

量包装指南的研究及分析其对我国启示意义的文献中提到,单剂量包装药品可以保证药品使用的安全、合理,减少药品资源的浪费^[17]。儿童药品生产企业为儿童患者设计生产更适合儿童服用的小剂量包装药品或单剂量包装药品。同时应加强药品启用后的稳定性研究,履行国家药品监督管理局的说明书动态管理要求,能够及时更新完善多剂量口服药品启用后的贮藏条件和使用期限相关内容,为儿童安全用药保驾护航。

参考文献:

- [1] 徐敢, 张石革. 非注射剂型多剂量制剂启用后的使用期限和用药安全管理[J]. 药物不良反应杂志, 2016, 18(5): 352-355.
- [2] 钱佩佩, 曹凯, 赵亮, 等. 药品有效期和使用期限的探讨[J]. 中国药物警戒, 2018, 7(15): 414-418.
- [3] 刘洪英, 李洪丽, 周乃娥. 口服过期复方阿司匹林致中毒性耳聋一例[J]. 临床误诊误治, 1999, 12(3): 224.
- [4] 夏豪, 王晋明. 过期四环素致急性肾功能衰竭一例[J]. 临床内科杂志, 1992, 9(2): 49.
- [5] 国家药品监督管理局. 药品说明书和标签管理规定(局令第24号)[S/OL]. (2006-03-15). <https://www.nmpa.gov.cn/xxgk/fgwj/bmgzh/20060315010101975.html>.
- [6] 国家药品监督管理局. 化学药品和治疗用生物制品说明书规范细则[S/OL]. (2005-05-10). <http://www.nmpa.gov.cn/xxgk/fgwj/gzwj/gzwjyp/20060510010101566.html>.
- [7] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 二部[M]. 2010年版. 北京: 中国医药科技出版社, 2010.
- [8] 赵晶, 游其华. 在线粒径仪及 XDR 检测布洛芬混悬液稳定性[J]. 海峡药学, 2018, 30(11): 18-21.
- [9] 孙凌. 五维赖氨酸口服液稳定性的影响因素考察[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(16): 43-45.
- [10] 国家药品监督管理局. 关于印发化学药品和生物制品说明书规范细则的通知[EB/OL]. (2006-05-10). <https://www.nmpa.gov.cn/directory/web/nmpa/xxgk/fgwj/gzwj/gzwjyp/20060510010101566.html>.
- [11] World Health Organization. Stability testing of active pharmaceutical ingredients and finished pharmaceutical products[EB/OL]. [2017-12-05]. <http://apps.who.int/medicinedocs/en/d/Js19133en/>.
- [12] 王雷, 张玉明, 王云山, 等. 维生素 B₁₂ 的光解研究及发酵液中维生素 B₁₂ 检测新方法的建立[J]. 中国生物工程杂志, 2006, 26(4): 81-85.
- [13] 国家市场监督管理总局. 药品注册管理办法(国家市场监督管理总局令第27号)[S/OL]. (2020-01-22). <http://www.cde.org.cn/policy.do?method=showState&id=aab95e7996170aab>.
- [14] 刘鲁霞, 张桂芳, 王慧萱. 眼药滴瓶口颈细菌污染原因分析[J]. 护士进修杂志, 2002, 17(1): 14-15.
- [15] 张燕梅, 胡永福. 液体口服制剂剂量准确性分析[J]. 中国药房, 2007, 18(1): 73-74.
- [16] 刘雅娟, 张四喜, 王相峰, 等. 208 份多剂量包装药品说明书启用后使用期限标注情况调查及安全性分析[J]. 中国医院药学杂志, 2019, 39(13): 1405-1413.
- [17] 李淑芳, 潘文灏. ASHP 药品单剂量包装指南及其对我国的启示[J]. 中国医药指南, 2013, 11(18): 388-390.

