

一测多评法同时测定补肾清利颗粒中 8 种成分

董 迎¹, 夏彦铭¹, 狄留庆^{1,2,3}, 李俊松^{1,2,3}, 赵晓莉^{1,2,3*}

1. 南京中医药大学药学院, 江苏 南京 210023

2. 江苏省中药高效给药系统工程技术研究中心, 江苏 南京 210046

3. 南京市中药微丸产业化工程技术研究中心, 江苏 南京 210046

摘要: 目的 建立一测多评(QAMS)法同时测定补肾清利颗粒(BQG)中 8 种成分京尼平苷酸(GA)、绿原酸、槲皮苷、滨蒿内酯、丹酚酸 B(SAB)、黄芩苷、槲皮素 7-O- α -L-鼠李糖苷(QR)及黄芩素的方法, 验证该法在 BQG 中应用的可行性和技术适应性。方法 以 8 种成分为研究对象, 利用 QAMS 3 种校正方法计算各待测成分与内参物滨蒿内酯的相对校正因子($f_{k/s}$), 推算待测组分量; 对回归方程和 3 种校正方法计算值与外标法实测值进行误差和相关性评价。结果 8 种目标成分在一定范围内线性关系良好($r>0.999\ 9$), 滨蒿内酯与 GA、绿原酸、槲皮苷、SAB、黄芩苷、QR 及黄芩素的 $f_{k/s}$ 分别是 0.562、0.818、0.627、0.877、0.935、1.113、2.339, 且在不同条件下重现性良好; 6 批样品中各成分量分别为 GA 1.633~1.736 mg/g、绿原酸 1.777~1.950 mg/g、槲皮苷 6.017~6.422 mg/g、滨蒿内酯 1.765~1.851 mg/g、SAB 2.326~2.522 mg/g、黄芩苷 19.476~21.329 mg/g、QR 3.077~3.265 mg/g 及黄芩素 0.161~0.186 mg/g, 且计算所得量与实测量测定结果无显著差异。结论 QAMS 法为 BQG 提供了一个快捷可行的多指标同步质量评价模式。

关键词: HPLC; 一测多评法; 补肾清利颗粒; 相对校正因子; 京尼平苷酸; 绿原酸; 槲皮苷; 滨蒿内酯; 丹酚酸 B; 黄芩苷; 槲皮素 7-O- α -L-鼠李糖苷; 黄芩素; 质量评价

中图分类号: R286.02

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2017)24-5158-10

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2017.24.016

Simultaneous determination of eight ingredients in Bushen Qingli Granules by HPLC-QAMS

DONG Ying¹, XIA Yan-ming¹, DI Liu-qing^{1,2,3}, LI Jun-song^{1,2,3}, ZHAO Xiao-li^{1,2,3}

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

2. Jiangsu Engineering Research Center for Efficient Delivery System of TCM, Nanjing 210046, China

3. Nanjing Engineering and Technology Research Center for TCM Pellets, Nanjing 210046, China

Abstract: Objective To establish a novel method for QAMS to realize simultaneous determination of eight ingredients in Bushen Qingli Granules (BQG), including geniposidic acid (GA), chlorogenic acid, geniposide, scoparone, salvianolic acid B (SAB), baicalin, quercetin-7-O- α -L-rhamnoside (QR), and baicalein, and to verify the feasibility and technical adaptability of this method for application in BQG. **Methods** Taking BQG as research objects and the above eight components as indexes, three correction methods of QAMS were used to calculate the relative correction factor ($f_{k/s}$) of each tested component and 6,7-dimethoxycoumarin regarded as reference, in order to estimate the content of each component; The error and correlation evaluation was carried out by comparing the calculated values of the regression equation and three correction methods with the real data of the external reference. **Results** Within certain linear ranges, eight kinds of target components showed good linear relationships ($r > 0.999\ 9$). The values of relative correction factors (RCF) of scoparone to GA, chlorogenic acid, geniposide, SAB, baicalin, QR, and baicalein respectively were 0.562, 0.818, 0.627, 0.877, 0.935, 1.113, and 2.339, and the RCF had a good reproducibility. The contents of eight components of six batches of samples were GA 1.633—1.736 mg/g, chlorogenic acid 1.777—1.950 mg/g, geniposide 6.017—6.422 mg/g, scoparone

收稿日期: 2017-07-25

基金项目: 江苏省科技厅产学研前瞻性联合项目 (BY2013008-01); 江苏高校优势学科建设工程资助项目 (2015)

作者简介: 董 迎 (1992—), 女, 硕士研究生, 研究方向为中药高效给药系统剂型设计与评价研究。

Tel: (025)85811230 E-mail: dying_sunshine@163.com

*通信作者 赵晓莉 (1976—), 女, 博士, 副研究员, 硕士研究生导师, 研究方向为中药高效给药系统剂型设计与评价研究。

E-mail: xlee_zhao@163.com

1.765—1.851 mg/g, SAB 2.326—2.522 mg/g, baicalin 19.476—21.329 mg/g, QR 3.077—3.265 mg/g, and baicalein 0.161—0.186 mg/g. No significant difference was found in these tested results by comparing the measured values and the real values. **Conclusion** The QAMS method can provide a quick and feasible method with simultaneous determination to establish multitude index quality evaluation model for BQG.

Key words: HPLC; QAMS; Bushen Qingli Granules; relative correction factor; geniposidic acid; chlorogenic acid; gardenoside; scoparone; salvianolic acid B; baicalin; quercetin-7-*O*- α -L-rhamnoside; baicalein; quality evaluation

中药及其制剂具有“多成分、多靶点、整合作用”特点,仅利用单一成分或指标性成分对其进行定量分析难以实现对单味药材或制剂整体质量评价和控制,因此建立良好的多指标综合中药质量控制和评价模式的思路应运而生^[1],但中药多成分定量和多指标质量控制所需的对照品缺乏、单体不稳定或价格昂贵等问题又制约了这一发展趋势。王智民等^[2]提出了一测多评(QAMS)的新型中药质量控制评价体系,利用中药及其复方中有效成分间存在的内在函数关系,以某种易得且价廉的成分为内参物,利用药材或复方中各成分的比例关系计算相对校正因子推算出其他待测组分的量,实现多个成分的同步监控。QAMS法在黄连、人参、黄芩等中药饮片^[3-5]和双青咽喉片、六味地黄软胶囊等中成药^[6-7]多指标定量测定中的成功应用,表明其在中药及其复方等复杂体系的研究中可发挥独特优势。

