

基于一测多评法对延胡索中生物碱类成分的质量控制研究

陈俊¹, 许浚^{1,2,3}, 张静雅¹, 冯松浩¹, 张铁军^{2,3*}

1. 天津中医药大学, 天津 300193

2. 天津药物研究院有限公司, 天津 300193

3. 中药现代制剂与质量控制技术国家地方联合工程实验室(天津), 天津 300193

摘要: **目的** 建立同时测定延胡索中原阿片碱、黄连碱、黄藤素、去氢延胡索甲素、*D*-四氢药根碱、延胡索乙素和延胡索甲素 7 种生物碱类成分的 HPLC 方法, 在此基础上, 建立一测多评法的方法学考察方式, 验证该方法在延胡索质量控制中应用的可行性和技术适用性。**方法** 以延胡索所含的 7 种成分为指标成分, 采用 2 种校正方法分别建立各成分与延胡索乙素的相对校正因子($f_{k/s}$), 计算各成分的量, 实现一测多评; 同时采用外标法测定延胡索中该 7 种成分的量, 并比较 2 种一测多评法所得计算值与实测值的差异, 以验证一测多评法的准确性和可行性。**结果** 建立了延胡索中 7 种生物碱类成分一测多评法方法学的考察模式; 不同的色谱柱和仪器一测多评法的计算值与外标法实测值之间没有显著性差异。**结论** 同时测定延胡索中原阿片碱、黄连碱、黄藤素、去氢延胡索甲素、*D*-四氢药根碱、延胡索乙素和延胡索甲素 7 种生物碱的一测多评法可靠, 结果准确, 可用于延胡索药材的质量控制。

关键词: 一测多评; 延胡索; 原阿片碱; 黄连碱; 去氢延胡索甲素; 黄藤素; *D*-四氢药根碱; 延胡索乙素; 延胡索甲素

中图分类号: R286.6 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2016)03-0493-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2016.03.024

Quality control for alkaloids of *Corydalis Rhizoma* based on quantitative analysis on multi-components with single marker

CHEN Jun¹, XU Jun^{1,2,3}, ZHANG Jing-ya¹, FENG Song-hao¹, ZHANG Tie-jun^{2,3}

1. Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China

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

3. National & Local United Engineering Laboratory of Modern Preparation and Quality Control Technology of Traditional Chinese Medicine (Tianjin), Tianjin 300193, China

Abstract: Objective To establish an HPLC method for simultaneous assay of seven main active constituents (protopine, coptisine, palmatine, dehydrocorydaline, *D*-tetrahydro jatrorrhizine, tetrahydropalmatine, and corydaline) in *Corydalis Rhizoma*, and on this basis, establishing a methodology of quantitative analysis on multi-components by single marker (QAMS) to validate the feasibility of method and technical adaptability of quality control applications for *Corydalis Rhizoma*. **Methods** Taking seven components in *Corydalis Rhizoma* as indicators, two correction methods were used to establish the relative correction factor ($f_{k/s}$) between each component and tetrahydropalmatine. Then the correction factor was used to calculate the amount of each component in *Corydalis Rhizoma* and finally to achieve this method. In the meantime, the external standard method was used to measure the above seven components to compare the difference between the calculated and measured value of the two $f_{k/s}$, and to validate the correctness and adaptability of QAMS. **Results** The methodology of QAMS which was used to evaluate the seven kinds of alkaloids in *Corydalis Rhizoma* was established; There was no significant difference between the data calculated by QAMS in different columns and instruments and the values measured by the external standard method. **Conclusion** The QAMS method for measuring the components of protopine, coptisine, palmatine, dehydrocorydaline, *D*-tetrahydro jatrorrhizine, tetrahydropalmatine, and corydaline in *Corydalis Rhizoma* is reliable and accurate, it could be used to control the quality of crude drugs and herbal pieces of *Corydalis Rhizoma*.

