

辽宁凤城地区不同生长环境五味子 5 种木脂素成分含量测定

赵玥, 王冰*

(辽宁中医药大学, 辽宁 大连 116600)

[摘要] 目的: 建立五味子中五味子醇甲、五味子醇乙、五味子酯甲、五味子甲素、五味子乙素 5 种有效成分的高效液相色谱测定方法, 对辽宁凤城地区不同环境五味子木脂素类成分进行含量测定, 筛选五味子优质药材的最佳生长环境。方法: 采用高效液相法, Agilent TC-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm ×250 mm, 5 μm), 流动相甲醇-乙腈-水, 梯度洗脱, 柱温 35 ℃, 检测波长 220 nm。结果: 不同环境下五味子 5 种木脂素含量和总量有所不同。生长在山脚树荫丛林中且湿润环境下的五味子木脂素含量最高, 品质优良。结论: 本实验方法简便、准确、重复性好。

[关键词] 五味子; 不同环境; 木脂素; 高效液相色谱

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010)16-0064-03

Simultaneous Determination of Five Lignans from *Schisandra chinensis* in Different Environment in Liaoning Fengcheng

ZHAO Yue, WANG Bing*

(Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Dalian 116600, China)

[Abstract] **Objective:** A method was developed for simultaneous determination of five lignans (schizandrin, schisandrol B, schisantherin A, deoxyschizandrin and schisandrin B) from *Schisandrae chinensis* in different environment in Liaoning Fengcheng by HPLC to look for the best growing environment of high-quality *S. chinensis*. **Method:** Lichrospher Agilent TC-C₁₈ (4.6 mm ×250 mm, 5 μm) column in an oven at 35 ℃ with the mobile phase MeOH-MeCN-H₂O in a gradient elution mode and DAD detector at 220 nm were applied. **Result:** Lignans content and total content of *S. chinensis* in different environment were various. The lignans content of *S. chinensis* growing at the foot of the mountain with jungle next the stream was the highest and best in quality. **Conclusion:** This method has the advantage of convenience, accuracy and reproducibility.

[Key words] *Schisandrae chinensis*; different environment; lignans; HPLC

北五味子 *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill, 为木兰科植物五味子的干燥成熟果实, 具有收敛固涩、益气生津、补肾宁心之效^[1], 主产于辽宁等地, 俗称“辽五味”。现代研究证明木脂素类成分是五味子的主要药用成分^[2], 具有抗肿瘤、抗病毒、保肝、抗衰老等作用^[3-4]。辽宁凤城地区是我省五味子道地产

区, 但广泛分散的种植没有形成统一规范的标准, 种植基地生态环境不同给五味子药材的质量带来很大的影响, 对五味子的临床药用也带来不一样的效果。本实验采用高效液相色谱法对辽宁凤城地区 10 个不同小环境五味子 5 种木脂素类成分进行测定, 以期筛选出优质药材生长环境, 为五味子种植提供指导性意见。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 Agilent 1100 高效液相色谱仪, VWD 检测器 (G1314A), 四元泵 (G1311A) (美国 Agilent 公司), 色谱柱 Agilent TC-C₁₈ (4.6 mm ×250 mm, 5 μm); 电子天平 (瑞士 Mettler Toledo AG285,

[收稿日期] 20100528(003)

[第一作者] 赵玥, 硕士研究生, 专业方向: 药用植物资源及品质评价, Tel: 13840128855, E-mail: z_yue2008@163.com

[通讯作者] * 王冰, 教授, 博士生导师, Tel: 0411-87586003, E-mail: yzwbwang@lnutcm.edu.cn

AE240); KQ-250 型超声清洗器(昆山超声仪器有限公司)。

1.2 试剂 甲醇为色谱纯和分析纯, 乙腈为色谱纯, 重蒸馏水。

1.3 对照品 五味子醇甲、五味子醇乙、五味子酯甲、五味子甲素、五味子乙素(购自中国药品生物制品检定所)。

1.4 药材 五味子果实均采于辽宁凤城地区, 包括野生、山脚水旁、山坡、林下等 10 个小环境的样品。

2 实验方法

2.1 色谱条件 色谱柱 Agilent TC-C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 流动相甲醇-乙腈-水, 甲醇-A, 乙腈-B, 水-C, 0 ~30 minA B C 为52 8 40, 30 ~50 minA

