

一测多评法测定香鳞毛蕨有效部位中 10 种间苯三酚类成分

洪菲惠¹, 杜文钊¹, 梁玉婷¹, 唐春萍¹, 沈志滨^{1,2*}

1. 广东药科大学中药学院, 广东 广州 510006

2. 广东药科大学 广东省局部精准药物递药制剂工程技术研究中心, 广东 广州 510006

摘要: 目的 建立香鳞毛蕨 *Dryopteris Fragrans* 有效部位中 10 种间苯三酚类成分的一测多评测定方法。方法 采用高效液相色谱法, 以绵马素 BB 为内参物, 测定其与绵马素 PB、绵马素 AB、黄绵马酸 BB、田基黄绵马酸 A、黄绵马酸 PB、异黄绵马酸 PB、黄绵马酸 AB、Compound VI 和绵马酚 B 的相对校正因子, 采用相对校正因子计算这 9 种间苯三酚成分的量, 实现一测多评。同时采用外标法测定有效部位中该 10 种成分的量, 并比较 2 种测定方法的差异, 以验证一测多评法的可行性和准确性。结果 各相对校正因子重复性良好, 12 批有效部位中 10 种间苯三酚成分量的计算值与实测值无显著性差异。结论 在缺少对照品的情况下, 以绵马素 BB 为内参物, 建立的一测多评法可用于香鳞毛蕨有效部位的定量分析, 为香鳞毛蕨多指标成分质量评价提供参考。

关键词: 香鳞毛蕨; 一测多评; 间苯三酚; 校正因子; 绵马素 BB

中图分类号: R282.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2019)08-1979-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.08.031

Determination of 10 phloroglucinol constituents in effective fraction of *Dryopteris fragrans* with quantitative analysis of multi-components by single marker

HONG Fei-hui¹, DU Wen-zhao¹, LIANG Yu-ting¹, TANG Chun-ping¹, SHEN Zhi-bin^{1,2}

1. School of Traditional Chinese Medicine, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China

2. Guangdong Provincial Engineering Center of Topical Precise Drug Delivery System, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China

Abstract: Objective To establish quantitative analysis of multi-components with single marker (QAMS) for determination of 10 phloroglucinol contents in effective fraction of *Dryopteris fragrans*. **Methods** The relative correction factors of nine phloroglucinol (aspidin PB, aspidin AB, flavaspidic acid BB, saroaspidin A, flavaspidic acid PB, disflavapic acid PB, flavaspidic acid AB, compound VI, and aspidinol B) were determined by HPLC method with the aspidinn BB as the internal standard, which were to calculate the content of each. At the same time, external standard method (ESM) was used to determine the contents of 10 components in effective fraction, and the differences between the two methods were compared to verify the feasibility and accuracy of QAMS method. **Results** The relative correction factor (RCF) was good. There was no significant difference between the quantitative results with the two methods in the 12 batches of 10 phloroglucinols. **Conclusion** The established QAMS method can be used for quantitative analysis of *D. fragrans* with aspidinn BB as the internal standard in the absence of reference substances, and provided a reference for the multi-index quality evaluation in effective fraction of *D. fragrans*.

Key words: *Dryopteris fragrans* (L.) Schott.; multi-components by single marker; phloroglucinol; relative correction factor; aspidinn BB

香鳞毛蕨 *Dryopteris fragrans* (L.) Schott 为鳞毛蕨科鳞毛蕨属植物, 民间广泛用其治疗多种皮肤病, 如牛皮癣、头癣及脚癣等, 间苯三酚类为其主要的

生物活性成分^[1], 具有抗菌^[2-3]、抗肿瘤^[4-5]、抗氧化^[6]等多种生物活性。本课题组前期采用药效学追踪方法, 发现香鳞毛蕨有效部位——间苯三酚类化合物

收稿日期: 2018-11-09

基金项目: 广东省应用型科技研发专项 (2015B020234009); 国家中医药行业科技专项 (201507004); 广东药科大学“创新强校工程”资助项目 (2016KZDXM039)