妊娠期肝内胆汁淤积症(ICP)是妊娠中晚期特有的并发症,对产妇和胎儿均会产生危害,对胎儿尤甚,使胎儿死亡率明显增加;临床上熊去氧胆酸(UDCA)作为治疗ICP的首选药物,仅能局部针对性治疗,早期使用有致畸风险,停药后会发生反跳现象^[8]。中药复方补肾清利^[9]由杜仲、黑山栀、茵陈蒿、地骨皮、黄芩、丹参、郁金、田基黄、云茯苓和白藓皮10种药材饮片组成,是江苏省中医院妇产科主任医师周慧芳教授所用临床验方,在此基础上,研制成中药制剂补肾清利颗粒(BQG),单用或联合UDCA用于治疗ICP。目前针对BQG的研究多集中于其临床疗效考察,对其有效成分及定性定量、成分-药效关系、有效组分作用机制等探讨研究几乎未曾展开;此外,妊娠期用药考虑到对母体和胎儿的影响,应进行必要的药理毒理分析,制定相应的质量控制和评价标准严格用药。

因此,本实验参考《中国药典》2015年版,选取补肾清利复方单味药中最具代表性的8种活性成分京尼平苷酸(geniposidic acid, GA)、绿原酸、栀子苷、滨蒿内酯、丹酚酸B(salvianolic acid B, SAB)、黄芩苷、槲皮素7-*O*- α -L-鼠李糖苷(quercetin-7-*O*-

α -L-rhamnoside, QR)及黄芩素,其总量约占总量40%以上,各成分现代药理研究较为清楚,利用QAMS法对该8种成分进行比例关系考察和同一色谱条件下同步测定,并验证该方法测得结果的准确性、可行性和适用性,为后续该中药制剂作用机制和药效、毒理等深入研究奠定基础。

1 仪器与材料

Waters e2695 高效液相色谱仪,美国 Waters 公司; Agilent 1260 高效液相色谱仪,美国 Agilent 公司; XP6 电子天平,百万分之一天平,瑞士 Mettler Toledo 公司; BT25s 电子天平,十万分之一天平,德国 Sartorius 公司; FA1204B 天平,万分之一天平,上海精密科学仪器有限公司; 色谱柱: Heder C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μ m, 江苏汉邦科技有限公司); Agilent TC-C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μ m, 美国 Agilent Technologies 公司); Sepax GP-C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μ m, 苏州赛分科技有限公司); Milli-Q Synergy 108 超纯水仪,美国 Millipore 公司。

对照品 GA(批号 Y20S7H21459, 质量分数为 98.52%)、栀子苷(批号 K04A6B1, 质量分数为 98.94%)、QR(批号 P18S7F21110, 质量分数为 99.43%)、滨蒿内酯(批号 R27J3F1, 质量分数为 98.33%)、SAB(批号 Y14M7H14804, 质量分数为 98.23%)和黄芩素(批号 C02A6Y1, 质量分数为 98.85%)均购于上海源叶生物科技有限公司; 对照品绿原酸(批号 110753-201314, 质量分数为 99.68%)和黄芩苷(批号 110715-201318, 质量分数为 98.51%)购自中国食品药品检定研究院; 所有对照品均经 HPLC 峰面积归一化法检测质量分数。甲醇,分析纯;重蒸去离子水,密理博 Synergy 超纯水仪制备;其他试剂均为分析纯。

补肾清利颗粒样品自制,批号 161117、161124、161202、161210、161218、161226。分别取杜仲 *Eucommiae Cortex*、黑山栀(栀子炒至外皮呈黑色) *Gardeniae Fructus*、茵陈蒿 *Artemisiae Scopariae Herba*、地骨皮 *Lycii Cortex*、黄芩 *Scutellariae Radix*、丹参 *Salvae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma*、郁金

Curcumae Radix、田基黄（藤黄科植物地耳草 *Hypericum japonicum* Thunb. 的全草）、云茯苓 *Poria* 和白藓皮 *Dictamni Cortex* 10 种中药饮片，加入 10 倍量水浸泡 0.5 h 后，煎煮 2 次，每次 1 h，合并 2 次所得煎液，减压浓缩至 300 mL，真空干燥（-0.08 MPa，60 ℃），收集干浸膏；粉碎干浸膏，过 80 目筛后，得干浸膏粉。将上述干浸膏粉与可溶性淀粉、乳糖以 1:0.8:0.3 的比例充分混合，以 90% 乙醇为黏合剂，挤出制粒，整粒，即得。

2 方法与结果

2.1 溶液的制备

2.1.1 供试品溶液的制备 取本品颗粒约 1.0 g，精密称定，研钵中研细（过 3 号筛），置 100 mL 具塞锥形瓶中，精密加入甲醇 25 mL，密塞，称定质量，置水浴上加热回流 30 min 后，取出，放冷，称定质量，甲醇补足减失的质量，摇匀，滤过，接取续滤液，1 000 r/min 离心 10 min 后，吸取上清液，即得。

2.1.2 混合对照品溶液的制备 分别精密称取 GA、绿原酸、栀子苷、滨蒿内酯、SAB、黄芩苷、QR 和黄芩素 8 种对照品置于 10 mL 棕色量瓶中，以甲醇溶解并定容至刻度，配制成 8 种成分质量浓度分别为 163.0、122.1、484.1、161.0、161.4、1 211.4、249.1、36.3 μg/mL 的混合对照品溶液。

2.1.3 阴性对照溶液的制备 取按处方比例及制备工艺分别制得缺杜仲、缺黑山栀、缺茵陈、缺杜仲-黑山栀-茵陈（无绿原酸）、缺丹参、缺黄芩及缺田基黄的阴性对照样品，并按照“2.1.2”项下方法配制阴性对照溶液。

2.2 色谱条件

色谱柱为 *Hedera* C₁₈ 柱（250 mm×4.6 mm，5 μm）；流动相为甲醇-0.4%磷酸水溶液，梯度洗脱程序：0~5 min，15%甲醇；5~8 min，15%~20%甲醇；8~15 min，20%甲醇；15~18 min，20%~30%甲醇；18~25 min，30%甲醇；25~28 min，30%~35%甲醇；28~35 min，35%甲醇；35~38 min，35%~40%甲醇；38~48 min，40%甲醇；48~55 min，40%~55%甲醇；55~63 min，55%甲醇；63~65 min，55%~60%甲醇；65~70 min，60%甲醇；70~75 min，60%~70%甲醇；75~80 min，70%甲醇；80~85 min，70%~15%甲醇。体积流量 1 mL/min；柱温（30±5）℃；进样体积 10 μL；检测波长 254 nm。

2.3 系统适应性及专属性试验

精密吸取混合供试品溶液、对照品溶液及阴性

对照溶液各 10 μL，进样分析，结果见图 1。各成分与其相邻色谱峰的分离度均大于 1.5，拖尾因子在 0.89~1.21，理论塔板数以各色谱峰计算均在 5 000 以上。阴性对照溶液在相应位置处未见有色谱峰，方法专属性良好。

