

数字化双标线性校正法在防风多成分 定性标准建立中的应用研究*

严婧祎^{1,2}, 周洪旭², 陶慕珂², 谢林娟¹, 鞠森¹, 张毅^{1,2**}

(1. 成都中医药大学药学院, 成都 611137; 2. 重庆市食品药品检验检测研究院 重庆市药监局中成药
质量控制和评价重点实验室, 重庆 401121)

摘要 目的:建立防风6种化学成分(升麻素苷、升麻素、5-*O*-甲基维斯阿米醇苷、亥茅酚苷、补骨脂素、欧前胡素)的高效液相色谱方法,比较双标线性校正法和相对保留时间法,考察双标线性校正法对于防风多成分定性分析的可行性。**方法:**采用 HPLC 方法,选用 21 根不同品牌和型号的 C18 色谱柱;流动相:乙腈(A)-0.02% 磷酸水溶液(B),梯度洗脱(0~20 min, 18% A; 20~45 min, 18% A~50% A; 45~60 min, 50% A);柱温 30 °C;流速 1 mL·min⁻¹;检测波长 254 nm。**结果:**双标线性校正法预测不同成分的结果准确且优于相对保留时间法,且6种成分在各自范围内线性关系良好。**结论:**建立的双标线性校正法预测待测成分保留时间准确,该方法稳定可靠,为中药数字化标准建立提供了参考。

关键词:防风;替代对照品法;色谱峰定性;双标线性校正法;数字化质量标准

中图分类号:R 921.2

文献标识码:A

文章编号:1009-3656(2026)01-0092-08

doi:10.19778/j.chp.2026.01.012

Application research of linear calibration using two reference substances in the establishment of qualitative standards for multi-component analysis of *Saposhnikovia divaricata**

YAN Jingyi^{1,2}, ZHOU Hongxu², TAO Muke², XIE LinJuan¹, JU Miao¹, ZHANG Yi^{1,2**}

(1. School of pharmacy, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China;
2. CQMPA Key Laboratory for Quality Control and Evaluation of Traditional Chinese Medicine, Chongqing
Institute for Food and Drug Control, Chongqing 401121, China)

Abstract Objective: Establishment of a HPLC method for six chemical components in *Saposhnikovia divaricata* (prim-*O*-glucosylcimifugin, cimifugin, 5-*O*-methylvisamminoside, sec-*O*-glucosylhamaudol, psoralen, and imperatorin), comparison of the advantages and disadvantages of the dual-standard linear calibration method and the relative retention time method, and investigation of the feasibility of the linear calibration using two reference substances for qualitative analysis of multiple components in *Saposhnikovia divaricata*. **Methods:** A HPLC method was employed, using 21 different brands and models of C18 columns. The mobile phase consisted of acetonitrile (A) and 0.02% phosphoric acid aqueous solution (B), with gradient elution (0–20 min, 18% A; 20–45 min, 18% A–50% A; 45–60 min, 50% A). The column temperature was set at 30 °C, the flow rate was 1 mL·min⁻¹, and the detection wavelength was 254 nm. **Results:** The results predicted by the linear calibration using two refer-

* 基金项目:重庆市绩效引导专项(CSTB2023JXJL-YFX0026)

第一作者简介:严婧祎,硕士研究生;研究方向:中药质量控制。Tel:18634727430;E-mail:Yan18634727430@163.com

** 通信作者简介:张毅,主任中药师;研究方向:中药质量控制。Tel:023-86072771;E-mail:zhangyi@cqifdc.org.cn

ence substances were accurate and superior to those of the relative retention time method, and the six components exhibited good linear relationships within their respective ranges. **Conclusion:** The established linear calibration using two reference substances accurately predicts the retention times of the target components. This method is stable and reliable, providing a reference for the establishment of digital standards in traditional Chinese medicine.

Key words: *Saposhnikovia divaricata*; alternative reference standard method; chromatographic peak identification; linear calibration using two reference substances; digital quality standards

中医药行业高质量发展的核心是建立可行的中药质量评价体系,只有不断创新中药质量评价模式,才能有效服务产业高质量发展。因此,中药标准的数字化转型成为催生新质生产力,服务国家重大战略“中医药现代化”的关键环节。中药数字标准的开发与应用,是将数字科技融入中药质量决策过程的一次重大创新。通过数字化、智能化的手段,保证中药控制过程更加科学、客观。中药的成分复杂,且中药质量控制逐步趋向于多指标质量控制^[1],同时对照品的需求也不断增加,所以有学者提出了一测多评法和代替对照品法等解决目前的问题^[2]。但由于 C18 色谱柱的品牌和型号过多,有些情况下相对保留时间法在不用色谱柱上准确度低,重复性差。

