

RP-HPLC 法同时测定九味羌活口服液中 13 种成分

任媛媛, 王 晨*

天津医科大学肿瘤医院 药学部 国家肿瘤临床医学研究中心 天津市“肿瘤防治”重点实验室 天津市恶性肿瘤临床医学研究中心, 天津 300060

摘要: **目的** 建立 RP-HPLC 法同时测定九味羌活口服液(JQOL)中梓醇、甘草苷、甘草酸铵、细辛脂素、毛蕊花糖苷、苍术素、阿魏酸、欧前胡素、羌活醇、异欧前胡素、黄芩苷、升麻素苷和 5-*O*-甲基维斯阿米醇苷的方法。**方法** 采用 Zorbax Eclipse XDB-C₁₈ 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 乙腈-5.0 mmol/L KH₂PO₄ 溶液(稀磷酸调节 pH 值至 3.0)(15:85)为流动相, 梯度洗脱, 体积流量为 1.0 mL/min。**结果** 梓醇、甘草苷、甘草酸铵、细辛脂素、毛蕊花糖苷、苍术素、阿魏酸、欧前胡素、羌活醇、异欧前胡素、黄芩苷、升麻素苷和 5-*O*-甲基维斯阿米醇苷 13 种成分能够达到很好分离; 其线性范围分别为 2.08~31.22 μg/mL ($r=0.999\ 5$)、4.01~60.15 μg/mL ($r=0.999\ 2$)、10.09~151.31 μg/mL ($r=0.999\ 2$)、4.98~74.63 μg/mL ($r=0.999\ 4$)、2.05~30.74 μg/mL ($r=0.999\ 6$)、4.10~61.46 μg/mL ($r=0.999\ 6$)、2.93~43.98 μg/mL ($r=0.999\ 3$)、2.04~30.66 μg/mL ($r=0.999\ 5$)、12.54~181.55 μg/mL ($r=0.999\ 7$)、53.95~89.23 μg/mL ($r=0.999\ 5$)、12.05~180.68 μg/mL ($r=0.999\ 5$)、5.97~89.51 μg/mL ($r=0.999\ 4$)、7.99~119.82 μg/mL ($r=0.999\ 6$), 平均加样回收率分别为 98.8%、98.6%、101.2%、99.4%、100.1%、99.7%、98.9%、99.4%、100.5%、98.7%、101.2%、98.3%、99.1%, RSD 分别为 1.9%、1.8%、1.5%、0.8%、0.6%、0.9%、1.2%、2.0%、1.6%、0.8%、1.4%、1.5%、1.7% ($n=6$)。9 批次 JQOL 供试品中梓醇、甘草苷、甘草酸铵、细辛脂素、毛蕊花糖苷、苍术素、阿魏酸、欧前胡素、羌活醇、异欧前胡素、黄芩苷、升麻素苷和 5-*O*-甲基维斯阿米醇苷质量浓度分别为 0.229~0.259 mg/L、1.231~1.260 mg/L、0.849~0.877 mg/L、0.357~0.371 mg/L、0.149~0.169 mg/L、0.941~0.967 mg/L、0.529~0.547 mg/L、0.269~0.294 mg/L、1.039~1.067 mg/L、0.043~0.064 mg/L、3.631~3.649 mg/L、0.157~0.183 mg/L、0.068~0.084 mg/L。**结论** 该法分离度好, 快速简便, 重现性好, 可用于 JQOL 的质量控制。

关键词: 九味羌活口服液; 梓醇; 甘草苷; 甘草酸铵; 细辛脂素; 毛蕊花糖苷; 苍术素; 阿魏酸; 欧前胡素; 羌活醇; 异欧前胡素; 黄芩苷; 升麻素苷; 5-*O*-甲基维斯阿米醇苷; RP-HPLC

中图分类号: R286.02 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2016)21-3824-05

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2016.21.012

Simultaneous determination of thirteen constituents in Jiuwei Qianghuo Oral Liquid by RP-HPLC

