

图 1 对照品 (I) 和供试品溶液 A, B, C 电泳图

Fig. 1 Electropherograms of reference substances (I) and sample solutions A, B, C

黄碱中一种或两种生物碱含量,而同时分离分析多种麻黄碱类生物碱的方法主要是 HPLC 法^[2,3]和 CE 法^[4],但前者分离效率低且分析时间较长,前处理步骤繁琐;CE 法均采用水溶液系统,需加入多种添加剂,有些添加剂昂贵且不易得,而且添加剂的加入使分离体系复杂,可能会影响样品检测和分离重现性。本文所采用的 NACE 法体系简单,分离效率高,适用于药材中麻黄碱类生物碱的含量测定。

3.2 测定条件的选择:通过对有机溶剂的种类和比例,醋酸铵溶液的浓度等条件的摸索,确定了最佳分离条件^[5]。

3.3 提取条件的选择:总生物碱的溶剂提取方法中可用的溶剂有水-有机溶剂、酸水-有机溶剂、醇-有机溶剂、碱-有机溶剂等,根据麻黄碱自身特点,现多采用前两种溶剂^[6],即先用水或酸水提取后,再经过乙醚及氯仿的萃取才能得到。实验结果表明,以主成分伪麻黄碱的提取率为标准,以 1% HCl 溶液为溶剂,中药麻黄的浸提效果最好,本实验中比较了未萃取液 (A) 和萃取液 (C) 的各组份含量情况,两者差异没有显著性。由于毛细管电泳自身的优势,如分析高

效、快速、简便,柱不易受污染等,中药提取液不经萃取去除杂质即可直接进行 CE 分析,简化操作步骤,使测定回收率提高。

References

- [1] Wen Z M, Zhang J L, Xu L M. Application of HPCE to the analysis of traditional herbal drugs [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2000, 31(2): 141-144.
- [2] Shao G, Wu F, Wang D S, et al. Quantitative analysis of (1)-ephedrine and (d)-pseudoephedrine in plasma by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection [J]. *Acta Pharm Sin* (药学学报), 1995, 30(3): 384-389.
- [3] Makino Y, Urano Y, Nagano T. Impurity profiling of ephedrine in methamphetamine by high-performance liquid chromatography [J]. *J Chromatogr A*, 2002, 947(1): 151-154.
- [4] Liu Y M, Shen S J. Determination of ephedrine alkaloids by capillary electrophoresis [J]. *J Chromatogr A*, 1992, 600: 370-372.
- [5] Yan X L, Deng X H. Comparative research on extraction method in *Herba Ephedra* [J]. *West China J Med* (华西医学杂志), 1994, 9(4): 265-268.
- [6] Ji Y B, Chen Y Y, Wu R J. Separation of ephedrine isomers with non-aqueous capillary electrophoresis [J]. *J Chin Pharm Univ* (中国药科大学学报), 2001, 32(3): 213-216.

杜仲中活性成分的分布及其累积动态变化规律的研究

戚向阳¹, 陈维军², 张声华^{1*}

(1. 华中农业大学 食品科学系, 湖北 武汉 430070 2. 中国化工宁波进出口公司, 浙江 宁波 315000)

摘 要: 目的 研究产地、生长季节及采后处理方式对杜仲皮、叶中 5 种主要生物活性成分含量的影响。方法 利

* 收稿日期: 2003-03-25

基金项目: 湖北省重点攻关课题 (952P0506)

作者简介: 戚向阳 (1968-), 女, 湖北枣阳, 副教授, 博士, 主要从事天然产物化学与保健功能的研究。

Tel (027) 87282111

E-mail: qxiangyang@mail.hzau.edu.cn

用 HPLC法测定杜仲皮、叶中 5种主要生物活性成分的含量。结果 不同产地的杜仲皮、叶其生物活性成分含量相差悬殊,且同一产地的杜仲皮、叶中各种主要生物活性成分的含量没有一定相关性,并不随其他成分含量的增加而增加。杜仲中生物活性成分含量随季节变化而变化,杜仲皮、叶的最佳采收季节分别为 4、5和 7月,且采收后的杜仲皮、叶应及时处理使酶失活,避免自然干燥过程中胞内酶分解活性成分。此外,杜仲皮和叶中生物活性的含量差异很大,但有一定的互补性。结论 产地、生长季节及采后处理方式对杜仲皮、叶中 5种主要生物活性成分含量的影响很大,且不能简单的以叶代皮。

