

DOI:10.3724/SP.J.1008.2010.00091

高效液相色谱法同时测定双五胶囊中4种有效成分的含量

叶光明¹,姜云云^{1*},陈云红¹,王发祥¹,吴明男²,肖飞²

1. 解放军101医院药剂科,无锡214004

2. 巢湖市第一人民医院药剂科,巢湖238000

[摘要] **目的** 建立同时测定双五胶囊中紫丁香苷、五味子醇甲、五味子甲素、五味子乙素含量的方法。**方法** HPLC法,采用Diamonsil C₁₈柱(200 mm×4.6 mm,5 μm),流动相为A:甲醇-乙腈(1:1),B:水,梯度洗脱,0~5 min,35%~60%A;5~10 min,60%~70%A;10~50 min,70%~90%A;50~90 min,90%A。流速为1 ml/min,柱温:35℃,检测波长220 nm。

结果 紫丁香苷、五味子醇甲、五味子甲素、五味子乙素浓度分别在1.28~20.40 μg/ml($r=0.9997$),6.30~100.80 μg/ml($r=0.9996$),1.20~19.20 μg/ml($r=0.9998$)和3.75~60.00 μg/ml($r=0.9996$)范围内呈良好的线性关系。4种成分精密度实验RSD<1%。24 h内稳定性RSD<1.5%。紫丁香苷、五味子醇甲、五味子甲素、五味子乙素的平均加样回收率分别为99.47%、102.50%、99.21%、101.86%。**结论** 所建立的方法具有快速、简便、准确等优点,可用于双五胶囊的质量控制。

[关键词] 双五胶囊;紫丁香苷;五味子醇甲;五味子甲素;五味子乙素;高压液相色谱法

[中图分类号] R 284.1 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2010)01-0091-03

HPLC in simultaneous determination of four components in *Shuangwu* capsules

YE Guang-ming¹,JIANG Yun-yun^{1*},CHEN Yun-hong¹,WANG Fa-xiang¹,WU Ming-nan²,XIAO Fei²

1. Department of Pharmacy, No. 101 Hospital of PLA, Wuxi 214044, Jiangsu, China

2. Department of Pharmacy, the First People's Hospital of Chaohu City, Chaohu 238000, Anhui, China

[Abstract] **Objective** To establish an HPLC method for simultaneous determination of syringin, schizandrin, deoxyschizandrin and schisandrin B in *Shuangwu* capsules. **Methods** The HPLC method was employed using a Diamonsil C₁₈ column (200 mm×4.6 mm,5 μm) with a mobile phase of methanol-acetonitrile (1:1, A) and water (B). The gradient elution program was as follows: 0-5 min,35%-60%A; 5-10 min,60%-70%A; 10-50 min,70%-90%A; 50-90 min,90%A. The flow rate was 1 ml/min. The detection wavelength was set at 220 nm and the temperature was at 35℃. **Results** The linearity was obtained within the range of 1.28-20.40 μg/ml for syringin ($r=0.9997$),6.30-100.80 μg/ml for schisantherin ($r=0.9996$),1.20-19.20 μg/ml for deoxyschizandrin ($r=0.9998$),and 3.75-60.00 μg/ml for schisandrin B ($r=0.9996$). The RSD values of precision were less than 1% for all the four components. The results showed that the samples were stable in the room temperature for at least 24 h. The average recovery rates of syringin, schizandrin, deoxyschizandrin and schisandrin B were 99.47%, 102.50%, 99.21% and 101.86%, respectively. **Conclusion** Our method is rapid, easy to perform and accurate; it can be used to control the quality of *Shuangwu* capsules.

