

# 一测多评法同时测定飞龙掌血中6种成分含量

张颖茵<sup>1,2#</sup>, 谢京玲<sup>1#</sup>, 徐雅慧<sup>1</sup>, 周冰旋<sup>1</sup>, 彭楚雯<sup>1</sup>, 苏金莹<sup>1</sup>, 陈梓铭<sup>1</sup>, 张蕾<sup>1\*</sup> (1. 广州中医药大学, 广东 广州 510006; 2. 广州华商学院, 广东 广州 511300)

**摘要:** **目的** 建立同时测定飞龙掌血中6种主要成分(氯化两面针碱、白屈菜红碱、橙皮苷、毛两面针素、白鲜碱、茵苻香豆素)含量的一测多评法(QAMS)。**方法** 采用反相高效液相色谱法, 色谱柱: Waters Symmetry C<sub>18</sub> 高效液相色谱柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 0.1% 甲酸水溶液-乙睛(含0.1% 甲酸), 梯度洗脱; 流速: 0.8 mL·min<sup>-1</sup>; 检测波长: 280 nm; 柱温: 30 °C。以橙皮苷为内参物, 测定了其他5个成分的相对校正因子(RCF), 并计算6种主要成分的含量。通过考察RCF的耐用性和与外标法的含量测定结果进行比较, 以验证QAMS法的准确性和可行性。**结果** 在线性范围内, 氯化两面针碱、白屈菜红碱、毛两面针素、白鲜碱和茵苻香豆素的相对校正因子分别为0.170、0.353、3.443、1.546和0.664。在不同实验条件下相对校正因子耐用性良好, 8批飞龙掌血的一测多评法计算结果和外标法计算结果无统计学意义。**结论** 建立的一测多评法准确可行, 可用于飞龙掌血主要成分的含量测定。

**关键词:** 飞龙掌血; 含量测定; 一测多评; 高效液相色谱; 相对校正因子

中图分类号: R28

文献标志码: A

文章编号: 1674-229X(2025)08-0602-07

Doi: 10.12048/j.issn.1674-229X.2025.08.008

## Simultaneous Determination of Six Components in *Toddalia Asiatica* Using Quantitative Analysis of Multi-Components by Single-Marker (QAMS) Method

ZHANG Yingyin<sup>1,2#</sup>, XIE Jingling<sup>1#</sup>, XU Yahui<sup>1</sup>, ZHOU Bingxuan<sup>1</sup>, PENG Chuwen<sup>1</sup>, SU Jinying<sup>1</sup>, CHEN Ziming<sup>1</sup>, ZHANG Lei<sup>1\*</sup> (1. *Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou, Guangdong 510006, China*; 2. *Guangzhou Huashang College, Guangzhou, Guangdong 511300, China*)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To develop a quantitative analysis of multi-components by single-marker (QAMS) method for simultaneous determination of six major components (nitidine chloride, chelerythrine, hesperidin, zanthoxylumol, dictamnine and pimpinellin) in *Toddalia asiatica*. **METHODS** A reversed-phase high-performance liquid chromatography (HPLC) method was adopted using a Waters Symmetry C<sub>18</sub> column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm). The mobile phase consisted of 0.1% formic acid aqueous solution and acetonitrile (containing 0.1% formic acid) with gradient elution. The flow rate was set at 0.8 mL·min<sup>-1</sup>, the detection wavelength was 280 nm, and the column temperature was maintained at 30 °C. Taking hesperidin as the reference standard, relative correction factors (RCFs) of the other five components were determined, and the contents of the six major components were calculated. The accuracy and feasibility of the QAMS method were verified by investigating the robustness of RCFs and comparing the results with those obtained by the external standard method. **RESULTS** Within the linear range, the RCFs of nitidine chloride, chelerythrine, zanthoxylumol, dictamnine and pimpinellin were 0.170, 0.353, 3.443, 1.546 and 0.664, respectively. The RCFs exhibited good robustness under different experimental conditions (*RSD* < 3%). Additionally, there was no significant difference between the results obtained by the QAMS method and the external standard method for the analysis of eight batches of *Toddalia asiatica*. **CONCLUSION** The developed QAMS method is accurate and feasible, which can be used for determining the contents of major components in *Toddalia asiatica*.

