

## 基于 UPLC 及一测多评法同时测定 苁蓉总苷胶囊中的活性成分

吴金凤<sup>1,2</sup>, 王雪<sup>2,3</sup>, 潘有智<sup>2,3</sup>, 李家春<sup>2,3</sup>, 黄文哲<sup>2,3</sup>, 王振中<sup>1,2,3\*</sup>, 萧伟<sup>1,2,3</sup>

(1. 南京中医药大学, 南京 210023;

2. 江苏康缘药业股份有限公司, 江苏 连云港 222001;

3. 中药制药过程新技术国家重点实验室, 江苏 连云港 222001)

**[摘要]** 目的:采用“一测多评”(QAMS)技术建立超高效液相法(UPLC)同时测定苁蓉总苷胶囊中6种成分的分析方法,并与标准曲线法进行比较,评价一测多评法用于苁蓉总苷胶囊质量控制的技术适应性和应用可行性。**方法:**以苁蓉总苷胶囊为研究对象,有机酸类成分以绿原酸为内参物,建立其与咖啡酸的相对校正因子;苯乙醇苷类成分以毛蕊花糖苷为内参物,建立其与管花苷A,异毛蕊花糖苷,松果菊苷间的相对校正因子,同时考察了各相对校正因子的耐用性,并比较该方法与标准曲线法测定结果的差异,以验证一测多评法的准确性和可行性。**结果:**有机酸类成分绿原酸与咖啡酸的相对校正因子为0.538,苯乙醇苷类成分毛蕊花糖苷与管花苷A,异毛蕊花糖苷,松果菊苷间的相对校正因子分别为1.346,1.266和1.135,各相对校正因子的耐用性较好,10批样品QAMS法的计算结果与标准曲线法的测定结果无显著性差异,实验所得的相对校正因子可信。**结论:**QAMS法可以作为一种简便可靠的质量评价模式用于苁蓉总苷胶囊多种成分的定量测定方法。

**[关键词]** 一测多评; 苁蓉总苷胶囊; 绿原酸; 毛蕊花糖苷; 超高效液相色谱法

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2017)10-0044-06

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2017100044

**[网络出版地址]** <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20170215.0949.030.html>

**[网络出版时间]** 2017-02-15 9:49

### Determination of Active Constituents in Congrong Zonggan Capsule by UPLC and QAMS

WU Jin-feng<sup>1,2</sup>, WANG Xue<sup>2,3</sup>, PAN You-zhi<sup>2,3</sup>, LI Jia-chun<sup>2,3</sup>, HUANG Wen-zhe<sup>2,3</sup>,  
WANG Zhen-zhong<sup>1,2,3\*</sup>, XIAO Wei<sup>1,2,3</sup>

(1. Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China;

2. Jiangsu Kanion Pharmaceutical Co. Ltd., Lianyungang 222001, China;

3. State Key Laboratory of New-tech for Traditional Chinese Medicine Pharmaceutical Process,  
Lianyungang 222001, China)

**[Abstract]** **Objective:** To establish a quantitative analysis for the determination of the six components in Congrong Zonggan capsule based on multi-components with a single-marker (QAMS) method and ultra-high performance liquid chromatography (UPLC), and compare with the standard curve method, in order to evaluate the adaptation and application of QAMS method in the quality control of Congrong Zonggan capsule. **Method:** Chlorogenic acid and acteoside were used as the internal reference substances. The relative correlation factors

