

# 一测多评法同时测定淫羊藿总黄酮胶囊中7种黄酮类成分

于雪娥<sup>1,2</sup>, 秦建平<sup>2,3</sup>, 李家春<sup>2,3</sup>, 黄文哲<sup>2,3</sup>, 王振中<sup>2,3</sup>, 萧伟<sup>1,2,3\*</sup>

- (1. 南京中医药大学药学院, 南京 210023;
2. 中药制药过程新技术国家重点实验室, 江苏连云港 222001;
3. 江苏康缘药业股份有限公司, 江苏连云港 222001)

**[摘要]** 目的:采用一测多评技术建立 UPLC 快速测定淫羊藿总黄酮胶囊中7种成分(朝藿定 A1,朝藿定 A,朝藿定 B,朝藿定 C,淫羊藿苷,鼠李糖基淫羊藿次苷 II 以及宝藿苷 I)的方法,并验证此方法在淫羊藿总黄酮胶囊中应用的可行性和方法适用性。方法:以淫羊藿总黄酮胶囊中7个具异戊烯基取代的黄酮类成分为指标成分,在一定的线性范围内,建立淫羊藿苷与其他6个成分的相对校正因子,计算朝藿定 A1,朝藿定 A,朝藿定 B,朝藿定 C,鼠李糖基淫羊藿次苷 II 以及宝藿苷 I 的含量,实现一测多评。结果:各成分相对淫羊藿苷的校正因子分别为  $f_{\text{淫羊藿苷}/\text{朝藿定A1}} = 1.413$ ,  $f_{\text{淫羊藿苷}/\text{朝藿定A}} = 1.231$ ,  $f_{\text{淫羊藿苷}/\text{朝藿定B}} = 1.375$ ,  $f_{\text{淫羊藿苷}/\text{朝藿定C}} = 1.166$ ,  $f_{\text{淫羊藿苷}/\text{鼠李糖基淫羊藿次苷II}} = 0.962$ ,  $f_{\text{淫羊藿苷}/\text{宝藿苷I}} = 0.689$ ,且重复性良好,10批淫羊藿总黄酮胶囊中7个成分的计算值与外标法实测值无明显差异。结论:一测多评法可用于淫羊藿总黄酮胶囊中多成分的质量评价,结果稳定可靠。

**[关键词]** 一测多评; 相对校正因子; 淫羊藿总黄酮胶囊; 超高效液相色谱法

**[中图分类号]** R224.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2017)07-0079-07

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2017070079

**[网络出版地址]** <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20170109.1409.068.html>

**[网络出版时间]** 2017-01-09 14:09

## Simultaneous Determination of 7 Flavonoid Compounds in Yinyanghuo Zonghuangtong Capsule by Quantitative Analysis of Multi-components with A Single-marker

YU Xue-e<sup>1,2</sup>, QIN Jian-ping<sup>2,3</sup>, LI Jia-chun<sup>2,3</sup>, HUANG Wen-zhe<sup>2,3</sup>, WANG Zhen-zhong<sup>2,3</sup>, XIAO Wei<sup>1,2,3\*</sup>

(1. Pharmacy College, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China;

2. State Key Laboratory of Pharmaceutical Process New-tech for Chinese Medicine, Lianyungang 222001, China;

3. Jiangsu Kanion Pharmaceutical Co. Ltd., Lianyungang 222001, China)

**[Abstract]** **Objective:** To establish a UPLC method for simultaneous determination of 7 compounds (epidemin A1, epidemin A, epidemin B, epidemin C, icariin, 2-O-rhamnosyl-icariside II and baohuoside I) in Yinyanghuo Zonghuangtong capsule (YZC) by quantitative analysis of multi-components with a single-marker (QAMS) and to evaluate the adaptation and application of QAMS method in the quality control of YZC. **Method:** Icariin was used as the internal reference substances and the relative correlation factors ( $f$ ) of epimedin A1, epimedin A, epimedin B, epimedin C, rha-icariside II and baohuoside I were calculated. **Result:** The relative correlation factors ( $f$ ) were 1.413, 1.231, 1.375, 1.166, 0.962 and 0.689 for epimedin A1, epimedin A, epimedin B, epimedin C, rha-icariside II and baohuoside I respectively. The determination results were compared with those obtained by the external standard method. The reproducibility of the established method was satisfying

**[收稿日期]** 20160628(017)

**[基金项目]** 国家“重大新药创制”科技重大专项(2013ZX09402203)

**[第一作者]** 于雪娥,在读硕士,从事中药新剂型与新技术研究, Tel:0518-81152321, E-mail: yuxuee0304@163.com

**[通讯作者]** \* 萧伟,博士生导师,研究员级高级工程师,从事中药新剂型与新技术研究, Tel:0518-81152321, E-mail: wzhzh-nj@163.net

and there was no significant difference in assay results between the QAMS method and the external standard method. **Conclusion:** The QAMS method was reliable and could be used for quality control of YZC.

