

基于一测多评法的不同药材中 6 个环烯醚萜苷类成分的含量测定研究

申凤霞^{1,2}, 马云^{1,2}, 李倩^{1,2},

李蔚群^{1,2}, 孙艳^{1,2}, 沈素芹^{1,2}, 姜佳峰^{2*}, 范建伟^{1,2*}

¹鲁南制药集团股份有限公司 经方与现代中药融合创新全国重点实验室; ²鲁南厚普制药有限公司 中药制药共性技术山东省工程研究中心, 临沂 276006

摘要: 基于一测多评法建立同时测定栀子、山茱萸、胡黄连、玄参 4 种药材中莫诺苷、栀子苷、马钱苷、胡黄连苷II、胡黄连苷I和哈巴俄苷 6 个环烯醚萜苷类成分的含量测定方法。采用超高效液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱 (UPLC-Q-Exactive Orbitrap-MS) 技术确定栀子等 4 种药材中各环烯醚萜苷类成分的专属性; 采用高效液相色谱 (HPLC) 法, 以栀子苷为内参照物, 采用多点校正法, 计算得莫诺苷、马钱苷、胡黄连苷II、胡黄连苷I、哈巴俄苷 5 个待测组分的相对校正因子, 建立一测多评 (quantitative analysis of multi-components by single-marker, QAMS) 含量测定方法, 并与外标法 (external standard method, ESM) 实测值进行比较。通过多点校正法计算得到莫诺苷、马钱苷、胡黄连苷II、胡黄连苷I、哈巴俄苷的相对校正因子分别为 0.894 8、1.096 8、1.284 9、1.700 8、1.405 1, QAMS 与 ESM 测定值无显著差异, 相对标准偏差小于 1.0%。基于一测多评法建立了一种同时测定栀子中栀子苷、山茱萸中莫诺苷和马钱苷、胡黄连中胡黄连苷II和胡黄连苷I以及玄参中哈巴俄苷 6 个环烯醚萜苷类成分的含量测定方法, 该方法准确、可行, 可用于栀子、山茱萸、胡黄连、玄参药材的质量评价, 并为其他药材质量评价提供参考。

关键词: 环烯醚萜; 一测多评; 相对校正因子; 含量测定

中图分类号: R284

文献标识码: A

Content determination of six iridoid glycosides in different medicinal materials by QAMS method

SHEN Feng-xia^{1,2}, MA Yun^{1,2}, LI Qian^{1,2},

LI Wei-qun^{1,2}, SUN Yan^{1,2}, SHEN Su-qin^{1,2}, JIANG Jia-feng^{2*}, FAN Jian-wei^{1,2*}

¹State Key Laboratory of Integration and Innovation of Classic Formula and Modern Chinese Medicine, Lunan Pharmaceutical Group Co., Ltd.; ²Shandong Engineering Research Center of Generic Manufacture Technology of Traditional Chinese Medicine, Lunan Hope Pharmaceutical Co., Ltd., Linyi 276006, China

Abstract: Based on the concept of "quantitative analysis of multi-components by single-marker", this study aims to establish a method for simultaneously determining the content of six cyclic terpenoid glycosides, namely

morroniside, gardenoside, loganin, picroside II, picroside I, and harpagoside, in four medicinal materials: Gardeniae Fructus, Corni Fructus, Picrorhizae Rhizoma, and Scrophulariae Radix. The specificity of each iridoid glycoside in four medicinal herbs were determined using ultra-high performance liquid chromatography coupled with quadrupole/electrostatic field orbitrap high-resolution mass spectrometry (UPLC-Q-Exactive Orbitrap-MS) technology. For the high-performance liquid chromatography (HPLC) method, gardenoside served as the internal reference, and a multi-point calibration method was utilized to calculate the relative correction factors for five components to be tested, namely quantitative analysis of multi-components by single-marker (QAMS), morroniside, loganin, picroside II, picroside I, and harpagoside. A quantitative analysis of multi-components by QAMS method was established and compared with the measured values obtained using the external standard method (ESM). The relative correction factors for morroniside, loganin, picroside II, picroside I, and harpagoside were calculated using the multi-point calibration method, with values of 0.8948, 1.0968, 1.2849, 1.7008 and 1.4051, respectively. There was no significant difference in QAMS and ESM measurements, The relative standard deviation is less than 1.0%. Based on the concept of "quantitative analysis of multi-components by single-marker", a method for simultaneously determining the content of six cyclic terpenoid glycosides, including gardenoside in Gardeniae Fructus, morroniside and loganin in Corni Fructus, picroside II and picroside I in Picrorhizae Rhizoma, and harpagoside in Scrophulariae Radix, has been established. This method is accurate and feasible, and can be used for the quality evaluation of Gardeniae Fructus, Corni Fructus, Picrorhizae Rhizoma, and Scrophulariae Radix, which provides a reference for the quality evaluation of other medicinal materials.

