

## HPLC 法测定解郁安神颗粒中栀子苷、异阿魏酸、阿魏酸、甘草酸和柴胡皂苷 b<sub>2</sub>

刘小军, 刘匡一\*

南昌市第一医院, 江西 南昌 330008

**摘要:** 目的 采用 HPLC 法同时测定解郁安神颗粒中栀子苷、异阿魏酸、阿魏酸、甘草酸和柴胡皂苷 b<sub>2</sub>。方法 使用 Agilent Zorbax Eclipse XDB-C<sub>18</sub> 色谱柱 (150 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相 0.2% 磷酸水 - 乙腈, 梯度洗脱; 检测波长 238 nm; 体积流量 1 mL/min; 柱温 35 °C; 进样量 10 μL。结果 栀子苷、异阿魏酸、阿魏酸、甘草酸、柴胡皂苷 b<sub>2</sub> 的线性范围良好, 平均回收率分别为 105.33%、103.07%、101.36%、99.61%、100.00%, RSD 值分别为 0.69%、2.30%、2.44%、1.28%、1.28%。结论 检测结果准确, 检测范围较广, 适用于解郁安神颗粒的质量评价研究。

**关键词:** 解郁安神颗粒; 栀子苷; 异阿魏酸; 阿魏酸; 甘草酸; 柴胡皂苷 b<sub>2</sub>; 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(2025)02 - 0354 - 04

**DOI:** 10.7501/j.issn.1674-5515.2025.02.012

## Determination of geniposide, isoferulic acid, ferulic acid, glycyrrhetic acid, and saikosaponin b<sub>2</sub> in Jieyu Anshen Granules by HPLC

LIU Xiaojun, LIU Kuangyi

The First Hospital of Nanchang, Nanchang 330008, China

**Abstract: Objective** To adopt an HPLC method to simultaneously determine the contents of geniposide, isoferulic acid, ferulic acid, glycyrrhizic acid, and saikosaponin b<sub>2</sub> in Jieyu Anshen Granules. **Methods** Agilent Zorbax Eclipse XDB-C<sub>18</sub> chromatographic column (150 mm × 4.6 mm, 5 μm) was used. The mobile phase consisted of 0.2% phosphoric acid water and acetonitrile with gradient elution. Detection wavelength was 238 nm, flow rate was 1 mL/min, column temperature was 35 °C, and injection volume was 10 μL. **Results** Geniposide, isoferulic acid, ferulic acid, glycyrrhizic acid, and saikosaponin b<sub>2</sub> had good specificity, and their recovery rates were 105.33%, 103.07%, 101.36%, 99.61%, and 100.00%, with RSD values of 0.69%, 2.30%, 2.44%, 1.28%, and 1.28%, respectively. **Conclusion** The detection results of this experiment are accurate and have a wide detection range, which is suitable for the quality evaluation for Jieyu Anshen Granules.

**Key words:** Jieyu Anshen Granules; geniposide; isoferulic acid; ferulic acid; glycyrrhizic acid; saikosaponin b<sub>2</sub>; HPLC

目前精神疾病所造成的疾病人数在所有慢性疾病中愈发增多, 而中药抗失眠、抗焦虑、抗抑郁类疾病具有独特优势。解郁安神颗粒作为临床疗效确切的中药制剂, 由柴胡、大枣、石菖蒲、姜半夏、炒白术、浮小麦、制远志、炙甘草、炒栀子、百合、胆南星、郁金、龙齿、炒酸枣仁、茯苓、当归 16 味中药组成, 具有疏肝解郁、安神定志的功效<sup>[1-3]</sup>。解郁安神颗粒在《中国药典》2020 年版一部中仅对栀子苷进行了含量测定<sup>[4]</sup>, 相关文献也出现了采用

HPLC 法单独对栀子苷、甘草苷、甘草酸进行测定的报道<sup>[5-6]</sup>。药理学研究表明, 阿魏酸、异阿魏酸、甘草酸对海马神经元具有显著的保护作用<sup>[7-9]</sup>, 同时阿魏酸还能对星形胶质细胞的激活产生促进作用<sup>[9]</sup>; 亦有文献指出, 柴胡皂苷 b<sub>2</sub> 作为柴胡抗抑郁的主要活性成分, 可通过调节谷氨酸 - 谷氨酰胺循环的稳态发挥来产生神经保护作用, 同时通过调节酪氨酸的生物合成影响神经递质多巴胺 (DA) 的产生, 而 DA 与抑郁症的发生、发展密切相关<sup>[10-11]</sup>。

收稿日期: 2024-09-05

基金项目: 江西省中医药管理局科技计划项目 (2023B1357)

