

## 基于一测多评的舒血宁注射液定量测定方法研究

陈晶晶, 周媛, 黄晓蕾, 虞和永\*

浙江大学医学院附属第四医院 药剂科, 浙江 义乌 322000

**摘要:** 目的 采用一测多评法同时测定舒血宁注射液中 山柰素、槲皮素、异鼠李素和白果内酯与银杏内酯 A、B、C 的量, 并建立以上实验的方法学考察模式。方法 分别以山柰素和白果内酯为内参物, 建立舒血宁注射液中这 2 种成分与槲皮素、异鼠李素和银杏内酯 A、B、C 间的相对校正因子 ( $f_{k/s}$ ); 采用外标法测定舒血宁注射液中 山柰素和白果内酯的量, 通过  $f_{k/s}$  计算舒血宁注射液中其他 5 种成分的量, 并将用一测多评法测定的 5 批舒血宁注射液的结果与用外标法测定的结果进行  $t$  检验。结果 在一定的线性范围内, 山柰素与槲皮素及异鼠李素的  $f_{k/s}$  分别为 1.873、0.324, 白果内酯与银杏内酯 A、B、C 的  $f_{k/s}$  分别为 2.280、1.659、1.429, 且在不同的实验条件下重现性良好; 5 批舒血宁注射液的一测多评法计算值与外标法测定值经  $t$  检验无显著性差异, 实验所得的  $f_{k/s}$  可信。结论 本实验所建立的  $f_{k/s}$  重复性良好, 可用于舒血宁注射液中多个成分的定量分析与质量评价。

**关键词:** 一测多评; 舒血宁注射液; 相对校正因子; 内参物; 外标法; 山柰素; 槲皮素; 异鼠李素; 白果内酯; 银杏内酯 A; 银杏内酯 B; 银杏内酯 C

中图分类号: R286.02 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2016)11-1890-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2016.11.013

## Determination of content of Shuxuening Injection based on quantitative analysis of multi-components by single marker

CHEN Jing-jing, ZHOU Yuan, HUANG Xiao-lei, YU He-yong

Department of Pharmacy, the Fourth Hospital Affiliated to Medical College, Zhejiang University, Yiwu 322000, China

**Abstract: Objective** To establish a quantitative analysis method for determining the contents of artemisinin, quercetin, isorhamnetin, Ginkgo esters, and lactones a, b, c in Shuxuening Injection by using multi-components with a single marker (QAMS), and set up methodological evaluation model of the above experiment. **Methods** With artemisinin and Ginkgo esters as indexes, the relative correction factor ( $f_{k/s}$ ) between artemisinin and the other two total flavonoids and the  $f_{k/s}$  between Ginkgo esters and lactones a, b, c were established. The contents of artemisinin and Ginkgo esters in Shuxuening Injection were determined by external standard method, the contents of other five components in Shuxuening Injection were calculated by the relative correction factor. The results of the content of five batches of Shuxuening Injection determined by QAMS and tested by external standard method were carried out by  $t$  test. **Results** The  $f_{k/s}$  of quercetin and isorhamnetin with reference to artemisinin were 1.873 and 0.324, the  $f_{k/s}$  of ginkgolide A, B, C with reference to Ginkgo esters were 2.280, 1.659, and 1.429. And the repeatability was good under different experimental conditions. There were no significant differences between the calculated value and estimated value on QAMS and external standard method of five batches of Shuxuening Injection, and the results showed that  $f_{k/s}$  was authentic. **Conclusion** The established correction factor has good repeatability, and could be used for quantitative analysis and quality evaluation of multiple components in Shuxuening Injection.

**Key words:** quantitative analysis of multi-components by single marker; Shuxuening Injection; relative correction factor; indexes; external standard method; artemisinin; quercetin; isorhamnetin; bilobalide; ginkgolide A; ginkgolide B; ginkgolide C

舒血宁注射液是由银杏叶提取物制备而成的中药注射剂, 其活性成分主要包含银杏叶总黄酮及银杏叶总内酯等, 具有扩张血管、改善微循环的作用,

临床上用于治疗缺血性心脑血管疾病、冠心病、心绞痛、脑栓塞、脑血管痉挛等<sup>[1]</sup>。关于舒血宁注射液定量测定方面的研究已有多篇文献报道<sup>[2-3]</sup>, 但由

