

ZHONGGUO YIYAO GONGYE ZAZHI

ISSN 1001-8255

CN 31-1243/R

ZYGZEA

中国医药工业杂志

Chinese Journal of Pharmaceuticals

● 中国中文核心期刊

● 中国生物医学核心期刊

● 中国期刊方阵入选期刊

● 中国科技核心期刊

● 中国科学引文数据库来源期刊

● 中国药学会系列期刊

本期导读：

罗沙司他的合成研究进展

张其伟，周嘉第，陈永健，李坚军

非甾体抗炎药上市外用剂型概况及新载体研究进展

林国锁，罗华菲



微信号：cjph-cjph



主 办

上海医药工业研究院

中国药学会

中国化学制药工业协会

11

2019年11月

第50卷

Vol.50 No.11

ISSN 1001-8255

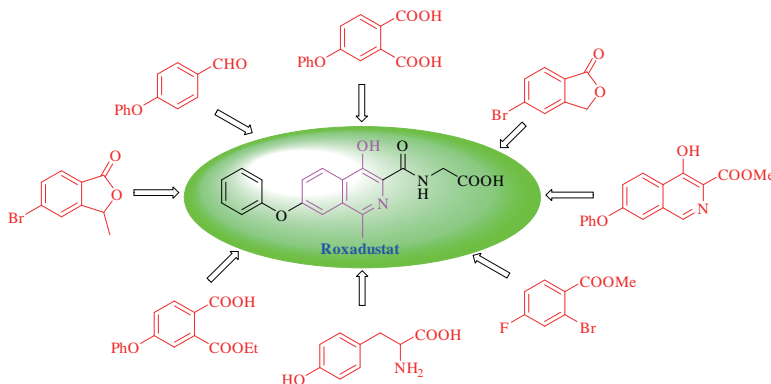


9 771001 825190

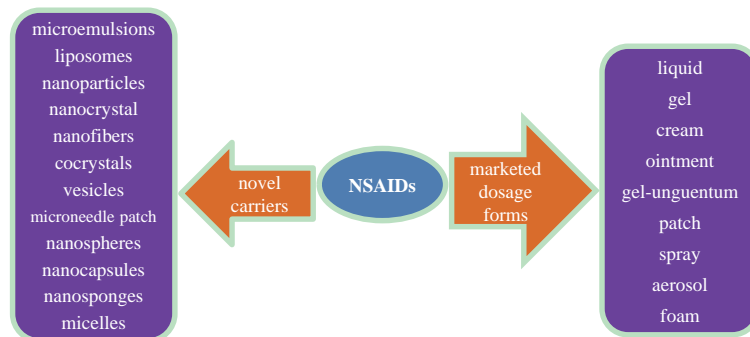
1.1>

· 专论与综述 (Perspectives & Review) ·

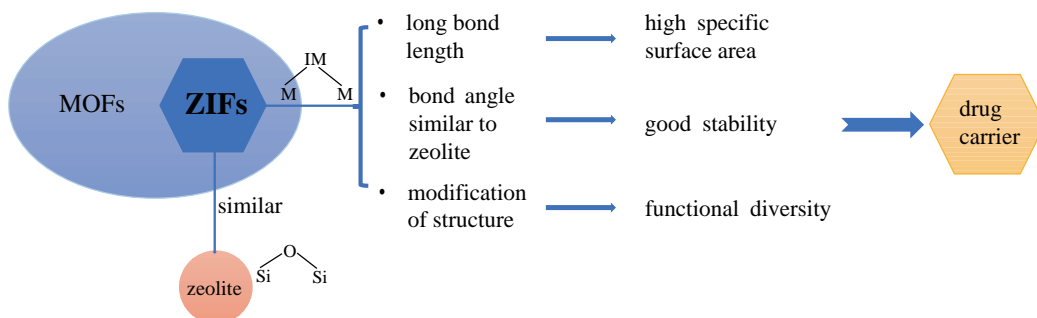
- 1237** 罗沙司他的合成研究进展.....张其伟, 周嘉第, 陈永健, 李坚军*
Progress in the Synthesis of Roxadustat.....ZHANG Q W, ZHOU J D, CHEN Y J, LI J J*
DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.11.001



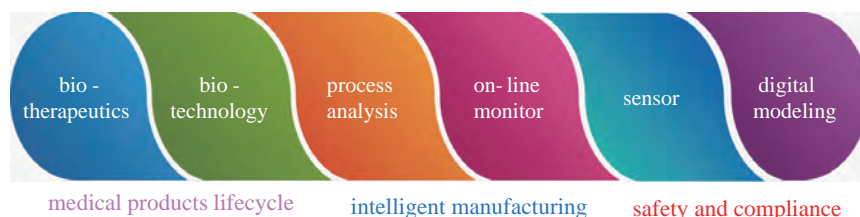
- 1246** 非甾体抗炎药上市外用剂型概况及新载体研究进展.....林国钊, 罗华菲*
Progress of Approval Topical Dosage Forms of Non-steroidal Anti-inflammatory Drugs and
Their Novel Carriers.....LIN G B, LUO H F*
DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.11.002



- 1256** 类沸石咪唑酯骨架(ZIFs)及其复合物在药物递送系统中的应用.....赵悦竹, 张薇薇, 付庆辉, 杨亚妮, 何 军*
Application of Zeolitic Imidazolate Frameworks (ZIFs) and Their Complexes in Drug Delivery Systems.....ZHAO Y Z, ZHANG W W, FU Q H, YANG Y N, HE J*
DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.11.003

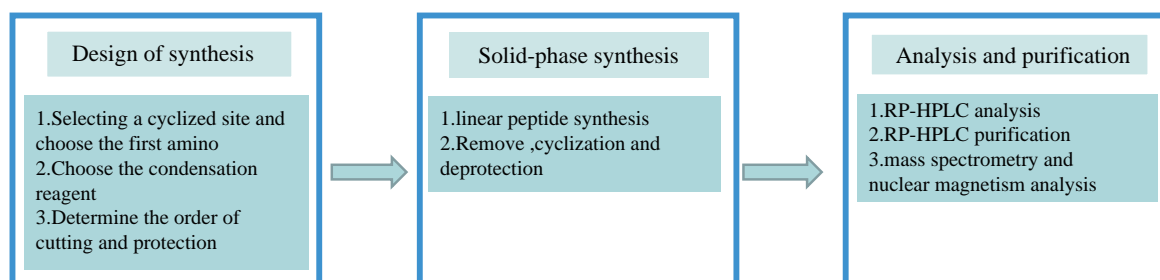


- 1262** 信息技术在生物制药工业中的应用.....董正龙, 曹 萌*
Application of Information Technology in Biopharmaceutical Industry.....DONG Z L, CAO M*
DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.11.004



