

其余 5 种成分量均低于各林区样品量,说明药材野生变家种过程中存在成分量的差异,可能是有效成分在植物体内生物合成和积累与年限、生态环境的影响因素有关,从而提示要进一步研究药材的标准化种植技术,为大量生产优质原药材奠定基础。不同产地药材中的 6 种成分之间白藜芦醇苷和白藜芦醇二者量有互为消涨的趋势,待进一步验证;而其他成分的变化趋势不明显。从以上结果可以看出,中药材质量标准的确定是一项复杂的工作,仅以一种有效成分的量目前难以全面反映中药材质量,而多种成分的测定又受到缺少对照品的影响,因而现阶段,指纹图谱的研究给药材质量标准的确定带来了更科学的客观评价指标。

6.5 中药材质量标准的最终制定应从形态、解剖、化学、药效和分子标记等多方面进行比较,才能客观地进行评价。

## References:

- [1] Liu S T, *Herb Flora of Chinae Boreali-Orientalis* (东北草本植物志) [M]. 2nd ed. Beijing: Science Press, 1959.
- [2] Jilin Institution of Traditional Chinese Medicine. *Flora of Changbaishan* (长白山植物志) [M]. Changchun: Jilin People's Publishing House, 1982.
- [3] Wang Z Y, Cai X Q, Kang Y H. Structure of two compounds from the root of *Rumex gmelini* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1996, 27 (12): 714-716.
- [4] Kang Y H, Wang Z Y, Li J K, et al. Isolation and identification of two anthraquinones from *Rumex gmelini* Turcz. [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 1996, 21 (12): 741-742.
- [5] Wang Z Y, Li Y B, Kuang H X. Isolation and identification of rhein and emodin [J]. *Acta Chin Med Pharm* (中医学报), 1996, 24 (2): 54.
- [6] *CA P* (中国药典) [S]. Vol 1. 2000.
- [7] Wang Z Y, Du S B, Kang Y H. Pharmacognostical studies on *Radix Rumex Gmelini*. [J]. *Acta Chin Med Pharm* (中医学报), 1994 (6): 52-54.
- [8] Wang Z Y, Wang Y Z, Wang Y. Studies on the microscopical structures of eight species Chinese medicine from *Rumex* root [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1999, 30 (11): 855-859.

## 穿龙薯蓣最佳采收期的研究

刘丽娟<sup>1</sup>, 金德祥<sup>2</sup>, 牛志多<sup>3</sup>, 徐国经<sup>3</sup>

(1. 通化师范学院 生物系, 吉林 通化 134002; 2. 吉林永利药业有限公司, 吉林 白山 134300; 3. 吉林省中医中药研究院, 吉林 长春 130021)

穿龙薯蓣 *Dioscorea nipponica* Makino 别名穿地龙、穿龙骨、穿山龙, 为薯蓣科薯蓣属多年生缠绕性草本植物, 属道地北药, 以根茎入药, 主要药用成分为薯蓣皂苷(dioscin)及水解后产生的薯蓣皂苷元(diosgenin)<sup>[1]</sup>, 后者是合成各种避孕药和甾体激素类药物的重要原料, 其本身有肝脏保护<sup>[2]</sup>、抑制癌细胞增殖<sup>[3]</sup>、治疗骨质疏松<sup>[4]</sup>、抗糖尿病和消炎等功能<sup>[5,6]</sup>。近年来, 由于国内外合成甾体激素类药物的迅速发展, 对穿龙薯蓣的需求量日益增加, 野生资源已不能满足生产需求, 人工驯化与栽培正在广泛兴起。笔者已对穿龙薯蓣氮、磷、钾养分变化规律进行了研究<sup>[7]</sup>, 最近又进行了一个生长季内和不同年生穿龙薯蓣根茎内有效成分变化规律的研究, 目的是探索一年内的最佳采收月份和最佳采收年限, 以摸索最佳采收期。

### 1 仪器、试剂与材料

1.1 仪器与试剂: 高效液相色谱仪: 岛津 LC—

10AT 高效液相色谱仪; 检测器: SPD-10A 紫外检测器; 手动进样。所用试剂均为色谱纯和分析纯。对照品薯蓣皂苷元(批号: 111572-200301) 购于中国药品生物制品检定所, 供测定用。

