

HPLC-一测多评法测定参芪延肾颗粒中淫羊藿药材中的6个黄酮类成分的含量[△]

沈洁*,王琴,熊维建,徐冲[#](重庆市中医院药剂科,重庆 400021)

中图分类号 R932;R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2019)17-2327-05

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2019.17.05

摘要 目的:建立同时测定参芪延肾颗粒中淫羊藿药材中朝藿定A₁、朝藿定A、朝藿定B、朝藿定C、淫羊藿苷及宝藿苷I 6个黄酮类成分含量的方法。方法:采用高效液相色谱(HPLC)法,色谱柱为Waters Symmetry C₁₈,流动相为乙腈-水(梯度洗脱),流速为1.0 mL/min,柱温为25℃,检测波长为270 nm,进样量为10 μL。在外标法的基础上分别采用多点校正法及斜率校正法建立各成分与淫羊藿苷(参照物)的相对校正因子(f_{ks})以计算各成分含量;比较基于HPLC法的外标法与多点校正法及斜率校正法所得4批参芪延肾颗粒样品中6个黄酮类成分含量的差异,验证一测多评法的可行性及准确性。结果:朝藿定A₁、朝藿定A、朝藿定B、朝藿定C、淫羊藿苷及宝藿苷I检测质量浓度线性范围分别为2.03~50.80、4.34~108.60、2.26~56.40、4.14~103.60、4.24~106.00、1.78~44.60 μg/mL (r 均为0.999 5);检测限分别为65.80、71.49、74.26、68.79、70.56、86.09 ng/mL;定量限分别为196.62、213.63、223.72、208.46、215.96、255.88 ng/mL;精密性、稳定性(24 h)、重复性试验的RSD<2% ($n=6$);平均回收率为96.03%~99.04% (RSD为0.65%~1.04%, $n=6$);采用多点校正法,朝藿定A₁、朝藿定A、朝藿定B、朝藿定C、宝藿苷I的 f_{ks} 分别为0.837、0.818、0.845、0.831、1.387;采用斜率校正法,朝藿定A₁、朝藿定A、朝藿定B、朝藿定C、宝藿苷I的 f_{ks} 分别为0.835、0.815、0.851、0.829、1.419。采用一测多评两种校正法与外标法所得含量结果比较,无显著性差异($P>0.05$)。结论:建立的HPLC-一测多评法结果准确,可应用于参芪延肾颗粒中淫羊藿药材中朝藿定A₁、朝藿定A、朝藿定B、朝藿定C、淫羊藿苷及宝藿苷I 6个黄酮类成分的质量控制。

关键词 参芪延肾颗粒;淫羊藿;淫羊藿苷;黄酮类成分;一测多评法;高效液相色谱法;含量测定;质量控制

Content Determination of 6 Flavonoids in *Epimedium brevicornu* from Shenqi Yanshen Granules Based on HPLC-QAMS

