

一测多评法同时测定新疆软紫草中 6 种萘醌类成分

毛 艳¹, 蔡晓翠¹, 古丽白热木·玉素因², 贺金华^{1*}

1. 新疆维吾尔自治区药物研究所, 新疆 乌鲁木齐 830004

2. 新疆医科大学药学院, 新疆 乌鲁木齐 830011

摘要: 目的 建立新疆软紫草 *Arnebia euchroma* 中紫草素、乙酰紫草素、去氧紫草素、异丁酰紫草素、 β -乙酰氧基异戊酰紫草素和 β,β' -二甲基丙烯酰紫草素 6 种萘醌类成分的一测多评测定方法。方法 采用高分辨 LC-MS 对软紫草药材中的主要萘醌类色谱峰进行鉴定。采用 HPLC 法, 以乙酰紫草素为内参物, 建立了乙酰紫草素与紫草素、去氧紫草素、异丁酰紫草素、 β -乙酰氧基异戊酰紫草素和 β,β' -二甲基丙烯酰紫草素的相对校正因子, 并考察了相对校正因子的耐用性和重现性。比较了外标法和一测多评法对新疆软紫草中 6 种成分的测定结果。结果 各相对校正因子重复性良好, 一测多评法测定结果与外标法测定结果无显著差异。结论 建立同时测定 6 种成分的一测多评法控制新疆软紫草药材的质量是准确、可靠的。

关键词: 一测多评法; 相对校正因子; 新疆软紫草; 多成分质量控制; 紫草素; 乙酰紫草素; 去氧紫草素; 异丁酰紫草素; β -乙酰氧基异戊酰紫草素; β,β' -二甲基丙烯酰紫草素

中图分类号: R286.2 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2019)17-4170-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.17.024

Simultaneous determination of six anthraquinone components in *Arnebia euchroma* by QAMS

MAO Yan¹, CAI Xiao-cui¹, GU Libairemu·yusuyin², HE Jin-hua¹

1. Xinjiang Institute of Material Medica, Urumqi 830004, China

2. College of Pharmacy, Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, China

Abstract: Objective To establish a new method for the quantitative analysis of multi-components by single-marker (QAMS) to simultaneously determine six naphthoquinone components in *Arnebia euchroma*. **Methods** The chromatographic peaks of the main naphthoquinone components in *A. euchroma* were identified by high resolution LC-MS. The acetyl Shikonin was used as internal marker to calculate the relative correlation factors (RCF) of deoxyshikonin, isobutyrylshikonin, β -acetoxisovalerate shikonin, and β,β' -dimethylacryloyl shikonin by HPLC, and examine the durability and reproducibility of the RCF. The external standard method and QAMS were compared to determine the six components in *A. euchroma*. **Results** The repeatability of RCF was good. The results calculated with QAMS were consistent with the results by the external standard method. **Conclusion** The QAMS method for simultaneously measuring the content of six components is accurate and reliable to evaluate the quality of *A. euchroma*.

Key words: quantitative analysis of multi-components by single marker (QAMS); relative correlation factor; *Arnebia euchroma* (Royle) Johnston.; multi-component quality control; shikonin; acetyl-shikonin; deoxyshikonin; isobutyrylshikonin; β -acetoxisovalerate shikonin; β,β' -dimethylacryl shikonin

紫草 *Arnebia euchroma* (Royle) Johnston. 为紫草科软紫草属植物, 又名新疆软紫草, 始载于《神农本草经》, 多年生草本植物, 以根入药, 是新疆的特

色药材, 现收载于《中国药典》2015 年版一部中, 气特异, 味微苦、涩, 具清热凉血、活血解毒、透疹消斑之功效^[1], 分布于新疆天山和昆仑山区

收稿日期: 2019-08-13

基金项目: 新疆维吾尔自治区自然科学基金青年基金资助项目 (2016D01B058)

