

杜仲乔林与叶林树皮中次生代谢物含量的比较

徐咏梅¹, 苏印泉¹, 彭 锋¹, 中泽庆久²

(1 西北农林科技大学 林学院, 陕西 杨凌 712100;

2 日立造船株式会社, 565-0871)

[摘要] 通过回流提取法, 对杜仲乔林与叶林2种栽培模式下树皮中次生代谢物的含量差异进行了分析。结果发现, 乔林树皮中杜仲醇、总黄酮和杜仲胶的含量均比叶林树皮中的高, 而叶林树皮中绿原酸、京尼平甙酸和桃叶珊瑚甙却比乔林树皮中的高; 同时比较将杜仲树皮碾成粉状和丝绵状2种处理方式对次生代谢物提取的影响发现, 二者效果相差不明显, 但考虑到后期要提取杜仲胶, 建议将杜仲皮碾成丝绵状。

[关键词] 杜仲; 乔林树皮; 叶林树皮; 次生代谢物; 提取效果

[中图分类号] S794.908

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2006)04-0055-03

杜仲(*Eucammia ulmoides* Oliv.)是中国特有的名贵药材, 也是世界上适应范围最广的胶源植物。杜仲自古以来取皮入药而著称, 为中药之上品。国内外学者对杜仲的丰产栽培、次生代谢物等进行了大量研究, 结果发现杜仲叶、皮和枝条中含有的化学成分基本相似, 主要有木脂素类、环烯醚萜类、苯丙素类、黄酮类及杜仲胶等, 其中杜仲醇、绿原酸、京尼平甙酸、总黄酮等具有显著的药理活性。除药用价值外, 杜仲的叶、皮、种子均含有硬性橡胶(杜仲胶), 室温下质硬、耐摩擦、熔点低、易于加工, 经改性后具有热塑性, 可作为热弹性材料, 还可作为橡胶弹性材料, 广泛用于海底电缆、高尔夫球、医用材料、新型形状记忆材料、防腐材料、橡胶材料、化工材料、日用功能材料、宇航用特种材料及高冲击性材料等^[1-4]。

乔林和叶林是杜仲的2种栽培模式, 乔林模式是按传统的栽培方法, 以经营木材为目的, 生长周期长; 叶林模式即改高大乔木为灌木的经营模式, 利用杜仲萌芽能力强的特性, 定植后每年春天从靠近地面处平茬, 并在主干上萌生出的枝条中选育3个不同方向、分布均匀的萌条构成开放型树冠, 以后每年春天树液流动时平茬。2种模式的生物量以叶林模式明显较大。本研究对2种栽培模式下杜仲树皮中的活性成分含量进行了对比分析, 并比较了将杜仲

皮碾成丝绵状和粉末状2种处理方法, 对杜仲树皮中次生代谢物提取效果的影响, 以期对杜仲的合理栽培与利用提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料来源

杜仲乔林树皮采自西北农林科技大学渭河试验站生长近50年的杜仲大树, 4月份在不同的树上随机剥皮; 叶林树皮采自该校林学院苗圃, 4月初萌芽前平茬, 然后剥皮。树皮均阴干备用。整个试验在陕西省经济植物资源开发利用重点实验室进行。

1.2 主要仪器与试剂

仪器 日本岛津LC-10A T_{VP}型高效液相色谱仪; RD-10A示差指数检测器; SPD-10A紫外光度检测器; 02810281型电热恒温水浴锅; 101-1型干燥箱; FZ102型微型植物试样粉碎机; SHB-III循环水式多用真空泵; RE-52A型旋转蒸发器; Model C9860A型超声波提取机; UV-2000型紫外可见分光光度计。

试剂 甲醇、乙醇等均由西安化学试剂厂生产, 除特殊说明外均为分析醇; 高效液相色谱所用甲醇为色谱醇; 艾氏试剂(5 g 冰HAc + 25 g H₃PO₄ + 50 mL H₂O + 0.25 g 对二甲氨基苯甲醛)自配; 芦丁,

收稿日期: 2005-09-28

基金项目: 国家“十五”科技攻关项目(2001BA502B0403); 中日合作课题“日本ENDO项目”

作者简介: 徐咏梅(1981-), 女, 湖北大冶人, 在读硕士, 主要从事植物资源开发利用研究。

通讯作者: 苏印泉(1954-), 男, 陕西白水人, 教授, 主要从事植物资源开发利用研究。

$\text{NaNO}_2; \text{Al}(\text{NO}_3)_3$

1.3 试验方法

1.3.1 材料处理方式 (1)粉状 从每片乔林皮上取一小块等量混合,叶林皮随机取样混合,粉碎成粉。(2)丝绵状 将杜仲乔林和叶林皮分别碾成丝绵状,保留皮粉备用。

