

养心安神丸的质量标准

陈阿丽, 杨永霞, 关琴笑, 梁生旺, 王淑美*
(广东药学院, 广州 510006)

[摘要] 目的:建立养心安神丸的质量标准。方法:采用 TLC 对养心安神丸中的五味子、丹参、首乌藤进行定性鉴别;采用 HPLC 测定五味子甲素和五味子乙素的含量。结果:养心安神丸中五味子、丹参、首乌藤的薄层色谱鉴别斑点清晰,分离较好。五味子甲素在 0.242~4.84 μg 呈良好的线性关系($r=0.999\ 2$),平均回收率为 98.48% (RSD 1.03%);五味子乙素在 0.110~2.21 μg 呈良好的线性关系($r=0.999\ 4$),平均回收率为 97.10% (RSD 1.03%)。结论:建立的质量标准简便可行,可用于养心安神丸的质量控制。

[关键词] 养心安神丸;薄层鉴别;高效液相色谱;质量标准

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2013)21-0093-03

[doi] 10.11653/syfyj2013210093

Quality Standards Research of Yangxinanshen Pills

CHEN A-li, YANG Yong-xia, GUAN Qin-xiao, LIANG Sheng-wang, WANG Shu-mei*
(Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China)

[Abstract] **Objective:** To establish the quality standard for Yangxinanshen pills. **Method:** Fructus Schisandrae Chinensis, *Salvia miltorrhiza* and Caulis Polygoni Multiflori in Yangxinanshen pills were identified by TLC. The deoxyschizandrin and schisandrin B were determined by HPLC. **Result:** By TLC, the spots of three herbal drugs were well separated and without interference. Deoxyschizandrin showed a good linear relationship in the range of 0.242-4.84 μg ($r=0.999\ 2$) and the average recovery was 98.48% (RSD 1.03%). Schisandrin B showed a good linear relationship in the range of 0.110-2.21 μg ($r=0.999\ 4$) by HPLC. The average recovery was 97.10% (RSD 1.03%). **Conclusion:** The method is simple, reliable and accurate, which can be applied to quality control of Yangxinanshen pills.

[Key words] Yangxinanshen pills; TLC; HPLC; quality standard

养心安神丸是由五味子、首乌藤、合欢花、黄精、当归、丹参、酸枣仁、远志、知母、磁石 13 味中药材提取制备而成的中成药制剂,收载于《卫生部药品标准》中药成方制剂第 4 册^[1],具有补肾益智、养心安神的功效,用于治疗于心肾不交引起的少眠多梦、头晕心悸、耳鸣健忘、倦怠无力等症^[2]。原《卫生部药品标准》中该制剂只建立了丹参和当归的薄层鉴

别方法,在该方法中只使用了对照药材进行对照,且缺乏对养心安神丸的定量测定,未能全面分析该药的质量优劣。养心安神丸中君药为五味子,五味子果实及种子含多种联苯环辛烯型木脂素,包括五味子甲素、五味子乙素、五味子酯甲和五味子醇甲等,因此,本文对五味子、丹参、首乌藤进行薄层色谱法定性鉴别,并且采用高效液相色谱法测定五味子甲素和五味子乙素的含量,为该产品的质量控制在提供了依据。

1 材料

EC2000 型高效液相色谱仪、UV230⁺ 紫外-可见检测器、EC2000 工作站(大连依利特分析仪器有限公司),KQ-500 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司),CPA225D 型 1/万电子天平(德国赛多

[收稿日期] 20130523(005)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81073024)

