

## 基于 HPLC 指纹图谱和多成分定量结合化学模式识别的槐枝药材质量评价

崔艺彤, 王 乐, 王朝慧, 高 晔, 常子豪, 刘宇琦, 黄 雅, 陈泽霖, 刘 越\*, 张兰珍\*

北京中医药大学 中药学院, 北京 102488

**摘 要:**目的 建立槐枝 *Sophora japonica* HPLC 指纹图谱和多成分含量测定方法, 结合化学模式识别法对槐枝药材进行质量评价。方法 采用 HPLC 法, 以甲醇:乙腈(1:1, A)-0.1%磷酸水溶液(B)为流动相梯度洗脱, 柱温 40 °C, 检测波长 258 nm, 体积流量 1.2 mL·min<sup>-1</sup>。建立 15 批槐枝药材的指纹图谱并分析相似度, 测定其中 6 种成分(染料木苷、芦丁、芹菜苷、山柰酚-3-*O*-芸香糖苷、水仙苷、染料木素)的含量, 结合聚类分析(HCA)、主成分分析(PCA)及正交偏最小二乘法分析(OPLS-DA)进行质量评价。结果 15 批槐枝指纹图谱共标定 12 个共有峰, 指认出染料木苷、芦丁、芹菜苷、山柰酚-3-*O*-芸香糖苷、水仙苷、染料木素 6 个成分, 各批次相似度在 0.780~0.996。建立 6 个成分 HPLC 含量测定方法, 样品中染料木苷、芦丁、芹菜苷、山柰酚-3-*O*-芸香糖苷、水仙苷、染料木素质量分数分别为 0.006~0.113、0.378~3.782、0.280~4.397、0.112~0.561、0.036~0.427、0.003~0.047 mg·g<sup>-1</sup>。HCA 结果将 15 批槐枝分为 3 类; PCA 提取了 3 个主成分, 3 个主成分在反映不同批次槐枝样品共有成分关系中起主要作用。OPLS-DA 结果表明, 芹菜苷和芦丁为引起质量差异的标志性成分。结论 建立的槐枝 HPLC 指纹图谱及多成分含量测定方法操作简便, 结果可靠, 为槐枝的质量评价提供依据。

**关键词:**槐枝; 指纹图谱; 化学模式识别; 含量测定; 质量评价; 染料木苷; 芦丁; 芹菜苷; 山柰酚-3-*O*-芸香糖苷; 水仙苷; 染料木素

中图分类号: R284.1

文献标志码: A

文章编号: 1674-6376(2025)04-0928-08

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2025.04.014

## Quality evaluation of *Sophora japonica* medicinal materials based on fingerprint and multi-component quantification combined with chemical pattern recognition

CUI Yitong, WANG Le, WANG Zhaohui, GAO Ye, CHANG Zihao, LIU Yuqi, HUANG Ya, CHEN Zelin, LIU Yue, ZHANG Lanzhen

School of Chinese Materia Medica, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 102488, China

**Abstract: Objective** To establish an HPLC fingerprint and a multi-component quantification method for *Sophora japonica* Linn., and to evaluate the quality of *S. japonica* medicinal materials using chemical pattern recognition methods. **Methods** The HPLC method was performed with the gradient elution of methanol-acetonitrile (1:1, A)-0.1% aqueous phosphoric acid (B) as the mobile phase, the column temperature was 40 °C, the detection wavelength was 258 nm, and the volume flow rate was 1.2 mL·min<sup>-1</sup>. Fingerprints of 15 batches of *S. japonica* herbs were established and analysed for similarity, and the contents of six constituents (genistein, rutin, apigenin, kaempferol-3-*O*-rutoside, silymarin and genistein) were determined and combined with HCA, PCA and OPLS-DA for quality evaluation. **Results** The fingerprints of 15 batches of *S. japonica* were calibrated with 12 common peaks, recognising six components: genistein, rutin, apigenin, kaempferol-3-*O*-rutoside, silymarin and genistein, with the similarity of the batches in the range of 0.780~0.996. HPLC methods were established for the determination of the content of these six components, and contents of genistein, rutin, apigenin, kaempferol-3-*O*-rutoside, silymarin and genistein in the samples ranged from 0.006 to 0.113, from 0.378 to 3.782, from 0.280 to 4.397, from 0.112 to 0.561, from 0.036 to 0.427, from 0.003 to 0.047 mg·g<sup>-1</sup>. The results of cluster analysis classified the 15 batches of acacia twigs into three categories; PCA extracted three principal components, indicating that the three principal components played a major role in reflecting the relationship between the common components of acacia twigs

收稿日期: 2024-10-29

基金项目: 国家重点研发计划-中医药现代化专项(2023YFC3504101); 北京中医药大学纵向科研发展基金项目(2024-ZXFZJJ-JW-010)

作者简介: 崔艺彤, 女, 硕士研究生, 研究方向为药效物质基础及其药理作用。E-mail: cuiyitongtong@126.com

\*通信作者: 刘 越, 副教授, 主要从事中药药效物质基础及质量控制。E-mail: liuyuebei\_002@163.com

张兰珍, 研究员, 主要从事中药药效物质与质量控制工作。E-mail: zhanglanzhen01@126.com

samples from different batches. The results of OPLS-DA indicated that apigenin and rutin were the signature components that caused the quality differences. **Conclusion** The established HPLC fingerprints of *S. japonica* and the method for the determination of multi-component content were easy to operate and the results were reliable, which provided the basis for the quality evaluation of *S. japonica*. **Key words:** *Sophora japonica*; fingerprints; chemical pattern recognition; content determination; quality evaluation; genistein; rutin; apigenin; kaempferol-3-*O*-rutinoside; silymarin; genistein

