

基于 UPLC 指纹图谱、化学计量学、含量测定和色度值评价钩藤质量

覃晓情¹, 温建云², 楚庆霞², 孙莉琼¹, 高巍², 王康才¹, 唐晓清^{1*}
[1. 南京农业大学园艺学院, 江苏 南京 211800; 2. 华润三九(六安)中药材发展有限公司, 安徽 金寨 518110]

摘要: **目的** 评价钩藤质量。**方法** 建立 UPLC 指纹图谱, 进行聚类分析、主成分分析、正交偏最小二乘判别分析, HPLC 法测定异去氢钩藤碱、去氢钩藤碱、异钩藤碱、钩藤碱含量, 比色法测定总黄酮含量, CRITIC-TOPSIS 法进行综合评价, 测定 ΔL^* 、 Δa^* 、 Δb^* 、 ΔE^*_{ab} , 相关性分析考察活性成分含量与色度值的关系。**结果** 38 批药材指纹图谱中有 10 个共有峰, 指出出其中 8 个, 相似度 0.330~0.977。各批药材聚为 3 类, 4 个主成分累积方差贡献率为 77.937%, 绿原酸、异绿原酸 B 是潜在质量标志物。贵州产药材中 4 种生物碱平均总含量最高, 广西产者中最低; S02 药材中总黄酮含量最高, S21 药材中最低。广西、湖南、贵州、重庆产药材排序较高。颜色差异主要体现在明暗度及黄蓝色调, 黄酮和酚酸可能是颜色形成的主要物质基础。**结论** 本实验将钩藤颜色表征量化, 并将其与活性成分含量相结合, 可全面反映不同产地该药材质量差异, 为完善其质量评价提供参考。

关键词: 钩藤; 质量评价; UPLC 指纹图谱; 聚类分析; 主成分分析; 正交偏最小二乘判别分析; 含量测定; 色度值

中图分类号: R282 文献标志码: A 文章编号: 1001-1528(2026)08-2504-09

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2026.08.002

Quality evaluation of *Uncariae Ramulus cum Uncis* based on UPLC fingerprints, chemometrics, content determination and chromatic values

QIN Xiao-qing¹, WEN Jian-yun², CHU Qing-xia², SUN Li-qiong¹, GAO Wei², WANG Kang-cai¹, TANG Xiao-qing^{1*}
[1. College of Horticulture, Nanjing Agricultural University, Nanjing 211800, China; 2. China Resources Sanjiu (Lu'an) Chinese Herbal Medicine Development Co., Ltd., Jinzhai 518110, China]

ABSTRACT: **AIM** To evaluate the quality of *Uncariae Ramulus cum Uncis*. **METHODS** The UPLC fingerprints were established, after which cluster analysis, principal component analysis and orthogonal partial least squares discriminant analysis were performed, HPLC was adopted in the content determination of isocorynoxine, corynoxine, isorhynchophylline and rhynchophylline, colorimetric method was applied to determining the content of total flavonoids, the comprehensive evaluation was performed by CRITIC-TOPSIS method, ΔL^* , Δa^* , Δb^* and ΔE^*_{ab} were determined, and the relationships between active constituent contents and chromatic values. **RESULTS** There were 10 common peaks in the fingerprints for 38 batches of medicinal materials with the similarities of 0.330-0.977, 8 of which were identified. Various batches of medicinal materials were clustered into 3 types, 4 principal components demonstrated the accumulative variance contribution rate of 77.937%, chlorogenic acid and isochlorogenic acid B were taken as potential quality markers. The average total content of 4 alkaloids in medicinal materials produced in Guizhou was the highest, while that produced in Guangxi was the lowest; the content of total flavonoids in the S02 medicinal material was the highest, while that in the S21 medicinal material was the lowest. The medicinal materials produced in Guangxi, Hunan, Guizhou and Chongqing displayed high rankings. The color differences were mainly reflected in brightness and yellow-blue tone, and flavonoids and

收稿日期: 2025-12-16
基金项目: 国家中医药管理局高水平中医药重点学科建设项目 (zyzdxk-2023293); 企业合作项目 (20231210)
作者简介: 覃晓情 (2002—), 女, 硕士在读, 研究方向为中药品质评价。E-mail: 2024804372@stu.njau.edu.cn
* 通信作者: 唐晓清 (1970—), 女, 博士, 教授, 从事中药资源开发利用及其品质评价研究。E-mail: xqtang@njau.edu.cn

phenolic acids might be the main material basis of color formation. **CONCLUSION** This experiment characterizes and quantifies *Uncariae Ramulus cum Uncis* color, and combines it and active constituent contents, which can comprehensively reflect the quality differences of this medicinal material from different producing areas, and provide a reference for the improvement of its quality evaluation.

KEY WORDS: *Uncariae Ramulus cum Uncis*; quality evaluation; UPLC fingerprints; cluster analysis; principal component analysis; orthogonal partial least squares discriminant analysis; content determination; chromatic values

钩藤药用历史悠久^[1]，临床上常用于治疗心血管、中枢神经系统疾病^[2]，该药材传统鉴别方法以经验判断为主，“双钩、质嫩、紫红”为上品^[3]，但易受主观因素影响，缺乏统一标准。生物碱因其明确的降压^[4-5]、镇静^[6-8]活性，长期被作为钩藤质量评价的核心指标，相关研究大多集中于含量测定^[9-11]、疾病治疗通路^[12-14]、生物合成^[15]等方面。由于单一成分难以反映中药多成分协同作用的特点，故化学指纹图谱日益成为其质量控制的关键手段^[16-18]，但 2025 年版《中国药典》中钩藤检测指标仅为水分、浸出物、总灰分，质量评价体系尚未完善。

随着“辨色论质”理论的发展^[19]，中药材外观色泽与内在成分的关联性成为其质量评价的新方向^[20]。指纹图谱结合化学计量学可全面阐述中药化学特征，而色度分析能实现其外观性状的量化表征。因此，本实验建立钩藤 UPLC 指纹图谱，采用化学计量学筛选质量差异成分，同时对该药材颜色进行量化，结合生物碱、总黄酮含量测定进行综合评价，旨在突破传统经验主观化、评价指标单一化的瓶颈，为其质量评价体系进一步完善提供科学依据。

