

HPLC 指纹图谱和多成分定量结合化学模式识别评价蜜款冬花质量

龚秀娟^{1,2}, 彭 亮¹, 陈晓颖¹, 周可心¹, 贺喜泉¹, 杨冰月^{1*}

1. 陕西中医药大学药学院 陕西省秦岭中草药应用开发工程技术研究中心, 陕西 西安 712046

2. 湖南中医药大学药学院, 湖南 长沙 410208

摘要: **目的** 建立蜜款冬 *Tussilago farfara* 花 HPLC 指纹图谱和多成分含量测定分析方法, 结合化学模式识别法综合评价蜜款冬花质量。**方法** 采用 HPLC 和中药指纹图谱相似度评价系统 (2004 A) 建立 53 批蜜款冬花的指纹图谱, 同时测定款冬酮等 14 个有效成分含量, 结合化学模式识别对不同批次蜜款冬花的质量进行评价。**结果** 蜜款冬花指纹图谱共标定了 24 个共有峰, 指认了其中 14 个成分, 相似度为 0.763~0.997; 聚类分析 (cluster analysis, HCA)、主成分分析 (principal component analysis, PCA) 和正交偏最小二乘法 (orthogonal partial least squares-discriminant analysis, OPLS-DA) 均将 53 批样品分为 2 类, PCA 得到 6 个主成分的累积贡献率为 82.457%, OPLS-DA 筛选了异绿原酸 B、异绿原酸 A、异绿原酸 C、绿原酸、芦丁、10 号峰 (未知) 6 个影响蜜款冬花质量的差异性成分; 含量测定结果表明不同批次蜜款冬花中 14 个有效成分含量存在明显差异, 聚类热图将 53 批样品分为 2 类, 第 1 类样品中的异绿原酸 A、异绿原酸 B、异绿原酸 C、槲皮素、芦丁、绿原酸、隐绿原酸含量高于第 2 类, 其中异绿原酸 A、异绿原酸 B、异绿原酸 C、芦丁、绿原酸均来 OPLS-DA 筛选的差异性成分。**结论** 建立的蜜款冬花 HPLC 指纹图谱和多成分定量方法稳定性好、灵敏度高, 结合化学模式识别法可为综合评价蜜款冬花质量提供参考。

关键词: 蜜款冬花; HPLC 指纹图谱; 化学模式识别; 质量评价; 异绿原酸 A; 异绿原酸 B; 异绿原酸 C; 槲皮素; 芦丁; 绿原酸; 隐绿原酸

中图分类号: R286.2

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2024)18-6344-11

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2024.18.024

HPLC fingerprint and multi-components determination combined with chemical pattern recognition to evaluate quality of honeyed *Farfarae Flos*

GONG Xiujuan^{1,2}, PENG Liang¹, CHEN Xiaoying¹, ZHOU Kexin¹, HE Xiquan¹, YANG Bingyue¹

1. Shaanxi Qinling Application Development and Engineering Center of Chinese Herbal Medicine, College of Pharmacy, Shaanxi University of Chinese Medicine, Xi'an 712046, China

2. College of Pharmacy, Hunan University of Traditional Chinese Medicine, Changsha 410208, China

Abstract: Objective To establish the HPLC fingerprint and multi-component quantitative analysis of honeyed Kuandonghua (*Farfarae Flos*), and chemical pattern recognition technology was used to evaluate the quality of honeyed *Farfarae Flos*. **Methods** HPLC and Similarity evaluation system of traditional Chinese medicine fingerprint (Version 2004 A) were used to establish the HPLC fingerprints of 53 batches for honeyed *Farfarae Flos*, at the same time, the contents of 14 active compounds were determined. chemical pattern recognition technology was applied for evaluating the quality of 53 batches for honeyed *Farfarae Flos*. **Results** The HPLC fingerprints of honeyed *Farfarae Flos* were established. A total of 24 common peaks were calibrated and 14 of them were identified. The similarity were 0.763—0.997. The samples were divided into two groups by cluster analysis (HCA), principal component analysis (PCA) and orthogonal partial least squares-discriminant analysis (OPLS-DA). PCA analysis indicated that the cumulative variance contribution rate of the six principal components were 82.457%. Six quality differential compounds were presented in the fingerprint by OPLS-DA, including isochlorogenic acid B, isochlorogenic acid A, isochlorogenic acid C, chlorogenic acid and rutin, and so on. The content determination results showed that there were obvious differences in 14 chemical components

收稿日期: 2024-02-02

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (82204578); 陕西省科技厅项目 (2021JQ-733); 公益性行业 (中医药) 科研专项经费项目 (201507002); 陕西中医药大学“秦药”品质评价及资源开发学科创新团队项目 (2019-QN01)

作者简介: 龚秀娟, 女, 硕士研究生, 研究方向为中药资源质量评价与开发利用。E-mail: 1324583462@qq.com

*通信作者: 杨冰月, 女, 副教授, 硕士生导师, 从事中药品种鉴定、质量控制及资源开发。E-mail: binggyang@126.com

of honeyed *Farfarae Flos* from different batches. Results of cluster heatmap analysis showed that 53 batches of honeyed *Farfarae Flos* could be divided into two categories. The contents of isochlorogenic acid A, isochlorogenic acid B, isochlorogenic acid C, quercetin, rutin, chlorogenic acid, cryptochlorogenic acid in the first group were higher than the second group and isochlorogenic acid A, isochlorogenic acid B, isochlorogenic acid C, rutin, and chlorogenic acid are all different components of OPLS-DA screening.

Conclusion In this study, the established HPLC fingerprint and multi-component quantitative analysis with chemical pattern recognition technology are stable and sensitive, which can provide a reference for the quality evaluation of honeyed *Farfarae Flos*.

Key words: honeyed *Farfarae Flos*; HPLC fingerprint; chemical pattern recognition; quality evaluation; isochlorogenic acid A; isochlorogenic acid B; isochlorogenic acid C; quercetin; rutin; chlorogenic acid; cryptochlorogenic acid

蜜款冬花为菊科植物款冬 *Tussilago farfara* L. 的干燥花蕾照蜜炙法炮制而得, 是现行药典收载的款冬花炮制品^[1]。研究表明, 蜜款冬花较生品性偏温润, 具有镇咳之效, 长于润肺止咳^[2]。课题组前期对药材市场中的蜜款冬花进行了实地调研, 发现不同批次蜜款冬花的大小、色泽等性状特征差异明显, 饮片质量参差不齐。目前, 国内外对于蜜款冬花的研究大多集中于比较生品与蜜炙品之间化学成分的差异^[3-4], 如款冬酮^[5]、槲皮素、金丝桃苷等含量测定方面^[6-7]。因此, 亟需系统开展蜜款冬花的质量评价研究, 为其质量控制提供科学参考。

《中国药典》2020 年版蜜款冬花项下主要从薄层定性、浸出物和单一成分款冬酮含量来控制蜜款冬花的质量, 以此远不能有效、系统地评价其质量。蜜款冬花含有酚酸类、黄酮类、萜类、多糖等主要有效成分^[8-10], 现代药理研究表明酚酸类成分异绿原酸 B、异绿原酸 A、异绿原酸 C 和绿原酸等具有镇咳平喘作用、黄酮类成分芦丁、槲皮素等具有止咳、抗炎、抗氧化等作用^[11-12]。文献报道中关于蜜款冬花质量评价大多为指纹图谱及单一成分或少数化学成分含量测定的研究, 将多成分、指纹图谱和化学模式识别三者结合进行综合评价的研究较为少见。指纹图谱结合模式识别法已广泛应用于中药的质量控制、差异标志物筛选等方面, 能够有效地评价中药质量^[13]。因此, 本研究采用 HPLC 法建立了 53 批蜜款冬花的指纹图谱, 测定了其中 14 个有效成分的含量, 并结合化学模式识别法对蜜款冬花的质量进行综合分析, 以期为进一步完善其饮片质量控制方法提供理论依据。

