

# 不同粒度五味子有效利用率评价

苏桃<sup>1</sup>, 陆兔林<sup>1\*</sup>, 毛春芹<sup>2</sup>, 胡俊扬<sup>1</sup>, 蔡宝昌<sup>1</sup>

(1. 南京中医药大学 江苏省中药炮制重点实验室, 南京 210046;

2. 南京中医药大学 药学院, 南京 210046)

**[摘要]** **目的:**比较不同粒度五味子饮片中五味子醇甲等6种木脂素成分含量来确定临床最佳有效利用率的研究。**方法:**通过HPLC法同时测定同一来源、不同粒径的五味子经过水煎煮后五味子醇甲等6种有效成分含量的对比情况。**结果:**粉碎组的五味子醇甲等6种木脂素成分含量明显高于不粉碎组;50,65,80,100目粉碎的五味子中五味子醇甲等6种木脂素成分含量随粒度的变细而增高,但差异性不明显。**结论:**粉碎组优于不粉碎组;粒度越细,加大了工作成本,故临床使用五味子时以过三号筛(50目)粗粉为宜。

**[关键词]** 五味子;高效液相色谱法;不同粒度;五味子醇甲;有效利用率

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)03-0096-04

## The Effective Utilization Rate Evaluation of Different Particle Size Fructus Schisandrae

SU Tao<sup>1</sup>, LU Tu-lin<sup>1\*</sup>, MAO Chun-qin<sup>2</sup>, HU Jun-yang<sup>1</sup>, CAI Bao-chang<sup>1</sup>

(1. Jiangsu Key Laboratory of Chinese Medicine Processing, Nanjing University

of Chinese Medicine, Nanjing 210046, China; 2. College of Pharmacy,

Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210046, China)

**[Abstract]** **Objective:** To compare the 6 lignans components content such as schizandrol A in different granularity of *Schisandra chinensis* in order to confine clinical best effective utilization rate. **Method:** Through the high-performance liquid chromatography (HPLC) to determinate 6 lignans components content such as schizandrol A in different granularity of *Schisandra chinensis* after water decoction to contrast the effective component utilization rate. **Result:** The crushed group of *Schisandra chinensis* was obviously higher than the not crushed group about the 6 lignans components content such as schizandrol A. The contents of 6 compounds in 50, 65, 80, 100 mesh of crushed *Schisandra chinensis* were increased with the particle size reduction, but there was a little differences. **Conclusion:** The crushed group is well than the not crushed group, the fine particle size increased the cost of work, So when clinical use in Fructus Schisandrae should advisable of using the 50 mesh thick powder.

**[Key words]** Fructus Schisandrae; HPLC; different particle size; schizandrol A; effective utilization

五味子为木兰科植物五味子 *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill. 的干燥成熟果实,习称“北五味子”<sup>[1]</sup>。五味子始载于《神农本草经》,被列为上品<sup>[2]</sup>。具有保肝、降酶、保护中枢神经系统、抗艾滋病毒等多种药理活性。在临床上广泛应用,是多种中成药处方的重要组分,如降酶灵胶囊<sup>[3]</sup>、复方五味子软胶囊片<sup>[4]</sup>等。五味子中主要含有木脂素、挥发油以及三萜酸、甾醇等成分。其中木脂素是其主要的活性成分,其质量控制方法常采用HPLC<sup>[5]</sup>。

**[收稿日期]** 20110930(007)

**[基金项目]** 国家科技部重大新药创制项目(2009ZX09308-004);江苏省教育厅重大项目(09KJA360001);南京中医药大学科技项目(10XJC06)

**[第一作者]** 苏桃,在读硕士,从事中药质量控制及新药研发, E-mail: sutaocissy@163.com

**[通讯作者]** \*陆兔林,教授,博士生导师,从事中药质量控制及新药研发, Tel: 025-85811835, E-mail: lutuling2005@126.com

药理研究表明,木脂素具有降血清谷丙转氨酶作用、对活性氧自由基损伤的拮抗作用、中枢神经的抑制作用等活性<sup>[6]</sup>。五味子甲素、乙素、丙素、醇甲、醇乙等均有明显的保肝降酶作用,是多种保肝降酶中成药的主要成分<sup>[7]</sup>。