作者简介: 毛 艳 (1983—), 女, 硕士生导师, 副研究员, 从事中药民族药新药研发及质量控制研究。

Tel: (0991)2326572 E-mail: maoyan7529@163.com

*通信作者 贺金华 (1968—), 女, 硕士生导师, 研究员, 从事中药民族药新药研发及质量控制研究。

Tel: (0991)2326572 E-mail: hejh1216@163.com

等地。中国药用紫草中 70% 的原料来自新疆软紫草, 由于生态环境恶化及人工采挖等原因, 导致资源日益枯竭。近年来在新疆克孜勒苏自治州人工大面积种植紫草获得成功, 已形成一定规模, 为开发和利用软紫草的药用价值提供了充足的物质资源。

《中国药典》2015 年版一部中新疆软紫草的含量测定指标是 β, β' -二甲基丙烯酰紫草素, 单个成分的量无法进行软紫草药材的整体质量评估, 但是多成分质量控制模式要求购买多种对照品, 而软紫草中的多数对照品价格昂贵且购买困难, 难以满足检测需求。一测多评法 (quantitative analysis of multi-components by single-marker, QAMS) 依据中药材内各有效成分间的某些内在关系, 选择价廉、易得的成分为内参物, 建立该成分与其他成分间的相对校正因子 (relative correction factor, f), 通过 f 计算其他成分的量^[2-6]。本实验根据此法进行了新疆软紫草中多成分质量控制的研究, 首次建立了以乙酰紫草素为内参物, 考察与其他成分 (紫草素、去氧紫草素、异丁酰紫草素、 β -乙酰氧基异戊酰紫草素和 β, β' -二甲基丙烯酰紫草素) 的 f , 得到其他成分的量, 实现多组分同时测定, 为新疆软紫草药材的质量控制提供科学依据。

1 仪器与试药

1.1 仪器

UltiMate 3000 系列高效液相色谱仪 (包括二极管阵列检测器, 四元梯度泵, 在线脱气机, 自动进样器, 柱温箱, 4~40 °C 恒温箱) 购自美国 Thermo Scientific Technologies 公司; Agilent 1260 series 快速高效液相色谱仪 (美国 Waldbronn Agilent Technologies 公司); Q-TOF 型 MS/MS 质谱仪 (QSTARTM Elite, AB Sciex 公司), 配有 ESI 源及 Analyst QS 2.0 数据处理系统; CPA225D 电子天平 (Sartorius 公司, $d=0.01$ mg); AS BDT 型超声波清洗器 (频率 40 kHz, 功率 240 W, 上海科导超声仪器有限公司); UPT-11-10T 优普特实验超纯水机 (成都超纯科技有限公司)。

1.2 材料与试剂

色谱纯乙腈、甲醇、甲酸购自 Merck 公司 (德国), 其余试剂为分析纯; 对照品紫草素 (批号 110769-200405)、乙酰紫草素 (批号 1601105, 质量分数 99.9%)、去氧紫草素 (批号 171023, 质量分数 98.22%)、异丁酰紫草素 (批号 170223,

质量分数 98.91%) 均购自深圳健竹生物科技有限公司; 对照品 β -乙酰氧基异戊酰紫草素 (批号 Must-18071610, 质量分数 98.44%)、 β, β' -二甲基丙烯酰紫草素对照品 (批号 Must-1701201, 质量分数 98.60%) 均购自成都曼思特生物科技有限公司; 新疆软紫草药材 (新疆八音布鲁克, 野生, 采收日期 2016 年 8 月), 由新疆维吾尔自治区药物研究所何江副研究员鉴定为紫草科植物新疆紫草 *Arnebia euchroma* (Royle) Johnston. 的干燥根。

2 方法与结果

2.1 QAMS 法的建立

2.1.1 对照品溶液的制备 精密称取紫草素、乙酰紫草素、去氧紫草素、异丁酰紫草素、 β -乙酰氧基异戊酰紫草素和 β, β' -二甲基丙烯酰紫草素对照品适量, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 制成含紫草素 0.555 mg/mL、乙酰紫草素 1.097 mg/mL、去氧紫草素 0.409 mg/mL、异丁酰紫草素 0.806 mg/mL、 β -乙酰氧基异戊酰紫草素 0.377 mg/mL、 β, β' -二甲基丙烯酰紫草素 0.704 mg/mL 的溶液, 作为对照品储备液, 再分别精密吸取 6 个对照品储备液 0.2、0.8、0.1、0.5、0.5、1.0 mL, 置同一 5 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 即得混合对照品溶液, 并于 4 °C 冰箱中避光保存, 备用。

