

## 黄花菜叶多波长指纹图谱的建立及一测多评法测定其中 5 种指标成分

张 菊, 张乾年, 曹阳洋, 韩佳冰, 宋平平, 王燕萍, 胡芳弟\*

兰州大学药学院 功能有机分子化学国家重点实验室, 甘肃 兰州 730000

**摘要:** **目的** 通过指纹图谱分析黄花菜 *Hemerocallis citrina* 叶的特征成分, 进一步对其中指标成分绿原酸、芦丁、槲皮素-3-*O*-葡萄糖苷、槲皮苷、槲皮素进行含量测定, 以期为黄花菜叶利用及其质量评价提供依据。**方法** 采用乙醇提取法制备黄花菜叶提取物, 选用色谱柱 DIKMA spursil C<sub>18</sub> 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为乙腈-0.5%乙酸水, 进样量 10 μL, 检测波长为 190~400 nm, 柱温 30 °C, 体积流量 1 mL/min, 采集时间 80 min; 基于最大吸收波长原则, 分别在时间段 0~5.5 min 和 23~48 min 选择 258 nm, 5.5~23 min 选择 300 nm, 48~80 min 选择 370 nm 作为检测波长, 构建了 3 波长切换指纹图谱。采用一测多评法 (quantitative analysis of multi-components by single-marker, QAMS) 测定黄花菜叶乙醇提取物中绿原酸、芦丁、槲皮素-3-*O*-葡萄糖苷、槲皮苷、槲皮素 5 种酚类成分的含量。**结果** 10 批黄花菜叶的指纹图谱相似度在 0.90 以上, 所构建的 3 波长切换指纹图谱共包括 42 个共有峰 (占总峰面积 90%以上), 其中峰 11、25、26、32、37 被鉴定为绿原酸、芦丁、槲皮素-3-*O*-葡萄糖苷、槲皮苷、槲皮素。以槲皮素 (S) 为内参物, QAMS 法获得绿原酸、芦丁、槲皮素-3-*O*-葡萄糖苷、槲皮苷的相对校正因子分别为 1.402、1.896、1.268、1.221。10 批黄花菜叶中上述 5 种成分的平均含量为 0.079、0.086、0.374、0.325、0.037 mg/g。外标法与 QAMS 法的含量测定结果无显著性差异。**结论** 3 波长切换指纹图谱较任何单一波长指纹图谱所包含的色谱峰数均有显著提升, 所构建的多波长切换指纹图谱可用于黄花菜叶化学成分表征, 进一步构建的 QAMS 法可以一次性实现绿原酸、芦丁、槲皮素-3-*O*-葡萄糖苷、槲皮苷、槲皮素 5 种成分的含量测定, 为全面评价黄花菜叶质量提供了方法学依据和参考。**关键词:** 黄花菜植物叶; HPLC 指纹图谱; 多波长切换; 多成分含量测定; 一测多评; 绿原酸; 芦丁; 槲皮素-3-*O*-葡萄糖苷; 槲皮苷; 槲皮素

中图分类号: R282.6

文献标志码: A

文章编号: 0253 - 2670(2026)09 - 3572 - 07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2026.09.025

## Study on multi-wavelength fingerprints of *Hemerocallis citrina* leaves and five index components by QAMS

ZHANG Ju, ZHANG Qiannian, CAO Yangyang, HAN Jiabing, SONG Pingping, WANG Yanping, HU Fangdi

School of Pharmacy of the State Key Laboratory of Applied Organic Chemistry (SKLAOC), Lanzhou University, Lanzhou 730000, China

**Abstract: Objective** Huanghuacai (*Hemerocallis citrina*) is a traditional vegetable with anti-inflammatory and anti-depressant effects. Its leaves are widely used in Taiwan and other regions to promote sleep, however, there are few reports on its chemical composition. This article aims to analyze the characteristic components of *H. citrina* leaves by fingerprint spectrum and to further determine the content of the index components, including chlorogenic acid, rutin, quercetin-3-*O*-glucoside, quercitrin, and quercetin, providing a basis for better utilization and quality evaluation of *H. citrina* leaves. **Methods** Firstly, the ethanol extraction method was used to prepare *H. citrina* leaves extract. Chromatographic separation was performed by DIKMA spursil C<sub>18</sub> column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) maintained at 30 °C and the mobile phase was acetonitrile-0.5% acetic acid water. The injection volume was 10 μL, the detection wavelength was 190—400 nm and the flow rate was 1 mL/min. Based on the principle of maximum absorption wavelength, the wavelengths of 258 nm was selected in two periods of 0—5.5 and 23—48 min, the wavelengths of 300 and 370 nm were selected in two periods of 5.5—23 and 48—80 min respectively, and a three-wavelength switching fingerprint was constructed. Secondly,