1 材料

1.1 仪器

Waters-2695 型高效液相色谱仪; SB-5200DT 型超声波清洗器 (上海舜宇恒平科学仪器有限公司); KQ-200DE 型数控超声仪 (昆山市超声仪器有限公司); 兴盛 XS-02 型多功能粉碎机 (上海兆申

科技有限公司); FA2104 型电子分析天平 (上海民桥精密科学仪器有限公司); CP225D 型百万分之一电子天平 (赛多利斯公司)。

1.2 试剂与药物

对照品异绿原酸 B (批号 Y-070-161218)、异绿原酸 A (批号 Y-068-170516)、异绿原酸 C (批号 Y-070-161102), 质量分数 $\geq 98\%$, 均购自于西安汇林生物科技有限公司; 对照品隐绿原酸 (批号 AF21010310)、新绿原酸 (批号 AZ21102901)、咖啡酸 (批号 AF21020856), 质量分数 $\geq 98\%$, 均购自于成都埃法生物科技有限公司; 对照品绿原酸 (批号 110753-202018)、槲皮素 (批号 100081-201610)、芦丁 (批号 100080-201409)、没食子酸 (批号 110831-201605)、阿魏酸 (批号 110713-201915)、金丝桃苷 (批号 111521-201809)、山柰酚 (批号 110861-201812), 质量分数 $\geq 98\%$, 均购自于中国食品药品检定研究院; 对照品款冬酮 (批号 Z19M9X5614), 质量分数 $\geq 98\%$, 购自于上海源叶生物科技有限公司。色谱级乙腈、甲醇、磷酸 (赛默飞世尔科技有限公司); 分析纯无水乙醇; 纯净水 (娃哈哈纯净水)。

1.3 饮片

本实验共收集了 53 批蜜款冬花, 其中编号 S1~S44 购自于 11 个省 31 家饮片企业; 参考课题组前期炮制方法, S45~S53 为实验室自制^[14]。所有样品经陕西中医药大学胡本祥教授鉴定为菊科植物款冬 *Tussilago farfara* L. 的干燥花蕾。样品信息见表 1。

2 方法与结果

2.1 供试品溶液的制备

取粉碎后蜜款冬花粉末约 1.0 g, 精密称定, 加无水乙醇 25 mL, 称定质量, 超声提取 1 h, 补足减失质量, 滤过, 取续滤液 5 mL, 水浴蒸干后加甲醇溶解并转移至 5 mL 量瓶中, 定容。以 0.45 μm 微孔滤膜过滤, 备用。

表 1 样品信息

Table 1 Sample information			
编号	来源	编号	来源
S1	邵阳神农中药科技发展有限公司（批号 220501）	S28	亳州市永刚饮片厂有限公司（批号 170226）
S2	安徽惠丰国药有限公司（批号 211001）	S29	安国祁安药业有限公司（批号 180401）
S3	京皖中药饮片厂（批号 201201）	S30	四川博仁药业有限责任公司（批号 201804）
S4	京皖中药饮片厂（批号 201203）	S31	安徽孚明中药饮片有限公司（批号 221101）
S5	安徽广和中药股份有限公司（批号 200307）	S32	江西康齐乐中药材有限公司（批号 20000101）
S6	成都欣福源中药饮片有限公司（批号 C332211101）	S33	亳州市永刚饮片厂有限公司（批号 170528）
S7	江西樟树天齐堂中药饮片有限公司（批号 2011004）	S34	北京时珍堂药业有限公司（批号 201601003）
S8	江西福瑞中药饮片有限公司（批号 2207001）	S35	广东天诚中药饮片有限公司（批号 180101）
S9	四川省中药材饮片厂（批号 171205）	S36	重庆渝和堂药业有限公司（批号 220101）
S10	山西振东道地药材开发有限公司（批号 20201101）	S37	四川国强中药饮片有限公司（批号 20120303）
S11	华逸中药饮片有限公司中药饮片厂（批号 221101）	S38	安国市旭芳中药材经营有限公司（批号 20180710）
S12	安徽汇中州中药饮片有限公司（批号 180103）	S39	榆林市广济堂中药开发有限责任公司（批号 18012608）
S13	安徽省金芙蓉药业有限公司（批号 20171228）	S40	榆林市广济堂中药开发有限责任公司（批号 18012603）
S14	广东源森泰药业有限公司（批号 190501）	S41	陕西铎耀饮片有限公司（批号 180701）
S15	四川五芝中药饮片有限公司（批号 200401）	S42	榆林市广济堂中药开发有限责任公司（批号 18022503）
S16	四川省天府神龙中药饮片有限公司（批号 200101）	S43	榆林市广济堂中药开发有限责任公司（批号 18012605）
S17	安国市广济堂药业有限公司（批号 17100502）	S44	榆林市广济堂中药开发有限责任公司（批号 18022508）
S18	安国市旭芳中药材经营有限公司（批号 20180411）	S45	实验室自制（批号 2018111401）
S19	安国祁安药业有限公司（批号 180901）	S46	实验室自制（批号 2018111402）
S20	内蒙古聚诚中药饮片有限公司（批号 20160313）	S47	实验室自制（批号 2018111403）
S21	四川皓博药业有限公司（批号 171101）	S48	实验室自制（批号 2018111904）
S22	广东天诚中药饮片有限公司（批号 170301）	S49	实验室自制（批号 2018111905）
S23	康美药业股份有限公司（批号 180404421）	S50	实验室自制（批号 2018111906）
S24	安徽汇中州中药饮片有限公司（批号 170301）	S51	实验室自制（批号 2018111907）
S25	陕西铎耀饮片有限公司（批号 180901）	S52	实验室自制（批号 2018111908）
S26	安徽省金芙蓉药业有限公司（批号 20180326）	S53	实验室自制（批号 2018111909）
S27	安徽省金芙蓉药业有限公司（批号 20180920）		

2.2 对照品溶液的制备

分别精密称取对照品绿原酸、新绿原酸、隐绿原酸、异绿原酸 A、异绿原酸 B、异绿原酸 C、款冬酮、咖啡酸、槲皮素、芦丁、没食子酸、阿魏酸、金丝桃苷、山柰酚对照品适量，加入甲醇溶解，配制成质量浓度分别为 1.00、0.09、0.30、0.65、0.40、0.50、0.30、0.06、0.21、0.33、0.21、0.21、0.18、0.11 mg/mL 的混合对照品溶液。

2.3 色谱条件

Agilent 5 TC-C₁₈ 色谱柱（250 mm×4.6 mm，5 μm）；流动相为乙腈（A）-0.1 %磷酸水溶液（B），梯度洗脱：0~14 min，15%~25% A；14~20 min，

25%~35% A；20~23 min，35%~75% A；23~24 min，75%~85% A；24~30 min，85%~93% A；30~40 min，93%~100% A；体积流量 1.0 mL/min；检测波长 240 nm；柱温 30 ℃；进样体积 10 μL。

2.4 HPLC 指纹图谱方法学考察

2.4.1 空白试验 精密吸取甲醇溶液 10 μL 作为空白溶液，注入高效液相色谱仪，按“2.3”项下色谱条件进行测定。结果表明，空白溶液对测定结果无干扰。

2.4.2 精密度试验 精密吸取“2.1”项下供试品溶液（S1），以“2.3”项下色谱条件连续进样 6 次，以色谱峰 11（异绿原酸 B）为参照峰，计算各共有

峰相对保留时间和相对峰面积的 RSD 值均小于 1.8 %，表明仪器精密度高。

2.4.3 重复性试验 精密称取同一批蜜款冬花粉末 (S1) 6 份，按“2.1”项下方法制备 6 份供试品溶液，按“2.3”项下色谱条件进样，以色谱峰 11 (异绿原酸 B) 为参照峰，计算各共有峰相对保留时间和相对峰面积的 RSD 值均小于 2.5%。