收稿日期: 2016-02-23

作者简介: 陈晶晶 Tel: 13705796652 E-mail: jingjing198798@126.com

\*通信作者 虞和永, 主任药师, 硕士生导师, 研究方向为临床药学与医院药学。Tel: (0579)89935366 E-mail: yuhy1020@sina.com

于中药对照品昂贵、不易得等原因限制了定量测定方法的推广使用。本实验以舒血宁注射液中的山柰素和白果内酯为内参物，分别建立该2种成分与槲皮素、异鼠李素和银杏内酯A、B、C间的相对校正因子( $f_{k/s}$ )，实现用一测多评法测定舒血宁注射液中7种成分的量。

一测多评法是指利用中药有效成分内在函数关系和比例关系，只测定1个成分实现多个成分的同时测定<sup>[4-5]</sup>，该方法是通过建立成分之间的 $f_{k/s}$ 来对多个成分进行定量检测的，因而 $f_{k/s}$ 在不同仪器、不同实验条件下的重现性如何是一测多评法定量是否准确的关键。一测多评法的另一个关键因素是成分色谱峰的定位方法，常用的色谱峰定位方法有相对保留时间定位法和保留时间差定位法。

本实验考察了所建立的 $f_{k/s}$ 在不同仪器及不同实验条件下的重现性，并采用相对保留时间定位法对各待测成分的色谱峰进行了定位；最后，将用一测多评法测定的5批舒血宁注射液的结果与用HPLC外标法测定的结果进行了 $t$ 检验，对将一测多评法应用于舒血宁注射液多组分的定量测定进行了较为全面的考察。

## 1 仪器与试药

Agilent1100 高效液相色谱系统，UV 检测器，蒸发光散射检测器，色谱柱分别为 Dikxna C<sub>18</sub> (250 mm×4.6 mm, 5 μm)、Hypersil ODS C<sub>18</sub> (150 mm×4.6 mm, 5 μm)、Luna C<sub>18</sub> (150 mm×4.6 mm, 5 μm)、Agilent C<sub>18</sub> (250 mm×4.6 mm, 5 μm)；AB135S 型电子天平，梅特勒-托利多有限公司。

舒血宁注射液，通化谷红制药有限公司，规格：5 mL/支，批号 141107/1、150307/2、150511/1、150615/2、150809/2；对照品槲皮素（批号 100081-200406，质量分数 98%）、山柰素（批号 110861-200606，质量分数 98%）、异鼠李素（批号 110860-200608，质量分数 98%）、白果内酯（批号 110865-200303，质量分数 98%）、银杏内酯 A、B、C（批号 110862-200305、110863-200204、110864-200203，质量分数分别为 99%、99%、99%）均购自中国食品药品检定研究院；甲醇、四氢呋喃为色谱纯，水为超纯水，其他试剂为分析纯。

## 2 方法与结果

### 2.1 溶液的配制

**2.1.1 混合对照品溶液** 银杏总黄酮：精密称取槲皮素、山柰素及异鼠李素对照品适量，加甲醇制成

含槲皮素、山柰素及异鼠李素 0.03、0.03、0.02 mg/mL 的黄酮苷元对照品混合溶液，即得。银杏总内酯：精密称取银杏内酯 A、B、C 及白果内酯对照品适量，加丙酮制成分别含银杏内酯 A、B、C 和白果内酯 0.10、0.05、0.10、0.25 mg/mL 的对照品混合溶液，即得。

**2.1.2 供试品溶液** 银杏总黄酮：取舒血宁注射液 10 支(5 mL/支)，混匀，精取 2 mL，加甲醇-12 mol/L 盐酸(7:1)混合溶液 8 mL，68 °C 水浴加热 3 h，冷却，滤过，取续滤液，即得。银杏总内酯：取舒血宁注射液 10 支(5 mL/支)，混匀，精取 25 mL，加稀盐酸调节 pH 值至 2.0，然后用醋酸乙酯提取 4 次(80、40、40、40 mL)，合并醋酸乙酯液，用 5% 的醋酸钠溶液 80 mL 洗涤，分离出醋酸乙酯层，醋酸钠溶液再用醋酸乙酯 40 mL 洗涤，合并醋酸乙酯液及洗涤液，用水洗涤 2 次，每次 80 mL，分离醋酸乙酯液，蒸干，残渣加丙酮适量溶解，并转移至 2 mL 量瓶中，加丙酮稀释至刻度，摇匀，用 0.45 μm 滤膜滤过，取续滤液，即得。

