

UPLC 指纹图谱结合化学计量学评价玄参质量

翟红伟¹, 胡 辉¹, 陈前正¹, 叶 磊², 靳步昆¹, 张 帆¹, 杨 强², 胡力飞^{1,3*}

1. 劲牌持正堂药业有限公司 湖北省中药配方颗粒工程技术研究中心, 湖北 黄石 435100

2. 劲牌有限公司 中药保健食品质量与安全湖北省重点实验室, 湖北 黄石 435100

3. 湖北工业大学 生命科学与健康工程学院, 湖北 武汉 430068

摘要: 目的 建立玄参药材的超高效液相色谱 (UPLC) 指纹图谱, 结合化学计量学分析对玄参药材质量进行综合评价。方法 建立玄参药材的 UPLC 指纹图谱, 采用聚类分析 (CA)、主成分分析 (PCA)、正交偏小二乘判别分析 (OPLS-DA) 和接收者操作特征 (ROC) 曲线分析对玄参药材进行质量对比。结果 玄参 UPLC 指纹图谱分析符合方法学考察要求, CA 和 PCA 分析结果相似, 但 PCA 分析呈更强的地域性特征, OPLS-DA 可以实现恩施、宜昌两地样本的有效区分, 并筛选出哈巴昔、安格洛昔 C 在内的 4 个差异性成分, ROC 分析表明了 OPLS-DA 模型具有较强的产地分类能力。结论 玄参药材 UPLC 指纹图谱结合化学计量学分析可以评价玄参药材的质量, 为玄参药材的质量分析提供参考。

关键词: 玄参; 指纹图谱; 超高效液相色谱; 聚类分析; 主成分分析; 正交偏小二乘判别分析; 接收者操作特征曲线

中图分类号: R286.02 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2025)10-2488-06

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2025.10.009

Quality evaluation of *Scrophulariae Radix* by UPLC fingerprint combined with chemometrics

ZHAI Hongwei¹, HU Hui¹, CHEN Qianzheng¹, YE Lei², JIN Bukun¹, ZHANG Fan¹, YANG Qiang², HU Lifei^{1,3}

1. Hubei Provincial Engineering Technology Research Center of Traditional Chinese Medicine Formula Granules, Jing Brand Chizhengtang Pharmaceutical Co., Ltd., Huangshi 435100, China

2. Hubei key Laboratory of Quality and Safety of Traditional Chinese Medicine Health Food, Jing Brand Co., Ltd., Huangshi 435100, China

3. School of Life and Health Science, Hubei University of Technology, Wuhan 430068, China

Abstract: Objective To establish UPLC fingerprint of *Scrophulariae Radix* and comprehensively evaluate quality of *Scrophulariae Radix* by chemometric analyses. **Methods** UPLC fingerprint of *Scrophulariae Radix* was constructed. Cluster analysis (CA), principal component analysis (PCA), orthogonal partial least squares-discriminant analysis (OPLS-DA) and receiver operating characteristic (ROC) curves were applied to evaluate the quality of *Scrophulariae Radix*. **Results** The UPLC fingerprint method for *Scrophulariae Radix* met the requirements of methodological validation. Results of CA and PCA were similar, whereas PCA displayed stronger geographical characteristics. OPLS-DA effectively distinguished samples from Enshi and Yichang area, and four differential components including harpagoside and angoroside C were screened out. ROC analysis indicated that the OPLS-DA model possessed strong classification ability for origins. **Conclusion** UPLC fingerprint of *Scrophulariae Radix* combined with chemometric analyses can comprehensively evaluate *Scrophulariae Radix*, providing a reference for quality analysis of *Scrophulariae Radix*.

