

- quercetin a new antioxdant and biologically active food additive [J]. *Vopr Pitan*, 1997(6): 12-15.
- [20] Tiukavkina N A, Rulenko I A, Kolesnik I A. Natural flavonoids as dietary antioxidants and biologically active

additives [J]. *Vopr Pitan*, 1996 (2): 33-38.

- [21] Nanayakkara N P, Hussain R A, Pezzuto J M. An intensely sweet dihydroflavonol derivatives based on a natural product lead compound [J]. *J Med Chem*, 1988, 33(6): 1250-1253.

盾叶薯蓣资源、成分及组培学研究进展

康阿龙¹, 孙文基^{1*}, 汤迎爽², 庞来祥³, 黄黎明³, 陈千良¹

(1. 西北大学 生物医药重点实验室, 陕西 西安 710069; 2. 解放军第 323 医院, 陕西 西安 710054;

3. 解放军第 451 医院, 陕西 西安 710054)

盾叶薯蓣 *Dioscorea zingiberensis* C. H. Wright 又名黄姜, 火头根。为我国特有的薯蓣品种 (薯蓣科薯蓣属根状茎组)。其根茎内薯蓣皂素的含量最高达 16.15%^[1], 是目前世界上最好的激素类药源植物。具有清肺止咳、利湿通淋、通络止痛、解毒消肿的功能, 可治肺热咳嗽、湿热淋痛、风湿腰痛、痈肿恶疮、跌打扭伤、蜂螫虫咬^[2]。其水溶性甾体皂苷成分对心肌缺血、胸痹、高脂血症等具有明显治疗作用^[3]。

1 资源

盾叶薯蓣分布于东经 98°53′~ 112°50′, 北纬 23°42′~ 34°10′内。生长在河谷及低、中山丘陵的落叶阔叶与常绿阔叶混交林或稀疏的常绿林的灌木林内。由于长期大量采挖, 野生资源日益衰竭, 质量下降 (皂素含量从 2% 降至 1%, 皂素熔点低于 195℃), 因此, 近年来对其引种栽培日益受到重视。周雪林等^[4]对野生盾叶薯蓣的资源进行了调查, 并进行了引种试验, 发现野生盾叶薯蓣以四川盆地和云贵高原为界可分成不连续的两片, 一片分布于横断山脉地区的金沙江、澜沧江、怒江沿岸峡谷地带, 主要是云南和四川西南部; 另一片分布在秦岭以南, 南岭以北的大巴山、武当山、米仓山等地区和嘉陵江、汉水、沅江、资水等流域的低、中丘陵地带, 主要是湖南、湖北、陕西南部、甘肃东南部和四川东部, 其中以湖北西北部的武当山地区和陕西南部的安康、石泉一带分布的盾叶薯蓣所含皂素较高。有性 (种子) 和无性 (根茎) 繁殖试验均获得成功, 温度是种子繁殖的主要影响因素 (20℃~ 25℃最适宜)。根茎繁殖操作简便, 成苗率高, 生长健壮, 凡带有芽头的根茎都能发芽正常生长。周雪林等^[5]还对盾叶薯蓣进行了多年引种栽培的研究, 掌握了它的生物特性, 总结出一套适合大田种植的栽培技术。对四地 (南京、江苏宜兴、江苏大丰、浙江仙居) 栽培根茎的生长量、皂素含量进行了比较, 结果以浙江仙居二年生栽培品单株生长量最高达 550.2 g; 皂素含量以江苏宜兴三年生栽培品最高, 达 5.39%。怀志萍等^[6]采用简单相关、多元回归及逐步回归分析等方法对我国湖南、湖北等 27 个县的盾叶薯蓣皂素含量与 7 个气候生态