2.4.4 稳定性试验 取蜜款冬花粉末 1 份 (S1)，按“2.1”项下方法制备供试品溶液，分别在制备的第 0、2、4、8、12、24 h 按“2.3”项下色谱条件进样，以色谱峰 11 (异绿原酸 B) 为参照峰，计算各共有峰相对保留时间和相对峰面积的 RSD 值均小于 2.8 %，表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.5 HPLC 指纹图谱构建

将 53 批蜜款冬花色谱图导入中药色谱指纹图谱相似度评价系统 (2004 A)，以 S1 为参照图谱，经多点校正及峰匹配生成叠加指纹图谱。叠加指纹图谱及对照指纹图谱见图 1 和图 2。

53 批样品标定了 24 个共有峰，指认了 14 个成分峰。以生成的对照指纹图谱峰为参照峰，计算相似度，结果见表 2。与对照图谱进行比较，S1~S28、S31~S53 的相似度均在 0.9 以上，表明这 51 批样品的质量相对稳定，但各成分的含量存在较大的差异；S29 和 S30 相似度低于 0.9，表明 S29、S30 与其他批次样品存在一定差异。

2.6 蜜款冬花含量测定

2.6.1 线性关系考察 精密吸取“2.2”项下混合对照品溶液 2.5、5.0、7.5、10.0、12.5、15.0、17.5 μL，以“2.3”项下色谱条件进样，记录 14 种对照品峰

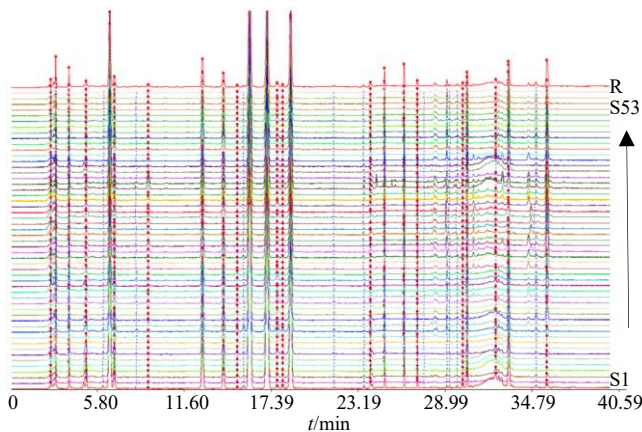
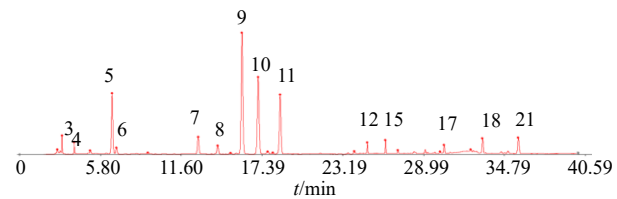


图 1 53 批蜜款冬花样品的指纹图谱叠加图
Fig. 1 Fingerprints of 53 batches of honeyed *Farfarae Flos*



3-没食子酸; 4-新绿原酸; 5-绿原酸; 6-隐绿原酸; 7-咖啡酸; 8-芦丁; 9-金丝桃苷; 10-阿魏酸; 11-异绿原酸 B; 12-异绿原酸 A; 15-异绿原酸 C; 17-槲皮素; 18-山柰酚; 21-款冬酮。
3-gallic acid; 4-neochlorogenic acid; 5-chlorogenic acid; 6-cryptochlorogenic acid; 7-caffeic acid; 8-rutin; 9-hydenonoside; 10-ferulic acid; 11-isochlorogenic acid B; 12-isochlorogenic acid A; 15-isochlorogenic acid C; 17-quercetin; 18-kaempferide; 21-tussilagone.

图 2 蜜款冬花的对照指纹图谱
Fig. 2 Control fingerprint of honeyed *Farfarae Flos*

表 2 53 批样品的相似度评价结果
Table 2 Similarity evaluation results of 53 batches of honeyed *Farfarae Flos*

编号	相似度	编号	相似度
S1	0.990	S28	0.992
S2	0.994	S29	0.763
S3	0.993	S30	0.805
S4	0.973	S31	0.987
S5	0.988	S32	0.961
S6	0.990	S33	0.990
S7	0.993	S34	0.978
S8	0.994	S35	0.987
S9	0.991	S36	0.938
S10	0.996	S37	0.940
S11	0.988	S38	0.991
S12	0.997	S39	0.970
S13	0.994	S40	0.978
S14	0.994	S41	0.969
S15	0.973	S42	0.996
S16	0.993	S43	0.995
S17	0.992	S44	0.996
S18	0.982	S45	0.995
S19	0.996	S46	0.997
S20	0.984	S47	0.997
S21	0.983	S48	0.992
S22	0.943	S49	0.995
S23	0.931	S50	0.991
S24	0.989	S51	0.995
S25	0.988	S52	0.994
S26	0.977	S53	0.994
S27	0.984		

面积，以最小二乘法进行线性回归，线性关系见表 3。结果表明，14 种化学成分在相应质量范围内有良好的线性关系。

2.6.2 精密度试验 精密吸取“2.1”项下供试品溶液，以“2.3”项下色谱条件连续进样 6 次，计算 14 种化学成分峰面积 RSD 值均小于 1.98%，表明仪器

精密度良好。

2.6.3 重复性试验 精密称取同一批蜜款冬花粉末 6 份，按“2.1”项下制备 6 份供试品溶液，按“2.3”项下色谱条件进样，计算 14 种化学成分峰面积 RSD 值均小于 2.10%，表明该方法重复性良好。

2.6.4 稳定性试验 取蜜款冬花粉末 1 份（S44），

表 3 14 种化学成分线性关系考察结果

Table 3 Results of a linear relationship investigation of 14 chemical components

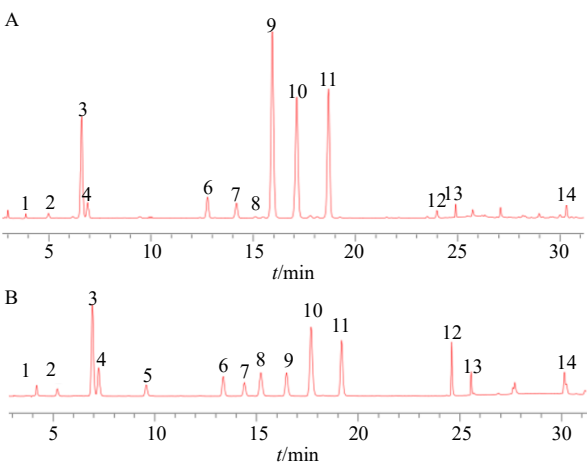
成分	回归方程	r^2	线性范围/ μg
没食子酸	$Y=760\,464\,X+26\,331$	0.999 5	0.529 5~3.706 5
新绿原酸	$Y=2\times 10^6\,X+31\,145$	0.999 3	0.217 5~1.522 5
绿原酸	$Y=2\times 10^6\,X+352\,297$	0.999 2	2.490 0~17.430 0
隐绿原酸	$Y=3\times 10^6\,X+1\,577.7$	0.999 4	0.752 5~5.267 5
咖啡酸	$Y=4\times 10^6\,X-81\,480$	0.999 4	0.156 2~1.093 8
芦丁	$Y=1\times 10^6\,X-168\,902$	0.999 1	0.829 5~5.806 5
金丝桃苷	$Y=2\times 10^6\,X-129\,677$	0.999 2	0.453 5~3.181 5
阿魏酸	$Y=3\times 10^6\,X-310\,608$	0.999 3	0.528 0~3.696 0
异绿原酸 B	$Y=2\times 10^6\,X-276\,910$	0.999 2	1.012 5~7.087 5
异绿原酸 A	$Y=3\times 10^6\,X-489\,884$	0.999 4	1.612 5~11.287 5
异绿原酸 C	$Y=3\times 10^6\,X-424\,161$	0.999 2	1.255 0~8.785 0
槲皮素	$Y=6\times 10^6\,X-178\,391$	0.999 4	0.267 0~1.869 0
山柰酚	$Y=1\times 10^6\,X+19\,072$	0.999 3	0.520 5~3.643 5
款冬酮	$Y=1\times 10^6\,X+45\,003$	0.999 0	0.747 0~5.229 0

