

- [10] (2025-04-18). <https://link.cnki.net/urlid/31.1368.R.20250417.1731.004>.
- [13] 陈果, 樊梅, 孙华政, 等. 白术及其药对研究进展 [J/OL]. 中华中医药学刊, 1-17 [2025-09-10] (2025-06-06). <https://link.cnki.net/urlid/21.1546.R.20250606.1121.004>.
- [14] 罗子宸, 张雯, 杨瑞, 等. 甘草“调和诸药”生物药剂学机制的研究进展 [J]. 中草药, 2021, 52(1): 267-277.
- [15] 于红红, 姚佳倩, 杨韵琪, 等. 绿原酸调控 AMPK/SIRT1 通路对 ox-LDL 诱导的泡沫细胞自噬及炎症反应的影响 [J/OL]. 中药材, 2025 (2): 462-467 [2025-09-10] (2025-02-26). <https://doi.org/10.13863/j.issn1001-4454.2025.02.031>.
- [16] 吕芳, 薛玉叶, 宁建涛, 等. 黄芩苷纳米晶改善老年小鼠皮肤炎症活性的研究 [J]. 临床药物治疗杂志, 2025, 23(8): 29-34.
- [17] 伏厚宇, 刘江宇, 揭立士, 等. 甘草苷调控 PI3K/Akt 信号通路促进 M2 型巨噬细胞极化缓解膝骨关节炎小鼠滑膜炎症的机制研究 [J/OL]. 中国中药杂志, 1-12 [2025-09-10] (2025-06-11). <https://doi.org/10.19540/j.cnki.cjcm.20250605.401>.
- [18] 何冬梅, 王鹏, 曹翠萍, 等. 一测多评法同时测定黄连解毒汤中 7 种生物碱的含量 [J]. 中成药, 2025, 47(3): 727-732.
- [19] 刘园, 宁致远, 陆晨曦, 等. 基于一测多评法同时测定经典名方小陷胸汤中 9 种成分含量 [J]. 中国药学杂志, 2025, 60(2): 172-179.
- [20] 申凤霞, 马云, 李倩, 等. 基于一测多评法的不同药材中 6 个环烯醚萜类成分的含量测定研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2025, 37(1): 122-130; 164.

基于 HPLC 指纹图谱、含量测定、化学模式识别评价白花泡桐叶质量

李雨虹¹, 郭洪伟², 李明³, 肖育喜³, 黄佳¹, 龙国清^{3*}, 魏华^{1,3,4*}

(1. 吉首大学生命科学学院, 湖南 吉首 416000; 2. 湘西自然生物科技有限公司, 湖南 吉首 416000;
3. 吉首大学药学院, 湖南 吉首 416000; 4. 湖南省土家医药研究中心, 湖南 吉首 416000)

摘要: 目的 评价白花泡桐叶质量。方法 建立 HPLC 指纹图谱, 测定毛蕊花糖苷含量, 进行聚类分析、主成分分析、正交偏最小二乘法-判别分析。结果 19 批药材指纹图谱中有 23 个共有峰, 指认了其中 1 个, 相似度均大于 0.924。毛蕊花糖苷在 375~6 000 ng 范围内线性关系良好 ($R^2 = 0.9998$), 平均加样回收率为 99.54%, RSD 为 1.39%。各批药材聚为 3 类, 3 个主成分累积方差贡献率为 86.067%, 差异标志物有 5 个。结论 该方法适用性强, 重复性、稳定性良好, 可用于白花泡桐叶的质量控制。

关键词: 白花泡桐叶; 质量评价; HPLC 指纹图谱; 含量测定; 聚类分析; 主成分分析; 正交偏最小二乘法-判别分析

中图分类号: R282

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2025)12-4118-05

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2025.12.036

白花泡桐叶为玄参科泡桐属植物白花泡桐 *Paulownia fortunei* (Seem.) Hemsl. 的干燥叶片^[1], 其根能祛风止痛, 主治风湿热痹、筋骨疼痛、扭伤; 果可化痰止咳, 主治慢性支气管炎、咳嗽; 叶、花能消肿解毒, 主治疗肿瘤毒、痈疽^[2]。现代药理研究表明, 白花泡桐主要具有抗菌^[3]、抗炎^[4]、抗肿瘤^[5-6]、抗氧化^[7]、降压^[8]、抗皮肤老化^[9]、抗寄生虫^[10]等作用。