作者简介: 刘小军, 男, 主治医师, 硕士, 从事心血管疾病临床治疗研究。E-mail: 1151245476@qq.com

\*通信作者: 刘匡一, 男, 主管药师, 硕士, 从事药物分析研究。E-mail: narutokuang@163.com

本实验采用 HPLC 法对解郁安神颗粒中栀子苷、异阿魏酸、阿魏酸、甘草酸和柴胡皂苷  $b_2$  进行同时定量分析, 为该制剂的质量评价提供参考, 也为后期的药动学和效应物质研究提供数据支撑。

## 1 仪器与材料

Agilent 1260 高效液相色谱系统 (美国安捷伦科技有限公司); TC-16G 高速离心机 (上海安亭科学仪器厂); VORTEX-6 涡旋混合器 (海门市其林贝尔仪器制造有限公司); AL104 分析天平 (梅特勒-托利多仪器有限公司)。

甘草酸 (批号 B20417)、栀子苷 (批号 B21661)、异阿魏酸 (批号 B21512)、阿魏酸 (批号 B20007)、柴胡皂苷  $b_2$  (批号 B20148) 对照品, 质量分数均  $\geq 98.0\%$ , 皆购于上海源叶生物科技有限公司。甲醇 (色谱级)、乙腈 (色谱级) 均购于 Thermo Fisher 公司, 磷酸 (分析纯) 购置于天津市大茂化学厂。蒸馏水为屈臣氏蒸馏水。

解郁安神颗粒, 规格 2 g/袋, 神威药业集团有限公司生产, 批号 22021941、22041341、22112512。处方组成的中药材均购买于南昌市第一医院中药房, 经江西中医药大学宋永贵副教授鉴定。参照《中国药典》2020 年版一部中解郁安神颗粒的处方药材剂量和制备工艺分别制备缺柴胡、当归、甘草、栀子的阴性样品。

## 2 方法与结果

### 2.1 对照品溶液的制备

精密称定栀子苷、异阿魏酸、阿魏酸、甘草酸、柴胡皂苷  $b_2$  对照品适量, 70% 甲醇水溶液稀释, 分别配成 3 120.0、294.6、297.3、456.0、300.6  $\mu\text{g/mL}$

的对照品储备溶液; 各取 1 mL 各储备溶液置 10 mL 量瓶中, 70% 甲醇加至刻度, 摇匀, 混合, 配制含栀子苷、异阿魏酸、阿魏酸、甘草酸、柴胡皂苷  $b_2$  312.00、29.46、29.73、45.60、30.06  $\mu\text{g/mL}$  的混合对照品母溶液, 4  $^{\circ}\text{C}$  冷藏保存。

### 2.2 供试品溶液的制备

取解郁安神颗粒适量, 研碎, 精确称取 1 g 样品, 25 mL 70% 甲醇水溶液超声溶解, 称定质量, 超声 30 min 后, 70% 甲醇水溶液补足质量, 取适量超声提取液, 0.22  $\mu\text{m}$  微孔滤膜滤过, 16 000 r/min 转速下超高速离心 10 min, 取上清液, 即得。按照以上方法同法制备缺柴胡、当归、甘草、栀子的阴性样品溶液。

### 2.3 色谱条件

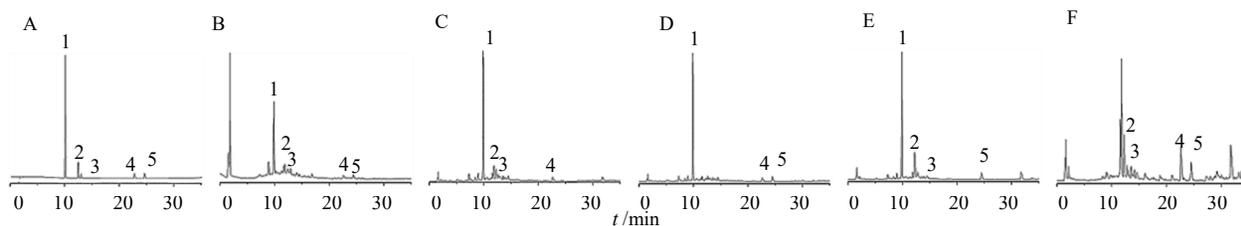
Agilent Zorbax Eclipse XDB-C<sub>18</sub> 色谱柱 (150 mm  $\times$  4.6 mm, 5  $\mu\text{m}$ ); 流动相 0.2% 磷酸水 (A) - 乙腈 (B), 梯度洗脱 (0~3 min, 维持 5% B; 3~10 min, 5%~25% B; 10~25 min, 25%~45% B; 25~35 min, 45%~90% B); 检测波长 238 nm<sup>[12-13]</sup>; 体积流量 1 mL/min; 柱温 35  $^{\circ}\text{C}$ ; 进样量 10  $\mu\text{L}$ 。

