

· 药学基础 ·

基于UV-Vis指纹图谱结合化学计量学探讨不同采收期金银花的质量差异

谢明霞^{1,2}, 李洁花¹, 夏伯候¹, 张熙^{1,2}, 彭清华^{1*}, 王泉冶^{1,2*}

(1. 湖南中医药大学临床医学院, 长沙 410208;

2. 湖南省脑科医院(湖南省第二人民医院), 长沙 410007)

[摘要] 目的:采用紫外-可见(UV-Vis)指纹图谱结合化学计量学方法,探讨不同采收期金银花药材的质量差异性。方法:采集幼蕾期、青蕾期、白蕾期、银花期和金花期5个不同时期,共25个金银花样品,通过单因素优选确定最佳提取方法并在此条件下建立不同采收期金银花的UV-Vis指纹图谱。结果发现不同采收期的金银花样品的紫外指纹图谱在209、216、226、250、280、303、318、350 nm波长附近的吸光度均有显著差异。进一步将数据预处理、归一化等处理后,通过SIMCA-P⁺进行主成分分析(PCA)、偏最小二乘判别分析(PLS-DA)、正交偏最小二乘判别分析(OPLS-DA)等多元统计分析方法,建立金银花5个不同采收期的质量差异性模型。结果:PCA和PLS-DA结果均显示5个不同采收期的金银花样品各自聚在相近位置,且具有显著的采收时间依赖性趋势,说明金银花不同采收期间所含化学成分的含量差异较大,与采收期相关性较高。OPLS-DA两两比较分析表明引起幼蕾期到青蕾期变化的成分可能为三萜类或挥发油类,含量均减少;青蕾期到白蕾期变化的成分可能为三萜(或环烯醚萜)类、挥发油、酚酸类或黄酮类,含量降低,该结果与绿原酸HPLC测定结果一致;白蕾期至银花期变化的成分可能为含量增加的环烯醚萜类和含量减少的三萜(或挥发油)类,银花期至金花期变化的成分主要有含量增加的三萜(或挥发油)类。结论:该研究方法具有简单,可操作性强等特点,可为中药质量控制方法的研究提供参考。

[关键词] 紫外-可见指纹图谱; 化学计量学; 金银花; 不同采收期

[中图分类号] R284.2;R289;R22;R2-031;R33 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2022)07-0134-08

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20220511

[网络出版地址] <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20220209.1435.005.html>

[网络出版日期] 2022-02-09 15:56

Comparative Analysis of *Lonicera japonica* Flower from Different Harvesting Periods Based on UV Fingerprint and Chemometrics

XIE Ming-xia^{1,2}, LI Jie-hua¹, XIA Bo-hou¹, ZHANG Xi^{1,2}, PENG Qing-hua^{1*}, WANG Xiao-ye^{1,2*}

(1. Clinical Medical College of Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China;

2. Brain Hospital of Hunan Province (The Second People's Hospital of Hunan Province),

Changsha 410007, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the quality variation of *Lonicera japonica* flower from different harvesting periods by ultraviolet visible(UV-Vis) fingerprint combined with chemometrics. **Method:** Twenty-five *L. japonica* flower samples from five harvesting periods, including young bud stage, green bud stage, white bud stage, silver and golden flower stages, were collected, with five samples for each stage. UV-Vis fingerprints of *L. japonica* flower from different harvesting periods were established in the context of the optimum extraction

[收稿日期] 2021-11-05

[基金项目] 湖南省自然科学基金科药联合项目(2021JJ80060);中国博士后科学基金面上项目(2021M690990);湖南省卫生健康委员会项目(202107021634)

[第一作者] 谢明霞,博士,从事中药药效物质基础及其质量控制研究,E-mail:13116766@qq.com

[通信作者] *彭清华,博士,教授,从事眼科相关物质基础研究,Tel:0731-88458010,E-mail:pqh410007@126.com;

*王泉冶,硕士,主任医师,从事药物质量控制研究,Tel:0731-88458230,E-mail:1821192004@qq.com

method based on the single factor experiment. The results showed that the absorption values at 209, 216, 226, 250, 280, 303, 318, and 350 nm were significantly different. Moreover, after data pretreatment and normalization, multivariate statistical analyses, such as principal component analysis (PCA), partial least squares discriminant analysis (PLS-DA), and orthogonal PLS-DA (OPLS-DA) were performed by SIMCA-P⁺ to establish the quality variation model of *L. japonicas* flower from harvesting periods. **Result:** As revealed by PCA and PLS-DA, *L. japonicas* flower samples from five harvesting periods were clustered separately and closely in a harvesting time-dependent manner, suggesting that the content of components contained in samples from different harvesting periods was highly distinct and correlated with harvesting periods. The pairwise comparison of OPLS-DA indicated that triterpenoids or volatile oils were the main components causing the changes from the young bud stage to the green bud stage, and the content of them decreased. The main components from the green bud stage to the white bud stage were triterpenoids (or iridoids), volatile oils, phenolic acids, or flavonoids, and the content of them decreased, which was consistent with the HPLC result of chlorogenic acid. From the white bud stage to the silver flower stage, the main components were iridoids (increasing in content) and triterpenoids (or volatile oils) (decreasing in content). The main altered components from the silver flower stage to the golden flower stage were triterpenoids (or volatile oils) whose content increased. **Conclusion:** This method is simple and feasible, which can provide references for the quality control of Chinese medicine.

