

HPLC 多指标成分定量结合化学模式识别评价龙脷叶质量

宋瑞睿¹, 洪占梅¹, 李杨杨¹, 欧丽娟¹, 蔡宏亮², 任颖玲^{1*}

1. 中国人民解放军联勤保障部队第九〇一医院 药剂科, 安徽 合肥 230031

2. 安徽医科大学 药学院, 安徽 合肥 230032

摘要: **目的** 建立龙脷叶多成分定量控制方法, 采用化学模式识别评价不同产地龙脷叶质量差异。**方法** 采用 HPLC 法同时测定龙脷叶中原儿茶酸、咖啡酸、6-羟基香豆素、金丝桃苷、异槲皮苷、槲皮素、山柰酚、山柰酚-3-*O*-龙胆二糖苷、豆甾醇、 β -谷甾醇, 并检测浸出物、总灰分和酸不溶性灰分。采用聚类分析(CA)、主成分分析(PCA)、因子分析(FA)和偏最小二乘回归分析(PLS-DA)法对 18 批不同产地的龙脷叶进行区分比较, 寻找差异因子。**结果** 18 批龙脷叶样品中各成分含量差异较大, 明显分为 3 类, 广东和广西产地的龙脷叶整体质量较好。山柰酚-3-*O*-龙胆二糖苷、咖啡酸、金丝桃苷、原儿茶酸、6-羟基香豆素和异槲皮苷可作为龙脷叶的质量差异标记物。**结论** 建立的多指标成分定量、化学模式识别可评价龙脷叶质量, 为龙脷叶的质量控制和道地性研究提供参考。

关键词: 龙脷叶; 原儿茶酸; 咖啡酸; 高效液相色谱; 聚类分析; 主成分分析; 因子分析; 偏最小二乘回归分析

中图分类号: R286.02 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-5515(2025)03-0611-07

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2025.03.010

Quality evaluation of *Sauropi Folium* by HPLC multi-index component quantitative analysis combined with chemical pattern recognition

SONG Ruirui¹, HONG Zhanmei¹, LI Yangyang¹, OU Lijuan¹, CAI Hongliang², REN Yingling¹

1. Department of Pharmacy, The 901st Hospital of the PLA Joint Logistics Support Force, Hefei 230031, China

2. College of Pharmacy, Anhui Medical University, Hefei 230032, China

Abstract: Objective To establish a multi-components quantitative analysis method for *Sauropi Folium*, and to evaluate the quality difference of *Sauropi Folium* from different habitats by chemical pattern recognition methods. **Methods** The contents of protocatechuic acid, caffeic acid, 6-hydroxycoumarin, hyperoside, isoquercitrin, quercetin, kaempferol, kaempferol-3-*O*-gallate, stigmasterol, and β -sitosterol in *Sauropi Folium* were simultaneously determined by HPLC method. Extract, total ash, and acid insoluble ash were also detected. The CA, PCA, FA, and PLS-DA were used to distinguish and compare 18 batches of *Sauropi Folium* from different habitats, and explore the difference factors for quality evaluation of *Sauropi Folium*. **Results** There were significant differences in the content of various components in 18 batches of *Sauropi Folium*. 18 Batches of *Sauropi Folium* were clustered into 3 categories, and the quality of *Sauropi Folium* from Guangdong and Guangxi Province was better. Kaempferol-3-*O*-gallate, caffeic acid, hyperoside, protocatechuic acid, 6-hydroxycoumarin, and isoquercitrin could be used as quality difference markers for *Sauropi Folium*. **Conclusion** The established multi-index component quantitative analysis and chemical pattern recognition can evaluate the quality of *Sauropi Folium*, and it provides reference for quality control and genuineness research of *Sauropi Folium*.

Key words: *Sauropi Folium*; protocatechuic acid; caffeic acid; HPLC; CA; PCA; FA; PLS-DA

龙脷叶为大戟科龙脷叶 *Sauropus spatulifolius* Beille 的干燥叶, 具有润肺止咳、通便的功效, 原产地为越南北部、马来半岛, 现产地主要以广西、广

东为主^[1-2], 有抗炎、镇痛、抗过敏、抗氧化、抗肿瘤、止咳祛痰等作用, 并且安全性高^[3-6], 可用于肺燥咳嗽、咽痛失音、便秘等症^[7-8]。现代研究证明龙

收稿日期: 2024-11-11

基金项目: 安徽省教育厅高校优秀拔尖人才培养资助项目(gxbjZD2020061)