**KEYWORDS:** *Toddalia asiatica*; quantitative determination; quantitative analysis of multi-components by single-marker (QAMS); high-performance liquid chromatography (HPLC); relative correction factor (RCF)

飞龙掌血 [*Toddalia asiatica* (L.) Lam.] 是芸香科植物飞龙掌血的根或根皮, 主要分布于西南及陕西、浙江、湖北、湖南、广东、海南、广西等地, 又名飞龙斩血、见血飞、黄大金根、血棒头、筋钩等, 为我国

基金项目: 广东省基础与应用基础省企联合基金-面上项目(2023A1515220188)

\*共同第一作者: 张颖茵, 硕士研究生, 研究方向: 药物分析学; 谢京玲, 中药学本科生 \*通信作者: 张蕾, 教授, 博士, 研究方向: 中药药效物质基础及其作用机制, E-mail: zhanglei261291@gzucm.edu.cn

西南地区少数民族的传统中药材<sup>[1]</sup>。飞龙掌血性味辛苦,性温,有毒,主要用于风湿痹痛、胃痛、疮痍肿毒等,临床上常用于治疗风湿痹痛、跌打损伤、吐血、衄血、经闭、痛经等疾病<sup>[2]</sup>。作为治疗风湿类疾病的中药苗医药,飞龙掌血的成方制剂主要有龙钻通痹颗粒、痛可舒酊、龙掌口含液等<sup>[3]</sup>。飞龙掌血中主要富含香豆素类和生物碱类成分,目前飞龙掌血主要成分的HPLC含量测定方法多数采用外标法<sup>[4-7]</sup>,但是该方法必须具备充足的对照品,对照品稀缺、不稳定或者价格昂贵等将直接影响多成分含量测定方法的应用,而一测多评法(QAMS)的出现则解决了这个问题。

QAMS是由王智民等<sup>[8]</sup>在2006年提出的适合中医药特点又能解决中药对照品瓶颈问题的多指标含量测定方法。该法是在相对应的线性范围内,对所需待测样之间进行计算得到其相关的内在函数关系和比例关系,选择1个性质稳定、保留时间合适、价格低廉和含量大等的成分作为内参物,经方法学考察,建立内参物与其他多种成分间的相对校正因子,从而实现多个待测成分的同时测定,是一种适用于待测成分的对照品难以获得、稳定性差、成本价格高等中药的多成分含量测定,现已被广泛应用于多种中药质量评价的研究中<sup>[9-12]</sup>,并且在2015年版中国药典开始,QAMS法的应用拓展至饮片、提取物及制剂<sup>[13,14]</sup>。氯化两面针碱、白屈菜红碱、橙皮苷、毛两面针素、白鲜碱和茵苻香豆素为飞龙掌血中的主要有效成分,能够反映药材质量优劣,也是体内外分析中检测频率较高的指标成分<sup>[15]</sup>。故本文采用高效液相色谱法,首次以橙皮苷为内参物,建立QAMS法同时测定不同产地飞龙掌血中这6种主要化学成分的含量,并通过耐用性试验考察了QAMS法在飞龙掌血质量控制上的可行性和可推广性。

## 1 仪器与试药

### 1.1 仪器

LC-20AT岛津高效液相色谱仪,日本岛津公司;Agilent1260高效液相系统,美国安捷伦科技有限公司;KQ-250E超声波清洗器,昆山市超声仪器有限公司;SHZ-D(Ⅲ)(四氟)循环水真空泵,上海力辰邦西仪器科技有限公司;QUINTIX125D-ICN型十万分之一分析天平,赛多利斯斯泰帝(上海)贸易有限公司。RADWAG AS 62.R2 PLUS精密分析电子天平、

JP-060型超声波清洗器,昆山市超声仪器有限公司;TG16G型台式高速离心机,广州贝拓科学技术有限公司;HC-2000粉碎机,永康市天祺盛世工贸有限公司;LC-LX-HR165A台式高速冷冻离心机,上海力辰邦西仪器科技有限公司。Waters Symmetry C<sub>18</sub>色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm),沃特世科技(上海)有限公司;Luna 5u C<sub>18</sub> 100A色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm),美国飞诺美公司;Diamondsil C<sub>18</sub>色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm),北京迪马科技有限公司。甲醇(分析纯),天津市科密欧化学试剂有限公司;甲醇和乙腈(色谱纯),西格玛奥德里奇贸易有限公司。

### 1.2 试药

氯化两面针碱、白屈菜红碱、橙皮苷、毛两面针素、白鲜碱和茵苻香豆素对照品均购自上海诗丹德生物技术有限公司,纯度≥98%;8批次不同产地飞龙掌血药材饮片(S1-湖南;S2-四川;S3-湖北;S4-浙江;S5-云南;S6-梅州;S7-贺州;S8-河池)购于各大医药公司,经广州中医药大学彭光天教授鉴定芸香科植物飞龙掌血[*Toddalia asiatica* (L.) Lam.]的根茎。

