

基于HPLC指纹图谱结合化学模式识别评价侧柏叶的质量

王娟弟^{1,2}, 刘蕊^{1,2}, 马潇^{1,2}, 郭朝晖^{1,2}, 郑健³, 马双成³

1. 甘肃省药品检验研究院 (兰州 730070)
2. 国家药品监督管理局中药材及饮片质量控制重点实验室 (兰州 730070)
3. 中国食品药品检定研究院 (北京 100050)

【摘要】目的 建立不同产地侧柏叶的 HPLC 指纹图谱, 并采用化学模式识别评价侧柏叶质量。**方法** 采用 HPLC 法。以 ZORBAX Eclipse plus-C₁₈ 为色谱柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 以乙腈-0.1% 磷酸溶液为流动相, 梯度洗脱, 流速: 1.0 mL · min⁻¹, 检测波长: 254 nm。利用中药色谱指纹图谱相似度评价系统 (2012 版) 建立 24 批侧柏叶 HPLC 指纹图谱并进行相似度评价, 结合混合对照品图谱确定共有峰。采用 SPSS 25.0 软件进行聚类分析。采用 Simca-P 软件进行主成分分析和偏最小二乘法-判别分析, 并筛选影响侧柏叶质量的差异性成分。**结果** 侧柏叶指纹图谱中共有 13 个共有峰, 与对照指纹图谱相比, 除 S2 一批外, 其余 23 批药材的相似度均高于 0.92。并指认了杨梅苷、槲皮苷、异槲皮苷、穗花双黄酮 4 个共有峰。聚类分析结果显示 24 批药材聚为两类, S1、S3-S24 聚为一类, 同一产地的药材有较大差异, 不同产地药材也有相似性; S2 聚为一类为圆柏叶。主成分分析结果表明 6 类主成分的累计方差贡献率为 88.412%, 可以反映原始色谱峰大部分信息。偏最小二乘法判别分析筛选出 5 种成分, 是 24 批药材产生质量差异的标志性成分。**结论** 所建 HPLC 指纹图谱方法操作简便、准确, 结合化学模式识别可用于侧柏叶的质量控制。峰 8 等 5 个成分为影响侧柏叶质量的差异性成分。

【关键词】 侧柏叶; 高效液相色谱法; 指纹图谱; 化学模式识别

Evaluation of *Platycladi Cacumen* quality based on HPLC fingerprints and multiple chemical pattern recognition

Juan-Di WANG^{1,2}, Rui LIU^{1,2}, Xiao MA^{1,2}, Zhao-Hui GUO^{1,2}, Jian ZHENG³, Shuang-Cheng MA³

1. Gansu Provincial Institute of Drug Control, Lanzhou 730070, China
 2. NMPA Key Laboratory for Quality Control of TCM, Lanzhou 730070, China
 3. National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 100050, China
- Corresponding author: Xiao MA, Email: 2484649834@qq.com

【Abstract】Objective To establish the HPLC fingerprints of *Platycladi Cacumen* from different origins and evaluate its quality through chemical pattern recognition. **Methods** An HPLC method was adopted. The determination was performed on a ZORBAX Eclipse plus-C₁₈

DOI: 10.19960/j.issn.1005-0698.202308007

基金项目: 兰州市科技计划项目 (2022-3-41); 甘肃省药品产业技术扶持项目 (2019KF008); 甘肃省药品科研项目 (2022GSMPA0017、2022GSMPA0075); 中药材及饮片质量控制重点实验室项目 (2022GSMPA-KL10、2022GSMPA-KL12); 甘肃省药品科研项目 (2022GSMPA0020); 中藏药检验检测技术工程实验室项目 (2021-ZZY-SFG-02)

通信作者: 马潇, 主任中药师, Email: 2484649834@qq.com

(250 mm×4.6 mm, 5 μm) column with mobile phase consisted acetonitrile-0.1% phosphoric acid with gradient elution at the flow rate of 1.0 mL·min⁻¹. The detection wave length was set at 254 nm. HPLC fingerprints of 24 batches of *Platycladi Cacumen* were established by using the *Similarity Evaluation System of TCM Chromatographic Fingerprints* (2012 edition), and the common peaks were determined in combination with the spectra of mixed control. SPSS 25.0 software was used for cluster analysis; Simca-P software was used for principal component analysis and partial least squares discriminant analysis; the differential components affecting the quality were screened. **Results** There were 13 common peaks in the fingerprint of *Platycladi Cacumen*. Compared with the control fingerprint, the similarity of the 23 batches of herbs was greater than 0.92 except for the S2 batch. Four chromatographic peaks were identified, which were myricitrin, quercitri, isoquercitrin and amentoflavone. The results of cluster analysis showed that 24 batches of *Platycladi Cacumen* could be clustered into two categories. S1, S3-S24 were clustered into one class. The medicinal materials from the same origin had great differences, and the medicinal materials from different origins also had similarities; S2 was clustered into one class, which was *Sabina chinensis*. The results of principal component analysis showed that the cumulative contribution rate of the six principal components was 88.412%, which could reflect most of the information of the original chromatographic peak. Partial least squares discriminant analysis showed that 5 components were selected, which were the landmark components of 24 batches of medicinal materials to produce differences. **Conclusion** Established HPLC fingerprint is simple and accurate. Combined with chemical pattern recognition, it can be used for the quality control of *Platycladi Cacumen*. Five components such as peak 8 are the differential components affecting the quality of *Platycladi Cacumen*.

