doi:10.3969/j.issn.1006－4931.2021.23.021

一测多评法同时测定补中益气丸中 6 种成分的含量

张永昕,李莎恩△,蔡琴琴,张 莹,段付军

(中国人民解放军南部战区空军医院,广东 广州 510602)

摘要:目的 建立同时测定补中益气丸中橙皮苷、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、异阿魏酸、甘草苷、阿魏酸、甘草酸铵 6 种成分含量的一测多评(QAMS)法。**方法** 色谱柱为 Diamosil 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 0.8 mL/min,柱温为 30 ℃,检测波长为 270 nm,进样量为 10 μL。以橙皮苷为内参物,确立其与另外 5 种成分的相对校正因子(RCF),并计算含量;同时采用外标(ESM)法测定上述 6 种成分的含量,比较 QAMS 法计算值与 ESM 法实测值的差异,验证其结果的准确性和方法的可行性。**结果** 毛蕊异黄酮葡萄糖苷、甘草苷、阿魏酸、异阿魏酸、橙皮苷、甘草酸铵质量浓度分别在 0.010 9～0.072 9 μg/mL(R^2=0.999 3,n=7),0.046 8～0.312 0 μg/mL(R^2=0.999 6,n=7),0.004 5～0.030 0 μg/mL(R^2=0.997 6,n=7),0.046 8～0.312 0 μg/mL(R^2=0.999 9,n=7),0.360 0～2.400 0 μg/mL(R^2=0.999 9,n=7),0.171 0～1.140 0 μg/mL(R^2=0.999 9,n=7)范围内与峰面积线性关系良好;精密度、稳定性、重复性试验的 *RSD* 均小于 3%(n=6);平均加样回收率分别为 99.57%,98.29%,100.46%,101.07%,99.07%,100.12%,*RSD* 分别为 1.52%,1.46%,1.51%,1.37%,1.70%,1.33%(n=9)。QAMS 法计算值与 ESM 法实测值无显著差异(P>0.05)。**结论** QAMS 法操作简便,结果准确,重复性和稳定性均好,可用于同时测定补中益气丸中 6 种成分的含量。

关键词:补中益气丸;毛蕊异黄酮葡萄糖苷;甘草苷;甘草酸铵;阿魏酸;异阿魏酸;橙皮苷;高效液相色谱法;一测多评法;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(2021)23－0071－05

Simultaneous Determination of Six Components in Buzhong Yiqi Pills by QAMS

ZHANG Yongxin, LI Sha'en, CAI Qinqin, ZHANG Ying, DUAN Fujun

(*Air Force Hospital of Southern Theater Command of PLA, Guangzhou, Guangdong, China* 510602)

Abstract: Objective To establish a quantitative analysis of multi－components by single marker(QAMS) method for the simultaneous determination of hesperidin, calycosin－7－*O*－β－*D*－glucoside, isoferulic acid, liquiritin, ferulic acid, and ammonium glycyrrhizinate in Buzhong Yiqi Pills. **Methods** The chromatographic column was Diamosil C_{18} column (250 mm×4.6 mm, 5 μm), the mobile phase was acetonitrile－0.1% phosphoric acid solution(gradient elution), the flow rate was 0.8 mL/min, the column temperature was 30 ℃, the detection wavelength was 270 nm, and the injection volume was 10 μL. The relative correction factors(RCFs) of hesperidin with the other components were established and the contents were calculated with hesperidin the internal reference. Meanwhile, The contents of the above six components were determined by external standard method (ESM), and the difference between the value calculated by QAMS and the value determined by ESM were compared to verify the accuracy of the results and the feasibility of the method. **Results** The linear ranges of calycosin－7－*O*－β－*D*－glucoside, liquiritin, ferulic acid, isoferulic acid, hesperidin and ammonium glycyrrhizinate were

第一作者:张永昕,男,硕士,主管药师,研究方向为医院药学、制剂分析与质量控制,(电话)020－61639532(电子信箱)20691072@qq.com。

△**通信作者:**李莎恩,女,大学本科,主治医师,研究方向为药品质量控制与疾病健康管理,(电子信箱)14774630@qq.com。

3.3 含量测定项下供试品溶液制备方法选择

考察供试品提取方法及提取时间等影响因素,结果回流和超声处理得率相近,超声处理方法较方便,故选择超声处理,分别提取 15,30,60 min,结果超声处理 30 min 即可提取完全。

参考文献

[1] WS_3－B－2949－98,中华人民共和国卫生部药品标准·中药成方制剂(第十五册)[S].