REN Yuan-yuan, WANG Chen

Tianjin Key Laboratory of Cancer Prevention and Therapy, Tianjin Clinical Research Center for Cancer, National Clinical Research Center for Cancer, Department of Pharmacy, Tianjin Medical University Cancer Institute and Hospital, Tianjin 300060, China

Abstract: Objective To establish an HPLC method for the simultaneous determination of catalpol, liquiritin, ammonium glycyrrhizinate, asarinin, verbascoside, atractylodin, ferulic acid, imperatorin, notopterol, isoimperatorin, baicalin, prim-*O*-glucosylcimifugin, and 5-*O*-methylvisammioside in Jiuwei Qianghuo Oral Liquid (JQOL). **Methods** The analysis was performed on Zorbax Eclipse XDB-C₁₈ column (250 mm×4.6 mm, 5 μm) by gradient elution of acetonitrile-0.005 mol/L KH₂PO₄ (adjusting to pH 3.0 with phosphoric acid) (15:85). The flow rate was 1.0 mL/min. **Results** The linear ranges of catalpol, liquiritin, ammonium glycyrrhizinate, asarinin, verbascoside, atractylodin, ferulic acid, imperatorin, notopterol, isoimperatorin, baicalin, prim-*O*-glucosylcimifugin, and 5-*O*-methylvisammioside were 2.08—31.22 μg/mL ($r=0.999\ 5$), 4.01—60.15 μg/mL ($r=0.999\ 2$), 10.09—151.31 μg/mL ($r=0.999\ 2$), 4.98—74.63 μg/mL ($r=0.999\ 4$), 2.05—30.74 μg/mL ($r=0.999\ 6$), 4.10—61.46 μg/mL ($r=0.999\ 6$), 2.93—43.98 μg/mL ($r=0.999\ 3$), 2.04—30.66 μg/mL ($r=0.999\ 5$), 12.54—181.55 μg/mL ($r=0.999\ 7$), 53.95—89.23 μg/mL ($r=$

收稿日期: 2016-06-06

作者简介: 任媛媛, 女, 硕士, 研究方向为天然药物化学成分及活性。Tel: (022)23340123-5102 E-mail: kingmeet@126.com

*通信作者 王 晨, 女, 主任药师, 研究方向为药学管理、临床合理用药及医院药学。Tel: (022)23340123 E-mail: jieyi789@126.com

0.999 5), 12.05—180.68 $\mu\text{g/mL}$ ($r = 0.999\ 5$), 5.97—89.51 $\mu\text{g/mL}$ ($r = 0.999\ 4$), and 7.99—119.82 $\mu\text{g/mL}$ ($r = 0.999\ 6$). The average recoveries ($n = 6$) were 98.8% (RSD = 1.9%), 98.6% (RSD = 1.8%), 101.2% (RSD = 1.5%), 99.4% (RSD = 0.8%), 100.1% (RSD = 0.6%), 99.7% (RSD = 0.9%), 98.9% (RSD = 1.2%), 99.4% (RSD = 2.0%), 100.5% (RSD = 1.6%), 98.7% (RSD = 0.8%), 101.2% (RSD = 1.4%), 98.3% (RSD = 1.5%), and 99.1% (RSD = 1.7%), respectively. The contents of nine batches of the catalpol, liquiritin, ammonium glycyrrhizinate, asarinin, verbascoside, atractylodin, ferulic acid, imperatorin, notopteron, isoimperatorin, baicalin, prim-*O*-glucosylcimifugin, and 5-*O*-methylvisammioside were 0.229—0.259 mg/L, 1.231—1.260 mg/L, 0.849—0.877 mg/L, 0.357—0.371 mg/L, 0.149—0.169 mg/L, 0.941—0.967 mg/L, 0.529—0.547 mg/L, 0.269—0.294 mg/L, 1.039—1.067 mg/L, 0.043—0.064 mg/L, 3.631—3.649 mg/L, 0.157—0.183 mg/L, and 0.068—0.084 mg/L. **Conclusion** This method is simple and rapid, and can be used for the quality control of JQOL with satisfactory separation and repeatability.