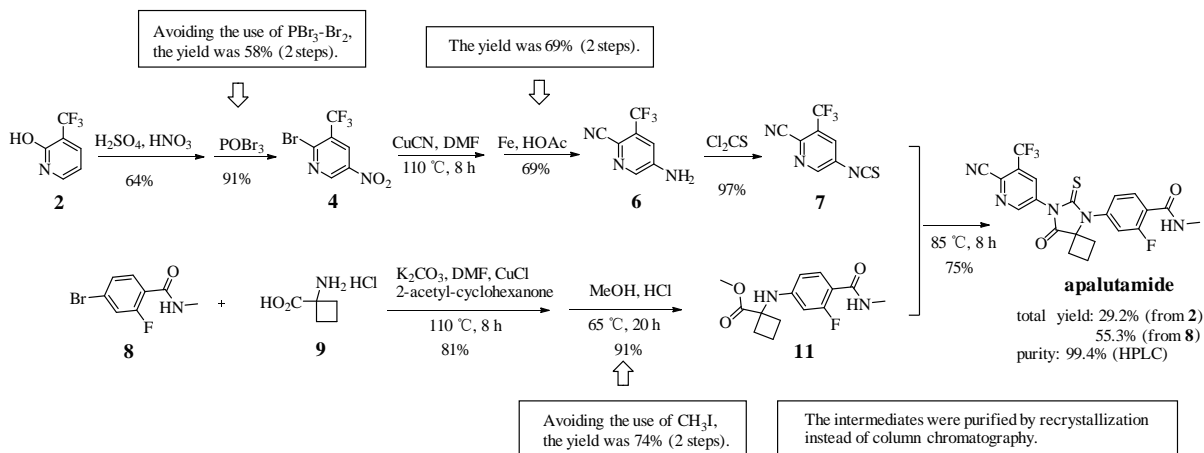
· 研究论文(Paper) ·

- 1268** 抗肿瘤环八肽 Reniochalistatin E 的固相合成....刘泰容, 莫金秋, 李长兵, 姜 和, 廖洪利*
Solid-phase Synthesis of Antitumor Cyclic Octapeptide Reniochalistatin E.....
.....LIU T R, MO J Q, LI C B, JIANG H, LIAO H L*
DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.11.005

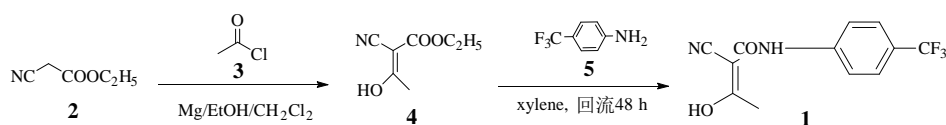


This process technology has several advantages such as cheap material and high yield in the industrial production.

- 1273** 阿帕鲁胺的合成方法改进.....林 楠, 马骥驰, 范松华
Improved Synthesis of Apalutamide.....LIN N, MA J C, FAN S H
DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.11.006



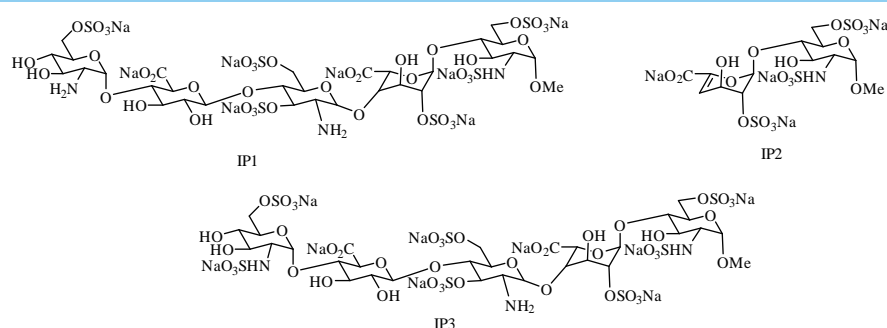
- 1278** 特立氟胺的新合成方法.....邱 月
A New Method for the Synthesis of Teriflunomide.....QIU Y
DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.11.007



A new synthetic route of trifluoromide was reported, and the total yield was 63.9%.

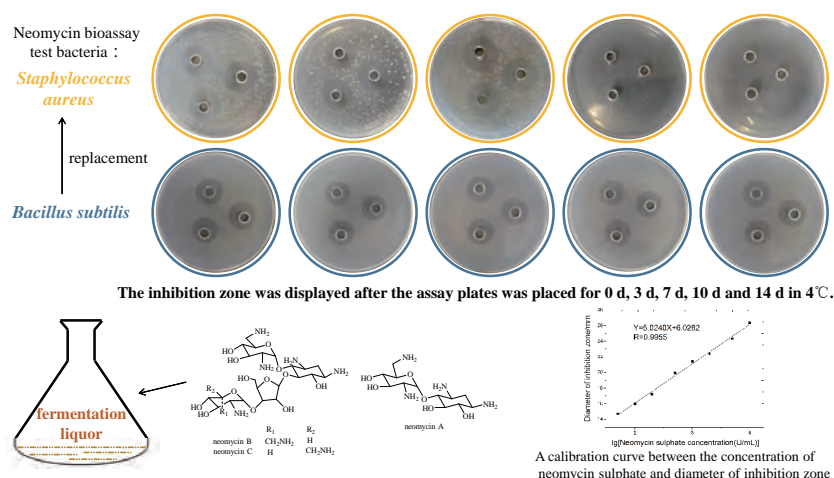
It provided a better choice for industrial production.

- 1280** 磺达肝癸钠注射液有关物质的合成.....干 浩, 徐珊珊, 周喜泽, 李振重
 Synthesis of the Related Substances of Fondaparinux Sodium Injection.....
GAN H, XU S S, ZHOU X Z, LI Z Z
 DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.11.008

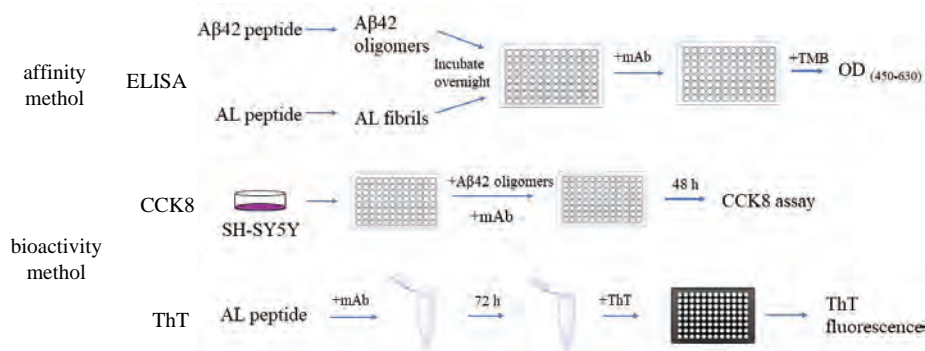


Chemical Structures of the Related Substances of Fondaparinux Sodium

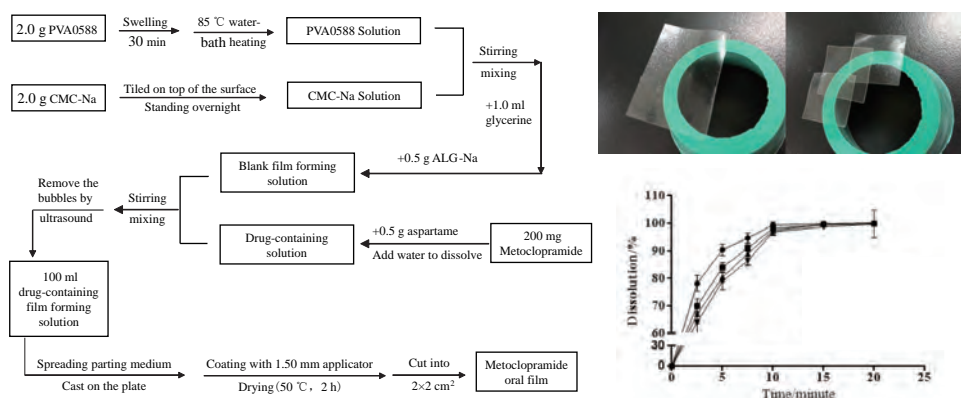
- 1285** 新霉素微生物检定法的改进.....张 晶, 岳 荣, 关 莹, 程绍国, 张会图*
 Improved Microbial Assay of Neomycin.....
ZHANG J, YUE R, GUAN Y, CHENG S G, ZHANG H T*
 DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.11.009