作者简介: 洪菲惠 (1992—), 女, 硕士研究生, 研究方向为中药提取分离技术与应用。E-mail: 13922474813@163.com

*通信作者 沈志滨 (1964—), 女, 博士, 教授, 从事中药及复方化学成分研究。E-mail: szb8113@126.com

具有较强的抗真菌活性^[2,7], 具有较好的开发前景, 该有效部位主要含有绵马素 BB、绵马素 PB、绵马素 AB、黄绵马酸 BB、田基黄绵马酸 A、黄绵马酸 PB、异黄绵马酸 PB、黄绵马酸 AB、Compound VI 和绵马酚 B^[8-9], 其中, 黄绵马酸 PB 与异黄绵马酸 PB 为一对同分异构体。目前有研究者通过测定单一化合物如绵马素 BB^[10]、绵马贯众 ABBA^[11]建立香鳞毛蕨药材的质量标准, 但未见报道同时测定香鳞毛蕨间苯三酚多成分的含量。故本研究应用一测多评法, 以绵马素 BB 为内参物, 计算其与绵马素 PB、绵马素 AB、黄绵马酸 BB、田基黄绵马酸 A、绵马酚 B 等 9 种成分的相对校正因子, 建立香鳞毛蕨有效部位的一测多评多指标质量控制方法, 为该药的进一步开发奠定基础。

1 仪器与试药

岛津 LC-2030C 高效液相色谱仪、岛津 LC-2010CHT 高效液相色谱仪, 日本 Shimadzu 公司; BP211D 电子分析天平, 十万分之一, 德国 Sartorius 公司; 色谱柱: Benetnach C₁₈ 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm, NO: C981406083, NO: C9815105651); Thermo (250 mm×4.6 mm, 5 μm); Phenomenex C₁₈ 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); SUPELCO Ascentis Phenyl (250 mm×4.6 mm, 5 μm); KQ-300 型超声清洗器 (昆山市超声仪器有限公司); PB-10 酸度计 (德国 Sartorius 公司)。

绵马素 BB、绵马素 PB、绵马素 AB、黄绵马酸 BB、田基黄绵马酸 A、黄绵马酸 PB、异黄绵马酸 PB、黄绵马酸 AB、Compound VI 和绵马酚 B 对照品由广东药科大学中药化学教研室从香鳞毛蕨全草中分离制得, 经面积归一化法计算质量分数均大于 98%。12 批次香鳞毛蕨全草采自黑龙江省五大连池, 由哈尔滨商业大学药学院张德连教授鉴定为香鳞毛蕨 *Dryopteris fragrans* (L.) Schott。甲醇为色谱醇, 水为超纯水, 其他试剂为分析纯。

2 方法与结果

2.1 香鳞毛蕨间苯三酚有效部位的提取与纯化

香鳞毛蕨全草切段, 加入 10 倍量的 50%乙醇, 室温浸提 2 次, 每次 24 h, 合并浸渍液, 提取液按药材量的 10 倍浓缩, 放至室温, 用 10% 盐酸溶液调节 pH 值至 1.5。2 000 r/min 离心 3 min, 离心后取沉淀, 加入生药量 4 倍体积的饱和 Ca(OH)₂ 搅拌溶解至无明显块状后, 2 000 r/min 离心 3 min, 取上清液, 加 10%盐酸沉后再次离心, 弃去上清液,