《中国药典》规定五味子入汤剂的用法是“用时捣碎”。据调查,目前临床上一般都以完整的五味子配入汤剂中,医师处方中对五味子没有捣碎的要求,药房药师也没有主动按药典规定将其捣碎配入方中。以完整的五味子入煎已成习惯,对捣碎使用的意义更不了解<sup>[8]</sup>。木脂素类成分作为五味子中的主要活性成分大多存在其果核中,本课题组在实验中发现一般煎剂所用的煎煮时间和火力来煎煮五味子时,对其种皮几乎无破坏作用,以完整的五味子入汤中煎煮时木脂素类成分煎出率低,不利于五味子资源的有效利用。同时,不同粒度对五味子有效利用率的影响也未见报道,故实验考察了高效液相色谱法同时测定(不同粒度)五味子醇甲等6种木脂素成分的含量来确定临床合理、有效用药,为合理开发利用五味子资源提供依据。

## 1 材料

**1.1 仪器** Agilent1100 高效液相色谱仪(美国安捷伦公司),FA1104 型电子分析天平(上海精密科学仪器有限公司),KQ-500E 型医用超声清洗器(昆山超声仪器有限公司),Mettler AG285 电子分析天平(瑞士梅特勒-托利多集团),Anke TGH-16C 离心机(上海安亭科学仪器厂),数显恒温水浴锅 HH-4(国华电器有限公司)。

**1.2 试药** 五味子醇甲(批号 110857-200709)、五味子醇乙(批号 110543-200708)、五味子酯甲(批号 111529-200503)、五味子甲素(批号 110764-200609)、五味子乙素(批号 110765-200710),以上对照品均购自中国药品生物制品检定所,供含量测定用;五味子丙素(批号 DR20101018),购自上海鼎瑞化工有限公司,含量 98% 以上。甲醇、乙腈为色谱纯。

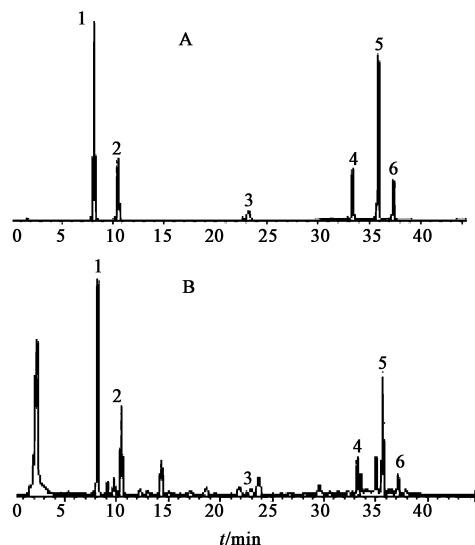
## 2 方法与结果

**2.1 五味子水煎液的制备** 粉碎组:取 5 份五味子,各 100 g,粉碎,过不同粒度筛(100,80,65,50,24 目),加 8 倍量水,煎煮 2 次,每次 2 h,合并过滤液,减压浓缩成浸膏,分别为 39.922 3,39.421 5,39.402 1,37.231 2,35.342 3 g,待测。

不粉碎组:取 1 份五味子,100 g,加 8 倍量水,煎煮 2 次,每次 2 h,合并过滤液,减压浓缩成浸膏

33.754 5 g,待测。

**2.2 色谱条件** 色谱柱为依利特 ODS-C<sub>18</sub>(4.6 mm × 250 mm,5 μm),柱温 30 ℃。流动相为乙腈(A)-水(B),洗脱程序(0 ~ 25 min,65% A;25 ~ 30 min,65% ~ 85% A;30 ~ 33 min,85% A;33 ~ 35 min,85% ~ 65% A;35 ~ 46 min,65% A。流速 1.0 mL · min<sup>-1</sup>。检测波长 217 nm,进样量为 10 μL。色谱图见图 1。



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; 6. 五味子丙素

图 1 对照品(A)与五味子颗粒供试品(B)HPLC

**2.3 对照品溶液的配制** 精密称取对照品五味子醇甲、五味子醇乙、五味子酯甲、五味子甲素、五味子乙素和五味子丙素适量,用甲醇溶解,配制对照品储备液。另精密吸取各储备液适量,配制成含五味子醇甲 200.160 mg · L<sup>-1</sup>、五味子醇乙 40.121 mg · L<sup>-1</sup>、五味子酯甲 18.255 mg · L<sup>-1</sup>、五味子甲素 79.608 mg · L<sup>-1</sup>、五味子乙素 124.200 mg · L<sup>-1</sup>、五味子丙素 19.008 mg · L<sup>-1</sup>的混合对照品储备液。

