doi:10.3969 / j.issn.1006 - 4931.2022.15.015

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*

李俊霞，刘　松，游秋霞

（遂成药业股份有限公司，河南 郑州　451100）

摘要：目的　建立同时测定金佛止痛丸中氧化芍药苷、芍药苷、双去甲氧基姜黄素、去甲氧基姜黄素、姜黄素、延胡索乙素、去氢紫堇碱和紫堇碱含量的高效液相色谱 - 一测多评（HPLC - QAMS）法。**方法**　色谱柱为 Ultimate AQ - C_{18} 柱（250 mm × 4.6 mm，5 μm），流动相为乙腈 - 0.1% 磷酸水溶液（梯度洗脱），流速为 1.0 mL / min，检测波长分别为 230 nm（氧化芍药苷和芍药苷）、420 nm（双去甲氧基姜黄素、去甲氧基姜黄素和姜黄素）和 280 nm（延胡索乙素、去氢紫堇碱和紫堇碱），柱温为 30 ℃。以去甲氧基姜黄素为内参物，建立该成分与其他 7 种成分的相对校正因子（RCF），计算各成分含量，并与外标法检测结果进行对比，验证所建立方法的可行性。**结果**　建立的 RCF 重复性良好，稳定性较佳，*RSD* 均低于 2.0%（$n = 6$）。上述 8 种成分的质量浓度分别在 2.63 ~ 65.75 μg / mL、25.86 ~ 646.50 μg / mL、1.99 ~ 49.75 μg / mL、1.58 ~ 39.50 μg / mL、5.66 ~ 141.50 μg / mL、1.37 ~ 34.25 μg / mL、0.96 ~ 24.00 μg / mL、0.59 ~ 14.75 μg / mL 范围内与峰面积线性关系良好，r 均不低于 0.999 1（$n = 6$）；平均加样回收率分别为 99.26%，100.01%，98.46%，99.08%，100.14%，97.20%，96.91%，97.89%，*RSD* 分别为 1.15%，0.51%，0.99%，1.04%，0.87%，1.30%，1.08%，1.56%（$n = 9$）。一测多评法与外标法的测定结果无明显差异，*RAD* 低于 1.50%（$n = 3$）。**结论**　所建立的 HPLC - QAMS 法操作便捷、结果准确，可用于金佛止痛丸中多指标成分的质量控制。

关键词：高效液相色谱 - 一测多评法；金佛止痛丸；相对校正因子；含量测定

中图分类号：R932；R284.1；R286.0　　**文献标志码：A**　　**文章编号：1006 - 4931（2022）15 - 0071 - 05**

Simultaneous Determination of Eight Components in Jinfo Zhitong Pills by the HPLC - QAMS

LI Junxia, LIU Song, YOU Qiuxia

(Suicheng Pharmaceutical Co., Ltd., Zhengzhou, Henan, China　451100)

Abstract: Objective　To establish a high - performance liquid chromatography - quantitative analysis of multi - components by single marker (HPLC - QAMS) method for the simultaneous determination of oxypaeoniflorin, paeoniflorin, bisdemethoxycurcumin, demethoxycurcumin, curcumin, tetrahydropalmatine, dehydrocorydalin and corydaline in Jinfo Zhitong Pills. **Methods**　The chromatographic column was Ultimate AQ - C_{18} column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), the mobile phase was acetonitrile - 0.1% phosphoric acid aqueous solution (gradient elution), the flow rate was 1.0 mL / min, the detection wavelength was set at 230 nm for oxypaeoniflorin and paeoniflorin, 420 nm for bisdemethoxycurcumin, demethoxycurcumin and curcumin and 280 nm for tetrahydropalmatine, dehydrocorydalin and corydaline, and the column temperature was 30 ℃. With demethoxycurcumin as the reference substance, the relative correction factors (RCFs) of the other seven components relative to demethoxycurcumin were established, the content of each component was calculated, and the results were compared with those by the external standard method (ESM) to verify the feasibility of the established method. **Results**　The established RCF had good repeatability and stability, with an *RSD* of lower than 2.0% ($n = 6$). The linear ranges of the above eight components were 2.63 - 65.75 μg / mL, 25.86 - 646.50 μg / mL, 1.99 - 49.75 μg / mL, 1.58 - 39.50 μg / mL, 5.66 - 141.50 μg / mL, 1.37 - 34.25 μg / mL, 0.96 - 24.00 μg / mL and 0.59 - 14.75 μg / mL, respectively ($r \geqslant 0.999\ 1$, $n = 6$). The average recoveries were 99.26%, 100.01%, 98.46%, 99.08%, 100.14%, 97.20%, 96.91% and 97.89% with *RSDs* of 1.15%, 0.51%, 0.99%, 1.04%, 0.87%, 1.30%, 1.08% and 1.56% ($n = 9$), respectively. The results of determination by the QAMS had no significant difference with those by the ESM, with and *RAD* of lower than 1.50% ($n = 3$). **Conclusion**　The established HPLC - QAMS method is convenient and accurate, which can be used for the quality control of multi - index components in Jinfo Zhitong Pills.

