

不同产地佩兰多成分定量分析及质量差异性评价研究

卢立欣¹, 郑磊¹, 李志明², 宋超^{1*}

¹山东省立第三医院药学部, 济南 250000; ²山东中医药大学药学院, 济南 250355

摘要:建立不同产地佩兰药材中 11 个成分含量同步检测方法, 并采用化学识别模式和灰色关联度分析 (grey relational analysis, GRA) 法对其质量差异性进行评价。收集 8 省 18 个批次佩兰样品, 采用高效液相色谱法同时检测佩兰中芦丁、异鼠李素-3-*O*-芸香糖苷、木犀草素、槲皮素、蒲公英甾醇、 β -谷甾醇、豆甾醇、延胡索酸、琥珀酸、1,2-苯并吡喃酮和泽兰内酯含量, 建立佩兰多组分定量控制模式; 采用化学识别模式和 GRA 法建立佩兰质量优劣评价模型, 对其质量进行差异性评价。在构建的色谱条件下, 外标法方法学验证符合《中华人民共和国药典》规定; 一测多评法 (quantitative analysis of multicomponents by single-marker, QAMS) 与外标法检测结果基本无差异; 化学识别模式结果提示 18 批样品聚为 3 类, 芦丁、豆甾醇、木犀草素、槲皮素、1,2-苯并吡喃酮和 β -谷甾醇可能是影响佩兰产品质量主要潜在标志物; GRA 结果显示 18 批佩兰质量相对关联度分别为 0.418 5、0.477 9、0.544 6、0.503 5、0.509 9、0.544 0、0.486 8、0.338 8、0.354 8、0.360 8、0.329 8、0.291 0、0.618 6、0.627 3、0.644 7、0.662 7、0.546 2 和 0.570 5, 表明江苏、河北和山东产地佩兰整体质量较好。建立的同时测定佩兰中 11 种成分含量的 QAMS 法, 操作便捷, 结果准确; 化学识别模式及 GRA 法客观全面, 可用于不同产地佩兰的质量差异评价。

关键词:佩兰; 高效液相色谱法; 化学识别模式; 灰色关联度分析; 差异性评价

中图分类号: R917

文献标识码: A

文章编号: 1001-6880(2024)8-1409-12

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2024.8.015

Study on the quantitative analysis and quality difference evaluation of *Eupatorii Herba* from different producing areas

LU Li-xin¹, ZHENG Lei¹, LI Zhi-ming², SONG Chao^{1*}

¹Department of Pharmacy, Shandong Provincial Third Hospital, Jinan 250000, China;

²School of Pharmacy, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355, China

Abstract: This study aims to establish a method for simultaneous determination of 11 components of *Eupatorii Herba* from different producing areas, and to evaluate its quality difference by chemical pattern recognition and grey relational analysis (GRA). The 18 batches of *Eupatorii Herba* samples from eight provinces were collected. A high performance liquid chromatography method was used to simultaneously determine contents of rutoside, isorhamnetin-3-*O*-rutinoside, luteolin, quercetin, taraxasterol, β -sitosterol, stigmasterol, fumaric acid, succinic acid, 1,2-benzopyrone and eupatolide, and the multi-components quantitative control mode of *Eupatorii Herba* was established. Chemical pattern recognition and GRA were used to establish the quality difference evaluation model of *Eupatorii Herba*, and the overall quality was evaluated comprehensively. Under the constructed chromatographic conditions, the methodological validation of the external standard method meets the requirements of the pharmacopoeia; There was basically no difference in the detection results between (quantitative analysis of multicomponents by single-marker, QAMS) method and external standard method. The chemical recognition pattern results indicated that 18 batches of samples were clustered into three categories; rutoside, stigmasterol, luteolin, quercetin, 1,2-benzopyrone and β -sitosterol may be the main potential markers affecting the quality of *Eupatorii Herba*. The results of GRA showed that the relative correlation of 18 batches of *Eupatorii Herba* were 0.418 5, 0.477 9, 0.544 6, 0.503 5, 0.509 9, 0.544 0, 0.486 8, 0.338 8, 0.354 8, 0.360 8, 0.329 8, 0.291 0, 0.618 6, 0.627 3, 0.644 7, 0.662 7, 0.546 2 and 0.570 5, respectively indicating that the overall quality of *Eupatorii Herba* from Jiangsu, Hebei and Shandong were better. The established QAMS method for

simultaneous determination of 11 components in *Eupatorii Herba* are convenient and accurate. Chemical pattern recognition and GRA method are objective and comprehensive, which can be used to evaluate the quality difference of *Eupatorii Herba* from different origin.

Key words: *Eupatorii Herba*; HPLC; chemical pattern recognition; grey relational analysis; difference evaluation

佩兰为菊科植物佩兰 *Eupatorii fortunei* Turcz. 的干燥地上部分,具有芳香化湿、醒脾开胃、发表解暑之功效。用药历史悠久且较为广泛。临床常用于湿浊中阻,脘痞呕恶,口中甜腻,口臭,多涎,暑湿表证,湿温初起,发热倦怠,胸闷不舒等症状的治疗^[1]。其在我国分布较广,涵盖了华南、西南、中南、华东等地^[2,3]。所含成分复杂,主要包含生物碱类^[4]、黄酮类^[5]、挥发油类^[6]、脑苷脂类等成分^[7]。其具有明显的增强免疫力、抗炎、抑菌、抗氧化、抗肿瘤等作用^[8-11]。佩兰收录于《中华人民共和国药典》2020年版一部,但质量控制未涉及含量测定。文献报道仅局限于挥发油^[12]的分析和化学成分提取的研究^[7]。为保证临床疗效,有必要建立科学合理的质量评价模式来评控不同产地佩兰的质量差异性。中药是化学成分多而杂的复合体,药效又是多种成分协同的结果,单一成分的评价不能体现其内在质量,但多成分的外标法(external standard method, ESM)检测,需要大量对照品,又造成检验成本升高,同时个别对照品不稳定也可能造成检测结果不可靠。一测多评(quantitative analysis of multicomponents by single-marker, QAMS)法通过一个含量适中、对照品稳定易得的成分作为内参物,同时检测多种成分的含量,与 ESM 相比,降低了检验成本,实现了多种成分的同步检测,易于方法推广应用。本研究收集江苏、河北、山东、湖北、江西、陕西、广西、四川等 8 省不同产地的 18 批佩兰药材,采用 QAMS 法

同时测定其中的芦丁、异鼠李素-3-O-芸香糖苷、木犀草素、槲皮素、蒲公英甾醇、 β -谷甾醇、豆甾醇、延胡索酸、琥珀酸、1,2-苯并吡喃酮和泽兰内酯含量,并采用主成分分析(principal component analysis, PCA)和正交偏最小二乘法-判别分析(orthogonal partial least squares-discriminant analysis, OPLS-DA)等化学识别模式方法筛选影响其产品质量的主要潜在标志物,同时利用灰色关联度分析(grey relational analysis, GRA)法建立佩兰质量优劣评价模型,以期为不同产地佩兰的质量差异性控制提供科学的试验依据,也为佩兰地道研究提供数据支撑。

1 材料

1.1 试药

对照品槲皮素、木犀草素、芦丁和 β -谷甾醇(中国食品药品检定研究院,批号 100081-201610、111520-202107、100080-202012 和 110851-201909,含量 99.1%、96.3%、91.6% 和 92.7%);异鼠李素-3-O-芸香糖苷、琥珀酸、1,2-苯并吡喃酮、泽兰内酯、蒲公英甾醇、豆甾醇和延胡索酸(成都普瑞法科技开发有限公司,批号 PRF8041826、PRF7012622、PRF1506056、PRF8013197、PRF8062821、PRF8071843 和 PRF23062946,含量均高于 98.0%);液相用乙腈、磷酸(色谱纯,Merck);甲醇(分析纯);水为纯净水。

