

## HPLC 测定安神补心胶囊 7 个有效成分的含量

许慧君<sup>1</sup> 陈钟<sup>2</sup> 卢树杰<sup>2</sup> 吉祥<sup>3</sup> 杜英峰<sup>1</sup> 张兰桐<sup>1\*</sup>

(1. 河北医科大学药学院药物分析教研室, 河北 石家庄 050017;

2. 河北省中药注射剂工程技术研究中心, 石家庄 051430; 3. 河北石家庄乐仁堂制药有限责任公司, 石家庄 050000)

**摘要** 目的: 建立 HPLC 法同时测定安神补心胶囊中 7 个木脂素类有效成分的含量, 以制定安神补心胶囊的质量控制标准。方法: 采用 Brava BDS C<sub>18</sub> 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 柱温 30 °C; 水(A) - 乙腈(B) 为流动相, 以 0.8 mL · min<sup>-1</sup> 梯度洗脱; 检测波长为 225 nm。结果: 在 65 min 内安神补心胶囊中戈米辛 H、五味子醇乙、戈米辛 F、五味子酯甲、五味子酯丁、五味子甲素和五味子乙素被完全分离; 峰面积与其浓度呈良好的线性; 加样回收率( n = 6) 分别为 101.2%、99.7%、100.1%、100.9%、101.8%、99.5%、99.6%; RSD 分别为 1.1%、0.76%、2.2%、0.53%、1.8%、0.66%、1.8%。结论: 本方法操作简便、可靠, 重复性好, 可作为安神补心胶囊的定量测定方法。

**关键词:** 中成药; 木脂素; 戈米辛 H; 五味子醇乙; 戈米辛 F; 五味子酯甲; 五味子酯丁; 五味子甲素; 五味子乙素; 高效液相色谱法; 多组分测定

中图分类号: R917

文献标识码: A

文章编号: 0254 - 1793(2011) 11 - 2078 - 04

## HPLC simultaneous determination of seven active components in Anshenbuxin capsules

XU Hui - jun<sup>1</sup>, CHEN Zhong<sup>2</sup>, LU Shu - jie<sup>2</sup>, JI Xiang<sup>3</sup>,  
DU Ying - feng<sup>1</sup>, ZHANG Lan - tong<sup>1\*</sup>

(1. Department of Pharmaceutical Analysis, School of Pharmacy, Hebei Medical University, Shijiazhuang 050017, China;

2. Hebei Province Engineering Research Center for Traditional Chinese Drug Injections, Shijiazhuang 051430, China;

3 Shijiazhuang Lerentang Pharmaceutical Co., Ltd, 050000, China)

**Abstract Objective:** To develop a method for the determination of gomisin H, schisandrol B, gomisin F, schisantherin A, schisantherin D, deoxyschizandrin and schisandrin B in Anshenbuxin capsules by HPLC. **Methods:** The samples were separated on a Brava BDS C<sub>18</sub> column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), by a gradient elution using water (A) and acetonitrile (B) as mobile phase at a flow rate of 0.8 mL · min<sup>-1</sup>. The detection wavelength was 225 nm and column temperature was 30 °C. **Results:** The complete separation was obtained within 65 min for the seven compounds ( gomisin H, schisandrol B, gomisin F, schisantherin A, schisantherin D, deoxyschizandrin and schisandrin B). Seven regression equations showing linear relationships between peak area and concentration of each compound were obtained. The average recoveries ( n = 6) of the compounds listed above were 101.2%, 99.7%, 100.1%, 100.9%, 101.8%, 99.5%, 99.6% and RSD were 1.1%, 0.76%, 2.2%, 0.53%, 1.8%, 0.66%, 1.8%, respectively. **Conclusion:** The method is simple, accurate and with good reproducibility and can be used for the determination of seven lignans in Anshenbuxin capsules.

