

5.4 荧光鉴别^[1]:分别取 1、2、3、6 号管花秦艽样品横断面,置紫外灯 (365 nm) 下观察,1、2、3 号显金黄色荧光;6 号显黄白色荧光。

另外,为了进一步评价管花秦艽根的品质,还应用 HPLC 法对其龙胆苦苷进行了测定。除了 6 号样品的量低于 2005 版《中国药典》规定外,1、2、3 号的龙胆苦苷的量均超出《中国药典》规定的 3~4 倍(另文报道)。

6 小结

6.1 管花秦艽在一些产地被习称为“左拧根”,而麻花艽被习称为“右拧根”。据笔者观察,管花秦艽的根向左、向右均可扭曲,亦有不扭曲者,以此作为该药材的性状特征之一是不妥的。

6.2 管花秦艽根的次生保护组织无典型的木栓细胞,而常由相邻数个薄壁细胞的部分细胞壁木栓化,形成一较大的栓化细胞,它们是周皮的主要成分。这一细胞形态可能是秦艽类药材所共有的特征,具有一定的生药鉴定意义。另外,根中亦出现中柱裂分现象,这一点也与秦艽类植物根的构造相类似^[6,7]。

6.3 从以上薄层图谱中可以推断出,管花秦艽与《中国药典》品种麻花艽不仅含龙胆苦苷、当药苦苷,且两者其他化学成分非常相近;即使用不同极性溶剂进行提取,其色谱图基本一致。同时,用《中国药典》秦艽项下的各项鉴别方法,管花秦艽亦为阳性结果。

两者化学成分的相似性,为确定管花秦艽作为秦艽新品种提供了物质基础。

6.4 据查阅标本资料以及实地考察,管花秦艽资源比较丰富。甘肃河西为该省的主要分布区;在青海、四川、宁夏等省区均有分布^[5]。另外,管花秦艽在产地长期采挖、购销并使用。为保护秦艽原植物物种、确定新品种并满足秦艽药材的市场需求,尽快对该地区习用品进行安全性评价以及深入的药效学、栽培学研究,是十分必要的。

致谢:中国科学院西北高原生物研究所标本馆、兰州大学生物系标本室、兰州大学药学院药用植物标本室、甘肃省药品检验所中药标本室、甘肃省医药学校药用植物标本室等单位在标本查阅工作中给予大力协助;野外考察工作得到甘肃省食品药品监督管理局等单位的支持!

References:

- [1] Ch P (中国药典) [S]. Vol 1. 2005.
- [2] Zhu J R, Song P S, Ma X, et al. Resources and market investigation of *Radix Gentianae Macrophyllae* from Gansu [J]. *J Chin Med Mater* (中草药), 2000, 23(9): 521-522.
- [3] Ma J, Zhao R N. Herbs from Gentianaceae in Gansu [J]. *J Lanzhou Med Coll* (兰州医学院学报), 1990, 16(1): 27-29.
- [4] Tan R X, Kong L D. Secoiridoids from *Gentiana siphonantha* [J]. *Phytochemistry*, 1997, 46(6): 1035-1038.
- [5] Editorial Board of Flora Reipublicae Popularis Sinicae. *Flora Reipublicae Popularis Sinicae* (中国植物志) [M]. Tomus 62. Beijing: Science Press, 1988.
- [6] Li X H, Lu J X, Yang X Y. Development anatomy of stelar division in *Gentiana macrophylla* [J]. *Acta Bot Boleal-Occid Sin* (西北植物学报), 1996, 16(4): 428-431.
- [7] Li X H, Lu J X, Hu Z H. The development anatomy of stelar division in *Gentiana straminea* root [J]. *Acta Bot Boleal-Occid Sin* (西北植物学报), 1993, 13(1): 36-40.

