

★交流★

吉林北五味子药材的质量评价方法研究*

崔佰吉 张秀荣** 张婷

(吉林医药学院 药学院, 吉林 132013)

摘要 目的: 建立吉林地区北五味子药材的质量评价体系。方法: 采用性状鉴别; 高效液相色谱法(HPLC)测定五味子甲素、五味子乙素、五味子醇甲的含量; 采用 HPLC-DAD 建立五味子指纹图谱。结果: 8 种五味子药材外观性状与其品质无明显的相关性; 五味子甲素含量变化很小, 五味子乙素、五味子醇甲的含量差异较大; 其五味子指纹图谱的相关性良好。结论: 建立的北五味子质量评价方法简便可行, 为北五味子药材的道地性提供理论依据, 为药材的标准化种植及其质量评价提供参考。

关键词: 北五味子; 五味子醇甲; 五味子甲素; 五味子乙素; 木脂素; HPLC; 指纹图谱

中图分类号: R917 文献标识码: A 文章编号: 0254-1793(2011)11-2150-04

Studies on evaluation of quality of *Schisandrae Chinensis Fructus* of Jilin*

CUI Bai - ji ZHANG Xiu - rong** ZHANG Ting

(College of Pharmacy, Jilin Medical College, Jilin 132013, China)

Abstract Objective: To establish the method for quality evaluation of *Fructus schisandrae chinensis* of Jilin. **Methods:** Characteristics identification was used for the evaluation of quality of *Fructus schisandrae chinensis*; HPLC with DAD was used to analyze schisandrin, deoxyschizandrin and γ -schisandrin in *Fructus schisandrae chinensis* from Jilin province. The Fingerprints of *Fructus schisandrae chinensis* were established by high performance liquid chromatography. **Results:** On 8 *Fructus schisandrae chinensis*, that showed a substandard correlation between appearance characteristics and quality; content of deoxyschizandrin was not difference, and schisandrin and γ -schisandrin was more difference; Furthermore, the fingerprint spectrum showed an excellent correlation. **Conclusions:** The method of quality evaluation was simple and can be use for the standard planting and the quality control of *Fructus schisandrae chinensis*.

Key words: *Fructus schisandrae chinensis*; schisandrin; deoxyschizandrin; γ -schisandrin; lignans; HPLC; fingerprint

五味子为木兰科植物五味子的干燥成熟果实^[1]。别名北五味子。五味子的有效成分主要是木脂素类化合物^[2-3], 分别为五味子醇甲、五味子甲素、五味子乙素等, 均属木脂素成分中的联苯环辛烯类。五味子中木脂素类成分的含量及指纹图谱研究较多^[4-7], 本研究通过对吉林地区 8 个产地的五味子药材进行外观性状、含量测定和 HPLC-DAD 指纹图谱的建立, 对吉林地区北五味子药材进行了质量评价研究。

1 仪器与材料

日本岛津 LC-20A 系列高效液相色谱仪, DAD

检测器; CAP225D 电子天平(Sartorius); MILLIPORE 超纯水制备仪(Synergy185); KQ-250DE 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司); MA100 水分测定仪(Sartorius)。

乙腈为色谱纯, 水为超纯化水, 其他试剂为分析纯; 对照品五味子醇甲(110857-200709)、五味子甲素(110764-200408)、五味子乙素(110765-200609)均购自中国药品生物制品检定所。五味子药材经吉林医药学院雷钧涛教授鉴定, 为木兰科植物五味子(*Schisandra chinensis*(Turcz.) Bai. 1) 的干燥成熟果实, 符合《中国药典》2010 年版一部标准。

* 吉林省教育厅“十一五”科学技术研究项目(吉教科合字[2008]第 263 号)

** 通讯作者 Tel: (0432) 64560316; E-mail: yxzx@163.com

五味子药材编号、产地及外观分别为: 1 号敦化(暗红色) 2 号舒兰(暗红色) 3 号抚松(鲜红色) 4 号集安(紫红色) 5 号临江(红色) 6 号长白(鲜红色) 7 号蛟河(暗红) 8 号吉林(紫红)。

2 方法与结果

2.1 五味子醇甲、五味子甲素、五味子乙素的含量测定

2.1.1 色谱条件 色谱柱: Agilent TC-2 C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm 5 μm); 流动相: 乙腈-水 梯度洗脱(0 → 20 → 25 → 55 → 60 min, 48% → 48% → 65% → 65% → 48% 乙腈); 流速: 0.8 mL · min⁻¹; 检测波长: 220 nm; 柱温: 40 °C; 进样量: 20 μL。五味子醇甲、五味子甲素和五味子乙素色谱峰与相邻色谱峰分离度均大于 1.5; 理论塔板数按五味子醇甲、五味子甲素和五味子乙素计算均大于 6000; 对称因子均在 0.95 ~ 1.05 之间。