按“2.1”项下方法制备供试品溶液，分别在制备的第 0、2、4、8、12、24 h 按“2.3”项下色谱条件进样，得 14 种化学成分峰面积，计算 RSD 值均小于 2.26%，表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.6.5 加样回收率试验 精密称取 6 份已知成分含量的同一批蜜款冬花粉末 0.5 g，分别在已知成分含量的样品里加入该样品量的 50%、100%、150% 的对照品，以“2.1”要求制得样品加标溶液，按“2.3”项下色谱条件进样，计算得平均加样回收率均在 95%~105%，RSD 值均小于 3.46%，表明实验方法准确度良好。

2.6.6 样品含量测定 按“2.1”项下方法制备供试品溶液，按“2.3”项下色谱条件进样，得到 14 个成分峰面积，计算各成分含量。对照品和样品的色谱图见图 3，含量测定结果见表 4。

由表 4 可知，53 批蜜款冬花所含没食子酸质量分数为 0.015%~0.174%；新绿原酸质量分数为 0.004%~0.055%；绿原酸质量分数为 0.003%~0.639%；隐绿原酸质量分数为 0.006%~0.054%；咖啡酸质量分数为 0.006%~0.036%；芦丁质量分数为 0.094%~0.550%；金丝桃苷质量分数为 0.026%~



1-没食子酸；2-新绿原酸；3-绿原酸；4-隐绿原酸；5-咖啡酸；6-芦丁；7-金丝桃苷；8-阿魏酸；9-异绿原酸 B；10-异绿原酸 A；11-异绿原酸 C；12-槲皮素；13-山柰酚；14-款冬酮。
1-gallic acid；2-neochlorogenic acid；3-chlorogenic acid；4-cryptochlorogenic acid；5-caffeic acid；6-rutin；7-hydenonoside；8-ferulic acid；9-isochlorogenic acid B；10-isochlorogenic acid A；11-isochlorogenic acid C；12-quercetin；13-kaempferide；14-tussilagone.

图 3 蜜款冬花样品 (A) 及混合对照品 (B) HPLC 图
Fig. 3 HPLC chromatograms of *Farfarae Flos* sample (A) and multi-component reference substances (B)

表 4 蜜款冬花含量测定结果 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)Table 4 Content determination results of 53 batches of honeyed *Farfarae Flos* ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

编号	质量分数/%					
	没食子酸	新绿原酸	绿原酸	隐绿原酸	咖啡酸	芦丁
S1	0.093±0.008	0.015±0.002	0.412±0.014	0.036±0.005	0.006±0.001	0.403±0.025
S2	0.068±0.005	0.045±0.002	0.301±0.017	0.026±0.003	0.007±0.002	0.298±0.023
S3	0.095±0.006	0.013±0.002	0.353±0.018	0.036±0.002	0.006±0.001	0.343±0.027
S4	0.094±0.011	0.012±0.001	0.288±0.012	0.031±0.002	0.006±0.001	0.303±0.023
S5	0.085±0.008	0.015±0.001	0.385±0.015	0.030±0.002	0.006±0.001	0.365±0.026
S6	0.070±0.006	0.015±0.002	0.393±0.014	0.030±0.002	0.006±0.002	0.321±0.027
S7	0.092±0.008	0.043±0.007	0.333±0.014	0.027±0.004	0.006±0.002	0.325±0.027
S8	0.067±0.005	0.017±0.004	0.419±0.011	0.033±0.004	0.007±0.002	0.401±0.028
S9	0.051±0.006	0.035±0.002	0.520±0.013	0.054±0.004	0.006±0.001	0.413±0.024
S10	0.051±0.005	0.012±0.001	0.277±0.012	0.023±0.001	0.008±0.001	0.219±0.011
S11	0.060±0.005	0.040±0.002	0.541±0.015	0.047±0.005	0.007±0.002	0.550±0.023
S12	0.081±0.008	0.055±0.003	0.260±0.015	0.026±0.001	0.017±0.004	0.281±0.015
S13	0.082±0.007	0.010±0.001	0.304±0.014	0.026±0.002	0.008±0.001	0.235±0.013
S14	0.022±0.003	0.006±0.001	0.174±0.012	0.016±0.001	0.007±0.001	0.156±0.014
S15	0.066±0.008	0.032±0.005	0.339±0.013	0.039±0.002	0.007±0.002	0.296±0.017
S16	0.053±0.002	0.013±0.002	0.351±0.013	0.025±0.005	0.009±0.002	0.230±0.016
S17	0.039±0.002	0.027±0.005	0.313±0.015	0.036±0.003	0.012±0.003	0.332±0.017
S18	0.174±0.015	0.038±0.007	0.199±0.012	0.021±0.002	0.007±0.002	0.180±0.015
S19	0.028±0.003	0.016±0.002	0.269±0.013	0.028±0.004	0.007±0.001	0.272±0.012
S20	0.042±0.002	0.015±0.002	0.330±0.003	0.021±0.004	0.008±0.001	0.237±0.012
S21	0.069±0.005	0.030±0.004	0.273±0.013	0.016±0.002	0.007±0.001	0.180±0.013
S22	0.096±0.004	0.009±0.002	0.051±0.012	0.016±0.002	0.008±0.001	0.208±0.014
S23	0.096±0.004	0.004±0.001	0.058±0.013	0.015±0.002	0.009±0.002	0.173±0.015
S24	0.035±0.004	0.005±0.001	0.136±0.014	0.017±0.003	0.006±0.001	0.178±0.015
S25	0.030±0.002	0.018±0.002	0.192±0.013	0.026±0.005	0.011±0.002	0.344±0.017
S26	0.061±0.003	0.012±0.002	0.122±0.013	0.017±0.001	0.015±0.002	0.212±0.015
S27	0.061±0.005	0.007±0.001	0.262±0.015	0.021±0.003	0.008±0.001	0.332±0.016
S28	0.094±0.008	0.018±0.002	0.337±0.016	0.029±0.001	0.008±0.001	0.303±0.016
S29	0.111±0.015	0.005±0.001	0.024±0.011	0.006±0.001	0.009±0.001	0.094±0.012
S30	0.059±0.004	0.009±0.001	0.003±0.011	0.008±0.001	0.013±0.003	0.147±0.026
S31	0.126±0.007	0.028±0.003	0.239±0.016	0.026±0.003	0.013±0.003	0.347±0.015
S32	0.050±0.002	0.006±0.001	0.061±0.012	0.014±0.002	0.013±0.001	0.168±0.024
S33	0.053±0.002	0.015±0.002	0.235±0.015	0.025±0.003	0.007±0.002	0.303±0.026
S34	0.081±0.005	0.011±0.002	0.164±0.002	0.020±0.002	0.014±0.003	0.254±0.023
S35	0.063±0.006	0.013±0.002	0.247±0.012	0.024±0.004	0.010±0.002	0.307±0.025
S36	0.122±0.011	0.017±0.003	0.639±0.017	0.028±0.004	0.036±0.004	0.336±0.027
S37	0.043±0.003	0.010±0.002	0.327±0.017	0.017±0.004	0.028±0.003	0.235±0.025
S38	0.055±0.005	0.018±0.003	0.180±0.012	0.021±0.002	0.007±0.002	0.218±0.025
S39	0.081±0.010	0.006±0.001	0.168±0.012	0.018±0.002	0.006±0.001	0.222±0.012
S40	0.106±0.013	0.009±0.001	0.238±0.017	0.021±0.002	0.006±0.001	0.255±0.022
S41	0.055±0.008	0.009±0.001	0.136±0.016	0.015±0.002	0.009±0.001	0.171±0.022
S42	0.015±0.001	0.012±0.002	0.332±0.016	0.028±0.003	0.007±0.001	0.370±0.023
S43	0.027±0.001	0.019±0.003	0.417±0.017	0.032±0.003	0.007±0.001	0.441±0.025
S44	0.038±0.003	0.021±0.004	0.428±0.016	0.036±0.002	0.007±0.001	0.453±0.022
S45	0.028±0.001	0.009±0.001	0.295±0.015	0.022±0.004	0.009±0.002	0.208±0.028
S46	0.028±0.002	0.010±0.003	0.268±0.015	0.022±0.004	0.008±0.001	0.211±0.015
S47	0.033±0.001	0.011±0.003	0.293±0.014	0.022±0.002	0.008±0.001	0.198±0.013
S48	0.026±0.001	0.009±0.003	0.346±0.014	0.023±0.002	0.008±0.001	0.208±0.014
S49	0.016±0.001	0.006±0.002	0.191±0.023	0.018±0.003	0.008±0.002	0.179±0.012
S50	0.025±0.002	0.009±0.002	0.293±0.013	0.020±0.003	0.008±0.001	0.179±0.012
S51	0.026±0.002	0.010±0.002	0.320±0.014	0.024±0.002	0.008±0.002	0.223±0.013
S52	0.024±0.001	0.008±0.001	0.275±0.014	0.020±0.001	0.008±0.001	0.180±0.015
S53	0.022±0.003	0.007±0.001	0.275±0.015	0.021±0.004	0.009±0.002	0.208±0.016
平均值	0.062	0.016	0.275	0.024	0.009	0.268
P	0.549	0.000	0.222	0.098	0.000	0.014

