丁二胺	东莨菪苷	地骨皮乙素	地骨皮甲素
G1	0.03	0.09	3.32	0.55
G2	0.02	+	4.47	0.65
G3	0.02	0.03	6.28	0.91
G4	0.07	+	7.70	1.46
G5	0.06	0.06	4.45	0.91
G6	0.07	0.07	4.08	0.57
G7	0.06	0.04	5.43	0.92
G8	0.05	0.04	5.52	1.00
G9	0.04	+	5.83	1.31
G10	0.09	0.06	7.49	1.34
G11	0.04	+	7.23	2.00
G12	0.04	0.03	5.25	1.05
G13	0.03	0.04	3.02	0.95
G14	0.06	0.06	5.07	0.81
G15	—	+	3.00	2.41
平均值	0.05±0.02**	0.05±0.02**	5.21±1.53	1.12±0.52

注:“+”高于检测限但低于定量限;“—”低于检测限;** $P<0.01$ 。

由表 4 可知,宁夏枸杞地骨皮 4 个成分含量的平均值均高于枸杞地骨皮,并且两种地骨皮的咖啡酰丁二胺与东莨菪苷的百分含量差异有统计学意义($P<0.01$),宁夏枸杞地骨皮 4 个成分含量的标准偏差也均大于枸杞地骨皮,也说明了宁夏枸杞地骨皮批次间的质量差异较大。

2.2.4 PCA 主成分分析

主成分分析法是将多个变量转化为少数几个主成分的多元统计分析方法^[19]。本实验 KMO 检验统计量为 0.523, 巴特利特球形度检验显著性 < 0.001, 说明拒绝变量相互独立的假设, 可以进行 PCA 分析。以 4 个成分含量结果为变量, 以累计贡献率 > 85.0% 为标准, 筛选出 3 个主成分, 特征值分别为 2.285、0.896、0.618, 方差贡献率为 57.122%、22.390%、15.459%, 累计方差贡献率为 94.971%, 表明提取的 3 个主成分可解释原有变量 94.971% 的信息; 主成分得分系数矩阵反映了各主成分与原始变量之间的关系, 为了提高主成分的可解释性, 采用凯撒正态化最大方差法对数据进行旋转, 旋转后的成分矩阵见表 6, 第一主成分主要反映了地骨皮甲素与地骨皮乙素的含量信息, 第二主成分主要反映咖啡酰丁二胺的含量信息, 第三主成分主要反映了东莨菪苷的含量信息。

表 5 总方差解释

主成分	特征值	方差贡献率/%	累计方差贡献率/%
1	2.285	57.122	57.122
2	0.896	22.390	79.512
3	0.618	15.459	94.971

表 6 旋转后的成分矩阵

成分	主成分		
	1	2	3
咖啡酰丁二胺	0.260	0.962	-0.044
东莨菪苷	-0.147	-0.045	0.987
地骨皮乙素	0.858	0.330	-0.198
地骨皮甲素	0.946	0.141	-0.080

将数据导入 origin 2021 软件, 对提取得到的主成分进行可视化分析。散点图见图 4, 宁夏枸杞地骨皮与枸杞地骨皮大致聚为两类, 但两种地骨皮部分样品间距离过近, 说明这部分样品间成分差异不够明显; 枸杞地骨皮样品聚集度高于宁夏枸杞地骨皮, 说明枸杞地骨皮种内化学成分较稳定, 而宁夏枸杞地骨皮种内样品间具有较大差异。

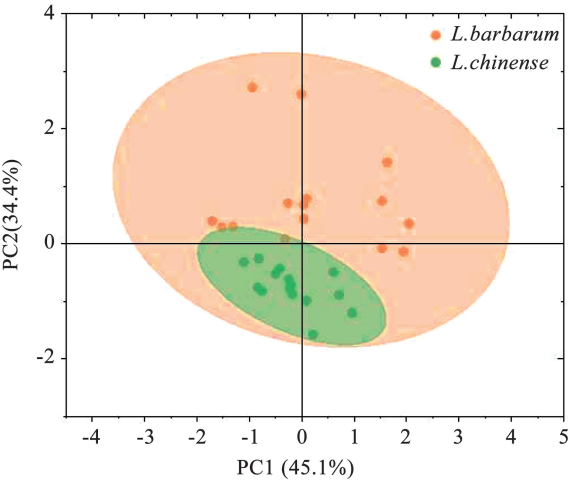


图 4 不同基原地骨皮的 PCA

PCA 为非监督模式的识别分类方法, 只是简单地利用变量数据进行分析, 不考虑样品类别的输出^[20], 样品之间会因信息挖掘不足导致聚类结果不理想, 因此, 要实现对不同基原地骨皮的准确鉴别需要采用具有监督模式的识别分类方法进一步挖掘数据信息。

