

# HPLC法同时测定小青龙颗粒中五味子醇甲、五味子乙素及桂皮醛的含量

李宗伟\*,王健明(广东食品药品职业学院,广州 510520)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)21-3001-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.21.44

**摘要** 目的:建立同时测定小青龙颗粒中五味子醇甲、五味子乙素及桂皮醛含量的方法。方法:采用高效液相色谱法。色谱柱为Wondasil-C<sub>18</sub>,流动相为乙腈-0.1%磷酸溶液,梯度洗脱,流速为1.0 ml/min,检测波长为245 nm,柱温为25℃,进样量为20 μl。结果:五味子醇甲、五味子乙素、桂皮醛的质量浓度分别在1.008~20.16 μg/ml( $r=0.999\ 8$ )、0.496~9.92 μg/ml( $r=0.999\ 7$ )、1.012~20.24 μg/ml( $r=0.999\ 6$ )范围内与各自的峰面积线性关系良好;精密性、稳定性、重复性试验的RSD≤1.33%;五味子醇甲、五味子乙素、桂皮醛的平均加样回收率分别为98.9%、99.9%、98.7%,RSD分别为1.71%、1.50%、2.10%( $n=6$ )。结论:该方法操作简便、结果准确、重复性好,可用于小青龙颗粒的质量控制。

**关键词** 小青龙颗粒;高效液相色谱法;五味子醇甲;五味子乙素;桂皮醛

## Simultaneous Contents Determination of Schizandrin, Schizandrin B and Cinnamaldehyde in Xiaoqinglong Granule by HPLC

LI Zong-wei, WANG Jian-ming(Guangdong Food and Drug Vocational College, Guangzhou 510520, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish a method for simultaneous contents determination of schizandrin, schizandrin B and cinnamaldehyde in Xiaoqinglong granule. METHODS: HPLC was performed on the column of Wondasil-C<sub>18</sub> with the mobile phase of acetonitrile-0.1% phosphoric acid solution (gradient elution) at the flow rate of 1.0 ml/min, the detection wavelength was 245 nm, temperature was 25℃ and volume was 20 μl. RESULTS: The linear range was 1.008-20.16 μg/ml( $r=0.999\ 8$ ) for schizandrin, 0.496-9.92 μg/ml( $r=0.999\ 7$ ) for schizandrin B, and 1.012-20.24 μg/ml( $r=0.999\ 6$ ) for cinnamaldehyde; RSDs of precision, stability and reproducibility tests were no more than 1.33%; the average recoveries were respectively 98.9% (RSD=1.71%,  $n=6$ ), 99.9% (RSD=1.50%,  $n=6$ ) and 98.7% (RSD=2.10%,  $n=6$ ). CONCLUSIONS: The method is simple, accurate and reproducible, and can be used for the quality control of Xiaoqinglong granule.

**KEYWORDS** Xiaoqinglong granule; HPLC; Schizandrin; Schizandrin B; Cinnamaldehyde

小青龙颗粒是由麻黄、桂枝、白芍、干姜、细辛、炙甘草、法半夏、五味子组成,用于治疗风寒水饮、恶寒发热、无汗、喘咳痰稀等症<sup>[1]</sup>。2010年版《中国药典》(一部)对小青龙颗粒中白芍的主要成分芍药苷及麻黄的主要成分麻黄碱进行了含量测定,鉴别只有薄层鉴别法<sup>[1]</sup>。笔者查阅相关文献<sup>[2-6]</sup>,尚未见国内有同时测定小青龙颗粒中五味子醇甲、五味子乙素及桂皮醛3种有效成分含量的文献报道。为此,笔者采用高效液相色谱(HPLC)法建立了同时测定小青龙颗粒中五味子醇甲、五味子乙素及桂皮醛3种有效成分含量的方法,以期对小青龙颗粒的质量控制提供参考。