[Key words] *Shuangwu* capsules; syringin; schizandrin; deoxyschizandrin; schisandrin B; high pressure liquid chromatography

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2010, 31(1):91-93]

双五胶囊的主要成分为刺五加和五味子,具有益气健脾、消渴生津、补肾宁心之功效。经我院临床使用,对失眠、食欲不振、心慌心悸等病症具有较好的治疗或辅助治疗效果。刺五加和五味子的活性成分^[1-2]分别是刺五加苷和五味子素,它们在化学结构上分属不同类别,药理作用有一定差别,但它们的功

效相近,配伍使用能增强其疗效。为控制产品质量,本文采用高效液相色谱(HPLC)法同时测定了双五胶囊中紫丁香苷、五味子醇甲、五味子甲素、五味子乙素4种主要有效成分的含量。所建方法简便易行,测定结果准确可靠,可用于相关制剂的质量控制。

[收稿日期] 2009-07-26 **[接受日期]** 2009-11-15

[作者简介] 叶光明,硕士,主管药师。E-mail:shygm8@hotmail.com

* 通讯作者(Corresponding author). Tel:0510-85142010, E-mail:jane_jyy9@hotmail.com

1 仪器和试剂

Agilent 1100 型高效液相色谱仪,包括 G1322A 真空脱气机、G1312A 二元泵、G1316A 柱温控制器、G1328AVWD 检测器;紫外分光光度计(UV-2401,日本岛津公司);超声波清洗器(CQ-350,上海跃进医用光学器械厂);离心机(TGL-16C,上海安亭科学仪器厂);分析天平(TG328A,上海天平仪器厂)。紫丁香苷(批号:111529-200302)、五味子醇甲(批号:110857-200507)、五味子甲素(批号:110764-200408)、五味子乙素(批号:110765-200508)对照品均购自中国药品生物制品检定所。双五胶囊(批号:070220,070315,070430)由本院制剂室提供。甲醇、乙腈为色谱纯(上海锦源精细化工厂),其余化学试剂均为分析纯。水为重蒸纯化水。

2 方法和结果

2.1 色谱条件 色谱柱为 Diamonsil C₁₈ 柱(200 mm×4.6 mm,5 μm);流动相 A:甲醇-乙腈(1:1),流动相 B:水。梯度洗脱条件:0~5 min,35%~60%A;5~10 min,60%~70%A;10~50 min,70%~90%A;50~90 min,90%A。流速为 1 ml/min,柱温 35℃,检测波长为 220 nm。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液的制备 分别取紫丁香苷、五味子醇甲、五味子甲素和五味子乙素对照品各约 5、25、5、15 mg,精密称定,置于 50 ml 量瓶中,用甲醇溶解并定容,作为对照品混合储备液。精密吸取该储备液 5.0 ml 于 100 ml 量瓶中,用甲醇稀释至刻度,即得混合对照品溶液,其中紫丁香苷、五味子醇甲、五味子甲素和五味子乙素浓度分别为 5.10、25.20、4.80、15.00 μg/ml。

2.2.2 供试品溶液的制备 取双五胶囊内容物约 75 mg,精密称定,置具塞锥形瓶中,加甲醇 100 ml,称质量,超声处理 30 min 后冷却至室温,再用甲醇补质量,提取液经 0.45 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液,即得供试品溶液,置于 4℃ 冰箱中保存。

2.3 方法学考察

2.3.1 系统适应性 在 2.1 项的色谱条件下,以对照品溶液和样品进样,根据色谱参数计算系统适应性。样品溶液的 HPLC 色谱图中紫丁香苷、五味子醇甲、五味子甲素和五味子乙素的理论塔板数均大于 5 000,分离度均大于 1.5,拖尾因子均在 0.95~