Sun 等^[3]提出了中药数字化标准物质,并推出了 DRS 工作站软件及电子对照品数据库,其原理基于双标线性校正法,即在原本的替代对照品法的基础上新增一个对照品用于双标线性校正,进行色谱峰定性。该法预测的保留时间不仅更准确,同时通过大数据替代手段减少了对物理标准品的依赖,并实现智能化的互联网共享^[4-5]。且此方法已广泛使用,刘欣侗等^[6]使用双标线性校正法对绿梅花中 4 种成分进行定性鉴别;李高岩等^[7]使用此方法进行板蓝根多成分定性分析;张琳琳等^[8]将此法用于延胡索中 5 个生物碱的定性分析。

防风为伞形科植物防风 *Saposhnikovia divaricata* (Turcz.) Schischk. 的干燥根。春、秋二季采挖未抽花茎植株的根,除去须根和泥沙,晒干^[9-10]。主产于我国内蒙古、黑龙江、河北、山西等地,具有祛风解表,胜湿止痛,止痉的作用,常用于用于感冒头痛,风湿痹痛,风疹瘙痒,破伤风^[11]。目前已从防风中分离出 100 多种化合物,主要有效成分为挥发油、色原酮、香豆素、杂多糖等,其中色原酮、香豆素类化合物是其发挥药效的主要成分^[12]。现代药理学研究表明,防风中的色原酮类成分升麻素苷、升麻素、5-O-甲基维斯阿米醇苷、亥茅酚苷等具有解热、镇痛、镇静和抗炎作用,香豆素类成分补骨脂素、欧前胡素等具有镇痛、抗肿瘤和免疫调节的作用^[13-14]。

防风属于我国传统的药材,作为玉屏风散、防风通圣颗粒等中成药的主要原料药,不断扩大的市场需求导致药材资源的急剧减少。因此,建立多成分、多指标的质量控制方法,对于全面评价防风质量至关重要。张军鹏等^[15]建立了测定防风中 6 个有效成分含量的一测多评法方法,并检测了 12 批不同产地和批号的防风中 6 个成分的含量;李丽等^[16]建立了防风不同炮制品中升麻素苷和 5-O-甲基维斯阿米醇苷的含量测定方法并进行比较,发现炮制品含量和水分均高于传统炮制品,为防风炮制品的质量评价提供参考;胥爱丽等^[17]基于特征图谱及主要成分的含量,并结合 3 种化学模式,比较了防风与水防风的化学成分差异,为规范防风药材使用提供参考。但这些方法使用的色谱柱单一,系统适应性弱,多指标检测对照品使用成本高,无法全面评价防风的内在质量^[18]。基于此,本实验采用 HPLC 法,建立起同时测定 6 种色原酮类成分(升麻素苷、升麻素、5-O-甲基维斯阿米醇苷、亥茅酚苷,香豆素类成分补骨脂素、欧前胡素)的方法,且首次采用双标线性校正法用于防风多指标成分色谱峰定性分析。与传统的相对保留时间法相比,该法显著减小了定性的误差,预测的保留时间更精确,且增加了适用的色谱柱数量^[19-20]。双标线性校正法使用的 DRS Origin 软件,通过相似度检索进行跨库联合匹配、预测保留时间来对样品图谱进行定性鉴别,实现实物标准物质的数字化代替。

1 仪器与试剂

Waters e2695-2998 PDA 高效液相色谱仪, HWS-24 电热恒温水浴锅(上海一恒科学仪器有限公司), BP221S 型电子天平(德国赛多利斯公司,万分之一), AX-205 型电子天平(梅特勒公司,十万分之一), Milli-Q reference 超纯水仪(法国默克密理博公司), 色谱柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm) 信息见表 1。防风药材,经重庆市食品药品检验检测研究院中药室张毅主任中药师鉴定为伞形科植物防风 *Saposhnikovia divaricata* (Turcz.) Schischk. 的干燥根。升麻素苷对照品(批号:111522-202214,纯度:95.7%)、升麻素对

照品(批号:111710-200602)、5-*O*-甲基维斯阿米醇苷对照品(批号:111523-202212,纯度:97.8%)、亥茅酚苷对照品(批号:111714-200501)、补骨脂素对照品(批号:110739-201416,纯度:99.7%)、欧前胡素对照品(批号:110826-202219,纯度:99.0%)均购于中国食品药品检定研究院;乙腈(色谱纯,美国 Tedia 公司),其余试剂均为分析纯。

表1 色谱柱的品牌/类型

Tab. 1 Brands and types of columns

Column No.	Brand/Type
Col. 1	Agilent 5 HC C18
Col. 2	Agilent ZORBAX Eclipse XDB C18
Col. 3	Phenomenex Luna C18(2)
Col. 4	Waters Xbridge C18
Col. 5	SVEA A585V3 SVETA C18 Opal
Col. 6	Agilent ZORBAX Eclipse Plus C18
Col. 7	SHISEIDO CAPCELL PAK C18
Col. 8	Exmere Exsil Mono 100 C18
Col. 9	FLM Titank C18
Col. 10	Dikma Diamonsil C18
Col. 11	Waters Symmetry C18
Col. 12	AkzoNobel KromaSilR 100-5-C18
Col. 13	HALO 90A C18
Col. 14	Agilent ZORBAX Eclipse Plus C18
Col. 15	Agilent5 TC C18
Col. 16	GL Sciences InertSustain C18
Col. 17	Dikma Inspire AQ-C18
Col. 18	SHISEIDO CAPCELL PAK C18 MGII
Col. 19	CAPCELL PAK MG C18
Col. 20	Zafex Sufex JX-C18
Col. 21	Agilent Extend C18