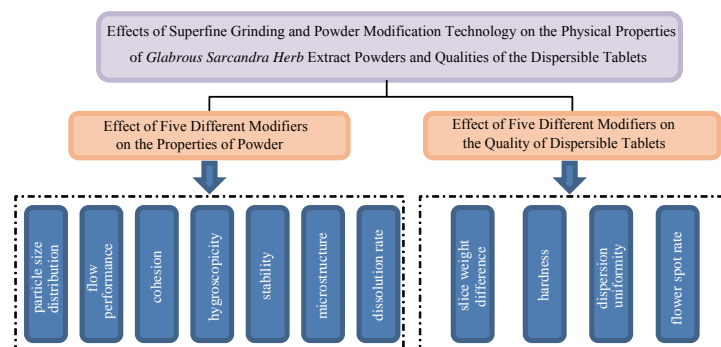
- 1290** 抗 A β 和 AL 双抗原的单克隆抗体亲和力与活性检测方法的建立.....
白婧怡, 边延林, 马步勇, 张宝红, 朱建伟*
 Establishment of Affinity and Bioactivity Analysis Methods for Monoclonal Antibody Targeting A β and AL.....
BAI J Y, BIAN Y L, MA B Y, ZHANG B H, ZHU J W*
 DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.11.010



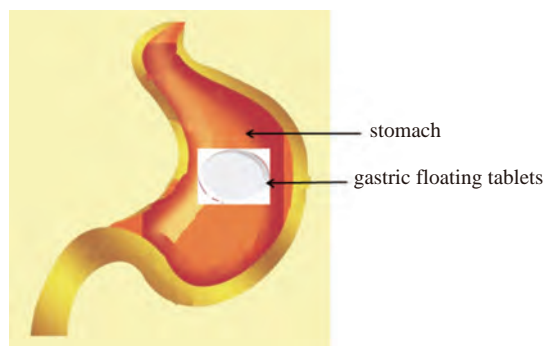
- 1296** 甲氧氯普胺口腔速溶膜剂的制备与体外评价···尚 悦, 赵 炯, 李昊天, 周建平*, 丁 杨
Preparation and *in vitro* Evaluation of Metoclopramide Oral Fast Dissolving Films·····
·····SHANG Y, ZHAO J, LI H T, ZHOU J P*, DING Y
DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.11.011



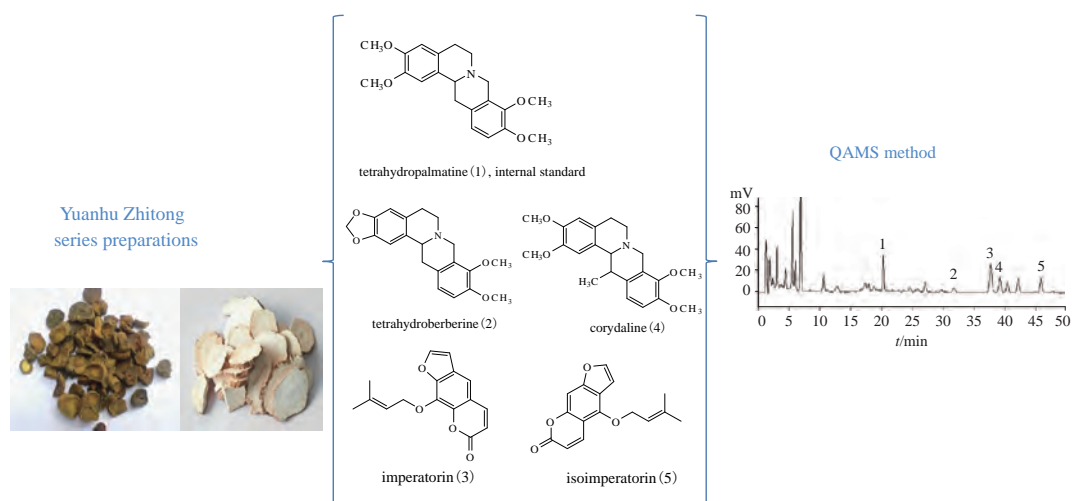
- 1304** 超微粉碎粉体改性技术对肿节风浸膏粉物性及其分散片质量的影响·····李 菁, 钟 钰, 胡鹏翼*, 戴德雄, 杨 明
Effects of Ultrafine Grinding and Powder Modification Technology on the Physical Properties of
Glabrous Sarcandra Herb Extract Powders and Qualities of the Dispersible Tablets·····
·····LI J, ZHONG Y, HU P Y*, DAI D X, YANG M
DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.11.012



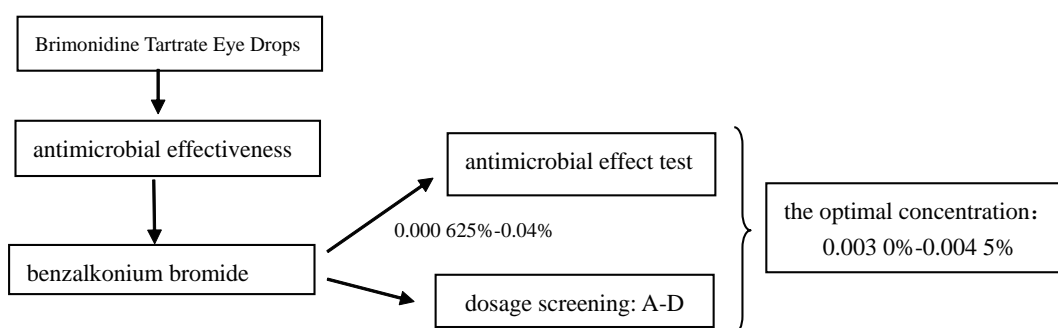
- 1312** 桦褐孔菌三萜胃滞留片的研制·····李 鑫, 陈 旭, 李钰璐, 汤茗瑞, 王柳婷
Preparation of Gastric Floating Tablets Loaded with Triterpenoids from *Inonotus obliquus*
·····LI X, CHEN X, LI Y L, TANG M R, WANG L T
DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.11.013



