

确定待测组分丹参素的质量浓度,应用偏最小二乘法(PLS)建立组分丹参素的质量浓度与 NIR 光谱间关系的数学模型,实现对复方丹参提取过程的在线检测和质量监控。

近红外光谱分析技术具有方便、省时、成本低、环境友好等优点。本研究以生产规模的复方丹参提取过程作为研究对象,采用直接在生产装置上进行在线采谱的方式,建立了提取液中丹参素的质量浓度的检测模型,模型的趋势预测效果良好,基本能够满足生产过程中在线检测和质量监控的要求。

光谱的预处理方法、光谱范围和主因子数的选择对所建模型的精确度影响很大,应对各种条件进行分析对比,以选择最优的建模参数。

待测组分的量低于近红外仪器检测限、液体在管路中流动状态的稳定性,以及流动过程中气泡的

存在都会干扰谱图信息的采集,影响模型的预测效果。在实际在线检测过程中应采取有效措施,减少上述情况的发生。

参考文献:

- [1] 倪力军,史晓浩,高秀蛟,等. NIR 在线检测、分析技术在丹参水提过程质量监控中的应用[J]. 中国药学杂志, 2004, 39(8): 628-630.
- [2] 严诗楷,罗国安,王义明,等. 栀子药材提取工艺的近红外光谱实时控制方法研究[J]. 光谱学与光谱分析, 2006, 26(6): 1026-1030.
- [3] 杨南林,瞿海斌,程翼宇. 近红外光谱法快速测定三七总皂苷的方法研究[J]. 浙江大学学报:工学版, 2002, 36(4): 463-466.
- [4] 刘树深,易忠胜. 基础化学计量学[M]. 北京:科学出版社, 1999.
- [5] 陆婉珍,袁洪福,徐广通,等. 现代近红外光谱分析技术[M]. 北京:中国石化出版社, 2000.
- [6] 褚小立,袁洪福,陆婉珍. 近年来我国近红外光谱分析技术的研究与应用进展[J]. 分析仪器, 2006(2): 1-9.

复方五仁醇胶囊含药血清中五味子醇甲、五味子醇乙、五味子甲素、五味子乙素的测定

窦志华¹, 丁安伟^{2*}, 罗琳³, 王陆军¹, 张兵¹

(1. 南通大学附属南通第三医院, 江苏 南通 226006; 2. 南京中医药大学, 江苏 南京 210029;
3. 南通大学, 江苏 南通 226001)

摘要:目的 建立复方五仁醇胶囊含药血清中五味子醇甲、五味子醇乙、五味子甲素和五味子乙素的测定方法。方法 采用高效液相色谱法。色谱条件: Lichrosphere C₁₈ 色谱柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm), Phenomenex® Description C₁₈ 保护柱(4.0 mm × 3.0 mm); 水-乙腈梯度洗脱; 体积流量 1.0 mL/min; 柱温 30 °C; 检测波长 210 nm。结果 五味子醇甲、五味子醇乙、五味子甲素和五味子乙素分别在 0.051 2 ~ 0.768 0 μg($r=0.999\ 5$)、0.054 0 ~ 0.810 0 μg($r=0.999\ 6$)、0.012 3 ~ 0.184 5 μg($r=0.999\ 8$)、0.039 8 ~ 0.597 0 μg($r=0.999\ 6$) 线性关系良好, 含药血清中 4 种成分的平均质量浓度分别为 8.021 1、6.231 0、0.530 8、5.851 0 μg/mL。结论 该法简便、准确、专属性强, 可用于复方五仁醇胶囊含药血清中木脂素类成分的测定。

关键词: 复方五仁醇胶囊; 含药血清; 五味子醇甲; 五味子醇乙; 五味子甲素; 五味子乙素; 高效液相色谱

中图分类号: R286.02 **文献标识码:** A **文章编号:** 0253-2670(2009)03-0386-04

Determination of schisandrin, schisandrol B, deoxyschizandrin, and schisandrin B in serum containing drug of Compound Wurenchun Capsula

DOU Zhi-hua¹, DING An-wei^{2*}, LUO Lin³, WANG Lu-jun¹, ZHANG Bing¹

(1. Nantong Third Affiliated Hospital, Nantong University, Nantong 226006, China; 2. Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210029, China; 3. Nantong University, Nantong 226001, China)

