

不同变异类型杜仲皮中几种主要活性成分含量的比较

杜红岩¹, 李 钦², 赫锦锦², 刘昌勇¹, 刘攀峰¹

(1. 中国林业科学研究院经济林研究开发中心, 河南 郑州 450003; 2. 河南大学中药研究所, 河南 开封 475004)

摘要:采用反相高效液相色谱法测定了不同变异类型杜仲皮中几种关键活性成分的含量, 结果表明:4 种变异类型杜仲皮中 5 种不同活性成分的含量及组成比有较大差异, 其中京尼平苷酸(GPA)、京尼平苷(GP)、松脂素二糖苷(PDG)、绿原酸(CA)含量以及 5 种成分的总含量以光皮型和浅纵裂型杜仲皮较高, 而龟裂型和深纵裂型活性成分总体含量较低。若遴选优质杜仲药用资源, 可首先考虑从优良光皮型和浅纵裂型杜仲群体中开展选育工作。

关键词:杜仲; 杜仲皮; 变异类型; 活性成分

中图分类号: S759.3⁺5

文献标识码: A

Comparison of the Main Active Components Contents in Barks of Different Variance-types of *Eucommia ulmoides*

DU Hong-yan¹, LI Qin², HE Jin-jin¹, LIU Chang-yong¹, LIU Pan-feng¹

(1. Non-timber Forestry Research and Development Center, Chinese Academy of Forestry, Zhengzhou 450003, He'nan, China;

2. Institute of Chinese Materia Medica, He'nan University, Kaifeng 475004, He'nan, China)

Abstract: To reveal the natural active component variation rule in barks of *Eucommia ulmoides* Oliv., which provided basal reference for the plus tree screening and effective utilization of the medical woody plants, the active components in barks of different *Eucommia ulmoides* variance-types were detected by RP-HPLC. The results showed that the content and allocation of the five active components in barks was evidently different among four variance-types. Comparing to the deep-vertical splitting and the chap variance-types, four natural contents including geniposidic acid, geniposide, pinoresinol diglycoside, chlorogenic acid and total amount of the five constituents were detected to be relatively higher in barks of the smooth and the shallow-vertical splitting types. Community of the smooth type could be given priority to breeding selection for cultivating excellent *Eucommia ulmoides* medicinal variety.

Key words: *Eucommia ulmoides*; *Eucommia ulmoides* bark; variance-type; active components

杜仲(*Eucommia ulmoides* Oliv.), 又名扯丝皮、思仲、丝棉皮、玉丝皮、木棉等, 是第四纪冰川侵袭后仅在中国中部地区残留下来的孑遗植物, 具有“活化石植物”之称^[1]。在特定环境长期的选择压力下, 自然界中杜仲种内逐渐分化出一些不同的地理生态变异类型, 依据杜仲树皮的开裂状况及其它形态特征, 可将杜仲分为深纵裂型、浅纵裂型、龟裂型和光皮型

4 种类型^[2-3]。杜仲皮为杜仲的主要药用部位, 是中医上的传统名贵滋补药材, 在《中国药典》中对其性味、归经及鉴别等有细致说明^[4]。

杜仲皮中的药用成分主要包括木脂素类、环烯醚萜类、苯丙素类及其它萜类化合物等^[5-7]。其中, 木脂素类化合物松脂素二(pinoresinol diglycoside, PDG)是杜仲皮中的主要降压成分^[6,8-9]; 苯丙素类

收稿日期: 2010-08-26

基金项目: 国家 948 项目(2008-4-66)、国家十一五科技支撑计划(2006BAD1880303)、国家林业局重点攻关项目(2006-61)

