

HPLC 法测定津蓟中风 I 号颗粒中梓醇和五味子醇甲

张学明¹, 戴学文², 王姿婧², 刘青², 房志仲^{2*}

1. 天津市蓟县中医院 药剂科, 天津 301900

2. 天津医科大学 药学院 药剂学教研室, 天津市临床药物关键技术重点实验室, 天津 300070

摘要: **目的** 建立津蓟中风 I 号颗粒中梓醇和五味子醇甲的 HPLC 测定方法。**方法** 采用 HPLC 法分别对梓醇、五味子醇甲进行测定。梓醇的流动相为乙腈 - 0.1%磷酸 (1:99), 体积流量为 1.0 mL/min, 检测波长为 210 nm。五味子醇甲的流动相为甲醇 - 水 (75:25), 体积流量为 0.8 mL/min, 检测波长为 250 nm。**结果** 梓醇在 4.25~68.00 $\mu\text{g/mL}$ 与峰面积线性关系良好, 平均回收率为 100.22%, RSD 值为 1.05% ($n=9$)。五味子醇甲在 4.0~32.0 $\mu\text{g/mL}$ 与峰面积线性关系良好, 平均回收率为 100.49%, RSD 值为 1.25% ($n=9$)。**结论** 本法简便、准确性高、灵敏度高、专属性和重现性好, 可作为津蓟中风 I 号颗粒中梓醇和五味子醇甲的测定方法。

关键词: 津蓟中风 I 号颗粒; 梓醇; 五味子醇甲; 高效液相色谱

中图分类号: R286.02 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-5515(2014)04-0385-04

DOI:10.7501/j.issn.1674-5515.2014.04.014

Determination of catalpol and schisandrin in Jinji Zhongfeng No. 1 Granules by HPLC

ZHANG Xue-ming¹, DAI Xue-wen², WANG Zi-jing², LIU Qing², FANG Zhi-zhong²

1. Department of Pharmacy, Tianjin Jixian County Chinese Medicine Hospital, Tianjin 301900, China

2. Tianjin Key Laboratory on Technologies Enabling Development of Clinical Therapeutics and Diagnostics (Theranostics), Department of Pharmacy, College of Pharmacy, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China

Abstract: **Objective** To establish a method for the determination of schisandrin and catalpol in Jinji Zhongfeng No. 1 Granules. **Methods** Catalpol and schisandrin were determined by HPLC method, respectively. Catalpol was determined with acetonitrile - 0.1% phosphoric acid (1:99) as the mobile phase, the flow rate was 1.0 mL/min, and the detection wavelength was 210 nm. Schisandrin was determined by methanol - water (75:25) as the mobile phase, the flow rate was 0.8 mL/min, and the detection wavelength was 250 nm. **Results** The liner ranges of catalpol and schisandrin were 4.25 — 68.00 $\mu\text{g/mL}$ ($r=0.999\ 9$), 4.00 — 32.00 $\mu\text{g/mL}$ ($r=0.999\ 9$). The average recoveries were 100.22%, and 100.49%, with RSD values of 1.05%, and 1.25% ($n=9$), respectively. **Conclusion** The method is specific, accurate and reproducible, and can be used for the quality control of catalpol and schisandrin for Jinji Zhongfeng No. 1 Granules.

Key words: Jinji Zhongfeng No. 1 Granules; catalpol; schisandrin; HPLC

急症中风为临床常见病、多发病, 是威胁老年人健康, 导致死亡的主要疾病之一。我院临床医生根据临床治疗经验, 拟定了津蓟中风 I 号协定处方。本研究采用 HPLC 法对津蓟中风 I 号颗粒中梓醇和五味子醇甲进行定量分析, 目的为建立一个能够有效控制颗粒内在质量的方法, 以利于临床更广泛、更安全的使用。此方法简单快捷, 结果准确, 专属