作者简介: 宋瑞睿(1991—), 女, 药师, 本科, 研究方向为药学。

*通信作者: 任颖玲(1982—), 女, 主管药师, 本科, 研究方向为药物分析及药物质量监测。E-mail: dt1691@163.com

龙脷叶中含有苯丙素类、香豆素类、黄酮类、甾体类
等成分^[9-12]。龙脷叶收载于《中国药典》2020 年版
一部，含量测定项仅对山柰酚-3-*O*-龙胆二糖苷作了
规定^[7]。化学识别模式包括聚类分析^[13]、主成分分
析^[14]、因子分析^[15]、偏最小二乘法判别分析^[16]等多
种分析方法，预测精度高。因此本研究采用 HPLC
法测定龙脷叶中原儿茶酸、咖啡酸、6-羟基香豆素、
金丝桃苷、异槲皮苷、槲皮素、山柰酚、山柰酚-3-
O-龙胆二糖苷、豆甾醇、 β -谷甾醇，同时检测浸出
物、总灰分和酸不溶性灰分，进一步结合聚类分析
(CA)、主成分分析 (PCA)、因子分析 (FA) 和偏
最小二乘回归分析 (PLS-DA) 方法对不同产地龙脷
叶的质量差异进行评价，为龙脷叶的质量控制和道
地性研究提供参考。

1 仪器与试药

Primaide 1430 型 HPLC 仪 (日本日立公司);
QUINTIX 型分析天平 (北京赛多利斯科学仪器公
司); SB-1000YDTD 型超声波清洗器 (宁波新芝生
物科技股份有限公司)。

咖啡酸、槲皮素、原儿茶酸、山柰酚、异槲皮
苷、金丝桃苷、山柰酚-3-*O*-龙胆二糖苷和 β -谷甾醇
对照品购自中国食品药品检定研究院，批号分别为
110885-201703、100081-202411、110809-202207、
110861-202214、111809-202205、111521-202310、
112025-201902、110851-201909，质量分数依次为
99.7%、98.7%、97.5%、97.4%、96.3%、94.7%、93.1%、
92.7%；6-羟基香豆素、豆甾醇对照品购自武汉天植
生物技术有限公司，批号 CFS202301、CFS201502，
质量分数分别为 98.1%、98.0%；乙腈、磷酸 (色谱
纯试剂，Merck 公司)，甲醇为分析纯试剂。

不同产地的龙脷叶药材经安徽医科大学药学
院蔡宏亮研究员鉴定，为大戟科植物龙脷叶
Sauropus spatulifolius Beille 的干燥叶，系正品，采
集信息见表 1。

2 方法与结果

2.1 方法学考察

2.1.1 色谱条件 BetaMax ACID C₁₈ 色谱柱 (250
mm×4.6 mm, 5 μ m); 流动相为乙腈 (A) - 0.5%
磷酸，梯度洗脱 (0~12 min, 16.0% A; 12~22 min,
16.0%→27.0% A; 22~45 min, 27.0%→62.0% A;
45~54 min, 62.0%→85.0% A; 54~60 min, 85.0%→
16.0% A); 检测波长为 260 nm (0~22 min 检测原
儿茶酸和咖啡酸)、349 nm (22~45 min 检测 6-羟

表 1 龙脷叶的来源信息

Table 1 Information on the source of *Sauropi Folium*

编号	采摘地	采摘时间	编号	采摘地	采摘时间
S1	云南耿马县	2023-08	S10	浙江桐庐县	2023-08
S2	云南勐腊县	2023-09	S11	浙江青田县	2023-07
S3	云南马关县	2023-08	S12	浙江开化县	2023-07
S4	云南云龙县	2023-07	S13	广西马山县	2023-08
S5	贵州荔波县	2023-10	S14	广西柳城县	2023-09
S6	贵州紫云县	2023-09	S15	广西合浦县	2023-08
S7	贵州威宁县	2023-10	S16	广东广宁县	2023-10
S8	江苏建湖县	2023-08	S17	广东阳山县	2023-10
S9	江苏泗阳县	2023-09	S18	广东德庆县	2023-08

基香豆素、金丝桃苷、异槲皮苷、槲皮素、山柰酚
和山柰酚-3-*O*-龙胆二糖苷) 和 210 nm (45~60 min
检测豆甾醇和 β -谷甾醇); 进样量 10 μ L; 柱温
30 $^{\circ}$ C; 体积流量 1.0 mL/min。

2.1.2 供试品溶液的制备 取龙脷叶粉碎，过二号
筛，取粉末约 0.5 g，精密称定，置三角瓶中，精密
加 50% 甲醇 25 mL，称定质量，超声提取 40 min，
冷却后补足质量，摇匀，即得。

