

# HPLC-QAMS 法测定不同产地 19 批山茱萸中 5 种环烯醚萜苷类成分的含量<sup>Δ</sup>

孙玲<sup>1\*</sup>, 樊晓兰<sup>2</sup>, 戴小丽<sup>1</sup>(1.江苏医药职业学院药学院, 江苏盐城 224005; 2.四川农业大学动物科技学院, 成都 611130)

中图分类号 R284.1 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2018)15-2063-05

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2018.15.11

**摘要** 目的:测定不同产地 19 批山茱萸中 5 种环烯醚萜苷类成分的含量。方法:采用高效液相色谱(HPLC)-一测多评(QAMS)法。色谱柱为 Agilent XDB-C<sub>18</sub>, 流动相为甲醇-水, 梯度洗脱, 流速为 1.0 mL/min, 柱温为 35 ℃, 进样量为 15 μL, 检测波长为 240 nm。以山茱萸中的马钱苷为内参物, 建立其与山茱萸中另外 4 种环烯醚萜苷类成分即莫诺苷、当药苷、山茱萸苷和山茱萸裂苷之间的相对校正因子并进行适用性评价后计算 4 种成分的含量;另采用 HPLC-外标法测定 19 批药材中上述 5 种成分的含量, 比较两种方法测定结果的差异, 验证 QAMS 法的准确性。结果:在适用性评价中, 不同试验条件下 4 种成分的相对校正因子的 RSD 均小于 2%;两种测定方法下, 4 种成分的含量比较差异均无统计学意义(*P* 均大于 0.05)。结论:本研究建立的 HPLC-QAMS 法可用于山茱萸中 5 种环烯醚萜苷类成分的含量测定, 且方法准确、可靠、快速, 成本更低。

**关键词** 高效液相色谱法;一测多评法;山茱萸;环烯醚萜苷类;外标法;马钱苷;含量测定

## Content Determination of 5 Iridoid Glycosides in 19 Batches of Corni Fructus from Different Origins by HPLC-QAMS Method Simultaneously

SUN Ling<sup>1</sup>, FAN Xiaolan<sup>2</sup>, DAI Xiaoli<sup>1</sup>(1.College of Pharmacy, Jiangsu Vocational College of Medicine, Jiangsu Yancheng 224005, China; 2.College of Animal Science and Technology, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To determine the contents of 5 iridoid glycosides in 19 batches of Corni fructus from different origins. METHODS: HPLC-QAMS method was adopted. The determination was performed on Agilent XDB-C<sub>18</sub> column with mobile phase consisted of methanol-water (gradient elution) at the flow rate of 1.0 mL/min. The column temperature was set at 35 ℃, and sample size was 15 μL. The detection wavelength was set at 240 nm. Using loganin in Corni fructus as internal standard, relative correction factors (RCF) of loganin to other 4 iridoid glycosides as monod glycosides, officinosides, cornus glucosides and cornus glucosides were established. The contents of 4 kinds of components were calculated after suitability evaluation. The contents of 5 kinds of components in 19 batches of samples were determined by HPLC external standard method. The differences of two methods were compared; the accuracy of QAMS was validated. RESULTS: RSDs of RCF for 4 components under different trial conditions were all lower than 2% in suitability evaluation. *P* value of content comparison of 4 components between 2 methods were all higher than 0.05. CONCLUSIONS: HPLC-QAMS method can be used for content determination of 5 iridoid glycoside in Corni fructus. It is accurate, reliable, rapid and less costly.