因子的关系进行了分析研究, 结果表明, 年降水量和年平均 5 cm 土温为影响盾叶薯蓣皂素含量的主要因素; 盾叶皂素的合成与积累的最适气候生态条件为: 年降水量 800~ 900 mm, 以 850 mm 最佳, 年平均 5 cm 处土温 15℃~ 17℃, 以 16℃最佳。从最适指标外推, 不难发现湖北的郧阳地区及陕西的白河、汉阴和西乡等县, 具备建立高含量基地的条件, 因此建议在那里大力发展盾叶薯蓣的栽种。我国现有的 3 个主要盾叶薯蓣栽培基地为湖北郧西 5 300~ 6 650 km², 陕西安康 3 300 km², 湖北安化 2 000~ 2 500 km²。但由于这些基地的产量和效益低下, 已严重制约着盾叶薯蓣人工栽培的发展。其原因是多方面的, 不科学的采收制度 (1 年采收) 是造成生产低产低效的直接原因之一, 只有改 1 年采收为 3 年采收或至少 2 年采收, 其产量、质量和经济效益在不改变其他栽培条件下, 才可能得到迅速增长^[7]。另外河南洛阳、南阳地区也有大面积栽培盾叶薯蓣^[8]。

2 化学成分

盾叶薯蓣根茎含薯蓣皂苷元 (diosgenin)^[2], 又名皂素。它是目前世界上合成 300 多种甾体激素和避孕药的原料。刘承来等^[9]从其干燥根茎的乙醇提取物得到 4 个甾体化合物, 即表拔葵皂苷元 (*epi*-*smilagenin*); 延令草次苷 (*tallin*), 结构为 3-O-(β -D-葡萄糖吡喃糖)-薯蓣皂苷元 [3-O-(β -D-glucopyranosyl)-diosgenin]; 薯蓣皂苷元双葡萄糖苷 (*diosgenin*-diglucoside), 结构为 3-O- β -D-葡萄糖吡喃糖 (1 $\rightarrow$ 4)- β -D-葡萄糖吡喃糖]-薯蓣皂苷元 {3-O- β -D-glucopyranosyl (1 $\rightarrow$ 4)- β -D-glucopyranosyl]-diosgenin}; 纤细皂苷 (*gracillin*), 结构为 3-O- β -D-葡萄糖吡喃糖 (1 $\rightarrow$ 3)-[α -L-鼠李糖 (1 $\rightarrow$ 2)]- β -D-葡萄糖吡喃糖]-薯蓣皂苷元 {3-O- β -D-glucopyranosyl (1 $\rightarrow$ 3)-[α -L-rhamnopyranosyl (1 $\rightarrow$ 2)]- β -D-glucopyranosyl]-diosgenin}。他们^[10]又从其新鲜根茎的甲醇提取物分离到薯蓣皂苷元棕榈酸酯 (*diosgenin palmitate*), β -谷甾醇 (β -sitosterol), 纤细皂苷 (*gracillin*), 原纤细皂苷 (*protogracillin*) 和原盾叶皂苷 (*protozingiberensissaponin*), 其中原盾叶皂苷为一

* 收稿日期: 2001-10-31

基金项目: 陕西省教育厅重点实验室项目 (2001 年)

作者简介: 康阿龙 (1972-), 男, 主管中药师, 1994 年毕业于陕西中医学院中药专业, 工作于解放军第 451 医院, 现为西北大学在职硕士研究生, 主要研究方向: 中药鉴定与资源开发、中药制剂工艺、质量标准研究。Tel: (029) 7789267(0)

* 通讯作者

新甾体皂苷, 结构为 3-O-[α -L 鼠李吡喃糖 (1 $\rightarrow$ 3)- β -D 葡萄糖吡喃糖 (1 $\rightarrow$ 2)] β -D 葡萄糖吡喃糖]-26-O-[β -D 葡萄糖吡喃糖]薯蓣皂苷元 {3-O-[α -L rhamnopyranosyl (1 $\rightarrow$ 3)- β -D-glucopyranosyl (1 $\rightarrow$ 2)] β -D-glucopyranosyl]-26-O-[β -D-glucopyranosyl]-diosgenin}; 后 2 个原始皂苷含量较高 (占总皂苷 90%), 样品放置过程中由于酶解等原因, 可使原始皂苷水解为次级苷, 由此可见, 为了获得植物中的原始皂苷采用鲜植物样品为宜。但原始皂苷酶解后除原纤维皂苷酶解得到纤维皂苷外, 未能得到预期的原盾叶皂苷的次级苷, 其原因需进一步深入探讨。唐世蓉等^[11]从盾叶薯蓣根中分得 2 种水不溶性三糖皂苷 (A 和 B), 以及两种水溶性四糖皂苷 (C 和 D)。A 为新皂苷, 暂定名盾叶皂苷 A (zingiberenin A), 结构为薯蓣皂苷元-3-O- β -D 葡萄糖吡喃糖 (1 $\rightarrow$ 2)]-O-[α -L 鼠李吡喃糖 (1 $\rightarrow$ 3)]-O- β -D 葡萄糖吡喃糖苷; B 为纤维皂苷 (gracillin) 异构物; C 为原盾叶皂苷 A (protozingiberenin A), D 为原盾叶皂苷 B (protozingiberenin B)。