Key words: iridoids; quantitative analysis of multi-components by single marker; relative correction factor; content determination

中药是由多种化学物质组成的复合体,其化学成分相对复杂。正因中药化学成分的复杂性,以多指标成分的同时测定对其进行质量评价显得尤为全面且科学^[1]。环烯醚萜苷类成分(iridoids)作为植物界常见的一类特殊单萜化合物,广泛存在于茜草科、玄参科、唇形科、龙胆科、木犀科等双子叶植物中^[2]。该类成分作为一类具有重要生物活性的天然化合物,具有抗炎、抗氧化、抗肿瘤等多种药理作用,如栀子中栀子苷可抑制炎症介质释放,减轻炎症反应,对于关节炎、哮喘、肠炎等炎症性疾病具有一定的治疗作用^[3];山茱萸中莫诺苷、马钱苷可降低空腹血糖水平,对糖尿病及其并发症具有改善作用^[4];胡黄连中胡黄连苷I、胡黄连苷II通过参与炎症反应,抑制氧化应激来保护肝脏免受药物酒精等物质的损害,具有保肝利胆的作用^[5];玄参中哈巴俄苷可清除端基自由基,减轻细胞应激损伤,具有保护心肌细胞的作用^[6]。此外,上述栀子苷、莫诺苷等6种环烯醚萜苷类成分,亦均为2020年版《中

华人民共和国药典》中各相应药材项下规定质控指标成分，对其进行定量检测和评价，对于从源头控制药材质量，确保成品质量和临床用药安全有效均具有重要意义。

目前，针对单一药材中多个环烯醚萜类成分进行同时测定，相关文献报道较多，特别是王智民等^[7]通过适用数学函数系统地建立的“一测多评”法（quantitative analysis of multi-components by single-marker, QAMS），实现了用单一对照品同步测定中药中多个成分的含量，具有节约实验成本，缩短检测时间等突出优势^[8]。此外，Sun 等^[9]基于相同理念，建立了《中药标准物质替代测定法技术指导原则》，并从方法的定义与分类、定量原理与方法、色谱峰的定位与确认、技术要求 4 个方面进行了系统论述。然而相关研究更多地集中在单一药材或中成药上，迄今未见有针对不同药材中结构母核相似的多个化学成分同时测定的文献报道。

鉴于一测多评法在同时测定中药复方中结构母核相似的多个化学成分的技术特点和适用性，那么通过将中药复方“还原”为若干单味药材，并通过一测多评法对这些药材进行定量分析是可行的。为此，本研究以含有环烯醚萜苷类成分的栀子、胡黄连、玄参、山茱萸 4 味药材为研究载体，基于“一测多评”理念，结合测量经济性、便捷性和高效性要求，拟以栀子苷为内标物，建立了一种同时测定栀子中栀子苷、山茱萸中莫诺苷和马钱苷、胡黄连中胡黄连苷II和胡黄连苷I以及玄参中哈巴俄苷 6 个环烯醚萜苷类成分的含量测定方法，借此达到简化检测操作和降低检测成本之目的，并为栀子、山茱萸、胡黄连、玄参的质量控制提供参考。

1 仪器与试药

1.1 仪器

Vanquish 系列高效液相色谱仪（美国赛默飞世尔公司）；Q-Exactive 四极杆/静电轨道阱高分辨质谱系统（美国赛默飞世尔公司）；Agilent 1260 高效液相色谱仪（美国安捷伦科技有限公司）；Waters e2695-2998PAD 高效液相色谱仪（美国沃特世科技有限公司）；ME204T/02 万分之一天平（瑞士梅特勒-托利多公司）。

1.2 试剂与样品

栀子苷（批号：110749-201919，含量 97.1%）、莫诺苷（批号：111998-202104，含量 96.8%）、马钱苷（批号 111640-201808，含量 99.0%）、胡黄连苷II（批号：111596-201805，含量 93.2%）、胡黄连苷I（批号：111727-201702，含量 95.6%）、哈巴俄苷（批号：111730-201709，含量 95.9%）对照品均购自中国食品药品检定研究院；乙腈、甲醇（色谱纯，美国 Merck 公司）；磷酸、甲醇（分析纯，南京化学试剂股份有限公司）；水为超纯水，其他试剂均为

分析纯。

山茱萸、栀子、胡黄连、玄参药材饮片均由鲁南厚普制药有限公司提供，并由经方与现代中药融合创新全国重点实验室范建伟正高级工程师鉴定，均符合 2020 年版《中华人民共和国药典》中山茱萸、栀子、胡黄连、玄参各药材项下规定。取各药材饮片，粉碎，过筛（80 目），备用。

2 方法与结果

2.1 质谱条件

电喷雾离子源（HESI），正离子模式，扫描模式为 Full MS/dd-MS²，Full MS 扫描质量范围为 m/z 100~1 500，分辨率为 70 000，MS² 扫描分辨率为 17 500，辅助气流速 35 arb，鞘气流速 10 arb，毛细管温度 350 °C，辅助气温度 350 °C，雾化电压 3.0 kV，碰撞能量梯度为 20、30、40 eV。

