

- 学模式识别的紫菀炮制前后对比研究[J]. 药物分析杂志, 2022, 42(11): 2010-2018.
- [17] 王锐, 邱智东, 刘滢, 等. Box-Behnken 响应面结合FAHP-熵权法和基准关联度优化经典名方泻白散的提取工艺[J]. 中草药, 2023, 54(18): 5923-5932.
- [18] 石羽文, 刁元元, 姜孟成, 等. 基于基准关联度和模糊层次分析法-熵权法优化银翘马勃散的提取工艺[J]. 中国新药杂志, 2024, 33(13): 1381-1389.
- [19] 石依姗, 万青, 汪秋兰, 等. 基于熵权TOPSIS法和灰色关联度分析的藤茶药材等级研究[J]. 中草药, 2022, 53(17): 5504-5512.
- [20] 李雨昕, 邢娜, 白浩东, 等. 基于熵权法的灰色关联法-TOPSIS法对不同产地三七及其炮制品质量的评价研究[J]. 中草药, 2023, 54(4): 1252-1259.

## 基于一测多评法、化学模式识别和EW-TOPSIS法评价独活质量

王计瑞<sup>1,2</sup>, 谷俊杰<sup>1,3</sup>, 谭均<sup>1,2</sup>, 李隆云<sup>1,2</sup>, 花雷<sup>1</sup>, 张小梅<sup>1,2\*</sup>, 阳勇<sup>1,2\*</sup>

(1. 重庆市中药研究院, 中药新药创制川渝重点实验室, 国家中医药管理局中药化学三级实验室, 重庆400065; 2. 中国中医科学院中药资源中心重庆分中心, 重庆400065; 3. 重庆中医药学院中药学院, 重庆402760)

**摘要:** 目的 评价独活质量。方法 以蛇床子素为内标, 计算二氢欧山芹醇、二氢欧山芹醇乙酸酯、异欧前胡素、二氢欧山芹醇当归酸酯相对校正因子, 一测多评法测定其含量。再进行主成分分析、Pearson相关性分析、层次聚类分析、正交偏最小二乘法-判别分析, 建立熵权逼近理想解排序(EW-TOPSIS)法。结果 5种成分在各自范围内线性关系良好( $r \geq 0.9997$ ), 平均加样回收率89.88%~94.14%, RSD 0.96%~2.36%, 一测多评法所得结果与外标法接近。16批药材聚为3类, 3个主成分累积方差贡献率为87.727%, 蛇床子素、二氢欧山芹醇、异欧前胡素是主要质量差异成分。蛇床子素、异欧前胡素含量呈极显著正相关性( $P < 0.01$ ), 而二氢欧山芹醇乙酸酯、二氢欧山芹醇当归酸酯含量呈显著负相关性( $P < 0.05$ )。各批药材贴近度 $C_i$ 为0.225~0.591, 饮片中各成分含量低于药材中, 但其质量均一性更好。结论 该方法准确可行, 客观全面, 可为独活质量控制提供参考。

**关键词:** 独活; 质量评价; 一测多评; 化学模式识别; 熵权逼近理想解排序(EW-TOPSIS)法

中图分类号: R283

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2025)12-3896-08

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2025.12.002

## Quality evaluation of *Angelicae Pubescens Radix* based on QAMS, chemical pattern recognition and EW-TOPSIS method

WANG Ji-rui<sup>1,2</sup>, GU Jun-jie<sup>1,3</sup>, TAN Jun<sup>1,2</sup>, LI Long-yun<sup>1,2</sup>, HUA Lei<sup>1,2</sup>, ZHANG Xiao-mei<sup>1,2\*</sup>, YANG Yong<sup>1,2\*</sup>

(1. Sichuan-Chongqing Joint Key Laboratory for Innovation of New Drugs of Traditional Chinese Medicines, National Administration of Traditional Chinese Medicine Third-level Laboratory for Chinese Medicine Chemistry, Chongqing Academy of Chinese Materia Medica, Chongqing 400065, China;  
2. Chongqing Sub-center of Resource Center for Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Chongqing 400065, China;  
3. School of Traditional Chinese Medicine, Chongqing University of Chinese Medicine, Chongqing 402760, China)

收稿日期: 2025-04-11

基金项目: 重庆市卫生健康委中医药科研项目(2024ZYQN004); 重庆市基本科研业务费项目(cstc2023jxjl-jbky130008)

作者简介: 王计瑞(1991—), 男, 硕士, 副研究员, 从事中药资源评价及其产品开发研究。E-mail: wangjiruizy@163.com

\*通信作者: 张小梅(1979—), 女, 博士, 研究员, 从事中药新药研发、炮制及其品质评价工作。E-mail: ZXMX761@163.com

阳勇(1979—), 男, 硕士, 研究员, 博士生导师, 从事中药化学、新药研发及其质量标准工作。E-mail: yangychem@126.com

**ABSTRACT:** AIM To evaluate the quality of *Angelicae Pubescens Radix*. METHODS With osthole as an internal standard, the relative correction factors of columbianetin, columbianetin acetate, isoimperatorin and columbianadin were calculated, after which quantitative analysis of multi-components by single-marker (QAMS) was adopted in the content determination. Subsequently, principal component analysis, Pearson correlation analysis, hierarchical cluster analysis, orthogonal partial least squares discriminant analysis were performed, along with the establishment of entropy weight technique for order preference by similarity to ideal solution (EW-TOPSIS) method. RESULTS Five constituents showed good linear relationships within their own ranges ( $r \geq 0.9997$ ), whose average recoveries were 89.88%–94.14% with the RSDs of 0.96%–2.36%. The result obtained by QAMS approximated those obtained by external standard method. Sixteen batches of medicinal materials were clustered into 3 types, 3 principal components demonstrated the accumulative variance contribution rate of 87.727%, osthole, dihydroeucalyptol, and isoquercetin were taken as main quality differential components. The contents of osthole and isoimperatorin exhibited very significant positive correlation ( $P < 0.01$ ), while those columbianetin acetate and columbianadin showed significant negative correlation ( $P < 0.05$ ). The closeness degrees  $C_i$  of various batches of medicinal materials were 0.225–0.591. The contents of various constituents in the decoction pieces were lower than those in the medicinal materials, but better quality uniformity was observable. CONCLUSION This accurate, feasible, objective and comprehensive method can provide a reference for the quality control of *Angelicae Pubescens Radix*.

