

• 药剂与工艺 •

玄参药材中多类型成分的定量分析方法建立及其在脉络宁口服液中的应用

徐思易¹, 谭亚杰¹, 唐浩竣¹, 李 剑^{1,2*}, 谭宁华^{1*}

1. 中国药科大学中药学院, 江苏 南京 211198

2. 金陵药业股份有限公司, 江苏 南京 210009

摘要: 目的 建立超高效液相色谱-串联三重四极杆质谱 (UPLC-QqQ-MS/MS) 方法同时测定玄参 *Scrophulariae Radix* 中多类型成分的含量, 并将此方法应用于脉络宁口服液 (Mailuoning Oral Liquid, MOL), 为玄参药材和 MOL 的质量评价提供依据。方法 采用 Waters HSS T3 色谱柱 (100 mm×2.1 mm, 1.8 μm), 以 0.1% 甲酸水溶液和乙腈为流动相进行梯度洗脱。质谱采用电喷雾离子源 (electrospray ionization, ESI), 在多反应监测模式 (multiple reaction monitoring, MRM) 下对环烯醚萜苷、苯丙素苷、有机酸和核苷 4 类成分进行定量分析, 结合化学计量学分析评价不同批次样品的质量。结果 化学计量学结果表明, 不同地区的玄参药材得到了有效区分, 其质量差异可能与其生长环境相关。此外, 4 个年份 (2019、2020、2021 和 2022 年) 的 MOL 各自聚成 1 类, 可能是当年使用的药材质量相对稳定使得同一年份的 MOL 质量更相近; 通过正交偏最小二乘-判别分析 (orthogonal partial least squares-discriminate analysis, OPLS-DA) 进一步筛选出不同年份 MOL 中异毛蕊花糖苷、对甲氧基肉桂酸、腺苷、1-(3-hydroxy-4-methoxyphenyl)ethyl-3- α -L-rhamnopyranosyl-6-caffeoyl- β -D-glucopyranoside、对羟基苯甲酸、阿魏酸和原儿茶酸 7 个差异性化学成分。结论 该方法特异性强、准确度高且稳定性好, 可为 MOL 中臣药玄参的药材选择及复方整体质量评价提供科学依据。

关键词: 玄参; 脉络宁口服液; 质量控制; 化学计量学; 异毛蕊花糖苷; 对甲氧基肉桂酸; 腺苷; 1-(3-hydroxy-4-methoxyphenyl)ethyl-3- α -L-rhamnopyranosyl-6-caffeoyl- β -D-glucopyranoside; 对羟基苯甲酸; 阿魏酸; 原儿茶酸

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2023)11-3446-13

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2023.11.007

Establishment of quantitative method for analyzing multi-type components of *Scrophulariae Radix* and its application in Mailuoning Oral Liquid

XU Si-yi¹, TAN Ya-jie¹, TANG Hao-jun¹, LI Jian^{1,2}, TAN Ning-hua¹

1. School of Traditional Chinese Pharmacy, China Pharmaceutical University, Nanjing 211198, China

2. Jinling Pharmaceutical Co., Ltd., Nanjing 210009, China

Abstract: Objective One method of ultra-performance liquid chromatography-tandem triple quadrupole mass spectrometry (UPLC-QqQ-MS/MS) was developed for the simultaneous determination of multi-type components in Xuanshen (*Scrophulariae Radix*), and this method was subsequently applied to Mailuoning Oral Liquid (脉络宁口服液, MOL), providing a basis for their quality evaluation. **Methods** The chromatographic separation was performed on a Waters HSS T3 column (100 mm × 2.1 mm, 1.8 μm) with the mobile phase of water containing 0.1% formic acid solution and acetonitrile under gradient elution. The electrospray ionization source (ESI) and multiple reaction monitoring (MRM) method were used for MS quantitative analysis of four types of components including iridoid glycosides, phenylpropyl glycosides, organic acids and nucleosides, and chemometrics was adopted to analyze the quantitative results of different batches of samples. **Results** The chemometric results showed that samples of *Scrophulariae Radix* of different regions could be distinguished effectively, and their quality difference might be related to the growing environment. In addition, MOL of four

收稿日期: 2022-12-23

基金项目: 国家自然科学基金项目 (32070356)

作者简介: 徐思易, 硕士研究生, 从事中药质量评价研究。E-mail: siyixu98@163.com

*通信作者: 谭宁华, 教授, 博士生导师, 主要从事环肽和中药研究。E-mail: nhtan@cpu.edu.cn

李 剑, 产业教授, 高级工程师, 主要从事中药研发。E-mail: lijian@njilzy.com

years (2019, 2020, 2021 and 2022) were grouped into one category each, respectively, suggesting that the quality of medicinal materials in the indicated year was relatively stable. Seven differential chemical components, including isoacteoside, *p*-methoxycinnamic acid, adenosine, 1-(3-hydroxy-4-methoxyphenyl)ethyl-3- α -L-rhamnopyranosyl-6-caffeoyl- β -D-glucopyranoside, *p*-hydroxybenzoic acid, ferulic acid and protocatechuic acid, were figured out as the markers of quality control by orthogonal partial least squares-discriminate analysis (OPLS-DA) in MOL of different production years. **Conclusion** This new method is specific, accurate, and stable, which could provide a scientific basis for the selection of *Scrophulariae Radix* and the quality evaluation of MOL.

Key words: *Scrophulariae Radix*; Mailuoning Oral Liquid; quality control; chemometrics; isoacteoside; *p*-methoxycinnamic acid; adenosine; 1-(3-hydroxy-4-methoxyphenyl)ethyl-3- α -L-rhamnopyranosyl-6-caffeoyl- β -D-glucopyranoside; *p*-hydroxybenzoic acid; ferulic acid; protocatechuic acid

脉络宁口服液 (Mailuoning Oral Liquid, MOL) 为江苏省中医药研究所顾亚夫教授课题组在临床实践的基础上所研制, 由金陵药业股份有限公司独家生产, 具有清热养阴、活血化瘀的功效。处方由君药牛膝、臣药玄参、佐药石斛、使药金银花和山银花 5 味中药材组成, 临床上常用于治疗血栓闭塞性脉管炎、静脉血栓形成、动脉硬化性闭塞症、脑血栓形成及其后遗症。臣药玄参来源于玄参科玄参属植物玄参 *Scrophularia ningpoensis* Hemsl. 的干燥根^[1]。研究表明, 玄参提取液具有保护脑缺血损伤^[2-4]、抗动脉粥样硬化^[5]和免疫调节^[6]等药理活性。因此, 玄参的化学成分可能为 MOL 发挥药效的关键成分, 其药材质量优劣将直接影响其临床疗效。目前玄参的成分分析和含量测定方法主要用于药材的产地差异^[7]、规格等级^[8-9]、加工方法^[10-13]和药用部位^[14-15]等的质量评价, 其成分分析主要集中在一类或少数几个指标性成分考察。迄今为止, 尚未见同时定量玄参中 4 类有效成分, 如环烯醚萜苷、苯丙素苷、有机酸及核苷类等, 用于评价不同产地药材质量的相关报道。

基于玄参药材成分复杂且部分定量的成分含量低, 本研究采用超高效液相色谱-串联三重四极杆质谱 (UPLC-QqQ-MS/MS) 方法在多反应监测 (multiple reaction monitoring, MRM) 模式下, 首次建立玄参中环烯醚萜苷、苯丙素苷、有机酸及核苷 4 类有效成分的分析方法, 并将此方法首次应用于 MOL, 实现了玄参药材中 25 个成分和 MOL 中 15 个成分的同时定量。结合化学计量学方法对不同产地玄参药材和不同批次 MOL 进行质量评价, 旨在为 MOL 组方中玄参药材的选择及其复方的质量控制提供更多科学依据。

1 仪器与材料

1.1 仪器

Waters Acquity® UPLC H-Class 超高效液相色谱

仪, Waters XEVO® TQD system 型三重四极杆质谱仪, 美国沃特世公司; KQ-200KDE 型数控超声清洗器, 昆山市超声仪器有限公司; XS105 型十万分之一电子天平, 梅特勒-托利多公司。

1.2 材料

对照品腺苷 (R1, 批号 N24D11W135689) 和对甲氧基肉桂酸 (R22, 批号 A31J10L94348) 购自上海源叶生物科技有限公司; 2'-脱氧腺苷 (R2, 批号 AF21081054)、鸟苷 (R3, 批号 AF20073153) 和地黄苷 (R18, 批号 AF21102904) 购自成都埃法生物科技有限公司; 桃叶珊瑚苷 (R4, 批号 DSTDT000401)、哈巴苷 (R5, 批号 DST210329-059)、原儿茶酸 (R6, 批号 DSTDY008101)、对羟基苯甲酸 (R7, 批号 DSTDD011401)、对香豆酸 (R9, 批号 DSTDD005701)、异毛蕊花糖苷 (R13, 批号 DST210601-060)、安格洛苷 C (R14, 批号 DST211010-009)、哈巴俄苷 (R20, 批号 DST220312-058) 和肉桂酸 (R21, 批号 DSTDG016801) 购自成都德斯特生物科技有限公司; 咖啡酸 (R8, 批号 PRF20070342) 购自成都普瑞法科技开发有限公司; 毛蕊花糖苷 (R10, 批号 20122101) 购自成都普菲德生物科技有限公司; 阿魏酸 (R12, 批号 110773-201915) 购自中国食品药品检定研究院; 斩剑龙苷 A (R11)、肉苁蓉苷 C (R15)、8-O-对香豆酰基哈巴苷 (R16)、1-(3-hydroxy-4-methoxyphenyl) ethyl-3- α -L-rhamnopyranosyl-6-caffeoyl- β -D-glucopyranoside (R17)、异地黄苷 (R19)、scrophuloside A₄ (R23)、scrophuloside B₄ (R24) 和 keolioside (R25) 由本实验室提供。以上购买的对照品质量分数 $\geq 98\%$, 自制的对照品质量分数 $\geq 95\%$ 。乙腈 (德国 Merck 公司) 和甲酸 [赛默飞世尔科技 (中国) 有限公司] 均为 LC-MS 级, 水为 Milli-Q 系统制备的超纯水, 其余试剂为分析纯。

