

## 基于指纹图谱与化学计量学的淡竹叶质量控制研究

向欢<sup>1</sup>,涂慕鑫<sup>2</sup>,李玉<sup>2</sup>,孟亦浩<sup>3</sup>,蔚慧欣<sup>3</sup>,王庆亮<sup>3</sup>,张鑫<sup>3</sup>,田俊生<sup>2</sup>,秦雪梅<sup>2\*</sup>

(1.山西大学 体育学院,山西 太原 030006;2.山西大学 中医药现代研究中心

地产中药功效物质研究与利用山西省重点实验室,山西 太原 030006;

3.山西杏花村汾酒厂股份有限公司 中国露酒植物提取与健康山西省重点实验室,山西 汾阳 032205)

**摘要:**本研究采用反相高效液相色谱法(RP-HPLC)对15批淡竹叶样本进行指纹图谱分析及对6种指标性化学成分进行含量测定。采用Origin 2019软件及软独立建模分类类比法(SIMCA 14.0)软件分别对淡竹叶6种成分含量进行聚类分析与主成分分析(Principal Component Analysis, PCA),并对共有峰峰面积进行正交偏最小二乘法判别分析(Orthogonal Partial Least Squares-Discriminant Analysis, QPLS-DA)以筛选差异性标志化合物。结果表明,淡竹叶指纹图谱共匹配出14个共有峰,指纹图谱相似性大于0.90。通过对照品指认出异荭草苷(8号峰)、荭草苷(9号峰)、日当药黄素(10号峰)、牡荆苷(12号峰)、异牡荆苷(13号峰)、木犀草苷(14号峰),以 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 为单位,各成分质量分数分别为0.23~1.09、0.17~0.86、0.08~0.67、0.22~0.61、0.02~0.13、0.02~0.06。15批样品通过聚类分析分成3类,PCA结果与聚类分析结果一致。研究表明5种指标性成分(异荭草苷、荭草苷、日当药黄素、牡荆苷、异牡荆苷)被筛选为候选差异性标志化合物,可作为指标性成分用于淡竹叶质量控制与评价。

**关键词:**HPLC 指纹图谱;淡竹叶;化学计量学;黄酮类成分;质量评价

中图分类号:R917 文献标志码:A 文章编号:0253-2395(2025)02-0216-10

## Quality Control Research of *Lophatherum gracile* Brongn. Based on Fingerprint and Chemometrics

XIANG Huan<sup>1</sup>, TU Muxin<sup>2</sup>, LI Yu<sup>2</sup>, MENG Yihao<sup>3</sup>, YU Huixin<sup>3</sup>, WANG Qingliang<sup>3</sup>, ZHANG Xin<sup>3</sup>,

TIAN Junsheng<sup>2</sup>, QIN Xuemei<sup>2\*</sup>

(1. School of Physical Education, Shanxi University, Taiyuan 030006, China; 2. Modern Research Center for Traditional Chinese Medicine, Shanxi Provincial Key Laboratory of Effective Substances Research and Utilization in TCM, Shanxi University, Taiyuan 030006, China; 3. Shanxi Xinghuacun Fenjiu Co., Ltd., Shanxi Key Laboratory of Plant Extraction and Health of China Wine, Fenyang 032205, China)

**Abstract:** In this study, the fingerprint analysis and content determination of six indicator chemical components were performed on 15 batches of *Lophatherum gracile* Brongn. (LGB) by RP-HPLC method. The cluster analysis and principal component analysis of the contents of six components of LGB were performed using Origin 2019 software and SIMCA 14.0 software, respectively. The peak areas of the common peaks were analyzed for differential marker compounds according to orthogonal partial least squares-discriminant analysis(OPLS-DA). The results showed that 14 common peaks were matched on the fingerprints of LGB, and the similarity of the fingerprint was  $>0.90$ . The content ranges of each component are expressed in  $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$  and are as follows: 0.23~1.09, 0.17~0.86, 0.08~0.67, 0.22~0.61, 0.02~0.13, 0.02~0.06, for isoorientin (Peak 8), orientin (Peak 9), swertiajaponin (Peak 10), vitexin (Peak

收稿日期:2024-06-07;接受日期:2024-10-09

基金项目:地产中药功效物质研究与利用山西省重点实验室项目(202105D121009);中国露酒植物提取与健康山西省重点实验室开放课题(202204010931030)

作者简介:向欢(1984—),女,讲师,硕士,研究方向为运动干预与健康促进。E-mail:xianghuan0327@sxu.edu.cn

\* 通信作者:秦雪梅(QIN Xuemei),E-mail:qinxm@sxu.edu.cn

引文格式:向欢,涂慕鑫,李玉,等.基于指纹图谱与化学计量学的淡竹叶质量控制研究[J].山西大学学报(自然科学版),2025,48(2):216-225. DOI:10.13451/j.sxu.ns.2024144.

12), isovitexin (Peak 13), and luteoloside (Peak 14), respectively. The 15 batches of LGB samples were divided into 3 classes by cluster analysis, and the results of PCA were consistent with the results of cluster analysis. Finally, the five chemical components (orientin, swertijaponin, vitexin, isovitexin, luteoloside) were screened as candidate differential marker compounds, which could be used as indicator components for quality control and comprehensive evaluation of LGB.

**Key words:** HPLC fingerprint; *Lophatherum gracile* Brongn.; chemometrics; flavonoids; quality assessment

## 0 引言

中药淡竹叶(*Lophatherum gracile* Brongn.)为禾本科植物淡竹叶的干燥茎叶,具有解热、抗菌、利尿等作用,常用于治疗发热和尿路炎症<sup>[1]</sup>。“淡竹叶”之名最早记载于《名医别录》<sup>[2]</sup>,其主要化学成分为黄酮类、三萜类、挥发性成分、酚酸类以及多糖等<sup>[3-4]</sup>。目前,现行的《中国药典》(2020版)中公开质量控制标准仅包括显微鉴别、性状分析,其中含量测定项并无明确规定。因此,现行的质量标准不能从整体上反映药材的质量。现代药理学研究表明,淡竹叶中的木犀草素及其糖苷具有抗菌和抗炎活性<sup>[5-6]</sup>,芹菜素及其糖苷具有抗氧化和抗肿瘤活性<sup>[7]</sup>,异荭草苷具有降尿酸作用<sup>[8]</sup>,日当药黄素具有抑制皮肤色素沉着的活性<sup>[9]</sup>,黄酮C-糖苷具有抗病毒活性<sup>[10]</sup>。因此,在本实验中将异荭草苷、荭草苷、日当药黄素、牡荆苷、异牡荆苷、木犀草苷作为“化学标志物”以表征淡竹叶的质量。