槐枝，又名槐嫩蘗，来源于豆科植物国槐 *Sophora japonica* Linn. 的嫩枝，苦，平，无毒。主治崩漏带下，心痛，目赤，痔疮，疥疮<sup>[1]</sup>。槐枝的药用历史悠久，早在《名医别录》《新修本草》等古籍中就有记载，具有清热燥湿、祛风杀虫、散瘀止血等多种功效。现代研究表明，槐枝中含有丰富的黄酮类、皂苷类和酚酸类<sup>[2]</sup>等成分。其中，黄酮类成分是槐枝中主要的活性成分，具有抗炎、抗氧化、抗菌等生物活性<sup>[3]</sup>。

《中国药典》2020 年版还未收录槐枝，且槐枝质量研究报道目前较少且检测成分单一，如高效液相色谱法测定芦丁含量<sup>[4]</sup>、薄层色谱法鉴别槐枝中的芦丁<sup>[5]</sup>等。为了有效控制槐枝质量，本研究基于 15 批槐枝样品建立了槐枝高效液相指纹图谱，同时利用 HPLC 测定染料木苷、芦丁、芹菜苷、山柰酚-3-*O*-芸香糖苷、水仙苷、染料木素 6 个黄酮类成分的含量，结合化学模式识别的方法分析槐枝不同批次间的成分差异，以期为后续槐枝质量标准提升和

开发应用提供参考。

## 1 材料

### 1.1 主要仪器

Waters Alliance e2695 高效液相色谱仪（美国 Waters 公司）；2998 型 PDA 紫外检测器；Sartorius BT25S 型电子天平（十万分之一，北京赛多利斯仪器系统有限公司）；KQ5200E 型超声波清洗器（昆山市超声仪器有限公司）；OHAUS AX124ZH 电子天平（万分之一，常州奥豪斯仪器有限公司）。

### 1.2 药材及主要试剂

15 批槐枝药材产地见表 1，经北京中医药大学张媛教授鉴定为国槐 *S. japonica* Linn. 的嫩枝。芦丁对照品（批号 M09HB177693，质量分数≥98%）购自上海源叶生物科技有限公司；染料木苷对照品（批号 PS000781，质量分数≥98%）、芹菜苷对照品（批号 PS011694，质量分数≥98%）、染料木素对照品（批号 PS000785，质量分数≥98%）、水仙苷对照品（批号 PS011997，质量分数≥98%）、山柰酚-

表 1 槐枝药材来源信息

Table 1 Source information table of *S. japonica*

| 编号 | 产地   | 购买时间         | 编号  | 产地   | 购买时间         |
|----|------|--------------|-----|------|--------------|
| S1 | 河北保定 | 2023. 05. 03 | S9  | 安徽亳州 | 2023. 11. 20 |
| S2 | 山东济宁 | 2023. 05. 03 | S10 | 河北保定 | 2023. 11. 24 |
| S3 | 河北保定 | 2023. 06. 12 | S11 | 河北保定 | 2024. 05. 06 |
| S4 | 河南南阳 | 2023. 06. 12 | S12 | 河北保定 | 2024. 05. 13 |
| S5 | 安徽亳州 | 2023. 09. 12 | S13 | 河北保定 | 2024. 05. 27 |
| S6 | 安徽亳州 | 2023. 10. 22 | S14 | 安徽亳州 | 2024. 06. 13 |
| S7 | 山东济宁 | 2023. 11. 02 | S15 | 河北保定 | 2024. 06. 18 |
| S8 | 河北保定 | 2023. 11. 14 |     |      |              |

3-*O*-芸香糖苷对照品（批号 PS012599，质量分数≥98%）均购自成都普思生物科技股份有限公司；乙腈（色谱纯）、甲醇（色谱纯），美国 Fisher 公司。

## 2 方法与结果

### 2.1 溶液制备

**2.1.1 供试品溶液的制备** 称取槐枝药材粉末（过 3 号筛）0.5 g，精密称定，置于 100 mL 具塞锥形瓶中，精密加入 80% 甲醇 30 mL，称定质量，超声提

取 1 h，放冷后补足失质量，摇匀，经 0.45 μm 微孔滤膜滤过，取续滤液，即得供试品溶液。

**2.1.2 对照品溶液的制备** 精密称取对照品染料木苷、芦丁、芹菜苷、山柰酚-3-*O*-芸香糖苷、水仙苷和染料木素，分别置于 10 mL 量瓶中，甲醇稀释至刻度，得到染料木苷（0.261 mg·mL<sup>-1</sup>）、芦丁（0.148 mg·mL<sup>-1</sup>）、芹菜苷（0.176 mg·mL<sup>-1</sup>）、山柰酚-3-*O*-芸香糖苷（0.124 mg·mL<sup>-1</sup>）、水仙苷

( $0.168\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) 和染料木素 ( $0.119\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) 对照品溶液。