【Keywords】 *Platycladi Cacumen*; HPLC; Fingerprint; Chemical pattern recognition

侧柏叶为柏科植物侧柏 *Platycladus orientalis* (L.) Franco 的干燥枝梢和叶, 其气清香, 味苦涩, 归肺、肝、脾经, 具有凉血止血、化痰止咳、生发乌发的功效。主要用于治疗吐血、咯血、便血、崩漏下血、肺热咳嗽、血热脱发、须发早白^[1]。侧柏叶中含有多类药用活性成分, 主要是黄酮类、挥发油、鞣质类等, 具有抗炎、抗菌、止血、镇咳祛痰、抗氧化、生发乌发等的药理作用^[2-6]。姚慧娟等^[7]采用气相色谱-质谱法(GC-MS)对侧柏叶中挥发性成分进行分析研究, 分离出 20 种挥发性成分, 鉴定出 15 种化合物; 石典花等^[8]采用超高效液相色谱串联四极杆飞行时间质谱联用技术(UPLC-QTOF-MS/MS)对侧柏叶炒炭前后化学成分进行辨识和比较, 结果发现黄酮类成分为侧柏叶炒炭前后功效变化的主要原因; 王树宁等^[9-10]采用响应面法优化超声辅助提取研究了侧柏叶中总黄酮的提取工艺, 结果发现超声提取能充分提取侧柏叶中黄酮类成分。上述研究显示, 侧柏叶具有诱人的前景, 可以应用于医药、农药、

化妆品等领域。

侧柏叶作为传统中药材其含有复杂的化学成分, 采用单一化学成分很难准确地评价其质量。中药指纹图谱具有信息量大、特征性强、整体性和模糊性的特点, 能较为全面地反映中药中化学成分信息, 已被广泛用于中药材及中药复方的质量控制和评估领域, 采用中药指纹图谱的研究改进侧柏叶的质量标准, 为其药材和饮片的质量控制提供有效方法, 保障了其在临床上的应用。查阅文献发现有关侧柏叶指纹图谱的研究报道比较少, 本文主要建立了侧柏叶的指纹图谱并结合指纹图谱相似度分析、聚类分析以及主成分分析, 分析了不同产地侧柏叶之间的差异, 为充分发挥其药用价值, 同时为中药材侧柏叶的质量控制提供科学依据。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Agilent 1260 高效液相色谱仪(美国安捷伦公

司); RE-52AA 型旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂); ME24-102/XS205Du 型电子分析天平(瑞士梅特勒)。

1.2 试剂

杨梅苷(中国食品药品检定研究院,批号:111860-201001,含量以92.3%计算);异槲皮苷(中国食品药品检定研究院,批号:111809-201403,含量以92.9%计算);槲皮苷(中国食品药品检定研究院,批号:111538-200504);穗花双黄酮(上海源叶生物科技有限公司,批号:PA0819RB13,含量以98.0%计算);水为超纯水,乙腈为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

24批药材采集自不同产地,经兰州大学蒲训教授鉴定S2为圆柏 *Sabina chinensis* (L.) Ant 的干燥枝梢和叶,其余23批为侧柏 *Platycladus orientalis* (L.) Franco 的干燥枝梢和叶。药材信息见表1。

2 方法与结果

2.1 HPLC指纹图谱的建立

2.1.1 色谱条件

色谱柱: ZORBAX Eclipse Plus-C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈(A)-0.1%磷酸溶液(B), 梯度洗脱程序见表2; 检测波长: 254 nm; 柱温: 30℃; 流速: 1.0 mL · min⁻¹; 进样量: 10 μL。

表1 24批侧柏药材样品来源信息

Table 1. Sample information of 24 batches of

Platycladus orientalis

编号	采集地点	编号	采集地点
S1	山西省天镇县	S13	山西省临县
S2	湖南省益阳市安化县	S14	山西省右玉县
S3	河南省濮阳县	S15	山西省武乡县
S4	河南省襄城县	S16	安徽省和县
S5	河南省温县	S17	河南省洛宁县
S6	海南省海口市澄迈县	S18	山西省阳城县
S7	河南省灵宝县	S19	重庆市奉节县
S8	山西省永济县	S20	河北省内邱县
S9	海南省临高县	S21	重庆市巫山县
S10	河南省郸城县	S22	山西省昔阳县
S11	河南省遂平县	S23	山西省清徐县
S12	安徽省全椒县	S24	湖南省慈利县

表2 梯度洗脱程序

Table 2. Gradient elution programme

时间 (min)	流动相A (%)	流动相B (%)
0~5	3	97
5~10	3→10	97→90
10~40	10→20	90→80
40~50	20→30	80→70
50~60	30→70	70→30
60~65	70→80	30→20
65~75	80→3	20→3