2.1.2 对照品溶液的制备 分别精密称取对照品五味子醇甲、五味子甲素和五味子乙素适量, 分别置于 10 mL 量瓶中, 用甲醇溶解并定容至刻度, 得对照

品储备液(0.317, 0.137, 0.135 mg · mL⁻¹)。精密量取五味子醇甲对照品储备液 0.63 mL、五味子甲素对照品储备液 0.22 mL、五味子乙素对照品储备液 0.22 mL 置于同一 10 mL 量瓶中, 用甲醇定容至刻度, 混匀, 0.45 μm 微孔滤膜过滤, 取续滤液得混合对照品溶液(五味子醇甲、五味子甲素和五味子乙素浓度分别为 0.020, 0.003, 0.003 mg · mL⁻¹)。

2.1.3 供试品溶液的制备 精密称取五味子粗粉 20 g, 6 倍量 85% 乙醇, 加热回流提取 3 次, 每次 2 h, 提取液浓缩, 干燥, 得提取物粉末, 控制水分在 1% 范围内。精密称取提取物粉末 0.2 g, 精密加甲醇 25 mL, 称定重量, 超声(250 W, 40 kHz) 提取 20 min, 放冷至室温, 称定重量并用甲醇补足减失重量, 摇匀, 0.45 μm 微孔滤膜过滤, 取续滤液即得。各批药材提取出膏率见表 1。

2.1.4 样品含量测定 取“2.1.2”和“2.1.3”项下对照品及供试品采用 HPLC 进行含量测定, 含量测定结果见表 1。不同产地的药材 3 种成分含量的变化情况见图 1。

表 1 不同产地五味子药材 3 种成分含量及出膏率

Tab 1 Contents of three compounds and the yield of the extractum of 3 Fructus schisandrae chinensis

编号(Lot No.)	A 五味子甲素 (deoxyschizandrin) / %	B 五味子乙素 (γ - schisandrin) / %	C 五味子醇甲 (schisandrin) / %	A + B + C / %	出膏率 (extraction ratio) / %
1	0.11	0.59	0.96	1.66	27.08
2	0.12	0.55	0.88	1.55	41.44
3	0.09	0.14	0.41	0.64	29.55
4	0.24	0.33	0.5	1.07	41.51
5	0.12	0.31	0.53	0.96	43.36
6	0.1	0.21	0.48	0.79	50.79
7	0.06	0.25	0.15	0.46	39.15
8	0.09	0.15	0.4	0.64	41.74

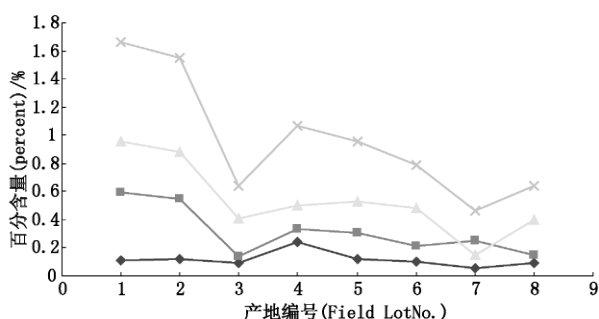


图 1 不同产地的五味子 3 种成分含量变化情况

Fig 1 Contents of three compounds of 3 Fructus schisandrae chinensis
◆: 五味子甲素(deoxyschizandrin); ■: 五味子乙素(γ - schisandrin); ▲: 五味子醇甲(schisandrin); ×: 五味子甲素 + 五味子乙素 + 五味子醇甲(deoxyschizandrin + γ - schisandrin + schisandrin)

2.2 指纹图谱

对照品溶液制备方法, 供试品溶液制备方法与“2.1”项下相同。

2.2.1 色谱条件 DIKMA Platisil ODS 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 柱温 40 °C, 流速 0.8 mL · min⁻¹, 检测波长 220 nm, 流动相为乙腈-水, 梯度洗脱(0 → 20 → 25 → 60 → 65 → 75 min, 40 → 40 → 70 → 70 → 40 → 40% 乙腈)。

2.2.1 精密度实验 取同一份供试品溶液, 连续进样 6 次, 以五味子醇甲为 HPLC-DAD 指纹图谱参照物, 计算各峰相对保留时间及相对峰面积, 结果各共有峰的相对保留时间 RSD 为 0.02% ~ 0.13%, 相

