

中图分类号: R917; R927 文献标志码: A 文章编号: 1006-4931(2023)10-0089-06
doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2023.10.022



一测多评法同时测定丹参药材中8种水溶性成分含量*

陈雪琴¹, 贾文江¹, 周仔莉¹, 李 鹏¹, 贾 卫¹, 柯 园¹, 王敏珍², 张跃进^{3△}

(1. 陕西省商洛市药品检验所, 陕西 商洛 726000; 2. 陕西省商洛市农业科学研究所, 陕西 商洛 726000;
3. 西北农林科技大学, 陕西 咸阳 712100)

摘要:目的 建立检测丹参药材中8种水溶性成分含量的一测多评(QAMS)法。方法 采用高效液相色谱法, 色谱柱为 Agilent 5 TC - C₁₈ 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 流动相为乙腈 - 0.2% 磷酸溶液(20:80, V/V), 流速为 1.1 mL/min, 检测波长为 286 nm, 柱温为 30 ℃, 进样量为 20 μL。以丹酚酸 B 为内标, 计算药材样品中其余 7 个成分的相对校正因子及含量, 并与外标法的检测结果比较。结果 丹参素钠、原儿茶醛、咖啡酸、丹酚酸 F、迷迭香酸、紫草酸、丹酚酸 B、丹酚酸 A 进样量分别在 55.257~1 381.425 ng、12.848~321.210 ng、19.341 8~483.545 0 ng、24.5~612.5 ng、94.176~2 354.400 ng、105.84~2 646.00 ng、75.831~1 895.775 ng、13.524~338.100 ng 范围内与峰面积线性关系良好($R^2 > 0.999$); 精密度、稳定性、重复性试验结果的 RSD 均小于 1.5%; 平均加样回收率为 98.94%~102.43%, RSD 均小于 1.5% ($n=6$)。7 个成分的相对校正因子在不同型号仪器(不同色谱柱)、柱温、流速条件下的 RSD 均小于 1.0%。QAMS 法与外标法测得 7 个成分的含量无显著差异($P > 0.05$)。结论 所建立的 QAMS 法可用于同时测定丹参药材中 8 种水溶性成分的含量, 方便快捷、准确可靠且重复性好, 可为丹参药材的质量控制提供参考。

关键词: 丹参; 一测多评法; 水溶性成分; 高效液相色谱法; 相对校正因子; 质量控制

Simultaneous Determination of Eight Water-Soluble Components in Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma by QAMS

CHEN Xueqin¹, JIA Wenjiang¹, ZHOU Zili¹, LI Peng¹, JIA Wei¹, KE Yuan¹, WANG Minzhen², ZHANG Yuejin³

(1. Shangluo Pharmaceutical Inspection Institute, Shangluo, Shaanxi, China 726000; 2. Shangluo Agricultural Science Research Institute, Shangluo, Shaanxi, China 726000; 3. Northwest A & F University, Xianyang, Shaanxi, China 712100)

Abstract: Objective To establish a quantitative analysis of multi-components by single-marker (QAMS) method for the simultaneous determination of eight water-soluble components in Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma. **Methods** High-performance liquid chromatography (HPLC) was adopted, and the chromatographic column was Agilent 5 TC - C₁₈ column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), the mobile phase was acetonitrile - 0.2% phosphoric acid solution (20:80, V/V), the flow rate was 1.1 mL/min, the detection wavelength was 286 nm, the column temperature was 30 ℃, and the injection volume was 20 μL. With salvianolic acid B as the internal standard, the relative correction factor and content of the other seven components in medicinal material samples were calculated, and the detection results were compared with those of the external standard method. **Results** The linear

