

# 基于HPLC-QAMS多指标成分联合OPLS-DA及加权TOPSIS模型的威灵仙药材质量评价



冯晓川<sup>1,2,3</sup>, 张 静<sup>1,2,3</sup>, 徐延昭<sup>4</sup>, 张 蕊<sup>1,2,3</sup>

1. 首都医科大学附属北京积水潭医院中药房 (北京 100035)
2. 北京大学第四临床医学院 (北京 100035)
3. 国家骨科医学中心 (北京 100035)
4. 中国食品药品检定研究院 (北京 100050)

**【摘要】目的** 建立不同产地威灵仙中 9 个成分含量同步检测方法, 筛选影响其质量的差异标志物, 对其质量差异性进行评价。**方法** 对 8 省 16 个批次威灵仙样品进行回流提取, 提取物采用 HPLC 法检测; 采用化学识别模式和加权 TOPSIS 法建立威灵仙质量优劣评价模型, 对其质量差异性进行综合评价。**结果** 灵仙新苷、虎掌草皂甙 D、威灵仙皂甙 C、虎掌草皂苷 B、常春藤皂苷元、齐墩果酸、3,5,6,7,8,3',4'-七甲氧基黄酮、橙皮素和芒柄花素分别在 1.27~31.75、4.48~112.00、7.35~183.75、3.69~92.25、6.16~154.00、20.95~523.75、0.58~14.50、0.39~9.75 和 0.26~6.50  $\mu\text{g/mL}$  范围内线性关系良好 ( $r > 0.999 0$ ), 平均加样回收率为 96.91%~100.12%,  $RSD$  为 0.71%~1.53% ( $n=9$ ); 16 批样品聚为 3 类; 齐墩果酸、威灵仙皂甙 C、灵仙新苷和常春藤皂苷元可能是影响威灵仙产品质量主要潜在标志物; 加权 TOPSIS 法分析结果显示 16 批威灵仙质量评价贴近度在 0.097 8~0.818 2 之间, 其中 S13 最大 (0.818 2)。**结论** 建立的威灵仙中 9 种成分定量分析方法, 操作简便、结果准确; 化学计量学及加权 TOPSIS 法可用于评价其质量差异性。

**【关键词】** 威灵仙; 高效液相色谱法; 化学计量学; 主成分分析; 正交偏最小二乘判别分析法; 加权 TOPSIS 法; 质量评价

**【中图分类号】** R284.1 **【文献标识码】** A

Quality evaluation of Clematidis radix et rhizoma medicinal materials based on HPLC-QAMS multi-components quantification combined with OPLS-DA and weighted TOPSIS method

FENG Xiaochuan<sup>1,2,3</sup>, ZHANG Jing<sup>1,2,3</sup>, XU Yanzhao<sup>4</sup>, ZHANG Rui<sup>1,2,3</sup>

1. Department of Chinese Pharmacy, Beijing Jishuitan Hospital, Capital Medical University, Beijing 100035, China

2. The Fourth Clinical Medical College of Peking university, Beijing 100035, China

3. National Center for Orthopaedics, Beijing 100035, China

4. National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 100050, China

Corresponding author: ZHANG Rui, Email: uc1070@163.com

DOI: 10.12173/j.issn.2097-4922.202406118

基金项目: 全国中药特色技术传承人才培训项目 (国中医药人教函 [2023] 96 号); 北京市医院管理中心“青苗”计划专项经费资助项目 (QML20230407); 北京市属医院科研培育项目 (PZ2021005); 北京积水潭医院“学科骨干”计划专项经费资助项目 (XKGG202214)

通信作者: 张蕊, 硕士, 副主任药师, Email: uc1070@163.com

<https://yxqy.whuzhmedj.com>

**【Abstract】Objective** To establish a method for simultaneous detection of 9 components in *Clematidis radix et rhizoma* from different producing areas, screen the differential markers affecting their quality, and to evaluate its quality difference. **Methods** Reflux extraction was performed on 16 batches of *Clematidis radix et rhizoma* from 8 provinces, and the extracts were detected by HPLC. The chemical identification model and weighted TOPSIS method were used to establish the quality evaluation model of *Clematidis radix et rhizoma*, and the quality difference was comprehensively evaluated. **Results** Clematichinenoside AR, huzhangoside D, clematichinenoside C, huzhangoside B, hederagenin, oleanolic acid, 3,5,6,7,8,3',4'-heptamethoxyflavone, hesperetin and formononetin showed good linear relationships within the ranges of 1.27-31.75, 4.48-112.00, 7.35-183.75, 3.69-92.25, 6.16-154.00, 20.95-523.75, 0.58-14.50, 0.39-9.75 and 0.26-6.50  $\mu\text{g/mL}$  ( $r>0.999$ ), respectively. The average recovery rate was 96.91%-100.12%, and the RSD was 0.71%-1.53% ( $n=9$ ). 16 batches of samples were grouped into 3 categories, and oleanolic acid, clematichinenoside C, clematichinenoside AR and hederagenin might be the main potential markers affecting the quality of *Clematidis radix et rhizoma*. The analysis results of the weighted TOPSIS method revealed that the closeness for evaluating the quality of 16 batches of *Clematidis radix et rhizoma* ranged from 0.097 8 to 0.818 2, with S13 achieving the highest value of 0.818 2. **Conclusion** The method for quantitative analysis of 9 components in *Clematidis radix et rhizoma* is simple and accurate. Chemometrics and weighted TOPSIS method can be used to evaluate the quality difference.

**【Keywords】** *Clematidis radix et rhizoma*; High-performance liquid chromatography; Stechiometry; Principal component analysis; Orthogonal partial least squares discriminant analysis; Weighted TOPSIS method; Quality evaluation

威灵仙为毛茛科植物威灵仙 *Clematis chinensis* Osbeck、棉团铁线莲 *Clematis hexapetala* Pall. 或东北铁线莲 *Clematis manshurica* Rupr. 的干燥根和根茎, 其中威灵仙分布于湖南、江西、福建、云南、贵州、江苏、浙江、安徽、四川、湖北等地, 棉团铁线莲分布于黑龙江、吉林、辽宁、内蒙古、河北、山西、陕西、山东等地, 东北铁线莲分布于黑龙江、吉林、辽宁等东北地区<sup>[1-2]</sup>。威灵仙祛风湿、通经络, 主要用于风湿痹痛、肢体麻木、筋脉拘挛、屈伸不利等病症的治疗<sup>[3-4]</sup>。威灵仙主要含有皂苷类、黄酮及多元酚类、木质素类、生物碱类等成分<sup>[5-8]</sup>, 具有抗肿瘤<sup>[9]</sup>、抗炎<sup>[10]</sup>、镇痛<sup>[11]</sup>、平痉<sup>[12-13]</sup>等多种药理作用。威灵仙收录于《中国药典(2020年版)》, 该标准仅对齐墩果酸进行了定量研究<sup>[3]</sup>。相关文献也仅限1~2个成分的含量测定<sup>[1,14]</sup>。与单一成分定量控制相比较, HPLC多指标成分更能较为全面地反映药材的整体质量, 同时一测多评技术能够有效解决多指标成分对照品使用量大、检验成本过高带来的不足, 促进了多指标成分定量控制方法的普及应

用。主成分分析(principal component analysis, PCA)、正交偏最小二乘判别分析(orthogonal partial least squares discriminant analysis, OPLS-DA)等化学识别模式通过降维分析, 将多个变量转化为少数几个综合变量, 挖掘复杂数据间存在的关联关系, 能够有效查找影响威灵仙产品质量主要潜在标志物, 分析结果直观可靠<sup>[15]</sup>。加权TOPSIS法充分利用原始数据的信息, 先将原始数据无纲化处理, 并按照各指标权重大小合理赋权, 以评价对象与理想目标的欧氏距离为标尺, 获得各评价对象与最优方案的相对接近程度, 实现对各评价对象质量优劣排序, 准确性高<sup>[16]</sup>。中药质量受多种因素影响, 其中产地是其中的关键因素之一, 为确保其临床疗效, 本研究收集湖南、江西、福建、云南、贵州、江苏、浙江、安徽8省16批毛茛科植物威灵仙药材, 采用高效液相一测多评(high performance liquid chromatography-quantitative analysis of multi-components by single marker, HPLC-QAMS)同时测定其所含灵仙新苷、虎掌草皂甙D、威灵仙皂甙C、虎掌草皂苷B、

