

- Medica* (中药大辞典) [M]. Shanghai: Shanghai People's Publishing House, 1983.
- [2] Wani M C, Taylor H L, Wall M E, et al. Plant antitumor agents V: The isolation and structure of taxol, a novel antileukemic and antitumor agent from *Taxus brevifolia* [J]. *J Am Chem Soc*, 1971, 93(9): 2325-2327.
- [3] Bois A, Luck H J, Werner M, et al. Carboplatin plus paclitaxel as first-line chemotherapy in previously untreated advanced ovarian cancer [J]. *Semin Oncol*, 1997, 24(11): 29-32.
- [4] Shen P. *Experimentation in Microbiology* (微生物实验)

- [M]. Vol 1. Beijing: Advanced Education Press, 2000.
- [5] Zhou D P, Ping W X. *Taxol-a New Kind of Anti-cancer Drug Produced by Microbe Fermentation* (微生物发酵法生产抗癌药物紫杉醇) [M]. Beijing: Science Press, 2003.
- [6] Wang W Z. Reversed-phase high performance liquid chromatographic (RP-HPLC) analysis of taxol and related taxanes extracted from *Taxus wallichiana* Zucc. [J]. *Chin J Chromatogr* (色谱), 1997, 15(3): 254-256.
- [7] Shao L P, Shen R X, Zhang S X, et al. *Taxonomy of Fungi* (真菌分类学) [M]. Beijing: China Forestry Publishing House, 1984.

不同生长期巴戟天中水晶兰苷量的变化

徐吉银, 梁英娇, 丁平*

(广州中医药大学中药学院, 广东 广州 510405)

巴戟天是著名的四大南药之一, 来源于茜草科巴戟天属植物巴戟 *Morinda officinalis* How 的干燥根。具补肾阳、强筋骨、祛风湿功效, 临床用于治疗阳痿遗精、宫冷不孕、月经不调、少腹冷痛、风湿痹痛、筋骨痿软等症^[1]。

巴戟天中含蒽醌^[2~5]、环烯醚萜^[6,7]、寡糖^[8,9]、多糖^[10~13]等成分。到目前为止, 对不同来源的巴戟天中蒽醌^[10,14]、寡糖^[15]、多糖^[9,10,12~14]成分均进行过测定研究, 而对环烯醚萜类化学成分的定量测定未见报道。据文献报道, 巴戟天中的环烯醚萜类成分水晶兰苷在巴戟天中的量较高, 并具有较强的抗炎镇痛作用^[6,7,16,17]。由于对不同生长期巴戟天中水晶兰苷的动态变化研究未见报道, 因此, 本实验以水晶兰苷为指标, 分别测定了不同生长期巴戟天中含水晶兰苷的量, 并研究其变化规律, 为巴戟天的质量标准的制定提供一定的参考资料。

1 材料、仪器与试剂

1.1 材料: 所有的巴戟天样品采集于广东省德庆县巴戟天规范化种植基地, 共 25 个(表 1)。经丁平研究员鉴定为巴戟 *Morinda officinalis* How 的根。凭证标本存于广州中医药大学中药资源研究室。

1.2 仪器与试剂: Dionex summit P680 高效液相色谱仪(德国); Dionex PDA 100 二极管阵列检测器; AS1-100 自动进样系统; Sartorius 电子天平(德国); 超声提取器(220 W, 55 kHz); 水晶兰苷标准品(自制, 质量分数>99%); 甲醇(色谱纯, Merck 公司); 水为超纯水, 其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件: 色谱柱: Kromasil C₁₈ 柱(150 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相: 甲醇-0.4% 磷酸水溶液(5:95→28.8:71.2, 15 min); 体积流量: 1 mL/min; 进样量: 10 μL; 检测波长: 231 nm; 柱温: 25℃。在上述条件下, 供试品溶液中水晶兰苷色谱峰与其他峰分离良好, 峰形对称, 保留时间为 11.50 min 左右(图 1)。

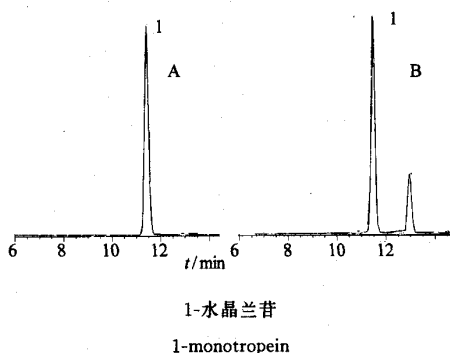


图 1 水晶兰苷对照品(A)和巴戟天(B)HPLC 图

Fig. 1 HPLC Chromatogram of monotropein reference substance (A) and *Radix Morindae Officinalis* (B)

