

## 基于一测多评法的当归药材质量控制研究

李小阳<sup>1,4</sup>, 翟小林<sup>1</sup>, 王丹<sup>1</sup>, 范晶<sup>1</sup>, 裴纹萱<sup>2</sup>, 董玲<sup>2</sup>, 孙裕<sup>3</sup>, 宋学斌<sup>3</sup>, 王晶娟<sup>1\*</sup>

1. 北京中医药大学中药学院, 北京 102488
2. 北京中医药大学生命科学院, 北京 100029
3. 兰州佛慈制药股份有限公司, 甘肃 兰州 730046
4. 中国中医科学院中医药信息研究所, 北京 100700

**摘要:** 目的 建立一测多评法 (quantitative analysis of multi-components by a single marker, QAMS) 同时测定当归中阿魏酸、洋川芎内酯 I、洋川芎内酯 H、阿魏酸松柏酯、藁本内酯和丁烯基苯酞的含量。方法 采用 Waters X-Select CSH 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 以 0.085% 磷酸-水溶液 (A)-乙腈 (B) 为流动相, 梯度洗脱, 体积流量 1.0 mL/min, 柱温 40 °C, 检测波长 265 nm。结果 在线性范围内各成分线性良好 ( $R^2 > 0.999$ )。以藁本内酯为内标, 阿魏酸、洋川芎内酯 I、洋川芎内酯 H、阿魏酸松柏酯和丁烯基苯酞的相对校正因子分别为 1.073 4、0.564 8、0.468 1、0.926 2、1.083 5; 同时采用外标法测定这 6 个成分的含量, 将 2 种方法进行分析比较, 结果没有明显差异。结论 建立了当归药材中阿魏酸、洋川芎内酯 I、洋川芎内酯 H、阿魏酸松柏酯、藁本内酯和丁烯基苯酞 6 个成分的 QAMS 法, 该法可用于当归的质量控制。

**关键词:** 当归; 一测多评法; 阿魏酸; 洋川芎内酯 I; 洋川芎内酯 H; 阿魏酸松柏酯; 藁本内酯; 丁烯基苯酞

中图分类号: R286.2 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2022)20-6354-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2022.20.006

## Quality control of *Angelicae Sinensis Radix* based on quantitative analysis of multi-components by a single marker

LI Xiao-yang<sup>1,4</sup>, ZHAI Xiao-lin<sup>1</sup>, WANG Dan<sup>1</sup>, FAN Jing<sup>1</sup>, PEI Wen-xuan<sup>2</sup>, DONG Ling<sup>2</sup>, SUN Yu<sup>3</sup>, SONG Xue-bin<sup>3</sup>, WANG Jing-juan<sup>1</sup>

1. School of Chinese Materia Medica, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 102488, China
2. School of Life Sciences, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China
3. Lanzhou Foci Pharmaceutical Co., Ltd., Lanzhou 730046, China
4. Institute of Information on Traditional Chinese Medicine, Chinese Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China

**Abstract: Objective** To establish a HPLC method for the determination of ferulic acid, senkyunolide I, senkyunolide H, coniferyl ferulate, ligustilide and butylidenephthalide in Danggui (*Angelicae Sinensis Radix*) using quantitative analysis of multi-components by a single marker (QAMS). **Methods** The analysis was performed on a Waters X-Select CSH column (250 mm×4.6 mm, 5 μm), with 0.085% phosphoric acid (A) and acetonitrile (B) as mobile phase at the flow rate of 1 mL/min for gradient elution, as well as the wavelength was 265 nm and the column temperature was 40 °C. **Results** All calibration curves showed good linearity ( $R^2 > 0.999$ ) within the concentration range. Ligustilide was used as the internal reference standard, and five relative correction factors (RCF) of ferulic acid, senkyunolide I, senkyunolide H, coniferyl ferulate and butylidenephthalide to ligustilide were calculated, which were 1.073 4, 0.564 8, 0.468 1, 0.926 2 and 1.083 5, respectively. Their content in *Angelicae Sinensis Radix* was determined by both external standard method and QAMS method. There were no significant differences between two methods. **Conclusion** The method of QAMS for six components determination in *Angelicae Sinensis Radix* was established, which can be used for the quality control of *Angelicae Sinensis Radix*.

