

· 化学与分析 ·

## 南、北五味子及其炮制品中木脂素类成分比较研究

楼招欢<sup>1</sup>, 吕圭源<sup>1\*</sup>, 陈素红<sup>2</sup>

(1. 浙江中医药大学药物研究所, 杭州 310053; 2. 温州医学院, 浙江 温州 325035)

[摘要] 目的: 分析比较南、北五味子药材及炮制品中总木脂素以及五味子酯甲、甲素的含量。方法: 变色酸-浓硫酸比色法测定总木脂素含量; 高效液相色谱法测定五味子酯甲、甲素含量。结果: 生、制北五味子总木脂素含量在 8.21% ~ 9.60% 和 4.91% ~ 7.09% 之间, 高于相应南五味子中的含量。五味子酯甲在 0.20 ~ 1.00  $\mu\text{g}$ 、五味子甲素在 0.387 ~ 1.94  $\mu\text{g}$  线性关系良好, 酯甲回收率在 95.7% ~ 99.7%; 甲素回收率在 98.0% ~ 103.7%; 五味子酯甲和甲素的含量以南五味子为高者。结论: 南、北五味子在总木脂素、五味子酯甲、甲素的含量上存在差异。含量测定方法准确可靠、重复性好, 可用于五味子药材的质量控制。

[关键词] 五味子; 木脂素; 五味子酯甲; 五味子甲素; 含量测定

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2010)18-0043-04

## Comparative Study of Lignans Content in Two Kinds of Fructus Schisandrae and Its Processed Products

LOU Zhao-huan<sup>1</sup>, LV Gui-yuan<sup>1\*</sup>, CHEN Su-hong<sup>2</sup>

(1. Institute of Materia Medica of Zhejiang University of Traditional Chinese Medicine, Hangzhou 310053, China;  
2. Wenzhou Medical College, Wenzhou 325035, China)

**[Abstract] Objective:** To analyse the difference of content of total lignanoid, wuweizi ester A and deoxyschizandrin between *Schisandra chinensis*( Turcz ) Baill. and *Schisandra sphenanthera* Rehd. et Wils. **Method:** Chromatometry with chromotropic acid and sulphuric acid as chromogenic agents was used to determine the total lignanoid; HPLC was selected to determine the content of wuweizi ester A and deoxyschizandrin. **Result:** The content of total lignan in *Schisandra chinensis* was between 4.91% -93.60% and was twice higher than that in *S sphenanthera*. Schisantherin A and deoxyschizandrin were linear in the range of 0.20-1.00  $\mu\text{g}$  and 0.387-1.94  $\mu\text{g}$  respectively. The average recovery was 97.1% and 101.3% respectively. The content of schisantherin A and deoxyschizandrin in *S chinensis* was lower than that in *S sphenanthera*. **Conclusion:** There were differences on content of total lignanoid, wuweizi ester A and deoxyschizandrin between *S chinensis* and *S sphenanthera*. The HPLC method used for determination of wuweizi ester A and deoxyschizandrin was accurate and with good repeatability, and can be used to control the quality of Fructus Schisandrae.

**[Key words]** Fructus Schisandrae; lignanoid; wuweizi ester A; deoxyschizandrin; content determination

五味子为木兰科 (Magnoliaceae) 植物五味子 *Schisandra chinensis* (Turcz) Baill. 或华中五味子

[收稿日期] 20100629(002)

[基金项目] 国家十五重大科技专项“创新药物和中药现代化”(2003AA2Z3254)

[第一作者] 楼招欢, 医学硕士, 助理研究员, 主要从事中药药效物质及产品研发, Tel: 0571-86613602, E-mail: lou\_jasmine@163.com

[通讯作者] \* 吕圭源, 教授, 博导, 从事中药药理及产品开发, Tel/ Fax: 0571-86613601, E-mail: lv.gy@263.net

*S. sphenanthera* Rehd. et Wils. 的干燥成熟果实。前者习称北五味子, 后者习称南五味子。《中国药典》2000 年版将南、北五味子分别列出, 作为两种药材应用。