1.3.2 提取液的制备 准确称取2种栽培模式下的杜仲树皮,分别在2种处理方式下处理样品各5.000 g,用600 mL/L乙醇采用回流法在80℃条件下水浴加热,提取2次,每次2 h,将滤液合并浓缩,测其中活性成分的含量^[5]。采用将杜仲皮碾成丝绵状的处理方式时,滤渣用以继续提取杜仲胶。

1.3.3 杜仲胶的制备 杜仲胶的制备采用改进的碱浸法^[2,6],具体步骤为:丝绵皮提取后的滤渣加入50 g/L NaOH在85℃水浴中煮2 h 粗洗 加入50 g/L NaOH+2~3滴洗涤剂在75℃水浴中煮12 h 粗洗 加入850 g/kg H_3PO_4 +2~3滴洗涤剂在65℃水浴中煮24 h 精洗 加入850 g/kg H_3PO_4 +2~3滴洗涤剂在50℃水浴中煮12 h 精洗 加入50 g/L NaOH+950 mL/L乙醇(体积比为1:1)在40℃水浴中煮30 h 精洗 滤纸包好于20~30℃烘至恒重 干燥器内放置12 h 称重。

1.3.4 活性成分含量的测定 (1)杜仲醇、绿原酸和京尼平甙酸含量的测定。杜仲醇含量用高效液相色谱仪测定^[7]。色谱条件为:色谱柱为ODS,流动相

为甲醇-水(体积比为1:9),检测波长210 nm,流速1.0 mL/min,柱温为室温,进样体积3 μL ,杜仲醇的保留时间为267 s,检测器为示差指数检测器。绿原酸和京尼平甙酸的含量用反相HPLC测定^[8-9]。色谱条件:色谱柱为Nova-park C_{18} (4 μm , 3.9 mm \times 75 mm),流动相为甲醇-水-冰乙酸(体积比为10:90:1),检测波长324 nm,流速1.0 mL/min,柱温为室温,检测器为紫外光度检测器。(2)总黄酮含量的测定。采用硝酸铝-亚硝酸钠比色法^[10]测定。标准曲线方程为: $C = 0.1104A - 0.000057$ (C为浓度,A为吸光度),曲线范围为0.087~0.448 mg/mL。(3)桃叶珊瑚甙含量的测定。采用改进的对二甲氨基苯甲醛法^[11]测定。标准曲线方程为: $C = 0.11605A + 0.00033$ (C为浓度,A为吸光度),曲线范围为0.036~0.210 mg/mL。

2 结果与分析

2.1 次生代谢物的含量比较

由表1可知,2种栽培模式的杜仲树皮中次生代谢物含量存在较明显的差异,乔林模式中杜仲醇和总黄酮含量分别为叶林模式的4.5倍和1.25倍左右;叶林模式中绿原酸、京尼平甙酸、桃叶珊瑚甙含量比乔林模式的高,特别是京尼平甙酸含量较乔林模式高出十几倍,绿原酸和桃叶珊瑚甙的含量分别为乔林模式的2.5倍和3倍左右。

表1 2种栽培模式的杜仲树皮在2种处理方式下提取时次生代谢物的含量比较

Table 1 Contents of the secondary metabolites in the bark of tree model and leaf model when milled into two different shapes

栽培模式 Planting model	杜仲树皮 处理方式 Treatment	次生代谢物含量 Content of the secondary metabolites				
		杜仲醇 Eucommid)	绿原酸 Chlorogenic acid	京尼平甙酸 Geniposidic acid	总黄酮 Total flavonoids	桃叶珊瑚甙 Aucubin
乔林 High forest tree model	粉状 Powder	4.306	1.522	2.092	21.692	3.153
	丝绵状 Protonema	3.818	1.534	2.317	24.893	3.550
叶林 Leaf-oriented tree model	粉状 Powder	0.931	3.824	35.358	17.276	10.702
	丝绵状 Protonema	0.820	3.794	35.308	19.760	11.016

由表1还可以看出,在将杜仲皮碾成粉状时,杜仲醇的提取量稍高于碾成丝绵状时;将乔林栽培模式下的杜仲皮碾成粉状时,绿原酸和京尼平甙酸的提取量均稍低于碾成丝绵状时,而将叶林栽培模式下的杜仲皮碾成粉状时情况相反,但是相差均不明显。2种栽培模式下,对总黄酮、桃叶珊瑚甙的提取量均是将杜仲皮碾成丝绵状时高于粉状。但总体而

言,杜仲树皮在粉碎及碾成丝绵状2种方式下提取得到的次生代谢物含量相差不明显。

由表1还可知,在初春,把杜仲皮碾成丝绵状时,乔林栽培模式下杜仲树皮中活性物质含量顺序为:总黄酮>杜仲醇>桃叶珊瑚甙>京尼平甙酸>绿原酸;叶林栽培模式下杜仲树皮中活性物质含量顺序为:京尼平甙酸>总黄酮>桃叶珊瑚甙>绿原

