

HPLC 法测定五仁醇自乳化胶囊中五味子醇甲和五味子乙素的含量

纪宏宇¹ 邵兵¹ 唐景玲² 刘红梅¹ 赵红光¹ 兰恭赞¹ 吴琳华¹ (1. 哈尔滨医科大学附属第二医院药学部 黑龙江省高校重点实验室 哈尔滨 150086; 2. 哈尔滨医科大学药学院药剂教研室)

摘要 目的: 建立五仁醇自乳化胶囊中五味子醇甲、五味子乙素的含量测定方法。方法: 采用 Diamonsil C₁₈ 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 以甲醇-水(75:25)为流动相, 流速 1.0 ml·min⁻¹, 检测波长为 220 nm。结果: 五味子醇甲和五味子乙素浓度分别在 2.19~24.09 μg·ml⁻¹ ($r=0.9991$) 和 2.15~23.65 μg·ml⁻¹ 范围内呈现良好的线性关系 ($r=0.9994$), 平均加样回收率分别为 100.6% 和 100.4%, RSD 分别为 2.65% 和 2.66% ($n=9$)。结论: 该方法简便、准确、重复性好, 可作为五仁醇自乳化胶囊的质量控制方法。

关键词 高效液相色谱; 五仁醇; 自乳化; 五味子醇甲; 五味子乙素

中图分类号: R927.2 文献标识码: A 文章编号: 1008-049X(2011)12-1731-03

Determination of Schisandrin and Schisandrin B in Wurechun Self-emulsifying Capsules by HPLC

Ji Hongyu¹, Shao Bing¹, Tang Jingling², Liu Hongmei¹, Zhao Hongguang¹, Lan Gongzan¹, Wu Linhua¹ (1. Department of Pharmacy, the Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Key Laboratory of College in Heilongjiang Province, Harbin 150086, China; 2. Department of Pharmaceutics, School of Pharmacy, Harbin Medical University)

ABSTRACT Objective: To develop a method for the determination of schisandrin and schisandrin B in the Wurechun self-emulsifying capsules by HPLC. **Method:** The samples were separated on a RP-C₁₈ column (DiamonsilTM, 250 mm × 4.6 mm, 5 μm) with methanol and water (75:25) as the mobile phase. The detection was performed at 220 nm for schisandrin and schisandrin B at a flow rate of 1.0 ml·min⁻¹. **Result:** The calibration curve was linear over the range of 2.19-24.09 μg·ml⁻¹ and 2.15-23.65 μg·ml⁻¹ for schisandrin and schisandrin B with the coefficient of determination of 0.9991 and 0.9994, respectively. The average recovery was 100.6% ($RSD=2.65\%$) and 100.4% ($RSD=2.66\%$) for the two substances, respectively ($n=9$). **Conclusion:** This method is accurate and repeatable, and can be used for the quality control of Wurechun self-emulsifying capsules.

KEY WORDS HPLC; Wurechun; Self-emulsification; Schisandrin; Schisandrin B

中药五味子 (*Fructus schisandrae chinensis*) 是木兰科植物五味子 *Schisandra chinensis* (Turcz) Baill 的干燥成熟果实, 其应用已有 2 000 多年的历史, 不但在我国, 在世界许多其他国家也广泛应用。在《神农本草经》中, 五味子被列为上品, 味酸甘、性温, 归肺、心、肾三经, 有敛肺、滋肾、生津、收汗、生涩的功效^[1]。五仁醇为五味子核仁的乙醇提取物, 具有滋补肝肾作用, 用于急慢性、迁延性肝炎及血清谷丙转氨酶偏高而具肝肾阴虚证者^[2]。由于五仁醇的主要成分为木脂素类化合物, 如五味子醇甲、乙素、甲素等, 均为难溶性化合物, 其体外溶出度低, 生物利用度差, 从而导致用药剂量较大, 给患者服用带来极大的不便。

