

## 五味子

(SCHISANDRAE FRUCTUS)

### 五味子 MI

|                      |   |
|----------------------|---|
| 一、藥材採購及鑑定.....       | 2 |
| 二、藥材性狀描述 (圖 1).....  | 2 |
| 三、藥材組織顯微鑑別(圖 2)..... | 2 |
| 四、藥材粉末顯微鑑別(圖 3)..... | 3 |

### 五味子 藥材 HPLC

|                  |    |
|------------------|----|
| 一、材料.....        | 7  |
| 二、儀器及層析管柱.....   | 7  |
| 三、實驗藥品及試劑來源..... | 7  |
| 四、方法.....        | 7  |
| 五、結果.....        | 11 |

### 五味子 飲片 HPLC

|                  |    |
|------------------|----|
| 一、材料.....        | 21 |
| 二、儀器及層析管柱.....   | 21 |
| 三、實驗藥品及試劑來源..... | 21 |
| 四、方法.....        | 21 |
| 五、結果.....        | 24 |

### 五味子 TLC

|                   |    |
|-------------------|----|
| 一、方法.....         | 29 |
| 二、萃法選擇及濃度測試.....  | 30 |
| 三、溶媒系統選擇.....     | 31 |
| 四、觀察方式選擇.....     | 33 |
| 五、十批北五味子樣品檢測..... | 34 |
| 六、十批北五味子飲片檢測..... | 36 |

# 五味子

## (SCHISANDRAE FRUCTUS)

### 一、藥材採購及鑑定

收集 10 批來自全臺北、中、南、東各地不同通路之中藥販賣業或中藥製造業的藥材樣品，確認所收集之藥材為五味子的乾燥成熟果實。

### 二、藥材性狀描述 (圖 1)

藥材名：五味子

生藥名：SCHISANDRAE FRUCTUS

英文名：Schisandra Fruit

基原：木蘭科 Magnoliaceae 植物五味子 *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill. 的乾燥成熟果實。

採收加工：秋季果實成熟時採收，去除果梗和雜質，曬乾或蒸後曬乾。

藥材性狀：本藥材為五味子的乾燥成熟果實，呈不規則的球形或扁球形。表面黑紅色至紅色，皺縮，顯油潤，果肉柔軟。種子呈腎形，表面棕黃色，有光澤，種皮薄而脆。果肉氣微，味酸；種子破碎後，有香氣，味辛，微苦。

生長分佈：落葉木質藤本，花期 5~6 月，果期 8~9 月。生於海拔 1500 公尺以下向陽山坡雜木林中，纏繞在其他植物上。中國東北、華北、湖北、湖南、江西、四川等地均有分佈。主產於中國遼寧、吉林、黑龍江、河北等地，商品習稱"北五味子"。

### 三、藥材組織顯微鑑別(圖 2)

1. 外果皮為 1 列方形至長方形表皮細胞，壁稍厚，外被角質線紋，散有油細胞。
2. 中果皮薄壁細胞皺縮，細胞界線不明顯，含澱粉粒，散有小型外韌型維管束。
3. 內果皮為 1 列小方形薄壁細胞。
4. 種皮最外層為 1 列徑向延長的石細胞，壁厚；其下為數列石細胞，多角形，類圓形或形狀不規則，壁稍厚，紋孔和孔溝明顯。
5. 油細胞層的細胞方形至長方形，富含油滴。
6. 種皮內表皮細胞扁而皺縮。
7. 胚乳細胞含油滴和糊粉粒。

#### 四、藥材粉末顯微鑑別(圖 3)

1. 本品粉末棕紅色。
2. 種皮表皮石細胞，表面觀呈多角形，縱斷面觀呈長方形；壁厚，孔溝極細密，胞腔內含深棕色物。。
3. 種皮內層石細胞大小不一，表面觀呈多角形、類圓形或不規則形，壁稍厚，紋孔和孔溝明顯。
4. 外果皮表皮細胞表面觀多角形，垂周壁略呈連珠狀增厚，表面有角質線紋，表皮中散有油細胞。
5. 胚乳細胞含油滴和糊粉粒。



圖 1 五味子藥材圖

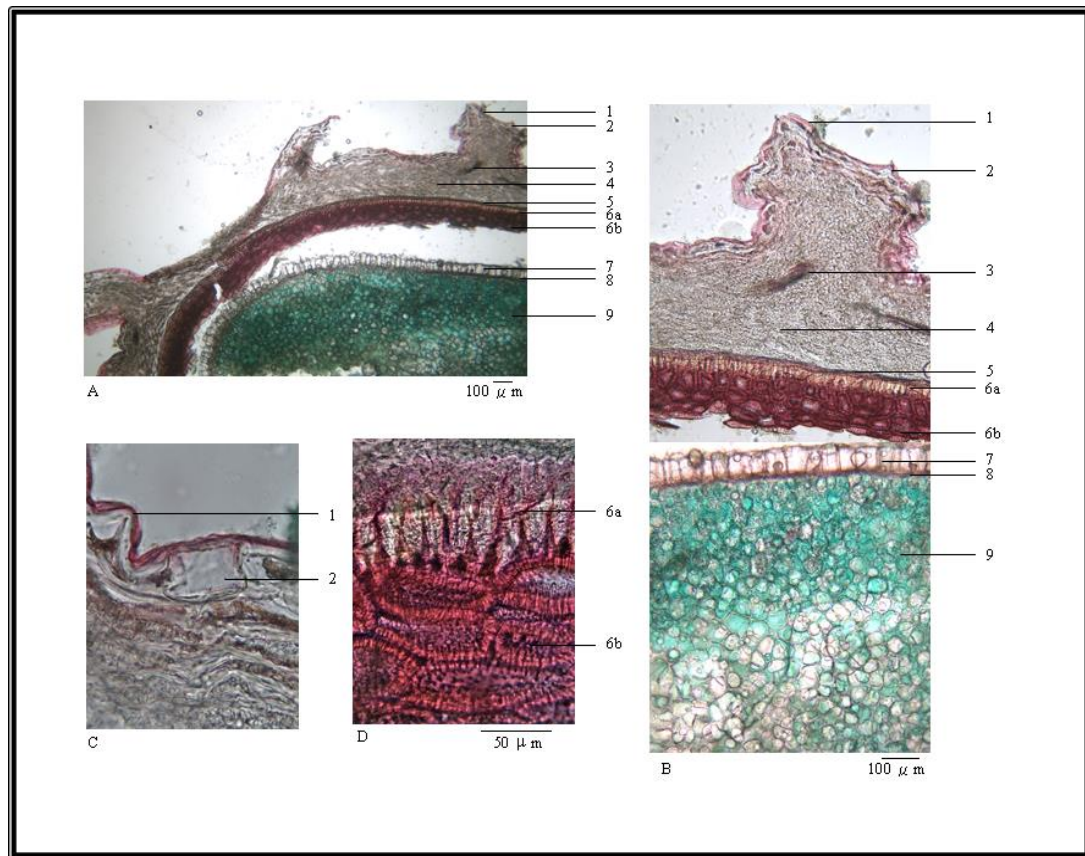


圖 2 五味子橫切面顯微特徵圖

A.橫切面圖 B.橫切面放大圖 C.外果皮 D.種皮

1.外果皮 2.油細胞 3.維管束 4.中果皮 5.內果皮 6.種皮 (6a.種皮最外層 6b.種皮內層石細胞) 7.油細胞層 8.種皮內表皮細胞 9.胚乳細胞



圖3 五味子粉末顯微特徵圖（光學顯微鏡下特徵）

1.種皮表皮石細胞（表面觀） 2.種皮表皮石細胞（縱斷面觀）和種皮內層石細胞 3.種皮內層石細胞 4.果皮表皮細胞 5.油細胞層和胚乳細胞

## 參考文獻

1. 行政院衛生署中華藥典中藥集編修小組編輯 (2004)。中華中藥典第一版。台北市：行政院衛生署。24-27 頁。
2. 行政院衛生署中醫藥委員會編 (1999)。中藥材品質管制：組織型態學鑑定。台北市：行政院衛生署中醫藥委員會。95-96 頁
3. 張永勳、何玉玲等編輯 (2009)。中藥彩色圖鑑。台北：行政院衛生署中醫藥委員會。21 頁。
4. 張永勳、何玉玲總編輯 (2013)。臺灣中藥典圖鑑。台北：衛生福利部。26 頁。
5. 中華人民共和國香港特別行政區政府衛生署中醫藥事務部編製 (2005)。香港中藥材標準第四冊。香港：香港特別行政區政府衛生署中醫藥事務部。248-257 頁。
6. 肖培根等編輯 (2001)。新編中藥志第二卷。北京：化學工業出版社。119-135 頁。
7. 徐國鈞、何宏賢、徐珞珊、金蓉鸞等編輯 (1996)。中國藥材學下冊。北京：中國醫藥科技出版社。1038-1043 頁。
8. 國家中醫藥管理局《中華本草》編委會編輯 (1999)。中華本草第 2 冊。上海：上海科學技術出版社。902-911 頁。
9. 國家藥典委員會編輯 (2009)。中華人民共和國藥典中藥材顯微鑑別彩色圖鑑。北京：人民衛生出版社。115-116 頁。
10. 國家藥典委員會編輯 (2010)。中華人民共和國藥典 2010 年版一部。北京：中國醫藥科技出版社。61-62 頁。
11. 趙中振、陳虎彪等編著 (2010)。常用中藥材鑑別圖典。香港：萬里機構·萬里書店。304-305 頁。
12. 趙中振、陳虎彪編著 (2016)。中藥顯微鑑定圖典。福州：海峽出版發行集團·福建科學技術出版社。322-323 頁。

## 五味子(SCHISANDRAE FRUCTUS)

### 一、材料

購自於臺灣各地中藥店五味子藥材共 10 批。

### 二、儀器及層析管柱

#### (一) HPLC 儀器及層析管柱

Shimadzu LC-2040C 3D, 包含 Quaternary pump、Autosampler、Thermostatted column compartment、Diode-Array Detector；層析管柱 COSMOSIL 5C<sub>18</sub> AR-II Column (250 × 4.6 mm, 5 μm)。

#### (二) UPLC 儀器及層析管柱

Waters AcQuity Ultra Performance LC, 包含 Binary Solvent Manager、Sampler Manager、PDA Detector；層析管柱 Waters ACQUITY UPLC® BEH C18 Column (100 x 2.1 mm, 1.7 μm)。

### 三、實驗藥品及試劑來源

#### (一) 試劑

乙腈(99.9%)購自於 Sigma-Aldrich；乙醇(95%)購自於國韶實業有限公司；甲醇(HPLC grade)購自於 Merck。

#### (二) 標準品

標準品五味子素(Schizandrin, 五味子醇甲)購自於昇漢科技有限公司, 純度 98% 以上。

### 四、方法

#### (一) 最佳萃取溶媒評估

取本品粉末 6 份, 每份準確稱取 250 mg, 置 50 mL 離心管中, 準確加入甲醇、75%甲醇、50%甲醇、乙醇、75%乙醇、50%乙醇各 25 mL, 超音波振盪處理(功率 300 W, 頻率 40 kHz) 30 分鐘；離心 10 分鐘(約 5000 × g), 以 No. 1 濾紙過濾, 取濾液, 搖勻再過濾(Syringe filter, PTFE 0.22 μm), 即得。每針 10 μL 注入高效能液相層析儀(HPLC), 以所測得每克重量之標準品五味子素最大波峰面積為最佳五味子萃取溶媒。