性强, 为津蓟中风 I 号颗粒的质量控制提供依据。

1 仪器与材料

1.1 仪器

SP8810 高效液相色谱仪、SP8810 Precision Isocratic 输液泵 (美国 Spectra-physics 公司), UV 2000 检测器 (Thermo Separation 公司), KQ—100B 型超声波清洗器 (昆山市超声仪器有限公司),

收稿日期: 2013-11-01

作者简介: 张学明, 女, 副主任药师, 主要从事临床药学工作。E-mail: zxm_2010@163.com

*通信作者 房志仲, 男, 教授, 硕士生导师, 主要从事中西药物剂型和药效学研究。Tel: (022)83336659-801 E-mail: fangzhizhong@tjmu.edu.cn

ALC—210.4 电子分析天平（北京赛多利斯仪器系统有限公司），80—2B 台式离心机（上海安亭科学仪器厂）。

1.2 材料

梓醇（批号 110808-200508）、五味子醇甲（批号 110857-201010）对照品均由中国食品药品检定研究院提供；津蓟中风 I 号颗粒及阴性对照样品（天津医科大学药学院药剂学教研室自制，10 g/袋）；甲醇、乙腈（色谱纯，天津市康科德科技有限公司）；硅胶 GF254（分析纯，青岛海洋化工厂），其他试剂均为市售分析纯，重蒸水自制。

2 方法与结果

2.1 HPLC 法测定颗粒剂中梓醇

2.1.1 色谱条件^[1-4] Tianhe Kromasil C₁₈ 色谱柱（200 mm×4.6 mm，5 μm），流动相为乙腈—0.1% 磷酸（1：99），检测波长 210 nm，体积流量 1.0 mL/min，柱温室温，进样量 20 μL。理论板数以梓

醇计不低于 4 000，拖尾因子小于 1.5。

2.1.2 对照品溶液的制备 精密称取梓醇对照品 8.5 mg，置于 50 mL 量瓶中，用甲醇稀释至刻度，摇匀。再各精密移取 1 mL 该溶液于 10 mL 量瓶中，加甲醇至刻度，即得 17 μg/mL 梓醇对照品溶液。

2.1.3 供试品溶液的制备 精密称取津蓟中风 I 号颗粒粉末 1 g，用 10 mL 甲醇超声处理 10 min，2 000 r/min 离心 5 min，取上清液，置 10 mL 量瓶中，甲醇稀释至刻度，即得。

2.1.4 阴性对照溶液的制备 按处方比例制备不含生地的阴性样品，按照“2.1.2”项下方法制备阴性对照溶液。

2.1.5 系统适应性试验 精密量取梓醇对照品、津蓟中风 I 号颗粒和不含生地的阴性对照溶液各 20 μL，分别注入高效液相仪，结果见图 1。可见供试品在梓醇对照品相应的位置有吸收，而阴性对照无吸收，表明其他成分对梓醇的测定无干扰。