收稿日期: 2025-12-01

**基金项目:** 国家自然科学基金资助项目 (81972018); 国家重点研发计划项目 (2018YFC1706300, 2018YFC17063003); 中央高校基本业务费重点项目和自由探索项目 (lzujbky-2020-sp13, lzujbky-2020-sp25); 甘肃省重点研发计划项目 (20YF2FA019); 甘肃省技术创新引导计划-民生专项 (20CX4FK014); 兰州市人才创新创业项目 (2017-RC115, 2020-RC-41)

**作者简介:** 张菊 (1996—), 女, 硕士研究生, 主要从事中药成分分离分析研究。Tel: 18419151426 E-mail: zhangju19@lzu.edu.cn

**\*通信作者:** 胡芳弟, 教授, 博士生导师, 主要从事中药成分分离分析及中药新药开发研究。E-mail: hufd@lzu.edu.cn

quantitative analysis of multi-components by single marker (QAMS) was used to determine the contents of chlorogenic acid, rutin, quercetin-3-*O*-glucoside, quercetin, and quercitrin in ethanol extract of *H. citrina* leaves. **Results** The similarity of fingerprint spectrums of 10 batches of *H. citrina* leaves was above 0.90, and the three-wavelength switching fingerprint spectrums included 42 common peaks (accounting for more than 90% of the total peak area), of which 11, 25, and 26, 32 and 37 were identified as chlorogenic acid, rutin, quercetin-3-*O*-glucoside, quercitrin, and quercetin. With quercetin (S) as the internal reference, the relative correction factors of chlorogenic acid, rutin, quercetin-3-*O*-glucoside, and quercitrin were obtained by the QAMS as 1.402, 1.896, 1.268, 1.221. The average contents of the above five components in 10 batches of *H. citrina* leaves are 0.079, 0.086, 0.374, 0.325, 0.037 mg/g. There was no significant difference between the external standard method and QAMS. **Conclusion** The three-wavelength switching fingerprint spectrum constructed in this study has significantly increased the number of chromatographic peaks contained in any single wavelength fingerprint spectrum and can be used to characterize the chemical composition of *H. citrina* leaves. The QAMS further constructed can be used to determine the content of chlorogenic acid, rutin, quercetin-3-*O*-glucoside, quercitrin, and quercetin at one time. This study provides a methodological basis and reference for the comprehensive evaluation of *H. citrina* leaves quality.

**Key words:** *Hemerocallis citrina* Baroni. leaves; HPLC fingerprint spectrum; multi-wavelength switching; quantitative analysis of multi-components; QAMS; chlorogenic acid; rutin; quercetin-3-*O*-glucoside; quercitrin

黄花菜为百合科植物黄花菜 *Hemerocallis citrina* Baroni.的全草,又名金针菜<sup>[1]</sup>,黄花菜的根、花和叶在东亚地区作为食物和传统药材已有数千年的历史<sup>[2]</sup>。黄花菜性味甘凉,归心、肝、脾经。利湿热,解郁、凉血。主治小便短赤、黄疸、胸膈烦热、夜少安寐、痔疮出血、疮痈<sup>[3]</sup>。黄花菜具有抗抑郁<sup>[4]</sup>和助睡眠作用<sup>[5-6]</sup>,因此又被称为“忘忧草”<sup>[7]</sup>。黄花菜植物叶子(黄花菜叶)在我国台湾等地区广泛用于促进及改善睡眠。前期植物化学成分研究表明,黄花菜叶含有黄酮、酚酸、酰胺、萜醌类等多种成分<sup>[7-8]</sup>,其中黄酮类化合物具有抑制脂质过氧化的能力<sup>[7]</sup>,酚类是黄花菜改善睡眠的关键化合物<sup>[9]</sup>。目前对黄花菜叶的质量研究鲜有报道,建立有效的黄花菜叶质量评价方法,可为黄花菜叶质量评价和资源开发利用提供参考。