2.2.5 正交偏最小二乘判别分析

基于偏最小二乘的隐结构正交投影分析 (OPLS - DA) 是常用的有监督模式的多变量统计分析方法^[21]。以 30 批地骨皮药材 4 个成分含量信息为变量导入 SIMCA 14.1 软件建立 OPLS - DA 模型。模型共提取 3 个组分数据, X 矩阵解释率 R^2X 为 0.896, 模型稳定性参数 R^2Y 为 0.812, 二者值均在 0.5 以上, 说明模型有良好的拟合能力与解释率。模型预测能力参数 Q^2 为 0.613, 大于 0.5, 表明所建立的 OPLS - DA 模型预测率较好。设置分类 Y 矩阵变量随机排列 200 次做置换检验, 结果见图 5, 位于最右侧的 R^2 和 Q^2 值均高于左侧, 且 Q^2 回归线在 Y 轴的截距为负值, 表明所建立的模型可靠, 不存在过拟合的现象, 能够有效判别区分不同基原的地骨皮药材。经 OPLS - DA 模型分析得到的得分散点图、载荷图和变量重要性投影 (VIP) 图见图 6 ~ 8。

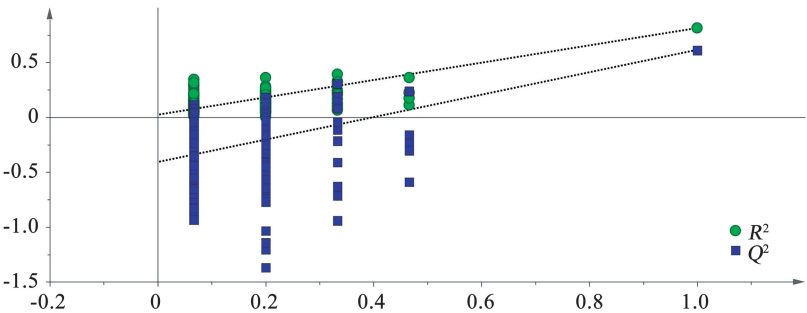


图 5 OPLS - DA 置换检验图

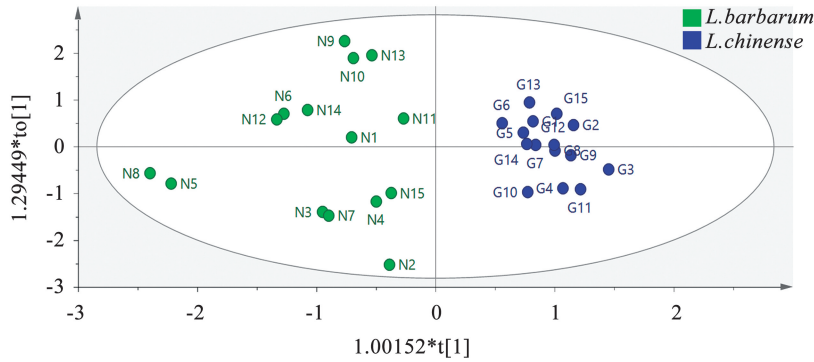


图 6 OPLS-DA 得分散点图

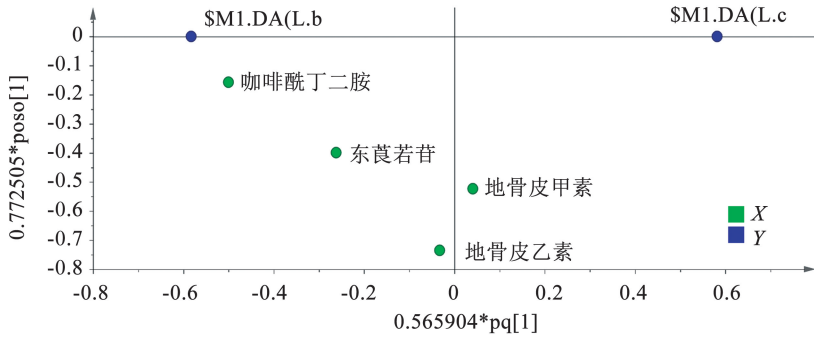


图 7 OPLS-DA 载荷图

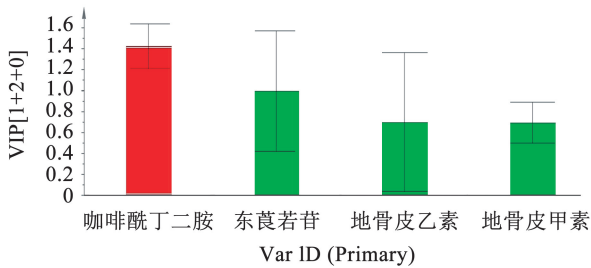


图 8 OPLS-DA VIP 图

由得分散点图可知,30 批地骨皮被划分为两类,所有数值均在 95% 置信区间内;载荷图中每个绿点代表 1 个化合物,离中心越远对模型贡献越大,结合 VIP 图可直观地体现各成分引起样品差异的权重大小,VIP 值 >1 表明对分类结果的影响具有统计学意义,结果表明在不同基原地骨皮分类过程中咖啡酰丁二胺做出突出贡献。

