

一测多评技术在3种丹参制剂质量控制中的可行性分析

梁文仪¹, 袁永兵², 陈文静¹, 吴玲芳¹, 李 师¹, 齐 旗¹, 崔雅萍¹, 张兰珍^{1*}

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 建立一测多评法(QAMS)同时测定3种丹参制剂(丹参片、复方丹参片和冠心丹参胶囊)中丹参酮类成分[丹参酮 II_A (TII_A)、二氢丹参酮 I (DTI)、隐丹参酮 (CT)、丹参酮 I (TI)]量, 探讨 QAMS 技术在中药制剂质量评价中的准确性和可行性。方法 采用 HPLC 法测定 TII_A、DTI、CT 和 TI; 以丹参片、复方丹参片和冠心丹参胶囊为研究对象, 采用 QAMS 技术, 以 TII_A 为内参物, 建立 DTI、CT、TI 与 TII_A 之间的相对校正因子 (f_{is}), 比较保留时间差、相对保留值和线性回归定位法对待测成分的定位效果; 并用外标法对样品进行定量计算, 比较实测值与 QAMS 计算值之间的差异, 以验证其准确性。结果 所建立的 HPLC 法测定 TII_A、DTI、CT 和 TI 准确可行; 在线性范围内, DTI、CT、TI 与 TII_A 之间的 f_{is} 分别为 0.734、0.916、0.774, 在不同测试条件下待测成分的 f_{is} 准确可靠; 相对保留值法能够对待测成分进行准确定位, DTI、CT、TI 与 TII_A 之间的相对保留值分别是 0.314、0.518、0.561, 外标法和 QAMS 测定结果无显著性差异。3 种丹参制剂定量测定结果显示不同厂家即使是同一厂家不同批次, 产品的内在质量存在一定差异。结论 所建立的丹参酮类成分 QAMS 适用于多种丹参制剂的质量控制, 可为其他丹参制剂的质量评价提供参考; 同时, 应进一步加强对以上 3 种中药制剂的控制与监管。

关键词: 丹参制剂; 一测多评; 丹参酮类成分; 斜率校正法; 线性回归定位法; 丹参片; 复方丹参片; 冠心丹参胶囊; 丹参酮 II_A; 二氢丹参酮 I; 隐丹参酮; 丹参酮 I; 中药制剂; 质量评价; 相对校正因子

中图分类号: R286.02 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2016)23-4179-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2016.23.011

Feasibility study of QAMS for quality control on three kinds of related preparations of *Salvia miltiorrhiza*

LIANG Wen-yi¹, YUAN Yong-bing², CHEN Wen-jing¹, WU Ling-fang¹, LI Shi¹, QI Qi¹, CUI Ya-ping¹, ZHANG Lan-zhen¹

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 To establish a quantitative analysis method of multi-components by single marker (QAMS) for the simultaneous determination of four tanshinones [tanshinone II_A (TII_A), dihydrotanshinone I (DTI), cryptotanshinone (CT), and tanshinone I (TI)], and to explore its accuracy and feasibility on quality evaluation of traditional Chinese medicine preparations about three kinds of related preparations of *Salvia miltiorrhiza*. **Methods** An HPLC method was used to calculate relative correction factors (f_{is}) between other three components with TII_A. The component positioning methods were compared including retention time difference value, relative retention value, and linear regression methods. Meanwhile, the contents of tanshinones in different preparations of *S. miltiorrhiza* were determined by the external standard method (ESM), including Danshen Tablet, Compound Danshen Tablet, and Guanxin Danshen Capsule. Measured content value was compared with calculated content value to evaluate the accuracy of QAMS method. **Results** Within a certain range, the f_{is} of DTI, TI, and CT to TII_A were 0.734, 0.916, and 0.774, respectively, with the good repeatability in different experimental conditions. The f_{is} between other three components with TII_A was accurate and reliable, and there was no

收稿日期: 2016-07-28

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)

作者简介: 梁文仪, 女, 在读硕士生, 研究方向为中药质量控制方法研究。Tel: (010)84738628 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。

Tel: (010)84738628 E-mail: zhanglanzhen01@126.com

significant difference between QAMS and ESM method. Besides, the relative retention value method could be used to accurately locate the measuring component. The relative retention values of DTI, TI, and CT to TII_A were 0.314, 0.518, and 0.561, respectively. The contents of three kinds of *S. miltiorrhiza* preparations showed there were some differences in the intrinsic quality of the products from different factories, even from different batches of the same manufacturer. **Conclusion** The QAMS method could be used for quality control about related preparations of *S. miltiorrhiza* and provide references for quality evaluation of other preparations. At the same time, the above three kinds of traditional Chinese medicine preparations should be further strengthened the control and supervision.