真空干燥除去水分即得有效部位。

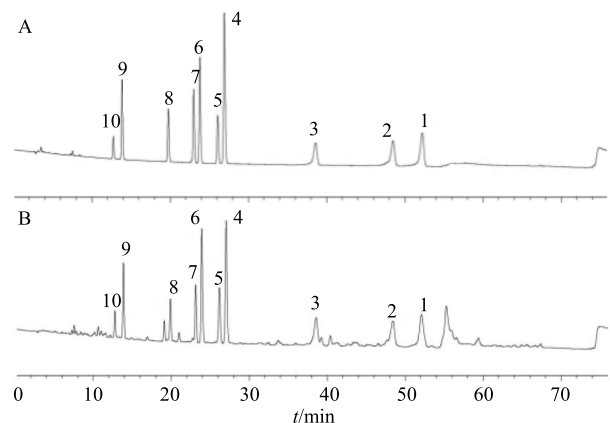
2.2 溶液的制备

2.2.1 混合对照品溶液 精密称取绵马素 BB、绵马素 PB、绵马素 AB、黄绵马酸 BB、田基黄绵马酸 A、黄绵马酸 PB、异黄绵马酸 PB、黄绵马酸 AB、Compound VI 和绵马酚 B 对照品各适量, 加甲醇制成质量浓度分别为 13.79、10.58、8.11、15.47、7.08、9.62、6.93、4.40、14.04、0.99 μg/mL 的混合对照品溶液, 摇匀, 于 4 °C 冰箱中避光保存, 备用, 滤过, 取续滤液, 即得。

2.2.2 供试品溶液 精密称取香鳞毛蕨有效部位浸膏粉末 20 mg, 置 100 mL 量瓶中, 加入适量甲醇, 超声 (功率 300 W, 频率 40 kHz, 20 °C) 至充分溶解, 放至室温后, 定容至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

2.3 色谱条件与系统适用性

岛津 LC-2030C 高效液相色谱仪, Benetnach C₁₈ 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm, NO: C9815105651); 流动相为甲醇-水-三乙胺 (500:500:2, A)-甲醇 (B), 梯度洗脱 (0~20 min, 65%~40% A; 20~45 min, 40%~25% A; 45~60 min, 25%~15% A; 60~65 min, 15%~5% A; 65~70 min, 5% A; 70~71 min, 5%~65% A; 71~76 min, 65% A); 体积流量 0.9 mL/min; 柱温 40 °C; 检测波长 290 nm。进样量 10 μL。对照品及供试品的色谱图见图 1。



1-绵马素 BB 2-绵马素 PB 3-绵马素 AB 4-黄绵马酸 BB
5-田基黄绵马酸 A 6-黄绵马酸 PB 7-异黄绵马酸 PB 8-黄绵马酸 AB 9-Compound VI 10-绵马酚 B
1-aspidinn BB 2-aspidin PB 3-aspidin AB 4-flavaspidic acid BB 5-saroaspidin A 6-flavaspidic acid PB 7-disflavapidic acid PB 8-flavaspidica cid AB 9-Compound VI 10-aspidinol B

图 1 混合对照品 (A) 和供试品 (B) 的 HPLC 色谱图
Fig. 1 HPLC of mixed reference substance (A) and sample (B)

2.4 方法学考察

2.4.1 线性关系考察 精密吸取上述混合对照溶液，按“2.3”项下色谱条件进样 5、10、15、20、30 μL 。

以峰面积积分为纵坐标 (Y)，进样量为横坐标 (X) 进行线性回归分析，回归方程见表 1，结果表明，10 种间苯三酚类成分在相应范围内线性关系良好。

表 1 10 种间苯三酚类成分的线性关系考察结果
Table 1 Results of linear equations of 10 phloroglucinols

