

泻肝安神丸的定性及定量分析方法

肖丽和^{1*}, 郭巧技¹, 关潇滢², 熊 英¹

(1. 深圳市药品检验所, 广东 深圳 518029; 2. 沈阳药科大学药学院, 辽宁 沈阳 110016)

[摘要] 目的: 建立泻肝安神丸的定性及定量方法。方法: 采用薄层色谱法对制剂中的当归、栀子、黄芩、远志进行定性鉴别; 采用高效液相色谱法测定制剂中龙胆苦苷的含量。结果: 薄层色谱显色清晰且阴性对照无干扰。龙胆苦苷在 $0.010\ 2\sim 0.204\ 0\ \text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 浓度范围内呈良好的线性关系, 平均回收率为 98.2%, $\text{RSD}=1.2\%$ 。结论: 该法操作简便, 结果准确, 重复性好, 可用于该制剂的质量控制。

[关键词] 泻肝安神丸; 龙胆苦苷; 高效液相色谱法; 薄层色谱法

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2009)08-0016-04

Qualitative and Quantitative Analysis of Xiegan Anshen Pills

XIAO Li-he^{1*}, GUO Qiao-ji¹, GUAN Xiao-ying², XIONG Ying¹

(1. Shenzhen Institute for Drug Control, Shenzhen 518029, China;

2. School of Pharmacy, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China)

[Abstract] **Objective:** To develop the qualitative and quantitative methods for quality control of Xiegan Anshen pills. **Methods:** Radix Angelicae Sinensis, Fructus Gardeniae, Radix Scutellariae and Radix Polygalae were identified by TLC. HPLC was used for determination of gentiopicrin. **Result:** The TLC methods for Xiegan Anshen pills identification were specific with good separation. The linear range for quantitation of gentiopicrin was from $0.010\ 2$ to $0.204\ 0\ \text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ($r=0.999\ 9$) and the mean recovery of gentioporin was 98.2% ($\text{RSD}=1.2\%$). **Conclusion:** These methods were found to be reliable, accurate and specific, they can be used for the quality control of Xiegan Anshen pills.

[Key words] Xiegan Anshen pills; gentiopicrin; HPLC; TLC

泻肝安神丸为龙胆、黄芩、栀子等 17 味药材组成的成方制剂,具有清肝泻火、重镇安神的功效,用于失眠,心烦,惊悸及神经衰弱。原标准收载于《中华人民共和国卫生部药品标准》中药成方制剂第 4 册,仅收载茯苓、甘草等的显微特征鉴别,为了提高中成药的检测标准,增加了当归、栀子、黄芩、远志的薄层色谱鉴别及龙胆苦苷的 HPLC 含量测定。

1 仪器与材料

岛津 LC-20AD 高效液相色谱仪,SPD-M20A 检测器,LC-Solution 色谱工作站;天津奥特恩斯 AS20500A 型超声波清洗机。栀子苷(110749-200410)、汉黄芩素(1514-200001)、远志皂苷元(111572-200301)、龙胆苦苷(0770-200106)对照品及当归(120927-200613)、栀子(120956-200605)、黄芩(955-9904)对照药材由中国药品生物制品检定所提供;泻肝安神丸样品由内蒙古五原九郡药业有限责任公司等 4 个厂家提供,处方中的 17 味中药由内蒙古五原九郡药业有限责任公司提供。水为超纯水,甲醇为色谱纯,实验中所用的其它试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 薄层色谱鉴别

2.1.1 供试品、对照药材及对照品溶液的制备 当归 取本品 10 g,研细,加乙醚 40 mL,超声处理 20 min,过滤,滤液挥干乙醚,残渣加乙酸乙酯 1 mL 使溶解,作为供试品溶液。另取当归对照药材 0.2 g,加乙醚 20 mL,同法制成当归对照药材溶液。

栀子^[1] 取本品 10 g,研细,加乙醚 40 mL,超声处理 20 min,滤过,药渣挥干乙醚,加甲醇 40 mL,超声处理 20 min,滤过,滤液蒸干,残渣加水 15 mL 使