常春藤皂苷元、齐墩果酸、3,5,6,7,8,3',4'-七甲氧基黄酮、橙皮素和芒柄花素含量,并采用化学计量学<sup>[15]</sup>和加权 TOPSIS 法<sup>[16]</sup>对不同产地威灵仙质量进行评价,旨为威灵仙道地研究提供数据支撑,也为威灵仙质量差异性评价方法提供借鉴。

## 1 材料

### 1.1 主要仪器

L-2000 型高效液相色谱仪(日本日立公司); Agilent 1100 型高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司); AE200 型电子天平(德国梅特勒-托利多公司); G-100S 型超声波清洗机(深圳市歌能清洗设备有限公司)。

### 1.2 主要药品与试剂

对照品:常春藤皂苷元(批号:111733-201205,纯度 98.3%);齐墩果酸(批号:110709-202109,纯度 95.8%)购自中国食品药品

检定研究院;3,5,6,7,8,3',4'-七甲氧基黄酮(批号:PRF21110341,纯度 99.7%)、橙皮素(批号:PRF8121921,纯度 99.4%)、芒柄花素(批号:PRF8091225,纯度 99.9%)均购自成都普瑞法科技开发有限公司;灵仙新苷(批号:HY-N4232-151818,纯度 99.0%)、虎掌草皂甙 D(批号:HY-107236-239517,纯度 99.0%)、威灵仙皂甙 C(批号:HY-N5071-365703,纯度 98.0%)均购自上海皓元生物医药科技有限公司;虎掌草皂苷 B(上海陶术生物科技有限公司,批号:TN4230-223563,纯度 98.4%);乙腈和磷酸为色谱纯,其余试剂均为分析纯,水为超纯水。

威灵仙样品经首都医科大学附属北京积水潭医院中药房张蕊副主任药师,按《中国药典(2020年版)》一部鉴定,均为毛茛科植物威灵仙 *Clematis chinensis* Osbeck 的干燥根和根茎,系正品,其产地及采收时间信息见表 1。

表1 威灵仙来源信息

Table 1. Source information of *Clematidis radix et rhizoma*

编号	产地	采收时间	编号	产地	采收时间
S1	安徽广德市	2022年10月	S9	贵州独山县	2022年11月
S2	安徽休宁县	2022年9月	S10	贵州罗甸县	2023年10月
S3	浙江淳安县	2023年10月	S11	福建建瓯市	2023年9月
S4	浙江遂昌县	2023年9月	S12	福建清流县	2023年10月
S5	江苏句容市	2022年10月	S13	江西南丰县	2023年10月
S6	江苏丹阳市	2023年10月	S14	江西万安县	2022年11月
S7	云南马关县	2023年11月	S15	湖南邵阳县	2023年10月
S8	云南红河县	2023年11月	S16	湖南桂东县	2023年10月

## 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,用 70% 甲醇混匀制成含灵仙新苷 0.254 mg/mL、虎掌草皂甙 D 0.896 mg/mL、威灵仙皂甙 C 1.470 mg/mL、虎掌草皂苷 B 0.738 mg/mL、常春藤皂苷元 1.232 mg/mL、齐墩果酸 4.190 mg/mL、3,5,6,7,8,3',4'-七甲氧基黄酮 0.116 mg/mL、橙皮素 0.078 mg/mL 和芒柄花素 0.052 mg/mL 的对照品贮备液;精密吸取对照品贮备液 1 mL,置 20 mL 量瓶中,用 70% 甲醇定容,摇匀,即得混合对照品溶液。

### 2.2 供试品溶液的制备

将威灵仙药材粉碎过筛,取威灵仙粉末约 1.0 g,精密加入 70% 甲醇 25 mL,称定重量,超声(功率:300 W,频率:40 kHz)45 min,

冷却,补重,摇匀,静置,0.22 μm 微孔滤膜过滤,即得供试品溶液。

### 2.3 色谱条件

色谱柱:Waters Symmetry C<sub>18</sub> 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm);流动相:0.05% 磷酸(A)-乙腈(B),梯度洗脱(0~12 min, 15.0% B; 12~29 min, 15.0%→36.0% B; 29~41 min, 36.0%→68.0% B; 41~52 min, 68.0%→85.0% B; 52~60 min, 85.0%→15.0% B);检测波长:0~41 min、210 nm(灵仙新苷、虎掌草皂甙 D、威灵仙皂甙 C、虎掌草皂苷 B、常春藤皂苷元和齐墩果酸),41~60 min、300 nm(3,5,6,7,8,3',4'-七甲氧基黄酮、橙皮素和芒柄花素);柱温:30 °C,流速:1.0 mL/min,进样量:10 μL。对照品溶液和供试品溶液的 HPLC 色谱图显示灵仙新苷、虎掌草皂甙 D、威灵仙皂甙 C、虎掌草皂苷 B、

常春藤皂苷元、齐墩果酸、3,5,6,7,8,3',4'-七甲氧基黄酮、橙皮素和芒柄花素色谱峰间无干扰,供试品溶液中9个成分吸收峰的位置与对照品基本一致,理论板数按各成分计均不低于4500。具体见图1。

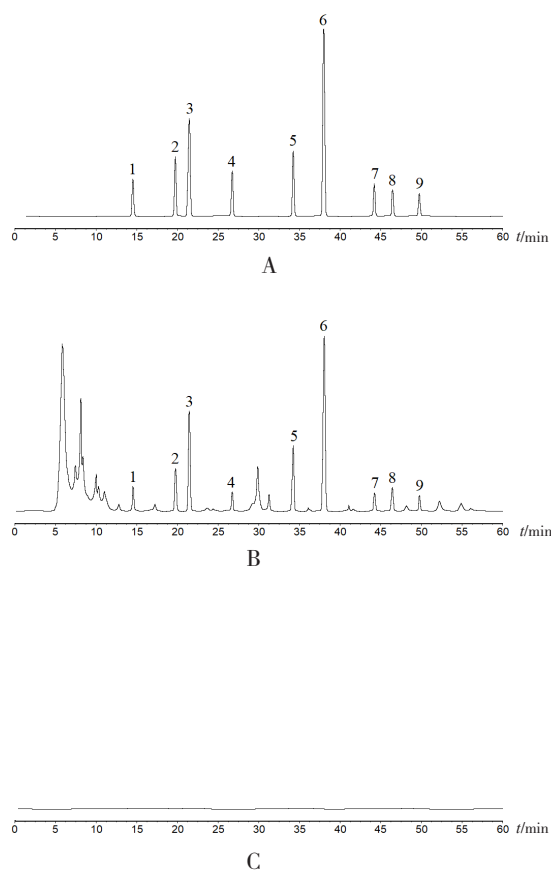


图1 HPLC色谱图

Figure 1. HPLC chromatogram

注: A. 混合对照品; B. 供试品; C. 空白溶剂(70%甲醇); 1. 灵仙新苷; 2. 虎掌草皂甙D; 3. 威灵仙皂甙C; 4. 虎掌草皂苷B; 5. 常春藤皂苷元; 6. 齐墩果酸; 7. 3,5,6,7,8,3',4'-七甲氧基黄酮; 8. 橙皮素; 9. 芒柄花素。

## 2.4 方法学考察

### 2.4.1 标准曲线绘制

分别精密量取“2.1”项下对照品贮备液,置不同的量瓶中,用70%甲醇稀释8、10、20、40、100、200倍制成系列浓度标准溶液。按“2.3”项下色谱条件进样测定,以对照品的浓度为横坐标( $X$ ,  $\mu\text{g/mL}$ )、峰面积为纵坐标( $Y$ )绘制标准曲线,并计算回归方程,结果见表2。结果表明,灵仙新苷、虎掌草皂甙D、威灵仙皂甙C、虎掌草皂苷B、常春藤皂苷元、齐墩果酸、3,5,6,7,8,3',4'-七甲氧基黄酮、橙皮素、芒柄花素9个成分在各自浓度范围内线性关系良好。

