

## 双标多测法在香薷 5 个成分含量测定中的应用\*

刘丽琴<sup>1</sup>, 徐载萍<sup>2</sup>, 付文艳<sup>3</sup>, 袁铭铭<sup>2</sup>, 赵雯<sup>2</sup>, 杨莘锴<sup>2</sup>, 万林春<sup>2\*\*</sup>, 魏峰<sup>4\*\*</sup>

(1. 杭州市红十字会医院, 杭州 310015; 2. 江西省药品检验检测研究院 国家药品监督管理局中成药质量评价重点实验室 江西省药品与医疗器械质量工程技术研究中心, 南昌 330029; 3. 南昌大学第二附属医院, 南昌 330006; 4. 中国食品药品检定研究院, 北京 102629)

**摘要 目的:** 建立双标多测 (TRSDMC) 法同时测定香薷中野黄芩苷、迷迭香酸、黄芩素-7-甲醚、香荆芥酚、麝香草酚 5 个成分的含量, 更加经济有效地对香薷进行质量控制研究。**方法:** 采用 HPLC 法, 在 13 根不同型号的 C<sub>18</sub> 色谱柱上测定香薷 5 个成分的实际保留时间, 以各成分在各色谱柱下的平均保留时间为各组分的标准保留时间。选取迷迭香酸 (峰 2) 和香荆芥酚 (峰 4) 作为双标化合物, 使用双标线性校正 (LCTRS) 法进行色谱峰定位; 以迷迭香酸为对照, 用相对校正因子测定各成分含量, 并与外标法 (ESM) 测定结果进行比较; 采用化学计量学方法分析香薷差异性质量标志物。**结果:** LCTRS 法对待测组分的预测结果准确且色谱柱适用范围广; 野黄芩苷、黄芩素-7-甲醚、香荆芥酚和麝香草酚相对于迷迭香酸的校正因子分别为 0.853 3、0.475 2、3.034 7、2.738 6, 其 RSD 均在 2.0% 以内, 2 种方法计算的含量值无明显差异。24 批香薷中野黄芩苷、迷迭香酸、黄芩素-7-甲醚、香荆芥酚、麝香草酚的含量分别为 0.05~2.87、0.73~9.73、0.04~0.99、0.36~8.52、0.61~10.27 mg·g<sup>-1</sup>。24 批香薷样品可以聚为 3 类, 麝香草酚、香荆芥酚、黄芩素-7-甲醚为香薷的差异性质量标志物。**结论:** 本文建立的同时测定香薷中 5 个成分含量的 TRSDMC 法稳定、可靠, 可为香薷的整体质量控制提供新的思路。

**关键词:** 香薷; 相对校正因子; 双标多测法; 双标线性校正法; 含量测定

中图分类号: R 917 文献标识码: A 文章编号: 0254-1793 (2025) 05-0821-12

doi: 10.16155/j.0254-1793.2024-1039

## Application of TRSDMC method for the determination of 5 components in Moslae Herba\*

LIU Li-qin<sup>1</sup>, XU Zai-ping<sup>2</sup>, FU Wen-yan<sup>3</sup>, YUAN Ming-ming<sup>2</sup>, ZHAO Wen<sup>2</sup>,  
YANG Xin-kai<sup>2</sup>, WAN Lin-chun<sup>2\*\*</sup>, WEI Feng<sup>4\*\*</sup>

(1. Hangzhou Red Cross Hospital, Hangzhou 310015, China; 2. Jiangxi Provincial Engineering Research Center for Drug and Medical Device Quality, NMPA Key Laboratory of Quality Evaluation of Traditional Chinese Patent Medicine, Jiangxi Institute for Drug Control, Nanchang 330029, China; 3. The Second Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, China; 4. National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 102629, China)

**Abstract Objective:** To establish a two reference substances for determination of multiple components (TRSDMC)

\* 江西省重点研发计划“揭榜挂帅”项目-江西省中药饮片炮制规范及我省道地药材饮片品质提升研究 (20223BBG71001)

\*\* 通信作者 万林春 Tel:(0791)86176095; E-mail: 425217982@qq.com

魏峰 Tel:(010)67095432; E-mail:weifeng@nifdc.org.cn

第一作者 刘丽琴 Tel: 18857164578; E-mail:1367146576@qq.com

徐载萍 Tel: 13767494657; E-mail: 1479219037@qq.com

method for the simultaneous determination of scutellarin, rosmarinic acid, negletein, carvacrol and thymol in *Moslae Herba*, which was more economical and effective for the quality control of *Moslae Herba*. **Methods:** The retention times of the five components in *Moslae Herba* were determined using HPLC on 13 different  $C_{18}$  columns. The average retention time of each component under each column was then used as the standard retention time for that component. Rosmarinic acid (peak 2) and carvacrol (peak 4) were chosen as linear calibration standards. The chromatographic peaks were localized by using liner calibration with two reference substances (LCTRS). Rosmarinic acid was used as the control substance to determine the content of each component using a relative correction factor. And the results were compared with those obtained from the external standard method. Chemometric analysis was used to excavate the differential quality markers of *Moslae Herba*. **Results:** LCTRS had accurate prediction results for the measured components and enjoyed a wide range of column applications. The correction factors of scutellarin, negletein, carvacrol and thymol to rosmarinic acid were 0.853 3, 0.475 2, 3.034 7 and 2.738 6, respectively, and their relative standard deviations were below 2.0%. There was no significant difference between contents obtained by the two methods. The contents of scutellarin, rosmarinic acid, negletein, carvacrol and thymol in 21 batches of *Moslae Herba* were  $0.05\text{--}2.87\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ,  $0.73\text{--}9.73\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ,  $0.04\text{--}0.99\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ,  $0.36\text{--}8.52\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$  and  $0.61\text{--}10.27\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ , respectively. The 24 batches of samples could be clustered into three categories, and thymol, carvacrol and negletein ether could be used as differential quality markers. **Conclusion:** TSDMC method for the simultaneous determination of the contents of 5 components in *Moslae Herba* is stable and reliable, and provides a new idea for the overall quality control of *Moslae Herba*.

