

基于 HPLC 指纹图谱及多成分定量的金钱草质量评价

王梦蝶^{1,2}, 卓越^{1,2}, 邹丽娜^{1,2}, 唐海明^{2*}, 贺海波^{1*}, 黎爱³, 林华清², 李诗梅²

1. 三峡大学 天然产物研究与利用湖北省重点实验室, 药食同源大健康产品开发利用宜昌市重点实验室, 湖北 宜昌 443002
2. 湖北恒安芙林药业股份有限公司, 宜昌市中医药传承创新重点实验室, 湖北 宜昌 443100
3. 宜昌市夷陵人民医院, 湖北 宜昌 443100

摘要: **目的** 建立金钱草 *Lysimachia christinae* HPLC 指纹图谱及山柰酚-3-*O*-芸香糖苷、咖啡酸、芦丁、夏佛塔苷、迷迭香酸、槲豆素、异槲皮苷、槲皮苷、槲皮素、山柰酚 10 种成分含量测定方法, 并结合化学模式识别和熵权 TOPSIS 对其质量进行评价。**方法** 采用 ZORBAX Eclipse Plus C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm) 色谱柱; 以乙腈-0.1%磷酸溶液为流动相, 梯度洗脱; 体积流量为 0.9 mL/min; 检测波长为 360 nm, 柱温为 30 °C; 进样量为 10 μL 的 HPLC 对不同产地金钱草药材进行检测, 通过“中国色谱指纹图谱相似度评价系统(2012版)”软件进行相似度评价, 使用 SIMCA-14.1 和 SPSS27.0 软件进行主成分分析(principal component analysis, PCA)和正交偏最小二乘判别分析(orthogonal partial least squares discriminant analysis, OPLS-DA)和聚类分析(hierarchical cluster analysis, HCA); 通过与对照品进行比对指认 10 种指标成分并进行含量测定, 采用化学模式识别和熵权 TOPSIS 对结果进行综合评价。**结果** 15 批金钱草 HPLC 指纹图谱匹配出 19 个共有峰, 指认了山柰酚-3-*O*-芸香糖苷、咖啡酸、芦丁、夏佛塔苷、迷迭香酸、槲豆素、异槲皮苷、槲皮苷、槲皮素、山柰酚, 指纹图谱的相似度 0.703~0.965; HCA 将 15 批金钱草聚为 4 类; PCA 分析得到 6 个主成分的累积方差贡献率为 88.149%; OPLS-DA 分析表明有 11 种成分可作为区分金钱草质量的差异标志物; 15 批金钱草中山柰酚-3-*O*-芸香糖苷、咖啡酸、芦丁、夏佛塔苷、迷迭香酸、槲豆素、异槲皮苷、山柰酚、槲皮苷、槲皮素的质量分数分别为 0.056~0.611、0.006~0.086、0.165~1.008、0.091~0.521、0.016~0.581、0.146~0.797、0.045~0.450、0.026~0.100、0.052~0.483、0.026~0.088 mg/g; 熵权 TOPSIS 分析表明四川和江西产地的金钱草质量较优。**结论** 建立的金钱草 HPLC 指纹图谱及多成分含量测定方法准确、稳定、分离度和重复性好, 为其质量控制提供依据。

关键词: 金钱草; HPLC 指纹图谱; 山柰酚-3-*O*-芸香糖苷; 咖啡酸; 芦丁; 夏佛塔苷; 迷迭香酸; 槲豆素; 异槲皮苷; 槲皮苷; 槲皮素; 山柰酚; 聚类分析; 主成分分析; 熵权 TOPSIS 法

中图分类号: R282.2 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2025)03-0998-10

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.03.024

Quality evaluation of *Lysimachia christinae* based on HPLC fingerprinting and multiple constituent content determination

WANG Mengdie^{1,2}, ZHUO Yue^{1,2}, ZOU Lina^{1,2}, TANG Haiming², HE Haibo¹, LI Ai³, LIN Huaqing², LI Shimei²

1. Hubei Key Laboratory of Natural Products Research and Development, Yichang Key Laboratory of Development and Utilization of Health Products with Drug and Food Homology, China Three Gorges University, Yichang 443002, China
2. Hubei Heng'an Fulin Pharmaceutical Co., Ltd., Yichang 443100, China
3. Yiling People's Hospital of Yichang City, Yichang 443100, China

Abstract: Objective To establish the HPLC fingerprint of *Lysimachia christinae* and determination method of ten components such as kaempferol-3-*O*-rutinoside, caffeic acid, rutin, schaftoside, rosmarinic acid, clitorin, coumarin, isoquercitrin, quercitrin, quercetin and kaempferol, then, evaluate its quality by combining chemical pattern recognition and entropy weight TOPSIS. **Methods** This

收稿日期: 2024-07-26

基金项目: 湖北恒安芙林药业股份有限公司合作项目(SDHZ20240164); 湖北省科技厅重点研发大健康计划项目(2022BCE017); 湖北省科技厅自然科学基金项目(2022CFB357, 2022CFB427); 湖北省卫生健康委员会中医药重点项目(ZY2023Z015); 湖北卫生健康委员会卫生健康科研项目(WJ2023M153); 湖北省宜昌市科学技术局医疗卫生研究项目(A23-1-061)

作者简介: 王梦蝶, 女, 硕士研究生, 研究方向为中药质量控制研究。E-mail: wmd15827195501@163.com

*通信作者: 唐海明, 男, 高级工程师, 硕士生导师, 主要研究方向为中药质量标准研究。E-mail: bhbflyy@163.com

贺海波, 男, 教授, 硕士生导师, 主要研究方向为药用植物资源与中药药理学。E-mail: hjy219@126.com

experiment used ZORBAX Eclipse Plus C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) chromatographic column; Acetonitrile-0.1% phosphoric acid solution was served as the mobile phase, gradient elution; The flow rate was 0.9 mL/min; The detection wavelength was 360 nm and the column temperature was 30 °C; The high-performance liquid chromatography (HPLC) method with an injection volume of 10 μL was used to detect *L. christinae* from different origins, the “Chinese Chromatographic Fingerprint Similarity Evaluation System” (2012 Edition) was used for similarity evaluation, SPSS27.0 software was performed for cluster analysis, principal component analysis (PCA) and orthogonal partial least squares discriminant analysis (OPLS-DA) were used to evaluate the quality of *L. christinae*. By comparing with the reference substance, ten indicator components were identified and their contents were determined. Chemical pattern recognition and entropy weight TOPSIS were used to comprehensively evaluate the results. **Results** The HPLC fingerprint spectra of 15 batches of *L. christinae* were matched with 19 common peaks, identified kaempferol-3-*O*-rutinoside, caffeic acid, rutin, rosmarinic acid, coumarin, clitorin, isoquercitrin, quercitrin, quercetin, and kaempferol. The similarity range of the fingerprint spectra was 0.703—0.965; Systematic clustering divided 15 batches of goldenrod into four categories, the cumulative variance contribution rate of the six principal components obtained from PCA was 88.149%, OPLS-DA showed that 11 components were differential markers for distinguishing the quality of *L. christinae*; The contents of caffeic acid, kaempferol, coumarin, rutin, isoquercitrin, kaempferol-3-*O*-rutinoside, clitorin, quercitrin, rosmarinic acid, quercetin, and kaempferol in 15 batches of *L. christinae* are 0.006—0.086 mg/g, 0.091—0.521 mg/g, 0.146—0.797 mg/g, 0.165—1.008 mg/g, 0.045—0.450 mg/g, 0.056—0.611 mg/g, 0.052—0.483 mg/g, 0.016—0.581 mg/g, 0.026—0.088 mg/g, 0.026—0.100 mg/g, respectively; Entropy weight TOPSIS analysis demonstrated that the qualities of *L. christinae* from Sichuan and Jiangxi regions were superior. **Conclusion** The established HPLC fingerprint and multiple constituent content determination method for *L. christinae* are accurate, stable, with good separation and repeatability, which can be used for the quality evaluation of *L. christinae* and provide the basis for its quality control.