1 材料

1.1 仪器 电子天平（型号 JT3003D，余姚市金诺天平仪器有限公司）；数控超声波清洗器（型号 F-040SD，深圳福洋科技集团有限公司）；高速冷冻离心机（型号 5810/5810R，德国艾本德股份公司）；超高效液相色谱仪（型号 Waters Acquity TM，美国 Waters 公司）；色差仪（型号 LS170，深圳市林上科技有限公司）。

1.2 试剂 芦丁（批号 S603112537）、异钩藤碱（批号 S216081039）、钩藤碱（批号 S62081960）对照品均购自上海士锋生物科技有限公司；儿茶素（批号 S603112537）、喜果苷（批号 PS012228）对照品均购自成都普思生物科技股份有限公司；绿原酸对照品（批号 B049488）购自上海鸿柏科技有限公司；隐绿原酸（批号 AFCE3004）、异绿原酸 B（批号 AZDG1753）、异去氢钩藤碱（批号

AFCJ2404）对照品均购自成都埃法生物科技有限公司；去氢钩藤碱对照品（批号 S14HB194598）购自上海源叶生物科技有限公司，纯度 $\geq 98\%$ 。乙腈、磷酸均为色谱纯；其余试剂均为分析纯。

1.3 药材 钩藤共 38 批（编号 S01~S38），经南京农业大学唐晓清教授鉴定为茜草科植物钩藤 *Uncaria rhynchophylla* (Miq.) Miq. ex Havil. 的干燥带钩茎枝，具体见表 1。

2 方法与结果

2.1 UPLC 指纹图谱建立

2.1.1 色谱条件 Waters CORTECS UPLC T3 色谱柱（150 mm $\times$ 2.1 mm，1.6 μ m）；流动相 0.2% 磷酸（A）-乙腈（B），梯度洗脱（0~5 min，2% B；5~20 min，2%~10% B；20~35 min，10%~25% B；35~42 min，25% B；42~43 min，25%~40% B；43~55 min，40% B）；体积流量 0.2 mL/min；柱温 35 $^{\circ}$ C；检测波长 245 nm；进样量 2 μ L。

2.1.2 对照品溶液制备 精密称取适量儿茶素、绿原酸、隐绿原酸、异绿原酸 B、去氢钩藤碱、钩藤碱、异钩藤碱、喜果苷对照品适量，甲醇溶解，即得。

2.1.3 供试品溶液制备 取药材粉末（过 3 号筛）约 0.5 g，精密称定，置于具塞锥形瓶中，精密加入 20 mL 70% 甲醇，密塞，称定质量，超声（250 W、40 kHz）处理 30 min，放冷，70% 甲醇补足减失的质量，0.22 μ m 微孔滤膜过滤，取续滤液，即得。

2.1.4 方法学考察

2.1.4.1 精密度试验 取药材粉末(S09) 约 0.5 g，精密称定，按“2.1.3”项下方法制备供试品溶液，在“2.1.1”项色谱条件下进样测定 6 次，1~5 号峰以 2 号峰为参照，6~10 号峰以 8 号峰为参照，测得各共有峰相对保留时间、相对峰面积 RSD 分别为 0.189%~0.477%、2.251%~2.676%，表明仪器精密度良好。

2.1.4.2 重复性试验 取药材粉末(S09) 约 0.5 g，精密称定，按“2.1.3”项下方法制备供试品溶

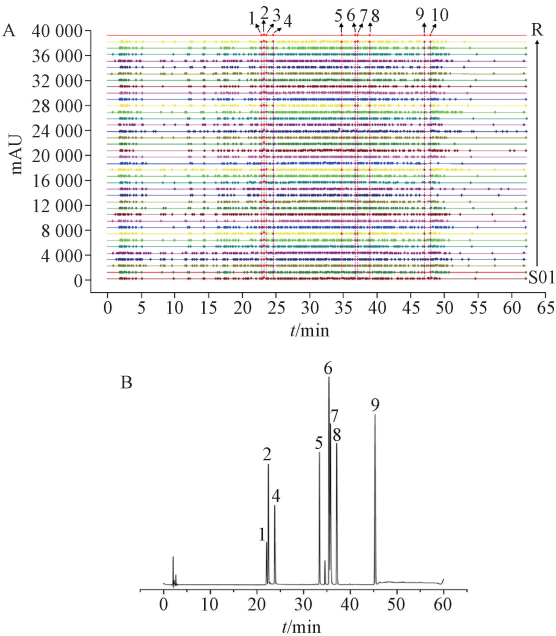
表 1 钩藤信息
Tab. 1 Information of *Uncariae Ramulus cum Uncis*

编号	产地	来源	编号	产地	来源
S01	广西	怀化华逸中药饮片有限公司	S20	湖南	亳州中药材专业市场
S02	广西	亳州中药材专业市场	S21	湖南	亳州中药材专业市场
S03	广西	四川五胜药业集团有限公司	S22	湖南	亳州中药材专业市场
S04	广西	广西玉林中药材市场	S23	湖南	亳州中药材专业市场
S05	广西	广西玉林中药材市场	S24	湖南	亳州中药材专业市场
S06	湖南	安徽协和成药业饮片有限公司	S25	湖南	湖南弘瑞中药饮片有限公司
S07	湖南	江苏华洪药业科技有限公司	S26	湖南	江西碧福源中药饮片有限公司
S08	湖南	广东汇群中药饮片有限公司	S27	湖南	重庆国承堂制药有限公司
S09	湖南	亳州中药材专业市场	S28	贵州	安徽张仲景中医科技有限公司
S10	湖南	亳州中药材专业市场	S29	贵州	四川翼方中药饮片有限公司
S11	湖南	亳州中药材专业市场	S30	贵州	重庆厚捷医药集团有限公司
S12	湖南	亳州中药材专业市场	S31	贵州	四川沱江源药业有限公司
S13	湖南	广西玉林中药材市场	S32	贵州	成都荷花池中药材市场
S14	湖南	河南华夏药材有限公司	S33	江西	亳州中药材专业市场
S15	湖南	亳州中药材专业市场	S34	江西	亳州中药材专业市场
S16	湖南	亳州中药材专业市场	S35	江西	江西九州堂中药饮片有限公司
S17	湖南	亳州中药材专业市场	S36	云南	亳州中药材专业市场
S18	湖南	亳州中药材专业市场	S37	重庆	成都泰康医药科技有限公司
S19	湖南	亳州中药材专业市场	S38	四川	成都鹤祥天药业有限公司

