中图分类号：R917；R927　　文献标志码：A　　文章编号：1006－4931(2023)10－0080－05
doi:10.3969/j.issn.1006－4931.2023.10.020

一测多评法同时测定新复方大青叶片中 4 种成分含量*

王丽琼，魏长勇，余敏灵△

（四川省乐山市食品药品检验检测中心·四川省药品监督管理局中药质量研究重点实验室，四川 乐山　614000）

摘要：目的　建立同时测定新复方大青叶片中维生素 C、对乙酰氨基酚、咖啡因和异戊巴比妥含量的一测多评(QAMS)法。**方法**　色谱柱为 Welch Ultimate LP－C_{18} 柱(250 mm×4.6 mm，5 μm)，流动相为乙醇－0.01 mol/L 磷酸二氢钾溶液(pH 3.0)、梯度洗脱，流速为 0.8 mL/min，检测波长为 215 nm(对乙酰氨基酚、咖啡因和异戊巴比妥)和 245 nm(维生素 C)，柱温为 40 ℃，进样量为 10 μL。以对乙酰氨基酚为参照物，测定维生素 C、咖啡因和异戊巴比妥的相对校正因子，以计算维生素 C、咖啡因和异戊巴比妥的含量。比较采用外标法与 QAMS 法时结果的差异。**结果**　维生素 C、对乙酰氨基酚、咖啡因和异戊巴比妥进样量分别在 0.064 3～0.643 2 μg(r=0.999 8)、0.373 7～3.737 5 μg(r=0.999 7)、0.037 3～0.373 2 μg(r=0.999 9)、0.037 9～0.378 9 μg(r=0.999 9)范围内与峰面积线性关系良好；检测限分别为 0.03，0.15，0.07，0.24 μg/mL，定量限分别为 0.09，0.51，0.23，0.79 μg/mL；精密度、稳定性、重复性试验结果的 *RSD* 均小于 2.0%；平均加样回收率分别为 101.07%，101.83%，98.04%，98.80%，*RSD* 分别为 1.20%，1.73%，1.13%，1.58%(n=6)；维生素 C、咖啡因和异戊巴比妥的相对校正因子分别为 0.576 1，0.373 2 和 0.843 8，QAMS 法与外标法测定结果无显著差异(P>0.05)。**结论**　所建立的方法环保(以乙醇代替甲醇)、经济(只需 1 种对照品)，结果准确且可快速获得，适用于新复方大青叶片的质量评价。

关键词：新复方大青叶片；一测多评法；对乙酰氨基酚；维生素 C；咖啡因；异戊巴比妥；含量测定

Simultaneous Determination of Four Components in New Compound Isatidis Folium Tablets by QAMS

WANG Liqiong, WEI Changyong, YU Minling

(Leshan Food and Drug Inspection Center·SCMPA Key Laboratory of Quality Research of Traditional Chinese Medicine, Leshan, Sichuan, China 614000)

Abstract: Objective　To establish a quantitative analysis of multi-components by single-marker (QAMS) method for the simultaneous determination of vitamin C, paracetamol, caffeine and amobarbital in New Compound Isatidis Folium Tablets. **Methods**　The chromatographic column was Welch Ultimate LP－C_{18} column (250 mm×4.6 mm, 5 μm), the mobile phase was ethanol－0.01 mol/L potassium dihydrogen phosphate solution (pH 3.0), with gradient elution, the flow rate was 0.8 mL/min, the detection wavelengths

*基金项目：四川省药品监督管理局科技计划项目[2021012]。

第一作者：王丽琼，女，硕士，副主任药师，研究方向为药物分析及药品质量控制，(电子信箱)527414762@qq.com。

△通信作者：余敏灵，男，大学本科，主任药师，研究方向为药物分析，(电子信箱)89729204@qq.com。

2118－2122.