2.4 线性关系考察

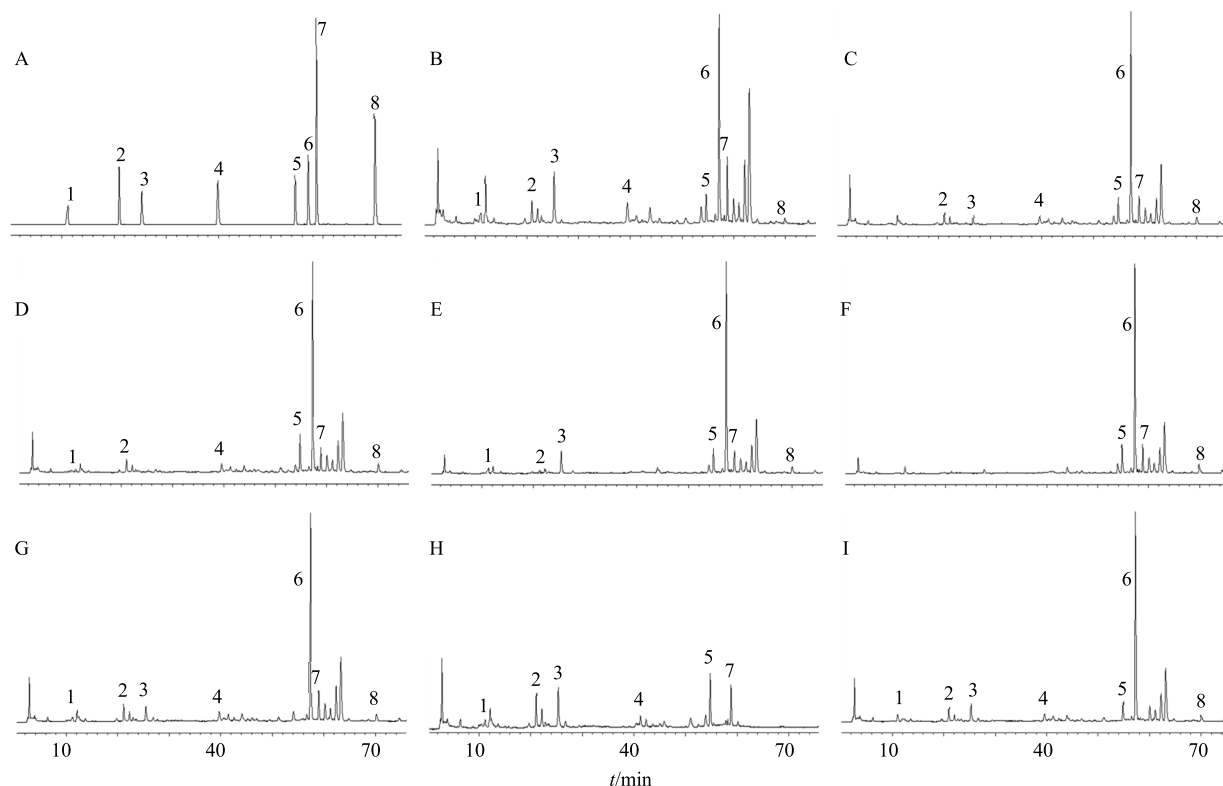
取“2.1.2”项下混合对照品储备液，分别精确量取适量置 2 mL 棕色量瓶中，用甲醇定容至刻度，制备稀释 2、4、8、16、32、64 倍系列对照品溶液。精密吸取系列对照品溶液 10 μL，注入液相色谱仪，以对照品质量浓度为横坐标（*X*），峰面积为纵坐标（*Y*）绘制标准曲线，建立线性回归方程，同系列混合对照品制备方法逐级稀释，分别以信噪比 *S/N* 为 3 和 10 考察检测限和定量限，结果表明各对照品在一定的质量浓度范围内其线性关系良好，结果见表 1。

2.5 方法学考察

2.5.1 精密度试验 取“2.1.2”项下混合对照品溶液，连续进样 6 次，记录各组分色谱峰峰面积，考察日内精密度；连续 6 d，每天进样测定 1 次，考察日间精密度。结果表明 GA、绿原酸、栀子苷、滨蒿内酯、SAB、黄芩苷、QR 和黄芩素 8 种成分日内保留峰面积 RSD 在 0.98%、0.82%、0.98%、0.80%、0.73%、0.70%、0.74%、0.72%；日间保留峰面积 RSD 在 0.48%、0.78%、1.60%、2.65%、1.46%、1.18%、1.12%和 0.97%，以上结果表明该仪器精密度良好。

2.5.2 稳定性试验 取批号为 161117 的样品按照“2.1.1”项下方法制备供试品溶液，分别于配制后 0、2、4、8、12、24、36、48 h 注入液相色谱仪，记录各组分色谱峰峰面积。结果表明 GA、绿原酸、栀子苷、滨蒿内酯、SAB、黄芩苷、QR 和黄芩素的峰面积 RSD 值分别为 1.91%、2.33%、2.61%、2.24%、2.33%、2.61%、2.53%、2.31%，说明该供试品溶液在 48 h 内稳定性良好。

2.5.3 重复性试验 取批号为 161117 的样品按照“2.1.1”项下方法平行制备 6 份供试品溶液，按“2.2”项下色谱条件进样测定分析，记录 GA、绿原酸、栀子苷、滨蒿内酯、SAB、黄芩苷、QR 和黄芩素 8 种成分的峰面积，计算其质量分数及 RSD。结果测得上述各待测成分平均质量分数分别为 1.864、1.712、6.184、1.814、2.520、20.217、3.333、0.166 mg/g，RSD 值分别为 1.92%、2.84%、2.44%、1.52%、2.91%、2.64%、1.83%、2.28%，该结果表明本方法的重复性良好。



1-GA 2-绿原酸 3-栀子苷 4-滨蒿内酯 5-SAB 6-黄芩苷 7-QR 8-黄芩素

1-geniposidic acid 2-chlorogenic acid 3-gardenoside 4-scoparone 5-salvianolic acid B 6-baicalin 7-quercetin-7-O- α -L-rhamnoside 8-baicalein

图 1 混合对照品 (A), BQG 供试品 (B), 缺杜仲阴性样品 (C), 缺黑山栀阴性样品 (D), 缺茵陈阴性样品 (E), 缺杜仲、黑山栀、茵陈阴性样品 (F), 缺丹参阴性样品 (G), 缺黄芩阴性样品 (H), 缺田基黄阴性样品 (I) 的 HPLC 图

Fig. 1 HPLC of mixed reference substances (A), BQG (B), negative sample without *Eucommiae Cortex* (C), without *Gardeniae Fructus* (D), without *Artemisiae Scopariae Herba* (E), without *Eucommiae Cortex*, *Gardeniae Fructus*, and *Artemisiae Scopariae Herba* (F), without *Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma* (G), without *Scutellariae Radix* (H), without *Hypericum japonicum* (I)

