

# HPLC-QAMS 同时测定复方黄芩片中 6 种活性成分的含量

胡 丹\*(宿州市食品药品检验检测中心,安徽 宿州 234000)

中图分类号 R284.1;R927      文献标志码 A      文章编号 1001-0408(2018)11-1510-05  
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2018.11.17

**摘要** 目的:建立同时测定复方黄芩片中 6 种活性成分含量的高效液相色谱(HPLC)-一测多评法(QAMS)。方法:采用 HPLC 法,以黄芩苷为内参物,分别计算其与虎杖苷、汉黄芩苷、黄芩素、穿心莲内酯、脱水穿心莲内酯的相对校正因子(RCF),通过 RCF 计算复方黄芩片中上述 5 种成分的含量(计算值),同时采用外标法测定这 6 种成分的含量(实测值),比较计算值与实测值的差异。色谱柱为 ZORBAX Eclipse XDB C<sub>18</sub>,流动相为乙腈-0.05%磷酸溶液(梯度洗脱),流速为 1.0 mL/min,检测波长为 306 nm(虎杖苷)、225 nm(穿心莲内酯)、275 nm(黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素)、254 nm(脱水穿心莲内酯),柱温为 25 ℃,进样量为 10 μL。结果:虎杖苷、黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、穿心莲内酯、脱水穿心莲内酯的检测质量浓度的线性范围分别为 4.555~81.99、47.03~846.5、12.73~229.1、12.88~231.8、2.632~47.38、3.508~63.14 μg/mL( $r$  为 0.999 2~0.999 7);检测限分别为 2.25、6.92、1.76、4.69、1.37、1.51 ng,定量限分别为 6.89、19.98、5.28、13.81、4.15、4.71 ng;平均加样回收率分别为 98.2%、98.8%、97.9%、98.9%、98.8%、98.7%(RSD 为 0.91%~1.32%, $n=9$ );精密度、重复性、稳定性(48 h)试验的 RSD<2.0%( $n=6$  或  $n=7$ )。虎杖苷、汉黄芩苷、黄芩素、穿心莲内酯、脱水穿心莲内酯的 RCF 分别为 0.529、0.506、1.004、0.831、1.087,其计算值和实测值比较差异无统计学意义( $P>0.05$ )。结论:该方法简单、有效、结果准确、节约成本,可用于复方黄芩片中上述 6 种活性成分含量的同时测定。

**关键词** 一测多评法;高效液相色谱法;复方黄芩片;相对校正因子;活性成分;含量测定

## Content Determination of 6 Active Constituents in Compound Huangqin Tablets by HPLC-QAMS

HU Dan(Suzhou Food and Drug Inspection and Testing Center, Anhui Suzhou 234000, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish quantitative analysis of HPLC-quantitative analysis of multi-components by single marker (QAMS) for simultaneous determination of 6 active constituents in Compound huangqin tablets. METHODS: Using baicalin as internal content, HPLC method was used to calculate relative correction factor (RCF) of baicalin to polydatin, wogonoside, baicalein, andrographolide and dehydroandrographolide. The contents of above-mentioned 5 components in Compound huangqin tablets were calculated by using RCF (calculation value). The external standard method (ESM) was used to determine the contents of 6 constituents (measured value). The differences between calculation value and measured value were compared. The determination was performed on ZORBAX Eclipse XDB C<sub>18</sub> column with mobile phase consisted of acetonitrile-0.05% phosphoric acid (gradient elution) at the flow rate of 1.0 mL/min. The detection wavelength was set at 306 nm for polydatin, 225 nm for andrographolide, 275 nm for baicalin, wogonoside and baicalein, 254 nm for dehydroandrographolide. The column temperature was set at 25 ℃ and the injection volume was 10 μL. RESULTS: The linear range was 4.555-81.99 μg/mL for polydatin, 47.03-846.5 μg/mL for baicalin, 12.73-229.1 μg/mL for wogonoside, 12.88-231.8 μg/mL for baicalein, 2.632-47.38 μg/mL for andrographolide, 3.508-63.14 μg/mL for dehydroandrographolide ( $r=0.999\ 2-0.999\ 7$ ), respectively. Limits of detection were 2.25, 6.92, 1.76, 4.69, 1.37, 1.51 ng; limits of quantitation were 6.89, 19.98, 5.28, 13.81, 4.15, 4.71 ng. Average recoveries were 98.2%, 98.8%, 97.9%, 98.9%, 98.8%, 98.7% (RSD=0.91%-1.32%,  $n=9$ ). RSDs of precision, reproducibility and stability tests (48 h) were lower than 2.0% ( $n=6$  or  $n=7$ ). RCFs of baicalin to polydatin, wogonoside, baicalein, andrographolide and dehydroandrographolide were 0.529, 0.506, 1.004, 0.831 and 1.087, respectively. There was no statistical significance between calculated values and measured ones ( $P>0.05$ ). CONCLUSIONS: The method is simple, effective, accurate and cost saving. It can be used for simultaneous determination of 6 active constituents in Compound huangqin tablets.