Abstract: **Objective** To determine schisandrin, schisandrol B, deoxyschizandrin, and schisandrin B in serum containing drug of Compound Wurenchun Capsula. **Methods** An HPLC method was set up. Lichrosphere C₁₈ column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) and Phenomenex® Description C₁₈ (4.0 mm × 3.0 mm)

* 收稿日期: 2008-06-29

基金项目: 江苏省中医药局科研项目(H05173); 江苏省高校研究生科技创新计划项目(140)

作者简介: 窦志华(1966—), 男, 副主任中药师, 博士, 从事中药药效物质基础研究与新制剂开发。

Tel: (0513) 85116027 E-mail: zhihuadou@163.com

* 通讯作者 丁安伟 Tel: (025) 85811523 E-mail: awding105@163.com

protective column were used. Acetonitrile-water was used as gradient mobile phase. The flow rate was 1.0 mL/min. The column temperature was 30 °C and the detection wavelength was 210 nm. **Results** The linear ranges of schisandrin, schisandrol B, deoxyschisandrin, and schisandrin B were within 0.051 2 - 0.768 0 µg ($r=0.999\ 5$), 0.054 0 - 0.810 0 µg ($r=0.999\ 6$), 0.012 3 - 0.184 5 µg ($r=0.999\ 8$), and 0.039 8 - 0.597 0 µg ($r=0.999\ 6$), respectively. The average concentration of these four lignans in serum containing drug were 8.021 1, 6.231 0, 0.530 8, and 5.851 0 µg/mL, respectively. **Conclusion** This method is easy, sensitive, specific, and accurate for the assaying of the four lignans in serum containing drug of Compound Wurenchun Capsula.

Key words: Compound Wurenchun Capsula; serum containing drug; schisandrin; schisandrol B; deoxyschisandrin; schisandrin B; HPLC

复方五仁醇胶囊是一种治疗慢性肝炎的科研制剂,由五味子、三七、柴胡、叶下珠 4 味中药组成,临床疗效确切。血清药化学研究表明,大鼠灌胃复方五仁醇胶囊后含药血清中产生了 13 个药源性成分,其中 8 个为制剂原形成分,5 个为代谢产物,8 个原形成分的 4 个被鉴定为五味子醇甲、五味子醇乙、五味子甲素和五味子乙素^[1~3];血清药理学研究显示,该含药血清对肝细胞损伤具有明显保护作用^[4]。谱效关系研究表明,含药血清中发挥药效的主要物质为来源于君药五味子所含的木脂素类成分^[5]。本实验采用 HPLC 法测定含药血清中五味子醇甲、五味子醇乙、五味子甲素和五味子乙素 4 个主要木脂素类成分,为体外化合物定量加入空白血清进行药效试验提供参考。

1 仪器、试剂及动物

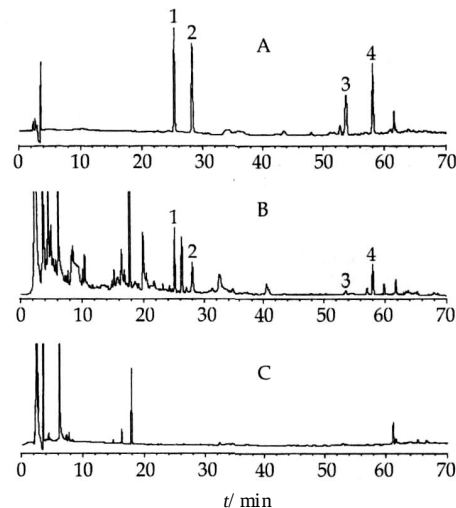
Waters Alliance 高效液相色谱系统,包括 2695 分离单元、2996 二极管阵列检测器、Empower 色谱工作站(美国 Waters 公司);AS20500A 超声波清洗器(天津奥特赛恩斯仪器有限公司);XW-80A 微型旋涡混合仪(上海沪西分析仪器厂);100~1 000 µL 芬兰可调式移液器(上海雷勃分析仪器有限公司);Libror AEL 40SM 十万分之一电子分析天平(日本 Shimadzu 公司)。