Key words: HPLC - QAMS; Jinfo Zhitong Pills; relative correction factor; content determination

金佛止痛丸由醋延胡索、白芍、郁金、姜黄、三七、佛手、甘草 7 味中药材加工而成，主要用于治疗气血瘀滞所致胃脘疼痛和痛经，以及消化性溃疡、慢性胃炎引起的疼痛[1]。中药制剂通常由多味中药材按中医理论君、臣、佐、使配伍而成，所含成分复杂，同时生产制剂所用中药材因产地、采收季节等的不同而导致质量差

*基金项目：河南省重大科技专项［191110311100］。

第一作者：李俊霞，大学本科，高级工程师，研究方向为中药制剂工艺的优化、新型递药系统的设计及制剂质量评价，（电子信箱）13598026928@163.com。

异较大，其现行质量标准[1]和文献[2－5]仅对其所含芍药苷、延胡索乙素等成分进行了定量研究，难以全面反映金佛止痛丸的整体质量，多指标成分质量控制模式已广泛应用于中药及中药制剂，尤其是中成药复方制剂。一测多评（QAMS）法[6－7]实现了对多个成分的同时测定，解决了个别对照品分离难度大、单体不稳定、难以供应或价格昂贵等弊端，得到了广泛认可。本研究中采用高效液相色谱－一测多评（HPLC－QAMS）法，以去甲氧基姜黄素为内参物，对金佛止痛丸君药醋延胡索主要药效成分延胡索乙素、去氢紫堇碱和紫堇碱，臣药白芍代表性成分氧化芍药苷和芍药苷，以及佐药郁金、姜黄共有活性成分双去甲氧基姜黄素、去甲氧基姜黄素和姜黄素的含量进行同时测定，为全面评价金佛止痛丸的整体质量提供参考。现报道如下。

1 仪器与试药

1.1 仪器

UltiMate 3000型高效液相色谱仪（美国Thermo Fisher Scientific公司）；Agilent 1260型高效液相色谱仪（美国Agilent公司）；色谱柱为Ultimate AQ－C_{18}柱（月旭科技上海股份有限公司）；Kromasil C_{18}柱（瑞典Kromasil公司）；Symmetry C_{18}柱（美国Waters公司）；BP211D型电子天平（德国Sartorius公司，精密为0.01 mg）。