2.1.2 供试品溶液的制备 称取新疆软紫草药材 0.5 g (过 4 号筛), 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密吸取 25 mL 乙醇, 称定质量, 超声处理 (250 W, 40 kHz) 30 min, 放冷, 再称定质量, 用乙醇补足减失的质量, 摇匀, 取上清液滤过, 取续滤液, 即得。

2.1.3 HPLC-MS 定性检测

(1) 色谱条件 YMC-Pack-ODS-A C_{18} (100 mm $\times$ 4.6 mm, 1.8 μ m), 流动相为乙腈 (A)-0.1% 甲酸溶液 (B), 梯度洗脱: 0~8 min, 65% A; 8~8.01 min, 65%~70% A; 8.01~36 min, 70% A; 36~36.01 min, 70%~65% A; 36.01~40 min, 65% A; 体积流量 0.4 mL/min; 柱温 30 °C; 进样量 10 μ L, 色谱图见图 1。

(2) 质谱条件 采用 ESI 离子源, 负离子检测模式, 喷雾电压-4.5 kV, 解簇电压-60 V, 入口电压-10 V, 聚焦电压-215 V, 碰撞电压-35 V; 雾化气 (N_2) 压力 414 kPa, 干燥气 (N_2) 压力 483 kPa, 温度 450 °C, 扫描范围 m/z 100~1 000。

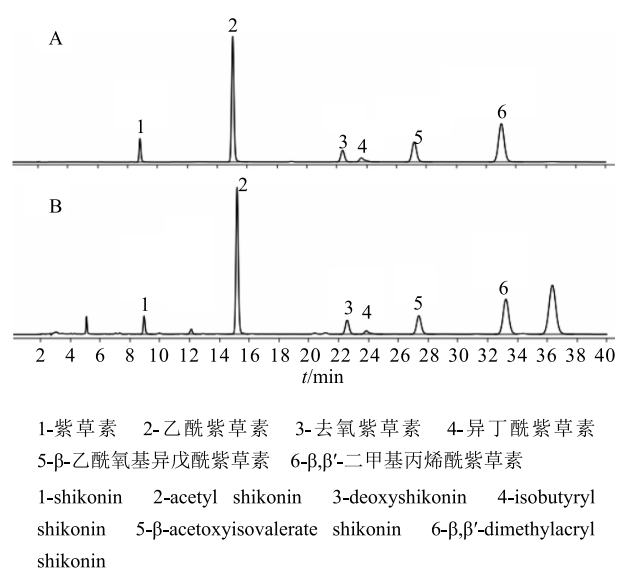


图 1 混合对照品 (A) 和新疆软紫草样品 (B) 的 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC spectrogram of reference substances (A) and sample (B)

(3) HPLC-MS 成分确认 取供试品溶液, 按“2.1.3”项下色谱条件及质谱条件进行 HPLC-MS 分析, 进样量为 10 μL , 并根据萘醌类化合物的质谱裂解规律为指导, 参照紫草中已报道成分的质谱数据, 分析推断了紫草中所含 6 个成分, 结果见表 1。

2.1.4 线性范围的考察 分别精密吸取“2.1.1”项下系列质量浓度的混合对照品溶液 5 μL , 注入液相色谱仪, 记录色谱图。以对照品质量浓度为横坐标 (X), 峰面积为纵坐标 (Y) 进行线性回归。实验结果表明, 各成分在各自质量浓度范围内呈良好的线性关系, 结果见表 2。

2.1.5 精密度试验 精密吸取混合对照品溶液, 连续进样 6 次, 记录峰面积, 6 个萘醌类成分的峰面积 RSD 依次为 0.31%、0.17%、0.28%、0.83%、0.31%、0.13%, 表明仪器精密度良好。

