

# 基于UPLC指纹图谱和多指标成分含量的六月雪质量评价研究



陈庆, 朱璇, 单圣男, 左成彬, 王梦佳, 张侠

安徽济人药业股份有限公司(安徽亳州 236800)

**【摘要】目的** 建立六月雪超高效液相色谱(UPLC)指纹图谱和多指标成分含量测定方法,为其质量评价提供依据。**方法** 采用UPLC技术建立六月雪的指纹图谱,通过相似度评价及多元统计分析,结合5种指标成分的含量测定结果,综合评价不同批次六月雪的质量差异。UPLC色谱条件如下:采用HSS T3色谱柱(150 mm×2.1 mm, 1.8 μm),流动相为乙腈-0.1%磷酸(梯度洗脱),流速为0.3 mL/min,柱温为30℃,检测波长为236 nm,进样量为1 μL。**结果** 各成分的线性关系良好( $r \geq 0.9995$ ),平均回收率为97.05%~102.48%( $RSD < 2.0\%$ ,  $n=6$ )。建立了13批六月雪样品的指纹图谱,共标定了15个共有峰,并指认了其中5种化学成分。13批样品的相似度结果显示,除1批样品的相似度为0.795外,其余批次均不低于0.851。层次聚类分析(HCA)与主成分分析(PCA)结果基本一致,可将13批药材划分为3类。进一步结合变量重要性投影值(VIP)>1的原则,筛选出导致批次间差异的7个主要差异标志性成分。**结论** 本研究建立的六月雪指纹图谱与多指标成分含量测定方法,操作快速简便,结果准确、可靠且重现性好,可为其质量控制和品质评价提供依据。研究表明,不同产地及批次间的六月雪药材在成分含量上存在显著差异。

**【关键词】** 六月雪; 指纹图谱; 含量测定; 超高效液相色谱; 质量评价; 多元统计分析; 共有峰; 成分差异

**【中图分类号】** R284.1; O657.7<sup>+</sup>2

**【文献标识码】** A

## Quality evaluation of *Serissa serissoides* based on UPLC fingerprint and multi-index constituents

CHEN Qing, ZHU Xuan, SHAN Shengnan, ZUO Chengbin, WANG Mengjia, ZHANG Xia

Anhui Jiren Economic Pharmaceutical Co., LTD, Bozhou 236800, Anhui Province, China

Corresponding author: ZHANG Xia, Email: 13956719892@163.com

**【Abstract】Objective** To establish ultra-performance liquid chromatography (UPLC) fingerprint method and multi-index constituents content determination method for *Serissa serissoides*, and provide a basis for its quality evaluation. **Methods** The fingerprint of *Serissa serissoides* was established by UPLC technology, and the quality differences of different batches of *Serissa serissoides* were comprehensively evaluated through similarity evaluation and multivariate statistical analysis, combined with the determination of the content of five indicator components. The UPLC chromatographic condition was as follows: HSS T3 column (150 mm×2.1 mm, 1.8 μm) was used, the mobile phase was acetonitrile -0.1% phosphoric acid (gradient elution), the flow rate was

DOI: 10.12173/j.issn.2097-4922.202510076

基金项目: 安徽省科技重大专项项目(202303a07020007); 国家中医药管理局全国老药工传承工作室建设项目

通信作者: 张侠, Email: 13956719892@163.com

<https://yxqy.whuzhmedj.com>

0.3 mL/min, the column temperature was 30 °C, the detection wavelength was 236 nm, and the injection volume was 1  $\mu$ L. **Results** The linear relationship of each component was good ( $r \geq 0.9995$ ), with an average recovery rate of 97.05%~102.48% ( $RSD < 2.0\%$ ,  $n=6$ ). The fingerprints of 13 batches of *Serissa serissoides* samples were established, a total of 15 common peaks were calibrated, and 5 of these chemical components were identified. The similarity results of 13 batches of samples showed that, except for 1 batch with a similarity of 0.795, all other batches were not less than 0.851. The results of hierarchical cluster analysis and principal component analysis were basically consistent, dividing the 13 batches of medicinal materials into 3 categories. By combining the principle of variable importance in the projection  $> 1$ , 7 main differential characteristic components responsible for the inter-batch differences were screened out. **Conclusion** The UPLC fingerprint and multi-index constituents determination method established in this study is rapid, simple, accurate, reliable, and reproducible, which can provide a basis for the quality control and evaluation of *Serissa serissoides*. The research results indicate that there are significant differences in the composition of *Serissa serissoides* medicinal materials from different origins and batches. The results show that there are significant differences in the component contents of *Serissa serissoides* among different origins and batches.

