

## 一测多评法测定蜘蛛香中 9 个成分的含量\*

付洋<sup>1</sup>, 程盛勇<sup>1</sup>, 郁林娜<sup>1</sup>, 尹航<sup>2</sup>, 张玥<sup>3</sup>, 杨军<sup>4</sup>, 罗喜荣<sup>1\*\*</sup>

(1. 贵州医科大学药学院, 贵阳 550025; 2. 贵州医科大学附属医院, 贵阳 550004;  
3. 贵州医科大学基础医学院, 贵阳 550025; 4. 中国科学院地球化学研究所, 贵阳 550081)

**摘要** 目的: 建立蜘蛛香中 9 个活性成分(新绿原酸、绿原酸、咖啡酸、异绿原酸 B、橙皮苷、异绿原酸 A、异绿原酸 C、乙酰缬草三酯、缬草三酯)含量测定的一测多评法。方法: 采用高效液相色谱法, 使用 Diamonsil<sup>®</sup> C<sub>18</sub> 色谱柱 (4.6 mm×250 mm, 5 μm); 乙腈-0.1% 甲酸水溶液为流动相, 梯度洗脱; 流速为 1.0 mL·min<sup>-1</sup>; 柱温为 30 ℃; 检测波长: 0~33 min 为 327 nm (检测新绿原酸、绿原酸、咖啡酸、异绿原酸 B、橙皮苷、异绿原酸 A、异绿原酸 C), 33~90 min 为 256 nm (检测乙酰缬草三酯和缬草三酯)。以绿原酸为内参物, 建立与其他 8 个成分的相对校正因子, 采用一测多评法和外标法分别测定蜘蛛香中 9 个成分含量, 比较两法测定结果的差异。结果: 色谱峰分离度良好, 绿原酸与新绿原酸、咖啡酸、异绿原酸 B、橙皮苷、异绿原酸 A、异绿原酸 C、乙酰缬草三酯、缬草三酯的相对校正因子分别为 0.989、0.440、0.935、8.729、0.918、0.865、1.518、1.498, 且在不同实验条件下重现性良好 (RSD<2.5%)。一测多评法测得 16 批蜘蛛香中新绿原酸、绿原酸、咖啡酸、异绿原酸 B、橙皮苷、异绿原酸 A、异绿原酸 C、乙酰缬草三酯和缬草三酯的含量范围分别为 0.049~0.171、0.255~7.718、0.018~0.102、0.177~0.784、3.022~11.654、1.063~6.078、0.611~4.581、0.264~5.856 和 1.701~15.827 mg·g<sup>-1</sup>, 与外标法测定结果无显著差异 (P>0.05)。结论: 建立的一测多评法用于蜘蛛香药材质量评价及控制准确可行。  
**关键词:** 蜘蛛香; 新绿原酸; 绿原酸; 咖啡酸; 异绿原酸; 橙皮苷; 乙酰缬草三酯; 缬草三酯; 一测多评法; 相对校正因子; 外标法

中图分类号: R 917 文献标识码: A 文章编号: 0254-1793 (2019) 09-1666-07  
doi: 10.16155/j.0254-1793.2019.09.17

## Simultaneous determination of nine components in *Valeriana jatamansi* by QAMS\*

FU Yang<sup>1</sup>, CHENG Sheng-yong<sup>1</sup>, YU Lin-na<sup>1</sup>, YIN Hang<sup>2</sup>,  
ZHANG Yue<sup>3</sup>, YANG Jun<sup>4</sup>, LUO Xi-rong<sup>1\*\*</sup>

(1. School of Pharmaceutical Sciences, Guizhou Medical University, Guiyang 550025, China; 2. The Affiliated Hospital of Guizhou Medical University, Guiyang 550004, China; 3. School of Basic Medicine, Guizhou Medical University, Guiyang 550025, China; 4. Institute of Geochemistry, Chinese Academy of Sciences, Guiyang 550081, China)

**Abstract** Objective: To establish a method for simultaneous determination of nine main active components (neochlorogenic acid, chlorogenic acid, caffeic acid, isochlorogenic acid B, hesperidin, isochlorogenic acid A,

\* 贵州省科学技术基金项目 (黔科合 ZY 字 [2012] 3010 号); 贵州省社发攻关项目 (黔科合 SY 字 [2015] 3032 号); 贵州省联合基金项目 (黔科合 LH 字 [2014] 7091 号)

