

基于 HPLC 指纹图谱鉴别四个不同品种的金银花叶

童凯^{1,2}, 沈国强¹, 黄月¹, 李洁媛¹, 曾繁富¹, 闫蒙¹, 甘婉莹¹, 李东^{1,2}

(1. 四川轻化工大学生物工程学院, 四川宜宾 644000)

(2. 酿酒生物技术及应用四川省重点实验室, 四川宜宾 644000)

摘要: 利用金银花叶的化学物质群差异, 开发金银花不同品种之间的鉴别技术。以灰毡毛忍冬、红腺忍冬、“北花1号”金银花、四季金银花的叶片为实验材料, 采用高效液相色谱仪(HPLC)构建金银花叶的化学指纹图谱, 从中提取了34个特征色谱峰, 结合主成分分析、系统聚类分析等多变量统计分析方法, 比较分析了4种不同品种的金银花叶的化学物质群差异。结果显示, 前两个主成分累计表征了51.3%的原始变量, 在主成分得分图上4个不同品种的金银花样品呈现各自相对独立的分布特征。聚类分析可将32个供试样品按品种来源及其相似程度聚为4类。相较于四季金银花, “北花1号”品种与之具有最相似化学特征, 其次依次为红腺忍冬和灰毡毛忍冬。指纹图谱中的第5、6、7(绿原酸)、8、11、14、16、18、24、29号等10个色谱峰, 是各品种金银花叶化学差异的主要来源, 可以进一步开发成为稳定的化学标记。本研究所建立的HPLC指纹图谱及其分析方法, 可以用于灰毡毛忍冬、红腺忍冬、“北花1号”金银花、四季金银花等不同品种金银花之间的鉴别分析。

关键词: HPLC; 指纹图谱; 金银花; 鉴别分析

文章编号: 1673-9078(2021)03-294-300

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2021.3.0763

Identification of Honeysuckle Leaves from Four Different Genetic Varieties Based on HPLC Fingerprints

TONG Kai^{1,2}, SHEN Guo-qiang¹, HUANG Yue¹, LI Jie-yuan¹, ZENG Fan-fu¹, YAN Meng¹, GAN Wan-ying¹, LI Dong^{1,2}

(1. College of Bioengineering, Sichuan University of Science & Engineering, Yibin 644000, China)

(2. Liquor Making Bio-Technology & Application of Key Laboratory of Sichuan Province, Yibin 644000, China)

Abstract: The discriminant analysis techniques to distinguish different varieties of honeysuckle leaves were developed based on their differences in chemical composition. Using the leaves of *Lonicera macranthoides* Hand.-Mazz., *L. hypoglauca* Miq., Bei Hua 1 *L. japonica* Thunb. and Si Ji *L. japonica* Thunb. as experimental materials, high performance liquid chromatography was used to construct chemical fingerprints of honeysuckle leaves. After 34 characteristic chromatographic peaks were extracted, the differences in chemical compositions of the four different varieties of honeysuckle leaves were analyzed and compared in combination with multivariate statistical analyses such as principal component analysis and system cluster analysis. The results revealed that the first two principal components accumulatively represented 51.3% of the original variables, and the principal component score maps of the four different varieties of honeysuckle samples showed relatively independent spatial distribution characteristics. Cluster analysis revealed that the 32 samples were grouped into 4 clusters according to the variety, source and similarity of fingerprints. Compared with Si Ji, Bei Hua 1 resembled the most in chemical characteristics, follow by *L. hypoglauca* Miq. and *L. macranthoides* Hand.-Mazz. The ten chromatographic peaks, No. 5, 6, 7 (chlorogenic acid), 8, 11, 14, 16, 18, 24 and 29, in the fingerprint spectra were proved to be the main contributors to the chemical differences among the different varieties of

引文格式:

童凯,沈国强,黄月,等.基于HPLC指纹图谱鉴别四个不同品种的金银花叶[J].现代食品科技,2021,37(3):294-300

TONG Kai, SHEN Guo-qiang, HUANG Yue, et al. Identification of honeysuckle leaves from four different genetic varieties based on HPLC fingerprints [J]. Modern Food Science and Technology, 2021, 37(3): 294-300

收稿日期: 2020-08-15

基金项目: 大学生创新创业训练计划项目(cx2019060); 酿酒生物技术及应用四川省重点实验室资助项目(NJ2017-12); 四川轻化工大学校级科研项目(2018RGL26)

作者简介: 童凯(1987-), 男, 博士, 讲师, 研究方向: 中药资源评价

通讯作者: 李东(1982-), 男, 博士, 副教授, 研究方向: 功能性食品开发

honeysuckle leaves, which can be further developed into stable chemical markers. The HPLC fingerprint and analysis method established in this research can be used for the identification and analysis of different varieties of honeysuckle leaves including *Lonicera macranthoides* Hand.-Mazz., *L. hypoglauca* Miq., *Bei Hua 1 L. japonica* Thunb. and *Si Ji L. japonica* Thunb.