自乳化释药系统 (self-emulsifying drug delivery system, 简称 SEDDS) 是一种由油相、表面活性剂和辅助表面活性剂组成的均一、澄清、各相同性的溶液^[3]。它不但具有乳剂对脂溶性药物增溶的优点, 而且由于 SEDDS 中的甘油酸三酯等油脂类辅料在

消化道的脂解和乳化作用, 还可以促进脂溶性药物的吸收^[4]。将五仁醇制成自乳化给药系统可以提高五仁醇有效成分的溶解度, 促进药物吸收, 提高五仁醇主要成分的生物利用度。现采用 HPLC 法测定自制五仁醇自乳化胶囊中五味子醇甲、五味子乙素的含量, 方法准确、快速、简便, 为评价和控制五仁醇自乳化制剂的质量提供依据, 也为进一步研究自乳化制剂促进难溶性中药的体外溶出和体内生物利用度奠定基础。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Waters 高效液相色谱仪 (Millennium32 色谱管理系统, 510 泵, 486 紫外检测器, U6K 高效液相进样器); AEU-120 型电子天平 (岛津); KQ3200E 医用超声波清洗器 (昆山市超声仪器有限公司)。

1.2 试剂

五仁醇原料药 (五味子总素含量为 9%, 西安小草植物科技有限责任公司); 五味子醇甲对照品、五

基金项目: 黑龙江省科技攻关项目 (编号: GC10C210); 黑龙江省中医药科研项目 (编号: ZHY10-Z083)

通讯作者: 吴琳华 Tel: (0451) 86605581 E-mail: wulinhua1985@yahoo.com.cn

五味子乙素对照品(中国药品生物制品检定所,批号:110857-200304、110765-200205);五仁醇自乳化胶囊(自制;规格:0.03 g/粒;批号:20081015、20090211、20090212);甲醇(色谱纯,山东禹王实业有限公司)

2 方法与结果

2.1 溶液的制备

2.1.1 对照品溶液 精密称定五味子醇甲对照品 2.19 mg,五味子乙素对照品 2.15 mg,用流动相溶解并定容至 10 ml 量瓶中,作为对照品储备液。精密吸取对照品储备液 1 ml,用流动相定容至 10 ml 量瓶中,即得对照品溶液。

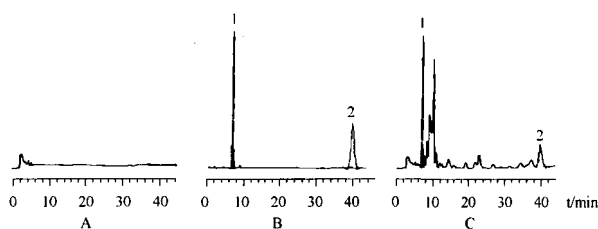
2.1.2 供试品溶液 精密称定自乳化药液约 0.3 g(相当于原料药 0.05 g),置 100 ml 量瓶中,用适当流动相超声溶解,定容至刻度,用微孔滤膜(0.45 μm)过滤,弃去初滤液,取续滤液作为供试品溶液。

2.1.3 阴性样品溶液 精密称定自乳化处方比例配制不含五仁醇的空白辅料 0.25 g,至 100 ml 量瓶中,超声溶解,用流动相定容至刻度,用微孔滤膜(0.45 μm)过滤,弃去初滤液取续滤液。

2.2 色谱条件及专属性试验

2.2.1 色谱条件 色谱柱:Diamonsil C_{18} 柱(250 mm $\times$ 4.6 mm,5 μm);流动相:甲醇-水(75:25);检测波长:220 nm;流速:1.0 ml $\cdot$ min $^{-1}$;柱温:25 $^{\circ}\text{C}$;进样量:10 μl 。

2.2.2 专属性试验 分别精密吸取阴性样品溶液、对照品溶液和供试品溶液各精密吸取 10 μl ,注入液相色谱仪,记录色谱图,如图 1,结果显示在该色谱条件下,空白辅料不干扰五味子醇甲、五味子乙素的测定,可与其他成分达到基线分离,该方法专属性较好。