作者简介: 杜红岩(1963—), 男, 河南中牟人, 博士, 研究员。主要研究方向: 杜仲栽培、育种与利用。地址: 河南省郑州市纬五路 3 号。

E-mail: dhy515@126.com

化合物绿原酸(chlorogenic acid, CA)具有广泛的抗菌、抗病毒、抗诱变、抗肿瘤作用,还具有抗逆转录酶的活性,可作为抵抗艾滋病毒的先导化合物^[10-11];环烯醚萜类化合物中,京尼平苷酸(geniposidic acid, GPA)可抗癌、抗衰老、抗健忘、降压及提高人体性功能等,京尼平苷(geniposide, GP)能保肝、利胆、抗癌和解毒等,桃叶珊瑚苷(aucubin, AU)具有保肝、镇痛、抗菌消炎及降压等作用,临床上还可促进伤口愈合^[6, 12-14]。有关不同变异类型杜仲皮中上述5种活性成分含量的综合对比尚未见报道。高效液相色谱法(HPLC)是中药研究中一种稳定、可靠的分析技术,可为中药质量控制,药物成分分析,以及中药开发和评价提供重要依据,目前高效液相色谱分析技术已广泛应用于多种杜仲天然化合物如苯丙素类、黄酮类、萜类、氨基酸等活性成分的测定^[15-20]。本实验对不同变异类型杜仲皮中5种活性成分进行测定及分析比较,旨在为优良杜仲资源的筛选、杜仲皮的品质评价、鉴定及定向开发提供参考依据。

1 材料与方 法

1.1 实验材料

不同变异类型杜仲皮均取自河南省商丘市梁园区国有林场杜仲基地。2009年5月20日对不同类型12年生杜仲用环剥法于树干10~150 cm处进行树皮采样。样品用塑料薄膜包裹后带回室内,后进行发汗处理。发汗时内皮两两相对,将树皮舒展后用标本夹压实,同时用标本纸包裹以保证发汗效果。1周后将样品自然风干,风干过程中保持树皮平整,防止卷曲。充分风干过的样品进行干燥保存,使用时将杜仲皮剪成小块并用铁碾碾成絮状。

1.2 分析装置

LC-2010A 高效液相色谱仪(日本岛津);SPD-10A 紫外检测器(日本岛津),CLASS-VP 色谱工作站(日本岛津);Diamonsil C₁₈ 色谱柱。

1.3 分析材料的准备

GPA、CA、GP 提取液的制备:精密称定絮状杜仲皮1 g,置锥形瓶中并添加12.5 mL 50% 甲醇水溶液,超声提取30 min,滤过,药渣按上述方法重复提取1次;两次所得滤液混和置25 mL 容量瓶中,室温定容并滤过,续滤液用0.45 μm 微孔滤膜过滤,即得;待测定其中GPA、CA、GP的含量。

AU 提取液的制备:取适量絮状杜仲皮置磨口锥形瓶中,精密加入40 倍量甲醇溶液,称定质量;水浴

回流30 min,放冷至室温,再称定质量;用甲醇补足损失的质量,摇匀滤过,再经0.45 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液,即得;待测定其中AU的含量。

PDG 提取液的制备:精密称定絮状杜仲皮2 g 置索氏提取器中,加适量三氯甲烷加热回流6 h;弃去三氯甲烷液,药渣挥去三氯甲烷,再置索氏提取器中,加入适量甲醇加热回流6 h;提取液回收适量甲醇并转至10 mL 容量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀滤过,取续滤液,即得;待测定其中PDG的含量^[5,21]。

1.4 分析条件

GPA、GP、CA 实验条件:Diamonsil C₁₈ 色谱柱(250 mm×4.6 mm,5 μm);流动相甲醇-水-冰醋酸(15:85:1.5);检测波长为237 nm;流速1.0 mL·min⁻¹;柱温25℃;

AU 实验条件:Diamonsil C₁₈ 色谱柱(250 mm×4.6 mm,5 μm);流动相甲醇-水(6:94);检测波长为206 nm;流速1.0 mL·min⁻¹;柱温19℃。

PDG 实验条件:Diamonsil C₁₈ 色谱柱(250 mm×4.6 mm,5 μm);流动相甲醇-水(25:75);检测波长277 nm;流速1.0 mL·min⁻¹;柱温室温^[19,22-24]。

