

的萌发,这与文献^[5]报道石斛种胚萌发的结果相似。2,4-D 对种子萌发基本起抑制作用。其他生长物质以及各种生长物质的不同配伍对花叶开唇兰种子萌发的影响有待研究。

致谢:本实验得到了贵州师范大学生物技术与工程学院的乙引教授和陈庆富教授在实验场地方面给予的帮助。

References:

- [1] Delectis Florae Reipublicae Popularis Sinicae, Agendae Academiae Sinicae Edit. *Flora Reipublicae Popularis Sinicae*

(中国植物志) [M]. Tomus 17. Beijing: Science Press, 2000.

- [2] Chen Y, Lin S R, Guan Q K, et al. Biological characteristics and habitat characters of *Anoetochilus roxburghii* [J]. *Subtrop Plant Sci* (亚热带植物科学), 1994, 23(11): 18.
- [3] Huang H L, Liu X W, Wu X S, et al. Study on seedling from seed of *Anoetochilus roxburghii* [J]. *J Chin Med Mater* (中药材), 2002, 25(1): 3-5.
- [4] Ding C C, Yu H, Liu F W. Factors affecting the germination of *Paphiopedilum armeniacum* [J]. *Acta Bot Yunnan* (云南植物研究), 2004, 26(6): 673-677.
- [5] Zeng S J, Cheng S J, Zhang J L, et al. Embryo culture and propagation of *Dendrobium in vitro* [J]. *Acta Hort Sin* (园艺学报), 1998, 25(1): 75-80.

淫羊藿属 9 种淫羊藿叶中朝藿定 C 和淫羊藿苷量的考察

谢娟平¹, 王忠东², 孙文基^{1*}

(1. 西北大学 陕西省生物医药重点实验室, 陕西 西安 710069; 2. 洛阳陆生天然植物研究所, 河南 洛阳 471000)

淫羊藿属 *Epimedium* L. 药用植物,在我国有 29 种,产于川陕者 14 种^[1],具有多方面的药理活性。《中国药典》作为淫羊藿药材的有 5 种,分别为淫羊藿、朝鲜淫羊藿、箭叶淫羊藿、巫山淫羊藿和柔毛淫羊藿^[2],笔者在进行淫羊藿成分系统分离研究的基础上,对采集的川陕豫产 9 种习惯入药的淫羊藿品种^[3],将其叶中的主要成分朝藿定 C 和淫羊藿苷的量进行了考察,结果表明大部分品种朝藿定 C 量大于淫羊藿苷。

1 仪器、试剂及样品

1.1 仪器:美国 Beckman 高效液相色谱仪,125 型泵,168 型 PDA 检测器,32Karat 色谱工作站;HAMILTON 微量进样品(HAMILTON 公司);微孔滤膜 $\Phi=13$ mm, 4.5 μ m (天津市色谱科学技术公司);YCQ—300 型超声波清洗器(上海凯波超声设备有限公司)。

1.2 试剂:乙腈为色谱纯,水为双蒸水并经 0.45 μ m 水系滤膜滤过。

1.3 对照品:均为自行分离精制,并经 UV、IR、FAB-MS、¹HNMR、¹³CNMR 鉴定结构,HPLC 检测,面积归一化法计算质量分数,均大于 98%。

1.4 药材:各品种淫羊藿样品均由洛阳陆生天然植物研究所王忠东提供并鉴定。见表 1。

2 方法与结果

2.1 色谱条件与系统适用性实验:色谱柱:BECKMAN COULTER—C₁₈ 柱(250 mm × 4.6 mm, 10 μ m);流动相:乙腈-水,梯度洗脱(乙腈:0 min、20%, 5 min、30%, 10 min、50%, 35 min、50%),柱温:室温;灵敏度 0.02 AUFS;体积流量:1 mL/min;检测波长 270 nm;理论塔板数以朝藿定 C 计为 17 616 (1 号峰)、以淫羊藿苷计为 18 496 (2 号峰)。在本实验条件下,各对照品及样品的色谱图见图 1。

