

## RP-HPLC 法同时测定颐脑解郁颗粒中栀子苷和五味子醇甲

赵卫云<sup>1\*</sup>, 孙耀志<sup>2</sup>, 高松<sup>2</sup>, 杨玲<sup>1</sup>, 王瑞娜<sup>1</sup>, 冯德文<sup>1</sup>

<sup>1</sup>河南中医学院药学院; <sup>2</sup>河南省宛西制药股份有限公司研发部, 郑州 450000

**摘要:** 本实验建立了颐脑解郁颗粒中栀子苷和五味子醇甲的高效液相色谱测定方法。实验中采用 Eclipse XDB-C<sub>18</sub> 色谱柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 流动相甲醇-水, 梯度洗脱, 体积流量 1.0 mL/min, 柱温 25 °C, 检测波长 0~20 min 为 238 nm, 20~40 min 为 250 nm。结果表明栀子苷在 0.2864~2.8640 μg 范围内线性关系良好,  $r = 0.9997$ , 平均回收率为 98.82%, RSD 为 1.53%; 五味子醇甲在 0.1062~1.0620 μg 范围内线性关系良好,  $r = 0.9999$ , 平均回收率为 99.23%, RSD 为 2.29%; 3 批样品中栀子苷的平均含量为 8.53 mg/g, 五味子醇甲的平均含量为 2.82 mg/g。该方法简便准确, 专属性强, 重复性好, 可有效控制颐脑解郁颗粒的质量。

**关键词:** 高效液相色谱法; 颐脑解郁颗粒; 栀子苷; 五味子醇甲

中图分类号: R917

文献标识码: A

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2015.07.017

## Simultaneous Determination of Jasminoidin and Schisandrae in Yinao Jieyu Granules by RP-HPLC

ZHAO Wei-yun<sup>1\*</sup>, SUN Yao-zhi<sup>2</sup>, GAO Song<sup>2</sup>, YANG Ling<sup>1</sup>, WANG Rui-na<sup>1</sup>, FENG De-wen<sup>1</sup>

<sup>1</sup>College of Pharmacy, Henan University of Traditional Chinese Medicine; <sup>2</sup>The research and development department, Henan Wan-xi Pharmaceutical Company Limited, Zhengzhou 450000, China

**Abstract:** This experiment was aimed to establish a RP-HPLC method for determining the contents of jasminoidin and schisandrae in Yinao Jieyu Granules. The experiment was carried out on an Eclipse XDB-C<sub>18</sub> column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) with gradient elution using methanol-water as mobile phases. The flow rate was 1.0 mL/min and the column oven temperature was set at 25 °C. The detection wavelength was 238 nm (0-20 min) and 250 nm (20-40 min). The experimental result indicated that the linear range of jasminoidin was 0.2864-2.8640 μg ( $r = 0.9997$ ), the average recovery was 98.82% and RSD was 1.53% ( $n = 6$ ); The linear range of schisandrae was 0.1062-1.0620 μg ( $r = 0.9999$ ), the average recovery was 99.23% and RSD was 2.29% ( $n = 6$ ). The average contents of jasminoidin and schisandrae in 3 batches of samples were 8.53 mg/g and 2.82mg/g, respectively. The developed RP-HPLC method was simple, accurate, specific and reproducible. It can be used to control the quality of Yinao Jieyu Granules effectively.

**Key words:** HPLC; Yinao Jieyu Granules; jasminoidin; schisandrae

颐脑解郁颗粒来源于北京中医药大学第三附属医院唐启盛教授的验方, 本方由栀子、五味子、郁金、刺五加四味中药组成。具有益肾调气、解郁安神的作用, 在临床上常用于肾精不足, 肝气郁滞所致抑郁症者。方中栀子对中枢神经系统具有镇痛镇静的作用<sup>[1]</sup>, 环烯醚萜类化合物是栀子中的主要活性成分, 其所含的栀子苷可作为本颗粒质量控制的指标成分。五味子中含有的多种木脂素成分被认为是五

味子中最主要的药理活性成分, 其所含的五味子醇甲具有广泛的中枢抑制作用和神经保护作用<sup>[2,3]</sup>。采用 HPLC 法单独测定栀子苷、五味子醇甲的文献已有报道<sup>[4-8]</sup>, 但在同一色谱条件下实现这 2 种组分同时测定的方法尚未见报道。本实验采用梯度洗脱, 可一次进样同时检测上述 2 种成分, 检测效率高, 且精密度、稳定性等方法学考察均符合要求, 可为颐脑解郁颗粒质量标准的制定提供可靠的依据。

