

基于 HPLC 指纹图谱和化学计量学的不同产地雪菊质量评价

程伟^{1a}, 薛文静², 陈新梅^{1a*}, 赵元^{1b}(1.山东中医药大学, a.药学院, b.实验室管理处, 济南 250355; 2.青岛市食品药品检验研究院, 山东 青岛 266071)

摘要: 目的 建立雪菊 HPLC 指纹图谱, 结合化学计量学, 测定 4 种成分含量, 评价不同产地雪菊质量。方法 采用依利特 SinoChrom ODS-BP C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm), 以乙腈-0.1%磷酸溶液为流动相, 梯度洗脱; 流速为 0.6 mL·min⁻¹; 检测波长为 295 nm; 柱温为 30 ℃; 建立不同产地雪菊指纹图谱, 进行相似度评价、聚类分析、主成分分析、偏最小二乘法-判别分析, 结合变量重要性投影值筛选指认主要差异成分, 进行含量测定。**结果** 12 批雪菊指纹图谱含 21 个共有峰, 所有样品与对照图谱相似度均≥0.942; 经聚类分析和主成分分析, 12 批雪菊聚为 3 类; 偏最小二乘法-判别分析结果与聚类分析一致, 变量重要性投影值筛选的 4 个主要差异成分含量分别为马利昔 40.05~61.25 mg·g⁻¹, 黄诺马昔 7.44~19.82 mg·g⁻¹, 芦丁 0.85~2.03 mg·g⁻¹, 绿原酸 2.56~9.73 mg·g⁻¹。**结论** 建立的指纹图谱分析与含量测定方法可靠、重复性好, 为雪菊的整体质量评价提供了参考。

关键词: 雪菊; 指纹图谱; 化学计量学; 含量测定; 质量评价

中图分类号: R917.101

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2022)11-1444-06

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2022.11.008

引用本文: 程伟, 薛文静, 陈新梅, 等. 基于 HPLC 指纹图谱和化学计量学的不同产地雪菊质量评价[J]. 中国现代应用药学, 2022, 39(11): 1444-1449.

Quality Evaluation of *Coreopsis tinctoria* from Different Producing Areas Based on HPLC Fingerprint and Chemometrics

CHENG Wei^{1a}, XUE Wenjing², CHEN Xinmei^{1a*}, ZHAO Yuan^{1b}(1.Shandong University of Traditional Chinese Medicine, a.College of Pharmacy, b.Laboratory Management, Jinan 250355, China; 2.Qingdao Research Institute for Food and Drug Control, Qingdao 266071, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish HPLC fingerprint of *Coreopsis tinctoria*, so as to evaluate the quality of *Coreopsis tinctoria* from different areas by content determination of four components combined with chemometrics. **METHODS** Elite SinoChrom ODS-BP C₁₈ column(4.6 mm×250 mm, 5 μm) was used, the mobile phase was acetonitrile-0.1% phosphoric acid solution, gradient elution, the flow rate was 0.6 mL·min⁻¹, the detection wavelength was 295 nm, and the column temperature was 30 ℃. The fingerprint of *Coreopsis tinctoria* from different producing areas was established, and the similarity evaluation, cluster analysis(CA), principal component analysis(PCA) and partial least square discriminant analysis(PLS-DA) were carried out. Combined with the projectionvalue of variables(VIP), the main difference components were identified and the content was determined. **RESULTS** The fingerprints of 12 batches of *Coreopsis tinctoria* contained 21 common peaks, and the similarity between all samples and the control map was ≥0.942. By CA analysis and PCA analysis, 12 batches of *Coreopsis tinctoria* were grouped into 3 groups. The results of PLS-DA analysis were consistent with those of CA analysis. The contents of four main differential components selected by VIP value were marinoside 40.05~61.25 mg·g⁻¹, flavanomanthin 7.44~19.82 mg·g⁻¹, rutin 0.85~2.03 mg·g⁻¹, chlorogenic acid 2.56~9.73 mg·g⁻¹, respectively. **CONCLUSION** The fingerprint analysis and content determination method established in this experiment is reliable and reproducible, which provides a basis for the overall quality evaluation of *Coreopsis tinctoria*.