## 2.2 色谱条件

Welch Ultimate® Polar-RP 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相: 甲醇:乙腈 (1:1, A) - 0.1%磷酸水溶液(B), 洗脱梯度为: 0~5 min, 15%~18% A; 5~45 min, 18%~36% A; 45~60 min, 36%~70% A; 体积流量  $1.2\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ ; 检测波长 258 nm; 柱温  $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ ; 进样量 10 μL。

## 2.3 指纹图谱方法学考察

**2.3.1 精密度试验** 取批号为 S1 的药材, 按照“2.1.1”项下制备槐枝供试品溶液, 按“2.2”项下色谱方法连续进样 6 次, 以芦丁 (6 号峰) 为参照峰, 测得各共有峰的相对保留时间 RSD 值均小于 0.33%, 共有峰的相对保留峰面积的 RSD 值均小于 2.55%, 表明仪器精密度良好。

**2.3.2 重复性试验** 取批号 S1 药材, 按照“2.1.1”项下平行制备 6 份供试品溶液, 按“2.2”项下色谱方法测定, 以芦丁 (6 号峰) 为参照峰, 测得各共有峰的相对保留时间 RSD 值均小于 0.24%, 共有峰的相对保留峰面积的 RSD 值均小于 2.87%, 表明该方法重复性良好。

**2.3.3 稳定性试验** 取批号 S1 药材, 按照“2.1.1”项下制得槐枝供试品溶液, 按“2.2”项下色谱方法于制备后 0、4、8、12、24 h 进行测定, 以芦丁 (6 号峰) 为参照峰, 测得各共有峰的相对保留时间 RSD 值均小于 0.17%, 共有峰的相对保留峰面积的 RSD 值均小于 2.43%, 表明样品稳定性良好。

## 2.4 HPLC 指纹图谱的建立和相似度分析

**2.4.1 HPLC 指纹图谱的建立** 取 15 批次药材样品粉末按“2.1.1”项下制备供试品溶液, 按“2.2”项下色谱条件进行测定, 将 HPLC 数据导入《中药色谱指纹图谱相似度评价系统 (2012 版)》, 建立指纹图谱并进行相似度评价, 以 S1 为参照图谱, 设置时间窗宽度为 0.1 min, 采用平均数法, 经过多点校正后进行色谱峰匹配, 得到 15 批槐枝指纹图谱和对照图谱 (R), 见图 1。15 批槐枝指纹图谱标定出 12 个共有峰, 通过对照品比对指认了 6 个峰, 分别为染料木苷、芦丁、芹菜苷、山柰酚-3-O-芸香糖苷、水仙苷、染料木素。见图 2。

**2.4.2 相似度评价分析** 采用中药色谱指纹图谱相似度评价系统对槐枝进行相似度分析, 结果见表 2。选取槐枝样品中出峰时间相对稳定, 分离度较好

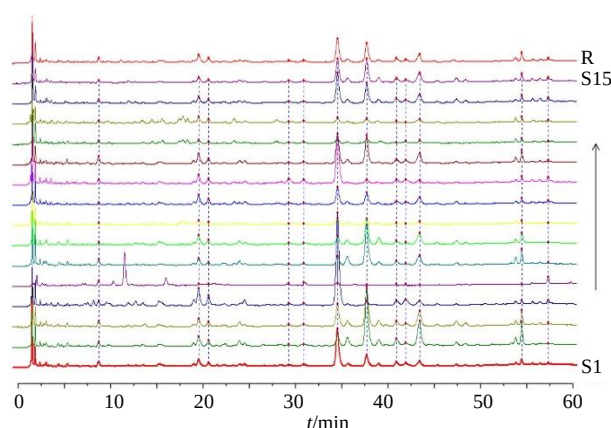
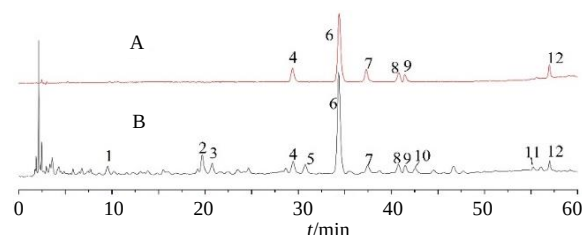


图 1 15 批次不同产地槐枝 HPLC 叠加指纹图谱和对照指纹图谱 (R)

Fig. 1 HPLC superimposed fingerprint and control fingerprint (R) of 15 batches for *S. japonica*



4-染料木苷; 6-芦丁; 7-芹菜苷; 8-山柰酚-3-O-芸香糖苷; 9-水仙苷; 12-染料木素。  
4-genistin; 6-rutin; 7-apiin; 8-kaempferol-3-O-rutinoside; 9-narcissoside; 12-genistein.

图 2 混合对照品 HPLC 图谱 (A) 和槐枝样品 (S1) 指纹图谱 (B)

Fig. 2 Fingerprint chromatograms of mixed control (A) and *S. japonica* (S1, B)

表 2 15 批槐枝药材相似度评价结果

Table 2 Similarity evaluation results of 15 batches of *S. japonica*

| 编号 | 相似度   | 编号  | 相似度   | 编号  | 相似度   |
|----|-------|-----|-------|-----|-------|
| S1 | 0.926 | S6  | 0.799 | S11 | 0.996 |
| S2 | 0.921 | S7  | 0.859 | S12 | 0.953 |
| S3 | 0.937 | S8  | 0.970 | S13 | 0.894 |
| S4 | 0.939 | S9  | 0.983 | S14 | 0.991 |
| S5 | 0.780 | S10 | 0.837 | S15 | 0.991 |

