

基于一测多评定量控制联合灰色关联度分析的颈痛颗粒综合质量评价

林 丽¹, 杨雯晴², 商和儒^{1*}

1. 济南市中医医院 药学部, 山东 济南 250012

2. 山东中医药大学 中医药创新研究院, 山东 济南 250355

摘要: 目的 建立高效液相色谱一测多评(QAMS)法同时测定颈痛颗粒中三七皂苷R₁、人参皂苷Rg₁、人参皂苷Rb₁、3'-羟基葛根素、葛根素、3'-甲氧基葛根素、洋川芎内酯A、藁本内酯、延胡索乙素、去氢紫堇碱、紫堇碱、羌活醇和异欧前胡素含量,并通过灰色关联度分析法对13种成分含量检测结果进行分析评价。方法 采用Shimadzu C₁₈色谱柱;以乙腈-0.1%磷酸为流动相梯度洗脱;检测波长为203 nm(三七皂苷R₁、人参皂苷Rg₁和人参皂苷Rb₁)、280 nm(3'-羟基葛根素、葛根素、3'-甲氧基葛根素、洋川芎内酯A、藁本内酯、延胡索乙素、去氢紫堇碱和紫堇碱)和315 nm(羌活醇和异欧前胡素);采用外标法(ESM)测定13种成分的含量。以葛根素为内参物质,分别计算其与三七皂苷R₁、人参皂苷Rg₁、人参皂苷Rb₁、3'-羟基葛根素、3'-甲氧基葛根素、洋川芎内酯A、藁本内酯、延胡索乙素、去氢紫堇碱、紫堇碱、羌活醇和异欧前胡素的相对校正因子(*f*),并计算上述12种成分的含量,比较ESM和QAMS法检测结果的差异,验证一测多评法的准确性和可行性。基于灰色关联度分析不同批次颈痛颗粒中13种成分QAMS法含量检测数据,对15批次颈痛颗粒质量进行综合评价。结果 三七皂苷R₁、人参皂苷Rg₁、人参皂苷Rb₁、3'-羟基葛根素、葛根素、3'-甲氧基葛根素、洋川芎内酯A、藁本内酯、延胡索乙素、去氢紫堇碱、紫堇碱、羌活醇和异欧前胡素分别在各自范围内线性关系良好($r \geq 0.9992$),平均加样回收率($n=9$)在96.86%~100.37%(RSD $\leq 1.65\%$)。所建立的*f*耐用性良好,HPLC-QAMS法计算值和ESM实测值之间无明显差异。灰色关联度分析结果显示15批次颈痛颗粒相对关联度在0.3324~0.6004,表明颈痛颗粒批次间呈现一定质量差异。结论 QAMS多指标成分定量控制联合灰色关联度分析法操作便捷、结果准确,可用于颈痛颗粒的综合质量评价。
关键词: 颈痛颗粒;一测多评法;多指标成分;灰色关联度分析法;综合质量评价;定量控制;相对校正因子;相对关联度

中图分类号: R284.1

文献标志码: A

文章编号: 1674-6376(2023)06-1254-10

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2023.06.012

Comprehensive quality evaluation of Jingtong Granules based on HPLC-QAMS multi-index component quantitative control combined with grey relational analysis

LIN Li¹, YANG Wenqing², SHANG Heru¹

1. Department of Pharmacy, Jinan Hospital of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250012, China

2. Innovation Institute of Chinese Medicine and Pharmacy, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355, China

Abstract: Objective To establish a HPLC-QAMS method for simultaneous determination of notoginsenoside R₁, ginsenoside Rg₁, ginsenoside Rb₁, 3'-hydroxy puerarin, puerarin, 3'-methoxy puerarin, senkyunolide A, ligustilide, tetrahydropalmatine, dehydrocorydaline, corydaline, notopteron and isomeripatorin in Jingtong Granules, and to analyze and evaluate the content detecting results of 13 components by grey relational analysis. **Methods** The chromatographic column Shimadzu C₁₈ was used. And using acetonitrile-0.1% phosphoric acid as mobile phase with gradient elution. The detection wavelength were 203 nm for notoginsenoside R₁, ginsenoside Rg₁, ginsenoside Rb₁, 280 nm for 3'-hydroxy puerarin, puerarin, 3'-methoxy puerarin, senkyunolide A, ligustilide,

收稿日期: 2022-11-11

基金项目: 国家中医药管理局全国中药特色技术传承人才培养项目(国中医药人教函(2018)204号);国家中医药管理局全国名老中医药专家工作室建设项目(国中医药人教函(2022)75号)

第一作者: 林 丽(1975—),女,山东昌邑人,汉族,本科,副主任药师,研究方向为中药药事管理。E-mail:ng8740@163.com

*通信作者: 商和儒(1971—),男,山东济南人,汉族,本科,主任药师,研究方向为中药药事管理及质量评价。E-mail:ng8740@163.com

tetrahydropalmatine, dehydrocorydaline, corydaline and 315 nm for notopteron and isoimperatorin. The contents of 13 components were determined by external standard method (ESM). Taking puerarin as internal standard substance, the relative correlation factor (f) of notoginsenoside R_1 , ginsenoside R_g , ginsenoside R_b , 3'-hydroxy puerarin, 3'-methoxy puerarin, senkyunolide A, ligustilide, tetrahydropalmatine, dehydrocorydaline, corydaline, notopteron and isoimperatorin was calculated, and the contents of 12 components were calculated. The differences between the content detecting results by ESM and HPLC-QAMS method were compared. Based on the grey relational degree, the HPLC-QAMS method content detection data of 13 component of different batches of Jingtong Granules were analyzed, and the sample of 15 batches of Jingtong Granules was comprehensively quality evaluated. **Results** Notoginsenoside R_1 , ginsenoside R_g , ginsenoside R_b , 3'-hydroxy puerarin, puerarin, 3'-methoxy puerarin, senkyunolide A, ligustilide, tetrahydropalmatine, dehydrocorydaline, corydaline, notopteron and isoimperatorin had good linearity in their respective ranges ($r \geq 0.999\ 2$). The average recoveries of the 13 components ($n = 9$) were between 96.86%—100.37% with the relative standard deviations less than 1.65%. The established RCF had good durability, and the results calculated with HPLC-QAMS method were consistent with the results by the ESM. The results of grey correlation analysis showed that the relative correlation degree of 15 batches of Jingtong Granules was 0.332 4—0.600 4, indicating that there was a certain quality difference between batches of Jingtong Granules. **Conclusion** HPLC-QAMS multi-index component quantitative control combined with grey relational analysis is convenient and accurate, and can be used for the comprehensive quality evaluation of Jingtong Granules.