[4] 潘正斐. 2 种方法测定咪唑斯汀缓释片含量[J]. 药物分析杂志，2010，30(6)：1121－1124.

[5] 陈加飞，王　平，赵　昕，等. 国产与原研洛索洛芬钠片的体外溶出曲线一致性的比较[J]. 国际检验医学杂志，2015，36(2)：198－199.

[6] 缪　慧. 头孢克洛缓释片质量一致性评价[D]. 杭州：浙江工业大学，2018.

[7] 苗健伟，孙建绪，刘亚琴，等. 咪唑斯汀缓释片的制备及质量研究[J]. 中国药房，2009，20(28)：2209－2210.

[8] 邓回香，王西凤. 盐酸雷尼替丁胶囊体外溶出一致性评价方法的建立[J]. 海峡药学，2021，33(11)：89－92.

[9] 李谷辛，张振中，孙卫东，等. 乙酰唑胺缓释胶囊体内外一致性评价研究[J]. 中国临床药理学杂志，2021，37(19)：2547－2552.

[10] 吴一凡，雷　丽，寇同欣，等. 自研琥珀酸去甲文拉法辛缓释片与参比制剂体外溶出度一致性评价[J]. 药物分析杂志，2018，38(6)：1081－1090.

[11] 国家食品药品监督管理总局. 总局发布普通口服固体制剂参比制剂选择和确定等 3 个技术指导原则的通告(2016 年第 61 号)[A/OL]. (2016－03－18)[2020－02－13]. https://www.nmpa.gov.cn/xxgk/ggtg/qtggtg/20603182 10001725.html.

[12] 易必新，兰　文. 不同厂家盐酸特拉唑嗪片剂及胶囊剂溶出度的比较[J]. 中国药师，2015，18(10)：1813－1817.

[13] 刘明鹭，李　震，杨龙华，等. 左乙拉西坦片仿制药与原研药溶出度一致性评价[J]. 中国药业，2021，30(13)：37－40.

[14] 胡昌勤，潘瑞雪. 溶出度试验评价/预测固体口服制剂生物等效性的研究进展[J]. 中国新药杂志，2014，23(1)：44－51.

[15] 谢沐风. 溶出曲线相似性的评价方法[J]. 中国医药工业杂志，2009，40(4)：308－311.

[16] 苏　华，郭瑞臣. 仿制药一致性评价的背景、实施及结局[J]. 中国医院药学杂志，2022，42(14)：1502－1505.

(收稿日期：2022－07－12；修回日期：2022－11－13)

were 215 nm (paracetamol, caffeine and amobarbital) and 245 nm (vitamin C), the column temperature was 40 ℃, and the injection volume was 10 μL. With paracetamol as the reference, the relative correction factors of vitamin C, caffeine and amobarbital were determined to calculate their contents. The differences of content determination by external standard method (ESM) and QAMS were compared. **Results** The linear ranges of vitamin C, paracetamol, caffeine and amobarbital were 0.064 3 - 0.643 2 μg (r = 0.999 8), 0.373 7 - 3.737 5 μg (r = 0.999 7), 0.037 3 - 0.373 2 μg (r = 0.999 9) and 0.037 9 - 0.378 9 μg (r = 0.999 9) respectively. The limits of detection (LOD) of the above four components were 0.03, 0.15, 0.07 and 0.24 μg / mL respectively, the limits of quantitation (LOD) of the above four components were 0.09, 0.51, 0.23 and 0.79 μg / mL respectively. The *RSD*s of precision, stability and repeatability tests were all lower than 2.0%. The average recovery rates of the above four components were 101.07%, 101.83%, 98.04% and 98.80% respectively, with *RSD*s of 1.20%, 1.73%, 1.13% and 1.58% (n = 6) respectively. The relative correction factors of vitamin C, caffeine and amobarbital were 0.576 1, 0.373 2 and 0.843 8 respectively. The results of content determination by QAMS were similar to those by ESM (P > 0.05). **Conclusion** The established method is environmental (replacing methanol with ethanol), economical (with only one reference), accurate and rapid, which is suitable for the quality evaluation of New Compound Isatidis Folium Tablets.