#### (二) 最佳萃取次數評估

準確稱取本品粉末(過第 20 號篩網)約 250 mg, 置 50 mL 離心管中, 準確加入甲醇 25 mL, 超音波振盪處理(功率 300 W, 頻率 40 kHz) 30 分鐘, 離心 10 分鐘(約 5000 × g), 以 No. 1 濾紙過濾, 取濾液轉移至 25 mL 定量瓶中, 加入甲醇至刻度, 搖勻再過濾(Syringe filter, PTFE 0.22 μm), 取濾液, 即得。每針 10 μL 注入 HPLC, 殘渣部分重複上述方法多次萃取、進樣, 直到指標成分被萃取完全, 並選出最佳萃取次數。

### (三) 對照標準品溶液

準確稱取標準品五味子素 0.5 mg，加 1 mL 的甲醇製成每 1 mL 含五味子素 500  $\mu\text{g}$  的標準品儲備溶液，並以甲醇稀釋至 30  $\mu\text{g}/\text{mL}$  製成對照標準品溶液。

### (四) 檢品溶液

準確稱取本品粉末(過第 20 號篩網)約 250 mg，置 50 mL 離心管中，準確加入甲醇 25 mL，超音波振盪處理(功率 300 W，頻率 40 kHz) 30 分鐘，離心 10 分鐘(約  $5000 \times g$ )，再以 No. 1 濾紙過濾，取濾液。殘渣部分重複提取 1 次，合併濾液，轉移至 50 mL 之定量瓶中，加甲醇至刻度，搖勻再過濾(Syringe filter, PTFE 0.22  $\mu\text{m}$ )，即得。

### (五) 測定法

分別準確吸取對照標準品溶液、檢品溶液 10  $\mu\text{L}$ ，注入 HPLC，測定，用標準曲線分別計算溶液中五味子素的含量，即得。

### (六) 檢量線

準確吸取五味子素標準品儲備溶液適量(500  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )，以甲醇稀釋成含五味子素分別為 250、100、50、30、10、5.0、1.0  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的標準品溶液。以上溶液各取 10  $\mu\text{L}$  分別注入 HPLC 進行定量分析，利用標準品之波峰面積(y 軸)和標準品之濃度(x 軸)進行線性回歸，並求得檢量線之方程式  $y = ax + b$  與相關係數  $R^2$ 。

### (七) 精密度試驗

以五味子素濃度為 30  $\mu\text{g}/\text{mL}$  之對照標準品溶液連續進樣 5 針，以五味子素的波峰面積為指標，求出相對標準差。

### (八) 重複性與穩定性試驗

1. 重複性:取同一批市售五味子粉末，依五味子檢品溶液製備方法平行製備 5 份五味子檢品溶液，進樣測定，以五味子素的含量(%)為指標，求出相對標準差。
2. 穩定性:取同一批市售五味子粉末，依五味子檢品溶液製備方法製備五味子檢品溶液，分別在 0、2、4、8、16、24 小時進樣測定，以五味子素的波峰面積為指標，求出相對標準差。



(九) 偵測極限與定量極限試驗

1. 偵測極限(Limit of Detection, LOD)：將已知濃度之標準品溶液不斷稀釋，並以訊號雜訊比為 $\geq 3:1$ 時之濃度，作為偵測極限估計值。
2. 定量極限(Limit of Quantitation, LOQ)：將已知濃度之標準品溶液不斷稀釋，並以訊號雜訊比為 $\geq 10:1$ 時之濃度，作為定量極限估計值。

(十) 添加回收率試驗

取已知五味子素含量的五味子藥材粉末 5 份，每份準確稱取約 100 mg，分別加入 1 mL 的五味子素溶液(500  $\mu\text{g/mL}$ )，並按檢品溶液製備方法操作測定。

(十一) HPLC 分析條件

1. 層析管：COSMOSIL 5C<sub>18</sub> AR-II Column (250  $\times$  4.6 mm, 5  $\mu\text{m}$ )
2. 檢測波長：UV 252 nm
3. 流速：1.0 mL/min
4. 管柱溫度：35  $^{\circ}\text{C}$
5. 注入量：10  $\mu\text{L}$
6. 移動相：

| 時間(min) | 乙腈(%) | 水(%) |
|---------|-------|------|
| 0       | 40    | 60   |
| 10      | 46    | 54   |
| 20      | 60    | 40   |
| 30      | 60    | 40   |

(十二) 臺灣市售五味子藥材含量測定

取 10 批市售五味子藥材依檢品溶液製備方法製備檢品溶液，取各 10  $\mu\text{L}$  連續 3 針注入 HPLC，所得平均波峰面積依附錄 I 公式計算樣品五味子素的百分含量。

(十三) 五味子檢品之 UPLC 層析條件

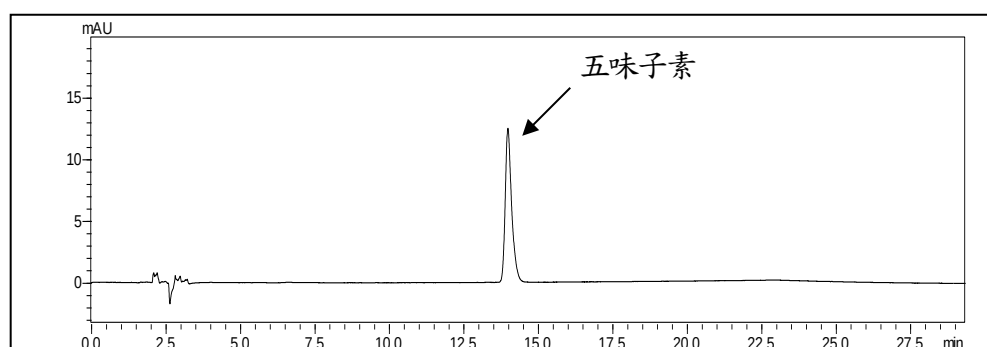
1. 層析管：Waters ACQUITY UPLC® BEH C18 Column (100 x 2.1 mm, 1.7  $\mu\text{m}$ )
2. 檢測波長：UV 252 nm
3. 流速：0.4 mL/min
4. 管柱溫度：35 °C
5. 注入量：1  $\mu\text{L}$
6. 移動相：

| 時間(min) | 乙腈(%) | 水(%) |
|---------|-------|------|
| 0       | 40    | 60   |
| 2       | 46    | 54   |
| 4       | 60    | 40   |
| 8       | 85    | 15   |

## 五、結果

### (一) 標準品五味子素之 HPLC 層析

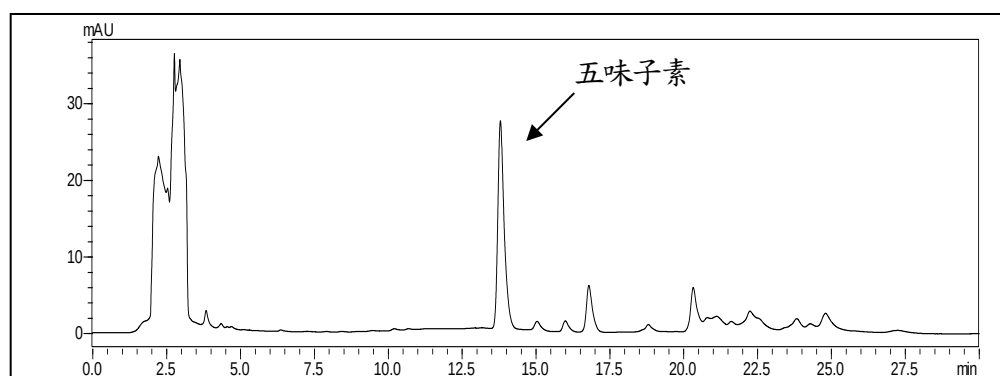
於滯留時間 13.99 分鐘處顯示五味子素標準品波峰(圖一)。



圖一、五味子素標準品溶液之 HPLC 層析圖

### (二) 市售五味子檢品之 HPLC 層析

於滯留時間 13.87 分鐘處顯示五味子檢品中五味子素波峰(圖二)。分離率( $R$ )為 15.5，托尾因子( $T$ )為 1.12，均在系統適用性要求內。



圖二、市售五味子檢品之 HPLC 層析圖

### (三) 最佳萃取溶媒評估

以甲醇為溶媒時，每克藥材重量所得五味子素的波峰面積最大，顯示甲醇為最佳萃取溶媒。

表一、不同溶媒萃取比較

| 溶媒     | 五味子素波峰面積(mAU) | 最佳萃取 |
|--------|---------------|------|
| 甲醇     | 921161        | √    |
| 70% 甲醇 | 881198        |      |
| 50% 甲醇 | 828550        |      |
| 乙醇     | 849555        |      |
| 70% 乙醇 | 740694        |      |
| 50% 乙醇 | 806578        |      |

#### (四) 最佳萃取次數評估

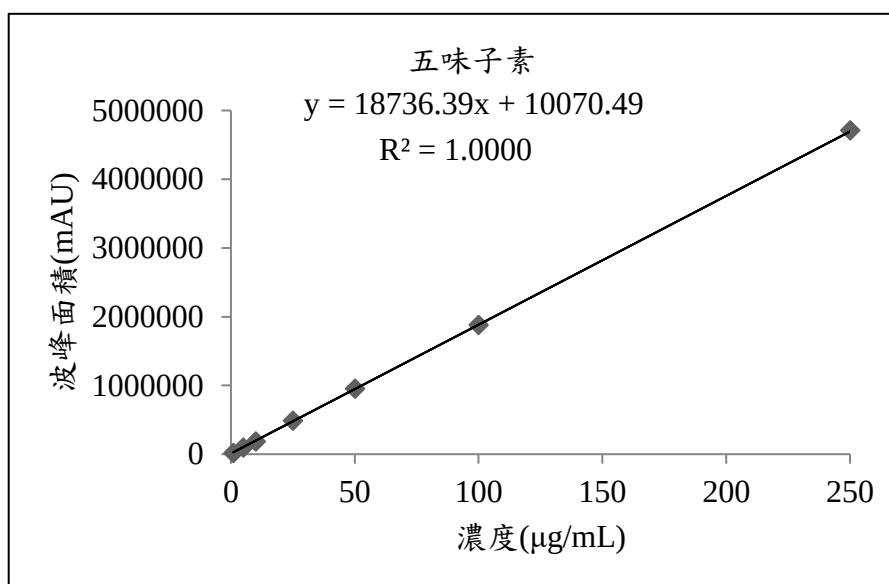
結果顯示萃取 2 次基本上已將五味子素萃取完全(萃取率大於 98%)。

表二、五味子檢品萃取次數評估

| 甲醇萃取次數 | 五味子素波峰面積(mAU) |
|--------|---------------|
| 第 1 次  | 906684        |
| 第 2 次  | 34889         |
| 第 3 次  | N.D.          |

