

双标线性校正法用于板蓝根的多成分定性分析*

李高岩¹, 杨一荻², 袁鹤飞³, 曲范娜², 李慧勇², 孙磊⁴, 马双成⁴, 笔雪艳^{1,2,3**}

(1. 黑龙江中医药大学, 哈尔滨 150040; 2 黑龙江省药品检验研究院 国家药品监督管理局中药质量研究与评价重点实验室 黑龙江省中药质量研究与评价重点实验室, 哈尔滨 150088; 3. 哈尔滨商业大学, 哈尔滨 150028; 4. 中国食品药品检定研究院, 北京 100050)

摘要 目的: 建立同时检测板蓝根中 6 个成分(尿苷、腺嘌呤、鸟苷、(R,S)-告依春、腺苷、直铁线莲宁 B) 的 HPLC 方法, 考察双标线性校正(LCTRS)法对于板蓝根多成分定性分析的可行性。方法: 采用 HPLC 法, 以甲醇为流动相 A, 水为流动相 B, 梯度洗脱(0~3 min, 3% A; 3~18 min, 3% A→14% A; 18~25 min, 14% A→26% A; 25~34 min, 26% A; 34~40 min, 26% A→46% A; 40~60 min, 46% A→90% A), 流速 0.8 mL·min⁻¹, 柱温 30 °C, 检测波长为 0~32 min, 254 nm; 32~60 min, 230 nm, 进样量 10 μL; 测定板蓝根中 6 个成分在 16 根不同品牌和型号的 C₁₈ 色谱柱的实际保留时间, 以鸟苷和直铁线莲宁 B 2 个成分作为双标化合物, 采用 LCTRS 法定位各成分色谱峰, 并用 3 根未知色谱柱进行方法验证。同时以鸟苷为参照物, 采用 RRT 法预测其他 5 个成分的保留时间。比较这 2 种方法的预测准确性和色谱柱符合率。结果: LCTRS 法能够较好地 6 个指标性成分进行保留时间的预测和定性分析。与 RRT 法相比较, LCTRS 法所预测结果准确性更高, 色谱柱普适性更优。结论: LCTRS 法用于同时测定板蓝根中多成分可行且准确, 操作简便, 耐用性好, 具有推广价值。

关键词: 板蓝根; 双标线性校正法; 鸟苷; 直铁线莲宁 B; 尿苷; 腺嘌呤; (R,S)-告依春; 腺苷

中图分类号: R 917 文献标识码: A 文章编号: 0254-1793(2024)09-1560-07
doi: 10.16155/j.0254-1793.2024-0222

Linear calibration with two reference substances for multi-component qualitative analysis of Radix Isatidis*

LI Gao-yan¹, YANG Yi-di², YUAN He-fei³, QU Fan-na²,
LI Hui-yong², SUN Lei⁴, MA Shuang-cheng⁴, BI Xue-yan^{1,2,3**}

(1. Heilongjiang University of Traditional Chinese Medicine, Harbin 150040, China; 2. Key Laboratory of Quality Research and Evaluation of Traditional Chinese Medicines, State Medical Products Administration, Heilongjiang Provincial Key Laboratory of Quality Research and Evaluation of Traditional Chinese Medicines, Heilongjiang Institute for Drug Control, Harbin 150088, China; 3. Harbin University of Commerce, Harbin 150028, China; 4. National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 100050, China)

Abstract Objective: To establish an HPLC method for the simultaneous determination of six components (uridine, adenine, adenosine (R,S)-goitrine, guanosine, clemastanin B) in Radix Isatidis, and to investigate the linear calibration with two reference substances (LCTRS) method for the qualitative analysis of multiple

* 黑龙江省中医药科研项目(ZHYCYC2022-004)