Key words: New Compound Isatidis Folium Tablets; QAMS; paracetamol; vitamin C; caffeine; amobarbital; content determination

新复方大青叶片是由复方大青叶提取物、对乙酰氨基酚、咖啡因、异戊巴比妥和维生素C组成的复方制剂。现行质量标准为原国家食品药品监督管理总局国家药品标准(WB_3 - B - 1057 - 91 - 2015)[1],但因维生素C对照品性质不稳定[2-5],未对其含量进行控制,且咖啡因和异戊巴比妥对照品存在需特殊购买和管理的问题。为此,本研究中采用乙醇代替甲醇(乙腈)作为流动相的有机相,建立了以对乙酰氨基酚为对照品,同时测定新复方大青叶片中4种成分的一测多评(QAMS)法。现报道如下。

1 仪器与试药

1.1 仪器

1260型高效液相色谱仪[含二极管阵列(DAD)检测器]、1100型高效液相色谱仪(含紫外 - 可见光检测器),均购自美国Agilent公司;PE A - 10型高效液相色谱仪,含量DAD检测器(珀金埃尔默企业管理有限公司);XS205型电子分析天平(瑞士Mettler Toledo公司,精度为0.01 mg);KQ 5200DB型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

1.2 试药

新复方大青叶片(厂家S1,S2,S3,S4,S5,编号分别为A,B;C,D;E;F;G,规格均为每片含维生素C 10 mg、对乙酰氨基酚75 mg、咖啡因7.5 mg和异戊巴比妥7.5 mg);维生素C对照品、对乙酰氨基酚对照品、咖啡因对照品(中国食品药品检定研究院,批号分别为100425 - 201504, 100018 - 201610, 171215 - 201010,含量分别为100.0%, 99.9%, 100.0%);异戊巴比妥原料(厂家A,批号为W201102,含量为99.4%);乙醇为色谱纯,磷酸、乙醇、磷酸二氢钾、焦亚硫酸钠均为分析纯,水为纯化水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:Welch Ultimate LP - C_{18}柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm);流动相:乙醇(A) - 0.01 mol / L磷酸二氢钾溶液(B,用磷酸调pH至3.0),梯度洗脱(0 ~ 3 min时2%A, 3 ~ 6 min时2%A→15%A, 6 ~ 15 min时15%A, 15 ~ 20 min时15%A→60%A, 20 ~ 26 min时60%A, 26 ~ 27 min时60%A→2%A, 27 ~ 32 min时2%A);流速:0.8 mL / min;检测波长:215 nm(对乙酰氨基酚、咖啡因和异戊巴比妥)和245 nm(维生素C);柱温:40 ℃;进样量:10 μL。

