

基于 UPLC - MS/MS 法结合 BP 神经网络模型 在小槐花产地溯源中的应用

杨婧, 符传武*, 覃华亮, 覃冬杰, 覃子龙

(柳州市质量检验检测研究中心, 柳州 545001)

摘要 目的: 建立超高效液相色谱-三重四极杆串联质谱(UPLC-MS/MS)法同时测定小槐花中9个成分(烟酸、山柰酚、当药黄素、槲皮素、木犀草素、芦丁、牡荆素、斯皮诺素、水杨酸)的含量并构建BP(back propagation)神经网络模型对不同产地的小槐花进行产地预测。方法: 采用安捷伦 ZORBAX SB-C₁₈(50 mm × 3.0 mm, 1.8 μm)色谱柱, 以0.1%乙酸(含0.02 mol·L⁻¹乙酸铵)水溶液(A)-甲醇(B)为流动相, 梯度洗脱, 体积流量0.3 mL·min⁻¹。质谱采用ESI正负离子检测模式, 多反应监测模式(MRM)的扫描模式。测得各成分含量进行相关性分析, 并构建BP神经网络模型用于进行不同产地的小槐花药材的溯源。结果: 小槐花中烟酸、山柰酚、当药黄素、槲皮素、木犀草素、芦丁、牡荆素、斯皮诺素、水杨酸9个成分质量浓度分别在0.388 8~38.88、10.07~1 006.6、34.22~34 221.6、3.944~394.4、2.124~212.4、4.344~434.4、46.50~4 650.1、1.649~164.9、4.880~488.0 ng·mL⁻¹范围内线性关系良好($r > 0.995 1$), 平均加样回收率96.9%~103.9%, RSD均<1.9%。40批小槐花中烟酸、山柰酚、当药黄素、槲皮素、木犀草素、芦丁、牡荆素、斯皮诺素、水杨酸9个成分的含量分别为1.657~7.407、15.801~64.488、1 068.348~4 270.780、10.608~123.228、3.897~16.802、1.269~97.834、405.285~1 955.796、13.614~36.124、4.417~87.509 μg·g⁻¹。通过相关性分析可知, 当药黄素、芦丁、斯皮诺素、木犀草素4个成分相互呈高度线性正相关, 表明小槐花中这4个成分具有一定互相协同的作用。构建BP神经网络模型用于预测不同产地的小槐花样品, 检验集的正确率达到92.3%。结论: 试验建立的方法简便、灵敏、高效, 可用于小槐花成分的快速测定, 结合BP神经网络模型对产地进行预测在小槐花产地的溯源中有一定作用。

关键词: 小槐花; 超高效液相色谱-三重四极杆串联质谱; 相关性分析; BP神经网络模型; 烟酸; 山柰酚; 当药黄素; 槲皮素; 木犀草素; 芦丁; 牡荆素; 斯皮诺素; 水杨酸

中图分类号: R 917 文献标识码: A 文章编号: 0254-1793(2024)07-1176-10

doi: 10.16155/j.0254-1793.2023-0464

Geographical origin traceability of *Desmodium caudatum* (Thunb.) DC. by UPLC MS/MS coupled with BP neural network

YANG Jing, FU Chuan-wu*, QIN Hua-liang, QIN Dong-jie, QIN Zi-long

(Liuzhou Quality Inspection and Testing Research Center, Liuzhou 545001, China)

Abstract Objective: To establish the UPLC-MS/MS method for simultaneous determination of 9 components (nicotinic acid, kaempferol, swertisin, quercetin, luteolin, rutin, vitexin, spinosin, salicylic acid) in

* 通信作者 Tel:18007726258; E-mail:38526408@qq.com

第一作者 Tel:13557329896; E-mail:1606262944@qq.com

Desmodium caudatum (Thunb.) DC. and construct a back propagation (BP) neural network model to predict the origin of *Desmodium caudatum* (Thunb.) DC. from different habitats. **Methods:** The chromatographic separation was achieved on an Agilent Zorbax SB C₁₈ column (50 mm × 3.0 mm, 1.8 μm). The mobile phase consisted of methanol - 0.1% acetic acid (containing 0.02 mol · L⁻¹ ammonium acetate) at a flow rate of 0.3 mL · min⁻¹ with gradient elution, the MS analysis were performed by multiple reaction monitoring (MRM) under ESI⁺ and ESI. A correlation analysis was conducted on the contents of each component, and a BP neural network model was constructed to distinguish *Desmodium caudatum* (Thunb.) DC. from different habitats. **Results:** Under the optimized conditions, 9 components (nicotinic acid, kaempferol, swertisin, quercetin, luteolin, rutin, vitexin, spinosin, salicylic acid) showed good linear relationships in the ranges of 0.388 8 - 38.88 ng · mL⁻¹, 10.07 - 1 006.6 ng · mL⁻¹, 34.22 - 34 221.6 ng · mL⁻¹, 3.944 - 394.4 ng · mL⁻¹, 2.124 - 212.4 ng · mL⁻¹, 4.344 - 434.4 ng · mL⁻¹, 46.50 - 4 650.1 ng · mL⁻¹, 1.649 - 164.9 ng · mL⁻¹, 4.880 - 488.0 ng · mL⁻¹, respectively ($r > 0.995$), whose average recoveries were 96.9% - 103.9% (RSDs < 1.9%). The contents of the above nine components in 40 batches of *Desmodium caudatum* (Thunb.) DC. were 1.657 - 7.407 μg · g⁻¹, 15.801 - 64.488 μg · g⁻¹, 1 068.348 - 4 270.780 μg · g⁻¹, 10.608 - 123.228 μg · g⁻¹, 3.897 - 16.802 μg · g⁻¹, 1.269 - 97.834 μg · g⁻¹, 405.285 - 1 955.796 μg · g⁻¹, 13.614 - 36.124 μg · g⁻¹, 4.417 - 87.509 μg · g⁻¹, respectively. According to correlation analysis, four components (swertisin, rutin, spinosin, and luteolin) in *Desmodium caudatum* (Thunb.) DC. showed a highly linear positive correlation, indicating that these four components had a certain synergistic effect in *Desmodium caudatum* (Thunb.) DC.. The BP neural network model was constructed to predict *Desmodium caudatum* (Thunb.) DC. from different habitats, and the accuracy of the test set reached 92.3%. **Conclusion:** The method is simple, sensitive and efficient, and can be used for the rapid determination of the components in *Desmodium caudatum* (Thunb.) DC.. Using the BP neural network model to predict the habitats plays a significant role in tracing the origin of *Desmodium caudatum* (Thunb.) DC..

