维普资讯 http://www.cqvip.com

文章编号：0253-3626(2002)02-0168-03

HPLC法测定护肝颗粒剂中五味子乙素含量的探讨

黄 萍[1]、王体强[1]、李 伟[2]、何海霞[3]

(1.重庆医科大学临床学院药剂科；2.重庆医科大学药学系97级大专班、
3.重庆医科大学临床学院临床药理研究室 重庆 400016)

【摘 要】目的：测定护肝颗粒剂中五味子乙素含量。方法：采用高效液相色谱（HPLC）法测定；样品以正已烷提取；流动相为甲醇-水（72:28）；填充剂：十八烷基硅烷键合硅胶；检测波长：254nm；流速：1.0ml/min。结果：所得本品每ml含五味子乙素不低于0.04%。本法的理论板数以五味子乙素峰计算、不低于2000、分离度大于1.5；空白试验阴性无干扰，精密度试验RSD为2.15%；重复性试验RSD<10%；加样回收率106.06±2.16%。结论：本方法特异、精密、准确、结果稳定。

【关键词】五味子乙素；高效液相色谱；护肝颗粒剂；含量测定

【中国图书分类法分类号】TQ460.7+2 【文献标识码】A 【收稿日期】2001-00-00

Determination of r-schisandrin in Hugan granule by HPLC

HUANG Ping, et al

(Department of Pharmacy, College of Clinical Medicine, Chongqing Medical University)

【Abstract】*Objective*: To determine the content of r-schisandrin in Hugan granule by HPLC. *Methods*: R-Schisandrin was extracted with n-hexane. The HPLC system consists of μ Bondapak C18 column, moblile phase of methanol-water(72:28) mixture, with detection at 254nm, flow rate 1ml/min. *Results*: The content of r-schisandrin was >0.04%. The number of theoretical plate was >2000. The separation parameter was >1.5. No interference peak from the blank test was found. The precision(RSD) was 2.15%. The reproducible test(RSD) was< 10%. The mean recovery of 106.06±2.16% for r-schisandrin was obtained. *Conclusion*: This method is specific, accurate and reproducible.

【Key words】r-schisandrin; HPLC; Hugan granule; Content determination

五味子乙素是多种中成药物中的有效成分。护肝颗粒剂是含五味子乙素的中成药之一。本方由五味子浸膏、猪胆白芍、甘草等中药组成，经提取加工浓缩制成的颗粒剂。有关五味子乙素的含量测定方法已有报道，有双波长薄层扫描法，HPLC法[1~3]等。为测定护肝颗粒剂、生药等样品中五味子乙素含量，本文建立了分离灵敏度高、专属性强的高效液相色谱法，现报道如下。

1 材料与方法

1.1 药品与试剂

五味子乙素对照品；护肝颗粒剂；精制生药粉末；生药药材均由重庆医科大学药学系提供。甲醇、正已烷为AR级；三蒸水。

1.2 仪器

高效液相色谱仪（大连依利特科学仪器有限公司）系统。包括P200II高压恒流泵；UV200 II紫外可变波长检测器。HP3295积分仪（惠普上海分析仪器有限公司）。索氏提取器（上海医疗玻璃器皿厂）。

1.3 颗粒剂、精制生药粉末、生药药材中五味子乙素含量测定

1.3.1 色谱条件 色谱柱 μ Bondapak C18(10u ID5.0)，柱长250mm，柱温室温；流动相：甲醇-水（72:28），流速1.0ml/min；检测波长：五味子乙素在254nm波长处有最大吸收，同时在此波长处灵敏度高（为0.5AUFS），故选用此波长测定。

1.3.2 样品的制备与测定

(1)五味子乙素对照品溶液的制备 精密称取五味子乙素对照品适量，加甲醇制成每1ml含0.1mg的溶液，摇匀，即得。精密吸取对照品溶液20μl，注入液相色谱仪中，测定峰面积。计算，即得。

(2)供试品溶液的制备 取护肝颗粒剂研细，约2.5g，精密称定，置索氏提取器中，加正已烷适量，浸泡过夜，然后于80～85℃加热回流6h，提取液水浴低温挥干，残渣加甲醇微热溶解，转移至25ml量瓶中，加甲醇稀释至刻度，摇匀，