Key words: *Scrophulariae Radix*; fingerprint; UPLC; CA; PCA; OPLS-DA; ROC curve

玄参为玄参科植物玄参 *Scrophularia ningpoensis* Hemsl. 的干燥根^[1], 主要成分包括环烯醚萜类、苯丙苷类、有机酸类等化合物^[2-7], 具有清热凉血、滋阴

降火、解毒散结、抗炎镇痛、镇静安神、保肝、抗过敏的作用^[3-8]。随着市场需求的不断扩大, 对中药材的质量提出了更高的要求, 玄参药材的质量评价

收稿日期: 2025-06-26

基金项目: 湖北省科技重大专项 (2022ACA003)

作者简介: 翟红伟, 女, 工程师, 硕士, 从事中药药效物质基础研究。E-mail: 929562964@qq.com

*通信作者: 胡力飞, 男, 高级工程师, 博士, 从事中药新药及天然药物开发。E-mail: lfyhu@hotmail.com

研究显得尤为重要^[9-10]。随着分析技术的快速发展,指纹图谱为中药材及其成分的化学计量学分析提供了丰富的分析变量,已成为药材质量对比分析的重要手段,可为基于成分定量分析的中药材质量评价方法提供良好的补充^[11-13]。目前针对玄参药材指纹图谱、定量分析研究多采用 HPLC 法,基于指纹图谱对玄参药材质量进行综合评价分析的研究较少^[9,14]。在良好的色谱分离条件下,UPLC 指纹图谱既能有效提升检测分析效率,还能指纹图谱的化学计量学分析提供数据支持。本研究采用 UPLC 法建立玄参药材的指纹图谱,结合多种化学计量学分析方法进行成分综合对比分析,探究各产地与化学成分差异之间的相关性,提供了一种稳定、高效的质量评价方法,为玄参药材的质量研究和应用提供参考。

1 仪器与材料

Agilent 1290 型超高液相色谱仪[安捷伦科技(中国)有限公司];IBSA124S-CW 型万分之一天平、SECURA125-1CN 型十万分之一电子天平(德国 Sartorius 公司);SK8200HP 超声波清洗器(上海科导超声仪器有限公司);ELGA PURELAB Classic 超纯水系统。

哈巴苷(批号 111729-201707,质量分数以 96.8%计)、哈巴俄苷(批号 111730-201709,质量分数以 95.9%计)、毛蕊花糖苷(批号 111530-201914,质量分数以 95.2%计)对照品均购自中国食品药品检定研究院;安格洛苷 C(批号 010010-202007,质量分数≥98%)对照品购自上海鸿永生物科技有限公司;乙腈(色谱纯,Fisher chemical 公司),磷酸(色谱纯,山东科源生化有限公司),甲醇(分析纯,国药集团化学试剂有限公司)。

26 批玄参药材采自湖北省恩施、宜昌,经劲牌持正堂药业有限公司孙代华教授鉴定为玄参 *Scrophularia ningpoensis* Hemsl. 的干燥根,产地信息见表 1。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

Waters HSS T3 C₁₈ 色谱柱(100 mm×2.1 mm, 1.8 μm);流动相:乙腈(A)-0.1%磷酸水溶液(B),梯度洗脱(0~4 min, 2%→18% A; 4~7 min, 18%→20% A; 7~11 min, 20%→32% A; 11~15 min, 32%→90% A; 15~18 min, 90%→100% A);检测波长为 210 nm;进样量为 1 μL;柱温为 30 ℃。