Keywords: *Desmodium caudatum* (Thunb.) DC.; UPLC - MS/MS; correlation analysis; BP neural network model; nicotinic acid; kaempferol; swertisin; quercetin; luteolin; rutin; vitexin; spinosin; salicylic acid

小槐花为豆科山蚂蝗属植物小槐花 *Desmodium caudatum* (Thunb.) DC. 的全株, 含有多种有机酸, 如机酸类水杨酸、维生素 B 系列化合物烟酸等^[1] 及各类黄酮类物质, 如芦丁、山柰酚、当药黄素等^[2-6]。这些黄酮化合物具有抗氧化、抗炎、抗菌、调节免疫功能等作用, 对改善微循环、保护血管壁、降低血脂、抗过敏等方面有一定作用。此外, 小槐花还具有降压、降糖、抗凝血、止咳、解热、利尿等作用。研究也发现小槐花具有一定的抗肿瘤活性和抗病毒活性^[6-9]。

现今, 大量的研究者投入到中药材产地溯源研究中, 很好地分辨药材的产地对于识别未知产地的药材是否为道地药材及将未知产地的药材进行产地区分具有很重要的作用。以往研究者通过对药材的性状、显微鉴别来判断中药材是否来源它的优

势产地, BP 神经网络模型的引入, 被大量应用于矿产及中草药的产地溯源中。BP 神经网络, 即反向传播神经网络 (back propagation neural network), 是一种常用的人工神经网络模型。它是由多层神经元组成的前馈网络, 其中信息从输入层经过隐藏层传递到输出层^[10-16]。通过对大量样品数据的分析由计算机对样品进行神经网络的反向传播算法, 训练已知产地的小槐花样品并调整网络的权重和偏置, 使得模型能够对未知产地的小槐花进行有效的分类和预测产地。此前, 王虹等^[10] 曾利用检测铁矿的无机元素通过 BP 神经网络模型对铁矿产地进行溯源, 彭政等^[11] 曾利用来自不同产地的陈皮中的无机元素对陈皮的产地进行溯源, 运用 BP 神经网络模型有效地预测出未知产地的陈皮样品属于哪一产地。

本试验运用小槐花的9个成分作为BP神经网络的输入层,有效防止因为无法测出不同产地的无机元素或因其他人为因素导致无机元素分布差异而造成产地预测误差。同时也较传统主观鉴别手段从性状、显微鉴别等方面的检验方法多了大量的数据支持及模型对样品随机训练,减少了主观判断对药材鉴别的影响,为药材产地溯源引进了新的思路。

1 材料

1.1 仪器

LC-30AD 超高效液相色谱仪(岛津公司);Triple Quad 4500 三重四极杆质谱仪(AB SCIEX 公司);XS205DU 十万分之一电子分析天平(梅特勒-托利多公司);AE200S 万分之一电子分析天平(梅特勒-托利多公司);SK8200HP 超声波清洗器(上海科导超声仪器有限公司);GWB-2E 超纯水仪(北京普析通用仪器有限责任公司);FW100 高速粉碎机(天津市泰斯特仪器有限公司)

1.2 试药

对照品烟酸(批号 100434-200301,含量 100%)、山柰酚(批号 110861-201310,含量

93.2%)、槲皮素(批号 100081-201610,含量 99.1%)、木犀草素(批号 111520-200504,含量 100%)、芦丁(批号 100080-200707,含量 90.5%)、牡荆素(批号 111687-201704,含量 94.9%)、斯皮诺素(批号 111869-201704,含量 97.2%)均购自中国食品药品检定研究院,当药黄素(批号 7832,含量 98.0%)购自 NATURE STANDARD 公司,水杨酸(批号 21051035,含量 99.6%)购自 TMstandard 公司。甲醇、乙腈为色谱纯,均购自欧姆尼科技有限公司,其他试剂均为分析纯,水为自制超纯水。

1.3 材料

小槐花药材分别收集于广西桂林全州县安和镇、江西九江武宁县、广西柳州融水县、广西桂林全州县两河镇、广西柳州三江县、广西柳州柳城县、广西柳州融安县、广西柳州柳江区、江西九江修水县、广西贵港平南县 10 个地区,共 40 批,见表 1。所有样品经柳州市质量检验检测研究中心药品科副主任药师覃华亮鉴定为豆科山蚂蝗属植物小槐花 *Desmodium caudatum* (Thunb.) DC. 的全株。样品经过高速粉碎机打粉过后过 2 号筛,在干燥条件下贮存备用。

表 1 2022 年 5 月收集的小槐花样品信息

Tab. 1 Informations of *Desmodium caudatum* (Thunb.) DC. collected in May 2022

编号(number)	来源(source)
P1、P11、P21、P31	广西桂林全州县安和镇(Anhe Town, Quanzhou County, Guilin, Guangxi)
P2、P12、P22、P32	江西九江武宁县(Wuning County, Jiujiang, Jiangxi)
P3、P13、P23、P33	广西柳州融水县(Rongshui County, Liuzhou, Guangxi)
P4、P14、P24、P34	广西桂林全州县两河镇(Lianghe Town, Quanzhou County, Guilin, Guangxi)
P5、P15、P25、P35	广西柳州三江县(Sanjiang County, Liuzhou, Guangxi)
P6、P16、P26、P36	广西柳州柳城县(Liucheng County, Liuzhou, Guangxi)
P7、P17、P27、P37	广西柳州融安县(Rong'an County, Liuzhou, Guangxi)
P8、P18、P28、P38	广西柳州柳江区(Liujiang District, Liuzhou, Guangxi)
P9、P19、P29、P39	江西九江修水县(Xiushui County, Jiujiang, Jiangxi)
P10、P20、P30、P40	广西贵港平南县(Pingnan County, Guigang, Guangxi)

