

五味子果实不同部位中木脂素成分的分布规律

王志明¹, 刘久石², 郭耀杰², 刘海涛², 高石曼², 张晶^{1*}, 张本刚²

(1. 吉林农业大学 中药材学院, 长春 130118;

2. 中国医学科学院, 北京协和医学院 药用植物研究所, 北京 100193)

[摘要] **目的:**建立同时测定五味子果实中10种木脂素类成分含量的方法,分析木脂素类成分在五味子果实的种仁、种皮和果肉中的含量差异,探索各成分的分布规律。**方法:**采用高效液相色谱法(HPLC)测定不同产地五味子果实中五味子醇甲,戈米辛D,戈米辛J,五味子醇乙,当归酰戈米辛H,戈米辛G,五味子酯甲,五味子甲素,五味子乙素,五味子丙素的含量,流动相乙腈(A)-水(B)梯度洗脱(0~30 min,40% A;30~32 min,40%~46% A;32~53 min,46% A;53~64 min,46%~50% A;64~83 min,50%~57% A;83~107 min,57%~62% A;107~115 min,62%~100% A;115~120 min,100% A),检测波长220 nm,进样量4 μ L。**结果:**不同产地五味子果实的种仁、种皮和果肉中总木脂素质量分数分别为30.08,9.76,2.24 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 。10种木脂素类成分在五味子果实3个不同部位中的含量差异极显著,排序为种仁>种皮>果肉。**结论:**建立的含量测定方法能较好地反映五味子果实的不同部位中木脂素类成分的分布信息,为指导五味子果实的临床合理应用提供参考。

[关键词] 五味子;木脂素类成分;分布规律;戈米辛D;戈米辛J;五味子醇乙

[中图分类号] R284.1;R284.2;R282.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)18-0035-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2015180035

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20150806.1723.006.html>

[网络出版时间] 2015-08-06 17:23

Distribution of Lignans in Different Parts of Schisandrae Chinensis Fructus WANG Zhi-ming¹, LIU Jiu-shi², GUO Yao-jie², LIU Hai-tao², GAO Shi-man², ZHANG Jing^{1*}, ZHANG Ben-gang² (1. College of Chinese Medicinal Materials, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China; 2. Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences, Peking Union Medical College, Beijing 100193, China)

[Abstract] **Objective:** To establish a method for determination of ten lignans in Schisandrae Chinensis Fructus, and analyze difference of contents of ten lignans in the pulp, seed shell and seed kernel of Schisandrae Chinensis Fructus for researching regularities of their distribution. **Method:** HPLC was developed for determination of schisandrol A, gomisin D, gomisin J, schisandrol B, angeloylgomisin H, gomisin G, schisantherin A, schisandrin A, schisandrin B and schisandrin C in Schisandrae Chinensis Fructus from different area, mobile phase consisted of acetonitrile-water for gradient elution, detection wavelength was set at 220 nm and injection volume was 4 μ L. **Result:** The content of total lignans in the seed kernel, seed shell and pulp of Schisandrae Chinensis Fructus from different area were 30.08, 9.76, 2.24 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$, respectively. Contents of ten lignans in these three parts of Schisandrae Chinensis Fructus showed significant difference, which decreased in the order of the seed kernel > the seed shell > the pulp. **Conclusion:** The developed method displays distribution information of lignans in three parts of Schisandrae Chinensis Fructus well, which can provide a reference for clinical application of Schisandrae Chinensis Fructus.

[Key words] Schisandrae Chinensis Fructus; lignans; distribution; gomisin D; gomisin J; schisandrol B

[收稿日期] 20150313(020)

[基金项目] 中央级公益性科研院所基本科研业务专项(YZ-13-18)

