

基于指纹图谱和一测多评联合化学计量学及熵权 TOPSIS 法对顶羽菊药材质量评价

丁 曼¹, 毛 艳^{1*}, 赵学佳², 王新堂^{1*}, 阿地娜·阿不都艾尼^{1,3}

1. 新疆维吾尔自治区药物研究所 新疆维吾尔药重点实验室, 新疆 乌鲁木齐 830010

2. 中国医学科学院医药生物技术研究所, 北京 100050

3. 新疆医科大学药学院, 新疆 乌鲁木齐 830011

摘要: 目的 建立 HPLC 指纹图谱与一测多评 (quantitative analysis of multi-components with a single-marker, QAMS) 结合的方法同时检测顶羽菊 *Rhaponticum repens* 药材中新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、1,5-二咖啡酰奎宁酸、异绿原酸 C、芹菜素、高车前素的含量, 并建立不同产地顶羽菊药材的综合质量评价模型, 为顶羽菊药材的整体质量评价提供参考。方法 采用 HPLC 法建立不同产地 16 批顶羽菊药材的指纹图谱, 利用化学计量学模式聚类分析 (cluster analysis, CA) 和正交偏最小二乘判别分析 (orthogonal partial least squares-discrimination analysis, OPLS-DA) 对采集的指纹图谱信息进行分析, 同时运用加权逼近理想解排序法 (technique for order preference by similarity to ideal solution, TOPSIS)、加权秩和比法 (rank sum ratio, RSR) 及两者模糊联合的方法构建评价模型; 以绿原酸为内标, 确定新绿原酸、隐绿原酸、1,5-二咖啡酰奎宁酸、异绿原酸 C、芹菜素、高车前素的相对校正因子并计算其含量, 建立 QAMS 法。结果 建立的顶羽菊药材指纹图谱共标定 23 个共有峰, 指出其中 7 个峰。化学计量学模式研究显示不同产地顶羽菊存在明显差异。通过 OPLS-DA 法筛选出 10 个主要的差异性成分。构建的熵权 TOPSIS 法、RSR 法以及两者模糊联合的综合质量评价模型, 对不同产地顶羽菊药材的质量评价排序结果较为一致。以绿原酸为内标建立的 QAMS 和外标法含量测定结果无显著性差异 ($P>0.05$)。结论 所建立的 HPLC 指纹图谱结合 QAMS 法简便可靠, 重复性好; 建立的综合质量评价模型的分析结果全面客观, 可用于顶羽菊药材整体质量的综合评价。

关键词: 顶羽菊; 指纹图谱; 一测多评法; 加权逼近理想解排序法; 加权秩和比法; 新绿原酸; 隐绿原酸; 1,5-二咖啡酰奎宁酸; 异绿原酸 C; 芹菜素; 高车前素; 质量评价

中图分类号: R286.2 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2024)16-5627-12

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2024.16.024

Quality evaluation of *Acroptilon repens* based on fingerprints and QAMS method combined with chemometrics and EW-TOPSIS method

DING Man¹, MAO Yan¹, ZHAO Xuejia², WANG Xintang¹, A Dina·abuduaini^{1,3}

1. Key Laboratory of Xinjiang Uygur Medicine, Xinjiang Institute of Materia Medica, Urumqi 830010, China

2. Institute of Medicinal Biotechnology, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100050, China

3. School of Pharmaceutical Sciences, Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, China

Abstract: Objective To establish a method combining high performance liquid chromatography (HPLC) fingerprint with quantitative analysis of multi-components with a single marker (QAMS) for simultaneous determination of neochlorogenic acid, chlorogenic acid, cryptochlorogenic acid, 1,5-dicaffeoyl quinic acid, isochlorogenic acid C, apigenin and hispidulin in *Acroptilon repens*. The comprehensive quality evaluation model of *A. repens* medicinal materials from different producing areas was established to provide reference for the overall quality evaluation. **Methods** HPLC method was used to determine the fingerprints of 16 batches of *A. repens* from different origins, and the information of fingerprinting spectrum was analyzed by stoichiometric models such as cluster analysis (CA) and

收稿日期: 2024-02-02

基金项目: 新疆维吾尔自治区公益性科研院所基本科研业务经费资助项目 (KY2021095); 新疆维吾尔自治区自然科学基金 (2022D01A304)

作者简介: 丁 曼 (1990—), 女, 硕士, 助理研究员, 从事中药民族药新药研发及质量控制研究。E-mail: 714450733@qq.com

*通信作者: 毛 艳 (1983—), 女, 硕士, 研究员, 硕士生导师, 从事中药药效物质快速发现与鉴定新技术新方法研究。

E-mail: maoyan7529@163.com

王新堂 (1968—), 男, 博士, 副研究员, 从事中药药效物质基础及质量标准研究。

orthogonal partial least-squares discrimination analysis (OPLS-DA). At the same time, the technique for order preference by similarity to ideal solution (TOPSIS), the weighted rank sum ratio (RSR) and the fuzzy combination of the two methods to construct the evaluation model. With chlorogenic acid as the internal standard, the relative correction factors (RCF) of neochlorogenic acid, cryptochlorogenic acid, 1,5-dicaffeoyl quinic acid, isochlorogenic acid C, apigenin and hispidulin were determined and their contents were calculated to establish QAMS method. **Results** A total of 23 common peaks were calibrated and seven of them were identified by the established fingerprint of *A. repens*. The study of stoichiometric model showed that there were obvious differences among different producing areas of *A. repens*. A total of ten differential components were selected by OPLS-DA method. The comprehensive quality evaluation model of entropy weight TOPSIS method, RSR method and their fuzzy combination showed the consistent quality evaluation ranking results of *A. repens* medicinal materials from different producing areas. There was no significant difference between the results of QAMS with chlorogenic acid as internal standard and the results of external standard method ($P > 0.05$). **Conclusion** The established HPLC fingerprint combined with QAMS method is simple, reliable and has good repeatability. The results of the comprehensive quality evaluation model established are comprehensive and objective, which can be used for the comprehensive evaluation of the overall quality of *A. repens*.

Key words: *Acroptilon repens* (L.) DC; fingerprint; quantitative analysis of multi-components with a single-marker; technique for order preference by similarity to ideal solution; weighted rank sum ratio; neochlorogenic acid; cryptochlorogenic acid; 1,5-dicaffeoyl quinic acid; isochlorogenic acid C; apigenin; hispidulin; quality assessment

顶羽菊 *Acroptilon repens* (L.) DC., 又名苦蒿, 来源于菊科顶羽菊属植物顶羽菊(苦蒿)的地上部分^[1], 主要分布于我国新疆、甘肃、宁夏、内蒙古等地, 在伊朗、俄罗斯、蒙古等国家也有分布, 资源十分丰富^[2]。据《哈萨克药志》中记载: 其味辛、苦、寒, 药地上部分, 有清热解毒、活血消肿、祛风除湿、通经活络的功效, 主治关节炎、痈肿疮疖等症, 为新疆地产民族药常用药材。维吾尔族民间常与骆驼蓬等量煎水洗患处, 或与独活、防风、秦艽、车前草水煎服, 用于治疗关节炎, 具有较好的医学应用前景。顶羽菊主要含有倍半萜内酯类、生物碱类、黄酮类和挥发油类等化合物; 目前国内对顶羽菊化学成分的研究报道不多, 主要集中在黄酮类成分方面; 顶羽菊药理作用相关的研究报道较少, 主要在抗菌、抗虫、抗癌活性、过敏性以及植物毒性等领域^[3-4]。