3 讨论

3.1 指纹图谱

本实验建立了两种地骨皮的指纹图谱分析方法,15 批枸杞地骨皮药材相似度均 >0.948,15 批宁夏枸杞地骨皮药材除 N2(0.626) 外,其余样品相似度均 >0.849,枸杞地骨皮批次间相似度较宁夏枸杞地骨皮更高,说明枸杞地骨皮相比于宁夏枸杞地骨皮表现出更好的质量稳定性,N2 号样本与其余样本的相似度较

低,可能与样本的产地加工方式及储存时间有关;两种地骨皮共有模式图相似度为 0.922,证明二者具有相似的化学轮廓,所含化学成分基本一致。本研究通过与标准品进行比对,指纹图谱仅指认 5 个共有峰(仅占总峰数的 35.71% ~ 45.45%),剩余未知峰可能会影响其质量评价,后续可以继续挖掘地骨皮化学成分信息,采用新技术解析未知峰结构。

3.2 含量测定

本实验对咖啡酰丁二胺、东莨菪苷、地骨皮乙素、地骨皮甲素进行了含量测定,结果显示宁夏枸杞地骨皮中 4 个成分含量的均值均高于枸杞地骨皮,并且咖啡酰丁二胺与东莨菪苷的含量在两种地骨皮中的差异具有统计学意义;4 个成分中,地骨皮乙素含量最高,占 4 个化合物总量的 55.45% ~ 89.47%,其次为地骨皮甲素,而咖啡酰丁二胺与东莨菪苷的含量较低。本研究发现了宁夏枸杞地骨皮中地骨皮乙素、地骨皮甲素、东莨菪苷、咖啡酰丁二胺 4 种成分的平均百分含量高于枸杞地骨皮,需进一步探讨其与药效活性的关联,后续可以结合药理实验数据,分析两种地骨皮的成分含量差异是否直接影响其清热、降血糖、降血压等传统功效的强度,探讨“宁夏枸杞地骨皮是否更具临床优势”。本研究的地骨皮含量测定结果虽显示两种地骨皮具有差异,但样品数量有限,仅 30 批,未来可通过扩