[**Key words**] QAMS; relative correlation factor; Yinyanghuo Zonghuangtong capsule; UPLC

淫羊藿总黄酮胶囊是中药五类新药,处方组成为淫羊藿<sup>[1]</sup>总黄酮提取物,具有温补肾阳、强筋健骨的功效,于 2014 年获得新药证书,临床用于原发性骨质疏松症肾阳虚证。淫羊藿总黄酮胶囊中主要的活性成分为黄酮类,尤其是 8 位具有异戊烯基取代的黄酮及其苷类<sup>[2-3]</sup>,文献报道有保护心血管、抗骨质疏松、抗肿瘤等药理作用<sup>[4-6]</sup>。

目前,针对淫羊藿总黄酮胶囊中 5 种黄酮类化合物(朝藿定 A,朝藿定 B,朝藿定 C,淫羊藿苷及宝霍苷 I)HPLC 含量测定的外标法已经建立<sup>[7]</sup>,但由于其中多个对照品价格昂贵、难以获得,限制了外标法在生产过程中对药材或制剂的多指标质量控制的应用。“一测多评”分析方法(quantitative analysis of multi-components with a single-marker, QAMS)通过测定 1 个易得有效成分而实现中药多成分定量,是适合中药特点的多指标质量控制和评价模式<sup>[8-9]</sup>,该法现已成功应用于黄连、丹参<sup>[10-11]</sup>等药材及银黄片、热毒宁注射液<sup>[12-13]</sup>等制剂的质量控制。近年来,已有相关研究建立了淫羊藿药材中主要存在的 4 种化合物(朝藿定 A,朝藿定 B,朝藿定 C,淫羊藿苷)的一测多评方法<sup>[14-15]</sup>,虽然对淫羊藿总黄酮胶囊的多成分含量测定有一定的借鉴作用,但上述研究液相条件中的洗脱程序采用的均是乙腈-水以一定比例等度洗脱的方式,这种方法不能够满足宝霍苷 I,鼠李糖基淫羊藿次苷 II 等在淫羊藿总黄酮胶囊中含量亦较高的黄酮苷类成分的分离测定,且在前期研究中发现,为使各待测成分能够达到基线分离,HPLC 法耗时过长,故本研究拟采用 UPLC 技术,以较易获得的淫羊藿黄酮代表性成分淫羊藿苷为内参物,建立同时测定淫羊藿总黄酮胶囊中 7 种含量较高的黄酮苷类成分的一测多评方法,以期对淫羊藿总黄酮胶囊多成分质量控制提供一定的技术支持。

## 1 材料

1290 系列超高效液相色谱仪(DAD 检测器),6538 Q-TOF 型质谱仪(美国 Agilent 公司);BSA224S-CW 型电子分析天平(德国赛多利斯公司),MS-105DU 型电子分析天平(瑞士梅特勒公司),KQ-250 DB 型数控超声波清洗器(昆山超声仪器有限公司),H1650-W 型台式高速离心机(湖南湘

仪实验室仪器开发有限公司),Milli-Q Academic 型纯水机(美国密理博公司)。

对照品淫羊藿苷(批号 110737-201516,纯度 94.2%),宝霍苷 I(批号 111852-201102,纯度 100%)由中国食品药品检定研究院提供。朝藿定 A1(批号 MUST-1509113,纯度 98.50%),朝藿定 A(批号 MUST-15010408,纯度 98.50%),朝藿定 B(批号 MUST-15010409,纯度 98.30%),朝藿定 C(批号 MUST-15040715,纯度 98.17%)对照品均由成都曼斯特生物科技有限公司提供;鼠李糖基淫羊藿次苷 II(批号 20150320,纯度 98.00%)购自宝鸡市辰光生物科技有限公司,纯度经 HPLC 峰面积归一化法测定。淫羊藿总黄酮胶囊(批号 150501,150502,150503,150701,150702,150901,150902,150903,151201,151202)由江苏康缘阳光药业有限公司提供。乙腈为色谱纯,水为超纯水,其余试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

