

一测多评法同时测定祛瘀化痰通脉颗粒中12种指标成分

莫舒^{1,2}, 张洪敏^{1,2}, 韩馥蔓², 王莉鑫², 王锦玉^{2*}, 仝燕², 冯伟红², 刘建勋^{3*}

(1. 天津中医药大学, 天津 300193; 2. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700;
3. 中国中医科学院西苑医院基础医学研究所, 中药药理北京市重点实验室, 北京 100091)

[摘要] **目的:**建立一测多评法同时测定祛瘀化痰通脉颗粒中12种成分,验证此方法在复方制剂中应用的可行性和技术适应性。**方法:**以盐酸小檗碱为内参物,建立与其他11种成分(丹参素钠,丹酚酸B,隐丹参酮,丹参酮I,丹参酮II_A,阿魏酸,表小檗碱,黄连碱,盐酸巴马汀,盐酸小檗碱,绿原酸,洛伐他汀)的相对校正因子进行一测多评。同时采用外标法对这12种成分进行含量测定,通过比较2种方法的结果来验证一测多评法的准确性和可行性。**结果:**2种计算结果无显著性差异,RSD < 5%。**结论:**一测多评质量评价模式可用于祛瘀化痰通脉颗粒中多指标成分的同时质量评价。

[关键词] 一测多评法; 相对校正因子; 祛瘀化痰通脉颗粒; 阿魏酸; 质量评价; 盐酸小檗碱

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)22-0094-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2015220094

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20151022.1411.034.html>

[网络出版时间] 2015-10-22 14:11

Simultaneous Determination of Twelve Constituents in Quyu Huatan Tongmai Granules with Quantitative Analysis of Multi-components by Single-marker MO Shu^{1,2}, ZHANG Hong-min^{1,2}, HAN Fu-man², WANG Li-xin², WANG Jin-yu^{2*}, TONG Yan², FENG Wei-hong², LIU Jian-xun^{3*} (1. *Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China*; 2. *Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China*; 3. *Beijing Key Laboratory of Pharmacology of Chinese Materia Medica, Institute of Basic Medical Sciences of Xiyuan Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100091, China*)

[Abstract] **Objective:** To establish a new method for quantitative analysis on multi-components by single marker (QAMS) and validate its feasibility and technical adaptability in analysis on Quyu Huatan Tongmai granules for simultaneous determination of 12 main constituents. **Method:** Quyu Huatan Tongmai granules was chosen as research object, taking berberine hydrochloride as index component, relative correction factors of sodium danshensu, salvianolic acid B, cryptotanshinone, tanshinone I, tanshinone II_A, ferulic acid, epiberberine, coptisine, palmatine hydrochloride, chlorogenic acid and lovastatin were established by HPLC and calculated to achieve QAMS. Contents of 12 components in samples were determined with the external standard method, difference between two methods was compared and to validate correctness and adaptability of QAMS. **Result:** No significant differences were observed between quantitative results of these two methods with RSD < 5%. **Conclusion:** This established QAMS method can be used for quantitative determination of Quyu Huatan Tongmai granules. It can provide references for quality control of Chinese patent medicine.

[Key words] quantitative analysis of multi-components by single-marker; relative correction factor; Quyu Huatan Tongmai granules; ferulic acid; quality evaluation; berberine hydrochloride

[收稿日期] 20150717(021)

[基金项目] 国家“重大新药创制”科技重大专项(2013ZX09301307,2012ZX09103201-040)

[第一作者] 莫舒,在读硕士,从事中药制剂剂剂分析研究,Tel:15210230558,E-mail:moshu_2013@163.com

[通讯作者] *王锦玉,副研究员,从事中药制剂剂研究,Tel:010-84027721,E-mail:dgzwjy@126.com;

