

变差,因此三氟乙酸溶液浓度选择  $0.2 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。由于  $0.2 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  三氟乙酸溶液的 pH 值 $<2$ ,色谱柱采用 Agilent SB C<sub>18</sub> (4.6 mm $\times$ 250 mm, 5  $\mu\text{m}$ )酸性色谱柱。

### 3.3 流速的选择

试验了 1.0, 0.8, 0.6  $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ , 结果随着流速的降低,峰形变差,保留时间延长,异帕米星与 3N-异帕米星峰的分离度增加,灵敏度降低,因此流速选择  $0.8 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ 。

### 3.4 漂移管温度的选择

考察不同温度对检测的影响。设置的温度值为 45, 50 和 55  $^{\circ}\text{C}$ 。结果 45  $^{\circ}\text{C}$  时的色谱峰响应最大,但噪音较大,55  $^{\circ}\text{C}$  时的色谱峰响应有所减小。因此选择漂移管温度为 50  $^{\circ}\text{C}$ 。

实验结果表明,有关物质采用 HPLC 等度法检测,主峰后极性小的杂质不能检出,本实验建立了 HPLC 梯度洗脱法,测定本品的有关物质。

## REFERENCES

- [1] JP(15) [S]. 2006: 777-778.
- [2] STEAD D A. Current methodologies for the analysis of

- aminoglycosides [J]. J Chromatogr B Biomed Sci Appl 2000, 747(1/2): 69-93.
- [3] VOGEL R, DEFILLIPO K, REIF V. Determination of isepamicin sulfate and related compounds by high performance liquid chromatography using evaporative light scattering detection [J]. J Pharm Biomed Anal, 2001, 24(3): 405-412.
- [4] WANG J, HONG L, NI K. Analysis of isepamicin sulfate and its related substances by high performance liquid chromatography using evaporative light scattering detection and electrospray ion trap mass spectrometry [J]. Chin J Anal Chem(分析化学), 2006, 34(Special issue): 19-21.
- [5] MEGOULAS N C, KOUPPARIS M A. Enhancement of evaporative light scattering detection in high-performance liquid chromatographic determination of neomycin based on highly volatile mobile phase, high-molecular-mass ion-pairing reagents and controlled peak shape [J]. J Chromatogr A, 2004, 1057(1/2): 125-131.
- [6] CLAROT I, CHAIMDAULT I P, HASDENTEUFEL F. Determination of gentamicin sulfate and related substances by high-performance liquid chromatography with evaporative light scattering detection [J]. J Chromatogr A, 2004, 1031(1/2): 281-287.
- [7] WANG J, HU X, TU Y, et al. Determination of spectinomycin hydrochloride and its related substances by HPLC-ELSD and HPLC-MS<sup>n</sup> [J]. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2006, 834(1/2): 178-182.
- [8] YANG H Y, DU Y, XU W D. Residue determination of aminoglycosides in honey by HPLC-MS/MS [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2011, 28(8): 751-756.

收稿日期: 2012-06-02

## 多元线性模型和经典恒温法预测天宁滴丸有效期

洪清<sup>1</sup>, 袁曦<sup>1\*</sup>, 王友芳<sup>1</sup>, 陈庆伟<sup>2</sup> (1.福建医科大学附属第一医院药理学部, 福州 350005; 2.福州市药品检验所, 福州 350001)

**摘要:** 目的 研究天宁滴丸中主要成分阿魏酸的稳定性,并预测有效期。方法 采用高效液相色谱法测定阿魏酸含量,采用多元线性模型和经典恒温法研究温度对阿魏酸稳定性的影响,同时比较两种方法,并以长期试验验证。结果 天宁滴丸降解动力学过程符合一级动力学过程,用多元线性模型和经典恒温法预测天宁滴丸的有效期分别为 21.8, 20.8 月。结论 两种方法预测得到的有效期基本一致,多元线性模型可简化数据处理,作为一种简便方法用于有效期的预测。