重庆市 (S1、S2)、贵州省 (S3~S5)、浙江省

(S6~S8) 与河南省 (S9、S10) 产地的玄参药材由金陵药业股份有限公司提供; 河北省 (S11~S13)、湖北省 (S14~S16) 与安徽省 (S17~S19) 产地的玄参药材购买于亳州药材市场。玄参药材由中国药科大学中药学院谭宁华教授鉴定为玄参科玄参属植物玄参 *S. ningpoensis* Hemsl. 的干燥根。53 批 MOL 由金陵药业股份有限公司提供, 样品信息见表 1。

表 1 53 批 MOL 样品信息

Table 1 Sample information of 53 batches of MOL

年份	编号	批号	年份	编号	批号	年份	编号	批号
2019	M1	190404	2021	M19	210104	2022	M37	220201
	M2	190406		M20	210105		M38	220205
	M3	190503		M21	210106		M39	220207
	M4	190506		M22	210107		M40	220301
	M5	190509		M23	210108		M41	220402
	M6	190510		M24	210201		M42	220405
2020	M7	200601		M25	210202		M43	220410
	M8	200603		M26	210904		M44	220501
	M9	200701		M27	210905		M45	220502
	M10	200703		M28	210907		M46	220505
	M11	200712		M29	211101		M47	220606
	M12	201201		M30	211103		M48	220607
	M13	201202		M31	211107		M49	220610
	M14	201205		M32	211114		M50	220613
	M15	201207		M33	211204		M51	220614
	M16	201208		M34	211214		M52	220703
2021	M17	210102		M35	211218		M53	220705
	M18	210103		M36	211219			

2 方法与结果

2.1 色谱与质谱条件

2.1.1 色谱条件 采用 Waters Acquity UPLC® HSS T3 色谱柱 (100 mm×2.1 mm, 1.8 μm); 流动相为 0.1% 甲酸水溶液和乙腈, 梯度洗脱: 0~3.0 min, 0~10% 乙腈; 3.0~5.0 min, 10%~20% 乙腈; 5.0~12.0 min, 20%~30% 乙腈; 12.0~13.0 min, 30%~100% 乙腈; 13.0~15.0 min, 100% 乙腈; 体积流量 0.3 mL/min; 柱温 30 ℃; 进样量 2 μL。

2.1.2 质谱条件 电喷雾 (electrospray ionization, ESI) 离子源, 电离模式 ESI⁺/ESI⁻, 扫描方式采用多反应监测 (multiple reaction monitoring, MRM) 模式, 脱溶剂气体积流量 650 L/h; 脱溶剂气温度 650 ℃; 离子源温度 150 ℃; 锥孔体积流量 50 L/h; 毛细管电压 2.0 kV; 25 个成分优化后的质谱参数见

表 2。各成分在混合对照品溶液和样品溶液中的总离子流图见图 1, 叠加后的 MRM 色谱图见图 2。

表 2 25 种成分的 MS/MS 参数

Table 2 MS/MS parameters of 25 compounds

化合物	母离子 (<i>m/z</i>)	子离子 (<i>m/z</i>)	锥孔 电压/V	碰撞 能量/V	离子 模式
R1	268.02	136.00	26	17	ESI ⁺
R2	252.03	136.02	19	13	ESI ⁺
R3	284.03	152.02	15	14	ESI ⁺
R4	391.12	183.06	23	13	ESI ⁻
R5	363.12	201.07	34	14	ESI ⁻
R6	155.08	93.05	31	12	ESI ⁺
R7	139.05	95.02	27	12	ESI ⁺
R8	179.02	135.18	30	13	ESI ⁻
R9	163.04	119.00	26	15	ESI ⁻
R10	623.52	161.02	58	37	ESI ⁻
R11	471.12	147.02	35	20	ESI ⁻
R12	195.10	145.00	20	20	ESI ⁺
R13	623.21	161.02	62	40	ESI ⁻
R14	783.15	175.04	62	42	ESI ⁻
R15	637.23	160.95	50	35	ESI ⁻
R16	509.12	163.05	42	20	ESI ⁻
R17	637.15	161.02	68	45	ESI ⁻
R18	651.38	175.04	55	31	ESI ⁻
R19	651.35	175.04	56	35	ESI ⁻
R20	539.17	147.03	22	23	ESI ⁻
R21	149.05	131.05	20	11	ESI ⁺
R22	178.51	161.00	21	11	ESI ⁺
R23	893.42	161.03	80	49	ESI ⁺
R24	863.45	685.08	80	35	ESI ⁺
R25	833.52	131.09	43	42	ESI ⁺

2.2 对照品溶液的制备

分别精密称定 25 个对照品适量, 加 70% 甲醇制成各对照品储备液。取各对照品储备液适量, 制成 R1~R25 质量浓度分别为 20.00、0.084、4.70、40.00、388.80、12.90、5.50、31.20、10.30、72.00、20.00、10.10、18.56、320.00、16.00、10.80、10.50、10.00、5.25、153.60、63.60、5.05、5.40、11.30、5.30 μg/mL 的混合对照品溶液, 置于 4 ℃ 下保存, 备用。

2.3 供试品溶液的制备

2.3.1 玄参药材供试品溶液 取玄参药材粉末 (过 50 目筛) 约 0.5 g, 精密称定, 置 100 mL 具塞锥形瓶中, 精密移取 70% 甲醇 30 mL, 密塞, 称量, 超

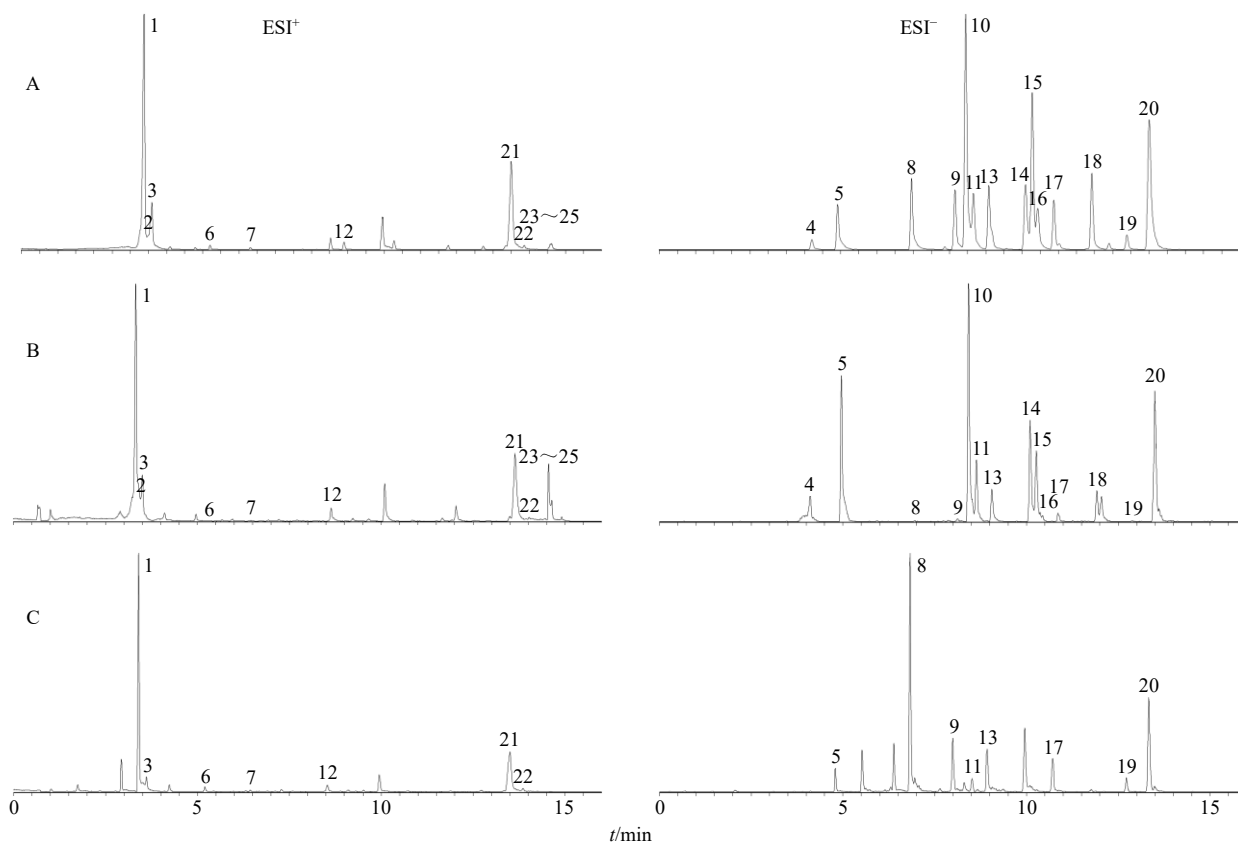


图 1 化合物 R1~R25 (1~25) 在混合对照品 (A)、玄参药材 (B) 和 MOL (C) 中的总离子流图

Fig. 1 Total ion chromatograms of compounds R1—R25 (1—25) in mixed standard solutions (A), *Scrophulariae Radix* (B) and MOL (C)