2.2 色谱条件

色谱柱：Agilent ZORBAX SB-C₁₈ 色谱柱（4.6 mm×250 mm，5 μm）；流动相 A 为 0.2% 磷酸水溶液，流动相 B 为乙腈，梯度洗脱（0~5 min，5%→5%B；5~15 min，5%→10%B；15~20 min，10%→11%B；20~30 min，11%→17%B；30~55 min，17%→20%B；55~70 min，20%→25%B；70~75 min，25%→28%B；75~80 min，28%→50%B；80~85 min，50%→50%B；85~90 min，50%→5%B；90~100 min，5%→5%B）；检测波长：250 nm；流速：1 mL/min；柱温：25 °C；进样量：5 μL。

2.3 对照品溶液的制备

精密称取莫诺昔、栀子昔、马钱昔、胡黄连昔II、胡黄连昔I和哈巴俄昔对照品各适量，分别置于不同量瓶中，加甲醇溶解，定容，得到质量浓度依次为 0.106 3、4.388 9、0.370 1、0.856 3、3.801 1、0.481 8 mg/mL 的单一对照品储备液。取上述各对照品储备液，置于同一量瓶中，配制成莫诺昔、栀子昔、马钱昔、胡黄连昔II、胡黄连昔I、哈巴俄昔浓度依次为 0.015 4、0.076 8、0.012 0、0.171 3、0.057 0、0.031 3 mg/mL 的混合对照品溶液。

2.4 供试品溶液的配制

取“1.2”项下备用药材粉末，其中栀子 0.1 g、山茱萸 0.1 g、胡黄连 0.1 g、玄参 1 g，精密称定，置具塞锥形瓶中，精密加入甲醇 50 mL，称重，超声处理（250 W，30 min），再次称重并补重，摇匀，离心，取上清液，0.22 μm 微孔滤膜滤过，取续滤液即得。

2.5 方法学考察

2.5.1 专属性试验

精密吸取“2.3 和 2.4”项下单一对照品溶液、供试品溶液各 2 μL 注入高效液相色谱仪，按“2.1”项下质谱条件进行检测，结果见图 1。结合各色谱峰的相对保留时间，鉴定 1 号色谱峰为栀子特征峰；2、3 号色谱峰为山茱萸特征峰；4、5 号色谱峰为胡黄连特征峰；6 号色谱峰为玄参特征峰。

