菟丝子总黄酮中拟雌激素作用的活性成分筛选Δ

岳　霞*，宋　辉，徐　媛，刘迪施，孙向明#，李文兰（哈尔滨商业大学药学院，哈尔滨　150076）

中图分类号　R917；S481+.9　　**文献标志码**　A　　**文章编号**　1001-0408（2023）05-0569-06
DOI　10.6039/j.issn.1001-0408.2023.05.11

摘　要　目的　筛选菟丝子总黄酮中拟雌激素作用的活性成分。**方法**　以小鼠子宫系数和子宫内膜厚度为评价指标，评估10批菟丝子总黄酮的拟雌激素作用，并建立其指纹图谱，标定共有峰；采用双变量相关性分析和灰色关联度分析对共有峰和上述两种指标的谱效关系进行分析，筛选拟雌激素作用的活性成分，并采用超高效液相色谱串联四极杆飞行时间质谱（UPLC-Q-TOF-MS）技术对活性成分进行表征。**结果**　10批菟丝子总黄酮的拟雌激素作用均较好。菟丝子总黄酮正、负离子模式下分别得到28、33个共有峰，其中正离子模式下的7、10、12～16、26号峰及负离子模式下2、5、8、9、12、16、19、22～26号峰所代表的成分与菟丝子总黄酮拟雌激素作用高度相关。进一步鉴定发现，菟丝子总黄酮拟雌激素作用的活性成分分别为5，7，3′，4′-四甲氧基黄酮、6-*O*-（反式）对香豆酰基-呋喃果糖-（2→1）-吡喃葡萄糖苷、芦丁、山柰酚-3，7-双葡萄糖苷、芹菜素-7-*O*-葡萄糖苷、金丝桃苷、紫云英苷、槲皮苷、槲皮素、芹菜素、山柰酚、异鼠李素、杜鹃黄素、异槲皮苷、山柰酚-3-呋喃阿拉伯糖苷、2，6-十八碳二炔酸。**结论**　本研究从菟丝子总黄酮中筛选出16种拟雌激素作用的化学成分，可为植物雌激素类药物的开发提供参考。

关键词　菟丝子总黄酮；活性成分；拟雌激素作用；谱效关系

Screening of active ingredients for estrogenic effect of total flavonoids from Cuscutae Semen

YUE Xia，SONG Hui，XU Yuan，LIU Dishi，SUN Xiangming，LI Wenlan（School of Pharmacy，Harbin University of Commerce，Harbin 150076，China）

ABSTRACT　OBJECTIVE To screen the active ingredient with estrogenic effect from total flavonoids of Cuscutae Semen. **METHODS** The estrogenic effect of total flavonoids from 10 batches of Cuscutae Semen was evaluated with mouse uterus coefficient and endometrial thickness as evaluation indexes，establish its fingerprint and calibrate the common peak. Common peak and spectrum-effect relationship of the above two indicators were analyzed by bivariate relationship analysis and grey correlation analysis to screen active components with estrogenic effect. UPLC-Q-TOF-MS technology was used to characterize the active components. **RESULTS** The estrogenic effect of total flavonoids from 10 batches of Cuscutae Semen was good. Twenty-eight and thirty-three common peaks of total flavonoids in Cuscutae Semen were obtained in the positive and negative ion modes respectively. The constituents represented by peaks 7，10，12-16，26 in positive ion mode and peaks 2，5，8，9，12，16，19，22-26 in negative ion mode were highly correlated with the estrogenic effect of total flavonoids from Cuscutae Semen. Further identification showed that the active substances with estrogenic effect from the total flavonoids of Cuscutae Semen were 5，7，3′，4′-tetramethoxyflavone，6-*O*-（trans） p-coumarin-furanfructose-（2→1）-glucopyranoside，rutin，kaempferol-3，7-diglucoside，apigenin-7-*O*-glucoside，hyperoside，baicalin，quercitin，quercetin，apigenin，kaempferol，isorhamnetin，rhododendron，isoquercetin，kaempferol-3-furan arabinoside，2，6-octadecanediacetylic acid. **CONCLUSIONS** A total of 16 chemical components with estrogenic effect are screened from total flavonoids of Cuscutae Semen in the study，which can provide reference for the development of phytoestrogens.

KEYWORDS　total flavonoids of Cuscutae Semen；active ingredient；estrogenic effect；spectrum-effect relationship

菟丝子为旋花科植物南方菟丝子*Cuscuta australis* R.Br.或菟丝子*Cuscuta chinensis* Lam.的干燥成熟种子，其用药历史悠久，为补益类常用中药[1]，具有补肾益精、安胎明目等多种功效[2]。近年来，多项研究发现菟丝子在激素调节[3]、保肝明目[4]、保护心脑血管[5]、抗癌[6]和抗衰老[7]等方面表现出一定的药理疗效。菟丝子植物分布广泛，主要分布于黑龙江、内蒙古、甘肃、山东等地，学者们从菟丝子中已提取出多类化学成分，如黄酮类、生物碱类、木质素类、有机酸类和其他成分等[8—9]。