1.05 之间。对照品和样品的色谱图见图 1。

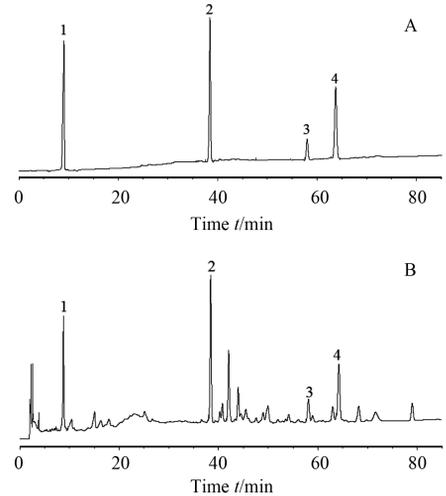


图 1 对照品(A)和样品(B)溶液的 HPLC 色谱图

Fig 1 HPLC chromatograms of standards (A) and sample(B) solutions

1: Syringin; 2: Schizandrin; 3: Deoxyschizandrin; 4: Schisandrin B

2.3.2 线性关系 将 2.2.1 项下的对照品混合储备液逐级稀释成不同浓度的 4 种对照品混合溶液依次进样,以对照品溶液的浓度(X , mg/ml)对峰面积(Y)进行线性回归,结果如下:紫丁香苷在 1.28~20.40 μg/ml 范围内的线性回归方程为 $Y = 27\,951X + 292.94$, $r = 0.9997$;五味子醇甲在 6.30~100.80 μg/ml 范围内的线性回归方程为 $Y = 6\,617X + 5\,131.8$, $r = 0.9996$;五味子甲素在 1.20~19.20 μg/ml 范围内的线性回归方程为 $Y = 61\,536X - 2\,261.5$, $r = 0.9998$;五味子乙素在 3.75~60.00 μg/ml 范围内的线性回归方程为 $Y = 14\,825X + 4\,583.8$, $r = 0.9996$ 。

2.3.3 精密度 在 2.1 项色谱条件下,分别以 3 组混合对照品溶液(高、中、低浓度组紫丁香苷浓度分别为 20.40、5.10、1.28 μg/ml,五味子醇甲浓度分别为 100.80、25.20、6.30 μg/ml,五味子甲素浓度分别为 19.20、4.80、1.20 μg/ml,五味子乙素浓度分别为 60.00、15.00、3.75 μg/ml)连续进样 5 次,分别计算 3 组溶液中 4 种成分峰面积相对标准偏差(RSD),结果高、中、低浓度组紫丁香苷峰面积积分值 RSD 分别为 0.31%、0.69%、0.77%,五味子醇甲峰面积积分值 RSD 分别为 0.49%、0.47%、0.65%,五味子甲素峰面积积分值 RSD 分别为 0.38%、0.68%、0.96%,五味子乙素峰面积积分值 RSD 分别为 0.45%、0.85%、0.83%,均符合含量测定要求。

在 2.1 项色谱条件下,连续 5 d 分别进样上述 3 组混合对照品溶液,计算 3 组溶液中 4 种成分峰面

积积分值 RSD,结果高、中、低浓度组紫丁香苷峰面积积分值 RSD 分别为 0.82%、1.14%、1.33%,五味子醇甲峰面积积分值 RSD 分别为 0.92%、0.98%、1.17%,五味子甲素峰面积积分值 RSD 分别为 1.01%、1.28%、1.19%,五味子乙素峰面积积分值 RSD 分别为 0.73%、1.24%、1.41%,均符合含量测定要求。

2.3.4 稳定性 取批号为 070220 的双五胶囊,按 2.2.2 项下的方法制备供试品溶液,分别在 0、3、6、12、18、24 h 测定 4 种有效成分的峰面积,计算其 RSD,结果紫丁香苷、五味子醇甲、五味子甲素和五味子乙素峰面积积分值 RSD 分别为 0.89%、0.58%、1.08%和 0.86%,符合含量测定要求。

2.3.5 重复性 精密称取批号为 070220 的双五胶囊内容物 5 份各约 75 mg,按照 2.2.2 项下方法制

备样品溶液,测定 4 种有效成分的含量,计算其 RSD,结果紫丁香苷、五味子醇甲、五味子甲素和五味子乙素 4 种成分含量测定结果的 RSD 值分别为 0.62%、1.47%、0.57%、0.89%,符合含量测定要求。

2.3.6 加样回收率 精密称取已知含量的样品,分别按样品中待测物质量的 80%、100%、120%向其中精密加入 4 种待测物质对照品($n=3$),按 2.2.2 项下制备供试品溶液,记录 4 种物质的峰面积值并按外标法定量,紫丁香苷、五味子醇甲、五味子甲素和五味子乙素的平均回收率分别为 99.47%、102.50%、99.21%、101.86%,RSD 分别为 2.63%、1.89%、1.91%、2.31%。

