

基于 HPLC 指纹图谱和多成分定量结合化学模式识别的白薇质量评价

龚婕^{1,3}, 姚芙^{2#}, 厉晓^{1,3}, 丁婵^{1,3}, 彭思源^{1,3}, 熊文惠^{1,3}, 浦子牛^{1,3}, 崔培梧^{1,3*}

1. 湖南中医药大学药学院 菌物药研究室, 湖南 长沙 410208

2. 沈阳药科大学药学院, 辽宁 沈阳 110016

3. 国家中医药管理局中药药性与药效三级科研实验室, 湖南 长沙 410208

摘要: 目的 建立白薇 *Cynanchi Atrati Radix* 高效液相色谱 (high performance liquid chromatography, HPLC) 指纹图谱和多成分含量测定方法, 结合化学模式识别评价其质量。方法 采用 Waters-Symmetry-C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm) 色谱柱, 以乙腈-0.1%磷酸水为流动相梯度洗脱, 体积流量为 1.0 mL/min, 柱温为 25 °C, 进样量为 20 μL, 采集波长为 270、310 nm。通过中药指纹图谱相似度分析软件及化学模式识别对 26 批白薇饮片进行分析, 并同时采用外标法测定其中尿苷、对羟基苯乙酮和 2,4-二羟基苯乙酮含量。结果 26 批白薇饮片指纹图谱标定了 14 个共有峰, 确认了其中 3 个共有峰, 分别为尿苷 (5 号峰)、对羟基苯乙酮 (9 号峰)、2,4-二羟基苯乙酮 (12 号峰), 相似度为 0.626~1.000; 依据聚类分析 (cluster analysis, CA)、主成分分析 (principal component analysis, PCA) 和偏最小二乘法-判别分析 (partial least squares-discriminant analysis, OPLS-DA) 结果可将 26 批白薇饮片分为 2 大类, 筛选出 4 个主成分, 累积贡献率 80.652%。白薇饮片中尿苷、对羟基苯乙酮和 2,4-二羟基苯乙酮质量分数分别为 0.14~0.29、1.74~2.74、0.25~0.49 mg/g。结论 建立的白薇 HPLC 指纹图谱分析操作简单、结果可靠, 为白薇资源及其相关产品的品质评价提供了依据。

关键词: 白薇; 指纹图谱; 含量测定; 尿苷; 对羟基苯乙酮; 2,4-二羟基苯乙酮; 质量评价

中图分类号: R286.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2025)15-5578-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.15.023

Quality evaluation of *Cynanchi Atrati Radix et Rhizoma* by HPLC fingerprint and multi-components determination combined with chemical pattern recognition

GONG Jie^{1,3}, YAO Fu², LI Xiao^{1,3}, DING Chan^{1,3}, PENG Siyuan^{1,3}, XIONG Wenhui^{1,3}, PU Ziniu^{1,3}, CUI Peiwu^{1,3}

1. Mycomedicine Research Lab, School of Pharmacy, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China

2. School of Pharmacy, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China

3. Tertiary Research Lab of TCM Property & Efficacy, National Administration of TCM, Changsha 410208, China

Abstract: Objective A high performance liquid chromatography (HPLC) fingerprint and multi-components content determination method was established quality control of Baiwei (*Cynanchi Atrati Radix et Rhizoma*) combined with chemical pattern recognition. **Methods** The HPLC method was performed on an Agilent 1200 series instrument equipped with a Waters-Symmetry-C₁₈ (250 mm × 4.6 mm) column employing a gradient elution procedure with acetonitrile and 0.1% phosphoric acid in water as the mobile phase. The working parameters were set as follows: the volume flow rate at 1.0 mL/min, the column temperature at 25 °C, the injection volume at 20 μL, and the acquisition wavelengths at 270 nm and 310 nm, respectively. Totally 26 batches of *Cynanchi Atrati Radix et Rhizoma* decoction pieces were analyzed by fingerprint similarity analysis software and chemical pattern recognition, and the contents of uridine, *p*-hydroxyacetophenone and 2,4-dihydroxyacetophenone were simultaneously determined by external standard method. **Results** The fingerprints of 26 batches of *Cynanchi Atrati Radix et Rhizoma* decoction pieces were characterized and 14 common peaks were pointed out, three of which were identified as uridine

收稿日期: 2024-12-03

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81973211/C0033375); 湖南省自然科学基金资助项目 (2024JJ8168); 2023 年度国家药品标准修订研究课题 (2023Z03); 湖南中医药大学“十四五”重点学科-生物工程学科 (校行发规字 [2023] 2 号)

作者简介: 龚婕 (2002—), 硕士研究生, 研究方向为中药活性物质挖掘及生物合成。E-mail: 1329393737@qq.com

#共同第一作者: 姚芙 (2006—), 女, 在读本科生, 研究方向为药物制剂及药效物质分析。E-mail: fuyaoresearch0520@outlook.com

