

北五味子及其不同炮制品中五味子甲素和乙素的含量测定

魏东华 宋智敏 陈淑欣 刘金成
(哈尔滨医科大学大庆校区 黑龙江 大庆 163319)

摘要 目的:测定北五味子及其不同炮制品中五味子甲素、五味子乙素的含量。方法:采用高效液相色谱法, Spherisorb 10 ODS1(4.6mm×250mm, 10 μ m), 以甲醇-水(70:30)为流动相, 检测波长为254nm。线性范围0.1~0.5 μ g, 相关系数为0.995。平均回收率为100.3%和100.4%, RSD=0.87%和2.85%(n=5)。结果:五味子甲素和乙素在生品、醋炙、炒制、酒炙、蒸炙、蜜炙品中的平均含量分别为0.13%, 0.064%, 0.052%, 0.064%, 0.11%, 0.13%和0.21%, 0.298%, 0.238%, 0.302%, 0.216%, 0.214%。结论:方法准确, 快速, 重现性好, 可用于五味子各种炮制品的质量评价。

关键词: 北五味子; 炮制; 高效液相色谱法; 五味子甲素、五味子乙素; 含量测定

中图分类号: 282.6 文献标识码: A

Determination of content of deoxyschizandrin and schizandrin in the different processed products of Fructus Schisandrae Chinensis by HPLC

WEI Dong-hua, SONG Zhi-min, CHEN Shu-xin, LIU Jin-cheng

(Daqing Branch of Harbin Medical University, Daqing 163319, Heilongjiang, China)

ABSTRACT Objective: To compare the content of deoxyschizandrin and schizandrin in the raw medical material and the different processed products of Fructus Schisandrae Chinensis(FSC). **Methods:** The content of deoxyschizandrin and schizandrin were determined by HPLC(= high performance liquid chromatography), with Spherisorb 10 ODS1(4.6mm×250mm, 10 μ m), the mobile phase of a mixture of methanol-water(70:30), and detecting wave length of 254nm. The standard curve was linear in the range of 0.11~0.55 μ g, with correlation coefficient 0.995. The average recovery of FSC was 100.3% and 100.4%, with RSD=0.87% and 2.85%. **Results:** The mean content of deoxyschizandrin was 0.13%, 0.064%, 0.052%, 0.064%, 0.11%, 0.13% and schizandrin, 0.21%, 0.298%, 0.238%, 0.302%, 0.216%, 0.214%, in the different processed products of FSC. **Conclusion:** The method is accurate, quick and good reappearace, which can be used for the quality evaluation in the different processed products of FSC.

Key word: HPLC; Deoxyschizandrin; schizandrin; Fructus Schisandrae Chinensis(FSC); Measurement of contents

北五味子 Fructus Schisandra chinensis (Turcz.) Baill. 性温, 味酸、甘。能收敛固涩, 益气生津、补肾宁心。用于久嗽虚喘, 滑精尿频, 久泻不止, 自汗盗汗, 津伤口渴, 心悸失眠等, 临床以其饮片入药^[1]。五味子甲素、乙素为五味子中的主要有效成分。用HPLC法测定其含量的方法已分别有报道^[2]。但五味子有多种不同的炮制方法^[3], 测定五味子不同炮制品中五味子甲素、乙素的含量差异未见报道。本文以五味子甲素、乙素为指标, 用HPLC法分别测定生五味子、醋炙五味子、酒炙五味子、蒸炙五味子、炒制五味子、蜜炙五味子法制得的五味子饮片中五味子甲素、乙素的含量, 以比较不同的炮制方法对五味子质量的影响。

1 仪器与材料

美国 Waters600/486 高效液相色谱仪(包括四元泵, 真空脱气机, 柱温箱 DAD 检测器); Waters Millennium 32 色谱工作站; MILLI-Qlabo 纯水发生器。甲醇为色谱纯, 水为重蒸水, 五味子甲素、乙素对照品(购于中国药品生物制品检定所, 批号分别为 0764-200107 和 110765-200205); 生五味子的果实(产地黑龙江鸡西)经哈尔滨医科大学药教研室魏东华副教授鉴定; 炮制品由鸡西市中医院药房用同一批生药五味子果实分别按醋炙、炒制、蒸炙、酒炙、蜜炙的炮制方法而得。