(编辑:杨丹)

(收稿日期:2021-03-12 修回日期:2021-04-02)

doi:10.13407/j.cnki.jpp.1672-108X.2023.01.008

• 论著 •

一测多评法同时测定保儿宁颗粒中 4 种成分的含量

黄玮 (江苏省徐州市食品药品监督检验中心, 江苏徐州 221000)

[摘要] 目的: 建立一测多评法同时测定保儿宁颗粒中 4 种成分的含量。**方法:** 采用 Zorbax Eclipse XDB C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm), 以乙腈-0.2%磷酸溶液为流动相, 梯度洗脱(0 min→14 min→15 min, 乙腈 15%→25%→15%), 流速 1.0 mL/min, 柱温 32 ℃, 检测波长 215 nm。以升麻素苷为内标, 分别建立毛蕊异黄酮葡萄糖苷、升麻素和 5-O-甲基维斯阿米醇苷的相对校正因子, 测定各成分的含量, 实现一测多评。同时采用外标法测定保儿宁颗粒中 4 种成分的量, 比较两种方法测得值的差异, 以验证一测多评法在测定中的准确性及可行性。**结果:** 各相对校正因子重现性良好, 外标法 4 种成分在考察的浓度范围内线性关系良好($r \geq 0.9994$), 加样回收率为 99.21%~100.95% ($n=6$), 采用校正因子计算的含量与实测含量之间比较差异无统计学意义。**结论:** 该方法准确可靠, 可作为保儿宁颗粒多指标成分测定的质量控制方法。

[关键词] 保儿宁颗粒; 一测多评; 相对校正因子; 高效液相色谱法

[中图分类号] R978.6

[文献标识码] A

[文章编号] 1672-108X(2023)01-0023-04

Simultaneous Determination of Four Constituents in Baoerning Granules by QAMS

Huang Wei (Xuzhou Food and Drug Administration and Inspection Center of Jiangsu Province, Jiangsu Xuzhou 221000, China)

[Abstract] Objective: To establish a quantitative analysis of multi-components by single-marker (QAMS) method for the simultaneous content determination of four constituents in Baoerning granules. **Methods:** Zorbax Eclipse-C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm) was used as

作者简介: 黄玮(1981.10-), 女, 大学本科, 主任中药师, 主要从事药品检验及质量标准研究, E-mail: 316243060@qq.com。

stationary phase, acetonitrile-0.2% phosphoric acid solution with gradient elution (0 min→14 min→15 min, acetonitrile 15%→25%→15%) at a flow rate of 1.0 mL/min, the column temperature at 32 °C, and the wavelength of detection at 215 nm. Prim-O-glucosylcimifugin was chosen as the single maker to determine the contents of pistil isoflavone glucoside, cimifugin and 5-O-methylvisammioside in Baoerning granules. At the same time, the external standard method was used to determine the contents of four compinents in Baoerning granules, and the differences between the two methods were compared to verify the accuracy and feasibility of the QAMS method. **Results:** The relative correction factors have good reproducibility. There was a good linear relationship ($r \geq 0.999, 4$) in the concentration range of the four compounds in the external standard method. The recoveries were 99.21% to 100.95% ($n=6$). There was no significant difference between the content value calculated by the correction factor and the measured value. **Conclusion:** This method is accurate and reliable, and can be used for the quality control of Baoerning granules.

[**Keywords**] Baoerning granules; multi-components with a single marker; relative correction factor; HPLC

一测多评法是通过有效成分间存在的内在函数关系和比例关系,仅测定一个成分(对照品易得),来实现多个成分的同步监控^[1],近年来,在中药多指标成分质量评价过程中备受重视。保儿宁颗粒由黄芪(炙)、白术、防风等七味中药加工制成,是儿童常用复方制剂,具有益气固表、健中醒脾的功效。原标准收载于《卫生部药品标准》中药成方制剂第十五册,原标准只有理化鉴别,没有含量测定^[2],文献也仅涉及其所含的黄芪甲苷、升麻素苷含量测定^[3-4]的报道。中药及其制剂成分复杂,仅凭单一成分评价其质量过于片面,不能很好反映其质量,但用传统测定方法同时测定几种成分会面临对照品难得、耗时耗能的情况。本研究采用高效液相色谱(HPLC)法同时测定毛蕊异黄酮葡萄糖苷、升麻素苷、升麻素和 5-O-甲基维斯阿米醇苷的含量,并利用 4 种成分内在的比例关系,采用一测多评法,通过实验验证,以升麻素苷为内标成分,得出毛蕊异黄酮葡萄糖苷、升麻素、5-O-甲基维斯阿米醇苷与升麻素苷之间的相对校正因子,计算出这 3 种成分的含量,为保儿宁颗粒多指标成分定量测定提供新的分析模式,能更好地评价保儿宁颗粒的质量。