Key words: HPLC; fingerprint; honeysuckle; discriminant analysis

金银花一般指忍冬科忍冬属植物忍冬 (*Lonicera japonica* Thunb.), 是一种重要的药食两用物质, 其花、茎、叶均具有较高的医疗和食用价值。在中医实践中, 常用金银花的花蕾和藤茎治疗风热感冒、温病发热等症候, 在食品行业中, 常用金银花的花蕾或花朵生产植物饮料或代用茶^[1]。金银花的叶因产量相对较高, 富含绿原酸、黄酮等活性物质, 且具有抑菌、抗氧化等药理作用, 在许多功能性食品、中成药、动物饲料、化妆品、日化品中均具有广泛的应用^[2,3]。

我国金银花及其近缘种的遗传资源十分丰富, 有忍冬属植物 98 种, 5 亚种, 18 变种^[4]。现流通于市的常见近缘种主要包括灰毡毛忍冬 *L. macranthoides* Hand.-Mazz.、红腺忍冬 *L. hypoglauca* Miq.、华南忍冬 *L. confuse* DC.、黄褐毛忍冬 *L. fulvotomentosa* Hsu et S.C. Cheng, 该 4 种近缘种也可被统称为“山银花”^[5]。此外, 在长期的人工栽培历史中, 逐渐形成了毛花系列、鸡爪花系列、野生系列等一系列金银花栽培品种。前人研究表明, 不同种质来源的金银花, 在农艺性状、营养风味、药理活性、经济价值等方面具有显著的差异, 一旦误用或混用则可能导致严重的后果^[6-9]。因此, 准确鉴别金银花的种质来源, 是金银花种植、加工、流通、消费等各环节, 保障金银花产品品质和的重要内容。

现已开发的各类鉴别技术具有各自不同的适用条件, 在实际工作中需要根据具体情况灵活使用^[10,11]。例如, 基于原植物形态特征的鉴别方法, 具有简便易行的优点, 尤其适用于野外鉴别, 但对鉴别者的专业水平和经验依赖较强, 而且对于局部样、破损样、粉末样等往往难于做出准确鉴定。基于植物 DNA 序列特征的分子鉴别方法, 具有专属性强的特点, 尤其适用于精准鉴别, 但因灵敏度过高, 可能对极少量的、无意引入的异种 DNA 污染造成误判^[12]。近年来, 基于样品内在化学物质群的组成和含量特征建立的化学指纹图谱技术, 由于在准确度和灵敏度方面具有较好的平衡, 已在咖啡^[13]、陈皮^[14]、橄榄油^[15]等众多产品的质量评价和真伪鉴别中得到成功应用, 表现出广阔

的潜力。本研究以 4 种不同种质来源的金银花叶为研究材料, 利用高效液相色谱仪 (HPLC) 建立化学指纹图谱, 结合主成分分析、聚类分析等多变量统计分析方

法, 比较分析 4 种金银花叶的化学物质群差异, 以期不同种质金银花的鉴别及其产品的质量控制在提供参

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 供试植物

供试金银花叶于 2019 年 11 月采集自四川省雅安市天全县, 经植物学形态考察初步鉴定, 来自于 4 个不同的种质资源, 分别为忍冬栽培品种“北花 1 号” (*Bei Hua 1, L. japonica* Thunb.)、忍冬栽培品种“四季金银花” (*Si Ji, L. japonica* Thunb.)、红腺忍冬 (*L. hypoglauca* Miq.) 和灰毡毛忍冬 (*L. macranthoides* Hand.-Mazz.)。每个种质类型采集 8 批次样品, 依次编号为 B1-B8, S1-S8, H1-H8 和 Y1-Y8, 每批次样品由相同种质的不同植株的叶片混合构成, 合计采集 32 批样品。



图 1 供试金银花原植物

Fig.1 Honeysuckle plants from 4 different genetic varieties

注: a: 红腺忍冬; b: “北花 1 号”; c: 灰毡毛忍冬; d: 四季金银花。

1.1.2 主要设备

Agilent 1260 高效液相色谱仪, 美国安捷伦科技公

司; KQ-700DE 超声波清洗器, 昆山市超声仪器有限公司; 101-3B 电热恒温干燥箱, 浙江力辰仪器科技有限公司; 101-3AB 高速中药粉碎机, 温州顶历医疗器械有限公司; UPT-1-100L 超纯水器, 成都超纯科技有限公司。