液，在“2.1.1”项色谱条件下进样测定，1~5 号峰以 2 号峰为参照，6~10 号峰以 8 号峰为参照，测得各共有峰相对保留时间、相对峰面积 RSD 分别为 0.204%~0.361%、2.144%~2.597%，表明该方法重复性良好。

2.1.4.3 稳定性试验 取药材粉末(S09) 约 0.5 g，精密称定，按“2.1.3”项下方法制备供试品溶液，室温下于 0、2、4、12、24 h 在“2.1.1”项色谱条件下进样测定，1~5 号峰以 2 号峰为参照，6~10 号峰以 8 号峰为参照，测得各共有峰相对保留时间、相对峰面积 RSD 分别为 0.092%~0.311%、2.082%~2.768%，表明溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.1.5 图谱生成及相似度评价 取 38 批药材，按“2.1.3”项下方法制备供试品溶液，在“2.1.1”项色谱条件下进样测定，将所得数据导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”（2012 版），以 S02 为参照，采用多点矫正、中位数法进行 Mark 峰匹配，得到指纹图谱及对照图谱，见图 1A，发现 10 个共有峰，指认出其中 8 个，见图 1B，再测定相似度，结果见表 2。由此可知，38 批药材指纹图谱相似度为 0.330~0.977，表明其成分种类和含量差异明显；同一产地药材相似度也存在差异，可能与其生长环境及气候条件有关，其中贵州产者(S28~S32) 较接近，可能是因为当地是传统道地产区，拥有较完备的栽培、耕作制度。



1. 儿茶素 2. 绿原酸 4. 隐绿原酸 5. 异绿原酸 B 6. 去氢钩藤碱 7. 异钩藤碱 8. 钩藤碱 9. 喜果苷
1. catechin 2. chlorogenic acid 4. cryptochlorogenic acid
5. isochlorogenic acid B 6. corynoxine 7. isorhynchophylline
8. rhynchophylline 9. vincosamide

图 1 38 批钩藤 UPLC 指纹图谱
Fig. 1 UPLC chromatograms of 38 batches of *Uncariae Ramulus cum Uncis*

2.2 化学计量学

2.2.1 聚类分析 将共有峰面积标准化后导入 SPSS 27.0 软件进行分析，结果见图 2A。由此可

表 2 相似度测定结果

Tab. 2 Results for similarity determination

编号	相似度	编号	相似度
S01	0.894	S20	0.956
S02	0.895	S21	0.907
S03	0.428	S22	0.931
S04	0.363	S23	0.955
S05	0.386	S24	0.878
S06	0.961	S25	0.384
S07	0.951	S26	0.853
S08	0.958	S27	0.370
S09	0.873	S28	0.890
S10	0.354	S29	0.872
S11	0.485	S30	0.893
S12	0.921	S31	0.948
S13	0.956	S32	0.910
S14	0.429	S33	0.330
S15	0.748	S34	0.891
S16	0.954	S35	0.378
S17	0.977	S36	0.977
S18	0.340	S37	0.943
S19	0.390	S38	0.899

知，聚类距离为 5 时，38 批药材聚为 3 类，S05、S26 为一类，S02、S03、S06、S09、S13、S28、S32、S37 为一类，其他批次为一类；聚类距离为 10 时，38 批药材聚为 2 类，S5、S26 为一类，其他批次为一类，并且各批药材来自 7 个省份，聚类时无明显地域聚集性。

2.2.2 主成分分析 将共有峰峰面积标准化后导入 SPSS 27.0 软件进行分析，结果见图 2B。再以特征值>1 为筛选条件，共得到 4 个主成分，累积方差贡献率为 77.937%，表明模型可反映药材大部分信息，见表 3。主成分得分系数矩阵热图见图 2C，可知主成分 1 主要反映峰 2、5、7、8 的信息，主成分 2 主要反映峰 1、2、6、10 的信息，主成分 3 主要反映峰 3、4、10 的信息，主成分 4 主要反映峰 9 的信息。

2.2.3 正交偏最小二乘判别分析 在主成分分析

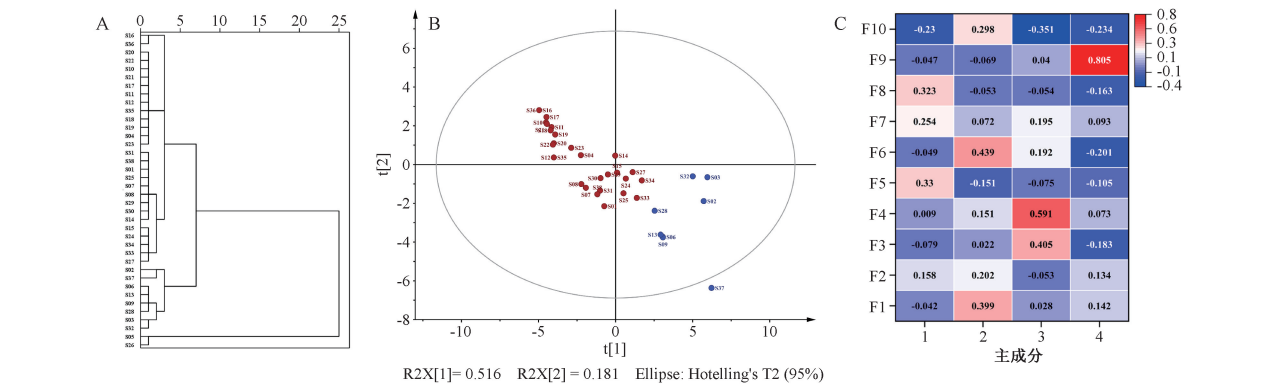


图 2 38 批钩藤聚类分析、主成分分析图

Fig. 2 Plots for cluster analysis and principal component analysis of 38 batches of *Uncariae Ramulus cum Uncis*

表 3 主成分特征值及方差贡献率

Tab. 3 Eigenvalues and variance contribution rates of principal components

主成分	特征值	方差贡献率/%	累积方差贡献率/%
1	3.552	35.524	35.524
2	1.834	18.338	53.862
3	1.305	13.049	66.911
4	1.103	11.026	77.937