大样本量、涵盖更多产地等方法继续深入研究,用新资料产生的新信息持续优化方法,提高本方法的泛化能力。

3.3 化学模式识别

本实验采用 PCA、OPLS - DA 两种化学模型对不同基原地骨皮进行分析。PCA 共提取 3 个主成分,结果可以识别 30 批样品中地骨皮的不同基原; OPLS - DA 将不同基原地骨皮样品聚为两类,模型可靠,并且咖啡酰丁二胺在模型构建中具有突出贡献度。虽然东莨菪苷在两种地骨皮中的差异也具有统计学意义,但其对于模型的贡献度 VIP 值 < 1 , 对于模型无突出贡献,因此化学模式分析应采用 $P < 0.05 + VIP > 1$ 的阈值组合进行差异物的筛选,确定两种地骨皮的差异性物质为咖啡酰丁二胺。有研究^[22-25]表明宁夏枸杞的多糖含量高于其它产区,而宿主植物多糖含量的高低直接影响某些病虫害(如枸杞蚜虫)的发生,咖啡酰丁二胺的含量与植物虫害密切相关,植物含糖量越高,越易感染一些趋糖性的病虫害,咖啡酰丁二胺的含量就会升高;宁夏枸杞主产于宁夏、甘肃等西北地区,土地盐渍化严重,枸杞主要分布于黄河流域,土地肥沃,咖啡酰丁二胺由一分子腐胺与一分子咖啡酸形成,盐碱地的胁迫会显著影响植物中腐胺的含量高低,或进而影响咖啡酰丁二胺的含量^[26-32];因此推测基原植物含糖量高低导致的趋糖性病虫害与盐碱地胁迫导致的某些成分含量增高是造成咖啡酰丁二胺在两种地骨皮中具有显著性差异的主要原因。

3.4 提取方法、色谱条件的优化及检测波长的选择

本实验对提取溶剂(25%、50%、75% 甲醇水)、提取方式(超声提取与回流提取)、提取时间(20、30、40 min)进行了考察,确定了最佳提取方法为 0.5% 醋酸的 50% 甲醇超声提取 20 min;考察了甲醇-0.2% 三氟乙酸水、乙腈-0.2% 甲酸水、乙腈-0.1% 三氟乙酸水、乙腈-0.2% 三氟乙酸水 4 种流动相,以成分分离度、基线平稳、峰形等为指标筛选出乙腈-0.2% 三氟乙酸水作为流动相系统;通过紫外吸收光谱全波长扫描,发现在 296 nm 处呈现的色谱峰最多,地骨皮甲素、地骨皮乙素、咖啡酰丁二胺在 283 nm 处有最大吸收,东莨菪苷在 347 nm 处有最大吸收,因此选择 296 nm 作为地骨皮指纹图谱的检测波长,283 nm 与 347 nm 双波长检测地骨皮 4 种成分含量。

综上,本研究建立了不同基原地骨皮药材 HPLC 指纹图谱分析及咖啡酰丁二胺、东莨菪苷、地骨皮甲素、地骨皮乙素 4 个成分的定量分析方法,结合 PCA、OPLS - DA 等工具揭示了咖啡酰丁二胺的含量

