

多指标成分定量联合化学计量学评价不同产地臭灵丹草质量

王兰兰^{1,2}, 乔乐天^{1,2}, 谢莹霞^{1,2}, 杨青松^{2,3}, 刘源^{1,2*}

1. 商丘市第一人民医院 药学部, 河南 商丘 476100

2. 徐州医科大学 商丘临床学院, 河南 商丘 476100

3. 商丘市第一人民医院 神经内科, 河南 商丘 476100

摘要: **目的** 采用多指标成分定量联合 PCA、OPLS-DA 和 CRITIC-TOPSIS 法评价臭灵丹草质量差异。**方法** 选取臭灵丹草中金丝桃苷、木犀草素、芹菜素、洋艾素、金腰乙素、3,4-*O*-二咖啡酰奎宁酸、4,5-*O*-二咖啡酰奎宁酸、3,5-*O*-二咖啡酰奎宁酸、臭灵丹二醇、冬青叶豚草酸、臭灵丹酸、水溶性浸出物、总灰分和酸不溶性灰分为质量评价指标, 以 PCA 和 OPLS-DA 法对 15 批臭灵丹草进行分组, 筛选质量差异标志物; 以 CRITIC 法计算各指标权重, 采用 TOPSIS 法构建臭灵丹草综合质量评价模型。**结果** 不同产地臭灵丹草中 14 个指标含量差异较大; OPLS-DA 分析可将 15 批臭灵丹草按照不同产地分为 3 类, 筛选出臭灵丹酸、3,5-*O*-二咖啡酰奎宁酸、洋艾素、冬青叶豚草酸和金腰乙素为质量差异标志物; CRITIC-TOPSIS 法结果显示 15 批样品综合质量评价指标的相对接近度最大值为 0.632 1, 最小值为 0.392 7; 云南产臭灵丹草样品排序靠前。**结论** PCA、OPLS-DA 和 CRITIC-TOPSIS 法可用于臭灵丹草的质量差异评价, 并且不同产地臭灵丹草药材质量存在差异。

关键词: 臭灵丹草; 臭灵丹酸; 3,5-*O*-二咖啡酰奎宁酸; 洋艾素; 高效液相色谱; PCA; OPLS-DA; CRITIC-TOPSIS

中图分类号: R284 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2025)09-2224-09

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2025.09.011

Quality of *Laggerae Herba* from different producing areas based on multi-index component quantitation combined with chemometrics

WANG Lanlan^{1,2}, QIAO Letian^{1,2}, XIE Yingxia^{1,2}, YANG Qingsong^{2,3}, LIU Yuan^{1,2}

1. Department of Pharmacy, The First People's Hospital of Shangqiu, Shangqiu 476100, China

2. Shangqiu Clinical College of Xuzhou Medical University, Shangqiu 476100, China

3. Department of Neurological, The First People's Hospital of Shangqiu, Shangqiu 476100, China

Abstract: Objective To evaluate the quality difference of *Laggerae Herba* based on multi-index component quantitation combined with PCA, OPLS-DA, and CRITIC-TOPSIS method. **Method** The contents of 14 quality evaluation indexes, including hyperoside, luteolin, apigenin, artemitin, chrysosplenetin B, 3,4-*O*-dicaffeoylquinic acid, 4,5-*O*-dicaffeoylquinic acid, 3,5-*O*-dicaffeoylquinic acid, pterodondiol, ilicic acid, pterodontic acid, water soluble extract, total ash, and acid insoluble ash were selected. PCA and OPLS-DA methods were used to group 15 batches of *Laggerae Herba*, and the quality difference markers were screened. The CRITIC method was used to calculate the weight of each index, and the TOPSIS method was used to construct the comprehensive quality evaluation model of *Laggerae Herba*. **Results** The contents of 14 indexes in *Laggerae Herba* from different producing areas were quite different. OPLS-DA analysis could divide 15 batches of *Laggerae Herba* into three categories according to different producing areas. Pterodontic acid, 3,5-*O*-dicaffeoylquinic acid, artemitin, ilicic acid, and chrysosplenetin B were selected as quality difference markers. The results of CRITIC-TOPSIS method showed that the maximum relative proximity of the comprehensive quality evaluation indexes of 15 batches of samples was 0.632 1, and the minimum value was 0.392 7. The rank of *Laggerae Herba* samples from genuine producing areas Yunnan was front. **Conclusion** PCA, OPLS-DA, and CRITIC-TOPSIS can be used to evaluate the quality difference of *Laggerae Herba*, and there are differences in the quality of *Laggerae Herba* from different producing areas.

Key words: *Laggerae Herba*; pterodontic acid; 3,5-*O*-dicaffeoylquinic acid; artemitin; HPLC; PCA; OPLS-DA; CRITIC-TOPSIS

收稿日期: 2025-05-26

基金项目: 河南省医学科技攻关计划联合共建项目 (LHGJ20230989)

作者简介: 王兰兰 (1974—), 女, 主管药师, 本科, 研究方向为药物质量评价、医院药学。

*通信作者: 刘源 (1985—), 男, 副主任药师, 本科, 研究方向为临床药物治疗学。E-mail: qzow78@163.com

臭灵丹草是菊科翼齿六棱菊 *Laggera pterodonta* (DC.) Benth. 的干燥地上部分, 主产于云南、四川、湖北西部、贵州和广西西南部^[1-2], 主要化学成分有黄酮、倍半萜、有机酸、挥发油^[3-5]。臭灵丹草具有清热解毒、止咳祛痰的功效, 主要用于风热感冒、咽喉肿痛、肺热咳嗽等^[6-7]。臭灵丹草可改善慢性心力衰竭^[8], 对新型冠状病毒感染发挥潜在的防治作用^[9], 具有抗病毒作用^[10]、抗炎作用^[11]。《中国药典》2020 年版一部中臭灵丹草仅对洋艾素进行定量分析^[12], 但单一的定量指标不能准确评价中药材质量。臭灵丹草中化学成分定量的报道也仅限一种类型的化合物, 如孙孔春^[13]采用 HPLC 法检测臭灵丹草中冬青酸、洋艾素和臭灵丹酸, 杨芳等^[14]使用氨基酸分析仪检测臭灵丹草中 11 种氨基酸, 鲁广秋等^[2]采用离子色谱法检测臭灵丹中 4 种无机阴离子, 孙孔春等^[15]采用 HPLC 法检测臭灵丹药材中洋艾素、臭灵丹酸, 李书华等^[16]建立了臭灵丹中洋艾素和金腰乙素的 HPLC 分析方法, 李玉蓉等^[17]采用检测异绿原酸 B 的方法优化了臭灵丹提取工艺, 但这些研究均不能体现臭灵丹草所含化学成分丰富的特点。本研究以臭灵丹草中金丝桃苷、木犀草素、芹菜素、洋艾素、金腰乙素、3,4-*O*-二咖啡酰奎宁酸、4,5-*O*-二咖啡酰奎宁酸、3,5-*O*-二咖啡酰奎宁酸、臭灵丹二醇、冬青叶豚草酸、臭灵丹酸、水溶性浸出物、总灰分和酸不溶性灰分为评价指标, 采用化学计量学^[18]、CRITIC^[19-20]、TOPSIS^[21-22]法对不同产地臭灵丹草进行评价, 为不同产地臭灵丹草的品质差异评价提供了数据支撑, 也为丰富臭灵丹草的质量标准提供技术手段。