**KEYWORDS** HPLC method; QAMS method; Corni fructus; Iridoid glycosides; External standard method; Loganin; Content determination

中药山茱萸为山茱萸科植物山茱萸(*Cornus officinalis* Sieb. et Zucc.)的干燥成熟果肉,是一种常用的补益中药,其味酸涩、性微温,有温补肝肾、固涩精气之功效,用于眩晕耳鸣、腰膝酸痛、阳痿遗精、遗尿尿频、崩漏带下、大汗虚脱、内热消渴等症<sup>[1]</sup>,其主要产地有陕西、河南、浙江、山西等地,另外在安徽、四川等地也有部分种植。

Δ 基金项目:江苏省卫生和计划生育委员会医学科研面上科研课题(No.H201640);江苏省教育厅高校哲学社会科学研究基金项目(No.2017SJB1588);盐城市医学科技发展计划项目(No.YK2016053)

\* 讲师,硕士。研究方向:中药鉴定及中药分析。E-mail: vivianlovesun@163.com

已有研究从山茱萸中分离得到了环烯醚萜类、三萜类、鞣质类、黄酮类、有机酸及其酯类、糖类,以及蛋白质、氨基酸、维生素、挥发性成分和矿物质元素等<sup>[2]</sup>。其中,环烯醚萜苷类成分在山茱萸药材中的一类重要成分,具有消炎、抗癌、抗衰老、抗氧化、降血糖、强心、免疫调节活性等作用,主要活性成分包括莫诺苷、当药苷、山茱萸苷、马钱苷、山茱萸裂苷等十余种<sup>[3]</sup>。因此,同步测定山茱萸中多个环烯醚萜苷类成分可以全面有效地评价山茱萸药材的质量。但由于对照品价格昂贵等原因,在实际药材生产和监测中难以做到通过多指标测定来

控制山茱萸的药材质量。一测多评(QAMS)法是通过建立药材中不同成分间的相对校正因子,测量药材中其中一种成分的含量,进而计算出其余成分的含量,以实现药材中多个质量指标的测量的方法,该法已在白木通、三七、黄芩、柴胡等药材中得以验证<sup>[4-9]</sup>。

故本研究采用高效液相色谱(HPLC)-QAMS法,以价格便宜、测定技术成熟的马钱苷为内参物,建立其与莫诺苷、当药苷、山茱萸苷和山茱萸裂苷等环烯醚萜苷类成分之间的相对校正因子,进而可以通过测定山茱萸中马钱苷一种成分的含量,快速计算出其余4种环烯醚萜苷类成分的含量,实现对山茱萸药材中多个环烯醚萜苷类成分含量的同步测定。

## 1 材料

### 1.1 仪器

Agilent 1200 HPLC 仪,包括 G1311A 四元泵、G1313A 自动进样器、G1316A 柱温箱和 Agilent Chem Station 工作站(美国 Agilent 公司);Dionex P680 HPLC 仪,包括 P680A 四元梯度泵,TCC-100 柱温箱和 Chromeleon 色谱工作站(美国 Dionex 公司);AL-204 电子分析天平、AE240 1/10 万电子天平(瑞士梅特勒-托利多公司);L535-1 低速离心机(长沙湘仪离心机仪器有限公司);KQ-500DE 数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);DZF-6053 电热真空干燥箱(上海一恒科学仪器有限公司);FW400A 高速万能粉碎机(北京科伟永兴仪器有限公司);色谱柱有 Agilent XDB-C<sub>18</sub>、Ultimate XB C<sub>18</sub>、Diamonsil C<sub>18</sub>、Kromasil C<sub>18</sub>,规格均为 250 mm×4.6 mm,5 μm。

### 1.2 药品与试剂

研究用 19 批山茱萸药材分别于 2016 年 9—10 月采自浙江、安徽、四川、河南、陕西、山西等地,经笔者本人鉴定为山茱萸科植物山茱萸的干燥成熟果肉(使用时将果肉置于 45 °C 恒温箱中烘干,取出,粉碎、研磨,过 4 号筛,得山茱萸粉末,5 °C 干燥保存备用);莫诺苷对照品(批号:111998-201602)、当药苷对照品(批号:111742-200501)、马钱苷对照品(批号:111640-201606)均购自中国食品药品检定研究院;山茱萸苷对照品(批号:201602)、山茱萸裂苷对照品(批号:201605)均购自上海亿欣生物科技有限公司,上述 5 种对照品经峰面积归一化法计算,纯度均大于 98%;甲醇为色谱纯,水为高纯水,其他试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