佩兰药材经山东中医药大学李志明教授鉴定为菊科植物佩兰 *Eupatorii fortunei* Turcz. 的干燥地上部分,产地信息见表 1。

表 1 18 批佩兰样品信息

Table 1 Information of 18 batches of *Eupatorii Herba* samples

编号 No.	产地 Origin	批号 Batch No.	编号 No.	产地 Origin	批号 Batch No.
S1	湖北远安县	210703	S10	广西钟山县	220705
S2	湖北兴山县	211002	S11	四川盐亭县	221003
S3	湖北竹山县	210801	S12	四川平武县	220802
S4	江西永丰县	220901	S13	河北安平县	210702
S5	江西全南县	221003	S14	河北怀来县	210903
S6	陕西镇安县	210805	S15	江苏建湖县	220701
S7	陕西宜君县	220902	S16	江苏沭阳县	210702
S8	广西上林县	210801	S17	山东鱼台县	210603
S9	广西田林县	210803	S18	山东蒙阴县	220802

1.2 仪器

QUINTIX 型电子分析天平(北京赛多利斯科学仪器公司);Agilent 1200 型高效液相色谱仪(Agilent 公司);Waters 2695 型高效液相色谱仪(Waters 公司);色谱柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm;型号分别为 Kromasil C₁₈、Shimadzu C₁₈ 和 Symmetry C₁₈);SB-1000YDTD 型超声波清洗器(宁波新芝生物科技股份有限公司)。

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% 甲醇制成含芦丁 0.310 mg/mL、异鼠李素-3-*O*-芸香糖苷 0.176 mg/mL、木犀草素 0.254 mg/mL、槲皮素 0.130 mg/mL、蒲公英甾醇 0.082 mg/mL、β-谷甾醇 0.026 mg/mL、豆甾醇 0.052 mg/mL、延胡索酸 0.078 mg/mL、琥珀酸 0.064 mg/mL、1,2-苯并吡喃酮 0.150 mg/mL 和泽兰内酯 0.072 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(11 个对照品质量浓度依次为 15.50、8.80、12.70、6.50、4.10、1.30、2.60、3.90、3.20、7.50 和 3.60 μg/mL)。

2.2 供试品溶液的制备

本试验提取供试品时,首先对溶剂(70% 乙醇、乙醇、70% 甲醇、甲醇和水)进行对比,结果以 70% 甲醇为溶剂时,所提取的佩兰样品中芦丁、异鼠李素-3-*O*-芸香糖苷、木犀草素、槲皮素、蒲公英甾醇、β-谷甾醇、豆甾醇、延胡索酸、琥珀酸、1,2-苯并吡喃酮和泽兰内酯的综合提取率较高。对超声和加热回流的提取方式考察时,发现加热回流时杂质干扰较多,

同时超声易操作更便捷。同时对提取时间(10、30、45、60 min)进行了优化,最终确定供试品溶液的制备方法为:取佩兰粉末约 0.6 g(过 80 目筛),精密称定,加 70% 甲醇约 20 mL,利用 SB-1000YDTD 型超声波清洗器超声 30 min,冷却,过滤,经提取溶剂定容至 25 mL,摇匀,静置,过滤,即得。

2.3 色谱条件

佩兰中待检测成分芦丁、异鼠李素-3-*O*-芸香糖苷、木犀草素、槲皮素、蒲公英甾醇、β-谷甾醇、豆甾醇、延胡索酸、琥珀酸、1,2-苯并吡喃酮和泽兰内酯紫外吸收主要集中在 190~400 nm 之间。综合基线平稳情况、色谱峰数量、11 个成分色谱峰峰面积等情况,分别采用不同波长进行对比考察后发现,在检测波长为 360 nm 时^[13-15],芦丁、异鼠李素-3-*O*-芸香糖苷、木犀草素和槲皮素有最大吸收;在检测波长为 210 nm 时^[16],蒲公英甾醇、β-谷甾醇、豆甾醇、延胡索酸和琥珀酸的色谱峰信号响应值较高且色谱峰分离度较好;在检测波长为 342 nm 时^[17],1,2-苯并吡喃酮和泽兰内酯的色谱峰信号响应值较高且色谱峰基线较平。最终确定色谱条件为:采用 Kromasil C₁₈ 色谱柱;流动相 0.2% 磷酸(A)-乙腈(B),梯度洗脱(0~11 min,15.0% B;11~29 min,15.0%→37.0% B;29~48 min,37.0%→45.0% B;48~59 min,45.0%→82.0% B;59~65 min,82.0%→15.0% B);柱温 30 °C,流速 1.0 mL/min,进样量 10 μL;波长切换:0~29 min 在 360 nm 检测芦丁、异鼠李素-3-*O*-芸香糖苷、木犀草素和槲皮素,29~48 min 在 210 nm 检测蒲公英甾醇、β-谷甾醇、豆甾醇、延胡索酸和琥珀酸,48~65 min 在 342 nm 检测 1,2-苯并吡喃酮和泽兰内酯。如图 1 所示,图谱提示基线平稳,供试

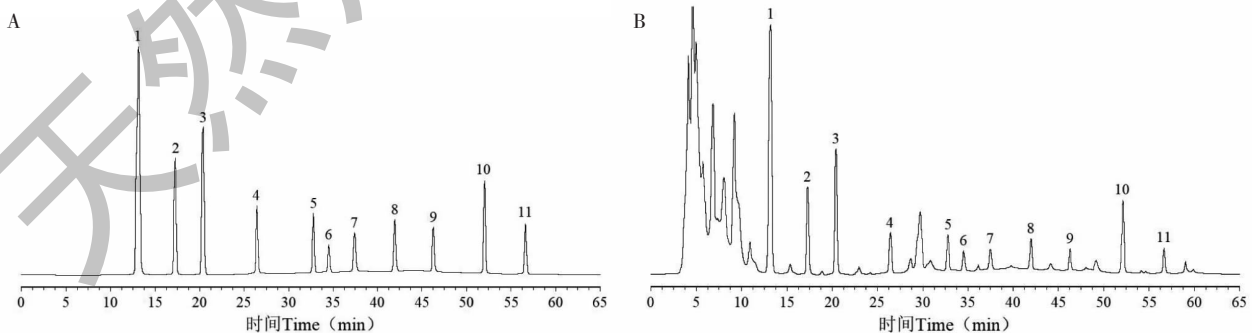


图 1 混合对照品(A)和佩兰(B)色谱图

Fig. 1 Chromatograms of mixed reference (A) and Eupatorii Herba (B)

注:1. 芦丁;2. 异鼠李素-3-*O*-芸香糖苷;3. 木犀草素;4. 槲皮素;5. 蒲公英甾醇;6. β-谷甾醇;7. 豆甾醇;8. 延胡索酸;9. 琥珀酸;10. 1,2-苯并吡喃酮;11. 泽兰内酯。Note: 1. Rutoside; 2. Isorhamnetin-3-*O*-rutoside; 3. Luteolin; 4. Quercetin; 5. Taraxasterol; 6. β-Sitosterol; 7. Stigmasterol; 8. Fumaric acid; 9. Succinic acid; 10. 1,2-Benzopyrone; 11. Eupatolide.