SHEN Jie, WANG Qin, XIONG Weijian, XU Chong (Dept. of Pharmacy, Chongqing Hospital of TCM, Chongqing 400021, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a HPLC method for simultaneous determination of 6 flavonoids in *Epimedium brevicornu* from Shenqi yanshen granules, such as epimedin A₁, epimedin A, epimedin B, epimedin C, icariin and baohuoside I. METHODS: HPLC method was adopted. The determination was performed on Waters Symmetry C₁₈ column with mobile phase consisted of acetonitrile-water (gradient elution) at the flow rate of 1.0 mL/min; the column temperature was 25℃, and detection wavelength was 270 nm. The sample size was 10 μL. Relative correction factors (f_{ks}) of each component to icariin (reference substance) were established by multi-point correction method and slope correction method on the basis of external standard method to calculate the contents of each component. The contents of 6 flavonoids in 4 batches of Shenqi yanshen granules determined by HPLC external standard method were compared with by multi-point correction method and slope correction method. Feasibility and accuracy of quantitative analysis of multi-components by single-marker (QAMS) were validated. RESULTS: The linear range of epimedin A₁, epimedin A, epimedin B, epimedin C, icariin and baohuoside I were 2.03-50.80 μg/mL ($r=0.999 5$), 4.34-108.60 μg/mL ($r=0.999 5$), 2.26-56.40 μg/mL ($r=0.999 5$), 4.14-103.60 μg/mL ($r=0.999 5$), 4.24-106.00 μg/mL ($r=0.999 5$), 1.78-44.60 μg/mL ($r=0.999 5$), respectively, the limits of detection were 65.80, 71.49, 74.26, 68.79, 70.56, 86.09 ng/mL, respectively; the limits of quantification were 196.62, 213.63, 223.72, 208.46, 215.96, 255.88 ng/mL, respectively; RSDs of precision, stability (24 h), reproducibility tests were less than 2% ($n=6$), respectively. The average recoveries were 96.03% -99.04% (RSDs were 0.65% -1.04%, $n=6$). By multi-point correction method, f_{ks} of epimedin A₁, epimedin A, epimedin B, epimedin C and baohuoside I were 0.837, 0.818, 0.845, 0.831, 1.387, respectively; by slope correction method, f_{ks} of them were 0.835, 0.815, 0.851, 0.829, 1.419, respectively. There was no significant difference in content determination results between two correction methods of QAMS and external standard ($P>0.05$). CONCLUSIONS:

[△] 基金项目:国家自然科学基金资助项目(No.81603611);重庆市社会民生科技创新专项项目(No.cstc2016shms-zd10001);重庆市科研院所绩效激励引导专项项目(No.cstc2017jxjl130025);重庆市卫生和计划生育委员会中医药科技项目(No.ZY201702003)

* 药师,硕士。研究方向:中药制剂与医院药学。E-mail: 1140426424@qq.com

[#] 通信作者:副主任中医师,博士。研究方向:中药物质基础。E-mail: 103293536@qq.com

Established HPLC- QAMS method is accurate and suitable for the quality control of epimedin A₁, epimedin A, epimedin B, epimedin C, icariin and baohuoside I in *E. brevicornu* from Shenqi yanshen granules.

KEYWORDS Shenqi yanshen granules; *Epimedium brevicornu*; Icariin; Flavonoid; QAMS; HPLC; Content determination; Quality control

参芪延肾方是我院肾病科临床经验方,该方由红参、淫羊藿、黄芪、大黄、生地、川芎、鳖甲等7种药味组成,在我院主要用于慢性肾病3~4期肾衰的治疗。方中的君药淫羊藿具有温补肾阳、强筋健骨的作用^[1-2],其主要化学成分以黄酮为主,如其中的淫羊藿总黄酮具有抗骨质疏松、促进人体免疫调节、抗衰老及抗心肌缺氧等作用^[3-5],而淫羊藿苷具有降低动脉粥样硬化患者血栓形成几率及调节血脂^[6]、保护受损神经元及恢复记忆力等药理活性^[7],朝藿定A~C则均显示出一定的雌激素活性^[8-9],宝藿苷I则具有抗肿瘤及提高免疫力的作用^[10]。目前,淫羊藿药材、饮片及含有淫羊藿的复方制剂主要以单指标成分(淫羊藿苷)来控制质量^[11-12],2015年版《中国药典》(一部)中规定淫羊藿药材及饮片质量控制检测指标为淫羊藿苷和总黄酮,炙淫羊藿饮片检测指标为淫羊藿苷及宝藿苷I,巫山淫羊藿指标性成分为朝藿定C^[13]。然而,即便是同种来源,但产地不同的淫羊藿中化学成分含量亦存在较大差异^[14],仅以淫羊藿苷单一指标作为质量控制依据,无法准确反映药材或制剂的质量。

一测多评法适用于用一个参照物(对照品价廉易得)同时实现对多个成分(对照品价高难得)的含量测定,是适合中药多成分及整体作用特点的质量评价模式^[15]。故本试验采用高效液相色谱法,建立起以淫羊藿苷为内标性成分,得到朝藿定A₁、朝藿定A、朝藿定B、朝藿定C、淫羊藿苷及宝藿苷I之间的相对校正因子(f_{rs})的一测多评法,以实现同时测定参芪延肾颗粒中朝藿定A₁、朝藿定A、朝藿定B、朝藿定C、淫羊藿苷及宝藿苷I的含量,并与外标法的含量测定结果进行比较分析,为参芪延肾颗粒质量控制提供参考。

