

# 基于一测多评结合熵权逼近理想解排序法对绵马贯众炭的质量评价

董双涛<sup>1</sup>, 徐丽霞<sup>1</sup>, 高建平<sup>2</sup>, 李宝霞<sup>1\*</sup>

1. 山西药科职业学院, 山西 太原 030031

2. 山西医科大学药学院, 山西 晋中 030600

**摘要:** 目的 建立多元统计分析和熵权逼近理想解排序法的绵马贯众炭 *Dryopteridis Crassirhizomatis Rhizoma Carbonisatum* 质量评价方法。方法 收集不同产地的 16 批次样品, 以绵马贯众素 ABBA 为内参物, 采用一测多评 (QAMS) 法同时检测绵马贯众炭中白绵马素 AA、二去甲基伪绵马素 AA、伪绵马素、白绵马素 AP、绵马酸 ABA、绵马贯众素 ABBA、山柰素、大豆素、去甲氧基莨菪素、异槲皮素和圣草次苷含量; 采用多元统计分析和熵权逼近理想解排序 (entropy weight technique for order preference by similarity to ideal solution, EW-TOPSIS) 法对绵马贯众炭质量进行评价。结果 外标法方法学验证符合《中国药典》2020 年版规定, 所建立的相对校正因子耐用性良好, QAMS 法可用于绵马贯众炭中 11 个成分含量的同步检测; 多元统计分析结果显示 16 批样品呈现一定的区域差异, 去甲氧基莨菪素、绵马贯众素 ABBA、伪绵马素和山柰素是引起不同批次绵马贯众炭分组的主要变量因子, EW-TOPSIS 法结果显示 16 批绵马贯众炭质量评价贴近度 ( $J_0$ ) 为 0.1371~0.7067, S12~S16 的排序位于前 5 位, 表明吉林产地所得绵马贯众炭整体质量较好。结论 所建立的集 HPLC-QAMS、多元统计分析及 EW-TOPSIS 法于一身的综合质量评价方法, 省时便捷, 为绵马贯众炭的品质评价和质量控制提供参考。

**关键词:** 粗茎鳞毛蕨; 绵马贯众炭; 一测多评法; 多元统计分析; 主成分分析; 正交偏最小二乘判别分析法; 熵权 TOPSIS 法; 白绵马素 AA; 伪绵马素; 白绵马素 AP; 绵马贯众素 ABBA

中图分类号: R286.2 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2024)07-2397-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2024.07.025

## Quality evaluation of *Dryopteridis Crassirhizomatis Rhizoma Carbonisatum* based on QAMS and EW-TOPSIS method

DONG Shuangtao<sup>1</sup>, XU Lixia<sup>1</sup>, GAO Jianping<sup>2</sup>, LI Baoxia<sup>1</sup>

1. Shanxi Pharmaceutical Vocational College, Taiyuan 030031, China

2. School of Pharmacy, Shanxi Medical University, Jinzhong 030600, China

**Abstract: Objective** To establish a method for quality evaluation of Mianmaguanzhongtan (*Dryopteridis Crassirhizomatis Rhizoma Carbonisatum*) by multivariate statistical analysis and entropy weight technique for order preference by similarity to ideal solution (EW-TOPSIS) method. **Methods** A total of 16 batches of samples from different producing areas were collected, and the contents of albaspidin AA, didemethylpseudoaspidin AA, pseudoaspidin, albaspidin AP, filixic acid ABA, tetraalbaspidin ABBA, kaempferide, daidzein, demethoxymatteucinol, isoquercitrin and eriocierin of *Dryopteridis Crassirhizomatis Rhizoma Carbonisatum* were simultaneously determined by quantitative analysis multi-components by single marker (QAMS) method with tetraalbaspidin ABBA as internal reference substance. A combination of multivariate statistical analysis and EW-TOPSIS was used to evaluate the quality of *Dryopteridis Crassirhizomatis Rhizoma Carbonisatum*. **Results** The methodological verification of the external standard method complied with the provisions of 2020 edition of the *Chinese Pharmacopoeia*. The established relative correction factor had good durability, and the QAMS method could be used for synchronous detection of 11 components in *Dryopteridis Crassirhizomatis Rhizoma Carbonisatum*; The results of multivariate statistical analysis showed that 16 batches of samples showed certain regional differences. Demethoxymatteucinol, tetraalbaspidin ABBA, pseudoaspidin and kaempferide were the main variable factors that caused different batches of *Dryopteridis Crassirhizomatis Rhizoma Carbonisatum* to be grouped. The results of EW-TOPSIS method showed that the

收稿日期: 2023-10-26

基金项目: 山西省中医药管理局科研课题 (2023ZYB052)

作者简介: 董双涛 (1980—), 男, 硕士, 副教授, 研究方向为中药有效成分。Tel: (0351)7820625

\*通信作者: 李宝霞 (1984—), 女, 硕士, 副教授, 研究方向为中药新药开发。Tel: (0351)7820613 E-mail: vesayq@163.com

quality evaluation closeness ( $J_b$ ) of 16 batches of *Dryopteridis Crassirhizomatis Rhizoma Carbonisatum* ranged from 0.137 1 to 0.706 7, and the quality of samples numbered S12—S16 ranked in the top 5, indicating that the overall quality of the *Dryopteridis Crassirhizomatis Rhizoma Carbonisatum* obtained from Jilin origin was better. **Conclusion** The established HPLC-QAMS, multivariate statistical analysis and EW-TOPSIS comprehensive quality evaluation methods are time-saving and convenient, which provide reference for the quality evaluation and quality control of *Dryopteridis Crassirhizomatis Rhizoma Carbonisatum*.