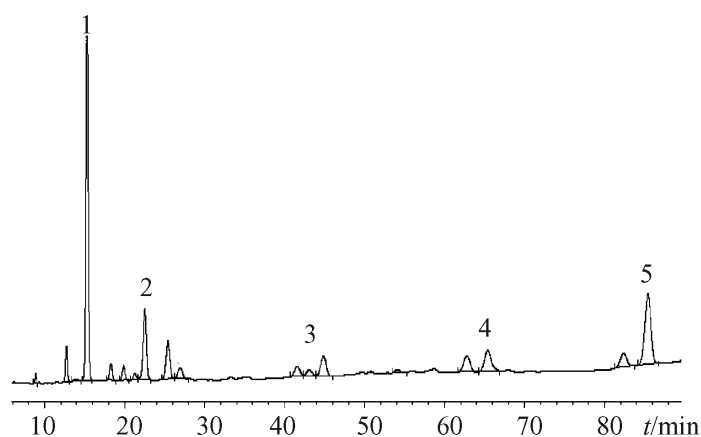


图 1 五味子样品 HPLC 图

1. 五味子醇甲; 2. 五味子醇乙; 3. 五味子酯甲; 4. 五味子甲素; 5. 五味子乙素

2.4 线性范围考察 分别精密吸取 2, 4, 6, 8, 10 μL 溶液, 注入液相色谱器仪中, 测定色谱峰面积, 以进样量为横坐标, 色谱峰面积为纵坐标绘制标准曲线, 经线性回归, 回归方程如表 1。

表 1 5 种木脂素线性关系考察

	标准曲线	R ²	线性范围 / μg
五味子醇甲	$Y=1\ 068.6X+284.35$	0.999 5	0.425 6 ~2.128 0
五味子醇乙	$Y=187.92X+26.72$	0.999 3	0.083 8 ~0.419 0
五味子酯甲	$Y=27.785X-7.83$	0.999 2	0.010 6 ~0.053 0
五味子甲素	$Y=187.26X-87.81$	0.999 2	0.049 6 ~0.248 0
五味子乙素	$Y=391.33X+363.78$	0.999 6	0.210 4 ~1.052 0

2.5 精密度试验 精密吸取五味子醇甲、醇乙、酯甲、甲素、乙素对照品溶液, 按 2.1 项操作连续 5 次, 以对照品峰面积进行计算, 结果得五味子醇甲、醇乙、酯甲、甲素、乙素的峰面积 RSD 分别为 1.1%, 0.9%, 1.2%, 0.89%, 1.1%, 表明仪器进样精密度良好。

2.6 稳定性试验 精密吸取五味子供试液按 2.1 项下操作, 分别在 0, 2, 4, 6, 8, 10 h 进样, 按峰面积

B C 为56 8 36, 50 ~75 minA B C 为58 8 34, 75 ~90 minA B C 为65 8 27; 检测波长 220 nm; 流速 0.9 mL·min⁻¹; 柱温 35 ; 进样量 10 μL, 见图 1。

2.2 对照品溶液的制备 精密称取干燥至恒重的五味子醇甲、醇乙、酯甲、甲素、乙素对照品置具塞三角瓶, 加甲醇溶解, 超声 20 min, 放冷, 加甲醇至刻度, 配制成一定浓度分别为 0.212 8, 0.041 9, 0.005 3, 0.024 8, 0.105 2 g·L⁻¹ 的对照品溶液。

2.3 供试品制备 取不同五味子样品粉末(60 目) 约 0.25 g 精密称定, 置 25 mL 具塞三角瓶中, 加甲醇约 23 mL, 超声提取(功率 250 W, 频率 20 kHz) 20 min, 取出, 放冷, 加甲醇至刻度, 摇匀, 滤过。滤液作为供试品溶液。

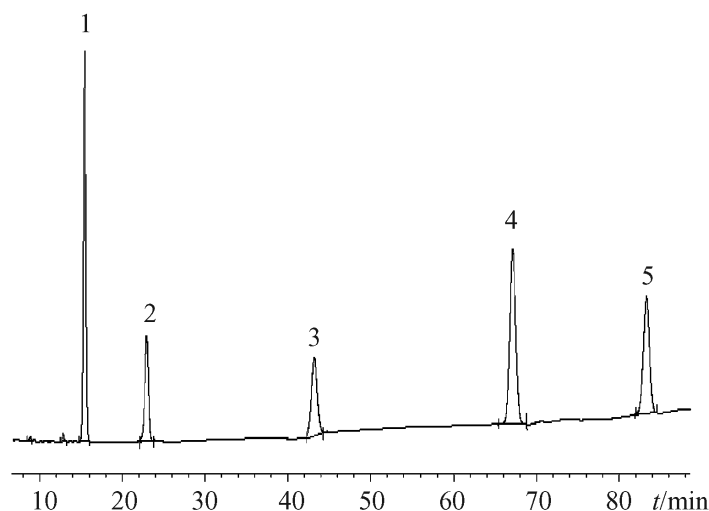


图 2 五味子对照品 HPLC 图

计算, 结果得五味子醇甲、醇乙、酯甲、甲素、乙素的峰面积 RSD 分别为 1.22%, 1.48%, 2.05%, 2.68%, 2.07%, 表明在 10 h 内待测组分化学性质稳定。

2.7 重复性试验 精密称取五味子药材 0.25 g, 平行 5 份, 按 2.3 项下操作, 制得供试品溶液, 按 2.1 项下操作测定, 五味子药材中五味子醇甲 RSD 0.27%, 五味子醇乙 RSD 0.48%, 五味子酯甲 RSD 1.06%, 五味子甲素 RSD 0.71%, 五味子乙素 RSD 0.2%, 表明重复性良好。