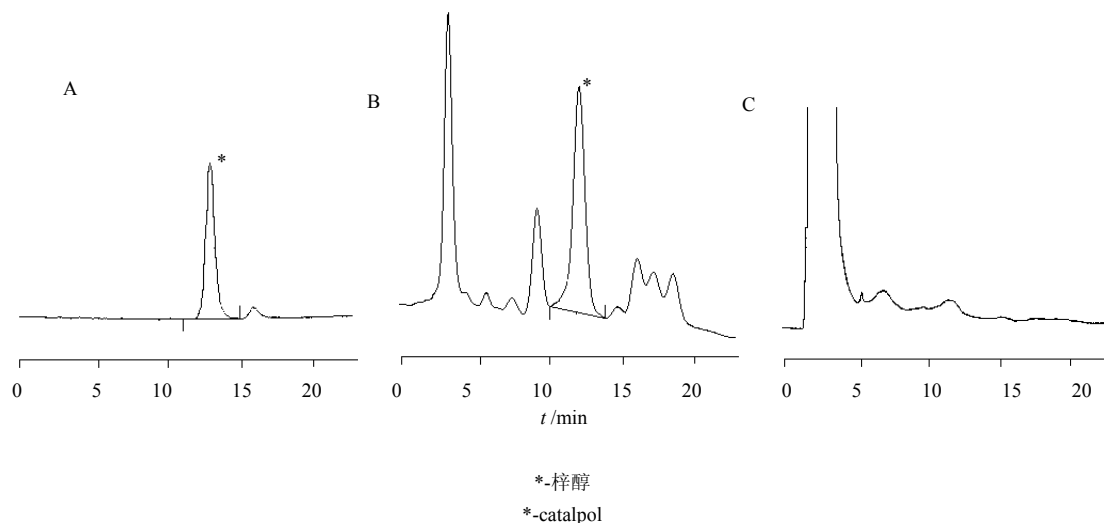


图 1 梓醇对照品 (A)、津蓟中风 I 号颗粒 (B) 和阴性对照 (C) 的 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of catalpol reference substance (A), Jinji Zhongfeng No. 1 Granules (B), and negative sample (C)

2.1.6 线性关系考察 分别精密吸取 17 μg/mL 梓醇对照品溶液 0.25、0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0、4.0 mL，置 10 mL 量瓶中，加甲醇稀释至刻度，摇匀，制得 4.25、8.5、17.0、25.5、34.0、42.5、51.0、68.0 μg/mL 系列对照品溶液，分别进样 20 μL，记录峰面积。以峰面积为纵坐标，质量浓度为横坐标进行线性回归，得回归方程 $Y=47\,235.9X-6\,389$ ， $r=0.999\,8$ ，结果表明梓醇在 4.25~68.0 μg/mL 线性关系良好。

2.1.7 精密度试验 分别精密吸取 17.0 μg/mL 梓醇

对照品溶液 20 μL，连续进样 6 次，计算其峰面积，结果梓醇峰面积的 RSD 值为 1.49%。

2.1.8 稳定性试验 取批号 20120427 样品适量，制备供试品溶液，分别在 0、3、6、9、12、24 h 内进行测定，计算得梓醇峰面积的 RSD 值为 0.45%，表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.1.9 重现性试验 取批号 20120427 样品 6 份，分别制备供试品溶液，依法测定，计算得样品中梓醇质量分数的 RSD 值为 1.79%。

2.1.10 加样回收试验 取批号 20120427 津蓟中风

I 号颗粒样品 9 份, 每份 1 g, 精密量取, 分别精密加入梓醇对照品 13.6、17.0、20.4 μg , 制备供试品溶液, 依法测定, 计算回收率。结果梓醇的平均回收率为 100.24%, RSD 值为 1.07%。

2.1.11 样品测定 取 3 批津蓟中风 I 号颗粒样品, 制备供试品溶液, 依法测定, 外标法计算, 结果见表 1。

表 1 津蓟中风 I 号颗粒中梓醇的测定结果 ($n=3$)
Table 1 Determination of catalpol in Jinji Zhongfeng No. 1 Granules ($n=3$)

批 号	梓醇/ $(\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1})$	RSD/%
20120405	15.97	1.78
20120417	15.49	1.55
20120427	15.71	1.70

2.2 HPLC 法测定颗粒剂中五味子醇甲

2.2.1 色谱条件^[5-7] Tianhe Kromasil C_{18} 色谱柱 (200 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm), 流动相为甲醇-水 (75:25), 检测波长 250 nm, 体积流量 0.8 mL/min, 柱温室温, 进样量 20 μL 。理论板数以五味子醇甲计

不低于 4 000, 拖尾因子小于 1.5。

2.2.2 对照品溶液的制备 精密称取五味子醇甲对照品 10 mg, 置于 50 mL 量瓶中, 用甲醇稀释并加至刻度, 摇匀。精密移取 1 mL 溶液于 10 mL 量瓶中, 用甲醇稀释并加至刻度, 即得 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 五味子醇甲对照品溶液。