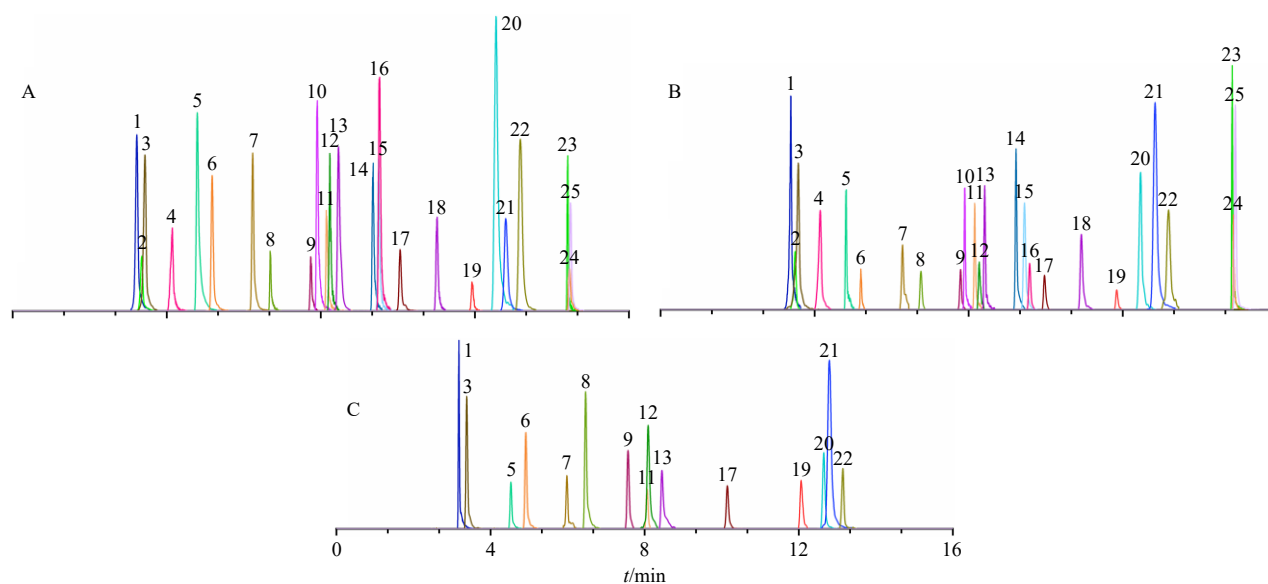


图 2 化合物 R1~R25 (1~25) 在混合对照品 (A)、玄参药材 (B) 和 MOL (C) 中的 MRM 色谱图

Fig. 2 MRM chromatograms of compounds R1—R25 (1—25) in mixed standard solutions (A), *Scrophulariae Radix* (B) and MOL (C)

声处理 40 min (200 W、40 ℃)，放冷，称量，用 70% 甲醇补足减失的质量，摇匀，过 0.22 μm 有机滤膜，取续滤液，即得玄参药材供试品溶液。

2.3.2 MOL 供试品溶液 精密吸取 MOL 1 mL，置 10 mL 量瓶中，加水定容至刻度线，摇匀，过 0.22 μm 有机滤膜，取续滤液，即得 MOL 供试品溶液。

2.4 方法学考察

2.4.1 线性关系、检测限与定量限考察 取“2.2”项下混合对照品溶液,按 2 倍逐级稀释得 HB-1~HB-12,于上述“2.1”项下的条件下测定。以对照

品质量浓度为横坐标(X),峰面积为纵坐标(Y)进行回归分析,绘制标准曲线(至少 6 个质量浓度点),以信噪比 $S/N=3$ 和 $S/N=10$ 分别计算检测限和定量限。结果见表 3,表明 25 个化合物在线性范围内线性关系良好。

2.4.2 精密度考察 取同一混合对照品溶液,按照

表 3 25 个化合物的线性关系考察结果

Table 3 Linear range investigation of 25 compounds

化合物	回归方程	线性范围/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	R^2	检测限/($\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$)	定量限/($\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$)
R1	$Y=73\,109.00\,X-4\,266.00$	0.02~20.00	0.999 1	4.41	14.69
R2	$Y=92\,945.00\,X-13.38$	0.001~0.084	0.999 0	0.000 3	0.000 9
R3	$Y=59\,785.00\,X-2\,491.90$	0.01~4.70	0.999 2	0.004	0.01
R4	$Y=36.80\,X-9.13$	0.31~40.00	0.999 4	3.07	10.22
R5	$Y=38.55\,X+147.59$	0.76~194.40	0.997 2	5.48	18.26
R6	$Y=2\,241.30\,X-49.71$	0.01~12.90	0.998 5	3.05	10.15
R7	$Y=3\,940.90\,X+166.31$	0.02~5.50	0.999 9	3.58	11.92
R8	$Y=492.94\,X+260.37$	0.02~31.20	0.994 0	0.03	0.11
R9	$Y=1\,171.30\,X-5.53$	0.02~2.58	1.000 0	0.09	0.31
R10	$Y=266.23\,X+60.53$	0.14~36.00	0.999 2	0.16	0.52
R11	$Y=437.18\,X-31.82$	0.08~20.00	0.999 3	0.40	1.32
R12	$Y=8\,578.90\,X-453.94$	0.01~10.10	0.999 5	4.38	14.60
R13	$Y=472.42\,X+13.09$	0.02~9.28	0.999 8	3.45	11.50
R14	$Y=83.56\,X+17.72$	0.31~80.00	0.999 7	0.20	0.64
R15	$Y=338.85\,X-17.55$	0.03~8.00	0.999 3	0.04	0.13
R16	$Y=250.17\,X-15.68$	0.04~10.80	0.999 5	0.05	0.17
R17	$Y=672.30\,X+30.307$	0.04~5.25	0.998 3	0.07	0.22
R18	$Y=379.78\,X-25.63$	0.08~10.00	0.999 7	0.04	0.13
R19	$Y=215.85\,X-18.76$	0.04~5.25	0.999 0	0.06	0.19
R20	$Y=176.31\,X+112.27$	0.15~76.80	0.998 9	1.52	5.08
R21	$Y=24\,038.00\,X-1\,514.80$	0.03~31.80	0.999 9	2.97	9.91
R22	$Y=2\,167.10\,X-95.05$	0.02~5.05	0.999 6	0.005	0.02
R23	$Y=5\,851.80\,X-40.99$	0.02~5.40	0.999 5	0.004	0.01
R24	$Y=119.00\,X-9.59$	0.17~5.65	0.997 9	0.30	0.97
R25	$Y=2\,707.50\,X-27.01$	0.01~2.65	0.998 3	0.01	0.02

“2.1”项的条件连续进样 6 次,计算各成分峰面积的 RSD,得日内精密度;连续 3 d 精密吸取同一混合对照品溶液,重复进样 6 次,计算各成分峰面积的 RSD,得日间精密度。结果表明, R1~R25 日内的 RSD 分别为 1.84%、2.08%、0.83%、1.61%、1.22%、1.90%、2.65%、1.93%、4.08%、2.47%、2.45%、1.77%、1.97%、1.39%、2.46%、2.09%、2.48%、3.07%、2.40%、3.67%、1.50%、5.65%、4.41%、5.99%、4.38%,日间的 RSD 分别为 3.77%、2.66%、4.26%、5.74%、7.42%、3.74%、3.72%、1.38%、7.33%、7.09%、

10.41%、6.08%、7.11%、5.42%、6.78%、5.38%、6.03%、7.34%、5.44%、4.45%、4.35%、7.76%、4.26%、4.98%、2.12%,表明仪器精密度良好。

2.4.3 重复性考察 按“2.3”项下方法分别平行制备 6 份玄参药材(S1)和 MOL(M26)的供试品溶液,计算 6 份玄参提取液中各成分峰面积/取样量的 RSD 和 MOL 样品中各成分峰面积的 RSD。结果显示,玄参药材中 R1~R25 的 RSD 分别为 1.93%、4.29%、2.16%、2.26%、1.02%、4.22%、3.16%、4.76%、4.90%、0.95%、1.66%、3.24%、2.40%、2.40%、1.09%、

2.43%、3.14%、2.96%、5.27%、3.57%、0.93%、1.25%、2.75%、3.77%、2.22%，MOL 中 **R1**、**R3**、**R5~R9**、**R11~R13**、**R17**、**R19~R22** 的 RSD 分别为 1.00%、2.58%、3.01%、2.45%、3.05%、0.66%、1.51%、2.67%、1.87%、2.92%、2.14%、7.71%、7.57%、2.75%、5.14%，表明该方法重复性良好。

