

薄彧坤, 郭叶, 康松松, 等. 一测多评法同时测定嘎日迪-5 丸中 4 种化学成分[J]. 环境化学, 2020, 39(12): 3585-3587.

BO Yukun, GUO Ye, KANG Songsong, et al. Simultaneous determination of 4 chemical constituents in garidi-5 pill by QAMS method[J]. Environmental Chemistry, 2020, 39(12): 3585-3587.

一测多评法同时测定嘎日迪-5 丸中 4 种化学成分*

薄彧坤¹ 郭叶¹ 康松松¹ 冯智翱¹ 杨雪苗¹ 马瑞寅¹ 张雨生¹
 张志勇¹ 安明^{1**} 董志强^{2**} 陈丽枝³

(1. 包头医学院, 包头, 014040; 2. 包头医学院第一附属医院, 包头, 014010;
 3. 岛津企业管理(中国)有限公司, 北京, 100020)

摘要 用 HPLC 法, 以木香炔内酯为内参物, 建立该成分与没食子酸、鞣花酸和去氢木香内酯的相对校正因子($f_{s/i}$), 采用 $f_{s/i}$ 计算各成分的质量分数. 同时以外标法(ESM)测定上述 4 种化学成分的质量分数, 比较两种方法所测含量的差异. 结果表明, 各相对校正因子重复性良好, RSD 值均小于 3.0%, 嘎日迪-5 丸中 4 种成分采用一测多评法测定结果与外标法测定结果无显著性差异.

关键词 嘎日迪-5 丸, 木香炔内酯, 一测多评, 相对校正因子.

Simultaneous determination of 4 chemical constituents in garidi-5 pill by QAMS method

BO Yukun¹ GUO Ye¹ KANG Songsong¹ FENG Zhiao¹ YANG Xuemiao¹
 MA Ruiyin¹ ZHANG Yusheng¹ ZHANG Zhiyong¹ AN Ming^{1**}
 DONG Zhiqiang^{2**} CHEN Lizhi³

(1. Baotou Medical College, Baotou, 014040, China; 2. The First Affiliated Hospital of Baotou Medical College, Baotou, 014010, China;
 3. Shimadzu (China) Co., Ltd, Beijing, 100020, China)

Abstract: With costunolide as the internal reference, the relative correction factors ($f_{s/i}$) of gallic acid, ellagic acid and dehydrocostus lactone were established by HPLC method, which were used to calculate the content of each component. Meanwhile, the content of 4 chemical constituents were measured by external standard method (ESM). By comparing the content results of the ESM with QAMS, the accuracy and scientificity of QAMS method for quality control of garidi-5 pill were evaluated. The repeatability of $f_{s/i}$ was good, There was no significant difference between the results of QAMS and ESM. the RSD values of the $f_{s/i}$ were less than 3.0%.

Keywords: garidi-5 pill, costunolide, quantitative analysis of multi-components by single marker(QAMS), relative correction factor.

嘎日迪-5 丸为 1998 年版《中华人民共和国卫生部药品标准·蒙药分册》收录的方剂^[1], 由麝香、诃子、草乌(制)、木香、水菖蒲等 5 味药材组成. 由于中蒙药成分的多样性和复杂性, 单一成分含量测定已不能满足中药质量控制要求. 因此, 通过多个指标对中蒙药进行质量评价已成为主流^[2]. 本文通过一测多评法, 以木香炔内酯为内参物, 多组分同时测定没食子酸、鞣花酸、去氢木香内酯的含量, 同时通过外标法(ESM)进行对比验证.

1 材料与方法 (Materials and methods)

1.1 仪器与试剂

岛津 LC-20AT(PDA 检测器)高效液相色谱仪(岛津); Thermo Ultimate3000(DAD 检测器)型高效液相色谱仪(美国赛默飞世尔); GenPure UV-TOC/UF 超纯水机(美国赛默飞世尔); TDZ5-WS 多管架自动平衡离心机(湘仪离心机仪器有限公司).

* 国家自然科学基金(8521967017)和内蒙古教育厅大学生创新创业训练计划项目(201910127008, 201910127011)资助.

Supported by the National Natural Science Foundation of China (8521967017) and College Student Innovation and Entrepreneurship Training Program of Inner Mongolia Department of Education(201910127008, 201910127011).

** 通讯联系人, Tel: 13847201181, E-mail: 610283014@qq.com; Tel: 13947214895, E-mail: dzq4895@163.com

Corresponding author, Tel: 13847201181, E-mail: 610283014@qq.com; Tel: 13947214895, E-mail: dzq4895@163.com

没食子酸(110831-201605,含量90.8%)、木香烃内酯(111524-201710,含量99.5%)、去氢木香内酯(111525-21711,含量99.8%)、鞣花酸(111959-201602,含量89.3%)均购于中国食品药品检定研究院。嘎日迪-5丸(规格:每10丸重2g,批号904211、904212、904213),流动相甲醇、乙腈为色谱纯,其他试剂均为分析纯,水为超纯水。