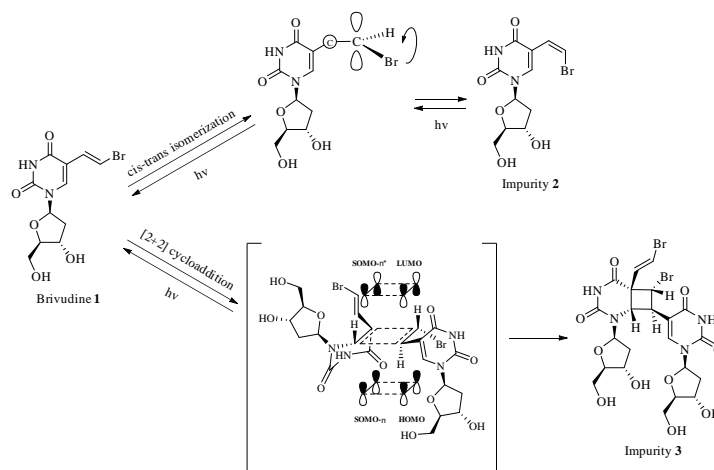
- 1318** 一测多评法测定元胡止痛系列制剂中5种成分的含量……刘瑞洁, 张雪, 叶晓霞, 乐健*
Simultaneous Determination of Five Components in *Yuanhu Zhitong* Series Preparations by QAMS
……LIU R J, ZHANG X, YE X X, LE J*
DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.11.014



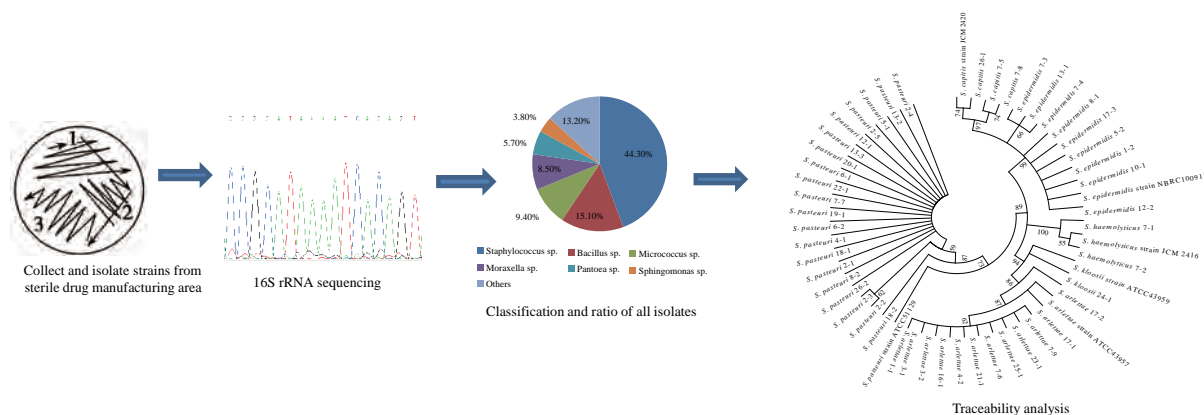
- 1324** 酒石酸溴莫尼定滴眼液抑菌剂苯扎溴铵剂量筛选研究……李伟栋, 苑艳飞, 王维欣, 王兰兰
Dosage Screening of Benzalkonium Bromide in Brimonidine Tartrate Eye Drops……
……LI W D, YUAN Y F, WANG W X, WANG L L
DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.11.015



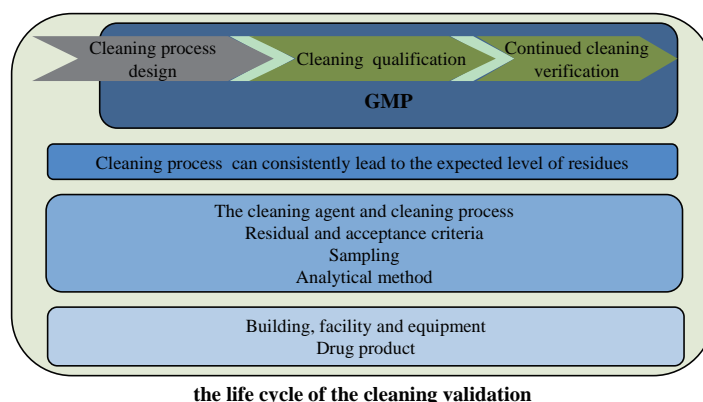
- 1329** 溴夫定光降解杂质的结构鉴定与机理分析……吴旭锋, 钱秀萍*, 刘涿
Structure Identification and Mechanism Analysis of Photodegradation Impurities from Brivudine
……WU X F, QIAN X P*, LIU L
DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.11.016



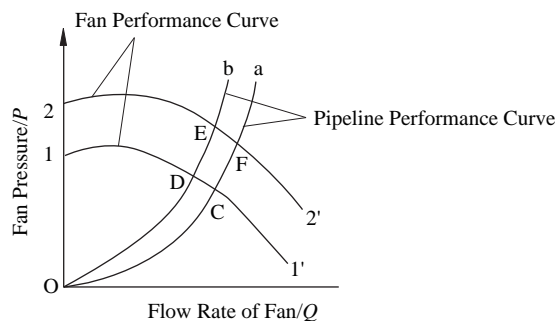
- 1335** 无菌药品生产洁净车间环境菌鉴定与溯源分析.....刘卫德, 刘绪平*, 熊 骏, 李彦霖, 章 瑛
Identification and Traceability Analysis of Environmental Bacteria in Clean Room of Sterile Drug Manufacturing.....LIU W D, LIU X P*, XIONG J, LI Y L, ZHANG Y
DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.11.017



- 1341** 药品生产中清洁验证的生命周期探讨.....翟铁伟
Comment to the Life Cycle of Cleaning Validation.....ZHAI T W
DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.11.018



- 1348** 抖袋过程对流化床稳定运行影响的研究与分析.....马少栋, 孙 健, 方 策, 吴国桥
Research and Analysis on Effect of Shaking Bag System on Stable Operation of Fluid BedMA S D, SUN J, FANG C, WU G Q
DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.11.019



- 1352** 无菌药品包装完整性研究.....封二飞
Research of Sterile Products Packaging Integrity.....FENG E F
DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.11.020

- 1358** 关于推动互联网+药品监管的思考.....袁 林
Perspective on Facilitating Internet + Drug Post-marketing Regulation.....YUAN L
DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.11.021

- 1361** 欧盟地区生物类似药可互换性政策与管理实践研究.....
.....里扎·阿德列提别克, 蒋 蓉, 邵 蓉*
Interchangeability Policy and Management Practice of Biosimilars in the EU.....
.....LIZHA A, JIANG R, SHAO R*
DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.11.022

- 1367** 我国体外诊断试剂产业发展现状、问题及对策.....徐芳萍, 黄慧媛, 褚淑贞*
Development Status and Problems of IVD Reagent Industry in China.....
.....XU F P, HUANG H Y, CHU S Z*
DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.11.023

- 1374** 2019 年上半年我国医药工业经济运行情况分析.....郭 文, 钟一鸣, 周 斌*
Economic Operation of Chinese Pharmaceutical Industry from January to June 2019.....
.....GUO W, ZHONG Y M, ZHOU B*
DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.11.024

中国医药工业杂志

ZHONGGUO YIYAO GONGYE ZAZHI

(月刊, 1970年11月创刊)

2019年第50卷 第11期 11月10日出版

版权所有



Monthly (Founded in 1970)