的芦丁作为参照峰, 计算 15 批药材的共有峰的相对保留峰面积和相对保留时间。结果表明, 共有峰的相对保留时间 RSD 值均小于 0.2%, 相对保留峰面积具有明显差异, 说明不同批次样品中各成分含量差异较大。15 批槐枝样品色谱图与对照指纹图谱的相似度在 0.780~0.996, 其中相似度大于 0.9 的

有 10 批样品, 相似度小于 0.9 的有 5 批槐枝样本, 分别为 S5~S7、S10 和 S13, 表明槐枝药材的质量存在一定差异。

2.5 槐枝主要成分含量测定

槐枝中的化学成分主要为黄酮类化合物<sup>[6-7]</sup>, 因此, 本研究选取槐枝中染料木苷、芦丁、芹菜苷、山柰酚-3-*O*-芸香糖苷、水仙苷和染料木素这 6 个黄酮类成分进行含量测定。溶液的制备及色谱条件见“2.1”“2.2”项。

2.5.1 专属性考察 分别取“2.1”项下供试品溶液和对照品溶液, 按“2.2”项下色谱条件进行测定, 结果(图 3)显示供试品和对照品色谱峰的保留时间基本相同, 结果说明该方法具有良好的专属性。

2.5.2 线性关系考察 分别精密量取“2.1.2”项下对照品溶液适量, 加甲醇定量稀释成含有染料木苷 0.406、0.813、1.625、3.250、6.500、13.000 μg·mL<sup>-1</sup>, 芦丁 4.625、9.250、18.500、37.000、74.000、148.000 μg·mL<sup>-1</sup>, 芹菜苷 0.55、1.10、2.20、4.40、

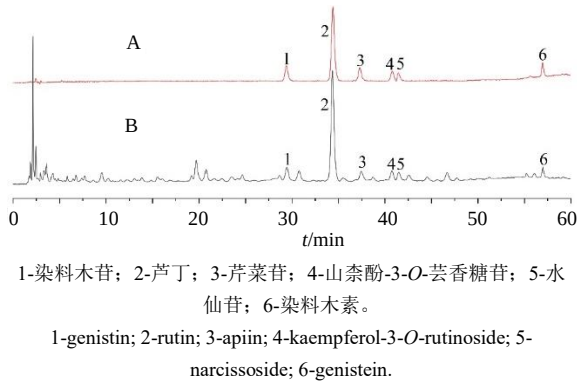


图 3 混合对照品 (A) 和槐枝 S1 样品 (B) HPLC 图  
Fig. 3 HPLC of mixed control (A) and *S. japonica* (S1, B)

8.80、17.60 μg·mL<sup>-1</sup>, 山柰酚-3-*O*-芸香糖苷 0.775、1.550、3.100、6.200、12.400、24.800 μg·mL<sup>-1</sup>, 水仙苷 0.525、1.050、2.100、4.200、8.400、16.800 μg·mL<sup>-1</sup>, 染料木素 0.186、0.372、0.744、1.48、2.975、5.95 μg·mL<sup>-1</sup> 的系列溶液, 按“2.2”项下色谱条件进行测定, 以质量浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标进行线性回归, 得到各物质的线性回归方程, 结果见表 3。

表 3 6 种成分线性关系及相关系数  
Table 3 Linear relationship and correlation coefficient of six components

| 化合物                   | 线性回归方程                               | <i>r</i> | 线性范围/(μg·mL <sup>-1</sup> ) |
|-----------------------|--------------------------------------|----------|-----------------------------|
| 染料木苷                  | $Y=45\,509.478\,4\,X-1\,678.676\,6$  | 0.999 9  | 0.41~13.00                  |
| 芦丁                    | $Y=13\,119.161\,4\,X-11\,616.442\,8$ | 0.999 9  | 4.63~148.00                 |
| 芹菜苷                   | $Y=12\,768.002\,8\,X-1\,619.049\,7$  | 0.999 8  | 0.55~17.60                  |
| 山柰酚-3- <i>O</i> -芸香糖苷 | $Y=12\,740.713\,9\,X+1\,381.940\,3$  | 0.999 8  | 0.78~24.80                  |
| 水仙苷                   | $Y=14\,001.225\,1\,X-938.920\,4$     | 0.999 8  | 0.53~16.80                  |
| 染料木素                  | $Y=73\,131.055\,2\,X-296.710\,7$     | 0.999 8  | 0.19~5.95                   |

2.5.3 精密度考察 取批号 S1 药材, 按照“2.1.1”项下制得槐枝供试品溶液, 按“2.2”项下色谱方法连续进样 6 次, 记录峰面积, 分别计算 RSD。结果显示染料木苷、芦丁、芹菜苷、山柰酚-3-*O*-芸香糖苷、水仙苷、染料木素的峰面积 RSD 值分别为 1.83%、1.39%、1.74%、2.27%、2.20%、2.33%, 表明仪器精密度良好。

2.5.4 重复性考察 取批号 S1 药材, 按照“2.1.1”项下平行制备 6 份供试品溶液, 按“2.2”项下色谱方法测定, 计算各成分的 RSD 值, 结果显示染料木苷、芦丁、芹菜苷、山柰酚-3-*O*-芸香糖苷、水仙苷、染料木素的质量分数 RSD 值分别为 1.61%、1.27%、2.47%、1.92%、2.50%、2.79%, 表明该方法重复性良好。

