# HPLC-CAD法同时测定风湿定片中7种活性成分的含量

侯爱荣[1*],邢晔忠[2],吴雪松[3#](1.烟台市食品药品检验检测中心,山东 烟台 264003;2.威海市食品药品检验检测中心,山东 威海 264200;3.天津科伦药物研究有限公司,天津 300457)

**中图分类号** R917;R284.1 **文献标志码** A **文章编号** 1001-0408(2018)23-3212-05

**DOI** 10.6039/j.issn.1001-0408.2018.23.10

**摘 要** 目的:建立同时测定风湿定片中甘草酸、水杨苷、甘草次酸、毒藜碱、丹皮酚、欧前胡素及异欧前胡素含量的方法。方法:采用高效液相色谱-电雾式检测器(HPLC-CAD)法。色谱柱为Thermo Hypersil BDS $C_{18}$,流动相为乙腈-10 mmol/L甲酸铵(甲酸调pH至4.5,梯度洗脱),流速为1.0 mL/min,柱温为35 ℃,CAD雾化器温度为35 ℃,气压为(59.6±0.1) psi,检测频率为10 Hz,进样量为20 μL。结果:甘草酸、水杨苷、甘草次酸、毒藜碱、丹皮酚、欧前胡素及异欧前胡素检测质量浓度线性范围为0.42~16.80、0.28~11.20、0.16~6.20、0.98~39.40、1.02~41.00、0.11~4.40、0.10~3.80 μg/mL($r\geq0.999$ 1);检测限分别为0.03、0.02、0.02、0.03、0.03、0.02、0.02 μg/mL,定量限分别为0.11、0.06、0.06、0.10、0.11、0.08、0.07 μg/mL;精密度、稳定性(48 h)、重复性试验的RSD均<2.0%($n$=6或$n$=7);平均回收率为98.61%~99.76%,RSD为1.11%~1.51%($n$=6)。结论:建立的方法操作简便、灵敏度高、结果准确,可用于风湿定片中甘草酸、水杨苷、甘草次酸、毒藜碱、丹皮酚、欧前胡素及异欧前胡素含量的同时测定。

**关键词** 高效液相色谱-电雾式检测器法;风湿定片;水杨苷;毒藜碱;丹皮酚;欧前胡素;含量测定

**Simultaneous Determination of 7 Kinds of Active Components in Fengshiding Tablet by HPLC-CAD**

HOU Airong[1], XING Yezhong[2], WU Xuesong[3] (1.Yantai Center for Food and Drug Test, Shandong Yantai 264003, China; 2.Weihai Center for Food and Drug Test, Shandong Weihai 264200, China; 3.Tianjin Kelun Medicine Research Co., Ltd., Tianjin 300457, China)

中国药房网 www.china-pharmacy.com

一乙基、二乙基、三乙基射干苷元类化合物;合成产物中检出大量的射干苷元C环开环类化合物,可能的原因是反应时间过长,氢氧化钠用量过多,本课题组在后续的合成工艺优化中也会进一步探究。已上市药物的制剂或原料药的杂质研究文献报道较多[8-12],但不能直接反映化合物合成情况,且由于杂质含量较低(在原料药中多在1%以下),故杂质的分离纯化比较困难,对其结构大多只能推测。本研究将4′,7-二乙基射干苷元合成产物直接进行LC-MS/MS测定,结果可直观地反映出合成的情况,且分离得到部分杂质并鉴定了其化学结构,可为4′,7-二乙基射干苷元合成产物的杂质分析提供对照品,为其质量控制奠定基础。

## 参考文献

[1] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S]. 2015年版.北京:中国医药科技出版社,2015:41-42.

[2] 徐学民,袁崇均,陈帅,等.一种异黄酮衍生物及其制备方法和用途:中国,CN101723926B[P]. 2013-02-22.

[3] 袁崇均,王笳,陈帅,等.川射干化学成分的研究[J].天然产物研究与开发,2008,20(3):444-446.