Key words: preparations of *Salvia miltiorrhiza*; QAMS; tanshinone; slope correction method; linear regression method; Danshen Tablet; Compound Danshen Tablet; Guanxin Danshen Capsule; tanshinone II_A ; dihydrotanshinone I; cryptotanshinone; tanshinone I; Chinese materia medica preparation; quality evaluation; relative correction factor

中药及其制剂多成分、多功效的特点决定采用多指标质量评价模式更科学,目前由于对照品种单一、分离难度大、单体不稳定或价格昂贵等,使其获得比较困难^[1-2]。一测多评法(QAMS)通过建立样品中某一易得、廉价、有效的典型成分与其他成分间的相对校正因子(f_{is})以计算其他成分的量。QAMS有效降低了质量控制的成本^[3],是中药及其制剂多成分同步定量的发展方向。自QAMS提出以来,相关学者对其在中药材^[4-5]、饮片^[6-7]及制剂^[8-9]质量评价中的可行性进行了大量研究,已在行业内得到认可,并应用于《中国药典》2015年版丹参药材、生姜药材、银杏叶提取物、咳特灵胶囊等多个品种典型成分的定量测定^[10]。

丹参为我国应用最广泛的中药材之一,以其为君药或臣药开发出的制剂多用于心脑血管疾病的治疗,如冠心宁注射液、丹参片、双丹口服液、复方丹参滴丸、冠心丹参胶囊和精制冠心颗粒等^[10]。《国家中成药汇编》《卫生部药品标准》和《中国药典》对这些制剂制定的质控方法,多采用外标法(ESM)测定丹参中1个或几个活性成分的量,文献报道了丹参注射液^[11]、丹参合剂^[12]及复方丹参片中丹酚酸类成分^[13]和丹参酮类成分^[14]的QAMS定量测定方法,但对丹参其他制剂的研究报道较少。因此,建立同时适用于多个丹参制剂的QAMS质量控制方法,对丹参制剂质量的快速高效评价具有重要意义。

本实验以丹参酮类活性成分^[15]为研究对象,采用多点校正法和斜率校正法分别建立二氢丹参酮 I (dihydrotanshinone I, DTI)、丹参酮 I (tanshinone I, TI)、隐丹参酮 (cryptotanshinone, CT) 与丹参酮 II_A (tanshinone II_A , TII_A) 之间的 f_{is} , 比较保留时间差法、相对保留值法和线性回归定位法对待测成分定位结果准确性的影响,并首次将建立的 QAMS 方法直接用于多种丹参制剂(丹参片、复方丹参片

和冠心丹参胶囊)的定量测定,结果表明建立的 QAMS 方法简便、准确、稳定性好。

1 仪器与材料

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; 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; OHAUS AX124ZH 型万分之一电子天平,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; Sartorius BT25S 型十万分之一电子分析天平,北京赛多利斯仪器有限公司。

色谱柱: DIKMA Diamonsil C_{18} 柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μ m, DM); Agilent Eclipse XDB C_{18} 柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μ m, AJL); TechMate C_{18} -ST 柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μ m, TCM)。

DTI、CT、TI、 TII_A 对照品,质量分数均大于 98%,批号分别为 15020102、15010613、15050711、14122512,均购自成都曼斯特生物科技有限公司。

乙腈, Fisher, 色谱纯; 娃哈哈纯净水; 其余均为分析纯。丹参片(D)、复方丹参片(F)、冠心丹参胶囊(G)均购自各地药店,为 11 个不同厂家市售药品,见表 1。冠心丹参胶囊倾出内容物,之后将 3 种制剂分别研细,备用。