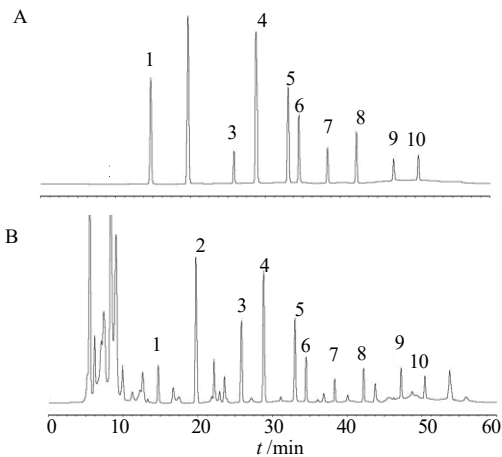
2.1.3 对照品溶液的制备 精密称取各对照品，用
50% 甲醇超声溶解，制成含原儿茶酸、咖啡酸、6-羟
基香豆素、金丝桃苷、异槲皮苷、槲皮素、山柰酚、
山柰酚-3-*O*-龙胆二糖苷、豆甾醇和 β -谷甾醇 0.536、
0.810、0.062、0.636、0.410、0.392、0.118、0.270、
0.026、0.054 mg/mL 的混合贮备液。精密吸取贮备
液 2.5 mL，置 50 mL 量瓶中，用 50% 甲醇稀释至刻
度，摇匀，即得含原儿茶酸、咖啡酸、6-羟基香豆
素、金丝桃苷、异槲皮苷、槲皮素、山柰酚、山柰
酚-3-*O*-龙胆二糖苷、豆甾醇和 β -谷甾醇 26.80、
40.50、3.10、31.80、20.50、19.60、5.90、13.50、1.30、
2.70 μ g/mL 的混合对照品溶液。

2.1.4 线性关系考察 取混合贮备液，精确稀释 4、
10、20、40、100、200 倍，摇匀后制得编号为 VI、
V、IV、III、II、I 的线性关系考察混合对照品溶液，
分别进样测定，考察峰面积与质量浓度的线性关
系。结果原儿茶酸、咖啡酸、6-羟基香豆素、金丝
桃苷、异槲皮苷、槲皮素、山柰酚、山柰酚-3-*O*-
龙胆二糖苷、豆甾醇、 β -谷甾醇在各自范围内与峰面
积线性关系良好，结果见表 2。

2.1.5 系统适用性试验 在此条件下，混合对照品
溶液、龙脷叶供试品溶液的色谱图见图 1。理论板
数按各成分计均超过 5 500。

表 2 各成分的回归方程、线性范围和相关系数
Table 2 Regression equations, linear ranges and coefficients of components

化合物	回归方程	线性范围/(μg·mL ⁻¹)	r
原儿茶酸	$Y=1.775\ 4\times10^6X+613.5$	2.68~134.00	0.999 2
咖啡酸	$Y=2.305\ 9\times10^6X-1\ 036.4$	4.05~202.50	0.999 5
6-羟基香豆素	$Y=1.285\ 7\times10^6X+298.1$	0.31~15.50	0.999 8
金丝桃苷	$Y=2.449\ 6\times10^6X+857.9$	3.18~159.00	0.999 4
异槲皮苷	$Y=2.105\ 3\times10^6X-1\ 153.2$	2.05~102.50	0.999 9
槲皮素	$Y=1.587\ 7\times10^6X+482.7$	1.96~98.00	0.999 3
山柰酚	$Y=9.984\ 3\times10^5X+605.8$	0.59~29.50	0.999 5
山柰酚-3-O-龙胆二糖苷	$Y=1.151\ 2\times10^6X+941.3$	1.35~67.50	0.999 1
豆甾醇	$Y=6.254\ 9\times10^5X+778.5$	0.13~6.50	0.999 6
β-谷甾醇	$Y=8.671\ 6\times10^5X-485.2$	0.27~13.50	0.999 8



1-原儿茶酸, 2-咖啡酸, 3-6-羟基香豆素, 4-金丝桃苷, 5-异槲皮苷, 6-槲皮素, 7-山柰酚, 8-山柰酚-3-O-龙胆二糖苷, 9-豆甾醇, 10-β-谷甾醇。
1-protocatechuic acid, 2-caffeic acid, 3-6-hydroxycoumarin, 4-hyperoside, 5-isoquercitrin, 6-quercetin, 7-kaempferol, 8-kaempferol-3-O-gentionbioside, 9-stigmasterol, 10-β-sitosterol.