1.2 试药

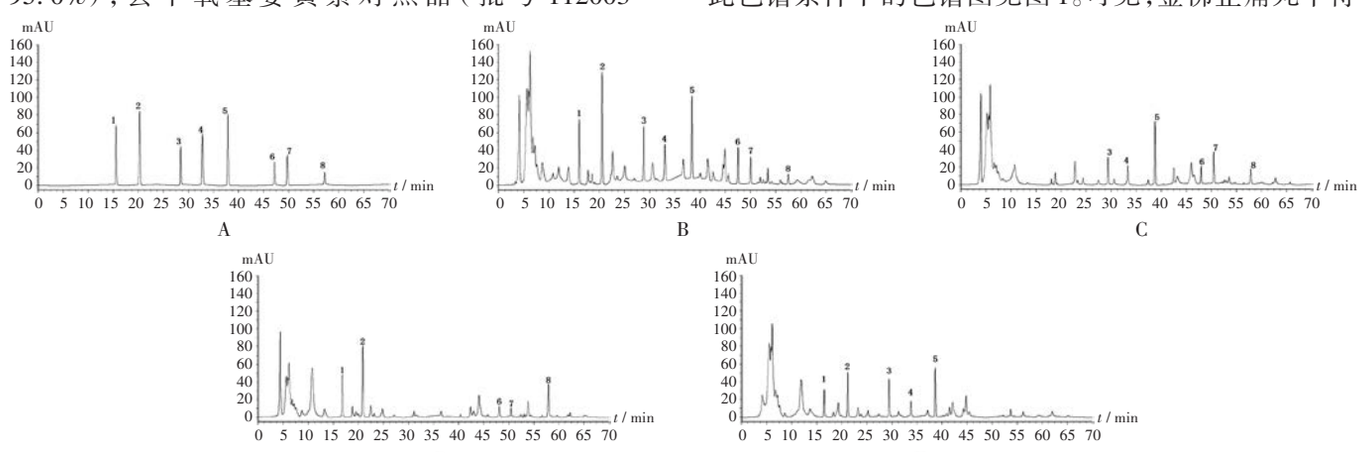
芍药苷对照品（批号110736－201943，CAS号23180－57－6，含量95.1%），双去甲氧基姜黄素对照品（批号112004－201501，CAS号33171－05－0，含量95.0%），去甲氧基姜黄素对照品（批号112003－201501，CAS号22608－11－3，含量98.5%），姜黄素对照品（批号110823－201706，CAS号458－37－7，含量98.7%），延胡索乙素对照品（批号110726－201819，CAS号2934－97－6，含量99.8%），均购于中国食品药品检定研究院；氧化芍药苷对照品（批号18031641，CAS号39011－91－1，含量98.8%），紫堇碱对照品（批号17110821，CAS号518－69－4，含量99.6%），均购于上海同田生物技术有限公司；去氢紫堇碱对照品（成都普瑞法科技开发有限公司，批号PRF8062141，CAS号30045－16－0，含量97.8%）；乙腈为色谱纯，其余试剂均为分析纯；金佛止痛丸（广州白云山中一药业有限公司，批号分别为R01008，R01006，R01005，规格为每袋5 g）。

2 方法与结果

2.1 色谱条件与系统适用性试验

色谱柱：Ultimate AQ－C_{18}柱（250 mm×4.6 mm，5 μm）；流动相：乙腈（A）－0.1%磷酸水溶液（B），梯度洗脱（0～12.0 min时16.0%A，12.0～23.0 min时16.0%A→38.0%A，23.0～41.0 min时38.0%A→55.0%A，41.0～60.0 min时55.0%A→78.0%A，60.0～70.0 min时78.0%A→16.0%A）；流速：1.0 mL/min；检测波长：230 nm（0～23.0 min时检测氧化芍药苷和芍药苷）[8－10]，420 nm（23.0～41.0 min时检测双去甲氧基姜黄素、去甲氧基姜黄素和姜黄素）[11－15]，280 nm（41.0～70.0 min时检测延胡索乙素、去氢紫堇碱和紫堇碱）[16－18]；柱温：30 ℃；进样量：10 μL。

混合对照品溶液、供试品溶液、阴性对照品溶液在此色谱条件下的色谱图见图1。可见，金佛止痛丸中待



1. 氧化芍药苷 2. 芍药苷 3. 双去甲氧基姜黄素 4. 去甲氧基姜黄素 5. 姜黄素 6. 延胡索乙素 7. 去氢紫堇碱 8. 紫堇碱
A. 混合对照品溶液 B. 供试品溶液 C－E. 阴性对照品溶液（分别缺白芍、郁金和姜黄、延胡索）