**Keywords:** *Moslae Herba*; relative correction factor; two reference substances for determination of multiple components(TRSDMC) method; linear calibration using two-reference substances(LCTRS) method; content determination

香薷为唇形科植物石香薷 *Mosla chinensis* Maxim. 或江香薷 *Mosla chinensis* 'Jiangxiangru' 的干燥地上部分,最早见于《名医别录》<sup>[1]</sup>。作为一种药食两用的中药材<sup>[2]</sup>,香薷具有发汗解暑、行水散湿、利水消肿之功效,古代临床主要用于治疗暑湿症<sup>[3]</sup>。随着研究的深入,香薷中的化学成分不断被发现,目前已有研究证实香薷中富含挥发油类成分、黄酮类成分及酚酸类成分。其中香荆芥酚、麝香草酚作为香薷中挥发油成分<sup>[4]</sup>,具有扩张血管、增强免疫力等功效<sup>[5-6]</sup>;酚酸类成分迷迭香酸和黄酮类成分野黄芩苷、黄芩素-7-甲醚,具有抗菌、抗病毒、抗炎作用<sup>[7]</sup>。不同成分从整体体现了香薷不同功效的物质基础,故本文以24批香薷为研究对象,对其进行质量控制评价。

2020年版《中华人民共和国药典》检视香薷的质量评价标准仅聚焦于2个关键指标性成分——麝香草酚与香荆芥酚<sup>[8-9]</sup>。近年来,中药的品质评价方法逐渐向整体化和多成分化方向发展,中药材、配方颗粒及中成药质量控制广泛采用了指纹图谱法和特征图谱法等方法。叶梦倩等<sup>[10]</sup>采用指纹图谱对不同基原香薷药材的质量控制提供研究基础;李文霞等<sup>[11]</sup>建立了特征图谱对江香薷饮片进行质量评价;

张依欣等<sup>[12]</sup>采用HPLC法同时测定不同产地香薷药材中的7个化学成分。在追求实验经济性与效率的背景下,孙磊等<sup>[13-15]</sup>提出了一项创新技术——双标多测(TRSDMC)法。该技术在传统替代对照品法的基础上,增加1个对照品用于双重标准的线性校正,优化了色谱峰的定性分析过程。与文献[9-11]相比,本研究采用TRSDMC法测定香薷中野黄芩苷、迷迭香酸、黄芩素-7-甲醚、香荆芥酚、麝香草酚5个成分的含量。在一测多评的基础上,增加另外1种对照品定性,不仅提升了定性分析的精确度,而且增强了色谱柱的适用性,使保留时间预测更为精准;采用2种对照品测定5个成分的含量,可极大地节约检验成本。

## 1 仪器与试剂

### 1.1 仪器

Ultimate 3000液相色谱仪(戴安公司);Agilent 1260 Infinity II型液相色谱仪(安捷伦科技有限公司);LC-20AT型液相色谱仪(岛津公司);ME204TE/02万分之一电子天平(梅特勒-托利多仪器有限公司);SECURA125-1CN十万分之一电子天平(赛多利斯公司);KQ-500DE超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。14根色谱柱信息见表1。

表 1 色谱柱信息

Tab. 1 Column information

编号 (No.)	色谱柱型号 (column type)	生产厂家 (manufacturer)
col 1	Symmetry C <sub>18</sub> (250 mm × 4.6 mm, 5 μm)	Waters
col 2	Shimadzu Shim-pack C <sub>18</sub> (250 mm × 4.6 mm, 5 μm)	Shimadzu
col 3	Zorbax SB C <sub>18</sub> (250 mm × 4.6 mm, 5 μm)	Agilent
col 4	Intersil ODS-3C <sub>18</sub> (250 mm × 4.6 mm, 5 μm)	GL Sciences
col 5	HALO C <sub>18</sub> (250 mm × 4.6 mm, 5 μm)	Advanced material technology
col 6	XbridgeC <sub>18</sub> (250 mm × 4.6 mm, 5 μm)	Waters
col 7	Phenomenex Luna C <sub>18</sub> (250 mm × 4.6 mm, 5 μm)	Phenomenex
col 8	Titank C <sub>18</sub> (250 mm × 4.6 mm, 5 μm)	广州菲罗门科学仪器有限公司 (Guangzhou FLM)
col 9	Acclaimtm C <sub>18</sub> (250 mm × 4.6 mm, 5 μm)	Thermo
col 10	capcell pak C <sub>18</sub> (250 mm × 4.6 mm, 5 μm)	Shiseido
col 11	Eclipse plusC <sub>18</sub> (250 mm × 4.6 mm, 5 μm)	Agilent
col 12	Eclipse XDB-C <sub>18</sub> (250 mm × 4.6 mm, 5 μm)	Agilent
col 13	Acclaimtm C <sub>18</sub> (250 mm × 4.6 mm, 5 μm)	Thermo
col 14	Agilent 5 HC C <sub>18</sub> (250 mm × 4.6 mm, 5 μm)	Agilent

## 1.2 试药

对照品野黄芩苷 (批号 110842-202411, 含量 91.0%)、迷迭香酸 (批号 111871-202408, 含量 99.6%)、香荆芥酚 (批号 111691-201704, 含量 99.6%)、麝香草酚 (批号 100508-201603, 含量 99.9%) 均购于中国食品药品检定研究院, 对照品黄芩素-7-甲醚 (批号 29550-13-8, 含量 98.0%) 购于上海诗丹德有限公司; 乙腈、甲醇为色谱纯, 水为超纯水; 其余试剂均为分析纯。本次研究收集不同产地的 24 批次样品来源见表 2, 经江西药品检验检测研究院万林春副主任中药师鉴定为正品。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

采用 col 1~col 13 色谱柱, 以 0.1% 磷酸水溶液 (A)-乙腈 (B) 为流动相, 梯度洗脱 (0~20 min, 15%B → 20%B; 20~20.1 min, 20%B → 25%B; 20.1~40 min, 25%B; 40~40.1 min, 25%B → 45%B; 40.1~65 min, 45%B), 流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, 检测波长为 330 nm (0~40 min) 和 275 nm (40~65 min), 柱温 30 °C, 进样量 10 μL。

### 2.2 混合对照品溶液的制备

取野黄芩苷、迷迭香酸、黄芩素-7-甲醚、香荆芥酚、麝香草酚的对照品适量, 精密称定, 加甲醇制成质量浓度分别为 0.211 8、0.187 2、0.184 2、1.207 5、0.498 9 mg·mL<sup>-1</sup> 的对照品储备液; 分别精密吸取上述对照品储备液 1、3、1、0.3、3 mL, 置于同一 10 mL 量瓶中, 加甲醇稀释, 摇匀, 即得。