**[收稿日期]** 20170320(012)

**[基金项目]** 国家“重大新药创制”科技重大专项(2013ZX09402203)

**[第一作者]** 吴金凤,在读硕士,从事中药学研究, Tel:18861331582, E-mail:wangzkanionwjf@163.com

**[通讯作者]** \*王振中,博士,研究员级高级工程师,从事中药新药的研究与开发, Tel:0518-81152337, E-mail:kanionlunwen@163.com

(RCF) of caffeic acid with chlorogenic acid, as well as tubuloside A, isoacteoside and echinacoside with acteoside were calculated and established. At the same time, the durability of each RCF was investigated. The results were compared with those obtained by the standard curve method, in order to verify the accuracy and feasibility of the method. **Result:** Within the linear ranges, the RCF values of chlorogenic acid with caffeic acid was 0.538, and that of acteoside with tubuloside A, isoacteoside and echinacoside were 1.346, 1.266 and 1.135, respectively. The durability of each RCF was good. The two methods showed no significant difference in assay results for the 10 batches of samples. The obtained RCF was credible. **Conclusion:** The QAMS method is feasible and credible, and could be used to determine the multiple components in Congrong Zonggan capsule.

[**Key words**] quantitative analysis of multi-components with a single-marker; Congrong Zonggan capsule; chlorogenic acid; acteoside; UPLC

苁蓉总苷胶囊是江苏康缘药业股份有限公司独家上市品种,于 2014 年 6 月获得新药证书,为中药五类新药,处方由管花肉苁蓉中提取的肉苁蓉总苷组成,具有补肾益髓、健脑益智的作用,用于治疗髓海不足证的轻中度血管性痴呆,临床研究结果显示其能有效改善血管性痴呆患者的认知功能、生活能力、行为等<sup>[1-4]</sup>,具有较好的推广应用价值。本课题组在原有质量标准研究的基础上,对苁蓉总苷胶囊化学成分进行深入研究,鉴定出 41 个化合物,并建立苁蓉总苷胶囊中 3 种苯乙醇苷类成分(松果菊苷、毛蕊花糖苷、异毛蕊花糖苷)同时测定的定量方法<sup>[5]</sup>。但由于多数对照品价格昂贵,不易获得,直接限制了常规含量测定法在生产过程中对本品多指标质量控制的应用。目前,针对中药多成分含量测定应用中的制约问题,“一测多评”技术(quantitative analysis of multi-components with a single-marker, QAMS)应运而生,它既可以实现多成分的质量控制,又能克服对照品紧缺和检测成本高的困难<sup>[6-7]</sup>。QAMS 法以样品中对照品廉价易得的主要成分为内参物,建立该成分与其他同类成分之间的相对校正因子(relative correlation factors, RCF),再通过 RCF 计算其他成分的量,实现中药多成分质量控制的目的。该方法已在多种中药材及成方制剂中大量应用<sup>[8-18]</sup>。

为了更好地控制本品的质量,提高临床应用的安全性,本研究在原有质量标准基础上采用一测多评技术结合超高效液相色谱法(ultra high performance liquid chromatography, UPLC),对苁蓉总苷胶囊中活性成分(绿原酸、咖啡酸、松果菊苷、毛蕊花糖苷、管花苷 A 和异毛蕊花糖苷)进行快速定量研究,建立了苁蓉总苷胶囊中绿原酸与咖啡酸之间的相对校正因子,毛蕊花糖苷与松果菊苷、管花苷 A 和异毛蕊花糖苷之间的相对校正因子,

并采用相对保留时间法进行待测成分色谱峰定位,通过快速测定本品中绿原酸和毛蕊花糖苷的含量来计算其余待测成分的含量,并和标准曲线法进行比对,探讨 QAMS 法在生产实践中的适应性和应用可行性,证明该法快速、准确且适用性广,为苁蓉总苷胶囊多成分的质量评价提供依据,其中绿原酸和咖啡酸在本品中的含量测定为首次报道。