中药化学成分因具有复杂性和难以检测的特点,其药理作用往往也是由多个成分协同产生。因此,仅采用单一指标难以把控中药材整体质量并全面反映其药效特点<sup>[11]</sup>。指纹图谱作为一种综合的、可量化的鉴定手段,能够全面反映中药的化学成分信息,对中药的主要化学成分进行宏观整体表征<sup>[12]</sup>。近年来,多成分含量测定结合化学计量学,如聚类分析,主成分分析<sup>[13]</sup>等分析方法,不仅能够准确鉴别与定量中药材化学成分,还能对复杂的数据进行整合,可以更加直观地反映不同产地及批次的质量差异<sup>[14-15]</sup>。由于淡竹叶在中国不同地区广泛分布,其有效成分的含量因地理位置、气候等因素有很大差异。因此,有必要开发一种能分析出更多生物活性成分的质量控制方法。

淡竹叶作为竹叶青酒组方中的主要原料之一<sup>[16]</sup>,目前尚缺乏科学合理的质量控制方法与质量标准。课题组前期通过超高效液相色谱-

四极杆-飞行时间质谱联用(UPLC-Q-TOF-MS/MS)技术建立了快速表征竹叶青酒化学成分的分析方法<sup>[17]</sup>,并采用UPLC技术建立竹叶青酒中7种化学成分定量的方法<sup>[18]</sup>。本研究基于HPLC技术与化学计量学分析方法,建立15批淡竹叶样本指纹图谱,并对荭草苷、异荭草苷、日当药黄素、牡荆苷、异牡荆苷、木犀草苷的含量进行同时测定,为淡竹叶整体质量控制与药效物质基础研究提供科学依据,也为竹叶青酒化学成分分析与功效成分传递规律解析奠定基础。

## 1 材料与方法

**药材与试剂:**15批次的淡竹叶药材采购于河北省安国市中药材批发市场,编号、产地批准号信息见表1;甲醇、乙腈(色谱纯,Thermo Fisher公司);其余试剂为分析纯。

**对照品:**荭草苷(批号:PS010467)、异荭草苷(批号:PS011444)、牡荆苷(批号:PS012078)、异牡荆苷(批号:PS001063)、木犀草苷(批号:PS013155)、日当药黄素(批号:PS000796),均购于成都普思生物科技公司,其质量分数均 $\geq 98\%$ ;

**仪器:**Agilent 1260 II代HPLC系统(DAD检测器,美国Agilent Technologies公司);Sartorius BSA124S分析天平(德国Sartorius公司);CPA225D分析天平(德国Sartorius公司);JM-20D-80超声波清洗机(洁盟·深那仪器有限公司)。

## 2 结果与分析

### 2.1 溶液的制备

#### 2.1.1 供试品溶液的制备

称取15个批次淡竹叶粉末各1.000 g,精确称定。加入体积分数70%甲醇(下同)10 mL,置于50 mL具塞锥形瓶中,超声提取0.5 h后,称重,添加70%甲醇溶液,以补足超声提取过

程的损失,继续超声提取 0.5 h。所得的提取液真空抽滤,浓缩并复溶于 70% 甲醇中,最后定容于 5 mL 容量瓶内,进样分析前通过 0.22  $\mu\text{m}$  微孔滤膜,即得供试品溶液。

### 2.1.2 对照品溶液的制备

精密称定牡荆苷、异牡荆苷、荭草苷、异荭草苷、日当药黄素、木犀草苷各 0.003 66 g、0.003 96 g、0.002 36 g、0.003 74 g、0.001 70 g、0.003 82 g;分别置于 5 mL 容量瓶中,并加入 70% 甲醇定容,分别制成含各对照品 0.732 mg/mL、0.792 mg/mL、0.472 mg/mL、0.748 mg/mL、0.34 mg/mL、0.764 mg/mL 的单一对照品溶液。

### 2.1.3 混合对照品溶液的制备

精密吸取牡荆苷、异牡荆苷、荭草苷、异荭草苷、日当药黄素、木犀草苷对照品溶液 1 000  $\mu\text{L}$ ,置于 10 mL 容量瓶中,并用 70% 甲醇定容,制成混合对照品溶液,并依次稀释成系列梯度浓度的混合对照品溶液,以待用。

表 1 15 批次淡竹叶药材产地信息

Table 1 Information on the origin of 15 batches of *Lophatherum gracile* Brongn

编号	批号	产地来源
S1	20230402	四川
S2	20230405	四川
S3	20230303	四川
S4	20210206	四川
S5	20221006	四川
S6	20210516	四川
S7	20230224	四川
S8	20230924	四川
S9	20230510	四川
H1	20221001	湖南
H2	20231215	湖南
H3	20230607	湖南
H4	20210701	湖南
H5	20210917	湖南
H6	20220326	湖南

## 2.2 色谱条件<sup>[19]</sup>

色谱柱: Water symmetry  $\text{\textcircled{R}}$  C<sub>18</sub> (4.6 mm $\times$ 250 mm, 5  $\mu\text{m}$ ); 流动相: 乙腈(A)-体积分数 1% 甲酸水(B); 检测波长: 330 nm; 进样量: 10  $\mu\text{L}$ ; 流度为 1.0 mL/min; 柱温: 30 $^{\circ}\text{C}$ ; 梯度洗脱: 0~10 min, 8.0%A~10.5%A; 10~20 min,

10.5%A; 20~30 min, 10.5%A~11.5%A; 30~35 min, 11.5%A~12.5%A; 35~39.5 min, 12.5%A; 39.5~40 min, 12.5%~14.0%A; 40~48 min, 14.0%~14.7%A; 48~63 min, 14.7%~20.0%A; 63~75 min, 20%~28%A; 75~80 min, 28%~8%A。

## 2.3 指纹图谱研究

### 2.3.1 指纹图谱方法学考察

稳定性试验:取编号为 S2 的样品粉末,按照 2.1.1“供试品溶液的制备”方法制备供试品溶液,分别于 0 h、6 h、12 h、18 h、24 h、30 h 进样分析。计算共有峰保留时间与峰面积的相对标准偏差(RSD),共有峰保留时间及峰面积的 RSD 分别位于 0.237%~1.954%, 0.194%~1.851% 之间,表明仪器稳定性良好,具体结果见表 2。

