追风伞HPLC特征图谱建立、化学模式识别及多成分含量测定Δ

黄　桦[1,2*]，杨　菁[1,2,3]，叶江海[1,2]，赵臣亮[1,2]，孙宜春[3]，邹　娟[1,2]，何　康[1,2#]（1.贵州中医药大学药学院，贵阳 550025；2.贵州省苗医药全省重点实验室，贵阳　550025；3.国药集团同济堂（贵州）制药有限公司，贵阳 550009）

中图分类号　R284.1；R917　　**文献标志码**　A　　**文章编号**　1001-0408（2026）21-2832-07
DOI　10.6039/j.issn.1001-0408.2026.21.11

摘　要　目的　建立追风伞高效液相色谱（HPLC）特征图谱及多成分含量测定方法，并结合化学模式识别综合评价追风伞药材质量。**方法**　采用HPLC法建立22批追风伞药材的特征图谱，运用《中药色谱指纹图谱相似度评价系统（2012版）》进行相似度评价并指认共有峰；采用分层聚类分析（HCA）、主成分分析（PCA）和正交偏最小二乘-判别分析（OPLS-DA）评价不同批次样品的化学组成差异并筛选差异性成分；采用HPLC双波长法测定丁香酸、阿魏酸、香蒲新苷和华中冬青素的含量，并结合平均含量及变异系数评价各指标成分的批间变化特征。**结果**　22批追风伞药材HPLC特征图谱中共标定出23个共有峰，指认出香草酸、丁香酸、对羟基肉桂酸、阿魏酸、香蒲新苷、山柰酚-3-*O*-芸香糖苷、异鼠李素-3-*O*-葡萄糖苷、新海胆灵A、交链孢酚和交链孢酚单甲醚10个成分，各批样品相似度为0.688～0.936。HCA、PCA及OPLS-DA结果相互印证，表明不同批次样品具有共同的化学组成基础，但存在一定质量差异；其中，丁香酸、香蒲新苷和阿魏酸等成分对样品分类具有一定的贡献。丁香酸、阿魏酸、华中冬青素和香蒲新苷在各自质量浓度范围内线性关系良好，精密度、稳定性、重复性及加样回收率均符合含量测定要求。22批样中上述4个成分的平均含量分别为0.422 7、0.072 2、0.286 5、0.169 8 mg/g，变异系数分别为93.15%、45.99%、35.12%、108.25%；其中，丁香酸和香蒲新苷批间差异较大，阿魏酸和华中冬青素含量相对稳定。**结论**　所建HPLC特征图谱结合化学模式识别和多成分含量测定方法可有效评价追风伞药材质量。

关键词　追风伞；特征图谱；含量测定；化学模式识别；质量评价；高效液相色谱法

Establishment of HPLC characteristic chromatogram, chemometric pattern recognition, and multi-component determination of *Lysimachia paridiformis*

HUANG Hua[1,2], YANG Jing[1,2,3], YE Jianghai[1,2], ZHAO Chenliang[1,2], SUN Yichun[3], ZOU Juan[1,2], HE Kang[1,2] [1. College of Pharmacy, Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550025, China; 2. Guizhou Key Laboratory of Miao Medicine, Guiyang 550025, China; 3. Sinopharm Group Tongjitang (Guizhou) Pharmaceutical Co., Ltd., Guiyang 550009, China]

ABSTRACT　OBJECTIVE To establish an HPLC characteristic chromatogram and a multi-component quantitative method for *Lysimachia paridiformis*, and to comprehensively evaluate the quality of this medicinal material in combination with chemometric pattern recognition. **METHODS** HPLC was used to establish the characteristic chromatograms of 22 batches of *L. paridiformis* samples. Similarity evaluation and common peak assignment were performed using the *Similarity Evaluation System for Chromatographic Fingerprint of Traditional Chinese Medicine* (*2012 edition*). Hierarchical cluster analysis (HCA), principal component analysis (PCA), and orthogonal partial least squares-discriminant analysis (OPLS-DA) were applied to characterize the inter-batch differences in chemical composition and to identify the differential components. A dual-wavelength HPLC method was developed for the simultaneous determination of syringic acid, ferulic acid, typhaneoside, and huazhongilexin. The inter-batch variation of each marker was evaluated based on the average contents and coefficients of variation. **RESULTS** A total of 23 common peaks were identified in the HPLC characteristic chromatograms of the 22 batches, among which 10 were identified as vanillic acid, syringic acid, *p*-coumaric acid, ferulic acid, typhaneoside, kaempferol-3-*O*-rutinoside, isorhamnetin-3-*O*-glucoside, neoechinulin A, alternariol, and alternariol monomethyl ether. The similarity values of the 22 batches ranged from 0.688 to 0.936. HCA, PCA, and OPLS-DA yielded consistent results, indicating that the samples shared a common chemical compositional basis but exhibited noticeable inter-batch quality differences; syringic acid, typhaneoside,

Δ **基金项目** 贵州省基础研究计划（自然科学）面上项目（No.黔科合基础MS〔2025〕161）；贵州省教育厅高等学校科技创新团队项目（No.黔教技〔2023〕070）；国药集团同济堂（贵州）技术服务项目（No.JS-YF-KY-201912014）