[Keywords] ultraviolet visible (UV-Vis) fingerprint; chemometrics; *Lonicera japonica*; different harvesting periods

中药植物在生长过程中化学成分会发生明显的变化,会导致同一基源的药材不同时期药效具有显著差异,甚至有些毫无药理作用^[1-2],建立不同生长期或采收期的中药质量控制模式显得尤为重要。金银花为忍冬科植物忍冬的干燥花蕾或带初开的花,夏初花开放前采收、干燥^[3]。金银花主要药效成分为绿原酸及木犀草苷等,具有抗菌消炎、抗氧化、保肝、调节免疫等药理作用^[4]。但市面上的金银花质量良莠不齐,给金银花的质量可控性造成了极大的影响。目前国内外对金银花质量控制进行了多方面多方法的研究,文献报道多采用气相色谱-质谱联用法(GC-MS)、高效液相色谱法(HPLC)、植物学方法、酶活性测定等不同方法对金银花不同采收期进行了鉴别研究^[5-6],但其所用的方法步骤复杂,操作困难,数据处理繁琐。因此,需要一种分析全面、操作简单且价格低廉的分析方法对金银花不同采收期的质量差异性进行研究。

中药的成分复杂多变,中药指纹图谱作为中药质量评价的手段已被世界卫生组织认同^[7],中药指纹图谱应用最广的为HPLC-UV的指纹图谱研究,建立特异性的紫外-可见光(UV-Vis)指纹图谱的评价模式,考察各波段的差异性以筛选特异性波段。UV-Vis指纹图谱具有操作简单、快速、重复性好、用量少等优点^[8-9],但其同时具有大数据量的波段信

息,需要运用大数据分析的方法和技术进行降维处理从而得到具体的数据综合性信息,可用化学计量学方法优化化学量测定过程并从化学量测数据中最大限度地获取有用的信息^[10]。UV-Vis指纹图谱结合化学计量学被广泛应用于水质、食物、微生物等多个学科领域的鉴别研究^[11-14],利用UV-Vis指纹图谱结合化学计量学对中药指纹图谱以及质量控制的研究目前报道较少。

本研究以不同采收期金银花为研究对象,采用UV-Vis指纹图谱结合化学计量学等多元统计分析方法,通过数据预处理、归一化等信号处理方法后,再结合主成分分析(PCA)、偏最小二乘判别分析(PLS-DA)、正交偏最小二乘判别分析(OPLS-DA)等方法,建立金银花5个不同采收期的差异性模型,并评价模型的差异性,以期金银花采收的合理性和后期的质量控制提供重要参考。

1 材料

绿原酸(成都埃法生物科技有限公司,批号AB1094-0020,纯度>98%),甲醇、乙醇(分析纯,国药化学试剂有限公司),超纯水自制。金银花药材经湖南中医药大学药学院王智老师鉴定为忍冬科植物忍冬 *Lonicera japonica* 的干燥花蕾或带初开的花。依花蕾颜色,分别于不同的时间点(幼蕾期、青蕾期、白蕾期、银花期和金花期,简称幼、青、白、银、

金)采收金银花样品5份,每个样品混合长势一致的3个不同采集位置。

TU-1900型双光束紫外-可见分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司),SQP型1/1万分析天平(赛多利斯科学仪器有限公司),TGL-20MB型高速冷冻离心机(长沙湘智离心机仪器有限公司),Direct-Q5型超纯水仪(密理博中国有限公司),e2695系列高效液相色谱仪(美国Waters公司)。

金银花样品采自湖南中医药大学药植物园(112°54'E;28°08'N;88m),土壤为砂质黄土壤,肥力中等。不同时期的样品采集后,迅速置于液氮中,并转置于冷冻干燥机,直至成粉末,分别装入已编号的自封袋密封,于-80℃下保存备用。

2 方法

2.1 提取方法优化

2.1.1 提取溶剂优化 精密称取金花时期样品粉末约100 mg 3份,分别加入超纯水、甲醇、乙醇1 mL,在数控超声波清洗器(功率200 W,频率40 kHz)中超声(1 000 W,44℃)30 min后离心(1 000 r·min⁻¹,10℃,离心半径6.20 cm)2 min,扫描波长200~800 nm,分辨率1 nm,分别测定其UV-Vis指纹图谱。确定最佳提取方法。

2.1.2 含水量和料液比优化 取金花时期样品约100 mg 6份,精密称定,分别加入超纯水、20%甲醇、40%甲醇、60%甲醇、80%甲醇、甲醇1 mL,确定最佳溶剂比例;精密称取金花时期样品各100 mg 4份,分别加入1、2、3、5 mL的最佳溶剂比例,按2.1.1项下方法测定其UV-Vis指纹图谱。考察最大吸收峰的强度,确定最佳提取比例。

