

HPLC 测定五味子油软胶囊中五味子醇甲和五味子乙素

郭戎, 单鸣秋, 于生, 张丽*, 赵龙
(南京中医药大学, 南京 210046)

[摘要] 目的: 建立五味子油软胶囊中五味子醇甲和五味子乙素含量测定方法。方法: 采用高效液相色谱法(HPLC), 色谱柱为 Kromasil C₁₈柱(4.6 mm ×200 mm, 5 μm); 流动相水(A)-甲醇(B)梯度洗脱(0~10 min, 67% B; 10~15 min, 67%~78% B; 15~35 min, 78% B; 35~38 min, 78%~67% B; 38~43 min, 67% B); 流速 1.0 mL·min⁻¹; 检测波长为 254 nm; 柱温 30℃。结果: 五味子醇甲和五味子乙素分别在 98.80~989.0 μg ($r=0.9998, n=6$) 和 38.8~388.0 μg ($r=0.9998, n=6$) 线性关系良好; 平均加样回收率($n=6$) 分别为 102.0% 和 101.0%。结论: 该方法稳定性好、精密度高、重复性强, 可用于测定五味子油软胶囊中的五味子醇甲和五味子乙素含量。

[关键词] 五味子油软胶囊; 五味子醇甲; 五味子乙素; 高效液相色谱法

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2010)17-0072-03

Determination of Schisandrin and Schisandrin B In Wuweiziyou Soft Capsule By HPLC

GUO Rong, SHAN Ming-qiu, YU Sheng, ZHANG Li*, ZHAO Long
(Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210046, China)

[Abstract] Objective: To establish a method for the determination of schisandrin and schisandrin B in Wuweiziyou soft capsule. **Method:** An HPLC method was set up with Kromasil C₁₈ (4.6 mm ×200 mm, 5 μm) column. The Mobile phase was H₂O (A) and MeOH (B). Gradient elution was performed with 67% B from 0-10 min, 67%-78% B from 10-15 min, 78% B from 15-35 min, and 78%-67% B from 35-38 min, 67% B from 38-43 min. The flow rate was 1.0 mL·min⁻¹, the column temperature was at 30℃ and detection wave length was at 254 nm. **Result:** The linear ranges of schisandrin and schisandrin B were within 98.80-989.0 g ($r=0.9998, n=6$) and 38.8-388.0 g ($r=0.9998, n=6$), and the average recoveries were 102.05% and 100.98% respectively. **Conclusion:** This method was easy, sensitive, specific and accurate for the determination of schisandrin and schisandrin B in Wuweiziyou soft capsule.

[Key words] Wuweiziyou soft capsule; schisandrin; schisandrin B; HPLC

五味子为木兰科植物五味子 *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill. 的果实, 习称“北五味子”, 具有收敛固涩、益气生津、补肾宁心的功效, 用于久咳虚喘、遗精、滑精、遗尿尿频、久泻不止、自汗、盗

汗、津伤口渴、短气脉虚、内热消渴、心悸失眠等症, 《神农本草经》将五味子列为上品^[1]。文献研究表明, 五味子有加强和调节心肌细胞和心脏小动脉的能量代谢, 改善心肌营养和功能的作用^[2]及保肝护肝、抗氧化^[3]等药理作用。其主要化学成分为五味子素、五味子甲素、五味子乙素、五味子丙素、五味子醇甲、五味子醇乙、五味子醇等^[2]木脂素类成分, 其质量控制方法常采用 HPLC^[4]。五味子油软胶囊为采用超临界流体萃取(SFE)技术制备而成, 本试验采用 HPLC, 测定了五味子油软胶囊中的五味子醇甲

[收稿日期] 20100626(004)

[第一作者] 郭戎, 高级试验师, 研究方向为中药质量控制, E-mail: guorong550426@163.com

[通讯作者] * 张丽, 副教授, 研究方向为中药炮制与质量控制, E-mail: zhangli@njutcm.edu.cn

和五味乙素来控制药品质量,以期更好地控制五味子油软胶囊的质量。

1 仪器与试药

Waters515 高效液相色谱仪; Millennium³² 色谱工作站; FA1104N 电子天平 ($d = 0.1 \text{ mg}$, 上海精密科学仪器有限公司); EPED-T 型超纯水器(南京易普易达科技有限公司)。

