

# HPLC法同时测定舒肝解郁胶囊中金丝桃苷和芦丁的含量<sup>Δ</sup>

乔怀耀\*, 罗 荣, 吴 娟, 朱文漓, 柯尊洪, 郝晓锋, 柯 潇, 邬智刚<sup>#</sup>(成都康弘药业集团股份有限公司, 成都 610036)

中图分类号 R927.2; R283.65 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)43-4079-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.43.16

**摘要** 目的: 建立同时测定舒肝解郁胶囊中金丝桃苷、芦丁含量的方法。方法: 采用高效液相色谱法。色谱柱为 Agilent Eclipse Plus C<sub>18</sub> (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为乙腈-甲醇(90:10, V/V)-50 mmol/L 磷酸盐缓冲液(梯度洗脱), 流速为 0.8 ml/min, 检测波长为 360 nm, 柱温为室温。结果: 金丝桃苷和芦丁的进样量分别在 1.272~127.240、1.393~139.350 μg 范围内与峰面积积分值呈良好线性关系( $r=0.999\ 9$ ); 二者精密度、稳定性、重复性的 RSD<2%; 平均加样回收率分别为 96.9%、98.6% ( $n$  均为 9)。结论: 该方法快速、准确, 重复性好, 可用于舒肝解郁胶囊的质量控制。

**关键词** 舒肝解郁胶囊; 芦丁; 金丝桃苷; 高效液相色谱法

## Simultaneous Determination of Rutin and Hyperoside in Shugan Jieyu Capsule by HPLC

QIAO Huai-yao, LUO Rong, WU Juan, ZHU Wen-li, KE Zun-hong, HAO Xiao-feng, KE Xiao, WU Zhi-gang (Chengdu Kanghong Pharmaceutical Group Co., Ltd., Chengdu 610036, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To develop a method for simultaneous determination of rutin and hyperoside in Shugan jieyu capsule. METHODS: HPLC method was adopted. The determination was performed on Agilent Eclipse Plus C<sub>18</sub> (250 mm×4.6 mm, 5 μm) column with mobile phase consisted of acetonitrile-methanol (90:10, V/V)-50 mmol/L phosphate buffer (gradient elution) at the flow rate of 0.8 ml/min. The detection wavelength was set at 360 nm, and the column temperature was room temperature. RESULTS: The linear ranges were 1.272-127.240 μg for hyperoside and 1.393-139.350 μg for rutin, respectively ( $r=0.999\ 9$ ). RSDs of precision, stability and reproducibility tests were all lower than 2%. The average recoveries were 96.9% and 98.6% ( $n=9$ ), respectively. CONCLUSIONS: The method is rapid, accurate and repeatable, and can be used for quality control in Shugan jieyu capsule.

**KEYWORDS** Shugan jieyu capsule; Rutin; Hyperoside; HPLC

舒肝解郁胶囊由贯叶金丝桃(*Hypericum perforatum*)、刺五加(*Acanthopanax senticosus*)两味中药组成, 是我国首个用于治疗抑郁症的中成药, 对肝郁脾虚型轻、中度抑郁症具有较好疗效<sup>[1]</sup>。金丝桃苷和芦丁作为贯叶金丝桃和刺五加中较为重要的两种黄酮类化合物, 常被作为这两种药材的质量评价指标, 但目前利用高效液相色谱(HPLC)法同时测量舒肝解郁胶囊中金丝桃苷和芦丁含量的研究尚未见报道。为此, 本试验建立了一种快速、准确地检测金丝桃苷和芦丁含量的方法, 以期为该制剂的质量控制提供依据。

## 1 材料

### 1.1 仪器

1100型 HPLC 仪(美国 Agilent 公司); Sartorius BS110S 型电子天平(德国 Sartorius 公司)。

### 1.2 药品与试剂

舒肝解郁胶囊(成都康弘制药有限公司, 批号: 111003、111116、111117、111118); 金丝桃苷对照品(批号: 111521-201004, 纯度: 93.9%)和芦丁对照品(批号: 100080-200707, 纯

度: 90.5%)均购自中国食品药品检定研究院; 乙腈、甲醇、磷酸均为色谱纯, 磷酸二氢钠(二水合物)、无水乙醇均为分析纯, 水为超纯水。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件与系统适用性试验

色谱柱: Agilent Eclipse Plus C<sub>18</sub> (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 50 mmol/L 磷酸二氢钠(二水合物, 用磷酸调 pH 至 3.0, A), 乙腈-甲醇(90:10, V/V, B), 梯度洗脱(0~20 min, 80% A; 20~25 min, 80% → 0 A; 25~26 min, 0 → 80% A; 26~30 min, 80% A); 流速: 0.8 ml/min; 柱温: 室温; 检测波长: 360 nm。在上述色谱条件下, 理论板数按芦丁与金丝桃苷计应不低于 10 000; 分离度均大于 1.5。色谱见图 1。