*通信作者: 崔培梧, 副教授, 硕士生导师, 主要从事中药/菌物药药效物质挖掘、质量控制相关研究。E-mail: cuipeiwu@126.com

(peak 5), *p*-hydroxyacetophenone (peak 9), and 2,4-dihydroxyacetophenone (peak 12), with the similarity ranging from 0.626 to 1.000, respectively. Through cluster analysis (CA), principal component analysis (PCA) and partial least squares-discriminant analysis (OPLS-DA), the 26 batches of *Cynanchi Atrati Radix et Rhizoma* samples can be classified into two major groups, and four principal components were screened out, with a cumulative contribution rate of 80.652%. The contents of uridine, *p*-hydroxyacetophenone and 2,4-dihydroxyacetophenone in the tested decoction pieces were ranged from 0.14 mg/g to 0.29 mg/g, from 1.74 mg/g to 2.74 mg/g and from 0.25 mg/g to 0.49 mg/g, respectively. **Conclusion** The established HPLC fingerprint analytical method for qualitative and quantitative control of *Cynanchi Atrati Radix et Rhizoma* is simple and reliable, which could provide a basis for the quality evaluation of *Cynanchi Atrati Radix et Rhizoma* resources and the related products.

Key words: *Cynanchi Atrati Radix et Rhizoma*; fingerprint; content determination; uridine; *p*-hydroxyacetophenone; 2,4-dihydroxyacetophenone; quality evaluation

白薇为萝藦科鹅绒藤属植物直立白薇 *Cynanchum atratum* Bge.和蔓生白薇 *C. versicolor* Bge.的干燥根及根茎,在我国有悠久的药用历史,其性寒,味苦、咸,具有清热凉血、利尿通淋、解毒疗疮等多种功效,可用于温邪伤营发热、阴虚发热、骨蒸劳热、产后血虚发热、热淋、血淋、痈疽肿毒等病症的治疗^[1]。研究表明白薇主要化学成分包括 C₂₁ 甙体皂苷类^[2]、挥发油类^[3]、生物碱类^[4]、芳香类^[5]以及脂肪酸类^[6]等,是其发挥退热^[7]、抗炎^[8]、调节细胞凋亡^[9]、神经保护^[10]、抗肿瘤^[11]等活性的重要物质基础。

结合中药多成分、多靶点特征开展中药质量评价研究对于中药品质控制和科学用药均具有重要意义。

《中国药典》2020年版仅收录了白薇外观和性状的鉴别方法,对其化学成分的定性和定量方面无明确要求,虽然基于薄层色谱和高效液相色谱(high performance liquid chromatography, HPLC)分析的白薇化学成分鉴别和含量测定相关研究已有一些报道^[12-16],但鲜见有关白薇多种成分定性定量分析及 HPLC 指纹图谱研究的文献,而中药 HPLC 指纹图谱的整体性、模糊性特征可实现对中药化学成分的整理性评价,将中药 HPLC 指纹图谱与多成分定量及化学模式识别已成为对中药质量进行综合评价的重要手段^[17-18]。基于此,本研究采用 HPLC 法建立了可对白薇饮片多成分进行分析的 HPLC 指纹图谱,并结合化学模式识别、聚类分析(cluster analysis, CA)、主成分分析(principal component analysis, PCA)、偏最小二乘法判别分析(partial least squares-discriminant analysis, OPLS-DA)^[19]进行综合评价,同时考察了不同产地白薇饮片中3种成分的含量差异,为白薇质量控制和评价方法、标准的完善与提升提供了科学依据。

1 仪器与材料

1.1 仪器

Agilent 1200 型高效液相色谱仪、Waters-

Symmetry-C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm) 色谱柱、EX224ZH 型电子分析天平(d=0.01 mg, 美国 OHAUS 公司)、JS-40 型超声波清洗仪(常州鸿泽实验科技有限公司)。

1.2 试剂与药品

乙腈为色谱纯,水为纯净水,其余试剂均为分析纯。对照品尿苷(批号 M02HS176753,质量分数 99%)购自成都麦德生物科技有限公司、对羟基苯乙酮(批号 CRN0600,质量分数 98%)、2,4-二羟基苯乙酮(批号 CRN1203,质量分数 98%)均购自湖北萃园生物科技股份有限公司。26 批白薇饮片经湖南中医药大学第一附属医院张裕民主任药师鉴定均为萝藦科植物直立白薇 *C. atratum* Bge.的干燥根和根茎,均符合《中国药典》2020 年版白薇饮片项下的规定,饮片来源信息见表 1。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱 Waters-Symmetry-C₁₈ (250 mm×2.0 mm, 5 μm); 流动相为乙腈(A)-0.1%磷酸水溶液(B),梯度洗脱:0~10 min, 0%A; 10~12 min, 0~4%A; 12~14 min, 4%A; 14~15 min, 4%~5%A; 15~26 min, 5%A; 26~45 min, 5%~27%A; 45~63 min, 27%A; 63~65 min, 27%~1%A; 检测波长为 0~40 min, 270 nm; 40~50 min, 310 nm; 50~65 min, 270 nm; 柱温 25 °C; 进样量 20 μL; 体积流量 1.0 mL/min。