图 1 混合对照品 (A) 和龙俐叶 (B) 的高效液相色谱图
Fig. 1 HPLC chromatograms of mixed reference substances (A) and *Sauropi Folium* (B)

2.1.6 精密度试验 取龙俐叶 (编号 S1) 供试品溶液, 连续进样 6 次, 结果原儿茶酸、咖啡酸、6-羟基香豆素、金丝桃苷、异槲皮苷、槲皮素、山柰酚、山柰酚-3-O-龙胆二糖苷、豆甾醇、β-谷甾醇峰面积的 RSD 值分别为 0.96%、0.72%、1.47%、0.88%、1.03%、1.10%、1.39%、1.26%、1.67%、1.43%。

2.1.7 重复性试验 取龙俐叶 (编号 S1), 每份约 0.5 g, 分别制成 6 份供试品溶液, 进样, 计算原儿茶酸、咖啡酸、6-羟基香豆素、金丝桃苷、异槲皮

苷、槲皮素、山柰酚、山柰酚-3-O-龙胆二糖苷、豆甾醇、β-谷甾醇的质量分数, 其 RSD 值分别为 1.23%、1.18%、1.71%、1.02%、1.35%、1.29%、1.51%、1.63%、1.95%、1.78%。

2.1.8 稳定性试验 取龙俐叶 (编号 S1), 制成供试品溶液, 室温放置 0、2、4、8、10、16、24 h 进样, 结果原儿茶酸、咖啡酸、6-羟基香豆素、金丝桃苷、异槲皮苷、槲皮素、山柰酚、山柰酚-3-O-龙胆二糖苷、豆甾醇、β-谷甾醇峰面积的 RSD 值分别为 1.13%、1.06%、1.75%、1.09%、1.26%、1.57%、1.62%、1.58%、1.98%、1.77%, 结果表明 24 h 内供试品溶液的性质稳定。

2.1.9 回收率试验 取龙俐叶 (编号 S1) 粉末 9 份, 每份约 0.25 g, 精密称定, 分别加入混合对照品溶液 (原儿茶酸、咖啡酸、6-羟基香豆素、金丝桃苷、异槲皮苷、槲皮素、山柰酚、山柰酚-3-O-龙胆二糖苷、豆甾醇、β-谷甾醇的质量浓度分别为 0.298、0.483、0.032、0.361、0.219、0.184、0.059、0.141、0.014、0.021 mg/mL) 0.8、1.0、1.2 mL, 制备供试品溶液, 进样测定峰面积值, 计算得 10 个成分的平均加样回收率分别为 98.35%、100.09%、97.65%、99.15%、100.10%、98.57%、96.92%、98.49%、98.26%、97.15%, RSD 值分别为 1.32%、0.80%、1.05%、0.67%、0.98%、1.28%、0.76%、1.38%、1.33%、1.07%。

2.2 样品测定

取编号 S1~S18 的龙俐叶样品, 制备供试品溶液, 各精密吸取 10 μL 进样, 采用外标法计算样品中原儿茶酸、咖啡酸、6-羟基香豆素、金丝桃苷、

异槲皮苷、槲皮素、山柰酚、山柰酚-3-*O*-龙胆二糖苷、豆甾醇、 β -谷甾醇的质量分数,结果见表 3。18 批龙脷叶中各成分批次间含量差异较大,尤其是豆甾醇,含量相差近 3 倍。其中山柰酚-3-*O*-龙胆二糖苷的质量分数均高于 0.436 mg/g,符合《中国药典》2020 年版一部龙脷叶项下的标准规定。

表 3 不同产地龙脷叶中 10 个成分测定结果 ($n=3$)

Table 3 Determination of 10 components in *Sauropi Folium* from different habitats ($n=3$)

成分	质量分数/(mg·g ⁻¹)																	
	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13	S14	S15	S16	S17	S18
1	1.204	1.333	1.263	1.165	1.231	1.130	1.051	1.064	1.024	1.051	0.956	0.993	1.543	1.636	1.475	1.604	1.569	1.507
2	1.918	1.766	1.994	1.959	1.893	2.096	1.950	1.655	1.576	1.649	1.527	1.495	2.309	2.412	2.459	2.507	2.360	2.098
3	0.129	0.149	0.162	0.147	0.159	0.162	0.140	0.106	0.092	0.091	0.100	0.076	0.141	0.109	0.151	0.125	0.083	0.137
4	1.428	1.541	1.744	1.640	1.590	1.735	1.645	1.351	1.331	1.385	1.284	1.234	1.986	1.938	2.118	2.050	1.839	1.890
5	0.891	1.003	1.362	1.202	1.138	1.257	1.306	1.408	1.445	1.232	1.474	1.291	0.872	0.745	1.075	0.808	0.726	0.946
6	0.735	0.797	0.752	0.876	0.815	0.842	0.937	0.548	0.669	0.751	0.690	0.641	0.943	1.172	0.994	1.136	1.055	1.024
7	0.237	0.215	0.243	0.226	0.232	0.243	0.214	0.193	0.201	0.206	0.194	0.187	0.299	0.313	0.294	0.321	0.306	0.285
8	0.576	0.691	0.697	0.573	0.634	0.671	0.599	0.531	0.604	0.436	0.561	0.548	0.536	0.523	0.505	0.486	0.468	0.455
9	0.052	0.055	0.057	0.069	0.062	0.066	0.071	0.044	0.040	0.042	0.033	0.037	0.090	0.093	0.087	0.097	0.083	0.074
10	0.093	0.117	0.101	0.106	0.111	0.099	0.093	0.081	0.123	0.090	0.085	0.082	0.077	0.073	0.069	0.063	0.060	0.056