1 仪器与试药

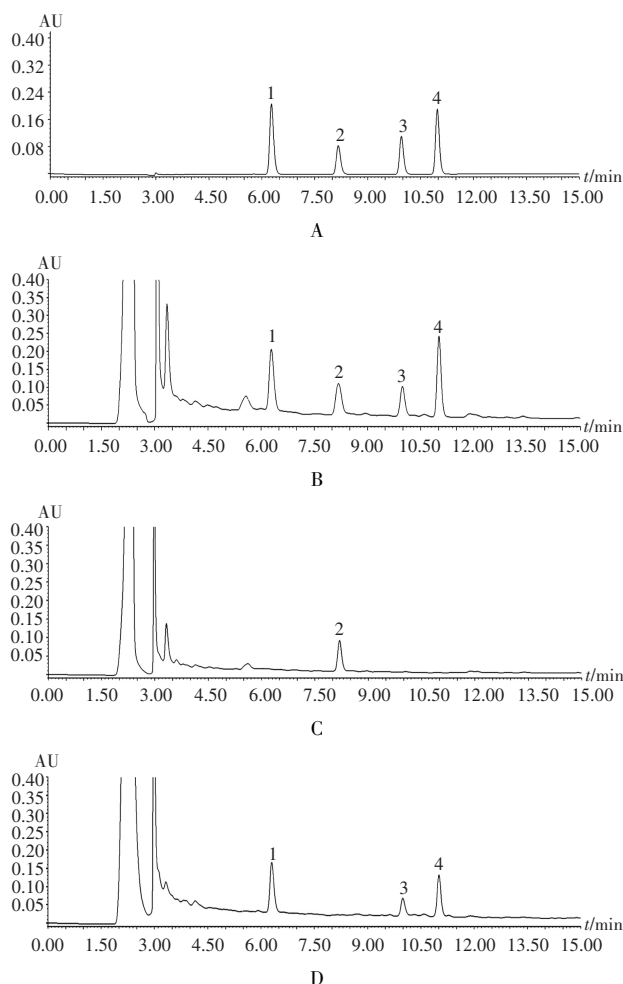
ThermoFisher U3000 高效液相色谱仪(赛默飞世尔科技公司),Waters e2695-2998 高效液相色谱仪(美国 Waters 公司),XSR205 电子天平(瑞士 Mettler 公司),SCQ-5201 型超声波器(上海声彦超声波仪器有限公司)。色谱柱:Agilent Zorbax Eclipse XDB-C₁₈(250 mm×4.6 mm,5 μm,安捷伦公司),Phenomenex Luna C₁₈(250 mm×4.6 mm,5 μm,菲罗门公司),Thermo ODS Hypersil C₁₈(250 mm×4.6 mm,5 μm,赛默飞世尔科技公司)。

升麻素苷对照品(批号 111522-201913)、毛蕊异黄酮葡萄糖苷对照品(批号 111920-201606)、升麻素对照品(批号 111710-200501)、5-O-甲基维斯阿米醇苷对照品(批号 111523-201007)均购于中国食品药品检定研究院。乙腈为色谱纯,水为超纯水,其他试剂均为分析纯。保儿宁颗粒(江苏颐海药业有限责任公司,批号 200101、200801、200301)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件与系统适应性实验

色谱柱:Agilent Zorbax Eclipse XDB-C₁₈(250 mm×4.6 mm,5 μm),流动相:乙腈-0.2%磷酸溶液,梯度洗脱(0 min→14 min→15 min,乙腈 15%→25%→15%),流速:1.0 mL/min,柱温:32 °C,检测波长:215 nm,进样量 10 μL。升麻素苷、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、升麻素和 5-O-甲基维斯阿米醇苷分离良好,与各自相邻峰的分离度均>2.0,理论板数均>5 000。见图 1。