2.2 供试品溶液的制备:取各品种淫羊藿的干燥叶,60 °C 下烘 3 h,取烘干品,粉碎,过 40 目筛,取约 0.3 g,精密称定,置 50 mL 具塞锥形瓶中,加入 70% 乙醇 30 mL,称质量,超声提取 1 h,称质量并补足减失质量,滤过,弃去初滤液,取续滤液用微孔滤膜(4.5 μ m)滤过,作为供试品溶液。

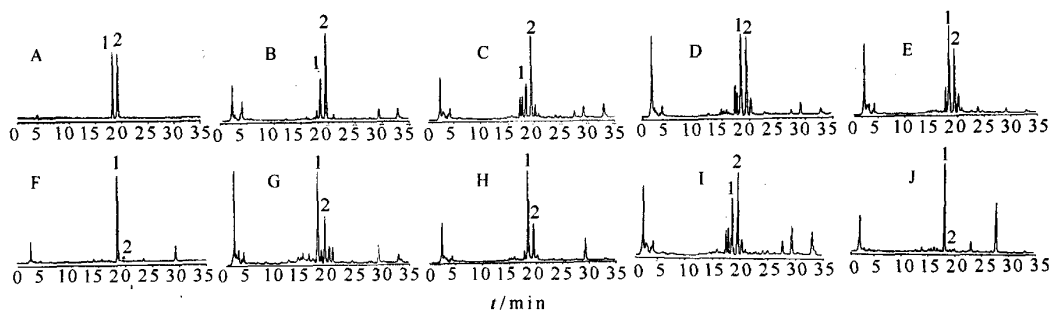
2.3 对照品溶液的制备:精密称取朝藿定 C 6.02 mg,淫羊藿苷 5.35 mg,分别用甲醇溶解并定容于 5 mL 量瓶中,各取 0.1、0.3、0.5、0.7、0.9、1.0 mL 于 10 mL 量瓶中,混合,加甲醇稀释至刻度,摇匀作为混合对照品溶液。

2.4 标准曲线及线性范围的考察:精密吸取上述各混合对照品溶液进样 20 μ L,按色谱条件测定峰面积,以峰面积为纵坐标(Y),以对照品进样量(μ g)为横坐标(X),绘制标准曲线,朝藿定 C 和淫羊藿

收稿日期:2006-06-17

作者简介:谢娟平(1972—),女,陕西宝鸡人,工程师,现为西北大学生命科学院 2004 级硕士研究生,专业方向为中药有效成分分离分析与制备。Tel: 13319266304 E-mail: xjp_7312052@163.com

* 通讯作者 孙文基 Tel: (029) 88304569



1-朝藿定 C 2-淫羊藿苷 A-对照品 B-淫羊藿 C-柔毛淫羊藿 D-川西淫羊藿 E-箭叶淫羊藿 F-巫山淫羊藿
G-心叶淫羊藿 H-直距淫羊藿 I-粗毛淫羊藿 J-长蕊淫羊藿
1-epimedium C 2-icariin A-reference substances B-*E. brevicornu* C-*E. pubescens* D-*E. elongatum* E-*E. sagittatum*
F-*E. wushanense* G-*E. parvifolium* H-*E. mikinorii* I-*E. ilicifolium* J-*E. dolichostemon*

图 1 对照品及样品的 HPLC 图谱

Fig. 1 HPLC Chromatograms of reference substances and samples

苷的线性回归方程分别为: $Y_1 = 2 \times 10^6 X + 27\ 158$, 线性范围为: $0.241 \sim 2.408\ \mu\text{g}$, $r = 0.999\ 9$; $Y_2 = 2 \times 10^6 X + 33\ 204$, 线性范围为: $0.214 \sim 2.140\ \mu\text{g}$, $r = 0.999\ 6$ 。

2.5 精密度试验:精密吸取混合对照品溶液 $20\ \mu\text{L}$,连续进样 6 次,测定峰面积,结果朝藿定 C 和淫羊藿苷的 RSD 分别为 0.96% 、 0.80% 。