**Key words:** *Dryopteris crassirhizoma* Nakai; *Dryopteridis Crassirhizomatis Rhizoma Carbonisatum*; QAMS; multivariate statistical analysis; PCA; OPLS-DA; EW-TOPSIS; albaspidin AA; pseudoaspidin; albaspidin AP; tetraalbaspidin ABBA

绵马贯众为鳞毛蕨科植物粗茎鳞毛蕨 *Dryopteris crassirhizoma* Nakai 的干燥根茎和叶柄残基, 始载于《神农本草经》, 主要分布于黑龙江、辽宁、吉林、河北及内蒙古等地<sup>[1-2]</sup>, 所含化学成分有间苯三酚类、黄酮类、甾体类、萜类和苯丙素类等<sup>[3-6]</sup>。绵马贯众炭由绵马贯众炮制加工而成<sup>[7]</sup>, 收涩止血, 临床上常用于治疗崩漏下血、衄血、吐血、便血、外伤出血等多种出血证<sup>[8-9]</sup>。绵马贯众炭收载于《中国药典》2020 年版一部, 但质量控制仅局限于性状、薄层鉴别及浸出物测定等常规项, 质控标准相对落后。中药成分复杂, 易受产地、炮制方法和采收时间影响, 为保证临床疗效, 建立科学合理质量评价模式对绵马贯众炭整体质量评控具有重要意义。本研究收集 16 批绵马贯众药材, 按《中国药典》2020 年版绵马贯众炭项下的炮制方法依法炮制, 采用一测多评(QAMS)法同时测定绵马贯众炭中白绵马素 AA、二去甲基伪绵马素 AA、伪绵马素、白绵马素 AP、绵马酸 ABA、绵马贯众素 ABBA、山柰素、大豆素、去甲氧基莢果蕨素、异槲皮素和圣草次苷含量, 并结合多元统计分析和 EW-TOPSIS 法建立绵马贯众炭质量研究模型, 综合评价不同产地所得绵马贯众炭的整体质量优劣。

1 材料

1.1 试药

对照品大豆素(批号 111502-202304, 质量分数

99.3%) 和异槲皮素(批号 111809-202205, 质量分数 96.3%) 来源于中国食品药品检定研究院; 山柰素(批号 PRF9022621, 质量分数 99.9%)、圣草次苷(批号 PRF9121402, 质量分数 98.5%)、伪绵马素(批号 PRFM8042518, 质量分数 98.2%) 和绵马贯众素 ABBA(批号 PRFM220725-01, 质量分数 97.6%) 来源于成都普瑞法科技开发有限公司; 对照品白绵马素 AA(批号 RFSB14102203029, 质量分数 98.0%) 来源于成都瑞芬思德丹生物科技有限公司; 二去甲基伪绵马素 AA(批号 P27A11S122507, 质量分数 98.2%) 和去甲氧基莢果蕨素(批号 Z27J11S103919, 质量分数 96.2%) 来源于上海源叶生物科技有限公司; 对照品白绵马素 AP(批号 CFS202201, 质量分数 98.3%)、绵马酸 ABA(批号 CFS202102, 质量分数 96.5%) 来源于武汉天植生物技术有限公司; 绵马贯众经山西药科职业学院李宝霞副教授鉴定为鳞毛蕨科植物粗茎鳞毛蕨 *D. crassirhizoma* Nakai 的干燥根茎和叶柄残基, 按照《中国药典》2020 年版方法制成绵马贯众炭, 详细信息见表 1; 高效液相用乙腈和磷酸为 Merck 公司色谱纯试剂, 甲醇为分析纯。

1.2 仪器

FRQ-1010T 型超声波清洗器(杭州法兰特超声波科技有限公司); Agilent 1260 型高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司); Waters Arc 型高效液相色谱仪

表 1 16 批绵马贯众样品信息

Table 1 Information of 16 batches *Dryopteridis Crassirhizomatis Rhizoma* samples

| 编号 | 产地      | 批号     | 编号  | 产地    | 批号     |
|----|---------|--------|-----|-------|--------|
| S1 | 辽宁清原县   | 211005 | S9  | 河北宽城县 | 211002 |
| S2 | 辽宁西丰县   | 221001 | S10 | 河北围场县 | 210901 |
| S3 | 辽宁新宾县   | 210901 | S11 | 河北青龙县 | 220903 |
| S4 | 黑龙江林口县  | 210901 | S12 | 吉林柳河县 | 221001 |
| S5 | 黑龙江丰林县  | 210902 | S13 | 吉林抚松县 | 221006 |
| S6 | 黑龙江勃利县  | 221003 | S14 | 吉林农安县 | 210905 |
| S7 | 内蒙古开鲁县  | 211001 | S15 | 吉林通榆县 | 221003 |
| S8 | 内蒙古翁牛特旗 | 210903 | S16 | 吉林东丰县 | 220901 |

(美国 Waters 公司); 色谱柱 Symmetry C<sub>18</sub>、Agilent Zorbax C<sub>18</sub> 和 Apollo C<sub>18</sub>, 规格均为 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); ME24102/XS205Du 型电子分析天平 (瑞士梅特勒公司)。

## 2 方法与结果

### 2.1 混合对照品溶液的制备

取各对照品适量, 精密称定后用 70% 甲醇制成含白绵马素 AA 0.226 mg/mL、二去甲基伪绵马素 AA 0.114 mg/mL、伪绵马素 0.31 mg/mL、白绵马素 AP 0.058 mg/mL、绵马酸 ABA 0.082 mg/mL、绵马贯众素 ABBA 0.57 mg/mL、山柰素 0.436 mg/mL、大豆素 0.074 mg/mL、去甲氧基莢果蕨素 2.39 mg/mL、异槲皮素 0.278 mg/mL 和圣草次苷 0.042 mg/mL 的贮备液; 精密吸取贮备液 1 mL, 经 70% 甲醇稀释 20 倍, 摇匀, 即得白绵马素 AA、二去甲基伪绵马素 AA、伪绵马素、白绵马素 AP、绵马酸 ABA、绵马贯众素 ABBA、山柰素、大豆素、去甲氧基莢果蕨素、异槲皮素和圣草次苷质量浓度依次为 11.3、5.7、15.5、2.9、4.1、28.5、21.8、3.7、119.5、13.9、2.1 μg/mL 的混合对照品溶液。

### 2.2 供试品溶液的制备

取各产地绵马贯众绵马贯众炭粉末约 1.0 g, 精密称定, 加 70% 甲醇约 20 mL, 超声提取 30 min, 冷却, 经提取溶剂定容至 25 mL, 摇匀, 静置, 滤过, 即得。

### 2.3 色谱条件

采用 Symmetry C<sub>18</sub> 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 检测波长 298 nm 检测白绵马素 AA、二去