图1 高效液相色谱图

1. Oxypaeoniflorin 2. Paeoniflorin 3. Bisdemethoxycurcumin 4. Demethoxycurcumin 5. Curcumin 6. Tetrahydropalmatine 7. Dehydrocorydalin 8. Corydaline
A. Mixed reference solution B. Test solution C－E. Negative reference solution (lack of Paeoniae Radix Alba, Curcumae Radix and Curcumae Longae Rhizoma, Corydalis Rhizoma, respectively)

Fig. 1 HPLC chromatograms

测8种成分色谱峰均可达到有效分离，分离度均大于1.5，理论板数均大于4 500，且阴性对照品溶液对金佛止痛丸中8种化学成分的同时测定无干扰。

2.2 溶液制备

混合对照品贮备液：分别取8种对照品各适量，精密称定，用稀乙醇制成质量浓度分别为0.526，5.172，0.398，0.316，1.132，0.274，0.192，0.118 mg/mL的混合对照品贮备液。

混合对照品溶液：精密量取混合对照品贮备液2.5 mL，用稀乙醇制成含氧化芍药苷26.3 μg/mL、芍药苷258.6 μg/mL、双去甲氧基姜黄素19.9 μg/mL、去甲氧基姜黄素15.8 μg/mL、姜黄素56.6 μg/mL、延胡索乙素13.7 μg/mL、去氢紫堇碱9.6 μg/mL、紫堇碱5.9 μg/mL的混合对照品溶液。

供试品溶液：取金佛止痛丸样品，研细，取1.0 g，精密称定，置具塞锥形瓶中，精密加入稀乙醇25 mL，称定质量，加热回流提取45 min，放冷，用稀乙醇补足减失的质量，摇匀，滤过，即得供试品溶液。

阴性对照品溶液：按2020年版《中国药典（一部）》中金佛止痛丸的工艺处方分别制备不含醋延胡索、不含白芍、不含郁金和姜黄的3种阴性样品，按供试品溶液制备方法制备阴性对照品溶液。

2.3 方法学考察

线性关系考察：分别精密量取2.2项下混合对照品贮备液0.1，0.5，1.0，1.5，2.0，2.5 mL，各置20 mL容量瓶中，用稀乙醇定容，摇匀，制成标记为Ⅰ～Ⅵ的系列混合对照品溶液，按2.1项下色谱条件进样测定，以8种待测成分的质量浓度（X，μg/mL）为横坐标、峰面积（Y）为纵坐标进行线性回归。结果见表1。

精密度试验：取2.2项下供试品溶液，重复进样测定6次，记录色谱图，并计算峰面积。结果见表1，表明仪器精密度良好。

重复性试验：取同一批（批号为R01008）样品6份，按2.2项下方法制备供试品溶液，依法进样测定，记录色谱图及峰面积，按外标法计算含量及*RSD*值。结果见表1，表明方法重复性良好。

稳定性试验：取同一批（批号为R01008）样品，按2.2项下方法制备供试品溶液，分别于0，3，6，12，18，24 h时进样测定，记录色谱图，并计算峰面积的*RSD*值。结果见表1，表明供试品溶液在24 h内稳定。

加样回收试验：取已知8种化学成分含量的样品9份，每份0.5 g，精密称定，分别精密加入混合对照品溶液（分别含氧化芍药苷0.372 mg/mL、芍药苷3.796 mg/mL、双去甲氧基姜黄素0.308 mg/mL、去甲氧基姜黄素0.226 mg/mL、姜黄素0.674 mg/mL、延胡索乙素0.188 mg/mL、去氢紫堇碱0.152 mg/mL、紫堇碱0.094 mg/mL）0.5，1.0，1.5 mL，各3份，按2.2项下方法制备供试品溶液，按2.1项下色谱条件进样测定，记录峰面积，并计算加样回收率。结果见表1。

2.4 相对校正因子（RCF）测定

取线性关系考察项下系列混合对照品溶液Ⅰ～Ⅵ进样测定，记录色谱图及峰面积，以去甲氧基姜黄素为内参物，按如下公式计算RCF。

$$RCF_{ks}=\frac{f_k}{f_s}=\frac{A_k/W_k}{A_s/W_s}=\frac{A_k/W_s}{A_s/W_k} \quad 1)$$