精密度试验:取编号为 S5 的样品粉末,按照 2.1.1 项下“供试品溶液的制备”方法制备供试品溶液,将此供试品溶液连续进样 6 次。计算共有峰保留时间与峰面积的 RSD,共有峰保留时间及峰面积的 RSD 分别位于 0.142%~1.927%, 0.078%~1.889% 之间,表明仪器精密度良好,具体结果见表 2。

重复性试验:取 S7 样品粉末,按照 2.1.1“供试品溶液的制备”方法,平行制备 6 份供试品溶液,进样测定。计算共有峰保留时间和峰面积的 RSD,共有峰保留时间及峰面积的 RSD 分别位于 0.040%~1.953%, 0.240%~1.665% 之间,结果表明重复性良好,具体结果见表 2。

### 2.3.2 淡竹叶指纹图谱分析

取 15 批次淡竹叶按照 2.1.1 方法制备成供试品溶液,并按照 2.2 色谱条件,进样分析。通过 Agilent 1260 II 代液相处理系统中的 Chem-Station 积分事件功能对原始数据进行手动积分处理(主要参数设置如下:斜率灵敏度=0.50;峰宽=0.06 min;最小峰面积=10  $\mu\text{V}\cdot\text{s}$ ,最小峰面积百分比=0.50),随后将积分数据导出为 .cdf 格式文件,并导入《中药色谱指纹图谱相似度评价系统》(2012 版)软件中进行分析。

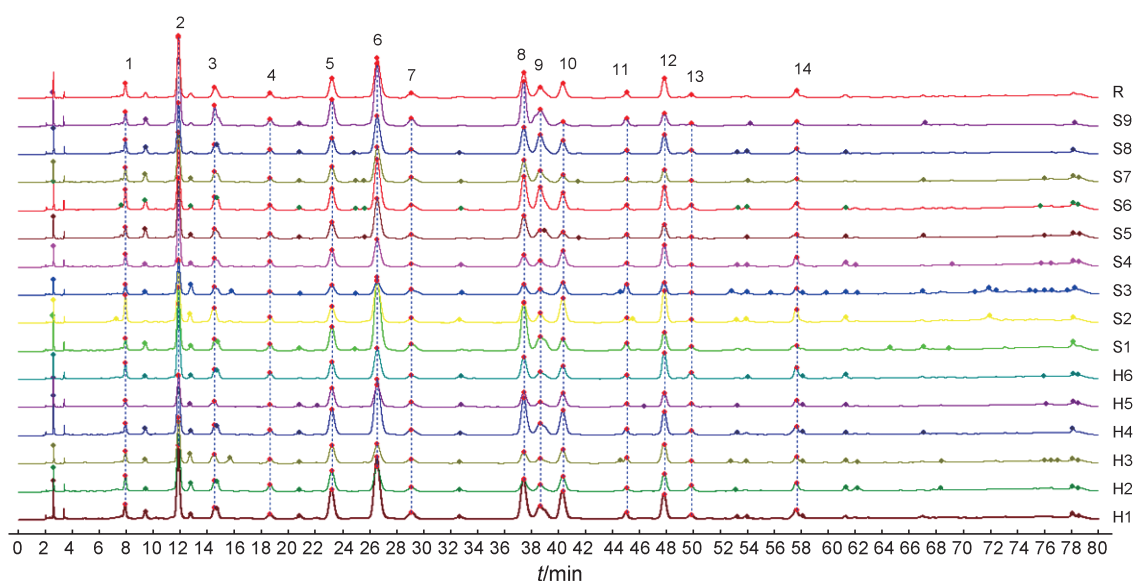
指纹图谱分析流程如下:首先,综合考虑出峰形状与数量将 S6 色谱图设置为参照图谱,并以多点校正法进行 Mark 峰匹配,自动校正生成

表2 淡竹叶指纹图谱分析方法考察结果

Table 2 The inspection results of the fingerprinting method for *Lophatherum gracile* Brongn.

共有峰	稳定性试验		精密度试验		重复性试验	
	保留时间RSD/%	峰面积RSD/%	保留时间RSD/%	峰面积RSD/%	保留时间RSD/%	峰面积RSD/%
1	1.098	1.430	1.206	1.090	0.847	1.292
2	0.875	1.784	1.927	0.767	1.583	1.058
3	1.136	1.851	0.142	0.174	0.040	1.665
4	1.127	1.865	1.978	0.986	1.590	0.784
5	1.556	1.316	0.688	1.834	1.018	0.488
6	1.448	1.664	0.821	0.412	1.455	0.489
7	0.318	0.221	1.313	0.276	0.393	0.737
8	1.642	0.194	1.676	0.192	1.953	0.937
9	1.954	1.210	1.479	0.078	0.566	0.240
10	0.237	1.280	0.287	1.889	1.044	0.829
11	1.049	1.215	1.103	1.045	0.924	1.146
12	0.938	1.392	1.464	0.883	1.292	1.029
13	1.068	1.426	0.571	0.587	0.520	1.333
14	1.278	1.370	1.479	1.299	0.961	1.281

注:1-14为共有峰的编号。



注:8:异荭草苷;9:荭草苷;10:日当药黄素;12:牡荆苷;13:异牡荆苷;14:木犀草苷。

图1 15批次淡竹叶指纹图谱及共有峰

Note: 8: isoorientin; 9: orientin; 10: swertiajaponin; 12: vitexin; 13: isovitexin; 14: luteoloside.