2 方法与结果

2.1 定量测定方法建立及方法学考察

2.1.1 色谱条件 色谱柱为 DIKMA Diamonsil C_{18} 柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μ m); 流动相为乙腈-0.1% 甲酸水溶液 (60:40); 检测波长 270 nm; 体积流量 1 mL/min; 柱温 30 $^{\circ}$ C; 进样量 20 μ L。在上述色谱条件下,4 种成分的色谱峰分离度良好,见图 1。

2.1.2 对照品溶液的制备 分别取 DTI、CT、TI 和 TII_A 对照品适量,精密称定,加甲醇配制成质量浓度分别为 100.8、102.0、94.4、98.8 μ g/mL 的对照

表 1 样品来源信息

Table 1 Information of samples from different sources

样品	编号	生产厂家	生产批号	样品	编号	生产厂家	生产批号
丹参片	D1	上海雷允上药业有限公司	141025	冠心丹参胶囊	F6	广州白云山和记黄埔中药厂	I5A006
	D2	上海雷允上药业有限公司	150301		F7	广东罗浮山国药股份公司	L160301
	D3	上海雷允上药业有限公司	150534		F8	广东一力制药公司	3120513
	D4	上海雷允上药业有限公司	150744		F9	广东在田药业公司	1511101
	D5	上海雷允上药业有限公司	150823		F10	重庆东方药业公司	141001
	D6	上海雷允上药业有限公司	151053		F11	云南白药有限公司	ZDA1548
	D7	上海雷允上药业有限公司	151054		G1	国药控股深圳中药有限公司	150105
	D8	上海雷允上药业有限公司	151072		G2	国药控股深圳中药有限公司	150603
	D9	上海雷允上药业有限公司	151128		G3	国药控股深圳中药有限公司	150606
	D10	上海黄海制药有限公司	150507		G4	国药控股深圳中药有限公司	150706
	D11	上海黄海制药有限公司	151207		G5	国药控股深圳中药有限公司	150903
复方丹参片	F1	北京同仁堂制药厂	14121076	G6	国药控股深圳中药有限公司	151206	
	F2	北京同仁堂制药厂	14121421	G7	国药控股深圳中药有限公司	151211	
	F3	北京同仁堂制药厂	15121251	G8	国药控股深圳中药有限公司	151212	
	F4	北京同仁堂制药厂	15121256	G9	国药控股深圳中药有限公司	151218	
	F5	广州白云山和记黄埔中药厂	K4A029	G10	包头中药有限公司	F15005	

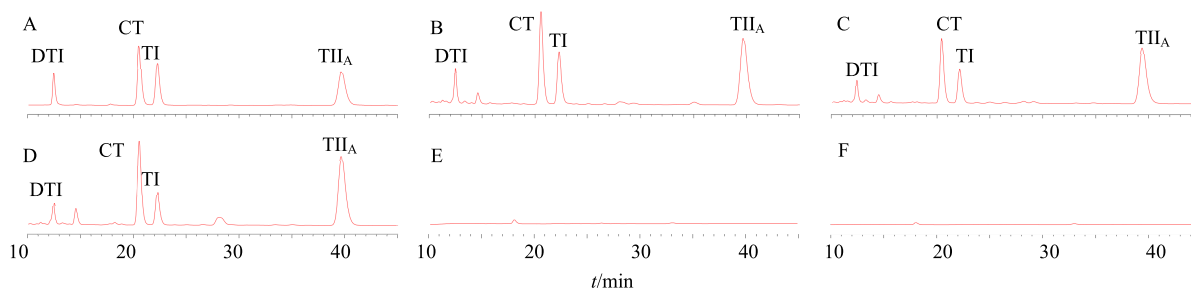


图 1 混合对照品 (A)、丹参片 (D1, B)、复方丹参片 (F1, C)、冠心丹参胶囊 (G1, D)、复方丹参片阴性样品 (E) 和冠心丹参胶囊阴性样品 (F) 的 HPLC 图

Fig. 1 HPLC of mixed reference substances (A), Danshen Tablet (D1, B), Compound Danshen Tablet (F1, C), Guanxin Danshen Capsule (G1, D), negative sample of Compound Danshen Tablet (E) and negative sample of Guanxin Danshen Capsule (F)