2 方法与结果

2.1 色谱-质谱条件

2.1.1 色谱条件 采用安捷伦 ZORBAX SB-C₁₈ (50 mm × 3.0 mm, 1.8 μm) 色谱柱,以 0.1% 乙酸(含 0.02 mol · L⁻¹ 乙酸铵)水溶液(A) - 甲醇(B)为流动相,梯度洗脱(0 ~ 7 min, 2%B → 60%B; 7 ~ 8 min, 60%B; 8 ~ 9 min, 60%B → 2%B; 9 ~ 12 min, 2%B),体积

流量 0.3 mL · min⁻¹,进样量 1 μL。

2.1.2 质谱条件 采用电喷雾离子源(ESI),正负离子模式检测,离子化电压 ± 4.5 kV,离子源温度 500 °C,气帘气压力 68 948 Pa,喷雾气压力 379 211 Pa,辅助加热气压力 379 211 Pa,碰撞气为氮气,多反应监测模式(MRM)。具体参数见表 2,各成分的提取离子流色谱图见图 1。

表 2 各成分质谱参数
Tab.2 MS parameters of various components

成分 (component)	t_R / min	离子模式 (ion mode)	母离子 (parent ion)(MS1) m/z	子离子 (daughter ion)(MS2) m/z	去簇电压 (declustering potential)/V	碰撞能量 (collision energy)/eV
烟酸(nicotinic acid)	0.74	[M+H] ⁻	124.1	80.0 [*] /78.0	85	26/30
山柰酚(kaempferol)	8.41	[M-H] ⁻	284.9	116.9 [*] /226.9	-110	-50/-43
当药黄素(swertisin)	6.29	[M-H] ⁻	445.1	297.1 [*] /282.0	-110	-45/-48
槲皮素(quercetin)	7.70	[M-H] ⁻	301.1	150.7 [*] /179.0	-140	-24/-24
木犀草素(luteolin)	7.96	[M-H] ⁻	285.1	133.0 [*] /151.0	-145	-35/-35
芦丁(rutin)	6.44	[M-H] ⁻	609.0	270.9 [*] /255.0	-190	-70/-70
牡荆素(vitexin)	6.01	[M-H] ⁻	431.2	310.8 [*] /282.9	-160	-30/-45
斯皮诺素(spinosin)	6.18	[M-H] ⁻	607.3	427.0 [*] /306.9	-160	-44/-51
水杨酸(salicylic acid)	6.82	[M-H] ⁻	136.9	93.0 [*] /65.1	-77	-21/-35

注 (note): *. 定量离子 (quantitative ion)

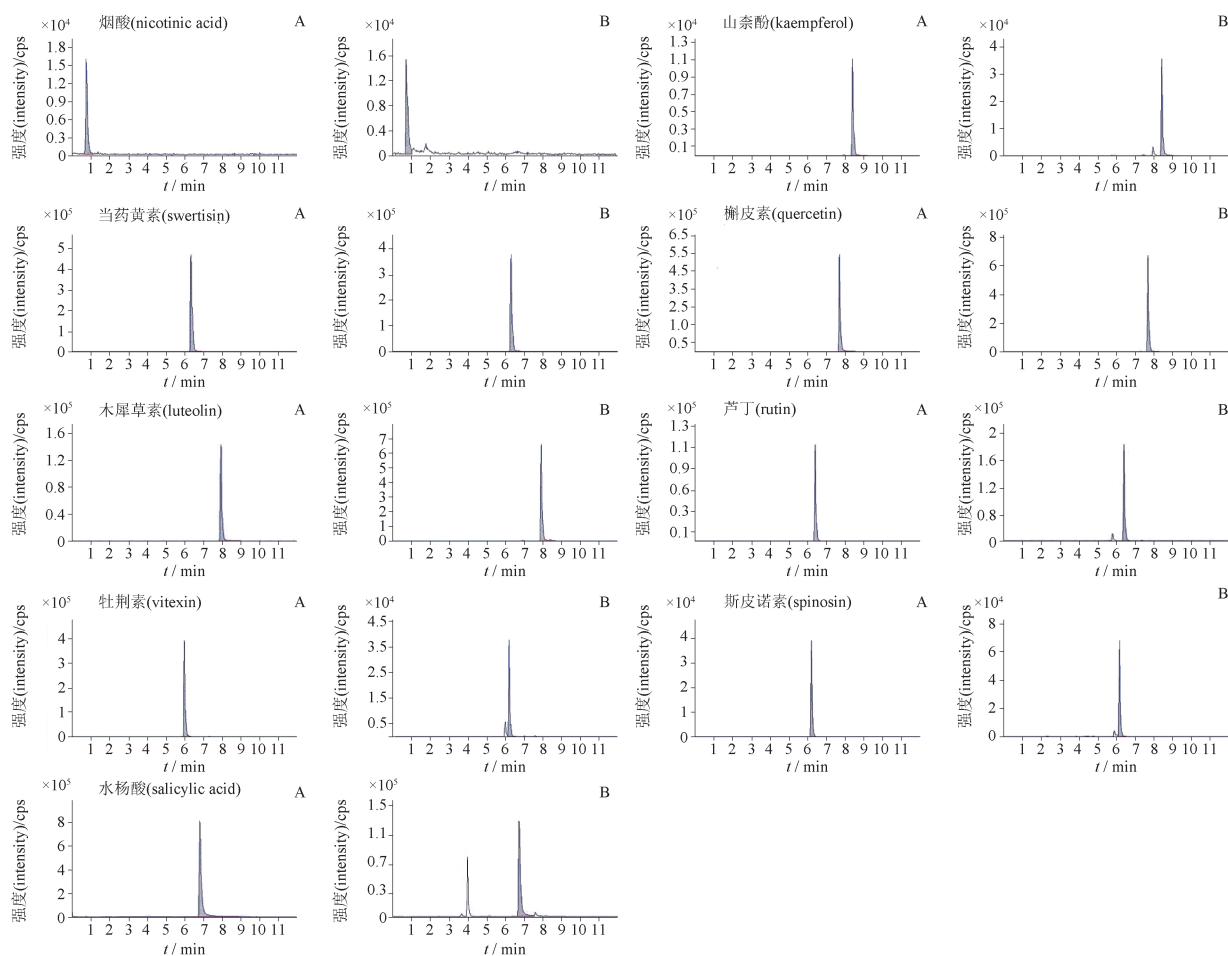


图 1 对照品 (A) 和样品 (B) 中各成分的提取离子流色谱图

Fig. 1 Extracted ion chromatograms of various components from reference substance (A) and sample (B)