Vol.50 No.11 November 10, 2019

©All Rights Reserved

| | | | |
|-----------|---|--------------------------------|---|
| 主 管 | 上海医药工业研究院 | Director | Shanghai Institute of Pharmaceutical Industry |
| 主 办 | 上海医药工业研究院 中国药学会 中国化学制药工业协会 | Sponsor | Shanghai Institute of Pharmaceutical Industry Chinese Pharmaceutical Association China Pharmaceutical Industry Association |
| 协 办 | 浙江海正集团有限公司 上海数图健康医药科技有限公司 山东罗欣药业集团股份有限公司 楚天科技股份有限公司 鲁南制药集团股份有限公司 广东东阳光药业有限公司 | Assist Sponsor | Zhejiang Hisun Group Co., Ltd. China Pharmadl (Shanghai) Co., Ltd. Shandong Luoxin Pharmaceutical Group Stock Co., Ltd. Truking Technology Limited Lunan Pharmaceutical Group Co., Ltd. Sunshine Lake Pharma Co., Ltd., HEC Pharma Group |
| 总 编 辑 | 周伟澄 | Managing Editor | ZHOU Weicheng |
| 副 总 编 辑 | 黄志红, 刘玲玲 | Associate Managing Editor | HUANG Zhihong, LIU Lingling |
| 责 任 编 辑 | 刘玲玲 | Executive Editor | LIU Lingling |
| 出 版 单 位 | 《中国医药工业杂志》编辑部 | Editor by | Editorial Board of Chinese Journal of Pharmaceuticals |
| 编 辑 部 地 址 | 上海市北京西路1320号 (200040) | Address for Foreign Subscriber | 1320 Beijing Road (W), Shanghai 200040, China |
| 电 话 | 021-62793151 | Tel | 0 086-21-62793151 |
| 传 真 | 021-62473200 | Fax | 0 086-21-62473200 |
| 电 子 邮 件 | cjph@pharmadl.com | E-mail | cjph@pharmadl.com |
| 网 址 | www.cjph.com.cn www.pharmadl.com | Web Site | http://www.cjph.com.cn http://www.pharmadl.com |
| 广告发行联系 | | | |
| 电 话 | 021-62126987, 62473200 | Tel | 021-62126987, 62473200 |
| 传 真 | 021-62473200 | Fax | 021-62473200 |
| 电 子 邮 件 | ouyy@pharmadl.com | E-mail | ouyy@pharmadl.com |
| 印 刷 | 上海欧阳印刷厂有限公司 | Printed by | Shanghai Ouyang Printing Co., Ltd. |
| 发 行 范 围 | 公开发行 | | |
| 国 内 发 行 | 上海市报刊发行局 | Domestic Distributed by | Local Post Office |
| 国 外 发 行 | 中国国际图书贸易集团有限公司 (北京399信箱, 100044) | Abroad Distributed by | China International Book Trading Corporation (P.O.Box 399, Beijing 100044, China) |
| 国 内 订 阅 | 全国各地邮政局 | | |

* 通信联系人; 如为第一作者则不加“*”号。征稿简则刊登于当年第1期 *To whom correspondence should be addressed

[期刊基本参数] CN 31-1243/R *1970*m*A4*146*zh*P*20.00* *24*2019-11

2019年版权归《中国医药工业杂志》编辑部所有, 除非特别声明, 本刊刊出的所有文章不代表本刊编委会的观点。

ISSN 1001-8255

CN 31-1243/R

国内邮发代号 4-205

国外邮发代号 M6070

CODEN: ZYGZEA

国内定价: 每册 20.00 元



微信号: cjph-cjph



微博: weibo.com/cjph

一测多评法测定元胡止痛系列制剂中 5 种成分的含量

刘瑞洁^{1,2}, 张 雪², 叶晓霞², 乐 健^{2,3*}

(1. 中国医药工业研究总院, 上海 201203; 2. 上海市食品药品检验所, 上海 201203; 3. 复旦大学药学院, 上海 201203)

摘要: 建立并验证一测多评(QAMS)法同时测定元胡止痛制剂(包括滴丸、片剂、胶囊、软胶囊、颗粒剂和口服液)中延胡索乙素(1)、四氢小檗碱(2)、欧前胡素(3)、延胡索甲素(4)和异欧前胡素(5)的含量。以1为内参物, 确立其与2、3、4、5的相对校正因子(RCFs)。分别采用外标法和一测多评法计算元胡止痛系列制剂不同批次中2、3、4、5的含量, 结果表明, 各成分外标法测定的含量值与采用校正因子计算的含量值之间RSD均小于3.5%。说明在对照品缺乏的情况下, 一测多评法能准确、方便测定多成分的含量, 可用于元胡止痛系列制剂的质量评价。

关键词: 一测多评; 元胡止痛系列制剂; 相对校正因子; 方法学验证; 中药制剂

中图分类号: TQ460.7+2; O657.7+2 文献标志码: A 文章编号: 1001-8255(2019)11-1318-06

DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.11.014

Simultaneous Determination of Five Components in *Yuanhu Zhitong* Series Preparations by QAMS

LIU Ruijie^{1,2}, ZHANG Xue², YE Xiaoxia², LE Jian^{2,3*}

(1. China State Institute of Pharmaceutical Industry, Shanghai 201203; 2. Shanghai Institute for Food and Drug Control, Shanghai 201203; 3. School of Pharmacy, Fudan University, Shanghai 201203)

ABSTRACT: A new simultaneous determination of five main components, tetrahydropalmatine(1), tetrahydroberberine(2), imperatorin(3), corydaline(4), and isoimperatorin(5), in *Yuanhu Zhitong* preparations including guttate pills, tablets, capsules, soft capsules, granules and oral liquid by multi-components by single marker(QAMS) was established and validated. The contents of compounds 2, 3, 4, and 5 were calculated by comparing their peak areas to that of compound 1 with the relative correction factors(RCFs). The contents of four compounds(2, 3, 4, and 5) in different batches of *Yuanhu Zhitong* series preparations were calculated by the established QAMS method, and compared with their results determined by external standard method. The RSD were less than 3.5% in the quantitative results of four components between external standard method and QAMS. QAMS is a convenient and accurate method to determine multi-components when some authentic standard substances are unavailable. It can be used to control the quality of *Yuanhu Zhitong* series preparations.

Key Words: multi-components by single marker(QAMS); *Yuanhu Zhitong* series preparations; relative correction factor(RCF); methodological investigation; Traditional Chinese Medicine preparations

收稿日期: 2019-05-16

作者简介: 刘瑞洁(1994—), 女, 硕士, 从事生药分析工作。

Tel: 13122501635

E-mail: sunnyruiqian@163.com

通信联系人: 乐 健(1972—), 男, 主任药师, 从事药品质量控制研究。

Tel: 021-50798193

E-mail: lejian2002@hotmail.com

元胡止痛系列制剂由延胡索(醋制)与白芷 2 味中药组成, 主要用于治疗气滞血瘀的胃痛、胁痛、头痛等, 是中医临床常用药。元胡止痛系列制剂的君药为元胡, 有显著的镇痛、镇静作用, 其主要活性成分为延胡索乙素(1)、四氢小檗碱(2)、延胡索甲素(4)等生物碱类物质^[1]; 白芷可排脓生肌、