1 仪器与材料

Primaide 1430 型高效液相色谱仪 (日本日立公司); CP225D 型分析天平 (德国赛多利斯集团); DS-2510DTH 型超声波清洗器 (上海生析超声仪器公司)。

3,4-*O*-二咖啡酰奎宁酸 (批号 112107-202301, 质量分数 96.6%)、芹菜素 (批号 111901-202205, 质量分数 98.4%)、洋艾素 (批号 111879-201102, 质量分数 97.2%)、木犀草素 (批号 111520-202107, 质量分数 96.3%)、4,5-*O*-二咖啡酰奎宁酸 (批号 111894-202406, 质量分数 95.9%)、3,5-*O*-二咖啡酰奎宁酸 (批号 111782-202309, 质量分数 95.0%) 和金丝桃苷 (批号 111521-202310, 质量分数 94.7%)

对照品购于中国食品药品检定研究院; 金腰乙素 (批号 CFS201502, 质量分数 98.0%)、臭灵丹二醇 (批号 CFS202102, 质量分数 98.0%)、冬青叶豚草酸 (批号 CFS202101, 质量分数 98.0%) 和臭灵丹酸 (批号 CFS202301, 质量分数 98.0%) 对照品购于武汉天植生物技术有限公司; 乙腈和磷酸为色谱纯, 其余试剂均为分析纯; 臭灵丹草药材经商丘市第一人民医院药学部刘源副主任药师根据《中国药典》2020 年版一部标准鉴定, 为菊科翼齿六棱菊 *Laggera pterodonta* (DC.) Benth. 的干燥地上部分, 样品信息见表 1。

表 1 试验用药材产地信息

Table 1 Producing area information of test medicinal materials

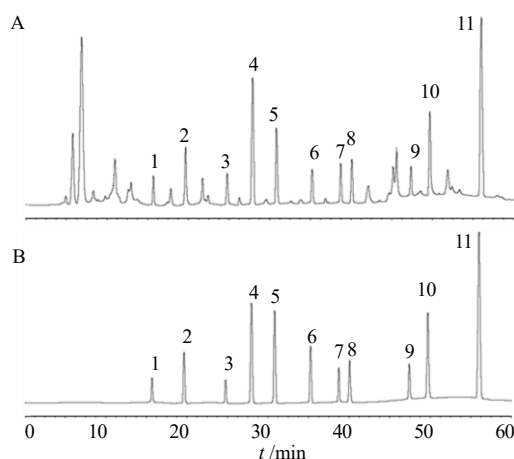
编号	采集地	采集时间	编号	采集地	采集时间
S1	四川冕宁县	2024-10	S9	云南景洪市	2024-10
S2	四川会理市	2024-10	S10	云南龙陵县	2024-10
S3	四川德昌县	2024-10	S11	贵州册亨县	2024-09
S4	湖北巴东县	2024-09	S12	贵州锦屏县	2024-09
S5	湖北利川市	2024-09	S13	贵州息烽县	2024-09
S6	云南梁河县	2024-09	S14	广西龙州县	2024-10
S7	云南腾冲市	2024-09	S15	广西那坡县	2024-10
S8	云南宁洱县	2024-10			

2 方法与结果

2.1 色谱条件和专属性试验

Develosil ODS-HG-5 C18 ec 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 乙腈-0.2%磷酸为流动相, 梯度洗脱 (0~12 min, 16.0%乙腈; 12~34 min, 16.0%→28.0%乙腈; 34~45 min, 28.0%→36.0%乙腈; 45~59 min, 36.0%→64.0%乙腈; 59~65 min, 64.0%→16.0%乙腈); 柱温 30 ℃; 检测波长: 0~45 min 在 254 nm 波长处检测金丝桃苷、木犀草素、芹菜素、洋艾素、金腰乙素、3,4-*O*-二咖啡酰奎宁酸、4,5-*O*-二咖啡酰奎宁酸和 3,5-*O*-二咖啡酰奎宁酸, 45~65 min 在 210 nm 波长处检测臭灵丹二醇、冬青叶豚草酸和臭灵丹酸; 进样量 10 μL, 体积流量 1.0 mL/min。

在此色谱条件下, 对照品溶液、臭灵丹草供试品溶液中金丝桃苷、木犀草素、芹菜素、洋艾素、金腰乙素、3,4-*O*-二咖啡酰奎宁酸、4,5-*O*-二咖啡酰奎宁酸、3,5-*O*-二咖啡酰奎宁酸、臭灵丹二醇、冬青叶豚草酸和臭灵丹酸与周围色谱峰的分离度符合检测要求, 见图 1。



1-金丝桃苷, 2-木犀草素, 3-芹菜素, 4-洋艾素, 5-金腰乙素, 6-3,4-*O*-二咖啡酰奎宁酸, 7-4,5-*O*-二咖啡酰奎宁酸, 8-3,5-*O*-二咖啡酰奎宁酸, 9-臭灵丹二醇, 10-冬青叶豚草酸; 11-臭灵丹酸。
1-hyperoside, 2-luteolin, 3-apigenin, 4-artemitin, 5-chrysosplenetin B, 6-3,4-*O*-dicaffeoylquinic acid, 7-4,5-*O*-dicaffeoylquinic acid, 8-3,5-*O*-dicaffeoylquinic acid, 9-pterodondiol, 10-ilicic acid, 11-pterodonic acid.