1.1.3 主要试剂

色谱级乙腈、甲醇、甲酸, 购自于赛默飞世尔科技(中国)有限公司; 无水乙醇, 购自于成都科隆化学有限公司; 超纯水由超纯水仪提供; 绿原酸标准品(纯度>98%), 购自于成都德思特生物技术有限公司, 生产批号为 DST190906-021。

1.2 试验方法

1.2.1 样品处理

选择各批次样品中无病斑和虫眼的新鲜健康叶片, 除去泥土、杂质, 在 105 °C 下杀青 5 min 后, 于 60 °C 恒温干燥约 4 h, 粉碎过 60 目筛, 低温避光保存备用。

1.2.2 溶液制备

精密称量 0.5 g 样品粉末, 加入 20 mL 50% 乙醇溶液, 称定重量。40 kHz 下超声提取 30 min, 期间震荡两次。静置冷却到室温后再次称重, 用 50% 乙醇溶液弥补损失的重量。静置 30 min 后, 取上清液 1 mL, 过 0.45 μm 微孔滤膜, 取滤液低温保存备用。另精密称取适量标准品, 用 50% 甲醇(色谱级)溶解后, 低温保存备用。

1.2.3 色谱条件

在陈魁霞等^[16]研究的基础上略作修改, 采用如下色谱条件: 色谱柱: Infinity Lab Poroshell 120 EC C18 柱(150 mm×4.6 mm); 流动相(A: 0.1% 甲酸, B: 甲醇, C: 乙腈); 流速: 0.5 mL/min; 检测柱温: 30 °C; 检测时间: 40 min; 检测波长: 327 nm; 梯度洗脱程序: 0~36 min, 流动相 A: 90%~67%, 流动相 B: 0%~3%, 流动相 C: 10%~30%; 36~40 min, 流动相 A: 67%~10%, 流动相 B: 3%~10%, 流动相 C: 30%~80%。

1.2.4 数据分析

采用 Open LAB Chemstation 化学工作站提取色谱数据, 采用 Microsoft Excel 进行数据预处理, 采用 MetaboAnalyst 4.0 软件进行聚类分析和主成分分析。

