

## HPLC 法测定无糖型宁心安神糖浆中五味子醇甲和五味子乙素

陈 婧, 王 键

广东省公安边防总队医院, 广东 深圳 518023

**摘要:** 目的 建立无糖型宁心安神糖浆中五味子醇甲和五味子乙素的测定方法。方法 采用 Kromasil C<sub>18</sub> 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相: 甲醇-水 (73:27), 检测波长: 250 nm, 柱温: 30 °C, 体积流量: 1.0 mL/min, 进样体积: 10 μL。结果 五味子醇甲、五味子乙素分别在 0.16~1.6 μg ( $r=0.9999$ ) 和 0.04~0.40 μg ( $r=0.9991$ ) 呈良好的线性关系, 平均加样回收率分别为 100.00%、100.04%, RSD 分别为 0.60%、0.18% ( $n=6$ )。结论 该方法简便、准确、重现性好, 可作为无糖型宁心安神糖浆质量控制的方法。

**关键词:** 无糖型宁心安神糖浆; 五味子醇甲; 五味子乙素; 高效液相色谱

中图分类号: R286.02 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2012)03-0239-03

## Determination of schisandrol A and schisandrin B in Sugarless Ningxin Anshen Syrup by HPLC

CHEN Jing, WANG Jian

Guangdong Provincial Public Security Frontier Corps Hospital, Shenzhen 518023, China

**Abstract: Objective** To develop a method for the determination of schisandrol A and schisandrin B in Sugarless Ningxin Anshen Syrup. **Methods** The samples were separated on Kromasil C<sub>18</sub> column (250 mm×4.6 mm, 5 μm) with methanol-water (73:27) as mobile phase. The detection wavelength was 250 nm and column temperature was 30 °C with injection volume of 10 μL at a flow rate of 1.0 mL/min. **Results** The calibration curve was linear over the range of 0.16—1.6 μg ( $r=0.9999$ ) and 0.04—0.40 μg ( $r=0.9991$ ) for schisandrol A and schisandrin B, respectively. The average recovery rate was 100.00% and 100.04% with RSD at 0.60% and 0.18%, respectively ( $n=6$ ). **Conclusion** This method is simple, accurate and repeatable for the quality control of Sugarless Ningxin Anshen Syrup.

**Key words:** Sugarless Ningxin Anshen Syrup; schisandrol A; schisandrin B; HPLC

无糖型宁心安神糖浆是由五味子、灵芝、黄芪等中药组成, 主要用于治疗神经衰弱、体弱多病、乏力、食欲不振、失眠等症, 是在临床应用多年的医院制剂, 疗效显著。由于服用群体中有相当一部分是糖尿病患者, 为了增强临床上的适应性, 笔者在此基础上进行工艺改造, 研制成无糖型宁心安神糖浆。五味子为处方中主要药味, 五味子醇甲和五味子乙素为五味子中有效成分, 五味子醇甲具有广泛的中枢抑制作用和神经保护作用, 五味子乙素具有抗心肌毒性作用。为了更好地控制产品的质量, 保证临床疗效, 本实验建立了 HPLC 法测定无糖型宁心安神糖浆中五味子醇甲和五味子乙素的方法。

### 1 仪器、药品与试剂

Agilent1200 型高效液相色谱仪, AG135 型电子天平 (梅特勒-托利多仪器有限公司)。五味子醇甲 (批号 110857-200709)、五味子乙素 (批号 110765-200508) 对照品均由中国药品生物制品检定所提供。无糖型宁心安神糖浆 (自制, 批号 20110907、20110910、20110914)。甲醇为色谱纯, 水为超纯水, 其余试剂均为分析纯。

### 2 方法与结果

#### 2.1 色谱条件

Kromasil C<sub>18</sub> 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相: 甲醇-水 (73:27), 检测波长: 250 nm,