表 1 玄参药材产地信息

Table 1 Origin information of *Scrophulariae Radix*

编号	产地信息	编号	产地信息
S1	恩施州巴东县官渡口镇	S14	宜昌市五峰县付家堰
S2	恩施州巴东县官渡口镇	S15	宜昌市五峰县付家堰
S3	恩施州建始县龙坪乡	S16	宜昌市五峰县湾潭镇
S4	恩施州建始县官店镇	S17	宜昌市五峰县付家堰
S5	恩施州恩施市板桥镇	S18	宜昌市五峰县五峰镇
S6	恩施州鹤峰县容美镇	S19	宜都市五眼泉乡
S7	恩施州鹤峰县燕子乡	S20	宜都市五眼泉乡
S8	恩施州鹤峰县燕子乡	S21	宜都市五眼泉乡
S9	恩施州巴东县绿葱坡镇	S22	宜昌市五峰县付家堰
S10	恩施市新塘乡	S23	宜昌市五峰县付家堰
S11	恩施州巴东县绿葱坡镇	S24	宜昌市五峰县付家堰
S12	恩施州建始县花坪镇	S25	宜昌市五峰县付家堰
S13	恩施州巴东县绿葱坡镇	S26	宜昌市五峰县付家堰

2.2 混合对照品溶液的制备

分别精密称取哈巴苷、哈巴俄苷、毛蕊花糖苷、安格洛苷 C 对照品适量,加 30%甲醇制成质量浓度分别为 128.86、11.97、26.76、31.96 μg/mL 的混合对照品储备液。

2.3 供试品溶液的制备

精密称取 0.3 g 过三号筛的玄参粉末,精密加入 30%甲醇 25 mL,超声处理 30 min,放至室温后补足减失的质量,摇匀,取续滤液,即得。

2.4 指纹图谱的建立

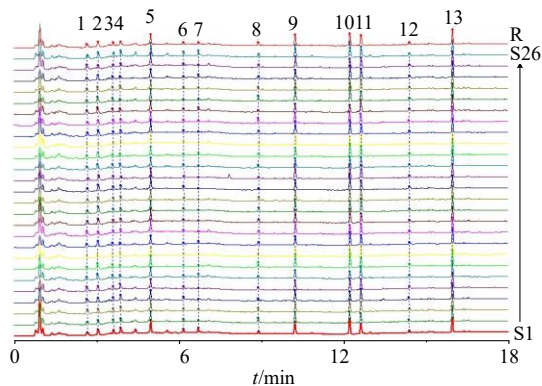
2.4.1 精密度试验 取玄参样品(S1)制备供试品溶液,连续进样测定 6 次,以峰 10(哈巴俄苷)为 S 峰,计算其他各特征峰与 S 峰的相对保留时间、相对峰面积的 RSD 值,均小于 2%。

2.4.2 重复性试验 取玄参样品(S1)制备 6 份供试品溶液,进样测定,以峰 10(哈巴俄苷)为 S 峰,计算其他各特征峰与 S 峰的相对保留时间、相对峰面积的 RSD 值,均小于 2%。

2.4.3 稳定性试验 取玄参样品(S1)制备供试品溶液,分别于 0、2、8、12、18、24、48 h 进样测定,以峰 10(哈巴俄苷)S 峰,计算其他特征峰与 S 峰的相对保留时间、相对峰面积的 RSD 值,均小于 2%,表明供试品溶液在室温下 48 h 内具有良好的稳定性。

2.4.4 共有特征峰的指认和相似度评价 将 26 批玄参色谱图导入中药指纹图谱相似度评价系统

(2012 版), 通过色谱峰匹配共确定了 13 个共有特征峰, 通过借助对照品比对成功指认出其中 4 个色谱峰, 叠加图谱和对照指纹图谱见图 1。各批次玄参的共有峰相对保留时间 RSD 值在 0.07%~0.29%, 与对照图谱的相似度均在 0.941 以上, 见表 2, 表明各批次玄参样品具有较好的一致性。



峰 5-哈巴苷, 峰 8-毛蕊花糖苷, 峰 9-安格洛苷 C, 峰 10-哈巴俄苷。
Peak 5-harpagide, peak 8-verbascoside, peak 9-angoroside C, peak 10-harpagoside.