＊ **第一作者** 博士研究生。研究方向：中药及民族药药效物质。E-mail：huahuang0813@163.com

通信作者 教授，博士生导师。研究方向：中药及民族药药效物质。E-mail：hekang@gzy.edu.cn

and ferulic acid were the major contributors to sample discrimination. Syringic acid, ferulic acid, huazhongilexin, and typhaneoside showed good linearity within their respective concentration ranges, and the precision, stability, repeatability, and sample recovery all met the requirements for quantitative analysis. The average contents of syringic acid, ferulic acid, huazhongilexin, and typhaneoside in 22 batches of samples were 0.422 7, 0.072 2, 0.286 5, and 0.169 8 mg/g, with coefficients of variation of 93.15%, 45.99%, 35.12%, and 108.25%, respectively. Syringic acid and typhaneoside exhibited substantial inter-batch variation, whereas ferulic acid and huazhongilexin remained relatively stable. **CONCLUSIONS** The established HPLC characteristic chromatogram, combined with chemometric pattern recognition and multi-component quantification, can effectively evaluate the quality of *L. paridiformis*.

KEYWORDS *Lysimachia paridiformis*; characteristic chromatogram; content determination; chemometric pattern recognition; quality evaluation; HPLC method

追风伞为报春花科（Primulaceae）珍珠菜属（*Lysimachia* L.）植物狭叶落地梅 *Lysimachia paridiformis* var. *stenophylla* Franch. 的干燥全草或根，主要分布于我国西南地区，在贵州省资源较为丰富，是苗族等少数民族的常用药材[1]。其具有祛风活络、活血止痛等功效，临床常用于风湿痹痛、跌打损伤等病症[2]。现代研究表明，追风伞主要含有黄酮类、苯丙素类、酚酸类、挥发性成分及生物碱类等成分[3－5]，具有抗炎、抗风湿、镇痛及抗氧化等药理作用[6－7]。此外，追风伞还是黑骨藤追风活络胶囊、痹克颗粒和枫荷除痹酊等制剂的重要原料，具有一定的临床应用基础和产业开发需求[8]。

目前，追风伞主要收载于2019年版《贵州省中药材民族药材质量标准》[9]，尚未被《中国药典》（一部）收载。现行标准以性状鉴别和显微鉴别为主，缺乏能反映药材整体化学特征及关键成分含量的质量控制指标，难以全面评价不同批次追风伞药材的内在质量与批间一致性。因此，有必要建立一种兼顾整体化学表征与多指标成分定量分析的质量评价方法，以完善追风伞药材的质量标准，保障相关制剂投料药材质量的稳定性。

高效液相色谱（HPLC）特征图谱能够较为全面地反映中药材的整体化学组成，结合该图谱与化学模式识别，可分析不同批次样品的质量差异并筛选潜在差异性成分；在此基础上开展多成分含量测定，即可实现对关键质量指标的定量评价[10]。基于本课题组前期对追风伞化学成分及其药理活性的研究结果[3－4]，本研究拟建立22批追风伞药材的HPLC特征图谱，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，并运用分层聚类分析（hierarchical cluster analysis，HCA）、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）评价不同批次样品的化学组成差异并筛选差异性成分；同时建立丁香酸、阿魏酸、香蒲新苷和华中冬青素的多成分含量测定方法，以期为追风伞药材质量标准的完善及相关制剂投料药材的质量控制提供参考。

1 材料

1.1 仪器

本研究所用主要仪器包括LC-2030C 3D型HPLC仪（日本Shimadzu公司）、BSM-220.4型电子天平（上海卓精电子科技有限公司）、MS105UD型电子天平（瑞士Mettler Toledo仪器有限公司）、KQ-250DB型数控超声波清洗器（昆山市超声仪器有限公司）等。

1.2 主要试剂与药材

香草酸、对羟基肉桂酸、华中冬青素、山柰酚-3-*O*-芸香糖苷、新海胆灵A、交链孢酚及交链孢酚单甲醚对照品（批号分别为AL231130-23、AL231130-8、AL231130-5、AL231130-17、AL231130-27、AL231130-4、AL231130-2）均由本课题组自制，丁香酸、香蒲新苷对照品（批号分别为210517、210312）均购自成都普菲德生物技术有限公司，阿魏酸对照品（批号D1223CS）购自北京索莱宝科技有限公司，异鼠李素-3-*O*-葡萄糖苷对照品（批号CHB0217）购自成都格利普生物科技有限公司，上述对照品的纯度均不低于98%；甲醇（色谱纯）购自美国Tedia公司；实验用水为娃哈哈纯净水。

22批追风伞药材由国药集团同济堂（贵州）制药有限公司提供，经贵州中医药大学药学院孙庆文教授鉴定，均为报春花科珍珠菜属植物狭叶落地梅 *L. paridiformis* var. *stenophylla* Franch. 的干燥全草。药材信息见表1。