### 2.4.2 精密度试验

取1份供试品溶液(编号:S1),按“2.3”项下色谱条件连续进样6次,计算得灵仙新苷、虎掌草皂甙D、威灵仙皂甙C、虎掌草皂苷B、常春藤皂苷元、齐墩果酸、3,5,6,7,8,3',4'-七甲氧基黄酮、橙皮素和芒柄花素峰面积的RSD分别为1.14%、1.05%、0.91%、1.22%、1.04%、0.55%、1.43%、1.65%、1.52% ( $n=6$ ),结果表明仪器精密度良好。

### 2.4.3 稳定性试验

取1份供试品溶液(编号:S1),室温放置,分别于0、4、8、12、16、20、24h取样,按“2.3”项下色谱条件进样测定,计算得灵仙新苷、虎掌草皂甙D、威灵仙皂甙C、虎掌草皂苷B、常春藤皂苷元、齐墩果酸、3,5,6,7,8,3',4'-七甲氧基黄酮、橙皮素和芒柄花素峰面积的RSD分别为1.52%、1.37%、1.03%、1.41%、1.19%、0.71%、1.65%、1.71%、1.79% ( $n=7$ ),结果表明供试品溶液在24h内稳定性良好。

表2 9个指标性成分的标准曲线及线性范围

Table 2. Calibration curves and linear range for 9 constituents

成分	回归方程	$r$	线性范围 ( $\mu\text{g/mL}$ )
灵仙新苷	$Y=1.8092 \times 10^6 X - 503.6$	0.9996	1.27~31.75
虎掌草皂甙D	$Y=2.8416 \times 10^6 X + 203.8$	0.9991	4.48~112.00
威灵仙皂甙C	$Y=3.4307 \times 10^6 X + 543.2$	0.9996	7.35~183.75
虎掌草皂苷B	$Y=2.1928 \times 10^6 X - 986.7$	0.9995	3.69~92.25
常春藤皂苷元	$Y=2.6511 \times 10^6 X - 1412.3$	0.9993	6.16~154.00
齐墩果酸	$Y=3.1472 \times 10^6 X + 2105.7$	0.9992	20.95~523.75
3,5,6,7,8,3',4'-七甲氧基黄酮	$Y=1.4057 \times 10^6 X - 198.2$	0.9995	0.58~14.50
橙皮素	$Y=8.9248 \times 10^5 X + 1164.9$	0.9992	0.39~9.75
芒柄花素	$Y=7.8698 \times 10^5 X - 371.5$	0.9997	0.26~6.50

### 2.4.4 重复性试验

取威灵仙样品粉末(编号: S1)6份,按“2.2”项下方法制成供试品溶液,再按“2.3”项下色谱条件进样测定,计算得灵仙新苷、虎掌草皂甙 D、威灵仙皂甙 C、虎掌草皂苷 B、常春藤皂苷元、齐墩果酸、3,5,6,7,8,3',4'-七甲氧基黄酮、橙皮素和芒柄花素的平均含量分别为 0.288、1.032、2.143、0.766、1.731、6.332、0.126、0.081、0.057 mg/g, RSD 分别为 1.94%、1.79%、1.62%、1.83%、1.65%、1.17%、1.89%、1.96%、1.91% (n=6), 结果表明该法重复性良好。

### 2.4.5 回收率试验

取威灵仙样品粉末(编号: S1)9份,每份约 0.5 g,精密称定,按已知各成分含量 80%、100%、120% 的比例加入混合对照品溶液(每 mL 含灵仙新苷 0.147 mg、虎掌草皂甙 D 0.521 mg、威灵仙皂甙 C 1.056 mg、虎掌草皂苷 B 0.384 mg、常春藤皂苷元 0.859 mg、齐墩果酸 3.072 mg、3,5,6,7,8,3',4'-七甲氧基黄酮 0.064 mg、橙皮素 0.043 mg、芒柄花素 0.029 mg),再按“2.2”项下方法制成加样回收率供试品溶液,每个水平制备 3 份。按“2.3”项下色谱条件进样测定,9 个

成分的平均加样回收率分别为灵仙新苷 98.16%、虎掌草皂甙 D 99.08%、威灵仙皂甙 C 100.12%、虎掌草皂苷 B 97.87%、常春藤皂苷元 99.10%、齐墩果酸 98.61%、3,5,6,7,8,3',4'-七甲氧基黄酮 98.08%、橙皮素 96.91%、芒柄花素 97.80%, RSD 分别为 1.21%、虎掌草皂甙 D 1.08%、威灵仙皂甙 C 0.71%、虎掌草皂苷 B 1.26%、常春藤皂苷元 1.18%、齐墩果酸 0.92%、3,5,6,7,8,3',4'-七甲氧基黄酮 1.37%、橙皮素 1.14%、芒柄花素 1.53% (n=9), 结果表明该法回收率良好。

## 2.5 相对校正因子计算

取 6 份混合对照品溶液,按“2.3”项下色谱条件进样测定,采用多点校正法,以常春藤皂苷元为内参物,计算灵仙新苷、虎掌草皂甙 D、威灵仙皂甙 C、虎掌草皂苷 B、齐墩果酸的相对校正因子( $f$ );以橙皮素为内参物,计算 3,5,6,7,8,3',4'-七甲氧基黄酮、芒柄花素的  $f$  值<sup>[17-18]</sup>。公式如下:

$$f = \frac{\rho_s \times A_i}{\rho_i \times A_s}$$

式中  $\rho$  和  $A$  代表相质量浓度和峰面积,下标  $i$  和  $s$  代表内参物和其他待测成分,结果见表 3。

表3 多点校正法的  $f$  值

Table 3. The  $f$  value of multipoint correction method

混合对照品 溶液编号	灵仙新苷	虎掌草 皂甙D	威灵仙 皂甙C	虎掌草 皂苷B	齐墩果酸	3,5,6,7,8,3',4'- 七甲氧基黄酮	芒柄花素
1	1.488 9	0.927 3	0.772 4	1.221 1	0.851 8	0.626 5	1.111 1
2	1.465 1	0.913 7	0.769 6	1.218 6	0.842 6	0.648 0	1.158 0
3	1.479 5	0.960 1	0.782 2	1.223 2	0.855 6	0.631 1	1.126 6
4	1.467 4	0.923 3	0.773 3	1.206 7	0.832 5	0.644 3	1.154 1
5	1.437 8	0.928 0	0.760 6	1.179 8	0.835 2	0.631 8	1.138 9
6	1.480 2	0.936 1	0.778 8	1.226 2	0.848 4	0.636 3	1.130 9
平均值	1.469 8	0.931 4	0.772 8	1.212 6	0.844 4	0.636 3	1.136 6
RSD (%)	1.22	1.71	0.97	1.43	1.09	1.30	1.55

## 2.6 $f$ 值的耐用性考察

选择 HPLC 色谱系统和色谱柱、流速、柱温等条件,按“2.3”项下色谱条件进样测定,考察不同色谱条件的改变对  $f$  值的影响,结果见表 4,表明  $f$  值的耐用性良好。

## 2.7 相对保留时间考察

考察不同型号高效液相色谱仪和色谱柱对相对保留时间的影响,结果见表 5,显示该法可用于威灵仙中 9 个成分色谱峰的定位。

## 2.8 样品测定

取编号 S1~S16 威灵仙样品,按“2.2”项方法,各批次平行制备 3 份供试品溶液,再按“2.3”项下色谱条件进样检测,运用外标法(external standard method, ESM)计算灵仙新苷、虎掌草皂甙 D、威灵仙皂甙 C、虎掌草皂苷 B、常春藤皂苷元、齐墩果酸、3,5,6,7,8,3',4'-七甲氧基黄酮、橙皮素和芒柄花素的含量,再利用 QAMS 法,以常春藤皂苷元为参照物,计算灵仙新苷、虎掌草

