

基于多指标成分含量测定及 HPLC 指纹图谱的多茎重楼品质评价

金琳¹, 吴钰颖¹, 戴雪雯¹, 李海峰^{1,2*}

1. 大理大学药学与化学学院, 云南 大理 671000

2. 大理大学药物研究所, 云南 大理 671000

摘要:目的 HPLC 法测定不同产地多茎重楼 *Paris polyphylla* Smith var. *yunnanensis* 根茎中重楼皂苷 VII、H、VI、II、III、I、V 的含量, 建立其 HPLC 指纹图谱, 并与滇重楼根茎对照药材 HPLC 指纹图谱进行比较分析。方法 采用 Thermo C₁₈ 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为水-乙腈, 梯度洗脱, 检测波长 203 nm; 柱温 30 ℃; 体积流量 1 mL/min; 进样量 10 μL, 外标法与一测多评法同时对不同产地多茎重楼根茎中重楼皂苷 VII、H、VI、II、III、I、V 的含量进行测定, 采用单因素方差分析法对含量差异进行分析; 建立多茎重楼根茎 HPLC 指纹图谱, 并与滇重楼根茎对照药材 HPLC 指纹图谱进行比较分析。结果 不同产地多茎重楼根茎重楼皂苷 VII、H、VI、II、III、I、V 的含量测定结果表明, 在线性范围内线性关系良好 ($r > 0.999\ 7$), 平均加样回收率为 98.34%~99.34%, $RSD \leq 1.00\%$; 不同产地多茎重楼根茎中重楼皂苷 VII、H、VI、II、III、I、V 的含量存在显著 ($P < 0.05$) 或极显著 ($P < 0.01$) 差异, 重楼皂苷 (I+II+VI+VII) 总量在 1.239%~6.236%, 显著高于《中国药典》规定的重楼药材质量控制标准的 0.60%, 且外标法与一测多评法测定结果无显著性差异。HPLC 指纹图谱相似度评价结果表明, 不同产地多茎重楼和滇重楼对照药材根茎中共有 12 个共有指纹特征峰, 二者 HPLC 指纹图谱相似度较高。结论 该方法操作简单、准确、重复性好, 可用于多茎重楼根茎中重楼皂苷 VII、H、VI、II、III、I、V 的含量测定; 不同产地多茎重楼根茎中重楼皂苷 (I+II+VI+VII) 总含量较高, 不同产地多茎重楼与滇重楼对照药材根茎 HPLC 指纹图谱相似度较高。

关键词: 多茎重楼; 重楼皂苷 VII; 重楼皂苷 H; 重楼皂苷 VI; 重楼皂苷 II; 重楼皂苷 III; 重楼皂苷 I; 重楼皂苷 V; 高效液相色谱; 指纹图谱; 单因素方差分析

中图分类号: R286.2

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2019)13-3178-09

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.13.026

Determination of multi-marker components and HPLC fingerprint for quality evaluation of multiple stems *Paris polyphylla* var. *yunnanensis*JIN Lin¹, WU Yu-ying¹, DAI Xue-wen¹, LI Hai-feng^{1,2}

1. School of Chemistry and Pharmaceutical Science, Dali University, Dali 671000, China

2. Institute of Material Medical, Dali University, Dali 671000, China

Abstract: Objective HPLC was used to determine the content of the polyphyllins VII, H, VI, II, III, I, and V in the rhizomes of multiple stems *Paris polyphylla* var. *yunnanensis* from different places of origin, establishing HPLC fingerprint and comparative analysis HPLC fingerprint between multiple stems *P. polyphylla* var. *yunnanensis* and *P. polyphylla* var. *yunnanensis*. **Methods** HPLC was performed on the column of Thermo C₁₈ with mobile phase of acetonitrile-water gradient at the flow rate of 1 mL/min; The detection wave-length was 203 nm, column temperature was 30 ℃, and volume was 10 μL; Content of multiple stems *P. polyphylla* var. *yunnanensis* was measured by external standard and quantitative analysis of multi-components (QAMS), and one-way ANOVA was used to explore its content difference. The HPLC fingerprint of rhizome from multiple stems *P. polyphylla* var. *yunnanensis* was established and compared with that of rhizome from *P. polyphylla* var. *yunnanensis*. **Results** The determination results of 10 batches of rhizome of multiple stems *P. polyphylla* var. *yunnanensis* showed a good linear relationship in the linear range ($r > 0.999\ 7$), with an average recovery of 98.34%—99.34% and $RSD \leq 1.00\%$. There was a significant difference ($P < 0.05$) or highly significant difference ($P < 0.01$) about content of polyphyllins VII, H, VI, II, III, I, and V among different places of origin in

收稿日期: 2018-12-09

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81360616); 云南省教育厅基金重点资助项目 (2013Z153)

作者简介: 金琳 (1994—), 女, 纳西族, 云南丽江人, 硕士研究生, 研究方向为药用植物次生代谢、品质评价及质量控制。

Tel: 18313006387 E-mail: 1596840081@qq.com

*通信作者 李海峰, 硕士生导师, 教授, 主要从事药用植物次生代谢、品质评价及质量控制研究。Tel: 13170764216 E-mail: lihfhz888@sina.com

the rhizomes of multiple stems *P. polyphylla* var. *yunnanensis*, the total content of polyphyllins (I+ II + VI + VII)% ranging from 1.239%—6.236%, which was significantly higher than 0.60% of the quality control standard of *Paridis Rhizoma* prescribed by Chinese Pharmacopoeia. No significant difference was observed between the results of external standard and quantitative analysis of multi-components methods. The HPLC fingerprint similarity evaluation results showed that there were 12 common fingerprint peaks between multiple stems *P. polyphylla* var. *yunnanensis* and *P. polyphylla* var. *yunnanensis*, and with the high similarity of HPLC fingerprints. **Conclusion** The method was simple, accurate and reproducible, and can be used for the determination of polyphyllins VII, H, VI, II, III, I, and V in multiple stems of *P. polyphylla* var. *yunnanensis*, total content of polyphyllins (I + II + VI + VII)% in multiple stems of *P. polyphylla* var. *yunnanensis* was relatively higher and HPLC fingerprints of rhizome of multiple stems *P. polyphylla* var. *yunnanensis* and *P. polyphylla* var. *yunnanensis* from different places of origin also have high similarity.