甲醇、乙腈(色谱纯),纯净水(杭州娃哈哈集团有限公司)。五味子醇甲、五味子乙素对照品购自中药固体制剂制造技术国家工程研究中心,五味子醇乙对照品购自天津一方科技有限公司,五味子甲素对照品购自中国药品生物制品检定所,以上对照品质量分数均 ≥98%。复方五仁醇胶囊由南通大学附属南通第三医院提供。

SD 大鼠,SPF 级,体质量(248.4 ±16.3) g,雌雄各半。南通大学实验动物中心提供,许可证号 SYKX(苏)2002-0022。

2 方法与结果

2.1 色谱条件:Lichrosphere C₁₈ 色谱柱(250 mm × 4.6 mm, 5 µm), Phenomenex® Description C₁₈ 保护柱(4.0 mm × 3.0 mm);水(A)-乙腈(B)梯度洗脱(0~20 min, 15% B ~ 55% B; 20~40 min, 55% B ~ 60% B; 40~50 min, 60% B ~ 70% B; 50~60 min, 70% B ~ 90% B; 60~70 min, 90% ~ 100% B);体积流量:1.0 mL/min;柱温 30 °C;检测波长:210 nm。在选定条件下,五味子醇甲、五味子醇乙、五味子甲素和五味子乙素与其他组分色谱峰均可达基线分离,且血清中固有成分不干扰测定。色谱图见图 1。



1-五味子醇甲 2-五味子醇乙 3-五味子甲素 4-五味子乙素
1-schisandrin 2-schisandrol B 3-deoxyschisandrin
4-schisandrin B

图 1 对照品(A)、含药血清(B)和空白血清(C)的 HPLC 图
Fig. 1 HPLC Chromatograms of reference substances (A), serum containing drug (B), and blank serum (C)

2.2 含药血清、空白血清及其供试品溶液的制备:按照文献报道^[2]方法制备大鼠空白血清及 5 批复方五仁醇胶囊含药血清。取含药血清 1 mL,置离心管中,加入硫酸铵 0.36 g,置微型旋涡混合仪快速混匀,分次加甲醇(每次 1 mL,总计 5 mL)同法充分混

匀, 16 000 r/min 离心 10 min, 上清液置 80 ℃ 水浴锅上蒸干, 用微量移液器精密加入甲醇 0.5 mL, 并使残渣充分溶解, 16 000 r/min 离心 10 min, 取上清液作为含药血清供试品溶液。取空白血清各 1 mL, 同法处理, 制备空白血清供试品溶液。

2.3 方法学考察

2.3.1 线性关系考察: 精密称取五味子醇甲、五味子醇乙、五味子甲素、五味子乙素对照品适量, 甲醇溶解, 配成质量浓度分别为 128.00、135.00、30.75、99.50 μg/mL 对照品储备液。精密量取对照品储备液 1 mL 置 5 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀。另取空白血清 6 份, 每份 1 mL, 分别加入此稀释液 0.1、0.3、0.6、0.9、1.2、1.5 mL, 按照含药血清供试品溶液制备方法处理, 配成系列对照品溶液 ~ , 分别取 10 μL 进样, 测定其峰面积值。以峰面积对进样量进行回归处理, 得 4 种成分的回归方程及线性范围。五味子醇甲: $Y = 4\,404\,707 X - 92\,651$, $r = 0.999\,5$, 线性范围 0.051 2 ~ 0.768 0 μg; 五味子醇乙: $Y = 3\,913\,502 X - 85\,854$, $r = 0.999\,6$, 线性范围 0.054 0 ~ 0.810 0 μg; 五味子甲素: $Y = 7\,621\,677 X - 22\,815$, $r = 0.999\,8$, 线性范围 0.012 3 ~ 0.184 5 μg; 五味子乙素: $Y = 211\,829 X - 51\,744$, $r = 0.999\,6$, 线性范围 0.039 8 ~

0.597 0 μg。

2.3.2 精密度试验: 取系列对照品溶液 ~ , 作为低、中、高 3 个质量浓度的对照品溶液, 分别进样 10 μL 测定峰面积 (第 1 天每个质量浓度连续进 5 次, 第 2 天开始每天各进 1 次, 共测定 5 d), 计算日内、日间精密度, 结果见表 1。

