

A-对照品 B-样品 C-“大观”牌血竭 1-对羟基苯甲酸乙酯 2-龙血素 A 3-龙血素 B 4-紫檀

A-reference standards B-sample C-“Daguan”Dragon’s Blood 1-ethyl-p-hydroxybenzoate 2-loureirin A 3-loureirin B 4-pterostilben

图 1 HPLC 图谱

Fig. 1 HPLC chromatograms

谱条件中对羟基苯甲酸乙酯 R_f 值也大于龙血素 A、B, 但与黄酮类化合物相近不易分离; 若使用本实验中 HPLC 条件测定未经前处理的龙血竭样品进行时, 则测定对羟基苯甲酸乙酯时所有样品峰全部检出约需 90 min (图 1-C), 分析时间过长, 不适合样品快速分析, 因此, 在进行 HPLC 法分析前, 对样品进行薄层色谱分离的预处理, 既可使对羟基苯甲酸乙酯与黄酮类和紫檀 化合物分离, 又可以减少样品测定时间, 同时也减少各种杂质对色谱柱污染,

延长色谱柱的使用寿命。

References:

[1] National drug Standards by the State Administration (国家药品监督管理局标准). WS3-082(Z-016)-99(Z).
 [2] Hu Y Q, Gong B, Tu P F. Studies on the chemical constituents and activity in the plants of *Dracaena* [J]. *World Phytomed* (国外医药·植物药分册), 2000, 15(1): 5-8.
 [3] Hu Y Q, Li L Z, Han H W. HPLC determination of loureirin A and B in Dragon’s Blood [J]. *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志), 2003, 23(1): 7-8.
 [4] Hu Y Q, Zong N, Li D L. RP-HPLC studies on quantitative determination of pterostilben in Dragon’s Blood [J]. *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志), 2002, 22(6): 428-430.

杜仲原生皮与再生皮次生代谢物含量分析

董娟娥¹, 赵德义¹, 张康健¹, 王 邈^{2*}

(1. 西北农林科技大学林学院 陕西省经济植物资源开发利用重点实验室, 陕西 杨凌 712100;

2. 咸阳市秦都区农林局, 陕西 咸阳 712000)

摘要: 目的 探讨杜仲原生皮与再生皮的次生代谢物含量的差异性。方法 利用游标卡尺测量 17 龄杜仲树的原生皮与再生皮的厚度, 采用分光光度法测定桃叶珊瑚苷和总黄酮含量, 采用高效液相色谱法测定绿原酸含量。结果 杜仲原生皮和再生皮的内皮厚度分别为 1.646 和 1.631 mm; 原生皮中绿原酸、桃叶珊瑚苷和总黄酮的含量分别为 0.402%, 0.781% 和 0.484%, 再生皮中绿原酸、桃叶珊瑚苷和总黄酮的含量分别为 0.436%, 0.849% 和 0.516%。结论 原生皮与再生皮的厚度基本相同; 原生皮与再生皮的次生代谢物含量无显著差异。

关键词: 杜仲; 原生皮; 再生皮; 次生代谢物含量

中图分类号: R 282.6 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2004)02-0199-03

Analysis of secondary metabolite contents in original and reborn bark of *Eucommia ulmoides*

DONG Juan-e¹, ZHAO De-yi¹, ZHANG Kang-jian¹, WANG Miao²

(1. The Key Laboratory of Exploration and Utilization of Economic Plant Resources in Shaanxi Province, North-west Sci-Tech University of Agriculture and Forestry, Yangling 712100, China; 2. The Agriculture and Forestry Bureau of Qindu District of Xianyang, Xianyang 712000, China)

Abstract: Object To investigate the content differences of secondary metabolites between *Eucommia ulmoides* Oliver original and reborn barks. **Methods** To measure the thickness of 17-years bark by vernier caliper, determine aucubin and flavonoids by spectrophotometer, and chlorogenic acid by HPLC. **Results**

* 收稿日期: 2003-04-16

基金项目: 陕西省重大科技项目 97K04-G2

作者简介: 董娟娥(1968—), 女, 陕西人, 讲师, 在读博士, 主要从事天然产物提取的研究和教学工作。Tel: (029) 7082592

The thickness of original inner bark is 1.646 mm, and of reborn inner bark is 1.631 mm; the contents of chlorogenic acid, aucubin and flavonoids in original bark are: 0.402%, 0.781%, and 0.484%, and in reborn bark are: 0.436%, 0.849%, and 0.516% separately. **Conclusion** The thickness, as well as the contents of secondary metabolites of original and reborn barks are similar each other.

