

石龙芮 HPLC 指纹图谱及 5 种成分含量测定

曹珊珊¹, 施震¹, 郑晓雯¹, 陈飞¹, 周思佳¹, 程文明^{1*}, 张亚中², 谢晋¹, 张群林^{1*} (1.安徽医科大学药学院, 合肥 230032; 2.安徽省食品药品检验研究院, 合肥 230051)

摘要: 目的 利用 HPLC 建立石龙芮药材的指纹图谱及 5 种成分含量测定的方法。方法 采用 Agilent ZORBAX SB C₁₈(4.6 mm×250 mm, 5 μm) 色谱柱, 以甲醇(A)-0.1% 磷酸水溶液(B)为流动相, 梯度洗脱, 建立石龙芮药材 HPLC 指纹图谱。结合相似度评价, 聚类、主成分分析、正交偏最小二乘判别分析等方法对 13 批石龙芮药材进行质量评价。结果 13 批石龙芮样品共确定了 20 个共有峰, 指出其中 5 个峰, 相似度为 0.874~0.984。聚类分析和主成分分析均将 13 批药材按不同产区分为 3 类, 表明不同地区石龙芮药材化学成分含量可能存在差异。对 13 批石龙芮样品中的原儿茶醛、咖啡酸、阿魏酸、金丝桃苷和异槲皮苷进行定量研究, 其含量分别为 0.016~0.035, 0.010~0.070, 0.010~0.029, 0.016~0.051, 0.028~0.086 mg·g⁻¹。结论 建立的石龙芮 HPLC 指纹图谱和含量测定方法简便、稳定、可靠, 可为石龙芮质量评价及资源利用提供参考。

关键词: 石龙芮; 高效液相色谱法; 指纹图谱; 含量测定; 质量评价

中图分类号: R284.1 文献标志码: B 文章编号: 1007-7693(2024)01-0106-06

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.20223192

引用本文: 曹珊珊, 施震, 郑晓雯, 等. 石龙芮 HPLC 指纹图谱及 5 种成分含量测定[J]. 中国现代应用药学, 2024, 41(1): 106-111.

HPLC Fingerprint and Content Determination of Five Components in *Ranunculus Sceleratus* L.

CAO Shanshan¹, SHI Zhen¹, ZHENG Xiaowen¹, CHEN Fei¹, ZHOU Sijia¹, CHENG Wenming^{1*}, ZHANG Yazhong², XIE Jin¹, ZHANG Qunlin^{1*} (1.School of Pharmacy, Anhui Medical University, Hefei 230032, China; 2.Anhui Institute for Food and Drug Control, Hefei 230051, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish the HPLC fingerprint and content determination of five components in *Ranunculus sceleratus* L.. **METHODS** The separation was developed on an Agilent ZORBAX SB C₁₈ chromatographic (4.6 mm×250 mm, 5 μm) column by gradient elution with methanol(A)-0.1 % phosphoric acid aqueous solution(B) as mobile phase to establish HPLC fingerprint of *Ranunculus sceleratus* L.. Combined with similarity evaluation, cluster analysis, principal component analysis, and orthogonal partial least squares-discriminant analysis, the quality of 13 batches of *Ranunculus sceleratus* L. was evaluated. **RESULTS** Thirteen batches of *Ranunculus sceleratus* L. samples were calibrated with 20 common peaks, of which 5 common peaks were identified, and the similarity ranged from 0.874 to 0.984. The results of cluster analysis and principal component analysis were basically the same, indicating that there might be differences in the content of chemical components of *Ranunculus sceleratus* L. in different regions. Protocatechuic aldehyde, caffeic acid, ferulic acid, hyperoside and isoquercitrin were determined in thirteen batches of *Ranunculus sceleratus* L., and their contents were 0.016~0.035, 0.010~0.070, 0.010~0.029, 0.016~0.051, 0.028~0.086 mg·g⁻¹, respectively. **CONCLUSION** The established HPLC fingerprint and content determination method is simple, stable, and reliable, which can be used for qualitative analysis and provide reference to quality evaluation and resource utilization of *Ranunculus sceleratus* L..