作者介绍：黄 萍（1961- ），女，主管药师。
主要研究方向：药物含量测定。

维普资讯 http://www.cqvip.com

即得。精密吸取20μl进柱分析。

精制生药粉末 取精制生药粉末约2.5 g，精密称定，其余操作同供试品溶液的制备项下。最后稀释10倍后取20μl进柱分析。

生药药材 取生药药材、先将生药药材粉碎、再将其研细、取约2.5g、精密称定，其余操作同供试品溶液的制备项下。最后稀释10倍后取20μl进柱分析。

2 结 果

2.1 色谱行为

五味子乙素含量测定方法学研究色谱图，见图1。

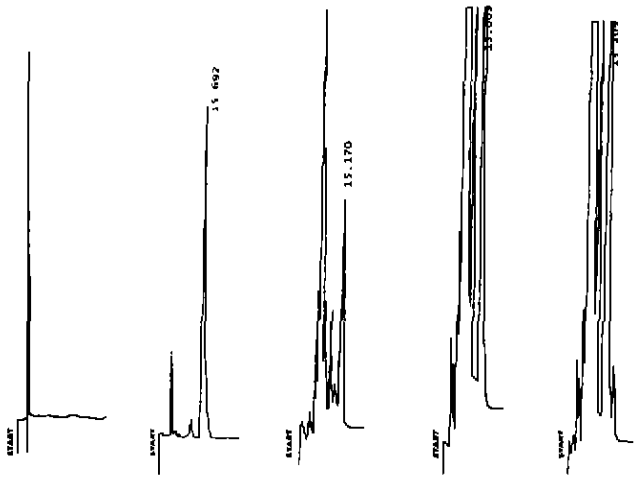


图1 五味子乙素色谱图

A、试剂空白图谱；B、标准液图谱；

C、生物样品图谱（1.胶囊、2.精制粉末、3.生药）

2.2 标准曲线的制备

精密吸取五味子乙素对照品溶液，配制为6.25－100μg/ml系列工作浓度、精密吸取上述各液20μl，注入液相色谱仪中，得峰面积积分值0.1488 × 10^7、0.2382 × 10^7、0.3969 × 10^7、0.7858 × 10^7和 1.4980 × 10^7，以峰面积对浓度作图，见图2。

以上数据经最小二乘法回归计算，得回归方程为：Y=0.01446C+0.05323，r=0.9998。表明五味子乙素在测定浓度范围内线性关系良好。

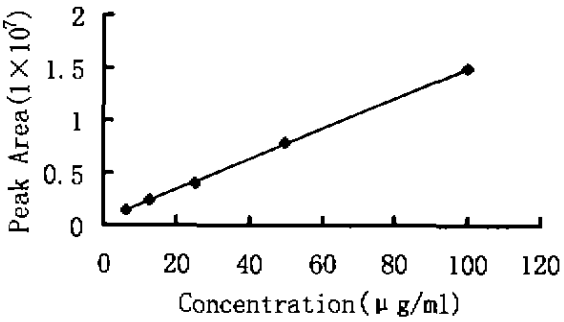


图2 五味子乙素标准曲线

2.3 精密度试验

精密吸取同一供试品溶液，重复进样5次，测得积分值，计算精密度结果见表1。

表1 HPLC法测定五味子乙素含量精密度试验结果

编号	1	2	3	4	5
积分值	8875734	8743251	8915622	8651741	9156339
均值	8869276 ± 190618.05				
RSD(%)	2.15				

2.4 回收率试验

精密称取已知五味子乙素含量的样品，精密加入五味子乙素对照品，按含量测定方法提取、测定含量，按下列公式计算回收率，结果见表2。

$$回收率=\frac{测得含量-样品含量}{加入对照品量}\times 100\%$$

2.5 重现性试验

取精制粉末样品5份，按含量测定方法提取、测定含量，计算重现性结果，见表3。

表3 HPLC法测定五味子乙素含量重现性试验结果

No	1	2	3	4	5
含量(%)	0.190	0.210	0.188	0.215	0.191
$\bar{x}\pm s$	0.199 ± 0.013				
RSD(%)	6.38				

2.6 颗粒剂、精制生药粉末及生药药材中五味子乙

表2 HPLC法测定五味子乙素含量加样回收率结果

编号	样品含量(μg/ml)	加入对照品量(μg/ml)	测得量(μg/ml)	回收率(%)	平均回收率(%)	RSD(%)
1	14.33	22.73	38.04	104.31		
2	12.58	22.73	36.42	104.88		
3	18.97	22.73	43.04	105.90	106.06	2.04%
4	20.99	22.73	45.80	109.15		