表 4 (续)

编号	质量分数/%						
	阿魏酸	异绿原酸 B	异绿原酸 A	异绿原酸 C	槲皮素	山柰酚	款冬酮
S1	0.033±0.003	1.403±0.122	0.590±0.027	0.461±0.025	0.017±0.003	0.078±0.013	0.073±0.003
S2	0.034±0.003	1.024±0.130	0.465±0.026	0.351±0.031	0.015±0.003	0.054±0.011	0.072±0.004
S3	0.035±0.003	1.285±0.229	0.590±0.026	0.425±0.037	0.018±0.003	0.047±0.011	0.076±0.003
S4	0.034±0.002	1.137±0.208	0.476±0.025	0.374±0.025	0.017±0.003	0.048±0.012	0.071±0.003
S5	0.033±0.001	1.308±0.211	0.548±0.025	0.425±0.033	0.015±0.002	0.102±0.024	0.070±0.003
S6	0.034±0.001	1.256±0.310	0.553±0.035	0.422±0.025	0.015±0.002	0.056±0.012	0.070±0.003
S7	0.037±0.001	1.185±0.213	0.484±0.025	0.400±0.035	0.015±0.002	0.062±0.012	0.060±0.002
S8	0.035±0.001	1.462±0.211	0.631±0.036	0.487±0.025	0.016±0.003	0.080±0.014	0.075±0.004
S9	0.037±0.002	1.729±0.314	0.665±0.025	0.565±0.033	0.019±0.003	0.069±0.012	0.090±0.013
S10	0.041±0.002	0.850±0.049	0.412±0.025	0.276±0.021	0.013±0.002	0.028±0.002	0.071±0.004
S11	0.041±0.002	1.223±0.150	0.723±0.037	0.437±0.027	0.015±0.002	0.043±0.011	0.059±0.002
S12	0.033±0.002	0.854±0.107	0.406±0.035	0.315±0.022	0.013±0.001	0.070±0.014	0.070±0.002
S13	0.032±0.002	0.884±0.108	0.436±0.046	0.294±0.023	0.013±0.001	0.069±0.014	0.071±0.002
S14	0.037±0.001	0.616±0.098	0.315±0.035	0.203±0.023	0.010±0.001	0.035±0.011	0.070±0.002
S15	0.039±0.001	1.603±0.123	0.459±0.025	0.479±0.025	0.018±0.004	0.058±0.012	0.081±0.013
S16	0.038±0.002	0.891±0.088	0.487±0.016	0.291±0.027	0.011±0.002	0.029±0.005	0.078±0.002
S17	0.035±0.002	1.408±0.111	0.569±0.026	0.462±0.025	0.017±0.003	0.051±0.002	0.071±0.008
S18	0.038±0.002	0.695±0.087	0.309±0.005	0.250±0.024	0.012±0.002	0.048±0.001	0.066±0.002
S19	0.033±0.001	0.869±0.097	0.425±0.024	0.311±0.027	0.011±0.002	0.047±0.002	0.072±0.003
S20	0.037±0.001	0.760±0.097	0.497±0.015	0.246±0.023	0.012±0.001	0.038±0.002	0.073±0.002
S21	0.040±0.002	0.655±0.098	0.388±0.022	0.202±0.022	0.012±0.002	0.029±0.003	0.088±0.008
S22	0.034±0.001	0.472±0.086	0.213±0.026	0.184±0.011	0.010±0.001	0.043±0.008	0.054±0.005
S23	0.032±0.001	0.432±0.087	0.220±0.024	0.177±0.025	0.011±0.001	0.047±0.005	0.070±0.002
S24	0.035±0.002	0.605±0.097	0.279±0.022	0.210±0.025	0.011±0.001	0.052±0.003	0.057±0.002
S25	0.033±0.001	1.008±0.088	0.443±0.022	0.358±0.027	0.016±0.003	0.036±0.002	0.041±0.001
S26	0.035±0.002	0.667±0.087	0.314±0.021	0.239±0.028	0.013±0.002	0.031±0.003	0.081±0.003
S27	0.032±0.001	0.790±0.079	0.449±0.022	0.283±0.027	0.012±0.001	0.064±0.008	0.037±0.001
S28	0.034±0.002	1.045±0.109	0.479±0.023	0.361±0.025	0.015±0.002	0.069±0.008	0.080±0.003
S29	0.031±0.001	0.154±0.108	0.128±0.022	0.092±0.026	0.009±0.001	0.007±0.001	0.036±0.001
S30	0.033±0.002	0.230±0.105	0.138±0.022	0.119±0.025	0.009±0.001	0.052±0.004	0.034±0.004
S31	0.034±0.001	1.033±0.107	0.486±0.044	0.387±0.028	0.015±0.003	0.052±0.004	0.042±0.005
S32	0.032±0.001	0.447±0.086	0.213±0.041	0.184±0.023	0.011±0.001	0.042±0.004	0.023±0.003
S33	0.036±0.001	0.897±0.088	0.378±0.022	0.284±0.027	0.011±0.002	0.048±0.004	0.064±0.002
S34	0.032±0.001	0.689±0.047	0.353±0.061	0.266±0.027	0.012±0.002	0.039±0.001	0.070±0.002
S35	0.033±0.001	0.992±0.088	0.416±0.042	0.344±0.028	0.015±0.002	0.061±0.003	0.071±0.002
S36	0.032±0.001	0.874±0.088	0.825±0.047	0.427±0.028	0.012±0.002	0.014±0.002	0.114±0.014
S37	0.031±0.001	0.634±0.057	0.570±0.044	0.316±0.027	0.014±0.002	0.086±0.004	0.121±0.015
S38	0.033±0.001	0.791±0.057	0.341±0.053	0.272±0.028	0.013±0.002	0.039±0.002	0.057±0.001
S39	0.035±0.001	0.906±0.087	0.333±0.052	0.293±0.024	0.012±0.002	0.078±0.002	0.075±0.003
S40	0.033±0.001	0.960±0.088	0.384±0.052	0.324±0.029	0.014±0.003	0.088±0.008	0.075±0.013
S41	0.034±0.001	0.560±0.077	0.268±0.052	0.215±0.022	0.010±0.001	0.029±0.001	0.090±0.014
S42	0.034±0.001	1.020±0.079	0.535±0.082	0.368±0.014	0.014±0.001	0.060±0.002	0.071±0.003
S43	0.034±0.001	1.172±0.108	0.643±0.003	0.422±0.025	0.015±0.001	0.071±0.004	0.071±0.013
S44	0.035±0.001	1.313±0.109	0.666±0.083	0.468±0.039	0.015±0.003	0.071±0.004	0.077±0.013
S45	0.034±0.001	0.864±0.089	0.457±0.073	0.275±0.023	0.012±0.001	0.044±0.001	0.076±0.013
S46	0.035±0.001	0.924±0.089	0.454±0.084	0.288±0.022	0.012±0.001	0.033±0.001	0.077±0.013
S47	0.036±0.001	0.892±0.098	0.442±0.085	0.291±0.021	0.012±0.001	0.042±0.001	0.072±0.013
S48	0.036±0.001	0.869±0.096	0.487±0.075	0.278±0.022	0.011±0.001	0.028±0.001	0.084±0.013
S49	0.036±0.001	0.746±0.058	0.383±0.071	0.233±0.022	0.011±0.001	0.027±0.001	0.079±0.014
S50	0.036±0.001	0.770±0.087	0.443±0.072	0.247±0.026	0.011±0.001	0.042±0.001	0.074±0.013
S51	0.037±0.001	0.923±0.079	0.486±0.082	0.289±0.002	0.012±0.002	0.036±0.001	0.087±0.013
S52	0.032±0.002	0.825±0.069	0.436±0.087	0.257±0.025	0.011±0.001	0.020±0.001	0.076±0.003
S53	0.032±0.002	0.782±0.088	0.435±0.086	0.250±0.027	0.011±0.001	0.027±0.001	0.077±0.003
平均值	0.035	0.913	0.444	0.315	0.013	0.049	0.071
P	0.003	0.122	0.076	0.028	0.000	0.279	0.000