白花泡桐叶作为土家族常用的治疗烧烫伤药物^[11], 其临床疗效显著, 被收入《湖南省中药材标准》(2009 版), 虽有以熊果酸为指标的 TLC 定性鉴别、含量测定方法, 但

该成分作为广谱性三萜类化合物, 广泛存在于多种药用植物中, 缺乏物种特异性, 而且中药具有协同作用的特征, 单一成分难以全面反映其整体质量。指纹图谱是一种基于整体化学成分的系统表征方法, 可实现对中药物质基础的专属性、整体性评价^[12]。因此, 本实验建立白花泡桐叶 HPLC 指纹图谱, 测定毛蕊花糖苷含量, 并进行聚类分析、主成分分析、正交偏最小二乘法-判别分析, 以为该药材质量标准提升提供科学依据和技术支持。

1 材料

1.1 仪器 Agilent 1260 Infinity II 高效液相色谱仪 (美国

收稿日期: 2025-08-13

基金项目: 国家自然科学基金 (81960774); 湖南省教育厅优秀青年项目 (24B0502); 湖南省土家医药研究中心开放项目 (201901); 湖南省研究生科研创新项目 (CX20240933)

作者简介: 李雨虹 (2001—), 女, 硕士生, 从事中药化学成分研究。E-mail: 1450177353@qq.com

*通信作者: 龙国清 (1995—), 男, 博士, 讲师, 从事天然产物化学及其活性研究。E-mail: sylongguoqing@163.com

魏华 (1981—), 男, 博士, 教授, 从事民族药活性成分及其开发利用研究。Tel: (0743) 8564416, E-mail: weihua20@126.com

Agilent公司); LE204E电子分析天平(万分之一,瑞士Mettler-Toledo公司); KQ2200E超声波清洗仪(昆山市超声仪器有限公司); SHZ DⅢ循环水式多用真空泵(上海凌科实业发展有限公司); WJX-800A多功能粉碎机(上海缘沃工贸有限公司)。

1.2 试剂与药材 毛蕊花糖苷对照品(纯度≥98%,成都克洛玛生物科技有限公司)。白花泡桐叶采自贵州铜仁(S1~S7)、湖南怀化(S8~S12)、湖南吉首(S13~S19),经吉首大学张代贵教授鉴定为玄参科泡桐属植物白花泡桐*Paulownia fortunei* (Seem.) Hemsl.的叶。甲醇(色谱纯,瑞典Oceanpak公司);甲酸、乙酸(色谱纯,天津市科密欧化学试剂有限公司)。

2 方法与结果

2.1 HPLC指纹图谱建立

2.1.1 色谱条件 Agilent ZORBAX HC-C₁₈₍₂₎色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm);流动相甲醇(A)-0.1%甲酸(B),梯度洗脱(0~8 min, 10%~32% A; 8~44 min, 32%~50% A; 44~52 min, 50%~100% A; 52~65 min, 100% A; 65~66 min, 100%~10% A; 66~76 min, 10% A);体积流量1 mL/min;柱温30 °C;检测波长254 nm;进样量20 μL。

2.1.2 溶液制备

2.1.2.1 对照品溶液 精密称取毛蕊花糖苷对照品适量,甲醇溶解,制成质量浓度为0.3 mg/mL的溶液,即得。

2.1.2.2 供试品溶液 取干燥药材适量,粉碎,过3号筛,准确称取0.5 g,置于15 mL带塞试管中,加入10 mL 70%甲醇,称定质量,超声(功率500 W,频率40 kHz)提取30 min,冷却至室温,70%甲醇补足减失的质量,充分振荡混匀,静置,取上层澄清液;取木犀草素对照品适量,甲醇溶解,制成125 μg/mL内标溶液,将上述2种溶液等体积混合均匀,0.45 μm微孔滤膜过滤,取滤液,即得。

2.1.3 方法学考察

2.1.3.1 精密度试验 取“2.1.2.2”项下供试品溶液适量,在“2.1.1”项色谱条件下进样测定6次。以木犀草素色谱峰(S峰)为参照,测得各共有峰相对保留时间、相对峰面积RSD分别小于0.15%、2.44%,表明仪器精密度良好。