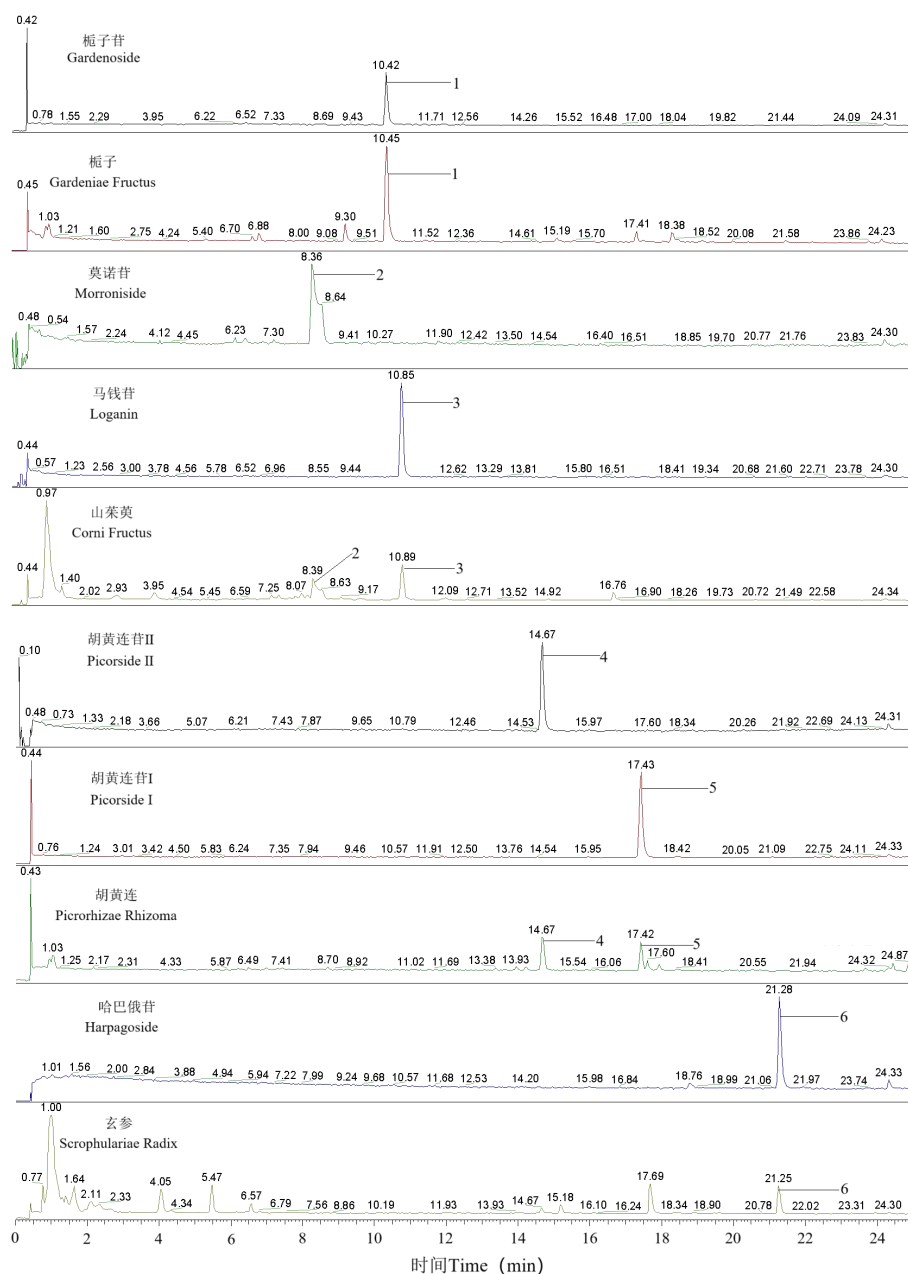


图 1 6 种对照品和 4 种药材样品总离子流色谱图

Fig. 1 Total ion chromatogram of six reference substances and four medicinal material samples

注：1. 栀子苷；2. 莫诺苷；3. 马钱苷；4. 胡黄连苷 II；5. 胡黄连苷 I；6. 哈巴俄苷。

Note: 1. Gardenoside; 2. Morroniside; 3. Loganin; 4. Picorside II; 5. Picorside I; 6. Harpagoside.

2.5.2 系统适用性试验

取“2.3 和 2.4”项下混合对照品溶液、供试品溶液，按“2.1”项下色谱条件进样测定，在当前色谱条件下，样品中 6 个待测成分的色谱峰峰形及分离效果良好，对照品及样品的色谱图见图 2。在本研究中，对空白溶剂进行了系统的检测分析，结果显示，空白溶剂的液相色谱图中未观察到任何显著的色谱峰，基线平稳且无明显波动，这表明空白溶剂本身对检测结果无干扰，符合实验要求。

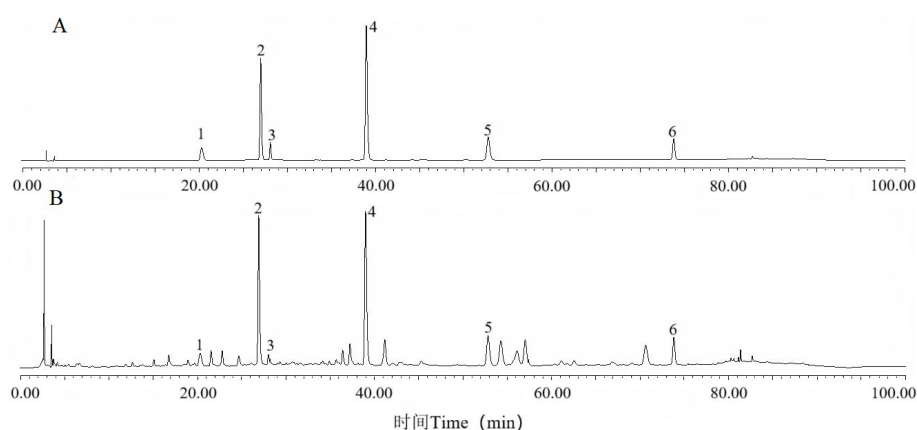


图 2 混合对照品溶液 (A) 和供试品溶液的 HPLC 图

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

注：1.莫诺昔；2.梔子昔；3.马钱昔；4.胡黄连昔II；5.胡黄连昔I；6.哈巴俄昔。

Note: 1. Morroniside; 2. Gardenoside; 3. Loganin; 4. Picorside II; 5. Picorside I; 6. Harpagoside.

2.5.3 线性关系考察

精密吸取混合对照品溶液 2、4、5、6、8、10 μL ，按“2.2”项下色谱条件分别进样。以峰面积为纵坐标 (Y)，进样量为横坐标 (X) 进行线性拟合，得到莫诺昔、梔子昔、马钱昔、胡黄连昔II、胡黄连昔I、哈巴俄昔此 6 种成分的回归方程，莫诺昔、梔子昔、马钱昔、胡黄连昔II、胡黄连昔I、哈巴俄昔在各自线性范围内线性关系良好，结果见表 1。

表 1 6 个环烯醚萜类成分的线性关系

Table 1 Linear relationship of six cyclohexene ether terpene components

成分	回归方程	R^2	线性范围
Component	Regression equation		Linearity range (μg)
莫诺昔 Morroniside	$Y=1.328\ 301\times 10^6X-6\ 908$	0.999 8	0.030 80~0.154 1
梔子昔 Gardenoside	$Y=1.177\ 439\times 10^6X-26\ 614$	0.999 8	0.153 6~0.768 1
马钱昔 Loganin	$Y=1.077\ 813\times 10^6X-3\ 995$	0.999 8	0.024 10~0.120 3