2.5.5 稳定性考察 取批号 S1 药材, 按照“2.1.1”项下制得槐枝供试品溶液, 按“2.2”项下色谱方法

于制备后 0、4、8、12、24 h 进行测定, 记录峰面积并计算 RSD 值得到染料木苷、芦丁、芹菜苷、山柰酚-3-*O*-芸香糖苷、水仙苷、染料木素的峰面积 RSD 值分别为 1.59%、1.36%、2.46%、2.95%、1.48%、1.98%, 表明样品稳定性良好。

2.5.6 加样回收率考察 取批号为 S1 的槐枝药材粉末 0.25 g, 精密称定 6 份, 每份分别精密加入 1 mL 染料木苷对照品溶液 (0.013 mg·mL<sup>-1</sup>)、芦丁对照品溶液 (0.731 mg·mL<sup>-1</sup>)、芹菜苷对照品溶液 (0.165 mg·mL<sup>-1</sup>)、山柰酚-3-*O*-芸香糖苷对照品溶液 (0.079 mg·mL<sup>-1</sup>)、水仙苷对照品溶液 (0.066 mg·mL<sup>-1</sup>)、染料木素对照品溶液 (0.008 mg·mL<sup>-1</sup>), 按“2.1.1”项下方法制备供试品溶液, 按“2.2”项下液相条件进样, 测得各化合物峰面积, 计算得到各成分的平均回收率为



101.24%、102.15%、100.78%、99.89%、102.36%、102.48%，RSD 值均小于 3%。

**2.5.7 供试品含量测定** 取 15 批槐枝药材粉末，精密称取 0.5 g，按照“2.1.1”项下各制备 3 份供试品溶液，按照“2.2”项下色谱条件测定各峰面积，计算染料木苷、芦丁、芹菜苷、山柰酚-3-*O*-芸香糖苷、水仙苷、染料木素的含量，结果见表 4。15 批槐枝药材的染料木苷、芦丁、芹菜苷、山柰酚-3-*O*-芸香糖苷、水

仙苷、染料木素的平均质量分数分别为 0.034、1.675、1.823、0.289、0.195、0.017 mg·g<sup>-1</sup>，其中，染料木苷质量分数为 0.006~0.113 mg·g<sup>-1</sup>，芦丁质量分数为 0.378~3.783 mg·g<sup>-1</sup>，芹菜苷质量分数为 0.280~4.397 mg·g<sup>-1</sup>，山柰酚-3-*O*-芸香糖苷质量分数为 0.116~0.561 mg·g<sup>-1</sup>，水仙苷质量分数为 0.036~0.427 mg·g<sup>-1</sup>，染料木素质量分数为 0.003~0.047 mg·g<sup>-1</sup>。

表 4 15 批槐枝药材 6 种成分的平均含量 (n=3)

Table 4 Average content of six ingredients of 15 batches of *S. japonica* (n=3)

| 编号  | 质量分数/(mg·g <sup>-1</sup> ) |       |       |                       |       |       |
|-----|----------------------------|-------|-------|-----------------------|-------|-------|
|     | 染料木苷                       | 芦丁    | 芹菜苷   | 山柰酚-3- <i>O</i> -芸香糖苷 | 水仙苷   | 染料木素  |
| S1  | 0.050                      | 2.911 | 0.654 | 0.316                 | 0.259 | 0.032 |
| S2  | 0.020                      | 2.585 | 0.846 | 0.268                 | 0.216 | 0.012 |
| S3  | 0.016                      | 0.896 | 4.397 | 0.561                 | 0.233 | 0.003 |
| S4  | 0.043                      | 1.679 | 3.138 | 0.399                 | 0.213 | 0.014 |
| S5  | 0.050                      | 3.783 | 0.280 | 0.351                 | 0.427 | 0.029 |
| S6  | 0.015                      | 0.656 | 3.223 | 0.272                 | 0.256 | 0.008 |
| S7  | 0.028                      | 0.618 | 2.028 | 0.278                 | 0.109 | 0.003 |
| S8  | 0.006                      | 0.456 | 0.449 | 0.116                 | 0.045 | 0.008 |
| S9  | 0.034                      | 1.331 | 0.977 | 0.283                 | 0.180 | 0.014 |
| S10 | 0.113                      | 3.376 | 0.365 | 0.304                 | 0.275 | 0.047 |
| S11 | 0.043                      | 2.199 | 1.545 | 0.321                 | 0.218 | 0.029 |
| S12 | 0.009                      | 0.399 | 1.374 | 0.126                 | 0.059 | 0.008 |
| S13 | 0.044                      | 1.706 | 1.793 | 0.306                 | 0.170 | 0.029 |
| S14 | 0.023                      | 2.147 | 2.206 | 0.310                 | 0.225 | 0.014 |
| S15 | 0.015                      | 0.378 | 4.067 | 0.132                 | 0.036 | 0.009 |

## 2.6 化学模式识别分析

**2.6.1 聚类分析(HCA)** 以 15 批槐枝药材中 6 种化学成分含量<sup>[8]</sup>作为变量，导入 SPSS 27.0 软件，采用组间连接，平方欧式距离法<sup>[9]</sup>进行系统 HCA，结果如图 4 所示，当欧氏距离为 15 时，槐枝样品可聚为 3 类，S1~S2、S5、S10 为第 1 类，S7~S9、S11~S14 为第 2 类，S3~S4、S6、S15 聚为第 3 类。HCA 结果与槐枝样品中芦丁和芹菜苷含量的差异具有相关性，而与产地的相关性不明显，说明槐枝的质量不止受产地的影响，更有可能的是采收时期、采收年限等因素<sup>[7]</sup>对化学成分的含量产生影响。