## 2 方法与结果

### 2.1 溶液配制

**2.1.1 混合对照品溶液的制备** 精密称取氯化两面针碱、白屈菜红碱、橙皮苷、毛两面针素、白鲜碱和茵苻香豆素对照品适量,经甲醇溶解、定容及稀释后制备成含氯化两面针碱、白屈菜红碱、橙皮苷、毛两面针素、白鲜碱和茵苻香豆素质量浓度分别为18.8、21.4、180、165、106.4、69.3 μg·mL<sup>-1</sup>的混合对照品溶液。

**2.1.2 供试品溶液的制备** 精密称取干燥的药材粉末(40目)0.5 g,置于250 mL具塞锥形瓶中,精密加入甲醇溶液50 mL,密塞,称定重量,超声提取30 min,放冷,再次称重,用甲醇补足减失重量,摇匀,于转速13 000 r·min<sup>-1</sup>下离心5 min,取上清即得供试品溶液。

### 2.2 色谱条件

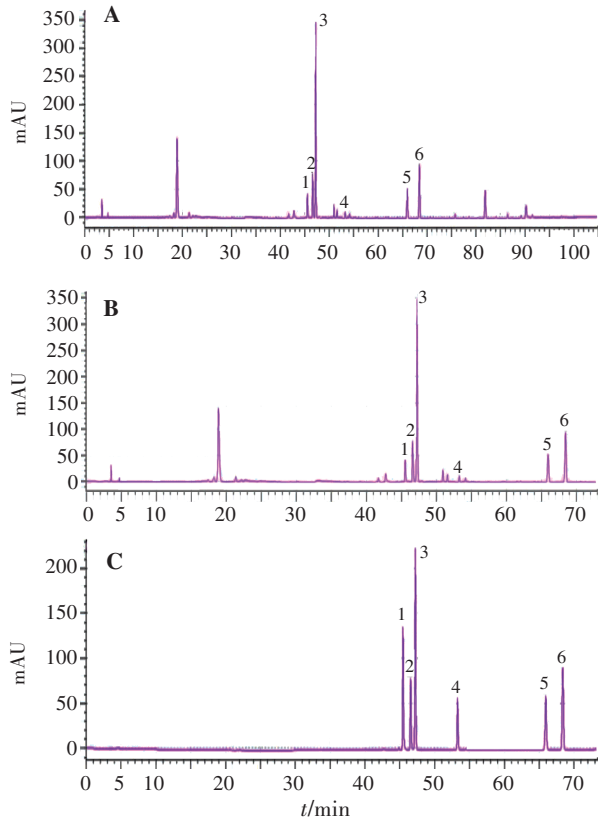
色谱柱:Waters Symmetry C<sub>18</sub>(4.6 mm×250 mm, 5 μm);流动相:0.1%甲酸水溶液-乙腈(含0.1%甲酸),梯度洗脱;检测波长:280 nm;流速:0.8 mL·min<sup>-1</sup>;柱温:30 ℃;进样量:10 μL。见表1。

### 2.3 QAMS的方法学验证

**2.3.1 系统适用性试验** 按“2.2”项下色谱条件,分别进样混合对照品溶液和供试品溶液,见图1。样

表1 梯度洗脱程序

时间/min	乙腈(0.1%甲酸)/%	0.1%甲酸水/%
0.00	6	94
35.0	20	80
90.0	75	25
100.0	98	2
110.0	98	2



注:A.供试品(110 min);B.供试品(75 min);C.混合对照品溶液。1.氯化两面针碱(nitidine chloride);2.白屈菜红碱(chelerythrine);3.橙皮苷(hesperidin);4.毛两面针素(zanthoxylumol);5.白鲜碱(dictamnine);6.茵苻香豆素(pimpinellin)。

图1 供试品和对照品的HPLC色谱图

品中的6个待测成分色谱峰形及分离效果均良好,符合分析要求。

**2.3.2 线性关系考察及定量限** 精密吸取混合对照品溶液 1.0、2.0、4.0、8.0、16.0、20.0、24.0  $\mu\text{L}$ ,按

表2 6个成分的回归方程、线性范围、定量限及检测限

成分	回归方程	r值	线性范围/ $\mu\text{g}$	LOQ/ng	LOD/ng
氯化两面针碱	$y = 8.83E + 6x - 10\ 911$	1.000	0.018 8~0.451 2	1.22	0.41
白屈菜红碱	$y = 4.20E + 6x - 1\ 614.6$	1.000	0.021 4~0.513 6	2.75	0.92
橙皮苷	$y = 1.47E + 6x + 803.72$	1.000	0.18~4.32	0.68	0.28
毛两面针素	$y = 4.29E + 5x - 1\ 291.7$	1.000	0.165~3.96	2.62	0.85
白鲜碱	$y = 9.54E + 5x + 2\ 052.7$	1.000	0.106~2.544	8.68	2.49
茵苻香豆素	$y = 2.22E + 6x + 1\ 771.4$	1.000	0.069 3~1.663 0	4.06	1.54