**Key words:** Chinese patent medicine; lignans; gomisin H; schisandrol B; gomisin F; schisantherin A; schisantherin D; deoxyschizandrin; schisandrin B; Anshenbuxin capsules, HPLC, multicomponent assay

安神补心胶囊是由丹参、五味子(蒸)、石菖蒲、安神膏等多味药材制成的胶囊,具有养心安神的功

效,临床上用于阴血不足引起的心悸、失眠、头晕耳鸣<sup>[1,2]</sup>。五味子是安神补心胶囊的君药,其具有收

\* 通讯作者 Tel: (0311) 86266419; E - mail: zhanglantong@263.net

敛固涩,益气生津,补肾宁心等作用,而且木脂素类化合物是五味子中的主要活性成分<sup>[3]</sup>。2010年版中国药典采用 HPLC 法测定五味子醇甲的含量<sup>[4]</sup>。故测定五味子中多个木脂素类有效成分的含量对于安神补心胶囊的质量控制具有非常重要的意义。本文参考文献[5-6]采用高效液相色谱法建立了安神补心胶囊中7个木脂素类成分(戈米辛 H,五味子醇乙,戈米辛 F,五味子酯甲,五味子酯丁,五味子甲素和五味子乙素)的含量测定方法,为该产品提供了更加全面的定量评价方法。

### 1 仪器与试剂

Agilent1200 液相色谱仪(美国 Agilent 公司); BP211D 型电子分析天平(德国 Sartorius 公司)。乙腈、甲醇(色谱纯,美国 Tedia 公司);水为重蒸水。对照品由复旦大学药学院提供。安神补心胶囊购于北京协和康友制药有限公司。

### 2 方法与结果

**2.1 色谱条件** 色谱柱为 Brava BDS C<sub>18</sub> 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm);流动相: A 相为乙腈, B 相为水;柱温: 30 °C;流速: 0.8 mL · min<sup>-1</sup>;检测波长: 225 nm;进样量: 20 μL;线性梯度洗脱程序见表 1。

表 1 梯度洗脱程序

Tab 1 Program of gradient elution

时间( time) / min	乙腈( acetonitrile) / %	水( water) / %
0	40	60
10	45	55
15	47	53
17	50	50
20	45	55
23	50	50
25	50	50
40	45	55
45	65	35
50	68	32
55	70	30
60	80	20
65	100	0

表 2 7 个有效成分的回归方程、相关系数和线性范围

Tab 2 Regression equations, correlation coefficient and linearity ranges of the seven compounds

成分( compounds)	回归方程( regression equation)	相关系数( correlation coefficient)	线性范围( linear range) μg · mL <sup>-1</sup>
戈米辛 H ( gomisin H)	$Y = 73.314X + 32.023$	0.9999	10.35 ~ 51.48
五味子醇乙( schisandrol B)	$Y = 121.68X + 2.1853$	0.9995	25.48 ~ 85.95
戈米辛 F( gomisin F)	$Y = 91.35X + 32.375$	0.9996	4.26 ~ 25.46
五味子酯甲( schisantherin A)	$Y = 97.668X + 320.6$	0.9997	25.49 ~ 129.8
五味子酯丁( schisantherin D)	$Y = 94.649X + 104.5$	0.9992	4.75 ~ 42.50
五味子甲素( schisandrin A)	$Y = 10.715X + 89.125$	0.9995	585.6 ~ 1258.6
五味子乙素( schisandrin B)	$Y = 128.19X + 293.36$	0.9991	32.56 ~ 102.5

**2.2 对照品溶液的制备** 分别称取对照品戈米辛 H、五味子醇乙、戈米辛 F、五味子酯甲、五味子酯丁、五味子甲素和五味子乙素适量,精密称定,加甲醇分别制成约 1 mg · mL<sup>-1</sup>的对照品溶液。分别取各对照品适量,加甲醇制成适当浓度的混合对照品储备液,摇匀,0.45 μm 滤膜滤过,备用。