[第一作者] 王志明, 硕士, 从事中药质量评价方面的研究, Tel:13552375607, E-mail:wangzhiming421@126.com

[通讯作者] *张晶, 教授, 硕士生导师, 从事新药研究与开发, Tel:13353144693, E-mail:zhjing0701@163.com

五味子具有收敛固涩、益气生津、补肾宁心的功效^[1],在《神农本草经》^[2]中被列为上品,是常见的安神滋补药^[2]。现代药理研究证明五味子有保肝镇静、抗氧化、抗衰老、抗疲劳、增强免疫及保护心血管等作用^[3-4]。木脂素成分是五味子的主要活性成分,该成分具有保肝、抗氧化、抗肿瘤、抗人类免疫缺陷病毒(human immunodeficiency virus, HIV)等生物活性^[3-5]。有关五味子中木脂素类成分的分析已有大量研究报道^[6-7],其中主要集中在五味子果实中五味子醇甲、五味子醇乙、五味子酯甲、五味子甲素、五味子乙素和五味子丙素的含量分析方面^[8-9],但关于该药材果实不同部位中木脂素类成分分布规律的研究少有报道。故本实验拟对五味子果实的 3 个不同部位(种仁、种皮和果肉)中木脂素类成分进行含量测定,分析这类成分在不同部位中的分布规律,为五味子果实的临床合理应用提供参考。

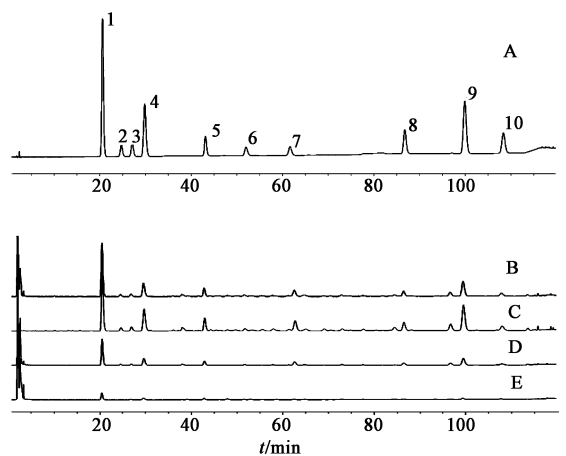
1 材料

1260 型高效液相色谱仪(美国安捷伦科技有限公司,包括 G1314B 型紫外检测器),AL204 型电子天平(瑞士梅特勒-托利多公司),Milli-Q 型超纯水仪(美国密理博公司)。12 份五味子果实样品分别采自黑龙江省、吉林省、辽宁省,经中国医学科学院药用植物研究所张本刚研究员鉴定为木兰科植物五味子 *Schisandra chinensis* 的干燥成熟果实,分别手工剥离,得种仁、种皮和果肉样品;五味子醇甲,戈米辛 D,戈米辛 J,五味子醇乙,戈米辛 G,五味子酯甲,五味子甲素,五味子乙素和五味子丙素对照品均购自嘉兴思诚化工有限公司,批号分别为 7432-28-2, 83916-76-1, 66280-25-9, 58546-54-6, 62956-48-3, 58546-56-8, 61281-38-7, 61281-37-6, 61301-33-5, 纯度均 > 98%;当归酰戈米辛 H 对照品(自制,经 HPLC 检测纯度 > 98%),乙腈、甲醇为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 Eclipse XDB C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相乙腈(A)-水(B)梯度洗脱(0~30 min, 40% A; 30~32 min, 40%~46% A; 32~53 min, 46% A; 53~64 min, 46%~50% A; 64~83 min, 50%~57% A; 83~107 min, 57%~62% A; 107~115 min, 62%~100% A; 115~120 min, 100% A),检测波长 220 nm,流速 1.0 mL·min⁻¹,柱温 35 °C,进样量 4 μL。见图 1。

2.2 对照品溶液的制备 分别精密称取五味子醇甲,戈米辛 D,戈米辛 J,五味子醇乙,当归酰戈米辛



A. 对照品; B. 供试品; C. 种仁; D. 种皮; E. 果肉; 1. 五味子醇甲; 2. 戈米辛 D; 3. 戈米辛 J; 4. 五味子醇乙; 5. 当归酰戈米辛 H; 6. 戈米辛 G; 7. 五味子酯甲; 8. 五味子甲素; 9. 五味子乙素; 10. 五味子丙素