[4] 李瑞玲,孙俊馥,杨森,等.白英正丁醇萃取部位的化学成分研究[J].中国药房,2016,27(30):4252-4254.

[5] 林启寿.中草药成分化学[M].北京:科学出版社,1977:326-328.

[6] 余亚纲,汪聪慧,刘岱,等.中药射干亲脂中性成分研究[J].药学学报,1983,18(12):969-972.

[7] 宋志军,张沛,梁健,等.川射干异黄酮成分的ESI-MS-MS快速分析[J].质谱学报,2009,30(11):69-70.

[8] 缪文玲,侯玉荣,孙晶,等.阿莫西林克拉维酸钾片的杂质谱研究[J].中国药学杂志,2017,52(24):2202-2208.

[9] 张婷婷,金波,李彤,等. HPLC-MS/MS鉴定创新药物艾托莫德的有关物质[J].中国药学杂志,2017,52(1):68-71.

[10] 左文飞,潘娜,范雪平,等.泮托拉唑钠杂质校正因子的测定[J].中国药学杂志,2012,47(24):2029-2031.

[11] 陈红,杨梅,张姮婕,等.二维超高效液相色谱-飞行时间质谱联用技术鉴定氯化琥珀胆碱原料药中的杂质[J].中国药房,2018,29(7):941-944.

[12] 仲婕,朱德领,李保山,等. HPLC法测定尼鲁米特原料药的含量和杂质[J].中国药房,2014,25(1):61-63.

(收稿日期:2018-08-01 修回日期:2018-10-10)

(编辑:唐晓莲)

*副主任药师。研究方向:药品质量控制。电话:0535-6260839。E-mail:swqs1965@163.com

#通信作者:中级工程师,硕士。研究方向:药品质量控制。电话:022-65378319。E-mail:wxs-1989@163.com

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish the method for simultaneous determination of glycyrrhizic acid, salicin, glycyrrhetinic acid, chenopodium, paeonol, imperatorin and isoimperatorin in Fengshiding tablet. METHODS: HPLC-CAD method was adopted. The determination was performed on Thermo Hypersil BDS $C_{18}$ column with mobile phase consisted of acetonitrile-10 mmol/L ammonium formate (pH value adjusted to 4.5 using formic acid, gradient elution) at the flow rate of 1.0 mL/min. The column temperature was set at 35 ℃. CAD atomizer temperature was 35 ℃, and air pressure was (59.6±0.1) psi. The detection frequency was 10 Hz, and sample size was 20 μL. RESULTS: The linear range of glycyrrhizic acid, salicin, glycyrrhetinic acid, chenopodium, paeonol, imperatorin and isoimperatorin were 0.42-16.80, 0.28-11.20, 0.16-6.20, 0.98-39.40, 1.02-41.00, 0.11-4.40, 0.10-3.80 μg/mL ($r\geqslant0.999\ 1$), respectively. The detection limits were 0.03, 0.02, 0.02, 0.03, 0.03, 0.02, 0.02 μg/mL, respectively; quantitation limits were 0.11, 0.06, 0.06, 0.10, 0.11, 0.08, 0.07 μg/mL, respectively. RSDs of precision, stability (48 h) and reproducibility tests were all lower than 2.0% ($n=6$ or $n=7$). Average recoveries rate were 98.61%-99.76%, and RSDs were 1.11%-1.51% ($n=6$). CONCLUSIONS: The established method is simple, sensitive, accurate, and can be used for simultaneous determination of glycyrrhizic acid, salicin, glycyrrhetinic acid, chenopodium, paeonol, imperatorin and isoimperatorin in Fengshiding tablet.

