

一测多评法在肝能滴丸质量控制中的应用研究

刘娟^{1,2}, 钟瑞娜^{1,2}, 刘肖^{1,2}, 庞建云^{1,2}, 汪小涵^{1,2}, 沈成英², 申宝德², 夏厚林^{1*}, 袁海龙^{2*}

1. 成都中医药大学, 四川 成都 611137

2. 中国人民解放军空军总医院 药学部, 北京 100142

摘要: 目的 建立一测多评法同时测定肝能滴丸及其原料药中 8 种成分(去氢双松柏醇、波棱醇 I、波棱内酯 A、波棱甲素、波棱素、herpetetrone、波棱酮、波棱乙素)的含量。方法 采用 HPLC 法, 以波棱甲素为内参物, 建立波棱甲素与其他 7 种指标成分的相对校正因子($f_{k/m}$), 并计算各待测成分的量。同时采用外标法测定 5 批肝能滴丸及原料药中这 8 种成分的含量, 比较一测多评法所得的计算值与实测值之间的差异, 以验证建立的一测多评法的准确性与可行性。结果 在一定线性范围内, 波棱甲素与去氢双松柏醇、波棱醇 I、波棱内酯 A、波棱素、herpetetrone、波棱酮、波棱乙素的 $f_{k/m}$ 分别为 0.908、0.728、0.516、0.720、0.461、0.623、0.410, 在不同情况下重现性良好; 5 批肝能滴丸及原料药的计算值与实测值无显著性差异。结论 以波棱甲素为内参物, 同时测定肝能滴丸及原料药中 8 种成分含量的一测多评方法可靠, 结果准确, 可用于肝能滴丸的质量控制。

关键词: 一测多评; 相对校正因子; 肝能滴丸; 质量控制; 去氢双松柏醇; 波棱醇 I; 波棱内酯 A; 波棱甲素; 波棱素; herpetetrone; 波棱酮; 波棱乙素

中图分类号: R286.02

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2018)05-1075-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2018.05.013

Quality control for Ganneng Dripping Pills based on quantitative analysis on multi-components with single marker

LIU Juan^{1,2}, ZHONG Rui-na^{1,2}, LIU Xiao^{1,2}, PANG Jian-yun^{1,2}, WANG Xiao-han^{1,2}, SHEN Cheng-ying², SHEN Bao-de², XIA Hou-lin¹, YUAN Hai-long²

1. Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China

2. The General Hospital of Air Force, Beijing 100142, China

Abstract: Objective To establish a quantitative analysis of multi-components by single mark (QAMS) for determining the content of eight components in Ganneng Dripping Pills (GDP) and its active pharmaceutical ingredients (APIs), including dehydrodiconiferyl alcohol, herpetotriol I, herpetolide A, herpetrione, herpetin, herpetetrone, herpetone, and herpetenone. **Methods** Based on HPLC method, the relative correction factors ($f_{k/m}$) were established with the herpetrione as the internal reference, and the content of other seven components was calculated. Moreover, the content of eight components in five batches of GDP and its APIs were determined by the external standard method (EMS), and the difference between the calculated value and the measured value were compared to verify the accuracy and feasibility of QAMS. **Results** The $f_{k/m}$ value of dehydrodiconiferyl alcohol, herpetotriol I, herpetolide A, herpetin, herpetetrone, herpetone, and herpetenone with reference to herpetrione were 0.908, 0.728, 0.516, 0.720, 0.461, 0.623, and 0.410, respectively; And it had good reproducibility under different conditions. There were no significantly differences in the content of eight components between EMS and QAMS. **Conclusion** Using GAPDH as an internal standard, the QAMS for determining the contents of eight components in GDP and raw material medicine was reliable and accurate and could be applied to control the quality of GDP.

