

## 一测多评法测定不同丹参制剂中4个酚酸成分

梁文仪<sup>1</sup>, 袁永兵<sup>2</sup>, 陈文静<sup>1</sup>, 吴玲芳<sup>1</sup>, 李 师<sup>1</sup>, 亓 旗<sup>1</sup>, 崔雅萍<sup>1</sup>, 梁林金<sup>1</sup>, 叶 婷<sup>1</sup>, 张兰珍<sup>1\*</sup>

1. 北京中医药大学中药学院, 北京 100102

2. 天津药物研究院, 天津 300193

**摘要:** **目的** 建立同时适用于5种丹参制剂(丹参片、复方丹参片、冠心丹参胶囊、心可舒片、双丹胶囊)中4个酚酸类成分一测多评的含量测定方法。**方法** 采用高效液相色谱法,以丹参素为内参物,建立原儿茶醛、迷迭香酸、丹酚酸B与丹参素的相对校正因子,比较相对保留值法和保留时间差法对成分定位的影响,并采用外标法验证结果的可靠性。**结果** 采用相对保留值法可对待测成分进行准确定位,所建立的相对校正因子耐用性良好,原儿茶醛、迷迭香酸、丹酚酸B相对于丹参素的相对保留值分别为1.894、5.379、6.599,相对校正因子分别为6.611、3.845、2.059,采用外标法验证结果无显著性差异。**结论** 该方法稳定、可靠,可为上述丹参制剂质量控制提供参考。

**关键词:** 丹参制剂; 丹酚酸; 一测多评; 丹参片; 冠心丹参胶囊; 心可舒片; 双丹胶囊

**中图分类号:** R282.710.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376(2018)05-0828-08

**DOI:** 10.7501/j.issn.1674-6376.2018.05.019

## Study on the determination of four phenolic acids in different Danshen preparations by QAMS

LIANG Wenyi<sup>1</sup>, YUAN Yongbing<sup>2</sup>, CHEN Wenjing<sup>1</sup>, WU Lingfang<sup>1</sup>, LI Shi, QI Qi, CUI Yaping<sup>1</sup>, LIANG Linjin<sup>1</sup>, YE Ting<sup>1</sup>, ZHANG Lanzhen<sup>1</sup>

1. School of Chinese Materia Medica, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100102, China

2. Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300193, China

**Abstract: Objective** A simple, rapid and low-cost quantitative analysis method of multi-components by single marker (QAMS) was developed to the determination of danshensu, protocatechuic aldehyde, rosmarinic acid and salvianolic acid B in Danshen preparations (Danshen Tablet, Fufang Danshen Tablet, Guanxin Danshen Capsule, Xin-Ke-Shu Tablet, Shuangdan Capsule). **Methods** Danshensu was selected as the internal reference standard, and the relative correction factors were calculated between other three components with danshensu. The relative retention value method and the retention time difference method were compared on the component localization. The external standard method was used to verify the reliability of the QAMS results. **Results** The results showed the relative correction factors of protocatechuic aldehyde, rosmarinic acid and salvianolic acid B were 6.611, 3.845, 2.059, respectively. The relative retention times of protocatechuic aldehyde, rosmarinic acid and salvianolic acid B were 0.314, 0.518, and 0.561, respectively, for accurate location. The QAMS method could assure to obtain consistent results with the external standard method. **Conclusion** This proposed QAMS method could provide an effective strategy for routine quantitative analysis and quality control of Danshen preparations.

**Key words:** Danshen preparations; salvianolic acids; QAMS; Danshen Tablet; Guanxin Danshen Capsule; Xin-Ke-Shu Tablet; Shuangdan Capsule

丹参为我国常用中药,是唇形科植物丹参 *Salvia miltiorrhiza* Bge. 的干燥根及根茎,具有活血祛瘀、通经止痛、清心除烦、凉血消痈等功效<sup>[1]</sup>。

以丹参为君药制备的成药制剂临床应用广泛,如丹参片、复方丹参片、冠心丹参胶囊、心可舒片、双丹胶囊等,均可用于冠心病、心绞痛等疾病的治疗。

收稿日期: 2018-01-23

基金项目: 国家科技支撑计划: 基于本草基因组的中药材活性成分合成及育种示范研究(2012BAI29B01)

第一作者: 梁文仪,女,研究方向为中药质量控制方法研究。E-mail: lwy1054289310@163.com

\*通信作者: 张兰珍,女,博士,研究员,博士生导师,研究方向为中药药效物质基础及质量控制。E-mail: zhanglanzhen01@126.com

水溶性酚酸类成分是丹参及其制剂中的主要药效成分,如丹参素、原儿茶醛、迷迭香酸、丹酚酸 B、丹酚酸 A 等,具有保护心脑血管、抗肿瘤、抗氧化、抗炎、抗纤维化等作用<sup>[2]</sup>。目前,除吴笛等<sup>[3]</sup>已建立复方丹参片中酚酸类成分的一测多评(QAMS)定量测定方法外,相关药品标准及报道<sup>[4-8]</sup>对上述 5 种制剂的质量控制主要以外标法(ESM)测定其中一个或少数几个活性成分含量,对照品消耗较多,测定成本高。因此,在课题组前期 QAMS 定量测定丹参制剂中二萜醌类成分的基础上<sup>[9]</sup>,本研究以丹参素(DSS)为内参物,通过确定其与原儿茶醛(PAL)、迷迭香酸(RA)和丹酚酸 B(SAB)之间的相对校正因子和成分定位方法,建立同时适用于 5 种丹参制剂中酚酸类成分的 QAMS 质量评价模式,以实现仅采用同一色谱条件和对对照品对不同丹参制剂品种中酚酸类成分质量控制的目的。

