

质量分析

基于指纹图谱和一测多评联合化学计量学、熵权 TOPSIS 法及加权 RSR 法对一枝蒿的质量评价*

丁曼¹, 程江南¹, 阿地娜·阿不都艾尼^{1,2}, 毛艳^{1**}

(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, 乌鲁木齐 830010; 2. 新疆医科大学药学院, 乌鲁木齐 830011)

摘要 目的: 建立高效液相色谱(HPLC)指纹图谱与一测多评(QAMS)结合的方法同时检测一枝蒿 *Artemisia rupestris* L. 药材中新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、异绿原酸 B、异绿原酸 A、异绿原酸 C、蒙花苷、一枝蒿酮酸、金腰乙素、艾黄素含量, 并建立不同产地一枝蒿药材的综合质量评价模型, 为一枝蒿药材的整体质量评价提供参考。**方法:** 采用 HPLC 法测定不同产地 15 批次一枝蒿药材的指纹图谱, 色谱柱为 YMC-Pack ODS-A C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 以乙腈-0.2% 甲酸溶液为流动相, 梯度洗脱, 分段变波长检测, 柱温 30 °C, 体积流量 1.0 mL · min⁻¹。利用聚类分析、主成分分析(PCA)和正交偏最小二乘判别分析(OPLS-DA)对采集的指纹图谱信息进行分析, 同时运用熵权逼近理想解排序(technique for order preference by similarity to ideal solution, TOPSIS)法、加权秩和比(rank sum ratio, RSR)法及两者模糊联合的方法构建评价模型; 以蒙花苷为内标, 确定新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、异绿原酸 B、异绿原酸 A、异绿原酸 C、一枝蒿酮酸、金腰乙素、艾黄素的相对校正因子并计算其含量, 建立 QAMS 法。**结果:** 建立的一枝蒿药材指纹图谱共标定 18 个共有峰, 指认出其中 11 个峰。化学计量学模式研究显示不同产地一枝蒿药材存在明显差异。通过 OPLS-DA 法筛选出 11 个主要的差异性成分。构建的熵权 TOPSIS 法、加权 RSR 法以及二者模糊联合的综合质量评价模型, 对不同产地一枝蒿药材的质量评价排序结果较为一致。10 个定量成分线性关系均良好 ($r \geq 0.9990$), 平均加样回收率 92.6% ~ 107.2%, RSD 均 < 3.0%。以蒙花苷为内标建立的 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, 可用于一枝蒿药材整体质量的综合评价。**关键词:** 一枝蒿; 指纹图谱; 一测多评法; 熵权逼近理想解排序法; 质量评价

中图分类号: R917

文献标识码: A

文章编号: 0254-1793(2025)03-0475-14

doi: 10.16155/j.0254-1793.2024-0219

Quality evaluation of *Artemisia rupestris* L. based on fingerprints and QAMS combined with chemometrics, EW-TOPSIS method and WRSR method*DING Man¹, CHENG Jiang-nan¹, ADINA Abuduaini^{1,2}, MAO Yan^{1**}

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

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

Abstract Objective: To establish a method combining high performance liquid chromatography (HPLC) fingerprint

* 新疆维吾尔自治区自然科学基金 - 杰出青年项目(2021D01E25); 新疆维吾尔自治区自然科学基金 - 青年基金项目(2022D01B188); 新疆维吾尔自治区重点研发计划项目(2023B03012-2)

** 通信作者 Tel: 18129413767; E-mail: maoyan7529@163.com

第一作者 丁曼 Tel: 15999156282; E-mail: 714450733@qq.com

程江南 Tel: 13579900257; E-mail: 648699388@qq.com

with quantitative analysis of multi-components with a single marker (QAMS), for simultaneous determination of neochlorogenic acid, chlorogenic acid, cryptochlorogenic acid, cynaroside, isochlorogenic acid B, isochlorogenic acid A, isochlorogenic acid C, buddleoside, rupestonic acid, chrysosplenetin and artemisetin in *Artemisia rupestris* L.. The comprehensive quality evaluation model of different producing areas was established to provide reference for the overall quality evaluation. **Methods:** HPLC method was used to determine the fingerprints of 15 batches of *Artemisia rupestris* L. from different origin. Stationary phase was YMC-Pack ODS-A C18 column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) was adopted, and the mobile phase was acetonitrile-water (containing 0.2% formic acid) with gradient elution, the detection wavelength was segmented changes, the column temperature was 30°C, the flow rate was 1.0 mL · min⁻¹. The information of fingerprinting spectrum was analyzed by cluster analysis (CA), principal component analysis (PCA) and orthogonal partial least-squares discrimination analysis (OPLS-DA). At the same time, the entropy weight technique for order preference by similarity to ideal solution (EW-TOPSIS), the weighted rank sum ratio (WRSR) and the fuzzy combination of the two methods to construct the evaluation model. With buddleoside as the internal standard, the relative correction factors (RCF) of neochlorogenic acid, chlorogenic acid, cryptochlorogenic acid, cynaroside, isochlorogenic acid B, isochlorogenic acid A, isochlorogenic acid C, rupestonic acid, chrysosplenetin and artemisetin were determined and their contents were calculated to establish QAMS method. **Results:** A total of 18 common peaks were calibrated and ten of them were identified by the established fingerprint of *Artemisia rupestris* L.. The study of stoichiometric model showed that there were obvious differences among different producing areas of *Artemisia rupestris* L.. Eleven different components were selected by OPLS-DA method. The comprehensive quality evaluation model of EW-TOPSIS method, WRSR method and their fuzzy combination showed the consistent quality evaluation ranking results of different producing areas. The resolution and linear relationship of ten components in quantitative analysis were good. The average recovery rates were 92.6%–107.2% with RSD < 3.0%. There was no significant difference between the results of QAMS with chlorogenic acid as internal standard and the results of external standard (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 to evaluate the overall quality of *Artemisia rupestris* L..

Keywords: *Artemisia rupestris* L.; fingerprint; QAMS; technique for order preference by similarity to ideal solution; quality assessment

一枝蒿 (*Artemisia rupestris* L.) 是菊科 (*Compositae*) 蒿属 (*Artemisia*) 多年生草本植物, 是维吾尔族和哈萨克族习用药材, 主要分布于新疆沿天山山脉及阿尔泰山脉等地海拔 1 600~4 500 m 的亚高山、草原、针叶林开阔地, 现收载于《药品标准》维吾尔药分册、《维吾尔药志》(上册) 和《中华本草》(维吾尔药卷), 维吾尔药名为一孜乎艾曼尼^[1]。《维吾尔药志》中记载一枝蒿有清热解毒、消食健胃、保肝利胆、抗过敏、抗菌、散瘀消肿、解蛇毒等功效, 临床上常用于治疗感冒、消化不良、肝炎、荨麻疹、咽炎、扁桃体炎、毒蛇咬伤、过敏性疾病等, 用量一般为 6~15 g, 水煎服^[2]。一枝蒿是新疆地区独有的、典型的特色道地民族药, 临

床疗效确切, 在民间特别是维吾尔医院中广为应用。据维吾尔医院处方调查, 一枝蒿制剂用量之大堪称维药成方制剂之最, 在维吾尔医用途上不亚于中药的板蓝根, 且药物制剂品种多样, 用于病毒性感冒和肝炎等疗效显著^[3]。据文献报道^[4], 一枝蒿主要含倍半萜类、黄酮类、挥发油类、生物碱类、氨基酸类、内酯类等化学成分, 具有很强的生物活性和药用价值, 如抗炎、抑菌及调节免疫作用、抗过敏、保肝作用、抗氧化作用、抗病毒、抗肿瘤等。