Key words: quantitative analysis of multi-components by single marker; relative correction factors; Ganneng Dripping Pills; quality control; dehydrodiconiferyl alcohol; herpetotriol I; herpetolide A; herpetrione; herpetin; herpetetrone; herpetone; herpetenone

收稿日期: 2017-09-28

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81573697); 国家“重大新药创制”科技重大专项(2016XZ0901073); 北京市科委重点项目(Z141100002214007)

作者简介: 刘娟(1992—), 女, 在读硕士, 研究方向为药物分析。Tel: (010)66928506 E-mail: 515668645@qq.com

*通信作者 袁海龙, 男, 博士, 博士生导师, 研究方向为中药新型给药系统。Tel: (010)66928505 E-mail: yhlpharm@126.com

夏厚林, 男, 教授, 主要研究方向为中药质量标准及物质基础研究。Tel: 13568899011 E-mail: xhl64@163.com

波棱瓜子系葫芦科波棱瓜属植物波棱瓜 *Herpetospermum caudigerum* Wall. 的干燥成熟种子, 临床主要用于治疗赤巴病、肝胆疾病, 为藏医常用药。《中华人民共和国卫生部药品标准·藏药标准》1995 年版波棱瓜子药材项下记载, 其味苦, 性寒, 能清腑热、胆热, 具有清热解毒、去火降热、助消化的作用, 用于治疗肝热、黄疸性传染型肝炎等症。本课题组多年研究表明, 波棱瓜子保肝降酶、抗肝炎的有效部位为总木脂素, 并将其开发成抗肝炎新药肝能滴丸^[1-2]。初步研究表明, 肝能滴丸可有效抑制 HBV-DNA 的复制, 改善肝功能及症状体征, 抗病毒效果良好^[3-5]。

肝能滴丸 (Ganneng Dripping Pills, GDP) 的质量控制目前仅以薄层鉴别和波棱甲素单一成分的定量测定为主。文献报道, 波棱瓜子总木脂素部位中多种成分如波棱甲素、波棱素、波棱内酯 A、波棱乙素等均具有保肝降酶、抗肝炎活性^[6-10], 因此, 波棱甲素单一成分的定量测定并不能全面控制肝能滴丸的质量, 并保证药效。课题组前期建立了同时测定波棱瓜子药材 7 种木脂素成分的 HPLC 方法^[11], 但是由于对照品缺乏、制备困难等因素未获得应用。近年来, 一测多评法作为采用单一对照品实现多成分定量方法, 有效地解决了对照品昂贵、匮乏的瓶颈问题, 具有方便、快捷、廉价等优点, 已经在多种中药及复方制剂中应用^[12-14]。

本研究在分离制备波棱瓜子木脂素部位多个活性成分的基础上, 以波棱甲素为内参物, 建立一测多评法测定肝能滴丸及其原料药中 8 种活性成分 (去氢双松柏醇、波棱醇 I、波棱内酯 A、波棱甲素、波棱素、herpetetrone、波棱酮、波棱乙素) 的量, 并与外标法进行比较, 探讨其在肝能滴丸质量控制中应用的可行性。

1 仪器与试药

1.1 仪器

Agilent1260 高效液相色谱仪, 美国 Agilent 公司; BT125D 电子分析天平, 十万分之一, 赛多利斯科学仪器 (北京) 有限公司; LC-20AD 高效液相色谱仪, 日本岛津公司; KQG-9070A 数控超声波清洗仪, 昆山市超声仪器有限公司; FA1104B 电子分析天平, 万分之一, 上海越平科学仪器有限公司。

1.2 试药

5 批肝能滴丸及原料药 (批号 20160501、20161001、20161101、20170301、20170701) 均由

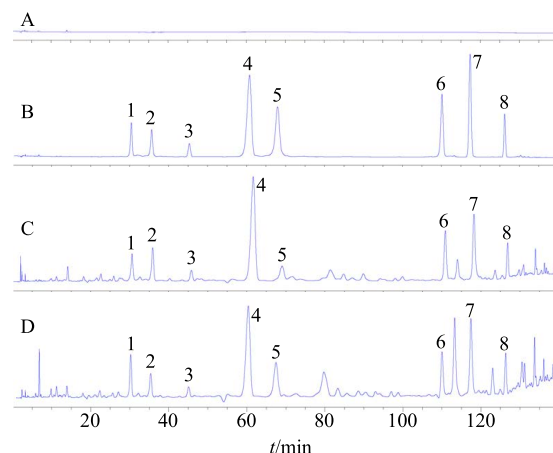
江苏正大清江制药有限公司提供; 对照品去氢双松柏醇 (批号 20170708)、波棱醇 I (批号 20170620)、波棱内酯 A (批号 20170706)、波棱甲素 (批号 20170526)、波棱素 (批号 20170526)、herpetetrone (批号 20170708)、波棱酮 (批号 20170707)、波棱乙素 (批号 20170707) 均为实验室自制, 采用 HPLC 峰面积归一化法计算质量分数, 分别为 95.2%、93.1%、94.6%、98.7%、95.9%、95.4%、98.6%、96.5%。乙腈、甲醇均为色谱纯; 磷酸为分析纯。