*刘建勋,研究员,从事中药学与中药药理学研究,Tel:010-62835601,E-mail:liujx0324@sina.com.cn

祛瘀化痰通脉颗粒由丹参、川芎、黄连、山楂、红曲等 7 味药材组成,是中国中医科学院西苑医院研发的中药新药,具有化痰祛瘀、清热解毒的功效,主治动脉粥样硬化性心脏病痰瘀互结证。实验研究表明该颗粒剂对急性心肌缺血具有明显的改善作用,能减少心肌缺血面积,促血管新生^[1]。原制剂以丹酚酸 B,丹参酮 II_A 和盐酸小檗碱为指标性成分,分别单独检测以进行质量控制,为更全面控制祛瘀化痰通脉颗粒的整体质量,体现中药复方多成分、多靶点、多功效的作用特点,本实验在复方的君、臣、佐和使药味中各选择代表药材,分别选取丹参素钠,丹酚酸 B,隐丹参酮,丹参酮 I,丹参酮 II_A,阿魏酸,表小檗碱,黄连碱,盐酸巴马汀,盐酸小檗碱,绿原酸和洛伐他汀 12 个成分作为检测指标,对祛瘀化痰通脉颗粒进行质量控制。由于部分对照品价格昂贵,不易获得,为降低检测成本和提高工作效率,本文尝试采用一测多评法控制祛瘀化痰通脉颗粒的质量,以提升该制剂的质量水平。

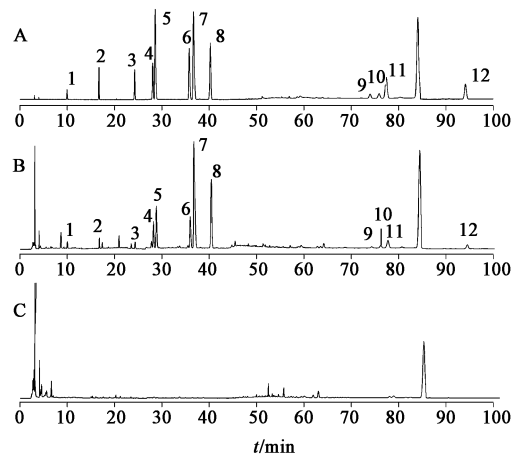
1 材料

2695 型高效液相色谱仪(美国 Waters 公司),XS105DU 型电子天平(瑞士梅特勒-托利多公司),BSA224S-CW 型电子天平(德国 Sartorius 公司)。丹参、川芎等药材均购于北京卫仁中药饮片厂,经中国中医科学院中药所生药标本室何希荣药师鉴定,均符合 2010 年版《中国药典》(一部)的有关规定;丹参素钠、隐丹参酮、盐酸小檗碱、盐酸巴马汀、洛伐他汀、绿原酸、阿魏酸、丹参酮 I 和丹参酮 II_A 对照品(中国食品药品检定研究院,批号分别为 110855-200506, 110852-200806, 110713-200911, 110732-200506, 100600-201003, 110753-200413, 110773-201012, 0867-9701, 110766-200619),表小檗碱、黄连碱对照品(自制,纯度 ≥ 98%),丹酚酸 B 对照品(成都瑞芬思生物科技有限公司,批号 D-012-110812),祛瘀化痰通脉颗粒(中国中医科学院中药研究所制剂室,批号 20140220, 20140221, 20140222),甲醇、乙腈为色谱纯,水为屈臣氏纯净水,其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 Topsil C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相乙腈(A)-0.2% 磷酸溶液(B)梯度洗脱(0 ~ 8 min, 5% ~ 9% A; 8 ~ 18 min, 9% ~ 21% A; 18 ~ 25 min, 21% A; 25 ~ 40 min, 21% ~ 25% A; 40 ~ 50 min, 25% ~ 53% A; 50 ~ 75 min, 53% A; 75 ~ 100 min, 53% ~ 65% A),流速 1 mL·min⁻¹,柱

温 30 ℃,检测波长 237 nm。见图 1。



A. 混合对照品; B. 供试品; C. 阴性样品(缺丹参、川芎、黄连、山楂、红曲); 1. 丹参素钠; 2. 绿原酸; 3. 阿魏酸; 4. 表小檗碱; 5. 黄连碱; 6. 盐酸巴马汀; 7. 盐酸小檗碱; 8. 丹酚酸 B; 9. 隐丹参酮; 10. 丹参酮 I; 11. 洛伐他汀; 12. 丹参酮 II_A