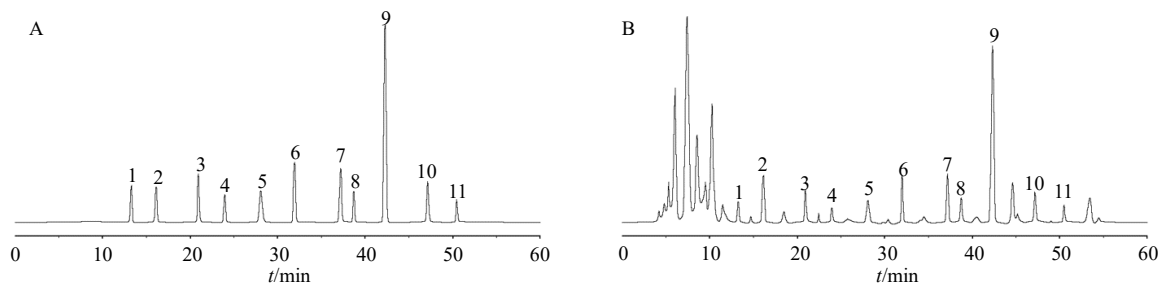
甲基伪绵马素 AA、伪绵马素、白绵马素 AP、绵马酸 ABA 和绵马贯众素 ABBA, 330 nm 检测山柰素、大豆素、去甲氧基莢果蕨素、异槲皮素和圣草次苷; 流动相为 0.1% 甲酸 (A)–乙腈 (B), 分析时长 60 min, 梯度洗脱条件: 0~11 min, 52.0% B; 11~18 min, 52.0%~60.0% B; 18~34 min, 60.0%~85.0% B; 34~53 min, 85.0%~90.0% B; 53~60 min, 90.0%~52.0% B; 柱温 30 °C; 体积流量 1.0 mL/min; 进样量 10 μL。

### 2.4 HPLC 方法学考察

**2.4.1 耐用性试验** 取对照品溶液和供试品溶液各 10 μL, 进样, 结果基线平稳, 供试品溶液中 11 种成分的保留时间与对照品基本一致, 且与相邻色谱峰分离效果符合《中国药典》2020 年版要求, 见图 1。

**2.4.2 线性关系考察** 精密吸取“2.1”项储备液适量, 分别用 70% 甲醇稀释 4、10、20、40、100 和 200 倍制成一定质量浓度差的 6 份溶液。各精密吸取 10 μL 进样。横坐标 (X) 为白绵马素 AA、二去甲基伪绵马素 AA、伪绵马素、白绵马素 AP、绵马酸 ABA、绵马贯众素 ABBA、山柰素、大豆素、去甲氧基莢果蕨素、异槲皮素和圣草次苷对照品的质量浓度, 纵坐标 (Y) 为相应色谱峰峰面积。对 11 个成分峰面积绘出标准曲线, 结果见表 2, *r* 均大于 0.999, 11 个对照品在相应质量浓度范围内线性关系良好。

**2.4.3 精密度试验** 取绵马贯众炭 (S1) 样品制成的供试品溶液 1 份, 按“2.3”项下色谱条件连续进样 6 次, 结果白绵马素 AA 等 11 个成分峰面



1-白绵马素 AA; 2-二去甲基伪绵马素 AA; 3-伪绵马素; 4-白绵马素 AP; 5-绵马酸 ABA; 6-绵马贯众素 ABBA; 7-山柰素; 8-大豆素; 9-去甲氧基莢果蕨素; 10-异槲皮素; 11-圣草次苷。

1-albaspidin AA; 2-didemethylpseudoaspidin AA; 3-pseudoaspidin; 4-albaspidin AP; 5-filixic acid ABA; 6-tetraalbaspidin ABBA; 7-kaempferide; 8-daizhein; 9-demethoxymatteucinol; 10-isoquercitrin; 11-ericiocerin.

图 1 混合对照品 (A) 和绵马贯众炭样品 (B) 色谱图

Fig. 1 Chromatograms of mixed reference (A) and *Dryopteridis Crassirhizomatis Rhizoma Carbonisatum* sample (B)

表 2 11 个成分的线性回归结果

Table 2 Linear regression results of 11 components

| 成分          | 回归方程                               | 线性范围/(g·mL <sup>-1</sup> ) | 相关系数 ( <i>r</i> ) |
|-------------|------------------------------------|----------------------------|-------------------|
| 白绵马素 AA     | $Y=1.779\ 6\times 10^6 X+384.6$    | 1.13~56.50                 | 0.999 7           |
| 二去甲基伪绵马素 AA | $Y=1.328\ 0\times 10^6 X+1\ 692.5$ | 0.57~28.50                 | 0.999 3           |
| 伪绵马素        | $Y=3.472\ 0\times 10^6 X-756.0$    | 1.55~77.50                 | 0.999 6           |
| 白绵马素 AP     | $Y=6.841\ 4\times 10^5 X-157.6$    | 0.29~14.50                 | 0.999 4           |
| 绵马酸 ABA     | $Y=1.119\ 2\times 10^6 X+1\ 382.6$ | 0.41~20.50                 | 0.999 7           |
| 绵马贯众素 ABBA  | $Y=2.707\ 0\times 10^6 X+1\ 022.8$ | 2.85~142.50                | 0.999 3           |
| 山柰素         | $Y=3.117\ 7\times 10^6 X-2\ 177.7$ | 2.18~109.00                | 0.999 4           |
| 大豆素         | $Y=1.073\ 9\times 10^6 X-312.8$    | 0.37~18.50                 | 0.999 6           |
| 去甲氧基荚果蕨素    | $Y=4.578\ 3\times 10^6 X+1\ 510.1$ | 11.95~597.50               | 0.999 3           |
| 异槲皮素        | $Y=2.358\ 8\times 10^6 X-1\ 780.7$ | 1.39~69.50                 | 0.999 5           |
| 圣草次苷        | $Y=5.729\ 3\times 10^5 X+588.6$    | 0.21~10.50                 | 0.999 4           |

积 RSD 值依次为 0.66%、0.52%、1.06%、0.83%、1.38%、1.54%、1.67%、0.71%、1.68%、1.46%、1.39%，表明仪器精密度良好。

**2.4.4 稳定性试验** 取绵马贯众炭 (S1) 样品按“2.2”项下方法制成的供试品溶液，分别于室温下放置 0、2、5、9、14、20、24 h，按“2.3”项下色谱条件进样，结果白绵马素 AA 等 11 个成分峰面积 RSD 值依次为 1.01%、0.95%、1.58%、1.05%、1.61%、1.55%、1.85%、1.12%、1.91%、1.78%、1.46%。

**2.4.5 重复性试验** 取绵马贯众炭 (S1) 样品 6 份，分别按“2.2”项下方法制成供试品溶液，各精密吸取 10  $\mu$ L，分别注入液相色谱仪，记录白绵马素 AA 等 11 个成分的峰面积，外标法计算 11 个成分的质量分数，计算各成分含量的 RSD 值依次为 1.09%、0.91%、1.28%、1.16%、1.76%、1.85%、1.79%、1.32%、1.96%、1.76%、1.80%，表明重复性良好。