2 方法与结果

2.1 HPLC 定量方法

2.1.1 色谱条件 色谱柱为 Kromasil C₁₈ 柱 (250 nm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为乙腈-0.1%磷酸水溶液, 梯度洗脱: 0~30 min, 18%~21%乙腈; 30~70 min, 21%乙腈; 70~120 min, 21%~30%乙腈; 120~140 min, 30%~46%乙腈; 体积流量 1.0 mL/min; 柱温 30 °C; 检测波长 280 nm; 进样量 10 μL。分别取混合对照品溶液、供试品溶液, 按上述色谱条件进行分析, 各成分分离度良好, 阴性无干扰。色谱图见图 1。

2.1.2 对照品溶液的制备 取去氢双松柏醇、波棱醇 I、波棱内酯 A、波棱甲素、波棱素、herpetetrone、波棱酮、波棱乙素适量, 精密称定, 分别置于 10 mL 量瓶中, 加甲醇定容至刻度, 摇匀, 分别配制成去



1-去氢双松柏醇 2-波棱醇 I 3-波棱内酯 A 4-波棱甲素 5-波棱素
6-herpetetrone 7-波棱酮 8-波棱乙素
1-dehydrodiconiferyl alcohol 2-herpetotriol I 3-herpetolide A
4-herpetrine 5-herpetin 6-herpetetrone 7-herpetone 8-herpetenone

图 1 阴性对照 (A)、混合对照品 (B)、原料药供试品 (C) 和肝能滴丸供试品 (D) 的 HPLC 图

Fig. 1 HPLC of negative reference substances (A), mixed reference substances (B), active pharmaceutical ingredients' sample (C), and Ganneng Dripping Pills' sample (D)

氢双松柏醇 1.030 mg/mL、波棱醇 I 1.028 mg/mL、波棱内酯 A 1.028 mg/mL、波棱甲素 1.063 mg/mL、波棱素 1.011 mg/mL、herpetetrone 1.028 mg/mL、波棱酮 1.028 mg/mL、波棱乙素 1.034 mg/mL 对照品储备液。

精密吸取对照品储备液混合，加甲醇定容，配制成含去氢双松柏醇 82.4 $\mu\text{g/mL}$ 、波棱醇 I 41.12 $\mu\text{g/mL}$ 、波棱内酯 A 41.12 $\mu\text{g/mL}$ 、波棱甲素 170.08 $\mu\text{g/mL}$ 、波棱素 161.76 $\mu\text{g/mL}$ 、herpetetrone 164.48 $\mu\text{g/mL}$ 、波棱酮 164.48 $\mu\text{g/mL}$ 、波棱乙素 82.72 $\mu\text{g/mL}$ 混合对照品母液，再精密吸取 1、2、3、5、8 mL 至 10 mL 量瓶中，加甲醇混合，定容，制成一系列质量浓度的混合对照品溶液。

2.1.3 原料药供试品溶液的制备 取肝能滴丸原料药约 0.1 g，精密称定，置 50 mL 量瓶中，加甲醇超声溶解，并稀释至刻度，摇匀，滤过，取续滤液，即得。

2.1.4 肝能滴丸供试品溶液的制备 取肝能滴丸适量，研细，取粉末约 0.5 g，精密称定，置具塞锥形瓶中，精密加入甲醇 50 mL，称定质量，超声（功率 300 W，频率 40 kHz）20 min，放至室温，再称定质量，加甲醇补足减失的质量，摇匀，滤过，取续滤液，即得。