**KEYWORDS** Quantitative analysis of multi-components by single marker; HPLC; Compound huangqin tablet; Relative correction factor; Active constituents; Content determination

复方黄芩片由黄芩、虎杖、穿心莲和十大功劳 4 味中药材组成,具有清热解毒、凉血消肿之功效,用于咽喉肿

痛、口舌生疮、感冒发热、痈肿疮疡<sup>[1]</sup>。黄芩中含有黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素等黄酮类成分,有清热燥湿、泻火解毒的功效;虎杖中含有虎杖苷,有抗菌消炎、利湿退黄、清热解毒、止咳化痰的功效;穿心莲中含有穿心莲

\* 主管药师。研究方向:药品检验。电话:0557-3022893。E-mail:767533878@qq.com

内酯及脱水穿心莲内酯,具有清热解毒、凉血消肿的功效<sup>[2]</sup>。已有针对虎杖苷、黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、穿心莲内酯、脱水穿心莲内酯含量测定的文献报道<sup>[2-8]</sup>,但是涉及到多种成分同时测定时需要对照品数量多,但某些对照品提纯难度大,使用成本较高。一测多评法(QAMS)的广泛应用,实现了以样品中某一廉价易得的对照品为内参对多种有效成分质量的同步控制的要求,该方法在中成药及中药饮片质量控制中得到了较广泛的应用<sup>[9-13]</sup>,但采用QAMS法测定复方黄芩片的有效成分的含量尚未见报道。本研究建立了高效液相色谱(HPLC)-QAMS法同时测定复方黄芩片中6种活性成分的含量,以黄芩苷为内标,计算虎杖苷、汉黄芩苷、黄芩素、穿心莲内酯、脱水穿心莲内酯与其之间的相对校正因子(RCF),利用RCF测定各组分含量,并将结果与外标法(ESM)测得数据进行比较分析。

## 1 材料

### 1.1 仪器

e2695 Waters HPLC 仪,包括2695 Alliance 四元梯度泵、2695 Alliance 自动进样器、Empower3 色谱工作站、2998 二极管阵列检测器(美国 Waters 公司);1260 Infinity HPLC 仪,包括G1311C 四元梯度泵、G1329B 自动进样器、Agilent EZchrom 色谱工作站、G4212B 二极管阵列检测器(美国 Agilent 公司);3000 Ultimate HPLC 仪,包括 HPG-3x00A 二元泵、Split-Loop 自动进样器、Chromleon 7 色谱工作站、PDA-3000 二极管阵列检测器(美国 Thermo Fisher Scientific 公司);Quintix 224 万分之一电子天平(德国赛多利斯公司)、D115 烘箱(德国 Binder 公司);SP3-100AL 超声波清洗机(上海泗裴电子科技有限公司)。