**Key words:** *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels.; QAMS; ferulic acid; senkyunolide I; senkyunolide H; coniferyl ferulate; ligustilide; butylidenephthalide

收稿日期: 2022-03-03

基金项目: 国家中药标准化项目“大黄等 6 种中药饮片标准化建设”(ZYBZH-Y-GS-10-B)

作者简介: 李小阳, 硕士, 研究方向为民族药学。Tel: 15810864572 E-mail: lxy@bucm.edu.cn

\*通信作者: 王晶娟, 教授, 研究方向为中药鉴定与质量评价方法。Tel: 13691355913 E-mail: wangjj@bucm.edu.cn

当归 *Angelicae Sinensis Radix*, 又名文无, 是伞形科植物当归 *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels. 的干燥根。味甘、辛, 性温, 归肝、心、脾经, 有补血活血、调经止痛、润肠通便的功效<sup>[1]</sup>。目前, 对于当归化学成分及药理作用的研究已经较为全面。当归中的化学成分主要包括苯酞类、香豆素类、黄酮类、有机酸类及其他成分<sup>[2-3]</sup>。它的药理作用广泛, 既能作用于心血管系统和血液系统, 还有抗炎、抗氧化和增强免疫的功效<sup>[4-9]</sup>。

阿魏酸是当归中的主要活性成分, 以游离型或结合型存在于药材中。阿魏酸与松柏醇结合形成的阿魏酸松柏酯是最主要的结合形式之一<sup>[10]</sup>。阿魏酸松柏酯有很高的生物活性, 它不仅是当归挥发油中抗氧化活性的来源<sup>[11]</sup>, 还是谷胱甘肽 S-转移酶的强抑制剂, 对潜在肿瘤多药耐药有逆转作用<sup>[12]</sup>。但它不稳定, 极易在光和高温的条件下分解为阿魏酸<sup>[10]</sup>。目前, 《中国药典》2020 年版中对当归的要求为阿魏酸含量不得少于 0.05%。有文献建议, 由于结合型阿魏酸与游离型阿魏酸之间的转化关系, 应当将总阿魏酸含量作为当归的质量评价指标<sup>[13]</sup>。除此以外, 药典中并未对当归中的另一主要活性成分藁本内酯的含量加以控制。基于本课题组对当归的前期研究<sup>[14-15]</sup>, 以及

当归中苯酞类成分之间的相互转化作用<sup>[16-17]</sup>, 本课题组建立了一测多评法 (quantitative analysis of multi-components by a single marker, QAMS) 同时测定<sup>[18-19]</sup>当归中阿魏酸、洋川芎内酯 I、洋川芎内酯 H、阿魏酸松柏酯、藁本内酯和丁烯基苯酞的含量测定方法, 为中药当归质控标准的制定提供一种方法和手段。

### 1 材料

BSA124S 型、CPA225D 型电子分析天平, 德国 Sartorius 公司; SB5200T 型超声仪, 宁波新芝生物公司; 2998PDA 型 Waters 液相色谱仪 (检测器), 美国 Waters 公司。色谱纯甲醇、乙腈、甲酸和磷酸为 Fisher 公司生产。

实验所收集的当归样品均经北京中医药大学中药学院鉴定系王晶娟副教授鉴定为伞形科植物当归 *A. sinensis* (Oliv.) Diels. 的干燥根。样品信息见表 1。阿魏酸 (批号 H25M6L1) 对照品购于源叶生物, 洋川芎内酯 I (批号 180428)、洋川芎内酯 H (批号 180121)、丁烯基苯酞 (批号 171004)、藁本内酯 (批号 170804) 对照品购于北京四面体生物科技发展有限公司, 质量分数大于 98%。对照品阿魏酸松柏酯 (171216) 购于北京四面体生物科技发展有限公司, 质量分数大于 95%。

表 1 当归样品信息

Table 1 Information of *Angelicae Sinensis Radix*

批号	采集时间	产地	批号	采集时间	产地
1	2015	岷县西寨镇刘家堡村	17	2016	岷县喇嘛村
2	2015	岷县蒲麻乡化力沟村	18	2016	漳县尖子村
3	2015	岷县西寨镇	19	2016	漳县金钟镇
4	2015	渭源县祁家庙乡瓦楼村	20	2016	漳县寨子川村
5	2015	渭源县祁家庙乡	21	2016	漳县曾家河村
6	2015	渭源县祁家庙乡烟雾沟村	22	2016	漳县四族乡年家门村
7	2015	漳县金钟镇大石门村	23	2017	湖北恩施红土乡石窑村
8	2015	漳县大草滩新联村	24	2017	岷县清水镇清水村
9	2015	漳县尖子村	25	2017	岷县十里镇甘寨村
10	2015	漳县寨子川村	26	2017	岷县梅川镇马家沟村
11	2015	漳县四族乡年家门村	27	2017	渭源县莲峰镇簸箕湾村
12	2015	漳县喇嘛村	28	2017	云南沾益县播乐乡
13	2016	岷县西寨镇刘家堡村	29	2017	漳县殪虎桥镇东桥村
14	2016	岷县西寨镇	30	2017	漳县金钟镇尖子村
15	2016	岷县禾驮乡甘滩村	31	2017	甘肃 (燕京饮片厂)
16	2016	岷县蒲麻乡化力沟村			