**KEYWORDS** HPLC-CAD; Fengshiding tablet; Salicin; Chenopodium; Paeonol; Imperatorin; Content determination

风湿定片由八角枫、徐长卿、白芷及甘草这4味中药组成，有散风除湿、通络止痛的功效，用于风湿阻络所致的痹病、症见关节疼痛以及风湿性关节炎、类风湿性关节炎、肋神经痛、坐骨神经痛见上述证候者[1]。研究表明，毒藜碱为八角枫中松弛肌肉的活性成分，也是主要毒性成分[2]，水杨苷为八角枫解热镇痛的主要活性成分，对关节炎有治疗作用[3]；丹皮酚为徐长卿中主要活性成分，具有抗炎及免疫调节作用[4]；以欧前胡素及异欧前胡素为代表的香豆素类成分是白芷镇痛抗炎的活性成分[5]；甘草酸及甘草次酸是甘草的主要活性成分，具有抗炎、抗氧化作用[6]。风湿定片现行质量标准收载于2015年版《中国药典》（一部）中[1]，其含量测定项仅以丹皮酚为指标性成分，且关于风湿定片质量研究的文献也未见3种以上的多成分质量控制[7-9]，由于中药复方制剂化学成分复杂，仅控制其中少量成分含量，很难全面反映其质量。

电雾式检测器（CAD）是近年来发展起来的一种新型检测器，与传统的紫外检测器、二极管阵列检测器（DAD）、蒸发光散射检测器比较，具有灵敏高、重现性好等优点[10]。本试验建立高效液相色谱（HPLC）-CAD法同时测定风湿定片中甘草酸、水杨苷、甘草次酸、毒藜碱、丹皮酚、欧前胡素及异欧前胡素的含量，以期为完善风湿定片的质量标准提供参考。

## 1 材料

### 1.1 仪器

3000 HPLC仪，包括Corona Veo CAD（美国Thermo Fisher公司）；KQ-400DB超声波清洗器（昆山市超声仪器有限公司）；SQP千分之一天平、CPA225D十万分之一天平、MSE百万分之一天平（德国Sartorius公司）。

### 1.2 药品与试剂

风湿定片（陕西君碧莎制药有限公司，规格：0.22 g×16片×2板/盒，丹皮酚含量≥1.0 mg/片，共6批，批号分别为20170602、20170712、20170923、20180310、20180325、20180516；江西济民可信药业有限公司，规格：0.22 g×12片×2板/盒，丹皮酚含量≥1.0 mg/片，共3批，批号分别为20171109、20171222、20180320）；甘草酸对照品（日本和光纯药工业株式会社，批号：070-06021，纯度：99%）；水杨苷对照品（批号：132590050，纯度：99%）、毒藜碱对照品（批号：458980010，纯度：98%）均购自比利时Acros公司；甘草次酸对照品（批号：110723-201715，纯度：98%）、丹皮酚对照品（批号：110708-201407，纯度：97%）、欧前胡素对照品（批号：110826-201616，纯度：99%）、异欧前胡素对照品（批号：110827-201812，纯度：98%）均购自中国食品药品检定研究院；甲醇为色谱纯，乙腈、甲酸、甲酸铵为分析纯，水为超纯水。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

色谱柱：Thermo Hypersil BDS $C_{18}$（250 mm×4.6 mm，5 μm）；流动相：乙腈（A）-10 mmol/L甲酸铵（B，甲酸调pH至4.5），梯度洗脱（0～8 min，15% A；8～30 min，15%～25% A；30～35 min，25%～30% A；35～45 min，30%～55% A；45～50 min，55%～70% A）；流速：1.0 mL/min；柱温：35 ℃；进样量：20 μL；CAD雾化器温度：35 ℃，气压：(59.6±0.1) psi，检测频率：10 Hz。