活血止痛, 作为臣药可增强止痛药效, 其主要的活性成分为欧前胡素(3)、异欧前胡素(5)等香豆素类物质^[2]。

在现行的《中华人民共和国药典》(ChP) 2015年版(一部)中, 仅利用 HPLC 法分别测定 1、3 的含量来控制该系列制剂质量。元胡系列制剂的药效是各成分的综合作用, 仅用 1、3 作为指标, 不足以评价其质量。因此探讨多指标成分综合评价体系非常有必要。目前, 多成分含量测定评价元胡系列制剂的研究已有报道^[3-5], 但这些方法存在操作复杂、对照品消耗多的问题^[6]。为此, 我们在明确了这 5 种成分为主要药性、药效成分的基础上, 提出一测多评法解决此问题: 即只测定其中一个成分 1, 通过建立该成分与其他成分(2、3、4、5)间的相对校正因子, 计算出其他成分的含量, 实现多成分的同时定量, 此法能较好体现中药多指标含量测定, 且有效降低分析成本^[7-9]。

1 仪器与试药

Shimadzu LC-20AD 高效液相系统, Dionex Ultimate 3000 高效液相系统, Waters Alliance 高效液相系统, Sartorius BS 2202S 天平仪, Mettler Toledo pH 计、XS204 天平仪, Kudos SK8210HP 超声仪, Millipore 纯水仪。

1(纯度 98%, 批号 101016)、2(纯度 98%, 批号 101979)、3(纯度 97.60%, 批号 200524-170213)、5(纯度 90.90%, 批号 200424-161114)对照品均购于江苏永健医药科技有限公司, 4 对照品(纯度 98%, 批号 518-69-4)购于诗丹德标准品有限公司; 元胡止痛滴丸(甘肃陇神戎发药业有限公司, 规格每丸 0.05 g, 批号 20180138166、20170536019、21070503126); 元胡止痛片(广西世彪药业有限公司, 规格 0.26 g, 批号 160806); 元胡止痛胶囊(四川泰乐制药有限公司, 规格 0.25 g, 批号 170801); 元胡止痛软胶囊(江苏康缘阳光药业有限公司, 规格 0.5 g, 批号 170902); 元胡止痛颗粒(沈阳飞龙药业有限公司, 规格 5 g, 批号 20161001040); 元胡止痛口服液(河南福森药业有限公司, 规格 10 ml, 批号 17010111); 乙腈、甲醇(分析纯, Merck 公司); 磷酸(批号 20170814)、三乙胺(批号 20170703)、氨水(批号 20161123)均为分析纯(上海凌峰化学试剂有限公司)。

2 方法与结果

2.1 色谱分离系统的确定

2.1.1 色谱条件

Shimadzu LC-20AD 高效液相系统, 色谱柱 Agilent EclipseXDB-C₁₈ 柱(4.6 mm×150 mm, 3.5 μm); 流动相 0.1%磷酸溶液(用三乙胺调至 pH 5.8, A)-乙腈(B), 线性梯度洗脱(表 1); 流速 1 ml/min; 柱温 30 °C; 检测波长 289 nm; 进样量 20 μl。上述色谱条件下, 混合对照品溶液及滴丸供试品溶液 HPLC 图谱见图 1。1、2、3、4、5 相邻色谱峰的分度均大于 1.5, 理论板数以各色谱峰计均在 3 000 以上。

表 1 线性梯度洗脱程序

Tab.1 Linear Gradient Elution Procedure

| t/min | A/% | B/% |
|-------|-----|-----|
| 0 | 70 | 30 |
| 10 | 70 | 30 |
| 15 | 60 | 40 |
| 30 | 60 | 40 |
| 40 | 51 | 49 |
| 50 | 51 | 49 |

2.1.2 供试品溶液的制备

取元胡止痛滴丸适量, 研细, 取约 1 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入浓氨水-甲醇(1:20)的混合溶液(50 ml), 称重, 超声处理(功率 250 W, 频率 53 kHz)30 min, 放冷, 称重后用浓氨水-甲醇(1:20)的混合溶液补足, 过滤, 精密量取续滤液 25 ml, 蒸至近干, 加水 50 ml, 溶解残渣并转移至具塞锥形瓶中。用乙酸乙酯等比例萃取 3 次, 取上层蒸至近干, 残渣用甲醇溶解并转移至 10 ml 量瓶, 加甲醇稀释并定容, 摇匀, 过滤, 取续滤液即得。元胡止痛片、元胡止痛胶囊、元胡止痛颗粒样品处理方法同上。

取元胡止痛口服液 10 ml, 置具塞锥形瓶中, 加水 40 ml, 称定重量, 超声处理(功率 250 W, 频率 53 kHz)10 min, 放冷, 称重后加水补足失重。用乙酸乙酯等比例萃取 3 次, 取上层蒸至近干, 残渣用甲醇溶解并转移至 10 ml 量瓶中, 加甲醇稀释并定容, 摇匀, 过滤, 取续滤液即得。

取元胡止痛软胶囊内容物约 1 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇 50 ml, 称定重量, 超声处理 (功率 250 W, 频率 53 kHz) 30 min, 放冷, 称重后加甲醇补足失重, 过滤, 精密量取续滤液 25 ml, 蒸至近干, 加水 50 ml, 溶解残渣并转移至具塞锥形瓶中。用乙酸乙酯等比例萃取 3 次, 取上层蒸至近干, 残渣用甲醇溶解并转移至 10 ml 量瓶中, 加甲醇稀释并定容, 摇匀, 过滤, 取续滤液即得。

2.1.3 对照品溶液的制备

分别取 1~5 的对照品适量, 精密称定, 加甲醇溶解并定容, 分别制成每 1 ml 含 1 608 μg 、2 772 μg 、3 625 μg 、4 653 μg 、5 726 μg 的溶液, 即得对照品贮备溶液。

精密量取上述 5 个对照品贮备溶液适量, 置同一 25 ml 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 制得 1~5 浓度分别为 97.3、74.1、50.0、182.8、29.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的混合对照品贮备溶液, 分别精密量取 0.125、0.25、0.5、1、2、3、5、10 ml, 置 10 ml 量瓶中, 以甲醇稀释并定容, 制得系列混合对照品溶液, 避光冷藏保存。

2.1.4 线性范围

分别精密吸取系列质量浓度的混合对照品溶液

20 μl , 注入液相色谱仪, 按上述色谱条件测定, 记录峰面积, 以进样量 ($X, \mu\text{g}$) 为横坐标, 以峰面积 (Y) 为纵坐标, 绘制标准曲线, 系列浓度范围内线性良好。同系列混合对照品制备方法逐级稀释, 分别以 $S/N=3$ 、10 考察检测限和定量限, 结果见表 2。

2.1.5 进样精密度

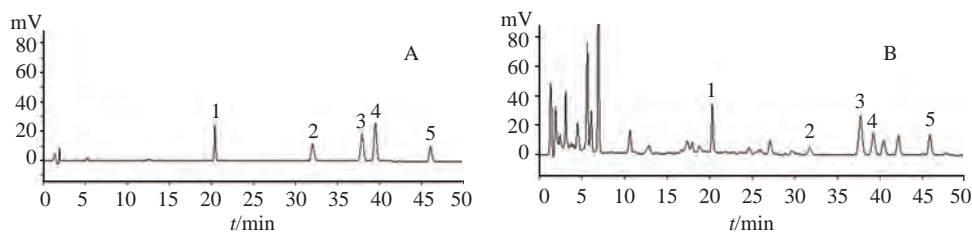
精密吸取同一混合对照品 20 μl , 连续进样 6 次, 记录成分 1~5 峰面积, 得出日内精密度 RSD 值分别为 0.72%、0.75%、0.88%、0.84%、0.81%。连续进样 3 d, 每天 3 次, 记录各成分峰面积, 得出日间精密度 RSD 分别为 0.92%、0.90%、0.86%、0.84%、0.89%, 表明仪器精密度良好。