1. 升麻素苷;2. 毛蕊异黄酮葡萄糖苷;3. 升麻素;4. 5-O-甲基维斯阿米醇苷;A. 混合对照品溶液;B. 样品溶液;C. 缺防风阴性样品溶液;D. 缺黄芪阴性样品溶液

图 1 高效液相色谱图

2.2 对照品溶液的制备

分别精密称取升麻素苷、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、升麻素和 5-O-甲基维斯阿米醇苷对照品适量,精密称定,

加甲醇溶解制成含升麻素苷 0.257 3 mg/mL、毛蕊异黄酮葡萄糖苷 0.100 1 mg/mL、升麻素 0.154 8 mg/mL 和 5-O-甲基维斯阿米醇苷 0.258 0 mg/mL 的混合对照溶液,作为贮备液。精密量取 3 mL,置 10 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,即得。

2.3 供试品溶液的制备

取本品 6 g,精密称定,精密加甲醇 50 mL,称定质量,超声处理 30 min,放冷,再称定质量,用甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,精密量取续滤液 25 mL,回收溶剂至干,残渣加甲醇溶解,转移至 5 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,用微孔滤膜(0.45 μm)滤过,取续滤液,即得。

2.4 阴性样品溶液的制备

按本制剂处方比例及制备工艺,分别不加入黄芪、防风药材制得各阴性样品,按“2.3”项下供试品溶液制备方法制备阴性样品溶液。

2.5 线性关系考察

分别精密量取“2.2”项下对照品贮备液 0.5、1、3、5、8、10 mL,分别置 6 个 10 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,在“2.1”项色谱条件下进行测定。以溶液浓度为横坐标(X),峰面积为纵坐标(Y)进行回归,各成分在各自范围内线性关系良好,见表 1。

表 1 各成分线性关系

成分	回归方程	r	线性范围/(μg/mL)
升麻素苷	$Y=3.507\ 6\times 10^7X+2.657\ 3\times 10^4$	0.999 8	12.87~257.31
毛蕊异黄酮葡萄糖苷	$Y=3.859\ 7\times 10^7X+1.227\ 5\times 10^4$	0.999 7	5.00~100.06
升麻素	$Y=2.703\ 5\times 10^7X+6.835\ 0\times 10^4$	0.999 4	7.74~154.82
5-O-甲基维斯阿米醇苷	$Y=3.058\ 9\times 10^7X+3.211\ 2\times 10^4$	0.999 8	12.90~257.96

2.6 精密度考察

取“2.2”项下对照品溶液,按“2.1”项下色谱条件连续进样 6 次,记录峰面积,升麻素苷、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、升麻素和 5-O-甲基维斯阿米醇苷峰面积的 RSD 依次为 0.98%、1.03%、1.10%、0.77% ($n=6$),表明仪器精密度良好。

2.7 稳定性实验

取同一供试品溶液(批号 200101)分别在 0、4、8、12、16、20、24 h 进样,测定峰面积,结果升麻素苷、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、升麻素和 5-O-甲基维斯阿米醇苷峰面积的 RSD 依次为 0.76%、1.01%、1.09%、0.54% ($n=7$),表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.8 重复性实验

分别精密称取保儿宁颗粒(批号 200101)6 份,按“2.3”项下供试品溶液制备方法制备供试液,进样测定,计算升麻素苷、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、升麻素和 5-O-甲基维斯阿米醇苷含量,分别为 0.130 7、0.053 6、0.074 7、0.125 9 mg/g, RSD 依次为 0.83%、1.13%、1.01%、0.59% ($n=6$),表明方法的重复性良好。

2.9 加样回收率实验

分别精密称取 6 份已知含量的样品(批号 200101)

约 3 g,置具塞锥形瓶中,各精密加入“2.2”项下对照品贮备液 1.5 mL,按“2.3”项下方法供试品制备方法制得供试溶液,进样测定,分别计算升麻素苷、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、升麻素和 5-O-甲基维斯阿米醇苷的平均回收率依次为 100.75%、100.95%、99.21%、99.27%, RSD 依次为 1.70%、1.38%、1.42%、1.93% ($n=6$),表明该方法的准确度良好。