1.2 材料: 样品采自吉林省靖宇县, 种栽经吉林省中医中药研究院徐国经鉴定为当地野生种穿龙薯蓣 *D. nipponica* Makino 的根状茎。在人工栽培基地中, 分别选生长 1~4 年的地块, 每个样品随机取 3~4 点, 整株挖出, 进行不同年生穿龙薯蓣根茎内有效成分变化规律研究; 另外, 从 4 月初开始在人工栽培基地每个月的月初取样一次, 连续取到 9 月初, 共计 6 个样品; 取样时将地下根茎全部挖出, 每个样品选 3 点, 整株挖出, 所有样品去泥土和须根, 切成 1.5~2 cm 的小段, 烘干后备用。

### 2 方法

2.1 供试品溶液的制备: 取本品粉末约 1 g, 置圆底烧瓶中, 加 1.5 mol/L 硫酸 9 mL, 异丙醇 21 mL, 于

水浴加热水解 4 h, 滤过, 滤液以正己烷萃取 4 次, 每次 20 mL, 合并正己烷溶液, 分别用 4% 氢氧化钾水溶液、蒸馏水洗涤一次, 每次 25 mL, 分取正己烷溶液, 蒸干, 残渣以甲醇-氯仿(1:1)溶液使溶解, 并转移至 10 mL 量瓶中, 稀释至刻度, 摇匀, 滤过, 即得。

2.2 色谱条件: 色谱柱为 Shim-pack(岛津)C<sub>18</sub>柱(150 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-0.4% 磷酸水溶液(90:10); 检测波长: 209 nm; 体积流量: 1 mL/min; 柱温: 30 °C。理论板数按薯蓣皂苷元计算应不低于 1 500<sup>[8]</sup>。

2.3 线性范围的考察: 精密称取薯蓣皂苷元对照品适量, 加甲醇-氯仿(1:1)溶液制成含 0.521 mg/mL 的溶液。精密吸取此溶液 4、8、12、16、20 μL 分别注入液相色谱仪, 记录色谱图, 测定其峰面积。以峰面积值(A)对进样量(C)进行回归, 得回归方程为:  $A = 168\ 514.39 C - 7\ 474.71$ ,  $r = 0.999\ 6$ 。结果表明薯蓣皂苷元在 2.084~10.420 μg, 进样量与峰面积呈良好的线性关系。色谱图见图 1。

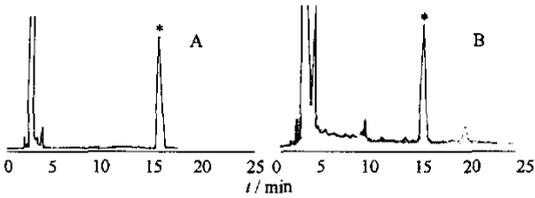


图 1 对照品(A)和样品(B) HPLC 图谱  
Fig. 1 HPLC chromatogram of reference substance (A) and sample (B)

3 结果与讨论

3.1 同一生长季内有效成分变化规律的研究: 从图 2 可知, 在同一生长季内, 以 5 和 6 月采集的根茎中薯蓣皂苷元的量较高, 分别为 2.26% 和 2.22%, 二者仅相差 0.04%; 7 月初时量仍能达到 2.0%, 而其余 3 个月的样品薯蓣皂苷元的量均低于 2.0%, 未达到 2005 年版《中国药典》中的要求, 其量在 1.58% 上下浮动, 变幅小于 0.07%。

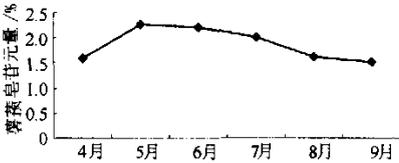


图 2 不同月份根茎中薯蓣皂苷元  
Fig. 2 Diosgenin in rhizome of *D. nipponica* in different months

从薯蓣皂苷元量看, 5~6 月初, 是一年中根茎量最高的时期, 此时采收, 较为科学。此时正值春暖

花开, 植株刚萌芽, 根茎自身营养消耗小, 可结合采收, 将根茎顶端继续种植, 其余部分加工出售; 而到 7 月初时, 量虽然达到了标准, 但已处于生殖生长期即将进入根茎旺盛生长期, 此时采收一是根茎营养消耗大, 二是会影响产量, 所以不经济, 故在一年中, 5~6 月最适宜采收。