## 1 材料

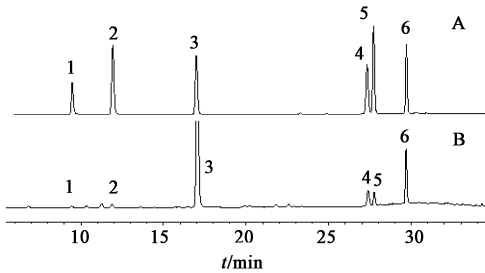
1290 Infinity 型超高效液相色谱仪(包括四元泵,自动进样器,柱温箱和 DAD 紫外检测器,美国 Agilent 公司),XP6 型电子分析天平(瑞士 Mettler Toledo 公司),BSA 224S-CW 型电子分析天平(德国 Sartorius 公司),KQ-250DB 型数控超声波清洗器(昆山超声仪器有限公司),H1650-W 型台式高速离心机(湖南湘仪实验室仪器开发有限公司),0.22 μm 微孔滤膜(上海市新亚净化器件厂);色谱柱 Agilent SB-C<sub>18</sub> RRHD (3.0 mm × 100 mm, 1.8 μm), Agilent SB-C<sub>18</sub> RRHT (3.0 mm × 100 mm, 1.8 μm), Agilent XDB-C<sub>18</sub> RRHT (3.0 mm × 100 mm, 1.8 μm)。乙腈,甲酸为色谱纯,水为超纯水,其余试剂均为分析纯。

对照品绿原酸(批号 110753-201415),咖啡酸(批号 110885-200102),松果菊苷(批号 111670-201505),毛蕊花糖苷(批号 111530-201310)由中国食品药品检定研究院提供;对照品管花苷 A(批号 150629),异毛蕊花糖苷(批号 15111802)由成都普菲德生物技术有限公司提供。苁蓉总苷胶囊(批号分别为 1310011, 1310021, 1310031, 140201, 140202, 140203, 150302, 150303, 160501, 160902),由江苏康缘药业股份有限公司提供。

## 2 方法与结果

2.1 色谱条件 Agilent SB-C<sub>18</sub> RRHD 色谱柱

(3.0 mm × 100 mm, 1.8 μm), 以乙腈(A)-0.1% 甲酸水溶液(B)为流动相梯度洗脱(0~5 min, 9%~13% A; 5~15 min, 13%~15% A; 15~22 min, 15%~17% A; 22~27 min, 17%~23% A; 27~35 min, 23%~35% A), 流速 0.2 mL·min<sup>-1</sup>, 柱温 30 ℃, 检测波长 330 nm, 进样量 2 μL。此条件下各待测成分分离度良好, 色谱图见图 1。



A. 混合对照品; B. 苁蓉总苷胶囊供试品; 1. 绿原酸; 2. 咖啡酸; 3. 松果菊苷; 4. 毛蕊花糖苷; 5. 管花苷 A; 6. 异毛蕊花糖苷

图 1 混合对照品溶液和苁蓉总苷胶囊供试品溶液在 330 nm 处的 UPLC

Fig. 1 UPLC chromatogram of mixed reference substances and Congrong Zonggan capsule sample at 330 nm

**2.2 对照品溶液和供试品溶液的制备** 精密称取绿原酸, 咖啡酸, 毛蕊花糖苷, 管花苷 A, 异毛蕊花糖苷, 松果菊苷对照品适量, 分别加入甲醇溶解并稀释制成每 1 mL 中含 7.43, 10.20, 109.46, 123.97, 210.40, 1 214.24 μg 的混合对照品溶液, 摇匀, 即得。

取苁蓉总苷胶囊内容物约 0.15 g, 精密称定, 置锥形瓶中, 精密加入甲醇 50 mL, 超声 30 min (250 W, 40 kHz), 放冷, 再精密量取 1 mL 到 10 mL 量瓶, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 离心 (12 000 r·min<sup>-1</sup>, 5 min), 取上清液, 即得。

**2.3 线性关系考察** 分别精密吸取混合对照品溶液 0.25, 0.5, 1.0, 2.0, 4.0, 10.0 mL 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 分别精密吸取上述溶液各 2 μL, 注入超高效液相色谱仪, 测定, 以对照品质量浓度为横坐标 (X), 以峰面积积分值为纵坐标 (Y), 进行线性回归, 得回归方程, 绿原酸  $Y = 26.11X + 0.072 23$  ( $r = 0.999 99$ ), 线性范围 1.858 ~ 74.315 μg; 咖啡酸  $Y = 46.899X + 2.243 5$  ( $r = 0.999 99$ ), 线性范围 2.550 ~ 102.000 μg; 毛蕊花糖苷  $Y = 16.21X + 0.993 38$  ( $r = 0.999 99$ ), 线性范围 27.364 ~ 1 094.550 μg; 管花苷 A  $Y = 12.104X - 0.542 41$  ( $r = 0.999 97$ ), 线性范围 30.993 ~