溶解,用水饱和的正丁醇提取 2 次,每次 20 mL,合并正丁醇液,蒸干,残渣加少量无水乙醇使溶解,加中性氧化铝 2 g,拌匀,干燥,置中性氧化铝柱(100~200 目,2 g,内径 1 cm,干法装柱)上,用甲醇 30 mL 洗脱,收集洗脱液,蒸干,残渣加甲醇 1 mL 使溶解,作为供试品溶液。另取栀子对照药材 0.5 g,同法制成栀子对照药材溶液。再取栀子苷对照品 1 mg,加甲醇 1 mL 使溶解,作为对照品溶液。

黄芩^[1] 取本品 5 g,研细,加甲醇 30 mL,超声处理 30 min,滤过,滤液蒸干,残渣加水 20 mL 使溶解,加盐酸调 pH 值至 2~3,用乙酸乙酯提取 2 次,每次 20 mL,合并乙酸乙酯提取液,蒸干,残渣加甲醇 1 mL 使溶解,即得。另取黄芩对照药材 0.2 g,加甲醇 20 mL,同法制成黄芩对照药材溶液。再取汉黄芩素对照品 1 mg,加甲醇 1 mL 使溶解,作为对照品溶液。

远志^[2] 取本品 15 g,研细,加甲醇 40 mL,超声处理 30 min,滤过,滤液中加入 3 倍量的乙醚,静置,待沉淀完全,倾去上清液,于沉淀中加入 10% 的盐酸溶液 30 mL,水浴回流 2 h,过滤,取残渣加甲醇 1 mL 使溶解,作为供试品溶液。另取远志皂苷元对照品 1 mg,加甲醇 1 mL 使溶解,作为对照品溶液。

2.1.2 阴性对照溶液的制备 按处方及制法,分别制成缺当归、栀子、黄芩、远志的阴性对照样品。分别取相当于各鉴别项下供试品的量,按供试品溶液的制备方法制成阴性对照溶液。

2.1.3 色谱条件 薄层鉴别的薄层板、展开剂及检视方法见表 1。

表 1 薄层鉴别色谱条件

样品	薄层板	展开剂	检视方法
当归	CMC-Na 硅胶 G 薄层板	正己烷-乙酸乙酯(4:1)	紫外光灯(365 nm)下检视
栀子	硅胶 G 薄层板	三氯甲烷-乙酸乙酯-甲醇-水(15:40:22:10) 10℃放置的下层溶液	喷以 5% 香草醛硫酸溶液,105℃加热至斑点显色清晰;日光下检视
黄芩	聚酰胺薄膜	甲苯-乙酸乙酯-甲醇-甲酸(10:3:1:2)	紫外光灯(365 nm)下检视
远志	硅胶 G 薄层板	三氯甲烷-丙酮-冰醋酸(9:1:0.2)	喷以 5% 香草醛硫酸溶液,105℃加热至斑点显色清晰;日光下检视

2.1.4 检测结果 供试品色谱中,在与对照药材、对照品色谱相应位置上,显相同颜色的斑点。阴性对照无干扰(见图 1~4)。

2.2 含量测定^[1]

2.2.1 色谱条件 色谱柱:ZORBAX SB-C18 柱(4.6

mm×250 mm, 5 μm),流动相为甲醇-水(16:84);流速:1.0 mL·min⁻¹;检测波长:254 nm;柱温:35℃;进样量 10 μL。在此色谱条件下,色谱峰分离度好,且阴性对照样品对检测无干扰,见图 5。