2.2 对照品溶液的制备

精密称取各对照品适量,加纯水溶解制成含对羟基苯乙酮、2,4-二羟基苯乙酮、尿苷对照品质量浓度分别为 117.78、14.44、13.33 μg/mL 的混合对照品溶液,备用。

2.3 供试品溶液的制备

取白薇样品粉末(过筛)约 1.0 g,精密称定,

表1 白薇饮片基本信息

Table 1 Sample information of *Cynanchi Atrati Radix et Rhizoma* decoction pieces

编号	批号	产地(市或县)
S1	H20701	辽宁
S2	2304051	辽宁
S3	2301045	辽宁
S4	23050806	辽宁
S5	22072004	辽宁
S6	20230904	辽宁
S7	230401	辽宁
S8	2022030902	辽宁
S9	230530	辽宁
S10	22123104	辽宁
S11	22123102	安徽
S12	2206002	安徽
S13	2302001	安徽
S14	22052103-1	山东
S15	22052103-2	山东
S16	22052103-3	山东
S17	210301-1	湖南
S18	210301-2	湖南
S19	210301-3	湖南
S20	20230703-1	河北
S21	230501	河北
S22	2211112	吉林
S23	2303140202	吉林
S24	2203010202	吉林
S25	2209040222	吉林
S26	23070496	吉林

置 100 mL 具塞锥形瓶中,精密加入 20 mL 纯化水,密塞,称定质量,超声 30 min 处理(功率 250 W、40 kHz),放冷,再称定质量,用纯化水补足减失质量,滤过,经 12 000 r/min 离心 10 min,取上清液,即得。

2.4 指纹图谱的建立

2.4.1 专属性试验 分别精密吸取含有尿苷、对羟基苯乙酮和 2,4-二羟基苯乙酮的混合对照品溶液、白薇供试品溶液(S1)按“2.1”项下确定的色谱条件测定。

2.4.2 精密度试验 取白薇饮片(S1)供试品粉末 1 份,按“2.3”项下方法制备供试品溶液,按“2.1”项下确定的色谱条件下连续进样 6 次,以峰形对称且响应值较大的 9 号峰对羟基苯乙酮为参照峰(S),计算各共有指纹峰与 S 峰的相对保留时间和相对峰面积 RSD 值,分别小于 1.8%、2.4%,表明仪器精密度良好。

2.4.3 重复性试验 取白薇饮片(S1)供试品粉末 6 份,按“2.3”项下确定的方法平行制备 6 份供试

品溶液,按“2.1”项下确定的色谱条件分别进样测定,以 9 号峰对羟基苯乙酮为参照峰(S),计算各共有指纹峰与 S 峰的相对保留时间和相对峰面积 RSD 值,分别小于 2.8%、2.6%,表明该方法重复性良好。

2.4.4 稳定性试验 取白薇饮片(S1)供试品粉末 1 份,按“2.3”项下确定的方法制备供试品溶液,按“2.1”项下确定的色谱条件分别于 0、2、4、8、12、16、24 h 进样分析,以 9 号峰对羟基苯乙酮为参照峰(S),计算各共有指纹峰与 S 峰的相对保留时间和相对峰面积 RSD 值,分别小于 2.8%、2.5%,表明该方法稳定性良好。

2.4.5 HPLC 指纹图谱的建立及共有峰标定 取白薇饮片粉末,按“2.3”项下方法制备供试品溶液,采用“2.1”项下确定的色谱条件进行分析,记录各批次白薇饮片的色谱图,并将 26 批白薇饮片色谱分析数据导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012 版)”以生成白薇饮片的叠加色谱图和对照指纹图谱(图 1),白薇饮片的对照指纹图谱及混合对照品 HPLC 色谱图见图 2。由图 1 和 2 可知,26 批白薇饮片样品色谱图中典型的共有色谱峰有 14 个,采用与对照品的保留时间并结合紫外吸收光谱图对比,指认了其中 3 个共有峰,分别为尿苷(5 号峰)、对羟基苯乙酮(9 号峰)、2,4-二羟基苯乙酮(12 号峰)。

2.4.6 相似度评价 采用“中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012 版)”软件计算 26 批次白薇饮片的相似度,将数据导入 Origin 2021 软件绘制相关系数数图(图 3),红色表示正相关,蓝色表示负相关,颜色越深,相关性就越大,圈的朝向代表正负相关性,圈越大越圆表示相关系数绝对值越小,数值越大代表