五味子醇甲和五味子乙素对照品(购自中国药品生物制品检定所,供含量测定用,批号分别为 110857-200709, 110765-200609); 五味子油软胶囊(南京中科药业有限公司,批号 20100201, 20100208, 20100215); 甲醇(色谱纯,江苏汉邦科技有限公司); 水为超纯水; 其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 Kromasil C₁₈ 柱(4.6 mm × 200 mm, 5 μm); 流动相为水(A)-甲醇(B)梯度洗脱(0~10 min, 67% B; 10~15 min, 67%~78% B; 15~35 min, 78% B; 35~38 min, 78%~67% B; 38~43 min, 67% B); 流速 1.0 mL·min⁻¹; 检测波长 254 nm; 柱温 30℃, 理论塔板数按五味子醇甲峰计算不低于 2 000。在此色谱条件下,样品中五味子醇甲和五味子乙素与其他成分色谱峰分离良好,见图 1。

2.2 对照品溶液的制备 精密称取五味子醇甲对照品 12.35 mg 置 50 mL 量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,即得五味子醇甲对照品储备液(247.0 mg·L⁻¹); 精密称取五味子乙素对照品 5.80 mg 置 50 mL 量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,即得五味子乙素对照品储备液(116 mg·L⁻¹)。

2.3 供试品溶液的制备 取五味子油软胶囊内容物约 0.1 g,精密称定,至 25 mL 量瓶中,加入乙酸乙酯 2 mL,振摇,待样品完全溶解,加甲醇稀释至刻度,摇匀,即得。

2.4 阴性对照溶液的制备 取五味子油软胶囊方

中除五味子油外的药材,按胶囊剂制备方法及 2.3 项下方法制备五味子阴性对照溶液。

2.5 线性关系考察 分别精密量取五味子醇甲储备液 2 mL、五味子乙素储备液 1.5 mL 置同一 10 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,制成浓度分别为 49.40, 17.40 mg·L⁻¹ 的 6 号对照品溶液; 分别精密量取 6 号对照品溶液 6, 8 mL, 置 2 个 10 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,即得 4, 5 号对照品溶液; 精密量取 5 号对照品溶液 5 mL, 置 10 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,即得 3 号对照品溶液; 精密量取 3 号对照品溶液 5 mL, 置 10 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,即得 2 号对照品溶液; 精密量取 2 号对照品 5 mL, 置 10 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,即得 1 号对照品溶液。分别精密吸取上述对照品溶液各 20 μL, 注入液相色谱仪,依法测定,记录五味子醇甲和五味子乙素峰面积,以对照品溶液浓度(mg·L⁻¹)为横坐标,峰面积为纵坐标,绘制标准曲线。五味子醇甲的回归方程为 $Y = 4.73 \times 10^4 X - 2.68 \times 10^4$ ($r = 0.9998$), 表明五味子醇甲进样量在 98.80~989.0 μg 之间峰面积与进样量呈良好的线性关系; 五味子乙素的回归方程 $Y = 4.07 \times 10^4 X - 1.62 \times 10^4$ ($r = 0.9998$) 表明五味子乙素进样量在 34.8~348.0 μg 峰面积与进样量呈良好的线性关系。

2.6 重复性试验 取批号为 20100201 的五味子油软胶囊内容物 6 份,每份约 0.1 g,精密称定,按供试品制备方法制备样品溶液。按上述色谱条件进行测定,测得五味子醇甲平均含量为 5.62%, RSD 1.99%, 五味子乙素平均含量为 2.24%, RSD 1.78%。

2.7 精密度试验 取批号为 20100201 的五味子油软胶囊 1 号供试品溶液,按上述色谱条件连续进样 6 次,每次 20 μL,测得五味子醇甲、五味子乙素峰面