## 1 仪器与材料

### 1.1 仪器

Waters e2698 HPLC 色谱仪,配有 2998 二极管阵列检测器,Empower 3 工作站(美国 Waters 公司)

(Waters); Agilent 1100 HPLC 色谱仪,配有 G1315B 二极管阵列检测器,Agilent Chemstation 工作站(美国 Agilent 公司)(Agilent); Sartorius BT25S 型十万分之一分析天平(北京赛多利斯仪器有限公司); OHAUS AX124ZH 型万分之一分析天平(常州奥豪斯仪器有限公司); KQ-500DE 超声波清洗仪(昆山超声仪器有限公司)等。色谱柱: Agilent Eclipse XDB C<sub>18</sub> 柱(XDB)、Agilent Zorbax SB C<sub>18</sub> 柱(SB)、Waters Xbridge C<sub>18</sub> 柱(XB),规格均为 250 mm×4.6 mm, 5 μm。

### 1.2 试药

DSS、PAL、RA 与 SAB 对照品(成都曼斯特生物科技有限公司,批号分别为 15082714、14110712、14111507、15081916),纯度均大于 98%。乙腈、甲酸(Fisher,色谱纯);屈臣氏纯净水;其余试剂均为分析纯。丹参片(D)、复方丹参片(F)、冠心丹参胶囊(G)、心可舒片(X)、双丹胶囊(S)均购自各地药店,样品详情见表 1。G 和 S 倾出内容物,之后将 5 种制剂分别研细,备用。