南、北五味子的功能与主治相同, 皆能收敛固涩, 益气生津, 补肾宁心, 但两者在性状上有较大的差别<sup>[1]</sup>; 另外, 在成分的组成及含量上也存在一些差异, 如 6, 9-氧桥的联苯环辛二烯木脂素和螺苯骈呋

联苯环辛二烯木脂素多数只存在南五味子中。临床多沿传统以制北五味子入药, 用以改善免疫功能、治疗肝脏、呼吸系统等方面的疾病; 南五味子临床用药较少。南、北五味子含有挥发油<sup>[2]</sup>、木脂素<sup>[3]</sup>、五味子红素<sup>[4]</sup>等成分, 其中, 木脂素类(lignans) 成分是南、北五味子保肝降酶作用的主要活性成分之一, 其含量的多寡会影响其药理作用的强弱。本文采用变色酸-浓硫酸比色法测定南、北五味子中总木脂素的含量, 测定并比较各药材中五味子酯甲(schisantherin A) 和甲素(deoxyschizandrin) 2 个成分的含量, 为南、北五味子药材的鉴别、质量控制及临床用药选择提供参考依据。

## 1 材料

**1.1 仪器和试剂** 微型植物试样粉碎机(天津市泰斯特仪器有限公司); METTLER TOLEDO AG135 电子天平(瑞士); SCQ250 超声仪(上海申波超声公司); Lambda -12 紫外-可见分光光度仪(PERKIN ELEMER, U. S. A); DZF-6020 型真空干燥箱(上海精密实验设备有限公司); Aglient 1100 series 高效液相色谱仪, 四元泵, DAD 检测器(美国 Aglient 公司); 乙腈(色谱纯), 变色酸, 浓硫酸、正己烷、甲醇(分析纯), 超纯水。

**1.2 试药** 五味子酯甲对照品(1529-200001); 五味子甲素对照品(0764-200107, 供含量测定用, 中国药品生物制品检定所)。

南五味子: 未经炮制者简称生南; 经炮制者简称制南(批号 040401, 040518, 040825; 产地陕西, 辽宁, 陕西); 北五味子: 未经炮制者简称生北; 经炮制者简称制北(批号 040413, 040527, 040825; 产地辽宁, 河北, 辽宁); 以上药材均购自浙江中医药大学中药饮片厂, 并经浙江中医药大学陈孔荣中药师鉴定; 各制品均由相应生品参照醋蒸法(药典附录 IID) 炮制而得。

## 2 方法与结果

### 2.1 总木脂素含量测定

**2.1.1 对照品溶液的配制** 取五味子酯甲对照品约 5 mg, 精密称定, 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 得五味子酯甲对照品贮备液( $0.499 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ )。

**2.1.2 样品溶液的制备** 取过 100 目筛的各五味子药材原粉约 0.1 g, 称定, 置 10 mL 量瓶中, 加入 10.0 mL 甲醇, 称重, 超声 30 min, 称重, 甲醇补足减失质量, 过滤, 取续滤液, 即得各样品溶液。

**2.1.3 最大吸收波长考察** 分别取适量样品溶液和对照品溶液加入具塞试管中, 水浴挥干, 放冷, 加入 0.5 mL 10% 变色酸溶液, 摇匀, 加入 3.0 mL 浓硫酸, 摇匀, 再加入 1.5 mL 蒸馏水, 摇匀, 置沸水浴 30 min, 取出, 冰水浴中迅速冷却, 取出, 在 300 ~700 nm 波长扫描, 各样品与对照品在 570 nm 附近均有最大吸收峰。

**2.1.4 线性范围和标准曲线** 精密移取甲醇 0.05 mL, 五味子酯甲对照品贮备液 0.05, 0.10, 0.15, 0.20, 0.25 mL, 置具塞玻璃试管中, 水浴挥干, 放冷, 加入 0.5 mL 10% 变色酸溶液, 摇匀, 加入 3.0 mL 浓硫酸, 摇匀, 再加入 1.5 mL 蒸馏水, 摇匀, 置沸水浴 30 min, 取出, 冰水浴中迅速冷却, 取出, 甲醇管为空白对照, 于 570 nm 处, 测吸光度。以质量浓度( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 为横坐标, 吸光度( $A$ ) 为纵坐标, 绘制标准曲线, 得回归方程为  $Y=3.56 \times 10^{-2} X - 2.1 \times 10^{-2}$ ;  $r=0.9997$ , 五味子酯甲在  $4.99 \sim 24.95 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  呈良好的线性关系。