2.1.6 重复性试验 取同一批供试品 (批号 20160911), 按“2.1.2”项下方法平行制备 6 份供

表 1 紫草中可能存在的化学成分 HPLC-MS/MS 数据

Table 1 HPLC-MS/MS data of chemical components in *A. euchroma*

峰号	t_R/min	$[M-H]^-/[2M+Na-2H]^-$	预测分子式	误差($\times 10^{-6}$)	相对分子质量	化合物
1	8.60	287.221 8/597.435 1	$\text{C}_{16}\text{H}_{15}\text{O}_5^-$	0.511	288.09	紫草素
2	14.62	329.101 1/681.192 2	$\text{C}_{18}\text{H}_{17}\text{O}_6^-$	0.453	330.33	乙酰紫草素
3	21.55	271.103 5/565.267 6	$\text{C}_{18}\text{H}_{17}\text{O}_6^-$	0.467	272.30	β -乙酰氧基异戊酰紫草素
4	23.68	429.154 2/881.298 7	$\text{C}_{23}\text{H}_{25}\text{O}_8^-$	0.356	430.15	去氧紫草素
5	27.04	357.132 5/737.256 8	$\text{C}_{20}\text{H}_{21}\text{O}_6^-$	0.628	358.13	异丁酰紫草素
6	32.43	369.144 3/761.280 5	$\text{C}_{21}\text{H}_{21}\text{O}_6^-$	0.677	370.14	β, β' -二甲基丙烯酰紫草素

表 2 新疆软紫草中 6 种萘醌类成分的线性范围考察

Table 2 Regression equations and linear ranges of six active analytes

成分	回归方程	r 值	线性范围/($\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)
左旋紫草素	$Y=7\ 862.9 X+0.001\ 7$	1.000 0	0.005 6~0.033 3
乙酰紫草素	$Y=7\ 088.8 X-0.258\ 7$	0.999 9	0.043 9~0.263 3
β -乙酰氧基异戊酰阿卡宁	$Y=4\ 903.3 X+0.219\ 9$	0.999 6	0.015 1~0.067 9
去氧紫草素	$Y=12\ 132 X-4.505$	0.999 8	0.004 9~0.016 4
异丁酰紫草素	$Y=5\ 044 X-8.757\ 8$	0.999 7	0.032 2~0.145 1
β, β' -二甲基丙烯酰紫草素	$Y=6\ 657.8 X-2.692\ 9$	0.999 7	0.056 3~0.197 1

试品溶液, 再按“2.1.3”项下色谱条件进样测定, 记录峰面积。计算质量分数, 6 个萘醌类成分的峰面积 RSD 依次为 1.49%、2.52%、2.01%、3.14%、2.20%、1.61%, 表明本方法重复性良好。

2.1.7 稳定性试验 取同一供试品溶液, 样品盘

中放置 (10 $^{\circ}\text{C}$), 分别于 0、2、4、6、8、10、12、24 h 进样测定, 记录色谱峰面积, 结果, 6 个萘醌类成分的峰面积 RSD 依次为 0.56%、0.18%、0.51%、3.66%、0.32%、0.33%, 结果表明溶液放置 24 h 稳定。

2.1.8 加样回收率试验 取已测定的供试品(批号 20150301) 0.25 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 共 6 份, 分别加入一定量的对照品, 按照“2.1.2”项下方法制备供试品溶液, 再按“2.1.3”项下色谱条件进样测定, 6 个萘醌类成分加样回收率平均值依次为 101.55%、95.97%、101.21%、99.77%、100.30%、99.58%, RSD 依次为 2.14%、0.66%、1.86%、2.88%、1.47%、1.85%, 结果表明该方法准确度良好。

2.2 新疆软紫草中 6 个萘醌类成分 QAMS 计算

2.2.1 f 的确定 取混合对照品溶液, 分别进样 1、2、4、5、6、8、10、12 μL 测定, 以乙酰紫草素为内参物(s), 按公式计算紫草素(A)、去氧紫草素(B)、异丁酰紫草素(C)、 β -乙酰氧基异戊酰紫草素(D)和 β , β -二甲基丙烯酰紫草素(E)的相对校正因子 $f_{s/A}$ 、 $f_{s/B}$ 、 $f_{s/C}$ 、 $f_{s/D}$ 、 $f_{s/E}$, 结果见表 3。

$$f_{s/i} = f_{s/i} = (A_s \times C_i) / (A_i \times C_s)$$

A_s 、 C_s 分别为内参物对照品的峰面积和质量分数, A_i 、 C_i 分别为待测成分对照品的峰面积和质量分数

表 3 以乙酰紫草素为内参物的 $f_{s/i}$ 测定结果 ($n=3$)