“2.2”项色谱条件测定,记录峰面积。以对照品质量( $\mu\text{g}$ )为横坐标( $x$ ),峰面积为纵坐标( $y$ )绘制标准曲线,得到各成分的标准曲线回归方程、相关系数( $r$ )及线性范围。取混合对照品溶液,经甲醇逐级稀释后,以信噪比分别约为10和3估算定量限(LOQ)和检测限(LOD)。结果见表2。

**2.3.3 精密度试验** 精密吸取混合对照品溶液 10  $\mu\text{L}$ ,连续进样6次,记录氯化两面针碱、白屈菜红碱、橙皮苷、毛两面针素、白鲜碱、茵苻香豆素的色谱峰面积,并计算RSD。结果显示氯化两面针碱、白屈菜红碱、橙皮苷、毛两面针素、白鲜碱和茵苻香豆素峰面积的RSD分别为0.79%、0.63%、0.83%、0.92%、0.89%、0.88%,结果表明仪器精密度良好。

**2.3.4 稳定性试验** 精密称取S1样品粉末,按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液,分别在制备好后的0、2、4、8、12、24 h按“2.2”项下色谱条件进样分析,记录峰面积,并计算RSD。结果表明氯化两面针碱、白屈菜红碱、橙皮苷、毛两面针素、白鲜碱和茵苻香豆素峰面积的RSD分别为2.4%、1.4%、0.87%、2.8%、0.86%和0.69%,表明所制备的供试品溶液在24 h内稳定性良好。

**2.3.5 重复性试验** 精密称取S1样品粉末(40目)6份,按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液,按“2.2”项下色谱条件进样分析,记录峰面积,并计算含量的RSD分别为2.2%、1.1%、2.5%、1.9%、0.97%和2.7%,表明该法的重复性良好。

**2.3.6 加样回收试验** 精密称取S1样品粉末(40目)9份,每份约0.25 g,分别按照约1:0.5、1:1和1:1.5精密加入对照品适量,按“2.1.2”项下操作制备低、中、高浓度的供试品溶液,每个浓度3样本分析,计算回收率、平均回收率及RSD。结构见表3,氯化两面针碱、白屈菜红碱、橙皮苷、毛两面针素、白鲜碱和茵苻香豆素的平均回收率分别为100.8%、101.2%、98.9%、97.8%、100.0%和98.9%,RSD分别为1.9%、2.0%、1.4%、1.8%、2.2%和2.3%,表明方法

表3 加样回收试验结果( $n=9$ )