表1 22批追风伞药材的产地和采收时间

编号	产地	采收时间	编号	产地	采收时间
S1	贵州省桐梓县风水乡	2020年6月	S12	贵州省桐梓县风水乡	2022年4月
S2	贵州省织金县纳雍乡	2020年6月	S13	贵州省织金县纳雍乡	2022年4月
S3	贵州省余庆县关兴镇	2020年6月	S14	贵州省余庆县关兴镇	2022年4月
S4	贵州省凤冈县琊川镇	2020年6月	S15	贵州省凤冈县琊川镇	2022年4月
S5	贵州省湄潭县兴隆镇	2020年6月	S16	贵州省湄潭县兴隆镇	2022年4月
S6	贵州省湄潭县西河镇	2020年6月	S17	贵州省湄潭县西河镇	2022年4月
S7	贵州省习水县永安镇	2020年6月	S18	贵州省习水县永安镇	2022年4月
S8	贵州省习水县官店镇	2020年6月	S19	贵州省正安县土坪镇	2022年4月
S9	贵州省正安县土坪镇	2020年6月	S20	贵州省黔西市素朴镇	2022年4月
S10	贵州省黔西市素朴镇	2020年6月	S21	贵州省绥阳县坪乐乡	2022年4月
S11	贵州省绥阳县坪乐乡	2020年6月	S22	贵州省余庆县关兴镇	2021年4月

2 方法与结果

2.1 HPLC特征图谱的建立

2.1.1 混合对照品溶液的制备

分别精密称取香草酸、丁香酸、对羟基肉桂酸、阿魏酸、华中冬青素、香蒲新苷、山柰酚-3-*O*-芸香糖苷、异鼠李素-3-*O*-葡萄糖苷、新海胆灵A、交链孢酚和交链孢酚单甲醚对照品适量，以甲醇溶解并定容至5 mL，制成质量浓度分别为0.977 6、0.999 6、0.988 2、1.001 6、1.001 0、0.998 7、1.044 9、0.956 5、1.011 7、1.038 2、1.004 5 mg/mL的单一对照品储备液。分别吸取上述对照品储备液适量，置于同一10 mL容量瓶中，加甲醇定容至刻度，摇匀，即得上述成分质量浓度分别为14.66、19.99、39.53、5.01、20.02、34.95、20.90、28.69、20.23、10.38、20.09 μg/mL的混合对照品溶液。

2.1.2 供试品溶液的制备

取追风伞药材，粉碎，过三号筛，精密称取药材粉末0.5 g，置于50 mL具塞锥形瓶中，精密加入70%乙醇10 mL，称定质量，超声提取45 min（功率250 W，频率80 kHz），放冷至室温，再次称定质量，以70%乙醇补足减失的质量，摇匀，经0.45 μm有机微孔滤膜滤过，取续滤液作为供试品溶液。

2.1.3 色谱条件

采用Agilent C_{18}色谱柱（250 mm×4.6 mm，5 μm），以甲醇（A）-0.2%乙酸水溶液（B）为流动相进行梯度洗脱（0～5 min，18%A；5～40 min，18%A→35%A；40～75 min，35%A→70%A；75～93 min，70%A；93～94 min，70%A→75%A；94～100 min，75%A→78%A；100～118 min，78%A→90%A；118～120 min，90%A→100%A）；柱温为30 ℃；流速为1.0 mL/min；检测波长为295 nm；进样量为10 μL。

2.1.4 精密度试验

取追风伞药材（编号S1）粉末0.5 g，按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液，按“2.1.3”项下色谱条件连续进样测定6次。以分离度较好、保留时间适中的7号峰为参照峰，计算得各共有峰的相对保留时间和相对峰面积的RSD分别小于0.35%、2.97%（n=6），表明方法精密度良好。

2.1.5 稳定性试验

取追风伞药材（编号S1）粉末0.5 g，按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液，于室温放置0、2、4、6、8、10 h时，按“2.1.3”项下色谱条件进样测定。以7号峰为参照峰，计算得各共有峰的相对保留时间和相对峰面积的RSD分别小于0.17%、2.91%（n=6），表明供试品溶液在室温放置10 h内稳定性良好。

2.1.6 重复性试验

取追风伞药材（编号S1）粉末6份，每份各0.5 g，分别按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液，按“2.1.3”项下色谱条件进样测定。以7号峰为参照峰，计算得各共有峰的相对保留时间和相对峰面积的RSD分别小于0.18%、2.82%（n=6），表明该方法重复性良好。

2.1.7 22批样品的特征图谱建立与分析

取22批追风伞药材样品（编号S1～S22），按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液。取上述供试品溶液和“2.1.1”项下混合对照品溶液，按“2.1.3”项下色谱条件进样测定。将22批样品的色谱数据导入《中药色谱指纹图谱相似度评价系统（2012版）》进行分析。以S1批次样品的色谱图作为参照图谱，设置时间窗宽度为0.5 min，经多点校正及Mark峰匹配后，获得22批追风伞药材样品的HPLC特征图谱叠加图，并采用中位数法生成对照特征图谱R，详见图1。结果显示，22批追风伞药材样品的HPLC特征图谱中共标定出23个共有峰。将对照特征图谱R与混合对照品溶液的色谱图进行比对，共指认出10个共有峰，分别为2号峰（香草酸）、3号峰（丁香酸）、4号峰（对羟基肉桂酸）、6号峰（阿魏酸）、8号峰（香蒲新苷）、9号峰（山柰酚-3-*O*-芸香糖苷）、10号峰（异鼠李素-3-*O*-葡萄糖苷）、11号峰（新海胆灵A）、12号峰（交链孢酚）和14号峰（交链孢酚单甲醚），详见图2。