**【Keywords】** *Serissa serissoides*; Fingerprint; Content determination; Ultra-performance liquid chromatography; Quality evaluation; Multivariate statistical analysis; Common peaks; Component differences

六月雪为茜草科植物六月雪 [*Serissa serissoides* (DC.) Druce] 的干燥全株。该药材始载于《本草拾遗》，书中记载其无毒，味淡、微辛，性凉，具有健脾利湿，疏肝活血的功效<sup>[1]</sup>。现代研究表明，六月雪主要含有挥发油<sup>[2]</sup>、萜类<sup>[3]</sup>、甾体类<sup>[3]</sup>、醌类<sup>[4]</sup>、木脂素类<sup>[4-5]</sup>和糖类<sup>[6]</sup>等多种化学成分，并具有保肝<sup>[7]</sup>、解热<sup>[8]</sup>、抗菌<sup>[8-9]</sup>、抗病毒<sup>[10]</sup>、抗肿瘤<sup>[11]</sup>及抗炎<sup>[12]</sup>等多种药理活性。其中，萜类成分中的环烯醚萜类为其代表性活性成分，常见的有车叶草苷酸、去乙酰车叶草苷酸、鸡屎藤苷酸、去乙酰车叶草苷酸甲酯等。

目前对六月雪药材含量测定的研究报道较少，主要集中于乌索酸、齐墩果酸<sup>[13-14]</sup>及车叶草苷酸<sup>[15]</sup>等成分。为综合评价六月雪药材质量，本研究建立了其指纹图谱及多指标成分含量测定方法，以期对六月雪药材的采购及生产环节的质量控制提供更科学有效的参考依据。

## 1 仪器与材料

### 1.1 主要仪器

1290型高效液相色谱仪(美国Agilent公司); XP26型百万分之一天平(瑞士梅特勒-托利多公司); BSA224S-CW型万分之一天平和BSA822-CW型百分之一天平购自德国赛多利斯公司; JK-600DVB型数控超声波清洗器(合肥金尼克机械制造有限公司)。

### 1.2 主要药品与试剂

对照品车叶草苷酸(批号: 17532, 纯度98.0%)、去乙酰车叶草苷酸(批号: 17712, 纯度95.0%)和鸡屎藤苷酸(批号: 16425, 纯度98.0%)均购自上海诗丹德标准技术服务有限公司; 去乙酰车叶草苷酸甲酯(批号: 1111786-201602, 纯度94.3%)和绿原酸(批号: 110753-202119, 纯度96.3%)均购自中国食品药品检定研究院; 乙腈为色谱纯, 其余试剂均为分析纯, 水为娃哈哈纯净水。

六月雪样品均购自安徽济人药业股份有限公司, 样品信息见表1。经安徽普仁中药饮片有限公司尹磊副主任中药师鉴定, 所有样品均为茜草科植物六月雪 [*Serissa serissoides* (DC.) Druce] 的干燥全草。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

采用超高效液相色谱(ultra performance liquid chromatography, UPLC)法进行测定。色谱条件如下: 色谱柱为HSS T3(150 mm  $\times$  2.1 mm, 1.8  $\mu$ m); 流动相为乙腈(A)-0.1%磷酸(B), 梯度洗脱(0~4 min, 3% A; 4~6 min, 3%  $\rightarrow$  6% A; 6~11 min, 6%~12% A; 11~13 min, 12%~16% A; 13~18 min, 16%~18% A; 18~21 min, 18%~33% A; 21~35 min, 33% A; 35~36 min,

33%~3% A)；流速为 0.3 mL/min；柱温为 30 ℃；检测波长为 236 nm；进样量为 1 μL。

表1 六月雪样品信息

Table 1. Sample information of *Serissa serissoides*

编号	产地	采集时间
L1	湖北襄阳	2024年10月
L2	湖北襄阳	2024年11月
L3	湖北武汉	2024年11月
L4	湖北武汉	2024年10月
L5	安徽六安	2024年7月
L6	湖北襄阳	2024年8月
L7	湖北襄阳	2024年8月
L8	安徽六安	2024年8月
L9	安徽六安	2025年1月
L10	湖北襄阳	2025年1月
L11	湖北武汉	2025年2月
L12	湖北武汉	2025年2月
L13	安徽六安	2025年2月

## 2.2 溶液的制备

### 2.2.1 混合对照品溶液

取车叶草苷酸、去乙酰车叶草苷酸、去乙酰车叶草苷酸甲酯、绿原酸、鸡屎藤苷酸对照品适量，精密称定，置量瓶中，加甲醇溶解并稀释至刻度，制成浓度分别为 0.024 4、0.033 6、0.002 6、0.011 0、0.008 1 mg/mL 的混合对照品溶液。

### 2.2.2 供试品溶液

取本品粉末（过三号筛）约 1.0 g，精密称定，置具塞锥形瓶中，精密加入 50% 甲醇 50 mL，密塞，称定重量，加热回流提取 45 min，放冷，再称定重量，用 50% 甲醇补足减失的重量，摇匀，滤过，取续滤液过 0.22 μm 微孔滤膜，即得。