成分	回归方程	线性范围/ μg	r^2
绵马素 BB	$Y=1\ 848\ 074.828\ 0 X-10\ 754.175\ 6$	0.027 6~0.413 7	1.000 0
绵马素 PB	$Y=1\ 930\ 555.588\ 0 X-7\ 443.634\ 4$	0.021 2~0.317 4	0.999 9
绵马素 AB	$Y=1\ 911\ 507.398\ 0 X-1\ 128.275\ 0$	0.016 2~0.243 3	0.999 3
黄绵马酸 BB	$Y=2\ 871\ 961.740\ 0 X+3\ 535.275\ 6$	0.030 9~0.464 1	0.999 8
田基黄绵马酸 A	$Y=1\ 980\ 283.280\ 0 X-1\ 117.376\ 9$	0.014 2~0.212 4	0.999 9
黄绵马酸 PB	$Y=2\ 984\ 197.050\ 0 X-4\ 148.666\ 9$	0.019 2~0.288 6	1.000 0
异黄绵马酸 PB	$Y=2\ 703\ 704.816\ 0 X+2\ 224.116\ 9$	0.013 9~0.207 9	0.999 7
黄绵马酸 AB	$Y=3\ 035\ 427.804\ 0 X+1\ 803.878\ 1$	0.008 8~0.131 0	0.999 6
compound VI	$Y=1\ 333\ 870.103\ 0 X-975.328\ 8$	0.028 1~0.421 0	1.000 0
绵马酚 B	$Y=5\ 198\ 341.734\ 0 X-1\ 557.485\ 0$	0.002 0~0.297 6	0.999 8

2.4.2 精密度试验 精密吸取同一质量浓度的混合对照品溶液 10 μL ，按“2.3”项下色谱条件连续进样 6 次，记录各组分色谱峰峰面积。结果绵马素 BB、绵马素 PB、绵马素 AB、黄绵马酸 BB、田基黄绵马酸 A、黄绵马酸 PB、异黄绵马酸 PB、黄绵马酸 AB、Compound VI 和绵马酚 B 的峰面积 RSD 分别为 0.663%、0.923%、0.707%、0.588%、0.486%、0.665%、0.628%、0.700%、0.825%、0.578%。表明仪器的精密度较好。

2.4.3 稳定性试验 取同一供试品溶液，分别于制备后 0、3、6、9、12、15 h 进样 10 μL ，测定绵马素 BB、绵马素 PB、绵马素 AB、黄绵马酸 BB、田基黄绵马酸 A、黄绵马酸 PB、异黄绵马酸 PB、黄绵马酸 AB、Compound VI 和绵马酚 B 峰面积的 RSD 值分别为 0.909%、1.641%、1.781%、1.503%、1.328%、1.384%、1.644%、1.596%、0.882%、0.711%。说明供试品溶液在 15 h 内稳定。

2.4.4 重复性试验 精密称取同批次香鳞毛蕨有效部位浸膏 6 份，每份 20 mg，按“2.2.2”项下方法平行制备供试品溶液，按“2.3”项下色谱条件进样测定。结果绵马素 BB、绵马素 PB、绵马素 AB、黄绵马酸 BB、田基黄绵马酸 A、黄绵马酸 PB、异黄绵马酸 PB、黄绵马酸 AB、Compound VI 和绵马酚 B 的质量分数平均值分别为 9.332%、5.078%、5.258%、8.590%、4.056%、7.280%、4.120%、2.473%、8.071%、0.733%，RSD 值分别为 1.709%、0.793%、1.010%、1.694%、1.878%、2.052%、1.617%、2.026%、

1.530%、1.528%。表明重复性良好。

2.4.5 加样回收率试验 精密称取已测定的香鳞毛蕨有效部位浸膏 10.0 mg，平行 6 份，置于 100 mL 量瓶中，加入一定量的混合对照品溶液，超声溶解并定容，按“2.3”项色谱条件下进行 HPLC 测定。结果绵马素 BB、绵马素 PB、绵马素 AB、黄绵马酸 BB、田基黄绵马酸 A、黄绵马酸 PB、异绵马酸 PB、黄绵马酸 AB、Compound VI 和绵马酚 B 的平均回收率依次为 97.02%、97.75%、100.44%、100.33%、101.39%、101.93%、96.47%、99.74%、99.38%、99.55%，RSD 值依次为 1.49%、2.03%、2.85%、2.30%、1.87%、1.82%、1.25%、1.51%、1.90%、1.84%。