图 1 五味子 HPLC

Fig. 1 HPLC chromatograms of *Schisandrae Chinensis Fructus*

H, 戈米辛 G, 五味子酯甲, 五味子甲素, 五味子乙素, 五味子丙素对照品适量, 加甲醇制成质量浓度分别为 0.48, 0.10, 0.10, 0.24, 0.12, 0.07, 0.07, 0.14, 0.35, 0.09 g·L⁻¹ 的混合对照品溶液, 保存备用。

2.3 供试品溶液的制备^[10] 精密称取样品粉末(过 65 目筛)1.0 g, 置具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇 30 mL, 称定质量, 超声提取 3 次(60 kHz, 250 W), 每次 20 min, 冷却至室温, 加甲醇补足减少的质量, 摇匀, 经 0.22 μm 微孔滤膜滤过, 即得。

2.4 线性关系考察 将 2.2 项下混合对照品溶液稀释, 得系列质量浓度的混合对照品溶液, 按 2.1 项下条件测定, 以质量浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标, 得五味子醇甲, 戈米辛 D, 戈米辛 J, 五味子醇乙, 当归酰戈米辛 H, 戈米辛 G, 五味子酯甲, 五味子甲素, 五味子乙素, 五味子丙素的回归方程分别为 $Y = 26.05X - 142.83 (R^2 = 0.9996)$, $Y = 13.82X - 9.30 (R^2 = 0.9996)$, $Y = 15.31X - 0.54 (R^2 = 1.0000)$, $Y = 25.24X + 12.43 (R^2 = 0.9996)$, $Y = 29.25X - 13.90 (R^2 = 1.0000)$, $Y = 18.74X + 6.80 (R^2 = 0.9996)$, $Y = 23.41X - 2.98 (R^2 = 1.0000)$, $Y = 24.31X + 25.12 (R^2 = 0.9996)$, $Y = 27.65X + 7.57 (R^2 = 0.9998)$, $Y = 25.14X - 8.24 (R^2 = 1.0000)$, 线性范围依次为 7.50~480.00, 1.56~100.00, 1.56~100.00, 3.75~240.00, 1.88~120.00, 1.09~70.00, 0.55~70.00, 1.10~140.00, 2.74~350.00, 1.41~90.00 mg·L⁻¹。

2.5 精密度试验 精密吸取同一份混合对照品溶液, 按 2.1 项下色谱条件连续进样 6 次, 计算五味子

醇甲, 戈米辛 D, 戈米辛 J, 五味子醇乙, 当归酰戈米辛 H, 戈米辛 G, 五味子酯甲, 五味子甲素, 五味子乙素, 五味子丙素峰面积的 RSD 分别为 0.1%, 0.2%, 0.7%, 0.4%, 0.4%, 0.2%, 0.5%, 0.4%, 0.3%, 0.2%, 表明仪器精密度良好。

2.6 重复性试验 精密称取同批五味子果实样品 6 份, 按 2.3 项下方法制备供试品溶液, 按 2.1 项下色谱条件测定, 结果五味子醇甲, 戈米辛 D, 戈米辛 J, 五味子醇乙, 当归酰戈米辛 H, 戈米辛 G, 五味子酯甲, 五味子甲素, 五味子乙素, 五味子丙素峰面积的 RSD 分别为 1.1%, 1.2%, 1.3%, 1.2%, 1.2%, 1.1%, 1.3%, 1.2%, 1.4%, 1.2%, 表明该方法重复性良好。

2.7 稳定性试验 取同一供试品溶液, 分别于制备后 0, 2, 4, 8, 12, 24 h 按 2.1 项下色谱条件测定, 计算五味子醇甲, 戈米辛 D, 戈米辛 J, 五味子醇乙, 当归酰戈米辛 H, 戈米辛 G, 五味子酯甲, 五味子甲素, 五味子乙素, 五味子丙素峰面积的 RSD 分别为

