

# 枣仁安神液质量控制方法研究

刘凤兰<sup>1,2</sup>, 刘安<sup>2</sup>, 王洋<sup>2</sup>, 冯作山<sup>1</sup>, 杨春梅<sup>1</sup>, 叶祖光<sup>2\*</sup>

(1. 新疆农业大学, 新疆 830052; 2. 中药复方新药开发国家工程研究中心, 北京 100039)

**[摘要]** 目的: 建立用 HPLC 测定枣仁安神液中酸枣仁皂苷 A 含量的方法。方法: 采用 Kromasil C<sub>18</sub> 柱为分析柱, 乙腈-水 (32: 68 v/v) 为流动相, 流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, 检测波长 204nm。结果: 酸枣仁皂苷 A 在 0.51μg~ 3.06μg 范围内呈良好的线性关系。结论: 该法准确, 稳定性好, 可以作为枣仁安神液的质量控制方法。

**[关键词]** 枣仁安神液; 酸枣仁皂苷 A; C<sub>18</sub> 预处理小柱; 高效液相

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2006)08-0019-02

枣仁安神液为同仁堂的传统名优方剂, 具有补心养肝、安神益智的功能, 主治心肝血虚、神经衰弱引起的失眠健忘、头晕、头痛等症。2005 年版《中国药典》收载本品, 但是未规定本品的质量控制标准<sup>[1]</sup>, 同时, 也未见文献报道其质控方法。药品的质量控制标准是药品稳定性和用药安全的重要保证<sup>[2]</sup>。枣仁安神液中酸枣仁是枣仁安神液的君药, 具有镇静安神之功效<sup>[3]</sup>, 文献报道, 酸枣仁皂苷 A 是其指标性成分<sup>[4,5]</sup>。控制酸枣仁皂苷 A 的含量, 是控制枣仁安神液质量的方法之一。本文采用萃取与 C<sub>18</sub> 小柱相结合的方法对枣仁安神液中酸枣仁皂苷 A 进行分离纯化, 并用 RP-HPLC 法测定其含量。本方法除杂较高, 准确, 稳定性好, 可以作为枣仁安神液的质量控制方法。

## 1 仪器与试剂

Waters2695 高效液相色谱系统, 自动进样器, Empower 色谱工作站, Waters2996 紫外检测器(美国 Waters 公司)。

对照品酸枣仁皂苷 A(中国药品生物制品检定所提供, 批号: 110734-200408), 乙腈为色谱纯, 正丁醇、氨水、甲醇等均为分析纯(北京化学试剂公司), 超纯水(自制), VARIAN BOND ELUT C<sub>18</sub> 预处理小柱, 枣仁安神液为市售的北京同仁堂股份有限公司同仁堂制药厂的产品。

## 2 方法与结果

**2.1 色谱分析条件** 色谱柱: Kromasil C<sub>18</sub> (4.6mm × 250mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-水 (32: 68v/v); 流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>; 检测波长 204 nm; 柱温为 30 °C。

按上述色谱条件得到溶剂(甲醇)峰、酸枣仁皂苷 A 对照品、枣仁安神液的色谱图(见图 1~ 3)。

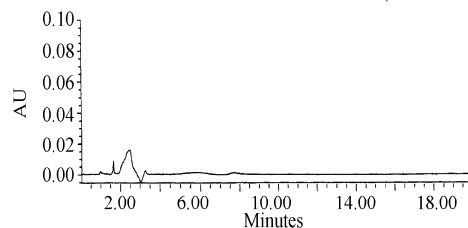


图 1 溶剂(甲醇)的 HPLC 色谱图

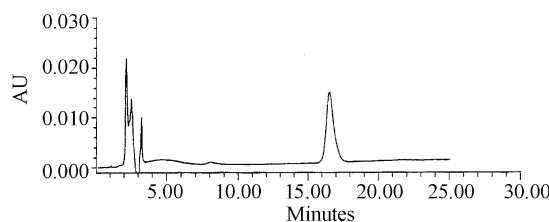


图 2 酸枣仁皂苷 A 对照品的 HPLC 色谱图

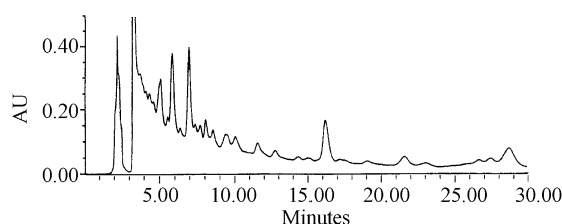


图 3 样品的 HPLC 色谱图

**2.2 供试品溶液的制备** 精密量取枣仁安神液 30 mL 置分液漏斗中, 加水饱和的正丁醇振振摇提取 3

[收稿日期] 2006-03-13

[通讯作者] 叶祖光, Tel: 010-84010200; E-mail: yezuguang@sina.com

次(35 30、30mL), 合并正丁醇提取液, 用氨水溶液(浓氨水 80mL 加水配制成 200mL 溶液)洗 3 次, 每次 30mL, 弃去氨溶液, 正丁醇液蒸干, 残渣加少量水溶解, 定量转移至已处理好的 C<sub>18</sub> 小柱上。(C<sub>18</sub> 小柱的预处理: 先用 10 mL 水洗脱, 再用 10mL, 甲醇洗脱, 最后用 10mL 水洗脱。)