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良好。

2.4 线性关系考察

取“2.1”项贮备液,分别用 70% 甲醇稀释成从高到低的 6 个浓度(4、10、20、40、100 和 200 倍)。各精密吸取 10 μ L 注入高效液相色谱仪,测定芦丁、异鼠李素-3-*O*-芸香糖苷、木犀草素、槲皮素、蒲公英

甾醇、 β -谷甾醇、豆甾醇、延胡索酸、琥珀酸、1,2-苯并吡喃酮和泽兰内酯峰面积。以各对照品峰面积为 Y 轴,质量浓度为 X 轴对 11 个成分峰面积进行回归分析,结果见表 2。结果提示:在相应范围内,芦丁、异鼠李素-3-*O*-芸香糖苷、木犀草素、槲皮素、蒲公英甾醇、 β -谷甾醇、豆甾醇、延胡索酸、琥珀酸、1,2-苯并吡喃酮和泽兰内酯线性关系良好。

表 2 线性关系考察结果

Table 2 Results of linear relationship investigation

成分 Component	线性方程 Linear equation	相关系数 Correlation coefficient (r)	线性范围 Range of linearity ($\mu\text{g/mL}$)
芦丁 Rutoside	$Y = 3.449 \times 10^6 X + 1772.5$	0.9997	1.55 ~ 77.50
异鼠李素-3- <i>O</i> -芸香糖苷 Isorhamnetin-3- <i>O</i> -rutinoside	$Y = 2.729 \times 10^6 X - 2343.7$	0.9993	0.88 ~ 44.00
木犀草素 Luteolin	$Y = 2.612 \times 10^6 X + 1031.4$	0.9997	1.27 ~ 63.50
槲皮素 Quercetin	$Y = 1.788 \times 10^6 X - 922.9$	0.9994	0.65 ~ 32.50
蒲公英甾醇 Taraxasterol	$Y = 2.130 \times 10^6 X + 699.5$	0.9996	0.41 ~ 20.50
β -谷甾醇 β -Sitosterol	$Y = 8.937 \times 10^5 X - 1247.4$	0.9991	0.13 ~ 6.50
豆甾醇 Stigmasterol	$Y = 7.571 \times 10^5 X + 712.2$	0.9995	0.26 ~ 13.00
延胡索酸 Fumaric acid	$Y = 1.558 \times 10^6 X - 478.2$	0.9996	0.39 ~ 19.50
琥珀酸 Succinic acid	$Y = 1.076 \times 10^6 X + 1966.5$	0.9994	0.32 ~ 16.00
1,2-苯并吡喃酮 1,2-Benzopyrone	$Y = 2.250 \times 10^6 X + 1013.8$	0.9995	0.75 ~ 37.50
泽兰内酯 Eupatolide	$Y = 1.345 \times 10^6 X - 466.5$	0.9993	0.36 ~ 18.00

2.5 精密度、稳定性及重复性试验

在 11 个成分的相应线性范围内,对 11 个成分进行精密度考察。精密吸取佩兰(S1)一份供试品溶液,连续进样 6 次,记录 6 次进样中芦丁、异鼠李素-3-*O*-芸香糖苷、木犀草素、槲皮素、蒲公英甾醇、 β -谷甾醇、豆甾醇、延胡索酸、琥珀酸、1,2-苯并吡喃酮和泽兰内酯的峰面积,计算峰面积的 RSD 值分别为 1.8%、1.8%、1.7%、1.6%、1.5%、1.5%、1.3%、1.2%、1.3%、1.2% 和 1.0% ($n=6$)。取一份佩兰(S1)供试品溶液,于制备后每间隔 4 h 进样,持续检测至 24 h,记录芦丁、异鼠李素-3-*O*-芸香糖苷、木犀草素、槲皮素、蒲公英甾醇、 β -谷甾醇、豆甾醇、延胡索酸、琥珀酸、1,2-苯并吡喃酮和泽兰内酯峰面积,计算峰面积的 RSD 值依次为 1.8%、1.8%、1.7%、1.6%、1.6%、1.4%、1.3%、1.2%、1.3%、1.2% 和 1.0% ($n=7$)。取同批次佩兰(S1)样品 6 份,分别按“2.2”项方法制成供试品溶液,在“2.3”项色谱条件下进样,记录芦丁、异鼠李素-3-*O*-芸香糖苷、木犀草素、槲皮素、蒲公英甾醇、 β -谷甾醇、豆甾醇、延胡索酸、琥珀酸、1,2-苯并吡喃酮和泽兰内酯峰面积,代入回归方程并计算含量,结果 11 个成分含量的 RSD 值依次为 2.0%、2.0%、1.9%、2.0%、1.9%、

1.9%、1.7%、1.8%、1.8%、1.7% 和 1.7% ($n=6$)。试验结果表明重复性、精密度良好,佩兰供试品溶液 24 h 内稳定性良好(RSD 均不大于 2.0%)。

2.6 回收率试验

取各成分含量已知的佩兰(S1)细粉(过 80 目筛)9 份,每份约 0.3 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 0.8、1.0、1.2 mL 各 3 份,再按“2.2”项方法制得加样供试品溶液。各精密吸取 10 μ L 进样,结果 11 个成分的平均加样回收率(RSD)分别为芦丁 100.19% (0.85%)、异鼠李素-3-*O*-芸香糖苷 98.77% (1.5%)、木犀草素 99.32% (1.2%)、槲皮素 97.61% (1.2%)、蒲公英甾醇 99.11% (0.93%)、 β -谷甾醇 97.47% (1.5%)、豆甾醇 96.98% (1.1%)、延胡索酸 98.28% (1.4%)、琥珀酸 97.77% (0.83%)、1,2-苯并吡喃酮 98.47% (0.62%) 和泽兰内酯 96.94% (1.1%)

2.7 QAMS 法质量评价模式的建立

2.7.1 相对校正因子(f)的计算

对“2.4”项不同浓度的混合对照品溶液进样分析,以槲皮素为内参物,按照公式^[18]: $f = \frac{f_i}{f_s} =$

$\frac{C_s \times A_i}{C_i \times A_s}$ 计算各成分的 f 值(式中 C_i 和 C_s 分别为内

参物和其他待测成分的峰面积)。利用“2.4”项 6 个溶液计算的 f 值结果见表 3。

参物和其他待测成分的质量浓度、 A_i 和 A_s 分别为内

表 3 相对校正因子计算结果

Table 3 Results of f calculation

混合对照品溶液 Mixed reference solution	$f_{Q/R}$	$f_{Q/I}$	$f_{Q/L}$	$f_{Q/T}$	$f_{Q/SI}$	$f_{Q/ST}$	$f_{Q/F}$	$f_{Q/SU}$	$f_{Q/B}$	$f_{Q/E}$
1	0.523 7	0.648 7	0.702 7	0.846 4	2.009 5	2.344 9	1.181 1	1.643 6	0.796 7	1.330 9
2	0.522 4	0.647 5	0.682 9	0.846 6	2.015 4	2.346 0	1.147 4	1.620 7	0.796 5	1.331 5
3	0.527 3	0.646 5	0.699 5	0.843 0	2.005 6	2.341 5	1.151 8	1.615 7	0.795 8	1.316 3
4	0.524 7	0.655 6	0.693 0	0.849 3	2.037 3	2.355 6	1.158 7	1.647 2	0.796 5	1.329 7
5	0.507 1	0.660 6	0.668 3	0.823 7	2.043 6	2.339 2	1.134 1	1.658 5	0.788 0	1.333 7
6	0.519 5	0.654 4	0.686 2	0.840 8	1.999 6	2.361 6	1.149 2	1.659 1	0.795 1	1.328 6
平均值 Average	0.520 8	0.652 2	0.688 8	0.841 6	2.018 5	2.348 1	1.153 7	1.640 8	0.794 8	1.328 5
RSD(%)	1.4	0.84	1.8	1.1	0.89	0.37	1.4	1.1	0.43	0.47

注:R:芦丁;I:异鼠李素-3-*O*-芸香糖苷;L:木犀草素;Q:槲皮素;T:蒲公英甾醇;SI: β -谷甾醇;ST:豆甾醇;F:延胡索酸;SU:琥珀酸;B:1,2-苯并吡喃酮;E:泽兰内酯,下同。

Note:R:Rutoside;I:Isorhamnetin-3-*O*-rutinoside;L:Luteolin;Q:Quercetin;T:Taraxasterol;SI: β -Sitosterol;ST:Stigmasterol;F:Fumaric acid;SU:Succinic acid;B;1,2-Benzopyrone;E:Eupatolide, the same below.