Key words: *Lysimachia christinae* Hance; HPLC fingerprinting; kaempferol-3-*O*-rutinoside; caffeic acid; kaempferol; coumarin; rutin; clitorin; isoquercitrin; quercetin; rosmarinic acid; quercetin; cluster analysis; principal component analysis; entropy weight TOPSIS method

金钱草为报春花科植物过路黄 *Lysimachia christinae* Hance 的干燥全草，也被称为大金钱草、过路黄、神仙对座草等^[1]，具有利尿通淋、利湿退黄、解毒消肿^[2-3]的功效，多用于痈肿疮疖、热淋、湿热黄疸、蛇虫咬伤、小便涩痛等症的治疗^[4]。金钱草分布广泛，主要集中在在四川、安徽、山西等省区^[7]，且多生长于较潮湿的河边、路边、滩涂等地，并且金钱草生存适应能力强，对土壤的要求不高，生长环境可为含腐殖质较多的土壤^[5]。其主要活性物质为黄酮类、酚酸类、鞣质、挥发油、多糖、氨基酸、鞣质及内酯等^[6-8]。目前，《中国药典》2020年版中金钱草的质量控制规定金钱草中含槲皮素 (C₁₅H₁₀O₇) 和山柰酚 (C₁₅H₁₀O₆) 的总量不得少于 0.10%^[9]，但市场上金钱草的存在“同名异物”现象，滥竽充数者时有发生，往往其存在混淆品和伪品中多数品种的槲皮素和山柰酚总量符合药典标准，这就造成了用药混乱、难以有保证金钱草药材质量^[10-13]。因此仅控制少数几个指标成分，难以全面评价金钱草的质量，容易忽略金钱草中多种成分相互作用共同发挥药效的特点。基于此，本研究建立 15 批金钱草 HPLC 指纹图谱，同时测定其中 10 种成分的含量，并使用聚类分析 (hierarchical cluster analysis, HCA)、主成分分析 (principal

component analysis, PCA) 及正交偏最小二乘判别分析 (orthogonal partial least squares discriminant analysis, OPLS-DA) 等化学模式识别以及熵权 TOPSIS 分析，以期较全面反映金钱草的成分特征，为金钱草质量控制提供实验依据。

1 仪器与试药

1.1 仪器

ME204T/02 型万分之一电子天平和 XSE205DU 型十万分之一天平(上海梅特勒-托利多仪器有限公司); Ultimate 3000 高效液相色谱仪(赛默飞世尔科技有限公司); FW100 型粉碎机(天津市泰斯特仪器有限公司); MilliQ 型纯水机(德国默克公司); RE-3000A 型旋转蒸发仪(上海亚荣生化仪器厂)。

1.2 试药

槲皮素(批号 DSTDD006301, 质量分数 98%) 购自成都德思特生物技术有限公司; 夏佛塔苷(批号 111912-202204, 质量分数 94.9%)、芦丁(批号 100080-202012, 质量分数 91.6%)、咖啡酸(批号 110885-201703, 质量分数 99.7%)、异槲皮苷(批号: 111809-202205, 质量分数 96.3%)、山柰酚-3-*O*-芸香糖苷(批号 112007-201602, 质量分数 90.8%)、槲皮苷(批号 111538-202007, 质量分数

96.3%)、槲皮素(批号 100081-201610, 质量分数 99.1%)、山柰酚(批号 110861-202214, 质量分数 97.4%)、迷迭香酸(批号 111871-202408, 质量分数 99.6%)均购自中国食品药品检定研究院;磷酸(色谱纯, 天津市科密欧化学试剂有限公司)、甲醇(色谱纯, 武汉弗顿科技有限公司)、乙腈(色谱纯, 上海星可高纯溶剂有限公司);水为自制超纯水。

15批金钱草样品分别实地收集自四川、重庆、江西、湖北等地, 除去杂质, 晒干。所有样品均由三峡大学生物与制药学院贺海波教授鉴定为报春花科植物过路黄 *L. christinae* Hance 的干燥全草, 其来源信息见表 1。

表 1 金钱草样品来源

Table 1 Sample sources of *L. christinae*

编号	产地	批号
S1	重庆巴南	221001
S2	重庆石柱	221002
S3	重庆潼南	221101
S4	湖北通城	221102
S5	四川三台	221103
S6	四川大竹	230101
S7	四川仁寿	230201
S8	四川巴中县	230202
S9	四川广元青川县	230203
S10	四川资阳安岳县	230204
S11	四川广元苍溪	230701
S12	四川宜宾	231001
S13	江西庐山	231101
S14	江西宜春	231102
S15	江西九江	231103

2 方法与结果

2.1 HPLC 指纹图谱的建立

2.1.1 色谱条件 采用 ZORBAX Eclipse Plus C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm) 色谱柱; 进样量为 10 μL; 体积流量为 0.9 mL/min; 流动相为乙腈(A)-0.1%磷酸水溶液(B), 梯度洗脱(0~37.5 min, 10%~14%A; 37.5~60 min, 14%~15%A; 60~85 min, 15%~35%A; 85~91 min, 35%~45%A; 91~92 min, 45%~10%A); 柱温为 30 °C; 检测波长为 360 nm。

2.1.2 供试品溶液的制备 取金钱草药材粉末(过三号筛)约 1 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 80%甲醇溶液 50 mL, 密塞, 置于 100 °C 水浴锅中加热回流 1 h, 放冷, 减压浓缩至干, 加适量 80%甲醇溶液溶解, 定容至 10 mL 量瓶中, 摇匀, 滤过, 取续滤液即得。

2.1.3 对照品溶液的制备 精密称取山柰酚-3-O-芸香糖苷、咖啡酸、芦丁、夏佛塔苷、迷迭香酸、

槲皮素、异槲皮苷、山柰酚、槲皮苷、槲皮素对照品适量, 加 80%甲醇溶解制成质量浓度分别为 5.66、0.5、8.84、6.72、1.54、10.5、4.82、1.92、4.34、1.12 μg/mL 的混合对照品溶液。