1 材料

1.1 仪器

Agilent 1260 高效液相色谱仪[包括二极管阵列检测器(DAD)]、Agilent 1260 II 高效液相色谱仪[包括可变波长扫描紫外检测器(VWD)]、Agilent 1260 II 高效液相色谱仪(包括DAD)(美国Agilent公司);BP210S 十万分之一电子天平(德国Sartorius公司);JA3003J 电子天平(上海舜宇恒平科学仪器有限公司)。

1.2 药品与试剂

朝藿定A₁(批号:140147-77-9,纯度:98.70%)、朝藿定A(批号:110623-72-8,纯度:98.49%)、朝藿定B(批号:110623-73-9,纯度:99.24%)、朝藿定C(批号:10642-44-9,纯度:98.88%),上述对照品均购自成都德

斯特生物技术有限公司;淫羊藿苷对照品(批号:110737-201516,纯度:94.2%)及宝藿苷I对照品(批号:111852-201603,纯度:99.9%)均购自中国食品药品检定研究院;参芪延肾颗粒(自制,批号:180716、180724、180730、180802,规格:15 g/袋,临床常用量:一日2次,2袋/次);乙腈为色谱纯,其余试剂为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:Waters Symmetry C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:乙腈(A)-水(B),梯度洗脱:0→10 min, 19% A;10→20 min, 19%~30% A;20→35 min, 30% A;35→40 min, 30%~40% A;40→70 min, 40% A,再运行5 min;流速:1.0 mL/min;柱温:25 °C;检测波长:270 nm;进样量:10 μL。

2.2 溶液的制备

2.2.1 混合对照品溶液的制备 分别精密称取朝藿定A₁、朝藿定A、朝藿定B、朝藿定C、淫羊藿苷及宝藿苷I对照品适量,加入甲醇制备成混合对照品溶液,其中朝藿定A₁、朝藿定A、朝藿定B、朝藿定C、淫羊藿苷及宝藿苷I的质量浓度分别为50.80、108.60、56.40、103.60、106.00、44.60 μg/mL。

2.2.2 供试品溶液的制备 取参芪延肾颗粒(批号:180716)研细过3号筛,取粉末0.5 g,精密称定,加入稀乙醇20 mL,称定质量,超声(功率:500 W,频率:40 kHz)1 h,冷却后称质量,用稀乙醇补足损失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.2.3 阴性样品溶液的制备 根据参芪延肾颗粒处方组成制备缺淫羊藿的阴性样品,按照“2.2.2”项下方法制备阴性样品溶液,备用。

2.3 系统适用性考察

分别取上述混合对照品溶液、供试品溶液、阴性样品溶液适量,按“2.1”项下色谱条件测定。结果,在该色谱条件下,各待测成分色谱峰均可以达到基线分离,各峰之间分离度均大于1.5,理论板数以淫羊藿苷峰计大于1 500。色谱图见图1。

2.4 线性关系考察

分别精密吸取“2.2.1”项下混合对照品溶液1、2、5、10、15、25 mL,置于25 mL量瓶中,用甲醇定量,按“2.1”项下色谱条件进样测定,以峰面积为纵坐标(y)、对照品质量浓度为横坐标(x),进行线性回归,得到线性关系,见表1。