Key words: quantitative analysis of multi-components by single-marker; *Corydalis Rhizoma*; protopine; coptisine; palmatine; dehydrocorydaline; *D*-tetrahydro jatrorrhizine; tetrahydropalmatine; corydaline

收稿日期: 2015-09-28

作者简介: 陈俊(1990—), 男, 天津中医药大学中药制药工程专业硕士研究生。Tel: (022)23006843 E-mail: chenjunjun57@126.com

*通信作者 张铁军 Tel: (022)23006848 E-mail: tiezhang4@sina.com

延胡索为罂粟科植物延胡索 *Corydalis yanhusuo* W. T. Wang 的干燥块茎。延胡索别称元胡、玄胡、玄胡索等,最早记载于《神农本草经》,列为中品,味辛、苦,性温,归肝、脾经,具有活血、行气、止痛等功效,用于治疗胸胁、腕腹疼痛、经闭痛经、产后瘀阻、跌扑肿痛等^[1]。药理研究表明,延胡索中所含的生物碱类物质为主要的镇痛成分,延胡索生物碱包括的叔胺碱、季胺碱是其主要活性成分^[2-3]。目前,延胡索药材、饮片及含有延胡索的成方制剂主要以单指标成分(延胡索乙素)来控制质量,《中国药典》2015 年版对延胡索药材的质量控制主要从性状、显微鉴别、薄层色谱鉴别以及延胡索乙素的量进行了规定。本实验采用 HPLC 法同时测定了延胡索中原阿片碱、黄连碱、黄藤素、去氢延胡索甲素、*D*-四氢药根碱、延胡索乙素和延胡索甲素的量,并利用以上 7 种生物碱内在的函数和比例关系,采用一测多评法^[4-5],通过验证试验,以延胡索乙素为内标成分,得出原阿片碱、黄连碱、黄藤素、去氢延胡索甲素、*D*-四氢药根碱、延胡索甲素与延胡索乙素之间的相对校正因子,计算出这 7 种生物碱的量,为更确切评价延胡索以及含延胡索中成药的质量提供了新的分析模式。

1 仪器与材料

Agilent 1260 高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司); Agilent 1100 高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司); Lab Alliance 高效液相色谱仪(美国兰博公司); Diamonsil C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm) 色谱柱(美国 Dikma 公司); Welch C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm) 色谱柱(美国 Welch 公司); Ameritech C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm) 色谱柱(美国 Ameritech Scientific 公司); COSMOSIL 5 C₁₈-MS-II (250 mm×4.6 mm, 5 μm) 色谱柱(日本 Nacalai Tesque 公司); AB204-N 电子天平(十万分之一,德国 METELER 公司); BT25S 电子天平(万分之一,德国 Sartorius 公司); 超声波清洗仪(宁波新芝生物科技公司)。

对照品延胡索甲素(批号 MUST-1302010)、*D*-四氢药根碱(批号 MUST-13090916)、原阿片碱(批号 MUST-13030101)、黄连碱(批号 MUST-13111602)均购自成都曼思特生物科技有限公司;对照品黄藤素(批号 J140303)、延胡索乙素(批号 J140303)均购自上海将来试剂有限公司;去氢延胡索甲素(批号 131220)购自上海融禾医药科技有限

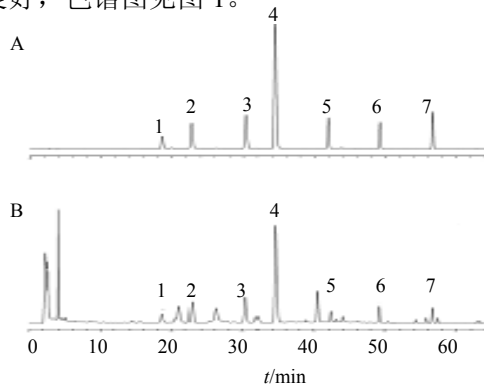
公司,以上对照品质量分数均大于 98%。乙腈(色谱纯,天津市康科德科技有限公司);三乙胺(分析纯,天津光复精密化工研究所);冰乙酸(分析纯,天津市康科德科技有限公司);纯净水(杭州娃哈哈集团有限公司)。

14 批延胡索药材收集于天津、河北、四川、河南、陕西、甘肃,其产地为浙江或陕西,经天津药物研究院中药现代研究部张铁军研究员鉴定为罂粟科植物延胡索 *Corydalis yanhusuo* W. T. Wang 的干燥块茎,符合《中国药典》2015 年版一部的有关规定。