### 2.1 QAMS 法基本原理

在一定的线性范围内,成分的量(质量或浓度)与检测器响应值成正比,即  $f=W/A$  ( $W$  为浓度等, $A$  为响应值, $f$  为响应因子)。在多指标质量评价时,以药材中某一典型组分(有对照品供应者)为内参物,建立该组分与其他组分之间的相对校正因子,通过校正因子就可计算

其他组分的含量。这种通过测定一个成分可实现对多个成分定量的方法即为 QAMS 法。

假设某样品中含有  $i$  个组分, $f_i=W_i/A_i$  ( $i=1,2,\dots,k,\dots,m$ ),式中  $A_i$  为组分  $i$  峰面积, $W_i$  为组分  $i$  的量。选取其中一个组分  $k$  为内参物,建立组分  $k$  与其他组分  $m$  之间的相对校正因子( $f_{km}$ )= $f_k/f_m=(W_k \times A_m)/(W_m \times A_k)$ ;由此可导出定量计算公式: $W_m=(W_k \times A_m)/(f_{km} \times A_k)$ ;式中  $A_k$  为内参物峰面积, $W_k$  为内参物的量, $A_m$  为其他组分  $m$  的峰面积; $W_m$  为其他组分  $m$  的量。

### 2.2 色谱条件

色谱柱:Agilent XDB-C<sub>18</sub>(250 mm×4.6 mm,5 μm);流动相:甲醇(A)-水(B),梯度洗脱(0~10 min,18%~20% A,11~20 min,27%~30% A,21~35 min,32%~35% A);流速:1.0 mL/min;柱温:35 °C;进样量:15 μL;检测波长:240 nm。在上述色谱条件下,取“2.3”项下的混合对照品溶液和供试品溶液(产地:浙江淳安)进样分析,结果各待测峰间及与相邻峰间的分离度均大于 1.5,表明系统适用性良好。2 种溶液的色谱图见图 1。

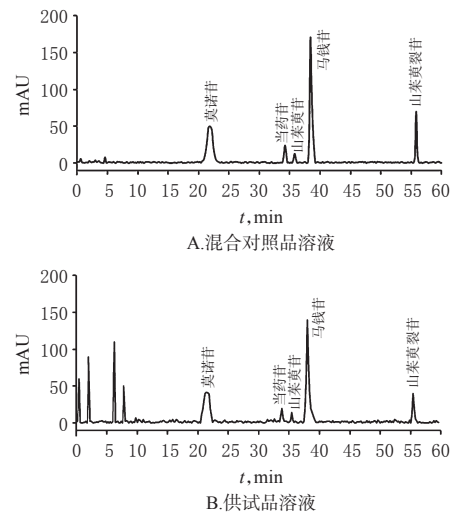


图 1 高效液相色谱图

Fig 1 HPLC chromatograms

### 2.3 溶液的制备

#### 2.3.1 混合对照品溶液

称取莫诺苷、当药苷、山茱萸苷、马钱苷和山茱萸裂苷对照品适量,精密称定,分别为 49.58、3.81、2.03、32.28、17.36 mg。取上述对照品分别置于 10 mL 量瓶中,加 75% 甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀;精密吸取上述对照品溶液各 1 mL,置于同一 10 mL 量瓶中,加 75% 甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,得混合对照品溶液,5 °C 保存,备用。

#### 2.3.2 供试品溶液

精密称取山茱萸干燥粉末 0.5 g,放入圆底烧瓶中,精密加入 75% 甲醇 50 mL,摇匀,称定质量;室温超声(功率:1 100 W,频率:40 kHz)提取 30 min,再次称定质量,用 75% 甲醇补足损失的质量,室温下离心(4 000

r/min、半径 17 cm)5 min,取上清液,经 0.45 μm 微孔滤膜过滤,续滤液即为供试品溶液。

## 2.4 方法学考察

### 2.4.1 线性关系与定量限考察

精密吸取“2.3.1”项下混合对照品溶液 1、6、10、14、18、20 μL,注入色谱仪中,每个浓度进样 3 次,取平均值。以进样量为横坐标( $x, \mu\text{g}$ )、峰面积积分为纵坐标( $y$ )绘制标准曲线并进行回归计算,得莫诺昔、当药昔、山茱萸昔、马钱昔、山茱萸裂昔的标准曲线回归方程及线性范围;再按要求计算各成分的定量限。结果表明,各对照品进样量与峰面积积分值间均具有良好的线性关系。5 种成分的线性关系与定量限考察结果见表 1。