**2.4.6 加样回收率试验** 取 9 份同批次已知 11 个成分含量的绵马贯众炭 (S1) 细粉，每份约 0.5 g，精密称定，按已知各成分含量的 80%、100%、120% 加入混合对照品溶液 (含 0.129 mg/mL 白绵马素 AA、0.068 mg/mL 二去甲基伪绵马素 AA、0.224 mg/mL 伪绵马素、0.032 mg/mL 白绵马素 AP、0.047 mg/mL 绵马酸 ABA、0.391 mg/mL 绵马贯众素 ABBA、0.283 mg/mL 山柰素、0.041 mg/mL 大豆素、1.762 mg/mL 去甲氧基荚果蕨素、0.157 mg/mL 异槲皮素和 0.024 mg/mL 圣草次苷的溶液)，每个水平制备 3 份，再按“2.2”项方法制得加样供试品溶液。各精密吸取 10  $\mu$ L，按照确立的色谱条件进样，结果白绵马素 AA、二去甲基伪绵马素 AA、伪绵马素、白绵马素 AP、绵马酸 ABA、绵马贯众素 ABBA、

山柰素、大豆素、去甲氧基荚果蕨素、异槲皮素和圣草次苷加样回收率分别为 98.23%、97.95%、99.44%、97.70%、96.99%、100.01%、99.06%、100.15%、98.16%、99.52%、96.95%；RSD 分别为 1.34%、1.40%、0.86%、1.34%、0.84%、0.77%、1.04%、1.89%、0.75%、1.50%、1.48%。

## 2.5 一测多评法质量评价模式的建立<sup>[10]</sup>

**2.5.1 相对校正因子 (*f*) 的计算** 按照确立的色谱条件，依法进样“2.5”项 6 份混合对照品溶液，以绵马贯众素 ABBA 为内参物，按照公式计算各成分的 *f* 值。计算结果见表 3，各成分 *f* 的 RSD 均小于 2.0%，提示 *f* 的均值可作为定量用。

$$f=(\rho_i\times A_s)/(\rho_s\times A_i)$$

$\rho_i$  和  $\rho_s$  分别为内参物和其他待测成分的质量浓度、 $A_i$  和  $A_s$  分别为内参物和其他待测成分的峰面积

**2.5.2 *f* 稳健性考察** 为了考察计算得到的 *f* 的稳健性，本试验通过考察不同仪器及色谱柱、改变流速和柱温对 *f* 的影响来评价。选用液相色谱仪 (Agilent 1260 型和 Waters Arc) 和色谱柱 (Symmetry C<sub>18</sub> 柱、Agilent Zorbax C<sub>18</sub> 柱和 Apollo C<sub>18</sub> 柱)，体积流量 (1.0 $\pm$ 0.2) mL/min，柱温 (30 $\pm$ 5)  $^{\circ}$ C 等条件，取“2.1”项下混合对照品溶液进样，结果各成分的 *f* 值在以上条件改变时变化不显著 (RSD 均小于 2.0%)，提示建立的 *f* 稳定性良好。

**2.5.3 色谱峰定位** 记录“2.5.2”项不同仪器与不同色谱柱时各成分色谱峰保留时间，采用相对保留时间值 (*t*) 法对色谱峰进行定位，结果各成分 *t* 值变化不显著 (RSD 均小于 2.0%)，且出峰顺序不会改变，提示该法可用于绵马贯众炭中多组分色谱峰的定位 (表 4)。

表 3  $f$  测定结果  
Table 3 Determination results of  $f$

| 混合对照品溶液 | $f$ 绵马贯众素 ABBA/白绵马素 AA | $f$ 绵马贯众素 ABBA/二去甲基伪绵马素 AA | $f$ 绵马贯众素 ABBA/伪绵马素 | $f$ 绵马贯众素 ABBA/白绵马素 AP | $f$ 绵马贯众素 ABBA/绵马酸 ABA | $f$ 绵马贯众素 ABBA/山柰素 | $f$ 绵马贯众素 ABBA/大豆素 | $f$ 绵马贯众素 ABBA/去甲氧基莢果蕨素 | $f$ 绵马贯众素 ABBA/异槲皮素 | $f$ 绵马贯众素 ABBA/圣草次苷 |
|---------|------------------------|----------------------------|---------------------|------------------------|------------------------|--------------------|--------------------|-------------------------|---------------------|---------------------|
| 1       | 1.559 2                | 2.033 9                    | 0.786 1             | 4.006 8                | 2.461 5                | 0.878 4            | 2.626 9            | 0.597 6                 | 1.167 2             | 4.748 0             |
| 2       | 1.550 7                | 2.024 3                    | 0.790 0             | 3.995 2                | 2.454 9                | 0.876 2            | 2.544 5            | 0.587 5                 | 1.163 6             | 4.736 4             |
| 3       | 1.555 7                | 2.031 3                    | 0.795 5             | 4.014 7                | 2.456 4                | 0.878 9            | 2.566 7            | 0.588 6                 | 1.168 2             | 4.705 0             |
| 4       | 1.540 8                | 2.027 6                    | 0.793 1             | 3.952 1                | 2.436 1                | 0.870 4            | 2.541 8            | 0.590 7                 | 1.151 0             | 4.679 0             |
| 5       | 1.484 3                | 2.036 5                    | 0.762 4             | 3.939 6                | 2.355 2                | 0.861 6            | 2.479 9            | 0.592 9                 | 1.135 2             | 4.678 2             |
| 6       | 1.525 5                | 2.037 9                    | 0.781 7             | 3.960 3                | 2.424 8                | 0.869 2            | 2.526 2            | 0.591 1                 | 1.149 4             | 4.726 1             |
| 平均值     | 1.536 0                | 2.031 9                    | 0.784 8             | 3.978 1                | 2.431 5                | 0.872 4            | 2.547 7            | 0.591 4                 | 1.155 8             | 4.712 1             |
| RSD/%   | 1.83                   | 0.26                       | 1.53                | 0.79                   | 1.64                   | 0.77               | 1.90               | 0.61                    | 1.12                | 0.63                |