新疆地处祖国西部, 孕育着丰富的药用资源。而制约新疆民族医药产业发展的重要因素是药材的标准研究。目前具有质量控制标准的药材数量较少, 并且质量控制标准的水平整体偏低, 含量测定指标单一, 严重影响维吾尔药产业发展。查阅顶羽菊相关文献, 发现采用指纹图谱结合一测多评法用于顶羽菊药材的质量控制研究仍未有报道。基于此, 本课题组收集 16 批次的顶羽菊药材, 首次建立其指纹图谱, 通过相似度评价、聚类分析(cluster analysis, CA)和正交偏最小二乘-判别分析(orthogonal partial least squares-discrimination analysis, OPLS-DA)对指纹图谱数据进行综合评价,

并采用 QAMS 法对 7 个化学成分进行定量分析, 为顶羽菊药材的全面质量控制与评价提供有效技术手段和科学依据。

近年来在中医药研究领域内, 加权逼近理想解排序法(technique for order preference by similarity to ideal solution, TOPSIS)与加权秩和比法(rank sum ratio, RSR)等综合评价方法应用较为广泛, 若单独使用其一用于评价中药质量的优劣存在着一定的局限性。本研究通过建立 TOPSIS 法和 RSR 法以及两者模糊联合的综合质量评价模型, 对不同产地顶羽菊的质量进行综合评价, 克服 RSR 法会使原始数据损失的弊端, TOPSIS 法灵敏度低、对异常值的干扰比较敏感且不能对评价结果分档的缺陷, 并采用熵权法赋权, 减少了主观因素对评价结果的影响^[5-8], 以期进一步完善顶羽菊药材的质量控制, 建立更加全面的药材质量评价方法, 反向溯源筛选出优势原料产地, 为顶羽菊药材的推广提供科学依据。

1 仪器与材料

1.1 仪器

Agilent-1260 Infinity II 型高效液相色谱仪(美国 Agilent Technologies 公司); Ultimate 3000 高效液相色谱仪(美国 Thermo Scientific Technologies 公司); CPA-225D 型电子分析天平(德国 Sartorius 公司, $d=0.01$ mg); JY-5002 型电子分析天平(上海上天精密仪器有限公司, $d=0.01$ g); AS20500BDT 型超声波清洗机(频率 40 kHz, 功率 500 W, 天津奥特赛恩斯仪器有限公司); UPT-10T

型优普特实验超纯水机（成都超纯科技有限公司）。

1.2 材料

对照品新绿原酸（批号 DSTDX001504，质量分数 98.80%）、隐绿原酸（批号 DST221220-035，质量分数 99.17%）、1,5-二咖啡酰奎宁酸（批号 DSTDE000602，质量分数 98.42%）、高车前素（批号 DSTDG002601，质量分数 99.23%）均购自成都德思特生物技术有限公司；绿原酸（批号 110753-202018，质量分数 96.10%）、芹菜素（批

号 111901-201102，质量分数 99.60%）购自中国食品药品检定研究院；异绿原酸 C（批号 MUST-21081010，质量分数 99.77%）购自成都曼思特生物科技有限公司。乙腈为色谱纯，购自美国 Fisher 公司；超纯水为怡宝纯净水，其他化学试剂均为分析纯。药材信息见表 1，采自新疆各地，由新疆维吾尔自治区药物研究所何江研究员鉴定为菊科顶羽菊属植物顶羽菊 *A. repens* (L.) DC.（苦蒿）的地上部分。

表 1 顶羽菊药材信息
Table 1 Information of *A. repens*

编号	品种	采集时间	产地	经纬度
S1	顶羽菊	2020-08-12	新疆昌吉州木垒县	43°50'10"N, 90°17'48"E
S2	顶羽菊	2021-06-27	新疆伊犁州巩留县	43°26'20"N, 82°9'54"E
S3	顶羽菊	2021-07-06	新疆乌鲁木齐市花儿沟	43°44'15"N, 87°38'59"E
S4	顶羽菊	2021-07-10	新疆昌吉州呼图壁县	44°8'2"N, 86°53'52"E
S5	顶羽菊	2021-07-11	新疆昌吉州玛纳斯县	44°25'32"N, 86°11'3"E
S6	顶羽菊	2021-07-25	新疆五家渠市	44°4'58"N, 87°34'29"E
S7	顶羽菊	2021-09-03	新疆乌鲁木齐市花儿沟	43°44'15"N, 87°38'59"E
S8	顶羽菊	2022-06-15	新疆乌鲁木齐市花儿沟	43°44'15"N, 87°38'59"E
S9	顶羽菊	2022-07-01	新疆昌吉州吉木萨尔县	43°55'32"N, 89°12'2"E
S10	顶羽菊	2022-07-02	新疆阿勒泰富蕴县	47°3'11"N, 89°42'18"E
S11	顶羽菊	2022-07-03	新疆阿勒泰吉木乃县	47°11'53"N, 86°8'15"E
S12	顶羽菊	2022-07-04	新疆阿勒泰市市区	48°0'12"N, 88°17'43"E
S13	顶羽菊	2022-07-06	新疆克拉玛依市白碱滩区	45°36'41"N, 85°2'3"E
S14	顶羽菊	2022-07-06	新疆昌吉州玛纳斯县	44°27'30"N, 86°20'42"E
S15	顶羽菊	2022-07-06	新疆阿勒泰福海县	47°1'0"N, 87°14'25"E
S16	顶羽菊	2022-07-06	新疆塔城和布克赛尔县	46°40'20"N, 86°4'39"E
S17	顶羽菊（花）	2021-09-03	新疆乌鲁木齐市花儿沟	43°44'15"N, 87°38'59"E
S18	顶羽菊（叶）	2021-09-03	新疆乌鲁木齐市花儿沟	43°44'15"N, 87°38'59"E
S19	顶羽菊（茎）	2021-09-03	新疆乌鲁木齐市花儿沟	43°44'15"N, 87°38'59"E
S20	顶羽菊（根）	2021-09-03	新疆乌鲁木齐市花儿沟	43°44'15"N, 87°38'59"E
S21	顶羽菊（种子）	2021-09-03	新疆乌鲁木齐市花儿沟	43°44'15"N, 87°38'59"E

2 方法与结果

2.1 不同产地顶羽菊药材 HPLC 指纹图谱研究^[9-10]

2.1.1 色谱条件 色谱柱为 Agilent Eclipse XDB-C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm)；流动相为 0.1%甲酸溶液 (A)-乙腈 (B)，洗脱梯度：0~5 min, 5% B；5~15 min, 5%~10% B；15~20 min, 10%~14% B；20~80 min, 14%~26% B；80~113 min, 26%~38% B；113~113.01 min, 38%~5% B；113.01~120 min, 5% B；柱温 30 ℃，进样量 10 μL，体积流量 1.0 mL/min，检测波长为 327 nm。

2.1.2 对照品溶液的制备 精密称取新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、1,5-二咖啡酰奎宁酸、异绿原酸 C、芹菜素、高车前素对照品适量，分别置量瓶中，加入甲醇分别制成含新绿原酸 0.278 6 mg/mL、绿原酸 0.730 4 mg/mL、隐绿原酸 0.315 4 mg/mL、1,5-二咖啡酰奎宁酸 0.129 9 mg/mL、异绿原酸 C 0.193 6 mg/mL、芹菜素 0.072 5 mg/mL 和高车前素 0.222 3 mg/mL 的对照品储备液，置于 4 ℃冰箱中避光保存，备用。

2.1.3 供试品溶液的制备 取顶羽菊样品粉末（过

二号筛) 约 1.0 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 50% 甲醇 50 mL, 称定质量, 超声处理 30 min (40 kHz、500 W), 放冷, 再称定质量, 用 50% 甲醇补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

2.1.4 精密度试验 称取顶羽菊样品粉末 (S7), 按“2.1.3”项下方法制备供试品溶液, 并按“2.1.1”项下色谱条件连续进样 6 次, 以 3 号峰 (绿原酸) 为参照峰, 各共有峰的相对保留时间 RSD 均小于 0.69%, 相对峰面积 RSD 均小于 2.90%, 表明仪器精密度良好。