基础上，以共有峰峰面积为变量导入 SIMCA 14.1 软件进行分析，发现模型 R^2X 为 0.913， R^2Y 为 0.905， Q^2 为 0.728，表明其稳定性及预测能力良好，见图 3A。再进行 200 次置换检验，发现右上角 R^2 、 Q^2 高于最左边的，斜率为正值， Q^2 蓝色回归线与纵轴（左侧）的相交点低于零点，表明模型可靠，未出现过度拟合现象，见图 3B。然后，在 95% 置信区间内以变量权重值（VIP 值）>1 为

标准，筛选出峰 2（绿原酸）、峰 5（异绿原酸 B）是造成药材质量差异的主要因素，见图 3C。

2.3 生物碱含量测定 采用 HPLC 法。

2.3.1 色谱条件 Heder C₁₈ 色谱柱（150 mm×4.6 mm，5 μm）；流动相 0.015 mol 磷酸氢二钾（A）-乙腈（B），梯度洗脱（0~20 min，10% B；20~30 min，10%~35% B；30~40 min，35% B；40~50 min，35%~40% B；50~55 min，40%~50% B；55~60 min，50% B）；体积流量 0.8 mL/min；柱温 35℃；检测波长 246 nm；进样量 10 μL。色谱图见图 4。

2.3.2 对照品溶液制备 精密称取钩藤碱、异钩藤碱、去氢钩藤碱、异去氢钩藤碱对照品适量，甲醇溶解，制成质量浓度分别为 260、192、212、300 μg/mL 的溶液，即得。

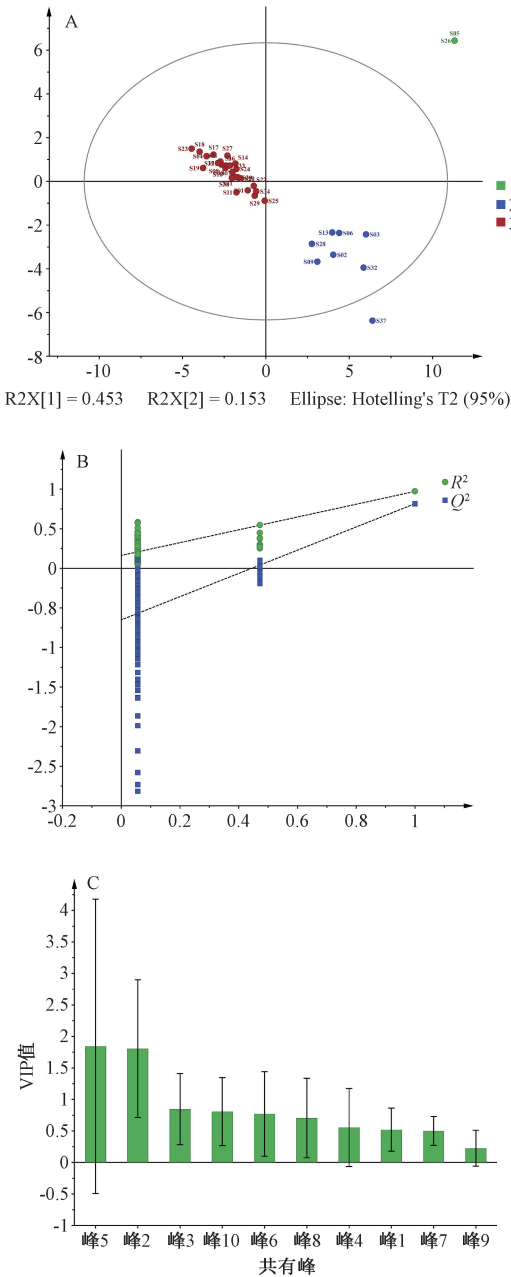


图3 38批钩藤正交偏最小二乘判别分析图

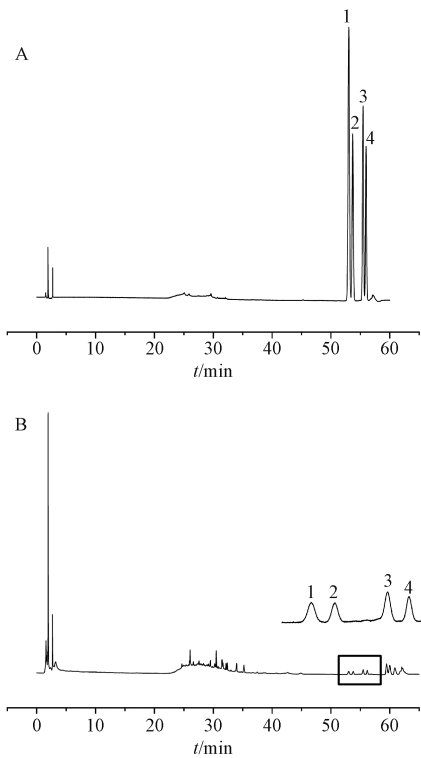
Fig.3 Orthogonal partial least squares discriminant analysis plots for *Uncariae Ramulus cum Uncis*

2.3.3 供试品溶液制备 取药材粉末（过3号筛）约0.5 g，精密称定，置于锥形瓶中，精密加入25 mL 70%甲醇，称定质量，超声（功率250 W，频率40 kHz）处理30 min，放冷，70%甲醇补足减失的质量，10 000 r/min离心10 min，取上清液，0.22 μm微孔滤膜过滤，取续滤液，即得。

2.3.4 方法学考察

2.3.4.1 线性关系考察 以生物碱质量浓度为横坐标（X），峰面积为纵坐标（Y）进行回归，得异去氢钩藤碱方程为 $Y=58\ 639X-173\ 957$ （ $R^2=$

2508



注：A 为对照品，B 为供试品。

1. 异去氢钩藤碱 2. 去氢钩藤碱 3. 异钩藤碱 4. 钩藤碱
1. isocorynoxene 2. corynoxene 3. isorhynchophylline
4. rhynchophylline