表 1 8 种成分的线性关系考察

Table 1 Results of liner relationships for eight ingredients

成分	t_R/min	标准曲线	r	线性范围/ $(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$	检测限/ $(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$	定量限/ $(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$
GA	10.8	$Y=6.93\times 10^6 X-636.28$	0.999 9	5.10~163.04	4.86	16.19
绿原酸	20.9	$Y=1.00\times 10^7 X-3\ 433.5$	0.999 9	1.91~122.07	1.22	4.08
栀子苷	25.2	$Y=7.69\times 10^6 X+2\ 394.7$	0.999 9	7.56~484.08	2.98	9.92
滨蒿内酯	39.8	$Y=1.24\times 10^7 X-6\ 291.5$	1.000 0	2.52~160.96	2.41	8.03
SAB	54.8	$Y=1.07\times 10^7 X-543.60$	0.999 9	2.52~161.44	1.71	5.70
黄芩苷	57.2	$Y=1.13\times 10^7 X+33\ 098$	0.999 9	18.93~1\ 211.40	1.50	5.01
QR	58.9	$Y=1.37\times 10^7 X+2\ 947.6$	0.999 9	3.89~249.12	1.17	3.91
黄芩素	70.0	$Y=2.97\times 10^7 X-6\ 635.9$	0.999 9	1.13~36.27	0.86	2.88

2.5.4 加样回收率试验 称取已测定各指标成分量的样品 (批号 161117) 6 份, 每份精密称取 1.0 g, 置圆底烧瓶中, 分别精密加入含有与样品中等量的 GA、绿原酸、栀子苷、滨蒿内酯、SAB、黄芩苷、QR 和黄芩素 8 种成分的混合对照品溶液, 按照“2.1.1”项下方法制备加样回收率试验供试品溶液,

按照“2.2”项下色谱条件进行测定, 计算溶液中对照品量和各成分加样回收率。结果表明各待测成分的平均加样回收率分别为 98.00%、97.72%、97.60%、97.60%、100.71%、98.21%、99.06%、101.33%, 其 RSD 分别为 2.20%、2.76%、2.45%、2.27%、2.66%、2.53%、2.61%、2.84%, 结果表明方法准确性较好。

2.6 QAMS 法的建立

2.6.1 相对校正因子 ($f_{k/s}$) 的计算

(1) 多点校正法 (MPC): 参照文献方法^[6,10], 以混合对照品溶液的多个质量浓度点分别进样, 计算所得相对校正因子的平均值作为 $f_{k/s}$ 。本实验选定滨蒿内酯为参照物质 (s), 分别计算不同进样体积

下的 $f_{k/s}$ 值, 待测成分质量浓度计算公式为 $C_k = C_s A_k / (f_{k/s} A_s)$, 式中 C_s 为参照物质质量浓度, A_s 为参照物质色谱峰峰面积, C_k 为待测成分对照组分质量浓度, A_k 为待测成分色谱峰峰面积。分别计算 7 种待测成分与滨蒿内酯的 $f_{k/s}$, 结果见表 2。

(2) 斜率校正法 (SC): 根据文献报道^[6], 斜率

表 2 以滨蒿内酯为参照物的 $f_{k/s}$ (MPC)
Table 2 $f_{k/s}$ with scoparone as reference (MPC)

进样体积/ μL	$f_{\text{GA/滨蒿内酯}}$	$f_{\text{绿原酸/滨蒿内酯}}$	$f_{\text{栀子苷/滨蒿内酯}}$	$f_{\text{SAB/滨蒿内酯}}$	$f_{\text{黄芩苷/滨蒿内酯}}$	$f_{\text{QR/滨蒿内酯}}$	$f_{\text{黄芩素/滨蒿内酯}}$
1.0	0.553	0.824	0.631	0.890	0.954	1.150	2.284
2.0	0.563	0.822	0.631	0.879	0.932	1.106	2.313
3.0	0.570	0.822	0.630	0.879	0.929	1.104	2.341
4.0	0.568	0.817	0.626	0.873	0.961	1.108	2.339
5.0	0.559	0.814	0.622	0.873	0.917	1.102	2.366
10.0	0.561	0.810	0.622	0.869	0.914	1.106	2.389
平均值	0.562	0.818	0.627	0.877	0.935	1.113	2.339
RSD/%	1.10	0.66	0.69	0.85	2.05	1.67	1.59

校正因子 $f_{k/s} = a_k / a_s$, a_k 为待测成分标准曲线斜率, a_s 为内参物标准曲线斜率, 即为两者斜率之比, 而后推算出其他待测成分的量^[11]。由 MPC 中获得的各成分的标准曲线, 可得到各标准曲线的 a 。结果测得 GA、绿原酸、栀子苷、SAB、黄芩苷、QR 和黄芩素相较于参照物质滨蒿内酯的 $f_{k/s}$ 分别为 0.559、0.810、0.620、0.867、0.909、1.102、2.397。

SC 的 $f_{k/s}$ 重复性: 依照“2.1.2”项下方法平行制备 5 份混合对照品储备液, 每份混合对照品溶液按“2.4”项下方法分别制备系列对照品溶液, 分别注入液相色谱仪, 以待测成分峰面积和对照品溶液质量浓度进行线性回归, 绘制标准曲线, 建立回归方程, 得到 a , 根据公式计算得 $f_{k/s}$ 。5 次平行试验测定所得 7 种待测成分与参照物质滨蒿内酯的 $f_{k/s}$ 的 RSD 在 1.50%~2.84%, 该结果表明, SC 测得的 $f_{k/s}$ 重复性良好。

(3) 定量因子: 参考文献报道^[6], a_s 在短期内基本不变的, $f_{k/s}$ 可视为固定值, 因此 a_k 也为定值, 将 a_k 称为定量因子, 即为标准曲线中各成分的斜率。 a_k 仅对同一仪器在相同色谱条件下短期保持恒定, 因此长时间实验要定期做随行标准曲线, 更换仪器、色谱柱等色谱条件要重新建立标准曲线, 以保证结果准确性。该方法计算公式中 $f_{k/s}$ 为 SC 所得, 因此, 定量因子法与 SC 所测得的结果具有一致性。

2.6.2 $f_{k/s}$ 耐用性考察 利用实验室现有仪器与条件, 针对不同仪器、不同色谱柱、不同实验人员、

不同温度和不同体积流量等方面考察不同因素对于 $f_{k/s}$ 的影响。

(1) 不同仪器和不同色谱柱对 $f_{k/s}$ 的影响: 实验分别考察了 2 种色谱系统 (Waters e2695 和 Agilent 1260) 和 3 根色谱柱 (Hedera C₁₈、Sepax GP-C₁₈、Agilent 5 TC-C₁₈) 对各成分与参照物质滨蒿内酯 $f_{k/s}$ 测定的影响。结果 (表 3) 表明测得 GA、绿原酸、栀子苷、SAB、黄芩苷、QR 和黄芩素与参照物质滨蒿内酯 $f_{k/s}$ 的 RSD 在 0.48%~2.26%, 表明该方法具有良好的重复性和适应性。