**关键词:** 天宁滴丸; 多元线性模型; 经典恒温法; 有效期

中图分类号: R283.6 文献标识码: B 文章编号: 1007-7693(2013)04-0416-04

## Predicting the Expiration Date of Tianning Drop Pill by Multivariate Linear Model and Classical Isothermal Accelerated Tests

HONG Qing<sup>1</sup>, YUAN Xi<sup>1\*</sup>, WANG Youfang<sup>1</sup>, CHEN Qingwei<sup>2</sup> (1. Department of Pharmacy of the First Affiliated Hospital of Fujian Medical University, Fuzhou 350005, China; 2. Fuzhou Institute for Drug Control, Fuzhou 350001, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To study the stability of ferulic acid, the main ingredient of Tianning Drop Pill, and to predict the validity duration. **METHODS** The HPLC method was used to determine the content of ferulic acid. Multivariate linear model

基金项目: 福建省卫生厅青年科学研究课题(2003-2-12)

作者简介: 洪清,男,硕士,副主任药师 Tel: (0591)87982115 E-mail: h7g12002@163.com \*通信作者: 袁曦,男,主任药师 Tel: (0591)87982078 E-mail: xi yuan767@sina.com

and classical isothermal kinetic method were used to study the influence of temperature on ferulic acid stability. The efficacy of two methods were verified and compared with long term test. **RESULTS** It was found that the pyrolytic degradation kinetics of Tianning Drop Pill fitted with the first-order kinetics. The expiration dates of Tianning Drop Pill calculated by multiple linear model and classic isothermal accelerated tests were 21.8 months and 20.8 months, respectively. **CONCLUSION** The expiration dates of Tianning Drop Pill calculated by two different methods are almost the same. Multivariate linear model can be used for a convenient method to predict the expiration date.

**KEY WORDS:** Tianning Drop Pill; multivariate linear model; classical isothermal kinetic method; expiration date

天宁滴丸是运用现代制药技术, 将原医院制剂复方头痛口服液研制成具有起效迅速、生物利用度高的新型纯中药滴丸。天宁滴丸由天麻、川芎等中药组成, 具有活血化瘀、解痉止痛等功效, 主要用于血管神经性头痛及偏头痛等症的治疗。本试验以阿魏酸为指标成分, 高效液相色谱法作为其定量方法, 采用经典恒温法和多元线性模型考察天宁滴丸稳定性, 预测有效期, 并对 2 种方法进行比较分析, 并以长期试验进行验证。

## 1 仪器与试剂

### 1.1 仪器

高效液相色谱仪(美国 Waters 公司, 包括 510 泵、7725i 进样器、996 二极管阵列检测器、Empower 数据处理系统); AE-240 电子天平(梅特勒-托利多仪器上海有限公司); W-201B 数控恒温浴锅(上海申胜生物技术有限公司); 766-3 型远红外辐射干燥箱(上海阳光实验仪器有限公司); 101-2 型电热鼓风干燥箱(上海第二五金厂); 玻璃真空干燥器(启东市吕四玻璃厂有限公司); DW-5 型滴丸机(江苏省泰州市制药机械二厂)。

### 1.2 试剂

阿魏酸对照品(中国药品生物制品检定所, 批号: 0773-200102, 供含量测定用); 天麻、川芎药材(由福建同春药业股份有限公司中药分公司提供, 经福建中医学院药学系卢伟副教授鉴定为正品); 天宁滴丸(福建医科大学附属第一医院制剂室, 批号 20080711, 20080712, 20080713); 甲醇(国药集团化学试剂有限公司, 批号: 20060309, 色谱纯); 其余试剂均为分析纯。

## 2 阿魏酸含量测定

### 2.1 色谱条件<sup>[1]</sup>

色谱柱: Spherisorb-ODS C<sub>18</sub> 柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm); 流动相: 0.1%磷酸溶液(A), 0.1%磷酸甲醇(B); 梯度洗脱, 0~10 min, A: 97%→93%、10~20 min, A: 93%→50%、20~30 min, A: 50%; 检测波长: 221 nm; 柱温: 30 °C。

### 2.2 供试品的测定

取供试品 0.2 g, 精密称定, 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇适量, 超声 30 min 使溶解, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 10 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 5 min, 精密吸取上清液 20 μL, 注入液相色谱仪, 记录色谱图, 计算。