成分	称样量/g	原有量/mg	加入量/mg	测得量/mg	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
氯化两面针碱	0.251 4	0.129	0.064	0.195	102.3	100.8	1.9
	0.251 0	0.129	0.064	0.195	103.5		
	0.250 9	0.129	0.064	0.194	101.7		
	0.252 3	0.130	0.128	0.255	98.3		
	0.250 1	0.129	0.128	0.255	99.1		
	0.250 3	0.129	0.128	0.257	100.2		
	0.251 9	0.129	0.192	0.326	102.5		
	0.253 0	0.130	0.192	0.324	101.3		
	0.201 5	0.104	0.192	0.292	98.4		
白屈菜红碱	0.251 4	0.488	0.229	0.724	103.2	101.2	2.0
	0.251 0	0.487	0.229	0.726	104.2		
	0.250 9	0.487	0.229	0.721	102.1		
	0.252 3	0.489	0.458	0.949	100.3		
	0.250 1	0.485	0.458	0.950	101.3		
	0.250 3	0.486	0.458	0.941	99.3		
	0.251 9	0.489	0.687	1.193	102.5		
	0.253 0	0.491	0.687	1.166	98.2		
	0.201 5	0.391	0.687	1.074	99.4		
橙皮苷	0.251 4	5.403	2.634	7.993	98.3	98.9	1.4
	0.251 0	5.394	2.634	7.955	97.2		
	0.250 9	5.392	2.634	8.011	99.5		
	0.252 3	5.422	5.268	10.770	101.4		
	0.250 1	5.375	5.268	10.660	100.3		
	0.250 3	5.379	5.268	10.500	97.3		
	0.251 9	5.413	7.902	13.200	98.5		
	0.253 0	5.437	7.902	13.190	98.1		
	0.201 5	4.330	7.902	12.170	99.2		
毛两面针素	0.251 4	0.761 7	0.352	1.097	95.3	97.8	1.8
	0.251 0	0.760 5	0.352	1.099	96.2		
	0.250 9	0.760 2	0.352	1.103	97.3		
	0.252 3	0.764 5	0.703	1.456	98.3		
	0.250 1	0.757 8	0.703	1.459	99.7		
	0.250 3	0.758 4	0.703	1.470	101.2		
	0.251 9	0.763 3	1.055	1.782	96.6		
	0.253 0	0.766 6	1.055	1.794	97.4		
	0.251 5	0.762 0	1.055	1.799	98.2		
白鲜碱	0.251 4	1.938	0.917	2.869	101.6	100.0	2.2
	0.251 0	1.935	0.917	2.881	103.2		
	0.250 9	1.934	0.917	2.835	98.2		
	0.252 3	1.945	1.833	3.752	98.6		
	0.250 1	1.928	1.833	3.713	97.3		
	0.250 3	1.930	1.833	3.735	98.5		
	0.251 9	1.942	2.750	4.674	99.4		
	0.253 0	1.951	2.750	4.707	100.2		
	0.201 5	1.554	2.750	4.389	103.1		
茵陈香豆素	0.251 4	1.461	0.703	2.154	98.7	98.9	2.3
	0.251 0	1.458	0.703	2.145	97.7		
	0.250 9	1.458	0.703	2.136	96.4		
	0.252 3	1.466	1.406	2.920	103.4		
	0.250 1	1.453	1.406	2.853	99.6		
	0.250 3	1.454	1.406	2.871	100.8		
	0.251 9	1.464	2.109	3.523	97.6		
	0.253 0	1.470	2.109	3.504	96.5		
	0.201 5	1.171	2.109	3.268	99.5		

的准确度良好。

#### 2.4 相对校正因子及其耐用性

**2.4.1 相对校正因子的计算** 取“2.3.2”项下数据,以橙皮苷为内参物,按公式 $f_{si} = f_i/f_s = (A_s \times m_i)/(A_i \times m_s)$ 分别计算氯化两面针碱、白屈菜红碱、毛两面针素、白鲜碱、茵苻香豆素的相对校正因子(式中 $A_s$ 为内参物S的峰面积, $m_s$ 为内参物的质量浓度, $A_i$ 为待测成分的峰面积, $m_i$ 为待测成分的质量/浓度)。结果见表4。

表4 5个待测成分相对于橙皮苷的相对校正因子

进样体积/ μL	相对校正因子(以橙皮苷为内参物)				
	氯化两面针碱	白屈菜红碱	毛两面针素	白鲜碱	茵苻香豆素
1	0.175	0.362	3.454	1.546	0.663
2	0.171	0.355	3.456	1.548	0.664
4	0.170	0.350	3.449	1.541	0.661
8	0.169	0.352	3.433	1.539	0.663
16	0.168	0.352	3.444	1.549	0.665
20	0.167	0.350	3.442	1.550	0.665
24	0.167	0.351	3.421	1.548	0.664
平均值	0.170	0.353	3.443	1.546	0.664
RSD/%	1.57	1.21	0.35	0.28	0.22

#### 2.4.2 相对校正因子耐用性考察

**2.4.2.1 柱温的影响** 取“2.1.1”项下混合对照溶液,分别在柱温27℃、28℃、29℃、30℃、31℃、32℃、33℃下测定相对校正因子,考察柱温对相对校正因子的影响,结果见表5,氯化两面针碱、白屈菜红碱、毛两面针素、白鲜碱和茵苻香豆素的相对校正因子的RSD分别为0.47%、0.96%、0.66%、0.51%和0.42%,表明在设定柱温(30±3)℃范围内对温度的耐用性良好。

**2.4.2.2 流速的影响** 取“2.1.1”项下混合对照溶

表5 不同柱温对相对校正因子的影响

柱温/℃	相对校正因子(以橙皮苷为内参物)				
	氯化两面针碱	白屈菜红碱	毛两面针素	白鲜碱	茵苻香豆素
27	0.169	0.355	3.430	1.545	0.664
28	0.169	0.355	3.437	1.542	0.665
29	0.168	0.349	3.471	1.555	0.670
30	0.169	0.352	3.433	1.539	0.663
31	0.167	0.354	3.394	1.545	0.662
32	0.168	0.358	3.426	1.530	0.663
33	0.169	0.359	3.427	1.537	0.662
平均值	0.168	0.355	3.431	1.542	0.664
RSD/%	0.47	0.96	0.66	0.51	0.42

