

女贞和小蜡果实中有效成分的动态分析与测定

浙江医科大学药学系(杭州 310031) 徐娟华* 黄亦佳 稽宏亮**

摘要 对女贞 *Ligustrum lucidum* Ait. 和小蜡 *L. sinense* Lour. 两植物的果实中多糖、酪醇、齐墩果酸的含量进行动态分析,对其在果皮和种子中的含量进行比较,对日本女贞 *L. japonicum* Thumb. 也进行了上述 3 者的含量测定,结果发现:a)小蜡果实中 3 者含量均明显高于女贞子;b)女贞果实多糖含量以外果皮最高,小蜡果皮与种子中两者相近;c)两种果实酪醇含量均以种子为高;d)小蜡中齐墩果酸含量果皮远高于种子。

关键词 女贞 小蜡 日本女贞 多糖 酪醇 齐墩果酸 动态分析

女贞子为木犀科女贞属植物女贞 *Ligustrum lucidum* Ait. 的干燥成熟果实,具有滋补肝肾,明目乌发之功效^[1,2]。现代研究表明有增强机体免疫功能,抑制肿瘤细胞逆转录酶和 DNA 聚合酶的作用。其主要有效成分为多糖、酪醇、齐墩果酸等^[3~6],其中酪醇即红景天甙元,具有较强的护体强健作用,我们发现女贞子中酪醇含量较高^[7],这对于女贞子的传统扶正固本也很重要。为了更加合理利用药用资源,对杭州产不同时期样品进行了三者含量的动态分析。

小蜡 *L. sinense* Lour. 也为木犀科女贞属植物,主要分布我国长江以南各省,浙江省主要在山区、半山区,资源也很丰富,依据植物的亲缘关系,我们也进行了多糖、酪醇及齐墩果酸的含量动态研究,以期寻找小蜡果实资源开发利用的科学依据。

同时还对上述两者果实的不同部位(女贞:外果皮,内果皮,种子;小蜡:果皮,种子)和日本女贞(*L. japonicum* Thumb., 杭州市植物园)这 3 种成分进行了含量测定和比较。

1 多糖的含量测定^[8,9](苯酚-硫酸法)

1.1 提取与精制:取过 20 目筛的女贞子粉末 100 g 置圆底烧瓶中,加 95%乙醇回流 4 次,每次 200 mL,1.5 h。取残渣,加水 600

mL 煮 5 h,过滤,滤液加 95%乙醇至含醇量为 50%,静置过夜,离心,沉淀用无水乙醇洗 3 次,每次 100 mL,再加少量水溶解,用活性炭脱色 2 次,再加乙醇至含醇为 50%,静置过夜,离心,沉淀依次用无水乙醇洗 5 次,丙酮洗 5 次,得精制女贞多糖,于 60℃烘干备用。

同法制得精制小蜡多糖。

1.2 含量测定

1.2.1 材料、试剂和仪器:女贞果实、小蜡果实和日本女贞果实采自杭州市和德清县,由第一作者鉴定。

称取重蒸馏的苯酚(182℃馏分)10 g,加水 150 mL 混匀,使溶解,置棕色瓶中于冰箱中备用。乙醇等试剂为分析纯。

DU-65 分光光度计(BECKMAN 公司制造),QY-20A 取液器(北京青云航空仪表公司),LXJ-64-01 离心机(北京医疗仪器厂)。

1.2.2 标准曲线:精密称取 105℃干燥至恒重的标准葡萄糖 100 mg 置 100 mL 容量瓶中,加水适量溶解,稀释至刻度,摇匀。精密移取 10.00 mL 于 100 mL 量瓶中,加水至刻度,即得浓度为 0.1 mg/mL 的标准液。

精取 0.10、0.20……0.80 mL,各置 10

* Address: Xū Juānhuā, Department of Pharmacy, Zhejiang Medical University, Hangzhou

徐娟华 硕士研究生,副教授,专业研究方向为天然药物活性成分,现阶段主要工作为女贞子等药的护肝活性成分和海藻类资源开发研究。近几年发表的有关论文为:女贞子中红景天甙元的分析和含量测定[现代应用药学,1995,12(4):20]、女贞和小蜡中有效成分的分离与检测[中国现代应用药学,1997,14(4):14]。

** 本校 96 届实习生,现在浙江省湖州市第三人民医院工作。

mL 容量瓶中,加蒸馏水使成 2.00 mL,再加 5% 苯酚试液 1.50 mL,摇匀,迅速滴加浓硫酸 6.50 mL,迅速摇匀,放置 5 min,置沸水浴中加热 15 min,取出,迅速冷至室温;另以 2.00 mL 蒸馏水同样操作,作为空白对照,按分光光度法在 490 nm 处测定吸收度。绘制标准曲线,求得回归方程: $Y(\mu\text{g/mL}) = 0.5047 + 13.7075X, r = 0.99996$ 。