通讯作者: 魏东华(1964-), 女, 黑龙江人, 副教授, 主要从事中药质量标准化研究, Tel: (0459) 8153097
(收稿日期: 2006-03-06 接受日期: 2006-04-27)

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱 Water Spherisorb 10 ODS1(4.6mm×250mm, 10 μ m), 流动相: 甲醇-水(70:30), 流速: 1ml·min⁻¹, 柱温: 室温, 检测波长: 254nm。对照品及样品色谱图见图 1

2.2 样品溶液的制备

精密称取五味子粉末(过 40 目筛, 60℃真空干燥 4h) 2g, 置圆底烧瓶中, 加 80ml 甲醇, 水浴加热回流 1.5h, 滤过, 滤液回收溶剂, 浓缩后转入 25ml 容量瓶中, 加甲醇至刻度, 过 0.45 μ m 滤膜, 得生五味子样品溶液 I。五种不同炮制品也分别按样品溶液 I 的制备方法处理, 得醋炙五味子样品溶液 II、酒炙五味子样品溶液 III、蒸炙五味子样品溶液 IV、炒五味子样品溶液 V、蜜炙五味子样品溶液 VI。

2.3 对照品溶液的制备

精密称取五味子甲素、乙素标准品适量, 用甲醇溶于 50ml 容量瓶中, 分别得浓度为 0.0222mg·ml⁻¹ 和 0.0206mg·ml⁻¹ 的溶液, 作为对照品溶液。

2.4 标准曲线的制备

精密吸取五味子甲素、乙素对照品溶液, 依次进样 5, 10, 15, 20, 25 μ l, 以峰面积积分值为纵坐标 A, 对照品进样量(μ g) 为横坐标 C 进行回归, 得回归方程及线性范围分别为 1: A=33558+1275414C, r=0.995, 线性范围: 0.111~0.555 μ g; 2: A=30250+1149108C, r=0.994, 线性范围: 0.103~0.515 μ g。

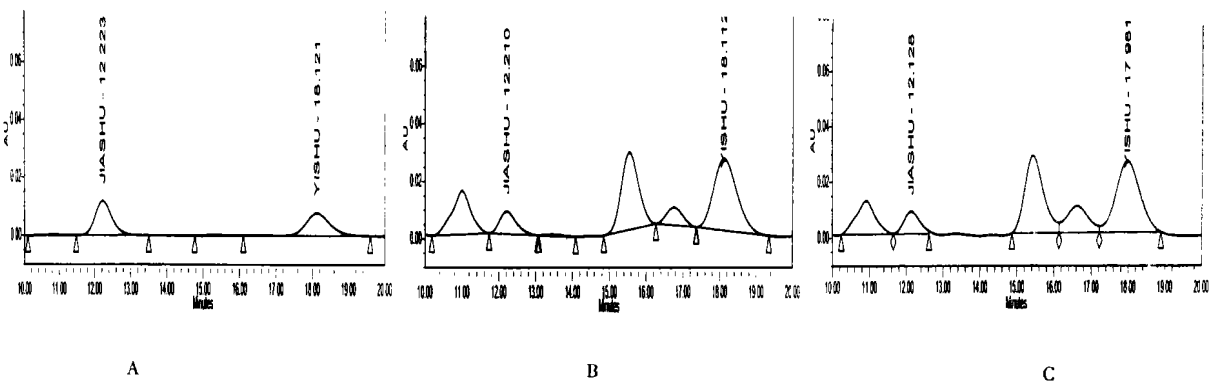


图 1 对照品和样品的 HPLC 色谱图

1 五味子甲素 2 五味子乙素 A 对照品 B 醋五味子 C 酒五味子

Figure 1 HPLC chromatogram of control article and sample.