表 1 样品信息表

Table 1 Information of samples

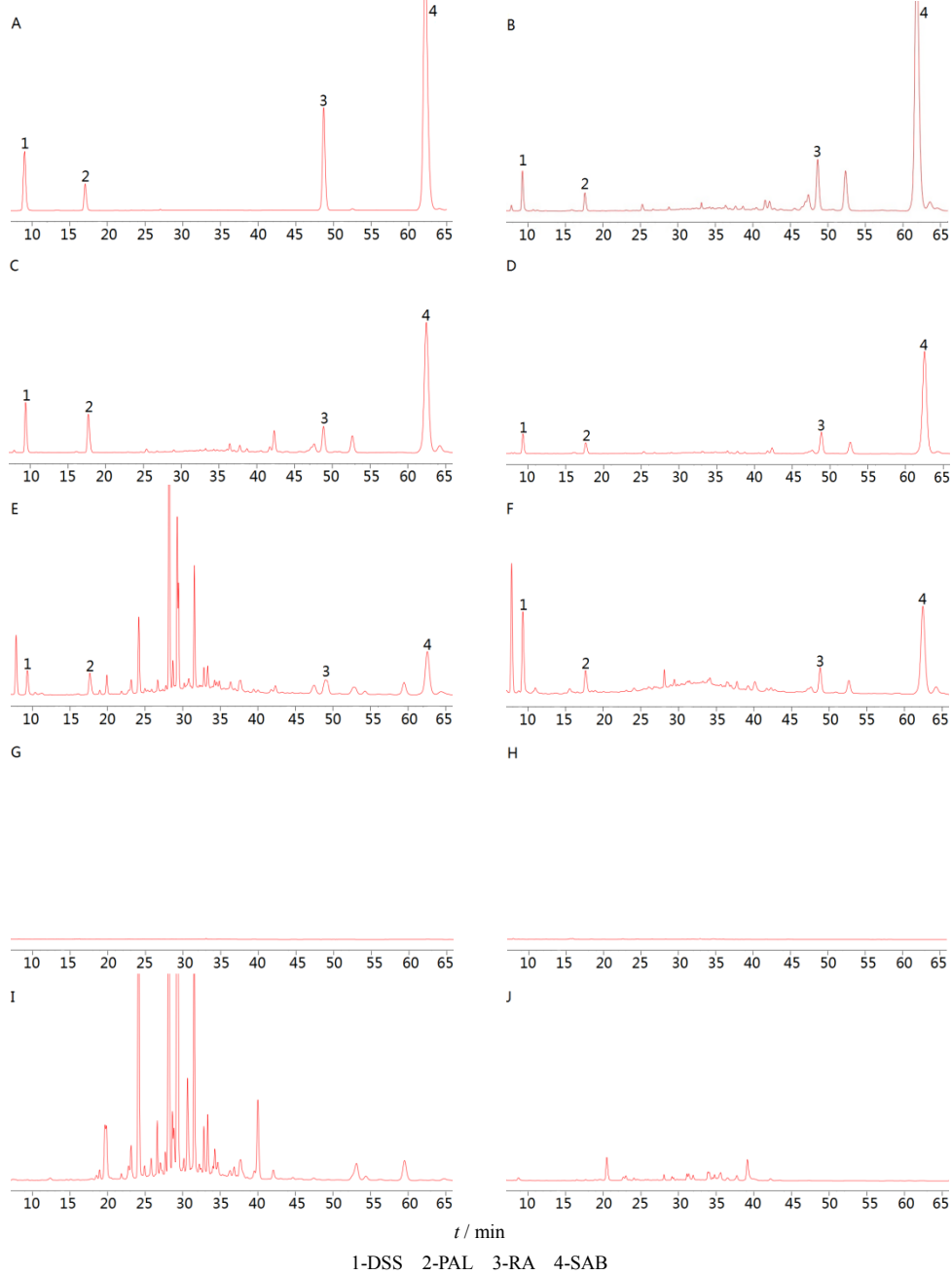
编号	生产厂家	生产批号	编号	生产厂家	生产批号
D1	上海雷允上药业有限公司	141025	G5	国药控股深圳中药有限公司	150903
D2	上海雷允上药业有限公司	150301	G6	国药控股深圳中药有限公司	151206
D3	上海雷允上药业有限公司	150534	G7	国药控股深圳中药有限公司	151211
D4	上海雷允上药业有限公司	150744	G8	国药控股深圳中药有限公司	151212
D5	上海雷允上药业有限公司	150823	G9	国药控股深圳中药有限公司	151218
D6	上海雷允上药业有限公司	151053	G10	包头中药有限公司	F15005
D7	上海雷允上药业有限公司	151054	X1	山东沃华医药科技有限公司	0141174
D8	上海雷允上药业有限公司	151072	X2	山东沃华医药科技有限公司	0150573
D9	上海雷允上药业有限公司	151128	X3	山东沃华医药科技有限公司	0151198
D10	上海黄海制药有限公司	150507	X4	山东沃华医药科技有限公司	0151199
D11	上海黄海制药有限公司	151207	X5	山东沃华医药科技有限公司	0151229
F1	北京同仁堂制药厂	14121076	X6	山东沃华医药科技有限公司	0151248
F2	北京同仁堂制药厂	14121421	X7	山东沃华医药科技有限公司	0260101
F3	北京同仁堂制药厂	15121251	X8	山东沃华医药科技有限公司	0160269
F4	北京同仁堂制药厂	15121256	X9	山东沃华医药科技有限公司	0160385
F5	广州白云山和记黄埔中药厂	K4A029	X10	山东沃华医药科技有限公司	0160448
F6	广州白云山和记黄埔中药厂	I5A006	S1	广州莱泰制药有限公司	150401
F7	广东罗浮山国药股份公司	L160301	S2	广州莱泰制药有限公司	150402
F8	广东一力制药公司	3120513	S3	广州莱泰制药有限公司	150701
F9	广东在田药业公司	151101	S4	广州莱泰制药有限公司	151201
F10	重庆东方药业公司	141001	S5	广州莱泰制药有限公司	151204
F11	云南白药有限公司	ZDA1548	S6	广州莱泰制药有限公司	160104
G1	国药控股深圳中药有限公司	150105	S7	广州莱泰制药有限公司	160501
G2	国药控股深圳中药有限公司	150603	S8	广州莱泰制药有限公司	160504
G3	国药控股深圳中药有限公司	150606	S9	广州莱泰制药有限公司	160602
G4	国药控股深圳中药有限公司	150706	S10	广州莱泰制药有限公司	160701

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱为 Agilent Eclipse XDB C<sub>18</sub> 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为乙腈 (A) -0.1% 甲酸/水 (B); 梯度洗脱程序为 0~8 min, 5% A; 8~

20 min, 5%~10% A; 20~30 min, 10%~18% A; 30~55 min, 18%~20% A; 55~65 min, 20% A; 体积流量为 1 mL/min; 检测波长 286 nm; 柱温 30 °C; 进样量 20 μL。在上述条件下, 待测成分全部出峰, 且色谱峰分离良好, 见图 1。



1-DSS 2-PAL 3-RA 4-SAB  
 A-混合对照品 B-丹参片 C-复方丹参片 D-冠心丹参胶囊 E-心可舒片 F-双丹胶囊  
 G-复方丹参片阴性样品 H-冠心丹参胶囊阴性样品 I-心可舒片阴性样品 J-双丹胶囊阴性样品  
 A-mixed reference substances B-Danshen Tablet C-Compound Danshen Tablet D-Guanxin Danshen Capsule E-Xin-Ke-Shu Tablet  
 F-Shuangdan Capsule G-negative sample of Compound Danshen Tablet H-negative sample of Guanxin Danshen Capsule I-negative sample of  
 Xin-Ke-Shu Tablet J-negative sample of Shuangdan Capsule

图 1 混合对照品及样品 HPLC 色谱图  
 Fig. 1 HPLC of mixed reference substances and samples

## 2.2 对照品溶液制备

分别取 DSS、PAL、RA 与 SAB 对照品适量，精密称定，加 50% 甲醇配制成质量浓度分别为 1.712、0.351、0.584 和 1.612 mg/mL 的对照品储备液。分别精密吸取 DSS 对照品储备液 15、155、315、470、625  $\mu$ L，PAL 对照品储备液 2、50、100、150、200  $\mu$ L，RA 对照品储备液 15、225、440、675、840  $\mu$ L，SAB 对照品储备液 65、625、1 250、1 875、2 500  $\mu$ L，置 5 mL 量瓶中，50% 甲醇定容制成 5 个不同浓度的混合对照品溶液。