#### (五) 標準品五味子素檢量線

經不同濃度五味子素(x)對各自層析波峰面積的反應值(y)所得到的檢量線方程式為  $y = 18736.39x + 10070.49$ ， $R^2 = 1.0000$ ，顯示濃度在 1.0–250  $\mu\text{g/mL}$  有良好的線性關係(圖三)。



圖三、五味子素之檢量線圖

表三、五味子素之檢量線方程式

| 對照標準品 | 濃度(μg/mL) | 線性回歸方程式                    | $R^2$  |
|-------|-----------|----------------------------|--------|
| 五味子素  | 1.0–250   | $y = 18736.39x + 10070.49$ | 1.0000 |

#### (六) 精密度試驗

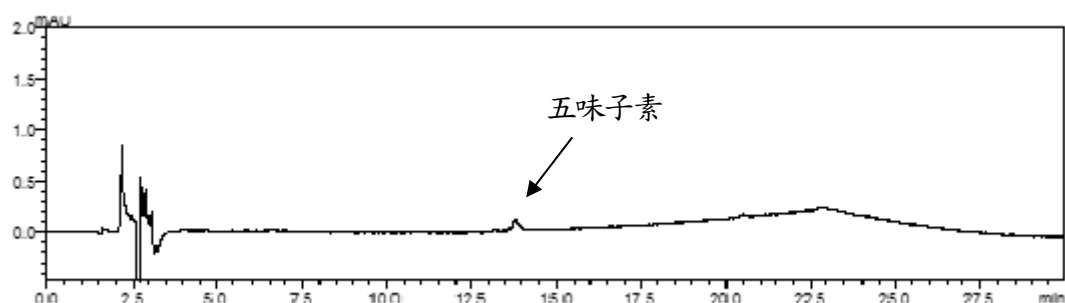
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的精密度良好，五味子素精密度之相對標準差為 0.17%，在系統適用性要求內。

#### (七) 重複性與穩定性試驗

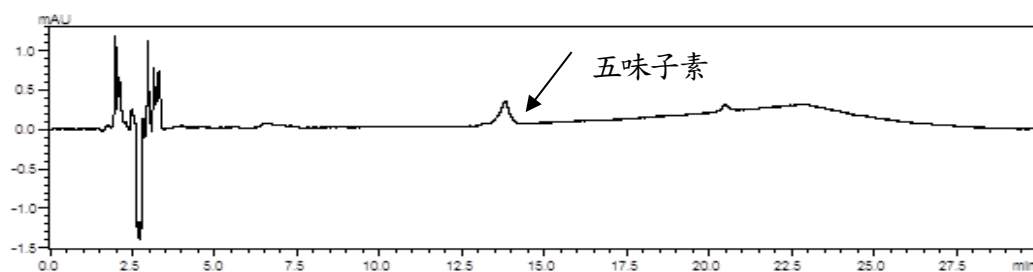
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的重複性良好，五味子素重複性之相對標準差為 1.69%，在系統適用性要求內。五味子素在 24 小時內穩定，穩定性之相對標準差為 0.89%，變化差異小，若所有樣品處理都在 24 小時內完成，則無太大差異。

#### (八) 偵測極限與定量極限試驗

五味子素偵測極限為 0.05  $\mu\text{g/mL}$  (圖四)，定量極限為 0.20  $\mu\text{g/mL}$  (圖五)。



圖四、五味子素之偵測極限層析圖



圖五、五味子素之定量極限層析圖

表四、各項檢驗分析

| 檢測項目       | 五味子素                  |            |
|------------|-----------------------|------------|
|            | 濃度                    | R.S.D. (%) |
| 精密度 (n=5)  | 30 $\mu\text{g/mL}$   | 0.17       |
| 重複性 (n=5)  | 檢品溶液(No.5)            | 1.69       |
| 穩定性 (n=6)  | 檢品溶液(No.5)            | 0.89       |
| 偵測極限 (n=3) | 0.05 $\mu\text{g/mL}$ | -          |
| 定量極限 (n=3) | 0.20 $\mu\text{g/mL}$ | -          |

(九) 添加回收率試驗

五味子素平均添加回收率為 98.4%，相對標準偏差為 1.31%。

表五、五味子素添加回收率

| 編號 | 藥材稱重<br>(mg) | 含有量<br>(mg) | 加入量<br>(mg) | 測得量<br>(mg) | 回收率<br>(%) | 平均回收率<br>(%) | R.S.D.<br>(%) |
|----|--------------|-------------|-------------|-------------|------------|--------------|---------------|
| 1  | 100          | 0.50        | 0.50        | 1.005       | 100.52     | 98.38        | 1.31          |
| 2  | 100          | 0.50        | 0.50        | 0.989       | 97.39      |              |               |
| 3  | 100          | 0.50        | 0.50        | 0.991       | 97.86      |              |               |
| 4  | 100          | 0.50        | 0.50        | 0.990       | 97.44      |              |               |
| 5  | 100          | 0.50        | 0.50        | 0.996       | 98.71      |              |               |

(十) 臺灣市售五味子含量測定

10 批五味子藥材之含量測定結果(乾燥品)如表六所示，五味子素的含量為 0.443–0.531%。建議五味子藥材指標成分五味子素的含量不得少於 0.4%。理論板數按五味子素波峰計算應不低於 8000 (實際值為 20000)。

表六、臺灣市售五味子檢品之五味子素的含量

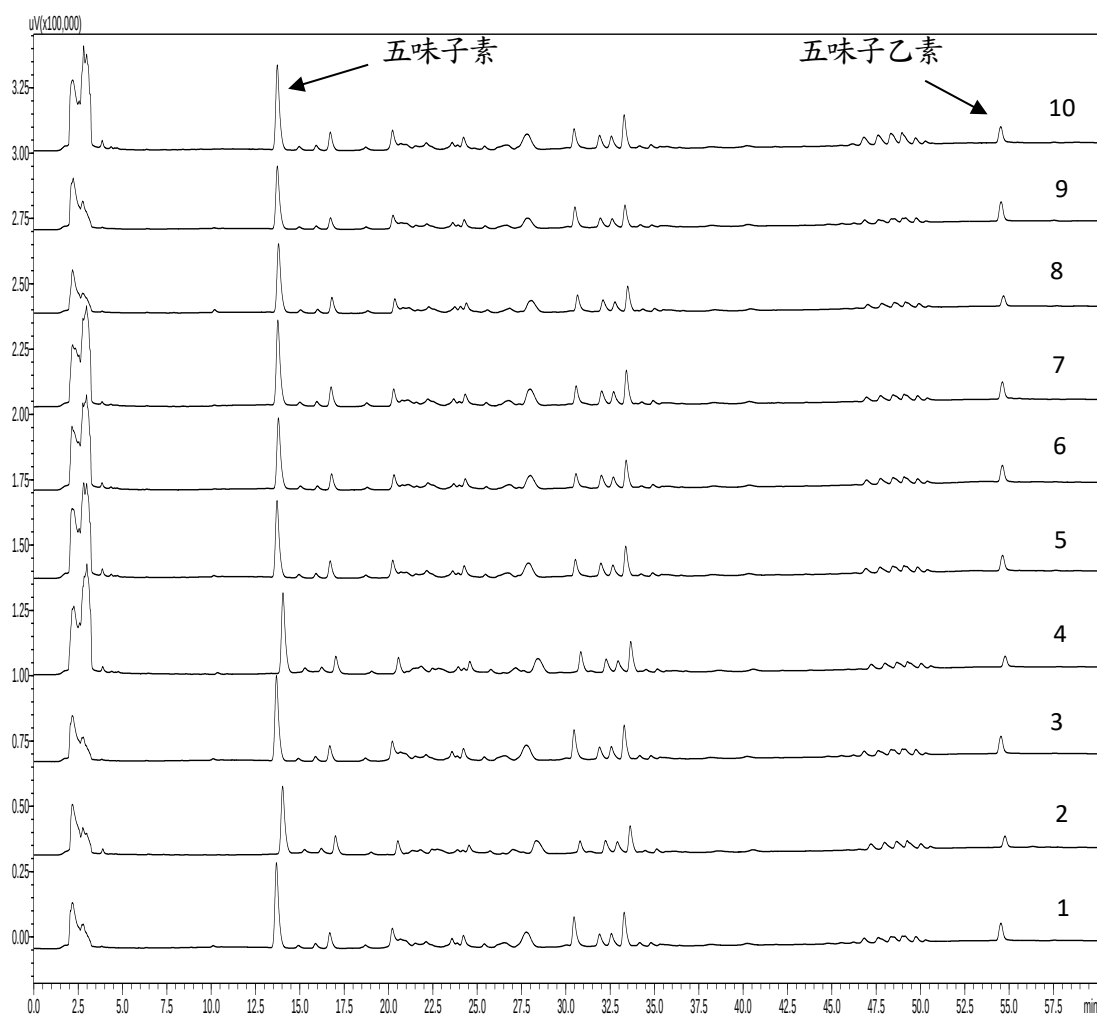
| 藥材編號(No.) | 五味子素含量(%) | 藥材編號(No.) | 五味子素含量(%) |
|-----------|-----------|-----------|-----------|
| 1 (NB)    | 0.496     | 6 (NR)    | 0.449     |
| 2 (ND-1)  | 0.454     | 7 (NY)    | 0.524     |
| 3 (ND-2)  | 0.528     | 8 (SA)    | 0.466     |
| 4 (NF)    | 0.443     | 9 (SG)    | 0.498     |
| 5 (NJ)    | 0.470     | 10 (SU)   | 0.531     |

# (十一) 五味子藥材之 HPLC 指紋圖譜的建立

取 10 批市售五味子檢品溶液各 10  $\mu$ L 進樣，進行 HPLC 指紋圖譜的測定。

1. 層析管：COSMOSIL 5C<sub>18</sub> AR-II Column (250  $\times$  4.6 mm, 5  $\mu$ m)
2. 檢測波長：UV 252 nm
3. 流速：1.0 mL/min
4. 管柱溫度：35  $^{\circ}$ C
5. 注入量：10  $\mu$ L
6. 移動相：

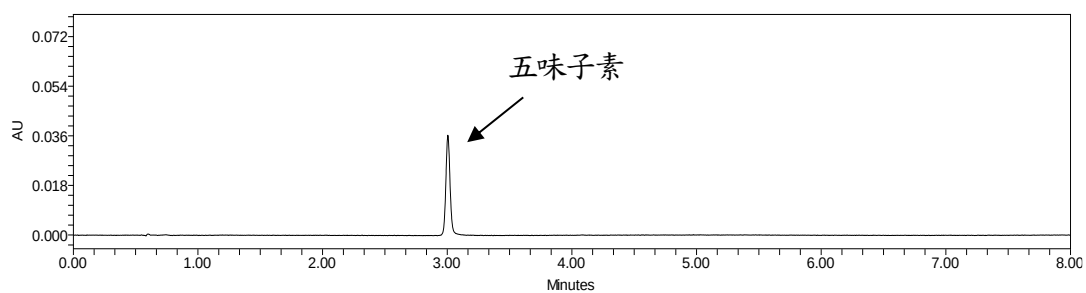
| 時間(min) | 乙腈(%) | 水(%) |
|---------|-------|------|
| 0       | 40    | 60   |
| 10      | 46    | 54   |
| 20      | 60    | 40   |
| 40      | 85    | 15   |
| 50      | 100   | 0    |
| 60      | 100   | 0    |