表 2 24 批香薷样品来源信息

Tab. 2 Source information of 24 batches of

Moslae Herba sample

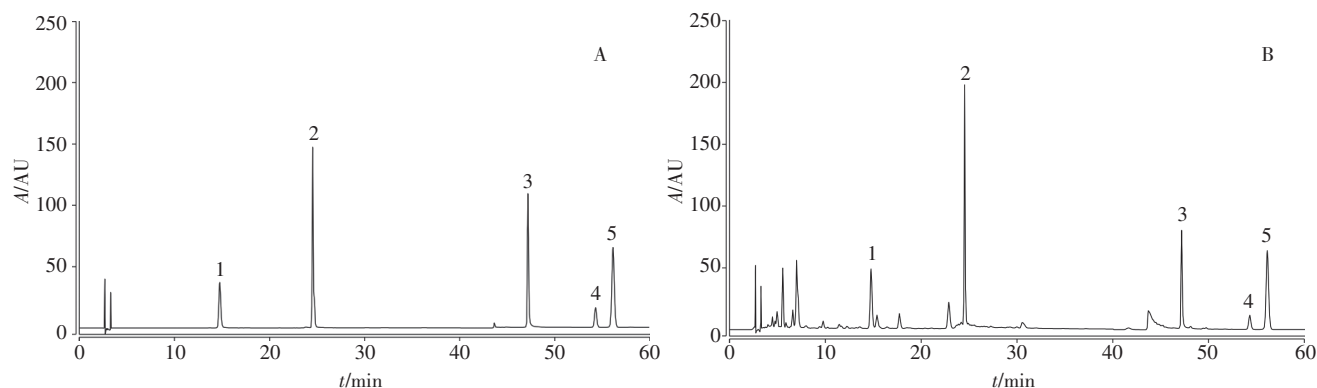
编号 (No.)	产地 (origin)	批号 (batch No.)
Y1	江西余江 (Yujiang, Jiangxi)	20240301
Y2	江西余江 (Yujiang, Jiangxi)	2310003
Y3	江西余江 (Yujiang, Jiangxi)	2311003
Y4	江西余江 (Yujiang, Jiangxi)	2312001
Y5	江西新余 (Xinyu, Jiangxi)	2312002
Y6	江西弋阳 (Yiyang, Jiangxi)	20240302
Y7	江西弋阳 (Yiyang, Jiangxi)	2312003
Y8	江西抚州 (Fuzhou, Jiangxi)	2312006
Y9	江西上饶 (Shangrao, Jiangxi)	2312005
Y10	江西鹰潭 (Yingtán, Jiangxi)	2401002
Y11	湖北 (Hubei)	20240303
Y12	浙江 (Zhejiang)	20240304
Y13	湖南新宁 (Xinning, Hunan)	20240305
Y14	湖南邵阳 (Shaoyang, Hunan)	2312004
Y15	湖南邵阳 (Shaoyang, Hunan)	2311001
Y16	江西余江 (Yujiang, Jiangxi)	20240601
Y17	湖南邵阳 (Shaotang, Hunan)	20240602
Y18	江西弋阳 (Yiyang, Jiangxi)	20240604
Y19	江西 (Jiangxi)	20240501
Y20	江西 (Jiangxi)	20240701
Y21	湖北 (Hubei)	20240502
Y22	湖北 (Hubei)	20240702
Y23	湖南 (Hunan)	20240703
Y24	四川 (Sichuan)	24240704

### 2.3 供试品溶液的制备

取香薷粉末(过2号筛)约1g,精密称定,置于具塞锥形瓶中,精密加入70%甲醇50mL,称量,超声(功率250W,频率40kHz)处理30min,放冷后再次称量,用70%甲醇补足损失的量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

### 2.4 方法学考察

**2.4.1 专属性试验** 精密吸取混合对照品溶液和供试品溶液各10 $\mu$ L,使用col1色谱柱,按照“2.1”项下条件进样测定。结果(图1)表明,各成分峰均具有很好的分离,且不受溶剂的干扰。



1. 野黄芩苷(scutellarin) 2. 迷迭香酸(rosmarinic acid) 3. 黄芩素-7-甲醚(negletein) 4. 香荆芥酚(carvacrol) 5. 麝香草酚(thymol)

图1 混合对照品(A)及样品(B)的HPLC图

Fig. 1 HPLC chromatograms of mixed references substance(A) and sample(B)

**2.4.2 精密度试验** 取“2.2”项下混合对照品溶液,按“2.1”项下条件重复进样6次测定,计算野黄芩苷、迷迭香酸、黄芩素-7-甲醚、香荆芥酚、麝香草酚峰面积的RSD( $n=6$ )为0.12%~0.62%。

照品溶液1、2、5、10、20、40 $\mu$ L,按“2.1”项下条件进样测定,以质量浓度 $X(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$ 为横坐标,峰面积 $Y$ 为纵坐标进行线性回归,绘制标准曲线,结果见表3。在相应浓度范围内,各成分具有较好的线性关系。

**2.4.3 线性关系考察** 精密吸取“2.2”项下混合对

表3 5个成分线性范围

Tab. 3 Linear range of five components

成分 (component)	线性方程 (linear equation)	$r$	线性范围 (linear range)/( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )
野黄芩苷(scutellarin)	$Y=0.4011X-0.0537$	1.000	2.118~84.729
迷迭香酸(rosmarinic acid)	$Y=0.3515X+0.0996$	1.000	5.6174~224.6976
黄芩素-7-甲醚(negletein)	$Y=0.7464X-0.1604$	0.9998	1.8424~73.696
香荆芥酚(carvacrol)	$Y=0.1159X+0.1023$	0.9996	3.6226~144.906
麝香草酚(thymol)	$Y=0.1278X+0.0587$	1.000	14.967~588.6807

**2.4.4 重复性试验** 取同一批(批号20240302)香薷样品,先按“2.3”项下方法配制供试品溶液,在“2.1”项色谱条件下进样测定,重复测定6次,按外标法(ESM)计算样品含量,结果香薷中野黄芩苷、迷迭香酸、黄芩素-7-甲醚、香荆芥酚、麝香草酚的平均含量分别为1.3399、3.5310、0.9438、1.9073、7.3529 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ,RSD分别为1.2%、1.4%、0.62%、0.24%、0.17%,表明方法重复性良好。

取同一批(批号20240302)香薷样品,先按“2.3”项下方法配制供试品溶液,在“2.1”项色谱条件下,分别于0、2、4、8、12、24h进样测定,结果野黄芩苷、迷迭香酸、黄芩素-7-甲醚、香荆芥酚、麝香草酚的峰面积在24h无明显变化,其RSD分别为0.63%、1.6%、1.1%、1.2%、0.74%,表明该方法稳定性好。

**2.4.5 稳定性试验** 取同一批(批号20240302)香

**2.4.6 加样回收率试验** 取同一批(批号20240302)香薷粉末9份,每份0.5g,精密称定,置具塞锥形瓶中,按样品总量的80%、100%、120%加入对照品,按

“2.3”项下方法配制溶液,照“2.1”项色谱条件进样测定,平行3次,考察回收率。结果野黄芩苷、迷迭香酸、黄芩素-7-甲醚、香荆芥酚、麝香草酚的平均回收率依次为102.0%、97.6%、95.6%、98.6%、96.9%,其RSD分别为1.7%、1.9%、2.0%、1.7%、1.1%,表明该方法的回收率良好。

### 3 TRSDMC 法的建立

#### 3.1 相对校正因子

精密吸取“2.2”项下混合对照品溶液1、2、5、10、20、40 μL,采用col 1色谱柱,按“2.1”项色谱条件进样测定。分别计算野黄芩苷、黄芩素-7-甲醚、香荆芥酚、麝香草酚相对于迷迭香酸的相对校正因子,结果见表4。