Key words: multiple stems *Paris polyphylla* Smith var. *yunnanensis*. (Franch.) Hand. -Mazz.; polyphyllin VII; polyphyllin H; polyphyllin VI; polyphyllin II; polyphyllin III; polyphyllin I; polyphyllin V; high performance liquid chromatography; HPLC fingerprint; One-way ANOVA

云南重楼（又名滇重楼）*Paris polyphylla* Smith var. *yunnanensis* (Franch.) Hand. -Mazz. 为百合科（Liliaceae）多年生草本植物，以其干燥根茎入药，被历版《中国药典》收录，甙体皂苷类成分是其活性成分，具有消肿止痛、清热解毒、凉肝定惊等功效^[1-4]，在云南省药用植物资源中占据产业化利用主导地位，是最具代表性和全局影响力的植物资源之一^[5]。目前，滇重楼药材的来源主要以采挖野生资源为主，由于每年的消耗量远远超出野生资源的年再生能力，加之滇重楼根茎生长极其缓慢，资源再生周期长（需要 8~12 年），野生资源利用已经演变成成为严重的资源危机，滇重楼资源的可持续利用问题已经引起政府、科研院所和相关制药企业的高度关注和重视^[6]。

笔者前期在滇重楼样品采集及研究中发现，在滇西大理、丽江等滇重楼主要原料来源地，根据根状茎分枝情况不同滇重楼存在 2 种不同形态，一种是根状茎不分枝，另一种是《云南植物志》和《中国植物志》^[7-8]没有记载，根状茎常分枝，少则根状茎分为几枝，多则根状茎分为几十、上百枝，产地俗称多茎重楼、多芽重楼。多茎重楼与滇重楼相比，多茎重楼因为根状茎分枝多，叶片数多，叶面积大，光合作用能力强，生长速度快，产量高，深受种植户的欢迎，已经成为滇重楼野生变家种及人工种植的重要品种。目前国内有关重楼药材的品质评价主要集中在滇重楼和七叶一枝花 *Paris polyphylla* Smith var. *chinensis* (Franch.) Hara，有关多茎重楼品质评价的研究报道较少^[9-10]，多茎重楼与滇重楼在根状茎分枝上差异较大，那么，二者在主要活性成分上是否存在差异？为此，本实验拟采用 HPLC 法测定不同产地多茎重楼根茎中重楼皂苷 VII、H、VI、II、III、I、V 的含量测定，建立其 HPLC 指纹图谱，并与滇重楼对照药材根茎 HPLC 指纹图谱进行比较分析，探讨不同产地多茎重

楼与滇重楼品质及 HPLC 指纹图谱差异，为多茎重楼与滇重楼等同入药提供依据。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Agilent 1260 型高效液相色谱仪（美国 Agilent 公司）：包括 G1311C VL（四元泵）、G1313A（标准型自动进样器）、G1330B（自动进样器恒温模块）、G1316A，G1316C（柱温箱）、G1314BC/E/F DAD 检测器，ChemStation 色谱工作站（美国 Agilent 公司）；SK5200H 型超声波清洗仪（上海科导超声仪器有限公司）；FY131 型中药粉碎机（天津市泰斯特仪器有限公司）；AE240 型电子天平（瑞士梅特勒-托利多公司）。

1.2 试剂

重楼皂苷 VII、VI、II、I 对照品购自中国食品药品检定研究院，批号分别为 111593-200402、111592-200301、111591-200301、111590-200402，质量分数均≥98%；重楼皂苷 H、III、V 对照购自上海金德生物科技有限公司，批号分别为 20170109、20180606、20170217，质量分数均≥98%。高效液相流动相乙腈为色谱纯（美国 Tedia 公司），水为娃哈哈纯净水，提取样品用乙醇为分析纯。

2017 年 9 月种子成熟期，在多茎重楼和滇重楼主要来源地采集样品，多茎重楼样品采集根状茎分枝数为 8~10 枝的植株（生长年限相近），滇重楼样品采集根状茎节数为 8~9 个（生长年限相近）。样品经大理大学李海峰教授鉴定为百合科（Liliaceae）重楼属 *Paris* L. 滇重楼 *Paris polyphylla* Smith var. *yunnanensis* (Franch.) Hand. -Mazz.。分别到不同产地采集多茎重楼 10 批（S1~S10）和滇重楼 11 批（A1~A11），样品去泥洗净后于 40℃烘箱中恒温干燥至恒定质量备用，并将 11 批滇重楼作为对照药材。多茎重楼及滇重楼样品信息见表 1。

表 1 多茎重楼与滇重楼药材信息

Table 1 Information of multiple stems *P. polyphylla* var. *yunnanensis* and *P. polyphylla* var. *yunnanensis*

编号	植物	部位	来源	位置
S1	多茎重楼	根茎	洱源百岁坊	N25.36°, E100.13°
S2	多茎重楼	根茎	云龙长新	N25.85°, E99.49°
S3	多茎重楼	根茎	大理银桥	N25.45°, E100.07°
S4	多茎重楼	根茎	洱源邓川	N26.00°, E100.50°
S5	多茎重楼	根茎	洱源凤羽	N25.59°, E99.55°
S6	多茎重楼	根茎	剑川马凳	N26.26°, E99.36°
S7	多茎重楼	根茎	洱源牛街	N25.15°, E99.59°
S8	多茎重楼	根茎	南涧乐秋	N25.01°, E100.20°
S9	多茎重楼	根茎	巍山龙街	N25.07°, E100.06°
S10	多茎重楼	根茎	巍山魏宝山	N25.10°, E100.19°
A1	滇重楼	根茎	永平谱渡	N25.27°, E99.32°
A2	滇重楼	根茎	大理湾桥	N25.47°, E100.07°
A3	滇重楼	根茎	大理海东	N25.36°, E100.16°
A4	滇重楼	根茎	洱源凤羽	N25.59°, E99.55°
A5	滇重楼	根茎	大理凤仪	N25.35°, E100.18°
A6	滇重楼	根茎	鹤庆西邑	N26.14°, E100.10°
A7	滇重楼	根茎	剑川羊岑	N26.29°, E99.47°
A8	滇重楼	根茎	弥渡红岩	N25.20°, E100.29°
A9	滇重楼	根茎	南涧乐秋	N25.01°, E100.20°
A10	滇重楼	根茎	巍山龙街	N25.13°, E100.18°
A11	滇重楼	根茎	巍山魏宝山	N25.10°, E100.19°

2 方法

2.1 方法学考察

2.1.1 色谱条件 色谱柱为 Thermo C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为水 (A)-乙腈 (B), 梯度洗脱, 0~8 min, 20%~40% B; 8~39 min, 40%~44% B; 39~49 min, 44%~47% B; 49~52 min, 47%~60% B; 52~60 min, 60%~20% B; 检测波长 203 nm; 柱温 30 ℃; 体积流量 1 mL/min; 进样量 10 μL。

