

方配比及工艺条件进行研究。由于珠卡赛辛不溶于冷水,所以把主药的加入方式也作为一项指标,考察主药的加入是否影响乳膏细腻度及涂展性。研究发现珠卡赛辛透皮速率很快,所以将之前 24 h 的体外透皮吸收实验缩短为 12 h。由于珠卡赛辛水溶性差,所以接收室内接收液要适当增加乙醇比例,但又不能对皮肤造成影响,对几组配比进行筛选最终确定乙醇-0.9%氯化钠溶液的比例为 30:70。

#### 参考文献

- [1] ERICH K, MARKUS Z, GABOR G K, et al. Comparison of cooling and EMLA to reduce the burning pain during capsaicin 8% patch application: a randomized, double-blind,

placebo-controlled study [J]. Pain, 2013, 154 ( 12 ): 2719 - 2736.

- [2] SALAT K, JAKABOWSKA A, KULING K. Zucapsaicin for the treatment of neuropathic pain [J]. Exp Opin Inv Drug, 2014, 23 ( 10 ): 1433 - 1440.
- [3] 苗杰, 王爱武, 王楠楠, 等. 不同基质配方对盐酸苯海拉明乳膏质量的影响 [J]. 医药导报, 2012, 31 ( 9 ): 1207 - 1209.
- [4] 朱海涛, 肖亚康, 陈黎, 等. 乳膏基质处方及制备工艺优选 [J]. 中国医院药学杂志, 2014, 34 ( 18 ): 1562 - 1566.
- [5] 买金荣, 温茂, 罗兰. 正交设计-重复实验法优选新疆鹿蹄草总黄酮的提取工艺 [J]. 新疆医学, 2015, ( 5 ): 583 - 586.
- [6] 肖学成, 肖琴. 盐酸特比萘芬乳膏体外透皮吸收研究 [J]. 医药导报, 2012, 31 ( 3 ): 361 - 363.

## 基于“一体多评”法建立银杏活脑胶囊质量标准体系\*

漆立军<sup>1</sup>, 覃鸿恩<sup>1</sup>, 朱利霞<sup>2</sup>, 黄华斌<sup>1</sup>

(1. 湖北省恩施州中心医院药学部, 恩施 445000; 2. 成都中医药大学药学院, 成都 610075)

**摘要** **目的** 建立银杏活脑胶囊“一体多评”质量标准体系, 探讨“一体多评”思路在银杏活脑胶囊质量标准研究中的可行性。**方法** 利用同一薄层系统建立银杏活脑胶囊的薄层色谱(TLC)鉴别方法, 采用高效液相色谱(HPLC)法同时测定银杏活脑胶囊中6种成分。**结果** 在同一薄层系统下, 可以同时鉴别银杏活脑胶囊中5种药味, 薄层色谱清晰, 分离效果较好。在同一体系下可以同步测定银杏活脑胶囊中6种主要成分, 准确度较高。**结论** 银杏活脑胶囊质量标准的“一体多评”体系方法简单可行、经济、准确稳定, 可作为该制剂的质量控制方法。

**关键词** 银杏活脑胶囊; 一体多评; 质量标准

**中图分类号** R286; R927.1

**文献标识码** B

**文章编号** 1004-0781(2017)07-0777-06

**DOI** 10.3870/j.issn.1004-0781.2017.07.014

## Establishing the Quality Standards System of Yinxing Huonao Capsule Based on Method of “A System to Multiple Evaluation”

QI Lijun<sup>1</sup>, QIN Hongen<sup>1</sup>, ZHU Lixia<sup>2</sup>, HUANG Huabin<sup>1</sup> (1. Department of Pharmacy, the Central Hospital of Enshi Autonomous Prefecture, Hubei Province, Enshi 445000, China; 2. College of Pharmacy, Chengdu University of TCM, Chengdu 610075, China)

**ABSTRACT Objective** To establish the quality standards system of “A system to multiple evaluation” on Yinxing huonao capsule, and discuss the feasibility of the method whether “A system to multiple evaluation” to be used for traditional Chinese medicine quality standard. **Methods** Identification of the Yinxing huonao capsule by TLC method was established by one thin layer chromatography system. HPLC was used to detect 6 types of the primary active components in Yinxing huonao capsule. **Results** 5 types of the primary active components were synchronize identified by one thin layer system. The color of spots was clear and had a good separation effect. 6 kinds of the primary active components were synchronize detected by one system with high accuracy. **Conclusion** The established method “A system to multiple evaluation” can be used for the study of the quality standards system of Yinxing Huonao capsule.