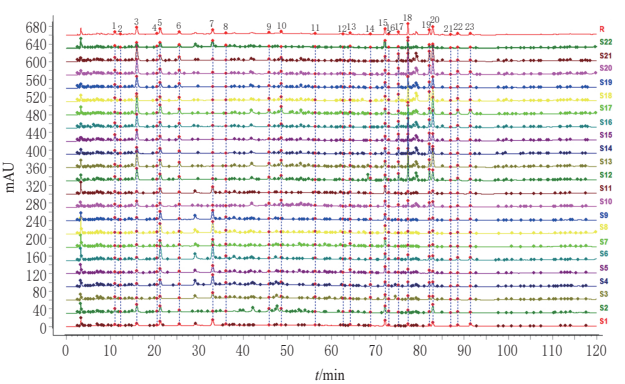
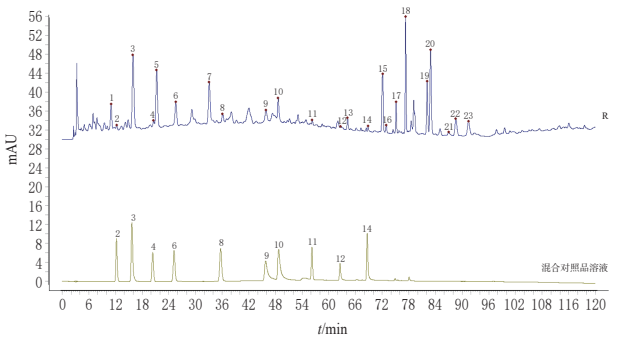


图1 22批追风伞药材样品的HPLC叠加特征图谱及其对照特征图谱R

以对照特征图谱R为参照，采用《中药色谱指纹图谱相似度评价系统（2012版）》对22批追风伞药材样品的HPLC特征图谱进行相似度评价。结果显示，22批样品相似度范围为0.688～0.936，其中S8批次样品的相似度最低（0.688），S19批次样品的相似度最高（0.936）。S1～S22批次样品的相似度分别为0.824、0.890、0.802、0.773、0.789、0.719、0.767、0.688、0.720、0.902、0.778、0.921、0.921、0.903、0.899、0.922、0.903、0.896、0.936、0.926、0.923、0.919。结果提示，22批追风伞药材样品的整体化学成分特征具有一定相似性，但不同批次样品间仍存在一定差异。



2：香草酸；3：丁香酸；4：对羟基肉桂酸；6：阿魏酸；8：香蒲新苷；9：山柰酚-3-*O*-芸香糖苷；10：异鼠李素-3-*O*-葡萄糖苷；11：新海胆灵A；12：交链孢酚；14：交链孢酚单甲醚。

图2　追风伞药材对照特征图谱R及混合对照品溶液的HPLC色谱图

2.2　追风伞药材特征图谱的化学模式识别分析

2.2.1　HCA

以22批追风伞药材样品HPLC特征图谱中23个共有峰峰面积的*Z*-score标准化值为变量，采用SPSS 26.0软件，选择平方欧氏距离作为度量标准，以组间连接法进行HCA[11]，结果见图3。根据聚类树状图的分支情况，当平方欧氏距离约为20时，22批样品呈现明显的两类聚集趋势，其中编号S1、S3～S9、S11和S22的样品聚为一类，编号S2、S10、S12～S21的样品聚为另一类；进一步缩短平方欧氏距离至15时，样品可细分为5类，其中编号S1、S3～S5、S7～S9、S11和S22的样品为一类，编号S10、S12～S16、S18～S21的样品为一类，编号S2、S6和S17的样品分别单独聚类。HCA结果显示，22批追风伞药材样品呈现不同的聚类分组特征，提示不同批次样品的共有峰峰面积分布模式存在一定差异，并表现出一定的聚集特征。

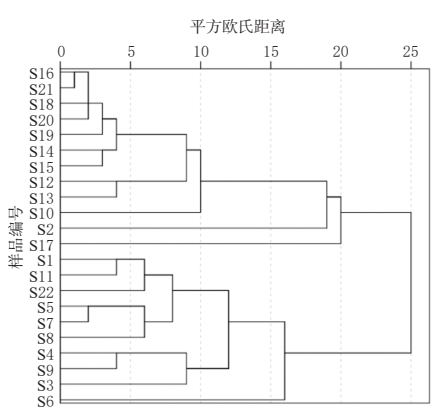


图3　22批追风伞药材样品共有峰峰面积的HCA树状图

2.2.2　PCA

基于上述标准化处理后的数据，采用SIMCA 14.1软件进行PCA[12]。根据HCA在平方欧氏距离为20时的分组结果，将22批追风伞药材样品划分为两组，分别记为1组和2组，其中1组包括编号S1、S3～S9、S11、S22的样品，2组包括编号S2、S10、S12～S21的样品，PCA得分图见图4。22批样品在主成分空间中呈现一定聚集趋势，两组样品表现出一定分离特征，与HCA结果基本一致。此外，PCA模型中第一主成分和第二主成分的方差贡献率分别为46.4%和14.8%，累计方差贡献率为61.2%。