宁夏乌拉尔甘草中甘草酸的积累变化研究

彭 励^{1,2}, 张 琪², 胡正海^{1*}

(1. 西北大学生命科学学院, 陕西 西安 710069; 2. 宁夏大学生命科学学院, 宁夏 银川 750021)

摘要:目的 探讨宁夏半野生型乌拉尔甘草在不同生长期和不同生长环境中甘草酸的变化规律。方法 应用高效液相色谱法分别测定一至四年生乌拉尔甘草中的甘草酸的量。结果 在甘草的营养器官中,甘草酸主要分布于地下器官中,地上茎和叶中量甚低;且在一至四年生甘草的地下根和根状茎中甘草酸的量与其生长年限成正比;不同生长地区的甘草中甘草酸的量不同。结论 甘草的根和根状茎是甘草酸的主要积累部位,其量随生长年限而增加;光照、降水和土壤类型等环境因子综合影响甘草酸的积累。

关键词:乌拉尔甘草; 甘草酸; 生长环境; 营养器官

中图分类号: R282.6

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2006)12-1878-04

收稿日期: 2006-02-15

基金项目: 陕西省自然科学基金 (2005C116); 宁夏区自然科学基金 (nz0689)

作者简介: 彭 励 (1962—), 女, 副教授, 在读博士。研究方向为结构植物学与植物化学, 主持省级课题 1 项, 参加国家级课题 3 项, 发表论文 10 余篇。E-mail: pengli1124@163.com

* 通讯作者 胡正海 Tel: (029) 88302684

Dynamic accumulation of glycyrrhizic acid in *Glycyrrhiza uralensis* from Ningxia

PENG Li^{1,2}, ZHANG Qi², HU Zheng-hai¹

(1. College of Life Science, Northwest University, Xi'an 710069, China; 2. College of Life Science, Ningxia University, Yinchuan 750021, China)

Key words: *Glycyrrhiza uralensis* Fisch.; glycyrrhizic acid; growing condition; vegetative organs

现代科学研究证实甘草酸是药用甘草中主要药用成分之一,《中国药典》2005 年版(一部)收录甘草的原植物为乌拉尔甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch.、胀果甘草 *G. inflata* Bat.、光果甘草 *G. glabra* L. 的干燥根和根状茎,并规定其中甘草酸的量不得低于 2%^[1]。药用甘草野生资源主要分布于我国西北干旱区域的温带荒漠区和温带草原区,其中乌拉尔甘草是我国甘草资源中分布最广的 1 种^[2]。近年来,由于国内外市场对甘草的需求量不断增加,而野生甘草资源日益减少,用人工栽培甘草代替野生甘草已成为必然的趋势。针对人工栽培甘草技术工作的需要,本实验以生长在宁夏干旱荒漠区的乌拉尔半野生型甘草为主要对象,对甘草酸在其植株营养器官中的分布和积累规律进行研究,探讨其原因,为甘草的栽培管理和采收提供科学依据。

1 仪器与试剂

高效液相色谱为美国安捷伦公司生产 Agilent 1100; 检测器 VWDG1314A, 四元梯度泵 Quat-pump G1314A; 超声清洗仪为国产 KQ5200B; 化学试剂: 甲醇为色谱纯(进口), 其他试剂均为分析纯(国产); 微滤膜为 0.22 μm (天津奥特赛恩斯仪器有限公司); 甘草酸单铵盐(质量分数≥98%) 购于成都思科华生物技术有限公司。

2 材料与方法

2.1 材料采集与处理: 于 2005 年 10 月初分别在宁夏盐池高沙窝、红寺堡、陕西西安等地采挖各生长年限的生长健壮、无病虫害乌拉尔甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. 植株各 5~10 株, 野生甘草 2 株。分别取其叶、地上茎、地下根状茎、主根(直径>0.5 cm) 自然干燥, 然后粉碎过 40 目筛。随机抽取各粉末样品 3 份, 测定前经烘箱 50 ℃ 烘 15 h 后, 取出, 置干燥器冷却至室温备用。

2.2 不同生长区气候因子和土壤因子概况: 见表 1、2。

2.3 甘草酸测定

2.3.1 色谱条件: 色谱柱 Agilent ZORBA×SB-C₁₈ ODS (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 柱温 30 ℃; 流动相为甲醇-0.2 mol/L 醋酸铵-冰醋酸(67:33:1); 进样量 10 μL; 体积流量为 1.0 mL/min; 检测器

表 1 不同生长区的气候因子

Table 1 Climate factors of various growing areas

生长区	年平均气温/ ℃	年降水量/ mm	年均蒸发量/ mm	无霜期/ d	年日照时数/ h	年积温/ (≥10 ℃)
宁夏盐池	7.7	295.1	2 026.1	177	2 867.9	2 944.9
宁夏红寺堡	8.7	251.0	2 387.6	165~183	2 900~3 055	2 963.1
陕西西安	11.5	924.0	1 808.6	250	2 486.2	4 868.6