2.2 UV-Vis指纹图谱的建立 精密称取不同采收期的金银花样品各100 mg,用2.1项下的最佳提取方法提取,稀释300倍,为待测样品。在200~800 nm波长扫描,分辨率1 nm,得UV-Vis指纹图谱,质控(QC)样品处理同待测样品,由每个样品等量体积混合而成。QC样品均匀的插入待测样品的测定过程中,以评估方法和仪器的稳定性。

2.3 HPLC法测定不同采收期金银花样品绿原酸的含量 Agilent ZORBAX SB-C₁₈色谱柱(4.6 mm×250 mm,5 μm);流动相乙腈(A)-0.1%磷酸溶液(B),梯度洗脱(0~8 min,14%~19%A;8~14 min,19%A;14~34 min,19%~31%A;34~35 min,31%~90%A;35~40 min,90%A);流速0.7 mL·min⁻¹;柱温24℃;检测波长327 nm;进样量10 μL。

取绿原酸适量,精密称定,置棕色量瓶中,加

75%甲醇制成质量浓度为0.3 g·L的对照品溶液。

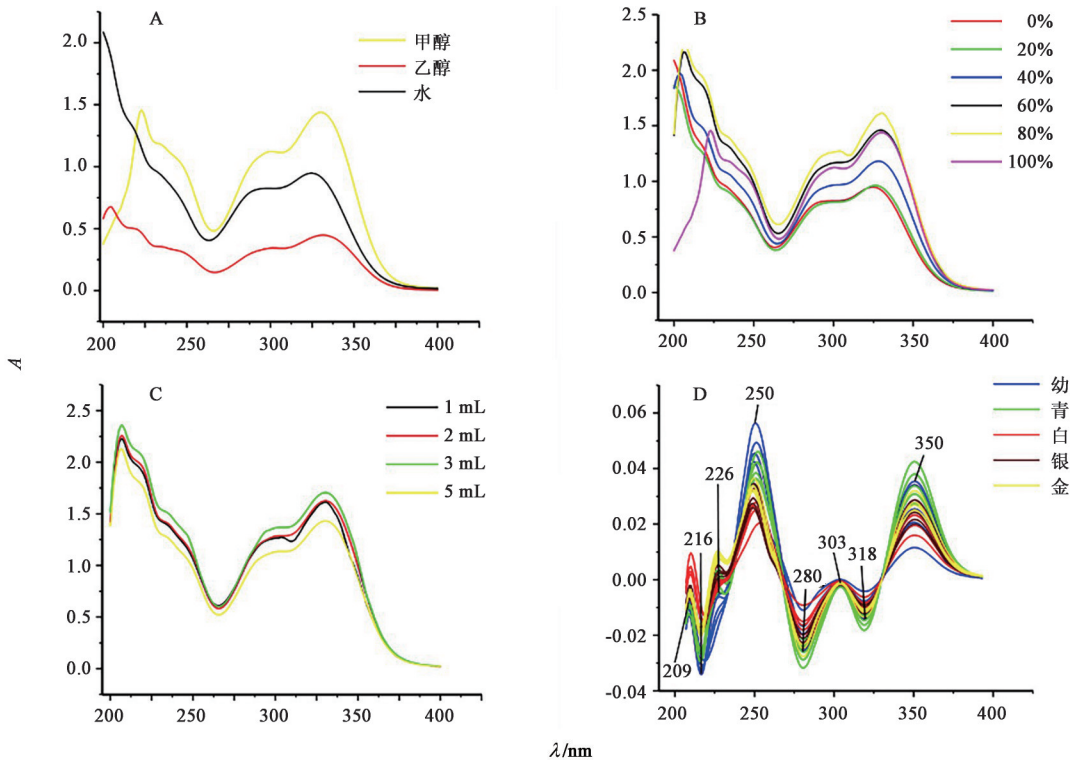
取样品粉末约0.5 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入75%甲醇50 mL,超声处理(功率500 W,频率40 kHz)30 min,放冷,补足减失的质量,过滤,即得供试品溶液。

2.4 数据预处理 在400~800 nm波长的吸光度皆为0,无应用价值,因而,本研究仅选取200~400 nm数据。各个波段数据经过平滑处理后采用SIMCA-P⁺软件对光谱数据进行一阶导数(FD)、二阶导数(SD)、标准正态变换(SNV)、多元散射校正(MSC)、Row Center等预处理,每种预处理方法都进行了7种归一化方法(scaling)的处理,分别是未归一化(None)、单位方差归一化(UV)、单位方差归一化未中心化(UVN)、帕莱托归一化(Par)、帕莱托归一化未中心化(ParN)、中心化归一化(Ctr)和权重冻结归一化(Freeze),最终确定了FD和ParN为最优前处理方法。以此为基础结合PCA、PLS-DA、OPLS-DA等多元统计分析方法建立分类判别模型。