### 2.2 溶液的制备

2.2.1 混合对照品溶液 精密称取甘草酸、水杨苷、甘草次酸、欧前胡素及异欧前胡素对照品适量，分别置于10 mL量瓶中，加70%甲醇溶解并稀释至刻度，分别制成含甘草酸、水杨苷、甘草次酸、欧前胡素及异欧前胡素分别为0.84、0.56、0.31、0.22、0.19 mg/mL的对照品贮备液；分别精密称取毒藜碱及丹皮酚适量置于10 mL量瓶中，并分别精密移取甘草酸、水杨苷、甘草次酸、欧前胡素及异欧前胡素的对照品贮备液各1.0 mL置于同一10

mL量瓶中，加70%甲醇溶解并稀释至刻度，分别制成含甘草酸、水杨苷、甘草次酸、毒藜碱、丹皮酚、欧前胡素及异欧前胡素质量浓度分别为0.084、0.056、0.031、0.197、0.205、0.022、0.019 mg/mL的混合对照品母液；精密移取混合对照品母液1.0 mL，置于10 mL量瓶中，加70%甲醇稀释至刻度，摇匀，制成每1 mL含甘草酸、水杨苷、甘草次酸、毒藜碱、丹皮酚、欧前胡素、异欧前胡素质量浓度分别为0.008 4、0.005 6、0.003 1、0.019 7、0.020 5、0.002 2、0.001 9 mg的混合对照品溶液。

2.2.2　供试品溶液　取本品10片，去除糖衣并精密称定，研细，取约0.2 g，置于50 mL量瓶中，加70%甲醇30 mL，45 ℃超声（功率：220 W，频率：30 kHz）处理40 min，放冷，加70%甲醇稀释至刻度，摇匀，过滤，取续滤液，即得。

2.2.3　阴性对照溶液　按处方比例及制法[1]分别制备不含八角枫、徐长卿、白芷及甘草的4种阴性样品，按"2.2.2"项下供试品溶液制备方法提取，分别得缺八角枫、缺徐长卿、缺白芷及缺甘草的阴性对照溶液。

## 2.3　系统适用性试验

精密量取"2.2"项下混合对照品溶液、供试品溶液（批号：20170602）和缺八角枫、缺徐长卿、缺白芷、缺甘草的阴性对照溶液，按"2.1"项下色谱条件进样测定，记录色谱。结果，甘草酸、水杨苷、甘草次酸、毒藜碱、丹皮酚、欧前胡素及异欧前胡素与其他组分色谱峰的分离度均不低于1.5，理论板数以甘草酸计不低于8 000，阴性对照溶液图谱显示各阴性样品均无干扰。高效液相色谱图见图1。

## 2.4　线性关系考察

精密量取"2.2.1"项下混合对照品母液1.0 mL，分别置于5、10、25、50、100、200 mL量瓶中，加70%甲醇稀释至刻度，得不同质量浓度的系列溶液，按"2.1"项下色谱条件进样测定，记录峰面积。以待测成分质量浓度为横坐标($x$)、峰面积为纵坐标($y$)进行线性回归，线性关系考察结果见表1。

## 2.5　检测限与定量限考察

取"2.2.1"项下混合对照品溶液适量，逐级稀释，按"2.1"项下色谱条件连续进样测定6次，记录峰面积。当信噪比为3∶1时，得检测限；当信噪比为10∶1时，得定量限。结果，甘草酸、水杨苷、甘草次酸、毒藜碱、丹皮酚、欧前胡素及异欧前胡素的检测限分别为0.03、0.02、0.02、0.03、0.03、0.02、0.02 μg/mL，定量限分别为0.11、0.06、0.06、0.10、0.11、0.08、0.07 μg/mL。