2 方法与结果

2.1 HPLC 定量方法

2.1.1 色谱条件 色谱柱: Diamonsil C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为乙腈-0.2%冰醋酸溶液(三乙胺调 pH 6.0), 梯度洗脱: 0~10 min, 20%~22%乙腈; 10~30 min, 22%~30%乙腈; 30~60 min, 30%~80%乙腈; 60~65 min, 80%~100%乙腈; 柱温 35 ℃, 进样量 10 μL, 波长 280 nm; 体积流量 1 mL/min。上述色谱条件下, 各组分分离度良好, 色谱图见图 1。



1-原阿片碱 2-黄连碱 3-黄藤素 4-去氢延胡索甲素 5-*D*-四氢药根碱 6-延胡索乙素 7-延胡索甲素
1-protopine 2-coptisine 3-palmatine 4-dehydrocorydaline
5-*D*-tetrahydrojatrorrhizine 6-*dl*-tetrahydropalmatine 7-*d*-corydaline

图 1 混合对照品 (A) 和供试品 (B) HPLC 图

Fig. 1 HPLC of mixed standard (A) and sample (B)

2.1.2 对照品溶液的制备 分别精密称取原阿片碱、黄连碱、黄藤素、去氢延胡索甲素、*D*-四氢药根碱、延胡索乙素及延胡索甲素对照品适量, 置同一 25 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 即得混合对照品溶液(原阿片碱 19.72 μg/mL、黄连碱 20.08 μg/mL、黄藤素 19.72 μg/mL、去氢延胡索甲素 99.60 μg/mL、*D*-四氢药根碱 38.72 μg/mL、延胡索乙素 49.80 μg/mL 及延胡索甲素 55.60 μg/mL)。

2.1.3 供试品溶液的制备 取延胡索药材粗粉(过 50 目筛)约 1 g, 精密称定, 置于 100 mL 圆底烧瓶中, 精密加入浓氨-70%甲醇(1:20)溶液 50 mL, 称定重量, 冷浸 1 h 后回流提取 60 min, 冷却后补质量, 摇匀滤过。精密量取续滤液 25 mL, 蒸干, 残渣用甲醇溶解, 转移至 5 mL 量瓶中, 稀释至刻

度, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

2.1.4 线性关系考察 分别精密吸取混合对照品溶液, 制成 6 个不同质量浓度的对照品溶液, 按“2.1.1”项下的色谱条件进行测定。记录相应的色谱峰峰面积, 以峰面积积分值为纵坐标(Y), 对照品质量为横坐标(X), 进行线性回归。结果见表 1。

表 1 7 种成分的线性关系考察结果

Table 1 Linear relationships results for seven constituents

指标成分	回归方程	r	线性范围/ μg
原阿片碱	$Y=1\,622.6X+3.045\,1$	0.999 9	0.039 44~0.394 4
黄连碱	$Y=3\,508.4X+10.518$	0.999 9	0.040 16~0.401 6
黄藤素	$Y=4\,799.4X+5.838\,0$	0.999 9	0.039 44~0.394 4
去氢延胡索甲素	$Y=3\,634.6X+21.54\,1$	0.999 9	0.199 20~1.992 0
D -四氢药根碱	$Y=1\,549.8X+2.348\,2$	0.999 9	0.077 44~0.774 4
延胡索乙素	$Y=942.79X+3.542\,2$	0.999 9	0.099 60~0.996 0
延胡索甲素	$Y=1\,187.6X+6.643\,2$	0.999 9	0.111 20~1.112 0

2.1.5 精密度试验 取同一混合对照品溶液, 连续进样 6 次, 记录各色谱峰峰面积, 计算得原阿片碱、黄连碱、黄藤素、去氢延胡索甲素、 D -四氢药根碱、延胡索乙素和延胡索甲素峰面积的 RSD 分别为 1.01%、0.73%、1.27%、1.29%、1.33%、0.88%, 表明仪器精密度良好。