图 1 玄参 UPLC 指纹图谱和对照指纹图谱

Fig. 1 UPLC fingerprints of *Scrophulariae Radix* and its reference fingerprint

表 2 玄参 UPLC 指纹图谱相似度结果

Table 2 Similarity evaluation results of *Scrophulariae Radix* UPLC fingerprints

编号	相似度	编号	相似度
S1	0.974	S14	0.989
S2	0.998	S15	0.978
S3	0.972	S16	0.972
S4	0.986	S17	0.983
S5	0.993	S18	0.941
S6	0.994	S19	0.991
S7	0.988	S20	0.987
S8	0.994	S21	0.998
S9	0.975	S22	0.970
S10	0.994	S23	0.981
S11	0.988	S24	0.972
S12	0.989	S25	0.994
S13	0.980	S26	0.975

2.5 化学计量分析

2.5.1 聚类分析 以 13 个共有特征峰的峰面积为变量对 26 批玄参进行聚类分析 (CA), 其中样本聚类采用 Ward 法结合 Euclidean 距离, 共有峰变量采

用 Ward 法结合 Pearson 相关性。聚类分析结果见图 2。当判定距离为 10 时, 26 批玄参可以分为 3 类, 整体上样本分布呈较强的地域性特点, 除 S18、S19 之外的宜昌样本被聚为第 1 类; 恩施 S4、S6、S9、S10、S12、S13 被聚为第 2 类; 其他样本被聚为第 3 类。13 个共有特征峰可被分为 4 个组别, 峰 1、2、11 和安格洛苷为第 1 组, 峰 12、哈巴苷、哈巴俄苷为第 2 组, 峰 3、4、6 和毛蕊花糖苷为第 3 组, 峰 7、13 为第 4 组。两个产地玄参样本具有一定的相似性 (当判定距离为 17 时, 上述第 1、2 类样本可被聚为一类), 但两产地样本间仍体现出一定的差异性趋势, 样本的聚类结果与其成分差异性有关, 可结合其他化学计量学方法对产地与成分之间的关系进一步分析。

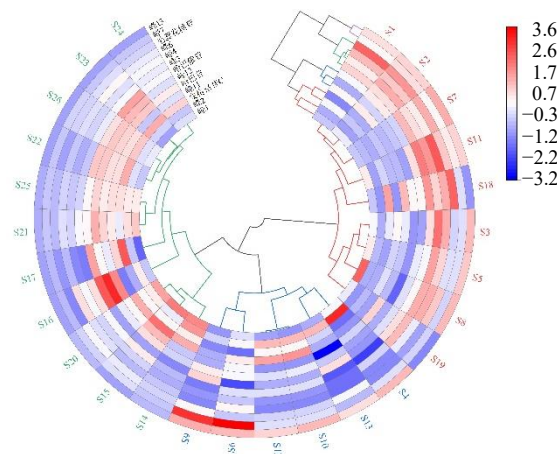


图 2 玄参的聚类分析结果

Fig. 2 Results of CA of *Scrophulariae Radix*

2.5.2 主成分分析 对 26 批玄参和 13 个共有特征峰进行主成分分析, 确定了 5 个“特征值>1”的主成分 (累计方差贡献率为 87.45%), 第 1 主成分 (PC1) 解释了总方差的 31.05%, 信息主要来自于峰 2、3、4、6、毛蕊花糖苷, 其中与峰 2 呈负相关, 其他成分均呈正相关; 第 2 主成分 (PC2) 解释了总方差的 24.77%, 信息主要来自于峰 12、13、哈巴苷、安格洛苷 C、哈巴俄苷, 其中与峰 13 呈负相关, 其他成分呈正相关; 第 3 主成分 (PC3) 解释了总方差的 14.06%, 信息主要来自于峰 1、11 和哈巴俄苷, 其中与哈巴俄苷呈负相关, 其他成分呈正相关; 第 4 主成分 (PC4) 解释了总方差的 9.57%, 信息主要来自于峰 12、哈巴苷、毛蕊花糖苷、安格洛苷 C, 其中与毛蕊花糖苷、安格洛苷 C 呈负相关,