## 2.3 供试品溶液制备

取不同丹参制剂粉末约 0.1 g，精密称定，置具塞锥形瓶中，精密加入 50% 甲醇 10 mL，密塞，称定质量，超声处理（功率 200 W，频率 40 kHz）30 min，放冷至室温后，再称定重量，用 50% 甲醇补足减失的重量，摇匀，13 000 r/min 离心 10 min，取上清液，即得。根据相关药品标准中各制剂处方和制法，制备缺丹参阴性样品，之后按上述方法制备阴性供试品溶液。

## 2.4 方法学考察

**2.4.1 线性关系考察** 分别精密吸取 2.1.2 项下系列混合对照品溶液 20  $\mu$ L，注入高效液相色谱仪。以进样量为横坐标，峰面积为纵坐标，绘制标准曲线，得各成分的回归方程、相关系数 ( $r$ ) 和线性范围分别为 DSS  $Y = 626\ 662 X - 30\ 345$ ， $r = 0.999\ 8$ ，线性范围 0.103 ~ 4.280  $\mu$ g；PAL  $Y = 4\ 104\ 158 X - 13\ 772$ ， $r = 0.999\ 7$ ，线性范围 0.003 ~ 0.281  $\mu$ g；RA  $Y = 2\ 244\ 764 X + 20\ 074$ ， $r = 0.999\ 8$ ，线性范围 0.035 ~ 1.962  $\mu$ g；SAB  $Y = 1\ 263\ 036 X - 102\ 042$ ， $r = 0.999\ 8$ ，线性范围 0.419 ~ 16.120  $\mu$ g。

**2.4.2 精密度试验** 取 G1 号样品，按 2.1.3 项下制备供试品溶液，连续进样 6 次，记录 DSS、PAL、RA、SAB 的峰面积，计算各成分峰面积的 RSD 分别为 1.00%、1.04%、0.72%、1.12%，显示仪器精密度良好。

**2.4.3 重复性试验** 取 G1 号样品，按 2.1.3 项下平行制备供试品溶液 6 份，分别进样，记录 DSS、PAL、RA、SAB 的峰面积并计算含量。测得样品中各成分含量的平均值分别为 4.230、0.353、1.410、18.437 mg/g，RSD 分别为 0.52%、0.39%、0.44%、0.76%，表明该方法重复性良好。

**2.4.4 稳定性试验** 取 G1 号样品，按 2.1.3 项下制备供试品溶液，分别于样品制备后 0、6、12、18、

24、36 h 进样，记录 DSS、PAL、RA、SAB 的峰面积，计算各成分峰面积的 RSD 分别为 0.68%、0.94%、1.05%、0.93%，表明供试品溶液在 36 h 内较为稳定性。

**2.4.5 加样回收试验** 取已知含量的 G1 号样品约 0.05 g，共 6 份，精密称定，加入一定量对照品溶液，使样品中待测成分量与对照品加入量之比约 1:1，按 2.1.3 项下制备供试品溶液，进样并记录 DSS、PAL、RA、SAB 的峰面积。计算各成分的平均加样回收率分别是 100.28%、102.93%、99.78%、97.37%，RSD 分别为 1.13%、0.89%、1.16%、0.97%，表明该方法准确度良好。

## 2.5 QAMS 质量评价模式的建立

**2.5.1  $f_{i/s}$  的计算** 按照公式  $f_{i/s} = (A_i/C_i) / (A_s/C_s)$  对待测成分的  $f_{i/s}$  进行计算，其中  $A_i$  为待测成分  $i$  的峰面积， $A_s$  为内参物  $s$  的峰面积， $C_i$  为待测成分  $i$  的浓度或质量， $C_s$  为内参物  $s$  的浓度或质量<sup>[10]</sup>。以丹参素为内参，计算 PAL、RA、SAB 与 DSS 之间的  $f_{i/s}$  分别为： $f_{PAL/DSS} = 6.611$ ， $f_{RA/DSS} = 3.845$ ， $f_{SAB/DSS} = 2.059$ 。

## 2.5.2 $f_{i/s}$ 耐用性考察

(1) 不同仪器与色谱柱对  $f_{i/s}$  的影响 实验考察了 Waters 和 Agilent 两种不同的色谱系统分别在 XDB、SB、XB 3 种不同色谱填料下对待测成分  $f_{i/s}$  的影响。结果显示 PAL、RA、SAB 与 DSS 之间的  $f_{i/s}$  重现性良好，RSD 在 0.10% ~ 1.15%，说明不同仪器和不同色谱柱对各成分  $f_{i/s}$  均无显著影响，见表 3~4。

(2) 不同体积流量对  $f_{i/s}$  的影响 采用 Waters 色谱系统和 XDB 色谱柱，分别测定在 0.9、1.0、1.1 mL/min 流速条件下待测成分的  $f_{i/s}$ ，结果表明体积