### 2.2 色谱条件<sup>[2-3]</sup>

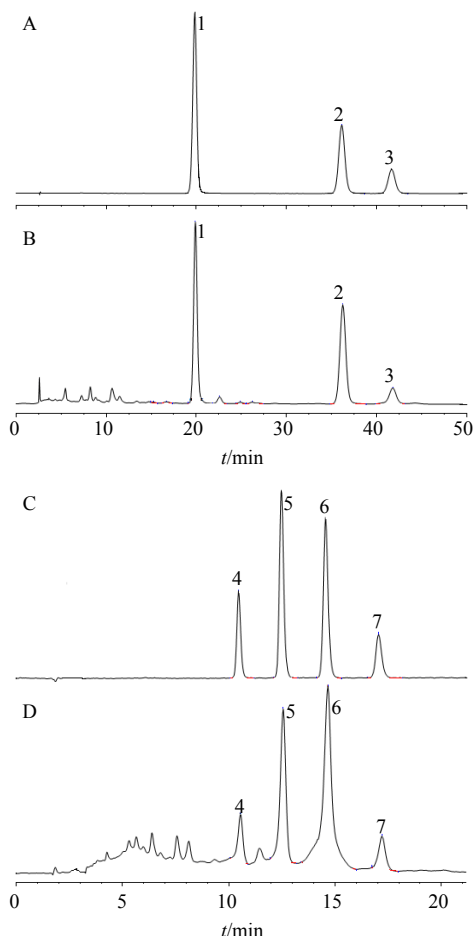
**2.2.1 银杏总黄酮** 色谱柱为 Dikxna C<sub>18</sub> 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm)；流动相为甲醇-0.4%磷酸溶液(47:53)，体积流量 0.8 mL/min，UV 检测器，检测波长 360 nm，柱温 45 °C；

**2.2.2 银杏总内酯** 色谱柱为 Dikxna C<sub>18</sub> 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm)；流动相为四氢呋喃-甲醇-水(10:20:75)，体积流量 1.0 mL/min，蒸发光散射检测器，以空气为载气，体积流量 3 L/min，漂移管温度 105 °C，柱温 40 °C。

在上述色谱条件下，取混合对照品溶液及供试品溶液各进样 10 μL，典型色谱图见图 1。

### 2.3 一测多评方法学考察

**2.3.1 线性关系的考察** 精密量取“2.1.1”项下银杏总黄酮及银杏总内酯混合对照品溶液 2、5、8、10、15、20 μL，按“2.2”项下的色谱条件进样分析，以对照品进样量为横坐标( $X$ )，相应的峰面积值为纵坐标( $Y$ )，进行线性回归，得到各组分的回归方程及线性范围分别为槲皮素  $Y=8.521 \times 10^3 X + 2.12$ ， $r=0.9997$ ，线性范围 60~600 μg；山柰素  $Y=5.355 \times 10^3 X - 5.18$ ， $r=0.9996$ ，线性范围 60~600 μg；异鼠李素  $Y=3.158 \times 10^3 X + 3.74$ ， $r=0.9995$ ，线性范围 40~400 μg；银杏内酯 A  $Y=5.715 \times 10^4 X + 14.27$ ， $r=0.9997$ ，线性范围 200~2 000 μg；



1-槲皮素 2-山柰素 3-异鼠李素 4-银杏内酯 C 5-白果内酯  
6-银杏内酯 A 7-银杏内酯 B  
1-quercetin 2-artemisinin 3-isorhamnetin 4-ginkgolide C  
5-bilobalide 6-ginkgolide A 7-ginkgolide B

图 1 总黄酮混合对照品 (A) 及供试品 (B) 和总内酯混合对照品 (C) 及供试品 (D) HPLC 图

Fig. 1 HPLC of total flavonoids mixed reference substances (A), total flavonoids sample (B), total lactones mixed reference substances (C), and total lactones sample (D)