2.1.6 稳定性试验 称取延胡索(批号 141001, 过 60 目筛)粉末约 1 g, 精密称定, 制备供试品溶液, 分别于制备后 0、3、6、9、12、24 h 进样, 记录色谱峰, 计算得原阿片碱、黄连碱、黄藤素、去氢延胡索甲素、 D -四氢药根碱、延胡索乙素和延胡索甲素峰面积的 RSD 分别为 1.85%、1.85%、1.16%、1.17%、1.38%、1.14%、1.18%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.1.7 重复性试验 称取延胡索(批号 141001, 过 60 目筛)粉末约 1 g, 共 6 份, 精密称定, 分别制备供试品溶液, 进样测定, 计算得原阿片碱、黄连碱、黄藤素、去氢延胡索甲素、 D -四氢药根碱、延胡索乙素和延胡索甲素质量分数的 RSD 分别为 1.98%、2.82%、2.63%、1.14%、1.83%、0.96%、0.72%。

2.1.8 加样回收率试验 称取适量延胡索(批号 141001, 过 60 目筛)粉末约 0.5 g, 共 6 份, 精密称定, 分别加入含原阿片碱 19.72 $\mu\text{g/mL}$ 、黄连碱 20.08 $\mu\text{g/mL}$ 、黄藤素 19.72 $\mu\text{g/mL}$ 、去氢延胡索甲素 99.60 $\mu\text{g/mL}$ 、 D -四氢药根碱 38.72 $\mu\text{g/mL}$ 、延胡索乙素 49.80 $\mu\text{g/mL}$ 及延胡索甲素 55.60 $\mu\text{g/mL}$ 的混

合对照品溶液 2.0、2.5、3.0 mL, 制备供试品溶液, 测定, 计算得原阿片碱、黄连碱、黄藤素、去氢延胡索甲素、 D -四氢药根碱、延胡索乙素和延胡索甲素平均加样回收率分别为 98.25%、99.06%、97.40%、99.63%、99.58%、98.19%、99.35%, RSD 分别为 2.51%、2.47%、2.47%、2.49%、1.86%、2.27%、2.69%。结果表明, 本法具有良好的回收率。

2.1.9 耐用性试验 分别考察流动相各梯度点比例变化 $\pm 3\%$ 、水相 pH 值变化 ± 0.1 、柱温变化 $\pm 5\,^{\circ}\text{C}$ 、检测波长变化 $\pm 5\,\text{nm}$ 、体积流量变化 $\pm 20\%$, 以及采用 4 根不同色谱柱(Diamonsil C_{18} 柱、Welch C_{18} 柱、Ameritech C_{18} 柱、COSMOSIL 5 C_{18} -MS-II 柱)进行测定时, 仪器色谱行为的变化。检测同一批延胡索中 7 种成分的量及其 RSD, 并考察其分离度、拖尾因子、理论塔板数, 各条件下所测各成分质量分数量的 RSD 均在 2.5% 以内, 分离效果理想。因此, 延胡索中的 7 种成分测定条件较宽, 具有较好的耐用性。

2.2 相对校正因子($f_{k/s}$)的计算

2.2.1 多点校正法 参照文献方法^[6-7], 以多个质量浓度点计算所得的 $f_{k/s}$ 取平均值作为定量用 $f_{k/s}$ 。 $f_{k/s}$ 计算公式: $f_{k/s}=(C_s \times A_k)/(C_k \times A_s)$; 待测成分质量浓度计算公式: $C_k'=(C_s \times A_k)/(f_{k/s} \times A_s)$ 。两式中 C_s 为参照物质质量浓度, A_s 为参照物质色谱峰峰面积, C_k' 为其他对照组分质量浓度, A_k 为其他对照组分色谱峰峰面积, A_k' 为待测组分色谱峰峰面积。应用多

点校正法进行计算,得到其他成分相对于延胡索乙素的 $f_{k/s}$ 。结果见表 2。

2.2.2 斜率校正法 在“2.1.4”项下所得标准曲线中, $X=(Y-b)/a=Y/a-b/a$, b 值通常由误差引起,当 a/b 值大于 100, b/a 值可忽略不计,此时可以 $X=Y/a$ 直接计算。通过 X 与 Y 的斜率之比计算 $f_{k/s}$ ($f_{k/s}=a_k/a_s$)。 $C_k'=A_k/(a_s \times f_{k/s})$, a_s 为参照物斜率, a_k 为其他对照组分斜率。应用斜率校正法进行计算,得到其他成分相对于延胡索乙素的 $f_{k/s}$ 。结果原阿片碱、