*基金项目: 陕西省商洛市科技计划项目[2020-Y-0005]; 广西壮族自治区壮瑶药重点实验室开放课题[GXZYKF2020A-12]。

第一作者: 陈雪琴, 女, 大学本科, 副教授, 研究方向为中药质量控制及中草药标准, (电子信箱)slsyjcxq2011@qq.com。

△通信作者: 张跃进, 男, 大学本科, 教授, 研究方向为中药材规范化生产及质量控制, (电子信箱)574317077@qq.com。

- [5] 徐巍巍, 肖利红, 姚福鑫. 二代大环内酯类抗生素微生物限度检查法研究[J]. 煤炭与化工, 2015, 38(8): 75-77.
- [6] 瞿燕萍. 阿奇霉素片微生物限度检查方法的适用性验证[J]. 上海医药, 2019, 40(23): 107-110.
- [7] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(四部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 160-170.
- [8] 李 翠, 闵 红, 谢毓华, 等. 莫匹罗星软膏微生物限度检查方法适用性研究及水分活度测定[J]. 中国药业, 2022, 31(5): 76-79.
- [9] 闵 联, 卫延明, 杜思迪. 复方气管炎片微生物限度检查方法适用性研究[J]. 中国药业, 2021, 30(4): 60-62.
- [10] 高 爽, 高 岩. 中和法联合稀释法在复方苯佐卡因凝胶微生物限度检查中的适用性研究[J]. 中国药品标准, 2022, 23(3): 330-333.
- [11] 张光华, 余 立. 聚山梨酯 80 和卵磷脂在化学药微生物限度检查时的中和作用[J]. 药物分析杂志, 2008, 28(7): 1127-1130.
- [12] 姬 俊, 刘婷婷, 牛萌萌, 等. 卵磷脂和聚山梨酯-80 联用在中药制剂抑菌活性中的中和作用[J]. 中国药师, 2017, 20(3): 586-588.
- [13] 钱一鑫. 阿奇霉素缓释干混悬剂的研究[D]. 沈阳: 沈阳药科大学, 2007.
- [14] 丁 勃, 徐晓洁, 刘广楨, 等. 双滤膜过滤方法在药品微生物限度检查中的应用研究[J]. 药物分析杂志, 2014, 34(12): 2229-2234.
- [15] 汤 茜, 李瑞莲. 盐酸莫西沙星片微生物限度方法适用性研究[J]. 国外医药抗生素分册, 2016, 37(4): 172-176.

(收稿日期: 2022-09-26; 修回日期: 2022-11-06)

ranges of sodium Danshensu, protocatechualdehyde, caffeic acid, salvianolic acid F, rosmarinic acid, lithospermic acid, salvianolic acid B and salvianolic acid A were 55.257 – 1 381.425 ng, 12.848 – 321.210 ng, 19.341 8 – 483.545 0 ng, 24.5 – 612.5 ng, 94.176 – 2 354.400 ng, 105.84 – 2 646.00 ng, 75.831 – 1 895.775 ng, and 13.524 – 338.100 ng ($R^2 > 0.999\ 0$), respectively. The RSDs of precision, stability, and repeatability tests were all lower than 1.5%. The average recoveries of eight components were in the range of 98.94% – 102.43%, and the RSDs were lower than 1.5% ($n = 6$). The RSDs of the relative correction factors for the seven components under different types of instruments (different chromatographic columns), column temperatures, and flow rates were all lower than 1.0%. The content of seven components determined by the QAMS method and external standard method had no significant difference ($P > 0.05$). **Conclusion** The established QAMS method can simultaneously determine the content of eight water – soluble components in *Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma*, which is convenient, rapid, accurate, reliable and repeatable, and it can provide a reference for the quality control of *Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma*.

Key words: *Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma*; QAMS; water – soluble components; HPLC; relative correction factor; quality control

丹参为唇形科植物丹参 *Salvia miltiorrhiza* Bge. 的干燥根和根茎,是历版《中国药典》收录的大宗常用中药材之一,现主要以栽培品入药,主产于陕西(为陕西商洛十大商药之一)、山东、河南、安徽、四川等地。丹参的药物活性成分有上百种,其水溶性成分主要包括丹参素、原儿茶醛、咖啡酸、紫草酸和迷迭香酸及丹酚酸 A, B, F, G 等^[1],有抗凝血、调血脂、抗肿瘤、抗炎等作用,而水溶性成分有抗氧化、降血压、预防心脑血管疾病等作用,临床常用于治疗冠心病、心绞痛、胸痹心痛等症^[2]。然而,在丹参药材的品质控制及等级划分中,水溶性指标性成分控制仅针对丹酚酸 B 含量做出了相应规定。使用外标法测定丹参酚酸类成分的含量也存在控制单一、重复性差、操作烦琐、对照品难购买等问题。故本研究中对丹参中的丹参素钠、原儿茶醛、咖啡酸、丹酚酸 F、迷迭香酸、紫草酸、丹酚酸 B、丹酚酸 A 等水溶性成分进行了全面研究,对上述 8 个成分进行了确认,并采用一测多评(QAMS)法同时测定丹参药材中 8 种水溶性成分的含量。现报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Waters e2695 型四元梯度高效液相色谱系统(含紫外检测器,沃特世科技 < 上海 > 有限公司); Agilent 1260 II 型高效液相色谱仪(含 DAD 检测器,美国 Agilent 公司); Shimadzu LC – 20AT 型高效液相色谱仪(日本 Shimadzu 公司); BS224S 型电子分析天平(北京赛多利斯科学仪器有限公司,精度为 0.1 mg); SY – 800 型超声波清洗机(上海宁商超声清洗仪器有限公司); Medium – RS30UVF 型实验室纯水系统(上海和泰仪器有限公司); 凌生 1000C 型多功能粉碎机(永康市红太阳机电有限公司)等。