### 2.1 实验条件

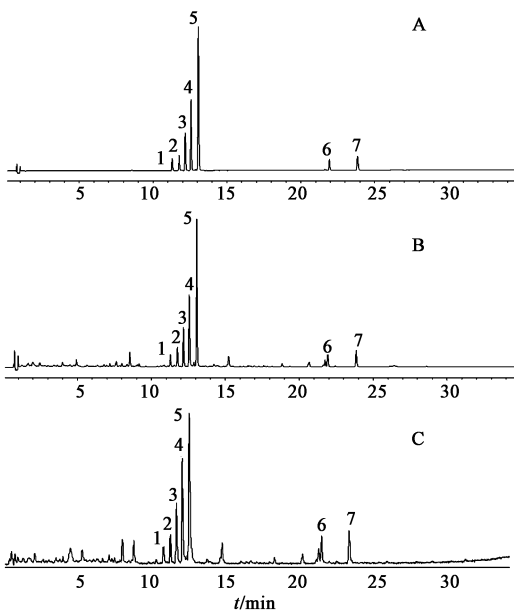
**2.1.1 色谱条件** Agilent ZORBAX SB-C<sub>18</sub> 色谱柱(2.1 mm × 100 mm, 1.8 μm)。流动相乙腈(A)-0.1% 甲酸水(B),梯度洗脱(0 ~ 14 min, 15% ~ 30% A; 14 ~ 21 min, 30% ~ 39% A; 21 ~ 26 min, 39% ~ 44% A; 26 ~ 35 min, 44% ~ 80% A),流速 0.3 mL·min<sup>-1</sup>,柱温 30 °C,进样量 2 μL,检测波长 270 nm。此条件下各成分分离度良好,色谱图见图 1。

**2.1.2 质谱条件** 电喷雾电离源(ESI),负离子全扫描检测,扫描范围 *m/z* 100 ~ 1 500,加热毛细管温度 350 °C,干燥气流速 10 L·min<sup>-1</sup>,喷雾器压力 310 kPa,毛细管电压 3 500 V,碎裂电压 135 V,锥孔电压 65 V。淫羊藿总黄酮胶囊样品在负离子模式下的总离子流见图 1。

**2.2 待测成分的定性分析** 为了避免单凭保留时间定位造成的假阳性结果,本研究首先对样品中的待测成分进行了 UPLC-Q-TOF-MS 定性分析,数据及结果见表 1。与对照品的 UPLC-Q-TOF-MS 数据进行比对,确定待测成分峰的归属。

### 2.3 溶液的制备

**2.3.1 对照品溶液的配制** 分别取朝藿定 A1,朝藿定 A,朝藿定 B,朝藿定 C,淫羊藿苷,鼠李糖基



A. 对照品 (270 nm); B. 样品 (270 nm); C. 样品总离子流 (负离子模式); 1. 朝藿定 A1; 2. 朝藿定 A; 3. 朝藿定 B; 4. 朝藿定 C; 5. 淫羊藿苷; 6. 鼠李糖基淫羊藿次苷 II; 7. 宝藿苷 I

图 1 淫羊藿总黄酮胶囊样品 UPLC

Fig. 1 UPLC chromatograms of total ion of YZC sample

淫羊藿次苷 II 和宝藿苷 I 对照品约 5 mg, 精密称定, 置于 5 mL 量瓶中, 甲醇溶解并稀释至刻度, 配制各对照品的母液, 由母液稀释制成含各成分分别

表 1 淫羊藿总黄酮胶囊样品的 UPLC-Q-TOF-MS 分析

Table 1 UPLC-Q-TOF-MS results of YZC sample

峰号	母离子	测得值 $m/z$	理论值 $m/z$	$\delta$	分子式	化合物
1	$[M - H]^-$	837.281 8	837.282 3	0.66	$C_{39}H_{50}O_{20}$	朝藿定 A1
2	$[M - H]^-$	837.282 0	837.282 3	0.36	$C_{39}H_{50}O_{20}$	朝藿定 A
3	$[M + COOH]^-$	853.277 8	853.277 2	-0.63	$C_{38}H_{48}O_{19}$	朝藿定 B
4	$[M + COOH]^-$	867.293 5	867.292 8	-0.78	$C_{39}H_{50}O_{19}$	朝藿定 C
5	$[M + COOH]^-$	721.235 3	721.234 9	-0.53	$C_{33}H_{40}O_{15}$	淫羊藿苷
6	$[M - H]^-$	659.234 8	659.234 5	-0.34	$C_{33}H_{40}O_{14}$	鼠李糖基淫羊藿次苷 II
7	$[M - H]^-$	513.176 9	513.176 6	-0.57	$C_{27}H_{30}O_{10}$	宝藿苷 I

表 2 各成分的线性关系及定量限、检测限

Table 2 Linear regression, LODs and LOQs of 7 quantitative analytes

成分	回归方程	$R^2$	线性范围/ $mg \cdot L^{-1}$	定量限/ $mg \cdot L^{-1}$	检测限/ $mg \cdot L^{-1}$
朝藿定 A1	$Y = 10.536X - 1.915$	0.999 9	1.27 ~ 40.52	0.633	0.158
朝藿定 A	$Y = 12.160X - 2.905$	0.999 9	1.46 ~ 46.74	0.365	0.091
朝藿定 B	$Y = 10.771X - 7.113$	0.999 9	3.97 ~ 127.05	0.496	0.124
朝藿定 C	$Y = 12.635X - 11.750$	0.999 9	6.32 ~ 202.31	0.395	0.099
淫羊藿苷	$Y = 14.621X - 21.001$	0.999 9	11.76 ~ 376.25	0.367	0.092
鼠李糖基淫羊藿次苷 II	$Y = 15.463X - 2.336$	0.999 9	0.91 ~ 29.24	0.457	0.114
宝藿苷 I	$Y = 21.483X - 3.679$	1.000 0	1.00 ~ 32.07	0.251	0.063