### 1 材料

LC-15C HPLC仪,包括LC-15C二元泵、SPD-15C紫外检测器、SIL-10AF自动进样器、LC-solution工作站(日本岛津公司);AG285电子天平(瑞士Mettler-Toledo公司);超纯水器(美国Millipore公司);KQ-400DB超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

五味子醇甲对照品(批号:110857-201211)、五味子乙素对照品(批号:110765-201311)、桂皮醛对照品(批号:100240-200701)均购自中国食品药品检定研究院;小青龙颗粒(湖北

纽兰药业有限公司,批号:20101004、20101008、20101011);乙腈为色谱纯,其他试剂为分析纯,水为超纯水。

### 2 方法与结果

#### 2.1 色谱条件

色谱柱:Wondasil-C<sub>18</sub>(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:乙腈(A)-0.1%磷酸溶液(B),梯度洗脱(0~10 min, 50% A; 10~20 min, 50% A→65% A; 20~25 min, 65% A→80% A; 25~30 min, 80% A);流速:1.0 ml/min;检测波长:245 nm;柱温:25℃;进样量:20 μl。

#### 2.2 溶液的制备

2.2.1 混合对照品溶液 分别精密称取五味子醇甲、五味子乙素及桂皮醛对照品适量,置于10 ml量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,制成含五味子醇甲、五味子乙素及桂皮醛质量浓度分别为0.504、0.496、0.506 mg/ml的混合对照品贮备溶液。精密量取混合对照品贮备溶液5 ml,置于50 ml量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,即得混合对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液 取本品适量,研细,精密称取样品粉末约1 g,置于具塞锥形瓶中,加甲醇约20 ml,超声处理10 min,放冷,转移至25 ml量瓶中,加甲醇定容至刻度,摇匀,滤过,即得供试品溶液。

2.2.3 阴性对照溶液 按处方比例模拟制作缺五味子或桂枝的阴性对照品,按“2.2.1”项下方法制得阴性对照溶液。

\* 讲师。研究方向:药物制剂。电话:020-28854940。E-mail:309026216@qq.com

### 2.3 系统适用性试验

分别量取“2.2”项下混合对照品溶液、供试品溶液、阴性对照溶液 20  $\mu\text{l}$ ,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录色谱,详见图1。结果,五味子醇甲、五味子乙素及桂皮醛的理论板数均大于4 000,样品与对照品色谱峰的保留时间一致,供试品中的其他成分对测定成分无干扰。

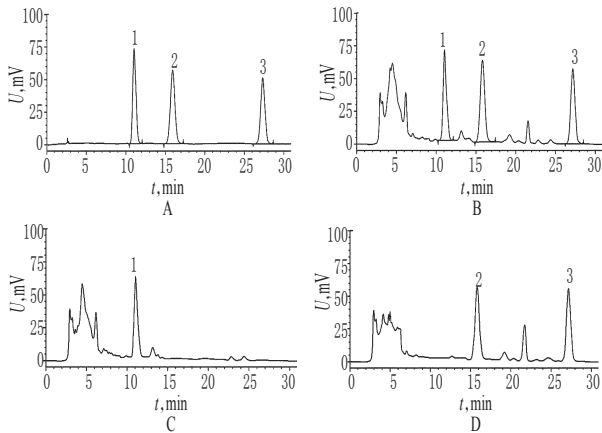


图1 高效液相色谱图

A.混合对照品;B.供试品;C.缺五味子阴性对照品;D.缺桂枝阴性对照品;1.桂皮醛;2.五味子醇甲;3.五味子乙素

Fig 1 HPLC chromatograms

A.mixed reference; B.test sample; C.negative reference without schisandrins; D.negative reference without cassia twig; 1.cinnamaldehyde; 2.schizandrin; 3.schizandrin B