1.2 试剂

丹酚酸 B 对照品(批号为 111562 – 201917, 含量为 96.6%), 丹参素钠对照品(批号为 110855 – 201915, 含

量为 97.8%), 原儿茶醛对照品(批号为 110810 – 201909, 含量为 99.6%), 咖啡酸对照品(批号为 110885 – 201703, 含量为 100%), 迷迭香酸对照品(批号为 111871 – 202007, 含量为 98.1%), 均购于中国食品药品检定研究院; 丹酚酸 A 对照品(批号为 B20260, 含量为 98.0%), 丹酚酸 F 对照品(批号为 B25806, 含量为 98.0%), 紫草酸对照品(批号为 B21683, 含量为 98.0%), 均购于上海源叶生物科技有限公司; 乙腈为色谱纯, 甲醇为分析纯, 水为超纯水。丹参药材(来源见表 1) 经陕西省商洛市药品检验所陈雪琴教授鉴定为正品。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: Agilent 5 TC – C₁₈ 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈 – 0.2% 磷酸溶液(20:80, V/V); 流速: 1.1 mL/min; 检测波长: 286 nm; 柱温: 30 ℃; 进样量: 20 μL。

表 1 药材样品信息

Tab. 1 Information of medicinal material samples

编号	来源 / 产地	批号
S1	陕西省商洛市商州区大赵峪罗村七组	20200311
S2	陕西省商洛市丹凤县商镇王堰村	20200316 – 1
S3	陕西省商洛市洛南县景村镇洛路南	20200312 – 1
S4	陕西省商洛市洛南县古城镇	20200312 – 2
S5	陕西省商洛市山阳县中村镇碾沟村	20200314 – 1
S6	陕西省商洛市商南县清油河镇洋桥村	20200318
S7	陕西省商洛市柞水县曹坪镇马家台村	20200323
S8	陕西省商洛市镇安县回龙镇和平村	20200324
S9	陕西省商洛市山阳县中村镇	20200314 – 2
S10	陕西省商洛市丹凤县商镇	20200316 – 2
S11	河北省承德市滦平县	20200327 – 1
S12	河北省石家庄市行唐县	2020327 – 2
S13	山西省运城市	2020327 – 3
S14	山西省晋中市	2020327 – 4
S15	四川省德阳市	2020327 – 5
S16	甘肃省定西市	2020327 – 6

2.2 溶液制备

取丹参素钠、原儿茶醛、咖啡酸、丹酚酸F、迷迭香酸、紫草酸、丹酚酸B、丹酚酸A对照品各适量,精密称定,制成含各成分质量浓度分别为55.257, 12.848, 19.342, 24.500, 94.176, 105.84, 75.831, 13.524 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的混合对照品溶液。取药材样品粉末(过3号筛)约0.15 g,精密称定,置150 mL具塞锥形瓶中,精密加入80%甲醇溶液50 mL,密塞,称定质量,超声(功率250 W,频率40 kHz)处理45 min,放冷,再称定质量,用80%甲醇溶液补足缺失的质量,摇匀,经0.45 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液,即得供试品溶液。

2.3 方法学考察

系统适用性试验:取2.2项下混合对照品溶液、供试品溶液各适量,按2.1项下色谱条件进样测定,记录色谱图。结果供试品溶液色谱中,在与混合对照品溶液色谱相同保留时间处有相应色谱峰,理论板数按各成分峰计均应大于3 000,分离度大于1.5,基线分离良好。详见图1。

线性关系考察:分别精密吸取2.2项下混合对照品溶液1, 5, 10, 15, 20, 25 μL ,按2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以进样量($X, \mu\text{L}$)为横坐标、峰面积为

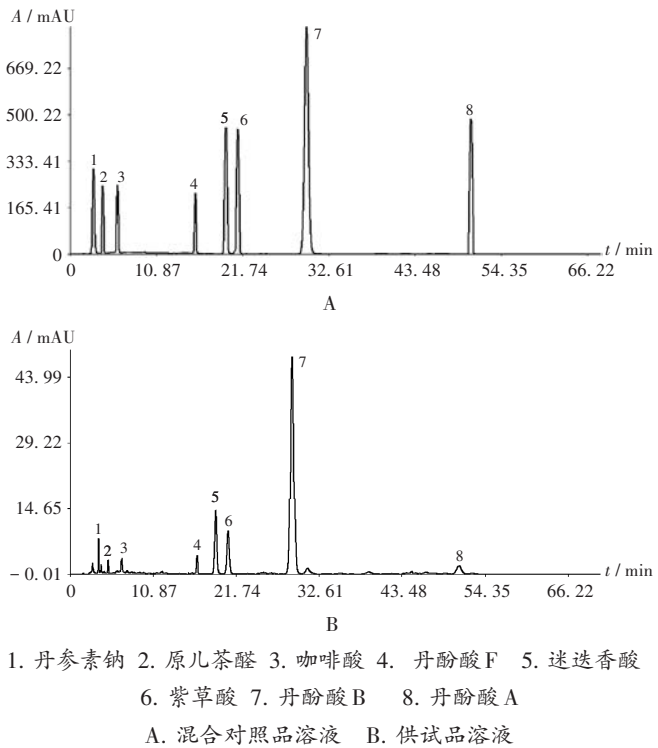


图1 高效液相色谱图

1. Sodium Danshensu 2. Protocatechualdehyde 3. Caffeic acid 4. Salvianolic acid F 5. Rosmarinic acid 6. Lithospermic acid 7. Salvianolic acid B 8. Salvianolic acid A
A. Mixed reference solution B. Test solution