2 结果与讨论

2.1 指纹图谱的建立

2.1.1 色谱检测与数据提取

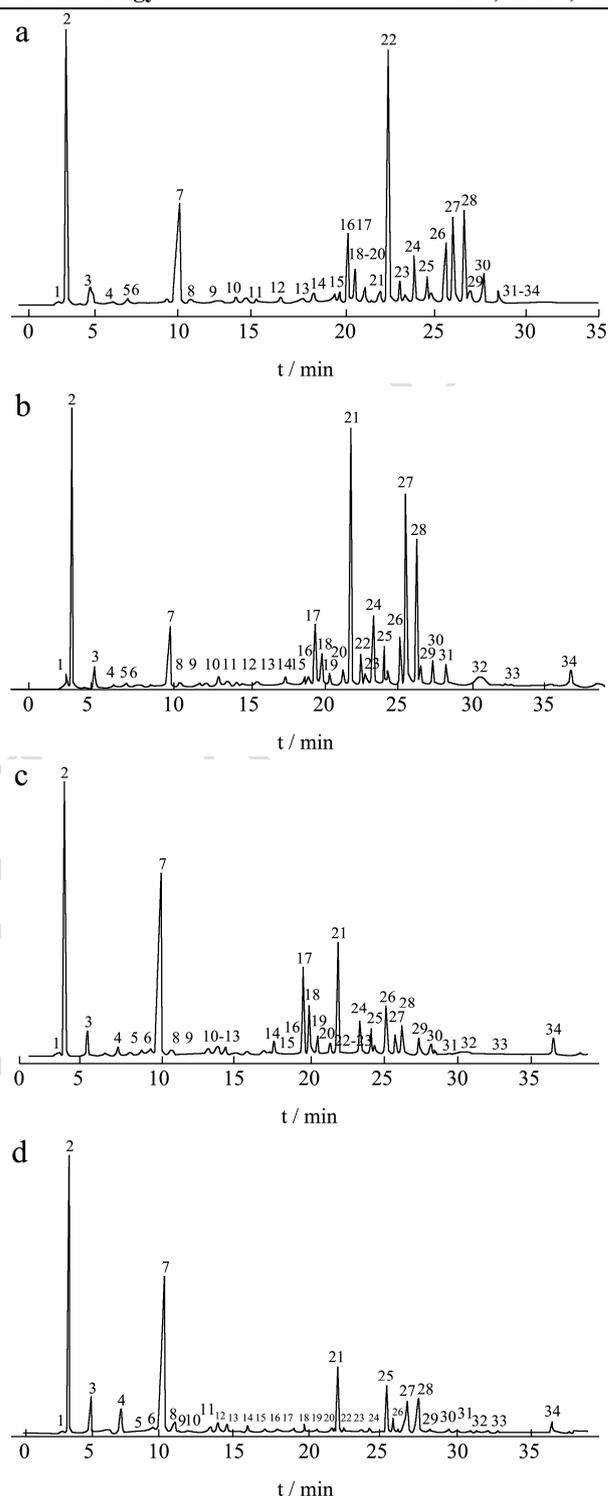


图2 不同种质金银花叶典型指纹图谱

Fig.2 Typical HPLC fingerprint of different honeysuckle leaves

注: a: 四季金银花; b: “北花1号”; c: 红腺忍冬; d: 灰毡毛忍冬。

32 批次样品溶液按 1.2.3 所述色谱条件连续进样测定, 得到相应的 HPLC 色谱图。4 种不同种质来源的金银花叶典型 HPLC 色谱图见图 2。各个色谱图可在 0~40 min 内基本出峰完毕, 且出峰数量丰富, 峰形良好, 从中提取出特征色谱峰 34 个, 按照保留时间先

后顺序,依次编号 1~34。同时记录各色谱峰的峰面积数据,组成 32×34 的分析数据集。

2.1.2 色谱峰指认

根据《中国药典》(2015 版),金银花以绿原酸和木犀草苷作为其质量评价的指标成分。因此,在相同色谱条件下,分别进样测定绿原酸和木犀草苷标准品溶液,记录其保留时间与样品溶液色谱图比对。结果显示,本实验色谱图中第 7 号色谱峰为绿原酸的物质信号(图 3),而木犀草苷在该色谱条件下未被检出。

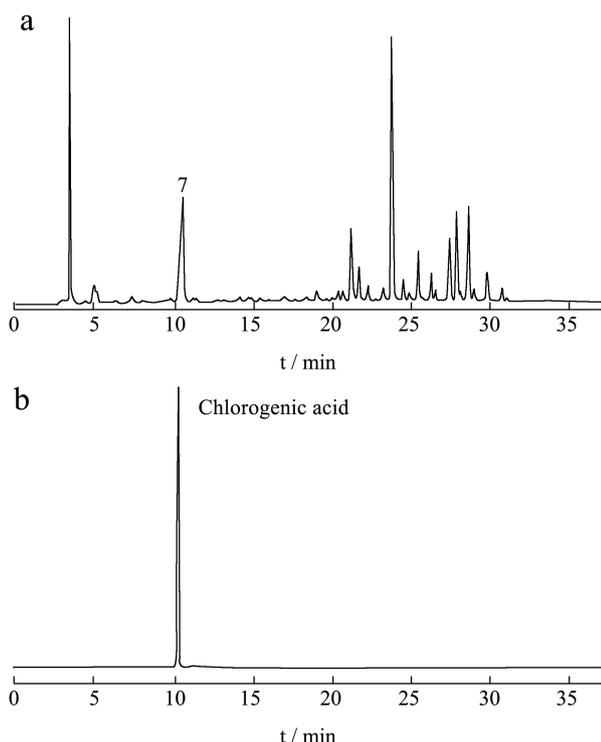


图 3 色谱峰指认结果

Fig.3 Result of chromatographic peak identification

注: a: 金银花叶样品指纹图谱; b: 绿原酸标准品色谱图。

2.2 方法学考察

2.2.1 精密度试验

以绿原酸标准品作为内标溶液,连续进样 6 次,记录并计算其色谱峰面积相对标准偏差 RSD 值,为 3.02%,变异幅度较小,说明所建立的色谱方法精密度较好。

2.2.2 稳定性试验

制备混合叶片样品,分别于 0 h、2 h、4 h、8 h、12 h 后进行测定,记录并计算绿原酸色谱峰面积相对标准偏差 RSD 值,为 4.78%,变异幅度较小,说明所建立的色谱方法稳定性较好。

