

# 岛津 Nexera LC-40 测定护肝丸有效成分含量

LC-176

**摘要：** 本文采用岛津 Nexera LC-40 高效液相色谱仪，建立了护肝丸有效成分含量的测定方法。方法采用 1.8  $\mu\text{m}$  填料色谱柱进行分离，取得了良好的分离效果。连续 6 针进样，五味子醇甲、五味子甲素和五味子乙素的保留时间和峰面积的 RSD 分别在 0.02%~0.12% 和 0.08%~0.17% 之间，表明仪器精密度良好。按五味子乙素峰计理论塔板数为 68692，满足药典中不应低于 15000 的要求。实验结果表明，该方法能快速准确地测定护肝丸中有效成分的含量。

**关键词：** Nexera LC-40 高效液相色谱仪 护肝丸 五味子

护肝丸由柴胡、茵陈、板蓝根、五味子、猪胆粉、绿豆制成，褐色至深褐色丸，味苦，涩。具有疏肝理气，健脾消食的功效。具有降低转氨酶作用。用于慢性肝炎及早期肝硬化。

《中国药典》2015 年版中规定，使用高效液相色谱法对其有效成分含量进行测定，每 1 g 成品中含五味子以五味子醇甲 (C<sub>24</sub>H<sub>32</sub>O<sub>7</sub>) 计，不得少于 0.40 mg；以五味子甲素 (C<sub>24</sub>H<sub>32</sub>O<sub>6</sub>) 计，不得少

于 70  $\mu\text{g}$ ；以五味子乙素 (C<sub>23</sub>H<sub>28</sub>O<sub>6</sub>) 计，不得少于 0.20 mg；理论塔板数按五味子乙素峰计算应不低于 15000。其中，五味子甲素和五味子乙素与杂质较难分离，常规 HPLC 法往往需要较长的分析时长来达到令人满意的分离度，却极大地降低了分析效率。本实验使用 Nexera LC-40 高效液相色谱仪，以 1.8  $\mu\text{m}$  填料色谱柱进行分离，建立了护肝丸有效成分含量的测定方法。

## ■ 实验部分

### 1.1 仪器

本实验采用岛津 Nexera LC-40 液相色谱仪，包括 CBM-40A Lite 系统控制器，DGU-405 脱气机，LC-40B XR 输送泵，SIL-40C XR 自动进样器，CTO-40S 柱温箱，SPD-M40A 检测器，LabSolutions Ver. 5.97 色谱工作站。



图 1 岛津 Nexera LC-40 高效液相色谱仪

## 1.2 分析条件

色谱柱：UHPLC C18 色谱柱 (2.1 mm i.d.×100 mm L, 1.8 μm)

流动相：A, 水；B, 乙腈

流速：0.4 mL/min

柱温：45°C

检测波长：250 nm

进样体积：2 μL

洗脱方式：梯度洗脱，B 相起始浓度为 20%，时间程序如表 1 所示。

表 1 梯度洗脱时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
3.00	Pumps	Pump B Conc.	45
15.00	Pumps	Pump B Conc.	80
18.00	Pumps	Pump B Conc.	80
18.10	Pumps	Pump B Conc.	45
22.00	Controller	Stop	

## ■ 样品前处理

对照品溶液制备：取五味子醇甲对照品、五味子甲素对照品和五味子乙素对照品适量，精密称定，加甲醇制成每 1 mL 含五味子醇甲 80 μg、五味子甲素 20 μg、五味子乙素 50 μg 的混合溶液，即得。（参照药典）

供试品溶液制备：取本品适量，粉碎，研匀，取约 1.5 g，精密称定，置具塞锥形瓶中，精密加入水饱和的乙酸乙酯 25 mL，密塞，称定重量，超声处理（功率 500 W，频率 60 kHz）30 分钟，放冷，再称定重量，用乙酸乙酯补足减失的重量，摇匀，滤过，精密量取续滤液 10 mL，低温回收溶剂至干，残渣加甲醇溶解，转移至 5 mL 量瓶中，加甲醇至刻度，摇匀，滤过，取续滤液，准备上机。（参照药典）

## ■ 结果与讨论

### 3.1 标准溶液色谱图

按照 1.2 中分析条件，将 2 中配制的对照品溶液上机分析，色谱图如图 1 所示。《中国药典》要求理论塔板数按五味子乙素峰计算应不低于 15000，本实验结果五味子乙素理论塔板数为 68692，完全满足要求。