胡黄连苷II Picorside II	$Y=9.15581 \times 10^5 X - 45609$	0.9998	0.3425~1.7126
胡黄连苷I Picorside I	$Y=6.95475 \times 10^5 X - 12460$	0.9999	0.1140~0.5702
哈巴俄苷 Harpagoside	$Y=8.38164 \times 10^5 X - 7755$	0.9998	0.06260~0.3132

2.5.4 精密度试验

取混合对照品溶液，按照“2.2”项下色谱条件连续进样6次，记录峰面积并分析。结果显示莫诺苷、栀子苷、马钱苷、胡黄连苷II、胡黄连苷I、哈巴俄苷的平均峰面积相对标准偏差（relative standard deviation, RSD）均小于2.0%，表明仪器精密度良好。

2.5.5 稳定性试验

称取“1.2”项下备用药材粉末，按照“2.4”项下供试品溶液的配制制备供试品溶液，分别在0、2、4、8、12、24 h，按照“2.2”项下色谱条件分别进样，测定莫诺苷、栀子苷、马钱苷、胡黄连苷II、胡黄连苷I、哈巴俄苷峰面积，结果显示6个环烯醚萜类成分的峰面积RSD均小于2.0%，表明供试品溶液在24 h内测定结果稳定。

2.5.6 重复性试验

重复称取“1.2”项下备用药材粉末6份，按照“2.4”项下供试品溶液的配制制备供试品溶液，按照“2.2”项下色谱条件分别进样，测定莫诺苷、栀子苷、马钱苷、胡黄连苷II、胡黄连苷I、哈巴俄苷峰面积，结果显示6个环烯醚萜类成分的峰面积RSD均小于2%。表明该方法的重复性良好。

2.5.7 加样回收率试验

重复称取“1.2”项下备用药材粉末6份，山茱萸、栀子、胡黄连、玄参称样量分别为0.05、0.05、0.05、0.5 g，分别加入莫诺苷、栀子苷、马钱苷、胡黄连苷II、胡黄连苷I、哈巴俄苷对照品，按照“2.4”项下供试品溶液的配制制备供试品溶液，按“2.2”项下色谱条件分别进样，记录峰面积，计算莫诺苷、栀子苷、马钱苷、胡黄连苷II、胡黄连苷I、哈巴俄苷平均回收率RSD（见表2）。

表2 6种环烯醚萜类成分回收率

Table 2 Recovery rate of six iridoid components

成分 Component	序号 No.	原有量	加入量	测得量	回收率	平均回收率 Average (%)	RSD (%)
		Original quantity (mg)	Added quantity (mg)	Measured quantity (mg)	Recovery rate (%)		

莫诺昔 Morroniside	1	0.373 2	0.4	0.767 1	98.46	98.71	0.27
	2	0.374 7	0.4	0.769 8	98.77		
	3	0.377 7	0.4	0.774 3	99.15		
	4	0.375 5	0.4	0.769 7	98.56		
	5	0.376 2	0.4	0.771 5	98.82		
	6	0.376 2	0.4	0.770 2	98.49		
栀子苷 Gardenoside	1	2.398 3	2.4	4.796 5	99.93	99.87	0.21
	2	2.374 7	2.4	4.761 8	99.46		
	3	2.393 5	2.4	4.793 8	100.0		
	4	2.398 3	2.4	4.796 4	99.92		
	5	2.388 8	2.4	4.787 7	99.95		
	6	2.384 1	2.4	4.783 3	99.97		
马钱苷 Loganin	1	0.275	0.3	0.572 4	99.12	98.88	0.67
	2	0.276 1	0.3	0.571 5	98.45		
	3	0.278 3	0.3	0.578 6	100.1		
	4	0.276 7	0.3	0.571 6	98.30		
	5	0.277 2	0.3	0.572 8	98.52		
	6	0.277 2	0.3	0.573 6	98.79		
胡黄连苷II Picorside II	1	4.216 5	4	8.221 5	100.1	99.96	0.090
	2	4.191 5	4	8.186 1	99.87		
	3	4.224 8	4	8.222 3	99.94		
	4	4.233 2	4	8.231 8	99.97		
	5	4.224 8	4	8.223 2	99.96		
	6	4.174 8	4	8.170 5	99.89		
胡黄连苷I Picorside I	1	1.629 3	1.5	3.127 1	99.85	99.91	0.20
	2	1.619 7	1.5	3.121 2	100.1		
	3	1.632 5	1.5	3.127 7	99.68		
	4	1.635 8	1.5	3.134 6	99.92		
	5	1.6325	1.5	3.1283	99.72		