2.8 加样回收率试验 取已知含量的五味子药材约 0.1 g, 精密称定 5 份, 分别加入一定量五味子醇甲、醇乙、酯甲、甲素、乙素对照品, 在 2.1 各色谱条件下进样 10 μL, 计算各组分的回收率, 五味子醇甲 RSD 1.17%、五味子醇乙 RSD 0.84%、五味子酯甲 RSD 0.24%、五味子甲素 RSD 0.53%、五味子乙素 RSD 0.56%。

3 含量测定

谱条件进样分析, 测定色谱峰面积, 测定结果见表 2。

精密吸取五味子种子样品溶液 10 μL , 按前述色

表 2 不同生长环境成熟五味子果实木脂素类成分含量测定

$\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$

No.	醇甲	醇乙	酯甲	甲素	乙素	5 种木脂素总量
1	9.020 7	4.166 5	0.673 8	1.303 9	4.499 0	19.663 9
2	6.698 2	1.434 8	0.685 9	0.685 9	4.005 9	13.510 7
3	7.016 2	4.118 4	0.526 1	1.207 6	4.119 7	16.988 0
4	8.787 9	5.138 0	0.567 1	1.275 4	5.976 3	21.744 7
5	8.280 5	3.655 7	0.488 0	1.206 3	4.719 9	18.350 4
6	7.068 6	4.236 6	0.416 3	1.080 3	4.719 4	17.521 2
7	8.686 1	3.341 1	0.480 5	1.325 1	4.988 1	18.820 9
8	6.679 4	4.220 4	0.505 6	1.020 6	4.162 2	16.588 2
9	8.879 5	3.292 6	0.426 5	1.204 5	4.507 9	18.311 0
10	9.694 1	2.693 6	0.538 3	2.456 1	5.742 8	21.124 9

4 讨论

本试验建立了五味子药材中 5 种有效成分的高效液相色谱测定方法, 可使其获得基线分离, 且具准确、重复性好等特点, 可用于凤城地区五味子药材的质量评价的方法之一。

通过参阅文献后^[5-7], 主要进行了甲醇-水、乙腈-水及甲醇-乙腈-水流动相体系的梯度洗脱。在用上述 3 种梯度洗脱系统对同一样品进行分析时, 甲醇-水及乙腈-水梯度洗脱色谱峰分离度较差, 本实验采用甲醇-乙腈-水梯度洗脱系统能较好的分离各色谱峰, 且色谱峰数目多, 保留时间适中, 故选用该流动相系统作为本实验的洗脱系统, 效果好。

在样品的提取过程中, 分别比较了超声提取、加热回流、渗漉、索氏提取 4 种提取方法, 结果表明超声法提取五味子药材中木脂素类提取完全, 这可能是由于超声波产生强烈震动、空化效应、搅拌作用等, 都可以加速药物有效成分进入溶剂, 从而提高提取效率, 缩短提取时间, 并且免去高温对提取成分的影响。此方法简单易行, 故采用超声制备供试品溶液。

在进行提取溶剂的考查时, 称取五味子果实, 分别用甲醇、氯仿 25 mL 超声提取, 进行 HPLC 分析, 结果表明, 甲醇提取物与氯仿提取物的吸收峰数目相当, 各色谱峰的峰面积积分值无明显差异, 考虑到氯仿毒性较大, 价格较高, 因此选用甲醇作为样品的提取溶剂。

本实验对辽宁凤城地区 10 个不同小环境下生长的五味子果实 5 种木脂素类成分含量进行测定,

生长在山脚树荫丛林中且湿润的环境下和山坡林下的五味子 5 种木脂素总量较高; 10 个环境的五味子 5 种木脂素中五味子醇甲的含量最高, 均符合 2005 年版《中国药典》规定的醇甲含量, 且山坡林下五味子含量最高。由此推测生长环境因素和人为因素造成了五味子质量的差异。生长环境因素包括光照、温度、经纬度、海拔、降雨等; 人为因素可能是施肥、加工方法等因素造成木脂素成分含量的不同。实验结果可以为辽宁省凤城地区的五味子种植栽培和质量控制提供科学依据。

[参考文献]

[1] 中国药典. 一部[S]. 2005: 44.

[2] 李晓光, 高勤, 翁文, 等. 五味子有效部位及其药理作用研究进展[J]. 中药材, 2005, 28(2): 156.

[3] 杨慧洁, 杨世海. 五味子药理作用研究概况[J]. 人参研究, 1999, 11(4): 5.

[4] 陈玮莹, 温博贵, 郑瑞明, 等. 五味子对 CCl_4 中毒大鼠肝细胞核基质蛋白和结构的保护作用[J]. 免疫学杂志, 2006, 22(4): 455.

[5] 李正国, 立佐, 张爱岑. 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.

[6] 范卓文, 梁永新. 五味子药材不同提取方法的 HPLC 指纹图谱分析[J]. 东北师大学报, 2004, 36(2): 50.

[7] 章曙丹, 倪晟, 袁蔼芝. HPLC 测定降糖软胶囊中五味子醇甲、甲素和乙素的含量[J]. 中药新药与临床药理, 2003, 14(5): 334.

[责任编辑 顾雪竹]