表4  $f$ 值的耐用性考察结果  
Table 4. Results of durability test of  $f$  value

考察项目	灵仙新苷	虎掌草 皂甙D	威灵仙 皂甙C	虎掌草 皂苷B	齐墩果酸	3,5,6,7,8,3',4'- 七甲氧基黄酮	芒柄花素
仪器及色谱柱							
L-2000							
Waters Symmetry C <sub>18</sub>	1.468 1	0.930 7	0.772 4	1.211 3	0.843 5	0.635 7	1.135 1
InertSustain C <sub>18</sub>	1.462 8	0.942 1	0.778 3	1.215 8	0.848 2	0.639 5	1.139 7
Eclipse XDB-C <sub>18</sub>	1.486 5	0.961 4	0.781 6	1.228 3	0.853 9	0.647 1	1.156 2
Agilent 1100							
Waters Symmetry C <sub>18</sub>	1.436 7	0.918 3	0.761 3	1.186 2	0.833 1	0.625 4	1.110 5
InertSustain C <sub>18</sub>	1.456 2	0.925 8	0.769 2	1.193 7	0.841 5	0.628 6	1.123 6
Eclipse XDB-C <sub>18</sub>	1.473 9	0.957 3	0.778 4	1.225 4	0.852 3	0.645 3	1.149 8
平均值	1.464 0	0.939 3	0.773 5	1.210 1	0.845 4	0.636 9	1.135 8
RSD (%)	1.15	1.85	0.97	1.40	0.91	1.38	1.48
流速 (mL/min)							
0.8	1.449 5	0.918 7	0.761 9	1.190 5	0.839 4	0.627 4	1.109 4
1.0	1.471 3	0.932 1	0.773 4	1.214 2	0.845 3	0.636 9	1.138 1
1.2	1.489 7	0.953 4	0.783 9	1.233 8	0.856 3	0.649 1	1.148 3
平均值	1.470 2	0.934 7	0.773 1	1.212 8	0.847 0	0.637 8	1.131 9
RSD (%)	1.37	1.87	1.42	1.79	1.01	1.71	1.78
柱温 (°C)							
25	1.432 9	0.915 4	0.763 4	1.195 6	0.830 3	0.627 4	1.113 6
30	1.467 2	0.931 9	0.772 2	1.213 7	0.844 8	0.635 9	1.136 1
35	1.489 0	0.950 3	0.781 9	1.240 3	0.851 9	0.643 8	1.155 4
平均值	1.463 0	0.932 5	0.772 5	1.216 5	0.842 3	0.635 7	1.135 0
RSD (%)	1.93	1.87	1.20	1.85	1.31	1.29	1.84

表5 相对保留时间的考察结果  
Table 5. The investigation results of relative retention time

仪器型号	色谱柱	灵仙新苷	虎掌草 皂甙D	威灵仙 皂甙C	虎掌草 皂苷B	齐墩果酸	3,5,6,7,8,3',4'- 七甲氧基黄酮	橙皮素
L-2000	Waters Symmetry C <sub>18</sub>	0.423 4	0.576 6	0.625 9	0.781 0	1.109 5	0.951 5	1.071 3
	InertSustain C <sub>18</sub>	0.426 5	0.583 1	0.631 7	0.789 3	1.117 3	0.957 2	1.076 9
	Eclipse XDB-C <sub>18</sub>	0.431 8	0.590 7	0.643 9	0.798 4	1.126 9	0.970 6	1.085 2
Agilent 1100	Waters Symmetry C <sub>18</sub>	0.415 2	0.563 4	0.620 5	0.772 9	1.094 8	0.939 3	1.063 4
	InertSustain C <sub>18</sub>	0.419 7	0.568 2	0.623 6	0.778 2	1.102 5	0.947 2	1.069 7
	Eclipse XDB-C <sub>18</sub>	0.428 3	0.586 5	0.635 8	0.786 1	1.116 4	0.965 1	1.073 5
平均值		0.424 2	0.578 1	0.630 2	0.784 3	1.111 2	0.955 2	1.073 3
RSD (%)		1.42	1.85	1.38	1.15	1.03	1.21	0.68

皂甙 D、威灵仙皂甙 C、虎掌草皂苷 B 和齐墩果酸的含量;以橙皮素为参照物,计算 3,5,6,7,8,3',4'-七甲氧基黄酮和芒柄花素的含量,最后运用 SPSS 26.0 软件中独立样本  $t$  检验法对各组分 2 种方法所得数据进行分析,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。结果显示 2 种方法所得含量差异不明显 ( $P > 0.05$ ),但批次间含量差异较大,具体见表 6。

## 2.9 浸出物、总灰分、酸不溶性灰分检测

浸出物、总灰分和酸不溶性灰分分别参照

《中国药典(2020年版)》四部通则 2201 浸出物测定法、2302 灰分测定法进行测定<sup>[19]</sup>。结果见表 7。

## 2.10 化学计量学分析

以 16 批威灵仙中灵仙新苷、虎掌草皂甙 D、威灵仙皂甙 C、虎掌草皂苷 B、常春藤皂苷元、齐墩果酸、3,5,6,7,8,3',4'-七甲氧基黄酮、橙皮素和芒柄花素 QAMS 含量、浸出物、总灰分和酸不溶性灰分检测结果为变量,借助 SIMCA 14.1 软件对  $16 \times 12$  矩阵数据进行 PCA 分析,结

表6 16批威灵仙药材中9个指标成分的含量 (n=3)

Table 6. Contents of 9 indicative compounds in 16 batches of Clematidis radix et rhizoma (n=3)

成分	方法	含量 (mg/g)																P
		S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13	S14	S15	S16	
常春藤皂苷元	ESM	1.729	1.866	2.112	1.986	1.925	1.992	1.612	1.677	1.554	1.494	2.405	2.347	2.564	2.482	2.226	2.289	-
灵仙新苷	ESM	0.286	0.329	0.359	0.324	0.351	0.310	0.194	0.199	0.221	0.168	0.313	0.239	0.317	0.276	0.183	0.291	0.839
	QAMS	0.278	0.320	0.349	0.316	0.342	0.302	0.199	0.195	0.215	0.164	0.305	0.234	0.326	0.269	0.179	0.295	
虎掌草皂甙D	ESM	1.037	0.904	1.075	1.059	0.972	1.049	0.851	0.889	0.825	0.766	1.201	1.298	1.329	1.357	1.262	1.127	0.822
	QAMS	1.009	0.929	1.049	1.031	0.996	1.026	0.829	0.867	0.803	0.787	1.215	1.269	1.293	1.319	1.241	1.103	
威灵仙皂甙C	ESM	2.149	2.311	2.507	2.463	2.358	2.474	1.995	2.057	1.826	1.815	2.981	2.907	3.184	2.922	2.618	2.704	0.901
	QAMS	2.089	2.254	2.551	2.399	2.326	2.406	1.948	2.026	1.878	1.805	2.906	2.836	3.098	2.999	2.690	2.765	
虎掌草皂苷B	ESM	0.764	0.721	0.492	0.593	0.680	0.503	0.437	0.474	0.398	0.456	0.852	0.895	0.901	1.074	0.982	0.811	0.887
	QAMS	0.743	0.701	0.480	0.580	0.661	0.514	0.425	0.487	0.390	0.445	0.837	0.880	0.919	1.044	0.961	0.792	
齐墩果酸	ESM	6.326	5.798	6.525	6.429	6.241	6.430	5.192	5.418	4.765	4.892	7.526	7.869	7.997	8.232	7.413	6.908	0.779
	QAMS	6.151	5.662	6.394	6.284	6.070	6.252	5.055	5.288	4.897	4.795	7.405	7.734	7.885	8.040	7.568	6.727	
橙皮素	ESM	0.083	0.075	0.085	0.079	0.081	0.075	0.070	0.072	0.068	0.065	0.105	0.110	0.103	0.112	0.107	0.100	-
3,5,6,7,8,3',4'-	ESM	0.129	0.173	0.189	0.156	0.167	0.134	0.109	0.119	0.085	0.074	0.125	0.143	0.106	0.126	0.152	0.115	0.896
七甲氧基黄酮	QAMS	0.132	0.169	0.184	0.152	0.163	0.137	0.107	0.116	0.083	0.076	0.122	0.147	0.103	0.127	0.149	0.112	
芒柄花素	ESM	0.056	0.061	0.055	0.067	0.062	0.072	0.049	0.057	0.053	0.049	0.069	0.090	0.076	0.087	0.077	0.079	0.881
	QAMS	0.055	0.060	0.056	0.066	0.061	0.070	0.050	0.056	0.052	0.048	0.071	0.088	0.074	0.085	0.079	0.077	

