中图分类号：R917；R927　　文献标志码：A　　文章编号：1006－4931(2025)12－0065－07
doi:10.3969/j.issn.1006－4931.2025.12.015

冰球子质量标准提升研究*

陈家仪[1]，侯惠婵[1△]，谢美晓[1]，叶伟霞[1]，李　励[2]

（1. 广东省广州市药品检验所·国家药品监督管理局中成药质量评价重点实验室，广东 广州　510160；2. 国药集团冯了性 < 佛山 > 药材饮片有限公司，广东 佛山　528200）

摘要：目的　建立冰球子药材的质量标准。**方法**　通过性状鉴定、显微鉴定筛选有鉴别意义的特征；检查 18 批药材样品的水分、总灰分及醇溶性浸出物；采用中药指纹图谱相似度评价系统生成高效液相色谱（HPLC）指纹图谱，确定共有峰并计算相似度；结合层次聚类分析（HCA）和正交偏最小二乘法判别分析（OPLS－DA）对药材样品进行化学模式识别。采用 HPLC 法测定不同基原药材样品中特征性成分的含量，并比较。**结果**　筛选出药材样品性状鉴别和显微鉴别的专属鉴别特征；拟订药材水分不高于 15.0%，总灰分限度不得过 5.0%，醇溶性浸出物不得少于 9.0%。18 批药材样品的 HPLC 指纹图谱中确定了 6 个共有峰，峰 1 为 2－*O*－葡萄糖基白及苷，峰 3 为 1,4－二[4－(葡萄糖氧)苄基]－2－异丁基苹果酸酯，峰 6 为 3,3′－二羟基－5－甲氧基联苄；相似度均大于 0.90；HCA 和 OPLS－DA 筛选出 2 个特征性成分。2－*O*－葡萄糖基白及苷和 1,4－二[4－(葡萄糖氧)苄基]－2－异丁基苹果酸酯质量浓度分别在 24.44～610.88 μg/mL 及 23.76～593.96 μg/mL 范围内与峰面积线性关系良好（r = 0.999 9，n = 6）；精密度、稳定性、重复性试验结果的 *RSD* 均小于 2.0%；平均加样回收率分别为 94.80% 和 99.80%，*RSD* 均小于 2.0%（n = 6）。基原为独蒜兰的药材样品中 2－*O*－葡萄糖基白及苷和 1,4－二[4－(葡萄糖氧)苄基]－2－异丁基苹果酸酯的含量均高于基原为云南独蒜兰的冰球子药材样品，两种药材中前成分含量无显著差异（P > 0.05），而后成分含量存在显著差异（P < 0.01）。**结论**　该研究中所建冰球子质量标准结果准确可靠，能用于较全面地评价冰球子的质量，为其质量控制提供参考。

关键词：冰球子；性状鉴别；显微鉴别；指纹图谱；含量测定；质量标准

Improvement of Quality Standard for *Pleione bulbocodioides* and *Pleione yunnanensis*

CHEN Jiayi[1], *HOU Huichan*[1], *XIE Meixiao*[1], *YE Weixia*[1], *LI Li*[2]

(1. Guangzhou Institute for Drug Control· Key Laboratory of Quality Evaluation of Chinese Patent Medicines, NMPA, Guangzhou, Guangdong, China 510160; 2. Sino－Pharm Feng Liaoxing (Foshan) Herbal Medicine Pieces Co., Ltd, Foshan, Guangdong, China 528200)

Abstract: Objective　To establish the quality standard for *Pleione bulbocodioides* and *Pleione yunnanensis* medicinal materials. **Methods**　Morphological and microscopic identification were performed to screen distinctive characteristics. Moisture content, total ash, and alcohol－soluble extractives were examined in 18 batches of samples. High－performance liquid chromatography (HPLC) fingerprint chromatogram were generated by using the similarity evaluation system for fingerprint chromatogram of traditional Chinese medicine, and common peaks were identified, and the similarity were calculated. Chemical pattern recognition was conducted by using hierarchical cluster analysis (HCA) and orthogonal partial least squares－discriminant analysis (OPLS－DA). Characteristic components in samples of different origins were quantified by HPLC method and compared. **Results**　Specific morphological and microscopic identification features were screened. The proposed limits of medicinal materials were as follows: the moisture content should not be higher than 15.0 %, the total ash should not be higher than 5.0 %, and the dilute ethanol extract should not be less than 9.0 %. Six common peaks were identified in the HPLC fingerprint chromatogram of the 18 batches, and peak 1 was identified as dactylorhin A, peak 3 as militarine, and peak 6 as batatasin Ⅲ, which the similarity all higher than 0.90. HCA and OPLS－DA screened out two characteristic components. The linear ranges of dactylorhin A and militarine were in the range of 24.44－610.88 μg/mL and 23.76－593.96 μg/mL, respectively (r = 0.999 9, n = 6). The *RSD*s of precision, stability, and repeatability tests were all less than 2.0%. The average recoveries were 94.80% and 99.80%, respectively, with *RSD*s were all less than 2.0% (n = 6). The contens of dactylorhin A and militarine in the medicinal material samples derived from *Pleione bulbocodioides* were higher those from *Pleione yunnanensis*. There was no significant difference in the content of the dactylorhin A (P > 0.05), while there was significant difference in the content of the militarine between the two kinds of medicinal material samples (P < 0.01). **Conclusion**　The quality standard for *Pleione bulbocodioides* and *Pleione yunnanensis* established in this study is accurate and reliable, which can comprehensively evaluate its quality and provide a reference for quality control.