2.1.3.2 重复性试验 取本品(S9)适量,按“2.1.2.2”项下方法平行制备6份供试品溶液,在“2.1.1”项色谱条件下进样测定,以S峰为参照,测得各共有峰相对保留时间、相对峰面积RSD分别小于0.8%、2.71%,表明该方法重复性良好。

2.1.3.3 稳定性试验 取本品(S9)适量,按“2.1.2.2”项下方法制备供试品溶液,于0、2、4、8、12、24 h在“2.1.1”项色谱条件下进样测定,以S峰为参照,测得各共有峰相对保留时间、相对峰面积RSD分别小于1.69%、2.65%,表明溶液在24 h内稳定性良好。

2.1.4 图谱生成及相似度评价 取19批药材,按

“2.1.2.2”项下方法制备供试品溶液,在“2.1.1”项色谱条件下进样测定,采用“中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012A版)”进行数据处理,以S峰为参照,选择中位数法,设定时间窗宽度为0.5 min,经多点校正和色谱峰匹配后构建指纹图谱及对照图谱,见图1~2,可知共鉴定出23个共有峰,其中11号峰通过与对照品比对确定为毛蕊花糖苷。再计算相似度,结果均大于0.924,表明各批样品质量一致性良好,满足指纹图谱分析要求,见表1。

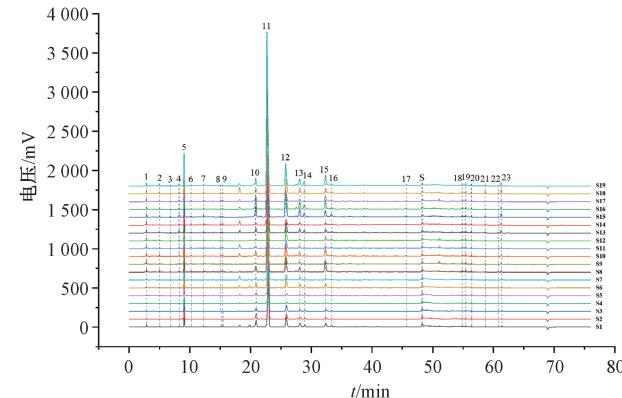


图1 19批白花泡桐叶HPLC指纹图谱

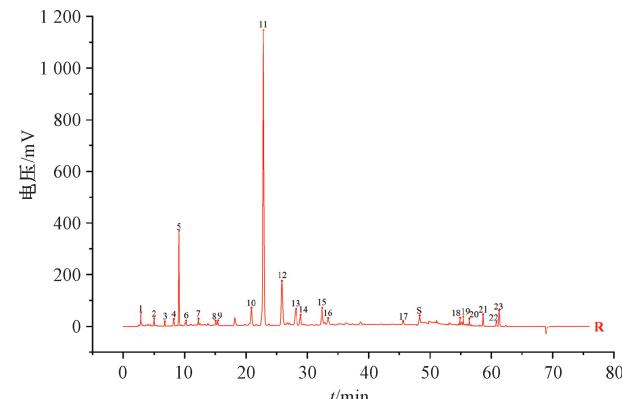


图2 白花泡桐叶对照图谱

表1 19批白花泡桐叶相似度测定结果

编号	相似度	编号	相似度
S1	0.998	S11	0.993
S2	0.995	S12	0.924
S3	0.998	S13	0.998
S4	0.992	S14	0.997
S5	0.992	S15	0.998
S6	0.999	S16	0.993
S7	0.997	S17	0.984
S8	0.998	S18	1.000
S9	0.973	S19	0.998
S10	0.994		

2.2 化学模式识别

2.2.1 聚类分析 通过SPSS 26.0软件对23个共有峰进行分析,结果见图3。由此可知,当分类阈值设定为15时,19批样品聚为3类,第一类为S1~S7,均采自铜仁;第二类为S8~S14、S17,其中S8~S12采自怀化,其余3批均采自吉首;第三类为S15、S16、S18、S19,均采自吉首,表

