

表明,虽然 LC-MS 等方法得到的测定结果不能用于“中药色谱指纹图谱相似度软件 2004A,B 版”(原始数据文件的输出格式必须为 .aia),但通过夹角余弦等计算方法可得到指纹图谱相似度,为中药材提供质量上的技术监督手段。

3.5 本试验中选用紫外检测器(DAD)进行色谱分析时,考察了 254 和 316 nm 波长的指纹图谱和相似度评价,结果显示,316 nm 波长处得到的结果与 254 nm 和 HPLC-MS 的结论差别较大,相似度在 0.777~0.980。分析原因在 316 nm 测定时色谱

峰多,且基线不稳,噪音较大,说明用中药色谱指纹图谱相似度评价系统 2004A 版软件对导入的图谱条件是比较苛刻的,否则会影响到后来相似的计算结果,建议选用 LC-MS 等专属性好的方法进行分析,克服紫外检测法的缺点。

参考文献:

[1] 梁爱华,丁晓霞,刘保研.含马兜铃酸中药的肾脏毒性研究概况[J].中国中药杂志,2004,29(1):10-13.
 [2] 苗爱东,孙殿甲.Excel 2002 在中药指纹图谱相似度计算中的应用[J].药学进展,2003,27(1):51-54.
 [3] 田润涛,谢培山.色谱指纹图谱相似度评价的规范化研究(一)[J].中药新药与临床药理,2006,17(1):40-42.

鲜品肉苁蓉渣和汁有效成分的比较

王丽楠¹,陈君¹,杨美华^{1*},陈士林¹,刘同宁²

(1. 中国医学科学院北京协和医学院 药用植物研究所,北京 100193;2. 宁夏永宁县肉苁蓉种植场,宁夏永宁 750100)

摘要:目的 鲜品肉苁蓉渣和汁有效成分比较及其药用研究初探。方法 采用硫酸-苯酚法测定肉苁蓉多糖的量;采用大孔树脂-紫外分光光度法测定了苯乙醇苷的量;采用《中国药典》肉苁蓉项下 HPLC 方法,测定了松果菊苷和毛蕊花糖苷的量。结果 以肉苁蓉多糖、苯乙醇总苷、松果菊苷和毛蕊花糖苷主要有效成分的量综合评价指标,鲜品肉苁蓉渣中除多糖的量与汁中相差不明显,其余有效成分的量均明显高于其汁,最大相差依次为 8、785、230 倍。鲜品肉苁蓉渣部分经冷冻后多糖的量显著升高,苯乙醇总苷的量明显下降。结论 鲜品肉苁蓉渣部分与其汁相比药用性更高,为鲜品肉苁蓉科学用药及其保健食品开发提供依据。同时,鲜品肉苁蓉渣部分经冷冻后有效成分的明显改变,为鲜品肉苁蓉的储存提供了参考。

关键词:肉苁蓉;多糖;苯乙醇总苷;松果菊苷;毛蕊花糖苷

中图分类号:R282.6 **文献标识码:**A **文章编号:**0253-2670(2008)12-1887-03

肉苁蓉 *Cistanche desertiola* Y. C. Ma 为列当科多年生寄生植物,为补肾壮阳、润肠通便之要药。始载于《神农本草经》,列为上品,主治阳痿、不孕、腰膝酸软、筋骨无力、肠燥便秘等,是临床常用中药之一。因其生长在沙漠环境中,又具有沙漠“人参”的美誉^[1]。由于过度开发利用,野生资源濒临枯竭。肉苁蓉及其寄主固沙植物梭梭已被列为国家二级保护植物,并收入《国际野生植物保护名录》^[2]。肉苁蓉中主要活性成分是苯乙醇苷类化合物、肉苁蓉多糖等,其苯乙醇苷的主要作用是调节内分泌,促进代谢和强壮作用以及清除自由基和抗衰老作用;肉苁蓉多糖可以增强机体的免疫功能^[3,4]。

本实验首次以肉苁蓉多糖、苯乙醇总苷、松果菊苷和毛蕊花糖苷主要活性成分的量综合评价指标,比较鲜品肉苁蓉渣和汁部分的药用性。同时,考

察了鲜品肉苁蓉渣部分经冷冻后有效成分量的变化,预期为鲜品肉苁蓉的储存及鲜品药用提供参考。

1 仪器与试剂

UV-可视分光光度计(岛津 2550 型)。电热恒温鼓风干燥箱(DHG-9143BS-Ⅲ,无锡市苏嘉实验设备厂),TP150 超声清洗机(功率 150 W,频率 40 kHz,北京天鹏新技术有限公司)。