1.2.3 换算因子:精密称取 60℃ 干燥至恒重的精制女贞多糖 49.5 mg,定容到 250 mL,作贮备液。再同法得小蜡多糖的贮备液 (50.4 mg/250 mL)。分别精密吸取贮备液 0.40 mL,按标准曲线的制备项下的方法测定吸收度,代入标准曲线,求得相当多糖液的葡萄糖浓度 ($\mu\text{g/mL}$),计算换算因子,女贞多糖 f 为 5.1188,小蜡多糖 f 为 7.1330。

1.2.4 糖含量:精密称取 105℃ 干燥恒重的女贞子粉、小蜡果粉 0.50 g 置烧瓶中分别加 85% 乙醇 100 mL,水浴回流 1 h,乘热过滤,洗涤残渣,挥去乙醇,加蒸馏水 85 mL 回流 1.5 h,乘热过滤,再用热的蒸馏水洗涤残渣数次,合并滤液于 250 mL 容量瓶中定容。置冰箱备用。

表 1 3 种果实中多糖、酪醇和齐墩果酸的含量测定结果

植物名称	测定部位	采集地点	采集时间	多糖 (%)	酪醇 (%)	齐墩果酸 (%)
女贞	果实	杭州	1995-11	9.17	0.6167	1.7111
女贞	果实	杭州	1995-12	10.11	0.5603	
女贞	果实	杭州	1996-01	12.83	0.5253	
女贞	果实	杭州	1996-02	12.82	0.4248	
女贞	外果皮	杭州	1996-01	17.80	0.3759	
女贞	内果皮	杭州	1996-01	7.59	0.3120	
女贞	种子	杭州	1996-01	12.89	0.5545	
女贞	果实	德清	1996-02	6.81	0.9395	2.1177
日本女贞	果实	杭州	1995-12	13.32	0.5697	2.4611
小蜡	果实	杭州	1995-11	17.46	0.8386	2.1107
小蜡	果实	杭州	1995-12	15.34	1.0112	1.5850
小蜡	果实	杭州	1996-01	23.00	1.0073	1.2141
小蜡	果实	杭州	1996-02	24.11	0.8334	0.8026
小蜡	果皮	杭州	1995-12	20.26	0.5790	2.8173
小蜡	种子	杭州	1995-12	20.78	1.1524	0.1313

精密吸取各样品液 0.50 mL 于试管中,分别加蒸馏水 1.50 mL,按“标准曲线”项下“加苯酚试剂 1.50 mL……在 490 nm 波长处”测定吸收度。计算各样品中多糖含量。见表 1。

1.2.5 回收率:精密吸取多糖样品液 0.25 mL,加相应的精制多糖贮备液。以未加贮备液的样品液为空白,依上法测定含量,计算得:女贞多糖回收率为 99.6%,RSD = 1.4%;小蜡多糖回收率为 102.0%,RSD = 2.6%。

2 酪醇的含量测定^[7,8](单波长薄层扫描法)

2.1 试剂与仪器:酪醇对照品,其它所用试剂均为分析纯;层析展开剂为氯仿-乙酸乙酯 (6:1),展开 3 次,高效薄层硅胶板,以碘熏定位。

日本岛津 CS-930 双波长薄层扫描仪,扫描范围 200~370 nm, $\lambda_{\text{max}} = 290 \text{ nm}$,反射法锯齿扫描, $S_x = 0$,狭缝 2 nm×4 nm。

2.2 标准曲线:精密称取一定量的酪醇对照品,用无水乙醇配制浓度为 0.168 mg/mL 的标准溶液,分别点 2.0、4.0、6.0、8.0、10.0、12.0 μL 于同一薄层板上,上行展开 8.5 cm 展开 3 次,待展开剂挥尽后,碘熏显色定位,于波长 290 nm 处测定斑点面积值,得标准曲线,回归方程为: $Y = 32575.88 + 114790.77X, r = 0.9985$ 。

2.3 酪醇含量:精取各种干燥至恒重的女贞子粉、小蜡粉约 1.0 g 于烧瓶中,加 1% 的硫酸加热回流水解,水解液调 pH 至 4~5,过滤,滤液蒸干,再用 95% 乙醇回流提取,过滤,回收乙醇,定容至 10 mL。薄层板上点样,展开,显色,定位,扫描,计算含量。结果见表 1。

2.4 回收率:精密吸取酪醇对照品液 2.50 mL,各加入一定量样品,以未加标准品的样品液为对照,依上法操作,测得酪醇回收率为:99.04%,RSD = 1.04%。

3 齐墩果酸的含量测定^[10](双波长扫描法)