2.2.3 重现性试验

平行制备 5 份四季金银花样品溶液,依次进样测定,记录并计算 7 号峰(绿原酸)的色谱峰面积相对

标准偏差 RSD 值,为 1.55%,变异幅度较小,说明所建立的色谱方法重现性较好。

2.3 主成分分析

主成分分析(PCA)是一种降维技术,其基本思想是用少数几个具有代表性的综合指标(主成分)代替多个原始变量,从而实现降维观察数据特征的多元统计分析方法^[17,18]。例如,宋九华^[19]等人针对不同产地金银花样品构建了 HPLC 指纹图谱,然后利用主成分分析方法,对图谱中 13 个共有峰面积所构成的数据集进行降维比较后发现,产自于四川、山东、贵州、安徽、河南等不同产地的 16 批次金银花可以分为 3 个大产区,为金银花的产地识别和质量控制提供了有益的方法参考。

本研究以 32 个不同品种来源的金银花叶为对象构建 HPLC 指纹图谱,对从中提取的 34 个色谱峰的峰面积组成的数据矩阵进行主成分分析。结果显示,前两个主成分(PC1 和 PC2)分别表征了原始变量 35.1%和 16.2%的变异信息。在以 PC1 和 PC2 为横纵坐标绘制的二维得分图中,32 个供试样品的分布呈现 4 种明显不同的聚集趋势,来自于相同品种的样本倾向于聚集为相同一组,而不同品种的样品则相互远离。尤其,在 PC1 方向上,8 个灰毡毛忍冬样品(Y1-Y8)与其他 3 种样品均相距较远。以上结果说明,4 种不同品种来源的金银花叶的总体化学物质群具有显著差异,通过主成分分析可以对不同品种来源的金银花叶取得较好的区分效果,这为实际应用中区别使用不同品种的金银花原料,以及相关产品的质量控制提供了参考依据。类似的, Qingxia Wang^[20]等人从植物学形态、ITS 序列、花蕾中活性成分积累等方面,详细比较了忍冬、灰毡毛忍冬、黄褐毛忍冬、红腺忍冬等 4 种不同品种的金银花的差异,结果发现正品金银花(*L. japonica* Thunb.)与其他 3 种易混淆金银花品种均具有较大差异,这与本研究的结果是一致的。