哈巴俄昔 Harpagoside	6	1.6132	1.5	3.1157	100.2	99.13	0.55
	1	0.8615	0.8	1.6572	99.46		
	2	0.8602	0.8	1.6499	98.72		
	3	0.8603	0.8	1.6487	98.54		
	4	0.8612	0.8	1.6545	99.16		
	5	0.8603	0.8	1.6512	98.86		
	6	0.8615	0.8	1.6616	100.0		

2.6 一测多评法的建立

2.6.1 相对校正因子 ($f_{s/i}$) 的计算

取“2.3”项下的混合对照品溶液，按“2.2”项下色谱条件分别进样 2、4、5、6、8、10 μL ，以槲子苷为内参物，按下列公式分别计算莫诺昔、马钱昔、胡黄连昔II、胡黄连昔I、哈巴俄昔的相对校正因子 ($f_{s/i}$)，结果见表 3。

$$f_{s/i} = \frac{f_s}{f_i} = \frac{A_s/C_s}{A_i/C_i}$$

公式中的 A_s 为内参物 (s) 峰面积， C_s 为内参物浓度， A_i 为待测成分 (i) 峰面积， C_i 为某待测成分浓度。

表 3 6 种成分相对校正因子计算结果

Table 3 Relative correction factors of the six components

进样量 Injection volume (μL)	相对校正因子 Relative correction factor				
	莫诺昔 Morrnonside	马钱昔 Loganin	胡黄连昔 II Picorside II	胡黄连昔 I Picorside I	哈巴俄昔 Harpagoside
2	0.897 3	1.110 0	1.283 8	1.704 9	1.406 3
4	0.894 7	1.089 0	1.282 6	1.711 7	1.396 9
5	0.901 3	1.097 2	1.285 5	1.697 3	1.413 8
6	0.895 0	1.095 5	1.285 5	1.695 5	1.403 2
8	0.892 4	1.095 2	1.287 4	1.700 2	1.406 3
10	0.888 3	1.093 9	1.284 5	1.695 4	1.404 0
平均值 Average	0.894 8	1.096 8	1.284 9	1.700 8	1.405 1
RSD (%)	0.491 1	0.642 0	0.128 5	0.376 9	0.390 6

2.6.2 不同仪器及色谱柱对相对校正因子的影响

本实验分别考察了不同品牌的色谱仪器（Waters e2695 和 Agilent 1260），不同厂家色谱柱（AgilentZORBAXSB-C₁₈、Diamonsil C₁₈、AkzoNobel Kromasil C₁₈，均为 250 mm×4.6 mm，5 μm）对各待测组分相对校正因子的影响，结果见表 4，其 RSD 均小于 2.0%，结果表明更换仪器或色谱柱对各成分的 f_{ri} 无显著影响，具有较好的适用性。

表 4 不同仪器、色谱柱对相对校正因子的影响

Table 4 Effects of different instruments and chromatography columns on relative correction factors

仪器 Instrument	色谱柱 Chromatographic column	相对校正因子 Relative correction factor				
		莫诺昔 Morróniside	马钱昔 Loganin	胡黄连昔II Picorside II	胡黄连昔I Picorside I	哈巴俄昔 Harpagoside
Waters e2695	AgilentZORBAXSB-C ₁₈	0.903 0	1.088 1	1.287 4	1.720 7	1.407 7
	Diamonsil C ₁₈	0.896 4	1.105 6	1.273 4	1.710 8	1.417 7
	AkzoNobel Kromasil C ₁₈	0.902 3	1.106 7	1.274 1	1.703 3	1.405 1
Agilent 1260	AgilentZORBAXSB-C ₁₈	0.912 5	1.082 7	1.269 9	1.710 6	1.390 4
	Diamonsil C ₁₈	0.883 1	1.057 7	1.286 3	1.714 1	1.423 5
	AkzoNobel Kromasil C ₁₈	0.891 3	1.081 1	1.287 0	1.708 8	1.410 2
	平均值 Average	0.898 1	1.087 0	1.279 7	1.711 4	1.409 1
	RSD (%)	1.135 7	1.665 1	0.625 1	0.338 9	0.809 0

2.6.3 待测成分色谱峰的定位

本试验采用相对保留时间法定位，精密吸取“2.3”项下的混合对照品溶液，按“2.2”项下色谱条件，以梔子昔为内参物，计算其他 5 种环烯醚萜类成分的相对保留值，考察不同品牌的色谱仪器（Waters e2695 和 Agilent 1260），不同厂家色谱柱（AgilentZORBAXSB-C₁₈、Diamonsil C₁₈、AkzoNobel Kromasil C₁₈，均为 250 mm×4.6 mm，5 μm）对各待测组分相对校正因子的影响所测得的莫诺昔、马钱昔、胡黄连昔II、胡黄连昔I和哈巴俄昔与内参物梔子昔的相对保留值。结果见表 5，可知 RSD 小于 2.0%，表明采用相对保留时间定位法对待测成分色谱峰进行准确定位是可行的。