1.5 样品与定量分析

京尼平苷对照品、绿原酸对照品购自中国药品生物制品检定所;桃叶珊瑚苷对照品由日本和光纯药业株式会社提供,纯度98.8%;京尼平苷酸对照品由日本养命酒株式会社中央研究院 Deyama 先生提供,纯度98.7%。分别称取适量标准品并用甲醇定容至10 mL,由各样品标准曲线建立回归方程,并依方程式获得所含成分的量化数据^[19,22]。

2 结果与分析

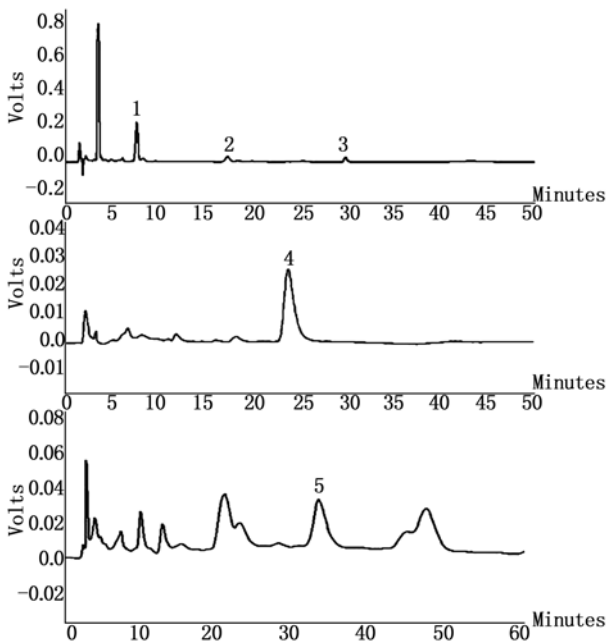
2.1 不同变异类型杜仲皮5种活性成分的含量

测定分析结果如图1、表1所示,京尼平苷酸在4种不同变异类型杜仲皮中的含量由高到低依次为光皮型(1.667 0 mg·g⁻¹),浅纵裂型(1.513 3 mg·g⁻¹),深纵裂型(1.001 6 mg·g⁻¹),龟裂型(0.827 8 mg·g⁻¹);京尼平苷在不同变异类型杜仲皮中的含量由高到低依次为光皮型(0.281 0 mg·g⁻¹),深纵裂型(0.259 4 mg·g⁻¹),龟裂型(0.205 8 mg·g⁻¹),浅纵裂型(0.162 7 mg·g⁻¹);绿原酸在不同变异类型杜仲皮中的含量由高到低依次为光皮型(0.383 9 mg·g⁻¹),浅纵裂型(0.202 6 mg·g⁻¹),龟裂型(0.137 1 mg·g⁻¹),深纵裂型(0.107 7 mg·g⁻¹);桃叶珊瑚苷含量以龟裂型杜仲皮中最高(0.628 3

$\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$),其它类型依次为光皮型($0.6149 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$),浅纵裂型($0.3943 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$),深纵裂型($0.1928 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$);松脂素二糖苷含量以光皮型杜仲皮中最高($0.2940 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$),其它依次为浅纵裂型($0.2537 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$),深纵裂型($0.2049 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$),龟裂型($0.1899 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$)。

表1 不同类型杜仲皮5种活性成分含量(干质量)

活性成分	$\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$			
	光皮型	浅纵型	深纵型	龟裂型
京尼平苷酸	1.677 1	1.513 3	1.001 6	0.827 8
京尼平苷	0.281 0	0.162 7	0.259 4	0.205 8
绿原酸	0.383 9	0.202 6	0.107 7	0.137 1
桃叶珊瑚苷	0.614 9	0.394 3	0.192 8	0.628 3
松脂素二糖苷	0.294 0	0.253 7	0.204 9	0.189 9