表 1 5 种成分的线性关系与定量限考察结果

Tab 1 Linear range and limit of quantitation of 5 components

对照品	回归方程	$r^2$	定量限, $\mu\text{g}$	进样量线性范围, $\mu\text{g}$
莫诺昔	$y=63.865x+2.859$	0.998 9	0.001 9	0.496~9.918
当药昔	$y=25.765x+284$	0.999 3	0.000 8	0.038~0.762
山茱萸昔	$y=13.457x+132$	0.998 5	0.001 3	0.020~0.406
马钱昔	$y=52.832x+936$	0.999 1	0.001 1	0.323~6.456
山茱萸裂昔	$y=32.128x+1.427$	0.999 2	0.001 5	0.174~3.472

### 2.4.2 精密度试验

精密吸取混合对照品溶液 15 μL,连续进样 6 次,测定待测成分的峰面积,计算 RSD。结果,莫诺昔、当药昔、山茱萸昔、马钱昔、山茱萸裂昔峰面积的 RSD 分别为 0.49%、1.53%、1.33%、1.71% 和 0.64% ( $n=6$ ),表明仪器精密度良好。

### 2.4.3 稳定性试验

精密吸取同一供试品(产地:浙江淳安)溶液 15 μL,分别于制备后的 0、2、6、12、18、24 h,按“2.2”项下色谱条件进样测定峰面积。结果显示,待测成分莫诺昔、当药昔、山茱萸昔、马钱昔、山茱萸裂昔峰面积的 RSD 分别为 0.76%、1.16%、0.58%、1.35% 和 1.77% ( $n=6$ ),表明供试品溶液中 5 种成分在 24 h 内稳定性良好。

### 2.4.4 重复性试验

将同一产地(产地:浙江淳安)的山茱萸干燥粉末,按“2.3.2”项下方法制备供试品溶液 6 份,按“2.2”项下色谱条件进样测定峰面积,计算 5 种成分的含量。结果显示,莫诺昔、当药昔、山茱萸昔、马钱昔、山茱萸裂昔含量的 RSD 分别为 1.73%、1.05%、1.21%、0.96% 和 1.33% ( $n=6$ ),表明本试验方法重复性良好。

### 2.4.5 准确度试验

精密称取 0.25 g 已知各成分含量的山茱萸干燥粉末 6 份,分别加入一定量的对照品,按“2.3.2”项下方法制备供试品溶液,按“2.2”项下色谱条件进样测定峰面积,计算加样回收率。结果表明,本试验方法准确度良好,加样回收率试验结果见表 2。

表 2 加样回收率试验结果( $n=6$ )

Tab 2 Results of recovery tests( $n=6$ )