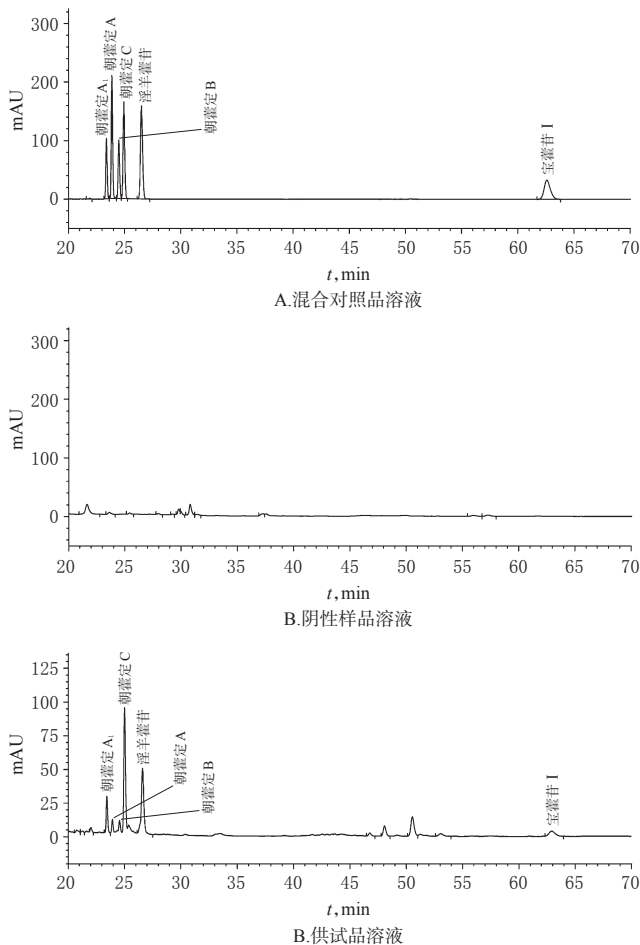


图1 高效液相色谱图

Fig 1 HPLC chromatograms

表1 6个成分的线性关系结果

Tab 1 Linear relationships for 6 components

成分	线性方程	<i>r</i>	线性范围, $\mu\text{g/mL}$
朝藿定 A ₁	$y=16.772x-4.552$	0.999 5	2.03~50.80
朝藿定 A	$y=16.374x-9.277$	0.999 5	4.34~108.60
朝藿定 B	$y=17.097x-6.253$	0.999 5	2.26~56.40
朝藿定 C	$y=16.659x-9.292$	0.999 5	4.14~103.60
淫羊藿苷	$y=20.093x-11.943$	0.999 5	4.24~106.00
宝藿苷 I	$y=28.520x-13.231$	0.999 5	1.78~44.60

2.5 检测限及定量限考察

取“2.2.1”混合对照品溶液逐步稀释并按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录各色谱峰,以信噪比 3:1 时确定检测限,以信噪比 10:1 时确定定量限。结果,朝藿定 A₁、朝藿定 A、朝藿定 B、朝藿定 C、淫羊藿苷及宝藿苷 I 检测限分别为 65.80、71.49、74.26、68.79、70.56、86.09 ng/mL;定量限分别为 196.62、213.63、223.72、208.46、215.96、255.88 ng/mL。

2.6 精密度试验

精密吸取同一份混合对照品溶液 10 μL ,连续进样 6 次,计算得朝藿定 A₁、朝藿定 A、朝藿定 B、朝藿定 C、淫羊藿苷及宝藿苷 I 的峰面积的 RSD 分别为 0.19%、0.20%、0.41%、0.59%、0.24%、0.40% ($n=6$),结果表明

仪器具有良好的精密度。

2.7 稳定性试验

取参芪延肾颗粒(批号:180716)分别在制备成供试品溶液后 0、3、6、9、12、24 h 进样,计算得朝藿定 A₁、朝藿定 A、朝藿定 B、朝藿定 C、淫羊藿苷及宝藿苷 I 的峰面积的 RSD 分别为 0.23%、0.21%、0.17%、0.18%、0.25%、0.57% ($n=6$),结果表明供试品溶液在 24 h 内具有良好的稳定性。

2.8 重复性试验

取参芪延肾颗粒(批号:180716)细粉 0.5 g,平行 6 份,精密称定,按照“2.2.2”项下方法分别制备供试品溶液,计算得朝藿定 A₁、朝藿定 A、朝藿定 B、朝藿定 C、淫羊藿苷及宝藿苷 I 含量的 RSD 分别为 1.69%、1.69%、1.73%、1.76%、1.89%、1.44% ($n=6$),结果表明该方法具有良好的重复性。