## 2.3 UPLC指纹图谱的建立

### 2.3.1 参照峰的选择

在对照品色谱图中，车叶草苷酸色谱峰形对称良好，且与相邻峰的分度符合要求。基于该化合物保留时间稳定、响应适中，选择其作为参照峰，并以此计算各共有峰的相对保留时间和相对峰面积。

### 2.3.2 方法学考察

① 精密度试验。取六月雪供试品溶液（样品编号：L6），按“2.1”项下色谱条件连续进样 6 次，记录色谱图。以车叶草苷酸为参照峰，计算得到各共有峰相对保留时间的  $RSD \leq 0.16\%$ ，相对峰面积的  $RSD \leq 4.51\%$  ( $n=6$ )；其中车叶草苷酸保留时间的  $RSD$  为 0.03%，峰面积  $RSD$  为 1.00% ( $n=6$ )。

结果表明仪器精密度良好。

② 稳定性试验。取六月雪供试品溶液（样品编号：L6），于室温  $[(25 \pm 2) \text{ } ^\circ\text{C}]$  放置 0、2、4、6、8、12、24、36、48 h 后分别按“2.1”项下色谱条件进样测定，记录色谱图。以车叶草苷酸为参照峰，计算得到各共有峰相对保留时间的  $RSD \leq 0.80\%$ ，相对峰面积的  $RSD \leq 2.96\%$  ( $n=9$ )；其中车叶草苷酸保留时间的  $RSD$  为 0.12%，峰面积  $RSD$  为 0.62% ( $n=9$ )。结果表明供试品溶液在室温条件下放置 48 h 内稳定性良好。

③ 重复性试验。取同一批六月雪样品（样品编号：L6），按“2.2.2”项下方法平行制备 6 份供试品溶液，并按“2.1”项下色谱条件进样测定，记录色谱图。以车叶草苷酸为参照峰，计算得到各共有峰相对保留时间的  $RSD \leq 0.15\%$ ，相对峰面积的  $RSD \leq 2.07\%$  ( $n=6$ )；其中车叶草苷酸保留时间的  $RSD$  为 0.04%，峰面积  $RSD$  为 1.65% ( $n=6$ )。结果表明该方法重复性良好。

### 2.3.3 相似度评价

取 13 批六月雪样品，分别按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液，并按“2.1”项下色谱条件进样测定，记录色谱图。将所得色谱图导入中药色谱指纹图谱相似度评价系统（2012 年版），以 L1 号样品的色谱图作为参照图谱，选定 15 个特征峰进行多点校正，采用全峰匹配法进行分析，生成 13 批样品的叠加色谱图，具体见图 1。

采用中位数法生成对照指纹图谱，并计算各样品与对照图谱的相似度。结果显示，13 批样品的相似度为 0.795~0.955，除 L13 为 0.795 外，其余批次均不低于 0.851，具体见表 2。

### 2.3.4 共有峰指认

将六月雪指纹图谱的 15 个共有峰与混合对照品溶液色谱图进行比对，共指认出 5 个特征峰，分别为峰 1（去乙酰车叶草苷酸）、峰 6（去乙酰车叶草苷酸甲酯）、峰 7（车叶草苷酸）、峰 8（绿原酸）和峰 12（鸡屎藤苷酸），具体见图 2。

### 2.3.5 层次聚类分析与主成分分析

以 13 批六月雪样品的 15 个特征峰峰面积为关联数据，将数据导入 SIMCA 14.0 软件，分别进行层次聚类分析（hierarchical cluster analysis, HCA）和主成分分析（principal component analysis, PCA），结果见图 3 和图 4。HCA 与 PCA 结果基本一致，均将 13 批药材大致分为