Key words: Jingtong Granules; HPLC-QAMS; multi-index component; grey relational analysis; comprehensive quality evaluation; quantitative control; relative correlation factor; relative correlation degree

中药及其制剂在治疗疾病过程中具有多成分、多目标、多靶点等特征,其临床疗效取决于多种成分共同作用的结果,单一成分质控方法难以满足中医药现代化发展的需要,多指标成分质控模式近年来已逐步应用于中药及其制剂的质量控制研究中。高效液相色谱(HPLC)法具有灵敏度和分离效能高、分析速度快、选择性高等特点,同时高效液相色谱一测多评(QAMS)法通过中药成分间存在的内在函数关系,建立内参物质与待测物质间的相对校正因子(f),实现了对各指标成分的同时检测,降低了检验成本,推动了多指标成分质控模式的有效推广应用。灰色关联度分析法是灰色系统分析、预测、聚类决策的基础,对样本适用性广泛,操作便捷,弥补了数理统计分析的缺陷,是一种新的中药质量评价化学计量学分析方法,与多指标成分质控模式相结合,有助于进一步研究中药成分与含量变化对其药效的影响,建立能够反映中药内在质量的质量标准,提高中药及其制剂的内在产品质量。

颈痛颗粒由三七、葛根、川芎、延胡索、羌活、白芍和威灵仙组方而成,活血化瘀、行气止痛,临床上主要用于血瘀气滞、脉络闭阻导致颈、肩及上肢疼痛、发僵或窜麻、窜痛等神经根型颈椎病的治疗^[1]。颈痛颗粒联合中频电疗以及针灸、推拿、牵引可有效减轻神经根型颈椎病患者疼痛,恢复颈椎功能,并改善炎症因子水平,且安全性高^[2-3]。《中国药典》2020年版一部中颈痛颗粒仅以三七中所含成分为指标进行含量测定,相关文献报道^[4-5]也仅采用

HPLC法测定颈痛颗粒中1~2个成分的含量,质控指标相对简单,难以全面反映中成药复方制剂的整体内在质量。本研究采用QAMS法对颈痛颗粒中13种成分含量进行同步检测,利用灰色关联度分析法^[6]对多指标成分定量检测结果进行分析评价,以期颈痛颗粒内在产品质量的提升和确保临床疗效一致性提供新的思路。

1 材料

1.1 试药

对照品延胡索乙素、异欧前胡素、人参皂苷 R_g 、羌活醇、葛根素、人参皂苷 R_b 、三七皂苷 R_1 (中国食品药品检定研究院,批号分别为110726-202020、110827-202113、110703-202235、111820-202106、110752-202217、110704-202230、110745-201921,质量分数分别为99.3%、99.2%、98.5%、97.5%、96.8%、95.1%、90.4%);洋川芎内酯A、藁本内酯、3'-羟基葛根素、紫堇碱、去氢紫堇碱、3'-甲氧基葛根素(成都普瑞法科技开发有限公司,批号分别为PRF8031301、PRF8070601、PRF9092002、PRF21102526、PRF22082924、PRF9092003,质量分数分别为99.5%、99.2%、98.0%、99.9%、99.2%、97.1%);乙腈和磷酸为色谱纯,其余试剂为分析纯;颈痛颗粒(山东明仁福瑞达制药股份有限公司,批号为19101110、19101112、19101113、19101114、19101122、19101123、20201015、20201018、20201020、20201021、20201031、21101010、21101033、21101069、21101075,编号S1~S15,规格:每袋4 g)。

1.2 主要仪器

高效液相色谱仪(LC-10AT型,日本岛津公司; Waters e2695型,美国Waters公司);色谱柱 Shimadzu C₁₈柱、Agilent TC-C₁₈柱和 Waters ODS C₁₈柱,规格均为:250 mm×4.6 mm, 5 μm; EL2401型电子天平(瑞士梅特勒公司)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

以 Shimadzu C₁₈为色谱柱,柱温 30 °C;检测波长分别为 203 nm(0~22 min 检测三七皂苷 R₁、人参皂苷 Rg₁、人参皂苷 Rb₁)^[7-11]、280 nm(22~54 min 检测 3'-羟基葛根素、葛根素、3'-甲氧基葛根素、洋川芎内酯 A、藁本内酯、延胡索乙素、去氢紫堇碱、紫堇碱)^[12-16]和 315 nm(54~70 min 检测羌活醇和异欧前胡素)^[17-20];流动相选用乙腈(A)-0.1%磷酸(B),体积流量 1.0 mL·min⁻¹,进行梯度洗脱(0~10 min, 15.0% A; 10~22 min, 15.0%→24.0% A; 22~32 min, 24.0%→29.0% A; 32~54 min, 29.0%→46.0% A; 54~65 min, 46.0%→65.0% A; 65~70 min, 65.0%→15.0% A),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 取三七皂苷 R₁、人参皂苷 Rg₁、人参皂苷 Rb₁、3'-羟基葛根素、葛根素、3'-甲氧基葛根素、洋川芎内酯 A、藁本内酯、延胡索乙素、去氢紫堇碱、紫堇碱、羌活醇、异欧前胡素对照品适量,用 70% 乙醇制成质量浓度分别为 0.974、0.492、0.374、0.918、3.040、0.752、0.614、0.890、0.138、0.154、0.082、0.324、1.970 mg·mL⁻¹ 的混合储

备液,再将该储备液用 70% 乙醇稀释制得含三七皂苷 R₁ 等 13 个对照品分别为 48.70、24.60、18.70、45.90、152.00、37.60、30.70、44.50、6.90、7.70、4.10、16.20、98.50 μg·mL⁻¹ 的溶液)。

2.2.2 供试品溶液的制备 取颈痛颗粒,研成细粉,混匀,精密称定 0.5 g,置具塞锥形瓶中,加 70% 乙醇 25 mL,称质量,加热回流处理 30 min,放冷,70% 乙醇补质量,摇匀,滤过,即得。按质量标准分别制备缺三七、葛根、川芎、延胡索、羌活的阴性供试品,再制备相应的阴性供试品溶液。

2.3 系统适用性试验

取混合对照品溶液、供试品溶液及各阴性供试品溶液,在“2.1”项色谱条件下进样,记录色谱图(图 1)。图谱显示颈痛颗粒供试品溶液中 13 种成分与相邻色谱峰分离度均≥1.5,供试品溶液色谱图中 13 种成分色谱峰保留时间与对照品溶液色谱图各成分保留时间一致;理论板数按各成分计应不低于 5 000。