表4 相对校正因子

Tab. 4 Relative correction factor

混合对照品溶液 (mixed reference substance solution)	相对校正因子 (relative correction factor)			
	野黄芩苷 (scutellarin)	黄芩素-7-甲醚 (negletein)	香荆芥酚 (carvacrol)	麝香草酚 (thymol)
I	0.854 3	0.473 8	3.015 1	2.738 5
II	0.857 3	0.473 8	3.004 5	2.722 7
III	0.831 4	0.477 1	2.997 1	2.733 6
IV	0.861 7	0.479 3	3.038 7	2.753 9
V	0.864 0	0.482 0	3.028 2	2.748 1
VI	0.851 0	0.465 3	3.124 5	2.734 6
均值 (mean)	0.853 3	0.475 2	3.034 7	2.738 6
RSD/%	1.4	1.2	1.5	0.41

#### 3.2 相对校正因子的耐用性考察

**3.2.1 不同仪器和色谱柱的考察** 考察3台仪器及13根色谱柱,野黄芩苷、迷迭香酸、黄芩素-7-甲醚、香荆芥酚、麝香草酚相对校正因子的RSD均<2.0%,表明在不同仪器及色谱柱上无显著差异,适用性良好(表5)。

**3.2.2 不同柱温、流速、波长的影响** 在相同的条件下,采用Ultimate 3000液相色谱仪与col 1色谱柱,对流速(0.8、1.0、1.2 mL·min<sup>-1</sup>)、柱温(28、30、32 °C)和波长(329、274、331、276 nm)等色谱条件进行考察。结果(表6)显示,相对校正因子的RSD均<2.0%。

#### 3.3 待测色谱峰的定性研究

**3.3.1 色谱柱的适用性考察** 本试验的色谱峰定性采用双标线性校正(LCTRS)法,具体原理和方法见文献[16-18]。通过测定对照品的实际保留时间定位色谱峰,得到所有待测成分的实际保留时间。以5个成分在不同色谱柱及不同仪器上的平均保留时间为标准保留时间,结果野黄芩苷、迷迭香酸、黄芩素-7-甲醚、香荆芥酚、麝香草酚的标准保留时间依次为18.779、26.866、48.641、58.811、61.375 min。以5个成分的标准保留时间X为横坐标,实际保留时间Y为纵坐标,计算采用各色谱柱的线性方程和相关系数,见表7,可知各成分在不同色谱柱的保留时间呈良好的线性关系。

**3.3.2 LCTRS法对化合物的测定** 以col 14色谱柱进行验证。分别精密吸取双标对照品溶液和供试品

溶液,进样测定,以迷迭香酸、香荆芥酚标准保留时间(26.866、58.811 min)为横坐标,迷迭香酸、香荆芥酚实际保留时间(26.434、58.183 min)为纵坐标,得到2点线性方程:Y=0.993 9X-0.267 2。再分别将野黄芩苷、黄芩素-7-甲醚、麝香草酚的标准保留时间(18.779、48.641、61.375 min)代入方程,得到相应成分的预测保留时间分别为18.397、48.077、60.733 min,与上述成分的实际保留时间(18.253、48.417、61.183 min)相比较,误差分别为-0.14、0.34、0.45 min。满足预测保留时间与实际保留时间误差应不超过0.5 min的要求<sup>[19]</sup>,表明该方法切实可行。

**3.3.3 LCTRS法与相对保留时间法的比较** LCTRS法以迷迭香酸和香荆芥酚作为双标化合物,相对保留时间法以迷迭香酸作为参照物。对得到的保留时间预测值和实际值进行统计,结果见表8。LCTRS法预测值的绝对偏差≤0.5 min,相对保留时间法预测值的绝对偏差≤1.1 min,由此可见,LCTRS法绝对偏差更小,准确度优,具有明显优势。

#### 3.4 ESM与TRSDMC法结果比较

精密称取24批香薷饮片粉末各1 g,按“2.3”项下方法制备供试品溶液,按“2.1”项色谱条件,分别用ESM和TRSDMC法对香薷进行多成分含量测定,并对结果进行比较。2种方法测定的样品含量无显著性差异(RSD均<2.0%),见表9。

表 5 不同仪器和色谱柱的相对校正因子耐用性

Tab. 5 Relative correction factor durability of different instruments and columns

仪器 (instrument)	色谱柱 (column)	相对校正因子 (relative correction factor)				
		野黄芩苷 (scutellarin)	迷迭香酸 (rosmarinic acid)	黄芩素 -7- 甲醚 (negletein)	香荆芥酚 (carvacrol)	麝香草酚 (thymol)
Ultimate 3000	col 1	0.844 1	1.000	0.480 5	3.038 7	2.753 9
	col 2	0.866 2	1.000	0.472 5	3.041 9	2.727 3
	col 3	0.869 0	1.000	0.491 5	3.076 1	2.792 2
	col 4	0.845 0	1.000	0.483 0	2.994 4	2.755 7
	col 5	0.845 6	1.000	0.494 7	3.091 6	2.757 0
	col 6	0.873 7	1.000	0.496 9	3.055 7	2.778 3
	col 7	0.831 6	1.000	0.488 9	2.978 8	2.719 6
	col 8	0.850 8	1.000	0.487 5	3.051 3	2.787 0
	col 9	0.847 1	1.000	0.472 5	3.041 9	2.727 3
	col 10	0.853 0	1.000	0.468 0	3.007 5	2.792 2
	col 11	0.848 6	1.000	0.493 1	3.013 7	2.735 5
	col 12	0.860 3	1.000	0.483 2	2.886 6	2.725 8
	col 13	0.852 2	1.000	0.499 3	3.044 9	2.803 3
Agilent 1260 Infinity II	col 1	0.852 0	1.000	0.494 3	3.057 7	2.709 8
	col 2	0.857 0	1.000	0.483 9	3.032 1	2.880 8
	col 3	0.870 8	1.000	0.478 0	2.942 5	2.675 4
	col 4	0.876 4	1.000	0.487 3	3.013 2	2.728 1
	col 5	0.869 3	1.000	0.485 9	2.938 7	2.720 0
	col 6	0.844 7	1.000	0.479 5	3.089 1	2.769 0
	col 7	0.856 7	1.000	0.497 9	3.037 7	2.694 7
	col 8	0.867 4	1.000	0.509 2	3.006 2	2.737 7
	col 9	0.875 7	1.000	0.497 0	3.083 2	2.576 9
	col 10	0.856 9	1.000	0.492 4	3.046 1	2.647 8
	col 11	0.872 5	1.000	0.476 9	3.080 8	2.708 7
	col 12	0.876 9	1.000	0.498 0	3.012 2	2.768 4
	col 13	0.856 9	1.000	0.484 9	3.141 6	2.710 5
LC-20AT	col 1	0.835 7	1.000	0.496 8	3.049 1	2.745 7
	col 2	0.848 4	1.000	0.497 6	3.073 9	2.776 4
	col 3	0.864 1	1.000	0.504 3	2.971 3	2.774 4
	col 4	0.869 5	1.000	0.492 6	3.018 0	2.707 2
	col 5	0.885 2	1.000	0.490 2	2.935 2	2.753 5
	col 6	0.859 0	1.000	0.488 4	3.064 0	2.735 2
	col 7	0.839 3	1.000	0.491 3	2.906 4	2.743 2
	col 8	0.865 8	1.000	0.489 2	3.090 4	2.788 0
	col 9	0.865 4	1.000	0.480 2	2.948 4	2.738 0
	col 10	0.863 9	1.000	0.496 6	3.024 5	2.629 5
	col 11	0.882 5	1.000	0.496 8	3.036 6	2.766 6
	col 12	0.873 7	1.000	0.505 2	3.021 3	2.733 1
	col 13	0.848 1	1.000	0.500 5	3.075 5	2.762 2
均值 (mean)		0.86	1.00	0.49	3.03	2.74
RSD/%		1.5	0	1.9	1.8	1.8