**2.1.5 药材中总木脂素的含量测定** 分别吸取各样品溶液 0.20 mL 置具塞试管中, 按 2.1.4 线性范围和标准曲线项下方法, 自“水浴挥干, 放冷, 加入 0.5 mL 10% 变色酸溶液”始操作, 依法测定吸光值, 计算各五味子药材中的总木脂素的含量(以五味子酯甲计)。

### 2.2 五味子酯甲和甲素含量测定<sup>[5-6]</sup>

**2.2.1 色谱条件及系统适应性** 色谱柱 Diamon-sil<sup>TM</sup> C<sub>18</sub>(4.6 mm ×250, 5 μm); 柱温 25; 流动相乙腈-水(77:23); 流速  $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ ; 检测波长 254 nm。在上述条件下, 药材中五味子酯甲和甲素与其他组分均能达到基线分离(图 1)。最小理论塔板数以酯甲色谱峰计 2 000, 以甲素色谱峰计 3 000。

**2.2.2 混合对照品溶液的制备** 取五味子甲素对照品约 12.1 mg, 称定, 置 25 mL 量瓶中, 加甲醇溶解

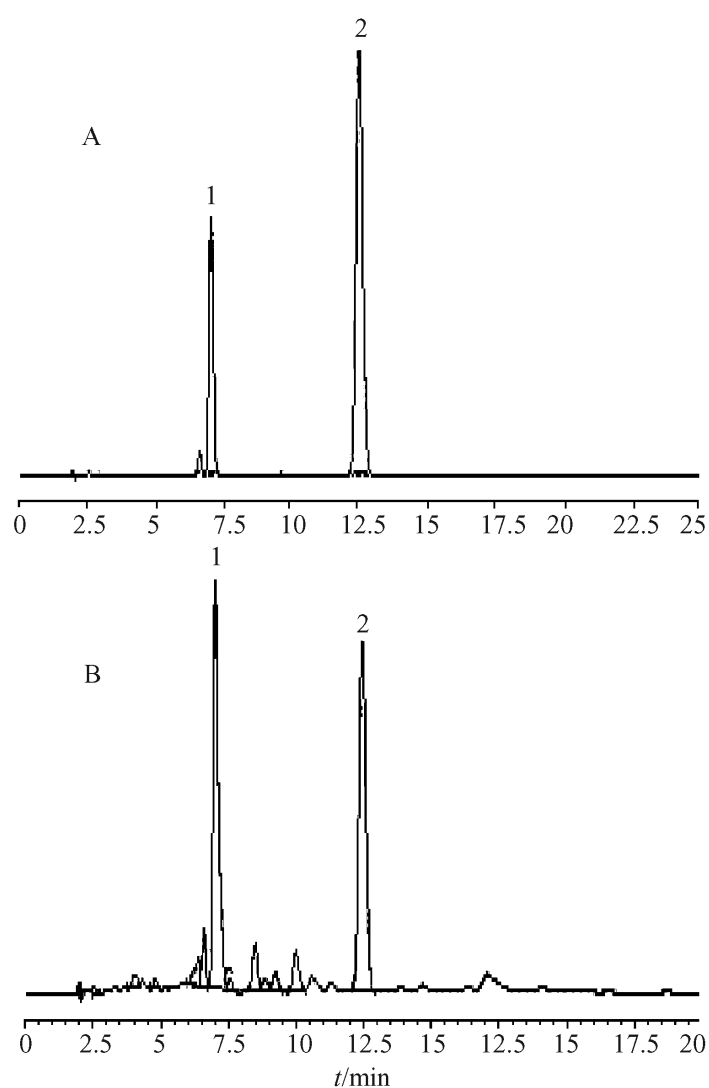


图 1 五味子药材 HPLC

(1. 五味子酯甲; 2. 五味子甲素; A. 对照品; B. 五味子药材)