2.7.2 各因素对 f 的影响

分别选用 Agilent 1200 型和 Waters 2695 型 HPLC 系统与 Kromasil C_{18} 柱、Shimadzu C_{18} 柱、Symmetry C_{18} 柱,流速:0.8、1.0、1.2 mL/min,柱温:25、

30、35 °C 等条件,来考察各因素对 f 的影响。结果“2.1”项下混合对照品溶液在以上条件下用于 f 耐用性考察,显示 f 值变化不大,耐用性良好(见表 4)。

表 4 不同仪器、色谱柱、流速及柱温测得各成分相对校正因子

Table 4 f of component in different instruments, columns, flow rate and column temperature

考察项目 Item		$f_{Q/R}$	$f_{Q/I}$	$f_{Q/L}$	$f_{Q/T}$	$f_{Q/SI}$	$f_{Q/ST}$	$f_{Q/F}$	$f_{Q/SU}$	$f_{Q/B}$	$f_{Q/E}$		
仪器及色谱柱 Instruments and chromatographic columns	1200	Kromasil C18	0.521 3	0.652 9	0.689 3	0.842 2	2.019 3	2.348 9	1.154 3	1.642 1	0.794 1	1.327 8	
		Shimadzu C18	0.527 5	0.659 2	0.692 7	0.843 6	2.021 5	2.356 4	1.162 5	1.659 2	0.798 2	1.336 2	
		Symmetry C18	0.534 2	0.667 1	0.703 4	0.850 7	2.043 1	2.360 3	1.179 2	1.660 5	0.803 7	1.341 5	
	2695	Kromasil C18	0.513 4	0.641 5	0.670 3	0.826 1	2.002 9	2.334 7	1.135 8	1.610 9	0.780 2	1.316 7	
		Shimadzu C18	0.519 7	0.643 8	0.683 5	0.832 5	2.003 1	2.347 5	1.143 9	1.614 8	0.787 6	1.329 4	
		Symmetry C18	0.526 1	0.654 9	0.694 9	0.846 2	2.037 5	2.359 2	1.178 4	1.657 3	0.792 1	1.332 5	
	平均值 Average		0.523 7	0.653 2	0.689 0	0.840 2	2.021 2	2.351 2	1.159 0	1.640 8	0.792 7	1.330 7	
	RSD(%)		1.4	1.5	1.6	1.1	0.83	0.41	1.5	1.4	1.0	0.63	
	流速 Flow velocity	0.8 mL/min		0.512 6	0.642 4	0.676 2	0.834 2	2.003 5	2.318 2	1.136 1	1.619 5	0.782 6	1.319 2
		1.0 mL/min		0.520 1	0.651 7	0.688 2	0.840 9	2.017 4	2.347 3	1.154 9	1.639 7	0.794 1	1.329 6
1.2 mL/min			0.527 4	0.659 2	0.698 1	0.847 3	2.046 9	2.360 9	1.180 5	1.659 3	0.806 5	1.335 3	
平均值 Average			0.520 0	0.651 1	0.687 5	0.840 8	2.022 6	2.342 1	1.157 2	1.639 5	0.794 4	1.328 0	
RSD(%)			1.4	1.3	1.6	0.78	1.1	0.93	1.9	1.2	1.5	0.61	
柱温 Column temperature	25 °C		0.516 5	0.642 5	0.678 3	0.834 1	1.999 7	2.332 5	1.141 2	1.634 2	0.786 1	1.310 5	
	30 °C		0.521 1	0.653 1	0.687 5	0.842 7	2.016 4	2.345 9	1.153 4	1.641 6	0.795 9	1.326 7	
	35 °C		0.529 3	0.664 2	0.698 6	0.853 5	2.028 9	2.361 5	1.168 7	1.653 9	0.803 5	1.337 1	
	平均值 Average		0.522 3	0.653 3	0.688 1	0.843 4	2.015 0	2.346 6	1.154 4	1.643 2	0.795 2	1.324 8	
	RSD(%)		1.2	1.7	1.5	1.2	0.73	0.62	1.2	0.61	1.1	1.0	

2.7.3 相对保留时间值(t)计算

记录 Agilent 1200 型和 Waters 2695 型 HPLC 系统与 Kromasil C₁₈柱、Shimadzu C₁₈柱、Symmetry C₁₈柱时各成分的保留时间,以槲皮素为内参物,按照公式

$$t = \frac{t_s}{t_i} (t_s \text{ 和 } t_i \text{ 分别为其他成分与内参物色谱峰的保留时间})$$

计算 t 值,结果显示不同 HPLC 系统与不同色谱柱下各成分的 t 值差异不明显,该法可用于佩兰中多组分色谱峰的定位(见表5)。

表5 不同仪器、色谱柱、流速及柱温测得各成分 t 值

Table 5 t of each component in different instruments, columns, flow rate and column temperature

仪器 Instrument	色谱柱 Column	$t_{R/Q}$	$t_{L/Q}$	$t_{L/Q}$	$t_{T/Q}$	$t_{SL/Q}$	$t_{ST/Q}$	$t_{F/Q}$	$t_{SU/Q}$	$t_{B/Q}$	$t_{E/Q}$
1200	Kromasil C18	0.497 4	0.653 4	0.772 5	1.238 1	1.304 2	1.412 7	1.584 7	1.748 7	1.965 6	2.137 6
	Shimadzu C18	0.503 7	0.659 2	0.779 7	1.247 9	1.316 7	1.431 5	1.596 1	1.762 1	1.989 4	2.156 3
	Symmetry C18	0.507 3	0.667 1	0.788 9	1.256 4	1.327 6	1.438 2	1.618 2	1.791 9	1.997 9	2.168 4
2695	Kromasil C18	0.487 5	0.644 9	0.761 2	1.220 3	1.293 8	1.381 5	1.568 9	1.726 3	1.956 2	2.102 8
	Shimadzu C18	0.483 9	0.649 8	0.763 8	1.223 8	1.300 4	1.403 9	1.573 5	1.730 5	1.958 5	2.115 7
	Symmetry C18	0.495 2	0.651 5	0.770 4	1.231 5	1.309 2	1.416 2	1.609 1	1.761 4	1.973 7	2.131 5
平均值 Average		0.495 8	0.654 3	0.772 8	1.236 3	1.308 7	1.414 0	1.591 8	1.753 5	1.973 6	2.135 4
RSD (%)		1.8	1.2	1.3	1.1	0.92	1.4	1.2	1.4	0.86	1.2

2.8 样品测定

取不同批号的佩兰样品(S1 ~ S18),分别按“2.2”项流程制备供试品溶液(每批制备3份),各精密吸取10 μ L测定,代入回归方程,运用ESM计算样品中芦丁、异鼠李素-3-*O*-芸香糖苷、木犀草素、槲皮素、蒲公英甾醇、 β -谷甾醇、豆甾醇、延胡索酸、

琥珀酸、1,2-苯并吡喃酮和泽兰内酯的含量,再以槲皮素为内参物,利用“2.7.1”项 f 的均值及计算公式,运用QAMS法计算其他10个成分含量,再运用SPSS26.0软件中独立样本 T 检验方法对各组分两种方法所得数据进行处理,结果显示两种方法差异不大($P > 0.05$),结果见表6。

表6 佩兰中11个成分含量测定结果($n = 3$)

Table 6 Determination results of 11 components in Eupatorii Herba ($n = 3$)