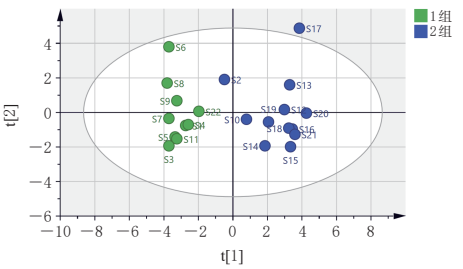


图4　22批追风伞药材样品的PCA得分图

2.2.3　OPLS-DA

在PCA基础上，进一步采用OPLS-DA模型对22批追风伞药材样品进行判别分析[13]，结果见图5。OPLS-DA得分图显示，22批追风伞药材样品分布趋势与HCA和PCA结果基本一致。模型拟合参数R^2X、R^2Y和预测能力参数Q^2_{cum}分别为0.747、0.917和0.845，其中R^2X表示模型对X矩阵（样品变量信息）的解释能力，R^2Y表示模型对分类变量Y的解释能力，Q^2_{cum}反映模型的预测能力。上述参数均大于0.7，表明模型具有较好的拟合和预测能力。采用200次置换检验对模型稳定性进行验证，R^2、Q^2截距分别为0.179和－0.588，且Q^2截距小于0，提示模型未出现明显过拟合现象[14]。

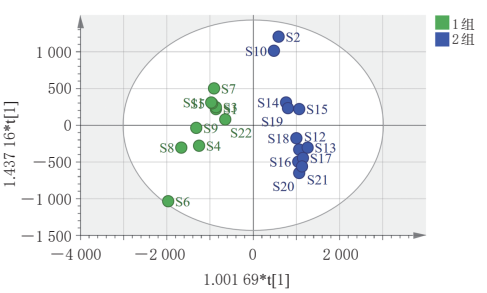


图5　22批追风伞药材样品的OPLS-DA得分图

进一步根据变量重要性投影（variable importance in projection，VIP）值筛选对样品分类贡献较大的变量，结果见图6。以VIP＞1为筛选标准[15]，共筛选得到5个变量，分别为峰3（丁香酸，VIP＝2.06）、峰7（VIP＝2.05）、峰20（VIP＝1.85）、峰18（VIP＝1.80）和峰19（VIP＝1.21）。此外，峰17（VIP＝0.97）、峰8（香蒲新苷，VIP＝0.95）和峰6（阿魏酸，VIP＝0.90）的VIP值接近1，亦表现出一定的分类贡献。上述差异变量可能是导致不同批次追风伞药材样品化学特征差异的重要因素，可为后续筛选潜在质量评价指标及开展多指标成分含量测定研究提供参考。

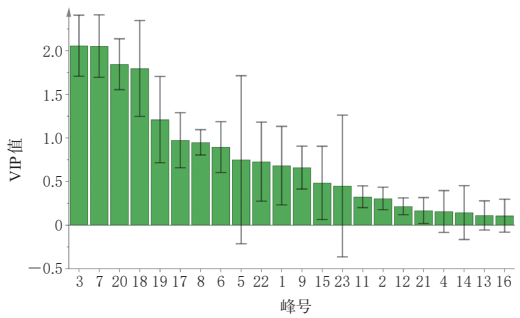


图6　22批追风伞药材样品OPLS-DA的VIP图

2.3　多成分含量测定

2.3.1　色谱条件

色谱柱、流动相、梯度洗脱程序、流速、柱温及进样量均同“2.1.3”项，检测波长分别为275 nm（华中冬青素）和295 nm（丁香酸、阿魏酸及香蒲新苷）。

2.3.2　线性工作液的制备

分别精密吸取“2.1.1”项下丁香酸、阿魏酸、华中冬青素和香蒲新苷的单一对照品储备液（其中阿魏酸、香蒲新苷储备液分别以甲醇稀释5、10倍后使用）20、20、50、20 μL，置于同一10 mL容量瓶中，加甲醇定容至刻度，摇匀，即得初始浓度水平的线性工作液；制备后续4个浓度水平的线性工作液时，各成分的吸取体积在上一个浓度水平线性工作液制备的基础上依次增加180、130、90、750 μL。

2.3.3　专属性考察

分别吸取“2.3.2”项下第3个浓度水平的线性工作液（丁香酸、阿魏酸、华中冬青素和香蒲新苷的质量浓度分别为0.038 0、0.005 6、0.023 0、0.015 2 mg/mL）、“2.1.2”项下追风伞药材供试品溶液（编号S1）及空白溶液（70%乙醇）各10 μL，按“2.3.1”项下色谱条件进样测定，记录色谱图。结果显示，供试品色谱图中，4个待测成分在相应对照品的保留时间处均出现色谱峰，4个待测成分色谱峰与相邻色谱峰间分离良好，分离度均大于1.5，且空白溶液不干扰测定，表明方法专属性良好。结果见图7。