2.2.3 供试品溶液的制备 精密称取津蓟中风 I 号颗粒粉末 1 g, 用约 10 mL 甲醇, 超声 10 min, 使颗粒溶解, 2 000 r/min 离心 5 min, 取上清液, 用甲醇稀释定容至 10 mL 量瓶中, 即得。

2.2.4 阴性对照溶液的制备 按处方比例制备不含五味子的阴性对照样品, 按照供“2.2.2”项下方法制备阴性对照溶液。

2.2.5 系统适应性试验 精密量取五味子醇甲对照品、津蓟中风 I 号颗粒供试品溶液和不含五味子的阴性对照溶液各 20 μL , 按照以上色谱条件分别注入高效液相色谱仪, 结果见图 2。可知供试品溶液在对照品溶液相应的位置有吸收, 而阴性对照在相应位置无吸收, 故颗粒剂中的其他成分对五味子醇甲的测定无干扰。

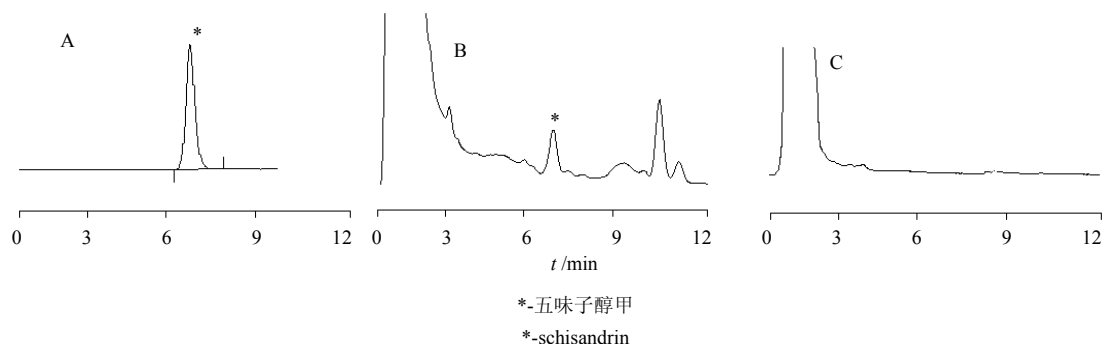


图 2 五味子醇甲对照品 (A)、津蓟中风 I 号颗粒 (B) 和阴性对照 (C) 的 HPLC 色谱图

Fig. 2 HPLC chromatograms of schisandrins reference substance (A), Jinji Zhongfeng No. 1 Granules (B), and negative sample (C)

2.2.6 线性关系考察 分别精密量取五味子醇甲对照品溶液 0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、1.4、1.6 mL, 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 即得 4.0、8.0、12.0、16.0、20、28、32 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 系列对照品溶液。分别进样 20 μL , 记录峰面积。以峰面积为纵坐标, 质量浓度为横坐标进行线性回归, 得五味子醇甲回归方程 $Y=54\,726X-5\,048.3$, $r=0.999\,9$, 表明五味子醇甲在 4.00~32.00 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 线性关系良好。

2.2.7 精密度试验 分别精密吸取 20.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 五味

子醇甲对照品溶液 20 μL 连续进样 6 次, 计算其峰面积, 结果其 RSD 值为 0.57%。

2.2.8 稳定性试验 取批号 20120427 样品制备供试品溶液, 分别在 0、3、6、9、12、24 h 进行测定, 计算得五味子醇甲峰面积的 RSD 值为 0.82%, 结果表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.2.9 重现性试验 取批号 20120427 样品 6 份, 分别制备供试品溶液, 依法测定, 计算得样品中五味子醇甲质量分数的 RSD 值为 1.41%。

2.2.10 加样回收试验 取批号 20120427 样品 9 份,

每份 1.0 g, 精密称定, 分别精密加入 40、48、56 μg 五味子醇甲对照品, 制备供试品溶液, 依法测定, 结果五味子醇甲平均回收率为 100.49%, RSD 为 0.60%。