2.5 相对校正因子 (f) 的确定

2.5.1 f 的计算 采用多点校正法，取“2.2.1”项下的混合对照品溶液，按“2.3”项下色谱条件进样 5、10、15、20、30 μL ，以绵马素 BB 为内参物，分别计算绵马素 PB、绵马素 AB、黄绵马酸 BB、田基黄绵马酸 A、黄绵马酸 PB、异黄绵马酸 PB、黄绵马酸 AB、Compound VI 和绵马酚 B 的 f ，结果见表 2。

2.5.2 耐用性考察 本实验考察了岛津 LC-2010、岛津 LC-2030 高效液相色谱系统、Benetnach C₁₈ 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm , NO: C981406083, NO: C9815105651)、体积流量、柱温、pH 及波长对 f 的影响，实验设计见表 3。结果表明各成分 f 的 RSD<3.0%，表明无显著差异，结果见表 4。

表 2 10 种间苯三酚类成分的 f
Table 2 RCF of 10 phloroglucinols

进样体积/ μL	f								
	绵马酚 B	Compound VI	黄绵马酸 AB	异黄绵马酸 PB	黄绵马酸 PB	田基黄绵马酸 A	黄绵马酸 BB	绵马素 AB	绵马素 PB
5	0.340 5	1.282 8	0.551 8	0.606 7	0.579 4	0.864 6	0.585 0	0.917 7	0.948 5
10	0.351 7	1.317 5	0.558 1	0.611 5	0.598 4	0.894 1	0.597 9	0.930 3	0.934 6
15	0.356 7	1.353 6	0.582 1	0.646 7	0.611 5	0.914 3	0.620 5	0.934 8	0.956 6
20	0.345 3	1.353 9	0.587 2	0.652 2	0.609 9	0.910 6	0.622 1	0.928 7	0.949 6
30	0.351 9	1.372 0	0.602 3	0.662 9	0.613 4	0.925 6	0.636 7	0.967 1	0.958 3
平均值	0.349 2	1.336 0	0.576 3	0.636 0	0.602 5	0.901 8	0.612 4	0.935 7	0.949 5
RSD/%	1.814 9	2.672 4	3.639 7	3.977 1	2.354 5	2.625 9	3.377 2	1.991 4	0.986 4

表 3 耐用性实验设计

Table 3 Design table of durability test

仪器	色谱柱	体积流量/ $(\text{mL}\cdot\text{min}^{-1})$	柱温/ $^{\circ}\text{C}$	pH 值	波长/ nm	试验编号
岛津 LC-2010	B15	0.90	40	2.4	290	1
	B14	0.90	40	2.4	290	2
岛津 LC-2030	B15	0.90	40	2.4	290	3
	B14	0.90	40	2.4	290	4
	B15	0.85	40	2.4	290	5
	B15	0.95	40	2.4	290	6
	B15	0.90	35	2.4	290	7
	B15	0.90	45	2.4	290	8
	B15	0.90	40	2.2	290	9
	B15	0.90	40	2.4	288	10
	B15	0.90	40	2.4	292	11

B14-Benetnach C_{18} (NO: C981406083); B15-Benetnach C_{18} (NO: C9815105651)