KEYWORDS: *Ranunculus sceleratus* L.; HPLC; fingerprint; content determination; quality evaluation

石龙芮药材来源于毛茛科毛茛属植物石龙芮 *Ranunculus sceleratus* L. 的干燥全草, 始载于《神农本草经》, 列为上品。现代研究表明, 石龙芮中主要含有香豆素类(滨蒿内酯、异东茛菪内酯、东茛菪内酯等)、有机酸类(咖啡酸、阿魏酸、原儿茶酸等)、黄酮类(槲皮素、金丝桃苷、木犀草素等)、蒽醌类(大黄素等)和萜类(β-谷甾醇、豆

甾醇等)成分^[1-3], 具有抗炎和抗氧化等药理作用^[4-5]。笔者所在课题组前期研究发现鲜石龙芮天灸对 α-萘异硫氰酸酯诱导的肝内胆汁淤积大鼠具有明显的治疗作用^[6]。近年来, 对石龙芮质量研究仅限于性状、显微鉴别和薄层鉴别, 难以全面评价其品质^[7]。中药具有多成分、多靶点协同作用特点, 而指纹图谱方法作为质量控制的手段, 能更

作者简介: 曹珊珊, 男, 硕士 E-mail: 1319759684@qq.com
程文明, 女, 博士, 副教授 E-mail: chengwm@ahmu.edu.cn

*通信作者: 张群林, 女, 博士, 教授 E-mail: qlzhang@ahmu.edu.cn

全面分析其所包含的化学信息^[8-13]。但目前尚未见有关石龙芮指纹图谱的相关报道。因此,本研究建立石龙芮药材指纹图谱及含量测定方法,期望为石龙芮药材的质量控制提供参考依据。

1 仪器与材料

1.1 仪器

LC-20A 高效液相色谱仪(日本岛津公司); KQ-500DE 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司); SQP 电子天平(赛多利斯科学仪器北京有限公司)。

1.2 材料

原儿茶醛(批号:5351;纯度:98%)、咖啡酸(批号:2681;纯度:98%)、阿魏酸(批号:8042;纯度:99%)均购自上海诗丹德标准技术服务有限公司;金丝桃苷(批号:100413;纯度:98%)、异槲皮苷(批号:100406;纯度:98%)均购自上海融禾医药科技有限公司。甲醇(色谱纯,美国 TEDIA 公司);磷酸(分析纯,国药集团化学试剂有限公司);水为超纯水。13 批石龙芮样品由安徽中医药大学药学院彭华胜教授鉴定,来源信息见表 1。

表 1 石龙芮样品信息

Tab. 1 Samples information of *Ranunculus sceleratus* L.

编号	来源地	采集时间
S1	福建省宁德市	2021年3月
S2	福建省宁德市	2021年3月
S3	福建省宁德市	2021年3月
S4	广东省揭阳市	2021年3月
S5	广东省揭阳市	2021年3月
S6	广东省揭阳市	2021年3月
S7	安徽省阜阳市	2021年3月
S8	安徽省池州市	2021年3月
S9	安徽省合肥市	2021年3月
S10	安徽省合肥市	2021年3月
S11	安徽省黄山市	2021年3月
S12	安徽省芜湖市	2021年4月
S13	安徽省六安市	2021年4月

2 方法与结果

2.1 色谱条件

Agilent ZORBAX SBC₁₈(4.6 mm×250 mm, 5 μm) 色谱柱;以甲醇(A)-0.1%磷酸水溶液(B)为流动相,梯度洗脱(0~4 min, 5%A; 4~10 min, 5%→10%A; 10~25 min, 10%→20%A; 25~45 min, 20%→27%A; 45~55 min, 27%→36%A; 55~70 min, 36%→50%A; 70~80 min, 50%→60%A; 80~

100 min, 60%→85%A);检测波长为 320 nm;流速为 1 mL·min⁻¹;柱温为 25 °C;进样量为 10 μL。

2.2 溶液的制备

2.2.1 供试品溶液的制备 取石龙芮样品粉末(过 3 号筛)约 0.5 g,精密称定,加入 80% 甲醇 10 mL,精密称定质量,超声处理(功率 250 W, 90 kHz) 30 min,冷却至室温,称定质量,用 80% 甲醇补足失重,摇匀,过滤并取续滤液,过微孔滤膜(0.22 μm),即得供试品溶液。