**KEY WORDS** Yinxing huonao capsule; A system to multiple evaluation; Quality standards

长期以来, 中药复方制剂的质量标准传统研究方法多为单一独立的系统, 难以全面准确体现中药整体性和多效性, 多系统多指标的质量控制方法虽日渐增多, 但同时增加对仪器、对照品及相关试剂的要求, 导致检测方法复杂、消耗增加、费用提高等弊端。基于以上矛盾, 国内一些研究者成功利用“一测多评”法同时

测定出中药多种指标成分, 大量研究探索证明该方法适用于中药多成分含量的相关研究<sup>[1-6]</sup>。但在建立中药质量标准中的薄层鉴别体系研究少有这样的研究思路, 笔者在本研究采用整体思路, 以新的“一体多评”思路研究银杏活脑胶囊中多成分的鉴别及多成分含量测定, 从而建立银杏活脑胶囊质量控制体系。

银杏活脑胶囊是根据湖北省恩施土家族苗族自治州中心医院神经内科名老中医的经验方自主研制的中药复方制剂,由银杏叶提取物、刺五加、制何首乌及三七组成,具有活血散瘀、益气健脑、补肾安神等功能。主要用于神经衰弱、脑动脉硬化、脑震荡、高脂血症,作用显著,疗效确切,且在我院相关专科使用较广泛<sup>[7-10]</sup>。但是目前无法准确控制该方内在质量和疗效,笔者尚未见其相关质量标准文献研究报道<sup>[11]</sup>。为全面明确其质量标准,保证临床用药质量及效果,并为以后的相关研究奠定基础,笔者依据该方检测指标复杂、功效全面等特点,采用“一体多评”思路建立该方的质量控制体系。

## 1 仪器与试药

**1.1 仪器** Shimadzu LC20A 高效液相色谱仪(LC-20AD 四元泵,SPD-M20A 检测器,SIL-20A 进样器 日本岛津公司),Agilent 1260 高效液相色谱仪(G1311C 型四元泵,G1329B 型进样器,G4212B 型二极管阵列检测器,美国安捷伦公司),YOKO-2X 紫外线分析仪(武汉药科新技术开发公司),KQ-500VDE 型双频数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司),CPA225D 电子天平(德国赛多利斯,感量:0.01 mg),HHS-2S 型电子恒温不锈钢水浴锅(上海宝蓝实验仪器制造有限公司)。

**1.2 试药** 槲皮素对照品(批号:00081-201408,含量:99.1%)、山奈酚对照品(批号:110861-201310,含量:93.2%)、异鼠李素对照品(批号:110860-201410,含量:99.9%)、紫丁香苷对照品(批号:111574-200603,含量:98.9%)、人参皂苷 Rb1 对照品(批号:140806-201509,含量:94.1%)、三七皂苷 R1 对照品(批号:140534-201436,含量:97.7%)、大黄素对照品(批号:0922-201506,含量:99.9%)均购于中国食品药品检定研究院;银杏活脑胶囊(批准文号:鄂药制字 Z20110124,湖北省恩施土家族苗族自治州中心医院制剂室自制,批号:2015095,2016015,2016054)。

收稿日期 2016-07-06 修回日期 2016-09-15

基金项目 \*恩施州 2014 年重点科技项目(恩施科业[2014]12 号)

作者简介 漆立军(1978-),男,四川自贡人,副主任药师,研究方向:中药制剂、中药质量控制。E-mail:58659685@qq.com。

通信作者 黄华斌(1967-),男,湖北利川人,主任药师,主要研究方向:中药资源、中药制剂。E-mail:591942455@qq.com。

## 2 方法与结果

### 2.1 银杏活脑胶囊薄层鉴别系统的建立与方法验证

**2.1.1 薄层系统的建立** 展开剂:三氯甲烷-乙酸乙酯-甲醇-甲酸-水(5:10:5:1:2);薄层板:硅胶 G 薄层板;点样量:对照品溶液 10  $\mu$ L,供试品溶液及阴性样品溶液 5  $\mu$ L;显色条件:10% 硫酸乙醇溶液,105  $^{\circ}$ C 加热至斑点显色清晰,日光和紫外光灯(365 nm)下检视。

