的蒽醌苷元类物质具有较高的富集能力。

通常有机化合物通过树脂的孔穴扩散到树脂的内表面而被树脂吸附，孔径大的吸附树脂易于吸附相对分子质量大的物质，孔径较小而比表面积高的吸附树脂易于吸附小分子的物质，因此树脂吸附能力大小与蒽醌苷元的相对分子质量和构型有关，从表 6 可见吸附量大的树脂 S-8 具有较大的孔径。在树脂具有适宜的孔径可确保溶质良好扩散的条件下，吸附树脂的吸附量随比表面积的增大而增大，几乎呈线性关系。孔容大小直接影响树脂的体积比表面积（每 1 mL 湿树脂所具有的比表面，m^2/mL），孔体积增大引起体积比表面积下降，反而使吸附量降低。S-8、AB-8 树脂孔容小，体积比表面积大，因而吸附量较大。

树脂的实际应用是由树脂的极性、孔径、比表面、孔容的综合性能决定的，对其性能的评价要从吸附量、解吸率和吸附动力学实验的结果综合考虑。在某些情况下，吸附作用力强不利于解吸，如 X-5 树脂吸附量较大但解吸率低，不适用于分离。

通过测定分析 6 种大孔吸附树脂对蒽醌苷元的吸附和解吸特性，综合考虑多方面因素，S-8 树脂具有适当孔径、较高比表面积，对蒽醌苷元吸附量大，解吸容易，经树脂纯化后蒽醌苷元的量高，性能优于其他几种树脂。因此 S-8 型大孔吸附树脂是一种性能良好的蒽醌苷元吸附剂。

3.3 S-8 型大孔树脂对决明子总蒽醌苷元的动态吸附量明显低于静态吸附量，是由于动态吸附过程中，药液在树脂上停留时间大大缩短，影响了树脂吸附效果所致。在工业生产过程中，测定动态吸附率对于控制上样量，提高生产效率具有重要指导意义。

3.4 在大孔树脂对决明子蒽醌苷元纯化能力比较的实验中，由于 20%、50%乙醇极性大于 80%乙醇，洗脱液中含有一定量水溶性杂质，质量分数较 80%乙醇洗脱液低（AB-8 型大孔树脂 20%乙醇洗脱液含蒽醌苷元 13.99%，50%乙醇洗脱液含 25.98%，80%乙醇洗脱液含 34.42%），所以 80%乙醇洗脱液中蒽醌苷元的量最高，并且以此作为比较纯化能力的指标。

3.5 用 80%乙醇洗脱各型号（除 S-8）大孔树脂柱后柱体由黄色变为基本无色，说明吸附在柱上的样品成分近乎全部被洗脱下来。而 80%乙醇却不能把吸附在 S-8 型大孔树脂柱上的绝大部分样品成分洗脱下来，需用乙醇-5% NaOH（4∶1）洗脱后色谱柱颜色才明显变浅。这说明蒽醌苷元与 S-8 型大孔树脂间的氢键吸附力很强，需与 NaOH 形成更强结合力的离子化合物才能从色谱柱上被争夺下来，达到洗脱的目的。

3.6 经本实验研究初步确定决明子总蒽醌苷元的制备纯化工艺——决明子药粉采用氯仿浸提，上 S-8 型大孔树脂柱，水洗至中性，乙醇-5% NaOH（4∶1）洗脱，收集醇碱洗脱液浓缩、酸化处理，从而得到质量分数较高的总蒽醌苷元（42.62%）。

References:

[1] Jiangsu New Medical College. *Dictionary of Chinese Materia Medica* (中药大辞典) [M]. Shanghai: Shanghai Scientific and Techincal Publishers, 2001.

[2] Chen Q D, Xu R, Xu Z N, *et al*. Progress in studies of active coustituents of anthraquinone and their biological activities from *Semen Cassiae* [J]. *Chin J Mod Appl Pharm* (中国现代应用药学杂志), 2003, 20 (2): 120-123.

