醋五味子配方颗粒的特征图谱建立及5种成分的含量测定Δ

刘子祯[1*]，姜　蕊[2#]，许冬瑾[1]（1.康美药业股份有限公司，广东 深圳　518000；2.保定市第一中心医院中药药剂科，河北 保定　071000）

中图分类号　R286；R927.1　　**文献标志码**　A　　**文章编号**　1001-0408（2021）12-1453-07
DOI　10.6039/j.issn.1001-0408.2021.12.08

摘　要　目的：建立不同产地五味子制醋五味子配方颗粒的特征图谱，并测定其中5种成分的含量。方法：采用高效液相色谱法（HPLC）。色谱柱为Agilent ZORBAX SB-C_{18}，流动相为乙腈-水（梯度洗脱），柱温为30 ℃，流速为1.0 mL/min，检测波长为220 nm，进样量为10 μL。以五味子醇甲为参照，绘制19批醋五味子配方颗粒的HPLC特征图谱；采用《中药色谱指纹图谱相似度评价系统（2012版）》进行相似度评价并确定共有峰；采用相同方法测定五味子醇甲、五味子醇乙、当归酰基戈米辛H、五味子甲素、五味子乙素的含量。结果：19批醋五味子配方颗粒共有8个共有峰，相似度均在0.996以上；共指认五味子醇甲、为五味子醇乙、当归酰基戈米辛H、五味子甲素、五味子乙素等5个共有峰。五味子醇甲、五味子醇乙、当归酰基戈米辛H、五味子甲素、五味子乙素检测进样量的线性范围分别为0.030～0.380、0.016～0.195、0.009～0.115、0.006～0.078、0.011～0.138 μg（r>0.999）；精密度、稳定性（24 h）、重复性试验的RSD均小于2%；平均加样回收率分别为99.84%、99.54%、99.28%、100.03%、100.27%（RSD小于1.4%，n=9）。19批样品中上述5种成分的平均含量分别为0.15%～0.36%、0.02%～0.16%、0.02%～0.06%、0.02%～0.08%、0.08%～0.17%，其中河北产样品S18、S19中的5种成分总含量较高，S16、S17样品总含量较低，RSD为42%，其余样品（S1～S15）总含量的RSD为12%，低于河北产，以吉林产样品含量较高。结论：所建特征图谱及含量测定方法的专属性强、重复性好，可用于评价醋五味子配方颗粒的质量；辽宁、吉林、黑龙江等3省产五味子制醋五味子配方颗粒的总含量波动较河北省低，以吉林省产质量最佳。
关键词　醋五味子；配方颗粒；高效液相色谱法；特征图谱；含量测定

Establishment of Characteristic Pattern of Vinegar-processed *Schisandra chinensis* Formula Granules and Content Determination of 5 Components

LIU Zizhen[1], JIANG Rui[2], XU Dongjin[1] (1. Kangmei Pharmaceutical Co., Ltd., Guangdong Shenzhen 518000, China; 2. Dept. of TCM Pharmacy, Baoding First Central Hospital, Hebei Baoding 071000, China)

ABSTRACT　OBJECTIVE: To establish characteristic pattern of vinegar-processed product of *Schisandra chinensis* formula granules from different habitats, and to determine the contents of 5 components. METHODS: HPLC method was adopted. The determination was performed on Agilent ZORBAX SB-C_{18} column with mobile phase consisted of acetonitrile-water (gradient elution) at the flow rate of 1.0 mL/min. The column temperature was set at 30 ℃, and detection wavelength was set at 220 nm. The sample size was 10 μL. Using schisandrin as reference, HPLC characteristic pattern of 19 batches of vinegar-processed *S. chinensis* formula granules was drawn. The similarity evaluation was performed with *Similarity Evaluation System of TCM Chromatographic Fingerprints* (2012 edition), and common peaks were confirmed. The contents of schisandrin, schisandrol, angeloylgomisin H, schizandrin and deoxyschizandrin were determined by same method. RESULTS: There were 8 common peaks in 19 batches of vinegar-processed *S. chinensis* formula granules, and the similarities were all above 0.996; five of them were identified as schisandrin, schisandrol, angeloylgomisin H, schizandrin and deoxyschizandrin, respectively. The linear range of schisandrin, schisandrol, angeloylgomisin H, schizandrin and deoxyschizandrin were 0.030-0.380, 0.016-0.195, 0.009-0.115, 0.006-0.078 and 0.011-0.138 μg (r>0.999), respectively. RSDs of precision, stability (24 h) and reproducibility tests were all lower than 2%. Average recoveries were 99.84%, 99.54%, 99.28%, 100.03%, 100.27% (RSD<1.4%, n=9). Average contents of five components in 19 batches of samples were in the range of 0.15%-0.36%, 0.02%-0.16%, 0.02%-0.06%, 0.02%-0.08% and 0.08%-0.17%, respectively; among them, total contents of five components in sample S18 and S19 from Hebei province were relatively high, while those were relatively low in sample S16 and S17 (RSD=42%); RSD of total content in other samples (S1-S15) was 12%, and was lower than that of Hebei province; total content of five components were higher in sample from Jilin province. CONCLUSIONS: Established characteristic pattern and method for the content determination are specific and reproducible, and can be used for the quality evaluation of vinegar-processed *S. chinensis* formula granules. The total content fluctuation of vinegar-processed product of *S. chinensis* formula granules from Liaoning, Jilin and Heilongjiang provinces is lower than that in Hebei province, and the quality of vinegar-processed *S. chinensis* formula granules from Jilin province is the best.
KEYWORDS　Vinegar-processed *Schisandra chinensis*; Formula granules; HPLC; Characteristic pattern; Content determination