2.1.6 重复性

称取同批元胡止痛滴丸剂约 1 g, 共 6 份, 精密称定, 按“2.1.2”项下平行制备 6 份样品溶液, 测定 1~5 的平均含量分别为 578.6、127.7、335.9、475.7、155.7 $\mu\text{g}/\text{g}$, RSD 值分别为 1.06%、1.19%、0.92%、1.35%、2.76%, 表明方法重复性良好。

2.1.7 稳定性

取同一供试品溶液, 分别于 0、4、8、16、20、24 h 进样 20 μl , 依法测定, 记录各成分峰面积,



A: 混合对照品溶液, B: 滴丸供试品溶液

1-1; 2-2; 3-3; 4-4; 5-5

图 1 对照品 (A)、滴丸供试品 (B) 色谱图

Fig.1 HPLC Chromatograms of Reference Substance (A) and Guttate Pills Sample (B)

表 2 元胡止痛滴丸剂中 5 种成分的标准曲线

Tab.2 Standard Curves of Six Components

| 有效成分 | 标准曲线 | R^2 | 线性范围/ μg | 检测限/ng | 定量限/ng |
|------|---------------------------|---------|---------------------|--------|--------|
| 1 | $Y=774\ 396X+1\ 993.6$ | 0.999 7 | 0.024~1.946 | 0.29 | 0.97 |
| 2 | $Y=943\ 923X+1\ 233.5$ | 0.999 7 | 0.018~1.482 | 0.74 | 1.48 |
| 3 | $Y=2\ 197\ 151X+2\ 121.5$ | 1.000 0 | 0.012~1.000 | 0.15 | 0.50 |
| 4 | $Y=789\ 663X+2\ 067.8$ | 0.999 7 | 0.046~3.656 | 0.55 | 1.83 |
| 5 | $Y=1\ 771\ 078X+1\ 316.3$ | 1.000 0 | 0.007~0.580 | 0.29 | 0.73 |

得出成分 **1** ~ **5** 峰面积的 RSD 值依次为 1.55%、1.83%、1.07%、1.27%、1.23%，表明供试品溶液在室温条件下 24 h 内稳定。

2.1.8 加样回收率

取“2.1.6”项下已测知含量的同批元胡止痛丸 9 份，每份约 0.5 g，精密称定，分成 3 组，每组分别按 50%、100% 和 150% 3 个水平精密添加含 **1** 146、**2** 31、**3** 75、**4** 131 和 **5** 44 $\mu\text{g/ml}$ 的混合对照品溶液 1 ml、2 ml、3 ml，按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液，测定并计算各成分的加样回收率和 RSD，结果见表 3，表明本法回收率良好。

表 3 加样回收率试验结果 ($n=9$)
Tab.3 Results of Recovery Tests ($n=9$)

| 成分 | 平均回收率/% | RSD/% |
|----------|---------|-------|
| 1 | 102.6 | 1.86 |
| 2 | 102.5 | 1.01 |
| 3 | 103.2 | 1.47 |
| 4 | 102.8 | 1.20 |
| 5 | 101.3 | 2.25 |

2.1.9 耐用性

考察改变流速 (1 ± 0.1) ml/min，采用 2 种不同品牌的色谱 Agilent EclipseXDB-C₁₈ (4.6 mm×150 mm, 3.5 μm)、Waters sunfire C₁₈ (4.6 mm×150 mm, 3.5 μm) 以及 2 台不同品牌高效液相色谱仪 Shimadzu LC-20AD 高效液相系统、Dionex Ultimate 3000 高效液相系统，色谱行为的变化。测定同一批样品中各成分含量及 RSD，结果表明各条件下所测含量的 RSD 均小于 3%，分离效果良好，因此该方法具有良好的耐用性。

2.2 校正因子的计算

2.2.1 多点校正法

以多个质量浓度点计算所得的 $f_{i/s}$ 取平均值作为定量用 $f_{i/s}$ 。在上述色谱条件下，分别测定不同浓度的系列混合对照品溶液进样时各成分的峰面积，按公式 $f_{i/s} = f_i/f_s = (W_s \times A_i) / (W_i \times A_s)$ 计算。式中 A_s 为内参物峰面积， A_i 为其他组分 i 的峰面积， W_s 为内参物的质量或浓度， W_i 为其他组分 i 的质量或浓度。以 **1** 为内参物，计算其对成分 **2**、**3**、**4**、**5** 的校正因子，得出 $f_{2/1}$ 、 $f_{3/1}$ 、 $f_{4/1}$ 、 $f_{5/1}$ 分别为 1.212、2.825、1.012、

2.287，RSD 值分别为 0.74%、0.56%、0.88%、0.38%。

2.2.2 斜率校正法

各成分的线性标准回归曲线均为 $Y=aX+b$ ，但是截距 (b) 通常为误差引起。 $X=(Y-b)/a = Y/a - b/a$ ， b/a 值小于 1/100 时，可忽略不计，公式简化成 $X=Y/a$ ，根据斜率直接计算质量或浓度。由“2.2.1”已知 $f_{i/s}$ 计算公式，代入公式 $W=A/a$ ，推导出 $f_{i/s}=a_i/a_s$ ，其中 a_s 为内参物斜率， a_i 为其他组分斜率，即校正因子可以由二者的斜率 a 之比直接计算。待测成分质量或浓度计算公式为 $W_i=(W_s \times A_i) / (f_{i/s} \times A_s)$ ，代入公式 $W=A/a$ ，推导出 $W_i=A_i / (a_s \times f_{i/s})$ ，即可根据内参物斜率、相对校正因子快速推算其余待测成分含量。当各成分标准曲线中 a/b 值均大于 100 才能应用此法，应用时第一步需建立内参物的标准曲线获得其 a_s 。本试验计算延胡索乙素对其他目标成分的 $f_{i/s}$ 分别为 1.219、2.837、1.020、2.287。

2.2.3 校正因子重现性考察

本试验考察了 4 种不同的色谱柱，Agilent Eclipse XDB-C₁₈ 柱 (4.6 mm×150 mm, 3.5 μm)、Waters Sunfire C₁₈ 柱 (4.6 mm×150 mm, 3.5 μm)、Waters XBridge C₁₈ 柱 (4.6 mm×150 mm, 3.5 μm)、Dikma Diamonsil plus C₁₈ 柱 (4.6 mm×150 mm, 5 μm) 对 $f_{i/s}$ 的影响，结果其 RSD 均小于 1%。表明 $f_{i/s}$ 在不同色谱柱均有良好的重现性。