**KEY WORDS:** *Angelicae Pubescens Radix*; quality evaluation; quantitative analysis of multi-components with a single-marker (QAMS); chemical pattern recognition; entropy weight technique for order preference by similarity to ideal solution (EW-TOPSIS) method

独活为伞形科植物重齿毛当归 *Angelica pubescens* Maxim. f. *biserrata* Shan et Yuan 的干燥根，功效祛风除湿、通痹止痛<sup>[1]</sup>，主要分布于湖北、重庆、四川等地<sup>[2]</sup>，含有香豆素<sup>[3]</sup>、挥发油<sup>[4]</sup>、多糖<sup>[5]</sup>等成分，具有抗炎<sup>[6]</sup>、抗风湿<sup>[7]</sup>、镇静催眠<sup>[8]</sup>、抗肿瘤<sup>[9]</sup>、神经保护<sup>[10]</sup>等作用，其中香豆素是其主要物质基础<sup>[11]</sup>，2020 年版《中国药典》中，蛇床子素和二氢欧山芹醇当归酸酯为该药材质量控制指标<sup>[1]</sup>。同一种中药在不同病证中发挥的作用不同，其物质基础也有所差异<sup>[12]</sup>。课题组前期建立独活 HPLC 指纹图谱，并测定 4 种香豆素的含量<sup>[13]</sup>，可较好地反映该药材整体质量，但部分对照品价格较高，会增加检测成本。

一测多评法通过相对校正因子可实现以 1 个对照品同步测定多种成分的含量，从而降低检测成本，已应用于多种中药制剂中<sup>[14]</sup>。冯彦梅<sup>[15]</sup>采用该方法同时测定独活中蛇床子素、异欧前胡素、二氢欧山芹醇当归酸酯的含量，但二氢欧山芹醇、二氢欧山芹醇乙酸酯含量也较高，而且与二氢欧山芹醇当归酸酯具有相同的母核结构，也是反映药材品质的指标成分<sup>[16–17]</sup>。本实验在前期报道<sup>[13]</sup>的基础上增加二氢欧山芹醇乙酸酯，建立一测多评法同时测定该成分及二氢欧山芹醇、蛇床子素、异欧前胡

素、二氢欧山芹醇当归酸酯的含量，并结合化学模式识别和熵权逼近理想解排序 (EW-TOPSIS) 法评价独活质量，以期为该药材质量控制提供参考。

## 1 材料

1.1 仪器 LC-20A 高效液相色谱仪（日本岛津公司）；Waters e2695 高效液相色谱仪，配置 PDA-2998 检测器（美国 Waters 公司）；Milli-Q Integral 5 纯水仪（美国 Millipore 公司）；BSA124-S 电子天平（德国 Sartorius 公司）；VGT-2013 QT 超声波清洗器（功率 250 W，频率 40 kHz，广东固特超声股份有限公司）。

1.2 试剂 蛇床子素（纯度  $\geq 99.7\%$ ，批号 110822-202111）、二氢欧山芹醇当归酸酯（纯度  $\geq 98.3\%$ ，批号 111583-201304）对照品均购自中国食品药品检定研究院；二氢欧山芹醇（纯度  $\geq 99.28\%$ ，批号 MUST-18050903）、二氢欧山芹醇乙酸酯（纯度  $\geq 99.97\%$ ，批号 MUST-18071601）、异欧前胡素（纯度  $\geq 99.93\%$ ，批号 MUST-18032420）对照品均购自成都曼斯特生物科技有限公司。乙腈（色谱纯，美国 ACS 公司）；醋酸（色谱纯，美国 Tedia 公司）；甲醇（分析纯，重庆川东化工有限公司）。

1.3 药材 独活共 16 批，经重庆市中药研究院王

计瑞副研究员鉴定为正品，具体见表1。

表1 独活信息

Tab. 1 Information of *Angelicae Pubescens Radix*

编号	产地或来源
DH-1	重庆市巫溪县兰英乡西安村
DH-2	重庆市巫溪县双阳乡双阳村1(未洗)
DH-3	重庆市巫溪县双阳乡双阳村2(水洗)
DH-4	重庆市巫溪县兰英寨中药材专业合作社
DH-5	重庆市巫溪县红池坝镇铁岭村
DH-6	重庆市巫溪县通城镇夏布坪一社
DH-7	重庆市巫溪县通城镇夏布坪二社
DH-8	重庆市巫溪县通城镇夏布坪三社
DH-9	重庆市巫溪县尖山镇八佳村
DH-10	湖北省恩施州巴东县水布垭镇
DH-11	市售饮片(产地湖北)
DH-12	市售饮片(产地巫溪)
DH-13	百济大药房(饮片)
DH-14	四川博仁药业有限责任公司(饮片)
DH-15	重庆媛兮大药房(饮片)
DH-16	万和医药连锁(饮片)