KEYWORDS: *Coreopsis tinctoria*; fingerprint; chemometrics; content determination; quality evaluation

雪菊为菊科金鸡菊属植物两色金鸡菊 *Coreopsis tinctoria* Nutt.的干燥头状花序, 俗称“血菊”, 维吾尔语称为“古丽恰尔”(Gulqai)^[1-2], 始载《新华本草纲要》, 味甘、性平, 归肝与大肠

经, 具有清湿热、解毒消痈之功效^[3]。雪菊原产于美国中西部地区, 现于中国新疆部分地区大面积栽培, 且多生长在雪线>3 000 m 处^[4-5]。现代研究表明^[6-10], 雪菊含黄酮、酚酸、苯丙素、聚炔、

基金项目: 山东省中医药科技发展计划项目(2019-0022)

作者简介: 程伟, 男, 硕士生 E-mail: 1223966167@qq.com
chenxinmei@sducm.edu.cn

*通信作者: 陈新梅, 女, 博士, 副教授, 硕导 E-mail:

多糖、皂苷、脂肪酸、氨基酸、挥发油等成分，具有抗衰老、抗氧化、降血压、降血脂、降血糖、抗炎及抗肿瘤等药理作用。目前针对雪菊化学成分以及药理作用研究较多，指纹图谱及不同产地雪菊质量研究较少。在现有指纹图谱研究中，大部分仅建立了指纹图谱，缺少指纹图谱数据分析^[11-15]，或雪菊作为次变量进行分析研究^[16]。故本研究收集不同产地雪菊，采用 HPLC 建立指纹图谱，对 HPLC 指纹图谱数据进行深入挖掘，通过化学计量学方法，对 4 个产地雪菊进行整体评价，并依据差异成分测定其含量，通过指纹图谱的模糊性、整体性特征结合含量测定的准确性特征，更好地反映不同产地雪菊整体质量，以期为雪菊质量评价研究提供依据。

1 仪器与试剂

LC-16 型高效液相色谱仪(日本岛津公司); MS105DU 十万分之一电子天平(瑞士梅特勒公司); FA1004 万分之一电子天平(上海舜宇衡平科学仪器有限公司); KQ-250DE 数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司); 750T 多功能粉碎机(西厨电器有限公司)。

绿原酸(批号: Y20A11K111541; 纯度 $\geq 98\%$)、芦丁(批号: Y16M9S61523; 纯度 $\geq 98\%$)均购自上海源叶生物科技有限公司; 黄诺马苷(批号: 161205; 纯度 $\geq 98\%$)、马里苷(批号: 161019; 纯度 $\geq 98.5\%$)均购自成都昂赛斯生物科技有限公司; 乙腈(色谱纯)、甲醇(色谱纯)均购自山东禹王和天下新材料有限公司; 磷酸(色谱纯, 天津市科密欧化学试剂有限公司); 实验用水为纯净水。

12 批雪菊购自新疆、青海、西藏、云南, 经山东中医药大学冯帅副教授鉴定为菊科金鸡菊属两色金鸡菊(*Coreopsis tinctoria* Nutt.)的头状花序, 信息见表 1。

2 方法与结果

2.1 对照品溶液的制备

取绿原酸、黄诺马苷、芦丁、马里苷对照品适量, 精密称定, 加甲醇溶解, 配制成浓度分别为 98, 156, 78, 378 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的对照品溶液。

2.2 供试品溶液的制备^[17]

称取雪菊粉末(过三号筛)1.00 g, 置圆底烧瓶中, 加入体积分数 60% 的乙醇 67 mL, 于 80 $^{\circ}\text{C}$ 水浴锅回流提取 21 min, 提取 3 次, 合并滤液, 抽滤, 加 60% 乙醇定容至 200 mL, 取定容后溶液过 0.22 μm 微孔滤膜过滤, 即得。

表 1 雪菊样品信息

Tab. 1 Sample information of *Coreopsis tinctorial*

批次	产地	批号
S1	新疆克里阳	20200807
S2	新疆库尔勒	20200726
S3	新疆克里阳	20191014
S4	青海西宁	20200715
S5	青海西宁	20200305
S6	青海都兰	20200805
S7	云南昆明	20191201
S8	云南丽江	20200727
S9	云南丽江	20200708
S10	西藏林芝	20200801
S11	西藏林芝	20200724
S12	西藏拉萨	20200722

2.3 色谱条件

依利特 SinoChrom ODS-BP C_{18} 色谱柱 (4.6 mm $\times$ 250 mm, 5 μm); 流动相为乙腈(A)-0.1% 磷酸水溶液(B), 梯度洗脱(0~5 min, 5% $\rightarrow$ 21%A; 5~35 min, 21% $\rightarrow$ 27%A; 35~50 min, 27% $\rightarrow$ 44%A; 50~60 min, 44% $\rightarrow$ 100%A; 60~65 min, 100%A); 流速 0.6 mL $\cdot\text{min}^{-1}$; 柱温 30 $^{\circ}\text{C}$; 检测波长 295 nm; 进样量 20 μL 。