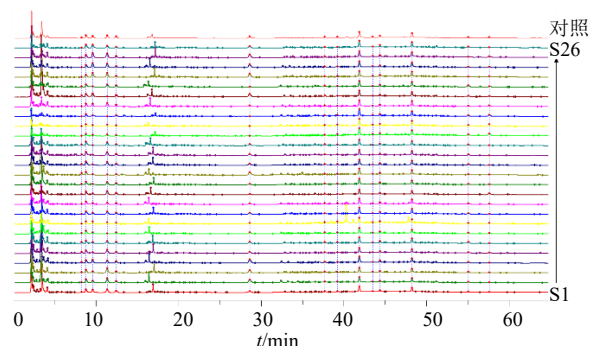
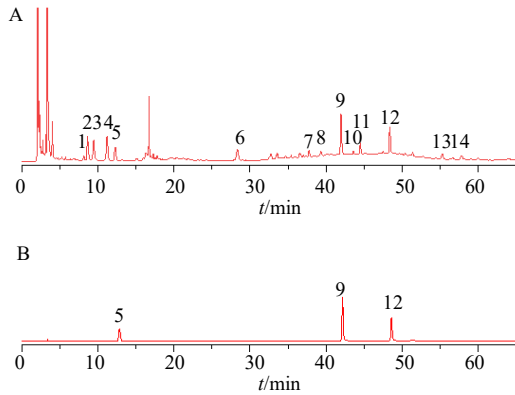


图1 26批白薇饮片 HPLC 指纹图谱

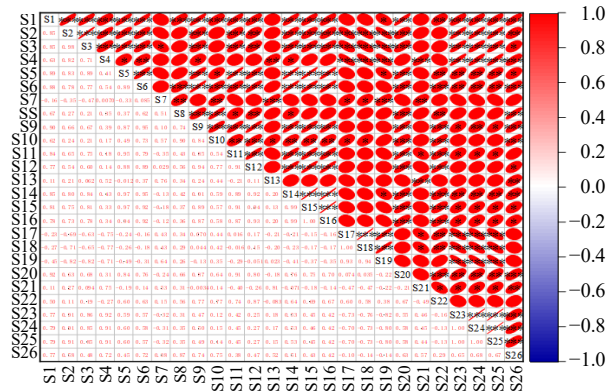
Fig. 1 HPLC fingerprint of 26 batches of *Cynanchi Atrati Radix et Rhizoma* decoction pieces



5-尿苷; 9-对羟基苯乙酮; 12-2,4-二羟基苯乙酮。

5-uridine; 9-*p*-hydroxyacetophenone; 12-2,4-dihydroxyacetophenone.

图2 白薇样品 (A) 及混合对照品 (B) 高效液相色谱图
Fig. 2 Chromatogram of *Cynanchi Atrati Radix et Rhizoma* decoction piece sample (A) and mixed references (B)



* $P \leq 0.05$, ** $P \leq 0.01$, *** $P \leq 0.001$.

图3 26批白薇饮片的相关系数图

Fig. 3 Correlation coefficient diagram of 26 batches of *Cynanchi Atrati Radix et Rhizoma* decoction pieces

相关性越接近, P 值代表样品相关性显著程度。根据 26 批白薇饮片指纹图谱中的相似度数据绘制的相关系数图显示, 26 个批次的白薇饮片整体相似度在 0.626~1.000, 相似度有较大波动情况, 表明不同产地、不同批次的白薇饮片样品质量存在着较大差异。

2.5 化学模式识别

2.5.1 CA 运用 Origin 2021 软件将 26 批白薇饮片指纹图谱中 14 个共有峰面积作为 CA 的源数据导入软件中进行筛选, 行标签为 26 个批次白薇饮片编号, 列标签为 14 个共有峰, 其中已对 3 个共有峰进行了指认, 分别对行 (图 4) 和列进行标准化 (图 5), 色带由红至蓝表示 14 个共有峰面积在不同批次白薇饮片中的差异程度。结果显示, 26 批白薇

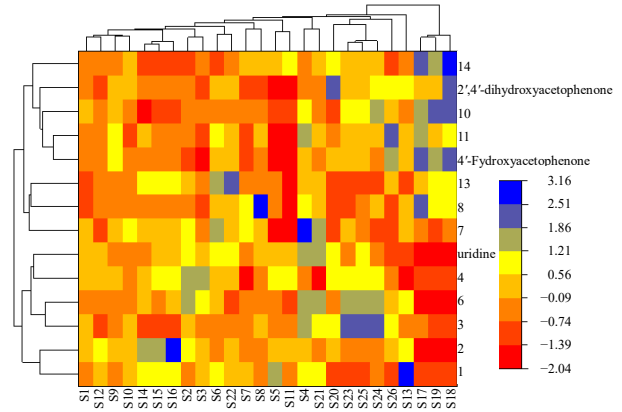


图4 26批样品聚类分析热图 (标准化行)