2.1.5 阴性溶液的制备 肝能滴丸为单味药制剂，按处方称取相应辅料，按工艺制备成阴性样品，再按“2.1.4”项下方法制备成阴性溶液。

2.1.6 线性关系的考察 分别精密吸取一系列混合对照品溶液各 10 μL 进样，按“2.1.1”项下的色谱条件进行测定。记录相应的色谱峰峰面积，以峰面积积分值为纵坐标（ Y ），质量浓度为横坐标（ X ），进行线性回归，得回归方程，结果分别为去氢双松柏醇 $Y=70.898 X-86.805$ ， $r^2=0.999 9$ ，线性范围 8.240~65.920 $\mu\text{g/mL}$ ；波棱醇 I $Y=56.535 X-31.989$ ， $r^2=0.999 9$ ，线性范围 4.112~32.896 $\mu\text{g/mL}$ ；波棱内酯 A $Y=39.882 X-20.793$ ， $r^2=0.999 8$ ，线性范围 4.112~32.896 $\mu\text{g/mL}$ ；波棱甲素 $Y=77.588 X-177.96$ ， $r^2=0.999 9$ ，线性范围 17.008~136.064 $\mu\text{g/mL}$ ；波棱素 $Y=56.028 X-128.46$ ， $r^2=0.999 9$ ，线性范围 16.176~129.408 $\mu\text{g/mL}$ ；herpetetrone $Y=35.843 X-81.15$ ， $r^2=0.999 9$ ，线性范围 16.448~131.584 $\mu\text{g/mL}$ ；波棱酮 $Y=48.519 X-114.96$ ， $r^2=0.999 9$ ，线性范围 16.448~131.584 $\mu\text{g/mL}$ ；波棱乙素 $Y=31.885 X-36.862$ ， $r^2=0.999 8$ ，线性范围

8.272~66.176 $\mu\text{g/mL}$ 。

2.1.7 精密度试验 精密吸取含去氢双松柏醇 41.20 $\mu\text{g/mL}$ 、波棱醇 I 20.56 $\mu\text{g/mL}$ 、波棱内酯 A 20.56 $\mu\text{g/mL}$ 、波棱甲素 85.04 $\mu\text{g/mL}$ 、波棱素 80.88 $\mu\text{g/mL}$ 、herpetetrone 82.24 $\mu\text{g/mL}$ 、波棱酮 82.24 $\mu\text{g/mL}$ 、波棱乙素 41.36 $\mu\text{g/mL}$ 的混合对照品溶液 10 μL ，连续进样 6 次，记录各色谱峰峰面积，计算 RSD 分别为 1.34%、3.08%、1.66%、1.48%、1.31%、1.40%、1.28%、1.20%，结果表明仪器精密度良好。

2.1.8 稳定性试验 取同一批肝能滴丸（批号 20160501）及其原料药（批号 20160501），分别按“2.1.3”“2.1.4”项下方法制备供试品溶液，精密吸取各供试品溶液 10 μL ，分别于制备后 0、4、8、12、24 h 进样检测，记录色谱峰峰面积，计算原料药供试品溶液 RSD 分别为 1.42%、1.30%、1.90%、2.06%、1.16%、0.62%、0.73%、1.74%；肝能滴丸供试品溶液 RSD 分别为 1.84%、2.89%、2.47%、1.94%、2.33%、1.23%、1.18%、2.09%，结果表明肝能滴丸及原料药供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.1.9 重复性试验 取同一批肝能滴丸（批号 20160501）及其原料药（批号 20160501），各 6 份，分别按“2.1.3”“2.1.4”项下方法制备供试品溶液，进样测定，计算原料药供试品溶液 RSD 分别为 1.43%、1.23%、2.12%、1.27%、1.40%、1.14%、1.75%、2.41%；肝能滴丸供试品溶液 RSD 分别为 1.74%、2.85%、2.13%、1.71%、1.97%、1.47%、2.74%、2.18%。