黄连碱、黄藤素、去氢延胡索甲素、 D -四氢药根碱、延胡索甲素对于延胡索乙素的 $f_{k/s}$ 分别为 1.721、3.721、5.091、3.855、1.644、1.260。

2.3 $f_{k/s}$ 的重现性考察

本实验考察了不同实验室的 3 套色谱系统(Agilent 1260、Agilent 1100、Lab Alliance)及不同的色谱柱(Diamonsil C₁₈、Welch C₁₈、Ameritech C₁₈、COSMOSIL 5 C₁₈-MS-II)对 $f_{k/s}$ 的影响。结果见表 3。

表 2 以延胡索乙素为参照的 $f_{k/s}$ (多点校正法)

Table 2 $f_{k/s}$ with pureonebio as reference (multi-point correction method)

进样体积/ μ L	相对于延胡索乙素的 $f_{k/s}$					
	原阿片碱	黄连碱	黄藤素	去氢延胡索甲素	D -四氢药根碱	延胡索甲素
1.0	1.745	3.742	5.085	3.836	1.615	1.263
2.0	1.748	3.739	5.085	3.856	1.612	1.263
3.0	1.746	3.759	5.084	3.848	1.624	1.263
4.0	1.743	3.756	5.081	3.848	1.612	1.263
5.0	1.743	3.766	5.087	3.858	1.628	1.263
6.0	1.743	3.766	5.088	3.861	1.624	1.261
平均值	1.745	3.755	5.085	3.851	1.619	1.263
RSD/%	0.120	0.310	0.050	0.240	0.430	0.060

表 3 不同仪器和不同色谱柱下的 $f_{k/s}$

Table 3 $f_{k/s}$ on different instruments and columns

仪器	色谱柱	$f_{k/s}$					
		原阿片碱	黄连碱	黄藤素	去氢延胡索甲素	D -四氢药根碱	延胡索甲素
Agilent 1260	Diamonsil C ₁₈	1.745	3.755	5.085	3.851	1.619	1.263
	Welch C ₁₈	1.729	3.718	5.079	3.831	1.621	1.252
	Ameritech C ₁₈	1.783	3.780	5.091	3.878	1.593	1.258
	COSMOSIL 5 C ₁₈ -MS-II	1.740	3.627	5.052	3.891	1.620	1.272
Agilent 1100	Diamonsil C ₁₈	1.635	3.567	5.048	4.032	1.493	1.261
Lab Alliance	Diamonsil C ₁₈	1.795	3.673	4.795	3.654	1.601	1.246
平均值		1.739	3.687	5.025	3.856	1.591	1.259
RSD/%		2.970	1.990	2.070	2.880	2.840	0.650

2.4 待测组分色谱峰的定位

利用相对保留时间进行定位,即以各待测组分色谱峰与延胡索乙素色谱峰的相对保留时间来确定。以延胡索乙素为基准峰,计算不同仪器和不同色谱柱下原阿片碱、黄连碱、黄藤素、去氢延胡索甲素、 D -四氢药根碱、延胡索甲素峰相对保留时间。结果见表 4。

2.5 一测多评法与外标法测定结果的比较

分别精密吸取对照品溶液和延胡索供试品溶液各 10 μ L,进样测定,记录原阿片碱、黄连碱、黄藤素、去氢延胡索甲素、 D -四氢药根碱、延胡索乙

素及延胡索甲素的峰面积,分别用外标法和 2 种一测多评法计算 7 种成分的量,结果见表 5。

将外标法和 2 种一测多评法定量结果分别经 Pearson 相关性分析,以确认一测多评法的准确性。结果外标法和 2 种一测多评法之间的相关系数均大于 0.999 9,说明外标法和 2 种一测多评法得到的结果相似性极高。同时经方差分析,其 P 值远大于 0.05,说明外标法和 2 种一测多评法计算结果并无显著性差异。综上,一测多评法应用于延胡索的多指标成分质量评价中可行。