2.2.2 对照品溶液的制备 分别取原儿茶醛、咖啡酸、阿魏酸、金丝桃苷和异槲皮苷对照品适量,加甲醇制成每 1 mL 分别含 265, 320, 455, 390, 338 mg 的混合对照品溶液,4 °C 保存。

2.3 指纹图谱研究

2.3.1 仪器精密度试验 取石龙芮样品(编号: S7)供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件连续进样测定 6 次,记录色谱数据。在色谱图数据分析中以原儿茶醛(1 号峰)作为参比峰,计算共有峰相对保留时间和相对峰面积的 RSD,结果共有峰相对保留时间的 RSD 均<2.11%,相对峰面积的 RSD 均<3.56%,表明仪器精密度良好。

2.3.2 稳定性试验 取石龙芮样品(编号: S7)供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件,分别于 0, 2, 4, 8, 12, 24 h 进样测定分析,记录色谱数据。在色谱图数据分析中以原儿茶醛(1 号峰)作为参比峰,计算共有峰相对保留时间和相对峰面积的 RSD,结果共有峰相对保留时间的 RSD 均<2.84%,相对峰面积的 RSD 均<3.36%,表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.3.3 重复性试验 取同一批次石龙芮样品(编号: S7)6 份,按“2.2.1”项下方法平行制备供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件,依次进样测定分析,记录色谱数据。在色谱图数据分析中以原儿茶醛(1 号峰)作为参比峰,计算共有峰相对保留时间和相对峰面积的 RSD,共有峰相对保留时间的 RSD 均<1.71%,相对峰面积的 RSD 均<3.63%,表明方法重复性良好。

2.3.4 指纹图谱的建立及相似度评价 取 13 批石龙芮样品溶液,按“2.1”项下色谱条件进样测定,通过《中药色谱指纹图谱相似度评价系统》(2012 版)软件对不同地区的 13 批石龙芮色谱图进行分析,设置 S1 样品色谱图为参照图谱,采用中位数法,时间窗宽度为 0.1,并进行多点校正和色谱峰匹配,生成叠加图谱及对照图谱,见图 1。共

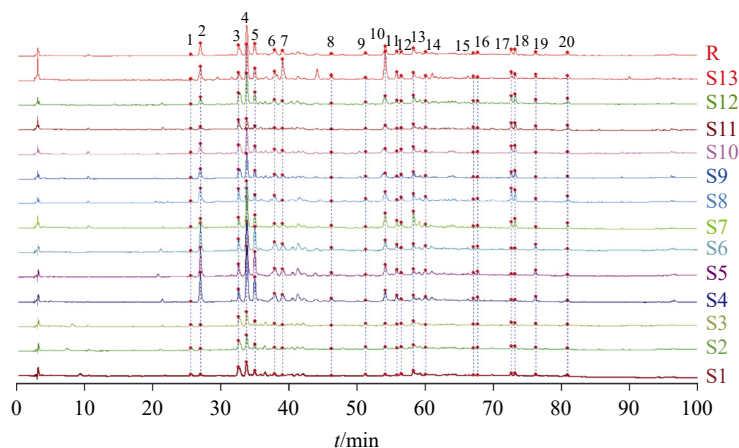


图1 13批石龙芮药材 HPLC 叠加指纹图谱 (S1~S13) 及对照图谱 (R)

Fig. 1 HPLC superimposed fingerprints(S1~S13) and control chromatograms(R) of 13 batches of *Ranunculus sceleratus* L.