当妇女进入更年期后，各类雌激素指标骤然下降，从而出现月经失调、烦闷易怒、入睡困难等更年期症状，雌激素替代疗法可以使更年期症状得到明显改善；但长期使用人工合成的雌激素易对身体造成极大的损伤，如心脑血管损伤、肾脏损伤以及其他疾病等[10]。为此，科学家们不断寻求更为安全、有效的雌激素替代物。目前，国内外已有多种关于选择性雌激素受体调节剂和其

Δ**基金项目**　黑龙江省重点研发计划项目（No.2022ZX02C08）；大学生创新创业训练计划项目（No.202210240009）

＊**第一作者**　研究方向：中药药效物质基础。E-mail：Yuexia0829@163.com

＃**通信作者**　讲师，硕士生导师，博士。研究方向：中药药效物质基础。E-mail：sunxiangming2002@163.com

他辅助药的报道，其中尤为重要的一类药物就是植物雌激素[11－12]，其被认为是一种更安全、更有前途的雌激素替代品。

本课题组前期研究表明，菟丝子醇提物有显著的拟雌激素活性，且其拟雌激素活性成分多为黄酮类[13]。本研究首先对菟丝子总黄酮的拟雌激素作用进行验证，建立10批菟丝子总黄酮的指纹图谱；然后以小鼠子宫系数、子宫内膜厚度为指标对共有峰进行活性检识，再采用超高效液相色谱串联四极杆飞行时间质谱（UPLC-Q-TOF-MS）技术对菟丝子总黄酮成分进行表征，明确菟丝子总黄酮中拟雌激素作用的活性成分，以期为植物雌激素类药物的开发提供参考。

1　材料

1.1　主要仪器

本研究所用主要仪器有LE2O4E/O2型电子分析天平（瑞士Mettler Toledo公司），Acquity型超高效液相色谱（UPLC）仪、PGA495型质谱仪（美国Waters公司），CKX53型倒置显微镜（日本Olympus公司），YN-02B1型生物组织包埋机（深圳市永年科技有限公司）等。

1.2　主要药品与试剂

绿原酸、山柰酚、槲皮素、异鼠李素、槲皮苷、芹菜素对照品（批号分别为20160312、20130621、20151225、20160615、20150813、20170224，纯度≥98%）均购自中国食品药品检定研究院；金丝桃苷对照品（纯度≥98%，批号111521-201903）购自上海金穗生物有限公司；戊酸雌二醇（阳性对照药，批号20191038）购自拜耳医药保健有限公司；苏木素染液、伊红染液（批号分别为20190504、20190103）购自北京索莱宝生物科技公司。菟丝子药材（编号S1～S10）购自不同的菟丝子种植基地，经哈尔滨商业大学药学院曲中原教授鉴定为旋花科植物南方菟丝子*C. australis* R.Br.或菟丝子*C. chinensis* Lam.的干燥成熟种子，其药材产地信息见表1。

表1　菟丝子药材产地信息

编号	产地	采摘时间
S1	黑龙江萝北县	2019年9月
S2	广西南宁	2019年6月
S3	安徽大别山	2018年10月
S4	甘肃秦岭	2019年12月
S5	内蒙古阿拉善	2019年10月
S6	云南文山	2019年6月
S7	安徽六安	2018年10月
S8	山东济宁	2019年9月
S9	河南焦作	2018年10月
S10	内蒙古锡林郭勒	2019年10月

1.3　动物

本研究所用动物为雌性未成年ICR小鼠，体质量为（10±2）g，购自长春国家生物产业基地实验动物中心，动物生产许可证号为SCXK（吉）-2020-0002。本实验经哈尔滨商业大学实验动物伦理委员会批准，批准号为HSDYXY-2020005。

2　方法与结果

2.1　样品的制备

2.1.1　阳性对照药混悬液的制备　取戊酸雌二醇适量，用蒸馏水配制质量浓度为0.01 mg/mL的混悬液，备用。

2.1.2　供试品溶液的制备　分别称取10个不同产地菟丝子药材适量，粉碎过筛，按文献[13]方法制备总黄酮浸膏（以芦丁计，总黄酮的纯度为29.84%～31.68%）。取菟丝子总黄酮浸膏1 g，用80%甲醇溶解并定容于10 mL容量瓶中，从中取1 mL溶液转移至5 mL容量瓶中，以80%甲醇定容，过0.22 μm微孔滤膜，即得供试品溶液，备用。

2.1.3　对照品溶液的制备　分别精密称取绿原酸、金丝桃苷、山柰酚、槲皮素、槲皮苷、异鼠李素、芹菜素对照品适量，以80%甲醇溶解，并定容于10 mL容量瓶中，过0.22 μm微孔滤膜，即得混合对照品溶液。