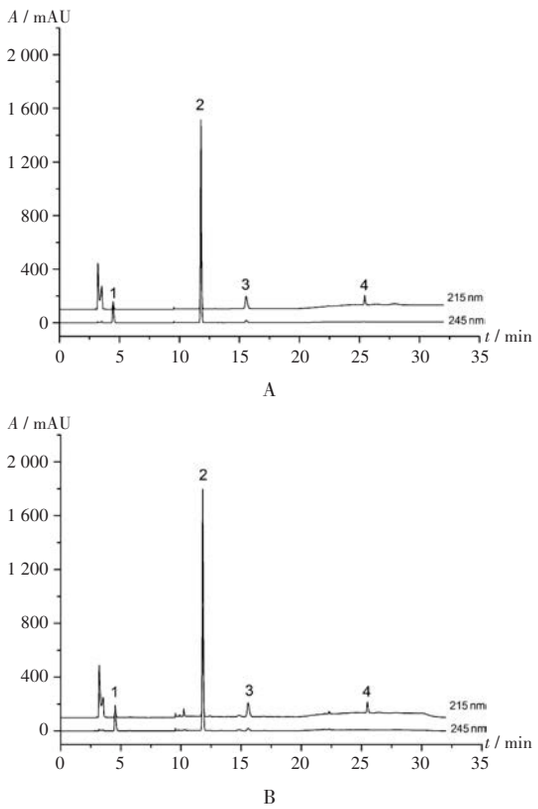
2.2 溶液制备

分别取维生素C、对乙酰氨基酚、咖啡因对照品和异戊巴比妥原料32.16, 187.06, 18.66, 19.06 mg,精密称定,置同一50 mL容量瓶中,加少量无水乙醇溶解,再加0.5%焦亚硫酸钠溶液(用磷酸调pH至3.0,下同)稀释、定容、摇匀,即得混合对照品贮备液;精密量取1 mL,置20 mL容量瓶中,加0.5%焦亚硫酸钠溶液稀释、定容,摇匀,即得混合对照品溶液。取样品20片(糖衣片除去包衣),研细,取约0.1 g,精密称定,置100 mL容量瓶中,加0.5%焦亚硫酸钠溶液适量,超声(功率200 W、频率40 kHz,下同)处理10 min,再加0.5%焦亚硫酸钠溶液稀释、定容、摇匀,即得供试品溶液。

2.3 方法学考察

系统适用性试验:取2.2项下混合对照品溶液和供试品溶液各适量,按2.1项下色谱条件进样测定,记录色谱图。结果供试品溶液色谱中,在与混合对照品溶液色谱相应位置处有吸收峰,理论板数按各成分峰计均应大于3 000,分离度均大于1.5。详见图1。

线性关系考察:精密量取2.2项下混合对照品溶液2,4,8,12,16,20 μL,按2.1项下色谱条件进样测定,记



1. 维生素C 2. 对乙酰氨基酚 3. 咖啡因 4. 异戊巴比妥
A. 混合对照品溶液 B. 供试品溶液

图1 高效液相色谱图

1. Vitamin C 2. Paracetamol 3. Caffeine 4. Amobarbital
A. Mixed reference solution B. Test solution

Fig. 1 HPLC chromatograms

录峰面积。以待测成分进样量(C,μg)为横坐标、峰面积(A)为纵坐标进行线性回归,得维生素C、对乙酰氨基酚、咖啡因、异戊巴比妥的回归方程分别为A_1 = 3 627.24 C_1 (r = 0.999 8),A_2 = 2 036.51C_2(r = 0.999 7),A_3 = 5 570.84 C_3 (r = 0.999 9),A_4 = 2 467.71 C_4(r = 0.999 9)。结果表明,4种成分进样量分别在0.064 3 ~ 0.643 2 μg、0.373 7 ~ 3.737 5 μg、0.037 3 ~ 0.373 2 μg、0.037 9 ~ 0.378 9 μg范围内与峰面积线性关系良好。

检测限与定量限考察:取维生素C、对乙酰氨基酚、咖啡因和异戊巴比妥对照品各适量,精密称定,加无水乙醇,制成质量浓度分别为1.21,7.48,3.81,8.17 μg/mL的溶液,按2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积,以信噪比(S / N)为3和10时的待测成分质量浓度分别记作检测限和定量限。结果检测限分别为0.03,0.15,0.07,0.24 μg/mL,定量限分别为0.09,0.51,0.23,0.79 μg/mL。

精密度试验:取2.2项下混合对照品溶液适量,按2.1项下色谱条件连续进样测定6次,记录峰面积。结果维生素C、对乙酰氨基酚、咖啡因和异戊巴比妥峰面积的*RSD*分别为1.02%,0.92%,1.09%,0.78%(n = 6),表明仪器精密度良好。