2.1.5 重复性试验 称取顶羽菊样品粉末 (S7) 适量, 按“2.1.3”项下方法平行制备供试品溶液 6 份, 按“2.1.1”项下色谱条件进样分析, 以 3 号峰 (绿原酸) 为参照峰, 各共有峰的相对保留时间 RSD 均小于 0.65%, 相对峰面积 RSD 均小于 3.00%, 表明该方法重复性良好。

2.1.6 稳定性试验 取同一份供试品溶液 (S7),

分别于 0、2、4、6、8、10、12、24、48 h 进样分析, 以 3 号峰 (绿原酸) 为参照峰, 各共有峰的相对保留时间 RSD 均小于 0.61%, 相对峰面积 RSD 均小于 2.97%, 表明该供试品溶液在 48 h 内稳定性良好。

2.1.7 HPLC 指纹图谱的建立及相似度评价 分别取不同产地 16 批顶羽菊药材 (S1~S16) 按“2.1.3”项下方法制备成供试品溶液, 于“2.1.1”项色谱条件下进样分析, 得到不同产地顶羽菊药材 (S1~S16) HPLC 色谱图, 将色谱数据以 AIA 格式导入“中药色谱指纹图谱相似度评价软件” (2012 版)。S7 样品设为参照图谱 (中位数法、时间窗 0.2), 经多点校正和自动峰匹配后生成对照指纹图谱 (R), 共标定 23 个共有峰, 见图 1。通过与对照品比对, 指出 7 个共有峰 (图 2), 其中 2 号峰为新绿原酸, 3 号峰为绿原酸 (参照峰 S), 4 号峰为隐绿原酸, 14 号峰为 1,5-二咖啡酰奎宁酸, 18 号峰为异绿

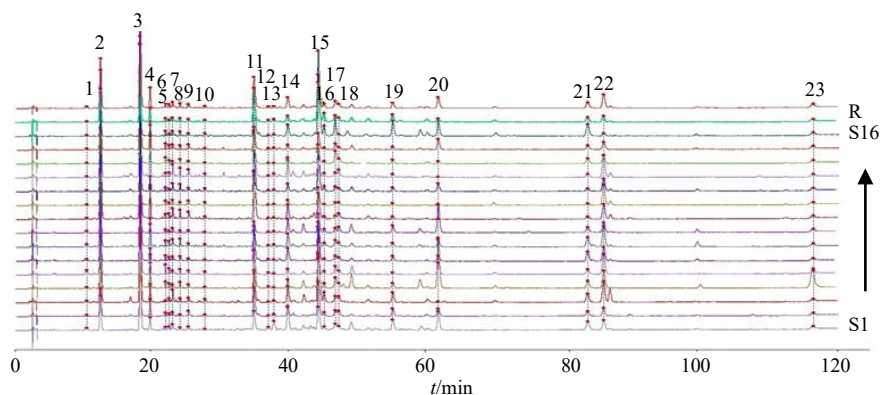
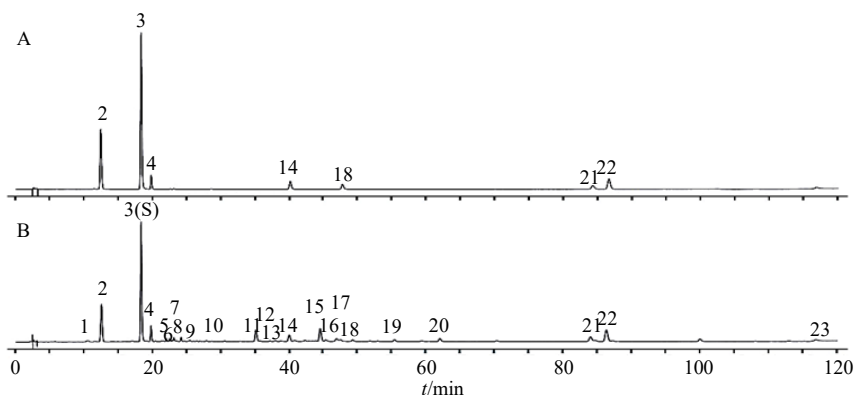


图 1 16 批顶羽菊药材的叠加指纹图谱

Fig. 1 HPLC superimposed fingerprints of 16 batches of *A. repens* samples



2-新绿原酸; 3-绿原酸; 4-隐绿原酸; 14-1,5-二咖啡酰奎宁酸; 18-异绿原酸 C; 21-芹菜素; 22-高车前素。

2-neochlorogenic acid; 3-chlorogenic acid; 4-cryptochlorogenic acid; 14-1,5-dicaffeoyl quinic acid; 18-isochlorogenic acid C; 21-apigenin; 22-hispidulin.

图 2 混合对照品 (A) 和样品 (B) 对照指纹图谱特征峰归属

Fig. 2 Characteristic peak attribution of fingerprint of mixed reference substances (A) and sample (B)

原酸 C, 21 号峰为芹菜素, 22 号峰为高车前素。计算 16 批样品 (S1~S16) 与其对照指纹图谱的相似度分别为 0.958、0.979、0.938、0.910、0.972、0.980、0.976、0.893、0.961、0.984、0.975、0.973、0.988、0.972、0.775、0.956, 样品 S8 和 S15 相似度相对较低, 表明不同产地的 16 批顶羽菊药材质量存在差异。

2.2 化学计量学分析

2.2.1 CA 通过 SPSS 26.0 软件对 16 批顶羽菊药材 (S1~S16) 的 23 个共有峰峰面积进行聚类分析, 结果见图 3。结果显示, 样品 S1~S8、S10~S11、S13~16 聚为第 1 类, 样品 S9、S12 聚为第 2 类。表明 16 批顶羽菊化学成分存在一定的差异, 并且分类存在产地交叉情况, 推测原因可能是由不同的海拔、气候、日照、土壤等地理环境因素及采收季节所致。因此, 顶羽菊药材的产地并不能完全反映其品质, 还需要综合考虑其化学成分的含量。

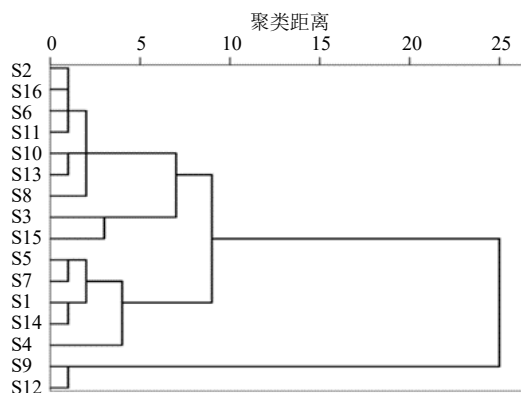


图 3 顶羽菊样品聚类分析

Fig. 3 CA of *A. repens*

2.2.2 OPLS-DA 为更准确地比较不同产地各批次样品之间的差异, 本研究将 16 批顶羽菊药材 (S1~S16) 的共有峰峰面积作为变量, 导入 SIMCA 14.1 软件进行分析, 以获得 OPLS-DA 分析模型, 见图 4-A。结果显示, 模型拟合参数 R^2_X 和 R^2_Y 分别为 0.663 和 0.919, 预测能力参数 Q^2 为 0.570, 均大于 0.5, 表明所建立的模型具有良好的预测能力和解释能力。对构建的 OPLS-DA 模型随机排列置换检验 200 次^[11], 结果原始 R^2 和 Q^2 (位于图 4-B 右上方) 均大于左边随机排列后的 R^2 和 Q^2 , 表明所构建的模型结果可靠、未过度拟合。由 OPLS-DA 得分图 (图 4-A) 可见, 16 批样品被分为 3 类, 其结果与聚类分析结果基本一致。由变量贡献值图 (图

