

表 1 3种香茶菜叶表面细微结构比较

Table 1 Comparison of fine structure of leaf epidermis among three species in *Rabdosia* (Bl.) Hassk.

名称	上表面				下表面			
	表皮细胞	非腺毛	腺鳞	气孔	表皮细胞	非腺毛	腺鳞	气孔
香茶菜	龙骨状突起,形状极不规则,纹饰不明显	长短不一,一般由 4~ 7个细胞组成,单列;毛底部的表皮细胞成辐射状排列	较少	无	稍膨胀,垂周壁波浪形,纹饰不明显	较少,有些顶端弯曲成 90度角;较细长,单列,由多细胞组成;毛着生处的表皮细胞层叠并辐射状排列	多	椭圆形,副卫细胞无或不明显;气孔四周常有辐射状角质纹饰;气孔器无规则型或横列型
大萼香茶菜	膨胀,细胞较规则,近等径,条形纹饰隐约可见	极多,极短小,由 1~ 2个细胞组成,多为单细胞毛,底部只有一个表皮细胞	较少	无	膨胀,垂周壁波形,条形纹饰	较多,短小直立,多为单细胞毛,径高比 1左右,底部一个表皮细胞	很多	椭圆形,气孔器与气孔均明显上凸;保卫细胞环形加厚,稍膨胀,副卫细胞明显;气孔器多为横列型
显脉香茶菜	扁平,稍膨胀,角质化明显;形状多边形,相对不规则,条形纹饰清晰	短小,由 1~ 3个细胞组成,多为 2个,底部表皮细胞 1~ 3个,不呈辐射状排列	较少	有,且下陷	强烈膨胀,垂周壁深波状,角质化明显,条形纹饰	未见	较少	长椭圆形,气孔器不上凸也不下凹,气孔陷于副卫细胞中;保卫细胞稍膨胀,副卫细胞多为 3个,狭长;气孔器不等型

鉴别香茶菜属不同的种提供了依据

另外,作者观察到的大萼香茶菜的叶面细微结构与冯毓秀等^[5]报道的有一定的出入。冯毓秀等指出,大萼香茶菜非腺毛少,多呈直立状态,基部细胞稍大,向上逐渐变细,由 2~ 7细胞组成。脉上非腺毛细长,略呈弧状弯曲,多由 5~ 10细胞组成。据观察,大萼香茶菜叶表面非腺毛多,由 1~ 2个细胞组成,脉上非腺毛稍长,多由 1~ 3个细胞组成,这可能是不同地理环境引起的大萼香茶菜的一种内变异。

References

[1] Fang Y Y. *Flora of Zhejiang* [浙江植物志(第 5卷)] [M]. Vol V Hangzhou Zhejiang Science and Technology Publishing House, 1986.
 [2] Zhai J K, Ju X H, Zhai Y F, et al. Electronic structure and

anticancerous activities of nervosin and jeunicin [J]. *J Zhengzhou Univ Nat Sci* (郑州大学学报·自然科学版), 2002, 32(4): 60-64.
 [3] Zhang Z Y, Wen J. Characters of leaf epidermis and seeds coats in *Hysalis* (Solanaceae) from China and its systematic significance [J]. *Acta Bot Yunnan* (云南植物研究), 1996, 18(4): 419-423.
 [4] Yang D Z, Zhang Z Y, Wen J. Structural characters of leaf epidermis in *Hyoscyameae* (Solanaceae) and there systematic significance [J]. *Acta Bot Sin*, 2002, 42(2): 133-142.
 [5] Feng Y X, Song W Z, Chen H. SEM observation and identification on the leaf epidermis of twelve species in *Isodon* [J]. *Chin Pharm J* (中国药学杂志), 1991, 26(3): 147-151.
 [6] Yan X X, Wang W L, Hu Z H. A study on developmental anatomy of two kinds of glandular hairs on the leaves of *Mentha haplocalyx* Brig [J]. *J Shandong Agr Univ Nat Sci* (山东农业大学学报·自然科学版), 2000, 31(2): 157-160.

