

观量子效率也均高于对照组,表明它对弱光的利用能力较强。上述表明南五味子是一种荫生植物,这与其一般生长于林木的下层的自然条件相吻合。

光合色素是叶片光合作用的物质基础,叶绿素总量的高低很大程度反映了植物的生长状况和叶片的光合能力,且与叶片光合速率密切相关<sup>[10]</sup>。本实验结果表明,随着遮光度的增加,南五味子的叶绿素总量呈现先升高后降低趋势,而叶绿素 a/b 值则表现为先降低后升高,这说明南五味子更适合 70% 的遮光环境,过度遮光加速了叶绿素的分解或缓解叶绿素的合成。

南五味子经遮光处理后,叶片具有较高的  $P_n$  以及  $qP$ 、 $ETR$  等参数,说明适度遮光可以促进南五味子的生长,在这种情况下,既保证了南五味子具有较高的光合作用,又防止了过度遮光对其生长造成的不良影响,当遮光度达 90% 时,南五味子  $P_n$  下降。

叶片叶绿素荧光与光合作用中各种反应过程密切相关,任何环境因子对光合作用的影响都可通过叶片叶绿素荧光动力学反映出来。过度遮光可能导致叶绿体光合机构的破坏,PS 放氧复合物的损伤,PS 捕光色素蛋白复合物(LHC a、LHC b、LHC c)各组成成分的变化,引起光合  $CO_2$  同化效率的降低<sup>[10]</sup>。本研究结果表明,遮光处理(0~90%)并没有引起  $F_v/F_m$  明显改变。但遮光处理后, $qP$ 、 $qN$  和  $ETR$  等参数均有一些影响,说明适度遮荫有利于提高 PS 反应中心开放部分的比例,

将较多的光能用于  $CO_2$  同化,阻止了过量的激发能在 PS 反应中心的积累,从而提高光合电子传递能力,而且非光化学能量耗散的提高,有助于耗散过剩的激发能,有效地保护光合机构,防止遮光对光合机构的影响。说明在 70% 的遮光条件下栽培南五味子不仅没有使光合结构破坏,反而可以适当提高光合作用,促进南五味子的生长发育。

致谢:本试验得到了吴家森、马丹丹、叶喜阳、谢文远等的帮助!

#### 参考文献:

- [1] 王森,谢碧霞.五味子的利用现状与开发前景[J]. 湖南林业科技,2004,31(5):57-58.
- [2] 韦霄,梁惠凌,唐辉,等.广西南五味子属植物的分布与利用[J]. 广西农业科学,2006,37(2):117-119.
- [3] Li L N, Xue H. Triterpenoid acids from *K. longipedunculata*. Neo kadsuranic acids B and C: Two novel triterpenoids with 14 (13-12) abeo-lanostane skeletons [J]. *Planta Med*, 1989,55(3):294.
- [4] Sun Q Z, Chen D F, Ding P L, et al. Three new lignans, longipedunins A - C, from *Kadsura longipedunculata* and their inhibitory activity against HIV-1 protease [J]. *Chem Pharm Bull*, 2006,54(1):129-132.
- [5] 陈道峰,翁强,施大文.南五味子属药用植物的木脂素含量[J]. 中草药,1994,25(5):238-240,278.
- [6] 李晓光,罗焕敏.南五味子属植物化学成分及其活性研究进展[J]. 中国中药杂志,2003,28(12):1120-1125.
- [7] 蒋文伟,钟泰林,石柏林,等.3个桑树品种生理生态特征的比较研究[J]. 蚕业科学,2007,33(2):264-267.
- [8] 郑炳松.现代植物生理生化研究技术[M]. 北京:气象出版社,2006.
- [9] 张利,赖家业,杨振德,等.八种草坪植物耐荫性的研究[J]. 四川大学学报:自然科学版,2001,38(4):584-588.
- [10] 袁建国,金松恒.干旱胁迫对浙江雪胆光合特性的影响[J]. 中草药,2008,39(7):1074-1077.