[2] 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,2015.

[3] 胡安青,何 寅. HPLC 法测定保儿宁颗粒中升麻素苷的含量[J]. 北方药学,2017,14(4):4.

[4] 焦 坤. 高效液相色谱法同时测定炒防风中升麻素苷和 5－*O*－甲基维斯阿米醇苷含量[J]. 中国药业,2018,27(1):35－37.

[5] 汪 艳. HPLC 法测定止咳宁嗽胶囊中升麻素苷和 5－*O*－甲基维斯阿米醇苷的总含量[J]. 海峡药学,2017,29(8):52－54.

[6] 姜雪敏,杨立志. 高效液相色谱法测定感冒疏风片中升麻素苷及 5－*O*－甲基维斯阿米醇苷含量[J]. 中国药业,2017,26(11):22－24.

[7] 吴拾保,邓 渝,袁铭铭,等. 玉屏风口服液 1 个异黄酮类及 3 个色原酮类成分的含量测定[J]. 药物分析杂志,2016,36(12):2221－2225.

[8] 李巧玲,王冬梅,苗秋艳,等. RP－HPLC 法同时测定九味羌活丸中升麻素苷等 5 种有效成分的含量[J]. 沈阳药科大学学报,2016,33(2):114－119.

[9] 罗兴平,杨玲霞,寇 亮. 高效液相色谱法同时测定川芎茶调丸中升麻素苷和 5－*O*－甲基维斯阿米醇苷的含量[J]. 药物资讯,2019,8(3):99－104.

(收稿日期:2020－09－12;修回日期:2021－04－25)

0.010 9－0.072 9 μg/mL(R^2=0.999 3, n=7), 0.046 8－0.312 0 μg/mL(R^2=0.999 6, n=7), 0.004 5－0.030 0 μg/mL(R^2=0.997 6, n=7), 0.046 8－0.312 0 μg/mL(R^2=0.999 9, n=7), 0.360 0－2.400 0 μg/mL(R^2=0.999 9, n=7), 0.171 0－1.140 0 μg/mL(R^2=0.999 9, n=7), respectively. The *RSD*s of the precision, stability and repeatability tests were all less than 3.0% (n=6). The average recoveries of calycosin－7－O－β－D－glucoside, liquiritin, ferulic acid, isoferulic acid, hesperidin and ammonium glycyrrhizinate were 99.57%, 98.29%, 100.46%, 101.07%, 99.07% and 100.12% with *RSD*s of 1.52%, 1.46%, 1.51%, 1.37%, 1.70% and 1.33% (n=9), respectively. There is no significant difference between the value calculated by QAMS and the value determined by ESM (P>0.05). **Conclusion** QAMS method is simple, accurate, reproducible and stable, which can be used for the simultaneous determination of six components in Buzhong Yiqi Pills.

Key words: Buzhong Yiqi Pills; calycosin－7－O－β－D－glucoside; liquiritin; ammonium glycyrrhizinate; ferulic acid; isoferulic acid; hesperidin; HPLC; QAMS; content determination

补中益气丸由黄芪、党参、甘草、白术、当归、陈皮、升麻、柴胡组方[1]，具有补气健脾、升陷利湿功效，对免疫系统、消化系统及代谢相关疾病均有积极的治疗作用[2-4]。补中益气丸的质量控制研究多为某一有效成分的含量测定，虽有多组分的测定研究，但该制剂成分复杂，操作过程烦琐，所需对照品较多，成本较高，不易开展[5]。一测多评(QAMS)法是一种用于多成分质量控制的分析方法，适用于评价中药多组分的质量[6-8]。本课题组在前期的薄层色谱和指纹图谱研究的基础上[9-10]，建立了同时测定补中益气丸中黄芪有效成分毛蕊异黄酮葡萄糖苷[11]，甘草有效成分甘草苷、甘草酸铵[12]，陈皮有效成分橙皮苷[13]，升麻、当归有效成分阿魏酸、异阿魏酸[14] 6种成分含量的QAMS法，旨在为补中益气丸的质量控制提供科学、有效的新方法。现报道如下。