液,分别流动相流速为0.7、0.8、0.9、1.0 mL·min<sup>-1</sup>时测定相对校正因子,考察流速对相对校正因子的影响,结果见表6,氯化两面针碱、白屈菜红碱、毛两面针素、白鲜碱、茵苻香豆素的相对校正因子的RSD分别为1.02%、0.37%、0.32%、0.38%、0.94%,显示均无明显影响。

表6 不同流速对相对校正因子的影响

流速/ mL·min <sup>-1</sup>	相对校正因子(以橙皮苷为内参物)				
	氯化两面针碱	白屈菜红碱	毛两面针素	白鲜碱	茵苻香豆素
0.7	0.166	0.351	3.425	1.535	0.659
0.8	0.169	0.352	3.432	1.539	0.663
0.9	0.170	0.353	3.449	1.542	0.665
1.0	0.168	0.350	3.444	1.549	0.674
平均值	0.168	0.352	3.436	1.539	0.662
RSD/%	1.02	0.37	0.32	0.38	0.94

**2.4.2.3 测定波长的影响** 取“2.1.1”项混合对照溶液,分别在波长为278、279、280、281和282 nm下测定相对校正因子,考察检测波长微小变化对相对校正因子的影响,结果显示,在(280±2)nm波长范围内,氯化两面针碱、白屈菜红碱、毛两面针素、白鲜碱和茵苻香豆素相对校正因子的RSD多数>5%,而在(280±1)nm波长范围内,上述5个化合物的相对校正因子的RSD分别为2.40%、4.12%、4.51%、3.45%和1.43%,结果见表7。

表7 不同波长对相对校正因子的影响

波长/nm	相对校正因子(以橙皮苷为内参物)				
	氯化两面针碱	白屈菜红碱	毛两面针素	白鲜碱	茵苻香豆素
279	0.164	0.339	3.586	1.601	0.668
280	0.169	0.352	3.433	1.539	0.663
281	0.172	0.368	3.277	1.495	0.650
平均值	0.168	0.353	3.432	1.545	0.661
RSD/%	2.40	4.12	4.51	3.45	1.43

**2.4.2.4 色谱柱和色谱仪器的影响** 取“2.1.1”项混合对照溶液,分别考察在岛津LC-20AT高效液相色谱仪、Agilent 1260液相色谱仪和3种色谱柱Waters Symmetry C<sub>18</sub>色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm), Luna C<sub>18</sub> 100A色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm), Diamonsil C<sub>18</sub>色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm),上的相对校正因子,考察不同仪器和色谱柱对相对校正因子的影响,结果见表8,相对校正因子在不同的色谱柱和仪器下均无显著差异,具有较好的适用性。

表8 不同仪器和色谱柱对相对校正因子的影响

仪器	色谱柱	相对校正因子(以橙皮苷为内参物)				
		氯化两面针碱	白屈菜红碱	毛两面针素	白鲜碱	茵苻香豆素
岛津LC-20AT	Waters Symmetry C <sub>18</sub>	0.169	0.353	3.443	1.546	0.664
	Luna 5u C <sub>18</sub> 100A	0.175	0.360	3.305	1.511	0.658
	Diamonsil C <sub>18</sub>	0.171	0.371	3.451	1.553	0.660
安捷伦 1260	Waters Symmetry C <sub>18</sub>	0.167	0.374	3.501	1.563	0.654
	Luna 5u C <sub>18</sub> 100A	0.177	0.351	3.344	1.537	0.673
	Diamonsil C <sub>18</sub>	0.164	0.362	3.357	1.582	0.668
	平均值	0.171	0.362	3.400	1.549	0.663
	RSD/%	2.87	2.56	2.23	1.55	1.04

2.4.2.5 QAMS法中待测成分色谱峰的定位 QAMS法待测成分色谱峰用相对保留值法及各色谱峰的紫外吸收特征来准确地定位。本研究考察了相对保留时间( $Rt_r = t_{R(待测物)} / t_{R(内参物)}$ )在不同柱温、流速、色谱柱和色谱仪器下的重现性,结果见表9~10。表明氯化两面针碱、白屈菜红碱、毛两面针素、白鲜碱和茵苻香豆素相对保留时间的RSD均小于2.0%,说明各成分的相对保留时间相对稳定,可选用相对保留值作为目标成分色谱峰的定位指标。