圖六、10 批五味子藥材之 HPLC 指紋圖譜

## (十二) 標準品五味子素之 UPLC 層析

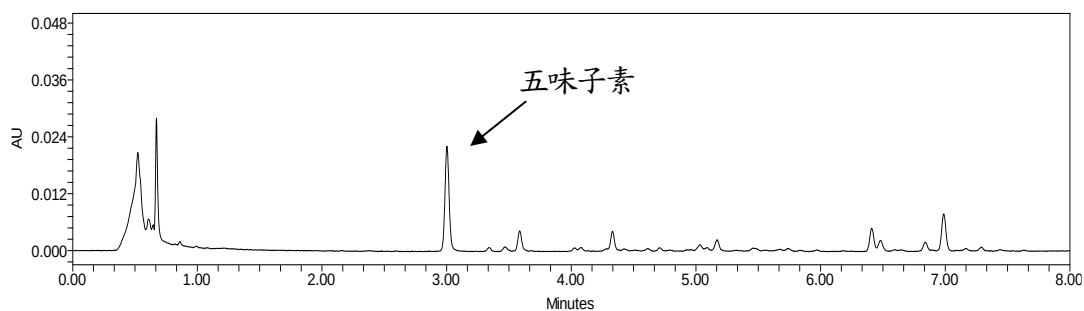
於滯留時間 3.01 分鐘處顯示五味子素標準品的波峰(圖七)。



圖七、五味子素標準品溶液之 UPLC 層析圖

## (十三) 市售五味子檢品之 UPLC 層析

於滯留時間 3.00 分鐘處顯示五味子檢品中五味子素的波峰(圖八)。

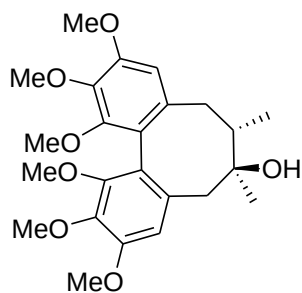


圖八、市售五味子檢品之 UPLC 層析圖

## (十四) 五味子素的分子式、分子量與熔點

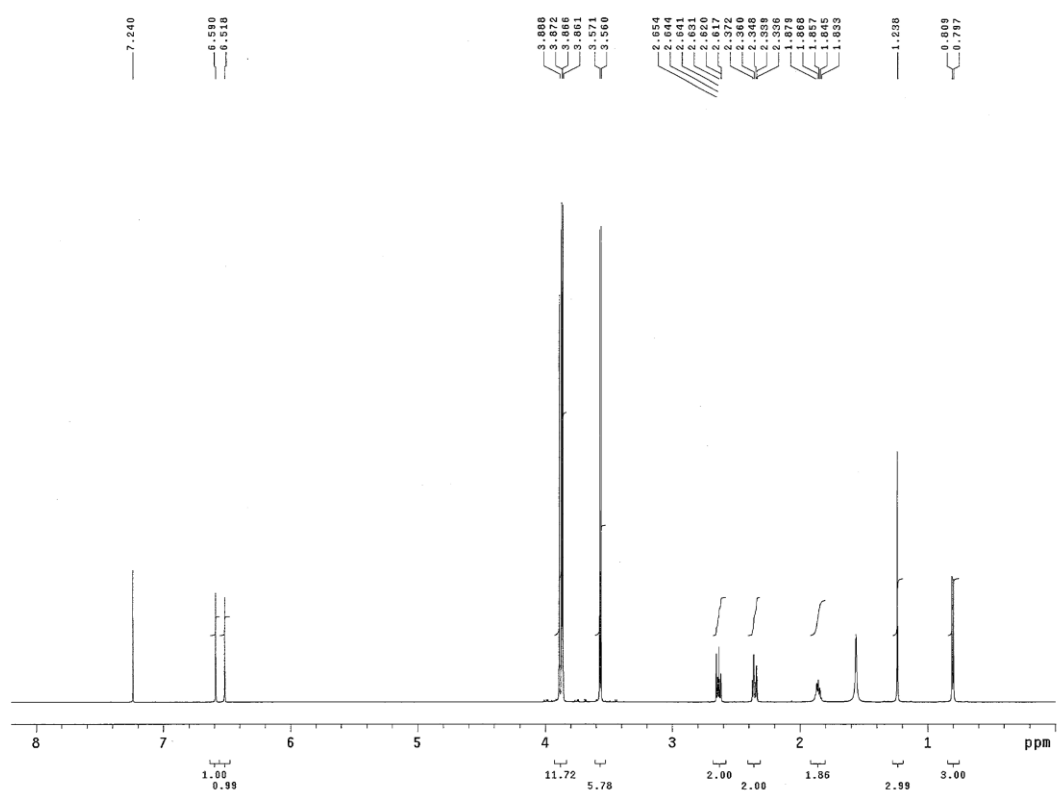
分子式： $C_{24}H_{32}O_7$ ；分子量：432.51；熔點：128–129 °C；白色固體。

## (十五) 五味子素的結構



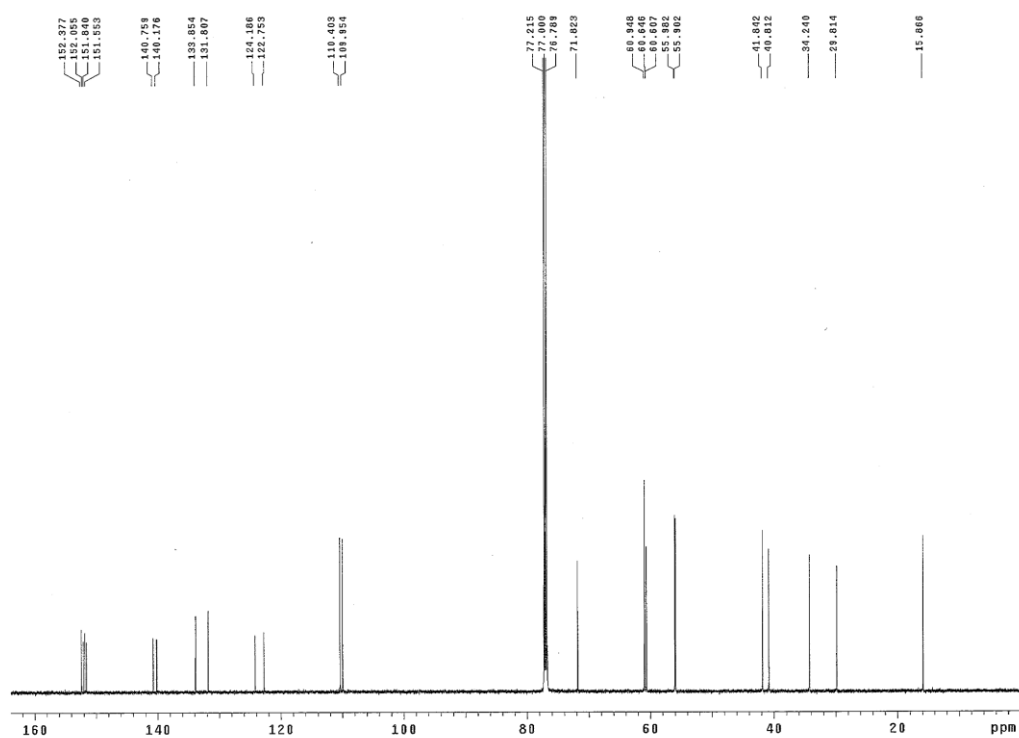


(十六) 五味子素的  $^1\text{H}$  NMR 圖譜



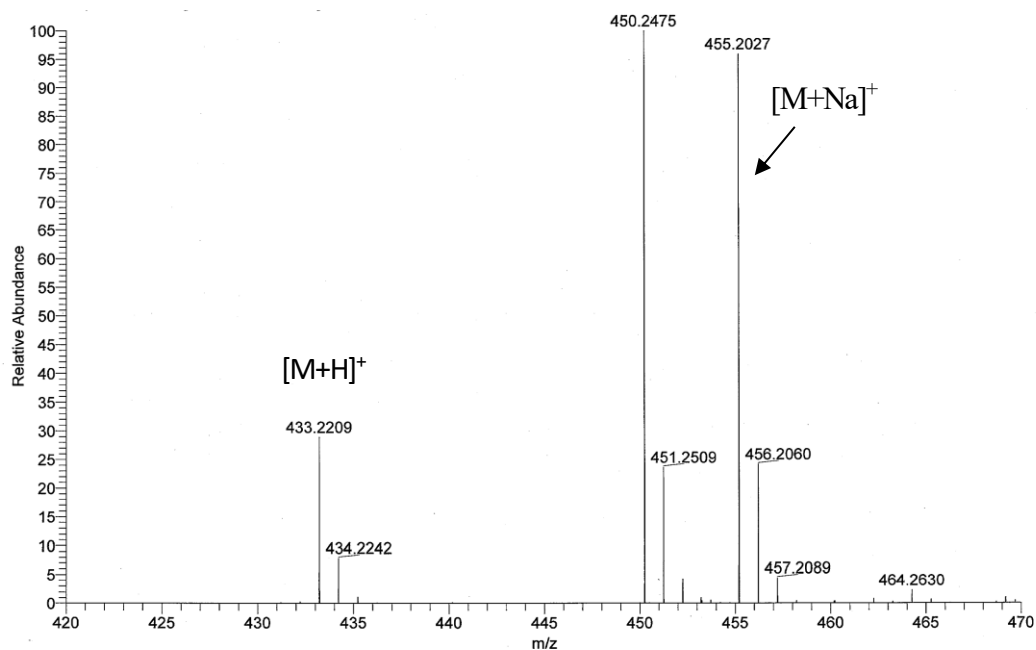
圖十、五味子素的  $^1\text{H}$  NMR 圖譜( $\text{CDCl}_3$ )