*基金项目：广东省广州市科技计划项目[20212210005]；国家药典委员会国家药品标准制修订研究课题[2022Z004]。

第一作者：陈家仪，女，硕士研究生，副主任中药师，研究方向为中药检验及质量标准，(电子信箱)463122982@qq.com。

△通信作者：侯惠婵，女，大学本科，主任中药师，研究方向为中药检验及质量标准，(电子信箱)1732807959@qq.com。

Key words: *Pleione bulbocodioides* and *Pleione yunnanensis*; character identification; microscopic identification; fingerprint chromatogram; content determination; quality standard

独蒜兰属*Pleione*是兰科植物中药用价值较高的种属，主要以假鳞茎入药，种类繁多，具有清热解毒、化痰散结的功效[1]。2020年版《中国药典（一部）》[2]中将独蒜兰*Pleione bulbocodioides*（Franch.）Rolfe和云南独蒜兰*Pleione yunnanensis* Rolfe合称冰球子，并归入山慈菇项下，该项下还包括杜鹃兰（习称毛慈菇）。以山慈菇为主要药材的多种中药复方制剂（如菊藻丸）疗效显著。近年来，以山慈菇为主用于治疗肿瘤的中药方剂也越来越多，如治疗乳腺癌的山慈菇-漏芦[3]，治疗肺癌的山慈菇-皂角刺[4]，干预甲状腺癌的浙贝母-山慈菇[5]，干预肺癌向骨转移过程的山慈菇-王不留行[6]等。目前山慈菇价格较高，市售混伪品较多，而《中国药典》收载的山慈菇仅有性状和横切面显微鉴别项，难以保证用药准确和安全有效，故有必要对山慈菇的质量标准进行完善和优化。毛慈菇和冰球子的化学成分存在较大差异[7]，本课题组前期考察结果显示，两者在性状和化学成分方面均差异较大，建议将两者的质量标准分列研究。现有研究报道，冰球子中分离得到的主要化学成分为丁二酸联苄酯苷类、联苄类、二氢菲类、木脂素类、黄酮类等[8-10]，其中丁二酸联苄酯苷类具有改善认知、提高学习记忆能力及抗炎、抗氧化作用，1,4-二[4-（葡萄糖氧）苄基]-2-异丁基苹果酸酯及2-*O*-葡萄糖基白及苷则有改善痴呆症状等作用[11-12]。目前关于冰球子的质量标准研究报道较简单，多为单一研究[13-15]。因独蒜兰属下还有大花独蒜兰*Pleione grandinora*（Rolfe）Rolfe、疣鞘独蒜兰*Pleione praecox*（J. E. Sm.）D. Don、陈氏独蒜兰*Pleione chunii* C. L. Tso等原植物，这些植物在形态上与冰球子相似，实际使用中极易混淆。为保证样品基原的准确，本课题组前期通过基地调研，采集独蒜兰和云南独蒜兰的带花原植物，通过植物分类学方法鉴定基原，按《中国药典》标准加工后作工作对照。通过观察基原为独蒜兰和云南独蒜兰的冰球子性状，现行《中国药典》（2020年版）标准冰球子的性状更偏向云南独蒜兰，建议补充独蒜兰的性状鉴别特征描述，且冰球子的显微横切面鉴别项描述也较简单，故本研究中以基原为独蒜兰和云南独蒜兰的冰球子作为研究对象，拟对药材性状、显微鉴别、检查、浸出物、指纹图谱及指标性成分含量等进行研究，以建立专属性强、稳定可控的冰球子质量标准。现报道如下。

1 仪器与试药

1.1 仪器

BX53型显微镜及成像系统（日本Olympus公司）、1260 Infinity Ⅱ型高效液相色谱仪（美国Agilent公司）；ARC型高效液相色谱仪（美国Waters公司）；LC-40D型高效液相色谱仪（日本Shimadzu公司）；AE240型电子天平（瑞士Mettler Toledo公司，精度为0.1 mg）；KQ-250DE型超声波清洗器（昆山市超声仪器有限公司）。

1.2 试药

对照品2-*O*-葡萄糖基白及苷（批号为wkq23052201，含量为98.2%）、3,3′-二羟基-5-甲氧基联苄（批号为wkq23011810，含量98.0%），均购于四川维克奇生物科技有限公司；1,4-二[4-（葡萄糖氧）苄基]-2-异丁基苹果酸酯（批号为112061-202102，含量95.5%），购于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，水为超纯水。收集18批基原确切的冰球子药材样品，经广州市药品检验所侯惠婵主任中药师鉴定，分别为独蒜兰和云南独蒜兰的干燥假鳞茎。详见表1。

表1 药材样品信息

Tab. 1 Sample information of medicinal materials

编号	产地	基原	编号	产地	基原
S1	四川乐山	独蒜兰	S10	云南会泽	独蒜兰
S2	云南	独蒜兰	S11	云南普洱	独蒜兰
S3	云南	独蒜兰	S12	云南普洱	独蒜兰
S4	云南大理	独蒜兰	S13	贵州	云南独蒜兰
S5	云南丽江	独蒜兰	S14	贵州黔东南	云南独蒜兰
S6	云南丽江	独蒜兰	S15	贵州	云南独蒜兰
S7	云南普洱	独蒜兰	S16	贵州	云南独蒜兰
S8	贵州	独蒜兰	S17	贵州凯里	云南独蒜兰
S9	云南丽江	独蒜兰	S18	贵州凯里	云南独蒜兰