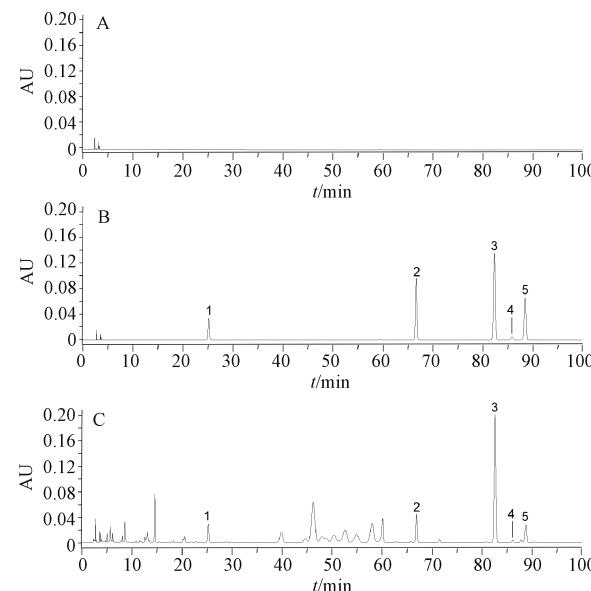
## 2 方法与结果

2.1 对照品溶液制备 精密称取各对照品适量，甲醇溶解并定容至10 mL量瓶中，得到二氢欧山芹醇、二氢欧山芹醇乙酸酯、蛇床子素、异欧前胡素、二氢欧山芹醇当归酸酯质量浓度分别为65、231、420、22.5、238.5 μg/mL的溶液，即得，进一步稀释成系列质量浓度。

2.2 供试品溶液制备及色谱条件 取干燥药材粉末约0.5 g，精密称定，置于具塞锥形瓶中，甲醇定容至20 mL，称定质量，超声(功率400 W，频率40 kHz)处理20 min，放冷，甲醇补足减失的质量，0.22 μm微孔滤膜过滤，取10 μL进样。分析采用Zhongpu Science RD-C<sub>18</sub>色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm)；流动相乙腈(A)-0.2%醋酸(B)，梯度洗脱(0~5 min, 15%~20% A; 5~20 min, 20%~27% A; 20~45 min, 27% A; 45~55 min, 27%~30% A; 55~56 min, 30%~41% A; 56~60 min, 41% A; 60~70 min, 41%~50% A; 70~90 min, 50%~55% A; 90~95 min, 55%~15% A; 95~100 min, 15% A)；体积流量1.0 mL/min；柱温30 °C；检测波长325 nm；进样量10 μL。

## 2.3 方法学考察

2.3.1 专属性试验 取空白溶剂(甲醇)及对照品、供试品溶液适量，在“2.2”项色谱条件下进样测定，结果见图1。由此可知，各成分色谱峰与相邻峰的分离度均在1.5以上，理论塔板数均在6 000以上，表明该方法专属性良好。



注：A~C 分别为空白溶剂(甲醇)、对照品、供试品。

1. 二氢欧山芹醇
2. 二氢欧山芹醇乙酸酯
3. 蛇床子素
4. 异欧前胡素
5. 二氢欧山芹醇当归酸酯
1. columbianetin
2. columbianetin acetate
3. osthole
4. isoimperatorin
5. columbianadin

图1 各成分HPLC色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of various constituents

2.3.2 线性关系考察 取“2.1”项下不同质量浓度对照品溶液适量，在“2.2”项色谱条件下进样测定。以对照品峰面积为纵坐标(Y)，质量浓度为横坐标(X)进行回归，结果见表2，可知各成分在各自范围内线性关系良好。

表2 各成分线性关系

Tab. 2 Linear relationships of various constituents

成分	回归方程	r	线性范围/(μg·mL <sup>-1</sup> )
二氢欧山芹醇	$Y=29.657X+44.397$	0.9998	4.10~131.00
二氢欧山芹醇乙酸酯	$Y=28.448X-13.838$	0.9999	7.22~231.00
蛇床子素	$Y=37.784X-66.225$	0.9999	26.25~420.00
异欧前胡素	$Y=18.411X+0.6247$	0.9997	1.40~45.00
二氢欧山芹醇当归酸酯	$Y=29.255X+19.672$	0.9997	7.45~238.50

2.3.3 精密度试验 精密吸取“2.1”项下对照品溶液适量，在“2.2”项色谱条件下进样测定6次，测得二氢欧山芹醇、二氢欧山芹醇乙酸酯、蛇床子素、异欧前胡素、二氢欧山芹醇当归酸酯峰面积RSD分别为0.75%、1.23%、1.00%、1.62%、0.99%，表明仪器精密度良好。

2.3.4 重复性试验 取同一批药材粉末(DH-1)，按“2.2”项下方法平行制备6份供试品溶液，在“2.2”项色谱条件下进样测定，测得二氢欧山芹醇、二氢欧山芹醇乙酸酯、蛇床子素、异欧前胡素

素、二氢欧山芹醇当归酸酯峰面积 RSD 分别为 0.95%、0.90%、1.02%、2.80%、0.85%，表明该方法重复性良好。

**2.3.5 稳定性试验** 取同一份供试品溶液 (DH-1)，于 0、2、4、8、12、24 h 在“2.2”项色谱条件下进样测定，测得二氢欧山芹醇、二氢欧山芹醇乙酸酯、蛇床子素、异欧前胡素、二氢欧山芹醇当归酸酯峰面积 RSD 分别为 2.09%、1.80%、1.98%、1.79%、2.12%，表明溶液在 24 h 内稳定性良好。

**2.3.6 加样回收率试验** 取各成分含量已知的药材粉末 (DH-1) 6 份，每份约 0.25 g，精密称定，按 100% 水平加入对照品，按“2.2”项下方法制备供试品溶液，在“2.2”项色谱条件下进样测定，计算回收率。结果显示，二氢欧山芹醇、二氢

欧山芹醇乙酸酯、蛇床子素、异欧前胡素、二氢欧山芹醇当归酸酯的平均加样回收率分别为 92.10% (RSD=1.54%)、92.10% (RSD=1.30%)、94.14% (RSD=1.20%)、89.88% (RSD=2.36%)、93.90% (RSD=0.96%)。

