

不同产地雷公藤属植物根中有效成分含量的比较

天津中医学院中药系(300193) 聂 侃*

天津医药科学研究所 安伟健 夏光成

摘要 采用比色法和薄层扫描法测定并比较了3个产地的雷公藤根和昆明山海棠根中主要有效成分总二萜内酯和雷公藤内酯醇的含量,结果表明贵州黔东南州产的雷公藤根中总二萜内酯和雷公藤内酯醇的含量最高,分别达到0.035%和0.0030%,值得开发利用。

关键词 雷公藤属 雷公藤总二萜内酯 雷公藤内酯醇 薄层扫描 含量测定

雷公藤属 *Tripterygium* Hook f. 共有3个种,它们都含有生物碱、二萜内酯(diterpenes)、三萜内酯(triterpenes)等化学成分。近10多年来,广泛应用于治疗风湿性关节炎,慢性肾炎,麻疯及皮肤病等,其主要有效成分为总二萜内酯[秦万章,等. 中医杂志, 1982, 23(3): 179]。由于临床消耗量大,造成野生药材匮乏,开发寻找新的雷公藤生药资源,实为当务之急。本文用比色法和薄层扫描法测定并比较了3个产地的雷公藤根和昆明山海棠根中主要有效成分总二萜内酯和雷公藤内酯醇的含量,结果表明贵州省黔东南州产的雷公藤根总二萜内酯和雷公藤内酯醇的含量最高,分别达到0.0351%和0.0030%,分别是其它3种雷公藤属植物根中的4倍和2倍,该地区雷公藤资源丰富,有很好的开发前景。

1 材料和仪器

岛津UV-3000可见-紫外分光光度计;岛津CS-930双波长薄层扫描仪;高效薄层板(青岛海洋化工厂)。

雷公藤内酯醇对照品:由南京军区南京总医院提供。

湖北雷公藤根:采自湖北省蒲圻县,原植物经鉴定为 *Tripterygium wilfordii* Hook f.。

福建雷公藤根:采自福建省泰宁县,原植物经鉴定为 *T. wilfordii* Hook f.。

贵州雷公藤根:采自贵州省黔东南州雷公山地区。原植物经鉴定为 *T. wilfordii* Hook f.。

昆明山海棠根:采自云南省昆明市郊。原植物经鉴定为 *T. hypoglaucom* (Levl.) Hutch.。

所用试剂及溶剂均为分析纯。

2 总二萜内酯种类和含量的比较

2.1 不同产地的雷公藤属植物根中总二萜内酯的薄层层析比较

2.1.1 方法: a) 样品液的制备:准确称取恒重的样品全根粉30g,分别置于索氏提取器中,以无水乙醇提至完全(3,5-二硝基苯甲酸反应呈阴性),约需8h。提取液减压浓缩,加中性氧化铝(1:20)搅匀,干燥后,装入索氏提取器中,用氯仿提取至完全(约需20h),氯仿液适当浓缩,置10ml容量瓶中,用95%乙醇稀释至刻度,为样品溶液备用。b) 对照品溶液的制备:制成含0.4182mg/ml雷公藤内酯醇的氯仿溶液。c) 吸附剂:高效硅胶G薄层板。d) 展开剂:氯仿-乙醚(2:1)。e) 显色剂:用2%3,5-二硝基苯甲酸乙醇液与5% NaOH乙醇液,临用时以1:3混合,喷雾显色。

2.1.2 结果:见图。

*Address: Nie Kan, Department of Chinese Materia Medica, Tianjin College of Traditional Chinese Medicine, Tianjin

内酯成分显暗紫色,雷公藤内酯醇的 R_f 值为0.56,说明不同产地的雷公藤属植物根中所含的总二萜内酯基本一致。

2.2 总二萜内酯的含量测定

2.2.1 原理: 用比色法测定含量, 利用不饱和五元内酯环上的活性次甲基在碱性溶液中与3, 5-二硝基苯甲酸发生显色反应用于比色定量[林启寿. 中草药成分化学. 北京: 科学出版社, 1977.390]。

2.2.2 显色稳定性观察: 吸取一定量雷公藤内酯醇水溶液, 加蒸馏水1ml, 加95%乙醇3.6ml, 2%3, 5-二硝基苯甲酸乙醇液0.2ml, 5%NaOH乙醇液0.2ml, 充分混匀后, 于室温下分别放置不同时间, 用分光光度计测定420nm波长处吸收度, 发现在1h内颜色稳定。