式1）中，A_k为内参物峰面积，W_s为其他成分质量浓度，A_s为其他成分峰面积，W_k为内参物质量浓度。计算得其他7种成分的RCF，结果见表2。

2.5 RCF耐用性考察

色谱仪和色谱柱：精密吸取2.2项下混合对照品溶液适量，依法进样测定，记录8种成分的峰面积，考察UltiMate 3000型、Agilent 1260型高效液相色谱仪和Ultimate AQ－C_{18}柱、Kromasil C_{18}柱、Waters Symmetry C_{18}柱对RCF的影响。结果在此色谱仪和色谱柱条件下，

表1 金佛止痛丸中8种成分含量测定方法学考察结果

Tab. 1 Results of content determination methodology of eight components in Jinfo Zhitong Pills

成分	线性关系考察（$n=6$）			*RSD*（%，$n=6$）			加样回收试验（%，$n=9$）	
	回归方程	线性范围（μg/mL）	r	精密度试验	重复性试验	稳定性试验	回收率	*RSD*
氧化芍药苷	$Y=8.070\,1\times10^5X+446.1$	2.63～65.75	0.999 5	0.81	1.20	0.79	99.26	1.15
芍药苷	$Y=5.787\,5\times10^5X-1\,017.5$	25.86～646.50	0.999 7	0.53	0.87	0.55	100.01	0.51
双去甲氧基姜黄素	$Y=9.083\,5\times10^5X+571.2$	1.99～49.75	0.999 2	0.96	1.08	1.01	98.46	0.99
去甲氧基姜黄素	$Y=6.893\,1\times10^5X-748.6$	1.58～39.50	0.999 1	1.02	1.13	0.98	99.08	1.04
姜黄素	$Y=1.110\,6\times10^6X-1\,099.5$	5.66～141.50	0.999 6	0.77	1.32	0.80	100.14	0.87
延胡索乙素	$Y=5.870\,0\times10^5X-681.9$	1.37～34.25	0.999 8	1.05	1.59	1.03	97.20	1.30
去氢紫堇碱	$Y=6.296\,1\times10^5X+1\,107.6$	0.96～24.00	0.999 4	1.10	1.74	1.09	96.91	1.08
紫堇碱	$Y=3.819\,7\times10^5X+387.9$	0.59～14.75	0.999 3	1.14	1.87	1.20	97.89	1.56

表2 以去甲氧基姜黄素为内参物的7种成分的相对校正因子

Tab. 2 RCFs of seven components with demethoxycurcumin as the reference substance

混合对照品溶液	氧化芍药苷	芍药苷	双去甲氧基姜黄素	姜黄素	延胡索乙素	去氢紫堇碱	紫堇碱
Ⅰ	0.849 6	1.175 1	0.765 0	0.618 7	1.155 8	1.106 4	1.850 7
Ⅱ	0.836 8	1.179 7	0.762 0	0.612 7	1.179 4	1.086 0	1.792 0
Ⅲ	0.847 2	1.187 4	0.762 1	0.631 1	1.187 5	1.109 9	1.832 4
Ⅳ	0.859 6	1.186 4	0.748 8	0.611 2	1.147 5	1.068 0	1.752 6
Ⅴ	0.869 1	1.212 8	0.758 6	0.624 9	1.195 4	1.097 2	1.809 3
Ⅵ	0.843 4	1.178 7	0.761 0	0.619 5	1.168 1	1.097 5	1.811 1
$\bar{X}$	0.851 0	1.186 7	0.759 6	0.619 7	1.172 3	1.094 2	1.808 0
RSD(%)	1.36	1.15	0.75	1.21	1.58	1.40	1.88

氧化芍药苷、芍药苷、双去甲氧基姜黄素、姜黄素、延胡索乙素、去氢紫堇碱、紫堇碱的平均RCF分别为0.853 3，1.185 7，0.761 7，0.622 9，1.172 8，1.093 3，1.811 7，*RSD* 分别为1.12%，1.21%，0.81%，1.44%，1.71%，1.32%，1.46%（$n=6$）。