成分	取样量, g	样品含量, mg	加入量, mg	测得量, mg	加样回收率, %	平均加样回收率, %	RSD, %
莫诺昔	0.250 1	2.896 4	2.318	5.213 8	99.97	99.79	1.46
	0.250 2	2.897 6	2.318	5.261 3	101.97		
	0.250 2	2.897 6	2.898	5.737 9	98.01		
	0.250 3	2.898 7	2.898	5.747 8	98.31		
	0.250 5	2.901 0	3.478	6.381 4	100.07		
当药昔	0.250 3	2.898 7	3.478	6.391 2	100.42	99.57	0.64
	0.250 1	0.256 1	0.205	0.458 7	98.83		
	0.250 2	0.256 2	0.205	0.460 3	99.56		
	0.250 2	0.256 2	0.256	0.510 5	99.34		
	0.250 3	0.256 3	0.256	0.511 3	99.61		
山茱萸昔	0.250 5	0.256 5	0.307	0.565 8	100.75	100.96	1.68
	0.250 3	0.256 3	0.307	0.561 3	99.35		
	0.250 1	0.112 5	0.090	0.204 1	101.78		
	0.250 2	0.112 6	0.090	0.205 4	103.11		
	0.250 2	0.112 6	0.113	0.227 7	101.86		
马钱昔	0.250 3	0.112 6	0.113	0.224 5	99.03	100.17	2.05
	0.250 5	0.112 7	0.136	0.247 1	98.82		
	0.250 3	0.112 6	0.136	0.250 2	101.18		
	0.250 1	2.010 8	1.670	3.684 7	100.23		
	0.250 2	2.011 6	1.670	3.682 1	100.03		
山茱萸裂昔	0.250 2	2.011 6	2.012	4.098 8	103.74	100.01	1.67
	0.250 3	2.012 4	2.012	3.971 1	97.35		
	0.250 5	2.014 0	2.414	4.416 2	99.51		
	0.250 3	2.012 4	2.414	4.430 5	100.17		
	0.250 1	1.115 9	0.894	2.031 6	102.43		
山茱萸裂昔	0.250 2	1.116 4	0.894	1.994 7	98.24	100.01	1.67
	0.250 2	1.116 4	1.117	2.231 1	99.79		
	0.250 3	1.116 8	1.117	2.212 7	98.11		
	0.250 5	1.117 7	1.340	2.471 6	101.04		
	0.250 3	1.116 8	1.340	2.462 7	100.44		

## 2.5 HPLC-QAMS 法的建立

### 2.5.1 相对校正因子的测定

取“2.3.1”项下的混合对照品溶液,分别以不同的进样量(1、6、10、14、18、20 μL)进样测定。以山茱萸中的马钱昔为内参物,按照公式  $f_{km} = f_k/f_m = (W_k \times A_m)/(W_m \times A_k)$  分别计算山茱萸中莫诺昔、当药昔、山茱萸昔和山茱萸裂昔的相对校正因子,结果见表 3。

表 3 4 种成分的相对校正因子考察结果

Tab 3 Results of RCF investigation of 4 components

进样量, $\mu\text{L}$	相对校正因子			
	莫诺昔	当药昔	山茱萸昔	山茱萸裂昔
1	1.230	0.543	0.525	0.668
6	1.216	0.507	0.494	0.628
10	1.213	0.499	0.488	0.620
14	1.212	0.496	0.485	0.617
18	1.211	0.494	0.483	0.615
20	1.211	0.493	0.483	0.614
平均值	1.216	0.505	0.493	0.627
RSD, % ( $n=6$ )	0.60	3.79	3.29	3.30

### 2.5.2 QAMS 法的耐用性评价

(1)不同 HPLC 仪和色谱柱对校正因子的重现性考察。取“2.3.1”项下制备的混合对照品溶液,按“2.2”项下

色谱条件分别进样6次,每次15 μL,考察 Agilent 1200 HPLC 仪、Dionex P680 HPLC 仪,以及不同色谱柱 Kromasil C<sub>18</sub>、Ultimate XB C<sub>18</sub>、Diamonsil C<sub>18</sub>时的相对校正因子。结果显示,不同色谱系统对相对校正因子的影响较小(RSD<2%,n=6),重现性良好,详见表4。

表4 不同仪器和色谱柱条件下的相对校正因子的考察结果

Tab 4 Results of RCF investigated by different instruments and chromatographic columns

色谱仪型号	色谱柱	相对校正因子			
		莫诺昔	当药昔	山茱萸昔	山茱萸裂昔
Agilent 1200	Ultimate XB C <sub>18</sub>	1.242	0.517	0.480	0.628
	Diamonsil C <sub>18</sub>	1.242	0.516	0.474	0.647
	Kromasil C <sub>18</sub>	1.225	0.497	0.475	0.627
	Ultimate XB C <sub>18</sub>	1.250	0.509	0.496	0.644
Dionex P680	Ultimate XB C <sub>18</sub>	1.234	0.510	0.480	0.622
	Diamonsil C <sub>18</sub>	1.205	0.522	0.478	0.620
	Kromasil C <sub>18</sub>	1.233	0.512	0.481	0.631
	平均值	1.233	0.512	0.481	0.631
RSD, %(n=6)		1.31	1.70	1.66	1.81