表 4 不同仪器和不同色谱柱下的各色谱峰相对保留时间

Table 4 Relative retention time on different instruments and columns

仪器	色谱柱	相对保留时间					
		原阿片碱	黄连碱	黄藤素	去氢延胡索甲	D-四氢药根碱	延胡索甲素
Agilent 1260	Diamonsil C ₁₈	0.417 8	0.521 7	0.673 6	0.744 1	0.853 7	1.155 5
	Welch C ₁₈	0.321 3	0.376 5	0.517 8	0.604 4	0.838 0	1.163 9
	Ameritech C ₁₈	0.326 2	0.378 8	0.519 1	0.600 5	0.848 6	1.157 4
	COSMOSIL 5 C ₁₈ -MS-II	0.289 9	0.350 9	0.480 9	0.566 4	0.818 2	1.175 2
Agilent 1100	Diamonsil C ₁₈	0.380 1	0.450 9	0.594 0	0.670 7	0.863 3	1.145 8
Lab Alliance	Diamonsil C ₁₈	0.378 0	0.462 3	0.617 5	0.700 6	0.852 8	1.150 3
平均值		0.352 2	0.423 5	0.567 2	0.647 8	0.845 8	1.158 0
RSD/%		12.30	14.09	11.78	9.63	1.71	0.82

表 5 延胡索药材中 7 种成分不同方法定量测定结果 (n = 3)

Table 5 Determination of seven constituents in *Corydalis Rhizoma* by different methods (n = 3)

产地	批号	方法	质量分数/(mg·g ⁻¹)					
			原阿片碱	黄连碱	黄藤素	去氢延胡索甲素	D-四氢药根碱	延胡索甲素
浙江	141001	外标法	0.299	0.377	0.304	1.554	0.272	0.628
		一测多评多点校正	0.290	0.373	0.302	1.544	0.261	0.628
		一测多评斜率校正	0.294	0.377	0.301	1.542	0.257	0.628
	141002	外标法	0.302	0.374	0.328	1.551	0.269	0.693
		一测多评多点校正	0.293	0.370	0.326	1.541	0.258	0.693
		一测多评斜率校正	0.298	0.374	0.325	1.539	0.254	0.693
	141003	外标法	0.237	0.443	0.345	1.901	0.189	0.562
		一测多评多点校正	0.231	0.439	0.342	1.889	0.181	0.562
		一测多评斜率校正	0.234	0.443	0.341	1.887	0.179	0.562
	141004	外标法	0.283	0.263	0.175	1.156	0.339	0.786
		一测多评多点校正	0.275	0.261	0.173	1.148	0.326	0.786
		一测多评斜率校正	0.279	0.263	0.173	1.147	0.321	0.786
	141005	外标法	0.265	0.239	0.169	1.233	0.344	0.745
		一测多评多点校正	0.257	0.237	0.168	1.225	0.331	0.745
		一测多评斜率校正	0.261	0.239	0.168	1.223	0.325	0.745
	141006	外标法	0.271	0.297	0.174	1.169	0.355	0.810
		一测多评多点校正	0.263	0.295	0.172	1.162	0.341	0.810
		一测多评斜率校正	0.267	0.297	0.172	1.160	0.336	0.810
	141007	外标法	0.166	0.342	0.146	0.947	0.356	0.729
		一测多评多点校正	0.161	0.339	0.145	0.941	0.342	0.729
		一测多评斜率校正	0.163	0.342	0.145	0.940	0.337	0.729
陕西	141008	外标法	0.242	0.321	0.172	1.073	0.300	0.726
		一测多评多点校正	0.235	0.318	0.170	1.066	0.289	0.726
		一测多评斜率校正	0.238	0.321	0.170	1.065	0.284	0.726
	141009	外标法	0.267	0.194	0.191	1.169	0.313	0.689
		一测多评多点校正	0.259	0.192	0.189	1.161	0.300	0.689
		一测多评斜率校正	0.263	0.194	0.189	1.160	0.296	0.689
	141010	外标法	0.270	0.256	0.172	1.096	0.355	0.854
		一测多评多点校正	0.263	0.254	0.171	1.089	0.342	0.854
		一测多评斜率校正	0.266	0.256	0.170	1.088	0.336	0.854
	141011	外标法	0.191	0.117	0.092	0.626	0.214	0.573
		一测多评多点校正	0.185	0.116	0.092	0.622	0.206	0.573
		一测多评斜率校正	0.188	0.117	0.092	0.621	0.202	0.573
	141012	外标法	0.267	0.269	0.186	1.123	0.337	0.813
		一测多评多点校正	0.260	0.267	0.185	1.116	0.324	0.813
		一测多评斜率校正	0.263	0.269	0.185	1.115	0.319	0.813
	141013	外标法	0.255	0.236	0.145	0.944	0.341	0.760
		一测多评多点校正	0.248	0.234	0.144	0.938	0.327	0.760
		一测多评斜率校正	0.252	0.236	0.144	0.937	0.322	0.760
	141014	外标法	0.271	0.325	0.136	0.990	0.365	0.843
		一测多评多点校正	0.263	0.322	0.135	0.983	0.350	0.843
		一测多评斜率校正	0.267	0.325	0.135	0.982	0.345	0.843