## 1 仪器与试剂

### 1.1 仪器

Agilent 1200 型高效液相色谱仪(美国安捷伦公

收稿日期: 2014-08-07 接受日期: 2014-11-19

基金项目: 国家“重大新药创制”科技重大专项(2014ZX09301307-012)

\* 通讯作者 Tel: 86-015038050476; E-mail: zwyzmhk@126.com

司);AL104 电子天平和 MS105 电子天平(梅特勒-托利多仪器上海有限公司);超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

## 1.2 试剂

栀子苷对照品(批号:0749-200007)、五味子醇甲对照品(批号:110857-201211),均购自中国食品药品检定研究院;颐脑解郁颗粒(批号:20130301、20130401、20130501)为宛西制药研发部自制;甲醇为色谱纯,水为超纯水,其他试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

Eclipse XDB-C<sub>18</sub> 色谱柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm),流动相甲醇(A)-水(B),梯度洗脱(0~12 min,30% A;12~20 min,30%~60% A;20~40 min 60% A),体积流量 1.0 mL/min,柱温 25 °C,检测波长为 238 nm(0~20 min),250 nm(20~40 min)。

### 2.2 溶液的配制

#### 2.2.1 对照品溶液的制备

精密称取栀子苷与五味子醇甲对照品适量,置

于容量瓶中,加甲醇溶解并定容至刻度,摇匀配置 1 mL 含栀子苷 0.1432 mg、五味子醇甲 0.0513 mg 的混合对照品溶液。

#### 2.2.2 供试品溶液的制备

取本品研细,取约 1.0 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入甲醇 50 mL,称定重量,超声处理 30 min,放冷,再称定重量,用甲醇补足减失的重量,摇匀,用 0.45 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液,即得。

#### 2.2.3 阴性对照溶液的制备

按颐脑解郁颗粒的处方比例和制备工艺,分别制备缺栀子和缺五味子的阴性制剂,按 2.2.2 项供试品溶液的制备方法制备阴性对照溶液。

### 2.3 方法学考察

#### 2.3.1 专属性试验

分别精密吸取混合对照品溶液、供试品溶液和阴性对照溶液各 10 μL,按 2.1 项下色谱条件进行测定。阴性对照色谱图中,在与供试品及对照品色谱图中相应的保留时间处无色谱峰出现,表明阴性对照无干扰。见图 1。

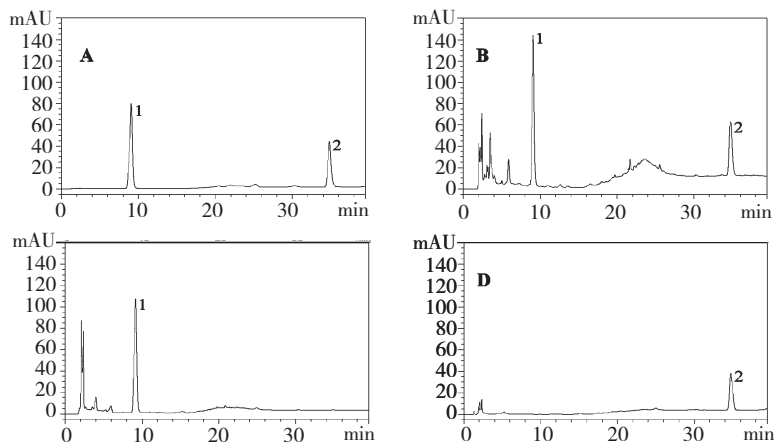


图 1 混合对照品(A)、颐脑解郁颗粒供试品(B)、缺五味子阴性样品(C)及缺栀子阴性样品(D)的 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of mixed standards (A), Yiniao Jieyu Granules (B), negative sample without Schisandrae Fructus (C) and negative sample without Gardeniae Fructus (D)

注:1. 栀子苷;2. 五味子醇甲

Note: 1. jasminoidin; 2. schisandrae

#### 2.3.2 线性关系考察

分别精密吸取 2.2.1 项下混合对照品溶液 2、4、6、8、12、16、20 μL,依次进样,按照 2.1 项下色谱条件测定峰面积。以对照品的进样量(μg)为横坐标,峰面积为纵坐标,进行线性回归,得回归方程:栀子苷  $Y = 1469.71X + 74.39$ ;相关系数  $r = 0.9997$ 。