** 通信作者 Tel:13836141280; E-mail:65554629@qq.com

第一作者 Tel:18032432063; E-mail:544642683@qq.com

components in Radix Isatidis. **Methods:** HPLC method was used, with methanol as mobile phase A and water as mobile phase B. Gradient elution (0–3 min, 3% A; 3–18 min, 3% A→14% A; 18–25 min, 14% A→26% A; 25–34 min, 26% A; 34–40 min, 26% A→46% A; 40–60 min, 46% A→90% A) was performed at a flow rate of $0.8 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$. The column temperature was $30 \text{ }^\circ\text{C}$, the detection wavelengths were 254 nm (0–32 min) and 230 nm (32–60 min). The injection volume was $10 \text{ }\mu\text{L}$. The actual retention time of 6 components in Radix Isatidis was determined on 13 C_{18} chromatographic columns of different brands and models. Guanosine and clemastanin B were used as double reference compounds, and LCTRS method was used to locate the chromatographic peak of each component. Three unknown chromatographic columns were used for method validation. Using guanosine as a reference substance, the relative retention time method was used to predict the retention time of the other 5 components. The predictive accuracy and column coincidence of these two methods were compared. **Results:** The LCTRS method could effectively predict and qualitatively analyze the retention time of six indicator components. Compared with the relative retention time method, the LCTRS method had higher accuracy in predicting results and better column universality. **Conclusion:** The LCTRS method for simultaneous determination of multiple components in Radix Isatidis is feasible and accurate, with simple operation and good durability, and has promotional value.

Keywords: Radix Isatidis; linear calibration with two reference substances; guanosine; clemastanin B; uridine; adenine; (*R,S*) – goitrine; adenosine

中药的质量控制对于中药的疗效和安全性,促进中药的规范化、标准化和现代化发展具有重要意义^[1]。中药成分复杂,通常包括多种有效成分,在进行多指标成分分析时,需要多种对照品,检测成本高昂^[2]。有学者提出了一测多评法和替代对照品法等对多个目标成分进行测定,但多存在局限性或色谱柱耐用性不佳的问题^[3-6]。孙磊等^[7]提出了双标线性校正法(linear calibration with two reference substances, LCTRS),即选取2个参照物对多组分色谱峰进行定性分析,拥有较高的准确度和色谱柱适用性,同时可降低检测成本,现已成功地运用于中药材、中药饮片、配方颗粒及中成药的多成分定性分析^[8-14]。

板蓝根为十字花科草本植物菘蓝 *Isatis indigotica* Fort. 的干燥根,为大宗药材之一,含有生物碱、木脂素、核苷、有机酸等类活性成分,主要用于感冒发热、温病斑疹、咽喉肿痛、疔腮、丹毒等病证^[15-16]。现代研究证明,木脂素类作为板蓝根主要活性成分之一,具有抗炎、抗病毒、抑菌、抗肿瘤等多种药理作用;板蓝根中的尿苷、鸟苷、腺苷、腺嘌呤等核苷类成分能干扰病毒核酸的合成,是抗病毒的活性成分,在板蓝根中含量较高,被广泛应用于板蓝根的质量评价;板蓝根中的生物碱类具有抗炎、抗氧化、抗肿瘤、抗病毒等药理作用^[17]。

2020年版《中华人民共和国药典》中板蓝根的质量控制指标成分仅为(*R,S*) – 告依春^[18],难以体现板蓝根的整体质量。因此,建立多成分、多指标的质量控制方法,对于快速、全面地评价药理作用广泛的板蓝根的质量具有重要意义。本实验采用 HPLC,选取了板蓝根中主要的活性成分:生物碱类化合物(*R,S*) – 告依春、木脂素类化合物直铁线莲宁 B,以及核苷类化合物尿苷、鸟苷、腺苷、腺嘌呤,建立同时测定板蓝根中6个成分的方法,并首次采用 LCTRS 法用于板蓝根多指标色谱峰定性分析,与传统的相对保留时间法(relative retention time, RRT)相比, LCTRS 法的准确性和普适性更佳。本研究为全面快速地评价板蓝根质量提供了准确可靠的检验方法,同时拓展了 LCTRS 法在中药多指标成分定性分析方面的应用。