### 2.4 线性关系考察

精密吸取“2.2.1”项下混合对照品溶液 0.5、1、2、5、10 ml,置于 25 ml 量瓶中,分别加甲醇稀释至刻度,摇匀,制成五味子醇甲质量浓度为 1.008、2.016、4.032、10.08、20.16  $\mu\text{g/ml}$ 、五味子乙素质量浓度为 0.992、1.984、4.96、9.92、19.84  $\mu\text{g/ml}$ 、桂皮醛质量浓度为 1.012、2.024、4.048、10.12、20.24  $\mu\text{g/ml}$  的系列混合对照品溶液。精密吸取上述混合对照品溶液各 20  $\mu\text{l}$ ,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以对照品质量浓度( $x, \mu\text{g/ml}$ )为横坐标、峰面积( $y$ )为纵坐标,绘制标准曲线,得五味子醇甲回归方程为  $y=1.01 \times 10^5 x + 9.345 7 \times 10^4$  ( $r=0.999 8$ )、五味子乙素回归方程为  $y=1.001 \times 10^5 x + 8.446 2 \times 10^4$  ( $r=0.999 7$ )、桂皮醛回归方程为  $y=2.040 1 \times 10^5 x + 5.932 \times 10^3$  ( $r=0.999 6$ )。结果表明,五味子醇甲、五味子乙素、桂皮醛的质量浓度分别在 1.008~20.16、0.496~9.92、1.012~20.24  $\mu\text{g/ml}$  范围内与各自的峰面积呈良好的线性关系。

### 2.5 精密度试验

精密吸取“2.2.1”项下混合对照品溶液 20  $\mu\text{l}$ ,按“2.1”项下色谱条件重复进样 5 次,记录峰面积。结果,五味子醇甲、五味子乙素及桂皮醛峰面积的 RSD 分别为 1.13%、0.89%、0.98%,表明仪器精密度良好。

### 2.6 稳定性试验

精密量取同一份供试品(批号:20101004)溶液 20  $\mu\text{l}$ ,分别于放置 0、2、4、6、8、12、24 h 按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果,五味子醇甲、五味子乙素及桂皮醛峰面积的 RSD 分别为 1.33%、1.08、1.01%,表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

### 2.7 重复性试验

精密称取样品粉末(批号:20101004)约 1 g,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件进样,记录峰面积。结果,五味子醇甲、五味子乙素及桂皮醛含量的 RSD 分别为 1.15%、0.82%、0.97%,表明本方法重复性较好。

### 2.8 加样回收率试验

精密称取已知含量的样品(批号:20101004)粉末 6 份,每份约 0.5 g,置于具塞锥形瓶中,再分别加入五味子醇甲、五味子乙素、桂皮醛对照品适量,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积,并计算加样回收率,结果详见表 1。

表 1 加样回收率试验结果( $n=6$ )

Tab 1 Results of recovery test( $n=6$ )

| 待测成分  | 称样量, g  | 样品中含<br>量,mg | 加入量,<br>mg | 测得量,<br>mg | 加样回收<br>率,% | 平均加样回<br>收率,% | RSD,<br>% |
|-------|---------|--------------|------------|------------|-------------|---------------|-----------|
| 五味子醇甲 | 0.501 1 | 0.191 4      | 0.190 0    | 0.381 1    | 99.8        | 98.9          | 1.71      |
|       | 0.500 7 | 0.191 3      | 0.190 0    | 0.383 1    | 100.9       |               |           |
|       | 0.500 3 | 0.191 1      | 0.190 0    | 0.379 9    | 99.4        |               |           |
|       | 0.511 0 | 0.195 2      | 0.190 0    | 0.380 4    | 97.5        |               |           |
|       | 0.500 1 | 0.191 0      | 0.190 0    | 0.374 1    | 96.4        |               |           |
|       | 0.499 8 | 0.190 9      | 0.190 0    | 0.380 2    | 99.6        |               |           |
| 五味子乙素 | 0.501 1 | 0.147 8      | 0.150 0    | 0.296 6    | 99.2        | 99.9          | 1.50      |
|       | 0.500 7 | 0.147 7      | 0.150 0    | 0.300 1    | 101.6       |               |           |
|       | 0.500 3 | 0.147 6      | 0.150 0    | 0.300 4    | 101.9       |               |           |
|       | 0.511 0 | 0.150 7      | 0.150 0    | 0.299 4    | 99.1        |               |           |
|       | 0.500 1 | 0.147 5      | 0.150 0    | 0.296 3    | 99.2        |               |           |
|       | 0.499 8 | 0.147 4      | 0.150 0    | 0.294 7    | 98.2        |               |           |
| 桂皮醛   | 0.501 1 | 0.115 8      | 0.120 0    | 0.237 3    | 101.2       | 98.7          | 2.10      |
|       | 0.500 7 | 0.115 7      | 0.120 0    | 0.230 1    | 95.3        |               |           |
|       | 0.500 3 | 0.115 6      | 0.120 0    | 0.235 2    | 99.7        |               |           |
|       | 0.511 0 | 0.118 0      | 0.120 0    | 0.234 7    | 97.2        |               |           |
|       | 0.500 1 | 0.115 5      | 0.120 0    | 0.234 8    | 99.4        |               |           |
|       | 0.499 8 | 0.115 5      | 0.120 0    | 0.234 4    | 99.1        |               |           |