2.3.3 回收率试验: 将 2.3.2 中系列对照品溶液 ~ 、 日内精密度试验测得的低、中、高 3 个质量浓度的对照品溶液峰面积代入回归方程, 计算 4 种成分的量, 与相应实际加入的量比较, 计算相对回收率 (相对回收率 = 4 种成分的测定量 / 相应实际加入的量 × 100%)。结果见表 1。

分别精密量取对照品储备液 40、240、480 μL 置 1 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 配制成低、中、高 3 个质量浓度的对照品溶液 (实际质量浓度分别与 2.3.2 项下的低、中、高 3 个质量浓度一致), 分别进样 10 μL, 每个质量浓度重复 5 次, 测定峰面积并计算平均值, 作为对照组, 同时用 2.3.2 项下制备的低、中、高 3 个质量浓度的对照品溶液分别进样 10 μL, 测定峰面积, 每个水平重复 5 次, 作为提取处理组, 将提取处理组峰面积与对照组峰面积平均值比较, 计算绝对回收率 (绝对回收率 = 处理组峰面积平均值 / 对照组峰面积平均值 × 100%)。结果见表 1。

表 1 精密度和回收率试验结果

Table 1 Results of precision and recovery test

成分	质量浓度/ (μg · mL ⁻¹)	精密度		相对回收率		绝对回收率	
		日内 RSD/ %	日间 RSD/ %	平均值/ %	RSD/ %	平均值/ %	RSD/ %
五味子醇甲	5.12	4.57	3.63	126.82	3.09	58.89	4.57
	30.72	3.69	2.64	97.65	3.43	60.18	3.69
	61.44	1.14	1.02	102.11	1.11	65.45	1.14
五味子醇乙	5.40	5.50	4.48	124.35	3.70	55.59	5.50
	32.40	1.83	1.04	96.23	1.70	57.41	1.83
	64.80	0.55	0.49	99.59	0.53	61.67	0.55
五味子甲素	1.23	5.42	4.88	105.35	4.16	43.27	5.42
	7.38	1.62	1.08	94.68	1.55	46.09	1.62
	14.76	1.41	1.36	97.86	1.38	48.85	1.41
五味子乙素	3.98	6.62	5.44	124.32	4.47	40.86	6.62
	23.88	3.79	3.27	92.23	3.52	40.17	3.79
	47.76	5.06	4.86	93.78	4.88	42.52	5.06

2.4 样品测定: 取 5 批含药血清样品, 制备含药血清供试品溶液, 取 20 μL 注入液相色谱仪, 测定峰面积, 计算 4 种成分的量, 结果见表 2。

3 讨论

中药血清药理学和血清药化学的紧密结合, 将有助于中药药效物质基础的阐明^[6]。怎样将两者结

合起来, 目前没有统一思路, 文献报道较多的是首先采用血清药化学方法分析鉴定含药血清中的药源性成分, 然后采用血清药理学方法分别对这些成分进行体外药效评价, 如王胜春等^[7]在检测到五灵丸含药血清中存在五味子醇甲、五味子乙素、隐丹参酮、丹参酮 A 后, 分别对这 4 个成分进行了体外抗肝

表2 不同批次样品中有效成分的测定结果
Table 2 Results of active components in samples
from different batches

批 次	质量浓度/ ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)			
	五味子醇甲	五味子醇乙	五味子甲素	五味子乙素
1	6.5853	5.6985	0.4722	5.4214
2	9.3564	8.2791	0.5477	7.0702
3	7.5145	4.4713	0.4672	4.4909
4	8.1754	6.3176	0.4046	5.8443
5	8.4742	6.3884	0.7621	6.4284
平均值	8.0211	6.2310	0.5308	5.8510
RSD/ %	12.97	22.13	26.17	16.78

细胞损伤试验,结果显示均有效,因此认为这些成分为主要药效成分。这种思路有一定借鉴意义,但忽略了两个问题,首先,对各成分逐一进行药效评价不能体现中药多成分作用的特点,其次,不能反映制剂中各主要成分吸收入血后其量比例变化造成的药效差异。要认定含药血清中检测到的药源性成分为主要药效成分,合理的方法是将这些成分按含药血清中的量及比例加入空白血清,与含药血清进行药效比较,其前提是建立含药血清中药源性成分的量测