收稿日期: 2012-04-24

作者简介: 陈 婧 (1984—), 女, 黑龙江省哈尔滨市人, 药师, 硕士, 2010 年 4 月毕业于哈尔滨商业大学, 从事药物新剂型的研究。

Tel: (0755)82699782 E-mail: chenjingjing8447@yahoo.com.cn

柱温: 30 °C, 体积流量: 1.0 mL/min, 进样体积: 10  $\mu$ L。理论塔板数以五味子醇甲计应不低于 4 000。

## 2.2 溶液的制备

**2.2.1 对照品溶液的制备** 分别精密称取五味子醇甲和五味子乙素对照品适量, 加甲醇制成 0.04、0.01 mg/mL 的溶液, 即得。

**2.2.2 供试品溶液的制备** 精密量取本品 1.0 mL, 置于 25 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 称定质量, 超声处理 (功率 150 W, 频率 40 kHz) 30 min, 放冷, 再称定质量, 用甲醇补足减失的质量, 摇匀, 滤过,

取续滤液, 即得。

**2.2.3 阴性供试品溶液的制备** 按处方组成配制不含五味子的样品, 按 2.2.2 项下制备阴性供试品溶液。

## 2.3 专属性试验

分别精密吸取阴性供试品溶液、五味子醇甲和五味子乙素对照品溶液以及无糖型宁心安神糖浆供试品溶液各 10  $\mu$ L, 注入液相色谱仪, 记录色谱图, 见图 1。结果显示在该色谱条件下, 其他成分不干扰五味子醇甲、五味子乙素的测定, 可与其他成分达到基线分离。

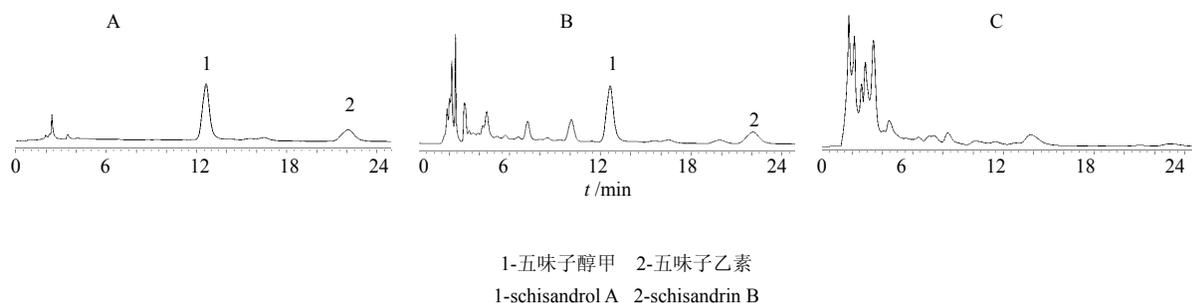


图 1 混合对照品 (A)、无糖型宁心安神糖浆 (B) 和缺五味子的阴性对照 (C) 的 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of mixed reference substances (A), Sugarless Ningxin Anshen Syrup (B), and negative sample without *Schisandrae Chinensis Fructus* (C)

## 2.4 标准曲线的制备

分别精密称取五味子醇甲、五味子乙素对照品适量, 置 5 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 得对照品储备液。精密吸取上述溶液 0.1、0.2、0.4、0.8、1 mL 置 5 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀。分别取 10  $\mu$ L 进样, 测定。以质量对峰面积平均值作图, 回归分析, 结果五味子醇甲在 0.16~1.6  $\mu$ g 有良好的线性关系, 回归方程为  $Y=4.15 \times 10^6 X - 4.48 \times 10^4$ ,  $r=0.9999$ ; 五味子乙素在 0.04~0.4  $\mu$ g 有良好的线性关系, 回归方程为  $Y=1.39 \times 10^6 X + 6.97 \times 10^4$ ,  $r=0.9991$ 。

## 2.5 精密度试验

精密吸取对照品储备液 0.4 mL 于 5 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 取 10  $\mu$ L 进样, 重复 5 次, 测定峰面积, 计算 RSD, 结果五味子醇甲的为 1.3%, 五味子乙素的为 0.2%。