含 40.52, 46.74, 127.05, 202.31, 376.25, 29.24, 32.07  $mg \cdot L^{-1}$  的混合对照品储备液。

2.3.2 供试品溶液的制备 取本品 20 粒, 去胶囊壳, 内容物混合研细, 取约 0.1 g, 精密称定, 置于 100 mL 量瓶中, 加甲醇适量, 超声 (250 W, 40 kHz) 处理 30 min, 放冷, 甲醇稀释至刻度, 摇匀,  $12\ 000\ r \cdot min^{-1}$  离心 5 min, 上清液 0.22  $\mu m$  滤膜滤过, 取续滤液, 即得。

#### 2.4 一测多评方法学考察

2.4.1 线性关系考察 精密吸取 2.3.1 项下的混合对照品储备液 5 mL 置于 10 mL 量瓶中, 甲醇稀释至刻度, 得混合对照品溶液, 如此逐倍稀释得系列质量浓度混合对照品溶液, 分别精密吸取上述溶液 2  $\mu L$ , 注入液相色谱仪, 记录各色谱峰峰面积, 以对照品质量浓度为横坐标 (X), 以峰面积积分为纵坐标 (Y), 进行线性回归, 回归方程和相关系数见表 2。

2.4.2 检测限和定量限 线性关系考察中最低浓度的混合对照品溶液继续逐倍稀释, 分别精密吸取 2  $\mu L$ , 注入液相色谱仪, 记录各成分的信噪比, 以 S/N 10 作为定量限, 以 S/N 3 作为检测限, 结果见表 2。

2.4.3 精密度试验 精密吸取同一混合对照品溶液, 按 2.1 项下色谱方法连续进样 6 次, 记录峰

面积,结果朝藿定 A1,朝藿定 A,朝藿定 B,朝藿定 C,淫羊藿苷,鼠李糖基淫羊藿次苷 II 和宝藿苷 I 峰面积的 RSD 分别为 0.6%,0.7%,0.3%,0.3%,0.3%,0.4%,0.3%,表明该条件下仪器进样精密度良好。

**2.4.4 稳定性试验** 按 2.3.2 项下方法制备供试品溶液,分别于 0,2,4,6,8,10,12,16,20,24 h 进样,记录峰面积,朝藿定 A1,朝藿定 A,朝藿定 B,朝藿定 C,淫羊藿苷,鼠李糖基淫羊藿次苷 II 和宝藿苷 I 峰面积的 RSD 分别为 0.5%,0.7%,0.7%,1.0%,0.9%,0.8%,0.7%,表明供试品溶液在室温下 24 h 内稳定。

取同一混合对照品溶液,分别于 0,2,4,6,8,10,12,16,20,24 h 进样,记录峰面积,朝藿定 A1,朝藿定 A,朝藿定 B,朝藿定 C,淫羊藿苷,鼠李糖基淫羊藿次苷 II 和宝藿苷 I 峰面积的 RSD 分别为 0.6%,0.5%,0.4%,0.3%,0.2%,0.6% 和 0.2%,表明混合对照品溶液在室温下 24 h 内稳定。

**2.4.5 重复性试验** 取同一批淫羊藿总黄酮胶囊(批号 150501),按 2.3.2 项下供试品溶液制备方法制备 6 份供试品溶液,按 2.1 项下色谱条件测定,记录峰面积,测得朝藿定 A1,朝藿定 A,朝藿定 B,朝藿定 C,淫羊藿苷,鼠李糖基淫羊藿次苷 II 和宝藿苷 I 的平均质量分数分别为 9.60,13.54,29.86,48.31,84.80,7.94,8.51 mg·g<sup>-1</sup>,RSD 分别为 0.5%,0.9%,0.5%,0.6%,0.5%,0.6% 和 0.5%,表明该方法重复性良好。

**2.4.6 加样回收率试验** 精密称取同一批淫羊藿总黄酮胶囊内容物(批号 150501)9 份,每份 0.05 g,分成 3 组,分别精密加入含朝藿定 A1 95.19 mg·L<sup>-1</sup>,朝藿定 A 134.12 mg·L<sup>-1</sup>,朝藿定 B 298.08 mg·L<sup>-1</sup>,朝藿定 C 532.63 mg·L<sup>-1</sup>,淫羊藿苷 833.78 mg·L<sup>-1</sup>,鼠李糖基淫羊藿次苷 II 82.30 mg·L<sup>-1</sup>,宝藿苷 I 86.53 mg·L<sup>-1</sup> 的混合对照品溶液 4.0,5.0,