标定出 20 个共有指纹峰, 通过与对照品对比, 指认了 5 个色谱峰, 分别为原儿茶醛 (1 号峰)、咖啡酸 (7 号峰)、阿魏酸 (12 号峰)、金丝桃苷 (15 号峰) 和异槲皮苷 (16 号峰), 见图 2。以 1 号原儿茶醛色谱峰为参照峰 (S), 计算得到 13 批石龙芮共有峰相对保留时间的 RSD 为 0.66%~2.21%, 各批次石龙芮样品与对照图谱的相似度在 0.874~0.984, 表明不同地区石龙芮整体化学组分类似, 结果见表 2。

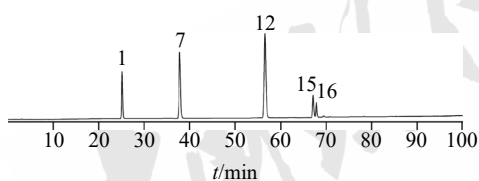


图2 混合对照品溶液 HPLC 色谱图

1-原儿茶醛; 7-咖啡酸; 12-阿魏酸; 15-金丝桃苷; 16-异槲皮苷。

Fig. 2 HPLC chromatogram of mixed reference solution

1-protocatechuic aldehyde; 7-caffeic acid; 12-ferulic acid; 15-hyperoside; 16-isoquercitrin.

表2 13批石龙芮样品指纹图谱相似度评价结果

Tab. 2 Similarity evaluation result of fingerprints of 13 batches of *Ranunculus sceleratus* L. samples

编号	相似度	编号	相似度
S1	0.897	S8	0.920
S2	0.935	S9	0.984
S3	0.894	S10	0.983
S4	0.973	S11	0.874
S5	0.974	S12	0.982
S6	0.975	S13	0.898
S7	0.973		

2.3.5 聚类分析 将 13 批石龙芮样品的共有峰峰面积数据导入 SPSS 22.0 软件进行聚类分析, 对指

纹图谱共有峰峰面积进行标准化处理, 采用 Ward 法, 选用平方欧氏距离为测度, 进行聚类分析, 结果见图 3。当欧氏距离为 15 时, 13 批石龙芮药材样品可分为 3 类, 产自安徽的样品 S7~S13 聚为第 1 类, 产自福建省宁德市的样品 S1~S3 聚为第 2 类, 产自广东省揭阳市的样品 S4~S6 聚为第 3 类。

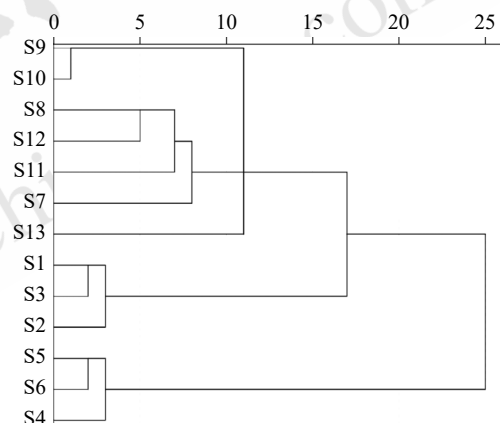


图3 13批石龙芮样品聚类分析树状图

Fig. 3 Dendrogram of cluster analysis of 13 batches of *Ranunculus sceleratus* L. samples

2.3.6 主成分分析 将 13 批石龙芮样品的共有峰峰面积数据导入 SPSS 22.0 软件进行主成分分析, 计算主成分特征值、累计方差贡献率和因子载荷矩阵, 见表 3~4。设置特征值>1 的成分为主成分, 其累计贡献率达到了 93.93%, 表明石龙芮的前 5 个主成分可概括原有数据的绝大部分信息, 见表 3。色谱峰 2, 4~7, 10, 11, 15, 16, 19 号对主成分 1 影响较大, 色谱峰 1, 10, 12, 13, 17, 18, 20 号对主成分 2 影响较大, 色谱峰

7~9号对主成分3影响较大, 色谱峰15号对主成分4影响较大, 色谱峰3, 14号对主成分5影响较大。同时, 利用SIMCA 14.0绘图软件, 对20个共有峰的峰面积绘制主成分分析得分图, 其结果与聚类分析结果一致, 广东产区的S1~S3样品聚为一类, 福建产区S4~S6样品聚为一类, 剩余7批安徽地区样品基本聚为一类, 结果见图4。分类结果与药材产地相关性较大, 表明不同地区石龙芮药材化学成分含量上存在差异。

表3 石龙芮样品主成分特征值及方差贡献率

Tab. 3 Principal component eigenvalues and variance contribution rate of *Ranunculus sceleratus* L.