D-101-I 型大孔树脂购于天津市海光化工有限公司,松果菊苷对照品(批号:111670-200502,供定量测定用)、毛蕊花糖苷对照品(批号:111530-200404,供量的测定用)均购于中国药品生物制品检定所。葡萄糖(分析纯)购于广州化学试剂厂。苯酚、硫酸均为分析纯(北京化学试剂二厂)。甲醇、乙腈均为色谱纯(Fisher Scientific 公司)。

苯酚试剂:取 AR 级苯酚 200 g 加铝片 0.2 g

收稿日期:2008-05-10

基金项目:宁夏自治区科技攻关计划项目(05GG-10807)

* 通讯作者 杨美华,女,研究员,博士,研究方向为中药质量分析及新药研究开发。

Tel: (010) 62899730 (O) 13041071999 E-mail: yangmeihua15@hotmail.com

和碳酸氢钠 0.1 g, 蒸馏, 收集 182 ℃ 馏份, 称取 10 g 于棕色瓶内, 加水 150 mL 溶解, 置冰箱中备用。

鲜品肉苁蓉药材采于宁夏永宁县肉苁蓉种植场。于 4 月份采挖 5 批药材, 每批药材粉碎压汁, 渣和汁分别保存。每批药材渣部分分为 3 组, 见表 1。

表 1 鲜品肉苁蓉渣部分样品分组情况

Table 1 Groups of fresh *C. desertioli* sap

分组	加工及处理方法
①组	直接粉碎压汁后的渣部分
②组	渣部分 40 ℃ 干燥, 粉碎
③组	渣部分 -20 ℃ 冷冻保存 7 个月后, 40 ℃ 干燥, 粉碎

2 方法与结果

2.1 肉苁蓉多糖测定: 采用硫酸-苯酚法测定肉苁蓉多糖的量^[5]。

2.1.1 对照品溶液的制备: 精密称取干燥至恒重的葡萄糖对照品 5 mg, 用水定容于 50 mL 量瓶中, 得质量浓度为 0.1 mg/mL 的对照品溶液。

2.1.2 供试品溶液的制备: 鲜品肉苁蓉①组、②组、③组渣部分各取 1 g, 精密称定, 加入 80% 乙醇回流提取 1 h (2 次, 50 mL/次), 滤过, 弃去滤液, 滤渣待挥干乙醇后, 加水煎煮 2 h (2 次, 50 mL/次), 滤过, 合并 2 次滤液, 反复洗至 100 mL 量瓶中, 定容, 摇匀, 再精密吸取 1 mL 置 10 mL 量瓶中, 加水稀释并定容至 10 mL, 摇匀, 即得供试品溶液。

取鲜品肉苁蓉汁 5 mL, 精密称定, 摇匀, 静置, 取上清液滤过, 取续滤液即得。

2.1.3 样品测定: 精密吸取对照品溶液和样品溶液各 1.0 mL, 分别置干燥试管中, 加水至 2.0 mL, 再分别加入苯酚试剂 1.0 mL, 摇匀, 迅速加入浓硫酸 5.0 mL, 并在刻度试管中定容至 8.0 mL, 振摇 5 min, 沸水浴加热 15 min, 放冷, 同时做一空白, 在 490 nm 处测定吸光度, 结果分别见表 2、5。

表 2 鲜品肉苁蓉①组渣和汁部分多糖测定结果

Table 2 Determination of polysaccharides in sap ① and juice of fresh *C. desertioli*

批号	多糖/%	
	①组渣部分	汁部分
070415-1	0.051	0.076
070415-2	0.058	0.091
070415-3	0.153	0.120
070415-4	0.058	0.078
070415-5	0.089	0.091

2.2 苯乙醇总苷量测定: 本实验采用大孔树脂-紫外分光光度法测定肉苁蓉中苯乙醇总苷的量^[6]。

2.2.1 对照品溶液的制备: 精密称取苯乙醇总苷对照品 4 mg, 用甲醇定容于 10 mL 量瓶中, 得质量浓

度为 0.4 mg/mL 的对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液的制备: 鲜品肉苁蓉①组、②组、③组渣部分各取 2.5 g, 精密称定, 精密加入 50% 乙醇 50 mL, 密塞, 称定质量, 回流提取 5 h, 取出, 放冷, 再次称定质量, 用 50% 乙醇补足减失质量, 摇匀, 滤过, 精密量取续滤液 25 mL, 置水浴上蒸至近干, 残渣加水 10 mL 使溶解, 放冷, 通过 D-101-I 型大孔树脂柱 (柱长 20 cm, 内径 2 cm), 以水 50 mL 洗脱, 弃去水液, 再用 20% 乙醇 50 mL 洗脱, 弃去洗脱液, 继用 70% 乙醇 80 mL 洗脱, 收集洗脱液, 蒸干, 用甲醇溶解并转移至 10 mL 量瓶中, 精密量取 0.5 mL 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 即得。

