

一测多评法同时测定丁公藤不同炮制品中 7 个活性成分含量*

杨海玲^{1,2}, 李雲妃¹, 刘振杰¹, 陆星宇¹, 潘忠旭¹

(1. 安徽医学高等专科学校, 合肥 230601; 2. 广西中医药大学, 南宁 530001)

摘要 目的: 建立一测多评法同时测定丁公藤及其炮制品中 7 个活性成分含量, 并分析炮制对其影响。方法: 采用超高效液相色谱法(UPLC), 以绿原酸为参照物, 建立新绿原酸、东莨菪苷、东莨菪内酯、异绿原酸 B、异绿原酸 A 和异绿原酸 C 的相对校正因子。分别采用外标一点法和一测多评法测定上述 7 个活性成分含量, 比较计算值与实测值的差异, 以验证一测多评法的准确性和可行性。结果: 新绿原酸、东莨菪苷、绿原酸、东莨菪内酯、异绿原酸 B、异绿原酸 A、异绿原酸 C 分别在 0.028 ~ 1.420、0.019 ~ 0.956、0.027 ~ 1.324、0.014 ~ 0.720、0.017 ~ 0.824、0.010 ~ 0.500 和 0.013 ~ 0.672 $\mu\text{g} \cdot \mu\text{L}^{-1}$ 范围内呈现良好线性关系, 平均加样回收率 ($n=6$) 分别为 98.9%、99.0%、100.6%、101.2%、100.8%、101.7% 和 100.5%, RSD 分别为 1.1%、1.7%、1.5%、1.6%、0.55%、1.6% 和 1.5%。采用校正因子计算的 7 个活性成分含量值与外标法实测值之间无显著差异。不同丁公藤饮片中新绿原 5 个有机酸(新绿原酸、绿原酸、异绿原酸 B、异绿原酸 A、异绿原酸 C)含量变化趋势基本一致, Y_5 (甘草汁-盐水煮品)含量最高, Y_{10} (甘草汁-盐水晒品II)含量最低, 东莨菪苷含量以 Y_5 含量最高($3.53 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$), Y_{10} 最低($0.31 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$)。东莨菪内酯含量以 Y_7 (甘草汁晒品I)含量最高($1.48 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$), Y_3 (甘草汁煮品II)含量最低($0.30 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$)。结论: 以绿原酸为参照物建立的一测多评法可用于丁公藤饮片质量评价, 加热和加辅料炮制均对丁公藤的化学成分产生了一定影响。

关键词: 丁公藤; 炮制; 东莨菪苷; 东莨菪内酯; 新绿原酸; 绿原酸; 异绿原酸; 一测多评法

中图分类号: R 917

文献标识码: A

文章编号: 0254-1793(2024)03-0395-10

doi: 10.16155/j.0254-1793.2024.03.04

Simultaneous determination of 7 active ingredients in Erycibes
Caulis with different processing technology by QAMS*YANG Hai-ling^{1,2}, LI Yun-fei¹, LIU Zhen-jie¹,LU Xing-yu¹, PAN Zhong-xu¹

(1. Anhui Medical College, Hefei 230601, China; 2. Guangxi Traditional Chinese Medical University, Nanning 530001, China)

Abstract Objective: To establish a method and validate its feasibility for quality evaluation of Erycibes Caulis and its processed products, and analyze the effect on the contents of the seven active ingredient before and after processing. **Methods:** The contents of components were determined by ultra performance liquid chromatography (UPLC). Chlorogenic acid was chosen as the internal reference substances, the relative correction factors

* 国家自然科学基金(81860711); 广西高校中青年骨干教师科研基础能力提升项目(2020KY07034); 广西壮瑶药重点实验室(桂科基[2014]32号(20-065-14)); 广西壮瑶药重点实验室开放课题(GXZYKF2020A-10); 广西中医药大学创新训练项目(DXS2019054); 2021年广西中医药大学校级科研项目(2021MS004); 中药炮制技术传承基地(桂中医药发【2022】9号); 2023年国家级大学生创新创业训练计划项目(202310600012)

第一作者 Tel: 15277189690; E-mail: gxyanghl2005@126.com

(RCFs) of neochlorogenic acid, scopolin, scopoletin, isochlorogenic acid B, isochlorogenic acid A, isochlorogenic acid C and to chlorogenic acid were established. The contents of these seven active ingredients were determined by external standard method and quantitative analysis of multi-components by single-marker (QAMS) method. The method was evaluated by comparison of the quantitative results between external standard method and quantitative analysis of multi-components by single-marker (QAMS). **Results:** The peaks of neochlorogenic acid, scopolin, chlorogenic acid, scopoletin, isochlorogenic acid B, isochlorogenic acid A and isochlorogenic acid C in the sample showed good linear relationship between $0.028 - 1.420 \mu\text{g} \cdot \mu\text{L}^{-1}$, $0.019 - 0.956 \mu\text{g} \cdot \mu\text{L}^{-1}$, $0.027 - 1.324 \mu\text{g} \cdot \mu\text{L}^{-1}$, $0.014 - 0.720 \mu\text{g} \cdot \mu\text{L}^{-1}$, $0.017 - 0.824 \mu\text{g} \cdot \mu\text{L}^{-1}$, $0.010 - 0.500 \mu\text{g} \cdot \mu\text{L}^{-1}$ and $0.013 - 0.672 \mu\text{g} \cdot \mu\text{L}^{-1}$, respectively. The average recoveries of them ($n = 6$) were as follows 98.9%, 99.0%, 100.6%, 101.2%, 100.8%, 101.7% and 100.5%, with the RSDs of 1.1%, 1.7%, 1.5%, 1.6%, 0.55%, 1.6% and 1.5%, respectively. It was showed that no significant difference was found in the quantitative results of seven ingredients by external standard method and QAMS method. The content of 5 kinds of organic acids (neochlorogenic acid, chlorogenic acid, isochlorogenic acid B, isochlorogenic acid A and isochlorogenic acid C) in *Erycibes Caulis* with different processing technology showed the same change trend. The sample of Y_5 (boiled products with licorice sauce and brine) had the highest contents, and the sample of Y_{10} (dried products II soaked in licorice sauce and brine) had the lowest. The content of scopolin was the highest in Y_5 ($3.53 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$), while the lowest was Y_{10} ($0.31 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$). The content of scopoletin in Y_7 (dried products I with licorice sauce) was the highest ($1.48 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$) and that in Y_3 (boiled products II with licorice sauce) was the lowest ($0.30 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$). **Conclusion:** The RCFs established in the QAMS methods with chlorogenic acid as the internal reference substances is accurate and feasible. It can be used to control the quality of *Erycibes Caulis*. Both heating and excipients preparation have a certain effect on the active ingredients in *Erycibes Caulis*. **Keywords:** *Erycibes Caulis*; processing technology; scopolin; scopoletin; neochlorogenic acid; chlorogenic acid; isochlorogenic acid; QAMS