3类：第一类包括 L1、L2、L3、L4；第二类包括 L5、L6、L7、L8、L9、L10、L12、L13；第三类为 L11。结合样品产地信息分析，安徽和

湖北产六月雪的聚类结果未呈现明显的地域分布规律，提示六月雪的整体质量与产地无明显相关性。

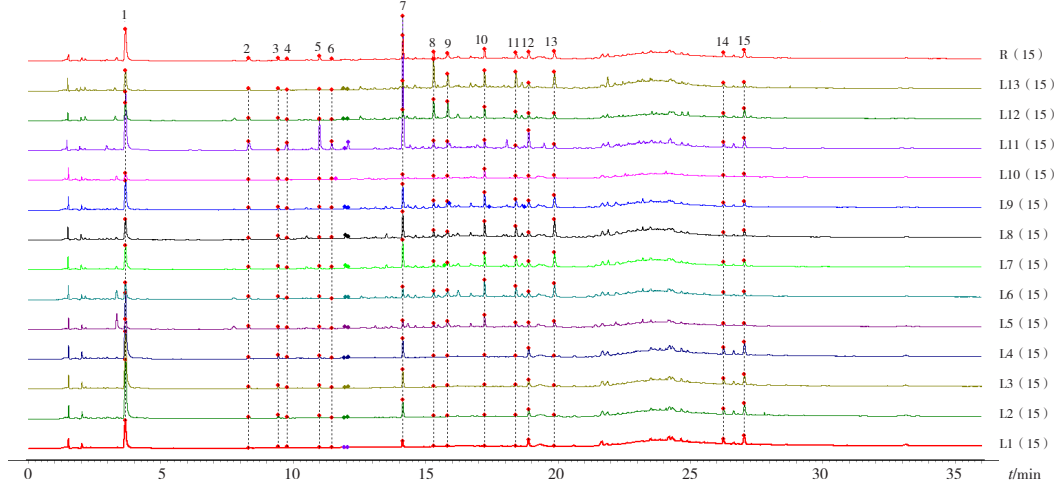


图1 13批六月雪样品的UPLC指纹图谱

Figure 1. UPLC fingerprints of 13 batches of *Serissa serissoides* samples

表2 13批六月雪UPLC指纹图谱的相似度数据

Table 2. Similarity data of the UPLC fingerprint spectrum of *Serissa serissoides* from 13 batches

编号	L1	L2	L3	L4	L5	L6	L7	L8	L9	L10	L11	L12	L13	对照
L1	1.000	0.988	0.987	0.989	0.705	0.724	0.787	0.717	0.861	0.802	0.697	0.762	0.639	0.924
L2	0.988	1.000	1.000	1.000	0.701	0.729	0.806	0.734	0.879	0.791	0.730	0.746	0.642	0.937
L3	0.987	1.000	1.000	1.000	0.707	0.734	0.810	0.738	0.883	0.795	0.733	0.749	0.646	0.940
L4	0.989	1.000	1.000	1.000	0.697	0.724	0.800	0.727	0.875	0.788	0.723	0.744	0.639	0.934
L5	0.705	0.701	0.707	0.697	1.000	0.973	0.908	0.907	0.912	0.950	0.647	0.913	0.878	0.863
L6	0.724	0.729	0.734	0.724	0.973	1.000	0.947	0.958	0.946	0.943	0.652	0.903	0.919	0.887
L7	0.787	0.806	0.810	0.800	0.908	0.947	1.000	0.990	0.986	0.903	0.845	0.853	0.831	0.955
L8	0.717	0.734	0.738	0.727	0.907	0.958	0.990	1.000	0.963	0.892	0.794	0.842	0.853	0.912
L9	0.861	0.879	0.883	0.875	0.912	0.946	0.986	0.963	1.000	0.929	0.820	0.881	0.848	0.984
L10	0.802	0.791	0.795	0.788	0.950	0.943	0.903	0.892	0.929	1.000	0.673	0.899	0.851	0.904
L11	0.697	0.730	0.733	0.723	0.647	0.652	0.845	0.794	0.820	0.673	1.000	0.622	0.511	0.851
L12	0.762	0.746	0.749	0.744	0.913	0.903	0.853	0.842	0.881	0.899	0.622	1.000	0.939	0.869
L13	0.639	0.642	0.646	0.639	0.878	0.919	0.831	0.853	0.848	0.851	0.511	0.939	1.000	0.795
对照	0.924	0.937	0.940	0.934	0.863	0.887	0.955	0.912	0.984	0.904	0.851	0.869	0.795	1.000