图 1 祛瘀化痰通脉颗粒 HPLC

Fig. 1 HPLC chromatograms of Quyu Huatan Tongmai granules

2.2 供试品溶液的制备 精密称取祛瘀化痰通脉

颗粒粉末(过 40 目筛)约 1.0 g,置具塞锥形瓶中,精密加入 75% 甲醇 25 mL,密塞,称定质量,超声处理(250 W, 40 kHz)20 min,放至室温,称定质量,用 75% 甲醇补足减失的质量,摇匀,静置,滤过,取续滤液,过 0.22 μm 微孔滤膜,即得。

2.3 对照品溶液的制备 精密称取丹参素钠、绿原酸、阿魏酸、表小檗碱、黄连碱、盐酸巴马汀、盐酸小檗碱、丹酚酸 B 和隐丹参酮,丹参酮 I,洛伐他汀,丹参酮 II_A 对照品适量,加 75% 甲醇制成质量浓度分别为 62.4, 44.8, 45.9, 50.3, 139.6, 108.0, 146.9, 328.8, 23.3, 14.8, 81.5, 32.0 mg·L⁻¹ 的混合对照品溶液,备用。

2.4 方法学考察

2.4.1 线性关系考察 分别精密吸取混合对照品溶液 8, 6, 4, 2, 1, 0.5 mL,用 75% 甲醇稀释并定容至 10 mL,精密吸取 10 μL 按 2.1 项下方法测定,以峰面积为纵坐标,质量浓度为横坐标,得各成分的回归方程及线性范围,结果见表 1。

2.4.2 精密度试验 取 2.4.1 项下同一混合对照品溶液,在同 1 d 内按 2.1 项下方法测定连续进样 6 次,计算丹参素钠、绿原酸、阿魏酸、表小檗碱、黄连碱、盐酸巴马汀、盐酸小檗碱、丹酚酸 B 和隐丹参酮,丹参酮 I,洛伐他汀,丹参酮 II_A 峰面积的 RSD 分别为 0.4%, 0.5%, 0.6%, 0.3%, 0.5%, 0.3%, 0.5%, 0.4%, 0.4%, 0.8%, 0.3%, 0.4%; 连续测定

表 1 12 个待测成分的回归方程、相关系数和线性范围
Table 1 Regression equations, correlation coefficients and linear ranges of twelve components in Quyu HuatanTongmai granules

成分	回归方程	r	线性范围/ μg
丹参素钠	$Y = 5.62 \times 10^6 X - 1.44 \times 10^3$	0.999 9	0.031 2 ~ 0.624
绿原酸	$Y = 1.66 \times 10^7 X - 3.87 \times 10^3$	0.999 9	0.022 4 ~ 0.448
阿魏酸	$Y = 3.34 \times 10^7 X - 7.14 \times 10^3$	1.000 0	0.023 0 ~ 0.459
表小檗碱	$Y = 3.72 \times 10^7 X - 1.17 \times 10^3$	0.999 9	0.025 2 ~ 0.503
黄连碱	$Y = 3.81 \times 10^7 X - 2.96 \times 10^4$	0.999 8	0.070 0 ~ 1.400
盐酸巴马汀	$Y = 3.09 \times 10^7 X - 1.71 \times 10^4$	0.999 9	0.054 0 ~ 1.080
盐酸小檗碱	$Y = 4.40 \times 10^7 X - 3.26 \times 10^4$	0.999 9	0.073 5 ~ 1.470
丹酚酸 B	$Y = 1.23 \times 10^7 X - 1.58 \times 10^3$	0.999 4	0.164 5 ~ 3.290
隐丹参酮	$Y = 1.89 \times 10^7 X - 7.85 \times 10^2$	1.000 0	0.011 6 ~ 0.233
丹参酮 I	$Y = 3.94 \times 10^7 X - 7.40 \times 10^2$	1.000 0	0.007 4 ~ 0.148
洛伐他汀	$Y = 3.23 \times 10^7 X - 5.81 \times 10^3$	1.000 0	0.040 8 ~ 0.815
丹参酮 II _A	$Y = 2.35 \times 10^7 X - 7.03 \times 10^3$	0.999 4	0.016 0 ~ 0.320

