

冬虫夏草及其代用品有效成分比较研究

山东省临朐县中医院(262600)
辽宁省丹东市药检所
辽宁中医学院

吴洪臻 董新红 马德恩
颜春华
孟舒 姜泓 刘珂

视结果见图 1。

图 1 结果可见在绿色背景下有黑色斑点。人工蛹虫草子实体、蚕蛹虫草都含有虫草素, 人工蛹虫草子实体的虫草素斑点深于蚕蛹虫草中虫草素的斑点, 三者都含有腺苷, 而 N^6 -甲基腺苷仅在人工蛹虫草子实体中存在。

3 高效液相色谱法鉴别

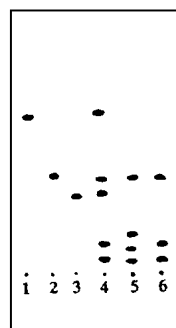
3.1 仪器与试剂

仪器: 日本日立公司 L-7000 系列高效液相色谱仪, D-7500 积分仪, CSF-1A 超声波发生器(上海超声波仪器厂)。试剂: 甲醇为色谱纯, 水为重蒸水, 其它为分析纯。

3.2 方法与结果

3.2.1 液相色谱条件: 色谱柱 Nucleosil-100C₁₈反相柱 4.6 m × 250 mm × 5 μm, 流动相甲醇-水 (15 : 85) 临用前以微孔滤膜

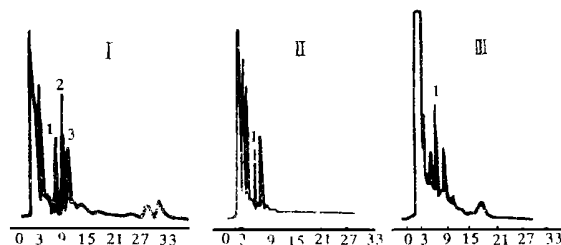
图 1 冬虫夏草、蚕蛹虫草和人工蛹虫草子实体薄层色谱图



1-虫草素 2-腺苷
3- N^6 -甲基腺苷
4-人工蛹虫草子实体
5-天然冬虫夏草
6-蚕蛹虫草

(0.45 μm) 过滤并经超声波脱气处理, 流速 1 mL/min 检测波长 260 nm 检测灵敏度 0.1 AUFS 柱温为室温。

3.2.2 样品分析: 分别精密吸取用于薄层层析的供试品溶液 1 mL 置 10 mL 容量瓶中加 50% 乙醇水溶液稀释至刻度摇匀, 溶液经微孔滤膜 (0.45 μm) 滤过作样品溶液。于上述色谱条件进样每次 6 μL, 样品色谱图见图 2。



I-人工蛹虫草子实体 II-冬虫夏草 III-蚕蛹虫草
1-腺苷 2-虫草素 3- N^6 -甲基腺苷

图 2 人工蛹虫草、冬虫夏草和蚕蛹虫草的 HPLC 色谱图

冬虫夏草 *Cordyceps sinensis* (Berk.) Sacc 为子囊菌门麦角菌科虫草属药用真菌, 生产于西藏、青海、四川、云南等地。由于冬虫夏草的野生资源十分有限, 人工培育这一研究课题引起了国内学者的关注, 东北地区的学者培育出蚕蛹虫草及人工蛹虫草子实体并先后通过了国家科委组织的专家鉴定。由国家专利局 1993 年公布, 经化学、药效、毒理等系列实验研究, 结果表明, 它们所含虫草素、甘露醇等成分均达到或超过名贵中药冬虫夏草, 而且证明三者都具有滋补、强壮、抗疲劳、抗衰老、增强免疫力和性功能的作用, 本文对虫草属的主要有效成分——核苷类成分进行比较研究, 为虫草的质量考察提供科学依据。

1 实验材料

1.1 冬虫夏草由山东中医学院提供并鉴定为 *Cordyceps sinensis*; 人工蛹虫草子实体由山东中医学院提供经鉴定为 *C. militaris of artificial sorophorc*; 蚕蛹虫草由辽宁丹东市药检所提供经鉴定为 *C. militaris of silkworm*。

1.2 对照品: 虫草素 (Sigma 公司), 腺苷及 N^6 -甲基腺苷为辽宁省丹东市药检所提供, HPLC 分析与薄层层析证明为单一成分。

2 薄层色谱鉴别

2.1 薄层板的制备: 硅胶 GF₂₅₄10 g 加 0.1% CMC 和 0.1 mol/L 磷酸氢二钠 ($Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$) 溶液各 15 mL 调匀铺板 7 块放置备用必要时烘干。

2.2 供试液制备: 分别取冬虫夏草、蚕蛹虫草、人工蛹虫草子实体粉末各 3 g 加 20% 乙醇溶液 60 mL 超声处理 30 min, 滤过, 滤液浓缩至 10 mL, 然后将滤液通过硅胶 H 干柱用 90% 乙醇溶液 60 mL 冲洗, 收集洗脱液浓缩至干, 残渣用 50% 乙醇溶液定容至 5 mL 作为供试品液, 另取虫草素, 腺苷, N^6 -甲基腺苷对照品用 50% 乙醇水溶液制成每 1 mL 含 0.2 mg 作为对照品液。点样量各 8 μL。

2.3 薄层色谱: 展开剂以氯仿-乙酸乙酯-异丙醇-浓氨水 (8 : 2 : 6 : 0.6) 为展开剂(中国医学科学院药物研究所主编. 中草药现代研究. 北京: 中国医学科学院中国协和医科大学联合出版社, 1995: 91), 展开至 5 cm 取出晾干, 置紫外光灯 (254 nm) 下检