**2.1.2 供试品溶液的制备** 取银杏活脑胶囊内容物 2 g,加甲醇 50 mL,超声提取 45 min,滤过,蒸干,残渣加甲醇 1 mL 溶解,备用。

**2.1.3 对照品溶液的制备** 分别取紫丁香苷对照品、大黄素对照品、槲皮素对照品、人参皂苷 Rb1 对照品及三七皂苷 R1 对照品 1.0,1.5,1.0,2.0,0.5 mg,使每毫升甲醇中分别含有以上对照品 0.2,0.3,0.2,0.4,0.1 mg,作为混合对照品溶液,备用。

**2.1.4 阴性样品的制备** 根据银杏活脑胶囊的处方比例及制备方法,分别制备缺银杏叶提取物、何首乌、刺五加及三七阴性样品粉末,按照“2.1.2”项方法制备阴性样品,备用。

**2.1.5 方法专属性实验** 按照“2.1.2”项方法制备供试品溶液及阴性样品溶液,照薄层色谱法实验,吸取对照品溶液 10  $\mu$ L,供试品溶液及阴性样品溶液 5  $\mu$ L,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以三氯甲烷-乙酸乙酯-甲醇-甲酸-水(5:10:5:1:2)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 10% 硫酸乙醇溶液,105  $^{\circ}$ C 加热至斑点显色清晰,置日光和紫外光灯(365 nm)下检视。结果见图 1。通过色谱图可以看出供试品在 5 种样品相应位置上,显相同颜色斑点,阴性对照品无相应颜色斑点,由此可知该方法专属性较好。

**2.1.6 稳定性实验** 取“2.1.2”项银杏活脑胶囊供试品,按照“2.1.1”项系统方法,分别于供试品溶液制备后 0,4,8,12,24 h 点样,与紫丁香苷、大黄素、槲皮素、人参皂苷 Rb1 及三七皂苷 R1 混合对照品溶液进行对照,与对照品相应的位置显相同颜色的斑点,各阴性对照样品色谱在相应的位置上无相同颜色的斑点。测出各斑点的  $R_f$  值大小,计算 RSD。结果待测各斑点  $R_f$  值的 RSD 值分别为 1.3%,0.5%,0.9%,2.1%,0.8%,表明供试品溶液的稳定性良好。

**2.1.7 重复性实验** 取同一批号的银杏活脑胶囊(批号:2015095)内容物约 2 g,按照“2.1.2”项方法制备 6 份平行供试品溶液,与紫丁香苷、大黄素、槲皮素、人参皂苷 Rb1 及三七皂苷 R1 混合对照品进行对照,在同块薄层板上供试品与对照品相应的位置显相同颜色的

斑点,各阴性对照样品色谱在相应的位置上无相同颜色的斑点。计算各斑点的  $R_f$  值大小和 RSD。结果待测各斑点  $R_f$  值的 RSD 值分别为 2.3%,1.7%,1.2%,1.4%,0.4%,结果表明该系统的重复性较好。

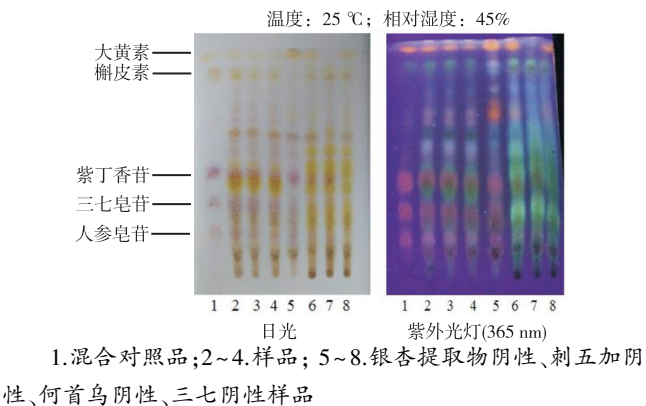


图 1 银杏活脑胶囊 TLC 图

1. mixed reference substance; 2 ~ 4. samples; 5 ~ 8. negative sample of *ginkgol biloba* extract, negative sample of *Acanthopanax*, negative sample of *Fallopia Multiflora*, negative sample of *Notoginseng*