Fig. 1 The fingerprints and common peaks of 15 batches of *Lophatherum gracile* Brongn

对照图谱后,通过软件计算各批次色谱图与对照图谱的相似度。结果显示15批次样品的HPLC指纹图谱中共匹配出14个共有峰,结果见图1。计算得15批淡竹叶(H1~H6, S1~S9)指纹图谱与对照图谱相似度分别为0.992、0.947、0.953、0.989、0.976、0.975、0.963、0.970、0.931、0.951、0.981、0.987、0.989、0.983、0.968均大于0.9,表明不同批次淡竹叶样品质量相对

稳定。

## 2.4 多指标成分含量测定

### 2.4.1 系统适应性试验

按照2.2条件,计算各对照品与相邻色谱峰之间的分离度( $R = \frac{2(t_{R_2} - t_{R_1})}{W_1 + W_2}$ ),其中 $t_{R_1}$ 和 $t_{R_2}$ 分别为相邻两峰的保留时间, $W_1$ 和 $W_2$ 分别为两峰的

峰宽)、理论塔板数( $n=5.54(\frac{t_R}{W_{h/2}})^2$ ,其中 $W_{h/2}$ 为半峰宽,即峰高一半处的峰宽)及拖尾因子( $T=\frac{W_{0.05h}}{2d_1}$ , $W_{0.05h}$ 是峰高5%处的峰宽, $d_1$ 是峰极大至峰前沿之间的距离)。如图1所示,异荭草苷、荭草苷、日当药黄素、牡荆苷、异牡荆苷、木犀草苷的保留时间分别为37.60 min、39.20 min、40.50 min、48.00 min、49.90 min、57.70 min,本研究条件下测得异荭草苷与荭草苷的分离度为1.55,荭草苷与日当药黄素的分离度为1.62,日当药黄素与牡荆苷的分离度为10.18,牡荆苷与异牡荆苷的分离度为2.33,异牡荆苷与木犀草苷的分离度为8.04,各成分之间的分离度均大于1.5,达到基线分离的条件,拖尾因子均在0.95~1.05之间,理论塔板数均大于10 000,系统适应性良好。

#### 2.4.2 含量测定方法学考察

重复性、精密度及稳定性试验参考2.3.1方法,取S7淡竹叶样品粉末,平行制备6份供试品溶液,进样测定分析,计算6种成分保留时间及峰面积的RSD值,均小于2%,表明该方法满足含量测定的要求,结果见表3。

线性关系考察:精密量取2.1.3制备的系列梯度浓度混合标准品溶液,进样测定,并记录峰面积,以峰面积为纵坐标( $y$ ),以各混合标准品溶液浓度为横坐标( $x$ ),进行线性回归分析。结果见表4,结果表明6个含量测定成分线性关系良好,线性相关系数均大于0.999。

加样回收率考察:精密称定S5淡竹叶粉末3份,加入样品各成分0.5倍含量对照品,按照2.1.1方法制备供试品溶液,并按2.2色谱条件进样测定,计算各成分的含量,结果各成分加

样回收率为99.37%~103.85%,均符合要求,见表5。

#### 2.4.3 含量测定结果

15批次淡竹叶样本按照2.1.1方法制备供试品溶液,按2.2条件进样分析,并根据标准曲线法计算各批次药材中指标成分的含量,结果见表6所示。淡竹叶中异荭草苷含量为0.226 3 mg·g<sup>-1</sup>~1.091 8 mg·g<sup>-1</sup>,荭草苷含量为0.174 5 mg·g<sup>-1</sup>~0.855 3 mg·g<sup>-1</sup>,日当药黄素含量为0.084 1 mg·g<sup>-1</sup>~0.667 8 mg·g<sup>-1</sup>,牡荆苷含量为0.221 2 mg·g<sup>-1</sup>~0.608 4 mg·g<sup>-1</sup>,异牡荆苷含量为0.029 2 mg·g<sup>-1</sup>~0.126 5 mg·g<sup>-1</sup>,木犀草苷含量为0.021 7 mg·g<sup>-1</sup>~0.064 7 mg·g<sup>-1</sup>。

### 2.5 化学计量学分析

#### 2.5.1 聚类分析

采用Origin 2019软件,以平方欧式距离作为距离度量,并采用平均值法(也称K-means法)对15批次淡竹叶的6个指标性成分含量进行聚类分析。如图2所示,当平方欧氏距离为0.45时,15批次样本可分为3类,其中4个批次(H1、H4、S6、S8)聚为一类;2个批次(S1、S9)聚为一类;8个批次(H2、H3、S4、H5、S3、H6、S5、S7)聚为一类。

#### 2.5.2 主成分分析

主成分分析(PCA)是通过降维简化数据结构,同时保留主要信息以区分不同样本数据的一种分析方法。使用SIMCA 14.0软件对15批淡竹叶的6个指标成分含量进行PCA分析,结果显示前两个主成分累积贡献率达70.4%,成功将样品划分为3类,与聚类分析结果一致(见图3)。

为进一步分析6个化学成分对于PCA模型的贡献能力,分析载荷散点图发现,牡荆苷对

表3 淡竹叶6种成分含量测定的稳定性、精密度、重复性试验

Table 3 Stability, precision and repeatability test of 6 components in *Lophatherum gracile* Brongn.

化合物	稳定性试验		精密度试验		重复性试验	
	保留时间RSD/%	峰面积RSD/%	保留时间RSD/%	峰面积RSD/%	保留时间RSD/%	峰面积RSD/%
异荭草苷	0.119	1.472	1.388	0.236	1.953	0.937
荭草苷	0.726	1.957	0.485	1.173	0.566	0.240
日当药黄素	1.415	1.154	1.213	1.876	1.044	0.829
牡荆苷	0.847	1.642	0.34	0.198	0.924	1.146
异牡荆苷	1.017	1.566	0.936	1.456	1.292	1.029
木犀草苷	0.735	0.92	0.198	1.017	0.875	1.069

表4 淡竹叶6种成分含量测定的线性与范围

Table 4 The linearity and range of determination of 6 components in *Lophatherum gracile* Brongn.

化合物	线性方程	线性范围/( $\mu\text{g/mL}$ )	检测限/( $\mu\text{g/mL}$ )	定量限/( $\mu\text{g/mL}$ )	$R^2$
异荭草苷	$y=19.318x+10.705$	0.374~224.400	0.12	0.56	0.999 3
荭草苷	$y=14.133x+3.1107$	0.470~188.800	0.37	1.58	0.999 8
日当药黄素	$y=17.79x+4.4301$	0.340~170.000	0.55	1.68	0.999 7
牡荆苷	$y=19.286x-7.6816$	0.366~146.400	0.54	1.44	0.999 4
异牡荆苷	$y=22.154x-21.029$	0.792~237.600	0.43	0.67	0.999 4
木犀草苷	$y=20.953x-12.602$	0.382~114.600	0.28	1.15	0.999 5

表5 淡竹叶6种成分含量测定加样回收率考察( $n=3$ ,含量以  $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$  生药计)Table 5 The result of recovery rate of 6 components of *Lophatherum gracile* Brongn. ( $n=3$ )