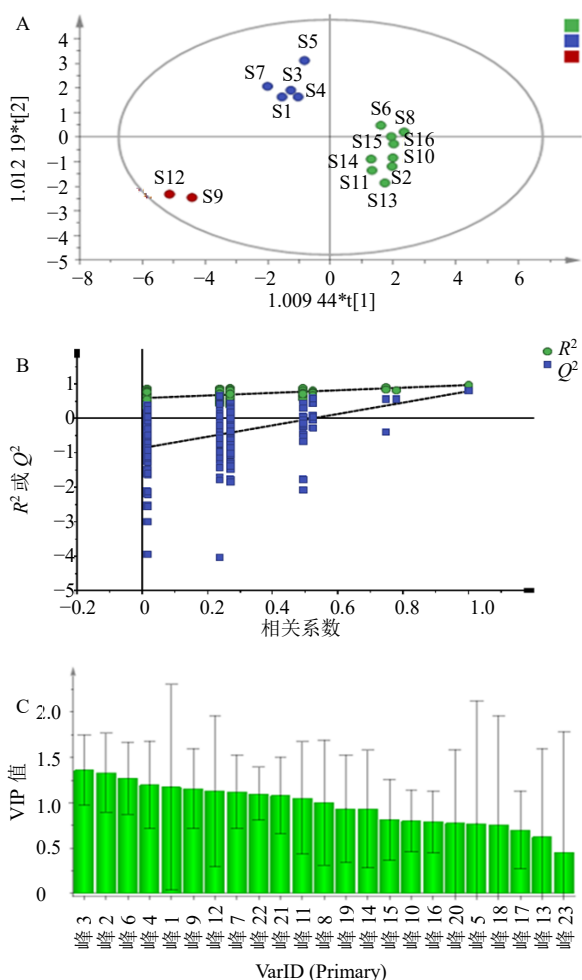


图 4 OPLS-DA 得分图 (A)、OPLS-DA 模型置换验证图 (B)、变量贡献值图 (C)

Fig. 4 OPLS-DA score plot (A), OPLS-DA model permutation verification diagram (B), VIP plot (C)

4-C) 可见, 筛选出贡献较大的 10 个变量 ($VIP > 1$), VIP 值由大到小依次为 3 (绿原酸)、2 (新绿原酸)、6、4 (隐绿原酸)、1、9、12、7、22 (高车前素)、21 号峰 (芹菜素)。这些成分在区分不同产地顶羽菊药材中起重要作用, 是引起不同批次之间差异的主要标志性成分。

2.3 质量评价模型的建立及分析

2.3.1 熵权 TOPSIS 法 以 16 批顶羽菊药材 (S1~S16) 中 23 个共有峰峰面积为变量, 其属于越大越优型指标。参考发表文献^[12-14], 采用的原始数据归一化的方法对原始数据进行归一化处理。利用熵权法评价指标的熵值来反映样品数据的离散程度并体现评价指标的重要性, 采用熵权计算法计算得出信息熵 (E)、信息效用值 (D) 和权重 (W), 见表 2。将归一化后的数据与各指标 W 相乘得加权决策矩

表 2 各指标的信息熵、信息效用值和权重

Table 2 *E*, *D* and *W* of each index

峰号	<i>E</i>	<i>D</i>	<i>W</i>
1	0.861	0.139	0.044
2	0.881	0.119	0.038
3	0.826	0.174	0.055
4	0.899	0.101	0.032
5	0.914	0.086	0.027
6	0.880	0.120	0.038
7	0.889	0.111	0.035
8	0.925	0.075	0.024
9	0.928	0.072	0.023
10	0.864	0.136	0.043
11	0.903	0.097	0.030
12	0.946	0.054	0.017
13	0.842	0.158	0.050
14	0.815	0.185	0.058
15	0.882	0.118	0.037
16	0.791	0.209	0.066
17	0.866	0.134	0.042
18	0.881	0.119	0.038
19	0.780	0.220	0.069
20	0.927	0.073	0.023
21	0.933	0.067	0.021
22	0.490	0.510	0.161
23	0.903	0.097	0.030

阵, 根据加权决策矩阵得到最优方案。计算各批顶羽菊药材样品与正理想解距离 (D^+) 及与负理想解的距离 (D^-), 再根据公式计算 16 批顶羽菊样品的相对贴近度 (D_n), D_n 值越大则被评价的顶羽菊样品质量最优, 反之则最差。

$$D_n = D^- / (D^+ + D^-)$$

按照 D_n 值大小对 16 批顶羽菊样品质量优劣进行排序, 见表 3。结果显示排名前 3 位的是昌吉、阿勒泰市和乌鲁木齐, 其次是五家渠、塔城, 伊犁和克拉玛依排名最后。

2.3.2 加权 RSR 法 RSR 法是一种综合评价方法, 以评价指标的平均秩次为基础进行统计分析。首先将 n 个评价对象的 m 个评价指标排列成数据表, 导入 SPSSPRO 在线分析软件进行同趋势化和量纲处理。然后, 使用熵权法确定各指标权重, 根据指标值大小排序得到秩次 R 。用秩次 R 代替原始评价指标值, 计算 RSR 值和排名。再进行 RSR 的分布表格计算, 即列出各组频数、计算各组累计频数、确定各组 RSR 的秩次 R 及平均秩次 R^- 、计算向下累计频率 (R^-/n), 最后一项用 $(1-1/4n)$ 修正, 得到 Probit 值 (累积频率所对应的概率单位), 见表 4。

以 Probit 值为自变量, RSR 值为因变量, 计算直线回归方程, 得到 RSR 估计值, 并根据该值进行

表 3 16 批顶羽菊熵权 TOPSIS 模型质量评价情况

Table 3 Entropy weight-TOPSIS model quality evaluation of 16 batches of *A. repens*

编号	D^+	D^-	D_n	排序
S1	0.725	0.474	0.395	7
S2	0.824	0.253	0.235	15
S3	0.675	0.521	0.436	3
S4	0.590	0.602	0.505	1
S5	0.740	0.484	0.395	6
S6	0.825	0.259	0.239	12
S7	0.707	0.436	0.381	8
S8	0.840	0.267	0.241	11
S9	0.728	0.516	0.415	4
S10	0.873	0.270	0.236	14
S11	0.810	0.296	0.268	10
S12	0.692	0.554	0.445	2
S13	0.853	0.236	0.217	16
S14	0.818	0.254	0.237	13
S15	0.766	0.511	0.400	5
S16	0.791	0.329	0.294	9

表 4 16 批顶羽菊 RSR 模型质量评价情况

Table 4 RSR model quality evaluation of 16 batches of *A. repens*

编号	RSR	频数	累计频数	评价秩数 (评价秩数/ n)	/%	Probit
S10	0.309	1	1	1	6.25	3.47
S13	0.415	1	2	2	12.50	3.85
S6	0.458	1	3	3	18.75	4.11
S2	0.460	1	4	4	25.00	4.33
S11	0.469	1	5	5	31.25	4.51
S8	0.476	1	6	6	37.50	4.68
S14	0.497	1	7	7	43.75	4.84
S5	0.507	1	8	8	50.00	5.00
S16	0.526	1	9	9	56.25	5.16
S1	0.546	1	10	10	62.50	5.32
S9	0.561	1	11	11	68.75	5.49
S15	0.572	1	12	12	75.00	5.67
S7	0.625	1	13	13	81.25	5.89
S12	0.640	1	14	14	87.50	6.15
S4	0.674	1	15	15	93.75	6.53
S3	0.729	1	16	16	98.44	7.15