2.1.4 精密度试验 取金钱草供试品溶液, 按“2.1.1”项色谱条件连续进样 6 次, 以槲皮素为参照峰(S), 计算得到各峰相对保留时间 RSD 为 0.01%~0.05%, 相对峰面积 RSD 为 0.37%~4.27%。

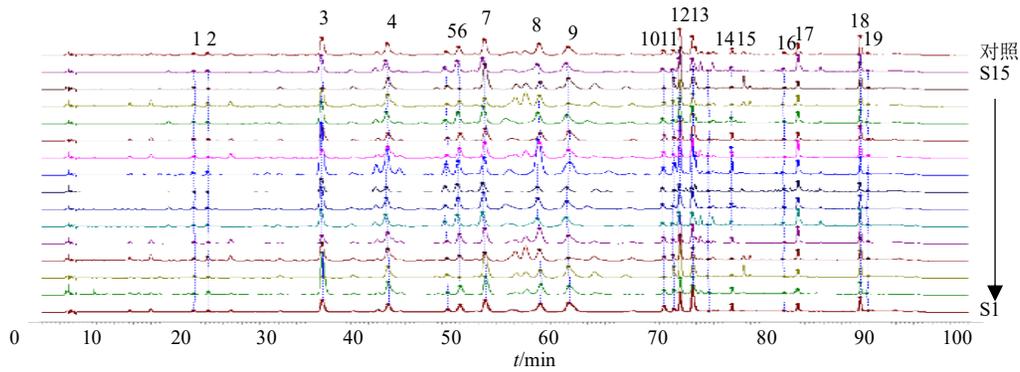
2.1.5 稳定性试验 取金钱草供试品溶液, 分别于室温下 0、2、4、8、12、24 h 按“2.1.1”项色谱条件进样测定, 以槲皮素为参照峰(S), 计算得到各峰相对保留时间 RSD 为 0.01%~0.25%, 相对峰面积 RSD 为 0.25%~2.85%。

2.1.6 重复性试验 取同一批(S1)次的金钱草供试品, 按“2.1.2”项方法平行制备 6 份供试品溶液, 按“2.1.1”项色谱条件进样测定, 以槲皮素为参照峰(S), 计算得到各峰相对保留时间 RSD 为 0.02%~0.06%, 相对峰面积 RSD 为 0.43%~4.12%。

2.1.7 指纹图谱的建立及相似度评价 在“中国色谱指纹图谱相似度评价系统(2012版)”中导入按“2.1.1”项色谱条件测得的 15 批金钱草指纹图谱数据, 生成叠加图谱及对照图谱。结果显示, 15 批金钱草色谱图中共匹配有 19 个共有峰, 通过与对照品图谱进行比对, 指认出 2、4、7、8、9、12、13、15、17、18 号峰分别为咖啡酸、夏佛塔苷、槲皮素、芦丁、异槲皮苷、山柰酚-3-O-芸香糖苷、槲皮苷、迷迭香酸、槲皮素、山柰酚。15 批金钱草样品叠加图谱及对照指纹图谱见图 1。

2.1.8 相似度分析 15 批金钱草样品的相似度计算结果见表 2。结果表明 15 批金钱草的相似度 0.703~0.965。15 批次金钱草中除 S2(重庆石柱)、S5(四川三台)、S7(四川仁寿)、S8(四川巴中县)、S10(四川资阳安岳县)、S13(江西庐山)、S15(江西九江)相似度在 0.90 以上, 表明这 7 批金钱草一致性较好, 其余批次金钱草相似度较低, 其中 S6(四川大竹)、S9(四川广元青川)相似度在 0.80 以下。表明这 2 批次金钱草与其他批次金钱草差异显著。

2.1.9 HCA 使用 SPSS 27.0 对 15 批金钱草进行系统聚类分析, 结果见图 2。当距离为 15 时, S1~S3、S5、S7、S8、S10、S12、S13、S15 批样品聚为第 1 类; S6、S11 批样品聚为第 2 类; S4、S14 批样品聚为第 3 类; S9 批样品单独聚为第 4 类, 总共



2-咖啡酸; 4-夏佛塔苷; 7-碟豆素; 8-芦丁; 9-异槲皮苷; 12-山柰酚-3-O-芸香糖苷; 13-槲皮苷; 15-迷迭香酸; 17-槲皮素; 18-山柰酚。
2-caffeic acid; 4-schaftoside; 7-clitorin; 8-rutin; 9-isoquercitrin; 12-kaempferol-3-O-rutinoside; 13-quercetin; 15-rosmarinic acid; 17-quercetin; 18-kaempferol.

图1 15批金钱草样品 HPLC 指纹图谱和对照图谱

Fig. 1 HPLC fingerprint of 15 batches of *L. christinae* and reference

表2 15批金钱草样品 HPLC 指纹图谱相似度评价结果

Table 2 HPLC fingerprint similarity evaluate results of 15 batches of *L. christinae*

编号	相似度	编号	相似度
S1	0.857	S9	0.703
S2	0.927	S10	0.929
S3	0.898	S11	0.838
S4	0.830	S12	0.890
S5	0.922	S13	0.930
S6	0.723	S14	0.899
S7	0.965	S15	0.940
S8	0.953		

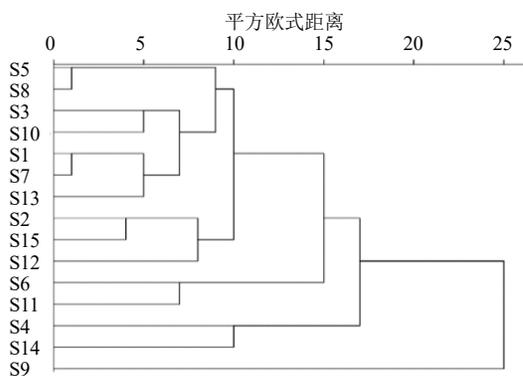


图2 金钱草聚类分析结果

Fig. 2 Results of cluster analysis of *L. christinae*

聚为4类。聚类1中包含重庆、四川、江西等地10个批次的金钱草；聚类2及聚类4中均为四川产地的金钱草；聚类3中包含江西、湖北两地的金钱草。表明同一产地金钱草的质量会存在一定的差异，不同产地金钱草的质量也会存在一定的相似性。

2.1.10 PCA 将获得的15批金钱草药材的19个共有峰峰面积数据导入 IBM SPSS Statistics 27.0 软件，进行 PCA 分析，得到图3碎石图和表3主成分特征值和贡献率的结果。由图3可知前6个成分变化曲线倾斜程度较大，从第7个成分开始曲线逐渐趋于平缓，由表3可知有6个主成分（主成分特征值 > 1）^[14]，并且其累积方差贡献率可达88.149%，二者结果均表明主成分分析得到的这6个主成分可揭示金钱草的基本特征及其指纹图谱的大部分信息。