表 6 其他因素对相对校正因子的影响

Tab. 6 Influence of other factors on relative correction factor

实验条件 (experimental condition)		相对校正因子 (relative correction factor)				
		野黄芩苷 (scutellarin)	迷迭香酸 (rosmarinic acid)	黄芩素-7-甲醚 (negletein)	香荆芥酚 (carvacrol)	麝香草酚 (thymol)
流速 (flow rate)/(mL·min <sup>-1</sup> )	0.8	0.845 7	1.000	0.497 5	3.030 2	2.761 0
	1	0.845 3	1.000	0.483 7	3.088 1	2.789 7
	1.2	0.851 6	1.000	0.490 9	3.094 0	2.756 1
柱温 (column temperature)/°C	28	0.849 1	1.000	0.485 8	3.000 2	2.747 1
	32	0.854 0	1.000	0.481 1	2.934 3	2.736 5
波长 (wavelength)/nm	329、274	0.851 6	1.000	0.485 8	3.081 6	2.715 2
	331、276	0.866 7	1.000	0.480 1	2.993 7	2.721 2
均值 (mean)		0.85	1.00	0.49	3.03	2.75
RSD/%		0.85	0	1.2	2.0	0.93

表 7 不同色谱柱线性方程

Tab. 7 Linear equations of different chromatographic columns

色谱柱 (column)	线性方程 (linear equation)	r
col 1	Y=1.001 9 X-0.195 1	0.999 8
col 2	Y=1.032 9 X+0.143 6	0.999 1
col 3	Y=0.954 4 X+0.907 3	0.999 4
col 4	Y=0.988 3 X+0.674 6	0.999 2
col 5	Y=1.008 4 X-0.497 2	0.999 7
col 6	Y=0.996 6 X-0.568 9	0.999 6
col 7	Y=0.961 4 X+2.725 1	0.999 7
col 8	Y=0.988 9 X+0.594 6	0.999 3
col 9	Y=1.005 3 X-0.176 9	0.999 0
col 10	Y=0.925 X+3.893 7	0.999 5
col 11	Y=0.967 7 X+1.983 5	0.999 3
col 12	Y=0.985 9 X+0.191 4	0.999 2
col 13	Y=1.002 7 X-1.931 4	0.999 3

表 8 2种方法预测值的绝对偏差

Tab. 8 Absolute deviation of predicted values by two methods

方法 (method)	色谱柱 (column)	绝对偏差 (absolute deviation)/min				
		野黄芩苷 (scutellarin)	迷迭香酸 (rosmarinic acid)	黄芩素-7-甲醚 (negletein)	香荆芥酚 (carvacrol)	麝香草酚 (thymol)
LCTRS	col 1	0.134 8	-	0.356 3	-	0.445 2
	col 2	0.138 0	-	0.368 9	-	0.465 6
	col 3	0.099 1	-	0.342 5	-	0.429 9
	col 4	0.142 7	-	0.350 4	-	0.450 8
	col 5	0.132 2	-	0.323 2	-	0.449 9
	col 6	0.128 4	-	0.299 2	-	0.422 9
	col 7	0.148 1	-	0.358 7	-	0.447 7
	col 8	0.142 3	-	0.332 8	-	0.480 6
	col 9	0.131 2	-	0.336 3	-	0.416 4
	col 10	0.148 0	-	0.381 4	-	0.469 4
	col 11	0.149 2	-	0.366 0	-	0.474 0
	col 12	0.135 7	-	0.354 7	-	0.463 6
	col 13	0.120 5	-	0.302 3	-	0.429 3

表 8(续)

方法 (method)	色谱柱 (column)	绝对偏差 (absolute deviation)/min				
		野黄芩苷 (scutellarin)	迷迭香酸 (rosmarinic acid)	黄芩素 -7- 甲醚 (negletein)	香荆芥酚 (carvacrol)	麝香草酚 (thymol)
相对保留时间法 (relative retention time)	col 1	0.318 3	-	0.836 1	1.000 7	1.044 0
	col 2	0.325 8	-	0.865 5	0.991 4	1.091 7
	col 3	0.234 9	-	0.803 8	0.971 6	1.008 3
	col 4	0.336 8	-	0.822 3	1.001 2	1.057 0
	col 5	0.312 2	-	0.758 7	0.996 6	1.054 9
	col 6	0.303 4	-	0.702 7	0.994 8	0.991 9
	col 7	0.349 4	-	0.841 8	1.016 2	1.049 8
	col 8	0.335 9	-	0.781 3	1.006 8	0.819 5
	col 9	0.309 9	-	0.789 3	1.014 8	1.044 8
	col 10	0.349 2	-	0.894 7	0.992 8	1.032 3
	col 11	0.352 0	-	0.858 8	1.008 9	1.043 0
	col 12	0.320 6	-	0.832 4	0.982 1	1.001 6
	col 13	0.284 9	-	0.709 9	0.975 2	0.989 7

表 9 24 批香薷样品 ESM 与 TRSDMC 法测定结果

Tab. 9 Results of 24 batches of Moslae Herba sample obtained by ESM and TRSDMC method