Key words: Jiawei Qianghuo Oral Liquid; catalpol; liquiritin; ammonium glycyrrhizinate; asarinin; verbascoside; atractylodin; ferulic acid; imperatorin; notopteron; isoimperatorin; baicalin; prim-*O*-glucosylcimifugin; 5-*O*-methylvisammioside; RP-HPLC

九味羌活口服液 (Jiawei Qianghuo Oral Liquid, JQOL) 收载于《中国药典》2015 年版, 具有疏风解表、散寒除湿的作用。用于外感风寒挟湿所致的感冒, 症见恶寒、发热、无汗、头重而痛、肢体疼痛^[1]。该中成药由羌活、防风、苍术、细辛、川芎、白芷、黄芩、甘草、地黄 9 味药材组成, 目前,《中国药典》2015 年版以黄芩苷作为定量测定的指标成分, 质控指标单一, 专属性不强。文献报道中对于九味羌活制剂的定量都以 2~3 个成分为指标进行测定^[2-9]或者测定其挥发性成分^[10]。九味羌活制剂中, 羌活辛苦性温, 散表寒、祛风湿、利关节、止痹痛, 为治太阳风寒湿邪在表之要药, 故为君药; 防风辛苦性温, 为风药中之润剂, 祛风除湿、散寒止痛; 苍术辛苦而温, 功可发汗祛湿, 为祛太阴寒湿的主要药物; 两药相合, 协助羌活祛风散寒、除湿止痛、是为臣药; 细辛、白芷、川芎祛风散寒、宣痹止痛, 其中细辛善治少阴头痛、白芷擅解阳明头痛、川芎长于止少阳厥阴头痛, 此 3 味药与羌活、苍术合用, 为本方“分经论治”的基本结构; 生地、黄芩清泄里热, 并防诸辛温燥烈之品伤津, 以上 5 药俱为佐药; 甘草调和诸药为使药。按照中药质量标志物 (Q-Marker) 的概念^[11-12], 其中的欧前胡素、异欧前胡素药理研究发现这 2 种成分具有抗炎、抗菌和镇痛等活性^[8], 可以作为该中成药的中药质量标志物之一。根据《中国药典》对于单味中药的质量标准, 羌活的指标成分为羌活醇与异欧前胡素, 防风的指标成分为升麻素苷与 5-*O*-甲基维斯阿米醇苷, 川芎的指标成分为阿魏酸, 甘草的指标成分为甘草苷与甘草酸铵, 苍术的指标成分为苍术素, 黄芩的指标成分为黄芩苷, 细辛的指标成分为细辛脂素, 白芷的指标成分为欧前胡素, 地黄的指标成分为梓醇与毛蕊花糖苷, 确定了采用 13 种成分控制该中成药的

质量。因此, 本实验从多种有效成分同时监控的角度出发, 建立一种 RP-HPLC 法同时测定 JQOL 中 13 种成分, 能较为全面地反映该中成药的质量。

1 仪器与试剂

Agilent 1260 高效液相色谱仪, 包括 DAD 检测器, 四元泵, 自动进样器、化学工作站等, 美国 Agilent 公司; BP211D 型电子天平, 德国 Sartorius 公司。

对照品梓醇 (批号 110808-201210, 质量分数 98.1%)、甘草苷 (批号 111610-201106, 质量分数 93.7%)、甘草酸铵 (批号 110731-201418, 质量分数 93.1%)、细辛脂素 (批号 111889-201504, 质量分数 100.0%)、毛蕊花糖苷 (批号 111530-201512, 质量分数 96.7%)、苍术素 (批号 111924-201404, 质量分数 99.7%)、阿魏酸 (批号 110773-201313, 质量分数 99.6%)、欧前胡素 (批号 110826-201415, 质量分数 99.7%)、羌活醇 (批号 111820-201504, 质量分数 99.9%)、异欧前胡素 (批号 110827-201410, 质量分数 99.7%)、黄芩苷 (批号 110715-201318, 质量分数 93.3%)、升麻素苷 (批号 111522-201511, 质量分数 94.8%)、5-*O*-甲基维斯阿米醇苷 (批号 111523-201509, 质量分数 95.8%), 中国食品药品检定研究院提供; 乙腈为色谱纯, 水为超纯水, 其他试剂均为分析纯。9 批 JQOL 由重庆东方药业股份有限公司提供, 批号 150912、150913、150914、151102、151103、151104、151222、151223、151224。