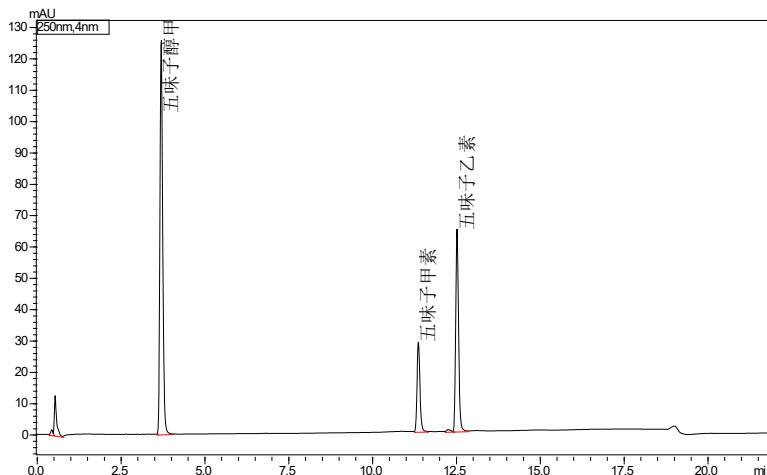


图 1 对照品溶液色谱图

### 3.2 精密度实验

将配制得到的对照品溶液连续进样 6 次，考察仪器精密度。详见图 2 和表 2。

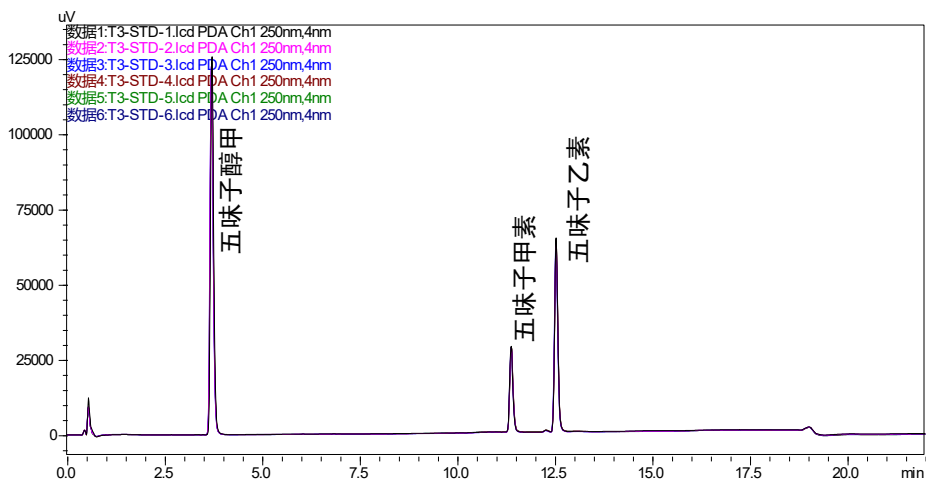


图 2 对照品溶液 6 针重复性色谱图

表 2 对照品溶液重复性结果

	五味子醇甲		五味子甲素		五味子乙素	
	保留时间	峰面积	保留时间	峰面积	保留时间	峰面积
1	3.719	723,089	11.388	168,890	12.540	379,973
2	3.707	721,574	11.391	168,552	12.539	379,189
3	3.706	719,159	11.389	168,475	12.535	377,909
4	3.712	721,354	11.395	168,673	12.542	379,234
5	3.711	721,438	11.393	168,759	12.540	379,422
6	3.710	720,620	11.393	168,591	12.540	379,292
RSD (%)	0.12	0.17	0.02	0.08	0.02	0.17

五味子醇甲、五味子甲素和五味子乙素的保留时间和峰面积的 RSD 分别在 0.02%~0.12% 和 0.08%~0.17% 之间，仪器精密度良好。新 Nexera 液相系统为良好的精密度提供硬件保障，LC-40B XR 输送泵配备 2 台最大耐压 70 MPa 的泵单元，1 台仪器即可实现延时短且精度高的高压梯度。柱塞一次冲程的送液量为 10  $\mu$ L，通过对其进行高速驱动，最大幅度降低流速脉动值和脉动产生周期，实现了前所未有的精确传输，浓度准确度的误差达到  $\pm 0.5\%$  以内。

SIL-40C XR 自动进样器可实现低样品残留和微量进样的重复性。可以使用 2 种清洗液清洗进样针外壁，以及进一步使用 3 种清洗液清洗进样针内壁和进样口，可在所有分析条件下减少样品残留，实验表明，残留控制在 0.0003% 以下。

### 3.3 样品测定

将某厂家生产的护肝丸按照 2 中步骤得到供试品溶液，上机分析。色谱图如图 3 所示。连续测定 6 次，五味子醇甲、五味子甲素和五味子乙素的保留时间和峰面积的 RSD 分别在 0.03%~0.11% 和 0.25%~0.33% 之间，仪器精密度良好。详见图 4 和表 3。单点外标法定量，计算得到每 1 g 样品中五味子醇甲含量为 537  $\mu$ g，五味子甲素为 120  $\mu$ g，五味子乙素为 284  $\mu$ g。