编号 (No.)	含量 (content)/(mg · g <sup>-1</sup> , n=2)									
	野黄芩苷 (scutellarin)		黄芩素 -7- 甲醚 (negletein)		香荆芥酚 (carvacrol)		麝香草酚 (thymol)		迷迭香酸 (rosmarinic acid)	
	ESM	TRSDMC	ESM	TRSDMC	ESM	TRSDMC	ESM	TRSDMC	ESM	
Y1	0.82	0.83	0.16	0.16	0.59	0.59	1.81	1.83	9.73	
Y2	2.87	2.93	0.99	1.01	1.53	1.54	10.27	10.38	6.68	
Y3	0.11	0.11	0.07	0.07	1.28	1.28	2.38	2.39	1.46	
Y4	0.60	0.61	0.16	0.17	1.23	0.23	1.89	1.91	5.02	
Y5	0.65	0.66	0.18	0.18	3.16	3.17	3.54	3.58	8.95	
Y6	1.39	1.41	0.87	0.89	1.38	1.39	7.45	7.53	3.57	
Y7	0.17	0.18	0.24	0.24	0.58	0.58	5.06	5.12	0.99	
Y8	2.85	2.91	0.14	0.15	1.14	1.15	0.61	0.62	9.2	
Y9	0.32	0.41	0.1	0.1	2.58	2.57	1.39	1.36	4.59	
Y10	3.02	3.07	0.85	0.87	8.52	8.54	2.46	2.48	9.42	
Y11	0.93	0.95	0.31	0.32	1.28	1.29	1.26	1.29	6.47	
Y12	1.85	1.88	0.80	0.81	0.87	0.88	4.29	4.34	3.97	
Y13	0.98	1.00	0.57	0.58	1.05	1.06	8.11	8.15	4.74	
Y14	0.07	0.07	0.04	0.04	0.56	0.56	1.53	1.54	0.73	
Y15	2.17	2.21	0.84	0.85	3.76	3.77	9.32	9.41	3.72	
Y16	0.54	0.55	0.68	0.69	2.38	2.39	6.39	6.45	5.38	
Y17	0.84	0.86	0.39	0.39	0.65	0.65	7.98	8.07	8.13	
Y18	0.49	0.50	0.55	0.56	1.81	1.81	4.89	4.94	6.32	
Y19	0.65	0.66	0.48	0.48	0.65	0.66	4.12	4.19	4.98	
Y20	0.80	0.81	0.30	0.31	1.06	1.07	2.63	2.73	5.27	
Y21	0.13	0.13	0.33	0.33	0.70	0.71	3.57	3.65	4.17	
Y22	0.80	0.81	0.28	0.29	0.52	0.52	2.22	2.26	5.01	
Y23	0.53	0.54	0.31	0.32	0.36	0.37	3.29	3.36	4.25	
Y24	0.05	0.06	0.10	0.11	0.47	0.32	3.65	3.74	4.19	

### 3.5 化学计量学分析

**3.5.1 聚类分析** 将 24 批香薷中 5 个成分的含量测定结果导入 SPSS 26.0 软件,以样品编号为个案、各成分含量为变量进行系统聚类分析(HCA),算法采用组间联接法,测度选择平方欧式距离,得到 HCA 图,见图 2。由图 2 可知,当分类距离为 10 时,样品

大致可以分为 3 类: Y1、Y3-Y5、Y9、Y11-Y12、Y14、Y19-Y24 为第 1 类, Y2、Y6、Y13、Y15-Y18 为第 2 类, Y10 为第 3 类。从 HCA 结果结合各个批次的产地归属,发现产地的样品不具备明显的地域性差异,说明不同产地香薷存在着较大的亲缘关系,种植的香薷质量接近。

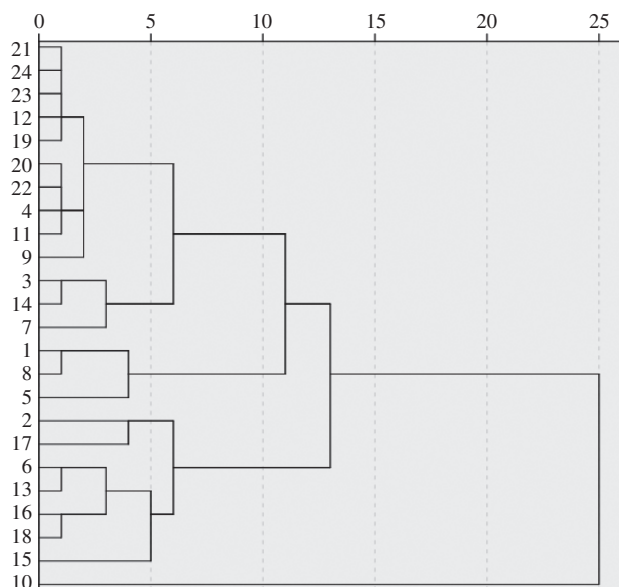


图 2 24 批香薷样品 HCA 图

Fig. 2 HCA of 24 batches of Moslae Herba sample

**3.5.2 主成分分析和正交偏最小二乘判别分析** 采用 SIMCA 14.1 软件对 24 批香薷中的 5 个化学成分进行主成分分析(PCA),模型结果见图 3。第一主成分的贡献率为 50%,第二主成分的贡献率为 26.30%,第三主成分的贡献率为 14.80%,累计达 91.90%,说明这些成分可代表香薷的绝大部分信息;PCA 与 HCA 结果一致,同时所有检测数据无异常(所有数据点均在 95% 置信区间内),但各散点离散度较大,这可能与 24 批香薷的有效成分含量存在一定差异有关。为了进一步分析不同批次香薷之间化学成分的差异,采用 SIMCA 14.1 软件进行正交偏最小二乘判别分析(OPLS-DA),由图 4 可知,24 批样品可分为 3 类,与 PCA 和 HCA 结果一致。再进行变量投影重要度分析(VIP),结果见图 5。根据 VIP 值大小排序,依次为香荆芥酚(1.118 7)、麝香草酚(1.100 4)、黄芩素-7-甲醚(1.081 5)、野黄芩苷(0.907 0)、迷迭香酸(0.738 4),其中,香荆芥酚、麝香草酚和黄芩素-7-甲醚的 VIP 值均 > 1,说明这 3 个组分对香薷

整体质量影响较大,后续在香薷质量控制过程中可重点关注,科学合理地进行质量监测。

## 4 讨论

### 4.1 方法的适用性

本试验以香薷为研究对象,对其化学成分进行定性、定量分析。在定性上,采用 LCTRS 法,实现了对香薷多成分的准确定位。实验结果表明,采用 LCTRS 法可以更精确地预测各组分在样品中的保留时间,拓宽了色谱柱的使用范围,从而提高了分析的效率。在定量上,采用迷迭香酸对照,用相对校正因子法对指标性成分进行含量测定,并与 ESM 进行比较,结果发现 2 种方法的测量值无显著差异。TRSDMC 法在香薷的多指标成分定性分析与定量分析中具有独特的优势,在节约对照品的同时降低检验成本,为香薷的质量控制提供了新思路。TRSDMC 法在中药多成分分析方面有较好的应用前景,可进一步将其推广到国家药品抽检、省级药品抽检和药品标准研究等领域,并将其推广到更多的中药品种的质控中,