银杏内酯 B  $Y=1.195 \times 10^4 X-26.83$ ,  $r=0.999 4$ , 线性范围  $100 \sim 1\ 000 \mu\text{g}$ ; 银杏内酯 C  $Y=3.183 \times 10^4 X+16.83$ ,  $r=0.999 6$ , 线性范围  $200 \sim 2\ 000 \mu\text{g}$ ; 白果内酯  $Y=1.063 \times 10^4 X+13.57$ ,  $r=0.999 8$ , 线性范围  $500 \sim 5\ 000 \mu\text{g}$ 。

**2.3.2 精密度试验** 分别精取“2.1.1”项下的银杏总黄酮和银杏总内酯对照品溶液,按照“2.2”项下色谱条件,连续进样 6 次,每次  $10 \mu\text{L}$ ,记录各成分的色谱峰面积,结果槲皮素、山柰素、异鼠李素和银杏内酯 A、B、C 及白果内酯峰面积的 RSD 分别为 0.4%、0.7%、0.6% 和 0.3%、0.2%、0.5%、0.6%,表明本方法精密度良好。

**2.3.3 稳定性试验** 精密吸取同一舒血宁注射液供试品溶液  $10 \mu\text{L}$ ,室温放置,按照“2.2”项下色谱条件,分别于 0、2、4、6、8、24 h 进样  $10 \mu\text{L}$ ,记录色谱峰面积,考察其溶液稳定性,结果槲皮素、山柰素、异鼠李素和银杏内酯 A、B、C 及白果内酯峰面积的 RSD 分别为 1.1%、1.5%、1.3% 和 0.9%、0.7%、1.2%、1.5%,表明舒血宁注射液供试品溶液在 24 h 内基本稳定。

**2.3.4 重复性试验** 精密吸取同一舒血宁注射液供试品溶液 6 份,每份  $10 \mu\text{L}$ ,按照“2.2”项下色谱条件进样分析,结果槲皮素、山柰素、异鼠李素和银杏内酯 A、B、C 及白果内酯峰面积的 RSD 分别为 0.2%、0.4%、0.3% 和 0.3%、0.5%、0.2%、0.3%,表明该方法重复性较好。

**2.3.5 加样回收率试验** 取已测定的舒血宁注射液样品(批号 141107/1) 9 份,3 份 1 组,分别加入约相当于样品中质量分数 50%、100%、150%的槲皮素、山柰素及异鼠李素对照品,按照“2.1.2”项银杏总黄酮项下处理方法制备供试品溶液,精取该供试品溶液  $10 \mu\text{L}$ ,按上述色谱条件进样分析,计算加样回收率,结果槲皮素、山柰素及异鼠李素的平均加样回收率分别为 99.9%、99.8%、100.1%,RSD 分别为 0.2%、0.3%、0.8%;同样取已测定的舒血宁注射液样品(批号 141107/1) 9 份,3 份 1 组,分别加入约相当于样品中质量分数 50%、100%、150%的银杏内酯 A、B、C 及白果内酯对照品,按照“2.1.2”项银杏总内酯项下处理方法制备供试品溶液,精取该供试品溶液  $10 \mu\text{L}$ ,按上述色谱条件进样分析,计算加样回收率,结果银杏内酯 A、B、C 及白果内酯的平均加样回收率分别为 99.5%、99.6%、99.9%、99.9%,RSD 分别为 0.8%、0.7%、0.7%、0.9%。

**2.4  $f_{k/s}$  重现性的考察及各组分色谱峰的定位**

**2.4.1  $f_{k/s}$  的计算** 以山柰素和白果内酯为内参物,分别计算山柰素对槲皮素、异鼠李素和白果内酯对银杏内酯 A、B、C 的  $f_{k/s}^{[6]}$ ,结果见表 1、2。

$$f_{k/s} = f_k / f_s = W_k A_s / (W_s A_k)$$

$A_k$  为内参物峰面积,  $W_k$  为内参物质量浓度,  $A_s$  为其他组分峰面积,  $W_s$  为其他组分质量浓度

**2.4.2 不同仪器及色谱柱对  $f_{k/s}$  的影响** 本实验考察了不同仪器和不同色谱柱对  $f_{k/s}$  的影响,结果表明不同仪器和不同色谱柱所得的  $f_{k/s}$  差异性不大 (RSD < 0.5%), 见表 3、4。

