

液相色谱法鉴别七味都气丸中五味子与南五味子

胡晓炜(杭州市药品检验所,浙江 杭州 310014)

摘要:目的 鉴别七味都气丸中五味子与南五味子。方法 采用 RP-HPLC 法,以五味子甲素为参考峰,色谱柱:Supelcosil C₁₈ 柱;流动相:甲醇-水(65:35);流速:1.0 mL/min;检测波长:254 nm。结果 在选定的色谱条件下,提供了稳定可控的药材及制剂液相色谱图;药材及制剂的图谱有较好的相关性。结论 本法能鉴定七味都气丸制剂中鉴别五味子与南五味子;采用色谱技术鉴别中药制剂中的中药材是切实可行的。

关键词:液相色谱法;七味都气丸;五味子;南五味子

中图分类号:R289;R284 文献标识码:A 文章编号:1007-7693(2004)02-0127-02

Identification of Fructus Schisandrae Chinensis and Fructus Schisandrae Sphenantherae in qiweiduqi pills by RP-HPLC

HU Xiaowei (Hangzhou Institute for Drug Control, Hangzhou 310014, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To identify of Fructus Schisandrae Chinensis and Fructus Schisandrae Sphenantherae in qiweiduqi pills.

METHOD RP-HPLC was used. Column: supelcosil C₁₈; Mobile phase: methanol-water (65:35); Detection wavelength: 254 nm. **RESULTS**

Using above optimum chromatography conditions, the HPLC chromatography of relative medicinal materials and qiweiduqi pills was established. **CONCLUSION** The HPLC chromatography can be used for identification of Fructus Schisandrae Chinensis and Fructus Schisandrae Sphenantherae in qiweiduqi pills.

KEY WORDS: HPLC; qiweiduqi pills; Fructus Schisandrae Chinensis; Fructus Schisandrae Sphenantherae

五味子为常用中药材,具收敛固涩,益气生津,补肾宁心之功效,临床用于久嗽虚喘,梦遗滑精,遗尿尿频等症。2000年前历版药典均规定五味子为木兰科植物五味子与华中五味子的干燥成熟果实;《中国药典》2000年版一部规定五味子为木兰科植物五味子 *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill. 的干燥成熟果实,南五味子为木兰科植物华中五味子 *Schisandra sphenanthera* Rehd. et Wils. 的干燥成熟果实;两者分别以五味子与南五味子入药。实际商品中五味子与南五味子两者性状相差较大,价格相差也较大,因此对于中成药中的五味子有加以鉴别的需要。七味都气丸为常用中成药,为《中国药典》2000年版一部的收载品种,由五味子、山茱萸、茯苓、牡丹皮、地黄、山药、泽泻等中药组成,具有补肾纳气,涩精止遗的功效。药典对该中成药仅有薄层色谱鉴别,而无含量测定项。该中成药处方相对简单,因此采用 HPLC 法研究了五味子、南五味子,分别以五味子或南五味子投料的七味都气丸及市售七味都气丸的色谱图,探求五味子与南五味子在制剂中呈现的特征峰群,为七味都气丸中五味子与南五味子的鉴别提供科学依据。

1 仪器与试验材料

1.1 仪器

Agilent 1100 高效液相色谱仪;METTLER-TOLEDO AG204 电子天平。

1.2 试剂

甲醇为色谱纯(天津四友生物医学技术有限公司,中国现代应用药学杂志 2004 年 4 月第 21 卷第 2 期

011106101),水为重蒸水,正己烷(分析纯,杭州炼油厂,980904)。

1.3 样品

山茱萸、茯苓、牡丹皮、地黄、山药、泽泻、五味子①、南五味子①均由本所中药标本室提供,五味子②、南五味子②由杭州市中药饮片厂提供,南五味子③由浙江中医学院中药饮片厂提供,以上中药材均经作者依据《中国药典》2000年版一部及参考文献^[1]鉴定为正品。七味都气丸(市售,批号:970429)。

1.4 对照品

五味子甲素(764-9402)、五味子乙素(765-9202)、五味子醇甲(9100)、五味子酯甲(1529-200001)对照品均购自中国药品生物制品检定所。

2 实验部分

2.1 色谱条件

色谱柱:Supelcosil C₁₈ 柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm, Sigma-Aldrich Co);流动相:甲醇-水(65:35);流速:1.0 mL/min;检测波长:254 nm;柱温:30 °C,溶液进样前均过 0.22 μm 的微孔滤膜,进样量均为 10 μL。

2.2 对照品溶液的制备

分别精密称取对照品于量瓶中,以甲醇为溶剂,配制成单组分对照品溶液,后再配制混合对照品溶液,其中含五味子醇甲 0.132 mg/mL,五味子酯甲 0.122 mg/mL,五味子甲素 0.131 mg/mL,五味子乙素 0.130 mg/mL。

2.3 供试品溶液的制备

2.3.1 精密称取七味都气丸(970429)粉末(过40目筛)约5g,加正己烷100mL索氏提取6h,取正己烷液,蒸干,加甲醇溶解,定容于10mL量瓶中,摇匀即得,作供试品1。

2.3.2 按照七味都气丸处方及制法,制备投料为五味子的样品七味都气丸,按上法操作,得供试品液,其中投料为五味子①的作供试品2,投料为五味子②的作供试品3。

2.3.3 按照七味都气丸处方及制法,制备投料为南五味子的样品七味都气丸,按上法操作,得供试品液,其中投料为南五味子①的作供试品4,投料为南五味子②的作供试品5,投料为南五味子③的作供试品6。