### 2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液 精密称取金丝桃苷和芦丁对照品各 14.84、14.06 mg, 分别置 10 ml 量瓶中, 加 50% 乙醇超声(功率: 200 W, 频率: 40 kHz)溶解并定容。取上述两种溶液等比例混合, 再用 50% 乙醇稀释 5 倍, 即得质量浓度分别为 139.35、127.24 μg/ml 的对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液 精密称取舒肝解郁胶囊内容物 0.25 g, 置 50 ml 量瓶中, 加 50% 乙醇使溶解并定容, 摇匀, 超声(功率: 200 W, 频率: 40 kHz)处理 30 min, 经 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 即得。

### 2.3 线性关系考察

Δ 基金项目: 四川省重点技术创新项目(No.2012CD00082); 四川省科技成果转化项目(No.2012SC002)

\* 硕士。研究方向: 中药和生物药质量标准。电话: 028-87510520。E-mail: qiaohuaiyao@cnkh.com

# 通信作者: 博士。研究方向: 中药质量标准及生物大分子药物结构分析。电话: 028-87519380。E-mail: wuzhigang@cnkh.com

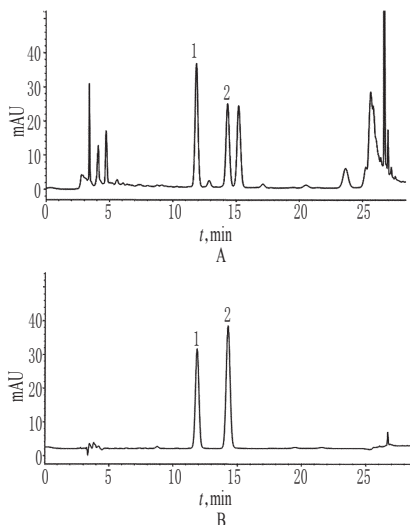


图1 高效液相色谱图

A.供试品;B.对照品;1.芦丁;2.金丝桃苷

Fig 1 HPLC chromatograms

A.test samples;B.substance control;1.rutin;2. hyperoside

精密量取对照品溶液适量,用50%乙醇依次稀释2、4、10、20、40、100倍,按上述色谱条件重复进样2次测定,进样量为20  $\mu$ l,记录色谱图。以峰面积积分值( $y$ )为纵坐标,进样量( $x$ ,  $\mu$ g)为横坐标,进行线性回归,得金丝桃苷的回归方程为 $y=56.667x+11.690$  ( $r=0.9999$ ),线性范围为1.272~127.240  $\mu$ g;芦丁的回归方程为 $y=44.574x+8.134$  ( $r=0.9999$ ),线性范围为1.393~139.350  $\mu$ g。结果表明,对照品溶液分别在各自线性范围内与其峰面积积分值呈良好线性关系。

#### 2.4 精密度试验

取“2.2.1”项下对照品溶液适量,用50%乙醇稀释10倍,按上述色谱条件连续进样6次测定,进样量为20  $\mu$ l,记录色谱图。结果,金丝桃苷和芦丁峰面积的RSD分别为0.071%、0.074% ( $n$ 均为6),表明仪器精密度良好。

#### 2.5 重复性试验

精密称取同一批次的舒肝解郁胶囊内容物约0.25 g,共6份,精密称定,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,再按上述色谱条件进样测定,进样量为10  $\mu$ l,重复2次,记录峰面积。结果,金丝桃苷和芦丁的平均含量分别为10.10、11.82 mg/g,峰面积的RSD分别为1.08%、0.59% ( $n$ 均为6),表明该方法重复性好。

#### 2.6 稳定性试验

取同一供试品溶液,室温放置,分别于0、1、2、3、7 d按上述色谱条件进样测定,进样量为10  $\mu$ l,重复2次,记录色谱图。结果,金丝桃苷和芦丁峰面积的RSD分别为0.32%、0.83% ( $n$ 均为5),表明供试品溶液在7 d内的稳定性良好。

#### 2.7 加样回收率试验

精密称取已知含量的同一批样品0.125 g,共9份,置50 ml量瓶中,每3份为一组,分别精密加入芦丁对照品溶液1.2、1.0、0.8 ml和金丝桃苷对照品溶液1.0、0.8、0.6 ml,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,再按上述色谱条件进样测定,进样量为5  $\mu$ l,重复2次,记录色谱图,计算加样回收率,结果见表1。