柱温：精密吸取2.2项下混合对照品溶液适量，依法进样测定，记录8种成分的峰面积，考察不同柱温（25，28，30，32，35 ℃）对RCF的影响。结果在此柱温条件下，氧化芍药苷、芍药苷、双去甲氧基姜黄素、姜黄素、延胡索乙素、去氢紫堇碱、紫堇碱的平均RCF分别为0.852 7，1.183 8，0.760 3，0.616 2，1.169 0，1.095 8，1.808 7，*RSD* 分别为1.46%，1.19%，0.99%，1.20%，1.81%，1.37%，1.89%（$n=5$）。

流速：精密吸取2.2项下混合对照品溶液适量，依法进样测定，记录8种成分的峰面积，考察不同流速（0.8，0.9，1.0，1.1，1.2 mL/min）对RCF的影响。结果在此流速下，氧化芍药苷、芍药苷、双去甲氧基姜黄素、姜黄素、延胡索乙素、去氢紫堇碱、紫堇碱的平均RCF分别0.852 3，1.184 7，0.758 4，0.617 2，1.175 1，1.094 2，1.805 3，*RSD* 分别为1.20%，0.93%，1.23%，1.55%，1.64%，1.19%，1.34%（$n=5$）。

2.6 待测组分色谱峰的定位

以内参物去甲氧基姜黄素色谱峰为基准峰，考察在UltiMate 3000型、Agilent 1260型高效液相色谱仪和Ultimate AQ－C_{18}柱、Kromasil C_{18}柱、Waters Symmetry C_{18}柱条件下，氧化芍药苷、芍药苷、双去甲氧基姜黄素、姜黄素、延胡索乙素、去氢紫堇碱、紫堇碱色谱峰与去甲氧基姜黄素色谱峰的相对保留时间，并采用相对保留时间值法对色谱峰进行定位。结果见表3。

表3 不同色谱仪和不同色谱柱对相对保留时间的影响

Tab. 3 Effects of different chromatographs and chromatographic columns on the relative retention time

色谱仪	色谱柱	氧化芍药苷	芍药苷	双去甲氧基姜黄素	姜黄素	延胡索乙素	去氢紫堇碱	紫堇碱
UltiMate 3000	Ultimate AQ－C_{18}柱	0.473 2	0.616 4	0.866 3	1.155 6	1.438 9	1.516 2	1.744 3
	Kromasil C_{18}柱	0.475 1	0.620 3	0.873 2	1.159 8	1.445 6	1.523 7	1.749 6
	Waters Symmetry C_{18}柱	0.467 9	0.612 9	0.860 5	1.150 4	1.428 3	1.509 6	1.740 1
Agilent 1260	Ultimate AQ－C_{18}柱	0.478 3	0.622 7	0.875 9	1.162 7	1.462 8	1.525 1	1.755 6
	Kromasil C_{18}柱	0.480 5	0.625 4	0.878 4	1.168 1	1.465 9	1.527 6	1.758 3
	Waters Symmetry C_{18}柱	0.469 7	0.614 5	0.863 6	1.152 7	1.456 1	1.512 7	1.743 9
$\bar{X}$		0.474 1	0.618 7	0.869 6	1.158 2	1.449 6	1.519 2	1.748 6
RSD(%)		1.03	0.79	0.83	0.57	1.01	0.48	0.41

2.7 QAMS法与外标（ESM）法测定结果比较

取3批（批号分别为R01008，R01006，R01005）样品，按2.2项下方法制备供试品溶液，依法进样测定，记录氧化芍药苷、芍药苷、双去甲氧基姜黄素、去甲氧基姜黄素、姜黄素、延胡索乙素、去氢紫堇碱、紫堇碱的峰面积，分别以ESM法和QAMS法计算各成分含量，采用SPSS 26.0统计学软件对2种方法所得结果进行独立样本 t 检验。结果见表4。