3 结果与分析

3.1 提取方法的优化 金银花的主要化学成分为酚酸类和黄酮类等,易溶于极性溶剂中。不同的极性溶剂提取得到的成分及含量不同。因而,本研究采用超纯水、甲醇、乙醇3种不同的极性纯溶剂进行提取。从结果可知,与水、乙醇比较,甲醇提取液的峰型较好且吸收峰的强度最大,故选择甲醇为金银花的最佳提取纯溶剂。进一步分别采用0%、20%、40%、60%、80%、100%的甲醇溶剂进行优化。结果表明,从0%至80%甲醇,其紫外的吸光度基本与甲醇的体积分数成依赖性,当达到100%甲醇,其紫外吸收却进一步下降,这可能与金银花中大极性物质的提取率下降有关。另外,以80%的甲醇溶液分别用1、2、3、5 mL进行提取,结果表明3 mL的80%甲醇溶液峰型较好,吸收强度最大,能更好地反映金银花样品的化学信息,因此,本研究选择3 mL的80%甲醇溶液为金银花样品的最佳提取方法用于后续指纹图谱的进一步分析。见图1。

3.2 UV-Vis指纹图谱分析 紫外指纹图谱能够完整的反映出紫外吸收相关的化学信息,金银花样品的紫外光谱共有峰揭示了不同采收期样品间的主要组成成分相似性,吸光度的差异反映了样品间主要成分的含量之间的差异。通过上述优化的提取条件,获得金银花5个不同采收期的UV-Vis指纹图谱。结果表明,各个时期组内金银花的谱线相对集中,组间有一定分开的趋势(同颜色的谱线与其他



注:A. 不同极性溶剂提取;B. 不同体积分数甲醇提取;C. 不同体积的80%甲醇提取;D. 最优条件下不同采收期的金银花 UV-Vis 指纹图谱

Fig. 1 UV-Vis fingerprints of *Lonicera japonica* flower from different harvesting periods

颜色不同),说明不同采收期金银花的化学成分之间有一定差异。另外,从图中可得不同采收期的金银花样品在 209、216、226、250、280、303、318、350 nm 波长附近的吸光度均存在显著差异。根据文献报道的化学成分之间及其相应的紫外吸收波长的关系可得,见表 1^[15-18],这些差异的波段分别对应皂苷类、环烯醚萜类、三萜类、生物碱、挥发油、黄酮类、酚酸类等化学信息。以上化学成分的差异可能是金银花不同采收期质量差异性的主要原因之一,而 UV 属于带状光谱,其图谱复杂不易于分析,需要进一步的运用多元统计分析等化学计量学手段进行进一步的降维处理的分析。

3.3 不同采收期金银花的质量差异趋势分析

PCA 是一种多变量分析技术,其目标是从由几个相互关联的定量因变量描述的观测数据表中提取重要的信息,将其表示为一组称为主成分的新正交变量,并将观察值和变量的相似性模式显示为映射中的点^[18-20]。本研究对金银花幼、青、白、银、金 5 个不同采收期的 UV-Vis 指纹图谱数据进行 PCA 分析,见图 2。从结果可得,所有的 QC 样本较为集中,说明样本在提取过程中吸光度变量相对稳定,且仪器也具有较好的稳定性,因此方法可行,可用于接

表 1 金银花紫外吸收带对应的化学成分信息

Table 1 Ultraviolet absorption band of *Lonicera japonica* lower and its corresponding compounds

所含成分	吸收波长/nm
酚酸类	320~360
黄酮类	240~260, 330~350
三萜类	220~240, 310~330
环烯醚萜类	210~230, 250~270
挥发油	230~250
皂苷类	200~210
生物碱	240~260, 340~360

下来的多元统计数据分析。5 个不同采收期的金银花样品各自聚集一起,并与其他时期分开,说明金银花 5 个不同采收期样品在化学成分和质量上具有显著的差异。尤其是幼和青 2 个时期的化学信息显示与其他时期显著的差异,均位于右下角,这可能与该时期金银花属于生长期,成分的累积有限等原因有关。当到达白、银和金时期时,3 个时期的差异开始变小,且与幼和青 2 个时期完全不同,还显示出一定的趋势变化,说明这 3 个时期是有效组分累积的主要关键时期。进一步建立由所谓的潜在变量建模的 PLS-DA 分析不同采收期金银花的质量

差异趋势^[21]。结果可得,与PCA比较,不同采收期的金银花样品更加的聚集,且分类更显著。从右至左分别为幼、青、白、银、金,说明金银花生长发育过程中的质量差异具有时间依赖性趋势,即金银花主要化学成分的含量与采收期具有较高相关性。为了确认不同采收期化学成分具体的差异性规律,本研究进一步采用OPLS-DA进行两两比较,分析其具体质量差异性。

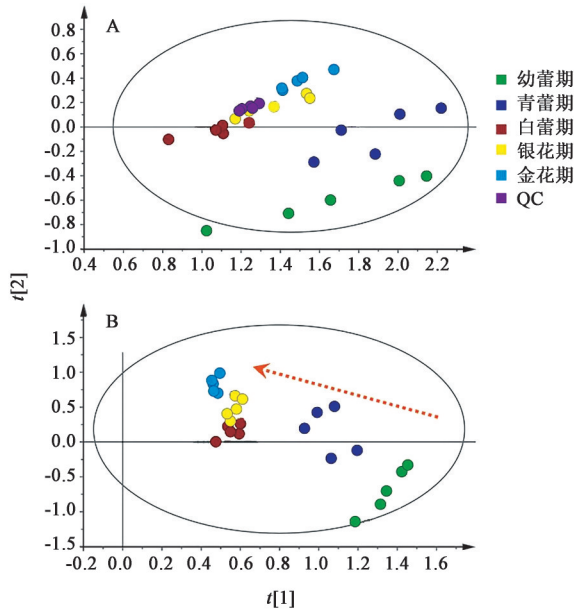


图2 不同采收期金银花的PCA(A)和PLS-DA(B)得分
Fig. 2 PCA (A) scores and PLS-DA (B) score of *Lonicera japonica* at different harvesting stages