2 方法与结果

2.1 性状鉴别

2种样品性状鉴别特点见表2，放大特征图见图1。除表中信息外，冰球子（独蒜兰）有的侧面可见突起的残留芽痕，上部多呈瓶颈状，最顶端断头处呈盘状，基部多膨大，有的圆平，底部中央微凹入，有的下部有1条环节，多偏向一侧，部分瓶颈部，光滑，或有不规则纵皱纹。冰球子（云南独蒜兰）下部常见1～2条环节，表面颜色较浅。两者断面均呈浅黄色或浅棕褐色，角质半透明。

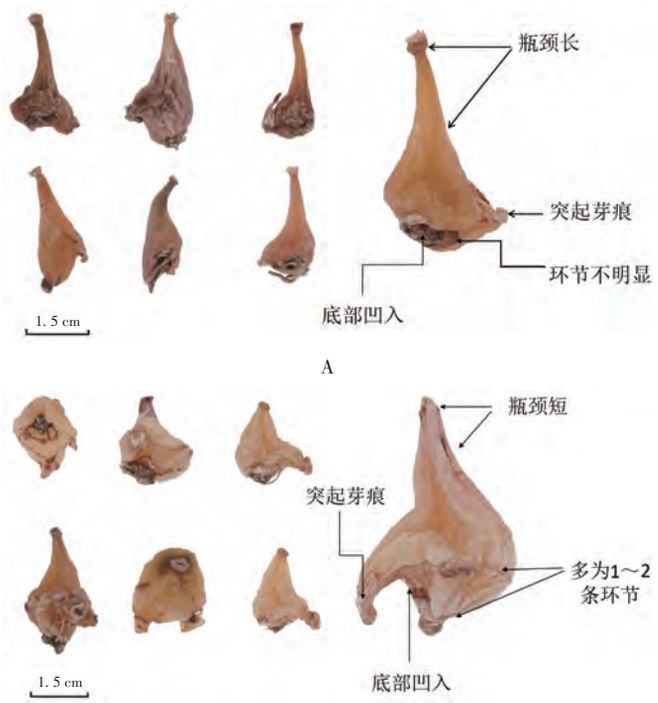
2.2 显微鉴别

横切面：两种基原的药材样品横切面相似，表皮细胞外层角质增厚，切向延长，下皮细胞1～2列，向内为大小不等的类圆形或不规则形薄壁细胞，含黏液质，糊化淀粉粒多存在于较小的薄壁细胞中。近表皮处较大

表 2　药材样品性状鉴别特点

Tab. 2　Morphological identification characteristics of medicinal material samples

基原	形状	大小	瓶颈长	表面颜色
独蒜兰	圆锥形，卵状圆锥形或不规则团块	高 1～4.5 cm，膨大部直径 0.8～2.5 cm	0.5～1.5 cm	浅紫红色或浅棕色至棕褐色，有的瓶颈部呈墨绿色
云南独蒜兰	圆锥形，或不规则团块	高 0.9～2.2 cm，膨大部直径 1.1～2.4 cm	0.2～0.7 cm	黄白色或浅棕色为主



A. 独蒜兰　B. 云南独蒜兰

图 1　药材性状及放大特征图

A. *Pleione bulbocodioides*　B. *Pleione yunnanensis*

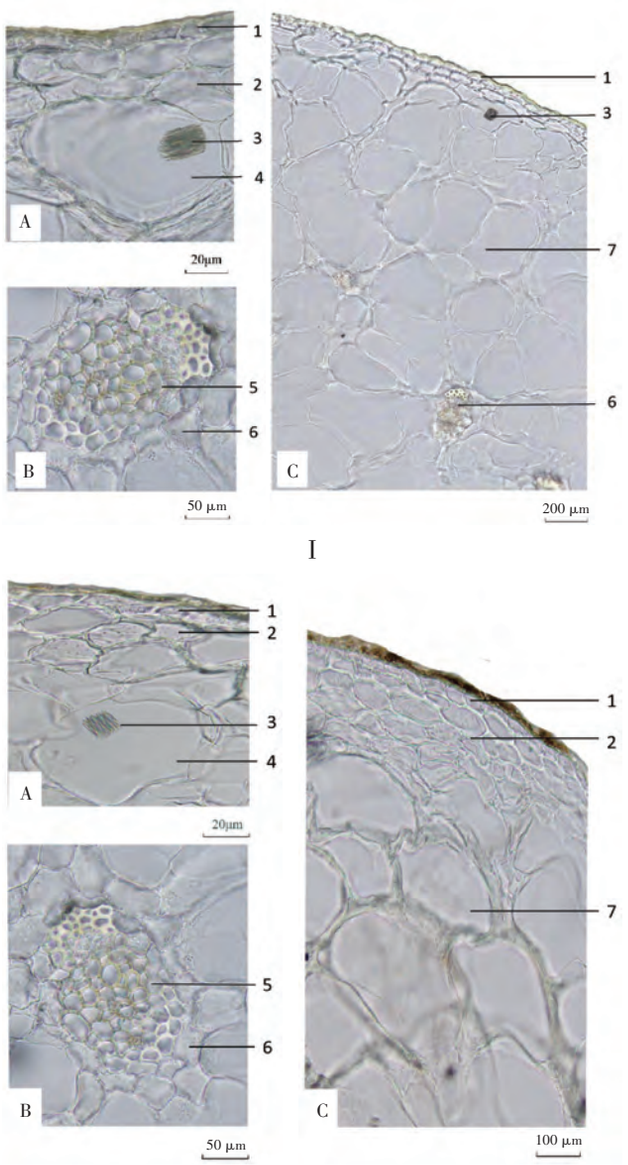
Fig. 1　Medicinal material characteristics and magnified feature diagrams