1 仪器与试药

1.1 仪器

P680型高效液相色谱仪(美国Dionex公司)；LPG－3400SDN型高效液相色谱仪(美国Thermo Fisher Scientific公司)；CPA225D型电子分析天平(北京赛多利斯天平有限公司，精度为十万分之一)；KQ－400KDE型超声清洗器(昆山市超声仪器有限公司，功率为400 W，频率为40 kHz)。

1.2 试药

橙皮苷对照品(批号为C－006－150318－4，纯度为99.0%)，甘草苷对照品(批号为G－009－141110，纯度为98.7%)，阿魏酸对照品(批号为A－002－140727，纯度为99.6%)，异阿魏酸对照品(批号为Y－044－140801，纯度为99.0%)，毛蕊异黄酮葡萄糖苷对照品(批号为M－020－150130－1，纯度为98.5%)，甘草酸铵对照品(批号为G－003－150314，纯度为98.3%)，均购自成都瑞芬思生物科技有限公司；黄芪、党参、甘草、白术、当归、陈皮、升麻、柴胡(广州至信中药饮片有限公司，批号均为20160711)；补中益气丸(北京同仁堂制药厂，批号分别为13061479, 14080835, 14082972, 15071479, 15080026, 15080047, 15081358, 15082109, 15082417, 15082679, 15111047, 16080747)；乙腈、甲醇均为色谱纯，其他试剂均为分析纯，超纯水经U系列纯水机制备。

2 方法与结果

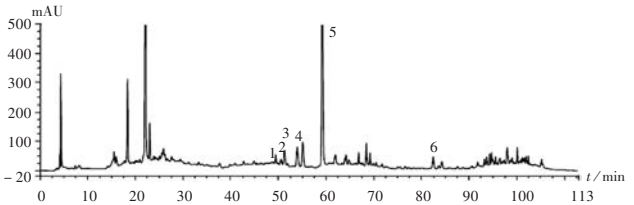
2.1 色谱条件与系统适用性试验

色谱柱：Diamosil C_{18}柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm)；流动相：乙腈(A)－0.1%磷酸水溶液(B)，梯度洗脱程序见表1；流速：0.8 mL/min；柱温：30 ℃；检测波长：270 nm；进样量：10 μL。在此色谱条件下，橙皮苷、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、异阿魏酸、甘草苷、阿魏酸、甘草酸铵与其他成分均可达到基线分离，分离度均大于1.5，理论板数按目标成分色谱峰计均大于4 000。色谱图见图1。

表1 流动相梯度洗脱程序

Tab. 1 The elution program of the mobile phase

时间	流动相A(%)	时间	流动相A(%)
0～25 min	15	60～79 min	20.2→21.5
25～35 min	15→19	79～89 min	21.5→34
35～40 min	19→20	89～104 min	34→95
40～50 min	20→20.1	104～113 min	98→100
50～60 min	20.1→20.2		



1. 毛蕊异黄酮葡萄糖苷 2. 甘草苷 3. 阿魏酸 4. 异阿魏酸 5. 橙皮苷 6. 甘草酸铵

图1 系统适用性试验高效液相色谱图

1. Calycosin－7－O－β－D－glucoside 2. Liquiritin 3. Ferulic acid 4. Isoferulic acid 5. Hesperidin 6. Ammonium glycyrrhizinate

Fig. 1 HPLC chromatograms

2.2 溶液制备

取橙皮苷、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、异阿魏酸、甘草苷、阿魏酸、甘草酸铵对照品各适量，精密称定，加甲醇适量使溶解，制成质量浓度分别为毛蕊异黄酮葡萄糖苷0.728 6 mg/mL、甘草苷1.040 0 mg/mL、甘草酸铵1.000 0 mg/mL、阿魏酸1.000 0 mg/mL、异阿魏酸