\*\* 通信作者 Tel: (0851) 88416164; E-mail: 1341323603@qq.com

第一作者 Tel: (0851) 88416164; E-mail: 1282169822@qq.com

isochlorogenic acid C, acevaltrate and valepotriate) in *Valeriana jatamansi* by quantitative analysis of multi-components by single-marker (QAMS). Methods: HPLC was performed on a Diamonsil<sup>®</sup> C<sub>18</sub> column (4.6 mm×250 mm, 5 μm) at 30 °C using acetonitrile-0.1% formic acid as the mobile phase with gradient elution, and the flow rate was 1.0 mL·min<sup>-1</sup>. The detection wavelengths were set at 327 nm (0-33 min for neochlorogenic acid, chlorogenic acid, caffeic acid, isochlorogenic acid B, hesperidin, isochlorogenic acid A and isochlorogenic acid C) and 256 nm (33-90 min for acevaltrate and valepotriate). Chlorogenic acid was used as the reference, the relative calibration factors (RCFs) of other 8 constituents to chlorogenic acid were calculated respectively. The contents of nine components in *Valeriana jatamansi* were determined by both external standard method (ESM) and QAMS method, and the results were compared. Results: The chromatographic peaks were separated well. RCFs of neochlorogenic acid, caffeic acid, isochlorogenic acid B, hesperidin, isochlorogenic acid A, isochlorogenic acid C, acevaltrate and valepotriate were 0.989, 0.440, 0.935, 8.729, 0.918, 0.865, 1.518 and 1.498, respectively, and the repeatability was good in different experimental conditions (RSD<2.5%). The content ranges of neochlorogenic acid, chlorogenic acid, caffeic acid, isochlorogenic acid B, hesperidin, isochlorogenic acid A, isochlorogenic acid C, acevaltrate and valepotriate in 16 batches of *Valeriana jatamansi* by the QAMS method were 0.049-0.171 mg·g<sup>-1</sup>, 0.255-7.718 mg·g<sup>-1</sup>, 0.018-0.102 mg·g<sup>-1</sup>, 0.177-0.784 mg·g<sup>-1</sup>, 3.022-11.654 mg·g<sup>-1</sup>, 1.063-6.078 mg·g<sup>-1</sup>, 0.611-4.581 mg·g<sup>-1</sup>, 0.264-5.856 mg·g<sup>-1</sup> and 1.701-15.827 mg·g<sup>-1</sup>, respectively. There was no significant difference (*P*>0.05) between the quantitative results of the two methods. Conclusion: The established QAMS method is feasible and accurate for quality control and evaluation of *Valeriana jatamansi*.

Keywords: *Valeriana jatamansi*; neochlorogenic acid; chlorogenic acid; caffeic acid; isochlorogenic acid; hesperidin; acevaltrate; valepotriate; quantitative analysis of multi-components with a single-marker (QAMS); relative correction factor (RCF); the external standard method (ESM)

蜘蛛香又名心叶缬草、老虎七、马蹄香等，系败酱科缬草属植物蜘蛛香 (*Valeriana jatamansi* Jones) 的干燥根茎及根，主要含有挥发油、环烯醚萜、黄酮、酚酸、生物碱、氨基酸、木脂素和多糖等化学成分，具有镇静、催眠、抗焦虑、抗抑郁、镇痛、抗肿瘤、抗菌、抗病毒、抗前列腺增生、保肝和降血压等药理作用<sup>[1-5]</sup>。《中华人民共和国药典》2010年版蜘蛛香的质量控制指标为乙酰缬草三酯和缬草三酯，但其稳定性差、不易制备、价格昂贵，因而应用受限，《中华人民共和国药典》2015年版取消了蜘蛛香的含量测定项，不能有效地控制其质量，亟需提高其质量标准<sup>[6-8]</sup>。一测多评法 (quantitative analysis of multi-components with a single-marker, QAMS) 不仅能实现多成分的同步测定，而且能克服对照品紧缺和检测成本高的困难，是一种适合中药特点的多指标质量评价与控制的新模式<sup>[9-12]</sup>，尚未见采用 QAMS 测定蜘蛛香中多种成分含量的文献报道。本文基于前期蜘蛛香 HPLC 指纹图谱研究<sup>[13]</sup>，应用 QAMS 同时测定蜘蛛香中新绿原酸、绿原酸、咖啡酸、异绿原酸 B、橙皮苷、异绿原酸 A、异

绿原酸 C、乙酰缬草三酯、缬草三酯 9 个成分的含量，为蜘蛛香质量标准提升和修订提供科学参考。

## 1 仪器与试剂

Aglient 1260 高效液相色谱仪; Thermo Ultimate 3000 高效液相色谱仪; 赛多利斯 BSA224S 电子天平; KQ3200E 超声波清洗机 (昆山市超声仪器有限公司)。