[3] Meng X Y. *Chemical Experiment of Chinese Materia Medica* (中药化学实验) [M]. Changchun: Jilin Agriculture Uni versity Publishing House, 1997.

[4] Yang L Y, Yang B Q, Lang H Y. Study of the extract method of anthraquinone aglycone from *Semen Cassiae* [J]. *China West Cereals Oils Technol* (西部粮油科技), 2003(2): 59-60.

大鼠灌胃复方五仁醇胶囊后血清和血浆中五味子醇甲和五味子乙素的比较

罗 琳[1]，窦志华[2]，丁安伟[2]，王陆军[3]，张 兵[3]，施 忠[3]

（1. 南通大学，江苏 南通 226006；2. 南京中医药大学，江苏 南京 210029；3. 南通市第三人民医院，江苏 南通 226006）

摘 要：目的 比较复方五仁醇胶囊主要入血成分在大鼠血清和血浆中的量。**方法** 灌胃给药制备大鼠含药血清

收稿日期：2005-12-14

基金项目：江苏省中医药局中医药科学技术研究专项课题（H05173）；南通市社会发展科技计划项目（S4006）

作者简介：罗 琳（1976—），女，江苏省南通市人，讲师，硕士，主要从事药理学科研教学工作。

Tel：（0513）85051726 E-mail：luolin@ntu.edu.cn

和含药血浆，HPLC 法测定五味子醇甲和五味子乙素。Lichrosphere C_{18}(250 mm×4.6 mm，5 μm)色谱柱，Phenomenex Description C_{18}保护柱(4.0 mm×3.0 mm)，甲醇-水梯度洗脱，体积流量 1.0 mL/min，柱温 30 ℃，检测波长 254 nm。**结果** 五味子醇甲、五味子乙素分别在 0.051 2～0.614 4 和 0.039 8～0.477 6 μg 线性关系良好，低、中、高 3 个水平五味子醇甲、五味子乙素的平均相对回收率分别为 96.72%、101.06%、102.05%和 99.03%、100.18%、100.28%。血清和血浆中五味子醇甲平均质量浓度分别为 11.063 2、12.883 7 μg/mL，五味子乙素平均质量浓度分别为 7.490 9、12.590 8 μg/mL。**结论** 复方五仁醇胶囊主要入血成分血浆中的量高于血清。

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

中图分类号：R286.02 **文献标识码**：B **文章编号**：0253-2670(2006)10-1486-04

Comparison of schisandrin and schisandrin B in rat serum and plasma after ig Compound Wurenchun Capsules

LUO Lin[1], DOU Zhi-hua[2], DING An-wei[2], WANG Lu-jun[3], ZHANG Bing[3], SHI Zhong[3]

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

Abstract: **Objective** To compare the content of main constituents of Compound Wurenchun Capsules dissolved in serum and plasma of rats. **Methods** Serum and plasma containing drug were prepared after ig the preparation to rats. Lichrosphere C_{18} (250 mm×4.6 mm, 5 μm) column and Phenomenex Description C_{18}(4.0 mm×3.0 mm) protective column were used. The mobile phase consisted of methanol-water, eluted in gradient mode. The flow rate was 1.0 mL/min. The column temperature was 30 ℃ and detection wavelength was 254 nm. **Results** The linear ranges of schisandrin and schisandrin B were 0.051 2—0.614 4 and 0.039 8—0.477 6 μg. The average relative recoveries of schinsandrin and schisandrin B were 96.72%, 101.06%, 102.05%, and 99.03%, 100.18%, 100.28% in low, middle, and high concentrations, respectively. The average contents of schisandrin in serum and plasma were 11.063 2 and 12.883 7 μg/mL, schisandrin B were 7.490 9 and 12.590 8 μg/mL, respectively. **Conclusion** The main constituents of Compound Wurenchun Capsules contained in plasma account for higher than the ones in serum.