2.1.2 对照品溶液的制备 分别精密称取重楼皂苷 VII、H、VI、II、III、I、V 对照品, 置 5 mL 量瓶中, 加色谱甲醇溶解并定容, 配制质量浓度分别为 0.236、0.238、0.240、0.650、0.736、0.660、0.248 mg/mL 对照品母液, 在 4 ℃冰箱保存备用。

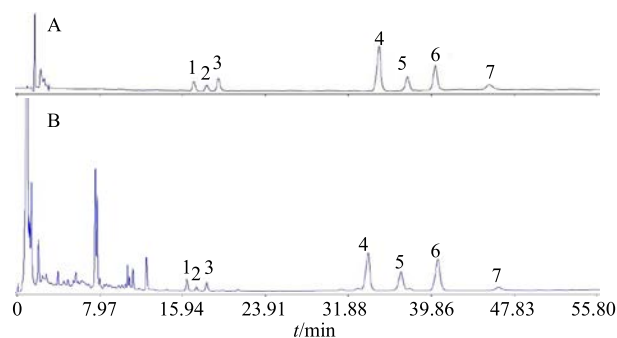
2.1.3 供试品溶液的制备 样品粉碎, 过 100 目筛, 40 ℃烘箱中干燥至恒定质量, 精密称取药材粉末 0.5 g (万分之一电子天平) 于 10 mL 三角瓶中, 加入 75%乙醇 4 mL, 于 60 ℃, 53 kHz 超声处理 60 min, 滤过, 滤液置于 10 mL 量瓶中; 向药材滤渣中加 75%乙醇 4 mL, 放置过夜, 相同参数超声处

理 60 min, 滤过, 加 75%乙醇定容至刻度, 得供试品溶液。

2.1.4 专属性考察 在“2.1.1”项色谱条件下, 分别取对照品溶液和供试品溶液进样测定, 得到特征峰, 供试品溶液与杂质分离良好, 无干扰, 见图 1。

2.1.5 线性关系考察 将对照品母液在“2.1.1”项色谱条件下, 分别进样 1、5、10、15、20、25 μL, 分别测定重楼皂苷 VII、H、VI、II、III、I、V 对照品峰面积。以对照品进样量对峰面积进行线性回归, 绘制标准曲线, 得到回归方程。同时以信噪比 3 和 10 为标准考察检测限 (LOD) 和定量限 (LOQ), 见表 2。

2.1.6 精密度试验 取“2.1.2”项中的对照品溶液在“2.1.1”项色谱条件下, 每次进样 10 μL, 重复进样 6 次, 测得重楼皂苷 VII、H、VI、II、III、I、V 的平均峰面积分别为 141.85、179.63、107.75、321.20、263.43、257.55、229.15, RSD 分别为 0.66%、0.53%、0.98%、0.86%、0.85%、0.65%、0.70% (n=6), 结果表明精密度良好。



1-重楼皂苷 VII 2-重楼皂苷 H 3-重楼皂苷 VI 4-重楼皂苷 II
5-重楼皂苷 III 6-重楼皂苷 I 7-重楼皂苷 V
1-polyphyllin VII 2-polyphyllin H 3-polyphyllin VI
4-polyphyllin II 5-polyphyllin III 6-polyphyllin I 7-polyphyllin V

图 1 重楼皂苷 VII、H、VI、II、III、I、V 混合对照品 (A) 及多茎重楼根茎 (B) 色谱图

Fig. 1 HPLC fingerprint of polyphyllins VII, H, VI, II, III, I, V reference substances (A) and rhizome of multiple stems *P. polyphylla* var. *yunnanensis* (B)

表 2 重楼皂苷 VII、H、VI、II、III、I、V 对照品标准曲线、LOD 与 LOQ

Table 2 Calibration curves, LOD, and LOQ of seven reference substances

化合物	标准曲线	<i>r</i>	线性范围/ μg	LOD/ng	LOQ/ng
重楼皂苷 VII	$Y=278.13 X+13.91$	0.999 9	0.236~ 5.900	45.6	94.4
重楼皂苷 H	$Y=320.76 X+24.539$	0.999 9	0.238~ 5.950	37.8	95.2
重楼皂苷 VI	$Y=364.62 X+13.634$	1.000 0	0.240~ 6.000	46.0	96.8
重楼皂苷 II	$Y=314.73 X-1.224 6$	1.000 0	0.650~16.250	97.5	110.5
重楼皂苷 III	$Y=313.9 X+21.469$	0.999 9	0.736~18.400	110.4	132.5
重楼皂苷 I	$Y=321.08 X+2.224 7$	1.000 0	0.660~16.500	99.0	112.2
重楼皂苷 V	$Y=382.69 X+8.101 9$	0.999 7	0.236~ 5.900	45.6	94.4

2.1.9 加样回收率试验 精密称取 21 份同一批次 (S1) 样品, 每份约 0.1 g, 分别精密加入重楼皂苷 VII 0.152 4 mg、重楼皂苷 H 0.186 3 mg、重楼皂苷 VI 0.080 8 mg、重楼皂苷 II 1.155 4 mg、重楼皂苷 III 0.300 8 mg、重楼皂苷 I 0.687 6 mg、重楼皂苷 V 0.136 1 mg, 按“2.1.3”项方法制备供试品溶液, 测得重楼皂苷 VII、H、VI、II、III、I、V 平均加样回收率分别为 98.34%、98.82%、98.87%、99.22%、98.73%、98.87%、99.34%, RSD 分别为 0.08%、1.00%、0.94%、0.52%、0.32%、0.36%、0.25%。

2.2 相对校正因子 (*f*) 计算

将对照品母液在“2.1.1”项色谱条件下, 分别进样 1、5、10、15、20、25 μL , 分别测定重楼皂苷 VII、H、VI、II、III、I、V 对照品峰面积; 以重楼皂苷 VII 对照品为内参物, 计算重楼皂苷 H、VI、II、III、I、V 对照品的 *f*, 见表 3。

2.1.7 重复性试验 精密称取同一批 (S1) 样品 6 份, 按“2.1.3”项方法分别制备 6 份供试品溶液, 在“2.1.1”项色谱条件下, 每次进样 10 μL , 分别对 6 份供试品溶液中重楼皂苷 VII、H、VI、II、III、I、V 进行含量测定, 测得平均峰面积分别为 90.53、17.73、44.68、827.18、329.47、603.30、62.47; 测得 RSD 分别为 0.72%、1.62%、1.57%、1.36%、1.99%、0.66%、1.17%, 表明方法的重复性良好。