1 仪器与试剂

Agilent 1100 高效液相色谱仪(Agilent 公司),梅特勒托利多 XS205DU 十万分之一电子天平(Mettler Toledo 公司),KQ – 800KDB 超声波清洗机(昆山舒美公司),Milli – Q Advantage A 超纯水机(Millipore 公司);甲醇为色谱纯(Merck 公司),其余试剂皆为分析纯;对照品尿苷(批号 110887 – 202104,含量 99.6%)、腺嘌呤(批号 11088 – 202203,含量

99.8%)、鸟苷(批号 111977 - 201501, 含量 93.6%)、(R,S)-告依春(批号 111753 - 202007, 含量 100%)、腺苷(批号 110879 - 201703, 含量 99.7%)购于中国食品药品检定研究院,直铁线莲宁 B(批号 A04HB190505, 含量 98%)购于上海源叶生物科技有限公司;19 根色谱柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm)信息详见表 1。

表 1 19 根色谱柱品牌及型号
Tab. 1 Brands and types of 19 columns

色谱柱编号 (column No.)	品牌/型号 (brand/type)
Col 1	WELCH ULTIMATE PULS C ₁₈
Col 2	Agilent ZORBAX Eclipse Plus C ₁₈
Col 3	Agilent ZORBAX Eclipse XDB C ₁₈
Col 4	Agilent ZORBAX SB - C ₁₈
Col 5	CAPCELL PAK C ₁₈ MG
Col 6	CAPCELL PAK C ₁₈ MGII
Col 7	DIKMA Diamonsil C ₁₈ (2)
Col 8	DIKMA INSPIRE C ₁₈
Col 9	Exmere Exsil Mono C ₁₈
Col 10	Phenomenex GEMINI
Col 11	Phenomenex Luna C ₁₈ - 2
Col 12	TechMate C ₁₈ - ST
Col 13	Waters Symmetry C ₁₈
Col 14	Waters Xbridge C ₁₈
Col 15	Phenomenex Titank C ₁₈
Col 16	WELCH ULTIMATE PG C ₁₈
Col 17	WELCH ULTIMATE LP C ₁₈
Col 18	Agilent TC - C ₁₈
Col 19	THERMO SYNCRONIS C ₁₈

共收集不同产地的 10 批板蓝根样品,编号分别为 BLG01 ~ BLG20,经黑龙江省药品检验研究院笔雪艳主任药师鉴定为十字花科植物菘蓝 *Isatis indigotica* Fort. 的干燥根。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

采用 WELCH ULTIMATE PG C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) 色谱柱,以甲醇(A) - 水(B)为流动相,梯度洗脱(0 ~ 3 min, 3% A; 3 ~ 18 min, 3% A → 14% A; 18 ~ 25 min, 14% A → 26% A; 25 ~ 34 min, 26% A; 34 ~ 40 min, 26% A → 46% A; 40 ~ 60 min, 46% A → 90% A),流速为 0.8 mL · min⁻¹,柱温为 30 °C,检测波长分别

为 254 nm(0 ~ 32 min)和 230 nm(32 ~ 60 min),进样量为 10 μL。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液 分别取对照品尿苷、腺嘌呤、鸟苷、(R,S)-告依春、腺苷、直铁线莲宁 B 适量,加 5% 甲醇制成每 1 mL 含尿苷 5.26 μg、腺嘌呤 2.56 μg、鸟苷 7.35 μg、(R,S)-告依春 72.31 μg、腺苷 7.56 μg、直铁线莲宁 B 5.02 μg 的混合溶液。

2.2.2 供试品溶液 取本品粉末(过 4 号筛)约 1 g,精密称定,置于具塞锥形瓶中,精密加入 5% 甲醇 50 mL,密塞,称量,超声(功率 600 W,频率 40 kHz)处理 30 min,放冷,再称量,用 5% 甲醇补足减失的量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.3 方法学考察

2.3.1 精密度试验 取“2.2.1”项下对照品溶液适量,按“2.1”项下色谱条件连续进样测定 6 次,分别记录尿苷、腺嘌呤、鸟苷、(R,S)-告依春、腺苷、直铁线莲宁 B 的保留时间。结果表明 6 个成分色谱峰的保留时间 RSD 均 < 1.0%,表明仪器精密度良好。