Δ 基金项目：国家中药标准化项目（No.ZYB2H-Y-GD-13）
* 主管中药师，硕士。研究方向：中药质量标准。E-mail：lzz332@126.com
# 通信作者：主管中药师，硕士。研究方向：中药合理用药。E-mail：jiangrui54264@126.com

醋五味子是2020年版《中国药典》(一部)的收载品种，为木兰科植物五味子*Schisandra chinensis*(Turcz.)Baill.干燥成熟果实的醋制品[1]。醋五味子味酸、甘，性温，归肺、心、肾经，具有收敛固涩、益气生津、补肾宁心之功效，常用于治疗内热消渴、心悸失眠等症[1-2]。现代研究表明，五味子主要含有木脂素、多糖、挥发油等化学成分，其中木脂素类成分是五味子发挥多种功效的有效成分，具有镇静催眠、降血脂、抗肿瘤、抗人类免疫缺陷病毒等作用[3-4]。有研究还发现，五味子中木脂素类成分以五味子醇甲、五味子醇乙、五味子甲素、五味子乙素为主，这4种成分与当归酰基戈米辛H均具有降低肝炎患者血清谷丙转氨酶的作用，同时可显著抑制15-脂氧合酶、环氧合酶1和环氧合酶2的活性，具有一定的抗炎作用[4-6]。其中，五味子醇甲为2020年版《中国药典》(一部)收录的五味子及其醋制品的唯一含量测定指标成分[1]。

中药配方颗粒是由中药饮片经提取、浓缩制成的、供中医临床配方用的颗粒剂[7]，由于其失去了传统饮片的外观性状，用肉眼难以鉴别，其质量也不易评价[8-10]。目前，关于醋五味子配方颗粒的质量评价研究主要以其有机酸类(如原儿茶酸、绿原酸)及木脂素类(如五味子甲素、五味子乙素)成分为评价指标，且多集中于某单类成分中1种或2种化合物的含量测定分析[11-12]。然而，由于中药成分复杂，单一指标成分的含量测定难以评价配方颗粒的整体质量，而多种指标成分的含量测定则更为全面[4]。中药特征图谱是一种从整体上控制中药质量的方法，能够反映中药化学成分信息的全貌，既能鉴别成分类型，又能评价中药质量的均一性和稳定性[9-11]。因此，建立中药配方颗粒的特征图谱，能够体现其化学特征信息，对其质量控制具有重要意义，且目前也尚未有醋五味子配方颗粒特征图谱的相关研究。基于此，本研究采用高效液相色谱法(HPLC)建立了醋五味子配方颗粒的特征图谱；同时，采用相同方法检测了其中五味子醇甲、五味子醇乙、当归酰基戈米辛H、五味子甲素、五味子乙素的含量，旨在为醋五味子配方颗粒的质量评价及其应用提供参考。

1 材料

1.1 主要仪器

本研究所用主要仪器有Waters 2695型Alliance HPLC仪及配套的G1311B型四元泵、G1367E型自动进样器、G1316A型二极管阵列检测器、G1330B型柱温箱、Empower 2色谱工作站(美国Waters公司)，岛津20AT型HPLC仪及配套的2个LC-20AT型溶液传输泵、DGU-20A3型真空脱气机、SPD-M20A型二极管阵列检测器、SIL-20A型自动进样器、CTO-20A型柱温度箱、CBM-20A型系统控制器、LC Solution Version 1.2中文工作站(日本Shimadzu公司)，Agilent 1260型HPLC仪及配套的G1311B型四元泵、G1367E型自动进样器、G1316A型二极管阵列检测器、G1330B型柱温箱、Open LAB C.01.02色谱工作站(美国Agilent公司)，Arium® Pro DI型超纯水系统、BP 211D型十万分之一天平(德国Sartorius公司)，FW80型高速万能粉碎机(天津泰斯特仪器有限公司)，KQ5200B型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)等。

1.2 主在药品与试剂

五味子醇甲对照品(批号110857-201815，纯度99.7%)、五味子甲素对照品(批号110764-201915，纯度99.5%)、五味子乙素对照品(批号110765-201813，纯度99.1%)、五味子对照药材(批号120922-201610)均购自中国食品药品检定研究院；五味子醇乙对照品(批号ST05480120，纯度≥98.0%)、当归酰基戈米辛H对照品(批号ST17510105，纯度≥98.0%)均购自上海诗丹德标准技术服务有限公司；糊精(批号20201206C)购自曲阜市天利药用辅料有限公司；乙腈、甲醇均购自赛默飞世尔科技有限公司，均为色谱纯；水为纯化水。

19批五味子药材，经康美药业股份有限公司质量管理中心刘茂贵主任药师鉴定为木兰科植物五味子*S. chinensis*(Turcz.)Baill.的干燥成熟果实。上述药材按2020年版《中国药典》(四部)通则0213“醋蒸法”制得醋五味子饮片后[13]，再在康美药业股份有限公司配方颗粒生产车间内进行提取、浓缩、干燥，制成19批醋五味子配方颗粒(编号S1～S19)。醋五味子配方颗粒及药材来源信息见表1。

表1 醋五味子配方颗粒及药材来源信息

Tab 1 Sources of vinegar-processed *S. chinensis* granules and medicinal materials