2.9 加样回收率试验

取适量的参芪延肾颗粒(批号:180716)细粉约 0.25 g,各 6 份。分别加入相应低、中、高量的朝藿定 A₁、朝藿定 A、朝藿定 B、朝藿定 C、淫羊藿苷及宝藿苷 I 对照品,制备成供试品溶液,测定峰面积,计算得朝藿定 A₁、朝藿定 A、朝藿定 B、朝藿定 C、淫羊藿苷及宝藿苷 I 平均回收率分别为 96.13%、97.77%、99.04%、96.03%、98.70%、98.91%,RSD% 分别为 0.65%、1.03%、0.87%、0.78%、0.75%、1.04%,详见表 2。

2.10 一测多评法

2.10.1 多点校正法 以不同进样体积(1、2、3、4、5、6 μL)进样,计算所得相对校正因子($f_{k/s}$),取其平均值作为定量的 $f_{k/s}$, $f_{k/s}=(c_s \times A_k)/(c_k \times A_s)$;在此公式中, c_s 为参照物淫羊藿苷的质量浓度, A_s 为参照物淫羊藿苷的色谱峰峰面积, A_k 为待测成分色谱峰的峰面积, c_k 为待测成分质量浓度^[16-17]。应用多点校正法计算其他成分相对于参照物淫羊藿苷的 $f_{k/s}$,结果见表 3。

2.10.2 斜率校正法 通过标准曲线方程 $X=Y/a$ 计算 X 与 Y 的斜率之比即 $f_{k/s}$ ($f_{k/s}=a_k/a_s$),其中 a_s 为参照物淫羊藿苷的斜率, a_k 为待测成分的斜率。应用斜率校正法计算得到朝藿定 A₁、朝藿定 A、朝藿定 B、朝藿定 C 及宝藿苷 I 相对于淫羊藿苷的 $f_{k/s}$ 分别为 0.835、0.815、0.851、0.829、1.419。

2.10.3 $f_{k/s}$ 的重现性 考察不同的色谱系统[Agilent 1260 (DAD)、Agilent 1260 II (VWD)、Agilent 1260 II (DAD)]及不同的色谱柱(Diamonsil C₁₈、Aligent C₁₈、Phenomenex C₁₈、ODS-3 C₁₈、Waters C₁₈)对 $f_{k/s}$ (多点校正法)的影响。结果,各 $f_{k/s}$ 的 RSD 均 < 5% ($n=6$),不同仪器及不同色谱柱下的 $f_{k/s}$ 见表 4。

2.10.4 待测成分色谱峰的定位 以淫羊藿苷峰为参照峰,计算不同仪器和不同色谱柱(同“2.10.2”项)项下朝

表2 回收率试验结果

Tab 2 Results of recovery tests

化合物	样品量, g	样品中含量, μg	加入量, μg	测得量, μg	回收率, %	平均回收率, %	RSD, %
朝藿定 A ₁	0.234	299.97	278.4	569.23	96.72	96.13	0.65
	0.216	276.89	278.4	543.47	95.75		
	0.222	284.58	348.0	617.88	95.77		
	0.232	297.40	348.0	633.14	96.48		
	0.210	269.20	417.6	667.01	95.26		
	0.245	314.07	417.6	718.28	96.79		
朝藿定 A	0.234	116.87	96.0	210.06	97.07	97.77	1.03
	0.216	107.88	96.0	200.29	96.26		
	0.222	110.88	120.0	229.48	98.84		
	0.232	115.88	120.0	234.00	98.44		
	0.210	104.89	144.0	246.83	98.57		
	0.245	122.37	144.0	262.71	97.46		
朝藿定 B	0.234	108.33	99.2	208.05	100.53	99.04	0.87
	0.216	99.99	99.2	197.76	98.55		
	0.222	102.77	124	224.66	98.30		
	0.232	107.40	124	229.58	98.53		
	0.210	97.22	148.8	244.08	98.70		
	0.245	113.42	148.8	261.63	99.60		
朝藿定 C	0.234	1 245.32	1 238.4	2 442.76	96.69	96.03	0.78
	0.216	1 149.52	1 238.4	2 344.31	96.48		
	0.222	1 181.45	1 548.0	2 670.38	96.18		
	0.232	1 234.67	1 548.0	2 722.72	96.13		
	0.210	1 117.59	1 857.6	2 874.23	94.57		
	0.245	1 303.86	1 857.6	3 089.13	96.11		
淫羊藿苷	0.234	800.36	707.2	1 490.41	97.58	98.70	0.75
	0.216	738.79	707.2	1 438.26	98.91		
	0.222	759.31	884.0	1 629.17	98.40		
	0.232	793.52	884.0	1 665.80	98.67		
	0.210	718.27	1 060.8	1 777.28	99.83		
	0.245	837.98	1 060.8	1 886.77	98.87		
宝藿苷 I	0.234	118.14	92.8	209.14	98.06	98.91	1.04
	0.216	109.05	92.8	201.14	99.23		
	0.222	112.08	116.0	227.65	99.63		
	0.232	117.13	116.0	233.61	100.41		
	0.210	106.03	139.2	242.93	98.36		
	0.245	123.70	139.2	259.77	97.75		