关键词: 杜仲;活性成分;分布;动态变化

中图分类号: R282. 6 文献标识码: A 文章编号: 0253- 2670(2003) 12- 1129- 05

Studies on distribution and accumulative dynamic variation of bioactive components in *Eucommia ulmoides*

QI Xiang-yang¹, CHEN Wei-jun², ZHANG Sheng-hua¹

(1. Department of Food Science, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China;

2. Sinochem Ningbo Import. & Export. Corporation, Ningbo 315000, China)

Abstract **Object** To study the effects of districts, seasonal variations and treatments in past harvest on the five main bioactive components in the barks and leaves of *Eucommia ulmoides* Oliv. **Methods** The contents of them in the bark and leaves of *E. ulmoides* were determined by RP-HPLC. **Results** The contents of (+)-pinoresinol di- $O\beta$ -D-glucopyranoside (PG), (+)-syringaresinol di- $O\beta$ -D-glucopyranoside (SG), chlorogenic acid (CGA), geniposide (GP), geniposidic acid (GA) among the sample of *E. ulmoides* from different growing districts were obvious difference. Besides, the amount of different bioactive components in the same sample had no correlation. Seasonal variation and different past-harvest treatments had great influence on the bioactive component in *E. ulmoide*. Based on the monthly variation of their main bioactive component, the suitable seasons for harvest of the barks and leaves of *E. ulmoides* are April, May and July respectively, and intracellular enzymes in the fresh barks and leaves collected should be inactivated immediately before drying to avoid lossing the bioactive components. In addition, between the barks and leaves of *E. ulmoides*, the major bioactive component had great differences, but had complementarity. **Conclusion** The districts, seasonal variatons and past-harvest treatments have great effects on the contents of five main bioactive components in the barks and leaves of *E. ulmooides*, and the barks couldn't be replaced by the leaves simply.

Key words *Eucommia ulmoides* Oliv.; bioactive components; distribution; dynamic variation

杜仲 *Eucommia ulmoides* Oliv. 系杜仲科杜仲属植物,为我国特有的经济树种。其主要化学成分为木脂素类 (lignans)、环烯醚萜类 (iridoids)、苯丙素类 (phenylpropanoids)、多糖、黄酮等化合物^[1,2],具有消炎抑菌、镇静止痛、利尿、补肾降压、增强免疫功能及抗癌、抗衰老、抗衰老、减肥等诸多功效^[2~4]。其中,松脂醇二葡萄糖苷 [(+)-pinoresinol di- $O\beta$ -D-glucopyranoside, PG]、丁香脂醇二葡萄糖苷 [(+)-syringaresinol di- $O\beta$ -D-glucopyranoside, SG]、绿原酸 (chlorogenic acid, CGA)、京尼平苷 (geniposide, GP)及京尼平苷酸 (geniposidic acid, GA)为杜仲中重要的生物活性成分^[1~3,5]。目前,随着杜仲的药理作用和保健功能逐步被人们所认识,在国外尤其是日本开发出多种含杜仲提取物的功能性食品、

化妆品、药品和饲料等^[5]。而我国作为杜仲的主产地,有十分丰富的杜仲资源,栽培面积达 1.6×10^5 hm²^[2],但关于杜仲的研究还多局限于育苗、造林等传统领域,在制药、保健品开发尤其是杜仲活性成分分析等基础领域的研究还较薄弱。因此,为充分地开发杜仲资源,本实验应用 HPLC法分析了产地、生长季节及采后处理方式对杜仲皮、叶中主要活性成分的影响,这一研究尚未见有关文献报道。