## 2.6 重复性试验

精密称取批号 20110907 样品 5 份, 制备供试品溶液, 进样测定, 计算, 结果五味子醇甲的平均质量浓度为 2.949 8 mg/mL, RSD 为 0.26%, 五味子乙素的平均质量浓度为 0.983 3 mg/mL, RSD

为 0.2%。

## 2.7 稳定性试验

精密量取批号 20110907 样品 1.0 mL, 制备供试品溶液, 精密吸取 10  $\mu$ L, 分别于 0、2、4、6、8、12 h 进行测定, 结果五味子醇甲、五味子乙素峰面积的 RSD 分别为 1.23%、0.92%。表明供试品溶液在 12 h 内保持稳定。

## 2.8 加样回收率试验

取本品 (批号 20110907, 分别含五味子醇甲 2.949 8 mg/mL 和五味子乙素 0.983 3 mg/mL) 6 份, 每份 0.5 mL, 精密量取, 分别精密加入含五味子醇甲、五味子乙素 1.5、1.0 mg/mL 混合对照品溶液 1 mL, 制备供试品溶液, 按上述色谱条件进样 10  $\mu$ L, 测定峰面积, 计算, 结果五味子醇甲和五味子乙素的平均回收率分别为 100.00%、100.04%, RSD 分别为 0.60%、0.18%。

## 2.9 样品测定

分别精密量取 3 批样品, 制备供试品溶液, 吸取 10  $\mu$ L 进样, 按上述色谱条件进行测定, 以外标法计算质量浓度, 结果见表 1。

## 3 讨论

表 1 无糖型宁心安神糖浆中五味子醇甲、五味子乙素的测定结果 ( $n=3$ )Table 1 Determination of schisandrol A and schisandrin B in Sugarless Ningxin Anshen Syrup ( $n=3$ )

批号	质量浓度/(mg·mL <sup>-1</sup> )	
	五味子醇甲	五味子乙素
20110907	2.949 8	0.983 3
20110910	2.954 5	0.986 4
20110914	2.957 1	0.984 1

### 3.1 流动相的选择

考虑到五味子中木脂素类成分较多,极性较小,分离较为困难,且制剂中还含有其他干扰成分,因此根据《中国药典》2010年版及相关文献报道<sup>[1-3]</sup>,实验比较了甲醇-水、乙腈-水、甲醇-磷酸溶液、乙腈-磷酸溶液不同比例及梯度洗脱等条件下对样品中五味子醇甲、五味子乙素分离度的影响,结果发现采用甲醇-水(73:27)等比例洗脱时能同时使二者得到良好的分离。

### 3.2 提取方法的比较

在供试品溶液的制备时,考虑到指标成分的提取率以及其他成分对测定的影响,实验考察了甲醇、

乙醇、正己烷、氯仿为提取溶媒,还考察了超声提取和加热回流提取,结果表明甲醇超声提取既能保证指标成分的提取率比较高,又能降低其他成分的影响。

近年来有许多关于选用多组分为质量控制指标,并采用 HPLC 法测定五味子相关制剂的报道,它能够更全面地反映药物的质量,逐步取代了误差较大的比色法,因此本实验探索了采用 HPLC 法同时测定无糖型宁心安神糖浆中五味子醇甲和五味子乙素,方法简便、快捷、可行,可以作为该产品质量控制的方法。

### 参考文献

- [1] 杨孝容, 向清祥, 熊俊如, 等. HPLC 测定柏子养心丸中五味子酯甲、五味子甲素和五味子乙素的含量 [J]. 药物分析杂志, 2006, 26(11): 1558-1561.
- [2] 冯 华, 张超云, 邹孔强. HPLC 色谱法测定枣仁安神片中五味子醇甲的含量 [J]. 中医药导报, 2009, 15(1): 82-83.
- [3] 秦建平, 吴建雄, 毕宇安, 等. HPLC 同时测定益心舒片中五味子醇甲、五味子酯甲、五味子甲素、五味子乙素和丹参酮 II<sub>A</sub> 的含量 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(2): 77-80.