2.5 样品测定,一测多评法与外标法结果比较

取8批不同产地的飞龙掌血药材粉末,按“2.1.2”项下制备供试品溶液,按“2.2”色谱条件下进样分析,分别采用外标法(ESM)和QAMS法计算飞龙掌血中氯化两面针碱、白屈菜红碱、橙皮苷、毛两面针素、白鲜碱和茵苻香豆素的含量,并计算相对误差(RE),结果见表11,两种方法所得飞龙掌血中6种成分含量之间无统计学意义,表明QAMS法能够准确测定飞龙掌血中6种成分的

表9 不同流速和温度下飞龙掌血中5个待测成分相对于橙皮苷的相对保留时间

流速/mL·min <sup>-1</sup>	柱温/°C	相对保留时间(以橙皮苷为内参物)				
		氯化两面针碱	白屈菜红碱	毛两面针素	白鲜碱	茵苻香豆素
0.7	30	0.959	0.981	1.126	1.393	1.442
0.8	30	0.962	0.986	1.128	1.396	1.448
1.0	30	0.960	0.987	1.130	1.398	1.450
平均值		0.960	0.985	1.128	1.396	1.447
RSD/%		0.160	0.330	0.18	0.180	0.290
0.8	27	0.965	0.991	1.126	1.396	1.449
0.8	30	0.964	0.983	1.121	1.380	1.429
0.8	33	0.956	0.979	1.133	1.395	1.445
平均值		0.962	0.984	1.127	1.390	1.441
RSD/%		0.420	0.510	0.440	0.530	0.60

表10 不同仪器和色谱柱下飞龙掌血中5个待测成分相对于橙皮苷的相对保留时间

仪器	色谱柱	相对保留时间(以橙皮苷为内参物)				
		氯化两面针碱	白屈菜红碱	毛两面针素	白鲜碱	茵苻香豆素
岛津LC20AT	Waters Symmetry C <sub>18</sub>	0.962	0.986	1.128	1.396	1.448
	Luna 5u C <sub>18</sub> 100A	0.955	0.972	1.136	1.373	1.435
	Diamonsil C <sub>18</sub>	0.971	0.997	1.141	1.353	1.423
安捷伦 1260	Waters Symmetry C <sub>18</sub>	0.967	0.981	1.116	1.363	1.434
	Luna 5u C <sub>18</sub> 100A	0.948	0.983	1.144	1.337	1.423
	Diamonsil C <sub>18</sub>	0.975	0.994	1.157	1.382	1.368
	平均值	0.963	0.986	1.137	1.367	1.422
	RSD/%	1.05	0.92	1.23	1.55	1.97

表 11 飞龙掌血中 6 种成分含量测定结果

化合物	S1			S2			S3			S4		
	ESM /mg·g <sup>-1</sup>	QAMS /mg·g <sup>-1</sup>	RE /%	ESM /mg·g <sup>-1</sup>	QAMS /mg·g <sup>-1</sup>	RE /%	ESM /mg·g <sup>-1</sup>	QAMS /mg·g <sup>-1</sup>	RE /%	ESM /mg·g <sup>-1</sup>	QAMS /mg·g <sup>-1</sup>	RE/%
氯化两面针碱	0.514	0.526	2.33	0.164	0.167	1.83	0.573	0.587	2.44	0.562	0.575	2.31
白屈菜红碱	1.940	1.950	0.52	1.530	1.540	0.65	0.640	0.650	1.56	0.303	0.308	1.65
橙皮苷	21.490	21.450	-0.19	17.560	17.520	-0.23	24.670	24.630	-0.16	29.190	29.140	-0.17
毛两面针素	3.030	3.010	-0.66	3.110	3.090	-0.64	7.550	7.530	-0.26	8.300	8.290	-0.12
白鲜碱	7.710	7.700	-0.13	4.920	4.921	0.02	3.480	3.450	-0.86	5.780	5.720	-1.04
茵苻香豆素	5.810	5.800	-0.17	5.510	5.490	-0.36	6.780	6.760	-0.29	4.340	4.300	-0.92
化合物	S5			S6			S7			S8		
	ESM /mg·g <sup>-1</sup>	QAMS /mg·g <sup>-1</sup>	RE /%	ESM /mg·g <sup>-1</sup>	QAMS /mg·g <sup>-1</sup>	RE /%	ESM /mg·g <sup>-1</sup>	QAMS /mg·g <sup>-1</sup>	RE /%	ESM /mg·g <sup>-1</sup>	QAMS /mg·g <sup>-1</sup>	RE /%
氯化两面针碱	0.677	0.688	1.62	0.783	0.799	2.04	0.132	0.135	2.27	0.573	0.563	-1.75
白屈菜红碱	0.434	0.439	1.15	0.493	0.497	0.81	0.462	0.467	1.08	0.653	0.653	0.00
橙皮苷	28.620	28.570	-0.17	0.139	0.141	1.44	35.440	35.380	-0.17	4.290	4.292	0.05
毛两面针素	15.140	15.150	0.07	1.330	1.310	-1.50	0.700	0.680	-2.86	15.040	15.050	0.07
白鲜碱	6.450	6.400	-0.78	5.594	5.591	-0.05	2.770	2.780	0.36	7.120	7.100	-0.28
茵苻香豆素	3.220	3.200	-0.62	1.940	1.920	-1.03	1.980	1.970	-0.51	3.140	3.160	0.64