1 材料与方法

1.1 材料: 杜仲皮、叶均采自湖北省郧县、通城及武汉,经湖北中医学院陈绪伦教授鉴定为杜仲树皮和叶。

1.2 主要仪器与试剂: Shimadzu SCL-6A高压液相色谱仪;松脂醇二葡萄糖苷、丁香脂醇二葡萄糖

苷、京尼平苷、京尼平苷酸均由 Takehi Deyama Ph. D 赠送;绿原酸由德国进口;甲醇、冰醋酸均为分析纯。

1.3 实验方法

1.3.1 杜仲皮、叶中松脂醇二葡萄糖苷及丁香脂醇二葡萄糖苷含量的测定:样品处理:准确称取适量样品粉末,置于索氏提取器中,加 60 mL 氯仿回流 6 h,挥去氯仿,再置于索氏提取器中用 60 mL 甲醇回流 6 h,将甲醇溶液浓缩至一定体积,用甲醇定容至 25 mL,0.45 μ m 微孔滤膜滤过后进行 HPLC 分析。

色谱条件:色谱柱 YWA-C₁₈ (10 μ m, 4.6 mm \times 250 mm);流动相:28% 甲醇水溶液;柱温:室温;流速:1.0 mL/min;紫外检测器 0.04 AUFS;检测波长 232 nm;进样量 5 μ L。根据标样的保留时间进行定性,按峰面积计算各组份含量。

1.3.2 杜仲中京尼平苷、京尼平苷酸及绿原酸含量分析:样品处理:准确称取一定量样品粉末,用 10 倍量的水于 40℃ 温度下提取 5 次,每次 30 min。将水提取液真空浓缩至一定体积后,用水定容至 25 mL,经过 0.45 μ m 微孔滤过后进行 HPLC 分析。

色谱条件:色谱柱 YWA-C₁₈ (10 μ m, 4.6 mm \times 250 mm);流动相:甲醇-水-冰醋酸 (19:81:1);柱温:室温;流速:1.0 mL/min;紫外检测器 0.04 AUFS;检测波长 240 nm;进样量 5 μ L。根据标样的保留时间进行定性,按峰面积计算各组份含量。

2 结果与分析

2.1 不同产地杜仲中主要成分的含量分析:产地的气候、经纬度、海拔、地质、土壤、树龄及树种等诸多因素都可能影响杜仲的质量和其生物活性成分的含量。对来自湖北不同地区的杜仲原料进行了分析,结果见表 1。

表 1 不同产地杜仲中生物活性成分含量

Table 1 Bioactive component in *E. ulmoides* of different growing districts

产地	含量 / (mg \cdot g ⁻¹)				
	PG	SG	GA	CGA	GP
郧西杜仲皮	1.431	0.56	2.687	0.217	0.073 6
郧西杜仲叶	-	-	0.449	10.026	-
通城杜仲皮	1.078	0.944	3.429	0.317	0.236
通城杜仲叶	-	0.310	1.240	9.753	-
武汉杜仲皮	3.673	0.446	2.471	0.177	1.881
武汉杜仲叶	-	0.247	2.414	10.505	-

杜仲皮、叶均为室温下阴干,“-”表示未检出

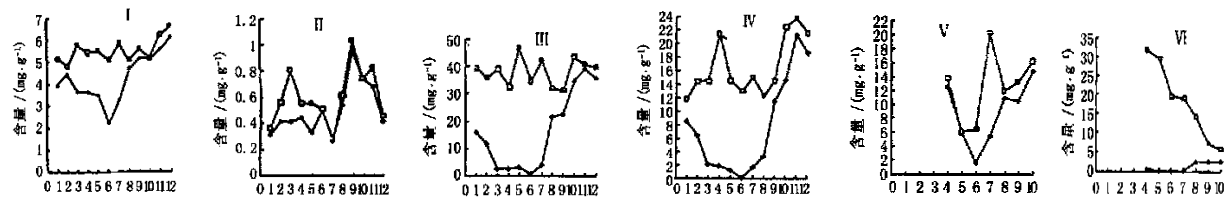
Barks and leaves of *E. ulmoides* both dried at room temperature,“-” shows not to be determined