Table 3 $f_{s/i}$ determination results with acetyl shikonin as internal content ($n=3$)

进样体积/ μL	$f_{s/A}$	$f_{s/B}$	$f_{s/C}$	$f_{s/D}$	$f_{s/E}$
1	0.905	1.394	0.650	1.475	1.083
2	0.915	1.452	0.675	1.465	1.074
4	0.909	1.457	0.621	1.454	1.074
5	0.909	1.459	0.619	1.451	1.074
6	0.907	1.455	0.623	1.448	1.073
8	0.904	1.453	0.620	1.448	1.074
10	0.902	1.453	0.602	1.448	1.073
12	0.901	1.453	0.602	1.444	1.072
平均值	0.906	1.447	0.627	1.454	1.075
RSD/%	0.488	1.487	3.907	0.722	0.320

2.2.2 不同体积流量对 f 的影响 考察体积流量为 0.8、1.0、1.2 mL/min 时对 f 的影响, 结果见表 4, 结果表明 f 在不同体积流量下适应性良好。

2.2.3 不同柱温对 f 的影响 考察柱温为 25、30、35 $^{\circ}\text{C}$ 时对 f 的影响, 结果见表 5。结果表明 f 在不同柱温下适应性良好。

2.2.4 不同仪器对 f 的影响 考察 2 种高效液相色谱系统 Thermo Scitific Ultimate 3000 高效液相色谱仪和 Agilent 1260 高效液相色谱仪对各成分 f 的影响, 结果见表 6。结果表明 f 在不同仪器下适应性良好。

2.2.5 不同色谱柱对 f 的影响 考察了 YMC-Pack-

表 4 不同体积流量测定新疆软紫草中 6 种萘醌类成分的 f ($n=3$)

Table 4 f values of six compounds to *A. euchroma* on different flow rates ($n=3$)

体积流量/($\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$)	$f_{s/A}$	$f_{s/B}$	$f_{s/C}$	$f_{s/D}$	$f_{s/E}$
0.8	0.892	1.464	0.622	1.451	1.071
1.0	0.909	1.459	0.619	1.451	1.074
1.2	0.890	1.472	0.647	1.408	1.071
平均值	0.897	1.465	0.629	1.437	1.072
RSD/%	1.161	0.446	2.484	1.710	0.165

表 5 不同柱温测定新疆软紫草中 6 种萘醌类成分的 f ($n=3$)

Table 5 f values of six compounds in *A. euchroma* (determined by different column temperature ($n=3$))

柱温/ $^{\circ}\text{C}$	$f_{s/A}$	$f_{s/B}$	$f_{s/C}$	$f_{s/D}$	$f_{s/E}$
25	0.907	1.455	0.605	1.441	1.071
35	0.895	1.457	0.592	1.441	1.106
30	0.909	1.459	0.619	1.451	1.074
平均值	0.904	1.457	0.605	1.444	1.084
RSD/%	0.838	0.148	2.169	0.403	1.798

表 6 不同仪器测定新疆软紫草中 6 种萘醌类成分的 f ($n=3$)

Table 6 f values of six compounds in *A. euchroma* determined by different instruments ($n=3$)

仪器	$f_{s/A}$	$f_{s/B}$	$f_{s/C}$	$f_{s/D}$	$f_{s/E}$
Agilent 1260-1	0.909	1.459	0.619	1.451	1.074
UltiMate 3000	0.892	1.461	0.628	1.451	1.067
Agilent 1260-2	0.881	1.408	0.599	1.438	1.072
平均值	0.894	1.443	0.615	1.447	1.071
RSD/%	1.580	2.080	2.391	0.506	0.343

ODS-A C_{18} (2 500 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm), Agilent TC- C_{18} (2 500 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm), Cosmosil 5 C_{18} -AR-II (2 500 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm) 3 种色谱柱对 f 的影响, 结果见表 7。结果表明 f 在不同色谱柱下适应性良好。

2.2.6 f 重现性影响因素结果 综合以上各种因素,

表 7 不同色谱柱测定新疆软紫草中 6 种萘醌类成分的 f ($n=3$)

