

# 定心丸质量标准研究

马丹<sup>1,2</sup>, 赵陆华<sup>1,2\*</sup>, 陈晶<sup>1,2</sup>, 贡保东珠<sup>1,2</sup> (1. 中国药科大学分析测试中心, 南京 210009; 2. 药物质量与安全预警教育部重点实验室, 南京 210009)

**摘要:**目的 建立定心丸质量标准。方法 采用薄层色谱法对定心丸中的甘草, 当归, 远志进行定性鉴别, 并用高效液相色谱法对定心丸中黄芩苷的含量进行测定, 色谱柱为 C<sub>18</sub> 柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 流速为 1.0 mL · min<sup>-1</sup>, 流动相为乙腈-0.2% 磷酸 (28:72), 检测波长为 280 nm。结果 甘草, 当归, 远志薄层色谱分离良好, 斑点清晰可见; 黄芩苷含量在 0.193 4 ~ 1.160 6 μg 内线性关系良好, 平均加样回收率为 101.45% (RSD = 1.2%, n = 6), 精密度 RSD = 1.4%。结论 该方法结果准确、重复性好, 可作为该制剂的质量控制方法。

**关键词:**甘草; 当归; 远志; 黄芩苷; 薄层色谱法; 高效液相色谱法

中图分类号: R943.3 文献标识码: B 文章编号: 1007-7693(2009)03-0237-04

## Studies on Quality Standard of Dingxin Pills

MA Dan<sup>1,2</sup>, ZHAO Luhua<sup>1,2\*</sup>, Chen Jing<sup>1,2</sup>, GONG baodong zhu<sup>1,2</sup> (1. Center of Instrumental Analysis, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China; Drug Quality Control and Pharmacovigilance, Ministry of Education, Nanjing 210009, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To establish the quality standard for Dingxin pills. **METHODS** TLC was applied to identify *Radix Glycyrrhizae*, *Radix Angelica Sinensis* and *Radix Polygalae* Willd in this prescription, and baicalin content in *Radix Scutellariae* was determined by HPLC. A C<sub>18</sub> column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) was used with the mobile phase of acetonitrile-0.2% phosphoric acid (22:78) at the detection wavelength of 280 nm. **RESULTS** *Radix Glycyrrhizae*, *Radix Angelica Sinensis* and *Radix Polygalae* could be identified by TLC. The baicalin linear rang of 0.193 4 - 1.160 6 μg, and the average recovery was 101.45% (RSD = 1.2%, n = 6). **CONCLUSION** The evaluation methods are simple, sensitive, accurate and reproducible, and can be used for the quality control of this medicine.

**KEY WORDS:** *Radix Et Rhizoma Glycyrrhizae*; *Radix Angelica Sinensis*; *Radix Polygalae*; baicalin; TLC; HPLC

定心丸收载于中药部颁标准第六册, 由甘草 (蜜炙)、远志、黄芩、当归等十五味药组成, 具有益气养血, 宁心安神的功效, 用于心血不足, 烦躁失眠, 健忘怔忡, 惊悸多梦等症<sup>[1]</sup>。但长期以来标准中对于本制剂仅有显微鉴别和性状鉴别, 质量标准不够完善, 故内在质量一直难以有效控制。本研究在参考有关文献的基础上, 通过大量的实验研究, 建立了定心丸的定性、定量方法, 为该制剂质量标准的建立提供了可行的方法及依据。

## 1 仪器与试剂

### 1.1 仪器

高效液相色谱仪 (日本岛津, LC-10ADVP 二元泵; SPD-10AVP 紫外-可见检测器); 硅胶 G 板 (青岛海洋化工厂)。

### 1.2 试剂

定心丸 (批号: 0611001、0611002、0611003) 由李时珍医药集团有限公司提供;

对照药材 甘草 (批号: 120904-200511), 远志 (批号: 120989-200304), 当归 (批号: 927-200110), 黄芩苷对照品 (批号: 110715-200413, 供含量测定用) 由中国药品生物制品检定所提供。