丁公藤是2020年版《中华人民共和国药典》(简称《中国药典》) 收载品种,为旋花科植物丁公藤 *Erycibe obtusifolia* Benth. 或光叶丁公藤 *Erycibe schmidtii* Craib 的干燥藤茎^[1],其性味辛、温,有小毒。具有祛风除湿,消肿止痛功效,在许多地区多以配制酒剂,内服或外用于临床^[2]。在少数民族地区,丁公藤除生用外,还有甘草汁-盐水浸泡、蒸后晒干炮制方法,且记载经炮制可降低毒性^[3]。近年来对丁公藤的研究逐渐增多,发现丁公藤含香豆素类、生物碱, β -谷甾醇等多个成分^[4-8],现代药理研究表明东莨菪苷为其镇痛、抗炎作用的活性成分^[4,9-10],绿原酸具有抗肿瘤、抗病毒和抗菌等活性^[11]。在丁公藤的中成药应用方面,有引起剥脱性皮炎、过敏性休克等不良反应报道^[12-13],这是否与药材生用或饮片炮制不当有关? 或与其所含化学成分变化有关? 未见有其炮制方法对化学成分影响的相关报道。在对照品缺乏的情况下,近年采用一测多评法(QAMS),能够大大降低检测成本,

故在中药饮片及中成药质量控制应用越来越多^[14-17]。因此本试验采用超高效液相色谱法(UPLC),以绿原酸为参照物,运用一测多评法建立新绿原酸、东莨菪苷、东莨菪内酯、异绿原酸B、异绿原酸A和异绿原酸C的相对校正因子,分析比较炮制前后上述7个化学成分含量的变化,以期为丁公藤的炮制方法及临床运用提供科学的理论和实验依据。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Agilent 1290 Infinity II超高效液相色谱仪,安捷伦科技(中国)有限公司; Waters ACQUITY,沃特世科技(中国)有限公司; Nexera X2 LC-30AD超高效液相色谱仪,岛津企业管理(中国)有限公司; XSR205 十万分之一电子天平,梅特勒-托利多仪上海有限公司; KQ5200B型超声波清洗器,昆山市超声仪器有限公司; DHG-9140A电热恒温鼓风干燥箱,上海齐欣科学仪器有限公司; ACQUITY BEH-C₁₈色谱柱(100 mm ×

2.1 mm, 1.8 μm), 沃特世科技有限公司; Ultimate XB-C₁₈ (100 mm \times 2.1 mm, 1.8 μm), 月旭科技(上海)股份有限公司; Shim-pack Velox C₁₈ (100 mm \times 2.1 mm, 1.8 μm), 岛津企业管理(中国)有限公司。

1.2 试药

对照品: 新绿原酸(批号 MUST-21030108)、东莨菪苷(批号 PS010518)、绿原酸(批号 PS08072303)、东莨菪内酯(批号 PS010525)、异绿原酸 B(批号 MUST-21030602)、异绿原酸 A(批号 MUST-21102611)、异绿原酸 C(批号 MUST-21081010), 纯度均 $\geq 98.0\%$, 均由成都普思生物科技股份有限公司提供。

蜂蜜(批号 182404Y2), 来自上海冠生园蜂制品有限公司; 丁公藤(批号 17082101), 甘草(批号 20190807), 均购自南宁市一心药店, 经广西中医药大学梁子宁教授鉴定丁公藤为旋花科植物丁公藤 *Erycibe obtusifolia* Benth. 的干燥藤茎、甘草为豆科植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. 的干燥根及根茎。

甲醇、乙腈均为色谱纯, 来自 Fisher 公司; 水为娃哈哈纯净水, 其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 甘草汁制备

取甘草 100 g, 加入 10 倍蒸馏水, 加热至沸腾, 保持微沸 30 min, 过滤, 药渣继续加入 8 倍量蒸馏水, 同上法重复操作 1 次, 合并 2 次所得甘草汁, 浓缩至 1 000 mL, 即得。

2.2 丁公藤不同炮制品的制备

2.2.1 丁公藤生品(Y₁) 取丁公藤样品, 除去杂质, 洗净, 润透, 切片, 干燥^[1], 即得。

2.2.2 甘草汁煮品 I(Y₂) 取丁公藤生品 50 g, 加入甘草汁 30 mL, 浸泡 24 h, 加水 500 mL 煮 4 h 至近干, 取出晒干, 即得。

2.2.3 甘草汁煮品 II(Y₃) 取丁公藤生品 50 g, 取“2.1”项甘草汁 15 mL, 用水按 1:1 稀释后加入丁公藤中, 浸泡 24 h, 加入水 500 mL 煮 4 h 至近干, 取出晒干, 即得。

2.2.4 盐水煮品(Y₄) 取丁公藤生品 50 g, 加入盐水(即 2.5 g 盐溶于 80 mL 水), 浸泡 24 h, 加入 500 mL 水煮 4 h 至近干, 取出晒干, 即得。

2.2.5 甘草汁-盐水煮品(Y₅) 取丁公藤生品 50 g, 加入甘草汁 30 mL 和盐水(2.5 g 盐溶于 12.5 mL 水), 浸泡 24 h, 加水 500 mL 煮 4 h 至近干, 取出晒干, 即得。

2.2.6 盐晒品(Y₆) 取丁公藤生品 50 g, 加入盐水(同“2.2.4”), 浸泡 24 h, 晒干, 即得。

2.2.7 甘草汁晒品 I(Y₇) 取丁公藤生品 50 g, 取“2.1”项甘草汁 15 mL, 用水按 1:1 稀释后加入丁公藤中, 浸泡 24 h, 晒干, 即得。

2.2.8 甘草汁晒品 II(Y₈) 取丁公藤生品 50 g, 加入甘草汁 30 mL, 浸泡 24 h, 晒干, 即得。

2.2.9 甘草汁-盐水晒品 I(Y₉) 取丁公藤生品 50 g, 加入甘草汁 30 mL, 加入盐水(同“2.2.4”), 浸泡 24 h, 晒干, 即得。

2.2.10 甘草汁-盐水晒品 II(Y₁₀) 取丁公藤生品 50 g, 加入甘草汁 15 mL, 加入盐水(同“2.2.4”), 浸泡 24 h, 晒干, 即得。

2.2.11 甘草汁-盐水蒸品(Y₁₁) 取丁公藤生品 50 g, 加入甘草汁 15 mL, 加入盐水(同“2.2.4”)浸泡 24 h, 捞起淋去水, 放入蒸笼内隔水蒸 4 h, 取出摊开, 晒干备用, 即得。