化合物	样品中的量 /mg	加入的量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均值 /%
异荭草苷	0.262	0.131	0.391	98.47	100.76
	0.262	0.131	0.395	101.53	
	0.262	0.131	0.396	102.29	
荭草苷	0.210	0.105	0.313	98.10	99.37
	0.210	0.105	0.314	99.05	
	0.210	0.105	0.316	100.95	
日当药黄素	0.391	0.196	0.586	99.74	100.60
	0.391	0.196	0.589	101.28	
	0.391	0.196	0.588	100.77	
牡荆苷	0.408	0.204	0.614	100.98	100.65
	0.408	0.204	0.611	99.51	
	0.408	0.204	0.615	101.47	
异牡荆苷	0.053	0.026	0.079	100.00	103.85
	0.053	0.026	0.080	103.85	
	0.053	0.026	0.081	107.69	
木犀草苷	0.029	0.014	0.042	92.86	102.38
	0.029	0.014	0.045	114.29	
	0.029	0.014	0.043	100.00	

第1主成分贡献大(贡献率55%),荭草苷对第2主成分贡献大(贡献率63%),见图4。

### 2.5.3 正交偏最小二乘判别分析(OPLS-DA)

采用SIMCA 14.0软件对15批次中14个共有峰峰面积进行正交偏最小二乘法判别分析(OPLS-DA)建模分析,以对比两个产地淡竹叶样品在化学成分上的差异,并通过变量重要性投影值(variable importance for the projection, VIP)筛选出差异性标志化合物。结果显示,15批次淡竹叶被明显分为3类,与前述2种分析方法结果基本一致(结果见图5)。OPLS-DA模型的 $R^2_x$ 和 $Q^2$ 值分别为0.694和0.593,均超过0.5, $R^2_x$ 表示在用于分析的所有自变量数据

中,有69.4%的变异性可以通过建立的模型来进行解释和说明,表明模型具有稳定性和可靠性, $Q^2$ 为0.593说明该模型能够对约59.3%的未知数据做出较为准确的预测。以VIP值 $>0.6$ 作为筛选标准用于确定影响化学成分差异的主要标志性成分,VIP值越高,说明该变量对模型的影响越大。如图6所示,满足筛选条件的指纹图谱色谱峰VIP值从大到小依次为峰13(VIP=1.76)、峰3(VIP=1.72)、峰10(VIP=1.51)、峰5(VIP=1.09)、峰9(VIP=1.03)、峰1(VIP=0.95)、峰14(VIP=0.83)、峰7(VIP=0.75)、峰12(VIP=0.68)、峰6(VIP=0.66)。其中,峰9(荭草苷),峰10(日当药黄素),峰12(牡荆苷),峰13(异牡荆苷),峰14(木犀草苷)分别通过对照品指认。对差异性成分的贡献顺序为异牡荆苷 $>$ 日当药黄素 $>$ 荭草苷 $>$ 木犀草苷 $>$ 牡荆苷,这些化合物在淡竹叶样品中呈现出显著的差异,可作为指标定量的关键成分用于质量控制和鉴别分析。

## 3 讨论与结论

### 3.1 色谱条件的优化

检测波长的优化:本研究对6种主要成分进行了全波长的扫描,结果显示。6种主要成分在300 nm~350 nm处吸收较好,响应较高。其中在330 nm处,淡竹叶6种黄酮类成分吸收较大,且330 nm波长采集的供试品溶液,各色谱峰峰形尖锐,利于指纹图谱共有峰的指认与校正。因此,本研究采用330 nm波长以采集各批次淡竹叶的指纹图谱数据及进行多成分的含量分析。

洗脱条件的优化:本研究所定量的6种黄酮类成分,异荭草苷与荭草苷,异牡荆苷与牡荆苷为同分异构体,极性较为接近,分离难度

表6 15批次淡竹叶6种成分含量表

Table 6 Content of 6 components in 15 batches of *Lophatherum gracile* Brongn.

编号	异荭草苷/(mg·g <sup>-1</sup> )	荭草苷/(mg·g <sup>-1</sup> )	日当药黄素/(mg·g <sup>-1</sup> )	牡荆苷/(mg·g <sup>-1</sup> )	异牡荆苷/(mg·g <sup>-1</sup> )	木犀草苷/(mg·g <sup>-1</sup> )
H1	0.889 1	0.576 9	0.667 8	0.475 4	0.083 7	0.043 5
H2	0.267 1	0.242 7	0.387 2	0.335 6	0.126 5	0.023 9
H3	0.254 9	0.190 8	0.360 8	0.353 3	0.048 1	0.033 8
H4	0.834 1	0.527 9	0.596 5	0.441 2	0.079 7	0.043 4
H5	0.338 3	0.222 0	0.356 1	0.270 4	0.070 0	0.025 8
H6	0.483 6	0.282 1	0.329 6	0.484 4	0.109 0	0.034 1
S1	1.091 8	0.660 4	0.284 5	0.348 4	0.083 9	0.021 7
S2	0.441 0	0.301 6	0.628 7	0.608 4	0.062 9	0.064 7
S3	0.226 3	0.174 5	0.335 6	0.221 2	0.045 8	0.050 2
S4	0.261 6	0.210 0	0.391 0	0.408 0	0.052 8	0.028 7
S5	0.457 8	0.182 4	0.157 9	0.259 5	0.029 2	0.030 2
S6	0.762 0	0.855 3	0.395 9	0.445 7	0.093 3	0.056 0
S7	0.496 3	0.442 4	0.166 2	0.230 6	0.039 5	0.034 2
S8	0.589 5	0.727 4	0.321 3	0.370 0	0.078 7	0.039 3
S9	0.967 0	0.799 2	0.084 1	0.269 2	0.041 1	0.040 9
均值	0.557 4	0.426 4	0.364 2	0.368 1	0.069 6	0.038 0