Fig. 1 HPLC chromatograms

表2 线性关系考察结果($n=6$)

Tab. 2 Results of the linear relation test ($n=6$)

待测成分	回归方程	R^2	线性范围 (ng)
丹参素钠	$Y_1 = 37.669X_1 - 6.1121$	0.9996	55.257~1381.425
原儿茶醛	$Y_2 = 78.228X_2 - 18.578$	0.9995	12.848~321.210
咖啡酸	$Y_3 = 112.552X_3 - 5.0507$	0.9998	19.3418~483.5450
丹酚酸F	$Y_4 = 12.62X_4 - 1.8069$	0.9992	24.5~612.5
迷迭香酸	$Y_5 = 49.969X_5 - 3.879$	0.9997	94.176~2354.400
紫草酸	$Y_6 = 153.94X_6 - 12.005$	0.9997	105.84~2646.00
丹酚酸B	$Y_7 = 132.64X_7 - 13.983$	0.9992	75.831~1895.775
丹酚酸A	$Y_8 = 130.07X_8 - 8.71$	0.9991	13.524~338.100

纵坐标(Y)进行线性回归,结果见表2。

精密度试验:精密吸取2.2项下混合对照品溶液10 μL ,按2.1项下色谱条件连续进样测定6次,记录峰面积。结果8个成分峰面积的RSD分别为1.03%, 1.21%, 0.98%, 1.06%, 1.37%, 0.87%, 0.79%, 1.08%, 均小于1.5%($n=6$),表明仪器精密度良好。

稳定性试验:取2.2项下供试品溶液适量,分别在室温下放置0, 3, 6, 12, 18, 24 h时按2.1项下色谱条件下进样测定,记录峰面积。结果8个成分峰面积的RSD分别为1.27%, 1.04%, 1.18%, 0.94%, 0.84%, 1.29%, 1.34%, 0.79%, 均小于1.5%($n=6$),表明供试品溶液在室温放置24 h内基本稳定。

重复性试验:取样品(编号S5)适量,按2.2项下方法制备供试品溶液,各6份,按2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算含量。结果8个成分含量的RSD分别为1.42%, 1.00%, 1.24%, 1.37%, 1.49%, 0.91%, 0.97%, 1.32%, 均小于1.5%($n=6$),表明方法重复性良好。

加样回收试验:取已知含量的样品(编号S5,含丹参素钠0.370 mg、原儿茶醛0.160 mg、咖啡酸0.209 mg、丹酚酸F 0.101 mg、迷迭香酸0.719 mg、紫草酸0.510 mg、丹酚酸B 8.609 mg、丹酚酸A 0.039 mg)粉末0.15 g,精密称定,分别加入相应对照品适量,再按2.2项下的方法制备供试品溶液,按2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积,并计算加样回收率。结果各待测成分平均加样回收率分别为98.96%, 98.94%, 99.20%, 99.67%, 102.43%, 99.74%, 101.94%, 99.37%, RSD分别为0.93%, 1.02%, 1.41%, 1.15%, 1.30%, 1.23%, 1.06%, 0.88%, 均小于1.5%($n=6$)。

2.4 相对校正因子(f)的确定

选取丹酚酸B为内标物,建立丹酚酸B与其他待测成分($m_i, i=1, 2, \dots, 7$)间的相对校正因子公式为 $f=f_{mi}/f_{\text{丹酚酸B}}=(A_{mi}/W_{mi})/(A_{\text{丹酚酸B}}/W_{\text{丹酚酸B}})$ 。式中, A_{mi} 为某一待测成分的峰面积, W_{mi} 为某一待测成分的质量;

$A_{\text{丹酚酸B}}$ 为丹酚酸 B 的峰面积, $W_{\text{丹酚酸B}}$ 为丹酚酸 B 的质量。

取 2.2 项下混合对照品溶液 1, 5, 10, 15, 20 μL , 按 2.1 项下色谱条件下进样测定, 记录峰面积, 分别计算以丹酚酸 B 为内标时其余 7 个成分的 f 值, 结果见表 3。可见, 7 个成分 f 值的 RSD 均小于 1.0% ($n = 5$), 符合试验要求。