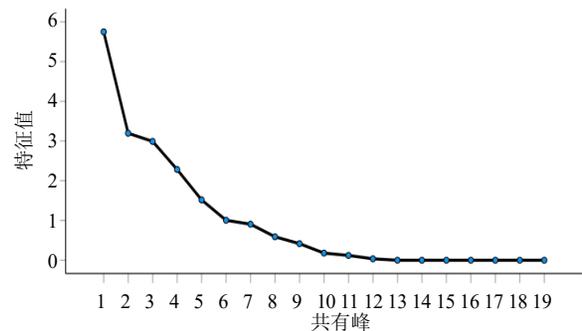


图3 金钱草 PCA 碎石图

Fig. 3 PCA lithotripsy diagram of *L. christinae*

表3 主成分特征值及贡献率

Table 3 Principal component eigenvalues and contribution

主成分	特征值	方差贡献率/%	累积方差贡献率/%
1	5.749	30.259	30.259
2	3.197	16.825	47.084
3	2.991	15.745	62.829
4	2.285	12.026	74.855
5	1.520	7.998	82.854
6	1.006	5.296	88.149

继续使用 IBM SPSS Statistics 27.0 软件对主成分分析结果通过降维方式进行因子提取，采用凯撒正态化最大方差法正交旋转得到 1~19 号峰对 6 个主成分的贡献系数，结果见表 4。

第 1 主成分对峰 4（夏佛塔苷）、11、18（山柰酚）、19 的贡献较大；第 2 主成分对峰 8（芦丁）、

12（山柰酚-3-O-芸香糖苷）、13（槲皮苷）、15（迷迭香酸）的贡献较大；第 3 主成分对峰 3 和峰 10 的贡献较大；第 4 主成分对峰 5、6、14、16、17（槲皮素）的贡献较大；第 5 主成分对峰 7（碟豆素）和峰 9（异槲皮苷）；第 6 主成分对峰 1 和峰 2（咖啡酸）的贡献较大。

表 4 PCA 因子载荷矩阵

Table 4 Factor loading matrix of PCA

峰号	载荷					
	主成分 1	主成分 2	主成分 3	主成分 4	主成分 5	主成分 6
1	0.047	0.064	0.149	0.108	0.094	0.963
2	0.476	-0.198	0.328	0.168	-0.529	0.480
3	0.260	-0.243	0.802	0.412	-0.153	-0.052
4	0.941	0.191	0.021	-0.024	-0.169	0.067
5	-0.086	-0.173	0.124	0.409	0.391	-0.746
6	-0.335	-0.287	0.550	0.601	0.144	-0.123
7	0.433	-0.204	-0.026	-0.040	0.753	-0.050
8	0.342	0.864	-0.080	0.106	-0.238	-0.038
9	-0.120	-0.007	0.000	0.127	0.959	-0.016
10	-0.070	-0.109	0.876	0.176	0.098	0.041
11	0.770	0.015	-0.253	-0.382	0.379	-0.055
12	0.180	0.875	-0.163	-0.152	-0.153	0.097
13	0.293	0.825	0.149	-0.114	0.277	0.243
14	0.054	-0.276	-0.652	0.254	0.177	-0.281
15	-0.210	0.913	-0.082	0.006	-0.002	-0.022
16	-0.359	-0.261	0.353	0.656	0.009	-0.273
17	-0.187	0.117	0.048	0.923	0.031	0.095
18	0.775	0.322	0.001	-0.116	0.055	0.219
19	0.842	-0.002	0.038	-0.215	0.038	-0.024

使用 SIMCA-14.1 软件，进行无监督模式的主成分分析，PCA 模型拟合参数 R^2_X (0.999) 和预测参数 Q^2 (0.775) 均大于 0.5，证明所建模型稳定，15 批金钱草的得分结果见图 4。由图 4 发现在 B 组的 S6 与 S11 和 C 组的 S9 这 3 批药材都分布较为离散，说明这 3 个批次金钱草与其他批次金钱草质量相差较大，其余 12 个批次的金钱草药材都分布在 A 组和 D 组且比较集中，表明这 12 批金钱草在质量上相似度较高。上述结果表明主成分与金钱草指纹图谱的差异性有一定关联性。

2.1.11 OPLS-DA 为了更好地体现组间差异，在 PCA 的基础上进行了 OPLS-DA 分析，结果见图 5，该模型解释能力参数 R^2_X 为 0.856 和 R^2_Y 为 0.925，预测能力参数 Q^2 为 0.585，说明所建的 OPLS-DA 模型良好，预测能力较强。为验证该模型没有过拟合现象，随机排列 200 次做置换检验，得置换检验

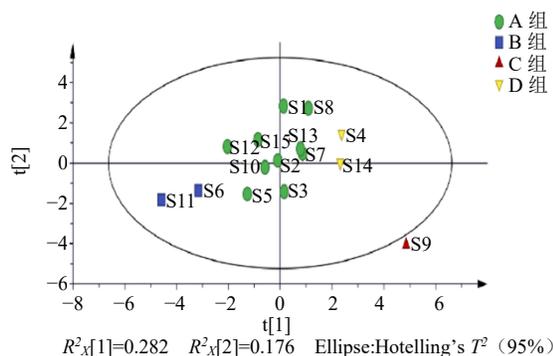


图 4 金钱草的 PCA 得分图

Fig. 4 Plot of PCA scores of *L. christinae*

结果，见图 6，结果表明 Q^2 与纵轴相交点为负值，表明模型不存在过拟合现象。在置信区间内，根据 OPLS-DA 模型中得到的 VIP 值，见表 5，VIP 得分图见图 7，筛选出 VIP>1 的成分，分别为 1、2（咖

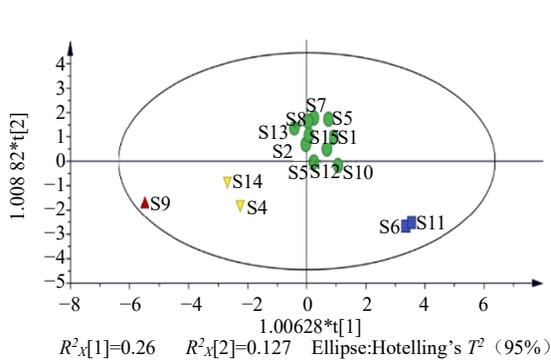


图5 金钱草 OPLS-DA 得分图

Fig. 5 Plot of OPLS-DA scores of *L. christinae*

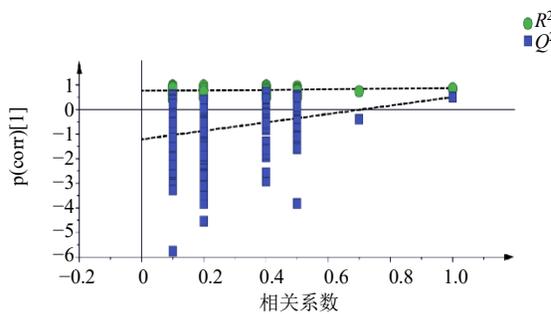


图6 金钱草 OPLS-DA 置换检验结果图

Fig. 6 Plot of OPLS-DA replacement test results of *L. christinae*

表5 19个色谱峰 OPLS-DA VIP 得分

Table 5 VIP scores of OPLS-DA of 19 chromatographic peaks

峰号	VIP 值	峰号	VIP 值
11	1.170 66	1	1.016 240
12	1.149 53	13	0.983 593
7	1.138 43	5	0.961 941
2	1.129 62	3	0.945 719
10	1.120 52	18	0.908 883
19	1.074 32	16	0.861 342
4	1.043 68	17	0.797 641
15	1.041 96	9	0.722 605
8	1.029 43	14	0.701 708
6	1.026 14		