品储备液。

分别精密吸取 DTI 对照品储备液 (质量浓度 100.8 μg/mL) 0.05、0.1、0.2、0.4、0.8、1.2 mL, CT、TI 和 TH_A 对照品储备液 (质量浓度分别为 102.0、94.4、98.8 μg/mL) 0.1、0.2、0.4、0.8、1.2、1.6 mL 置 10 mL 量瓶中, 甲醇定容制成 6 个不同质量浓度的混合对照品溶液。

2.1.3 供试品溶液的制备 取丹参不同制剂粉末约 0.2 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇 20 mL, 称定质量, 超声处理 (功率 200 W, 工作频率 40 kHz) 20 min, 放至室温后, 再称定质量, 用甲醇补足缺失质量, 摇匀, 13 000 r/min 离心 10

min, 取上清液, 即得。

2.1.4 阴性样品溶液的制备 根据《中国药典》2015 年版复方丹参片和冠心丹参胶囊的处方和制法, 制备缺丹参阴性样品, 按“2.1.3”项下方法制备阴性样品溶液。

2.1.5 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 μL, 注入高效液相色谱仪。以进样量为横坐标 (X), 峰面积为纵坐标 (Y), 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 DTI $Y=4\ 945\ 020\ X-6\ 730$, $r=0.999\ 5$, 线性范围 10.1~241.9 ng; CT $Y=6\ 174\ 029\ X-21\ 190$, $r=0.999\ 5$, 线性范围 20.4~326.4 ng;

TI $Y=5\ 215\ 695\ X-15\ 301$, $r=0.999\ 5$, 线性范围 18.9~302.1 ng; TII_A $Y=6\ 737\ 605\ X-16\ 997$, $r=0.999\ 7$, 线性范围 19.8~316.2 ng。

2.1.6 精密度试验 取 G2 号样品, 按“2.1.3”项下方法制备的供试品溶液, 连续进样 6 次, 记录 DTI、CT、TI、TII_A 的峰面积, 计算各成分峰面积的 RSD 分别为 0.96%、0.98%、1.11%、1.01%, 显示仪器精密度良好。

2.1.7 重复性试验 取 G2 号样品, 按“2.1.3”项下方法平行制备供试品溶液 6 份, 分别进样, 记录 DTI、CT、TI、TII_A 的峰面积, 测得样品中各成分量的平均值分别为 0.099、0.533、0.245、0.753 mg/g, RSD 分别为 1.22%、1.35%、0.81%、0.80%, 表明该方法重复性良好。

2.1.8 稳定性试验 取 G2 号样品, 按“2.1.3”项下方法制备供试品溶液, 分别于样品制备后 0、2、4、8、12、24 h 进样, 记录 DTI、CT、TI、TII_A 的峰面积, 计算各成分峰面积的 RSD 分别为 1.05%、0.77%、0.95%、1.30%, 表明供试品溶液在 24 h 内较为稳定。

2.1.9 加样回收率试验 取已测定的 G2 号样品约 0.1 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为 1:1, 按“2.1.3”项下方法制备供试品溶液, 进样并记录 DTI、CT、TI、TII_A 的峰面积, 计算各成分的平均加样回收率分别为 101.63%、99.05%、101.22%、97.26%, RSD 分别为 1.02%、1.06%、1.13%、1.05%, 表明该方法准确度良好。

2.2 QAMS 质量评价模式的建立

2.2.1 $f_{i/s}$ 的计算 目前, 对 $f_{i/s}$ 的计算多采用多点校正法和斜率校正法, 2 种算法在计算过程中略存差异。多点校正法通过公式 $f_{i/s}=(A_i/C_i)/(A_s/C_s)$ 计算各成分的 $f_{i/s}$, 式中 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 为待测成分的浓度或质量, C_s 为内参物的浓度或质量。样品中待测成分量的计算公式为 $C_i'=C_s'A_i'/(f_{i/s}A_s')$, 式中 A_i' 为样品中待测成分 i 的峰面积, A_s' 为样品中内参物 s 的峰面积, C_i' 为样品中待测成分 i 的浓度或质量, C_s' 为样品中内参物 s 的浓度或质量^[16]。