A. 阴性样品 B. 五味子醇甲和五味子乙素混合对照品
C. 五仁醇自乳化供试品溶液 1. 五味子醇甲 2. 五味子乙素

图 1 HPLC 色谱图

2.3 线性关系考察

精密吸取对照品储备液 0.1, 0.3, 0.5, 0.7, 0.9, 1.1 ml 分别置 10 ml 量瓶中,加流动相稀释置刻度,摇匀,定容,进样 10 μl 。以浓度 X 对峰面积 Y 线性回归,得五味子醇甲的回归方程分别为 $Y =$

$48\ 278X - 4\ 527.4 (r = 0.999\ 1)$,线性范围为 2.19 ~ 24.09 $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$,五味子乙素回归方程为 $Y = 63\ 644X + 12\ 777 (r = 0.999\ 4)$,线性范围为 2.15 ~ 23.65 $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ 。结果表明在此浓度范围内五味子醇甲和五味子乙素的线性关系良好。

2.4 精密度试验

取浓度为 10.95 $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ 五味子醇甲对照品溶液及浓度为 10.75 $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ 的五味子乙素对照品溶液,按上述色谱条件分别进样 5 次,测定其峰面积,计算 RSD 分别为 0.99%, 1.51% ($n = 5$)。

2.5 重复性试验

分别取 5 份同一批样品(20081015),按照供试品样品方法处理,求得样品中五味子醇甲和五味子乙素的含量分别为 2.21 mg/粒, 1.11 mg/粒, RSD 分别为 1.15%, 0.57% ($n = 5$)。

2.6 稳定性试验

将供试品溶液于室温下放置,分别于 0, 2, 4, 8, 12 和 24 h 进行测定,得五味子醇甲和五味子乙素在 24 h 内峰面积的 RSD 分别为 1.12%, 1.51% ($n = 6$)。

2.7 加样回收率试验

精密称量已知含量的胶囊内容物 9 份,每份约 0.03 g,精密称定,每 3 份为一组,置于 10 ml 量瓶中,分别加入浓度为 0.24 mg $\cdot$ ml $^{-1}$ 、0.126 mg $\cdot$ ml $^{-1}$ 的五味子醇甲、五味子乙素混合对照品 0.8, 1.0, 1.2 ml,加入适当流动相超声完全溶解后,用流动相定容至刻度,摇匀定容,用微孔滤膜(0.45 μm)过滤,弃去初滤液,取续滤液 10 μl 注入色谱仪内,按上述色谱条件测定峰面积 A ,计算五味子醇甲和五味子乙素的平均回收率,结果平均回收率分别为 100.6% ($RSD = 2.65\%$) 和 100.4% ($RSD = 2.66\%$) ($n = 9$)。

2.8 样品测定

分别取 3 批不同批号的样品(20081015、20090211、20090212,平均胶囊内容物重量为 0.03 g)制成供试品溶液,分别精密吸取供试品溶液与对照品溶液各 10 μl ,注入色谱仪内,按上述色谱条件测定峰面积 A ,以外标法计算含量,测定样品中五味子醇甲和五味子乙素的含量如表 1。

表 1 五仁醇自乳化胶囊含量测定结果($n = 3$)

批号	五味子醇甲(mg/粒)	五味子乙素(mg/粒)
20081015	2.21	0.98
20090211	1.89	0.89
20090212	1.82	0.87

3 讨论

3.1 五味子醇甲与五味子乙素的选择

五味子的主要活性成分为木脂素类化合物,其中五味子醇甲、五味子乙素、五味子甲素是控制五味子制剂质量的常用指标成分。在《中国药典》中,五味子是以其所含的五味子醇甲作为药材的质量控制指标,采用 HPLC 法进行测定^[5];《卫生部药品标准》(试行)中以五味子乙素为对照品测定总木脂素含量,采用比色法,误差大^[6]。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含量的报道,它能够更全面的反映药物的含量^[7-9]。在前期的试验研究中发现,五味子醇甲为含量较高的成分,而五味子乙素为脂溶性较高的成分,两者均为较重要的有代表性的成分,尤其是本研究所采用的自乳化剂型旨在提高难溶性成分的口服吸收,因此对五味子乙素的测定对进一步研究五仁醇自乳化制剂有着重要意义,因此本研究对五味子醇甲和五味子乙素均进行了测定。