与其他成分呈正相关；第五主成分（PC5）解释了总方差的 8.01%，信息主要来自于峰 7、11 且均呈正相关。各成分载荷情况见表 3。同时以 PC1、PC2、PC3 和成分载荷值绘制了 26 批玄参样本的双标图（图 3）。结果表明，主成分分析的样本分布较聚类分析呈更强的地域性特征，虽然宜昌、恩施样本的

置信区间存在部分重叠，但两地样本均可较好地在双标图中得到区分。13 个共有特征峰的载荷分布情况与聚类分析结果相近，定量成分之中，安格洛昔 C、哈巴俄昔、哈巴昔在两地样本中的差异相对较大。两个产地样本间具备根据成分进行样本区分的条件，但还需进一步采用有监督模型进行分析。

表 3 主成分分析成分载荷值

Table 3 Loading values of PCA

成分	PC1	PC2	PC3	PC4	PC5
峰 1	0.124	-0.075	0.596	0.209	-0.216
峰 2	-0.387	-0.152	0.113	0.165	-0.289
峰 3	0.418	0.146	0.140	0.025	0.190
峰 4	0.456	-0.038	0.110	0.060	-0.241
哈巴昔	0.144	0.400	0.119	0.449	0.080
峰 6	0.467	0.067	0.030	0.059	-0.041
峰 7	0.054	-0.267	-0.262	0.422	0.587
毛蕊花糖苷	0.332	-0.114	-0.081	-0.334	0.256
安格洛昔 C	-0.085	0.400	0.112	-0.505	0.249
哈巴俄昔	0.040	0.371	-0.439	-0.102	-0.245
峰 11	-0.238	0.023	0.495	-0.115	0.457
峰 12	-0.174	0.397	-0.165	0.387	0.157
峰 13	0.072	-0.494	-0.180	-0.039	0.044

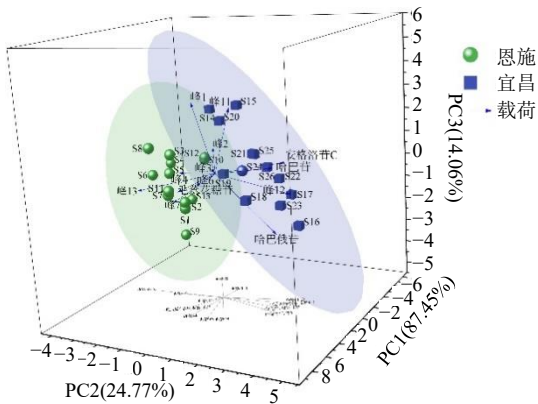


图 3 主成分分析双标图

Fig. 3 PCA biplot

2.5.3 正交偏最小二乘判别分析和接受者操作特征曲线（ROC）分析 对 26 批玄参和 13 个共有特征峰进行正交偏小二乘判别分析（OPLS-DA），结果见图 4。结果表明，通过 OPLS-DA 可实现恩施、宜昌两地样本的有效区分。由载荷图（图 5）可知，各产地样本中受各成分的影响，其中恩施样本中峰 13、7 的质量分数较高，而宜昌样本中哈巴昔、安

格洛昔 C、峰 12 较丰富。模型的自变量拟合指数 R^2_X 和因变量拟合指数 R^2_Y 分别为 0.729、0.974，模型预测指数（ Q^2 ）为 0.916， R^2 和 Q^2 均超过了 0.5；由 200 次置换检测显示， R^2 和 Q^2 回归线与纵轴的截距均小于 0.3、0.05，见图 6，表明该模型可接受且不存在过拟合，可用于玄参的产地和变量分析。以“VIP 值>1”和“ $P<0.05$ ”为阈值筛选了判别两个产地间贡献值较大的 4 个差异性成分，见图 7，依次为峰 13、哈巴昔、峰 12 和安格洛昔 C。通过 ROC 曲线分析测试模型的分类能力，结果见图 8，该 OPLS-DA 模型各产地的 AUC 曲线下面积（AUC）均为 1，表明该模型具有较强的分类能力。