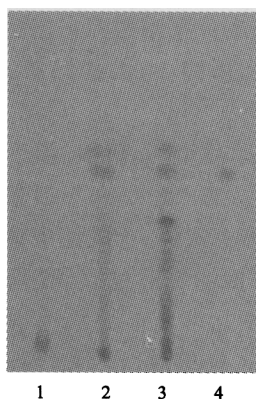
2.2.2 对照品溶液制备 精密称取龙胆苦苷对照



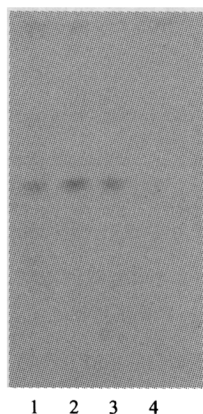
1. 样品; 2. 当归对照药材; 3. 缺当归阴性对照
图 1 泻肝安神丸中当归鉴别薄层色谱图



1. 样品; 2. 远志皂苷元对照品; 3. 缺远志阴性对照
图 4 泻肝安神丸中远志鉴别薄层色谱图



1. 缺黄芩阴性对照; 2. 样品; 3. 黄芩对照药材; 4. 汉黄芩素对照品
图 2 泻肝安神丸中黄芩鉴别薄层色谱图



1. 样品; 2. 栀子对照药材; 3. 栀子苷对照品;
4. 缺栀子阴性对照
图 3 泻肝安神丸中栀子鉴别薄层色谱图

品适量, 加甲醇制成每 1 mL 含 60 μg 的溶液, 作为对照品溶液。

2.2.3 供试品溶液制备 取研细的本品 2.5 g, 置锥形瓶中, 精密加甲醇 25 mL, 称定重量, 回流提取 30 min, 放至室温, 再称定重量, 分别用甲醇补足减失的重量, 摇匀, 滤过, 取续滤液即得。

2.2.4 阴性对照溶液的制备 按处方及制法, 制成缺龙胆阴性对照样品。取相当于供试品的量, 按供试品溶液的制备方法制成阴性对照溶液。

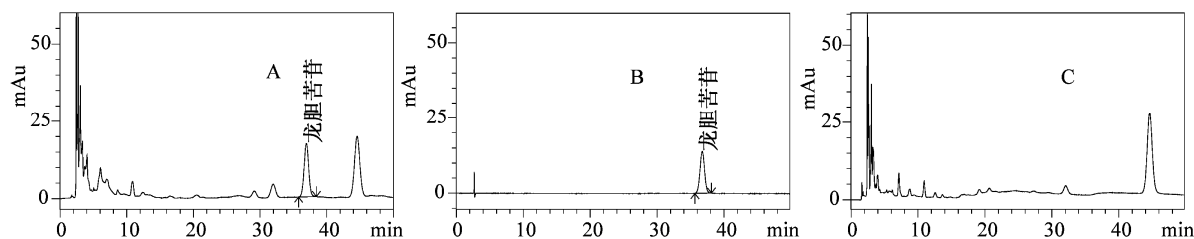
2.2.5 线性关系考察 精密吸取不同浓度的龙胆苦苷对照品溶液各 10 μL , 注入液相色谱仪, 记录峰面积, 以对照品的浓度 ($\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$) 为横坐标, 测得的峰面积为纵坐标, 绘制标准曲线, 得回归方程: $Y = 1.11 \times 10^7 X - 6.13 \times 10^3$, $r = 0.9999$ 。结果表明, 龙胆苦苷对照品浓度在 0.010 2 ~ 0.204 0 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 之间与其峰面积呈良好的线性关系。

2.2.6 重复性试验 取同一批供试品 (批号 20060210) 6 份, 按含量测定方法测定。结果龙胆苦苷含量平均值为 0.814 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$, RSD 为 1.0%。

2.2.7 稳定性试验 取本品 (批号 20060210) 2.5 g, 按 2.2.3 项下方法制备供试品溶液, 按含量测定方法, 分别在 0, 2, 4, 6, 8, 12 h 进样测定。结果测得的龙胆苦苷峰面积的 RSD 为 0.7%, 表明供试品溶液自制备后 12 h 内基本稳定。

2.2.8 加样回收试验 取同一批已知含量的供试品 (含量为 0.814 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$; 批号为 20060210) 6 份, 分别精密加入一定量的龙胆苦苷对照品, 按含量测定方法测定, 计算龙胆苦苷的回收率。结果见表 2。