表 4 各成分的相对保留时间值  
Table 4  $t$  value of various constituents

| 仪器             | 色谱柱                            | $t$ 绵马贯众素 ABBA/白绵马素 AA | $t$ 绵马贯众素 ABBA/二去甲基伪绵马素 AA | $t$ 绵马贯众素 ABBA/伪绵马素 | $t$ 绵马贯众素 ABBA/白绵马素 AP | $t$ 绵马贯众素 ABBA/绵马酸 ABA |
|----------------|--------------------------------|------------------------|----------------------------|---------------------|------------------------|------------------------|
| Agilent 1260 型 | Waters Xbridge C <sub>18</sub> | 0.416 8                | 0.504 9                    | 0.655 6             | 0.749 5                | 0.878 7                |
|                | Agilent Zorbax C <sub>18</sub> | 0.421 9                | 0.507 2                    | 0.659 3             | 0.756 9                | 0.886 2                |
|                | SGE protecol C <sub>18</sub>   | 0.427 3                | 0.513 9                    | 0.664 7             | 0.768 3                | 0.894 3                |
| Waters Arc 型   | Waters Xbridge C <sub>18</sub> | 0.406 1                | 0.495 6                    | 0.643 6             | 0.732 5                | 0.863 4                |
|                | Agilent Zorbax C <sub>18</sub> | 0.409 7                | 0.501 7                    | 0.657 2             | 0.736 4                | 0.870 9                |
|                | SGE protecol C <sub>18</sub>   | 0.416 2                | 0.502 5                    | 0.658 9             | 0.743 8                | 0.869 3                |
| 平均值            |                                | 0.416 3                | 0.504 3                    | 0.656 6             | 0.747 9                | 0.877 1                |
| RSD/%          |                                | 1.86                   | 1.21                       | 1.07                | 1.78                   | 1.32                   |

| 仪器             | 色谱柱                            | $t$ 绵马贯众素 ABBA/山柰素 | $t$ 绵马贯众素 ABBA/大豆素 | $t$ 绵马贯众素 ABBA/去甲氧基莢果蕨素 | $t$ 绵马贯众素 ABBA/异槲皮素 | $t$ 绵马贯众素 ABBA/圣草次苷 |
|----------------|--------------------------------|--------------------|--------------------|-------------------------|---------------------|---------------------|
| Agilent 1260 型 | Waters Xbridge C <sub>18</sub> | 1.164 4            | 1.211 4            | 1.324 9                 | 1.475 5             | 1.579 3             |
|                | Agilent Zorbax C <sub>18</sub> | 1.176 9            | 1.226 2            | 1.338 7                 | 1.486 1             | 1.587 4             |
|                | SGE protecol C <sub>18</sub>   | 1.183 2            | 1.247 1            | 1.346 2                 | 1.493 4             | 1.600 8             |
| Waters Arc 型   | Waters Xbridge C <sub>18</sub> | 1.152 5            | 1.204 6            | 1.321 5                 | 1.447 6             | 1.559 7             |
|                | Agilent Zorbax C <sub>18</sub> | 1.158 6            | 1.210 3            | 1.326 9                 | 1.462 8             | 1.567 9             |
|                | SGE protecol C <sub>18</sub>   | 1.162 0            | 1.213 8            | 1.343 6                 | 1.475 2             | 1.572 5             |
| 平均值            |                                | 1.166 3            | 1.218 9            | 1.333 6                 | 1.473 4             | 1.577 9             |
| RSD/%          |                                | 0.99               | 1.28               | 0.79                    | 1.11                | 0.93                |

## 2.6 样品常规外标法 (ESM) 和 QAMS 法的准确性比较

16 批绵马贯众炭样品 (S1~S16), 按“2.2”项流程制备供试品溶液 (每批平行 3 份), 各精密吸取 10  $\mu$ L 按照确立的色谱条件进样。运用 ESM 法计算白绵马素 AA、二去甲基伪绵马素 AA、伪绵马素、白绵马素 AP、绵马酸 ABA、绵马贯众素 ABBA、山柰素、大豆素、去甲氧基莢果蕨素、异槲皮素和圣草次苷的含量, 再以绵马贯众素 ABBA 为内参物, 利用上述建立的各成分  $f$  的均值, 采用 QAMS

法计算样品中其他成分的含量, 再运用 SPSS 26.0 统计软件的独立样本  $t$  检验法对各组分 2 种方法所得数据进行分析, 结果  $P>0.05$ , 提示 2 种方法所得 16 批绵马贯众炭样品中 11 个成分的含量结果没有显著的差别, 见表 5。

## 2.7 多元统计分析法<sup>[11]</sup>评价模式的建立

以 16 批绵马贯众炭中白绵马素 AA、二去甲基伪绵马素 AA、伪绵马素、白绵马素 AP、绵马酸 ABA、绵马贯众素 ABBA、山柰素、大豆素、去甲氧基莢果蕨素、异槲皮素和圣草次苷的含量数据

表 5 QAMS 法和外标法测定结果对比 ( $n=3$ )Table 5 Comparison of results of QAMS and external standard method ( $n=3$ )