配方颗粒编号	配方颗粒批号	药材产地	药材批号
S1	1908001	辽宁省本溪市	20180006
S2	1908002	辽宁省本溪市	20180007
S3	1908003	辽宁省本溪市	20180008
S4	1908004	吉林省通化市	20180009
S5	1908005	吉林省通化市	20180010
S6	1908006	吉林省通化市	20180011
S7	1908007	吉林省延边市	20180012
S8	1908008	吉林省延边市	20180013
S9	1908009	吉林省延边市	20180014
S10	1908010	黑龙江省牡丹江市	20180015
S11	1908011	黑龙江省牡丹江市	20180016
S12	1908012	黑龙江省牡丹江市	20180017
S13	1908013	黑龙江省黑河市	20180018
S14	1908014	黑龙江省黑河市	20180019
S15	1908015	黑龙江省黑河市	20180020
S16	1908016	河北省唐山市	20180021
S17	1908017	河北省唐山市	20180022
S18	1908018	河北省唐山市	20180023
S19	1908019	河北省唐山市	20180024

2 方法与结果

2.1 特征图谱的建立

2.1.1 色谱条件 以Agilent ZORBAX SB-C_{18}(250 mm×4.6 mm，5 μm)为色谱柱，以乙腈(A)-水(B)为流动

相进行梯度洗脱（0～25 min，45% A→55% A；25～30 min，55% A→65% A；30～45 min，65% A→100% A），柱温为30 ℃，流速为1.0 mL/min，检测波长为220 nm，进样量为10 μL。

2.1.2　对照溶液的制备　（1）取五味子对照药材粉碎，取粉末（过三号筛）约10 g，精密称定，置于锥形瓶中，加水50 mL，回流提取30 min，滤过，滤液蒸干。残渣加甲醇50 mL，称定质量，超声（功率250 W，频率20 kHz，下同）处理30 min，放冷，再次称定质量，用甲醇补足减失的质量，滤过，取续滤液，作为对照药材溶液。（2）另取五味子醇甲、五味子醇乙、当归酰基戈米辛H、五味子甲素、五味子乙素对照品各适量，加甲醇制成质量浓度均为25 μg/mL的混合对照品溶液，于4 ℃下冷藏，备用。

2.1.3　供试品溶液的制备　取醋五味子配方颗粒，研细，取粉末0.5 g，置于锥形瓶中，加甲醇50 mL，称定质量，超声处理30 min，放冷，再次称定质量，用甲醇补足减失的质量，滤过，取续滤液，作为供试品溶液。

2.1.4　阴性对照溶液的制备　取辅料糊精0.25 g，按“2.1.3”项下方法处理，取续滤液，作为阴性对照溶液。

2.1.5　精密度试验　取“2.1.3”项下供试品溶液（编号S1）适量，按“2.1.1”项下色谱条件连续进样测定6次，以五味子醇甲为参照，计算各共有峰的相对保留时间和相对峰面积。结果，8个共有峰相对保留时间的RSD均不高于0.2%（n=6），相对峰面积的RSD均不高于1.2%（n=6），表明方法精密度良好。

2.1.6　重复性试验　精密称取醋五味子配方颗粒（编号S1）适量，每份约0.5 g，共6份，按“2.1.3”项下方法制备供试品溶液，再按“2.1.1”项下色谱条件进样测定，以五味子醇甲为参照，计算各共有峰的相对保留时间和相对峰面积。结果，8个共有峰相对保留时间的RSD均不高于0.3%（n=6），相对峰面积的RSD均不高于1.5%（n=6），表明方法重复性良好。

2.1.7　稳定性试验　取“2.1.3”项下供试品溶液（编号S1）适量，分别于25 ℃下放置0、2、4、8、12、16、20、24 h时按“2.1.1”项下色谱条件进样测定，以五味子醇甲为参照，计算各共有峰的相对保留时间和相对峰面积。结果，8个共有峰相对保留时间的RSD均不高于0.6%（n=8），相对峰面积的RSD均不高于2.0%（n=8），表明供试品溶液于25 ℃下放置24 h内稳定性良好。

2.1.8　特征图谱的建立　分别取19批醋五味子配方颗粒（编号S1～S19），约0.5 g，精密称定，按“2.1.3”项下方法制备供试品溶液，再按“2.1.1”项下色谱条件进样测定，采用《中药色谱指纹图谱相似度评价系统（2012版）》，以S1样品图谱为参照，采用中位数法，设置时间窗为0.4，生成醋五味子配方颗粒的对照图谱R（图1）和19批醋五味子配方颗粒的叠加特征图谱（图2）。由图1、图2可知，19批醋五味子配方颗粒共有8个共有峰。

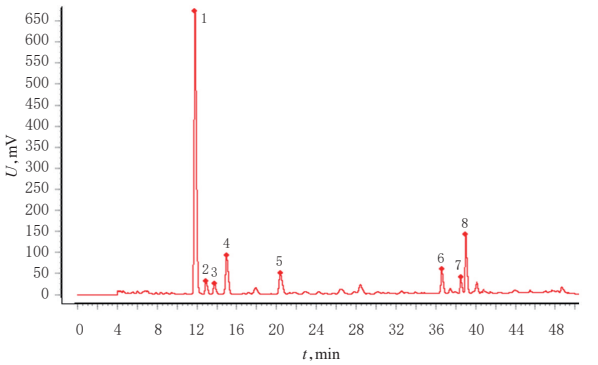


图1　醋五味子配方颗粒的对照图谱R

Fig 1　Reference chromatogram R for vinegar-processed *S. chinensis* formula granules