Table 7 f values of six compounds in *A. euchroma* determined by different columns ($n=3$)

色谱柱	$f_{s/A}$	$f_{s/B}$	$f_{s/C}$	$f_{s/D}$	$f_{s/E}$
Agilent C_{18}	0.879	1.383	0.621	1.440	1.061
Cosmosil C_{18}	0.930	1.479	0.628	1.518	1.108
YMC C_{18}	0.892	1.461	0.628	1.451	1.067
平均值	0.900	1.408	0.626	1.470	1.079
RSD/%	2.912	3.559	0.626	2.853	2.363

紫草素、去氧紫草素、异丁酰紫草素、 β -乙酰氧基异戊酰紫草素和 β,β' -二甲基丙烯酰紫草素 RSD 依次为 1.63%、1.979%、2.468%、1.78%、1.44%。

2.2.7 色谱峰定位参数考察 利用相对保留时间 ($r_{i/s}$) 进行峰定位, $r_{i/s} = t_{R(i)}/t_{R(s)}$ (i 为待测成分, s 为内参物), 本实验考察了相对保留值在不同高效液相色谱系统、不同品牌色谱柱时的重现性, 结果见表 8。结果表明, 各待测成分的相对保留值 RSD

均小于 5%, 说明用 $r_{i/s}$ 进行色谱峰定位较为可行。

2.2.8 QAMS 法与外标法 (ESM) 测定结果的比较 取 4 批次新疆软紫草, 每批 3 份, 按照“2.1.2”项下方法制备供试品溶液, 再按“2.1.3”项下色谱条件测定, 记录峰面积, 分别用 ESM 与 QAMS 法计算其量并对结果进行比较, 测定结果见表 9。结果表明, 2 种方法所得值的偏差没有显著性差异, 由此说明 QAMS 法用于新疆软紫草药材的多种萘醌类成分质量评价研究是可行的。

表 8 不同仪器和色谱柱测定新疆软紫草中 6 种萘醌成分的相对保留值 ($n = 3$)

Table 8 Relative retention values of six compounds in *A. euchroma* determined by different instruments and columns ($n = 3$)

仪器名称	色谱柱型号	$r(A/s)$	$r(C/s)$	$r(D/s)$	$r(E/s)$	$r(F/s)$
Agilent 1260-1	YMC C ₁₈	0.588	1.473	1.550	1.780	2.148
	Agilent C ₁₈	0.559	1.498	1.596	1.783	2.142
	Cosmosil C ₁₈	0.588	1.414	1.560	1.709	2.060
UltiMate 3000	YMC C ₁₈	0.593	1.467	1.540	1.768	2.130
	Cosmosil C ₁₈	0.590	1.435	1.576	1.735	2.100
	Agilent C ₁₈	0.559	1.517	1.509	1.807	2.179
Agilent 1260-2	YMC C ₁₈	0.586	1.497	1.563	1.812	2.198
平均值		0.580	1.472	1.556	1.771	2.137
RSD/%		2.550	2.480	1.750	2.110	2.190

表 9 QAMS 与 ESM 测定结果 ($n = 3$)

Table 9 Content of six compounds determined by QAMS and ESM ($n = 3$)

批号	乙酰紫草素/ (mg·g ⁻¹)		紫草素/(mg·g ⁻¹)		去氧紫草 素/(mg·g ⁻¹)		异丁酰紫草素/(mg·g ⁻¹)		β-乙酰氧基异戊酰紫 草素/(mg·g ⁻¹)		β,β'-二甲基丙烯酰 紫草素/(mg·g ⁻¹)	
	ESM	ESM	QAMS	ESM	QAMS	ESM	QAMS	ESM	QAMS	ESM	QAMS	
20160911	7.989	0.715	0.709	2.121	2.118	0.251	0.248	3.116	3.143	5.692	5.684	
20160801	7.920	0.703	0.700	2.114	2.097	0.243	0.246	3.037	3.043	5.566	5.570	
20150412	5.39	0.571	0.567	0.168	0.161	1.299	1.295	5.775	5.768	6.316	6.310	
20170830	10.69	0.526	0.521	0.158	0.151	0.937	0.931	2.568	2.560	8.488	8.480	