2 方法与结果

2.1 色谱条件

采用上述21根色谱柱,流动相A为乙腈,流动相B为0.02%磷酸溶液,梯度洗脱:0~20 min,18% A;20~45 min,A 18% A~50% A;45~60 min,50% A,流速1 mL·min⁻¹,检测波长254 nm,柱温30℃。

2.2 对照品溶液的制备

分别称取升麻素苷,升麻素,5-*O*-甲基维斯阿米醇苷,亥茅酚苷,补骨脂素,欧前胡素对照品适量于量瓶中,配制含升麻素苷162.56 mg·L⁻¹,升麻素30.41 mg·L⁻¹,5-*O*-甲基维斯阿米醇苷147.14 mg·L⁻¹,亥茅酚苷26.70 mg·L⁻¹,补骨脂素4.79 mg·L⁻¹,欧前胡素3.78 mg·L⁻¹的混合对照品甲醇溶液。

2.3 供试品溶液的制备

取防风药材粉末(过3号筛)1 g,精密称定,置具塞锥形瓶中。精密加入25 mL 甲醇,称重,加热回流2 h,放冷,用甲醇补足减失的质量,摇匀,用0.45 μm微孔滤膜滤过,取续滤液,即得。

2.4 精密度试验

取“2.2”项对照品溶液,连续进样6次,各共有峰的相对保留时间和相对峰面积的RSD均<2%,表明仪器精密度良好。

2.5 重复性试验

取防风粉末6份,分别按供试品溶液的制备方法制备供试品并测定,其共有峰的相对保留时间和相对峰面积的RSD均<2%,表明该法重复性良好。

2.6 稳定性试验

取防风供试品溶液,分别在0,1,2,4,6,8,10,12,24 h进样,测得各共有峰的相对保留时间和相对峰面积的RSD均<2%,表明供试品溶液在24 h内稳定。

2.7 色谱柱耐用性实验

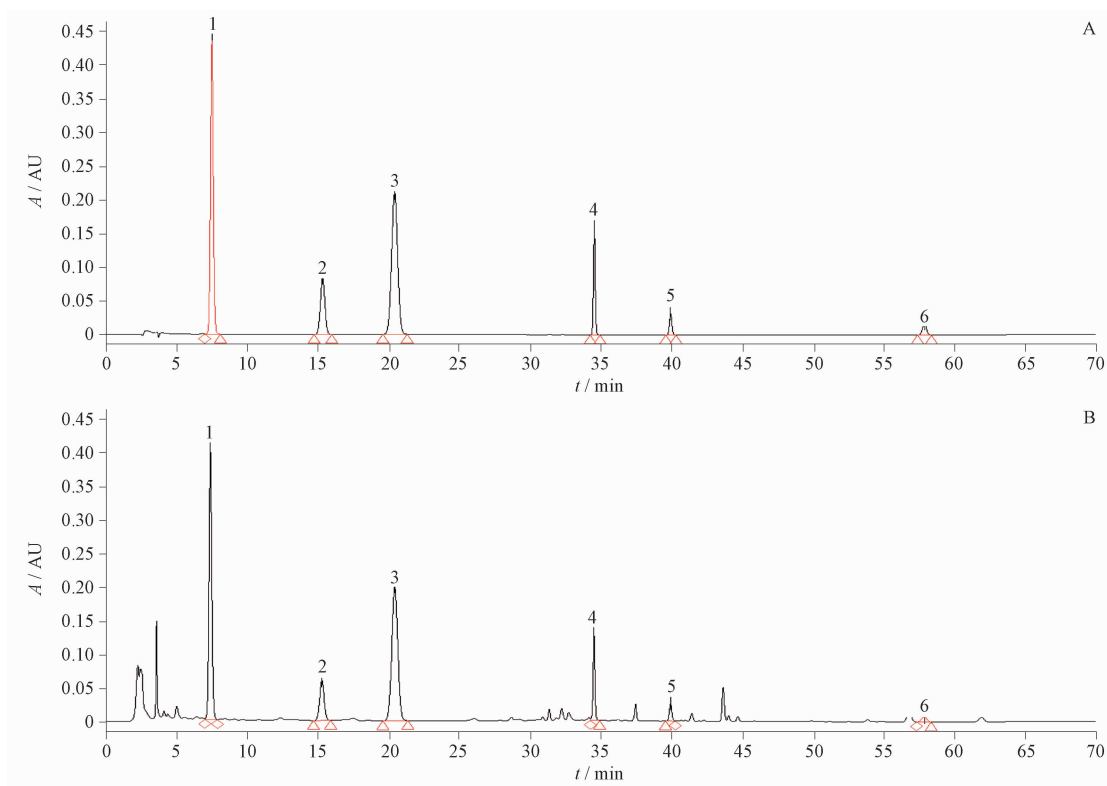
按照“3”项方法制备供试品溶液,在“1”项色谱条件下,分别采用Col 1~Col 21共21根色谱柱进行测定,均可将6个对照品色谱较好分离。对照品和样品色谱见图1。