(2)不同流速对相对校正因子的影响。精密吸取“2.3.1”项下混合对照品溶液适量,按“2.2”项下的色谱条件进样,分别测定流速在0.4、0.6、0.8、1.0、1.2、1.5 mL/min时的相对校正因子。结果,莫诺昔、当药昔、山茱萸昔和山茱萸裂昔相对校正因子的RSD依次为0.93%、1.75%、1.16%、1.83%(n=6),均<2%,表明流速对相对校正因子值影响较小。

(3)不同柱温对相对校正因子的影响。精密吸取“2.3.1”项下混合对照品溶液15 μL,按“2.2”项下的色谱条件进样,分别测定柱温在20、25、30、35、40、45℃时的相对校正因子。结果,莫诺昔、当药昔、山茱萸昔和山茱萸裂昔相对校正因子的RSD分别为1.18%、1.52%、0.93%、0.76%(n=6),均<2%,表明柱温对相对校正因子影响较小。

(4)不同进样量对相对校正因子的影响。精密吸取“2.3.1”项下混合对照品溶液各15 μL,按“2.2”项下的色谱条件进样,分别测定在2、5、10、15、20、25 μL进样量时的相对校正因子。结果,莫诺昔、当药昔、山茱萸昔和山茱萸裂昔相对校正因子的RSD依次为1.18%、1.57%、1.16%、1.82%(n=6),均<2%,表明进样量对相对校正因子值影响较小。

### 2.5.3 待测成分色谱峰的定位

精密吸取“2.3.1”项下混合对照品溶液15 μL,在2种色谱仪(Agilent 1200和Dionex P680)中,分别采用3种不同填料色谱柱(Kromasil C<sub>18</sub>、Ultimate XB C<sub>18</sub>和Diamonsil C<sub>18</sub>),测定并计算莫诺昔、当药昔、山茱萸昔和山茱萸裂昔与内参物马钱苷间色谱峰的相对保留值和保留时间差。结果,各待测成分间的相对保留值波动较小,其RSD分别为1.81%、1.25%、1.69%、1.72%(n=6),

所以采用相对保留值法用于山茱萸环烯醚萜苷类成分QAMS法的定位。不同仪器及不同色谱柱时4种成分的相对保留值比较结果见表5。

表5 不同仪器及不同色谱柱时4种成分的相对保留值比较

Tab 5 Comparison of relative retention time of 4 components determined by different instruments and chromatographic columns

色谱仪	色谱柱	相对保留值			
		莫诺昔/马钱昔	当药昔/马钱昔	山茱萸昔/马钱昔	山茱萸裂昔/马钱昔
Agilent 1200	Kromasil C <sub>18</sub>	0.567	0.884	0.917	1.466
	Ultimate XB C <sub>18</sub>	0.549	0.876	0.904	1.398
	Diamonsil C <sub>18</sub>	0.569	0.880	0.947	1.448
Dionex P680	Kromasil C <sub>18</sub>	0.565	0.898	0.915	1.451
	Ultimate XB C <sub>18</sub>	0.581	0.865	0.934	1.439
	Diamonsil C <sub>18</sub>	0.565	0.887	0.932	1.464
平均值		0.566	0.882	0.925	1.444
RSD, %		1.81	1.25	1.69	1.72

### 2.6 QAMS法与外标法测定结果的比较

按“2.3.2”项下方法,取19批不同产地的山茱萸干燥粉末制备成供试品溶液。精密吸取各批供试品溶液15 μL,注入色谱仪测定,通过QAMS法计算各成分含量。同时采用外标法对山茱萸中5种环烯醚萜苷类成分进行多成分同步含量测定,结果见表6。

表6 QAMS法与外标法测定山茱萸中5种成分的含量比较(mg/g, n=3)

Tab 6 Comparison of the contents of 5 components in Corni fructus by QAMS and external standard method(mg/g, n=3)