表 2 不同生长区的土壤因子

Table 2 Soil factors of various growing areas

生长区	土壤 pH 值	土壤质地	有机质/ %	全氮/ %	速效磷/ (mg·L ⁻¹)	速效钾/ (mg·L ⁻¹)
宁夏盐池	8.7	沙质淡灰钙土	0.66	0.03	4.26	—
宁夏红寺堡	8.9	沙质淡灰钙土	0.43	0.05	7.00	11.53
陕西西安	6.5	黏性壤土	1.10	0.04	16.00	106.0

VWD G1314A, 检测波长 250 nm。

2.3.2 对照品溶液和供试样品液制备: 均按照《中国药典》2005 版甘草项下操作^[1]。

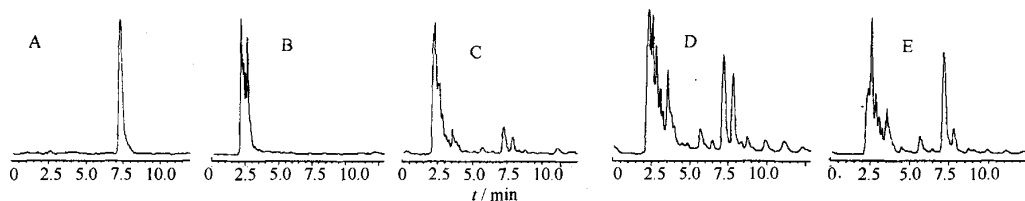
2.3.3 线性关系考察: 分别吸取 2、4、6、8、10、12、14、16 μL 对照品溶液, 自动进样, 以进样量为横坐标, 对照品的峰面积为纵坐标绘制工作曲线, 得到线性回归方程 $Y = 5.883\ 5 + 139.841\ 8\ X$, $r = 0.999\ 7$, 在 0.4~32.0 μg/mL 线性关系良好。

3 结果与分析

3.1 甘草酸对照品及样品提取液的 HPLC 色谱图: 见图 1。

3.2 不同营养器官中甘草酸量比较: 由表 3 可见, 在一至四年生的半野生甘草中, 甘草酸在植株中的积累部位和量的变化呈现一定的规律性。表现为甘草酸主要分布于地下营养器官中, 而甘草地上茎和叶中的量很低甚至没有。就地下器官而言, 一至四年生主根和根状茎中甘草酸的量随着甘草生长年限增加而呈现递增的趋势, 且主根的甘草酸的量均明显大于根状茎; 四年生甘草主根的甘草酸的量最高为 4.48%, 与生长在同一环境下的野生甘草相比, 其甘草酸的量十分接近。

3.3 不同产地乌拉尔甘草主根和根状茎中甘草酸量的比较: 由表 4 结果可见, 同一种苗来源、同一生长年限(二年生)的半野生甘草, 在不同生长地区其主根和根状茎中甘草酸的量存在明显差异。陕西西安的甘草根和根状茎中甘草酸的量最低, 分别为



A-甘草酸对照品 B-甘草叶 C-甘草地上茎 D-甘草根状茎 E-甘草根

A-glycyrrhizic acid reference substance B-leaf of *G. uralensis* C-stem of *G. uralensis* D-rhizome of *G. uralensis* E-root of *G. uralensis*

图 1 甘草酸 (A) 和样品 (B~E) HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC Chromatograms of glycyrrhizic acid (A) and samples (B~E)

表 3 一至四年生半野生甘草不同营养器官中甘草酸 ($n=3$)

Table 3 Glycyrrhizic acid in different vegetative organs of semi-wild licorice in one- to four-years-old ($n=3$)

生长年限	甘草酸/%			
	叶	茎	根状茎	主根
四年生	0.05	0.51	4.15	4.48
三年生	—	0.57	2.12	3.66
二年生	0.06	0.59	1.54	2.82
一年生	0.11	0.31	—	1.83
野生	—	—	2.57	4.98

表 4 不同产地甘草根与根状茎中甘草酸

Table 4 Glycyrrhizic acid in roots and rhizomes of licorice from various habitats

产 地	甘草酸/%	
	根	根状茎
宁夏盐池	2.34	1.59
宁夏红寺堡	1.84	1.55
陕西西安	0.83	0.82

0.83% 和 0.82%，而宁夏盐池半野生甘草根和根状茎中甘草酸的量为最高 2.34% 和 1.59%；宁夏红寺堡甘草根和根状茎的量为 1.84% 和 1.55%。