**2.3 供试品溶液的制备** 取安神补心胶囊内容物 1.0 g,精密称定,置圆底烧瓶中,精密加 90% 的乙醇 25 mL,按设定条件微波功率 400 W,萃取 3 min,萃取完毕后,放冷,再称定重量,用甲醇补充损失的重量,摇匀,滤过,取续滤液,离心( 14000 r · min<sup>-1</sup>),0.45 μm 滤膜滤过,弃去初滤液,续滤液作为供试品溶液。

**2.4 阴性样品溶液的制备** 按处方比例制备缺五味子的阴性空白样品,并按“2.3”项下方法制成阴性样品溶液。

**2.5 线性关系考察** 精密量取对照品储备液 1.0, 2.0, 4.0, 6.0, 8.0 mL 分别置 10 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,分别取 20 μL,注入高效液相色谱仪,测定。以浓度 X( μg · mL<sup>-1</sup>) 为横坐标,峰面积 Y 为纵坐标,绘制标准曲线,得回归方程。线性范围及相关系数见表 2。

**2.6 专属性试验** 取对照品溶液、供试品溶液、阴性样品溶液进样测定,结果其他药材并不干扰待测成分的测定,见图 1。

**2.7 精密度试验** 取同一混合对照品溶液连续进样 6 次,记录色谱峰的峰面积。结果戈米辛 H、五味子醇乙、戈米辛 F、五味子酯甲、五味子酯丁、五味子甲素和五味子乙素峰面积值的 RSD 分别为 0.61%, 0.25%, 0.46%, 0.73%, 0.35%, 0.89%, 0.58%, 均符合精密度的要求,说明该方法的精密度良好。

**2.8 重复性试验** 取同一批号(批号 20090406)样品 20 粒,精密称定,混匀,精密称取内容物约 1 g,共 6 份,按“2.3”项下方法制备供试品溶液,进样 20 μL 进

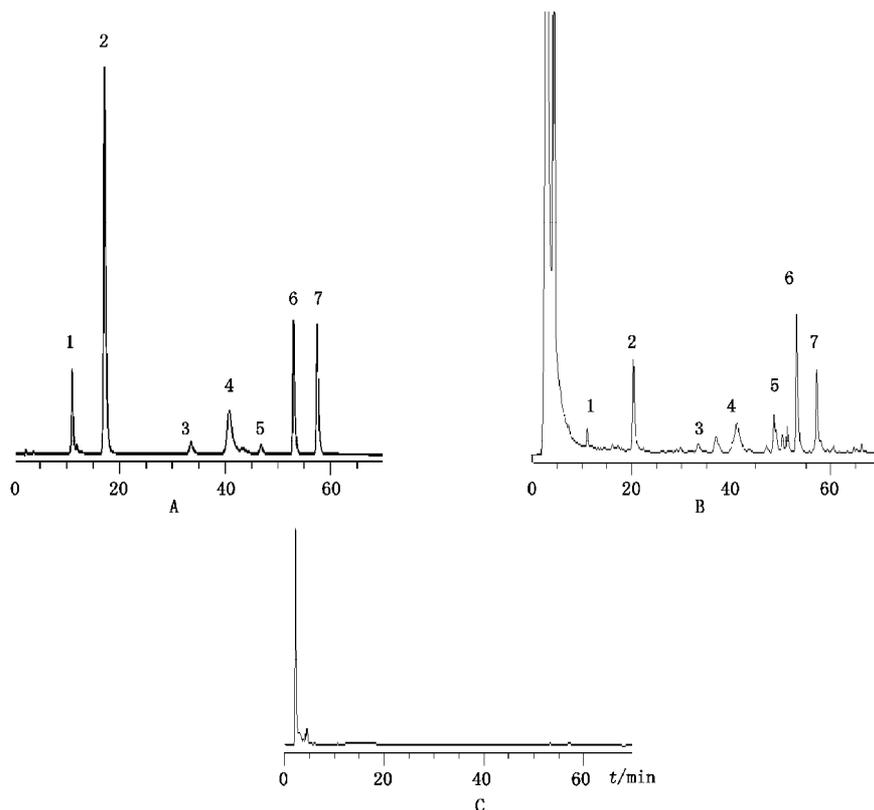


图1 对照品(A) 安神补心胶囊(B)和阴性样品(C)的HPLC色谱图

Fig 1 HPLC chromatograms of reference substances (A), Anshenbuxin capsules (B) and negative samples (C)