### 1.2 药品与试剂

复方黄芩片(肇庆星湖制药有限公司,批号:1702062、1703078、1708045、1708067、1709023,规格:每片0.33 g);黄芩苷对照品(批号:110715-201619,纯度:93.5%)、虎杖苷对照品(批号:111575-201603,纯度:87.3%)、汉黄芩苷对照品(批号:112002-201501,纯度:98.8%)、黄芩素对照品(批号:111595-201306,纯度:97.8%)、穿心莲内酯对照品(批号:110797-201108,纯度:98.7%)、脱水穿心莲内酯对照品(批号:110854-201508,纯度:99.4%)均购自中国食品药品检定研究院;甲醇、乙腈均为色谱纯,其他试剂均为分析纯,水为超纯水。

## 2 方法与结果

### 2.1 QAMS 法概念与原理

QAMS 法是通过中药有效成分间存在的内在函数关系和比例关系,通过测定中药中某个代表性成分(易

得、廉价、有效)的含量,依据RCF计算出该中药中其他多种待测成分(对照品难以得到或难供应)的含量,使其计算值与实测值符合定量方法学要求的一种多指标质量同步控制方法<sup>[14]</sup>。在一定线性范围内某成分的量(质量或浓度)与检测器响应值成正比,即 $f=A/C$ ( $f$ 为校正因子, $A$ 表示响应值, $C$ 表示浓度)。QAMS是以药材中某一典型组分 $s$ (一般该组分对照品易得、廉价)为内参物,建立内参物 $s$ 与其他待测组分 $k$ 之间的RCF( $f_{k/s}$ ),即 $f_{k/s}=f_k/f_s=(A_k \times C_s)/(C_k \times A_s)$ ,再通过校正因子计算其他组分的含量 $C_k=(C_s \times A_k)/(A_s \times f_{k/s})$ <sup>[15]</sup>。

### 2.2 色谱条件

色谱柱:ZORBAX Eclipse XDB C<sub>18</sub> (250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:乙腈(A)-0.05%磷酸溶液(B),梯度洗脱(0~12 min, 5%→15% A; 12~25 min, 15%→30% A; 25~40 min, 30%→45% A; 40~50 min, 45%→55% A);流速:1.0 mL/min;检测波长:306 nm(0~7 min 虎杖苷)、275 nm(7~15 min 黄芩苷)、225 nm(15~23 min 穿心莲内酯)、275 nm(23~37 min 汉黄芩苷、黄芩素)、254 nm(37~50 min 脱水穿心莲内酯);柱温:25℃;进样量:10 μL。

### 2.3 溶液的制备

2.3.1 混合对照品溶液 精密称取虎杖苷、黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、穿心莲内酯、脱水穿心莲内酯对照品各适量,置于同一100 mL棕色量瓶中,加50%甲醇溶液超声处理(功率:250 W,频率:40 kHz)30 min,放冷,加50%甲醇溶液稀释至刻度,摇匀,配制成每1 mL含虎杖苷182.2 μg、黄芩苷1 881.2 μg、汉黄芩苷509.2 μg、黄芩素515.2 μg、穿心莲内酯105.3 μg、脱水穿心莲内酯140.3 μg的混合对照品溶液,室温避光保存,备用。

2.3.2 供试品溶液 取复方黄芩片20片,去除糖衣,研细,得复方黄芩片细粉。取复方黄芩片细粉约1 g,精密称定,置于50 mL棕色量瓶中,加入30 mL 50%甲醇溶液,室温超声处理(功率:250 W,频率:40 kHz)30 min后取出,放冷,用50%甲醇溶液稀释至刻度,摇匀,滤过,即得,室温避光保存。

2.3.3 阴性样品溶液 按照复方黄芩片处方工艺分别制备不含虎杖、黄芩和穿心莲的阴性样品,按供试品溶液制备和测定方法进行处理,即得。

2.3.4 空白溶剂 取适量甲醇作为空白溶剂。

### 2.4 系统适用性及专属性试验

在“2.2”项色谱条件下,精密吸取“2.3”项下混合对照品溶液、供试品溶液及阴性样品溶液各10 μL进样,结果各组分与前后峰分离度均大于1.8,对称因子在1.12~1.45之间,理论板数以虎杖苷、黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、穿心莲内酯、脱水穿心莲内酯峰计均>5 000。阴性

样品溶液色谱图中在与样品中虎杖苷、黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、穿心莲内酯和脱水穿心莲内酯保留时间相应位置上未见色谱峰,说明其他药味对测定无干扰。色谱图见图1。