2.1.8 稳定性试验 取供试品溶液 1 份, 在“2.1.1”项色谱条件下, 每次进样 10 μL , 分别在 0、4、8、12、16、20、24 h 进样, 对供试品溶液中重楼皂苷 VII、H、VI、II、III、I、V 进行测定, 测得平均峰面积分别为 91.76、18.27、45.07、829.49、329.99、599.89、62.00; RSD 分别为 1.16%、1.54%、1.48%、1.96%、1.03%、1.07%、1.89%, 结果表明供试品溶液在 24 h 内稳定性较好。

$$f_{si}=f_s f_i=(A_s \times C_i)/(C_s \times A_i)$$

A_s 为内参物对照品 *s* 峰面积, C_s 为内参物对照品 *s* 浓度, A_i 为某待测成分对照品 *i* 峰面积, C_i 为某待测成分对照品 *i* 质量浓度

2.3 样品测定

测定不同产地多茎重楼根茎中重楼皂苷 VII、H、VI、II、III、I、V 的含量, 每个样品均做 3 组平行实验, 所得数据用 SPSS 17.0 统计软件进行单因素方差分析。

2.4 HPLC 图谱的建立

2.4.1 稳定性试验 取同一产地多茎重楼样品 (S1), 制备供试品溶液, 分别考察 0、2、4、6、8、10、12、24 h 的各共有峰的相对保留时间和相对峰面积, 计算得到多茎重楼根茎相对保留时间 RSD 均小于 1.0%, 相对峰面积的 RSD 均小于 3.0%, 表明样品在 24 h 内稳定性良好。

表 3 f 测定结果

Table 3 Results of relative correction factors

进样量/ μL	$f_{\text{重楼皂苷 VII/重楼皂苷 H}}$	$f_{\text{重楼皂苷 VII/重楼皂苷 VI}}$	$f_{\text{重楼皂苷 VII/重楼皂苷 II}}$	$f_{\text{重楼皂苷 VII/重楼皂苷 III}}$	$f_{\text{重楼皂苷 VII/重楼皂苷 I}}$	$f_{\text{重楼皂苷 VII/重楼皂苷 V}}$
1	0.855	0.740	0.909	0.909	0.900	0.773
5	0.808	0.761	0.917	0.917	0.902	0.729
10	0.874	0.772	0.915	0.888	0.896	0.746
15	0.868	0.763	0.894	0.892	0.881	0.725
20	0.861	0.768	0.891	0.892	0.875	0.725
25	0.861	0.763	0.888	0.891	0.870	0.737
平均值	0.854	0.761	0.902	0.898	0.887	0.739
RSD/%	2.750	1.480	1.440	1.290	1.520	2.490

2.4.2 精密度试验 取同一产地多茎重楼样品 (S1), 制备供试品溶液, 连续进样 6 次, 考察各共有峰的相对峰面积和相对保留时间, 计算得到多茎重楼根茎的相对保留时间 RSD 均小于 1.0%, 相对峰面积 RSD 均小于 2.8%, 表明仪器精密度良好。

2.4.3 重复性试验 取同一产地多茎重楼样品 (S1), 称取 6 份, 制备供试品溶液, 考察各共有峰的相对保留时间和相对峰面积, 经计算滇重楼根茎的相对保留时间 RSD 均小于 0.5%, 相对峰面积 RSD 均小于 3.0%, 表明方法的重复性良好。

2.4.4 HPLC 指纹图谱建立 采用“2.1.1”项下的色谱条件, 将色谱图的 AIA 格式导入中药色谱指纹图谱相似度评价系统 (2004A 版), 生成方法为中位数, 时间窗宽度为 0.1 min, 对选定的 HPLC 图谱进行多点校正, 自动匹配, 建立不同产地多茎重楼与滇重楼根茎 HPLC 指纹图谱。

2.5 统计分析

采用最小显著差异法进行方差分析, 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。

3 结果与分析

3.1 不同产地多茎重楼根茎主要活性成分含量比较分析

不同产地多茎重楼根茎中 VII、H、VI、II、III、I、V 及《中国药典》2015 年版规定 4 种重楼皂苷 (I、II、VI、VII) 的总含量, 见表 4。对不同产地的多茎重楼根茎中重楼皂苷 VII、H、VI、II、III、I、V 及《中国药典》2015 年版规定的 4 种重楼皂苷 (I、II、VI、VII) 总量进行显著性检验, 结果显示, 不同产地多茎重楼根茎中均检测到《中国药典》2015 年版规定的 4 种重楼皂苷 (I、II、VI、VII), 不同产地多茎重楼根茎中重楼皂苷 (I+II+VI+VII) 总量的范围在 1.239%~6.236%, 均大于《中国药典》2015 年版一部规定的 0.60% 的质量控制标准, 含量最高的为 S6 (剑川马凳), 最低的为

S3 (大理银桥), 相差 5 倍多; 且 S6 (剑川马凳)、S8 (南涧乐秋) 产地的 (I+II+VI+VII) 总含量显著 ($P<0.05$) 或极显著 ($P<0.01$) 高于其他产地; S6 (剑川马凳) 产地多茎重楼根茎中重楼皂苷 VII、H、VI、II、III、I、V 及 4 种重楼皂苷 (I、II、VI、VII) 的总含量显著 ($P<0.05$) 或极显著 ($P<0.01$) 高于其他产地; S6 (剑川马凳)、S8 (南涧乐秋) 重楼皂苷 III 的含量分别为 5.354%、4.710%, 显著 ($P<0.05$) 或极显著 ($P<0.01$) 高于其他产地, 且超过 S3 (大理银桥) 含量的 42 倍多; 除 S8 (南涧乐秋)、S9 (巍山龙街)、S10 (巍山魏宝山) 外, 其他产地均未检测到重楼皂苷 V; 除 S2 (云龙长新)、S3 (大理银桥)、S9 (巍山龙街) 外其他产地均检测到重楼皂苷 H; 不同产地多茎滇重楼主要成分含量存在一定的差异, 但总体品质较好。

3.2 一测多评法 (QAMS) 与外标法 (EMS) 测定不同产地多茎重楼根茎主要活性成分含量比较分析

取 10 批多茎重楼根茎样品, 按照“2.1.3”项下方法制备供试品溶液, 按“2.1.1”项下色谱条件进样测定, 记录各色谱峰峰面积, 采用外标法对重楼皂苷 VII、H、VI、II、III、I、V 进行定量测定, 再用所建立的 QAMS 法进行定量计算, 以验证 QAMS 法用于多茎重楼中多指标评价的准确性, 见表 5。测得结果显示 2 种方法测得的各成分含量无明显差异, QAMS 法可以作为一种简便准确的质量评价模式, 用于多茎重楼中 7 中甾体皂苷类主要活性成分的含量测定。