对峰面积 RSD 为 0.11% ~ 1.4%。

2.2.2 稳定性实验 取同一份供试品溶液,分别在 0.2, 4, 6, 12, 24 h 依次进行检测,结果共有峰相对保留时间 RSD 为 0.03% ~ 0.42%,相对峰面积 RSD 为 0.94% ~ 1.6%。

2.2.3 重复性实验 取五味子药材,按“2.1.3”项下供试品溶液制备方法平行制备供试品溶液 6 份,分别测定指纹图谱。结果表明,共有峰相对保留时间 RSD 为 0.09% ~ 0.56%,相对峰面积 RSD 为

0.87% ~ 1.9%。

2.2.4 指纹图谱的建立 按照指纹图谱测定条件,依次测定 8 批供试品,记录 HPLC 色谱图,以五味子醇甲为基准物质,采用“中药指纹图谱相似度评价系统 2004A 版”建立指纹图谱系统,HPLC 色谱图中共有峰 22 个。生成对照指纹图谱见图 2,各产地药材指纹图谱见图 3,生成的对照指纹图谱相似度见表 2。

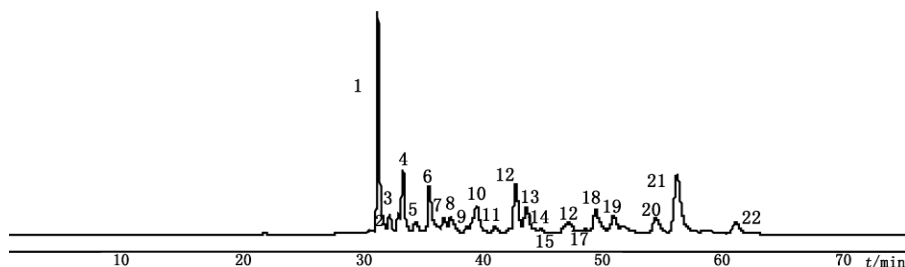


图 2 五味子药材对照指纹图谱

Fig 2 Fingerprint of sample of Fructus schisandrae chinensis

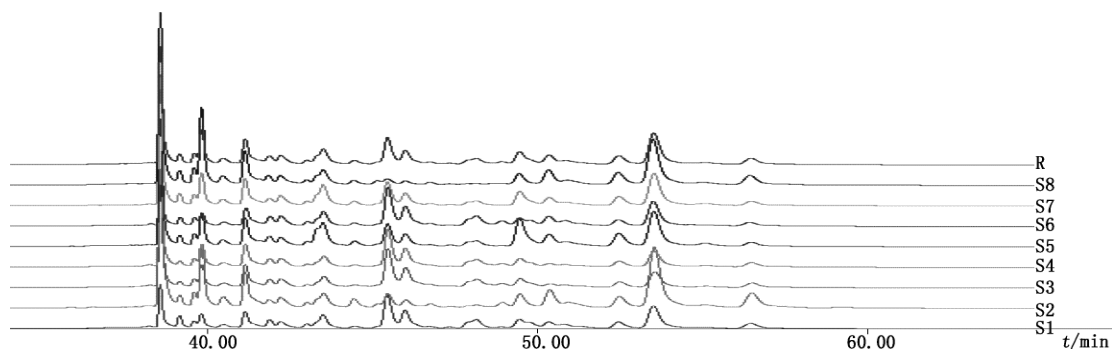


图 3 8 个产地五味子药材色谱图

Fig 3 Chromatograms of the ethanolic extract of 8 Fructus schisandrae chinensis

表 2 不同产地五味子药材与对照图谱相似度

Tab 2 Similarity analysis results of 8 Fructus schisandrae chinensis

	长白 (changbai)	敦化 (dunhua)	抚松 (fusong)	吉林 (jilin)	集安 (jian)	蛟河 (jiaohe)	临江 (linjiang)	舒兰 (shulan)
R	0.883	0.965	0.944	0.950	0.976	0.859	0.993	0.948

3 讨论

3.1 五味子药材中五味子甲素、五味子乙素、五味子醇甲的含量测定方法 经过方法学验证,表明精密、重复性、稳定性、加样回收率等均符合要求,可以作为 3 种成分的含量测定方法。

3.2 各个产地五味子药材外观颜色由鲜红到暗红 差别明显,主要与贮存时间有关。贮存时间半年左右

的抚松、长白产地颜色为鲜红,贮存时间超过 1 年的逐渐变为紫红或暗红,其原因可能与药材的含水量有关。通过外观颜色和 3 种成分的含量比较,未发现外观性状与其有效成分含量有显著的相关性。