Key words: *Eucommia ulmoides* Oliver; original bark; reborn bark; contents of secondary metabolite

杜仲 *Eucommia ulmoides* Oliver 传统以皮入药,过去一直是砍树剥皮。20 世纪 70 年代以来,由于“杜仲剥皮再生技术”^[1,2]的研究成功,无须再砍树剥皮,而是采用在适当的时期活立木剥皮,并给予塑料薄膜保护,使树干重新生长出新皮^[3],这样生长的新树皮谓之“再生皮”。再生皮一旦形成就会迅速生长,3~5 年左右便会生长成和原生皮(原树皮)一样的厚度。但是,在排除个体差异干扰条件下的原生皮和再生皮的有效成分含量^[4],至今未见有关报道,很多药材商人一直对再生皮的药用有效成分含量存有疑问。为此,对杜仲原生皮和再生皮的总皮及内皮厚度进行了分析,并对原生皮和再生皮中含量较高的 3 种次生代谢物(有效成分)含量进行了测定。

1 材料、仪器与试剂

1.1 材料:在略阳县 17 龄杜仲林中,随机选取 7 年前部分剥皮(保留一部分原生皮)后再生新皮的杜仲树 3 株。为了排除个体差异因素的干扰,于 6 月份在每株树的原生皮与紧连接的再生皮处,同时剥下原生皮和紧连接的再生皮(不要分离),分株编号,杀青后晒干备用。

1.2 仪器与试剂:UV—2000 型紫外分光光度计(上海第三分析仪器厂),RE—52A 旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂),日本岛津 LC—10AT 高效液相色谱仪(日本),2K—82A 型真空干燥箱(上海市实验仪器总厂)。冰醋酸、硝酸铝、亚硝酸钠、氢氧化钠、磷酸、对二甲氨基苯甲醛等均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 树皮厚度的测量:分别测量各单株原生皮和再生皮的树皮总厚度和内皮厚度,每样品分别在不同部位重复测定 5 次,测定结果取平均值记录于表 1 中。

2.2 次生代谢物含量的测定:按株分别割取一部分原生皮和再生皮粉碎,进行次生代谢物含量分析:分别称取粉碎的树皮 5 g,加入一定量的提取溶剂,超声波提取 2 次,每次 40 min,合并 2 次滤液为杜仲皮提取液,浓缩,定容于 50 mL 量瓶中。取 2 mL 提取液,稀释至 25 mL,进行有效成分含量分析。每样品重复提取测定 3 次,测定结果取平均值记录于

表 2 中。

表 1 原生皮与再生皮厚度测定结果

Table 1 Determining results of thickness of original and reborn barks

样株	总皮厚/mm		内皮厚/mm	
	原生皮	再生皮	原生皮	再生皮
1	2.061	1.994	1.601	1.553
2	2.360	2.332	1.643	1.660
3	2.420	2.394	1.694	1.680
平均	2.280	2.240	1.646	1.631

表 2 杜仲原生皮与再生皮次生代谢物含量

Table 2 Analysis of secondary metabolite contents in original and reborn barks

样株	桃叶珊瑚苷/%		绿原酸/%		总黄酮/%	
	原生皮	再生皮	原生皮	再生皮	原生皮	再生皮
1	0.600	0.668	0.388	0.573	0.466	0.660
2	0.829	0.862	0.369	0.366	0.449	0.444
3	0.913	1.017	0.450	0.369	0.538	0.445
平均	0.781	0.849	0.402	0.436	0.484	0.516

总黄酮的测定方法:采用 $\text{Al}(\text{NO}_3)_3\text{—NaNO}_2$ 比色法^[5]。

$$\text{总黄酮含量} = \frac{(0.9960A + 0.0082) \times 50 \times 25}{5 \times 2 \times 1000} \times 100\%$$

式中 A 为吸光度。

桃叶珊瑚苷的测定方法:采用改进对二甲氨基苯甲醛法^[6]。

$$\text{桃叶珊瑚苷含量} = \frac{(0.11605A + 0.00033) \times 10 \times 50 \times 25}{(5 \times 2 \times 1000)} \times 100\%$$

式中 A 为吸光度。

绿原酸的测定采用高效液相色谱法^[7]。色谱柱为 Shim-park ODS 柱。色谱条件为:柱温 25 ; 流动相:甲醇-水-冰醋酸(10 9 1), 流速:1 mL/min; 检测波长:237 nm, 见图 1。

3 讨论

由表 1 可知,原生皮的总皮厚度为 2.280 mm,内皮厚度为 1.646 mm,再生皮的总皮厚度为 2.240 mm,内皮厚度为 1.631 mm。原生皮和再生皮的总皮厚度和内皮厚度均无显著差异,这与前人研究结果基本一致^[1]。

由表 2 可知,原生皮的绿原酸含量为 0.402%,桃叶珊瑚苷含量为 0.781%,总黄酮含量为 0.484%;再生皮的绿原酸含量为 0.436%,桃叶珊

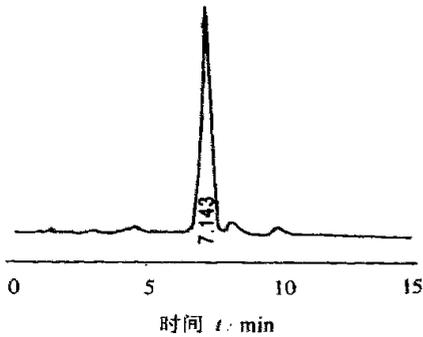


图 1 绿原酸 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC chromatogram of chlorogenic acid