图 1 臭灵丹草 (A) 和混合对照品 (B) 的高效液相色谱图
Fig. 1 HPLC chromatograms of *Laggerae Herba* (A) and mixed reference substances (B)

2.2 溶液制备

2.2.1 供试品溶液的制备 取臭灵丹草粉末约 1.0 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加 80% 甲醇 25 mL, 称定质量, 超声提取 45 min, 放至室温, 用 80% 甲醇补充提取过程减失的质量, 密塞, 摇匀, 滤过, 即得。

2.2.2 混合对照品溶液的制备 精密称取金丝桃

苷、芹菜素、3,4-*O*-二咖啡酰奎宁酸、4,5-*O*-二咖啡酰奎宁酸、3,5-*O*-二咖啡酰奎宁酸、臭灵丹二醇对照品适量, 用 80% 甲醇溶解, 制成质量浓度分别为 0.148、0.216、0.352、0.534、0.610、0.472 mg/mL 的对照品贮备液 I。精密称取木犀草素、洋艾素、金腰乙素、冬青叶豚草酸对照品适量, 用 80% 甲醇溶解, 制成质量浓度分别为 0.632、1.430、0.768、0.858 mg/mL 的对照品贮备液 II。精密称取臭灵丹酸对照品适量, 用 80% 甲醇溶解, 制成质量浓度为 1.790 mg/mL 的对照品贮备液 III。精密吸取对照品贮备液 I 1 mL、对照品贮备液 II 2 mL、对照品贮备液 III 5 mL, 置 20 mL 量瓶中, 用 80% 甲醇加至刻度, 即得 (金丝桃苷、芹菜素、3,4-*O*-二咖啡酰奎宁酸、4,5-*O*-二咖啡酰奎宁酸、3,5-*O*-二咖啡酰奎宁酸、臭灵丹二醇、木犀草素、洋艾素、金腰乙素、冬青叶豚草酸、臭灵丹酸的质量浓度分别为 7.40、10.80、17.60、26.70、30.50、23.60、63.20、143.00、76.80、85.80、447.50 $\mu\text{g/mL}$)

2.3 线性关系考察

分别精密量取对照品贮备液 I、II、III 0.1、0.2、0.5、1.0、2.0、5.0 mL, 置不同的 20 mL 量瓶中, 用 80% 甲醇加至刻度。进样测定金丝桃苷、木犀草素、芹菜素、洋艾素、金腰乙素、3,4-*O*-二咖啡酰奎宁酸、4,5-*O*-二咖啡酰奎宁酸、3,5-*O*-二咖啡酰奎宁酸、臭灵丹二醇、冬青叶豚草酸和臭灵丹酸的峰面积。以质量浓度为横轴, 峰面积为纵轴, 进行线性回归, 结果见表 2。

表 2 11 种成分的回归方程

Table 2 Regression equations of 11 components

成分	回归方程	线性范围/ $(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$	<i>r</i>
金丝桃苷	$Y=6.247\ 2\times 10^5 X+743.2$	0.74~37.00	0.999 7
木犀草素	$Y=1.899\ 6\times 10^6 X+961.8$	3.16~158.00	0.999 8
芹菜素	$Y=9.340\ 1\times 10^5 X-664.9$	1.08~54.00	0.999 2
洋艾素	$Y=2.738\ 2\times 10^6 X-1\ 137.5$	7.15~357.50	0.999 5
金腰乙素	$Y=2.485\ 1\times 10^6 X+1\ 091.3$	3.84~192.00	0.999 9
3,4- <i>O</i> -二咖啡酰奎宁酸	$Y=1.135\ 9\times 10^6 X+849.1$	1.76~88.00	0.999 3
4,5- <i>O</i> -二咖啡酰奎宁酸	$Y=1.977\ 3\times 10^6 X+427.7$	2.67~133.50	0.999 4
3,5- <i>O</i> -二咖啡酰奎宁酸	$Y=2.136\ 7\times 10^6 X+709.3$	3.05~152.50	0.999 8
臭灵丹二醇	$Y=1.689\ 4\times 10^6 X+617.4$	2.36~118.00	0.999 4
冬青叶豚草酸	$Y=2.941\ 9\times 10^6 X-1\ 025.8$	4.29~214.50	0.999 2
臭灵丹酸	$Y=1.531\ 7\times 10^6 X+574.6$	8.95~447.50	0.999 6

2.4 精密度试验

取批号 S1 臭灵丹草样品, 制备供试品溶液, 连续进样 6 次, 记录峰面积, 结果金丝桃苷、木犀草素、芹菜素、洋艾素、金腰乙素、3,4-*O*-二咖啡酰奎宁酸、4,5-*O*-二咖啡酰奎宁酸、3,5-*O*-二咖啡酰奎宁酸、臭灵丹二醇、冬青叶豚草酸和臭灵丹酸峰面积的 RSD 值分别为 1.63%、1.13%、1.54%、0.84%、1.05%、1.48%、1.29%、1.22%、1.32%、0.96%、0.61%。

2.5 稳定性试验

取批号 S1 臭灵丹草样品, 制成供试品溶液, 室温放置, 于 0、4、8、12、16、20、24 h 进样检测, 记录峰面积, 结果金丝桃苷、木犀草素、芹菜素、洋艾素、金腰乙素、3,4-*O*-二咖啡酰奎宁酸、4,5-*O*-二咖啡酰奎宁酸、3,5-*O*-二咖啡酰奎宁酸、臭灵丹二醇、冬青叶豚草酸和臭灵丹酸峰面积的 RSD 值分别为 1.73%、1.21%、1.69%、1.02%、1.13%、1.62%、1.45%、1.38%、1.53%、1.19%、1.05%。

2.6 重复性试验

取批号 S1 臭灵丹草样品, 精密称定, 平行制备 6 份供试品溶液, 进样检测, 记录峰面积, 计算金丝桃苷、木犀草素、芹菜素、洋艾素、金腰乙素、3,4-*O*-二咖啡酰奎宁酸、4,5-*O*-二咖啡酰奎宁酸、3,5-*O*-二咖啡酰奎宁酸、臭灵丹二醇、冬青叶豚草酸和臭灵丹酸的质量分数, 结果各成分质量分数的 RSD

值分别为 1.79%、1.32%、1.72%、1.13%、1.28%、1.65%、1.44%、1.41%、1.57%、1.20%、1.11%。

2.7 回收率试验

取批号 S1 臭灵丹草样品 0.5 g, 精密称定, 平行 9 份, 分别精密加入混合对照品溶液 (含金丝桃苷、木犀草素、芹菜素、洋艾素、金腰乙素、3,4-*O*-二咖啡酰奎宁酸、4,5-*O*-二咖啡酰奎宁酸、3,5-*O*-二咖啡酰奎宁酸、臭灵丹二醇、冬青叶豚草酸和臭灵丹酸分别为 0.079、0.604、0.117、1.972、0.868、0.192、0.304、0.445、0.257、1.239、4.518 mg/mL) 0.8、1.0、1.2 mL, 制备供试品溶液, 进样测定, 计算得 11 个成分的平均回收率分别为 97.53%、99.13%、98.65%、100.15%、100.01%、98.30%、98.12%、97.96%、98.30%、99.54%、98.80%, RSD 值分别为 1.51%、1.12%、1.58%、0.80%、0.89%、1.24%、1.53%、1.33%、1.71%、1.19%、1.25%。