的黏液细胞中含有草酸钙针晶束，长 20～60 μm。维管束鞘纤维半月形，1～2 个。详见图 2。

粉末：两种基原药材样品粉末主要区别点在表皮细胞和草酸钙针晶。独蒜兰表皮细胞类方形或多角形，垂周壁微波状弯曲且略呈连珠状增厚；云南独蒜兰表皮细胞类多角形，垂周壁多平直且略呈连珠状增厚。云南独蒜兰草酸钙针晶较独蒜兰稍长，但不明显，两者针晶长为 20～60 μm。导管均为梯纹、网纹、螺纹、具缘纹孔导管，直径 8～30 μm。糊化淀粉粒团块较多。详见图 3。

2.3　检查

水分：取药材样品适量，按 2020 年版《中国药典（四部）》通则 0832 水分测定法项下“第二法（烘干法）”测定，药材平行测定 2 次，计算平均值（见表 3）。结果 18 批药材样品含水量为 10.63%～14.34%，均值为 12.94%，考虑南方天气较潮湿，存放过程中水分易增加，且 18 批药材水分含量最高值为 14.34%，故将药材水分限值设为不高于 15.0%。



A. 皮层　B. 维管束　C. 局部横切面

1. 表皮细胞　2. 下表皮细胞　3. 草酸钙针晶　4. 黏液细胞　5. 维管束　6. 糊化淀粉粒　7. 薄壁细胞

Ⅰ. 独蒜兰　Ⅱ. 云南独蒜兰

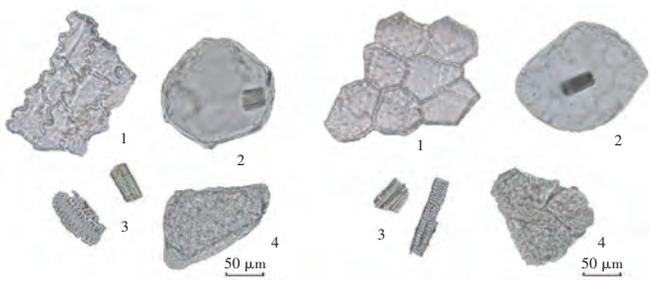
图 2　药材样品横切面显微特征图

A. Cortex　B. Vascular bundle　C. Partial cross - section

1. Epidermal cells　2. Hypodermal cells　3. Calcium oxalate needle crystals　4. Mucilage cells　5. Vascular bundles　6. Gelatinized starch granules　7. Parenchyma cells

Ⅰ. *Pleione bulbocodioides*　Ⅱ. *Pleione yunnanensis*

Fig. 2　Microscopic characteristics of cross - section of medicinal material samples



A B

1. 表皮细胞 2. 黏液细胞及草酸钙针晶 3. 导管
4. 糊化淀粉粒
A. 独蒜兰 B. 云南独蒜兰

图3 药材样品粉末显微特征图

1. Epidermal cells 2. Mucilage cells and calcium oxalate needle crystals 3. Vessels 4. Gelatinized starch grains
A. *Pleione bulbocodioides* B. *Pleione yunnanensis*

Fig. 3 Microscopic characteristic of medicinal material sample powder

表3 水分、总灰分、酸不溶性灰分及浸出物检查结果(%, $n=2$)

Tab. 3 Determination results of moisture, total ash, acid-insoluble ash, and extractives (%, $n=2$)

编号	水分	总灰分	酸不溶性灰分	稀乙醇浸出物
S1	12.61	3.01	0.05	16.97
S2	12.45	2.23	0.03	14.24
S3	12.12	2.34	0.08	14.32
S4	12.64	1.82	0.03	14.97
S5	11.82	2.83	0.02	13.94
S6	13.48	2.74	0.03	15.23
S7	10.63	2.13	0.05	14.45
S8	12.51	2.24	0.11	20.21
S9	14.22	2.10	0.15	13.45
S10	12.95	2.73	0.18	12.24
S11	13.34	2.52	0.09	14.87
S12	12.93	2.54	0.06	12.67
S13	12.23	2.45	0.12	13.73
S14	13.41	3.44	0.18	15.26
S15	13.06	2.56	0.03	13.25
S16	13.82	1.96	0.04	12.13
S17	14.32	2.63	0.07	12.83
S18	14.34	2.61	0.08	11.63
$\overline{X}$	12.94	2.49	0.08	14.24

总灰分和酸不溶性灰分：取药材样品粉末适量，按2020年版《中国药典(四部)》通则2302灰分测定法项下“总灰分测定法”和“酸不溶性灰分测定法”测定，平行测定2次，计算平均值(见表3)。结果18批药材样品总灰分为1.82%～3.44%，以最高值上浮30%，同时参考兰科植物白及的干燥块茎的药典质量标准，拟订总灰分限度不高于5.0%；酸不溶性灰分含量为0.02%～0.18%，本药材样品加工需蒸煮透心，带入泥沙概率较低，故此项暂不列入标准研究。

醇溶性浸出物：取药材样品粉末适量，按2020年版《中国药典(四部)》通则2201浸出物测定法项下“醇溶性浸出物测定法(热浸法)”，以稀乙醇为溶剂测定，平行测定2次，计算平均值(见表3)。结果18批药材样品稀乙醇浸出物含量为11.63%～20.21%，以最低值下调20%为标准，拟定稀乙醇浸出物不得低于9.0%。