含量。

### 3 小结

本研究参考课题组前期研究内容<sup>[16,17]</sup>,在此基础上建立 QAMS 法同时测定飞龙掌血中 6 个成分,方法学考察表明该方法准确可行。相对校正因子和相对保留时间的耐用性实验结果表明其在不同仪器、不同色谱柱、不同流速、不同柱温条件下均具有良好重现性和适用性,因此选用相对保留值作为目标成分色谱峰的定位指标和含量计算参数。不同产地 8 批药材的测定结果与标准曲线法所测值无统计学意义,说明建立不同成分之间的相对校正因子具有较高准确度。本研究通过 QAMS 技术可实现仅以橙皮苷为对照品,便可以同时测定飞龙掌血中的多个指标成分,为飞龙掌血的质量控制提供了更便捷的质量评价方法。

### 参考文献

- [1] 周威,孙文博,曾庆芳,等.飞龙掌血的药学研究进展[J].中华中医药杂志,2018,33(8):3515-3522.
- [2] 端木彦涛,管松滨,胥骞,等.飞龙掌血的化学成分、药理活性及质量评价研究进展[J].中医药导报,2022,28(11):203-209.
- [3] 吴朝伟,袁德培,郝红利,等.民族药三百棒的研究进展[J].湖北民族学院学报(医学版),2014,31(4):68-70.
- [4] 刘志刚,谢晓林,余磊,等.RP-HPLC法同时测定飞龙掌血中 6 种成分的含量[J].中药材,2019,42(9):2100-2103.
- [5] 刘志刚,刘晓燕.HPLC法测定飞龙掌血中茵苻香豆素与异茵苻香豆素的含量[J].辽宁中医药大学学报,2009,11(6):224-225.

- [6] 冉勇华,周强,周英,等.高效液相色谱法同时测定飞龙掌血中橙皮苷等 4 种化学成分的含量[J].中国药学杂志,2014,49(3):240-243.
- [7] 黄琪,雷鹏,刘英慧,等.高效液相色谱法同时测定毛两面针药材中 5 种化学成分含量[J].中国药学杂志,2012,47(18):1514-1517.
- [8] 王智民,高慧敏,付雪涛,等.“一测多评”法中药质量评价模式方法学研究[J].中国中药杂志,2006,31(23):1925-1928.
- [9] 黄荣妹,刘伟锐,刘翠红,等.一测多评法测定银杏叶中总内酯含量[J].今日药学,2016,26(4):231-234.
- [10] 欧阳燕婷,谭志滨,陈丽敏.一测多评法同时测定牡蒿中 3 种酚酸类成分的含量[J].今日药学,2021,31(01):23-26,31.
- [11] 舒波,雷果平,袁斌.一测多评法测定法制半夏中 11 种成分含量及其 GRA、EW-TOPSIS 质量评价[J].医药导报,2024,43(7):1120-1126.
- [12] 叶菊,汪成,马钰洁,等.基于一测多评法的甘青青兰多成分含量测定[J].中国中药杂志,2023,48(15):4253-4260.
- [13] 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.
- [14] 杨洋,黄良永,朱美玲,等.一测多评法在中国药典 2015 年版中的应用[J].中南药学,2017,15(12):1738-1741.
- [15] 何文星,徐灿丽,罗淑娟,等.飞龙掌血化学成分及药理作用研究进展及其 Q-Marker 预测分析[J].中成药,2024,46(2):507-517.
- [16] Zhu M J, Wei P Q, Peng Q, et al. Simultaneous qualitative and quantitative evaluation of *Toddalia asiatica* root by using HPLC-DAD and UPLC-QTOF-MS/MS[J]. Phytochemical Analysis, 2019, 30(2):164-181.
- [17] 刘志刚,谢晓林,余磊,等.RP-HPLC法同时测定飞龙掌血中 6 种成分的含量[J].中药材,2019,42(9):2100-2103.

(收稿日期:2024-09-20;在线出版日期:2025-08-04)