

# HPLC 鉴别哮喘宁片中五味子与南五味子

张汶婕\*, 杨惠, 万庆, 陈叶平

(铜陵市食品药品检验所, 安徽 铜陵 244000)

**[摘要]** 目的: 鉴别哮喘宁片中五味子与南五味子。方法: 以五味子酯甲、五味子醇甲、五味子甲素、五味子乙素为对照, 采用 SunFire™ C<sub>18</sub> 柱 (4.6 mm × 150 mm, 5 μm), 乙腈-四氢呋喃-水梯度洗脱, 检测波长 254 nm, 流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, 用中国药典委员会颁布的中药色谱指纹图谱相似度评价系统软件 (2004A) 进行相似度的比较。结果: 五味子药材及其成药制剂、南五味子药材及其成药制剂指纹图谱相似度均 < 0.9, 但五味子、南五味子指纹图谱相似度 < 0.2。结论: 采用色谱技术能够鉴别哮喘宁片中五味子与南五味子。

**[关键词]** 五味子; 南五味子; 哮喘宁片; 液相色谱法

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903 (2013) 10-0153-03

**[doi]** 10.11653/syjf2013100153

## Identification of Fructus Schisandra chinensis and Fructus Schisandra Sphenanthera in Xiaochuaning Tablets by HPLC

ZHANG Wen-jie\*, YANG Hui, WAN Qing, CHEN Ye-ping

(Tongling Institute for Food and Drug Control, Tongling 244000, China)

**[Abstract]** **Objective:** To identify Fructus Schisandra chinensis and Fructus Schisandra Sphenanthera in Xiaochuaning Tablets. **Method:** Schisantherin A, schisandrin, deoxyschisandrin, schizandrin B served as the reference substances. The assay was conducted on SunFire™ C<sub>18</sub> column (4.6 mm × 150 mm, 5 μm) with acetonitrile-tetrahydrofuran-water as mobile phase. The flow rate was 1.0 mL·min<sup>-1</sup> and the detection wavelength was set at 254 nm. Similarity evaluation system for chromatographic fingerprint of TCM (2004 A) was used in data analysis. **Result:** Fructus Schisandra Chinensis from habitats were of strong similarity with those from Xiaochuaning Tablets, but the similarities with Fructus Schisandra Sphenanthera from habitats or tablets were less than 0.20. **Conclusion:** HPLC can be used for identification of Fructus Schisandra Chinensis and Fructus Schisandra Sphenanthera in Xiaochuaning Tablets.

**[Key words]** Fructus Schisandra Chinensis; Fructus Schisandra Sphenanthera; Xiaochuaning Tablets (XT); HPLC

五味子为木兰科植物五味子的干燥成熟果实, 具收敛固涩、益气生津、补肾宁心之功效; 南五味子为木兰科植物华中五味子的干燥成熟果实; 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<sup>[1]</sup>。哮喘宁片为《卫生部药品标准中药成方制剂》第 4 册收载的品种, 由胆南星、石膏、甘草、洋金花、五味子、远志 (制)、太子参、麻黄 (蜜炙) 八味组成, 只有常规检测项目。庾燕珍等<sup>[2]</sup>建立的质量控制标准中, 仅有薄层色谱法鉴别五味子, 而无相关含量测定。本研究采用 HPLC 研究了五味子、南五味子以及哮喘宁片的色谱图, 为鉴别哮喘宁片中五味子与南五味子提供科学依据。

**[收稿日期]** 20121212(011)

**[通讯作者]** \* 张汶婕, 硕士, 主管药师, 从事中药检验工作,  
Tel: 0562-2831622, E-mail: zhangwenjie85@163.com

## 1 材料

Waters 2695 型高效液相色谱仪,梅特勒 GB-204 电子天平(0.1 mg),HH-4 型数显恒温水浴锅(上海浦东物理光学仪器厂)。甲醇、乙腈为一级色谱纯,正己烷、四氢呋喃为分析纯,水为重蒸水。

胆南星、石膏、甘草、洋金花、远志(制)、太子参、麻黄(蜜炙)、五味子①、南五味子①均由当地医院药房提供,五味子②、南五味子②均由本所中药标本室提供,以上经本所张振华副主任中药师鉴定,均为正品。哮喘宁片(批号 210003,河南华茸堂药业有限公司)。

五味子甲素(批号 110764-201111),五味子乙素(批号 110765-200710),五味子醇甲(批号 110857-200709),五味子酯甲(批号 111529-200503),均购自中国药品生物制品检定所。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

SunFire™ C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm),流动相 A 为乙腈,B 为水-四氢呋喃(3:1),梯度洗脱程序(0 ~ 35 min, 8% ~ 20% A; 35 ~ 42 min, 20% ~ 35% A; 42 ~ 55 min, 35% A; 55 ~ 65 min, 35% ~ 40% A),流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>,检测波长 254 nm,柱温 35 °C。