3 讨论

3.1 QAMS 法的必要性

新疆软紫草作为常用的传统中药, 国内外对于其有效成分紫草素的研究逐渐深入。紫草素除在药理作用方面有其独到的疗效外, 也是名贵的染料, 还可作为天然食用色素或添加到化妆品中使用。但是《中国药典》2015 年版紫草含量测定项下仅收录了 β,β' -二甲基丙烯酰紫草素的含量测定项, 无法真实、全面体现紫草中多种萘醌类成分的含量。QAMS 是根据化学成分在一定线性范围, 其质量和检测器响应值成正比的原理, 通过测定药物中一种成分量, 并依据成分间内在函数和比例关系推算

其他多种待测成分量的一种质量控制方法^[7-8]。该方法大大降低的分析成本, 采用一种对照品就可以同时检测成分的含量, 同时也提高了实验效率, 近年来广泛的运用于单味中药及复方中多指标成分的测定。

3.2 内参物的选择

实验中对内参物的选择主要考虑来源有保证, 廉价、易得等方面, 实验中发现在新疆软紫草中乙酰紫草素的含量最高, 且相比其他成分性质较为稳定, 在多种不同品牌的色谱柱中均有很好的分离度和重现性, 最终选择以乙酰紫草素为内参物, 同时检测多个萘醌类成分含量更有利于评价紫草药材

质量的优劣,并充分体现了一测多评法简便、易操作、低成本的特点。

3.3 色谱峰的定位

本研究通过相对保留时间法来考察色谱峰的定位情况,实验中考察了 YMC-Pack-ODS-A C₁₈、Agilent TC-C₁₈、Cosmosil 5 C₁₈-AR-II、Agilent XDB-C₁₈ 和 Thermo Acclaim HPLC-C₁₈ 5 根色谱柱,发现 Agilent XDB-C₁₈ 和 Thermo synchronis-C₁₈ 不能将去氧紫草素和 β -乙酰氧基异戊酰紫草素 2 个色谱峰进行很好的分离,经过反复试验,最终确定采用 YMC-Pack-ODS-A C₁₈、Agilent TC-C₁₈、Cosmosil 5 C₁₈-AR-II 3 根色谱柱进行实验。这 3 根色谱柱在不同 HPLC 系统中相对保留时间影响均较小,RSD 均 < 3%,并且 6 个成分出峰顺序均不受色谱系统的影响。

3.4 研究意义

本实验考察不同品牌仪器和色谱柱对校正因子的影响,验证 QAMS 在新疆软紫草药材质量控制中的可行性和适用性,并且比较了 4 个批次新疆软紫草 ESM 与 QAMS 的含量测定结果。结果表明本实验条件下 f 具有较好的重现性,该方法测定结果

与 ESM 测定结果之间均无显著性差异。本实验提供的 f 可以在缺少其他对照品的情况下,以乙酰紫草素对照品作为内参物,实现新疆软紫草中多种萘醌类成分的含量测定。

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [2] 宋宗华,王智民,钱忠直,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, 2010, 37(4): 405-416.
- [3] 张红伟,张振凌. “一测多评”法在中药质量控制中的研究进展 [J]. 海峡药学, 2010, 22(11): 88-89.
- [4] 刘慧妍,沈国滨. 一测多评法同时测定野菊花中 7 种成分 [J]. 中草药, 2017, 48(10): 2012-2017.
- [5] 赵文文,吴智敏,吴霞,等. 一测多评法测定新疆紫草中主要萘醌类成分的含量 [J]. 中国中药杂志, 2016, 41(20): 3792-3797.
- [6] 吴文杰,邓阳,谭桂林,等. 一测多评法测定葛根药材中 5 种异黄酮类成分 [J]. 中草药, 2017, 48(4): 777-781.
- [7] 刘慧妍,沈国滨. 一测多评法同时测定野菊花中 7 种成分 [J]. 中草药, 2017, 48(10): 2012-2017.
- [8] 朱春胜,林志健,牛红娟,等. 一测多评法测定菊苣中绿原酸、秦皮乙素、异绿原酸 B 和异绿原酸 A 的量 [J]. 中草药, 2016, 47(4): 666-670.