3.4 不同采收期金银花的质量差异模型建立与评价 为建立与评价相邻采收期金银花的质量差异模型,本研究采用OPLS-DA方法。OPLS-DA是通过识别Y(分类变量)正交变异,对X(成分信息)矩阵中的预测变异和类相关变异分别建模,对Y正交变化的来源的解释具有重要价值^[22]。幼蕾期至青蕾期的OPLS-DA得分见图3,其中 R^2Y 和 Q^2 等于1,说明此模型具有较高的拟合度且符合样品数据的真实情况,预测能力强,区分效果好;其置换(Permutation)检验结果,检验次数为20,其中 R^2Y 为 $0.835 > 0.8$ 、 Q^2 为 $-5.87 < 0$,同时随着置换保留度(横坐标)逐渐降低,置换的Y变量比例增大,随机模型的 Q^2 逐渐下降,表明此OPLS-DA模型稳定有效,对幼、青蕾期没有过拟合,适用于幼、青蕾期,见图3。S-line图可有助于根据模型的贡献及可靠性,识别具有统计学意义和潜在生物化学意义的有关物质^[23-24]。S-line图结果表明,贡献值 > 0.8 的只有224 nm左右的物质,见图4。结合表1可看出引起

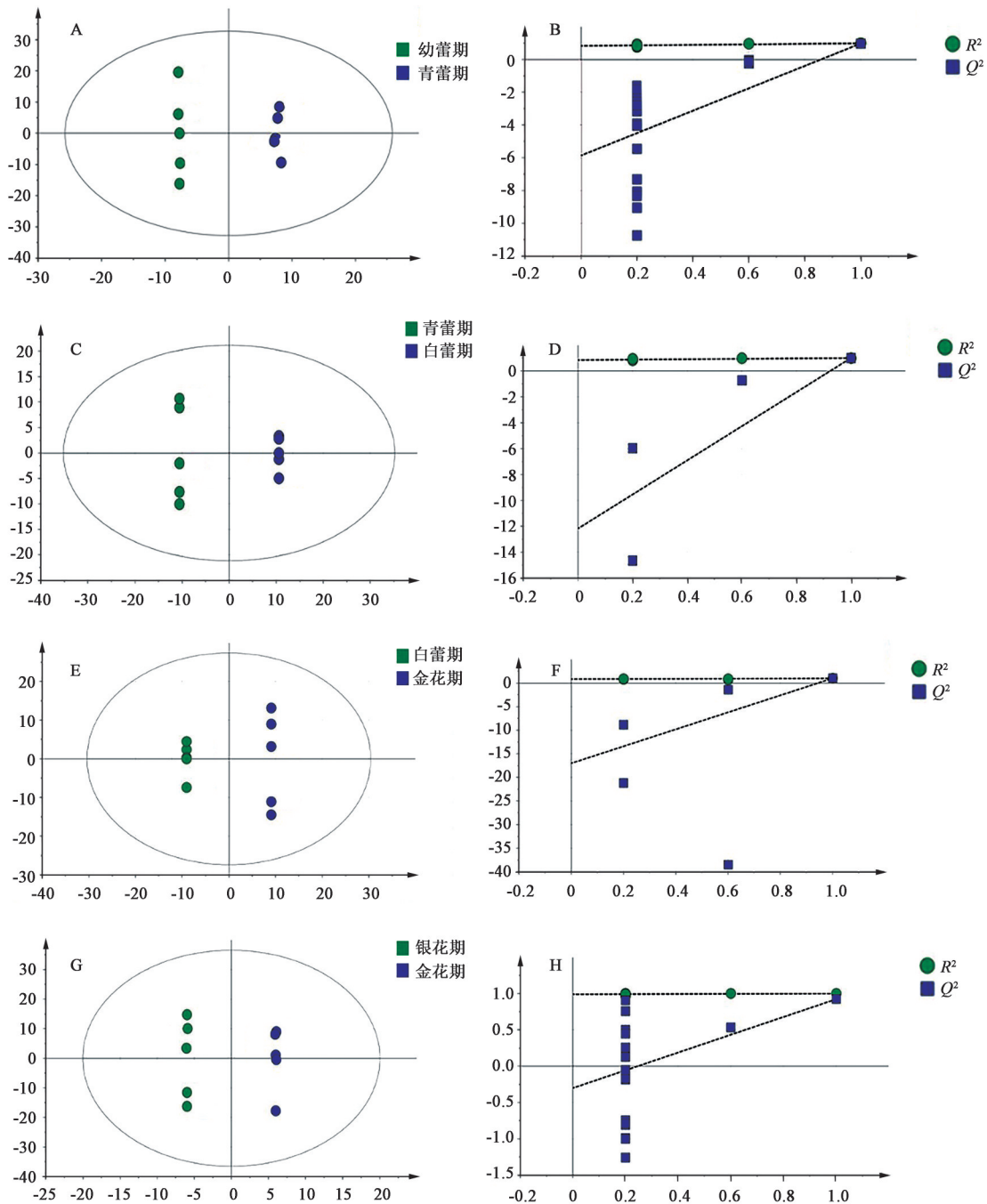
幼蕾期到青蕾期变化的成分可能为三萜类或挥发油类,依据其吸光度表明幼蕾期到青蕾期的挥发油类(三萜类)含量减少,而WANG等^[25]用GC-MS研究表明十六烷酸等挥发油类在幼蕾期至银花期含量下降,于金花期达到含量最高,同本结果一致。