成分 Component	方法 Method	含量 Content (mg/g)																	P	
		S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13	S14	S15	S16	S17		S18
槲皮素 Quercetin	ESM	0.192	0.204	0.212	0.254	0.228	0.242	0.262	0.163	0.149	0.155	0.122	0.135	0.332	0.344	0.319	0.358	0.307	0.274	-
芦丁 Rutoside	ESM	0.753	0.774	0.916	0.864	0.839	0.867	0.859	0.711	0.697	0.731	0.678	0.652	1.049	0.973	1.104	1.082	0.969	0.951	0.828
	QAMS	0.734	0.792	0.896	0.843	0.817	0.892	0.846	0.695	0.684	0.712	0.660	0.634	1.021	0.996	1.089	1.054	0.945	0.972	
异鼠李素-3- <i>O</i> -芸香糖苷 Isorhamnetin-3- <i>O</i> -rutinoside	ESM	0.324	0.298	0.295	0.314	0.319	0.353	0.329	0.265	0.265	0.278	0.244	0.253	0.371	0.407	0.411	0.403	0.398	0.351	0.841
	QAMS	0.315	0.290	0.287	0.322	0.311	0.344	0.320	0.272	0.259	0.271	0.251	0.246	0.379	0.396	0.404	0.412	0.388	0.344	
木犀草素 Luteolin	ESM	0.481	0.519	0.536	0.524	0.535	0.581	0.526	0.455	0.448	0.442	0.433	0.415	0.669	0.621	0.713	0.687	0.586	0.611	0.874
	QAMS	0.468	0.505	0.522	0.538	0.521	0.569	0.539	0.443	0.436	0.454	0.421	0.404	0.651	0.635	0.694	0.672	0.603	0.620	
蒲公英甾醇 Taraxasterol	ESM	0.117	0.129	0.117	0.113	0.114	0.109	0.102	0.113	0.099	0.098	0.093	0.096	0.143	0.152	0.144	0.156	0.153	0.147	0.855
	QAMS	0.114	0.126	0.120	0.110	0.117	0.107	0.100	0.110	0.097	0.100	0.091	0.094	0.146	0.155	0.140	0.152	0.149	0.143	
β -谷甾醇 β -Sitosterol	ESM	0.041	0.055	0.058	0.049	0.051	0.049	0.045	0.041	0.033	0.038	0.027	0.025	0.038	0.048	0.034	0.041	0.033	0.035	0.944
	QAMS	0.042	0.054	0.059	0.048	0.052	0.050	0.044	0.040	0.034	0.037	0.026	0.024	0.039	0.047	0.033	0.040	0.032	0.036	
豆甾醇 Stigmasterol	ESM	0.076	0.089	0.100	0.087	0.098	0.099	0.087	0.065	0.057	0.054	0.061	0.047	0.087	0.067	0.093	0.078	0.049	0.081	0.932
	QAMS	0.078	0.090	0.098	0.089	0.096	0.098	0.085	0.064	0.056	0.055	0.060	0.046	0.085	0.066	0.091	0.076	0.050	0.083	
延胡索酸 Fumaric acid	ESM	0.104	0.112	0.160	0.142	0.127	0.148	0.153	0.102	0.169	0.145	0.174	0.145	0.102	0.087	0.126	0.094	0.085	0.111	0.841
	QAMS	0.102	0.115	0.156	0.138	0.130	0.144	0.149	0.104	0.165	0.141	0.169	0.148	0.100	0.085	0.123	0.092	0.083	0.108	
琥珀酸 Succinic acid	ESM	0.087	0.083	0.093	0.087	0.089	0.093	0.078	0.074	0.078	0.079	0.071	0.072	0.115	0.119	0.113	0.123	0.113	0.104	0.863
	QAMS	0.089	0.081	0.091	0.085	0.087	0.091	0.080	0.072	0.076	0.077	0.073	0.070	0.112	0.117	0.110	0.120	0.115	0.107	
1,2-苯并吡喃酮 1,2-Benzopyrone	ESM	0.275	0.302	0.353	0.305	0.316	0.345	0.283	0.249	0.224	0.231	0.227	0.225	0.437	0.406	0.419	0.452	0.371	0.372	0.887
	QAMS	0.268	0.310	0.344	0.297	0.322	0.336	0.275	0.242	0.230	0.237	0.223	0.231	0.425	0.395	0.410	0.441	0.379	0.363	
泽兰内酯 Eupatolide	ESM	0.098	0.104	0.103	0.121	0.113	0.110	0.129	0.072	0.092	0.103	0.095	0.088	0.124	0.154	0.137	0.157	0.139	0.142	0.939
	QAMS	0.099	0.107	0.101	0.118	0.110	0.113	0.126	0.074	0.090	0.101	0.093	0.086	0.127	0.158	0.134	0.153	0.142	0.138	

2.9 化学识别模式的建立

以 18 批佩兰中芦丁、异鼠李素-3-O-芸香糖苷、木犀草素、槲皮素、蒲公英甾醇、 β -谷甾醇、豆甾醇、延胡索酸、琥珀酸、1,2-苯并吡喃酮和泽兰内酯的 QAMS 法计算的含量数据为变量,借助 SIMCA 14.1 软件对 18×11 矩阵数据构建 PCA 模型^[19](见图

2),提取出 2 个主成分,18 批佩兰样品大致分成 3 组,所有数据点均在 95% 置信区间内,表明所有检测数据无异常。进一步运行 OPLS-DA 程序,结果模型参数 $R^2 X = 0.972$ 、 $R^2 Y = 0.894$ 、 $Q^2 = 0.800$,均大于 0.5^[20],表明建立的模型稳定可靠、预测能力好(见图 3 和图 4)。图 4 显示变量重要性投影(varia-

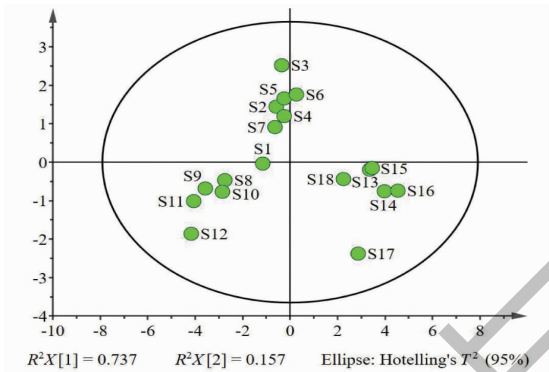


图 2 PCA 得分图
Fig. 2 PCA score plot

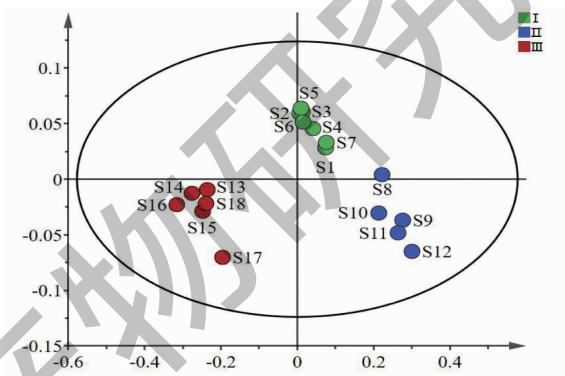


图 3 OPLS-DA 得分图
Fig. 3 OPLS-DA score plot

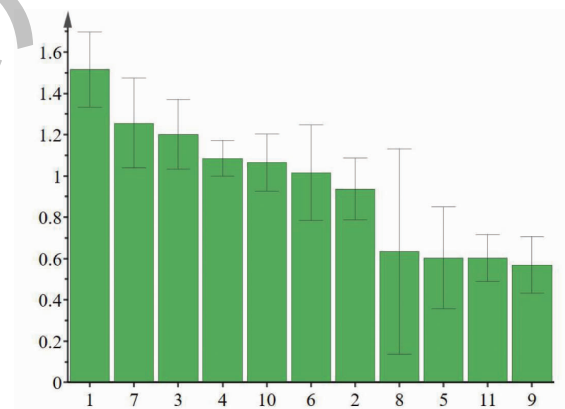


图 4 OPLS-DA 结果的 VIP 图
Fig. 4 VIP plot of OPLS-DA

注:1. 芦丁;2. 异鼠李素-3-O-芸香糖苷;3. 木犀草素;4. 槲皮素;5. 蒲公英甾醇;6. β -谷甾醇;7. 豆甾醇;8. 延胡索酸;9. 琥珀酸;10. 1,2-苯并吡喃酮;11. 泽兰内酯。Note:1. Rutoside;2. Isorhamnetin-3-O-rutinoid;3. Luteolin;4. Quercetin;5. Taraxasterol;6. β -Sitosterol;7. Stigmasterol;8. Fumaric acid;9. Succinic acid;10. 1,2-Benzopyrone;11. Eupatolide.