3 组织培养学研究

任建伟等^[12]研究了不同培养基和激素组合对原盾叶薯蓣的根茎、幼茎和幼叶愈伤组织诱导和培养的影响, 进行了愈伤组织培养并测定了盾叶薯蓣不同部位及愈伤组织中薯蓣皂素的含量。结果: (1) 以 6, 7-V 培养基对诱导效果最好, 从接种到形成愈伤组织约 40~50 d (2) 激素组合 2, 4-D 0.5 mol/L+6-BA 1 mol/L 对茎愈伤组织诱导率最高, 激素组合 2, 4-D 1 mol/L+6-BA 0.5 mol/L 对叶愈伤组织诱导率最高。 (3) 2, 4-D 浓度对愈伤组织的诱导和继代培养有重要影响。 (4) 愈伤组织的悬浮培养试验表明细胞增长与接种密度有很大关系。采用薄层层析定量法对茎、叶及其愈伤组织中薯蓣皂素进行了测定, 茎未能检出 (原因待进一步研究), 茎愈伤组织 0.01%, 叶 0.12%, 叶愈伤组织 0.01%, 培养基未检出。对悬浮培养盾叶薯蓣细胞的生长及皂素产生的变化规律研究表明: 细胞培养 7~21 d 细胞的生物量增长最快, 培养物中干物质累积最快。所以如以扩大细胞生物量为目的, 继代转接的时间以不超过 21 d 为宜; 如以获取皂素为目的, 细胞收获时间在 30~35 d 比较合适, 此间皂素含量及每升培养基可得皂素均较高。皂素积累与细胞生长的关系属延迟型^[13]。对悬浮培养细胞固定化的初步研究表明, 用 3% 海藻酸钠固定盾叶薯蓣悬浮细胞, 在 MS+2, 4-D 1.0 mol/L+6-BA 0.1 mol/L 培养液中常温振荡培养较长时间后, 培养液提取物 (TLC 检测) 分泌出薯蓣皂素, 但不能连续分泌^[14]。王志安等^[15]进行了诱导盾叶薯蓣四倍体的研究, 根据倍性育种原理, 用秋水仙碱进行染色体加倍成功获得了盾叶薯蓣四倍体植株, 为进一步育成优质、高产的四倍体新品种打下了基础。考察秋水仙碱的渗透剂对出苗数、变异株数、变异率的作用, 结果表明: 秋水仙碱处理对适当加入渗透剂 DMSO 及刺破种皮来促进加速效果是十分有效的。

4 结语

4.1 盾叶薯蓣是世界上最好的甾体激素类药源植物, 目前栽培引种已受到广泛重视, 已建立起一些高产的原料生产基

地, 目前选育高含量、优质 (薯蓣皂素含量高, 熔点低) 的盾叶薯蓣品种是当务之急。成分研究主要集中在皂素提取方面, 甾体皂苷类成分研究还不系统, 药理研究很少见报道, 应引起重视, 为其进一步开发应用提供基础资料。

4.2 目前国内已有近 20 家大型现代化皂素生产厂家, 竞争激烈, 一方面应采取超临界流体萃取等新工艺提高皂素质量来增强竞争力, 另一方面应以新的思路综合开发盾叶薯蓣资源是其发展的必由之路, 如薯蓣淀粉制成葡萄糖液、生产酒精、酵母粉等^[16]; 把水溶性甾体皂苷开发成治疗心肌缺血等症的药物; 薯蓣皂苷元上连接不同的糖链, 以及对薯蓣皂苷进行选择性地去掉糖链得到含不同糖链的甾体皂苷分子, 可望从中筛选出甾体新药。