1-原儿茶酸, 2-咖啡酸, 3-6-羟基香豆素, 4-金丝桃苷, 5-异槲皮苷, 6-槲皮素, 7-山柰酚, 8-山柰酚-3-*O*-龙胆二糖苷, 9-豆甾醇, 10- β -谷甾醇。
1-protocatechuic acid, 2-caffeic acid, 3-6-hydroxycoumarin, 4-hyperoside, 5-isoquercitrin, 6-quercetin, 7-kaempferol, 8-kaempferol-3-*O*-gentiobioside, 9-stigmasterol, 10- β -sitosterol.

2.3 浸出物检测

以稀乙醇为溶剂,参照《中国药典》2020 年版四部通则 2201 中热浸法进行测定^[17],结果见表 4。有个别批次样品中浸出物不符合《中国药典》2020 年版一部收录的龙脷叶标准,可能与龙脷叶的产地环境有关。

2.4 总灰分和酸不溶性灰分检测

参照《中国药典》2020 年版四部通则 2302 总灰分测定法和酸不溶性灰分测定法进行测定^[17],结果见表 4。18 批龙脷叶中总灰分结果符合《中国药典》2020 年版一部收录的龙脷叶标准。18 批样品中酸不溶性灰分测定结果差异较大,也可能与龙脷叶的产地环境有关。

2.5 化学计量学分析

2.5.1 CA 和 PCA 将表 3、4 中测定结果输入 SPSS 26.0 软件,按系统聚类法,利用欧式距离作为测量度,进行 CA^[13],得树状图(图 2),结果显示 18 批龙脷叶样品当组间距离为 10 时,样品明显分为 3 类,相邻产区的聚为 1 组,提示样品具备明显的地域性差异。

对变量数据进行 PCA^[18],结果显示 KMO 值 0.781>0.6,当特征值>1,提取出 2 个主成分,累

表 4 龙脷叶中浸出物、总灰分、酸不溶性灰分测定结果 ($n=2$)

Table 4 Results of extract, total ash, and acid-insoluble ash in *Sauropi Folium* ($n=2$)

编号	浸出物/%	总灰分/%	酸不溶性灰分/%
S1	32.6	6.5	3.3
S2	30.7	7.5	3.5
S3	21.1	8.3	3.3
S4	25.4	7.2	3.7
S5	29.0	7.8	3.9
S6	24.7	8.1	4.0
S7	22.6	6.7	3.5
S8	17.4	10.3	4.0
S9	18.6	9.6	4.7
S10	21.3	10.0	4.6
S11	17.1	10.7	4.9
S12	19.5	9.2	4.8
S13	36.7	5.9	2.8
S14	38.6	5.6	3.0
S15	40.3	5.7	2.7
S16	45.8	5.4	2.5
S17	42.2	5.6	3.1
S18	34.7	6.3	3.2

积方差贡献率为 88.842%（表 5），从成分矩阵（表 6）分析，结果第 1 主成分影响较大的因子有原儿茶酸、咖啡酸、金丝桃苷、异槲皮苷、槲皮素、山柰酚、β-谷甾醇、浸出物、总灰分和酸不溶性灰分；6-羟基香豆素和山柰酚-3-*O*-龙胆二糖苷、豆甾醇对第 2 主成分影响较大。

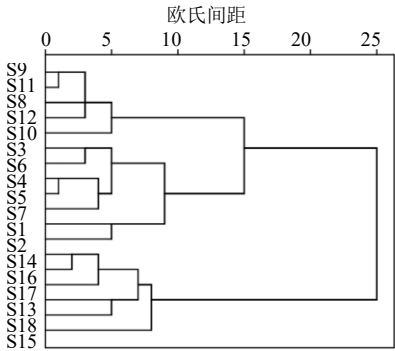


图 2 聚类树状图
Fig. 2 Clustering tree diagram

表 5 解释的总方差 Table 5 Total variance explained			
主成分	特征值	方差贡献率/%	累积方差贡献率/%
1	9.488	72.987	72.987
2	2.061	15.854	88.842

