

·简报·

## 19种资源植物中 $\beta$ -蜕皮激素的含量测定

王 强 俞祥生

(生药学教研室)

蜕皮激素类化合物具有多种生理活性, 可作为药物和化妆品添加剂。1966年日本学者 Nakanishi 等从罗汉松科罗汉松属植物百日青的叶中获得4个蜕皮激素类似物; 同年澳大利亚的 Horn 等又从同属植物乔形罗汉松中得到蜕皮甾酮 ( $\beta$ -蜕皮激素,  $\beta$ -ecdysterone,  $\beta$ -ecdysone)。邱明华等对近年来蜕皮激素资源植物的研究进行了小结<sup>[1]</sup>, 指出目前已研究的资源植物有15科37属83种, 大多含有 $\beta$ -蜕皮激素, 少数含有 $\alpha$ -蜕皮激素。为了进一步寻找新的药源植物, 我们对19种植物进行了 $\beta$ -蜕皮激素的含量测定。本文采用的分析方法简便、重现性好, 结果较为满意。

### 实验部分

#### 一、样品、仪器、测定条件

1. 样品 紫萁科 Osmundaceae 的紫萁 *Osmunda japonica* Thunb.; 球子蕨科 Onocleaceae 的荚果蕨 *Matteuccia struthiopteris* (L.) Todaro; 鳞毛蕨科 Dryopteridaceae 的绵马鳞毛蕨 *Dryopteris crassirhizoma* Nakai; 莠科 Amaranthaceae 的牛膝 *Achyranthes bidentata* Bl., 川牛膝 *Cyathula officinalis* Kuan, 麻牛膝 *C. capitata* (Wall.) Moq.; 百合科 Liliaceae 的滇重楼 *Paris polyphylla* Smith var. *yunnanensis* (Franch.) Hand.-Mazz.、七叶一枝花 *P. polyphylla* Smith var. *chinensis* (Franch.) Hara, 狹叶重楼 *P. polyphylla* Smith var. *stenophylla* Franch.、长药隔重楼 *P. polyphylla* Smith var. *pseudothibetica* H. Li, 海南重楼 *P. dunniana* Levl, 凌云重楼 *P. crongquistii* (Takht.) H. Li, 南重楼 *P. vietnamensis*

(Takht.) H. Li, 金线重楼 *P. delavayi* Franch., 球药隔重楼 *P. fargesii* Franch., 黑籽重楼 *P. thibetica* Franch., 五指莲 *P. axialis* H. Li, 日本重楼 *P. japonica* Franch.; 吉林延龄草 *Trillium kamtschaticum* Pall. ex Pursh, 共有5个科19个种或变种, 系自己采集或兄弟单位赠送。分析部位为根或根茎。

2. 仪器 岛津 CS-910 双波长薄层扫描仪; C-EIB 计算机; 岛津 UV-3000 型紫外分光光度计。

3. 测定波长的选择 取 $\beta$ -蜕皮激素标准品(由南重楼 *Paris vietnamensis* 中提取分离, 经薄层层析及高效液相测定, 均为一个斑点, mp 241℃), 加甲醇溶解后, 于岛津 UV-3000 型紫外分光光度计测定, 其最大吸收波长在 243 nm (见图1), 故选择样品测定波长为 243 nm。

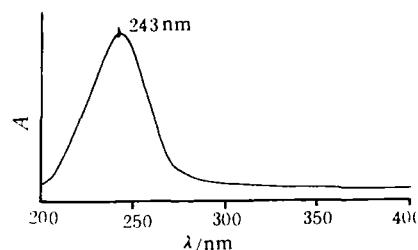


Fig 1. UV spectra of ecdysterone

4. 测定条件 硅胶 GF<sub>254</sub> 薄层层析板(浙江黄岩化学实验厂), 展开剂为氯仿-95%乙醇(4:1), 展距 10 cm; 薄层扫描仪线性参数 Sx = 3, 线性扫描, 测定波长 243 nm, 纸

速  $20 \text{ mm/min}$ 。

## 二、标准曲线的制备

精密称取  $\beta$ -蜕皮激素标准品  $1 \text{ mg}$ , 用甲醇定容于  $1 \text{ ml}$  量瓶中, 用微量注射器吸取  $1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0 \mu\text{l}$  点于同一薄层板上, 按上述条件展层和扫描测定, 用计算机计算斑点面积积分值, 以标准品量为横坐标, 积分值为纵坐标, 绘制标准曲线(见图2)。