References

- [1] Ding Z Z, Tang S R, Qin H Z, *et al.* Resource Plants of Steroid Hormone (甾体激素药源植物) [M]. Beijing Science Press, 1983.
- [2] Editorial Board of China Herbal, State Administration of Traditional Chinese Medicine, China. *China Herbal* (中华本草) [M]. Vol. 8. Shanghai: Shanghai Science and Technology Publishers, 2000.
- [3] Dunye Guanxinling Clinical Research Cooperation Group. Clinical observation of coronary heart disease double blind treated by Dunye Guanxinling [J]. *Jiangsu Med J* (江苏医药), 1985, 11: 16-18.
- [4] Zhou X L, Wang Y C. Resource investigation and introduction of wild *Dioscorea zingiberensis* [J]. *Chin Herb Bull* (中药通报), 1982, 1(1): 3-5.
- [5] Zhou X L, Guo K Y, Zhu Y F, *et al.* Research on introduction and culture of *Dioscorea zingiberensis* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1989, 20(10): 35-37.
- [6] Huai Z P, Ding Z Z, He S A, *et al.* Research on correlations between climatic factors and diosgenin content in *Dioscorea zingiberensis* [J]. *Acta Pharm Sin* (药学学报), 1989, 24(9): 702-706.
- [7] Li Z H, Cheng X Q, Wang H Q. Analysis on critical restrict factors about high production of *Dioscorea zingiberensis* [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2001, 26(3): 203.
- [8] Song A X, Li M J, Li X H, *et al.* Research of *Dioscorea* species in Henan province and prospect of development research [J]. *Res Inf Chin Herb* (中药研究与信息), 2000, 2(11): 20-21.
- [9] Liu C L, Chen Y Y, Tang Y F, *et al.* Isolation and identification of steroid saponin in *Dioscorea zingiberensis* [J]. *Acta Bot Sin* (植物学报), 1984, 26(3): 283-289.
- [10] Liu C L, Chen Y Y. Isolation and identification of original saponin in fresh *Dioscorea zingiberensis* [J]. *Acta Bot Sin* (植物学报), 1985, 27(1): 68-74.
- [11] Tang S R, Wu Y F, Pang Z J. Isolation and identification of steroid saponin in *Dioscorea zingiberensis* [J]. *Acta Bot Sin* (植物学报), 1983, 25(6): 556-562.
- [12] Ren J W, Bai Y, Zhang R C, *et al.* Callus induction and culture of *Dioscorea zingiberensis* [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 1993, 28(9): 532-534.
- [13] Ren J W, Bai Y, Guo Q Y. Cultured cell growth of *Dioscorea*

- zingiberensis* and the vary discipline of diosgenin production [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1994, 25(2): 93-94.
- [14] Ren J W, Bai Y, Guo Q Y, *et al.* Preliminary research on cultured cell fixation of *Dioscorea zingiberensis* [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 1994, 19(9): 529-531.
- [15] Wang Z A, Wang S J. Preliminary research report on tetradoid induction of *Dioscorea zingiberensis* [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志) 1995, 20(6): 337-339.
- [16] Zhou Q H, Ma X M, Li X X. Research on integrated utilization of *Dioscorea zingiberensis* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1991, 22(6): 254-255.

絮凝技术在中药提纯中的应用

马 骏

(天津大学电子信息工程学院,天津 300072)

絮凝是利用有机高分子在一定条件下通过自身的长链将固液两相体系中的固体颗粒、胶体物质以及可溶性大分子物质“桥联”起来形成大的颗粒聚集体的过程。絮凝技术是一种简单有效的固液两相体系分离方法,既可作为独立的操作单元,也可和其他固液分离方法组合使用,作为预处理、中间处理或深度处理的手段。絮凝技术具有设备投资少、处理效果好、易于操作、管理简单等优点,广泛地应用于水和废水处理、矿物分离、废漆处理、糖蜜和蛋白质的回收以及制药等。在中药领域,絮凝技术主要应用于中药的提纯过程中。与传统的提纯方法(如水提醇沉法、水提静置法等)相比较,在除杂效果、有效成分的回收率、生产成本等方面均存在明显的优势。