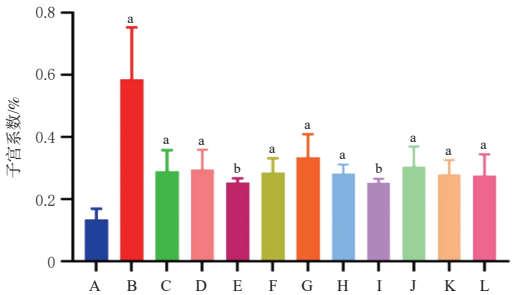
2.2　菟丝子总黄酮拟雌激素作用考察

2.2.1　分组与给药　将小鼠随机分为空白对照组、阳性对照组（戊酸雌二醇，0.075 mg/kg，剂量根据本课题组前期预实验结果设置）和不同产地（S1～S10）菟丝子总黄酮组（8 g/kg，以菟丝子生药量计，剂量根据本课题组预实验结果设置），每组10只。给药组小鼠灌胃相应药物，空白对照组灌胃等体积蒸馏水，每天早晚各给药1次，连续4 d。

2.2.2　小鼠子宫系数和子宫内膜厚度的检测　末次给药1 h后，将各组小鼠脱颈处死，剖取子宫，称定质量，并计算子宫系数（子宫系数＝子宫质量/体质量×100%）。将子宫置于10%甲醛溶液中固定1～2 d，再进行组织包埋、切片、染色、脱水、胶封，采用显微镜观察小鼠子宫特征变化，并测量子宫内膜厚度。采用SPSS 19.0软件对数据进行统计分析，数据均以$\bar{x}\pm s$表示，多组间比较采用单因素方差分析，组间两两比较采用LSD-t检验。检验水准$\alpha=0.05$。结果显示，与空白对照组相比，阳性对照组和S1～S10菟丝子总黄酮组小鼠子宫系数和子宫内膜厚度（S3、S7菟丝子总黄酮组除外）均显著增加（$P<0.05$或$P<0.01$）。空白对照组子宫内膜上皮、间质、腺体无增生，肌层排列紧密，子宫内膜壁薄，无明显增厚及突出。阳性对照组和S1～S10菟丝子总黄酮组小鼠子宫内膜增厚明显，内膜上皮由低柱状形态进展为高柱状形态，内膜间质疏松。结果见图1～图3。

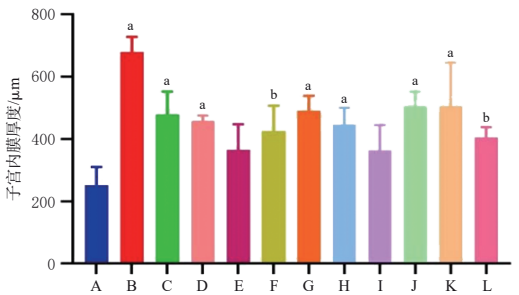
2.3　不同产地菟丝子总黄酮的指纹图谱建立

2.3.1　色谱条件　色谱柱为Agilent Eclipse Plus C_{18} RRHD（3.0 mm×150 mm，1.8 μm）；保护柱为ACQUITY UPLC R BEH C_{18}；柱温为40 ℃；流速为0.3 mL/min；进样量为2 μL；流动相为0.1%甲酸溶液（A）-乙腈溶液（B），梯度洗脱（0～2 min，10%B→19%B；2～5 min，19%B；5～6 min，19%B→44%B；6～14 min，44%B→60%B；14～19 min，60%B→95%B；19～20 min，95%B→100%B）。