高效液相色谱指纹图谱技术已广泛地运用于各类中药材鉴定和质量评价<sup>[10-11]</sup>。相比于单波长,多波长切换 HPLC 指纹图谱更能使色谱峰达到理想的响应值,更能准确、直观反映多组分下色谱峰的信息<sup>[12]</sup>。目前黄花菜叶的有效成分含量测定尚无具体的标准,中药多成分的复杂性决定了单一成分无法全面控制黄花菜叶的质量。王智民等<sup>[13]</sup>提出一测多评法(quantitative analysis of multi-components by single-marker, QAMS),通过药材有效成分间存在的内在函数和比例关系,可测定一个成分的含量进而实现多个成分的同时测定。

本研究采用 HPLC 法,基于最大吸收波长原则,分别在时间段 0~5.5 min 和 23~48 min 选择 258 nm, 5.5~23 min 选择 300 nm, 48~80 min 选择 370

nm 作为检测波长,构建了 3 波长切换指纹图谱,确定了黄花菜叶指纹图谱中 42 个共有特征峰。运用国家药典委员会颁布的“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”(2004A 版)软件对 10 批次黄花菜叶指纹图谱进行相似度评价,其相似度在 0.90 以上,并指认了其中 5 个酚类成分,建立了相应的一测多评含量测定方法。

## 1 仪器与材料

### 1.1 仪器

Agilent 1260 II 型高效液相色谱仪[配有 DAD 检测器,安捷伦科技(中国)有限公司];CPA225D 型电子分析天平[德国赛多利斯科学仪器(北京)有限公司];N-110 型旋转蒸发器(上海爱朗仪器有限公司);H1650-W 型离心机(湖南湘仪实验室仪器开发有限公司)。

### 1.2 材料

对照品绿原酸(批号 327-97-9)、芦丁(批号 153-18-4)、槲皮苷(批号 522-12-3,质量分数为 98%)、槲皮素-3-*O*-葡萄糖苷(批号 21637-25-2)、槲皮素(批号 117-39-5)均购自宝鸡市辰光生物科技有限公司,质量分数均为 98%。

醋酸乙酯、正丁醇、冰乙酸(天津市百世化工有限公司);无水乙醇(天津市富宇精细化工有限公司);丙酮[利安隆博华(天津)医药化学有限公司]等均为分析纯;乙腈(北京百灵威科技有限公司)为色谱纯;水为娃娃哈纯净水。黄花菜植物叶子样品信息见表 1,由甘肃省中医药大学附属医院杨锡仓主任药师鉴定为百合科植物黄花菜 *H. citrina* Baroni.的鲜叶。

表1 黄花菜叶样品信息

批次	来源	采集时间
S1	湖南祁东县	2024-11-13
S2	甘肃庆阳市	2025-06-30
S3	甘肃庆阳市	2025-07-14
S4	甘肃庆阳市	2025-06-17
S5	甘肃庆阳市	2025-05-18
S6	湖南祁东县	2025-08-16
S7	甘肃庆阳市	2025-05-29
S8	甘肃庆阳市	2025-07-30
S9	湖南祁东县	2024-11-25
S10	湖南祁东县	2025-08-29

## 2 方法与结果

### 2.1 指纹图谱的建立

**2.1.1 色谱条件** 采用 Dikma spursil C<sub>18</sub> 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为 0.5% 乙酸水 (A) - 乙腈 (B), 梯度洗脱 (0~5 min, 5% B; 5~15 min, 5%~15% B; 15~25 min, 15% B; 25~45 min, 15%~25% B; 45~55 min, 25%~55% B; 55~65 min, 55%~90% B; 65~75 min, 90% B; 75~85 min, 90%~5% B), 进样量 10 μL, 检测波长为 0~5.5 min 和 23~48 min 选择 258 nm, 5.5~23 min 选择 300 nm, 48~80 min 选择 370 nm; 柱温 30 °C, 体积流量 1 mL/min。

**2.1.2 对照品溶液的制备** 分别取绿原酸、芦丁、槲皮素-3-*O*-葡萄糖苷、槲皮苷、槲皮素对照品溶液适量, 精密称定, 置 10 mL 量瓶中, 以甲醇定容, 制成浓度依次为 522、606、500、286、284 μg/mL 的混合对照品溶液。

**2.1.3 供试品溶液的制备** 新鲜黄花菜叶晾干, 粉碎, 过 40 目筛。精密称取 5.0 g 黄花菜叶粉末, 加入 75 mL 的 80% 乙醇溶液, 回流提取 1 h, 抽滤, 将滤渣及滤纸放入圆底烧瓶, 再加入 50 mL 的 80% 乙醇溶液, 回流提取 1 h, 抽滤。合并滤液, 回收乙