维普资讯 http://www.cqvip.com

素含量测定结果

应用本法测定了不同样品中五味子乙素的含量，结果见表4。

表4 HPLC法测定生物样品中五味子乙素含量结果

品种	颗粒剂		粉末		生药	
编号	1	2	1	2	1	2
含量(%)	0.0460	0.0528	0.190	0.210	0.143	0.125
均值(%)	0.0497		0.200		0.134	
RSD(%)	9.73		7.07		9.50	

3 讨 论

颗粒剂、生药成分复杂，干扰因素多，本文结合五味子乙素样品的特点，参考文献[1,3]，对五味子乙素含量测定方法学进行了比较深入研究，结果表明，以甲醇：水（72:28）为流动相，用十八烷基硅烷键合硅胶为固定相能较好的分离出生物样品中的五味子乙素；无论是粗制剂、制剂、还是药材均得到良好分离。生物样品的前处理方法采用经典的索氏提取器提取，虽比较繁琐，但方法灵敏可靠、重现性好、回收率高，不失为一种较好的方法。

参 考 文 献

[1] 曹 红，刘 云. 反相高效液相色谱法同时测定蚁肝丸中五味子乙甲素和五味子乙素的含量[J]. 药物分析杂志，1997;17(4):238-240.

[2] 李慧英，赵余庆，周 辉. 五味子口服液质量标准研究[J]. 中成药，1994;16(10):15-16.

[3] 刘 燕，王宝琴. 更年安及五味子中五味子甲、乙素的HPLC测定[J]. 中成药，1992;14(9):12-13.

(上接第167页)

检的血培养瓶，通常放置36℃孵育以利细菌生长，希望进入系统后系统尽快检出阳性培养瓶。

周贵明[2]推荐：延迟进入系统培养瓶应置室温存放，并不得超过12h。本研究结果表明：血培养瓶在进入系统分析前，采用室温存放或36℃孵育处理，对系统快速检出能力各有利弊。系统检出经36℃孵育处理的肠杆菌科细菌测试瓶的平均检出时间比未经孵育测试瓶的检出时间缩短4倍，大肠埃希菌和伤寒沙门菌两种肠杆菌科细菌直接进入系统监测分析的平均检出时间为6.5h，而经36℃，4 h孵育测试瓶的平均检出时间为1.5 h。

Ziegler[3]和Smith[4]对BacT/Alert系统与BACTEC 9240全自动血培养仪的对照研究发现，两系统各有9例和14例假阴性病例，BacT/Alert系统假阴性率为0.32 %，其中64 %由铜绿假单胞菌、不动杆菌和嗜麦芽窄食单胞菌导致，BACTEC系统假阴性率为0.20 %，均由两株假单胞菌引起，表明系统检出非发酵菌败血症血培养标本时，受到标本前处理影响，培养瓶均因36℃进入系统前孵育导致系统检测失败，出现假阴性结果。临床分析结果与本实验结果一致。

因此，对延迟进入系统监测分析的培养瓶的处理，可采用36℃孵育，以获得更快肠杆菌科细菌败血症的检出，但进入系统前必须转种培养，防止非发酵菌败血症漏检；室温存放血培养瓶，虽检出肠杆菌科细菌败血症的时间慢于经孵育后的培养瓶，但无阳性培养瓶漏检。

参 考 文 献

[1] 张秀珍，宣天芝，胡云建. 全自动血培养仪系统临床应用评价[J]. 中华医学检验杂志，1998;21(5):297.

[2] 周贵明. 努力提高血液细菌培养阳性率[J]. 中华医学检验杂志，1999;22(2):69-70.

[3] Ziegler RI, Johnscher P, Martus D, et al. Controlled clinical laboratory comparison of two supplemented aerobic and anaerobic media used in automated blood culture systems to detect blood stream infections[J]. J Clin Microbiol, 1998;36(2):657-661.

[4] Smith JA, Bryce EA, Ngui-yen JH , et al. Comparison of BACTEC 9240 and BacT/Alert blood culture systems in an adult hospital [J]. J Clin Microbiol, 1995;33(4):1905-1908.