2.4 多指标成分定量检测

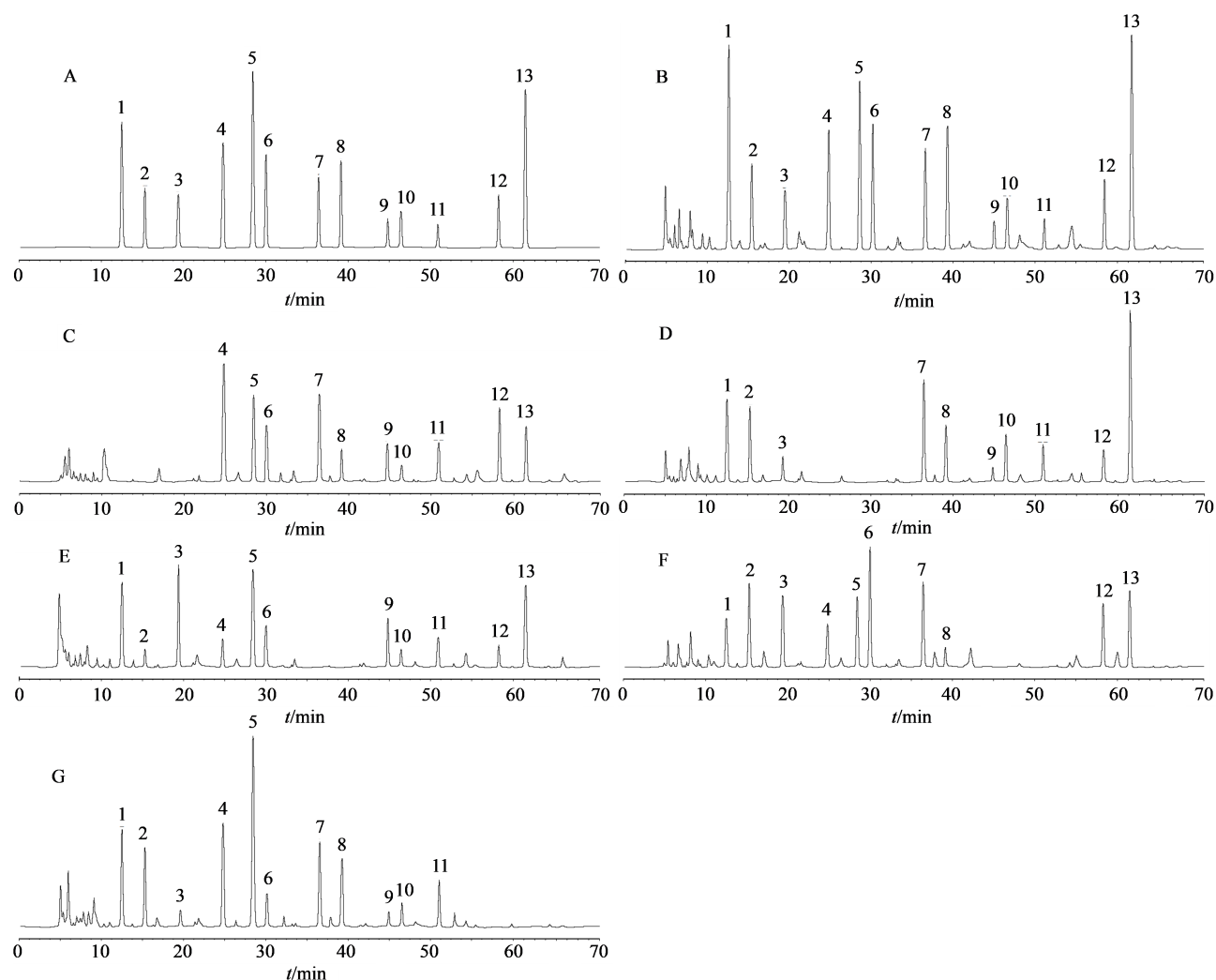
2.4.1 线性关系考察 精密吸取“2.2.1”项下混合对照品储备液 0.1、0.2、0.5、1.0、2.0、5.0 mL,分别用 70% 乙醇定容至 20 mL,摇匀制得系列线性工作溶液(1~6),按“2.1”项色谱条件检测,记录色谱图,以三七皂苷 R₁ 等 13 个对照品质量浓度(μg·mL⁻¹)为横坐标,峰面积为纵坐标进行线性回归,结果见表 1。

2.4.2 精密度、稳定性及重复性试验 取颈痛颗粒(编号 S7)1 份供试品溶液,在“2.1”项色谱条件下,重复进样 6 次,记录三七皂苷 R₁ 等 13 个成分色

表 1 颈痛颗粒中各成分的线性关系

Table 1 Linear relationships of each component in Jingtong Granules

成分	回归方程	线性范围/(μg·mL ⁻¹)	r
三七皂苷 R ₁	$Y=3.667\ 8\times 10^6 X+1\ 186.4$	4.87~243.50	0.999 4
人参皂苷 Rg ₁	$Y=1.757\ 5\times 10^6 X-1\ 962.1$	2.46~123.00	0.999 7
人参皂苷 Rb ₁	$Y=1.868\ 3\times 10^6 X-500.6$	1.87~93.50	0.999 6
3'-羟基葛根素	$Y=3.312\ 6\times 10^6 X-1\ 047.4$	4.59~229.50	0.999 4
葛根素	$Y=2.354\ 0\times 10^6 X+697.2$	15.20~760.00	0.999 6
3'-甲氧基葛根素	$Y=3.112\ 2\times 10^6 X-819.9$	3.76~188.00	0.999 3
洋川芎内酯 A	$Y=2.021\ 9\times 10^6 X+1\ 365.1$	3.07~153.50	0.999 4
藁本内酯	$Y=2.872\ 8\times 10^6 X-242.9$	4.45~222.50	0.9997
延胡索乙素	$Y=8.243\ 0\times 10^5 X+1\ 531.0$	0.69~34.50	0.999 9
去氢紫堇碱	$Y=1.106\ 2\times 10^6 X+175.0$	0.77~38.50	0.999 6
紫堇碱	$Y=4.865\ 1\times 10^5 X-102.9$	0.41~20.50	0.999 3
羌活醇	$Y=1.549\ 1\times 10^6 X-1\ 870.1$	1.62~81.00	0.999 2
异欧前胡素	$Y=2.562\ 3\times 10^6 X-826.9$	9.85~492.50	0.999 6



1-三七皂苷 R_1 ; 2-人参皂苷 R_{g1} ; 3-人参皂苷 R_{b1} ; 4-3'-羟基葛根素; 5-葛根素; 6-3'-甲氧基葛根素; 7-洋川芎内酯 A; 8-藜本内酯; 9-延胡索乙素; 10-去氢紫堇碱; 11-紫堇碱; 12-羌活醇; 13-异欧前胡素
1-notoginsenoside R_1 ; 2-ginsenoside R_{g1} ; 3-ginsenoside R_{b1} ; 4-3'-hydroxy puerarin; 5-puerarin; 6-3'-methoxy puerarin; 7-senkyunolide A; 8-ligustilide; 9-tetrahydropalmatine; 10-dehydrocorydaline; 11-corydaline; 12-notopterol; 13-isoimperatorin
图1 混合对照品(A)、颈痛颗粒(B)、缺三七阴性样品(C)、缺葛根阴性样品(D)、缺川芎阴性样品(E)、缺延胡索阴性样品(F)和缺羌活阴性样品(G)的HPLC色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of mixed reference substances (A), Jingtong Granules sample (B), sample without *Notoginseng Radix et Rhizoma* (C), sample without *Puerariae Lobatae Radix* (D), sample without *Chuanxiong Rhizoma* (E), sample without *Corydalis Rhizoma* (F) and sample without *Notopterygii Rhizoma et Radix* (G)

谱峰峰面积,得峰面积的RSD值依次为0.53%、0.81%、0.95%、0.74%、0.39%、0.77%、0.78%、0.65%、1.47%、1.38%、1.50%、1.07%、0.45%,表明精密度良好。取1份颈痛颗粒(编号S7)供试品溶液,于制备后0、2、4、6、10、16、24 h进样,记录三七皂苷 R_1 等13个成分色谱峰峰面积,得峰面积的RSD值依次为0.56%、0.79%、0.98%、0.72%、0.41%、0.75%、0.81%、0.69%、1.45%、1.36%、1.55%、1.11%、0.47%,表明颈痛颗粒供试品溶液24 h内稳定。取颈痛颗粒(编号S7)适量,按“2.2.2”项下方法制备颈痛颗粒供试品溶液6份,在“2.1”项色谱条件下检测分析,记录色