2.4 雪菊指纹图谱的建立

2.4.1 方法学考察 取同一供试品溶液(S1), 按“2.3”项下色谱条件连续进样 6 次, 以 10 号色谱峰为参照峰(S), 计算得到各共有峰相对保留时间为 0.09%~0.73%, 相对峰面积 RSD 为 0.51%~2.81%; 取同一样品(S1)6 份, 按“2.2”项下配制供试品溶液, 按“2.3”项下色谱条件进样, 以 10 号色谱峰为参照峰(S), 计算得到各共有峰相对保留时间的 RSD 为 0.15%~2.22%, 相对峰面积 RSD 为 0.57%~2.75%, 取同一供试品溶液(S1), 按“2.3”项下色谱条件, 分别于 0, 8, 16, 24, 36, 48 h 进样检测, 以 10 号色谱峰为参照峰(S), 计算得到各共有峰相对保留时间的 RSD 为 0.14%~1.12%, 相对峰面积 RSD 为 0.68%~2.92%, 表明仪器精密度、供试品溶液稳定性和方法重复性均良好。

2.4.2 指纹图谱的建立及相似度评价 取 S1~S12 雪菊样品, 按“2.2”项下方法制备供试品溶液, 按“2.3”项下色谱条件分别进样, 记录色谱图, 将数据导入《中药色谱指纹图谱相似度评价系统》(2012 版), 设置 S1 为参照图谱, 时间窗宽度为 0.1 min, 采用中位数法, 进行多点校正与全谱峰匹配, 生成雪菊指纹图谱及对照图谱(图 1)。共标定 21 个共有峰, S1~S12 雪菊指纹图谱与对照图谱相似度分别为 0.994, 0.997, 0.978, 0.993, 0.990,

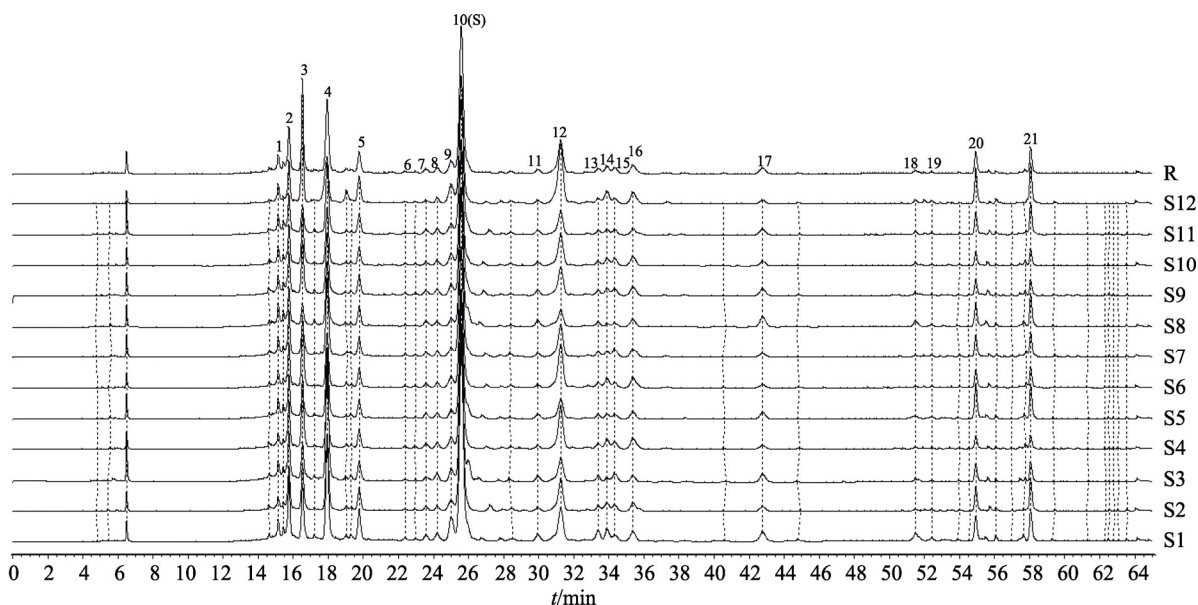


图1 12批雪菊药材的HPLC指纹图谱

R-对照指纹图谱。

Fig. 1 HPLC fingerprints of twelve batches of *Coreopsis tinctorial*

R-Reference fingerprint.