HPLC法测定红花五味子木脂素的含量

王彦涵, 高建平, 郁韵秋, 陈道峰*
 (复旦大学药学院, 上海 200032)

摘要: 目的 测定不同产地、不同部位红花五味子的五味子酯甲 (schisantherin A) 去氧五味子素 (五味子甲素, deoxyschizandrin)、五味子乙素 (schisandrin B) 和五味子丙素 (schisandrin C) 含量。方法 HPLC法, 使用 Spherclone ODS柱; 流动相: 水 (A), 甲醇 (B), 梯度洗脱: 0~ 4 min, 70% B; 4~ 54 min, 70%~ 100% B; 流速为 0.4 mL/min; 柱温: 25℃; 检测波长: 254 nm 结果 五味子酯甲、甲素、乙素、丙素在红花五味子中含量分别为 0.02%~

* 收稿日期: 2003-01-17
 基金项目: 高校博士点基金项目 (200026519); 国家自然科学基金项目 (30271586); 高校优秀青年教师教学和科研奖励基金项目 (1999-71)
 作者简介: 王彦涵 (1965-), 女, 四川邻水人, 博士生, 生药学专业。

0.083% , 0.007% ~ 0.945% , 0.002% ~ 0.121% , 0.010% ~ 0.038% , 其中五味子甲素普遍存在 , 且果实中含量高于茎藤。结论 去氧五味子素是红花五味子果实的主要活性成分。

关键词: 红花五味子; 木脂素; 高效液相色谱

中图分类号: R286.02 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2003)10-0950-03

Determination of lignans of *Schisandra rubriflora* by HPLC

WANG Yan-han, GAO Jian-ping, YU Yun-qiu, CHEN Dao-feng

(School of Pharmacy, Fudan University, Shanghai 200032, China)

Abstract Object To determine the contents of schisantherin A, deoxyschizandrin, schisandrin B and schisandrin C in the stems and fruits of *Schisandra rubriflora* (Franch.) Rehd. et Wils., which were collected from different areas. **Methods** An HPLC method was set up. Column, Spherclone, ODS (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); mobile phase, A: H₂O, B: MeOH; gradient elution was with 70% B from 0-4 min, 70% - 100% B from 4-54 min; the flow rate was 0.4 mL/min; the column temperature was 25 °C and the DAD detector was used at 254 nm. **Results** The contents of schisantherin A, deoxyschizandrin, schisandrin B and schisandrin C in *S. rubriflora* were 0.026% - 0.083% , 0.007% - 0.945% , 0.002% - 0.121% , 0.010% - 0.038% , respectively. Deoxyschizandrin exists widely in *S. rubriflora* and its content is higher in fruits than that in stems. **Conclusion** Deoxyschizandrin is the main active lignan in the fruits of *S. rubriflora*.

Key words *Schisandra rubriflora* (Franch.) Rehd. et Wils.; lignans; HPLC

红花五味子 *Schisandra rubriflora* (Franch.) Rehd. et Wils. 为五味子科五味子属植物, 其果实和藤茎在云南、四川等地区一直入药, 果实效用同五味子, 具有收敛、滋补、强壮、安神功能, 藤茎具活血、祛风、除湿之功效^[1]。红花五味子主要含有五味子甲素、五味子丙素、五味子酚、五味子酚乙、五味子酚酯、gomisin Q 红花五味子酯和红花五味子素等联苯环辛烯类木脂素成分^[2]。药理研究表明, 此类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, 抗炎、抗胃溃疡、抗癌及抗 HIV 等活性^[3]。本实验采用 HPLC 法对不同产地、不同药用部位红花五味子的 4 种主要活性木脂素: 五味子酯甲 (schisantherin A)、去氧五味子素 (五味子甲素, deoxyschizandrin)、五味子乙素 (schisandrin B) 和五味子丙素 (schisandrin C) 进行含量测定, 以期寻找五味子新的资源植物。