| 编号  | 方法   | 质量分数/(mg·g <sup>-1</sup> ) |                 |       |            |         |               |       |       |              |       |       |
|-----|------|----------------------------|-----------------|-------|------------|---------|---------------|-------|-------|--------------|-------|-------|
|     |      | 白绵马素<br>AA                 | 二去甲基伪<br>绵马素 AA | 伪绵马素  | 白绵马素<br>AP | 绵马酸 ABA | 绵马贯众素<br>ABBA | 山柰素   | 大豆素   | 去甲氧基莢<br>果蕨素 | 异槲皮素  | 圣草次苷  |
| S1  | ESM  | 0.257                      | 0.132           | 0.458 | 0.063      | 0.091   | 0.793         | 0.576 | 0.084 | 3.516        | 0.319 | 0.046 |
|     | QAMS | 0.264                      | 0.129           | 0.446 | 0.064      | 0.089   | —             | 0.561 | 0.082 | 3.420        | 0.312 | 0.045 |
| S2  | ESM  | 0.312                      | 0.149           | 0.588 | 0.061      | 0.079   | 0.843         | 0.719 | 0.091 | 3.231        | 0.336 | 0.053 |
|     | QAMS | 0.304                      | 0.145           | 0.572 | 0.060      | 0.081   | —             | 0.706 | 0.089 | 3.148        | 0.345 | 0.052 |
| S3  | ESM  | 0.308                      | 0.171           | 0.529 | 0.051      | 0.087   | 1.051         | 0.659 | 0.096 | 3.401        | 0.309 | 0.051 |
|     | QAMS | 0.300                      | 0.174           | 0.514 | 0.050      | 0.085   | —             | 0.641 | 0.098 | 3.494        | 0.302 | 0.050 |
| S4  | ESM  | 0.332                      | 0.169           | 0.565 | 0.058      | 0.089   | 0.942         | 0.672 | 0.093 | 3.284        | 0.328 | 0.055 |
|     | QAMS | 0.324                      | 0.165           | 0.550 | 0.057      | 0.087   | —             | 0.667 | 0.091 | 3.375        | 0.319 | 0.054 |
| S5  | ESM  | 0.228                      | 0.187           | 0.548 | 0.047      | 0.093   | 1.000         | 0.581 | 0.096 | 2.792        | 0.287 | 0.055 |
|     | QAMS | 0.232                      | 0.182           | 0.535 | 0.048      | 0.091   | —             | 0.595 | 0.094 | 2.738        | 0.293 | 0.056 |
| S6  | ESM  | 0.286                      | 0.198           | 0.465 | 0.047      | 0.081   | 1.104         | 0.597 | 0.110 | 3.664        | 0.289 | 0.048 |
|     | QAMS | 0.294                      | 0.193           | 0.478 | 0.046      | 0.083   | —             | 0.580 | 0.107 | 3.579        | 0.282 | 0.047 |
| S7  | ESM  | 0.231                      | 0.138           | 0.431 | 0.049      | 0.073   | 0.697         | 0.518 | 0.063 | 3.139        | 0.315 | 0.043 |
|     | QAMS | 0.225                      | 0.135           | 0.442 | 0.050      | 0.075   | —             | 0.504 | 0.064 | 3.054        | 0.311 | 0.042 |
| S8  | ESM  | 0.194                      | 0.215           | 0.373 | 0.038      | 0.078   | 0.614         | 0.764 | 0.077 | 2.875        | 0.272 | 0.040 |
|     | QAMS | 0.189                      | 0.209           | 0.363 | 0.037      | 0.076   | —             | 0.744 | 0.075 | 2.811        | 0.265 | 0.039 |
| S9  | ESM  | 0.191                      | 0.173           | 0.404 | 0.043      | 0.079   | 0.638         | 0.559 | 0.082 | 2.873        | 0.279 | 0.039 |
|     | QAMS | 0.186                      | 0.178           | 0.393 | 0.042      | 0.077   | —             | 0.544 | 0.084 | 2.940        | 0.272 | 0.040 |
| S10 | ESM  | 0.209                      | 0.219           | 0.286 | 0.035      | 0.071   | 0.505         | 0.526 | 0.079 | 2.796        | 0.241 | 0.038 |
|     | QAMS | 0.204                      | 0.213           | 0.279 | 0.034      | 0.073   | —             | 0.512 | 0.077 | 2.723        | 0.248 | 0.037 |
| S11 | ESM  | 0.152                      | 0.192           | 0.249 | 0.039      | 0.072   | 0.557         | 0.481 | 0.074 | 2.731        | 0.259 | 0.038 |
|     | QAMS | 0.156                      | 0.187           | 0.256 | 0.038      | 0.070   | —             | 0.492 | 0.072 | 2.666        | 0.257 | 0.039 |
| S12 | ESM  | 0.297                      | 0.129           | 0.422 | 0.074      | 0.115   | 1.370         | 0.479 | 0.108 | 4.233        | 0.408 | 0.073 |
|     | QAMS | 0.289                      | 0.126           | 0.411 | 0.072      | 0.112   | —             | 0.466 | 0.105 | 4.117        | 0.400 | 0.071 |
| S13 | ESM  | 0.228                      | 0.111           | 0.512 | 0.074      | 0.114   | 1.421         | 0.452 | 0.134 | 4.418        | 0.436 | 0.067 |
|     | QAMS | 0.222                      | 0.108           | 0.498 | 0.076      | 0.117   | —             | 0.440 | 0.131 | 4.300        | 0.424 | 0.066 |
| S14 | ESM  | 0.301                      | 0.152           | 0.339 | 0.081      | 0.113   | 1.319         | 0.425 | 0.114 | 4.492        | 0.392 | 0.068 |
|     | QAMS | 0.309                      | 0.156           | 0.348 | 0.079      | 0.110   | —             | 0.414 | 0.111 | 4.384        | 0.382 | 0.069 |
| S15 | ESM  | 0.263                      | 0.119           | 0.442 | 0.091      | 0.122   | 1.477         | 0.393 | 0.129 | 4.401        | 0.425 | 0.076 |
|     | QAMS | 0.256                      | 0.117           | 0.430 | 0.090      | 0.120   | —             | 0.382 | 0.127 | 4.470        | 0.416 | 0.074 |
| S16 | ESM  | 0.326                      | 0.108           | 0.341 | 0.085      | 0.118   | 1.268         | 0.371 | 0.121 | 4.312        | 0.413 | 0.063 |
|     | QAMS | 0.317                      | 0.105           | 0.335 | 0.083      | 0.115   | —             | 0.361 | 0.118 | 4.208        | 0.406 | 0.064 |

(QAMS 法) 为变量, 借助 SIMCA 14.1 软件对  $16 \times 11$  矩阵数据构建 PCA 模型 (图 2), 提取出 2 个主成分<sup>[12]</sup>, 16 批绵马贯众炭样品自动聚焦为 3 个象限, 分成 3 组, 且所有数据点均在 95% 椭圆置信区间内, 表明所有检测数据无异常。进一步运行 OPLS-DA, 结果 16 批样品聚类良好, 模型参数  $R^2_X=0.928$ 、 $R^2_Y=0.822$ 、 $Q^2=0.760$ , 均大于 0.5<sup>[13]</sup>, 表明建立的模型稳定可靠、预测能力好 (图 3 和图 4)。结合变量重要性投影 (variable importance in projection, VIP) 值法筛选对样品分组起关键作用的变量, 以 VIP 值  $>1.0$  的变量作为标准, 图 4 显示 VIP  $>1$  的组分分别为去甲氧基莢果蕨素 (VIP=

2.102)、绵马贯众素 ABBA (VIP=1.503)、伪绵马素 (VIP=1.276) 和山柰素 (VIP=1.159), 表明上述 4 个组分对不同产地绵马贯众炭质量差异影响显著。

## 2.8 熵权 TOPSIS<sup>[14]</sup>分析法的建立

设置 16 批绵马贯众炭样品中白绵马素 AA、二去甲基伪绵马素 AA、伪绵马素、白绵马素 AP、绵马酸 ABA、绵马贯众素 ABBA、山柰素、大豆素、去甲氧基莢果蕨素、异槲皮素和圣草次苷的 QAMS 含量值为  $X_{bc}$  ( $b=1, 2, 3, \dots, 16$ ;  $c=1, 2, 3, \dots, 11$ ), 组成多指标  $16 \times 11$  数据矩阵。由于以上 11 种成分为正向指标, 根据公式 (1) 对  $16 \times 11$  矩阵数