谱峰峰面积,用外标法计算三七皂苷 R_1 等13个成分的含量,得含量的RSD值依次为1.08%、1.27%、1.39%、1.12%、0.96%、1.06%、1.10%、1.05%、1.82%、1.74%、1.89%、1.55%、1.01%,表明重复性良好。

2.4.3 加样回收率试验 取颈痛颗粒(编号S7)9份,研成细粉,每份精密称定0.25 g,分别按照样品与对照品比例为1:0.8、1:1和1:1.2加入混合对照品溶液(三七皂苷 R_1 等13个对照品质量浓度分别为0.771、0.389、0.274、0.719、1.986、0.591、0.498、0.667、0.078、0.116、0.061、0.249、1.551 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$),再按“2.2.2”项方法制得加样供试品溶液,在“2.1”项色

谱条件下检测,得13种成分的平均加样回收率分别为99.26%、96.86%、98.62%、100.37%、98.69%、98.64%、98.45%、99.21%、98.88%、100.17%、98.89%、98.82%、99.08%,RSD分别为1.12%、1.13%、0.97%、0.59%、1.65%、0.86%、1.04%、0.68%、1.41%、1.07%、1.59%、1.27%、1.22%。

2.5 HPLC-QAMS质量评价模式的建立

2.5.1 f 的计算 以葛根素为内参物质,进样“2.4.1”项线性工作溶液(1~6),按照公式 $f_{is} = f_i/f_s = (\rho_i/A_i)/(\rho_s/A_s) = (\rho_i \times A_s)/(\rho_s \times A_i)$ 计算 f 。式中 f 、 ρ 、 A 、 i 、 s 依次代表相对校正因子、质量浓度、峰面积、内参物质和其他待测成分,结果见表2。

2.5.2 f 耐用性考察 对比考察HPLC仪(LC-10AT型和Waters e2695型)和色谱柱(Shimadzu C₁₈柱、Agilent TC-C₁₈柱、Waters ODS C₁₈柱)以及在LC-10AT HPLC仪、Shimadzu C₁₈色谱柱条件下体积流量(1.0±0.2) mL·min⁻¹和柱温(30±5)℃的改变对 f 的影响。分别精密吸取混合对照品溶液,依法进样检测,结果表明,仪器与色谱柱对所建立的 f 无明显影响($n=6$)(表3)、体积流量对所建立的 f 无明显影响($n=3$)(表4)、柱温对所建立的 f 无明显影响($n=$

3,表5)。

2.5.3 色谱峰定位 取葛根素为参照物,采用相对保留时间值法对待测成分色谱峰进行定位,取“2.2.1”项下混合对照品溶液,依法进样,记录色谱峰保留时间,考察液相色谱仪(LC-10AT型和Waters e2695型)和色谱柱(Shimadzu C₁₈柱、Agilent TC-C₁₈柱和Waters ODS C₁₈柱)对相对保留时间值的影响,结果显示,采用相对保留时间值法可以对目标化合物色谱峰进行准确定位($n=6$,表6)。

2.6 含量测定

取15批颈痛颗粒(S1~S15),按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,在“2.1”项色谱条件下检测分析,分别运用ESM和HPLC-QAMS法计算颈痛颗粒中13种成分的质量分数(表7)。结果显示,每种成分2种方法所得结果无显著性差异($P>0.05$),表明HPLC-QAMS法可用于颈痛颗粒中13种成分的含量测定。

2.7 灰色关联度分析

2.7.1 原始数据标准化处理 基于表7中颈痛颗粒13种成分QAMS法含量测定结果,建立不同批次颈痛颗粒质量灰色模式识别数据集,对15批样品和13

表2 颈痛颗粒中各成分的 f
Table 2 f of each component in Jingtong Granules

线性工 作液	f 三七皂苷R1	f 人参皂苷Rg1	f 人参皂苷Rb1	f 3'-羟基葛根素	f 3'-甲氧基葛根素	f 洋川芎内酯A	f 藜本内酯	f 延胡索乙素	f 去氢紫堇碱	f 紫堇碱	f 羌活醇	f 异欧前胡素
1	0.635 2	1.366 2	1.256 9	0.704 7	0.741 5	1.153 4	0.843 0	2.862 4	2.137 7	4.815 8	1.496 7	0.939 9
2	0.632 0	1.372 5	1.254 8	0.702 8	0.741 9	1.151 2	0.817 0	2.875 8	2.132 3	4.795 4	1.513 0	0.897 9
3	0.640 6	1.334 7	1.262 7	0.705 7	0.741 5	1.153 9	0.823 6	2.879 2	2.139 3	4.760 6	1.500 0	0.903 1
4	0.632 8	1.343 4	1.258 3	0.700 6	0.747 6	1.152 3	0.822 5	2.913 5	2.125 5	4.773 8	1.483 1	0.918 6
5	0.651 4	1.331 9	1.262 2	0.722 3	0.773 3	1.179 8	0.813 4	2.775 8	2.122 3	4.937 0	1.563 6	0.925 9
6	0.640 6	1.340 5	1.259 7	0.7094	0.754 4	1.162 4	0.820 2	2.863 0	2.128 7	4.828 2	1.515 3	0.917 8
平均值	0.638 8	1.348 2	1.259 1	0.707 6	0.750 0	1.158 8	0.823 3	2.861 6	2.131 0	4.818 5	1.511 9	0.917 2
RSD/%	1.13	1.26	0.24	1.10	1.67	0.95	1.26	1.61	0.32	1.31	1.85	1.67

表3 仪器及色谱柱对 f 的影响
Table 3 Influence of instruments and columns on f

仪器	色谱柱	f 三七皂苷R1	f 人参皂苷Rg1	f 人参皂苷Rb1	f 3'-羟基葛根素	f 3'-甲氧基葛根素	f 洋川芎内酯A	f 藜本内酯	f 延胡索乙素	f 去氢紫堇碱	f 紫堇碱	f 羌活醇	f 异欧前胡素
LC-10AT	Shimadzu C ₁₈	0.626 8	1.329 2	1.251 3	0.701 2	0.739 6	1.142 3	0.813 5	2.802 6	2.118 2	4.785 1	1.483 9	0.902 6
	Agilent TC-C ₁₈	0.634 6	1.348 3	1.259 6	0.708 3	0.751 8	1.157 6	0.824 7	2.869 3	2.132 7	4.816 4	1.516 2	0.913 7
	Waters ODS C ₁₈	0.642 1	1.367 7	1.267 3	0.719 7	0.765 3	1.168 2	0.835 9	2.904 9	2.149 6	4.921 9	1.548 7	0.935 4
Waters e2695	Shimadzu C ₁₈	0.625 3	1.326 3	1.250 6	0.700 5	0.739 1	1.141 7	0.812 7	2.801 4	2.117 5	4.781 5	1.479 2	0.901 1
	Agilent TC-C ₁₈	0.632 5	1.345 1	1.258 4	0.707 4	0.751 2	1.156 2	0.823 6	2.867 7	2.130 6	4.812 7	1.514 6	0.912 5
	Waters ODS C ₁₈	0.640 9	1.364 9	1.265 5	0.718 8	0.764 5	1.167 5	0.835 4	2.903 5	2.147 1	4.918 3	1.540 1	0.934 2
	平均值	0.633 7	1.346 9	1.258 8	0.709 3	0.751 9	1.155 6	0.824 3	2.858 2	2.132 6	4.839 3	1.513 8	0.916 6
	RSD/%	1.10	1.29	0.55	1.17	1.52	1.01	1.22	1.62	0.64	1.33	1.87	1.64