3 双标线性校正法定性研究

将采集的数据导入DRS Origin软件,通过关联对照品,设定双标化合物,进行双标线性校正法分析,得到保留时间回归偏差、保留时间预测正确率和色谱柱符合率。同时,与相对保留时间法比较,判断两种方法的优劣。

3.1 标准保留时间的计算

首先在21根不同色谱柱上采集防风的色谱图,通过对照品保留时间定位,得到实际保留时间。需要预先对色谱图质量进行评价,出现以下情况的色谱图初步判定为偏离数据,不予进行进一步的软件分析:对照品或者样本图谱出现目标组分的缺峰、少峰、出峰位置颠倒等情况;目标组分色谱峰型、分离度、纯度无法满足进一步分析的要求;色谱柱上双标组分和待预测组分的保留时间和整体平均水平差异太大。初步发现Col 13色谱柱与其他色谱柱保留时间偏差较大且拟合效果差,故不参与方法开发。将其余20根色谱柱中6个化学成分保留时间的均值作为标准保留时间(SRT),其中分别为升麻素苷6.696 min,升麻素13.72 min,5-*O*-甲基维斯阿米



1. 升麻素苷 2. 升麻素 3. 5-*O*-甲基维斯阿米醇苷 4. 亥茅酚苷 5. 补骨脂素 6. 欧前胡素 A. 混合对照品溶液 B. 供试品溶液。
1. *prim-O*-glucosylcimifugin 2. cimifugin 3. 5-*O*-methylvisammoside 4. *sec-O*-glucosylhamaudol 5. psoralen 6. imperatorin
A. mixed reference solution B. sample solution.

图1 混合对照品溶液(A)和样品的(B)HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of mixed reference substances solution (A) and sample(B)

醇苷 18.23 min, 亥茅酚苷 33.73 min, 补骨脂素 38.39 min, 欧前胡素 56.65 min。以6个成分的SRT (X)为横坐标,实际保留时间(Y)为纵坐标,得到各色谱柱的拟合结果,见图2。各色谱柱的线性方程和相关系数见表2。结果显示,6个成分在20根色谱柱上得到的线性方程 r^2 均大于0.99,且拟合效果良好。

3.2 双标化合物的优化

使用DRS Origin软件计算可以得到10种优化方案,见表3。从中选择保留时间回归偏差小、色谱峰预测准确率高、色谱柱符合率高且化合物保留时间段尽可能分布在色谱峰两端的方案。保留时间回归偏差越小,预测结果越准确。其中有6种组合的保留时间预测正确率和色谱柱符合率均为100%,但峰1和峰6组合保留时间回归偏差最小。因此选择峰1(升麻素苷)和峰6(欧前胡素)作为双标化合物。双标线性校正法的结果见表4。