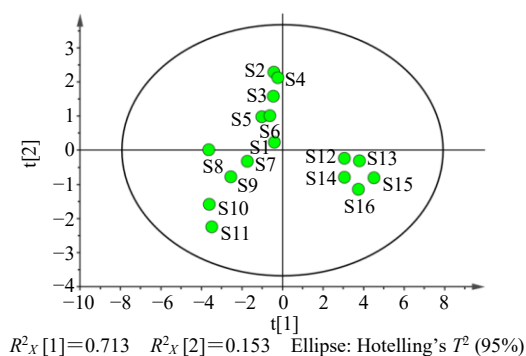


图 2 PCA 得分图

Fig. 2 PCA score chart

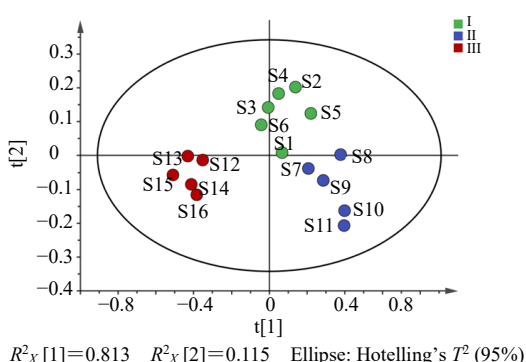
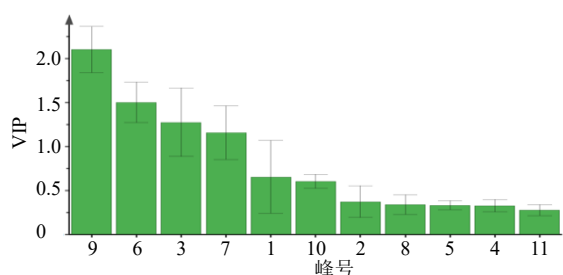


图 3 16 批绵马贯众炭 OPLS-DA 得分图

Fig. 3 Score chart of OPLS-DA model for 16 batches of *Dryopteridis Crassirhizomatis Rhizoma Carbonisatum* samples



1-白绵马素 AA; 2-二去甲基伪绵马素 AA; 3-伪绵马素; 4-白绵马素 AP; 5-绵马酸 ABA; 6-绵马贯众素 ABBA; 7-山柰素; 8-大豆素; 9-去甲氧基莨菪素; 10-异槲皮素; 11-圣草次苷。  
1-albaspidin AA; 2-didemethylpseudoaspidin AA; 3-pseudoaspidin; 4-albaspidin AP; 5-filixic acid ABA; 6-tetraalbaspidin ABBA; 7-kaempferide; 8-daidzein; 9-demethoxymatteucinol; 10-isoquercitrin; 11-eriocitrin.

图 4 OPLS-DA 模型的 VIP 图

Fig. 4 VIP plot of OPLS-DA model

据进行归一化,以 OPLS-DA 中白绵马素 AA、二去甲基伪绵马素 AA、伪绵马素、白绵马素 AP、绵马酸 ABA、绵马贯众素 ABBA、山柰素、大豆素、去

甲氧基莨菪素、异槲皮素和圣草次苷的 VIP 值为权重,将处理后的矩阵数据与各成分权重相乘得加权决策矩阵。再以决策矩阵中各成分的最大值为最优向量 ( $Z^+$ ),最小值为最差向量 ( $Z^-$ ),再按照最优向量欧氏距离 ( $D_b^+$ ) 计算公式 (2),最差向量欧氏距离 ( $D_b^-$ ) 计算公式 (3),相对贴近度 ( $J_b$ ) 计算公式 (4) 分别计算  $D_b^+$ 、 $D_b^-$  和  $J_b$  值,并根据  $J_b$  值的大小对样品质量进行排序 (表 6)。从表 6 可以看出吉林产地所得绵马贯众炭  $J_b$  值高于其他产地,提示吉林产地所得绵马贯众炭的整体质量较佳。

$$X_{bc} = \frac{X_{bc} - \min(X_c)}{\max(X_c) - \min(X_c)} \quad (1)$$

$$D_b^+ = \sqrt{\sum_{c=1}^n (Z_{bc} - Z_c^+)^2} \quad (2)$$

$$D_b^- = \sqrt{\sum_{c=1}^n (Z_{bc} - Z_c^-)^2} \quad (3)$$

$$J_b = \frac{D_b^-}{D_b^+ + D_b^-} \quad (4)$$

表 6 绵马贯众炭药材质量评价结果

Table 6 Quality evaluation result of *Dryopteridis Crassirhizomatis Rhizoma Carbonisatum*

| 编号  | $D_b^+$ | $D_b^-$ | $J_b$   | 排序 |
|-----|---------|---------|---------|----|
| S1  | 1.916 3 | 1.492 2 | 0.437 8 | 10 |
| S2  | 1.915 2 | 1.962 0 | 0.506 0 | 9  |
| S3  | 1.511 3 | 1.980 1 | 0.567 1 | 6  |
| S4  | 1.645 0 | 2.004 4 | 0.549 2 | 8  |
| S5  | 2.318 2 | 1.619 4 | 0.411 3 | 11 |
| S6  | 1.511 3 | 1.923 5 | 0.560 0 | 7  |
| S7  | 2.387 7 | 1.092 8 | 0.314 0 | 13 |
| S8  | 2.682 1 | 1.320 6 | 0.329 9 | 12 |
| S9  | 2.581 1 | 0.926 5 | 0.264 1 | 14 |
| S10 | 3.050 6 | 0.635 0 | 0.172 3 | 15 |
| S11 | 3.137 5 | 0.498 7 | 0.137 1 | 16 |
| S12 | 1.215 5 | 2.444 3 | 0.667 9 | 3  |
| S13 | 1.133 9 | 2.732 1 | 0.706 7 | 1  |
| S14 | 1.404 7 | 2.578 8 | 0.647 4 | 4  |
| S15 | 1.308 7 | 2.850 0 | 0.685 3 | 2  |
| S16 | 1.617 5 | 2.399 1 | 0.597 3 | 5  |