稳定性试验:取2.2项下供试品溶液适量,分别于室温下放置0,2,4,8,16,24 h时按2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果维生素C、对乙酰氨基酚、咖啡因和异戊巴比妥峰面积的*RSD*分别为1.58%,1.08%,0.97%,0.85%(n = 6),表明供试品溶液在室温下放置24 h内基本稳定。

重复性试验:取样品(编号A)适量,按2.2项下方法制备供试品溶液,共6份,按2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算含量。结果维生素C、对乙酰氨基酚、咖啡因和异戊巴比妥的平均含量分别为70.31%,89.37%,93.87%,89.72%,*RSD*分别为1.50%,1.72%,0.79%,1.21%(n = 6),表明方法重复性良好。

加样回收试验:取已知含量的样品(编号A,维生素C、对乙酰氨基酚、咖啡因和异戊巴比妥的平均含量分别为22.461 0,217.828 8,21.985 1,21.840 2 mg/g),取细粉各适量(约0.05 g),共6份,置100 mL容量瓶中,精密加入2.2项下混合对照品贮备液2.5 mL,按2.2项下方法制备供试品溶液。按2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积,并采用外标法(ESM)计算回收率。结果见表1。

2.4 相对校正因子(f)的确定和耐用性考察

f的确定:精密量取2.2项下混合对照品溶液适量,共3份,按2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以对乙酰氨基酚为参照,采用斜率法计算维生素C、咖啡因和异戊巴比妥的f,$f = K_r / K_t$,式中,K_r为对乙酰氨基酚的斜率,K_t为其他待测成分的斜率。计算3个成分f的平均值。结果维生素C、咖啡因和异戊巴比妥的f分别为0.576 1,0.373 2,0.843 8,*RSD*分别为0.91%,0.51%,0.62%(n = 3)。

耐用性考察:精密量取2.2项下混合对照品溶液适量,按2.1项下色谱条件[分别设置色谱柱为Agilent Extend - C_{18}柱、Welch Ultimate LP - C_{18}柱、A585V3 SVE-A™ C_{18} Opal柱、GL Sciences Intersustain AQ - C_{18}柱、Waters Atlantis™ T3柱(规格均为250 mm × 4.6 mm,5 μm)]测定,记录峰面积,计算维生素C、咖啡因和异戊巴比妥的f,结果见表2。可见,色谱柱发生一定程度变化时,各成分f的*RSD*均小于3%,耐用性较好。

2.5 QAMS法与外标法测定结果比较

取样品(编号A - G)适量,按2.2项下方法制备供试品溶液,均平行3份,按2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积,分别采用ESM和QAMS法计算样品含量。QAMS法计算公式为$m_t = (f \times A_t \times A_s) / m_s$,式中,$m_t$为待测成分(维生素C、咖啡因和异戊巴比妥)的质量(μg),

表 1 加样回收试验结果（$n=6$）

Tab. 1 Results of the recovery test ($n=6$)