2.6 重现性试验:取同一样品 6 份,制备供试品溶液,各取 $20\ \mu\text{L}$ 进样,测定峰面积,计算得朝藿定 C 和淫羊藿苷的 RSD 分别为 1.15% 、 1.06% 。

2.7 对照品稳定性试验:精密吸取混合对照品溶液 $20\ \mu\text{L}$ 分别于配制后的 $0, 4, 8, 16, 24, 48\ \text{h}$ 内进样,测定峰面积,计算朝藿定 C 和淫羊藿苷 RSD 分别为 0.7% 、 0.5% 。结果表明对照品溶液在 $48\ \text{h}$ 内稳定。

2.8 加样回收率:准确称取已定量的同一品种淫羊藿样品 5 份,分别定量加入朝藿定 C、淫羊藿苷对照品溶液,待自然挥干后,按供试品溶液制备方法操作,并按上述色谱条件测定峰面积,计算两种成分的平均回收率分别为 100.63% 和 100.82% , RSD 分别为 0.92% 和 0.94% 。

2.9 样品测定:取各品种淫羊藿的干燥叶,按供试品溶液制备方法操作,每次进样 $20\ \mu\text{L}$,按照色谱条件测定峰面积,以外标法计算质量分数,结果见表 1。

3 讨论

3.1 本实验采用梯度洗脱方法对淫羊藿川陕豫不同品种中的朝藿定 C 和淫羊藿苷的量进行了测定,色谱条件稳定,测定结果可靠。

3.2 流动相的选择:实验先后选择了甲醇-水、乙腈-水($25:75$)^[4]、乙腈-水(梯度洗脱)体系,从分离情况和出峰时间等综合分析选择乙腈-水梯度洗脱。

表 1 不同品种淫羊藿的测定结果 ($n=3$)

Table 1 Determination of various species of *Epimedium* L. ($n=3$)

样品	产地	朝藿定 C/%	淫羊藿苷/%
淫羊藿	洛阳	1.523	3.568
川西淫羊藿	四川	2.617	2.320
直距淫羊藿	四川	2.003	1.115
巫山淫羊藿	四川	4.450	0.030
心叶淫羊藿	洛阳	1.268	0.683
箭叶淫羊藿	南阳	1.950	1.333
柔毛淫羊藿	四川	1.111	2.728
粗毛淫羊藿	四川	0.889	1.396
长蕊淫羊藿	四川	2.198	0.078

3.3 由表 1 可知,《中国药典》品种之一的巫山淫羊藿中淫羊藿苷的量经多份样品测定远未达到《中国药典》规定,而另一种成分朝藿定 C 的量却远远大于淫羊藿苷,色谱图也有大的差别,因此,建议《中国药典》应将巫山淫羊藿品种从淫羊藿中单列出来。

3.4 川西淫羊藿、直距淫羊藿、粗毛淫羊藿、心叶淫羊藿虽不是《中国药典》品种,但淫羊藿苷的量却高于《中国药典》的规定。此外,除淫羊藿、柔毛淫羊藿中的淫羊藿苷量大于朝藿定 C 外(图 1-B、C),川西淫羊藿、巫山淫羊藿、箭叶淫羊藿、长蕊淫羊藿、直距淫羊藿、心叶淫羊藿中朝藿定 C 的量均远远大于淫羊藿苷(图 1-D~J),所以仅以淫羊藿一种成分作为品种较多的淫羊藿药材定量测定的指标具有一定的片面性。

References:

- [1] Jiang J W. Dictionary of Medicinal Plant (药用植物辞典) [M]. Tianjin Science and Technology Publishing House, 2005.
- [2] Ch P (中国药典) [M]. Vol 1. 2005.
- [3] Delectis Florae Reipublicae Popularis Sinicae, Agendae Academiae Sinicae Edita. Flora Reipublicae Popularis Sinicae (中国植物志) [M]. Tomus 27. Beijing: Science Press, 1979.
- [4] Guo B L, Xiao P G. Determination of epimedium flavonoids by HPLC [J]. North Pharm J (西北药学杂志), 1996, 10 (5): 201.