**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,配置成单组份对照品溶液,再配置混合对照品溶液,其中含五味子醇甲 0.114 0 g·L<sup>-1</sup>,五味子酯甲 0.135 2 g·L<sup>-1</sup>,五味子甲素 0.153 6 g·L<sup>-1</sup>,五味子乙素 0.103 2 g·L<sup>-1</sup>。

### 2.3 供试品溶液的制备

**2.3.1 哮喘宁片(210003)** 除去糖衣,研细,称取约 0.5 g,精密称定,加正己烷 50 mL,回流 2 h,取正己烷液,蒸干,加甲醇溶解,定溶于 5 mL 量瓶中,摇匀,为供试品 1。

**2.3.2** 按照哮喘宁片处方及制法,制备投料为五味子的样品,按上述操作得供试品液,其中投料为五味子①的为供试品 2,投料为五味子②的为供试品 3;投料为南五味子①的为供试品 6,投料为南五味子②的为供试品 7。

**2.3.3 阴性对照的制备** 取胆南星、石膏、甘草、洋金花、远志(制)、太子参、麻黄(蜜炙),按哮喘宁片制法制备缺五味子的阴性样品,按上法制得供试品液,作为阴性对照溶液。

**2.3.4 药材溶液的制备** 精密称取五味子或南五味子药材粉末 0.2 g,按上法制得对照药材溶液,其中五

味子①的为供试品 4,五味子②的为供试品 5,南五味子①的为供试品 8,南五味子②的为供试品 9。

**2.4 测定方法** 分别精密称取对照品溶液和供试品溶液各 10 μL,注入高效液相色谱仪,按上述色谱条件操作,考察 120 min 内供试品溶液的色谱分离情况,记录 60 min 色谱图。见图 1。

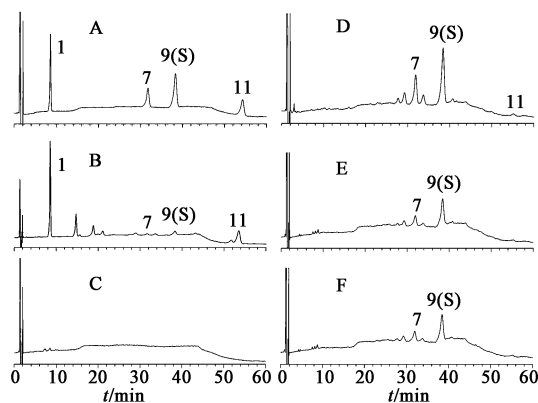


图 1 混合对照品(A)、供试品 5(B)、阴性对照(C)、供试品 9(D)、供试品 7(E)、供试品 1(F)的 HPLC

### 2.5 方法学考察

**2.5.1 精密度实验** 精密吸取供试品 2,重复进样 5 次,结果表明各共有峰相对保留时间 RSD < 0.3%,相对峰面积 RSD < 1.0%。表明仪器的精密度良好。

**2.5.2 稳定性试验** 精密吸取供试品 2,分别于 0, 2, 4, 8, 16, 24 h 测定,结果各共有峰相对保留时间 RSD < 0.5%,相对峰面积 RSD < 1.4%。表明供试品溶液于 24 h 内稳定。

**2.5.3 重复性试验** 取供试品 2 5 份,精密称定,分别制备供试品溶液进行分析,结果各共有峰相对保留时间 RSD < 0.5%,相对峰面积 RSD < 2.0%。表明方法的重复性良好。

### 2.6 液相图谱的考察<sup>[3-4]</sup>

**2.6.1 共有峰的标定** 采用相对保留时间标定共有峰,以图谱中五味子甲素峰为参照峰(S),将各色谱峰保留时间与同一图谱中参照峰的保留时间比较,计算 2 批投料为五味子的供试品指纹图谱中各色谱峰的相对保留时间,见表 1。其中 11 个色谱峰为 2 供试品共有,故标定它们为共有峰。见图 2。

**2.6.2 共有峰的相对峰面积** 以图谱中五味子甲素峰为参照峰,保留时间可信限设定为 ±2%,将供试品 1~9 各色谱峰峰面积与同一图谱参照峰的峰面积比较,可以发现 11 个色谱峰为投料五味子的供试品(供试品 2,3)与五味子药材(供试品 4,5)所