### 2.3 方法学研究

阿魏酸  $C=1.632 0A+0.128 0$ ,  $r=0.999 6$ , 在 0.004 8~0.048 mg·mL<sup>-1</sup> 内线性关系良好。阿魏酸日内精密度 RSD 为 1.50%, 日间精密度 RSD 为 1.80% ( $n=5$ ), 平均回收率 98.10%, RSD 为 2.26%。结果表明, 此方法可用于阿魏酸的含量测定<sup>[2-3]</sup>。

## 3 恒温加速实验

### 3.1 供试品的制备

取天宁滴丸, 剪碎研细过 60 目筛, 分别装于 10 mL 安瓿中, 封口, 分组, 即时取样作为零时刻的浓度, 以此时浓度为 100%, 依次置于 90, 100, 110, 120 °C 恒温干燥箱中, 按试验设计的时间定时取样, 及时冷却终止反应, 分别测定其浓度, 计算供试品的相对百分含量: 相对百分含量(%)=(供试液的浓度/零时刻的浓度)×100%。各温度下不同时间点阿魏酸含量见表 1。

表 1 各试验温度下不同加速时间的阿魏酸含量测定结果  
Tab 1 The content of ferulic acid at different experimental temperature and different accelerated time

温度/°C	取样时间/h	相对含量/%	温度/°C	取样时间/h	相对含量/%
90	0	100.00	100	0	100.00
	24	90.02		12	89.52
	48	80.91		24	80.10
	72	73.28		36	71.89
	96	65.06		48	63.41
110	120	58.92	120	70	51.49
	0	100.00		0	100.00
	6	88.15		6	76.73
	12	78.76		8	70.38
	18	69.76		12	61.19
24	61.50	18	46.52		
36	48.44	24	36.07		

### 3.2 反应级数的确定

将表 1 在 4 个温度条件下得到的数据用 0 级、1 级、2 级化学反应动力学方程式进行拟和, 根据  $R^2$  来判断降解动力学过程。结果见表 2。

表 2 回归分析结果

Tab 2 The results of regression analysis

反应级数	90 °C	100 °C	110 °C	120 °C
0	$R^2=0.9973$	$R^2=0.9959$	$R^2=0.9937$	$R^2=0.9869$
1	$R^2=0.9998$	$R^2=0.9998$	$R^2=0.9999$	$R^2=0.9996$
2	$R^2=0.9965$	$R^2=0.9933$	$R^2=0.9934$	$R^2=0.9873$

## 4 有效期预测

### 4.1 经典恒温法

由表 2 可知, 天宁滴丸中阿魏酸降解动力学过程遵循一级动力学过程, 按一级动力学方程拟合天宁滴丸在 4 个不同温度下的降解速度常数, 结果见表 3。通过直线的斜率计算相应温度分解常数  $K$ , 结果见表 4。

表 3 各温度下回归方程

Tab 3 Regression equations at different temperatures

绝对温度/°C	线性回归方程	r
90	$\lg C = -0.00192t + 2.000$	-0.9998
100	$\lg C = -0.00413t + 2.002$	-0.9998
110	$\lg C = -0.00873t + 1.9996$	-0.9999
120	$\lg C = -0.01834t + 1.9985$	-0.9996

表 4 各温度下分解速度常数

Tab 4 Decomposition rate constant at different temperatures

温度/°C	$1/T \times 10^{-3}$	$k \times 10^{-3}$	$K \times 10^{-3}$	$\lg K$
90	2.755	1.92	4.427	-2.3539
100	2.681	4.13	9.503	-2.0221
110	2.611	8.73	20.11	-1.6966
120	2.545	18.34	42.23	-1.3744

再根据 Arrhenius 公式  $\lg K = \lg A - E/2.303R(1/T)$ , 以表 4 中降解速度常数  $K$  的对数  $\lg K$  对绝对温度  $T$  的倒数  $1/T$  进行线性回归, 回归方程为:  $\lg K = 10.4641 - 4655.08/T (R^2=0.9999)$ 。将温度 25 °C 带入方程中计算得 25 °C 的降解速度常数  $K = 6.92 \times 10^{-6} \text{ h}^{-1}$ , 以浓度下降至初始浓度的 90% 为有效期计算, 天宁滴丸的有效期为 20.8 月。