2.1.2 混合对照品溶液的制备

精密称取杨梅苷对照品 10.39 mg、异槲皮苷对照品 11.04 mg、槲皮苷对照品 10.26 mg、穗花双黄酮对照品 11.82 mg, 分别置于 10 mL 量瓶中, 甲醇溶解并定容, 得各单一对照品贮备液。分别精密吸取上述各单一对照品贮备液适量, 加甲醇稀释, 制成杨梅苷、异槲皮苷、槲皮苷、穗花双黄酮质量浓度分别为 33.25, 4.12, 98.50, 7.57 μg · mL⁻¹ 的混合对照品溶液。

2.1.3 供试品溶液的制备

取 24 批样品, 粉碎, 取粉末(过四号筛), 精密称取 0.3 g, 加入 30 mL 70% 甲醇, 超声处理(功率: 700 W, 频率: 80 kHz) 30 min, 过滤, 收集滤液, 蒸干, 加 70% 甲醇溶解并转移至 10 mL 量瓶中, 定容至刻度, 摇匀, 作为供试品溶液。

2.1.4 精密度试验

取样品粉末(编号: S21)按“2.1.3”项下方法制备供试品溶液, 按“2.1.1”项下色谱条件连续进样测定 6 次, 以槲皮苷为参照峰, 计算各共有峰的相对保留时间和相对峰面积。结果显示 13 个共有峰相对保留时间 RSD 均小于 0.86% (n=6) 和相对峰面积 RSD 均小于 2.61% (n=6)。表明方法精密度良好。

2.1.5 重复性试验

取样品粉末 6 份(编号: S21), 按“2.1.3”项下方法制备供试品溶液, 再按“2.1.1”项下色谱条件进样测定, 以槲皮苷为参照峰, 计算各共有峰的相对保留时间和相对峰面积。结果显示 13 个共有峰相对保留时间的 RSD 均小于 2.62% (n=6), 相对峰面积的 RSD 均小于 2.81% (n=6)。表明方法重复性良好。

2.1.6 稳定性试验

取样品粉末(编号: S21)按“2.1.3”项下

方法制备供试品溶液, 分别于室温下放置0, 2, 4, 8, 12, 24 h, 按“2.1.1”项下色谱条件进样测定, 以槲皮苷为参照峰, 计算各共有峰的相对保留时间和相对峰面积。结果显示13个共有峰相对保留时间的RSD均小于1.85% (n=6), 相对峰面积的RSD均小于2.01% (n=6)。表明供试品溶液于室温下放置24 h内稳定良好。

2.1.7 指纹图谱的建立

分别取24批药材粉末, 按照“2.1.3”项下方法制备供试品溶液, 按照“2.1.1”项下色谱条

件进样测定, 记录色谱图。将24批样品的色谱图导入中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012版)进行分析, 设置S9为参照指纹图谱, 采用中位数法, 时间宽度为0.2 min, 多点校正自动匹配, 系统生成24批样品的叠加指纹图谱和对照指纹图谱。结果显示, 24批样品共有13个共有峰。详见图1和图2。