Key words: Compound Wurenchun Capsules; schisandrin; schisandrin B; serum containing drug; plasma containing drug; HPLC

复方五仁醇胶囊由五味子、柴胡、叶下珠、三七 4 味药组成，用于治疗急慢性肝炎，不但具有组方简单的特点，而且临床疗效确切[1]，所以笔者选定该制剂为研究对象进行“血清药理学”与“血清药化学”相结合的中药复方药效物质基础的方法学探讨。前期的研究发现，该制剂灌胃给药后大鼠血清中产生 8 个制剂原形成分，其中五味子醇甲、五味子乙素的量较高，可能为主要药效成分。近年来有学者查阅大量我国发表的有关“血清药理学”的论著，发现绝大部分其实是“血浆药理学”，只有少部分是真正的血清药理学[2]；同时也有学者从血液生理的角度通过实验研究认为，某些情况下血浆药理学方法能更好地再现体内环境中产生的药理效应[3]。本实验对复方五仁醇胶囊含药血清和含药血浆中五味子醇甲、五味子乙素进行比较，为下一步制定药理学实验方案提供依据。

1 实验材料

Agilent 1100 Series 高效液相色谱仪(G1311A Quaternary Pump, G1379A Degasser, G1313A Autosampler, G1314A Variable Wavelength Detector)，HP ChemSation 工作站(美国 Agilent 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 电子分析天平(日本岛津公司)。

甲醇(色谱纯，江苏汉邦科技有限公司)，乙腈(色谱纯，美国 TEDIA 公司)，纯净水(杭州娃哈哈集团有限公司)，硫酸铵(分析纯，上海浦口化学试剂有限公司)。五味子醇甲(批号 1171-040208)、五味子乙素(批号 1173-040110)对照品购自江西南昌中药固体制剂制造技术国家工程研究中心，复方五仁醇胶囊由南通市第三人民医院提供，批号 050505。

SD 大鼠，SPF 级，体重(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

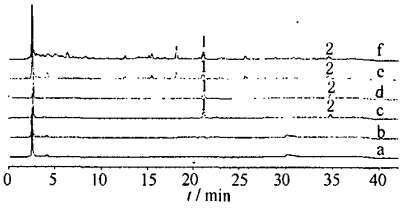
2.1 色谱条件：Lichrosphere C_{18}色谱柱(250 mm×4.6 mm，5 μm)，Phenomenex Description C_{18}保护柱(4.0 mm×3.0 mm)；水(A)-甲醇(B)梯度洗脱(0～15 min，40%～70% B；15～20 min，70% B；20～25 min，70%～85% B；25～35 min，85%～90% B；35～45 min，90% B)；体积流量：1.0 mL/min；柱温：30 ℃；检测波长：254 nm。

2.2 空白血清、空白血浆、含药血清及含药血浆的制备：取 SD 大鼠 18 只，随机平均分成空白血清组、空白血浆组、含药血清组和含药血浆组。所有大鼠禁食 12 h (自由饮水)，含药血清组和含药血浆组每天按照 0.45 mL/(100 g)体重，分两次分别 ig 复方五仁醇胶囊甲醇提取物的 0.5% CMC-Na 混悬液(给药剂量相当于临床等效剂量的 10 倍)，连续 3 d，空白组同法 ig 等体积 0.5% CMC-Na 溶液。末次给药后 1 h 用 3%戊巴比妥钠 0.15 mL/(100 g) ip 麻醉，颈总动脉取血，血浆组立即 3 000 r/min 离心 10 min 分离血浆，即为空白血浆、含药血浆；血清组血液置冰箱 4 ℃冷藏过夜，分离血清，即分别为空白血清、含药血清。

2.3 供试品溶液的制备：分别取空白血清、空白血浆、含药血清和含药血浆各 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，上清液即为空白血清、空白血浆、含药血清和含药血浆供试品溶液，进样前 0.45 μm 微孔滤膜滤过。