1 239.702 μg; 异毛蕊花糖苷  $Y = 12.825X + 1.810 2$  ( $r = 0.999 99$ ), 线性范围 52.602 ~ 2 104.064 μg; 松果菊苷  $Y = 14.792X - 82.167$  ( $r = 0.999 85$ ), 线性范围 303.559 ~ 12 142.355 μg。

**2.4 精密度试验** 精密吸取高, 中, 低不同浓度混合对照品溶液, 连续进样 6 次, 记录峰面积, 结果绿原酸, 咖啡酸, 毛蕊花糖苷, 管花苷 A, 异毛蕊花糖苷, 松果菊苷峰面积的 RSD 分别为 0.4%, 0.2%, 0.2%, 0.2%, 0.2%, 1.0% (高); 1.4%, 1.2%, 1.1%, 1.0%, 1.1%, 1.7% (中); 0.9%, 0.6%, 0.6%, 0.6%, 0.7%, 0.8% (低), 表明在此条件下仪器精密度良好。

**2.5 稳定性试验** 取混合对照品溶液和供试品溶液 (批号 1310011), 分别于 0, 2, 4, 8, 12, 16, 20, 24 h 进样测定, 计算峰面积的 RSD。结果混合对照品溶液中绿原酸, 咖啡酸, 毛蕊花糖苷, 管花苷 A, 异毛蕊花糖苷, 松果菊苷峰面积的 RSD 分别为 1.0%, 0.7%, 0.7%, 0.6%, 0.5%, 0.5%; 供试品溶液中绿原酸, 咖啡酸, 毛蕊花糖苷, 管花苷 A, 异毛蕊花糖苷, 松果菊苷峰面积的 RSD 分别为 1.0%, 2.0%, 1.8%, 1.6%, 0.9%, 1.2%, 表明混合对照品溶液和供试品溶液在 24 h 内稳定性均较好。

**2.6 重复性试验** 取供试品溶液 (批号 1310011) 按供试品溶液制备方法平行制备 6 份, 按上述色谱条件测各成分质量分数, 计算 RSD, 结果供试品溶液中绿原酸, 咖啡酸, 毛蕊花糖苷, 管花苷 A, 异毛蕊花糖苷, 松果菊苷质量分数分别为 0.07%, 0.12%, 1.94%, 1.60%, 6.24%, 29.81%, RSD 分别为 2.2%, 1.4%, 1.8%, 2.0%, 0.6%, 0.4%, 表明该方法的重复性较好。

**2.7 加样回收试验** 精密称取苁蓉总苷胶囊装量差异项下内容物 (批号 1310011), 平行 9 份, 分 3 组, 分别依次加入低、中、高 3 种不同浓度 (低、中、高浓度对照品溶液加入量为所取供试品溶液待测成分质量分数的 50%, 100%, 150%) 的绿原酸, 咖啡酸, 毛蕊花糖苷, 管花苷 A, 异毛蕊花糖苷, 松果菊苷对照品, 按上述色谱条件测定各成分质量分数, 计算加样回收率与 RSD, 结果绿原酸, 咖啡酸, 毛蕊花糖苷, 管花苷 A 和异毛蕊花糖苷和松果菊苷的平均加样回收率分别为 97.34%, 100.96%, 99.29%, 103.27%, 102.41%, 98.72%; RSD 分别为 1.1%, 2.0%, 1.6%, 1.3%, 1.5%, 1.8%, 表明此方法的回收率良好。