2.1.10 加样回收率试验 取同一批肝能滴丸（批号 20160501）粉末 0.25 g，共 9 份，置具塞锥形瓶中，分别加入各对照品的量与其在供试品中的量的比值为 0.5:1、1:1、1.5:1，每个比例配制 3 份。按“2.1.4”项下方法制备供试品溶液，测定，氢双松柏醇、波棱醇 I、波棱内酯 A、波棱甲素、波棱素、herpetetrone、波棱酮、波棱乙素加样回收率分别为 98.00%~102.68%、97.29%~100.62%、98.01%~102.88%、98.25%~102.85%、97.87%~101.41%、97.06%~100.69%、99.09%~100.23%、98.05%~102.59%，RSD 分别为 1.43%、1.18%、1.84%、1.71%、1.31%、1.20%、0.39%、1.28%。结果表明，本方法具有良好的回收率。

2.2 相对校正因子（ $f_{k/m}$ ）计算

精密吸取“2.1.2”项下的混合对照品溶液 10 μL 进样，记录峰面积，按照 $f_{k/m}$ 计算公式 $f_{k/m}=f_k/f_m=(W_k/A_k)/(W_m/A_m)$ （式中 W_k 内标物质量浓度， A_k 为内

标物峰面积, W_m 为其他对照成分质量浓度, A_m 为其他对照成分峰面积) 以波棱甲素为内标物 (k) 计算其他 7 种成分的相对校正因子 $f_{k/m}$ 。结果见表 1。

2.3 $f_{k/m}$ 耐用性考察

2.3.1 不同色谱柱和高效液相色谱仪的考察 考察了在不同高效液相色谱仪 (LC-20AD、Agilent 1260)、不同色谱柱 (Kromasil C₁₈、Inertsil ODS-3)

上波棱甲素对其他 7 个待测成分的 $f_{k/m}$ 的影响。结果见表 2。

2.3.2 不同柱温的考察 采用 Kromasil C₁₈ 色谱柱, 考察 25、30、35 °C 柱温下 $f_{k/m}$ 和相对保留时间 ($r_{k/m}$), 结果见表 3、4。结果表明 7 个成分 $f_{k/m}$ 的 RSD 小于 4.0%, 说明以波棱甲素为内参物评价其余 7 个成分耐用性良好, 可以适用于不同仪器、色

表 1 以波棱甲素为参照的 $f_{k/m}$

Table 1 $f_{k/m}$ with herpetrione as reference

编号	$f_{\text{波棱甲素/去氢双松柏醇}}$	$f_{\text{波棱甲素/波棱醇 I}}$	$f_{\text{波棱甲素/波棱内酯 A}}$	$f_{\text{波棱甲素/波棱素}}$	$f_{\text{波棱甲素/herpetrione}}$	$f_{\text{波棱甲素/波棱酮}}$	$f_{\text{波棱甲素/波棱乙素}}$
1	0.904	0.727	0.517	0.718	0.460	0.621	0.411
2	0.906	0.726	0.516	0.721	0.462	0.620	0.410
3	0.908	0.728	0.517	0.720	0.461	0.623	0.410
4	0.911	0.730	0.514	0.720	0.461	0.625	0.410
5	0.912	0.728	0.515	0.722	0.462	0.624	0.411
平均值	0.908	0.728	0.516	0.720	0.461	0.623	0.410
RSD/%	0.37	0.18	0.23	0.21	0.15	0.32	0.12

表 2 不同仪器和不同色谱柱下的 $f_{k/m}$

Table 2 $f_{k/m}$ with different instruments and chromatographic columns

仪器	色谱柱	$f_{\text{波棱甲素/去氢双松柏醇}}$	$f_{\text{波棱甲素/波棱醇 I}}$	$f_{\text{波棱甲素/波棱内酯 A}}$	$f_{\text{波棱甲素/波棱素}}$	$f_{\text{波棱甲素/herpetrione}}$	$f_{\text{波棱甲素/波棱酮}}$	$f_{\text{波棱甲素/波棱乙素}}$
Agilent 1260	Kromasil C ₁₈	0.911	0.730	0.510	0.720	0.462	0.625	0.410
	Inertsil ODS-3	0.899	0.729	0.535	0.703	0.446	0.602	0.395
LC-20AD	Kromasil C ₁₈	0.910	0.709	0.510	0.716	0.451	0.639	0.419
	Inertsil ODS-3	0.923	0.718	0.514	0.737	0.468	0.612	0.428
平均值		0.911	0.721	0.517	0.719	0.457	0.619	0.413
RSD/%		1.04	1.35	2.26	1.91	2.23	2.62	3.38