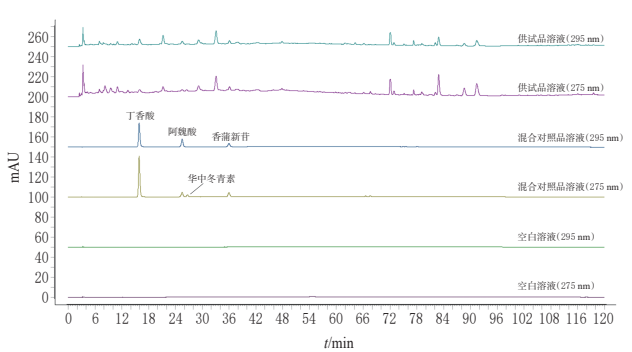


图7　含量测定方法专属性考察的HPLC色谱图

2.3.4　线性关系考察

取“2.3.2”项下不同浓度水平的系列线性工作液，按“2.3.1”项下色谱条件进样测定，记录各待测成分的峰面积。以各成分质量浓度（X）为横坐标、峰面积（Y）为纵坐标进行线性回归，建立标准曲线，结果见表2。结果表明，4个待测成分在各自对应的质量浓度范围内均具有良好的线性关系（$r\geqslant0.999\ 7$）。

表2　4个成分的线性关系考察结果

成分	回归方程	r	线性范围/(mg/mL)
丁香酸	$Y_{295\ nm}=15\ 289\ 533.33X-14\ 197.466\ 67$	0.999 8	0.002 0～0.074 0
阿魏酸	$Y_{295\ nm}=39\ 369\ 384.62X-3\ 946.753\ 846$	0.999 7	0.000 4～0.010 8
华中冬青素	$Y_{275\ nm}=2\ 544\ 633.333X-3\ 967.966\ 667$	0.999 7	0.005 0～0.041 0
香蒲新苷	$Y_{295\ nm}=6\ 277\ 533.333X+312.093\ 333\ 3$	0.999 8	0.000 2～0.030 2

2.3.5　精密度试验

取“2.3.2”项下第3个浓度水平的线性工作液，按“2.3.1”项下色谱条件连续进样6次，记录各待测成分的峰面积并计算RSD。结果显示，丁香酸、阿魏酸、华中冬青素和香蒲新苷峰面积的RSD分别为0.26%、0.32%、1.16%和0.30%（$n=6$），表明仪器精密度良好。

2.3.6　稳定性试验

取S1批次追风伞药材粉末0.5 g，按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液，分别于室温放置0、2、4、6、8、10 h时，按“2.3.1”项下色谱条件进样测定，记录各待测成分峰面积并计算RSD。结果显示，丁香酸、阿魏酸、华中冬青素和香蒲新苷峰面积的RSD分别为1.98%、0.43%、2.58%和1.53%（$n=6$），表明供试品溶液中4个待测成分在室温放置10 h内稳定性良好。

2.3.7　重复性试验

取S1批次追风伞药材粉末6份，每份各0.5 g，按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液，按“2.3.1”项下色谱条件进样测定，采用外标法计算各待测成分的含量并计算RSD。结果显示，丁香酸、阿魏酸、华中冬青素和香蒲新苷含量的RSD分别为1.87%、1.03%、1.28%和2.35%（$n=6$），表明该方法重复性良好。

2.3.8　加样回收率试验

精密称取已测定含量的S1批次追风伞药材样品6份，每份约0.25 g，分别按各待测成分已知含量100%的比例加入丁香酸、阿魏酸、华中冬青素和香蒲新苷对照品，按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液，按“2.3.1”项下色谱条件进样测定，记录峰面积。采用外标法计算各待测成分的含量，并计算其加样回收率。结果显示，丁香酸、阿魏酸、华中冬青素和香蒲新苷的平均加样回收率分别为103.38%、102.08%、99.89%和101.13%，RSD分别为1.19%、1.64%、2.43%和1.40%（$n=6$），表明该方法准确度良好。

2.3.9　22批样品的含量测定

精密称取22批追风伞药材粉末各0.5 g，按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液，按“2.3.1”项下色谱条件进样测定，记录峰面积。采用外标法计算丁香酸、阿魏酸、华中冬青素和香蒲新苷4个成分的含量。重复测定3次，取平均值，结果见表3。结果显示，22批样品中丁香酸、阿魏酸、华中冬青素和香蒲新苷的含量范围分别为0.044 6～1.391 6、0.016 2～0.140 2、0.178 5～0.636 1、0.003 7～0.555 5 mg/g，平均含量分别为0.422 7、0.072 2、0.286 5、0.169 8 mg/g，变异系数分别为93.15%、45.99%、35.12%和108.25%。

表3　22批追风伞药材样品中4个指标成分含量测定结果（mg/g，n=3）

编号	丁香酸	阿魏酸	华中冬青素	香蒲新苷
S1	0.218 7	0.044 1	0.275 7	0.285 9
S2	0.305 5	0.057 4	0.279 1	0.033 9
S3	0.044 6	0.016 2	0.255 0	0.212 1
S4	0.086 2	0.033 4	0.258 6	0.469 6
S5	0.080 9	0.042 1	0.432 3	0.335 3
S6	0.094 2	0.041 6	0.280 1	0.555 5
S7	0.162 8	0.049 5	0.414 5	0.256 2
S8	0.081 1	0.055 6	0.636 1	0.430 7
S9	0.200 4	0.035 9	0.252 3	0.393 1
S10	0.211 9	0.067 7	0.248 6	0.006 2
S11	0.151 6	0.032 8	0.344 4	0.301 5
S12	0.451 4	0.093 4	0.379 2	0.004 7
S13	1.196 4	0.121 2	0.195 1	0.004 1
S14	0.245 0	0.070 3	0.192 9	0.004 0
S15	0.794 9	0.091 0	0.269 2	0.003 7
S16	0.497 9	0.099 2	0.253 4	0.033 5
S17	1.391 6	0.140 2	0.215 7	0.003 9
S18	0.283 4	0.083 3	0.218 0	0.004 0
S19	0.915 7	0.108 3	0.248 6	0.005 9
S20	0.567 4	0.111 6	0.226 5	0.028 4
S21	1.114 4	0.110 1	0.249 5	0.034 3
S22	0.204 3	0.084 5	0.178 5	0.329 2
平均值	0.422 7	0.072 2	0.286 5	0.169 8
变异系数/%	93.15	45.99	35.12	108.25