对照品新绿原酸 (批号 MUST-15011412, 纯度 99.37%)、绿原酸 (批号 MUST-15041814, 纯度 99.39%)、咖啡酸 (批号 MUST-15090803, 纯度 99.99%)、异绿原酸 A (批号 MUST-15042518, 纯度 98.82%)、异绿原酸 C (批号 MUST-15081414, 纯度 99.84%) 均购自成都曼思特生物科技有限公司, 异绿原酸 B (批号 1222BO22, 纯度 98.00%) 和橙皮苷 (批号 602F022, 纯度 98.00%) 购自北京索莱宝科技有限公司, 乙酰缬草三酯 (批号 wkq16072004, 纯度 98.00%) 和缬草三酯 (批号 wkq16011203, 纯度 98.21%) 购自四川维克奇生物科技有限公司。乙腈为色谱纯, 水为超纯水, 其余试剂均为分析纯。蜘蛛香药材经贵州医

科大学药学院覃容贵教授鉴定为败酱科植物蜘蛛香 (*Valeriana jatamansi* Jones) 的干燥根茎和根。

## 2 方法与结果

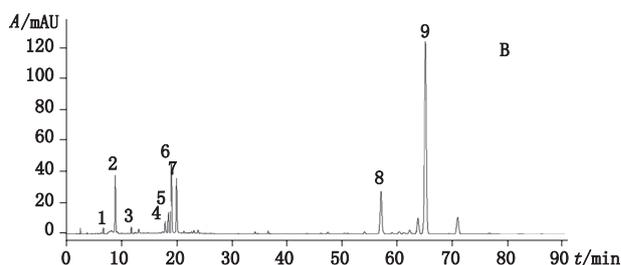
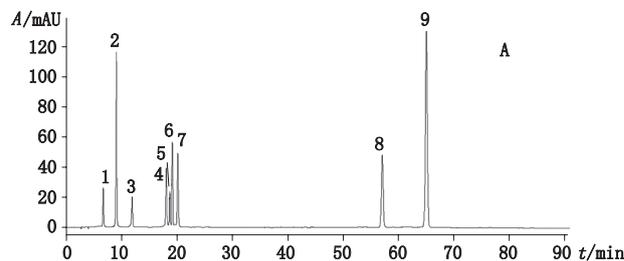
### 2.1 溶液制备

**2.1.1 对照品溶液** 精密称取各对照品适量, 加甲醇配制成每 1 mL 分别含新绿原酸 5.00 μg、绿原酸 40.00 μg、咖啡酸 2.20 μg、异绿原酸 B 32.90 μg、橙皮苷 68.33 μg、异绿原酸 A 30.33 μg、异绿原酸 C 15.33 μg、乙酰缬草三酯 29.17 μg、缬草三酯 56.67 μg 的混合对照品溶液。

**2.1.2 供试品溶液** 取蜘蛛香药材粉末 (过 60 目筛) 0.2 g, 精密称定, 准确加入 70% 甲醇 20 mL, 称量, 超声 (功率 200 W, 频率 35 kHz) 处理 40 min, 冷却至室温, 用 70% 甲醇补足减失的量, 经 0.22 μm 微孔滤膜滤过, 即得。

### 2.2 色谱条件

色谱柱: Diamonsil<sup>®</sup> C<sub>18</sub> (4.6 mm×250 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈 (A) -0.1% 甲酸水溶液 (B), 梯度洗脱 (0~18 min, 12%A → 30%A; 18~20 min, 30%A → 32%A; 20~23 min, 32%A → 40%A; 23~25 min, 40%A; 25~33 min, 40%A → 53%A; 33~90 min, 53%A → 85%A); 流速: 1.0 mL·min<sup>-1</sup>; 检测波长: 327 nm (0~33 min) 和 256 nm (33~90 min); 柱温: 30 °C; 进样量: 10 μL。在此色谱条件下各成分色谱峰分离度良好, 见图 1。



1. 新绿原酸 (nechlorogenic acid) 2. 绿原酸 (chlorogenic acid) 3. 咖啡酸 (caffeic acid) 4. 异绿原酸 B (isochlorogenic acid B) 5. 橙皮苷 (hesperidin) 6. 异绿原酸 A (isochlorogenic acid A) 7. 异绿原酸 C (isochlorogenic acid C) 8. 乙酰缬草三酯 (acevaltrate) 9. 缬草三酯 (valepotriate)

图 1 混合对照品 (A) 和蜘蛛香样品 (B) HPLC 图

Fig. 1 HPLC chromatograms of mixed reference substances (A) and *Valeriana jatamansi* sample (B)