2.2.11 样品测定 取 3 批津蓟中风 I 号颗粒制备供试品溶液, 依法测定, 外标法计算五味子醇甲的质量分数, 结果见表 2。结果表明, 3 批样品中五味子醇甲质量分数的 RSD 值均小于 2%, 符合要求。

表 2 津蓟中风 I 号颗粒中五味子醇甲的测定结果 ($n=3$)
Table 2 Determination of schisandrin in Jinji Zhongfeng No. 1 Granules ($n=3$)

批 号	五味子醇甲/ $(\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1})$	RSD/%
20120405	48.55	0.70
20120417	47.32	0.38
20120427	47.62	0.71

3 讨论

津蓟中风 1 号协定处方由生地、五味子、巴戟天、麦冬、远志、山萸肉、钩藤、肉苁蓉、肉桂、茯苓、石菖蒲、石斛和薄荷等中药组成。梓醇是生地的主要有效成分之一, 为不太稳定的环烯醚萜苷类化合物, 具有利尿、缓泻、降血糖、保肝等多种药理活性^[8-9]。五味子醇甲作为五味子中有效成分之一, 具有抗肝损害等广泛药理作用^[10]。

五味子醇甲的测定采用《中国药典》2010 年版一部记载的甲醇-水 (65:35) 作为流动相^[1], 结果对照品出峰时间约为 14 min, 但峰形较宽。调整为甲醇-水 (70:30), 结果对照品出峰时间为 9 min 左右, 但峰形仍较宽, 塔板数为 1 647。再次调整至甲醇-水 (75:25), 对照品出峰时间约为 8 min,

峰形较好, 塔板数为 4 198, 于是选择甲醇-水 (75:25) 为五味子醇甲测定的流动相。

为了减小对色谱柱的影响, 首先采用乙腈-水 (70:30) 为流动相^[4]测定梓醇, 结果图谱中无色谱峰出现, 因此参考《中国药典》2010 年版一部中记载以乙腈-0.1%磷酸溶液 (1:99) 为流动相^[1]。

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2010: 61-62, 115-116.
- [2] 邱建国, 张汝学, 贾正平, 等. HPLC 法测定地黄、不同提取物及熟地黄中的梓醇 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(1): 23-25.
- [3] 马运明, 郭建华, 田成旺, 等. HPLC 法测定鲜地黄中梓醇和桃叶珊瑚苷 [J]. 中草药, 2011, 42(7): 1348-1350.
- [4] 杨培民, 曹广尚. 高效液相色谱法测定地黄叶中梓醇的含量 [J]. 现代中药研究与实践, 2011, 25(1): 66-67.
- [5] 施祖勇, 谭 军. 高效液相色谱法测定复方益肝灵片中五味子醇甲、五味子醇乙和五味子甲素的含量 [J]. 中南药学, 2011, 9(4): 264-267.
- [6] 赵 玥, 王 冰. 辽宁凤城地区不同生长环境五味子 5 种木脂素成分含量测定 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(16): 64-66.
- [7] 古海锋, 张小茜, 郭洪祝. HPLC 法测定复方益肝灵片中五味子醇甲的含量 [J]. 药物分析杂志, 2009, 29 (2): 295-297.
- [8] 刘庆丰, 孙启祥, 胡雅儿, 等. 地黄中的梓醇对 β 肾上腺素受体 cAMP 系统的调节作用 [J]. 放射免疫学杂志, 2004, 17(5): 358-360.
- [9] 武丽南, 陆 榕, 刘昌孝, 等. 自动采样技术研究梓醇的药动学 [J]. 药物评价研究, 2012, 35(2): 99-102.
- [10] 张明华, 陈 虹, 李灵芝, 等. 五味子甲素和五味子醇甲对四氯化碳所致肝脏损伤的保护作用 [J]. 武警医学, 2002, 13(7): 395-396.