### 2.4 系统适应性试验

分别制备混合对照品、供试品溶液和阴性样品溶液, 进样分析, 得各待分析物色谱图, 结果显示, 在 35 min 内各化合物峰形良好且无干扰, 见图 1。

### 2.5 线性关系考察

精密吸取混合对照品母溶液 0.5、1、2、4、8、10 mL, 分别置于 10 mL 量瓶中, 70% 乙腈溶液稀释至刻度, 摇匀配制成 6 个质量浓度, 以各成分质量浓度对峰面积做线性回归, 结果见表 1。



1-栀子苷, 2-异阿魏酸, 3-阿魏酸, 4-甘草酸, 5-柴胡皂苷  $b_2$ 。

1-geniposide, 2-isoferulic acid, 3-ferulic acid, 4-glycyrrhetic acid, 5-saikosaponin  $b_2$ 。

图 1 混合对照品溶液 (A)、解郁安神颗粒供试品溶液 (B)、缺柴胡阴性溶液 (C)、缺当归阴性溶液 (D)、缺甘草阴性溶液 (E) 和缺栀子阴性溶液 (F) 的 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of mixed reference substance solution (A), Jieyu Anshen Granules solution (B), negative sample solution lacking *Radix Bupleuri* (C), negative sample solution lacking *Radix Angelicae Sinensis* (D), negative sample solution lacking *Radix Glycyrrhizae* (E), and negative sample solution lacking *Gardenia jasminoides Ellis* (F)

表 1 各成分线性关系

Table 1 Linear relationship of each component

成分	回归方程	$r^2$	线性范围/ $(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$
栀子苷	$Y=13.147\ 0\ X-2.625\ 0$	0.999 8	15.60~312.00
异阿魏酸	$Y=25.612\ 0\ X-2.100\ 0$	0.999 7	1.47~29.46
阿魏酸	$Y=7.269\ 6\ X+0.410\ 7$	0.999 9	1.49~29.73
甘草酸	$Y=7.754\ 9\ X-0.614\ 5$	0.999 9	2.28~45.60
柴胡皂苷 $b_2$	$Y=12.471\ 0\ X-0.410\ 7$	0.999 7	1.50~30.06

### 2.6 精密度试验

取混合对照品母溶液适量,连续进样 6 次,记录各成分的峰面积,结果显示,栀子苷、异阿魏酸、阿魏酸、甘草酸、柴胡皂苷  $b_2$  峰面积 RSD 值分别为 0.08%、0.85%、1.60%、0.18%、0.13%。

### 2.7 稳定性试验

取批号 22021941 解郁安神颗粒供试品溶液适量,分别于 0、2、4、8、12、24 h 测定峰面积,结果栀子苷、异阿魏酸、阿魏酸、甘草酸、柴胡皂苷  $b_2$  峰面积 RSD 值分别为 0.35%、0.87%、1.00%、0.57%、0.59%,表明样品溶液 24 h 内稳定性良好。

### 2.8 重复性试验

取批号 22021941 解郁安神颗粒样品 6 份,制备供试品溶液,进行峰面积测定,并计算质量分数,结果栀子苷、异阿魏酸、阿魏酸、甘草酸、柴胡皂苷  $b_2$  质量分数的 RSD 值分别为 0.30%、1.46%、1.36%、0.58%、0.64%。

### 2.9 回收率试验

取批号 22021941 解郁安神颗粒样品 0.5 g,平行 6 份,加入含栀子苷、异阿魏酸、阿魏酸、甘草酸、柴胡皂苷  $b_2$  2 808.00、83.38、297.30、456.00、255.51  $\mu\text{g}/\text{mL}$  对照品溶液 1 mL,制备供试品溶液,进样分析,计算回收率,结果显示栀子苷、异阿魏酸、阿魏酸、甘草酸、柴胡皂苷  $b_2$  平均回收率分别为 105.33%、103.07%、101.36%、99.61%、100.00%,RSD 值分别为 0.69%、2.30%、2.44%、1.28%、1.28%。

### 2.10 测定结果

取 3 批解郁安神颗粒样品(批号 22021941、22041341、22112512),制备供试品溶液,采用标准曲线法计算栀子苷、异阿魏酸、阿魏酸、甘草酸、柴胡皂苷  $b_2$  的质量分数,结果见表 2。结果表明,解郁安神颗粒中含栀子苷 11.8 mg/袋(每袋 2 g),大于《中国药典》2020 年版一部中要求的含栀子苷 6.0 mg/袋(每袋 2 g)。

表 2 解郁安神颗粒中栀子苷、异阿魏酸、阿魏酸、甘草酸、柴胡皂苷  $b_2$  的测定结果 ( $n=3$ )

Table 2 Determination of geniposide, isoferulic acid, ferulic acid, glycyrrhetic acid, and saikosaponin  $b_2$  in Jieyu Anshen Granules ( $n=3$ )