2.4 高效液相色谱(HPLC)指纹图谱建立

2.4.1 色谱条件

色谱柱：ACE Excel5 C_{18}柱(250 mm×4.6 mm，5 μm)，流动相：乙腈(A)－0.15%磷酸水溶液(B)，梯度洗脱(0～8 min时20%A → 24%A，8～33 min时24%A → 24%A，33～35 min时24%A → 30%A，35～50 min时30%A → 45%A)；流速：1.0 mL/min；检测波长：224 nm；柱温：25 ℃；进样量：5 μL。

2.4.2 溶液制备

取2－*O*－葡萄糖基白及苷、3,3′－二羟基－5－甲氧基联苄、1,4－二[4－(葡萄糖氧)苄基]－2－异丁基苹果酸酯对照品各适量，精密称定，加稀乙醇制成质量浓度分别为0.1 mg/mL的混合对照品溶液。取药材样品粉末(过3号筛)约0.5 g，精密称定，精密加入稀乙醇25 mL，称定治疗，超声(功率300 W、频率37 kHz，下同)处理30 min，放冷，再次称定质量，用稀乙醇补足减失的质量，滤过，取续滤液，即得供试品溶液。

2.4.3 方法学考察

精密度试验：取药材样品(S15)适量，按2.4.2项下方法制备供试品溶液，按2.4.1项下色谱条件连续进样测定6次，记录色谱图。以1,4－二[4－(葡萄糖氧)苄基]－2－异丁基苹果酸酯峰为参照峰，计算各个共有峰的相对保留时间(RRT)及相对峰面积(RPA)。结果各共有峰的RRT及RPA的*RSD*分别小于0.19%及1.27%($n=6$)，表明方法精密度良好。

稳定性试验：取药材样品(S15)适量，按2.4.2项下方法制备供试品溶液，分别于室温放置0，4，8，12，18，24，36，48 h时按2.4.1项下色谱条件进样测定，记录色谱图。以1,4－二[4－(葡萄糖氧)苄基]－2－异丁基苹果酸酯峰为参照峰，计算各共有峰的RRT及RPA。结果各共有峰RRT及RPA的*RSD*分别小于0.20%及2.40%($n=8$)，表明供试品溶液室温放置48 h内基本稳定。

重复性试验：取药材样品(S15)适量，按2.4.2项下方法制备供试品溶液，共6份，按2.4.1项下色谱条件进样测定，记录色谱图。以1,4－二[4－(葡萄糖氧)苄基]－2－异丁基苹果酸酯峰为参照峰，计算各个共

有峰的RRT及RPA。结果各共有峰RRT及RPA的*RSD*分别小于0.40%及2.86%（n = 6），表明方法重复性较好。

耐用性考察：取供试品（编号S15）溶液适量，以不同品牌色谱柱（ACE Excel5 C_{18}柱、Inertsil ODS－3柱、Kromasil 100－5 C_{18}柱）按2.4.1项下色谱条件进行测定，记录峰面积。结果以1,4－二[4－（葡萄糖氧）苄基]－2－异丁基苹果酸酯峰为参照峰，各色谱峰出峰顺序均未改变，各色谱峰RRT的*RSD*均小于2.41%，表明方法能满足试验要求，耐用性良好。

2.4.4 指纹图谱建立及共有峰确定

取18批药材样品各适量，按2.4.2项下方法制备供试品溶液，按2.4.1项下色谱条件进样测定，记录色谱图。将18批次药材样品色谱图导入中药指纹图谱相似度评价系统（2012版）软件，采用中位数法进行多点校正生成指纹图谱共有模式及对照指纹图谱（见图4、图5）。12批独蒜兰冰球子药材样品和6批云南独蒜兰冰球子药材样品均能呈现6个稳定的共有峰，通过与对照品（见图6）比对，指认出峰1为2－*O*－葡萄糖基白及苷，峰3为1,4－二[4－（葡萄糖氧）苄基]－2－异丁基苹果酸酯，峰6为3,3′－二羟基－5－甲氧基联苄。

2.4.5 指纹图谱相似度评价

以HPLC对照指纹图谱为参照图谱，计算18批次

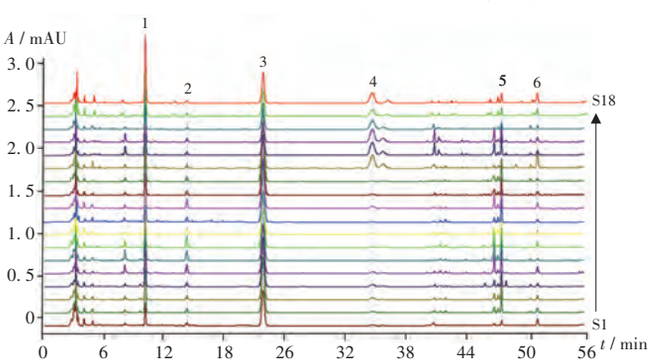
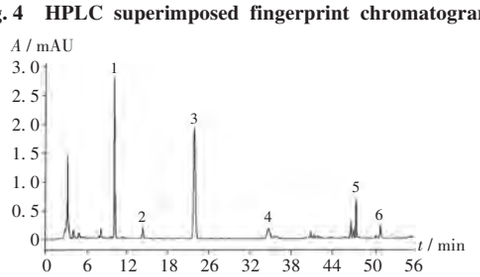