0.144%；阿魏酸质量分数为 0.031%~0.041%；异绿原酸 B 质量分数为 0.230%~1.729%；异绿原酸 A 质量分数为 0.128%~0.825%；异绿原酸 C 质量分数为 0.092%~0.565%；槲皮素质量分数为 0.009%~0.019%；山柰酚质量分数为 0.007%~0.102%；款冬酮质量分数为 0.023%~0.121%。由此可知，蜜款冬花中各成分含量存在明显差异，其中异绿原酸 B 含量最高，其次为异绿原酸 A、异绿原酸 C、绿原酸、芦丁，再次为金丝桃苷、款冬酮、没食子酸、山柰酚、阿魏酸、隐绿原酸、新绿原酸、槲皮素，咖啡酸含量最低。

将 14 个成分的含量测定结果导入 Hiplot 科研绘图平台，得到聚类热图，见图 4（颜色由蓝到红表示含量由低到高）。结果表明 53 批样品聚成 2 类，其中 S1~S9、S11~S12、S15、S17、S25、S28、S31、S35~S37、S42~44 聚为第 1 类，剩余 31 批聚为第 2 类。第 1 类样品中的异绿原酸 A、异绿原酸 B、异绿原酸 C、槲皮素、芦丁、绿原酸、隐绿原酸含量高于第 2 类。

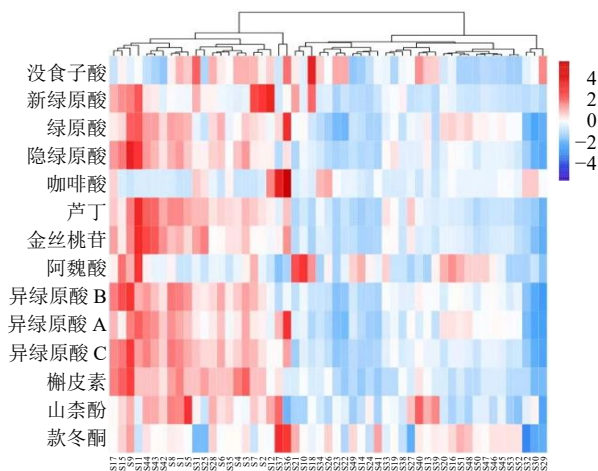


图 4 聚类热图分析

Fig. 4 Cluster heatmap analysis

2.7 化学模式识别分析

2.7.1 聚类分析 (cluster analysis, HCA) 将 53 批样品中 24 个共有峰峰面积导入 SPSS 26.0 进行 HCA，见图 5。当欧式平方距离为 20 时，53 批样品可以划分成 2 类，S1~S9、S11~S12、S15、S17、S25、S28、S31、S36~S37、S39~S40、S42~S44 为第 1 类；S10、S13~S14、S16、S18~S24、S26~S27、S29~S30、S32~S35、S38、S41、S45~S53 为第 2 类。结果表明，不同批次蜜款冬花质量存在

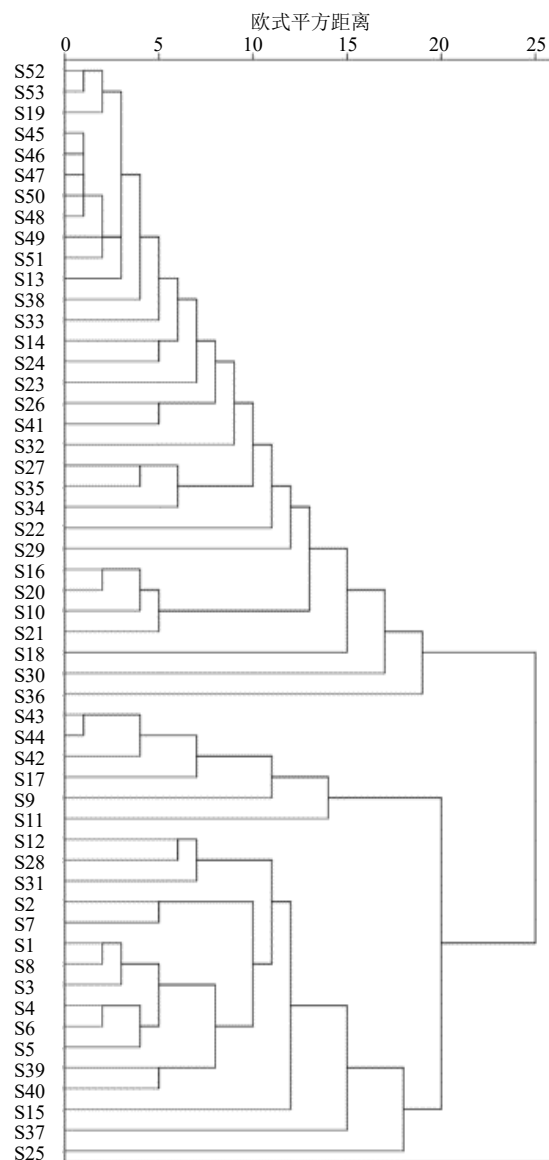


图 5 蜜款冬花饮片聚类分析

Fig. 5 Results of hierarchical cluster analysis of 53 batches of honeyed *Farfarae Flos*

一定差异。

2.7.2 主成分分析 (principal component analysis, PCA) 将 24 个共有峰峰面积导入 SIMCA 14.1 进行 PCA，主成分特征值及累积方差贡献率见表 5。前 6 个主成分累积贡献率达到 82.457%，表明前 6 个主成分在反映样品基本特征中占主导作用，能够评价不同批次蜜款冬花的质量。