以水 8 mL 洗脱, 弃去水液, 再用 30% 甲醇 8mL 洗脱, 弃去 30% 甲醇洗脱液, 继用 90% 甲醇洗脱收集洗脱液 8mL, 挥干洗脱液, 残渣用甲醇分次溶解, 并转移至 2mL 量瓶内, 加甲醇至刻度, 摇匀, 过滤, 取续滤液, 即得。

**2.3 对照品溶液的制备** 精密称取酸枣仁皂苷 A 对照品适量, 加甲醇溶制成每 1mL 含 0.1275mg 的溶液, 摇匀, 即得。

**2.4 线性关系的考察** 分别精密吸取上述对照品溶液各 4, 8, 12, 16, 20, 24 $\mu$ L 注入高效液相色谱仪, 记录峰面积, 以进样量 X ( $\mu$ g) 为横坐标, 以峰面积积分值 Y 为纵坐标, 绘制标准曲线, 计算回归方程。所得回归方程如下:

$$Y = 392976X + 9575.3, r = 0.9998$$

结果表明: 酸枣仁皂苷 A 在 0.51 $\mu$ g~ 3.06 $\mu$ g 范围内呈良好的线性关系。

**2.5 精密度试验** 精密吸取上述酸枣仁皂苷 A 对照品溶液 20 $\mu$ L, 在上述色谱条件下, 连续进样 5 次, 记录色谱峰的峰面积, 计算其相对标准偏差(RSD)。结果测得 5 次峰面积的 RSD 为 0.82%。

**2.6 稳定性试验** 精密吸取同一枣仁安神液的供试品溶液, 分别于 0, 2, 4, 8, 16, 24h 测定, 结果表明, 供试品溶液在 24h 内基本稳定, 求得 RSD 为 0.91%。

**2.7 重复性试验** 取同一批次的枣仁安神液样品 5 份, 按 2.2 项下方法制成供试品溶液, 按上述色谱条件测得酸枣仁皂苷 A 的平均含量为 0.03958 mg/10 mL, 其 RSD 为 2.72%。

**2.8 加样回收率试验** 精密量取已知含量的同一批次的枣仁安神液 2 瓶(约 20 mL), 分别精密加入酸枣仁皂苷 A 对照品(浓度为 0.051 mg $\cdot$ mL<sup>-1</sup>) 1, 1.5, 2 mL。按 2.2 项下内容操作, 按上述色谱条件测定其含量, 并计算回收率, 测定结果见表 1。

**2.9 样品测定** 取不同批次的枣仁安神液每个批

次平行 3 份, 按 2.2 供试品的制备方法处理后, 依上述色谱条件测定含量, 样品含量的测定结果见表 2。

表 1 枣仁安神液中酸枣仁皂苷 A 回收率(n=6)

取样量 (mL)	已知量 (mg)	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
20.4	0.07921	0.0510	0.1201	92.23		
20.5	0.07961	0.0510	0.1154	88.35		
20.5	0.07968	0.0765	0.1437	92.00	91.22	2.08
20.3	0.07909	0.0765	0.1401	90.04		
20.6	0.07996	0.1020	0.1707	93.81		
20.5	0.0976	0.1020	0.1652	90.89		

表 2 枣仁安神液中酸枣仁皂苷 A 的含量(n=3)

样品批号	酸枣仁皂苷 A(mg $\cdot$ 10 mL <sup>-1</sup> )	RSD(%)
5260083	0.03928	2.53
5260084	0.03892	2.46
5260085	0.03958	2.78

### 3 讨论

枣仁安神液复方制剂中化学成分复杂<sup>[5]</sup>, 检测易受到干扰, 本研究曾对乙腈-水(30:70)、乙腈-水(35:65)等不同比例流动相进行比较, 结果发现乙腈-水(32:68)能使样品中所含成分有较好的分离。本研究还对大孔树脂与 C<sub>18</sub> 小柱对供试品的预处理进行了比较, 发现 C<sub>18</sub> 小柱对样品分离纯化的效果较好。本方法除杂效果好, 准确, 稳定性好, 所测成分酸枣仁皂苷 A 为枣仁安神液君药的指标性成分, 因而可以作为枣仁安神液的质量控制方法。

### [参考文献]

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 一部, 北京: 化学工业出版社, 2005. 254-255.

[2] 苗明三, 李振国. 现代实用中药质量控制技术[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2000. 1076-1084.

[3] 郭胜民, 范晓雯, 宋少刚, 等. 酸枣仁总皂甙中枢抑制作用研究[J]. 西北药学杂志, 1996, 11(4): 166-168.

[4] 吴树勋, 张建新, 徐涛, 等. 酸枣仁与酸枣皂苷 A 对中枢神经系统作用的实验研究[J]. 中国中药杂志, 1993, 18(11): 685-688.

[5] 肖培根. 新编中药志[M]. 第二卷, 北京: 化学工业出版社, 2002. 648-653.