定方法,因此本实验的开展具有方法学意义。

实验中的绝对回收率试验结果显示,血清样品在提取处理过程中待测定成分的损失较多,其原因可能是蛋白质变性沉淀过程中包裹了部分成分,可试用固相萃取的处理方法加以改进,在将体外化合物加入空白血清进行药效试验时,也可以参照本次测定和绝对回收率试验结果适当扩大加样量。

参考文献:

- [1] 窦志华,丁安伟,王陆军,等.复方五仁醇胶囊血清药化学研究[J].中草药,2006,37(8):1137-1140.
- [2] 窦志华,丁安伟,居文政,等.复方五仁醇胶囊含药血清中木脂素类成分的UPLC-MS/MS分析[J].中成药,2007,29(4):550-555.
- [3] 窦志华,丁安伟,王陆军,等.复方五仁醇胶囊含药血清指纹图谱研究[J].中国药理学杂志,2007,42(12):892-895.
- [4] 张兵,窦志华,罗琳,等.复方五仁醇胶囊保肝作用的血清药理学研究[J].南通大学学报:医学版,2007,27(6):494-496.
- [5] 窦志华,罗琳,丁安伟,等.复方五仁醇胶囊含药血清指纹图谱与保肝作用的谱效关系[J].第四军医大学学报,2008,29(2):116-118.
- [6] 潘卫松,刘美凤,石钱,等.血清药理学、血清化学和中药药代动力学[J].世界科学技术:中药现代化,2002,4(3):51-55.
- [7] 王胜春,胡咏武,王俊琴,等.五灵胶囊药效作用的有效成分[J].第四军医大学学报,2004,25(17):1587-1591.

灌胃天麻素小鼠脑组织中天麻苷元的药动学研究

蔡 铮¹,侯世祥^{2*},刘中秋¹,陈秋红²,杨兆祥³

(1.南方医科大学药学院,广东 广州 510515; 2.四川大学华西药学院,四川 成都 610041;

3.昆明制药集团药物研究院,云南 昆明 650100)

摘要:目的 建立小鼠脑组织中天麻苷元的HPLC测定方法,并考察灌胃天麻素后小鼠脑中天麻苷元的药动学特性。方法 脑匀浆用醋酸乙酯提取后,采用HPLC法测定。色谱柱为Diamondsil C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm),流动相为乙腈-水(10.5 : 89.5),体积流量1.0 mL/min;检测波长221 nm;柱温25 ;进样量20 μL 。结果 方法线性范围为50 ~ 1 616 ng/mL ($r=0.9996$),回收率为93.8% ~ 95.1%,日内及日间RSD均低于10%。小鼠脑组织中天麻苷元的质量浓度与时间曲线呈现双峰($t_{\text{max}1}=15\text{ min}$, $t_{\text{max}2}=90\text{ min}$),药时曲线下面积为52 822.5 ng·min/g,消除半衰期为54.8 min。结论 该分析方法灵敏、准确,适合于脑组织中天麻苷元的测定。天麻素经小鼠口服给药后,能较快入脑并代谢为天麻苷元,消除也较快。

关键词:天麻素;天麻苷元;脑组织;高效液相色谱

中图分类号:R286.02

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2009)03-0389-03

Pharmacokinetics of gastrodigenin in brain tissue of mice after intragastric administration of gastrodin

CAI Zheng¹, HOU Shi-xiang², LIU Zhong-qiu¹, CHEN Qiu-hong², YANG Zhao-xiang³

(1. School of Pharmaceutical Science, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China; 2. West China

* 收稿日期:2008-06-07

作者简介:蔡 铮(1977—),男,江西吉安人,讲师,博士,1999年毕业于沈阳药科大学制剂专业,2002年获云南中医学院中药学硕士学位,2002—2005年工作于昆明制药集团药物研究所,2008年获四川大学华西药学院药剂学博士学位,研究方向为新型给药系统研究。 Tel: (020) 61648597 E-mail: caizheng2002@sina.com

* 通讯作者 侯世祥 Tel: (028) 85502809 E-mail: housix @263.net