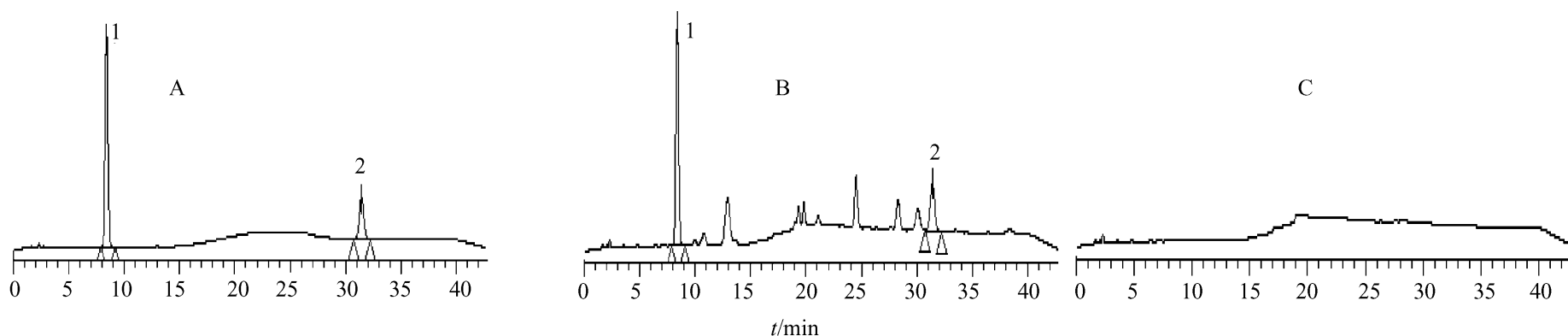


图 1 五味子软胶囊 HPLC

A. 对照品; B. 供试品; C. 阴性对照; 1. 五味子醇甲; 2. 五味子乙素

积的 RSD 分别为 1.26%, 0.80%, 结果表明本法精密度良好。

2.8 稳定性试验 取批号为 20100201 的五味子油软胶囊 1 号供试品溶液, 室温放置。按上述色谱条件在 0, 1, 2, 4, 6, 8 h 各进样 1 次, 结果表明样品在 8 h 内稳定性良好, 测得五味子醇甲、五味子乙素峰面积的 RSD 分别为 1.74%, 1.85%, 结果表明供试品溶液中五味子醇甲、五味子乙素稳定性良好。

2.9 加样回收率试验 取批号为 20100201 的五味子油软胶囊内容物约 0.05 g, 精密称定, 共 6 份, 分别加入五味子醇甲、五味子乙素浓度分别为 2.160, 0.770 g·L⁻¹ 的加样回收用对照品溶液各 1 mL, 按供试品制备方法制备样品溶液。按上述色谱条件进行测定。结果表明, 五味子醇甲、五味子乙素平均回收率分别为 102.0%, 101.0%, RSD 分别为 1.9%, 2.6%。见表 1, 2。

表 1 五味子醇甲加样回收率

称样量 /g	样品中量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD /%
0.051 6	2.901	5.030	98.6		
0.054 9	3.086	5.277	101.4		
0.053 2	2.991	5.214	102.9	102.0	1.9
0.055 1	3.097	5.316	102.7		
0.052 7	2.962	5.212	104.1		
0.050 4	2.833	5.048	102.5		

注: 加入量均为 2.160 mg。

表 2 五味子乙素加样回收率试验

称样量 /g	样品中量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD /%
0.051 6	1.155	1.900	96.7		
0.054 9	1.229	1.990	98.9		
0.053 2	1.191	1.987	103.3	101.0	2.6
0.055 1	1.234	2.015	101.5		
0.052 7	1.180	1.976	103.4		
0.050 4	1.128	1.915	102.1		

注: 加入量均为 0.770 mg。

2.10 样品测定 取 3 批五味子油软胶囊每批 3 份各 0.1 g, 精密称定, 按“供试品制备方法”制备样品溶液, 按上述色谱条件进行测定, 按外标一点法定量。见表 3。

表 3 五味子油软胶囊样品测定 (n=3) %

批号	五味子醇甲	五味子乙素
20100201	5.61	2.23
20100208	5.27	2.11
20100215	5.25	2.10

3 讨论

在等度的条件下, 五味子醇甲的出峰时间在 8 min 左右, 而五味子乙素的出峰时间在 60 min 以后, 将导致一次测定时间过长; 采用梯度洗脱的方法, 可以使五味子乙素的出峰时间大大提前, 在不影响结果的情况下, 提高了试验的效率。结果显示此方法对于测定五味子油软胶囊中的五味子醇甲、乙素含量稳定性好、精密度高、重复性强。

五味子油软胶囊因原料药为超临界 CO₂ 提取所得, 故胶囊内容物脂溶性较强, 若直接采用甲醇溶解, 则样品不易分散, 因此采用先经少量乙酸乙酯溶解, 再用甲醇定容的方法制备供试品溶液。

[参考文献]

- [1] 中国药典. 一部[S]. 2005: 44.
- [2] 陈业高, 泰国伟, 谢毓元. 五味子科植物木脂素成分生物活性研究进展[J]. 中药材, 2001, 24(1): 62.
- [3] 倪立东, 陈延西. 五味子药理作用研究概况[J]. 暨南大学学报: 医学版, 1996, 17(2): 125.
- [4] 李彬, 任海华. 高效液相色谱法测定解酒肝康颗粒中五味子醇甲的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2008, 14(5): 14.

[责任编辑 顾雪竹]