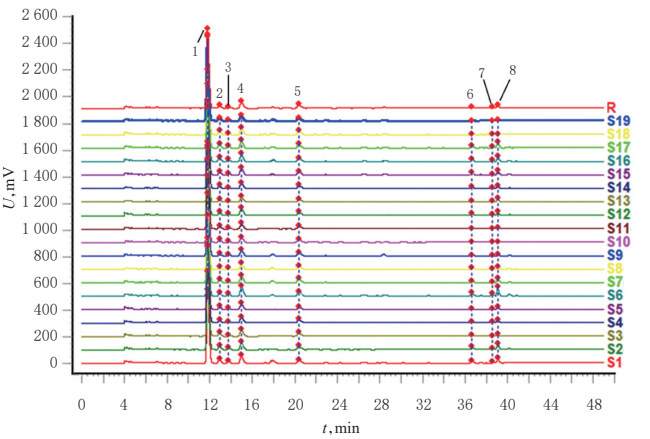


图2　19批醋五味子配方颗粒的HPLC叠加特征图谱

Fig 2　HPLC superimposed characteristic pattern of 19 batches of vinegar-processed *S. chinensis* formula granules

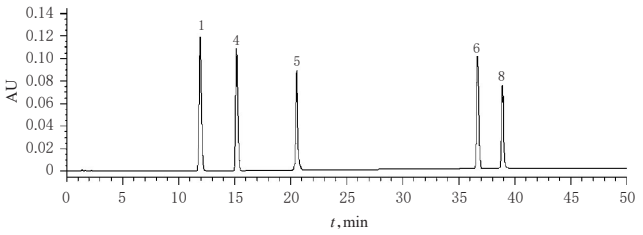
2.1.9　相似度评价　将19批醋五味子配方颗粒和五味子对照药材[取“2.1.2（1）”项下对照药材溶液，按同一色谱条件测得]的色谱图导入《中药色谱指纹图谱相似度分析软件（2012版）》，采用全谱峰匹配，以对照图谱R为参照，计算各样品图谱与对照图谱的相似度。结果，各样品图谱与对照图谱R的相似度均在0.996以上，表明生产工艺稳定。五味子对照药材与对照图谱R的相似度为0.999，表明对照图谱R能够较全面地反映五味子对照药材的化学特征信息。19批醋五味子配方颗粒和五味子对照药材的相似度评价结果见表2。

2.1.10　共有峰指认　19批醋五味子配方颗粒共有8个共有峰，通过与混合对照品[图3，取“2.1.2（2）”项下混合对照品溶液，按同一色谱条件测得]对比，共指认出5个共有峰，分别为峰1（五味子醇甲）、峰4（五味子醇乙）、峰5（当归酰基戈米辛H）、峰6（五味子甲素）、峰8（五味子乙素）。其中，峰1的响应最强，且该峰所对应的成分五味子醇甲为2020年版《中国药典》（一部）醋五味子含量测定项的指标成分[1]，故以峰1为参照，计算其他共有峰的相对保留时间和相对峰面积，结果见表3、表4。

表2　19批醋五味子配方颗粒和五味子对照药材的相似度评价结果

Tab 2　Similarity evaluation of 19 batches of vinegar-processed *S. chinensis* formula granules and reference medicinal material

编号	相似度	编号	相似度
S1	1.000	S11	0.999
S2	0.999	S12	1.000
S3	1.000	S13	1.000
S4	1.000	S14	1.000
S5	1.000	S15	1.000
S6	0.997	S16	1.000
S7	1.000	S17	0.999
S8	1.000	S18	0.999
S9	1.000	S19	0.999
S10	0.999	五味子对照药材	0.999



注：1.五味子醇甲；4.五味子醇乙；5.当归酰基戈米辛H；6.五味子甲素；8.五味子乙素

Note：1. schisandrin；4. schisandrol；5. angeloylgomisin H；6.schizandrin；8. deoxyschizandrin

图3　五味子醇甲等5种成分混合对照品的高效液相色谱图

Fig 3　HPLC chromatogram of mixed control of 5 components as schisandrin

由表3、表4可知，各共有峰的相对保留时间均在其均值的±5%内，且波动较小（RSD小于1%）。因此，各共有峰的相对保留时间的均值可作为醋五味子配方颗粒特征图谱的规定值，且规定其波动在±5%内[14]。共有峰的相对峰面积波动较大（RSD超过15%），尤其是峰6（五味子甲素）、峰7、峰8（五味子乙素），表明在假设所有样品中峰1峰面积相同的条件下，峰6、峰7、峰8所对应的成分含量值的离散程度均较大。

2.2　五味子醇甲等5种成分的含量测定

2.2.1　色谱条件　同“2.1.1”项下。

2.2.2　对照品溶液的制备　（1）取五味子醇甲、五味子醇乙、当归酰基戈米辛H、五味子甲素、五味子乙素对照品各适量，加甲醇制成质量浓度分别为15.2、7.8、4.6、3.1、5.5 μg/mL的混合对照品溶液，于4 ℃下冷藏，备用。（2）另取上述5种对照品18.48、6.32、3.26、3.14、9.33 mg，加甲醇制成质量浓度分别为1 848、632、326、314、933 μg/mL的单一对照品溶液，于4 ℃下冷藏，备用。

2.2.3　对照药材、供试品和阴性对照溶液的制备　分别

表3　19批醋五味子配方颗粒特征图谱共有峰的相对保留时间

Tab 3　Relative retention time of common peaks for characteristic pattern of 19 batches of vinegar-processed *S. chinensis* formula granules