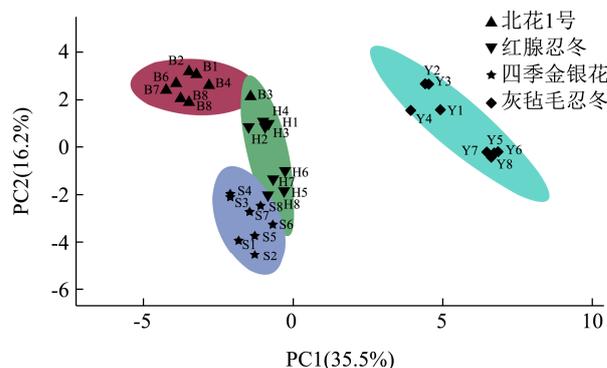


图 4 主成分分析得分图

Fig.4 Score plot of PCA

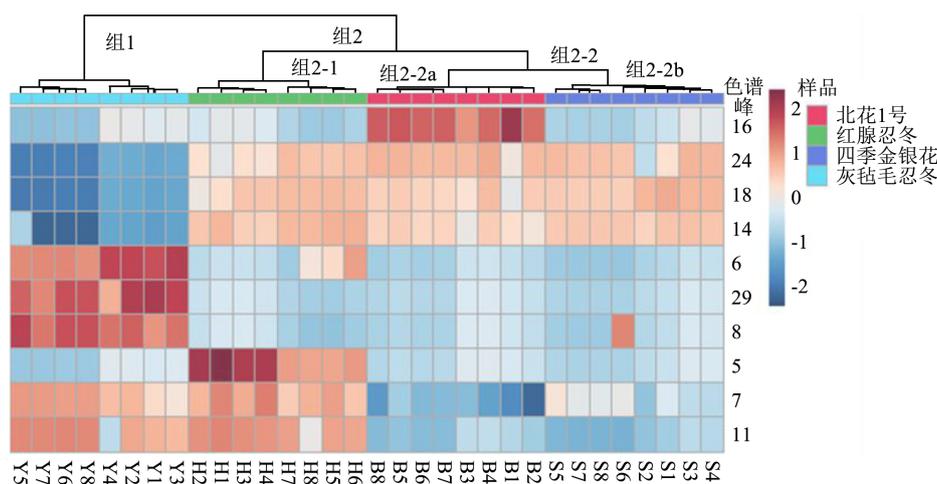


图5 聚类分析结果

Fig.5 Result of cluster analysis

2.4 聚类分析

系统聚类法的基本思想是将多个样品各自作为一类,然后计算各类之间距离的远近,首先将距离最近的两类合并成新的类,然后用所得到的新的一类和其他类的样品再进行距离分析,将此时距离最近的再归为一类,直至将所有样品合为一大类,最终形成聚类树状图^[21,22]。邵林^[23]等人利用聚类分析的方法,对山东地区10个不同栽培品种金银花花蕾的HPLC指纹图谱进行分析,发现金银花花蕾的化学物质群特征,不仅在植物物种之间,也包括在不同栽培品种之间仍然具有较大差异。本研究利用系统聚类的方法,以欧氏距离为度量,对32个样品进行聚类分析。结果显示,32个样品中所有供试的灰毡毛忍冬样本首先被单独聚为一类(图5,组1),提示其化学物质群特征最大程度区别于其他3个品种的样品(图5,组2),这与上述主成分分析的结果是一致的。继续聚类分析显示,8个红腺忍冬的样本可再继续被单独聚为一类(图5,组2-1),以区别于“北花1号”和四季金银花的样本(图5,组2-2)。值得注意的是,“北花1号”和四季金银花虽同为忍冬植物的不同栽培品种,但仍然具有相对稳定和特殊的内在化学物质群,在聚类分析时还可继续被各自聚为一类(图5,组2-2a和组2-2b),这与上述邵林^[23]等人的研究结果是类似的。在本研究中,相较于四季金银花,其他品种中与之具有相似化学特征的金银花品种依次为“北花1号”,红腺忍冬和灰毡毛忍冬。这提示金银花叶的化学物质群差异,反映了各品种之间的亲缘关系强弱,并可据此建立HPLC指纹图谱用以辅助不同品种的鉴别分析。

进一步地,对各个色谱峰面积在各种质之间的差异进行方差分析,根据 P 值大小取前10个最显著差异

的色谱峰,并按峰面积相对大小值绘制热力图(图5)。结果显示,指纹图谱中第16号、24号、18号、14号、6号、29号、8号、5号、7号、11号色谱峰是各种质金银花叶化学差异的最主要来源。其中,7号峰经指认为绿原酸,其相对含量按高低依次为灰毡毛忍冬、红腺忍冬、北花1号和四季金银花。这与肖作为^[24]等人关于金银花和山银花中绿原酸含量的定量测定结果是吻合的。其他具有显著差异的色谱峰,经质谱检测等方法进一步鉴定后,可开发作为稳定的化学标记,用以辅助金银花不同种质之间的鉴别分析。朱姮^[25]等人利用RRLC-DAD-ESI-Q-TOF-MS技术建立了山东金银花花蕾的多指标定量指纹图谱,从中准确鉴定了32种化学成分,并且实现了不同品种金银花和湖南山银花的正确区分。而关于金银花叶片的化学成分构成,前人的相关研究表明,绿原酸、木犀草苷、芦丁等酚酸类、环烯醚萜苷类、黄酮类物质是金银花叶发挥抑菌、抗病毒、抗氧化、抗血小板聚集等药理活性的主要物质基础^[26]。陈魁霞^[16]等人建立了金银花中10种酚酸类成分的HPLC同时测定方法,赵金娟^[27]等人测定了不同品种金银花的花和叶中活性成分含量,发现金银花的叶中木犀草苷含量高于花,且不同品种之间存在显著差异。这些研究为金银花叶的化学鉴别和开发利用研究提供了良好的方法和思路参考。

3 结论

本研究所建立的HPLC指纹图谱,揭示了灰毡毛忍冬、红腺忍冬、“北花1号”、四季金银花4种不同种质的金银花叶具有显著不同的化学物质群特征。指纹图谱中第5、6、7(绿原酸)、8、11、14、16、18、24、29号色谱峰是各个种质金银花叶化学差异的主要来源,结合主成分分析和聚类分析,可实现对金银花