3.1 试剂与仪器:齐墩果酸标准品(中国药品生物制品鉴定所),其它所用试剂均为分析纯;展开剂为氯仿-甲醇 (20:1),高效薄层板,50% 硫酸显色,80℃ 烘烤 20 min。

日本岛津 CS-930 双波长薄层扫描仪, $\lambda_s = 530 \text{ nm}$, $\lambda_R = 640 \text{ nm}$,反射法锯齿扫描, S_x

=3,狭缝 2 nm×2 nm。

3.2 标准曲线:精密称取一定量的齐墩果酸标准品,用 95%乙醇配制浓度为 1.20 mg/mL 的标准溶液,分别点 2、4、6、8、10、12 μ L 于同一薄层板上,上行展开 8.5 cm,待展开剂挥尽后,用 50%的硫酸显色,置 80℃烘烤 20 min,取出后立即用一洁净的玻璃板盖上,四周用胶布封牢。稍冷后测定,得标准曲线回归方程: $Y = 29351.87 + 19499.65X$, $r = 0.9991$ 。

3.3 齐墩果酸含量:精密称取各种干燥恒重的女贞子粉、小蜡粉约 1.0 g,分别加蒸馏水 8 mL,浓盐酸 5 mL,氯仿 20 mL,于 85℃水浴回流提取 2.5 h,分出氯仿,酸水液用氯仿萃取 2 次,每次 20 mL,合并氯仿,回收后氯仿定容至 10 mL。薄层板上点样,展开,显色,扫描,计算含量。结果见表 1。

3.4 回收率:精密量取齐墩果酸标准品液(1.20 mg/mL)0.80 mL,再分别加入一定量的样品液为对照,于 2 mL 容量瓶中,加氯仿定容。点样,展开,显色,定位,扫描,计算,得齐墩果酸回收率为 101.5%,RSD=0.77%。

3.5 稳定性:依上操作,每隔 1 h 测定斑点面积值,结果在 2 h 内稳定性良好。

4 小结与讨论

4.1 由多糖含量测定可见:a)小蜡>日本女贞>女贞(杭州)>女贞(德清);b)女贞:外果皮>种子>内果皮,小蜡:果皮与种子两者含量相近;c)女贞:1995-11<1995-12<1996-01<1996-02,小蜡:1995-11>1995-12<1996-01<1996-02,即两者的多糖含量均于果实成熟后期较高。

4.2 由酯醇含量测定可见:a)小蜡>日本女贞>女贞(杭州、德清);b)女贞:种子>外果

皮、内果皮,小蜡:种子>果皮;c)女贞:1995-11>1995-12>1996-01>1996-02,小蜡:1995-11<1995-12、1996-01<1996-02,即两者的酯醇含量均以果实成熟前期较高。

4.3 由齐墩果酸含量测定可见:a)小蜡、女贞(杭州)<女贞(德清)<日本女贞;b)小蜡:果皮>种子;c)小蜡:1995-11>1995-12>1996-01<1996-02。文献记载,女贞子的齐墩果酸也以 11 月较高^[11],且以外果皮的含量最高^[12]。

4.4 综合女贞、小蜡中多糖、酯醇、齐墩果酸 3 者含量动态情况可见,杭州产小蜡果实中这 3 种成分的含量均高于女贞子,且女贞以 11 月、小蜡以 12 月采收较好,此时酯醇和齐墩果酸的含量相对均较高,果实产量也大。

4.5 实验中发现用双波长扫描法测齐墩果酸时展开之前先饱和(约 10 min)、喷显色剂适量、80℃显色后立即用玻板盖住并四周用胶布封牢对实验结果稳定都很重要。

参考文献

- 1 江苏新医学院编. 中药大辞典. 上册. 上海:上海人民出版社,1977. 238
- 2 吴立军,等. 沈阳药学院学报,1994,11(3):215
- 3 石立夫,等. 药学通报,1995,30(12):935
- 4 李 勇,等. 中草药,1994,25(8):441
- 5 王德仁,等. 中草药,1993,24(1):4
- 6 Inouge H, et al. Tetrahedron, 1972, 28: 423; CA. 77: 126993j
- 7 徐娟华,等. 现代应用药学,1995,12(4):20
- 8 王 强,等. 中草药,1991,22(2):67
- 9 李满飞,等. 中草药,1990,21(10):10
- 10 徐娟华,等. 现代应用药学,1997,14(4)
- 11 宓鹤鸣,等. 中草药,1995,26(5):257
- 12 李曼玲,等. 中国中药杂志,1995,20(4):216

(1997-06-06 收稿)

我部尚有合订本 1985、1986、1988~1994,每本订价 50 元,1995、1996 每本定价 102 元。欲订者请汇款《中草药》杂志编辑部收。

地址:天津市南开区鞍山西道 308 号 邮编:300193 电话:(022)27474913