4 讨论

甘草酸是中药甘草产生临床药理作用的主要物质基础之一，对其在原植物中的分布和积累变化规律的研究，无疑对指导人工种植技术和综合开发利用有重要的意义。笔者曾收集和总结了近 20 年来国内外有关甘草的生物学和化学方面的研究报道^[3]，发现涉及甘草酸在甘草各营养器官内的分布和积累变化规律的研究报道甚少。半野生型甘草是指种植甘草的过程中，播种或移栽后基本不予管理，让其进行自然生长的一类栽培甘草^[4]。目前，由于自然条件和社会经济条件的限制，这种甘草的种植模式在干旱荒漠草原区较为普遍和实用，不仅可促进甘草资源恢复，而且是保护和治理草原生态环境的重要措施。但对半野生型甘草中主要药用成分的积累变化规律及与野生甘草的差异尚未见报道。

皂苷类成分在高等植物中分布十分广泛，但它们存在的类型及在植物器官的分布模式具有多样性，杜丽娜等^[5]认为“植物次生代谢的一个基本特征是次生代谢产物在植物体内不是普遍存在的，而是限制在一些特定的器官或组织与细胞中”。对薯蓣皂苷^[6]、绞股蓝皂苷^[7]的研究也证实了这一观点。笔者的研究结果显示，在半野生型乌拉尔甘草中甘草酸主要存在于植株主根和根状茎中，地上茎和叶中的量甚少，显然，传统中医理论中取其根或根茎为药材是有科学道理的。对次生代谢产物积累的作用机制有几种假说，其中碳素/营养平衡假说认为：植物体内以 C 为基础的次生代谢物质，如酚类、萜烯类和其他一些仅以 C、H、O 为主要结构的化合物，与植物体内的 C/N（碳素/氮素）比呈正相关^[8]。米海莉等^[9]研究报道了野生乌拉尔甘草中 C/N 比值的变化规律表现为根>茎>叶。由此可见，甘草酸在植株中的分布和变化与甘草中 C/N 比值的变化具有一致性。研究结果还显示：在不同年生的根和根状茎中，甘草酸的量随生长年限的增加而增加，四年生半野生型甘草中甘草酸的量与野生甘草中甘草酸的量相当，完全可以取代野生甘草以满足市场需求。这一结果也可作为确定这种类型甘草药材合适采收年限的依据。

张康健等^[10]提出，生态环境对植物的生长发育及次生代谢产物的合成和积累有直接或间接的影响。地理因素、土壤、海拔、光照、温度、湿度都是影响次生代谢产物量的因素。对比研究结果可以看出，生长在降雨量少、蒸发量大、光照充足的偏碱性沙质淡灰钙土地区的甘草，其甘草酸的量较高。相反生长在降雨偏多、光照时间少、偏酸性黏壤土地区的甘草，其甘草酸的量较低，显然这些生态环境因子是不利于甘草酸积累的。廖建雄等^[11]认为适当的干旱胁迫有利于甘草酸的形成，因此甘草酸的积累和变化是多因素综合作用的结果，但是哪些环境因子对甘草

酸积累起主导作用还需进行更细致和深入研究。

References:

- [1] Ch P (中国药典) [S]. Vol. 1. 2005.
- [2] Fu Y J. *The Chinese Licorice* (中国甘草) [M]. Beijing/New York: Science Press, 2004: 2-18.
- [3] Peng L, Hu Z H. Research progresses on biology and chemistry of licorice [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2005, 36(11): 1744-1747.
- [4] Zhao Z H, Zu Y G. *Study on the Life Cycle of Glycyrrhiza uralensis* Fisch. (乌拉尔甘草生活史型研究) [M]. Beijing: Science Press, 2005, 3: 99-105.
- [5] Du L N, Zhang C L, Zhu W, et al. The synthetic way and biological significance of plant secondary metabolism [J]. *J Northwest Forest Univ* (西北林学院学报), 2005, 20(3): 150-155.
- [6] Cao Y F, Wang T X, Hu Z H. Studies on the dynamic trends of diosgenin content in vegetative organs of *Dioscorea zingiberensis* [J]. *Acta Biol Exp Sin* (实验生物学报), 2004, 37(3): 221-225.
- [7] Liu S B, Lin R, Hu Z H. Histochemical localization of ginsenosides in *Gynostemma pentaphyllum* and content changes of total gypenosides [J]. *Acta Biol Exp Sin* (实验生物学报), 2005, 38(1): 54-57.
- [8] Su W H, Zhang G F, Li X H, et al. Relationship between accumulation of secondary metabolism in medicinal plant and environmental condition [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2005, 36(9): 1415-1418.
- [9] Mi H L, Xu X, Li S H, et al. Dynamic change of the contents, distributions and ratios of carbohydrate and total nitrogen in *Cynanchum komarovii* and *Glycyrrhiza uralensis* during the different periods of growth [J]. *Agric Res Arid Areas* (干旱区农业研究), 2005, 23(1): 130-133.
- [10] Zhang K J, Dong J E. *Secondary Metabolism in Medicinal Plant* (药用植物次生代谢) [M]. Xi'an Northwest University Publishing House, 2001.
- [11] Liao J X, Wang G X. The function of glycyrrhizic acid to adapt arid environment [J]. *Plant Physiol* (植物生理学通讯), 2003, 39(4): 367-370.

RP-HPLC 法测定甘草废渣及不同产地甘草中甘草查耳酮 A

杨琳^{2,1}, 车庆明^{1*}, 孙启时²

(1. 北京大学医学部药学院, 北京 100083; 2. 沈阳药科大学中药学院, 辽宁 沈阳 110016)

甘草为豆科植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch.、胀果甘草 *G. inflata* Bat. 或光果甘草 *G. glabra* L. 的干燥根及根茎。具有补脾益气、祛痰止咳、清热解毒、缓急止痛、调和诸药之功效, 素有“国佬”之称。甘草的化学和药理学研究表明, 甘草酸和甘草黄酮类成分是其主要的有效成分, 其中黄酮类成分具有显著的抗溃疡、抗肿瘤、抗氧化、抑菌、抗炎、降血脂、镇痛等药理活性, 同时还被广泛用于食品添加剂及化妆品领域^[1,2]。长期以来, 工业化生产只对甘草中的甘草酸作为主要有效成分进行提取, 提取甘草酸后的甘草药渣则被当作废渣遗弃, 造成了环境污染和资源浪费。为了更加合理地利用有限的甘草资源, 笔者对工业提取甘草酸后的甘草废渣进行了系统的化学研究, 从中分离得到了以甘草查耳酮 A 为主要成分的多种黄酮类化合物。文献报道^[3], 甘草查耳酮 A 有抑制肿瘤发生、抗病原微生物、抑制杜氏利什曼原虫和硕大利什曼原虫的前鞭毛体和无鞭毛体的生长等作用, 体外对革兰氏阳性球菌、杆菌和棒型菌有明显的抑制作用。目前, 有关甘草废渣中甘草查耳酮 A 的定量测定尚未见报道。

本实验首次采用 RP-HPLC 法对甘草废渣及其相关药材中甘草查耳酮 A 的量进行了比较, 以期对甘草废渣的回收利用提供依据。本方法简便, 快速, 灵敏度高, 适合常规分析。

1 仪器与药品

Agilent 1100 型高效液相色谱仪; G1365B MWD 型紫外检测器; G1311A 四元泵; G1316A 柱箱; Agilent 1100 型数据处理系统; 旋转蒸发器 (上海申生科技有限公司)。

甘草药材经由沈阳药科大学孙启时教授鉴定, 新疆产甘草为胀果甘草 *G. inflata* Bat., 内蒙产甘草为甘草 *G. uralensis* Fisch.。

甲醇 (色谱纯、分析纯)、四氢呋喃 (色谱纯)、冰醋酸 (分析纯)、去离子水, 甘草查耳酮 A 自制, 由甘草废渣中分离得到, 经光谱、色谱法鉴定, 质量分数 > 98%。

2 方法与结果

2.1 色谱条件: 色谱柱 Bischoff C₁₈ (150 mm × 2.0 mm, 5 μm) 色谱柱; 流动相: 甲醇-四氢呋喃-1% 醋酸的水溶液 (46 : 10 : 44); 检测波长: 377 nm; 体

收稿日期: 2006-03-14

作者简介: 车庆明 (1958—), 男, 教授, 主要从事中药化学及其成分的药理代谢研究。Tel: (010) 82802468

* 通讯作者