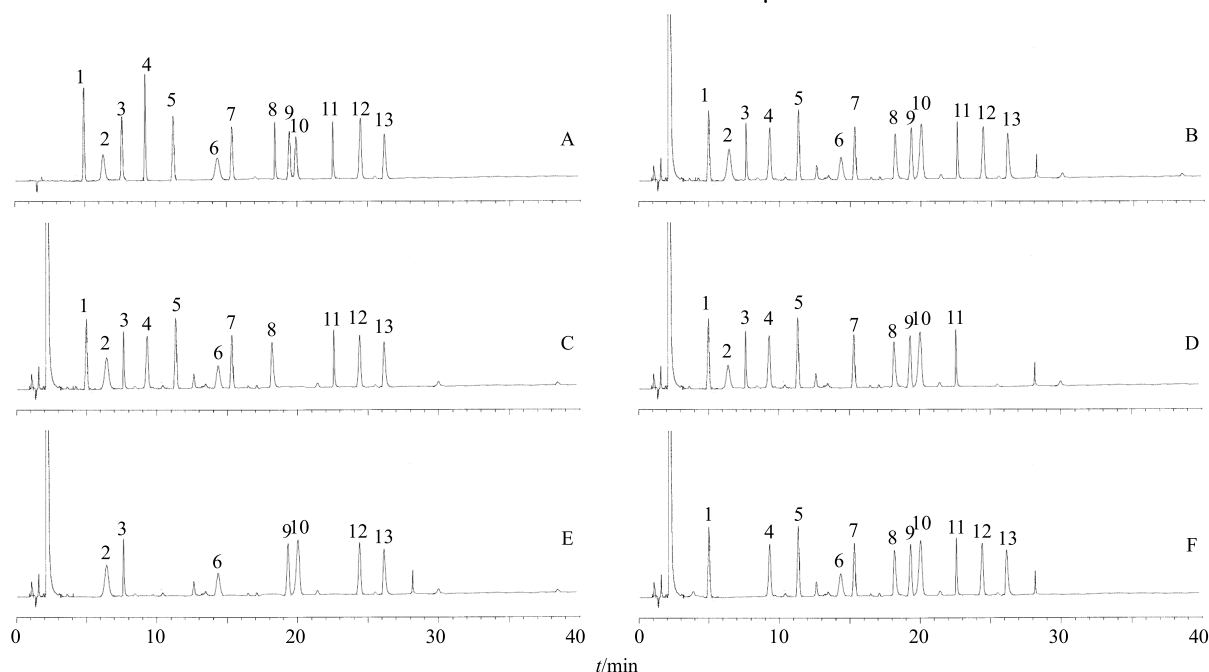
2 方法与结果

2.1 色谱条件及系统适应性试验

色谱柱 Zorbax Eclipse XDB-C₁₈ 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 柱温 40 $^{\circ}\text{C}$; 流动相为乙腈-5.0 mmol/L KH₂PO₄ 溶液 (稀磷酸调节 pH 值至 3.0) (15:85), 梯度洗脱: 0~5 min, 15%乙腈; 5~30 min, 15%~80%乙腈; 30~32 min, 80%~15%乙

睛; 32~40 min, 15%乙睛; 体积流量为 1.0 mL/min; 分段变波长测定: 0~5.0 min 为 210 nm, 5.0~9.0 min 为 237 nm, 9.0~10.0 min 为 287 nm, 10.0~17.0

min 为 330 nm, 17.0~21.0 min 为 310 nm, 21.0~23.0 min 为 280 nm, 23.0~30.0 min 为 254 nm; 进样量为 10 μ L。色谱图见图 1。