3.2 不同年生根茎中薯蓣皂苷元的量变化规律研究: 从图 3 可以看出, 人工驯化栽培 1~4 年的穿龙薯蓣, 根茎中薯蓣皂苷元的量是随栽培年限的增加而上升的, 其中 2~4 年生根茎中薯蓣皂苷元的量均达到 2005 年版《中国药典》指标; 但在这些样品中, 3 年生和 4 年生根茎中有效成分明显比 1 年生和 2 年生的高, 它们分别达到 2.23% 和 2.27%, 比 1 年生和 2 年生根茎中有效成分高 12.5% 以上, 这说明栽培 1 年或 2 年后, 不适合采收, 主要是因为薯蓣皂苷元的量和根茎产量均较低, 达不到要求; 到第 3 年和第 4 年, 根茎增长迅速, 产量剧增而薯蓣皂苷元的量又较高, 可见, 人工栽培者至少要经过 3 个生长季后采收, 这样无论有效成分的量, 还是根茎的生物产量, 都符合生产目的, 可定为最佳采收期年限。

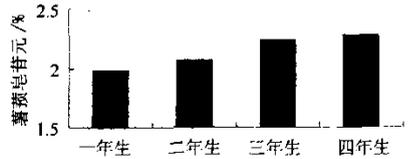


图 3 不同年生根茎中薯蓣皂苷元  
Fig. 3 Diosgenin in rhizome of *D. nipponica* in different years

综上所述, 人工栽培的穿龙薯蓣科学采收年份应该是栽培 3 年或 4 年, 最佳采收时间为 5~6 月初。

References:

[1] Liu T C. The resources of the *Dioscorea nipponica* Makino investigate and artificial plant [J]. *J Tradit Chin Med* (中药通报), 1985, 10 (12): 6-7.  
[2] Nibbering C P, Groen A K, Ottenhoff R, et al. Regulation of biliary cholesterol secretion is independent of hepatocytocanalicular membrane lipid composition; a study in the diosgenin-fed rat model [J]. *J Hepatol*, 2001, 35 (2): 164-169.  
[3] Moalic S, Liagre B, Corbiere C, et al. A plant steroid, diosgenin, induces apoptosis, cell cycle arrest and COX activity in osteosarcoma cells [J]. *FEBS Lett*, 2001, 506 (3): 225-230.  
[4] Higdon K, Scott A, Tucci M, et al. The use of estrogen DHEA, and diosgenin in a sustained delivery setting as a novel treatment approach for osteoporosis in the ovariectomized adult rat model [J]. *Biomed Sci Instrum*, 2001, 37: 281-286.  
[5] Al-Habori M, Raman A, Lawrence M J, et al. In vitro effect of fenugreek extracts on intestinal sodium-dependent glucose uptake and hepatic glycogen phosphorylase A [J]. *Int Exp*

- Diabetes Res*, 2001, 2 (2): 91-99.
- [6] Yamada T, Hoshino M, Hayakawa T, et al. Dietary diosgenin attenuates subacute intestinal inflammation associated with indomethacin in rats [J]. *Am J Physiol*, 1997, 273 (2 Pt 1): G355-364.

- [7] Liu J, Feng Y C, Dong R. Research on varying laws of the content of nitrogen, phosphorus and potassium in *Dioscorea nipponica* Makino in growth period [J]. *J Jilin Agric Univ* (吉林农业大学学报), 2005, 27 (1): 64-67.
- [8] *Ch P* (中国药典) [S]. Vol 1. 2005.

## RP-HPLC 测定不同地区、不同采集期桑叶中 1-脱氧野尻霉素

关丽萍, 郑光浩, 金晴昊, 权迎春

(延边大学药学院, 吉林 延吉 133000)

桑叶异名铁扇子, 为桑科植物桑 *Morus alba* L. 的干燥叶<sup>[1]</sup>, 始载于《神农本草经》, 味苦、甘, 性寒, 归肺、肝经, 具有祛风清热、凉血、明目等功效, 用于风热感冒、肺热燥咳、头晕头痛、目赤昏花等症; 历代中医药书籍中记载桑叶能够治疗消渴症, 近代医家也常将桑叶用于糖尿病, 且取得满意疗效。现代医学研究证明桑叶有效成分之一多羟基生物碱具有降低血糖等作用<sup>[2,3]</sup>。1-脱氧野尻霉素(1-DNJ)是桑叶中的一种生物碱, 其作为  $\alpha$ -葡萄糖苷酶的抑制剂, 具有降血糖、抗病毒、抗肿瘤转移等作用<sup>[4-6]</sup>。目前, 1-DNJ 主要是采用硅烷衍生化后用 GC-MS 法鉴定其结构<sup>[7]</sup>, 因其分子结构中缺少发色团, 所以很难采用 HPLC 法直接测定。本实验采用荧光试剂 9-苄基氯甲酸甲酯与 1-DNJ 柱前衍生, 然后用 HPLC 法进行含量测定, 取得了满意的效果。本方法准确、灵敏度高, 可用于桑叶中 1-脱氧野尻霉素的定量分析。