表 1 槲皮素和异鼠李素与山柰素的  $f_{k/s}$

Table 1  $f_{k/s}$  of quercetin and isorhamnetin to artemisinin

进样体积/ $\mu\text{L}$	$f_{k/s}$	
	槲皮素	异鼠李素
2	1.871	0.321
5	1.872	0.323
10	1.875	0.326
12	1.877	0.327
15	1.873	0.322
18	1.874	0.325
20	1.872	0.322
平均值	1.873	0.324
RSD/%	0.1	0.7

表 2 银杏内酯 A、B、C 与白果内酯的  $f_{k/s}$

Table 2  $f_{k/s}$  of ginkgolide A, B, and C to bilobalide

进样体积/ $\mu\text{L}$	$f_{k/s}$		
	银杏内酯 A	银杏内酯 B	银杏内酯 C
2	2.281	1.658	1.430
5	2.279	1.661	1.428
10	2.281	1.661	1.427
12	2.278	1.662	1.429
15	2.279	1.660	1.428
18	2.281	1.659	1.430
20	2.280	1.661	1.429
平均值	2.280	1.660	1.429
RSD/%	0.05	0.1	0.1

表 3 不同仪器及色谱柱  $f_{k/s}$  耐用性考察 (银杏总黄酮)

Table 3  $f_{k/s}$  determined by different instruments and columns (total flavonoids)

色谱仪	色谱柱	$f_{k/s}$	
		槲皮素	异鼠李素
岛津 LC20A	Dikxna C <sub>18</sub>	1.871	0.320
	Hypersil ODS C <sub>18</sub>	1.872	0.321
	Luna C <sub>18</sub>	1.873	0.323
	agilent C <sub>18</sub>	1.870	0.319
Waters	Dikxna C <sub>18</sub>	1.872	0.321
	Hypersil ODS C <sub>18</sub>	1.874	0.322
	Luna C <sub>18</sub>	1.873	0.323
	agilent C <sub>18</sub>	1.875	0.322
平均值		1.873	0.321
RSD/%		0.1	0.4

表 4 不同仪器及色谱柱  $f_{k/s}$  耐用性考察 (银杏总内酯)

Table 4  $f_{k/s}$  determined by different instruments and columns (total lactones)

色谱仪	色谱柱	$f_{k/s}$		
		银杏内酯 A	银杏内酯 B	银杏内酯 C
岛津 LC20A	Dikxna C <sub>18</sub>	2.279	1.651	1.432
	Hypersil ODS C <sub>18</sub>	2.281	1.649	1.433
	Luna C <sub>18</sub>	2.278	1.650	1.431
	agilent C <sub>18</sub>	2.280	1.651	1.429
Waters	Dikxna C <sub>18</sub>	2.279	1.649	1.431
	Hypersil ODS C <sub>18</sub>	2.280	1.650	1.432
	Luna C <sub>18</sub>	2.278	1.651	1.432
	agilent C <sub>18</sub>	2.279	1.650	1.430
平均值		2.279	1.650	1.431
RSD/%		0.05	0.05	0.1

2.4.3 不同柱温对  $f_{k/s}$  的影响 实验在不同的实验室进行, 采用岛津 LC20A 高效液相色谱系统、Dikxna C<sub>18</sub> 色谱柱分别考察了不同柱温对  $f_{k/s}$  的影响, 结果显示柱温对  $f_{k/s}$  的影响不显著 (RSD < 0.5%), 见表 5、6。

2.4.4 不同体积流量对  $f_{k/s}$  的影响 实验在同一实验室进行, 采用岛津 LC20A 高效液相色谱系统、Dikxna C<sub>18</sub> 色谱柱分别考察了不同的体积流量对  $f_{k/s}$  的影响 (RSD < 0.5%), 结果见表 7、8。

2.4.5 不同实验室间  $f_{k/s}$  的考察 以山柰素和白果内酯为内参物, 在 2 个不同的实验室间分别对槲皮素、异鼠李素和内酯 A、B、C 的  $f_{k/s}$  进行复核计算, 结果表明 2 个实验室间的差异不大 (RSD < 1.0%), 结果见表 9、10。

表 5 不同柱温  $f_{k/s}$  耐用性考察 (银杏总黄酮)

Table 5  $f_{k/s}$  determined by different column temperatures (total flavonoids)