编号	峰1	峰2	峰3	峰4	峰5	峰6	峰7	峰8
S1	1.00	1.09	1.16	1.27	1.72	3.09	3.25	3.29
S2	1.00	1.09	1.16	1.27	1.72	3.09	3.25	3.30
S3	1.00	1.09	1.16	1.27	1.72	3.11	3.27	3.31
S4	1.00	1.09	1.16	1.27	1.72	3.10	3.26	3.31
S5	1.00	1.09	1.16	1.27	1.72	3.10	3.26	3.31
S6	1.00	1.09	1.16	1.27	1.72	3.11	3.27	3.31
S7	1.00	1.09	1.16	1.27	1.72	3.10	3.26	3.30
S8	1.00	1.09	1.16	1.27	1.72	3.10	3.26	3.30
S9	1.00	1.09	1.16	1.27	1.72	3.09	3.25	3.29
S10	1.00	1.09	1.16	1.27	1.72	3.11	3.27	3.32
S11	1.00	1.09	1.16	1.27	1.72	3.11	3.27	3.31
S12	1.00	1.09	1.16	1.27	1.72	3.10	3.26	3.30
S13	1.00	1.09	1.16	1.27	1.72	3.09	3.25	3.29
S14	1.00	1.09	1.16	1.27	1.72	3.09	3.26	3.30
S15	1.00	1.09	1.16	1.27	1.72	3.10	3.26	3.30
S16	1.00	1.09	1.16	1.27	1.72	3.09	3.25	3.29
S17	1.00	1.09	1.16	1.27	1.72	3.10	3.26	3.30
S18	1.00	1.09	1.16	1.27	1.72	3.10	3.27	3.31
S19	1.00	1.09	1.16	1.27	1.72	3.09	3.26	3.30
平均值	1.00	1.09	1.16	1.27	1.72	3.10	3.26	3.30
RSD,%	0	0	0	0	0	0.25	0.23	0.26

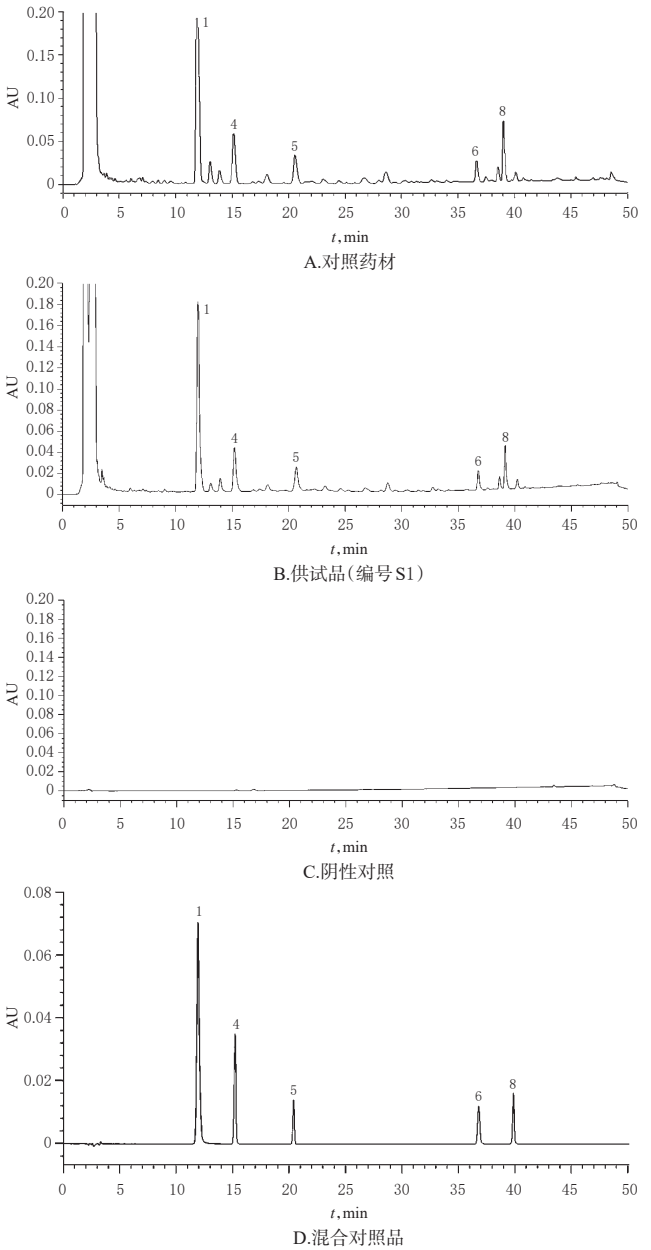
表4　19批醋五味子配方颗粒特征图谱共有峰的相对峰面积

Tab 4　Relative peak areas of common peaks for characteristic paften of 19 batches of vinegar-processed *S. chinensis* formula granules

编号	峰1	峰2	峰3	峰4	峰5	峰6	峰7	峰8
S1	1.00	0.06	0.03	0.13	0.08	0.03	0.01	0.05
S2	1.00	0.06	0.03	0.13	0.08	0.04	0.02	0.06
S3	1.00	0.05	0.02	0.10	0.07	0.01	0.01	0.02
S4	1.00	0.05	0.02	0.10	0.07	0.01	0.01	0.03
S5	1.00	0.06	0.03	0.13	0.07	0.02	0.01	0.03
S6	1.00	0.05	0.04	0.16	0.09	0.04	0.02	0.09
S7	1.00	0.05	0.02	0.10	0.07	0.02	0.01	0.04
S8	1.00	0.03	0.02	0.11	0.07	0.02	0.01	0.03
S9	1.00	0.03	0.02	0.10	0.07	0.01	0.01	0.02
S10	1.00	0.04	0.02	0.09	0.06	0.01	0.01	0.01
S11	1.00	0.05	0.02	0.09	0.06	0.01	0.01	0.01
S12	1.00	0.06	0.03	0.13	0.07	0.02	0.01	0.04
S13	1.00	0.06	0.03	0.12	0.07	0.02	0.01	0.05
S14	1.00	0.05	0.02	0.09	0.07	0.02	0.01	0.03
S15	1.00	0.06	0.03	0.13	0.08	0.03	0.01	0.05
S16	1.00	0.06	0.03	0.13	0.08	0.03	0.01	0.05
S17	1.00	0.06	0.03	0.13	0.08	0.04	0.02	0.06
S18	1.00	0.04	0.01	0.08	0.06	0.01	0.01	0.01
S19	1.00	0.05	0.02	0.09	0.06	0.01	0.01	0.01
平均值	1.00	0.05	0.02	0.11	0.07	0.02	0.01	0.04
RSD,%	0	19.47	28.16	18.91	11.65	51.01	31.86	57.11