## 2.8 相对校正因子的确定

**2.8.1 相对校正因子的测定** 取 2.3 项下混合对照品溶液,每个样品进样 2 次,测定各成分的峰面积,计算各成分的平均峰面积,根据相对校正因子的计算公式: $f_{s/i} = f_s / f_i = (A_s / C_s) / (A_i / C_i)$ ,式中  $A_s$  为内参物对照品 s 的峰面积; $C_s$  为内参物对照品 s 的浓度; $A_i$  为某待测成分对照品 i 的峰面积; $C_i$  为某待测成分对照品 i 的浓度。本实验以绿原酸作为内参物计算咖啡酸的  $f_{s/i}$ ,以毛蕊花糖苷作为内参物计算管花苷 A,异毛蕊花糖苷和松果菊苷的  $f_{s/i}$ ,结果  $f_{\text{绿原酸/咖啡酸}}$ ,  $f_{\text{毛蕊花糖苷/管花苷 A}}$ ,  $f_{\text{毛蕊花糖苷/异毛蕊花糖苷}}$ ,  $f_{\text{毛蕊花糖苷/松果菊苷}}$  分别为 0.538, 1.346, 1.266, 1.135; RSD 分别为 2.1%, 0.3%, 0.4%, 1.7%, 结果见表 1。

表 1 各成分的相对校正因子

Table 1 Relative correlation factor values of each component

No.	$f_{\text{绿原酸/咖啡酸}}$	$f_{\text{毛蕊花糖苷/管花苷 A}}$	$f_{\text{毛蕊花糖苷/异毛蕊花糖苷}}$	$f_{\text{毛蕊花糖苷/松果菊苷}}$
1	0.555	1.339	1.265	1.097
2	0.545	1.350	1.257	1.135
3	0.537	1.348	1.266	1.143
4	0.536	1.348	1.267	1.141
5	0.533	1.354	1.271	1.148
6	0.522	1.349	1.268	1.142

**2.8.2 不同流速对  $f_{s/i}$  的影响** 考察流速分别为 0.19, 0.20, 0.21 mL·min<sup>-1</sup> 时,其对各成分  $f_{s/i}$  的影响,结果 RSD 分别为 0.4%, 1.9%, 1.5%, 2.0%, 表明微调体积流量对各成分  $f_{s/i}$  无显著影响。

**2.8.3 不同柱温对  $f_{s/i}$  的影响** 考察柱温分别为 28, 30, 32 °C 时,其对各成分  $f_{s/i}$  的影响,结果 RSD 分别为 0.5%, 2.7%, 1.9%, 2.5%, 表明微调柱温对各成分  $f_{s/i}$  无显著影响。

**2.8.4 不同检测波长对  $f_{s/i}$  的影响** 考察检测波长分别为 328, 330, 332 nm 时,其对各成分  $f_{s/i}$  的影响,结果 RSD 分别为 2.1%, 0.7%, 1.8%, 0%, 表明微调检测波长对各成分  $f_{s/i}$  无显著影响。

**2.8.5 不同色谱柱对  $f_{s/i}$  的影响** 考察同品牌同规格的不同色谱柱 Agilent SB-C<sub>18</sub> RRHD (3.0 mm × 100 mm, 1.8 μm), Agilent SB-C<sub>18</sub> RRHT (3.0 mm × 100 mm, 1.8 μm), Agilent XDB-C<sub>18</sub> RRHT (3.0 mm × 100 mm, 1.8 μm) 对各成分  $f_{s/i}$  的影响,结果 RSD 分别为 0.5%, 1.0%, 1.5%, 0.4%, 表明这 3 根同品牌色谱柱对各成分  $f_{s/i}$  无显著影响。

**2.8.6 不同实验人员对  $f_{s/i}$  的影响** 考察不同实验

人员(实验人员 A, 实验人员 B, 实验人员 C) 对各成分  $f_{s/i}$  的影响,结果 RSD 分别为 1.7%, 1.8%, 0.6%, 1.1%, 表明不同实验人员操作对各成分  $f_{s/i}$  无显著影响。