通过 HPLC 色谱图可明显看出 3 种药材不仅在虫草素、N⁶-甲基腺苷、腺苷等成分上有明显区别,而且人工蛹虫草子实体 t_R 在 28, 30 min 左右有一个色谱峰而冬虫夏草 t_R 在 9 min 之后无峰。

4 讨论

4.1 由于冬虫夏草生态环境的构成十分复杂,产量少远远不能满足药用。培养虫草菌的无性型以进行

其代用品的研究有其深远意义。

4.2 核苷类成分作为虫草属的主要有效成分是控制虫草质量的重要指标之一。由于核苷类成分极性较大且显碱性薄层层析时易产生拖尾,所以采用碱板并在展开剂中加入氨水以防止其解离。

(1999-03-29 收稿)

生菜茎叶挥发油的研究

白求恩医科大学基础医学院(长春 130021)

赵春芳* 李平亚 张宏** 周明娟

菊科植物莴苣属生菜 *Lactuca sativa* L. 为一年生草本植物。据报道,其干燥种子注射液具有降低血压、减慢心律、降低血脂和抗动脉粥样硬化及抗心律失常作用^[1~4],但目前关于其挥发油方面的研究尚未见报道。本文对生菜茎叶挥发油成分进行了初步研究,经过水蒸气蒸馏提取,利用 GC-MS 计算机联用技术进行测定分析,确定了 35 个化合物及其相对含量。

1 挥发油的提取

新鲜生菜茎叶 9 kg, 经过水蒸气蒸馏, 乙醚萃取, 无水硫酸钠干燥后, 得到挥发油 0.5 mL, 保存在乙醚液中。

2 分离鉴定

2.1 气相色谱条件: GC: 美国惠普 HP 6890 MSD 色谱仪。毛细管柱: HP-5 石英毛细管柱 25 mm × 0.32 mm。进样量: 1 μL。载气: He。柱前压: 133.16 kPa。分流比: 30 : 1。进样口温度: 265 °C。程序升温条件: 65 °C $\xrightarrow{5\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}}$ 125 °C $\xrightarrow{8\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}}$ 260 °C

2.2 质谱条件: 美国 HP MS 5973 型质谱仪。电离方式: EI。离子能量: 70 eV。离子源温度: 200 °C。电子倍增器电压: 2 400 eV。扫描范围: 33~450 amu。

2.3 GC 6890/MS 5973 计算机联用仪: 美国惠普公司。

3 结果与讨论

3.1 实验结果: 取挥发油 0.1 μL 进样, 进行分离鉴定, 将所得的质谱与标准的图谱比较确定化合物, 同时根据归一化法计算相对含量, 结果(相对百分含量)如下: 苯乙基醇 1.27, 2-乙基乙酸 2.01, 苯并噻

唑 3.22, 丁酸丁酯 1.28, 苯乙酰胺 1.97, 4, 8, 8-三甲基-9-甲撑-1, 4-十氢甲撑 2.04, 2, 6, 10, 14-四甲基正十五烷 3.01, 1, 13-十四碳二烯 0.76, 菲 8.49, 二苯乙炔 1.40, 2, 6, 10, 14-四甲基正十六烷 3.48, 呋唑 1.53, 1, 2-苯二羧酸(2-甲基丙基)酯 8.31, 1-十八碳烯 1.89, 9-甲基蒎 2.05, 四氢环戊菲 1.29, 十六酸甲酯 1.97, 十六酸 3.06, 二十烷 2.69, 2, 6, 10-三甲基十二烷 1.62, 二十烷 3.20, [Z, Z, Z]-9-12, 15-十八碳三烯羧酸甲酯 0.86, 茈 5.03, 苯并[b]萘并[2, 3-d]呋喃 0.68, 2, 6, 10, 14, 18-五甲基十九烷 0.74, 1-二十碳烯 1.25, 4-十八碳烯 3.82, 乙基环二十二烷 1.03, 十一烷基环己烷 1.31, [Z]-9-十八烯-2-乙醇醚 1.23, 三亚苯 1.18, (E)-3-二十碳烯 6.98, 二十二烷酸甲酯 3.02, 邻苯二羧酸双(2-乙基己基)酯 1.10, 1-氯二十七烷 2.87。

3.2 讨论: 通过研究发现生菜茎叶挥发油中含有近百种成分, 经过计算机检索鉴定了 35 个化合物, 占总含量的 87.64%, 其中菲, 1, 2-苯二羧酸双(2-甲基丙基)酯, 茈及(E)-3-二十碳烯含量较高, 分别为 8.49%, 8.31%, 5.03% 及 6.98%。另外, 研究发现生菜很难被害虫侵蚀, 为了探索其中的奥秘, 我们首先对其茎叶挥发油进行了研究。有关生菜中化学成分的对各种害虫的拒避实验及其他生物活性正在研究之中。

参考文献

- 1 边学义, 赵士林, 高清溢, 等. 锦州医学院学报, 1982, 3(2): 20
- 2 边学义, 李桂攀, 付振华, 等. 中西医结合杂志, 1985, 5(3): 184
- 3 王维芝, 边学义, 王化洲, 等. 中草药, 1992, 23(7): 366
- 4 王维芝, 肖志洁, 边原, 等. 中国中药杂志, 1995, 20(1): 50

(1999-04-23 收稿)

* 赵春芳 女, 33 岁, 讲师, 硕士。从事天然药物化学研究, 共发表论文 7 篇。

** 东北师范大学