2.2.12 盐蒸品(Y₁₂) 取丁公藤生品 50 g, 加入盐水(同“2.2.4”), 浸泡 24 h, 放入蒸笼内隔水蒸 4 h, 取出晒干, 即得。

2.2.13 甘草汁蒸品(Y₁₃) 取丁公藤生品 50 g, 取“2.1”项甘草汁 15 mL, 用水按 1:1 稀释后加入丁公藤中, 浸泡 24 h, 放入蒸笼内隔水蒸 4 h, 取出晒干, 即得。

2.2.14 甘草汁炙品(Y₁₄) 取丁公藤生品 50 g, 取“2.1”项甘草汁 15 mL, 用水按 1:1 稀释后加入丁公藤中, 浸泡 24 h, 炒干, 即得。

2.2.15 盐炙品(Y₁₅) 取丁公藤生品 50 g, 加入盐水(2.5 g 盐溶解并稀释至 40 mL), 浸泡 24 h, 炒干, 即得。

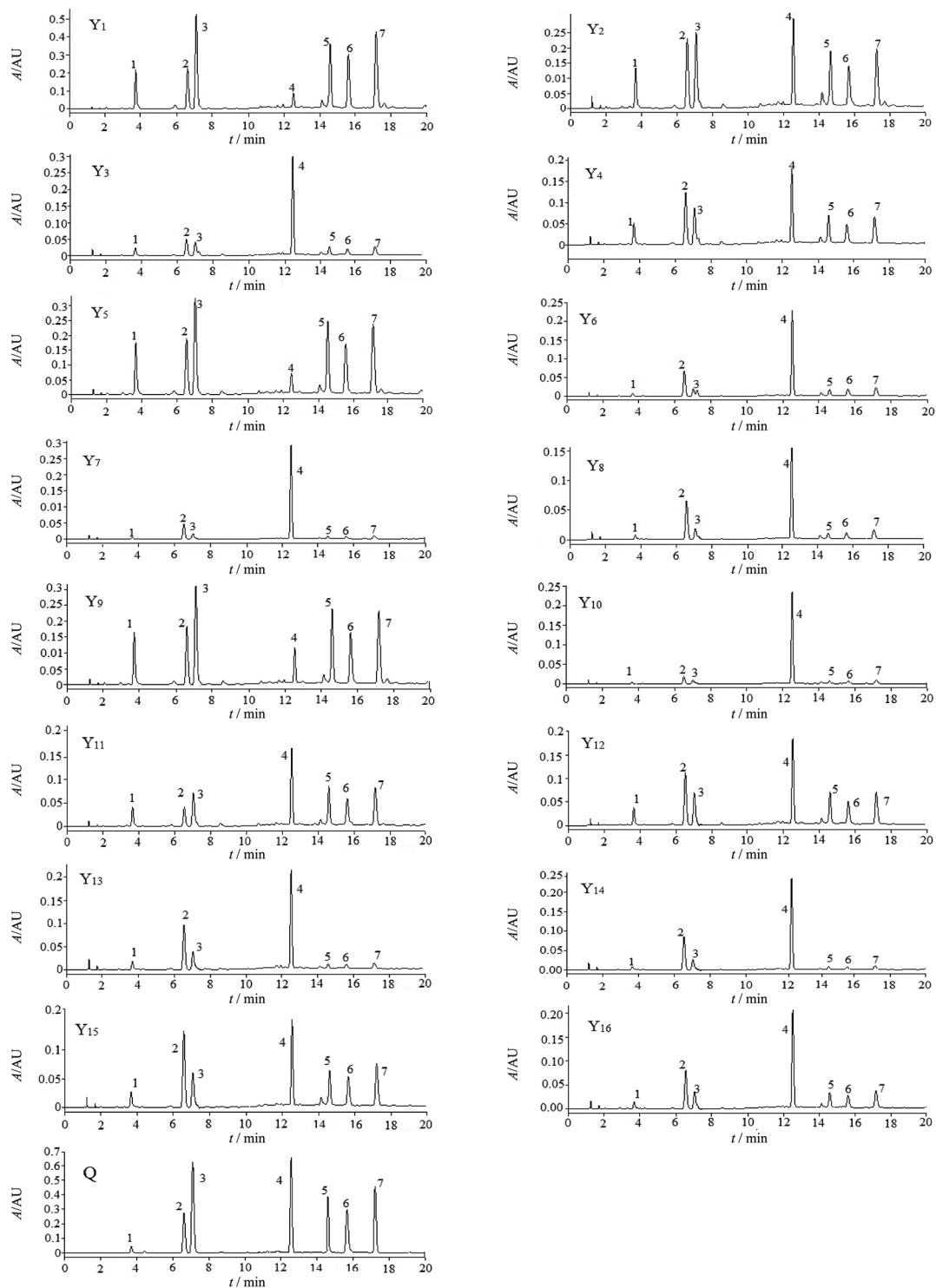
2.2.16 甘草汁-盐炙品(Y₁₆) 取丁公藤生品 50 g, 加入甘草汁 15 mL, 加入盐水(同“2.2.15”), 浸泡 24 h, 炒干, 即得。

2.3 色谱条件

色谱柱 ACQUITY UPLC BEH-C₁₈ 柱(50 mm \times 2.1 mm, 1.7 μm), 以 0.1% 磷酸(A)-乙腈(B)为流动相, 梯度洗脱(0~4 min, 10% B \rightarrow 10% B; 4.01~8 min, 10% B \rightarrow 15% B; 8.01~10 min, 15% B \rightarrow 20% B; 10.01~16 min, 20% B \rightarrow 25% B; 16.01~18 min, 25% B \rightarrow 45% B; 18.01~20 min, 45% B \rightarrow 45% B), 流速 0.2 mL \cdot min⁻¹, 检测波长 338 nm, 柱温是 30 $^{\circ}\text{C}$, 进样量 4 μL 。在上述的条件下, 新绿原酸、东莨菪苷、

绿原酸、东莨菪内酯、异绿原酸 B、异绿原酸 A、异绿原酸 C 得到了很好的分离,相邻峰之间的分离度均

大于 1.5,以绿原酸色谱峰计算理论塔板数 ≥ 5000 。结果见图 1。



1. 新绿原酸 (neochlorogenic acid) 2. 东莨菪苷 (scopolin) 3. 绿原酸 (chlorogenic acid) 4. 东莨菪内酯 (scopoletin) 5. 异绿原酸 B (isochlorogenic acid B) 6. 异绿原酸 A (isochlorogenic acid A) 7. 异绿原酸 C (isochlorogenic acid C)

图 1 丁公藤 (Y₁ ~ Y₁₆) 及混合对照品 (Q) UPLC 图

Fig. 1 UPLC chromatograms of *Erycibes Caulis* (Y₁ - Y₁₆) and mixed reference substances (Q)