图4 高效液相色谱叠加指纹图谱

Fig. 4 HPLC superimposed fingerprint chromatograms

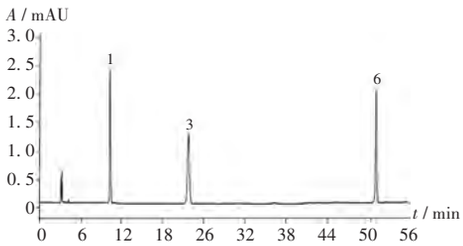


1.2－*O*－葡萄糖基白及苷 3.1,4－二[4－（葡萄糖氧）苄基]－2－异丁基苹果酸酯 6.3,3′－二羟基－5－甲氧基联苄

图5 高效液相色谱对照指纹图谱

1. Dactylorhin A 3. Militarine 6. Batatasin Ⅲ

Fig. 5 HPLC reference fingerprint chromatogram



1.2－*O*－葡萄糖基白及苷 3.1,4－二[4–(葡萄糖氧）苄基]－2－异丁基苹果酸酯 6.3,3′－二羟基－5－甲氧基联苄

图6 混合对照品高效液相色谱图

1. Dactylorhin A 3. Militarine 6. Batatasin Ⅲ

Fig. 6 HPLC chromatogram of mixed reference

药材样品指纹图谱与其相似度。结果的相似度分别为0.958，0.993，0.997，0.999，0.996，0.978，0.989，0.987，0.994，0.968，0.985，0.991，0.931，0.936，0.908，0.919，0.945，0.938。

2.5 化学计量学分析

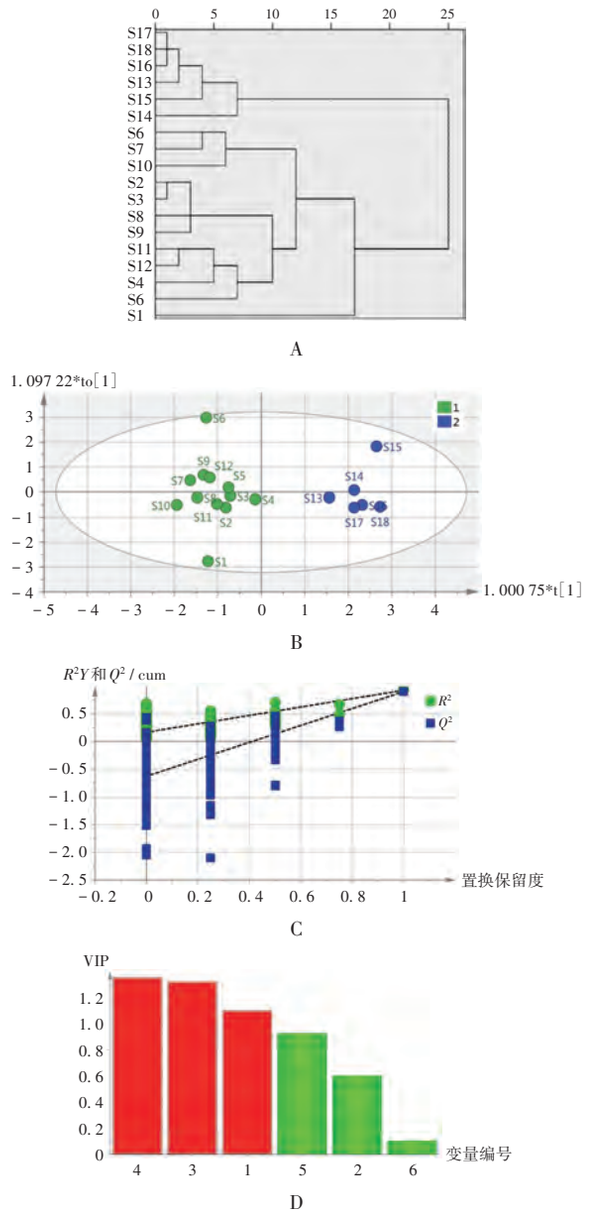
层次聚类分析（HCA）：采用SPSS 22.0统计学软件分析。以18批药材样品的6个共有峰峰面积为变量，采用组间连接法对其进行HCA，当欧氏距离为20时，18批药材样品可聚为2类，编号S13－S18为Ⅰ类，基原为云南独蒜兰的冰球子样品；编号S1－S12为Ⅱ类，基原为独蒜兰的冰球子样品。结果见图7 A。

正交偏最小二乘法判别分析（OPLS－DA）：为进一步寻找药材样品的质量差异成分，采用有监督的OPLS－DA进行建模研究。在SIMCA 14.1软件中导入18批药材样品的6个共有峰峰面积，进行OPLS－DA。结果见图7 B。18批药材样品能很好地区分为2类，与HCA结果一致。模型分析验证参数可知，R^2X（cum）= 0.704，R^2（cum）= 0.930，Q^2（cum）= 0.904，R^2Y（cum）= 1，均大于0.5且接近于1，说明模型稳定且具有良好、可靠的预测准确性。为避免模型过度拟合造成结果假阳性，设置分类Y矩阵变量随机排列200次做置换检验（见图7 C）。R^2回归线在Y轴截距为0.169、Q^2回归线在Y轴截距为－0.630，表明模型未出现过拟合现象，可用于判别分析18批样品的组间差异。OPLS－DA模型中的变量投影重要性（VIP）值显示（见图7 D），在95%置信区间内，筛选出VIP > 1.0的差异标志物为峰4、峰3（1,4－二[4－（葡萄糖氧）苄基]－2－异丁基苹果酸酯）、峰1（2－*O*－葡萄糖基白及苷），这些成分可能是不同基原冰球子样品间产生差异的标志性成分。