青蕾期至白蕾期的OPLS-DA得分显示 R^2Y 、 Q^2 均等于1,表明此模型具有较好的预测能力强;置换检验结果见图3, R^2 为 $0.848 > 0.8$ 、 Q^2 为 $-12.2 < 0$,表明此OPLS-DA模型稳定有效,可用于评价青蕾和白蕾期质量差异性。S-line结果表明,其贡献值 > 0.8 的主要有221、237、330 nm附近的物质,结合表1表明从青蕾期到白蕾期变化的主要成分可能为环烯醚萜(或三萜)类、挥发油、酚酸类或黄酮类,依据各波长吸光度表明青蕾期到白蕾期的变化成分含量均下降,表明药效成分酚酸类(黄酮类)在幼青时期含量高于白蕾期,此结果与文献的研究结果相符^[24-26]。

白蕾期至银花期的OPLS-DA得分图见图3,其中 R^2Y 、 Q^2 等于1,说明此模型较优;置换检验结果, R^2 为 $0.854 > 0.8$ 、 Q^2 为 $-17 < 0$,表明此OPLS-DA模型稳定有效,无过拟合现象。图4C为其S-line图,其贡献值 > 0.8 的主要有212、234 nm左右的物质,结合表1可看出引起白蕾期至银花期变化的成分可能为环烯醚萜类、三萜(或挥发油)类,依据各波长吸光度表明白蕾期至银花期的环烯醚萜类含量增加、挥发油(或三萜)类含量下降。研究利用超高压液相色谱(UPLC)、GC-MS研究表明环烯醚萜类在金银花生长发育过程中先降后升再降,于白蕾末期与银花期含量最高,而挥发油则是先降后升,金花期为最高点^[25-26],与本结果相匹配。

银花期至金花期的OPLS-DA得分显示 R^2Y 、 Q^2 分别为0.999和0.923,无限接近1;置换检验结果可得, R^2 为 $0.991 > 0.8$ 、 Q^2 为 $-0.301 < 0$,表明此OPLS-DA模型稳定有效,无过拟合,可用于银、金花期的差异分析。S-line图结果可得,其贡献值 > 0.8 的只有237 nm左右的物质,结合表1可看出引起银花期至金花期变化的成分可能有三萜(或挥发油)类,依据各波长吸光度表明银花期至金花期的三萜(或挥发油)类含量增加,该结果与文献研究相符^[25]。

综上,酚酸或黄酮类在青、白时期含量显著降低,幼蕾与青蕾期及白蕾、银花、金花期在330 nm左右无明显变化,说明幼青时期所含药效成分最高,具有最高的功能效益,环烯醚萜类含量在幼、青、白蕾期为下降趋势,银花期含量最高,挥发油(三萜



注:A,B.幼蕾期至青蕾期;C,D.青蕾期至白蕾, E,F.白蕾期至银花期;G,H.银花期至金花期

图3 不同采收期OPLS-DA(A,C,E,G)和Permutation(B,D,F,H)检验

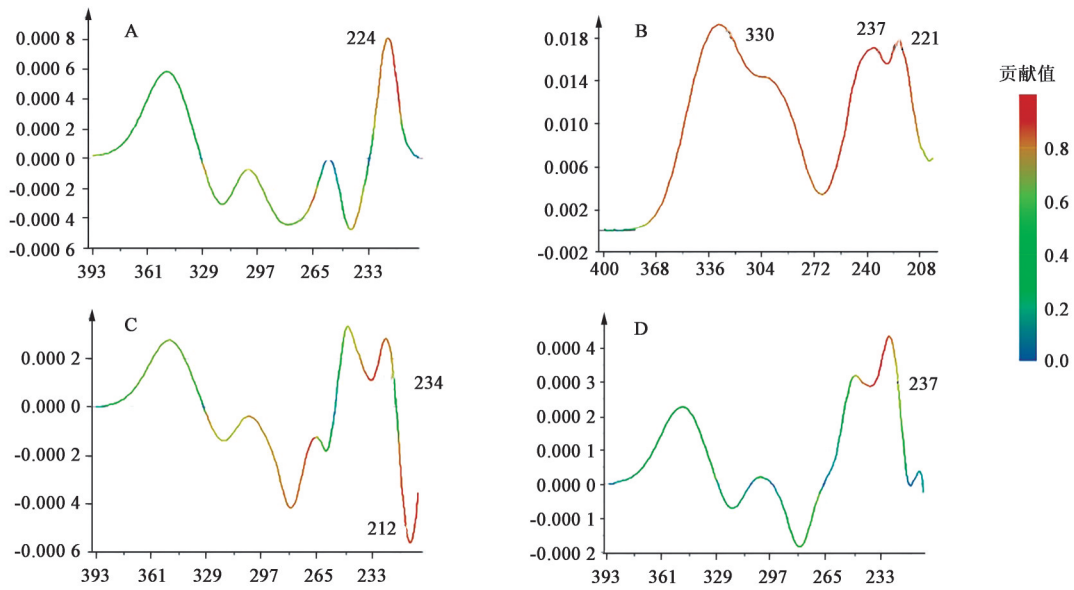
Fig. 3 Test of OPLS-DA(A,C,E,G) and Permutation(B,D,F,H) in different harvesting periods