0.990, 0.997, 0.983, 0.997, 0.997, 0.993, 0.942, 相似度范围为 0.942~0.997, 表明各产地雪菊指纹图谱基本一致, 质量相对稳定。

2.5 指纹图谱的化学计量学研究

2.5.1 聚类分析 将 12 批雪菊样品中 21 个共有峰面积导入 SPSS 25.0 软件, 选择组间联接聚类方法, 平方欧式距离(d)为测量区间, 进行系统聚类分析, 见图 2。以 $d=15$ 划分, 共聚为 3 类: S12(西藏拉萨)单独聚为一类; S1(新疆克里阳)与 S3(新疆克里阳)聚为一类; S2(新疆库尔勒)、S4~S6(青海)、S7~S9(云南)、S10~S11(西藏林芝)共聚为一类。

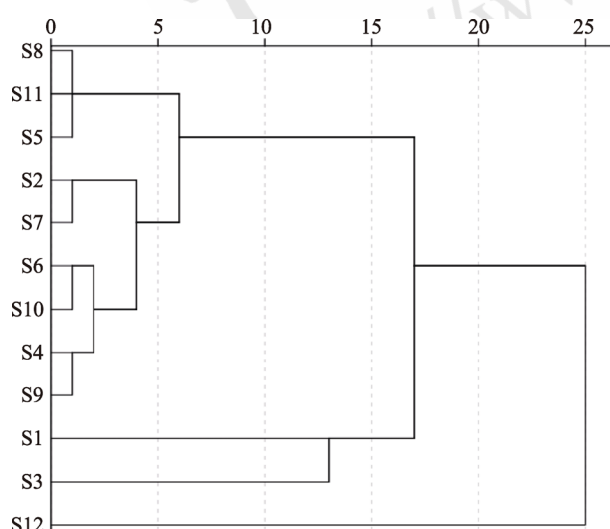


图2 聚类分析结果

Fig. 2 Result of cluster analysis

2.5.2 主成分分析^[18] 将 12 批雪菊样品中 21 个共有峰面积导入 SPSS 25.0 软件, 进行标准化处理, 进行主成分分析, 见表 2。以特征值>1 为筛选条件, 共得出 4 个主成分, 累计贡献率达到 87.964%, 可以反映雪菊样品中大多数变异信息。

表2 4个主成分的特征值与方差百分比

Tab. 2 Eigenvalues and variance percentage of the 4 principal components

主成分	特征值	方差百分比/%	累积方差百分比/%
1	8.604	40.973	40.973
2	4.370	20.808	61.782
3	3.846	18.316	80.098
4	1.652	7.867	87.964

利用特征值与标准化处理后的共有峰面积计算特征向量, 可得出 4 个主成分表达式, 见表 3。通过该表达式计算各样品主成分得分, 按方差百分比计算综合得分, 得到不同产地雪菊综合得分表, 见表 4。

2.5.3 偏最小二乘法判别分析(partial least square discriminant analysis, PLS-DA) 将 12 批雪菊 21 个标准化共有峰峰面积导入 SIMCA-P 14.1 软件中, 选择 PLS-DA 分析, 生成得分散点图与 VIP 值图^[19], 见图 3~4。PLS-DA 得分图可看出 12 批样品被分为 3 类: S1、S3 一类, S12 一类, S2、S4~S11 一类, 与聚类分析结果一致。VIP 值表示每个变量对差异所起的贡献值, 在 95%置信区间

表 3 4 个主成分表达式

Tab. 3 Expression of the 4 principal components

主成分	表达式
Y_1	$0.260X_1+0.168X_2-0.275X_3+0.258X_4-0.101X_5+0.287X_6+0.264X_7+0.271X_8-0.114X_9+0.166X_{10}+0.254X_{11}-0.298X_{12}+0.138X_{13}-0.299X_{14}+0.011X_{15}-0.312X_{16}+0.288X_{17}+0.192X_{18}+0.019X_{19}-0.078X_{20}-0.059X_{21}$
Y_2	$0.027X_1+0.294X_2+0.088X_3+0.188X_4+0.107X_5+0.220X_6-0.098X_7+0.065X_8+0.079X_9+0.251X_{10}-0.175X_{11}+0.088X_{12}+0.101X_{13}+0.068X_{14}+0.366X_{15}+0.066X_{16}-0.158X_{17}-0.322X_{18}-0.353X_{19}-0.331X_{20}-0.416X_{21}$
Y_3	$0.244X_1+0.223X_2+0.224X_3+0.073X_4+0.380X_5-0.101X_6-0.015X_7+0.160X_8+0.455X_9+0.274X_{10}-0.015X_{11}+0.191X_{12}+0.342X_{13}+0.192X_{14}-0.060X_{15}+0.002X_{16}+0.091X_{17}+0.180X_{18}+0.320X_{19}+0.148X_{20}+0.124X_{21}$
Y_4	$0.133X_1-0.017X_2-0.027X_3+0.342X_4+0.292X_5+0.045X_6+0.017X_7+0.171X_8-0.080X_9-0.124X_{10}-0.236X_{11}+0.003X_{12}-0.418X_{13}-0.147X_{14}+0.373X_{15}-0.171X_{16}-0.194X_{17}-0.184X_{18}+0.130X_{19}+0.378X_{20}+0.257X_{21}$