2.1.8 共有峰的指认

经与混合对照品色谱图(取“2.1.2”项下混合对照品溶液同法测定所得, 见图3)比对, 共

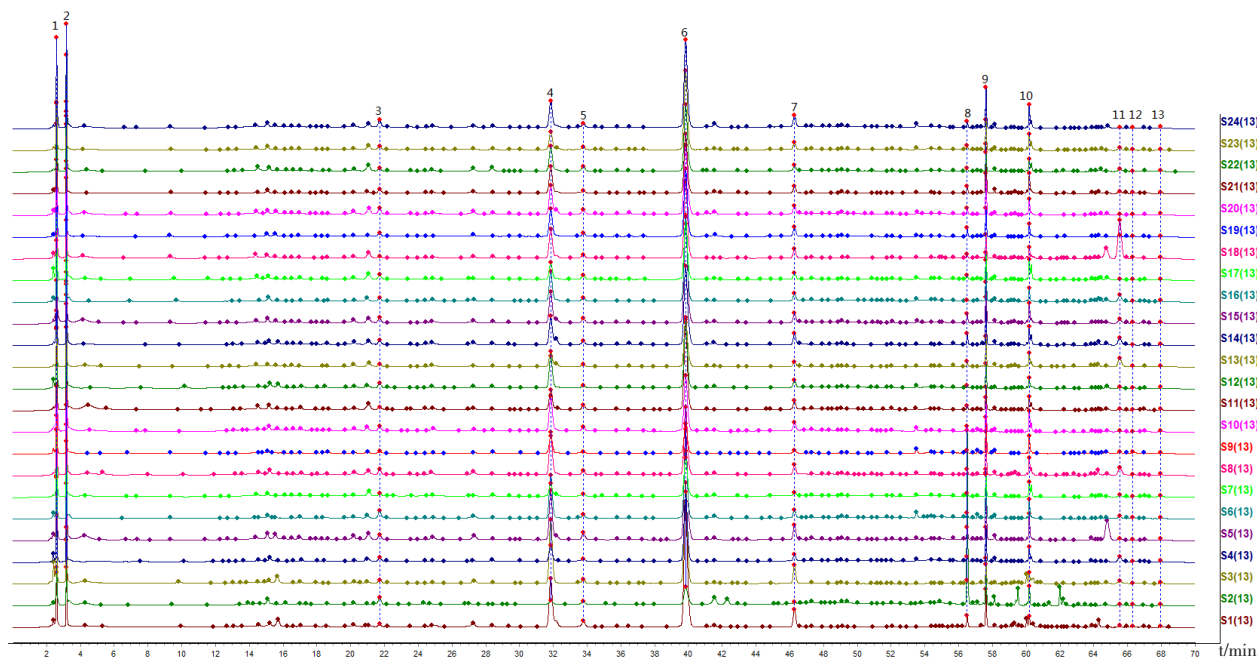


图1 24批侧柏叶药材的HPLC叠加指纹图谱

Figure 1. HPLC superimposed fingerprint of 24 batches of *Platycladus orientalis*

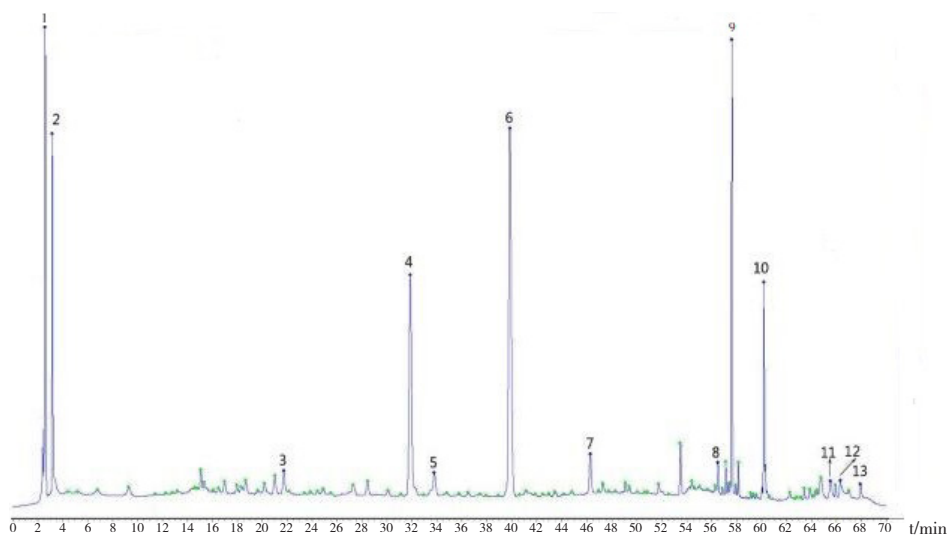


图2 侧柏叶对照指纹图谱

Figure 2. Reference fingerprint of *Platycladus orientalis*

注: 4. 杨梅苷; 5. 异槲皮苷; 6. 槲皮苷; 9. 穗花双黄酮

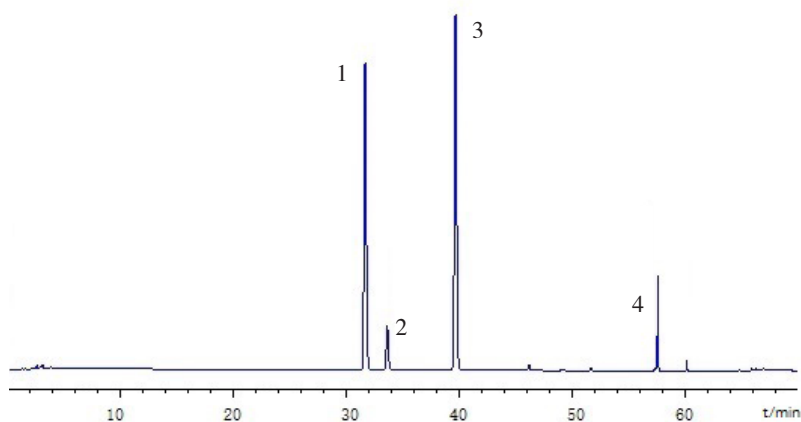


图3 混合对照品色谱图

Figure 3. Mixed reference chromatograms

注：1. 杨梅苷；2. 异槲皮苷；3. 槲皮苷；4. 穗花双黄酮

指认了4个共有峰，分别为杨梅苷（峰4）、异槲皮苷（峰5）、槲皮苷（峰6）、穗花双黄酮（峰9）。选择中国药典2020年版规定的槲皮苷为参照峰，计算各共有峰相对峰面积的RSD为28%~250%，差异较大，说明不同产地的侧柏叶中成分具有较高的相似性，但含量差异较大。

2.1.9 相似度评价

采用中药色谱指纹图谱相似度评价系统（2012版）对24批样品相似度评价。结果显示，与对照指纹图谱（R）相比，23批（编号：S1，S3-S24）样品的相似度大于0.92，1批（编号：S2）次相似度为0.486。表明不同产地侧柏叶的色谱特征相似，其化学成分组成大致相同、质量稳定、差异较小。结果见表3。