## 2.6　精密度试验

取"2.2.1"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，甘草酸、

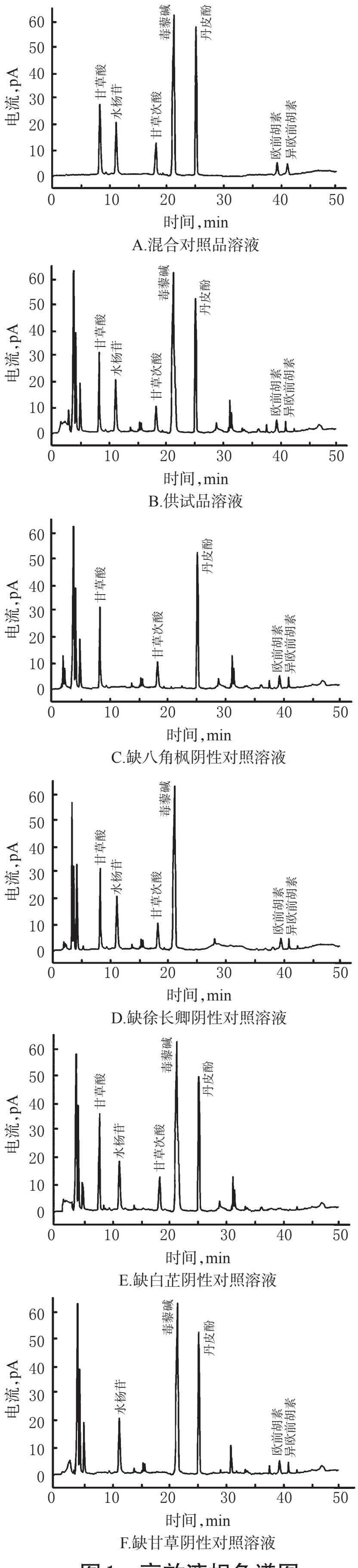


图1　高效液相色谱图

**Fig 1　HPLC chromatograms**

表1 线性关系考察结果($n$=6)

Tab 1 Results of linear relationship investigation($n$=6)

| 待测成分 | 回归方程 | $r$ | 线性范围,μg/mL |
|---|---|---|---|
| 甘草酸 | $y$=5.482$x$+2.581 | 0.999 3 | 0.42~16.80 |
| 水杨苷 | $y$=7.111$x$-2.134 | 0.999 4 | 0.28~11.20 |
| 甘草次酸 | $y$=6.148$x$+0.452 | 0.999 1 | 0.16~6.20 |
| 毒藜碱 | $y$=3.403$x$-0.177 | 0.999 4 | 0.98~39.40 |
| 丹皮酚 | $y$=3.488$x$+0.162 | 0.999 4 | 1.02~41.00 |
| 欧前胡素 | $y$=5.813$x$-0.873 | 0.999 1 | 0.11~4.40 |
| 异欧前胡素 | $y$=5.689$x$-0.287 | 0.999 1 | 0.10~3.80 |

水杨苷、甘草次酸、毒藜碱、丹皮酚、欧前胡素及异欧前胡素峰面积的RSD分别为1.52%、1.11%、1.33%、0.82%、0.91%、1.58%、1.19%($n$=6),表明仪器精密度良好。

### 2.7 稳定性试验

取“2.2.2”项下供试品溶液(批号:20170602)适量,分别于室温下放置0、2、4、6、12、24、48 h时按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果,甘草酸、水杨苷、甘草次酸、毒藜碱、丹皮酚、欧前胡素及异欧前胡素峰面积的RSD分别为0.92%、1.48%、1.32%、1.34%、1.21%、1.62%、1.78%($n$=7),表明供试品溶液在室温下放置48 h内稳定性良好。

### 2.8 重复性试验

精密称取样品(批号:20170602)适量,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,共6份,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算样品含量。结果,甘草酸、水杨苷、甘草次酸、毒藜碱、丹皮酚、欧前胡素及异欧前胡素含量的平均值分别为0.46、0.31、0.16、1.08、1.14、0.12、0.10 mg/片,RSD分别为1.39%、1.02%、1.32%、1.21%、1.09%、1.63%、1.74%($n$=6),表明本方法重复性良好。

### 2.9 加样回收试验

取样品(批号:20170602)适量,共6份,每份约0.2 g,精密称定,置于50 mL量瓶中,加入甘草酸、水杨苷、甘草次酸、毒藜碱、丹皮酚、欧前胡素及异欧前胡素对照品适量,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算回收率,结果见表2。