3.3 HPLC 指纹图谱共有模式的建立及相似度评价

3.3.1 不同产地多茎重楼与滇重楼 HPLC 图谱相似度计算 采用“2.4”项方法建立 HPLC 共有模式图, 10 批多茎重楼根茎参照图谱设定为 S1 (洱源百岁坊), 11 批滇重楼根茎的参照图谱设定为 A1 (永平谱渡)。多茎重楼与滇重楼 HPLC 共有模式图, 见图 2, 相似度见表 6、7。

表 4 不同产地多茎重楼根茎中重楼皂苷 VII、H、VI、II、III、I、V 及总量比较分析 ($\bar{x} \pm s, n=3$)Table 4 Content comparative analysis of polyphyllin VII, H, VI, II, III, I, and V in multiple stems *P. polyphylla* var. *yunnanensis* in rhizome from different places of origin ($\bar{x} \pm s, n=3$)

编号	质量分数/%							重楼皂苷(I+II+VI+VII)%
	重楼皂苷 VII	重楼皂苷 H	重楼皂苷 VI	重楼皂苷 II	重楼皂苷 III	重楼皂苷 I	重楼皂苷 V	
S1	0.182±0.005 ^{Cc}	0.016±0.002 ^{Bc}	0.103±0.003 ^{Cc}	1.135±0.054 ^{Cc}	0.631±0.026 ^{Cc}	0.885±0.024 ^{DdE}	ND	2.304±0.079 ^{CDdE}
S2	0.182±0.004 ^{Cc}	ND	0.151±0.004 ^{Bb}	1.473±0.051 ^{Bb}	0.164±0.011 ^{CcDde}	0.814±0.010 ^{DdEc}	ND	2.620±0.069 ^{CcDd}
S3	0.105±0.006 ^{CcDdEe}	ND	0.021±0.000 ^{Dd}	0.811±0.044 ^{DdE}	0.112±0.001 ^{CDde}	0.356±0.023 ^{FGgHh}	ND	1.293±0.028 ^{Fe}
S4	0.163±0.024 ^{CcDd}	0.005±0.000 ^{7Bc}	0.151±0.004 ^{Bb}	0.735±0.043 ^{DdE}	0.177±0.008 ^{CcDde}	0.680±0.003 ^{DdEcFf}	ND	1.746±0.054 ^{EeFf}
S5	0.360±0.018 ^{Bb}	0.029±0.005 ^{Bc}	0.239±0.011 ^{Aa}	0.763±0.044 ^{Ed}	0.171±0.006 ^{CcDde}	0.377±0.020 ^{FfGgHh}	ND	1.739±0.083 ^{EeFf}
S6	0.592±0.045 ^{Aa}	0.326±0.061 ^{Aa}	0.251±0.024 ^{Aa}	2.261±0.079 ^{Aa}	5.354±0.364 ^{Aa}	3.284±0.231 ^{Aa}	ND	6.326±0.035 ^{Aa}
S7	0.329±0.026 ^{Bb}	0.061±0.004 ^{Bc}	0.158±0.005 ^{Bb}	0.723±0.011 ^{Ed}	0.618±0.006 ^{Cc}	0.545±0.027 ^{EcFfGg}	ND	1.757±0.047 ^{EeFf}
S8	0.345±0.018 ^{Bb}	0.250±0.009 ^{Ab}	0.021±0.001 ^{Dd}	1.604±0.094 ^{Bb}	4.710±0.207 ^{Bb}	2.323±0.112 ^{Bb}	0.074±0.006 ^{Bb}	4.294±0.221 ^{Bb}
S9	0.088±0.016 ^{DdEc}	ND	0.023±0.002 ^{Dd}	1.172±0.016 ^{Cc}	0.460±0.015 ^{CcDde}	1.582±0.053 ^{Cc}	0.040±0.003 ^{Cc}	2.864±0.047 ^{Cc}
S10	0.141±0.018 ^{CcDdE}	0.037±0.002 ^{Bc}	0.104±0.002 ^{FfGgHh}	1.017±0.051 ^{CcD}	0.492±0.035 ^{CcDd}	0.969±0.028 ^{Dd}	0.103±0.002 ^{Aa}	2.231±0.054 ^{DdEc}

不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$), 不同大写字母表示差异极显著 ($P<0.01$), ND 表示未检出

A, B, C, D, E, F, G, H and a, b, c, d, e, f, g, h significant differences in LSD at 0.01 and at 0.05 level, ND represent no detected

表 5 EMS 法和 QAMS 法测定各成分含量结果 ($n=3$)Table 5 Content of each component detected by EMS and QAMS methods ($n=3$)

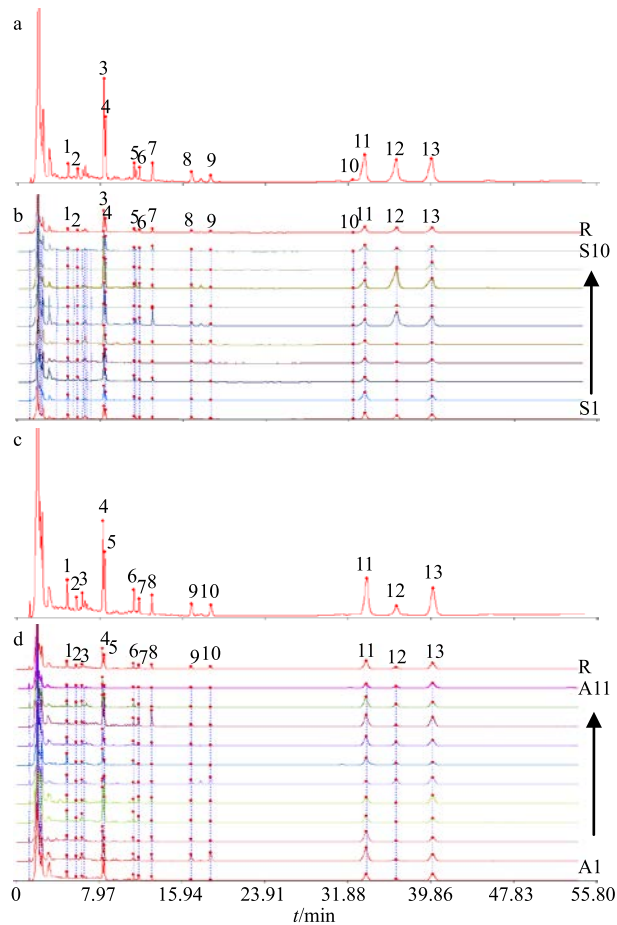
编号	质量分数/%														重楼皂苷(I+II+VI+VII)%
	重楼皂苷 VII		重楼皂苷 H		重楼皂苷 VI		重楼皂苷 II		重楼皂苷 III		重楼皂苷 I		重楼皂苷 V		
	EMS	QAMS	EMS	QAMS	EMS	QAMS	EMS	QAMS	EMS	QAMS	EMS	QAMS	EMS	QAMS	
S1	0.182	0.016	0.016	0.103	0.105	1.135	1.132	0.631	0.633	0.885	0.882	0.000	0.000	2.304	2.301
S2	0.182	0.000	0.000	0.151	0.151	1.473	1.472	0.164	0.164	0.814	0.813	0.000	0.000	2.620	2.617
S3	0.104	0.000	0.000	0.021	0.023	0.811	0.805	0.112	0.116	0.356	0.352	0.000	0.000	1.293	1.283
S4	0.162	0.005	0.004	0.151	0.158	0.735	0.731	0.177	0.178	0.680	0.680	0.000	0.000	1.746	1.731
S5	0.360	0.029	0.028	0.239	0.239	0.763	0.763	0.171	0.173	0.377	0.376	0.000	0.000	1.739	1.738
S6	0.532	0.326	0.324	0.251	0.257	2.261	2.261	5.354	5.356	3.284	3.284	0.000	0.000	6.326	6.334
S7	0.330	0.061	0.061	0.158	0.160	0.723	0.722	0.618	0.623	0.545	0.545	0.000	0.000	1.757	1.757
S8	0.344	0.250	0.250	0.021	0.022	1.604	1.598	4.710	4.743	2.323	2.309	0.074	0.078	4.294	4.273
S9	0.088	0.000	0.000	0.023	0.027	1.172	1.170	0.460	0.461	1.582	1.580	0.040	0.041	2.864	2.865
S10	0.142	0.037	0.036	0.104	0.105	1.017	1.016	0.492	0.492	0.969	0.969	0.103	0.109	2.231	2.232