ble importance for projection, VIP) 值 > 1 的组分分别为芦丁 (VIP = 1.516)、豆甾醇 (VIP = 1.257)、木犀草素 (VIP = 1.203)、槲皮素 (VIP = 1.086)、1,2-苯并吡喃酮 (VIP = 1.066) 和 β -谷甾醇 (VIP = 1.015), 表明上述 6 个组分对不同产地佩兰的质量影响显著。

2.10 GRA 分析法的建立

表 7 佩兰中 11 个组分含量数据规格化处理结果

Table 7 Normalization results of content data of 11 components of Eupatorii Herba

编号 No.	芦丁 Rutoside	异鼠李素- 3-O- 芸香糖苷 Isorhamnetin-3- O-rutinoside	木犀草素 Luteolin	槲皮素 Quercetin	蒲公英甾醇 Taraxasterol	β -谷甾醇 β -Sitosterol	豆甾醇 Stigmasterol	延胡索酸 Fumaric acid	琥珀酸 Succinic acid	1,2-苯并 吡喃酮 1,2-Benzopyrone	泽兰内酯 Eupatolide
S1	0.864 5	0.975 8	0.868 9	0.812 9	0.945 3	1.026 9	1.027 7	0.815 3	0.969 5	0.842 2	0.860 9
S2	0.932 9	0.898 4	0.937 6	0.863 7	1.044 8	1.320 3	1.185 8	0.919 3	0.882 4	0.974 2	0.930 4
S3	1.055 4	0.889 1	0.969 2	0.897 5	0.995 0	1.442 5	1.291 2	1.247 0	0.991 3	1.081 1	0.878 3
S4	0.992 9	0.997 5	0.998 9	1.075 4	0.912 1	1.173 6	1.172 6	1.103 1	0.925 9	0.933 4	1.026 1
S5	0.962 3	0.963 4	0.967 3	0.965 3	0.970 1	1.271 4	1.264 8	1.039 2	0.947 7	1.011 9	0.956 5
S6	1.050 6	1.065 7	1.056 4	1.024 6	0.887 2	1.222 5	1.291 2	1.151 1	0.991 3	1.055 9	0.982 6
S7	0.996 5	0.991 3	1.000 7	1.109 2	0.829 2	1.075 8	1.119 9	1.191 0	0.871 5	0.864 2	1.095 7
S8	0.818 6	0.842 6	0.822 5	0.690 1	0.912 1	0.978 0	0.843 2	0.831 3	0.784 3	0.760 5	0.643 5
S9	0.805 7	0.802 4	0.809 5	0.630 8	0.804 3	0.831 3	0.737 8	1.318 9	0.827 9	0.722 8	0.782 6
S10	0.838 6	0.839 5	0.842 9	0.656 2	0.829 2	0.904 6	0.724 6	1.127 1	0.838 8	0.744 8	0.878 3
S11	0.777 4	0.777 6	0.781 7	0.516 5	0.754 6	0.635 7	0.790 5	1.350 9	0.795 2	0.700 8	0.808 7
S12	0.746 8	0.762 1	0.750 1	0.571 5	0.779 4	0.586 8	0.606 1	1.183 1	0.762 5	0.726 0	0.747 8
S13	1.202 6	1.174 1	1.208 7	1.405 6	1.210 6	0.953 5	1.119 9	0.799 4	1.220 0	1.335 6	1.104 3
S14	1.173 1	1.226 8	1.179 0	1.456 4	1.285 2	1.149 1	0.869 6	0.679 5	1.274 5	1.241 4	1.373 9
S15	1.282 7	1.251 5	1.288 5	1.350 6	1.160 9	0.806 8	1.198 9	0.983 2	1.198 3	1.288 5	1.165 2
S16	1.241 5	1.276 3	1.247 7	1.515 7	1.260 4	0.978 0	1.001 3	0.735 4	1.307 2	1.385 9	1.330 4
S17	1.113 1	1.202 0	1.119 6	1.299 7	1.235 5	0.782 4	0.658 8	0.663 5	1.252 7	1.191 1	1.234 8
S18	1.144 9	1.065 7	1.151 1	1.160 0	1.185 7	0.880 2	1.093 5	0.863 3	1.165 6	1.140 8	1.200 0

2.10.2 参考序列的选择及关联系数的计算

参考序列是能够反映灰色系统行为特征的数据序列,进行 GRA 分析时,通常采用各评价指标处理后的最大值作为最优参考序列,最小值作为最差参考序列。关联系数反映各评价指标与理想值的吻合

2.10.1 原始数据矩阵规格化

采用均值变换法对 18 批佩兰中芦丁、异鼠李素-3-O-芸香糖苷、木犀草素、槲皮素、蒲公英甾醇、 β -谷甾醇、豆甾醇、延胡索酸、琥珀酸、1,2-苯并吡喃酮和泽兰内酯 QAMS 法含量数据规格化处理^[21],得规格化处理矩阵(见表 7)。

程度,关联系数越大,表明某指标越接近理想值。按照关联系数计算公式^[22]分别计算最优参考序列的关联系数(见表 8)以及最差参考序列的关联系数(见表 9)。

表 8 最优参考序列的关联系数

Table 8 The correlation coefficient of the optimal reference sequence

编号 No.	芦丁 Rutoside	异鼠李素- 3-O- 芸香糖苷 Isorhamnetin-3- O-rutinoside	木犀草素 Luteolin	槲皮素 Quercetin	蒲公英甾醇 Taraxasterol	β -谷甾醇 β -Sitosterol	豆甾醇 Stigmasterol	延胡索酸 Fumaric acid	琥珀酸 Succinic acid	1,2-苯并 吡喃酮 1,2-Benzopyrone	泽兰内酯 Eupatolide
S1	0.390 5	0.461 1	0.390 8	0.415 5	0.438 4	0.507 3	0.565 2	0.390 9	0.446 4	0.386 5	0.415 9
S2	0.433 8	0.404 9	0.434 1	0.433 8	0.524 6	0.777 8	0.764 7	0.443 3	0.390 7	0.454 2	0.451 6
S3	0.541 0	0.399 0	0.457 4	0.446 9	0.477 6	1.000 0	1.000 0	0.767 9	0.463 0	0.529 2	0.424 3