2.4 溶液的制备

2.4.1 混合对照品溶液 精密称取对照品新绿原酸 35.5 mg、东莨菪苷 23.9 mg、绿原酸 33.1 mg、东莨菪内酯 18.0 mg、异绿原酸 B 20.6 mg、异绿原酸 A 12.5 mg、异绿原酸 C 16.80 mg, 置于同一 25 mL 棕色量瓶中, 加 80% 甲醇溶解并定容至刻度, 即得混合对照品储备液。精密量取混合对照品储备液 0.10、0.5、1.0、2.0、3.0、5.0 mL 至量瓶中, 加 80% 甲醇定容至 5 mL, 即得系列混合对照品①~⑥溶液。

2.4.2 供试品溶液 取丁公藤粉末(过 40 目筛)约 1.0 g, 精密称定, 置 100 mL 磨口锥形瓶中, 精密加入

80% 甲醇 25 mL, 在 90 °C 下加热回流 30 min, 取出放冷后过滤, 滤渣再精密加入 80% 甲醇 25 mL 同上法提取 1 次, 合并 2 次滤液, 用旋转蒸发仪浓缩后转移至 25 mL 量瓶, 加 80% 甲醇定容至刻度, 13 000 r · min⁻¹ 离心 10 min, 取上清液即得。

2.5 标准曲线的绘制

分别精密吸取系列混合对照品不同浓度溶液各 4 μL, 注入高效液相色谱仪, 按“2.3”项的色谱方法进行测定, 以对照品的进样浓度 ($X, \mu\text{g} \cdot \mu\text{L}^{-1}$) 为横坐标, 峰面积 Y 为纵坐标, 绘制标准曲线, 结果见表 1。结果显示, 各成分在各自浓度的范围内呈良好的线性关系。

表 1 丁公藤中 7 个成分的线性关系考察

Tab. 1 Investigation of linear relation of seven ingredients in Erycibes Caulis

组分 (component)	回归方程 (linear regression equation)	r	线性范围 (linearity range)/($\mu\text{g} \cdot \mu\text{L}^{-1}$)
新绿原酸(neochlorogenic acid)	$Y = 4.295 \times 10^5 X + 2.543 \times 10^3$	0.999 9	0.028 ~ 1.420
东莨菪苷(scopolin)	$Y = 1.593 \times 10^6 X + 1.592 \times 10^4$	0.999 9	0.019 ~ 0.956
绿原酸(chlorogenic acid)	$Y = 2.559 \times 10^6 X + 3.758 \times 10^4$	1.000	0.027 ~ 1.324
东莨菪内酯(scopoletin)	$Y = 4.195 \times 10^5 X - 2.112 \times 10^3$	1.000	0.014 ~ 0.720
异绿原酸 B(isochlorogenic acid B)	$Y = 4.135 \times 10^5 X - 2.956 \times 10^4$	0.999 8	0.016 ~ 0.824
异绿原酸 A(isochlorogenic acid A)	$Y = 3.820 \times 10^6 X - 2.265 \times 10^4$	0.999 9	0.010 ~ 0.500
异绿原酸 C(isochlorogenic acid C)	$Y = 2.538 \times 10^6 X - 1.009 \times 10^4$	0.999 8	0.013 ~ 0.672

2.6 方法学考察

2.6.1 精密度试验 精密吸取“2.4.1”混合对照品溶液中⑥号溶液 4 μL, 在“2.3”项色谱条件下, 连续进样 6 次, 计算各峰峰面积的 RSD, 结果分别为 0.090%、0.030%、3.80%、0.59%、2.90%、1.60%、1.20%, 说明试验所用的仪器有良好精密度。

2.6.2 重复性试验 按“2.4.2”项下方法, 平行制备 6 份丁公藤 Y_{11} 供试品溶液。在“2.3”项色谱条件下进行检测, 记录样品溶液新绿原酸、东莨菪苷、绿原酸、东莨菪内酯、异绿原酸 B、异绿原酸 A、异绿原酸 C 的峰面积, 计算样品各成分的含量。上述 7 个活性成分含量依次为 1.97、0.63、0.73、0.76、4.91、0.44、0.87 mg · g⁻¹, RSD 依次为 1.9%、1.8%、2.9%、3.3%、1.5%、3.6%、2.2%。证明本研究所建立的方法重复性良好。

2.6.3 稳定性试验 精密吸取丁公藤 Y_{11} 供试品溶液 4 μL, 按“2.3”项色谱条件, 分别在 0、1、3、6、12、24 h 进样, 考察成分的稳定性, 结果 7 个成分峰面积

的 RSD 为 2.0%、1.1%、0.79%、1.8%、0.55%、1.3%、1.9%, 表明供试品溶液 24 h 内稳定。

2.6.4 加样回收率试验 称量已知含量的丁公藤 Y_0 粉末 6 份, 每份约 0.5 g, 精密称定。采用加样回收试验, 分别精密加入适量新绿原酸、东莨菪苷、绿原酸、东莨菪内酯、异绿原酸 B、异绿原酸 A、异绿原酸 C 对照品。依“2.4.2”项下的方法来制备供试品溶液, 按“2.3”项色谱条件进行测定, 平行测定 6 份, 计算加样回收率。结果见表 2, 表明该方法准确度良好。

2.7 校正因子重现性的考察

2.7.1 高效液相色谱仪及色谱柱考察 试验考察采用 Agilent 1290 Infinity II、Waters ACQUITY、Nexera X2 LC-30AD 3 种超高效液相色谱系统和 ACQUITY BEH-C₁₈ 色谱柱(100 mm × 2.1 mm, 1.8 μm)、Ultimate XB-C₁₈(100 mm × 2.1 mm, 1.8 μm)、Shim-pack Velox C₁₈(100 mm × 2.1 mm, 1.8 μm) 3 种色谱柱时的相对校正因子。相对校正因子 $f = A_s/A_i \times C_i$, 式中 A_s 为待测成分 s 的峰面积, C_s 为质量

表 2 丁公藤中 7 个成分加样回收率试验 ($n=6$)
 Tab. 2 Results of the recovery test of seven ingredients in *Erycibes Caulis*