(十七) 五味子素的  $^{13}\text{C}$  NMR 圖譜



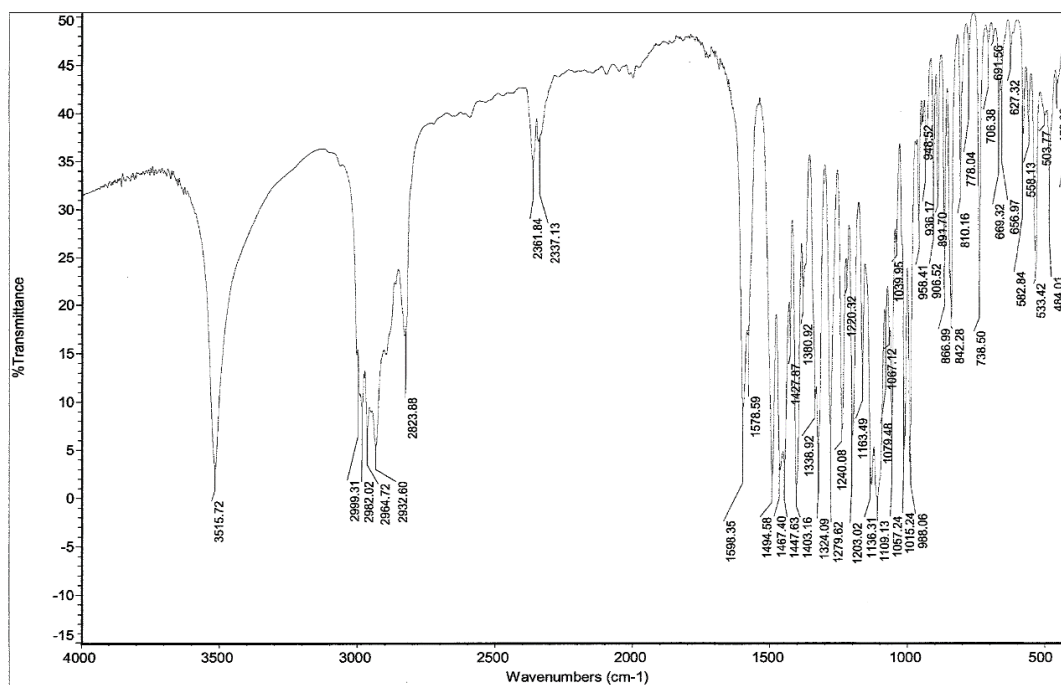
圖十一、五味子素的  $^{13}\text{C}$  NMR 圖譜( $\text{CDCl}_3$ )

(十八) 五味子素的 ESI-MS 圖譜



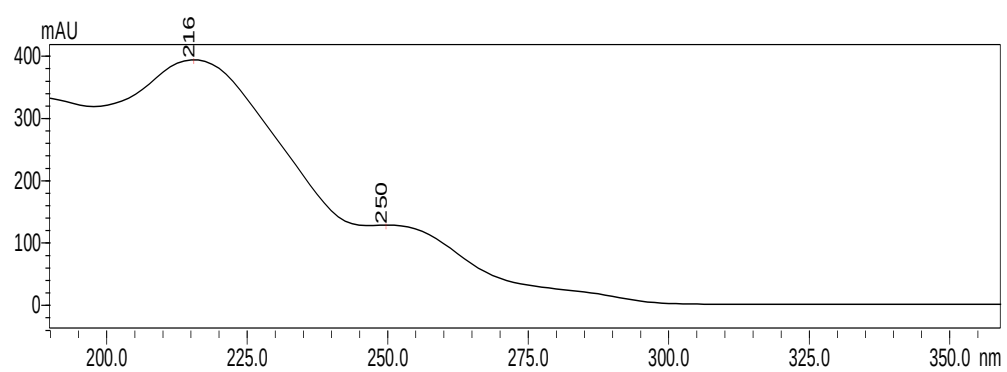
圖十二、五味子素的 ESI-MS 圖譜

(十九) 五味子素的 FTIR 圖譜



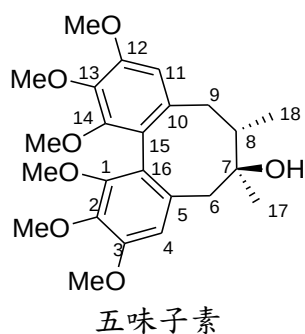
圖十三、五味子素的 FTIR 圖譜

(二十) 五味子素的 UV 圖譜



圖十三、五味子素的 UV 圖譜

(二十一) 五味子素的氫、碳化學位移



表七、五味子素的氫、碳化學位移(CDCl<sub>3</sub>)<sup>a</sup>

| position | $\delta_H$ (600 MHz)         | $\delta_C$ (150 MHz) |
|----------|------------------------------|----------------------|
| 1        | -                            | 152.1*               |
| 2        | -                            | 140.8                |
| 3        | -                            | 152.4                |
| 4        | 6.59 (s)                     | 110.0                |
| 5        | -                            | 131.8                |
| 6        | 2.34–2.37 (m), 2.62–2.65 (m) | 40.8                 |
| 7        | -                            | 71.8                 |
| 8        | 1.83–1.88 (m)                | 41.8                 |
| 9        | 2.34–2.37 (m), 2.62–2.65 (m) | 34.2                 |
| 10       | -                            | 133.9                |
| 11       | 6.52 (s)                     | 110.4                |
| 12       | -                            | 151.8                |
| 13       | -                            | 140.2                |
| 14       | -                            | 151.6*               |
| 15       | -                            | 122.8                |
| 16       | -                            | 124.2                |
| 17       | 1.24 (s)                     | 29.8                 |
| 18       | 0.80 (d, 7.2)                | 15.9                 |
| 1-OMe    | 3.56 (s) <sup>#</sup>        | 60.6                 |
| 2-OMe    | 3.87 (s)                     | 55.9 <sup>#</sup>    |
| 3-OMe    | 3.89 (s)                     | 56.0                 |
| 12-OMe   | 3.87 (s) <sup>#</sup>        | 60.9 <sup>#</sup>    |
| 13-OMe   | 3.86 (s)                     | 60.9 <sup>#</sup>    |
| 14-OMe   | 3.57 (s) <sup>#</sup>        | 60.6                 |

<sup>a</sup>(Multiplicity, *J* in Hz) in ppm. \*,<sup>#</sup>interchangeable.

## 五味子飲片(SCHISANDRAE FRUCTUS)

### 一、材料

購自於臺灣各地中藥店五味子飲片共 10 批。

### 二、儀器及層析管柱

#### (一) HPLC 儀器及層析管柱

Shimadzu LC-2040C 3D，包含 Quaternary pump、Autosampler、Thermostatted column compartment、Diode-Array Detector；層析管柱 COSMOSIL 5C<sub>18</sub> AR-II Column (250 × 4.6 mm, 5 μm)。

#### (二) UPLC 儀器及層析管柱

Waters AcQuity Ultra Performance LC，包含 Binary Solvent Manager、Sampler Manager、PDA Detector；層析管柱 Waters ACQUITY UPLC® BEH C18 Column (100 x 2.1 mm, 1.7 μm)。

### 三、實驗藥品及試劑來源

#### (一) 試劑

乙腈(99.9%)購自於 Sigma-Aldrich；乙醇(95%)購自於國韶實業有限公司；甲醇(HPLC grade)購自於 Merck。

#### (二) 標準品

標準品五味子素(Schizandrin, 五味子醇甲)購自於昇漢科技有限公司，純度 98% 以上。

### 四、方法

#### (一) 最佳萃取溶媒評估

五味子飲片最佳萃取溶媒同五味子藥材。

#### (二) 最佳萃取次數評估

五味子飲片最佳萃取次數同五味子藥材。

#### (三) 對照標準品溶液

準確稱取標準品五味子素 0.5 mg，加 1 mL 的甲醇製成每 1 mL 含五味子素 500 μg 的標準品儲備溶液，並以甲醇稀釋至 30 μg/mL 製成對照標準品溶液。

#### (四) 檢品溶液

準確稱取本品粉末(過第 20 號篩網)約 250 mg，置 50 mL 離心管中，準確加入甲醇 50 mL，超音波振盪處理(功率 300 W，頻率 40 kHz) 30 分鐘，離心 10 分鐘(約 5000 × g)，以 No.1 濾紙過濾，取濾液，殘渣部分重

複提取 1 次，合併濾液，轉移至 50 mL 之定量瓶中，加甲醇至刻度，搖勻再過濾(Syringe filter, PTFE 0.22  $\mu\text{m}$ )，即得。

#### (五) 測定法

分別準確吸取對照標準品溶液、檢品溶液 10  $\mu\text{L}$ ，注入 HPLC，測定，用標準曲線分別計算溶液中五味子素的含量，即得。

#### (六) 檢量線

準確吸取五味子素標準品儲備溶液適量(500  $\mu\text{g/mL}$ )，以甲醇稀釋成含五味子素分別為 250、100、50、30、10、5.0、1.0  $\mu\text{g/mL}$  的標準品溶液。以上溶液各取 10  $\mu\text{L}$  分別注入 HPLC 進行定量分析，利用標準品之波峰面積(y 軸)和標準品之濃度(x 軸)進行線性回歸，並求得檢量線之方程式  $y = ax + b$  與相關係數  $R^2$ 。

#### (七) 精密度試驗

以五味子素濃度為 30  $\mu\text{g/mL}$  之對照標準品溶液連續進樣 5 針，以五味子素的波峰面積為指標，求出相對標準差。

#### (八) 重複性與穩定性試驗

1. 重複性：取同一批市售五味子飲片粉末，依五味子飲片檢品溶液製備方法平行製備五份五味子飲片檢品溶液，進樣測定，以五味子素的含量(%)為指標，求出相對標準差。
2. 穩定性：取同一批市售五味子飲片粉末，依五味子飲片檢品溶液製備方法製備五味子飲片檢品溶液，分別在 0、2、4、8、16、24 小時進樣測定，以五味子素的波峰面積為指標，求出相對標準差。

#### (九) 偵測極限與定量極限試驗

1. 偵測極限(Limit of Detection, LOD)：將已知濃度之標準品溶液不斷稀釋，並以訊號雜訊比為  $\geq 3:1$  時之濃度，作為偵測極限估計值。
2. 定量極限(Limit of Quantitation, LOQ)：將已知濃度之標準品溶液不斷稀釋，並以訊號雜訊比為  $\geq 10:1$  時之濃度，作為定量極限估計值。

#### (十) 添加回收率試驗

取已知五味子素含量的五味子飲片粉末 5 份，每份準確稱取約 100 mg，分別加入 1 mL 的五味子素溶液(500  $\mu\text{g/mL}$ )，並按檢品溶液製備方法操作測定。

(十一) HPLC 分析條件

1. 層析管：COSMOSIL 5C<sub>18</sub> AR-II Column (250 × 4.6 mm, 5 μm)
2. 檢測波長：UV 252 nm
3. 流速：1.0 mL/min
4. 管柱溫度：35 °C
5. 注入量：10 μL
6. 移動相：

| 時間(min) | 乙腈(%) | 水(%) |
|---------|-------|------|
| 0       | 40    | 60   |
| 10      | 46    | 54   |
| 20      | 60    | 40   |
| 30      | 60    | 40   |

(十二) 臺灣市售五味子飲片含量測定

取 10 批市售五味子飲片依檢品溶液製備方法製備檢品溶液，取各 10 μL 連續 3 針注入 HPLC，所得平均波峰面積依附錄 I 公式計算樣品五味子素的百分含量。