1.4%, 1.2%, 1.2%, 1.9%, 1.1%, 1.0%, 0.5%, 1.2%, 1.0%, 0.8%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.8 加样回收率试验 精密称取已知指标成分含量的辽宁凤城五味子果实样品粉末 9 份, 每份约 0.5 g, 分别精密加入高、中、低质量浓度的混合对照品溶液, 按 2.3 项下方法制备供试品溶液, 按 2.1 项下色谱条件测定, 结果五味子醇甲, 戈米辛 D, 戈米辛 J, 五味子醇乙, 当归酰戈米辛 H, 戈米辛 G, 五味子酯甲, 五味子甲素, 五味子乙素, 五味子丙素的平均加样回收率分别为 99.62%, 98.23%, 97.46%, 97.99%, 98.67%, 98.34%, 99.55%, 98.38%, 99.83%, 98.13%, RSD 依次为 1.7%, 0.7%, 1.3%, 1.3%, 1.3%, 1.0%, 1.6%, 1.1%, 1.7%, 2.0%。

2.9 样品测定 精密称取不同样品 1 g, 按 2.3 项下方法制备供试品溶液, 按 2.1 项下色谱条件测定, 计算各指标成分含量, 结果见表 1。

表 1 不同产地五味子果实、种仁、种皮、果肉中 10 种木脂素类成分的含量 ($n=3$)

Table 1 Contents of ten lignans in Schisandrae Chinensis Fructus from different area and its seed kernel, seed shell, pulp ($n=3$) $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$

产地	样品	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	总计
黑龙江省木兰县	果实	9.90	1.12	1.91	3.89	2.30	0.63	0.57	1.95	5.47	1.30	29.04
	种仁	13.09	1.14	2.20	5.52	2.54	0.64	0.57	2.31	7.32	1.46	36.79
	种皮	5.15	0.51	0.88	2.24	1.01	0.24	0.24	0.69	2.91	0.59	14.46
	果肉	1.20	0.08	0.13	0.46	0.29	0.06	-	0.28	0.35	0.17	3.02
黑龙江省嘉荫县	果实	9.60	0.99	1.59	3.49	1.86	0.52	0.31	1.40	5.38	2.14	27.28
	种仁	11.14	1.18	1.76	4.85	2.09	0.62	0.38	1.48	8.92	2.33	34.75
	种皮	3.44	0.37	0.55	1.54	0.66	0.20	0.11	0.43	2.52	0.73	10.55
	果肉	1.30	0.12	0.21	0.56	0.34	0.08	-	0.27	0.61	0.28	3.77
黑龙江省滨县	果实	4.55	0.24	0.34	0.90	0.57	0.08	0.06	0.69	1.59	0.49	9.51
	种仁	12.74	0.84	1.32	3.37	1.95	0.35	0.24	3.01	6.55	1.73	32.10
	种皮	3.16	0.23	0.32	0.87	0.52	0.09	0.06	0.54	1.37	0.44	7.60
	果肉	1.37	0.08	0.08	0.28	0.26	0.04	-	0.12	0.31	0.16	2.70
黑龙江省伊春市	果实	9.59	0.81	1.10	2.61	1.68	0.36	0.28	2.19	4.97	1.09	24.68
	种仁	14.04	1.18	1.66	3.86	2.43	0.55	0.46	3.27	7.37	1.48	36.30
	种皮	3.70	0.34	0.41	1.00	0.66	0.14	0.11	0.72	1.62	0.40	9.10
	果肉	1.11	0.07	0.11	0.34	0.25	0.04	-	0.18	0.28	0.14	2.52
吉林省长白县	果实	6.52	0.66	1.30	2.98	1.36	0.32	0.22	1.42	4.13	0.73	19.64
	种仁	12.24	0.77	1.52	3.32	1.52	0.34	0.26	2.56	4.58	0.75	27.86
	种皮	2.99	0.36	0.55	1.36	0.62	0.15	0.11	0.52	1.72	0.32	8.70
	果肉	0.82	0.06	0.16	0.42	0.21	0.05	-	0.21	0.29	0.10	2.32
吉林省桦甸市	果实	5.24	0.34	0.83	2.21	0.97	0.43	0.14	1.37	2.03	0.72	14.28
	种仁	12.42	0.99	1.63	3.10	1.94	0.62	0.34	2.81	5.57	1.09	30.51