**2.8.7 不同仪器对  $f_{s/i}$  的影响** 考察同品牌同型号的两台不同仪器(仪器 1, 仪器 2) 对各成分  $f_{s/i}$  的影响,结果 RSD 分别为 0.5%, 1.0%, 2.6%, 1.2%, 表明不同仪器操作对各成分  $f_{s/i}$  无显著影响。

**2.8.8 各耐用性因素对  $f_{s/i}$  的综合影响** 综合以上各种因素,  $f_{\text{绿原酸/咖啡酸}}$ ,  $f_{\text{毛蕊花糖苷/管花苷 A}}$ ,  $f_{\text{毛蕊花糖苷/异毛蕊花糖苷}}$ ,  $f_{\text{毛蕊花糖苷/松果菊苷}}$  RSD 分别为 1.0%, 1.7%, 1.6%, 1.8%, 结果见表 2。

表 2 各种因素对相对校正因子的综合影响

Table 2 Effects of relative correlation factors

影响因素		$f_{\text{绿原酸/咖啡酸}}$	$f_{\text{毛蕊花糖苷/管花苷 A}}$	$f_{\text{毛蕊花糖苷/异毛蕊花糖苷}}$	$f_{\text{毛蕊花糖苷/松果菊苷}}$
		流速/mL·min <sup>-1</sup>	0.20	0.533	1.320
	0.19	0.532	1.262	1.301	1.182
	0.21	0.529	1.333	1.311	1.181
柱温/°C	28	0.534	1.271	1.308	1.195
	30	0.533	1.320	1.274	1.142
	32	0.529	1.338	1.322	1.189
波长/nm	328	0.523	1.315	1.254	1.142
	330	0.533	1.320	1.274	1.142
	332	0.545	1.302	1.299	1.142
实验人员	A	0.533	1.320	1.274	1.142
	B	0.527	1.274	1.280	1.121
	C	0.544	1.300	1.290	1.143
色谱柱	Agilent 1	0.533	1.320	1.274	1.142
	Agilent 2	0.538	1.297	1.294	1.138
	Agilent 3	0.537	1.319	1.312	1.147
仪器	仪器 1	0.533	1.320	1.274	1.142
	仪器 2	0.529	1.302	1.323	1.163

**2.9 待测组分数谱峰的定位** 本研究采用相对保留时间进行待测成分色谱峰的定位,咖啡酸,管花苷 A,异毛蕊花糖苷和松果菊苷的平均相对保留时间分别为 0.790, 0.987, 0.928, 1.603, RSD 分别为 1.0%, 0.2%, 0.4%, 0.5%。

**2.10 QAMS 法与标准曲线法测定结果的比较** 采用标准曲线法对苁蓉总苷胶囊进行多种成分同时测定,再用建立的 QAMS 法进行定量计算,以验证 QAMS 法用于苁蓉总苷胶囊中多指标质量评价的准确性,结果见表 3,两种方法测得的苯乙醇苷类各成分的含量无显著性差异,相对偏差(RD) < 5%,表明建立的方法具有可靠性。

表 3 标准曲线法(a)与 QAMS 法(b)测定咖啡酸,管花苷 A,异毛蕊花糖苷和松果菊苷

Table 3 Determination of caffeic acid, tubuloside A, isoacteoside and echinacoside by QAMS and standard curve method