[第一作者] 陈阿丽,硕士,实验师,从事中药质量控制研究, Tel:18928965818, E-mail:chenali2004@163.com

[通讯作者] *王淑美,博士,教授,从事中药物物质基础及新药开发研究, Tel:020-39352177, E-mail:shmwang@sina.com

利斯电子天平)。五味子甲素(批号 110764-200408)、五味子乙素(批号 110765-200710)、丹参酮 IIA(批号 110766-200417)、大黄素(批号 0756-200110),以上对照品均购自中国药品生物制品检定所;五味子药材购自中山市中智大药房,经广东药学院中山校区田素英高级实验师鉴定为木兰科植物五味子 *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill. 的干燥果实。养心安神丸(北京同仁堂股份有限公司,批号 12082835,12082836,12080594)为市售成药。甲醇为色谱醇,水为纯化水,其余试剂为分析纯。

2 方法与结果

2.1 薄层色谱鉴别

2.1.1 五味子的鉴别^[3-4] 取本品研细,称取 10 g,置 50 mL 具塞锥形瓶中,加 40 mL 乙酸乙酯超声提取 30 min,滤过,滤液蒸干,残渣加甲醇 1 mL 使溶解,作为供试品溶液。再取除五味子外的其他处方药材,按制备工艺制成缺五味子的阴性样品,再同法制成阴性对照溶液。取五味子对照药材 2 g,同法制成对照药材溶液。另取五味子甲素对照品适量,加乙酸乙酯制成每 1 mL 含五味子甲素 2 mg 的对照品溶液。照薄层色谱法《中国药典》2010 年版一部附录 VI B) 试验,吸取上述 4 种溶液各 4 μ L,分别点于同一硅胶 GF₂₅₄ 薄层板上,以石油醚(30~60 $^{\circ}$ C)-甲酸乙酯-甲酸(15:5:1)的上层溶液为展开剂,展开,取出晾干,置紫外灯(254 nm)下检视。供试品色谱中,在与对照药材色谱和对照品色谱相应的位置上显相同颜色的斑点,阴性对照色谱在相应位置上无干扰。

2.1.2 丹参的 TLC 鉴别^[5-6] 取本品内容物 5 g,研细置 50 mL 具塞锥形瓶,加 20 mL 乙酸乙酯,超声 20 min,滤过,滤液浓缩至干,残渣加乙酸乙酯 1 mL 溶解,得供试品溶液。按处方制备缺丹参药材的阴性样品,同法制缺丹参的阴性对照溶液。另取丹参对照药材 2 g,同法制成对照药材溶液。取丹参酮 IIA 对照品适量,加乙酸乙酯制成每 1 mL 含丹参酮 IIA 1 mg 的对照品溶液。照薄层色谱法(《中国药典》2010 年版一部附录 VI B) 试验,吸取上述 4 种溶液均 2 μ L,点于同一硅胶 G 薄层板上,以石油醚(30~60 $^{\circ}$ C)-乙酸乙酯(19:2)为展开剂,置展开缸内饱和 15 min,展开,取出晾干。供试品色谱中,在与对照药材色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点;在与对照品色谱相应的位置上,显相同的暗红色斑点。

2.1.3 首乌藤的 TLC 鉴别 取本品内容物 5 g,研细置 50 mL 具塞锥形瓶,加 20 mL 甲醇,超声 20 min,放冷,滤过,滤液浓缩至干,残渣加蒸馏水

20 mL 溶解,再加 5 mL 盐酸,水浴加热 30 min,立即冷却,用乙醚提取 2 次,每次 20 mL,合并乙醚提取液,浓缩至干,残渣加三氯甲烷 1 mL 溶解,得供试品溶液。按处方制备缺首乌藤药材的阴性样品,同法制得缺首乌藤阴性对照溶液。另取首乌藤对照药材 2 g,同法制成对照药材溶液。取大黄素对照品适量,加三氯甲烷制成每 1 mL 含大黄素 1 mg 的溶液。照薄层色谱法(《中国药典》2010 年版一部附录 VI B) 试验,吸取上述 4 种溶液均 4 μ L,点于同一硅胶 G 薄层板上,以石油醚(30~60 $^{\circ}$ C)-甲酸乙酯-甲酸(15:5:1)为展开剂,置展开缸展开,取出晾干。供试品的色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同亮黄色的斑点;置氨气中熏后,日光下检视,斑点变为红色。