近年来, 以一枝蒿为主要原料的复方制剂广泛应用于临床, 例如复方一枝蒿颗粒、莲蒿颗粒、蒿蓝感冒颗粒、乃孜来颗粒、芩蒿滴鼻液等, 其中“复方一

枝蒿颗粒”在2003年被国家列为“防非典战略储备用药品种”，2004年被列入新疆维吾尔自治区“防禽流感储备用药品种”名单，2020年被列为《新疆新型冠状病毒感染的肺炎中医药防治方案》第三种证型“邪热郁肺，肺失宣降”的推荐产品，临床应用价值得到大大提升。目前已有报道^[5-6]高效液相色谱法(HPLC法)建立一枝蒿的指纹图谱研究，但是对化学成分指认不明确或仅对几个化学成分进行研究，对不同产地的一枝蒿样本研究也不够全面。本研究采用HPLC建立一枝蒿药材指纹图谱，对一枝蒿药材化学成分信息做整体全面的反映，基于化学成分可测性，对测得的主要共有峰进行确认，通过相似度评价、聚类分析(cluster analysis, CA)、主成分分析(principal component analysis, PCA)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，并通过建立熵权逼近理想解排序法(technique for order preference by similarity to ideal solution, TOPSIS)和加权秩和比法(rank sum ratio, RSR)以及二者模糊联合的综合质量评价模型，对不同产地一枝蒿的质量进行综合评价，并采用QAMS法对其10个化学成分进行定量分析，以期对新疆特色药用植物资源一枝蒿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。

1 仪器与试药

1.1 仪器

Agilent-1260 Infinity II型高效液相色谱仪(Agilent

Technologies公司); CPA-225D型电子分析天平(Sartorius公司, 0.01 mg); JY-5002型电子分析天平(上海上天精密仪器有限公司, 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优普特实验超纯水机(成都超纯科技有限公司)。

1.2 试药

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%)、异绿原酸B(批号DSTDY003703, 质量分数99.00%)、金腰乙素(批号DST201023-100, 质量分数98.16%)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96.1%)、蒙花苷(批号111528-201911, 质量分数98.50%)、木犀草苷(批号111720-201810, 质量分数93.50%)购自中国食品药品检定研究院; 异绿原酸A(批号MUST-21102611, 质量分数98.46%)、异绿原酸C(批号MUST-21081010, 质量分数99.77%)、艾黄素(批号MUST-21050813, 质量分数99.04%)购自成都曼思特生物科技有限公司; 一枝蒿酮酸(批号GSB11-2530-2020, 质量分数100%)购自中国科学院新疆理化技术研究所。色谱纯乙腈, 购自Fisher公司; 超纯水为怡宝纯净水, 其他化学试剂均为分析纯。15批次一枝蒿药材信息见表1, 由新疆维吾尔自治区药物研究所毛艳研究员鉴定为菊科植物一枝蒿(*Artemisia rupestris* L.)的干燥全草。

表1 一枝蒿药材信息

Tab. 1 Information of *Artemisia rupestris* L.

编号(No.)	批号(batch No.)	产地(habitat)	编号(No.)	批号(batch No.)	产地(habitat)
S1	20180620	新疆阜康(Fukang City, Xinjiang)	S9	20201104	新疆富蕴(Fuyun County, Xinjiang)
S2	20180724	新疆阜康(Fukang City, Xinjiang)	S10	20201102	新疆伊犁(Yili Prefecture, Xinjiang)
S3	20200715	新疆阜康(Fukang City, Xinjiang)	S11	20201104	新疆阜康(Fukang City, Xinjiang)
S4	20191002	新疆伊犁(Yili Prefecture, Xinjiang)	S12	910047	新疆阜康(Fukang City, Xinjiang)
S5	20191102	新疆富蕴(Fuyun County, Xinjiang)	S13	20140715	新疆富蕴(Fuyun County, Xinjiang)
S6	20201101	新疆伊犁(Yili Prefecture, Xinjiang)	S14	220725	新疆阜康(Fukang City, Xinjiang)
S7	20191109	新疆阜康(Fukang City, Xinjiang)	S15	20221201	新疆阜康(Fukang City, Xinjiang)
S8	20191005	新疆富蕴(Fuyun County, Xinjiang)			

2 方法与结果

2.1 不同产地一枝蒿药材的HPLC指纹图谱研究^[7-8]

2.1.1 色谱条件 YMC-Pack ODS-A C₁₈ 色谱柱

(250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 流动相为0.2%甲酸溶液(A)-乙腈(B), 洗脱梯度(0~20 min, 8%B → 18%B; 20~40 min, 18%B → 29%B; 40~60 min, 29%B → 42%B;

60~70 min, 42%B → 85%B; 70~72 min, 85%B; 72.01~80 min, 8%B), 柱温为 30 ℃, 进样量为 10 μL, 体积流量为 1.0 mL·min⁻¹, 变波长检测为 330 nm (0~50 min)、245 nm (50~56 min)、330 nm (56~80 min)。

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、木犀草苷、异绿原酸 B、异绿原酸 A、异绿原酸 C、蒙花苷、一枝蒿酮酸、金腰乙素、艾黄素对照品适量, 分别置量瓶中, 加入甲醇分别制成浓度为含新绿原酸 0.124 1 mg·mL⁻¹、绿原酸 0.271 0 mg·mL⁻¹、隐绿原酸 0.315 4 mg·mL⁻¹、木犀草苷 0.334 7 mg·mL⁻¹、异绿原酸 B 0.164 3 mg·mL⁻¹、异绿原酸 A 0.196 9 mg·mL⁻¹、异绿原酸 C 0.193 6 mg·mL⁻¹、蒙花苷 0.235 4 mg·mL⁻¹、一枝蒿酮酸 0.645 0 mg·mL⁻¹、金腰乙素 0.184 5 mg·mL⁻¹ 和艾黄素 0.125 8 mg·mL⁻¹ 的对照品储备液, 置于 4 ℃ 冰箱中避光保存, 备用。分别精密吸取上述 11 个对照品储备液适量, 置于同一量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 制成含量为含新绿原酸 2.23 μg·mL⁻¹、绿原酸 21.68 μg·mL⁻¹、隐绿原酸 2.52 μg·mL⁻¹、木犀草苷 1.00 μg·mL⁻¹、异绿原酸 B 1.64 μg·mL⁻¹、异绿原酸 A 13.00 μg·mL⁻¹、异绿原酸 C 3.87 μg·mL⁻¹、蒙花苷 18.36 μg·mL⁻¹、一枝蒿酮酸 32.25 μg·mL⁻¹、金腰乙素 9.22 μg·mL⁻¹ 和艾黄素 3.77 μg·mL⁻¹ 的混合对照品溶液。

2.1.3 供试品溶液的制备 取一枝蒿样品粉末(过 3 号筛)约 0.5 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 80% 甲醇水 50 mL, 称量, 超声处理 45 min (40 kHz, 500 W), 放冷, 再称量, 用 80% 甲醇水补足减失的量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

2.1.4 精密度试验 称取一枝蒿样品粉末(S14), 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 11 号峰(蒙花苷)为参照峰, 各共有峰相对保留时间的 RSD < 0.31%, 相对峰面积的 RSD < 2.3%, 表明仪器精密度良好。

2.1.5 重复性试验 称取一枝蒿样品粉末(S14)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 11 号峰(蒙花苷)为参照峰, 各共有峰相对保留时间的 RSD < 0.50%, 相对峰面积的 RSD < 3.0%, 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(S14), 分

别于 0、4、8、12、24 h 进样分析, 以 11 号峰(蒙花苷)为参照峰, 各共有峰相对保留时间的 RSD < 0.44%, 相对峰面积的 RSD < 2.5%, 表明该供试品溶液在 24 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 15 批次一枝蒿药材按“2.1.3”项下方法制备供试品溶液, 于“2.1.1”项色谱条件下进样分析, 得到不同产地一枝蒿药材 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)。S14 样品设为参照图谱(中位数法, 时间窗为 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 18 个共有峰, 见图 1。通过与对照品比对, 指出 11 个共有峰(图 2), 其中 1 号峰为新绿原酸, 2 号峰为绿原酸, 3 号峰为隐绿原酸, 5 号峰为木犀草苷, 7 号峰为异绿原酸 B, 8 号峰为异绿原酸 A, 10 号峰为异绿原酸 C, 11 号峰为蒙花苷(参照峰 S), 13 号峰为一枝蒿酮酸, 14 号峰为金腰乙素, 15 号峰为艾黄素。计算 15 批样品与其对照指纹图谱的相似度分别为 0.990、0.965、0.992、0.889、0.953、0.788、0.978、0.990、0.995、0.888、0.966、0.991、0.535、0.963 和 0.895, 表明 15 批次一枝蒿药材质量存在一定的差异; 而样品 S13 相似度为 0.535, 在所有批次药材中相似度最低, 表明这批次药材质量与其余 14 批次药材具有显著差异。

2.2 化学计量学分析^[9-10]