2.4 线性关系考察：分别精密称取五味子醇甲、五味子乙素对照品 2.56、1.99 mg，置 10 mL 量瓶中，加甲醇溶解并稀释至刻度，摇匀，作为对照品储备液。取空白血清 7 份，每份 1 mL，分别加入稀释 10 倍后的对照品储备液 0.1、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、1.2 mL，按 2.3 项下方法处理(相应扣除加入甲醇的体积)，配制成含五味子醇甲、五味子乙素分别为 5.12 和 3.98、10.24 和 7.96、20.48 和 15.92、30.72 和 23.88、40.96 和 31.84、51.20 和 39.80、61.44 和 47.76 μg/mL 的系列混合对照品加血清溶液。同法配制含五味子醇甲、五味子乙素 30.72、23.88 μg/mL的混合对照品加血浆溶液。分别取系列混合对照品加血清溶液 10 μL 进样，测定其峰面积值。以峰面积值对进样量求得直线回归方程。五味子醇甲：$Y=1\ 210.18\ X+7.39$，$r=0.999\ 3$，线性范围为 0.051 2～0.614 4 μg；五味子乙素：$Y=752.60\ X+14.83$，$r=0.999\ 7$，线性范围为 0.039 8～0.477 6 μg。

2.5 方法的专属性考察：分别吸取空白血清、空白血浆、含药血清和含药血浆供试液 20 μL，及含五味子醇甲、五味子乙素 0.030 72、0.023 88 mg/mL 的混合对照品加血清、加血浆溶液各 10 μL，注入高效液相色谱仪，记录色谱图并进行比较。结果显示，可知内源性物质不干扰测定，在选定的色谱条件下，五味子醇甲和五味子乙素分离度良好，保留时间分别为 21.1 min 和 34.8 min。见图 1。



a-空白血清 b-空白血浆 c-空白血清＋对照品 d-空白血浆＋对照品 e-含药血清 f-含药血浆 1-五味子醇甲 2-五味子乙素

a-control serum b-control plasma c-control serum + reference substance d-control plasma + reference substance e-serum containing drug f-plasma containing drug 1-schisandrin 2-schisandrin B

图 1 高效液相色谱图比较

Fig. 1 Comparison of HPLC chromatograms

2.6 精密度试验：取空白血清 3 份，按 2.4 项下系列混合对照品加血清溶液制备方法制备低、中、高 3 个水平的对照品溶液(含五味子醇甲、五味子乙素分别为 10.24 和 7.96、30.72 和 23.88、51.20 和 39.80 μg/mL，分别进样 10 μL 测定峰面积，结果五味子醇甲 3 个质量浓度的日内 RSD 分别为 0.39%、0.17%、0.21% ($n=5$)，日间 RSD 分别为 0.41%、0.76%、0.63% ($n=5$)，五味子乙素 3 个浓度的日内、日间 RSD 分别为 3.59%、0.66%、0.67% ($n=5$)和 3.53%、1.79%、0.48% ($n=5$)。

2.7 回收率试验

2.7.1 相对回收率试验：将 2.6 项下测得的低、中、高 3 个水平的对照品溶液峰面积代入当日回归方程，计算五味子醇甲、五味子乙素，与相应实际量比较，得低、中、高 3 个水平五味子醇甲、五味子乙素的平均相对回收率分别为 96.72%、101.06%、102.05%和 99.03%、100.18%、100.28%。

2.7.2 绝对回收率试验：精密量取对照品储备液 0.5 mL 置 5 mL 量瓶中，加甲醇溶解并稀释至刻

度，摇匀，分别量取 0.2、0.6、1.0 mL，蒸干，分别精密量取甲醇 0.5 mL 充分溶解，配制成低、中、高 3 个水平的对照品溶液（含五味子醇甲、五味子乙素分别为 10.24 和 7.96、30.72 和 23.88、51.20 和 39.80 μg/mL），分别进样 10 μL，测定峰面积并计算平均值，作为对照组，同时用 2.6 项下制备的低、中、高 3 个水平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，作为样品组，将样品组峰面积与对照组峰面积比较，得低、中、高 3 个水平五味子醇甲、五味子乙素的绝对回收率分别为 68.11%、68.34%、68.25%和 58.01%、55.51%、54.68%。