图4 各生物碱 HPLC 色谱图

Fig.4 HPLC chromatograms of various alkaloids

0.999 7)，在3.00~300 μg/mL范围内线性关系良好；去氢钩藤碱方程为 $Y=29\ 519X-92\ 109$ （ $R^2=$ 0.999 7），在2.12~212 μg/mL范围内线性关系良好；异钩藤碱方程为 $Y=32\ 807X-110\ 561$ （ $R^2=$ 0.999 8），在1.92~192 μg/mL范围内线性关系良好；钩藤碱方程为 $Y=25\ 058X-94\ 691$ （ $R^2=$ 0.999 7），在2.60~260 μg/mL范围内线性关系良好。

2.3.4.2 精密度试验 取同一份供试品溶液（S06），在“2.3.1”项色谱条件下进样测定6次，测得异去氢钩藤碱、去氢钩藤碱、异钩藤碱、钩藤碱峰面积RSD分别为1.158%、1.654%、2.621%、1.259%，表明仪器精密度良好。

2.3.4.3 重复性试验 取药材粉末（S06）6份，按“2.3.3”项下方法平行制备6份供试品溶液，在“2.3.1”项色谱条件下进样测定，测得异去氢钩藤碱、去氢钩藤碱、异钩藤碱、钩藤碱峰面积RSD分别为1.397%、1.018%、2.145%、1.372%，表明该方法重复性良好。

2.3.4.4 稳定性试验 取药材粉末（S06）适量，按“2.3.3”项下方法制备供试品溶液，室温下于 0、2、4、12、24 h 在“2.3.1”项色谱条件下进样测定，测得异去氢钩藤碱、去氢钩藤碱、异钩藤碱、钩藤碱峰面积 RSD 分别为 2.045%、1.275%、2.137%、1.981%，表明溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.3.4.5 加样回收率试验 精密称取药材粉末（S06）0.5 g，共 6 份，按 100% 水平加入对照品，按“2.3.3”项下方法制备供试品溶液，在“2.3.1”项色谱条件下进样测定，计算回收率。结果，异去氢钩藤碱、去氢钩藤碱、异钩藤碱、钩藤碱平均加样回收率分别为 99.942%、99.635%、101.961%、102.346%，RSD 分别为 2.461%、2.635%、2.173%、1.797%。

2.3.5 结果分析 取 38 批药材粉末，按“2.3.3”项下方法制备供试品溶液，在“2.3.1”项色谱条件下进样测定，计算含量，结果见表 4。由此可知，广西（S04）、湖南（S07、S14、S19、S21、S23）产药材中有 1~2 个生物碱未检出；贵州产药材中生物碱总含量最高（平均值为 0.987‰），江西（平均值为 0.905‰）、湖南（平均值为 0.823‰）产者次之，广西产者（平均值为 0.789‰）最低，并且无明显差异。从化学结构上来看，异去氢钩藤碱与去氢钩藤碱、异钩藤碱与钩藤碱互为同分异构体，并且前两者含量总和占比 0~64%，后两者含量总和占比 36%~100%（除 S07 外均大于 50%）。

2.4 总黄酮含量测定 采用比色法。

2.4.1 对照品溶液制备 精密称取芦丁对照品 20 mg，50% 乙醇定容至 5 mL，摇匀，得到 4 mg/mL 储备液，精密吸取适量，50% 乙醇稀释成质量浓度分别为 0.13、0.25、0.50、1.00、1.50、2.00、2.50、3.00、3.50 mg/mL 的溶液，即得。

2.4.2 供试品溶液制备 取药材粉末（过 3 号筛）约 1.0 g，置于具塞锥形瓶中，精密加入 25 mL 50% 乙醇，浸泡 11 h，60 ℃ 超声（功率 250 W，频率 40 kHz）处理 2 h，冷却至室温后 6 500 r/min 离心 10 min，取上清液，即得，置于 4 ℃ 冰箱中保存。

2.4.3 线性关系考察 精密量取 0.13、0.25、0.50、1.00、1.50、2.00、2.50、3.00、3.50 mg/mL 对照品溶液各 0.5 mL，置于 10 mL 量瓶中，加入 0.3 mL 5% NaNO₂ 溶液，混匀，室温放置 6 min，再加入 0.3 mL 10% Al（NO₃）₃ 溶液，混匀，室温放置

表 4 各生物碱含量测定结果 (n=3)

Tab. 4 Results for content determination of various alkaloids (n=3)

编号	异去氢钩藤碱/‰	去氢钩藤碱/‰	异钩藤碱/‰	钩藤碱/‰	总含量/‰
S01	0.154	0.249	0.171	0.288	0.861
S02	0.154	0.307	0.190	0.407	1.058
S03	0.149	0.346	0.196	0.462	1.153
S04	—	0.174	0.193	0.289	0.655
S05	0.134	0.145	0.156	0.176	0.611
S06	0.159	0.278	0.177	0.338	0.953
S07	0.142	0.199	—	0.193	0.533
S08	0.142	0.205	0.171	0.269	0.787
S09	0.156	0.293	0.197	0.401	1.047
S10	0.149	0.253	0.190	0.352	0.944
S11	0.157	0.258	0.186	0.286	0.888
S12	0.146	0.220	0.181	0.324	0.871
S13	0.174	0.246	0.197	0.244	0.862
S14	—	0.175	0.208	0.237	0.620
S15	0.163	0.276	0.204	0.365	1.007
S16	0.153	0.255	0.179	0.298	0.886
S17	0.140	0.192	0.173	0.279	0.784
S18	0.147	0.186	0.174	0.258	0.765
S19	0.160	—	0.211	—	0.371
S20	0.178	0.159	0.182	0.280	0.800
S21	0.155	—	0.160	0.234	0.549
S22	0.151	0.170	0.182	0.198	0.701
S23	—	—	0.179	0.266	0.445
S24	0.164	0.287	0.206	0.389	1.046
S25	0.146	0.251	0.183	0.329	0.910
S26	0.155	0.260	0.195	0.326	0.936
S27	0.158	0.253	0.199	0.313	0.923
S28	0.169	0.287	0.220	0.363	1.038
S29	0.205	0.256	0.287	0.313	1.061
S30	0.156	0.243	0.204	0.292	0.895
S31	0.150	0.199	0.163	0.574	1.085
S32	0.190	0.217	0.304	0.289	1.000
S33	0.133	0.137	0.149	0.167	0.586
S34	0.147	0.259	0.184	0.361	0.951
S35	0.152	0.292	0.191	0.376	1.010
S36	0.148	0.162	0.181	0.264	0.754
S37	0.184	0.204	0.242	0.261	0.891
S38	0.147	0.244	0.167	0.305	0.864