表 3 不同柱温下的 $f_{k/m}$

Table 3 $f_{k/m}$ with different temperature of column

柱温/°C	$f_{\text{波棱甲素/去氢双松柏醇}}$	$f_{\text{波棱甲素/波棱醇 I}}$	$f_{\text{波棱甲素/波棱内酯 A}}$	$f_{\text{波棱甲素/波棱素}}$	$f_{\text{波棱甲素/herpetrione}}$	$f_{\text{波棱甲素/波棱酮}}$	$f_{\text{波棱甲素/波棱乙素}}$
25	0.897	0.715	0.494	0.692	0.458	0.611	0.405
30	0.911	0.730	0.510	0.720	0.462	0.625	0.410
35	0.931	0.725	0.521	0.725	0.469	0.638	0.418
平均值	0.913	0.723	0.508	0.712	0.463	0.625	0.411
RSD/%	1.89	1.02	2.61	2.54	1.11	2.19	1.54

表 4 不同柱温下的相对保留值

Table 4 Relative retention time with different temperature of column

柱温/°C	$r_{\text{波棱甲素/去氢双松柏醇}}$	$r_{\text{波棱甲素/波棱醇 I}}$	$r_{\text{波棱甲素/波棱内酯 A}}$	$r_{\text{波棱甲素/波棱素}}$	$r_{\text{波棱甲素/herpetrione}}$	$r_{\text{波棱甲素/波棱酮}}$	$r_{\text{波棱甲素/波棱乙素}}$
25	0.489	0.575	0.771	1.120	1.705	1.827	1.938
30	0.490	0.578	0.743	1.123	1.739	1.854	1.976
35	0.499	0.586	0.756	1.118	1.786	1.909	2.047
平均值	0.493	0.580	0.757	1.121	1.744	1.864	1.987
RSD/%	1.20	0.97	1.84	0.23	2.34	2.23	2.77

谱柱和柱温。

2.4 待测组分色谱峰的定位

以波棱甲素为基准峰, 利用各待测成分色谱峰与波棱甲素的 $r_{k/m}$ 对各色谱峰进行定位。计算不同仪器、不同色谱柱下各峰 $r_{k/m}$ 。结果见表 5。结果表明, 7 个待测成分的 $r_{k/m}$ RSD 小于 5.0%, 说明选用 $r_{k/m}$ 来进行待测组分色谱峰定位是可行的, 7 个成分 $r_{k/m}$ 平均值分别为 0.50、0.60、0.75、1.12、1.67、1.76、1.84, 可作为峰定位的参考。

2.5 一测多评法(QAMS)与外标法(EMS)测定结果的比较

取 5 批肝能滴丸及其原料药(批号 20160501、20161001、20161101、20170301、20170701), 分别按“2.1.3”“2.1.4”项下方法制备供试品溶液, 进样检测, 记录各成分峰面积, 采用 EMS 测定 8 种成

分的量, 再根据 QAMS 中待测成分量计算公式:

$W_m' = (W_k/A_k)/(f_{k/m}/A_m')$ (式中 W_k 为内参物的质量浓度, A_k 为内参物的峰面积, W_m' 为其他待测成分的质量浓度, A_m' 为其他待测成分峰面积), 应用已建立的 QAMS 进行定量计算。结果见表 6、7。将 EMS 与 QAMS 定量测定结果进行 t 检验, $P > 0.05$, 表明 2 种方法测得的各成分量无显著差异, 所建立的肝能滴丸及其原料药 QAMS 定量测定具有良好的准确性与可行性。

3 讨论

单一成分的内在质量评价难以控制复杂多样的中药及其制剂, 而多指标的质量评价方式对对照品的需求量大, 指纹图谱虽能较全面地反映中药及其制剂的整体性, 但其模糊性的特点导致无法对质量进行真实的评价, 很难在实际的生产监督中把控,