3.2 流动相的选择

流动相的极性对五味子乙素的影响非常大,在流动相筛选过程中用过甲醇-水比例为 70:30,五味子乙素在 50 min 以后出峰。流动相用甲醇-水比例为 77:23 时,五味子乙素出峰时间明显提前,在 30 min 左右出峰,但五味子醇甲并不能与相邻杂质峰很好分离,当改用乙腈水不同比例作为流动相时也不能明显改变出峰时间和分离度,因此综合考虑五味子醇甲的分离度和五味子乙素的出峰时间选择甲

醇:水=75:25 作为流动相。

3.3 小结

本研究所建立的方法学已经成功的应用于五仁醇自乳化胶囊中有效成分的含量测定,为五仁醇自乳化制剂和市售制剂的体外溶出度和体内生物利用度研究奠定了基础。

参 考 文 献

- 1 刘筱虹,王佛华. 五味子的药理[J]. 河北中医药学报,1999,14(2):35-37
- 2 Shan NH, Carvajal MT, Patel CI, et al. Self-emulsifying drug delivery systems (SEDDS) with oliglycolized glycerides for improving *in vitro* dissolution and oral absorption of lipophilic drugs[J]. *Int J Pharm*, 1994,106(1):15-23
- 3 Gershanik T, Benita S. Self-dispersing lipid formulations for improving oral absorption of lipophilic drugs[J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2000, 50(1):179-188
- 4 Kim CK, Cho YJ, Gao ZG. Preparation and evaluation of biphenyl dimethyl dicarboxylate microemulsions for oral delivery[J]. *J Control Release*, 2001,70(1-2):149-155
- 5 中国药典[S]. 2010 年版. 一部. 61
- 6 卫生部药品标准[S]. 中药成方制剂. 第 19 册. 1998. 19-33
- 7 窦志华,丁安伟,施忠,等. 反相高效液相色谱法测定复方五仁醇胶囊中 2 组分的含量[J]. 中国药房,2007,18(3):198-199
- 8 李正国,于立佐,张爱岑. RP-HPLC 测定降酶灵胶囊中五味子醇甲、五味子甲素和五味子乙素的含量[J]. 中成药,2004,26(8):618-621
- 9 秦凤莲. HPLC 法测定五味子炮制品中 3 种木脂素类成分的含量[J]. 临床和试验医学杂志,2009,8(2):39-40

(2011-07-14 收稿 2011-09-21 修回)

欢迎订阅《药学服务与研究》杂志

《药学服务与研究》杂志是第二军医大学主管、主办的我国第一本有关药学服务方面的专业性学术期刊,为中国科技论文统计源期刊、中国科技核心期刊,已被《化学文摘》(CA)、《国际药学文摘》(IPA)、荷兰 Elsevier 文献数据库、中国科学引文数据库、万方数据-数字化期刊群、中国期刊网等国内外大型数据库和文摘类期刊所收录。辟有院士论坛、专家论坛、论著、医院药学、文献综述、临床药师、专题讲座、技术和方法、经验交流、争鸣园地、短篇报道等栏目。双月刊,双月末出版。大 16 开,正文 80 页。国际标准连续出版物号 ISSN 1671-2838,国内统一连续出版物号 CN 31-1877/R,邮发代号 4-706,国外发行代号 BM 3731。2012 年起定价每册 15.00 元,全年 90 元。欢迎读者到当地邮局或直接汇款至该刊订阅,免邮寄费。联系地址:上海市长海路 168 号《药学服务与研究》杂志社,邮编:200433,联系人:秦丽华(汇款时勿写具体姓名),电话:021-65519829(兼传真),81873734-801。网址: <http://www.pcarjournal.net.cn/>, E-mail: pharmer@163.com,欢迎广大读者踊跃订阅!编辑部地址:上海市长海路 168 号 18 号楼东三楼,邮政编码:200433。