批号	管花苷 A			偏差	异毛蕊花糖苷			偏差	松果菊			绿原酸	咖啡酸			偏差
	毛蕊花糖苷	a 法 b 法			a 法	b 法	a 法		b 法	a 法	b 法		a 法	b 法		
1310011	1.89	1.65	1.63	1.3	6.18	6.17	0.1	28.88	27.89	3.4	0.07	0.11	0.12	8.5		
1310021	1.51	1.96	1.94	1.4	9.25	9.19	0.6	32.57	31.59	3.0	0.06	0.17	0.17	3.6		
1310031	1.99	1.75	1.73	1.3	6.49	6.48	0.1	30.22	29.22	3.3	0.07	0.11	0.12	8.3		
140201	1.90	1.51	1.49	1.6	6.26	6.25	0.2	28.96	27.78	4.1	0.07	0.11	0.12	5.8		
140202	1.52	1.63	1.60	1.7	8.07	8.03	0.6	30.20	29.06	3.8	0.06	0.16	0.17	4.7		
140203	1.56	1.67	1.64	1.6	8.19	8.14	0.6	30.80	29.63	3.8	0.07	0.17	0.17	5.2		
150302	2.19	1.70	1.68	1.2	7.09	7.08	0.1	31.50	30.52	3.1	0.06	0.17	0.17	5.9		
150303	1.94	1.80	1.77	1.3	7.40	7.38	0.2	31.53	30.47	3.4	0.07	0.11	0.12	8.2		
160501	1.98	1.84	1.82	1.3	7.54	7.52	0.2	32.14	31.12	3.2	0.07	0.13	0.13	7.6		
160902	1.78	1.94	1.92	1.4	7.87	7.84	0.4	32.39	31.31	3.3	0.07	0.12	0.13	7.4		

### 3 讨论

#### 3.1 色谱条件的选择

**3.1.1 检测波长的选择** 本实验在 190 ~ 400 nm 对供试品溶液中待测成分进行了全波长扫描,结果绿原酸,咖啡酸,松果菊苷,毛蕊花糖苷,管花苷 A 和异毛蕊花糖苷在 325 ~ 335 nm 波长处均有最大吸收峰,因此选择 330 nm 作为检测波长,结果表明在此检测波长条件下,各待测成分分离度良好。

**3.1.2 柱温的选择** 采用 Agilent1290 超高效液相色谱系统和 Agilent C<sub>18</sub> 色谱柱,分别考察了不同柱温(25, 28, 30, 32, 35 °C)对各相对校正因子的影响,结果 25 °C 条件下毛蕊花糖苷与管花苷 A 不能完全分离,35 °C 条件下咖啡酸与相邻色谱峰不能完全分离,表明此方法对柱温有一定的耐用范围受限,在 28 ~ 32 °C 耐用性良好。

**3.2 供试品溶液制备方法的选择** 本实验进行了不同提取溶剂,不同提取方式,不同提取时间,不同溶剂用量的供试品溶液制备方法的考察。通过考察 30%, 50%, 70%, 100% 甲醇, 30%, 50%, 70%, 100% 乙醇发现,100% 甲醇作为提取溶剂时得到的峰形较好且待测成分含量较高;考察不同提取方式(超声,回流)的不同提取时间(5, 10, 15, 30, 45, 60 min)发现,超声与回流方式对含量影响不大,由于超声较方便,故选超声作为提取方式,且待测成分含量随超声时间呈递增趋势,但 30 min 后含量变化不大,故最终选择超声 30 min。

#### 3.3 QAMS 法与标准曲线法测定结果的比较

##### 3.3.1 苯乙醇苷类成分 2 种方法测定结果的比较

对标准曲线法与 QAMS 法测得的结果进行比较

时,苯乙醇苷类各成分管花苷 A,异毛蕊花糖苷和松果菊苷的含量偏差均 < 5%,由于毛蕊花糖苷和松果菊苷的含量相差较大,使得两种方法测得的结果偏差较其他两种成分稍大,但均在偏差允许的范围内,表明本实验制定的 QAMS 法对苁蓉总苷胶囊中苯乙醇苷类成分的含量测定可靠。

##### 3.3.2 有机酚酸类成分两种方法测定结果的比较

对于有机酚酸类成分咖啡酸,虽然 QAMS 法其他可行性研究均满足要求,但 2 种方法测得的含量结果偏差 > 5%。分析其可能的原因,一是咖啡酸与绿原酸在苁蓉总苷胶囊中的含量较低,二是结构差异,由于两者结构相差一个奎宁酸的结构,紫外吸收会有一定的差异,从而导致 QAMS 法和回归曲线法的含量结果有所差异。因此,从含量测定准确性的角度出发,建议苁蓉总苷胶囊中的绿原酸和咖啡酸采用外标法或线性回归方程法进行含量测定。