1.2 色谱条件

采用InertSustain-C18色谱柱(4.6 mm×150 mm, 5 μm);流动相A为甲醇-乙腈(50:50),流动相B为0.05%磷酸溶液,梯度洗脱:(0—7 min, A 5%; 7—15 min, A 5%—70%; 15—30 min, A 70%);检测波长271 nm(没食子酸)、254 nm(鞣花酸)、225 nm(木香烃内酯、去氢木香内酯);流速1.0 mL·min⁻¹;进样量10 μL;柱温30 ℃。

1.3 溶液制备

混合对照品溶液制备:分别精密称取没食子酸、鞣花酸、木香烃内酯、去氢木香内酯,加甲醇溶解,配制含没食子酸442.400 μg·mL⁻¹、鞣花酸600.600 μg·mL⁻¹、木香烃内酯15.008 μg·mL⁻¹、去氢木香内酯71.880 μg·mL⁻¹的混合对照品溶液。

供试品溶液制备:取嘎日迪-5丸称重,计算平均丸重,研磨成细粉。取细粉约2.9 g,置于具塞锥形瓶中,加入甲醇50 mL,密塞,称重。超声提取45 min,放冷,称重,用甲醇补足减失的质量。摇匀,取适量供试品溶液于离心管内,在5000 r·min⁻¹下离心10 min,取上清液,用0.22 μm微孔滤膜过滤,取续滤液,即得。

阴性对照溶液制备:按嘎日迪-5丸的处方要求,分别称取除诃子和木香的其他药材,混合,研磨成细粉,按供试品溶液的方法制备嘎日迪-5丸阴性对照溶液。

2 结果与讨论 (Results and discussion)

2.1 线性关系和精密度考察

分别取混合对照品、嘎日迪-5丸供试品、嘎日迪-5丸阴性对照溶液适量,用0.22 μm微孔滤膜滤过,照“1.2节”色谱条件进样。没食子酸、鞣花酸、木香烃内酯和去氢木香内酯的色谱峰对称性良好,分离效果良好,分离度均大于1.5,理论塔板数大于2800,并且阴性对照无干扰。

精密吸取混合对照品溶液4、6、8、10、12、14 μL,按照“1.2节”色谱条件进样。以进样量(μg)为横坐标(X),峰面积为纵坐标(Y)绘制标准曲线,得到没食子酸、鞣花酸、木香烃内酯、去氢木香内酯的回归方程、r值及线性范围,结果如表1所示。

表1 4种成分的回归方程

Table 1 Linear regression equations of four components

成分 Component	回归方程 Regression equation	线性范围 Linear range/μg	r
没食子酸 Gallic acid	$Y = 62.9651X + 0.4218$	1.7696—6.1936	0.9999
鞣花酸 Ellagic acid	$Y = 23.6320X + 0.5469$	2.4024—8.4084	0.9999
木香烃内酯 Costunolide	$Y = 33.4551X - 0.0250$	0.0600—0.2101	0.9999
去氢木香内酯 Dehydrocostus lactone	$Y = 23.0531X - 0.0077$	0.2875—1.0063	0.9999

2.2 稳定性和重复性试验

取嘎日迪-5丸供试品溶液适量,分别在制备后0、3、6、9、12、24 h,按照“1.2”色谱条件进样,测得没食子酸、鞣花酸、木香烃内酯、去氢木香内酯峰面积的RSD值分别为0.18%、0.23%、1.72%、0.21%,均<3.0%,表明该供试品溶液在室温下24 h内稳定。

精密称取嘎日迪-5丸粉末适量,共6份,按照供试品溶液制备方法,测得没食子酸、鞣花酸、木香烃内酯、去氢木香内酯峰面积的RSD分别为1.85%、1.79%、1.75%、1.29%,均<3.0%,表明方法重复性良好。

2.3 回收率试验

取同一批次(批号904211)嘎日迪-5丸粉末共6份,每份约1.45 g(相当于没食子酸8.650 mg、鞣花酸13.185 mg、木香烃内酯0.062 mg、去氢木香内酯1.680 mg),精密称定,置具塞锥形瓶中,依次精密加入浓度为1.102 mg·mL⁻¹没食子酸8 mL、1.512 mg·mL⁻¹鞣花酸8.5 mL、0.0399 mg·mL⁻¹木香烃内酯1.5 mL、1.592 mg·mL⁻¹去氢木香内酯1 mL,制备成供试品溶液,色谱进样,测得没食子酸、鞣花酸、木香烃内酯、去氢木香内酯的平均加样回收率分别为101.17%、100.95%、101.16%、98.69%,RSD分别为1.72%、1.54%、0.82%、0.62%,均<3.0%。

2.4 相对校正因子 $f_{s/i}$ 的建立及耐用性考察^[3-6]

2.4.1 相对校正因子 $f_{s/i}$ 的建立

精密吸取混合对照品溶液适量,按“1.2”项下色谱条件进行测定。以木香烃内酯为内参物,按照公式 $f_{s/i} = f_s/f_i = A_s C_i/A_i C_s$,分别计算没食子酸、鞣花酸和去氢木香内酯的相对校正因子 $f_{s/i}$,式中, C_s 为内参物的质量浓度, A_s 为内参物的峰面