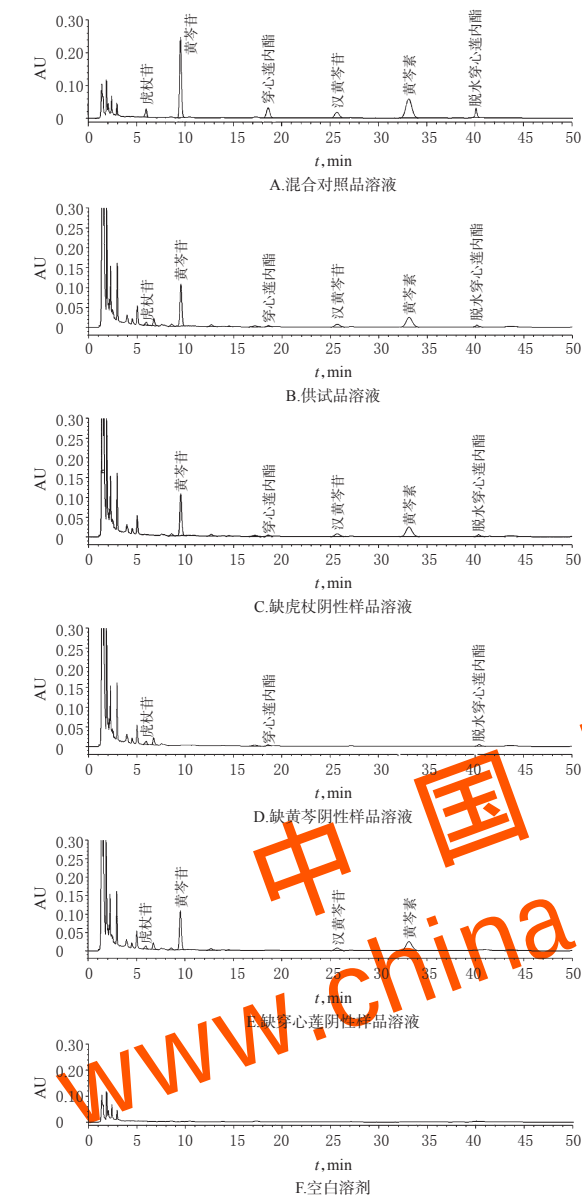


图1 高效液相色谱图  
Fig 1 HPLC chromatograms

2.5 线性关系考察

分别精密吸取“2.3.1”项下混合对照品溶液0.5、1.0、3.0、5.0、7.0、9.0 mL,置于同一20 mL量瓶中,加50%甲醇溶液稀释至刻度,摇匀,得系列混合对照品溶液,按“2.2”项下色谱条件测定,记录色谱图。以质量浓度为横坐标(x)、峰面积为纵坐标(y)进行线性回归,绘制各组分标准曲线,计算回归方程和相关系数。结果表明,虎杖苷、黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、穿心莲内酯、脱水穿心莲内酯在试验范围内成良好的线性关系,见表1。

2.6 检测限与定量限考察

表1 线性关系考察结果(n=6)

Tab 1 Results of linear range investigation (n=6)

| 待测成分    | 回归方程            | r       | 线性范围, μg/mL |
|---------|-----------------|---------|-------------|
| 虎杖苷     | y=159.35x+12.12 | 0.999 7 | 4.555~81.99 |
| 黄芩苷     | y=301.38x+25.68 | 0.999 2 | 47.03~846.5 |
| 汉黄芩苷    | y=152.34x+21.59 | 0.999 4 | 12.73~229.1 |
| 黄芩素     | y=302.59x+59.63 | 0.999 6 | 12.88~231.8 |
| 穿心莲内酯   | y=250.36x+19.36 | 0.999 5 | 2.632~47.38 |
| 脱水穿心莲内酯 | y=327.45x+29.68 | 0.999 6 | 3.508~63.14 |