续表 8 Continued table 8

编号 No.	芦丁 Rutoside	异鼠李素- 3-O- 芸香糖苷 Isorhamnetin-3 -O-rutinoside	木犀草素 Luteolin	槲皮素 Quercetin	蒲公英甾醇 Taraxasterol	β -谷甾醇 β -Sitosterol	豆甾醇 Stigmasterol	延胡索酸 Fumaric acid	琥珀酸 Succinic acid	1,2-苯并 吡喃酮 1,2-Benzopyrone	泽兰内酯 Eupatolide
S4	0.480 4	0.479 8	0.481 7	0.531 5	0.415 6	0.614 1	0.742 8	0.581 1	0.416 7	0.430 9	0.512 2
S5	0.455 4	0.451 1	0.456 0	0.475 8	0.457 1	0.714 3	0.928 4	0.524 4	0.431 0	0.478 1	0.466 6
S6	0.535 8	0.549 7	0.537 0	0.504 3	0.400 0	0.660 4	1.000 0	0.632 4	0.463 0	0.509 3	0.482 7
S7	0.483 5	0.474 3	0.483 3	0.551 4	0.367 8	0.538 5	0.666 6	0.682 5	0.384 6	0.396 4	0.567 6
S8	0.366 0	0.372 2	0.366 2	0.377 0	0.415 6	0.479 5	0.433 3	0.398 1	0.342 5	0.353 9	0.333 3
S9	0.359 7	0.351 7	0.359 8	0.360 9	0.355 5	0.411 8	0.382 3	0.914 8	0.362 3	0.340 6	0.381 8
S10	0.376 3	0.370 5	0.376 6	0.367 6	0.367 8	0.443 0	0.376 8	0.605 6	0.367 7	0.348 2	0.424 3
S11	0.346 5	0.340 2	0.346 9	0.333 3	0.333 3	0.346 5	0.406 2	1.000 0	0.347 2	0.333 3	0.392 5
S12	0.333 3	0.333 3	0.333 3	0.346 0	0.344 1	0.333 3	0.333 3	0.671 9	0.333 3	0.341 7	0.368 4
S13	0.769 9	0.715 6	0.771 3	0.819 4	0.780 5	0.466 7	0.666 6	0.383 9	0.757 5	0.872 0	0.575 3
S14	0.709 7	0.838 6	0.710 9	0.893 9	1.000 0	0.593 2	0.448 3	0.338 6	0.892 8	0.703 3	1.000 0
S15	1.000 0	0.912 0	1.000 0	0.751 6	0.681 0	0.402 3	0.787 7	0.483 1	0.714 4	0.778 6	0.636 3
S16	0.866 7	1.000 0	0.868 4	1.000 0	0.914 5	0.479 5	0.541 6	0.358 3	1.000 0	1.000 0	0.893 6
S17	0.612 4	0.775 8	0.614 5	0.698 2	0.842 2	0.393 3	0.351 4	0.333 3	0.833 3	0.637 5	0.724 2
S18	0.660 4	0.549 7	0.662 1	0.584 1	0.727 2	0.432 1	0.634 1	0.413 4	0.657 9	0.582 9	0.677 4

表 9 最差参考序列的关联系数

Table 9 The correlation coefficient of the worst reference sequence

编号 No.	芦丁 Rutoside	异鼠李素- 3-O- 芸香糖苷 Isorhamnetin-3 -O-rutinoside	木犀草素 Luteolin	槲皮素 Quercetin	蒲公英甾醇 Taraxasterol	β -谷甾醇 β -Sitosterol	豆甾醇 Stigmasterol	延胡索酸 Fumaric acid	琥珀酸 Succinic acid	1,2-苯并 吡喃酮 1,2-Benzopyrone	泽兰内酯 Eupatolide
S1	0.6948	0.546 1	0.693 8	0.627 6	0.581 8	0.492 9	0.448 3	0.693 6	0.568 2	0.707 8	0.626 8
S2	0.5901	0.653 5	0.589 4	0.590 0	0.477 6	0.368 4	0.371 4	0.573 3	0.694 3	0.556 1	0.560 0
S3	0.4647	0.669 4	0.551 3	0.567 3	0.524 6	0.333 3	0.333 3	0.370 7	0.543 5	0.473 9	0.608 7
S4	0.5213	0.522 0	0.519 7	0.472 0	0.627 5	0.421 7	0.376 8	0.438 8	0.625 0	0.595 6	0.488 4
S5	0.5542	0.560 9	0.553 5	0.526 8	0.551 8	0.384 6	0.342 1	0.477 8	0.595 2	0.524 1	0.538 5
S6	0.4686	0.458 5	0.467 8	0.495 8	0.666 8	0.402 3	0.333 3	0.413 4	0.543 5	0.491 0	0.518 5
S7	0.5176	0.528 7	0.517 9	0.457 4	0.780 5	0.466 7	0.400 0	0.394 5	0.714 2	0.677 0	0.446 8
S8	0.7887	0.761 6	0.788 1	0.742 1	0.627 5	0.522 4	0.591 0	0.671 9	0.925 9	0.851 6	1.000 0
S9	0.8198	0.864 5	0.819 2	0.813 8	0.842 2	0.636 4	0.722 3	0.344 0	0.806 4	0.939 7	0.724 2
S10	0.7448	0.768 6	0.743 6	0.781 5	0.780 5	0.573 8	0.743 0	0.425 7	0.781 2	0.886 2	0.608 7
S11	0.8975	0.943 1	0.894 9	1.000 0	1.000 0	0.897 4	0.650 1	0.333 3	0.892 8	1.000 0	0.688 5
S12	1.0000	1.000 0	1.000 0	0.900 8	0.914 5	1.000 0	1.000 0	0.398 1	1.000 0	0.931 5	0.777 8
S13	0.3702	0.384 2	0.369 9	0.359 8	0.367 8	0.538 5	0.400 0	0.716 6	0.373 2	0.350 5	0.442 1
S14	0.3860	0.356 2	0.385 6	0.347 1	0.333 3	0.432 1	0.565 2	0.955 5	0.347 2	0.387 9	0.333 3
S15	0.3333	0.344 4	0.333 3	0.374 6	0.395 0	0.660 4	0.366 2	0.518 1	0.384 6	0.368 2	0.411 8
S16	0.3513	0.333 3	0.351 1	0.333 3	0.344 1	0.522 4	0.464 3	0.827 0	0.333 3	0.333 3	0.347 1
S17	0.4225	0.368 9	0.421 5	0.389 5	0.355 5	0.686 3	0.866 7	1.000 0	0.357 2	0.411 3	0.381 8
S18	0.4023	0.458 5	0.401 7	0.437 1	0.381 0	0.593 2	0.412 7	0.632 4	0.403 2	0.437 7	0.396 2

2.10.3 计算相对关联度

从表8、表9可以看出关联系数信息量大,不便于比较,遂采用最优、最差参考序列关联系数的平均值分别作为最优、最差参考序列关联度,按相对关联度计算公式^[22]得18批佩兰样品的相对关联度,结果见表10。相对关联度位于0~1之间,数值越大,样品综合质量越优。GRA分析结果显示18批佩兰

样品的相对关联度在0.2910~0.6627之间,其中S13~S18分别位于排名前6位,S1~S7位于排名中间位置,S8~S12位于排名后5位。排名前6位分别是江苏、河北和山东产佩兰,结果表明江苏、河北和山东所得佩兰整体质量较好,其次为湖北、江西和陕西产地佩兰,广西和四川产地佩兰排名靠后。

表10 18批佩兰相对关联度排序结果

Table 10 Ranking results of relative correlation degree of 18 batches of Eupatorii Herba

编号 No.	与最优参考序列关联度 Correlation degree with the optimal reference sequence	与最差参考序列关联度 Correlation degree with the worst reference sequence	相对关联度 Relative degree of incidence	排序 No.
S1	0.437 1	0.607 4	0.418 5	13
S2	0.501 2	0.547 6	0.477 9	12
S3	0.591 5	0.494 6	0.544 6	7
S4	0.517 0	0.509 9	0.503 5	10
S5	0.530 7	0.510 0	0.509 9	9
S6	0.570 4	0.478 1	0.544 0	8
S7	0.508 8	0.536 5	0.486 8	11
S8	0.385 2	0.751 9	0.338 8	16
S9	0.416 5	0.757 5	0.354 8	15
S10	0.402 2	0.712 5	0.360 8	14
S11	0.411 4	0.836 1	0.329 8	17
S12	0.370 2	0.902 1	0.291 0	18
S13	0.689 0	0.424 8	0.618 6	4
S14	0.739 0	0.439 0	0.627 3	3
S15	0.740 6	0.408 2	0.644 7	2
S16	0.811 1	0.412 8	0.662 7	1
S17	0.619 6	0.514 7	0.546 2	6
S18	0.598 3	0.450 5	0.570 5	5