排序和分档。根据 F 检验的结果, 显著性 P 值 < 0.01 , 水平呈现显著性, 拒绝了回归系数为 0 的原假设, 模型的拟合优度 (R^2) 为 0.97, 模型表现较为优秀; 方差膨胀系数 (variance inflation factor, VIF) 全部小于 10, 因此模型没有多重共线性问题, 模型构建良好。回归方程为 $RSR = -0.003 + 0.104 \times \text{Probit}$, 方差分析结果为 $F = 459.97$, $P < 0.01$, 说明所求线性回归方程有统计学意义。得到 RSR 法分档

结果,见表 5。结果显示,16 批顶羽菊药材(S1~S16)中质量较优的批次是昌吉、乌鲁木齐、阿勒泰市;质量较差的批次产地是阿勒泰富蕴县和克拉玛依。

2.3.3 熵权 TOPSIS 法与加权 RSR 法模糊联合建立评价模型 基于模糊数学理论,将加权 TOPSIS 法和加权 RSR 法计算的 D_n 值和 RSR 值进行加权模糊联合,以 $W_1 \times D_n + W_2 \times RSR$ 的公式计算。设置 D_n :RSR 的权重比为 1:0、0:1、0.1:0.9、0.5:0.5、0.9:0.1 5 种情况,分别计算加权后的值并进行优劣排序。根据“择多原则”进行判断^[15-16],选择合理排序结果进行综合分析。由模糊联合得到的评价

结果显示,16 批顶羽菊(S1~S16)中质量较优的批次产地为昌吉、乌鲁木齐、阿勒泰市;质量较差的批次产地为克拉玛依和伊犁。具体结果见表 6。

2.4 多成分含量测定

2.4.1 线性关系 精密吸取“2.1.2”项下新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、1,5-二咖啡酰奎宁酸、异绿原酸 C、芹菜素、高车前素对照品储备液,分别稀释至 5 个不同浓度。按“2.1.1”项下色谱条件分别测定峰面积,以峰面积为纵坐标(Y)、进样浓度为横坐标(X),绘制标准曲线。结果表明 7 个成分在各自浓度范围内线性关系良好,如表 7 所示。

表 5 16 批顶羽菊质量评价分档情况
Table 5 Grading of quality evaluation of 16 batches of *A. repens*

等级	RSR 临界值(拟合值)	分档情况
优秀	>0.619	S3、S4、S12
良好	0.411~0.619	S1、S2、S5、S6、S7、S8、S9、S11、S14、S15、S16
一般	<0.411	S10、S13

表 6 16 批顶羽菊 TOPSIS 法与加权 RSR 法模糊联合质量评价情况
Table 6 Fuzzy combination quality evaluation of TOPSIS and weighted RSR of 16 batches of *A. repens*

编号	D_n 值		RSR 值		0.1 D_n +0.9 RSR		0.5 D_n +0.5 RSR		0.9 D_n +0.1 RSR	
	数值	排序	数值	排序	数值	排序	数值	排序	数值	排序
S1	0.395	7	0.546	7	0.531	7	0.470	7	0.410	6
S2	0.235	15	0.460	13	0.438	13	0.347	14	0.257	14
S3	0.436	3	0.729	1	0.699	1	0.582	2	0.465	2
S4	0.505	1	0.674	2	0.657	2	0.590	1	0.522	1
S5	0.395	6	0.507	9	0.496	9	0.451	8	0.406	7
S6	0.239	12	0.458	14	0.436	14	0.348	13	0.261	13
S7	0.381	8	0.625	4	0.601	4	0.503	4	0.406	8
S8	0.241	11	0.476	11	0.452	11	0.359	12	0.265	11
S9	0.415	4	0.561	6	0.546	6	0.488	5	0.429	4
S10	0.236	14	0.309	16	0.301	16	0.272	16	0.243	15
S11	0.268	10	0.469	12	0.449	12	0.368	10	0.288	10
S12	0.445	2	0.640	3	0.621	3	0.542	3	0.464	3
S13	0.217	16	0.415	15	0.395	15	0.316	15	0.237	16
S14	0.237	13	0.497	10	0.471	10	0.367	11	0.263	12
S15	0.400	5	0.572	5	0.555	5	0.486	6	0.417	5
S16	0.294	9	0.526	8	0.502	8	0.410	9	0.317	9

表 7 各成分的线性范围考察结果
Table 7 Results of linearity for each component

成分	回归方程	相关系数	线性范围/(mg·mL ⁻¹)
新绿原酸	$Y=33\,031\,X+34.722$	0.999 0	0.005 6~0.066 9
绿原酸	$Y=35\,201\,X+87.286$	0.999 7	0.007 3~0.175 3
隐绿原酸	$Y=32\,203\,X-8.049$	0.999 0	0.001 9~0.018 9
1,5-二咖啡酰奎宁酸	$Y=58\,899\,X+5.322$	0.999 5	0.000 8~0.010 4
异绿原酸 C	$Y=47\,472\,X+1.244$	0.999 4	0.000 8~0.011 6
芹菜素	$Y=50\,998\,X+4.928$	0.999 8	0.000 1~0.007 3
高车前素	$Y=59\,189\,X-1.119$	0.999 7	0.000 9~0.022 2

2.4.2 精密度试验 称取顶羽菊样品粉末(S7),按“2.1.3”项下方法制备供试品溶液,并按“2.1.1”项下色谱条件连续进样6次。结果显示新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、1,5-二咖啡酰奎宁酸、异绿原酸C、芹菜素、高车前素峰面积的RSD分别为0.45%、0.34%、2.79%、1.26%、1.45%、2.59%、1.00%,表明仪器精密度良好。

2.4.3 重复性试验 取同一批次顶羽菊样品粉末(S7),按“2.1.3”项下方法平行制备6份供试品溶液,按“2.1.1”项下色谱条件分析。结果显示新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、1,5-二咖啡酰奎宁酸、异绿原酸C、芹菜素、高车前素含量的RSD分别为1.83%、2.99%、1.88%、3.38%、2.72%、3.00%、1.86%,表明该方法的重复性良好。

2.4.4 稳定性试验 按“2.1.3”项下方法制备供试品溶液,分别于0、2、4、6、8、10、12、24、48 h进样。结果显示新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、1,5-二咖啡酰奎宁酸、异绿原酸C、芹菜素、高车前素峰面积的RSD分别为0.48%、0.29%、2.61%、1.97%、2.22%、2.22%和0.79%,表明供试品溶液在48 h内稳定性良好。

2.4.5 加样回收率试验 取已测定的顶羽菊样品粉末(S7)6份,每份称取0.5 g,精密称定,分别精密加入含新绿原酸(0.558 4 mg)、绿原酸(1.314 8 mg)、隐绿原酸(0.220 8 mg)、1,5-二咖啡酰奎宁酸(0.090 9 mg)、异绿原酸C(0.007 7 mg)、芹菜素(0.094 3 mg)、高车前素(0.200 1 mg)的对照品溶液,按“2.1.3”项下方法制备后同法分析,记录各成分的峰面积,计算加样回收率及RSD值。结果显示新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、1,5-二咖啡酰奎宁酸、异绿原酸C、芹菜素、高车前素的平均加样回收率分

别为92.38%、99.52%、106.07%、107.09%、99.48%、91.50%、103.34%,RSD分别为1.53%、0.88%、2.88%、2.01%、3.30%、3.21%、3.32%。