6.0 mL,按 2.3.2 项下方法制备供试品溶液,按 2.1 项下色谱条件测定,计算加样回收率,结果朝藿定 A1,朝藿定 A,朝藿定 B,朝藿定 C,淫羊藿苷,鼠李糖基淫羊藿次苷 II 和宝藿苷 I 的加样回收率分别为 98.82%,96.49%,97.62%,99.29%,100.44%,97.18%,98.51%,RSD 分别为 0.9%,1.4%,1.7%,1.9%,1.2%,1.2%,1.2%。表明该方法准确性良好。

**2.5 相对校正因子 f 的确定及耐用性考察**

**2.5.1 f 的测定** 本研究中 f 的测定采用多点校正法<sup>[16]</sup>,取 2.3.1 项下各混合对照品溶液,进样分析,记录各成分的峰面积。以淫羊藿苷为内参物,按下式计算朝藿定 A1,朝藿定 A,朝藿定 B,朝藿定 C,鼠李糖基淫羊藿次苷 II 及宝藿苷 I 的 f:

$$f_{s/k} = f_s / f_k = (C_k \times A_s) / (C_s \times A_k)$$

式中 A<sub>s</sub> 为内参对照品 s 峰面积, C<sub>s</sub> 为内参对照品 s 的浓度, A<sub>k</sub> 为某待测成分对照品 k 峰面积, C<sub>k</sub> 为某待测成分对照品 k 的浓度。

朝藿定 A1,朝藿定 A,朝藿定 B,朝藿定 C,鼠李糖基淫羊藿次苷 II 及宝藿苷 I 的 f 依次为 1.413,1.231,1.375,1.166,0.962 及 0.689,RSD 分别为 0.7%,0.8%,0.5%,0.4%,1.3% 及 0.9%,结果见表 3。

**2.5.2 不同柱温对 f 的影响** 分别考察了不同柱温(25,28,30,32,35 ℃)对各 f 的影响,结果朝藿定 A1,朝藿定 A,朝藿定 B,朝藿定 C,鼠李糖基淫羊藿次苷 II 及宝藿苷 I f 的 RSD 依次为 0.9%,1.0%,0.4%,0.06%,0.7% 和 0.05%,表明柱温的波动对各成分的 f 无显著影响。

**2.5.3 不同流速对 f 的影响** 考察了不同流速(0.28,0.30,0.32 mL·min<sup>-1</sup>)对各 f 的影响,结果朝藿定 A1,朝藿定 A,朝藿定 B,朝藿定 C,鼠李糖基淫羊藿次苷 II 及宝藿苷 I f 的 RSD 依次为 0.9%,1.2%,0.5%,0.08%,0.2%,0.1%,表明流速的波动对各成分的 f 无显著影响。

表 3 各成分的相对校正因子

Table 3 f values of each compounds

No.	$f_{\text{淫羊藿苷}}/f_{\text{朝藿定 A1}}$	$f_{\text{淫羊藿苷}}/f_{\text{朝藿定 A}}$	$f_{\text{淫羊藿苷}}/f_{\text{朝藿定 B}}$	$f_{\text{淫羊藿苷}}/f_{\text{朝藿定 C}}$	$f_{\text{淫羊藿苷}}/f_{\text{鼠李糖基淫羊藿次苷 II}}$	$f_{\text{淫羊藿苷}}/f_{\text{宝藿苷 I}}$
1	1.394	1.212	1.363	1.158	0.948	0.680
2	1.408	1.229	1.373	1.164	0.954	0.685
3	1.416	1.232	1.377	1.166	0.955	0.689
4	1.421	1.238	1.379	1.167	0.960	0.690
5	1.414	1.232	1.378	1.169	0.977	0.694
6	1.422	1.241	1.381	1.170	0.978	0.697

**2.5.4 不同色谱柱对  $f$  的影响** 考察了 Agilent ZORBAX SB-C<sub>18</sub> (2.1 mm × 100 mm, 1.8 μm) 3 根不同批号 (B15123, B15053, B15160) 的色谱柱以及 Agilent ZORBAX Eclipse Plus C<sub>18</sub> (2.1 mm × 100 mm, 1.8 μm, 批号 B10078) 共 4 根色谱柱对各成分  $f$  的影响, 结果使用以上色谱柱各成分均能达到较好的分离效果, 各成分  $f$  的 RSD 依次为 0.2%, 0.7%, 0.5%, 0.06%, 0.4% 和 0.3%, 表明 4 根色谱柱对各成分的  $f$  无显著影响。