表 3 不同仪器对  $f_{i/s}$  的影响

Table 3 Influence of different instruments on  $f_{i/s}$

色谱柱	仪器	$f_{PAL/DSS}$	$f_{RA/DSS}$	$f_{SAB/DSS}$
XDB	Waters	6.611	3.845	2.059
	Agilent	6.692	3.837	2.091
	RSD (%)	0.86	0.14	1.08
SB	Waters	6.597	3.810	2.043
	Agilent	6.658	3.885	2.110
	RSD (%)	0.65	1.37	2.28
XB	Waters	6.576	3.765	2.045
	Agilent	6.566	3.797	2.072
	RSD (%)	0.10	0.60	0.90

流量微小变化时,  $f_{i/s}$  重现性良好, RSD 在 0.70%~1.78%, 见表 5。

(3) 不同柱温对  $f_{i/s}$  的影响 采用 Waters 色谱系统和 XDB 色谱柱, 分别测定在 28、30、32℃ 柱温条件下待测成分的  $f_{i/s}$ , 结果表明在柱温微小变化时,  $f_{i/s}$  波动较小, 见表 6。

表 4 不同色谱柱对  $f_{i/s}$  的影响

**Table 4 Influence of different columns on  $f_{i/s}$**

仪器	柱子	$f_{PAL/DSS}$	$f_{RA/DSS}$	$f_{SAB/DSS}$
Waters	XDB	6.611	3.845	2.059
	SB	6.597	3.810	2.043
	XB	6.576	3.765	2.045
	RSD (%)	0.27	1.06	0.42
Agilent	XDB	6.692	3.837	2.091
	SB	6.658	3.885	2.110
	XB	6.566	3.797	2.072
	RSD (%)	0.98	1.15	0.91

表 5 不同体积流量对  $f_{i/s}$  的影响

**Table 5 Influence of different flow rates on  $f_{i/s}$**

体积流量/(mL·min <sup>-1</sup> )	$f_{PAL/DSS}$	$f_{RA/DSS}$	$f_{SAB/DSS}$
0.9	6.504	3.816	2.088
1.0	6.611	3.845	2.059
1.1	6.381	3.791	2.051
RSD (%)	1.78	0.70	0.96

表 6 不同柱温对  $f_{i/s}$  的影响

**Table 6 Influence of different column temperature on  $f_{i/s}$**

柱温/℃	$f_{PAL/DSS}$	$f_{RA/DSS}$	$f_{SAB/DSS}$
28	6.597	3.789	2.010
30	6.611	3.845	2.059
32	6.684	3.794	2.058
RSD (%)	0.70	0.81	1.38

**2.5.3 待测成分色谱峰定位** 研究以丹参素为内参物, 分别考察了保留时间差法和相对保留值法在不同仪器和不同色谱柱下的重现性。结果表明, 待测成分保留时间差值波动较大, 重现性较差, 而相对保留值法波动较小, RSD 在 2.79%~3.77%, 定位效果良好, 4 个成分间的相对保留值 ( $r_{i/s}$ ) 分别是:  $r_{PAL/DSS} = 1.894$ ,  $r_{RA/DSS} = 5.379$ ,  $r_{SAB/DSS} = 6.599$ , 可用于对以上成分的准确定位。

**2.6 样品测定及验证**

为了验证所建立 QAMS 方法的准确性, 本实验采用 2.1 项下建立的方法通过外标法测定 5 种丹参制剂中 DSS、PAL、RA 和 SAB 的含量, 之后利用 QAMS 法得到的  $f_{i/s}$ , 根据 DSS 实测含量, 计算其余成分的含量, 最后对 ESM 和 QAMS 所得结果进行比较。结果显示两种方法所得结果无显著性差异, 相对误差 (RD) 小于 5%, 表明待测成分的  $f_{i/s}$  可靠, 所建立的 4 个酚酸类成分 QAMS 质量评价模式在丹参制剂中的应用准确性好、可行性强。见表 7~8。

表 7 待测成分 ESM 和 QAMS 含量测定结果

**Table 7 Determination of four salvianolic acids by QAMS and ESM methods**

编号	DSS/(mg·g <sup>-1</sup> )			PAL/(mg·g <sup>-1</sup> )			RA/(mg·g <sup>-1</sup> )			SAB/(mg·g <sup>-1</sup> )		
	ESM	ESM	RD/%	ESM	QAMS	RD/%	ESM	QAMS	RD/%	ESM	QAMS	RD/%
D1	5.798	0.441	0.438	0.55	3.091	3.048	1.37	49.675	50.118	0.89		
D2	6.442	0.577	0.577	0.07	3.083	3.026	1.84	48.112	48.295	0.38		
D3	6.054	0.484	0.482	0.39	2.984	2.938	1.55	48.384	48.694	0.64		
D4	5.214	0.411	0.410	0.35	2.989	2.962	0.90	47.625	48.234	1.28		
D5	6.253	0.478	0.475	0.57	3.184	3.125	1.85	48.229	48.454	0.47		
D6	6.727	0.518	0.516	0.56	3.406	3.335	2.10	52.280	52.475	0.37		
D7	8.132	0.650	0.647	0.53	3.306	3.218	2.68	45.778	45.548	0.50		
D8	7.403	0.625	0.623	0.33	3.326	3.247	2.39	49.352	49.321	0.06		
D9	6.444	0.503	0.501	0.50	2.918	2.866	1.77	51.139	51.386	0.48		
D10	3.408	0.204	0.200	2.10	4.000	4.049	1.23	64.989	67.833	4.38		
D11	3.466	0.191	0.186	2.84	5.175	5.227	1.00	74.339	77.705	4.53		
F1	2.099	0.125	0.120	3.93	1.819	1.867	2.64	21.741	22.519	3.58		
F2	2.097	0.121	0.116	4.24	1.730	1.703	1.53	21.546	21.725	0.83		
F3	1.972	0.125	0.120	3.93	1.819	1.867	2.64	21.741	22.519	3.58		