1.040 0 mg/mL、橙皮苷 0.400 0 mg/mL 的单成分标准液。取各标准溶液适量，加甲醇制成毛蕊异黄酮葡萄糖苷、甘草苷、甘草酸铵、阿魏酸、异阿魏酸、橙皮苷质量浓度分别为 3.643，15.600，57.000，1.500，15.600，120.000 μg/mL 的混合对照品溶液。取样品适量，研细，过 80 目筛，取细粉 2.0 g，精密称定，至具塞锥形瓶中，精密加入 100% 甲醇 100 mL，称定质量，60 ℃超声提取 30 min，共 2 次，静置至室温，再称定质量，用 100% 甲醇补足减失的质量，摇匀，过滤，回收部分甲醇，将药液转移至 100 mL 容量瓶中，定容，摇匀，即得供试品溶液。按处方比例，分别制备缺陈皮、甘草、黄芪、升麻和当归的阴性样品，依法制备缺陈皮、甘草、黄芪、升麻和当归的阴性对照品溶液。

2.3 方法学考察

专属性试验：取 2.2 项下溶液，按 2.1 项下色谱条件进样测定，记录色谱图，见图 2。结果各成分阴性对照品相应保留时间无显著吸收，表明方法专属性良好。

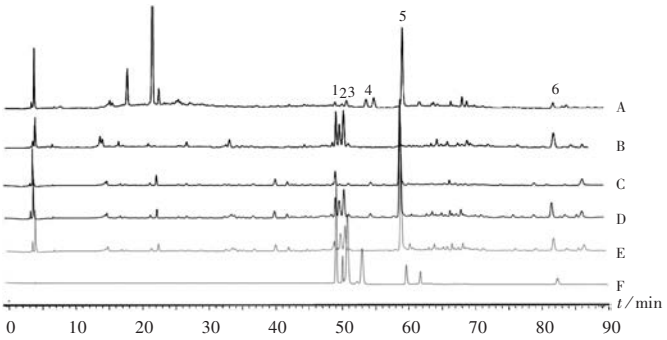
线性关系考察：精密吸取 2.2 项下系列混合对照品溶液，共 7 份，按 2.1 项下色谱条件进样分析，以各成分质量浓度（X，μg/mL）为横坐标、峰面积（Y）为纵坐标进行线性回归。结果见表 2。

精密度试验：取 2.2 项下混合对照品溶液，按 2.1 项下色谱条件连续进样测定 6 次，记录峰面积。结果见表 2，表明仪器精密度良好。

稳定性试验：取同一批（批号为 15082417）样品，依法制备供试品溶液，按 2.1 项下色谱条件分别于溶液制备后 0，4，8，12，18，24 h 时进样测定，并记录待测成分的峰面积。结果见表 2，表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

重复性试验：取同一批（批号为 15082417）样品，依法制备供试品溶液，共 6 份，按 2.1 项下色谱条件进样分析，记录待测成分的峰面积。结果见表 2，表明方法重复性良好。

加样回收试验：取同一批（批号为 15082417）样品，粉碎，取粉末 0.5g，精密称定，置具塞锥形瓶中，平行 9 份，随机分为 3 组，分别加入低、中、高 3 种质量浓度的各成分混合对照品溶液适量，每组平行 3 份，依法制备供试品溶液，按 2.1 项下色谱条件进样测定，计算回收率。结果见表 2。



1. 毛蕊异黄酮葡萄糖苷 2. 甘草苷 3. 阿魏酸 4. 异阿魏酸 5. 橙皮苷 6. 甘草酸铵

A. 供试品溶液 B. 缺陈皮阴性对照品溶液 C. 缺甘草阴性对照品溶液 D. 缺黄芪阴性对照品溶液 E. 缺升麻和当归阴性对照品溶液 F. 混合对照品溶液

图 2 专属性试验高效液相色谱图

1. calycosin－7－O－β－D－glucoside 2. liquiritin 3. ferulic acid 4. isoferulic acid 5. hesperidin 6. ammonium glycyrrhizinate

A. Test solution B. Negative reference solution lacking Citri Reticulatae Pericarpium C. Negative reference solution lacking Glycyrrhiza Radix et Rhizoma D. Negative reference solution lacking Astragali Radix E. Negative reference solution lacking Cimicifugae Rhizoma and Angelicae Sinensis Radix F. Mixed reference solution