(十三) 五味子飲片檢品之 UPLC 層析條件

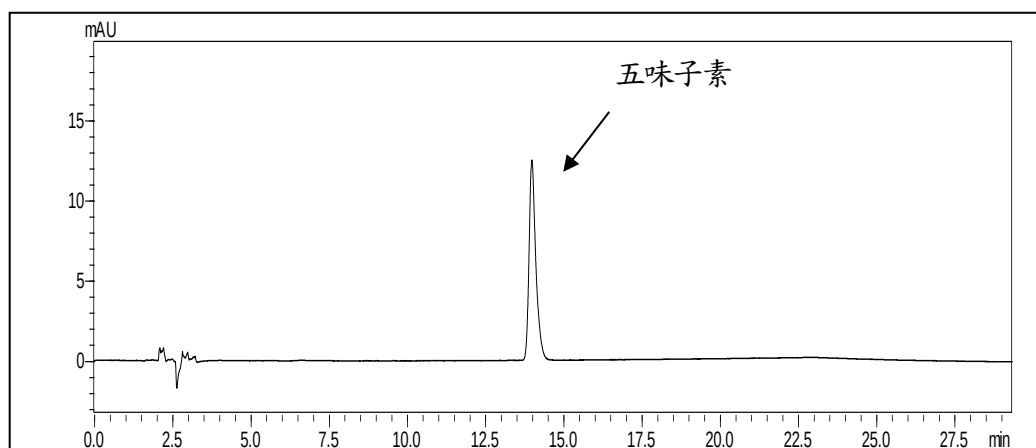
1. 層析管：Waters ACQUITY UPLC® BEH C<sub>18</sub> Column (100 x 2.1 mm, 1.7 μm)
2. 檢測波長：UV 252 nm
3. 流速：0.4 mL/min
4. 管柱溫度：35 °C
5. 注入量：1 μL
6. 移動相：

| 時間(min) | 乙腈(%) | 水(%) |
|---------|-------|------|
| 0       | 40    | 60   |
| 2       | 46    | 54   |
| 4       | 60    | 40   |
| 8       | 85    | 15   |

## 五、結果

### (一) 標準品五味子素之 HPLC 層析

於滯留時間 13.99 分鐘處顯示五味子素標準品的波峰(圖一)。

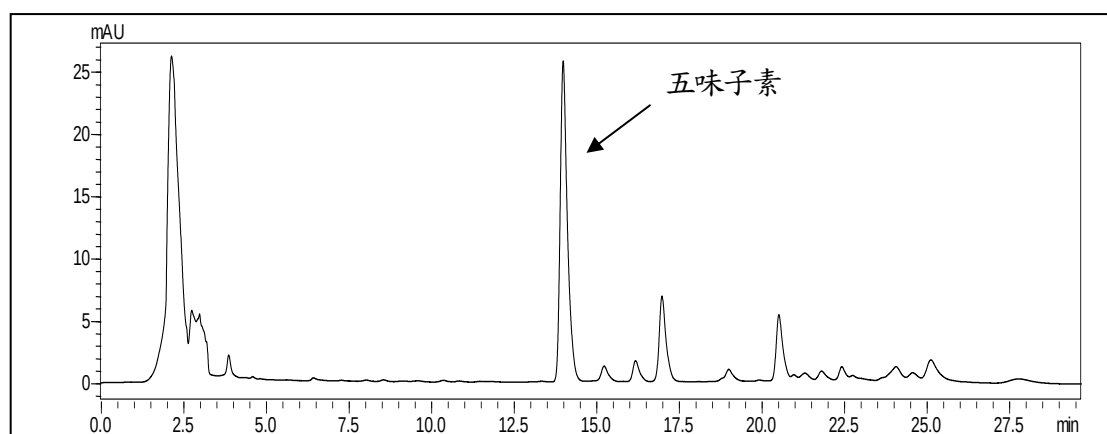


圖一、五味子素標準品溶液之 HPLC 層析圖

### (二) 市售五味子飲片檢品之 HPLC 層析

於滯留時間 14.00 分鐘處顯示五味子飲片檢品中五味子素的波峰(圖二)。

分離率( $R$ )為 24.31，托尾因子( $T$ )為 1.13，均在系統適用性要求內。

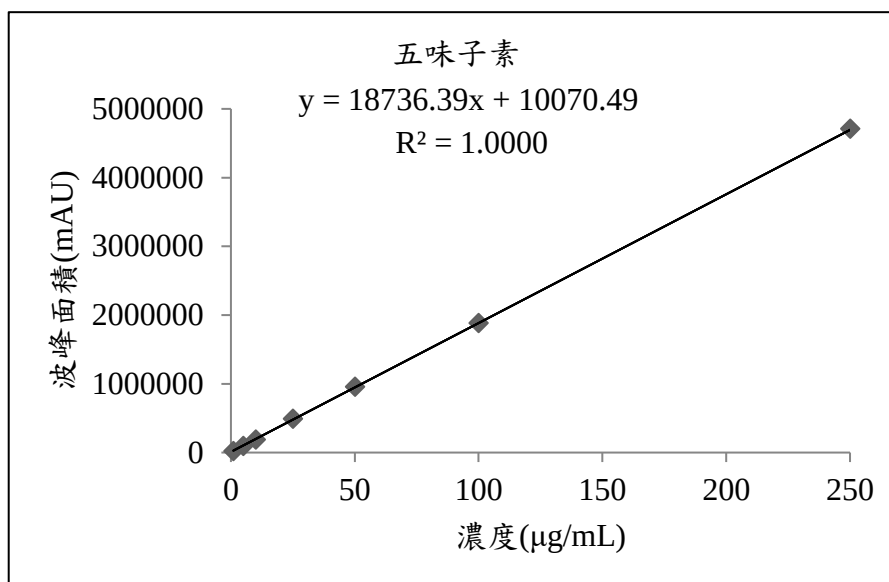


圖二、市售五味子飲片檢品之 HPLC 層析圖



### (三) 標準品五味子素檢量線

經不同濃度五味子素(x)對各自層析波峰面積的反應值(y)所得到的檢量線方程式為  $y = 18736.39x + 10070.49$ ， $R^2 = 1.0000$ ，顯示濃度在 1.0–250  $\mu\text{g/mL}$  有良好的線性關係(圖三)。



圖三、五味子素之檢量線圖

表一、五味子素之檢量線方程式

| 對照標準品 | 濃度( $\mu\text{g/mL}$ ) | 線性回歸方程式                    | $R^2$  |
|-------|------------------------|----------------------------|--------|
| 五味子素  | 1.0–250                | $y = 18736.39x + 10070.49$ | 1.0000 |

### (四) 精密度試驗

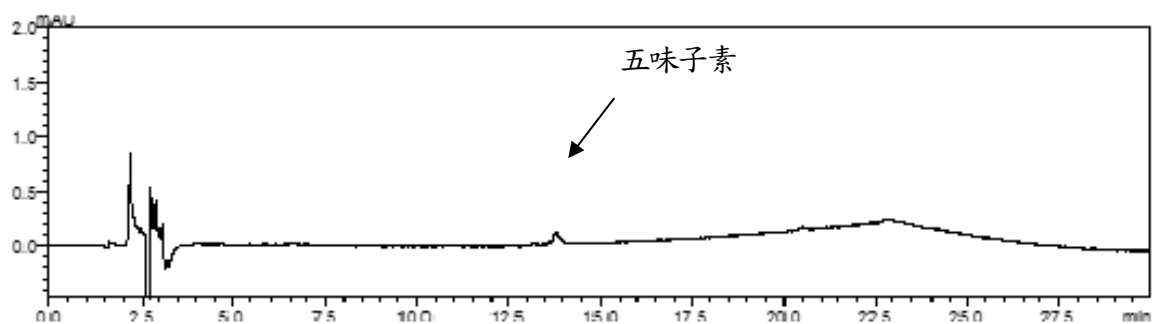
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的精密度良好，五味子素精密度之相對標準差為 0.17%，在系統適用性要求內。

### (五) 重複性與穩定性試驗

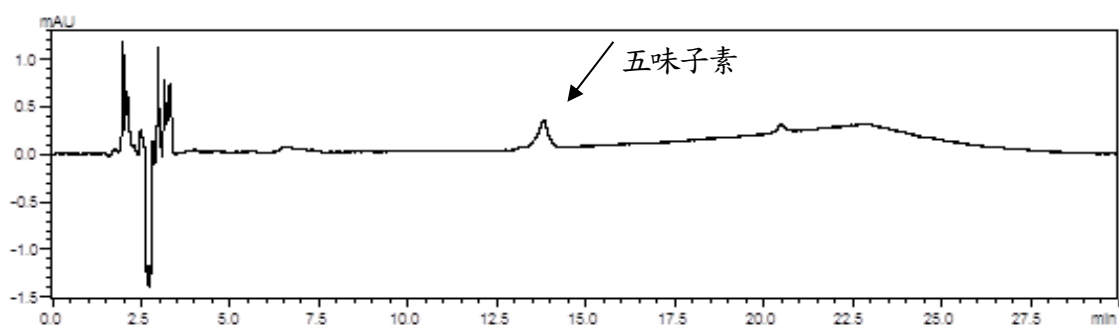
實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的重複性良好，五味子素重複性之相對標準差為 0.61%，在系統適用性要求內。五味子素在 24 小時內穩定，穩定性之相對標準差為 1.05%，變化差異小，若所有樣品處理都在 24 小時內完成，則無太大差異。

(六) 偵測極限與定量極限試驗

五味子素偵測極限為 0.05  $\mu\text{g/mL}$ (圖四), 定量極限為 0.20  $\mu\text{g/mL}$ (圖五)。



圖四、五味子素之偵測極限層析圖



圖五、五味子素之定量極限層析圖

表二、各項檢驗分析

| 檢測項目       | 五味子素                  |            |
|------------|-----------------------|------------|
|            | 濃度                    | R.S.D. (%) |
| 精密度 (n=5)  | 30 $\mu\text{g/mL}$   | 0.17       |
| 重複性 (n=5)  | 檢品溶液(No.1)            | 0.61       |
| 穩定性 (n=6)  | 檢品溶液(No.1)            | 1.05       |
| 偵測極限 (n=3) | 0.05 $\mu\text{g/mL}$ | -          |
| 定量極限 (n=3) | 0.20 $\mu\text{g/mL}$ | -          |

(七) 添加回收率試驗

五味子素平均添加回收率為 94.4%，相對標準偏差為 1.15%。

表三、五味子素添加回收率

| 編號 | 藥材稱重<br>(mg) | 含有量<br>(mg) | 加入量<br>(mg) | 測得量<br>(mg) | 回收率<br>(%) | 平均回收率<br>(%) | R.S.D.<br>(%) |
|----|--------------|-------------|-------------|-------------|------------|--------------|---------------|
| 1  | 100          | 0.48        | 0.50        | 0.950       | 93.88      | 94.35        | 1.15          |
| 2  | 100          | 0.48        | 0.50        | 0.959       | 95.70      |              |               |
| 3  | 100          | 0.48        | 0.50        | 0.957       | 95.38      |              |               |
| 4  | 100          | 0.48        | 0.50        | 0.950       | 93.83      |              |               |
| 5  | 100          | 0.48        | 0.50        | 0.945       | 92.97      |              |               |