表明栀子苷的含量在 0.2864 ~ 2.8640 μg 之间,进样量与峰面积呈良好的线性关系。五味子醇甲  $Y = 2077.52X + 7.21$ ;相关系数  $r = 0.9999$ 。表明五味子醇甲的含量在 0.1062 ~ 1.0620 μg 之间,进样量与峰面积呈良好的线性关系。

### 2.3.3 精密度试验

精密吸取混合对照品溶液 10  $\mu\text{L}$ ,按上述色谱条件连续进样 6 次,栀子苷、五味子醇甲峰面积 RSD 分别为 1.16%、1.35%。

### 2.3.4 稳定性试验

取同一供试品溶液,按 2.1 项下色谱条件分别于 0、2、4、6、8、12 h 进样 10  $\mu\text{L}$ ,测定峰面积,栀子苷、五味子醇甲峰面积 RSD 分别为 1.64%、1.82%。表明供试品溶液在 12 h 内稳定。

### 2.3.5 重复性试验

取同一批样品,按 2.2.2 项供试品溶液的制备方法平行制备 6 份供试品溶液,按上述色谱条件进

样 10  $\mu\text{L}$ ,测定栀子苷、五味子醇甲的峰面积,计算得栀子苷的平均质量分数为 8.50 mg/g, RSD 为 1.36%,五味子醇甲的平均质量分数为 2.84 mg/g, RSD 为 1.62%。表明本实验方法重复性良好。

### 2.3.6 加样回收率试验

称取已知含有量的样品 0.5 g,平行 6 份,精密称定,分别精密加入栀子苷和五味子醇甲混合对照品溶液(含栀子苷 0.4242 mg/mL 和五味子醇甲 0.1401 mg/mL)10 mL,按 2.2.2 项供试品溶液的制备方法制备供试品溶液,按上述色谱条件进样 10  $\mu\text{L}$ ,测定峰面积,计算回收率,结果见表 1。

表 1 加样回收率试验结果( $n=6$ )

Table 1 Results of recovery tests ( $n=6$ )

成分 Component	样品含量 Original amount(mg)	加入量 Spiked amount(mg)	测得量 Detected amount(mg)	回收率 Recovery(%)	平均回收率 Average recovery (RSD/%)
栀子苷 Jasminoidin	4.2628	4.2420	8.4023	97.58	98.82 (1.53)
	4.2483	4.2420	8.4215	98.38	
	4.2679	4.2420	8.5601	101.18	
	4.2806	4.2420	8.5107	99.72	
	4.2407	4.2420	8.3562	97.02	
	4.2313	4.2420	8.4329	99.05	
五味子醇甲 Schisandrae	1.4243	1.4010	2.8102	98.92	99.23 (2.29)
	1.4194	1.4010	2.7594	95.65	
	1.4260	1.4010	2.8015	98.18	
	1.4302	1.4010	2.8607	102.11	
	1.4169	1.4010	2.8105	99.47	
	1.4138	1.4010	2.8298	101.07	

## 2.4 样品测定

取 3 批样品,分别按 2.2.2 项下方法制备样品

溶液,照 2.1 项下条件测定,计算供试品中栀子苷和五味子醇甲的含量,结果见表 2。

表 2 样品测定结果( $n=3$ )

Table 2 Contents of jasminoidin and schisandrae detected in 3 batches of samples ( $n=3$ )

批号 Batch No.	栀子苷 Jasminoidin(mg/g)	RSD (%)	五味子醇甲 Schisandrae(mg/g)	RSD (%)
20130301	8.47	1.17	2.87	1.89
20130401	8.52	1.42	2.81	1.36
20130501	8.59	1.77	2.79	1.25

## 3 讨论

### 3.1 测定波长的选择

颞脑解郁颗粒中栀子苷和五味子醇甲这 2 种指标成分的最大吸收波长不同,通过紫外全波长扫描

的光谱图可知,栀子苷在 238 nm 处有最大吸收,五味子醇甲在 250 nm 处有最大吸收。试验中曾考察用同一个波长测定这两个指标成分,发现分离效果不是很好,故选择双波长法,使这两个指标成分在各自最大吸收波长下测定,以获得最佳的检测效果。

### 3.2 流动相的选择

本实验考察了不同溶剂系统,如乙腈-水、甲醇-水对色谱峰分离效果的影响。结果表明以不同比例的乙腈-水为流动相的分离效果不是很理想,以甲醇-水进行梯度洗脱,可将待测组分完全分离,缩短分析时间。故选择甲醇-水作为流动相。