表 5 各成分相对保留值

Table 5 Relative retention values of each component

仪器	色谱柱型号	相对保留时间 Relative retention time
----	-------	--------------------------------

Instrument	Chromatographic column	莫诺昔	马钱昔	胡黄连昔II	胡黄连昔I	哈巴俄昔
		Morrnonside	Loganin	Picorside II	Picorside I	Harpagoside
Waters e2695	AgilentZORBAX SB-C ₁₈	0.752 6	1.043 9	1.445 3	1.954 4	2.735 2
	Diamonsil C ₁₈	0.759 1	1.038 2	1.426 2	1.933 4	2.698 1
	AkzoNobel Kromasil C ₁₈	0.770 2	1.049 1	1.455 6	1.972	2.756 9
Agilent 1260	AgilentZORBAXSB-C ₁₈	0.763 4	1.054 5	1.464 5	1.984 5	2.776 1
	Diamonsil C ₁₈	0.750 9	1.043 9	1.428 7	1.936 1	2.704 8
	AkzoNobel Kromasil C ₁₈	0.765 6	1.040 7	1.444 2	1.956 7	2.736 1
	平均值 Average	0.760 3	1.043 9	1.445 3	1.954 4	2.735 2
	RSD (%)	0.993	0.565	1.03	1.02	1.09

2.6.4 一测多评法与外标法结果比较

采用外标法 (external standard method, ESM) 和 QAMS 分别测定 10 批栀子、山茱萸、胡黄连、玄参中莫诺昔、栀子昔、马钱昔、胡黄连昔II、胡黄连昔I、哈巴俄昔 6 种环烯醚萜类成分的含量 (见表 6), 结果表明两种方法测得的环烯醚萜类成分的含量无明显差异 (RSD 小于 1.0%)。

表 6 一测多评法与外标法含量测定结果

Table 6 Determination results of quantitative analysis of multi-components by single-marker and external standard

样品 Sample	方法 Method	含量 Content (mg/g)					
		栀子昔	莫诺昔	马钱昔	胡黄连昔II	胡黄连昔I	哈巴俄昔
		Gardenoside	Morrnonside	Loganin	Picorside II	Picorside I	Harpagoside
1	ESM	48.84	7.44	5.53	84.03	34.69	1.74
	QAMS	-	7.38	5.52	83.99	34.76	1.72
	RSD (%)	-	0.57	0.13	0.03	0.14	0.82
2	ESM	48.48	7.41	5.29	83.06	33.02	1.78
	QAMS	-	7.36	5.28	83.02	33.09	1.77
	RSD (%)	-	0.48	0.13	0.03	0.15	0.4
3	ESM	48.70	7.48	5.14	84.96	32.79	1.73
	QAMS	-	7.43	5.14	84.92	32.86	1.72

	RSD (%)	-	0.47	0	0.03	0.15	0.41
	ESM	48.84	7.42	5.39	83.71	33.05	1.72
4	QAMS	-	7.37	5.39	83.67	33.12	1.71
	RSD (%)	-	0.48	0	0.03	0.15	0.41
	ESM	48.59	7.48	5.65	84.05	32.72	1.71
5	QAMS	-	7.42	5.65	84.01	32.79	1.7
	RSD (%)	-	0.57	0	0.03	0.15	0.41
	ESM	48.91	7.43	5.42	82.77	31.48	1.76
6	QAMS	-	7.38	5.42	82.73	31.54	1.75
	RSD (%)	-	0.48	0	0.03	0.13	0.4
	ESM	48.31	7.47	5.56	84.16	33.14	1.74
7	QAMS	-	7.42	5.56	84.12	33.21	1.73
	RSD (%)	-	0.47	0	0.03	0.15	0.41
	ESM	48.55	7.41	5.45	83.15	31.91	1.71
8	QAMS	-	7.36	5.45	83.11	31.98	1.7
	RSD (%)	-	0.48	0	0.03	0.15	0.41
	ESM	48.57	7.41	5.44	85.12	32.97	1.75
9	QAMS	-	7.35	5.44	85.08	33.04	1.74
	RSD (%)	-	0.57	0	0.03	0.15	0.4
	ESM	48.72	7.42	5.21	85.16	33.8	1.73
10	QAMS	-	7.36	5.21	85.12	33.87	1.71
	RSD (%)	-	0.57	0	0.03	0.15	0.82

3 讨论与结论

本实验考察了提取方法（超声提取、回流提取）、提取时间（15、30、60 min）提取溶剂（50%甲醇、纯甲醇、50%乙醇及95%乙醇），以莫诺苷、栀子苷、马钱苷、胡黄连苷II、胡黄连苷I、哈巴俄苷6种环烯醚萜类成分的含量为评价指标，最终优选出提取溶剂为纯甲醇，提取方法为超声提取，提取时间为30 min。根据文献^[10]调研结合全波长（210~400 nm）扫描结果，选择250 nm为检测波长，在此波长下，6个环烯醚萜类成分均有较好的吸收。选择乙腈-磷酸作为流动相^[11]，继而考察流动相比例，分别考察了乙腈-0.04%磷酸水溶液、