**2.5.5 不同实验人员对  $f$  的影响** 考察了 3 名实验人员对各成分  $f$  的影响, 结果各成分  $f$  的 RSD 依次为 0.1%, 0.7%, 0.6%, 0.05%, 0.06%, 0.1%, 表明不同实验人员所得各成分的  $f$  无显著差异。

**2.5.6 不同仪器对  $f$  的影响** 考察了不同实验室的 2 台 Agilent 1290 超高效液相色谱仪对各成分  $f$  的影响, 结果各成分  $f$  的 RSD 依次为 0.3%, 1.3%, 0.8%, 0.3%, 0.2%, 0.07%, 表明同一型号的不同仪器对各成分的  $f$  无显著影响。

综合以上各种因素, 朝藿定 A1, 朝藿定 A, 朝藿定 B, 朝藿定 C, 鼠李糖基淫羊藿次苷 II 及宝藿苷 I 的 RSD 分别为 0.6%, 0.9%, 0.4%, 0.1%, 0.4%, 0.2%, 表明该方法各成分  $f$  耐用性较好, 结果见表 4。

**2.6 待测组分数谱峰定位** 本研究采用相对保留

值(待测成分与内参物保留时间之比)对淫羊藿总黄酮胶囊中各待测成分色谱峰进行定位, 以淫羊藿苷的保留时间计算朝藿定 A1, 朝藿定 A, 朝藿定 B, 朝藿定 C, 鼠李糖基淫羊藿次苷 II 以及宝藿苷 I 的相对保留时间分别为 0.865, 0.901, 0.932, 0.962, 1.674 和 1.820, RSD 分别为 0.3%, 0.2%, 0.1%, 0.1%, 0.6% 及 0.7%。

**2.7 一测多评法与外标法测定结果的比较** 取 10 批淫羊藿总黄酮胶囊, 采用外标法对其进行多成分同时含量测定, 再用建立的 QAMS 进行含量计算, 结果见表 5。外标法实测含量值与 QAMS 计算间的相对偏差 [RD% = (QAMS 计算值 - 外标法实测值)/外标法实测值] 均在 2% 以内, 说明 2 种方法测定结果没有明显差异, 建立的一测多评方法可用于淫羊藿总黄酮胶囊多成分质量评价研究。

#### 4 讨论

采用 DAD 检测器在 190 ~ 400 nm 对混合对照品溶液进行扫描, 结果 7 个成分在 270 nm 处均有较大吸收, 确定含量测定波长为 270 nm。对乙腈-水、乙腈-0.1% 甲酸和乙腈-0.3% 甲酸 3 种流动相体系进行考察, 结果显示, 乙腈-0.1% 甲酸系统色谱峰响应较好, 基线平稳, 乙腈-0.3% 甲酸系统结果与乙腈-0.1% 甲酸系统无明显差异, 故最终确定流动相为乙腈-0.1% 甲酸。考察了 20, 25, 30, 35, 40 °C

表 4 各种因素对  $f$  的影响

Table 4 Effects of various factors on  $f$

影响因素	指标	$f_{\text{淫羊藿苷}}/$	$f_{\text{淫羊藿苷}}/$	$f_{\text{淫羊藿苷}}/$	$f_{\text{淫羊藿苷}}/$	$f_{\text{淫羊藿苷}}/$	$f_{\text{淫羊藿苷}}/$
		$f_{\text{朝藿定 A1}}$	$f_{\text{朝藿定 A}}$	$f_{\text{朝藿定 B}}$	$f_{\text{朝藿定 C}}$	$f_{\text{鼠李糖基淫羊藿次苷 II}}$	$f_{\text{宝藿苷 I}}$
不同柱温/°C	25	1.413	1.223	1.374	1.164	0.954	0.690
	28	1.387	1.202	1.375	1.165	0.959	0.690
	30	1.413	1.212	1.363	1.166	0.962	0.689
	32	1.412	1.232	1.374	1.165	0.958	0.689
	35	1.416	1.229	1.374	1.165	0.972	0.690
不同流速/mL·min <sup>-1</sup>	0.28	1.428	1.239	1.374	1.164	0.958	0.691
	0.30	1.413	1.212	1.363	1.166	0.962	0.689
	0.32	1.403	1.214	1.375	1.165	0.961	0.689
不同色谱柱	B15123	1.413	1.212	1.363	1.166	0.962	0.689
	B15053	1.419	1.230	1.375	1.164	0.959	0.692
	B15160	1.416	1.231	1.376	1.164	0.963	0.690
	B10078	1.419	1.229	1.375	1.166	0.968	0.694
不同实验人员	实验人员 1	1.413	1.212	1.363	1.166	0.962	0.689
	实验人员 2	1.415	1.226	1.375	1.165	0.961	0.691
	实验人员 3	1.416	1.229	1.378	1.165	0.961	0.690
不同仪器	Aglient 1290 1#	1.413	1.212	1.363	1.166	0.962	0.689
	Aglient 1290 2#	1.419	1.235	1.379	1.170	0.964	0.690