2.2.1 CA 采用 SPSS 26.0 软件对 15 批次一枝蒿药材的 18 个共有峰的相对峰面积进行聚类分析, 选用瓦尔德法和平方欧氏距离作为聚类方法及测量区间, 结果见图 3。结果显示, 当平方欧氏距离 > 15 时, 一枝蒿药材 S1~S4、S6、S8~S12、S14~S15 可聚为第 1 类, S5、S7、S13 可聚为第 2 类。这一结果表明, 尽管不同产地的一枝蒿药材在部分化学成分上存在差异, 但它们之间的相似性仍足以将它们归为 2 个大类, 并且其分类存在产地交叉情况, 表明不同产地一枝蒿药材质量上既具有相似性, 又具有差异性, 同一产地药材质量上也存在一定的差异。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, 产地是一枝蒿药材质量的影响因素, 但不应完全依赖这一指标来评估药材的整体质量, 还需要综合考虑其化学成分的含量。

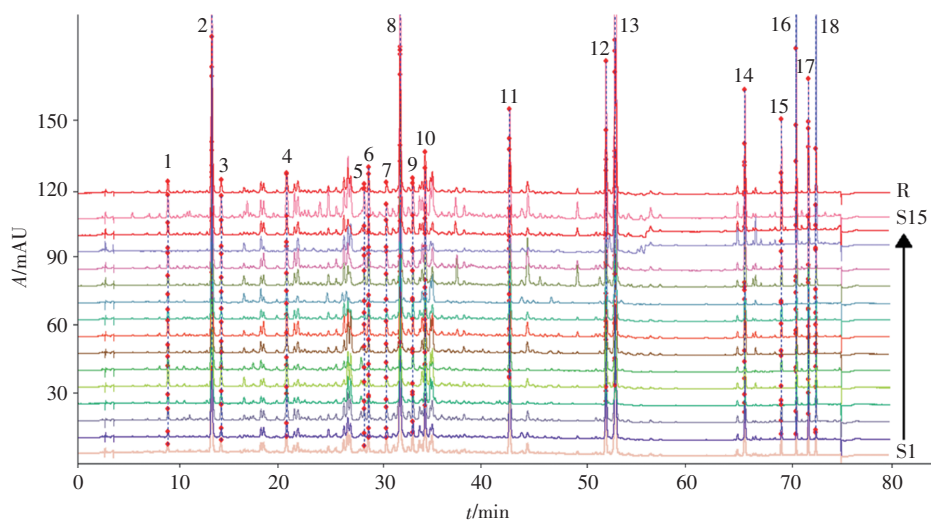
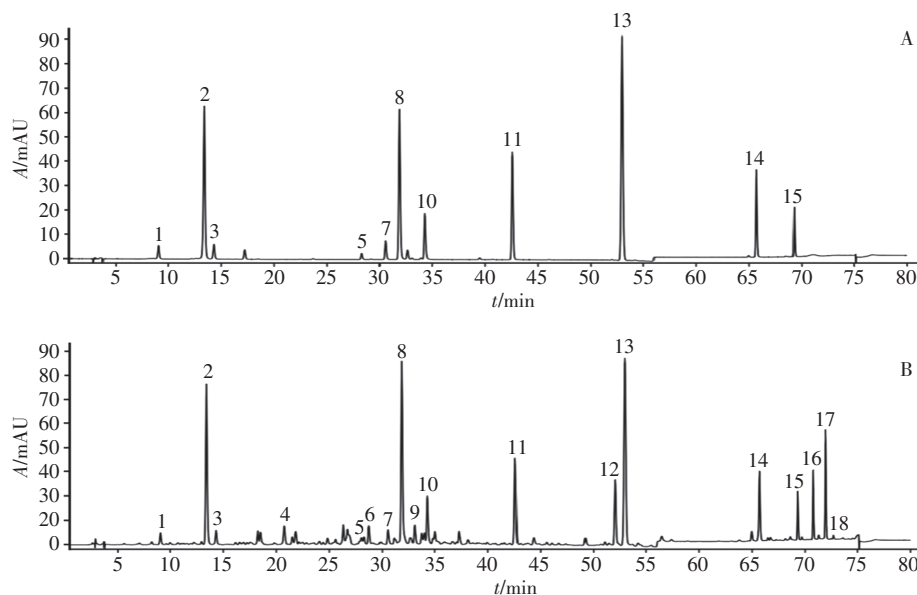


图 1 15 批次一枝蒿的叠加指纹图谱

Fig. 1 HPLC fingerprint of 15 batches of *Artemisia rupestris* L.



1. 新绿原酸 (neochlorogenic acid) 2. 绿原酸 (chlorogenic acid) 3. 隐绿原酸 (cryptochlorogenic acid) 5. 木犀草苷 (cynaroside)
7. 异绿原酸 B (isochlorogenic acid B) 8. 异绿原酸 A (isochlorogenic acid A) 10. 异绿原酸 C (isochlorogenic acid C) 11. 蒙花苷 (buddleioside)
13. 一枝蒿酮酸 (rupestonic acid) 14. 金腰乙素 (chrysofenetin) 15. 艾黄素 (artemisitin)

图 2 混合对照品溶液 (A) 和供试品 (B) 溶液的 HPLC 图

Fig. 2 HPLC of mixed reference substance solution (A) and test solution (B)

2.2.2 PCA 采用 SPSS 26.0 软件对 15 批次一枝蒿药材的 18 个共有峰进行标准化处理, 计算主成分特征值、方差贡献率和因子载荷矩阵, 结果见表 2。以特征值 > 1 为提取标准, 提取出 3 个主成分, 累积方差贡献率为 95.033%。以载荷绝对值 > 0.5 作为提取标准, 第 1 主成分主要反映 1~14、16~17 号共有峰的信息, 第 2 主成分反映 13、16、18 号共有峰的信息, 第 3 主成分反映 5、15 号共有峰的信息。再通

过 SIMCA 14.1 软件构建 PCA 模型图 (图 4), $R^2X=0.664 > 0.5$, 参数显示建立的 PCA 模型稳定性较好^[11]。样品之间的离散程度较大, 表明 15 批次一枝蒿样品质量差异较大。结果可以得知 S13 批次药材分布比较离散, 与其他批次药材在质量上差异较大, 而 S5 与 S7、S10 位于第 2 象限, 表明 S5、S7 与 S10 样本相似度较高, 其结果与聚类分析结果基本一致。

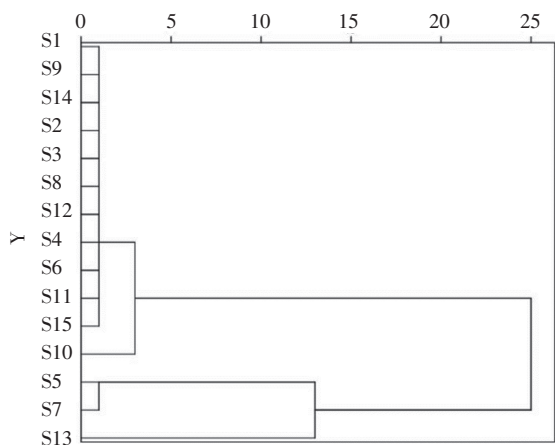


图3 一枝蒿样品聚类分析
Fig. 3 CA of *Artemisia rupestris* L.

表2 总方差解释

Tab. 2 PCA factor loading matrix

主成分 (principal component)	方差特征值 (variance eigenvalue)	方差贡献率 (variance contribution rate)/%	累计方差贡献率 (cumulative rate)/%
1	11.284	66.374	66.374
2	3.304	19.435	85.809
3	1.568	9.225	95.033

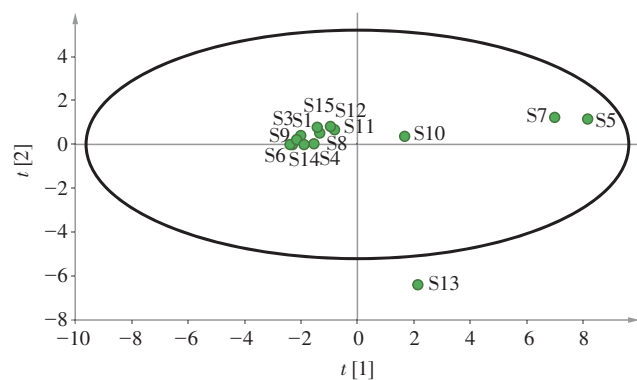


图4 一枝蒿样品 PCA 得分图
Fig. 4 PCA score plot of *Artemisia rupestris* L.