## 处理方法对虎杖不同部位白藜芦醇和虎杖苷量的影响

李世学,刘建利\*,张楠,崔哲

(西北大学生命科学学院,西部资源生物与现代生物技术省部共建教育部重点实验室,陕西 西安 710069)

**摘要:**目的 比较烘干、晾干和甲醇新鲜提取对虎杖不同部位中白藜芦醇和虎杖苷量的影响。方法 白藜芦醇和虎杖苷定量测定采用 HPLC 法,岛津 LC-10AT 高效液相色谱仪,shim-pack C<sub>18</sub> 柱为色谱柱,甲醇-水溶液(40:60)为流动相,柱温 30℃,体积流量 0.8 mL/min,检测波长 304 nm。结果 通过晾干和烘干处理后,虎杖根皮、叶、髓部中的虎杖苷和白藜芦醇的量发生明显变化。结论 该结果对于综合开发利用虎杖资源具有参考价值。

**关键词:**虎杖;白藜芦醇;虎杖苷;HPLC

中图分类号:R282.6

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2009)03-0469-03

\* 收稿日期:2008-07-14

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30070905);陕西省重点实验室基金资助项目(03JS008,04JS06,05JS53)

作者简介:李世学(1984—),男,西北大学在读硕士研究生,研究方向为天然产物提取分离与结构修饰。

Tel: 13991364461 E-mail: lxs5313@163.com

\*通讯作者 刘建利 Tel: (029)88302411 E-mail: jlliu@nwu.edu.cn

虎杖为蓼科植物虎杖 *Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc. 的干燥根茎及根,始载于《名医别录》,列为中品<sup>[1]</sup>。虎杖中化学成分非常丰富,主要有黄酮类、蒽醌类、二苯乙烯类等,其中二苯乙烯类化合物白藜芦醇(resveratrol)及其糖苷——虎杖苷(polydatin)在虎杖中的量丰富。现代药理研究表明,二者在抑制血小板凝集、调血脂、抗病毒、治疗癌症和增强机体免疫力等方面有显著的疗效<sup>[2,3]</sup>。为了充分利用虎杖资源,提高经济效益,本实验利用 RP-HPLC 同时测定虎杖不同部位白藜芦醇和虎杖苷的量,并研究烘干、晾干及鲜品用甲醇直接浸取的影响,为更好地利用虎杖资源提供科学依据。

## 1 仪器、试剂与试药

高效液相色谱仪:岛津 LC-10A 双泵,SPD-10AM 二级管阵列检测器;甲醇为色谱纯(美国 Fisher 公司),超纯水;白藜芦醇、虎杖苷对照品由中国药品生物制品检定所提供。虎杖实验材料采自西北大学植物园内的栽培植株,经西北大学刘文哲教授鉴定为虎杖 *Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc.。

## 2 实验部分

2.1 色谱条件:色谱柱为 Shim-pack C<sub>18</sub> (150.0 mm × 4.0 mm, 5 μm),流动相为甲醇-水溶液(40:60),柱温 30℃,体积流量 0.8 mL/min,检测波长 304 nm。

2.2 处理方法:分别取虎杖的根皮、叶、根髓部,采取烘干、晾干、直接用甲醇浸取等方法进行处理。晾干的操作方法为:分别称取 1.000 g 新鲜虎杖根皮、叶、根髓部样品,置于培养皿内,直接放置于室温条件下避光处晾干。烘干处理为:分别称取 1.000 g 新鲜虎杖根皮、叶、根髓部样品,放置于培养皿内,置于烘箱内 100℃ 烘干 30 min,然后放置于室温条件下避光处,3 d 后取样进行分析。甲醇浸取样品:取 1.000 g 新鲜的根皮、叶和根髓部直接用甲醇浸泡。分析上述样品中白藜芦醇和虎杖苷的量,每处理 3 次重复。

2.3 对照品溶液的制备:精确称取白藜芦醇对照品 10 mg,用色谱甲醇溶解,10 mL 定容,配成 1.0 mg/mL 的白藜芦醇储备液,稀释至 25、20 μg/mL,备用。精确称取虎杖苷对照品 10 mg,用色谱甲醇溶解,定容至 10 mL,配成 1.0 mg/mL 的虎杖苷储备液,稀释至 200 μg/mL,备用。