表 4 12 批雪菊主成分得分与综合得分

Tab. 4 Principal component scores and comprehensive scores of 12 batches of *Coreopsis tinctoria*

编号	Y_1 得分	Y_2 得分	Y_3 得分	Y_4 得分	综合得分
S1	2.76	2.12	4.16	-1.89	2.19
S2	-1.71	-0.31	-0.52	0.37	-0.83
S3	4.17	1.85	0.89	2.34	2.44
S4	-1.75	2.42	-0.74	-0.55	-0.39
S5	1.90	-2.40	-0.45	0.54	0.24
S6	-3.23	0.67	-1.62	-1.11	-1.57
S7	0.11	1.76	-1.13	1.34	0.31
S8	3.19	-4.01	-0.62	-1.37	0.25
S9	0.82	0.61	-0.77	-1.20	0.23
S10	-1.94	1.05	-1.90	-0.35	-0.95
S11	1.42	-1.49	-1.02	0.82	0.15
S12	-5.76	-2.27	3.70	1.06	-2.07

内, VIP>1.0 的变量发挥着重要的作用, VIP 值介于 0.5~1.0 的变量其重要性级别取决于样品量。21 个变量的 VIP 值大小依次为峰 10(1.90, 马里昔)>峰 4(1.58, 黄诺马昔)>峰 13(1.35)>峰 2(1.30)>峰 8(1.20)>峰 17(1.19)>峰 6(芦丁, 1.147)>峰 16(1.10)>峰 1(0.93)>峰 12(0.89)>峰 7(0.87)>峰 14(0.84)>峰 11(0.83)>峰 3(0.79, 绿原酸)>峰 15(0.69)>峰 20(0.66)>峰 21(0.62)>峰 18(0.33)>峰 5(0.21)>峰 19(0.19)>峰 9(0.11)。指认了部分 VIP 值较大的峰, 包括峰 10(马里昔)、峰 4(黄诺马昔)、峰 6(芦丁)、峰 3(绿原酸), 并选取该 4 种化合物进行含量测定。

2.6 含量测定

2.6.1 线性关系考察 取“2.1”项下对照品溶液, 配制 6 份不同浓度的混合对照品溶液, 按“2.3”项下色谱条件进行测定, 以峰面积(Y)为纵坐标, 质量浓度(X)为横坐标, 绘制标准曲线, r 均>0.999 6, 表明各成分在相应定量范围内线性关系良好, 见表 5。

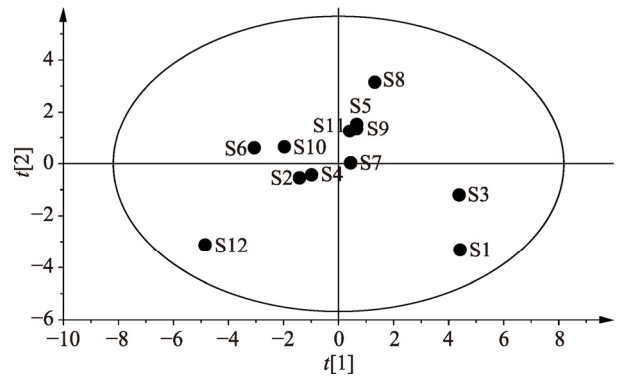


图 3 雪菊样品 PLS-DA 得分图

Fig. 3 PLS-DA score plot for *Coreopsis tinctoria* samples

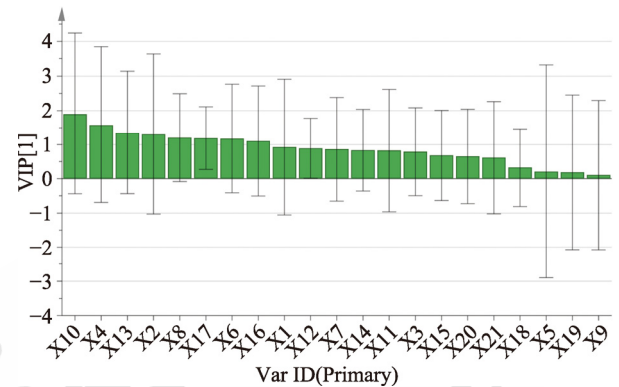


图 4 PLS-DA VIP 值图

Fig. 4 VIP plot of PLS-DA

表 5 4 个成分的回归方程、相关系数和线性范围($n=6$)