1-梓醇 2-甘草苷 3-甘草酸铵 4-细辛脂素 5-毛蕊花糖苷 6-苍术素 7-阿魏酸 8-欧前胡素 9-羌活醇 10-异欧前胡素 11-黄芩苷 12-升麻素苷 13-5-O-甲基维斯阿米醇苷

1-catalpol 2-liquiritin 3-ammonium glycyrrhizinate 4-asarinin 5-verbascoside 6-atractylodin 7-ferulic acid 8-imperatorin 9-notopteronol 10-isoimperatorin 11-baicalin 12-prim-O-glucosylcimifugin 13-5-O-methylvisammioside

图 1 混合对照品 (A)、JQOL 供试品 (B)、缺少羌活的阴性对照 (C)、缺少防风 and 苍术药材的阴性对照 (D)、缺少细辛、川芎、白芷、黄芩、地黄药材的阴性对照 (E)、缺少甘草药材的阴性对照 (F) 的 HPLC-DAD 色谱图

Fig. 1 HPLC-DAD chromatograms of mixed reference substances (A), JQOL sample (B), negative control without *Notopterygii Rhizoma et Radix* (C), negative control without *Saposhnikovia Radix* and *Atractylodis Rhizoma* (D), negative control without *Asari Herba*, *Chuanxiong Rhizoma*, *Angelica Dahuricae Radix*, *Scutellariae Radix*, or *Rehmanniae Radix* (E), negative control without *Glycyrrhizae Radix* (F)

2.2 对照品溶液制备

精密称取梓醇、甘草苷、甘草酸铵、细辛脂素、毛蕊花糖苷、苍术素、阿魏酸、欧前胡素、羌活醇、异欧前胡素、黄芩苷、升麻素苷和 5-O-甲基维斯阿米醇苷适量, 分别置 10 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 得各对照品储备液, 备用。再精密吸取各对照品储备液适量置 25 mL 量瓶中, 甲醇稀释至刻度, 得含梓醇 10 μ g/mL、甘草苷 20 μ g/mL、甘草酸铵 50 μ g/mL、细辛脂素 25 μ g/mL、毛蕊花糖苷 10 μ g/mL、苍术素 20 μ g/mL、阿魏酸 15 μ g/mL、欧前胡素 10 μ g/mL、羌活醇 60 μ g/mL、异欧前胡素 30 μ g/mL、黄芩苷 60 μ g/mL、升麻素苷 30 μ g/mL 和 5-O-甲基维斯阿米醇苷 40 μ g/mL 的混合对照品溶液, 备用。

2.3 供试品溶液制备

精密量取本品 1 mL, 置 25 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

2.4 阴性对照溶液制备

按 JQOL 处方比例和工艺, 分别制备缺少羌活药材的阴性对照样品; 缺少防风和苍术药材的阴性对照样品; 缺少细辛、川芎、白芷、黄芩、地黄药材的阴性对照样品; 缺少甘草药材的阴性对照样品; 并按“2.3”项下方法制备各阴性对照溶液。

2.5 线性关系考察

精密量取对照品储备液 1.0、2.5、5.0、10、15 mL 于 25 mL 量瓶中, 加流动相稀释至刻度, 摇匀, 得系列混合对照品溶液。按“2.1”项下色谱条件进样, 记录色谱峰峰面积, 以峰面积积分值为纵坐标 (Y),