2.8 样品测定

取臭灵丹草制备供试品溶液, 进样分析, 采用外标法计算金丝桃苷、木犀草素、芹菜素、洋艾素、金腰乙素、3,4-*O*-二咖啡酰奎宁酸、4,5-*O*-二咖啡酰奎宁酸、3,5-*O*-二咖啡酰奎宁酸、臭灵丹二醇、冬青叶豚草酸和臭灵丹酸的质量分数, 结果见表 3。不同产地臭灵丹草中各成分含量存在一定差异, 以臭灵丹酸含量最高, 其次为洋艾素、冬青叶豚草酸。

表 3 臭灵丹草中金丝桃苷、木犀草素、芹菜素、洋艾素、金腰乙素、3,4-*O*-二咖啡酰奎宁酸、4,5-*O*-二咖啡酰奎宁酸、3,5-*O*-二咖啡酰奎宁酸、臭灵丹二醇、冬青叶豚草酸和臭灵丹酸测定结果 ($n=3$)

Table 3 Determination of hyperoside, luteolin, apigenin, artemitin, chrysosplenetin B, 3,4-*O*-dicaffeoylquinic acid, 4,5-*O*-dicaffeoylquinic acid, 3,5-*O*-dicaffeoylquinic acid, pterodondiol, ilicic acid, pterodontic acid in *Laggerae Herba* ($n=3$)

成分	质量分数/(mg·g ⁻¹)															
	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13	S14	S15	
金丝桃苷	0.154	0.174	0.204	0.189	0.161	0.194	0.167	0.176	0.183	0.163	0.128	0.114	0.105	0.099	0.094	
木犀草素	1.207	1.167	1.027	1.054	0.958	1.336	1.266	1.168	1.234	1.133	1.547	1.479	1.408	1.572	1.511	
芹菜素	0.231	0.196	0.179	0.186	0.147	0.246	0.255	0.306	0.274	0.291	0.399	0.384	0.430	0.369	0.330	
洋艾素	3.956	2.952	3.601	4.040	3.713	4.291	4.048	4.714	4.389	4.534	5.073	5.348	5.813	5.677	5.511	
金腰乙素	1.732	1.681	0.937	1.001	0.902	2.014	1.303	1.642	1.920	1.546	2.649	2.464	2.593	2.886	2.358	
3,4-O-二咖啡酰奎宁酸	0.378	0.464	0.537	0.522	0.566	0.405	0.383	0.429	0.442	0.456	0.322	0.312	0.292	0.356	0.368	
4,5-O-二咖啡酰奎宁酸	0.612	0.458	0.350	0.401	0.321	0.577	0.395	0.477	0.545	0.463	0.690	0.757	0.860	0.792	0.652	
3,5-O-二咖啡酰奎宁酸	0.894	0.859	0.727	0.788	0.559	1.146	1.249	1.030	1.103	1.072	0.824	0.697	0.861	0.672	0.759	
臭灵丹二醇	0.519	0.464	0.443	0.455	0.437	0.604	0.667	0.572	0.626	0.651	0.827	0.791	0.859	0.730	0.705	
冬青叶豚草酸	2.484	2.246	2.136	2.194	2.069	2.876	3.184	2.751	2.982	3.113	3.944	3.805	4.083	3.510	3.364	
臭灵丹酸	9.157	8.666	8.538	8.882	8.231	9.882	11.183	10.518	10.194	11.128	12.737	13.581	13.147	11.790	12.122	

2.9 水溶性浸出物、总灰分和酸不溶性灰分的测定

取 15 批臭灵丹草样品粉末, 采用《中国药典》2020 年版四部通则 2201 浸出物测定法测定臭灵丹草样品中水溶性浸出物^[23], 通则 2302 灰分测定法测定臭灵丹草样品中总灰分和酸不溶性灰分^[23], 结果见表 4。

表 4 臭灵丹草中水溶性浸出物、总灰分和酸不溶性灰分测定结果 ($n=2$)

Table 4 Determination results of water soluble extract, total ash, and acid-insoluble ash in *Laggerae Herba* ($n=2$)

编号	水溶性浸出物/%	总灰分/%	酸不溶性灰分/%
S1	20.7	5.6	0.9
S2	16.4	6.2	1.1
S3	16.9	6.8	1.2
S4	20.3	7.1	1.7
S5	17.1	6.4	1.0
S6	19.1	4.9	0.8
S7	22.4	5.1	0.3
S8	23.2	6.4	0.7
S9	25.8	6.9	0.5
S10	24.7	7.1	0.4
S11	12.3	11.4	2.3
S12	11.6	11.3	1.9
S13	12.9	11.5	2.4
S14	11.4	12.1	1.7
S15	13.7	12.5	2.2

2.10 化学计量学评价模式

为了进一步对不同产地臭灵丹草进行比较, 明确产地间质量差异, 以 15 批臭灵丹草中金丝桃苷、木犀草素、芹菜素、洋艾素、金腰乙素、3,4-*O*-二咖啡酰奎宁酸、4,5-*O*-二咖啡酰奎宁酸、3,5-*O*-二咖啡酰奎宁酸、臭灵丹二醇、冬青叶豚草酸、臭灵丹酸、水溶性浸出物、总灰分和酸不溶性灰分含量数据为变量, 使用 SIMCA 14.1 软件, 以 2 个主成分建立坐标系, 构建 15 批臭灵丹草的 PCA 得分模型, 见图 2。结果可见模型显示代表 15 批臭灵丹草样品的散点基本分居于 3 个区域, 其中 S1~S5 位于得分图右下方, S6~S10 位于得分图右上方, S11~S15 位于得分图左下方, 所有数据点均落在得分图 95% 置信区间。

为寻找对质量影响较大的差异标志物, 进一步采用无监督的 OPLS-DA 将不同组别间的差异最大

化地展示, 得到 OPLS-DA 模型, 见图 3。其中模型质量参数 R^2_X 为 0.920, R^2_Y 为 0.870, Q^2 为 0.816。OPLS-DA 模型得分图显示 15 批臭灵丹草分类更显著, 结合臭灵丹草样品产地信息, 发现产地相近的样品聚为一组。