Fig. 2 HPLC chromatograms of the specific test

2.4 相对校正因子（RCF）确定

RCF 计算：取 2.2 项下混合对照品溶液适量，以橙皮苷为内参物，在线性范围内按 RCF 计算公式 $f_{s/i}=f_s/f_i=(C_i\times As)/(Cs\times A_i)$ 分别计算橙皮苷对毛蕊异黄酮葡萄糖苷、甘草苷、阿魏酸、异阿魏酸、甘草酸铵的 RCF。式中，Cs 为内参物的质量浓度，As 为内参物的峰面积，C_i 为待测组分的质量浓度，A_i 为待测组分的峰面积[15]。结果见表 3。

RCF 的重复性：取 2.2 项下混合对照品溶液适量，以橙皮苷为内参物，按 2.1 项下色谱条件分别采用不同品牌（Dionex P680 型、Thermo LPG－3400SDN 型）高效液相色谱仪和不同品牌色谱柱（Diamosil C_{18} 柱、

表 2 补中益气丸中 6 种成分方法学考察结果

Tab. 2 Results of the methodological investigation of six components in Buzhong Yiqi Pills

成分	回归方程	R^2	线性范围（μg/mL）	RSD（%，$n=6$）			加样回收试验（%，$n=9$）	
				精密度试验	稳定性试验	重复性试验	$\bar{X}$	RSD
毛蕊异黄酮葡萄糖苷	$Y=50.139X+0.058\,2$	0.999 3	0.010 9～0.072 9	0.73	0.46	1.89	99.57	1.52
甘草苷	$Y=27.784X-0.011\,9$	0.999 6	0.046 8～0.312 0	2.27	1.39	2.09	98.29	1.46
阿魏酸	$Y=27.277X-0.029\,6$	0.997 6	0.004 5～0.030 0	1.12	2.56	1.03	100.46	1.51
异阿魏酸	$Y=53.241X-0.070\,7$	0.999 9	0.046 8～0.312 0	0.16	1.89	2.11	101.07	1.37
橙皮苷	$Y=31.236X-0.440\,1$	0.999 9	0.360 0～2.400 0	0.84	0.84	0.85	99.07	1.70
甘草酸铵	$Y=7.522\,9X-0.015\,9$	0.999 9	0.171 0～1.140 0	0.37	0.73	2.73	100.12	1.33

表3 补中益气丸中5种成分的相对校正因子(以橙皮苷为内参物)

Tab. 3 RCFs of five components in Buzhong Yiqi Pills (taking hesperidin as the internal reference)

进样量(μL)	毛蕊异黄酮葡萄糖苷	甘草苷	阿魏酸	异阿魏酸	甘草酸铵
5	0.589 5	1.116 2	1.233 5	0.582 0	4.049 1
8	0.580 3	1.125 0	1.230 8	0.558 8	4.087 3
10	0.579 0	1.089 9	1.199 1	0.587 4	4.093 4
14	0.585 8	1.082 5	1.144 3	0.577 2	4.061 0
17	0.609 5	1.126 4	1.232 8	0.580 0	4.151 3
20	0.621 4	1.132 8	1.190 5	0.592 8	4.162 2
$\overline{X}$	0.594 2	1.112 1	1.205 2	0.579 7	4.100 7
RSD(%)	2.91	1.88	2.92	2.01	1.13

Kromasil C_{18}柱)测定,考察其对RCF的影响。结果见表4。

2.5 色谱峰定位方法考察

取2.2项下混合对照品溶液适量,以橙皮苷为内参物,按2.1项下色谱条件测定,分别计算不同品牌(Dionex P680型、Thermo LPG-3400SDN型)高效液相色谱仪和不同品牌色谱柱(Diamosil C_{18}柱、Kromasil C_{18}柱)下其他5种待测成分的相对保留时间差(Δt_R),即$\Delta t_{R\ 待测成分/内参物} = \Delta t_{R\ 内参物} - \Delta t_{R\ 待测成分}$,以考察$\Delta t_R$的重复性。结果见表4。