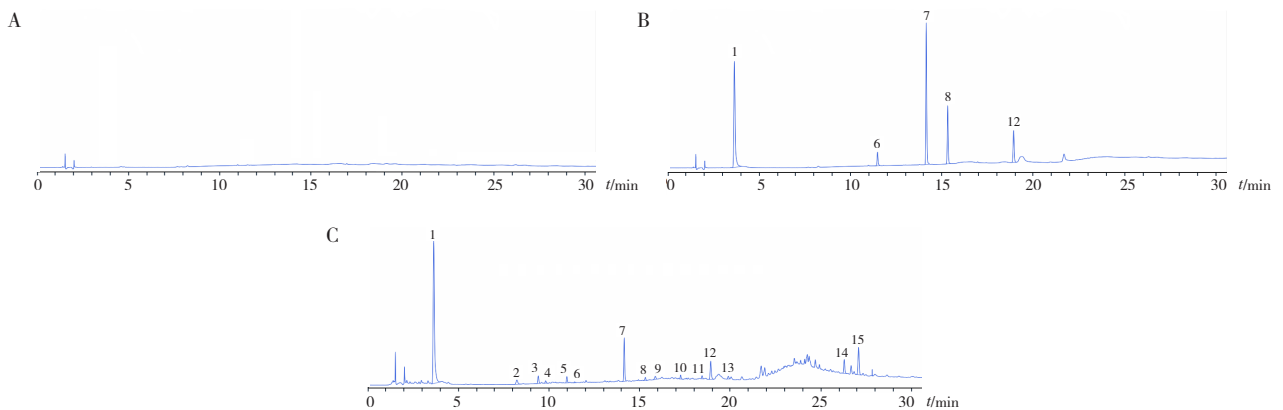


图2 阴性对照、混合对照品及供试品溶液色谱图

Figure 2. Chromatogram of the blank, mixed standard and test sample solution

注：A. 空白溶剂（甲醇）；B. 混合对照品溶液；C. 供试品溶液；1. 去乙酰车叶草苷酸；6. 去乙酰车叶草苷酸甲酯；7. 车叶草苷酸；8. 绿原酸；12. 鸡屎藤苷酸。

以变量重要性投影 (variable importance in projection, VIP) 值 > 1 为筛选标准, 从 15 个共有峰中筛选出导致批次间差异的主要标志性成分, 结果见图 5。共筛选得到 7 个差异性成分, 按 VIP 值由大到小依次为峰 6 (去乙酰车叶草苷酸甲酯)、峰 13、峰 11、峰 10、峰 8 (绿原酸)、峰 9、峰 7 (车叶草苷酸)。

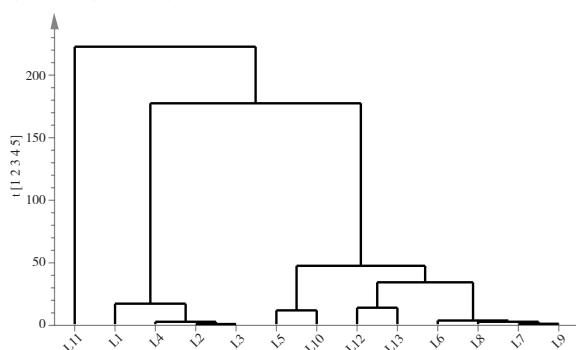


图3 13批六月雪样品HCA图  
Figure 3. HCA diagram of 13 batches of *Serissa serissoides* samples

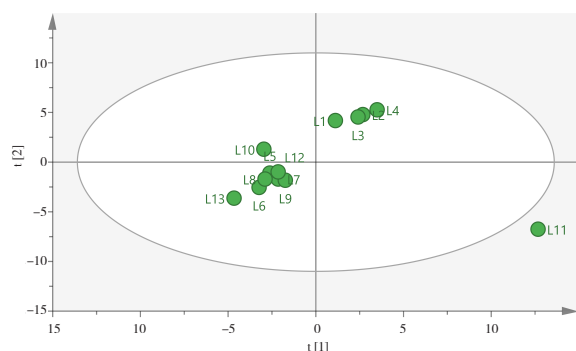


图4 13批六月雪样品PCA图  
Figure 4. PCA diagram of 13 batches of *Serissa serissoides* samples

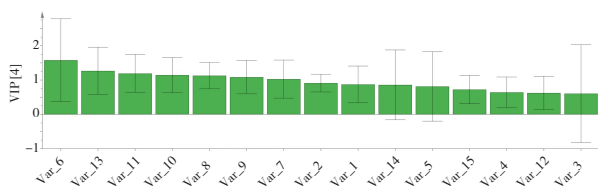


图5 VIP图  
Figure 5. VIP diagram

## 2.4 多指标成分含量测定方法的建立

根据指纹图谱差异性成分分析结果, 峰 6 (去乙酰车叶草苷酸甲酯)、峰 7 (车叶草苷酸) 和峰 8 (绿原酸) 对六月雪药材整体质量影响较大。综合考虑这 3 个差异性成分与峰 1 (去乙酰车叶草苷酸)、峰 12 (鸡屎藤苷酸) 的紫外光谱特性基本一致, 且响应值比例相近, 便于同时测定, 因此本研究选择车叶草苷酸、去乙酰车叶草苷酸、去乙酰车叶草苷酸甲酯、绿原酸和鸡屎藤苷酸 5 种成分作为指标成分, 建立六月雪中多指标成分的含量测定方法。色谱条件同“2.1”项。

### 2.4.1 方法学考察

① 系统适用性试验。图 2 结果显示, 供试品色谱图中, 各待测成分峰与相邻峰的分度均符合要求 (>1.5); 空白溶剂在相应保留时间处无色谱峰干扰, 表明该方法专属性良好。