3 d 内,计算各成分日间精密度的 RSD 均 < 1.5%。

2.4.3 稳定性试验 取祛瘀化痰通脉颗粒粉末约 1.0 g,精密称定,按 2.2 项下方法制备供试品溶液,分别于室温下放置 0,2,4,8,10,12,24 h 后按 2.1 项下方法测定,计算丹参素钠、绿原酸、阿魏酸、表小檗碱、黄连碱、盐酸巴马汀、盐酸小檗碱、丹酚酸 B 和隐丹参酮,丹参酮 I,洛伐他汀,丹参酮 II_A 峰面积的 RSD 分别为 0.6%,1.6%,0.8%,1.6%,0.9%,0.4%,0.6%,0.7%,0.9%,1.4%,0.5%,0.8%,表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.4.4 重复性试验 取同一批号的祛瘀化痰通脉颗粒粉末,精密称定,按 2.2 项下方法平行制备 6 份供试品溶液,按 2.1 项下方法测定,计算丹参素钠、绿原酸、阿魏酸、表小檗碱、黄连碱、盐酸巴马汀、盐酸小檗碱、丹酚酸 B 和隐丹参酮,丹参酮 I,洛伐他汀,丹参酮 II_A 的平均质量分数分别为 0.498,0.180,0.130,0.504,0.815,0.793,2.390,4.590,0.086,0.078,0.357,0.097 mg·g⁻¹,RSD 分别为 1.1%,1.5%,1.2%,1.9%,1.1%,0.8%,1.0%,1.1%,1.6%,1.6%,2.2%,2.8%。

2.4.5 加样回收试验 取已知含量的同一批祛瘀化痰通脉颗粒粉末约 0.5 g,精密称定,共 6 份,加入一定量各对照品溶液,使样品含量与对照品比例约 1:1,按 2.2 项下方法制备供试品溶液,按 2.1 项下方法测定,计算丹参素钠、绿原酸、阿魏酸、表小檗碱、黄连碱、盐酸巴马汀、盐酸小檗碱、丹酚酸 B 和隐丹参酮,丹参酮 I,洛伐他汀,丹参酮 II_A 的平均

加样回收率分别为 100.0%,99.8%,100.0%,99.8%,99.9%,102.4%,100.0%,104.7%,102.4%,101.8%,102.3%,99.2%,RSD 分别为 1.5%,1.4%,1.7%,1.5%,1.4%,0.9%,1.0%,1.1%,1.6%,1.7%,0.8%,1.7%。

2.5 相对校正因子的确定

2.5.1 平均值算法 根据一测多评法原理^[2],在一定线性范围内,某一成分的浓度(C)与检测器的响应值(A)成正比,即 $f = A/C$ 。校正因子的公式为 $f_{k/s} = (C_s \times A_k) / (C_k \times A_s)$ ^[3-5],其中 A_s 为内标物峰面积, C_s 为内标物质量浓度, A_k 为待测组分的峰面积, C_k 为待测组分的质量浓度。样品中待测成分质量浓度的公式为 $C_k = (C_s' \times A_k) / (f_{k/s} \times A_s')$,其中 A_k 为样品中待测组分的峰面积, C_s' 为用外标法测得的样品中内标物质量浓度, A_s' 为内标物的峰面积。取 2.4.1 项下同一混合对照品溶液,按 2.1 项下色谱条件分别进样 30,25,20,15,10,5,1.5 μL 测定 12 种成分的峰面积。以盐酸小檗碱为内参物,计算盐酸小檗碱(S)与其他成分的 $f_{k/s}$ 。计算 7 个进样量下的 $f_{k/s}$,计算丹参素钠,绿原酸,阿魏酸,表小檗碱,黄连碱,盐酸巴马汀,丹酚酸 B,隐丹参酮,丹参酮 I,洛伐他汀,丹参酮 II_A 的平均 $f_{k/s}$ 分别为 0.128,0.376,0.758,0.842,0.864,0.701,0.283,0.432,0.905,0.735,0.531,RSD 均 < 1.5%。