同“2.1.2(1)”“2.1.3”“2.1.4”项下。

2.2.4 专属性考察 取上述对照药材溶液、供试品溶液、阴性对照溶液和“2.2.2(2)”项下的混合对照品溶液各适量，按“2.2.1”项下色谱条件进样测定，记录色谱图。结果，五味子对照药材、供试品、混合对照品色谱图的基线均平稳，色谱峰分离度、对称性良好，供试品中各色谱峰与对照品各对应色谱峰的保留时间基本相同，且阴性对照无干扰。五味子对照药材等4种溶液的高效液相色谱见图4。



注：1.五味子醇甲；4.五味子醇乙；5.当归酰基戈米辛H；6.五味子甲素；8.五味子乙素

Note：1. schisandrin；4. schisandrol；5. angeloylgomisin H；6. schizandrin；8. deoxyschizandrin

图4 五味子对照药材等4种溶液的高效液相色谱图

Fig 4 HPLC chromatograms of 4 kinds of solutions as *S. chinensis* reference substance

2.2.5 线性关系考察 取“2.2.2(1)”项下混合对照品溶液，按“2.2.1”项下色谱条件分别进样2、4、8、15、20、25 μL，记录峰面积。以各待测成分进样量（X，μg）为横坐标、峰面积（Y）为纵坐标进行线性回归，结果见表5。

表5 五味子醇甲等5种成分的回归方程与线性范围

Tab 5 Regression equations and linear ranges of 5 components as schisandrin

待测成分	回归方程	r	线性范围，μg
五味子醇甲	$Y=2.83\times10^6X-3.93\times10^6$	0.999 8	0.030～0.380
五味子醇乙	$Y=2.03\times10^6X-3.67\times10^6$	0.999 8	0.016～0.195
当归酰基戈米辛H	$Y=1.87\times10^6X-4.92\times10^5$	0.999 8	0.009～0.115
五味子甲素	$Y=2.26\times10^6X-4.80\times10^6$	0.999 9	0.006～0.078
五味子乙素	$Y=2.35\times10^6X-1.71\times10^5$	0.999 7	0.011～0.138

2.2.6 检测限与定量限考察 取“2.2.2(2)”项下单一对照品溶液，用甲醇稀释，按“2.2.1”项下色谱条件进样，以信噪比3∶1、10∶1分别计算检测限和定量限。结果，五味子醇甲、五味子醇乙、当归酰基戈米辛H、五味子甲素、五味子乙素的检测限分别为0.001 0、0.000 9、0.000 8、0.000 8、0.000 8 μg，定量限分别为0.002 8、0.002 9、0.002 0、0.001 7、0.002 3 μg。

2.2.7 精密度试验 取“2.2.2(1)”项下混合对照品溶液适量，按“2.2.1”项下色谱条件连续进样测定6次，记录峰面积。结果，五味子醇甲、五味子醇乙、当归酰基戈米辛H、五味子甲素、五味子乙素峰面积的RSD分别为0.03%、0.17%、0.06%、0.10%、0.09%（n=6），表明仪器精密度良好。

2.2.8 重复性试验 取醋五味子配方颗粒（编号S1），每份约0.5 g，共6份，按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液，再按“2.2.1”项下色谱条件进样测定，记录峰面积并按外标法计算样品中各待测成分的含量。结果，五味子醇甲、五味子醇乙、当归酰基戈米辛H、五味子甲素、五味子乙素含量的RSD分别为0.84%、1.01%、1.97%、1.32%、1.28%（n=6），表明方法重复性良好。

2.2.9 稳定性试验 取“2.2.3”项下供试品溶液（编号S1），分别于25 ℃下放置0、2、4、8、12、16、20、24 h时按“2.2.1”项下色谱条件进样测定，记录峰面积。结果，五味子醇甲、五味子醇乙、当归酰基戈米辛H、五味子甲素、五味子乙素峰面积的RSD分别为0.24%、0.16%、1.26%、0.63%、0.30%（n=8），表明供试品溶液于25 ℃下放置24 h内稳定性良好。

2.2.10 加样回收率试验 取醋五味子配方颗粒（编号S1），研细（过三号筛），取粉末，每份约0.5 g，共9份，分别精密加入“2.2.2(2)”项下各单一对照品溶液适量（加入量约为S1样品中待测成分已知量的0.8、1、1.2倍），自然挥干，按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液，再按“2.2.1”项下色谱条件进样测定，记录峰面积并计算加样