1. 戈米辛 H (gomisin H) 2. 五味子醇乙 (schisandrol B) 3. 戈米辛 F (gomisin F) 4. 五味子酯甲 (schisantherin A) 5. 五味子酯丁 (schisantherin D) 6. 五味子甲素 (schisandrin A) 7. 五味子乙素 (schisandrin B)

行测定。结果戈米辛 H、五味子醇乙、戈米辛 F、五味子酯甲、五味子酯丁、五味子甲素和五味子乙素含量平均值 ( $n = 6$ ) 分别为 0.632, 1.366, 0.255, 1.504, 0.139, 20.859, 1.664  $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ; RSD 分别为 0.93%, 0.75%, 0.49%, 0.88%, 0.41%, 0.65%, 0.59%, 均符合规定, 表明本方法重复性良好。

**2.9 稳定性试验** 取同一供试品溶液, 分别在 0, 2, 4, 8, 12, 24 h 进样, 测定, 计算戈米辛 H、五味子醇乙、戈米辛 F、五味子酯甲、五味子酯丁、五味子甲素和五味子乙素峰面积的 RSD 分别为 0.48%, 0.37%, 0.52%, 0.82%, 0.66%, 0.47%, 0.73%。结果表明供试品溶液于室温条件下放置 24 h 稳定性良好。

**2.10 耐用性** 以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂(填料粒径: 5  $\mu\text{m}$ ) 按照色谱条件项下进行试验。取同一批号(批号 20090406) 样品 20 粒, 精密称定, 混匀, 精密称取内容物约 1 g, 按“2.3”项下方法制备供试品溶液, 吸取 20  $\mu\text{L}$  注入液相色谱仪, 记录色谱图, 计算各成分峰理论塔板数, 考察各峰与其他杂

质峰之间的分离度。考察 Sapphire  $\text{C}_{18}$  柱(250 mm  $\times$  4.6 mm, 5  $\mu\text{m}$ )、Diamonsil  $\text{C}_{18}$  柱(250 mm  $\times$  4.6 mm, 5  $\mu\text{m}$ ) 和 Brava BDS  $\text{C}_{18}$  柱(250 mm  $\times$  4.6 mm, 5  $\mu\text{m}$ ) 对色谱峰的影响。结果表明 7 个成分在 Brava BDS  $\text{C}_{18}$  柱中达到最佳分离效果, 各成分色谱峰与其他峰分离度均大于 1.5, 理论塔板数均大于 3000。

**2.11 回收率试验** 精密称取“2.8”项下已测知含量的安神补心胶囊内容物 0.5 g, 共 5 份, 分别精密加入对照品适量, 按“2.3”项下方法操作, 制备供试溶液并进样分析。结果戈米辛 H、五味子醇乙、戈米辛 F、五味子酯甲、五味子酯丁、五味子甲素和五味子乙素的平均回收率分别为 101.2%, 99.7%, 100.1%, 100.9%, 101.8%, 99.5%, 99.6%; RSD 分别为 1.1%, 0.76%, 2.2%, 0.53%, 1.8%, 0.66%, 1.8%。结果表明该方法回收率良好。

**2.12 样品测定** 取 3 批安神补心胶囊样品, 按“2.3”项下方法操作, 制备供试品溶液, 取供试溶液 20  $\mu\text{L}$  进样分析, 按外标法计算。每批样品测定 3 份, 结果见表 3。

表3 安神补心胶囊中7个有效成分的  
含量 (mg · g<sup>-1</sup> n = 3)