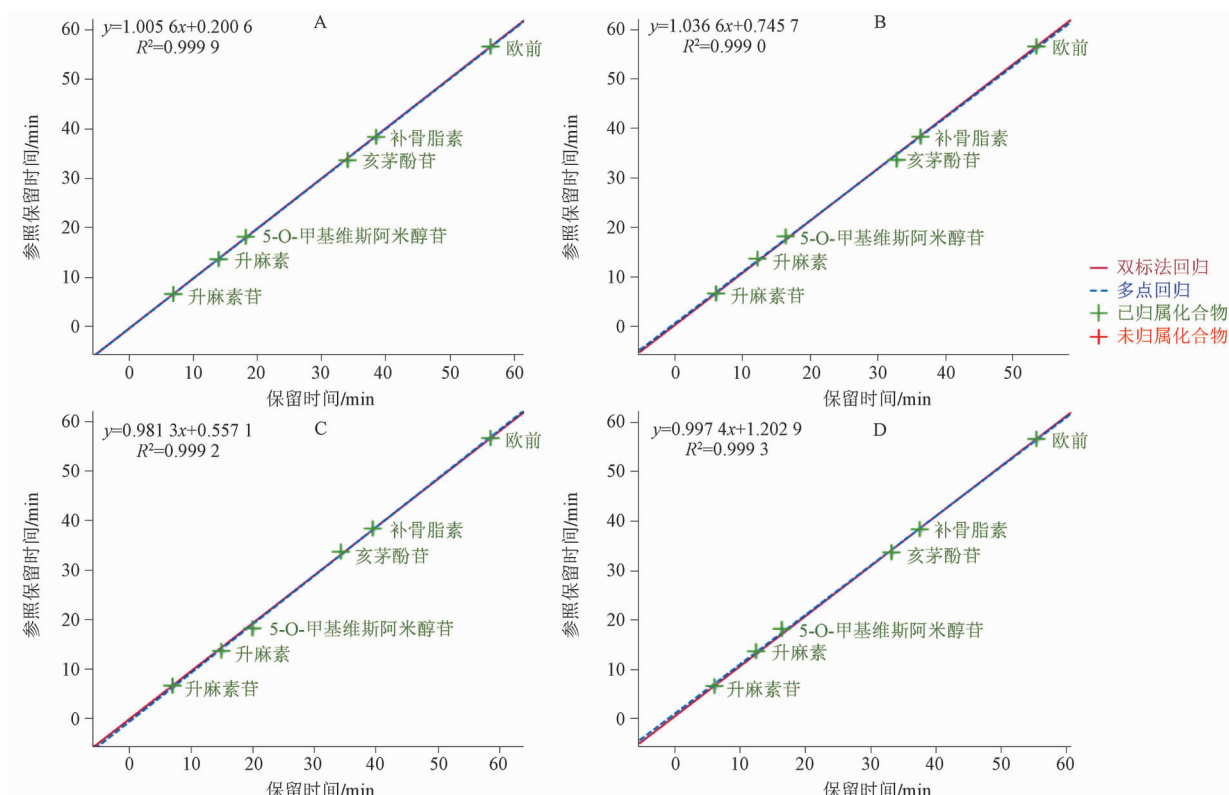
3.3 双标线性校正法与相对保留时间法的比较

将20根不同色谱柱,按照上述色谱条件分析后得到的色谱图谱数据以“cdf”的格式导入软件。选定相对保留时间法时,通过优化表明选择峰4(亥茅

酚苷)作为参照物时,平均保留时间偏差最小且色谱柱符合率最高,且亥茅酚苷在该色谱条件下出峰时间适中,符合相对保留时间法选择依据,因此选择亥茅酚苷作为内参物。相对保留时间法的结果见表5。两种预测方法比较结果见表6。结果表明,20根色谱柱中,双标线性校正法的色谱柱符合率均为100%,但相对保留时间法的色谱柱符合率仅为95%,其中有3根色谱柱仅能匹配4个色谱峰。且相对保留时间法的预测值偏差较双标线性校正法大,20根色谱柱仅有14根对于6个色谱峰保留时间的预测值偏差 <1.5 min,且保留时间偏差(Δt_R)均较大;而双标线性校正法在20根色谱柱的预测值偏差均 <1.5 min。由此可见,双标线性校正法的预测准确度更高,适用的色谱柱数量更多,显著优于相对保留时间法。

3.4 双标线性校正法验证

按“2.3”项下的方法制备供试品溶液,取1根新的色谱柱进行验证,见表7。发现两种方法均能很好的预测在色谱柱上的保留时间,但双标线性校正法较相对保留时间法更精确。



A. Col 3 B. Col 6 C. Col 12 D. Col 17。

图2 色谱柱的拟合结果

Fig. 2 Column fitting results

表2 不同色谱柱保留时间的线性方程及相关系数

Tab. 2 Linear equations and correlation coefficients for retention time on different columns

Column No.	Column	Liner equation	r
Col. 1	Agilent 5 HC C18	$Y = 1.1011X - 1.4738$	0.9987
Col. 2	Agilent ZORBAX Eclipse XDB C18	$Y = 0.9938X + 2.9961$	0.9960
Col. 3	Phenomenex Luna C18(2)	$Y = 1.0056X - 0.2006$	0.9999
Col. 4	Waters Xbridge C18	$Y = 1.0199X + 3.1468$	0.9909
Col. 5	SVEA A585V3 SVETA C18 Opal	$Y = 0.9385X - 0.3889$	0.9978
Col. 6	Agilent ZORBAX Eclipse Plus C18	$Y = 1.0366X + 0.7457$	0.9990
Col. 7	SHISEIDO CAPCELL PAK C18	$Y = 1.1043X - 2.9754$	0.9951
Col. 8	Exmere Exsil Mono 100 C18	$Y = 0.9422X - 0.4930$	0.9968
Col. 9	FLM Titank C18	$Y = 0.9862X - 2.4002$	0.9954
Col. 10	Dikma Diamonsil C18	$Y = 0.9843X - 0.4264$	0.9994
Col. 11	Waters Symmetry C18	$Y = 0.9904X + 1.6801$	0.9987
Col. 12	AkzoNobel KromaSilR 100-5-C18	$Y = 0.9813X - 0.5571$	0.9992
Col. 14	Agilent ZORBAX Eclipse Plus C18	$Y = 0.9879X + 1.9421$	0.9983
Col. 15	Agilent5 TC C18	$Y = 1.0045X - 2.5565$	0.9961
Col. 16	GL Sciences InertSustain AQ-C18	$Y = 0.9621X - 2.9609$	0.9905
Col. 17	Dikma Inspire C18	$Y = 0.9974X + 1.2029$	0.9993
Col. 18	SHISEIDO CAPCELL PAK C18 MGII	$Y = 1.0166X - 1.3664$	0.9992
Col. 19	CAPCELL PAK MG C18	$Y = 0.9913X - 0.2568$	0.9999
Col. 20	Zafex Sufex JX-C18	$Y = 1.0185X + 1.8014$	0.9952
Col. 21	Agilent Extend C18	$Y = 0.9870X + 4.2053$	0.9917