2.4 供试品溶液的制备:分别精密称取实验材料

1.000 g,经上述处理后加入甲醇 20 mL,于室温条件下放置,密闭,避光,浸取 48 h 后将提取液减压浓缩,将浓缩液转移至 10 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,过 0.45 μm 微孔滤膜,续滤液为供试品溶液。

2.5 标准曲线的制作:将白藜芦醇对照品溶液 25 μg/mL 的吸取 20 μL,20 μg/mL 的对照品溶液分别吸取 20、15、10、5、3、1 μL 注入高效液相色谱仪,按上述色谱条件测定,记录峰面积。以峰面积积分为纵坐标,以进样量(μg)为横坐标,绘制标准曲线,得回归方程  $Y = 5\,000\,000 X - 135\,966$  ( $r = 0.9987$ ),表明白藜芦醇在进样量为 0.02 ~ 0.5 μg 具有良好的线性关系。将 200 μg/mL 虎杖苷对照品溶液分别吸取 20、15、10、5、2、1 μL 注入高效液相色谱仪,按上述色谱条件测定,记录峰面积。以峰面积积分为纵坐标,以进样量(μg)为横坐标,绘制标准曲线,得回归方程:  $Y = 3\,000\,000 X - 207\,200$  ( $r = 0.9994$ ),表明虎杖苷在进样量为 0.2 ~ 4.0 μg 具有良好的线性关系。

2.6 精密度试验:精密吸取白藜芦醇对照品溶液 10 μL,重复进样 6 次,测定其峰面积积分值,测得白藜芦醇平均峰面积为 319 312,RSD 为 2.1%,表明仪器精密度符合要求。

2.7 重现性试验:精密称定同一份样品,按照供试品制备方法分别制备 6 份供试品溶液,分别测定。结果白藜芦醇的 RSD = 2.04%,虎杖苷的 RSD = 1.54%。

2.8 稳定性试验:分别精密称取白藜芦醇和虎杖苷对照品溶液适量至棕色量瓶内,于室温避光条件下放置 0、2、4、6、8、10、12、24、48 h 后,在上述的色谱条件下进行测定。结果表明白藜芦醇和虎杖苷在室温、避光的条件下 48 h 内稳定性良好,RSD 分别为 1.8% 和 2.1%。

2.9 加样回收率试验:精密称取已测定的虎杖样品 6 份,按 2.3 项下的方法制成甲醇浸泡供试品溶液进行测定,分别精密加入 25 μg/mL 白藜芦醇对照品、200 μg/mL 虎杖苷对照品各 1、1.5、2 mL,定容至 10 mL 量瓶中。按拟定色谱条件测定,白藜芦醇平均回收率为 97.57%,RSD 为 0.7%;虎杖苷平均回收率为 98.8%,RSD 为 1.4%。