成分	特征值	方差贡献率/%	累计方差贡献率/%
1	8.45	42.26	42.26
2	4.61	23.06	65.32
3	2.46	12.29	77.61
4	1.98	9.88	87.49
5	1.29	6.44	93.93

表4 石龙芮样品主成分因子载荷矩阵

Tab. 4 Load matrix of principal component factor of *Ranunculus sceleratus* L. samples

峰号	主成分1	主成分2	主成分3	主成分4	主成分5
1	-0.464	-0.660	0.136	-0.181	0.494
2	0.906	-0.008	-0.044	0.090	-0.172
3	0.307	0.456	-0.011	0.410	0.626
4	0.966	-0.073	-0.114	-0.138	-0.089
5	0.949	-0.210	-0.152	-0.059	-0.057
6	0.943	-0.070	-0.038	0.062	-0.062
7	0.665	0.085	0.694	-0.211	0.036
8	0.398	0.418	0.793	-0.060	0.076
9	-0.474	0.331	0.540	0.248	0.398
10	0.659	0.547	0.456	-0.090	0.159
11	0.890	0.222	0.104	-0.385	0.073
12	0.119	0.836	-0.040	-0.420	0.033
13	0.200	0.677	-0.393	-0.467	0.242
14	0.298	0.095	-0.623	-0.418	0.522
15	0.743	0.221	-0.081	0.604	-0.035
16	0.908	-0.011	-0.298	-0.263	0.029
17	-0.365	0.824	-0.027	0.365	0.014
18	-0.412	0.832	-0.275	0.157	-0.076
19	0.836	-0.116	-0.094	0.413	0.185
20	-0.167	0.821	-0.228	0.403	0.196

2.3.7 正交偏最小二乘判别分析 (orthogonal partial least-squares discrimination analysis, OPLS-DA)

为了进一步探究不同产地批次产生差异的主要标志物, 采用SIMCA-P 14.0软件对13批石龙芮样

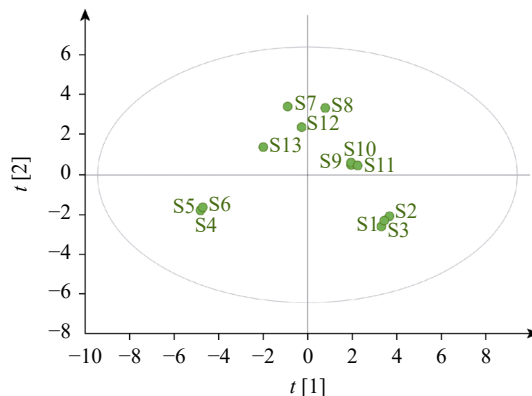


图4 13批石龙芮样品PCA得分图

Fig. 4 PCA score of 13 batches of *Ranunculus sceleratus* L. samples

品进行OPLS-DA判别分析, 以20个共有峰的峰面积为变量, 得到 $R^2X=0.801$, $R^2Y=0.953$, $Q^2=0.877$, 表明所建立的模型稳定可靠, 不同地区石龙芮药材样品明显分为3类, 与主成分分析结果基本一致, 见图5。

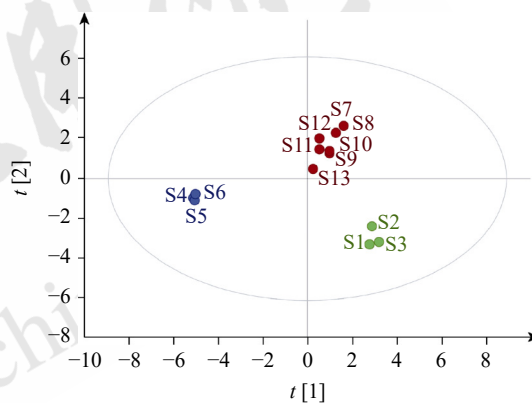


图5 13批石龙芮样品OPLS-DA得分图

Fig. 5 OPLS-DA score of 13 batches of *Ranunculus sceleratus* L. samples

2.4 5种成分含量测定

2.4.1 线性关系考察 精密吸取混合对照品溶液, 用甲醇稀释成不同质量浓度的系列混合对照品溶液, 进样分析, 记录峰面积。以峰面积为纵坐标(y), 对照品质量浓度为横坐标(x), 进行线性回归, 绘制标准曲线, 见表5。