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

色谱柱为 Waters X-Select CSH (250 mm×4.6 mm, 5 μm)。进样量 10 μL, 检测波长 265 nm, 体积流量 1.0 mL/min, 柱温 40 °C, 流动相为 0.085% 磷酸水 (A)-乙腈 (B), 梯度洗脱: 0~20 min, 15%~26%B; 20~23 min, 26%~46%B; 23~45 min, 46%B; 45~50 min, 46%~90%B; 50~55 min, 90%B。

### 2.2 对照品溶液的制备

精密称取阿魏酸、洋川芎内酯 I、洋川芎内酯 H、阿魏酸松柏酯、藁本内酯和丁烯基苯酞对照品适量, 分别置棕色量瓶中, 加甲醇稀释定容置刻度线, 得到的溶液质量浓度依次为 3.2、4.1、0.7、13.9、80.4 和 8.4 μg/mL。由于本实验使用的对照品多数性质不稳定, 制备后应立即使用, 临时保存可置于-20 °C 冷冻, 但再次使用前需重新标定含量。

### 2.3 供试品溶液的制备

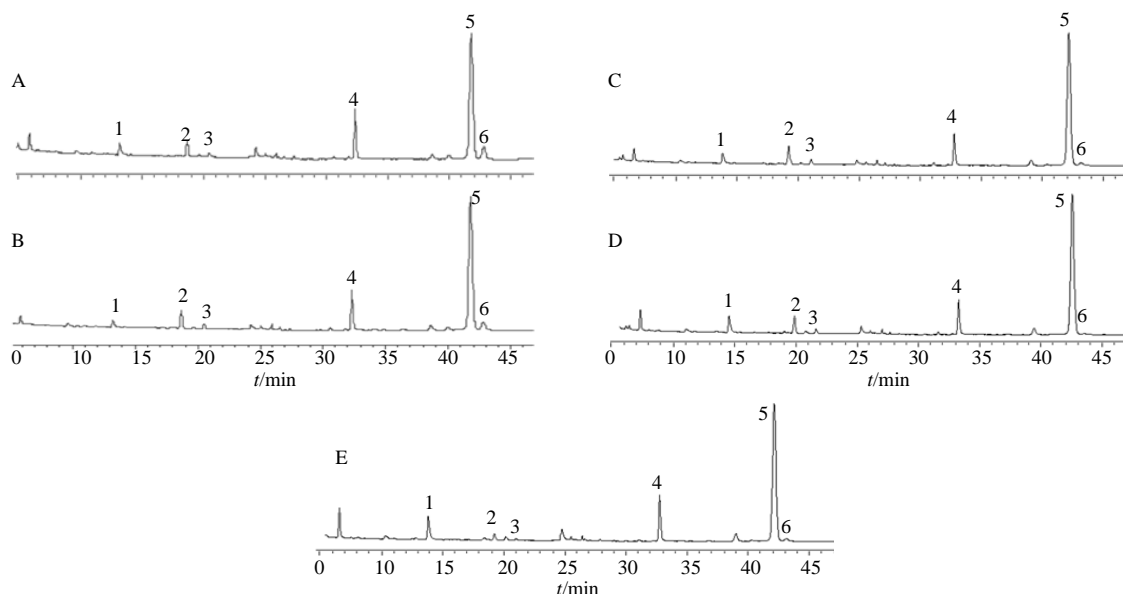
取当归粉末(过三号筛)约 0.2 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 分别加入 95:5 甲醇甲酸 20 mL, 称定质量, 超声提取 30 min, 放冷, 再称定质量, 用 95:5 甲醇甲酸补足减失的质量, 摇匀, 静置, 取上清液用 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 取续滤液作为供试品溶液。