注：—表示未检出。

6 min，再加入 4 mL 4% NaOH 溶液，50% 乙醇定容至刻度，混匀，静置 20 min，在 510 nm 波长处测定吸光度。以对照品质量浓度为横坐标（X），吸光度为纵坐标（A）进行回归，得方程为 $A = 0.262\ 4X + 0.095\ 5$ （ $R^2 = 0.992\ 4$ ），在 0.13~3.50 mg/mL 范围内线性关系良好。

2.4.4 结果分析 取 38 批药材，按“2.4.2”项下方法制备供试品溶液，精密量取 0.5 mL，置于 10 mL 量瓶中，按“2.4.3”项下方法测定吸光度，

2509

计算含量，结果见表 5。由此可知，S21 中总黄酮含量最低，S02 中最高。

表 5 总黄酮含量测定结果 ($n=3$)

Tab. 5 Results for content determination of total flavonoids ($n=3$)

编号	总黄酮/%	编号	总黄酮/%
S01	2.795	S20	2.034
S02	4.983	S21	0.932
S03	2.736	S22	1.390
S04	4.477	S23	3.092
S05	2.803	S24	2.451
S06	3.964	S25	2.769
S07	1.769	S26	3.597
S08	1.867	S27	2.911
S09	3.439	S28	2.326
S10	2.472	S29	3.053
S11	2.147	S30	2.589
S12	1.094	S31	2.005
S13	3.573	S32	4.399
S14	2.209	S33	3.351
S15	2.077	S34	1.995
S16	1.651	S35	3.950
S17	1.401	S36	2.543
S18	1.988	S37	4.934
S19	1.764	S38	2.736

2.5 CRITIC-TOPSIS 法

2.5.1 赋权 参照文献 [21] 报道，对生物碱含量及其总含量、总黄酮含量、绿原酸及异绿原酸 B 峰面积进行标准化处理，计算变异性 (S_j)、冲突性 (R_j)、信息量(C_j)、权重 (w_j)，信息量越大，权重越大。结果，异去氢钩藤碱、去氢钩藤碱、异钩藤碱、钩藤碱、总黄酮、绿原酸、异绿原酸 B 含量的 w_j 分别为 0.149、0.117、0.094、0.096、0.108、0.156、0.149、0.130。

2.5.2 排序 将各指标权重与标准化后的含量相乘，确定最优、最劣方案，计算贴近度 C_i 并根据其进行排序，结果见表 6。由此可知，排名前十的药材中有 3 批来自广西 (S02、S03、S05)，4 批来自湖南 (S06、S09、S13、S26)，2 批来自贵州 (S28、S32)，1 批来自重庆 (S37)，表明各产地均具有适宜其活性成分积累的环境。

2.6 色度值测定

2.6.1 测定方法 条件为光源 D65；10°视角；测量口径 8 mm；预热矫正。取 1 张白色 A4 纸作为对照，计算亮度 L^* 、红绿色调 a^* 、黄蓝色调 b^* ，平行 10 次，取平均值。取药材粉末 (过 3 号筛) 适量，在培养皿中铺满并确保无空隙、表面水平，测定 L^* 、 a^* 、 b^* ，再采用 Excel 2019 软件计算三

表 6 38 批钩藤品质排序

Tab. 6 Quality rankings of 38 batches of *Uncariae Ramulus cum Uncis*

编号	C_i	排序	编号	C_i	排序
S01	0.480	19	S20	0.413	26
S02	0.672	1	S21	0.304	37
S03	0.635	4	S22	0.356	33
S04	0.390	29	S23	0.266	38
S05	0.576	8	S24	0.533	12
S06	0.603	6	S25	0.494	17
S07	0.334	34	S26	0.578	7
S08	0.395	28	S27	0.520	13
S09	0.603	5	S28	0.556	10
S10	0.449	22	S29	0.555	11
S11	0.433	24	S30	0.473	20
S12	0.387	30	S31	0.483	18
S13	0.571	9	S32	0.666	2
S14	0.311	36	S33	0.441	23
S15	0.502	15	S34	0.495	16
S16	0.415	25	S35	0.516	14
S17	0.367	32	S36	0.399	27
S18	0.383	31	S37	0.653	3
S19	0.313	35	S38	0.464	21

者与对照的差值，即 ΔL^* 、 Δa^* 、 Δb^* ，计算总色度值 ΔE^*_{ab} ，公式为 $\Delta E^*_{ab} = (\Delta L^{*2} + \Delta a^{*2} + \Delta b^{*2})^{1/2}$ 。

2.6.2 方法学考察

2.6.2.1 光照强度稳定性试验 取药材粉末 (S22) 适量，在培养皿中铺满，于 8:00、10:00、12:00、14:00、16:00、18:00 按“2.6.1”项下方法各测定 3 次，测得 ΔL^* 、 Δa^* 、 Δb^* 、 ΔE^*_{ab} RSD 分别为 0.424%、2.071%、2.236%、0.355%，表明仪器、方法稳定性良好。

2.6.2.2 样品稳定性试验 取药材粉末 (S22) 适量，在培养皿中铺满，于第 0、1、2、3、4、5 天 9:00~10:00 按“2.6.1”项下方法各测定 3 次，测得 ΔL^* 、 Δa^* 、 Δb^* 、 ΔE^*_{ab} RSD 分别为 0.574%、2.111%、2.814%，0.737%，表明药材粉末表面颜色短期内无明显变化，稳定性良好。

2.6.2.3 重复性试验 取药材粉末 (S22) 6 份，在培养皿中铺满，按“2.6.1”项下方法各测定 3 次，测得 ΔL^* 、 Δa^* 、 Δb^* 、 ΔE^*_{ab} RSD 分别为 0.362%、2.245%、2.568%，0.454%，表明药材色泽重复性良好。

2.6.3 结果分析 取 38 批药材粉末，按“2.6.1”项下方法测定，结果见表 7。由此可知，S05、S06、S31 分布在绿黄色域 ($\Delta a^* < 0$ ， $\Delta b^* > 0$)，其余批次均分布在红黄色域 ($\Delta a^* > 0$ ， $\Delta b^* > 0$)；