匹配结果显示不同产地多茎重楼和滇重楼指纹图谱非常相似, 两者均有 13 个指纹特征峰, 说明不同产地多茎重楼与滇重楼的化学成分比较相近。通过与对照图谱比较, 确定了其中 5 个指纹特征峰的结构, 分别为多茎重楼根茎中的重楼皂苷 VII (8 号峰)、VI (9 号峰)、II (11 号峰)、III (12 号峰)、I (13 号峰); 及滇重楼根茎中的重楼皂苷 VII (9 号峰)、VI (10 号峰)、II (11 号峰)、III (12 号峰)、I (13 号峰)。

由相似度计算结果可知, 多茎重楼 S6 (剑川马

凳)、S8 (南涧乐秋) 的相似度较低分别 0.426、0.401, 其余多茎重楼根茎药材的相似度均大于 0.900, 造成这 2 个产地相似度较低的原因可能与重楼皂苷 III (12 号峰) 有关, 由图 2 可知, S6 (剑川马凳)、S8 (南涧乐秋) 重楼皂苷 III (12 号峰) 的绝对含量远高于其他产地。11 批滇重楼根茎的相似度较高均大于 0.900, 表明滇重楼根茎次生代谢产物相似性较高, 品质较稳定。

3.3.2 不同产地多茎重楼根茎与滇重楼根茎的相似性评价 以重楼皂苷 VII (多茎重楼 8 号峰, 滇



a-多茎重楼根茎对照图谱 b-多茎重楼根茎叠加图 c-滇重楼根茎对照图谱 d-滇重楼根茎叠加图

a-reference fingerprint of multiple stems *P. polyphylla* var. *yunnanensis* b-fingerprint of multiple stems *P. polyphylla* var. *yunnanensis* c-reference fingerprint of *P. polyphylla* var. *yunnanensis* d-fingerprint of *P. polyphylla* var. *yunnanensis*

图 2 10 批多茎重楼根茎和 11 批滇重楼根茎 HPLC 共有模式

Fig. 2 Mutual mode of HPLC fingerprints of rhizome in multiple stems *P. polyphylla* var. *yunnanensis* and *P. polyphylla* var. *yunnanensis* in different populations

重楼 9 号峰) 作为参照峰, 计算相对保留时间和相对峰面积, 相对保留时间与相对峰面积计算结果见表 8、9。所得各共有指纹特征峰相对保留时间 RSD 均小于 3%, 符合 HPLC 指纹图谱建立的要求。所得各共有指纹特征峰相对峰面积 RSD 较大, 该结果说明不同产地多茎重楼、滇重楼的化学成分含量存在一定的差异。并通过比较多茎重楼与滇重楼指纹特征峰的相对保留时间, 确定各指纹特征峰的对对应关系, 发现两者有 12 个共有指纹特征峰, 见表 10。说明两者间所含化学成分相似性较大, 但是他们的主要活性成分重楼皂苷 II、III、I 的峰高有明

表 6 不同产地多茎重楼根茎相似度

Table 6 Smilarity of rhizome in multiple stems of *P. polyphylla* var. *yunnanensis*

样品	相似度	样品	相似度
S1	0.959	S6	0.426
S2	0.978	S7	0.921
S3	0.926	S8	0.401
S4	0.948	S9	0.904
S5	0.964	S10	0.954

表 7 不同产地滇重楼根茎相似度

Table 7 Smilarity of rhizome in of *P. polyphylla* var. *yunnanensis*

样品	相似度	样品	相似度
A1	0.978	A7	0.971
A2	0.979	A8	0.936
A3	0.977	A9	0.958
A4	0.925	A10	0.972
A5	0.987	A11	0.966
A6	0.922		

显的差异。为了进一步评价多茎重楼与滇重楼成分相似性的大小, 将测定的滇重楼对照图谱 (图 2-c) 及 10 批次多茎重楼样品导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统检测板 (2004B 版)”, 对选定的色谱峰进行多点校正, 自动匹配, 匹配时间漂移 0.1 min, 测定 10 批不同产地多茎重楼根茎与滇重楼对照图谱的相似度分别为 0.954、0.973、0.931、0.966、0.965、0.474、0.919、0.410、0.872、0.945, 测得结果与多茎重楼根茎相似度匹配结果一致, 进一步说明多茎重楼与滇重楼形态差异显著, 但在化学成分种类上并无明显区别。

4 讨论

滇重楼作为《中国药典》2015 年版规定的重楼属植物正规品种, 其品质优良, 分布广泛, 云南是其道地产区之一。通过查阅大量的文献, 笔者发现, 云南 13 个州市 (怒江、保山、大理、丽江、红河、曲靖、西双版纳、临沧、普洱、玉溪、德宏、文山、楚雄) 滇重楼重楼皂苷 (I+II+VI+VII) 总量在 0.353%~1.507%, 平均质量分数达 0.963%, 其中质量分数最高的是楚雄州, 最低的是玉溪市, 大理地区重楼皂苷 (I+II+VI+VII) 总量为 1.475%^[11-14]。