### 3 讨论

#### 3.1 提取溶剂及方法的选择

本实验以白绵马素 AA、二去甲基伪绵马素 AA、伪绵马素、白绵马素 AP、绵马酸 ABA、绵马贯众素 ABBA、山柰素、大豆素、去甲氧基莨菪素、异槲皮素和圣草次苷提取峰面积为主要指标,对比了不同溶剂 (70%乙醇、乙醇、70%甲醇、甲醇和水)、超声 15、30、45、60 min 的提取结果,结果显示绵马贯众炭供试品最佳提取方式为 70%甲醇

超声提取 30 min。

### 3.2 检测波长的确定

绵马贯众炭中待检测成分白绵马素 AA、二去甲基伪绵马素 AA、伪绵马素、白绵马素 AP、绵马酸 ABA、绵马贯众素 ABBA、山柰素、大豆素、去甲氧基莢果蕨素、异槲皮素和圣草次苷紫外吸收主要集中在 190~400 nm。综合 11 个成分峰形、峰面积等,本研究分别采用不同波长进行对比考察后发现,在 298 nm 波长处<sup>[15-17]</sup>,白绵马素 AA、二去甲基伪绵马素 AA、伪绵马素、白绵马素 AP、绵马酸 ABA 和绵马贯众素 ABBA 有最大吸收;在 330 nm 波长处<sup>[18-19]</sup>,山柰素、大豆素、去甲氧基莢果蕨素、异槲皮素和圣草次苷的色谱峰饱满且色谱峰分离度较好、基线较平。最后优选以 2.3 项色谱条件同时检测绵马贯众炭中以上 11 个成分的含量。

### 3.3 评价结果分析

本实验以 5 省 16 批绵马贯众炭为检测样品,首先建立 ESM 方法学验证,再采用 ESM 法同步检测 19 批绵马贯众炭所含的白绵马素 AA、二去甲基伪绵马素 AA、伪绵马素、白绵马素 AP、绵马酸 ABA、绵马贯众素 ABBA、山柰素、大豆素、去甲氧基莢果蕨素、异槲皮素和圣草次苷等成分含量,同时建立 QAMS 体系,对比了与 QAMS 法计算的含量结果,ESM 法与 QAMS 法所测结果无明显差异;多元统计分析对检测数据进行分析,结果显示各批次间质量差异较大,OPLS-DA 结果提示导致样品不同分类差异的有 4 个成分(VIP>1),分别为去甲氧基莢果蕨素、绵马贯众素 ABBA、伪绵马素和山柰素;EW-TOPSIS 法同样显示各批次间绵马贯众炭质量差异较大( $J_b$ 在 0.137 1~0.706 7),其中吉林产地所得绵马贯众炭  $J_b$  值较高,提示吉林产地所得绵马贯众炭整体质量较佳。

本实验建立的 QAMS 法、多元统计分析和熵权 TOPSIS 分析综合评价绵马贯众炭质量方法,简便省时、准确性好,为后续绵马贯众的道地性研究提供数据支撑。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

### 参考文献

- [1] 程友斌,王政,褚朝森,等. 绵马贯众及其伪品的红外指纹图谱鉴别 [J]. 安徽医药, 2022, 26(9): 1739-1743.
- [2] 郭文勇,廖翠平,代金刚,等. 绵马贯众的研究进展及质量标志物预测 [J]. 中国现代中药, 2023, 25(8): 1815-1827.

- [3] 贾莹莹,赵晋彤,韩香玉,等. 中药绵马贯众化学成分及药理作用研究概述 [J]. 亚太传统医药, 2017, 13(19): 53-56.
- [4] 杨锦,高增平,尹兴斌,等. 绵马贯众有效部位微丸的处方工艺优化及溶出特性研究 [J]. 中南药学, 2021, 19(6): 1080-1085.
- [5] 刘畅,闫艳韬,王娟,等. 绵马贯众中间苯三酚类化合物抗流感病毒的活性筛选 [J]. 中草药, 2018, 49(2): 305-312.
- [6] 马传江,曹广尚,杨培民,等. 绵马贯众的鉴定、化学成分及药理作用研究进展 [J]. 中国药房, 2016, 27(28): 4013-4015.
- [7] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 344-345.
- [8] 熊威,赵琰,成金俊,等. 绵马贯众炭中新型碳点的发现及其止血作用研究 [J]. 中草药, 2019, 50(6): 1388-1394.
- [9] 邢霓,曾倩,王田平. 浅析《傅青主女科》巧用贯众炭治血崩 [J]. 湖南中医杂志, 2015, 31(6): 127-128.
- [10] 秦昆明,杨冰,胡静,等. 一测多评法在中药多组分质量控制中的应用现状与思考 [J]. 中草药, 2018, 49(3): 725-731.
- [11] 丁若雯,魏惠珍,吕尚,等. 基于多元统计分析的车前子药材质量等级研究 [J]. 中国现代应用药学, 2021, 38(6): 673-679.
- [12] 何佳,黄文康,马相锋,等. 基于主成分分析与 PLS-DA 分析研究浙麦冬道地性与等级评价标准 [J]. 中国药理学杂志, 2021, 56(4): 285-292.
- [13] 肖会敏,杨旭,黄新文,等. 基于 HPLC 指纹图谱及多成分含量的化学模式识别法评价小血藤质量 [J]. 西北药学杂志, 2022, 37(5): 1-7.
- [14] 王玉霞,武晓玉,夏鹏飞,等. 基于熵权 TOPSIS 模型对经不同方法干燥的苦水玫瑰品质的综合评价 [J]. 中成药, 2021, 43(5): 1241-1248.
- [15] 刘畅,闫艳韬,王娟,等. UPLC 法测定绵马贯众抗流感病毒有效部位中 3 种成分的含量 [J]. 中药材, 2018, 41(10): 2389-2391.
- [16] 洪菲惠,杜文钊,梁玉婷,等. 一测多评法测定香鳞毛蕨有效部位中 10 种间苯三酚类成分 [J]. 中草药, 2019, 50(8): 1979-1984.
- [17] 刘媛媛,孟秀杰,李丽静. 一测多评法同时测定梅翁退热颗粒中 8 种成分 [J]. 中成药, 2019, 41(8): 1782-1786.
- [18] 姚娜,黄燕明,李雪银,等. 不同产地绵马贯众饮片标准汤剂制备与质量标准研究 [J]. 亚太传统医药, 2020, 16(9): 58-61.
- [19] 姚娜,黄燕明,李雪银,等. 绵马贯众配方颗粒的 HPLC 指纹图谱研究 [J]. 中国现代应用药学, 2021, 38(11): 1339-1344.

[责任编辑 时圣明]