### 4.2 多元线性模型<sup>[4]</sup>

根据药物降解反应恒温动力学的基本公式

(1):  $f(C_0) - f(C) = k(T)t$  和 Arrhenius 公式(2):  $k(T) = Ae^{-E/(RT)}$ , 将(2)式带入(1)式, 再两边取对数, 得多元线性模型的基本计算公式(3):  $\ln t = \ln[f(C_0) - f(C)] + E/(RT) - \ln A$  已知阿魏酸的降解符合一级动力学过程,  $f(C) = C$ 。公式(3)可变化为:  $\ln t = \ln(C_0 - C) + E/R \times 1/T - \ln A$  在表 1 中各温度条件下, 任选 2 个数据进行相应的数学计算, 结果见表 5。

表 5 多元线性模型计算结果

Tab 5 The results of multivariate linear model analysis

温度/°C	t/h	$\ln t$	$\ln(\ln C_0 - \ln C)$	1/T
90	48	-3.8712	-1.5520	0.002755
90	96	-4.5643	-0.8443	0.002755
100	24	-3.1781	-1.5056	0.002681
100	48	-3.8712	-0.7863	0.002681
110	18	-2.8904	-1.0214	0.002611
110	36	-3.5835	-0.3218	0.002611
120	8	-2.0794	-1.0462	0.002545
120	24	-3.1781	-0.0195	0.002545

用 SPSS 17.0 统计软件, 以  $\ln t$  对  $\ln(\ln C_0 - \ln C)$ 、 $1/T$  进行多元线性回归, 得回归方程:  $\ln t = -24.30 + 0.995 \times \ln(\ln C_0 - \ln C) + 10793.75 \times 1/T (R^2=0.998)$ , 以  $C = 0.9C_0$ ,  $T = 298 \text{ K}$  代入, 即得药物在 25 °C 时, 浓度下降至初始浓度 90% 的时间为 21.8 月, 这与用经典恒温法计算得到的结果基本一致。

### 4.3 有效期

对 3 批样品进行了长期试验<sup>[5]</sup>, 在温度为  $(25 \pm 2)^\circ\text{C}$ 、相对湿度  $(60 \pm 10)\%$  条件下贮存, 0, 3, 6, 9, 12, 18, 24 月分别取样测定, 结果表明, 3 批样品在 12 个月内与 0 月相比均无明显改变。但阿魏酸第 24 个月与 0 月的含量采用自身配对设计的秩和检验发现, 二者  $P$  值均  $< 0.05$ , 差异有统计学意义, 表明阿魏酸含量在考察期内下降明显, 虽在合格范围之内, 但就其稳定性考虑, 将天宁滴丸有效期暂定为 20 个月。

## 5 讨论

天宁滴丸主要有效成分为阿魏酸和天麻素, 预试验中比较阿魏酸和天麻素稳定性, 观察到阿魏酸降解比天麻素多, 表明阿魏酸更加不稳定, 所以选择考察阿魏酸的稳定性, 来确定天宁滴丸的有效期。

经典恒温法的推导过程为: 点(同一温度下不

同时间点的浓度)→线(同一温度下降解动力学过程)→点(不同温度下的降解速度常数)→线(各温度下的降解速度常数与温度之间的相关关系)→点(25 °C 降解速度常数)→线(25 °C 降解动力学过程)→点(25 °C 降解 10%所需要的时间)。

而多元线性回归采用的是点→面→点的推导过程, 其中的点是一组由  $\ln t$ 、 $\ln(C_0-C)$ 、 $1/T$  3 个变量在一个三维的坐标系中确定的一个点; 面是由 5~8 个这样的点在三维坐标系中确定的一个药物平面; 再求算这个药物平面中  $\ln(C_0-C)$ (一般为降解 10%)、 $1/T$ (一般为 25 °C)确定时,  $\ln t$  的取值, 从而预测药物的有效期。