2.4.4 稳定性考察 取同一份供试品溶液，按照“2.1”项下条件分别于 0、2、4、8、12、24 h 进样分析，计算各成分峰面积的 RSD。结果显示，玄参药材样品 (S1) 中 **R1~R25** 的 RSD 分别为 2.15%、6.13%、3.23%、4.88%、2.75%、8.82%、6.94%、3.91%、3.50%、2.24%、4.02%、5.90%、5.23%、4.10%、4.47%、5.45%、4.08%、5.91%、7.02%、1.99%、2.82%、6.03%、5.69%、9.91%、2.04%，MOL (M26) 中 **R1**、**R3**、**R5~R9**、**R11~R13**、**R17**、**R19~R22** 的 RSD 分别为 1.70%、1.26%、2.88%、0.98%、2.40%、0.94%、1.99%、5.01%、0.91%、2.21%、2.56%、3.00%、3.43%、1.39%、4.82%，结果表明，供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.4.5 加样回收率考察 分别精密称定已测定指标成分含量的 0.25 g 玄参药材样品 (S1) 9 份和精密吸取已测定指标成分含量的 0.5 mL MOL 样品 (M26) 9 份，每 3 份 1 组。分别按照低、中、高 3 个水平 (50%、100%、150%) 精密加入对照品溶液，按“2.3”项下方法制备供试品溶液，按“2.1”项下的条件进样分析，计算加样回收率。结果显示，玄参药材中 **R1~R25** 的平均加样回收率分别为 97.10%、91.82%、112.22%、84.80%、84.75%、87.90%、108.27%、107.69%、98.92%、101.40%、98.51%、104.42%、104.66%、104.74%、89.82%、111.28%、107.02%、100.79%、86.35%、110.01%、101.65%、107.10%、104.04%、107.72%、109.49%，RSD 分别为 5.52%、3.54%、7.20%、4.12%、5.09%、5.51%、7.84%、6.00%、6.66%、1.56%、1.38%、7.02%、2.66%、3.87%、3.13%、3.32%、3.55%、2.57%、6.54%、9.48%、1.75%、6.14%、6.91%、9.01%、4.11%；MOL 样品中 **R1**、**R3**、**R5~R9**、**R11~R13**、**R17**、**R19~R22** 的平均加样回收率分别为 106.20%、94.06%、111.92%、97.42%、105.71%、100.64%、86.09%、105.02%、100.34%、101.61%、106.47%、92.74%、102.90%、105.82%、93.28%，RSD 分别为 4.28%、3.44%、8.52%、4.38%、4.34%、2.61%、7.47%、3.35%、8.33%、7.39%、5.34%、3.83%、7.48%、3.09%、4.32%；

结果表明该方法准确度较高。

2.5 样品含量测定

取不同批次玄参药材样品和 MOL 样品，按“2.3”项下方法制备供试品溶液，按“2.1”项下条件进样分析。根据回归方程计算各化合物的含量，各批次样品含量见表 4、5，叠加示意图如图 3、4 所示，不同产地玄参药材和不同年份的 MOL 中各成分总含量有明显差异。玄参药材中 25 种成分的总含量以华北地区 (河北省) 为最高，浙江省次之。MOL 2021 和 2022 年样品中 15 种成分的总含量整体高于 2019 年和 2020 年的样品。

2.6 化学计量学分析

2.6.1 聚类分析 (cluster analysis, CA) 采用 Heml 软件对不同批次样品的化学成分含量进行聚类热图分析，数据进行归一化取对数值后再进行双向聚类，结果见图 5 和 6。19 批玄参药材样品按地域被分为 4 类：西南地区 (重庆 S1、S2，贵州 S3~S5) 为第 1 类，华东沿海地区 (浙江 S6~S8) 为第 2 类，华东内陆和华中地区 (安徽 S17~S19，河南 S9、S10，湖北 S14~S16) 为第 3 类，华北地区 (河北 S11~S13) 为第 4 类，说明玄参药材样品中各成分的含量可能与其生长环境相关。53 批 MOL 样品被分为 2 类：过期样品 (M1~M11) 为第 1 类，含量相对较低；未过期样品 (M12~M53) 为第 2 类，含量相对均匀，表明 MOL 在有效期内各成分含量较接近，过期样品中各成分含量下降。此外，2 类中不同年份的样品又可再聚成一小类，可能是当年使用的药材质量相对稳定使其含量更相近。

2.6.2 主成分分析 (principal component analysis, PCA) 将不同批次样品各化合物峰面积导入 SIMCA 14.1 软件，进行 PCA，见图 7-A 和 8-A。玄参药材样品大致分为 2 类，华北地区 (河北省) 玄参药材样品单独为一类，能很好地与其他地区分开，这与聚类结果一致，但是其余地区玄参药材样品区分不明显，可能是因为第 1 和第 2 主成分并未包含全部的变量信息。MOL 被分为 4 类：2019 年、2020 年、2021 年与 2022 年的样品分别聚成一类，说明不同年份的 MOL 中各成分存在一定差异，与聚类分析结果基本一致。

2.6.3 正交偏最小二乘-判别分析 (orthogonal partial least squares method-discriminant analysis, OPLS-DA) 为更好地区分不同批次玄参药材和 MOL 样品组间差异，寻找组间差异性化学成分，进一步对不同批

表 4 19 个批次玄参药材样品中 25 种成分的含量

Table 4 Contents of 25 compounds in 19 batches of *Scrophulariae Radix* samples

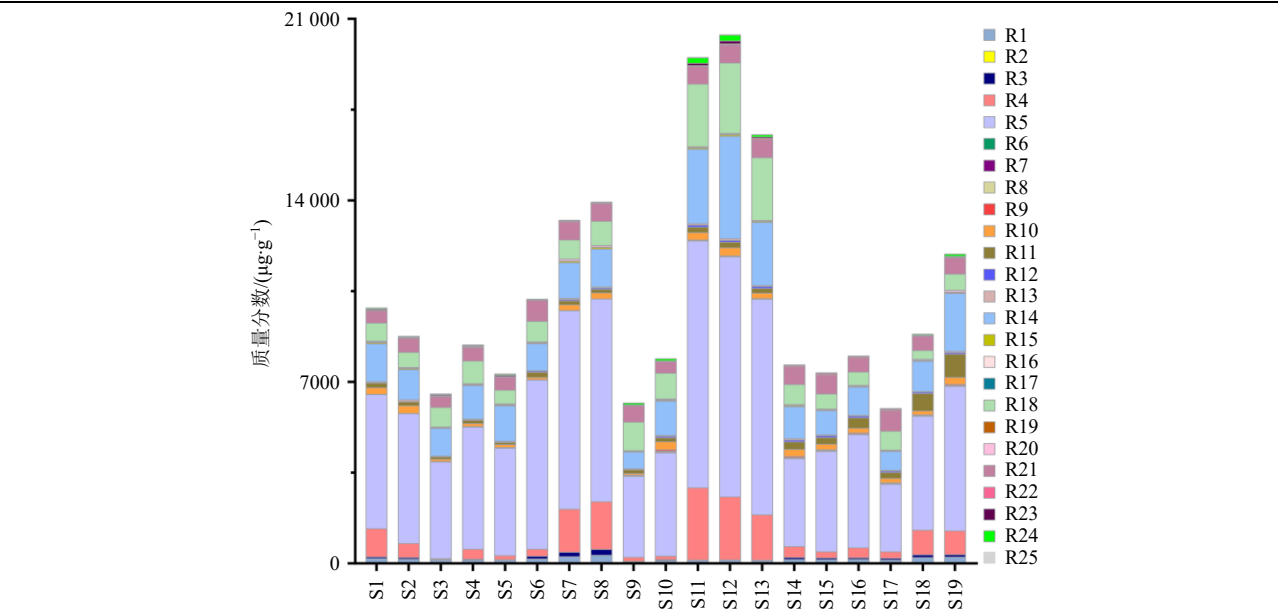
批号	产地	质量分数/(μg·g ⁻¹)												
		R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8	R9	R10	R11	R12	R13
S1	重庆	195.75	0.42	56.61	1 086.78	5 172.93	1.56	7.00	1.82	5.42	248.27	178.32	17.76	40.30
S2		167.65	0.67	59.88	544.04	5 004.20	1.75	6.60	1.25	5.14	291.94	148.00	18.13	61.94
S3	贵州	124.56	0.24	32.67	31.08	3 725.68	1.61	9.69	1.56	3.61	87.95	95.16	15.90	11.62
S4		128.09	0.24	40.87	379.43	4 709.36	1.79	9.82	1.68	9.56	113.26	129.90	21.15	25.86
S5		124.75	0.30	27.73	149.73	4 144.86	2.58	9.65	4.86	9.09	106.61	86.67	25.37	19.28
S6	浙江	175.25	0.29	105.72	268.33	6 522.18	1.65	3.21	3.21	9.44	86.56	195.60	48.93	15.84
S7		262.48	0.44	168.37	1 662.65	7 651.14	1.57	3.29	1.61	4.48	220.51	153.94	49.04	46.26
S8		319.78	0.64	221.44	1 843.40	7 811.86	1.22	5.18	1.32	2.86	225.73	135.67	53.28	37.27
S9	河南	62.39	0.17	23.27	152.81	3 126.00	3.32	12.48	4.95	26.10	56.80	145.05	22.93	15.72
S10		108.97	0.32	38.21	131.12	3 985.75	16.65	28.87	21.34	53.60	306.33	152.06	54.21	39.99
S11	河北	122.37	0.15	13.04	2 783.12	9 520.09	1.81	6.91	4.72	22.96	286.95	206.56	78.29	57.91
S12		125.76	0.14	12.28	2 429.67	9 260.07	2.55	8.61	5.00	19.59	312.40	214.38	69.24	63.71
S13		113.45	0.23	12.03	1 750.36	8 310.55	1.69	6.40	4.34	15.07	209.87	179.61	76.32	39.19
S14	湖北	157.71	0.33	74.43	421.58	3 388.20	8.07	19.76	13.56	43.96	268.47	288.33	73.20	55.88
S15		147.54	0.27	69.71	234.44	3 869.56	4.65	16.80	12.61	32.61	212.61	253.94	69.32	33.94
S16		158.16	0.28	60.15	385.87	4 363.13	4.81	12.88	8.32	37.46	185.97	395.38	66.52	31.34
S17	安徽	132.52	0.25	65.01	253.36	2 601.00	6.43	18.86	8.72	26.26	164.74	231.91	54.86	30.51
S18		233.07	0.37	101.11	949.89	4 393.71	6.17	15.45	6.24	27.74	146.54	675.22	50.67	23.22
S19		247.79	0.40	95.13	914.86	5 573.40	9.40	20.72	8.15	37.07	267.19	897.18	61.44	49.96