A：空白对照组；B：阳性对照组；C～L：S1～S10菟丝子总黄酮组；a：与空白对照组比较，$P<0.01$；b：与空白对照组比较，$P<0.05$

图1　各组小鼠子宫系数的检测结果（$\bar{x}\pm s$，$n=10$）



A：空白对照组；B：阳性对照组；C～L：S1～S10菟丝子总黄酮组；a：与空白对照组比较，$P<0.01$；b：与空白对照组比较，$P<0.05$

图2　各组小鼠子宫内膜厚度的检测结果（$\bar{x}\pm s$，$n=10$）

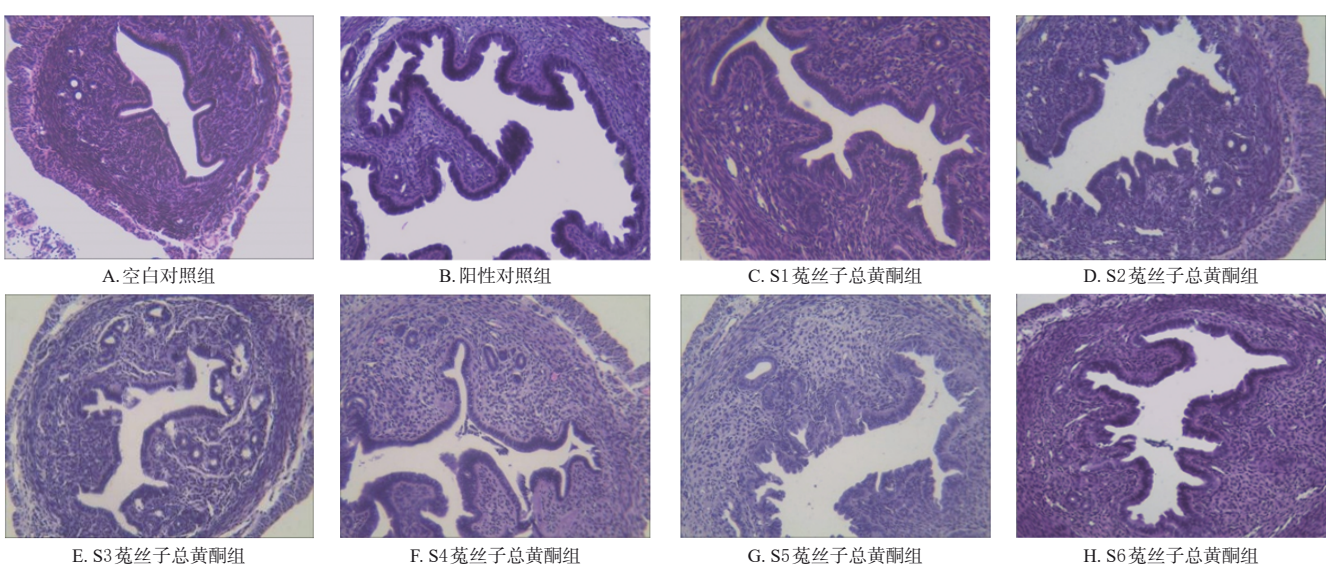
2.3.2　质谱条件　采用电喷雾离子源，电压为3.0 kV，温度为100 ℃，去溶剂气温度为400 ℃，去溶剂气流速为800 L/h，锥孔气流速为50 L/h。采用正负离子模型进行扫描，扫描范围为*m/z* 50→1 200，碰撞能为20～45 mV。

2.3.3　精密度试验　取“2.1.2”项下供试品溶液适量，按“2.3.1”“2.3.2”项下色谱与质谱条件连续进样6次，正离子模式选取13号峰（槲皮素）作为参照峰，负离子模式选取23号峰（槲皮素）作为参照峰，记录各共有峰相对峰面积和相对保留时间。结果显示，两种模式下各共有峰相对峰面积的RSD均小于3.0%，相对保留时间的RSD均小于2.5%（$n=6$），表明仪器精密度良好。

2.3.4　重复性试验　按“2.1.2”项下方法制备6份供试品溶液，按“2.3.1”“2.3.2”项下色谱与质谱条件进行检测，正离子模式选取13号峰作为参照峰，负离子模式选取23号峰作为参照峰，记录各共有峰相对峰面积和相对保留时间。结果显示，两种模式下各共有峰相对峰面积的RSD均小于3.0%，相对保留时间的RSD均小于2.5%（$n=6$），表明方法重复性良好。

2.3.5　稳定性试验　取“2.1.2”项下供试品溶液适量，于室温放置0、3、6、8、12、24 h时按“2.3.1”“2.3.2”项下色谱与质谱条件进行检测，正离子模式选取13号峰作为参照峰，负离子模式选取23号峰作为参照峰，记录各共有峰相对峰面积和相对保留时间。结果显示，两种模式下各共有峰相对峰面积的RSD均小于3.0%，相对保留时间的RSD均小于3.0%（$n=6$），表明样品稳定性良好。

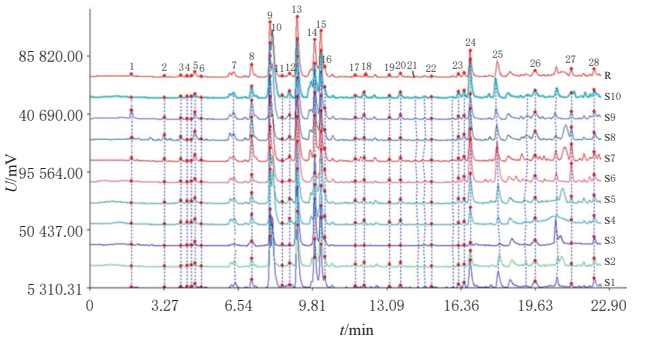
2.3.6　指纹图谱的建立　取“2.1.2”项下供试品溶液适量，按“2.3.1”“2.3.2”项下色谱与质谱条件进样分析，记录色谱图。采用《中药色谱指纹图谱相似度评价系统（2004A版）》对10批不同产地菟丝子总黄酮的指纹图谱进行分析，生成正负离子模式下的对照指纹图谱（R）和