待测成分	取样量(g)	样品含量(mg)	加入量(mg)	测得量(mg)	回收率(%)	$\bar{X}$(%)	*RSD*(%)
维生素C	0.053 3	1.197 2	1.526 0	2.726 9	100.24	101.07	1.20
	0.052 3	1.174 7	1.526 0	2.726 0	101.66		
	0.051 2	1.150 0	1.526 0	2.687 8	100.77		
	0.050 8	1.141 0	1.526 0	2.674 1	100.47		
	0.051 7	1.161 2	1.526 0	2.687 6	100.03		
	0.050 4	1.132 0	1.526 0	2.707 6	103.25		
对乙酰氨基酚	0.053 3	11.610 3	9.343 6	21.055 5	101.09	101.83	1.73
	0.052 3	11.392 4	9.343 6	20.710 6	99.73		
	0.051 2	11.152 8	9.343 6	20.678 3	101.95		
	0.050 8	11.065 7	9.343 6	20.875 6	104.99		
	0.051 7	11.261 7	9.343 6	20.709 2	101.11		
	0.050 4	10.978 6	9.343 6	20.517 2	102.09		
咖啡因	0.053 3	1.171 8	0.933 0	2.082 0	97.56	98.04	1.13
	0.052 3	1.149 8	0.933 0	2.058 0	97.34		
	0.051 2	1.125 6	0.933 0	2.061 1	100.27		
	0.050 8	1.116 8	0.933 0	2.026 3	97.48		
	0.051 7	1.136 6	0.933 0	2.047 4	97.62		
	0.050 4	1.108 0	0.933 0	2.021 8	97.94		
异戊巴比妥	0.053 3	1.164 1	0.947 3	2.087 6	97.49	98.80	1.58
	0.052 3	1.142 2	0.947 3	2.105 9	101.73		
	0.051 2	1.118 2	0.947 3	2.055 9	98.99		
	0.050 8	1.109 5	0.947 3	2.044 0	98.65		
	0.051 7	1.129 1	0.947 3	2.061 9	98.47		
	0.050 4	1.100 7	0.947 3	2.024 1	97.48		

表 2 耐用性考察结果

Tab. 2 Results of the durability test

色谱柱	$f_{维}$	$f_{咖}$	$f_{异}$
Waters Atlantis™ T3 柱	0.569 7	0.366 2	0.831 3
Agilent Extend－C_{18}柱	0.592 8	0.390 2	0.870 6
Welch Ultimate LP－C_{18}柱	0.571 1	0.365 8	0.838 1
A585V3 SVEA™ C_{18} Opal 柱	0.575 2	0.385 6	0.844 4
GL Sciences Intersustain AQ－C_{18}柱	0.573 5	0.376 8	0.843 8
$\bar{X}$	0.576 5	0.376 9	0.845 6
RSD(%)	1.63	2.94	1.76

A_t为式中待测成分的峰面积，m_s与A_s分别为对乙酰氨基酚的质量(μg)与峰面积。对2种方法所得结果采用配对t检验，结果均无显著差异($P>0.05$)，详见表3。

3 讨论

3.1 样品溶剂选择

预试验中比较了0.5%焦亚硫酸钠溶液及0.5%焦亚硫酸钠溶液－乙醇(95∶5、90∶10、80∶20，V/V)这4种溶剂对4个成分提取效率的影响。结果，4种溶剂提取效率基本一致，乙醇对对乙酰氨基酚、咖啡因、异戊巴比妥的提取均无影响，综合考虑，溶剂最终选择0.5%焦亚硫酸钠溶液。

表 3 样品含量测定结果（%）

Tab. 3 Results of content determination of vitamin C, caffeine, amobarbital and paracetamol in samples (%)

序号	维生素C		咖啡因		异戊巴比妥		对乙酰氨基酚
	ESM	QAMS法	ESM	QAMS法	ESM	QAMS法	ESM
A－1	68.19	69.67	95.21	97.25	88.36	90.26	87.25
A－2	68.77	67.94	97.11	95.92	89.36	88.27	87.79
A－3	70.52	69.98	98.38	97.61	89.26	88.56	86.63
B－1	68.80	68.12	91.97	92.01	89.52	89.57	89.04
B－2	67.89	67.28	95.26	95.62	89.84	89.41	88.35
B－3	66.87	67.01	94.39	94.16	89.44	89.75	90.72
C－1	53.75	54.39	87.27	88.29	91.40	92.47	82.83
C－2	53.89	53.61	88.00	87.53	92.02	91.54	84.24
C－3	53.29	53.01	87.25	86.77	91.74	91.23	84.26
D－1	43.00	43.69	90.12	91.50	88.14	89.49	85.07
D－2	43.50	43.57	90.08	88.86	88.24	87.05	87.56
D－3	43.39	42.56	89.69	89.64	87.91	87.87	86.42
E－1	64.69	64.63	92.58	92.48	95.36	95.26	90.71
E－2	63.79	63.63	91.65	91.41	94.59	94.35	90.85
E－3	64.06	64.35	91.64	92.04	94.66	95.09	90.21
F－1	36.81	36.77	90.43	90.32	93.62	93.51	90.26
F－2	36.08	36.14	91.20	91.35	94.01	94.16	90.01
F－3	35.44	35.46	90.51	90.54	94.25	94.29	90.12
G－1	109.63	111.28	93.14	94.52	92.70	94.08	90.34
G－2	108.22	108.85	92.79	93.31	92.90	93.43	91.17
G－3	109.60	107.52	95.04	93.22	93.04	91.27	93.47
*P*值	0.849		0.881		0.895		