表 5 不同仪器和不同色谱柱下的各色谱峰相对保留值

Table 5 Relative retention time on different instruments and columns

仪器	色谱柱	r' 波棱甲素/去氢双松柏醇	r' 波棱甲素/波棱醇 I	r' 波棱甲素/波棱内酯 A	r' 波棱甲素/波棱素	r' 波棱甲素/herpetetrone	r' 波棱甲素/波棱酮	r' 波棱甲素/波棱乙素
Agilent 1260	Kromasil C ₁₈	0.490	0.578	0.743	1.123	1.739	1.854	1.946
	Inertsil ODS-3	0.523	0.615	0.769	1.065	1.625	1.706	1.771
LC-20AD	Kromasil C ₁₈	0.487	0.578	0.722	1.125	1.677	1.779	1.886
	Inertsil ODS-3	0.518	0.611	0.764	1.165	1.646	1.709	1.758
平均值		0.504	0.596	0.750	1.120	1.672	1.762	1.840
RSD/%		3.72	3.43	2.86	3.65	2.99	3.99	4.94

表 6 原料药中 8 种成分不同方法定量测定结果

Table 6 Determination of eight constituents in APIs by different methods

批号	波棱甲素/%		去氢双松柏醇/%		波棱醇 I/%		波棱内酯 A/%		波棱素/%		herpetetrone/%		波棱酮/%		波棱乙素/%	
	EMS	EMS	QAMS	EMS	QAMS	EMS	QAMS	EMS	QAMS	EMS	QAMS	EMS	QAMS	EMS	QAMS	
20160501	5.704 3	0.917 7	0.917 1	1.199 5	1.199 0	0.624 0	0.624 4	1.611 6	1.611 6	3.505 0	3.506 8	3.388 2	3.388 3	0.890 8	0.889 2	
20161001	5.583 7	0.971 6	0.970 9	1.206 8	1.206 2	0.607 1	0.607 5	1.734 9	1.734 9	3.012 3	3.013 8	3.169 9	3.169 9	0.853 9	0.852 4	
20161101	4.865 0	0.999 0	0.998 3	1.233 4	1.232 9	0.517 1	0.517 4	1.625 3	1.625 3	3.423 2	3.425 0	3.165 8	3.165 9	0.906 6	0.905 0	
20170301	5.493 9	0.903 2	0.902 6	1.148 2	1.147 7	0.502 0	0.502 3	1.737 1	1.737 1	3.077 6	3.079 2	3.993 2	3.993 3	0.909 1	0.907 4	
20170701	4.934 4	1.047 6	1.046 9	1.289 5	1.288 9	0.579 3	0.579 6	1.708 6	1.708 6	3.250 1	3.251 8	3.506 7	3.506 8	0.915 9	0.914 3	

表 7 肝能滴丸中 8 种成分不同方法定量测定结果

Table 7 Determination of eight constituents in Ganneng Dripping Pills by different methods

批号	波棱甲素/%		去氢双松柏醇/%		波棱醇 I/%		波棱内酯 A/%		波棱素/%		herpetetrone/%		波棱酮/%		波棱乙素/%	
	EMS	EMS	QAMS	EMS	QAMS	EMS	QAMS	EMS	QAMS	EMS	QAMS	EMS	QAMS	EMS	QAMS	
20160501	0.921 7	0.213 5	0.213 3	0.167 4	0.167 3	0.110 1	0.110 2	0.420 5	0.420 5	0.456 9	0.457 1	0.906 2	0.906 2	0.389 2	0.388 5	
20161001	0.917 9	0.193 8	0.193 7	0.164 7	0.164 6	0.127 4	0.127 4	0.406 0	0.406 0	0.479 7	0.479 9	0.831 2	0.831 2	0.343 1	0.342 5	
20161101	1.101 0	0.200 2	0.200 0	0.168 4	0.168 3	0.120 9	0.120 9	0.400 2	0.400 2	0.457 1	0.457 3	0.867 4	0.867 4	0.353 8	0.353 2	
20170301	1.051 0	0.199 5	0.199 4	0.150 7	0.150 7	0.119 0	0.119 0	0.391 4	0.391 4	0.484 1	0.484 4	0.843 6	0.843 7	0.364 5	0.363 8	
20170701	1.112 9	0.207 3	0.207 2	0.163 4	0.163 3	0.124 1	0.124 2	0.395 1	0.395 1	0.505 5	0.505 7	0.843 7	0.843 7	0.357 6	0.357 0	