表 4 耐用性实验结果

Table 4 Results of durability test

试验编号	f								
	绵马酚 B	Compound VI	黄绵马酸 AB	异黄绵马酸 PB	黄绵马酸 PB	田基黄绵马酸 A	黄绵马酸 BB	绵马素 AB	绵马素 PB
1	0.344 9	1.355 2	0.620 5	0.700 6	0.597 0	0.908 3	0.630 2	0.899 1	0.930 5
2	0.346 4	1.338 1	0.611 0	0.693 8	0.595 5	0.901 9	0.622 2	0.898 6	0.929 7
3	0.353 4	1.360 0	0.592 1	0.665 3	0.610 7	0.917 3	0.627 6	0.950 0	0.954 5
4	0.353 2	1.341 8	0.615 1	0.705 9	0.585 4	0.893 2	0.624 4	0.894 7	0.937 9
5	0.354 5	1.362 8	0.622 4	0.693 7	0.601 8	0.917 8	0.638 4	0.930 5	0.960 7
6	0.355 3	1.360 0	0.625 1	0.692 4	0.598 4	0.915 4	0.638 4	0.974 9	0.948 7
7	0.338 6	1.318 4	0.597 7	0.680 1	0.578 0	0.875 8	0.612 9	0.929 4	0.945 0
8	0.364 1	1.365 3	0.634 7	0.716 3	0.594 5	0.908 2	0.635 2	0.906 2	0.927 4
9	0.347 5	1.315 2	0.606 9	0.687 1	0.587 5	0.894 0	0.626 0	0.924 5	0.957 6
10	0.347 1	1.347 3	0.639 3	0.735 6	0.612 1	0.933 7	0.650 4	0.905 1	0.974 6
11	0.362 5	1.353 1	0.597 5	0.677 3	0.570 2	0.863 9	0.605 8	0.912 7	0.932 3
平均值	0.351 6	1.347 0	0.614 8	0.695 3	0.593 8	0.902 7	0.628 3	0.920 5	0.945 4
RSD/%	2.164 8	1.276 0	2.507 3	2.782 8	2.140 5	2.222 0	1.979 7	2.688 9	1.621 1

2.5.3 待测组分色谱峰定位 通过计算在不同试验条件中各待测组分色谱峰与绵马素 BB 色谱峰的相对保留时间, 对各待测组分进行定位, 实验设计见表 3。结果见表 5, 各试验相对保留时间的 RSD < 3.0%, 表明通过绵马素 BB 的保留时间计算其他待测组分相对保留时间, 从而准确定位各待测组分的色谱峰。

2.6 一测多评法与外标法测定结果的比较

分别精密吸取混合对照品溶液、供试品溶液各

10 μL, 进样测定, 依次测定 12 批样品。分别采用外标法和一测多评法计算香鳞毛蕨有效部位浸膏中绵马素 PB、绵马素 AB、黄绵马酸 BB、田基黄绵马酸 A、黄绵马酸 PB、异黄绵马酸 PB、黄绵马酸 AB、Compound VI 和绵马酚 B 的含量, 结果见表 6。结果显示, 外标法与一测多评法计算所得到的组分含量基本一致, 经 *t* 检验比较显示, 外标法实测含量值与一测多评法计算值无显著性差异, 说

表 5 各待测组分的相对保留时间

Table 5 Relative retention time of each compound

编号	相对保留时间								
	绵马酚 B	Compound VI	黄绵马酸 AB	异黄绵马酸 PB	黄绵马酸 PB	田基黄绵马酸 A	黄绵马酸 BB	绵马素 AB	绵马素 PB
1	0.251	0.268	0.390	0.454	0.471	0.517	0.534	0.725	0.925
2	0.249	0.264	0.398	0.460	0.477	0.521	0.540	0.727	0.926
3	0.244	0.266	0.380	0.442	0.457	0.501	0.517	0.740	0.929
4	0.249	0.266	0.394	0.454	0.471	0.515	0.533	0.733	0.927
5	0.252	0.273	0.386	0.447	0.462	0.506	0.522	0.744	0.931
6	0.239	0.261	0.377	0.440	0.455	0.499	0.514	0.738	0.928
7	0.254	0.272	0.396	0.455	0.472	0.516	0.535	0.739	0.931
8	0.248	0.266	0.377	0.444	0.459	0.507	0.521	0.722	0.922
9	0.231	0.257	0.365	0.426	0.440	0.482	0.497	0.749	0.932
10	0.251	0.270	0.387	0.450	0.466	0.510	0.527	0.731	0.927
11	0.251	0.270	0.387	0.450	0.466	0.510	0.527	0.731	0.927
平均值	0.247	0.267	0.385	0.448	0.463	0.508	0.524	0.735	0.928
RSD/%	2.711	1.796	2.504	2.104	2.252	2.176	2.310	1.122	0.312