由表 1 可看出,不同产地的杜仲皮、叶其生物活

性成分含量相差悬殊。就所分析的材料而言,杜仲叶中 SG 的含量,以通城产地的最高,为 0.310 mg/g,而 GA 的含量以武汉产的杜仲叶最高,达 2.414 mg/g,郧西杜仲叶中 GA 的含量最低,仅为 0.449 mg/g,且未检出丁香脂醇二葡萄糖苷。3 个产地的杜仲叶其绿原酸的含量则相差不大。不同产地的杜仲皮,含 PG、GP 最丰富的为武汉产地的,分别为 3.673, 1.881 mg/g,但其丁香脂醇二葡萄糖苷的含量最低,仅为 0.446 mg/g。通城杜仲皮中 SG、GP 及 CGA 的含量均高于其他产地。由此可知,武汉和通城产地的杜仲皮、叶的质量要比郧县产地高。据文献报道,郧县因出产的杜仲皮厚,杜仲胶丰富而被认为是杜仲的主要栽培区,其生产的杜仲称为杜仲道地药材^[7]。而上述的研究结果表明,郧西产地的杜仲皮、叶其生物活性成分并不很高,而且同一产地的杜仲皮、叶中主要生物活性成分的含量没有一定的相关性,并不随其他成分含量的增加而增加,因此,仅从外观判断杜仲的质量及主要栽培区是缺乏科学依据的,应针对杜仲的不同疗效和杜仲中生物活性成分的药理作用,含量来确定杜仲最适发展区域及筛选培育优良品种。许多文献报道,杜仲皮与叶的化学成分和药理作用相符,可以以叶代皮^[2,6],而表 1 的结果表明,对于杜仲中 PG、SG、GP、GA 和 CGA 5 种生物活性成分,杜仲皮、叶的含量相差很大,但有一定的互补性,杜仲叶中未检出 PG 及 GP,且其 SG 和 GA 的含量均远远低于同产地的杜仲皮,但杜仲叶中 CGA 的含量却很丰富,为同产地杜仲皮中绿原酸含量的 30.77~59.33 倍。因此,不能单纯的以叶代皮,而应根据杜仲皮、叶中生物活性成分含量的差异,将杜仲皮、叶提取物以一定比例配伍制备杜仲保健品或药品,以充分发挥杜仲的保健作用。

2.2 生长季节及采后处理方式对杜仲中生物活性成分的影响:杜仲中生物活性成分含量受生长季节的影响很大。本实验对采自武汉华中农业大学校园内有 20 多年树龄的杜仲树皮及同一树枝上杜仲叶进行分析,比较了不同采收季节及采后处理方式对其主要生物活性成分含量的影响,结果见图 1。

结果表明,采后处理方式对杜仲皮、叶中生物活性成分含量的影响很大。干燥前经过蒸汽处理的杜仲皮、叶其主要活性成分的含量比自然干燥的高,其中,杜仲皮、叶中属环烯醚萜类的 GA 和 GP 的含量变化最显著,其次为杜仲叶中的 CGA,再次为杜仲皮中 PG 和 SG。这是由于杜仲皮、叶中含有可分解生物活性成分的胞内酶,采后的树皮或树叶在自然



I 杜仲皮中 PG 含量 II 杜仲皮中 SG 含量 III 杜仲皮中 GA 含量 IV 杜仲皮中 GP 含量 V 杜仲叶中 CGA 含量 VI 杜仲叶中 GA 含量的变化
I -Variation of PG in II -Variation of SG in III -Variation of GA in IV -Variation of GP in V -Variation of CGA VI -Variation of GA in bark of *E. ulmoides* bark of *E. ulmoides* bark of *E. ulmoides* bark of *E. ulmoides* in leaf of *E. ulmoides* leaf of *E. ulmoides*
◆ 原料采收后于室温下阴干 □ 采收后的原料先用蒸汽处理 15 min, 再置室温下阴干

◆ harvesting material dried at room temperature □ harvesting material treated by steam for 15 min before drying at room temperature

图 1 采收季节及采后处理方式对杜仲中主要生物活性成分含量的影响

Fig. 1 Effects of harvest seasonal variation and different post-harvest treatments on bioactive component in *E. ulmoides*

干燥过程中胞内酶会使生物活性成分发生分解,当新鲜树皮或树叶干燥前用蒸汽处理后,可使酶失活,从而有效地防止分解过程的发生,使杜仲皮、叶中主要生物活性成分含量保持在较高的水平。