2.8 样品测定：取含药血清、含药血浆各 5 份，制备含药血清、含药血浆供试品溶液，20 μL 注入液相色谱仪，测定峰面积，计算五味子醇甲、五味子乙素的质量浓度，结果见表 1。

表 1 血清和血浆中五味子醇甲和五味子乙素的测定（$n=2$）

Table 1 Determination of schisandrin and schisandrin B in serum and plasma ($n=2$)

样品	五味子醇甲 质量浓度/(μg·mL^{-1})	RSD/%	五味子乙素 质量浓度/(μg·mL^{-1})	RSD/%	样品	五味子醇甲 质量浓度/(μg·mL^{-1})	RSD/%	五味子乙素 质量浓度/(μg·mL^{-1})	RSD/%
1	11.998 6		6.974 5		1	12.327 5		11.991 4	
2	11.682 1		8.979 5		2	12.238 9		13.720 8	
3	10.097 7	6.98	8.128 2	14.38	3	13.268 3	4.49	12.853 8	11.21
4	10.874 0		7.163 5		4	13.034 6		13.918 7	
5	10.663 5		6.208 8		5	13.549 4		10.469 4	

3 讨论

本实验结果表明，复方五仁醇胶囊主要入血成分五味子醇甲、五味子乙素在血浆中的量均高于血清，尤其是极性较小的五味子乙素在血浆中的量是血清的 1.68 倍，这可能是由于在凝血形成过程中，纤维蛋白及其网罗的血细胞可能吸附或结合一些中药成分，特别是极性较小成分的缘故，所以采用含药血浆进行该制剂药效研究似乎比含药血清更好；而且理论上讲，血浆药理学也不违背“中药虽成分众多，但只有那些被消化吸收进入血液的成分或其代谢产物才有产生药效的可能”的观点。因此从药效成分量的角度看，推测用含药血浆研究中药药理学可能更为合理。

References:

[1] Dou Z H, Shi Z, Li W H, *et al*. The study and preparation on Compound Wurenchun Capsules [J]. *Lishizhen Med Mater Res* (时珍国医国药), 2005, 16 (10): 953.

[2] Luo H M. Serum pharmacochemistry and plasma pharmacochemistry [J]. *Chin Pharmacol Bull* (中国药理学通报), 2003, 19 (9): 1075-1076.

[3] Wang D S, Chen F P, He S L, *et al*. Comparison of plasma and serum pharmacologic methods in evaluating the effect of Dahuang Zhechong Capsule on platelet aggregation [J]. *Chin J Thromb Hemost* (血栓与止血学), 2005, 11 (1): 5-8.

金银花的 HPLC 药效指纹图谱研究

梁生旺[1]，崔永霞[2]，王淑美[2]，吴明侠[2]

（1. 广东药学院中药学院，广东 广州 510024；2. 河南中医学院，河南 郑州 450008）

摘 要：目的 找出金银花中与抗炎活性成正相关的化学成分，并以此建立金银花的药效指纹图谱。**方法** 采用 HPLC 法分析，获得金银花不同提取部位的指纹图谱，同时选择小鼠耳肿胀抗炎实验测定不同提取部位的药理活性，以线性回归解释化学信息和药理活性的相关关系。**结果** 以甲醇提取部位的药理活性最强，故以此部位的 HPLC 图谱来制定金银花的“药效谱”。**结论** 采用该方法制定得到的金银花的药效指纹图谱更为科学、合理。

关键词：金银花；抗炎；药效指纹图谱；高效液相色谱

中图分类号：R286.02 **文献标识码：**B **文章编号：**0253-2670(2006)10-1489-05

收稿日期：2005-12-06

作者简介：梁生旺，男，教授，从事中药质量控制研究。
Tel：(020)39352172 E-mail：swliang371@163.com