1. Deoxyschizandrin 2. γ -schizandrin A. Control article B. Fructus Schisandrae stir-baked with vinegar C. Fructus Schisandrae stir-fried with wine

2.5 精密度试验

取上述对照品溶液,重复进样 5 次,每次 5 μ l,记录色谱峰面积,RSD 分别为 0.4% 和 0.7%,理论塔板数为分别为 3822 和 4046。

2.6 稳定性实验

精密吸取样品溶液 I 5 μ l,每 3h 进样 1 次,共测定 5 次,RSD 分别为 0.2% 和 0.7%,表明样品在 12h 内稳定。

2.7 重复性试验

按药材提取方法分别制备 5 份样品溶液 I,按上述色谱条件测定,RSD 分别为 0.7 和 1.7%。

2.8 加样回收率试验

精密称取已知含量的生五味子药粉 5 份,每份约 2g,分别加入对照品适量,混匀,按样品溶液的制备方法处理,在同样的色谱条件下测定其中五味子甲素和乙素的含量,计算回收率,结果见表 1

表 1 生五味子中五味子甲素、乙素的回收率

Table 1 The recovery of Deoxyschizandrin and γ -schizandrin in raw Fructus Schisandrae

含量/mg		加入量/mg	测得量/mg		回收率%		平均值%		RSD%	
甲素	乙素	甲素	甲素	乙素	甲素	乙素	甲素	乙素	甲素	乙素
2.602	4.205	1.10	3.694	5.278	99.3	103.2				
2.601	4.201	1.04	3.708	5.221	100.6	98.1				
2.603	4.208		3.712	5.247	100.8	99.9	100.3	100.4	0.87	2.85
2.608	4.202		3.704	5.274	99.6	103.5				
2.605	4.202		3.720	5.214	101.4	97.3				

2.9 样品测定

分别精密吸取样品溶液各 5 μ l,注入高效液相色谱仪,按上述色谱条件各测定 3 次,结果见表 2。

3 讨论

实验结果显示五味子用不同炮制法制得的饮片,五味子甲素和乙素的含量与生品有一定的差别。炒炙、酒炙与醋炙五味子甲素的含量较生品偏低,而酒炙与醋炙五味子乙素的含量明显高于生品。中医传统理论认为醋炙五味子可增强疏肝解郁的作用,现代五味子药理作用研究乙素具有降低转氨酶作用^[4],而甲素此作用不明显,故笔者认为在治疗慢性肝炎时应以乙素作为指标性成分,可选用醋炙或酒炙五味子使用效果更佳。

文献报道五味子中五味子甲素、乙素的提取,可用甲醇、乙醇、氯仿、正己烷做溶剂,经实验用甲醇回流提取分离效果最好。且本实验所用流动相中含有甲醇,故选用甲醇为提取溶剂。本法简单可靠,可作为单味中药五味子含量测定的依据。

表 2 生五味子及不同炮制品中五味子甲素、乙素的含量

Table 2 The content of Deoxyschizandrin and γ -schizandrin in raw Fructus Schisandrae and its different processed products

样品	五味子甲素	RSD/ %	五味子乙素	RSD/ %
	含量/ %		含量/ %	
生品	0.13	1.6	0.21	0.9
醋制品	0.064	1.1	0.298	0.2
酒制品	0.064	2.1	0.302	2.7
蒸制品	0.11	1.7	0.216	0.2
炒制品	0.052	1.3	0.238	0.8
蜜制品	0.13	1.3	0.214	1.1

参考文献

[1] 《全国中草药汇编》编写组. 全国中草药汇编(上册)[M]. 北京, 1996(2 版): 153

[2] 史红波. 不同制备方法的五味子中五味子甲素含量比较[J]. 基层中药杂志, 2002, 16(3): 22

[3] 叶定江. 中药炮制学[M]. 北京: 中医古籍出版社, 1999: 528

[4] 黄泰康. 常用中药成分与药理手册(上册)[M]. 北京, 1999: 535-540