2.10 一测多评法

2.10.1 相对校正因子的确定 取“2.2”项下对照品溶液,分别进样 2、5、10、15、20、30 μL,按“2.1”项下色谱条件测定记录各对照品峰面积,以升麻素苷为内标(S),根据公式 $f_{ks}=f_k/f_s=(C_k\times A_s)/(C_s\times A_k)$ (式中 A_s 为内标物 S 峰面积, C_s 为内标物 S 的浓度, A_k 为待测成分 k 峰面积, C_k 为待测成分对照品 k 的浓度),分别计算待测组分毛蕊异黄酮葡萄糖苷(a)、升麻素(b)、5-O-甲基维斯阿米醇苷(c)的相对校正因子,结果见表 2。

表 2 4 个成分相对校正因子

进样体积/μL	相对校正因子		
	F(a/s)	F(b/s)	F(c/s)
2	0.911 2	1.320 0	1.128 9
5	0.903 2	1.292 7	1.140 2
10	0.908 1	1.302 1	1.143 3
15	0.908 4	1.321 8	1.144 4
20	0.907 0	1.290 0	1.144 5
30	0.908 4	1.300 3	1.144 4
平均值	0.907 7	1.304 5	1.141 0
RSD%	0.29	1.04	0.54

2.10.2 相对校正因子的重现性考察

(1)不同仪器及色谱柱对 f 的影响,取“2.2”项下对照品溶液,按“2.1”项下色谱条件进样测定,考察不同仪器(Waters e2695、ThermoFisher U3000)、不同色谱柱(Agilent Zorbax XDB C₁₈、Thermo ODS C₁₈、Phenomenex Luna C₁₈)对相对校正因子的影响,结果均无明显影响,耐用性良好(RSD<3.0%),见表 3。

表 3 不同仪器、色谱柱对相对校正因子的影响

仪器	色谱柱	相对校正因子		
		F(a/s)	F(b/s)	F(c/s)
Waters e2695	Agilent Zorbax XDB C ₁₈	0.899 8	1.318 1	1.178 4
	Thermo ODS C ₁₈	0.918 6	1.326 9	1.167 9
	Phenomenex Luna C ₁₈	0.937 1	1.331 1	1.171 7
ThermoFisher U3000	Agilent Zorbax XDB C ₁₈	0.872 3	1.309 2	1.139 5
	Thermo ODS C ₁₈	0.915 8	1.322 9	1.180 4
	Phenomenex Luna C ₁₈	0.935 9	1.334 5	1.218 8
平均值		0.913 3	1.323 8	1.176 1
RSD%		2.67	0.70	2.18

(2)不同柱温对校正因子的影响,取“2.2”项下对照品溶液,按上述色谱条件测定柱温分别为 25、30、35、40 ℃时的相对校正因子,结果柱温对校正因子均无明显影响,重复性良好(RSD<3.0%),见表 4。

表 4 不同柱温对相对校正因子的影响

柱温/℃	相对校正因子		
	F(a/s)	F(b/s)	F(c/s)
25	0.896 2	1.316 9	1.150 5
30	0.906 8	1.319 8	1.149 3
35	0.881 2	1.328 6	1.158 8
40	0.907 9	1.307 2	1.116 3
平均值	0.898 0	1.318 1	1.143 7
RSD%	1.38	0.67	1.64

2.10.3 色谱峰定位 以升麻素苷为内标,考察其他

3 种成分保留时间差 Δt (待测成分与内标成分保留时间之差) 和相对保留时间 t_R (待测成分与内标成分保留时间之比), 结果以 t_R 为定位标准时, 各成分差异较小 ($RSD < 2.0\%$), 而以 Δt 为定位标准计算, 各成分差异较大 ($RSD > 3.0\%$), 因此选用相对保留时间用于色谱峰定位, 见表 5。