## 2.4 含量测定

**2.4.1 相对校正因子计算** 采用多点校正法<sup>[18]</sup>，精密吸取“2.1”项下对照品溶液适量，在“2.2”项色谱条件下进样测定，以蛇床子素为内标，计算其余 4 种成分相对校正因子  $f_{k/s}$ ，公式为  $f_{k/s} = f_k/f_s = (C_k A_s) / (C_s A_k)$ ，其中  $C_k$  为其他成分含量， $A_k$  为其他成分峰面积， $C_s$  为内标含量， $A_s$  为内标峰面积，结果见表 3，可知相对校正因子均小于 1.5%，能用于含量测定。

表 3 各成分相对校正因子

Tab. 3 Relative correction factors of various constituents

体积/ $\mu\text{L}$	$f_{\text{蛇床子素}}/\text{二氢欧山芹醇}$	$f_{\text{蛇床子素}}/\text{二氢欧山芹醇乙酸酯}$	$f_{\text{蛇床子素}}/\text{异欧前胡素}$	$f_{\text{蛇床子素}}/\text{二氢欧山芹醇当归酸酯}$
1	1.028 5	1.189 9	1.597 6	1.356 9
2	1.019 8	1.182 2	1.601 0	1.330 9
4	1.020 7	1.183 7	1.575 1	1.323 9
6	1.020 7	1.182 7	1.560 3	1.323 7
8	1.020 0	1.183 2	1.557 4	1.324 5
10	1.020 8	1.183 8	1.564 1	1.325 0
20	1.020 5	1.183 5	1.547 3	1.323 4
平均值	1.021 6	1.184 1	1.571 8	1.329 8
RSD/%	0.301 6	0.218 5	1.307 5	0.921 1

**2.4.2 耐用性试验** 采用不同仪器 (LC-20A、Waters e2695)、色谱柱 (Agilent SB-C<sub>18</sub>、Waters Symmetry<sup>®</sup>、RD-C<sub>18</sub>) (4.6 mm×250 mm, 5  $\mu\text{m}$ )，

在“2.2”项色谱条件下进样测定，结果见表 4，可知相对校正因子均小于 2.40%，表明该方法耐用性良好。

表 4 耐用性试验结果

Tab. 4 Results for durability tests

仪器	色谱柱	$f_{\text{蛇床子素}}/\text{二氢欧山芹醇}$	$f_{\text{蛇床子素}}/\text{二氢欧山芹醇乙酸酯}$	$f_{\text{蛇床子素}}/\text{异欧前胡素}$	$f_{\text{蛇床子素}}/\text{二氢欧山芹醇当归酸酯}$
Waters e2695	RD-C <sub>18</sub>	1.021	1.184	1.564	1.325
	Agilent SB-C <sub>18</sub>	1.047	1.184	1.510	1.321
	Waters Symmetry <sup>®</sup>	1.024	1.173	1.593	1.308
LC-20A	RD-C <sub>18</sub>	1.009	1.170	1.546	1.315
	Agilent SB-C <sub>18</sub>	1.009	1.173	1.530	1.311
	Waters Symmetry <sup>®</sup>	1.008	1.170	1.606	1.321
平均值		1.020	1.176	1.558	1.317
RSD/%		1.49	0.57	2.36	0.50

**2.4.3 色谱峰定位** 采用相对保留值法<sup>[19]</sup> (公式为相对保留值 = 各成分保留时间  $t_{\text{成分}}$  / 内标保留时间  $t_{\text{内标}}$ )，于“2.4.2”项仪器、色谱柱上在“2.2”项色谱条件下进样测定，结果见表 5，可知相对校正因子均小于 3.0%，并且出峰顺序未改变，表明该方法可用于色谱峰定位。

**2.5 样品含量测定** 取 16 批药材，按“2.2”项

下方法制备供试品溶液，在“2.2”项色谱条件下进样测定，分别采用外标法和一测多评法计算含量，结果见表 6，可知 2 种方法所得结果接近 (RSD<3.0%)，表明一测多评法可用于含量测定。

## 2.6 化学模式识别

**2.6.1 主成分分析** 以各成分含量为变量，采用 SPSS 20.0 软件进行分析，降维后得到 3 个主成分

PC1、PC2、PC3，特征值分别为 1.940、1.534、0.913，方差贡献率分别为 38.796%、30.678%、18.253%，累积方差贡献率达到 87.727%，可用于评价药材质量。图 2A 显示，16 批药材大致分为 3

组，其中 DH-4、DH-10 远离其他药材，并且两者中二氢欧山芹醇当归酸酯含量明显更高；DH-12~DH-16 分为一组，均为饮片，蛇床子素含量较低；其余药材分布为一组。

表 5 各成分相对保留时间

Tab. 5 Relative retention time of various constituents

仪器	色谱柱	$t_{\text{蛇床子素/二氢欧山芹醇}}$	$t_{\text{蛇床子素/二氢欧山芹醇乙酸酯}}$	$t_{\text{蛇床子素/异欧前胡素}}$	$t_{\text{蛇床子素/二氢欧山芹醇当归酸酯}}$
Waters e2695	RD-C <sub>18</sub>	0.306	0.810	1.043	1.074
	Agilent SB-C <sub>18</sub>	0.289	0.816	1.055	1.076
	Waters Symmetry®	0.290	0.808	1.038	1.072
LC-20A	RD-C <sub>18</sub>	0.305	0.813	1.042	1.074
	Agilent SB-C <sub>18</sub>	0.300	0.820	1.055	1.075
	Waters Symmetry®	0.309	0.815	1.039	1.071
平均值		0.300	0.814	1.045	1.074
RSD/%		2.88	0.50	0.73	0.18