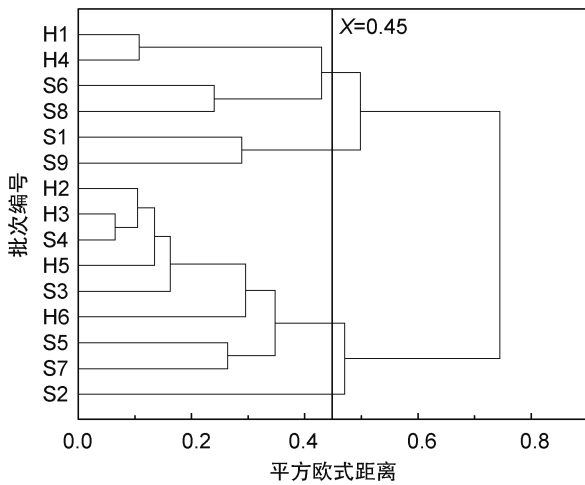


图2 15批次淡竹叶样品聚类分析

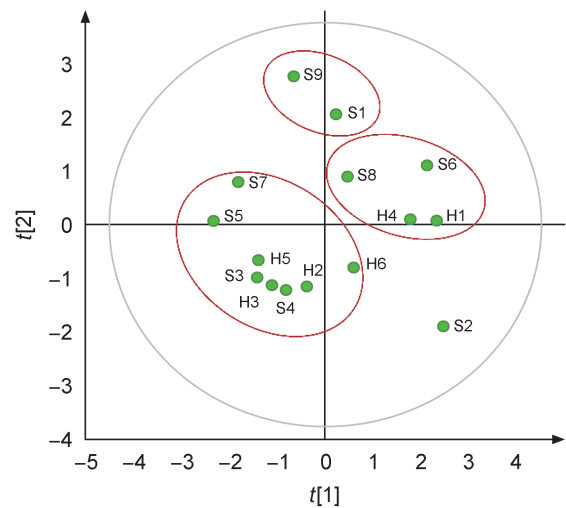
Fig. 2 Cluster analysis of 15 batches of *Lophatherum gracile* Brongn. samples

图3 15批次淡竹叶样品PCA得分图

Fig. 3 PCA scores of 15 batches of *Lophatherum gracile* Brongn.

较大。在本次实验中考察1%(体积分数)冰醋酸水溶液、0.1%(体积分数)甲酸水溶液、1%(体积分数)甲酸水溶液、0.1%(体积分数)冰醋酸水溶液作为流动相对色谱峰的影响,结果显示,使用1%(体积分数)冰醋酸水溶液、0.1%(体积分数)甲酸水溶液、0.1%(体积分数)冰醋酸水溶液为流动相时荭草苷与日当药黄素、异牡荆苷与牡荆苷均存在色谱峰的重叠,一定程度上影响定量结果的准确性。进一步优化色谱洗脱梯度并考察系统适应性后,最终选择1%甲酸水(B)-乙腈(A)作为洗脱的流动相。

### 3.2 色谱峰归属及对照品指认

由图1可知,受限于对照品的原因,在淡竹叶样品色谱图中还有部分成分未经指认。通过查阅文献,发现淡竹叶除黄酮类成分外,还有大量的酚酸类物质。一项淡竹叶生物活性成分定量的研究表明,4-O-香豆酰奎宁酸及5-O-香豆酰奎宁酸在淡竹叶中含量最高分别可达0.360 mg·g<sup>-1</sup>, 0.356 mg·g<sup>-1</sup><sup>[19]</sup>,同时木犀草素-6-C-β-D-半乳糖醛酸基(1→2)-β-D-葡萄糖苷的含量最高可达1.701 mg·g<sup>-1</sup>。通过对比

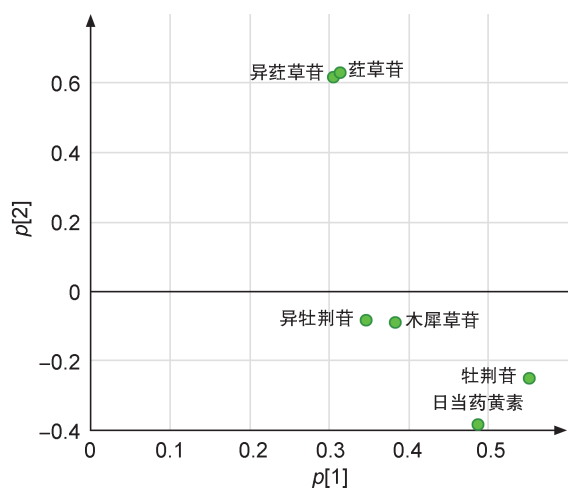
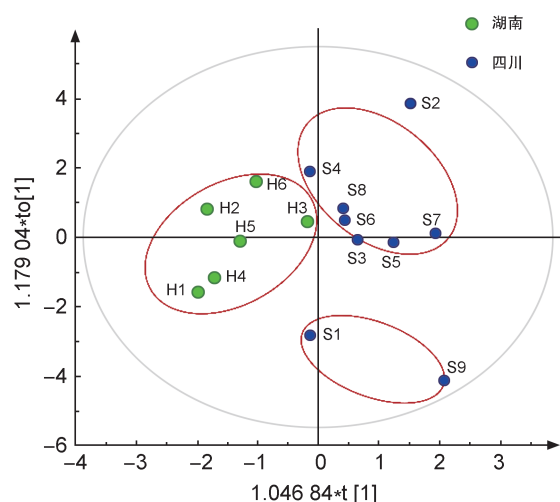


图4 15批次淡竹叶样品PCA散点图

Fig. 4 PCA scatter plot of 15 batches of *Lophatherum gracile* Brongn.

注:横坐标“1.046 84\*t [1]”、纵坐标“1.179 04\*t[1]”为经模型转换的主成分得分值,展示样本分布。“\*”表示得分值经特定缩放或加权处理,以优化效果、凸显分布差异。

图5 15批次淡竹叶样品14个共有峰峰面积的OPLS-DA得分图

Fig. 5 OPLS-DA score of 14 common peak areas in 15 batches of *Lophatherum gracile* Brongn. samples

本实验流动相和洗脱梯度(0~10 min, 8%~10.5%A; 10 min~20 min, 10.5%A; 20 min~30 min, 10.5%~11.5%A; 30 min~35 min, 11.5%~12.5%A)及洗脱梯度(0~20 min, 8%~10.5%B; 20 min~30 min, 10.5%B; 30 min~40 min, 10.5%~12.5%B,在流动相B为乙腈),推测本实验黄酮类成分之前洗脱的色谱峰,应含有这三种化学成分,具体成分的指认有待进一步的研究。