表 6 一测多评法与外标法测得的香鳞毛蕨有效部位间苯三酚类成分的质量分数 (n = 3)

Table 6 Contents of phloroglucinol derivatives in effective fraction of *D. fragrans* by QAMS and external standard method (n = 3)

批次	定量方法	质量分数/%									
		绵马酚 B	Compound VI	黄绵马酸 AB	异黄绵马酸 PB	黄绵马酸 PB	田基黄绵马酸 A	黄绵马酸 BB	绵马素 AB	绵马素 PB	绵马素 BB
1	外标	0.921	12.208	1.820	3.185	6.708	5.087	11.309	3.283	3.222	4.201
	一测多评	0.920	12.050	1.782	3.122	6.647	5.027	11.098	3.242	3.216	
2	外标	1.030	13.700	2.056	3.596	7.568	5.738	12.752	3.647	3.631	4.705
	一测多评	1.029	13.523	2.014	3.524	7.500	5.671	12.514	3.602	3.624	
3	外标	0.986	13.067	1.999	3.485	7.345	5.537	12.363	3.516	3.478	4.567
	一测多评	0.985	12.897	1.958	3.415	7.278	5.471	12.132	3.472	3.470	
4	外标	0.386	11.798	1.887	4.489	7.906	7.363	13.937	3.131	3.447	4.422
	一测多评	0.385	11.659	1.851	4.405	7.844	7.286	13.695	3.096	3.441	
5	外标	0.341	11.435	1.611	3.856	6.777	6.329	11.945	2.717	2.979	3.712
	一测多评	0.340	11.303	1.581	3.785	6.725	6.264	11.740	2.687	2.974	
6	外标	0.370	11.960	1.591	3.853	6.781	6.342	11.984	2.738	2.971	3.805
	一测多评	0.369	11.818	1.561	3.780	6.728	6.275	11.774	2.706	2.966	
7	外标	0.406	12.839	1.612	3.867	6.799	6.371	12.010	2.717	3.015	3.871
	一测多评	0.405	12.688	1.581	3.794	6.746	6.304	11.800	2.686	3.009	
8	外标	0.416	12.704	1.554	3.704	6.495	6.096	11.389	2.564	2.763	3.544
	一测多评	0.415	12.558	1.525	3.635	6.446	6.034	11.194	2.535	2.758	
9	外标	0.770	7.119	2.574	4.618	9.332	7.278	15.406	3.146	3.137	3.778
	一测多评	0.774	7.080	2.544	4.565	9.319	7.249	15.245	3.129	3.137	
10	外标	0.742	10.466	2.453	4.366	8.781	6.862	14.450	2.977	2.976	3.576
	一测多评	0.745	10.407	2.423	4.314	8.765	6.832	14.293	2.960	2.975	
11	外标	0.648	11.655	2.492	4.081	8.145	6.180	13.160	2.542	2.463	2.974
	一测多评	0.648	11.532	2.446	4.008	8.092	6.122	12.945	2.516	2.460	
12	外标	0.640	11.613	2.478	4.045	8.072	6.083	13.057	2.495	2.456	2.939
	一测多评	0.639	11.489	2.432	3.973	8.020	6.026	12.843	2.469	2.453	

明建立的一测多评法对于香鳞毛蕨有效部位的含量测定评价是可行的。

3 讨论

绵马素 BB、绵马素 PB、绵马素 AB、黄绵马酸 BB、田基黄绵马酸 A、黄绵马酸 PB、异黄绵马酸 PB、黄绵马酸 AB、Compound VI 和绵马酚 B 是香鳞毛蕨有效部位的主要成分，对于有效部位的质量评价有着至关重要的作用。绵马素 BB 具有间苯三酚类化合物的典型结构特征，且该成分极性较小，含量较高，易于分离。在研究过程中发现绵马素 BB 光稳定性、热稳定性及配成溶液后的稳定性较其他成分好，因而选用绵马素 BB 作为内标物。