批号	产地	质量分数/(μg·g ⁻¹)											
		R14	R15	R16	R17	R18	R19	R20	R21	R22	R23	R24	R25
S1	重庆	1 454.32	47.77	14.91	9.22	35.82	4.36	691.99	479.68	15.30	41.52	36.12	23.89
S2		1 156.57	40.38	11.10	10.72	27.05	3.43	578.77	547.33	20.56	22.38	27.06	14.24
S3	贵州	1 069.09	22.38	9.43	4.84	16.81	3.09	750.30	419.11	21.50	39.40	31.47	23.15
S4		1 290.55	26.37	14.04	7.35	21.82	4.46	875.89	512.75	33.82	31.93	30.71	26.78
S5		1 367.32	30.49	9.74	7.49	25.76	3.72	529.06	488.10	41.79	42.08	39.36	26.42
S6	浙江	1 036.17	22.68	10.07	5.48	31.10	2.60	793.89	812.22	14.79	7.64	19.18	0.85
S7		1 372.50	52.97	7.98	11.37	63.30	3.93	740.43	709.64	9.85	9.90	31.22	1.06
S8		1 464.94	64.76	5.13	10.31	55.59	3.64	930.25	688.73	15.86	11.37	29.73	0.95
S9	河南	644.12	14.15	23.89	4.04	13.72	2.49	1 093.60	639.21	16.23	14.35	69.63	3.70
S10		1 319.85	33.57	21.24	6.46	24.86	3.67	992.75	437.11	12.06	23.57	84.54	4.62
S11	河北	2 873.03	44.18	18.43	8.47	19.44	4.07	2 412.18	676.51	41.28	88.61	213.24	26.03
S12		3 954.49	53.03	21.58	9.57	20.22	4.93	2 711.72	703.43	40.85	109.25	220.67	31.62
S13		2 433.15	38.35	12.05	7.00	14.77	3.51	2 417.48	690.60	60.56	45.75	90.39	10.57
S14	湖北	1 234.37	37.89	7.13	8.22	23.75	2.81	775.95	676.24	47.45	7.95	24.28	0.91
S15		934.87	32.53	6.93	6.64	19.17	2.53	575.64	719.48	57.84	9.07	32.28	1.38
S16		1 095.97	27.05	7.08	5.46	19.37	3.39	512.56	530.94	55.90	7.65	28.37	2.90
S17	安徽	723.84	22.40	6.82	5.15	20.75	2.88	723.80	797.58	44.27	7.09	32.19	1.26
S18		1 166.34	22.47	9.26	4.84	37.40	5.07	338.07	557.25	23.54	14.73	36.45	1.14
S19		2 228.80	36.39	12.92	6.75	62.62	6.18	622.21	634.99	27.20	25.68	84.94	5.38

表5 53个批次MOL样品中15种成分的含量
Table 5 Contents of 15 compounds in 53 batches of MOL samples

样品	年份	质量浓度/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)														
		R1	R3	R5	R6	R7	R8	R9	R11	R12	R13	R17	R19	R20	R21	R22
M1	2019	67.36	1.11	49.32	61.57	10.39	93.82	8.88	1.54	18.54	42.28	24.89	11.45	67.63	143.97	8.86
M2		81.57	0.97	45.45	69.55	13.44	73.04	9.68	2.87	16.63	44.93	26.40	11.61	94.47	185.80	8.79
M3		78.34	1.32	48.60	65.56	11.60	80.32	8.34	2.44	16.48	37.61	22.61	9.98	68.56	171.34	7.93
M4		75.00	1.58	50.15	50.93	11.32	66.00	8.21	1.99	15.15	32.97	18.26	8.10	64.98	169.47	7.50
M5		73.50	1.12	38.03	49.85	10.44	52.61	7.63	1.96	13.01	30.08	17.81	8.18	56.61	179.10	7.68
M6		74.09	0.91	34.71	54.20	11.36	64.08	8.48	2.31	15.18	36.72	21.12	9.46	63.99	174.75	6.71
M7	2020	69.68	0.56	8.48	61.28	17.95	88.86	8.13	0.80	14.03	21.22	17.07	12.47	50.62	155.84	7.35
M8		73.00	1.04	20.87	78.26	22.06	133.29	10.02	1.00	16.60	23.84	18.46	12.74	54.16	153.56	7.23
M9		58.06	0.90	19.63	59.79	17.35	107.04	9.05	0.97	15.84	16.11	13.20	8.55	45.38	159.36	6.80
M10		54.98	0.83	19.12	48.30	13.49	88.83	8.25	0.95	15.21	12.76	11.03	7.13	40.67	159.91	6.56
M11		59.94	1.06	19.59	50.57	17.58	77.50	8.23	0.98	14.43	13.86	12.75	8.29	48.48	149.31	6.31
M12		58.75	0.93	56.82	56.30	13.20	77.40	8.28	1.60	16.10	16.44	13.49	7.33	47.81	188.33	7.68
M13		60.71	1.03	41.48	43.45	11.58	50.40	8.92	2.09	14.34	14.27	12.54	7.57	62.39	204.80	8.09
M14		60.20	0.66	41.36	49.56	12.08	68.12	9.05	1.69	15.63	12.95	11.92	7.02	50.17	210.57	8.53
M15		62.43	0.99	62.91	62.89	11.48	74.07	9.03	2.56	16.22	12.29	13.03	6.39	55.43	220.88	8.04
M16		60.79	0.69	59.72	54.71	10.38	76.66	9.27	1.78	16.16	12.42	11.89	6.50	56.22	220.80	8.79
M17	2021	59.76	1.84	77.88	67.85	8.79	127.79	8.77	2.52	18.67	28.97	15.99	9.11	68.39	117.90	16.20
M18		55.04	1.87	89.52	67.30	8.38	105.80	8.51	2.62	17.88	23.66	13.82	6.52	66.03	125.94	16.98
M19		50.30	1.96	88.17	65.50	8.61	97.79	8.40	2.79	17.55	16.47	11.78	4.98	60.14	136.52	17.44
M20		51.28	1.98	71.77	66.98	8.24	87.76	8.32	2.65	17.19	16.02	12.10	5.58	65.11	138.69	16.80
M21		52.52	1.98	83.85	67.90	8.54	97.14	8.66	2.85	17.57	16.35	11.57	5.78	58.12	145.95	18.30
M22		57.55	1.73	73.35	61.72	8.60	93.12	8.89	2.55	17.75	19.89	13.31	5.44	59.24	160.67	20.08
M23		61.71	1.73	64.63	67.73	8.41	90.17	9.29	2.72	17.46	20.43	13.64	6.11	61.18	166.07	21.27
M24		61.98	1.71	64.55	71.04	10.62	97.20	9.28	2.15	19.16	20.06	12.42	6.44	55.98	189.49	23.83
M25		61.70	1.74	57.36	70.17	9.90	94.84	9.44	2.39	18.71	18.40	12.73	6.47	64.65	190.86	23.91
M26		63.26	3.85	74.29	74.48	8.04	92.25	9.14	5.24	21.66	20.72	10.32	7.16	71.16	186.58	22.18
M27		66.39	3.53	59.28	77.66	9.73	96.43	9.87	5.31	21.33	23.98	11.18	7.83	73.35	226.40	28.46
M28		63.58	3.98	73.48	72.60	9.34	93.61	9.57	5.49	21.87	21.59	10.20	7.29	71.32	196.41	28.53
M29		76.63	4.24	117.32	58.86	7.63	131.30	10.44	1.40	20.87	10.27	7.77	6.39	67.51	179.57	29.91
M30		70.85	5.34	135.01	66.13	9.04	116.26	9.62	1.98	18.88	10.80	8.12	7.37	64.81	160.95	26.89
M31		66.71	4.64	191.30	76.01	11.36	188.13	12.20	1.79	24.92	15.24	10.38	8.78	58.68	199.59	29.16
M32		63.40	4.69	240.10	70.08	11.17	226.25	10.75	1.71	23.21	15.35	9.89	8.76	54.02	155.81	28.19
M33		54.22	4.40	193.13	72.47	11.13	177.20	8.74	4.44	21.75	22.95	14.98	7.13	84.48	202.38	31.22
M34		63.64	6.11	181.72	66.05	9.82	153.83	8.06	4.16	21.14	16.40	12.84	5.83	64.05	204.16	27.43
M35		55.02	6.09	149.78	55.63	11.03	130.85	8.56	5.28	21.45	14.09	10.46	5.38	79.05	196.86	23.53
M36		56.02	7.38	149.37	53.71	9.71	105.53	8.74	5.83	20.72	14.33	11.10	5.59	82.98	207.59	24.85
M37	2022	41.91	2.93	92.62	30.34	6.16	113.23	11.12	4.91	16.91	14.61	11.18	6.63	74.67	140.82	8.13
M38		43.06	3.18	98.88	28.28	5.84	104.30	10.77	5.34	16.54	13.50	11.23	7.33	84.10	145.19	9.43
M39		52.23	3.43	105.42	32.79	6.20	103.92	10.94	6.61	17.26	12.69	10.16	6.96	82.87	141.39	10.57
M40		53.46	3.27	98.84	32.20	6.07	103.35	12.21	7.32	17.33	12.78	10.23	6.33	78.95	140.65	10.98