表3 10种优化方案

Tab. 3 Ten optimization options

Column No.	Combination	Δt_R / min	Prediction accuracy/%	Coincidence rate/%
1	1-6	1.06	100	100
2	1-5	1.087	100	100
3	2-6	1.09	100	100
4	2-5	1.172	100	100
5	1-4	1.46	100	100
6	5-6	1.612	100	97.5
7	3-6	1.643	100	98.33
8	2-4	1.733	100	100
9	3-5	1.908	100	96.67
10	4-6	2.083	100	90.83

4 讨论

随着科技的迅猛发展,中药标准的数字化已成为提升中药质量控制,推动产业高质量发展的必然趋势。在中医药现代化与数字化浪潮的推动下,中药标准正经历从传统经验模式向智能化、精准化的全面转型。国家药监局明确提出“提升中药标准数字化管理水平”的战略目标。中药数字标准的开发和应用对于中药行业的高质量发展具有重要意义。随着中药质量控制逐渐趋向于多指标的整体质量控制,对照品的需求也不断增加,大大提高了检测成本^[1]。在实际工作中,因有些对照品本身价格昂贵,检验成本很高;且有些对照品由于不稳定而难以提供,这些都导致药品质量难以控制,是影响药品

表4 双标线性校正法不同成分保留时间预测值的绝对偏差

Tab. 4 Absolute Deviation of predicted retention times for different components using dual-standard linear calibration method

Column No.	Prim- <i>O</i> -glucosylcimifugin	Cimifugin	5- <i>O</i> -methylvisammoside	Sec- <i>O</i> -glucosylhamaudol	Psoralen	Imperatorin
Col 1	0	0.564 6	1.641 6	0.262 6	-0.446 8	0
Col 2	0	-1.473	-3.033	0.459 4	0.163 3	0
Col 3	0	0.092 27	-0.114	0.388 6	0.223 9	0
Col 4	0	-2.183	-3.813	1.916	0.747 6	0
Col 5	0	0.621 8	0.559 7	-1.83	-0.789 1	0
Col 6	0	-0.557	-0.672 7	1.128	0.119 1	0
Col 7	0	0.1887	2.514	2.392	2.502	0
Col 8	0	0.833 6	1.168	-1.898	-0.922	0
Col 9	0	1.549	2.626	-1.178	-0.043 18	0
Col 10	0	0.512	0.891 7	-0.050 63	-0.289 6	0
Col 11	0	-0.081 83	-1.611	0.478 5	0.089 17	0
Col 12	0	0.636 8	1.025	-0.602 6	-0.264 3	0
Col 14	0	-0.772 7	-1.884	0.122 9	0.599 7	0
Col 15	0	1.264	2.656	-0.446 8	-0.606	0
Col 16	0	2.145	3.295	-2.062	-0.518 6	0
Col 17	0	-0.584 1	-1.1	0.434 6	0.144 6	0
Col 18	0	0.611 9	1.396	0.151 6	-0.008 598	0
Col 19	0	0.314 8	0.342	-0.268 7	-0.114 2	0
Col 20	0	-1.578	-2.554	1.642	-0.296 2	0
Col 21	0	-2.204	-4.487	0.585 1	0.189 8	0
均值	-	0.975 2	1.869	0.937 7	0.457 9	-

质量评价和检验的一个重要因素^[15]。在对防风进行多成分鉴别时,传统的保留时间法会消耗更多的对照品,成本较高。在实际的中药生产和检验中,双标线性校正法能够有效提高定性分析的准确性和可靠性,减少误判和漏判的情况。准确的定性分析可以确保产品中所含的有效成分符合质量标准,从而提高产品的疗效和安全性。

双标线性法作为一种新兴的代替方法,在中药

成分分析中具有广泛的应用潜力。中药复方制剂成分复杂,相互干扰严重,传统的定性方法难以准确鉴定。双标线性校正法可以通过选择合适的标准品,构建线性关系,克服基质干扰,实现对复方制剂中关键成分的快速鉴定。且可以用于快速鉴定中药材的真伪,通过比较真品和伪品中特征成分的线性关系,可以有效区分真伪药材。相比于传统的一测多评方法^[14],它使用两个对照品作为双标化合物,不会