酸> 杜仲醇

2.2.2 种栽培模式下杜仲树皮碾成丝绵状时的杜仲胶提取试验

杜仲胶提取试验结果表明, 乔林栽培模式下杜仲树皮中杜仲胶含量为 62.46 g/kg, 叶林栽培模式下为 47.74 g/kg, 前者为后者的 1.3 倍。

3 讨论

本研究结果表明, 在乔林和叶林 2 种栽培模式下, 杜仲树皮中次生代谢物的含量存在较明显的差异, 其中乔林栽培模式下杜仲树皮中杜仲醇、总黄酮和杜仲胶的含量比叶林模式下高, 如从提高杜仲胶产量的目的出发, 培育树龄较大的乔木较好。而京尼平甙酸、绿原酸和桃叶珊瑚甙的含量则是叶林模式下较高, 这一点与秦振栋等^[12]报道的结果相近, 原

因可能是叶林模式的树皮是每年新萌发出来的当年生树枝树皮, 京尼平甙酸、绿原酸和桃叶珊瑚甙在当年生树皮和多年生乔林树皮内部的变化不同所致。

杜仲树皮在粉碎及碾成丝绵状后提取得到的次生代谢物含量相差不明显, 分析其原因, 可能是由于杜仲皮在碾成丝绵状的过程中已将皮的纤维组织碾碎, 只是由胶丝将碎渣连起来, 溶剂能很容易穿透细胞壁, 与粉碎的效果是一样的。丝绵状树皮提取后的滤渣不影响杜仲胶的提取, 而粉碎后的树皮无法继续提胶, 故将杜仲树皮碾成丝绵状较好。

叶林栽培模式是在每年春天树液流动时对杜仲树平茬, 得到的枝皮可用于提取有效成分, 剥皮后的枝条还可用于制造纤维板或造纸等, 与乔林栽培模式相比, 有其独特的一次造林、多年受益的优势。

[参考文献]

- [1] 牛春山. 陕西树木志[M]. 北京: 中国林业出版社, 1940: 728
- [2] 张康健, 王 蓝, 马柏林, 等. 中国杜仲次生代谢物[M]. 北京: 科学出版社, 2002
- [3] 张康健, 王 蓝. 药用植物资源开发利用学[M]. 北京: 中国林业出版社, 1997: 174-186
- [4] 张康健, 张 檀. 中国神树——杜仲[M]. 北京: 北京经济管理出版社, 1997: 1-21
- [5] 董娟娥, 马柏林, 仝小林, 等. 提高杜仲叶中主要活性物质提取率的研究[J]. 西北林学院学报, 2002, 17(1): 64-67
- [6] 马柏林, 王 蓝, 张康健. 杜仲胶实验室提取方法的研究[J]. 西北林学院学报, 1996, 9(4): 67-69
- [7] 彭金年. 杜仲的提取分离及合成积累动态研究[D]. 陕西杨凌: 西北农林科技大学林学院, 2004
- [8] 张康健, 王亚琴, 马希汉, 等. 杜仲次生代谢物生态学研究初报[J]. 林业科学, 1999, 35(6): 28-36
- [9] Takahashi T, M asumoto N, O shio H. The stability of bio-active components in the bark of *Eucommia ulmoides*: *Eucommia* cortex [J]. *Shoyakugaku Zasshi*, 1988, 42(2): 465-466
- [10] 冯 煦, 李鸿英. 北柴胡与烟台柴胡黄酮成分的比较研究[J]. 中草药, 1990, 21(8): 5-6
- [11] 董娟娥, 马柏林, 贾二红. 杜仲中桃叶珊瑚甙测定方法的研究[J]. 西北林学院学报, 2001, 15(1): 56-58
- [12] 秦振栋, 吴葆华. 药用植物研究论文选编[M]. 西安: 西北大学出版社, 1983: 196-205, 238-242, 243-246, 252-254

Study on the contents of secondary metabolites in the bark of high forest tree model and leaf-oriented tree model of *Eucommia ulmoides* Oliv.

XU Yong-mei¹, SU Y in-quan¹, PENG Feng¹, NAKAZAWA Y osh ihisa²

(1 College of Forestry, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China;
2 Hitachi Zosen Corporation, 565-0871, Japan)

Abstract: In order to analyze the secondary metabolites contents in the bark of high forest tree model and leaf-oriented tree model of *Eucommia ulmoides* Oliv., the two kinds of bark were milled into powder and protonema, and were extracted in 600 mL/L ethanol. The result showed that the contents of eucommiol, total flavonoids and gutta-percha in the bark of high forest tree model were higher than that of the leaf-oriented tree model while the contents of chlorogenic acid, geniposidic acid and aucubin in the bark of leaf model were higher than that of the high forest tree model. The total effect of bark protonema was better.

Key words: *Eucommia ulmoides* Oliv.; bark of high forest tree; bark of leaf-oriented tree; secondary metabolites; extraction effect