2.5.2 斜率算法 根据 2.4.1 项下各对照品的标准曲线,由相对校正因子计算公式 $f_{k/s} = a_k / a_s$ (a_s 为内标物标准曲线的斜率, a_k 为其他待测成分的斜率)可快速推算出其他待测成分的含量^[6-7]。以盐酸小檗碱为内标物,分别计算丹参素钠、绿原酸、阿魏酸、表小檗碱、黄连碱、盐酸巴马汀、丹酚酸 B 和隐丹参酮,丹参酮 I,洛伐他汀,丹参酮 II_A 的 $f_{k/s}$ 分别为 0.128,0.377,0.760,0.844,0.866,0.702,0.280,0.431,0.895,0.734,0.533。

2.6 相对校正因子的耐用性评价

2.6.1 流速对相对校正因子的影响 考察不同流速(0.95,1.0,1.05 mL·min⁻¹)对各成分 f 的影响,结果丹参素钠、绿原酸、阿魏酸、表小檗碱、黄连碱、盐酸巴马汀、丹酚酸 B 和隐丹参酮,丹参酮 I,洛伐他汀,丹参酮 II_A 的 $f_{k/s}$ 分别为 0.13,0.38,0.76,0.85,0.87,0.70,0.28,0.43,0.90,0.73,0.53,RSD 均 < 1.5%,表明体流量的微小变化对各成分的 f 无显著影响。

2.6.2 柱温对相对校正因子的影响 考察不同柱温(28,30,32 $^{\circ}\text{C}$)对各成分 f 的影响,结果丹参素

钠、绿原酸、阿魏酸、表小檗碱、黄连碱、盐酸巴马汀、丹酚酸 B 和隐丹参酮,丹参酮 I,洛伐他汀,丹参酮 II_A 的 $f_{k/s}$ 分别为 0.13, 0.38, 0.76, 0.84, 0.87, 0.70, 0.28, 0.43, 0.90, 0.73, 0.53, RSD 均 < 1.5%, 表明柱温变化对各成分的 f 无显著影响。

2.6.3 色谱柱对相对校正因子的影响 考察了 7 种不同品牌色谱柱 (Topsil C₁₈, Inertsil ODS-3, Eclipse XDB-C₁₈, Symmetry C₁₈, Ultimate XB-C₁₈, Welchrom C₁₈, Xtimate C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm)) 对各成分 f 的影响。结果使用 Inertsil ODS-3 色谱柱时隐丹参酮和丹参酮 I 不能实现完全分离,使用 Eclipse XDB-C₁₈ 色谱柱时丹酚酸 B 和盐酸巴马汀色谱峰重叠,使用 Welchrom C₁₈ 色谱柱时丹参酮 II_A 在 100 min 内未能出峰;而使用 Topsil C₁₈, Symmetry C₁₈, Ultimate XB-C₁₈, Xtimate C₁₈ 色谱柱时样品中各成分实现良好的分离,这 4 根色谱柱的各成分 f 的 RSD < 5%, 平均 $f_{k/s}$ 分别为 0.128, 0.377, 0.758, 0.838, 0.867, 0.701, 0.281, 0.436, 0.895, 0.730, 0.530, 表明这 4 根色谱柱对各成分的 $f_{k/s}$ 无显著性影响。

2.7 待测组分色谱峰的定位 色谱峰的准确定位

表 3 一测多评法待测成分色谱峰的定位 (阿魏酸)

Table 3 Relative retention time determined by different instruments and columns with ferulic acid as index

色谱柱	阿魏酸			丹参素钠		绿原酸		丹酚酸 B		隐丹参酮	
	t/min	t/min	$t_{k/s}$	t/min	$t_{k/s}$	t/min	$t_{k/s}$	t/min	$t_{k/s}$	t/min	$t_{k/s}$
Topsil C ₁₈	24.250	9.969	0.41	16.727	0.69	40.15	1.656	74.020	3.05		
Symmetry C ₁₈	22.871	8.547	0.37	15.122	0.66	37.594	1.644	73.418	3.21		
Ultimate XB-C ₁₈	24.088	9.746	0.40	16.684	0.69	39.650	1.646	73.248	3.04		
Xtimate C ₁₈	24.353	9.871	0.41	16.586	0.68	40.338	1.656	74.847	3.07		