在中药生产过程中,为了除去中药材煎煮液中的淀粉、鞣质、胶质、蛋白质、多糖等杂质,常用水提醇沉法提纯。不过,该法存在着乙醇耗量大、有效成分提取率低、鞣质和树脂等难于除净、操作复杂、乙醇回收麻烦等缺点。与水提醇沉法相比,絮凝技术在中药提纯过程中的很多方面占有优势,如生产成本、除杂效果、中药有效成分的回收率、澄清剂的用量、操作工艺的难易程度以及生产周期等。

1 絮凝法与其他提取方法的比较

1.1 在澄清效果方面:部分单味药材的絮凝液与醇沉液、水煎液作了比较研究^[1]。结果表明,壳聚糖絮凝剂用于大多数单味中药浸提液均起到一定的澄清作用,并能有效保留其中大部分有效成分,但对水溶性较小的靛玉红有所影响。此外,与水醇法相比,壳聚糖澄清工艺能明显提高锌、锰、钙等元素的转移率,同时对重金属元素铅有一定的去除作用。以壳聚糖为絮凝剂,采用絮凝法除去中药药液中的杂质,从鞣酸浓度、体系温度、pH值、絮凝剂用量及粘均相对分子质量等方面探讨鞣酸絮凝规律,并用正交试验优化其絮凝条件。试验表明,随着絮凝温度的升高,絮凝效果有所改善,但温度过高则会出现絮凝恶化现象,絮凝温度应选择在 50℃~70℃;在酸性环境,随着 pH 值的升高,絮凝效果变好,但酸度不是越大越好,从理论上讲处理液应选择酸性到中性的范围内;

不同浓度的鞣酸原液在同一絮凝剂加入量的条件下,其去除率也不相同,在稀溶液中,需要较多的絮凝剂静电架桥吸附胶粒,因此很稀的药液应浓缩处理;最佳絮凝条件为,温度 50℃,pH=6.80,粘均相对分子质量不定,35 mL(其中有 25 mL 醋酸和醋酸钠缓冲液),鞣酸水溶液中 1% 絮凝剂加入量为 4.0 mL,其中影响最明显的絮凝参数是壳聚糖加入量,其次是温度,影响最小的是壳聚糖的粘均相对分子质量。

1.2 在指标成分、稳定性和经济指标方面:絮凝法工艺与水提醇沉法等传统工艺相比同样有明显的优势。以壳聚糖为絮凝剂制备丹参口服液,与水提醇沉法对比水溶性总酚含量升高了 28%,其最佳条件:絮凝剂加入量为 10~100 mg/L, pH4~5,以 100 r/min 的速度搅拌 2 h。

在壳聚糖对丹参水提液的絮凝情况的研究中还发现,絮凝剂的加入量有个最佳值,高于或低于此值絮凝效果均不好,并且在所考察的范围内,絮凝剂相对分子质量越大,絮凝效果越好^[2]。絮凝剂的加入量具有一个最佳值,是因为絮凝的架桥作用需要高分子絮凝剂的浓度保持在较窄的范围内才能发生,如果浓度过高,胶体颗粒表面吸附了大量的分子,就会在表面形成空间保护层(steric layer),阻止了架桥结构的形成,使得絮凝不易发生。而高分子絮凝剂对絮凝效果的影响一般是相对分子质量越大其架桥能力越强,絮凝效果也越好。但是相对分子质量太大的高分子絮凝剂不仅溶解困难,运动迟缓,而且吸附的胶体颗粒的空间距离太远,不容易聚集,达不到有效的絮凝。

1.3 在有效成分的保留及生产成本和周期方面:絮凝澄清技术也明显优于醇沉工艺。利用水提静置法(工艺 I,不加澄清剂)、水提醇沉法(工艺 II,加酒精)和水提絮凝法(工艺 III,加几丁质)3种工艺处理宫瘀净处方的研究充分说明了这点^[3]。并且对工艺 III 和工艺 II 相比较,絮凝剂用于澄清中药水提液,对保留多糖、苷类等水溶性成分效果较好(见表 1, 2)。

在对甲壳素、明胶和丹宁对麻杏平喘液提取液的影响的研究中发现,单用甲壳素就可使提取液澄清,但沉淀物的颗

* 收稿日期: 2002-10-12

作者简介:马 骏(1973-),男,天津人,工程师,硕士,主要研究方向为计算机技术在化工过程中的应用。