2.5 f 的耐用性试验

液相色谱仪和色谱柱: 取药材样品 (编号 S5) 适量, 精密称定, 按 2.2 项下方法制备供试品溶液, 再按 2.1 项下试验条件, 采用 Shimadzu LC-20AT 型、Agilent 1260 II 型及 Waters e2695 型高效液相色谱系统, 分别采用 Agilent 5 TC-C₁₈(2) 柱、Kromasil 100-5-C₁₈ 柱, 以及 Welch Ultimate C₁₈ 柱 (规格均为 250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm)

表 4 不同色谱系统和色谱柱对相对校正因子的影响

Tab. 4 Effect of different chromatographic systems and chromatographic columns on relative correction factors									
仪器型号	色谱柱型号	丹参素钠	原儿茶醛	咖啡酸	丹酚酸 F	迷迭香酸	紫草酸	丹酚酸 B	丹酚酸 A
Shimadzu LC-20AT 型	Agilent	0.925 1	1.114 8	1.324 2	1.256 7	0.977 1	1.340 6	1.000 0	1.349 0
	Kromasil	0.926 9	1.119 4	1.329 6	1.250 6	0.976 8	1.326 9	1.000 0	1.356 4
	Welch	0.925 3	1.124 9	1.330 8	1.249 8	0.982 6	1.332 5	1.000 0	1.349 3
Agilent 1260 II 型	Agilent	0.935 7	1.109 7	1.331 2	1.246 6	0.969 6	1.335 8	1.000 0	1.350 9
	Kromasil	0.940 8	1.132 5	1.334 5	1.240 9	0.968 9	1.327 1	1.000 0	1.346 6
	Welch	0.925 1	1.120 3	1.323 9	1.256 3	0.976 4	1.339 4	1.000 0	1.347 7
Waters e2695 型	Agilent	0.928 8	1.120 3	1.329 3	1.250 2	0.976 2	1.325 7	1.000 0	1.355 1
	Kromasil	0.942 7	1.128 1	1.330 5	1.249 4	0.982 0	1.331 3	1.000 0	1.348 0
	Welch	0.931 7	1.115 4	1.330 9	1.246 2	0.969 0	1.334 6	1.000 0	1.349 6
$\bar{X}$		0.931 3	1.120 6	1.329 4	1.249 6	0.975 4	1.332 7	1.000 0	1.350 3
$RSD(\%)$		0.74	0.63	0.25	0.39	0.54	0.41	0	0.25

制备供试品溶液, 再按 2.1 项下色谱条件 (分别设置柱温为 20, 25, 30, 35 $^{\circ}\text{C}$) 进样测定, 记录峰面积并计算样品含量, 结果见表 5, 各成分 f 值的 RSD 均小于 1.0%, 表明在实验室条件下柱温发生一定程度变化时, 本方法能满足试验要求, 耐用性良好。

流速: 取药材样品 (编号 S5) 适量, 按 2.2 项下方法制备供试品溶液, 再按 2.1 项下色谱条件 (分别设置流

表 5 不同柱温对相对校正因子的影响

Tab. 5 Effect of different column temperatures on relative correction factors								
柱温($^{\circ}\text{C}$)	丹参素钠	原儿茶醛	咖啡酸	丹酚酸 F	迷迭香酸	紫草酸	丹酚酸 B	丹酚酸 A
20	0.924 1	1.118 1	1.335 5	1.261 3	0.969 9	1.338 8	1.000 0	1.371 4
25	0.925 4	1.123 2	1.336 8	1.260 6	0.981 0	1.344 5	1.000 0	1.364 2
30	0.929 1	1.108 6	1.337 4	1.257 4	0.971 9	1.347 5	1.000 0	1.365 4
35	0.941 0	1.133 2	1.340 6	1.251 7	0.964 2	1.339 6	1.000 0	1.361 4
$\bar{X}$	0.929 9	1.120 8	1.337 6	1.257 7	0.971 7	1.342 6	1.000 0	1.365 6
$RSD(\%)$	0.83	0.9	0.16	0.35	0.72	0.30	0	0.31

表 3 各待测成分的相对校正因子

Tab. 3 Relative correction factors of each component to be tested								
进样量(μL)	丹参素钠	原儿茶醛	咖啡酸	丹酚酸 F	迷迭香酸	紫草酸	丹酚酸 B	丹酚酸 A
1	0.925 1	1.114 8	1.324 2	1.256 7	0.977	1.340 6	1.000 0	1.349 0
5	0.926 9	1.119 4	1.329 6	1.250 6	0.976 8	1.326 9	1.000 0	1.356 4
10	0.927 7	1.124 9	1.330 8	1.249 8	0.982 6	1.332 5	1.000 0	1.349 3
15	0.931 7	1.109 7	1.331 2	1.246 6	0.969 6	1.335 8	1.000 0	1.350 9
20	0.940 8	1.132 5	1.334 5	1.240 9	0.968 9	1.327 1	1.000 0	1.346 6
$\bar{X}$	0.930 4	1.120 3	1.330 1	1.248 9	0.975 0	1.332 6	1.000 0	1.350 4
$RSD(\%)$	0.67	0.79	0.28	0.46	0.59	0.44	0	0.27