### 2.4 色谱条件的优化

为保证被定量化合物良好的分离度和适当的保留时间, 本实验对流动相梯度程序、柱温和检测波长进行了考察。本实验用 PDA 检测器的高效液相色谱仪对样品进行全波长扫描, 在 265 nm 处各主要吸收峰强度较大, 且各峰与在 260 nm 和 270 nm 处的吸收度差别较小, 故选择了 265 nm 为扫描波长, 图 1 为 255、265、275、285 和 300 nm 下的色谱图; 为提高藁本内酯和相邻色谱峰丁烯基苯酞的分离度, 本实验尝试了多个流动相梯度, 最后确定为上述的梯度程序。应用以上所建立的色谱条件进行分析, 所得到的对照品和样品的色谱图见图 2, 图中, 6 个被测化合物都实现了良好的分离。色谱图中的 6 个待测化合物的鉴别是通过对比保留时间以及加入对照品的方法完成的。

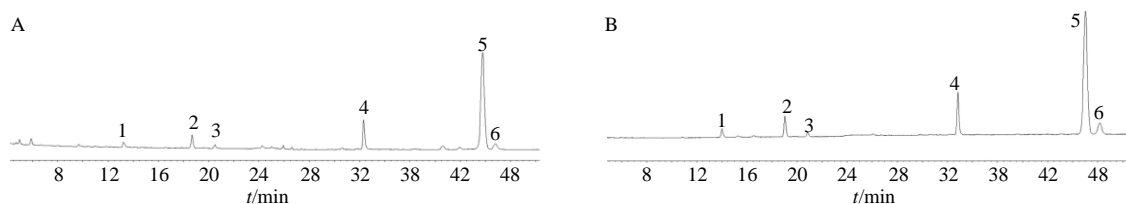
### 2.5 方法学考察

**2.5.1 线性关系考察、检测限和定量限测定** 精密吸取对照品贮备液分别稀释至 6 个不同浓度, 按“2.1”项下色谱条件分别测定阿魏酸、洋川芎内酯 I、洋川芎内酯 H、阿魏酸松柏酯、藁本内酯和丁烯基苯酞的峰面积, 以质量浓度为横坐标 (X), 峰面积为纵坐标 (Y), 计算标准曲线, 结果见表 2。当信噪比 (S/N) 为 3 时的被测物浓度为检测限, S/N 为 10 时的被测浓度为定量限, 据此测得 6 个成分的检测限和定量限见表 2。



1-阿魏酸 2-洋川芎内酯 I 3-洋川芎内酯 H 4-阿魏酸松柏酯 5-藁本内酯 6-丁烯基苯酞  
1-ferulic acid 2-senkyunolide I 3-senkyunolide H 4-coniferyl ferulate 5-ligustilide 6-butylidenephthalide

图 1 255 (A)、265 (B)、275 (C)、285 (D) 和 300 (E) nm 下的样品色谱图  
Fig. 1 Chromatograms at 255 (A), 265 (B), 275 (C), 285 (D) and 300 nm (E)



1-阿魏酸 2-洋川芎内酯 I 3-洋川芎内酯 H 4-阿魏酸松柏酯 5-藁本内酯 6-丁烯基苯酐  
1-ferulic acid 2-senkyunolide I 3-senkyunolide H 4-coniferyl ferulate 5-ligustilide 6-butyridenepthalide

图2 3号当归样品(A)和混合对照品(B)的HPLC色谱图

Fig. 2 HPLC chromatograms of No. 3 *Angelicae Sinensis Radix* sample (A) and reference substances (B)

表2 6种化合物的标准曲线、检测限及定量限

Table 2 Liner correlation, limit of detection and limit of quantitation of six components

化合物	回归方程	线性范围/( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )	$R^2$	检测限/ng	定量限/ng
阿魏酸	$Y=13\ 106 X-3\ 508.4$	1.58~12.63	0.999 4	26.72	89.06
洋川芎内酯 I	$Y=23\ 996 X-4\ 150.4$	2.03~16.25	0.999 6	13.91	46.37
洋川芎内酯 H	$Y=29\ 926 X-1\ 832$	0.37~2.93	0.999 5	11.73	39.09
阿魏酸松柏酯	$Y=14\ 943 X-14\ 893$	6.95~55.58	0.999 4	23.21	77.36
藁本内酯	$Y=13\ 975 X-58\ 664$	40.21~321.70	0.999 5	24.30	80.99
丁烯基苯酐	$Y=12\ 544 X-8\ 568.9$	4.21~33.71	0.999 6	27.87	92.90

**2.5.2 精密度试验** 精密吸取同一供试品溶液10  $\mu\text{L}$ ,按“2.1”项下方法连续进样6次,记录峰面积,阿魏酸、洋川芎内酯I、洋川芎内酯H、阿魏酸松柏酯、藁本内酯和丁烯基苯酐保留时间的RSD分别为1.14%、0.99%、0.97%、0.52%、0.80%和0.82%,峰面积的RSD分别为1.98%、1.77%、2.00%、1.03%、0.68%和0.79%,表明仪器精密度良好。