表3 多点校正法的 $f_{k/s}$ Tab 3 $f_{k/s}$ of multi-point correction method

进样体积, μL	相对于淫羊藿苷的 $f_{k/s}$				
	朝藿定 A ₁	朝藿定 A	朝藿定 B	朝藿定 C	宝藿苷 I
1	0.845	0.827	0.838	0.819	1.393
2	0.837	0.811	0.828	0.848	1.340
3	0.833	0.817	0.849	0.826	1.383
4	0.836	0.817	0.851	0.829	1.392
5	0.836	0.819	0.856	0.836	1.401
6	0.835	0.815	0.850	0.829	1.414
平均值	0.837	0.818	0.845	0.831	1.387
RSD, %	0.510	0.640	1.230	1.200	1.840

朝藿定 A₁、朝藿定 A、朝藿定 B、朝藿定 C 及宝藿苷 I 相对于淫羊藿苷的相对保留时间 ($t_{k/s} = t_k/t_s$)。结果,除距参照峰较远的朝藿定 A₁及宝藿苷 I 外,其余 $f_{k/s}$ 的 RSD 均 < 5% ($n=6$),表明使用 $t_{k/s}$ 定位色谱峰较片面,受限于填料或柱型;另外,确认色谱峰的定位应结合峰形、峰面积比等因素^[18],不同仪器及不同色谱柱下各成分的 $t_{k/s}$ 见表 5。

表4 不同仪器及不同色谱柱下的 $f_{k/s}$ ($n=6$)Tab 4 $f_{k/s}$ of different instruments and columns ($n=6$)

仪器	柱型(规格均为:250 mm × 4.6 mm, 5 μm)	$f_{k/s}$				
		朝藿定 A ₁	朝藿定 A	朝藿定 B	朝藿定 C	宝藿苷 I
Agilent 1260(DAD)	Diamonsil C ₁₈	0.819	0.802	0.807	0.789	1.381
	Aligent C ₁₈	0.844	0.839	0.855	0.864	1.375
	Phenomenex C ₁₈	0.837	0.808	0.833	0.817	1.389
	ODS-3 C ₁₈	0.813	0.815	0.844	0.833	1.399
Agilent 1260 II (VWD)	Waters C ₁₈	0.825	0.816	0.853	0.834	1.404
Agilent 1260 II (DAD)	Waters C ₁₈	0.830	0.823	0.859	0.831	1.401
平均值		0.828	0.817	0.841	0.828	1.392
RSD, %		1.380	1.580	2.310	2.960	0.850

表5 不同仪器及不同色谱柱下各成分的 $t_{k/s}$ ($n=6$)Tab 5 Relative retention time of each component under different instruments and columns ($n=6$)