表4 体积流量对*f*的影响
Table 4 Influence of flow velocity on *f*

体积流 量/(mL· min ⁻¹)	<i>f</i> _{三七皂苷 R₁}	<i>f</i> _{人参皂苷 R_{g1}}	<i>f</i> _{人参皂苷 R_{b1}}	<i>f</i> _{3'-羟基葛根素}	<i>f</i> _{3'-甲氧基葛根素}	<i>f</i> _{洋川芎内酯A}	<i>f</i> _{藁本内酯}	<i>f</i> _{延胡索乙素}	<i>f</i> _{去氢紫堇碱}	<i>f</i> _{紫堇碱}	<i>f</i> _{羌活醇}	<i>f</i> _{异欧前胡素}
0.8	0.628 8	1.327 5	1.252 3	0.701 0	0.738 7	1.143 7	0.815 7	2.806 9	2.119 7	4.772 8	1.487 3	0.905 8
1.0	0.632 1	1.345 4	1.258 4	0.707 5	0.752 3	1.156 2	0.823 6	2.867 3	2.134 8	4.810 5	1.512 6	0.910 7
1.2	0.643 7	1.362 8	1.265 6	0.716 2	0.764 1	1.167 8	0.836 1	2.902 1	2.146 4	4.904 3	1.544 2	0.933 5
平均值	0.634 9	1.345 2	1.258 8	0.708 2	0.751 7	1.155 9	0.825 1	2.858 8	2.133 6	4.829 2	1.514 7	0.916 7
RSD/%	1.23	1.31	0.53	1.08	1.69	1.04	1.25	1.69	0.63	1.40	1.88	1.61

表5 柱温对*f*的影响
Table 5 Influence of column temperature on *f*

柱温/°C	<i>f</i> _{三七皂苷 R₁}	<i>f</i> _{人参皂苷 R_{g1}}	<i>f</i> _{人参皂苷 R_{b1}}	<i>f</i> _{3'-羟基葛根素}	<i>f</i> _{3'-甲氧基葛根素}	<i>f</i> _{洋川芎内酯A}	<i>f</i> _{藁本内酯}	<i>f</i> _{延胡索乙素}	<i>f</i> _{去氢紫堇碱}	<i>f</i> _{紫堇碱}	<i>f</i> _{羌活醇}	<i>f</i> _{异欧前胡素}
25	0.629 6	1.326 6	1.253 9	0.700 1	0.737 6	1.145 6	0.813 3	2.807 5	2.123 6	4.758 3	1.489 5	0.908 1
30	0.633 9	1.341 9	1.259 1	0.708 4	0.751 1	1.157 1	0.824 6	2.865 2	2.131 9	4.813 9	1.514 2	0.913 6
35	0.642 5	1.360 7	1.263 7	0.716 3	0.763 4	1.166 9	0.835 2	2.901 4	2.145 8	4.890 4	1.546 1	0.938 0
平均值	0.635 3	1.343 1	1.258 9	0.708 3	0.750 7	1.156 5	0.824 4	2.858 0	2.133 8	4.820 9	1.516 6	0.919 9
RSD/%	1.03	1.27	0.39	1.14	1.72	0.92	1.33	1.66	0.53	1.38	1.87	1.73

表6 仪器及色谱柱对相对保留时间的影响
Table 6 Influence of instruments and chromatographic columns on relative retention time

仪器	色谱柱	相对保留时间											
		三七皂	人参皂	人参皂	3'-羟基	3'-甲氧基	洋川芎	藁本内	延胡索	去氢紫	紫堇碱	羌活醇	异欧前
		苷 R ₁	苷 R _{g₁}	苷 R _{b₁}	葛根素	葛根素	内酯A	酯	乙素	堇碱			
LC-10AT	Shimadzu C ₁₈	0.439 6	0.538 5	0.681 3	0.872 5	1.057 1	1.281 3	1.375 8	1.575 8	1.630 8	1.789 0	2.050 5	2.164 8
	Agilent TC-C ₁₈	0.446 1	0.541 3	0.687 6	0.884 7	1.059 5	1.293 7	1.389 4	1.590 6	1.658 3	1.797 6	2.064 3	2.188 2
	Waters ODS C ₁₈	0.451 3	0.546 6	0.696 1	0.893 4	1.079 8	1.299 6	1.405 3	1.608 3	1.677 4	1.812 3	2.089 7	2.209 7
Waters e2695	Shimadzu C ₁₈	0.435 0	0.532 2	0.678 5	0.867 2	1.040 6	1.272 9	1.361 9	1.561 4	1.621 9	1.771 5	2.031 5	2.140 3
	Agilent TC-C ₁₈	0.439 5	0.540 1	0.685 7	0.881 9	1.041 3	1.290 4	1.376 6	1.584 7	1.654 3	1.794 9	2.059 2	2.186 9
	Waters ODS C ₁₈	0.448 7	0.545 9	0.694 2	0.890 1	1.078 7	1.296 1	1.402 0	1.605 2	1.675 8	1.810 6	2.086 4	2.209 1
	平均值	0.443 4	0.540 8	0.687 2	0.881 6	1.059 5	1.289 0	1.385 2	1.587 7	1.653 1	1.796 0	2.063 6	2.183 2
	RSD/%	1.42	0.98	1.01	1.15	1.62	0.78	1.21	1.12	1.38	0.84	1.07	1.23

个评价指标,组成评价单元序列 $Z_{n \times m}(n=1,2,3,\dots,15;m=1,2,3,\dots,13)$,按照公式 $Y_{nm}=Z_{nm}/Z_{vm}$ (Z_{nm} 为各指标成分含量检测结果, Z_{vm} 为各指标成分含量检测结果平均值)对原始数据进行规格化处理(表8)。

2.7.2 最优参考序列和最差参考序列关联系数的计算 选取表8中15批颈痛颗粒各评价指标的最大值得最优参考序列 Y_{im} 为1.470 4、1.367 9、1.511 1、1.276 3、1.285 4、1.406 1、1.279 8、1.247 4、1.465 1、1.294 0、1.316 2、1.266 9、1.274 6;选取各评价指标的最小值得最差参考序列 Y_{in} 为0.590 8、0.717 6、0.612 5、0.778 9、0.781 7、0.763 3、0.630 6、0.761 1、

0.539 6、0.592 5、0.724 8、0.771 9、0.742 7。分别计算各评价单元相对于最优参考序列的关联系数 $C_{m(a)}^n$ 、相对于最差参考序列的关联系数 $C_{m(i)}^n$ 。

$$C_{m(a)}^n = (\Delta_{\min} + \rho \Delta_{\max}) / (|Y_{nm} - Y_{\text{im}}| + \rho \Delta_{\max})$$

$\Delta_{\min} = \min|Y_{nm} - Y_{\text{im}}|$ 、 $\Delta_{\max} = \max|Y_{nm} - Y_{\text{im}}|$, ρ 为分辨系数,取值0.5

$$C_{m(i)}^n = (\Delta'_{\min} + \rho \Delta'_{\max}) / (|Y_{nm} - Y_{\text{in}}| + \rho \Delta'_{\max})$$