取鲜品肉苁蓉汁部分, 离心, 取上清液滤过, 取续滤液 10 mL, 精密称定, 上 D-101-I 型大孔树脂柱。其余操作同上。

2.2.3 样品测定: 分别取苯乙醇总苷对照品与供试品溶液, 以甲醇为对照品, 在 333 nm 处测定吸光度。结果分别见表 3、5。

表 3 鲜品肉苁蓉①组渣和汁部分苯乙醇总苷测定结果

Table 3 Determination of phenylethanoid glycosides in sap ① and juice of fresh *C. desertioli*

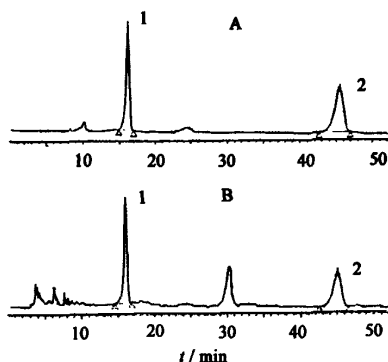
批号	苯乙醇总苷/%	
	①组渣部分	汁部分
070415-1	0.422	0.092
070415-2	0.270	0.082
070415-3	0.390	0.160
070415-4	0.620	0.082
070415-5	0.630	0.092

2.3 松果菊苷和毛蕊花糖苷: 按 2005 年版《中国药典》一部肉苁蓉项下 HPLC 法, 测定肉苁蓉样品中松果菊苷和毛蕊花糖苷的量。

2.3.1 色谱条件: 色谱柱为 Kromasil C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) (中国科学院大连化学物理研究所国家色谱中心), 流动相: 乙腈-甲醇-1% 醋酸 (10 : 15 : 75), 检测波长: 333 nm, 进样量: 10 μL, 体积流量 1 mL/min, 柱温: 25 ℃。在此条件下, 样品中松果菊苷和毛蕊花糖苷与其他相关峰均能达到基线分离, 见图 1。

2.3.2 对照品溶液的制备: 分别精密称取松果菊苷和毛蕊花糖苷对照品各 5 mg, 用流动相定容于 50 mL 量瓶中, 得 0.1 mg/mL 松果菊苷对照品溶液及 0.1 mg/mL 毛蕊花糖苷对照品溶液。

2.3.3 供试品溶液的制备: 取鲜品肉苁蓉①组渣部分 2 g, 精密称定, 置 50 mL 棕色量瓶中, 精密加入流动相 25 mL, 称定质量, 浸泡 0.5 h, 超声处理



1-松果菊苷 2-毛蕊花糖苷
1-echinacoside 2-verbascoside

图1 对照品(A)和样品(B) HPLC 色谱图

Fig. 1 Chromatogram of reference substance (A)

and sample (B)

40 min, 放冷, 再称定质量, 用流动相补足损失的质量, 摇匀, 离心, 静置, 取上清液滤过, 取续滤液即得。

取鲜品肉苁蓉汁 5 mL, 精密称定, 摇匀, 离心, 静置, 取上清液滤过, 取续滤液即得。

2.3.4 样品测定: 分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 10 μL, 注入液相色谱仪测定, 结果见表 4。

表4 鲜品肉苁蓉①组渣和汁部分松果菊苷及毛蕊花糖苷测定结果

Table 4 Determination of echinacoside and verbascoside glycosides in sap ① and juice of fresh *C. desertiola*

批号	①组渣部分		汁部分	
	松果菊苷/%	毛蕊花糖苷/%	松果菊苷/%	毛蕊花糖苷/%
070415-1	0.053	0.001	1.8×10^{-4}	2.8×10^{-5}
070415-2	0.065	0.001	1.4×10^{-4}	3.9×10^{-5}
070415-3	0.055	0.004	4.7×10^{-3}	1.1×10^{-3}
070415-4	0.057	0.014	1.8×10^{-4}	3.6×10^{-4}
070415-5	0.102	0.017	1.3×10^{-4}	7.4×10^{-5}