ΔL^* 、 Δb^* 变化幅度大于 Δa^* ，表明药材粉末颜色差异主要体现在明暗度及黄蓝色调。

表 7 色度值测定结果 ($n=3$)
Tab. 7 Results for chromatic value determination ($n=3$)

编号	ΔL^*	Δa^*	Δb^*	ΔE^*_{ab}
S01	-27.681	1.296	20.099	34.237
S02	-32.368	5.459	18.959	37.910
S03	-27.978	2.662	20.816	34.975
S04	-24.038	0.002	24.929	34.631
S05	-18.748	-0.668	25.079	31.324
S06	-21.001	-0.161	19.919	28.949
S07	-29.671	0.796	18.776	35.125
S08	-30.091	0.949	18.859	35.526
S09	-32.128	5.972	20.706	38.686
S10	-35.018	5.866	19.446	40.482
S11	-37.121	5.019	17.452	41.327
S12	-38.218	4.832	16.262	41.817
S13	-28.844	1.602	21.402	35.956
S14	-28.994	2.762	21.312	36.099
S15	-36.534	5.592	18.326	41.258
S16	-36.794	5.052	18.332	41.420
S17	-36.711	5.479	17.802	41.169
S18	-37.208	4.782	17.602	41.440
S19	-37.734	4.309	15.849	41.155
S20	-36.868	5.112	17.039	40.937
S21	-37.294	4.712	17.599	41.508
S22	-35.298	5.586	17.892	39.969
S23	-35.308	5.659	17.272	39.713
S24	-32.731	5.929	19.162	38.390
S25	-27.638	1.162	19.149	33.646
S26	-29.211	1.946	20.612	35.813
S27	-30.608	2.089	20.782	37.058
S28	-26.078	1.832	19.676	32.724
S29	-29.788	1.346	20.746	36.328
S30	-31.491	1.349	19.662	37.163
S31	-32.788	-0.014	17.296	37.073
S32	-27.921	1.759	25.012	37.541
S33	-32.458	4.112	19.766	38.228
S34	-33.051	5.939	18.542	38.366
S35	-28.391	1.202	20.456	35.019
S36	-36.781	5.906	17.092	40.989
S37	-24.448	0.376	24.989	34.968
S38	-30.704	2.086	21.189	37.366

2.7 相关性分析 采用 SPSS 27.0 软件进行分析，结果见表 8。由此可知，总黄酮含量与 ΔL^* 、 Δb^* 呈极显著正相关 ($P<0.01$)，与 Δa^* 、 ΔE^*_{ab} 呈显著负相关 ($P<0.05$)，表明药材粉末亮度越高，颜色越接近黄色，总黄酮含量越高；去氢钩藤碱含量与 ΔE^*_{ab} 呈显著负相关 ($P<0.05$)，异钩藤碱含量与 Δb^* 呈显著正相关 ($P<0.05$)，生物碱总含量与色度值无显著相关性 ($P>0.05$)；绿原酸、异绿原酸 B 峰面积与 ΔL^* 、 Δb^* 呈极显著正相关 ($P<0.01$)，与 Δa^* 、 ΔE^*_{ab} 呈显著负相关 ($P<$

0.05)，与总黄酮含量类似，提示黄酮和酚酸可能是药材颜色形成的主要成分； C_i 与 ΔL^* 、 Δb^* 呈极显著正相关 ($P<0.01$)，与 ΔE^*_{ab} 呈极显著负相关 ($P<0.01$)，与 Δa^* 呈显著负相关 ($P<0.05$)，表明药材粉末颜色与品质之间存在一定相关性。

表 8 相关性分析结果
Tab. 8 Results for correlation analysis

指标	ΔL^*	Δa^*	Δb^*	ΔE^*_{ab}
总黄酮含量	0.609 **	-0.390 *	0.691 **	-0.508 **
异去氢钩藤碱含量	-0.080	0.003	-0.093	0.048
去氢钩藤碱含量	0.297	-0.137	0.246	-0.331 *
异钩藤碱含量	0.088	0.015	0.329 *	0.024
钩藤碱含量	0.086	-0.032	0.017	-0.144
生物碱总含量	0.169	-0.069	0.166	-0.193
绿原酸峰面积	0.632 **	-0.338 *	0.591 **	-0.571 **
异绿原酸 B 峰面积	0.466 **	-0.325 *	0.451 **	-0.381 *
C_i	0.560 **	-0.323 *	0.570 **	-0.498 **

注：* $P<0.05$ ，** $P<0.01$ 。

3 讨论

UPLC 指纹图谱显示，38 批钩藤相似度差异显著，从化学成分角度表明该药材质量不稳定。聚类分析、主成分分析显示，各批钩藤未呈现地域性聚集，表明气候等生态因子对药材成分积累的影响可能优于产地^[22]。正交偏最小二乘判别分析显示，绿原酸、异绿原酸 B 为质量差异成分，突破了前人仅以生物碱为唯一核心评价指标的局限^[23]，为钩藤质量评价体系的完善提供了关键依据。

含量测定显示，钩藤中总黄酮含量显著高于生物碱，故结合现有相关药理研究^[24]，可将该类成分作为药材质量评价指标之一。相关性分析显示，总黄酮、生物碱含量之间无显著相关性，结合前期报道^[25-28]，推测两者积累可能受不同环境因子的调控。CRITIC-TOPSIS 法显示，广西、湖南、贵州、重庆等地钩藤品质较好，为优质药材产地筛选提供了数据支撑。

色度分析显示，总黄酮、酚酸与 ΔL^* 、 Δb^* 呈极显著正相关，与 Δa^* 、 ΔE^*_{ab} 呈极显著负相关，推测两者可能是颜色形成的核心物质。上述结果明确了颜色预测成分含量与品质的可行性，激活了钩藤传统色泽鉴别的现代价值。

4 结论

本实验采用 UPLC 指纹图谱表征整体差异，化学计量学分析定位核心差异，含量测定及色度分析衔接传统经验，系统解决了钩藤质量评价过程中指标单一、经验主观等核心问题，构建了化学成分与

传统经验相结合的双维度体系。但仍存在一些局限，如气候环境、土壤矿质元素等生态因子对成分调控的具体机制尚不明确，色度与成分的相关性需更多样品验证。今后，相关研究可聚焦于环境因子、成分合成通路、色泽、品质等方面，以期进一步提升钩藤质量评价体系的科学性与应用价值。

参考文献：

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典：2025 年版一部[S]. 北京：中国医药科技出版社，2025：268-269.