表7 威灵仙中浸出物、总灰分、酸不溶性灰分检测结果 (% , n=2)

Table 7. Test results of extract, total ash and acid-insoluble ash in Clematidis radix et rhizoma (% , n=2)

项目	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13	S14	S15	S16
浸出物	28.19	31.21	28.34	27.96	29.13	30.12	24.31	26.52	13.49	20.57	28.61	29.49	28.97	28.36	28.82	29.25
总灰分	7.02	6.47	6.12	6.53	6.96	5.91	5.16	6.74	9.03	5.97	3.82	5.31	4.49	5.64	5.78	4.03
酸不溶性灰分	3.10	2.90	3.00	2.80	3.20	2.70	1.50	2.20	1.80	1.60	4.10	3.90	4.20	3.8	4.40	3.70

果 16 批威灵仙样品大致分成 3 组，江苏、浙江和安徽样品位于横轴上方，云南和贵州样品位于椭圆图左下方，湖南、江西和福建样品位于椭圆图右下方，所有检测数据无异常（所有数据点均在 95% 置信区间内）（图 2）。为探索引起样品分组的主要因素，在进一步 PCA 分析基础上运行 OPLS-DA 程序，结果模型参数  $R^2X = 0.953$ 、 $R^2Y = 0.875$ 、 $Q^2 = 0.824$ ，均大于 0.5（其中  $R^2X$  和  $R^2Y$  分别表示所建模型对  $X$  和  $Y$  矩阵的解释率， $Q^2$  表示模型的预测能力）<sup>[20]</sup>。化学计量学分析中变量重要性投影（variable importance in projection, VIP）值可作为质量差异因子的依据，各成分的 VIP 值依次为 1.255 1、0.848 3、1.289 0、0.932 9、1.173 0、2.095 0、0.818 5、0.281 8、0.222 1、0.743 4、0.148 7 和 0.187 3，以 1 为 VIP 的阈值，筛选出齐墩果酸、威灵仙皂甙 C、灵仙新苷和常春藤皂苷元作为质量差异因子。OPLS-DA 分析结果

见图 3 和图 4。

### 2.11 加权TOPSIS数据无纲化处理

灵仙新苷、虎掌草皂甙 D、威灵仙皂甙 C、虎掌草皂苷 B、常春藤皂苷元、齐墩果酸、3,5,6,7,8,3',4'-七甲氧基黄酮、橙皮素、芒柄花

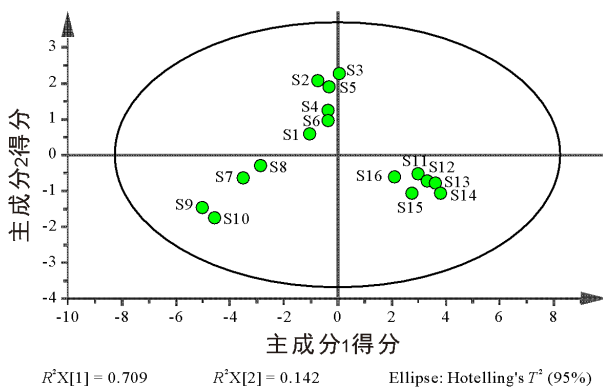


图2 PCA得分图

Figure 2. Score plot of PCA

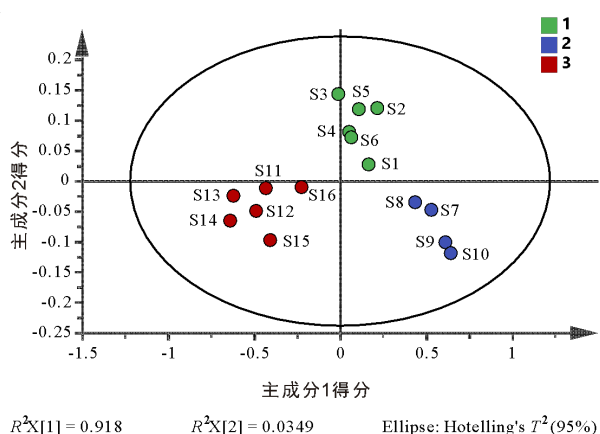


图3 OPLS-DA得分图

Figure 3. Score plot of OPLS-DA

素和浸出物数据差异较大，根据公式（1）进行无纲化处理；总灰分和酸不溶性灰分属于越小越优型指标，根据公式（2）处理，结果见表8。

$$Z_{bc} \times = \frac{X_{bc} - \min(xc)}{\max(xc) - \min(xc)} \quad (1)$$

$$Z_{bc} = \frac{\max(xc) - X_{bc}}{\max(xc) - \min(xc)} \quad (2)$$

表8 无纲化处理结果

Table 8. Results of unstructured treatment

编号	灵仙新苷	虎掌草皂甙D	威灵仙皂甙C	虎掌草皂甙B	常春藤皂甙元	齐墩果酸	3,5,6,7,8,3',4'-七甲氧基黄酮	橙皮素	芒柄花素	浸出物	总灰分	酸不溶性灰分
S1	0.616 2	0.417 3	0.219 6	0.539 8	0.219 6	0.417 9	0.518 5	0.383 0	0.175 0	0.829 6	0.385 8	0.448 3
S2	0.843 2	0.266 9	0.347 3	0.475 5	0.347 7	0.267 2	0.861 1	0.212 8	0.300 0	1.000 0	0.491 4	0.517 2
S3	1.000 0	0.492 5	0.577 0	0.137 6	0.577 6	0.492 8	1.000 0	0.425 5	0.200 0	0.838 0	0.558 5	0.482 8
S4	0.821 6	0.458 6	0.459 4	0.290 5	0.459 8	0.458 9	0.703 7	0.297 9	0.450 0	0.816 6	0.479 8	0.551 7
S5	0.962 2	0.392 9	0.402 9	0.414 4	0.402 8	0.392 9	0.805 6	0.340 4	0.325 0	0.882 6	0.397 3	0.413 8
S6	0.745 9	0.449 2	0.464 8	0.189 6	0.465 4	0.449 0	0.564 8	0.212 8	0.550 0	0.938 5	0.598 8	0.586 2
S7	0.189 2	0.078 9	0.110 6	0.053 5	0.110 3	0.080 1	0.287 0	0.106 4	0.050 0	0.610 6	0.742 8	1.000 0
S8	0.167 6	0.150 4	0.170 9	0.148 3	0.171 0	0.151 9	0.370 4	0.148 9	0.200 0	0.735 3	0.439 5	0.758 6
S9	0.275 7	0.030 1	0.056 5	0.000 0	0.056 1	0.031 4	0.064 8	0.063 8	0.100 0	0.000 0	0.000 0	0.896 6
S10	0.000 0	0.000 0	0.000 0	0.084 1	0.000 0	0.000 0	0.000 0	0.000 0	0.000 0	0.399 5	0.587 3	0.965 5
S11	0.762 2	0.804 5	0.851 5	0.683 5	0.851 4	0.804 3	0.425 9	0.851 1	0.575 0	0.853 3	1.000 0	0.103 4
S12	0.378 4	0.906 0	0.797 4	0.749 2	0.797 2	0.905 7	0.657 4	0.957 4	1.000 0	0.902 9	0.714 0	0.172 4
S13	0.875 7	0.951 1	1.000 0	0.808 9	1.000 0	0.952 2	0.250 0	0.808 5	0.650 0	0.873 6	0.871 4	0.069 0
S14	0.567 6	1.000 0	0.923 4	1.000 0	0.923 4	1.000 0	0.472 2	1.000 0	0.925 0	0.839 2	0.650 7	0.206 9
S15	0.081 1	0.853 4	0.684 5	0.873 1	0.684 1	0.854 5	0.675 9	0.893 6	0.775 0	0.865 1	0.623 8	0.000 0
S16	0.708 1	0.594 0	0.742 5	0.614 7	0.743 0	0.595 4	0.333 3	0.744 7	0.725 0	0.889 4	0.959 7	0.241 4