2.2 混合对照品溶液的制备

精密称取烟酸、山柰酚、当药黄素、槲皮素、木犀

草素、芦丁、牡荆素、斯皮诺素、水杨酸的对照品适量,分别置于 100 mL 棕色量瓶中,加甲醇溶解并稀

释至刻度,摇匀,即得上述各对照品的储备液。再精密量取各储备液适量,置于同一 100 mL 棕色量瓶中,随后加甲醇稀释至刻度并摇匀,即得含烟酸 $38.88 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、山柰酚 $1\ 006.6 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、当药黄素 $34\ 221.6 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、槲皮素 $394.4 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、木犀草素 $212.4 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、芦丁 $434.4 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、牡荆素 $4\ 650.1 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、斯皮诺素 $164.9 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、水杨酸 $488.0 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的混合对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备

取小槐花粉末约 0.25 g,精密称定,置 100 mL

棕色量瓶中,精密加入甲醇-25%盐酸(4:1, *v/v*) 适量,超声(频率 53 kHz,功率 500 W)45 min,放冷,用甲醇-25%盐酸(4:1, *v/v*) 稀释至刻度摇匀,取上清液 2 mL,用 0.22 μm 微孔滤膜过滤,即得。

2.4 检测限和定量限

精密量取混合对照品溶液 0.8 mL,置 10 mL 棕色量瓶中,加入甲醇稀释至刻度,摇匀,按“2.1”项下条件进样分析,记录色谱图,并分别以信噪比为 3:1 和 10:1 计算检测限和定量限,结果见表 3。

表 3 线性回归方程及线性范围

Tab. 3 Regression equations and linear range

成分 (component)	回归方程 (regression equation)	线性范围 (linear range)/(ng · mL ⁻¹)	<i>r</i>	检测限(LOD)/ (ng · mL ⁻¹)	定量限(LOQ)/ (ng · mL ⁻¹)
烟酸(nicotinic acid)	$Y = 1\ 184.914\ 9X + 719.314\ 6$	0.388 8 ~ 38.88	0.995 4	0.12	0.39
山柰酚(kaempferol)	$Y = 266.073\ 3X - 531.203\ 2$	10.07 ~ 1 006.6	0.999 4	0.83	2.77
当药黄素(swertisin)	$Y = 585.150\ 8X + 2\ 442.127\ 0$	34.22 ~ 34 221.6	0.999 4	0.59	1.95
槲皮素(querceetin)	$Y = 2\ 580.691\ 5X - 4\ 649.525\ 3$	3.944 ~ 394.4	0.998 4	0.12	0.41
木犀草素(luteolin)	$Y = 6\ 809.860\ 3X - 12\ 457.627\ 8$	2.124 ~ 212.4	0.997 8	0.03	0.10
芦丁(rutin)	$Y = 428.933\ 2X + 892.862\ 0$	4.344 ~ 434.4	0.997 1	0.36	1.19
牡荆素(vitexin)	$Y = 1\ 809.458\ 5X + 58\ 677.518\ 3$	46.50 ~ 4 650.1	0.997 6	0.49	1.63
斯皮诺素(spinosin)	$Y = 509.256\ 2X + 78.604\ 4$	1.649 ~ 164.9	0.997 5	0.25	0.83
水杨酸(salicylic acid)	$Y = 9\ 356.849\ 8X + 169\ 423.977\ 5$	4.880 ~ 488.0	0.995 1	1.07	3.56

2.5 线性关系考察

精密吸取各对照品储备液 0.08 mL(烟酸)、0.4 mL(山柰酚)、6 mL(当药黄素)、0.2 mL(槲皮素)、0.12 mL(木犀草素)、0.2 mL(芦丁)、2 mL(牡荆素)、0.08 mL(斯皮诺素)、0.2 mL(水杨酸),置于同一 100 mL 棕色量瓶中,并用甲醇稀释至刻度,摇匀,配制成混合对照品工作溶液;再取混合对照品工作溶液 15、10、5、2.5、0.2 mL,分别置于 20 mL 棕色量瓶中,用甲醇稀释至刻度,摇匀,即得系列混合对照品工作溶液。取上述系列混合对照品工作溶液,按“2.1”项下条件进样测定,以质量浓度(*X*)为横坐标,峰面积(*Y*)为纵坐标,进行线性回归。结果见表 3,9 个成分在相应的浓度范围内线性关系良好。

2.6 精密度考察

取小槐花样品粉末(编号 P6),按“2.3”项下方法制备供试品溶液,按“2.1”项下条件连续进样 6 次,记录色谱图,计算烟酸、山柰酚、当药黄素、槲皮素、木犀草素、芦丁、牡荆素、斯皮诺素、水杨酸峰面积的 RSD

分别为 0.18%、0.31%、0.55%、0.91%、1.2%、0.65%、1.3%、1.2%、0.46%,表明精密度较好。

2.7 稳定性考察

取小槐花样品粉末(编号 P6),按“2.3”项下方法制备供试品溶液,分别于溶液制备后 0、2、4、6、8、12 h 按“2.1”项下条件进样测定,记录色谱图,计算烟酸、山柰酚、当药黄素、槲皮素、木犀草素、芦丁、牡荆素、斯皮诺素、水杨酸峰面积的 RSD 分别为 0.38%、2.0%、0.66%、0.87%、1.2%、0.43%、0.83%、0.61%、0.50%,表明供试品溶液中上述成分在 12 h 内具有较好的稳定性。