② 线性关系考察。精密吸取车叶草苷酸、去乙酰车叶草苷酸、去乙酰车叶草苷酸甲酯、绿原酸及鸡屎藤苷酸对照品溶液适量, 逐级稀释成一系列不同浓度的对照品溶液, 按“2.1”项下色谱条件分别进样测定, 记录色谱图。以各对照品溶液的浓度为横坐标 ( $X$ , mg/mL)、峰面积为纵坐标 ( $Y$ ) 绘制标准曲线, 并计算线性回归方程。结果表明, 5 种成分在各自质量浓度范围内线性关系良好, 结果见表 3。

③ 精密性试验。取六月雪供试品溶液 (样品编号: L6), 按“2.1”项下色谱条件连续进样 6 次, 记录色谱图。计算得到车叶草苷酸、去乙酰车叶草苷酸、去乙酰车叶草苷酸甲酯、绿原酸、鸡屎藤苷酸峰面积的  $RSD$  分别为 1.31%、0.99%、1.46%、0.93%、1.22% ( $n=6$ ), 结果表明仪器精密性良好。

④ 稳定性试验。取六月雪供试品溶液 (样品编号: L6), 于室温放置 0、2、4、6、8、12、24、36、48 h 后分别按“2.1”项下色谱条件进样测定, 记录色谱图。计算得到车叶草苷酸、去乙酰车叶草苷酸、去乙酰车叶草苷酸甲酯、绿原酸、

表3 5种成分的线性关系考察结果

Table 3. Investigation results of linear relationships of the 5 components

成分	回归方程	$r$	线性范围 (mg/mL)
去乙酰车叶草苷酸	$Y=3\ 901.3X-1.231\ 5$	0.999 6	0.004 4~0.140 2
去乙酰车叶草苷酸甲酯	$Y=4\ 560X+0.408\ 7$	1.000 0	0.000 4~0.013 2
车叶草苷酸	$Y=3\ 665.9X+2.554\ 8$	1.000.0	0.003 8~0.122 2
绿原酸	$Y=4\ 586.5X+0.608\ 1$	0.999 5	0.001 7~0.054 9
鸡屎藤苷酸	$Y=3\ 807.4X+0.095\ 1$	1.000 0	0.001 3~0.040 5

鸡屎藤苷酸峰面积的 *RSD* 分别为 0.37%、0.47%、1.82%、2.18%、1.71% ( $n=9$ )，结果表明供试品溶液在室温条件下放置 48 h 内稳定性良好。

⑤ 重复性试验。取同一批六月雪样品 (样品编号: L6)，按“2.2.2”项下方法平行制备 6 份供试品溶液，并按“2.1”项下色谱条件进样测定，记录色谱图。计算得到车叶草苷酸、去乙酰车叶草苷酸、去乙酰车叶草苷酸甲酯、绿原酸、鸡屎藤苷酸的平均含量分别为 0.769 9、1.838 0、0.063 6、0.271 4、0.381 3 mg/g，*RSD* 分别为 0.95%、0.75%、1.37%、0.66%、1.00% ( $n=6$ )，结果表明该方法重复性良好。

⑥ 加样回收率试验。取已知含量的六月雪样品粉末约 0.5 g，共 6 份，精密称定，分别精密加入与样品中各待测成分含量相当的对照品溶液，按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液，并按“2.1”项下色谱条件进样测定，计算各成分的加样回

收率。计算得到车叶草苷酸、去乙酰车叶草苷酸、去乙酰车叶草苷酸甲酯、绿原酸及鸡屎藤苷酸的平均加样回收率分别为 102.48%、98.13%、101.45%、97.05%、97.60%，*RSD* 分别为 1.11%、1.80%、1.90%、1.34%、1.21% ( $n=6$ )。结果表明该方法准确度良好。

#### 2.4.2 样品的含量测定

用所建立的多指标成分含量测定方法对 13 批六月雪样品进行了含量测定，结果见表 4。测定结果显示，13 批六月雪药材中车叶草苷酸、去乙酰车叶草苷酸、去乙酰车叶草苷酸甲酯、绿原酸、鸡屎藤苷酸的含量范围分别为 0.123 2~4.602 2、0.449 0~4.119 4、0.006 8~0.311 9、0.029 0~1.034 1、0.074 4~0.940 3 mg/g。上述结果表明，不同批次六月雪药材中 5 种指标成分的含量存在显著差异，这可能与药材的采收季节不同等因素有关。

表4 13批六月雪样品中5种指标成分的含量测定结果 (mg/g,  $n=2$ )

Table 4. Determination results of 5 indicator components in 13 batches of *Serissa serissoides* samples (mg/g,  $n=2$ )