成分 (component)	粉末量 (powder weight)/g	原有量 (original)/mg	加入量 (added)/mg	实测值 (detected)/mg	回收率 (recovery)/%	平均回收率 (average recovery)/%	RSD/ %
新绿原酸(neochlorogenic acid)	0.500 1	0.240 0	0.24	0.471 7	98.2	98.9	1.1
	0.500 5	0.240 2	0.24	0.480 9	100.5		
	0.500 3	0.240 1	0.24	0.476 2	98.4		
	0.500 4	0.240 2	0.24	0.474 6	97.7		
	0.500 2	0.240 1	0.24	0.479 7	99.8		
	0.500 3	0.240 1	0.24	0.477 2	98.8		
东莨菪苷(scopolin)	0.500 1	0.160 0	0.16	0.315 5	97.2	99.0	1.7
	0.500 5	0.160 2	0.16	0.322 3	101.3		
	0.500 3	0.160 1	0.16	0.315 2	97.0		
	0.500 4	0.160 1	0.16	0.320 2	100.0		
	0.500 2	0.160 1	0.16	0.319 4	99.6		
	0.500 3	0.160 1	0.16	0.318 8	99.2		
绿原酸(chlorogenic acid)	0.500 1	0.110 0	0.11	0.221 4	101.3	100.6	1.5
	0.500 5	0.110 1	0.11	0.219 0	99.0		
	0.500 3	0.110 1	0.11	0.221 5	101.3		
	0.500 4	0.110 1	0.11	0.218 4	98.5		
	0.500 2	0.110 0	0.11	0.222 9	102.6		
	0.500 3	0.110 1	0.11	0.221 0	100.9		
东莨菪内酯(scopoletin)	0.500 1	0.500 1	0.50	0.999 8	99.9	101.2	1.6
	0.500 5	0.500 5	0.50	1.002 0	100.3		
	0.500 3	0.500 3	0.50	1.010 0	101.9		
	0.500 4	0.500 4	0.50	1.010 0	101.9		
	0.500 2	0.500 2	0.50	0.999 9	99.9		
	0.500 3	0.500 3	0.50	1.020 0	103.9		
异绿原酸 B(isochlorogenic acid B)	0.500 1	0.400 8	0.40	0.802 3	100.4	100.8	0.55
	0.500 5	0.400 4	0.40	0.805 5	101.3		
	0.500 3	0.400 2	0.40	0.802 8	100.6		
	0.500 4	0.400 3	0.40	0.803 5	100.8		
	0.500 2	0.400 2	0.40	0.800 0	100.0		
	0.500 3	0.400 2	0.40	0.806 1	101.5		
异绿原酸 A(isochlorogenic acid A)	0.500 1	0.050 1	0.05	0.101 9	103.6	101.7	1.6
	0.500 5	0.050 5	0.05	0.100 5	100.0		
	0.500 3	0.050 3	0.05	0.100 8	101.1		
	0.500 4	0.050 4	0.05	0.100 4	100.1		
	0.500 2	0.050 2	0.05	0.101 2	102.0		
	0.500 3	0.050 3	0.05	0.102 0	103.4		
异绿原酸 C(isochlorogenic acid C)	0.500 1	0.120 0	0.12	0.243 7	103.0	100.5	1.5
	0.500 5	0.120 1	0.12	0.238 7	98.8		
	0.500 3	0.120 1	0.12	0.241 6	101.3		
	0.500 4	0.120 1	0.12	0.240 0	100.0		
	0.500 2	0.120 0	0.12	0.239 5	99.6		
	0.500 3	0.120 1	0.12	0.240 6	100.4		

浓度; A_i 为内参物 i 的峰面积, C_i 为质量浓度。分别计算新绿原酸(A)、东莨菪苷(B)、东莨菪内酯(C)、异绿

原酸 B(D)、异绿原酸 A(E)、异绿原酸 C(F) 与内参物绿原酸(S) 的相对校正因子, 结果见表 3。结果表明,

在不同的色谱柱及高效液相色谱仪下中具有较好的重现性,能够用于上述 7 个成分的含量测定。

表 3 不同仪器和不同色谱柱测得相对校正因子

Tab. 3 The relative correction factor (RCF) of different equipment and columns

仪器(equipment)	色谱柱(column)	$f_{A/S}$	$f_{B/S}$	$f_{C/S}$	$f_{D/S}$	$f_{E/S}$	$f_{F/S}$
Agilent1290 Infinity II	ACQUITY BEH	0.026	0.771	0.096	1.797	2.511	2.425
	Ultimate	0.025	0.772	0.095	1.791	2.515	2.423
	Shim-pack Velox	0.024	0.773	0.094	1.798	2.516	2.427
Waters ACQUITY	ACQUITY BEH	0.026	0.772	0.095	1.796	2.513	2.422
	Ultimate	0.025	0.773	0.094	1.793	2.517	2.421
	Shim-pack Velox	0.025	0.774	0.093	1.797	2.516	2.424
Nexera X2 LC-30AD	ACQUITY BEH	0.026	0.773	0.095	1.795	2.515	2.423
	Ultimate	0.025	0.772	0.094	1.794	2.514	2.426
	Shim-pack Velox	0.025	0.774	0.093	1.797	2.518	2.427
平均值(average)		0.03	0.77	0.09	1.80	2.52	2.42
RSD/%		2.6	0.13	1.1	0.13	0.080	0.090

2.7.2 待测组分色谱峰的定位 本研究采用各待测成分间的相对保留值(待测成分与内参物调整保留时间之比)作为定位标准,并在不同品牌高效液相色谱系统和不同色谱柱下对该参数进行考察,结果表明,不同仪器和色谱柱下各成分间的相对保留值波动较小,RSD 在 0.10%~0.30%,见表 4。此结果

说明,在对照品短缺的情况下,利用相对保留值进行色谱峰定位,可根据内参物的保留时间,通过结合各色谱峰的紫外吸收特征及相对保留值能够较准确目标峰的峰位置。因此选用各成分相对保留值这一参数作为丁公藤中上述 7 个目标色谱峰的定位指标比较合理。

表 4 不同仪器和不同色谱柱下目标成分的相对保留值

Tab. 4 The relative retention time (RT) of different equipment and columns

仪器 (equipment)	色谱柱 (column)	相对保留时间(RT)					
		A/S	B/S	C/S	D/S	E/S	F/S
Agilent1290 Infinity II	ACQUITY BEH	0.473	0.929	1.726	0.850	2.208	2.428
	Ultimate	0.472	0.931	1.725	0.854	2.205	2.429
	Shim-pack Velox	0.471	0.933	1.723	0.857	2.206	2.431
Waters ACQUITY	ACQUITY BEH	0.474	0.932	1.728	0.856	2.203	2.425
	Ultimate	0.473	0.933	1.730	0.855	2.207	2.427
	Shim-pack Velox	0.472	0.934	1.731	0.853	2.201	2.431
Nexera X2 LC-30AD	ACQUITY BEH	0.475	0.933	1.733	0.852	2.204	2.433
	Ultimate	0.474	0.932	1.729	0.851	2.205	2.432
	Shim-pack Velox	0.473	0.934	1.728	0.85	2.206	2.437
平均值(average)		0.47	0.93	1.73	0.85	2.21	2.43
RSD/%		0.26	0.17	0.18	0.30	0.10	0.15