并稀释至刻度, 密塞, 摇匀, 得甲素对照品贮备液 ( $0.484 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ); 取酯甲对照品  $6.25 \text{ mg}$ , 称定, 置  $25 \text{ mL}$  量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 密塞, 摇匀, 得酯甲对照品贮备液 ( $0.25 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ); 分别取甲素对照品贮备液  $4.0 \text{ mL}$ 、酯甲对照品贮备液  $4.0 \text{ mL}$  置量瓶中, 密塞, 摇匀, 即得五味子酯甲和甲素的混合对照品溶液。

**2.2.3 样品溶液的制备** 取过 20 目筛的五味子药材粉约  $0.2 \text{ g}$ , 称定质量, 置具塞锥形瓶中, 加入  $20 \text{ mL}$  正己烷, 称重, 超声  $30 \text{ min}$ , 取出, 称重, 补足减失质量, 摇匀, 过滤, 取续滤液  $10 \text{ mL}$ , 水浴蒸干, 残渣用甲醇溶解并转移至  $10 \text{ mL}$  量瓶中, 甲醇稀释至刻度, 密塞, 摇匀。进样前过  $0.22 \mu\text{m}$  滤膜, 进样量  $20 \mu\text{L}$ 。

**2.2.4 线性范围试验** 移取混合对照品溶液  $0.4, 0.8, 1.2, 1.6, 2.0 \text{ mL}$ , 置  $5 \text{ mL}$  量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 密塞, 摇匀, 进样  $20 \mu\text{L}$ , 按上述色谱条件测定。以进样量 ( $\mu\text{g}$ ) 为横坐标, 峰面积为纵坐标, 绘制标准曲线。结果表明五味子酯甲在进样质量为  $0.20 \sim 1.00 \mu\text{g}$ 、五味子甲素在进样量为  $0.387 \sim 1.94 \mu\text{g}$  呈良好的线性关系。得回归方程为  $Y_{\text{酯甲}} = 619.97X + 6.48, r = 0.9999$ ;  $Y_{\text{甲素}} = 834.62X + 15.927, r = 0.9999$ 。

**2.2.5 精密度试验** 取同浓度的五味子混合对照品溶液, 在上述色谱条件下重复进样 5 次, 测得五味子酯甲的峰面积分别为  $626.9, 624.8, 624.7, 627.3, 625.5$ , RSD  $0.19\%$ ; 甲素的峰面积分别为  $1632.4, 1627, 1627.1, 1633.1, 1629$ , RSD  $0.18\%$ , 均符合精密度要求 (RSD  $2\%$ )。

**2.2.6 样品稳定性试验** 取样品溶液分别在  $0, 2, 4, 6, 8, 12, 24, 80 \text{ h}$  按上述条件色谱进样测得五味子酯甲的峰面积分别为  $496.2, 496.6, 495.2, 488.9, 489.4, 494.2, 493.0$ , RSD  $0.71\%$ ; 五味子甲素的峰面积分别为  $545.0, 543.5, 541.3, 541.0, 541.5, 546.2, 547.5$ , RSD  $0.50\%$ 。表明五味子酯甲和甲素在  $80 \text{ h}$  内稳定性良好。

**2.2.7 重复性试验** 称取同一样品 6 份, 称定, 按 **2.2.3** 项下方法制得供试液, 在上述色谱条件下测定峰面积, 计算五味子酯甲的含量分别为  $0.45\%, 0.45\%, 0.43\%, 0.43\%, 0.43\%, 0.46\%$ , RSD  $3.02\%$ ; 甲素的含量分别为  $0.36\%, 0.35\%, 0.35\%, 0.35\%, 0.35\%, 0.36\%$ , RSD  $3.69\%$ , 符合重复性试验要求 (RSD  $5\%$ )。

**2.2.8 加样回收率试验** 采用加样回收法, 取已知含量的五味子药材粉约  $80 \text{ mg}$ , 称定质量, 分别添加五味子酯甲对照品  $349.3 \mu\text{g}$  和甲素对照品  $280.7 \mu\text{g}$ , 按照 **2.2.3** 项下的方法操作, 按上述色谱条件测定, 计算得五味子酯甲平均回收率为  $97.1\%$ , RSD  $1.67\%$ ; 五味子甲素平均回收率为  $101.3\%$ , RSD