2.6 QAMS法与外标法定量测定结果比较

取12批样品,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,分别采用QAMS法和外标(ESM)法计算样品中毛蕊异黄酮葡萄糖苷、橙皮苷、甘草苷、甘草酸铵、阿魏酸、异阿魏酸的含量,对2种方法的检测结果进行成组t检验,同时以相对误差[RE=(QAMS$_{计算值}$-ESM$_{实测值}$)/ESM$_{实测值}$×100%]对2种方法测定结果进行比较[16-18],详见表5。结果显示,各阶段数据均服从正态分布,组间P值均大于0.05,同时2种方法测得含量的|RE|均小于5%,表

表4 不同仪器及色谱柱测定补中益气丸中5种成分的相对校正因子及保留时间差(以橙皮苷为内参物)

Tab. 4 RCFs and retention time difference of Buzhong Yiqi Pills determined by different instruments and chromatographic columns (taking hesperidin as the internal reference)

高效液相色谱仪	色谱柱	毛蕊异黄酮葡萄糖苷		甘草苷		阿魏酸		异阿魏酸		甘草酸铵	
		RCF	Δt_R	RCF	Δt_R	RCF	Δt_R	RCF	Δt_R	RCF	Δt_R
Dionex P680型	Kromasil	0.580 6	-9.55	1.106 3	-7.89	1.173 1	-7.15	0.589 2	-5.09	4.153 8	23.22
	Diamosil	0.581 2	-9.64	1.107 6	-8.01	1.180 5	-7.28	0.587 9	-5.16	4.204 4	23.23
Thermo LPG-3400SDN型	Kromasil	0.590 2	-9.69	1.157 9	-8.03	1.210 7	-7.30	0.587 4	-5.16	4.196 6	23.21
	Diamosil	0.582 5	-9.65	1.114 1	-7.95	1.186 6	-7.20	0.587 7	-5.05	4.180 6	23.25
$\overline{X}$		0.583 6	-9.63	1.121 5	-7.97	1.187 7	-7.23	0.588 0	-5.12	4.183 9	23.23
RSD(%)		0.76	-0.51	2.19	-0.73	1.37	-0.87	0.13	-0.98	0.53	0.06

注:RCF为相对校正因子,Δt_R为保留时间差。

Note: RCF = relative proofreading factor, Δt_R = retention time difference.

表5 QAMS法与ESM法测得补中益气丸中6种成分的含量比较(n=2)

Tab. 5 Comparison of the content of six components in Buzhong Yiqi Pills determined by QAMS and ESM(n=2)

批号	橙皮苷	毛蕊异黄酮葡萄糖苷			甘草苷			阿魏酸			异阿魏酸			甘草酸铵		
	ESM (mg/g)	QAMS (mg/g)	ESM (mg/g)	*RE* (%)	QAMS (mg/g)	ESM (mg/g)	*RE* (%)	QAMS (mg/g)	ESM (mg/g)	*RE* (%)	QAMS (mg/g)	ESM (mg/g)	*RE* (%)	QAMS (mg/g)	ESM (mg/g)	*RE* (%)
13061479	4.288 5	0.102 9	0.104 3	-1.34	0.395 5	0.397 7	-0.55	0.056 9	0.056 5	0.70	0.331 2	0.333 2	-0.60	1.273 5	1.284 4	-0.85
14080835	4.228 1	0.095 1	0.096 1	-1.04	0.373 7	0.375 8	-0.56	0.054 2	0.053 8	0.74	0.317 6	0.319 6	-0.63	1.388 9	1.400 2	-0.81
14082972	4.282 3	0.097 8	0.102 3	-4.40	0.379 1	0.397 5	-4.63	0.055 4	0.054 7	1.28	0.318 5	0.334 9	-4.90	1.253 2	1.289 8	-2.84
15071479	4.193 4	0.101 0	0.097 9	3.17	0.395 3	0.378 2	4.52	0.055 0	0.055 0	0	0.332 9	0.317 5	4.85	1.253 2	1.263 8	-0.84
15080026	4.297 4	0.102 1	0.103 4	-1.26	0.396 3	0.398 5	-0.22	0.055 3	0.054 9	0.73	0.332 9	0.334 9	-0.60	1.403 0	1.414 6	-0.82
15080047	4.274 9	0.101 6	0.102 9	-1.26	0.399 0	0.401 2	-0.55	0.056 7	0.056 3	0.71	0.334 1	0.336 1	-0.59	1.406 4	1.417 9	-0.81
15081358	4.262 0	0.100 4	0.101 6	-1.18	0.391 7	0.393 8	-0.53	0.055 6	0.055 2	0.72	0.328 8	0.330 8	-0.60	1.335 4	1.346 5	-0.82
15082109	4.260 7	0.099 9	0.101 2	-1.28	0.389 3	0.391 5	-0.56	0.055 6	0.055 2	0.72	0.327 3	0.326 3	0.31	1.333 8	1.344 9	-0.83
15082417	4.256 3	0.099 5	0.100 7	-1.19	0.388 7	0.390 8	-0.54	0.055 4	0.055 0	0.72	0.327 0	0.329 0	-0.61	1.344 3	1.355 5	-0.83
15082679	4.257 0	0.099 6	0.100 8	-1.19	0.388 8	0.390 9	-0.54	0.055 4	0.055 0	0.72	0.327 0	0.329 0	-0.61	1.418 0	1.354 0	4.73
15111047	4.263 5	0.100 4	0.101 6	-1.18	0.399 22	0.394 3	1.25	0.055 8	0.055 4	0.72	0.329 3	0.331 3	-0.60	1.354 9	1.366 2	-0.83
16080747	4.256 9	0.099 5	0.100 8	-1.30	0.388 8	0.390 9	-0.54	0.055 4	0.055 0	0.73	0.327 0	0.329 0	-0.61	1.343 0	1.354 2	-0.83
P值			0.18			0.50			0.22			0.40			0.59	