(2) 不同实验人员对 $f_{k/s}$ 的影响: 本研究考察了 3 名实验人员在同一实验室、同一仪器、同一色谱条件下对于 $f_{k/s}$ 的影响。结果 (表 4) 显示, 不同实验人员操作对 $f_{k/s}$ 结果影响不大, 重复性良好, RSD 在 0.42%~1.68%。

(3) 不同流动相体积流量对 $f_{k/s}$ 的影响: 实验采用 Waters Alliance 高效液相色谱系统, 利用 Hedera C₁₈ 测定在不同体积流量 0.9、1.0、1.1 mL/min 条件下各待测成分间的 $f_{k/s}$ 。结果 (表 5) 表明, GA、绿原酸、栀子苷、SAB、黄芩苷、QR 和黄芩素与参照物质滨蒿内酯 $f_{k/s}$ 的重复性良好, 不同体积流量下, 其 RSD 在 0.93%~1.59%。

(4) 不同柱温对 $f_{k/s}$ 的影响: 实验采用 Waters Alliance 高效液相色谱系统, 利用 Hedera C₁₈ 测定在不同柱温 25、30、35 °C 下各待测成分间的 $f_{k/s}$ 。结果 (表 6) 显示, GA、绿原酸、栀子苷、SAB、

表 3 不同仪器和不同色谱柱对 $f_{k/s}$ 的影响Table 3 Effects of different instruments and chromatographic columns on $f_{k/s}$ values

仪器	色谱柱	$f_{GA}/$ 滨蒿内酯	$f_{绿原酸}/$ 滨蒿内酯	$f_{槲子苷}/$ 滨蒿内酯	$f_{SAB}/$ 滨蒿内酯	$f_{黄芩苷}/$ 滨蒿内酯	$f_{QR}/$ 滨蒿内酯	$f_{黄芩素}/$ 滨蒿内酯
Waters e2695	Hanbon Hedera C ₁₈	0.562	0.818	0.627	0.877	0.935	1.113	2.339
	Sepax GP-C ₁₈	0.562	0.798	0.638	0.847	0.932	1.082	2.319
	Agilent 5 TC-C ₁₈	0.566	0.800	0.624	0.876	0.933	1.119	2.388
Agilent 1260	Hanbon Hedera C ₁₈	0.560	0.790	0.635	0.840	0.926	1.084	2.308
	Sepax GP-C ₁₈	0.562	0.792	0.635	0.830	0.951	1.078	2.295
	Agilent 5 TC-C ₁₈	0.567	0.792	0.635	0.849	0.948	1.059	2.300
	平均值	0.563	0.798	0.632	0.853	0.938	1.089	2.325
	RSD/%	0.48	1.30	0.87	2.26	1.05	2.08	1.49

表 4 不同实验人员对 $f_{k/s}$ 的影响Table 4 Effects of different experimenters on $f_{k/s}$ values

实验人员	$f_{GA}/$ 滨蒿内酯	$f_{绿原酸}/$ 滨蒿内酯	$f_{槲子苷}/$ 滨蒿内酯	$f_{SAB}/$ 滨蒿内酯	$f_{黄芩苷}/$ 滨蒿内酯	$f_{QR}/$ 滨蒿内酯	$f_{黄芩素}/$ 滨蒿内酯
A	0.562	0.818	0.627	0.877	0.935	1.113	2.339
B	0.558	0.803	0.617	0.867	0.910	1.104	2.328
C	0.556	0.800	0.615	0.865	0.906	1.098	2.347
平均值	0.559	0.807	0.620	0.869	0.917	1.105	2.338
RSD/%	0.54	1.19	1.03	0.77	1.68	0.65	0.42

表 5 不同流动相体积流量对 $f_{k/s}$ 的影响Table 5 Effects of different flow rate of mobile phase on $f_{k/s}$ values

流动相体积流量/(mL·min ⁻¹)	$f_{GA}/$ 滨蒿内酯	$f_{绿原酸}/$ 滨蒿内酯	$f_{槲子苷}/$ 滨蒿内酯	$f_{SAB}/$ 滨蒿内酯	$f_{黄芩苷}/$ 滨蒿内酯	$f_{QR}/$ 滨蒿内酯	$f_{黄芩素}/$ 滨蒿内酯
0.9	0.557	0.795	0.626	0.858	0.902	1.097	2.328
1.0	0.563	0.814	0.623	0.872	0.931	1.105	2.365
1.1	0.569	0.797	0.639	0.872	0.919	1.123	2.373
平均值	0.563	0.802	0.629	0.867	0.917	1.108	2.355
RSD/%	1.07	1.30	1.35	0.93	1.59	1.20	1.02

表 6 不同柱温对 $f_{k/s}$ 的影响Table 6 Effects of different column temperature on $f_{k/s}$ values

柱温/°C	$f_{GA}/$ 滨蒿内酯	$f_{绿原酸}/$ 滨蒿内酯	$f_{槲子苷}/$ 滨蒿内酯	$f_{SAB}/$ 滨蒿内酯	$f_{黄芩苷}/$ 滨蒿内酯	$f_{QR}/$ 滨蒿内酯	$f_{黄芩素}/$ 滨蒿内酯
25	0.561	0.788	0.629	0.859	0.897	1.097	2.317
30	0.563	0.814	0.623	0.872	0.931	1.105	2.365
35	0.558	0.783	0.633	0.838	0.919	1.123	2.388
平均值	0.561	0.795	0.628	0.856	0.916	1.108	2.357
RSD/%	0.45	2.09	0.80	2.00	1.88	1.20	1.54

黄芩苷、QR 和黄芩素与滨蒿内酯间 $f_{k/s}$ 的重复性良好, 不同柱温条件下, RSD 在 0.45%~2.09%。

综合以上影响因素对 $f_{k/s}$ 耐用性进行分析, 结果发现各条件下所测得的 GA、绿原酸、槲子苷、SAB、黄芩苷、QR 和黄芩素与参照物质滨蒿内酯间 $f_{k/s}$ 的 RSD 均小于 3%, 表明该 QAMS 法测定条件较宽, 其耐用性较好。

2.7 待测组分数谱峰的定位

2.7.1 保留时间差 ($\Delta t_{k/s}$) 和相对保留值 ($t_{Rk/s}$) 定位法 色谱峰的准确定位是保证 QAMS 法能够适用的前提, 对于待测组分数谱峰的定位, 常采用 $\Delta t_{k/s}$ 和 $t_{Rk/s}$ 等参数结合色谱图整体特征进行定位^[12]。本实验发现, 在相同色谱条件下, 使用 2 种色谱系统和 3 种不同色谱柱进行定位时, 待测成分与参照物