2.8 重复性考察

取小槐花样品粉末(编号 P6),按“2.3”项下的方法制备供试品溶液 6 份,按“2.1”项下条件进样测定,记录色谱图及峰面积,计算烟酸、山柰酚、当药黄素、槲皮素、木犀草素、芦丁、牡荆素、斯皮诺素、水杨酸的平均含量分别为 3.384、55.645、3 457.679、44.028、16.156、49.412、516.661、27.309、27.278

$\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$, RSD 分别为 0.24%、0.15%、0.16%、0.17%、0.25%、0.44%、0.33%、0.17%、0.41%。表明该方法的重复性良好。

2.9 加样回收率试验

精密称取已知含量的小槐花粉末(编号 P6)6份,每份0.125 g,分别置于100 mL棕色量瓶中,精密加入混合对照品溶液(精密称取烟酸、山柰酚、当药黄素、槲皮素、木犀草素、芦丁、牡荆素、斯皮诺素、水杨酸的对照品适量,加甲醇制成上述成分质量浓度分别为 427.68、3 523.1、239 551.2、2 760.8、1 062.0、3 040.8、32 550.7、1 731.45、1 708.0 $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的混合溶液)适量,按“2.3”项下方法制备供试

溶液,按“2.1”项下条件进样测定,记录各成分峰面积并结合加入各成分的量计算加样回收率,结果烟酸、山柰酚、当药黄素、槲皮素、木犀草素、芦丁、牡荆素、斯皮诺素、水杨酸的回收率分别为 101.1%、97.8%、102.2%、103.9%、96.9%、102.7%、102.3%、100.9%、100.4%, RSD 分别为 1.1%、1.7%、0.70%、1.9%、1.7%、1.4%、1.3%、1.8%、0.99%,表明本方法回收率良好。

2.10 样品含量测定

按照“2.3”项下方法制备40批不同产地的小槐花的供试品溶液各2份,精密吸取各供试品溶液1 μL ,在“2.1”项条件下进行测定,结果见表4。

表4 小槐花中9个成分的含量($n=2$)

Tab. 4 Contents of 9 components in *Desmodium caudatum* (Thunb.) DC.

编号 (number)	含量(content)/($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$)								
	烟酸 (nicotinic acid)	山柰酚 (kaempferol)	当药黄素 (swertisin)	槲皮素 (quercetin)	木犀草素 (luteolin)	芦丁 (rutin)	牡荆素 (vitexin)	斯皮诺素 (spinosin)	水杨酸 (salicylic acid)
P1	3.251	38.048	1 973.538	119.252	4.831	5.593	881.311	21.210	77.765
P2	1.657	15.801	1 188.983	10.608	5.730	1.309	587.320	20.559	50.152
P3	3.869	58.113	3 553.193	55.123	11.612	53.205	523.623	26.615	34.567
P4	3.399	41.605	1 846.482	119.856	3.897	5.535	870.767	20.130	77.660
P5	4.977	25.981	2 536.520	44.188	10.667	10.613	802.792	15.779	5.780
P6	3.368	55.525	3 456.612	44.071	16.389	49.417	512.743	27.414	27.506
P7	6.183	37.715	2 427.934	26.225	13.465	2.112	951.320	23.425	19.258
P8	4.110	46.999	3 879.008	41.196	11.526	60.597	644.853	29.630	33.648
P9	2.072	27.768	1 091.072	14.354	6.049	1.414	405.285	13.614	60.074
P10	5.520	26.829	3 985.575	41.446	15.786	95.660	1 915.087	36.030	17.753
P11	3.286	39.452	1 941.048	119.754	4.854	5.826	881.655	21.192	87.509
P12	5.287	16.629	1 151.926	13.904	6.760	3.838	586.841	20.913	51.969
P13	3.710	51.516	3 547.858	57.727	14.345	57.812	496.651	29.260	35.136
P14	4.523	37.016	1 753.213	119.473	4.392	6.044	826.551	22.294	75.711
P15	7.407	23.811	2 367.051	42.063	11.567	11.805	989.634	23.063	4.703
P16	5.761	46.692	3 498.309	42.127	16.413	49.318	521.026	31.686	28.029
P17	6.972	37.469	2 400.524	29.078	14.477	2.974	1 224.378	24.632	21.109
P18	5.007	47.061	3 719.442	39.763	12.918	65.381	621.672	30.522	29.053
P19	2.113	21.447	1 334.549	13.680	5.672	1.485	441.577	16.581	67.043
P20	4.203	28.422	3 951.929	41.280	15.407	97.834	1 953.273	36.124	18.736
P21	3.046	36.276	1 904.203	120.109	4.817	6.287	879.977	21.178	78.656
P22	2.467	19.797	1 068.348	13.487	6.448	3.174	596.154	21.438	44.766
P23	2.914	52.232	3365.176	50.793	12.481	49.175	505.010	24.000	33.884
P24	2.314	37.837	2 054.485	123.228	3.902	5.239	906.549	19.244	74.957
P25	7.370	29.266	2 628.337	42.318	10.905	13.578	1 000.127	22.401	6.016
P26	2.522	54.194	3 489.618	50.766	16.802	48.255	522.234	32.064	27.935
P27	5.051	35.777	2 323.022	30.814	13.054	2.826	1 198.084	23.537	21.024

表 4(续)