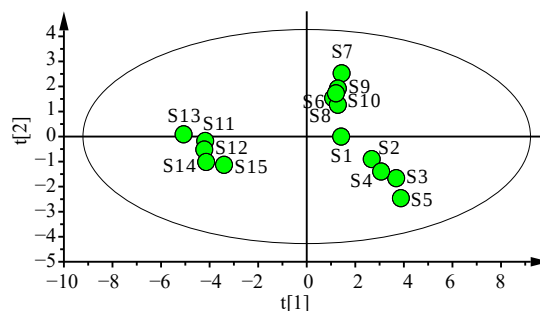


图 2 PCA 得分图

Fig. 2 PCA score chart

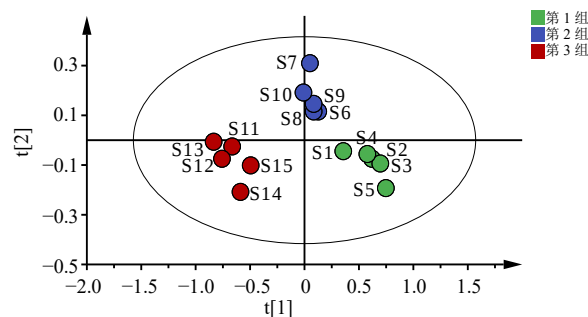


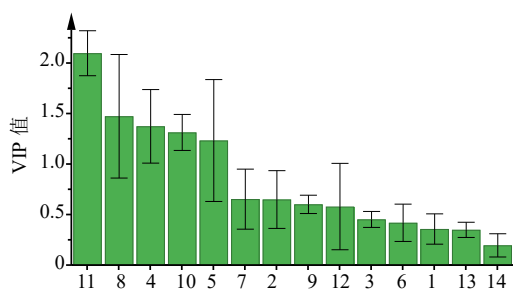
图 3 臭灵丹草样品 OPLS-DA 得分图

Fig. 3 Score chart of OPLS-DA of *Laggerae Herba*

根据 14 个指标的变量权重重要性排序 (VIP) 值大于 1 来筛选差异化合物, 对质量差异影响程度从大到小依次为: 臭灵丹酸、3,5-*O*-二咖啡酰奎宁酸、洋艾素、冬青叶豚草酸和金腰乙素, 见图 4, 它们的 VIP 值分别为 2.101 4、1.477 4、1.377 1、1.316 8、1.236 8, 这 5 个成分对区分不同产地臭灵丹草发挥重要作用。

2.11 CRITIC-TOPSIS 分析模块的建立

2.11.1 CRITIC 法计算权重 将参与评价的样品与各处理评价的指标含量组成数据矩阵, 对各指标的原始数据进行标准化处理, 对于正向指标 (金丝桃苷、木犀草素、芹菜素、洋艾素、金腰乙素、3,4-*O*-二咖啡酰奎宁酸、4,5-*O*-二咖啡酰奎宁酸、3,5-*O*-二咖啡酰奎宁酸、臭灵丹二醇、冬青叶豚草酸、臭灵丹酸、水溶性浸出物) 采用公式 $Y_{ij} = [X_{ij} - \min(x_j)] / [\max(x_j) - \min(x_j)]$ 处理, 对于负向指标 (总



1-金丝桃苷, 2-木犀草素, 3-芹菜素, 4-洋艾素, 5-金腰乙素, 6-3,4-*O*-二咖啡酰奎宁酸, 7-4,5-*O*-二咖啡酰奎宁酸, 8-3,5-*O*-二咖啡酰奎宁酸, 9-臭灵丹二醇, 10-冬青叶豚草酸; 11-臭灵丹酸; 12-水溶性浸出物; 13-总灰分; 14-酸不溶性灰分。

1-hyperoside, 2-luteolin, 3-apigenin, 4-artemisin, 5-chrysosplenetin B, 6-3,4-*O*-dicaffeoylquinic acid, 7-4,5-*O*-dicaffeoylquinic acid, 8-3,5-*O*-dicaffeoylquinic acid, 9-pterodondiol, 10-ilicic acid, 11-pterodonic acid, 12-water soluble extract, 13-total ash, 14-acid-insoluble ash.

图 4 基于 OPLS-DA 的 VIP 图

Fig. 4 VIP diagrams of based on in the OPLS-DA

灰分和酸不溶性灰分) 采用公式 $Y_{ij} = [\max(x_j) - X_{ij}] / [\max(x_j) - \min(x_j)]$ 进行处理, 结果见表 5。采用公式 $S_j = [\sum_{i=1}^n (X_{ij} - X_j^+)^2 / (n-1)]^{1/2}$ 计算变异性 (S_j 为变异性, X_j 为各指标含量的标准差)。利用数据统计方法算出各指标之间的相关系数 (r_{ij}), 采用公式 $R_j = \sum_{i=1}^n (1 - r_{ij})$ 计算冲突性 (R_j), 信息量 (C_j) = $S_j \times R_j$, 各指标的 C_j 值越大, 说明该指标应分配更多的权重。权重 (w_j) 根据公式 $w_j = C_j / (\sum_{j=1}^n C_j)$ 进行计算, 结果得到各指标金丝桃苷、木犀草素、芹菜素、洋艾素、金腰乙素、3,4-*O*-二咖啡酰奎宁酸、4,5-*O*-二咖啡酰奎宁酸、3,5-*O*-二咖啡酰奎宁酸、臭灵丹二醇、冬青叶豚草酸、臭灵丹酸、水溶性浸出物、总灰分和酸不溶性灰分的权重分别为 0.094 8、0.061 6、0.056 2、0.056 4、0.062 4、0.097 7、0.060 9、0.057 3、0.060 2、0.059 9、0.060 6、0.083 5、0.102 6、0.085 8。

表 5 臭灵丹草中指标含量原始数据标准化处理结果

Table 5 Standardized processing results of the original data of index contents in *Laggerae Herba*