(八) 臺灣市售五味子飲片含量測定

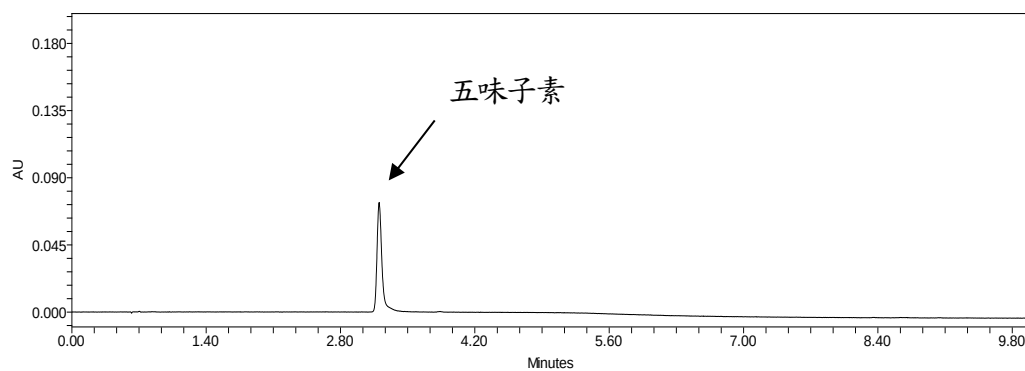
10 批五味子飲片之含量測定結果(乾燥品)如表四所示，五味子素的含量為 0.475–0.623%。建議五味子飲片指標成分五味子素的含量不得少於 0.4%。理論板數按五味子素的波峰計算應不低於 8000 (實際值為 20000)。

表四、臺灣市售五味子飲片檢品之五味子素的含量

| 藥材編號(No.) | 五味子素含量(%) | 藥材編號(No.) | 五味子素含量(%) |
|-----------|-----------|-----------|-----------|
| 1 (NA)    | 0.520     | 6 (CD)    | 0.475     |
| 2 (NC)    | 0.549     | 7 (SE)    | 0.572     |
| 3 (NE)    | 0.579     | 8 (SH)    | 0.623     |
| 4 (NH)    | 0.481     | 9 (SR)    | 0.549     |
| 5 (NI)    | 0.519     | 10 (SS)   | 0.551     |

(九) 標準品五味子素之 UPLC 層析

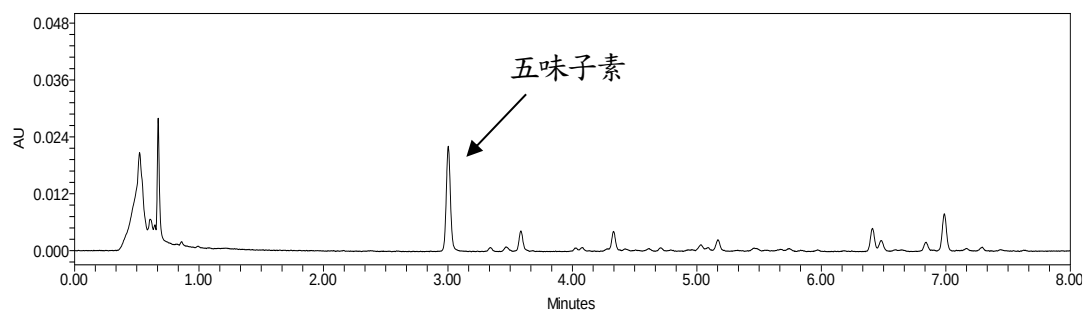
於滯留時間 3.02 分鐘處顯示五味子素標準品的波峰(圖六)。



圖六、五味子素標準品溶液之 UPLC 層析圖

(十) 市售五味子飲片檢品之 UPLC 層析

於滯留時間 3.00 分鐘處顯示五味子飲片檢品中五味子素的波峰(圖七)。



圖七、市售五味子飲片檢品之 UPLC 層析圖

## 五味子

生藥名：SCHISANDRAE FRUCTUS

英文名：Schisandra Fruit

基 原：本品為木蘭科 Magnoliaceae 植物五味子 *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill. 之乾燥成熟果實。習稱「北五味子」。

### 一、方法

- (一) 檢 品 溶 液    **【萃取方法 1】(臺灣中藥典第三版 2018) ✓**  
——取本品粉末 1.0 g，加甲醇 10 mL，超音波振盪 30 分鐘，過濾，取濾液作為檢品溶液。  
**【萃取方法 2】(修飾中華人民共和國藥典 2015)**  
——取本品粉末 1.0 g，加二氯甲烷 20 mL，加熱迴流 30 分鐘，過濾，濾液濃縮至乾，殘渣加二氯甲烷 1 mL 使溶解，作為檢品溶液。  
**【萃取方法 3】(香港中藥材標準第四冊)**  
——取本品粉末 1.0 g，加乙醇 10 mL，超音波振盪 1 小時，過濾，濾液濃縮至乾，殘渣加乙醇 1 mL 使之溶解，作為檢品溶液。
- (二) 對照標準品    取五味子素(Schizandrin)對照標準品，加甲醇製成每 1 mL 含 1.0 mg 的溶液，作為對照標準品溶液。
- (三) 薄 層 板    HPTLC silica gel 60 F<sub>254</sub>，10 cm × 10 cm、20 cm × 10 cm
- (四) 展 開 劑    **【展開劑 1】(臺灣中藥典第三版 2018)**  
——正己烷：乙酸乙酯：冰醋酸 (10：10：1)  
**【展開劑 2】(修飾中華人民共和國藥典 2015；香港中藥材標準第六冊)**  
——正己烷：乙酸乙酯：甲酸(15：5：1)  
**【展開劑 3】(修飾臺灣中藥典第三版 2018) ✓**  
——正己烷：乙酸乙酯：冰醋酸 (10：5：1)
- (五) 展 開 槽    10 cm × 10 cm、20 cm × 10 cm
- (六) 展 開    展開槽預先平衡 15 分鐘，上行展開，展開距離 8 cm。
- (七) 顯色&檢視    於主波長 254 nm 之紫外燈照射下檢視。

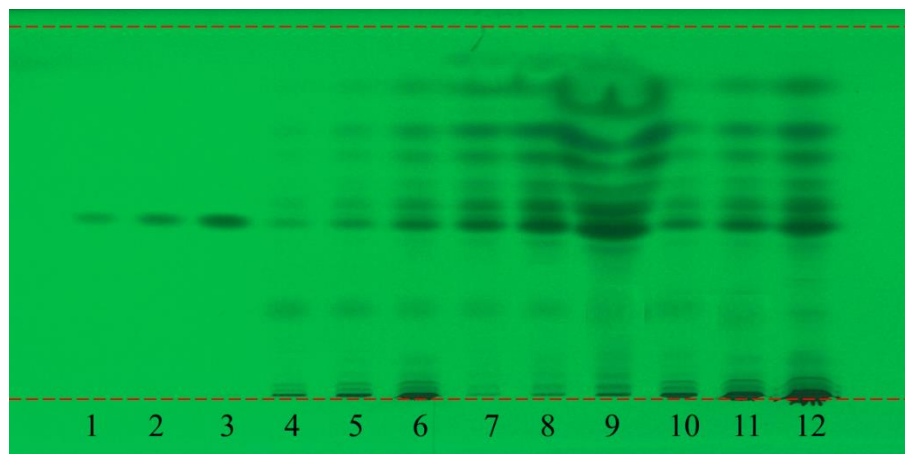
## 二、萃法選擇及濃度測試

實驗日期：107/09/25

相對溼度(RH)：55%

溫度(RT)：26 °C

【展開劑 3】 (修飾臺灣中藥典第三版 2018) ——正己烷：乙酸乙酯：冰醋酸  
(10：5：1)



| 編號       | 名稱              | 點注量           |
|----------|-----------------|---------------|
| 1，2，3    | 五味子素(1.0 mg/mL) | 1，2，5 $\mu$ L |
| 4，5，6    | 檢品溶液 5【萃取方法 1】  | 1，2，5 $\mu$ L |
| 7，8，9    | 檢品溶液 5【萃取方法 2】  | 1，2，5 $\mu$ L |
| 10，11，12 | 檢品溶液 5【萃取方法 3】  | 1，2，5 $\mu$ L |

建議萃法：3 種萃法之檢品溶液中皆有分離與檢出標準品五味子素，由於方法較簡易，故採用臺灣中藥典第三版 2018 萃法，選擇【萃取方法 1】。

建議點注量：五味子素標準品溶液 5  $\mu$ L，檢品溶液【萃取方法 1】5  $\mu$ L。

### 三、溶媒系統選擇

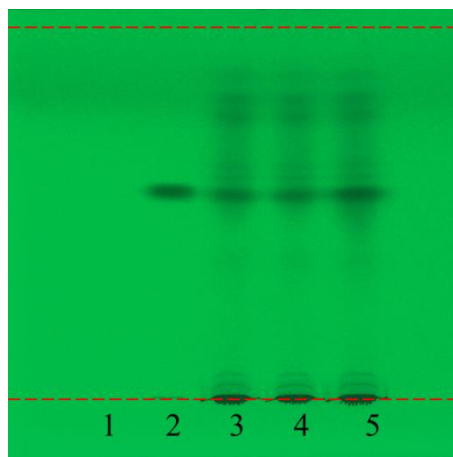
實驗日期：107/09/25

相對溼度(RH)：55%

溫度(RT)：26 °C

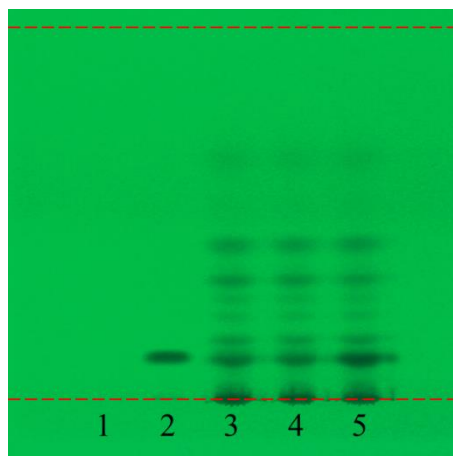
【展開劑 1】(臺灣藥典第三版 2018)——正己烷：乙酸乙酯：冰醋酸 (10：10：1)

【萃取方法 1】(臺灣中藥典第三版 2018)——HPTLC 紫外光(254 nm)檢出(五味子素  $R_f$  值為 0.55)



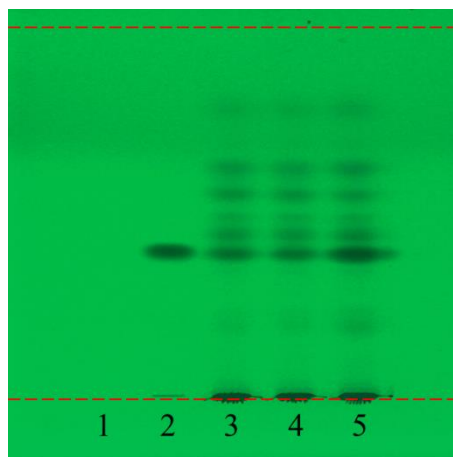
【展開劑 2】(修改中華人民共和國藥典 2015；香港中藥材標準第六冊)——正己烷：乙酸乙酯：甲酸(15：5：1)

【萃取方法 1】(臺灣中藥典第三版 2018)——HPTLC 紫外光(254 nm)檢出(五味子素  $R_f$  值為 0.1； $R_f$  值 < 0.2)



【展開劑 3】(修飾臺灣中藥典第三版 2018)——正己烷：乙酸乙酯：冰醋酸  
(10：5：1)

【萃取方法 1】(臺灣中藥典第三版 2018)——HPTLC 紫外光(254 nm)檢出(五味子素  $R_f$  值為 0.44)