2.2 含量测定

2.2.1 色谱条件 Boston Green ODS C₁₈ 色谱柱(4.6 mm \times 250 mm, 5 μ m),流动相甲醇-水(73:27),检测波长 254 nm,流速 1 mL \cdot min⁻¹,进样量 20 μ L。

2.2.2 对照品溶液制备 取五味子甲素、五味子乙素对照品适量,加甲醇制得五味子甲素、五味子乙素的质量浓度分别为 0.242 0, 0.110 4 g \cdot L⁻¹ 的混合对照品溶液。

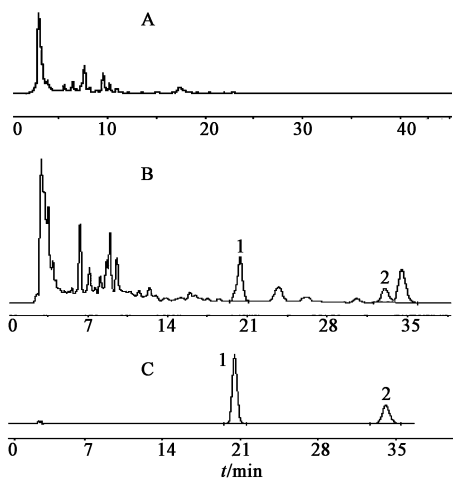
2.2.3 供试品溶液制备 取本品内容物研细,约 5 g,精密称定,置 50 mL 具塞锥形瓶,先后精密加入 20 mL 乙酸乙酯超声提取 3 次,每次 15 min,冷却至室温,精密称重,用乙酸乙酯补足减失的质量,滤过,取续滤液浓缩至干,残渣加 5 mL 乙酸乙酯 1 mL 溶解,移至 10 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,用 0.45 μ m 微孔滤膜滤过,即得。

2.2.4 阴性对照溶液制备 取处方中去五味子的其他药材,按工艺流程制备成缺五味子的阴性样品,并且按供试品溶液制备方法制备阴性对照品溶液,即得。

2.2.5 线性关系考察 取 2.2.2 项下混合对照品溶液,分别精密吸取 0.25, 0.55, 1.1, 2.2, 3.3, 4, 5 mL 置 5 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,分别进样 20 μ L 测定。以进样量(X)为横坐标,峰面积(Y)为纵坐标进行回归,得回归方程 $Y_{\text{五味子甲素}} = 38\ 947\ 048.755X - 246\ 668.360$ ($r = 0.999\ 2$)。的回归方程为 $Y_{\text{五味子乙素}} = 33\ 977\ 966.192X - 109\ 116.113$ ($r = 0.999\ 4$),表明五味子甲素在 0.242~4.84 μ g、五味子乙素在 0.110~2.21 μ g 与峰面积呈良好的线性关系。

2.2.6 专属性试验 取上述阴性对照溶液、供试品

溶液、对照品溶液,按上述色谱条件,分别进样 20 μL ,测定,结果五味子甲素、五味子乙素峰与相近的其他成分峰分离完全(分离度 > 1.5),阴性对照无干扰见图 1。



A. 阴性;B. 样品;C. 对照品;1. 五味子甲素;2. 五味子乙素

图 1 养心安神丸 HPLC

2.2.7 精密度试验 精密吸取混合对照品溶液,按 2.2.1 项下色谱条件,连续进样 6 次,得五味子甲素 RSD 0.65%,五味子乙素 RSD 0.67%,表明仪器精密度高。

2.2.8 稳定性试验 精密吸取同一份供试品溶液,室温放置,在第 0,4,8,12,24 h 分别进样,测定五味子甲素与五味子乙素峰面积值,结果五味子甲素 RSD 0.57%,五味子乙素 RSD 0.60%,表明供试品溶液 24 h 内稳定。