Tab 3 The contents of the seven compounds  
in Anshenbuxin Capsules

成份 (component)	Lot No. 090406	Lot No. 090408	Lot No. 090509
戈米辛 H (gomisin H)	0.632(0.52)	0.63(0.29)	0.631(0.43)
五味子醇乙 (schisandrol B)	1.366(0.40)	1.36(0.51)	1.365(0.82)
戈米辛 F (gomisin F)	0.255(0.16)	0.255(0.11)	0.256(0.36)
五味子酯甲 (schisantherin A)	1.504(0.28)	1.506(0.49)	1.503(0.55)
五味子酯丁 (schisantherin D)	0.139(0.29)	0.138(0.37)	0.139(0.41)
五味子甲素 (schisandrins A)	20.859(0.75)	20.856(0.58)	20.851(0.32)
五味子乙素 (schisandrins B)	1.665(0.25)	1.664(0.38)	1.663(0.84)

注 (note): 括号内为 RSD (in the parenthesis, %)

### 3 讨论

本研究对提取方法进行了考察,结果表明微波提取所需溶剂量少、时间短,并且提取效率高。最终确定其提取条件为 90% 乙醇作为溶剂,固液比为 1:25 (g · mL<sup>-1</sup>),最佳提取时间为 3 min。

流动相选择确定梯度洗脱条件后,各有效成分保留时间均在 65 min 内,并且各色谱峰分离度较好,理论塔板数较高。故在检测波长的选择,以各成分共同的最大吸收波长 225 nm 为检测波长。

### 参考文献

- 1 CAO Chang - jiang (曹长江). Clinical observation on treatment of insomnia and palpitations by Anshenbuxin capsules (安神补心胶囊治疗心悸失眠的临床观察). *J Liaoning Coll Tradit Chin Med* (辽宁中医学院学报) 2003, 5(3): 240
- 2 LIU Yan (刘燕), YAN Yu - xian (闫玉仙), YU Yong - hui (于永辉). Anshenbuxin capsules on mice immune function of red blood cells (安神补心胶囊对小鼠红细胞免疫粘附功能的影响). *Tradit Chin Med* (现代中西医结合杂志), 2000, 9(18): 1759
- 3 CUI Qi (崔淇), YAO Wang (姚望), ZHANG Cheng (张丞). Advances on pharmacology effect of schisandra chinensis and its active composition (华中五味子中化学活性成分和药理作用研究进展). *J Henan Univ Sci Tech Med Sci* (河南科技大学学报医学版), 2009, 28(4): 318
- 4 ChP (中国药典). 2010 Vol I (一部): 61
- 5 ZHU Min (朱敏), ZHAO Wei - quan (赵卫权), FAN Guo - rong (范国荣). Determination of lignin compounds in *Schisandra chinensis* by microwave extraction and HPLC separation (五味子中木脂素成分的微波萃取 - HPLC 法测定). *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志), 2007, 27(5): 646
- 6 SONG Jiu - hua (宋九华), YANG Xiao - rong (杨孝容). Determination of schisandrol, schisantherin, and deoxyschisandrins in Anshenbuxin pills by HPLC (HPLC 测定安神补心丸中五味子醇甲、五味子酯甲和五味子甲素的含量). *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 2008, 30(3): 380

(本文于 2010 年 11 月 17 日收到)

## 《药物分析杂志》稿件在线管理系统已开通

本刊于 2008 年 10 月 23 日开通稿件在线管理系统。2011 年 6 月系统开始升级改版,凡新投稿本刊,请登录 <http://www.ywfxzz.cn> 进入新系统进行网上投稿和查询。2011 年 6 月之前已投稿件,请登录旧系统查询及办理审稿、修改等事宜。

该系统采用 E - mail 作为用户名进行注册。

网上投稿的同时需寄单位介绍信及稿件处理费。

作者在线投稿后,可在线了解稿件情况:编辑 - 送审 - 专家已审 - 待编辑处理稿件 - 退修 - 编辑加工完成 - 已刊出等。

读者可在线查阅本刊,并可在在线订阅本刊。欢迎登录本刊网页,了解本刊编委专家及其他信息。

投稿过程中如遇技术问题,请与技术支持联系:010 - 69296712 (旧系统),010 - 60213863 (新系统)。

谢谢合作!

《药物分析杂志》编辑部