2.2.3 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 15 批次一枝蒿药材的共有峰的相对峰面积作为变量,导入 SIMCA 14.1 软件进行分析,以获得 OPLS-DA 分析模型,见图 5-A。结果显示,模型拟合参数 R^2X 和 R^2Y 分别为 0.857 和 0.899,模型预测参数 Q^2 为 0.769,均大于 0.5,说明所构建的模型具备较好的预测和解释能力。通过 OPLS-DA 得分图(图 5-A),可将 15 批样品划分为 3 类。这些结果进一步印证了不同产地一枝蒿在

化学成分方面的差异性。对构建的 OPLS-DA 模型随机排列置换检验 200 次^[12],得出 R^2 截距值为 0.050 7 (< 0.3), Q^2 截距值为 -0.472 (< 0)。同时, OPLS-DA 模型的原始 R^2 和 Q^2 (位于图 5-B 右上方)均大于左边随机排列后的 R^2 和 Q^2 ,这表明所建立的 OPLS-DA 模型结果可靠、未出现过度拟合现象,因此可以应用于不同批次一枝蒿药材的鉴别分析。由变量贡献值图(图 5-C)可见,筛选出贡献较大的 11 个变量 ($VIP > 1$),VIP 值由大到小依次为峰号 18、16、13 (一枝蒿酮酸)、17、12、7 (异绿原酸 B)、4、2 (绿原酸)、10 (异绿原酸 C)、6 和 14 (金腰乙素)。这些成分在区分不同产地一枝蒿药材中起重要作用,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 15 批次一枝蒿药材中 18 个共有峰的相对峰面积为变量,指标数据数值越大,样品综合质量越优。参考张富丽等^[13-16]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 E 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出信息熵 E 、信息效用值 D 和权重 W ,见表 3。将归一化后的数据与各指标 W 相乘,得到加权决策矩阵,进而确定最优方案。计算各批次一枝蒿药材样品与正理想解距离 (D^+) 及与负理想解的距离 (D^-),再根据相对贴近度计算公式 $D_n = D^- / (D^+ + D^-)$,计算 15 批次一枝蒿样品的相对贴近度 D_n 。 D_n 值越大,表明被评价的一枝蒿样品质量越优;反之,则质量越差。根据 D_n 值大小,对 15 批次一枝蒿样品质量进行排序(见表 4),排名前三位的是 S5 (富蕴)、S7 (阜康)、S13 (富蕴);排名最后两位的是 S2 (阜康)、S6 (伊犁)。其中,产地同为阜康的批次 S2 和 S7 质量差异较大,说明同一产地药材质量上也存在一定的差异,推测可能与采收季节有关。S2 采收较早,生长期比 S7 短,所以导致 S2 和 S7 质量差异较大。

2.3.2 加权 RSR 法 参考文献方法^[17],利用 SPSSPRO 在线分析软件,运用熵权法确定各个指标的权重,通过排序、计算,依次得到秩次 R 、RSR 值、频数、累计频数以及平均秩次 R^- 、计算向下累计频率 $R^-/n \times 100\%$,并对最后一项进行 $(1 - 1/4n) \times 100\%$ 的修正,从而得到 Probit 值(累积频率所对应的概率单位),结果见表 5。

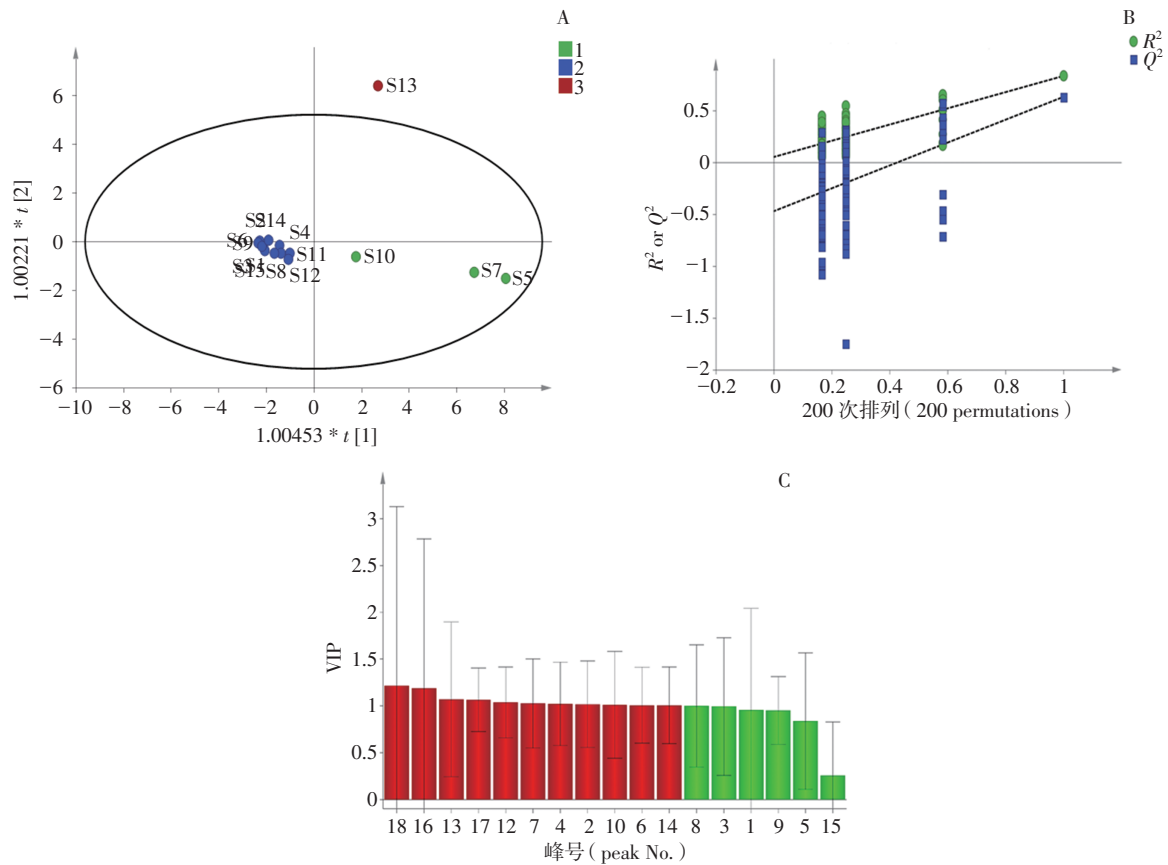


图 5 OPLS-DA 得分图 (A)、OPLS-DA 模型置换验证图 (B)、变量贡献值图 (C)

Fig. 5 OPLS-DA score plot (A), OPLS-DA model permutation test diagram (B), VIP plot (C)

表 3 各指标 (峰) 的信息熵、信息效用值和权重

Tab. 3 *E*, *D* and *W* of each index (peak)

峰号 (peak No.)	<i>E</i>	<i>D</i>	<i>W</i>
1	0.664	0.336	6.320
2	0.763	0.237	4.446
3	0.678	0.322	6.054
4	0.675	0.325	6.099
5	0.842	0.158	2.962
6	0.849	0.151	2.840
7	0.684	0.316	5.940
8	0.823	0.177	3.334
9	0.937	0.063	1.191
10	0.689	0.311	5.837
11	0	1	18.789
12	0.725	0.275	5.160
13	0.768	0.232	4.368
14	0.788	0.212	3.975
15	0.918	0.082	1.541
16	0.635	0.365	6.856
17	0.736	0.264	4.966
18	0.504	0.496	9.323

表 4 15 批次一枝蒿熵权 TOPSIS 模型质量评价情况

Tab. 4 The entropy weight-TOPSIS model quality evaluation of 15 batches of *Artemisia rupestris* L.