2.5 顶羽菊中7个成分QAMS的建立

2.5.1 相对校正因子($f_{s/i}$)的计算 在“2.1.1”项色谱条件下,取混合对照品溶液分别进样2、4、6、8、10、12、14、16和18 μ L,记录各成分的峰面积,根据 $f_{s/i}$ 计算公式,以绿原酸为内标物,计算新绿原酸、隐绿原酸、1,5-二咖啡酰奎宁酸、异绿原酸C、芹菜素、高车前素的 $f_{s/i}$ 的平均值,分别为1.051 8、1.263 7、0.643 8、0.733 2、0.713 5、0.629 6,结果见表8。

$$f_{s/i} = f_s/f_i = (A_s/C_s)/(A_i/C_i)^{[17]}$$

A_s 为绿原酸内标物的峰面积, C_s 为绿原酸内标物的浓度, A_i 为待测组分*i*的峰面积, C_i 为待测组分*i*的浓度

2.5.2 不同体积流量对 $f_{s/i}$ 的影响 精密吸取混合对照品溶液适量,采用Agilent-1260型高效液相色谱仪系统,Agilent Eclipse XDB-C₁₈色谱柱,考察不同体积流量(0.9、1.0、1.1 mL/min)对 $f_{s/i}$ 的影响。结果如表9所示,各成分 $f_{s/i}$ 的RSD均小于3%,表明不同体积流量对各成分 $f_{s/i}$ 无显著影响。

2.5.3 不同柱温对 $f_{s/i}$ 的影响 采用Agilent-1260型高效液相色谱仪系统,Agilent Eclipse XDB-C₁₈色谱柱,考察不同柱温(28、30、32 $^{\circ}$ C)对 $f_{s/i}$ 的影响。结果如表10所示,各成分 $f_{s/i}$ 的RSD均小于3%,表明不同柱温对各成分 $f_{s/i}$ 无显著影响。

2.5.4 不同色谱柱对 $f_{s/i}$ 的影响 采用Agilent-1260型高效液相色谱仪系统,考察不同品牌色谱柱(柱1: Agilent Eclipse XDB-C₁₈、柱2: YMC-Pack ODS-A C₁₈、柱3: Agilent ZORBAX SB-C₁₈)对 $f_{s/i}$ 的影响。结果如表11所示,各成分 $f_{s/i}$ 的RSD均小于3%,

表8 以绿原酸为内标物的 $f_{s/i}$ 测定结果

Table 8 $f_{s/i}$ determination results with chlorogenic acid as internal standard substance

进样体积/ μ L	$f_{s/i}$					
	$f_{\text{绿原酸/新绿原酸}}$	$f_{\text{绿原酸/隐绿原酸}}$	$f_{\text{绿原酸/1,5-二咖啡酰奎宁酸}}$	$f_{\text{绿原酸/异绿原酸C}}$	$f_{\text{绿原酸/芹菜素}}$	$f_{\text{绿原酸/高车前素}}$
2	1.053 2	1.221 0	0.637 6	0.724 5	0.685 6	0.601 1
4	1.045 7	1.286 3	0.630 4	0.741 6	0.702 1	0.625 2
6	1.056 6	1.254 2	0.615 5	0.743 8	0.733 5	0.623 9
8	1.053 1	1.226 9	0.655 7	0.708 4	0.720 5	0.638 2
10	1.045 5	1.270 9	0.642 7	0.750 4	0.697 0	0.639 4
12	1.050 3	1.286 5	0.641 3	0.721 2	0.732 8	0.631 7
14	1.053 8	1.281 4	0.661 9	0.716 7	0.702 8	0.631 5
16	1.056 1	1.269 6	0.654 9	0.755 6	0.745 2	0.638 8
18	1.051 8	1.276 1	0.654 4	0.737 0	0.702 4	0.636 5
平均值	1.051 8	1.263 7	0.643 8	0.733 2	0.713 5	0.629 6
RSD/%	0.38	1.95	2.29	2.21	2.82	1.92

表 9 不同体积流量对 $f_{s/i}$ 的影响

Table 9 Effects of different volume flow rates on $f_{s/i}$

体积流量/(mL·min ⁻¹)	$f_{s/i}$					
	$f_{\text{绿原酸/新绿原酸}}$	$f_{\text{绿原酸/隐绿原酸}}$	$f_{\text{绿原酸/1,5-二咖啡酰奎宁酸}}$	$f_{\text{绿原酸/异绿原酸 C}}$	$f_{\text{绿原酸/芥菜素}}$	$f_{\text{绿原酸/高车前素}}$
0.9	1.051 4	1.256 8	0.632 7	0.750 2	0.713 4	0.630 5
1.0	1.045 5	1.270 9	0.642 7	0.750 4	0.697 0	0.639 4
1.1	1.053 3	1.223 5	0.606 8	0.725 7	0.689 6	0.617 2
平均值	1.050 1	1.250 4	0.627 4	0.742 1	0.700 0	0.629 0
RSD/%	0.39	1.95	2.95	1.92	1.74	1.77

表 10 不同柱温对 $f_{s/i}$ 的影响

Table 10 Effects of different column temperatures on $f_{s/i}$

柱温/°C	$f_{s/i}$					
	$f_{\text{绿原酸/新绿原酸}}$	$f_{\text{绿原酸/隐绿原酸}}$	$f_{\text{绿原酸/1,5-二咖啡酰奎宁酸}}$	$f_{\text{绿原酸/异绿原酸 C}}$	$f_{\text{绿原酸/芥菜素}}$	$f_{\text{绿原酸/高车前素}}$
28	1.052 1	1.245 3	0.637 2	0.732 6	0.707 2	0.623 5
30	1.045 5	1.270 9	0.642 7	0.750 4	0.697 0	0.639 4
32	1.054 5	1.278 1	0.622 2	0.718 3	0.709 1	0.627 1
平均值	1.050 7	1.264 8	0.634 0	0.733 7	0.704 4	0.630 0
RSD/%	0.44	1.36	1.67	2.19	0.92	1.32

表 11 不同色谱柱对 $f_{s/i}$ 的影响

Table 11 Effects of different chromatographic columns on $f_{s/i}$

色谱柱	$f_{s/i}$					
	$f_{\text{绿原酸/新绿原酸}}$	$f_{\text{绿原酸/隐绿原酸}}$	$f_{\text{绿原酸/1,5-二咖啡酰奎宁酸}}$	$f_{\text{绿原酸/异绿原酸 C}}$	$f_{\text{绿原酸/芥菜素}}$	$f_{\text{绿原酸/高车前素}}$
柱 1	1.045 5	1.270 9	0.642 7	0.750 4	0.697 0	0.639 4
柱 2	1.054 3	1.325 9	0.667 9	0.771 5	0.700 9	0.618 4
柱 3	1.039 7	1.257 7	0.669 5	0.758 0	0.678 7	0.615 0
平均值	1.046 5	1.284 8	0.660 0	0.759 9	0.692 2	0.624 2
RSD/%	0.70	2.82	2.28	1.40	1.71	2.12

表明不同色谱柱对各成分的 $f_{s/i}$ 无显著影响,适用性良好。

2.5.5 不同仪器对 $f_{s/i}$ 的影响 采用 Agilent-1260 型高效液相色谱仪 (仪器 1) 和 Ultimate 3000 高效液相色谱仪 (仪器 2), 考察不同仪器对 $f_{s/i}$ 的影响。结果如表 12 所示, 各成分 $f_{s/i}$ 的 RSD 均小于 5%, 表明不同仪器对各成分的 $f_{s/i}$ 无显著影响。

2.5.6 色谱峰定位参数考察^[18] 利用相对保留

时间 ($r_{i/s}$) 进行峰定位, $r_{i/s} = t_{R(i)}/t_{R(s)}$ (i 为待测成分, s 为内标物绿原酸), 本实验考察了相对保留时间在不同品牌色谱柱 (柱 1: Agilent Eclipse XDB-C₁₈、柱 2: YMC-Pack ODS-A C₁₈、柱 3: Agilent ZORBAX SB-C₁₈) 和不同仪器 (仪器 1: Agilent-1260、仪器 2: Ultimate 3000) 的重现性, 结果见表 13。结果表明, 各待测成分的相对保留值 RSD 均小于 5%, 说明用 $r_{i/s}$ 进行色谱峰定位较为可行。