醇, 将浓缩物置于已干燥至恒定质量的蒸发皿中, 蒸干, 称定质量。精密称取 1.0 g 浸膏, 加入 20 mL 蒸馏水分散, 再用 20 mL 正丁醇萃取 2 次, 合并正丁醇萃取液, 减压浓缩至干, 用甲醇定容至 5 mL 得供试品溶液, 离心, 取上清液过 0.45 μm 滤膜。

**2.1.4 专属性试验** 精密吸取供试品溶液 (S1) 和甲醇溶液各 10 μL, 按“2.1.1”项下色谱条件测定。结果显示, 基线平稳, 无杂峰, 表明稀释剂对色谱峰测定无干扰, 专属性强。

**2.1.5 精密度试验** 取同一供试品溶液 (S1), 进行 HPLC 分析, 连续进样 6 次, 每次 10 μL, 按“2.1.1”项下色谱条件测定, 记录共有峰保留时间和峰面积, 以 37 号峰 (槲皮素) 为参照峰, 结果各共有峰的相对保留时间和相对峰面积的 RSD 值均小于 3%, 表明仪器精密度良好。

**2.1.6 重复性试验** 取黄花菜叶 (S1), 按“2.1.3”方法制备成供试品溶液, 平行 6 份, 按“2.1.1”项下色谱条件测定, 记录保留时间和峰面积, 以 37 号峰 (槲皮素) 为参照峰, 结果各共有峰相对保留时间、相对峰面积 RSD 值均在 3.0% 内。

**2.1.7 稳定性试验** 分别在供试品溶液 (S1) 制备后 0、4、8、12、24 h 精密吸取 10 μL, 按“2.1.1”项下色谱条件测定, 记录共有峰保留时间和峰面积, 以 37 号峰 (槲皮素) 为参照峰, 结果各共有峰相对保留时间的 RSD 均小于 1.0%, 相对峰面积的 RSD 均小于 3.0%。

**2.1.8 相似度评价** 以共有模式作为对照图谱, 把 10 批黄花菜叶提取物多波长切换指纹图谱导入“中药指纹图谱相似度评价系统” (2004A 版), 10 批黄花菜叶指纹图谱见图 1。对照图谱见图 2。用平均数法进行相似度计算, 相似度 (表 2) 均在 0.90 以上, 表明建立的指纹图谱方法可靠。

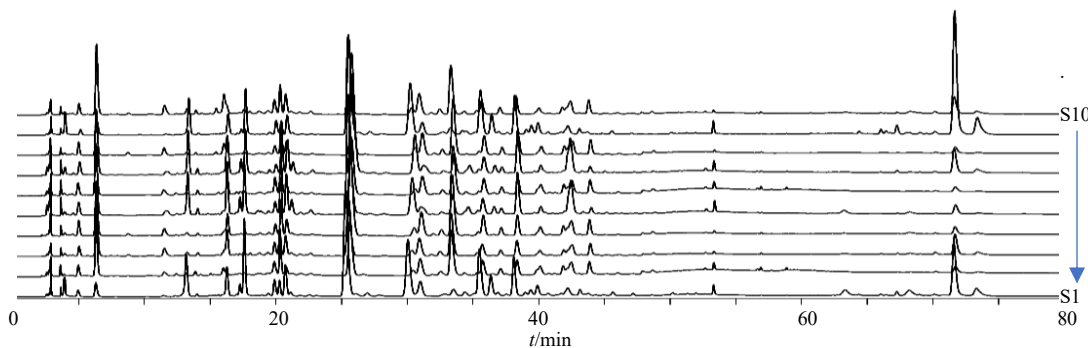
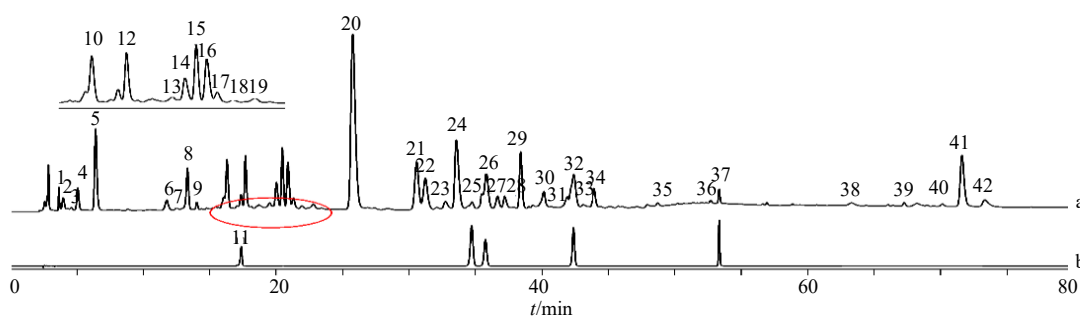