编号	车叶草苷酸	去乙酰车叶草苷酸	去乙酰车叶草苷酸甲酯	绿原酸	鸡屎藤苷酸
L1	0.853 1	1.289 2	0.058 2	0.250 1	0.327 1
L2	0.907 9	1.496 7	0.072 4	0.209 2	0.355 1
L3	0.347 0	1.065 0	0.019 7	0.251 7	0.328 3
L4	0.596 9	3.684 7	0.014 3	0.053 8	0.393 4
L5	0.211 2	0.616 9	0.012 9	0.157 3	0.257 9
L6	0.769 9	1.838 0	0.063 6	0.271 4	0.381 3
L7	0.586 8	3.559 0	0.014 6	0.055 4	0.368 1
L8	0.216 7	1.719 9	0.009 5	0.029 0	0.344 6
L9	0.123 2	0.449 0	0.006 8	0.089 2	0.074 4
L10	0.629 1	4.119 4	0.015 8	0.065 7	0.446 0
L11	4.602 2	3.987 9	0.311 9	0.323 4	0.940 3
L12	0.281 5	1.182 3	0.013 0	0.705 1	0.302 8
L13	0.205 9	1.350 0	0.011 5	1.034 1	0.267 8
平均值	0.794 7	2.027 5	0.048 0	0.268 9	0.368 2
<i>RSD</i> (% , $n=13$ )	147.82	65.01	171.84	108.34	52.65

### 3 讨论

本研究采用 DAD 检测器对车叶草苷酸、去乙酰车叶草苷酸、去乙酰车叶草苷酸甲酯、绿原酸、鸡屎藤苷酸对照品溶液在 190~400 nm 波长范围内进行紫外全波长扫描，发现车叶草苷酸、去乙酰车叶草苷酸、去乙酰车叶草苷酸甲酯及鸡屎藤苷酸在 234~238 nm 处有最大吸收，绿原酸在 238 nm 处亦有较强吸收。综合考虑各成分的紫外吸收特征，最终选择 236 nm 作为检测波长。

在色谱条件与样品前处理优化方面，考察了流动相体系及供试品溶液制备的关键因素，

包括样品粉碎粒度 (二号筛、三号筛、四号筛)、提取方式 (超声提取、回流提取)、提取溶剂 (不同浓度的甲醇、乙醇溶液) 及料液比、提取时间等。结果表明，采用乙腈-0.1% 磷酸为流动相进行梯度洗脱，供试品以三号筛粉碎、50% 甲醇为提取溶剂、料液比 1 : 50、回流提取 45 min，所得色谱峰的分离度、理论板数及峰形均较佳。

本研究还建立了六月雪的 UPLC 指纹图谱，共确定 15 个共有峰，并指出其中 5 种成分。进一步对六月雪指纹图谱进行相似度评价、HCA 及 PCA，同时开展多指标成分含量测定的方法学

考察。结果显示,各成分的线性关系良好,准确度较高,可用于六月雪的质量评价。

综合含量测定结果及成分特异性分析,绿原酸为多种中药材共有成分,专属性较差,且在六月雪中含量偏低;去乙酰车叶草苷酸甲酯含量较低,不具备质量控制的实际意义。因此,本研究选择含量较高且专属性较强的车叶草苷酸、去乙酰车叶草苷酸和鸡屎藤苷酸作为六月雪的质量标志物,并初步拟定含量限度:车叶草苷酸不低于 0.2 mg/g,去乙酰车叶草苷酸不低于 0.4 mg/g,鸡屎藤苷酸不低于 0.2 mg/g。

根据指纹图谱比较与 HCA 结果,不同批次六月雪药材的化学成分组成基本一致,但含量差异显著,且与产地无明显相关性。因此建立上述标志性成分的含量限度对六月雪药材的采购验收和生产过程的质量控制具有一定的指导意义。