笔者对大理不同产地 10 批多茎重楼根茎中重楼皂苷 VII、H、VI、II、III、I、V 测定结果表明,

表 8 不同产地多茎重楼与滇重楼根茎各共有指纹特征峰的相对保留时间

Table 8 Relative retention time of each total peak of rhizome of different populations of multiple stem *P. polyphylla* var. *yunnanensis* and *P. polyphylla* var. *yunnanensis*

编号	相对保留时间												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
S1	0.291	0.344	0.493	0.503	0.663	0.694	0.769	1.000	1.112	1.928	2.029	2.215	2.422
S2	0.292	0.344	0.494	0.504	0.670	0.700	0.776	1.000	1.107	1.920	1.986	2.131	2.361
S3	0.294	0.343	0.498	0.507	0.671	0.701	0.776	1.000	1.108	1.926	1.990	2.166	2.367
S4	0.292	0.345	0.496	0.506	0.670	0.699	0.775	1.000	1.110	1.929	1.993	2.173	2.374
S5	0.290	0.343	0.493	0.503	0.669	0.699	0.773	1.000	1.108	1.916	1.972	2.153	2.354
S6	0.294	0.346	0.496	0.507	0.671	0.702	0.777	1.000	1.110	1.917	1.975	2.176	2.361
S7	0.295	0.346	0.500	0.510	0.674	0.703	0.779	1.000	1.112	1.946	2.003	2.191	2.390
S8	0.293	0.346	0.494	0.509	0.678	0.708	0.781	1.000	1.108	1.931	1.989	2.203	2.385
S9	0.291	0.344	0.498	0.507	0.671	0.701	0.776	1.000	1.111	1.928	2.000	2.179	2.395
S10	0.294	0.349	0.499	0.510	0.675	0.705	0.779	1.000	1.109	1.935	1.994	2.174	2.377

编号	相对保留时间												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
A1	0.286	0.338	0.369	0.489	0.498	0.668	0.699	0.771	1.000	1.110	2.034	2.213	2.412
A2	0.287	0.338	0.370	0.490	0.499	0.664	0.694	0.765	1.000	1.107	2.006	2.174	2.379
A3	0.289	0.340	0.370	0.490	0.499	0.660	0.692	0.765	1.000	1.109	1.993	2.136	2.351
A4	0.290	0.345	0.388	0.495	0.505	0.670	0.699	0.772	1.000	1.112	2.001	2.183	2.388
A5	0.291	0.345	0.390	0.497	0.507	0.679	0.709	0.780	1.000	1.108	1.975	2.128	2.360
A6	0.291	0.345	0.375	0.496	0.506	0.676	0.705	0.778	1.000	1.112	1.983	2.170	2.362
A7	0.291	0.345	0.374	0.495	0.505	0.672	0.702	0.775	1.000	1.109	1.986	2.138	2.355
A8	0.293	0.347	0.378	0.501	0.510	0.682	0.710	0.784	1.000	1.110	1.988	2.169	2.369
A9	0.291	0.343	0.375	0.494	0.503	0.671	0.702	0.773	1.000	1.110	2.015	2.161	2.392
A10	0.288	0.342	0.373	0.493	0.503	0.669	0.698	0.772	1.000	1.111	1.993	2.171	2.369
A11	0.287	0.339	0.369	0.488	0.497	0.660	0.690	0.763	1.000	1.113	2.032	2.218	2.431

表 9 不同产地多茎重楼与滇重楼根茎各共有指纹特征峰的相对峰面积

Table 9 Relative peak area of each total peak of rhizome of different populations of multiple stem *P. polyphylla* var. *yunnanensis* and *P. polyphylla* var. *yunnanensis*

编号	相对峰面积												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
S1	1.122	0.413	3.470	1.990	0.519	0.402	0.584	1.000	0.764	0.651	6.489	3.741	5.370
S2	1.515	0.517	3.960	2.064	0.759	0.575	0.700	1.000	0.452	0.387	10.175	0.762	5.791
S3	1.499	1.089	10.826	4.041	1.915	0.898	1.863	1.000	0.689	0.378	8.079	0.741	3.518
S4	0.789	0.632	4.122	2.930	0.472	0.419	0.511	1.000	1.123	0.195	4.388	1.086	4.174
S5	0.530	0.360	2.465	1.064	0.457	0.257	0.456	1.000	0.893	0.169	2.235	0.562	1.154
S6	0.499	0.207	7.073	4.612	0.695	0.982	3.282	1.000	0.637	0.198	4.328	10.871	6.814
S7	0.300	0.290	1.117	0.477	0.233	0.094	0.283	1.000	0.618	0.270	1.985	2.092	1.870
S8	0.081	0.235	7.406	3.080	0.480	0.615	0.514	1.000	0.467	0.181	5.047	15.121	7.604
S9	3.263	3.289	14.564	11.234	2.403	2.152	0.993	1.000	0.612	1.100	33.383	13.034	45.412
S10	0.477	0.295	5.467	3.462	0.747	0.774	1.722	1.000	0.857	0.348	6.705	3.597	6.403

编号	相对峰面积												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
A1	2.616	0.843	1.144	10.197	8.159	1.955	2.088	2.308	1.000	0.948	11.919	3.553	14.057
A2	0.249	0.399	0.201	2.160	1.035	0.407	0.218	0.597	1.000	1.363	4.368	0.608	2.574
A3	0.832	0.481	0.534	2.706	0.659	0.781	0.203	1.212	1.000	0.406	8.113	0.953	3.566
A4	1.760	0.803	1.877	7.770	4.268	1.524	0.982	0.432	1.000	0.616	5.168	0.984	3.773
A5	1.036	0.291	0.966	3.045	4.018	0.549	0.939	1.183	1.000	0.960	4.644	0.567	6.630
A6	0.790	0.268	0.435	0.730	0.820	0.175	0.173	0.407	1.000	1.823	1.105	2.210	3.548
A7	3.656	1.041	1.178	6.956	1.866	1.860	0.814	0.558	1.000	0.356	14.561	3.920	5.704
A8	1.495	0.681	0.886	3.899	1.389	0.790	0.361	0.996	1.000	0.536	10.007	3.734	6.647
A9	0.411	0.552	0.372	5.360	4.505	1.163	1.215	3.867	1.000	0.790	8.623	1.309	8.678
A10	1.790	2.135	2.188	1.312	5.152	2.781	1.201	0.468	1.000	0.559	19.036	5.943	10.994
A11	1.456	1.463	1.132	1.908	1.361	0.654	0.456	0.399	1.000	0.863	9.342	3.582	12.964