明上述3个产地药材有明显差异，但吉首、怀化产地者有一部分无法区分，可能与两者地理位置相近有关。

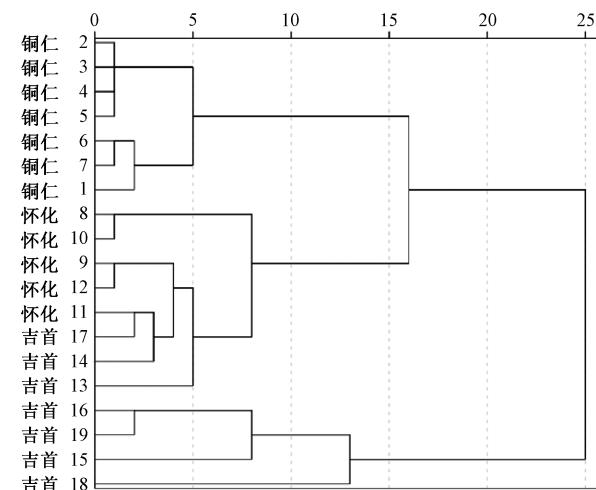


图3 19批白花泡桐叶聚类分析树状图

2.2.2 主成分分析 对23个共有峰面积进行归一化预处理后，通过SPSS 26.0软件进行分析。如表2所示，共提取出3个主成分，累积方差贡献率达86.067%，为导致各批次样本产生差异的关键因素。主成分载荷矩阵见表3，可知第一主成分与所有共有峰均呈正相关，并且贡献度较为均衡；第二主成分主要受峰1、6、8、9、18~20的正向影响，而峰10~14呈现显著负向贡献；第三主成分显著贡献峰为3、7、20、21、23号峰。再计算综合评分Z，公式为 $Z=0.62729\times Z_1+0.15751\times Z_2+0.07587\times Z_3$ ，其中 $Z_1\sim Z_3$ 为3个主成分，结果见表4，可知产自怀化、吉首的S8、S10~S19综合评分为正值，归为一类；产自铜仁的S1~S7综合评分为负值，聚为一类，与聚类分析基本吻合，并

表2 主成分特征值及方差贡献率

主成分	初始特征值		
	特征值	方差贡献率/%	累积方差贡献率/%
1	14.428	62.729	62.729
2	3.623	15.751	78.480
3	1.745	7.587	86.067

表3 主成分载荷矩阵

共有峰	载荷			载荷			
	Z_1	Z_2	Z_3	Z_1	Z_2	Z_3	
1	0.061	0.108	-0.086	13	0.058	-0.142	-0.027
2	0.061	0.022	-0.183	14	0.044	-0.197	0.056
3	0.062	-0.039	0.178	15	0.054	-0.051	-0.271
4	0.061	-0.011	0.079	16	0.063	-0.038	0.026
5	0.051	-0.025	-0.193	17	0.061	-0.077	-0.100
6	0.050	0.102	-0.119	18	0.056	0.111	-0.047
7	0.059	0.017	0.246	19	0.058	0.119	-0.012
8	0.049	0.179	-0.072	20	0.050	0.125	0.125
9	0.046	0.189	-0.101	21	0.045	0.027	0.390
10	0.043	-0.169	-0.067	22	0.055	0.067	0.045
11	0.052	-0.158	-0.126	23	0.056	-0.049	0.293
12	0.060	-0.106	-0.031				

表4 主成分得分和综合得分

编号	Z_1	Z_2	Z_3	$Z_{综合得分}$	排名
S15	6.65	-3.33	0.86	3.71	1
S18	4.82	0.96	3.08	3.41	2
S19	5.11	-2.17	-0.36	2.84	3
S8	3.11	0.90	-2.81	1.88	4
S16	3.71	-2.83	-0.77	1.82	5
S10	2.32	1.19	-2.53	1.45	6
S17	1.34	2.07	-0.18	1.15	7
S13	1.48	0.23	1.35	1.07	8
S11	0.67	2.98	-0.82	0.82	9
S14	0.14	2.84	0.95	0.61	10
S12	-0.23	1.93	1.20	0.25	11
S9	-0.67	2.32	-0.06	-0.06	12
S1	-2.03	-0.81	0	-1.40	13
S6	-1.98	-1.19	-0.70	-1.48	14
S7	-3.33	-0.42	0.05	-2.15	15
S5	-4.57	-1.16	0.78	-2.99	16
S3	-4.80	-0.84	0.14	-3.13	17
S2	-5.31	-1.55	-0.38	-3.60	18
S4	-6.42	-1.10	0.20	-4.18	19