此外,由图 1 还可知,采后处理方式对杜仲皮、叶中生物活性成分的影响程度同季节有关。3~7 月份采收的杜仲皮、叶其 GP 和 GA 的含量受干燥方式的影响最大,干燥前经过蒸汽处理比未经过蒸汽处理的高出十倍甚至上百倍。6~7 月份采收的杜仲叶其绿原酸的含量受采后处理方式的影响较大,二者相差 3.91~3.78 倍。至于杜仲皮中 PG 和 SG 的含量受采后处理方式的影响较小。以 3~7 月采收的杜仲皮变化较显著。上述的结果表明,杜仲中胞内酶的活性随季节变化而变化。据有关文献报道^[8],杜仲形成层在 3 月中旬前处于休眠状态,3 月下旬芽绽开时开始恢复,形成层开始活动,同时产生木质部和韧皮部。4 月中旬到 6 月中旬,未成熟木质部细胞层数增多,7 月底形成层细胞停止分裂进入因高温诱导的第 1 次被动休眠,同时停止产生韧皮部。11 月底至 12 月初转入低温诱导的第 2 次被动休眠。而杜仲中一些胞内酶的活性随形成层活动周期变化而变化,3~7 月是形成层活动的旺盛期,因此,在此季节采收的杜仲皮、叶其胞内酶活性较高。采收后的杜仲皮、叶若不及时进行处理使酶失活,在自然干燥或贮藏过程中,胞内酶就会分解其生物活性成分,使其含量大大降低甚至完全损失。

根据干燥前经过蒸汽处理的杜仲皮、叶中活性成分的含量变化,发现在不同季节,杜仲皮中 PG 及 GA 的含量较恒定,而 GP、SG 的含量变化较大,在 4 月,10~12 月采收的杜仲皮其 GP 的含量较高,杜仲皮中 SG 的含量则以 3 月,9~11 月采收的最高,7 月份的最低。至于杜仲叶中 GA 的含量从 4 月份的

31.74 mg/g 到 10 月份的 5.60 mg/g,下降达 5.67 倍,而 CGA 以 7 月份采收的杜仲叶含量最高,达 20.14 mg/g,8~10 月份采收的杜仲叶其绿原酸的含量趋于稳定。

综上所述,杜仲叶的最佳采收季节为 7 月。而选择杜仲皮的采收季节不仅要考虑其生物活性成分含量,还应考虑剥皮的难易及剥皮再生的效果。据文献报道^[9],杜仲剥皮再生的成败同剥皮季节有很大关系,剥皮应选在适当高温、多湿(>80%)、温差小的季节,常在春夏之间,以树液流畅,皮部与木质部最易分离时剥皮最适宜。根据这一规律及杜仲皮中生物活性成分的季节变化,剥皮的最佳季节为 4~5 月份。

3 结论

具有多种药理作用的杜仲皮和杜仲叶其主要生物活性成分的含量受产地、生长季节及采后处理方式的影响很大。本实验的研究结果对于良种选育,确定其最佳生长条件,探讨杜仲中活性成分的时序性、区域性及其累积动态变化规律以及确保杜仲提取物和杜仲药品、保健品质量有重要的理论意义和实际应用价值。

References

- [1] Zang Y W. Research and development of chemical components of *E. ulmoides* Oliv. [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1989, 20(4): 42-44.
- [2] Zhang K J, Zhang T. *The Magic Tree - E. ulmoides* Oliv. (中国神树 - 杜仲) [M]. Beijing: Economical Management Publishing House, 1997.
- [3] Nan Bolle H X. The physiological function and its utilization of *Eucommia ulmoides* Oliv. [J]. *Food Develop* (食品开发), 1994, 29(23): 9-11.
- [4] Wang Y S. *Pharmacology and Application of Chinese Traditional Medicine* (中药药理与应用) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1983.
- [5] Shu Y Q, Ma X H, Yang Z Y. Summarize on research and development of *E. ulmoides* Oliv. in Japan [J]. *J Xibei Fores Univ* (西北林学院学报), 1996, 11(1): 94-100.
- [6] Zhu L Q, Zhang L M. The pharmacology experiments of bark and leaf of *E. ulmoides* Oliv. [J]. *Chin Tradit Herb*

- Drugs* (中草药), 1986, 17(12): 15-17.
- [7] Zhang W T, Liu X M. Primary study on the partition cultivated areas of *E. ulmoides* Oliv. in China [J]. *J Xibei Fores Univ* (西北林学院学报), 1994, 9(4): 36-40.
- [8] Cui K M, Luo L X. The activity model of cambium layer of *E. ulmoides* Oliv. [J]. *J Xibei Fores Univ* (西北林学院学报), 1996, 11(2): 1-9.
- [9] Zhang W T, Zhang W. The effect of weather factor on re-generation of decorticate of *E. ulmoides* Oliv. [J]. *J Xibei Fores Univ* (西北林学院学报), 1996, 11(2): 23-28.