实验地点	柱温/ $^{\circ}\text{C}$	$f_{k/s}$	
		槲皮素	异鼠李素
1	30	1.871	0.320
	35	1.872	0.321
2	40	1.871	0.319
	30	1.870	0.320
2	35	1.871	0.321
	40	1.872	0.320
平均值		1.871	0.320
RSD/%		0.04	0.2

表 6 不同柱温  $f_{k/s}$  耐用性考察 (银杏总内酯)

Table 6  $f_{k/s}$  determined by different column temperatures (total lactones)

实验地点	柱温/°C	$f_{k/s}$		
		银杏内酯 A	银杏内酯 B	银杏内酯 C
1	30	2.281	1.651	1.429
	35	2.280	1.652	1.428
	40	2.282	1.650	1.430
2	30	2.283	1.652	1.431
	35	2.279	1.653	1.429
	40	2.281	1.651	1.432
平均值		2.281	1.652	1.430
RSD/%		0.1	0.1	0.1

表 7 不同体积流量  $f_{k/s}$  耐用性考察 (银杏总黄酮)

Table 7  $f_{k/s}$  determined by different flow rates (total flavonoids)

体积流量/ (mL·min <sup>-1</sup> )	$f_{k/s}$	
	槲皮素	异鼠李素
0.8	1.871	0.319
0.9	1.871	0.320
1.0	1.872	0.321
1.1	1.871	0.320
1.2	1.872	0.321
平均值	1.871	0.320
RSD/%	0.03	0.3

表 8 不同体积流量  $f_{k/s}$  耐用性考察 (银杏总内酯)

Table 8  $f_{k/s}$  determined by different flow rates (total lactones)

体积流量/ (mL·min <sup>-1</sup> )	$f_{k/s}$		
	银杏内酯 A	银杏内酯 B	银杏内酯 C
0.8	2.282	1.652	1.428
0.9	2.281	1.651	1.430
1.0	2.282	1.649	1.429
1.1	2.279	1.650	1.431
1.2	2.280	1.651	1.432
平均值	2.281	1.651	1.430
RSD/%	0.1	0.1	0.1

2.4.6 待测组分色谱峰的定位 由相关文献<sup>[6-10]</sup>可知,在色谱峰的定位方法选择上,相对保留时间定位法优于保留时间差定位法,相对保留时间定位法在一测多评中使用更为广泛。本实验分别考察了采用不同的色谱仪及色谱柱时,槲皮素、异鼠李素

表 9 不同实验室测得的  $f_{k/s}$  (银杏总黄酮)

Table 9  $f_{k/s}$  in different laboratories of components (total flavonoids)

进样体 积/ $\mu$ L	$f_{\text{槲皮素/山柰素}}$		$f_{\text{异鼠李素/山柰素}}$	
	实验室 1	实验室 2	实验室 1	实验室 2
2	1.871	1.873	0.321	0.323
5	1.872	1.876	0.323	0.325
10	1.875	1.872	0.326	0.322
12	1.877	1.876	0.327	0.325
15	1.873	1.877	0.322	0.327
18	1.874	1.872	0.325	0.322
20	1.872	1.871	0.322	0.321
平均值	1.873	1.874	0.324	0.324
RSD/%	0.1	0.1	0.7	0.6

表 10 不同实验室测得的  $f_{k/s}$  (银杏总内酯)

Table 10  $f_{k/s}$  in different laboratories of components (total lactones)

进样体 积/ $\mu$ L	$f_{\text{银杏内酯 A/白果内酯}}$		$f_{\text{银杏内酯 B/白果内酯}}$		$f_{\text{银杏内酯 C/白果内酯}}$	
	实验室 1	实验室 2	实验室 1	实验室 2	实验室 1	实验室 2
2	2.281	2.279	1.658	1.657	1.430	1.428
5	2.279	2.281	1.661	1.660	1.428	1.430
10	2.281	2.278	1.661	1.659	1.427	1.427
12	2.278	2.281	1.662	1.661	1.429	1.430
15	2.279	2.280	1.660	1.659	1.428	1.429
18	2.281	2.279	1.659	1.658	1.430	1.428
20	2.280	2.279	1.661	1.660	1.429	1.430
平均值	2.280	2.280	1.660	1.659	1.429	1.429
RSD/%	0.05	0.05	0.1	0.1	0.1	0.1