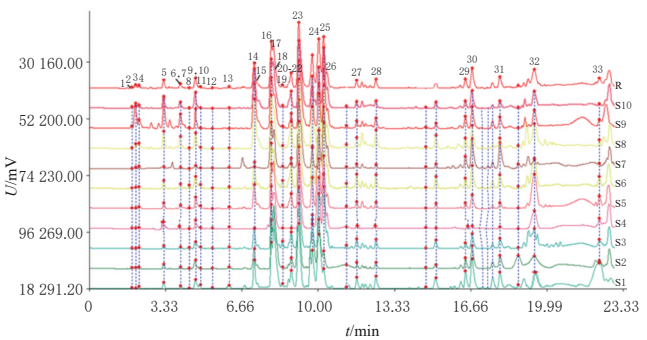
A. 空白对照组　B. 阳性对照组　C. S1菟丝子总黄酮组　D. S2菟丝子总黄酮组
E. S3菟丝子总黄酮组　F. S4菟丝子总黄酮组　G. S5菟丝子总黄酮组　H. S6菟丝子总黄酮组
I. S7菟丝子总黄酮组　J. S8菟丝子总黄酮组　K. S9菟丝子总黄酮组　L. S10菟丝子总黄酮组

图3　各组小鼠子宫HE染色结果（×200）

叠加指纹图谱。如图4所示，正、负离子模式下分别标出28、33个共有峰。



A. 正离子模式下



B. 负离子模式下

图4　正负离子模式下不同产地菟丝子总黄酮的叠加指纹图谱及对照图谱（R）

2.4　不同产地菟丝子总黄酮的谱-效相关性分析

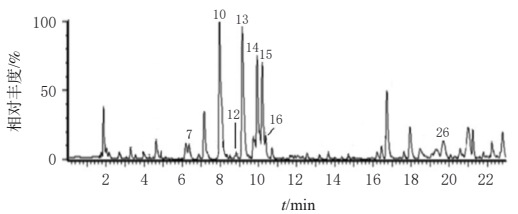
2.4.1　双变量相关性分析　采用SPSS 19.0软件进行分析，将10批不同产地菟丝子总黄酮的共有峰相对峰面积进行均值化处理后，以小鼠子宫系数、子宫内膜厚度为变量，进行双变量相关性分析，并计算Pearson相关系数，其绝对值越大表明相关性越好。结果显示，在正离子模式下，有10个共有峰与菟丝子总黄酮的拟雌激素作用相关（$P<0.05$），分别是7、10、12～16、18、22、26号峰。在负离子模式下，有14个共有峰与菟丝子总黄酮的拟雌激素作用有关（$P<0.05$），分别是2、5、8、9、12、16、19、22～28号峰。

2.4.2　灰色关联度分析　采用DPS软件进行分析，将10批不同产地菟丝子总黄酮的共有峰相对峰面积进行均值化处理后，以此为子序列，再以小鼠子宫系数、子宫内膜厚度为母序列，可得到子序列与相应母序列的关联度，将其按从大到小的顺序排列级组成关联序，通过关联度排序结果，判断各子序列对母序列的“贡献”程度。通常认为关联度＞0.5即存在关联，关联度越大关联性越好[14－15]。本研究选择关联度大于0.6的成分作为高度相关的成分。结果显示，正离子模式下，有19个共有峰的关联性较强，分别是3、5、7～17、19、20、24～26、28号峰。负离子模式下，有21个共有峰的关联性较强，分别是2、5、7～9、11～17、19～26、31号峰。

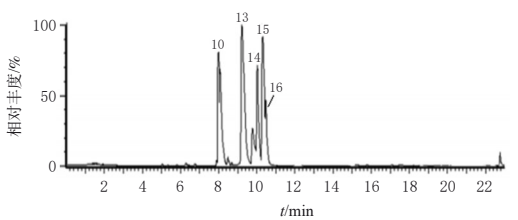
2.4.3　综合分析　将“2.4.1”“2.4.2”项下正负离子模式下的结果取交集发现，正离子模式下的7、10、12～16、26号峰及负离子模式下2、5、8、9、12、16、19、22～26号峰所代表的成分与菟丝子总黄酮的拟雌激素作用高度相关。

2.5　菟丝子总黄酮成分的表征

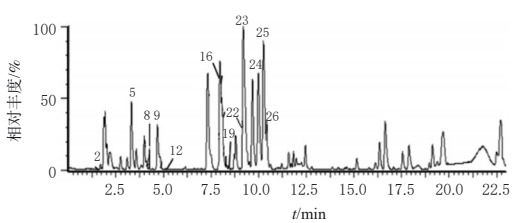
由于样本S9在正、负离子模式下所呈现的化学成分均较为全面，因此取S9样品的供试品溶液和“2.1.3”项下混合对照品溶液，按“2.3.1”“2.3.2”项下色谱与质谱条件进样分析，即得菟丝子总黄酮供试品溶液及混合对照品的总离子流图（图5）。采用Waters Masslynx V 4.1软件对正、负离子模式下的总离子流图进行处理，获取各共有峰的保留时间及一、二级质谱信息，根据精确的准分子离子峰的m/z初步判断化合物的相对分子质量、元素组成和分子式，并与对照品及自建数据库中各化学成分的信息进行比对，同时参考各类化合物的裂解规律[16－20]，根据碎片离子信息推测化合物。结果见表2。