取“2.3.1”项下混合对照品溶液适量,倍比稀释,按“2.2”项下色谱条件连续进样测定6次,记录峰面积,当信噪比为3:1时即为检测限;当信噪比为10:1时即为定量限。结果,虎杖苷、黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、穿心莲内酯和脱水穿心莲内酯检测限分别为2.25、6.92、1.76、4.69、1.37、1.51 ng,定量限分别为6.89、19.98、5.28、13.81、4.15、4.71 ng。

2.7 精密度试验

精密吸取“2.3.1”项下混合对照品溶液10 μL,按“2.2”项下色谱条件连续进样6次,记录峰面积。结果,虎杖苷、黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、穿心莲内酯及脱水穿心莲内酯峰面积的RSD分别为0.53%、1.02%、1.18%、0.85%、0.76%、0.66% (n=6),表明仪器精密度良好。

2.8 稳定性试验

取同一供试品溶液(批号:1702062),分别于制备后0、3、6、9、12、24、48 h按“2.2”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果,虎杖苷、黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、穿心莲内酯及脱水穿心莲内酯峰面积的RSD分别为0.35%、0.56%、0.52%、0.62%、0.92%、0.43%、0.89% (n=7),表明供试品溶液48 h内稳定性良好。

2.9 重复性试验

取同一批供试品(批号:1702062),按“2.3.2”项下方法制备供试品溶液,共6份,再按“2.2”项下色谱条件进样测定,记录色谱图,并计算6种成分的含量及其RSD值。结果,虎杖苷、黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、穿心莲内酯及脱水穿心莲内酯的平均含量分别为2.14、22.56、5.85、6.05、1.36、1.65 mg/g, RSD分别为0.59%、0.41%、0.89%、1.02%、0.85%、1.12% (n=6),表明方法重复性良好。

2.10 加样回收率试验

取已知含量的复方黄芩片(批号:1702062)细粉,共9份,每份约0.5 g,分成3组,精密称定后分别置于50 mL棕色量瓶中,分别加入“2.3.1”项下混合对照品溶液4、6、8 mL,按“2.3.2”项下供试品溶液方法制备,再按“2.2”项下色谱条件进样测定,记录色谱图,计算各成分加样回收率及其RSD值。结果,虎杖苷、黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、穿心莲内酯及脱水穿心莲内酯的平均加样回收率

分别为 98.2%、98.8%、97.9%、98.9%、98.8%、98.7%，RSD 分别为 1.32%、1.14%、1.23%、1.00%、0.91%、1.12% ( $n=9$ )。

2.11 RCF 的计算

在标准曲线  $y=ax+b$  中,  $x=(y-b)/a=y/a-b/a$ , 由于  $b$  值通常为误差引起, 在  $a/b$  值大于 100 时,  $b/a$  值可以忽略不计, 此时可以公式  $x=y/a$  直接计算其含量。故 RCF 可以二者的斜率  $a$  的比直接计算, 计算公式为  $f_{k/s}=a_k/a_s$ , 式中  $a_s$  为内参物标准曲线斜率;  $a_k$  为其他待测组分标准曲线斜率。根据表 1 中回归方程, 以 275 nm 波长下黄芩苷为内参物(1.000), 306 nm 波长下的虎杖苷 RCF 为 0.529; 275 nm 波长下的汉黄芩苷、黄芩素的 RCF 分别为 0.506、1.004; 225 nm 波长下的穿心莲内酯 RCF 为 0.831; 254 nm 波长下的脱水穿心莲内酯 RCF 为 1.087。

2.12 RCF 重现性考察

考察流动相各梯度点组分比例变化、流速变化、柱温变化以及各成分检测波长变化时对 RCF 的影响。结果, 流动相各梯度点比例变化  $\pm 5\%$ , 流速变化  $\pm 10\%$ , 柱温变化  $\pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 各活性成分检测波长变化  $\pm 2\text{ nm}$  时对各成分的 RCF 影响较小, RSD 均在 3.0% 以内。另外, 本研究还考察了不同品牌 HPLC 仪及 3 种不同品牌色谱柱 ZORBAX Eclipse XDB C<sub>18</sub>、Inertsil ODS-SPHPLC Column、Waters Sunfire C<sub>18</sub> (规格均为 250 mm $\times$ 4.6 mm/5  $\mu\text{m}$ ) 对 RCF 的影响, 结果不同 HPLC 仪、不同色谱柱条件下虎杖苷、汉黄芩苷、黄芩素、穿心莲内酯、脱水穿心莲内酯 RCF 的 RSD 依次为 1.3%、1.4%、1.0%、0.9%、1.4%, RSD 均小于 2.0%。不同 HPLC 仪器及色谱柱对 RCF 的影响见表 2。