对照品质量浓度为横坐标(X)进行线性回归,得到13个成分的标准曲线方程、相关系数(r)和线性范围,结果分别为梓醇 $Y=34.23X+33.745$, $r=0.9995$, $2.08\sim 31.22\text{ }\mu\text{g/mL}$; 甘草苷 $Y=564.22X+93.62$, $r=0.9992$, $4.01\sim 60.15\text{ }\mu\text{g/mL}$; 甘草酸铵 $Y=66.21X+8.539$, $r=0.9992$, $10.09\sim 151.31\text{ }\mu\text{g/mL}$; 细辛脂素 $Y=7.358X+0.8395$, $r=0.9994$, $4.98\sim 74.63\text{ }\mu\text{g/mL}$; 毛蕊花糖苷 $Y=7438.1X+84.38$, $r=0.9996$, $2.05\sim 30.74\text{ }\mu\text{g/mL}$; 苍术素 $Y=9.637X+47.48$, $r=0.9996$, $4.10\sim 61.46\text{ }\mu\text{g/mL}$; 阿魏酸 $Y=44.62X+843.5$, $r=0.9993$, $2.93\sim 43.98\text{ }\mu\text{g/mL}$; 欧前胡素 $Y=5.374X+83.41$, $r=0.9995$, $2.04\sim 30.66\text{ }\mu\text{g/mL}$; 羌活醇 $Y=5.397X+0.482$, $r=0.9997$, $12.54\sim 181.55\text{ }\mu\text{g/mL}$; 异欧前胡素 $Y=49.35X+73.22$, $r=0.9995$, $53.95\sim 89.23\text{ }\mu\text{g/mL}$; 黄芩苷 $Y=834.5X+2.364$, $r=0.9995$, $12.05\sim 180.68\text{ }\mu\text{g/mL}$; 升麻素苷 $Y=75.25X+6.324$, $r=0.9994$, $5.97\sim 89.51\text{ }\mu\text{g/mL}$; 5-*O*-甲基维斯阿米醇苷 $Y=4.385X+0.7384$, $r=0.9996$, $7.99\sim 119.82\text{ }\mu\text{g/mL}$ 。

2.6 精密度试验

精密吸取同一对照品溶液 $10\text{ }\mu\text{L}$, 重复进样6次, 记录峰面积。结果显示, 梓醇、甘草苷、甘草酸铵、细辛脂素、毛蕊花糖苷、苍术素、阿魏酸、欧前胡素、羌活醇、异欧前胡素、黄芩苷、升麻素苷和 5-*O*-甲基维斯阿米醇苷的峰面积 RSD 值分别为 1.3%、1.1%、1.0%、0.7%、1.2%、1.4%、1.4%、1.7%、1.2%、0.8%、1.6%、1.8%、1.9%, 表明仪器精密度良好。

2.7 重复性试验

取同一批 JQOL (批号 150912) 6 份, 按“2.3”项下方法平行制备 6 份供试品溶液, 按“2.1”项下色谱条件测定, 结果显示, 梓醇、甘草苷、甘草酸铵、细辛脂素、毛蕊花糖苷、苍术素、阿魏酸、欧前胡素、羌活醇、异欧前胡素、黄芩苷、升麻素苷和 5-*O*-甲基维斯阿米醇苷的平均质量浓度分别为 0.251、1.245、0.874、0.368、0.163、0.955、0.538、0.287、1.053、0.064、3.649、0.183、0.083 mg/mL, RSD 分别为 1.5%、0.8%、0.6%、0.7%、1.4%、1.9%、1.9%、1.6%、1.7%、0.7%、0.8%、0.9%、1.8%, 表明方法的重复性良好。

2.8 稳定性试验

精密吸取同一 JQOL 供试品溶液(批号 150912)各 $10\text{ }\mu\text{L}$, 按“2.1”项下色谱条件分别于 0、2、4、

8、12、24 h 进样测定, 结果显示梓醇、甘草苷、甘草酸铵、细辛脂素、毛蕊花糖苷、苍术素、阿魏酸、欧前胡素、羌活醇、异欧前胡素、黄芩苷、升麻素苷和 5-*O*-甲基维斯阿米醇苷的质量浓度 RSD 分别为 1.8%、0.6%、0.4%、0.9%、1.3%、1.5%、1.5%、1.1%、1.4%、0.3%、0.5%、0.4%、1.9%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.9 加样回收率试验