1 仪器、药材与试剂

Agilent 1100 series 高效液相色谱仪, 包括四元梯度泵, 二极管阵列检测器, 化学工作站。红花五味子果实和藤茎采自不同地区 (其中 1 个样品为市售), 植物学名由作者鉴定, 凭证标本存复旦大学药学院生药学教研室。对照品: 五味子酯甲、五味子甲素系作者从华中五味子 *S. sphenanthera* Rehd. et Wils. 果实中分得, 五味子乙素和五味子丙素从五味子 *S. chinensis* (Turcz.) Baill. 果实中分得, 4 种

成分的核磁共振氢谱、碳谱和质谱与文献^[4,5]一致, 经 HPLC 检测均为单峰。甲醇为色谱纯, 水为重蒸水, 其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件: 色谱柱: Spherclone, ODS 柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 水 (A), 甲醇 (B), 梯度洗脱, 0-4 min, 70% B; 4-54 min, 70% ~ 100% B; 流速为 0.4 mL/min; 柱温: 25 °C; 检测波长: 254 nm

2.2 对照品溶液的制备: 精密称取对照品 5 mg, 置 5 mL 容量瓶中, 用少量甲醇加热溶解, 冷却, 甲醇定容, 制得标准贮备液备用。

2.3 供试品溶液的制备: 精取药材干燥粉末 0.4-2.5 g, 置具塞三角瓶中, 室温条件下精密加入环己烷 50 mL, 称重, 密封, 放置过夜, 环己烷调整重量, 滤过, 取续滤液 40 mL 水浴蒸干, 加入甲醇溶液, 5 mL 容量瓶中定容, 摇匀, 5 000 r/min, 离心 2 min, 上清液即为供试品溶液。

2.4 线性关系考察: 分别精密吸取稀释过的标准贮备液 2, 4, 6, 10, 12 μL 进样做 HPLC 分析。以峰面积对进样量 (μg) 求得直线回归方程。五味子酯甲 (0.1 mg/mL): $Y = 3132.6X + 4.0143$, $r = 0.9999$, 线性范围为 0.20 ~ 1.20 μg; 甲素 (0.11 mg/mL): $Y = 3985.7X + 7.5268$, $r = 0.9998$, 线性范围为 0.22 ~ 1.32 μg; 乙素 (0.098 mg/mL): $Y = 3163X + 2.9598$, $r = 0.9999$, 线性范围为 0.196 ~

1. 176 μg; 丙素 (0.095 mg/mL): $Y = 3.441.1X + 5.828, r = 0.9999$, 线性范围为 0.19~1.14 μg

2.5 精密度试验: 取同一份对照品溶液, 按上述色谱条件连续进样 5 次, 以峰面积计算, 五味子酯甲、甲素、乙素、丙素的 RSD 分别为 0.66%, 0.72%, 0.77%, 0.74%。

2.6 重现性试验: 取云南大理红花五味子藤茎样品, 按 2.3 的方法制备 5 份供试品溶液, 测定, 结果五味子酯甲、甲素、乙素、丙素的峰面积的 RSD 分别为 0.69%, 0.95%, 0.98%, 1.02%。

2.7 稳定性试验: 取同一份对照品溶液, 分别在 1, 2, 4, 6, 24 h 测定, 结果五味子酯甲、甲素、乙素、丙素的 RSD (n=5) 分别为 0.82%, 0.75%, 0.75%, 0.72%。结果表明样品在 24 h 内稳定。

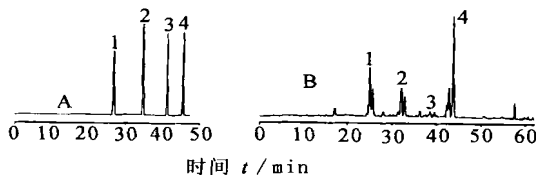
2.8 回收率试验: 精密称取丽江产红花五味子藤茎粉末 5 份, 每份 900 mg 左右, 分别精密加入浓度 1 mg/mL 的五味子酯甲、甲素、乙素和丙素各 170, 100, 70, 120 μL, 按 2.3 项下方法制备, 测定, 计算回收率, 结果见表 1

表 1 4 种木脂素的回收率试验结果 (n=5)

Table 1 Recovery test of four lignans (n=5)