3 讨论

本研究建立了 26 批玄参 UPLC 指纹图谱，各批次样本间具有较高的相似度和一致性，检测方法快速、稳定、高效。聚类分析和主成分分析两种无监督模型分析结果均呈一定的地域性特征，其中主成分分析对两个产地样本间的区分更直观，且各色谱峰成分的聚类与主成分分析载荷分布情况相同。

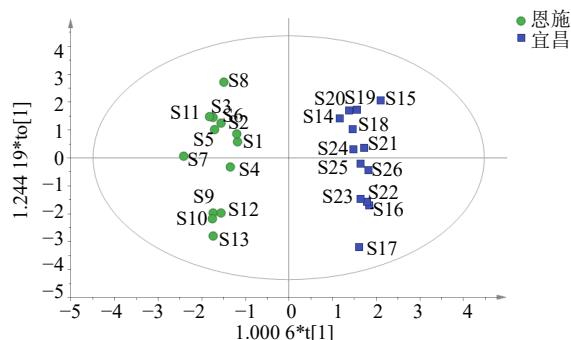


图 4 OPLS-DA 得分图

Fig. 4 OPLS-DA score plot

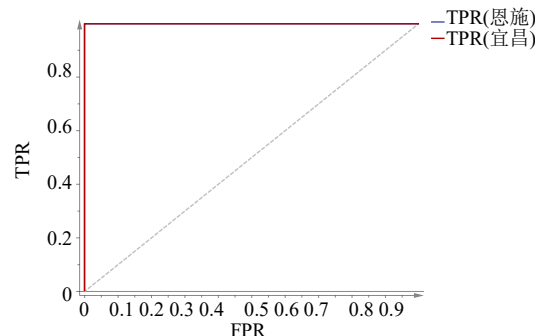


图 8 OPLS-DA 模型 ROC 曲线

Fig. 8 ROC curve of OPLS-DA model

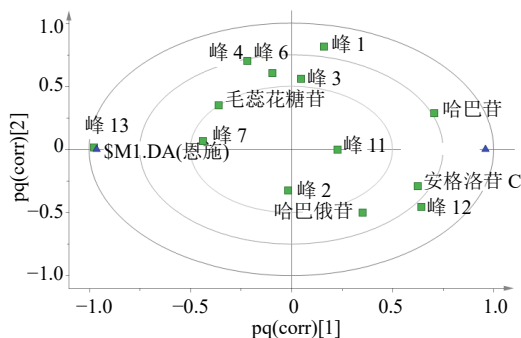


图 5 OPLS-DA 载荷图

Fig. 5 OPLS-DA Loading plot

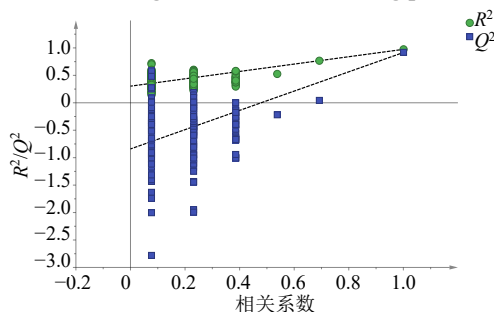


图 6 OPLS-DA 模型置换验证图

Fig. 6 OPLS-DA model permutation test diagram

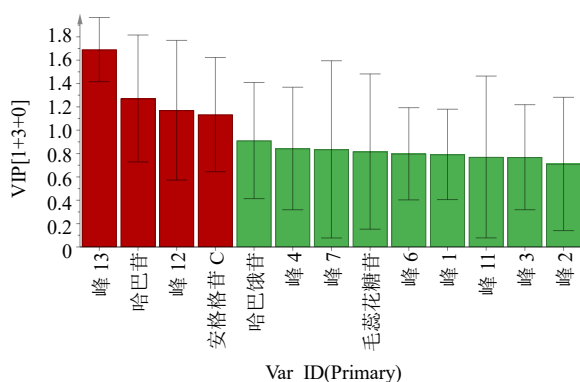


图 7 OPLS-DA 模型 VIP 值

Fig. 7 VIP value of OPLS-DA model

同时 OPLS-DA 较无监督模型有更好的分类效果, 模型可实现恩施、宜昌两地样本的有效区分, 并从中筛选了 4 个差异性成分, 其中包含哈巴昔、安格洛昔 C 2 个指认成分; 同时 ROC 分析表明了 OPLS-DA 模型具有较强的分类能力。由此可见, 指纹图谱结合化学计量学能对玄参进行有效的质量对比分析。

综上所述, 本研究建立了玄参的 UPLC 指纹图谱, 并采用化学计量学对玄参和成分进行了质量对比分析, 该方法快速高效且稳定可靠, 可为玄参的质量分析提供参考。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 121-122.
- [2] 戴瑶瑶, 闫滨滨, 颜雨豪, 等. 玄参中环烯醚萜类化合物的研究进展 [J]. 中草药, 2023, 54(9): 2993-3003.
- [3] Zhang M, Chen K, Feng C, *et al.* The comprehensive profiling of the chemical components in the raw and processed roots of *Scrophularia ningpoensis* by combining UPLC-Q-TOF-MS coupled with MS/MS-Based molecular networking [J]. *Molecules*, 2024, 29(20): 4866-4866.