2.2 样品溶液制备: 取样品粉末(过 40 目筛)0.5 g, 精密称定, 置 150 mL 带塞三角瓶中, 加入 80% 甲醇 100 mL, 冷浸 1 h, 超声处理 30 min, 滤过, 残渣再超声提取一次。合并提取液, 水浴蒸干, 残渣用 80% 甲醇定容至 10 mL。溶液用 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 即得。

2.3 标准曲线制备: 取水晶兰苷适量, 精密称定, 用甲醇溶解, 配制成质量浓度为 0.74 mg/mL 的溶液。

收稿日期: 2006-08-10

基金项目: 2004 年广东省自然科学基金项目(04010057); 2006 年广东省自然科学基金重点项目(06105061)

作者简介: 徐吉银(1978—), 男, 汉族, 硕士, 现在中智药业集团有限公司。E-mail: twtyfkyqvey@126.com

* 通讯作者 丁平, 博士, 研究员, 主要从事中药资源与中药材质量标准的研究。E-mail: dingpinggz@126.com

取对照品溶液,在上述色谱条件下以不同体积进样,分别测定峰面积。以水晶兰苷进样量 $X(\mu\text{g})$ 对峰面积积分值 (Y) 进行线性拟合,得到水晶兰苷的回归方程为: $Y=28.356 X+1.412 1$, $r=1.000 0$,结果水晶兰苷在 $0.74\sim 18.5 \mu\text{g}$ 呈良好线性关系。

2.4 精密度试验:取同一样品溶液 $10 \mu\text{L}$,按上述色谱条件重复进样5次,测定峰面积,水晶兰苷峰面积的RSD为0.30%。

2.5 重现性试验:取同一样品粉末(过40目筛)5份,按2.2项方法处理,进样 $10 \mu\text{L}$,按上述色谱条件测定,水晶兰苷峰面积的RSD为0.45%。

2.6 稳定性试验:精密吸取同一样品溶液 $10 \mu\text{L}$,按上述条件每隔5 h测定一次峰面积,RSD=0.27%($n=6$),表明样品至少在25 h内是稳定的。

2.7 加样回收率试验:精密称取6份已测定的样品粉末,每份0.5 g,分别加入等量的对照品,按“2.5项”方法进行处理,测定质量分数。测得水晶兰苷平均回收率为100.81%,RSD为0.43%。

2.8 样品测定:取各样品0.5 g,按供试液制备方法制备,进样 $10 \mu\text{L}$,按上述液相条件测定,测得峰面积并代入回归方程计算,并绘制出不同生长期巴戟天中水晶兰苷积累的趋势图,结果见表1、图2。

表1 不同生长期巴戟天中水晶兰苷的测定($n=3$)

Table 1 Monotropein in *Radix Morindae Officinalis* at various growth periods ($n=3$)

序号	样 品	水晶兰苷/ ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)	序号	样 品	水晶兰苷/ ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)
1	2.5年-1	7.67±1.35	14	4.5年-4	13.74±0.40
2	-2	7.68±0.90	15	-5	13.95±0.60
3	-3	7.63±1.81	16	-6	14.06±0.97
4	-4	7.73±1.02	17	-7	13.90±0.09
5	-5	7.69±0.78	18	-8	13.83±0.67
6	3.5年-1	13.25±1.34	19	-9	13.91±0.06
7	-2	13.45±1.05	20	-10	13.80±0.61
8	-3	13.24±1.42	21	5.5年-1	16.11±0.35
9	-4	13.10±1.81	22	-2	15.86±0.49
10	-5	13.39±0.68	23	-3	16.74±0.43
11	4.5年-1	13.92±0.19	24	-4	16.86±1.14
12	-2	13.96±0.12	25	-5	16.78±1.00
13	-3	13.88±0.28			

3 讨论

从实验结果可看出,相同采收期的样品,其水晶兰苷的量相当稳定,说明在规范化种植的条件下,可以生产出质量稳定的巴戟天。巴戟天中水晶兰苷的量受种植时间的影响较大,即随种植时间的增加而增加。2.5~3.5年、3.5~4.5年、4.5~5.5年巴戟天中水晶兰苷的量相对于上一年的增幅分别为73.05%、4.59%、18.49%。说明巴戟天从种植后至