2.2.9 重复性试验 取同一供试样品(批号 12082835)6 份,按照 2.2.3 项方法制备供试品溶液 6 份,分别进样,记录色谱图,按照外标法计算含量,五味子甲素、五味子乙素的 RSD 分别为 2.3%,1.9%,表明方法重复性良好。

2.2.10 加样回收率 取已知含量的样品(批号 12082835)6 份各约 2.5 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,每份样品精密加入五味子甲素对照品溶液(0.2420 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)2 mL,五味子乙素对照品溶液(0.1104 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)1 mL,按 2.2.3 项下方法制备,测定五味子甲素、五味子乙素的含量,计算回收率,见表 1,2。

2.2.11 样品的测定 取 3 个批号养心安神丸,每批平行测定 3 份,每份取样约 5.0 g,精密称定,按 2.2.3 项供试品溶液制备同法操作和 2.2.1 项下方法测定,用外标法计算含量,计算得 3 批五味子甲素、五味子乙素平均为 1.20,0.61 $\text{mg}/\text{丸}$ 。

表 1 五味子甲素加样回收率试验

称样量	样品含量	测得量	回收率	平均值	RSD
/g	/mg	/mg	/%	/%	/%
2.5004	0.4983	0.9737	98.22		
2.5001	0.4983	0.9721	97.89		
2.4995	0.4982	0.9801	99.58		
2.4995	0.4982	0.9689	97.26	98.48	1.03
2.5015	0.4985	0.9818	99.85		
2.5001	0.4983	0.9729	98.06		

注:加入量均为 0.4840 mg 。

表 2 五味子乙素加样回收率试验

称样量	样品含量	测得量	回收率	平均值	RSD
/g	/mg	/mg	/%	/%	/%
2.5004	0.2528	0.4649	96.06		
2.5001	0.2528	0.4667	96.89		
2.4995	0.2527	0.4653	96.29	97.10	1.03
2.4995	0.2527	0.4672	97.15		
2.5015	0.2529	0.4712	98.87		
2.5001	0.2528	0.4677	97.35		

注:加入量均为 0.2208 mg 。

3 讨论

本实验在原有部版质量标准基础上增加了薄层定性鉴别和含量测定,完善了该制剂的质量标准,为该产品的质量控制在提供了依据。我们选取了乙腈-甲醇-水(15:15:10)、乙腈-甲醇-水(1:1:1)、甲醇-水(75:25)、甲醇-水(72:28)作为流动相。结果表明当流动相中有机相采用甲醇,五味子甲素和五味子乙素分离效果较好,以甲醇-水(73:27)为流动相,使样品的五味子甲素、乙素达到很好的基线分离。

[参考文献]

- [1] 中华人民共和国卫生部药典委员会. 卫生部药品标准中药成方制剂. 第 4 册[S]. 北京:中华人民共和国卫生部药典委员会,1998:143.
- [2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010:附录 VI B.
- [3] 杨放,袁军,付平. 五味子的研究概况[J]. 华西药学杂志,2003,18(6):438.
- [4] 余驰,张大舜,殷丹. 五味子和南五味子的鉴别[J]. 中国医院药学杂志,2007,27(5):681.
- [5] 南善姬,郑美善,韩映晨. 扶胃平胶囊的薄层鉴别方法[J]. 中国药业,2006,15(11):40.
- [6] 范晓庆,杨钊,张春辉. 海青胶囊中黄芪、大黄、丹参的薄层色谱鉴别[J]. 中国药业,2008,17(8):42.
- [7] 梁洪华,王军栋. 心安宁片中葛根、山楂、制何首乌 TLC 鉴别和大黄素含量测定研究[J]. 中国药品标准,2005,6(4):50.
- [8] 丁佐,鲁巍巍,李宏博,等. HPLC 同时测定北五味子中 5 种木脂素的含量[J]. 中国中药杂志,2010,35(13):1728.

[责任编辑 顾雪竹]