(1.255 1、0.848 3、1.289 0、0.932 9、1.173 0、2.095 0、0.818 5、0.281 8、0.222 1、0.743 4、0.148 7和0.187 3)为权重，将无纲化处理的数据与对应权重相乘，得加权决策矩阵（表9）。以矩阵中各成分的最大值为最优向量（ $Z_c^+$ ），最小值为最差向量（ $Z_c^-$ ）。

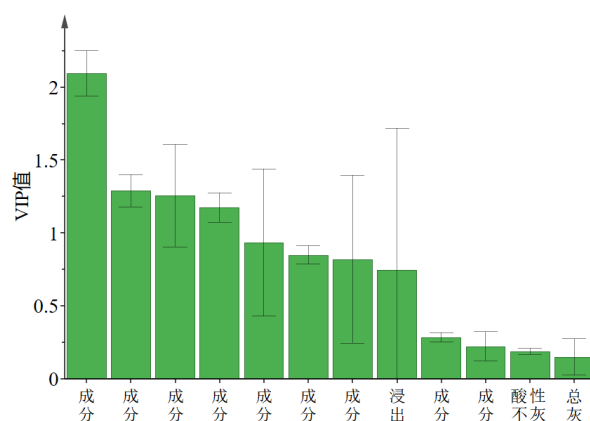


图4 化学计量学分析中VIP图

Figure 4. VIP plot in chemometrics analysis

## 2.12 加权TOPSIS加权决策矩阵和最优、最差向量计算

以 OPLS-DA 中灵仙新苷、虎掌草皂甙 D、威灵仙皂甙 C、虎掌草皂甙 B、常春藤皂甙元、齐墩果酸、3,5,6,7,8,3',4'-七甲氧基黄酮、橙皮素、芒柄花素、浸出物、总灰分和酸不溶性灰分的 VIP 值

## 2.13 质量优劣排序

在加权 TOPSIS 评价应用中，通常以相对贴近度（ $J_b$ ）为指标来评价样品的质量， $J_b$  值越大，被评价样品质量越优<sup>[21]</sup>。按最优向量欧氏距离（ $D_b^+$ ）、最差向量欧氏距离（ $D_b^-$ ）、



相对贴近度 ( $J_b$ ) 计算公式分别计算 16 批威灵仙样品的  $D_b^+$ 、 $D_b^-$  和  $J_b$  值, 并根据  $J_b$  值的大小对样品质量进行排序 (表 10)。结果江西、福建和湖南产地威灵仙药材的  $J_b$  值高于其他产地, 即江西、福建和湖南产地的威灵仙药材排名靠前。

$$D_b^+ = \sqrt{\sum_{c=1}^9 (Z_{bc} - Z_c^+)^2} \quad (1)$$

$$D_b^- = \sqrt{\sum_{c=1}^9 (Z_{bc} - Z_c^-)^2} \quad (2)$$

$$D_b^- \frac{J_b}{D_b^+ + D_b^-} \quad (3)$$

表9 加权决策矩阵结果

Table 9. Results of weighted decision matrix

编号	灵仙新苷	虎掌草皂甙D	威灵仙皂甙C	虎掌草皂苷B	常春藤皂苷元	齐墩果酸	3,5,6,7,8,3',4'-七甲氧基黄酮	橙皮素	芒柄花素	浸出物	总灰分	酸不溶性灰分
S1	0.773 4	0.354 0	0.283 1	0.503 6	0.257 6	0.875 5	0.424 4	0.107 9	0.038 9	0.616 7	0.057 4	0.084 0
S2	1.058 3	0.226 4	0.447 7	0.443 6	0.407 9	0.559 8	0.704 8	0.060 0	0.066 6	0.743 4	0.073 1	0.096 9
S3	1.255 1	0.417 8	0.743 8	0.128 4	0.677 5	1.032 4	0.818 5	0.119 9	0.044 4	0.623 0	0.083 0	0.090 4
S4	1.031 2	0.389 0	0.592 2	0.271 0	0.539 3	0.961 4	0.576 0	0.083 9	0.099 9	0.607 1	0.071 3	0.103 3
S5	1.207 7	0.333 3	0.519 3	0.386 6	0.472 5	0.823 1	0.659 4	0.095 9	0.072 2	0.656 1	0.059 1	0.077 5
S6	0.936 2	0.381 1	0.599 1	0.176 9	0.545 9	0.940 7	0.462 3	0.060 0	0.122 2	0.697 7	0.089 0	0.109 8
S7	0.237 5	0.066 9	0.142 6	0.049 9	0.129 4	0.167 8	0.234 9	0.030 0	0.011 1	0.453 9	0.110 5	0.187 3
S8	0.210 4	0.127 6	0.220 3	0.138 3	0.200 6	0.318 2	0.303 2	0.042 0	0.044 4	0.546 6	0.065 4	0.142 1
S9	0.346 0	0.025 5	0.072 8	0.000 0	0.065 8	0.065 8	0.053 0	0.018 0	0.022 2	0.000 0	0.000 0	0.167 9
S10	0.000 0	0.000 0	0.000 0	0.078 5	0.000 0	0.000 0	0.000 0	0.000 0	0.000 0	0.297 0	0.087 3	0.180 8
S11	0.956 6	0.682 5	1.097 6	0.637 6	0.998 7	1.685 0	0.348 6	0.239 8	0.127 7	0.634 3	0.148 7	0.019 4
S12	0.474 9	0.768 6	1.027 8	0.698 9	0.935 1	1.897 4	0.538 1	0.269 8	0.222 1	0.671 2	0.106 2	0.032 3
S13	1.099 1	0.806 8	1.289 0	0.754 6	1.173 0	1.994 9	0.204 6	0.227 8	0.144 4	0.649 4	0.129 6	0.012 9
S14	0.712 4	0.848 3	1.190 3	0.932 9	1.083 1	2.095 0	0.386 5	0.281 8	0.205 4	0.623 9	0.096 8	0.038 8
S15	0.101 8	0.723 9	0.882 3	0.814 5	0.802 4	1.790 2	0.553 2	0.251 8	0.172 1	0.643 1	0.092 8	0.000 0
S16	0.888 7	0.503 9	0.957 1	0.573 5	0.871 5	1.247 4	0.272 8	0.209 9	0.161 0	0.661 2	0.142 7	0.045 2

表10 威灵仙药材质量评价结果

Table 10. Quality evaluation results of *Clematidis Radix et Rhizoma*

编号	$D_b^+$	$D_b^-$	$J_b$	排序	编号	$D_b^+$	$D_b^-$	$J_b$	排序
S1	2.062 0	1.572 9	0.432 7	12	S9	3.235 3	0.407 6	0.111 9	15
S2	2.101 2	1.766 5	0.456 7	11	S10	3.384 2	0.367 0	0.097 8	16
S3	1.609 5	2.221 2	0.579 8	7	S11	0.842 9	2.729 3	0.764 0	3
S4	1.736 6	1.894 0	0.521 7	8	S12	0.971 3	2.776 7	0.740 8	4
S5	1.837 6	1.943 9	0.514 1	9	S13	0.702 4	3.162 1	0.818 2	1
S6	1.814 1	1.825 9	0.501 6	10	S14	0.733 7	3.122 1	0.809 7	2
S7	3.012 8	0.661 9	0.180 1	14	S15	1.370 1	2.578 0	0.653 0	5
S8	2.808 8	0.829 8	0.228 1	13	S16	1.278 7	2.282 1	0.640 9	6

### 3 讨论

#### 3.1 制样方法的确定

本试验提取供试品时, 以灵仙新苷、虎掌草皂甙 D、威灵仙皂甙 C、虎掌草皂苷 B、常春藤皂苷元、齐墩果酸、3,5,6,7,8,3',4'-七甲氧基黄酮、橙皮素和芒柄花素的综合提取率为指标, 考察了

70% 乙醇、乙醇、70% 甲醇、甲醇和水超声提取 30、45、60 min, 提取次数考察 1、2、3 次。结果以 70% 甲醇超声提取 45 min, 重复提取 2 次时, 以上 9 个成分的色谱信息最丰富, 杂质干扰最小, 峰形与分离度最好。