Tab. 5 Regression equations, correlation coefficients and linear ranges of 4 constituents($n=6$)

成分	回归方程	r	线性范围/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$
绿原酸	$Y=88\ 667X-58\ 900$	0.999 7	0.98~98.00
黄诺马昔	$Y=59\ 497X-9\ 490.2$	0.999 9	1.56~156.00
芦丁	$Y=24\ 928X-9\ 558.3$	0.999 6	0.78~78.00
马里昔	$Y=37\ 540X-34\ 819$	0.999 9	3.78~378.00

2.6.2 仪器精密度试验 取同一供试品溶液(S1), 按“2.3”项下色谱条件连续进样 6 次, 用标准曲线法计算各成分含量, 并计算 RSD。结果显示绿原酸、黄诺马昔、芦丁、马里昔的 RSD 分别为 1.03%, 0.96%, 2.56%, 1.59%, 表明仪器精密度良好。

2.6.3 重复性试验 取同一样品(S1)6 份, 按“2.2”项下方法配制供试品溶液, 按“2.3”项下色谱条件进样, 用标准曲线法计算各成分含量, 并计算 RSD。结果显示绿原酸、黄诺马昔、芦丁、马里昔的 RSD 分别为 2.58%, 1.14%, 1.50%, 1.77%, 表明该方法有良好的重复性。

2.6.4 稳定性试验 取同一供试品溶液(S1), 按“2.3”项下色谱条件, 分别于 0, 8, 16, 24, 36,

48 h 进样检测, 用标准曲线法计算各成分含量, 并计算 RSD。结果显示绿原酸、黄诺马苷、芦丁、马里苷的 RSD 分别为 1.43%, 1.85%, 2.48%, 2.30%, 表明所测成分在 48 h 内稳定性较好。

2.6.5 加样回收率试验 精密称取已知含量的雪菊(S1)样品粉末(过三号筛)1.00 g, 平行 6 份, 按“2.2”项下方法制备供试品溶液, 并精密加入已知浓度的绿原酸、黄诺马苷、芦丁和马里苷对照品溶液 4 mL, 按“2.3”项下色谱条件进行测定, 计算回收率。绿原酸、黄诺马苷、芦丁和马里苷的平均加样回收率分别为 99.96%, 100.97%, 102.94%, 102.60%, RSD 分别为 2.13%, 2.96%, 1.74%, 2.21%, 表明方法准确度良好。

2.6.6 样品测定 按“2.2”项下方法制备样品, “2.3”项下色谱条件进样分析, 测定绿原酸、黄诺马苷、芦丁和马里苷的含量, 12 批雪菊含量测定结果见表 6。

表 6 雪菊中 4 个成分的含量测定($\bar{x} \pm s$, $n=3$)
Tab. 6 Contents of 4 constituents in *Coreopsis tinctorial* ($\bar{x} \pm s$, $n=3$) $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$

编号	绿原酸	黄诺马苷	芦丁	马里苷
S1	5.03±0.04	13.56±0.09	1.63±0.03	61.25±0.75
S2	4.54±0.03	11.65±0.32	1.29±0.03	47.45±0.98
S3	3.97±0.11	19.82±0.13	2.03±0.04	50.50±0.47
S4	6.79±0.04	10.86±0.08	1.62±0.03	45.59±0.36
S5	3.08±0.01	12.27±0.05	1.70±0.01	43.89±0.30
S6	6.23±0.04	8.82±0.18	1.41±0.01	41.23±0.70
S7	3.91±0.05	12.70±0.07	1.71±0.05	48.20±0.49
S8	2.56±0.00	10.66±0.17	1.53±0.00	42.01±0.09
S9	5.60±0.11	10.65±0.18	1.71±0.04	46.60±0.43
S10	5.13±0.05	9.74±0.09	1.49±0.02	40.05±0.87
S11	2.99±0.01	11.19±0.19	1.57±0.00	43.13±0.77
S12	9.73±0.08	7.44±0.08	0.85±0.02	40.21±0.22

12 批雪菊中绿原酸含量在 2.56~9.73 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$, 黄诺马苷在 7.44~19.82 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$, 芦丁在 0.85~2.03 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$, 马里苷在 40.05~61.25 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$, 新疆雪菊绿原酸、黄诺马苷、芦丁、马里苷平均含量分别为 4.51, 15.01, 1.65, 53.07 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$, 青海雪菊绿原酸、黄诺马苷、芦丁、马里苷平均含量分别为 5.37, 10.65, 1.58, 43.57 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$, 云南雪菊绿原酸、黄诺马苷、芦丁、马里苷平均含量分别为 4.02, 11.34, 1.65, 45.60 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$, 西藏雪菊绿原酸、黄诺马苷、芦丁、马里苷平均含量分别为 5.95, 9.46, 1.30, 41.13 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$, 其中新疆雪菊黄诺马苷、马里苷含量均较高, 西藏雪菊黄诺马苷、