表3 24批侧柏叶的相似度评价结果

Table 3. Similarity evaluation results of 24 batches of *Platycladus orientalis*

编号	相似度	编号	相似度
S1	0.972	S13	0.991
S2	0.486	S14	0.986
S3	0.980	S15	0.992
S4	0.979	S16	0.982
S5	0.989	S17	0.989
S6	0.965	S18	0.936
S7	0.974	S19	0.994
S8	0.969	S20	0.997
S9	0.966	S21	0.979
S10	0.940	S22	0.995
S11	0.987	S23	0.973
S12	0.993	S24	0.995

2.2 聚类分析

采用SPSS 25.0软件，将共有峰的峰面积相对标准化处理后，进行聚类分析，结果见图4。当类间距为10时，分为3类，I类为S4、S6-S14、S16-S24，主要产区为河南、海南、山西、安徽、湖北、重庆、河北、湖南；II类为S1、S3、S5、S15，主要产区为河南、山西；两类产地有交叉；III类为S2，来自湖南。当类间距为20时，样品可分为2类，S1、S3-S24为第一类，该23批为侧柏叶；S2为第二类，该药材为圆柏叶，有别于其余23批药材。聚类结果表明同一产地的药材有较大差异，不同产地药材也有相似性，同时可以区分侧柏叶与圆柏叶，这为侧柏叶与圆柏叶的区分提供技术支撑。

2.3 主成分分析

将24批样品根据产地分为6组，在聚类分析的基础上，利用SPSS 25.0软件进行主成分分析。特征值及提取载荷平方和见表4，载荷矩阵见表5。从表4可知提取的6类主成分的累计方差贡献率为88.412%，从表5可知，第一类主成分为色谱峰4、5、6和7，第二类主成分为色谱峰3、8和9，第三类主成分为色谱峰10和13，第四类主成分为色谱峰9和11，第五类主成分为色谱峰12，第六类主成分为色谱峰3，表明样品指纹图谱中绝大部分的化学信息可通过该6类主成分反映出来；也是引起不同产地不同批次侧柏叶的差异性的主要原因。

采用Simca-P 14.1软件对侧柏叶进行主成分分析，绘制主成分得分图。由图5可知，除了海南的侧柏叶，其他不同产地的侧柏叶基本上比较

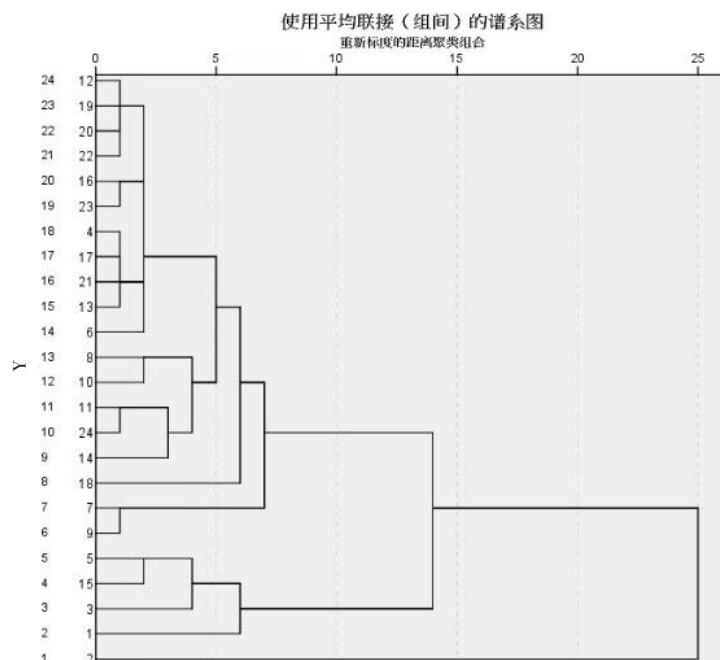


图4 24批侧柏叶聚类分析树状图

Figure 4. Dendrogram of cluster analysis of 24 batches of *Platycladus orientalis*

表4 主成分分析特征值及提取载荷平方和

Table 4. Principal component 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	4.432	34.095	34.095	4.432	34.095	34.095
2	2.440	18.766	52.861	2.440	18.766	52.861
3	1.837	14.129	66.990	1.837	14.129	66.990
4	1.148	8.831	75.821	1.148	8.831	75.821
5	0.911	7.011	82.832	0.911	7.011	82.832
6	0.725	5.580	88.412	0.725	5.580	88.412

表5 主成分分析载荷矩阵

Table 5. Principal component analysis load matrix

成分	1	2	3	4	5	6
1	0.384	-0.002	0.424	-0.215	0.159	0.117
2	0.328	0.112	0.326	0.125	0.029	0.098
3	0.183	0.806	-0.006	0.073	0.172	0.286
4	0.785	-0.213	-0.431	-0.029	0.047	0.270
5	0.761	0.075	-0.230	0.201	-0.054	-0.316
6	0.842	-0.234	-0.228	0.025	-0.076	-0.228
7	0.872	-0.199	-0.289	-0.043	-0.068	0.126
8	-0.317	0.587	0.003	0.354	-0.507	0.271
9	0.289	0.621	-0.307	0.521	0.119	-0.164
10	0.244	0.479	0.583	0.007	0.463	-0.256
11	-0.021	-0.609	0.239	0.712	0.035	0.131
12	-0.515	-0.415	-0.284	0.309	0.541	0.172
13	0.264	-0.360	0.777	0.195	-0.247	-0.081