#### 3.2 检测波长的确定

威灵仙中灵仙新苷、虎掌草皂甙 D、威灵仙

皂甙 C、虎掌草皂苷 B、常春藤皂苷元、齐墩果酸、3,5,6,7,8,3',4'-七甲氧基黄酮、橙皮素和芒柄花素紫外吸收主要集中在 200~400 nm 波段。在采用紫外扫描法对混合对照品溶液检测时,综合 9 个成分紫外吸收及相关文献,分别采用不同波长对比考察,结果筛选出“2.3”项下建立的色谱条件检测时,灵仙新苷、虎掌草皂甙 D、威灵仙皂甙 C、虎掌草皂苷 B、常春藤皂苷元、齐墩果酸、3,5,6,7,8,3',4'-七甲氧基黄酮、橙皮素、芒柄花素色谱峰信号响应值大、峰对称度好、基线较平。

### 3.3 指标成分的选择

威灵仙主要含有皂苷类、黄酮及多元酚类、木质素类、生物碱类等成分,其中皂苷类和黄酮类为其主要活性成分,灵仙新苷、虎掌草皂甙 D、威灵仙皂甙 C、虎掌草皂苷 B、常春藤皂苷元和齐墩果酸为其皂苷类主要成分,对炎症、动脉粥样硬化及心肌梗死等均具有确切疗效,与游离多糖结合能够发挥抗肿瘤作用<sup>[9]</sup>,灵仙新苷能有效拮抗人肿瘤坏死因子- $\alpha$  诱导的炎症和细胞毒性,发挥抗炎作用<sup>[22]</sup>;齐墩果酸通过缓解炎症过程中产生的一氧化氮,减低对机体正常组织的损害<sup>[23]</sup>;3,5,6,7,8,3',4'-七甲氧基黄酮、橙皮素和芒柄花素为其黄酮类主要成分,具有明显的抗炎镇痛作用<sup>[5]</sup>,橙皮素能够有效治疗以帕金森为代表的迟发性运动障碍疾病<sup>[24]</sup>;芒柄花素可通过磷脂酰肌醇 3-激酶/蛋白激酶 B 通路缓解  $\beta$  淀粉样蛋白诱发的神经细胞损伤<sup>[25]</sup>。故本研究选取上述 9 种化合物作为 HPLC 多指标定量控制成分。

### 3.4 评价结果分析

在建立的 HPLC 条件下,本试验首先进行了 ESM 方法学验证,结果灵仙新苷、虎掌草皂甙 D、威灵仙皂甙 C、虎掌草皂苷 B、常春藤皂苷元、齐墩果酸、3,5,6,7,8,3',4'-七甲氧基黄酮、橙皮素和芒柄花素在各自范围内呈现良好的线性关系 ( $r > 0.999 0$ );精密度和重复性试验结果良好,供试品溶液 24 h 内稳定性;测得各成分的平均加样回收率及 RSD 均符合《中国药典(2020 年版)》四部通则 9101 的要求;分别采用 QAMS 和 ESM 对比了 16 批威灵仙所含灵仙新苷、虎掌草皂甙 D、威灵仙皂甙 C、虎掌草皂苷 B、常春藤皂苷元、齐墩果酸、3,5,6,7,8,3',4'-七甲氧基黄酮、橙皮素和芒柄花素的含量差异,结果 2 种方法未见显著差异,但每一成分批次间存在一定的差异。化学

计量学对 16 批威灵仙中 9 个成分 QAMS 法含量数据的分析中 PCA 得分图显示各批次散点不够集中,验证了各批次间质量差异较大,相邻产区的威灵仙质量较为相近;同时 VIP  $> 1$  的组分有齐墩果酸、威灵仙皂甙 C、灵仙新苷和常春藤皂苷元,表明以上 4 个成分可作为其潜在的质量差异标志物;加权 TOPSIS 法结果显示相对贴近度  $J_b$  值在 0.097 8~0.818 2 之间,表明各批次间威灵仙质量差异较大,其中 S13 批次威灵仙质量最优( $J_b$  值为 0.818 2),江西、福建和湖南产地威灵仙药材的  $J_b$  值高于其他产区,提示江西、福建和湖南产地的威灵仙药材的质量优于其他产区。本研究样品均来源于毛茛科植物威灵仙,样品种属、采集地和采集批次存在一定局限,后续将进一步收集棉团铁线莲和东北铁线莲,开展各评价指标与样品种属间差异研究;扩大威灵仙收集产地和批次,对同一产地不同采收季节样品开展研究,同时收集产地土壤、气候等关键参数,挖掘关键参数与产品内在质量间的关联关系,进一步为威灵仙产品质量提升和道地研究提供数据支持。

### 3.5 小结

本试验建立的威灵仙中多指标成分定量质控方法,简便准确、检验成本小,易推广;化学计量学联合加权 TOPSIS 法可用于威灵仙的质量差异性分析评价,为其资源开发及其道地性研究提供借鉴。

### 参考文献

- 1 许晨新,赵圆圆,李亚俊,等.威灵仙中 5-HMF 含量测定及其来源研究[J].淮阴工学院学报,2020,29(1):64-69.[Xu CX, Zhao YY, Li YJ, et al. Determination and production mechanism of 5-HMF in Clematidis radix using HPLC technique[J]. Journal of Huaiyin Institute of Technology, 2020, 29(1): 64-69.] DOI: 10.3969/j.issn.1009-7961.2020.01.012.
- 2 许晨新,张思访,毛贤贤.不同产地威灵仙的 HPLC 指纹图谱研究[J].广东化工,2022,49(24):80-82,99.[Xu CX, Zhang SF, Mao XX. Study on HPLC fingerprint of Clematidis radix from different habitats[J]. Guangdong Chemical Industry, 2022, 49(24): 80-82, 99.] DOI: 10.3969/j.issn.1007-1865.2022.24.025.
- 3 中国药典 2020 年版.一部[S].2020:262.
- 4 曹玲,崔琳琳,孙艳,等.威灵仙的药理作用及其机