### 2.3 方法学考察

**2.3.1 线性关系考察** 分别精密吸取“2.1.1”项下混合对照品溶液 0.5、5、10、15、20、30 μL, 按“2.2”项下色谱条件进样测定, 记录色谱图, 以各成分进样量为横坐标 X, 峰面积为纵坐标 Y 进行线性回归, 结果各成分在线性范围内线性关系良好, 见表 1。

表 1 9 个指标成分的回归方程、相关系数和线性范围

Tab. 1 The regression equations, coefficient correlations and linear ranges of nine index components

成分 (component)	回归方程 (regression equation)	r	线性范围 (linear range) /μg
新绿原酸 (nechlorogenic acid)	$Y=3.134 \times 10^3 X + 0.081$	0.999 9	0.003~0.150
绿原酸 (chlorogenic acid)	$Y=3.125 \times 10^3 X - 7.158$	1.000	0.020~1.200
咖啡酸 (caffeic acid)	$Y=7.078 \times 10^3 X - 0.129$	0.999 8	0.001~0.066
异绿原酸 B (isochlorogenic acid B)	$Y=3.327 \times 10^3 X + 1.561$	0.999 9	0.017~0.987
橙皮苷 (hesperidin)	$Y=3.591 \times 10^2 X - 1.758$	0.999 8	0.034~2.050
异绿原酸 A (isochlorogenic acid A)	$Y=3.383 \times 10^3 X - 4.424$	0.999 7	0.015~0.910
异绿原酸 C (isochlorogenic acid C)	$Y=3.640 \times 10^3 X - 5.727$	0.999 8	0.008~0.460
乙酰缬草三酯 (acevaltrate)	$Y=2.068 \times 10^3 X - 4.027$	0.999 8	0.015~0.875
缬草三酯 (valepotriate)	$Y=2.052 \times 10^3 X + 11.53$	0.999 9	0.028~1.700

**2.3.2 精密度试验** 取“2.1.1”项下混合对照品溶液, 按“2.2”项下色谱条件连续进样测定 6 次, 记录峰面积, 结果新绿原酸、绿原酸、咖啡酸、异绿原酸 B、橙皮苷、异绿原酸 A、异绿原酸 C、乙酰缬草三酯、缬草三酯峰面积的 RSD 分别为 2.4%、1.6%、1.9%、2.1%、1.9%、

1.9%、2.2%、1.8%、2.6%, 表明仪器精密度高。

**2.3.3 稳定性试验** 取同 1 份供试品溶液, 按“2.2”项下色谱条件分别在 0、3、6、9、12、24 h 进样测定, 记录峰面积, 结果新绿原酸、绿原酸、咖啡酸、异绿原酸 B、橙皮苷、异绿原酸 A、异绿原酸 C、乙酰缬草

三酯、缬草三酯峰面积的 RSD 分别为 2.7%、2.5%、1.5%、2.4%、0.98%、2.7%、2.4%、2.7%、2.8%，表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

**2.3.4 重复性试验** 取同一批蜘蛛香药材粉末 6 份，按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液，按“2.2”项下色谱条件进样测定，结果新绿原酸、绿原酸、咖啡酸、异绿原酸 B、橙皮苷、异绿原酸 A、异绿原酸 C、乙酰缬草三酯、缬草三酯的平均含量分别为 0.142、4.057、0.029、0.377、8.671、2.067、2.047、0.408、3.161 mg·g<sup>-1</sup>，RSD 分别为 2.1%、2.1%、2.2%、1.7%、1.4%、2.6%、2.4%、2.2%、1.8%，表明方法重复性良好。

**2.3.5 加样回收率试验** 精密称取已测定含量的蜘蛛香药材粉末 0.1 g，共 6 份，精密加入混合对照品溶液（含新绿原酸 2.24 μg·mL<sup>-1</sup>、绿原酸 66.60 μg·mL<sup>-1</sup>、咖啡酸 2.16 μg·mL<sup>-1</sup>、异绿原酸 B 9.00 μg·mL<sup>-1</sup>、橙皮苷 171.60 μg·mL<sup>-1</sup>、异绿原酸 A 52.48 μg·mL<sup>-1</sup>、异绿原酸 C 34.32 μg·mL<sup>-1</sup>、乙酰缬草三酯 13.80 μg·mL<sup>-1</sup> 及缬草三酯 141.04 μg·mL<sup>-1</sup>）5 mL，按“2.1.2”项下方法制备供试溶液，按“2.2”项下色谱条件进样测定，记录

峰面积，计算各成分加样回收率，结果上述 9 个成分的平均回收率（n=6）分别为 100.9%、100.4%、101.7%、98.5%、99.5%、100.8%、97.6%、97.7%、102.6%，RSD 分别为 1.2%、1.0%、2.4%、2.1%、1.4%、1.7%、1.0%、1.7%、1.2%，表明方法准确度良好。