表 2 不同 HPLC 仪器及色谱柱对 RCF 的影响 ( $n=3$ )  
Tab 2 Effects of different HPLC instrument and chromatographic column on RCF ( $n=3$ )

| 仪器            | 色谱柱                      | RCF   |       |       |       |         |
|---------------|--------------------------|-------|-------|-------|-------|---------|
|               |                          | 虎杖苷   | 汉黄芩苷  | 黄芩素   | 穿心莲内酯 | 脱水穿心莲内酯 |
| e2695 Waters  | Agilent C <sub>18</sub>  | 0.555 | 0.510 | 0.990 | 0.840 | 1.121   |
|               | Inertsil C <sub>18</sub> | 0.561 | 0.509 | 0.985 | 0.829 | 1.119   |
|               | Waters C <sub>18</sub>   | 0.549 | 0.499 | 0.976 | 0.830 | 1.118   |
| 1260 Agilent  | Agilent C <sub>18</sub>  | 0.551 | 0.502 | 0.977 | 0.841 | 1.120   |
|               | Inertsil C <sub>18</sub> | 0.554 | 0.498 | 0.969 | 0.842 | 1.089   |
|               | Waters C <sub>18</sub>   | 0.560 | 0.505 | 0.990 | 0.828 | 1.121   |
| 3000 Infinity | Agilent C <sub>18</sub>  | 0.555 | 0.520 | 1.000 | 0.850 | 1.091   |
|               | Inertsil C <sub>18</sub> | 0.539 | 0.512 | 0.991 | 0.839 | 1.101   |
|               | Waters C <sub>18</sub>   | 0.545 | 0.511 | 0.989 | 0.842 | 1.130   |
| 平均值           |                          | 0.552 | 0.507 | 0.985 | 0.838 | 1.112   |
| RSD, %        |                          | 1.3   | 1.4   | 1.0   | 0.9   | 1.4     |

2.13 待测色谱峰的定位

色谱峰的准确定位是 QASM 法应用的关键, 可采用保留时间差 (指各待测成分与内参物间保留时间的差值) 或相对保留时间 (指各待测成分与内参物间保留时间的比值) 等参数, 并结合色谱图整体特征, 以及每个峰

的紫外吸收特征来定位待测成分色谱峰<sup>[15]</sup>。本研究通过考察保留时间差和相对保留时间两种参数在不同品牌 HPLC 仪和不同品牌色谱柱中的重现性。结果, 保留时间差的波动较为明显 ( $\text{RSD}>5\%$ ), 相对保留时间的波动相对较小 ( $\text{RSD}<3.5\%$ )。因此, 采用相对保留时间法进行待测成分色谱峰的定位。但是对于成分复杂的样品, 可选用定性用的对照品或“对照提取物”对待测成分进行定位, 此法峰定位准确, 受色谱条件及内参物变化干扰小<sup>[16]</sup>。

2.14 QASM 与 ESM 结果比较

按“2.2”项下色谱条件, 分别精密吸取“2.3”项下混合对照品溶液和供试品溶液各 10  $\mu\text{L}$ , 进样测定, 记录虎杖苷、黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、穿心莲内酯、脱水穿心莲内酯的峰面积, 分别采用 ESM 和 QASM 对 5 批复方黄芩片中 6 种活性成分含量进行测定, 并利用统计软件 SPSS 22.0 对两组含量结果进行成组  $t$  检验, 验证 QASM 方法的准确性。结果, 两种方法测得 6 种活性成分含量比较, 差异无统计学意义 ( $P>0.05$ ), 见表 3。