**2.6.2 主成分分析(PCA)** 将 15 批槐枝药材中 6 种化学成分含量数据导入 SPSS 27.0 软件和 SIMCA 14.1 软件，进行 PCA<sup>[10]</sup>。Bartlett 球形检定显著性  $P<0.001$ ，证明变量间有较强的相关性，数据可以用来进行 PCA。以主成分特征值 $>1$ 作为提取标准

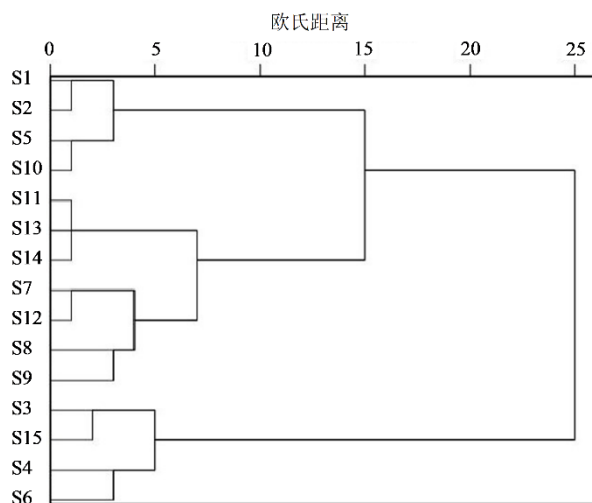


图 4 15 批槐枝药材系统 HCA 图

Fig. 4 HCA of 15 batches of *S. japonica*

共得到 3 个主成分(碎石图见图 5)，方差贡献率分别为 44.109%、30.805%、17.285%，其累积方差贡

献率为 92.198%，说明可以使用这 3 个主成分评价槐枝药材质量，其特征值及贡献率见表 5。PCA 得分图见图 6，15 批槐枝药材大致被分为 3 类，与 HCA 结果基本一致。

从因子载荷矩阵（表 6）可以得出第一个主成分主要反映了色谱峰 4（染料木苷）、9（水仙苷）、12（染料木素）的信息，主成分 2 主要反映了色谱峰 7（芹菜苷）、8（山柰酚-3-*O*-芸香糖苷）的信息，主成分 3 主要反映了色谱峰 6（芦丁）的信息。

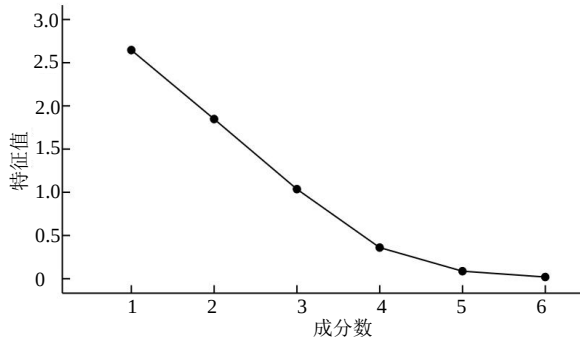


图 5 槐枝药材 PCA 碎石图  
Fig. 5 PCA scree plot of *S. japonica*

表 5 特征值与方差贡献率

| Table 5 Eigenvalues and variance contributions |       |             |               |
|------------------------------------------------|-------|-------------|---------------|
| 主成分因子                                          | 特征值   | 方差<br>贡献率/% | 累积方差<br>贡献率/% |
| 1                                              | 2.647 | 44.109      | 44.109        |
| 2                                              | 1.848 | 30.805      | 74.914        |
| 3                                              | 1.037 | 17.285      | 92.198        |

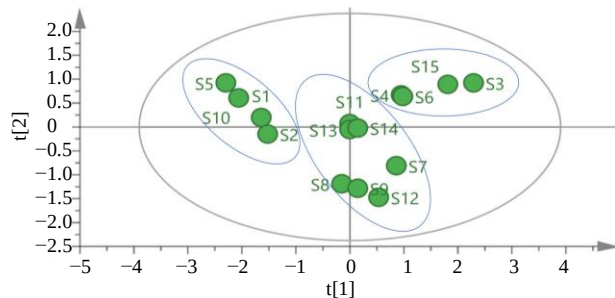


图 6 15 批槐枝 PCA 得分图  
Fig. 6 PCA score chart of 15 batches of *S. japonica*

**2.6.3 正交偏最小二乘法分析（OPLS-DA）** 为了更好地体现不同样本之间的差异，筛选出对组间差异贡献率较大的成分，进一步进行 OPLS-DA。将 15 批槐枝药材 6 种成分含量导入 SIMCA14.1 软件进

表 6 因子载荷矩阵

| Table 6 Component matrix |        |        |        |
|--------------------------|--------|--------|--------|
| 共有峰编号                    | 载荷     |        |        |
|                          | 1      | 2      | 3      |
| 4                        | 0.889  | -0.209 | -0.145 |
| 6                        | 0.088  | 0.145  | 0.976  |
| 7                        | -0.149 | 0.938  | -0.115 |
| 8                        | 0.505  | 0.841  | -0.145 |
| 9                        | 0.872  | 0.249  | 0.165  |
| 12                       | 0.890  | -0.368 | -0.048 |