$\Delta'_{\min} = \min|Y_{nm} - Y_{\text{in}}|$ 、 $\Delta'_{\max} = \max|Y_{nm} - Y_{\text{in}}|$, ρ 为分辨系数,取值0.5

2.7.3 关联度及相对关联度(R_n)的计算 按公式 $R_{n(a)} = \frac{1}{13} \sum_{m=1}^{13} C_{m(a)}^n$ 计算各批次颈痛颗粒样品与最优参考序列的关联度 $R_{n(a)}$,按公式 $R_{n(i)} = \frac{1}{13} \sum_{m=1}^{13} C_{m(i)}^n$

表7 颈痛颗粒中13种成分质量分数测定结果($n=3$)Table 7 Determination results of 13 components of Jingtong Granules ($n=3$)

批次	方法	质量分数/(mg·g ⁻¹)													总计
		葛根素	三七皂苷 R ₁	人参皂苷 R _{g₁}	人参皂苷 R _{b₁}	3'-羟基葛根素	3'-甲氧基葛根素	洋川芎内酯A	藁本内酯	延胡索乙素	去氢紫堇碱	紫堇碱	羌活醇	异欧前胡素	
S1	ESM	7.479	4.015	1.806	1.041	2.628	2.633	2.239	3.209	0.352	0.542	0.271	1.119	6.812	26.667
	QAMS		4.082	1.822	1.067	2.679	2.617	2.285	3.262	0.345	0.553	0.276	1.105	6.881	26.974
S2	ESM	6.690	4.483	2.029	0.772	3.042	2.495	3.132	3.315	0.371	0.607	0.262	1.061	7.896	29.465
	QAMS		4.547	2.065	0.765	3.108	2.542	3.165	3.373	0.368	0.618	0.268	1.077	7.978	29.874
S3	ESM	8.301	3.642	1.714	0.871	2.801	3.817	2.704	2.743	0.422	0.537	0.285	0.972	7.291	27.799
	QAMS		3.671	1.743	0.882	2.814	3.876	2.739	2.706	0.431	0.546	0.292	0.966	7.324	27.990
S4	ESM	8.017	3.886	1.861	1.014	2.844	2.652	2.549	2.936	0.391	0.581	0.297	1.009	7.015	27.035
	QAMS		3.929	1.889	1.006	2.881	2.677	2.593	2.993	0.386	0.590	0.301	1.021	7.098	27.364
S5	ESM	8.881	3.783	1.946	0.833	3.010	2.726	2.811	3.110	0.401	0.597	0.304	0.946	7.713	28.180
	QAMS		3.821	1.972	0.855	3.024	2.765	2.865	3.168	0.410	0.603	0.310	0.937	7.749	28.479
S6	ESM	8.503	3.381	1.623	0.832	2.715	3.118	3.004	2.975	0.447	0.527	0.289	0.918	7.501	27.330
	QAMS		3.413	1.660	0.817	2.747	3.150	3.037	2.912	0.453	0.535	0.283	0.901	7.536	27.444
S7	ESM	8.125	3.102	1.538	1.104	2.871	2.359	1.984	2.657	0.318	0.472	0.251	0.982	6.219	23.857
	QAMS		3.185	1.574	1.131	2.946	2.413	2.031	2.721	0.325	0.480	0.257	0.998	6.376	24.437
S8	ESM	6.334	1.865	1.328	0.696	2.369	2.126	2.917	2.542	0.223	0.286	0.365	0.839	5.564	21.120
	QAMS		1.827	1.359	0.678	2.322	2.104	2.944	2.591	0.228	0.283	0.373	0.823	5.510	21.042
S9	ESM	6.677	2.633	1.326	0.638	2.561	2.154	3.257	2.879	0.247	0.345	0.360	0.861	5.892	23.153
	QAMS		2.591	1.353	0.646	2.500	2.196	3.295	2.852	0.252	0.343	0.365	0.849	5.945	23.187
S10	ESM	6.468	1.971	1.303	0.577	2.447	2.237	3.314	2.604	0.211	0.365	0.379	0.781	5.659	21.848
	QAMS		1.993	1.311	0.593	2.416	2.265	3.359	2.651	0.207	0.370	0.385	0.792	5.731	22.073
S11	ESM	6.985	2.845	1.364	0.723	2.594	2.421	2.851	2.081	0.257	0.329	0.347	0.859	6.102	22.773
	QAMS		2.808	1.390	0.741	2.559	2.464	2.807	2.058	0.262	0.337	0.355	0.871	6.185	22.837
S12	ESM	9.997	2.355	2.203	1.449	3.751	3.415	1.688	2.184	0.513	0.301	0.238	1.341	9.153	28.591
	QAMS		2.394	2.224	1.463	3.805	3.463	1.655	2.210	0.52	0.308	0.242	1.300	9.209	28.793
S13	ESM	10.415	2.419	2.382	1.378	3.604	3.209	2.427	2.357	0.529	0.551	0.208	1.246	9.326	29.636
	QAMS		2.483	2.411	1.399	3.649	3.262	2.451	2.384	0.541	0.562	0.212	1.223	9.457	30.034
S14	ESM	8.886	2.655	2.107	1.216	3.518	3.309	2.115	2.124	0.457	0.502	0.251	1.271	9.315	28.840
	QAMS		2.703	2.132	1.205	3.547	3.361	2.156	2.15	0.464	0.510	0.250	1.250	9.441	29.169
S15	ESM	9.782	2.914	2.471	1.259	3.683	2.145	1.963	2.483	0.556	0.513	0.223	1.298	8.793	28.301
	QAMS		2.937	2.499	1.275	3.721	2.194	1.987	2.531	0.562	0.526	0.219	1.279	8.869	28.599

计算各批次颈痛颗粒样品与最差参考序列的关联度 $R_{n(i)}$ 。再按照公式 $R_n = R_{n(a)} / (R_{n(a)} + R_{n(i)})$ 计算各批次颈痛颗粒样品的 R_n , R_n 在 0~1, 数值越大, 表明被评价对象的综合质量越好, 反之则越差, 结果见表 9。由此可知, 样品 S13、S15、S12 和 S14 位于排名前 4 位, 综合质量最佳, 样品 S8、S10、S11 和 S9 位于排名后 4 位, 综合质量相对较差, 灰色关联度分析排序结果与颈痛颗粒中 13 种成分质量分数之和结果相呼应。表明本研究所建立的灰色关联度分析法可用于颈痛颗粒的综合质量评价。

3 讨论

本实验在制备供试品溶液时, 首先筛选了提取溶剂: 70% 甲醇^[7-8]、甲醇^[9-10]、70% 乙醇^[14], 结果发现 70% 乙醇提取时, 所测 13 种成分的提取率较高。接着对提取方式及时间进行了考察, 采用超声^[11-13]和加热回流^[14-16], 时间分别为 30、45、60 min, 结果发现加热回流提取 30 min 时, 13 种成分的提取率最高, 杂质干扰最少。综合考虑, 最终确定以 70% 乙醇加热回流提取 30 min 为颈痛颗粒供试品最佳提取方式。

表8 颈痛颗粒中13种成分质量分数数据规格化处理结果

Table 8 Normalization results of content data of 13 components of Jingtong Granules