2.6 特征性成分含量测定方法

2.6.1 混合对照品溶液制备

取2－*O*－葡萄糖基白及苷、1,4－二[4－（葡萄糖氧）苄基]－2－异丁基苹果酸酯对照品各适量，精密称



A. HCA 图　B. OPLS - DA 得分图　C. OPLS - DA 置换检验图　D. OPLS - DA VIP 值图

图 7　冰球子化学模式识别图

A. HCA drogram　B. OPLS - DA score plot　C. OPLS - DA permutation test　D. OPLS - DA VIP value plot

Fig. 7　Chemical pattern recognition diagram of *Pleione bulbocodioides* and *Pleione yunnanensis*

定，加稀乙醇制成质量浓度分别为 0.6 mg / mL 的混合对照品溶液。

2.6.2　*方法学考察*

线性关系考察：分别精密量取 2.6.1 项下混合对照品溶液 0.2，0.5，1.0，1.5，3.0，5.0 mL，置 5 mL 容量瓶中，加稀乙醇定容，摇匀，制成系列对照品溶液。取 10 μL，按 2.4.1 项下色谱条件进样测定，记录峰面积。以待测成分质量浓度（X，μg / mL）为横坐标、峰面积（Y）为纵坐标进行线性回归，得 2 - *O* - 葡萄糖基白及苷、1，4 - 二[4 - （葡萄糖氧）苄基] - 2 - 异丁基苹果酸酯回归方程分别为 $Y_1 = 8.483 \times 10^6 X_1 + 6.543 \times 10^4$ 及 $Y_2 = 9.899 \times 10^6 X_2 - 9.901 \times 10^3$（$r = 0.999\ 9$）。结果表明，2 - *O* - 葡萄糖基白及苷、1，4 - 二[4 - （葡萄糖氧）苄基] - 2 - 异丁基苹果酸酯质量浓度分别在 24.44 ~ 610.88 μg / mL 及 23.76 ~ 593.96 μg / mL 范围内与峰面积线性关系良好（$n = 6$）。

精密度、稳定性、重复性试验：按相关要求进行方法学考察，结果精密度试验结果的 *RSD* 均小于 0.10%（$n = 6$），稳定性试验结果的 *RSD* 均小于 0.81%（$n = 8$），重复性试验结果的 *RSD* 均小于 0.72%（$n = 6$），表明仪器精密度良好，供试品溶液在室温放置 48 h 内基本稳定，方法重复性良好。

加样回收试验：取已知含量药材样品（S15）适量，共 6 份，分别加入一定质量浓度的 2 - *O* - 葡萄糖基白及苷、1，4 - 二[4 - （葡萄糖氧）苄基] - 2 - 异丁基苹果酸酯对照品溶液，按 2.4.2 项下方法制备供试品溶液，再按 2.4.1 项下色谱条件进样测定，记录峰面积并计算回收率。结果 2 种待测成分平均加样回收率分别为 94.80% 及 99.80%，*RSD* 均小于 2.0%（$n = 6$）。

2.6.3　*含量测定结果分析*

取 18 批药材样品各适量，分别按 2.4.2 项下方法制备供试品溶液，再按 2.4.1 项下色谱条件进样测定，平行测定 3 次，记录峰面积并计算样品含量。结果见表 4（A 为 2 - *O* - 葡萄糖基白及苷，B 为 1，4 - 二[4 - （葡萄糖氧）苄基] - 2 - 异丁基苹果酸酯）。不同基原冰球子中 2 种待测成分含量做箱式图比较（见图 8），基原为独蒜兰的药材样品中两种待测成分含量均高于基原为云南独蒜兰的药材样品，两者中 2 - *O* - 葡萄糖基白及苷含量无显著差异，而 1，4 - 二[4 - （葡萄糖氧）苄基] - 2 - 异丁基苹果酸酯含量存在显著差异（$P < 0.01$）。

3　讨论

3.1　生药学鉴定研究

本研究中梳理出独蒜兰与云南独蒜兰为基原的冰球子药材在性状和显微组织方面的鉴别要点，增加了粉末鉴别并对两者特征进行了比较。假鳞茎瓶颈长短、突起侧芽、表面颜色及下部环节数等可作为具有鉴别意义的药材性状特征。在粉末显微特征方面可重点关注表皮细胞形态、草酸钙针晶长度等进行鉴别。通过上述鉴别要点可快速而又准确地鉴别基原为独蒜兰和云南独蒜兰的冰球子药材。

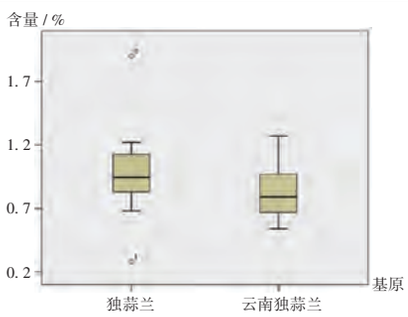
3.2　供试品溶液制备方法的考察

预试验中考察了不同提取方法（超声、回流提取）、不同提取溶剂（纯水、纯甲醇、50% 甲醇、75% 甲醇、乙醇、稀乙醇、75% 乙醇）、不同料液比（1∶30、1∶50、

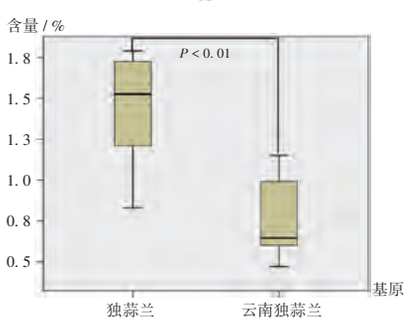
表 4　18 批药材样品含量测定结果（%，n = 3）

Tab. 4　Content determination results of 18 batches of medicinal materials（%，n = 3）