(续表 7)

编号	DSS/(mg·g <sup>-1</sup> )		PAL/(mg·g <sup>-1</sup> )			RA/(mg·g <sup>-1</sup> )			SAB/(mg·g <sup>-1</sup> )		
	ESM		ESM	QAMS	RD/%	ESM	QAMS	RD/%	ESM	QAMS	RD/%
F4	2.039		0.119	0.114	4.45	1.798	1.857	3.30	22.000	22.368	1.67
F5	2.422		0.047	0.048	2.31	1.146	1.178	2.80	21.214	21.785	2.69
F6	1.846		0.061	0.061	0.87	1.197	1.150	3.95	23.999	24.240	1.00
F7	7.245		0.986	0.999	1.34	1.327	1.354	2.01	21.590	21.050	2.50
F8	2.532		0.202	0.204	0.95	0.790	0.791	0.05	16.110	16.869	4.71
F9	0.770		0.038	0.036	4.07	1.285	1.260	1.96	27.610	26.836	2.80
F10	1.488		0.063	0.061	2.51	1.753	1.757	0.27	27.750	27.396	1.28
F11	2.944		0.154	0.147	4.88	1.848	1.898	2.75	37.536	36.217	3.51
G1	6.268		0.474	0.471	0.60	0.913	0.928	1.63	12.635	12.051	4.62
G2	4.261		0.359	0.359	0.11	1.418	1.444	1.77	18.426	18.320	0.58
G3	5.195		0.590	0.595	0.94	1.013	1.033	1.97	13.284	12.822	3.48
G4	3.971		0.351	0.353	0.44	1.513	1.543	2.02	14.795	14.599	1.33
G5	4.225		0.339	0.339	0.12	1.386	1.412	1.92	18.954	18.881	0.39
G6	4.100		0.425	0.430	1.12	1.706	1.733	1.59	13.733	13.459	1.99
G7	3.827		0.388	0.393	1.17	1.711	1.745	1.97	16.054	15.956	0.61
G8	3.845		0.392	0.397	1.17	1.675	1.708	1.95	11.503	11.176	2.84
G9	5.336		0.707	0.716	1.28	0.964	0.983	2.02	13.859	13.399	3.32
G10	6.238		1.037	1.052	1.41	0.992	1.005	1.32	12.289	11.697	4.82
X1	3.917		0.605	0.621	2.63	1.541	1.574	2.10	10.832	10.459	3.45
X2	4.289		0.707	0.725	2.49	1.348	1.375	1.97	11.525	11.120	3.51
X3	4.129		0.503	0.512	1.73	1.515	1.543	1.90	12.666	12.338	2.59
X4	3.981		0.681	0.700	2.89	1.575	1.607	2.02	12.353	12.039	2.54
X5	4.063		0.595	0.609	2.37	1.516	1.546	2.00	10.711	10.305	3.79
X6	3.946		0.559	0.572	2.37	1.557	1.590	2.10	10.841	10.461	3.50
X7	3.959		0.533	0.544	2.17	1.578	1.610	1.99	9.972	9.550	4.23
X8	4.397		0.672	0.687	2.21	1.384	1.408	1.74	12.049	11.650	3.31
X9	3.952		0.625	0.642	2.68	1.533	1.564	2.08	11.599	11.256	2.96
X10	4.336		0.676	0.692	2.30	1.323	1.348	1.94	10.822	10.382	4.07
S1	11.642		0.563	0.552	1.84	0.747	0.753	0.73	19.323	18.556	3.97
S2	11.098		0.490	0.479	2.17	0.755	0.761	0.73	20.120	19.379	3.68
S3	13.932		0.604	0.592	1.98	0.891	0.887	0.44	19.880	19.044	4.21
S4	11.847		0.325	0.312	4.09	0.656	0.667	1.58	18.822	18.040	4.16
S5	11.935		0.481	0.469	2.41	0.606	0.618	2.10	18.211	17.423	4.32
S6	13.627		0.751	0.740	1.39	1.543	1.506	2.44	19.987	19.161	4.13
S7	13.656		0.885	0.876	1.06	1.464	1.431	2.25	20.217	19.387	4.11
S8	11.827		0.714	0.705	1.24	1.344	1.321	1.73	17.409	16.621	4.52
S9	11.813		0.516	0.505	2.15	0.689	0.698	1.30	20.418	19.643	3.80
S10	12.032		0.389	0.376	3.26	0.628	0.640	1.83	18.429	17.640	4.28