3 讨论与结论

一测多评法不仅可用于对相同母核或类似结构成分^[23,24],还常用于不同类成分的测定^[25,26],现已广泛应用于中药材及中药制剂多成分定量控制中。在内参物选取时,通常以对照品易得、价廉、质量稳定、出峰时间和含量适中等为原则。本研究所测11个成分分别为黄酮类、三萜类、甾醇类、有机酸类、香豆素类和倍半萜类,内参物的选择和相对校正因子耐用性是保障测定结果准确的重要因素。作者在试验过程中,曾以木犀草素、延胡索酸和1,2-苯并吡喃酮为内参物,分别计算各自的相对校正因子及各化合物含量,并将槲皮素为内参物所得结果与外标法检测结果进行对比,优选最佳的内参物。结果显

示两种内参物选取模式下,待测成分一测多评法和外标法所得含量结果均无明显差异, P 值均大于0.05。以木犀草素、延胡索酸和1,2-苯并吡喃酮为内参物时,内参物木犀草素与异鼠李素-3-*O*-芸香糖苷的相对校正因子RSD值偏高(2.5%),而以槲皮素为内参物时各成分相对校正因子RSD值均小于2.0%。相较于槲皮素而言,木犀草素含量偏高且见光易分解,延胡索酸处于紫外末端吸收且含量偏低,1,2-苯并吡喃酮出峰时间较迟且见光不稳定,故最终选取质量稳定、出峰时间和含量相对居中、价廉易得的槲皮素为内参物,对佩兰中多成分含量进行同步检测。

本试验以8个省不同产地的18批佩兰为检测

样品,首先采用建立的色谱条件及线性方程,运用外标法同步检测芦丁、异鼠李素-3-O-芸香糖苷、木犀草素、槲皮素、蒲公英甾醇、 β -谷甾醇、豆甾醇、延胡索酸、琥珀酸、1,2-苯并吡喃酮和泽兰内酯含量,11个成分涉及到黄酮类、三萜类、甾醇类、有机酸类、香豆素类和倍半萜类,可以较全面地评价佩兰产品的内在质量。再以槲皮素为内参物,构建 QAMS 模型,计算相对校正因子,并进行相对校正因子耐用性和相对保留时间值考察,通过两种方法对比检测各成分含量,验证了 QAMS 的可行性,结果提示两种方法所得结果差别不大,QAMS 法可用于佩兰中以上 11 个成分含量的检测。采用化学识别模式对 QAMS 法计算数据进行分析,结果显示 18 批不同产地的佩兰聚为 3 类,各批次间质量差异较大,OPLS-DA 结果显示 VIP > 1 的组分有 6 个,分别为芦丁、豆甾醇、木犀草素、槲皮素、1,2-苯并吡喃酮和 β -谷甾醇,说明这 6 个成分影响不同产地佩兰的分组,是佩兰质量差异性标志物;GRA 法同样显示各批次间佩兰质量差异较大,其中江苏、河北和山东产地的佩兰药材的相对关联度值较高,提示江苏、河北和山东产地的佩兰药材的整体质量较佳。

本试验建立的佩兰中 11 个指标成分 HPLC-QAMS 法定量质控模式,方法简便可行、准确性好。化学识别模式联合 GRA 法客观全面,可用于不同产地佩兰的质量差异性评价,为其道地性研究提供数据支撑。

参考文献

- Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China; Vol I(中华人民共和国药典:第一部)[M]. Beijing:China Medical Science Press,2020:226.
- Li SM, Luo SN, Bi XL, et al. Study on the fingerprints of *Eupatorii fortunei* Turcz. from different regions[J]. J Guangdong Pharm Univ(广东药科大学学报),2022,38:58-63.
- Wei DZ, Ning SJ, Lin WX. Research progress of *Eupatorii Herba*[J]. Lishizhen Med Mater Med Res(时珍国医国药),2007,18:1782-1783.
- Zhang Y. Analysis and detection of pyrrolizidine alkaloids in *Eupatorii fortunei* Turcz. and its neurotoxicity *in vitro*[D]. Beijing:Beijing Univ Chin Med(北京中医药大学),2021.
- Hou DY, Hui RH, Xu B, et al. Study on extracting condition of flavonoids from *Eupatorium fortunei* Turcz. [J]. J Anshan Norm Univ(鞍山师范学院学报),2006,8:14-18.
- Zhu FM, Du B, Xin G, et al. Analysis of chemical compositions of *Eupatorium fortunei* Turcz. essential oils[J]. Food Sci (食品科学),2008,29:389-391.
- Yang JQ, Yang NY, Wu QN. Chemical constituents of *Eupatorium fortunei* Turcz.[J]. China Pharm(中国药业),2017,26:4-6.
- Yue YD, Kang XD, Yang WJ, et al. Analysis of Perlan treatment based on network pharmacology and molecular docking method mechanism of action of type 2 diabetes[J]. J Gansu Univ Chin Med(甘肃中医药大学学报),2021,38:82-89.
- Guo JY, Lv J, Ma MY, et al. Mechanism of three related Chinese herbs Huoxiang-Perlan-Dahuang in treatment of chronic renal failure based on network pharmacology and molecular docking[J]. J Hubei Minzu Univ Med Ed(湖北民族大学学报·医学版),2021,38:29-34.
- Zhou H, Zhao W, Chen YH, et al. Study on the effect of *Eupatorii Herba* on improving insulin resistance based on turbidity toxicity theory[J]. Chin J Ethnomed Ethnopharm(中国民族民间医药),2020,29:55-58.
- Xue M, Qiao JJ, Wang Q, et al. Effects of different drying methods on quality and antibacterial activity of essential oils from *Eupatorium fortunei* [J]. Chin Tradit Pat Med(中成药),2018,40:2249-2254.
- Hu H. Purification of Flavonoids from *Eupatorium fortunei* Turcz. and its anti-oxidant and resisting exercise fatigue effects[J]. Sci Technol Food Ind(食品工业科技),2022,43:220-226.
- Li J, Jia WJ, Cao WD, et al. Content determination of rutin, quercetin and hypericin in *Diaphragma Juglandis Fructus* by HPLC[J]. China Pharm(中国药业),2021,30:61-63.
- Zhou XT, Wang Y, Lan W. Determination of luteolin in branchlet roses from Xinjiang[J]. Chem Bioeng(化学与生物工程),2022,39(5):65-68.
- Adila A, Dai L, Gulbahar Dt, et al. Identification of *Cuscuta chinensis* by HPLC fingerprint and chemical pattern recognition[J]. J Nankai:Univ Nat Sci(南开大学学报:自科版),2020,53:7-14.
- Yin J, Hu PH, Shu C. Simultaneous determination of cholesterol, stigmasterol and β -sitosterol in oil pharmaceutical excipients by HPLC[J]. Cent South Pharm(中南药学),2022,20:609-612.
- Zhang GN, Zhang M, Shi YF, et al. Determination of scoparone and ayapin in *Dendrobium thyrsiflorum* by HPLC-UV[J]. Chin Pharm J(中国药理学杂志),2006,41:388-391.
- Qin KM, Yang B, Hu J, et al. Application status and thinking of quantitative analysis of multi-components by single marker in quality control of multi-components traditional Chinese medicine[J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药),2018,49:725-731.