表 6 各成分含量测定结果

Tab. 6 Results for content determination of various constituents

编号	二氢欧山芹醇/%			二氢欧山芹醇乙酸酯/%			蛇床子素/%			异欧前胡素/%			二氢欧山芹醇当归酸酯/%		
	外标法	一测多评法	RSD	外标法	一测多评法	RSD	外标法	外标法	一测多评法	RSD	外标法	一测多评法	RSD	外标法	一测多评法
DH-1	0.035	0.035	0.334	0.159	0.160	0.770	1.027	0.026	0.026	1.240	0.160	0.160	0.047		
DH-2	0.075	0.074	0.769	0.241	0.242	0.357	1.268	0.063	0.061	1.990	0.160	0.160	0.045		
DH-3	0.029	0.029	0.731	0.125	0.127	1.095	0.851	0.039	0.038	1.661	0.113	0.114	0.740		
DH-4	0.045	0.045	0.135	0.071	0.074	2.236	1.055	0.036	0.035	1.580	0.424	0.418	0.998		
DH-5	0.038	0.038	0.176	0.431	0.431	0.002	0.831	0.024	0.024	1.135	0.126	0.127	0.491		
DH-6	0.026	0.026	1.019	0.229	0.231	0.396	1.284	0.032	0.032	1.484	0.097	0.098	1.121		
DH-7	0.027	0.028	0.881	0.198	0.200	0.528	1.139	0.041	0.040	1.697	0.086	0.087	1.475		
DH-8	0.038	0.039	0.133	0.141	0.143	0.922	1.073	0.030	0.029	1.407	0.169	0.169	0.042		
DH-9	0.027	0.027	0.915	0.231	0.232	0.390	0.906	0.030	0.029	1.408	0.113	0.114	0.742		
DH-10	0.018	0.018	2.270	0.056	0.058	2.964	0.884	0.023	0.023	1.070	0.472	0.465	1.062		
DH-11	0.030	0.030	0.665	0.170	0.172	0.690	0.954	0.035	0.035	1.574	0.190	0.190	0.220		
DH-12	0.022	0.023	1.471	0.165	0.166	0.727	0.559	0.022	0.022	0.992	0.275	0.273	0.655		
DH-13	0.063	0.064	0.100	0.152	0.155	1.153	0.679	0.023	0.024	0.600	0.172	0.175	1.076		
DH-14	0.075	0.075	0.213	0.135	0.138	1.543	0.643	0.023	0.023	0.626	0.129	0.133	1.969		
DH-15	0.111	0.110	0.765	0.167	0.169	0.872	0.688	0.021	0.021	0.720	0.159	0.162	1.299		
DH-16	0.083	0.082	0.368	0.154	0.157	1.112	0.532	0.020	0.021	0.743	0.164	0.167	1.213		

2.6.2 Pearson 相关性分析 采用 SPSS 20.0 软件进行分析，结果见图 2B。由此可知，蛇床子素、异欧前胡素含量呈极显著正相关性 ( $P<0.01$ )；二氢欧山芹醇乙酸酯、二氢欧山芹醇当归酸酯含量呈显著负相关性 ( $P<0.05$ )，并且两者分别为二氢欧山芹醇与乙酸、当归酸成酯后的产物，在代谢合成通路中共用二氢欧山芹醇作为前体物质。

2.6.3 层次聚类分析 以组间平方欧氏距离为度量标准，各成分含量为变量，采用 SPSS 20.0 软件进行分析，结果见图 2C。由此可知，16 批药材聚为 3 类，除了 1 批 (DH-5) 归属于饮片集群 (DH-12~DH-16) 中外，其他与主成分分析基本一致。

2.6.4 正交偏最小二乘法-判别分析 以各成分含量为变量进行分析，发现  $R^2X = 0.642$ ,  $R^2Y = 0.644$ ,  $Q^2 = 0.487$ ，表明模型稳定可靠，预测能力良好。图 2D 显示，16 批药材分类结果与主成分分

析接近。再结合变量重要性投影值 (VIP 值) 筛选对分组起到关键作用的变量，结果见图 2E，可知 VIP 值>1 的成分为蛇床子素 (1.350)、二氢欧山芹醇 (1.149)、异欧前胡素 (1.116)，可能是影响药材质量差异的主要因素。

2.7 EW-TOPSIS 法建立 由于 5 种成分均为香豆素类，是药材主要药效物质，故作为正向指标，采用极差法对其含量进行归一化处理，再通过熵权法对其进行客观赋权以体现重要性，计算信息熵、差异系数、权重，结果见表 7。由此可知，各成分含量权重依次为异欧前胡素>二氢欧山芹醇当归酸酯>二氢欧山芹醇>二氢欧山芹醇乙酸酯>蛇床子素，与信息熵恰好相反。另外，信息熵是衡量不确定性的标准，其数值越小，不确定性越大，所提供的信息量越多，对评价结果的贡献也越大，故应赋予更高的权重。