编号	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
S1	0.545 5	0.405 5	0.296 8	0.350 9	0.418 3	0.313 9	0.539 9	0.485 5	0.194 3	0.206 1	0.173 1	0.645 8	0.907 9	0.714 3
S2	0.727 3	0.340 4	0.173 1	0.000 0	0.392 6	0.627 7	0.254 2	0.434 8	0.064 0	0.087 9	0.081 3	0.347 2	0.828 9	0.619 0
S3	1.000 0	0.112 4	0.113 1	0.226 8	0.017 6	0.894 2	0.053 8	0.243 5	0.014 2	0.033 3	0.057 4	0.381 9	0.750 0	0.571 4
S4	0.863 6	0.156 4	0.137 8	0.380 3	0.049 9	0.839 4	0.148 4	0.331 9	0.042 7	0.062 1	0.121 7	0.618 1	0.710 5	0.333 3
S5	0.609 1	0.000 0	0.000 0	0.266 0	0.000 0	1.000 0	0.000 0	0.000 0	0.000 0	0.000 0	0.000 0	0.395 8	0.802 6	0.666 7
S6	0.909 1	0.615 6	0.349 8	0.468 0	0.560 5	0.412 4	0.475 0	0.850 7	0.395 7	0.400 7	0.308 6	0.534 7	1.000 0	0.761 9
S7	0.663 6	0.501 6	0.381 6	0.383 1	0.202 1	0.332 1	0.137 3	1.000 0	0.545 0	0.553 6	0.551 8	0.763 9	0.973 7	1.000 0
S8	0.745 5	0.342 0	0.561 8	0.615 9	0.373 0	0.500 0	0.289 4	0.682 6	0.319 9	0.338 6	0.427 5	0.819 4	0.802 6	0.809 5
S9	0.809 1	0.449 5	0.448 8	0.502 3	0.513 1	0.547 4	0.415 6	0.788 4	0.447 9	0.453 3	0.366 9	1.000 0	0.736 8	0.904 8
S10	0.627 3	0.285 0	0.508 8	0.553 0	0.324 6	0.598 5	0.263 5	0.743 5	0.507 1	0.518 4	0.541 5	0.923 6	0.710 5	0.952 4
S11	0.309 1	0.959 3	0.890 5	0.741 3	0.880 5	0.109 5	0.684 6	0.384 1	0.924 2	0.931 0	0.842 2	0.062 5	0.144 7	0.047 6
S12	0.181 8	0.848 5	0.837 5	0.837 5	0.787 3	0.073 0	0.808 9	0.200 0	0.838 9	0.862 0	1.000 0	0.013 9	0.157 9	0.238 1
S13	0.100 0	0.732 9	1.000 0	1.000 0	0.852 3	0.000 0	1.000 0	0.437 7	1.000 0	1.000 0	0.918 9	0.104 2	0.131 6	0.000 0
S14	0.045 5	1.000 0	0.784 5	0.952 5	1.000 0	0.233 6	0.873 8	0.163 8	0.694 3	0.715 5	0.665 2	0.000 0	0.052 6	0.333 3
S15	0.000 0	0.900 7	0.646 6	0.894 4	0.733 9	0.277 4	0.614 1	0.289 9	0.635 1	0.643 0	0.727 3	0.159 7	0.000 0	0.095 2

1-金丝桃苷, 2-木犀草素, 3-芹菜素, 4-洋艾素, 5-金腰乙素, 6-3,4-*O*-二咖啡酰奎宁酸, 7-4,5-*O*-二咖啡酰奎宁酸, 8-3,5-*O*-二咖啡酰奎宁酸, 9-臭灵丹二醇, 10-冬青叶豚草酸; 11-臭灵丹酸, 12-水溶性浸出物, 13-总灰分, 14-酸不溶性灰分。

1-hyperoside, 2-luteolin, 3-apigenin, 4-artemisin, 5-chrysosplenetin B, 6-3,4-*O*-dicaffeoylquinic acid, 7-4,5-*O*-dicaffeoylquinic acid, 8-3,5-*O*-dicaffeoylquinic acid, 9-pterodondiol, 10-ilicic acid, 11-pterodonic acid, 12-water soluble extract, 13-total ash, 14-acid-insoluble ash.

2.11.2 CRITIC-TOPSIS 法样品质量排序 将金丝桃苷等 11 个成分以及水溶性浸出物、总灰分和酸不溶性灰分的权重与标准化处理后数据相乘, 得 CRITIC-TOPSIS 决策矩阵, 见表 6。确定最优方案 (Z_j^+)、最劣方案 (Z_j^-), 利用公式 $D_i^+ = [\sum_{j=1}^n (Z_{ij} -$

$Z_j^+)^2]^{1/2}$ 、 $D_i^- = [\sum_{j=1}^n (Z_{ij} - Z_j^-)^2]^{1/2}$ 、 $C_i = D_i^- / (D_i^+ + D_i^-)$ 计算最优方案的距离 (D_i^+)、最劣方案的距离 (D_i^-) 和最优解的欧氏贴近度 (C_i), 根据 C_i 值对不同产地臭灵丹草质量排序, 结果见表 7。云南产臭灵丹草排名前 5 位, 以 S9 质量最优 ($C_i = 0.632 1$)。

表 6 CRITIC-矩阵
Table 6 CRITIC-matrix

编号	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
S1	0.051 7	0.025 0	0.016 7	0.019 8	0.026 1	0.030 7	0.032 9	0.027 8	0.011 7	0.012 3	0.010 5	0.053 9	0.093 2	0.061 3
S2	0.068 9	0.021 0	0.009 7	0.000 0	0.024 5	0.061 3	0.015 5	0.024 9	0.003 9	0.005 3	0.004 9	0.029 0	0.085 0	0.053 1
S3	0.0948	0.006 9	0.006 4	0.012 8	0.001 1	0.087 4	0.003 3	0.014 0	0.000 9	0.002 0	0.003 5	0.031 9	0.077 0	0.049 0
S4	0.081 9	0.009 6	0.007 7	0.021 4	0.003 1	0.082 0	0.009 0	0.019 0	0.002 6	0.003 7	0.007 4	0.051 6	0.072 9	0.028 6
S5	0.057 7	0.000 0	0.000 0	0.015 0	0.000 0	0.097 7	0.000 0	0.000 0	0.000 0	0.000 0	0.000 0	0.033 0	0.082 3	0.057 2
S6	0.086 2	0.037 9	0.019 7	0.026 4	0.035 0	0.040 3	0.028 9	0.048 7	0.023 8	0.024 0	0.018 7	0.044 6	0.102 6	0.065 4
S7	0.062 9	0.030 9	0.021 4	0.021 6	0.012 6	0.032 4	0.008 4	0.057 3	0.032 8	0.033 2	0.033 4	0.063 8	0.099 9	0.085 8
S8	0.070 7	0.021 1	0.031 6	0.034 7	0.023 3	0.048 9	0.017 6	0.039 1	0.019 3	0.020 3	0.025 9	0.068 4	0.082 3	0.069 5
S9	0.076 7	0.027 7	0.025 2	0.028 3	0.032 0	0.053 5	0.025 3	0.045 2	0.027 0	0.027 2	0.022 2	0.083 5	0.075 6	0.077 6
S10	0.059 5	0.017 6	0.028 6	0.031 2	0.020 3	0.058 5	0.016 0	0.042 6	0.030 5	0.031 1	0.032 8	0.077 1	0.072 9	0.081 7
S11	0.029 3	0.059 1	0.050 0	0.041 8	0.054 9	0.010 7	0.041 7	0.022 0	0.055 6	0.055 8	0.051 0	0.005 2	0.014 8	0.004 1
S12	0.017 2	0.052 3	0.047 1	0.047 2	0.049 1	0.007 1	0.049 3	0.011 5	0.050 5	0.051 6	0.060 6	0.001 2	0.016 2	0.020 4
S13	0.009 5	0.045 1	0.056 2	0.056 4	0.053 2	0.000 0	0.060 9	0.025 1	0.060 2	0.059 9	0.055 7	0.008 7	0.013 5	0.000 0
S14	0.004 3	0.061 6	0.044 1	0.053 7	0.062 4	0.022 8	0.053 2	0.009 4	0.041 8	0.042 9	0.040 3	0.000 0	0.005 4	0.028 6
S15	0.000 0	0.055 5	0.036 3	0.050 4	0.045 8	0.027 1	0.037 4	0.016 6	0.038 2	0.0385	0.044 1	0.013 3	0.000 0	0.008 2