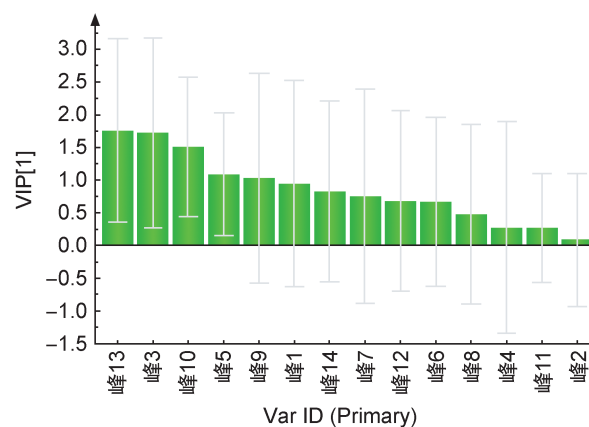


图6 15批淡竹叶样品14个共有峰峰面积的VIP值分析图

Fig. 6 VIP value analysis of 14 common peak areas in 15 batches of *Lophatherum gracile* Brongn. samples

### 3.3 指标性成分的选择

本研究通过多成分含量测定及化学计量学分析发现,经对照品指认的5种成分被筛选为本品质量差异性的关键成分( $VIP > 0.6$ )。本研究定量的6种化学成分均为黄酮类成分,已有大量的文献对本研究所定量的黄酮类成分进行了相关的生物活性报道。邵莹<sup>[20]</sup>选择淡竹叶中异荭草苷、荭草苷、日当药黄素等7个标准黄酮物质以及2组黄酮化合物组分作为实验对象,结果发现,淡竹叶黄酮单体及黄酮组合物能够有效地提高心肌细胞的存活率,并抑制心肌细胞的凋亡过程。Moon等<sup>[21]</sup>采用多重比色法和蛋白质配体对接模拟研究发现,日当药黄素可提高马铃薯提取物的抗氧化性能和总黄酮含量。近年来的临床前验证研究表明,荭草苷对人结直肠腺癌细胞和致癌物诱导的白化结直肠癌 Wistar 大鼠模型具有明显的抗癌作用<sup>[22]</sup>。

含量测定结果发现,异荭草苷在各批次间含量较高(均值为 $0.557 4 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ),而木犀草苷在各批次间含量较低(均值为 $0.038 0 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ )。虽然化学计量学分析结果未筛选出异荭草苷( $VIP = 0.48$ )作为差异性标志化合物,但考虑到异荭草苷含量较高及其作为具有改善多种代谢并发症潜力的一种膳食黄酮<sup>[23]</sup>。因此,最终去除木犀草苷并选择异荭草苷、荭草苷、日当药黄素、牡荆苷、异牡荆苷作为指标性成分用于淡竹叶的质量控制与评价。

### 3.4 化学计量学分析结果

本研究采用HPLC技术建立了15批次淡竹

叶样品的指纹图谱,确定了14个共有峰及指认了6个化学成分。聚类分析将两个产地淡竹叶主要分为3类,说明两个产地的淡竹叶质量存在明显的差别。含量测定结果表明,四川产地的淡竹叶异荭草苷含量较高(S1样品为 $1.0918\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ,S9样品为 $0.9670\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ )。OPLS-DA分析结果也将样本S1、S9聚为较单独一组(图5),这种差异可能源于气候、地理位置等多重因素。为了提升方法的精确度和实用性,后续应增加样本的采集数量与产地范围,从而更全面地验证本研究所构建的方法。

#### 4 结论

本研究建立的淡竹叶 HPLC 特征指纹图谱及异荭草苷、荭草苷、日当药黄素、牡荆苷、异牡荆苷、木犀草苷的含量测定方法稳定且重现性好,可用于淡竹叶及含有淡竹叶的中成药或功能保健食品的质量控制与评价。

#### 参考文献:

- [1] FAN J S, LEE I J, LIN Y L. Flavone Glycosides from Commercially Available Lophatheri Herba and Their Chromatographic Fingerprinting and Quantitation[J]. *J Food Drug Anal*, 2015, **23**(4): 821-827. DOI: 10.1016/j.jfda.2015.05.003.
- [2] 钟奕, 马培, 孙乐, 等. 淡竹叶茶的研究进展[J]. *中国现代中药*, 2023, **25**(10): 2221-2228. DOI: 10.13313/j.issn.1673-4890.20230215003.  
ZHONG Y, MA P, SUN L, *et al.* Review of *Lophatherum gracile* Brongn. Tea[J]. *Mod Chin Med*, 2023, **25**(10): 2221-2228. DOI: 10.13313/j.issn.1673-4890.20230215003.
- [3] SHAO Y, WU Q N, DUAN J N, *et al.* Optimisation of the Solvent Extraction of Bioactive Compounds from *Lophatherum gracile* Brongn. Using Response Surface Methodology and HPLC-PAD Coupled with Pre-column Antioxidant Assay[J]. *Anal Methods*, 2014, **6**(1): 170-177. DOI: 10.1039/C3AY41279B.
- [4] 张慧艳, 汤峰, 刘永刚, 等. 淡竹叶化学成分分离鉴定[J]. *中医药学报*, 2012, **40**(5): 46-48. DOI: 10.3969/j.issn.1002-2392.2012.05.016.  
ZHANG H Y, TANG F, LIU Y G, *et al.* Chemical Constituents from *Lophatherum gracile* Brongn[J]. *Acta Chin Med Pharmacol*, 2012, **40**(5): 46-48. DOI: 10.3969/j.issn.1002-2392.2012.05.016.
- [5] MURUGANATHAN N, DHANAPAL A R, BASKAR V, *et al.* Recent Updates on Source, Biosynthesis, and Therapeutic Potential of Natural Flavonoid Luteolin: A Review[J]. *Metabolites*, 2022, **12**(11): 1145. DOI: 10.3390/metabo12111145.
- [6] DE STEFANO A, CAPORALI S, DI DANIELE N, *et al.* Anti-inflammatory and Proliferative Properties of Luteolin-7-O-glucoside[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, **22**(3): 1321. DOI: 10.3390/ijms22031321.
- [7] 江靖雯, 闫佩瑶, 匡佳妮, 等. 芹菜素抗肿瘤药理作用机制的研究进展[J]. *中国药理学杂志*, 2023, **58**(6): 469-474. DOI: 10.11669/cpj.2023.06.001.  
JIANG J W, YAN P Y, KUANG J N, *et al.* Research Advances in Antitumor Mechanism of Apigenin[J]. *Chin Pharm J*, 2023, **58**(6): 469-474. DOI: 10.11669/cpj.2023.06.001.
- [8] AN M F, WANG M Y, SHEN C, *et al.* Isoorientin Exerts a Urate-lowering Effect through Inhibition of Xanthine Oxidase and Regulation of the TLR4-NLRP3 Inflammatory Signaling Pathway[J]. *J Nat Med*, 2021, **75**(1): 129-141. DOI: 10.1007/s11418-020-01464-z.
- [9] LEE B, MOON K M, LEE B S, *et al.* Swertiajaponin Inhibits Skin Pigmentation by Dual Mechanisms to Suppress Tyrosinase[J]. *Oncotarget*, 2017, **8**(56): 95530-95541. DOI: 10.18632/oncotarget.20913.
- [10] WANG Y, CHEN M, ZHANG J, *et al.* Flavone C-glycosides from the Leaves of *Lophatherum gracile* and Their in Vitro Antiviral Activity[J]. *Planta Med*, 2012, **78**(1): 46-51. DOI: 10.1055/s-0031-1280128.
- [11] 籍学伟, 陈备尧, 白妍, 等. 基于 HPLC 指纹图谱和多成分含量测定结合化学计量学的暖宫七味丸质量评价研究[J]. *中草药*, 2024, **55**(2): 470-478. DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2024.02.012.  
JI X W, CHEN B Y, BAI Y, *et al.* Quality Evaluation of Nuangong Qiwei Pills by HPLC Fingerprint and Multi-Component Content Determination Combined with Chemometrics[J]. *Chin Herb Med*, 2024, **55**(2): 470-478. DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2024.02.012.
- [12] 王楠. 定坤丹潜在质量标志物的研究[D]. 太原: 山西大学, 2019.  
WANG N. Study on Potential Quality Markers of Dingkundan[D]. Taiyuan: Shanxi University, 2019.
- [13] 樊佳, 刘晓谦, 孟辰笑凝, 等. 基于 HPLC 指纹图谱与核苷类成分含量测定的鸡内金质量评价研究[J]. *中国中药杂志*, 2023, **48**(1): 114-125. DOI: 10.19540/j.cnki.cjcm.20220425.201.  
FAN J, LIU X Q, MENG C X N, *et al.* Quality Evaluation of Galli Gigerii Endothelium Corneum Based on HPLC Fingerprints and Content Determination of Nu-