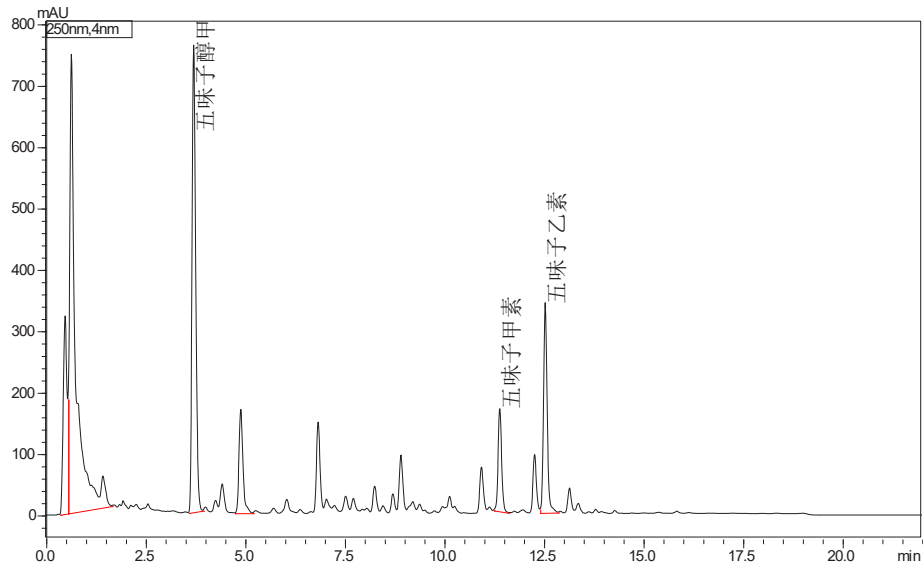


图 3 供试品溶液色谱图

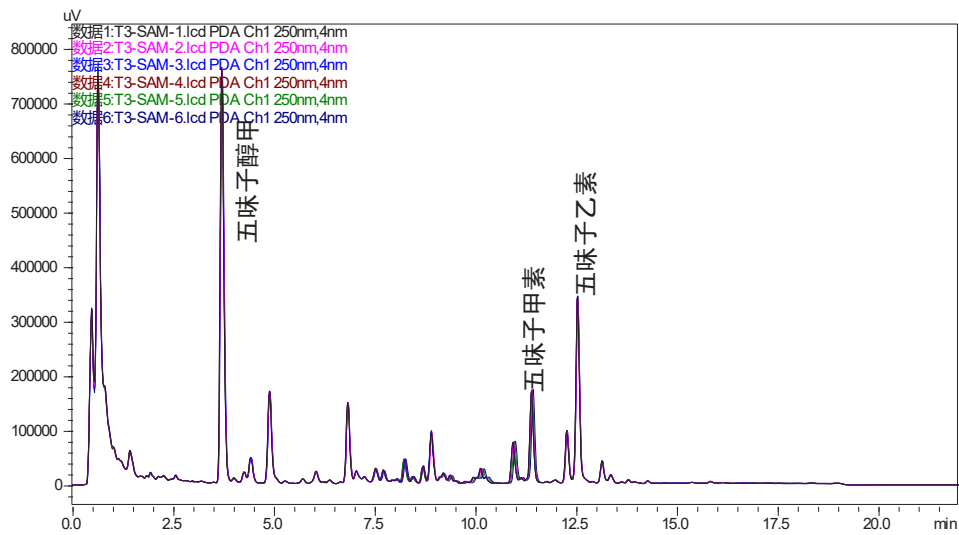


图 4 供试品溶液 6 针重复性色谱图

表 3 供试品溶液重复性结果

	五味子醇甲		五味子甲素		五味子乙素	
	保留时间	峰面积	保留时间	峰面积	保留时间	峰面积
1	3.713	4,846,398	11.400	1,014,166	12.541	2,159,071
2	3.720	4,850,727	11.410	1,015,229	12.549	2,157,604
3	3.725	4,849,455	11.402	1,015,348	12.548	2,156,680
4	3.718	4,835,087	11.399	1,011,143	12.543	2,146,592
5	3.715	4,825,284	11.420	1,010,883	12.542	2,145,173
6	3.718	4,823,616	11.440	1,008,257	12.550	2,142,707
RSD (%)	0.11	0.25	0.13	0.28	0.03	0.33

## ■ 结论

本文采用岛津 Nexera LC-40 高效液相色谱仪，建立了护肝丸有效成分含量的测定方法。方法采用 1.8  $\mu\text{m}$  填料色谱柱进行分离，取得了良好的分离效果。连续 6 针进样，对照品中五味子醇甲、五味子甲素和五味子乙素的保留时间和峰面积的 RSD 分别在 0.02%~0.12% 和 0.08%~0.17% 之间，表明仪器精密度良好。按五味子乙素峰计理论塔板数为 68692，满足药典中不应低于 15000 的要求。使用此方法对某厂家生产的护肝丸进行分析，每 1 g 样品中五味子醇甲含量为 537  $\mu\text{g}$ ，五味子甲素为 120  $\mu\text{g}$ ，五味子乙素为 284  $\mu\text{g}$ ，符合药典要求。实验结果表明，该方法能快速准确地测定护肝丸中有效成分的含量。