进样测定, 记录峰面积, 并计算样品含量。结果表明, 色谱系统、色谱柱发生一定变化时本方法能满足试验要求, 耐用性良好。详见表 4。

柱温: 取药材样品 (编号 S5) 适量, 按 2.2 项下方法

速为 1.0, 1.1, 1.2, 1.3 mL/min) 进样测定, 记录峰面积并计算样品含量, 结果见表 6, 各待测成分 f 值的 RSD 均小于 1.0%, 表明流速发生一定程度变化时, 本方法能满足试验要求, 耐用性良好。

2.6 待测成分色谱峰定位

取 2.5 项下供试品溶液适量, 分别注入不同高效液相色谱系统 (同 2.5 项下色谱仪、色谱柱), 计算各成分

表 6 不同流速对相对校正因子的影响

Tab. 6 Effect of different flow rates on relative correction factors								
流速 (mL/min)	丹参素钠	原儿茶醛	咖啡酸	丹酚酸 F	迷迭香酸	紫草酸	丹酚酸 B	丹酚酸 A
1.0	0.921 3	1.341 3	1.116 8	1.271 9	0.964 4	1.350 7	1.000 0	1.386 4
1.1	0.923 1	1.342 7	1.121 5	1.271 4	0.975 1	1.356 5	1.000 0	1.379 1
1.2	0.926 6	1.343 6	1.107 4	1.268 2	0.966 0	1.359 3	1.000 0	1.380 0
1.3	0.941 2	1.346 6	1.133 9	1.262 5	0.958 5	1.352 2	1.000 0	1.376 3
$\bar{X}$	0.928 1	1.343 6	1.119 9	1.268 5	0.966 0	1.354 7	1.000 0	1.380 4
$RSD(\%)$	0.85	0.13	0.97	0.29	0.70	0.22	0	0.13

的相对保留时间^[3]。结果的 *RSD* 均小于 1.00%。详见表 7。

2.7 QAMS 法与外标法测定结果比较

取 16 批药材样品各适量,按 2.2 项下方法制备供试品溶液,按 2.1 项下色谱条件进样测定,记录峰面积,分别采用外标法与 QAMS 法计算各成分含量,配对 *t* 检验结果表明,2 种测定方法的结果无显著差异($P > 0.05$),详见表 8 和表 9。

3 讨论

3.1 丹参药材样品选择

有研究表明,炮制方式等外部因素会导致丹参药材劣变、药性改变、有效成分损失等问题出现,影响药

材的供应和以其为原料的中成药的质量^[4-8]。为消除上述干扰因素,对药材样品的选择尤为重要。故预试验中以样品(编号 S6)为研究对象,按不同炮制及烘干方式(阴干、晒干、55℃烘干、切片阴干、切片晒干、切片 55℃烘干)处理样品,结果丹参药材中丹酚酸 B 含量相比丹参饮片中的高。温度的升高和光照使丹酚酸 B 部分损失或转化,从而降低其含量^[9-12]。阴干法则很好地避免了诸多不利因素,较好地保持了丹参原药材的药性及有效成分,故丹酚酸 B 的损失较少。炮制工艺对丹参饮片的质量影响很大。生品饮片相对于原药材,需经洗、晾、焖、润、切等炮制工艺,此过程受物理因素和化学因素的影响,丹酚酸 B 等水溶性成分的含量流失过多。因此,

表 7 各待测成分的相对保留时间

Tab. 7 Relative retention time of each component to be tested

仪器型号	色谱柱	丹参素钠	原儿茶醛	咖啡酸	丹酚酸 F	迷迭香酸	紫草酸	丹酚酸 B	丹酚酸 A
Shimadzu LC-20AT 型	Agilent	0.152 2	0.189 9	0.198 7	0.538 2	0.625 3	0.695 5	1.000 0	1.553 9
	Kromasil	0.151 4	0.187 2	0.199 3	0.539 0	0.626 6	0.695 8	1.000 0	1.552 4
	Welch	0.150 8	0.190 5	0.196 9	0.539 7	0.627 9	0.696 1	1.000 0	1.550 9
Agilent 1260 II 型	Agilent	0.152 2	0.191 6	0.197 5	0.540 4	0.629 2	0.696 4	1.000 0	1.549 4
	Kromasil	0.149 7	0.191 7	0.196 3	0.541 1	0.630 5	0.696 8	1.000 0	1.548 0
	Welch	0.151 7	0.192 5	0.196 9	0.541 8	0.631 8	0.697 1	1.000 0	1.546 5
Waters e2695 型	Agilent	0.151 3	0.190 8	0.197 5	0.542 5	0.633 2	0.697 4	1.000 0	1.545 1
	Kromasil	0.150 9	0.191 4	0.195 7	0.543 1	0.634 4	0.697 7	1.000 0	1.543 6
	Welch	0.152 8	0.190 5	0.196 3	0.536 8	0.632 5	0.695 6	1.000 0	1.537 8
$\bar{X}$		0.151 4	0.190 7	0.197 2	0.540 3	0.630 2	0.696 5	1.000 0	1.547 5
<i>RSD</i> (%)		0.61	0.81	0.59	0.38	0.49	0.11	0.00	0.32