表 1 五味子酯甲、五味子甲素回收率试验

No.	样品中含量 / $\mu\text{g}$		加入量 / $\mu\text{g}$		测得总量 / $\mu\text{g}$		回收率 / %	
	酯甲	甲素	酯甲	甲素	酯甲	甲素	酯甲	甲素
1	334.5	272.3	349.3	280.7	668.7	547.5	95.7	98.0
2	350.0	284.9	349.3	280.7	685.0	574.5	95.9	103.2
3	313.0	254.8	349.3	280.7	652.9	530.4	97.3	98.2
4	354.8	288.8	349.3	280.7	703.2	580.0	99.7	103.7
5	356.9	290.5	349.3	280.7	695.6	581.0	97.0	103.5

2.90%，符合回收率要求（回收率为 95.0% ~ 105.0%），见表 1。

**2.2.9** 各五味子药材中五味子酯甲和甲素含量测定 分别称取各五味子药材约 0.2 g，称定质量，按 **2.2.3** 项下方法制得供试液，在上述色谱条件下测定峰面积，计算各样品中五味子酯甲和甲素的含量，结果见表 2。

表 2 各五味子药材中总木脂素和五味子酯甲、甲素含量测定 %

成分	生南五味子 制南五味子 生北五味子 制北五味子			
总木脂素	2.88	2.46	8.33	7.09
	3.79	3.03	9.60	6.58
	2.80	2.75	8.21	4.91
五味子酯甲	0.50	0.44	0.53	0.12
	0.48	0.47	0.10	0.03
	0.05	0.12	0.07	0.08
五味子甲素	0.42	0.35	0.42	0.17
	0.37	0.34	0.15	0.11
	0.16	0.13	0.16	0.05

### 3 讨论

由结果可知，本实验所用的南、北五味子药材的总木脂素及五味子酯甲、甲素的含量在不同品种以及批次之间均存在差异，北五味子总木脂素的含量高于南五味子。在同种五味子之间，由于产地及批次的不同，各成分的含量也各不相同，南、北五味子中酯甲和甲素的含量均以第一批产地为陕西、辽宁药材中的含量为最高。除第三批外，南五味子中酯甲和甲素的比例约为 1:0.8，北五味子中两者的比例则相反，以甲素的含量为高。

结果显示，无论南、北五味子，制品中酯甲和甲

素的含量均比相应生品低，提示炮制对五味子，尤其是北五味子中酯甲和甲素的含量有较大的影响。因此，临床在选用五味子治疗疾病时，如主要是利用它所含的木脂素类成分，则应考虑是否有必要对其进行炮制。

在五味子样品溶液制备过程中，考察了甲醇超声直接过膜进样、正己烷超声、正己烷回流提取等方法对五味子酯甲和甲素分离、含量高低的影响，发现甲醇超声提取的样品溶液中，甲素能得到很好的分离，但酯甲和其他成分未能分离；正己烷提取物中，五味子酯甲、甲素和其他组分皆能达到基线分离；回流提取物中酯甲和甲素的含量高于超声提取样品中两者的含量，但差别不是很大。综合考虑，本文选取了环己烷超声为提取方法。

### [参考文献]

- [1] 中国药典. 一部[S]. 2000: 48, 197.
- [2] 陈耀祖, 岳建民, 华苏明, 等. 华中五味子挥发性成分的研究[J]. 有机化学, 1987, (6): 469.
- [3] 宋万志. 五味子科植物的木脂素类成分及生物活性与国内资源[J]. 天然产物研究与开发, 1991, 3(1): 68.
- [4] Zhao Jing-feng, Li Liang, Shen Bao-chun, et al. Studies on the chemical constituents of schisandra( ) [J]. J Yunnan Uni, 1999, 21(4): 314.
- [5] Mo Zhi-jiang, Chen ying, Mo Ke-yuan. Determination of deoxyschisandrin in *Schisandrin chinensis* (Turcz) baill. by RP-HPLC[J]. China JMAP, 2001, 18(5): 355.
- [6] 胡晓炜. 七味都气丸中五味子酯甲、五味子甲素含量的 RP-HPLC 法测定[J]. 中国药师, 2003, 6(9): 555.

[责任编辑 顾雪竹]