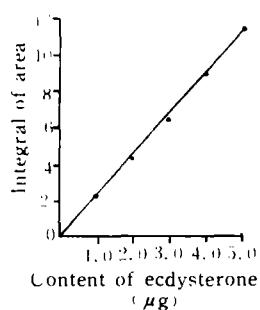


Fig 2. Calibration curve of ecysterone

对测定数据进行回归计算, 得回归方程:  $y = 2.31x - 0.21$ ,  $r = 0.998$ 。测定结果表明  $\beta$ -蜕皮激素在  $1.00 \sim 5.00 \mu\text{g}$  范围内呈较好的线性关系。

## 三、样品液制备

将上述样品粉碎过  $40$  目筛, 取粉末  $1 \text{ g}$ , 精密称定, 先加石油醚( $30 \sim 60^\circ\text{C}$ )  $50 \text{ ml}$ , 用索氏提取法回流提取  $3 \text{ h}$  后, 挥尽溶媒, 再加甲醇  $50 \text{ ml}$  回流提取  $4 \text{ h}$ , 回收甲醇至小体积, 定量转移于  $1 \text{ ml}$  量瓶中, 作为样品溶液。

## 四、含量测定

用微量注射器吸取样品液  $10.0 \mu\text{l}$  和标准品溶液  $2.0, 4.0 \mu\text{l}$  点于同一薄层板上, 展层后进行薄层扫描测定, 用外标两点法计算含量, 数据为 3 次测定结果的平均值。结果见表 1。

## 五、稳定性、重现性试验及回收率测定

1. 稳定性试验 取标准品溶液  $4.0 \mu\text{l}$  和滇重楼样品溶液  $10 \mu\text{l}$ , 点于同一薄层板上, 展层后每隔  $1 \text{ h}$  测定  $\beta$ -蜕皮激素斑点积分值, 以积分面积为纵坐标, 间隔时间为横坐标作

图, 见图 3, 结果表明,  $4 \text{ h}$  内均稳定。

## 2. 重现性试验

取标准品溶液  $4.0 \mu\text{l}$ , 在同一薄层板上共点 7 点, 展层后, 测定积分值, 计算得:  $Sx = 0.135$ ,  $CV = 3.6\%$ 。

另取滇重楼样品液  $10.0 \mu\text{l}$ , 在同一薄层板上共点 7 点, 展层后, 测定积分值, 计算得:  $Sx = 0.132$ ,  $CV = 3.3\%$ 。

Tab 1. Analysis of sample

Sample	Cont. of ecysterone, %
<i>Osmunda japonica</i>	0.006
<i>Matteuccia struthiopteris</i>	0.013
<i>Dryopteris crassirhizoma</i>	0.019
<i>Achanthes bidentata</i>	0.037
<i>Cyathula officinalis</i>	0.001
<i>C. capitata</i>	0.001
<i>Paris polyphylla</i> var. <i>yunnanensis</i>	0.017
<i>P. polyphylla</i> var. <i>chinensis</i>	0.024
<i>P. polyphylla</i> var. <i>stenophylla</i>	0.008
<i>P. polyphylla</i> var. <i>pseudothibetica</i>	0.013
<i>P. dunniana</i>	0.057
<i>P. crongquistii</i>	0.009
<i>P. vietnamensis</i>	0.034
<i>P. delavayi</i>	0.008
<i>P. fargesii</i>	0.055
<i>P. thibetica</i>	0.018
<i>P. axialis</i>	0.131
<i>P. japonica</i>	0.025
<i>Trillium kamtschaticum</i>	0.026

3. 加样回收率测定 取牛膝、滇重楼粉末各  $1 \text{ g}$ , 精密称定, 分别加入标准品  $0.3 \text{ mg}$ , 按样品液制备和含量测定项下操作, 各药分别提取测定 5 次, 计算加样回收率。牛膝的回收率为  $98.5\%$ ,  $CV = 1.9\%$ ; 滇重楼的回收率  $97.9\%$ ,  $CV = 2.5\%$ 。