啡酸)、4(夏佛塔苷)、6、7(碟豆素)、8(芦丁)、10~12(山柰酚-3-O-芸香糖苷)、15(迷迭香酸)、19号峰,说明这11个峰对不同产地金钱草具有重要作用,可作为区分金钱草质量的差异标志物。

2.2 HPLC 多成分定量

2.2.1 色谱条件及溶液的制备 色谱条件及溶液的制备同“2.1.1”“2.1.2”和“2.1.3”项下。混合对照品溶液和金钱草供试品溶液的色谱图见图8。

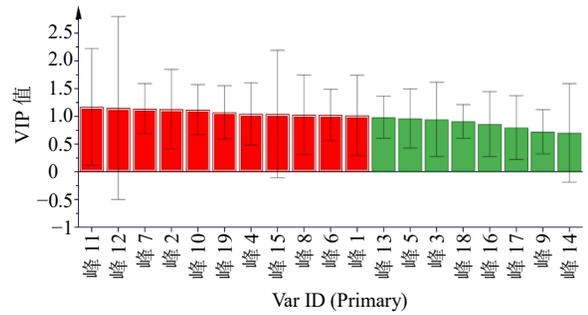
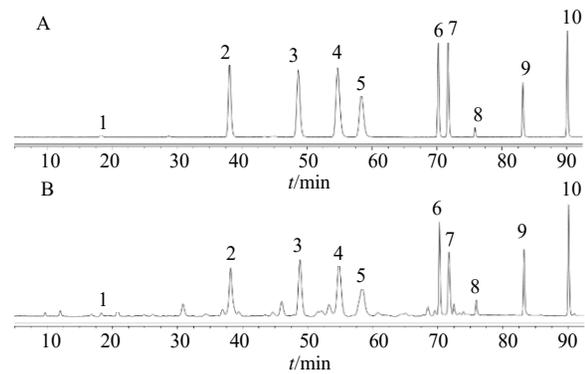


图7 金钱草 OPLS-DA VIP 值图

Fig. 7 Plot of OPLS-DA VIP values of *L. christinae*



1-咖啡酸; 2-夏佛塔苷; 3-碟豆素; 4-芦丁; 5-异槲皮苷; 6-山柰酚-3-O-芸香糖苷; 7-槲皮苷; 8-迷迭香酸; 9-槲皮素; 10-山柰酚。
1-caffeic acid; 2-schaftoside; 3-clitorin; 4-rutin; 5-isoquercitrin; 6-kaempferol-3-O-rutinoside; 7-quercitrin; 8-rosmarinic acid; 9-quercetin; 10-kaempferol.

图8 混合对照品 (A) 及金钱草样品 (B) 色谱图

Fig. 8 Chromatograms of multi-component reference substances (A) and *L. christinae* sample (B)

2.2.2 线性关系考察 取混合对照品适量,用80%甲醇溶液逐级稀释,按“2.1.1”项色谱条件进样测定峰面积,以各对照品的质量浓度为横坐标(X),峰面积为纵坐标(Y),绘制山柰酚-3-O-芸香糖苷、咖啡酸、芦丁、夏佛塔苷、迷迭香酸、碟豆素、异槲皮苷、山柰酚、槲皮苷、槲皮素的标准曲线,10种成分的回归方程、线性范围、相关系数(r)结果见表6。

2.2.3 精密度试验 取金钱草供试品溶液,按“2.1.1”项色谱条件连续进样6次,计算得到山柰酚-3-O-芸香糖苷、咖啡酸、芦丁、夏佛塔苷、迷迭香酸、碟豆素、异槲皮苷、山柰酚、槲皮苷、槲皮素峰面积的RSD分别为1.79%、1.21%、1.34%、0.92%、1.66%、1.89%、1.43%、1.42%、1.55%、1.29%,表明仪器精密度良好,符合含量测定要求。

表 6 金钱草中 10 种成分线性考察

Table 6 Linear investigation of 10 components in *L. christinae*

成分	回归方程	r	线性范围/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)
咖啡酸	$Y=0.1573X-0.0102$	0.9995	0.52~104.00
夏佛塔苷	$Y=0.2907X+9\times 10^{-5}$	0.9999	0.67~133.88
碟豆素	$Y=0.2123X-0.0462$	0.9996	1.05~210.60
芦丁	$Y=0.2955X-0.0362$	0.9997	0.88~176.80
异槲皮苷	$Y=0.3987X-0.0159$	0.9995	0.48~96.080
山柰酚-3-O-芸香糖苷	$Y=0.2646X-0.0098$	0.9999	0.58~115.72
槲皮苷	$Y=0.3196X-0.013$	0.9999	0.44~87.84
迷迭香酸	$Y=0.155X-0.2228$	0.9992	1.57~313.50
槲皮素	$Y=0.654X-0.0294$	0.9998	0.11~22.79
山柰酚	$Y=0.6998X-0.0236$	0.9999	0.19~38.93

2.2.4 稳定性试验 取金钱草药材,按“2.1.1”项色谱条件分别于室温下 0、2、4、8、12、24 h 进样测定,计算得到山柰酚-3-O-芸香糖苷、咖啡酸、芦丁、夏佛塔苷、迷迭香酸、碟豆素、异槲皮苷、山柰酚、槲皮苷、槲皮素峰面积的 RSD 分别为 2.21%、0.73%、1.06%、0.86%、1.51%、1.11%、1.19%、2.72%、1.37%、1.73%。

2.2.5 重复性试验 取同一批次的金钱草药材粉末,按“2.1.2”项方法平行制备 6 份供试品溶液,按“2.1.1”项色谱条件进样测定,计算得到山柰酚-3-O-芸香糖苷、咖啡酸、芦丁、夏佛塔苷、迷迭香酸、碟豆素、异槲皮苷、山柰酚、槲皮苷、槲皮素质量分数的 RSD 分别为 3.01%、2.08%、1.71%、1.60%、2.73%、2.05%、1.97%、2.59%、3.36%、1.92%。