批号	质量分数/ $(\text{mg}\cdot\text{g}^{-1})$				
	栀子苷	异阿魏酸	阿魏酸	甘草酸	柴胡皂苷 $b_2$
20221941	5.907 9	0.183 7	0.610 7	0.914 9	0.508 8
22041341	5.929 7	0.183 4	0.593 5	0.908 4	0.512 6
22112512	5.946 7	0.183 0	0.597 0	0.918 2	0.508 2

## 3 讨论

从待测成分的选择上,除《中国药典》2020 年版一部要求的栀子苷外,实验又选择对异阿魏酸、阿魏酸、甘草酸、柴胡皂苷  $b_2$  同时进行测定分析,该 4 种成分除了具有显著神经保护作用外,皆是当归、甘草、柴胡药材质量标准中的待检测项。

实验前期过程中,对流动相、色谱柱进行了优

化。为满足多种化合物在同一色谱条件下能完成良好的色谱分离,对流动相进行了考察,分别进行了 0.1%甲酸-乙腈、0.1%磷酸-乙腈、0.2%磷酸-乙腈 3 种不同流动相进样分析,结果 0.2%磷酸-乙腈流动相色谱分离更好,峰强度较高,未出现峰拖尾、峰分叉等情况;对 5 种成分进行了 210~320 nm 波长的优化,结果显示吸收波长 238 nm 时,5 种化合

物均具有较大响应强度；提取溶剂方面，分别对 50% 甲醇、70% 甲醇、水进行超声 30 min 比较分析，结果 5 种成分在 70% 甲醇提取溶剂中强度最佳。

综上所述，本实验采用 HPLC 法对解郁安神颗粒中栀子苷、异阿魏酸、阿魏酸、甘草酸、柴胡皂苷 b<sub>2</sub> 5 种成分进行了测定，检测结果准确，检测范围较广，适用于解郁安神颗粒的质量评价研究，也为该制剂质量标准的优化提供参考。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

#### 参考文献

- [1] 林海, 惠博, 韩祖成, 等. 解郁颗粒治疗中轻度抑郁症的临床观察 [J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2019, 17(17): 2693-2696.
- [2] 邹龔, 杜源, 傅风华. 解郁安神颗粒对卒中后抑郁小鼠模型的抗抑郁作用 [J]. 医药导报, 2019, 38(1): 22-26.
- [3] 孙洁, 梁宝, 杨巍. 解郁安神颗粒联合常规西药治疗老年失眠伴抑郁症的临床研究 [J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2021, 19(4): 670-673.
- [4] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 1807.
- [5] 林华, 黄兴振. 解郁安神颗粒中柴胡皂苷含量测定方法研究 [J]. 中国药业, 2018, 27(7): 14-17.

- [6] 樊宝娟, 黄艳, 罗定强, 等. 高效液相色谱法同时测定解郁安神颗粒中甘草苷及甘草酸含量 [J]. 中国药业, 2018, 27(4): 13-15.
- [7] 黄毅文, 王圆圆, 刘晓玢, 等. 甘草酸对癫痫老年大鼠神经元的保护作用及对 HMGB-1 表达的影响 [J]. 中国老年学杂志, 2023, 43(2): 478-481.
- [8] 赵赛红, 王磊, 张平平, 等. 网络药理学结合 GEO 芯片技术探讨黄芩方治疗缺血性脑卒中的作用机制及实验验证 [J]. 药物评价研究, 2023, 46(5): 983-996.
- [9] 邹珊珊, 闫恩志. 阿魏酸钠通过 Notch1/Hes 信号通路对抗 A $\beta$  所致大鼠海马神经元损伤的机制研究 [J]. 重庆医学, 2023, 52(13): 1943-1948.
- [10] 李萌, 施浩, 陈佳俊, 等. 基于细胞代谢组学的柴胡皂苷 b<sub>2</sub> 对皮质酮诱导 PC12 细胞损伤的保护作用研究 [J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2024, 38(1): 11-21.
- [11] 吴丹, 高耀, 向欢, 等. 基于网络药理学的柴胡抗抑郁作用机制研究 [J]. 药学学报, 2018, 53(2): 210-219.
- [12] 张继辉, 眭荣春, 廖泰煌, 等. HPLC 法同时测定风湿痛药酒中 6 种成分含量 [J]. 药品评价, 2023, 20(12): 1499-1502.
- [13] 王泳, 汪燕, 黄灿, 等. RP-HPLC 法测定眩晕宁颗粒中 3,5-O-二咖啡酰基奎宁酸、23-乙酰泽泻醇 B 和  $\beta$ -蜕皮甾酮 [J]. 现代药物与临床, 2023, 38(5): 1109-1112.

[责任编辑 解学星]