#### 2.8 方法耐用性试验

分别采用两种HPLC仪(Agilent infinity 1100型、Waters

表1 加样回收率试验结果( $n=9$ )

组分	样品含量,mg	测得量,mg	加入量,mg	回收率,%	$\bar{x}$ ,%	RSD,%
金丝桃苷	1.264	2.617	1.393	97.13		
	1.274	2.652	1.393	98.92	97.68	
	1.269	2.620	1.393	96.98		
	1.264	2.332	1.115	95.78		
	1.260	2.365	1.115	99.10	96.59	0.67
	1.258	2.316	1.115	94.89		
	1.271	2.091	0.836	98.09		
	1.266	2.072	0.836	96.41	96.53	
	1.267	2.062	0.836	95.10		
芦丁	1.479	2.983	1.527	98.49		
	1.491	3.022	1.527	100.26	99.41	
	1.485	3.004	1.527	99.48		
	1.479	2.722	1.272	97.72		
	1.475	2.745	1.272	99.84	98.64	0.86
	1.473	2.724	1.272	98.35		
	1.487	2.460	1.018	95.58		
	1.481	2.471	1.018	97.25	97.71	
	1.482	2.503	1.018	100.29		

2695/2996)、三种 $C_{18}$ 色谱柱(Agilent Eclipse Plus  $C_{18}$ , 250 mm  $\times$  4.6 mm, 5  $\mu$ m; Agilent HC- $C_{18}$ , 250 mm  $\times$  4.6 mm, 5  $\mu$ m; Waters SunFire  $C_{18}$ , 250 mm  $\times$  4.6 mm, 5  $\mu$ m)测定样品含量。结果表明,金丝桃苷和芦丁的检测峰与供试品中的其他药物活性成分峰的分度均良好,能准确检测供试品中金丝桃苷和芦丁的质量分数,表明该方法的耐用性良好。

#### 2.9 样品含量测定

精密称取4批样品各适量,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,再按上述色谱条件进样测定,记录色谱图,按外标法计算金丝桃苷和芦丁的含量,结果见表2。

表2 样品含量测定结果( $n=6$ )

Tab 2 Content determination of sample( $n=6$ )

批号	金丝桃苷,mg/g	芦丁,mg/g
1111003	9.177	10.718
1111116	10.024	11.681
1111117	10.213	11.741
1111118	10.087	11.401

### 3 讨论

#### 3.1 提取方法的选择

笔者在预试验中分别考察了不同提取溶剂、提取方式、提取溶剂及提取时间对金丝桃苷和芦丁的影响,结果表明使用50 ml 50%乙醇溶液超声(功率:200 W,频率:40 kHz)处理30 min,提取最完全。

#### 3.2 色谱条件的确定

采用二极管阵列检测器检测金丝桃苷和芦丁的吸收波长,结果其在210、265、360 nm附近均出现吸收峰值,其中360 nm时的背景及其他杂峰干扰较小、出峰稳定,故选择360 nm为金丝桃苷和芦丁的检测波长。

预试验中笔者曾使用乙腈-水(含0.3%柠檬酸和2%四氢呋喃)(25:75,  $V/V$ )<sup>[2]</sup>和乙腈-0.1%磷酸水(16:84,  $V/V$ )<sup>[3]</sup>进行梯度洗脱,结果芦丁和金丝桃苷的色谱峰与杂质峰均未完全分离;之后又选用乙腈-50 mmol/L磷酸盐缓冲液(pH4.0)、甲醇-水、甲醇-1%甲酸水等体系进行梯度洗脱,结果均存在检测时间过长、金丝桃苷分离度不达标等缺点,最终选择了以两种试

# 不同指标评价布渣叶药材质量的聚类分析<sup>Δ</sup>

李泽华<sup>1\*</sup>,徐文杰<sup>2#</sup>,董玉娟<sup>3</sup>,汪梦霞<sup>3</sup>,许灿新<sup>3</sup>(1.广东省人民医院/广东省医学科学院,广州 510080;2.广东省中医药工程技术研究院,广州 510095;3.广州中医药大学附属第二中医院,广州 510405)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)43-4081-04

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.43.17

**摘要** 目的:为布渣叶药材的质量评价提供依据。方法:分别以牡荆苷和总黄酮的质量分数为指标,采用聚类分析法对广东省9个地区的20份布渣叶样品进行聚类分析。结果:聚类分析结果显示,同一产区的布渣叶并没有全部归为一类;分别以牡荆苷和总黄酮的质量分数为指标所得的聚类分析结果不同,且二者没有相关性。结论:布渣叶药材的质量受到诸多因素的影响,应当采用多指标进行综合评价。