滨蒿内酯 $\Delta t_{k/s}$ 的 RSD 除黄芩素的 RSD 小于 5% 外, 其他均大于 5%; 而利用 $t_{Rk/s}$ 法进行色谱峰定位时, 波动幅度小, 待测组分与滨蒿内酯出峰时间 $t_{Rk/s}$ 的 RSD 在 1.49%~4.29%, 均小于 5%, 结果见表 7。结果表明, 对于 BQG 这一成分复杂的中药复方制剂, 通过利用 $\Delta t_{k/s}$ 很难实现全部色谱峰的准确定位。实验另采用 3 根同类型 Hanbon Hedera C₁₈ 色谱柱进行验证, 见表 8。结果表明其 $\Delta t_{k/s}$ RSD 在 0.41%~3.43%, 定位良好, 说明 $\Delta t_{k/s}$ 法适用于同种填料或色谱行为略为相似的色谱柱, 或者选用定性用的对照品、对照药材或对照提取物来帮助定位偏差较大的色谱峰, 但是这一点与 QAMS 法建立的初衷相悖。而对 $t_{Rk/s}$ 法进行进一步考察, 采用不同实验操作人员在不同流动相体积流量及不同柱温的条件下, 考察各待测成分与内参物滨蒿内酯的 $t_{Rk/s}$, 发现不同条件下各待测成分与内参物滨蒿内酯 $t_{Rk/s}$ 的

RSD 在 0.07%~3.55%, 结果见表 9~11, 其变化幅度较小, 能够利用已知的内参物的色谱出峰时间对其他待测组分出峰时间进行较为准确地定位。

2.7.2 两点校正法 王龙星等^[13]通过色谱热力学分析发现在相同的分析条件下, 即使采用不同的液相色谱系统或不同的色谱柱, 其待测成分的保留时间 (t_R) 仍存在着简单的线性关系。何兵等^[6]参考 QAMS 法的原理, 进行两点校正, 根据已知的 2 个内参物推导出校正方程, 比较校正方程推测所得理论出峰时间和待测组分出峰时间实测值, 发现该方法能够在一定程度上实现快速准确定位色谱峰。

本实验选取复方中君臣两药的代表性成分 GA 和滨蒿内酯作为参照物, 建立校正方程, 比较实测得值和理论计算值, 结果见表 12。结果发现利用以 GA 和滨蒿内酯进行两点校正时, 所有待测组分 RSD 均小于 4%, 在误差允许的情况下, 该方法可

表 7 不同仪器和不同色谱柱测得待测成分 $t_{Rk/s}$ Table 7 $t_{Rk/s}$ of tested ingredients determined by different instruments and chromatographic columns

仪器	影响因素	$t_{RGA}/\text{滨蒿内酯}$	$t_{R\text{绿原酸}}/\text{滨蒿内酯}$	$t_{R\text{槲子苷}}/\text{滨蒿内酯}$	$t_{RSAB}/\text{滨蒿内酯}$	$t_{R\text{黄芩苷}}/\text{滨蒿内酯}$	$t_{RQR}/\text{滨蒿内酯}$	$t_{R\text{黄芩素}}/\text{滨蒿内酯}$
Waters e2695	Hanbon Hedera C ₁₈	0.270	0.526	0.632	1.376	1.438	1.479	1.758
	Sepax GP-C ₁₈	0.281	0.538	0.634	1.381	1.442	1.484	1.752
	Agilent 5 TC-C ₁₈	0.293	0.569	0.646	1.439	1.489	1.550	1.782
Agilent 1260	Hanbon Hedera C ₁₈	0.277	0.533	0.632	1.385	1.459	1.502	1.783
	Sepax GP-C ₁₈	0.276	0.499	0.633	1.342	1.441	1.526	1.848
	Agilent 5 TC-C ₁₈	0.283	0.544	0.616	1.376	1.429	1.492	1.766
	平均值	0.280	0.535	0.632	1.383	1.450	1.506	1.782
	RSD/%	2.78	4.29	1.51	2.27	1.49	1.82	1.96

表 8 相同类型色谱柱测得待测成分的 $\Delta t_{k/s}$ Table 8 Retention time difference ($\Delta t_{k/s}$) of tested ingredients determined by same type of chromatographic columns

色谱柱	$\Delta t_{GA}/\text{滨蒿内酯}$	$\Delta t_{\text{绿原酸}}/\text{滨蒿内酯}$	$\Delta t_{\text{槲子苷}}/\text{滨蒿内酯}$	$\Delta t_{SAB}/\text{滨蒿内酯}$	$\Delta t_{\text{黄芩苷}}/\text{滨蒿内酯}$	$\Delta t_{QR}/\text{滨蒿内酯}$	$\Delta t_{\text{黄芩素}}/\text{滨蒿内酯}$
Hanbon Hedera C ₁₈ 1	29.792	19.504	15.043	14.171	16.800	18.359	29.935
Hanbon Hedera C ₁₈ 2	29.027	18.846	14.647	14.964	17.448	19.069	30.162
Hanbon Hedera C ₁₈ 3	28.971	18.688	14.668	15.111	17.551	19.255	30.137
平均值	29.263	19.013	14.786	14.749	17.266	18.895	30.078
RSD/%	1.57	2.28	1.51	3.43	2.36	2.50	0.41

表 9 不同实验人员测得待测成分 $t_{Rk/s}$ Table 9 $t_{Rk/s}$ of tested ingredients determined by different experiments

实验人员	$t_{RGA}/\text{滨蒿内酯}$	$t_{R\text{绿原酸}}/\text{滨蒿内酯}$	$t_{R\text{槲子苷}}/\text{滨蒿内酯}$	$t_{RSAB}/\text{滨蒿内酯}$	$t_{R\text{黄芩苷}}/\text{滨蒿内酯}$	$t_{RQR}/\text{滨蒿内酯}$	$t_{R\text{黄芩素}}/\text{滨蒿内酯}$
A	0.270	0.526	0.632	1.376	1.438	1.479	1.758
B	0.269	0.529	0.630	1.381	1.443	1.486	1.760
C	0.273	0.527	0.632	1.377	1.441	1.481	1.760
平均值	0.271	0.527	0.631	1.378	1.441	1.482	1.759
RSD/%	0.77	0.29	0.18	0.19	0.17	0.24	0.07

表 10 不同流动相体积流量测得待测成分 $t_{Rk/s}$

Table 10 $t_{Rk/s}$ of tested ingredients determined by different flow rate of mobile phase

流动相体积流量/(mL·min ⁻¹)	$t_{RGA/滨蒿内酯}$	$t_{R绿原酸/滨蒿内酯}$	$t_{R槲子苷/滨蒿内酯}$	$t_{RSAB/滨蒿内酯}$	$t_{R黄芩苷/滨蒿内酯}$	$t_{RQR/滨蒿内酯}$	$t_{R黄芩素/滨蒿内酯}$
0.9	0.281	0.529	0.637	1.342	1.405	1.443	1.722
1.0	0.271	0.526	0.632	1.376	1.438	1.479	1.758
1.1	0.269	0.529	0.633	1.414	1.477	1.524	1.803
平均值	0.274	0.528	0.634	1.377	1.440	1.482	1.761
RSD/%	2.35	0.33	0.42	2.62	2.50	2.74	2.30