续表 1

产地	样品	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	总计
吉林省白山市	种皮	3.52	0.26	0.61	1.65	0.66	0.31	0.10	0.78	1.45	0.53	9.87
	果肉	1.13	0.07	0.09	0.37	0.23	0.08	-	0.14	0.21	0.18	2.50
	果实	4.25	0.33	0.55	1.12	0.71	0.17	0.10	0.93	1.81	0.34	10.31
	种仁	11.92	0.93	1.49	3.04	1.93	0.54	0.32	2.82	5.52	1.03	29.54
吉林省通化市	种皮	4.11	0.36	0.50	1.03	0.67	0.17	0.10	0.79	1.68	0.34	9.75
	果肉	0.76	0.06	0.11	0.19	0.18	0.03	-	0.14	0.17	0.06	1.70
	果实	10.27	0.75	1.43	2.53	1.56	0.50	0.26	2.29	4.70	0.96	25.25
	种仁	12.12	1.01	1.66	2.93	1.80	0.66	0.35	2.65	5.24	1.06	29.48
辽宁省清原县	种皮	4.93	0.40	0.67	1.28	0.76	0.25	0.15	0.99	2.13	0.48	12.04
	果肉	1.00	0.06	0.11	0.23	0.19	0.05	-	0.14	0.18	0.12	2.08
	果实	6.66	0.59	0.67	2.47	1.18	0.37	0.13	1.04	3.01	0.69	16.81
	种仁	10.83	0.97	1.14	4.23	1.87	0.63	0.21	1.78	5.53	1.11	28.30
辽宁省凤城县	种皮	3.49	0.35	0.40	1.29	0.61	0.21	0.07	0.44	1.43	0.32	8.61
	果肉	1.01	0.06	0.08	0.30	0.21	0.06	-	-	0.25	0.16	2.13
	果实	7.54	0.85	0.78	1.74	1.15	0.34	0.28	1.61	3.19	0.53	18.01
	种仁	11.02	1.12	1.10	2.77	1.69	0.53	0.37	2.59	4.76	0.83	26.78
辽宁省抚顺县	种皮	4.18	0.51	0.38	1.01	0.67	0.18	0.15	0.77	1.57	0.29	9.71
	果肉	0.66	-	-	0.18	0.13	-	-	0.10	-	-	1.07
	果实	3.28	0.41	0.27	2.15	0.72	0.68	0.18	0.30	1.33	0.63	9.95
	种仁	7.46	0.93	0.59	4.95	1.64	1.70	0.48	0.93	3.30	1.39	23.37
辽宁省庄河市	种皮	2.71	0.37	0.22	1.73	0.60	0.59	0.15	0.23	1.11	0.50	8.21
	果肉	0.70	0.09	0.07	0.45	0.17	0.19	-	-	-	0.10	1.77
	果实	6.33	0.88	0.60	1.18	0.84	0.14	0.17	0.84	3.47	0.44	14.89
	种仁	9.28	1.10	0.86	3.89	1.67	1.13	0.43	1.72	4.03	1.12	25.23
	种皮	3.46	0.52	0.31	1.05	0.55	0.25	0.12	0.36	1.63	0.32	8.57
	果肉	0.81	-	-	-	0.12	-	-	0.17	0.18	-	1.28

注:1. 五味子醇甲;2. 戈米辛 D;3. 戈米辛 J;4. 五味子醇乙;5. 当归酰戈米辛 H;6. 戈米辛 G;7. 五味子酯甲;8. 五味子甲素;9. 五味子乙素;10. 五味子丙素。