聚集,说明海拔、温湿度对侧柏叶的质量有一定的影响;同时由图5可知,S2与其他23批样品未聚为一类,说明该方法可以有效的区别侧柏叶与圆柏叶,结果验证了聚类分析的结果。得分图见图5。

2.4 偏最小二乘法-判别分析

建立24批样品等级分类与标定的13个成分的多元线性关系,将数据导入Simca-P 14.1软

件,进行偏最小二乘法-判别分析回归分析。模型 $R^2X(\text{cum})=1$ 、 $Q^2(\text{cum})=0.996$,得到13个化合物的贡献情况依次为 $P_8 > P_6 > P_9 > P_3 > P_4 > P_5 > P_{10} > P_{11} > P_{13} > P_{12} > P_1 > P_7 > P_2$ 。结果见图6。以贡献值 > 1 为标准得到5个成分,其中有3个峰已指认,分别为6-槲皮苷、9-穗花双黄酮、4-杨梅苷。说明这5个成分是影响侧柏叶质量的主要标志性成分。

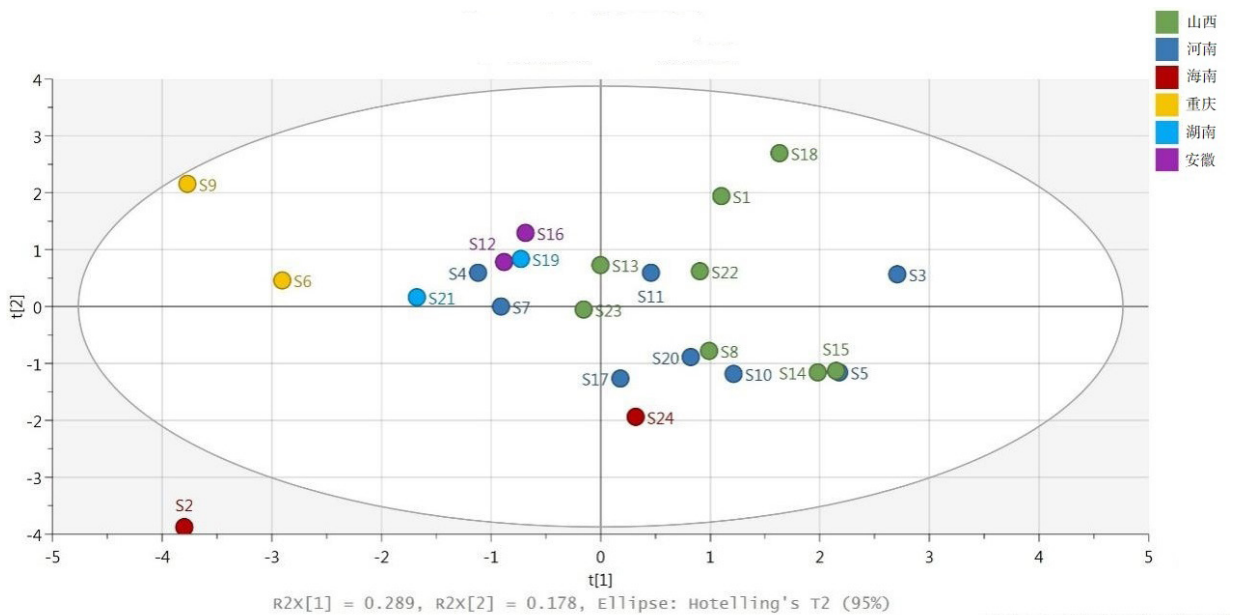


图5 24批侧柏叶主成分得分图

Figure 5. PLS-DA scoring plot of 24 batches of *Platycladus orientalis*

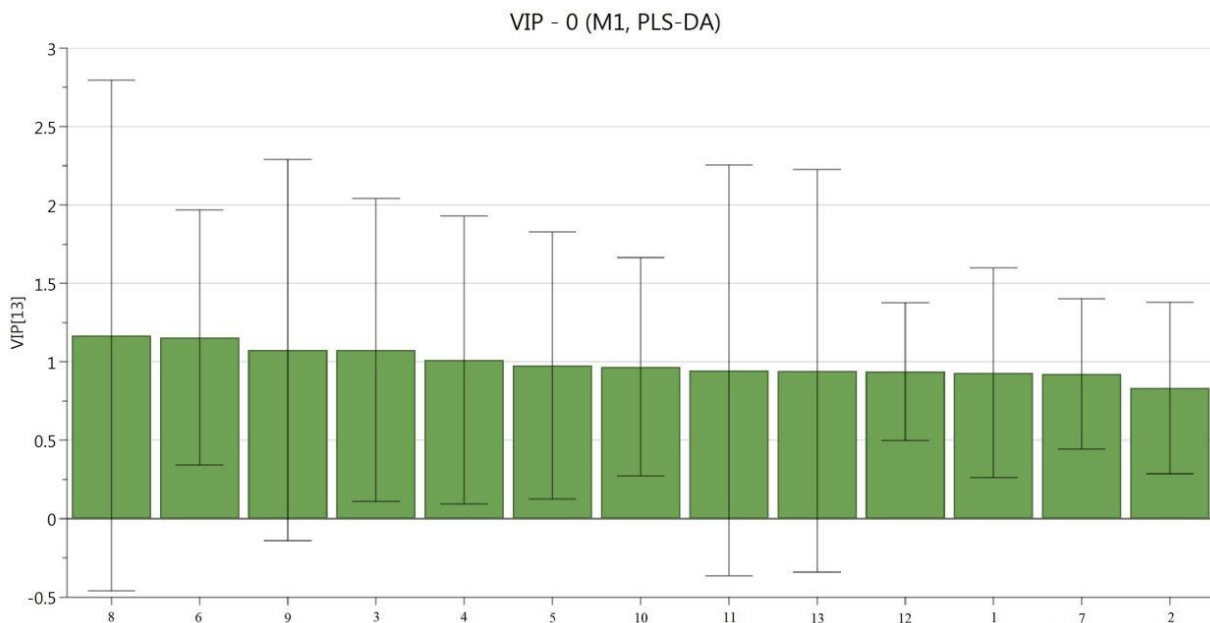


图6 24批侧柏叶样品中13个共有峰的变量重复性投影得分图

Figure 6. VIP values of 13 common peaks in 24 batches of *Platycladus orientalis*

3 讨论

3.1 提取工艺及色谱条件考察

本试验通过考察并查阅相关文献,采用不同浓度的甲醇溶液对侧柏叶中化学成分的提取进行比较,结果发现采用 70% 甲醇时,指纹图谱中的化学成分较多。关于有机流动相的选择,经查阅文献^[11-13],采用乙腈比采用甲醇的分离效果好,各个成分的峰型没有拖尾现象,因此,流动相的有机相选择乙腈。在 190~800 nm 进行全波长扫描,结果在 254 nm 时色谱峰较多,分离度较好,故选择波长为 254 nm。超声提取^[14-16]对黄酮类成分的提取较回流提取理想,故选择采用超声提取的方式。