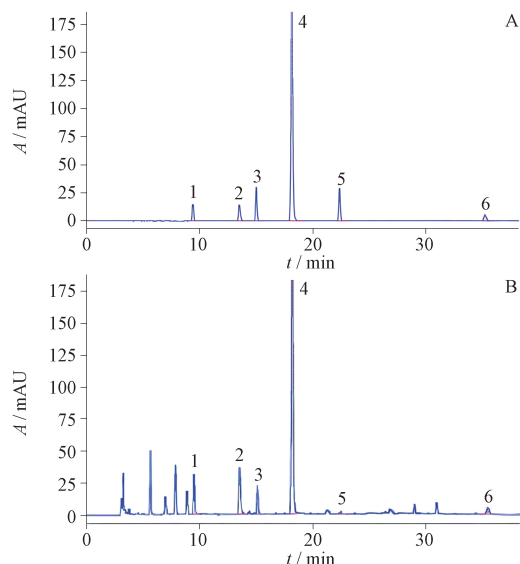
2.3.2 稳定性试验 取样品(BLG06)适量,精密称定,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,分别于 0、8、12、16、20 和 24 h 时按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录保留时间。结果 6 个成分的保留时间 RSD 均 < 1.0%,表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.3.3 重复性试验 取板蓝根样品(样品 BLG06)6 份,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,在“2.1”项色谱条件下进样测定,记录每份样品中 6 个成分的保留时间。结果 6 个成分的保留时间 RSD 均 < 2.0%,表明该法重复性良好。

2.3.4 色谱柱耐用性试验 按照“2.2.2”项方法制备供试品溶液,在“2.1”项色谱条件下,分别采用 Col 1 ~ Col 16 共 16 根色谱柱进样测定,Col 4、Col 9、Col 14 色谱柱色谱图中存在色谱柱分离度较差或出峰时间颠倒的问题,因此将上述 3 根色谱柱删除,其余色谱柱均可将 6 个对照品色谱峰较好分离。对照品和样品色谱图见图 1。

3 LCTRS 法定性研究

LCTRS 法原理是基于待测成分的保留时间在不同色谱柱上呈线性关系,在多指标成分分析中,选择其中两种成分作为参照物,将实测保留时间代入确定的线性方程来预测其余待测成分的保留时间,从而确定待测成分色谱峰峰位^[19]。



1. 尿苷(uridine) 2. 腺嘌呤(adenine) 3. 鸟苷(guanosine) 4. (R,S)告依春[(R,S)-goitline] 5. 腺苷(adenosine) 6. 直铁线莲宁B(clemastanin B)

图1 混合对照品溶液(A)和样品(B)的HPLC图(Col 16)

Fig. 1 HPLC chromatograms of mixed reference substances solution (A) and sample (B) (Col 16)

研究流程为将采集到的不同品牌和型号色谱柱的色谱图数据以“.cdf”格式导入 DRS Origin 软件,关联每张色谱图中的对照品,考察选取合适的双标化合物,以分析得到不同色谱柱保留时间预测准确率和色谱柱符合率。同时采用 RRT 法预测各成分的保留时间,对 LCTRS 法和 RRT 法的准确性和耐用性进行比较和评价。

3.1 标准保留时间的计算

以 13 根色谱柱中 6 个成分保留时间的均值作为标准保留时间(standard retention time, SRT), SRT 分别为尿苷 10.02 min、腺嘌呤 14.56 min、鸟苷 15.84 min、(R,S)-告依春 19.51 min、腺苷 23.41 min、直铁线莲宁 B 36.78 min,以 6 个成分的 SRT (X)为横坐标,以实际保留时间(Y)为纵坐标,得到 13 根色谱柱的保留时间拟合结果,各色谱柱的线性方程和相关系数见表 2。结果表明 6 个成分在 13 根色谱柱上得到的线性方程 r 均大于 0.999,线性关系和拟合效果较好。