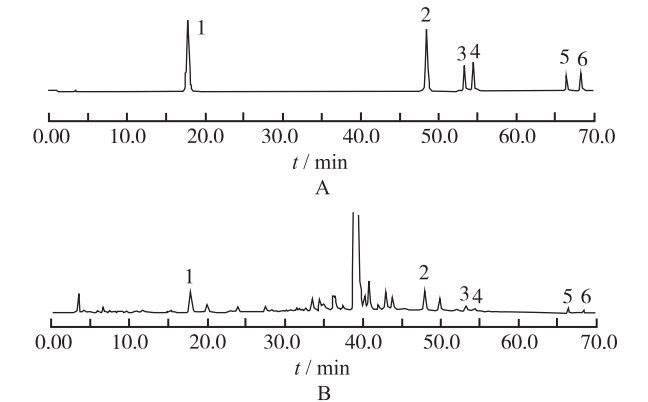
Fig.1 Thin layer chromatography of Yinxing huonao capsule

2.2 银杏活脑胶囊“一体多评”体系的建立与方法学考察

2.2.1 HPLC 系统的建立 色谱柱: Inertsil ODS-SP  $C_{18}$  色谱柱 (4.6 mm×250 mm, 5  $\mu$ m), 流动相及梯度: 甲醇 (A) -0.4% 磷酸溶液 (B), 0 ~ 15 min, 15% → 25% A, > 15 ~ 25 min, 25% → 35% A, > 25 ~ 45 min, 35% → 55% A, > 45 ~ 60 min, 55% → 80% A, > 60 ~ 70 min, 80% → 100% A。流速: 1 mL · min<sup>-1</sup>, 柱温: 35 °C, 检测波长: 254 nm。色谱图见图 2。

2.2.2 供试品溶液的制备 取银杏活脑胶囊内容物约 1 g, 精密称定, 置 50 mL 具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇 50 mL, 精密称定, 超声提取 (功率 500 W, 频率 45.80 kHz) 45 min, 取出, 擦干瓶身表面的水, 待冷却至室温后精密称定, 用甲醇补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 过孔径 0.45  $\mu$ m 微孔滤膜, 即得供试品溶液。

2.2.3 混合对照品溶液的制备 精密称定对照品紫丁香苷 (0.281 2 mg)、槲皮素 (0.225 0 mg)、山奈酚 (0.008 3 mg)、异鼠李素 (0.091 3 mg)、大黄素 (0.013 4 mg) 和三七皂苷 R1 (0.036 0 mg), 加甲醇制成每毫升分别含上述对照品 0.028 1, 0.022 5, 0.008 3, 0.009 1, 0.001 3, 0.003 6 mg 混合标准品溶液, 备用。



A. 混合对照品; B. 样品; 1. 紫丁香苷; 2. 槲皮素; 3. 异鼠李素; 4. 山奈酚; 5. 大黄素; 6. 三七皂苷 R1

图 2 银杏活脑胶囊 HPLC 图

A. mixed reference substance; B. Samples; 1. Syringin; 2. Quercetin; 3. Isorhamnetin; 4. Kaempferol; 5. Emodin; 6. Notoginsenoside R1

Fig.2 HPLC chromatograms of Yinxing huonao capusle

2.2.4 线性关系考察 分别精密吸取“2.2.3”项混合对照品溶液 2, 4, 6, 8, 10, 12  $\mu$ L, 注入高相液相色谱仪, 测定紫丁香苷、槲皮素、山奈酚、异鼠李素、大黄素和三七皂苷 R1 的峰面积。以最小二乘法进行线性回归, 得到各成分的回归方程以及线性范围, 结果见表 1。由表 1 可知, 待测成分在相应的范围呈良好的线性关系。

表 1 6 种待测组分的线性回归结果

Tab.1 Results of the linear regression of six components

待测组分	回归方程	r	线性范围/ $\mu$ g
紫丁香苷	$Y=2.21 \times 10^5 X+2\ 487.1$	0.999 8	0.056~0.336
槲皮素	$Y=9.02 \times 10^4 X-70.533$	0.999 9	0.045~0.27
异鼠李素	$Y=2.71 \times 10^5 X-42$	0.999 9	0.016~0.096
山奈酚	$Y=2.68 \times 10^5 X+28.733$	0.999 7	0.018~0.108
大黄素	$Y=2.68 \times 10^5 X+19.6$	0.999 9	0.002 6~0.015 6
三七皂苷 R1	$Y=2.67 \times 10^5 X+44.133$	0.999 6	0.007 1~0.042 6