2.4 鲜品肉苁蓉渣部分经冷冻后主要活性成分量比较: 将鲜品肉苁蓉②组、③组渣部分, 即冷冻前后的渣部分定量测定结果进行比较, 结果见表 5。

表5 鲜品肉苁蓉②组、③组渣部分测定结果

Table 5 Comparison between sap ② and sap ③ of fresh *C. desertiola*

批号	多糖/%		苯乙醇总苷/%	
	冷冻前(②组)	冷冻后(③组)	冷冻前(②组)	冷冻后(③组)
	070415-1	0.37	5.40	3.10
070415-2	0.29	6.52	1.38	0.00
070415-3	0.82	7.64	2.09	0.89
070415-4	0.39	8.61	4.20	0.81
070415-5	0.44	5.35	3.15	0.56

3 讨论

3.1 根据笔者已发表的相关研究文献^[5], 考虑肉苁蓉中苯乙醇苷的量与多糖量以 40 °C 为最适初加工

温度, 故本实验②组、③组渣部分采用此干燥方法。

3.2 关于肉苁蓉药用记载已有 2 000 多年的历史, 《神农本草经》、《本草经疏》、《本草汇言》、《本草求真》、《本草正义》等诸多古医籍中多有论述。实验表明, 除多糖外, 鲜品肉苁蓉渣部分苯乙醇总苷、松果菊苷及毛蕊花糖苷的量均高于汁。多糖的量没有明显差距可能与其水溶性较好有关。其中主要有效成分松果菊苷, 渣中与汁中最高相差 785 倍。另外, 苯乙醇总苷最高相差 7 倍; 毛蕊花糖苷最高相差 230 倍。本实验证明鲜品肉苁蓉药材大部分有效成分在其渣中, 并非汁液中, 为其鲜品科学用药及保健品开发提供了依据。

3.3 从表 5 可看出, 同批样品冷冻前与冷冻后多糖量显著升高, 苯乙醇总苷的量明显下降。冷冻后样品多糖的量最高能达到冷冻前的 22 倍, 冷冻后苯乙醇总苷的量大大减少, 最大相差 6 倍。这可能与苷类物质的酶催化水解有关。雷厉等^[7]对苯乙醇苷类化合物在狗胃肠道内的代谢规律进行了研究, 结果表明苯乙醇总苷代谢主要发生在大肠, 以厌氧菌引发的还原反应及水解反应为主。松果菊苷在大肠内微生物酶的影响下发生水解反应, 脱去一分子葡萄糖转化为类叶升麻苷。

在植物中苷和能水解该苷的酶往往是共存的, 由于它们不在同一个位置, 故无法发生水解^[8]。本实验采用的样品经粉碎挤压, 酶和苷相遇, 进而可能发生水解, 这也许是样品成分发生明显变化的一个主要原因。另一种可能是存在低温微生物, 即在低温环境下生长的微生物。本实验的样品是在 -20 °C 冷冻保存, 由于这种低温微生物中酶的作用而可能使样品有效成分的量发生变化。

3.4 本实验首次采用多成分综合评价方式, 对鲜品肉苁蓉渣和汁部分有效成分的量及鲜品药用进行了初步探讨, 为鲜品肉苁蓉的药用及储存提供了科学依据。

参考文献:

- [1] 陈绍淑, 何生虎, 曹晓真, 等. 肉苁蓉药理及化学成分的研究进展 [J]. 甘肃畜牧兽医, 2005, 35(3): 41-44.
- [2] 曹瑞, 马虹, 王迎春. 名贵药材肉苁蓉原植物形态的多样性研究 [J]. 中国中药杂志, 2004, 29(1): 35.
- [3] 欧阳杰, 赵兵, 王晓东, 等. 肉苁蓉有效成分提取集成方法的研究 [J]. 武汉植物学研究, 2003, 21(6): 526.
- [4] 侯志华, 常国文. 肉苁蓉的药理学研究进展 [J]. 中国民族医药杂志, 2003, 10(4): 50.
- [5] 王丽楠, 陈君, 杨美华, 等. 不同初加工温度对肉苁蓉有效成分含量的影响 [J]. 中国药房, 2007, 18(21): 1620-1623.
- [6] 王丽楠, 陈君, 杨美华, 等. 肉苁蓉中苯乙醇苷的含量测定 [J]. 西北药学杂志, 2008, 23(2): 67-69.
- [7] 雷厉, 宋志宏, 李寅增, 等. 管花肉苁蓉苯乙醇总苷在狗胃肠道内的生物转化 [J]. 药学报, 2001, 36(6): 432-435.
- [8] 吴立军. 天然药物化学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2005.