在考察 f 的耐用性试验上，当色谱条件 pH 值为 2.2 的情况下，具有较好的耐用性，所有成分都满足分离要求，但酸度过高，影响色谱柱寿命，因此本研究 pH 值设定为 2.4。在色谱柱的耐用性方面，除了 Benetnach C₁₈ 外，其他 3 种型号的色谱柱 (Thermo SCIENTIFIC; Phenomenex C₁₈; SUPELCO Ascentis Phenyl) 效果不甚理想，按本研究中色谱条件进样，均提前出峰，且绵马酚 B 和 Compound VI、异黄绵马酸 PB 和黄绵马酸 PB、田基黄绵马酸 A 和黄绵马酸 BB 成为 3 对难以分离的关键峰对，无法准确定量，可见该法适用于相同填料或者色谱行为相似的色谱柱。

本实验首次将一测多评法应用于香鳞毛蕨有效部位总间苯三酚的质量评价中，并考察了不同液相色谱仪、不同批次色谱柱及柱温、pH、波长的影响。结果表明，在本实验条件下 f 具有较好的重现性，且对比一测多评法和外标法的结果，发现二者结果之间无显著性差异。表明在对照品缺乏的情况下，运用一测多评法，以绵马素 BB 为内参物，可实现香鳞毛蕨有效部位多成分的定量检测，为香鳞毛蕨进行有效成分定量及质量评价提供依据与参考。

参考文献

- [1] 朱冲冲, 彭冰, 曾祖平, 等. 香鳞毛蕨的化学成分及药理作用研究进展 [J]. 中国药房, 2017, 28(10): 1418-1423.
- [2] Li N, Gao C, Peng X, *et al.* Aspidin BB, a phloroglucinol derivative, exerts its antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* by inducing the generation of reactive oxygen species [J]. *Res Microbiol*, 2014, 165(4): 263-272.
- [3] 黄奕曦, 沈志滨, 江涛, 等. 香鳞毛蕨有效部位对红色毛癣菌体外抗真菌的作用 [J]. 广东药科大学学报, 2016, 32(1): 78-82.
- [4] Sun Y, Mu F, Li C, *et al.* Aspidin BB, a phloroglucinol derivative, induces cell cycle arrest and apoptosis in human ovarian HO-8910 cells [J]. *Chemico-Biol Inter*, 2013, 204(2): 88-97.
- [5] Wan D, Jiang C, Hua X, *et al.* Cell cycle arrest and apoptosis induced by aspidin PB through the p53/p21 and mitochondria-dependent pathways in human osteosarcoma cells [J]. *Anti Cancer Drugs*, 2015, 26(9): 931-941.
- [6] Lee S M, Na M R, Min B S, *et al.* Antioxidant activity of two phloroglucinol derivatives from *Dryopteris crassirhizoma* [J]. *Biol Pharm Bull*, 2003, 26(9): 1354-1356.
- [7] 王洁, 唐春萍, 江涛, 等. 香鳞毛蕨有效部位对糠秕马拉色菌的体外抗真菌作用研究 [J]. 中成药, 2015, 37(3): 642-645.
- [8] 杜文钊, 宋国强, 刘海燕, 等. 香鳞毛蕨中间苯三酚类化合物的研究 [J]. 广东药科大学学报, 2016, 32(1): 22-24.
- [9] 陈文浩, 宋国强, 贾小舟, 等. 香鳞毛蕨中 1 对间苯三酚类同分异构体的分离与抗真菌活性研究 [J]. 中草药, 2017, 48(3): 433-436.
- [10] 刘海燕, 杜文钊, 宋国强, 等. 香鳞毛蕨药材的质量标准研究 [J]. 广东药学院学报, 2016, 32(1): 36-40.
- [11] 田莉, 施洋, 畅静, 等. 新疆香鳞毛蕨药材质量研究 [J]. 新疆医科大学学报, 2014, 37(9): 1111-1114.