表 12 不同仪器对 $f_{s/i}$ 的影响

Table 12 Effects of different instruments on $f_{s/i}$

仪器型号	$f_{s/i}$					
	$f_{\text{绿原酸/新绿原酸}}$	$f_{\text{绿原酸/隐绿原酸}}$	$f_{\text{绿原酸/1,5-二咖啡酰奎宁酸}}$	$f_{\text{绿原酸/异绿原酸 C}}$	$f_{\text{绿原酸/芥菜素}}$	$f_{\text{绿原酸/高车前素}}$
仪器 1	1.051 8	1.263 7	0.643 8	0.733 2	0.713 5	0.629 6
仪器 2	1.123 0	1.200 7	0.677 1	0.761 0	0.667 6	0.589 6
平均值	1.087 4	1.232 2	0.660 5	0.747 1	0.690 6	0.609 6
RSD/%	4.63	3.61	3.57	2.63	4.70	4.63

表 13 不同色谱柱和不同仪器测定顶羽菊中 7 种成分的相对保留值

Table 13 Relative retention values of seven compounds in *A. repens* by different columns and different instruments

影响 因素	型号	<i>t</i> / <i>s</i>					
		<i>t</i> 新绿原酸/绿原酸	<i>t</i> 隐绿原酸/绿原酸	<i>t</i> 1,5-二咖啡酰奎宁酸/绿原酸	<i>t</i> 异绿原酸 C/绿原酸	<i>t</i> 芹菜素/绿原酸	<i>t</i> 高车前素/绿原酸
色谱柱	柱 1	0.686	1.079	2.184	2.596	4.582	4.708
	柱 2	0.750	1.068	2.161	2.550	4.230	4.316
	柱 3	0.704	1.053	2.263	2.578	4.274	4.365
	平均值	0.713	1.067	2.203	2.575	4.362	4.463
	RSD/%	4.617	1.223	2.444	0.914	4.400	4.782
仪器	仪器 1	0.686	1.079	2.184	2.596	4.582	4.708
	仪器 2	0.693	1.068	2.227	2.562	4.353	4.479
	平均值	0.689	1.074	2.205	2.579	4.468	4.593
	RSD/%	0.791	0.728	1.362	0.932	3.632	3.513

2.5.7 样品含量测定 采用 QAMS 和 ESM 对不同产地 16 批顶羽菊药材 (S1~S16) 和顶羽菊不同部位 (S17~S21) 中的 7 个成分进行含量测定。结果如表 14 所示, QAMS 和 ESM 计算的含量经 *t* 检验比较^[19], $P>0.05$, 表明 2 种方法测得的含量无显著性差异, 且两组含量之间 RSD 均小于 2.0%, 表明所建立的 QAMS 法准确性良好, 可用于顶羽菊药材的含量测定。

表 14 QAMS 与 ESM 含量结果

Table 14 Content results of QAMS and ESM

编号	绿原酸/(mg·g ⁻¹)	新绿原酸/(mg·g ⁻¹)		隐绿原酸/(mg·g ⁻¹)		1,5-二咖啡酰奎宁酸/(mg·g ⁻¹)		异绿原酸 C/(mg·g ⁻¹)		芹菜素/(mg·g ⁻¹)		高车前素/(mg·g ⁻¹)	
		ESM	QAMS	ESM	QAMS	ESM	QAMS	ESM	QAMS	ESM	QAMS	ESM	QAMS
S1	2.302	0.624	0.620	0.207	0.202	0.306	0.314	0.065	0.066	0.213	0.213	0.186	0.182
S2	1.315	0.505	0.502	0.271	0.265	0.126	0.130	0.098	0.100	0.111	0.112	0.145	0.142
S3	2.122	1.226	1.218	0.285	0.278	0.216	0.222	0.100	0.102	0.191	0.192	0.381	0.374
S4	2.207	0.955	0.948	0.391	0.383	0.125	0.128	0.068	0.069	0.174	0.174	0.329	0.322
S5	2.314	1.104	1.097	0.328	0.321	0.084	0.086	0.072	0.073	0.125	0.126	0.379	0.372
S6	1.390	0.474	0.471	0.193	0.188	0.187	0.192	0.066	0.067	0.219	0.220	0.249	0.244
S7	2.592	1.100	1.093	0.400	0.391	0.162	0.167	0.077	0.078	0.190	0.190	0.375	0.368
S8	1.195	0.294	0.292	0.147	0.144	0.185	0.190	0.112	0.114	0.115	0.116	0.188	0.184
S9	4.028	2.129	2.116	0.509	0.498	0.192	0.197	0.081	0.082	0.063	0.063	0.275	0.269
S10	1.722	0.750	0.745	0.272	0.266	0.069	0.071	0.064	0.065	0.031	0.031	0.382	0.375
S11	1.412	0.680	0.675	0.233	0.228	0.102	0.104	0.070	0.071	0.070	0.070	0.230	0.225
S12	3.788	1.851	1.839	0.628	0.614	0.217	0.223	0.143	0.145	0.086	0.086	0.404	0.396
S13	1.568	0.637	0.633	0.441	0.431	0.097	0.100	0.066	0.067	0.120	0.120	0.168	0.165
S14	2.074	0.676	0.672	0.430	0.420	0.071	0.073	0.037	0.038	0.102	0.102	0.139	0.136
S15	1.208	0.416	0.413	0.195	0.191	0.170	0.175	0.031	0.032	0.280	0.281	0.053	0.052
S16	1.180	0.570	0.566	0.221	0.216	0.100	0.103	0.054	0.055	0.113	0.113	0.113	0.111
S17	0.011	0.004	0.004	0.002	0.002	0.005	0.005	0.016	0.017	0.400	0.402	0.030	0.029
S18	5.128	2.386	2.371	0.808	0.790	0.220	0.227	0.099	0.101	0.028	0.028	0.501	0.491
S19	1.767	0.353	0.351	0.150	0.146	0.288	0.296	0.030	0.031	—	—	0.039	0.038
S20	2.696	0.070	0.070	0.069	0.067	0.896	0.921	0.029	0.029	—	—	0.005	0.005
S21	0.967	0.014	0.014	0.027	0.026	0.011	0.011	0.037	0.037	—	—	—	—
<i>P</i>	—	0.980		0.912		0.930		0.908		0.989		0.921	

3 讨论

3.1 供试品溶液制备方法及流动相组成筛选

本研究通过单因素实验对不同提取溶剂(50%甲醇和 50%乙醇)、不同流动相水相组成(0.1%甲酸溶液、0.2%磷酸溶液、0.1%冰乙酸溶液)进行考察,以色谱峰的个数、峰面积的大小及分离度最终选定以 50%甲醇作为提取溶剂、料液比 1:50、超声 30 min 作为样品的提取方法。由于该色谱洗脱方法流动相水相比比例较大,故选择了耐水性更好的 Agilent Eclipse XDB-C₁₈ 色谱柱进行指纹图谱方法学考察;而在流动相水相的选择中,当水相为 0.1%甲酸溶液时,色谱峰的个数较多且分离度较好。因此选择乙腈-0.1%甲酸溶液为流动相。

3.2 指纹图谱分析

中药指纹图谱已成为辨识中药整体质量的重要途径之一,HPLC 指纹图谱则是目前应用最多的一类指纹图谱,它可以反映不同样品化学成分的相似性及质量的均一性^[20-21]。本实验建立了 16 批不同产地顶羽菊药材的指纹图谱,得到了 23 个共有峰,并指认了新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、1,5-二咖啡酰奎宁酸、异绿原酸 C、芹菜素、高车前素共 7 个峰。通过 CA 结果可知,16 批顶羽菊可聚为 2 类,其中分类存在产地交叉情况,说明同一产地的药材质量有一定差异,故产地不能作为评价顶羽菊药材的唯一标准,还需要综合考虑其海拔、气候、日照、土壤等地理环境因素及采收季节等其他因素。OPLS-DA 共筛选出 10 个差异性标志成分,这些成分在区分不同产地顶羽菊药材中起重要作用。