笔者应用经典恒温加速法和多元线性模型对天宁滴丸的有效期进行了初步预测。经典恒温法需要 20~25 个数据经 4~5 次拟合才能完成, 多元线性模型仅需在每种温度下的 1~2 个数据, 总共在不同温度下有 7~8 个的数据就可得到一个多元方程, 明显减少了取样点的数量。在反应级数已

知的情况下, 相对于经典恒温加速法, 多元线性模型更为经济、简单, 而本研究中这 2 种方法预测得到的结果基本一致, 也与长期试验结果较接近。

## REFERENCES

- [1] HONG Q, YUAN X, LIN G Z, et al. Optimization of extraction technology for Tianning Drop Pill by colligation score [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2010, 27(1): 27-29.
- [2] HONG Q, YUAN X, LIU Y W, et al. Determination of dissolution rate of Tianning Drop Pills [J]. J Chin Pharm(中国药房), 2008, 19(9): 678-679.
- [3] MA Y D, LI Y, ZHAO Q C, et al. Determination of ferulic acid in Tianning Pills by HPLC [J]. Her Med(医药导报), 2012, 31(7): 918-920.
- [4] LE J, YANG J H, LIU W Y, et al. Three-dimensional analysis of the classical isothermal kinetic method and multivariate linear model for the stability prediction of pharmaceutical preparations [J]. Acta Pharm Sin(药学报), 1997, 32(3): 218-221.
- [5] Ch.P(2005)Vol II(中国药典 2005 年版. 二部) [S]. 2005: 176-177.

收稿日期: 2012-07-10

## 离子色谱法测定医药中间体富马酸的含量

李军荣<sup>1</sup>, 叶明立<sup>2</sup>, 曾雪灵<sup>2</sup>, 钟乃飞<sup>2\*</sup>(1.温岭市中医院, 浙江 台州 317500; 2.赛默飞世尔有限公司上海实验室, 上海 210013)

**摘要:** 目的 建立医药中间体富马酸的离子色谱分析方法。方法 选用在线淋洗液发生器产生的 KOH 为淋洗液, Dionex IonPac AS11-HC 分离柱阴离子交换分离, 电导检测模式, 对用于合成医药中间体的富马酸进行分离测定。结果 富马酸在 0.10~100.0 mg·L<sup>-1</sup> 内线性良好( $r=0.9999$ )。样品的保留时间、峰面积和峰高的 RSD 均在 1.05% 以下( $n=7$ ), 检出限为 0.014 mg·L<sup>-1</sup>, 回收率为 98.8%~100.6%。结论 本方法简便、快捷、准确, 可以在产品检验中发挥重要作用。

**关键词:** 富马酸; 医药中间体; 离子色谱; 电导检测

中图分类号: R917.101

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2013)04-0419-03

## Determination of Fumaric Acid in Pharmaceutical Intermediate by Ion Chromatography

LI Junrong<sup>1</sup>, YE Mingli<sup>2</sup>, ZENG Xueling<sup>2</sup>, ZHONG Naifei<sup>2\*</sup>(1.Wenling Hospital of Traditional Chinese Medicine, Taizhou 317500, China; 2.Shanghai Laboratory of Application and Research Center, ThermoFisher China Limited, Shanghai 210013, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To develop an analytical method for the determination of fumaric acid in pharmaceutical intermediate product by ion chromatography. **METHODS** The determination of fumaric acid was achieved on a separation column IonPac AS11-HC with KOH as eluent, and the detection was performed by a conductivity detection mode. **RESULTS** The linear calibration was obtained over the range of 0.10–100.0 mg·L<sup>-1</sup> with a correlation coefficient of 0.9999. The relative standard deviations(RSD) of retention time, peak area and peak height were less than 1.05%( $n=7$ ). The detection limit of method

作者简介: 李军荣, 男, 主管技师 Tel: (0576)86207797 E-mail: lijunrong001@163.com \*通信作者: 钟乃飞, 男, 硕士, 助理工程师 Tel: (0571)88273637 E-mail: Naifei.Zhong@thermofisher.com