在待测成分标准曲线 $A=aC+b$ 中, 当 a/b 大于 100 时, b/a 可忽略, 此时可采用斜率校正法计算 $f_{i/s}$, 公式为 $f_{i/s}=a_i/a_s$, 式中 a_i 为待测成分 i 斜率, a_s 为内参物 s 斜率。样品中待测成分量的计算公式

为 $C_i'=A_i'/(f_{i/s}a_s)$, 式中 A_i' 为样品中待测成分 i 的峰面积, C_i' 为样品中待测成分 i 的质量^[8,17]。

本实验以 TII_A 为内参物, 比较了在 Waters 色谱仪+DM 色谱柱条件下 2 种不同算法对 $f_{i/s}$ 的影响, 结果发现 2 种算法计算结果无显著性差异, 见表 2。考虑到斜率校正无需逐个浓度计算平均 $f_{i/s}$, 且在样品指标成分量计算过程中更为简便, 因此, 在后续实验中采用斜率校正法建立的 $f_{i/s}$ 进行计算。

2.2.2 $f_{i/s}$ 耐用性考察

(1) 不同仪器和色谱柱对 $f_{i/s}$ 的影响: 实验在不同实验室中进行, 考察了 Waters 和 Agilent 2 种不同的色谱系统分别在 DM、AJL、TCM 3 种不同色谱填料下对待测成分 $f_{i/s}$ 的影响, 结果见表 3、4。结果显示不同仪器和不同色谱柱对待测成分 $f_{i/s}$ 均无显著影响 (RSD 均小于 0.85%)。

表 2 不同计算方法得到的 $f_{i/s}$

Table 2 $f_{i/s}$ obtained by different calculation methods

计算方法	f_{DTI/TII_A}	f_{CT/TII_A}	f_{TI/TII_A}
多点校正法	0.737	0.905	0.773
斜率校正法	0.734	0.916	0.774
RSD/%	0.28	0.87	0.13

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_{DTI/TII_A}	f_{CT/TII_A}	f_{TI/TII_A}
DM	Waters	0.734	0.916	0.774
	Agilent	0.736	0.923	0.777
	RSD/%	0.23	0.48	0.22
AJL	Waters	0.734	0.927	0.778
	Agilent	0.728	0.925	0.782
	RSD/%	0.64	0.16	0.36
TCM	Waters	0.741	0.928	0.784
	Agilent	0.739	0.925	0.778
	RSD/%	0.13	0.26	0.50

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	色谱柱	f_{DTI/TII_A}	f_{CT/TII_A}	f_{TI/TII_A}
Waters	DM	0.734	0.916	0.774
	AJL	0.734	0.927	0.778
	TCM	0.741	0.928	0.784
	RSD/%	0.51	0.70	0.63
Agilent	DM	0.736	0.923	0.777
	AJL	0.728	0.925	0.782
	TCM	0.739	0.925	0.778
	RSD/%	0.82	0.14	0.37

(2) 不同体积流量对 f_{is} 的影响: 采用 Waters 色谱系统和 DM 色谱柱, 分别测定在 0.9、1.0、1.1 mL/min 体积流量条件下待测成分的 f_{is} , 结果 f_{is} 重现性良好, RSD 在 0.51%~2.88%, 见表 5。

(3) 不同柱温对 f_{is} 的影响: 采用 Waters 色谱系统和 DM 色谱柱, 分别测定在 28、30、32 °C 柱温条件下待测成分的 f_{is} , 结果表明在柱温微小变化时, f_{is} 波动较小, RSD 小于 3.50%, 见表 6。

2.2.3 待测成分色谱峰定位 待测成分色谱峰的准确定位是 QAMS 质量评价模式建立过程中的关键点^[16-17]。目前, 对待测成分色谱峰的准确定位多采用保留时间差法、相对保留值法和线性回归定位法。