### 2.9 样品含量测定

分别取 3 批小青龙颗粒样品(批号:20101004、20101008、20101011)1 g,各 3 份,精密称定,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积,并用外标法计算样品含量,结果详见表 2。

表 2 样品含量测定结果( $n=3, \text{mg/g}$ )

Tab 2 Results of content determination of samples ( $n=3, \text{mg/g}$ )

| 批号       | 五味子醇甲 | 五味子乙素 | 桂皮醛   |
|----------|-------|-------|-------|
| 20101004 | 0.367 | 0.301 | 0.244 |
| 20101008 | 0.388 | 0.299 | 0.261 |
| 20101011 | 0.382 | 0.295 | 0.231 |

## 3 讨论

### 3.1 检测波长的选择

采用二极管阵列检测器在 190~400 nm 波长扫描后,发现波长为 245 nm 时,各峰峰形良好、基线平稳、分离较好,因此选择 245 nm 为检测波长。

### 3.2 流动相的选择

笔者比较了 0.1% 甲酸溶液、0.1% 乙酸溶液及 0.1% 磷酸溶液的洗脱效果,发现以 0.1% 甲酸溶液和 0.1% 乙酸溶液为流动相时基线漂移较为严重,最终确定以乙腈-0.1% 磷酸溶液为流动相进行梯度洗脱。

# HPLC法测定天王补心丸中阿魏酸的含量

刘旺培\*, 黄义纯, 陈华龙(韶关市食品药品检验所, 广东 韶关 512028)

中图分类号 R284.1;R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)21-3003-03  
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.21.45

**摘要** 目的:建立测定天王补心丸中阿魏酸含量的方法。方法:采用高效液相色谱法。色谱柱为 Diamonsil C<sub>18</sub>,流动相为乙腈-1%冰醋酸溶液(15:85, V/V),流速为1.0 ml/min,检测波长为323 nm,柱温为室温,进样量为20 μl。结果:阿魏酸的质量浓度在0.091 2~2.28 μg/ml范围内与其峰面积呈良好的线性关系( $r=0.999\ 8$ ),精密性、稳定性、重复性试验的RSD<2.0%,平均加样回收率为98.96%,RSD为0.26%( $n=9$ )。结论:该方法简单、精确、可靠,可作为天王补心丸中阿魏酸的质量控制方法。