回收率，结果见表6。

表6　五味子醇甲等5种成分的加样回收率试验结果（n=9）

Tab 6　Results of recovery tests of 5 components as schisandrin（n=9）

待测成分	取样量，g	已知量，mg	加入量，mg	测得量，mg	加样回收率，%	平均加样回收率，%	RSD，%
五味子醇甲	0.470	1.034	0.827	1.847	98.31	99.84	1.28
	0.479	1.054	0.827	1.893	101.45		
	0.474	1.043	0.827	1.878	100.97		
	0.467	1.027	1.034	2.065	100.39		
	0.479	1.054	1.034	2.072	98.45		
	0.476	1.048	1.034	2.079	99.71		
	0.471	1.037	1.241	2.278	100.00		
	0.475	1.044	1.241	2.299	101.13		
	0.467	1.027	1.241	2.245	98.15		
五味子醇乙	0.469	0.376	0.301	0.678	100.33	99.54	1.39
	0.470	0.376	0.301	0.681	101.33		
	0.465	0.372	0.301	0.675	100.66		
	0.468	0.374	0.376	0.749	99.73		
	0.474	0.380	0.376	0.748	97.87		
	0.474	0.379	0.376	0.759	101.06		
	0.467	0.374	0.451	0.816	98.00		
	0.472	0.377	0.451	0.823	98.89		
	0.477	0.381	0.451	0.823	98.00		
当归酰基戈米辛H	0.480	0.192	0.150	0.340	98.67	99.28	1.28
	0.468	0.188	0.150	0.336	98.67		
	0.469	0.188	0.150	0.339	100.67		
	0.466	0.186	0.188	0.377	101.60		
	0.467	0.187	0.188	0.371	97.87		
	0.471	0.188	0.188	0.372	97.87		
	0.473	0.190	0.225	0.414	99.56		
	0.474	0.189	0.225	0.411	98.67		
	0.475	0.190	0.225	0.415	100.00		
五味子甲素	0.473	0.142	0.113	0.254	99.12	100.03	1.12
	0.477	0.143	0.113	0.256	100.00		
	0.472	0.141	0.113	0.252	98.23		
	0.471	0.141	0.141	0.284	101.42		
	0.477	0.143	0.141	0.283	99.29		
	0.474	0.142	0.141	0.282	99.29		
	0.469	0.141	0.169	0.312	101.18		
	0.467	0.140	0.169	0.311	101.18		
	0.465	0.140	0.169	0.310	100.59		
五味子乙素	0.468	0.515	0.413	0.928	100.00	100.27	1.31
	0.471	0.518	0.413	0.931	100.00		
	0.467	0.513	0.413	0.933	101.69		
	0.468	0.515	0.517	1.039	101.35		
	0.474	0.522	0.517	1.044	100.97		
	0.478	0.526	0.517	1.053	101.93		
	0.470	0.517	0.620	1.129	98.71		
	0.467	0.513	0.620	1.130	99.52		
	0.470	0.517	0.620	1.126	98.23		

2.2.11　耐用性试验　精密取醋五味子配方颗粒（编号S1），研细（过三号筛），取粉末约0.5 g，按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液，再按“2.2.1”项下色谱条件以不同HPLC仪（Waters 2695型、岛津20AT型、Agilent 1260型HPLC仪）、不同品牌色谱柱（Waters Symmetry C_{18}、Kromasil 100-5 C_{18}、Agilent ZORBAX SB-C_{18}；规格均为250 mm×4.6 mm，5 μm）、不同流速（0.8、1.0、1.2 mL/min）进样测定。结果，各待测成分峰面积的RSD均小于10%（n=6），符合2020年版《中国药典》（四部）通则9101的有关规定[13]。

2.2.12　样品含量测定　取19批醋五味子配方颗粒适量，按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液，再按“2.2.1”项下色谱条件进样测定，记录峰面积并按外标法计算样品中各待测成分的含量。各样品平行测定3次，取平均值，结果见表7。

表7　五味子醇甲等5种成分的含量测定结果（n=3，%）

Tab 7　Results of content determination of 5 components as schisandrin（n=3，%）

编号	五味子醇甲	五味子醇乙	当归酰基戈米辛H	五味子甲素	五味子乙素
S1	0.22	0.08	0.04	0.03	0.11
S2	0.24	0.09	0.05	0.03	0.13
S3	0.28	0.05	0.03	0.04	0.09
S4	0.25	0.06	0.03	0.05	0.12
S5	0.29	0.12	0.05	0.06	0.13
S6	0.24	0.10	0.04	0.05	0.09
S7	0.25	0.08	0.03	0.04	0.11
S8	0.31	0.06	0.05	0.06	0.13
S9	0.28	0.09	0.04	0.03	0.13
S10	0.25	0.05	0.04	0.04	0.10
S11	0.28	0.12	0.05	0.02	0.11
S12	0.24	0.04	0.02	0.02	0.13
S13	0.22	0.09	0.03	0.03	0.11
S14	0.21	0.08	0.04	0.02	0.12
S15	0.24	0.05	0.03	0.04	0.08
S16	0.15	0.04	0.03	0.02	0.08
S17	0.18	0.02	0.04	0.03	0.09
S18	0.32	0.16	0.06	0.08	0.12
S19	0.36	0.09	0.04	0.06	0.17

3　讨论

3.1　样品制备与色谱条件筛选

本课题组前期对不同溶剂（水、70%乙醇、稀乙醇、甲醇、50%甲醇）的提取效果进行了考察。结果，以甲醇超声提取30 min时所得色谱峰较多，故选择甲醇为提取溶剂。同时，本课题组又对不同流动相（甲醇-水、乙腈-水）体系的分离效果进行了比较。结果，与甲醇-水相比，以乙腈-水为流动相分离所得色谱峰的保留时间更短、系统压力更小，故选择乙腈-水为流动相。此外，本课题组进行了200～400 nm全波长扫描，发现当检测波长为220 nm时，色谱峰数量最多，故选择检测波长为220 nm。