1-金丝桃苷, 2-木犀草素, 3-芹菜素, 4-洋艾素, 5-金腰乙素, 6-3,4-*O*-二咖啡酰奎宁酸, 7-4,5-*O*-二咖啡酰奎宁酸, 8-3,5-*O*-二咖啡酰奎宁酸, 9-臭灵丹二醇, 10-冬青叶豚草酸; 11-臭灵丹酸, 12-水溶性浸出物, 13-总灰分, 14-酸不溶性灰分。

1-hyperoside, 2-luteolin, 3-apigenin, 4-artemitin, 5-chrysosplenetin B, 6-3,4-*O*-dicafeoylquinic acid, 7-4,5-*O*-dicafeoylquinic acid, 8-3,5-*O*-dicafeoylquinic acid, 9-pterodondiol, 10-ilicic acid, 11-pterodontic acid, 12- water soluble extract, 13-total ash, 14-acid-insoluble ash.

表 7 臭灵丹草品质排序

Table 7 Ranking of quality score of *Laggerae Herba*

编号	D_i^+	D_i^-	C_i	排序
S1	0.149 2	0.152 3	0.505 1	6
S2	0.164 7	0.146 5	0.470 8	9
S3	0.176 7	0.162 6	0.479 2	7
S4	0.169 9	0.152 8	0.473 5	8
S5	0.188 7	0.155 7	0.452 1	10
S6	0.119 6	0.185 2	0.607 6	2
S7	0.128 4	0.187 4	0.593 4	4
S8	0.121 5	0.173 7	0.588 4	5
S9	0.109 4	0.188 0	0.632 1	1
S10	0.116 4	0.180 1	0.607 4	3
S11	0.185 6	0.151 7	0.449 7	12
S12	0.188 6	0.148 5	0.440 5	13
S13	0.197 8	0.161 9	0.450 1	11
S14	0.192 5	0.148 4	0.435 3	14
S15	0.199 0	0.128 7	0.392 7	15

3 讨论

臭灵丹草所含化学成分主要涉及到黄酮类、倍

半萜类、有机酸类、挥发油类等物质, 其中黄酮类成分金丝桃苷、木犀草素、芹菜素、洋艾素、金腰乙素具有抗氧化活性, 对人慢性髓系白血病细胞和人急性早幼粒细胞白血病细胞有抑制作用^[24-25]; 有机酸类成分 3,4-*O*-二咖啡酰奎宁酸、4,5-*O*-二咖啡酰奎宁酸、3,5-*O*-二咖啡酰奎宁酸具有抗氧化、抗炎、降血糖、调血脂、抑制血小板、抗微生物、抗肿瘤等生物活性^[26]; 倍半萜类成分包括臭灵丹二醇、冬青叶豚草酸、臭灵丹酸等, 在体外联合用药研究中均表现出相加效应^[27]。水溶性浸出物、总灰分和酸不溶性灰分也可能影响中药材的质量, 《中国药典》2020 年版一部臭灵丹草药材中的检查项对水溶性浸出物、总灰分和酸不溶性灰分有明确规定。故本研究以金丝桃苷、木犀草素、芹菜素、洋艾素、金腰乙素、3,4-*O*-二咖啡酰奎宁酸、4,5-*O*-二咖啡酰奎宁酸、3,5-*O*-二咖啡酰奎宁酸、臭灵丹二醇、冬青叶豚草酸、臭灵丹酸、水溶性浸出物、总灰分和酸不溶性灰分含量为指标, 对不同产地臭灵丹草质量进行了评价。

实验考察了超声法、加热回流法、超声时间、提取溶剂对臭灵丹草药材中金丝桃苷、木犀草素、

芹菜素、洋艾素、金腰乙素、3,4-*O*-二咖啡酰奎宁酸、4,5-*O*-二咖啡酰奎宁酸、3,5-*O*-二咖啡酰奎宁酸、臭灵丹二醇、冬青叶豚草酸和臭灵丹酸的影响,综合考虑含量、时间、成本等因素,最终确定 80%甲醇超声提取 45 min 为臭灵丹草供试品溶液制备的最佳方法。实验通过紫外波长扫描的方法确定了 11 个化学成分的检测波长:取金丝桃苷、木犀草素、芹菜素、洋艾素、金腰乙素、3,4-*O*-二咖啡酰奎宁酸、4,5-*O*-二咖啡酰奎宁酸、3,5-*O*-二咖啡酰奎宁酸、臭灵丹二醇、冬青叶豚草酸、臭灵丹酸对照品溶液,利用二极管阵列检测器对所有色谱峰在 190~400 nm 波长进行扫描,发现金丝桃苷、木犀草素、芹菜素、洋艾素、金腰乙素、3,4-*O*-二咖啡酰奎宁酸、4,5-*O*-二咖啡酰奎宁酸和 3,5-*O*-二咖啡酰奎宁酸在 254 nm 波长处均有显著吸收,臭灵丹二醇、冬青叶豚草酸和臭灵丹酸为紫外末端吸收,故选择在 210 nm 波长处检测。