在两种地骨皮中的差异性,并利用 HPLC 分析方法对不同基原地骨皮进行了区分鉴别,分析方法准确可靠,不仅实现了基原区分,更为道地药材的质量评价提供参考,对中药资源开发具有双重指导意义。现行《中国药典》对两种地骨皮统一检测标准,但本研究发现两种地骨皮指纹图谱与含量存在系统性差异,建议针对宁夏枸杞地骨皮增设咖啡酰丁二胺的含量下限;鉴于化学模式识别的高效性,可推动建立便携式检测设备,助力药材市场监管。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中国药典[M]. 北京:中国医药科技出版社, 2020:128-129.
- [2] 陆礼和,陆雪萍,袁名睿,等. 地骨皮化学成分研究进展[J]. 云南化工, 2021, 48(8): 8-14.
- [3] 袁媛. 中药地骨皮化学成分、含量测定及药理活性研究进展[J]. 中医临床杂志, 2018, 30(11): 2131-2134.
- [4] 徐翠翠,张秀文,孔浩,等. 两种来源地骨皮的显微鉴别[J]. 中药材, 2014, 37(6): 984-986.
- [5] 陈倩倩,郭丽琴,郝丽霞,等. 47 批次地骨皮药材的真伪鉴别及质量分析[J]. 北方药学, 2019, 16(8): 11-12.
- [6] 石旻,胡力,赵玉洋,等. 地骨皮的多重位点特异性 PCR 鉴别[J]. 中国实验方剂学杂志, 2024, 30(4): 35-41.
- [7] SZE S C, SONG J X, WONG R N, et al. Application of SCAR (sequence characterized amplified region) analysis to authenticate *Lycium barbarum* (wolfberry) and its adulterants[J]. Biotechnol Appl Biochem, 2008, 51(Pt 1): 15-21.
- [8] 陈金金,赵明霞,姜树,等. 基于 rbcL - a 和 ITS 的枸杞鉴别、遗传关系分析及 ITS 假基因的发现[J]. 生物技术通报, 2017, 33(5): 123-130.
- [9] 辛天怡,赵莎,宋经元. 基于 ITS2 序列鉴定市售地骨皮药材及其混伪品[J]. 中国药理学杂志, 2015, 50(15): 1286-1291.
- [10] ZHIGANG S, WEI A, ENNING J. Genetic polymorphism of eighteen *Lycium barbarum* resources based on nrDNA ITS sequences[J]. Agricultural Science and Technology, 2008, 9(3): 53-55.
- [11] XIN T Y, YAO H, GAO H H, et al. Super food *Lycium barbarum* (Solanaceae) traceability via an internal transcribed spacer 2 barcode[J]. Food Res Int, 2013, 54(2): 1699-1704.
- [12] 王亚飞,杨平荣,杨耘,等. 基于含量测定和化学计量法的地骨皮多指标成分分析[J]. 中国中医药信息杂志, 2022, 29(10): 103-109.
- [13] 高艳艳,陈晓鹤,苏磊,等. 高效液相色谱法指纹图谱结合化学模式识别的地骨皮饮片质量研究[J]. 世界中医药, 2023, 18(5): 593-599.
- [14] 赵子楠,闫立文,赵凯,等. 不同产地与等级地骨皮的指纹图谱研究[J]. 华西药理学杂志, 2020, 35(5): 518-522.
- [15] 赵晓玲,姚霞,张鑫瑶,等. 利用 RSLC 建立地骨皮药材的特征指纹图谱研究[J]. 中药材, 2013, 36(6): 895-899.
- [16] 董丹华,刘玉军,于帅,等. 不同产地地骨皮药材水提液高效液相特征图谱研究[J]. 中国现代中药, 2020, 22(5): 703-706, 714.
- [17] 庞童奇,单雨薇,李世征,等. 基于指纹图谱结合化学计量分析地骨皮饮片质量评价研究及主要成分含量测定[J]. 辽宁中医药大学学报, 2025, 27(1): 45-50.
- [18] 苏磊,姜艳艳,陈路晓,等. 地骨皮中咖啡酰丁二胺、地骨皮乙素和

- 绿原酸含量测定方法研究[J]. 北京中医药大学学报, 2018, 41(5):400–404.
- [19] 刘月程. 质谱代谢组学数据处理的研究[D]. 济南:山东中医药大学, 2019.
- [20] 庞钊靖, 万国超, 刘振平, 等. 气相色谱–离子迁移谱结合化学计量学分析对新会陈皮的鉴别[J]. 食品科学, 2024, 45(13):275–281.
- [21] 阿基业, 何骏, 孙润彬. 代谢组学数据处理——主成分分析十个要点问题[J]. 药学报, 2018, 53(6):929–937.
- [22] 石金兰. 枸杞常见病虫害防治技术[J]. 农业科技与信息, 2018(8):68–69.
- [23] 梁文文. 基于压电声学技术分析枸杞中糖含量[D]. 兰州:西北师范大学, 2022.
- [24] FISCHER M K, SHINGLETON A W. Host plant and ants influence the honeydew sugar composition of aphids[J]. Funct Ecol, 2001, 15(4):544–550.
- [25] KAUR H, HEINZEL N, SCHÖTTNER M, et al. R2R3–NaMYB8 regulates the accumulation of phenylpropanoid–polyamine conjugates, which are essential for local and systemic defense against insect herbivores in *Nicotiana attenuata*[J]. Plant Physiol, 2010, 152(3):1731–1747.
- [26] 杨乾鹏. 历史时期枸杞称谓与产地变迁研究[D]. 上海:上海师范大学, 2023.
- [27] 崔治家, 邵晶, 马毅, 等. 甘肃省道地药材枸杞子资源现状及产业发展对策研究[J]. 中国现代中药, 2023, 25(1):15–21.
- [28] 沈建兰. 外源腐胺调节盐胁迫下黄瓜幼苗叶片淀粉积累的机制[D]. 南京:南京农业大学, 2019.
- [29] 陈浩婷, 张铨锋, 石玉, 等. 腐胺对等渗 NaCl 和 Ca(NO₃)₂ 胁迫下黄瓜幼苗生长和生理特性的影响[J]. 山西农业科学, 2022, 50(9):1278–1289.
- [30] 肖欣怡, 李霞, 史飞航, 等. 西北地区盐碱地治理方案探讨[J]. 农业与技术, 2021, 41(14):142–145.
- [31] 何春娟, 陈靖枝, 杨静玲, 等. 基于 HPLC–Q–TOF MS 的网络化技术对宁夏枸杞根皮的化学成分研究[J]. 质谱学报, 2022, 43(6):792–803.
- [32] 王炳然, 陈晶, 马启凤, 等. 基于 HPLC–IT–TOF/MS 分析不同炮制方法对地骨皮化学成分的影响[J]. 中华中医药学刊, 2023, 41(12):169–175, 后插 37.