且S8、S15、S16、S18、S19综合评分靠前，S9~S14、S17次之，S1~S7靠后，表明吉首产地药材中各成分含量高于铜仁、怀化产地者中。

得分图见图4。由此可知，19批样品聚为3类，S1~S7为一类，S15、S16、S18、S19为一类，S8~S14、S17为一类，大部分药材呈现较明显的分类，与聚类分析一致。

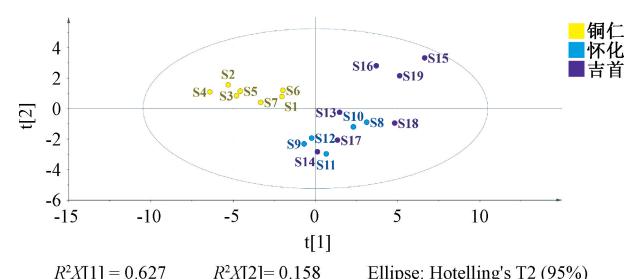


图4 主成分得分散点图

2.2.3 正交偏最小二乘判别分析(OPLS-DA) 为进一步寻找不同批次药材的差异标志物，通过SIMCA 14.1软件对23个共有峰构建OPLS-DA模型，发现拟合优度参数 R^2Y (cum)=0.816，预测能力指标 Q^2 (cum)=0.533，均超过0.5，表明模型具有良好的稳定性和可靠性。由图5A可知，19批样品分为3类，S1~S7为一类，均为铜仁产地；S8~S12为一类，均为怀化产地；S13~S19为一类，均为吉首产地。再通过200次随机置换检验来验证模型有效性，结果见图5B，可知 R^2 回归线Y轴截距为0.357， Q^2 回归线Y轴截距为-1.19，证实模型未出现过拟合。变量重要性投影值(VIP值)值见图6，可知在95%置信区间内以VIP值>1.0、 $P<0.05$ 为标准时，共筛选得到5个差异标志物，即11、5、12、15、10号峰，VIP值分别为3.43、1.66、1.45、1.23、1.02。

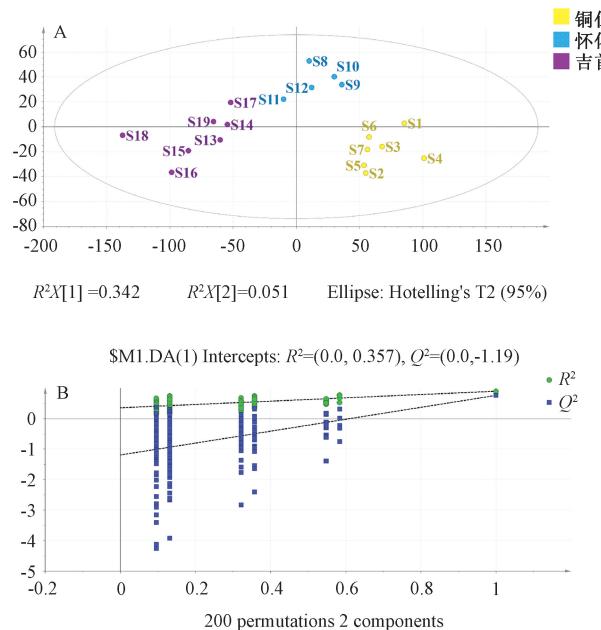


图5 OPLS-DA 得分图(A)、置换检验图(B)

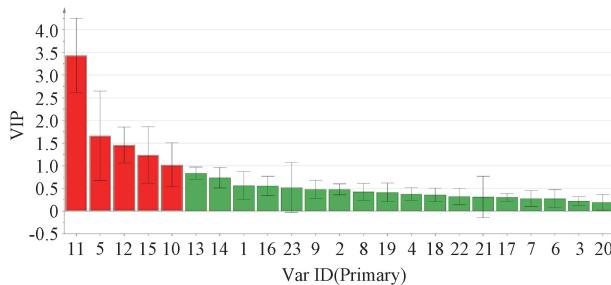


图6 共有峰VIP值

2.3 毛蕊花糖苷含量测定 采用HPLC法。

2.3.1 色谱条件 Agilent ZORBAX HC-C₁₈₍₂₎色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm);流动相甲醇-0.1%甲酸(67:33);体积流量1 mL/min;柱温30 °C;检测波长334 nm;进样量20 μL。