Fig. 4 Heat map for cluster analysis of 26 batches of samples (standardization line)

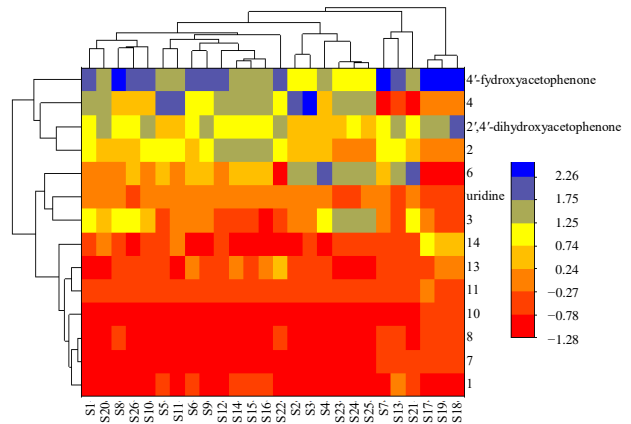


图5 26批样品聚类分析热图 (标准化列)

Fig. 5 Heat map for cluster analysis of 26 batches of samples (standardization column)

饮片被分为 2 个大类, 其中湖南产地的白薇饮片被单独聚为一类, 说明饮片质量具有一定地域性差异, 地理环境接近的区域生长的白薇比较相似。

2.5.2 PCA PCA 通过降维的思想在损失较少信息的前提下将多个互相关联的变量转化成少数几个互不相关的综合指标统计学方法, 将所测 26 批次白薇饮片的 14 个共有峰峰面积为原始数据导入 SIMCA 14.1 和 SPSS 25.0 软件进行 PCA^[20], 得到 PCA 得分图 (图 6), 可知 26 批样品均在 95% 置信区间内, 其中 S17~S19 分布相对集中, S1~16、S20~S26 分布相对集中, 表明 26 批次白薇饮片质量存在着较大差异, 与 CA 结果基本一致。

以 26 批白薇饮片 HPLC 指纹图谱的共有峰面积为变量, 使用 SPSS 25.0 软件通过降维进行因子

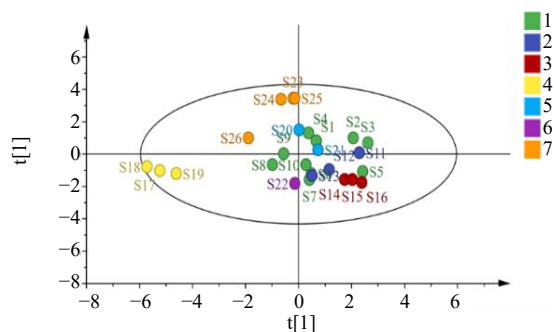


图 6 26 批白薇样品的主成分分析得分图

Fig. 6 Score plot for principal component analysis of 26 batches of *Cynanchi Atrati Radix et Rhizoma* decoction pieces

分析, 以主成分特征值 > 1 为提取标准共提取了 4 个主成分, 结果如表 2、3 所示。其中主成分 1 的特征值为 5.014, 方差贡献率为 35.818%, 主要反映了 1~2、5、8、9~12 号峰的信息; 主成分 2 的特征值为 2.629, 方差贡献率为 18.780%, 主要反映了 3、4、6、13 号峰的信息; 主成分 3 的特征值为 2.354, 方差贡献率为 16.811%, 主要反映了 7、11 号峰的信息; 主成分 4 的特征值为 1.294, 方差贡献率为 9.244%, 主要反映了 8 号峰的信息。特征向量越大, 原始变量对主成分的贡献信息就越多, 4 个主成分的累积方差贡献率为 80.652%, 表明这 4 个主成分能够反映白薇饮片提

表 2 PCA 特征值及方差贡献率

Table 2 PCA eigenvalue and variance contribution rate

成分	初始特征值			提取载荷平方和		
	特征值	方差贡献率/%	累积方差贡献率/%	特征值	方差贡献率/%	累积方差贡献率/%
1	5.014	35.818	35.818	5.014	35.818	35.818
2	2.629	18.780	54.598	2.629	18.780	54.598
3	2.354	16.811	71.409	2.354	16.811	71.409
4	1.294	9.244	80.652	1.294	9.244	80.652