**2.5.3 稳定性试验** 取同一供试品溶液,室温下放置,分别在0、2、4、8、12、24 h进样,测定峰面积,阿魏酸、洋川芎内酯I、藁本内酯和丁烯基苯酐峰面积的RSD分别为0.95%、0.40%、0.44%、0.32%、0.29%和1.11%,表明供试品溶液在24 h内测定结果稳定。

**2.5.4 重复性试验** 重复称取同一供试品6份,约0.2 g,精密称定,按“2.1”项下方法制备样品,测定,阿魏酸、洋川芎内酯I、洋川芎内酯H、阿魏酸松柏酯、藁本内酯和丁烯基苯酐RSD均小于2%。表明该方法的重复性良好。

**2.5.5 加样回收率试验** 重复称取当归药材粉末6份,每份约0.1 g,精密称定,分别精密加入含阿魏酸(0.104  $\mu\text{g}$ )、洋川芎内酯I(0.122  $\mu\text{g}$ )、洋川芎内酯H(0.024  $\mu\text{g}$ )、阿魏酸松柏酯(0.431  $\mu\text{g}$ )、藁本内酯(2.413  $\mu\text{g}$ )和丁烯基苯酐(0.211  $\mu\text{g}$ )的对照品溶液,照“2.1”项下方法制备,测定并计算加样回收率,阿魏酸、洋川芎内酯I、藁本内酯和丁烯基

苯酐的平均加样回收率分别为98.45%、97.04%、97.57%、100.24%、102.25%和101.34%,RSD分别为2.37%、2.89%、2.47%、1.46%、1.93%和2.02%。

## 2.6 相对校正因子( $f_{s/i}$ )的计算

精密吸取混合对照品溶液10  $\mu\text{L}$ ,按“2.1”项下色谱条件测定,进样4次,记录各化合物的色谱峰面积,根据 $f_{s/i}$ 计算公式<sup>[18]</sup>,以藁本内酯为内标,计算阿魏酸对藁本内酯的校正因子 $f_1$ ,洋川芎内酯I对藁本内酯的校正因子 $f_2$ ,洋川芎内酯H对藁本内酯的校正因子 $f_3$ ,阿魏酸松柏酯对藁本内酯的校正因子 $f_4$ 和丁烯基苯酐对藁本内酯的校正因子 $f_5$ 的平均值,分别为1.078 7、0.565 3、0.466 9、0.950 1、1.156 9。

$$f_{s/i} = f_s/f_i = (A_s/C_s)/(A_i/C_i)$$

$A_s$ 为藁本内酯内标物的峰面积, $C_s$ 为藁本内酯内标物的浓度, $A_i$ 为被测指标组分 $i$ 的峰面积, $C_i$ 为被测指标组分 $i$ 的浓度

## 2.7 $f$ 的重复性考察

**2.7.1 不同仪器及色谱柱对RCF的影响** 取“2.2”项下的混合对照品溶液,分别精密吸取10  $\mu\text{L}$ ,分别采用Waters X-Select CSH-1、Waters X-Select CSH-2、Waters X-Select CSH-3色谱柱,在WATERS2998 PDA和岛津SPD-20A高效液相色谱仪上进样检测,求算以藁本内酯作为参照成分时,5种成分的 $f_{s/i}$ ,结果说明 $f_{s/i}$ 在使用不同仪器时的耐用性良好,结果见表3。

表3 不同仪器和色谱柱测得相对校正因子

Table 3 RCFs determined by different instruments and columns.

仪器	色谱柱	相对校正因子				
		$f_{\text{阿魏酸/藁本内酯}}$	$f_{\text{洋川芎内酯 I/藁本内酯}}$	$f_{\text{洋川芎内酯 H/藁本内酯}}$	$f_{\text{阿魏酸松柏酯/藁本内酯}}$	$f_{\text{丁烯基苯酞/藁本内酯}}$
Waters2998 PDA	Waters X-Select CSH-1	1.121 4	0.568 4	0.465 9	0.946 0	1.159 6
	Waters X-Select CSH-2	1.107 6	0.562 3	0.493 4	0.944 1	1.132 0
	Waters X-Select CSH-3	1.092 7	0.555 2	0.467 7	0.942 3	1.132 3
岛津 SPD-20A	Waters X-Select CSH-1	1.052 8	0.571 4	0.461 6	0.908 1	1.024 3
	Waters X-Select CSH-2	1.024 1	0.567 2	0.459 6	0.911 7	1.026 0
	Waters X-Select CSH-3	1.041 7	0.564 2	0.460 6	0.904 9	1.026 8
平均值		1.073 4	0.564 8	0.468 1	0.926 2	1.083 5
RSD/%		3.66	1.01	2.73	2.14	5.92