表 8 待测成分 ESM 和 QAMS 定位结果

Table 8 Location results of four salvianolic acids by QAMS and ESM methods

编号	DSS/min		PAL/min			RA/min			SAB/min		
	ESM		ESM	QAMS	RD/%	ESM	QAMS	RD/%	ESM	QAMS	RD/%
D1	9.274		17.603	17.569	0.19	48.634	49.886	2.58	61.826	61.199	1.01
D2	9.375		17.704	17.760	0.32	48.835	50.430	3.27	62.527	61.866	1.06
D3	9.276		17.605	17.573	0.18	48.636	49.897	2.59	62.128	61.212	1.47

(续表 8)

编号	DSS/min		PAL/min		RA/min			SAB/min		
	ESM	ESM	QAMS	RD/%	ESM	QAMS	RD/%	ESM	QAMS	RD/%
D4	9.267	17.506	17.556	0.28	48.687	49.849	2.39	61.829	61.153	1.09
D5	9.278	17.607	17.577	0.17	48.638	49.908	2.61	61.930	61.226	1.14
D6	9.279	17.608	17.579	0.17	48.639	49.913	2.62	61.831	61.232	0.97
D7	9.380	17.709	17.770	0.34	48.940	50.457	3.10	61.842	61.899	0.09
D8	9.271	17.610	17.563	0.26	48.641	49.870	2.53	61.893	61.179	1.15
D9	9.282	17.611	17.584	0.15	48.642	49.930	2.65	61.834	61.252	0.94
D10	9.383	17.712	17.776	0.36	48.683	50.473	3.68	61.935	61.918	0.03
D11	9.284	17.613	17.588	0.14	48.644	49.940	2.66	61.836	61.265	0.92
F1	9.297	17.529	17.613	0.48	48.653	50.010	2.79	62.077	61.351	1.17
F2	9.302	17.624	17.622	0.01	48.843	50.037	2.44	62.398	61.384	1.63
F3	9.307	17.719	17.632	0.49	49.033	50.064	2.10	62.019	61.417	0.97
F4	9.312	17.814	17.641	0.97	49.223	50.091	1.76	62.040	61.450	0.95
F5	9.289	17.909	17.598	1.74	49.413	49.967	1.12	62.361	61.298	1.70
F6	9.122	17.604	17.281	1.83	49.503	49.069	0.88	61.282	60.196	1.77
F7	9.173	17.199	17.378	1.04	48.453	49.343	1.84	61.003	60.533	0.77
F8	9.300	17.494	17.618	0.71	49.983	50.026	0.09	62.324	61.371	1.53
F9	9.212	17.289	17.452	0.94	49.773	49.553	0.44	61.645	60.790	1.39
F10	9.277	17.384	17.575	1.10	49.363	49.903	1.09	61.966	61.219	1.21
F11	9.269	17.643	17.560	0.47	50.931	49.860	2.10	62.295	61.166	1.81
G1	9.275	17.587	17.571	0.09	48.880	49.892	2.07	62.174	61.206	1.56
G2	9.281	17.565	17.582	0.10	48.611	49.924	2.70	61.859	61.245	0.99
G3	9.287	17.579	17.594	0.08	48.742	49.956	2.49	61.844	61.285	0.90
G4	9.284	17.598	17.588	0.06	49.173	49.940	1.56	61.829	61.265	0.91
G5	9.213	17.594	17.454	0.80	48.804	49.558	1.55	61.914	60.797	1.80
G6	9.206	17.616	17.440	1.00	48.535	49.521	2.03	61.599	60.750	1.38
G7	9.198	17.497	17.425	0.41	48.266	49.478	2.51	61.284	60.698	0.96
G8	9.170	17.502	17.372	0.74	48.997	49.327	0.67	61.969	60.513	2.35
G9	9.181	17.477	17.393	0.48	48.728	49.386	1.35	61.654	60.585	1.73
G10	9.199	17.602	17.427	0.99	48.459	49.483	2.11	61.339	60.704	1.03
X1	9.244	17.600	17.512	0.50	49.164	49.725	1.14	62.446	61.001	2.31
X2	9.329	17.563	17.673	0.63	49.659	50.182	1.05	62.431	61.562	1.39
X3	9.414	17.526	17.834	1.76	50.154	50.640	0.97	62.416	62.123	0.47
X4	9.299	17.389	17.616	1.31	50.649	50.021	1.24	62.401	61.364	1.66
X5	9.384	17.452	17.777	1.86	51.144	50.478	1.30	62.386	61.925	0.74
X6	9.269	17.415	17.560	0.83	51.339	49.860	2.88	62.371	61.166	1.93
X7	9.254	17.378	17.531	0.88	51.134	49.779	2.65	62.056	61.067	1.59
X8	9.439	17.451	17.882	2.47	52.129	50.774	2.60	62.341	62.288	0.09
X9	9.424	17.404	17.853	2.58	51.524	50.693	1.61	62.526	62.189	0.54
X10	9.409	17.467	17.825	2.05	51.619	50.613	1.95	62.61	62.090	0.83
S1	9.249	17.583	17.522	0.35	48.601	49.752	2.37	61.915	61.034	1.42
S2	9.231	17.569	17.488	0.46	50.654	49.655	1.97	61.753	60.915	1.36
S3	9.213	17.585	17.454	0.75	50.707	49.558	2.27	61.891	60.797	1.77
S4	9.195	17.541	17.419	0.69	50.968	49.462	2.96	61.929	60.678	2.02
S5	9.177	17.607	17.385	1.26	50.013	49.365	1.30	61.867	60.559	2.11
S6	9.259	17.613	17.541	0.41	50.866	49.806	2.08	61.905	61.100	1.30
S7	9.241	17.599	17.507	0.53	50.719	49.709	1.99	61.943	60.981	1.55
S8	9.323	17.485	17.662	1.01	51.072	50.150	1.81	62.481	61.522	1.53
S9	9.205	17.571	17.438	0.75	51.225	49.515	3.34	61.619	60.744	1.42
S10	9.287	17.457	17.594	0.78	50.778	49.956	1.62	62.457	61.285	1.88