**2.4 相对校正因子 (relative correction factor, RCF) 的确定**

**2.4.1 待测成分 RCF 的测定** 精密吸取“2.1.1”项下混合对照品溶液 0.5、5、10、15、20、30 μL，按“2.2”项下色谱条件进样测定，记录峰面积。以绿原酸 (s) 为内参物，分别计算待测成分新绿原酸 (a)、咖啡酸 (b)、异绿原酸 B (c)、橙皮苷 (d)、异绿原酸 A (e)、异绿原酸 C (f)、乙酰缬草三酯 (g)、缬草三酯 (h) 的 RCF，公式为  $f_{is}=f_i/f_s=(m_i \times A_s)/(m_s \times A_i)$ ，式中  $f_{is}$  为待测物 i 与内参物 s 的绝对校正因子的比值（即 RCF）， $f_i$  为待测物 i 的绝对校正因子， $f_s$  为内参物 s 的绝对校正因子， $m_i$  和  $m_s$  分别为待测物质 i 和内参物 s 的质量 (μg)， $A_i$  和  $A_s$  分别为待测物质 i 和内参物 s 的色谱峰峰面积，结果见表 2。

表 2 8 个成分的 RCF

Tab. 2 RCFs of eight components

进样量 (injection volume) /μL	$f_{as}$	$f_{bs}$	$f_{cs}$	$f_{ds}$	$f_{es}$	$f_{fs}$	$f_{gs}$	$f_{hs}$
0.5	0.984	0.444	0.949	8.854	0.902	0.877	1.522	1.501
5	0.984	0.432	0.931	8.641	0.912	0.867	1.534	1.472
10	0.981	0.448	0.928	8.641	0.911	0.859	1.530	1.497
15	0.999	0.430	0.932	8.839	0.939	0.871	1.503	1.491
20	0.990	0.443	0.931	8.708	0.922	0.857	1.497	1.502
30	0.997	0.441	0.941	8.689	0.922	0.859	1.519	1.524
平均值 (mean)	0.989	0.440	0.935	8.729	0.918	0.865	1.518	1.498
RSD/%	0.76	1.6	0.86	1.1	1.4	0.92	0.97	1.1

**2.4.2 不同仪器和色谱柱的考察** 取“2.1.1”项下混合对照品溶液，分别考察 Agilent 1260、Thermo U3000 高效液相色谱仪和 Diamonsil<sup>®</sup> C<sub>18</sub> 色谱柱 (4.6 mm×250 mm, 5 μm)、Inertsil ODS-3 色谱柱 (4.6 mm×250 mm, 5 μm)、Wondasil 色谱柱 (4.6 mm×250 mm, 5 μm) 对 RCF 的影响，结果表明不同高效液相色谱仪及色谱柱对 RCF 无显著影响，见表 3。

**2.4.3 不同流速的考察** 取“2.1.1”项下混合对照品溶液，采用 Agilent 1260 高效液相色谱仪和 Diamonsil<sup>®</sup> C<sub>18</sub> 色谱柱，考察不同流速对 RCF 的影响，结果表明不同流速对 RCF 无显著影响，见表 4。

**2.4.4 不同柱温的考察** 取“2.1.1”项下混合对

照品溶液，采用 Agilent 1260 高效液相色谱仪和 Diamonsil<sup>®</sup> C<sub>18</sub> 色谱柱，考察不同柱温对 RCF 的影响，结果表明不同柱温对 RCF 无显著影响，见表 5。

**2.5 待测成分色谱峰的定位**

以绿原酸 (s) 色谱峰为参照，分别计算待测成分新绿原酸 (a)、咖啡酸 (b)、异绿原酸 B (c)、橙皮苷 (d)、异绿原酸 A (e)、异绿原酸 C (f)、乙酰缬草三酯 (g)、缬草三酯 (h) 的相对保留时间 (RRT)，公式为  $r_{is}=t_{Ri}/t_{Rs}$ ，式中  $r_{is}$  为待测物 i 与内参物 s 的保留时间 (RT) 的比值（即 RRT）， $t_{Ri}$  为待测物 i 的 RT， $t_{Rs}$  为内参物 s 的 RT。考察各待测成分 RRT 在不同高效液相色谱仪和色谱柱中的重现性，结果表明各待测成分 RRT 波动较小，无显著性差异，见表 6。