表 3 PCA 因子载荷矩阵

Table 3 PCA factor loading matrix

成分	主成分 1	主成分 2	主成分 3	主成分 4
峰 1	-0.550	-0.430	0.362	-0.093
峰 2	-0.764	-0.254	0.173	0.434
峰 3	0.028	0.919	0.258	-0.119
峰 4	-0.466	0.490	-0.300	0.348
尿苷 (峰 5)	-0.724	0.256	0.240	-0.213
峰 6	-0.457	0.643	0.495	-0.100
峰 7	-0.119	-0.057	0.870	-0.286
峰 8	0.566	-0.365	0.292	-0.497
对羟基苯乙酮 (峰 9)	0.908	-0.012	0.223	0.294
峰 10	0.828	0.392	0.076	-0.145
峰 11	0.623	0.118	0.636	0.314
2,4-二羟基苯乙酮 (峰 12)	0.577	0.288	0.227	0.488
峰 13	0.202	-0.654	0.405	0.272
峰 14	0.757	0.038	-0.465	-0.244

取的大部分信息, 即可以用 4 个主成分代替指纹图谱 14 个共有峰评价白薇饮片, 也提示多个成分影响了白薇饮片质量。

2.5.3 OPLS-DA 相较于 PCA, OPLS-DA 对相关

性较小的变量更为敏感, 结合聚类分析及 PCA 结果, 将 26 批白薇饮片分为 2 大类, 以 14 个共有峰的峰面积作为因变量, 不同批次作为自变量通过 OPLS-DA 进行分析, 结果见图 7-A, 其相关性亦与

CA 结果基本一致。再采用变量重要性投影值 (variable importance in projection, VIP) 筛选差异成分, VIP 值是筛选差异化合物的重要指标, VIP 值越高, 对组间差异的影响越大^[21], 通过对 VIP 值进行分析, 得到差异性标记物的 VIP 得分图, 见图 7-B, 以 $VIP > 1$ 为条件共筛选出 7 个色谱峰, 按大小排序依次为: 共有峰 3、共有峰 10、共有峰 6、共有峰 9 (对羟基苯乙酮)、共有峰 2、

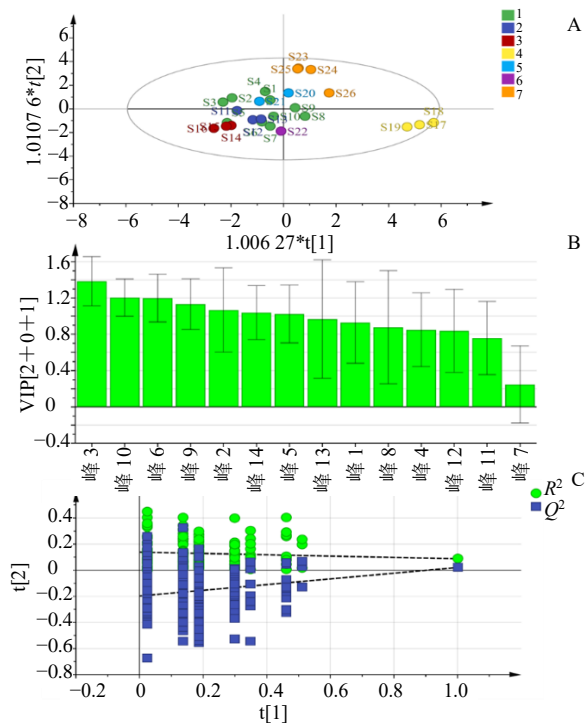


图 7 26 批白薇样品的正交偏最小二乘判别分析的评分图 (A)、VIP 图 (B) 和置换检验图 (C)

Fig. 7 Score plot (A), VIP plot (B) and permutation test (C) for orthogonal partial least squares-discriminant of 26 batches of *Cynanchi Atrati Radix et Rhizoma* decoction pieces

表 4 有效成分的线性回归方程及线性范围

Table 4 Linear regression equations of three components in *Cynanchi Atrati Radix et Rhizoma* decoction pieces

成分	回归方程	R^2	线性范围/ $(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$
尿苷	$Y=41.408 X+10.313$	0.9993	1.33~13.33
对羟基苯乙酮	$Y=11.978 X-12.738$	0.9996	11.78~117.78
2,4-二羟基苯乙酮	$Y=52.746 X-4.5051$	0.9993	1.44~14.44

按“2.3”项下方法制备供试品溶液 6 份, 按“2.1”项下色谱条件进样测定, 记录各成分峰面积, 并计算尿苷、对羟基苯乙酮和 2,4-二羟基苯乙酮质量分数的 RSD 值, 分别为 1.5%、1.9%、1.8%, 表明供试品溶液重复性良好。

共有峰 14、共有峰 5 (尿苷), 均为引起不同批次白薇饮片质量的主要成分。通过 200 次置换检验 (permutation test) ^[22], 见图 7-C, 回归线与纵轴的相交点小于零, 说明该模型不存在过拟合, 模型验证有效, 意味着该结果可用于白薇品质的鉴别分析。