表 5 不同体积流量对 f_{is} 的影响

Table 5 Influence of different flow rates on f_{is}

体积流量/(mL·min ⁻¹)	f_{DTI/TII_A}	f_{CT/TII_A}	f_{TI/TII_A}
0.9	0.768	0.965	0.779
1.0	0.734	0.916	0.774
1.1	0.764	0.962	0.782
RSD/%	2.49	2.88	0.51

表 6 不同柱温对 f_{is} 的影响

Table 6 Influence of different column temperature on f_{is}

柱温/°C	f_{DTI/TII_A}	f_{CT/TII_A}	f_{TI/TII_A}
28	0.744	0.973	0.778
30	0.734	0.916	0.774
32	0.719	0.921	0.746
RSD/%	1.71	3.36	2.30

其中, 保留时间差法和相对保留值法分别通过待测成分 i 和内参物 s 间保留时间的差值和比值进行计算。线性回归定位法通过色谱热力学理论分析推导出, 在相同分析条件下, 即使采用不同的色谱系统和色谱柱, 成分的保留时间仍存在一定的线性关系^[16-18]。

本实验以 TII_A 为内参, 分别考察了保留时间差法和相对保留值法在不同仪器和色谱柱下的重现性, 并以 Waters 色谱系统和 DM 色谱柱条件下计算得到的保留时间差和相对保留值为标准值, 通过相对误差 (RD) 对 3 种方法定位结果进行评价, 比较各成分保留时间的计算值与真实值之间的差异。结果表明, 在不同仪器和不同色谱填料下保留时间差的 RSD 较大, 重现性、耐用性较差; 相对保留值法计算得到的保留时间与实测保留时间相比, 相对误差较线性回归定位法大, 但该方法已能满足实验需求, 且在实际应用中更加简便快捷。

鉴于此, 建议采用相对保留值法对待测成分进行准确定位, DTI、CT、TI 与 TII_A 之间的相对保留值分别是 0.314、0.518、0.561。见表 7、8。

2.3 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 ESM 计算得到 3 种丹参制剂中 DTI、CT、TI、 TII_A 的量, 之后通过 QAMS 法得到的 f_{is} , 根据 TII_A 实测量, 计算其余待测成分的量, 最后对 ESM 和 QAMS 所得结果进行比较。结果见表 9, 结果表明 2 种方法所得结果无显著性差异, 待测成分的 f_{is} 可靠, 所建立的丹参酮

表 7 线性回归定位法计算结果

Table 7 Calculation results of linear regression location method

仪器	色谱柱	t_R	t/min				校正方程	校正点
			DTI	CT	TI	TII_A		
Waters	DM	$t_R(X)$	12.491	20.597	22.308	39.754		
		实测 t_R	10.064	16.759	17.556	32.314		
		预测 $t_R(Y)$	10.064	16.680	18.076	32.314	$Y=0.816\ 1\ X-0.129\ 1$	$DTI+TII_A$
	TCM	实测 t_R	12.784	20.736	22.273	38.808		
预测 $t_R(Y)$		12.879	20.584	22.210	38.792	$Y=0.950\ 9\ X+1.006\ 6$	$DTI+TII_A$	
Agilent	DM	实测 t_R	12.856	21.218	23.218	41.309		
		预测 $t_R(Y)$	12.856	21.317	23.102	41.310	$Y=1.043\ 7\ X-0.180\ 3$	$DTI+TII_A$
	AJL	实测 t_R	10.439	17.432	18.509	34.054		
		预测 $t_R(Y)$	10.439	17.461	18.943	34.055	$Y=0.866\ 2\ X-0.379\ 8$	$DTI+TII_A$
	TCM	实测 t_R	13.065	21.016	22.659	39.459		
		预测 $t_R(Y)$	13.065	20.913	22.568	39.458	$Y=0.968\ 1\ X+0.972\ 6$	$DTI+TII_A$