本实验经过对 15 批不同产地臭灵丹草药材中 14 个指标的综合质量评价,发现不同产地臭灵丹草质量差异较大,15 批样品根据产地分为 3 类,筛选出质量差异标志物为臭灵丹酸、3,5-*O*-二咖啡酰奎宁酸、洋艾素、冬青叶豚草酸和金腰乙素。为保证药材质量,建议将这 5 个成分纳为重点质量监控对象,写入质量标准。CRITIC-TOPSIS 法中相对接近度最大值为 0.632 1、最小值为 0.392 7,印证了臭灵丹草样品间的质量存在差异,以云南产臭灵丹草整体质量较好。

本实验以臭灵丹草药材中金丝桃苷、木犀草素、芹菜素、洋艾素、金腰乙素、3,4-*O*-二咖啡酰奎宁酸、4,5-*O*-二咖啡酰奎宁酸、3,5-*O*-二咖啡酰奎宁酸、臭灵丹二醇、冬青叶豚草酸、臭灵丹酸、水溶性浸出物、总灰分和酸不溶性灰分含量为指标,采用 PCA、OPLS-DA、CRITIC-TOPSIS 法建立其质量差异评价模型,所建方法客观科学,可用于不同产地臭灵丹草的质量评价,为臭灵丹草优良药材资源的开发提供了参考依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

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(第 75 卷) [M]. 北京: 科学出版社, 1979.
- [2] 鲁广秋, 梁建平, 李松, 等. 云南不同产区臭灵丹中 4 种无机阴离子的超声波辅助提取-离子色谱法含量测定研究 [J]. 化学试剂, 2020, 42(10): 1201-1206.

- [3] 张静怡. 臭灵丹草的研究进展 [J]. 药物资讯, 2022, 11(5): 359-371.
- [4] 刘百联, 张婷, 张晓琦, 等. 臭灵丹化学成分的研究 [J]. 中国中药杂志, 2010, 35(5): 602-606.
- [5] 张逸婷, 李争艳, 余晓玲, 等. 基于电子鼻技术的臭灵丹草指纹图谱建立及谱效关系研究 [J]. 中药材, 2024, 47(2): 383-389.
- [6] 高丹丹. 白刺花和臭灵丹两种药用植物的化学成分及其生物活性研究 [D]. 昆明: 昆明理工大学, 2020.
- [7] 蒋霞, 何成章, 黄银妹, 等. 六棱菊和翼齿六棱菊的药理作用研究概况 [J]. 中国民族民间医药, 2017, 26(9): 55-58.
- [8] 肖金陵, 黄凯, 魏小棋, 等. 臭灵丹草调控 Nrf2/SLC7A11/GPX4 信号通路抑制铁死亡改善慢性心力衰竭的机制研究 [J]. 北京中医药大学学报, 2025, 48(3): 343-353.
- [9] 王菱, 夏杰, 童晓云, 等. 基于网络药理学和分子对接探讨臭灵丹草防治新型冠状病毒感染的机制研究 [J]. 中医临床研究, 2024, 16(11): 1-8.
- [10] 陈泽兴, 陈耀荣, 王玉涛, 等. 臭灵丹调控甲流病毒 H3N2 感染后多聚免疫球蛋白 pIgR 与炎症反应的体外实验研究 [J]. 中药材, 2022, 45(10): 2492-2496.
- [11] 周永芝, 舒腾云, 宋玉莹, 等. 基于网络药理学探讨臭灵丹抗炎的作用机制 [J]. 天然产物研究与开发, 2024, 36(8): 1420-1431.
- [12] 中国药典: [S]. 一部. 2020: 296.
- [13] 孙孔春. 臭灵丹和三七中主要有效成分的分析方法研究 [D]. 昆明: 昆明医科大学, 2017.
- [14] 杨芳, 严世武, 马维思, 等. 云南不同产地臭灵丹草氨基酸测定及营养评价 [J]. 食品安全质量检测学报, 2015, 6(10): 4173-4180.
- [15] 孙孔春, 杨璨瑜, 王德升, 等. 指纹图谱结合含量测定控制臭灵丹药材的质量 [J]. 华西药学杂志, 2022, 37(2): 181-186.
- [16] 李书华, 张智锦, 刘芳. 中药臭灵丹中洋艾素和金腰乙素的含量测定 [J]. 中国实验方剂杂志, 2013, 19(16): 168-170.
- [17] 李玉蓉, 彭诚, 柳丝瑶, 等. 响应面法优化臭灵丹中异绿原酸 B 的提取工艺研究 [J]. 现代农业研究, 2020, 26(10): 34-36.
- [18] 王娟娟, 翟英英, 王海燕. 金樱子 HPLC 多组分定量控制及化学计量学综合质量评价 [J]. 药物评价研究, 2024, 47(2): 369-376.
- [19] 闫嘉, 李荣, 姬生国. CRITIC-逼近理想解排序法综合评价益智药材的质量 [J]. 华西药学杂志, 2024, 39(3): 299-302.
- [20] 陈祥宁, 程世云, 李腾飞, 等. 基于 AHP-CRITIC 综合加权法结合 Box-Behnken 设计-响应面法优选建曲发酵

- 工艺 [J]. 中草药, 2025, 56(3): 785-794.
- [21] 徐齐利. TOPSIS 综合评价系统设计与实现 [J]. 信息与管理研究, 2020, 5(2-3): 70-81.
- [22] 张美琴, 王云, 贾哲, 等. 基于熵权-TOPSIS 对不同产地桑白皮药材的品质评价 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2023, 29(13): 130-139.
- [23] 中国药典 [S]. 四部. 2020: 232, 234.
- [24] 李甜甜, 李菁, 于浩飞, 等. 臭灵丹黄酮类化学成分研究 [J]. 广州中医药大学学报, 2015, 32(6): 1063-1066.
- [25] 韦孝晨, 严彪, 徐乃玉, 等. 臭灵丹抗 K562 和 NB4 细胞作用及黄酮成分研究 [J]. 西部中医药, 2018, 31(7): 30-33.
- [26] 韩亚如, 马国力, 韩亚龙, 等. 二咖啡酰奎宁酸类天然产物植物来源, 药动学及生物活性的研究进展 [J]. 中草药, 2023, 54(4): 1285-1298.
- [27] 何家扬. 臭灵丹黄酮及倍半萜类化合物抗流感药效研究 [D]. 广州: 广州中医药大学, 2018.

【责任编辑 解学星】