2.6 多指标成分的测定

2.6.1 色谱条件 同“2.1”项。

2.6.2 对照品溶液的制备 同“2.2”项。

2.6.3 供试品溶液的制备 同“2.3”项。

2.6.4 线性方程的绘制 将“2.2”项混合对照品溶液分别稀释至原质量浓度的 1、4/5、3/5、2/5、1/5、1/10 倍得到分别含尿苷: 13.33、10.67、8.00、5.33、2.67、1.33 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 含对羟基苯乙酮: 117.78、94.22、70.67、47.11、23.56、11.78 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 含 2,4-二羟基苯乙酮 14.44、11.56、8.67、5.78、2.89、1.44 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的系列对照品溶液, 注入 HPLC 仪器, 按“2.1”项下色谱方法测定对照品的色谱峰面积。以各对照品质量浓度 (X) 对相应峰面积 (Y) 进行回归处理, 得到 3 个白薇饮片成分的回归方程及线性范围, 如表 4 所示, 结果表明 3 个白薇饮片成分的线性关系良好。

2.6.5 专属性试验 结果表明, 各成分保留时间基本一致, 特征峰紫外吸收光谱高度吻合、各色谱峰分离度均大于 1.5, 见图 2, 表明方法专属性良好。

2.6.6 精密度试验 精密称取同一白薇饮片 (S1), 按“2.3”项下方法制备供试品溶液, 按“2.1”项色谱方法连续进样 6 次, 记录各成分峰面积, 并计算尿苷、对羟基苯乙酮和 2,4-二羟基苯乙酮峰面积 RSD 值, 分别为 1.3%、1.9%、1.3%, 表明仪器精密度良好。

2.6.7 重复性试验 精密称取同一白薇饮片 (S1),

2.6.8 稳定性试验 精密称取同一白薇饮片 (S1), 按“2.3”项下方法制备供试品溶液, 按“2.1”项下色谱条件分别在 0、2、4、6、8、10、12、24 h 进样分析, 记录各成分峰面积, 并计算尿苷、对羟基苯乙酮和 2,4-二羟基苯乙酮峰面积和保留时间 RSD

值,分别为2.5%、1.5%、2.2%和2.6%、0.3%、0.2%,表明供试品溶液在24 h内稳定性良好。

2.6.9 加样回收率试验 精密称取适量已测定含量白薇饮片(S1),按“2.3”项下方法将称样量减半加入对照品溶液,平行制备供试品溶液6份,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录各成分峰面积,计算尿苷、对羟基苯乙酮和2,4-二羟基苯乙酮的平均加样回收率分别为96.4%、100.2%、102.1%,RSD值分别为1.6%、2.2%、1.1%,均小于3.0%。

2.6.10 样品测定 取26批白薇饮片粉末,按“2.3”项下方法制备供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录色谱图,按外标法计算各批次白薇饮片中尿苷、对羟基苯乙酮和2,4-二羟基苯乙酮含量,结果见表5,26批白薇饮片尿苷质量分数在0.14~0.29 mg/g,对羟基苯乙酮质量分数在1.74~2.74 mg/g,2,4-二羟基苯乙酮质量分数在0.25~0.49 mg/g。

表5 样品含量测定结果 (n=3)

Table 5 Content determination results of samples (n=3)

编号	质量分数/(mg·g ⁻¹)		
	尿苷	对羟基苯乙酮	2,4-二羟基苯乙酮
S1	0.24	2.12	0.32
S2	0.27	1.94	0.34
S3	0.25	1.74	0.29
S4	0.29	2.29	0.35
S5	0.25	1.81	0.27
S6	0.26	2.24	0.36
S7	0.22	1.91	0.29
S8	0.25	2.15	0.29
S9	0.21	2.36	0.39
S10	0.21	2.11	0.37
S11	0.24	1.80	0.25
S12	0.24	2.12	0.31
S13	0.17	2.19	0.43
S14	0.22	2.11	0.33
S15	0.22	2.01	0.33
S16	0.25	2.08	0.34
S17	0.14	2.69	0.38
S18	0.15	2.74	0.49
S19	0.14	2.67	0.36
S20	0.28	2.27	0.48
S21	0.28	2.11	0.34
S22	0.26	2.23	0.38
S23	0.22	2.19	0.38
S24	0.22	2.15	0.43
S25	0.26	2.19	0.39
S26	0.17	2.62	0.41

3 讨论

本研究对收集的26批白薇饮片进行了HPLC指纹图谱和多成分含量测定研究,同时为了更好的分析指纹图谱中复杂成分的分布规律和相互作用关系,通过相似度评价、CA、PCA及OPLS-DA化学计量学方法对白薇的质量进行综合评价。实验考察了不同试剂(纯水、不同浓度乙醇、甲醇)、提取方式(超声和回流提取)、提取时间对提取结果的影响,最终选择用纯水超声30 min处理,白薇中对羟基苯乙酮类化合物最大紫外吸收波长在270 nm左右,但将波长锁定在270 nm时,色谱图整体物质较少,部分峰形不好,因此设计了变波长程序。