编号	三七皂苷 R_1	人参皂苷 R_{g_1}	人参皂苷 R_{b_1}	3'-羟基葛根素	葛根素	3'-甲氧基葛根素	洋川芎内酯A	藁本内酯	延胡索乙素	去氢紫堇碱	紫堇碱	羌活醇	异欧前胡素
S1	1.320 1	0.997 3	1.102 0	0.898 6	0.923 0	0.949 4	0.870 6	1.206 3	0.899 4	1.157 9	0.943 6	1.076 9	0.927 4
S2	1.470 4	1.130 3	0.790 1	1.042 5	0.825 7	0.922 2	1.205 9	1.247 4	0.959 3	1.294 0	0.916 2	1.049 6	1.075 3
S3	1.187 1	0.954 1	0.911 0	0.943 9	1.024 5	1.406 1	1.043 6	1.000 7	1.123 6	1.143 2	0.998 3	0.941 4	0.987 2
S4	1.270 6	1.034 0	1.039 0	0.966 4	0.989 4	0.971 1	0.988 0	1.106 8	1.006 3	1.235 3	1.029 1	0.995 0	0.956 7
S5	1.235 6	1.079 4	0.883 1	1.014 4	1.096 1	1.003 0	1.091 6	1.171 6	1.068 8	1.262 6	1.059 8	0.913 2	1.044 4
S6	1.103 7	0.908 6	0.843 8	0.921 4	1.049 4	1.142 7	1.157 1	1.076 9	1.180 9	1.120 2	0.967 5	0.878 1	1.015 7
S7	1.030 0	0.861 6	1.168 1	0.988 2	1.002 8	0.875 4	0.773 8	1.006 2	0.847 2	1.005 0	0.878 6	0.972 6	0.859 4
S8	0.590 8	0.743 9	0.700 3	0.778 9	0.781 7	0.763 3	1.121 7	0.958 2	0.594 4	0.592 5	1.275 2	0.802 1	0.742 7
S9	0.837 9	0.740 6	0.667 2	0.838 6	0.824 0	0.796 6	1.255 4	1.054 7	0.656 9	0.718 2	1.247 9	0.827 4	0.801 3
S10	0.644 5	0.717 6	0.612 5	0.810 4	0.798 3	0.821 7	1.279 8	0.980 4	0.539 6	0.774 7	1.316 2	0.771 9	0.772 4
S11	0.908 1	0.760 9	0.765 3	0.858 4	0.862 1	0.893 9	1.069 5	0.761 1	0.683 0	0.705 6	1.213 7	0.848 8	0.833 6
S12	0.774 2	1.217 4	1.511 1	1.276 3	1.233 8	1.256 3	0.630 6	0.817 3	1.355 6	0.644 9	0.827 4	1.266 9	1.241 2
S13	0.803 0	1.319 7	1.444 9	1.224 0	1.285 4	1.183 3	0.933 9	0.881 6	1.410 3	1.176 7	0.724 8	1.191 9	1.274 6
S14	0.874 1	1.167 0	1.244 6	1.189 8	1.096 7	1.219 3	0.821 5	0.795 1	1.209 6	1.067 8	0.854 7	1.218 2	1.272 5
S15	0.949 8	1.367 9	1.316 9	1.248 2	1.207 3	0.795 9	0.757 1	0.936 0	1.465 1	1.101 3	0.748 7	1.246 5	1.195 4

表9 15批次颈痛颗粒样品与最优参考序列、最差参考序列的关联度及 R_n Table 9 Correlation degree to best reference sequence and worst reference sequence and R_n of 15 batches of Jingtong Granules

编号	$R_{n(a)}$	$R_{n(i)}$	R_n	排序
S1	0.528 2	0.525 2	0.501 4	10
S2	0.619 4	0.505 5	0.550 6	5
S3	0.549 2	0.496 7	0.525 1	7
S4	0.535 1	0.496 2	0.518 9	8
S5	0.572 0	0.477 2	0.545 2	6
S6	0.522 8	0.516 0	0.503 3	9
S7	0.453 0	0.585 7	0.436 1	11
S8	0.415 5	0.834 4	0.332 4	15
S9	0.455 6	0.720 0	0.387 5	12
S10	0.457 7	0.793 3	0.365 9	14
S11	0.420 9	0.712 8	0.371 3	13
S12	0.669 4	0.537 4	0.554 7	3
S13	0.706 5	0.470 2	0.600 4	1
S14	0.603 9	0.492 6	0.550 8	4
S15	0.666 7	0.506 2	0.568 4	2

在HPLC定量控制指标成分的选择时,本实验参考中药质量标志物选取原则,以君药成分为首选,同时兼顾臣、佐、使药成分,选取君药三七药效成分三七皂苷 R_1 、人参皂苷 R_{g_1} 和人参皂苷 R_{b_1} ,臣药川芎代表性成分洋川芎内酯A、藁本内酯和延胡