2.8 一测多评法与外标法测定结果比较 取 3 批祛瘀化痰通脉颗粒,按 2.2 项下方法制备供试品溶液,精密吸取对照品溶液和供试品溶液各 10 μL,按 2.1 项下色谱条件测定,分别采用外标法和一测多评法计算样品中 12 个成分的含量,见表 4。结果发现 2 种方法测得各成分含量无显著性差异, RSD < 5%。

3 讨论

采用二极管阵列检测器在 192 ~ 400 nm 下分别对供试品溶液和混合对照品溶液中待测成分进行全波长扫描,结果 12 个成分在 237 nm 附近均有明显吸收,且在此波长下供试品溶液中各待测成分色谱峰分离度良好,纯度角均小于纯度阈值,与分时段变波长测得的 $f_{k/s}$ 比较无明显差异。

是应用一测多评法的前提^[8-9],相对保留时间指各待测成分 k 与内参物 s 间保留时间的比值,计算公式为 $t_{k/s} = t_k/t_s$;保留时间差指各待测成分 k 与内参物 s 间保留时间的差值,计算公式为 $\Delta t_{k/s} = t_k - t_s$ 。结果表明保留时间差的波动较明显,不适合作为色谱峰的定位依据;相对保留值的波动较小,因此采用相对保留值法对待测成分进行定位较为可行。考察中发现黄连中 4 个生物碱类成分在不同色谱柱上的保留时间整体漂移,若仅采用一点定位,黄连各成分则无法准确定位,所以用盐酸小檗碱对黄连成分进行单独定位,用阿魏酸对其他成分定位,见表 2,3。

表 2 一测多评法待测成分色谱峰的定位 (盐酸小檗碱)

Table 2 Relative retention time determined by different instruments and columns with berberine hydrochloride as index

色谱柱	盐酸小檗碱		黄连碱		盐酸巴马汀		
	t/min	$t_{k/s}$	t/min	$t_{k/s}$	t/min	$t_{k/s}$	
Topsil C ₁₈	37.854	28.911	0.76	29.509	0.78	36.896	0.97
Symmetry C ₁₈	31.030	24.412	0.79	24.707	0.80	30.349	0.98
Ultimate XB-C ₁₈	42.346	32.462	0.77	33.126	0.78	41.256	0.97
Xtimate C ₁₈	42.579	32.272	0.76	33.097	0.78	41.267	0.97

盐酸小檗碱和丹酚酸 B 的化学性质较稳定,对照品相对廉价易得,以这 2 种成分作为内参物均能体现一测多评法简便快捷的特点。本文分别采用盐酸小檗碱及丹酚酸 B 作为内参物进行考察,以丹酚酸 B 为内参物时某些成分的相对校正因子 $f_{k/s}$ 波动较大;以盐酸小檗碱为内参物时,各成分间的相对校正因子较稳定,且盐酸小檗碱在供试品中含量较高、性质稳定且对照品易获。

采用平均值法计算 $f_{k/s}$ 时,在线性范围两端的校正点有时会有较大偏差,从而影响平均校正因子的准确度。采用斜率法计算时^[7-8],当相关系数 > 0.999,且斜率/截距 > 100 时,可采用标准曲线斜率之比计算 $f_{k/s}$,此法是对某一成分总趋势的描述,个别点的偏差对整个标准曲线斜率几乎无影响,相对

表 4 外标法和一测多评法测定祛瘀化痰通脉颗粒中指标成分含量的比较

Table 4 Contents of components in Quyu Huatan Tongmai granules with external standard method and quantitative analysis of multi-components by single marker mg·g⁻¹

批号	盐酸小檗碱		丹参素钠		绿原酸		阿魏酸		表小檗碱		黄连碱	
	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b
20140220	2.443		0.498	0.501	0.179	0.175	0.130	0.129	0.503	0.436	0.819	0.819
20140221	2.425		0.494	0.497	0.178	0.174	0.129	0.127	0.504	0.436	0.815	0.815
20140222	2.429		0.494	0.497	0.181	0.177	0.129	0.128	0.508	0.440	0.815	0.815

批号	盐酸巴马汀		丹酚酸 B		隐丹参酮		丹参酮 I		洛伐他汀		丹参酮 II _A	
	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b
20140220	0.798	0.800	4.600	4.596	0.086	0.089	0.078	0.077	0.358	0.357	0.096	0.095
20140221	0.795	0.797	4.569	4.565	0.084	0.087	0.078	0.077	0.358	0.357	0.097	0.096
20140222	0.794	0.797	4.588	4.583	0.085	0.088	0.078	0.077	0.356	0.355	0.094	0.093