3.3 综合质量评价结果分析

本研究运用熵权 TOPSIS 法和 RSR 法模糊联合策略,构建了顶羽菊质量综合评价模型。将 TOPSIS 法、RSR 法与模糊联合法相结合,可提升评价准确性。采用“择多原则”确定评价结果并确保一致性,继而更准确的反映整体变化趋势。运用建立的模型对 16 批顶羽菊质量进行评价,尽管不同方法评价结果存在小波动,但整体趋势保持一致。16 批顶羽菊药材中质量较优的批次的产地为昌吉、乌鲁木齐、阿勒泰市;质量较差的批次产地为克拉玛依和伊犁。因此,所构建的基于熵权 TOPSIS 法和 RSR 法模糊联合的综合质量评价模型能够较为准确地评估顶羽菊质量,为其品质评价和质量控制提供参考,也为后期研究奠定基础。

3.4 QAMS 法的建立

建立 QAMS 法,内标物的选定是关键。选定内标物的标准是相对价廉易得,色谱峰峰面积和保留时间稳定,重复性好,含量相对较高。绿原酸在供试品溶液中具有以上优点,且分离度较好,响应较高,故本研究选用绿原酸为内标物。

本研究通过相对保留时间法来考察色谱峰的定位情况,实验中考察了 Agilent Eclipse XDB-C₁₈、YMC-Pack ODS-A C₁₈、Agilent ZORBAX SB-C₁₈、Cosmosil 5 C₁₈-AR-II、Agilent 5TC-C₁₈ 5 根色谱柱,发现 Cosmosil 5 C₁₈-AR-II、Agilent 5TC-C₁₈ 不能将新绿原酸、异绿原酸 C 和芹菜素色谱峰进行很好的分离。经过反复试验,最终确定采用 Agilent Eclipse XDB-C₁₈、YMC-Pack ODS-A C₁₈、Agilent ZORBAX SB-C₁₈ 3 根色谱柱进行试验。这 3 根色谱柱的相对保留时间 RSD 均小于 5%,并且 7 个成分出峰顺序均没有变化。本研究中,色谱洗脱方法流动相水相为甲酸水溶液,且水相比比例较大,试验结果表明上述 3 根色谱柱比较适合分离顶羽菊药材供试品溶液中的各种组分,分离效果较好。

3.5 顶羽菊不同部位 7 种化学成分含量差异分析

本研究对顶羽菊不同部位(根、茎、叶、花、种子)中 7 种化学成分进行含量测定。结果表明,顶羽菊不同部位的含量差异明显,只有新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、1,5-二咖啡酰奎宁酸、异绿原酸 C 在顶羽菊药材的根、茎、叶、花、种子中均能检测到,其中新绿原酸和隐绿原酸在各个部位的含量从高到低依次为叶、茎、根、种子、花,绿原酸在各个部位的含量从高到低依次为叶、根、茎、种子、花,1,5-二咖啡酰奎宁酸在各个部位的含量从高到低依次为根、茎、叶、种子、花,异绿原酸 C 在各个部位的含量从高到低依次为叶、种子、茎、根、花,茎、根和种子中未检测到芹菜素,种子中未检测到高车前素。比较各个部位所含化合物发现,叶和茎中所含化合物的种类相对较多,含量相对较高,该研究结果为其在民间将地上部分这一传统用药习惯提供了试验依据,并且顶羽菊药材叶片较小、容易脱落,因此,采收时应尽可能保留叶片,为顶羽菊的合理利用提供参考。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 徐新,巴哈尔古丽·黄尔汗.哈萨克药志(第一卷)[M].北京:民族出版社,2009:102.

- [2] 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: 309.
- [3] 余海涛, 常一明, 付慧敏, 等. 顶羽菊生物活性及化学成分研究进展 [J]. 甘肃农业科技, 2022, 53(9): 1-5.
- [4] 赵东保, 张卫, 李明静, 等. 顶羽菊化学成分研究 [J]. 中国中药杂志, 2006, 31(22): 1869-1872.
- [5] 万理, 祝婧, 杨明, 等. 基于熵权-TOPSIS 模型结合特征图谱的蜜麸枳壳原料产地优选及质量标准提升研究 [J]. 中草药, 2024, 55(1): 68-76.
- [6] 程钰洁, 李玲, 洪婉敏, 等. 基于指纹图谱结合化学计量学的车前草与车前子药材质量评价研究 [J]. 广东药科大学学报, 2023, 39(2): 37-50.
- [7] 张媛媛, 于咏梅, 王蕾. 基于熵权-变异系数组合权重的金银花质量评价模型构建 [J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(10): 4303-4308.
- [8] 马天翔, 顾志荣, 许爱霞, 等. 基于 OPLS 结合熵权 TOPSIS 法对不同产地锁阳的鉴别与综合质量评价 [J]. 中草药, 2020, 51(12): 3284-3291.
- [9] 罗家敏, 高雯, 李萍. 指纹图谱结合一测多评法的栀子质量控制方法研究 [J]. 中草药, 2022, 53(11): 3480-3486.
- [10] 孙仁爽, 隋艳艳, 闫红, 等. 基于指纹图谱结合一测多评法评价不同产地牻牛儿苗质量 [J]. 中草药, 2023, 54(21): 7186-7192.
- [11] 冯涌微, 刘晓霞, 梁月仪, 等. 不同规格青皮药材 UPLC 特征图谱和多指标成分含量对比研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2022, 34(7): 1169-1180.
- [12] 吴学辉, 程心玲, 潘艳琳, 等. 基于 HPLC-QAMS/GC 法联合多元统计分析及加权 TOPSIS 法评价广藿香质量 [J]. 中成药, 2023, 45(11): 3670-3677.
- [13] 吴学辉, 程心玲, 张晓斌, 等. 基于 HPLC-QAMS 多指标成分联合化学计量学及熵权 TOPSIS 的白及综合质量评价 [J]. 中国中医药信息杂志, 2023, 30(5): 127-134.
- [14] 孙越鹏, 王梦雪, 宋丹, 等. 基于一测多评多组分定量质控联合主成分分析、正交偏最小二乘法-判别分析及熵权逼近理想解排序法的盐沙苑子饮片综合质量评价 [J]. 中草药, 2023, 54(24): 8077-8085.
- [15] 秦海燕, 鄢娟, 尹晶, 等. 理想解排序法与秩和比法及其模糊联合综合评价我国 2000—2016 年孕产妇保健工作 [J]. 安徽医药, 2020, 24(4): 838-841.
- [16] 王蕾, 魏霞, 于咏梅. 基于逼近理想解排序法和秩和法综合评价我国食品药品综合检验机构发展概况 [J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(4): 1636-1643.
- [17] 李小阳, 翟小林, 王丹, 等. 基于一测多评法的当归药材质量控制研究 [J]. 中草药, 2022, 53(20): 6354-6360.
- [18] 毛艳, 蔡晓翠, 古丽白热木·玉素因, 等. 一测多评法同时测定新疆软紫草中 6 种萘醌类成分 [J]. 中草药, 2019, 50(17): 4170-4175.
- [19] 董双涛, 徐丽霞, 高建平, 等. 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 [J]. 中草药, 2024, 55(7): 2397-2404.
- [20] 陶晓赛, 龚海燕, 谢彩侠, 等. 基于 UPLC 指纹图谱结合化学计量学评价不同产地盾叶薯蓣药材质量 [J]. 中草药, 2021, 52(1): 227-233.
- [21] Sun M M, Wu H W, He M, *et al.* Integrated assessment of medicinal rhubarb by combination of delayed luminescence and HPLC fingerprint with emphasized on bioactivities based quality control [J]. *Chin Med*, 2020, 15: 72.

[责任编辑 时圣明]