表5 相对保留时间法不同成分保留时间预测值的绝对偏差

Tab. 5 Absolute Deviation of predicted retention times for different components using relative retention time method

Column No.	Prim- <i>O</i> -glucosylcimifugin	Cimifugin	5- <i>O</i> -methylvisammioside	Sec- <i>O</i> -glucosylhamaudol	Psoralen	Imperatorin
Col 1	0.502 6	0.854 5	1.779	0	-0.820 1	-0.897 4
Col 2	-1.293	-2.598	-4.068	0	-0.163 8	0.221 3
Col 3	0.063 57	0.038 5	-0.238 8	0	-0.238 9	-0.76
Col 4	-1.232	-0.712 6	-	0	-1.251	-2.412
Col 5	0.503	1.527	1.7	0	1.341	3.132
Col 6	-0.508 1	-1.207	-1.42	0	-1.011	-1.607
Col 7	1.067	0.407 9	1.929	0	-0.451	-4.804
Col 8	0.393 3	1.697	2.321	0	1.313	3.383
Col 9	1.101	2.676	3.769	0	1.152	1.25
Col 10	0.086 89	0.718 1	1.175	0	0.293 9	0.876 6
Col 11	-0.794 4	-1.542	-2.292	0	-0.340 3	-0.221
Col 12	0.145 8	0.915	1.388	0	0.424 7	1.009
Col 14	-0.869 6	-1.47	-2.488	0	0.618	0.503 5
Col 15	1.072	2.141	3.394	0	-0.265	-0.102 4
Col 16	1.509	-	-0.658 4	0	1.681	2.616
Col 17	-0.604 4	-1.149	-1.64	0	-0.262 9	-0.295 6
Col 18	0.491 5	0.922 8	1.581	0	-0.266 7	-0.689 9
Col 19	0.087 48	0.451 9	0.509 9	0	0.187 2	0.425 6
Col 20	-0.616 9	-2.39	-3.49 2	0	-2.036	-2.403
Col 21	-1.709	-1.395	-	0	-0.221 7	0.323 5
均值	0.7325	1.69	2.573	-	0.717	1.397

表6 双标线性校正法与保留时间法的比较

Tab. 6 Comparison between dual-label linear calibration method and relative retention time method

Column No.	Dual-standard linear calibration method			Relative retention time method		
	Numbers of matching peaks	Mean AD/min	Coincidence rate/%	Numbers of matching peaks	Mean AD/min	Coincidence rate/%
Col 1	6	0.486 6	100	6	0.808 9	100
Col 2	6	0.854 8	100	6	1.391	100
Col 3	6	0.136 5	100	6	0.223 3	100
Col 4	6	1.443	100	4	3.413	66.67
Col 5	6	0.633 4	100	6	1.367	100
Col 6	6	0.426 1	100	6	0.958 7	100
Col 7	6	1.266	100	6	1.443	100
Col 8	6	0.803 5	100	6	1.518	100
Col 9	6	0.899 4	100	6	1.658	100
Col 10	6	0.366 6	100	6	0.525 1	100
Col 11	6	0.499 5	100	6	0.864 8	100
Col 12	6	0.421 4	100	6	0.647 1	100
Col 14	6	0.563 2	100	6	0.991 6	100
Col 15	6	0.828 8	100	6	1.162	100
Col 16	6	1.337	100	4	3.698	66.67
Col 17	6	0.377 2	100	6	0.658 6	100
Col 18	6	0.361 3	100	6	0.658 7	100
Col 19	6	0.173 3	100	6	0.277	100
Col 20	6	1.012	100	6	1.823	100
Col 21	6	1.244	100	4	2.97	66.67

表7 双标线性校正法和相对保留时间法在新色谱柱上保留时间绝对偏差比较

Tab. 7 Comparison of absolute retention time deviations between dual-label linear calibration method and relative retention time method on a new chromatographic column

Method	1	2	3	4	5	6
Dual-standard linear calibration method	-	0.453 1	0.596 9	-0.347 3	0.333 1	-
Relative retention time method	0.429 1	0.859 3	0.988 8	-	0.66 4	0.276

显著增加实验成本,且预测结果更为准确。与相对保留时间法相比,不仅可以节约成本,还可以能更准确预测保留时间,提高定性分析的可靠性,且适用于复杂基质中多成分的定性分析^[16]。其次,该方法符合《中国药典》等标准要求,适用于指纹图谱、代谢组学等方面的研究。