表 2 不同色谱柱上保留时间的线性方程及相关系数

Tab. 2 Linear equations and correlation coefficients for retention time on different columns

色谱柱编号(column No.)	色谱柱(column)	线性方程(linear equation)	r
Col 1	WELCH ULTIMATE PULS C ₁₈	$Y = 1.028X + 0.7567$	0.9996
Col 2	Agilent ZORBAX Eclipse Plus C ₁₈	$Y = 1.002X + 0.3354$	0.9993
Col 3	Agilent ZORBAX Eclipse XDB C ₁₈	$Y = 1.036X + 1.936$	0.9991
Col 5	CAPCELL PAK C ₁₈ MG	$Y = 0.963X + 0.6520$	0.9997
Col 6	CAPCELL PAK MGII	$Y = 0.9959X + 0.4745$	0.9997
Col 7	DIKMA Diamonsil C ₁₈ (2)	$Y = 1.003X + 0.8433$	0.9996
Col 8	DIKMA INSPIRE C ₁₈	$Y = 1.020X + 0.9436$	0.9997
Col 10	Phenomenex GEMINI	$Y = 0.9905X - 0.6993$	0.9995
Col 11	Phenomenex Luna C ₁₈ -2	$Y = 0.9796X - 1.093$	0.9991
Col 12	TechMate C ₁₈ -ST	$Y = 0.9627X - 1.614$	0.9993
Col 13	Waters Symmetry C ₁₈	$Y = 1.046X + 1.300$	0.9991
Col 15	Phenomenex Titank C ₁₈	$Y = 1.022X + 0.4577$	0.9999
Col 16	WELCH ULTIMATE PG C ₁₈	$Y = 0.9500X + 1.410$	0.9993

3.2 双标化合物优化

双标化合物的选择有多种方案,使用 DRS Origin 软件通过计算得到 10 种双标化合物选择方案,其中由于峰 3(鸟苷)及峰 6(直铁线莲宁 B)作为双标化合物进行组合时,保留时间预测正确率和色谱柱符合率均为 100%,且保留时间回归偏差最小,因此选取峰 3(鸟苷)及峰 6(直铁线莲宁 B)作为双标化

合物。

3.3 LCTRS 与 RRT 法的比较

将 13 根不同色谱柱按照上述色谱条件分析后得到的色谱图谱数据以“.cdf”的格式导入 DRS Origin 软件,选定 RRT 法作为分析方法,得到各个成分作为内参物的分析结果,结果表明选择鸟苷作为内参物时,平均保留时间偏差最小且色谱肯

定率最高,且鸟苷在该色谱条件下出峰时间适中,符合 RRT 法选择依据,因此选择鸟苷作为内参物。2 种保留时间预测方法的结果见表 3。结果表明,RRT 法的预测保留时间与实际值偏差较大,13 个色谱柱中,仅有 6 个色谱柱对于 6 个色谱峰

保留时间的预测值偏差 < 1.0 min,且保留时间偏差 (Δt_R) 均较大;而 LCTRS 法在 13 根色谱柱的预测值偏差均 < 0.3 min。由此可见,LCTRS 法的预测准确度更高,适用的色谱柱数量更多,显著优于 RRT 法。

表 3 LCTRS 法与 RRT 法的比较

Tab.3 Linear equations and correlation coefficients for retention time on different columns