类)则在金花期含量最高。据文献研究表明芽发育阶段即幼青时期抗氧活性成分绿原酸最高,挥发油在金花期含量最大,环醚烯萜类在银花期含量最高^[24-26]。因此本OPLS-DA分析结果与文献研究成果基本一致,而其中细小差别在于对金银花处理提取方式的不同。

3.5 HPLC测定不同采收期金银花的绿原酸含量

为了验证基于UV全息指纹图谱结合化学计量学

探讨不同采收期金银花药材的质量差异性的可行性,本研究进一步选择金银花质量标志物之一的绿原酸进行含量测定研究。通过HPLC图可知,不同时期的金银花绿原酸的含量存在显著差异,这与前面的UV结果相似,见图5。而且,不同时期之间,幼蕾期(24.83 ± 3.67) $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 与青蕾期(30.81 ± 5.14) $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 绿原酸含量相对较高,当到达白蕾期(15.13 ± 2.86) $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 时,绿原酸含量显著下降,而银花

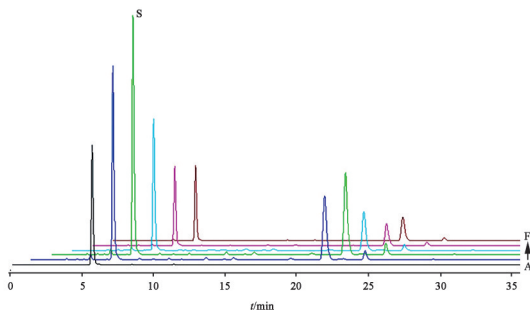


注:A.幼蕾期至青蕾期;B.青蕾期至白蕾期;C.白蕾期至银花期;D.银花期至金花期

图4 不同OPLS-DA模型的S-line

Fig. 4 Result of S-line graphs for different OPLS-DA models

(10.92±2.55) mg·g⁻¹ 和金花期(9.63±1.93) mg·g⁻¹ 相对稳定。这与不同时期两两比较结果一致。



注:A~F. 幼蕾期、青蕾期、白蕾期、银花期、金花期

图5 不同采收期金银花HPLC

Fig. 5 determination of chlorogenic acid from different harvesting periods by HPLC

4 结论

光谱数据作为化学成分信息的综合表现形式之一,具有检测速度快,对特异性的成分响应较全面等优点^[27]。紫外全息指纹图谱能够全面地反映药材中具有紫外吸收化学成分的总体信息变化。与中药质量的多点控制、全面反映的需求相一致,紫外结合化学计量学及定量测定的评价模式能较好地反映这些特征。本研究通过UV-Vis指纹图谱结合化学计量学对不同采收期金银花进行分析,表明不同采收期金银花间存在显著差异,且就药效成分而言幼、青时期含量最高,这与HPLC结果基本一致,说明了该方法具有较好的评价能力,能用于中药等复杂体系的质量表征。同时,本项研究可以科

学合理的判别各时期的主要变化成分,方法便捷明了,可为《中华人民共和国药典》的HPLC-UV的中药质量控制研究提供重要参考和依据,并且对中药资源鉴别与开发具有一定的参考价值。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

[参考文献]

- [1] BIMBIRAITE-SURVILIENE K, STANKEVICIUS M, ŠUSTAUŠKAITE S, et al. Evaluation of chemical composition, radical scavenging and antitumor activities of *Satureja hortensis* L. Herb extracts [J]. Antioxidants, 2021, 10(1): 53-68.
- [2] MOHAMMED H A, AL-OMAR M S, MOHAMMED S A A, et al. Drying induced impact on composition and oil quality of rosemary herb, *Rosmarinus officinalis* Linn [J]. Molecules, 2020, 25(12): 2830-2842.
- [3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[M]. 北京:中国医药科技出版社, 2020:230.
- [4] QIU S, BAI M, ZHAO P, et al. Phytochemical and network-based chemotaxonomic study of *Lonicera japonica* Thunb [J]. Biochem Syst Ecol, 2021, 94: 104210-104215.
- [5] KONG D X, LI Y Q, BAI M, et al. Correlation between the dynamic accumulation of the main effective components and their associated regulatory enzyme activities at different growth stages in *Lonicera japonica* Thunb [J]. Ind Crops Prod, 2017, 96:16-22.