3 讨论

延胡索为常用中药,其主要有效成分为生物碱类,《中国药典》2015 年版中仅对延胡索乙素进行了规定,而延胡索中的其他生物碱也具有重要的药理作用,仅控制延胡索乙素的量无法真实评价药材的内在质量,本实验采用一测多评法仅使用一种对照品同时测定 7 种主要成分的量,能更全面而真实地评价延胡索药材的内在质量。

考察提取溶剂时发现,在提取液中加入少量氨水可增加生物碱的溶出,这是由于大多数生物碱在植物中是以盐的形式存在,用氨水浸润后可使其游离,而溶于有机试剂中,因此在提取生物碱时加入少量氨水可提高提取效率。

本研究考察了不同液相色谱系统以及不同品牌的色谱柱对延胡索药材中 7 种生物碱之间相对校正因子的影响,结果表明,得到的各组分校正因子 RSD 均 < 3%。从表 5 中对延胡索药材 7 种成分不同方法定量测定结果可见,2 种一测多评法与外标法所计算的结果并无显著性差异。定量因子计算所用 $f_{k/s}$ 为斜率校正法所得,故其计算结果与斜率校正法一致。由于相同浓度参照物于不同仪器其峰面积有一定差异,特别是不同仪器峰面积计算方式不一致,从而导致定量因子出现一定差异,故定量因子每台仪器需单独建立。

在待测组分色谱峰的定位中,应用相同仪器不同品牌色谱柱,原阿片碱、黄连碱、黄藤素和去氢延胡索甲素色谱峰的相对保留时间差别较大;应用不同品牌仪器相同色谱柱,各待测组分色谱峰的相对保留时间差别较小。其中, COSMOSIL 5

C₁₈-MS-II 柱对原阿片碱、黄连碱、黄藤素和去氢延胡索甲素色谱峰的相对保留时间差别最大,但各色谱峰的出峰顺序和峰数没有变化,分离度良好。

本实验建立了采用 HPLC 法和一测多评法同时测定延胡索药材中原阿片碱、黄连碱、黄藤素、去氢延胡索甲素、D-四氢药根碱、延胡索乙素及延胡索甲素 7 个成分含量的方法,方法简便、准确,重复性好。对 14 批延胡索药材 7 个指标成分进行了测定,结果表明,批次样品间原阿片碱、黄连碱、黄藤素、去氢延胡索甲素、D-四氢药根碱、延胡索乙素及延胡索甲素的量差异不大。本实验仅采用常见的延胡索乙素即可实现对延胡索药材中的 7 个成分的定量,一测多评法可以在延胡索药材对照品紧缺的情况下实现定量测定的要求,其测定方法具有一定的推广应用价值。

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [2] 林武霖, 王如伟, 孙柳燕. 延胡索质量控制的研究进展 [J]. 中草药, 2011, 42(2): 409-412.
- [3] 吴雪松, 许 浚, 张喜民, 等. 元胡止痛方的化学成分及药理作用研究进展 [J]. 中草药, 2015, 46(7): 1081-1095.
- [4] 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.
- [5] 陈建维, 刘 圆, 刘晟楠, 等. 一测多评法测定枳实中 4 种黄酮类成分 [J]. 中草药, 2015, 46(9): 1374-1377.
- [6] 宋永贵, 张武岗, 刘岩庭, 等. 一测多评法同时测定预知子中 4 种三萜皂苷 [J]. 中草药, 2012, 43(7): 1418-1421.
- [7] 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.