3.2 检测波长选择

预试验中所得紫外光谱图显示，维生素C在245 nm波长处有最大吸收，咖啡因和异戊巴比妥在215 nm波长处有较大吸收，综合考虑，选择检测波长为215 nm(对乙酰氨基酚、咖啡因和异戊巴比妥)和245 nm(维生素C)。

3.3 流动相与柱温选择

预试验中比较了流动相B分别为水、0.01%磷酸溶液、0.01 mol/L磷酸二氢钾溶液(用磷酸调pH至3.0)对色谱峰的影响。结果采用水作为流动相时，维生素C出峰时间延迟，峰形差，展宽，而在酸性条件下，维生素C出峰时间适中，峰形好。经考察，选择0.01 mol/L磷酸二氢钾溶液(用磷酸调pH至3.0)时，4个成分峰与相邻峰的分离度符合要求。4种成分理化性质不一致，维生素C极性强，异戊巴比妥非极性强，采用梯度洗脱，各组分出峰时间适中，峰间分离度好。乙醇黏度较大，适当升高柱温可降低黏度，经考察，柱温选择40 ℃。

3.4 维生素C稳定性考察

预试验中以维生素C对照品加磷酸水溶液（pH分别为2.0，2.5，3.0，3.5，4.0，4.5）及水，分别于室温下放置0，2，8，12，16，24，36 h时进样测定，记录峰面积。发现维生素C溶液稳定性pH 3.0 > pH 3.5 > pH 2.5 > pH 4.0 > pH 4.5 > pH 2.0 > 水。故选择制备pH 3.0的磷酸水溶液。还分别用0.3%，0.5%，0.7%焦亚硫酸钠溶液制备供试品溶液，分别于0，4，8，12，16，24 h时进样测定。结果发现焦亚硫酸钠溶液体积分数为0.5%及以上时，维生素C稳定性较好。

3.5 方法的经济性与环保性

新复方大青叶片各成分中，异戊巴比妥和咖啡因属第二类精神药品，维生素C性质不稳定（易氧化和水解），这3个成分对照品的购买和管理存在一定的问题。QAMS法是以价廉易得、性质稳定的物质为内参物，建立内参物与其他成分间的f，并以此获得其他多个组分的含量[6-9]。该方法可解决药品质量控制中对照品性质不稳定、价格昂贵、需特殊购买和管理的问题，适用于复杂成分或多指标成分含量测定。课题组经过研究和验证，以性质稳定的对乙酰氨基酚为内参物，采用QAMS法[10-16]，以f计算样品中维生素C、咖啡因和异戊巴比妥的含量。在后期检验过程中，仅需对乙酰氨基酚对照品，省去维生素C、咖啡因和异戊巴比妥对照品，实现检验方法的经济性发展。甲醇作为第二类溶剂在检验中被大量使用，对环境和实验人员身体健康影响均较大。乙醇属第三类溶剂，毒性较低，本研究中以乙醇作为流动相的组成部分较安全[17-20]。