行建模分析。OPLS-DA 结果（图 7）显示，自变量拟合指数（ $R_x^2$ ）为 0.986，因变量拟合指数（ $R_y^2$ ）为 0.995，模型预测指数  $Q^2$  为 0.967，说明模型的解释预测能力较好。通过 200 次置换验证得到， $R^2$  与  $Q^2$  的回归线斜率均大于 0，截距分别为 0.413 和 -1.11。结果说明置换验证结果较为理想，不存在过拟合现象。OPLS-DA 结果表明将 15 批药材分为 3 类与 HCA 和 PCA 结果一致。变量重要性投影值（VIP）<sup>[11]</sup>是衡量每个变量对模型分类贡献的重要指标，以 VIP 值筛选差异标记物。以 VIP 值>1 筛选得到对模型贡献量大的 2 个成分，分别是芹菜苷和芦丁（图 8），说明这 2 个成分可能对组间差异影响较大，是槐枝药材质量控制的重要成分。

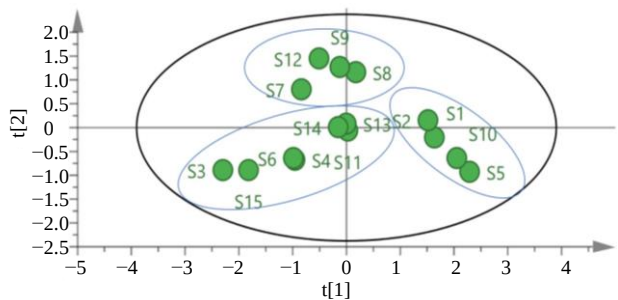


图 7 15 批槐枝 OPLS-DA 得分图  
Fig. 7 OPLS-DA score chart of 15 batches of *S. japonica*

### 3 讨论

对槐枝药材提取溶剂（水、50%甲醇、80%甲醇和 100%甲醇）、提取时间（30、40、50、60 min）、提取溶剂倍数（1：40、1：60 和 1：100）进行考察，结果显示，提取溶剂倍数为 1：60，以 80%甲醇提取 60 min 时，6 种成分的提取率较高且色谱峰数量较为完整，因此选择使用 80%甲醇 30 mL 超声提取 60 min 为最佳制备方法。

通过考察流动相体系[乙腈-0.1%甲酸、乙腈-0.1%磷酸、甲醇：乙腈（1：1）-0.1%甲酸、甲醇-

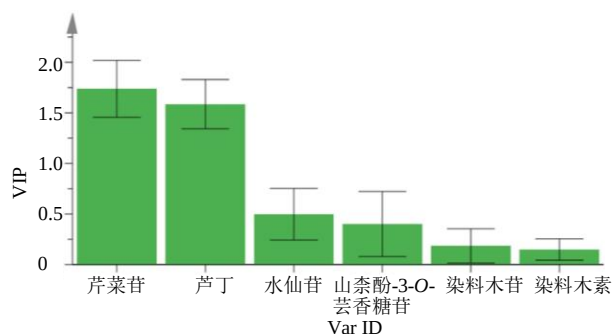


图 8 15 批槐枝 VIP 得分图

Fig. 8 VIP score chart of 15 batches of *S. japonica*

乙腈 (1:1)-0.1%甲酸]、检测波长 (258、270、280 nm), 结果显示以甲醇:乙腈 (1:1)-0.1%磷酸作为流动相时, 各色谱峰分离度较好, 基线较平稳, 当检测波长为 258 nm 时出峰更多, 因此选择以甲醇-乙腈 (1:1)-0.1%磷酸作为流动相, 检测波长为 258 nm 的条件下对槐枝样品进行检测。

研究表明, 染料木苷、芦丁、芹菜苷、山柰酚-3-O-芸香糖苷、水仙苷、染料木素均为黄酮类化合物, 并且具有良好的抗炎、抑菌、抗氧化活性<sup>[3, 12, 13-16]</sup>, 与槐枝药理作用一致, 因此选取这 6 个成分作为指标成分进行定量分析, 并结合化学模式识别法对 15 批槐枝样品进行分析。多指标含量测定和化学模式识别结果显示, 芦丁和芹菜苷含量与槐枝质量相关性较大。

本实验建立了槐枝的指纹图谱以及同时测定槐枝中 6 个成分的含量, 既可整体评价槐枝质量, 又实现了多指标成分的定量分析, 为控制槐枝质量提供更加全面的依据。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

## 参考文献

- [1] 赵国平, 戴慎, 陈仁寿. 中药大辞典 [M]. 第 2 版. 上海: 上海科学技术出版社, 2006: 3444.  
Zhao G P, Dai S, Chen R S. Dictionary of Traditional Chinese Medicine [M]. 2nd. Shanghai: Shanghai Science and Technology Press, 2006: 3444.
- [2] 刁义平, 束晓云, 唐于平. 槐叶化学成分研究 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(6): 89-92.  
Diao Y P, Shu X Y, Tang Y P. Chemical constituents of *Sophora japonica* leaves [J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2011, 17(6): 89-92.
- [3] 乔钦才, 柴天川, 乔钦增, 等. “槐枝汤”治疗急性咽喉炎 65 例临床观察 [J]. 江苏中医药, 2008, 40(5): 49.  
Qiao Q C, Chai T C, Qiao Q Z, et al. Clinical observation

on 65 cases of acute pharyngitis treated with “Huaizhi Decoction” [J]. Jiangsu J Tradit Chin Med, 2008, 40(5): 49.