表 8 3 种方法定位结果的 RD

Table 8 Relative error of positioning results by different methods

仪器	色谱柱	定位方法	RD/%				仪器	色谱柱	定位方法	RD/%					
			DTI	CT	TI	TH _A				DTI	CT	TI	TH _A		
Agilent	DM	保留时间差	9.26	4.40	2.78	0	Waters	AJL	线性回归定位法	0	0.49	0.40	0		
		相对保留值	0.96	0.87	0.16	0			保留时间差	49.82	21.49	15.31	0		
		线性回归定位法	0	0.46	0.50	0			相对保留值	0.88	0.10	3.29	0		
		AJL	保留时间差	34.94	14.54	10.27			0	线性回归定位法	0	0.47	2.97	0	
			相对保留值	2.50	1.22	3.24			0	TCM	保留时间差	8.98	5.23	4.09	0
			线性回归定位法	0	0.17	2.34			0		相对保留值	4.84	3.03	2.23	0
	TCM	保留时间差	6.65	3.39	2.85	0	线性回归定位法	0.74	0.73	0.28	0.04				
		相对保留值	2.76	2.72	2.28	0									

表 9 待测成分 QAMS 和 ESM 定量测定结果

Table 9 Determination of four tanshinones by QAMS and ESM methods

编号	TH _A /(mg·g ⁻¹)				DTI/(mg·g ⁻¹)			CT/(mg·g ⁻¹)			TI/(mg·g ⁻¹)		
	ESM	ESM	QAMS	RD/%	ESM	QAMS	RD/%	ESM	QAMS	RD/%	ESM	QAMS	RD/%
D1	0.760	0.177	0.173	2.26	0.626	0.606	3.19	0.436	0.424	2.66			
D2	0.666	0.196	0.191	2.26	0.659	0.638	3.19	0.392	0.381	2.66			
D3	0.280	0.073	0.074	1.58	0.327	0.321	1.67	0.166	0.165	0.94			
D4	0.271	0.104	0.106	1.58	0.355	0.350	1.67	0.203	0.201	0.94			
D5	0.414	0.147	0.144	2.26	0.449	0.442	1.67	0.303	0.295	2.66			
D6	0.328	0.132	0.129	2.26	0.347	0.341	1.67	0.265	0.262	0.94			
D7	0.187	0.094	0.095	1.58	0.240	0.232	3.25	0.180	0.178	0.94			
D8	0.528	0.162	0.159	2.26	0.464	0.456	1.67	0.360	0.350	2.66			
D9	0.775	0.182	0.178	2.26	0.597	0.578	3.25	0.426	0.415	2.66			
D10	1.105	0.281	0.275	2.26	1.183	1.146	3.19	0.465	0.453	2.66			
D11	0.851	0.395	0.389	1.58	1.333	1.290	3.19	0.509	0.495	2.66			
F1	0.689	0.132	0.129	2.26	0.465	0.457	1.67	0.287	0.279	2.66			
F2	0.708	0.213	0.209	2.26	0.536	0.527	1.67	0.397	0.386	2.66			
F3	0.683	0.177	0.173	2.26	0.528	0.519	1.67	0.362	0.352	2.66			
F4	0.649	0.137	0.134	2.26	0.447	0.440	1.67	0.296	0.288	2.66			
F5	0.798	0.270	0.264	2.26	0.678	0.657	3.19	0.560	0.554	0.94			
F6	1.244	0.274	0.268	2.26	0.833	0.806	3.19	0.667	0.660	0.94			
F7	1.122	0.254	0.248	2.26	0.822	0.796	3.19	0.587	0.581	0.94			
F8	0.737	0.521	0.513	1.58	0.667	0.645	3.19	0.780	0.773	0.94			
F9	0.822	0.122	0.119	2.26	0.360	0.354	1.67	0.419	0.408	2.66			
F10	0.862	0.145	0.142	2.26	0.486	0.477	1.67	0.320	0.311	2.66			
F11	1.319	0.276	0.269	2.26	0.893	0.878	1.67	0.629	0.613	2.66			
G1	0.859	0.100	0.099	1.58	0.533	0.524	1.67	0.327	0.319	2.66			
G2	0.754	0.105	0.103	2.26	0.541	0.532	1.67	0.244	0.241	0.94			
G3	0.928	0.073	0.072	2.26	0.386	0.380	1.67	0.238	0.235	0.94			
G4	0.634	0.070	0.068	2.26	0.529	0.520	1.67	0.196	0.194	0.94			
G5	0.893	0.116	0.115	1.58	0.736	0.724	1.67	0.308	0.300	2.66			
G6	0.970	0.153	0.149	2.26	0.866	0.838	3.19	0.387	0.376	2.66			
G7	0.838	0.086	0.084	1.58	0.529	0.520	1.67	0.257	0.255	0.94			
G8	0.913	0.093	0.091	2.26	0.567	0.557	1.67	0.296	0.288	2.66			
G9	0.918	0.075	0.074	1.58	0.423	0.416	1.67	0.233	0.231	0.94			
G10	0.988	0.061	0.060	1.58	0.240	0.232	3.25	0.204	0.202	0.94			