[2] 张晓娟, 左冬冬, 于孙婉琪. 钩藤化学成分和药理作用研究进展[J]. 中医药信息, 2024, 41(2)：81-86.

[3] 谢宗万. 中药材品种论述（中册）[M]. 上海：上海科学技术出版社，1984：265-272.

[4] 田昕彤, 周 巍, 杨 继, 等. 钩藤及其配伍制剂治疗高血压的研究进展[J]. 中草药, 2023, 54(13)：4395-4403.

[5] Loh Y C, Ch'Ng Y S, Tan C S, *et al.* Mechanisms of action of *Uncaria rhynchophylla* ethanolic extract for its vasodilatory effects[J]. *J Med Food*, 2017, 20(9)：895-911.

[6] Liu E Y, Yang C L, Tsai J C, *et al.* Antidepressive mechanisms of rhynchophylline in mice with chronic unpredictable stress-induced depression[J]. *J Ethnopharmacol*, 2023, 309：116302.

[7] 穆德添, 万凌云, 章 瑶, 等. 钩藤管家基因筛选及生物碱合成相关基因的表达分析[J]. 生物技术通报, 2023, 39(2)：126-138.

[8] Hu S Q, Mak S, Zuo X L, *et al.* Neuroprotection against MPP⁺-induced cytotoxicity through the activation of PI3K/Akt/GSK3β/MEF2D signaling pathway by rhynchophylline, the major tetraacyclic oxindolealkaloid isolated from *Uncaria rhynchophylla*[J]. *Front Pharmacol*, 2018, 9：768.

[9] 吴婷婷, 鲍 曦, 蔡进章, 等. HPLC 法测定钩藤不同部位中钩藤碱、去氢钩藤碱、异去氢钩藤碱含量[J]. 北京中医药, 2019, 38(12)：1237-1240.

[10] 覃春叶, 范佐万, 杜洪志, 等. 不同加工方法对钩藤中 6 个生物碱类成分含量的影响[J]. 中药材, 2022, 45(9)：2103-2106.

[11] 夏曼玉, 张留记, 屠万倩, 等. 钩藤多指标含量测定及化学计量学分析[J]. 中国药学杂志, 2022, 57(19)：1621-1627.

[12] 时拥月, 符雁榕, 秦 钦, 等. 天麻钩藤饮对 Ang II 诱导血管平滑肌细胞氧化应激中 PINK1/Parkin 通路的影响[J].

中国中药杂志, 2024, 49(14)：3894-3900.

[13] 李 旭, 徐天娇, 刘立琨, 等. 天麻素联合异钩藤碱抑制 MPP⁺ 诱导的 PC12 细胞凋亡的抗氧化机制[J]. 中国中药杂志, 2021, 46(2)：420-425.

[14] 祝 娜, 沙子珺, 贺建武, 等. 基于网络药理学和分子对接的钩藤-杜仲药对治疗妊娠高血压病的潜在作用价值发现与研究[J]. 中国中药杂志, 2020, 45(22)：5393-5402.

[15] 许国菊, 郭飘雪, 朱寻然, 等. 钩藤水杨酸响应基因 UrSTR4 参与钩藤碱合成[J]. 植物研究, 2025, 45(4)：491-503.

[16] 石国丽, 马 云, 申凤霞, 等. HPLC 指纹图谱、特征图谱和多指标定量结合化学模式识别的不同基原鬼针草药材质量评价研究[J]. 中国中药杂志, 2025, 50(15)：4284-4292.

[17] 吴秀平, 徐明珠, 孙宜春, 等. 基于 UPLC 多指标成分定量和指纹图谱结合化学模式识别法评价不同基原十大功劳木的质量[J]. 中草药, 2025, 56(8)：2914-2924.

[18] 段天华, 徐荣荣, 李 蕊, 等. 基于 UPLC 特征图谱结合化学计量学与一测多评法的不同基原白芷质量控制方法研究[J]. 中国中药杂志, 2025, 50(4)：1051-1062.

[19] 徐曼菲, 吴志生, 刘晓娜, 等. 从辨色论质谈中药质量评价方法[J]. 中国中药杂志, 2016, 41(2)：177-181.

[20] 王皓南, 田滢琦, 刘大会, 等. 中药“辨状论质”的历史、发展与应用[J]. 中药材, 2021, 44(3)：513-519.

[21] 杜 煜, 姚 佳, 倪礼礼, 等. 基于一测多评多指标定量结合化学模式识别及 CRITIC-TOPSIS 分析的不同产地蕤仁质量评价[J]. 中草药, 2025, 56(18)：6773-6783.

[22] 赵露颖, 施梦瑶, 张巧艳, 等. 道地药材品质特征及形成机制研究进展[J]. 中草药, 2022, 53(21)：6931-6947.

[23] 范秀春, 彭晓丹, 胡建勇, 等. 基于评价抽检的市售钩藤质量评价[J]. 医药导报, 2025, 44(1)：47-60.

[24] 孙广利, 许旭东, 杨峻山, 等. 华钩藤中黄酮类化学成分的分 离和结构鉴定[J]. 中国药学杂志, 2012, 47(3)：177-179.

[25] 邓小红, 姬拉拉, 熊露露, 等. 不同海拔对钩藤生长及生物碱含量的影响[J]. 植物生理学报, 2020, 56(10)：2095-2102.

[26] 周省委, 陈 璐, 董 宁, 等. 箭叶淫羊藿叶片不同发育时期黄酮类成分形成与元素含量关系研究[J]. 中华中医药学刊, 2024, 42(8)：173-179.

[27] 章小雨, 秦 倩, 田 磊, 等. 不同产地多花黄精生态因子与品质形成的相关性分析[J]. 中国现代中药, 2022, 24(7)：1323-1330.

[28] 李 汐, 陈芳雷, 熊 丰, 等. 黄精有效成分含量差异及其生态因子关联分析[J]. 时珍国医国药, 2025, 36(5)：936-941.