瑚苔含量为 0.849%，总黄酮含量为 0.516%。所测定的 3 种主要次生代谢物桃叶珊瑚苷、绿原酸、总黄酮的含量，在原生皮和再生皮中均无显著差异。

通过对 3 株 17 年原生皮与 7 年再生皮的比较分析认为，原生皮与再生皮的厚度基本相同；3 株中主要次生代谢物（药用有效成分）的含量无显著差异。从而可以认为，原生皮和再生皮在药理作用方面基本一致。

原生皮与再生皮的厚度（总皮和内皮）之所以无显著差异，这主要是由于再生皮比原生皮生长迅速的缘故。研究资料证实，再生皮的厚度虽然在剥皮后 3 年内都比同株树上的原生皮薄，但差距在逐年减少。而且，与对照（原生皮）同样位置的树皮厚度比较，再生皮只有在剥皮当年明显比对照薄，第 2 年

就与对照相似，第 3 年比对照还厚。可见，新皮（再生皮）的生长比原生皮快^[1-3]。

所测定的 3 种主要次生代谢物桃叶珊瑚苷、绿原酸、总黄酮的含量在原生皮和再生皮中均无显著差异，这是由于新生皮与原生皮结构基本相同的缘故^[1,2]。虽然新皮（再生皮）生长的时间短，但由于受伤刺激，使它生长速度快，很快就与原生皮相连相通，形成了一个整体的营养运输通道，次生代谢物的合成积累自然就达到了一致。

References:

- [1] Zhang K J, Zhang T. *The Magical Tree in China—Eucommia ulmoides* (中国神树—杜仲) [M]. Beijing: Publishing Company of Economic Management, 1997.
- [2] Li Z L, Cui K M, Yu C S, et al. Anatomical studies of regeneration after ringing of *Eucommia ulmoides* [J]. *Acta Bot Sin* (植物学报), 1981, 23(1): 6-11.
- [3] Li Z L, Cui K M, Yu C S, et al. Effect of envelop by plastic film after peeling stem bark of Duzhong [J]. *Sci Sin (A)* (中国科学 A 辑), 1981, 12: 1524-1527.
- [4] Li J S, Yan Y N. Primary study of constituents of Duzhong leaf and bark [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 1986, 11(8): 419-422.
- [5] Feng X, Li H Y. Study on the comparison of flavonoids in Honewort and Yantai Bupleurum [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1990, 21(8): 5-6.
- [6] Dong J E, Ma B L, Jia E H. Study on measuring method of acubin in *Eucommia ulmoides* leaf [J]. *J Northwest Forestry Univ* (西北林学院报), 2001, 16(1): 53-55.
- [7] Takahashi T, Matsumoto N, Oshio H. The stability of bio-active components in the bark of *Eucommia ulmoides* [J]. *Shoyakugaku Zasshi*, 1988, 42(2): 111-115.

真菌诱导子对长春花愈伤组织中吲哚生物碱积累的影响

张向飞, 张荣涛, 王宁宁, 王 勇, 王淑芳*

(南开大学生命科学学院, 天津 300071)

摘要: 目的 研究分别来源于镰刀菌 *Fusarium solani* 和黑曲霉 *Aspergillum niger* 的真菌诱导子 (fungal elicitors) 对长春花愈伤组织中吲哚生物碱积累的影响。方法 用真菌诱导子对长春花愈伤组织进行诱导处理后提取吲哚总碱, 并用 RP-HPLC 法测定其中阿玛碱和长春质碱含量。结果 两种真菌诱导子对吲哚总碱及其中阿玛碱和长春质碱的积累均有较明显的正向调节作用, 并且确立了真菌诱导子最佳处理时间。结论 这两种真菌诱导子对长春花愈伤组织中吲哚生物碱的积累有显著影响。

关键词: 长春花; 真菌诱导子; 阿玛碱; 长春质碱; 愈伤组织

中图分类号: R282.6 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2004)02-0201-04

Effects of fungal elicitors on accumulation of indole alkaloids in *Catharanthus roseus* calli

ZHANG Xiang-fei, ZHANG Rong-tao, WANG Ning-ning, WANG Yong, WANG Shu-fang

(College of Life Science, Nankai University, Tianjin 300071, China)

* 收稿日期: 2003-05-12

基金项目: 天津市自然科学基金资助项目 (013609211)

作者简介: 张向飞 (1978—), 女, 山东淄博人, 现为南开大学植物学专业硕士研究生。Tel: (022) 23503714