### 2.10 样品含量测定

取9批样品各10片,除去糖衣,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算样品含量,结果见表3。

## 3 讨论

### 3.1 检测器的选择

取各成分对照品溶液采用DAD进样并进行全波长扫描发现,甘草酸与甘草次酸的最大吸收波长均为250 nm,水杨苷、毒藜碱、丹皮酚最大吸收波长分别为269、

表2 加样回收试验结果($n$=6)

Tab 2 Results of recovery tests($n$=6)

| 待测成分 | 取样量,mg | 样品含量,mg | 加入量,mg | 测得量,mg | 回收率,% | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | 计算值 | 平均值 | RSD |
| 甘草酸 | 199.69 | 0.415 | 0.410 | 0.820 | 98.78 | 99.76 | 1.34 |
| | 199.58 | 0.415 | 0.410 | 0.832 | 101.71 | | |
| | 200.35 | 0.416 | 0.410 | 0.829 | 100.73 | | |
| | 199.95 | 0.415 | 0.410 | 0.819 | 98.54 | | |
| | 201.18 | 0.418 | 0.410 | 0.829 | 100.24 | | |
| | 201.29 | 0.418 | 0.410 | 0.822 | 98.54 | | |
| 水杨苷 | 199.69 | 0.280 | 0.275 | 0.552 | 98.91 | 98.61 | 1.35 |
| | 199.58 | 0.279 | 0.275 | 0.557 | 101.09 | | |
| | 200.35 | 0.281 | 0.275 | 0.550 | 97.82 | | |
| | 199.95 | 0.280 | 0.275 | 0.548 | 97.45 | | |
| | 201.18 | 0.282 | 0.275 | 0.551 | 97.82 | | |
| | 201.29 | 0.282 | 0.275 | 0.553 | 98.55 | | |
| 甘草次酸 | 199.69 | 0.144 | 0.155 | 0.296 | 98.06 | 99.46 | 1.39 |
| | 199.58 | 0.144 | 0.155 | 0.299 | 100.00 | | |
| | 200.35 | 0.145 | 0.155 | 0.298 | 98.71 | | |
| | 199.95 | 0.144 | 0.155 | 0.302 | 101.94 | | |
| | 201.18 | 0.145 | 0.155 | 0.299 | 99.35 | | |
| | 201.29 | 0.145 | 0.155 | 0.298 | 98.74 | | |
| 毒藜碱 | 199.69 | 0.974 | 0.922 | 1.891 | 99.46 | 98.86 | 1.39 |
| | 199.58 | 0.974 | 0.922 | 1.880 | 98.26 | | |
| | 200.35 | 0.977 | 0.922 | 1.881 | 98.05 | | |
| | 199.95 | 0.975 | 0.922 | 1.909 | 101.30 | | |
| | 201.18 | 0.981 | 0.922 | 1.879 | 97.40 | | |
| | 201.29 | 0.982 | 0.922 | 1.892 | 98.70 | | |
| 丹皮酚 | 199.69 | 1.028 | 1.063 | 2.091 | 100.00 | 99.12 | 1.11 |
| | 199.58 | 1.028 | 1.063 | 2.099 | 100.75 | | |
| | 200.35 | 1.032 | 1.063 | 2.081 | 98.68 | | |
| | 199.95 | 1.030 | 1.063 | 2.072 | 98.02 | | |
| | 201.18 | 1.036 | 1.063 | 2.078 | 98.02 | | |
| | 201.29 | 1.036 | 1.063 | 2.091 | 99.25 | | |
| 欧前胡素 | 199.69 | 0.108 | 0.117 | 0.223 | 98.29 | 98.86 | 1.51 |
| | 199.58 | 0.108 | 0.117 | 0.227 | 101.71 | | |
| | 200.35 | 0.109 | 0.117 | 0.224 | 98.29 | | |
| | 199.95 | 0.108 | 0.117 | 0.223 | 98.29 | | |
| | 201.18 | 0.109 | 0.117 | 0.225 | 99.15 | | |
| | 201.29 | 0.109 | 0.117 | 0.223 | 97.44 | | |
| 异欧前胡素 | 199.69 | 0.090 | 0.103 | 0.193 | 100.00 | 99.35 | 1.47 |
| | 199.58 | 0.090 | 0.103 | 0.195 | 101.94 | | |
| | 200.35 | 0.090 | 0.103 | 0.192 | 99.03 | | |
| | 199.95 | 0.090 | 0.103 | 0.191 | 98.06 | | |
| | 201.18 | 0.091 | 0.103 | 0.192 | 98.06 | | |
| | 201.29 | 0.091 | 0.103 | 0.193 | 99.03 | | |