3.2 化学计量学分析

对 24 批药材进行相似度分析,结果除了 S2 药材外,23 批药材相似度均大于 0.92,相似度良好,表明建立的指纹图谱方法可靠。对共有的 13 种化学成分进行聚类分析、主成分分析和偏小二乘法-判别分析,结果表明单一的化学成分不能完全评价侧柏叶的质量,同时评价侧柏叶的质量不能单考虑化学成分含量高的。建立的中药指纹图谱可以全面地评价侧柏叶的质量。

综上,本试验建立了侧柏叶的指纹图谱,并结合中药指纹图谱相似度分析和聚类分析、主成分分析及最小二乘法-判别分析,全面研究了不同产地侧柏叶之间的差异,为侧柏叶的质量控制提供参考。

参考文献

- 1 中国药典 2020 年版.一部[S]. 2020: 225.
- 2 张瑞峰,曾阳,刘力宽,等.侧柏叶的化学成分与药理学作用研究进展[J].中国野生植物资源,2021,40(4): 53-56. [Zhang RF, Zeng Y, Liu LK, et al. Research progress on chemical constituents and pharmacological activities of platycladus orientalis leaves[J]. Chinese Wild Plant Resources, 2021; 40(4): 53-56.] DOI: 10.3969/j.issn.1006-9690.2021.04.010.
- 3 马世宏,单承莺,聂韡,等.侧柏叶、何首乌复合提取物防脱发功效研究[J].中国野生植物资源,2021,40(5): 43-57. [Ma SH, Shan CY, Nie W, et al. Study on the anti-hair loss effects of the compound extract of platycladus orientalis and polygonum multiflorum[J]. Chinese Wild