表 11 不同柱温测得待测成分 $t_{Rk/s}$

Table 11 $t_{Rk/s}$ of tested ingredients determined by different column temperature

柱温/°C	$t_{RGA/滨蒿内酯}$	$t_{R绿原酸/滨蒿内酯}$	$t_{R槲子苷/滨蒿内酯}$	$t_{RSAB/滨蒿内酯}$	$t_{R黄芩苷/滨蒿内酯}$	$t_{RQR/滨蒿内酯}$	$t_{R黄芩素/滨蒿内酯}$
25	0.284	0.532	0.634	1.351	1.403	1.447	1.724
30	0.271	0.526	0.632	1.376	1.438	1.479	1.758
35	0.265	0.519	0.640	1.380	1.481	1.530	1.813
平均值	0.273	0.526	0.635	1.369	1.441	1.485	1.765
RSD/%	3.55	1.24	0.66	1.15	2.71	2.82	2.54

表 12 两点校正法在不同色谱柱下保留时间考察结果

Table 12 t_R on different columns by two-point correction method

色谱柱		t_R	GA	绿原酸	槲子苷	滨蒿内酯	SAB	黄芩苷	QR	黄芩素
Waters e2695	Hanbon Hedera C ₁₈	$t_R(X)$	10.755	20.926	25.134	39.813	54.779	57.225	58.881	69.980
	Sepax GP-C ₁₈	实测值 t_R	11.561	21.577	25.429	40.006	55.118	57.562	59.229	69.928
		预测 $t_R(Y)$ 校正方程	11.560	21.516	25.636	40.005	54.655	57.050	58.671	69.535
		$Y=0.978 X+1.032 8$								
		RSD/%	0	0.10	0.29	0	0.30	0.32	0.34	0.20
	Agilent 5 TC-C ₁₈	实测值 t_R	10.996	21.572	24.511	37.974	54.654	56.540	58.848	67.682
		预测 $t_R(Y)$ 校正方程	10.996	20.439	24.345	37.973	51.868	54.139	55.676	65.980
		$Y=0.928 X+1.010 9$								
Agilent 1260	Hanbon Hedera C ₁₈	$t_R(X)$	10.811	20.800	24.653	39.025	54.061	56.832	58.611	69.440
	Sepax GP-C ₁₈	实测值 t_R	7.329	14.874	20.212	30.828	45.385	48.739	50.614	62.527
		预测 $t_R(Y)$ 校正方程	7.330	15.651	18.861	30.833	43.358	45.666	47.148	56.301
		$Y=0.833 X-1.675 3$								
		RSD/%	0.01	1.80	2.45	0.01	1.62	2.30	2.51	3.71
	Agilent 5 TC-C ₁₈	实测值 t_R	11.134	21.414	24.248	39.359	54.155	56.261	58.707	67.501
		预测 $t_R(Y)$ 校正方程	11.130	21.119	24.972	39.344	54.380	57.151	58.930	69.918
		$Y=1.000 X+0.318 8$								
		RSD/%	0.03	0.98	2.08	0.03	0.29	1.11	0.27	2.49

以用来实现色谱峰的定位。

2.8 QAMS 法与外标法测定结果的比较

按照“2.1.1”项下的处理方法制备 6 批样品，分别吸取对照品溶液和供试品溶液各 10 μ L 注入高效液相色谱仪，记录各成分峰面积，分别采用外标法、回归方程法和 3 种 QAMS 法对 8 种待测成分进

行定量测定分析，见表 13。外标法中取上述“2.1.2”项下已知质量浓度的混合对照品储备液与待测样品溶液中各成分进行对比，在相同条件下等体积平行多次进样，根据测得峰面积计算样品中各待测成分的量。计算结果表明各方法测得 8 种成分量的 RSD 值在 0.12%~3.06%；通过 t 检验对 5 种方法的测定

表 13 BQG 中 8 种成分不同方法定量测定结果 ($n=6$)Table 13 Determination of eight ingredients of BQG by different methods ($n=6$)

批号	定量方法	质量分数/(mg·g ⁻¹)							
		GA	绿原酸	栀子苷	滨蒿内酯	SAB	黄芩苷	QR	黄芩素
161117	外标法	1.693	1.817	6.379	1.813	2.407	20.055	3.170	0.179
	回归方程法	1.710	1.796	6.375	1.822	2.402	20.365	3.202	0.179
	MPC QAMS	1.711	1.777	6.375	—	2.393	20.143	3.191	0.175
	SC QAMS	1.706	1.779	6.390	—	2.399	20.510	3.192	0.168
	定量因子 QAMS	1.706	1.779	6.390	—	2.399	20.510	3.192	0.169
	RSD/%	0.42	0.96	0.12	—	0.21	1.03	0.37	3.04
161124	外标法	1.687	1.843	6.411	1.780	2.436	19.925	3.152	0.186
	回归方程法	1.705	1.821	6.407	1.790	2.430	20.232	3.184	0.186
	MPC QAMS	1.706	1.803	6.407	—	2.421	20.012	3.173	0.181
	SC QAMS	1.700	1.804	6.422	—	2.427	20.377	3.174	0.175
	定量因子 QAMS	1.700	1.804	6.422	—	2.427	20.377	3.174	0.175
	RSD/%	0.45	0.96	0.12	—	0.22	1.03	0.37	3.05
161202	外标法	1.649	1.843	6.299	1.790	2.340	19.476	3.077	0.174
	回归方程法	1.666	1.821	6.295	1.799	2.335	19.772	3.108	0.174
	MPC QAMS	1.667	1.803	6.295	—	2.326	19.561	3.097	0.169
	SC QAMS	1.662	1.804	6.310	—	2.332	19.917	3.098	0.164
	定量因子 QAMS	1.662	1.804	6.310	—	2.332	19.917	3.098	0.164
	RSD/%	0.43	0.96	0.12	—	0.22	1.03	0.37	2.96
161210	外标法	1.718	1.950	6.376	1.842	2.522	20.838	3.232	0.182
	回归方程法	1.735	1.925	6.372	1.851	2.516	21.166	3.265	0.182
	MPC QAMS	1.736	1.907	6.372	—	2.507	20.930	3.253	0.177
	SC QAMS	1.731	1.909	6.387	—	2.514	21.311	3.254	0.171
	定量因子 QAMS	1.731	1.909	6.387	—	2.514	21.311	3.254	0.171
	RSD/%	0.42	0.95	0.12	—	0.21	1.03	0.37	3.02
161218	外标法	1.633	1.901	6.154	1.765	2.461	20.581	3.092	0.170
	回归方程法	1.650	1.877	6.149	1.774	2.455	20.903	3.123	0.172
	MPC QAMS	1.651	1.859	6.150	—	2.446	20.671	3.112	0.166
	SC QAMS	1.645	1.860	6.165	—	2.453	21.048	3.113	0.161
	定量因子 QAMS	1.645	1.860	6.165	—	2.453	21.048	3.113	0.161
	RSD/%	0.44	0.97	0.13	—	0.22	1.03	0.36	3.04
161226	外标法	1.660	1.891	6.021	1.831	2.522	20.856	3.135	0.177
	回归方程法	1.677	1.868	6.016	1.840	2.516	21.183	3.167	0.178
	MPC QAMS	1.678	1.850	6.017	—	2.506	20.947	3.156	0.172
	SC QAMS	1.672	1.851	6.032	—	2.513	21.329	3.156	0.167
	定量因子 QAMS	1.672	1.851	6.032	—	2.513	21.329	3.156	0.167
	RSD/%	0.43	0.95	0.13	—	0.23	1.03	0.37	3.06