取同一批号 JQOL 样品(批号为 150912), 每份约 0.5 mL , 精密称定, 分成 3 组, 分别按已知质量分数的 50%、100%、150% 3 个水平加入混合对照品溶液, 按“2.3”项下方法制备, 依法测定, 计算各个指标成分的回收率。结果发现梓醇、甘草苷、甘草酸铵、细辛脂素、毛蕊花糖苷、苍术素、阿魏酸、欧前胡素、羌活醇、异欧前胡素、黄芩苷、升麻素苷和 5-*O*-甲基维斯阿米醇苷的平均加样回收率分别为 98.8%、98.6%、101.2%、99.4%、100.1%、99.7%、98.9%、99.4%、100.5%、98.7%、101.2%、98.3%、99.1%, RSD 分别为 1.9%、1.8%、1.5%、0.8%、0.6%、0.9%、1.2%、2.0%、1.6%、0.8%、1.4%、1.5%、1.7%。

2.10 样品测定

取 9 批 JQOL 样品, 按“2.3”项下方法制备供试品溶液, 依法测定, 用外标法计算样品中梓醇、甘草苷、甘草酸铵、细辛脂素、毛蕊花糖苷、苍术素、阿魏酸、欧前胡素、羌活醇、异欧前胡素、黄芩苷、升麻素苷和 5-*O*-甲基维斯阿米醇苷的质量浓度, 结果见表 1。9 批次 JQOL 供试品中梓醇、甘草苷、甘草酸铵、细辛脂素、毛蕊花糖苷、苍术素、阿魏酸、欧前胡素、羌活醇、异欧前胡素、黄芩苷、升麻素苷和 5-*O*-甲基维斯阿米醇苷质量浓度分别为 $0.229\sim 0.259\text{ mg/L}$ 、 $1.231\sim 1.260\text{ mg/L}$ 、 $0.849\sim 0.877\text{ mg/L}$ 、 $0.357\sim 0.371\text{ mg/L}$ 、 $0.149\sim 0.169\text{ mg/L}$ 、 $0.941\sim 0.967\text{ mg/L}$ 、 $0.529\sim 0.547\text{ mg/L}$ 、 $0.269\sim 0.294\text{ mg/L}$ 、 $1.039\sim 1.067\text{ mg/L}$ 、 $0.043\sim 0.064\text{ mg/L}$ 、 $3.631\sim 3.649\text{ mg/L}$ 、 $0.157\sim 0.183\text{ mg/L}$ 、 $0.068\sim 0.084\text{ mg/L}$ 。结果表明本品各批次之间 13 种成分的量基本稳定。

3 讨论

本实验首次建立 HPLC 同时测定 JQOL 中 13 种成分的方法, 方法简单、结果准确, 可作为 JQOL 多指标定量测定方法, 可用于 JQOL 的质量控制。

考察对比了不同的流动相系统, 包括甲醇-水、

表1 样品测定结果

Table 1 Determination of samples

批号	质量浓度/(mg·L ⁻¹)												
	梓醇	甘草苷	甘草酸铵	细辛脂素	毛蕊花糖苷	苍术素	阿魏酸	欧前胡素	羌活醇	异欧前胡素	黄芩苷	升麻素苷	5- <i>O</i> -甲基维斯阿米醇苷
150912	0.251	1.245	0.874	0.368	0.163	0.955	0.538	0.287	1.053	0.064	3.649	0.183	0.083
150913	0.241	1.255	0.871	0.371	0.158	0.964	0.529	0.289	1.063	0.057	3.648	0.180	0.084
150914	0.259	1.247	0.869	0.371	0.157	0.958	0.534	0.294	1.067	0.056	3.641	0.176	0.081
151102	0.244	1.258	0.855	0.362	0.166	0.948	0.537	0.278	1.049	0.051	3.638	0.177	0.077
151103	0.239	1.252	0.851	0.359	0.169	0.947	0.547	0.277	1.047	0.049	3.637	0.168	0.074
151104	0.235	1.260	0.849	0.357	0.161	0.941	0.541	0.269	1.045	0.048	3.642	0.167	0.071
151222	0.229	1.238	0.872	0.363	0.154	0.967	0.532	0.283	1.039	0.049	3.633	0.157	0.068
151223	0.234	1.234	0.867	0.358	0.152	0.954	0.532	0.284	1.041	0.043	3.631	0.161	0.071
151224	0.236	1.231	0.877	0.367	0.149	0.958	0.536	0.290	1.043	0.048	3.631	0.163	0.072