乙腈-0.1%磷酸水溶液、乙腈-0.2%磷酸水溶液，结果显示流动相比比例为乙腈-0.2%磷酸水溶液时，能够获得较好的色谱峰峰形，且色谱峰的分​​离效果也最好，故选用乙腈-0.2%磷酸水溶液作为流动相。液相柱温和流速的选择需综合考虑样品特性和分离效果，以保证分析的准确性和可靠性，优选出柱温 25 °C、流速 1 mL/min，此条件下能够获得较好的色谱峰峰形及分离效果。梔子苷性质稳定，在供试品溶液中含​​量较多，价格低廉，因此选其作为内参物。考察不同厂家色谱柱（Agilent ZORBAX SB-C₁₈、Diamonsil C₁₈、Akzo Nobel Kromasil C₁₈，均为 250 mm×4.6 mm，5 μm）对测定结果的影响，结果显示以上三种色谱柱均有较好的分离度和峰形，且相对校正因子的 RSD 均小于 2%，表明本实验所得校正因子具有较好的适用性。

上述研究中，借助 QAMS 定量分析方法，以梔子苷为内参物，建立了梔子、山茱萸、胡黄连、玄参中 6 个环烯醚萜类成分莫诺苷、梔子苷、马钱苷、胡黄连苷 II、胡黄连苷 I、哈巴俄苷的同时测定方法，莫诺苷、马钱苷、胡黄连苷 II、胡黄连苷 I、哈巴俄苷的相对校正因子 $f_{s/i}$ 分别为 0.491 1、0.642 0、0.1285、0.376 9、0.390 6，多批次含量检测验证显示 QAMS 检测结果与 ESM 检测结果无显著差异。结果表明该方法操作简便高效，减少试剂试药的消耗，节约成本；此方法的建立，为多药材中环烯醚萜类成分的含量测定提供了新方法，同时也为中药材质量控制提供新的模式和思路。

参考文献

- 1 Ye J, Li RM, Zeng HW, et al. Discovery and research advances in quality markers of Chinese materia medica based on holistic characteristics[J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2019, 50: 4529-4537.
- 2 Xue CHS, Xu J, Li CP, et al. Research progress on metabolism and pharmacological activities of several iridoid glycosides[J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2018, 43: 39-45.
- 3 Tan HM, Zhou L, Zou HCH. Geniposide-mediated GLP-1R/Akt signaling pathway improves cerebral ischemia-reperfusion injury and neuronal apoptosis in rats[J]. Drug Eval Res(药物评价研究), 2022, 45: 1822-1829.
- 4 Fan Q, Chen XB, Rong L, et al. Research progress on chemical constituents, bioactivities, formula applications and quality control of *Cornus officinalis*[J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发), 2020, 32: 1244-1258.
- 5 Xu X, Wang WT, Zhao ZHY, et al. Effects of total iridoid glycosides of *Picrorhiza scrophulariiflora* against non-alcoholic steatohepatitis rats induced by high-fat and high-sugar diet through regulation of lipid metabolism[J]. Chin Herb Med(中草药:英文版), 2020, 12: 67-72.
- 6 Dai YY, Yan BB, Yan YH, et al. Research advances on iridoids of *Scrophularia ningpoensis*[J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2023, 54: 2993-3003.

- 7 Wang ZHM,Qian ZHZH,Zhang QW et al.Technical guidelines for establishing quantitative analysis of multi-components by single-marker method[J].China J Chin Mater Med(中国中药杂志),2011,36:657-658.
- 8 Zhou F,Li SHP,He F et al.Determination of isochlorogenic acid A, neochlorogenic acid, chlorogenic acid, cryptochlorogenic acid, isochlorogenic acid B, and isochlorogenic acid C in *Carum carvi* fruits by QAMS[J].Drug Eval Res(药物评价研究),2023,46:703-710.
- 9 Sun L,Jin HY,Ma SHCH et al.Guideline of substitute reference substance method for evaluation of traditional Chinese medicines[J].Chin Pharm J(中国药学杂志),2015,50:284-286.
- 10 Liu F,Wang JJ,Huang JH et al.Simultaneous determination of the contents of six iridoid glycosides from *Picrorhiza scrophulariiflora* Pennell using HPLC[J].Tradit Chin Drug Res Pharmacol(中药新药与临床药理),2022,33:1113-1117.
- 11 Wang XY,Huo TT,Wang CH,et al.Determination of the content of five cyclohexene ether terpenoid glycosides in rice-wine steamed Corni Fructus by QAMS[J].J Chin Med Mater(中药材),2016,39:1586-1590.

收稿日期: 2024-05-10 接受日期: xxxx-xx-xx

基金项目: 山东省重点研发计划(重大科技创新工程)项目(2021CXGC010508)

*通信作者 Tel: 86-0539-8336639; E-mail: lunanfanjianwei@163.com