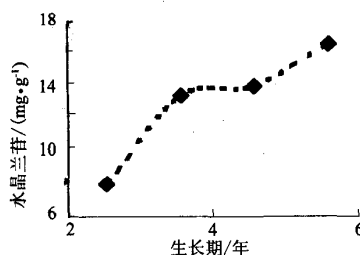


图2 不同生长期巴戟天中水晶兰苷的变化图

Fig. 2 Monotropein in *Radix Morindae Officinalis* at various growth periods

3.5年左右的时期是水晶兰苷成分的快速积累期,在种植3.5年后,水晶兰苷成分缓慢增加。上述结果与文献报道^[20]的巴戟天蒽醌量与采收期变化的规律是一致的。由于受条件所限,未能在巴戟天规范化种植基地采集到更长生长期的样品,因此,在以后的工作中,应不断收集样品,充实实验结果。

References:

- [1] Ch P (中国药典) [S]. Vol 1. 2005.
- [2] Wang Y F, Wu Z H, Zhou X Y, et al. Chemical constituents of *Morinda officinalis* [J]. *Acta Bot Sin* (植物学报), 1986, 28(5): 566-568.
- [3] Zhou F. Chemical constituents of *Morinda officinalis* [J]. *J Tradit Chin Med* (中药通报), 1986, 11(9): 42-43.
- [4] Li S, Ou Y Q, Tan X Z, et al. Chemical constituents of *Morinda officinalis* How. [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 1991, 16(11): 675-676.
- [5] Yang Y J, Shu H Y, Min Z D. Anthraquinones isolated from *Morinda officinalis* and *Damnacanthus indicus* [J]. *Acta Pharm Sin* (药学学报), 1992, 27(5): 358-364.
- [6] Yoshikawa M, Yamaguchi S, Nishisaka H, et al. Chemical constituents of Chinese natural medicine, *Morindae Radix*, the dried roots of *Morinda officinalis* How.; structures of morindolide and morofficaloside [J]. *Chem Pharm Bull*, 1995, 43(9): 1462-1465.
- [7] Chen Y W, Xue Z. Chemical constituents of *Morinda officinalis* How. [J]. *J Tradit Chin Med* (中药通报), 1978, 12(10): 37.
- [8] Cui C B, Yang M, Yao Z W, et al. Studies on the antidepressant active constituents in the roots of *Morinda officinalis* How. [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 1995, 20(1): 36-39.
- [9] Cui C B, Yang M, Tao Z W, et al. Studies on proton and carbon-13 nuclear magnetic resonance of inulin-type oligosaccharides [J]. *Chin J Med Chem* (中国药物化学杂志), 1995, 5(1): 32-39.
- [10] Wang W P. Polysaccharide content on *Radix Morindae Officinalis* in different growth periods [J]. *Guangdong Pharm* (广东药学), 1996(4): 31-32.
- [11] Cheng H H, Huang L M. Determination of the contents of anthraquinones and polysaccharides on *Radix Morindae Officinalis* from different habitats [J]. *Acad J Guangdong Coll Pharm* (广东药学院学报), 2002, 18(2): 103-105.
- [12] Chen Z, Liu L L, He M X, et al. A comparative study of methods for extracting polysaccharide from *Morinda officinalis* How. [J]. *Bull Sci Tech* (科技通报), 2004, 20(6): 546-548.
- [13] He C B, Cheng L, Li L, et al. Graded purification and structure analysis of polysaccharides from *Morinda officinalis* How. [J]. *J South China Univ Tech; Nat Sci* (华南理工大学学报:自然科学版), 2005, 33(12): 29-33.
- [14] Guo S H, Wang H M, Huang T, et al. Determination of polysaccharide from *Morinda officinalis* How. in Nanjing [J]. *Acta Fujian Tradit Chin Med* (福建中医学院学报),

- 2006, 16(1): 32-33.
- [15] Lin L, Xu H H, Deng P F, *et al.* Influence of producing area on the chemical compound of *Radix Morindae Officinalis* [J]. *J Guangzhou Univ Tradit Chin Med* (广州中医药大学学报), 1994(2): 98-100.
- [16] Choi J, Lee K T, Choi M Y, *et al.* Antinociceptive anti-inflammatory effect of monotropein isolated from the root of *Morinda officinalis* [J]. *Biol Pharm Bull*, 2005, 28(10): 1915-1918.
- [17] Choi J W, Lee K T, Choi M O, *et al.* Antinociceptive anti-inflammatory effect of monotropein isolated from the root of *Morinda officinalis* [J]. *Biol Pharm Bull*, 2005, 28(10): 1915-1918.
- [18] Ding P. Study on the systematic establishment of quality control method of *Morinda officinalis* How. [A]. *Dissertation of Doctor Degree of Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine* (广州中医药大学) [D]. Guangzhou: Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine, 2004.
- [19] Zhan R T, Ding P, Pan C M, *et al.* Morphological comparison of different cultured variety of *Radix Morindae Officinalis* in GAP base [J]. *J Guangzhou Univ Tradit Chin Med* (广州中医药大学学报), 2003, 20(1): 72-75.
- [20] Ding P, Xu J Y, Chu T L. RAPD Analysis on germplasm resources of different farm races of *Morinda officinalis* [J]. *J Chin Med Mater* (中药材), 2006, 29(1): 1-3.