### 3.3 提取条件的选择

试验过程中对供试品溶液的处理方法进行了考察,首先采用超声提取和回流提取这两种方法进行考察。结果表明:两种提取方法的提取效率比较接近,但超声提取方法操作简便、快捷,故本实验确定以超声处理作为提取方法。又分别采用甲醇、乙醇、水这三种不同的溶剂超声提取,并对不同提取时间进行比较试验,实验中将样品分别超声 20、30、40 min 后测定栀子苷和五味子醇甲的含量。结果表明,用甲醇作溶剂,超声 30 min 处理样品为最佳,可使样品中的栀子苷和五味子醇甲提取完全。

### 参考文献

- Li BH (李葆华). The Research Situation of Jasmine. *Lishizhen Med Mater Med Res* (时珍国医国药), 2004, 15: 370-371.
- Li HT (李海涛), Hu G (胡刚). Study on the protective
- Wang ZH (王忠壮), Hu JH (胡晋红). Modern Chinese Materia Medica (现代中药学). Shanghai: The Second Military Medical University Press, 2006. 357.
- Huang YF (黄远芬), Li BB (李蓓蓓), Luo XS (罗青山). Pharmacological research progress of *Polygonum cuspidatum* and its effective ingredients. *Guangdong Pharmacol J* (广东药学), 2000, 10(6): 13-15.
- Huang JW (黄家为), Sheng ZH (盛振华). Study on extraction of berberine from *Coptidis Rhizoma*. *Chin Arch Tradit Chin Med* (中华中医药刊), 2011, 29: 528-530.
- Shi JY (石俊英), Zhang XW (张小伟), Zhang HM (张会敏). Orthogonal test for optimization of extraction and purification process for baicalin. *J Shandong Univ TCM* (山东中医药大学学报), 2008, 32: 413-415.
- Xiang HY (向海艳), Zhou CS (周春山), Zhong SA (钟世安). Extraction process of resveratrol from *Polygonum cuspidatum*. *J Chet South Univ, Sci Technol* (中南大学学报, 自科

effects of schizandrin on 6-OHDA-induced apoptosis of cultured PC 12 cells. *J Nanjing Univ TCM* (南京中医药大学学报), 2004, 20(2): 96-98.

- Gao Y (高雁), Li TL (李廷利). The research progress in pharmacological action of effective components of schisandra. *J Chin Med Pharm* (中医药学报), 2011, 39: 104-106.
- Chinese Pharmacopoeia Commission (国家药典委员会). Pharmacopoeia of the People's Republic of China (中华人民共和国药典). Beijing: China Medical Science Press, 2010. Vol I, 61.
- Bi XY (笔雪艳), Liu XF (刘晓凤), Hu P (胡畔), et al. Determination of cholic acid and geniposide in Qingkailing tablets by HPLC. *Lishizhen Med Mater Med Res* (时珍国医国药), 2012, 23: 663-665.
- Fang F (房方), Wang XW (王晓卫), Zhang ZL (张振凌). Content determination of geniposid in Shutong plaster. *J Nanjing Univ TCM* (南京中医药大学学报), 2004, 20: 371-372.
- Long HY (龙海燕), Li WL (李文莉). HPLC determination of schizandrin in compound Yiganling capsules. *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志), 2010, 30: 282-284.
- Zheng ZH (郑志宏), Su YB (苏彦斌), Zhang FR (张凤荣). Quality standard for Anshen Wendan Pill. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 2009, 31: 1219-1223.
- Liu D (刘丹), Tang HF (汤海峰), Zhang SQ (张三奇), et al. The optimization of extraction process for effective ingredients in *Polygonum cuspidatum*. *Chin Tradit Patent Med* (中成药), 2007, 29: 516-521.
- Shi GF (史高峰), Zhang XQ (张兴潜), Zhu JJ (祝娟娟), et al. The optimized extraction technology of total flavonoids from *Radix Scutellariae*. *Appl Chem Ind* (应用化学), 2011, 40: 1973-1975.
- Wang K (汪坤), Zhang ZL (张振凌), Jia XM (贾秀梅). Optimization of extraction technology of *Coptidis Rhizoma* with multi-components quantitation by one marker. *Chin J Exp Tradit Med Form* (中国实验方剂杂志), 2011, 17(24): 9-11.
- Peng LC (彭练慈), Yin ZQ (殷中琼), Jia RY (贾仁勇), et al. Effects of twenty traditional Chinese medicine extracts against *Streptococcus agalactiae* in vitro. *J South China Agric Univ* (华南农业大学学报), 2014, 35(4): 22-25.

(上接第 1279 页)