### 1 仪器与试剂

日本岛津 SCL-10Avp 型高效液相色谱仪; SPD-10Avp 型紫外-可见检测器; XW-80A 旋涡混合器(上海青浦沪西仪器厂); AS3120A 型超声波清洗脱气器(奥特宝恩斯仪器有限公司)。

乙腈为色谱纯, 水为双蒸水, 醋酸为分析纯, 1-脱氧野尻霉素对照品(Sigma 产品)。桑叶采自湖北、广西、河南, 由延边大学药学院中草药教研室刘永镇教授鉴定。

### 2 方法与结果

2.1 色谱条件: YMC-pack ODS-A (250 mm × 4.6 mm, 5  $\mu$ m) 色谱柱; 流动相为乙腈-0.1% 醋酸(50:50); 柱温 35  $^{\circ}$ C; 体积流量: 1.0 mL/min; 检测波长 254 nm。

2.2 对照品溶液的制备: 精密称取 1-脱氧野尻霉素对照品 10 mg, 用甲醇溶解, 定容于 100 mL 量瓶中, 制得质量浓度为 0.1 mg/mL 的标准储备液。

2.3 供试品溶液的制备: 准确称取干燥粉碎的桑叶适量, 加 8 倍量水浸泡 1 h 后, 在 100  $^{\circ}$ C 加热 3 h, 提取两次, 滤过、浓缩、干燥。精密称取粉末 0.5 g, 置 50 mL 量瓶中加水溶解定容, 备用。

衍生化过程: 精密吸取上述提取液 40  $\mu$ L 于试管中, 加 40  $\mu$ L 0.4 mol/L 硼酸盐缓冲液 (pH = 8.5), 80  $\mu$ L 的 9-苄基氯甲酸甲酯的乙腈溶液混匀, 在 20  $^{\circ}$ C 水浴中反应 20 min, 再加入 40  $\mu$ L 0.1 mol/L 氨基乙酸, 让剩余的衍生化试剂反应, 最后加入 200  $\mu$ L 0.1% 醋酸水溶液, 混匀, 超声提取, 微孔滤膜滤过, 即得。

2.4 线性关系的考察: 分别精密吸取对照品储备液 5.0、7.5、10.0、12.5、15.0、17.5、20.0  $\mu$ L, 按色谱条件测定, 以峰面积为纵坐标, 浓度为横坐标, 绘制标准曲线, 得回归方程为  $C = 5.04545 \times 10^{-6} A - 0.00514$ ,  $r = 0.9996$ 。结果表明, 对照品在 0.87~2.53  $\mu$ g 呈良好的线性关系。HPLC 色谱图见图 1。

2.5 精密度试验: 精密吸取同一份供试液, 连续进样 5 次, 每次 20  $\mu$ L, 计算峰面积的 RSD = 1.12%。

2.6 重现性试验: 精密称取湖北(秋季)桑叶样品 5 份, 按 2.3 项制备供试品溶液, 进样 20  $\mu$ L, 测定峰面积计算得 RSD = 1.52% ( $n = 5$ ), 结果显示, 该方法具有较好的重现性。

2.7 稳定性试验: 分别在 2、4、8、12、24 h 进样, 每次 20  $\mu$ L, 计算峰面积的 RSD = 0.55% ( $n = 5$ )。结果表明, 该溶液在 24 h 内稳定。

2.8 回收率试验: 精密称取已知含量的广西(秋季)

收稿日期: 2005-01-29

作者简介: 关丽萍(1970—), 女, 吉林省蛟河人, 讲师, 硕士, 主要研究方向为天然化合物的提取、合成及药理活性的研究。

Tel: (0433) 2660631 E-mail: glp730@yahoo.com.cn