**关键词** 布渣叶;聚类分析;牡荆苷;总黄酮;含量

## Quality Evaluation of *Microcos paniculata* by Cluster Analysis Based on Different Indicators

LI Ze-hua<sup>1</sup>, XU Wen-jie<sup>2</sup>, DONG Yu-juan<sup>3</sup>, WANG Meng-xia<sup>3</sup>, XU Can-xin<sup>3</sup> (1. Guangdong Academy of Medical Sciences/Guangdong Provincial People's Hospital, Guangzhou 510080, China; 2. Guangdong Province Engineering Technology Research Institute of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510095, China; 3. The Second Affiliated TCM Hospital, Guangzhou University of TCM, Guangzhou 510405, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To provide reference for the quality evaluation of *Microcos paniculata*. METHODS: Using the content of vitexin and total flavonoids as indicators, 20 samples of *M. paniculata* from 9 districts of Guangdong province were analyzed by using cluster analysis. RESULTS: Results of cluster analysis showed *M. paniculata* from same production were not classified as a class. The results of cluster analysis were not the same using the contents of vitexin and total flavonoids as indicators, respectively; there was no clear correlation. CONCLUSIONS: The quality of *M. paniculata* is affected by many factors, so it should be evaluated comprehensively based on multiple indicators.

**KEYWORDS** *Microcos paniculata*; Cluster analysis; Vitexin; Total flavonoids; Content

剂的混合液作为有机相,以乙腈-甲醇(90:10, V/V, B)-50 mmol/L 磷酸盐缓冲液(pH3.0, A)为流动相进行梯度洗脱,该方法不仅可以使芦丁与金丝桃苷中间的杂质峰完全分离,而且还能将金丝桃苷与其后的同类化合物异槲皮苷分开。

国内现有检测金丝桃苷和芦丁含量的文献方法和2010年版《中国药典》方法均存在分析时间长<sup>[4-7]</sup>、分离度达不到要求<sup>[5-6,9]</sup>、目标峰中可见杂峰存在<sup>[3,5-6,8]</sup>、基线波动大及背景干扰严重<sup>[5-6,9]</sup>等问题。为此,本试验建立了同时测定肝解郁胶囊中金丝桃苷及芦丁的HPLC分析方法,并对提取方式及方法进行了考察。结果表明,本方法能快速、准确地检测舒肝解郁胶囊金丝桃苷和芦丁的质量分数,且分析时间短、专属性强、耐用性高,可用于舒肝解郁胶囊的质量控制。

### 参考文献

- [1] 孙新宇,陈爱琴,许秀峰,等.舒肝解郁胶囊治疗轻中度抑郁症的随机双盲安慰剂对照研究[J].中国新药杂志,2009,18(5):413.
- [2] 范之枫,张瑞欣,黄毅.新疆贯叶金丝桃不同部位中金丝

桃苷、芦丁和金丝桃素的含量及提取工艺对它们的影响[J].新疆中医药,2005,23(4):4.

- [3] 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,2010:215.
- [4] 丁姗姗,吕凌,张毅,等.HPLC法同时测定宣木瓜中绿原酸、芦丁、金丝桃苷、槲皮素的含量[J].安徽医药,2012,16(4):450.
- [5] 张薇,常军民,沈美英,等.RP-HPLC法测定天山花楸果实中苦杏仁苷、芦丁、金丝桃苷和橙皮苷的含量[J].药物分析杂志,2011,31(5):935.
- [6] 李玉兰,李军,王乃利,等.RP-HPLC法测定小花鬼针草中原儿茶酸、芦丁、金丝桃苷和槲皮苷的含量[J].沈阳药科大学学报,2009,26(8):639.
- [7] 汪光林,王坚,吕晔.RP-HPLC法测定宁心红杞胶囊中金丝桃苷和绿原酸的含量[J].中国药房,2008,19(9):694.
- [8] 王光函,张振秋,张颖,等.HPLC法测定刺玫果中芦丁和金丝桃苷的含量[J].辽宁中医药大学学报,2010,12(6):248.
- [9] 王福成,豆文太,朱文学.HPLC测定山楂精中牡荆苷、牡荆苷-2''-O-鼠李糖苷、金丝桃苷、芦丁的含量[J].中成药,2002,24(2):122.

Δ 基金项目:广东省中医药强省科研课题(No.20132080)

\* 主管药师。研究方向:医院药学。电话:020-83827812-60237。

E-mail: lizehuasy@126.com

# 通信作者:主管中药师,博士。研究方向:中药学。电话:020-83501292。E-mail: xwjnv@qq.com

(收稿日期:2013-09-04 修回日期:2014-05-08)