索活性成分延胡索乙素、去氢紫堇碱、紫堇碱,佐药葛根药效成分3'-羟基葛根素、葛根素、3'-甲氧基葛根素和羌活主要成分羌活醇和异欧前胡素为指标成分,采用QAMS法建立了颈痛颗粒多指标成分定量控制方法,结果显示所建立的质控方法操作便捷、结果准确可靠,外标法实测值与QAMS法计算值无显著差异,同时颈痛颗粒中13种成分含量存在一定批间差异,表明所建立的方法对稳定颈痛颗粒整体质量具有重要意义。本课题组在试验过程中曾参考相关文献尝试将阿魏酸纳入指标成分,但因颈痛颗粒方中川芎、羌活和威灵仙均含有阿魏酸,作为指标成分专属性不强,对颈痛颗粒原药材来源和生产过程质量控制意义不大,故最终未将该成分纳入指标成分中。采用灰色关联度分析法对15批次颈痛颗粒中13种成分含量检测结果进行了综合质量评价,建立了颈痛颗粒产品质量综合评价方法,所建立的方法可用于颈痛颗粒产品质量优劣评价, R_n 数值越大,被评价对象质量越好,根据灰色关联度分析法中 R_n 结果有助于药品生产企业通过数据对比,挖掘原药材-半成品-成品间各成分含量变化关系,不断稳定原药材来源,降低生产过程药效成分含量损耗,同时结合药效学研究成果,为颈痛颗粒内在产品质量的提升和确保临床疗效一致性提供新的思路。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2020.
Pharmacopoeia of the People's Republic of China [S]. Volume I. 2020.
- [2] 韩龙, 刘大伟. 中频电疗辅助颈痛颗粒在神经根型颈椎病治疗中的效果 [J]. 中国疗养医学, 2021, 30(11): 1183-1185.
Han L, Liu D W. Effect of medium frequency electrotherapy assisted Jingtong Granule in the treatment of cervical spondylotic radiculopathy [J]. Chin J Conval Med, 2021, 30(11): 1183-1185.
- [3] 白莹, 何战飞. 颈痛颗粒配合针灸、推拿、牵引治疗神经根型颈椎病的临床效果 [J]. 临床医学研究与实践, 2019, 4(29): 142-143.
Bai Y, He Z F. Clinical effect of Jingtong Granule combined with acupuncture, massage and traction in the treatment of cervical spondylotic radiculopathy [J]. Clin Res Pract, 2019, 4(29): 142-143.
- [4] 张婧, 徐传彬, 刘杰, 等. HPLC法测定颈痛颗粒中阿魏酸的含量 [J]. 食品与药品, 2017, 19(1): 39-41.
Zhang Q, Xu C B, Liu J, et al. Determination of ferulic acid in Jingtong Granules by HPLC [J]. Food Drug, 2017, 19(1): 39-41.
- [5] 付翠莉, 郭炎荣. RP-HPLC法测定颈痛颗粒中葛根素和芍药苷的含量 [J]. 中国药师, 2009, 12(11): 1555-1557.
Fu C L, Guo Y R. Determination of puerarin and paeoniflorin in Jingtong Granules by RP-HPLC [J]. Chin Pharm, 2009, 12(11): 1555-1557.
- [6] 李力, 潘倩雯, 刘宏. 灰色关联度分析法在中药谱效学研究中的应用 [J]. 中国药房, 2018, 29(11): 1581-1584.
Li L, Pan Q W, Liu H. Application of grey correlation analysis in the study of spectrum efficiency of traditional Chinese medicine [J]. China Pharm, 2018, 29(11): 1581-1584.
- [7] 董媛, 李海亮, 王楠, 等. 一测多评法测定三七总皂苷中5个皂苷的含量 [J]. 药物分析杂志, 2022, 42(3): 518-524.
Dong Y, Li H L, Wang N, et al. Determination of five saponins in extract of notoginseng total saponins by quantitative analysis of multi-components by single marker [J]. Chin J Pharm Anal, 2022, 42(3): 518-524.
- [8] 曹桂萍, 王玉龙, 袁华, 等. HPLC法同时测定损伤丸中三七皂苷R₁和人参皂苷R_{g1}、人参皂苷R_{b1}的含量 [J]. 中国处方药, 2020, 18(9): 31-32.
Cao G P, Wang Y L, Yuan H, et al. Simultaneous determination of notoginsenoside R₁, ginsenoside R_{g1} and ginsenoside R_{b1} in Shangshi pills by HPLC [J]. J China Prescr Drug, 2020, 18(9): 31-32.
- [9] 袁铭铭, 周国平, 熊晓丽, 等. 高效液相色谱法测定虎力散片中三七皂苷R₁、人参皂苷R_{g1}和R_{b1}的含量 [J]. 药品评价, 2021, 18(21): 1289-1292.
Yuan M M, Zhou G P, Xiong X L, et al. Determination of notoginsenoside R₁, ginsenosides R_{g1} and R_{b1} in hulisan tablets by HPLC [J]. Drug Eval, 2021, 18(21): 1289-1292.
- [10] 付鹏, 李江, 李娇, 等. 七龙天胶囊HPLC指纹图谱研究及4种成分的含量测定 [J]. 中华中医药杂志, 2021, 36(3): 1594-1597.
Fu P, Li J, Li J, et al. Study on HPLC fingerprint of Qilongtian Capsule and content determination of four components [J]. China J Tradit Chin Med Pharm, 2021, 36(3): 1594-1597.
- [11] 陈丽竹, 祝德秋. 双内标高效液相色谱法测定人参中3种人参皂苷的含量 [J]. 山西医药杂志, 2022, 51(11): 1203-1206.
Chen L Z, Zhu D Q. The Determination of three ginsenosides in ginseng using a double-internal standard method by HPLC [J]. Shanxi Med J, 2022, 51(11): 1203-1206.
- [12] 杨艳, 刘云华, 黄志芳, 等. 一测多评法测定川芎、当归中洋川芎内酯A和藁本内酯的含量 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(3): 58-62.
Yang Y, Liu Y H, Huang Z F, et al. Determination of senkyunolide A and ligustilide in *Chuanxiong rhizoma* and *Angelicae Sinensis Radix* by QAMS [J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2015, 21(3): 58-62.
- [13] 林家寿. 高效液相色谱法测定延胡索中延胡索乙素、延胡索丙素、小檗碱的含量及不同炮制品稳定性研究 [J]. 世界中西医结合杂志, 2016, 11(3): 348-351, 380.
Lin J S. The study of high performance liquid chromatography in the detection of the content of tetrahydropalmatine, protopine, berberine and the stability of different processed products [J]. World J Integr Tradit West Med, 2016, 11(3): 348-351, 380.
- [14] 李俊霞, 刘松, 游秋霞. 高效液相色谱-一测多评法同时测定金佛止痛丸中8种成分含量 [J]. 中国药业, 2022, 31(15): 71-75.
Li J X, Liu S, You Q X. Simultaneous determination of eight components in Jinfo Zhitong Pills by the HPLC-QAMS [J]. China Pharm, 2022, 31(15): 71-75.
- [15] 徐容, 施天慧. 基于HPLC指纹图谱、多指标成分含量测定及化学计量学的延胡索不同炮制品质量评价 [J]. 药物分析杂志, 2022, 42(5): 856-865.
Xu R, Shi T H. Quality evaluation of *Corydalis Rhizoma* processed by different methods based on combinative methods of HPLC fingerprint, quantitative analysis of multi-components and chemometric analysis [J]. Chin J Pharm Anal, 2022, 42(5): 856-865.
- [16] 张桐, 李凯, 曹晓燕, 等. 不同气候因素对延胡索中8种

- 生物碱含量的影响 [J]. 陕西农业科学, 2022, 68(5): 46-50, 72.
- Zhang T, Li K, Cao X Y, et al. Effects of different climate factors on contents of eight alkaloids in *Corydalis rhizoma* [J]. Shaanxi J Agric Sci, 2022, 68(5): 46-50, 72.
- [17] 郭慧清, 王梓轩, 张泽坤, 等. 基于多成分定量分析的不同商品规格羌活的质量评价 [J]. 中药材, 2018, 41(7): 1651-1655.
- Guo H Q, Wang Z X, Zhang Z K, et al. Quality evaluation of *Notopterygium Rhizoma* with different commercial specifications based on multi-component quantitative analysis [J]. J Chin Med Mater, 2018, 41(7): 1651-1655.
- [18] 彭任, 王君阳, 杨爱萍, 等. 羌活薄层色谱和HPLC指纹图谱结合多成分含量测定的质量评价方法研究 [J]. 南京中医药大学学报, 2020, 36(5): 629-634.
- Peng R, Wang J Y, Yang A P, et al. Study on quality evaluation methods of *Notopterygium incisum* by HPTLC, HPLC fingerprint and multi-components quantitative analysis [J]. J Nanjing Univ Tradit Chin Med, 2020, 36(5): 629-634.
- [19] 刘卫根, 王亮生, 周国英, 等. 羌活不同部位有机酸和香豆素类化合物含量的比较研究 [J]. 药物分析杂志, 2012, 32(11): 1950-1956, 1967.
- Liu W G, Wang L S, Zhou G Y, et al. Comparison of the contents of organic acids and coumarin compounds in different parts of *Notopterygium incisum* [J]. Chin J Pharm Anal, 2012, 32(11): 1950-1956, 1967.
- [20] 谭东明, 魏杰, 尹红英. 高效液相色谱梯度洗脱法同时测定灵龙感冒胶囊中9种成分含量 [J]. 医药导报, 2020, 39(10): 1399-1404.
- Tan D M, Wei J, Yin H Y. Simultaneous determination of nine compositions in Linglong Ganmao Capsules by HPLC gradient elution method [J]. Her Med, 2020, 39(10): 1399-1404.

[责任编辑 兰新新]