共有,有4个色谱峰为含五味子供试品与含南五味子供试品共有。经过与对照品比对,可知1号峰为五味子醇甲,7号峰为五味子酯甲,9号峰为五味子

甲素,11号峰为五味子乙素。可见含五味子与含南五味子的供试品在五味子醇甲相对峰面积以及五味子乙素相对峰面积上差异很大。见表2。

表1 2批哮喘宁片中五味子成分各峰相对保留时间

供试品	1	2	3	4	5	6	7	8	9(S)	10	11
2	0.224	0.384	0.408	0.492	0.550	0.755	0.827	0.877	1.000	1.350	1.397
3	0.223	0.384	0.408	0.491	0.550	0.756	0.827	0.879	1.000	1.351	1.398

表2 9批供试品各峰相对峰面积

供试品	相对峰面积										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9(S)	10	11
2	7.344	2.775	0.229	1.788	0.785	0.468	0.250	0.288	1.000	0.710	3.493
3	7.663	2.980	0.195	1.843	0.850	0.623	0.263	0.334	1.000	0.782	3.792
4	7.814	2.612	0.226	1.466	0.761	0.472	0.268	0.296	1.000	0.811	3.488
5	7.627	2.738	0.209	1.548	0.836	0.487	0.231	0.510	1.000	0.735	3.648
6						0.173	0.496	0.095	1.000		
7						0.135	0.544	0.105	1.000		
8			0.021			0.189	0.495	0.161	1.000		0.014
9			0.013			0.182	0.505	0.166	1.000		0.024
1					0.006	0.170	0.450	0.075	1.000		

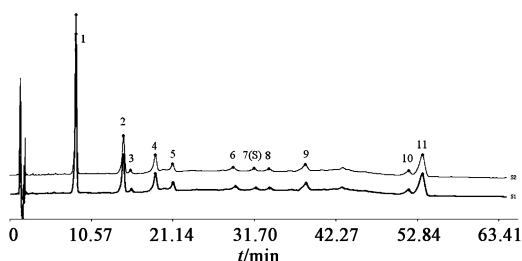


图2 2批哮喘宁片中五味子成分的HPLC

**2.6.3 液相图谱的相似度比较** 采用国家药典委员会《中药色谱指纹图谱相似度评价系统》(2004年A版)进行数据分析处理,以供试品2的图谱作为参照图谱,计算9批供试品图谱的相似度,结果见表1。其中五味子药材与投料五味子的供试品指纹图谱相似度均 $>0.9$ ,说明其相似度良好;而五味子与南五味子的指纹图谱相似度均 $<0.2$ ,差异很大。见表3。

表3 9批供试品指纹图谱相似度评价

供试品	相似度	供试品	相似度	供试品	相似度
1	0.151	4	0.983	7	0.123
2	1.000	5	0.979	8	0.127
3	0.998	6	0.132	9	0.115

### 3 讨论

**3.1 供试品溶液的处理** 比较了正己烷、乙醇等提取溶剂,发现正己烷能有效提取出五味子或南五味子组分,且杂质含量极少,采用回流法提取2h已能满足实验要求。

**3.2 流动相选择** 比较了文献报道的多种流动相系统<sup>[5-7]</sup>,甲醇-水系统,乙腈-水系统等分离效果均

不理想。李晓亮等<sup>[8]</sup>使用乙腈-水-四氢呋喃梯度洗脱,分离效果好,主要定量峰达到基线分离,系统适用性良好,故而参考其洗脱方法进行洗脱。

在药材与应用该药材制得的制剂在色谱图的特征峰群上稍有差异,有待进一步实验。同时由于哮喘宁片在本地不易购得,样品批次不足,故未能建立其指纹图谱。

#### [参考文献]

- [1] 胡晓炜,宋旭峰. 五子衍宗丸中五味子与南五味子的液相色谱法鉴别[J]. 中药材, 2004, 27(6):402.
- [2] 庾燕珍,邓慧敏,何文玲. 哮喘宁片的质量标准研究[J]. 中草药, 2009, 40(5):736.
- [3] 颜月圆,萧伟,吴云,等. 散结镇痛胶囊中皂苷类成分的指纹图谱研究[J]. 中草药, 2012, 43(3):496.
- [4] 韩晔华,霍飞凤,杨悠悠,等. 中药指纹图谱研究的某些进展与展望. 色谱, 2008, 26(2):142.
- [5] 黄文倩,李丽,肖永庆,等. HPLC同时测定五味子中6种木脂素类成分[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(10):63.
- [6] 仰榴青,吴向阳,徐佐旗,等. 五味子及其制剂中木脂素类成分含量测定的研究进展[J]. 中国中药杂志, 2005, 30(9):650.
- [7] 刘国宇,陈旭. 五味子木脂素类化学成分及其含量分析方法的研究现状[J]. 黑龙江医药, 2010, 23(2):228.
- [8] 秦建平,吴建雄,毕宇安,等. HPLC同时测定益心舒片中五味子醇甲、五味子酯甲、五味子甲素、五味子乙素和丹参酮II<sub>A</sub>的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(2):77.

[责任编辑 顾雪竹]