结果进行误差分析,发现两两方法测定结果 P 值均大于 0.05,无显著性差异;另对 5 种定量测定结果进行 Pearson 相关系数分析,发现 5 种方法之间的相关系数均大于 0.999 99,接近 1,说明该 5 种方法的定量结果相似性极高;由以上结果分析可知,本

实验建立的 $f_{k/s}$ 法具有较好的置信度、良好的准确性和重复性。

3 讨论

3.1 内参物的选择

本实验选取临床验方补肾清利方的臣药茵陈中

特有代表性成分滨蒿内酯作为内参物, 中医认为茵陈是治疗黄疸要药, 滨蒿内酯是中药茵陈或茵陈方剂中发挥作用的主要成分, 其量相对较高, 热稳定性良好, 且现代研究发现^[14], 其药理作用明确, 可激动核受体 CAR, 诱导体内 MRP2 等蛋白转运体, 转运胆汁酸; 另对价廉易得的对照品绿原酸、栀子苷、黄芩苷进行 $f_{k/s}$ 耐用性考察, 发现某些成分 $f_{k/s}$ 波动略大, 而滨蒿内酯为内参时, 整体都较稳定; 且滨蒿内酯市售价格较便宜, 符合 QAMS 法对于其内参物的要求。

3.2 $f_{k/s}$ 的计算

实验采用 3 种方法对待测组分间的 $f_{k/s}$ 进行计算, 分别为 MPC、SC 和定量因子法。MPC 是通过对不同质量浓度点或是不同体积进行 HPLC 测定, 这种方法通常在线性范围的两端产生偏移, 从而会使整组数据的平均值不准确, 结果产生较大的误差; 而对于 SC 主要是利用各成分的回归方程的斜率之比, 因此当个别数据发生偏差时, 对于回归方程的影响比 MPC 小, 而该法成立的前提是回归方程斜率/截距大于 100, 此时回归方程截距造成的结果的误差可忽略不计; 定量因子法是由 SC 转化而成, 结果与 SC 具有一致性。本实验 3 种 $f_{k/s}$ 法测得其 RSD 均小于 3.0%, 更加验证了该 QAMS 法良好的重复性和准确性。

3.3 色谱峰的定位

对于 QAMS 法色谱峰的定位, 文献报道多采用 $\Delta t_{k/s}$ 、 $t_{Rk/s}$ 和两点校正法 3 种定位方法^[11-12], 实验结果发现, $\Delta t_{k/s}$ 法中由于黄芩素出峰时间 RSD 小于 5.0%, 且其他成分的 RSD 均大于 5%, 误差较大, 因此这种方法不能用于色谱峰的准确定位; 而 $t_{Rk/s}$ 法和两点校正法两者均可以快速准确的定位色谱峰, 由结果分析大致可知, 对于滨蒿内酯后出峰的成分 $t_{Rk/s}$ 的 RSD 小于两点校正法, 而两点校正法中, 先于滨蒿内酯出峰的成分的 RSD 要远小于 $t_{Rk/s}$ 法, 因此本实验可结合 2 种定位方法, 更加准确地推算出待测组分出峰时间, 实现准确定位。

两点校正法中 2 种内参物的选择尤为关键, 取点不宜太近或太远, 以避免色谱图两端出峰的成分出峰时间推算出的理论值发生较大误差。实验利用滨蒿内酯和保留时间最长的黄芩素和最短的 GA 分别进行两点校正, 发现滨蒿内酯-黄芩素两点校正时, GA 和绿原酸理论值与实测值 RSD 分别为

11.44%和 7.65%, 远大于 5%; 而滨蒿内酯-GA 两点校正时, RSD 均小于 5%, 其定位效果明显优于前者。在检测过程中发生色谱峰漂移时, 两点校正法仍可适用, 而 $t_{Rk/s}$ 法是否仍用来准确定位各成分的色谱峰仍需考察; 且实验针对的对象是中药复方制剂, 因此本实验所选取的 8 种成分仅仅是其中一部分, 若要探究其他成分的出峰时间, 两点校正法则可直接利用校正方程得到准确的色谱峰出峰时间, 无需利用 $f_{k/s}$ 进行计算, 可迅速在色谱图上辨认, 误差允许的情况下, 这种定位方法更加快速、直观。

参考文献

- [1] 刘昌孝, 陈士林, 肖小河, 等. 中药质量标志物 (Q-Marker): 中药产品质量控制的新概念 [J]. 中草药, 2016, 47(9): 1443-1457.
- [2] 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): 1925-1928.
- [3] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [4] 陈 驰, 关琴笑, 朱冬宁, 等. 一测多评法测定人参中 9 种人参皂苷的含量 [J]. 中药材, 2017, 40(1): 122-126.
- [5] 吉丽娜, 冯伟红, 王智民, 等. 一测多评法与外标法测定三黄片中 4 种黄芩黄酮类成分 [J]. 中成药, 2012, 34(11): 2128-2133.
- [6] 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.
- [7] 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.
- [8] 尹桂珍. 补肾清利方联合 UDCA 治疗妊娠期肝内胆汁淤积症的临床研究 [D]. 南京: 南京中医药大学, 2015.
- [9] 尹桂珍, 周惠芳. 妊娠期胆汁淤积综合征的中西医疗效观察 [J]. 新疆医科大学学报, 2015, 38(5): 598-600.
- [10] 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.
- [11] 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.
- [12] 罗祖良, 仇 峰, 韦日伟, 等. 相对校正因子在中药多指标测定中的应用研究进展 [J]. 中草药, 2012, 43(7): 1448-1452.
- [13] 王龙星, 肖红斌, 梁鑫淼. 一种提高色谱指纹谱保留时间重现性的新方法 [J]. 分析化学, 2003, 31(10): 1232-1236.
- [14] 何婷晔. 滨蒿内酯通过 CAR 对 CYP450 代谢酶和 MDRI 影响的体外研究 [D]. 长沙: 中南大学, 2007.