表 5 QAMS 与外标法测定淫羊藿总黄酮胶囊中 7 种成分质量分数

Table 5 Contents of 7 compounds in YZC by external standard method and QAMS

mg·g<sup>-1</sup>

批号	淫羊藿苷	朝藿定 A1			朝藿定 A			朝藿定 B		
		外标法	QAMS	偏差/%	外标法	QAMS	偏差/%	外标法	QAMS	偏差/%
150501	84.59	9.58	9.66	0.84	13.48	13.52	0.30	29.79	29.85	0.20
150502	86.71	9.30	9.44	1.51	13.79	13.83	0.29	31.26	31.34	0.26
150503	88.74	9.49	9.63	1.48	14.11	14.15	0.28	31.99	32.07	0.25
150701	89.39	9.73	9.87	1.44	14.25	14.29	0.28	32.17	32.25	0.25
150702	87.13	9.47	9.61	1.48	13.92	13.96	0.29	31.41	31.49	0.25
150901	82.48	9.57	9.73	1.67	13.32	13.36	0.30	29.12	29.17	0.17
150902	84.14	9.77	9.94	1.74	13.63	13.67	0.29	29.55	29.60	0.17
150903	82.93	9.61	9.77	1.66	13.35	13.39	0.30	29.24	29.29	0.17
151201	85.17	9.29	9.43	1.51	13.61	13.64	0.22	30.67	30.74	0.23
151202	87.14	9.26	9.39	1.40	13.78	13.81	0.22	31.35	31.43	0.26

批号	淫羊藿苷	朝藿定 C			鼠李糖基淫羊藿次苷 II			宝藿苷 I		
		外标法	QAMS	偏差/%	外标法	QAMS	偏差/%	外标法	QAMS	偏差/%
150501	84.59	48.11	48.20	0.19	7.92	7.98	0.76	8.48	8.53	0.59
150502	86.71	48.97	49.06	0.18	7.85	7.90	0.64	8.39	8.43	0.48
150503	88.74	50.03	50.13	0.20	8.00	8.05	0.63	8.60	8.65	0.58
150701	89.39	50.68	50.78	0.20	9.03	9.10	0.78	9.36	9.43	0.75
150702	87.13	49.49	49.58	0.18	8.78	8.85	0.80	9.15	9.21	0.66
150901	82.48	47.22	47.32	0.21	8.03	8.09	0.75	8.48	8.54	0.71
150902	84.14	47.96	48.06	0.21	8.21	8.27	0.73	8.67	8.72	0.58
150903	82.93	47.42	47.51	0.19	8.00	8.06	0.75	8.31	8.36	0.60
151201	85.17	48.29	48.38	0.19	8.58	8.65	0.82	8.93	8.99	0.67
151202	87.14	49.16	49.25	0.18	7.85	7.90	0.64	8.44	8.48	0.47

柱温下的分离效果,结果显示,柱温越高鼠李糖基淫羊藿次苷 II 与邻近峰的分离效果越好,而同时 5 个峰(朝藿定 A1,朝藿定 A,朝藿定 B,朝藿定 C,淫羊藿苷色谱峰群)的分离度变低且峰形变差,综合考虑,柱温定为 30 ℃。通过对 0.2, 0.3, 0.4 mL·min<sup>-1</sup> 的流速的考察,发现流速为 0.3 mL·min<sup>-1</sup> 时,鼠李糖基淫羊藿次苷 II 与邻近峰的分离较好,且峰形较好,故最终流速确定为 0.3 mL·min<sup>-1</sup>。

待测成分色谱峰的准确定位是一测多评方法成功应用的关键,本研究考察了相对保留时间(各待测成分 k 与内参物 s 间保留时间的比值),保留时间差(各待测成分 k 与内参物 s 间保留时间的差值)以及分离度在不同色谱柱和不同仪器上的重复性,结果相对保留时间的波动较小,结合对照品与样品待测成分的 Q-TOF-MS 定性结果以及各成分的峰形特点能够准确定位淫羊藿总黄酮胶囊中各待测成分色谱峰。

淫羊藿总黄酮胶囊中的 7 种待测成分均为 8-异戊烯基取代的山柰素类化合物,具相同苷元母核

脱水淫羊藿素,淫羊藿苷是这类化合物的代表性成分,且照品易于获得,故选择淫羊藿苷作为内参物,来计算其余 6 个成分的相对校正因子。

本研究首次将一测多评法应用到淫羊藿总黄酮胶囊的多指标质量评价模式中,建立的相对校正因子具有较好的可信度,方法简单、快速、准确,进一步验证了在对照品获得困难和多指标检测成本高昂的情况下,一测多评法具有突出的优势,使中药的多指标质量控制和评价模式应用于生产实践成为可能。