HPLC 法测定桑叶中 1-脱氧野尻霉素

欧阳华学^{1,2}, 黎源倩^{1*}, 肖全伟¹

(1. 四川大学华西公共卫生学院, 四川 成都 610064; 2. 四川省农业科学院分析测试中心, 四川 成都 610066)

据《中国药典》记载^[1], 桑科植物桑 *Morus alba* L. 的叶、白皮、树枝均可入药, 其中桑叶性甘、苦、寒, 归肺、肝经, 具有疏散风热、清肺润燥、清肝明目的功效。但是, 自从 20 世纪 70 年代 Yoshiaki 等首次从桑白皮和桑枝中分离出 1-脱氧野尻霉素(1-deoxynojirimycin, DNJ)后^[2], 桑叶的药效被进一步发掘, 国外学者对 1-脱氧野尻霉素的药理作用进行了广泛研究, 发现 1-脱氧野尻霉素能有效抑制 α -1, 4-葡萄糖苷酶, 减缓肠道对糖的吸收, 可用于治疗糖尿病、肥胖症, 并有高效低毒的特点, 可使患者摆脱磺胺脒、胰岛素等药物带来的许多不良反应。根据这些药理作用, 韩国已开发出以桑叶、桑蚕等为原料具有调节血糖作用的保健食品。此外, 研究还发现 1-脱氧野尻霉素能够抑制 HIV-1 复制, 中断感染循环, 在治疗艾滋病等病毒感染疾病方面具有很大的潜力^[3]。因此, 为了科学、全面地评价桑叶质量和更好地研究 1-脱氧野尻霉素的药理作用, 需要建立桑叶中 1-脱氧野尻霉素量的分析方法。

1-脱氧野尻霉素化学名为 (2R, 3R, 4R, 5S)-2-(羟甲基)-3, 4, 5-三羧基哌啶, 分子式为 $C_6H_{13}NO_4$, 1-脱氧野尻霉素具有 α -1, 4-葡萄糖类似结构, 分子中不含生色基团而且紫外吸收低, 因此, 难于直接进行可见-紫外光检测和荧光检测。目前, 1-脱氧野尻霉素的测定方法主要采用硅烷化衍生气相色谱-质谱法^[3]、柱前荧光衍生-高效液相色谱法^[4,5]、离子色谱法^[6]和高效液相色谱-蒸发光散射检测法^[7]。由于

硅烷化衍生产物会对气相色谱柱造成一定污染, 现已较少使用; 柱前荧光衍生化高效液相色谱法存在操作繁琐、衍生化反应需严格控制 pH 值以及衍生试剂干扰测定等缺点; 而离子色谱法和高效液相色谱-蒸发光散射检测法又需要专用的仪器。本实验根据 1-脱氧野尻霉素的结构特点, 建立了高效液相色谱-示差折光检测法直接测定桑叶中 1-脱氧野尻霉素的方法, 本方法不需衍生, 具有操作简便、快速、准确的特点, 目前国内尚未见报道。

1 仪器与试剂

Agilent1100 液相色谱系统配有 G1379A 在线脱气机、G1311A 四元梯度泵、G1313A 自动进样器、G1316A 检温箱、G1362A 示差折光检测器, 安捷伦色谱工作站(美国, 安捷伦公司)。盐酸 1-脱氧野尻霉(质量分数 > 99%, Fluka 公司), 乙腈(色谱纯, Tedia 公司), 甲醇(色谱纯, Tedia 公司), 实验用水为二次重蒸水。

桑叶样品分别购自成都、重庆、绵阳等地中药材公司, 并经四川省药品检定所鉴定为桑科植物桑 *Morus alba* L. 的干燥叶。

2 方法与结果

2.1 色谱条件: 色谱柱为 Zorbax Carbohydrate (150 mm × 4.6 mm, 5 μ m), 流动相为乙腈-水 (70:30), 体积流量为 1.0 mL/min, 柱温 25 $^{\circ}$ C, 检测器温度 35 $^{\circ}$ C, 进样量 20 μ L。

2.2 对照品溶液的制备: 准确称取盐酸 1-脱氧野

收稿日期: 2006-07-10

作者简介: 欧阳华学, 男, 博士研究生。 Tel: (028)84504142 E-mail: ouyanghuaxue@163.com

* 通讯作者 黎源倩, 女, 教授, 博士生导师。 Tel: (028)85501301 E-mail: liyuanqian46@163.com