Study on HPLC Fingerprints and Quantitation Analysis of Four Components in Different Botanical Origins of Lycii Cortex

GAO Feng^{1,2}, TIAN Fang¹, CAO Changhong¹, ZHONG Wenting¹, CHEN Yongan³, LIANG Huanjian³,
WU Menghua^{1,4}, ZHANG Ying^{1,2}, CAO Hui^{1,2,4}, MA Zhiguo^{1,2}

1. Research Center for Traditional Chinese Medicine of Lingnan (Southern China), Jinan University, Guangzhou 510632, China; 2. Guangdong Key Lab of Traditional Chinese Medicine Information Technology, Guangzhou 510632, China; 3. Guangdong Classic Mingfang Technology Co., Ltd., Guangzhou 511458, China; 4. National Engineering Research Center for Modernization of Traditional Chinese Medicine Lingnan Resources Branch, Guangzhou 510632, China

Abstract Objective: To analyze the differences in chemical components between two types of Lycii cortex derived from *Lycium chinense* Mill. and *Lycium barbarum* L. Methods: HPLC was used to establish the fingerprint profiles of the two kinds of Lycii cortex samples, and the common pattern diagrams were compared for similarity analysis. An HPLC method was developed for the determination of four components: (E)–N–caffeoylputrescine, scopoline, kukoamine B, kukoamine A. Combined with principal component analysis (PCA) and orthogonal partial least squares discriminant analysis (OPLS–DA), the differences in chemical components of Lycii cortex from different origins were compared. Results: HPLC fingerprints of Lycii cortex from different origins were established. Lycii cortex originated from *Lycium chinense* Mill. had 14 common peaks, while Lycii cortex originated from *Lycium barbarum* L. had 11 common peaks. Five common peaks were identified: (E)–N–caffeoylputrescine (Peak 1), scopolin (Peak 2), kukoamine B (Peak 3), kukoamine A (Peak 5), and scopoletin (Peak 6). The quantitative analysis showed good linearity for the four components within the concentration ranges of 1.37~87.80 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ($r=0.999\ 9$), 1.97~125.83 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ($r=0.999\ 7$), 6.31~403.76 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ($r=0.999\ 9$), and 10.67~341.57 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ($r=0.999\ 8$), with average recoveries of 100.52%~103.84% and RSD of 2.33%~3.42%. The content determination results showed that the average percentages of the four components in Lycii cortex originated from *Lycium barbarum* L. were higher than in *Lycium chinense* Mill. Chemical pattern recognition analysis classified the two types of Lycii cortex into two categories, and (E)–N–caffeoylputrescine played a prominent role in model construction. Conclusion: The established method is accurate and reliable, which can be utilized to distinguish the two varieties of Lycii Cortex and provide a reference for the quality control of them.

Key words Lycii cortex; Different botanical origin; Fingerprints; Content determination; Chemical pattern recognition