2.2.3 标准曲线的制备: 准确吸取雷公藤内酯醇对照品溶液0.0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5ml于带塞试管中, 分别加入蒸馏水1.0, 0.9, 0.8, 0.7, 0.6, 0.5ml, 使成1ml, 各加乙醇3.6ml, 分别加入2%3, 5-二硝基苯甲酸乙醇液0.2ml, 混匀, 各加入5%NaOH乙醇液0.2ml, 摇匀后, 室温放置1h, 以第1管作空白, 在420nm处, 测定各管溶液吸收度, 以吸收度为纵坐标, 雷公藤内酯醇含量(mg)为横坐标, 作1条通过原点的标准曲线。

2.2.4 样品的含量测定: 取福建、湖北产的雷公藤根及昆明山海棠根样品提取液各1ml, 分别置于10ml容量瓶中, 用95%乙醇稀释至刻度, 摇匀, 精密吸取1ml置10ml容量瓶中, 加8ml95%乙醇, 0.5ml3, 5-二硝基苯甲酸乙醇溶液, 0.5ml5%NaOH乙醇液, 此为以上3样品的样品溶液。

取贵州产的雷公藤根样品提取液1ml, 置于10ml容量瓶中, 用95%乙醇稀释至刻度, 摇匀, 精密吸取2ml, 置10ml容量瓶中, 用95%乙醇稀释至刻度, 摇匀, 精密吸取1ml, 置10ml容量瓶中, 加0.5ml2%3, 5-二硝基苯甲酸乙醇液, 0.5ml5%NaOH乙醇液, 加8ml95%乙醇液, 此为贵州雷公藤根样品液。

取1ml乙醇稀释的样品液置于10ml容量瓶中, 加95%乙醇至刻度, 作为空白对照。

依标准曲线方法测定吸收度, 从标准曲线中读出供试品中雷公藤内酯醇的含量, 按下式计算样品总二萜内酯的含量。

样品中总二萜内酯含量 =
$$\frac{\text{标准曲线中读出的雷公藤内酯醇含量 (mg)}}{\text{样品重 (mg)} \times \frac{\text{供试量 (ml)}}{\text{稀释总体积 (ml)}}}$$

2.2.5 结果: 见表1。

3 雷公藤内酯醇的含量比较

3.1 标准曲线的制备: a) 对照品溶液的制备: 精密称取雷公藤内酯醇标准品2.091mg, 置于5ml容量瓶中, 用氯仿溶解并稀释至刻度, 即得0.418μg/μl的对照品溶液。b) 层析: 在经预选的高效硅胶板上, 用1, 2μl的定量毛细管分别吸取1, 2, 4, 6, 8, 16μl的标准品溶液, 点样, 用氯仿-乙醚(2:1)直立式上行展开。c) 显色: 用2%3, 5-二硝基苯甲

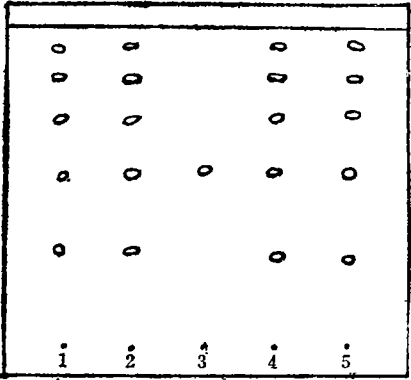


图 雷公藤属植物根氯仿提取物二萜内酯成分的薄层层析
1-贵州雷公藤 2-昆明山海棠 3-雷公藤内酯醇
4-湖北雷公藤 5-福建雷公藤

酸乙醇溶液与5%NaOH乙醇液临用时以1:3混合,喷雾显色。显色后的薄板上复盖同样大小的玻璃板,四周用胶布固定。d)定位:取显色后的薄层板,用岛津CS-930双波长薄层扫描仪定位,确定X.Y轴扫描起止位置及扫描宽度。e)扫描:反射法线性扫描,扫描波长535nm,参比波长650nm。以点样量和斑点面积积分值作图,得一不通过原点的直线,其回归方程为: $\hat{Y} = -8342.6 + 10481.9X$ ($r = 0.9761$)。

3.2 样品中雷公藤内酯醇的含量测定: a)样品的精制:精密吸取3ml以上雷公藤属植物全根样品提取液至蒸发皿中,拌入适量的中性氧化铝,经30g中性氧化铝柱层析(1.5×30cm)。用氯仿洗脱,收集50ml洗脱液(3,5-二硝基苯甲酸反应呈阴性)。减压回收氯仿,定量移入1ml容量瓶中,并以氯仿稀释至刻度,为样品溶液。b)层析与扫描:在高效硅胶板上各点样5μl不同产地的雷公藤属植物根精制的样品溶液,按标准曲线项下的条件进行展开,显色,然后扫描测定。根据测得的数据及制备的标准曲线,计算出样品中雷公藤内酯醇的含量(表2)。