样品 年份		质量浓度/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)														
		R1	R3	R5	R6	R7	R8	R9	R11	R12	R13	R17	R19	R20	R21	R22
M41	2022	55.21	4.58	91.84	33.65	5.90	101.11	11.64	6.53	16.61	13.55	11.26	7.42	82.15	147.17	10.24
M42		55.29	4.80	100.21	36.21	6.31	103.65	11.44	7.96	17.17	13.42	11.13	6.57	86.05	142.04	9.92
M43		46.31	7.16	134.25	43.22	5.77	98.94	11.72	9.34	17.20	26.70	19.31	10.35	127.80	178.53	11.90
M44		53.71	4.92	109.75	56.05	6.94	123.08	12.66	8.14	18.14	43.90	23.38	17.13	124.00	198.83	13.11
M45		55.10	6.31	105.64	59.19	6.96	134.94	12.91	8.89	18.30	50.08	26.26	19.60	121.34	200.21	13.20
M46		46.30	6.65	97.48	49.48	5.96	109.55	12.03	7.82	16.78	29.73	19.58	11.04	112.07	168.91	10.78
M47		45.77	8.82	89.68	48.21	6.20	117.60	11.45	6.80	17.90	28.61	17.35	12.54	89.65	167.60	10.69
M48		44.28	7.67	76.47	42.47	5.96	104.94	11.63	5.95	16.49	23.29	15.53	9.64	80.55	164.03	10.84
M49		52.54	10.15	78.12	46.51	5.39	97.06	13.41	7.91	18.19	21.15	14.91	9.43	122.29	185.83	11.43
M50		49.01	10.35	93.51	45.79	5.30	102.55	13.55	7.75	19.06	16.91	13.45	9.06	116.13	192.67	12.17
M51		46.98	11.48	90.53	44.43	5.66	94.11	12.76	8.33	18.50	16.79	12.53	8.02	107.03	183.62	11.77
M52		49.02	11.26	80.82	40.21	5.64	86.25	13.11	8.18	17.79	23.51	16.21	9.04	116.27	191.03	12.22
M53		54.13	9.81	140.19	57.13	5.77	114.14	9.50	5.71	14.28	17.81	17.61	7.53	98.07	172.57	13.57



R1-腺苷 R2-2'-脱氧腺苷 R3-鸟苷 R4-桃叶珊瑚苷 R5-哈巴苷 R6-原儿茶酸 R7-对羟基苯甲酸 R8-咖啡酸 R9-对香豆酸 R10-毛蕊花糖苷 R11-斩剑龙苷 A R12-阿魏酸 R13-异毛蕊花糖苷 R14-安格洛苷 C R15-肉苁蓉苷 C R16-8-O-对香豆酰基哈巴苷 R17-1-(3-hydroxy-4-methoxyphenyl)ethyl-3- α -L-rhamnopyranosyl-6-caffeoyl- β -D-glucopyranoside R18-地黄苷 R19-异地黄苷 R20-哈巴俄苷 R21-肉桂酸 R22-对甲氧基肉桂酸 R23-scrophuloside A₄ R24-scrophuloside B₄ R25-keolzoside, 图 4 同

R1-adenosine R2-2'-deoxyadenosine R3-guanosine R4-aucubin R5-harpagide R6-protocatechuic acid R7-p-hydroxybenzoic acid R8-caffeic acid R9-p-coumaric acid R10-acteoside R11-sibirioside A R12-ferulic acid R13-isoacteoside R14-angoroside C R15-jionoside D R16-8-p-coumaroyl harpagide R17-1-(3-hydroxy-4-methoxyphenyl)ethyl-3- α -L-rhamnopyranosyl-6-caffeoyl- β -D-glucopyranoside R18-martynoside R19-isomartynoside R20-harpagoside R21-cinnamic acid R22-p-methoxycinnamic acid R23-scrophuloside A₄ R24-scrophuloside B₄ R25-keolzoside, same as Figure 4

图 3 19 个批次玄参药材样品中 25 种成分含量的叠加示意图
Fig. 3 Overlay diagram of contents of 25 compounds in 19 batches of *Scrophulariae Radix* samples

次样品进行 OPLS-DA, 见图 7-B 和 8-B。玄参药材样品和 MOL 样品的分类结果与 PCA 结果一致, 即华北地区 (河北省) 的玄参药材样品明显区别于其 他地区; 不同年份的 MOL 样品中各成分含量存在一定差异, 但同一年份的 MOL 样品中各成分含量相近。