2.4.2 仪器精密度试验 取混合对照品溶液, 按“2.1”项下色谱条件连续进样测定6次, 记录各对照品色谱峰面积, 计算得原儿茶醛、咖啡酸、阿魏酸、金丝桃苷和异槲皮苷峰面积的RSD分别为1.58%, 2.33%, 0.78%, 0.98%, 1.36%, 仪器精密度良好。

表5 石龙芮中5个成分的线性关系考察结果

Tab. 5 Linear relationship of 5 components in *Ranunculus sceleratus* L. samples

成分	回归方程	r	线性范围/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$
原儿茶醛	$y=18\ 624x-3\ 070.7$	0.999 6	0.52~8.28
咖啡酸	$y=40\ 852x-7\ 983.1$	0.999 2	0.63~10.03
阿魏酸	$y=46\ 478x-7\ 991.6$	0.999 8	0.89~14.22
金丝桃苷	$y=10\ 500x-3\ 309.2$	0.999 4	0.76~12.19
异槲皮苷	$y=8\ 396.5x-3\ 618.2$	0.999 0	0.66~10.56

2.4.3 稳定性试验 取石龙芮样品(编号: S7)供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件分别于0, 2, 4, 8, 12, 24 h进样测定分析,计算得到原儿茶醛、咖啡酸、阿魏酸、金丝桃苷和异槲皮苷峰面积的RSD分别为1.55%, 2.50%, 0.86%, 1.48%, 1.77%,表明供试品溶液在24 h内稳定性良好。

2.4.4 重复性试验 取同一批次石龙芮样品(编号: S7)6份,按“2.2.1”项下方法平行制备供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件,进样分析,记录各对照品色谱峰面积。结果表明,原儿茶醛、咖啡酸、阿魏酸、金丝桃苷和异槲皮苷峰面积的RSD分别为3.11%, 1.53%, 0.65%, 1.69%, 1.41%,该方法重复性良好。

2.4.5 加样回收率试验 取已知含量的石龙芮样品(编号: S7)6份,每份约0.25 g,精密称定,分别按已知成分含量的100%加入原儿茶醛、咖啡酸、阿魏酸、金丝桃苷和异槲皮苷的对照品溶液,按“2.2.1”项下方法平行制备供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件进样测定,计算得到原儿茶醛、咖啡酸、阿魏酸、金丝桃苷和异槲皮苷的回收率分别为98.28%, 97.55%, 98.89%, 97.78%和97.24%,RSD依次为0.49%, 0.81%, 0.96%, 0.80%, 0.58%,表明回收率良好,见表6。

2.4.6 样品含量测定 将收集到的13批不同地区石龙芮药材,按“2.2.1”项下方法制备供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件进样测定,依照外标法计算原儿茶醛、咖啡酸、阿魏酸、金丝桃苷和异槲皮苷这5种指标成分的含量,测定结果见表7。