仪器	柱型(规格均为:250 mm × 4.6 mm, 5 μm)	$t_{k/s}$				
		朝藿定 A ₁	朝藿定 A	朝藿定 B	朝藿定 C	宝藿苷 I
Agilent 1260(DAD)	Diamonsil C ₁₈	0.817	0.887	0.908	0.945	1.906
	Aligent C ₁₈	0.796	0.899	0.926	0.958	1.767
	Phenomenex C ₁₈	0.786	0.906	0.929	0.963	1.805
	ODS-3 C ₁₈	0.818	0.890	0.912	0.950	1.915
Agilent 1260 II (VWD)	Waters C ₁₈	0.881	0.893	0.923	0.940	2.364
Agilent 1260 II (DAD)	Waters C ₁₈	0.883	0.899	0.925	0.941	2.401
平均值		0.830	0.896	0.921	0.950	2.365
RSD, %		5.069	0.790	0.918	0.999	13.480

2.10.5 一测多评法与外标法测定结果比较 分别将4批样品按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,进样测定,记录朝藿定 A₁、朝藿定 A、朝藿定 B、朝藿定 C、淫羊藿苷及宝藿苷 I 峰面积,分别采用外标法及一测多评法中的2种方法计算6个成分的量。将外标法与两种一测多评法计算结果采用 SPSS 22.0 进行 Pearson 相关性分析。结果显示,外标法与两种一测多评法结果之间的相关系数均大于 0.99,表明外标法与两种一测多评法得到的结果具有极高的相似性;同时经方差分析,其 P 值大于 0.05,表明3种测定方法的计算结果之间并无显著性差异,且各批样品间3种测定方法含量结果的 RSD < 5% ($n=3$)。结果见表 6。

3 讨论

3.1 质量控制指标的选择

由于本方中淫羊藿处方量远大于其他药,且在实际生产研究中发现同一厂家不同批次的淫羊藿药材中黄酮类化学成分含量存在较大差异,而单一指标性成分的含量控制远远不能真实地反映制剂质量。故笔者选取淫羊藿药材中6个黄酮类成分进行测定,以期能够更全面、真实地评价参芪延肾颗粒的质量。

3.2 流动相的选择

在前期试验中,笔者考察了流动相为乙腈-水、乙腈-0.1%甲酸、乙腈-0.1%磷酸等的分离效果,通过比较图谱发现三者为流动相时分离度及洗脱效果差异不明显,最后综合考虑设备、试剂成本及环保等因素,选择乙

表6 采用3种测定方法所得样品中6个成分的含量结果(n=3,mg/g)

Table 6 Results of content determination of 6 components in samples by 3 kinds of methods (n=3, mg/g)

批号	朝藿定A ₁					朝藿定A				朝藿定B				朝藿定C				宝藿苷I				
	外标法		Q-m	Q-s	RSD,%	外标法		Q-m	Q-s	RSD,%	外标法		Q-m	Q-s	RSD,%	外标法		Q-m	Q-s	RSD,%		
180716	3.420	1.282	1.274	1.277	0.32	0.500	0.463	0.465	4.37	0.462	0.445	0.442	0.84	5.322	5.345	5.357	0.33	0.505	0.483	0.472	3.45	
180724	3.108	1.164	1.157	1.160	0.30	0.676	0.638	0.641	3.24	0.517	0.498	0.495	1.03	4.831	4.850	4.862	0.32	0.465	0.445	0.435	3.41	
180730	3.272	1.216	1.208	1.211	0.33	0.625	0.586	0.588	3.66	0.540	0.522	0.518	0.97	5.062	5.080	5.092	0.30	0.497	0.478	0.467	3.16	
180802	3.296	1.232	1.225	1.227	0.29	0.559	0.520	0.522	4.12	0.549	0.531	0.528	0.92	5.121	5.139	5.151	0.29	0.461	0.440	0.430	3.57	
相关系数			0.999 96	0.999 98			0.999 94	0.999 89			0.999 85	0.999 84			0.999 96	0.999 96			0.998 32	0.998 40		
P			0.83	0.89			0.51	0.53			0.54	0.47			0.90	0.83			0.24	0.09		