明 2 种方法测得结果无显著差异，QAMS 法用于补中益气丸中 6 种成分的含量测定可信度较好，可用于同时测定补中益气丸中多个组分的含量，可为全面评价补中益气丸的质量提供数据基础。

3 讨论

3.1 内参物选择

参考文献[17－18]，橙皮苷价廉易得，且其出峰附近干扰成分少，容易辨认，性质稳定。故以橙皮苷为内参物，采用 QAMS 法对其他指标成分进行定量测定。

3.2 色谱峰定位方法选择

前期分别考察了 Δt_R、相对保留时间值和保留时间值用于待测色谱峰定位的稳定性，结果发现 Δt_R 在不同仪器和色谱柱条件下波动较小。故选择耐用性更强的 Δt_R 法作为色谱峰最终定位标准。

3.3 色谱条件优化

参考文献[18－19]，采用光电二极管阵列检测器在 190～400 nm 波长范围内对混合对照品溶液进行扫描，分别考察 6 种待测成分的紫外吸收情况。结果显示，于 220 nm 波长处杂质峰较少，但甘草酸铵的色谱峰吸收不明显；于 250 nm 波长处甘草苷和橙皮苷的色谱峰均有干扰；于 285 nm 波长处毛蕊异黄酮葡萄糖苷的色谱峰有干扰且橙皮苷的色谱峰拖尾严重；于 270 nm 波长处各待测成分均有较强吸收且峰形和分离度均好。故确定含量测定波长为 270 nm。

考察了不同有机相（乙腈和甲醇）与水相（水和磷酸溶液）的流动相系统，并不断调整有机相－水相（磷酸溶液）的比例。结果显示，采用乙腈－0.1% 磷酸水溶液进行梯度洗脱时，各组分的色谱峰响应最好且分离完全，基线平稳，重复性较好，保留时间较稳定。故最终确定流动相为乙腈－0.1% 磷酸水溶液。

3.4 方法评价

中药成分复杂多样，在进行质量控制时需进行多组分测定，由于所需对照品数量众多且大多费用高昂，不利于广泛应用[20－22]。QAMS 法只需测定样品中单一成分即可实现其他多种成分的同步测定，适用于中药多组分的质量评价。补中益气丸中药味较多、成分复杂，本试验选择了毛蕊异黄酮葡萄糖苷、甘草苷、甘草酸铵、阿魏酸、异阿魏酸、橙皮苷 6 种具有代表性的指标性成分进行考察。结果显示，以橙皮苷为内参物，不同品牌色谱仪和色谱柱对其余 5 种成分的 RCF 的影响较小，重复性和稳定性均良好，故建立了上述 6 种指标性成分含量测定的 QAMS 法。该方法与 ESM 法测得的含量无显著差异，可在仅有 1 个对照品时实现同步测定补中益气丸中的多种指标性成分，克服了对照品短缺及检测成本高的困难，为补中益气丸的质量控制研究提供了参考。