注:a. 外标法;b. 一测多评法。

于平均值计算法更合理,故采用斜率法。

本文分别考察了 7 根不同型号的色谱柱,其中 Topsil C₁₈, Inertsil ODS-3, Symmetry C₁₈ 色谱柱的色谱行为相近,各成分出峰顺序一致,黄连中 4 个成分均在丹酚酸 B 前出峰;使用 Welchrom C₁₈, Ultimate XB-C₁₈, Xtimate C₁₈ 色谱柱时,黄连中指标成分的保留时间向后漂移,盐酸巴马汀、盐酸小檗碱后移至丹酚酸 B 后出峰。其中 Inertsil ODS-3 色谱柱对隐丹参酮和丹参酮 I 不能实现完全分离,这是因为不同色谱柱对化合物的分离能力不完全相同。使用 Welchrom C₁₈ 色谱柱时丹参酮 II_A 在 100 min 内未能出峰,是因为 Welchrom C₁₈ 色谱柱柱压较低,未能使丹参酮 II_A 在规定时间内洗脱,试调高有机相乙腈的比例,可以实现丹参酮 II_A 在 100 min 内出峰。研究认为盐酸小檗碱在不同色谱柱上保留时间波动较大,出峰顺序与其他成分发生改变^[7,10]。但通过本文考察,若将黄连成分单独定位,虽然黄连中各成分保留时间整体改变,但 4 个成分之间相对保留时间比值无明显变化,所以可采用以盐酸小檗碱对黄连中成分单独定位,根据实际情况选用阿魏酸对其他成分进行定位。在采用该方法定位的同时,若结合待测成分的紫外吸收光谱会使定位更加准确。

本试验以祛瘀化痰通脉颗粒为例,进行了方法学验证、一测多评准确性评价及方法的耐用性考察。结果表明采用一测多评法计算的结果与外标法所得结果基本一致,经 *t* 检验, $P > 0.05$, 2 种方法计算结果并无显著性差异。

[参考文献]

[1] 朱盛,杨斌,刘建勋. 祛瘀化痰通脉通脉颗粒对急性心肌缺血大鼠血管新生的影响及机制研究[J]. 中华中医药杂志,2013,28(8):2290-2293.

[2] 王智民,高慧敏,付雪涛,等. “一测多评”法中药质量评价模式方法学研究[J]. 中国中药杂志,2006,31(23):1925-1928.

[3] 林永强,徐丽华,王淑华,等. 一测多评法同步测定银黄片中 6 种咖啡酰奎宁酸[J]. 中草药,2012,43(4):706-710.

[4] 朱晶晶,王智民,张启伟,等. 一测多评法同时测定黄芩药材中 4 种黄酮类成分的含量[J]. 中国中药杂志,2009,34(24):3229-3234.

[5] 丁黎艳,周璐,王丽娜,等. 一测多评法测定补骨脂中不同类型成分的含量[J]. 中国实验方剂学杂志,2013,19(5):152-154.

[6] 何兵,刘艳,杨世艳,等. HPLC 一测多评法同时测定双青咽喉片中 10 种成分[J]. 中草药,2013,44(8):974-981.

[7] 赵倩,冯伟红,张启伟,等. “一测多评”法用于栀子金花丸多成分含量测定的可行性研究[J]. 中国中药杂志,2014,39(10):1826-1833.

[8] 李树翠,冯俭,张秋燕,等. 采用“一测多评”法测定大黄及其制剂中大黄蒽醌类成分的含量[J]. 中国实验方剂学杂志,2014,20(10):66-71.

[9] 王丹,张晶,赵晓宏. 一测多评法测定银杏叶提取物中总黄酮醇苷的含量[J]. 中国实验方剂学杂志,2014,20(7):58-62.

[10] 张梅,柴彦,任爱农,等. “一测多评”法同时测定清肺颗粒中 10 种指标成分[J]. 中国现代应用药学,2015,32(3):318-323.

[责任编辑 刘德文]