3 讨论

3.1 定量测定化学成分及内参物的选择

金佛止痛丸由醋延胡索、白芍、郁金、姜黄、三七、佛手、甘草7味中药材制成。方中，醋延胡索行气止痛，为君药；白芍柔肝和胃、养血调经，三七祛瘀生新，共为臣药；佛手疏肝理气、和胃止痛，郁金行气解郁、活血止痛，姜黄破血行气、通经止痛，共为佐药；甘草补脾益气、缓急止痛、调和诸药，为使药。诸药合用，共奏行气止痛、舒肝和胃、祛瘀生新之功效。中药制剂在中医理论指导下遵循以君药所含成分为主，兼顾臣药、佐药、使药所含成分[19-20]。本研究中选取方中君药醋延胡索所含主要药效成分延胡索乙素、去氢紫堇碱和紫堇碱，臣药白芍所含代表性成分氧化芍药苷和芍药苷，以及佐药郁金、姜黄共有活性成分双去甲氧基姜黄素、去甲

表 4　金佛止痛丸中 8 种成分一测多评法和外标法含量测定结果比较（$n=3$）

Tab. 4　Comparison of the content determination of eight components in Jinfo Zhitong Pills by the QAMS and the ESM（$n=3$）

成分	R01008			R01006			R01005		
	ESM 法 (mg/g)	QAMS 法 (mg/g)	*RAD* (%)	ESM 法 (mg/g)	QAMS 法 (mg/g)	*RAD* (%)	ESM 法 (mg/g)	QAMS 法 (mg/g)	*RAD* (%)
去甲氧基姜黄素	0.459	-	-	0.391	-	-	0.524	-	-
氧化芍药苷	0.747	0.758	0.73	0.889	0.866	1.31	0.599	0.610	0.91
芍药苷	7.629	7.680	0.33	9.076	9.004	0.40	6.337	6.378	0.32
双去甲氧基姜黄素	0.612	0.596	1.32	0.489	0.501	1.21	0.735	0.722	0.89
姜黄素	1.354	1.376	0.81	1.085	1.104	0.87	1.620	1.589	0.97
延胡索乙素	0.376	0.385	1.18	0.451	0.459	0.88	0.319	0.315	0.63
去氢紫堇碱	0.295	0.299	0.67	0.353	0.348	0.71	0.237	0.241	0.84
紫堇碱	0.183	0.178	1.39	0.147	0.151	1.34	0.218	0.213	1.16

注：ESM 法为外标法，QAMS 法为一测多评法。- 为未检测到。

Note: ESM is short for the external standard method, and QAMS is short for the quantitative analysis of multi-components by single marker. - indicates that the corresponding component is not detected.

氧基姜黄素和姜黄素为定量研究指标成分，同时选取性质稳定、对照品易得、检测中出峰时间居中、含量较高的去甲氧基姜黄素为内参物，以全面评价金佛止痛丸的整体质量。

3.2　色谱条件选择

试验中以水为流动相水相，以金佛止痛丸中定量测定成分氧化芍药苷、芍药苷、双去甲氧基姜黄素、去甲氧基姜黄素、姜黄素、延胡索乙素、去氢紫堇碱和紫堇碱的分离效果为主要指标，对有机相（甲醇、乙腈）进行考察，结果乙腈优于甲醇。遂以乙腈为有机相，对水相（0.1% 冰醋酸溶液[11-12,16,18]、0.1% 磷酸溶液[8-10,13,15,17]、0.1% 甲酸溶液）进行考察，结果乙腈 - 0.1% 磷酸水溶液流动相体系对金佛止痛丸中 8 种成分的分离效果最佳，色谱图基线较平稳。最终确定按 2.1 项下的流动相程序对金佛止痛丸中 8 种成分的含量进行同时测定。

3.3　供试品溶液制备方法选择

试验中以金佛止痛丸中 8 种成分的综合提取率为考察指标，分别对提取溶剂（甲醇[11-12]、95% 乙醇[15]、75% 乙醇[13,16]、稀乙醇[8-10]）和提取方法（加热回流[8,11,13,17]、超声[9-10,15-16]）进行考察，结果以稀乙醇为提取溶剂，加热回流提取 45 min 时，8 种目标成分的综合提取率最佳。故选择稀乙醇加热回流提取 45 min 作为供试品处理方法。