259、274 nm,而欧前胡素、异欧前胡素分别在248、301 nm波长处有最大吸收,将以上各波长下样品的DAD图谱与CAD图谱进行比较发现,CAD获得的色谱峰个数显著多于DAD,且灵敏度高、基线更平稳,故选择CAD进行各成分的含量测定。

### 3.2 流动相的选择

2015年版《中国药典》(一部)[1]风湿定片的含量测定是以水-乙腈等度洗脱,但在实际应用中发现,除丹皮酚外,其他6种成分在该条件下均难以实现基线分离,且峰形拖尾。参考文献[7-9],本试验考察了甲醇-三乙胺、甲醇-纯水及乙腈-甲酸等流动相系统,均难以实现7种成

表3　样品含量测定结果(*n*=3)

Tab 3　Results of content determination of samples (*n*=3)

| 批号 | 平均片质量,g | 含量,mg/片 | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 甘草酸 | 水杨苷 | 甘草次酸 | 毒藜碱 | 丹皮酚 | 欧前胡素 | 异欧前胡素 |
| 20170602 | 0.221 4 | 0.46 | 0.31 | 0.16 | 1.08 | 1.14 | 0.12 | 0.10 |
| 20170712 | 0.220 3 | 0.49 | 0.32 | 0.18 | 1.20 | 1.30 | 0.13 | 0.12 |
| 20170923 | 0.221 3 | 0.40 | 0.33 | 0.13 | 1.14 | 1.25 | 0.14 | 0.09 |
| 20180310 | 0.221 7 | 0.39 | 0.29 | 0.14 | 0.96 | 1.11 | 0.11 | 0.08 |
| 20180325 | 0.219 3 | 0.38 | 0.29 | 0.15 | 0.93 | 1.31 | 0.15 | 0.12 |
| 20180516 | 0.219 1 | 0.47 | 0.35 | 0.18 | 1.18 | 1.41 | 0.14 | 0.09 |
| 20171109 | 0.222 0 | 0.42 | 0.31 | 0.15 | 1.18 | 1.19 | 0.09 | / |
| 20171222 | 0.219 4 | 0.49 | 0.35 | 0.13 | 0.91 | 1.09 | 0.09 | / |
| 20180320 | 0.221 5 | 0.50 | 0.34 | 0.14 | 1.01 | 1.32 | 0.13 | 0.09 |

注:"/"表示未检出

Note:"/" not detected

分的基线分离,继而本试验对甲醇-10 mmol/L甲酸铵、乙腈-10 mmol/L甲酸铵、甲醇-10 mmol/L乙酸铵以及乙腈-10 mmol/L乙酸铵等流动相体系进行考察。结果,乙腈-10 mmol/L甲酸铵系统下各成分分离度较佳。本试验还考察了采用甲酸分别调节pH值至3.0、3.5、4.0、4.5、5.0及5.5,结果pH值为4.5时基线平稳,各色谱峰对称度及理论板数均为最佳,故选择乙腈-10 mmol/L甲酸铵(甲酸调pH至4.5)为流动相。