编号 (number)	含量(content)/($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$)								
	烟酸 (nicotinic acid)	山柰酚 (kaempferol)	当药黄素 (swertisin)	槲皮素 (quercetin)	木犀草素 (luteolin)	芦丁 (rutin)	牡荆素 (vitexin)	斯皮诺素 (spinosin)	水杨酸 (salicylic acid)
P28	3.341	53.469	3 847.589	42.092	11.981	60.535	656.748	27.491	32.084
P29	2.530	24.953	1 279.300	14.647	5.338	1.269	432.638	17.878	65.754
P30	6.618	25.838	3 996.655	40.353	15.713	90.424	1 955.796	32.405	20.319
P31	3.196	44.253	1 903.282	118.391	4.832	6.255	879.990	21.198	75.928
P32	1.806	24.135	1 183.438	14.223	6.912	3.559	591.506	18.797	48.851
P33	5.001	64.488	3 767.682	57.044	12.532	52.816	572.068	26.694	34.831
P34	3.370	41.335	1 738.601	117.105	4.204	5.331	881.374	18.892	82.487
P35	5.715	26.166	2 598.762	45.684	11.906	13.349	1 206.468	19.884	4.417
P36	3.672	57.384	3 447.150	49.482	15.521	49.747	518.458	34.180	32.782
P37	7.030	45.845	2 598.510	30.590	13.332	3.649	1 202.390	22.379	24.668
P38	3.992	60.184	4 081.648	41.856	12.358	56.092	657.725	30.975	39.910
P39	3.210	25.966	1 415.921	17.549	6.177	1.810	522.078	17.453	78.688
P40	5.355	29.190	4 270.780	40.182	16.411	86.326	1 869.368	35.375	19.722

2.11 小槐花各成分间的相关性分析

采用 SIMCA 14.1 软件对 40 个不同来源的小槐花中的烟酸、山柰酚、当药黄素、槲皮素、木犀草素、芦丁、牡荆素、斯皮诺素、水杨酸这 9 个成分含量进行相关性分析, Pearson 相关系数结果见表 5。

由表 5 可知, Pearson 相关系数 > 0.7 , 则 2 个成分之间呈高度线性正相关, 小槐花中当药黄素、芦丁、斯皮诺素、木犀草素这 4 个成分相互呈高度线性正相关, 表明小槐花中这 4 个成分具有一定互相协同的作用。

表 5 各成分相关性分析

Tab. 5 Correlation analysis of components

成分 (component)	烟酸 (nicotinic acid)	山柰酚 (kaempferol)	当药黄素 (swertisin)	槲皮素 (quercetin)	木犀草素 (luteolin)	芦丁 (rutin)	牡荆素 (vitexin)	斯皮诺素 (spinosin)	水杨酸 (salicylic acid)
烟酸(nicotinic acid)	1	-0.025	0.381	-0.150	0.531**	0.195	0.530**	0.314	-0.657**
山柰酚(kaempferol)	-0.025	1	0.595**	0.311	0.369	0.367	-0.295	0.421**	-0.044
当药黄素(swertisin)	0.381	0.595**	1	-0.048	0.829**	0.905**	0.351	0.874**	-0.599**
槲皮素(quercetin)	-0.150	0.311	-0.048	1	-0.419**	-0.131	0.077	-0.093	0.555**
木犀草素(luteolin)	0.531**	0.369	0.829**	-0.419**	1	0.726**	0.345	0.793**	-0.838**
芦丁(rutin)	0.195	0.367	0.905**	-0.131	0.726**	1	0.412**	0.898**	-0.474**
牡荆素(vitexin)	0.530**	-0.295	0.351	0.077	0.345	0.412**	1	0.426**	-0.358
斯皮诺素(spinosin)	0.314	0.421**	0.874**	-0.093	0.793**	0.898**	0.426**	1	-0.495**
水杨酸(salicylic acid)	-0.657**	-0.044	-0.599**	0.555**	-0.838**	-0.474**	-0.358	-0.495**	1

注(note): “**”表示在 0.01 级别(双尾), 相关性显著[“**”indicates a significant correlation at the 0.01 level (double tailed)]

2.12 BP 神经网络建模

分别将 10 个来源的共 40 批的样品导入 IBM SPSS Statistics 23 统计分析软件中随机分为训练集与检验集。并通过软件随机分区, 产生了 27 个训练集及 13 个检验集。将 10 个来源不同的小槐花

中 10 个产地依次赋值 1~10 作为神经网络模型的输出值, 分别为广西桂林全州县安和镇、江西九江武宁县、广西柳州融水县、广西桂林全州县两河镇、广西柳州三江县、广西柳州柳城县、广西柳州融安县、广西柳州柳江区、江西九江修水县、广西贵港平

南县,同时将9个成分依次赋值为A1~A9,分别是烟酸、山柰酚、当药黄素、槲皮素、木犀草素、芦丁、牡荆素、斯皮诺素、水杨酸。将40批小槐花的9个成分含量值作为神经网络单元的输入值,建立1个3层的小槐花来源BP神经网络模型见图2。此神经网络模型的网络输入层节点为10,隐藏层节点数为7个,激活函数为双曲正切函数;输出层节点为10个,激活函数为归一化指数函数 Softmax。该模型训练集预测概率准确性为100%,检验集预测概

率准确性为92.3%,产地预测准确率较好,模型可靠。BP神经网络对13批样品检验集的预测结果见表6。编号P38的产地预测错误,预测为产地3(广西柳州融水县)的原因是,其真实产地8(广西柳州柳江区)与预测产地过于接近,并且聚类分析和主成分分析都将产地广西柳州融水县与产地广西柳州柳江区看作同一类,所以造成了此误差。总体来说此模型可较准确地对未知产地的小槐花进行产地预测。