积, C_i 为待测成分的质量浓度, A_i 为待测成分的峰面积, 结果见表 2。

表 2 各成分的 $f_{s/i}$ 值
Table 2 $f_{s/i}$ of each components

进样体 积/ μL	没食子酸	鞣花酸	去氢木 香内酯	进样体 积/ μL	没食子酸	鞣花酸	去氢木 香内酯
4	0.5197	1.4243	1.4310	12	0.5278	1.4156	1.4465
6	0.5271	1.4249	1.4433	14	0.5289	1.4158	1.4457
8	0.5284	1.4152	1.4423	平均值(RSD)	0.5266(0.66%)	1.4187(0.32%)	1.4424(0.40%)
10	0.5279	1.4165	1.4454				

2.4.2 不同高效液相色谱仪、不同色谱柱的考察

精密吸取混合对照品溶液适量, 按“1.2”色谱条件进行测定, 考察岛津 LC-20AT(PDA) 型高效液相色谱仪、Thermo U3000(DAD) 型高效液相色谱仪和 InertSustain-C18 色谱柱、Shim-pack GIST-C18 色谱柱、Agilent Eclipse XDB-C18 色谱柱对相对校正因子的影响。实验结果表明, 不同仪器和不同色谱柱对所测成分没食子酸、鞣花酸和去氢木香内酯的 $f_{s/i}$ 无显著影响。

2.4.3 不同柱温和流速的考察

采用岛津 LC-20AT 高效液相色谱仪和 InertSustain-C18 色谱柱(4.6 mm×150 mm, 5 μm) 考察不同柱温(20、25、30、35、40 $^{\circ}\text{C}$) 和不同流速(0.6、0.8、1.0、1.2 mL·min $^{-1}$) 对 $f_{s/i}$ 值的影响。实验结果显示, 不同柱温和流速下没食子酸、鞣花酸和去氢木香内酯相对校正因子的 RSD 均 < 3.0%, 表明不同柱温对 $f_{s/i}$ 无显著影响。

2.4.4 待测成分色谱峰定位

采用相对保留值法对嘎日迪-5 丸样品中待测组分色谱峰进行定位, 以木香内酯为参照峰, 计算不同色谱柱条件下没食子酸、鞣花酸、去氢木香内酯的相对保留时间 $t_{s/i}$, 结果见表 3。

表 3 各组分相对保留时间 $t_{s/i}$
Table 3 Relative retention time $t_{s/i}$ of each components

色谱柱	相对保留时间 $t_{s/i}$		
	没食子酸	鞣花酸	去氢木香内酯
InertSustain-C18	0.3222	0.6903	1.0391
Shim-pack GIST-C18	0.3156	0.6929	1.0385
Agilent Eclipse XDB-C18	0.2985	0.6817	1.0235
RSD%	3.92	0.85	0.86

2.4.5 一测多评法(QAMS)与外标法(ESM)测定结果比较

取不同批次嘎日迪-5 丸样品约 2.9 g, 分别测定。将 QAMS 法计算得到的没食子酸、鞣花酸和去氢木香内酯的含量与 ESM 法计算得到的结果进行比较。采用统计学 t 检验, P 值均大于 0.05, 两种方法测定结果的 RSD 均小于 1.0%, 说明 QAMS 法与 ESM 法测定结果无显著性差异。

3 结论(Conclusion)

本文以木香内酯为内参物, 建立了没食子酸、鞣花酸和去氢木香内酯含量测定的一测多评法, 方法学实验结果表明本法准确、可靠, 该方法将为嘎日迪-5 丸制剂质量标准的建立提供参考。

参考文献(References)

- [1] 王岩, 刘欣欣. 高效液相色谱法测定嘎日迪五味丸中乌头碱、中乌头碱和次乌头碱含量[J]. 中国药业, 2011, 20(17): 33-35.
- [2] 贾文婷, 张媛彦, 郭娜, 等. 一测多评法同时测定肉豆蔻-8 散中 5 种成分[J]. 中成药, 2018, 40(6): 1307-1312.
- [3] 吴磊, 李雨柯, 谢文彬, 等. 一测多评法同时测定糖足酞剂中 10 种化学成分[J]. 中国新药杂志, 2019, 28(6): 750-757.
- [4] 马昌豪, 李怀伟, 仝桂平, 等. 一测多评法同时测定咽炎片中 5 种指标性成分的含量[J]. 中国药房, 2019, 30(16): 2232-2236.
- [5] 毛艳, 蔡晓翠, 古丽白热木·玉素因, 等. 一测多评法同时测定新疆软紫草中 6 种蒽醌类成分[J]. 中草药, 2019, 50(17): 4170-4175.
- [6] 宁二娟, 李自红, 陈玲, 等. 一测多评法同时测定金银花标准汤剂中 7 种成分的含量[J]. 中国现代应用药学, 2019, 36(17): 2154-2159.