[参考文献]

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[M]. 北京:中国医药科技出版社, 2015:327-328.  
 [2] CHEN X J, TANG Z H, LI X W, et al. Chemical constituents, quality control, and bioactivity of *Epimedium folium* (Yinyanghuo) [J]. *Am J Chin Med*, 2015, 43 (5):783-834.  
 [3] 袁航,曹树萍,陈抒云,等. 淫羊藿的化学成分及质量控制研究进展[J]. *中草药*, 2014, 45(24):3630-3640.  
 [4] 胡彦武,刘凯,闫彤彤,等. 淫羊藿总黄酮及淫羊藿苷的心血管保护作用及机制研究进展[J]. *中国实验方*

- 剂学杂志, 2015, 21(13): 227-230.
- [ 5 ] 梁广胜, 陈伟才, 殷嫦嫦, 等. 淫羊藿总黄酮对大鼠骨髓间充质干细胞成骨分化过程 BMP-2/RunX2/OSX 通路的影响[J]. 中国中西医结合杂志, 2016, 36(5): 614-618.
- [ 6 ] 郭莉, 张娴, 柴生颢. 淫羊藿苷对人乳腺癌 MCF-7 细胞增殖、凋亡作用的实验研究[J]. 辽宁中医杂志, 2015, 42(3): 643-646.
- [ 7 ] 李锐华, 徐小倩, 张小强, 等. HPLC 法同时测定淫羊藿总黄酮胶囊中 5 种黄酮类成分[J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2015, 17(9): 1813-1817.
- [ 8 ] 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.
- [ 9 ] 陆兔林, 石上梅, 蔡宝昌, 等. 基于一测多评的中药多成分定量研究进展[J]. 中草药, 2012, 43(12): 2525-2529.
- [ 10 ] 匡艳辉, 朱晶晶, 王智民, 等. 一测多评法测定黄连中小檫碱、巴马汀、黄连碱、表小檫碱、药根碱含量[J]. 中国药理学杂志, 2009, 44(5): 390-394.
- [ 11 ] 李倩, 刘伟, 罗祖良, 等. 一测多评法测定丹参中丹参酮 II<sub>A</sub>, 隐丹参酮, 丹参酮 I, 二氢丹参酮 I 的含量[J]. 中国中药杂志, 2012, 37(6): 824-828.
- [ 12 ] 林永强, 徐丽华, 王淑华, 等. 一测多评法同步测定银黄片中 6 种咖啡酰奎宁酸[J]. 中草药, 2012, 43(4): 706-710.
- [ 13 ] 张亚非, 王雪, 毕宇安, 等. 一测多评法测定热毒宁注射液中 9 种成分[J]. 中草药, 2013, 44(22): 3162-3169.
- [ 14 ] 于霄, 宋静, 熊志立, 等. 一测多评法测定淫羊藿中朝藿定 A、朝藿定 B、朝藿定 C 及淫羊藿苷的含量[J]. 中国中药杂志, 2010, 35(24): 3310-3313.
- [ 15 ] 徐文芬, 杨雯, 何顺志, 等. 一测多评法测定淫羊藿中淫羊藿苷和朝藿定 A、B、C[J]. 中草药, 2016, 47(1): 130-137.
- [ 16 ] 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.

[责任编辑 顾雪竹]

## 《中国实验方剂学杂志》简介

《中国实验方剂学杂志》主编为吴以岭院士,由国家中医药管理局主管,中国中医科学院中药研究所和中华中医药学会共同主办。以报道、介绍中医药研究为主旨的专业性学术期刊,创刊于1995年10月,目前为半月刊。

随着中医药政策扶持力度的加大和中医药科技创新的振兴,在中医药事业蓬勃发展的进程中,《中国实验方剂学杂志》也进入快速发展阶段!以下是本刊在各权威数据库中的最新评价数据及收录情况:

①中国知网《中国学术期刊影响年报》(2016年版):影响力指数(CI)学科排序3/122(中医药类122本期刊中排第3名);复合影响因子1.319,学科排序9/122;

②万方数据《中国科技期刊引证报告(扩刊版)》: H 指标为16,总被引频次15 664,复合影响因子1.620,在中医药类122本期刊中排序分别为第2,2,11名;

③入选“中国科学引文数据库来源期刊”(CSCD 2015—2016);

④入选最新版《北大中文核心期刊要目总览》(2014年版);

⑤入选“中国科技论文统计源期刊”(中国科技核心期刊2016年版);

⑥入选“RCCSE 中国核心学术期刊”(2015—2016)。