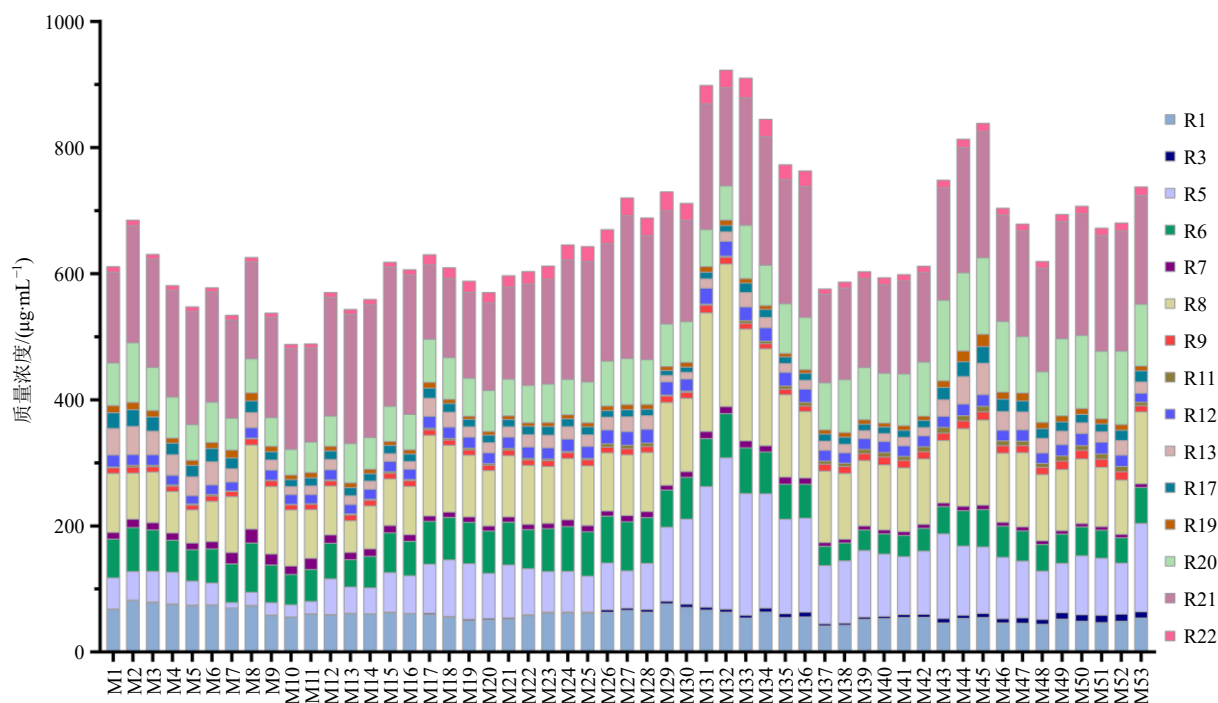


图 4 53 个批次 MOL 样品中 15 种成分含量的叠加示意图

Fig. 4 Overlay diagram of contents of 15 compounds in 53 batches of MOL samples

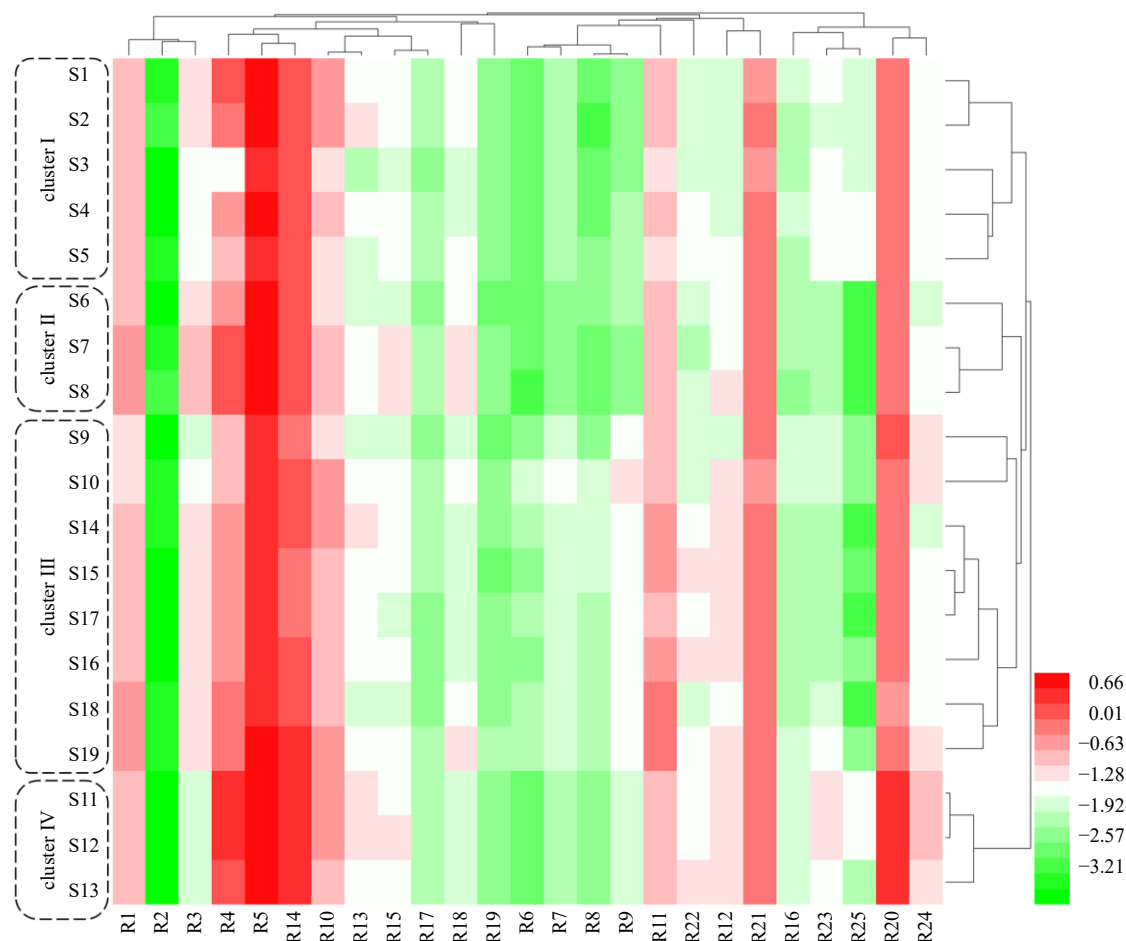


图 5 19 个批次玄参药材样品中 25 种成分含量的聚类热图

Fig. 5 Cluster analysis of contents of 25 compounds in 19 batches of *Scrophulariae Radix* samples

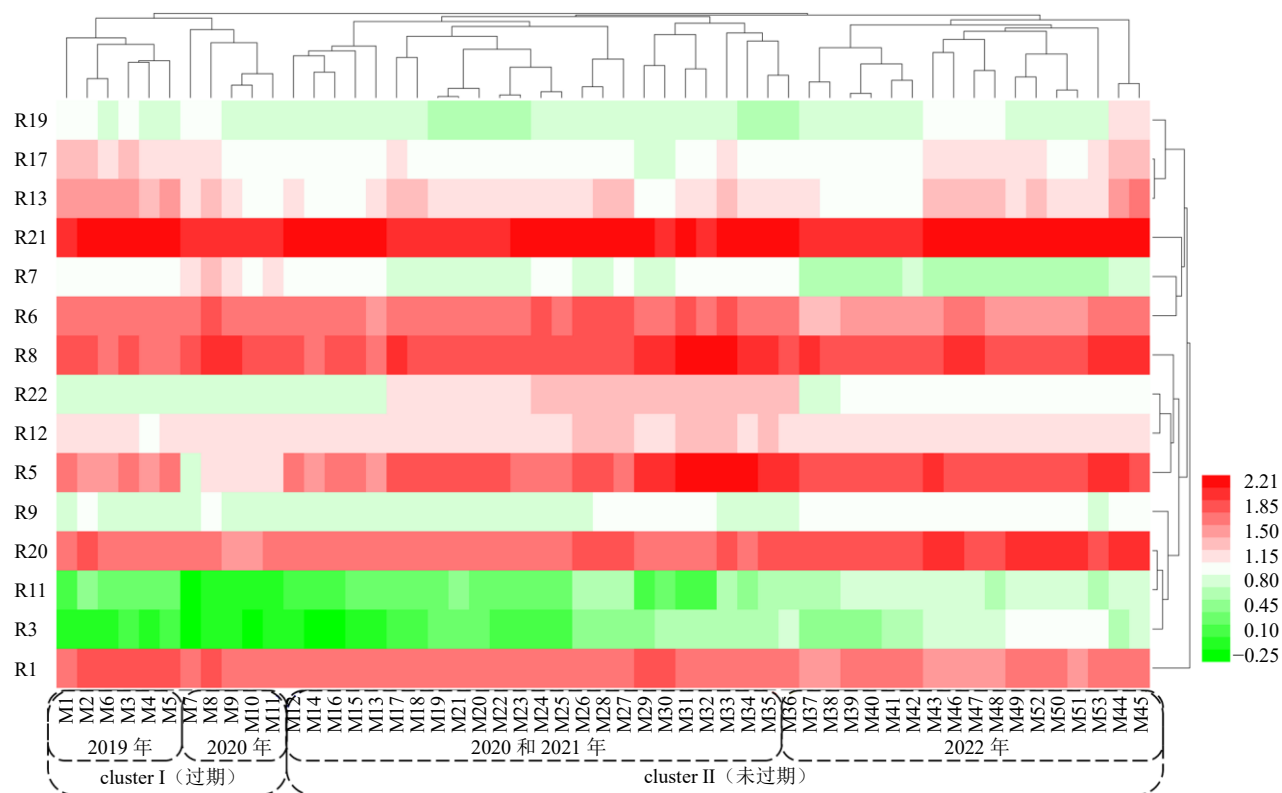


图6 53个批次MOL样品中15种成分含量的聚类热图

Fig. 6 Cluster analysis of contents of 15 compounds in 53 batches of MOL samples

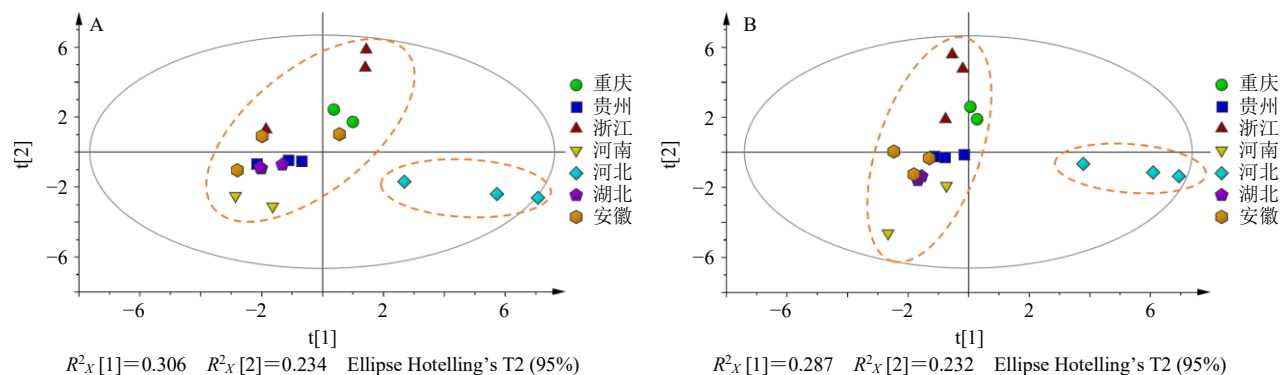


图7 玄参药材样品的PCA得分散点图(A)和OPLS-DA得分散点图(B)

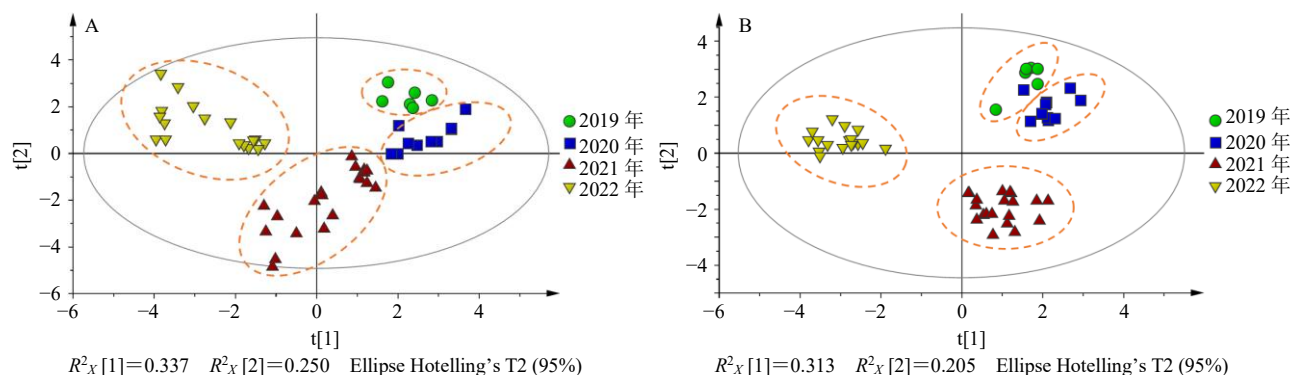
Fig. 7 PCA scatter plot (A), and OPLS-DA scatter plot (B) of *Scrophulariae Radix* samples

图8 MOL样品的PCA得分散点图(A)和OPLS-DA得分散点图(B)

Fig. 8 PCA scatter plot (A) and OPLS-DA scatter plot (B) of MOL samples

为进一步筛选出不同年份 MOL 样品间差异性化学成分,以变量重要性投影值(variable importance projection, VIP>1)对各成分进行筛选。结果如图 9 所示,共得到 7 个差异性化合物,分别为异毛蕊花糖苷(R13)、对甲氧基肉桂酸(R22)、腺苷(R1)、1-(3-hydroxy-4-methoxyphenyl)ethyl-3- α -L-rhamnopyranosyl-6-caffeoyl- β -D-glucopyranoside(R17)、对羟基苯甲酸(R7)、阿魏酸(R12)和原儿茶酸(R6)。然而,在玄参药材样品的 OPLS-DA 模型中,除河北省(S11~S13)能与其他产地明显区分外,其余产地的分类效果并不明显,所以未进一步采用 VIP 值筛选其差异性成分。