2.2.5 精密度实验 依据“2.2.1”项色谱条件, 精密吸取混合对照品溶液 10  $\mu$ L, 重复进样 6 次, 记录各待测成分的峰面积, 计算 RSD。结果紫丁香苷、槲皮素、山奈酚、异鼠李素、大黄素和三七皂苷 R1 峰面积的 RSD 分别为 2.0%, 1.5%, 1.3%, 1.2%, 1.9%, 1.8%。结果表明该仪器的精密度较好。

2.2.6 稳定性实验 取银杏活脑胶囊 (批号: 2015095) 内容物, 按“2.2.2”项方法, 制备供试品溶液, 并依据“2.2.1”项色谱条件, 分别于制样后 0, 2, 4, 8, 12 h, 吸取该供试品溶液 10  $\mu$ L, 进样、测定, 记录各待

测成分峰面积,计算 RSD。结果紫丁香苷、槲皮素、山奈酚、异鼠李素、大黄素和三七皂苷 R1 峰面积的 RSD 分别为 0.8%,1.6%,0.4%,2.5%,1.6%,2.4%。结果表明供试品溶液在 12 h 内稳定性较好。

**2.2.7 重复性实验** 取同一批银杏活脑胶囊(批号:2015095)内容物 6 份,分别按“2.2.2”项方法,制备供试品溶液,并依据“2.2.1”项色谱条件进样,测定各待测成分峰面积,计算 RSD。结果紫丁香苷、槲皮素、山奈酚、异鼠李素、大黄素和三七皂苷 R1 峰面积的 RSD 分别为 2.3%,2.8%,0.8%,0.6%,0.4%,0.1%。结果表明该方法的重复性良好。

**2.2.8 回收率实验** 采用加样回收法,各取 5 mL 已知含量的样品 6 份,分别按照 1:0.8,1:1,1:1.2 加入混合对照品,依法制备供试品溶液。按“2.2.1”项色谱条件,精密吸取各供试品溶液 10  $\mu$ L,注入色谱仪,测定各待测成分峰面积,计算各待测成分的回收率和 RSD。结果紫丁香苷、槲皮素、山奈酚、异鼠李素、大黄素和三七皂苷 R1 的平均加样回收率分别为 98.6%,101.2%,103.3%,99.98%,96.55%,100.5%;RSD 分别为 1.5%,1.9%,1.6%,2.1%,0.8%,2.3%。结果显示该方法的准确度较高。

2.3 相对校正因子的确定

**2.3.1 计算相对校正因子** 以大黄素作为参比组分,按照“2.2.4”项所得各组分回归方程,分别计算紫丁香苷、槲皮素、山奈酚、异鼠李素、大黄素和三七皂苷 R1 与参比组分大黄素的相对校正因子,计算公式为: $f_{k/s} = \alpha_k / \alpha_s$  ( $\alpha$  为各组分回归方程的斜率,s 为参比组分,k 为其他待测组分)<sup>[12]</sup>,结果见表 2。

表 2 相对校正因子的计算结果

Tab.2 Results of relative correction factors

待测组分	$\alpha$	$f_{k/s}$
紫丁香苷	220 622	0.824 4
槲皮素	90 179	0.337 0
异鼠李素	270 688	1.010 7
山奈酚	267 819	1.000 7
大黄素	267 626	1.000 0
三七皂苷 R1	267 453	0.999 4

**2.3.2 相对校正因子的验证实验** 按“2.2.3”项方法平行制备对照品溶液 6 份,每份对照品溶液进样 6 个不同体积,测定各待测组分的峰面积。以最小二乘法进行线性回归得到各组分的回归方程,根据“2.3.1”项计算方法计算紫丁香苷、槲皮素、异鼠李素、山奈酚和三七皂苷 R1 与参比组分大黄素之间的相对校正因

子,其结果分别为 0.949 6,0.987 0,0.989 8,0.994 9,1.000 0;RSD 分别为 2.4%,1.7%,1.9%,1.5%,2.8%,结果表明相对校正因子的重复性较好。

**2.3.3 相对校正因子的耐用性考察** ①不同高效液相色谱仪对相对校正因子的影响,分别采用 Agilent 1260 和 Shimadu LC20A 高效液相色谱系统测定各待测成分的相对校正因子。结果表明,紫丁香苷、槲皮素、异鼠李素、山奈酚和三七皂苷 R1 与参比组分大黄素之间的相对校正因子的重现性良好,RSD 为 1.42%~2.69%。