2.2.6 加样回收率试验 精密称取已测定含量的金钱草 0.5 g,精密加入山柰酚-3-O-芸香糖苷、咖啡

酸、芦丁、夏佛塔苷、迷迭香酸、碟豆素、异槲皮苷、山柰酚、槲皮苷、槲皮素这 10 个对照品,按“2.1.2”项方法平行制备 6 份供试品溶液,进样测定,计算得到山柰酚-3-O-芸香糖苷、咖啡酸、芦丁、夏佛塔苷、迷迭香酸、碟豆素、异槲皮苷、山柰酚、槲皮苷、槲皮素的平均加样回收率分别为 98.63%、101.12%、94.47%、95.07%、107.28%、104.33%、94.71%、98.29%、100.56%、104.53%,RSD 分别为 1.04%、3.42%、2.23%、1.92%、3.02%、2.95%、3.80%、3.94%、1.86%、2.49%。

2.2.7 样品含量测定 取 15 批金钱草药材,按“2.1.2”项条件制备供试品溶液,按“2.1.1”项色谱条件进样,计算样品中山柰酚-3-O-芸香糖苷、咖啡酸、芦丁、夏佛塔苷、迷迭香酸、碟豆素、异槲皮苷、山柰酚、槲皮苷、槲皮素的含量,结果见表 7。

表 7 15 批金钱草中 10 种成分含量测定的结果

Table 7 Determination of content of 10 components in 15 batches of *L. christinae*

编号	质量分数/($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)									
	咖啡酸	夏佛塔苷	碟豆素	芦丁	异槲皮苷	山柰酚-3-O-芸香糖苷	槲皮苷	迷迭香酸	槲皮素	山柰酚
S1	0.064	0.242	0.494	0.213	0.194	0.144	0.149	0.094	0.031	0.039
S2	0.043	0.163	0.384	0.235	0.257	0.215	0.283	0.145	0.034	0.056
S3	0.010	0.158	0.146	0.224	0.140	0.223	0.197	0.074	0.046	0.052
S4	0.019	0.265	0.797	0.178	0.267	0.446	0.223	0.023	0.026	0.100
S5	0.067	0.172	0.322	0.188	0.116	0.076	0.079	0.057	0.058	0.042
S6	0.086	0.284	0.223	0.233	0.045	0.257	0.109	0.016	0.032	0.076
S7	0.021	0.244	0.453	0.336	0.213	0.264	0.173	0.087	0.065	0.090
S8	0.052	0.230	0.404	0.262	0.147	0.195	0.105	0.030	0.036	0.047
S9	0.006	0.095	0.303	0.165	0.142	0.056	0.079	0.051	0.046	0.032
S10	0.048	0.231	0.447	0.291	0.206	0.138	0.179	0.095	0.088	0.061
S11	0.074	0.521	0.544	1.008	0.450	0.611	0.483	0.581	0.071	0.061
S12	0.034	0.340	0.570	0.364	0.095	0.196	0.123	0.128	0.034	0.049
S13	0.041	0.242	0.565	0.363	0.228	0.316	0.221	0.081	0.059	0.048
S14	0.017	0.091	0.276	0.183	0.202	0.104	0.052	0.090	0.045	0.026
S15	0.067	0.245	0.344	0.303	0.179	0.325	0.187	0.064	0.068	0.076

15 批金钱草中山柰酚-3-*O*-芸香糖苷、咖啡酸、芦丁、夏佛塔苷、迷迭香酸、碟豆素、异槲皮苷、山柰酚、槲皮苷、槲皮素的质量分数分别为 0.056~0.611、0.006~0.086、0.165~1.008、0.091~0.521、0.016~0.581、0.146~0.797、0.045~0.450、0.026~0.100、0.052~0.483、0.026~0.088 mg/g。

2.2.8 熵权 TOPSIS 分析 将数据 15 批金钱草 10 种成分的含量测定结果导入 SPSSUA 在线软件进行熵权 TOPSIS 分析, 计算得到正理想距离 (D_i^+)、负理想距离 (D_i^-) 以及相对接近度 (C_i) 进行排序, 以评价金钱草质量的优劣, 具体分析结果见表 8。

表 8 金钱草质量评分排序

Table 8 Ranking of quality scores of *L. christinae*

编号	D_i^+	D_i^-	C_i	排序
S1	0.290	0.085	0.226	10
S2	0.270	0.096	0.262	9
S3	0.296	0.065	0.180	13
S4	0.295	0.128	0.303	6
S5	0.304	0.084	0.217	11
S6	0.299	0.107	0.264	8
S7	0.257	0.117	0.312	4
S8	0.295	0.073	0.198	12
S9	0.326	0.039	0.107	15
S10	0.263	0.127	0.325	3
S11	0.052	0.328	0.863	1
S12	0.263	0.095	0.266	7
S13	0.251	0.113	0.310	5
S14	0.315	0.047	0.131	14
S15	0.258	0.125	0.326	2

15 批金钱草与理想值 C_i 排序为 S11>S15>S10>S7>S13>S4>S12>S6>S2>S1>S5>S8>S3>S14>S9, 排名前 5 名的是 S11>S15>S10>S7>S13, 对应产地为四川 (S11、S10、S7) 和江西 (S15、S13)。

3 讨论

3.1 色谱条件的优化

试验考察了不同波长 (DAD 全波长扫描 (200-400 nm)、不同流动相 (乙腈-0.3%醋酸、乙腈-0.1%甲酸、乙腈-0.1%磷酸、乙腈-0.3%磷酸)、不同柱温 (25、30、35、40 °C)、不同体积流量 (0.8、0.9、1.0 mL/min)、不同色谱柱 (ZORBAX Eclipse Plus C₁₈、Sepax GP-C₁₈、YMC-Triart C₁₈), 最终确定检测波长为 360 nm, 体积流量为 0.9 mL/min, 柱温为

30 °C, 流动相为乙腈-0.1%磷酸, 色谱柱为 ZORBAX Eclipse Plus C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm) 为色谱峰最佳分离条件。

3.2 供试品溶液制备

试验以 10 种成分的峰面积及含量为依据分别考察了不同提取方式 (加热回流提取、超声提取)、提取溶剂 (50%甲醇、60%甲醇、70%甲醇、80%甲醇、90%甲醇、甲醇)、溶剂加入体积 (10、20、50、75、100 mL)、提取时间 (30、40、60、90 min)、提取次数 (1、2、3 次), 结果表明使用 1 g 金钱草粉末, 加入 50 mL 80%甲醇溶液, 水浴加热回流 1 h 提取 1 次的效果最好。