图1 10批黄花菜叶提取物 HPLC 多波长切换指纹图谱

Fig. 1 10 batches of *H. citrina* leaves extracts of multi-wavelength HPLC fingerprint



11-绿原酸; 25-芦丁; 26-槲皮素-3-O-葡萄糖苷; 32-槲皮苷; 37-槲皮素。  
11-chlorogenic acid; 25-rutin; 26-quercetin 3-β-D-glucoside; 32-quercitrin; 37-quercetin.

图2 黄花菜叶提取物多波长切换指纹图谱共有模式 (a) 及混合对照品溶液色谱图 (b)

Fig. 2 *H. citrina* leaves extracts of multi-wavelength HPLC fingerprint (a) and HPLC of mixed reference substances (b)

表2 样品多波长切换指纹图谱相似度评价结果

Table 2 Similarity evaluation results of samples of multi-wavelength HPLC fingerprint

编号	相似度	编号	相似度
S1	0.903	S6	0.914
S2	0.928	S7	0.944
S3	0.939	S8	0.933
S4	0.945	S9	0.901
S5	0.938	S10	0.910

## 2.2 指标成分的测定

2.2.1 对照品溶液的制备 同“2.1.2”项。

2.2.2 供试品溶液的制备 同“2.1.3”项。

2.2.3 线性关系考察 将“2.1.2”项下混合对照品溶液梯度稀释,按“2.1.1”项下色谱条件进行测定,以对照品溶液的质量浓度为横坐标(X),峰面积为纵坐标(Y),绘制标准曲线,结果见表3。

2.2.4 精密度试验 取混合对照品溶液适量,按

表3 黄花菜叶成分的方法学考察结果

Table 3 Methodological investigation results of components of *H. citrina* leaves

成分	回归方程	R <sup>2</sup>	线性范围/(μg·mL <sup>-1</sup> )
绿原酸	Y=24.179 X-70.761	0.999 98	16.313~522.000
芦丁	Y=17.925 X-60.504	0.999 97	18.938~606.000
槲皮素-3-O-葡萄糖苷	Y=26.726 X-68.304	0.999 96	15.625~500.000
槲皮苷	Y=26.391 X-27.565	0.999 58	8.938~286.000
槲皮素	Y=33.155 X-26.379	0.999 92	8.875~284.000

“2.1.1”项下色谱条件连续进样测定6次,计算得到绿原酸、芦丁、槲皮素-3-O-葡萄糖苷、槲皮苷、槲皮素峰面积的RSD,RSD均小于2%。

2.2.5 重复性试验 取黄花菜叶(S1),按“2.1.3”项下方法平行制备6份供试品溶液,按“2.1.1”项下色谱条件进行测定,计算得到绿原酸、芦丁、槲皮素-3-O-葡萄糖苷、槲皮苷、槲皮素质量分数RSD均小于3.0%。

2.2.6 稳定性试验 取黄花菜叶供试品溶液(S1),分别于0、4、8、12、24、48 h进样测定,计算得到绿原酸、芦丁、槲皮素-3-O-葡萄糖苷、槲皮苷、槲皮素峰面积RSD,RSD均小于3.0%。

2.2.7 加样回收率试验 按“2.1.3”项下方法平行

制备6份黄花菜叶样品溶液(S1),各取0.5mL。分别加入低、中、高(按样品含量的50%、100%、150%)3个不同浓度水平的对照品溶液,每个浓度平行2份。按“2.1.1”项下色谱条件进行测定,计算平均回收率,待测成分的平均回收率在96.412%~101.474%,RSD为0.721%~2.068%。

## 2.3 QAMS法的建立

古籍记载黄花菜具有解郁安寐的功效<sup>[14-16]</sup>。现代研究发现,黄花菜叶中的酚酸、黄酮类成分是改善睡眠的有效成分<sup>[9,17-18]</sup>。选取价廉易得的槲皮素作为参照物,建立QAMS法同时测定绿原酸、芦丁、槲皮素-3-O-葡萄糖苷、槲皮苷的含量,节约检测成本,提高检测效率,可作为黄花菜叶有效成分