2.3.2 溶液制备

2.3.2.1 对照品溶液 按“2.1.2.1”项下方法制备,即得。

2.3.2.2 供试品溶液 取干燥药材适量,粉碎,过3号筛,准确称取粉末0.5 g,置于带塞试管中,加入10 mL 70%甲醇,称定质量,超声(功率500 W,频率40 kHz)提取30 min,冷却至室温,70%甲醇补足减失的质量,充分振荡混匀,静置,取上层澄清液,0.45 μm微孔滤膜过滤,即得。

2.3.3 方法学考察

2.3.3.1 线性关系考察 取“2.1.2.1”项下对照品溶液适量,用甲醇梯度稀释成系列质量浓度液,在“2.1.1”项色谱条件下进样测定。以对照品进样量为横坐标(X),峰面积为纵坐标(Y)进行回归,得方程为Y=1 443.4X+238 533 ($R^2=0.9998$),在375~6 000 ng范围内线性关系良好。

2.3.3.2 精密度试验 精密吸取“2.1.2.1”项下对照品溶液适量,在“2.1.1”项色谱条件下进样测定6次,测得毛蕊花糖苷峰面积RSD为0.57%,表明仪器精密度良好。

2.3.3.3 稳定性试验 取本品(S1)适量,按“2.3.2.2”项下方法制备供试品溶液,于0、2、4、8、12、24 h在“2.1.1”项色谱条件下进样测定,测得毛蕊花糖苷峰面积RSD为1.21%,表明溶液在24 h内稳定性良好。

2.3.3.4 重复性试验 取本品(S1)适量,按“2.3.2.2”项下方法平行制备6份供试品溶液,在“2.1.1”项色谱条件下进样测定,测得毛蕊花糖苷峰面积RSD为0.89%,表明方法重复性良好。

2.3.3.5 加样回收率试验 取各成分含量已知的本品(S1)6份,加入不同体积对照品溶液,充分混匀,按“2.3.2.2”项下方法制备供试品溶液,在“2.1.1”项色谱条件下进样测定,计算回收率。结果,毛蕊花糖苷平均加样回收率为99.54%,RSD为1.39%。

2.3.4 样品含量测定 取19批样品,按“2.3.2.2”项下方法制备供试品溶液,在“2.1.1”项色谱条件下进样测定,计算含量(以干燥品计),结果见表5。

表5 毛蕊花糖苷含量测定结果(n=3)

编号	含量/(mg·g ⁻¹)	编号	含量/(mg·g ⁻¹)
S1	16.44	S11	9.75
S2	9.36	S12	5.17
S3	7.30	S13	20.58
S4	6.83	S14	37.63
S5	10.52	S15	15.32
S6	16.53	S16	11.36
S7	13.94	S17	35.29
S8	26.44	S18	40.92
S9	7.31	S19	10.42
S10	21.32		

3 讨论

本实验收集19批不同产地的白花泡桐叶,建立HPLC指纹图谱,发现其相似度良好,确定了23个共有峰,指认了峰面积最大的色谱峰为毛蕊花糖苷,并且是首次通过定向制备方法发现该成分。毛蕊花糖苷具有多种活性,在新药开发领域具有巨大的应用潜力和经济价值^[13-19],含量测定结果显示,不同产地药材中该成分含量差异较大,以吉首产者最高。

化学模式识别结果显示,19批白花泡桐叶聚为3类,即铜仁产地、怀化产地与部分吉首产地、吉首产地,其中吉首、怀化产地无法完全分离,可能原因是两地距离相近,成分差异性较小;吉首产地药材中各成分含量相对高于其他产地,这与毛蕊花糖苷含量测定结果一致。另外,共筛选得到5个差异标志物,可能是影响药材质量的成分,可作为其质量评价指标。

4 结论

目前,针对白花泡桐叶生物活性、质量控制的研究较少,它作为一种可持续利用的药用资源,对环境适应性强,生长迅速,而且含有多种具有潜在药用价值的活性物质,值得深入研究^[20-21]。本实验建立白花泡桐叶HPLC指纹图谱,测定毛蕊花糖苷含量,并进行聚类分析、主成分分析、正交偏最小二乘法-判别分析,可为该药材质量标准建立提供可靠的技术支持和理论参考。