3.3 含量指标成分选择

金钱草主要有效成分为黄酮类及酚酸类, 有研究表明夏佛塔苷具有抗结石、抗氧化、抗炎、保肝的作用, 还可以通过抑制血液中的胆固醇、三酰甘油等达到调血脂的作用^[15-17]。芦丁有抗炎镇痛的作用, 可通过抑制肥大细胞中的 P2X7 受体来改善炎症性疼痛^[18]。异槲皮苷具有抗氧化、抗炎、抗肿瘤、降血糖等生物学活性^[19]。槲皮苷具有较强的抗氧化能力, 且还有抑制巨噬细胞炎症、抗肿瘤等生物活性^[20]。槲皮素具有抗炎的作用, 是环氧酶-2 (COX-2) 选择性抑制剂, 可降低 COX-2 在炎症中的作用^[22], 除此之外槲皮素还抗氧化^[22]、抗痛风^[23]、抗肿瘤^[24]、保肝^[25]、抗病毒^[26]等的作用。山柰酚-3-*O*-芸香糖苷主要具有抗肿瘤、抗高血压、抑制脂肪生成等生物活性^[27]。碟豆素具有抗氧化作用, 且其可通过减少脂肪生成从而减轻肝脏脂肪变性^[28-29]。山柰酚具有抗痛风、保肝、抗病毒、抗炎、抗氧化等生物活性^[30-31]。咖啡酸、迷迭香酸为酚酸类化合物, 酚羟基可与自由基反应, 从而使自由基的链式反应终止, 因此其均具有抗氧化能力, 除此之外咖啡酸还具有抗癌、抗炎、保肝等作用^[32]; 迷迭香酸还具有抗菌作用, 以及通过与亚硝酸根离子发生反应从而提高对 HIV 整合酶的抑制达到抗病毒的效果^[33-34]。因此本实验选取以上 10 种药效成分作为含量测定成分, 为综合评价金钱草质量提供参考。

3.4 指纹图谱与含量测定结果分析

现有关于金钱草药材质量评价的文献尽管较多, 但也存在一定不足。严玉晶等^[35]虽然结合了熵权 TOPSIS 发对金钱草药材进行了质量评价, 但其含量测定成分指标仅在《中国药典》的基础上增

加了1个成分(山柰酚-3-O-芸香糖苷), 仍然不够全面; 周永逸等^[36]使用UHPLC-QTRAP-MS/MS对不同产地药材进行了质量评价, 成分测定较为全面, 但其没有结合指纹图谱分析且检测操作繁琐、成本较高; 周祎等^[37]通过测定金钱草中6种活性成分含量来对金钱草药材进行控制, 但其所做药材批次少且没有结合指纹图谱及化学模式识别分析, 不够全面系统。中药指纹图谱可整体、全面的反映重要的化学成分信息, 被广泛运用于中药材以及中药制剂等的质量控制中^[38]。多指标含量测定可以准确测定金钱草中指标成分的含量。熵权TOPSIS分析在各领域使用逐渐频繁, 结合熵权法的TOPSIS法可以更加准确、客观地测度综合指标现状, 提高评价结果的可靠性和准确性。因此将中药指纹图谱与多指标含量测定结合再通过化学模式识别和熵权TOPSIS分析可以更好的评价金钱草药材的整体质量, 且HPLC相较于UHPLC-QTRAP-MS/MS分析简便快捷、可操作性强、更加节约成本。

本实验建立了15批金钱草的指纹图谱, 共匹配出19个共有峰。通过与对照品色谱图进行比对, 共指认10种成分, 分别为咖啡酸(2号峰)、夏佛塔苷(4号峰)、鞣豆素(7号峰)、芦丁(8号峰)、异槲皮苷(9号峰)、山柰酚-3-O-芸香糖苷(12号峰)、槲皮苷(13号峰)、迷迭香酸(15号峰)、槲皮素(17号峰)、山柰酚(18号峰); 指纹图谱相似度表明S2(重庆石柱)、S5(四川三台)、S7(四川仁寿)、S8(四川巴中县)、S10(四川资阳安岳县)、S13(江西庐山)、S15(江西九江)相似度在0.90以上, 表明这7批金钱草一致性较好, 其余批次金钱草相似度较低, 其中S6(四川大竹)、S9(四川广元青川)相似度在0.80以下, 表明这2批次金钱草与其他批次金钱草差异显著。HCA、PCA结果表明S4、S6、S9、S11、S5这5个批次样品与其余批次差异较为明显。OPLS-DA结果表明1、2(咖啡酸)、4(夏佛塔苷)、6、7(鞣豆素)、8(芦丁)、10~12(山柰酚-3-O-芸香糖苷)、15(迷迭香酸)、19号峰, 可作为不同产地金钱草的差异标志物。本实验含量测定结果显示不同产地的金钱草指标性成分含量存在显著差异, 熵权TOPSIS法结果表明四川和江西的产地的金钱草综合质量较优, 造成以上差异的原因可能与所购买的金钱草基原、生长的地理环境、气候、采收时间以及储存时间、储存方式、茎叶比例等因素有关, 后续将进一步扩大样品产地以

及产地的气候、采收季节、储存时间、储存方式、茎叶比例等影响金钱草生长的关键参数收集分析, 为金钱草质量研究提供数据参考。

本研究建立了不同产地金钱草的HPLC指纹图谱, 确定了19个共有峰, 结合HCA和PCA将15批金钱草区分为4类, PCA分析中6种主成分的累积方差贡献率为88.149%, OPLD-DA筛选出11个VIP>1的成分, 分别为1、2(咖啡酸)、4(夏佛塔苷)、6、7(鞣豆素)、8(芦丁)、10~12(山柰酚-3-O-芸香糖苷)、15(迷迭香酸)、19号峰, 可作为不同产地金钱草的差异标志物, 并测定了其中山柰酚-3-O-芸香糖苷、咖啡酸、芦丁、夏佛塔苷、迷迭香酸、鞣豆素、异槲皮苷、山柰酚、槲皮苷、槲皮素这10种指标成分的含量。本实验所建方法准确性、精密度、重复性好, 结果可靠, 可用于构建基于产地差异的金钱草的质量评价方法。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 胡献国. 通淋排石说三金 [J]. 家庭医学(下半月), 2021(8): 59.
- [2] 胡诗宛, 张伟, 丁齐又, 等. 重构本草: 金钱草 [J]. 长春中医药大学学报, 2023, 39(5): 476-479.
- [3] 何秋艳, 李洁, 周庆颂, 等. 金钱草化学成分和药理作用的研究进展 [J]. 江西科技师范大学学报, 2023(6): 54-60.
- [4] 吴云秋, 闫炳雄, 阮丽君, 等. 广金钱草中黄酮及黄酮苷类化学成分研究 [J]. 中草药, 2023, 54(15): 4780-4788
- [5] 李云龙. 金钱草配方颗粒制备及其质量控制研究 [D]. 成都: 西南交通大学, 2013.
- [6] 吴凡, 黄昌晶, 李洁, 等. HPLC法测定金钱草中紫云英苷、山柰酚-3-O-芸香糖苷、槲皮素、山柰酚和异鼠李素 [J]. 现代药物与临床, 2024, 39(1): 102-105.
- [7] 周永逸, 薛佳, 陈海杰, 等. 金钱草不同部位多元化学成分的分析与评价 [J]. 分析测试学报, 2023, 42(8): 930-942.
- [8] 杨蒙恩, 李彦冉, 葛君玺, 等. 金钱草的质量控制现状及质量标志物预测分析 [J]. 中华中医药学刊, 2024, 42(1) 1-18.
- [9] 练瀚, 杨小玉, 唐祥友, 等. 金钱草种质资源研究进展 [J]. 亚太传统医药, 2023, 19(7): 230-233.
- [10] 祝浩东, 张昌禧. 金钱草及其常见伪品的性状鉴别 [J]. 中国乡村医药, 2023, 30(13): 31-33.
- [11] 陈云, 徐璐娜, 王翰华, 等. 基于HPLC指纹图谱的不同产地金钱草及其地方习用品与混用品的鉴定研究 [J]. 中草药, 2022, 53(14): 4504-4511.