色谱柱 编号 (column No.)	色谱柱 (column)	LCTRS			RRT		
		匹配峰数 (number of matching peaks)	平均绝对偏差 (mean AD)/ min	符合率 (coincidence rate)/%	匹配峰数 (number of matching peaks)	平均绝对偏差 (mean AD)/min	符合率 (coincidence rate)/ %
Col 1	WELCH ULTIMATE PULS C ₁₈	6	0.151 2	100	6	0.322 3	100
Col 2	Agilent ZORBAX Eclipse Plus C ₁₈	6	0.185 1	100	6	0.259 1	100
Col 3	Agilent ZORBAX Eclipse XDB C ₁₈	6	0.252 1	100	5	1.017 0	83
Col 5	CAPCELL PAK C ₁₈ MG	6	0.143 4	100	6	0.287 0	100
Col 6	CAPCELL PAK MGII	6	0.165 0	100	6	0.197 7	100
Col 7	DIKMA Diamonsil C ₁₈ (2)	6	0.142 5	100	5	0.503 5	83
Col 8	DIKMA INSPIRE C ₁₈	6	0.131 2	100	4	0.698 9	67
Col 10	Phenomenex GEMINI	6	0.173 0	100	6	0.414 3	100
Col 11	Phenomenex Luna C ₁₈ -2	6	0.209 1	100	4	0.692 7	67
Col 12	TechMate C ₁₈ -ST	6	0.190 0	100	4	1.032 0	67
Col 13	Waters Symmetry C ₁₈	6	0.216 4	100	4	1.024 0	67
Col 15	Phenomenex Titank C ₁₈	6	0.232 7	100	6	0.211 8	100
Col 16	WELCH ULTIMATE PG C ₁₈	6	0.083 8	100	5	0.658 4	83

3.4 LCTRS 法验证

再选择 3 根色谱柱 (250 mm \times 4.6 mm, 5 μ m), 按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件进样分析,比较 LCTRS 法和 RRT 法的定性

结果,见表 4、5。结果表明,LCTRS 法能较好地预测板蓝根中 6 个成分在色谱柱上的保留时间,然而 RRT 法在 3 根色谱柱上的预测误差较大,结果表明 LCTRS 法比 RRT 法预测更加准确。

表 4 LCTRS 法预测结果

Tab.4 Prediction results of LCTRS

色谱柱 (column)	Δt_R /min					
	尿苷 (uridine)	腺嘌呤 (adenine)	鸟苷 (guanosine)	(R,S) - 告依春 [(R,S) - goitrine]	腺苷 (adenosine)	直铁线莲宁 B (clemastanin B)
Agilent HC - C ₁₈	0.048 8	-0.312 1	0	0.098 9	-0.131 0	0
THERMO SYNCRONIS C ₁₈	0.034 7	0.443 2	0	0.592 2	-0.254 4	0
WELCH ULTIMATE LP C ₁₈	0.163 4	0.767 0	0	-0.957 3	0.297 5	0

4 结论

本研究建立了同时分离检测板蓝根中 6 个成分

的 HPLC 方法,在检测波长选择中,由于尿苷、腺嘌呤、鸟苷、(R,S) - 告依春、腺苷 5 个成分在 254 nm

表 5 RRT 法预测结果
Tab.5 Prediction results of the RRT method

色谱柱 (column)	$\Delta t_R/\text{min}$					
	尿苷 (uridine)	腺嘌呤 (adenine)	鸟苷 (guanosine)	(R,S)-告依春 [(R,S)-goitrine]	腺苷 (adenosine)	直铁线莲宁 B (clemastin B)
Agilent HC-C ₁₈	0.318 6	-0.238 0	0	-0.077 4	-0.478 8	-0.978 7
THERMO SYNCRONIS C ₁₈	-0.007 4	0.507 2	0	0.263 4	-0.818 5	-
WELCH ULTIMATE LP C ₁₈	-0.024 8	0.803 4	0	-	-0.818 6	0.337 2

注 (note): “-” Δt_R 绝对值大于 1 min (absolute value of Δt_R is greater than 1 min)

处有较好地吸收,而直铁线莲宁 B 在 254 nm 下峰面积较小,峰指认困难,且在 230 nm 处有最大吸收,因此选用 254 nm 及 230 nm 双波长作为检测波长。该法重复性好、指标较为全面,可作为板蓝根的质量评价方法,同时也可作为后续深入研究板蓝根的质量标准提供理论依据。

本研究建立的 LCTRS 法用于板蓝根中多组分定性分析结果表明,相比于 RRT 法, LCTRS 法能够更加准确地预测板蓝根中 6 个成分在各色谱柱上的保留时间,且色谱柱普适性更优。分析原因可能是 RRT 法中预测峰与参照物的保留时间间隔较大,造成预测结果的误差较大。