乙腈 (色谱纯), 其他试剂均为分析纯。

## 2 定性鉴别

### 2.1 甘草薄层鉴别

取本品 6 g, 研细, 加乙醚 40 mL, 加热回流 1 h, 滤过, 药渣加甲醇 30 mL, 加热回流 1 h, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加水 40 mL 使溶解, 用正丁醇提取 3 次, 蒸干, 残渣加甲醇 1 mL 使溶解, 作为供试品溶液。再取甘草对照药材 0.2 g, 同法制成对照药材溶液。另取不含甘草的本方制剂, 同法制得缺甘草的阴性样品溶液。照薄层色谱法<sup>[2]</sup> 试验, 吸取上述 3 种溶液各 2 ~ 3 μL, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以三氯甲烷-甲醇-水 (30:10:1) 为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以 10% 硫酸乙醇溶液, 在 105 °C 加热至斑点

作者简介: 马丹, 女, 硕士研究生 Tel: (025)83271185  
E-mail: zhaoluhua@hotmail.com

\* 通信作者: 赵陆华, 女, 副研究员, 研究生导师 Tel: (025)83271185

显色清晰。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,阴性对照品则无此斑点。见图1。

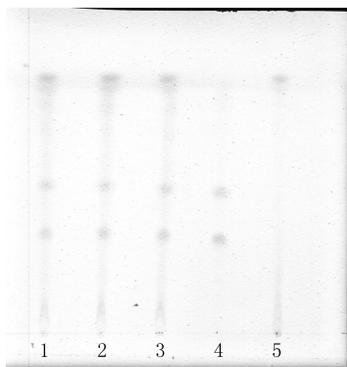


图1 甘草薄层鉴别

1-0611001 批供试品;2-0611002 批供试品;3-0611003 批供试品;4-甘草对照药材;5-阴性

Fig 1 TLC of *Radix Glycyrrhizae*

1-sample of 0611001; 2-sample of 0611002; 3-sample of 0611003; 4-reference crude drug of *Radix Glycyrrhizae*; 5-sample without *Radix Glycyrrhizae*

## 2.2 当归薄层鉴别

取本品3 g,研细,加乙醚20 mL,超声处理10 min,滤过,滤液蒸干,残渣加乙醇1 mL使溶解,作为供试品溶液。再取当归对照药材0.2 g,同法制成对照药材溶液。另取不含当归的本方制剂,同法制得缺当归的阴性样品溶液。照薄层色谱法<sup>[2]</sup>试验,吸取上述3种溶液各2~3 μL,分别点于同一硅胶G薄层板上,以正己烷-乙酸乙酯(9:1)为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外灯(365 nm)下检视。供试品色谱中,在与对照药材色谱相应的位置上,显相同颜色的荧光斑点,阴性对照品则无此斑点。见图2。

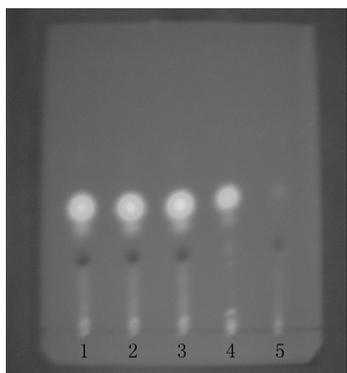


图2 当归薄层鉴别

1-0611001 批供试品;2-0611002 批供试品;3-0611003 批供试品;4-当归对照药材;5-阴性

Fig 2 TLC of *Radix Angelica*

1-sample of 0611001; 2-sample of 0611002; 3-sample of 0611003; 4-reference crude drug of *Radix Angelica*; 5-sample without *Radix Angelica*

## 2.3 远志薄层鉴别

取本品3 g,研细,加盐酸无水乙醇溶液(10→100)20 mL,加热回流30 min,放冷,滤过,滤液加水30 mL,用三氯甲烷提取2次,每次20 mL,合并三氯甲烷液,蒸干,残渣加乙酸乙酯1 mL使溶解,离心,取上清液作为供试品溶液。另取远志对照药材0.2 g,同法制成对照药材溶液。再取不含远志的本方制剂,同法制得缺远志的阴性样品溶液。照薄层色谱法<sup>[2]</sup>试验,吸取上述三种溶液各2~3 μL,分别点于同一硅胶G薄层板上,以甲苯-乙酸乙酯-甲酸(14:4:0.5)为展开剂,展开,取出晾干,喷以10%硫酸乙醇溶液,在105℃加热至斑点显色清晰。供试品色谱中,在与对照药材色谱相应的位置上,显相同颜色的主斑点,阴性对照品则无此斑点。见图3。