由表 6 可知，第 1 主成分主要代表了峰 1~17、19、23~24；第 2 主成分主要代表了峰 1、6、8~9、11~13、16~18、20~22、24；第 3 主成分主要代表了峰 1~2、7、9、13~19；第 4 主成分主要代

表 5 蜜款冬花样品主成分特征值及累积方差贡献率

Table 5 Eigenvalue and cumulative contribution

主成分	初始特征值			提取载荷平方和		
	总计	方差百分比/%	累积方差贡献率%	总计	方差百分比/%	累积方差贡献率%
1	9.286	38.694	38.694	9.286	38.694	38.694
2	3.711	15.463	54.157	3.711	15.463	54.157
3	2.241	9.336	63.492	2.241	9.336	63.492
4	1.730	7.208	70.700	1.730	7.208	70.700
5	1.657	6.904	77.604	1.657	6.904	77.604
6	1.165	4.853	82.457	1.165	4.853	82.457

表 6 蜜款冬花中初始因子载荷矩阵

Table 6 Load matrix of factors of honeyed *Farfarae Flos*

峰号	化合物名称	载荷					
		1	2	3	4	5	6
1	未知成分 1	0.967	0.066	0.002	-0.070	-0.074	-0.018
2	未知成分 2	0.933	-0.081	0.029	-0.026	-0.14	-0.074
3	没食子酸	0.914	-0.060	-0.234	-0.026	0.226	-0.034
4	新绿原酸	0.913	-0.009	-0.087	-0.162	-0.070	0.108
5	绿原酸	0.909	-0.171	-0.137	0.022	0.193	-0.073
6	隐绿原酸	0.899	0.139	-0.016	-0.247	-0.170	0.065
7	咖啡酸	0.884	-0.041	0.073	-0.019	-0.222	0.152
8	芦丁	0.868	0.055	-0.078	-0.351	0.002	0.206
9	金丝桃苷	0.861	0.127	0.178	-0.017	-0.180	0.022
10	阿魏酸	0.749	-0.184	-0.031	0.360	-0.016	-0.349
11	异绿原酸 B	0.633	0.552	-0.044	0.146	-0.033	-0.048
12	异绿原酸 A	0.313	0.798	-0.115	0.276	0.031	-0.028
13	未知成分 3	0.158	0.758	0.121	0.289	-0.080	-0.024
14	未知成分 4	0.186	-0.740	0.352	0.104	0.235	0.322
15	异绿原酸 C	0.283	-0.708	0.442	0.118	0.171	0.278
16	槲皮素	0.083	0.476	0.401	-0.271	-0.075	0.066
17	山柰酚	0.057	0.451	0.737	0.013	0.269	-0.112
18	未知成分 5	-0.154	0.285	0.708	-0.049	0.349	-0.250
19	未知成分 6	0.531	-0.047	0.564	0.073	0.089	0.181
20	未知成分 7	-0.060	0.229	-0.076	0.630	-0.206	0.583
21	款冬酮	-0.412	0.439	-0.061	-0.486	0.080	0.436
22	未知成分 8	-0.016	0.497	-0.291	0.103	0.662	0.330
23	未知成分 9	0.403	-0.146	-0.261	0.451	0.594	-0.093
24	未知成分 10	0.223	0.021	-0.284	-0.499	0.536	-0.069

表了峰 5、10~15、17、19~20、22~23；第 5 主成分主要代表了峰 3、5、8、12、14~15、17~19、21~24；第 6 主成分主要代表了峰 4、6~9、14~16、19~22。由 PCA 得分图可知，53 批样品大致分成两类，其结果与 HCA 结果基本一致，见图 6。

2.7.3 正交偏最小二乘法 (orthogonal partial least squares-discriminant analysis, OPLS-DA) 为了验证组间分类所体现的质量差异，利用 SIMCA 14.1 软件进行 OPLS-DA 分析。

建立的 OPLS-DA 模型 R^2X 为 0.838， R^2Y 为

0.835， Q^2 为 0.744， R^2 和 Q^2 大于 0.5，该模型具有较好的预测能力。由图 7 可知，OPLS-DA 结果与 HCA 和 PCA 一致。以 $VIP > 1$ 为标准筛选出 6 个质量差异标志物，分别为异绿原酸 B、异绿原酸 A、异绿原酸 C、绿原酸、10 号峰、芦丁，表明 6 个成分的含量在不同批次蜜款冬花中差异较大，且异绿原酸 B、异绿原酸 A、异绿原酸 C、绿原酸、芦丁 5 个成分也是来自聚类热图中的组间差异性成分，有待挖掘其作为评价蜜款冬花质量的指标成分，结果见图 8。

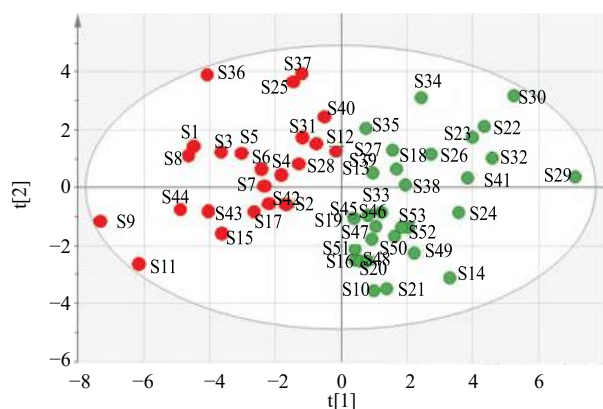


图 6 蜜款冬花样品 PCA 得分图

Fig. 6 PCA scatter plot of 53 batches of honeyed *Farfarae Flos*

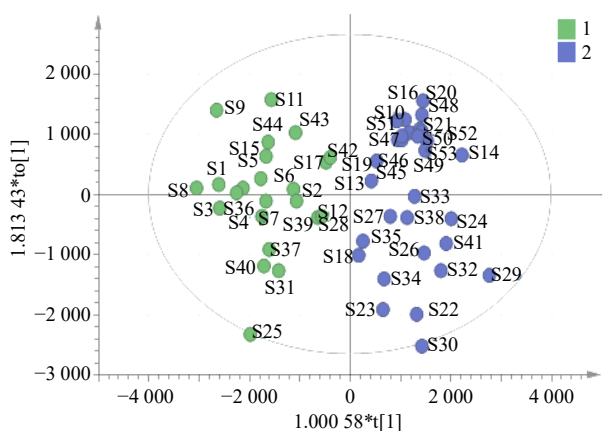


图 7 PLS-DA 得分图

Fig. 7 Score plot of OPLS-DA

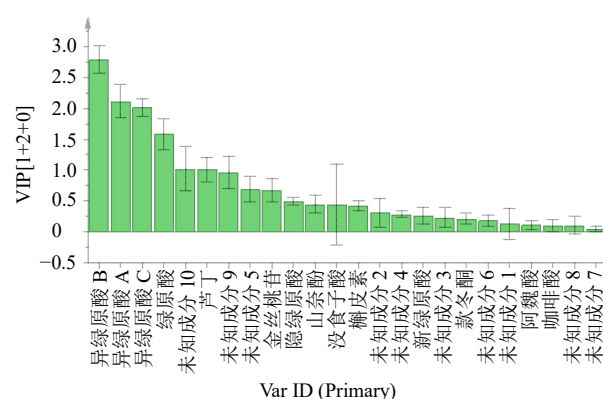


图 8 差异标志物的 VIP ($\bar{x} \pm s, n = 24$)

Fig. 8 VIP of differential markers ($\bar{x} \pm s, n = 24$)

3 讨论

本实验对不同色谱柱 Agilent 5 TC-C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm) 和 Waters symmetry C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 4 种流动相系统 (甲醇-水、