- 制研究进展[J]. 药物评价研究, 2022, 45(11): 2364–2370. [Cao L, Cui LL, Sun Y, et al. Research progress on pharmacological action and mechanism of Clematidis radix et rhizoma[J]. Drug Evaluation Research, 2022, 45(11): 2364–2370.] DOI: [10.7501/j.issn.1674-6376.2022.11.026](https://doi.org/10.7501/j.issn.1674-6376.2022.11.026).
- 5 赵继荣, 杨文通, 陈文, 等. 威灵仙有效化学成分及镇痛机制研究进展[J]. 中华中医药学刊, 2022, 40(9): 9–12. [Zhao JR, Yang WT, Chen W, et al. Research progress on effective chemical constituents and analgesic mechanism of Weilingxian (Clematidis radix et rhizoma)[J]. Chinese Archives of Traditional Chinese Medicine, 2022, 40(9): 9–12.] DOI: [10.13193/j.issn.1673-7717.2022.09.003](https://doi.org/10.13193/j.issn.1673-7717.2022.09.003).
- 6 谭珍媛, 朱秋莲, 邱莉, 等. 威灵仙化学成分、药理作用及机制研究进展[J]. 海峡药学, 2018, 30(6): 1–10. [Tan ZY, Zhu QL, Qiu L, et al. Review on chemical constituents and pharmacological effects of Climatidis radix[J]. Strait Pharmaceutical Journal, 2018, 30(6): 1–10.] DOI: [CNKI:SUN:HAIX.0.2018-06-001](https://doi.org/CNKI:SUN:HAIX.0.2018-06-001).
- 7 罗奎元, 强宇靖, 高慧琴. 威灵仙化学成分及药理作用研究进展[J]. 甘肃中医学院学报, 2015, 32(5): 60–63. [Luo KY, Qiang YJ, Gao HQ. Research progress on chemical composition and pharmacological effects of Clematidis radix et rhizoma[J]. Journal of Gansu University of Chinese Medicine, 2015, 32(5): 60–63.] DOI: [CNKI:SUN:GSZX.0.2015-05-024](https://doi.org/CNKI:SUN:GSZX.0.2015-05-024).
- 8 孙野. 威灵仙地上部分化学成分研究[D]. 哈尔滨: 黑龙江中医药大学, 2021. DOI: [10.27127/d.cnki.ghlzu.2021.000389](https://doi.org/10.27127/d.cnki.ghlzu.2021.000389).
- 9 黄荣, 李松阳, 陈研, 等. 威灵仙有效成分及抗肿瘤机制研究进展[J]. 特产研究, 2023, 45(4): 164–172. [Huang R, Li SY, Chen Y, et al. Research progress on effective chemical constituents and antitumor mechanism of Clematidis radix et rhizoma[J]. Special Wild Economic Animal and Plant Research, 2023, 45(4): 164–172.] DOI: [10.16720/j.cnki.tcyj.2023.132](https://doi.org/10.16720/j.cnki.tcyj.2023.132).
- 10 蒋叶珂, 陈燕, 潘凌宇, 等. 基于网络药理学和分子对接探究威灵仙治疗类风湿性关节炎的作用机制[J]. 山东科学, 2022, 35(6): 42–49. [Jiang YK, Chen Y, Pan LY, et al. Mechanism of Clematidis radix rhizoma in the treatment of rheumatoid arthritis based on network pharmacology and molecular docking[J]. Shandong Science, 2022, 35(6): 42–49.] DOI: [10.3976/j.issn.1002-4026.2022.06.006](https://doi.org/10.3976/j.issn.1002-4026.2022.06.006).
- 11 付强, 王萍, 杜宇凤, 等. 威灵仙化学成分及其药理活性最新研究进展[J]. 成都大学学报(自然科学版), 2018, 37(2): 113–119. [Fu Q, Wang P, Du YF, et al. Latest research progression chemical constituents of Radix clematidis et rhizoma and their pharmacological effects[J]. Journal of Chengdu University (Natural Science Edition), 2018, 37(2): 113–119.] DOI: [10.3969/j.issn.1004-5422.2018.02.001](https://doi.org/10.3969/j.issn.1004-5422.2018.02.001).
- 12 甘露, 任振堃, 叶彪, 等. 威灵仙不同提取物的抗炎、镇痛、平痉作用[J]. 华西药学杂志, 2020, 35(2): 179–182. [Gan L, Ren ZK, Ye B, et al. Anti-inflammatory, analgesic and antispasmodic effects of different extracts of Clematis hexapetale[J]. West China Journal of Pharmaceutical Science, 2020, 35(2): 179–182.] DOI: [10.13375/j.cnki.wcejps.2020.02.015](https://doi.org/10.13375/j.cnki.wcejps.2020.02.015).
- 13 Lin TF, Wang L, Zhang Y, et al. Uses, chemical compositions, pharmacological activities and toxicology of Clematidis radix et rhizome—a review[J]. J Ethnopharmacol, 2021, 270: 113831. DOI: [10.1016/j.jep.2021.113831](https://doi.org/10.1016/j.jep.2021.113831).
- 14 张苇苇. GC 同时测定威灵仙中棕榈酸和亚油酸的含量[J]. 中国处方药, 2021, 19(2): 35–37. [Zhang WW. Simultaneous determination of palmitic acid and linoleic acid in Clematis by GC[J]. Journal of China Prescription Drug, 2021, 19(2): 35–37.] DOI: [10.3969/j.issn.1671-945X.2021.02.015](https://doi.org/10.3969/j.issn.1671-945X.2021.02.015).
- 15 石欢, 封燮, 常雅晴, 等. 基于多成分含量测定和化学计量学的不同基原白芷药材质量评价研究[J]. 中草药, 2023, 54(11): 3676–3684. [Shi H, Feng X, Chang YQ, et al. Quality evaluation of Angelicae dahuricae radix based on quantitative analysis of multi-component determination and chemometrics[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2023, 54(11): 3676–3684.] DOI: [10.7501/j.issn.0253-2670.2023.11.029](https://doi.org/10.7501/j.issn.0253-2670.2023.11.029).
- 16 马灵珍, 纪东汉, 鞠康, 等. 基于多指标成分结合 EW-TOPSIS 法的盐车前子综合质量评价[J]. 天然产物研究与开发, 2022, 34(8): 1361–1373. [Ma LZ, Ji DH, Ju K, et al. Comprehensive quality evaluation of salt-processed Plantaginis semen based on multi-index components combined with EW-TOPSIS method[J]. Natural Product Research and Development, 2022, 34(8): 1361–1373.] DOI: [10.16333/j.1001-6880.2022.8.012](https://doi.org/10.16333/j.1001-6880.2022.8.012).
- 17 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. [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]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2023, 54(24): 8077–8085.] DOI: [10.7501/j.issn.0253-2670.2023.24.012](https://doi.org/10.7501/j.issn.0253-2670.2023.24.012).
- 18 沈洁, 王琴, 熊维建, 等. HPLC-一测多评法测定参芪延肾颗粒中淫羊藿药材中的6个黄酮类成分的含量[J]. 中国药房, 2019, 30(17): 2327–2331. [Shen J, Wang Q, Xiong WJ, et al. Content determination of 6 flavonoids in Epimedium brevicornu from Shenqi Yanshen granules based on HPLC-QAMS[J]. China Pharmacy, 2019, 30(17): 2327–2331.] DOI: [10.6039/j.issn.1001-0408.2019.17.05](https://doi.org/10.6039/j.issn.1001-0408.2019.17.05).
- 19 中国药典 2020年版. 四部[S]. 2020: 232, 234.
- 20 肖会敏, 杨旭, 黄新文, 等. 基于HPLC指纹图谱及多成分含量的化学模式识别法评价小血藤质量[J]. 西北药学杂志, 2022, 37(5): 1–7. [Xiao HM, Yang X, Huang XW, et al. Quality evaluation of Schisandra propinqua var. sinensis based on HPLC finger print and multi-component content determination[J]. Northwest Pharmaceutical Journal, 2022, 37(5): 1–7.] DOI: [10.3969/j.issn.1004-2407.2022.05.001](https://doi.org/10.3969/j.issn.1004-2407.2022.05.001).
- 21 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. [Ma TX, Gu ZR, Xu AX, et al. Identification and comprehensive quality evaluation of Cynomorium songaricum in different producing areas based on OPLS combined with entropy weight TOPSIS method[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2020, 51(12): 3284–3291.] DOI: [10.7501/j.issn.0253-2670.2020.12.021](https://doi.org/10.7501/j.issn.0253-2670.2020.12.021).
- 22 Xiong Y, Ma Y, Kodithuwakku ND, et al. Protective effects of Clematicininoside AR against inflammation and cytotoxicity induced by human tumor necrosis factor- $\alpha$ [J]. Int Immunopharmacol, 2019, 75: 105563. DOI: [10.1016/j.intimp.2019.04.010](https://doi.org/10.1016/j.intimp.2019.04.010).
- 23 万晓莉. 齐墩果酸药理作用的研究进展[J]. 黔南民族医专学报, 2023, 36(1): 73–75. [Wan XL. Research progress in pharmacological action of oleanolic acid[J]. Journal of Qiannan Medical College for Nationalities, 2023, 36(1): 73–75.] DOI: [10.3321/j.issn:1001-5213.2008.23.021](https://doi.org/10.3321/j.issn:1001-5213.2008.23.021).
- 24 Yao K, Mu QC, Zhang YF, et al. Hesperetin nanoparticle targeting neutrophils for enhanced TBI therapy[J]. Adv Funct Mater, 2022, 32(43): 1–9. DOI: [10.1002/adfm.202270245](https://doi.org/10.1002/adfm.202270245).
- 25 Li L, Wang y, Wang X, et al. Formononetin attenuated allergic diseases through inhibition of epithelial-derived cytokines by regulating e-cadherin[J]. Clin Immunol, 2018, 195: 67–76. DOI: [10.1016/j.clim.2018.07.018](https://doi.org/10.1016/j.clim.2018.07.018).

收稿日期: 2024年06月21日 修回日期: 2024年08月16日  
本文编辑: 钟巧妮 李阳