色谱峰与山柰素色谱峰的相对保留时间及银杏内酯 A、B、C 色谱峰与白果内酯色谱峰的相对保留时间,结果表明,不同色谱仪及色谱柱所测得的各成分相对保留时间无显著性差异 (RSD < 0.5%),见表 11、12。

### 2.5 一测多评法与外标法测定结果的比较

本实验采用一测多评法和外标法对 5 批舒血宁注射液进行了定量检测,取舒血宁注射液 5 批 (141107/1、150307/2、150511/1、150615/2、150809/2),照“2.1.2”项下方法处理,“2.2”项下色谱条件进样,分别采用外标法和一测多评法计算舒血宁注射液中各组分的量,并对测定结果进行  $t$  检验,结果表明 2 种方法测得分量无显著性差异,见表 13。

表 11 不同色谱仪及色谱柱相对保留时间 (银杏总黄酮)  
Table 11 Relative retention time determined by different instruments and columns (total flavonoids)

色谱仪	色谱柱	相对保留时间	
		槲皮素	异鼠李素
岛津 LC20A	Dikxna C <sub>18</sub>	0.547	1.152
	Hypersil ODS C <sub>18</sub>	0.546	1.151
	Luna C <sub>18</sub>	0.549	1.155
	agilent C <sub>18</sub>	0.550	1.156
Waters	Dikxna C <sub>18</sub>	0.548	1.153
	Hypersil ODS C <sub>18</sub>	0.546	1.152
	Luna C <sub>18</sub>	0.545	1.150
	agilent C <sub>18</sub>	0.546	1.152
平均值		2.547	1.153
RSD/%		0.3	0.2

表 12 不同色谱仪及色谱柱相对保留时间 (银杏总内酯)  
Table 12 Relative retention time determined by different instruments and columns (total lactones)

色谱仪	色谱柱	相对保留时间		
		银杏内酯 A	银杏内酯 B	银杏内酯 C
岛津 LC20A	Dikxna C <sub>18</sub>	1.167	1.364	0.080 1
	Hypersil ODS C <sub>18</sub>	1.166	1.363	0.080 6
	Luna C <sub>18</sub>	1.168	1.365	0.080 3
	agilent C <sub>18</sub>	1.169	1.362	0.080 5
Waters	Dikxna C <sub>18</sub>	1.166	1.363	0.080 2
	Hypersil ODS C <sub>18</sub>	1.165	1.362	0.080 5
	Luna C <sub>18</sub>	1.169	1.366	0.080 4
	agilent C <sub>18</sub>	1.170	1.362	0.080 4
平均值		1.168	1.363	0.080 4
RSD/%		0.2	0.1	0.2

表 13 不同批次样品的定量测定 (n = 5)  
Table 13 Content determination of different batches of samples (n = 5)

批号	定量方法	质量分数/(mg·mL <sup>-1</sup> )						
		槲皮素	山柰素	异鼠李素	银杏内酯 A	银杏内酯 B	银杏内酯 C	白果内酯
141107/1	一测多评	0.562 4	0.605 4	0.243 2	0.377 8	0.211 2	0.425 8	0.799 4
	外标法	0.562 3	0.605 3	0.243 3	0.377 6	0.211 3	0.425 9	0.799 2
150307/2	一测多评	0.557 6	0.568 7	0.234 9	0.295 2	0.203 3	0.446 2	0.740 5
	外标法	0.557 7	0.568 6	0.235 0	0.295 0	0.203 8	0.446 0	0.741 0
150511/1	一测多评	0.486 7	0.496 5	0.236 2	0.303 8	0.210 1	0.461 7	0.753 7
	外标法	0.486 8	0.496 6	0.236 3	0.303 5	0.210 6	0.461 2	0.753 4
150615/2	一测多评	0.449 6	0.456 3	0.233 2	0.289 3	0.261 2	0.453 9	0.739 6
	外标法	0.449 5	0.456 2	0.233 1	0.289 1	0.261 1	0.453 7	0.739 4
150809/2	一测多评	0.496 4	0.419 3	0.236 7	0.314 6	0.270 5	0.469 8	0.757 3
	外标法	0.496 5	0.419 4	0.236 6	0.314 5	0.270 3	0.469 6	0.757 4