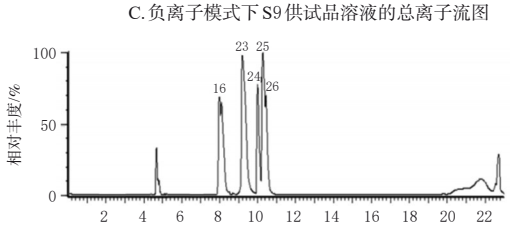
A. 正离子模式下S9供试品溶液的总离子流图



B. 正离子模式下混合对照品溶液的总离子流图



C. 负离子模式下S9供试品溶液的总离子流图



D. 负离子模式下混合对照品溶液的总离子流图

图5　菟丝子总黄酮供试品溶液及混合对照品的总离子流图

由表2可知，菟丝子总黄酮中共有16个拟雌激素活性成分，分别为5，7，3′，4′-四甲氧基黄酮、6-*O*-（反式）对香豆酰基-呋喃果糖-（2→1）-吡喃葡萄糖苷、芦丁、山柰酚-3，7-双葡萄糖苷、芹菜素-7-*O*-葡萄糖苷、金丝桃苷、紫云英苷、槲皮苷、槲皮素、芹菜素、山柰酚、异鼠李素、杜鹃黄素、异槲皮苷、山柰酚-3-呋喃阿拉伯糖苷、2，6-十八碳二炔酸。

表2　菟丝子总黄酮中各色谱峰的化学成分分析结果

峰号	离子模式	保留时间/min	准分子离子峰	二级碎片 *m/z*	相对分子质量	分子式	化合物推测
7	+	6.36	317.066 1	207.030 1	316.058 3	$C_{16}H_{12}O_7$	杜鹃黄素
10	+	8.05	465.103 3	285.035 0、303.051 4	464.095 5	$C_{21}H_{20}O_{12}$	异槲皮苷
12	+	8.84	419.097 8	401.088 3	418.090 0	$C_{20}H_{18}O_{10}$	山柰酚-3-呋喃阿拉伯糖苷
13	+	9.14	303.050 5	229.051 3、247.060 7、257.045 0、285.039 9	302.042 7	$C_{15}H_{10}O_7$	槲皮素
14	+	9.92	271.060 6	91.054 7、119.049 6、145.028 9、153.020 2、225.055 1、243.065 7	270.052 8	$C_{15}H_{10}O_5$	芹菜素
15	+	10.19	287.055 6	153.020 5、165.018 8、213.056 4、241.050 1	286.047 7	$C_{15}H_{10}O_6$	山柰酚
16	+	10.37	317.066 1	153.020 0、229.050 8、257.045 0、274.047 7、285.039 9、302.043 6	316.058 3	$C_{16}H_{12}O_7$	异鼠李素
26	+	19.62	277.216 8	219.040 7	276.208 9	$C_{18}H_{28}O_2$	2,6-十八碳二炔酸
2	−	1.85	341.108 4	309.085 5	342.110 3	$C_{19}H_{18}O_6$	5,7,3′,4′-四甲氧基黄酮
5	−	3.27	487.145 2	145.029 1、163.041 3、325.012 3、341.942 3	488.439 2	$C_{21}H_{28}O_{13}$	6-*O*-(反式)对香豆酰基-呋喃果糖-(2→1)-吡喃葡萄糖苷
8	−	4.47	609.146 3	255.028 6、301.034 5、463.086 7	610.153 4	$C_{27}H_{30}O_{16}$	芦丁
9	−	4.51	609.145 4	285.930 1	610.153 4	$C_{27}H_{30}O_{16}$	山柰酚-3,7-双葡萄糖苷
12	−	5.21	431.097 8	269.122 1、285.038 5	432.105 7	$C_{21}H_{20}O_{10}$	芹菜素-7-*O*-葡萄糖苷
16	−	7.97	463.087 7	300.027 6	464.095 5	$C_{21}H_{20}O_{12}$	金丝桃苷
19	−	8.43	447.093 0	151.004 2、227.034 3、255.029 3、285.052 8	448.100 6	$C_{21}H_{20}O_{11}$	紫云英苷
22	−	8.82	447.093 6	300.027 6、301.034 0、895.192 6	448.100 6	$C_{21}H_{20}O_{11}$	槲皮苷
23	−	9.19	301.034 8	151.003 2、255.028 1、271.023 5、284.029 7	302.042 7	$C_{15}H_{10}O_7$	槲皮素
24	−	9.99	269.045 0	116.927 4	270.052 8	$C_{15}H_{10}O_5$	芹菜素
25	−	10.26	285.039 9	151.005 6、185.062 7、229.049 3、257.043 2、571.032 1	286.047 7	$C_{15}H_{10}O_6$	山柰酚
26	−	10.43	315.050 5	107.013 3、151.003 2、300.026 5	316.058 3	$C_{16}H_{12}O_7$	异鼠李素