表 8 外标法与 QAMS 法含量测定结果(mg/g)

Tab. 8 Results of the content determination of seven components determined by external standard method and QAMS method (mg/g)

编号	丹酚酸 B	丹参素钠		咖啡酸		原儿茶醛		丹酚酸 F		迷迭香酸		紫草酸		丹酚酸 A	
		外标法	QMAS 法	外标法	QMAS 法	外标法	QMAS 法	外标法	QMAS 法	外标法	QMAS 法	外标法	QMAS 法	外标法	QMAS 法
S1	66.234	1.126	1.131	0.061	0.054	0.138	0.139	0.924	0.917	7.862	7.881	3.982	3.964	0.274	0.285
S2	39.182	1.117	1.122	0.711	0.750	0.816	0.818	0.911	0.917	7.837	7.858	3.971	3.959	0.274	0.286
S3	57.347	1.276	1.282	0.320	0.336	0.748	0.752	0.273	0.269	2.892	2.876	1.243	1.214	0.128	0.115
S4	56.626	1.235	1.251	0.342	0.325	0.741	0.745	0.290	0.297	2.911	2.884	1.222	1.214	0.119	0.117
S5	55.424	2.463	2.478	1.084	1.067	1.345	1.351	0.649	0.658	4.783	4.767	3.431	3.409	0.263	0.272
S6	62.784	2.398	2.411	1.071	1.082	1.436	1.402	0.918	0.935	6.731	6.754	4.102	4.134	0.317	0.315
S7	62.332	2.394	2.407	1.035	1.045	1.916	1.933	0.921	0.915	6.753	6.733	4.131	4.113	0.366	0.357
S8	53.097	1.538	1.542	1.234	1.251	0.946	0.954	0.791	0.779	6.280	6.253	3.497	3.478	0.179	0.167
S9	56.862	1.283	1.271	1.282	1.268	0.363	0.386	1.284	1.300	5.980	5.931	3.572	3.564	0.359	0.345
S10	41.096	1.656	1.643	1.292	1.278	0.367	0.359	1.280	1.295	5.933	5.947	3.551	3.583	0.358	0.349
S11	54.735	0.741	0.726	0.831	0.849	0.149	0.161	0.372	0.359	4.241	4.262	1.618	1.697	0.224	0.211
S12	36.288	0.775	0.751	0.821	0.846	0.158	0.173	0.383	0.390	4.252	4.276	1.664	1.643	0.204	0.213
S13	38.091	2.287	2.268	1.035	1.008	1.180	1.175	0.540	0.552	7.572	7.599	5.842	5.895	0.059	0.058
S14	30.973	1.493	1.476	1.731	1.702	0.423	0.409	0.170	0.165	3.314	3.333	1.407	1.446	0.288	0.275
S15	60.131	1.477	1.459	1.404	1.437	0.943	0.979	0.206	0.212	2.970	2.941	1.979	1.947	1.666	1.662
S16	33.818	1.346	1.326	1.618	1.627	1.102	1.120	0.233	0.240	3.163	3.132	2.363	2.334	1.851	1.857

表9 配对 t 检验分析结果

Tab. 9 results analyzed by paired t test

待测成分	方法	$\bar{X}(\text{mg/g})$	$SD(\text{mg/g})$	平均值差值	t 值	P 值
丹参素钠	外标法	1.54	0.56	0.01	1.048	0.311
	QAMS法	1.53	0.57			
咖啡酸	外标法	0.99	0.46	-0.01	-0.621	0.544
	QAMS法	1.00	0.46			
原儿茶醛	外标法	0.80	0.52	0.00	-1.312	0.209
	QAMS法	0.80	0.52			
丹酚酸F	外标法	0.63	0.38	-0.01	-1.392	0.184
	QAMS法	0.64	0.38			
迷迭香酸	外标法	5.22	1.86	0.01	0.454	0.657
	QAMS法	5.21	1.87			
紫草酸	外标法	2.97	1.35	0.00	-0.139	0.891
	QAMS法	2.97	1.36			
丹酚酸A	外标法	0.43	0.53	0.00	1.177	0.258
	QAMS法	0.43	0.53			

当丹参入药时,忌冲洗、曝晒,以避免有效成分流失。故本研究中选择丹参药材样品(编号S1-S16)均以原药材阴干入药,以最大限度地保留丹参有效成分,能更客观全面地反映丹参内在品质。