采用 LCTRS 法对板蓝根中多成分进行分析,具有良好的准确性、耐用性,同时有助于降低检验成本,并有利于更为全面地对板蓝根质量进行控制和评价。因此, LCTRS 法在中药多指标成分定性方面有更好地应用前景和实用价值。

参考文献

- [1] 马双成, 王莹. 我国中药质量控制模式及思路研究进展十年回顾[J/OL]. 中国药学杂志 [2023-09-28]. <http://140.143.170.254/kcms/detail/11.2162.R.20230104.2122.001.html>
MA SC, WANG Y. Review on the research progress of traditional Chinese medicine quality control models and ideas in the past decade [J/OL]. Chin Pharm J [2023-09-28]. <http://140.143.170.254/kcms/detail/11.2162.R.20230104.2122.001.html>
- [2] 王清君, 孙磊, 刘峰, 等. 标准物质的发展和与挑战与数字化新形式[J]. 中国药学杂志, 2016, 51(18):1537
WANG QJ, SUN L, LIU F, et al. Progress and challenges of reference standards and their new form: digital reference standards (DRS) [J]. Chin Pharm J, 2016, 51(18):1537
- [3] 高楚倩, 李康, 张琳玉, 等. 基于一测多评法的茯苓皮药材质量控制研究[J]. 中药材, 2023, 46(9):2240

GAO CQ, LI K, ZHANG LY, et al. Research on quality control of *Poria cocos* peel medicinal materials based on quantitative analysis single marker method [J]. J Chin Med Mater, 2023, 46(9):2240

- [4] 李帆, 杨滢, 缙慧君, 等. 一测多评法同时测定小儿感冒宁糖浆中 8 种成分的含量[J]. 中医药导报, 2023, 29(8):35
LI F, YANG Y, HOU HJ, et al. Simultaneous determination of eight constituents in Xiao'er Ganmaoning sirup by QAMS [J]. Guiding J Tradit Chin Med, 2023, 29(08):35
- [5] 万鸣, 黄超, 陈树和, 等. 替代对照品法同时测定茯苓中多种三萜酸类成分的含量[J]. 中国医院药学杂志, 2023, 43(3):265
WAN M, HUANG C, CHEN SH, et al. Simultaneous determination of triterpenoid acids in *Poria cocos* by substituting reference substance method [J]. Chin J Hosp Pharm, 2023, 43(3):265
- [6] 曾芳, 魏长勇, 余敏灵. 替代对照品法测定复方甘草口服溶液中甘草苷和甘草酸含量[J]. 中国药业, 2020, 29(23):52
ZENG F, WEI CY, YU ML. Content determination of liquiritin and glycyrrhizic acid in the compound glycyrrhiza oral solution by substitute reference substance method [J]. China Pharm, 2020, 29(23):52
- [7] 孙磊, 金红宇, 马双成. 一种新的 HPLC 色谱峰保留时间预测法—双标线性校正法[C]//第十四届全国中药和天然药物学术研讨会论文摘要, 北京, 2014:433
SUN L, JIN HY, MA SC. A new HPLC chromatographic peak retention time prediction method—linear calibration with two reference substances [C]// Abstract of the 14th National Symposium on Traditional Chinese Medicine and Natural Medicine, Beijing: 2014:433
- [8] 张琳琳, 董婷, 陈碧莲, 等. 双标线性校正法用于延胡索中 5 个生物碱的定性分析[J]. 药物分析杂志, 2023, 43(1):77
ZHANG LL, DONG T, CHEN BL, et al. Simultaneous qualitative analysis of five alkaloids in *Corydalis Rhizoma* by the method of linear calibration with two reference substances [J]. Chin J Pharm Anal, 2023, 43(1):77
- [9] 张毅, 周洪旭, 孟大利, 等. 双标线性校正法用于川黄芩的多成分定性分析[J]. 食品与药品, 2022, 24(6):487
ZHANG Y, ZHOU HX, MENG DL, et al. Multicomponent qualita-