1：Blank

2：五味子素

3，4：檢品溶液

5：Spike

建議溶媒系統：以【萃取方法 1】方式，3 種展開劑展開皆可從檢品溶液中分離與檢出五味子素，由於條帶顯示較清楚，且五味子素的  $R_f$  值適中，故選擇採用修飾臺灣中藥典第三版 2018 之【展開劑 3】。



#### 四、觀察方式選擇

實驗日期：107/09/25

相對溼度(RH)：55%

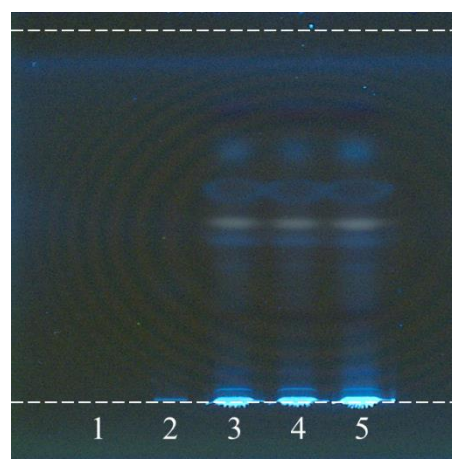
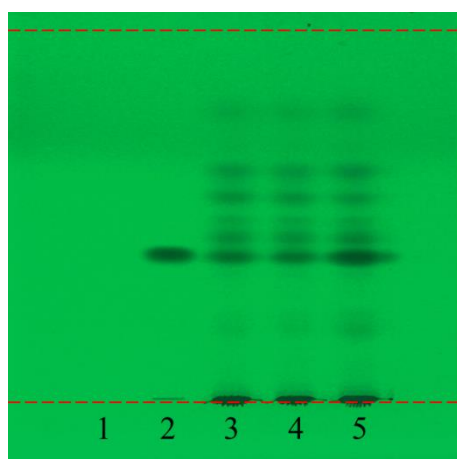
溫度(RT)：26 °C

【展開劑 3】(修飾臺灣中藥典第三版 2018)——正己烷：乙酸乙酯：冰醋酸  
(10：5：1)

【萃取方法 1】(臺灣中藥典第三版 2018)－HPTLC 紫外光(254 nm)檢出

✓

【萃取方法 1】(臺灣中藥典第三版 2018)－HPTLC 紫外光(365 nm)檢出



1：Blank

2：五味子素

3，4：檢品溶液 5

5：Spike

建議觀察方式：於紫外光(254 nm)下有明顯之五味子素標準品斑點。

## 五、十批北五味子樣品檢測

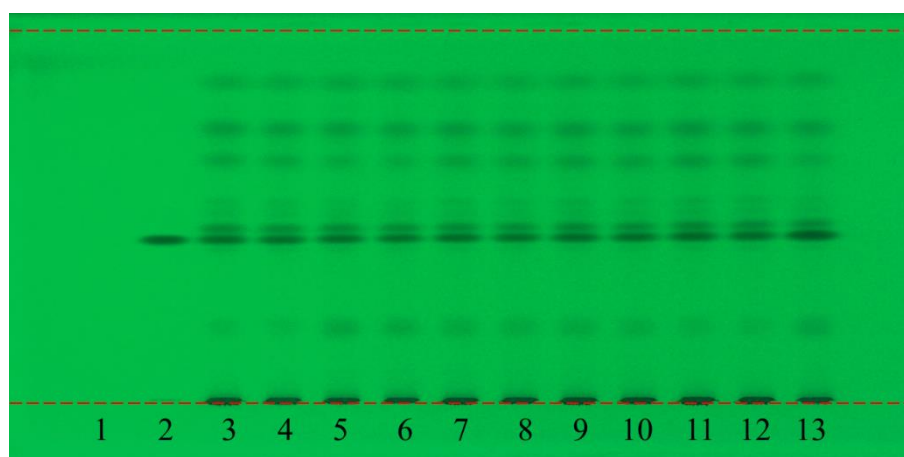
實驗日期：107/10/03

相對溼度(RH)：66%

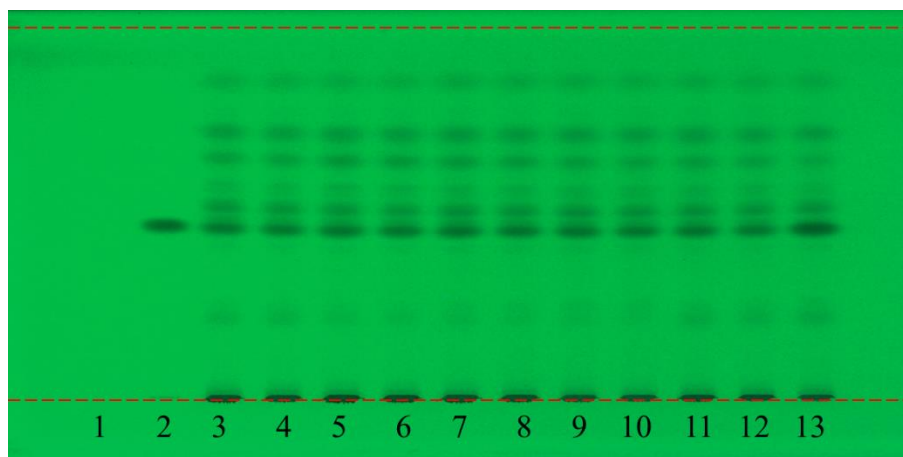
溫度(RT)：23 °C

【展開劑 3】(修飾臺灣中藥典第三版 2018)——正己烷：乙酸乙酯：冰醋酸  
(10：5：1)

【萃取方法 1】(臺灣中藥典第三版 2018)－HPTLC 紫外光(254 nm)檢出



|         |                 |
|---------|-----------------|
| 1       | Blank           |
| 2       | 五味子素(1.0 mg/mL) |
| 3 , 4   | 檢品溶液 1 (NB)     |
| 5 , 6   | 檢品溶液 2 (ND-1)   |
| 7 , 8   | 檢品溶液 3 (ND-2)   |
| 9 , 10  | 檢品溶液 4 (NF)     |
| 11 , 12 | 檢品溶液 5 (NJ)     |
| 13      | Spike (檢品溶液 5)  |



|        |                 |
|--------|-----------------|
| 1      | Blank           |
| 2      | 五味子素(1.0 mg/mL) |
| 3, 4   | 檢品溶液 6 (NR)     |
| 5, 6   | 檢品溶液 7 (NY)     |
| 7, 8   | 檢品溶液 8 (SA)     |
| 9, 10  | 檢品溶液 9 (SG)     |
| 11, 12 | 檢品溶液 10 (SU-1)  |
| 13     | Spike (檢品溶液 5)  |

結論與建議：以臺灣中藥典第三版 2018 初稿之【萃取方法 1】方式即可，並以修飾臺灣中藥典第三版 2018 之【展開劑 3】分離與檢出五味子素較佳，於紫外光 (254 nm) 下檢視即可。

## 五味子(飲片)

### 六、十批北五味子飲片檢測

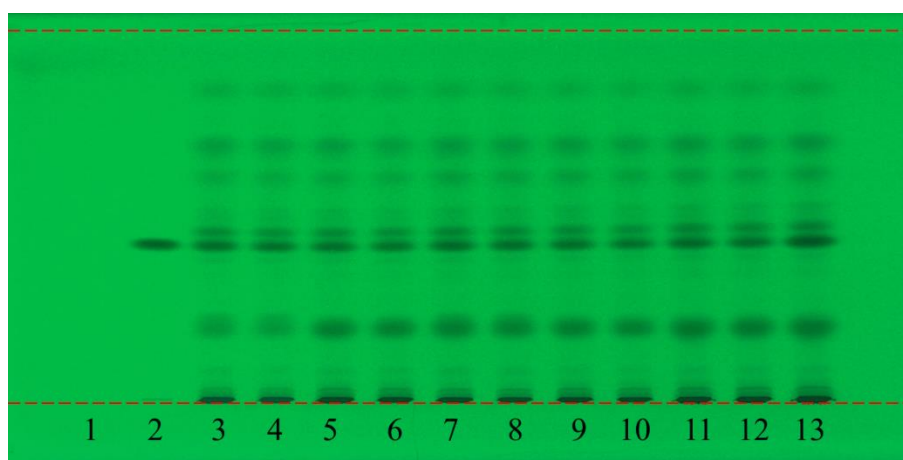
實驗日期：107/10/04

相對溼度(RH)：62%

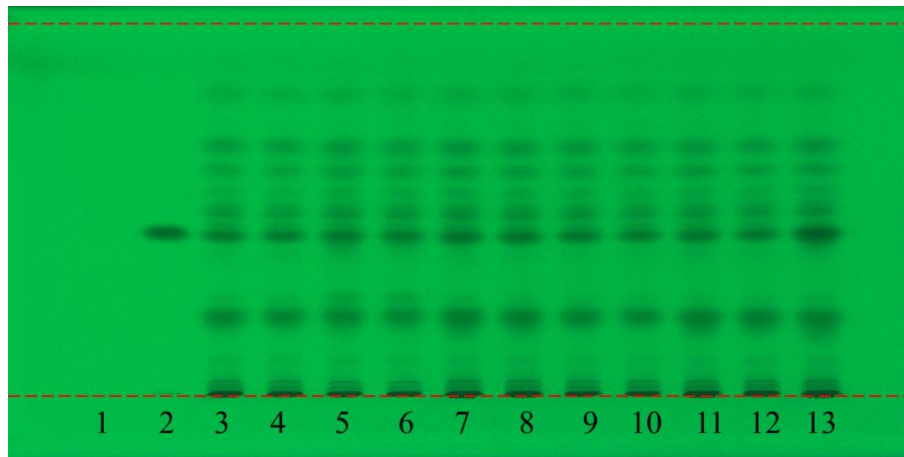
溫度(RT)：23 °C

【展開劑 3】(修飾臺灣中藥典第三版 2018)——正己烷：乙酸乙酯：冰醋酸(10：5：1)

【萃取方法 1】(臺灣中藥典第三版 2018)——HPTLC 紫外光(254 nm)檢出



|         |                 |
|---------|-----------------|
| 1       | Blank           |
| 2       | 五味子素(1.0 mg/mL) |
| 3 , 4   | 檢品溶液 1 (SH)     |
| 5 , 6   | 檢品溶液 2 (CD)     |
| 7 , 8   | 檢品溶液 3 (NE)     |
| 9 , 10  | 檢品溶液 4 (SR)     |
| 11 , 12 | 檢品溶液 5 (NA)     |
| 13      | Spike (檢品溶液 9)  |



|         |                 |
|---------|-----------------|
| 1       | Blank           |
| 2       | 五味子素(1.0 mg/mL) |
| 3 , 4   | 檢品溶液 6 (NH)     |
| 5 , 6   | 檢品溶液 7 (SE)     |
| 7 , 8   | 檢品溶液 8 (NI)     |
| 9 , 10  | 檢品溶液 9 (SS)     |
| 11 , 12 | 檢品溶液 10 (NC)    |
| 13      | Spike (檢品溶液 9)  |

結論與建議：飲片鑑別同藥材。