表 6 主成分矩阵和主成分得分系数 Table 6 Principal component matrix and principal component score coefficient				
成分	因子载荷		成分得分系数	
	主成分 1	主成分 2	主成分 1	主成分 2
原儿茶酸	0.954	-0.020	0.101	-0.010
咖啡酸	0.968	0.111	0.102	0.054
6-羟基香豆素	0.275	0.880	0.029	0.427
金丝桃苷	0.938	0.192	0.099	0.093
异槲皮苷	-0.872	0.144	-0.092	0.070
槲皮素	0.926	-0.025	0.098	-0.012
山柰酚	0.976	-0.050	0.103	-0.024
山柰酚-3- <i>O</i> - 龙胆二糖苷	-0.379	0.857	-0.040	0.416
豆甾醇	0.963	0.121	0.101	0.059
β-谷甾醇	-0.640	0.621	-0.067	0.301
浸出物	0.954	-0.064	0.101	-0.031
总灰分	-0.936	-0.154	-0.099	-0.075
酸不溶性灰分	-0.922	-0.227	-0.097	-0.110

对变量数据采用 SIMCA 14.1 软件对 18×13 矩阵数据进行 PCA，分别以主成分 1、2 为 X、Y 轴，绘制龙脷叶主成分得分图，见图 3。结果与 CA 结果一致，其中 Q^2 为 0.798>0.5，且所有数据均未出现异常。

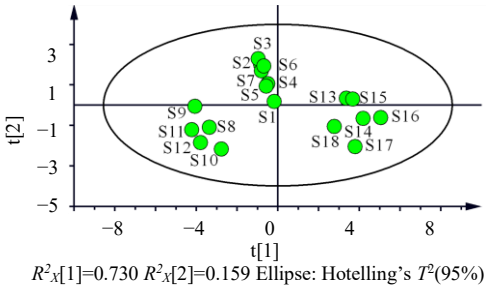


图 3 龙脷叶的主成分得分
Fig. 3 Principal component score of *Sauropi Folium*

2.5.2 因子分析 按公式 $Y_{mn}=(X_{mn}-\overline{Xn})/SD_n$ （其中 X_{mn} 为第 m 批龙脷叶样品第 n 个变量的检测数据， $\overline{Xn}$ 为龙脷叶第 n 个成分的检测数据平均值， SD_n 为龙脷叶第 n 个变量数据的标准差， Y_{mn} 为第 m 批样品第 n 个变量数据标准化后数据）对表 3、4 中测定数据进行标准化处理，得标准化数据矩阵。结合主成分得分系数，按照公式 $F_{m1}=Y_{m1}\times 0.101+Y_{m2}\times 0.102+Y_{m3}\times 0.029+Y_{m4}\times 0.099-Y_{m5}\times 0.092+Y_{m6}\times 0.098+Y_{m7}\times 0.103-Y_{m8}\times 0.040+Y_{m9}\times 0.101-Y_{m10}\times 0.067+Y_{m11}\times 0.101-Y_{m12}\times 0.099-Y_{m13}\times 0.097$ ， $F_{m2}=-Y_{m1}\times 0.010+Y_{m2}\times 0.054+Y_{m3}\times 0.427+Y_{m4}\times 0.093+Y_{m5}\times 0.070-Y_{m6}\times 0.012-Y_{m7}\times 0.024+Y_{m8}\times 0.416+Y_{m9}\times 0.059+Y_{m10}\times 0.301-Y_{m11}\times 0.031-Y_{m12}\times 0.075-Y_{m13}\times 0.110$ 分别计算第 1、2 主成分得分^[19]。计算主成分综合得分，见表 7。结果显示 S16、S14、S15、S13、S17、S18 综合得分较高，排名靠前，表明广东和广西产地的龙脷叶整体质量较好。

2.5.3 PLS-DA 分析 PLS-DA 分析是一种用于判别分析的多变量统计分析方法，同时具备线性判别分析的分类能力，又兼具偏最小二乘法降维、降噪的优势^[19]。实验采用 SIMCA 14.1 软件中 PLS-DA 分析程序对表 3、4 中 10 个成分测定结果和浸出物、总灰分、酸不溶性灰分测定结果数据构建 PLS-DA 模型，结果模型参数均超过 0.5（ $R^2_X=0.898$ 、 $R^2_Y=0.826$ 、 $Q^2=0.722$ ），说明模型具有较高的稳定性和预测率（图 4）。

表 7 不同产地龙脑叶综合得分与排序

Table 7 Comprehensive score and ranking of *Sauropi Folium* from different habitats