同时双标线性校正法也存在一些缺陷:它对于保留时间与标准品差异较大的成分,预测效果可能不理想;其次,需要对数据进行线性回归分析,可能增加数据处理的复杂性。并且,对于某些特殊成分或结构相似的化合物,无法完全替代对照品,仍需结合对照品法进行验证,以确保定性结果的准确性。而且,该方法依赖于两种标准品,如果目标成分没有合适的标准品,或者标准品难以获得,则无法应用此方法。该方法主要用于定性分析,无法提供准确的定量信息,需要结合其他定量方法(如高效液相色谱-紫外检测器)进行分析。

双标线性校正法将是中药质量标准数字化转型的重要手段。张毅等通过运用双标多测法对川黄芩药材质量控制的研究^[21],已成功将该方法运用到川黄芩药材法定质量标准中。《重庆市中药材标准》2023年版^[22]已在川黄芩质量标准【特征图谱】项下使用该方法。这是双标线性法首次运用于中药材法定质量标准中,为中药质量标准及其数字化研究提供新的思路和方法。

综上所述,本实验采用双标线性校正法建立防风的多成分鉴定方法,可同时测定防风中的升麻素苷、升麻素、5-O-甲基维斯阿米醇苷、亥茅酚苷、补骨脂素、欧前胡素,为防风药材的数字化标准建立提供参考依据。

参考文献

- [1] SUN L, JIN HY, TIAN RT, et al. A simple method for HPLC retention time prediction: linear calibration using two reference substances[J]. Chin Med, 2017, 12: 1.
- [2] 张敏,王芳,刘惠娟,等. 一测多评法在中药质量控制中的应用[J]. 中国民族民间医药,2021,30(14):51.
- [3] CHEN A, SUN L, YUAN H, et al. Simultaneous qualitative and

quantitative analysis of 11 active compounds in rhubarb using two reference substances by UHPLC[J]. Sep Sci, 2018, 41(19):3686.

- [4] 陈蓉,张超,张华锋,等. 双标线性校正法辅助色谱峰定性用于双黄连制剂的多组分分析[J]. 中国实验方剂学杂志,2018,24(8):40.
- [5] 栾永福,刘洪超,解盈盈,等. 双标线性校正法用于盐沙苑子配方颗粒多组分定性分析[J]. 药物分析杂志,2023,43(11):1876.
- [6] 刘欣侗,于现花,刘军玲,等. 绿梅花中4种成分双标多测法的建立[J]. 中国现代应用药学,2023,40(5):613.
- [7] 李高岩,杨一荻,袁鹤飞,等. 双标线性校正法用于板蓝根的多成分定性分析[J]. 药物分析杂志,2024,44(9):1560.
- [8] 张琳琳,董婷,陈碧莲,等. 双标线性校正法用于延胡索中5个生物碱的定性分析[J]. 药物分析杂志,2023,43(1):77.
- [9] 中国药典2020年版. 一部[S]. 2020:214.
- [10] 胡紫艳,冯振斌,蒋健. HPLC测定不同产地防风中4种有效成分的含量[J]. 中国执业药师,2016,13(11):31.
- [11] 王丽丽,廖强,欧妮,等. 一测多评法测定防风中4种色原酮类成分[J]. 中国药师,2018,21(1):96.
- [12] 郑凯,田兆凤,郑慧敏,等. 防风趁鲜切制饮片的解热、镇痛作用[J]. 中药新药与临床药理,2025,36(1):24.
- [13] 徐容. 关防风 HPLC 特征指纹图谱研究及4种色原酮类成分一测多评法分析研究[J]. 药物分析杂志,2019,39(3):458.
- [14] 杨晓琴,任红燕. 高效液相色谱法同时测定防风中4种主要成分含量[J]. 中国药业,2017,26(20):37.
- [15] 张军鹏,庄辉,刘斌,等. 一测多评法测定防风中6个有效成分的含量[J]. 药物分析杂志,2023,43(7):1163.
- [16] 李丽,张毛毛. HPLC法测定不同防风炮制品中升麻素苷和5-O-甲基维斯阿米醇苷的含量[J]. 临床医学研究与实践,2024,9(22):9.
- [17] 胥爱丽,钟惠娴,孙冬梅,等. 基于 HPLC 指纹图谱成分含量和化学模式识别不同产地防风与水防风[J]. 中成药,2023,45(5):1557.
- [18] 马丙如,崔静轩,王雨懿,等. 防风药材质量的多指标综合评价[J]. 浙江农林大学学报,2024,41(4):715.
- [19] 栾永福,郭东晓,汪冰,等. 构建数字化导向的中药质量标准体系[J]. 药学研究,2022,41(8):516.
- [20] 王乐颜,刘云宏. 八珍汤指纹图谱建立及双标多测法对多指标成分含量的测定[J]. 中药材,2023,46(5):1216.
- [21] 张毅,周洪旭,孟大利,等. 双标线性校正法用于川黄芩的多成分定性分析[J]. 食品与药品,2022,24(6):487.
- [22] 重庆市药品监督管理局. 重庆市中药材标准[M]. 重庆:重庆大学出版社,2023.

(收稿日期:2025-04-09)