马里苷含量均较低。

3 讨论

本研究采用课题组优化过的雪菊醇提取工艺, 检测波长考察了 275, 285, 295, 305, 315 nm, 流动相系统考察了甲醇-0.1%磷酸水溶液、乙腈-0.1%磷酸水溶液, 流速考察了 0.6, 0.8, 1.0, 1.2 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 结果表明波长 295 nm, 流动相为乙腈-0.1%磷酸水溶液, 流速为 0.6 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$ 时, 色谱基线平稳, 色谱峰峰形、峰面积及分离度较好。

本研究构建了 12 批雪菊样品 HPLC 指纹图谱, 相似度均>0.940, 共标定 21 个共有峰。聚类分析表明, 新疆克里阳归为一类, 青海、云南、西藏林芝、新疆库尔勒归为一类, 西藏拉萨归为一类。PLS-DA 分析表明, 其分类结果与聚类分析一致, 通过 VIP 值筛选差异性成分, 指认了差异性成分马里苷、黄诺马苷、芦丁与绿原酸。并对马里苷、黄诺马苷、芦丁与绿原酸进行含量测定, 新疆雪菊中马里苷、黄诺马苷含量最高可达 61.25, 19.82 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$, 其余产地则分别介于 40~50, 7~13 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$, 各产地 4 种成分均有差异, 尤以新疆与其他地区含量差异明显。

聚类分析结果中的(S1、S3)类马里苷和黄诺马苷含量均较高, S12 类绿原酸含量较高且芦丁和黄诺马苷含量均较低, (S2、S4~S11)类马里苷、芦丁、黄诺马苷含量浮动偏差较小; 在主成分分析中, S1 和 S3 的综合得分位列前 2 名, S12 综合得分最低, 与聚类分析结果和含量测定结果相符合; 在 PLS-DA 分析中, 可明显看出 S1、S3 位于右下角区域, S12 单独位于左下角区域, S2、S4~S11 位于中心区域, 与聚类分析、主成分分析及含量测定结果相符合。

雪菊的主要活性成分为黄酮类化合物, 马里苷与黄诺马苷是雪菊中主要黄酮类成分, 其中马里苷对 α -葡萄糖苷酶具有较强抑制作用, 是抗氧化和降血糖的主要成分^[20-21]; 黄诺马苷在改善脂质紊乱、治疗糖尿病肾病、调节氧化损伤方面具有重要作用^[22-23]。新疆克里阳雪菊(S1、S3 类)在主要成分马里苷、黄诺马苷含量上高于其余 2 类, 西藏拉萨雪菊(S12 类)芦丁、黄诺马苷含量低于其余 2 类。综上, 可初步判断新疆克里阳雪菊质量较优, 但新疆克里阳与库尔勒雪菊质量差异较大, 云南、青海雪菊批次间质量差异相对较小, 西藏林芝雪菊与拉萨雪菊质量具有一定差异。新疆、

西藏雪菊质量存在批次间差异, 尚需扩大样本量, 减小抽样误差, 以进行进一步评价。

本研究基于 HPLC 建立了 12 个批次雪菊指纹图谱, 结合化学计量学相关知识, 并对差异性成分进行含量测定, 综合评价了新疆、青海、云南、西藏 4 个产地雪菊的质量, 方法可靠, 可以为雪菊的质量评价提供参考。