不同种质之间的鉴别分析。

参考文献

- [1] SHANG Xiao-fei, PAN Hu, LI Mao-xing, et al. *Lonicera japonica* Thunb. ethnopharmacology, phytochemistry and pharmacology of an important traditional Chinese medicine [J]. Journal of Ethnopharmacology, 2011, 138(1): 1-21
- [2] XIONG Jian-hua, LI Shi-chuan, WANG Wen-jun, et al. Screening and identification of the antibacterial bioactive compounds from *Lonicera japonica* Thunb. leaves [J]. Food Chemistry, 2013, 138(1): 327-333
- [3] 刘婵娟,毛晓霞,苏占辉,等.金银花叶的研究进展[J].中国医药导刊,2010,12(1):98-100
LIU Chan-juan, MAO Xiao-xia, SU Zhan-hui, et al. Research progress of *Lonicera japonica* Thunb. leaves [J]. Chinese Journal of Medicinal Guide, 2010, 12(1): 98-100
- [4] 许兰杰,梁慧珍,余永亮,等.中药金银花植物遗传多样性研究进展[J].安徽农业科学,2018,46(28):22-24
XU Lan-jie, LIANG Hui-zhen, YU Yong-liang, et al. Research progress of genetic diversity of germplasm resources of *Lonicera japonica* [J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2018, 46(28): 22-24
- [5] 国家药典委员会.中华人民共和国药典[S].一部.北京:中国医药科技出版社,2015
National Pharmacopoeia Committee. Pharmacopoeia of People's Republic of China [S]. Part 1. Beijing: China Medical Science Press, 2015
- [6] WU Jie, WANG Xiao-chen, LIU Yang, et al. Flavone synthases from *Lonicera japonica* and *L. macranthoides* reveal differential flavone accumulation [J]. Scientific Reports, 2016, 6: 19245
- [7] Kyo Bin Kanga, Shin-Jae Kang, Mi Song Kim, et al. Chemical and genomic diversity of six *Lonicera* species occurring in Korea [J]. Phytochemistry, 2018, 155: 126-135
- [8] 侯敏,唐清,张小娜,等.灰毡毛忍冬与忍冬的主要药效学比较研究[J].中草药,2013,44(3):309-314
HOU Min, TANG Qing, ZHANG Xiao-na, et al. Comparative studies on pharmacodynamics of *Lonicera macranthoides* and *Lonicera japonica* [J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2013, 44(3): 309-314
- [9] ZHOU Rong-rong, LIU Xue-hui, CHEN Lin, et al. Comparison of the antioxidant activities and phenolic content of five *Lonicera* flowers by HPLC-DAD/MS-DPPH and chemometrics [J]. International Journal of Analytical Chemistry, 2020,2020: 1-6
- [10] 陈颖.基于组学的食品表征识别与鉴伪研究[J].食品科学技术学报,2019,37(4):1-13
CHEN Ying. Omics-based technologies for food characteristic identification and authentication [J]. Journal of Food Science and Technology, 2019, 37(4): 1-13
- [11] 俞邱豪,张九凯,叶兴乾,等.基于代谢组学的食品真实属性鉴别研究进展[J].色谱,2016,34(7):657-664
YU Qiu-hao, ZHANG Jiu-kai, YE Xing-qian, et al. Progress on metabolomics for authenticity identification of food [J]. Chinese Journal of Chromatography, 2016, 34(7): 657-664
- [12] Yat-Tung Lo, Pang-Chui Shaw. DNA-based techniques for authentication of processed food and food supplements [J]. Food Chemistry, 2018, 240: 767-774
- [13] 董文江,程可,胡荣锁,等.色谱指纹图谱技术在咖啡质量控制应用中的研究进展[J].现代食品科技,2018,34(3):262-269, 225
DONG Wen-jiang, CHEN Ke, HU Rong-suo, et al. Research progress of chromatographic fingerprint technology in the application of coffee quality control [J]. Modern Food Science and Technology, 2018, 34(3): 262-269, 225
- [14] 陈彤,曹庸,刘飞,等.GC-MS 指纹图谱结合主成分分析法评价不同产地陈皮挥发油的质量[J].现代食品科技,2017, 33(2):216-222
CHEN Tong, CAO Yong, LIU Fei, et al. Quality evaluation of tangerine peel volatile oils from different origins by GC-MS fingerprint and PCA [J]. Modern Food Science and Technology, 2017, 33(2): 216-222
- [15] Ghisoni Silvia, Lucini Luigi, Angilletta Federica, et al. Discrimination of extra-virgin-olive oils from different cultivars and geographical origins by untargeted metabolomics [J]. Food Research International, 2019, 121: 746-753
- [16] CHEN Kui-xiao, ZHANG Ying-tao, YANG Xiu-wei, et al. Simultaneous quantification of ten phenolic acids in *Lonicerae Japonicae* Flos by HPLC-DAD [J]. Journal of Chinese Pharmaceutical Sciences, 2013, 22(6): 521-526
- [17] 刘晔,葛丽琴,王远兴,等.3 个产地不同等级庐山云雾茶挥发性成分主成分分析[J].食品科学,2018,39(10):206-214
LIU Ye, GE Li-qin, WANG Yuan-xing, et al. Principal component analysis of volatile compounds in different grades of Lu Mountain Clouds-Mist tea from three regions [J]. Food Science, 2018, 39(10): 206-214
- [18] 阿基业,何骏,孙润彬.代谢组学数据处理-主成分分析十个要点问题[J].药科学报,2018,56(6):929-937
A Ji-ye, HE Jun, SUN Run-bin. Multivariate statistical