- [4] 李敏, 刘洋, 郑鹏, 等. 槐枝药材及饮片的质量标准研究 [J]. 中国药物经济学, 2022, 17(6): 101-105, 109.  
Li M, Liu Y, Zheng P, et al. Study on quality standard of *Sophora japonica* medicinal materials and decoction pieces [J]. China J Pharm Econ, 2022, 17(6): 101-105, 109.
- [5] 于姗姗, 王云, 李敏, 等. 薄层色谱法鉴别槐枝及高效液相色谱法测定其中芦丁含量 [J]. 化学分析计量, 2021, 30(10): 7-11.  
Yu S S, Wang Y, Li M, et al. Identification of *Sophora japonica* by thin layer chromatography and determination of rutin by high performance liquid chromatography [J]. Chem Anal Meterage, 2021, 30(10): 7-11.
- [6] 赵超, 陈华国, 靳风云, 等. 槐枝中总黄酮的含量测定 [J]. 光谱实验室, 2010, 27(1): 188-191.  
Zhao C, Chen H G, Jin F Y, et al. Determination of total flavonoids from the branch of *Sophora japonica* L. [J]. Chin J Spectrosc Lab, 2010, 27(1): 188-191.
- [7] 熊维政, 金燕飞, 姜家书, 等. 国槐槐枝及槐叶中芦丁含量比较 [J]. 中国药业, 2011, 20(18): 22-23.  
Xiong W Z, Jin Y F, Jiang J S, et al. Comparative study on rutin content in branches and leaves of *Sophora japonica* L. [J]. China Pharm, 2011, 20(18): 22-23.
- [8] 王娜, 韩玲玲, 张亚中, 等. 基于 HPLC 指纹图谱和多成分定量测定结合化学模式识别的断血流质量评价 [J]. 中草药, 2024, 55(17): 6009-6015.  
Wang N, Han L L, Zhang Y Z, et al. Quality control method for *Clinopodii Herba* based on HPLC fingerprint and multi-component quantitative determination combined with chemical pattern recognition [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2024, 55(17): 6009-6015.
- [9] 陈旭, 姜建双, 李德华, 等. HPLC 指纹图谱和多成分定量结合化学模式识别评价菊苣子质量 [J]. 中草药, 2024, 55(13): 4526-4534.  
Chen X, Jiang J S, Li D H, et al. Quality evaluation of chicory seed based on HPLC fingerprint and multi-component quantification combined with chemical pattern recognition [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2024, 55(13): 4526-4534.
- [10] 黄雅, 王保锦, 王乐, 等. 基于指纹图谱和多成分定量结合化学模式识别的莲房药材质量评价 [J]. 中草药, 2024, 55(9): 3098-3106.  
Huang Y, Wang B J, Wang L, et al. Quality evaluation of *Nelumbinis Receptaculum* based on fingerprint and multi-component quantification combined with chemical pattern recognition [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2024, 55(9):

- 3098-3106.
- [11] 王娜, 程璐, 王浩, 等. 茯神指纹图谱结合化学模式识别和多指标成分定量研究 [J]. 中草药, 2024, 55(1): 279-286.
- Wang N, Cheng L, Wang H, et al. Study on fingerprint of *Poria Pini Radix* (Fushen) combined with chemical pattern recognition and quantitative analysis of multiple indicator components [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2024, 55(1): 279-286.
- [12] 祖晓宁, 王金宏, 于宛鑫. 槐米中芦丁的提取及抑菌活性研究 [J]. 哈尔滨商业大学学报(自然科学版), 2018, 34(6): 648-652.
- Zu X N, Wang J H, Yu W X. Study on extraction and antibacterial activity of rutin in locust [J]. J Harbin Univ Commer Nat Sci Ed, 2018, 34(6): 648-652.
- [13] 洪军, 胡晓稳, 王佩, 等. 槐米中芦丁的提取及抗氧化活性研究 [J]. 食品研究与开发, 2015, 36(15): 16-18.
- Hong J, Hu X W, Wang P, et al. Rutin extraction from *sophara Japonica* and it antioxidant activities [J]. Food Res Dev, 2015, 36(15): 16-18.
- [14] Zhao J, Zhang S L, You S P, et al. Hepatoprotective effects of nicotiflorin from *Nymphaea candida* against concanavalin A-induced and D-galactosamine-induced liver injury in mice [J]. Int J Mol Sci, 2017, 18(3): 587.
- [15] 王丹, 王文君. 水仙苷的药理活性 [J]. 辽宁大学学报(自然科学版), 2024, 51(2): 113-120.
- Wang D, Wang W J. Pharmacological activity of narcissoside [J]. J Liaoning Univ Nat Sci Ed, 2024, 51(2): 113-120.
- [16] 陈凯, 魏平慧, 史琳. 葛根异黄酮类成分的药理作用研究进展 [J]. 药物评价研究, 2022, 45(12): 2602-2610.
- Chen K, Wei P H, Shi L. Research progress on pharmacological effects of isoflavones from *Pueraria lobata* [J]. Drug Eval Res, 2022, 45(12): 2602-2610.

[责任编辑 兰新新]