- [12] 李飞艳, 周日宝, 刘群群. 金钱草及其混伪品的微性状鉴定 [J]. 海峡药学, 2018, 30(7): 39-41.
- [13] 陈云, 徐璐娜, 王翰华, 等. 基于 HPLC 指纹图谱的不同产地金钱草及其地方习用品与混用品的鉴定研究 [J]. 中草药, 2022, 53(14): 4504-4511.
- [14] 张红娟, 史银基, 罗玉琴, 等. 基于 HPLC 指纹图谱及多指标定量结合熵权 TOPSIS 法评价不同产地白屈菜药材质量 [J]. 中草药, 2024, 55(12): 4194-4203.
- [15] 夏张晨, 孟晓慧, 王衍彬, 等. 毛竹笋箨夏佛塔昔对胰脂肪酶的抑制作用及机理 [J]. 食品科学, 2024, 45(6): 1-15.
- [16] 刘美静, 张郭慧, 黄小桃, 等. 夏佛塔昔对高脂饮食诱导小鼠非酒精性脂肪肝的保护作用 [J]. 中华中医药杂志, 2017, 32(11): 5078-5081.
- [17] 刘美静, 刘昌辉, 黄小桃, 等. 夏佛塔昔对高脂饮食诱导 C57BL/6 小鼠胆固醇结石形成的抑制作用 [J]. 中药新药与临床药理, 2016, 27(4): 497-502.
- [18] Ye F, Lv J H, Shen X Y, *et al.* Rutin ameliorates inflammatory pain by inhibiting P2X7 receptor in mast cells [J]. *J Physiol Biochem*, 2023, 79(2): 287-295.
- [19] 陈燕, 詹羽姣, 李晨阳, 等. 异槲皮素的生物活性研究进展 [J]. 中国现代中药, 2018, 20(12): 1579-1582.
- [20] 吕莹, 郝尧坤, 张照兰. 槲皮素通过 Nrf2/HO-1 通路抑制 H₂O₂ 诱导人肝细胞 L-02 凋亡和损伤 [J]. 中南药学, 2021, 19(1): 44-50.
- [21] 司丽君, 王雪, 王林林, 等. 槲皮素的抗炎免疫及部分机制研究 [J]. 中国医药导报, 2021, 18(27): 26-29.
- [22] 王亚茹, 袁满, 张丽, 等. 槲皮素抗氧化作用及相关机制研究进展 [J]. 营养学报, 2022, 44(2): 204-208.
- [23] 黄敬群, 宋扬, 赵鹏, 等. 槲皮素对急性痛风性关节炎的抗炎、镇痛实验研究 [J]. 海峡药学, 2013, 25(7): 64-67.
- [24] 朱剑云, 谢春, 钟才云. 槲皮素对肺癌干细胞活性的影响 [J]. 肿瘤代谢与营养电子杂志, 2022, 9(5): 616-623.
- [25] 王君明, 刘菊, 崔瑛, 等. 金钱草提取物对雷公藤多苷致肝损伤的保护作用及机制研究 [J]. 中国药学杂志, 2013, 48(1): 30-34.
- [26] Prasansuklab A, Theerasri A, Rangsinth P, *et al.* Anti-COVID-19 drug candidates: A review on potential biological activities of natural products in the management of new coronavirus infection [J]. *J Tradit Complement Med*, 2021, 11(2): 144-157.
- [27] Zheng W L, Wang H N, Wang X, *et al.* Kaempferol 3-O-rutinoside, a flavone derived from *Tetrastigma hemsleyanum* Diels et Gilg, reduces body temperature through accelerating the elimination of IL-6 and TNF- α in a mouse fever model [J]. *Molecules*, 2024, 29(7): 1641.
- [28] Ma H F, Li J, An M R, *et al.* A powerful on line ABTS⁺-CE-DAD method to screen and quantify major antioxidants for quality control of Shuxuening Injection [J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 5441.
- [29] Cominguez D C, Park Y J, Kang Y M, *et al.* Clitorin ameliorates western diet-induced hepatic steatosis by regulating lipogenesis and fatty acid oxidation *in vivo* and *in vitro* [J]. *Sci Rep*, 2022, 12(1): 4154.
- [30] 陈育华, 周克元, 袁汉尧. 山柰酚药效的研究进展 [J]. 广东医学, 2010, 31(8): 1064-1066.
- [31] 苏静, 王亚亚, 梁轩, 等. 金钱草的研究进展 [J]. 华西药学杂志, 2024, 39(3): 357-363.
- [32] Owumi S E, Irozuru C E, Arunsi U O, *et al.* Caffeic acid protects against DNA damage, oxidative and inflammatory mediated toxicities, and upregulated caspases activation in the hepatorenal system of rats treated with aflatoxin B₁ [J]. *Toxicol*, 2022, 207: 1-12.
- [33] Dubois M, Bailly F, Mbemba G, *et al.* Reaction of rosmarinic acid with nitrite ions in acidic conditions: Discovery of nitro- and dinitroso-rosmarinic acids as new anti-HIV-1 agents [J]. *J Med Chem*, 2008, 51(8): 2575-2579.
- [34] 曾发姣, 周小玲, 汪彬, 等. 迷迭香提取物及其活性成分的抑菌作用研究进展 [J]. 湖南农业科学, 2023(7): 110-114.
- [35] 严玉晶, 崔婷, 丁青, 等. 熵权 TOPSIS 法结合多指标成分综合评价金钱草药材的质量 [J]. 中国药房, 2020, 31(23): 2870-2876.
- [36] 周永逸, 陈海杰, 薛佳, 等. 基于多元活性成分同时测定结合多元统计分析评价不同产地金钱草药材的质量 [J]. 中国中药杂志, 2023, 48(17): 4663-4674.
- [37] 周祎, 郜红利. HPLC-DAD 法同时测定中药金钱草中 6 种活性成分的含量 [J]. 中国药师, 2016, 19(8): 1609-1611.
- [38] 江洁怡, 杨敏娟, 汤瑞茵, 等. 中药蝴蝶果 UPLC 指纹图谱及含量测定 [J]. 药物分析杂志, 2024, 44(2): 233-241.

[责任编辑 时圣明]