3.2　特征图谱及相似度结果分析

本研究建立的醋五味子配方颗粒特征图谱，专属性强、稳定性高，适用于不同产地原料所制醋五味子配方

颗粒的分析。本研究从19批醋五味子配方颗粒的HPLC特征图谱中确定了8个共有峰，通过与混合对照品进行对比，共指认出其中5个共有峰，分别为五味子醇甲、五味子醇乙、当归酰基戈米辛H、五味子甲素、五味子乙素。此外，本研究中的个别共有峰的相对峰面积波动较大，如五味子甲素和五味子乙素，这可能与种植采收过程有关[15]，但仍有待后续进一步研究。19批醋五味子配方颗粒特征图谱、五味子对照药材图谱与对照图谱的相似度均超过0.996，表明对照图谱能够较全面地反映对照药材的化学特征信息，且辽宁、吉林、黑龙江、河北产五味子药材的化学成分信息相似。

3.3 含量测定结果分析

含量测定结果发现，S18、S19样品中5种成分总含量整体较高，而S16、S17样品总含量整体较低，这4批样品的药材均来自河北省唐山市，且4批样品中5种成分总含量的RSD约为42%，提示河北产五味子药材的质量不稳定，可能与采收期、加工方式有关[16]。其余样品（编号S1～S15）药材产地来自辽宁、吉林、黑龙江省，5种成分总含量的RSD约为12%，明显低于河北省，表明辽宁、吉林、黑龙江产五味子药材中5种成分总含量相对稳定，可能与这3省均是我国五味子的主产地、道地产区有关[17]。上述成分总含量由高到低依次为吉林延边产样品（编号S7～S9）≈吉林通化产样品（编号S4～S6）＞黑龙江牡丹江产样品（编号S10～S12）、辽宁本溪产样品（编号S1～S3）＞黑龙江黑河产样品（编号S13～S15）；且吉林延边产样品（编号S7～S9）、吉林通化产样品（编号S4～S6）中5种成分总含量的均值较高，黑龙江黑河产样品（编号S13～S15）中5种成分总含量的均值较低。此外，19批醋五味子配方颗粒的制备工艺、设备均相同，但所含的5种成分含量波动较大，在特征图谱峰面积也有所体现，这可能与原料药材的种植、采收、加工有关，有待后续进一步研究。

综上所述，所建特征图谱及含量测定方法的专属性强、重复性好，可用于评价醋五味子配方颗粒的质量；辽宁、吉林、黑龙江等3省产醋五味子配方颗粒的总含量波动较河北省低，以吉林省产质量最佳。

参考文献

[1] 国家药典委员会.中华人民共和国药典：一部[S]. 2020年版.北京：中国医药科技出版社，2020：68.

[2] 卫生部药政管理局.全国中药炮制规范[S]. 1988年版.北京：人民卫生出版社，1988：127.

[3] 马艳春，冯天甜，韩宇博，等.五味子的化学成分和药理研究进展[J].中医药学报，2020，48(11)：67-71.

[4] 陈舒妤，石婧婧，邹立思，等. UFLC-Q-Trap-MS/MS同时测定五味子中木脂素及有机酸类成分[J].中国中药杂志，2018，43(10)：2104-2111.

[5] ZHOU Y，MEN L H，SUN Y X，et al. Pharmacodynamic effects and molecular mechanisms of lignans from Schisandra chinensis Turcz.（Baill.），a current review[J]. Eur J Pharmacol，2021，892：173796.

[6] SZOPA A，DZIURKA M，WARZECHA A，et al. Targeted lignan profiling and anti-inflammatory properties of Schisandra rubriflora and Schisandra chinensis extracts[J]. Molecules，2018，23(12)：3103.

[7] 李学林，王柯涵，康欢，等.基于HPLC指纹图谱的黄柏配方颗粒汤剂与标准汤剂、传统汤剂对比研究[J].中草药，2020，51(1)：91-100.

[8] 刘祯，喻锦扬，周杰.中药配方颗粒上市后风险监测体系现状调查与分析[J].中国药物警戒，2019，16(8)：473-477.

[9] 李汉成，邓仙梅，彭孝鹏.中药配方颗粒标准化研究现状分析[J].中国中医药信息杂志，2017，24(7)：11-14.

[10] CHEN Y，JIANG E C，YAN J Z，et al. Validation of an analytical method using UPLC-MS/MS to quantify four bioactive components in rat plasma and its application to pharmacokinetic study of traditional and dispensing granules decoction of Ziziphi Spinosae Semen[J]. Biomed Chromatogr，2020，34(4)：e4797.

[11] 周燕园. HPLC测定醋五味子配方颗粒中的原儿茶酸和绿原酸[J].华西药学杂志，2014，29(6)：688-690.

[12] 叶绿萍，黄志俭，刘小意，等.北五味子配方颗粒中五味子甲素及乙素的含量测定[J].云南中医中药杂志，2011，32(8)：67-69.

[13] 国家药典委员会.中华人民共和国药典：四部[S]. 2020年版.北京：中国医药科技出版社，2020：31，480.

[14] 国家药典委员会.有关中药配方颗粒药品标准制定的通知[EB/OL]. [2021-02-24]. https://www.chp.org.cn/gjydw/tz/15815.jhtml.

[15] 李铂，唐志书，许洪波，等.不同成熟期北五味子质量初步评价[J].中成药，2020，42(11)：3084-3087.

[16] 安开龙.五味子主要化学成分积累动态及其加工方法研究[D].南京：南京农业大学，2014.

[17] 殷军.东北道地药材：五味子[M].北京：中国医药科技出版社，2012：2-4.

（收稿日期：2021-01-21　修回日期：2021-05-13）

（编辑：陈　宏）