3　讨论

目前，可利用乳腺癌细胞增殖率、动物血清中雌激素含量、雌激素受体的蛋白和mRNA表达水平、子宫系数、子宫内膜厚等指标来评价拟雌激素作用[21−22]。结合本课题组前期预实验结果，发现采用小鼠子宫系数和子宫内膜厚度这2个指标进行评价，可更好地反映雌激素样效果。本研究结果发现，不同产地菟丝子总黄酮的拟雌激素活性均较好。进一步在正负离子模式下建立不同产地菟丝子总黄酮的指纹图谱，发现在正、负离子模式下共有28、33个共有峰。结合双变量相关性分析和灰色关联度分析发现，正离子模式下的7、10、12～16、26号峰及负离子模式下2、5、8、9、12、16、19、22～26号峰所代表的成分与菟丝子总黄酮的拟雌激素作用高度相关。经化学成分鉴定发现，这16个成分分别为5,7,3′,4′-四甲氧基黄酮、6-*O*-(反式)对香豆酰基-呋喃果糖-(2→1)-吡喃葡萄糖苷、芦丁、山柰酚-3,7-双葡萄糖苷、芹菜素-7-*O*-葡萄糖苷、金丝桃苷、紫云英苷、槲皮苷、槲皮素、芹菜素、山柰酚、异鼠李素、杜鹃黄素、异槲皮苷、山柰酚-3-呋喃阿拉伯糖苷、2,6-十八碳二炔酸。相关研究发现，芦丁能够提高雌性青春期大鼠雌二醇、孕酮水平，促进催乳素、生长激素分泌，上调乳腺组织中雌激素受体、孕激素受体、催乳素受体和生长激素受体的表达量，促进乳腺发育[23]。也有研究表明，槲皮素在雌激素相关疾病中的作用机制呈多元化，主要包括抗氧化作用，调控雌激素代谢，调节雌激素受体及其下游信号通路等[24]。

综上所述，本研究从菟丝子总黄酮中筛选出16种拟雌激素作用的化学成分，可为植物雌激素类药物的开发提供参考。

参考文献

[1] 叶敏，阎玉凝. 菟丝子药理研究进展[J]. 北京中医药大学学报，2000，23(5)：52-53.

[2] 林玉榕，郑丽燕. 中药菟丝子药理研究[J]. 生物技术世界，2014，11(2)：84.

[3] 李淑颖，耿玉萌，崔宇擎，等. 菟丝子水提物对子宫内双酚A暴露小鼠的生殖保护作用[J]. 中国兽医学报，2021，41(4)：748-754.

[4] 许晓嘉. 南方菟丝子黄酮类化学成分及炮制前后保肝作用的初步研究[D]. 北京：北京中医药大学，2014.

[5] 刘海云，方永青，何志坚，等. 菟丝子提取物对失眠大鼠血清细胞因子及SOD、MDA的影响[J]. 江西中医药，2021，52(12)：57-60.

[6] 叶春林，KHUDOYBERDIEV Ilkhomjon，陈颖，等. 菟丝子多糖的抗氧化活性和抑制肿瘤细胞增殖的研究[J]. 河南工业大学学报(自然科学版)，2020，41(5)：73-78.

[7] 刘海云，纪玉龙，何志坚. 菟丝子提取物对自然衰老小鼠学习记忆能力及肝和脑组织ATP酶活力的影响[J]. 中国老年学杂志，2018，38(23)：5794-5796.

[8] 徐长丽，石芸，梁裕莎，等. 菟丝子的研究进展及质量标志物(Q-marker)的预测分析[J]. 中南药学，2022，20(7)：1610-1616.

[9] 吴志瑰，付小梅，吴蜀瑶，等. 菟丝子药材品种考证、资源调查及商品药材鉴定[J]. 中国中药杂志，2017，42(19)：3831-3835.

[10] 何瑛. 围绝经期伴发焦虑、抑郁的临床治疗[J]. 吉林医学，2013，34(26)：5351-5352.

[11] GLISIC M，KASTRATI N，MUSA J N，et al. Phytoestrogen supplementation and body composition in postmenopausal women：a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials[J]. Maturitas，2018，115：74-83.

[12] 赵丕文，王大伟，牛建昭，等. 红花等10种中药的植物雌激素活性研究[J]. 中国中药杂志，2007，32(5)：436-439.