3 讨论

预试验考察了 Eclipse XDB C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), Poroshell 120 SB C₁₈ (4.6 mm × 100 mm, 2.7 μm) 和 Zorbax SB C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) 3 种色谱柱对 10 个木脂素类成分的分离效果,且试用了 4 种流动相系统(乙腈-水、甲醇-水、乙腈-甲酸水、乙腈-乙酸水)^[11]。结果显示 Eclipse XDB C₁₈ 色谱柱比其他 2 个色谱柱展现出更多的色谱峰和更好的分离度;使用乙腈-水系统时,各色谱峰之间展现了更好的基线分离及更低的柱压。由于 10 种木脂素类成分均为联苯环辛烯类木脂素,最大紫外吸收波长分别约在 220, 250, 280 nm, 故考察了这 3 个检测波长下的色谱峰情况,结果在 220 nm 下各成分的

色谱峰峰形好,各色谱峰之间的分离度高。经分析优化,建立的同时测定五味子果实中 10 种木脂素类成分含量的 HPLC 操作简便、结果准确,可为五味子药材的质量控制提供参考。

2010 年版《中国药典》规定,五味子果实中五味子醇甲的质量分数不得低于 0.40%^[1]。本文测定的 12 份不同产地五味子果实中五味子醇甲的含量,除辽宁省抚顺县外,其他 11 份均达到要求,具有药用价值。测定的不同产地五味子种仁、种皮和果肉的总木脂素质量分数分别为 30.08, 9.76, 2.24 mg · g⁻¹, 种仁的木脂素类成分含量最高,种皮次之,果肉最低,并且这 3 个部位的木脂素类成分含量差异极显著。在实验过程中发现,果肉的质量占整个五味子果实

质量的50%以上,并且果肉中以多糖和鞣质等成分为主,木脂素类成分含量很低,而木脂素类成分又是五味子药材最主要的活性成分,为了增强该药材的临床药效,可考虑在进行五味子果实采收时进行适当的加工处理,将五味子果实进行去果肉处理,以五味子种子供药用,五味子果肉供食品开发,以提高五味子果实的利用率,充分开发五味子的药用资源。

[参考文献]

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010:61-62.
[2] 张树生译. 神农本草经译注[M]. 北京:中国人民大学出版社,2010:46.
[3] 史琳,王志成,冯叙桥. 五味子化学成分及药理作用的研究进展[J]. 药物评价研究,2011,34(3):208-212.
[4] 陆兔林,吴扬,季德,等. 五味子多糖提取分离和药理作用研究进展[J]. 中国中药杂志,2014,39(4):751-754.
[5] Hancke J L, Burgos R A, Ahumada F. *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill[J]. *Fitoterapia*, 1999,70(5):451-471.

[6] Panossian A, Wikman G. Pharmacology of *Schisandra chinensis* Bail.: An overview of Russian research and uses in medicine[J]. *J Ethnopharmacol*, 2008,118(2):183-212.
[7] 余凌虹,刘耕涛. 五味子联苯环辛烯类木脂素成分的结构与药理活性关系和药物创新[J]. 化学进展,2009,21(1):66-76.
[8] Zhang H, Zhang G Q, Zhu Z Y, et al. Determination of six lignans in *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill. fruits and related Chinese multiherb remedies by HPLC[J]. *Food Chem*, 2009,115(2):735-739.
[9] Deng X X, Chen X H, Cheng W M, et al. Simultaneous LC-MS quantification of 15 lignans in *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill. fruit[J]. *Chromatographia*, 2008,67(7):559-566.
[10] Liu H T, Lai H W, Jia X Y, et al. Comprehensive chemical analysis of *Schisandra chinensis* by HPLC-DAD-MS combined with chemometrics [J]. *Phytomedicine*, 2013,20(12):1135-1143.
[11] 李丽,肖永庆,刘颖,等. 五味子酸性组分的主要物质基础与生物活性研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2014,20(6):70-73.

[责任编辑 刘德文]

《中国实验方剂学杂志》声明

本刊近期发现有某些网站使用类似本刊网站的域名,冒用本刊名义,骗取审稿费及版面费。

现本刊郑重声明:①<http://www.syfjxzz.com> 为本刊唯一域名,其他域名均非本刊。

②本刊不会以任何名义收取任何审稿费。

③投稿成功后,为确保稿件安全请与责任编辑电话联系。

对于假冒本刊名义、侵犯本刊权利的不正当行为,本刊将通过法律程序进行维权。