### 3 讨论

供试液的制备采用单因素变量法,分别考察了不同提取方法、提取溶剂和提取时间对5种丹参制剂中酚酸类成分提取率的影响,优选出100倍量50%甲醇超声提取30 min可将酚酸类成分提取完全,且得到的图谱色谱行为良好。

在待测成分定位方法确定过程中,分别采用DIKMA Diamonsil、TechMate ST、Agilent Eclipse XDB、依利特 Hypersil ODS2、Agilent Zorbax SB、Waters Xbridge 等色谱柱(规格均为250 mm×4.6 mm, 5 μm)对各成分进行分离,发现丹参制剂中4个酚酸类待测成分对色谱柱的选择性较高,不同C18填料的色谱柱对成分分离度和相对校正因子的影响较大。因此,根据《中药注射剂指纹图谱研究的技术要求》,建议在后续研究中对实验所需色谱柱的型号和规格进行规定,采用优选出的以下3种色谱柱进行测定:Agilent Eclipse XDB C<sub>18</sub>、Agilent Zorbax SB C<sub>18</sub>、Waters Xbridge C<sub>18</sub>。

丹参制剂中丹参成分与其制备工艺有关,丹参片、复方丹参片、冠心丹参胶囊的制备工艺兼顾了水溶性丹酚酸和脂溶性二萜醌类成分,而心可舒片和双丹胶囊的制备工艺只提取了水溶性酚酸类成分。由于2类成分极性差异较大,根据相关研究<sup>[11]</sup>,建议分别对这2类成分建立QAMS质量评价模式。将本实验所建立方法与课题组前期二萜醌类成分QAMS含量测定方法<sup>[9]</sup>相结合,可更全面、高效地对丹参制剂的质量进行控制。

除冠心丹参胶囊相关药品标准未对其所含酚酸类成分的含量进行规定外,丹参片、复方丹参片、心可舒片、双丹胶囊中酚酸类成分均能达到相关标准要求。根据实验结果,同一剂型即使是来源于同一生产厂家的不同生产批次,样品间成分含量差异较大,反映出药品质量稳定性的欠缺,且由于丹参酚酸类化合物在水溶液中稳定性较差,受热易降解

损失<sup>[12]</sup>,故在加强丹参原料药材的质量的同时,还应严格控制制剂工艺参数以减少有效成分的损失等。

### 参考文献

- [1] 中国药典. 一部 [S]. 2015: 76-77.
- [2] 梁文仪, 陈文静, 杨光辉, 等. 丹参酚酸类成分研究进展 [J]. 中国中药杂志, 2016, 41(5): 806-812.
- [3] 吴笛, 叶秋雄, 李楚源. 一测多评法测定复方丹参片中5种酚酸类成分的含量 [J]. 中国新药杂志, 2013, 22(18): 2130-2135+2173.
- [4] 周晓希, 孔羽, 魏宇昆, 等. RP-HPLC-DAD同时测定丹参及丹参片中6种水溶性成分的含量 [J]. 中药材, 2014, 37(2): 337-339.
- [5] Cao J, Qi L W, Chen J, et al. Application of liquid chromatography-electrospray ionization time-of-flight mass spectrometry for analysis and quality control of compound Danshen preparations [J]. Biomed. Chromatogr, 2009, 23(4): 397-405.
- [6] 汤杰, 宋冰娜, 郑盼, 等. HPLC测定冠心丹参胶囊中主成分的含量 [J]. 中国现代中药, 2015, 17(10): 1078-1082.
- [7] 王培. 心可舒片的化学指纹图谱与质量控制研究 [D]. 济南: 山东大学, 2012.
- [8] 袁凤刚, 郝艳玲, 陈永刚, 等. HPLC同时测定双丹胶囊中7种主要成分 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(1): 32-35.
- [9] 梁文仪, 袁永兵, 陈文静, 等. 一测多评技术在3种丹参制剂质量控制中的可行性分析 [J]. 中草药, 2016, 47(23): 4179-4185.
- [10] 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): 656-658.
- [11] 高慧敏, 宋宗华, 王智民, 等. 适合中药特点的质量评价模式——QAMS研究概述 [J]. 中国中药杂志, 2012, 37(4): 405-416.
- [12] 唐娜, 杭太俊, 叶正良, 等. 丹参提取物中酚酸类成分稳定性及降解动力学研究 [J]. 时珍国医国药, 2013, 24(7): 1631-1633.