故本实验建立肝能滴丸及其原料药的一测多评质量评价方法,并对 5 批肝能滴丸及原料药进行定量测定,与传统的外标法检测结果比较无显著差异,从而实现了对肝能滴丸的质量控制,以确保其疗效。

内参物的确定,波棱甲素无论是在中间品还是成品中量均最多,本课题组对波棱甲素进行了多年的研究开发,能够系统快速地分离制备,并且成分稳定、活性显著,并在 8 个成分中出峰时间适中。

本实验考察了不同仪器、色谱柱、柱温对 8 种成分之间 $f_{k/m}$ 及保留时间的影响,结果无显著性差异,并且分离度良好,8 种成分对温度具有一定的耐受性。

对于色谱峰定位,应用不同仪器、色谱柱,RSD 均小于 5%,色谱峰出峰先后顺序没有变化,相对保留值结合光谱图即可准确、快速定位色谱峰。

本实验建立了 QAMS 同时测定肝能滴丸中 8 个成分的定量方法,方便简便、准确,重复性好。应用于不同批次肝能滴丸及其原料药,QAMS 与 EMS 对这 8 个成分的定量测定结果无显著差异。本实验选择量最多的波棱甲素为内参物,实现了 8 个成分的定量测定,在对照品缺少的情况下可以通过波棱甲素的量来计算其他 7 个成分的量,进而更全面地对肝能滴丸进行质量控制。

参考文献

[1] 丛龙波,王琪,李仙义,等.藏药波棱瓜子抗肝炎药效物质基础研究[J].医学研究杂志,2007,36(8):75-76.

[2] 朱军,袁海龙,方芳,等.肝能滴丸的成型工艺[J].中国中药杂志,2007,32(3):267-268.

[3] 韩玉梅,李正明,袁海龙,等.肝能滴丸在鸭体内对鸭乙型肝炎病毒感染的治疗效果[J].中国实验方剂学杂

志,2006,12(4):43-44.

- [4] 李莉,袁海龙,吴勤,等.肝能滴丸治疗慢性乙型肝炎的临床研究[J].中国中西医结合杂志,2006,26(9):788-790.
- [5] 张文瑾,范振平,吉英杰,等.肝能滴丸加保肝药治疗老年慢性乙型肝炎抗病毒疗效与安全性观察[J].传染病信息,2007(5):305-306.
- [6] Yuan H L, Yang M, Li X Y, et al. Hepatitis B virus inhibiting constituents from *Herpetospermum caudigerum* [J]. *Chem Pharm Bull*, 2006, 54(11): 1592-1594.
- [7] Xu B, Liu S, Fan X D, et al. Two new coumarin glycosides from *Herpetospermum caudigerum* [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2015, 17(7): 738-743.
- [8] Yu J Q, Hang W, Duan W J, et al. Two new anti-HBV lignans from *Herpetospermum caudigerum* [J]. *Phytochem Lett*, 2014, 10: 230-234.
- [9] Yuan H L, Liu Y, Zhao Y L, et al. Herpetin, a new bioactive lignan isolated from *Herpetospermum caudigerum* [J]. *J Chin Pharm Sci*, 2005, 14(3): 140-143.
- [10] Zhang M, Deng Y, Zhang H B, et al. Two new coumarins from *Herpetospermum caudigerum* [J]. *Chem Pharm Bull*, 2008, 56(2): 192-193.
- [11] Cong L B, Yuan H L, Wang Q, et al. Simultaneous determination of seven bioactive lignans in *Herpetospermum caudigerum* by RP-HPLC method [J]. *Biomed Chromatogr*, 2008, 22(10): 1084-1090.
- [12] 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.
- [13] 陈晶晶,周媛,黄晓蕾,等.基于一测多评的舒血宁注射液定量测定方法研究[J].中草药,2016,47(11):1890-1896.
- [14] 王迪,吴亿晗,李维,等.一测多评法测定葛根芩连丸中 7 种指标成分[J].中草药,2017,48(21):4453-4459.