REFERENCES

- [1] 新疆植物志编辑委员会. 新疆植物志: 第五卷[M]. 乌鲁木齐: 新疆科技卫生出版社, 1999.
- [2] ZHAO W H, ZENG C, QIN D M. Study on the preventive effect and mechanism of Wei medicine Kunlun snow chrysanthemum polysaccharides on carbon tetrachloride-induced acute liver injury in mice[J]. China Pharm(中国药房), 2017, 28(31): 4407-4411.
- [3] REN M M, XIA Y, FENG Z W, et al. Analysis of flavonoids in *Coreopsis tinctoria* by integrating 2D-TLC and HPLC-IT-TOF-MS[J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2019, 44(7): 1403-1409.
- [4] GENG T H, WANG T, GUO Q S, et al. Response surface optimization of purification process for pigment from *Coreopsis tinctoria* by macroporous resins[J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2016, 41(2): 220-225.
- [5] LI Y J, HUANG C R, FU W W, et al. Screening of the active fractions from the *Coreopsis tinctoria* Nutt. Flower on diabetic endothelial protection and determination of the underlying mechanism[J]. J Ethnopharmacol, 2020(253): 112645.
- [6] ZENG X M, HE X Y. Research progress on chemical composition and efficacy of *Coreopsis tinctoria*[J]. Sci Technol Food Indust(食品工业科技), 2019, 40(13): 335-339.
- [7] YAO L, LI J, LI L L, et al. *Coreopsis tinctoria* Nutt ameliorates high glucose-induced renal fibrosis and inflammation via the TGF- β 1/SMADS/AMPK/NF- κ B pathways[J]. BMC Complement Altern Med, 2019, 19(1): 14.
- [8] BEGMATOV N, LI J, BOBAKULOV K, et al. The chemical components of *Coreopsis tinctoria* Nutt. and their antioxidant, antidiabetic and antibacterial activities[J]. Nat Prod Res, 2020, 34(12): 1772-1776.
- [9] ZHANG W S, SUN Q L, ZHENG W, et al. Structural characterization of a polysaccharide from *Coreopsis tinctoria* Nutt. and its function to modify myeloid derived suppressor cells[J]. Int J Biol Macromol, 2019, 126: 926-933.
- [10] HUANG H, ZENG L J, MO Y C, et al. Optimization of ultrasonic extraction of total flavonoids from *Coreopsis tinctoria* nutt. using response surface methodology[J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2015, 32(8): 947-951.
- [11] YUAN H, ZHAO J Y, YANG W J. Establishment of fingerprint for Xinjiang chrysanthemum and analysis on its components by UPLC[J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2015, 46(8): 1223-1226.
- [12] DAI D. Study on the enrichment process and chemical characterization of flavonoids of uyghur medicine snow chrysanthemum[D]. Beijing: Beijing University of Chinese Medicine, 2015.
- [13] HUANG H. Studies on quality assessment of *Coreopsis tinctoria* Flos[D]. Guangzhou: Guangdong Pharmaceutical University, 2016.
- [14] GU W J. Study on the main components and fingerprints of polyacetylene parts of two-color coreopsis flower head[D]. Beijing: Beijing University of Chinese Medicine, 2016.
- [15] LUO Q Z, WU Y N, QI L, et al. Pharmacognosical study of snow chrysanthemum[J]. J Beijing Univ Tradit Chin Med(北京中医药大学学报), 2018, 41(4): 336-341.
- [16] HUANG Y M, SHI Y, HU Y F, et al. Comparative analysis of the chemical components of chrysanthemum from different regions by HPLC combined with chemometrics methods[J]. Chin J Pharm Anal(药物分析杂志), 2016, 36(11): 1941-1951.
- [17] GAO Y, CHEN X M, ZHAO Y, et al. Optimization of extraction for total flavonoids from *Coreopsis tinctoria* nutt. by box-behnken response surface methodology and antioxidant activities[J]. Res Pract Chin Med(现代中药研究与实践), 2019, 33(5): 54-61.
- [18] WANG M J, TANG T T, PAN L H. Quality evaluation of *Trichosanthis Fructus* in different origin based on HPLC fingerprint and chemical pattern recognition[J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2021, 38(8): 919-924.
- [19] YOU M, XIA M Q, YU Y Y, et al. Quality control research of compound Chuipencao decreasing enzyme granules based on fingerprint combined with multi-components chemical pattern analysis[J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2020(21): 2610-2616.
- [20] RAN Z, GUO Y L, WANG L F, et al. Analysis of transport mechanism of flavanone in MDCK monolayer cell model[J]. Chin J Exp Tradit Med Form(中国实验方剂学杂志), 2019, 25(15): 155-160.
- [21] ZHUO B Y, WEI S L, FENG Z W, et al. Comparative study on quality of snow chrysanthemum and its variation type[J]. J Beijing Univ Tradit Chin Med(北京中医药大学学报), 2021(1): 69-77.
- [22] LE L, FU H, LV Q Y, et al. The protective effects of the native flavanone flavanone on neuronal cells damaged by 6-OHDA[J]. Phytomedicine, 2019(53): 193-204.
- [23] ZHANG N N, KANG J S, LIU S S, et al. Flavanone inhibits high glucose-stimulated epithelial-mesenchymal transition in HK-2 cells via targeting spleen tyrosine kinase[J]. Sci Rep, 2020, 10(1): 439. Doi: 10.1038/s41598-019-57360-4.

收稿日期: 2021-05-22

(本文责编: 曹粤锋)