注:Q-m表示多点校正法;Q-s表示斜率校正法

Note: Q-m means multipoint correction method; Q-s means slope correction method

腈-水为流动相体系进行洗脱。

综上,本试验选用淫羊藿药材中含量较高、具有药理活性的淫羊藿苷为参照物,且其对照品化学性质稳定、价廉易得,通过一测多评法,实现了对参芪延肾颗粒中淫羊藿中其他5个黄酮类成分朝藿定A₁、朝藿定A、朝藿定B、朝藿定C、淫羊藿苷及宝藿苷I的质量控制,同时采用3种测定方法对4批参芪延肾颗粒的这6个指标成分进行测定,结果表明,外标法与一测多评法中的多点校正法与斜率校正法测定结果并无明显差异,而后两种方法具有简单、准确、重复性好的特点。

综上,一测多评法应用于参芪延肾颗粒中淫羊藿中6个黄酮类成分的质量评价具有较强的可行性,笔者认为该法也可推广到其他淫羊藿药材提取物及相关制剂的质量控制中。

参考文献

[1] 王焕珍,柴艺汇,等.淫羊藿化学成分与药理作用研究进展[J].亚太传统医药,2016,12(7):63-65.

[2] 冯云波,刘小坡,杜文喜,等.淫羊藿总黄酮对骨质疏松大鼠的保护作用[J].中国临床药理学杂志,2016,32(15):1425-1427.

[3] 王丽霞,王超展,耿信笃.淫羊藿属药材反相高效液相色谱指纹图谱及质量评估研究[J].化学学报,2006,64(6):551-556.

[4] 张玉萱,徐玲玲.淫羊藿总黄酮的药理作用研究进展[J].实用临床医药杂志,2012,16(9):125-128.

[5] 袁航,曹树萍,林瑞超,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.

[6] ZHANG WP, BAI XJ, ZHENG XP, et al. Icariin attenuates the enhanced prothrombotic state in atherosclerotic rabbits independently of its lipid-lowering effects[J]. *Planta Med*, 2013, 79(9):731-736.

[7] LI F, GONG QH, WU Q, et al. Icariin isolated from *Epimedium brevicornum* Maxim. attenuates learning and

memory deficits induced by D-galactose in rats[J]. *Pharmacol Biochem Behav*, 2010, 96(3):301-305.

[8] KANG HK, CHOI YH, KWON H, et al. Estrogenic/antiestrogenic activities of an *Epimedium koreanum* extract and its major components: in vitro and in vivo studies[J]. *Food Chem Toxicol*, 2012, 50(8):2751-2759.

[9] ISLAM MN, KIM U, KIM DH, et al. High-performance liquid chromatography-based multivariate analysis to predict the estrogenic activity of an *Epimedium koreanum* extract[J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2012, 76(5):923-927.

[10] 王雷,李军民,卢迪,等.淫羊藿及其复方有效成分的提取和抗衰老作用探析[J].药物与人,2014,27(3):10-11.

[11] 李小莉,洪美华.中药制剂复方前列安颗粒中淫羊藿苷的含量分析[J].药物与人,2014,27(8):268.

[12] 谭安军.高效液相色谱法测定健阳片中淫羊藿苷含量[J].中国药业,2015,24(15):34-35.

[13] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S].2015年版.北京:中国医药科技出版社,2015:327.

[14] 黄弥娜,周燕妮,柳强,等. HPLC法测定不同产地淫羊藿中7种主要黄酮类成分的含量[J].第二军医大学学报,2015,36(12):1352-1355.

[15] 文乾映,龙芳,杨华,等.中药质量控制中一测多评法的应用进展[J].中国药房,2014,25(23):2185-2188.

[16] 李思思,许浚,张铁军,等. HPLC法同时测定元胡止痛滴丸中6种成分[J].中草药,2015,46(21):3198-3201.

[17] 陈俊,许浚,张铁军.基于一测多评法对延胡索中生物碱类成分的质量控制研究[J].中草药,2016,47(3):493-498.

[18] 何兵,杨世艳,张燕.一测多评中待测成分校正和定位的新方法研究[J].药科学报,2012,47(12):1653-1659.

(收稿日期:2019-03-27 修回日期:2019-05-06)

(编辑:刘萍)