表 10 多茎重楼与滇重楼共有指纹特征峰对应关系
Table 10 Relationship of each peak between rhizomes in multiple stems *Paris polyphylla* var. *yunnanensis* and *P. polyphylla* var. *yunnanensis*

相对保留时间	多茎重楼	滇重楼	相对保留时间	多茎重楼	滇重楼
0.291	1 号峰	1 号峰	0.774	7 号峰	8 号峰
0.343	2 号峰	2 号峰	1.000	8 号峰	9 号峰
0.376		3 号峰	1.110	9 号峰	10 号峰
0.494	3 号峰	4 号峰	1.928	10 号峰	
0.504	4 号峰	5 号峰	1.996	11 号峰	11 号峰
0.670	5 号峰	6 号峰	2.173	12 号峰	12 号峰
0.700	6 号峰	7 号峰	2.379	13 号峰	13 号峰

不同产地多茎重楼根茎中均检测到《中国药典》2015 年版规定的 4 种重楼皂苷 (I、II、VI、VII)，部分产地中未检测到重楼皂苷 H、V；这与张绍山等^[10]对云南保山、腾冲、丽江滇重楼及其多芽品性进行研究表明确重楼皂苷 H 检出率高、重楼皂苷 VI 检出率低的结果不一致，可能是由于生境对重楼皂苷累积规律产生了影响；且 10 批不同产地多茎重楼根茎样品达到《中国药典》2015 年版规定 (I+II+VI+VII) 总量 $\geq 0.6\%$ 的标准，4 种皂苷的平均质量分数高达 2.712%，高出云南各地滇重楼重楼皂苷 (I+II+VI+VII) 平均总量的 2.82 倍，高出大理地区滇重楼重楼皂苷 (I+II+VI+VII) 总量的 1.83 倍，表明大理地区多茎重楼根茎的品质较好。本实验发现 S6 (剑川马兜)、S8 (南涧乐秋) 重楼皂苷 III 的累积质量分数很高分别为 5.354%、4.710%；查阅相关文献报道显示滇重楼中重楼皂苷 III 含量相对较低，甚至很多产地中未检测到该皂苷成分，现代研究表明重楼皂苷 III 除免疫调节作用外，还具有较强的止血作用，因此可以考虑将多茎重楼根茎作为提取生产重楼皂苷 III 原料开发利用。QAMS 是采用药材 (或成药) 中的某一有效成分作为内参物，建立内参物与其他待测成分间的 f ，利用 f 测定其他成分含量的方法，该方法适用于对照品难得或制备成本高等情况下多成分的同时测定^[15-16]，本实验采用 EMS 与 QAMS 同时对不同产地多茎重楼根茎中重楼皂苷 VII、H、VI、II、III、I、V 的含量进行测定，测得结果显示 2 种方法测得的各成分含量无明显差异，QAMS 可以作为一种简便准确的质量评价模式，用于多茎重楼中 7 种甾体皂苷类主要活性成分的含量测定。

不同产地 10 批多茎重楼根茎和 11 批滇重楼根茎指纹图谱建立结果表明，两者共有 12 个相对保留时间相同的共有指纹特征峰，说明不同产地多茎重楼根茎和滇重楼的化学成分相似且比较稳定。笔

者通过对多茎重楼与滇重楼的 HPLC 指纹图谱进行比较并结合滇重楼含量相关文献报道，对两者的差异进行分析，为多茎重楼代替滇重楼入药提供理论依据。

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [2] Qin X J, Ni W, Chen C X, et al. Seeing the light: shifting from wild *Rhizomes* to extraction of active ingredients from above-ground parts of *Paris polyphylla* var. *yunnanensis* [J]. *J Ethnopharm*, 2018, 224: 134-139.
- [3] Guo Y, Liu Z, Li K, et al. *Paris polyphylla*-derived saponins inhibit growth of bladder cancer cells by inducing mutant P53 degradation while up-regulating CDKN1A expression [J]. *Curr Urol*, 2018, 11(3): 131-138.
- [4] 杨远贵, 张 霁, 张金渝, 等. 重楼属植物化学成分及药理活性研究进展 [J]. 中草药, 2016, 47(18): 3301-3322.
- [5] 李海涛, 罗先文, 管燕红, 等. 云南省不同地区滇重楼皂苷含量的对比及影响因子分析 [J]. 中国中药杂志, 2014, 39(5): 803-806.
- [6] 李 恒, 苏 豹, 张兆云, 等. 中国重楼资源现状评价及其种植业的发展对策 [J]. 西部林业科学, 2015, 44(3): 1-7.
- [7] 中国科学院昆明植物研究所. 云南植物志 (第 8 卷) [M]. 北京: 科学出版社, 1997.
- [8] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志. 第十五卷 [M]. 北京: 科学出版社, 1978.
- [9] 王彩步, 李 晨, 杨 敏, 等. 多茎滇重楼不同部分甾体皂苷活性成分累积的研究 [J]. 辽宁中医药杂志, 2018, 45(3): 582-585.
- [10] 张绍山, 刘 璇, 王景富, 等. UPLC 法测定云南省不同地区云南重楼及多芽品系中 7 种甾体皂苷量及其指纹图谱建立 [J]. 中草药, 2016, 47(23): 4257-4263.
- [11] 邹 亮, 周 浓, 张海珠, 等. HPLC 测定不同产地滇重楼中的 4 种重楼皂苷 [J]. 华西药理学, 2009, 24(5): 521-523.
- [12] 咎 珂, 高宇明, 郑 健, 等. UPLC 法同时测定云南重楼栽培品中 11 种皂苷的含量 [J]. 药物分析杂志, 2017, 37(9): 1572-1577.
- [13] 李 懿, 何 佳, 赵庭周, 等. HPLC 同时测定不同产地滇重楼中的 6 种重楼皂苷 [J]. 中成药, 2012, 34(1): 113-116.
- [14] 黄圆圆, 刘大会, 彭华胜, 等. 15 种重楼属植物中 8 种甾体皂苷的含量测定 [J]. 中国中药杂志, 2017, 42(17): 3443-3451.
- [15] 秦昆明, 杨 冰, 胡 静, 等. 一测多评法在中药多组分质量控制中的应用现状与思考 [J]. 中草药, 2018, 49(3): 725-731.
- [16] 田 刚, 李 超, 吴 菲, 等. 基于一测多评法对小儿鼓翘清热颗粒中 9 个成分的质量控制 [J]. 药物分析, 2018, 38(11): 1922-1930.