3.2 丹参 QAMS 法质量评价

关于丹参的检验标准方法,2020年版《中国药典(一部)》规定了丹参酮类成分采用丹参酮Ⅱ_A为参照,以 f 来计算其他丹参酮类成分的含量。但相对于丹参中丰富的活性成分和广泛的应用,单一质量控制指标不能客观全面地反映丹参中各水溶性成分的含量差异和变化规律。随着近年丹参中的丹酚酸F、丹酚酸G、丹酚酸A等成分被深入研究,其更多潜在应用价值被发现。这些成分的提取方法和测定方法也倍受重视。本研究中因购买不到丹酚酸G对照品,仅选择丹酚酸F、丹酚酸A等主要活性成分为研究对象^[13-14],并采用 f 计算其他待测成分的含量,较客观地反映了丹参药材(尤其是商洛丹参)中酚酸类成分的分布规律。同时为丹参药材等级划分及道地性差异的研究提供了一种切实可行的研究方法。经耐用性评价和系统适用性试验,该方法可行且高效。QAMS法测定各成分含量与外标法测定结果无显著差异,表明该方法准确且科学。不仅可弥补对照品昂贵稀缺的不足,简化试验步骤,节省时间和成本,还可以更加科学全面地评价丹参药材的品质和等级,有助于更好地区分药材的道地性差异,为其质量控制提供有力的技术支撑^[15-19]。为了更全面地反映丹参药材的质量,今后将对其中的丹酚酸G等成分继续展开研究

和分析。

参考文献

- [1] 刘慧,开金龙. 丹参的现代研究进展[J]. 甘肃中医, 2010,23(2):70-72.
- [2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京:中国医药科技出版社,2020:77-79.
- [3] 孙磊,叶六平,于新兰,等. HPLC 相对保留时间法中参照物的优选[J]. 药物分析杂志,2020,40(3):420-428.
- [4] 李晓青,田雅娟,杜娟,等. 一测多评法测定人参花中7种人参皂苷含量[J]. 中草药,2019,50(24):6120-6124.
- [5] 徐文武,谢涛,吕东峰,等. 一测多评法同时测定红参中11种人参皂苷的含量[J]. 中草药,2021,52(7):2099-2105.
- [6] 范开,王征,黄松,等. 不同干燥方式对丹参品质的影响[J]. 天津中医药,2012,29(4):389-391.
- [7] 赵志刚. 丹参生长规律和栽培方式及加工方法的研究[D]. 北京:北京中医药大学,2014.
- [8] 贾存义. 不同干燥方法对丹参乙醇浸膏中丹参酮Ⅱ_A含量的影响[J]. 时珍国医国药,2001,12(3):211-212.
- [9] 赵成,陈久红. 不同干燥和炮制方法对丹参中丹参酮Ⅱ_A含量的影响[J]. 安徽医药,2004,8(6):410.
- [10] 邓寒霜,高宝云,王新军,等. 干燥方法对中药材丹参有效成分含量的影响[J]. 商洛学院学报,2007,21(2):54-56.
- [11] 张洪超,李伟,马晓慧,等. 丹参水溶性成分间相互转化及相互作用研究进展[J]. 医学综述,2014,20(9):1647-1649.
- [12] 王小平,白吉庆,寇文龙,等. 不同加工与贮藏方法对商洛产丹参药材品质的影响[J]. 中草药,2013,44(11):1407-1411.
- [13] 冯科冉,李伟霞,王晓艳,等. 丹参化学成分、药理作用及其质量标志物(Q-Marker)的预测分析[J]. 中草药,2022,53(2):609-618.
- [14] 李伟,李淑明,李挺洋,等. 复方丹参滴丸中君药丹参的质量标志物研究[J]. 中草药,2018,49(9):2000-2006.
- [15] 谭诗涵,伍红年,雷雅婷,等. 一测多评法测定竹节参中7种皂苷类成分的含量[J]. 中草药,2019,50(17):4164-4169.
- [16] 冯伟红,李春,吉丽娜,等. 基于高分离度和对照图谱的红参中9种人参皂苷类成分“一测多评”质量评价研究[J]. 中国中药杂志,2016,41(18):3389-3399.
- [17] 杨凌,姜涛涛,欧小洪,等. 一测多评技术在赶黄草药材质量评价中的应用[J]. 亚太传统医药,2016,12(3):19-22.
- [18] 陈晓斌,周琴妹,刘顺,等. 一测多评技术在热痹消颗粒质量评价中的应用[J]. 中国中医药信息杂志,2013,20(1):60-63.
- [19] 刘小妹,程中琴,施崇精,等. 一测多评法同时测定人参中人参皂苷Rb₁、Rg₁、Re、Rc、Rb₂、Rd[J]. 中草药,2018,49(6):1413-1417.

(收稿日期:2022-08-02;修回日期:2022-10-10)