的含量测定方法。

**2.3.1 相对校正因子 ( $f_{k/s}$ ) 的建立** 取混合对照品溶液适量,按“2.1.1”项下色谱条件,分别进样2、5、10、15、20  $\mu\text{L}$ 。以槲皮素为内参物,按公式计算绿原酸(A)、芦丁(B)、槲皮素-3-O-葡萄糖苷(C)、槲皮苷(D)的 $f_{k/s}$ ,结果见表4。

$$f_{k/s} = (C_k \times A_s) / (A_k \times C_s)$$

$C_s$  为参照物的浓度,  $A_s$  为参照物的峰面积,  $C_k$  待测成分的浓度,  $A_k$  为待测成分的峰面积。

**2.3.2 不同柱温对 $f_{k/s}$ 的影响** 本实验考察了不同柱温(25、30、35  $^{\circ}\text{C}$ )对各 $f_{k/s}$ 的影响,结果各 $f_{k/s}$ 的RSD均低于2%,表明不同柱温对各成分的 $f_{k/s}$ 无显著影响,结果见表5。

表4 黄花菜叶中的4种成分相对校正因子计算结果

Table 4 Calculation results of relative correction factors for four components in *H. citrina* leaves

进样量/ $\mu\text{L}$	$f_{\text{绿原酸/槲皮素}}$	$f_{\text{芦丁/槲皮素}}$	$f_{\text{槲皮素-3-O-葡萄糖苷/槲皮素}}$	$f_{\text{槲皮苷/槲皮素}}$
2	1.384	1.886	1.267	1.193
5	1.399	1.894	1.267	1.201
10	1.403	1.899	1.271	1.210
15	1.405	1.905	1.271	1.243
20	1.418	1.898	1.262	1.257
平均值	1.402	1.896	1.268	1.221
RSD%	0.869	0.375	0.290	2.288

表5 不同条件对相对校正因子的影响

Table 5 Effect of different conditions on relative correction factors

试验条件	$f_{\text{绿原酸/槲皮素}}$	$f_{\text{芦丁/槲皮素}}$	$f_{\text{槲皮素-3-O-葡萄糖苷/槲皮素}}$	$f_{\text{槲皮苷/槲皮素}}$	
柱温/ $^{\circ}\text{C}$	25	1.416	1.914	1.281	1.243
	30	1.402	1.896	1.268	1.221
	35	1.408	1.910	1.274	1.249
	平均值	1.409	1.907	1.274	1.238
	RSD/%	0.501	0.493	0.518	1.193
	体积流量/ $(\text{mL}\cdot\text{min}^{-1})$	0.9	1.428	1.908	1.278
1.0		1.402	1.896	1.268	1.221
1.1		1.408	1.933	1.277	1.261
平均值		1.412	1.912	1.274	1.251
RSD/%		0.946	0.989	0.434	2.163
色谱柱		Dikma spursil C <sub>18</sub>	1.402	1.896	1.268
	Scienhome Kromasil C <sub>18</sub>	1.408	1.905	1.280	1.275
	Agilent Zorbax C <sub>18</sub>	1.417	1.912	1.281	1.257
	平均值	1.409	1.905	1.276	1.251
	RSD/%	0.521	0.417	0.595	2.200
	仪器	Agilent 1260	1.402	1.896	1.268
Waters e2695		1.416	1.907	1.285	1.229
平均值		1.409	1.901	1.276	1.225
RSD/%		0.716	0.390	0.949	0.457

**2.3.3 不同体积流量对 $f_{k/s}$ 的影响** 本实验考察了不同体积流量(0.9、1.0、1.1  $\text{mL}/\text{min}$ )对各 $f_{k/s}$ 的影响,结果各 $f_{k/s}$ 的RSD均低于3%,表明不同流速对各成分的 $f_{k/s}$ 无显著影响,结果见表5。

**2.3.4 不同色谱柱对 $f_{k/s}$ 的影响** 本实验考察了不同色谱柱(Dikma spursil C<sub>18</sub>、Scienhome Kromasil C<sub>18</sub>、Agilent Zorbax C<sub>18</sub>)对各 $f_{k/s}$ 的影响,结果各 $f_{k/s}$ 的RSD均低于3%,表明不同色谱柱对各成分的 $f_{k/s}$ 无显著影响,结果见表5。

**2.3.5 不同仪器对 $f_{k/s}$ 的影响** 本实验考察了不同仪器(Agilent 1260、Waters e2695)对各 $f_{k/s}$ 的影响,结果各 $f_{k/s}$ 的RSD均低于1%,表明不同仪器对各成分的 $f_{k/s}$ 无显著影响,结果见表5。