2.4 样品测定 精密称取 3 个不同批号的双五胶囊内容物各 75 mg,分别按 2.2.2 项下方法制备供试品溶液并测定,结果见表 1。

表 1 双五胶囊中 4 种成分的含量测定结果

Tab 1 Contents of four components in *Shuangwu* capsules

($n=3, \bar{x} \pm s, \text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)

Batch	Syringin	Schizandrin	Deoxyschizandrin	Schisandrin B
070220	6.72±0.04	30.67±0.36	7.37±0.04	18.82±0.18
070315	6.64±0.05	31.58±0.39	7.24±0.05	18.98±0.22
070430	6.77±0.05	30.84±0.33	7.21±0.04	18.76±0.19

3 讨论

3.1 检测波长的选择 通过紫外分光光度计对 4 种待测物质紫外吸收光谱的扫描,发现紫丁香苷、五味子醇甲、五味子甲素、五味子乙素分别在 218.00、223.20、217.60、220.20 nm 处有最大吸收,故选择 220 nm 为检测波长,使 4 种成分都有较强吸收。

3.2 流动相的选择 流动相选择时曾参考文献^[3-9]中的条件,但不是峰形不理想,就是分离效果不能令人满意。双五胶囊由五味子和刺五加两味药材组成,为了更为全面地控制药物质量,所测指标性成分既包括来自刺五加的紫丁香苷,又包括来自五味子的五味子醇甲、五味子甲素和五味子乙素,其中紫丁香苷极性较大,而另外 3 种物质极性较小,这给流动相的选择带来了很大困难。通过不断的摸索,改变流动相的组成和比例,最后本实验采用甲醇-乙腈-水系统梯度洗脱,所测各成分分离良好。

本实验成功采用梯度洗脱的方法同时测定了双五胶囊中紫丁香苷、五味子醇甲、五味子甲素和五味子乙素的含量,所用方法简单可行、准确度高、重现性好,可用于双五胶囊的质量控制,也作为其他含有紫丁香苷、五味子醇甲、五味子甲素和五味子乙素成

分的药物制剂分析的参考。

[参考文献]

- [1] 陈仙春,姚莹. 北五味子藤茎化学成分及药理作用[J]. 浙江中西医结合杂志,2009,19:640-641.
- [2] 林秋叶,李龙华,金礼吉,徐永平. 刺五加化学成分及其药理作用研究进展[J]. 中兽医医药杂志,2009,2:25-28.
- [3] Kurkin V A, Grinenko N A, Zapesochaynaya G G, Dubichev A G, Vorontsov E D. TLC and HPLC analysis of syringin in *Syringa vulgaris*[J]. Chem Nat Comp,1992,28:36-39.
- [4] Zhu M, Chen X S, Wang K X. Variation of the lignan content of *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill. and *Schisandra sphenanthera* Rehd. et Wils [J]. Chromatographia,2007,66:125-128.
- [5] 王洋,牛遇达,刘桂丰. 北五味子中五味子甲素及乙素含量的高效液相色谱分析[J]. 林产化学与工业,2007,27:85-88.
- [6] 吕邵娃,管庆霞,李永吉. HPLC 测定利肝隆片中五味子甲素和五味子乙素含量[J]. 中成药,2006,28:662-664.
- [7] 曹红,刘云. 反相高效液相色谱法同时测定蚊肝丸中五味子甲素和五味子乙素的含量[J]. 药物分析杂志,1997,17:238-240.
- [8] 郑勇强,刘湘杰,张之奎. 反相高效液相色谱法测定刺五加胶囊紫丁香苷含量[J]. 中药材,2008,31:775-776.
- [9] 姜颖,朱晓红. HPLC 法对紫丁香苷含量测定的研究[J]. 中国实用医药,2009,4:137-138.

[本文编辑] 尹茶