- [6] FU M, QU Q, DAI H. Variation in antioxidant properties and metabolites during flower maturation of *Flos Lonicerae Japonicae* flowers [J]. Eur Food Res and Technol, 2015, 240(4): 735-741.
- [7] WORLD HEALTH ORGANIZATION. Guidelines for the assessment of herbal medicines [M]. Geneva: World Health Organization, 1991.
- [8] JIANG L, DING H, XU M, et al. UV-Vis-NIR full-range responsive carbon dots with large multiphoton absorption cross sections and deep-red fluorescence at nucleoli and *in vivo* [J]. Small, 2020, 16(19): 2000680-2000689.
- [9] SELAMNENI V, GANESHAN S K, SAHATIYA P. All MoS₂ based 2D/0D localized unipolar heterojunctions as flexible broadband (UV-vis-NIR) photodetectors [J]. J Mater Chem C Mater, 2020, 8(33): 11593-11602.
- [10] RISWANTO F D O, ROHMAN A, PRAMONO S, et al. The employment of UV-Vis spectroscopy and chemometrics techniques for analyzing the combination of genistein and curcumin [J]. J Appl Pharm Sci, 2021, 11(3): 154-161.
- [11] ISMAIL A, TORIMAN M E, JUAHIR H, et al. Spatial assessment and source identification of heavy metals pollution in surface water using several chemometric techniques [J]. Mar Pollut Bull, 2016, 106(1/2): 292-300.
- [12] LÓPEZ-DÍEZ E C, GOODACRE R. Characterization of microorganisms using UV resonance Raman spectroscopy and chemometrics [J]. Anal Chem, 2004, 76(3): 585-591.
- [13] TOMAZZOLI M M, PAI NETO R D, MORESCO R, et al. Discrimination of Brazilian propolis according to the seasoning using chemometrics and machine learning based on UV-Vis scanning data [J]. J Integr Bioinform, 2015, 12(4): 279.
- [14] GAD H A, EL-AHMADY S H, ABOU-SHOER M I, et al. A modern approach to the authentication and quality assessment of thyme using UV spectroscopy and chemometric analysis [J]. Phytochem Anal, 2013, 24(6): 520-526.
- [15] BELAY A, GHOLAP A V. Characterization and determination of chlorogenic acids (CGA) in coffee beans by UV-Vis spectroscopy [J]. Afr J Pure Appl Chem, 2009, 3(11): 34-240.
- [16] SZOSTEK B, ORSKA-GAWRYS J, SUROWIEC I, et al. Investigation of natural dyes occurring in historical Coptic textiles by high-performance liquid chromatography with UV-Vis and mass spectrometric detection [J]. J Chromatogr A, 2003, 1012(2): 179-192.
- [17] LI L, ZHANG J L, SHENG Y X, et al. Simultaneous quantification of six major active saponins of *Panax notoginseng* by high-performance liquid chromatography-UV method [J]. J Pharm Biomed Anal, 2005, 38(1): 45-51.
- [18] PRADHAN A B, HAQUE L, BHUIYA S, et al. Induction of self-structure in polyriboadenylic acid by the benzophenanthridine plant alkaloid chelerythrine: a spectroscopic approach [J]. RSC Advances, 2014, 4(95): 52815-52824.
- [19] MEES C, SOUARD F, DELPORTE C, et al. Identification of coffee leaves using FT-NIR spectroscopy and SIMCA [J]. Talanta, 2018, 177: 4-11.
- [20] ABDI H, WILLIAMS L J. Principal component analysis [J]. Wiley Interdiscip Rev Comput Stat, 2010, 2(4): 433-459.
- [21] BALLABIO D, CONSONNI V. Classification tools in chemistry. Part 1: linear models. PLS-DA [J]. Anal Methods, 2013, 5(16): 3790-3798.
- [22] BYLESIO M, RANTALAINEN M, CLOAREC O, et al. OPLS discriminant analysis: Combining the strengths of PLS-DA and SIMCA classification [J]. J Chemom Syst, 2006, 20(8/10): 341-351.
- [23] WIKLUND S, JOHANSSON E, SJÖSTRÖM L, et al. Visualization of GC/TOF-MS-based metabolomics data for identification of biochemically interesting compounds using OPLS class models [J]. Anal Chem, 2008, 80(1): 115-122.
- [24] FU M, QU Q, DAI H. Variation in antioxidant properties and metabolites during flower maturation of *Flos Lonicerae Japonicae* flowers [J]. Eur Food Res Technol, 2015, 240(4): 735-741.
- [25] WANG L, LI M, YAN Y, et al. Influence of flowering stage of *Lonicera japonica* Thunb. on variation in volatiles and chlorogenic acid [J]. J Sci Food Agric, 2009, 89(6): 953-957.
- [26] JIANG M, HAN Y Q, ZHOU M G, et al. The screening research of anti-inflammatory bioactive markers from different flowering phases of *Flos Lonicerae Japonicae* [J]. PLoS One, 2014, 9(5): e96214.
- [27] GEANA E I, CIUCURE C T, APETREI C, et al. Application of spectroscopic UV-Vis and FT-IR screening techniques coupled with multivariate statistical analysis for red wine authentication: Varietal and vintage year discrimination [J]. Molecules, 2019, 24(22): 4166.

[责任编辑 顾雪竹]