- analysis for metabolomic data: the key points in principal component analysis [J]. *Acta Pharmaceutica Sinica*, 2018, 56(6): 929-937
- [19] 宋九华,张艳明,成英.不同产地金银花药材 HPLC 指纹图谱的研究[J].*化学研究与应用*,2018,30(5):823-827
SONG Jiu-hua, ZHANG Yan-ming, CHENG Ying. HPLC fingerprints of *Lonicera japonica* from different producing area [J]. *Chemical Research and Application*, 2018, 30(5): 823-827
- [20] WANG Qing-xia, QUAN Qing-mei, ZHOU xue-li, et al. A comparative study of *Lonicera japonica* with related species: morphological characteristics, ITS sequences and active compounds [J]. *Biochemical Systematics and Ecology*, 2014, 54: 198-207
- [21] 石召华,叶利春,关小羽,等.娑罗子药材 HPLC 指纹图谱的建立及其在药材鉴定中的应用[J].*中国实验方剂学杂志*, 2018,24(14):52-56
SHI Zhao-hua, YE Li-chun, GUAN Xiao-yu, et al. HPLC fingerprint of *Aesculi semen* and its application in identification of medicinal materials [J]. *Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae*, 2018, 24(14): 52-56
- [22] 倪德让,叶兴乾,林琳,等.基于多酚类化合物 HPLC 指纹图谱在红缨子高粱原料品质监控中的应用[J].*食品科学*,2020, 41(8):250-255
NI De-rang, YE Xing-qian, LIN Lin, et al. Application of high performance liquid chromatographic phenolic compound fingerprint in quality control of "Hongyingzi" sorghum raw material [J]. *Food Science*, 2020, 41(8): 250-255
- [23] 邵林,郭庆梅,冉蓉,等.山东不同栽培品种金银花 HPLC 指纹图谱的比较[J].*中国实验方剂学杂志*,2011,17(19):117-121
SHAO Lin, GUO Qing-mei, RAN Rong, et al. Study on HPLC fingerprint of *Lonicerae japonicae* Flos from Shandong [J]. *Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae*, 2011, 17(19): 117-121
- [24] 肖作为,谢梦洲,甘龙,等.山银花、金银花中绿原酸和总黄酮含量及抗氧化活性测定[J].*中草药*,2019,50(1):210-216
XIAO Zuo-wei, XIE Meng-zhou, GAN Long, et al. Determination of chlorogenic acid, total flavones, and anti-oxidant activity of Flos *Lonicerae Japonicae* and Flos *Lonicerae* [J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 2019, 50(1): 210-216
- [25] 朱娟,于金倩,刘倩,等.基于 RRLC-DAD-ESI-Q-TOF-MS 技术的山东金银花多指标定量指纹图谱分析[J].*中国实验方剂学杂志*,2017,23(19):82-89
ZHU Heng, YU Jin-qian, LIU Qian, et al. Multiple indicator quantitative fingerprint of *Lonicerae japonicae* Flos from Shandong province based on RRLC-DAD-ESI-Q-TOF-MS [J]. *Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae*, 2017, 23(19): 82-89
- [26] 田伟,范帅帅,甄亚钦,等.UPLC 比较金银花、忍冬藤和忍冬叶中 11 种活性成分的含量[J].*中国中药杂志*,2019,44(1): 100-105
TIAN Wei, FAN Shuai-shuai, ZHEN Ya-qin, et al. Comparison of eleven active components in *Lonicerae japonicae* Flos, *Lonicerae japonicae* Caulis and leaves of *Lonicera japonica* by UPLC [J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2019, 44(1): 100-105
- [27] 赵金娟,管仁伟,路俊仙,等.HPLC 测定不同品种金银花及叶中木犀草苷含量[J].*中国实验方剂学杂志*,2014,20(6): 103-106
ZHAO Jin-juan, GUAN Ren-wen, LU Jun-xian, et al. Determination of content of galuteolin in different varieties of *Lonicerae japonicae* Flos and *L. Japonicae* Folium by HPLC [J]. *Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae*, 2014,20(6): 103-106