## 参考文献

- 1 中国药典 1977 年版.一部[S]. 1977: 121.
- 2 倪士峰,辅承新,吴平,等.不同季节山地六月雪挥发油成分比较研究[J].中国中药杂志,2004,29(1): 54-58. [Ni SF, Fu CX, Wu P, et al. Ontrastive analysis of volatile oil from *Serissa serissoides* in different seasons[J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2004, 29(1): 54-58.] DOI: 10.3321/j.issn:1001-5302.2004.01.017.
- 3 王少芳,李广义,杨国华,等.六月雪化学成分的研究[J].中国中药杂志,1989,14(9): 33-34. [Wang SF, Li GY, Yang GH, et al. Chemical constituents from *Serissa serissoides* (DC.) druce[J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 1989, 14(9): 33-34.] <https://www.cnki.com.cn/Article/CJFDTotal-ZCZY198909018.htm>.
- 4 韩晶晶,柳航,郭培,等.六月雪全草化学成分研究[J].中药材,2016,39(1): 94-97. [Han JJ, Liu H, Guo P, et al. Chemical constituents from *Serissa japonica*[J]. Journal of Chinese Medicinal Materials, 2016, 39(1): 94-97.] DOI: 10.13863/j.issn1001-4454.2016.01.022.
- 5 郭培,柳航,朱怀军,等.六月雪木脂素成分的研究[J].中成药,2016,38(10): 2192-2197. [Guo P, Liu H, Zhu HJ, et al. Lignans from *Serissa japonica*[J]. Chinese Traditional Patent Medicine, 2016, 38(10): 2192-2197.] DOI: 10.3969/j.issn.1001-1528.2016.10.020.
- 6 黄美艳.六月雪化学成分研究[D].南宁:广西医科大学,2008. DOI: 10.7666/d.y1318157.
- 7 杨霞芳,荣延平,蒋伟哲,等.复方六月雪在体外对 HBsAg 和 HBeAg 的抑制作用[J].广西医科大学学报,2004,21(4): 511-512. [Yang XF, Rong YP, Jiang WZ, et al. The inhibitory effect of compound June snow on HBsAg and HBeAg *in vitro*[J]. Journal of Guangxi Medical University, 2004, 21(4): 511-512.] DOI: 10.3969/j.issn.1005-930X.2004.04.017.
- 8 王红爱,黄位耀,张云,等.六月雪不同组分提取物的抗菌解热作用研究[J].临床合理用药,2011,4(29): 3-5. [Wang HA, Huang WY, Zhang Y, et al. Study on the effect of antiseptis and relieve fever of different components of Liuyuexue extractive[J]. Chinese Journal of Clinical Rational Drug Use, 2011, 4(29): 3-5.] DOI: 10.3969/j.issn.1674-3296.2011.29.002.
- 9 刘敏,邓兆群,屈雪菊,等.六月雪的抑菌作用[J].武汉大学学报(医学版),2002,23(2): 167-169. [Liu M, Deng ZQ, Qu XJ, et al. The antimicrobial effect of Liuyuexue[J]. Medical Journal of Wuhan University, 2002, 23(2): 167-169.] DOI: 10.3969/j.issn.1671-8852.2002.02.023.
- 10 Chiang LC, Cheng HY, Liu MC, et al. *In vitro* anti-herpes simplex viruses and anti-adenoviruses activity of twelve traditionally used medicinal plants in Taiwan[J]. Biol Pharm Bull, 2003, 26(11): 1600-1604. DOI: 10.1248/bph.26.1600.
- 11 韦金育,李延,韦涛,等.50种广西常用中草药、壮药抗肿瘤作用的筛选研究[J].广西中医学院学报,2003,6(4): 3-7. [Wei JY, Li Y, Wei T, et al. Screening research on the anti-tumor effect of 50 commonly used traditional Chinese medicine and Zhuang medicine in Guangxi[J]. Journal of Guangxi University of Chinese Medicine, 2003, 6(4): 3-7.] DOI: 10.3969/j.issn.1008-7486.2003.04.002.
- 12 宋振玉,籍秀娟.十三种中药及民间草药对大鼠蛋白性及甲醛性关节炎的影响[J].药学报,1963,10(12): 708-711. [Song ZY, Ji XJ. The effect of thirteen medical pplants used in Chinese traditional medicine and folk medicine on experimental arthritis in rats[J]. Acta Pharmaceutica Sinica, 1963, 10(12): 708-711.] DOI: 10.16438/j.0513-4870.1963.12.002.
- 13 程齐来,程勇,范小娜,等.RP-HPLC 分析生药六月雪中齐墩果酸的含量[J].中国药学杂志,2008,43(23): 1832-1833. [Cheng QL, Cheng Y, Fan XN, et al. RP-HPLC analysis of the content of quercetin in Liuyuexue[J]. Chinese Pharmaceutical Journal, 2008, 43(23): 1832-1833.] DOI: 10.3321/j.issn:1001-2494.2008.23.019.
- 14 邹盛勤,王霏,陈武.RP-HPLC 法测定白马骨中乌索酸和齐墩果酸的含量[J].湖北农业科学,2007,46(4): 643-644. [Zou SQ, Wang F, Chen W. RP-HPLC Determination of ursolic acid and oleanolic acid in various collecting perild of *Serissa serissoides*[J]. Hubei Agricultural Sciences, 2007, 46(4): 643-644.] DOI: 10.14088/j.cnki.issn0439-8114.2007.04.058.
- 15 范玲,王鑫,王育隆,等.六月雪-葎草药对指纹图谱研究及其多指标成分的定量分析[J].中国药师,2023,26(10): 35-43. [Fan L, Wang X, Wang YL, et al. Fingerprints and quantitative analysis of multi-index constituents in *Serissa japonica* and-*Humulus scandens* drug pair[J]. China Pharmacist, 2023, 26(10): 35-43.] DOI: 10.12173/j.issn.1008-049X.202209301.

收稿日期: 2025 年 10 月 30 日 修回日期: 2026 年 03 月 03 日  
本文编辑: 钟巧妮 李 阳