表 3 不同仪器和色谱柱测得的 RCF

Tab. 3 RCFs determined by different instruments and columns

仪器 (instrument)	色谱柱 (column)	$f_{as}$	$f_{bs}$	$f_{cs}$	$f_{ds}$	$f_{es}$	$f_{fs}$	$f_{gs}$	$f_{hs}$
Agilent 1260	Diamonsil	0.989	0.440	0.935	8.729	0.918	0.865	1.518	1.498
	Inertsil ODS-3	0.963	0.455	0.925	8.725	0.944	0.888	1.519	1.512
	Wondasil	0.978	0.437	0.952	8.816	0.954	0.865	1.512	1.515
Thermo U3000	Diamonsil	0.979	0.453	0.945	8.712	0.943	0.870	1.508	1.520
	Inertsil ODS-3	0.973	0.446	0.944	8.713	0.938	0.879	1.510	1.517
	Wondasil	0.965	0.442	0.966	8.804	0.953	0.884	1.515	1.518
平均值 (mean)		0.975	0.446	0.945	8.750	0.942	0.875	1.514	1.513
RSD/%		0.99	1.6	1.5	0.54	1.4	1.1	0.29	0.53

表 4 不同流速测得的 RCF

Tab. 4 RCFs determined under different flow rate

流速 (flow rates) / (mL · min <sup>-1</sup> )	$f_{as}$	$f_{bs}$	$f_{cs}$	$f_{ds}$	$f_{es}$	$f_{fs}$	$f_{gs}$	$f_{hs}$
0.9	0.992	0.434	0.944	8.655	0.939	0.879	1.513	1.530
1.0	0.989	0.440	0.935	8.729	0.918	0.865	1.518	1.498
1.1	0.991	0.423	0.939	8.835	0.904	0.877	1.499	1.482
平均值 (mean)	0.991	0.432	0.939	8.740	0.920	0.874	1.510	1.503
RSD/%	0.15	2.0	0.48	1.0	1.9	0.87	0.65	1.6

表 5 不同柱温测得的 RCF

Tab. 5 RCFs determined at different column temperature

柱温 (column temperature) / °C	$f_{as}$	$f_{bs}$	$f_{cs}$	$f_{ds}$	$f_{es}$	$f_{fs}$	$f_{gs}$	$f_{hs}$
25	0.985	0.440	0.926	8.743	0.904	0.878	1.500	1.515
30	0.989	0.440	0.935	8.729	0.918	0.865	1.518	1.498
35	0.963	0.443	0.931	8.708	0.915	0.887	1.558	1.504
平均值 (mean)	0.979	0.441	0.931	8.727	0.912	0.877	1.525	1.506
RSD/%	1.4	0.39	0.49	0.20	0.81	1.3	2.0	0.57

表 6 不同仪器和色谱柱下各成分的 RRT

Tab. 6 RRTs determined by different instruments and columns

仪器 (instrument)	色谱柱 (column)	$r_{as}$	$r_{bs}$	$r_{cs}$	$r_{ds}$	$r_{es}$	$r_{fs}$	$r_{gs}$	$r_{hs}$
Agilent 1260	Diamonsil	0.733	1.305	1.947	2.012	2.071	2.171	6.014	6.849
	Inertsil ODS-3	0.743	1.302	2.026	2.071	2.126	2.247	6.339	7.285
	Wondasil	0.724	1.315	1.979	2.082	2.122	2.239	5.990	6.746
Thermo U3000	Diamonsil	0.742	1.289	1.910	1.954	2.026	2.164	5.772	6.572
	Inertsil ODS-3	0.752	1.290	1.986	2.008	2.079	2.234	6.076	6.968
	Wondasil	0.726	1.309	1.926	2.008	2.065	2.175	5.684	6.398
平均值 (mean)		0.737	1.302	1.962	2.023	2.082	2.205	5.979	6.803
RSD/%		1.5	0.80	2.2	2.3	1.8	1.8	3.9	4.6

2.6 QAMS 与外标法 (external standard method, ESM) 的测定结果比较

取 16 批蜘蛛香药材, 按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液, 按“2.2”项下色谱条件进样测定,

记录峰面积, 采用 ESM 和 QAMS 分别计算 9 个成分含量, 运用  $t$  检验分析 2 种方法差异性, 结果表明两者间无显著性差异, 具有良好的一致性, 见表 7。

表7 ESM 和 QAMS 测定蜘蛛香中 9 个成分的含量 ( $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ,  $n=2$ )  
 Tab.7 Contents of 9 components in Valeriana jatamansi determined by ESM and QAMS