**2.3.6 QAMS法与外标法(ESM)测定结果的比较** 分别将10批样品按“2.1.3”项下方法制备供试品溶液,进样测定,记录绿原酸、芦丁、槲皮素-3-O-葡萄糖苷、槲皮苷、槲皮素峰面积,分别采用ESM及QAMS法计算5个成分的含量。采用SPSS 26.0,将外标法与QAMS法计算结果进行配对 $t$ 检验分析。结果显示,其 $P$ 值大于0.05,表明ESM及QAMS法的计算结果之间并无显著性差异,说明QAMS法可用于黄花菜叶中多成分含量测定。结果见表6。

表6 黄花菜叶中的5种成分含量测定结果

Table 6 Determination results of five components in *H. citrina* leaves

编号	槲皮素/(mg·g <sup>-1</sup> )	绿原酸/(mg·g <sup>-1</sup> )		芦丁/(mg·g <sup>-1</sup> )		槲皮素-3-O-葡萄糖苷/(mg·g <sup>-1</sup> )		槲皮苷/(mg·g <sup>-1</sup> )	
		ESM	QAMS	ESM	QAMS	ESM	QAMS	ESM	QAMS
S1	0.072	0.126	0.126	0.078	0.077	0.897	0.899	0.184	0.181
S2	0.020	0.046	0.045	0.053	0.052	0.236	0.238	0.318	0.323
S3	0.017	0.046	0.046	0.052	0.051	0.351	0.351	0.299	0.307
S4	0.047	0.057	0.054	0.051	0.049	0.202	0.203	0.277	0.275
S5	0.018	0.192	0.206	0.237	0.244	0.268	0.269	0.734	0.755
S6	0.056	0.060	0.060	0.069	0.067	0.239	0.240	0.173	0.170
S7	0.047	0.116	0.117	0.159	0.163	0.180	0.180	0.495	0.489
S8	0.019	0.041	0.041	0.032	0.032	0.330	0.330	0.349	0.350
S9	0.042	0.060	0.059	0.083	0.082	0.851	0.867	0.202	0.202
S10	0.034	0.037	0.037	0.044	0.043	0.164	0.164	0.198	0.196
平均值	0.037	0.078	0.079	0.086	0.086	0.372	0.374	0.323	0.327

### 3 讨论

#### 3.1 提取物制备方法优化

对黄花菜叶提取物的制备方法进行优化,分别考察了提取溶剂(乙腈、丙酮及不同浓度的乙醇溶液),萃取溶剂(正丁醇、醋酸乙酯),萃取次数(1、2、3次),在保证既节约成本、有效利用,又操作简单的条件下,最终确定黄花菜叶提取物的制备方法以80%乙醇溶液为提取溶剂,正丁醇为萃取剂,萃取次数为2次,得到黄花菜叶提取物的指纹图谱峰数多,峰面积大。

#### 3.2 测定波长的选择

黄花菜叶的化学成分复杂,各个成分紫外吸收不同,单一波长并不能全面反映黄花菜叶中各类化学成分,为了全面地表征黄花菜叶不同类型的成分,构建190~400 nm全波长指纹图谱,基于最大吸收波长原则在时间段0~5.5 min和23~48 min选择波长258 nm,5.5~23 min选择波长300 nm、48~80 min选择波长370 nm,本研究首次建立黄花菜叶3波长切换指纹图谱。与单波长HPLC法相比,该法全面科学,专属性强。

#### 3.3 QAMS法的建立

目前,QAMS法已在多种中药材、饮片以及中药制剂的多成分的含量测定中得到广泛认可和应用<sup>[19-22]</sup>,《中国药典》2015年版一部中就已收录用QAMS法对黄连、丹参等中药进行含量测定<sup>[23]</sup>。本研究以槲皮素为内参物,建立绿原酸、芦丁、槲皮素-3-O-葡萄糖苷、槲皮苷的 $f_{k/s}$ ,利用 $f_{k/s}$ 测定黄花菜叶乙醇提取物中5种成分的含量。通过 $t$ 检验比较

本法和ESM,结果表明所建立的黄花菜叶“一测多评”含量测定方法与外标法的测定结果无显著性差异,表明建立的方法具有良好的可信度。

### 4 结论

本实验在多波长切换条件下同时建立了黄花菜叶的指纹图谱和QAMS含量测定方法。3波长HPLC指纹图谱,整体、全面地表征了黄花菜叶各类成分。QAMS法检测黄花菜叶有效成分含量,具有检测便利、节约成本的优点。所建立的方法同时达到定性、定量目的,可作为黄花菜叶的质量评价方法。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