3　讨论

3.1　色谱条件优化及供试品溶液制备方法选择

本研究前期通过全波长扫描，并结合色谱峰数量、峰形、分离度及基线稳定性等因素对检测条件进行考察，最终确定以甲醇-0.2%乙酸水溶液为流动相，以及检测波长295 nm、柱温30 ℃、流速1.0 mL/min、进样量10 μL作为追风伞HPLC特征图谱建立条件。在该条件下，样品色谱峰分离效果较好，峰信息较丰富，能够满足追风伞药材整体化学特征表征的要求。检测波长考察中发现，295 nm波长下色谱峰分离良好、响应均匀、基线稳定，适用于特征图谱建立；而部分指标成分在275 nm波长下紫外吸收更强，灵敏度更高。因此，在含量测定中采用295、275 nm双波长检测，以兼顾图谱整体特征与各成分定量灵敏度。

在供试品溶液制备方面，本研究通过对提取条件进行优化，确定了采用70%乙醇、料液比1∶20（g/mL）超声提取45 min（功率250 W，频率80 kHz）的制备方法。该方法所制供试品溶液，在选定色谱条件下可获得较丰富的色谱信息，且方法学验证结果表明其具有良好的稳定性，可满足追风伞药材特征图谱建立及多成分含量测定的分析需求。

3.2　HPLC特征图谱的建立及共有峰指认

中药材化学成分具有多样性和复杂性，仅采用单一指标成分进行评价难以全面反映药材内在质量[16]。本研究建立了22批追风伞药材的HPLC特征图谱，共标定23个共有峰，并通过与对照品保留时间比对，初步指认香草酸、丁香酸、对羟基肉桂酸、阿魏酸、香蒲新苷、山柰酚-3-*O*-芸香糖苷、异鼠李素-3-*O*-葡萄糖苷、新海胆灵A、交链孢酚及交链孢酚单甲醚10个成分，涉及酚酸类、苯丙素类、黄酮类及其他类化合物，表明追风伞具有较为复杂的化学组成基础。相较于单指标评价，特征图谱反映的是多个成分共同作用形成的整体化学特征，信息更为完整。本研究建立的图谱共标定23个共有峰，信息较为丰富，可用于评价不同批次药材的整体一致性。但受限于现有条件，部分共有峰的结构归属尚未明确。后续拟结合液质联用、定向分离及核磁共振等技术加以鉴定，以完善其化学成分谱，为质量标志物筛选和标准优化奠定基础。

3.3　特征图谱的相似度评价及化学模式识别分析

22批样品特征图谱的相似度为0.688～0.936，表明不同批次样品具有共同的化学组成基础，但整体化学特征存在一定差异。其中，S8批次样品的相似度最低（0.688），S19批次样品的相似度最高（0.936），提示不同批次样品中特征成分的相对含量及组成比例存在一定差异。进一步结合HCA、PCA及OPLS-DA结果发现，不同批次样品呈现一定的聚类趋势，部分样品具有较为相似的化学特征；在OPLS-DA筛选出的差异变量中，丁香酸、香蒲新苷和阿魏酸等成分对样品分类具有一定贡献，提示这些成分的变化可能与批间化学特征差异有关。综合各项分析结果可见，不同批次追风伞样品在整体化学组成上具有一定相似性的同时，也表现出特征峰相对含量及化学特征聚集模式的差异。本研究结果从整体图谱特征与具体成分差异两个层面反映了追风伞药材的批间化学差异，可为其质量评价及质量控制提供参考。

3.4　含量测定指标的确定及多含量测定结果分析

质量评价指标的选择应兼顾成分代表性、批间差异性及与药材功效的关联性。本研究结合OPLS-DA结果、追风伞的化学成分特点及前期研究基础，选择丁香酸、阿魏酸、香蒲新苷和华中冬青素作为含量测定指标。

其中，丁香酸在OPLS-DA中表现出较高的变量重要性；阿魏酸和香蒲新苷则是结合其成分特征及相关研究基础最终纳入定量分析。华中冬青素为本课题组前期从追风伞中分离获得的代表性成分[4]。已有研究报道，华中冬青素、丁香酸、阿魏酸及香蒲新苷均具有一定的抗炎活性[17—20]，与追风伞传统用于风湿痹痛、跌打损伤等病症的功效特点具有一定关联。因此，对上述4个成分进行含量测定，可在考察批间含量变化的同时，为追风伞药材的化学质量评价及相关成分的进一步研究提供依据。