本研究采用超高效液相色谱法对苁蓉总苷胶囊进行多成分含量同时测定,极大地节约了分析时间和流动相溶剂用量;且首次将 QAMS 法运用到苁蓉总苷胶囊的多指标质量评价模式中,并对所建立的 QAMS 法同时测定多种成分进行了相关可行性研究,结果表明 QAMS 法在对照品紧缺及多指标成分检测成本昂贵的情况下能显示出巨大的优势,进而证明 QAMS 法在中药的多指标质量控制和评价模式中具有良好的应用前景。

#### [参考文献]

- [1] 张彦红,朱磊,梁伟雄. 苁蓉总苷胶囊治疗髓海不足型轻中度血管性痴呆 40 例[J]. 中医研究, 2012, 25 (6): 41-44.
- [2] 安军明,柯铁军. 苁蓉总苷胶囊治疗血管性痴呆 99

- 例[J]. 陕西中医学院学报, 2011, 34(2): 36-37.
- [3] 王晴. 肉苁蓉总苷胶囊治疗阿尔茨海默病的临床研究[J]. 海峡药学, 2009, 21(3): 103-104.
- [4] 苑斌, 赵卫生, 陈娟, 等. 苁蓉总苷胶囊治疗痴呆的神经精神症状的随机对照双盲临床试验[J]. 中国现代药物应用, 2009, 3(18): 30-32.
- [5] 杨素德, 胡军华, 李家春, 等. HPLC法同时测定苁蓉总苷胶囊中松果菊苷, 毛蕊花糖苷, 异毛蕊花糖苷的含量[J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2015, 17(3): 609-613.
- [6] 王智民, 高慧敏, 符雪涛, 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.
- [7] 王智民, 钱忠直, 张启伟, 等. 一测多评法建立的技术指南[J]. 中国中药杂志, 2011, 36(6): 657-658.
- [8] 林青, 匡艳辉, 黄琳, 等. 一测多评法测定穿心莲及其制剂中内酯类成分[J]. 中草药, 2012, 43(12): 2406-2411.
- [9] 陈静, 王淑美, 孟江, 等. 一测多评法测定苦参中5种生物碱的含量[J]. 中国中药杂志, 2013, 38(9): 1406-1410.
- [10] 张锴镔, 冯伟红, 王智民, 等. 一测多评法与外标法测定新清宁片中大黄蒽醌类成分含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 8(11): 61-65.
- [11] 杨菲, 冯伟红, 王智民, 等. 一测多评法测定银黄制剂中4种黄酮类成分含量[J]. 中国药学杂志, 2012, 47(12): 984-988.
- [12] 林芳, 王云红, 万丽, 等. 一测多评法结合指纹图谱对杜仲质量控制的研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(13): 78-82.
- [13] 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.
- [14] 何兵, 刘艳, 杨世艳, 等. 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.
- [15] 张德培, 罗源生, 贺凡珍, 等. 酒大黄中5种蒽醌类成分一测多评方法的建立[J]. 中药材, 2012, 35(4): 588-590.
- [16] 池絮影, 崔日新, 张蜀, 等. 一测多评法测定板蓝根颗粒中4种成分的含量[J]. 中国生化药物杂志, 2015, 35(10): 137-140.
- [17] 孟江, 卢国勇, 程轩轩, 等. 一测多评法同时测定干姜中4种姜酚类成分的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(7): 77-80.
- [18] 程丽丽, 许妍妍, Nyirimigabo E, 等. 一测多评法测定乌头类药材中生物碱[J]. 现代药物与临床, 2013, 28(4): 528-534.

[责任编辑 顾雪竹]