#### 参考文献

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志 (第14卷) [M]. 北京: 科学出版社, 1980: 56.
- [2] 唐道邦, 夏延斌, 张滨, 等. 黄花菜的食用价值及开发利用 [J]. 中国食物与营养, 2003, 9(8): 23-24.
- [3] 南京中医药大学. 中药大辞典 [M]. 上海: 上海科学与技术出版社, 1947: 45.
- [4] Gu L, Liu Y J, Wang Y B, et al. Role for monoaminergic systems in the antidepressant-like effect of ethanol extracts from *Hemerocallis citrina* [J]. *J Ethnopharmacol*, 2012, 139(3): 780-787.
- [5] 杜秉健. 黄花菜水醇提取物的抗抑郁和促睡眠活性及综合利用研究 [D]. 北京: 中国农业大学, 2014.
- [6] Uezu E. Effects of *Hemerocallis* on sleep in mice [J]. *Psychiatry Clin Neurosci*, 1998, 52(2): 136-137.
- [7] Zhang Y J, Cichewicz R H, Nair M G. Lipid peroxidation inhibitory compounds from daylily (*Hemerocallis fulva*)

- leaves [J]. *Life Sci*, 2004, 75(6): 753-763.
- [8] Liu J H, Zhong X H, Jiang Y Y, *et al.* Systematic identification metabolites of *Hemerocallis citrina* Borani by high-performance liquid chromatography/quadrupole-time-of-flight mass spectrometry combined with a screening method [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2020, 186: 113314.
- [9] Liang Y X, Huang R M, Chen Y C, *et al.* Study on the sleep-improvement effects of *Hemerocallis citrina* baroni in *Drosophila melanogaster* and targeted screening to identify its active components and mechanism [J]. *Foods*, 2021, 10(4): 883.
- [10] 聂鞞, 朱培林, 房海灵, 等. HPLC 指纹图谱结合化学计量学评价不同产地广东紫珠药材的质量 [J]. *中草药*, 2017, 48(1): 185-191.
- [11] 杨冉冉, 姬蕾, 李二文, 等. 鸡血藤的 HPLC 指纹图谱及模式识别研究 [J]. *中草药*, 2017, 48(21): 4530-4536.
- [12] 尤春雪, 张振秋, 李峰, 等. HPLC 波长切换技术对葛根中 8 种成分的测定及指纹图谱研究 [J]. *中草药*, 2013, 44(5): 616-621.
- [13] 王智民, 钱忠直, 张启伟, 等. 一测多评法建立的技术指南 [J]. *中国中药杂志*, 2011, 36(6): 787-796.
- [14] 王延群. 安神解郁选合欢 [J]. *现代养生*, 2017(13): 23.
- [15] 黄斌, 张瑞贤. 合欢蠲忿, 萱草忘忧 [J]. *江西中医药*, 2004, 35(2): 61.
- [16] 潘红. 萱草花化学成分与质量控制研究 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2012.
- [17] Kang T H, Jeong S J, Kim N Y, *et al.* Sedative activity of two flavonol glycosides isolated from the flowers of *Albizia julibrissin* Durazz. [J]. *J Ethnopharmacol*, 2000, 71(1/2): 321-323.
- [18] 张潇, 田俊生, 刘欢, 等. 抗抑郁中药新药研发进展 [J]. *中国中药杂志*, 2017, 42(1): 29-33.
- [19] 董双涛, 徐丽霞, 高建平, 等. 基于一测多评定量联合化学计量学及 Logistic 回归模型的白前质量等级预测 [J]. *中草药*, 2025, 56(2): 656-666.
- [20] 左岚, 孟胜男. 一测多评法在中药药物分析中的应用进展 [J]. *中国药房*, 2016, 27(18): 2589-2592.
- [21] 耿峰, 杜娟, 李志远, 等. 基于一测多评多指标成分定量联合化学计量学及加权 TOPSIS 模型的肉豆蔻质量评价 [J]. *中草药*, 2025, 56(8): 2925-2935.
- [22] 唐亚男, 张文丽, 闫婕, 等. 基于 HPLC 指纹图谱和一测多评法结合化学计量法的黄连须质量评价研究 [J]. *中草药*, 2025, 56(22): 8347-8356.
- [23] 杨洋, 黄良永, 朱美玲, 等. 一测多评法在中国药典 2015 年版中的应用 [J]. *中南药学*, 2017, 15(12): 1738-1741.

[责任编辑 时圣明]