②不同色谱柱对相对校正因子的影响,分别采用 Inertsil ODS-SP  $C_{18}$ 、Ameritech  $C_{18}$ 、Accurasil  $C_{18}$  3 种色谱柱测定各待测成分的相对校正因子。结果表明,紫丁香苷、槲皮素、异鼠李素、山奈酚和三七皂苷 R1 与参比组分大黄素之间的相对校正因子的重现性良好,RSD 为 0.78%~2.03%。

③流速对相对因子的影响,采用 Shimadu LC20A 高效液相色谱仪分别测定了 3 个不同流速(0.8,1.0,1.2 mL $\cdot$ mL<sup>-1</sup>)下各待测组分的相对校正因子,结果表明,紫丁香苷、槲皮素、异鼠李素、山奈酚和三七皂苷 R1 与参比组分大黄素之间的相对校正因子的重现性良好,RSD 为 1.55%~2.13%。

④柱温对相对因子的影响,采用 Shimadu LC20A 高效液相色谱仪分别测定了 3 个不同色谱柱温(34,35,36  $^{\circ}$ C)下各待测组分的相对校正因子,结果表明,紫丁香苷、槲皮素、异鼠李素、山奈酚和三七皂苷 R1 与参比组分大黄素之间的相对校正因子重现性良好,RSD 为 0.89%~2.41%。

**2.4 目标色谱峰的定位** 精密吸取“2.2.3”项混合对照品溶液,分别注入 Agilent 1260 和 Shimadu LC20A 高效液相色谱仪,分别采用 Inertsil ODS-SP  $C_{18}$ 、Ameritech  $C_{18}$ 、Accurasil  $C_{18}$  3 种不同色谱柱进行洗脱,测定并计算紫丁香苷、槲皮素、山奈酚、异鼠李素和三七皂苷 R1 与参比组分大黄素之间的保留时间,结果见表 3。通过计算 RSD,结果表明不同色谱柱下各待测成分间的保留时间波动较小。

**2.5 方法比较验证** 分别采用多成分同步测定外标法(A)与相对校正因子算法(B)两种方法测定出各组分的含量,比较 2 种方法所得的结果,结果见表 4。由表 4 可知,2 种方法测得各待测组分含量的结果均无明显差异,相对误差较小(相对误差<5%),说明相对校正因子算法测定银杏活脑胶囊多种化合物的可靠性较高。

表 3 目标色谱峰定位结果

Tab.3 Result of the location of target chromatographic peak						
peak	min					
色谱仪与色谱柱	紫丁香苷	槲皮素	山奈酚	异鼠李素	大黄素	三七皂苷 R1
Agilent 1260						
Inertsil ODS-SP	17.938	48.407	54.825	53.733	67.040	69.106
Ameritech	17.652	48.145	54.671	53.505	66.856	68.987
Accurasil	17.489	48.076	54.469	53.463	66.752	68.886
Shimadzu LC20A						
Inertsil ODS-SP	18.577	49.132	55.369	54.400	67.631	69.533
Ameritech	17.918	48.395	54.798	53.815	66.943	69.025
Accurasil	17.746	48.195	54.612	53.584	66.871	68.867
AVG	17.887	48.392	54.791	53.750	67.020	69.067
RSD/%	2.1	0.8	0.6	0.6	0.5	0.4

3 讨论

本研究依据复方中药特性,结合目前研究现状,提出“一体多评”假说,即以一个系统同时完成多种主要成分的鉴别和测定,与许多研究者所提出的“一测多评”比较思路更加具体,更为统一。加入了薄层鉴别评价系统,该法是以中药整体性思路为依托,以同一系统来评价整体指标,具有整体性。以我院院内制剂银杏活脑胶囊为研究对象,对“一体多评”的假设进行实验证明,在研究过程中,笔者对待测组分进行了筛选,通过实验证明,不同结构的化合物可以在同一系统中进行分离鉴别,并且可以在同一系统下准确测定出含量。结果证明该方法简便、可行,“一体多评”可应用于中药的综合质量评价。

3.1 薄层鉴别系统条件的探索 本次研究从多成分、一系统的理念出发,探索银杏活脑胶囊薄层系统的最适条件。在探索过程中,考虑到该研究对象为中药复方制剂,成分复杂,选用对照药材分析较为麻烦,且不符合具体指标的评价,故笔者选用对照品作为评价指标,并且根据该方的药理作用,综合处方分析,进而选择了紫丁香苷、大黄素、槲皮素、人参皂苷 Rb1 及三七皂苷 R1 5 种对照品。笔者分别选用甲醇和乙醇作为