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，2015：993－994.
[2] 刘宗伟，石岫岩．脾多肽联合补中益气丸对慢性阻塞性肺疾病急性加重期的控制效果研究[J]．中华中医药学刊，2019，37(12)：3034－3037.
[3] 张文杰，潘华新，巫燕莉，等．补中益气丸对 IEC－6 细胞损伤模型 NLRP3 炎性体及相关细胞因子的影响[J]．中国实验方剂学杂志，2017，23(12)：114－118.
[4] 贺安利．补中益气丸干预对腹腔镜胆囊切除术后腹泻的疗效[J]．宁夏医科大学学报，2018，40(9)：1105－1108.
[5] 董乙文，李天雪，褚朝森，等．UPLC－MS/MS 法同时定量测定补中益气丸中的 15 种化合物[J]．药物分析杂志，2017，37(7)：1228－1233.
[6] 冯桂玲，刘莹娟，李文献，等．基于一测多评法同时定量测定人参女金丸中 9 个主要成分[J]．中国药学杂志，2018，53(23)：2047－2053.
[7] 张贵平，李海僖，金 蕾．一测多评法同时测定脑栓通胶囊中 4 种指标成分的含量[J]．中国药师，2019，22(1)：156－159.
[8] 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.
[9] 张永昕，李莎恩，俞 发，等．补中益气丸中相关药味的薄层鉴别补充研究[J]．中国药业，2018，27(22)：17－20.
[10] 张永昕，李莎恩，段付军，等．补中益气丸（水丸）的中药指纹图谱研究[J]．中国药业，2019，28(23)：4－9.
[11] 姜 辉，顾胜龙，张玉婷，等．黄芪化学成分和药理作用研究进展[J]．安徽中医药大学学报，2020，39(5)：93－96.
[12] 林海霞，代俊萍．HPLC 法同时测定风寒感冒颗粒中 6 种成分[J]．中成药，2020，42(12)：3143－3146.
[13] 李思琦，李 华．陈皮主要化学成分及质量控制研究进展[J]．今日药学，2020，30(12)：861－864.
[14] 黄广欣，龚苏晓，许 浚，等．升麻研究进展及其质量标志物的预测分析[J]．中草药，2020，51(10)：2651－2660.
[15] 杨丽娜，曾棋平，周承芳，等．一测多评法测定复方首乌藤合剂中 9 种成分的含量[J]．解放军药学学报，2018，34(6)：521－524.
[16] 陈两绵，高慧敏，胡雪花，等．以脱水穿心莲内酯为内参物建立中药穿心莲“一测多评”质量控制方法[J]．中国中药杂志，2019，44(4)：730－739.
[17] 马昌豪，李怀伟，仝桂平，等．一测多评法同时测定咽炎片中 5 种指标性成分的含量[J]．中国药房，2019，30(16)：2232－2236.
[18] 王慧玉，张晓芹，刘帅英，等．一测多评 HPLC 法测定三叶青中5种黄酮类成分的含量[J]．中国药师，2019，22(2)：336－340.
[19] 邓艳梅，徐 建．一测多评法同时测定乳癖消片中 5 种指标性成分的研究[J]．中国药师，2020，23(1)：179－182.
[20] 李宗云，刘 莉，何世学，等．一测多评法测定六神丸中 5 种蟾毒配基类成分含量[J]．中国医院药学杂志，2020，40(2)：184－188.
[21] 丁梦磊，张 雯，张 越，等．一测多评法测定六神丸中的 6个蟾蜍二烯内酯类化合物[J]．药物分析杂志，2019，39(11)：2003－2009.
[22] 邱学伟，张春辉，卢京光，等．一测多评法测定咽炎片玄参中 3 种主要成分含量[J]．中国药业，2018，27(6)：14－17.

（收稿日期：2021－06－18）