**关键词** 高效液相色谱法;天王补心丸;阿魏酸;含量测定

## Content Determination of Ferulic Acid in Tianwang Buxin Pills by HPLC

LIU Wang-pei, HUANG Yi-chun, CHEN Hua-long (Shaoguan Institute for Food and Drug Control, Guangdong Shaoguan 512028, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish a method to determine the content of ferulic acid in Tianwang buxin pills. METHODS: HPLC was performed on the column of Diamonsil C<sub>18</sub> with the mobile phase of acetonitrile-1% glacial acetic acid solution (15:85, V/V) at the flow rate of 1.0 ml/min, the detection wavelength was 323 nm, the temperature was room temperature, and the volume was 20 μl. RESULTS: The linear range of ferulic acid was in the range of 0.091 2-2.28 μg/ml ( $r=0.999\ 8$ ); the RSDs of precision, stability and reproducibility tests were less than 2.0%, and the average recovery was 98.96% (RSD=0.26%,  $n=9$ ). CONCLUSIONS: The method is simple, accurate and reliable, and can be used as the quality control method of ferulic acid in Tianwang buxin pills.

**KEYWORDS** HPLC; Tianwang buxin pill; Ferulic acid; Content determination

天王补心丸是由当归、酸枣仁、丹参、党参、茯苓、桔梗等16味中药组成的复方制剂,其质量标准收载于2010年版《中国药典》(一部)中<sup>[1]</sup>。现行国家药品标准只对方中五味子的有效成分五味子醇甲作定量分析。文献报道了该制剂其他药材主要成分的定量测定方法,如酸枣仁皂苷A、远志皂苷、丹酚酸B、丹参素、丹参素钠、梓醇等<sup>[2-4]</sup>,但对阿魏酸的含量测定方法尚未见报道。阿魏酸是当归的主要成分,同时也是酸枣仁中有效成分之一<sup>[5-8]</sup>。为了更加科学合理地控制天王补心丸的质

量,笔者对方中阿魏酸的含量进行测定。

### 1 材料

#### 1.1 仪器

1200型高效液相色谱仪(美国Agilent公司);AG135型电子天平(瑞士Mettler-Toledo公司);KQ-300DE台式数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

#### 1.2 试剂

阿魏酸对照品(中国食品药品检定研究院,批号:

### 3.3 提取方法的选择

笔者参考相关文献<sup>[3]</sup>采用超声法用甲醇进行提取,分别考察了超声5、10、20 min对3个成分的影响。结果发现,超声10 min的提取量比5 min要高,而与超声20 min的提取量没有明显差异,因此选择超声提取时间为10 min。

综上所述,该方法操作简便、结果准确、重复性好,可用于小青龙颗粒的质量控制。

### 参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[S]. 2010年版. 北京:中国医药科技出版社, 2010:505.
- [2] 孙素珍, 孙树周. RP-HPLC法测定小青龙颗粒中芍药苷的含量[J]. 广东药学院学报, 2003, 19(3):212.
- [3] 朱燕飞. HPLC测定小青龙颗粒中麻黄碱、伪麻黄碱的含

量[J]. 中国中药杂志, 2008, 33(7):848.

- [4] 张建军, 欧丽娜, 李伟, 等. 小青龙颗粒中麻黄碱及伪麻黄碱在大鼠体内的药代动力学研究[J]. 中华中医药杂志, 2012, 25(12):1 991.
- [5] 黄富宏, 王健, 茅渊, 等. 高效液相色谱法测定小青龙颗粒中甘草酸铵含量[J]. 中国药业, 2012, 21(21):28.
- [6] 王健, 梁宪扬. HPLC测定小青龙颗粒中甘草酸铵的含量[C]//2010年江苏省药学会大会暨第10届江苏省药师周大会论文集, 2010:123.
- [7] 赵寨红. RP-HPLC法测定小青龙颗粒中五味子的五味子醇甲含量[J]. 黑龙江医药, 2013, 26(6):971.
- [8] 马悦颖, 李沧海, 李兰芳, 等. 桂皮醛解热镇痛抗炎作用的实验研究[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2006, 11(12):1 336.

\* 主管药师。研究方向:药品检验。电话:0751-8722365。  
E-mail:270662806@qq.com

(收稿日期:2015-01-28 修回日期:2015-05-17)

(编辑:申琳琳)