**2.7.2** 测定不同体积流量对*f*值的影响 用同一台液相色谱仪,分别在0.95、1.00、1.05 mL/min的体积流量下测定阿魏酸、洋川芎内酯I、洋川芎内酯H、阿魏酸松柏酯、藁本内酯和丁烯基苯酞的峰面积,计算*f*的平均值分别为1.125 0、0.578 1、0.474 5、0.960 3、1.153 9, RSD分别为0.82%、1.63%、7.75%、2.50%和1.27%。结果表明在同一台高效液相色谱仪上,体积流量变化对*f*的影响不大。

**2.7.3** 测定不同柱温对*f*值的影响 用同一台液相色谱仪,分别在柱温为35、40、45 °C的条件下测定阿魏酸、洋川芎内酯I、洋川芎内酯H、阿魏

酸松柏酯、藁本内酯和丁烯基苯酞的峰面积,计算*f*的平均值分别为1.120 3、0.569 4、0.473 3、0.947 5、1.139 9, RSD分别为2.88%、1.60%、1.46%、0.70%和1.76%。结果表明在同一台高效液相色谱仪上,柱温的变化对*f*值的影响不大。

**2.8 样品的含量测定**

采用常规对照品外标法和 QAMS 法分别测定了 31 批当归中阿魏酸、洋川芎内酯 I、洋川芎内酯 H、阿魏酸松柏酯、藁本内酯和丁烯基苯酞的含量,见表 4。结果显示 2 种方法所测得的含量无明显差异。

表4 当归样品中6种化合物的含量 (n=3)

Table 4 Contents of investigated compounds in *Angelicae Sinensis Radix* (n=3)

编号	阿魏酸/(mg·g <sup>-1</sup> )		洋川芎内酯 I/(mg·g <sup>-1</sup> )		洋川芎内酯 H/(mg·g <sup>-1</sup> )		阿魏酸松柏酯/(mg·g <sup>-1</sup> )	
	QAMS	外标法	QAMS	外标法	QAMS	外标法	QAMS	外标法
1	0.285	0.285	0.781	0.781	0.149	0.149	3.034	3.032
2	0.442	0.441	0.746	0.746	0.138	0.138	1.670	1.669
3	0.365	0.365	0.406	0.406	0.084	0.084	1.476	1.475
4	0.352	0.352	0.476	0.476	0.090	0.090	1.672	1.671
5	0.283	0.283	0.633	0.633	0.113	0.113	2.649	2.648
6	0.438	0.438	0.519	0.520	0.089	0.088	3.001	3.000
7	0.454	0.454	0.479	0.479	0.089	0.089	0.769	0.769
8	0.502	0.501	0.826	0.826	0.156	0.156	4.837	4.835
9	0.535	0.535	0.494	0.495	0.093	0.093	0.747	0.747
10	0.350	0.350	0.422	0.422	0.087	0.087	0.816	0.816
11	0.508	0.508	1.105	1.105	0.212	0.212	6.469	6.466
12	0.455	0.455	0.417	0.417	0.075	0.075	0.756	0.756
13	0.360	0.360	1.048	1.048	0.197	0.197	3.062	3.060
14	0.360	0.360	0.398	0.398	0.071	0.070	0.601	0.601
15	0.356	0.355	0.771	0.772	0.148	0.148	4.669	4.667
16	0.390	0.390	1.151	1.151	0.232	0.232	3.173	3.171
17	0.473	0.473	0.541	0.541	0.105	0.105	1.275	1.274
18	0.425	0.425	0.806	0.806	0.138	0.138	1.251	1.250
19	0.375	0.375	0.908	0.908	0.162	0.162	1.834	1.833
20	0.368	0.368	0.404	0.404	0.074	0.074	0.577	0.576
21	0.461	0.460	1.058	1.058	0.200	0.200	4.146	4.145
22	0.359	0.359	1.096	1.096	0.207	0.207	5.670	5.668
23	0.507	0.506	0.710	0.711	0.114	0.114	1.309	1.308
24	0.361	0.361	0.450	0.451	0.087	0.087	4.144	4.142
25	0.334	0.334	0.223	0.223	0.045	0.045	2.851	2.849
26	0.368	0.368	0.874	0.874	0.139	0.139	2.178	2.177
27	0.291	0.291	0.163	0.163	0.025	0.024	3.999	3.997
28	0.186	0.185	0.319	0.319	0.062	0.062	8.973	8.969
29	0.509	0.509	0.350	0.350	0.072	0.072	3.589	3.587
30	0.448	0.448	1.174	1.174	0.228	0.228	5.186	5.183
31	0.501	0.500	1.240	1.240	0.216	0.216	2.855	2.854