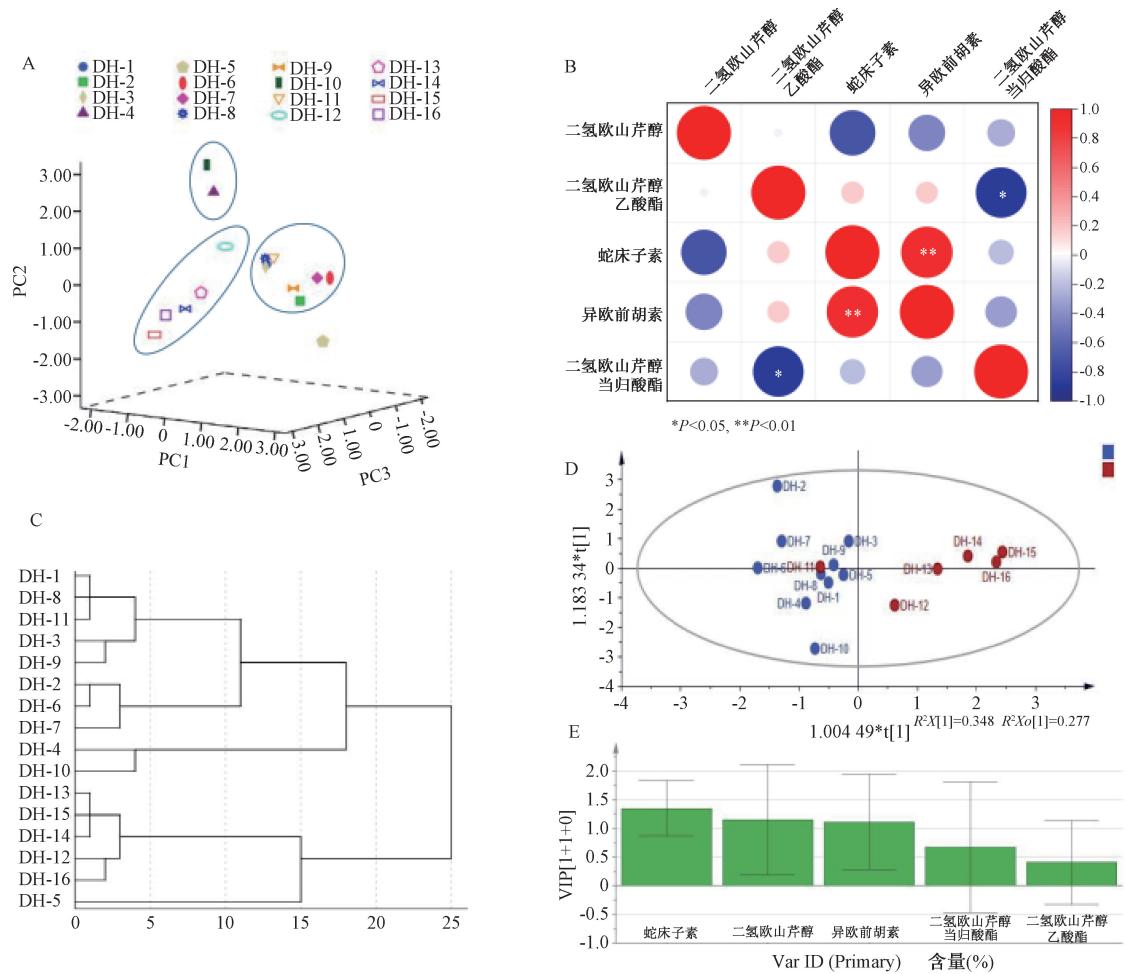


图2 化学模式识别图

Fig. 2 Plots for chemical pattern recognition

表7 各成分含量的信息熵、差异系数、权重

Tab. 7 Information entropies, variation coefficients and weights for contents of various constituents

成分	信息熵	差异系数	权重
二氢欧山芹醇	0.859	0.141	0.220
二氢欧山芹醇乙酸酯	0.919	0.081	0.127
蛇床子素	0.915	0.085	0.133
异欧前胡素	0.829	0.171	0.266
二氢欧山芹醇当归酸酯	0.837	0.163	0.254

再将归一化后的数据与权重相乘，得到加权决策矩阵，分别测定药材与正理想解  $T^+$ 、负理想解  $T^-$  的距离，计算贴近度  $C_i$ ，公式为  $C_i = T^- / (T^+ + T^-)$ ，其数值越大，药材质量越好，结果见表 8。由此可知，排名前三的药材均为个子货，而市售饮片除 DH-15 外排名均较靠后，可能与炮制时清洗、闷润、干燥等操作引起成分损失有关<sup>[20]</sup>；作为主产地的巫溪县各村镇所产药材质量参差不齐，来源于双阳村的 DH-2、DH-3 排名差异明显，水洗药材中二氢欧山芹醇乙酸酯、蛇床子素、异欧前胡素、

表8 独活质量评价结果

Tab. 8 Results for quality evaluation of Angelicae Pubescens Radix

编号	$T^+$	$T^-$	$C_i$	排序
DH-1	0.371	0.119	0.242	15
DH-2	0.232	0.334	0.591	1
DH-3	0.364	0.135	0.270	12
DH-4	0.267	0.267	0.500	2
DH-5	0.383	0.150	0.281	10
DH-6	0.377	0.165	0.304	7
DH-7	0.360	0.174	0.326	5
DH-8	0.350	0.138	0.283	9
DH-9	0.382	0.111	0.225	16
DH-10	0.363	0.262	0.419	3
DH-11	0.335	0.146	0.304	6
DH-12	0.388	0.131	0.252	14
DH-13	0.364	0.130	0.263	13
DH-14	0.379	0.143	0.274	11
DH-15	0.361	0.230	0.389	4
DH-16	0.378	0.165	0.304	8

二氢欧山芹醇当归酸酯含量均低于未水洗药材中。

### 3 讨论

重庆、湖北交界的大巴山为独活道地产区<sup>[2]</sup>，此处地形、气候复杂多变，对药材品质的影响较大<sup>[21]</sup>，加上散户加工粗糙，导致其质量参差不齐。近几年来，独活抽检时灰分、含量测定不合格情况时有发生<sup>[22-23]</sup>，给生产企业带来了严重困扰。采用多指标、成分群、整体特征评价中药质量已成为相关行业的发展趋势<sup>[24]</sup>，本实验发现，独活中二氢欧山芹醇乙酸酯、二氢欧山芹醇当归酸酯含量呈显著负相关，而且两者母核结构相同，在生物体内有相互转化的可能，故将其整体作为质控指标更合理；异欧前胡素、蛇床子素含量呈极显著正相关，两者均具有抗炎、镇痛、抑制滑膜细胞增殖作用<sup>[25-26]</sup>，与独活通痹止痛功效一致，也是值得关注的指标。另外，EW-TOPSIS法显示异欧前胡素、二氢欧山芹醇权重均较高，也表明两者作为质量控制指标的合理性。