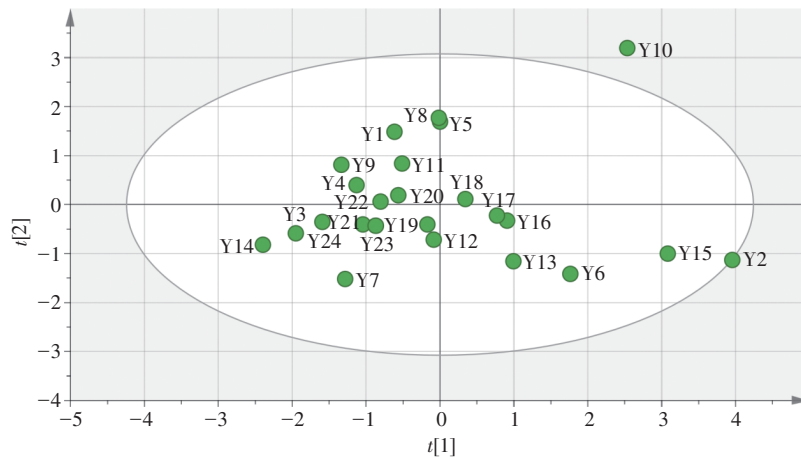


图3 24批香薷样品 PCA 得分图

Fig. 3 PCA score plot of 24 batches of Moslae Herba sample

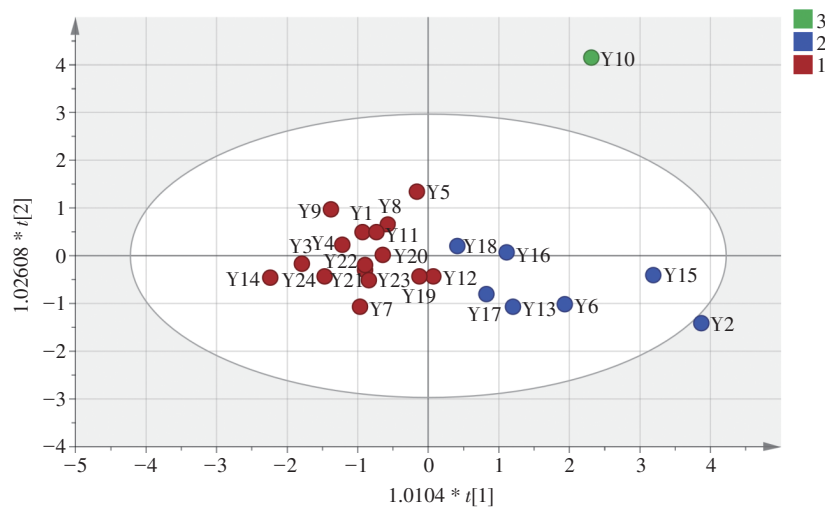


图4 24批香薷样品 OPLS-DA 得分图

Fig. 4 OPLS-DA score plot of 24 batches of Moslae Herba sample

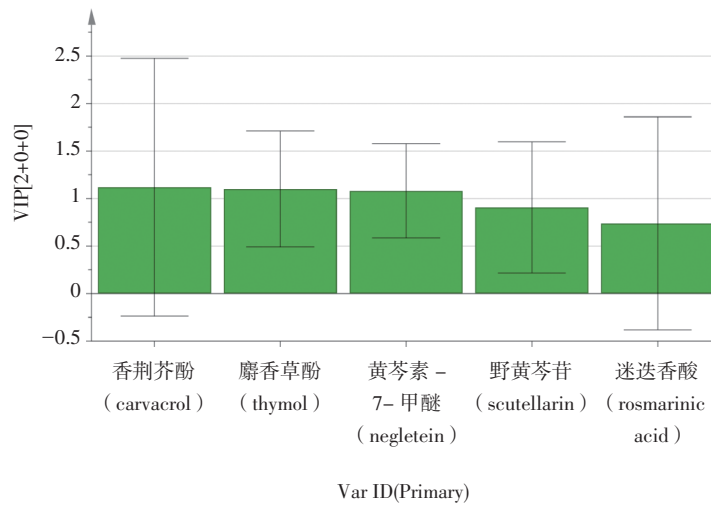


图5 24批香薷样品 VIP 得分图

Fig. 5 VIP score plot of 24 batches of Moslae Herba sample

对其进行替代检测方法的研究,以期更好地解决对照品的供求矛盾,更加全面地评价中药的品质,从而全面地保障中药材的品质。

#### 4.2 色谱条件的优化

本试验考察了乙腈、甲醇及不同种类、浓度的酸对样品分离的影响,结果发现,乙腈-0.1%磷酸溶液作为流动相时,分离程度最佳,保留时间符合要求。通过紫外吸收光谱进行全波长扫描,发现香薷中各种化学成分对紫外的吸收作用各不相同,其中野黄芩苷、迷迭香酸均在 330 nm 左右处有最大吸收,黄芩素-7-甲醚、香荆芥酚、麝香草酚在 278 nm 左右处有最大吸收。因此,在采用 LCTRS 法对化合物进行定性时,最终确定用 280 nm 和 330 nm 双波长进行含量测定。

#### 4.3 香薷的质量控制

本试验测定了 24 批药材,发现不同产地香薷在成分比例上与地域没有呈现明显的相关,香薷总体质量较为稳定。研究中发现同一产地不同批次的野黄芩苷、迷迭香酸、黄芩素-7-甲醚、麝香草酚及香荆芥酚 5 个成分的含量存在一定的差异,考虑可能与香薷的采收、加工方式贮存等因素有关。本试验采用 TRSDMC 法,不仅实现了香薷多组分含量的同步检测,而且为香薷的质量控制提供了更加科学、经济、稳定的方法。后续将进一步以药效为导向,深入研究 5 个主要成分与其内在质量的相关性和贡献度,更为科学合理的选择质控指标。