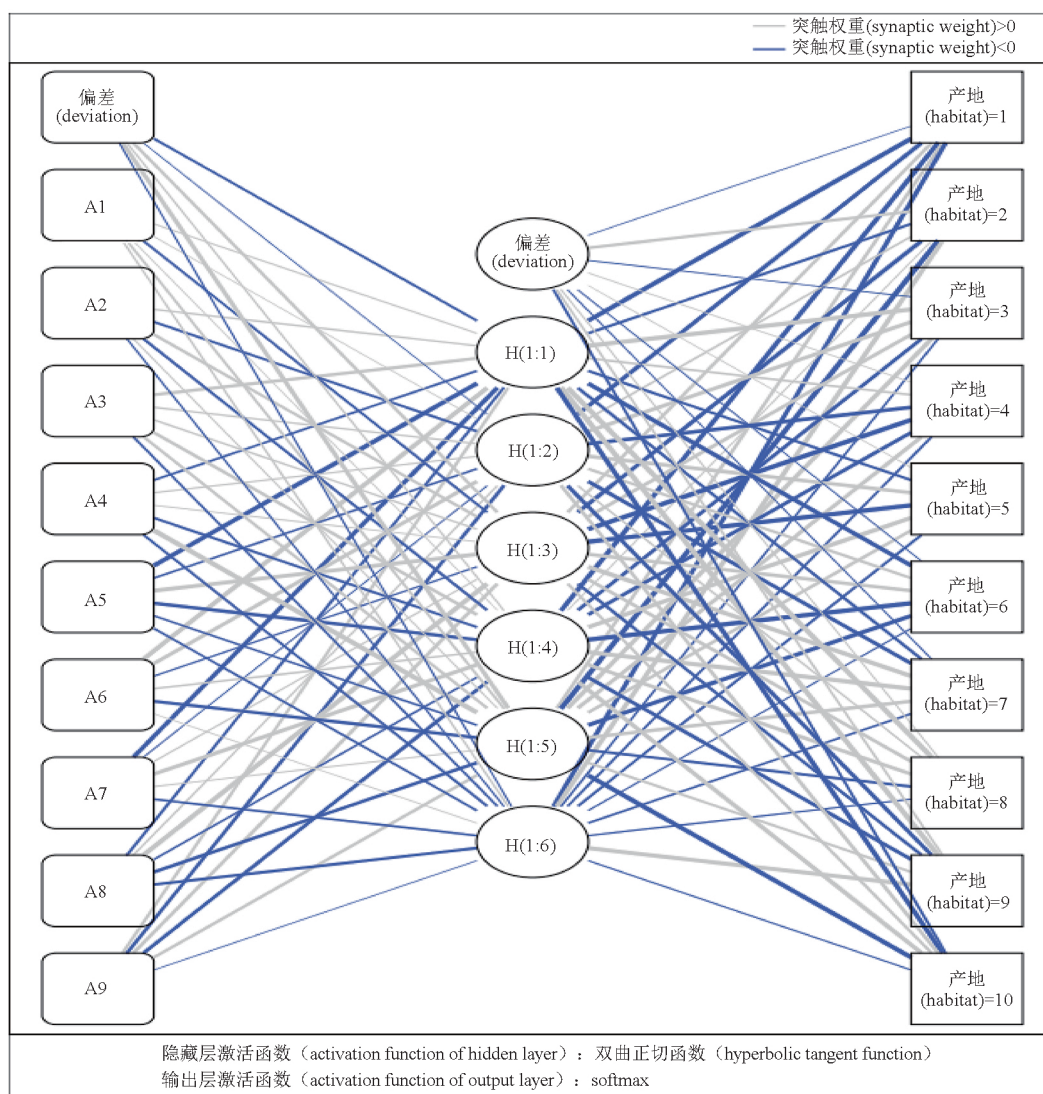


图2 BP神经网络图谱

Fig. 2 Back propagation neural network

3 讨论

本实验分别考察了多种流动相组合,发现使用乙腈-0.1%乙酸水溶液(含0.02 mol·L⁻¹乙酸铵)

为流动相进行梯度洗脱时,各被测成分均显示出较好的峰形及较高的响应值,且各成分分离效果好,整个仪器进样测定耗时短,适用于多批次样品的测定。

表6 BP神经网络对小槐花13个样品检验集的预测结果

Tab. 6 The BP neural network calculate results of 13 test sets of *Desmodium caudatum* (Thunb.) DC.

编号 (number)	产地 (habitat)	概率(probability)										预测产地 (habitat prediction)	结论 (conclusion)
		产地1 (habitat 1)	产地2 (habitat 2)	产地3 (habitat 3)	产地4 (habitat 4)	产地5 (habitat 5)	产地6 (habitat 6)	产地7 (habitat 7)	产地8 (habitat 8)	产地9 (habitat 9)	产地10 (habitat 10)		
P1	1	0.998	0.000	0.000	0.001	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	1	正确(correct)
P3	3	0.000	0.000	1.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	3	正确(correct)
P10	10	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.001	0.000	0.000	0.000	0.998	10	正确(correct)
P14	4	0.229	0.000	0.000	0.770	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	4	正确(correct)
P17	7	0.004	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.996	0.000	0.000	0.000	7	正确(correct)
P18	8	0.000	0.000	0.001	0.000	0.000	0.000	0.000	0.999	0.000	0.001	8	正确(correct)
P20	10	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.001	0.000	0.000	0.000	0.998	10	正确(correct)
P22	2	0.000	1.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	2	正确(correct)
P23	3	0.000	0.000	1.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	3	正确(correct)
P24	4	0.067	0.000	0.000	0.932	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	4	正确(correct)
P25	5	0.000	0.001	0.000	0.000	0.999	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	5	正确(correct)
P27	7	0.006	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.994	0.000	0.000	0.000	7	正确(correct)
P38	8	0.000	0.000	0.842	0.000	0.000	0.002	0.000	0.155	0.000	0.000	3	错误(error)

通过对样品提取方式的考察,发现使用甲醇-25%盐酸(4:1, *v/v*)作为提取溶剂,选用超声作为提取方法,得出的试验色谱图及峰面积较大,显示的峰数较多。

本研究采用UPLC-MS/MS对小槐花的多种成分进行测定,快捷有效,同时对小槐花中9个成分进行相关性分析,发现当药黄素、芦丁、斯皮诺素、木犀草素这4个成分呈高度正相关性,即若小槐花中这4个成分有1个含量较高,其他3个含量也是一种相对高的状态,这4个成分在小槐花药材里具有一种相对较强的协同作用,产生这一现象的原因可能和小槐花本身的药效具有抗病毒、抗炎及降糖等相关药理作用有关,当药黄素、芦丁、木犀草素等成分均有消炎抗氧化抗糖尿病的作用。通过利用小槐花中9个成分的含量作为变量构造BP神经网络模型,预测小槐花产地,检验集正确率达到92.3%。一定程度上可以运用在以后的的小槐花产地分析中。小槐花的相关检测标准还相对匮乏,对于小槐花的产地分析,可以更好地研究各产地小槐花的质量,从而为今后小槐花质量标准的制定提供一定的数据支持。