2.2.9 样品的测定 取本品 10 批, 按 2.2.3 项下方法制备供试品溶液, 进样测定, 结果见表 3。



A. 泻肝安神丸; B. 黄芩苷对照品; C. 缺黄芩阴性对照图

图 5 液相色谱图

表 2 泻肝安神丸中龙胆苦苷的回收率结果

No.	取样量 (g)	样品中含量 (mg)	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均回 收率(%)	RSD (%)
1	1.242 3	1.011 2	0.962 0	1.967 9	99.4	98.2	1.2
2	1.263 3	1.028 3	0.962 0	1.965 3	97.4		
3	1.254 1	1.020 8	0.962 0	1.983 5	100.1		
4	1.254 8	1.021 4	0.962 0	1.958 6	97.4		
5	1.244 2	1.012 8	0.962 0	1.949 4	97.4		
6	1.261 5	1.026 9	0.962 0	1.965 6	97.6		

表 3 样品测定结果(n=4)

批号	含量(mg·g ⁻¹)	RSD(%)
20060210 ^a	0.82	0.2
4082117 ^b	0.41	0.9
7082176 ^c	0.46	0.7
7082178 ^c	0.39	0.5
3082005 ^b	0.40	0.6
4082075 ^b	0.35	0.4
4082076 ^b	0.35	0.8
4082077 ^b	0.43	1.1
040501 ^d	0.32	0.5
040503 ^d	0.29	1.3

注: a 内蒙古五原九郡药业有限责任公司; b 中国北京同仁堂(集团)有限责任公司北京中药二厂; c 北京同仁堂制药有限公司; d 河北药都制药集团

3 讨论

考察了不同供试品溶液制备方式及不同色谱条件下酸枣仁皂苷 A、B 的薄层色谱鉴别, 结果均存在阴性干扰, 由于酸枣仁皂苷 A、B 在酸枣仁中的含量

很低(文献报道[3]酸枣仁中酸枣仁皂苷 A 的含量为 0.04~0.08%, 酸枣仁皂苷 B 的含量为 0.03~0.04%), 本品中的折算含量仅分别为 0.001 7~0.003 3%、0.001 2~0.001 7%, 而且本品中的远志、麦冬等皂苷类成分也可能对酸枣仁皂苷 A、B 的鉴别产生干扰, 故本标准未收录酸枣仁的鉴别。

考察了含量测定的流动相系统: 分别以乙腈-水(7:93)、乙腈-甲醇-水(6:4:90)、甲醇-水(16:84)作为流动相进行试验, 结果以甲醇-水(16:84)作为流动相时龙胆苦苷峰与干扰峰分离效果好, 保留时间较短, 龙胆苦苷峰形对称, 理论板数可达 13310。

考察了含量测定用供试品溶液的提取方法: 分别以甲醇、75% 甲醇、50% 甲醇作为提取溶剂进行供试品溶液的制备, 结果三者所得龙胆苦苷含量无明显差别, 由于使用甲醇作为提取溶剂所得的供试品溶液杂质少且较容易过滤, 故选择甲醇作为供试品溶液制备的提取溶剂; 然后考察了超声法和回流法两种提取方法, 结果回流法达到的供试品溶液中的龙胆苦苷含量明显较超声法高, 故选择回流法; 最后考察了提取时间, 结果 30、60、90 min 的提取效果无明显差异, 故选择提取 30 min。

[参考文献]

- [1] 蒲旭峰, 吴纯洁. 泻肝安神胶囊质量标准研究[J]. 中成药, 2002, 24(4): 265.
- [2] 沙娟, 赵长振, 施爱红, 等. 归脾丸(浓缩丸)质量标准研究[J]. 中国药业, 2007, 16(5): 29.
- [3] 李会军, 李萍, 等. 高效液相色谱法蒸发光散射检测器测定酸枣仁中酸枣仁皂苷 A 及 B 的含量[J]. 药物分析杂志, 2000, 20(2): 82.