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。

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3种丹参制剂中丹参酮类成分提取率的影响,优选出100倍量甲醇超声提取20 min可将丹参酮类成分提取完全,得到图谱的色谱行为良好。本研究以TII_A为内参物,建立了丹参酮类成分QAMS定量测定方法,课题组将对更多丹参制剂进行QAMS法的验证。

丹参片、复方丹参片和冠心丹胶囊均收载于《中国药典》2015年版^[10],丹参为君药或臣药,制备工艺均采用高体积分数乙醇和水分别对脂溶性丹参酮类和水溶性丹酚酸类成分进行提取,但2类成分极性相差较大,当内参物与待测成分色谱保留性质差异较大时,会引起成分 $f_{i/s}$ 较大偏差^[3]。因此,建议分别对丹参制剂中2类成分建立QAMS定量测定方法。

实验结果显示同一剂型即使是同一品牌不同批次的产品,其有效成分量差异比较大,客观反映出药品质量参差不齐,这与原料药的产地、加工、炮制、提取工艺等都有关系,所以加强中药材质量和生产工艺的监管十分必要。

参考文献

[1] 陈振华,刘苏珍,周斌,等.浅谈中药质量标准现状与几种质量评价方法[J].时珍国医国药,2016,27(3):694-696.

[2] Hou J J, Wu W Y, Liang J, et al. A single, multi-faceted, enhanced strategy to quantify the chromatographically diverse constituents in the roots of *Euphorbia kansui* [J]. *J Pharmaceut Biome*, 2014, 88(2014): 321-330.

[3] 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.

[4] 何兵,刘艳,李春红,等.多指标定量指纹图谱在中药金银花质量评价中的应用[J].中国药学杂志,2015,50(14):1237-1242.

[5] 徐晶晶,徐超,刘斌.一测多评法测定薄荷药材中4种黄酮苷的含量[J].中国药学杂志,2014,49(3):234-239.

[6] 蓝天凤,王晓,王岱杰,等.一测多评法测定丹参中4种丹参酮类成分[J].中草药,2012,43(12):2420-2423.

[7] 田璐,闫海霞,傅欣彤,等.一测多评法同时测定川芎、当归饮片中多种化学成分的含量[J].药物分析杂志,2014,34(5):848-854.

[8] 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.

[9] 靳瑞婷,杨素德,付娟,等.一测多评法测定芪白平肺颗粒中8种皂苷类成分[J].中草药,2015,46(24):3682-3686.

[10] 中国药典[S].一部.2015.

[11] 李安平,杨锡,丁永辉,等.一测多评HPLC法测定丹参注射液中7个水溶性成分含量[J].药物分析杂志,2012,32(9):1534-1540.

[12] 张琳,窦志华,陈霞,等.一测多评法测定丹参合剂中5种水溶性成分含量[J].中华中医药学刊,2015,33(12):3006-3009.

[13] 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.

[14] 吴笛,臧忠良,王德勤,等.一测多评法测定复方丹参片中4种丹参酮类成分的含量[J].中国药学杂志,2012,47(18):1509-1513.

[15] 李建恒,乔亚君,侯力峰,等.丹参脂溶性有效成分丹参酮研究进展[J].河北大学学报:自然科学版,2015,35(2):217-224.

[16] 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.

[17] 何兵,杨世艳,张燕.一测多评中待测成分校正和定位的新方法研究[J].药学学报,2012,47(12):1653-1659.

[18] 王龙星,肖红斌,梁鑫淼.一种提高色谱指纹谱保留时间重现性的新方法[J].分析化学,2003,31(10):1232-1236.