由于蛇床子素色谱峰分离度良好，响应值较高，并且对照品易获取，故本实验选择其作为一测多评法内标，并且发现其所得结果与外标法无明显差异，可用于独活含量测定，其中个子货中蛇床子素含量整体上高于饮片中，但波动较大，而后者差异较小，即药材质量更稳定。EW-TOPSIS法<sup>[27]</sup>加权后，独活个子货  $C_i$  为 0.225~0.591，而饮片  $C_i$  为 0.252~0.389，表明炮制有助于促进后者质量均一。主成分分析和层次聚类分析均显示独活药材和饮片可明显区分开，并且正交偏最小二乘法-判别分析筛选出蛇床子素、二氢欧山芹醇、异欧前胡素为引起药材质量差异的关键成分（VIP 值>1），与 EW-TOPSIS 法一致。

另外，独活支根盘综交错，泥沙很难清除，易引起灰分超标，并且本实验发现该药材趁鲜清洗时容易掰断支根或搓伤表皮，加大成分流失的风险。因此，后续将聚焦独活初加工环节，筛选适宜的产地加工技术，从源头保障该药材品质。

### 参考文献:

- [ 1 ] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 274-275.
- [ 2 ] 杜肖, 王亚鹏, 钱锦秀, 等. 经典名方中独活与羌活的本草考证[J]. 中国实验方剂学杂志, 2023, 29(5): 68-83.
- [ 3 ] Zhang Y Q, Hou M J, Yu Y P, et al. Simultaneous separation and determination of six furanocoumarins in *Radix Angelicae Duhuricae* by CZE with dual CDs system[J]. *Anal Biochem*, 2022, 655: 114869.
- [ 4 ] Mostafa N M, Mostafa A M, Ashour M L, et al. Neuroprotective effects of black pepper cold-pressed oil on scopolamine-induced oxidative stress and memory impairment in rats[J]. *Antioxidants*, 2021, 10(12): 1993.
- [ 5 ] Pang X Y, Jing Y S, Li P Y, et al. Structural characterization and antioxidant activities of polysaccharides from *Angelica dahurica*; as extracted by optimized ultrasonic-assisted method[J]. *Int Journal Food Prop*, 2022, 25(1): 1635-1649.
- [ 6 ] Hou A J, Yang L, Zhang J X, et al. A strategy for qualitative and quantitative profiling of *Angelicae Pubescens Radix* and detection of its analgesic and anti- inflammatory components by spectrum- effect relationship and multivariate statistical analysis[J]. *Biomed Chromatogr*, 2020, 34(10): e4910.
- [ 7 ] Chen S J, Wang Y, Zhang L, et al. Therapeutic effects of columbianadin from *Angelicae Pubescens Radix* on the progression of collagen-induced rheumatoid arthritis by regulating inflammation and oxidative stress[J]. *J Ethnopharmacol*, 2023, 316: 116727.
- [ 8 ] Yang L, Hou A J, Wang S, et al. A review of the botany, traditional use, phytochemistry, analytical methods, pharmacological effects, and toxicity of *Angelicae Pubescens Radix*[J]. *Evid-based Compl Alt*, 2020, 2020: 7460781.
- [ 9 ] Ocal M, Altunoglu Y C, Angeloni S, et al. Comparative content, biological and anticancer activities of *Heracleum humile* extracts obtained by ultrasound-assisted extraction method[J]. *Chem Biodivers*, 2022, 19(7): e202101040.
- [ 10 ] Tian Z H, Sun L P, Chi B Q, et al. Affinity ultrafiltration and UPLC-HR-Orbitrap-MS based screening of neuraminidase inhibitors from *Angelica pubescens*[J]. *J Chromatogr B*, 2022, 1208: 123398.
- [ 11 ] Lu Y Q, Wu H W, Yu X K, et al. Traditional Chinese medicine of *Angelicae Pubescens Radix*: A review of phytochemistry, pharmacology and pharmacokinetics[J]. *Front Pharmacol*, 2020, 11: 335.
- [ 12 ] 周祯祥. 试论中药功效组学[J]. 北京中医药大学学报, 2023, 46(6): 747-751.
- [ 13 ] 王计瑞, 谭均, 李隆云, 等. 独活的HPLC指纹图谱及4个香豆素类成分的测定[J]. 药物分析杂志, 2018, 38(6): 955-963.
- [ 14 ] 朱晶晶, 王智民, 高慧敏, 等. 一测多评法在中药质量评价中的应用研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(16): 220-228.
- [ 15 ] 冯彦梅. 独活多指标质量分析方法研究[D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2021.
- [ 16 ] 卢俊英. 二氢欧山芹醇对脂多糖诱导小鼠急性肺损伤的保护作用与机制研究[D]. 长春: 吉林大学, 2019.
- [ 17 ] Sun K, Wang D, Zhang Z Q, et al. Columbianetin acetate inhibits the occurrence and development of pancreatic cancer cells by down-regulating the expression of Meiotic nuclear divisions 1[J]. *Biocell*, 2022, 47(2): 297-307.
- [ 18 ] 王欣, 覃瑶, 王德江, 等. 一测多评法在中药质量控制中的应用进展[J]. 中成药, 2016, 38(2): 395-402.