2.8 含量测定结果

分别称取丁公藤不同炮制工艺饮片粉末(40目)约 1.0 g,精密称定,依法制备供试品溶液,分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液 4 μ L,注入超高效液相色谱仪,依法测定,分别采用外标法(EMS)和

QAMS 法测定不同炮制工艺样品中 7 个活性成分含量,结果见表 5 和图 1。经 t 检验比较,结果显示外标法实测含量值与 QAMS 计算的含量值无显著性差异,由此说明一测多评法可用于丁公藤饮片的多成分质量评价研究。

表 5 外标法和 QAMS 测定丁公藤饮片中 7 个成分的含量 ($n=3$)Tab. 5 The contents of the seven ingredients in *Erycibes Caulis* by QAMS and one point external standard method

炮制品 (sample)	含量(content)/(mg · g ⁻¹)													
	新绿原酸 (neochlorogenic acid)		东莨菪苷 (scopoline)		绿原酸 (chlorogenic acid)		东莨菪内酯 (scopoletin)		异绿原酸 B (isochlorogenic acid B)		异绿原酸 A (isochlorogenic acid A)		异绿原酸 C (isochlorogenic acid C)	
	EMS	QAMS	EMS	QAMS	EMS	QAMS	EMS	QAMS	EMS	QAMS	EMS	QAMS	EMS	QAMS
Y ₁	0.48	0.48	0.31	0.31	0.22	0.22	1.08	1.07	0.82	0.81	0.10	0.10	0.23	0.23
Y ₂	3.67	3.66	1.98	1.99	1.39	1.38	0.79	0.80	6.35	6.36	0.63	0.62	1.19	1.20
Y ₃	0.06	0.06	0.38	0.37	0.52	0.53	0.30	0.30	14.97	14.99	0.21	0.22	0.26	0.26
Y ₄	2.81	2.82	2.10	2.11	0.90	0.91	1.12	1.13	4.56	4.57	0.39	0.38	0.77	0.76
Y ₅	9.89	9.89	3.53	3.54	3.81	3.82	0.48	0.47	18.53	18.55	1.60	1.62	3.24	3.25
Y ₆	0.39	0.39	1.12	1.13	0.21	0.21	1.12	1.13	1.22	1.21	0.15	0.15	0.28	0.28
Y ₇	0.28	0.28	0.80	0.80	0.16	0.16	1.48	1.49	0.55	0.56	0.06	0.06	0.12	0.12
Y ₈	0.42	0.43	1.20	1.21	0.18	0.18	0.94	0.96	0.72	0.71	0.09	0.09	0.20	0.20
Y ₉	0.48	0.48	0.31	0.31	0.22	0.22	1.08	1.07	0.82	0.81	0.10	0.10	0.23	0.23
Y ₁₀	0.24	0.25	0.31	0.31	0.09	0.09	1.18	1.19	0.50	0.50	0.06	0.06	0.12	0.12
Y ₁₁	1.97	1.97	0.64	0.64	0.74	0.74	0.76	0.76	4.91	4.91	0.44	0.44	0.87	0.87
Y ₁₂	2.12	2.13	1.94	1.95	0.73	0.74	0.94	0.94	4.38	4.37	0.39	0.39	0.84	0.83
Y ₁₃	0.98	0.98	1.58	1.57	0.38	0.38	1.09	1.08	0.64	0.64	0.08	0.08	0.16	0.16
Y ₁₄	0.42	0.41	1.50	1.51	0.26	0.26	1.24	1.25	0.52	0.53	0.06	0.06	0.13	0.13
Y ₁₅	1.32	1.33	2.26	2.27	0.59	0.60	0.80	0.80	3.59	3.61	0.36	0.36	0.83	0.82
Y ₁₆	0.77	0.76	1.36	1.37	0.35	0.34	1.10	1.11	2.32	2.30	0.21	0.21	0.45	0.44

3 讨论

3.1 供试品溶液提取方法考察

试验前期以同一样品粉末(生品, 40 目, 1 g)对丁公藤的超声提取(功率 200 W, 频率 40 kHz)与回流提取方法进行进样比较, 结果显示回流提取法峰面积较高, 提取效果最好, 因此确定为回流提取法。在此基础上进一步对不同浓度的提取溶剂(50% 甲醇、80% 甲醇、100% 甲醇)、提取温度(65、70、80 和 90 °C)、提取次数(1、2、3 次)、溶剂用量(15、25、35 mL)进行考察, 结果显示 80% 甲醇, 提取温度 90 °C 下回流提取 2 次, 各成分峰面积最大, 说明含量较其他条件提取高, 最终确定为试验供试品溶液的制备方法。

3.2 检测波长的选择

采用一测多评校正因子进行样品含量计算, 由于在不同波长下偏差较大, 如何选定适合的波长对降低测定误差很关键。结合紫外光谱及液相紫外全波长扫描结果, 本研究分别在 323、324、330、345、338 nm 波长下对 7 个成分进行测定, 结果发现上述 7 个成分在 338 nm 处具有较大吸收, 基线平稳, 且色谱峰分离度均不小于 1.5, 达到色谱分析要求, 因此选用 338 nm 为检测波长。

3.3 丁公藤 7 个活性成分的含量研究

试验采用超高效液相色谱法(UPLC)比较丁公藤炮制前后东莨菪内酯、新绿原酸、东莨菪苷、绿原酸、异绿原酸 B、异绿原酸 A、异绿原酸 C 的含量, 建立了丁公藤及其炮制品的多指标质量评价方法。经炮制后, 不同丁公藤饮片中新绿原酸含量为: $Y_5 > Y_2 > Y_4 > Y_{12} > Y_{11} > Y_{15} > Y_{13} > Y_{16} > Y_1, Y_9 > Y_8, Y_{14} > Y_6 > Y_7 > Y_{10} > Y_3$; 绿原酸含量结果为 $Y_5 > Y_2 > Y_4 > Y_{11} > Y_{12} > Y_{15} > Y_3 > Y_{13} > Y_{16} > Y_{14} > Y_1, Y_9 > Y_6 > Y_8 > Y_7 > Y_{10}$; 异绿原酸 B 含量为: $Y_5 > Y_3 > Y_2 > Y_{11} > Y_4 > Y_{12} > Y_{15} > Y_{16} > Y_6 > Y_1, Y_9 > Y_8 > Y_{13} > Y_7 > Y_{14} > Y_{10}$; 异绿原酸 A 含量为: $Y_5 > Y_2 > Y_{11} > Y_4, Y_{12} > Y_{15} > Y_3, Y_{16} > Y_6 > Y_1, Y_9 > Y_8 > Y_{13} > Y_7, Y_{10}, Y_{14}$; 异绿原酸 C 含量: $Y_5 > Y_2 > Y_{11} > Y_{15} > Y_4 > Y_{16} > Y_6 > Y_3 > Y_1, Y_9 > Y_8 > Y_{13} > Y_{14} > Y_7, Y_{10}$ 。进一步分析发现, 上述 5 个有机酸含量变化趋势基本一致。Y₅(9.89 mg · g⁻¹)、Y₂(3.67 mg · g⁻¹)、Y₄(2.81 mg · g⁻¹)、Y₁₂(2.12 mg · g⁻¹)中新绿原酸含量分别是 Y₁(0.48 mg · g⁻¹)的 20.6、7.7、5.9、4.4 倍, 其中 Y₃(0.06 mg · g⁻¹)最低, 仅有 Y₁的