产地	莫诺昔		当药昔		山茱萸昔		马钱昔(内参物)		山茱萸裂昔	
	外标法	QAMS法	外标法	QAMS法	外标法	QAMS法	外标法	QAMS法	外标法	QAMS法
浙江淳安	16.263	16.954	0.513	0.488	0.336	0.334	9.158	3.968	4.120	
浙江桐庐	16.398	15.733	0.767	0.763	0.444	0.424	7.846	4.954	4.799	
浙江临安	13.373	12.838	1.014	1.027	0.435	0.447	10.690	5.077	5.075	
浙江磐安	15.471	15.957	0.593	0.563	0.387	0.405	9.298	4.214	4.409	
安徽石台	12.993	12.787	0.415	0.429	0.518	0.517	6.894	3.406	3.554	
安徽歙县	11.581	11.298	1.024	0.974	0.450	0.472	8.040	4.462	4.253	
四川安县	15.845	15.221	1.106	1.136	0.422	0.408	9.484	3.208	3.245	
河南西峡	15.567	16.082	0.996	1.003	0.545	0.552	7.377	5.114	5.335	
河南嵩县	15.579	16.292	0.461	0.446	0.380	0.385	7.792	3.783	3.921	
河南栾川	13.751	13.190	0.478	0.476	0.570	0.556	6.849	2.550	2.515	
河南内乡	11.776	11.902	0.470	0.452	0.318	0.319	7.014	5.082	5.291	
河南南召	18.093	18.184	0.627	0.647	0.436	0.418	10.317	4.425	4.335	
河南鲁山	16.738	16.622	0.595	0.610	0.561	0.555	6.627	3.913	3.976	
陕西佛坪	16.844	16.090	1.096	1.095	0.423	0.428	11.036	5.462	5.269	
陕西丹凤	9.797	9.962	1.180	1.123	0.371	0.353	7.488	5.127	5.030	
陕西洋县	12.223	12.436	0.447	0.440	0.331	0.335	10.916	2.571	2.578	
陕西周至	11.077	10.805	0.857	0.892	0.502	0.499	8.953	3.589	3.683	
陕西太白	13.348	13.717	0.954	0.923	0.502	0.520	8.347	2.877	2.778	
山西阳城	10.197	9.951	1.102	1.098	0.398	0.416	10.665	5.313	5.125	

表6结果表明,山茱萸药材中莫诺昔、马钱昔的含量相对较高,当药昔和山茱萸昔的含量较低;同时不同产地山茱萸药材中5种环烯醚萜苷类成分含量差异较大,

莫诺昔的含量范围约为9.797~18.093 mg/g、当药昔为0.415~1.180 mg/g、山茱萸昔为0.318~0.561 mg/g、马钱昔为6.627~11.036 mg/g、山茱萸裂昔为2.550~5.462 mg/g。将两种测定方法所得数据结果经SPSS 22.0软件采用 $t$ 检验及非参数检验分析。结果,莫诺昔、当药昔、山茱萸昔和山茱萸裂昔的QAMS法计算值与外标法实测值的 $P$ 值分别为0.667、0.329、0.812、0.759,均 $>0.05$ ,表明两种方法测得的结果无显著性差异,提示建立的相对校正因子具有较好的可信度,QAMS法计算结果可靠。

### 3 讨论

#### 3.1 内参物的选择

在2010年版<sup>[10]</sup>和2015年版《中国药典》中,均将马钱昔作为山茱萸质量评价的指标性成分,其对照品廉价较易获得,并且测定条件和技术成熟。因此,本研究将马钱昔选为内参物,构建其与其他4种环烯醚萜昔类成分间的相对校正因子,用于计算其他成分的含量。

#### 3.2 测定波长的选择

在预试验中,笔者对供试品溶液和混合对照品溶液在190~400 nm波长范围内进行全波长扫描。结果,莫诺昔、当药昔、山茱萸昔、马钱昔和山茱萸裂昔的最大吸收波长分别为240、240、237、240、221 nm,山茱萸昔在240 nm波长处与237 nm波长处的峰面积差异较小,山茱萸裂昔在240 nm波长处也有较大紫外吸收。因此,本试验采用240 nm为检测波长。试验结果表明,此波长下各待测峰分离度良好。