- [4] 刘依茹, 刘考铎, 秦路平, 等. 中药玄参的化学成分、药理活性、炮制及临床应用的研究进展 [J]. 中国中药杂志, 2023, 48(16): 4302-4319.
- [5] 霍玉峰, 詹志来, 王怀立, 等. 中药玄参中化学成分及其抗炎活性研究 [J]. 中国药学杂志, 2020, 55(14): 1207-1214.
- [6] Lin T, Huang L, Cheng N, *et al.* The *in vitro* and *in vivo* antibacterial activities of uniflorous honey from a medical plant, *Scrophularia ningpoensis* Hemsl., and characterization of its chemical profile with UPLC-MS/MS [J]. *J Ethnopharmacol*, 2022, 296: 115499-115499.
- [7] Xie G, Jiang Y, Huang M, *et al.* Dynamic analysis of secondary metabolites in various parts of *Scrophularia*

- ningpoensis by liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2020, 186: 113307.
- [8] 陈丽新, 梁伟. 玄参化学成分及药理作用的研究进展 [J]. 特产研究, 2023, 45(1): 147-151.
- [9] 孙庆妹, 王琼晓, 尤金玲, 等. 基于 HPLC 指纹图谱和多成分定量的玄参质量评价研究 [J]. 中草药, 2023, 54(20): 6827-6835.
- [10] 张米娜, 金言, 陈凯先, 等. 基于“辨状论质”的玄参饮片质量等级评价研究 [J]. 药物分析杂志, 2025, 45(2): 304-317.
- [11] 梅菊, 吴涛, 李强, 等. 不同产地肉桂质量及炮制过程成分变化研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2024, 36(3): 377-387.
- [12] 曾诗婷, 聂丹, 张俊, 等. 基于 HPLC 指纹图谱和多成分定量结合化学计量学的天南星生品及炮制品质量评价 [J]. 中草药, 2025, 56(3): 831-842.
- [13] 刘平, 罗世英, 李梦佳, 等. 基于 HPLC 指纹图谱结合化学计量学评价“桑蒂”质量 [J]. 中成药, 2025, 47(1): 14-21.
- [14] 刘芳, 黄晓洁, 林美好, 等. 玄参药材等级质量研究 [J]. 中药新药与临床药理, 2020, 31(8): 978-983.

[责任编辑 解学星]