12.5%。与 Y_2 相比,仅甘草汁用量由6%减少为3%,含量相差60多倍;对绿原酸含量分析发现, Y_5 ($3.81 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$)、 Y_2 ($1.39 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$)、 Y_4 ($0.9 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$)分别是 Y_1 ($0.22 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$)的18.3、6.3、4.1倍, Y_{10} 最低,仅有 Y_1 (生品)的2%;各炮制品中异绿原酸B含量,以 Y_5 ($18.53 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$)最高,其次是 Y_3 ($14.97 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$)、 Y_2 ($6.35 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$),分别是 Y_1 ($0.82 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$)含量的22.6、18.3和7.7倍, Y_{10} ($0.50 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$)含量最低,仅有生品的50%; Y_5 ($1.60 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$)中异绿原酸A含量最高,较 Y_1 ($0.1 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$)增加了15倍。 Y_2 ($0.63 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$)则增加了5.3倍,而 Y_7 、 Y_{10} 、 Y_{14} 含量最低,均为 $0.06 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$;对异绿原酸C含量比较发现, Y_5 ($3.24 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$)、 Y_2 ($1.19 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$)、 Y_{11} ($0.87 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$)分别是 Y_1 ($0.23 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$)含量的14.3、5.2、3.78倍。 Y_7 、 Y_{10} ($0.12 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$)含量最低,约为 Y_1 的50%。

另外,对同为煮法炮制的 $Y_2 \sim Y_5$ 有机酸总含量比较,结果为 Y_5 ($37.05 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$) > Y_3 ($15.95 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$) > Y_2 ($13.22 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$) > Y_4 ($9.43 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$) > Y_1 ($1.85 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$),说明甘草汁与盐水2种辅料一同炮制时比单一辅料(盐水或甘草汁)炮制更有利于成分的溶出,且当药材与甘草比例为100:6时较100:3时各成分溶出含量高,说明辅料比例对有机酸成分的溶出有影响;对不同工艺炮制方法分析,发现蒸法炮制样品($Y_{11} \sim Y_{13}$)与炙法炮制样品($Y_{14} \sim Y_{16}$)的2种辅料炮制比单一辅料炮制更有利于有效成分溶出与煮法基本一致,而经浸泡后晒干处理的炮制品($Y_6 \sim Y_{10}$)的变化与其相反,分析原因可能与煮法、蒸法、炙法的炮制过程均有加热,说明加热有利于其有效物质溶出;当炮制辅料相同情况下,以甘草汁-盐水炮制为例,分析5个有机酸总含量变化趋势为: Y_5 ($37.05 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$) > Y_{11} ($8.92 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$) > Y_{16} ($4.09 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$) > Y_1 ($1.85 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$) > Y_9 ($1.76 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$),此结果显示煮法较蒸法、炙法含量高,而浸泡后晒干(Y_9)的炮制方法会使成分含量降低,可能是煮法处理时将药物煮至近干,一方面减少了成分的损失,另一方面可能加热时间长,使部分成分发生了水解或分解生成相应有机酸而使其含量远高于其他炮制方法。蒸法处理时将浸泡后剩余的辅料丢弃,可能是造成其含量偏低的原因。炙法含量较蒸法低,可能原因是其炮制温度较低、加热时间较短所

致。而加辅料浸泡后晒干的含量较生品低,说明浸泡使其成分降低。上述结果显示经蒸、煮、炙炮制后,药物中新绿原酸、绿原酸、异绿原酸B、异绿原酸A、异绿原酸C含量增加,说明蒸、煮、炒等加热处理可能使丁公藤中部分成分发生了转化,在相同条件下有利于上述5个有机酸类成分溶出,从而使其含量增加。或可能是辅料甘草或食盐水中甘草酸、氯化钠等成分,促进了新绿原酸、异绿原酸类成分溶出而使其含量增加。另外,通过比较同样炮制工艺丁公藤中上述5个有机酸含量变化,发现随着甘草汁用量增加,其含量出现了增加的趋势,说明辅料甘草汁的用量比例对绿原酸有较大影响。而浸泡可在一定程度上造成上述成分的损失,因此在水处理时应该注意少泡多润以减少成分损失,需注意辅料甘草汁比例对丁公藤有机酸类成分的影响。

由表6结果可知,东莨菪苷含量高低顺序为 $Y_5 > Y_{15} > Y_4 > Y_2 > Y_{12} > Y_{13} > Y_{14} > Y_8 > Y_6 > Y_7 > Y_{11} > Y_3 > Y_1$ 、 Y_9 、 Y_{10} 。进一步分析发现,经炮制处理后,东莨菪苷的含量以 Y_5 含量最高,是 Y_1 含量的11.4倍,其次是 Y_{15} 、 Y_4 、 Y_2 、 Y_1 、 Y_9 、 Y_{10} 最低($0.31 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$)。东莨菪内酯含量以 Y_7 ($1.48 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$)含量最高, Y_{14} 、 Y_{10} 、 Y_4 、 Y_{16} 、 Y_{13} 略高于 Y_1 ($1.08 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$)、 Y_9 ; Y_8 、 Y_{12} 、 Y_{15} 、 Y_2 、 Y_{11} 、 Y_5 略低于生品, Y_3 ($0.3 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$)含量最低。分析比较可发现,炮制对东莨菪内酯的影响与东莨菪苷的趋势变化相反,说明经长时间高温水煮后,东莨菪内酯可能与药物或辅料中糖类成分发生了缩合反应,生成东莨菪苷或其他成分使其含量降低,具体转化机制还有待进一步研究。

综合以上结果分析可知,辅料甘草汁、盐水制对丁公藤的化学成分有一定影响,除东莨菪内酯含量降低外,甘草汁-盐水共煮(Y_5)的炮制方法显著提高了其他6个化学成分的含量。但因各炮制品批次较少,还有待进一步增加炮制品批次,对炮制后丁公藤质量进行深入研究。2020年版《中国药典》仅收录了丁公藤生品的炮制方法,并仅以东莨菪内酯为指标进行质量检查,不利于其饮片质量控制,且传统中医药理论认为丁公藤有小毒,这必将影响其临床安全,因此十分有必要进一步对丁公藤炮制工艺进行深入研究。本研究在工艺规范的前提下,建立一测多评法同时测定丁公藤中新绿原酸、绿原酸、东莨菪苷、东莨菪内酯、异绿原酸A、异绿原酸B、异绿原酸