#### 参考文献

- [ 1 ] 陶弘景. 名医别录 [ M ]. 北京: 中国中医药出版社, 2013: 203  
TAO HJ. *Mingyibielu* [ M ]. Beijing: China Press of Traditional Chinese Medicine, 2013: 203
- [ 2 ] 卫计委公布最新食药两用中药名单 [ J ]. 中医临床研究, 2017, 9 ( 24 ): 11  
Health Planning Commission announced the latest list of dual-use traditional Chinese medicines [ J ]. *Clin J Chin Med*, 2017, 9 ( 24 ): 11
- [ 3 ] 单锋, 张万祥, 张水寒, 等. 经典名方中香薷的本草考证 [ J ]. 中国实验方剂学杂志, 2023, 29 ( 12 ): 1  
SHAN F, ZHANG WX, ZHANG SH, *et al.* Herbal textual research on *Moslae Herba* in famous classical formulas [ J ]. *Chin J Exp Tradit Med Form*, 2023, 29 ( 12 ): 1
- [ 4 ] 向平, 娄桂群, 王仕艳, 等. 香薷、野草香挥发油分析及其生物活性评价 [ J ]. 中成药, 2017, 39 ( 9 ): 1880  
XIANG P, LOU GQ, WANG SY, *et al.* Analysis of volatile oils in *Elsholtzia ciliata* and *Elsholtzia cypriani* and evaluation of their biological activities [ J ]. *Chin Tradit Pat Med*, 2017, 39 ( 9 ): 1880
- [ 5 ] 梅全喜. 现代中药药理与临床应手册 [ M ]. 北京: 中国中医药出版社, 2008: 47  
MEI QX. *Handbook of Pharmacology and Clinical Application of Modern Chinese Medicine* [ M ]. Beijing: China Press of Traditional Chinese Medicine, 2008: 47
- [ 6 ] 刘梦婷, 罗飞亚, 曾建国. 石香薷精油成分分析及其抗菌抗氧化活性 [ J ]. 中成药, 2020, 42 ( 11 ): 3091  
LIU MT, LUO FY, ZENG JG. Composition analysis and antibacterial and antioxidant activity of *Elsholtzia bodinieri* essential oil [ J ]. *Chin Tradit Pat Med*, 2020, 42 ( 11 ): 3091
- [ 7 ] 常秋, 蒋华军, 罗敏燕, 等. 不同地区香薷各部位总黄酮及游离黄酮的分析研究 [ J ]. 中成药, 2013, 35 ( 3 ): 580  
CHANG Q, JIANG HJ, LUO MY, *et al.* Contents of total and free flavonoids in different parts of *Mosla chinensis* from different habitats [ J ]. *Chin Tradit Pat Med*, 2013, 35 ( 3 ): 580
- [ 8 ] LI JE, NIE SP, XIE MY, *et al.* Chemical composition and antioxidant activities in immunosuppressed mice of polysaccharides isolated from *Mosla chinensis* Maxim cv. Jiangxiangru [ J ]. *Int Immunopharmacol*, 2013, 17 ( 2 ): 267
- [ 9 ] 中华人民共和国药典 2020 年版. 一部 [ S ]. 2020: 271  
ChP 2020. Vol I [ S ]. 2020: 271
- [ 10 ] 叶梦倩, 吴孟华, 马志国, 等. 香薷 HPLC 指纹图谱及多指标成分定量分析 [ J ]. 药物分析杂志, 2023, 43 ( 2 ): 236  
YE MQ, WU MH, MA ZG, *et al.* HPLC fingerprint and multi-components quantitative analysis of *Moslae Herba* [ J ]. *Chin J Pharm Anal*, 2023, 43 ( 2 ): 236
- [ 11 ] 李文霞, 孔静, 武秋红, 等. 基于有效基准特征图谱质量表征的江香薷饮片质量评价研究 [ J ]. 环球中医药, 2021, 14 ( 5 ): 789  
LI WX, KONG J, WU QH, *et al.* Study on quality evaluation of *Mosla chinensis* Jiangxiangru based on quality characterization of effective benchmark characteristic spectrum [ J ]. *Glob Tradit Chin Med*, 2021, 14 ( 5 ): 789
- [ 12 ] 张依欣, 凡若楠, 张崇佩, 等. 不同产地香薷 HPLC 指纹图谱的建立及 7 种成分测定 [ J ]. 中成药, 2019, 41 ( 3 ): 584  
ZHANG YX, FAN RN, ZHANG CP, *et al.* Establishment of HPLC fingerprints of *Mosla chinensis* from different growing areas and determination of seven constituents [ J ]. *Chin Tradit Pat Med*, 2019, 41 ( 3 ): 584
- [ 13 ] 孙磊, 金红宇, 逢瑜, 等. 双标多测法 I—双标线性校正技术用于色谱峰的定性 [ J ]. 药物分析杂志, 2013, 33 ( 8 ): 1424  
SUN L, JIN HY, PENG Y, *et al.* Two reference substances for determination of multiple components ( I ): linear calibration using two reference substances for identification of chromatographic peaks [ J ]. *Chin J Pharm Anal*, 2013, 33 ( 8 ): 1424
- [ 14 ] 孙磊, 逢瑜, 金红宇, 等. 双标多测法 II—检测波长选择对定量分析的影响 [ J ]. 药物分析杂志, 2013, 33 ( 9 ): 1578  
SUN L, PENG Y, JIN HY, *et al.* Two reference substances for determination of multiple components ( II ): influence of detection

- wavelength selection on quantitative analysis [J]. *Chin J Pharm Anal*, 2013, 33(9): 1578
- [15] 孙磊, 张超, 逢瑜, 等. 双标多测法Ⅲ—4种定性定量模式及紫外—可见光谱、质谱辅助定性[J]. *药物分析杂志*, 2014, 34(9): 1672  
SUN L, ZHANG C, PENG Y, *et al.* Two reference substances for determination of multiple components (Ⅲ): four types of qualitative and quantitative analysis and identification of chromatographic peaks aided by UV-VIS spectrum and mass spectrum [J]. *Chin J Pharm Anal*, 2014, 34(9): 1672
- [16] 刘欣侗, 于现花, 刘军玲, 等. 绿梅花中4种成分双标多测法的建立[J]. *中国现代应用药学*, 2023, 40(5): 613  
LIU XT, YU XH, LIU JL, *et al.* Establishment of two reference substances for determination of multiple components for 4 components in *Armeniaca mume* [J]. *Chin J Mod Appl Pharm*, 2023, 40(5): 613
- [17] 于现花, 刘军玲, 金传山, 等. 西洋参破壁饮片中8种人参皂苷类成分双标多测法的建立[J]. *中国药房*, 2021, 32(11): 1345  
YU XH, LIU JL, JIN CS, *et al.* Establishment of two-reference substances for determination of multiple components for 8 kinds of ginsenosides in *Panax quinquefolium* broken pieces [J]. *China Pharm*, 2021, 32(11): 1345
- [18] 刘军玲, 张亚中, 程世云, 等. 双标多测法测定补骨脂中补骨脂苷、异补骨脂苷、补骨脂素、异补骨脂素的含量[J]. *药物分析杂志*, 2020, 40(10): 1799  
LIU JL, ZHANG YZ, CHENG SY, *et al.* Determination of psoralenoside, isopsoralenoside, psoralen and isopsoralen in *Psoralea Fructus* by method of two reference substances for determination of multiple components [J]. *Chin J Pharm Anal*, 2020, 40(10): 1799
- [19] 王龙星, 肖红斌, 梁鑫淼. 一种提高色谱指纹谱保留时间重现性的新方法[J]. *分析化学*, 2003, 31(10): 1232  
WANG LX, XIAO HB, LIANG XM. A new method to improve the reproducibility of retention time on reversed phase C<sub>18</sub> columns in different laboratories [J]. *Chin J Anal Chem*, 2003, 31(10): 1232

(本文于2024年8月12日收到)