表1 不同产地雷公藤属植物根中
总二萜内酯的含量

样品	含量(%)	平均含量(%)
福建雷公藤	0.0091, 0.0092	0.0091
	0.0090, 0.0089	
湖北雷公藤	0.0097, 0.0098	0.0098
	0.0096, 0.0099	
贵州雷公藤	0.0353, 0.0353	0.0351
	0.0348, 0.0350	
昆明山海棠	0.0079, 0.0083	0.0082
	0.0081, 0.0085	

表2 不同产地雷公藤属植物根中
雷公藤内酯醇的含量

样品	含量(%)	平均含量(%)
福建雷公藤	0.0014, 0.0013	0.0014
	0.0014	
湖北雷公藤	0.0015, 0.0014	0.0015
	0.0016	
贵州雷公藤	0.0030, 0.0029	0.0030
	0.0031	
昆明山海棠	0.00067, 0.00069	0.00068
	0.00068	

4 小结与讨论

4.1 用比色法测定总二萜内酯的含量时,样品溶液稍带黄色,在进行比色测定吸收度时,必须扣除样品溶液本身所带颜色的吸收度,因此用样品溶液作空白对照。

4.2 用薄层扫描法测定雷公藤内酯醇的含量,样品溶液需经过中性氧化铝柱层析精制,否则杂质较多,薄层展开显色后,斑点不清晰,难以定量测定。

4.3 在薄层扫描法测定雷公藤内酯醇含量时,薄层板显色后应加盖玻璃板,否则斑点颜色很快退去,加盖玻板并密封,可使斑点稳定时间延长,测得的积分值在10~20min内稳定。

4.4 实验结果表明贵州产雷公藤根中总二萜内酯和雷公藤内酯醇的含量最高,分别达到0.0351%和0.0030%,分别是其它3种样品的4倍和2倍,具有良好的开发前景。

(1994-04-28收稿)

《国外医药-植物药分册》由国家医药管理局中草药情报中心站主办。本刊为双月刊,48页,每册定价5.00元,自办发行,一年出6期,全年另加包装费、邮费3.00元,共计33.00元。订阅者请向300193天津市鞍山西道308号《国外医药-植物药分册》编辑部索取订单。

Effect of Topdressing Inorganic Nitrogen on Output and Quality of Ginseng (*Panax ginseng*)

Liu Xiang, Cai Rongchun et al

Rational application of inorganic nitrogen to cultivated Ginseng can improve its quality and output. It was found that the optimum ratio of nitrogen to phosphate fertilizers for the cultivation of Ginseng showed be 1:1.6.

(Original article on page 536)

Comparison of Active Constituent Contents in Threewingnut (*Tripterygium* Hook.f.) for Different Regions

Nie Kan and An Weijiao

Contents of total diterpenes and triptolide of radix *Tripterygium wilfordii* Hook. f. and *T. hypoglaucom* (Levl.) Hutch. in three regions were determined quantitatively by colorimetric method and TLC densitometry. Results showed that radix *T. wilfordii* from Qian Dongnan contains 0.035% total diterpenes and 0.0030% triptolide, which are the highest among the plants in three regions. The study provides some scientific basis for utilization of this plant.

(Original article on page 539)

全国银杏专题协调研讨会在泰兴召开

由国家科委新药研究与开发办公室主持的“全国银杏专题协调研讨会”于1994年8月22~25日在银杏之乡—泰兴召开。来自全国22个高等院校、科研、生产单位的代表30余人及特邀专家8人参加了会议。与会专家就当前银杏叶资源、化学、药理、制剂、生产及加工利用的现状作了介绍。各研究、生产单位进行了工作交流。代表们从国家利益出发就今后银杏研究开发工作展开了热烈的讨论，提出许多很好的建议。希望科委等有关部门采取切实措施，加强宏观调控，减少低水平重复，积极支持高层次的研究开发，保护国内市场。使银杏—我国特有的资源更好地造福于人类。会议最后由专家组进行评议。

陈蕙芳

欢迎订阅1995年《中国中药杂志》

中国中药杂志由中国药学会主办，中国中医研究院中药研究所承办，为综合性中药学术刊物，普及与提高相结合，国内外公开发行。主要报道中药的本草、资源、栽培、鉴定、炮制、药剂、化学、药理、中药理论、临床，合理用药等方面的研究成果与经验。读者对象是从事中药生产、企业管理、药房、科研、教学及医疗等单位的中医药工作人员。

本刊为月刊，每册定价5.00元，全国各邮局均可订阅。邮发代号2—45，国外代号M399，国内统一刊号CN11—2272。