3.4　方法评价

本研究中采用 HPLC - QAMS 法同时测定金佛止痛丸中 8 种成分的含量，建立了金佛止痛丸的多指标质量分析方法，有效地降低了检验成本，且操作便捷、结果准确，可用于金佛止痛丸的多指标质量控制。

参考文献

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典（一部）[M]. 北京：中国医药科技出版社，2020：1157 - 1158.
[2] 王　银，邱连建. 高效液相色谱法同时测定金佛止痛丸中的 3 种成分[J]. 天津药学，2019，31(4)：29 - 31.
[3] 童学飞，李志浩，姜雪强. 金佛止痛丸中三七皂苷 R_1 的含量分析[J]. 湖北中医药大学学报，2015，17(4)：40 - 42.
[4] 程艳阳，谢友莲. HPLC - UV 测定金佛止痛丸中芍药苷的含量[J]. 今日药学，2014，24(4)：251 - 252.
[5] 吴震宁，张　艳. HPLC 法测定金佛止痛丸中延胡索乙素的含量[J]. 中国药师，2013，16(1)：140 - 142.
[6] 胡瑞雪，梁元昊，徐文丽，等. 一测多评法在中药中的应用及研究进展[J]. 药物分析杂志，2019，39(11)：1968 - 1979.
[7] 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.
[8] 刘金环，杨玉琴，丁　秦，等. HPLC 法同时测定白芍药材中芍药内酯苷和芍药苷的含量[J]. 河南中医，2013，33(10)：1796 - 1797.
[9] 杜伟锋，胡淑珍，吴　芳，等. 不同等级杭白芍中 3 个有效成分的考察[J]. 中成药，2014，36(2)：358 - 362.
[10] 谭佳威，白　洁，田湾湾，等. 白芍药材的质量属性研究及产地评价[J]. 天津中医药，2019，36(5)：504 - 510.
[11] 王丽瑶，王永禄，陈琳琳. 高效液相色谱法同时测定郁金中 5 种成分[J]. 中成药，2013，35(2)：324 - 327.
[12] 曹　柳，赵军宁，王晓宇，等. 不同加工方法对不同产地姜黄，郁金药材中姜黄素类成分含量的影响[J]. 中国实验方剂学杂志，2016，22(4)：50 - 56.
[13] 刘硕谦，刘仲华，黄建安，等. 反相高效液相色谱法同时测定姜黄药材中 3 个组分的含量[J]. 分析化学研究报告，2005，33(3)：309 - 312.
[14] 李青苗，杨文钰，唐雪梅，等. 姜黄素类化合物在不同品系姜黄根茎内积累规律研究[J]. 中国中药杂志，2014，39(11)：2000 - 2004.
[15] 孙鹏尧，李丹丹，牟德华. HPLC 法测定姜黄根茎及姜黄素饮料中姜黄素类化合物的含量[J]. 食品工业科技，2016，37(21)：313 - 317.
[16] 徐　皓. HPLC 法测定不同产地元胡药材中 5 种生物碱含量[J]. 药物分析杂志，2015，35(8)：1403 - 1407.
[17] 陈东东，毛坤军，李　祥，等. HPLC 法比较延胡索炮制前后 7 个生物碱成分的含量[J]. 药物分析杂志，2015，35(9)：1591 - 1595.
[18] 赵新娟，沈　梅，石俊敏，等. 高效液相色谱法测定延胡索药材中 7 种异喹啉类生物碱的含量[J]. 天然产物研究与开发，2015，27：2074 - 2078.
[19] 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.
[20] 叶　霁，李睿旻，曾华武，等. 基于整体观中药质量标志物的发现及研究进展[J]. 中草药，2019，50(19)：4529 - 4537.

（收稿日期：2021 - 11 - 20；修回日期：2022 - 02 - 10）