- cleosides[J]. *China J Chin MaterMed*, 2023, **48**(1): 114-125. DOI: 10.19540/j.cnki.cjcm.20220425.201.
- [14] 刘荣华,殷茜茜,孟晓伟,等. 基于 HPLC 指纹图谱和多元成分含量测定的降香质量评价研究[J]. *中国中药杂志*, 2022, **47**(4): 959-966. DOI: 10.19540/j.cnki.cjcm.20210319.301.
- LIU R H, YIN Q Q, MENG X W, *et al.* Quality Evaluation of *Dalbergiae Odoriferae Lignum* by HPLC Fingerprint and Multi-Component Quantitative Analysis[J]. *China J Chin Mater Med*, 2022, **47**(4): 959-966. DOI: 10.19540/j.cnki.cjcm.20210319.301.
- [15] 项艳,胡珍,孙亮,等. 基于一测多评、化学计量学和 EW-TOPSIS 法的三叶青药材质量差异评价研究[J]. *中国药师*, 2024, **27**(3): 365-375. DOI: 10.12173/j.issn.1008-049X.202311110.
- XIANG Y, HU Z, SUN L, *et al.* Quality Difference Evaluation of *Radix Tetrastigmae* Based on Quantitative Analysis of Multi-Components by Single-Marker, Chemometrics and Entropy Weight-Technique for Order Preference by Similarity to Ideal Solution Method [J]. *China Pharmacist*, 2024, **27**(3): 365-375. DOI: 10.12173/j.issn.1008-049X.202311110.
- [16] GAO H Y, WANG H Y, LI G Y, *et al.* Constituents from *Zhuyeqing Liquor* and Their Inhibitory Effects on Nitric Oxide Production[J]. *Phytochem Lett*, 2014, **7**: 150-155. DOI: 10.1016/j.phytol.2013.11.011.
- [17] 杨波,杨晨,王庆亮,等. 一种基于 UPLC-Q-TOF-MS 技术的竹叶青酒化学成分快速识别的方法: 中国, CN202210421208.5[P]. 2024-07-06.
- [18] 杨晨. 竹叶青酒化学成分分析与质量控制研究[D]. 太原: 山西大学, 2023.
- YANG C. Study on Chemical Composition Analysis and Quality Control of *Zhuyeqing Liquor*[D]. Taiyuan: Shanxi University, 2023.
- [19] TANG Q F, SHAO M, WANG Y, *et al.* Simultaneous Determination of 10 Bioactive Components of *Lophatherum gracile* Brongn by HPLC-DAD[J]. *J Chromatogr Sci*, 2015, **53**(6): 963-967. DOI: 10.1093/chromsci/bmu160.
- [20] 邵莹. 基于心肌缺血预适应信号转导通路的淡竹叶药效物质基础研究[D]. 南京: 南京中医药大学, 2015.
- SHAO Y. Study on Pharmacological Material Basis of *Lophatherum Gracile* Based on Myocardial Ischemia Preconditioning Signal Transduction Pathway[D]. Nanjing: Nanjing University of Chinese Medicine, 2015.
- [21] MOON K M, LEE B, CHO W K, *et al.* Swertiajaponin as an Anti-browning and Antioxidant Flavonoid[J]. *Food Chem*, 2018, **252**: 207-214. DOI: 10.1016/j.foodchem.2018.01.053.
- [22] VAIYAPURI M, NATESAN K, VASAMSETTI B M K, *et al.* Orientin: A C-glycosyl Flavonoid that Mitigates Colorectal Cancer[M]//Plant-derived Bioactives. Singapore: Springer, 2020: 1-19. DOI: 10.1007/978-981-15-2361-8\_1.
- [23] ZIQUBU K, DLUDLA P V, JOUBERT E, *et al.* Isoorientin: a Dietary Flavone with the Potential to Ameliorate Diverse Metabolic Complications[J]. *Pharmacol Res*, 2020, **158**: 104867. DOI: 10.1016/j.phrs.2020.104867.