通过对26批市售白薇饮片中3个成分含量的测定,并采用SPSS、Origin、Simca软件对26批不同产地白薇饮片样品进行相似度分析、CA、PCA和OPLS-DA分析,实现了数据集的可视化和降维,为白薇的全面质量评价提供了参考。

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: 56.
- [2] Zhang Y Q, Yang Y Q, Yan C Z, *et al.* A review of the ethnopharmacology, phytochemistry and pharmacology of *Cynanchum atratum* [J]. *J Ethnopharmacol*, 2022, 284: 114748.
- [3] 苏允思, 张秀云, 郭庆梅. 白薇化学成分及药理作用研究进展 [J]. *中华中医药学刊*, 2021, 39(11): 171-177.
- [4] 陈楚英, 彭旋, 陈金印, 等. 白薇生物碱类成分抑制柑橘采后青霉病菌活性 [J]. *果树学报*, 2019, 36(1): 94-102.
- [5] 袁鹰, 张卫东, 张川, 等. 直立白薇化学成分研究 [J]. *中国中药杂志*, 2007, 32(18): 1895-1898.
- [6] 袁鹰, 张卫东, 柳润辉, 等. 白薇的化学成分和药理研究进展 [J]. *药学实践杂志*, 2007, 25(1): 6-9.
- [7] 薛宝云, 梁爱华, 杨庆, 等. 直立白薇退热抗炎作用 [J]. *中国中药杂志*, 1995, 20(12): 751-752.
- [8] Kim Y Y, Lee S, Jang H J, *et al.* *Cynanchum atratum* ameliorates airway inflammation via maintaining alveolar barrier and regulating mast cell-mediated inflammatory responses [J]. *Am J Chin Med*, 2019, 47(8): 1795-1814.
- [9] Guo M Y, Ren L, Pang X H. Inspecting the true identity of herbal materials from *Cynanchum* using ITS2 barcode [J]. *Front Plant Sci*, 2017, 8: 1945.
- [10] Chen H Y, Chen J Q, Li J Y, *et al.* Deep learning and random forest approach for finding the optimal traditional Chinese medicine formula for treatment of Alzheimer's

- disease [J]. *J Chem Inf Model*, 2019, 59(4): 1605-1623.
- [11] Son S W, Kim H G, Han J M, *et al.* Anti-melanoma activity of *Cynanchi Atrati Radix* is mediated by regulation of NF-kappa B activity and pro-apoptotic proteins [J]. *J Ethnopharmacol*, 2014, 153(1): 250-257.
- [12] 李沁, 张聪, 陈亮, 等. 基于超高效液相色谱指纹图谱、多指标成分定量及化学计量学的小儿感冒颗粒质量评价 [J]. *药物分析杂志*, 2023, 43(9): 1612-1622.
- [13] 王宏洁, 司南, 边宝林. 中药白薇中白薇正苷 A 含量测定 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2005, 11(1): 5-6.
- [14] 王元书, 赵新超, 白虹, 等. HPLC 法测定直立白薇中对羟基苯乙酮和 2,4-二羟基苯乙酮的含量 [J]. *天然产物研究与开发*, 2010, 22(6): 1073-1076.
- [15] 肖功胜, 王永兵, 雷辉, 等. 不同产地白薇中 C21 甾体皂苷的含量测定 [J]. *中国现代应用药学*, 2014, 31(10): 1228-1231.
- [16] 吕永海, 杨赟, 严诗楷, 等. 大孔吸附树脂法富集白薇中总皂苷的工艺研究 [J]. *中国中药杂志*, 2008, 33(12): 1390-1393.
- [17] 黄建猷, 胡筱希, 麦婉婷, 等. 指纹图谱及多成分定量结合化学模式识别法评价不同产地消瘤藤质量 [J]. *中草药*, 2021, 52(14): 4334-4340.
- [18] Liu X Y, Jiang W W, Su M, *et al.* Quality evaluation of traditional Chinese medicines based on fingerprinting [J]. *J Sep Sci*, 2020, 43(1): 6-17.
- [19] 胡力飞, 王冰清, 吴涛, 等. 云南产生姜 UHPLC 指纹图谱及 4 种成分定量分析研究 [J]. *天然产物研究与开发*, 2024, 36(4): 597-606.
- [20] Liu W, Huang L Y, Zhu J S, *et al.* Identification of *Vernonia patula* Merr. and its similar varieties based on a combination of HPLC fingerprinting and chemical pattern recognition [J]. *Molecules*, 2024, 29(7): 1517.
- [21] 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.
- [22] 陆绍铭, 徐鑫, 薛倩倩, 等. 基于超高效液相色谱-紫外检测定量指纹图谱结合化学模式识别的复方金钱草颗粒质量评价 [J]. *色谱*, 2022, 40(12): 1102-1110.

[责任编辑 时圣明]