2.11 样品含量测定比较

分别采用外标法和一测多评法测定 3 批样品中 4 种成分的含量, 结果两种测定方法测得结果差异无统计学意义, 见表 6。

表 5 各成分相对保留值、保留时间差

仪器	色谱柱	毛蕊异黄酮葡萄糖苷		升麻素		5-O-甲基维斯阿米醇苷	
		t_R	Δt	t_R	Δt	t_R	Δt
Waters e2695	Agilent XDB C ₁₈	1.302 8	1.892 0	1.591 5	3.696 0	1.756 6	4.728 0
	Thermo ODS C ₁₈	1.304 8	1.888 0	1.599 1	3.711 0	1.762 2	4.721 0
	Phenomenex Luna C ₁₈	1.294 5	2.048 0	1.559 0	3.888 0	1.707 3	4.919 0
ThermoFisher U3000	Agilent XDB C ₁₈	1.293 1	2.088 0	1.555 4	3.957 0	1.708 5	5.047 0
	Thermo ODS C ₁₈	1.296 6	1.927 0	1.573 1	3.723 0	1.736 6	4.785 0
	Phenomenex Luna C ₁₈	1.279 6	2.530 0	1.521 6	4.721 0	1.728 4	6.593 0
平均值		1.295 2	2.062 2	1.566 6	3.949 3	1.733 3	5.132 2
RSD%		0.69	11.82	1.79	9.95	1.34	14.16

表 6 外标法和一测多评法测定结果比较

批号	升麻素苷	毛蕊异黄酮葡萄糖苷/(mg/g)		升麻素/(mg/g)		5-O-甲基维斯阿米醇苷/(mg/g)	
		外标法	一测多评法	外标法	一测多评法	外标法	一测多评法
200301	0.140 0	0.059 3	0.059 1	0.066 9	0.066 9	0.119 5	0.119 3
200101	0.130 7	0.053 6	0.053 4	0.074 7	0.074 7	0.125 9	0.125 6
200801	0.146 3	0.061 1	0.060 9	0.067 9	0.068 0	0.122 5	0.122 2

3 讨论

有关文献^[5-7]中防风色原酮成分含量测定的检测波长均采用 254 nm, 254 nm 是一个比较常用的检测波长, 大多数具有共轭体系或发色基团的化合物都在此波长有吸收。本实验通过紫外分光光度法在 210~400 nm 波长范围内进行扫描, 升麻素苷对照品溶液、升麻素对照品溶液和 5-O-甲基维斯阿米醇苷对照品溶液分别在 214.6 nm、214.3 nm 和 213.4 nm 波长处最大吸收, 毛蕊异黄酮葡萄糖苷对照品溶液在 215 nm 波长处有较大吸收, 故选择测定波长为 215 nm。

本实验因升麻素苷含量较高, 性质稳定且较易获得而被选作内标物, 建立升麻素苷与其余 3 种成分间的相对校正因子, 通过方法学验证, 结果表明, 采用一测多评法计算的结果与外标法所得结果差异无统计学意义, 验证了一测多评法的准确性, 可用于仅一种对照品实现同步测定制剂中多指标成分。

参考文献:

- [1] 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.
- [2] 卫生部药品标准[S]. 中药成方制剂, 第 15 册, 1998: 145.
- [3] 张翠兰. HPLC-ELSD 法测定保儿宁颗粒中黄芪甲苷的含量[J]. 中国民族民间医药, 2010, 19(3): 44-45.
- [4] 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.
- [5] 赵博, 杨鑫宝, 杨秀伟, 等. HPLC 法同时测定防风中 6 个主要成分的含量[J]. 药物分析杂志, 2013, 33(3): 382-387.
- [6] 孙晶波, 郜玉刚, 张秋菊, 等. HPLC 法同时测定陇西地区防风中色原酮和香豆素类成分[J]. 中草药, 2013, 24(44): 3557-3560.
- [7] 杨晓琴, 任红燕. 高效液相色谱法同时测定防风中 4 种主要成分含量[J]. 中国药业, 2017, 26(20): 37-40.

(编辑: 曾敏莉)

(收稿日期: 2021-01-15 修回日期: 2021-05-25)

《儿科药理学杂志》投稿网址: <http://www.ekyxxz.com.cn>。