半夏栽培生态学研究

何道文¹, 黄雪菊^{2*}

(1. 西华师范大学 生物系, 四川 南充 637002; 2. 四川大学环境学院, 四川 成都 610065)

摘要:目的 半夏栽培生态研究 方法 对半夏 *Pinellia ternata* 不同质量的种茎进行田间栽培实验. 结果 半夏块茎收获量随种茎质量增加, 但相对增重则随着种茎质量的增加而减少; 子块茎、珠芽和种子数量随着块茎质量而增加, 半夏繁殖系数随半夏种茎质量增大而增大; 统计表明叶柄数量、地上部分干重、珠芽总数、最大株芽质量、花总数与种茎的质量呈极显著正相关; 珠芽总数与叶柄数量呈极显著正相关; 子块茎数与种茎的增重呈负相关, 而叶柄数也与种茎增重负相关. 结论 半夏栽培中营养生长与生殖生长、地上部分生长与地下部分生长相互制约.

关键词: 半夏; 珠芽; 生长特性; 繁殖系数

中图分类号: R282.21 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2003)12-1133-03

Study on ecology in cultivation of *Pinellia ternata*

HE Dao-wen¹, HUANG Xue-ju²

(1. Department of Biology, China West Normal University, Nanchong 637002, China; 2. College of Environment, Sichuan University, Chengdu 610065, China)

Abstract Object To study the relationship between weight of reproduction materials and parameters of its growth and propagation regime. **Methods** Different weights of *Pinellia* tubers were used for asexual reproduction materials in field cultivation. **Results** Weight of harvested tubers (dry weight, DW) increased with the weight of their reproduction tubers. However, a negative correlation was found between relative weight increments of harvested tubers and the weight of their reproduction tubers, and positive correlations existed between the weight of reproduction tubers and quantities of sub-clone tubers bulbils, seeds, or propagation coefficient. Significantly positive correlations were also found between weight of propagation tubers and quantities of their petioles, aboveground biomass, bulbils numbers, maximum weight of bulbils, and spathe numbers. Number of bulbils positively correlated with number of petioles significantly, and the number of sub-clone tubers and petioles correlated with the increment of breeding tubers negatively. **Conclusion** The interactions between the vegetative growth and reproductive growth, and aboveground growth and underground growth exist in the field cultivation of *P. ternata*.

Key words *Pinellia ternata* (Thunb.) Breit.; bulbils; growth parameters; propagation parameters

半夏 *Pinellia ternata* (Thunb.) Breit. 为天南星科多年生小草本植物, 又名麻芋子. 三叶半夏, 以地下茎入药, 为常用中药之一. 块茎含 β -谷甾醇及其葡萄糖苷 (β -sitosterol-*D*-glucoside) 黑尿酸 (homogentisic acid) 及天门冬氨酸、谷氨酸、精氨酸、 β -

氨基丁酸等氨基酸. 另含胆碱、原儿茶醛、微量挥发油及微量麻黄碱 (0.002%), 原儿茶醛为半夏辛辣刺激性物质^[1]. 中药用半夏主治燥湿化痰、降逆止呕、消痞散结, 用于痰多咳嗽、痰饮眩悸、风痰眩晕、痰厥头痛、呕吐反胃、胸脘痞闷等; 生用外治痈肿等.

* 收稿日期: 2003-03-12

基金项目: 四川省科技厅、教育厅资助项目

作者简介: 何道文 (1970-), 男, 苗族, 重庆彭水人, 西华师范大学讲师, 主要从事植物生理生态方面的教学和科研工作.

Tel (0817) 2312466 E-mail hedaowen@mail.china.com