#### 3.3 样品处理方法

在前期试验中,根据文献资料<sup>[11-13]</sup>,笔者分别考察了以不同体积分数的甲醇、乙醇、乙腈、乙酸乙酯为提取溶剂,采用加热回流法和超声提取法制备供试品溶液的情况,最终确定了采用75%甲醇溶液超声提取30 min的方法,且该方法操作简单、目标成分的提取效率高、各待测峰峰面积较大、干扰的杂质峰较少。

#### 3.4 耐用性评价

在对建立的相对校正因子进行适用性评价时,考察了在不同液相色谱仪、不同色谱柱、不同柱温、不同流速和不同进样量时的相对校正因子,结果其RSD均 $<2\%$ ,提示以上因素对相对校正因子没有显著影响,表明建立的相对校正因子具有较好的适用性;而后通过峰面积相对保留值和保留时间差这两种方法对色谱峰的位置进行了确定,结果显示相对保留值法更适用于山茱萸中环烯醚萜昔类成分的含量测定。最后检验QAMS法计算值与外标法实测值的差异,结果二者 $P$ 值均 $>0.05$ ,提示两组数据间比较差异无统计学意义,表明在缺少对照品的情况下,可以利用QAMS法对山茱萸药材中的多种环烯醚萜昔类成分进行定量测定。

### 3.5 结果分析

通过对19批药材含量测定结果进行分析,表明山茱萸药材中5种环烯醚萜昔类成分含量受地域影响较大,在评价山茱萸药材质量时应考虑其产地因素。但在试验过程中笔者也发现同一产地的不同批次山茱萸药材中5种环烯醚萜昔类成分含量也存在一定差异,这可能与药材的采收时间、农户种植水平等因素有关,具体原因还有待进一步的试验考察。

综上,本研究建立了同时测定山茱萸中5种环烯醚萜昔类成分含量的多指标评价的HPLC-QAMS法,实现了快速、全面、准确地评价山茱萸药材质量的要求,且检测成本低,为中药中多组分的质量评价标准的建立提供了一定的参考。

### 参考文献

- [1] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S].2015年版.北京:中国医药科技出版社,2015:27.
- [2] 李平忠,孙晶.山茱萸化学成分及其药用与营养价值研究进展[J].安徽农业科学,2013,41(4):1493-1494.
- [3] 相聪坤.山茱萸资源及活性成分研究进展[J].河北医药,2016,38(12):1886-1889.
- [4] 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.
- [5] 陆兔林,石上梅,蔡宝昌,等.基于一测多评的中药多成分定量研究进展[J].中草药,2012,43(12):2525-2529.
- [6] 何兵,杨世艳,张燕.一测多评法中待测成分校正和定位的新方法研究[J].药学学报,2012,47(12):1653-1659.
- [7] 文乾映,龙芳,杨华,等.中药质量控制中一测多评法的应用进展[J].中国药房,2014,25(23):2185-2187.
- [8] HOU JJ, WU WY, LIANG J, et al. A single, multi-faceted, enhanced strategy to quantify the chromatographically diverse constituents in the roots of *Euphorbia kansui*[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2014, 88(4): 321-330.
- [9] 朱晶晶,王智民,匡艳辉,等.一测多评法同步测定人参和三七药材中多种人参皂昔的含量[J].药学学报,2008,43(12):1211-1216.
- [10] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S].2010年版.北京:中国医药科技出版社,2010:26.
- [11] 赵平,闫润红,刘养清,等.栽培与野生山茱萸中马钱昔和莫诺昔含量分析[J].中国实验方剂学杂志,2009,15(4):7-9.
- [12] 刘磊,戴冰,肖子曾,等.不同来源山茱萸中莫诺昔的含量测定[J].中南药学,2007,5(6):494-496.
- [13] 周清,侯峰,董斌,等.用超高速液相色谱法同时测定山茱萸药材中马钱昔和莫诺昔的含量[J].药学服务与研究,2012,12(6):441-457.

(收稿日期:2017-10-30 修回日期:2018-01-19)

(编辑:刘萍)