样品 (sample)	绿原酸 (nechlorogenic acid)		新绿原酸 (chlorogenic acid)		咖啡酸 (caffeic acid)		异绿原酸 B (isochlorogenic acid B)		橙皮苷 (hesperidin)		异绿原酸 A (isochlorogenic acid A)		异绿原酸 C (isochlorogenic acid C)		乙酰缬草三酯 (acevaltrate)		缬草三酯 (valepotriate)	
	ESM	QAMS	ESM	QAMS	ESM	QAMS	ESM	QAMS	ESM	QAMS	ESM	QAMS	ESM	QAMS	ESM	QAMS	ESM	QAMS
S1	4.212	0.080	0.079	0.027	0.027	0.668	0.670	4.056	4.020	4.574	4.532	2.543	2.546	4.372	4.372	5.124	5.142	
S2	4.057	0.142	0.141	0.028	0.028	0.373	0.376	8.501	8.478	2.102	2.076	2.217	2.217	0.401	0.383	3.323	3.355	
S3	6.284	0.152	0.151	0.036	0.036	0.543	0.545	10.253	10.235	3.757	3.721	3.644	3.655	1.967	1.956	13.890	13.845	
S4	0.815	0.050	0.049	0.050	0.050	0.184	0.188	11.668	11.654	1.172	1.152	0.905	0.896	1.110	1.095	4.561	4.584	
S5	3.295	0.117	0.116	0.103	0.102	0.329	0.332	7.081	7.053	2.646	2.616	1.664	1.661	0.783	0.767	6.750	6.757	
S6	1.015	0.056	0.056	0.039	0.038	0.178	0.182	7.991	7.966	1.265	1.244	0.979	0.971	1.096	1.081	7.018	7.023	
S7	4.296	0.098	0.097	0.049	0.049	0.742	0.743	3.062	3.022	6.129	6.078	3.063	3.070	5.850	5.856	6.864	6.870	
S8	7.718	0.135	0.134	0.081	0.080	0.477	0.480	3.923	3.885	2.296	2.268	1.631	1.628	0.479	0.461	5.452	5.469	
S9	6.149	0.124	0.123	0.084	0.083	0.618	0.620	3.302	3.263	1.853	1.828	1.564	1.559	0.282	0.264	9.358	9.347	
S10	2.716	0.075	0.075	0.019	0.018	0.292	0.296	9.337	9.316	2.181	2.154	1.445	1.440	1.859	1.847	13.711	13.668	
S11	0.255	0.058	0.057	0.046	0.045	0.173	0.177	7.810	7.785	1.105	1.085	0.622	0.611	0.886	0.870	4.860	4.881	
S12	2.078	0.065	0.064	0.026	0.026	0.222	0.226	9.111	9.089	2.280	2.253	1.420	1.415	1.456	1.443	8.632	8.626	
S13	1.474	0.067	0.067	0.051	0.051	0.181	0.185	6.465	6.436	1.688	1.664	1.048	1.040	1.154	1.139	5.007	5.026	
S14	7.349	0.172	0.171	0.049	0.048	0.783	0.784	6.215	6.184	5.774	5.725	4.563	4.581	1.246	1.232	6.051	6.063	
S15	5.132	0.130	0.129	0.025	0.025	0.480	0.482	5.402	5.369	2.402	2.374	2.502	2.505	1.884	1.873	15.886	15.827	
S16	0.704	0.056	0.055	0.091	0.091	0.176	0.180	6.078	6.047	1.082	1.063	0.698	0.688	0.482	0.465	1.657	1.701	
<i>t</i>		0.057		0.048		-0.038		0.031		0.053		0.004		0.024		-0.002		
<i>P</i>		0.955		0.962		0.970		0.975		0.958		0.997		0.981		0.999		

### 3 讨论

新绿原酸、异绿原酸 A、异绿原酸 B、异绿原酸 C、乙酰缬草三酯、缬草三酯的对照品价格昂贵,而绿原酸对照品来源充足,价廉易得,化学性质较稳定,在蜘蛛香药材中含量较高,故选择其为内参物进行 QAMS 分析。本研究考察了不同仪器、色谱柱、流速、柱温对所建立 RCF 的影响,结果表明各成分 RCF 重现性良好。应用保留时间差和 RRT 分别定位各成分色谱峰,发现 RRT 在不同仪器和色谱柱中的重复性较好。测定了 16 批蜘蛛香中的 9 个成分,结果 QAMS 与 ESM 测得含量基本一致,说明 QAMS 用于蜘蛛香药材质量控制及评价准确可行。

中药成分的复杂性和多效性决定了单一指标成分测定难以实现对其质量的整体控制,故多成分测定是中药质量控制研究的重点;现行蜘蛛香质量标准较简单,不能准确反映不同来源蜘蛛香的质量差异。为实现蜘蛛香药材多种有效成分质量控制,本文应用 QAMS 测定蜘蛛香中 9 个成分的含量,可解决乙酰缬草三酯、缬草三酯等对照品缺乏问题,降低多成分含量测定成本,有利于全面反映蜘蛛香的内在质量,对蜘蛛香的质量标准提升及新药开发研究具有重要的科学参考和应用价值。