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[M]. 北京: 科学出版社, 1979.
- [2] 南京中医药大学. 中药大辞典(上)[M]. 2版. 上海: 上海科学技术出版社, 2006: 3081-3085.
- [3] 冯亦平, 程杰瑞, 陈丽君, 等. 泡桐花提取物广谱抑菌性能的研究[J]. 山西农业大学学报(自然科学版), 2014, 34(6): 571-576.
- [4] Zhang J K, Li M, Li M, et al. Four C-geranyl flavonoids from the flowers of *Paulownia fortunei* and their anti-inflammatory activity[J]. *Nat Prod Res*, 2020, 34(22): 3189-3198.
- [5] López-Hortas L, Pérez-Larrán P, González-Muñoz M J, et al. Recent developments on the extraction and application of ursolic acid. A review[J]. *Food Res Int*, 2018, 103: 130-149.
- [6] Imran M, Rauf A, Abu-izneid T, et al. Luteolin, a flavonoid, as an anticancer agent: A review[J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 112: 108612.
- [7] Zhang J K, Li M, Zhang B B, et al. Five new phenylpropanoid glycosides from the flowers of *Paulownia fortunei* and their antioxidant activities[J]. *Phytochem Lett*, 2020, 40: 176-180.
- [8] 罗江华, 李科, 恩特马克·布拉提白. 白花泡桐的研究进展[J]. 贵州农业科学, 2010, 38(4): 200-203.
- [9] 孙琳, 张曼. 白花泡桐叶片提取物的抗皮肤光老化作用研究[J]. 日用化学工业(中英文), 2024, 54(9): 1092-1098.
- [10] Salem M M, Capers J, Rito S, et al. Antiparasitic activity of C-geranyl flavonoids from *Mimulus bigelovii*[J]. *Phytother Res*, 2011, 25(8): 1246-1249.
- [11] 郭洪伟, 刘一涵, 田云刚, 等. 复方桐叶烧伤油及其原料脂溶性成分分析[J]. 中成药, 2021, 43(10): 2906-2909.
- [12] 李天娇, 包永睿, 王帅, 等. 中药质量控制与评价创新方法研究进展及应用[J]. 中草药, 2022, 53(20): 6319-6327.
- [13] 张裕, 朱博兰, 杨晓娟, 等. 毛蕊花糖苷抑制恶性肿瘤的研究进展[J]. 现代中药研究与实践, 2019, 33(6): 78-82.
- [14] Yuan J W, Ren J P, Wang Y, et al. Acteoside binds to caspase-3 and exerts neuroprotection in the rotenone rat model of Parkinson's disease[J]. *PLoS One*, 2016, 11(9): e0162696.
- [15] Nam S Y, Kim H M, Jeong H J. Attenuation of IL-32-induced caspase-1 and nuclear factor-κB activations by acteoside[J]. *Int Immunopharmacol*, 2015, 29(2): 574-582.
- [16] Gao W, Wang Y S, Qu Z Y, et al. *Orobanch cernua* loefling attenuates ultraviolet B-mediated photoaging in human dermal fibroblasts[J]. *Photochem Photobiol*, 2018, 94(4): 733-743.
- [17] Fazly B B S, Khameneh B, Zahedian O M R, et al. In vitro evaluation of antibacterial activity of verbascoside, lemon verbena extract and caffeine in combination with gentamicin against drug-resistant *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* clinical isolates[J]. *Avicenna J Phytomed*, 2018, 8(3): 246-253.
- [18] Shi C Y, Ma Y M, Tian L, et al. Verbascoside: An efficient and safe natural antibacterial adjuvant for preventing bacterial contamination of fresh meat[J]. *Molecules*, 2022, 27(15): 4943.
- [19] 谢良骐, 柴智, 弓强, 等. 毛蕊花糖苷对中枢神经系统的作用及其机制研究进展[J]. 中华中医药学刊, 2024, 42(7): 179-182.
- [20] 刘新宇. 白花泡桐根、叶性状对遮荫和干旱的协同响应研究[D]. 郑州: 河南农业大学, 2024.
- [21] 郭洪伟, 黄佳, 王建霞, 等. 白花泡桐叶化学成分的分离与鉴定[J]. 中国药物化学杂志, 2023, 33(12): 922-929.