供试品制备的溶剂进行探究,根据每种待鉴成分的性质和其单一展开系统情况,总结分析初步拟定 4 种薄层流动相系统,分别是:三氯甲烷-甲醇,三氯甲烷-乙酸乙酯-甲醇,三氯甲烷-乙酸乙酯-甲醇-甲酸,三氯甲烷-乙酸乙酯-甲醇-甲酸-水,依次对以上 4 种系统进行不同比例的探索,最终确定以三氯甲烷-乙酸乙酯-甲醇-甲酸-水(5:10:5:1:2)为最佳。根据不同成分的性质,综合显色条件,分别用稀硫酸溶液、2%三氯化铝乙醇溶液和 10%硫酸乙醇溶液作为显色剂进行比较,结果确定 10%硫酸乙醇溶液为最佳显色剂。通过验证实验显示该系统稳定性较好,重复性高,适用于银杏活脑胶囊的质量鉴别。

3.2 多成分含量同步测定

3.2.1 供试品溶液制备方法 考察待测组分中,紫丁香苷溶于水、乙醇和甲醇,槲皮素溶于甲醇,不溶于水,大黄素溶于甲醇和乙醇,不溶于水,三七皂苷 R1 溶于甲醇。综合分析,采用正交实验分别对提取溶剂(甲醇、50%甲醇、乙醇)、提取方法(回流、超声、浸置)与提取时间(30,45,65 min)进行考察,最终得出最佳提取方法为以甲醇 50 mL 为溶剂,超声提取 45 min。

3.2.2 最佳流动相的选择 首先笔者以单一组分进行进样分析,紫丁香苷的流动相为甲醇-水,槲皮素、山奈酚及异鼠李素的流动相为甲醇-0.4%磷酸溶液,大黄素的流动相为甲醇-0.1%磷酸溶液,三七皂苷 R1 的流动相为乙腈-水,故笔者分别对以上 4 种系流动相进行分析,综合各种因素,并结合流动相比比例选定甲醇-0.4%磷酸溶液作为最佳流动相系统。

3.2.3 最佳检测波长的确定 采用等吸收图和 3D 全波长数据采集方法,在 190~400 nm 范围内对样品溶液进行谱图信息分析,并分别选取 203,215,254,265,285,306,350 和 385 nm8 个不同波长进行比对考察,综合分析,在 254~265 nm 之间所有待测组分均有明显吸收,且大黄素和紫丁香苷分别在 254 和 265 nm 处有特征吸收,三七皂苷 R1 在 203 nm 有特征吸收,但在此波长下末端吸收较强,不利于分析,在结合以大黄

表 4 同步测定外标法(A)与相对校正因子算法(B)测定样品各组分结果比较

Tab.4 Comparison of the determination on the components in samples between external standard method of simultaneous detection (A) and calculation of relative correction factors (B)												mg · g <sup>-1</sup>
样品批号	紫丁香苷		槲皮素		异鼠李素		山奈酚		大黄素		三七皂苷 R1	
	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
2015095	0.424	0.426	0.768	0.764	0.206	0.214	0.128	0.124	0.068	0.060	0.049	0.052
2016015	0.336	0.340	0.652	0.651	0.354	0.355	0.175	0.175	0.055	0.054	0.063	0.059
2016054	0.527	0.536	0.616	0.611	0.261	0.266	0.240	0.231	0.019	0.018	0.045	0.046

素为参比组分的情况下,最终确定以 254 nm 为最佳检测波长。

**3.2.4 参比组分的选择** 在各待测组分中,大黄素和紫丁香苷化学性质比较稳定,且对照品来源经济易得,二者作为参比组分均可。但在含量测定和相对校正因子计算含量时,紫丁香苷的波动范围较大,且峰面积远大于其他待测组分,可能导致计算过程中出现较大误差,故最终选择以大黄素为参比组分。

**3.2.5 目标色谱峰的定位** 笔者在本实验选择了 Agilent 1260 和 Shimadzu LC20A 两种不同产品的高效液相色谱仪,分别采用 Inertsil ODS-SP C<sub>18</sub>、Ameritech C<sub>18</sub>、Accurasil C<sub>18</sub> 3 种不同色谱柱进行分析,以最简单有效的保留时间差法进行计算,结果显示在 Shimadzu LC20A 高效液相色谱仪下,以 Inertsil ODS-SP C<sub>18</sub> 色谱柱进行洗脱分析,采用保留时间差法计算可准确定位目标色谱峰。