续表 4

编号	Z-藁本内酯/(mg·g <sup>-1</sup> )		Z-丁烯基苯酞/(mg·g <sup>-1</sup> )		总阿魏酸/(mg·g <sup>-1</sup> )		总苯酞/(mg·g <sup>-1</sup> )	
	外标法	QAMS	外标法	QAMS	外标法	QAMS	外标法	QAMS
1	13.519	0.867	0.866	3.319	3.318	15.315	15.314	
2	10.441	0.990	0.989	2.112	2.111	12.315	12.314	
3	9.457	0.587	0.587	1.841	1.840	10.534	10.534	
4	7.936	0.698	0.697	2.024	2.023	9.200	9.199	
5	11.698	0.796	0.795	2.932	2.931	13.241	13.240	
6	13.603	0.836	0.835	3.439	3.438	15.047	15.047	
7	6.203	0.839	0.838	1.223	1.223	7.610	7.609	
8	19.244	1.046	1.045	5.339	5.336	21.272	21.270	
9	6.281	0.789	0.788	1.282	1.282	7.657	7.656	
10	6.409	0.749	0.748	1.166	1.165	7.667	7.666	
11	29.650	1.455	1.453	6.977	6.974	32.422	32.420	
12	6.516	0.781	0.780	1.211	1.210	7.790	7.789	
13	15.283	1.202	1.201	3.422	3.420	17.731	17.730	
14	5.025	0.959	0.957	0.962	0.961	6.452	6.451	
15	19.051	1.034	1.033	5.025	5.022	21.004	21.003	
16	14.351	1.148	1.146	3.563	3.561	16.882	16.880	
17	8.128	0.775	0.774	1.748	1.747	9.549	9.548	
18	9.167	1.251	1.249	1.676	1.675	11.363	11.361	
19	10.702	1.045	1.044	2.209	2.208	12.817	12.816	
20	5.799	0.817	0.816	0.944	0.944	7.094	7.093	
21	19.680	1.185	1.184	4.607	4.605	22.123	22.122	
22	24.250	1.190	1.189	6.030	6.027	26.743	26.742	
23	11.983	1.101	1.100	1.815	1.814	13.908	13.907	
24	18.081	0.796	0.795	4.505	4.503	19.415	19.415	
25	16.036	0.573	0.573	3.185	3.183	16.878	16.877	
26	12.463	1.317	1.316	2.546	2.545	14.794	14.792	
27	15.584	0.452	0.451	4.290	4.288	16.224	16.223	
28	31.470	0.698	0.697	9.159	9.155	32.549	32.549	
29	18.864	0.821	0.820	4.098	4.096	20.107	20.106	
30	21.847	1.354	1.352	5.634	5.631	24.603	24.602	
31	15.800	1.286	1.285	3.356	3.354	18.543	18.542	

### 3 讨论

由于当归中主要包括有机酸类、苯酞类以及香豆素类成分，为了能较全面地评价药材质量，本实验除了对色谱条件进行优化，还对当归样品提取条件进行优化，主要包括提取方式、提取溶剂和提取时间 3 个方面。本实验首先考察了回流提取和超声提取的差异，发现由于阿魏酸松柏酯是阿魏酸的结合形式存在于药材中，且易受热分解为阿魏酸，因此其对提取方式的选择最敏感。由于超声提取效率较高，及其操作的便捷性，本实验选择超声提取作为当归的提取方法。在超声提取时间的选择上，本实验共筛选了超声 15、30、45、60 min 4 个梯度。结果表明超声 15 min 对总阿魏酸的提取效果最好，超声 30 min 对苯酞类成分的提取效果最好，综合考虑选择超声提取时间为 30 min。

在提取溶剂方面，本实验考察了不同体积分数的甲醇溶液：70% 甲醇、80% 甲醇、90% 甲醇、纯甲醇和 95% 甲醇-5% 甲酸溶液<sup>[13]</sup>。70%、80% 甲醇对阿魏酸提取率最高，而阿魏酸松柏酯在 95% 甲醇-5% 甲酸溶液中最稳定，提取率最高。从总