## 讨 论 与 小 结

1. 为了寻找含  $\beta$ -蜕皮激素的资源植物, 我们对 19 种植物进行了考查, 其中除紫萁、绵马鳞毛蕨、牛膝已有报道外(仅牛膝有含量

测定)<sup>[2]</sup>, 其余种不见有报道。结果表明: 19 种植物根及根茎均含有  $\beta$ -蜕皮激素, 其中含量较高的有五指莲 (0.131%)、海南重楼 (0.057%)、球药隔重楼 (0.055%)、牛膝 (0.037%)、南重楼 (0.034%) 等。

2. 对于  $\beta$ -蜕皮激素含量测定方法的研究, 以往用重量法或根据提取分离结果计算, 费工费时, 结果不准确<sup>[3]</sup>。最近报道的薄层扫描法提取和检验方法又比较繁杂<sup>[4]</sup>。我们采用石油醚脱脂后, 甲醇回流提取制备样品液。再根据  $\beta$ -蜕皮激素的紫外吸收, 利用萤光薄层板, 在紫外光区扫描测定含量。方法简便, 重现性好, 结果较为满意。为寻找  $\beta$ -蜕皮激素

资源植物提供了新的分析方法。

**关键词** 资源植物;  $\beta$ -蜕皮激素; 薄层层析-薄层扫描法

**致谢** 江苏省植物研究所李鸿英同志提供  $\beta$ -蜕皮激素对照品。

## 参 考 文 献

- 邱明华, 聂瑞麟. 植物蜕皮激素的开发和利用. 自然资源 1989; (3): 42-9
- 李鸿英, 周雪林, 李秀华. 牛膝茎叶的蜕皮激素含量测定. 中药材科技 1982; (3): 30-1
- 聂瑞麟, 岳远征. 栽培露水草  $\beta$ -蜕皮激素的含量测定. 云南植物研究 1984; 5(3): 317-8
- 刘舞霞, 史叶龙. 牛膝栽培品种的质量考察. 中草药 1988; 19(12): 26-9

## Determination of Ecdysterone in 19 Species of the Resource Plants

Wang Qiang and Yu Xiangsheng

Department of Pharmacognosy

In order to search for the resource plants containing ecdysterone, we studied 19 species and varieties of Osmundaceae, Onocleaceae, Dryopteridaceae, Amaranthaceae and Liliaceae. TLC scanning method was used to determine ecdysterone. Samples were chromatographed on silica gel GF<sub>254</sub> plate with chloroform-95% ethanol (4:1), and determined at  $\lambda_s = 243$  nm. The results of analysis showed that the contents of ecdysterone in five species were higher than 0.030%: *Paris axialis* (0.131%), *Paris dunniana* (0.057%), *Paris fargesii* (0.055%), *Achyranthes bidentata* (0.037) and *Paris vietnamensis* (0.034%).

**Key words** Resource plant; Ecdysterone; TLC scanning

## 中药郁李仁类的生药学研究

杨国勤 导师: 徐国钧 金蓉莺 徐珞珊

(生药学教研室)

对郁李仁主产区进行了药源调查, 经分类学鉴定为蔷薇科 *Prunus* 属 10 种植物, 即欧李 *P. humilis*, 毛叶欧李 *P. dictyoneura*, 郁李 *P. japonica*, 长梗郁李 *P. japonica* var. *nakaii*, 麦李 *P. glandulosa*, 榆叶梅 *P. triloba*, 毛樱桃 *P. tomentosa*, 长柄扁桃 *P. pedunculata*, 李 *P. salicina*, 对以上 10 种郁李仁的显微鉴定, 发现种皮表面石细胞分布、形态特征和草酸钙簇晶等均有一定区别。从 42 件商品鉴定中, 认定主流品种为长柄扁桃, 其次为李、欧李、郁李、榆叶梅。用 TLC 法测定了 10 种郁李仁的苦杏仁甙含量, 以欧李、毛叶欧李、榆叶梅、李种子中含量高于 2.25%, 欧李、毛叶欧李、郁李、长梗郁李的郁李仁甙 A 含量差异不大, 高于 0.70%, 而麦李仅为 0.29%。应用 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳对 10 种郁李仁的水溶性蛋白质进行了分析, 欧李、毛叶欧李、郁李、长梗郁李、麦李具有相似的电泳谱带。以促进小白鼠肠推进作用为泻下指标, 对正品郁李仁、欧李的不同提取物, 不同种郁李仁的水煎液进行了药理实验研究, 均有不同程度的促进作用。(全文待发表)