编号 (No.)	<i>D</i> ⁺	<i>D</i> ⁻	<i>D</i> _n	排序 (sort)
S1	0.856	0.100	0.104	13
S2	0.870	0.083	0.087	15
S3	0.841	0.126	0.131	9
S4	0.828	0.108	0.115	11
S5	0.362	0.730	0.668	1
S6	0.872	0.086	0.089	14
S7	0.411	0.661	0.617	2
S8	0.817	0.132	0.139	8
S9	0.855	0.107	0.111	12
S10	0.646	0.313	0.326	4
S11	0.784	0.198	0.202	6
S12	0.792	0.170	0.177	7
S13	0.637	0.543	0.460	3
S14	0.842	0.114	0.119	10
S15	0.796	0.216	0.214	5

采用 Probit 值作为自变量, RSR 值作为因变量, 进行直线回归分析, 从而得到 RSR 的估计值, 并根据该估计值进行排序和分档。F 检验的结果显示, 显著性 P 值 < 0.01 , 表明在统计学上拒绝了回归系数为 0 的原假设。同时, 方差膨胀系数 (variance inflation factor, VIF) 全部小于 10, 说明模型不存在多重共线

性问题, 模型构建合理。回归方程为: $RSR = -0.574 + 0.155 \times \text{Probit}$ 。方差分析结果表明, $F = 47.283, P < 0.01$, 说明所求直线回归方程具有统计学意义。根据 RSR 法分档结果, 见表 6, 15 批次一枝蒿药材中, 质量较优的批次为 S5(富蕴)、S7(阜康)、S13(富蕴); 质量一般的批次产地分别为 S2(阜康)、S6(伊犁)。

表 5 15 批次一枝蒿 RSR 模型质量评价情况

Tab. 5 The RSR model quality evaluation of 15 batches of *Artemisia rupestris* L.

编号 (No.)	RSR	频数 (frequency)	累计频数 (cumulative frequency)	评价秩数 (evaluation rank)	评价秩数 (evaluation rank)/n × 100%	Probit
S6	0.094	1	1	1	6.67	3.50
S2	0.096	1	2	2	13.33	3.89
S10	0.109	1	3	3	20.00	4.16
S8	0.110	1	4	4	26.67	4.38
S9	0.121	1	5	5	33.33	4.57
S11	0.123	1	6	6	40.00	4.75
S15	0.131	1	7	7	46.67	4.92
S12	0.143	1	8	8	53.33	5.08
S14	0.167	1	9	9	60.00	5.25
S1	0.172	1	10	10	66.67	5.43
S3	0.177	1	11	11	73.33	5.62
S4	0.296	1	12	12	80.00	5.84
S13	0.394	1	13	13	86.67	6.11
S7	0.571	1	14	14	93.33	6.50
S5	0.633	1	15	15	98.33	7.13

表 6 15 批次一枝蒿质量评价分档情况

Tab. 6 The grading of quality evaluation of 15 batches of *Artemisia rupestris* L.

等级 (grade)	RSR 临界值 (RSR critical value)	分档情况 (classification situation)
优秀 (excellent)	> 0.355	S5, S7, S13
良好 (good)	0.046~0.355	S1, S3, S4, S8, S9, S10, S11, S12, S14, S15
一般 (general)	< 0.046	S2, S6

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, 将熵权 TOPSIS 法和加权 RSR 法计算的 D_n 值与 RSR 值进行加权模糊联合, 公式为 $W_1 \times D_n + W_2 \times \text{RSR}$ 。设定 D_n 与 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, 分别计算加权值并进行优劣排序。依据“择多原则”进行判断^[18-19], 选取合理排序结果进行综合分析。模糊联合评价结果显示 (见表 7), 15 批次一枝蒿药材中质量较优的批次产地为 S5(富蕴)、S7(阜康)、S13(富蕴); 质量较差的批次产地为 S6

(伊犁)。

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、异绿原酸 B、异绿原酸 A、异绿原酸 C、蒙花苷、一枝蒿酮酸、金腰乙素、艾黄素对照品储备液, 分别用甲醇稀释至 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 (Y) 为纵坐标, 进样浓度 (X) 为横坐标, 绘制标准曲线。结果表明 10 个成分在各自浓度范围内线性关系良好, 如表 8 所示。

表 7 15 批次一枝蒿 TOPSIS 法与加权 RSR 法模糊联合质量评价情况

Tab. 7 The fuzzy combination quality evaluation of TOPSIS and RSR of 15 batches of *Artemisia rupestris* L.

编号 (No.)	D_n		RSR		$0.1D_n+0.9RSR$		$0.5D_n+0.5RSR$		$0.9D_n+0.1RSR$	
	具体值 (specific value)	排序 (sort)	具体值 (specific value)	排序 (sort)	具体值 (specific value)	排序 (sort)	具体值 (specific value)	排序 (sort)	具体值 (specific value)	排序 (sort)
S1	0.104	13	0.070	13	0.073	13	0.087	13	0.101	13
S2	0.087	15	0.028	14	0.034	14	0.058	14	0.081	14
S3	0.131	9	0.161	10	0.158	10	0.146	10	0.134	9
S4	0.115	11	0.187	9	0.180	9	0.151	9	0.122	10
S5	0.668	1	0.530	1	0.544	1	0.599	1	0.654	1
S6	0.089	14	-0.032	15	-0.020	15	0.029	15	0.077	15
S7	0.617	2	0.433	2	0.451	2	0.525	2	0.599	2
S8	0.139	8	0.213	8	0.206	8	0.176	8	0.146	8
S9	0.111	12	0.104	12	0.105	12	0.108	12	0.110	12
S10	0.326	4	0.331	4	0.331	4	0.329	4	0.327	4
S11	0.202	6	0.297	5	0.288	5	0.250	5	0.212	6
S12	0.177	7	0.240	7	0.234	7	0.209	7	0.183	7
S13	0.460	3	0.372	3	0.381	3	0.416	3	0.451	3
S14	0.119	10	0.134	11	0.133	11	0.127	11	0.121	11
S15	0.214	5	0.267	6	0.262	6	0.241	6	0.219	5

表 8 各成分的线性范围考察结果

Tab. 8 Results of linearity for each component

成分 (component)	回归方程 (regression equation)	r	线性范围 (linear range)/(mg · mL ⁻¹)
新绿原酸 (neochlorogenic acid)	$Y=26\ 182X+0.586\ 5$	0.999 9	0.000 2-0.007 4
绿原酸 (chlorogenic acid)	$Y=35\ 631X-21.500\ 6$	0.999 7	0.003 3-0.043 4
隐绿原酸 (cryptochlorogenic acid)	$Y=28\ 657X-0.474\ 8$	0.999 1	0.000 4-0.003 2
异绿原酸 B (isochlorogenic acid B)	$Y=46\ 976X-2.780\ 3$	0.999 2	0.000 2-0.003 3
异绿原酸 A (isochlorogenic acid A)	$Y=54\ 677X-17.296\ 4$	0.999 1	0.001 6-0.027 6
异绿原酸 C (isochlorogenic acid C)	$Y=45\ 863X-2.880\ 0$	0.999 4	0.000 6-0.011 6
蒙花苷 (buddleoside)	$Y=24\ 877X-1.247\ 6$	0.999 7	0.000 3-0.033 0
一枝蒿酮酸 (rupestonic acid)	$Y=35\ 680X-25.729\ 7$	0.999 9	0.001 3-0.077 4
金腰乙素 (chrysosplenetin)	$Y=31\ 389X-4.958\ 1$	0.999 0	0.000 4-0.022 1
艾黄素 (artemisetin)	$Y=37\ 085X-5.036\ 3$	0.999 1	0.000 1-0.010 1

2.4.2 精密度试验 称取一枝蒿样品粉末 (S14), 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、异绿原酸 B、异绿原酸 A、异绿原酸 C、蒙花苷、一枝蒿酮酸、金腰乙素、艾黄素峰面积的 RSD 分别为 0.72%、0.15%、1.0%、0.67%、0.40%、1.8%、0.69%、0.46%、0.54% 和 0.27%, 表明仪器精密度良好。

2.4.3 重复性试验 取同一批次一枝蒿样品粉末 (S14), 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、异绿原酸 B、异绿原酸 A、异绿原酸 C、蒙花苷、一枝蒿酮酸、金腰乙素、艾黄素的平均含量分别

为 0.176 8、1.987 2、0.204 2、0.141 8、1.463 9、0.398 5、1.529 3、2.839 0、0.844 0、0.346 0 mg · g⁻¹, RSD 分别为 1.2%、0.57%、0.62%、0.45%、0.67%、1.4%、1.0%、0.94%、0.82% 和 0.49%, 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、4、8、12、24 h 进样。结果显示新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、异绿原酸 B、异绿原酸 A、异绿原酸 C、蒙花苷、一枝蒿酮酸、金腰乙素、艾黄素峰面积的 RSD 分别为 1.1%、0.56%、1.5%、0.41%、1.1%、1.9%、0.65%、0.71%、0.52% 和 0.35%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.4.5 加样回收率试验 取已知含量的一枝蒿样品