阿魏酸、藁本内酯及丁烯基苯酞含量来看，最终选择了 95% 甲醇-5% 甲酸溶液作为当归的提取溶剂。最终确定的提取方法为 95% 甲醇-5% 甲酸溶液超声提取 30 min。

本实验建立的高效液相色谱法实现了同时对当归中 6 个成分的含量测定，为提高当归质量控制标准提供了科学、简便的方法。在药典规定成分的基础上，从阿魏酸改为总阿魏酸，并增加了苯酞类成分作为指标，可以更加全面地控制当归药材质量，为当归质量标准提升提供参考。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

#### 参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 28.
- [2] 陈江弢, 杨崇仁. 当归属植物的研究进展 [J]. 天然产物研究与开发, 2004, 16(4): 359-365.
- [3] Chen X P, Li W, Xiao X F, et al. Phytochemical and pharmacological studies on *Radix Angelica sinensis* [J]. *Chin J Nat Med*, 2013, 11(6): 577-587.
- [4] Chang C W, Chen Y M, Hsu Y J, et al. Protective effects of the roots of *Angelica sinensis* on strenuous exercise-induced sports Anemia in rats [J]. *J*

- Ethnopharmacol*, 2016, 193: 169-178.
- [5] Zhuang C, Xu N W, Gao G M, *et al*. Polysaccharide from *Angelica sinensis* protects chondrocytes from H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced apoptosis through its antioxidant effects *in vitro* [J]. *Int J Biol Macromol*, 2016, 87: 322-328.
- [6] Lee J, Choi Y Y, Kim M H, *et al*. Topical application of *Angelica sinensis* improves pruritus and skin inflammation in mice with atopic dermatitis-like symptoms [J]. *J Med Food*, 2016, 19(1): 98-105.
- [7] 闫安, 谢云亮. 当归多糖对脑缺血再灌注损伤大鼠脑组织氧化应激水平及炎症因子表达的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(2): 123-127.
- [8] Hua Y L, Yao W L, Ji P, *et al*. Integrated metabonomic-proteomic studies on blood enrichment effects of *Angelica sinensis* on a blood deficiency mice model [J]. *Pharm Biol*, 2017, 55(1): 853-863.
- [9] 王晓萍, 周明旺, 康开彪, 等. 岷当归有效成分对高同型半胱氨酸血症致兔动脉粥样硬化的影响 [J]. 中国中医药信息杂志, 2018, 25(2): 51-54.
- [10] Li S L, Yan R, Tam Y K, *et al*. Post-harvest alteration of the main chemical ingredients in *Ligusticum Chuanxiong* Hort. (*Rhizoma Chuanxiong*) [J]. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*, 2007, 55(1): 140-144.
- [11] Li S Y, Yu Y, Li S P. Identification of antioxidants in essential oil of *Radix Angelicae Sinensis* using HPLC coupled with DAD-MS and ABTS-based assay [J]. *J Agric Food Chem*, 2007, 55(9): 3358-3362.
- [12] Chen C, Wu C H, Lu X H, *et al*. Coniferyl ferulate, a strong inhibitor of glutathione S-transferase isolated from *Radix Angelicae Sinensis*, reverses multidrug resistance and downregulates P-glycoprotein [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2013, 2013: 639083.
- [13] Lu G H, Chan K, Leung K, *et al*. Assay of free ferulic acid and total ferulic acid for quality assessment of *Angelica sinensis* [J]. *J Chromatogr A*, 2005, 1068(2): 209-219.
- [14] 郭怡祯, 王晶娟, 刘洋, 等. 当归多成分“质代关联”研究 [J]. 中草药, 2016, 47(15): 2701-2706.
- [15] 鲁利娜, 王晶娟, 王新利, 等. 当归质量控制成分遴选研究 [J]. 西部中医药, 2017, 30(10): 22-26.
- [16] 左爱华, 程孟春, 卓荣杰, 等. Z-藁本内酯降解产物的 UPCL-QTOF-MS 和 NMR 结构鉴定 [J]. 药学学报, 2013, 48(6): 911-916.
- [17] Yan R, Ko N L, Li S L, *et al*. Pharmacokinetics and metabolism of ligustilide, a major bioactive component in *Rhizoma Chuanxiong*, in the rat [J]. *Drug Metab Dispos*, 2008, 36(2): 400-408.
- [18] 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.
- [19] Hou J J, Wu W Y, Da J, *et al*. Ruggedness and robustness of conversion factors in method of simultaneous determination of multi-components with single reference standard [J]. *J Chromatogr A*, 2011, 1218(33): 5618-5627.

[责任编辑 时圣明]