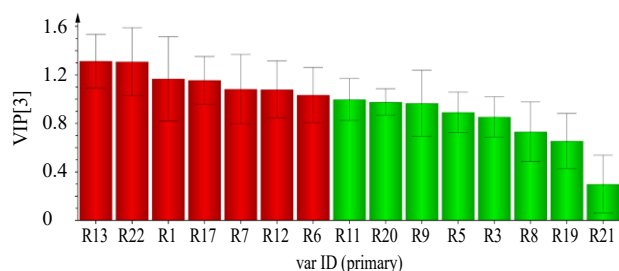


图 9 MOL 样品中 15 种成分含量的 VIP 值

Fig. 9 VIP values of contents of 15 compounds in MOL samples

3 讨论

3.1 指标性成分的选择

玄参主要以环烯醚萜苷、苯丙素苷和有机酸类为其主要成分^[16]。现代药理学研究表明,环烯醚萜苷、苯丙素苷和有机酸具有抗心肌细胞损伤、保护脑缺血损伤和抗动脉粥样硬化等药理活性^[4,16-19]。环烯醚萜苷、苯丙素苷和核苷类成分是玄参滋阴的物质基础,具有免疫调节的活性^[6,11,20],其中环烯醚萜苷和苯丙素苷可通过调节阴虚小鼠的能量代谢、免疫力和氧化应激而发挥滋阴的功效。基于此,本研究选择环烯醚萜苷、苯丙素苷、有机酸和核苷 4 类有效成分作为含量测定的指标性成分。

3.2 玄参药材供试品溶液提取条件的优化

为提高各待测成分在定量分析中的准确度,本研究采用单因素实验考察提取溶剂(水、甲醇、乙醇)、甲醇体积分数(30%、50%、70%、100%)、液料比(10:1、20:1、40:1、60:1、80:1)、超声时间(20、30、40、50、60 min)、超声功率(80、120、160、200 W)及超声温度(25、40、55、70 °C)对玄参中环烯醚萜苷、苯丙素苷、有机酸和核苷类成分提取率的影响。

环烯醚萜苷类成分的含量为 R4、R5、R16、R20 与 R23~R25 之和,苯丙素苷类成分的含量为 R10、R11、R13~R15 与 R17~R19 之和,有机酸类成分的含量为 R6~R9、R12 与 R21、R22 之和,核苷类化合物的含量为 R1~R3 之和。结果表明,甲醇体积分数和超声条件对各类成分的提取率影响不明显,而料液比则呈现先上升后趋于平缓的趋势且在 60:1 时各类成分的提取率最大。综合考虑提取率和时间,本实验选用 70%甲醇,液料比 60:1,超声处理 40 min(200 W、40 °C)作为玄参样品的提取条件。

3.3 含量测定结果的分析

玄参药材样品的化学计量学分析结果表明,CA 可很好地区分 4 个地区玄参药材样品,PCA 和 OPLS-DA 虽然没有 CA 分类效果好,但也可明显区分华北地区(河北省)和其他地区的玄参药材样品。说明玄参药材的质量受生长环境影响是客观存在的,且以华北地区(河北省)的玄参药材质量最优。此外,3 种化学计量学模型表明,不同年份的 MOL 样品中各成分含量存在一定差异,但同一年份 MOL 样品中各成分含量相近,可能是当年使用的药材质量相对稳定。该方法也可为 MOL 的质量控制提供参考。

此外,本实验是采用质谱技术对玄参药材和 MOL 样品中的多类型成分进行定量分析,虽然可为玄参药材和 MOL 的质量控制提供科学依据,但使用的仪器昂贵且部分定量的化合物是经本课题组分离纯化得到。因此,从研究手段和定量成分方面,该方法的普适性还有待进一步加强。但本研究在建立 OPLS-DA 模型后,以 VIP 值筛选得到的不同年份 MOL 的差异性化合物,可作为 MOL 的质量控制标志物用于其质量控制。目前,企业仅通过 HPLC 法测定肉桂酸含量评价 MOL 的质量,检测的成分单一,今后可考虑加入本实验中筛选得到的质量控制标志物,建立更全面的多成分定量的 HPLC 法用于提高 MOL 的整体质量。

3.4 结论

本研究基于 UPLC-QqQ-MS/MS 技术,首次建立了玄参药材中多类型成分的 MRM 分析方法,并将此方法首次应用于 MOL 中成分分析。通过化学计量学分析不同产地玄参药材和不同批次 MOL 样品,为 MOL 组方玄参药材优选和 MOL 质量控制提供参考。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 2020: 121-122.
- [2] Meng X B, Xie W J, Xu Q F, *et al.* Neuroprotective effects of *Radix Scrophulariae* on cerebral ischemia and reperfusion injury via MAPK pathways [J]. *Molecules*, 2018, 23(9): 2401.
- [3] Ma S W, Liu X Y, Cheng B, *et al.* Chemical characterization of polysaccharides isolated from *Scrophularia ningpoensis* and its protective effect on the cerebral ischemia/reperfusion injury in rat model [J]. *Int J Biol Macromol*, 2019, 139: 955-966.
- [4] 章蕾, 龚恒佩, 钟晓明, 等. 玄参环烯醚萜苷对氧糖剥夺再灌注诱导的原代皮层神经元细胞内质网应激的作用研究 [J]. *中草药*, 2019, 50(12): 2934-2940.
- [5] 李静, 陈长勋, 高阳, 等. 玄参提取物抗炎与抗动脉硬化作用的探索 [J]. *时珍国医国药*, 2010, 21(3): 532-534.
- [6] Gong P Y, He Y W, Qi J, *et al.* Synergistic nourishing ‘Yin’ effect of iridoid and phenylpropanoid glycosides from *Radix Scrophulariae* in vivo and in vitro [J]. *J Ethnopharmacol*, 2020, 246(C): 112209.
- [7] 任丹, 齐方圆, 黄紫妍, 等. 15 个产地玄参中哈巴苷与哈巴俄苷含量测定 [J]. *药学实践杂志*, 2021, 39(4): 313-316.
- [8] 梁丽金, 钟文峰, 邓怡芳, 等. 基于玄参外观性状特征量化与主要化学成分含量的相关性研究 [J]. *中药材*, 2021, 44(7): 1684-1690.
- [9] 张雪, 陈大霞, 谭均, 等. 玄参商品规格分级标准的研究 [J]. *中药材*, 2021, 44(4): 887-892.
- [10] Wang S N, Hua Y J, Xu L, *et al.* Quality evaluation of *Scrophulariae Radix* processed by different ‘sweating’ methods based on simultaneous determination of multiple bioactive constituents combined with grey relational analysis [J]. *Molecules*, 2016, 21(7): 850.
- [11] 徐力, 王胜男, 华愉教, 等. 不同发汗方法玄参中核苷类成分的 UPLC-QTRAP-MS/MS 分析 [J]. *中华中医药杂志*, 2017, 32(6): 2750-2753.
- [12] Wang S N, Hua Y J, Zou L S, *et al.* Comparison of chemical constituents in *Scrophulariae Radix* processed by different methods based on UFLC-MS combined with multivariate statistical analysis [J]. *J Chromatogr Sci*, 2018, 56(2): 122-130.
- [13] Wang S N, Wang Q, Yin X Q, *et al.* Simultaneous determination of iridoid glycosides, phenylpropanoid glycosides, organic acids, nucleosides and amino acids in *Scrophulariae Radix* processed by different processing methods by HPLC-QTRAP-MS/MS [J]. *J Chromatogr Sci*, 2022, 60(3): 232-242.
- [14] Xie G Y, Jiang Y X, Huang M M, *et al.* Dynamic analysis of secondary metabolites in various parts of *Scrophularia ningpoensis* by liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2020, 186: 113307.
- [15] Li H W, Liu P, Zhang H Q, *et al.* Determination of bioactive compounds in the nonmedicinal parts of *Scrophularia ningpoensis* using ultra-high-performance liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry and chemometric analysis [J]. *J Sep Sci*, 2020, 43(22): 4191-4201.
- [16] Ren D, Shen Z Y, Qin L P, *et al.* Pharmacology, phytochemistry, and traditional uses of *Scrophularia ningpoensis* Hemsl [J]. *J Ethnopharmacol*, 2021, 269: 113688.
- [17] 梁俭, 骆杰炉, 蔡庆群, 等. 基于不同 Caspase 凋亡通路的玄参环烯醚萜总苷抑制心肌梗死模型大鼠心肌细胞凋亡的作用机制研究 [J]. *中国药房*, 2019, 30(6): 735-740.
- [18] 杨琳洁, 杨凯丽, 钟宛凌, 等. 基于网络药理学探讨川芎嗪与阿魏酸抗动脉粥样硬化的作用机制 [J]. *药物评价研究*, 2021, 44(12): 2555-2562.
- [19] 姚建标. 银杏叶提取物中有机酸成分分析及其抗脑缺血损伤保护作用的研究 [D]. 杭州: 浙江大学, 2022.
- [20] 吕爱娟, 吴皓. 中药中核苷类成分的研究进展 [J]. *中国中医药信息杂志*, 2006, 13(7): 94-97.

[责任编辑 郑礼胜]