3 讨论

3.1 提取条件的选择

本实验首先考察了100%甲醇、80%甲醇、60%甲醇为提取溶剂对石龙芮药材指纹图谱的影响,结果表明,相比于60%甲醇提取物,80%和

表6 各成分加样回收率试验结果

Tab. 6 Results of recovery tests for various constituents

成分	样品量/	加入量/	测得量/	回收率/	平均回收率/	RSD/
	mg	mg	mg	%	%	%
原儿茶醛	0.031 5	0.031 0	0.062 1	98.71	98.28	0.49
	0.030 7	0.031 0	0.061 2	98.39		
	0.034 8	0.031 0	0.065 1	97.74		
	0.034 6	0.031 0	0.064 9	97.74		
	0.031 0	0.031 0	0.061 7	99.03		
	0.030 7	0.031 0	0.061 1	98.06		
咖啡酸	0.039 1	0.041 5	0.080 1	98.80	97.55	0.81
	0.038 6	0.041 5	0.079 3	98.07		
	0.034 5	0.041 5	0.075 1	97.83		
	0.037 7	0.041 5	0.077 7	96.39		
	0.036 3	0.041 5	0.076 5	96.87		
	0.039 7	0.041 5	0.080 1	97.35		
阿魏酸	0.015 0	0.016 5	0.031 5	100.00	98.89	0.96
	0.013 8	0.016 5	0.030 0	98.18		
	0.013 9	0.016 5	0.030 1	98.18		
	0.014 2	0.016 5	0.030 7	100.00		
	0.013 5	0.016 5	0.029 9	99.39		
	0.014 6	0.016 5	0.030 7	97.58		
金丝桃苷	0.010 6	0.012 0	0.022 4	98.33	97.78	0.80
	0.009 3	0.012 0	0.021 0	97.50		
	0.009 9	0.012 0	0.021 6	97.50		
	0.009 6	0.012 0	0.021 2	96.67		
	0.011 1	0.012 0	0.022 8	97.50		
	0.010 1	0.012 0	0.022 0	99.17		
异槲皮苷	0.013 2	0.014 5	0.027 2	96.55	97.24	0.58
	0.014 2	0.014 5	0.028 2	96.55		
	0.013 8	0.014 5	0.028 0	97.93		
	0.014 1	0.014 5	0.028 3	97.93		
	0.014 7	0.014 5	0.028 8	97.24		
	0.014 5	0.014 5	0.028 6	97.24		

表7 13批石龙芮样品中5个成分的含量测定结果(n=3)

Tab. 7 Content determination results of 5 components in 13 batches of *Ranunculus sceleratus* L. samples(n=3) $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$

编号	原儿茶醛	咖啡酸	阿魏酸	金丝桃苷	异槲皮苷
S1	0.035	0.024	0.016	0.021	0.030
S2	0.034	0.022	0.015	0.016	0.031
S3	0.032	0.024	0.016	0.018	0.031
S4	0.021	0.062	0.017	0.051	0.086
S5	0.019	0.058	0.018	0.048	0.086
S6	0.017	0.070	0.019	0.047	0.083
S7	0.016	0.042	0.029	0.025	0.050
S8	0.019	0.054	0.024	0.045	0.056
S9	0.023	0.043	0.022	0.021	0.032
S10	0.023	0.042	0.022	0.020	0.028
S11	0.024	0.010	0.010	0.043	0.043
S12	0.025	0.050	0.019	0.039	0.058
S13	0.027	0.018	0.024	0.032	0.041

100% 甲醇提取物的谱图信息更加丰富, 考虑节约成本和环保, 选择 80% 甲醇作为提取溶剂。考察了超声提取法及回流提取法对石龙芮药材指纹图谱的影响, 结果发现 2 种提取方式对石龙芮药材指纹图谱信息无明显差异, 考虑到实验操作难度, 选择超声提取方法。

3.2 色谱条件的选择

采用 PDA 检测器在 190~800 nm 波长内进行扫描, 发现 320 nm 波长下各成分有较好的紫外吸收, 色谱信息丰富, 故选择 320 nm 作为检测波长。分别考察了不同流动相系统(乙腈-0.1% 磷酸水溶液、甲醇-0.1% 磷酸水溶液), 不同柱温(25, 30, 35 °C) 等条件, 由于石龙芮药材成分较多, 各成分在不同条件下各有优劣, 综合考虑, 最终色谱条件采用甲醇-0.1% 磷酸水溶液、柱温 25 °C、检测波长 320 nm, 所得色谱图信息丰富, 基线稳定。

3.3 指纹图谱的建立及分析

本实验建立的石龙芮 HPLC 指纹图谱标定了 20 个共有峰, 并采用对照品指认了其中 5 个色谱峰分别为原儿茶醛、咖啡酸、阿魏酸、金丝桃苷和异槲皮苷。通过聚类分析、主成分分析及 OPLS-DA 分析, 发现 13 批石龙芮按照不同来源地可分成 3 类, 说明不同地区的石龙芮药材可能存在一定的差异。

3.4 含量分析

本实验前期共收集 12 种对照品, 在本色谱条件下检测出 5 种成分(原儿茶醛、咖啡酸、阿魏酸、金丝桃苷、异槲皮苷), 其他成分响应较小, 采用外标法对其进行定量分析。本研究建立了石龙芮药材的 HPLC 指纹图谱和含量测定方法, 为石龙芮中酚酸类和黄酮类成分的含量测定提供依据, 为该药材质量标准的完善提供参考。