3.6 方法评价

本研究中所建立的方法环保（以乙醇代替甲醇）、经济（只需1种对照品），结果准确且可快速获得，适用于新复方大青叶片的质量评价。

参考文献

[1] WB_3-B-1057-91-2015，国家药品标准[S].
[2] 王 霞，张维谊，韩奕奕，等. 高效液相色谱法测定水果和蔬菜中维生素C含量的不确定度评定[J]. 食品与机械，2021，37(5)：73-77.
[3] 李 开，李 妙，宋 昊. 液相色谱法同时分析天然水果发酵液中8种有机酸和抗坏血酸[J]. 分析试验室，2020，39(6)：720-725.
[4] 李宇翔，李燕平，华永有，等. HPLC法测定食品中维生素C方法的改进[J]. 海峡预防医学杂志，2019，25(1)：54-56.
[5] 何飞强，王尚贤，熊方永，等. 橘子中维生素C稳定性的研究[J]. 东华理工大学学报(自然科学版)，2021，44(4)：395-400.
[6] 胡瑞雪，梁元昊，徐文丽，等. 一测多评法在中药中的应用及研究进展[J]. 药物分析杂志，2019，39(11)：1968-1979.
[7] 孙 磊，金红宇，马双成，等. 中药标准物质替代测定法技术指导原则[J]. 中国药学杂志，2015，50(4)：284-286.
[8] 闫 艳，杜晨晖. 一测多评法在中药质量控制中的应用及研究进展[J]. 世界科学技术-中医药现代化，2022，24(6)：2378-2387.
[9] 张 敏，王 芳，刘惠娟，等. 一测多评法在中药质量控制中的应用[J]. 中国民族民间医药，2021，30(14)：51-55.
[10] 国家药典委员会. 中国药典分析检测技术指南[M]. 北京：中国医药科技出版社，2017：174-179.
[11] 嵇增云，贾 鑫，赵海龙，等. 一测多评法同时测定蒙药述达格-4中5个黄酮类成分的含量[J]. 药物分析杂志，2021，41(9)：1605-1611.
[12] 唐红梅，翟少钦，陈春林，等. 一测多评法同时测定甘草泻心汤中8种成分[J]. 中成药，2022，44(5)：1410-1415.
[13] 万红才，徐作刚，段 萍，等. 一测多评法测定乌蔹中5个黄酮成分含量[J]. 药物分析杂志，2021，41(12)：2211-2218.
[14] 何 兵，田 吉，杨世艳. 一测多评法同时测定不同采收期白芭蒿中8种成分[J]. 中成药，2022，44(3)：842-848.
[15] 李俊霞，刘 松，游秋霞. 高效液相色谱-一测多评法同时测定金佛止痛丸中8种成分含量[J]. 中国药业，2022，31(15)：71-75.
[16] 李 婵，温锦荣，刘 昭，等. 一测多评法测定混合核苷片中核糖核苷含量[J]. 中国药业，2022，31(15)：80-83.
[17] 田 平，张 立，汪 运. 某化学原料药生产企业有机溶剂暴露职业健康风险评估[J]. 化工设计通讯，2022，48(4)：215-217.
[18] 阮燕梅，荣 幸，兰丽琴，等. 职业健康大数据的应用现状与发展前景[J]. 职业卫生与应急救援，2022，40(3)：370-374.
[19] 陈利群. 制药生产中有机溶剂的使用与职业危害因素分析[J]. 医药工程设计，2008，29(1)：22-26.
[20] 刘建川，汪建川，杨建华. 化工生产中常见有机溶剂的危害与安全防治[J]. 化学工程与装备，2010(11)：152.

（收稿日期：2022-09-08；修回日期：2022-11-09）

中国科技核心期刊 中国科技论文统计源期刊
《中国药业》杂志 欢迎投稿！ 欢迎订阅！
邮发代号：78-130，各地邮局均可订阅；补订、破月订可向本刊办理。电话兼传真：(023) 86592565
网上投稿：http://www.zhongguoyaoye023.com 或 中国药业在线投稿系统