[13] 辛科颖，孙向明，胡扬，等. 响应面法优化大孔树脂纯化菟丝子总黄酮工艺[J]. 中国药学杂志，2022，57(7)：530-538.
[14] 关欣，王鹤辰，包永睿，等. 灰色关联分析中药蒲公英不同部位对RAW264.7细胞的抑制作用[J]. 中国现代应用药学，2021，38(11)：1354-1357.
[15] 杨超，朱晓钗，万浩婷，等. 基于灰色关联分析方法研究炒酸枣仁镇静催眠作用谱效关系[J]. 中草药，2021，52(17)：5267-5274.
[16] 金晓，李家实，阎文玫. 菟丝子黄酮类成分的研究[J]. 中国中药杂志，1992，17(5)：292-294，321.
[17] 王展，何直昇. 菟丝子化学成分的研究[J]. 中草药，1998，29(9)：577-579.
[18] 叶敏，阎玉凝，乔梁，等. 中药菟丝子化学成分研究[J]. 中国中药杂志，2002，27(2)：115-117.
[19] 周园，董秋菊，周玲玉，等. 大菟丝子及其清炒品中黄酮和有机酸类成分含量的比较[J]. 时珍国医国药，2019，30(9)：2131-2133.
[20] AHMAD A，TANDON S，XUAN T D，et al. A review on phytoconstituents and biological activities of *Cuscuta* species[J]. Biomedecine Pharmacother，2017，92：772-795.
[21] SHELBY M D，NEWBOLD R R，TULLY D B，et al. Assessing environmental chemicals for estrogenicity using a combination of *in vitro* and *in vivo* assays[J]. Environ Health Perspect，1996，104(12)：1296-1300.
[22] LI W L，SONG H，SUN X M，et al. Estrogenic activity of glycosides from *Cistanche deserticola* as an estrogen receptors adjuvant *in vitro*[J]. Phcog Mag，2019，15(65)：693.
[23] 郭旭东，刁其玉，王月影，等. 芦丁对雌性青春期大鼠乳腺发育及相关激素与受体水平的影响[J]. 营养学报，2011，33(3)：247-252.
[24] 杨英，曹阳，张婷婷，等. 槲皮素药理作用在雌激素相关性疾病中的研究进展[J]. 国际生殖健康/计划生育杂志，2011，30(1)：69-72.

（收稿日期：2022-08-18　修回日期：2023-01-20）
（编辑：唐晓莲）

（上接第568页）

综上所述，本研究采用的HPLC分析方法稳定可行、准确度高、重复性好，所建立的特征图谱系统地反映了桑白皮汤物质基准的特征性和化学信息。对2种物质基准煎煮过程中的6种指标成分和总含量进行测定和比较，可为后续桑白皮汤制剂的开发中提供“遵古”依据，并奠定实验基础。但桑白皮汤临床上用煮散代替汤剂使用时，如何调整用量从而保证其生物等效性和安全性，还需要进一步研究。

参考文献

[1] 国家中医药管理局. 关于发布《古代经典名方目录（第一批）》的通知[EB/OL].（2018-04-13）[2022-12-19]. http://kjs.satcm.gov.cn/zhengcewenjian/2018-04-16/7107.html.
[2] 郑文江，彭紫荆，严倩，等. 桑白皮汤加减治疗慢性阻塞性肺疾病急性加重期的Meta分析和试验序贯分析[J]. 中国中药杂志，2019，44(17)：3806-3815.
[3] 刘默. 桑白皮汤文献研究与干预LPS诱导小鼠ALI模型和斑马鱼氧化应激模型的效应及机制研究[D]. 南京：南京中医药大学，2021.
[4] 国家药品监督管理局. 国家药品监督管理局关于发布古代经典名方中药复方制剂简化注册审批管理规定的公告：2018年第27号[EB/OL].（2018-06-01）[2022-12-19]. https://www.nmpa.gov.cn/xxgk/ggtg/qtggtg/20180601163901361.html.
[5] 陈浩，宋菊，杨平，等.《按古代经典名方目录管理的中药复方制剂药学研究技术指导原则（试行）》简介[J]. 中国食品药品监管，2021(9)：78-87.
[6] 卫生部，国家中医药管理局. 关于印发《医疗机构中药煎药室管理规范》的通知[EB/OL].（2009-03-16）[2022-12-19]. http://www.satcm.gov.cn/yizhengsi/gongzuodongtai/2018-03-25/6577.html.
[7] 文谨，刘起华，彭智平，等. 黄芩煮散与传统饮片有效成分的煎出效果比较[J]. 中国实验方剂学杂志，2014，20(11)：34-36.
[8] 刘月，罗娟，顾永哲，等. 基于多主要成分含量测定的银翘散煮散与饮片煎煮过程比较研究[J]. 中国中药杂志，2022，47(14)：3788-3797.
[9] 丘光明，邱隆，杨平. 中国科学技术史：度量衡卷[M]. 北京：科学出版社，2001：217，447.
[10] 刘默，张一鸣，范欣生. 桑白皮汤成方考证[J]. 中华中医药杂志，2022，37(2)：1065-1068.
[11] 仝小林，张家成，穆兰澄，等. 恢复煮散 节省药材[J]. 中国新药杂志，2012，21(5)：470-474.
[12] 鲍慧玮，王月洁，周灿灿，等. HPLC测定桑白皮汤中桑皮苷A的含量[J]. 长春师范大学学报，2021，40(6)：42-45.
[13] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典：一部[S]. 2020年版. 北京：中国医药科技出版社，2020：124-353.
[14] 胡钟姣，彭皓，郑露露，等. 基于生物分子网络探讨桑白皮汤治疗慢性阻塞性肺疾病的作用机制[J]. 现代药物与临床，2021，36(8)：1556-1566.

（收稿日期：2022-09-29　修回日期：2023-01-05）
（编辑：林　静）