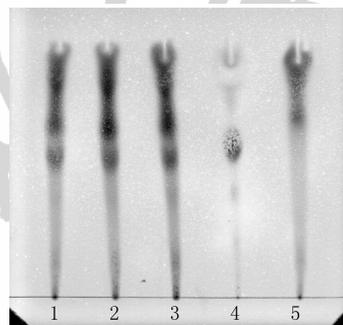


图3 远志薄层鉴别

1-0611001 批供试品;2-0611002 批供试品;3-0611003 批供试品;4-远志对照药材;5-阴性

Fig 3 TLC of *Polygala tenuifolia* Willd

1-sample of 0611001; 2-sample of 0611002; 3-sample of 0611003; 4-reference crude drug of *Polygala tenuifolia* Willd; 5-sample without *Polygala tenuifolia* Willd

## 3 定心丸中黄芩苷的含量测定<sup>[3]</sup>

### 3.1 色谱条件

色谱柱: Hypersil ODS (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-0.2% 磷酸(28:72), 流速: 1.0 mL · min<sup>-1</sup>, 检测波长: 280 nm, 柱温: 室温, 进样量: 20 μL。

### 3.2 方法与结果

**3.2.1 供试品溶液的制备** 取本品0.6 g,精密称定,加70%乙醇80 mL,加热回流1 h,放冷,滤过,滤液置100 mL量瓶,用少量70%乙醇分次洗涤容器和残渣,洗液滤入同一量瓶中,加70%乙醇至刻度,摇匀,即作为供试品溶液。

**3.2.2 对照品溶液的制备** 取黄芩苷对照品适量,精密称定,加70%乙醇制成每1 mL含40 μg的溶液,即得。

**3.2.3 空白对照液的制备** 按处方组成和工艺要

求制成缺黄芩的样品,按“3.2.1”项下制备成空白对照液。

**3.2.4 系统适应性** 在本实验条件下,取黄芩苷对

照品溶液、空白对照液、供试品溶液分别进样 20  $\mu\text{L}$ 。见图 4。黄芩苷峰与其他峰分离度大于 1.5,理论板数按黄芩苷峰计算不低于 2 000。

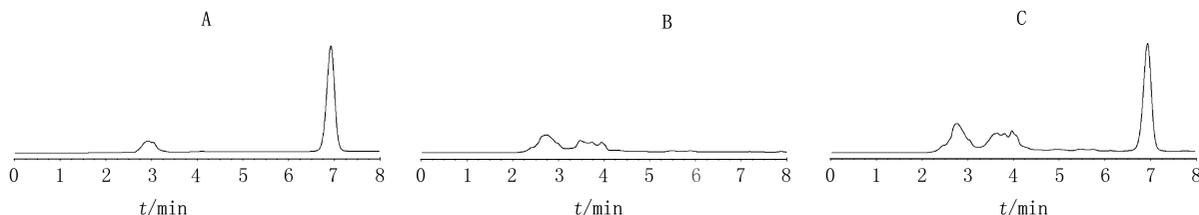


图 4 黄芩苷对照品(A)、空白对照液(B)和定心丸样品(C)的 HPLC 图

Fig 4 HPLC chromatograms of baicalin reference substance(A), sample without baicalin(B) and sample(C)

**3.2.5 线性关系考察** 精密量取黄芩苷对照品储备液( $96.7 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ) 1, 2, 4, 6, 8 mL, 分别置 10 mL 量瓶中,加 70% 乙醇稀释至刻度,摇匀,精密吸取 20  $\mu\text{L}$  注入高效液相色谱仪,记录色谱图。以对照品峰面积为纵坐标(Y),对照品溶液进样量为横坐标(X),绘制标准工作曲线,得回归方程为: $Y = 16\ 044X + 7\ 919.6$ ,  $r = 0.999\ 7$ 。黄芩苷在 0.193 4 ~ 1.160 6  $\mu\text{g}$  内线性良好。