编号	A	B	编号	A	B	编号	A	B
S1	0. 28	0. 83	S7	1. 05	1. 73	S13	0. 97	0. 99
S2	0. 83	1. 29	S8	0. 83	1. 51	S14	0. 54	1. 15
S3	0. 96	1. 31	S9	1. 20	1. 54	S15	1. 27	0. 47
S4	0. 86	1. 11	S10	0. 68	1. 77	S16	0. 67	0. 60
S5	0. 95	1. 13	S11	0. 94	1. 72	S17	0. 86	0. 66
S6	1. 90	1. 67	S12	1. 22	1. 79	S18	0. 72	0. 63



A



B

A. 2 - O - 葡萄糖基白及苷　B. 1,4 - 二[4 -（葡萄糖氧）苄基] - 2 - 异丁基苹果酸酯

图 8　不同基原药材中两种待测成分含量比较

A. Dactylorhin A　B. Militarine

Fig. 8　Content comparison of two target components in medicinal materials from different botanical origins

1∶100，m / V）及提取时间（15，30，45，60 min）下，以 2 - O - 葡萄糖基白及苷、1,4 - 二[4 -（葡萄糖氧）苄基] - 2 - 异丁基苹果酸酯的提取效率为指标。最终确定料液比为 1∶50（m / V），稀乙醇超声提取 30 min。

3. 3　指纹谱图及含量测定结果分析

指纹图谱显示，18 批冰球子药材均能呈现 6 个稳定的共有峰，其中峰 1 和峰 3 响应值高，峰形良好，保留时间适中，且这两种成分在 OPLS - DA 模型中的 VIP 值均大于 1，对不同基原冰球子药材有较大影响，可作为不同基原冰球子药材质量差异的主要潜在标志性成分。本研究中建立了冰球子药材中 2 - O - 葡萄糖基白及苷、1,4 - 二[4 -（葡萄糖氧）苄基] - 2 - 异丁基苹果酸酯的含量测定方法，结果基原为独蒜兰的冰球子样品中 2 种成分的含量均高于基原为云南独蒜兰的冰球子样品，其中后者含量存在显著差异。

3. 4　方法评价

本研究中修订了冰球子药材的性状鉴别以及横切面显微鉴别、增加专属性强的粉末显微，对水分、总灰分、酸不溶性灰分检查项以及醇溶性浸出物进行了考察；并拟定了合理的限度，建立了冰球子的 HPLC 指纹图谱，通过化学识别模式分析影响 18 批不同基原冰球子药材质量差异的主要成分，并对主要成分进行了含量测定，可为提高冰球子的质量标准提供参考。

参考文献

[1] 刘婷婷，于栋华，刘树民．山慈菇的本草考证及现代研究进展[J]．中国药房，2020，31（24）：3055 - 3059.
[2] 国家药典委员会．中华人民共和国药典（一部）[M]．北京：中国医药科技出版社，2020：34.
[3] 王　冰，王　玥，朱仲康，等．基于网络药理学及实验验证探讨山慈菇 - 漏芦药对治疗乳腺癌作用机制[J]．中国实验方剂学杂志，2022，28（1）：65 - 71.
[4] 关鼎鲲，杨国旺．基于网络药理学探讨山慈菇 - 皂角刺药对治疗肺癌的作用机制[J]．中国医院用药评价与分析，2021，21（6）：641 - 649.
[5] 侯鹏霄，樊　茜．基于网络药理学研究浙贝母 - 山慈菇药对干预甲状腺癌的作用机制[J]．中国民间疗法，2024，32（5）：65 - 69.
[6] 刘文佳，刘宗凯，初晓苏，等．山慈菇 - 王不留行干预肺癌向骨转移过程生物信息学作用机制[J]．陕西中医，2021，42（9）：1302 - 1306.
[7] 杨红燕，项微微，李玲燕．HPLC 法指纹图谱在山慈菇真伪鉴别中的应用[J]．浙江中医杂志，2020，55（1）：72 - 73.
[8] 王　超，韩少伟，崔保松，等．独蒜兰的化学成分研究[J]．中国中药杂志，2014，39（3）：442 - 447.
[9] 韩少伟，王　超，崔保松，等．独蒜兰中丁二酸苄酯苷类化学成分的研究[J]．中国中药杂志，2015，40（5）：908 - 914.
[10] 刘星星，刘宏栋，潘玲玲．独蒜兰化学成分及生物活性研究进展[J]．江西中医药大学学报，2019，31（2）：106 - 111.
[11] 李　敏，郭顺星，王春兰，等．2 - 异丁基苹果酸葡萄糖氧基苄酯类化合物在兰科植物中的分布特点及药理活性[J]．中国药学杂志，2010，45（10）：724 - 726.
[12] 王　静，肖秋肖，周祖英，等．基原为云南独蒜兰的山慈菇的化学成分鉴定与分析[J]．中国药房，2022，33（10）：1165 - 1171.
[13] 王晓宇，罗　冰，吴　萍，等．基于商品规格等级的山慈菇本草考证及近现代文献研究[J]．世界中医药，2022，17（16）：2536 - 2350.
[14] 郝壮壮，曹宇欣，刘朦朦，等．基于 HPLC 指纹图谱及多指标成分测定结合化学计量学的不同商品规格山慈菇质量差异分析[J]．中草药，2023，54（6）：1935 - 1945.
[15] 谢　典，朱　聪，潘红波，等．HPLC 法同时测定山慈菇中 3 种成分[J]．中成药，2022，44（6）：2050 - 2053.

（收稿日期：2024 - 07 - 21；修回日期：2025 - 02 - 25）