对22批追风伞药材进行含量测定发现，丁香酸、阿魏酸、华中冬青素和香蒲新苷的变异系数分别为93.15%、45.99%、35.12%和108.25%，表明不同成分在批间含量波动方面存在明显差异。其中，丁香酸和香蒲新苷的含量波动较大，可能更有助于反映不同批次样品间的化学差异；阿魏酸和华中冬青素的含量相对稳定，可为考察样品间相关成分含量的一致性提供参考。结合前述特征图谱相似度评价及化学模式识别结果，多成分含量测定进一步从具体成分含量层面揭示了追风伞药材的批间差异。上述结果提示，不同成分在质量评价中可能具有不同的作用，后续可结合更多批次样品及相关质量评价指标，进一步探索兼顾批间差异识别与含量一致性评价的差异化质量控制策略。

综上所述，本研究通过HPLC特征图谱建立、化学模式识别及多成分含量测定，构建了从整体化学轮廓表征、样品差异识别到关键成分评价的递进式质量评价模式，可为追风伞药材质量标准完善及相关制剂原料药材质量控制提供参考。但本研究仍存在一定局限性：部分VIP值较高的差异性变量尚未明确化学结构，后续可结合液质联用、核磁共振及定向分离等技术进一步鉴定与解析；此外，受样品来源及批次构成的限制，不同批次样品间部分成分含量差异较大，其影响因素尚需进一步探讨。未来可扩大样品来源及覆盖范围，在完善追风伞药材质量控制研究的基础上，进一步开展不同来源样品的化学特征及差异成因分析，为其质量评价与标准完善提供更充分的依据。

利益冲突　本文所有作者声明不存在利益冲突

参考文献

[1] 张敬杰，邹娟. 苗族药物彩色图谱[M]. 贵阳：贵州科技出版社，2017：224.

[2] 黄桦，杨菁，张敬杰，等. 狭叶落地梅不同产地和部位抗氧化性研究[J]. 中国野生植物资源，2023，42(11)：33-43.

[3] Li L L，Luo J F，Huang H，et al. Anti-inflammatory mechanisms of lysilactones and diketopiperazine alkaloids from *Lysimachia paridiformis*[J]. Chem Biodivers，2026，23(4)：e02340.

[4] 黄桦，乐岚，赵金凤，等. 狭叶落地梅化学成分及其活性研究[J]. 中药材，2025，48(11)：2772-2779.

[5] 陈秧，谢青玲，曹亮，等. 狭叶落地梅化学成分研究[J]. 中成药，2023，45(4)：1167-1172.

[6] 刘琪，张丽艳，黄颖，等. 追风伞(狭叶落地梅)标准汤剂对胶原性关节炎模型大鼠的保护作用及机制[J]. 亚太传统医药，2025，21(5)：15-21.

[7] 刘杰，邓莹，梁子聪，等. 苗药科土欧(追风伞)抗急性痛风性关节炎的活性部位筛选[J]. 海峡药学，2025，37(5)：28-32.

[8] 黄桦，杨菁，张敬杰，等. 追风伞薄层鉴别及不同批次、部位化学成分差异分析[J]. 贵州科学，2024，42(4)：26-32.

[9] 贵州省药品监督管理局. 贵州省中药材民族药材质量标准：2019年版[M]. 北京：中国医药科技出版社，2020：162.

[10] 田婧，崔伟亮，臧远芳，等. 基于指纹图谱、化学模式识别和多指标含量测定的金贝口服液质量控制研究[J]. 中国药房，2026，37(13)：1704-1709.

[11] 孙丽莎，蒋礼，李丽，等. 钩苞大丁草的HPLC指纹图谱建立及含量测定[J]. 中国药房，2025，36(9)：1052-1058.

[12] 白皓天，杨婧，李娅兰，等. 基于指纹图谱与化学模式识别的红花药材质量评价[J]. 中药材，2022，45(10)：2432-2436.

[13] 李晶峰，杨海南，郅慧，等. 不同产地槐角HPLC指纹图谱建立及化学模式识别研究[J]. 中草药，2021，52(21)：6677-6682.

[14] 李晴，朱香梅，石雨荷，等. 基于指纹图谱和网络药理学的白术质量标志物预测分析[J]. 中国药事，2022，36(4)：404-416.

[15] 廖延武，汪英俊，刘顺，等. 基于HPLC指纹图谱和有效成分含量评价不同产地草豆蔻质量[J]. 中国药房，2025，36(18)：2262-2266.

[16] 马双成，王莹，魏锋. 我国中药质量控制模式十年来的实践与探索[J]. 中国药学杂志，2023，58(1)：2-9.

[17] Su D M，Tang W Z，Hu Y C，et al. Lignan glycosides from *Neoalsomitra integrifoliola*[J]. J Nat Prod，2008，71(5)：784-788.

[18] 张雪丽，代小琴. 丁香源性丁香酸通过调控铁死亡缓解运动性骨骼肌损伤的保护作用研究[J]. 分子植物育种，2025，23(15)：5190-5197.

[19] 郑磊，陈功勤，刘猛. 多指标定量分析及化学模式识别对不同产地千年健的质量评价研究[J]. 中草药，2026，57(11)：4388-4398.

[20] 杨寿圆，禚君，周亚丽，等. HPLC-PDA法同时测定附炎片中6种成分的含量[J]. 中南药学，2025，23(8)：2428-2432.

（收稿日期：2026-07-15　修回日期：2026-10-24）

（本文责编：林　静）