### 3.3　色谱柱的选择

文献[7-9]均采用Diamonsil $C_{18}$为色谱柱进行分析,结果均发现该色谱柱条件下水杨苷峰形拖尾,且欧前胡素与异欧前胡素无法实现基线分离,在多种流动相系统中均难以改善。鉴于此,本试验也对Waters XBridge $C_{18}$、Agilent ZORBAX Eclipse XDB $C_{18}$以及Thermo Hypersil BDS $C_{18}$等不同色谱柱进行考察比较,结果显示Thermo Hypersil BDS $C_{18}$色谱柱可以满足检测要求。

### 3.4　供试品制备方法的选择

本试验考察了体积分数为60%、70%、80%及纯甲醇4种提取溶剂对各成分的提取效果,结果显示,70%甲醇对风湿定片中7种成分的提取效果最佳。本试验还考察了30、40、50 min等不同超声处理时间以及40、45、50 ℃等不同超声加热温度对待测成分提取的影响,结果45 ℃超声40 min即可将7种待测成分提取完全,故选择70%甲醇45 ℃超声40 min为供试品制备方法,且本方法较2015年版《中国药典》(一部)[1]及文献[7,9]提取更加完全,且操作简便易行。

### 3.5　含量测定结果分析

结果显示,丹皮酚含量均符合2015年版《中国药典》(一部)标准(1.0 mg/片)[1]。与文献[7-9]的检测结果比较,甘草酸含量与文献报道基本一致,毒藜碱含量略有降低,丹皮酚及欧前胡素含量比文献有所升高。除异欧前胡素外,两个不同厂家样品中的其他6种成分含量无显著差异,同一厂家不同批次样品亦无明显的批间差异;本品中异欧前胡素含量相对较低,在本品的制剂工艺中[1],未对白芷进行提取,而直接以细粉与其他药材的提取浓缩液混合制粒压片,可能由于原药材质量批间差异且本试验超声提取不充分而导致部分批次样品中异欧前胡素未检出。

本试验建立了HPLC-CAD法同时测定风湿定片中甘草酸、水杨苷、甘草次酸、毒藜碱、丹皮酚、欧前胡素及异欧前胡素的含量,该方法简便、准确、重现性好,为风湿定片的质量研究提供了更加全面的方法。后续试验中将采用所建立的方法对更多厂家样品进行分析检测与数据积累,以期形成更加准确、完善的风湿定片质量标准。

## 参考文献


[1] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S]. 2015年版.北京:中国医药科技出版社,2015:686-687.

[2] 王其勇,许亚玲. HPLC法测定八角枫药材不同药用部位中L(-)-八角枫碱的含量[J].中国药房,2016,27(27):3877-3879.

[3] AKAO T,YOSHINO T,KOBASHI K,et al. Evaluation of salicin as an antipyretic prodrug that does not cause gastric injury[J]. *Planta Med*,2002,68(8):714-718.

[4] 金贤兰.徐长卿药理作用及临床应用研究进展[J].现代医药卫生,2010,26(19):2947-2948.

[5] 朱艺欣,李宝莉,马宏胜,等.白芷的有效成分提取、药理作用及临床应用研究进展[J].中国医药导报,2014,11(31):159-162、166.

[6] 高雪岩,王文全,魏胜利,等.甘草及其活性成分的药理活性研究进展[J].中国中药杂志,2009,34(21):2695-2700.

[7] 梁从庆,李书渊,房志坚. HPLC法测定风湿定片中毒藜碱的含量[J].中药新药与临床药理,2004,15(4):268-270.

[8] 叶伟峰,姚建标.高效液相色谱法测定风湿定片中丹皮酚的含量[J].儿科药学杂志,2008,14(2):41-43.

[9] 曾上敏,秦斯民,曹华玲. HPLC法同时测定风湿定片中甘草酸和欧前胡素的含量[J].山东化工,2017,46(11):98-100、103.

[10] 刘路,高旋,杨永健. HPLC-电雾式检测器的应用[J].中国医药工业杂志,2012,43(3):227-231.


(收稿日期:2018-08-17　修回日期:2018-09-27)

(编辑:余庆华)