**2.4 供试品溶液的配制** 取不同粒度五味子水煎液浸膏(约合 0.3 g 饮片),置烧瓶中,精密加入甲醇 25 mL,称定重量,超声处理(功率 250 W,频率 20 kHz)20 min,取出,再称定重量,用甲醇补足减失的重量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

**2.5 线性关系考察** 分别精密吸取混合对照品储备液 0.08,0.2,0.5,0.8,1.1,1.4 mL 于 2 mL 量瓶中,用甲醇定容至刻度。分别精密吸取 10 μL 注入高效液相色谱仪,测定。分别以对照品峰面积为纵坐标,以对照品的浓度为横坐标,进行线性回归,得到标准曲线及回归方程①五味子醇甲  $Y = 66.76X + 90.89$ ,  $r = 0.9995$ ,表明五味子醇甲在 8.006 4 ~

140.112 0 mg·L<sup>-1</sup>线性关系良好;②五味子醇乙  $Y = 68.43X - 3.182$ ,  $r = 0.999 9$ , 表明五味子醇乙在 1.604 8 ~ 28.084 6 mg·L<sup>-1</sup>线性关系良好;③五味子酯甲  $Y = 56.48X + 0.015$ ,  $r = 0.999 8$ , 表明五味子酯甲在 0.730 2 ~ 12.778 0 mg·L<sup>-1</sup>线性关系良好;④五味子甲素  $Y = 85.22X + 9.824$ ,  $r = 0.999 8$ , 表明五味子甲素在 3.184 0 ~ 55.726 0 mg·L<sup>-1</sup>线性关系良好;⑤五味子乙素  $Y = 82.772X + 36.806$ ,  $r = 0.999 7$ , 表明五味子乙素在 4.968 0 ~ 86.940 0 mg·L<sup>-1</sup>线性关系良好;⑥五味子丙素  $Y = 63.14X + 0.062$ ,  $r = 0.999 5$ , 表明五味子丙素在 0.760 3 ~ 13.305 6 mg·L<sup>-1</sup>线性关系良好。

**2.6 精密度试验** 将五味子醇甲、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浓度分别为 80.064, 16.048, 7.302, 31.843, 49.680, 7.603 mg·L<sup>-1</sup>的对照品溶液,按上述色谱条件连续进样 6 次,记录各自峰面积,并计算其 RSD。结果显示: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 RSD 分别为 0.29%, 1.17%, 0.21%, 0.17%, 0.17%, 1.09%, 表明该方法精密度良好,符合分析要求。

**2.7 重复性试验** 精密称取 50 目五味子水煎液浸膏 0.111 7 g(约合 0.3 g 饮片),共 6 份,按 2.4 供试品溶液的配制制备,按上述色谱条件进行 HPLC 分析。根据所得 6 种木脂素的峰面积计算其在样品中的含量。结果显示五味子醇甲、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平均质量分数(RSD)分别为 0.67% (1.16%), 0.16% (1.16%), 0.06% (2.06%), 0.13% (1.14%), 0.26% (0.40%), 0.06% (1.61%), 说明此方法重复性良好,满足含量测定的要求。

表 1 不同粒度五味子水煎液中五味子醇甲等 6 种木脂素含量(n=3)

样品粒度	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	五味子丙素	总和
粉碎组	100 目	0.200 2	0.043 2	0.019 3	0.043 5	0.081 1	0.402 9
	80 目	0.198 7	0.042 7	0.019 0	0.044 3	0.078 9	0.397 4
	65 目	0.198 5	0.041 6	0.018 5	0.041 6	0.078 8	0.393 2
	50 目	0.196 1	0.036 3	0.016 0	0.041 5	0.078 6	0.380 5
	24 目	0.114 6	0.014 8	-	-	0.034 0	0.163 4
不粉碎组	完整果实	0.046 5	0.008 3	-	-	-	0.054 8

由表 1 数据可知,不同粒度对五味子醇甲等 6 种木脂素成分含量有较大影响。木脂素类成分作为五味子中的主要活性成分,其含量变化直接关系其有效利用率的变化。李时珍在其《本草纲目》中云:

**2.8 稳定性试验** 取同一五味子样品供试品溶液,室温放置 0,2,4,8,12,24 h 后,按上述色谱条件进行 HPLC 分析,测定 6 种木脂素的量。结果显示: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、五味子丙素在不同时间时峰面积的 RSD 分别为 0.31%, 0.50%, 0.94%, 0.45%, 0.50%, 1.19%。表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