#### 参考文献

- [1] 高慧敏,宋宗华,王智民,等.适合中药特点的质量评价模式——QAMS 研究概述[J].中国中药杂志,2012,37(4):405-416.
- [2] 王欣,覃瑶,王德江,等.一测多评法在中药质量控制中的应用进展[J].中成药,2016,38(2):395-402.
- [3] 周洁,朱华,周峰.一测多评法及其在中药成分研究中的

应用[J].亚太传统医药,2016,12(13):58-61.

- [4] 赵倩,冯伟红,张启伟,等.“一测多评”法用于栀子金花丸多成分含量测定的可行性研究[J].中国中药杂志,2014,39(10):1826-1833.
- [5] 何冰,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.
- [6] 孙玲,王宁,刘金权.一测多评法测定知母中皂苷类成分的含量[J].中药材,2015,38(5):997-1000.
- [7] 刘群会,李俊,莫家鹏,等.银杏活脑胶囊治疗 TIA45 例临床分析[J].内蒙古中医药,2009,(10):1-2.
- [8] 刘群会,李俊,莫家鹏,等.银杏活脑胶囊治疗椎基底动脉供血不足的临床及 TCD 观察[J].中国康复,2008,23(3):172-173.
- [9] 田桦,鲁启洪.高压氧联合银杏活脑胶囊治疗脑梗死临床观察[J].中国中医急症,2012,21(1):13,41.
- [10] 陈开广,鲁启洪,刘红艳,等.银杏活脑胶囊治疗缺血性脑卒中的临床研究[J].国际中医中药杂志,2007,29(6):353-354.
- [11] 黄宏云,覃鸿恩.基于正交设计优化银杏活脑胶囊水提部分的提取工艺参数[J].临床合理用药,2016,9(2):78-79.
- [12] 吕邵娃,于风明,苏红,等.中药材一测多评中相对校正因子的规律性文献调查和分析[J].中国药房,2016,27(15):2020-2023.

## 参考文献中电子文献的著录格式

### 1 通用格式

作者名[作者少于或等于 3 人,须列出全部作者;3 人以上只需列出前 3 者,后加等(中文)、他(日文)、et al(英文)].题名;其他题名信息[文献类型标识/文献载体标识].出版地:出版者,出版年:引文页码(更新或修改日期)[引用日期].获取和访问路径.数字对象唯一标识符。

请注意,电子期刊须标注“[文献类型标识/文献载体标识]”“获取和访问的路径”“数字对象唯一标识符”。

### 2 电子文献载体和文献类型标识

请参照 GB/T7714-2015《信息与文献 参考文献著录规则》附录 B 文献类型和文献载体标识代码的要求,电子文献载体和标识代码如下:磁带 MT,磁盘 DK,光盘 CD,联机网络 OL。文献类型和标识代码如下:普通图书 M,会议录 C,汇编 G,报纸 N,期刊 J,学位论文 D,报告 R,标准 S,专利 P,数据库 DB,计算机程序 CP,电子公告 EB,档案 A,舆图 CM,数据集 DS,其他 Z。具体示例

- [1] 储大同.恶性肿瘤个体化治疗靶向药物的临床表现[J/OL].中华肿瘤杂志,2010,32(10):721-724[2014-06-25].http://vip.calis.edu.cn/asp/Detail.asp.
- [2] 刘裕国,杨柳,张洋,等.雾霾来袭,如何突围[N/OL].人民日报,2013-01-12[2013-11-06].http://paper.people.com.cn/rmrb/html/2013-01/12/nw.D110000renmrb\_20130112\_2\_04.htm.
- [3] 李强.化解医患矛盾需釜底抽薪[EB/OL].(2012-05-03)[2013-03-25].http://wenku.baidu.com/view/47e4f206b52acfc789ebc92f.html.
- [4] Scitor Corporation.Project scheduler[CP/DK].Sunnyvale,Calif:Scitor Corporation,c1983.
- [5] 陈彪.帕金森病[M/CD]//贾建平,张新卿.神经系统疾病诊治进展.北京:中华医学电子音像出版社,2005.