表 3 不同方法测定复方黄芩片中 6 种成分含量的结果 ( $n=3, \text{mg/g}$ )

Tab 3 Determination results of 6 components in Compound Huangqin tablets by different methods ( $n=3, \text{mg/g}$ )

| 批号      | 黄芩苷   | 虎杖苷   |      | 汉黄芩苷  |      | 黄芩素   |      | 穿心莲内酯 |      | 脱水穿心莲内酯 |      |
|---------|-------|-------|------|-------|------|-------|------|-------|------|---------|------|
|         |       | ESM   | QASM | ESM   | QASM | ESM   | QASM | ESM   | QASM | ESM     | QASM |
| 1702062 | 22.56 | 2.11  | 2.15 | 5.85  | 5.87 | 6.05  | 6.06 | 1.31  | 1.32 | 1.65    | 1.66 |
| 1702078 | 22.53 | 2.12  | 2.16 | 5.81  | 5.80 | 6.08  | 6.04 | 1.29  | 1.27 | 1.66    | 1.64 |
| 1708045 | 22.60 | 2.15  | 2.13 | 5.76  | 5.79 | 6.02  | 6.05 | 1.31  | 1.29 | 1.61    | 1.63 |
| 1708067 | 22.50 | 2.10  | 2.05 | 5.81  | 5.77 | 6.08  | 6.06 | 1.32  | 1.30 | 1.66    | 1.65 |
| 1709023 | 22.56 | 2.14  | 2.11 | 5.80  | 5.78 | 6.03  | 6.04 | 1.28  | 1.31 | 1.68    | 1.65 |
| $t$     |       | 0.483 |      | 0.310 |      | 0.161 |      | 0.389 |      | 0.647   |      |
| $P$     |       | 0.654 |      | 0.772 |      | 0.880 |      | 0.717 |      | 0.553   |      |

3 讨论

3.1 色谱条件的选择

3.1.1 流动相的选择 在选择流动相时, 笔者分别考察了甲醇-0.05% 磷酸溶液、乙腈-0.05% 磷酸溶液及乙腈-0.02 mol/L 磷酸二氢钾溶液。结果, 甲醇-0.05% 磷酸作为流动相时, 穿心莲内酯及脱水穿心莲内酯未被检出; 而采用乙腈-0.02 mol/L 磷酸二氢钾溶液时, 黄芩苷和虎杖苷色谱峰分离度未达到要求; 当采用乙腈-0.05% 磷酸溶液流动相系统时, 6 种活性成分色谱峰与相邻杂质峰分离完全, 对称因子在 1.12~1.45 之间, 故以此作为流动相。

3.1.2 检测波长的选择 在选择检测波长时, 笔者在 190~400 nm 波长段分别扫描 6 种活性成分混合对照品溶液, 结果虎杖苷在 306 nm 波长处有最大吸收, 黄芩苷在 278 nm 波长处有最大吸收, 汉黄芩苷在 275 nm 波长处有最大吸收, 黄芩素在 274 nm 波长处有最大吸收, 穿

心莲内酯在225 nm波长处有最大吸收,脱水穿心莲内酯在254 nm波长处有最大吸收。参考文献[2-8],最终确定虎杖苷检测波长为306 nm,黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素检测波长为275 nm,穿心莲内酯检测波长为225 nm,脱水穿心莲内酯检测波长为254 nm。本试验采用波长切换法,在不同时段改变检测波长,保证了6种活性成分均在最佳吸收波长处检测。

### 3.2 检测方法的选择

文献[2-3]在测定复方黄芩片中有效成分含量时,采用独立对照品用ESM测定其含量,经方法学验证,均得到可靠结果。另HPLC定量方法中一般以回归方程法计算结果最为准确,但当标准曲线a/b值大于100时,可采用外标法一点法计算,ESM也是应用最为普遍的定量方法<sup>[17]</sup>。故本研究选择ESM测得数据结果进行比对来验证QASM的准确性。黄芩苷为黄芩药材中的主要成分之一,也是黄芩的特征性成分代表,化学性质稳定,容易取得,故选其作为内参物,对虎杖苷、汉黄芩苷、黄芩素、穿心莲内酯、脱水穿心莲内酯进行定量。