甲醇-0.1%磷酸水、乙腈-水、乙腈-0.1%磷酸水), 4 个检测波长 (220、240、254、365 nm) 和 3 种柱温 (25、28、30 °C) 进行了考察。最终确定色谱条件为 Agilent 5 TC-C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为乙腈-0.1%磷酸水溶液, 检测波长 240 nm, 柱温 30 °C 时, 色谱峰数量多, 峰形、分离度较好。含量测定结果表明, 蜜款冬花中各成分含量存在明显差异, 其中异绿原酸 B 含量最高, 其次为异绿原酸 A、异绿原酸 C、绿原酸、芦丁, 而金丝桃苷、款冬酮、没食子酸、山柰酚、阿魏酸、隐绿原酸、新绿原酸、槲皮素, 咖啡酸含量最低。有文献报道温度对咖啡酸影响较大^[15], 如史勤怡等^[16]炮制紫苏子时发现随着温度升高其咖啡酸含量逐渐降低。款冬花经蜜水炒时温度升高, 可能导致咖啡酸含量降低, 因此蜜炙过程中应控制炮制温度, 以降低咖啡酸的分解。结合聚类热图分析, 样品分成 2 类, 第 1 类样品中的异绿原酸 A、异绿原酸 B、异绿原酸 C、槲皮素、芦丁、绿原酸、隐绿原酸含量高于第 2 类, 而其中异绿原酸 A、异绿原酸 B、异绿原酸 C、芦丁、绿原酸均来自 OPLS-DA 筛选的差异性成分。

第 1 类的 22 批样品中有 13 批来自甘肃, 甘肃作为款冬花主要生产、加工及销售地区^[17], 表明产地对蜜款冬花质量有直接影响。

在 53 批蜜款冬花指纹图谱中标定了 24 个共有峰, 指认了 14 个成分峰, 除 S29、S30, 其余 51 批样品相似度均>0.9, 表明大部分样品成分组成相似, 但各成分的含量存在较大的差异, 推测可能与药材质量、饮片炮制加工方式不同、辅料来源与炼制程度不同等因素有关。HCA 和 PCA 将 53 批样品大致分成 2 类, 前 6 个主成分累积贡献率达到 82.457%, 表明前 6 个主成分可反映不同批次蜜款冬花的基本特征。在此基础上, 通过 OPLS-DA 筛选了 6 个可作为评价蜜款冬花质量的差异标志物, 其中指认了 5 个成分, 分别为异绿原酸 B、异绿原酸 A、异绿原酸 C、绿原酸、芦丁, 10 号峰有待后续进一步定性研究。文献研究报道, 异绿原酸 B、异绿原酸 A、异绿原酸 C 及绿原酸均属于酚酸类成分, 具有缓解气管痉挛, 镇咳平喘的药理作用^[18]; 芦丁属于黄酮类成分, 具有止咳^[18]、抗炎^[19]、抗氧化^[20]的药理作用, 与蜜款冬花“润肺止咳”的功效相吻合, 推测这 5 个成分可能与蜜款冬花药理活性密切相关, 可为下一步的药效物质基础研究提供参考。也有研究证明款冬花中的黄酮、酚酸类成分可以作为款冬花

炮制品质量标志物的筛选指标^[12], 与本研究结果相符。因此, 本研究以异绿原酸 B、异绿原酸 A、异绿原酸 C、绿原酸、芦丁作为评价蜜款冬花质量的指标性成分。

综上, 本研究建立了不同批次蜜款冬花的 HPLC 指纹图谱, 测定了 14 个有效成分含量, 结合化学模式识别法筛选出异绿原酸 B、异绿原酸 A、异绿原酸 C、绿原酸、芦丁在内的 6 个差异性成分。建立的综合评价方法能够较全面反映蜜款冬花的质量, 为其饮片质量控制研究提供了理论依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 346.
- [2] 李明晓, 周臻, 田素英, 等. 正交试验优选甘草制款冬花的炮制减毒工艺 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(18): 17-20.
- [3] 吴琪珍. 款冬花炮制后咖啡酰奎宁酸类化合物含量变化研究 [J]. 亚太传统医药, 2021, 17(10): 38-41.
- [4] 管珂, 李耀磊, 王丹丹, 等. UPLC-MS/MS 法测定炮制前后款冬花中款冬碱的含量 [J]. 中国民族民间医药, 2021, 30(20): 28-31.
- [5] 颜爽, 何宇新, 毛正睿, 等. 蜜炙款冬花质量标准研究 [J]. 西华大学学报: 自然科学版, 2019, 38(3): 68-72.
- [6] 王福刚, 曹娟, 齐永秀, 等. HPLC 法测定蜜炙款冬花中 4 种黄酮类成分 [J]. 中成药, 2012, 34(7): 1333-1336.
- [7] 朱龙涛, 祝婧, 钟凌云, 等. 蜜炙款冬花中总黄酮的提取工艺优化及不同产地含量测定 [A] // 中华中医药学会中药炮制分会 2011 年学术年会论文集 [C] 贵阳: 中华中医药学会中药炮制分会, 2016.
- [8] 杨冰月, 罗瑶, 姬海月, 等. 基于 HS-GC-IMS 技术分析款冬花蜜炙前后挥发性有机物的差异性 [J]. 中草药, 2022, 53(6): 1854-1861.
- [9] 李娟, 张松, 秦雪梅, 等. 基于 NMR 代谢组学技术的款冬花生品与蜜炙品化学成分比较 [J]. 中草药, 2015, 46(20): 3009-3016.
- [10] 李红军, 王增绘, 李文涛, 等. UPLC-Q-TOF/MS 法分析款冬花蜜炙前后的化学成分变化 [J]. 中国药房, 2015, 26(6): 792-794.
- [11] 林鑫, 李成义, 贾妙婷, 等. 款冬花化学成分和药理作用研究进展及其质量标志物预测分析 [J]. 中华中医药学刊, 2022, 37(5): 1-26.
- [12] 侯阿娇, 郭新月, 满文静, 等. 款冬花的化学成分及药理作用研究进展 [J]. 中医药信息, 2019, 36(1): 107-112.
- [13] 杨冰月, 彭亮, 颜永刚, 等. HPLC 指纹图谱结合化学模式识别分析不同产地款冬花生品与蜜炙品 [J]. 中草药, 2018, 49(21): 4991-4997.
- [14] 赵婷. 款冬花标准化建设之二——蜜款冬花炮制工艺及其质量标准研究 [D]. 西安: 陕西中医药大学, 2019.
- [15] 卢紫娟, 王玉龙, 王旭峰, 等. 不同干燥方式对款冬花主要化学成分的影响 [J]. 中国药学杂志, 2020, 55(11): 895-899.
- [16] 史勤怡, 张倩玉, 刘莉, 等. 不同炮制方法对紫苏子中咖啡酸、迷迭香酸、木犀草素和芹菜素含量变化的影响 [J]. 中医药导报, 2021, 27(11): 83-86.
- [17] 师立伟, 李美玲, 崔秀文, 等. 39 个居群款冬花综合质量评价及影响因素分析 [J]. 中草药, 2022, 53(12): 3784-3792.
- [18] Yang L, Jiang H, Wang S, et al. Discovering the major antitussive, expectorant, and anti-inflammatory bioactive constituents in *Tussilago farfara* L. based on the spectrum-effect relationship combined with chemometrics [J]. *Molecules*, 2020, 25(3): 620.
- [19] Li Z Y, Zhi H J, Zhang F S, et al. Metabolomic profiling of the antitussive and expectorant plant *Tussilago farfara* L. by nuclear magnetic resonance spectroscopy and multivariate data analysis [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2013, 75: 158-164.
- [20] 陈苏丹, 崔运启, 李秀珍, 等. 款冬叶片总黄酮提取工艺优化及抗氧化活性研究 [J]. 北方园艺, 2021(1): 108-115.

[责任编辑 时圣明]