2.10 样品测定:精密吸取供试品溶液各 20 μL 注入液相色谱仪,按上述色谱条件测定,色谱图见图 1,定量测定结果见表 1。

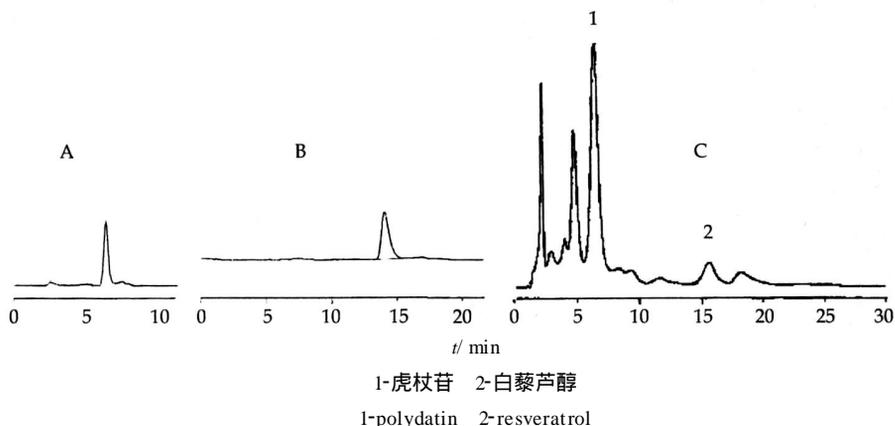


图 1 白藜芦醇对照品(A)、虎杖苷对照品(B)和虎杖样品(C) HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC Chromatogram of resveratrol reference substance (A), polydatin reference substance (B), and sample (C)

表 1 不同方法处理后虎杖中白藜芦醇和虎杖苷的量 (n=3)

Table 1 Determination of resveratrol and polydatin in *P. cuspidatum* after different treatments (n=3)

不同处理	白藜芦醇/( $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ )	虎杖苷/( $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ )
新鲜根皮	158.43	18 985.74
新鲜根髓部	41.49	12 672.52
新鲜叶	22.38	275.65
晾干根皮	86.72	13 234.27
晾干根髓部	122.46	7 464.37
晾干叶	44.76	269.37
烘干根皮	79.76	10 917.5
烘干根髓部	47.76	11 946.54
烘干叶	54.83	522.58

### 3 讨论

从上述结果可以看出白藜芦醇在新鲜根皮、根

髓部及叶中量都不高。晾干后叶和根髓部中白藜芦醇量有所提高,而根皮中的量减少。烘干后除叶中的量有所提高外,根皮、根髓部中的量降低。

虎杖根皮中虎杖苷的量很高,晾干后下降了 60%,烘干后则进一步降低。根髓部虎杖苷的量约为根皮的三分之二,晾干后也大幅降低,烘干后又有升高。这一结果显示虎杖苷以新鲜提取为宜,自然放置条件下有效成分会不断降解,不宜存放过长时间。

#### 参考文献:

- [1] 中国医学科学院药物研究所. 中药志[M]. 第一册. 北京:人民卫生出版社,1978.
- [2] 舒仕瑜,卢仲毅,王兴勇. 白藜芦醇生物活性及药理作用[J]. 儿科药理学杂志,2002,8(1):9-11.
- [3] 巫志峰,赵瑞芝. 白藜芦醇的抗肿瘤药理作用研究新进展[J]. 中南药学,2004,2(3):167.

## HPLC-ELSD 法测定黄芪药材中黄芪皂苷 、 、 、

覃红萍<sup>1</sup>, 鲁 静<sup>2</sup>, 林瑞超<sup>2\*</sup>

(1. 广西食品药品检验所, 广西南宁 530021; 2. 中国药品生物制品检定所, 北京 100050)

**摘要:**目的 研究以 HPLC-ELSD 法测定不同产地的黄芪、红芪及梭果黄芪药材中黄芪皂苷 、 、 、 (黄芪甲苷) 的量。方法 色谱柱为 Alltima C<sub>18</sub> 柱(250 mm ×4.6 mm, 5 μm), 流动相为乙腈和 0.3% 甲酸溶液, 梯度洗脱, 体积流量:0.8 mL/min, 柱温:25℃, 蒸发光散射检测器, ELSD 参数:漂移管温度 110℃, 氮气流速 3.0 L/min。结果 黄芪皂苷 、 、 、 的平均回收率分别为 102.2%、99.5%、101.4%、99.7%, RSD 分别为 1.8%、2.1%、1.8%、1.9%。结论 本法简单易行, 方法学验证符合要求, 可作为黄芪药材中皂苷类成分定量的方法, 也可作为区别黄芪与红芪、梭果黄芪的依据。

**关键词:** HPLC-ELSD; 黄芪; 黄芪皂苷

中图分类号: R282.6

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2009)03-0471-03

\* 收稿日期: 2008-05-05

作者简介: 覃红萍(1979—), 女, 广西横县人, 药师, 硕士, 药物分析专业。

Tel: 1397874072 E-mail: afqhp@sina.com