**2.9 加样回收率试验** 分别精密称取 6 种对照品适量,置 5 mL 量瓶中,用甲醇定容至刻度,配成五味子醇甲、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浓度分别为 1.100 9, 0.261 1, 0.089 4, 0.202 2, 0.403 7, 0.097 0 g·L<sup>-1</sup>的混合对照品溶液,备用。精密称取已知含量的五味子水煎液浸膏样品 0.055 8 g(约合 0.15 g 饮片),共 9 份,精密称定,置烧瓶中,分别加入等同于样品中五味子醇甲、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含量的 80%, 100%, 120% 的对照品,各 3 份,按 2.4 供试品溶液的配制制备,按上述所建立的分析方法进行分析,根据测得量和加入量计算回收率,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、五味子丙素的加样回收率(RSD)分别为 102.07% (1.30%), 101.46% (1.84%), 101.97% (1.58%), 102.96% (1.13%), 101.09% (1.57%), 102.63% (1.02%)。符合含量测定要求,表明本法准确可靠。

**2.10 样品含量测定** 精密称取不同粒度五味子水煎液浸膏,各 3 份。按 2.4 供试品溶液的配制制备,按上述所建 HPLC 分析方法进行分析,分别进样 10 μL,测定峰面积,根据标准曲线计算水煎煮液中五味子醇甲、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量,结果见表 1。

“五味子,酸咸入肺而补肾,辛苦入心而补肺,甘入中宫而益脾胃”。不难看出,五味子的疗效是通过所含的五种滋味相互结合协同作用而体现出来的,五味皆有其用,缺少其一即可能使五味子的疗效受

到影响。然而,五味子种皮较硬,若不将其打碎则难以煎出其味。结果显示,粉碎组中有效成分的利用率明显高于不粉碎组,且五味子醇甲等6种木脂素成分含量随粒度的变细而增高,差异性不明显。但随着粒度的变细,加大了工作成本,故临床使用五味子时宜粉碎过三号筛(50目)粗粉为最佳。

### 3 讨论

在实验中对多个色谱条件进行了考察,比较了Kromasil C<sub>18</sub>柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm)和依利特 ODS-C<sub>18</sub>柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm)的分离效果、甲醇-水的不同配比与梯度洗脱以及乙腈-水的不同配比与梯度洗脱、检测波长等条件,最终确定了本文选择的色谱条件。

五味子为常用药,但是临床上用的饮片质量参差不齐,木脂素含量高低不等,为了保证不同粒度对其有效利用率影响的可比性,本实验选用辽宁产地的道地药材作为研究对象。

清代蒋中芳在其《医家说约》中概括:“五味子,凡用打碎”。可看出古代医家很重视将五味子捣碎后使用。但目前临床上五味子多是以完整果实投入使用。该实验结果表明,完整的五味子入汤中煎煮,其有效利用率明显低于粉碎组。50目~100目的五味子有效利用率随着粒度的变细而增加,但是差异性不明显。粒度越细,不仅加大了工作量及生产成本,且过细粉不利于在临床上使用。本实验亦考察了120目及150目五味子水煎液的利用率情况,过细粉粉碎困难,且易粘锅、易糊化,没有参考价值未列入文章中。故临床使用五味子时不宜整个投入,

以粉碎过三号筛(50目)粗粉为宜,有利于有效成分的煎出,这为合理开发利用五味子资源提供了质量评价手段,更好地指导临床正确、合理、有效用药。该方面的研究还应不断充实,对临床将有直接的指导意义。

### [参考文献]

- [1] 中国药典.一部[S].2010:61.
- [2] 国家中医药管理局《中华本草》编委会.中华本草[M].上海:上海科学技术出版社,1999:902
- [3] 李正国,于立佐,张爱岑.RP-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.
- [4] 赵玥,王冰.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[J].中国实验方剂学杂志,2010,16(16):64.
- [5] 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.
- [6] 王彦涵,高建平,陈道峰.高效液相色谱法测定五味子属药用植物木脂素的含量[J].中国中药杂志,2003,28(12):1155.
- [7] 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(5):650.
- [8] 赵晓秋.浅谈五味子入汤剂的用法[J].实用中医药杂志,2003,19(10):606.

[责任编辑 蔡仲德]