1. 京尼平苷酸;2. 绿原酸;3. 京尼平苷;4. 桃叶珊瑚苷;5. 松脂素二糖苷

图1 杜仲皮5种活性成分高效液相色谱图

2.2 不同变异类型杜仲皮5种活性成分的组成比及总含量

如表2所示,5种活性成分以光皮型杜仲皮的总含量最高($3.2509 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$),其它类型总含量由高到低依次为浅纵裂型($2.5266 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$)、龟裂型($1.9889 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$)和深纵裂型($1.7664 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$)。5种活性成分在不同类型杜仲皮中都以京尼平苷酸所占比例最高,分别为光皮型(51.59%)、浅纵裂型(59.89%)、深纵裂型(56.70%)和龟裂型(41.62%),其余4种活性成分所占比例各有其不同

的变化趋势,光皮型中由高到低依次为桃叶珊瑚苷(18.91%)、绿原酸(11.81%)、松脂素二糖苷(9.04%)、京尼平苷(8.64%);浅纵裂型中依次为桃叶珊瑚苷(15.61%)、松脂素二糖苷(10.04%)、绿原酸(8.02%)、京尼平苷(6.44%);深纵裂型中依次为京尼平苷(14.69%)、松脂素二糖苷(11.60%)、桃叶珊瑚苷(10.91%)、绿原酸(6.10%);龟裂型中依次为桃叶珊瑚苷(31.59%)、京尼平苷(10.35%)、松脂素二糖苷(9.55%)和绿原酸(6.89%)。

表2 不同类型杜仲皮5种活性成分的组成比及总含量

活性成分	光皮型	浅纵裂型	深纵裂型	龟裂型
京尼平苷酸/%	51.59	59.89	56.70	41.62
京尼平苷/%	8.64	6.44	14.69	10.35
绿原酸/%	11.81	8.02	6.10	6.89
桃叶珊瑚苷/%	18.91	15.61	10.91	31.59
松脂素二糖苷/%	9.04	10.04	11.60	9.55
总含量/ $(\text{mg} \cdot \text{g}^{-1})$	3.250 9	2.526 6	1.766 4	1.988 9

3 小结与讨论

综合分析比较不同类型杜仲皮中5种重要活性成分单一组分的含量及其总含量测定结果,光皮型和浅纵裂型杜仲树皮中活性成分含量明显高于其它两个变异类型,故其药用功能和应用价值更为全面及突出。在全国杜仲主要产区光皮型杜仲分布约占20%^[3, 25]。因此从优良变异类型光皮型和浅纵裂型杜仲中遴选优质栽培品种,并注重其生态适应机理研究,扩大该变异类型杜仲的栽培范围,对杜仲药用良种的培育及产业发展具有重要意义。

桃叶珊瑚苷在龟裂型和光皮型杜仲树皮中含量较高。作为一种有效的天然活性物质,桃叶珊瑚苷除具有降压抗菌等功效外还具有护肝、抗肿瘤等作用,是一些中成药质量控制的重要指标^[26],本研究结果为该变异类型杜仲皮的合理入药提供一定的科学依据。龟裂型杜仲在全国范围内分布约占5%,对其遗传资源应加强保护并不断挖掘其改良潜力以培育不同医疗用途的优良杜仲品种。2005年版《中华药典》一部中松脂素二糖苷是衡量杜仲皮药材品质的核心指标,不同类型杜仲皮中PDG含量都超过其规定的不得少于0.10%的标准^[4],说明各变异类型杜仲皮均符合中医入药的基本要求,皆可作为可靠有效的组分实现其功能与主治。

我国是杜仲的原产地,栽培范围涉及26个省、

市、区,杜仲资源在世界上占有绝对优势。建立杜仲药用良种培育技术体系,推动优质杜仲中药产业的稳定发展,能大幅度降低杜仲胶原料成本,促进杜仲胶新兴产业的健康发展及推进杜仲产业综合利用的升级进程。不同类型杜仲皮中几种活性成分的含量及组成比存在较为显著的差异,在一定程度上揭示杜仲表型分化与药材活性成分的组成紧密联系。因此准确把握二者间的互映规律并充分利用其种内丰富的遗传变异将有效促进杜仲药用良种的选育。

参考文献:

- [1] 傅立国. 中国植物红皮书—稀有濒危植物(第一卷)[M]. 北京:科学出版社,1991
- [2] 周政贤,郭光典. 我国杜仲类型、分布及引种[J]. 林业科学,1980,16(增刊):84-91
- [3] 杜红岩. 杜仲优质高产栽培[M]. 北京:中国林业出版社,1996
- [4] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. 北京:2005
- [5] 李家实,阎玉凝. 杜仲皮与叶化学成分初步研究[J]. 中药通报,1986,1(8):41-42
- [6] 杜红岩. 杜仲活性成分与药理研究的新进展[J]. 经济林研究,2003,21(2):58-61
- [7] 杜红岩,赵戈,卢绪奎. 论我国杜仲产业化与培育技术的发展[J]. 林业科学研究,2000,13(5):554-561
- [8] 罗丽芳,吴卫华,欧阳冬生,等. 杜仲的降压成分及降压机制[J]. 中草药,2006,37(1):150-152
- [9] 王俊丽,陈丕铃. 杜仲的研究与应用[J]. 中草药,1993,24(12):655-656
- [10] 肖崇厚. 中药化学[M]. 上海:上海科学技术出版社,1997
- [11] 柳云溪. 欧洲植物药会议介绍[J]. 国外医药:植物药分册,1997,12(6):257-260
- [12] 杜红岩,李钦,李福海,等. 杜仲种仁桃叶珊瑚苷含量的测定及积累规律[J]. 林业科学研究,2009,22(5):744-746
- [13] 万进,方建国. 环烯醚萜类化合物的研究进展[J]. 医药导报,2006,25(6):530-533
- [14] 史弄妍,何鑫,欧阳冬生,等. 京尼平昔及其衍生物的药理学研究进展[J]. 中国药学杂志,2006,41(1):4-6
- [15] 黄平,席先蓉,张琼,等. 杜仲药材高效液相色谱指纹图谱研究[J]. 齐鲁药事,2007,26(11):660-662
- [16] 刘圣金,狄留庆,吴德康,等. 高效液相色谱法测定杜仲中绿原酸的含量[J]. 中国中医药信息杂志,2006,13(1):44-45
- [17] 柳娜,陈晓青,刘伟,等. 反相高效液相色谱法测定杜仲中松脂醇二葡萄糖苷和丁香脂素二糖苷[J]. 天然产物研究与开发,2007,19:306-308
- [18] 白喜婷,朱文学,罗磊,等. 杜仲雄花茶加工过程中总黄酮含量变化分析[J]. 食品科学,2009,30(12):262-265
- [19] 马凤仙,赫锦锦,李钦. RP-HPLC 测定杜仲平压片中京尼平昔酸、绿原酸、京尼平昔的含量[J]. 中成药,2008,30(1):86-89
- [20] 成军,白发晶,赵玉英,等. 杜仲叶中苯丙素类成分研究[J]. 中国中药杂志,2002,27(1):38-40
- [21] 孙彦超,李钦,杜红岩,等. RP-HPLC 测定杜仲叶中京尼平昔酸、绿原酸、京尼平昔的含量[J]. 中药,2009,31(10):1608-1609
- [22] 李钦,赫锦锦,马凤仙. RP-HPLC 法测定杜仲冲剂中3种成分的含量[J]. 河南大学学报:医学版,2008,27(3):5-7
- [23] 李伟,王丽楠,覃洁萍,等. 高效液相色谱法测定不同生长年限杜仲皮中桃叶珊瑚苷的含量[J]. 中国药业,2009,18(21):5-6
- [24] 戚向阳,张声华. 反相高效液相色谱法测定杜仲中的松脂醇二葡萄糖苷[J]. 色谱,1998,16(2):161-163
- [25] 沈作奎,彭诚. 湖北省杜仲不同地区不同种质间生长差异分析[J]. 林业科技,1999,11(6):14-15
- [26] 朱媛,王亚琴. 桃叶珊瑚苷的研究进展[J]. 中草药,2006,37(6):947-949