- tive analysis of *Scutellariae Amoena Radix* by linear calibration using two reference substances [J]. *Food Drug*, 2022, 24(6):487
- [10] 牛艳, 栾永福, 许丽丽, 等. 双标线性校正法用于槐角炭的指纹图谱研究[J]. *药物分析杂志*, 2022, 42(9):1652
NIU Y, LUAN YF, XU LL, *et al.* Fingerprint analysis of *Sophorae Fructus Carbonisata* by linear calibration using two reference substances[J]. *Chin J Pharm Anal*, 2022, 42(9):1652
- [11] 赵一擎, 张红伟, 王晓燕, 等. 双标线性校正法用于一清颗粒的多指标成分定性分析[J]. *中国药学杂志*, 2022, 57(12):1021
ZHAO YQ, ZHANG HW, WANG XY, *et al.* Determination of multiple components in *Yiqing granules* by linear calibration with two reference substances[J]. *Chin Pharm J*, 2022, 57(12):1021
- [12] 栾永福, 刘洪超, 解盈盈, 等. 双标线性校正法用于盐沙苑子配方颗粒多组分定性分析 [J]. *药物分析杂志*, 2023, 43(11):1876
LUAN YF, LIU HC, XIE YY, *et al.* Qualitative determination of multiple components in salted *Astragali Complanati Semen* dispensing granules by linear calibration using two reference substances [J]. *Chin J Pharm Anal*, 2023, 43(11):1876
- [13] 纪国力, 周伟, 巴然然, 等. 双标多测法测定丹参配方颗粒中6个酚酸类成分 [J]. *药物分析杂志*, 2023, 43(8):1326
JI GL, ZHOU W, BA RR, *et al.* Determination of 6 phenolic acids in *Danshen formula granules* by two reference substances for determination of multiple components method [J]. *Chin J Pharm Anal*, 2023, 43(8):1326
- [14] 林燕翔, 黄博, 罗轶, 等. 基于双标多测法辅助 HPLC 的肿节风配方颗粒的多组分分析 [J]. *药物分析杂志*, 2022, 42(3):402
LIN YX, HUANG B, LUO Y, *et al.* Multi-component analysis of *Herba Sarcandrae* dispensing granules based on TRSDMC assisted HPLC [J]. *Chin J Pharm Anal*, 2022, 42(3):402
- [15] 付照羽, 冯治朋, 韩颜超, 等. 板蓝根研究进展 [J]. *现代农业科技*, 2023(14):41
FU ZY, FENG ZP, HAN YC, *et al.* Research progress on *Radix Isatidis* [J]. *Mod Agric Sci Technol*, 2023(14):41
- [16] 黄远, 董福越, 李楚源. 板蓝根中主要化学成分含量测定方法研究进展 [J]. *中国药业*, 2020, 29(7):150
HUANG Y, DONG FY, LI CY. Research progress on the determination methods of main chemical components in *Radix Isatidis* [J]. *China Pharm*, 2020, 29(7):150
- [17] 邓九零, 陶玉龙, 何玉琼, 等. 板蓝根抗流感病毒活性成分及其作用机制研究进展 [J]. *中国中药杂志*, 2021, 46(8):2029
DENG JL, TAO YL, HE YQ, *et al.* Research progress on active components and mechanism of *Isatidis Radix* for influenza virus [J]. *China J Chin Mater Med*, 2021, 46(8):2029
- [18] 中华人民共和国药典 2020 年版. 一部 [S]. 2020:214
ChP 2020. Vol I [S]. 2020:214
- [19] 孙磊, 金红宇, 逢瑜, 等. 双标多测法 I - 双标线性校正技术用于色谱峰的定性 [J]. *药物分析杂志*, 2013, 33(8):1424
SUN L, JIN HY, PANG Y, *et al.* Two reference substances for determination of multiple components (I): linear calibration using two reference substances for identification of chromatographic peaks [J]. *Chin J Pharm Anal*, 2013, 33(8):1424
- (本文于 2024 年 4 月 3 日收到)