粉末(S14)6份,每份称取0.25g,精密称定,分别精密加入含新绿原酸(0.0496mg)、绿原酸(0.5987mg)、隐绿原酸(0.0631mg)、异绿原酸B(0.0411mg)、异绿原酸A(0.3403mg)、异绿原酸C(0.0968mg)、蒙花苷(0.3766mg)、一枝蒿酮酸(0.7095mg)、金腰乙素(0.1568mg)、艾黄素(0.0881mg)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。结果显示新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、异绿原酸B、异绿原酸A、异绿原酸C、蒙花苷、一枝蒿酮酸、金腰乙素、艾黄素的平均加样回收率分别为99.7%、107.2%、93.9%、92.6%、95.2%、101.3%、98.9%、97.4%、105.4%和97.6%,RSD分别为2.3%、0.16%、2.8%、2.9%、2.8%、2.9%、1.9%、2.2%、1.2%和1.9%。

2.5 一枝蒿中10个成分QAMS的建立

2.5.1 相对校正因子($f_{s/i}$)的计算 取混合对照品溶液按照“2.1.1”项色谱条件,分别进样2、4、6、8、

10、12、14和16 μ L,记录各成分的峰面积,根据 $f_{s/i}$ 计算公式,以蒙花苷为内标物,计算新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、异绿原酸B、异绿原酸A、异绿原酸C、一枝蒿酮酸、金腰乙素和艾黄素的 $f_{s/i}$ 的平均值,分别为0.8764、0.7241、0.8614、0.5481、0.4867、0.5478、0.6881、0.8131和0.6644,RSD分别为1.3%、2.8%、1.3%、0.91%、0.80%、1.3%、0.35%、0.68%和0.43%。

$$f_{s/i} = f_s / f_i = (A_s / C_s) / (A_i / C_i)^{[20]}$$

A_s 为蒙花苷内标物的峰面积, C_s 为蒙花苷内标物的浓度, 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,YMC-Pack ODS-A C₁₈色谱柱,考察不同体积流量(0.9、1.0、1.1 mL·min⁻¹)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。

表9 不同体积流量对 $f_{s/i}$ 的影响

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

体积流量 (volume flowrate) / (mL·min ⁻¹)	$f_{s/i}$								
	新绿原酸 (neochlorogenic acid)	绿原酸 (chlorogenic acid)	隐绿原酸 (cryptochlorogenic acid)	异绿原酸B (isochlorogenic acid B)	异绿原酸A (isochlorogenic acid A)	异绿原酸C (isochlorogenic acid C)	一枝蒿酮酸 (rupestonic acid)	金腰乙素 (chrysosplenetin)	艾黄素 (artemisetin)
0.9	0.909 6	0.706 2	0.868 9	0.565 0	0.482 8	0.573 9	0.683 6	0.836 2	0.662 8
1.0	0.896 1	0.719 1	0.860 6	0.549 2	0.480 9	0.548 9	0.687 9	0.819 2	0.664 2
1.1	0.902 1	0.704 0	0.850 2	0.570 4	0.479 0	0.575 0	0.687 3	0.845 3	0.659 9
平均值 (average)	0.902 6	0.709 8	0.859 9	0.561 5	0.480 9	0.565 9	0.686 3	0.833 6	0.662 3
RSD/%	0.75	1.1	1.1	2.0	0.39	2.6	0.34	1.6	0.32

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,YMC-Pack ODS-A 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3.0%,表明不同柱温对各成分 $f_{s/i}$ 无显著影响。

表10 不同柱温对 $f_{s/i}$ 的影响

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

柱温 (column temperature) / $^{\circ}$ C	$f_{s/i}$								
	新绿原酸 (neochlorogenic acid)	绿原酸 (chlorogenic acid)	隐绿原酸 (cryptochlorogenic acid)	异绿原酸B (isochlorogenic acid B)	异绿原酸A (isochlorogenic acid A)	异绿原酸C (isochlorogenic acid C)	一枝蒿酮酸 (rupestonic acid)	金腰乙素 (chrysosplenetin)	艾黄素 (artemisetin)
28	0.915 7	0.718 3	0.847 2	0.566 1	0.483 1	0.582 1	0.687 8	0.837 5	0.658 7
30	0.896 1	0.719 1	0.860 6	0.549 2	0.480 9	0.548 9	0.687 9	0.819 2	0.664 2
32	0.903 2	0.719 8	0.859 7	0.558 7	0.480 5	0.563 8	0.690 9	0.839 9	0.660 2
平均值 (average)	0.905 0	0.719 1	0.855 8	0.558 0	0.481 5	0.564 9	0.688 9	0.832 2	0.661 0
RSD/%	1.1	0.10	0.87	1.5	0.30	2.9	0.26	1.4	0.42

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: YMC-Pack ODS-A C₁₈、柱 2: Agilent 5TC-C₁₈、柱 3:

phenomenex Gemini 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%,表明不同色谱柱对各成分的 $f_{s/i}$ 无显著影响,适用性良好。

表 11 不同色谱柱对 $f_{s/i}$ 的影响

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

色谱柱 (chroma- tographic column)	$f_{s/i}$								
	新绿原酸 (neochlorogenic acid)	绿原酸 (chlorogenic acid)	隐绿原酸 (cryptochlorogenic acid)	异绿原酸 B (isochlorogenic acid B)	异绿原酸 A (isochlorogenic acid A)	异绿原酸 C (isochlorogenic acid C)	一枝蒿酮酸 (rupestonic acid)	金腰乙素 (chrysosplenetin)	艾黄素 (artemisetin)
柱 1 (No.1)	0.896 1	0.719 1	0.860 6	0.549 2	0.480 9	0.548 9	0.687 9	0.819 2	0.664 2
柱 2 (No.2)	0.909 5	0.723 9	0.844 6	0.574 0	0.504 4	0.576 3	0.684 0	0.833 7	0.662 2
柱 3 (No.3)	0.869 5	0.711 0	0.830 9	0.569 0	0.486 6	0.565 8	0.690 4	0.853 6	0.665 6
平均值 (average)	0.891 7	0.718 0	0.845 4	0.564 1	0.490 7	0.563 7	0.687 5	0.835 5	0.664 0
RSD/%	2.3	0.90	1.8	2.3	2.5	2.4	0.47	2.1	0.26

2.5.5 色谱峰定位参数考察^[21] 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 为内标物蒙花苷),本实验考察了相对保留时间在不同品牌色谱柱(柱 1: YMC-Pack ODS-A C₁₈、柱 2: Agilent

5TC-C₁₈、柱 3: phenomenex Gemini C₁₈)的重现性,结果见表 12。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 不同色谱柱测定一枝蒿中 10 个成分的相对保留值

Tab. 12 Relative retention values of ten compounds in *Artemisia rupestris* L. by different columns and different instruments

色谱柱 (chroma- tographic column)	$r_{i/s}$								
	新绿原酸 (neochlorogenic acid)	绿原酸 (chlorogenic acid)	隐绿原酸 (cryptochlorogenic acid)	异绿原酸 B (isochlorogenic acid B)	异绿原酸 A (isochlorogenic acid A)	异绿原酸 C (isochlorogenic acid C)	一枝蒿酮酸 (rupestonic acid)	金腰乙素 (chrysosplenetin)	艾黄素 (artemisetin)
柱 1 (No.1)	0.211 7	0.312 8	0.334 3	0.716 1	0.747 0	0.804 9	1.242 0	1.540 0	1.623 9
柱 2 (No.2)	0.224 4	0.334 5	0.348 5	0.729 9	0.763 9	0.819 6	1.233 1	1.518 6	1.594 2
柱 3 (No.3)	0.221 0	0.329 1	0.347 0	0.747 6	0.779 0	0.835 0	1.221 5	1.535 8	1.625 6
平均值 (average)	0.219 1	0.325 5	0.343 3	0.731 2	0.763 3	0.819 8	1.232 2	1.531 5	1.614 6
RSD/%	3.0	3.5	2.3	2.2	2.1	1.8	0.83	0.74	1.1