**3.2.6 重复性试验** 精密称取同一批(批号:0611003)供试品 6 份,按“3.2.1”项下方法处理,进样测定,含量平均值为  $40.95 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ , RSD 为 1.4%,说明方法的重复性较好。

**3.2.7 回收率试验** 精密称取已知含量的样品(批号:0611003)6 份,每份 0.3 g, 分别加入黄芩苷对照品储备液适量,按“3.2.1”项下制备,依法测定。结果见表 1。

表 1 加样回收试验结果

Tab 1 Results of recovery test

已知量 / $\mu\text{g}$	加入量 / $\mu\text{g}$	测得总量 / $\mu\text{g}$	回收率 /%	平均回 收率/%	RSD /%
2 047	2 015	4 064	100.00		
2 051	2 015	4 115	102.58		
2 052	2 015	4 117	102.68	101.45	1.2
2 047	2 015	4 108	102.23		
2 053	2 015	4 086	101.14		
2 053	2 015	4 064	100.05		

**3.2.8 样品含量的测定** 分别取 3 批定心丸样品(每批 2 份)约 0.6 g,精密称定,按“3.2.1”项下处理,进样测定,外标法计算黄芩苷的含量,结果见表 2。

表 2 样品含量测定结果

Tab 2 Determination results of samples

批号	测得含量/mg
0611001	4.128
0611002	4.126
0611003	4.128

## 4 讨论

### 4.1 薄层色谱条件的考察

在 TLC 鉴别实验中,对薄层色谱的展开剂、显色剂等条件进行了摸索。鉴别当归时,曾使用中国药典 2005 版中的正己烷-乙酸乙酯(4:1)为展开剂,结果  $R_f$  值不理想,通过多次实验反复比较得出以正己烷-乙酸乙酯(9:1)为展开剂时,斑点清晰,重复性好。鉴别甘草时,中国药典 2005 版采用碱板进行薄层鉴别,自制碱板存在一定误差,重现性差,不利于标准的建立,而本实验采用了普通的硅胶 G 板日光下检视,斑点清晰,方法简便易行。

### 4.2 测定波长的选择

取对照品溶液适量,以流动相稀释成一定浓度,以流动相为参比,用紫外分光光度计,在波长 200 ~ 400 nm 范围内扫描测定,黄芩苷最大吸收波长为 277 nm,本实验选定 280 nm 为检测波长。

### 4.3 提取方法

黄芩苷定量实验中选择提取溶剂时,曾考察用不同浓度乙醇提取,结果以 70% 乙醇最好。提取方法考察时,考察了超声和回流两种方法,结果以回流方式较好。对于回流时间的考察,以 1 h 为佳,曾做残渣实验,结果显示回流 1 h 黄芩苷已提取完全。经过实验表明 70% 乙醇 80 mL 加热回流 1 h 为最佳提取条件。

### 4.4 高效液相色谱条件的考察

黄芩为定心丸的君药且含量大,故本实验建立了测定定心丸中黄芩苷含量的 HPLC。流动相的选择,我们参考了各种文献,采用了不同的流动相。在乙腈-0.2% 磷酸(28:72)条件下,色谱分离完全,峰形对称,而且在选定的检测波长下,其他成分的吸收均较弱,有利于黄芩苷的测定。本方法样品处理简单,杂峰少,适合黄芩苷的测定。

## REFERENCES

- [1] WS3-B-1164-92, China ministry of health issue criterion( 中华人民共和国卫生部部颁标准) [S], 1992, Z6-96.
- [2] Ch. P(2005) Vol I (中国药典 2005 年版. 一部) [S]. 2005:

Appendix 31-32.

- [3] TU Y, ZHAO L H, XIANG B R, et al. Analysis of the main ingredients in anti-allergy capsules by HPLC [J]. J China Pharm Univ( 中国药科大学学报), 2002, 33(5):404-407.

收稿日期:2007-11-27