参考文献

[1] 张毅, 华琼琼, 孙伊维, 等. 小槐花茎的化学成分的分离与鉴

定[J]. 沈阳药科大学学报, 2020, 37(10): 884

ZHANG Y, HUA QQ, SUN YW, *et al.* Isolation and identification of chemical constituents from the stem of *Desmodium caudatum* [J]. *J Shenyang Pharm Univ*, 2020, 37(10): 884

[2] 车鑫, 金成武, 谯明鸣, 等. 小槐花茎叶化学成分分离与鉴定[J]. 沈阳药科大学学报, 2022, 39(12): 1433

CHE X, JIN CW, QIAO MM, *et al.* Isolation and identification of chemical constituents from the stem and leaf of *Desmodium caudatum* [J]. *J Shenyang Pharm Univ*, 2022, 39(12): 1433

[3] 卢文杰, 陆国寿, 谭晓, 等. 壮瑶药小槐花化学成分研究[J]. 中药材, 2013, 36(12): 1953

LU WJ, LU GS, TAN X, *et al.* Chemical constituents of *Desmodium caudatum* [J]. *J Chin Med Mater*, 2013, 36(12): 1953

[4] 李传宽, 张前军, 黄钟碧, 等. 饿蚂蝗化学成分研究[J]. 中国中药杂志, 2010, 35(18): 2420

LI CK, ZHANG QJ, HUANG ZB, *et al.* Chemical constituents of *Desmodium sambuense* [J]. *China J Chin Mater Med*, 2010, 35(18): 2420

[5] PUODZIUNIENE G, KAIRYTE V, JANULIS V, *et al.* Quantitative HPLC estimation of flavonoids in showy tick trefoil (*Desmodium canadense*) herbs [J]. *Pharm Chem J*, 2011, 45(2): 88

[6] 刘超, 吴颖, 张前军, 等. 山蚂蝗属植物化学成分与生物活性研究进展[J]. 中国中药杂志, 2013, 38(23): 4006

LIU C, WU Y, ZHANG QJ, *et al.* Advances in studies on chemical constituents and biological activities of *Desmodium* species [J]. *China J Chin Mater Med*, 2013, 38(23): 4006

[7] 袁见萍, 张前军, 康文艺, 等. 饿蚂蝗中黄酮类化合物的抗氧化活性的研究[J]. 广州化工, 2014, 42(22): 79

YUAN JP, ZHANG QJ, KANG WY, *et al.* Determination of

- flavonoids and antioxidant activity of different parts from *Desmodium sambuens* (DC.) [J]. *Guangzhou Chem Ind*, 2014, 42(22): 79
- [8] 刘舒凌, 吴燕春, 钟振国, 等. 俄蚂蝗总黄酮对鸭乙型肝炎的保护作用研究[J]. *中药药理与临床*, 2017, 33(6): 76
LIU SL, WU YC, ZHONG ZG, *et al.* The effect of total flavonoids from *Desmodium multiflorum* DC. on DHBV hepatitis [J]. *Pharmacol Clin Chin Mater Med*, 2017, 33(6): 76
- [9] 符传武, 刘永逸, 丘琴, 等. 小槐花的化学成分及质量控制方法研究进展[J]. *中南药学*, 2021, 19(6): 1233
FU CW, LIU YY, QIU Q, *et al.* Research progress on chemical constituents and quality control methods of *Desmodium caudatum* (Thunb.) DC. [J]. *Cent South Pharm*, 2021, 19(6): 1233
- [10] 王虹, 魏秉炎, 王昊云. 基于主成分分析的BP神经网络模型在铁矿产地溯源中的应用[J]. *冶金分析*, 2021, 41(9): 11
WANG H, WEI BY, WANG HY, Application of BP neural network model based on principal component analysis in tracing the origin of iron ore [J]. *Metall Anal*, 2021, 41(9): 11
- [11] 彭政, 郭秀芝, 周利, 等. ICP-MS结合化学计量学分析不同来源陈皮中38个无机元素[J]. *中国现代中药*, 2021, 23(7): 1204
PENG Z, GUO XZ, ZHOU L, *et al.* Quantitative analysis of 39 inorganic elements in *Citri Reticulatae Pericarpium* from different sources by ICP-MS combined with chemometrics [J]. *Mod Chin Med*, 2021, 23(7): 1204
- [12] 柴海华. 基于BP神经网络的兰州新区现代有轨电车适用性评价[J]. *时代汽车*, 2023(22): 25
CHAI HH. Applicability evaluation of modern trams in Lanzhou new district based on BP neural network [J]. *Auto Time*, 2023(22): 25
- [13] 周梦, 吕志刚, 邸若海, 等. 基于小样本数据的BP神经网络建模[J]. *科学技术与工程*, 2022, 22(7): 2754
ZHOU M, LÜ ZG, DI RH. BP neural network modeling based on small sample data [J]. *Sci Technol Eng*, 2022, 22(7): 2754
- [14] 姚冲, 钱晓东, 李丽琴, 等. ATR-FTIR结合RBF神经网络对市售西红花的产地溯源[J]. *中华中医药学刊*, 2019, 37(6): 1323
YAO C, QIAN XD, LI LQ, *et al.* Geographical traceability of traded saffron (*Crocus sativus* L.) by ATR-FTIR and RBF neural network [J]. *Chin Arch Tradit Chin Med*, 2019, 37(6): 1323
- [15] 曹爱华, 秦鹏, 李爽. FTIR法结合ANNs鉴别普洱茶的产地和年限[J]. *中国城乡企业卫生*, 2018, 33(10): 175
CAO AH, QIN P, LI S. Identification of the origin and age of Pu'er tea by FTIR combined with ANNs [J]. *Chin J Urban Rural Enterpr Hyg*, 2018, 33(10): 175
- [16] 朱志均, 周华英, 罗坤豪, 等. 基于机器嗅觉结合BP神经网络的砂仁气味鉴别方法[J]. *自动化与信息工程*, 2018, 39(4): 45
ZHU ZJ, ZHOU HY, LUO KH, *et al.* Odor identification of *Aromi Fructus* based on machine olfactory combined with BP neural network [J]. *Autom Inf Eng*, 2018, 39(4): 45

(本文于2024年6月13日修改回)