### 3 讨论

#### 3.1 一测多评法的色谱峰的定位

中药的化学成分非常复杂,在不同的色谱系统中会有不同的色谱峰,在同一色谱系统中,其色谱峰的数量、出峰时间及峰形等也受到色谱柱、仪器、溶剂、柱温等诸多因素的影响,因此,待测成分色谱峰的定位至关重要。

对于在一定的色谱条件下,色谱峰相对较少的中药,可根据《中药注射剂色谱指纹图谱研究的技术要求(暂行)》<sup>[11]</sup>推荐的相对保留时间对各组分的色谱峰进行定位。本实验采取该方法定位,相对保留时间在不同的色谱系统及色谱柱条件下重现性较好(RSD<0.5%)。

#### 3.2 一测多评法内参物的选择

实验选择山柰素和白果内酯作为内参物,因为该 2 种成分在舒血宁注射液中质量浓度较高,且性质稳定<sup>[12]</sup>。

#### 3.3 f<sub>k/s</sub> 的重现性

理论上讲,在特定的色谱条件下同一化合物的 f<sub>k/s</sub> 可以在不同的仪器上重现,在相同的色谱条件下,可以用化合物的 f<sub>k/s</sub> 对其进行定量分析,目前 f<sub>k/s</sub> 在气相色谱分析中的应用较为广泛,而在液相色谱分析,特别是中药分析检测中的应用还较少。本实验用 f<sub>k/s</sub> 对舒血宁注射液中的槲皮素、异鼠李素与银杏内酯 A、B、C 进行了定量检测,结果与外标法测定的结果无显著性差异。

本实验考察了不同仪器、色谱柱、柱温及体积流量对 $f_{k/s}$ 的影响,结果各 $f_{k/s}$ 在以上不同的条件下重复性良好,表明一测多评法用于分析舒血宁中各组分的通用性较好,可在不同的实验室条件下进行定量检测。

#### 参考文献

- [1] 胡书佑. 舒血宁注射液的临床应用与安全用药 [J]. 湖南中医药大学学报, 2012, 32(11): 78-81.
- [2] 欧琴, 张芦燕, 钱一鑫, 等. HPLC 法测定舒血宁注射剂黄酮和内酯的含量 [J]. 贵州大学学报: 自然科学版, 2010, 27(5): 34-37.
- [3] 王海涛, 冯志琼, 蔡海燕, 等. HPLC-ELSD 法测定舒血宁注射液配伍溶液中内酯含量 [J]. 机电信息, 2011, 6(6): 9-12.
- [4] 王智民, 高慧敏, 付雪涛, 等. “一测多评”法中药质量评价模式方法学研究 [J]. 中国中药杂志, 2006, 31(23): 1925.
- [5] 石伟, 王振中, 倪付勇, 等. 一测多评法在六味地黄软胶囊质量评价中的应用 [J]. 中草药, 2015, 46(19): 2880-2886.
- [6] 付滢舟, 冯有龙, 曹玲, 等. 一测多评法测定速效救心丸中冰片的含量 [J]. 药物分析杂志, 2012, 32(5): 775-778.
- [7] 黄帅, 马森, 黄倩倩, 等. 一测多评法同步测定柴胡药材中 3 种皂苷的含量 [J]. 时珍国医国药, 2010, 21(4): 838-840.
- [8] 李玲, 赵顺, 罗疆南, 等. 一测多评法测定胃苏颗粒中 4 种成分的含量 [J]. 药物分析杂志, 2015, 35(4): 751-757.
- [9] 靳瑞婷, 杨素德, 付娟, 等. 一测多评法测定芪白平肺颗粒中 8 种皂苷类成分 [J]. 中草药, 2015, 46(24): 3682-3686.
- [10] 连赟芳, 陈丹, 蔡韦炜, 等. 一测多评法同时测定玳玳果黄酮滴丸中 4 个活性成分的含量 [J]. 药物分析杂志, 2015, 35(6): 974-978.
- [11] 国家药品监督管理局. 关于印发《中药注射剂色谱指纹图谱研究的技术要求(暂行)》的通知 [J]. 中成药, 2000, 22(10): 671.
- [12] 吕连媛, 张黎明, 王艳乔, 等. 银杏萜内酯 A、B、C 和白果内酯的热特征分析 [J]. 天津科技大学学报, 2011, 26(5): 9-12.