### 4 结论

本研究建立的QASM法可同时测定复方黄芩片中6种活性成分含量,以黄芩苷为内参物,分别计算虎杖苷、汉黄芩苷、黄芩素、穿心莲内酯、脱水穿心莲内酯与内参物之间的RCF,并通过不同仪器、不同色谱柱、改变柱温、改变检测波长及调整流动相比比例等因素考察QASM法的耐用性,结果改变上述条件对各成分RCF影响均很小。通过比较ESM法和QASM法对5批复方黄芩片含量测定的结果,得出两种方法测定结果差异无统计学意义( $P>0.05$ ),验证了QASM法用于复方黄芩片中6种活性成分质量评价的准确性。

综上,本研究建立的方法简单、有效、结果准确、节约成本,可用于复方黄芩片中上述6种活性成分含量的同时测定。

### 参考文献

[1] 中华人民共和国卫生部药典委员会. 中华人民共和国卫生部药品标准: 中药成方制剂: 18册[S]. 北京: 中华人民共和国卫生部, 1998: 212.

[2] 唐德智. HPLC法测定复方黄芩片中6种成分的含量[J]. 药物分析杂志, 2016, 36(10): 1870-1874.

[3] 沈晓萌, 黄艳萍. HPLC法测定复方黄芩片中脱水穿心莲内酯的含量[J]. 海峡药学, 2011, 23(12): 93-94.

[4] 王东超, 魏颖, 高佳琪, 等. HPLC同时测定糖痹康颗粒中黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素的含量[J]. 吉林中医药, 2017, 37(5): 513-517.

[5] 唐维宏. HPLC法同时测定玉叶清火胶囊中栀子苷、穿心莲内酯和脱水穿心莲内酯[J]. 药物分析杂志, 2015, 35(2): 246-249.

[6] 汪剑飞, 吴静, 胡杰, 等. 双波长HPLC法同时测定穿心莲浸膏中穿心莲内酯和脱水穿心莲内酯的含量[J]. 安徽医药, 2014, 18(7): 1237-1240.

[7] 黄良永, 张幼林, 郑江萍. HPLC法同时测定抗感利咽糖浆中黄芩苷和虎杖苷的含量[J]. 中国药师, 2014, 17(4): 703-705.

[8] 赵亮, 王新霞, 吕磊, 等. HPLC法测定清肝散结颗粒中黄芩苷、汉黄芩苷、野黄芩苷、黄芩素及汉黄芩素[J]. 中成药, 2014, 36(2): 313-318.

[9] 杨明宇, 高婧, 杜义龙, 等. 一测多评法同时测定山楂叶中6种有效成分的含量[J]. 中国药房, 2016, 27(24): 3404-3407.

[10] 王欣, 覃瑶, 王德江, 等. 一测多评法在中药质量控制中的应用进展[J]. 中成药, 2016, 38(2): 395-402.

[11] 吴文杰, 邓阳, 谭桂林, 等. 一测多评法测定葛根药材中5种异黄酮类成分[J]. 中草药, 2017, 48(4): 777-781.

[12] 于素云, 杨立华, 王源, 等. 一测多评法在复方血栓通胶囊8种成分检测中的应用[J]. 国际药学研究杂志, 2014, 41(2): 231-237.

[13] 冯伟红, 杨菲, 王智民, 等. 一测多评法与外标法测定双黄连制剂中黄酮类成分含量的比较分析[J]. 中国药理学杂志, 2012, 47(20): 1665-1669.

[14] 文乾映, 龙芳, 杨华, 等. 中药质量控制中一测多评法的应用进展[J]. 中国药房, 2014, 25(23): 2185-2188.

[15] 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.

[16] 江美芳, 胡晓茹, 林瑞超, 等. 三黄片一测多评的方法学研究[J]. 药物分析杂志, 2015, 35(12): 2148-2157.

[17] 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.

(收稿日期: 2018-02-07 修回日期: 2018-04-09)

(编辑: 余庆华)

《中国药房》杂志——中国科技核心期刊, 欢迎投稿、订阅