4 结论

石龙芮药材目前没有统一的质量标准, 少数地方中药饮片炮制规范仅记载石龙芮的功能主治、性味归经和性状鉴别等传统项目。石龙芮化学成分复杂多样, 单凭借一种或几种化学成分不足以表明其品质, 而指纹图谱的应用可以反映样品的整体质量。本研究建立了石龙芮药材的 HPLC 中药指纹图谱及 5 种化学成分含量测定的方

法, 方法简单, 快速、灵敏度高、重复性好, 专属性强, 为石龙芮的质量评价提供有效的参考, 也为其进一步资源开发及利用提供依据。

REFERENCES

- [1] GAO X Z, ZHOU C X, ZHANG S L, et al. Studies on the chemical constituents in herb of *Ranunculus sceleratus*[J]. Chin J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2005, 30(2): 45-47.
- [2] PENG T, XING Y J, ZHANG Q J, et al. Chemical constituents in herb of *Ranunculus sceleratus*[J]. Chin J Exp Tradit Med Form(中国实验方剂学杂志), 2011, 17(6): 66-67.
- [3] CAO S S, HU M, YANG L L, et al. Chemical constituent analysis of *Ranunculus sceleratus* L. using ultra-high-performance liquid chromatography coupled with quadrupole-orbitrap high-resolution mass spectrometry[J]. *Molecules*, 2022, 27(10): 3299.
- [4] PRIETO J M, RECIO M C, GINER R M, et al. Pharmacological approach to the pro- and anti-inflammatory effects of *Ranunculus sceleratus* L.[J]. *J Ethnopharmacol*, 2003, 89(1): 131-137.
- [5] SOLANKI S, KRISHNA PRASAD D A V, SINGH A. Antioxidant determination and thin layer chromatography of extract withania somnifera, *Terminalia arjuna*, *Bacopa monnieri*, *Ranunculus sceleratus* and *Acalypha indica*[J]. *Eur J Mol Clin Med*, 2020, 7(11): 4394-4408.
- [6] ZHANG Z Y, MIAO Y R, XU M, et al. TianJiu therapy for α -naphthyl isothiocyanate-induced intrahepatic cholestasis in rats treated with fresh *Ranunculus sceleratus* L.[J]. *J Ethnopharmacol*, 2020(248): 112310.
- [7] ZHANG Y, TAO L C, JIANG L Q, et al. Pharmacognostical study of *Ranunculus sceleratus* L.[J]. *J Yanbian Univ(Nat Sci Edit)*(延边大学学报:自然科学版), 2020, 46(2): 156-159.
- [8] HUANG Q, SHAO Z Y, WU D L, et al. Improvement researches on quality standard of *Anemarrhenae Rhizoma* and its raw processed products[J]. *Chin J Chin Mater Med(中国中药杂志)*, 2020, 45(23): 5701-5711.
- [9] HUANG N N, LI J, PU J X, et al. Study on HPLC fingerprint of *Codonopsis Radix* combined with multiple chemical pattern recognition[J]. *Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学)*, 2022, 39(16): 2103-2111.
- [10] LIU M, XIAO W Z, ZHANG H, et al. Quality control strategies of medicine food homology materials based on fingerprint profiling and chemometrics: *Citri Reticulata Pericarpium* as an example[J]. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc*, 2023(286): 121968.
- [11] TAN G Y, HUANG Q, SHEN Q H, et al. Rapid fingerprint analysis of *Alpiniae Katsumadai Semen* by HPLC[J]. *Pharm Today(今日药学)*, 2022, 32(6): 409-411, 417.
- [12] FAN X Y, HONG T T, YANG Q L, et al. Quality assessment of fried licorice based on fingerprints and chemometrics[J]. *Food Chem*, 2022(378): 132121.
- [13] SONG Q, LIU H, WANG T M, et al. Quality evaluation of leaves of *Juglans mandshurica* based on combinative methods of HPLC fingerprint and multi-components determination and chemical pattern recognition[J]. *Chin Tradit Herbal Drugs(中草药)*, 2022, 53(7): 2143-2149.

收稿日期: 2022-09-13

(本文责编: 沈倩)