#### 参考文献

- [1] 杨军,龙庆德,罗喜荣,等.超临界二氧化碳萃取蜘蛛香油工艺的研究[J].时珍国医国药,2012,23(1):157  
YANG J, LONG QD, LUO XR, et al. Study on supercritical carbon dioxide extraction process of oil from *Valeriana jatamansi* Jones [J]. Lishizhen Med Mater Med Res, 2012, 23 (1): 157
- [2] 罗喜荣,苑天红,杨军,等.超临界 CO<sub>2</sub> 萃取蜘蛛香中总缬草三酯的工艺研究[J].广东农业科学,2012,39(16):119  
LUO XR, YUAN TH, YANG J, et al. Study on supercritical CO<sub>2</sub> extraction process of total valepotriates from *Valeriana jatamansi* Jones [J]. Guangdong Agric Sci, 2012, 39 (16): 119
- [3] 刘开萍,杨军,罗喜荣,等.蜘蛛香中绿原酸及总酚酸的含量测定[J].湖北农业科学,2017,56(2):288  
LIU KP, YANG J, LUO XR, et al. Datermination of chlorogenic acid and total phenolic acid content in *Valeriana jatarnansi* Jones [J]. Hubei Agric Sci, 2017, 56 (2): 288
- [4] 刘开萍,杨军,程盛勇,等.HPLC 法同时测定蜘蛛香中 7 种成分含量[J].中药材,2018,41(4):922  
LIU KP, YANG J, CHENG SY, et al. Simultaneous determination of seven components in *Valeriana jatamansi* Jones by HPLC [J]. J Chin Med Mater, 2018, 41 (4): 922
- [5] 刘畅,李韶菁,唐仕欢,等.蜘蛛香药理研究进展[J].中国中药杂志,2012,37(14):2174  
CHEN C, LI SJ, TANG SH, et al. Advance of pharmacological studies on *Valeriana jatamansi* Jones [J]. China J Chin Mater Med, 2012, 37 (14): 2174
- [6] 中华人民共和国药典 2010 年版.一部[S].2010:345  
ChP 2010. Vol I [S]. 2010: 345
- [7] 中华人民共和国药典 2015 年版.一部[S].2015:368  
ChP 2015. Vol I [S]. 2015: 368
- [8] 穆芳园,王一程,陶丝雨,等.4 个缬草醛类成分电喷雾质谱裂解规律研究[J].药物分析杂志,2018,38(2):234  
MU FY, WANG YC, TAO SY, et al. Fragmentation rules of four baldrinals based on electrospray ionization mass spectrometry [J]. Chin J Pharm Anal, 2018, 38 (2): 234
- [9] 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  
WANG ZM, QIAN ZZ, ZHANG QW, et al. The guidelines for establishment of QAMS [J]. China J Chin Mater Med, 2011, 36 (6): 657
- [10] 翟宏宇,单柏宇,王海洋,等.一测多评法测定保心宁片中 6 个丹参类指标性成分的含量[J].药物分析杂志,2018,38(6):973  
ZHAI HY, SHAN BY, WANG HY, et al. Simultaneous determination of six index components of *Salvia miltiorrhiza* in Baoxinning tablets by a single maker [J]. Chin J Pharm Anal, 2018, 38 (6): 973
- [11] 李听弦,李蒙,张志,等.一测多评法测定不同味连饮片中 6 个生物碱类成分的含量[J].药物分析杂志,2018,38(7):1132  
LI TX, LI M, ZHANG Z, et al. Simultaneous determination of 6 alkaloids in prepared slides of *Coptis chinensis* Franch. by QAMS [J]. Chin J Pharm Anal, 2018, 38 (7): 1132
- [12] 管珂,崔淦,过立农,等.一测多评法同时测定冬虫夏草中 5 个核苷类成分的含量[J].药物分析杂志,2018,38(4):630  
ZAN K, CUI G, GUO LN, et al. Simultaneous determination of five nucleosides in *Cordyceps sinensis* (Ber K) Sacc. by QAMS [J]. Chin J Pharm Anal, 2018, 38 (4): 630
- [13] 程盛勇,付洋,郁林娜,等.蜘蛛香 HPLC 指纹图谱及化学模式识别研究[J].中国药学杂志,2019,54(6):489  
CHENG SY, FU Y, YU LN, et al. HPLC fingerprint and chemical pattern recognition of *Valeriana jatamansi* [J]. Chin Pharm J, 2019, 54 (6): 489

(本文于 2019 年 3 月 29 日收到)