乙腈-水、乙腈-甲酸水溶液、乙腈-乙酸水溶液、乙腈-磷酸二氢钾水溶液、乙腈-磷酸氢二钾水溶液、乙腈-磷酸二氢钠水溶液、最终选择乙腈-磷酸二氢钾水溶液体系；同时考察了不同浓度磷酸二氢钾水溶液（2.0、5.0、10.0 mmol/L）对分离的影响，确定了5.0 mmol/L磷酸二氢钾水溶液；进一步考察了不同pH值的影响（pH 2.5、3.0、3.5、4.0、4.5），确定了pH 3.0为最佳的pH值；最后考察了不同的梯度洗脱方法。

本实验采用分段变波长检测法对13种成分进行测定，在210 nm波长下检测梓醇，在237 nm波长下检测甘草苷与甘草酸铵，在287 nm波长下检测细辛脂素，在330 nm波长下检测苍术素、阿魏酸与毛蕊花糖苷，在310 nm波长下检测羌活醇、异欧前胡素与欧前胡素，在280 nm波长下检测黄芩苷，在254 nm波长下检测升麻素苷与5-*O*-甲基维斯阿米醇苷。

测定结果表明，与文献报道中丸剂、颗粒剂相比^[2]，本实验测定的JQOL中甘草酸、黄芩苷、阿魏酸、升麻素苷、欧前胡素与异欧前胡素的量还是有差异，目前只有1个厂家生产该品种，分析原因可能是所用药材产地和质量不同造成的。

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [2] 宋九华, 李 琼, 万东海. HPLC 测定九味羌活丸中甘草酸的含量 [J]. 乐山师范学院学报, 2010, 25(5):

43-44.

- [3] 宋九华, 王 刚, 刘素君. HPLC 测定九味羌活丸中黄芩苷、甘草酸和异甘草素含量 [J]. 中成药, 2010, 32(11): 1914-1916.
- [4] 张锋忠, 骆天功. HPLC 法测定九味羌活丸中5-羟甲基糠醛的含量 [J]. 药物分析杂志, 2014, 25(44): 4206-4208.
- [5] 宋九华. HPLC 测定九味羌活丸中甘草酸和异甘草素的含量 [J]. 乐山师范学院学报, 2011, 26(5): 13-14.
- [6] 李巧玲, 王冬梅, 苗秋艳, 等. RP-HPLC 法同时测定九味羌活丸中升麻素苷等5种有效成分的含量 [J]. 沈阳药科大学学报, 2016, 33(2): 114-119.
- [7] 赵渤年, 刘 青, 丁晓彦. HPLC 测定九味羌活颗粒中欧前胡素的含量 [J]. 中国药房, 2007, 27(12): 1967-1968.
- [8] 曲永胜. 不同工艺对九味羌活颗粒中欧前胡素及异欧前胡素含量的影响 [J]. 齐鲁药事, 2009, 28(11): 692-694.
- [9] 何 丹, 杨 林, 张景勃. 超高效液相色谱法测定九味羌活颗粒中欧前胡素和异欧前胡素的含量 [J]. 中国医院药学杂志, 2014, 33(24): 2053-2055.
- [10] 张幸福, 张 炜. 九味羌活制剂中挥发性成分的气相色谱-质谱分析 [J]. 中国药业, 2014, 23(15): 4-6.
- [11] 刘昌孝, 陈士林, 肖小河, 等. 中药质量标志物(Q-Marker): 中药产品质量控制的新概念 [J]. 中草药, 2016, 47(9): 1443-1457.
- [12] 张铁军, 许 浚, 韩彦琪, 等. 中药质量标志物(Q-marker) 研究: 延胡索质量评价及质量标准研究 [J]. 中草药, 2016, 47(9): 1458-1467.