3.3 由图 1 可见,五味子醇甲、五味子乙素的含量 敦化产地的最高,舒兰产地的次之,抚松产地的最低,且不同产地含量差异较大;五味子甲素含量以集

安产最高,其他产地含量趋于平稳;从“表1”可知,出膏率长白山产地的最高,敦化和抚松产相近,且敦化产地最低,其他产地相差不大。综合各项指标发现抚松产地五味子品质较差,舒兰产地五味子品质较好。通过五味子各种成分的含量来评价五味子药材的质量,更能反映药材的内在品质。

3.4 2010版中国药典采用HPLC法测定五味子醇甲的含量作为五味子药材质量检查的指标,通过本研究发现,吉林地区五味子药材中五味子醇甲的含量差异较大,而五味子乙素次之,而五味子甲素的含量相对稳定。本研究采用HPLC同时测定五味子醇甲、五味子甲素和五味子乙素,并进行了方法学研究,此法更加全面的反映了药材效标成分的变化情况。

3.5 指纹图谱是中药现代化的有效工具之一^[8],更能全面的反映药材所含成分的信息。本研究建立了吉林地区五味子药材的指纹图谱,并进行相似度评价,8个产地的五味子药材指纹图谱的相似度良好。

参考文献

- 1 ChP(中国药典).2005.Vol I(一部):44
- 2 DAI Yun-tao(代云桃),JIN Gao-wa(金高娃),QIN Xue-mei(秦雪梅),*et al.* Optimization of high performance liquid chromatographic method for analysis of extract of Fructus schisandrae chinensis(五味子提取物高效液相色谱分析方法的优化).*Chin J Chromatogr(色谱)* 2009 27(4):442
- 3 FU Shan-liang(付善良),CHEN Bo(陈波),YAO Shou-zhuo(姚守拙). Comparative analysis of chemical constituents from fruits of Schisandra chinensis urcz.(北五味子和南五味子果实化学成分的比较分析).*Chin J Pharm Anal(药物分析杂志)* 2009;29(4):524
- 4 ZHU Min(朱敏),ZHAO Wei-quan(赵卫权),FAN Guo-rong(范国荣). Determination of lignin compounds in Schisandra chinensis by microwave extraction and HPLC separation(五味子中木脂素成分的微波萃取-HPLC法测定).*Chin J Pharm Anal(药物分析杂志)*, 2007 27(5):646
- 5 FU Shao-ping(付绍平),YANG Bo(杨博),CHEN Tong(陈彤),*et al.* Establishment of high performance liquid chromatographic fingerprint of Fructus schisandrae chinensis(北五味子的液相色谱指纹图谱的建立).*Chin J Chromatogr(色谱)* 2008 26(1):64
- 6 YANG Xiao-rong(杨孝容),XIANG Qing-xiang(向清祥),CHEN Jia-xuan(陈稼轩). Selection of mobile phases for the determination of γ -schisandrin and multi-active constituents in Schisandra chinensis and its preparations by high performance liquid chromatography(高效液相色谱法测定五味子和含五味子的制剂中五味子乙素及多种活性成分时流动相体系的选择).*Chin J Chromatogr(色谱)* 2009 27(3):313
- 7 DOU Zhi-hua(窦志华),DING An-wei(丁安伟),LUO Lin(罗琳),*et al.* Determination of schisandrin, schisandrol B, deoxyschisandrin, and schisandrin B in serum containing drug of Compound Wurenchun Capsula(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).*Chin Tradit Herb Drugs(中草药)* 2009 40(3):386
- 8 SUN Guo-xiang(孙国祥),HOU Zhi-fei(侯志飞),BI Yu-meng(毕雨萌),*et al.* The digital criterion of the potential information characteristics of the traditional Chinese medicine chromatographic fingerprint(中药色谱指纹图谱潜信息特征判据研究).*Acta Pharm Sin(药学报)* 2006 41(9):857

(本文于2010年9月11日收到)

《常用药品处方书写名与商品名互查手册》已出版

由解放军总医院王睿教授编写的《常用药品处方书写名与商品名互查手册》已在科学出版社出版发行,该书按照临床常用药物的系统进行分类,全书共分21章,对常用药物通用名与商品名进行了梳理和归纳,并简要介绍了相关药品的用法和用量。可供广大临床医师、药师、护士、医药学研究生参考使用。

当当网、卓越网、新华书店及医学书店有售。定价29.00元。免邮寄挂号费用。联系人:温晓萍;电话:010-64034601/64019031;地址:100717北京市东黄城根北街16号科学出版社温晓萍(请在汇款附言注明您购书的书名、册数、联系电话、发票等)。