2.5.6 样品含量测定 采用一测多评法(QAMS)和标准曲线外标法(ESM)对不同产地 15 批次一枝蒿药材中的 10 个成分进行含量测定。结果如表 13 所示,QAMS 和 ESM 计算的含量经 t 检验比较, $P > 0.05$,表明 2 种方法测得的含量无显著性差异,且 2 组含量之间 RSD 均小于 2.0%,表明所建立的一测多评法准确性良好,可用于一枝蒿药材的含量测定。

3 讨论

3.1 指纹图谱色谱条件的优化及供试品溶液制备方法的考察

3.1.1 检测波长的选择 分别在单波长 245、330 nm 和多波长切换进行样品检测,发现在 245 nm 波长处一

枝蒿酮酸具有较好的吸收,且干扰较少。波长为 330 nm 时,样品图谱上的化合物信息明显更丰富。因此,本研究选择多波长切换检测,即 0~50 min, 330 nm; 50~56 min, 245 nm; 56~80 min, 330 nm。

3.1.2 流动相的选择 在流动相中加入适量的酸或碱等能够改善色谱峰形,考察在流动相水中添加磷酸和甲酸,发现甲酸溶液能很好地改善药材中各个成分之间的干扰,增加了分离效果,峰形更佳;比较不同甲酸浓度(0.1% 甲酸溶液和 0.2% 甲酸溶液),以药材指纹图谱色谱峰的个数及分离度最终选定 0.2% 甲酸溶液-乙腈体系作为流动相梯度洗脱。

表 13 QAMS 与 ESM 含量结果
Tab. 13 Content results of QAMS and ESM

编号 (No.)	含量 (content) / (mg · g ⁻¹)									
	蒙花苷 (buddleoside)		新绿原酸 (neochlorogenic acid)		绿原酸 (chlorogenic acid)		隐绿原酸 (cryptochlorogenic acid)		异绿原酸 B B (isochlorogenic acid B)	
	ESM	QAMS	ESM	QAMS	ESM	QAMS	ESM	QAMS	ESM	QAMS
S1	1.337	0.129	0.126	1.529	1.529	0.175	0.170	0.145	0.148	
S2	1.164	0.090	0.088	0.895	0.896	0.115	0.112	0.087	0.089	
S3	1.592	0.176	0.171	3.100	3.101	0.221	0.215	0.128	0.131	
S4	0.566	0.129	0.126	1.662	1.662	0.195	0.189	0.048	0.049	
S5	0.158	0.295	0.287	2.064	2.065	0.281	0.274	0.090	0.092	
S6	1.185	0.188	0.183	2.742	2.743	0.249	0.243	0.076	0.078	
S7	0.163	0.117	0.114	1.668	1.669	0.175	0.170	0.095	0.096	
S8	1.126	0.225	0.219	2.455	2.456	0.200	0.195	0.141	0.144	
S9	1.236	0.138	0.135	1.808	1.809	0.160	0.155	0.086	0.088	
S10	0.163	0.122	0.118	1.393	1.394	0.149	0.145	0.034	0.035	
S11	0.796	0.131	0.128	1.496	1.497	0.118	0.115	0.105	0.107	
S12	1.050	0.224	0.218	2.542	2.543	0.197	0.192	0.152	0.155	
S13	0.260	0.043	0.042	0.467	0.467	0.085	0.083	0.036	0.036	
S14	1.508	0.177	0.172	2.024	2.025	0.237	0.231	0.141	0.144	
S15	1.874	0.355	0.345	3.638	3.639	0.306	0.298	0.129	0.131	
<i>P</i>	-	0.878		0.998		0.822		0.892		

编号 (No.)	含量 (content) / (mg · g ⁻¹)									
	异绿原酸 A (isochlorogenic acid A)		异绿原酸 C (isochlorogenic acid C)		一枝蒿酮酸 (rupestonic acid)		金腰乙素 (chrysosplenetin)		艾黄素 (artemisetin)	
	ESM	QAMS	ESM	QAMS	ESM	QAMS	ESM	QAMS	ESM	QAMS
S1	1.508	1.550	0.465	0.477	1.441	1.444	0.514	0.529	0.153	0.149
S2	0.811	0.833	0.275	0.283	1.235	1.237	0.431	0.444	0.134	0.130
S3	1.903	1.956	0.452	0.464	1.781	1.785	0.503	0.517	0.157	0.153
S4	0.569	0.585	0.342	0.351	0.300	0.300	0.126	0.129	0.004	0.004
S5	1.009	1.037	0.556	0.571	1.003	1.005	0.427	0.439	0.011	0.011
S6	0.217	0.223	0.155	0.160	0.744	0.745	0.120	0.124	0.114	0.111
S7	1.369	1.407	0.451	0.463	1.358	1.360	0.620	0.638	0.023	0.022
S8	1.521	1.563	0.347	0.356	1.307	1.310	0.626	0.644	0.100	0.097
S9	1.493	1.534	0.333	0.342	1.717	1.721	0.403	0.414	0.140	0.137
S10	0.351	0.361	0.116	0.119	0.475	0.476	0.171	0.176	0.010	0.010
S11	1.844	1.895	0.338	0.347	2.119	2.123	0.685	0.704	0.143	0.139
S12	1.921	1.974	0.405	0.416	1.771	1.774	0.857	0.881	0.133	0.129
S13	0.282	0.289	0.150	0.154	3.120	3.127	0.884	0.909	0.022	0.021
S14	1.529	1.571	0.393	0.404	2.767	2.773	0.809	0.832	0.352	0.343
S15	2.323	2.387	0.384	0.395	6.763	6.777	1.510	1.553	0.713	0.694
<i>P</i>	0.890		0.842		0.995		0.902		0.952	

3.1.3 供试品溶液制备方法的考察 通过单因素实验对不同提取溶剂(水、30% 甲醇-水、50% 甲醇-水、80% 甲醇-水和甲醇)和不同提取时间(15、30、45、60 min)进行考察,以药材指纹图谱色谱峰的个数、峰面积的大小及含量、分离度最终选定以 80% 甲醇-水作为提取溶剂、料液比 1:50、超声 45 min 作为样品的提取方法。

3.2 指纹图谱及化学计量学分析

本研究建立了 15 批次一枝蒿样品的 HPLC 指纹图谱,确定了 18 个共有峰,指认了 11 个成分,15 批次一枝蒿样品的指纹图谱与对照图谱相似度处于 0.535~0.995。由此可知不同产地的一枝蒿药材差异较大。指纹图谱通过结合 CA、PCA、OPLS-DA 等指化学计量学方法分析,15 批次 3 个不同产地的一枝蒿药材有一定的分离趋势,并且大致可分为 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一枝蒿药材的唯一标准,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。当采用 OPLS-DA 分析时,发现各产地药材呈现更明显的聚类和分离趋势。这些结果均表明不同产地的一枝蒿药材化学成分含量存在一定的差异。OPLS-DA 共筛选出 11 个差异性标志成分,这些成分在区分不同产地一枝蒿药材中起重要作用。

3.3 综合质量评价结果分析

本研究以新疆 3 个产地 15 批次一枝蒿药材为检测样品,运用熵权 TOPSIS 法和 RSR 法模糊联合策略,构建一枝蒿质量综合评价模型。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,继而更准确地反映整体变化趋势。运用建立的模型对 15 批次一枝蒿质量进行评价,整体趋势一致,模型能较为准确地评估一枝蒿质量。15 批次一枝蒿药材中,富蕴产地的药材整体质量较优。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一枝蒿质量,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

QAMS 法是指化合物在一定的线性范围内,其浓度与在某一检测器上的响应成正比。对多个成分进行定量分析时,以药材或成药中某一代表性成分为内标物,测定该成分与成分之间的相对校正因子,用校

正因子计算该中药或成药中其他成分组分的含量。在对照品不足的情况下,可实现根据一个成分的含量计算多种成分的含量。基于本研究中一枝蒿药材的木犀草苷含量较低,不足万分之一,因此在一枝蒿 10 个成分同时定量方法的基础上,以蒙花苷作为内标物,建立并计算新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、异绿原酸 B、异绿原酸 A、异绿原酸 C、一枝蒿酮酸、金腰乙素、艾黄素的相对校正因子,建立 QAMS 法对一枝蒿药材中多组分同时测定,为一枝蒿药材的质量控制提供新思路。