编号	主成分 1 得分	主成分 2 得分	综合得分	排序
S1	-0.062	0.109	-0.032	12
S2	-0.277	1.367	0.016	9
S3	-0.310	1.584	0.027	8
S4	-0.165	0.700	-0.011	10
S5	-0.264	1.140	-0.014	11
S6	-0.231	1.311	0.043	7
S7	-0.189	0.644	-0.041	13
S8	-1.101	-0.771	-1.042	15
S9	-1.336	-0.072	-1.111	16
S10	-0.918	-1.524	-1.026	14
S11	-1.395	-0.859	-1.300	18
S12	-1.245	-1.314	-1.257	17
S13	1.091	0.217	0.935	4
S14	1.365	-0.462	1.040	2
S15	1.198	0.211	1.022	3
S16	1.643	-0.429	1.274	1
S17	1.232	-1.424	0.759	5
S18	0.890	-0.752	0.598	6

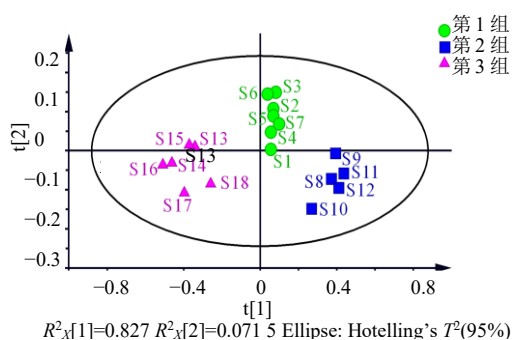
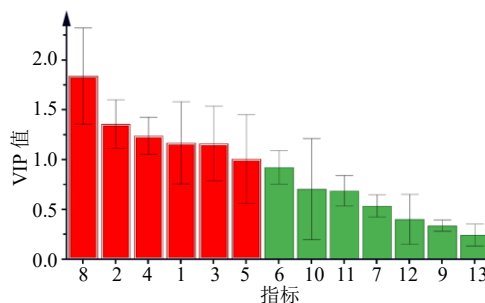


图 4 龙脑叶样品 PLS-DA 得分散点图

Fig. 4 PLS-DA score scatter plot of *Sauropi Folium*

变量重要投影性 (VIP) 值代表每一个变量的重要性程度, 经 PLS-DA 拟合生成 VIP 值 (图 5), 结果 $VIP > 1$ 的组分从高到低依次山柰酚-3-O-龙胆二糖苷、咖啡酸、金丝桃苷、原儿茶酸、6-羟基香豆素和异槲皮苷, 可作为龙脑叶的质量差异标记物, 建议将上述 6 个成分纳入龙脑叶质量标准中, 以全面控制龙脑叶的质量。



1-原儿茶酸, 2-咖啡酸, 3-6-羟基香豆素, 4-金丝桃苷, 5-异槲皮苷, 6-槲皮素, 7-山柰酚, 8-山柰酚-3-O-龙胆二糖苷, 9-豆甾醇, 10-β-谷甾醇, 11-浸出物, 12-总灰分, 13-酸不溶性灰分。
1-protocatechuic acid, 2-caffeic acid, 3-6-hydroxycoumarin, 4-hyperoside, 5-isoquercitrin, 6-quercetin, 7-kaempferol, 8-kaempferol-3-O-gentianobioside, 9-stigmasterol, 10-β-sitosterol, 11-extract, 12-total ash, 13-acid-insoluble ash.

图 5 龙脑叶样品 VIP 图

Fig. 5 VIP images of *Sauropi Folium*

3 讨论

在预试验中对比了超声提取和回流提取, 结果超声提取时杂质较少, 进而考察了不同比例甲醇溶液 (40%、50%和 60%) 和时间 (20、40、60 min), 结果 50%甲醇超声提取 40 min 时, 龙脑叶中原儿茶酸、咖啡酸、6-羟基香豆素、金丝桃苷、异槲皮苷、槲皮素、山柰酚、山柰酚-3-O-龙胆二糖苷、豆甾醇、β-谷甾醇的提取率均较高, 故以此为龙脑叶供试品溶液制备的最佳方法。实验还考察了不同流动相系统: 乙腈为有机相, 因磷酸溶液不存在末端吸收, 水相选择 0.1%、0.2%、0.5%磷酸溶液。结果乙腈-0.5%磷酸溶液运行时, 龙脑叶供试品溶液 HPLC 色谱图中 10 个成分色谱峰对称度好, 分离度好, 响应值大, 且故以此作为流动相进行定量分析。