木脂素	加入量 μg	测得量 μg	回收率 %	RSD %
五味子酯甲	183.6	160.70	87.51	0.65
去氧五味子素	103.0	97.94	95.09	1.63
五味子乙素	71.4	67.80	94.96	1.16
五味子丙素	129.6	130.60	100.80	1.19

2.9 样品的测定: 取 4 个产地的 6 个样品, 分别制备供试品溶液, 取 1~15 μL 进样作 HPLC 分析, 结果见图 1, 表 2



A 对照品 B 丽江产红花五味子

A-reference substance B-S. rubriflora grown in Lijiang

1-五味子酯甲 2-五味子甲素 3-五味子乙素 4-五味子丙素

1-schisantherin A 2-deoxyschizandrin 3-schisandrin B

4-schisandrin C

图 1 红花五味子 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC chromatogram of *S. rubriflora*

3 讨论

3.1 由于生药中成分复杂, 为了使所测 4 种活性成分与其他成分达到有效的分离, 我们通过反复调整流动相的比例, 最终确定流动相: 水 (A), 甲醇 (B),

表 2 红花五味子中木脂素的含量

Table 2 Lignan contents of *S. rubriflora*

编号	产地及部位	五味子			
		五味子酯甲 %	甲素 %	乙素 %	丙素 %
1	大理, 果实 (市售)	-	0.945	-	-
2	大理, 茎, 雄株	0.070	0.053	0.005	0.010
3	丽江, 茎, 雌株	0.026	0.007	0.002	0.038
4	重庆金佛山, 茎, 雌株	-	0.009	-	-
5	重庆金佛山, 果实	-	0.148	0.035	0.017
6	陕西太白山, 果实	0.083	0.757	0.121	0.026

“-” 所测成分难以检出

“-” absence in determined constituents

梯度洗脱, 0~4 min, 70% B; 4~54 min, 70%~100% B, 使 4 种活性成分达到了较好的分离。但从结果来看, 五味子酯甲的回收率较低 (87.5%), 其分离条件还有待于进一步优化。因测定的是联苯环辛烯类木脂素成分, 所以样品制备方法采用文献方法^[6], 该方法简便、可靠, 且提取效率高。

3.2 含量测定结果表明, 红花五味子木脂素成分的种类、含量因用药部位和产地的不同而有差别。其中只有五味子甲素普遍存在, 且果实中含量高于茎藤。测定结果还发现, 采自金佛山同一植株的果实和藤茎, 果实中不仅所含成分比茎中多, 而且含量比茎高, 说明形成果实后, 活性成分主要集中在果实中。

致谢: 大理医学院马晓匡教授, 重庆药用植物种植研究所刘正宇研究员、任明波先生协助采集标本; 本教研室王钢力博士后、王震平硕士研究生在实验中给予的帮助。

References

- [1] Song W Z, Xiao P G. Schisandraceae medicinal plants in China and their lignan constituents [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1982, 13(1): 40-48.
- [2] Wang H J, Chen Y Y. Studies of lignans from *Schisandra rubriflora* Rehd. et Wils. [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 1985, 20(11): 832-841.
- [3] Qin G W, Chen Y G. Phytochemistry and pharmacology of Schisandraceae plants [J]. Hongkong Science and Technology University and Biotechnology Research Institute. *Traditional Chinese Medicine Research & Development* (中药研究与开发综述) [D]. Beijing: Science Press, 2000.
- [4] Liu J S, Fang S D, Huang M F, et al. Studies on the active principles of *Schisandra sphenanthera* Rehd. et Wils. The structures of schisantherin A, B, C, D, E, and the related compounds [J]. *Scientia Sin*, 1978, 21(4): 483-501.
- [5] Chen Y Y, Su Z B, Li L N. Studies on *Fructus Schizandrae*. IV. Isolation and determination of the active compounds (In lowering high SGPT levels) of *Schizandra chinensis* Baill [J]. *Scientia Sin*, 1976, 19(2): 276-290.
- [6] Yu Y Q, Chen D F, Si T B. Determination of lignans of *Kadsura interior* [J]. *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志), 1996, 16(5): 313-316.