- Plant Resources, 2021, 40(5): 43-57.] DOI: 10.3969/j.issn.1006-9690.2021.05.009.
- 4 白雅黎,朱向东,兰雨泽,等.侧柏叶的临床应用及其用量[J].长春中医药大学学报,2020,36(6): 1123-1126. [Bai YL, Zhu XD, Lan YZ, et al. Clinical application and dosage of Chinese arborvitae twig and leaf[J]. Journal of Changchun University of Chinese Medicine, 2020, 36(6): 1123-1126.] DOI: 10.13463/j.cnki.cczy.2020.06.009.
- 5 李丽,高波,刘梅芳.侧柏叶对家兔心肌缺血-再灌注损伤的保护效应及其胆碱能抗炎作用[J].济宁医学学报,2021,44(1): 14-17. [Li L, Gao B, Liu MF. Study on the protective action of cacumen biotae on rabbits' myocardial ischemia reperfusion injury and its cholinergic anti-inflammatory function[J]. Journal of Jining Medical University, 2021, 44(1): 14-17.] DOI: 10.3969/j.issn.1000-9760.2021.01.004.
- 6 李丽,苗文静,王青.侧柏叶水煎液对耳廓炎症和腹腔炎症模型小鼠的抗炎作用[J].中国药房,2015,(25): 3515-3517. [Li L, Miao WJ, Wang Q. Anti-inflammation effects of cacumen biotae water decoction on mice with auricle and abdominal inflammation[J]. China Pharmacy, 2015, (25): 3515-3517.] DOI: 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.25.21.
- 7 姚慧娟,王宏宇,李平,等.GC-MS法对侧柏叶中挥发性成分的分析[J].广西林业科学,2018,47(3): 354-357. [Yao HJ, Wang HY, Li P, et al. Analysis of the volatile oil constituents of platycladus orientalis by GC-MS[J]. Guangxi Forestry Science, 2018, 47(3): 354-357.] DOI: 10.3969/j.issn.1006-1126.2018.03.022.
- 8 石典花,戴衍朋,王丽凤,等.基于UHPLC-QTOF-MS/MS辨识的侧柏叶炒炭前后化学成分分析[J].中国实验方剂学杂志,2021,27(8): 107-116. [Shi DH, Dai YP, Wang LF. Chemical composition analysis of platycladi cacumen before and after being carbonized based on identification by UHPLC-QTOF-MS/MS[J]. Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae, 2021, 27(8): 107-116.] DOI: 10.13422/j.cnki.syfjx.20202354.
- 9 王树宁,宋照军,黄莹洁,等.响应面法优化超声波辅助提取侧柏叶总黄酮工艺[J].食品研究与开发,2020,41(9): 88-93. [Wang SN, Song ZJ, Huang YJ, et al. Optimization of ultrasonic assisted extraction of total flavonoids from platycladus orientalis leaves by

- response surface methodology[J]. Food Research and Development, 2020; 41(9): 88-93.] DOI: 10.12161/j.issn.1005-6521.2020.09.014.
- 10 黄艳玲, 蔡锦源, 梁水娇. 响应面法优化微波-超声波辅助提取艾叶总黄酮的工艺研究[J]. 粮食科技与经济, 2019, 44(12): 91-94. [Huang YL, Cai JY, Liang SJ. Optimization of microwave-ultrasonic assisted extraction of total flavonoids from *Artemisia argyi* by response surface method[J]. Grain Science and Technology and Economy, 2019, 44(12): 91-94.] DOI: 10.16465/j.gste.cn431252ts.20191224.
- 11 普冰清, 徐怡, 曹红云, 等. HPLC 结合聚类分析法对不同产地侧柏叶中化学成分的比较分析[J]. 云南中医中药杂志, 2017, 38(8): 78-79. [Pu BQ, Xu Y, Cao HY, et al. Comparative analysis of chemical constituents in leaves of *Platycladus orientalis* from different areas by HPLC and cluster analysis[J]. Yunnan Journal of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica, 2017, 38(8): 78-79.] DOI: 10.16254/j.cnki.53-1120/r.2017.08.034.
- 12 谭晓亮, 李瑞海. HPLC 法同时测定侧柏叶、侧柏炭中的 7 种成分[J]. 中成药, 2015, 37(12): 2715-2718. [Tan XL, Li RH. Simultaneous determination of seven constituents in *cacumen platycladi* and *cacumen platycladi carbonisatum*[J]. Chinese Traditional Patent Medicine, 2015, 37(12): 2715-2718.] DOI: 10.3969/j.issn.1001-1528.2015.12.030.
- 13 申卫红, 张子龙, 叶家宏, 等. 侧柏叶及其水煎液 HPLC 特征图谱的相关性研究[J]. 中药新药与临床药理, 2013, 24(5): 487-490. [Shen WH, Zhang ZL, Ye JH, et al. Analysis of HPLC characteristic spectrum for *cacumen platycladi* and its decoction[J]. Traditional Chinese Drug Research and Clinical Pharmacology, 2013, 24(5): 487-490.] DOI: CNKI:SUN:ZYXY.0.2013-05-016.
- 14 宗珊珊. 侧柏叶质控标准改进及生发乌发药效物质初步研究[D]. 济南: 山东中医药大学, 2019.
- 15 宁娜, 韩建军, 郁建生. 侧柏叶总黄酮提取工艺研究进展[J]. 山东化工, 2020, 49(15): 83-84. [Ning N, Han JJ, Yu JS. Research progress on extraction technology of total flavonoids from *Platycladus orientalis*[J]. Shandong Chemical Industry, 2020, 49(15): 83-84.] DOI: 10.3969/j.issn.1008-021X.2020.15.036.
- 16 黄樱华, 黄月纯, 魏刚, 等. 正交试验法筛选侧柏叶总黄酮的提取工艺[J]. 中国实验方剂学杂志, 2009, 15(11): 34-37. [Huang YH, Huang YC, Wei G, et al. Optimization of extraction conditions for the total flavonoids of *cacumen platycladi* by orthogonal design[J]. Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae, 2009, 15(11): 34-37.] DOI: 10.3969/j.issn.1005-9903.2009.11.014.

收稿日期: 2022 年 09 月 14 日 修回日期: 2023 年 01 月 28 日
本文编辑: 周璐敏 钟巧妮