本实验采用 HPLC 法同时检测了不同产地龙脑叶中原儿茶酸、咖啡酸、6-羟基香豆素、金丝桃苷、异槲皮苷、槲皮素、山柰酚、山柰酚-3-O-龙胆二糖苷、豆甾醇、β-谷甾醇, 结果不同产地的龙脑叶含量差异较大。检测的浸出物结果显示有个别批次的不符合《中国药典》2020 年版一部收录的龙脑叶标准规定, 总灰分和酸不溶性灰分检测结果均符合规定, 但存在一定的差异, 可能与龙脑叶的产地环境有关。为查找导致龙脑叶质量差异的主要化学成分, 分别采用 SPSS 26.0 和 SIMCA 14.1 软件分析检测数据, 结果 18 批龙脑叶地域差异性显著, 均明显分为 3 组。用提取的 2 个主成分进行 FA 分析, 结果 18 批龙脑叶的综合得分为-1.300~1.274, 其中

广东和广西产地的综合得分较高,整体质量较好。PLS-DA 分析发掘出质量差异标志物为山柰酚-3-O-龙胆二糖苷、咖啡酸、金丝桃苷、原儿茶酸、6-羟基香豆素和异槲皮苷,建议将此 6 个成分作为指标成分纳入质量标准,以全面控制龙脷叶的质量。

本研究建立的龙脷叶多成分定量测定方法,操作简单,分析时间短,能够为龙脷叶批次间质量评价和指标成分的选择提供参考。CA、PCA、FA、PLS-DA 评价不同产地龙脷叶的方法,简单快速、科学直观,为龙脷叶道地性研究提供参考。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 李童,黄锁义. 龙脷叶研究的新进展 [J]. 微量元素与健康研究, 2022, 39(4): 42-44.
- [2] 黄红中. 中药材饮片鉴别与应用图谱 [M]. 上册. 广州: 广东省出版集团广东科技出版社, 2014.
- [3] 黄桂琼,陈洪,袁维蔚,等. 龙脷叶乙醇提取物止咳,祛痰,抗炎作用研究 [J]. 现代医院, 2021, 21(10): 1632-1634.
- [4] 陈素雯. 龙脷叶质量控制及其总黄酮提取纯化和抗氧化活性研究 [D]. 广州: 广东药科大学, 2021.
- [5] 李童,谢欣,雷智冬,等. 龙脷叶萃取部位的抗肿瘤活性筛选研究 [J]. 右江民族医学院学报, 2022, 44(4): 519-522.
- [6] 关基敏. 壮药龙脷叶的研究进展 [J]. 中南农业科技, 2023, 44(8): 235-238.
- [7] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 100.
- [8] 黄红泓,丘琴,甄丹丹,等. 不同产地龙利叶 HPLC 指纹图谱研究 [J]. 广西师范大学学报: 自然科学版, 2019, 37(3): 142-147.
- [9] 蔡梦婷,杨亚玲,李锡涛,等. UHPLC-ESI-Orbitrap-MS 法分析龙脷叶化学成分 [J]. 中成药, 2023, 45(6): 1906-1913.
- [10] 李蒙,黄晓雷,王璐,等. 龙脷叶化学成分研究 [J]. 中药材, 2019(7): 1541-1545.
- [11] 索彩仙,孙冬梅,吴文平,等. 龙脷叶药材 UPLC 指纹图谱及主成分分析研究 [J]. 海峡药学, 2021, 33(2): 55-59.
- [12] 周有文,黄晟鸿,王峰,等. 龙脷叶的化学成分,药理活性及质量分析研究进展 [J]. 武汉大学学报: 理学版, 2024, 70(2): 201-212.
- [13] 于芷涵,李丹,闫朝升. 聚类分析在中医药领域的研究进展 [J]. 世界中医药, 2024, 19(4): 572-576.
- [14] 李海燕,王慧然,那丽莎,等. 基于主成分分析,正交偏最小二乘判别分析及加权逼近理想解排序-灰色关联度融合模型评价不同产地珠子参质量 [J]. 中草药, 2024, 55(9): 3116-3126.
- [15] 宋娟,张晶玉,吕重宁,等. 基于 HPLC 指纹图谱及多成分定量对刺五加的质量评价 [J]. 中草药, 2024, 55(4): 1326-1333.
- [16] 夏鹏飞,王晓雁,李开斌. 紫菀 UPLC 指纹图谱及化学计量学质量分析评价 [J]. 广东化工, 2024, 51(14): 137-139.
- [17] 中国药典 [S]. 四部. 2020: 232, 234.
- [18] 孙立丽,王萌,任晓亮. 化学模式识别方法在中药质量控制研究中的应用进展 [J]. 中草药, 2017, 48(20): 4339-4345.
- [19] 熊旺平,周娴,杜建强,等. 因子分析在中医方药量效关系研究中的应用 [J]. 中草药, 2014, 45(19): 2820-2823.

【责任编辑 解学星】