- [19] 冯伟红, 杨 菲, 王智民, 等. 不同色谱条件对 QAMS 相对校正因子及相对保留值影响的实验研究[J]. 中国中药杂志, 2012, 37(21): 3264-3267.
- [20] 洪智慧, 杜伟锋, 李小宁, 等. 中药材产地趁鲜加工的可行性及相关建议[J]. 中华中医药杂志, 2021, 36(1): 80-85.
- [21] 李续荣, 程小林, 曹亚凤, 等. 海拔高度对独活种子产量和质量的影响[J]. 种子科技, 2016, 34(8): 120; 122.
- [22] 贵州省药品监督管理局. 贵州省药品监督管理局药品质量公告(2024年第1期 总第51期) [EB/OL]. (2024-04-10) [2024-12-21]. [http://yjj.guizhou.gov.cn/gsgg/zlcjggg/202404/t20240410\\_84184768.html](http://yjj.guizhou.gov.cn/gsgg/zlcjggg/202404/t20240410_84184768.html).
- [23] 巴东县市场管理局. 巴东县市场监督管理局关于2023年度药品监督抽检及不合格药品核查处置公告[EB/OL]. (2023-12-27) [2024-12-21]. [http://www.hbbd.gov.cn/xxgk/gkml/gysyjs/spypaq/ypjq/202312/t20231228\\_1534838.shtml](http://www.hbbd.gov.cn/xxgk/gkml/gysyjs/spypaq/ypjq/202312/t20231228_1534838.shtml).
- [24] 闻崇炜, 黄佳滢, 朱锐灵, 等. 中药材资源质量评价方法的研究进展[J]. 生物资源, 2020, 42(6): 670-677.
- [25] 杨 策, 高汉云, 杨素芳, 等. 羌活醇及异欧前胡素对脂多糖诱导大鼠成纤维样滑膜细胞增殖抑制的影响[J]. 药学研究, 2019, 38(11): 621-626; 634.
- [26] 王绍展, 朱青霞, 陈井霞, 等. 异欧前胡素通过 NF-κB 和 JAK1/STAT1 信号通路抑制巨噬细胞 M1 极化发挥抗炎镇痛作用[J]. 中南药学, 2023, 21(8): 1985-1990.
- [27] 朱文超, 崔琳琳, 关永霞, 等. 基于 AHP-熵权 TOPSIS 混合加权法评价不同灭菌工艺对红花药材原粉质量的影响[J]. 药学研究, 2024, 43(10): 962-967.

## UPLC-MS/MS 法同时测定补阳还五汤中 17 种成分的含量

孙景存<sup>1</sup>, 张丁丁<sup>2</sup>, 王嘉欣<sup>2</sup>, 迟玉乾<sup>1</sup>, 郭怡萱<sup>2</sup>, 齐冰森<sup>2</sup>, 刘子祎<sup>2</sup>, 祁金龙<sup>2\*</sup>  
(1. 河北省沧州中西医结合医院西药学部, 河北 沧州 061000; 2. 河北医科大学基础医学院药理学教研室, 河北 石家庄 050000)

**摘要:** 目的 建立 UPLC-MS/MS 法同时测定补阳还五汤中腺嘌呤、芍药苷、咖啡酸、绿原酸、苦杏仁苷、香兰素、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、毛蕊异黄酮、槲皮素、山柰酚、芒柄花黄素、β-谷甾醇、豆甾醇、黄芪甲苷、阿魏酸、丹皮酚、羟基红花黄色素 A 的含量。方法 分析采用 Kinetex XB-C<sub>18</sub> 色谱柱 (100 mm×3 mm, 2.6 μm); 流动相水 (含 0.1% 甲酸)-甲醇, 梯度洗脱; 体积流量 0.4 mL/min; 柱温 40 °C, 电喷雾离子源; 正负离子扫描; 多反应监测模式。结果 17 种成分在各自范围内线性关系良好 ( $r>0.990$ ), 平均加样回收率 87.2% ~ 104.9%, RSD 0.76% ~ 6.55%。结论 该方法简便快速, 灵敏度高, 专属性强, 可用于补阳还五汤的质量控制。

**关键词:** 补阳还五汤; 化学成分; 含量测定; UPLC-MS/MS

**中图分类号:** R927.2

**文献标志码:** A

**文章编号:** 1001-1528(2025)12-3903-06

**doi:** 10.3969/j.issn.1001-1528.2025.12.003

## Simultaneous content determination of seventeen constituents in Buyang Huanwu Decoction by UPLC-MS/MS

SUN Jing-cun<sup>1</sup>, ZHANG Ding-ding<sup>2</sup>, WANG Jia-xin<sup>2</sup>, CHI Yu-qian<sup>1</sup>, GUO Yi-xuan<sup>2</sup>, QI Bing-sen<sup>2</sup>, LIU Zi-yi<sup>2</sup>, QI Jin-long<sup>2\*</sup>

(1. Department of Western Medicine Pharmacy, Cangzhou Hospital of Integrated TCM-WM · Hebei, Cangzhou 061000, China; 2. Department of Pharmacology, School of Basic Medicine, Hebei Medical University, Shijiazhuang 050000, China)

**收稿日期:** 2025-06-17

**基金项目:** 河北省高等学校科学技术研究产学研合作项目 (CXY2024051); 河北省中央引导地方科技发展基金项目 (26Z2602G); 河北省生物医药联合基金培育项目 (H2022206201); 石家庄市科技计划生物医药关键技术创新专项 (241200263A)

**作者简介:** 孙景存 (1981—), 女, 硕士, 从事临床药学、医院药学管理工作。Tel: (0317) 2078861, E-mail: sunjingcun@126.com

\*通信作者: 祁金龙 (1980—), 男 (蒙古族), 博士, 教授, 从事中药物物质基础及其多组学研究。Tel: (0311) 86266120, E-mail: jinlongqi@hebmu.edu.cn