2.3 待测组分色谱峰的定位

本文利用相对保留时间作为定位标准：知道内参物 **1** 的保留时间，加上其对成分 **2**、**3**、**4**、**5** 的相对保留时间，再根据峰型、紫外吸收进行判断，即可定位。考察了 Shimadzu LC-20AD、Dionex Ultimate 3000、Waters Alliance 共 3 种高效液相系统，Agilent Eclipse XDB-C₁₈ 和 Waters sunfire C₁₈ 色谱柱的相对保留时间，结果分别为 1.592、1.878、1.963、2.279，RSD 分别为 1.65%、2.54%、1.58%、1.97%。表明不同仪器和不同色谱柱下各成分间的相对保留时间 RSD 小于 3%，利用相对保留时间进行峰的定位是可行的。

2.4 一测多评法与常规方法的比较

分别精密吸取对照品溶液和供试品溶液各 20 μl ，进样测定，记录 **1** ~ **5** 的峰面积，分别用外

标法和 2 种一测多评法计算, 结果见表 4, 元胡止痛系列各剂型成分含量差异较明显, 推测主要由于工艺及使用药材不同造成。同时, 各成分常规外标法实测含量值与一测多评计算的含量值 RSD 均小于 3.5%, 表明一测多评法可用于元胡止痛系列制剂的多成分质量评价研究。

3 讨论

元胡止痛系列制剂为中药复方制剂, 剂型间工艺和辅料不同, 因此不同于单个品种的中药材, 对于一测多评法的应用难度较大。本研究考察了不同流动相 pH 值、不同梯度洗脱程序, 结果表明在上述色谱条件下, 元胡系列制剂均具有良好的色谱行为, 5 个成分出峰时间均一致, 且与相邻色谱峰分离度均大于 1.5, 保证了含量结果的准确性和重复性, 从而最终能建立统一通用无差异的元胡系列制剂中 5 种成分的测定方法。

1 为元胡止痛制剂中主要药效成分, 且定量用对照品价廉易得, 因此本试验选用 **1** 为内参物。**3**、**5** 为香豆素类成分, 保留时间易受温度影响, 为了使各成分分离度恰好达到要求, 因此将柱温设为 30 ℃。元胡止痛系列制剂成分复杂, 常规样品处理方法易造成色谱柱污染、引起较大误差, 本试验引入经典提取净化技术(液-液萃取), 可除去大极性杂质的干扰, 色谱基线更平稳, 同时主成分含量并无变化。本试验根据内参物的保留时间、各成分的相对保留时间、峰形及紫外吸收来判断目标峰的准确位置, 结果表明, 该方法进行峰定位是可行的。本文建立了 **1** 与其余 4 种成分的相对校正因子, 并计算各成分的含量, 结果表明, QAMS 与外标法含量值之间 RSD 小于 3.5%, 表明一测多评法可用于元胡止痛系列制剂中主要成分的含量测定。

表 4 外标法和一测多评法测定元胡止痛制剂中 5 种成分含量的比较 ($n=3$)
Tab.4 Contents of Six Components by External Standard Method and QAMS ($n=3$)

| 剂型 | 样品批号 | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
|-----------------------------|-------------|----------|-------|-------|-------|--------|-------|
| 滴丸 ($\mu\text{g/g}$) | 20170536019 | 外标法 | 578.6 | 126.3 | 334.9 | 471.5 | 155.6 |
| | | 一测多评多点校正 | - | 127.7 | 335.9 | 475.7 | 155.7 |
| | | 一测多评斜率校正 | - | 127.6 | 335.9 | 474.1 | 156.4 |
| | 21070503126 | 外标法 | 536.1 | 123.0 | 316.4 | 464.3 | 120.6 |
| | | 一测多评多点校正 | - | 124.4 | 317.3 | 468.4 | 120.8 |
| | | 一测多评斜率校正 | - | 124.3 | 317.4 | 466.9 | 121.4 |
| | 20180138166 | 外标法 | 608.3 | 144.9 | 428.8 | 719.2 | 269.1 |
| | | 一测多评多点校正 | - | 146.4 | 429.8 | 724.4 | 268.7 |
| | | 一测多评斜率校正 | - | 146.2 | 429.8 | 721.8 | 269.9 |
| 胶囊 ($\mu\text{g/g}$) | 170801 | 外标法 | 372.7 | 21.4 | 718.5 | 105.3 | 472.7 |
| | | 一测多评多点校正 | - | 22.7 | 717.7 | 108.0 | 470.2 |
| | | 一测多评斜率校正 | - | 22.7 | 719.4 | 107.9 | 473.5 |
| 颗粒剂 ($\mu\text{g/g}$) | 20161001040 | 外标法 | 102.4 | 19.5 | 226.2 | 140.3 | 78.8 |
| | | 一测多评多点校正 | - | 20.4 | 222.6 | 140.5 | 77.6 |
| | | 一测多评斜率校正 | - | 20.8 | 227.2 | 142.9 | 79.6 |
| 软胶囊 ($\mu\text{g/g}$) | 170902 | 外标法 | 958.8 | 158.9 | 577.0 | 1031.2 | 334.6 |
| | | 一测多评多点校正 | - | 160.6 | 579.0 | 1039.1 | 334.5 |
| | | 一测多评斜率校正 | - | 160.2 | 577.9 | 1033.7 | 335.3 |
| 片剂 ($\mu\text{g/g}$) | 160806 | 外标法 | 403.9 | - | 65.4 | 58.0 | 103.3 |
| | | 一测多评多点校正 | - | - | 66.2 | 60.6 | 103.3 |
| | | 一测多评斜率校正 | - | - | 66.4 | 60.6 | 104.0 |
| 口服液 ($\mu\text{g/ml}$) | 17010111 | 外标法 | 90.8 | 13.8 | - | 123.5 | - |
| | | 一测多评多点校正 | - | 13.9 | - | 124.4 | - |
| | | 一测多评斜率校正 | - | 13.8 | - | 123.6 | - |

参考文献:

- [1] 许翔鸿, 王峥涛, 余国奠, 等. 延胡索中生物碱成分的研究[J]. 中国药科大学学报, 2002, **33**(6): 483-486.
- [2] 朱艺欣, 李宝莉, 马宏胜, 等. 白芷的有效成分提取、药理作用及临床应用研究进展[J]. 中国医药导报, 2014, **11**(31): 159-162.
- [3] 李思思, 许 浚, 张铁军, 等. HPLC法同时测定元胡止痛滴丸中6种成分[J]. 中草药, 2015, **46**(21): 3198-3201.
- [4] 章 军, 王跃生, 李 慧, 等. HPLC法同时测定元胡止痛分散片中延胡索乙素和欧前胡素的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2009, **15**(12): 10-12.
- [5] 肖 凌, 侯俊杰, 聂 晶, 等. 元胡止痛系列制剂中5种有效成分定量测定的研究[J]. 中成药, 2012, **34**(6): 1068-1072.
- [6] 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.
- [7] 匡艳辉, 朱晶晶, 王智民, 等. 一测多评法测定黄连中小檗碱、巴马汀、黄连碱、表小檗碱、药根碱含量[J]. 中国药理学杂志, 2009, **44**(5): 390-394.
- [8] 李 倩, 刘 伟, 罗祖良, 等. 一测多评法测定丹参中丹参酮II A、隐丹参酮、丹参酮I、二氢丹参酮I的含量[J]. 中国中药杂志, 2012, **37**(6): 824-828.
- [9] 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.