2.3.4 阴性样品溶液的制备:取山茱萸、茯苓、牡丹皮、地黄、山药、泽泻,按七味都气丸制法制备缺五味子的七味都气丸样品,按上法操作,得供试品液,作阴性样品溶液。

2.3.5 药材样品溶液的制备:精密称取五味子或南五味子药材粉末(过40目筛)0.2g,按上法操作,得供试品液,其中用五味子①的作供试品7,用五味子②作供试品8,用南五味子①的作供试品9,用南五味子②的作供试品10,用南五味子③的作供试品11。

2.4 HPLC 色谱图的建立及时间相对保留值与相对面积值的计算

2.4.1 时间相对保留值的计算:七味都气丸在本实验的色谱条件下,色谱峰较多而密集,选择以出峰时间居中且样品中都存在的五味子甲素峰为参考峰,计算样品中峰的时间相对保留值 α 。

$$\alpha = T_{Ri} / T_{Rs}$$

T_{Ri} 为各组分出峰时间, T_{Rs} 为参考峰出峰时间

2.4.2 时间相对保留值 α 窗口的设定:由于保留时间受各种因素的影响,每一次实验数据不可能完全一致,因此对 α 设定窗口为4%,即取可信限为 $\pm 4\%$ 。

2.4.3 相对面积值RA的计算:按样品各色谱峰 α 的大小次序排序,在每个 α 下都有一个相对面积值(RA), $RA = A_x \times 100 / \sum A$ 。RA为相对面积值, A_x 为某个峰的面积, $\sum A$ 为总峰面积。

2.4.4 五味子、南五味子及七味都气丸样品的特征峰 α 值、 α 窗口值与相对面积值RA表。

3 结果

3.1 七味都气丸中五味子与南五味子的鉴别

通过分析五味子药材、南五味子药材、阴性样品以及分别自制投料五味子与南五味子药材的七味都气丸的液相色谱图,可以发现 α 值为0.2467,0.3010,0.3655,0.5780,0.6357,0.7186,1.0000,1.1381,1.2492,1.4710,1.5972共11个色谱峰为五味子药材及投料五味子药材的七味都气丸共有, α 值为0.5402,0.5780,0.6357,0.7186,1.0000共5个色谱峰为南五味子药材与投料南五味子药材的七味都气丸共有,两者有 α 值为0.5780,0.6357,0.7186,1.0000共4个色谱峰重叠。其中 α 值为0.2467的色谱峰为五味子醇甲, α 值为0.5780的色谱峰为五味子酯甲, α 值为1.0000的色谱峰

为五味子甲素, α 值为1.5972的色谱峰为五味子乙素。其中, α 值为0.2467的色谱峰的相对面积值RA在含五味子的样品中均大于29%; α 值为0.5780的色谱峰的相对面积值RA在含南五味子的样品中均大于20%; α 值为1.0000的色谱峰的相对面积值RA在含南五味子的样品中与在含五味子的样品中相比较有明显差异(前者较后者大5倍以上); α 值为1.5972的色谱峰仅在含五味子的样品中检出,且相对面积值RA均大于6%;因此可以根据以上特征峰与特征峰之间的比例关系来鉴别七味都气丸中的五味子与南五味子。

3.2 根据以上特征峰与特征峰之间的比例关系及供试品1的色谱图中特征峰的有关信息,判断该中成药中投料为南五味子。

4 讨论

4.1 实验采用了HPLC法进行恒梯度洗脱,塔板数按五味子甲素计算为7000,一次进样可得较多的色谱峰,分离分析效率高,且其相对保留值 α 稳定,所得到的液相色谱图具有稳定性与可控性。

4.2 实验中试验了梯度洗脱,条件分别为甲醇(A):水(B),①0~25min,55%A:45%B,25~60min,70%A:30%B;②0~20min,60%A:40%B,20~40min,65%A:35%B,40~60min,70%A:30%B。结果在流动相切换过程中基线波动影响色谱峰的定位及分离,因此采用恒梯度洗脱。

4.3 样品色谱图与阴性样品色谱图比较,前5min有干扰,因此在数据处理时截取5min后色谱图进行计算,以排除阴性样品的影响。

4.4 五味子与南五味子中主要含有对降酶有效的木脂素成分,因此选择正己烷为提取溶剂,采用索氏提取法提取6h已能满足实验要求。

4.5 有关两种五味子的鉴别与含量测定方法有红外光谱法^[2]、二阶导数荧光光谱法^[3]、薄层色谱法^[4]、液相色谱法^[5]等,采用液相色谱法能够满足七味都气丸制剂中鉴别五味子与南五味子的要求,采用色谱技术鉴别中药制剂中的中药材是切实可行的。

4.6 在药材与应用该药材制得的制剂在色谱图的特征峰群及相对面积值上稍有差异,同种药材不同批次之间也存在差异,其具体原因尚待进一步实验。

参考文献

- [1] 董玉麟,宋万志.九种五味子的生药鉴别研究[J].中草药,1982,13(2):23.
- [2] 田进国,姜红祥,任健,等.南、北五味子的红外光谱鉴别[J].中药材,1995,18(6):284.
- [3] 程秀民,王科元,任健,等.二阶导数光谱荧光光谱法鉴别北五味子和南五味子[J].基层中药杂志,1994,8(2):3.
- [4] 韩正洲,李亚凤.南、北五味子的薄层色谱鉴别及定量分析[J].时珍国药研究,1997,8(4):334.
- [5] 董玉麟,宋万志.五味子(北、南)的高压液相图谱及木脂素成分含量测定[J].中国中药杂志,1989,14(10):35.

收稿日期:2003-04-25