C等7个有效成分含量测定方法,建立其限量要求,对于丁公藤饮片的质量控制具有一定意义,因此建议在省市炮制规范中予以明确同时增加相应指标成分含量限度。

4 结论

本试验的方法简单、快速、准确,可用于丁公藤多指标成分含量测定,为更好控制丁公藤饮片的质量提供参考。加热和加辅料制均对丁公藤的化学成分产生了一定影响,以甘草汁-盐水(Y_5)共煮法影响最为明显。

参考文献

- [1] 中华人民共和国药典 2020 年版. 一部[S]. 2020: 3
ChP 2020. Vol I[S]. 2020: 3
- [2] 钱振尧. 冯了性药酒浅谈[J]. 中成药, 1979(4): 39
QIAN ZR. Discussion of Fengliaoqing wine[J]. Chin Tradit Pat Med, 1979(4): 39
- [3] 田华咏. 中国民族药炮制集成[M]. 北京: 中医古籍出版社, 2000: 35
TIAN HY. Chinese Ethnic Medicine Processing Integration[M]. Beijing: Ancient Chinese Medical Book Press, 2000: 35
- [4] 刘健. 丁公藤的化学成分及生物活性研究[D]. 北京: 中国协和医科大学, 2007
LIU J. Studies on the Chemical Constituents and Bioactivities of *Erycibe Obtusifolia* Benth. [D]. Beijing: Peking Union Medical College, 2007
- [5] 谭建宁, 张贇贇. 不同来源丁公藤药材中东茛菪内酯含量的研究[J]. 中成药, 2008, 30(11): 1651
TAN JN, ZHANG YY. Study on the content of scopoletin in *Erycibes Caulis* from different sources[J]. Chin Tradit pat Med, 2008, 30(11): 1651
- [6] 杨媛媛, 谢志民, 胡静, 等. 3种丁公藤属植物中8个成分的含量测定[J]. 中南药学, 2020, 173(6): 982
YANG YY, XIE ZM, HU J, et al. Content determination of 8 compounds in 3 species of *Erycibe* [J]. Central South Pharm, 2020, 173(6): 982
- [7] 胡静, 任慧, 崔小敏, 等. 光叶丁公藤中化学成分的 UPLC-Q-Exactive Focus-MS/MS 鉴定[J]. 中国实验方剂学杂志, 2020, 26(18): 124
HU J, REN H, CUI XM, et al. Identification of chemical constituents in *Caulis of Erycibe schmidtii* by UPLC-Q-Exactive Focus-MS/MS[J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2020, 26(18): 124
- [8] 刘小妹, 胡静, 任慧, 等. 冯了性风湿跌打药酒的化学成分鉴定[J]. 中国药房, 2020, 31(20): 2473
LIU XM, HU J, REN H, et al. Identification of chemical constituents in Fengliaoqing Fengshi Dieda wine [J]. Chin Pharm, 2020, 31(20): 2473
- [9] 叶惠珍, 范椰新, 刘植蔚, 等. 丁公藤抗风湿有效成分的研究[J]. 中草药, 1981, 12(5): 5
YE HZ, FAN YX, LIU ZW, et al. Studies on the anti-rheumatic active components of *Erycibes Caulis* [J]. Chin Herbal Med, 1981, 12(5): 5
- [10] 吴鹏, 单进军, 黄正泉, 等. 丁公藤对大鼠膝关节炎滑膜炎及痛阈的影响[J]. 南京中医药大学学报, 2020, 36(6): 837
WU P, SHAN JJ, HUANG ZQ, et al. The effect of *Erycibe Obtusifolia* Benth. on the synovial inflammation and threshold of pain in KOA rats [J]. J Nanjing Univ Tradit Chin Med, 2020, 36(6): 837
- [11] 王庆华, 杜婷婷, 张智慧, 等. 绿原酸的药理作用及机制研究进展[J]. 药科学报, 2020, 55(10): 2273
WANG QH, DU TT, ZHANG ZH, et al. Advances in pharmacological action and mechanism of chlorogenic acid [J]. Acta Pharm Sin, 2020, 55(10): 2273
- [12] 梁霁涓, 陈业芳. 丁公藤注射液引起剥脱性皮炎一例[J]. 广西中医药, 1984, 7(3): 36
LIANG AM, CHEN YF. A case of exfoliative dermatitis caused by *Erycibes Caulis* injection [J]. Guangxi Tradit Chin Med, 1984, 7(3): 36
- [13] 杨秋浪, 尤艳彩. 丁公藤注射液致过敏性休克[J]. 药物不良反应杂志, 2005, 7(5): 390
YANG QL, YOU YC. Anaphylactic shock due to *Erycibes Caulis* injection [J]. Adverse Drug React J, 2005, 7(5): 390
- [14] 王智民, 高惠敏, 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
WANG ZM, GAO HM, FU XT, et al. Multi-components quantitation by one marker new method for quality evaluation of Chinese herbal medicine [J]. China J Chin Mater Med, 2006, 31(23): 1925
- [15] 杨国宁, 毕天琛, 张裕民, 等. 一测多评法测定不同肉苁蓉饮片中8个成分的含量[J]. 中药材, 2020, 43(7): 1677
YANG GN, BI TC, ZHANG YM, et al. Determination of eight components in different *Cistanche* decoction pieces by one measurement and multiple evaluation method [J]. J Chin Med Mater, 2020, 43(7): 1677
- [16] 杨海玲, 吴丽丹, 覃德杰, 等. 一测多评法同时测定广西姜黄饮片中3种姜黄素类成分含量[J]. 药物分析杂志, 2016, 36(9): 1571
YANG HL, WU LD, QIN DJ, et al. Simultaneous determination of three curcumin ingredients in *Curcumae Longae Rhizoma* from Guangxi province by QAMS [J]. Chin J Pharm Anal, 2016, 36(9): 1571
- [17] 杨海玲, 吴丽丹, 刘惠兰, 等. 一测多评法同时测定姜黄-桂枝药对不同配伍比例中5种有效化学成分含量[J]. 中国医院药学杂志, 2017, 37(21): 2142
YANG HL, WU LD, LIU HL, et al. Simultaneous determination of five ingredients in *Curcumae longa* L. - *cassia* twig drug pair by QAMS [J]. Chin J Hosp Pharm, 2017, 37(21): 2142

(本文于2024年2月20日修改回)