参考文献

- [1] 曹雪琴,王文文,李晶,等. 新疆特有药用植物一枝蒿的研究进展[J]. 西北药学杂志, 2021, 36(2): 345
CAO XQ, WANG WW, LI J, et al. Research progress of *Artemisia rupestris* L. an endemic medicinal plant in Xinjiang[J]. Northwest Pharm J, 2021, 36(2): 345
- [2] 盛萍. 新疆一枝蒿体外抗肿瘤物质基础及制备工艺研究[D]. 乌鲁木齐: 新疆医科大学, 2008
SHENG P. Studies on the A substance Basis of Anti-tumor *In Vitro* and Preparative Technology of Xinjiang *Artemisia rupestris* L. [D]. Urumqi: Xinjiang Medical University, 2008
- [3] 万英洁,夏建新,唐丽. 新疆一枝蒿化学成分、药理作用及临床应用研究进展[J]. 中国中药杂志, 2017, 42(23): 4565
WAN YJ, XIA JX, TANG L. Chemical constituents, biological activities and clinical applications of *Artemisia rupestris* [J]. China J Chin Mater Med, 2017, 42(23): 4565
- [4] 施洋,陈振东,梁月婷,等. 新疆一枝蒿的化学成分及药理学研究进展[J]. 中国药物经济学, 2023, 18(3): 109
SHI Y, CHEN ZD, LIANG YT, et al. Research advances on chemical constituents and pharmacology of *Artemisia rupestris* L. [J]. China Pharm Econom, 2023, 18(3): 109
- [5] 穆合拜提·木合塔尔,赵丰,买吾兰江·买提努尔. HPLC-DAD 同时检测一枝蒿药材中的 5 种化学成分研究[J]. 中国新药杂志, 2021, 30(17): 1621
MHTE MHB, ZHAO F, MTNE MWLJ. Simultaneous determination of five constituents in *Artemisia rupestris* L. by HPLC-DAD [J]. Chin J New Drugs, 2021, 30(17): 1621
- [6] 毛艳,刘荣昌,丁曼,等. 基于网络药理学和指纹图谱的一枝蒿抗乙肝病毒质量标志物预测分析[J]. 天然产物研究与开发, 2022, 34(5): 864
MAO Y, LIU RC, DING M, et al. Anti-HBV Q-Marker prediction analysis of *Artemisia rupestris* L. based on network pharmacology and fingerprint [J]. Nat Prod Res Dev, 2022, 34(5): 864
- [7] 张红娟,史银基,罗玉琴,等. 基于 HPLC 指纹图谱及多指标定量结合熵权 TOPSIS 法评价不同产地白屈菜药材质量[J]. 中草药, 2024, 55(12): 4194

- ZHANG HJ, SHI YJ, LUO YQ, *et al.* Quality evaluation of *Chelidonium majus* herbs from different regions based on HPLC fingerprint and multi-index content determination combined with entropy weighted TOPSIS method [J]. *Chin Tradit Herb Drugs*, 2024, 55(12): 4194
- [8] 刘鑫, 蔺瑞丽, 倪琳, 等. 基于 HPLC 指纹图谱和多指标定量不同淫羊藿品种的比较研究 [J]. *药物分析杂志*, 2024, 44(9): 1613
LIU X, LIN RL, NI L, *et al.* Comparative study of different species of *Epimedium* based on HPLC fingerprint and multi-index assay [J]. *Chin J Pharm Anal*, 2024, 44(9): 1613
- [9] 易静, 刘德慧, 杨蓉, 等. 基于 HPLC 指纹图谱和多成分含量测定的苏合香丸质量评价研究 [J]. *药物分析杂志*, 2024, 44(9): 1551
YI J, LIU DH, YANG R, *et al.* Quality evaluation of Suhexiang pills by HPLC fingerprint and multi-component quantitative analysis [J]. *Chin J Pharm Anal*, 2024, 44(9): 1551
- [10] 张文静, 李海燕, 王晓伟, 等. 基于化学计量学和气相色谱法的艾叶及其混伪品蒙古蒿叶差异性特征成分和鉴别规律的研究 [J]. *药物分析杂志*, 2024, 44(4): 649
ZHANG WJ, LI HY, WANG XW, *et al.* Identification of *Artemisiae Argyi Folium* and *Artemisiae Mongolica Folium* based on gas chromatography and chemometric techniques [J]. *Chin J Pharm Anal*, 2024, 44(4): 649
- [11] 高美美, 黄建猷, 翟雅南, 等. 指纹图谱和多成分定量结合化学模式识别法评价不同产地杉木叶质量 [J]. *药物分析杂志*, 2024, 44(5): 882
GAO MM, HUANG JY, ZHAI YN, *et al.* Quality evaluation of leaves of *Cunninghamia lanceolata* from different habitats by fingerprint and multi-component quantification combined with chemical pattern recognition [J]. *Chin J Pharm Anal*, 2024, 44(5): 882
- [12] 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
FENG YW, LIU XX, LIANG YY, *et al.* Comparative study on UPLC characteristic chromatogram and multivariate component content of different specifications of *Pericarpium Citri Reticulatae Viride* [J]. *Nat Prod Res Dev*, 2022, 34(7): 1169
- [13] 张富丽, 管海波, 户军燕, 等. 一测多评法联合化学计量学及熵权优劣解距离分析综合评价青钱柳药材质量 [J]. *中草药*, 2024, 55(4): 1334
ZHANG FL, GUAN HB, HU JY, *et al.* Comprehensive evaluation of quality of *Cyclocarya paliurus* medicinal materials by QAMS combined with chemometrics and entropy weight-TOPSIS [J]. *Chin Tradit Herb Drugs*, 2024, 55(4): 1334
- [14] 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
WU XH, CHENG XL, PAN YL, *et al.* Quality evaluation of *pogostemonis Herba* based on HPLC-QAMS/GC combined with multivariate statistical analysis and weighted TOPSIS method [J]. *Chin Tradit Pat Med*, 2023, 45(11): 3670
- [15] 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
WU XH, CHENG XL, ZHANG XB, *et al.* Comprehensive quality evaluation of *Bletillae Rhizoma* based on multi-index components by HPLC-QAMS combined with chemometrics and EW-TOPSIS [J]. *Chin J Inf Trad Chin Med*, 2023, 30(5): 127
- [16] 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
SUN YP, WANG MX, SONG D, *et al.* Comprehensive quality evaluation of salt-Astragali *Complanati Semen* based on QAMS multi-component quantitative quality control combined with PCA, OPLS-DA and EW-TOPSIS method [J]. *Chin Tradit Herb Drugs*, 2023, 54(24): 8077
- [17] 丁曼, 毛艳, 赵学佳, 等. 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 [J]. *中草药*, 2024, 55(16): 5627
DING M, MAO Y, ZHAO XJ, *et al.* Quality evaluation of *Acroptilon repens* based on fingerprints and QAMS method combined with chemometrics and EW-TOPSIS method [J]. *Chin Tradit Herb Drugs*, 2024, 55(16): 5627
- [18] 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
QIN HY, YAN J, YIN J, *et al.* TOPSIS method, RSR method and the fuzzy comprehensive evaluation of maternal health care in China from 2000 to 2016 [J]. *Anhui Med Pharm J*, 2020, 24(4): 838
- [19] 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
WANG L, WEI X, YU YM, *et al.* Comprehensive evaluation of the development of national food and drug inspection institutions with technique for order preference by similarity to ideal solution and rank sum ratio methods [J]. *J Food Saf Qual*, 2021, 12(4): 1636
- [20] 张国鑫, 刘佳琪, 恽辰珂, 等. UPLC 指纹图谱结合一测多评法的芦蒿废弃茎叶酚酸类成分质量控制方法研究 [J]. *中国中药杂志*, 2024, 49(13): 3566
ZHANG GX, LIU JQ, YUN CK, *et al.* Quality control method for phenolic acid components in abandoned stems and leaves of *Artemisia selengensis* based on UPLC fingerprint combined with quantitative analysis of multi-components by single marker (QAMS) [J]. *China J Chin Mater Med*, 2024, 49(13): 3566
- [21] 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 种蒽醌类成分 [J]. *中草药*, 2019, 50(17): 4170
MAO Y, CAI XC, YSY GLBRM, *et al.* Simultaneous determination of six anthraquinone components in *Arnebia euchroma* by QAMS [J]. *Chin Tradit Herb Drugs*, 2019, 50(17): 4170

(本文于 2024 年 6 月 14 日收到)