

剑叶龙血树根、茎、叶中血竭成分分析

陈定芳, 宋启示*

(中国科学院西双版纳热带植物园 中国科学院研究生院, 云南 昆明 650223)

摘要: 目的 通过对比剑叶龙血树根、茎、叶成分与龙血竭成分间的异同及对剑叶龙血树根、茎、叶中龙血素 A、B 的测定, 寻找龙血竭原料的可能来源。方法 薄层色谱法及高效液相色谱技术。结果 剑叶龙血树根、茎、叶中均含有微量的龙血素 A, 分别为: 58、53、15 $\mu\text{g/g}$; 叶中还含有微量的龙血素 B, 为 2 $\mu\text{g/g}$, 而根、茎样品中未能检测到龙血素 B。结论 从色谱峰的积分面积及保留时间来看, 剑叶龙血树根、茎、叶成分与血竭原料有少许的相关性, 但差异显著; 根、茎、叶 3 者间的化学组成成分也存在着显著差异, 剑叶龙血树根、茎、叶中龙血素量都较低, 不能直接用作生产血竭的原料。

关键词: 剑叶龙血树; 血竭; 龙血素; 高效液相色谱

中图分类号: R 282.6 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2005)10-1545-03

Analysis of loureirins in roots, stems, and leaves of *Dracaena cochinchinensis*

CHEN Ding-fang, SONG Qi-shi

(Xishuangbanna Tropical Botanical Garden, the Graduate School, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650223, China)

Abstract: **Objective** The experiment compared the chemical components in the roots, stems, and leaves of *Dracaena cochinchinensis* with those in the raw material of Dragon's blood, in order to find the possible raw material of Dragon's blood. **Methods** Technology of thin layer chromatography (TLC) and high performance liquid chromatography (HPLC). **Results** The results showed that the roots, stems, and leaves of *D. cochinchinensis* just contained small amount of loureirin A, the contents of loureirin A of the three samples are: 58, 53, and 15 $\mu\text{g/g}$, respectively. Loureirin B was only detected in the leaves with content of 2 $\mu\text{g/g}$. **Conclusion** From the analysis of peak areas and the retention time, there are only slight correlations among the components of the four samples and the chemical components among the roots, stem, and leaves are different. Moreover, there is too low content of loureirins in the roots, stem, and leaves to be raw material of Dragon's blood.

Key words: *Dracaena cochinchinensis* (Lour.) S. C. Chen; Dragon's blood; loureirins; HPLC

血竭是一种传统的内服外用的活血中药, 在中国有上千年的使用历史, 对于国产血竭的研究近年也逐渐形成了系统全面的探讨, 主要包括国产血竭的基源植物、有效成分、临床应用及形成机制等等。根据现有的认识, 血竭是某些植物的一种次生代谢产物, 这些植物包括棕榈科 (Palmae)、龙舌兰科 (Agavaceae)、豆科 (Leguminosae) 及大戟科 (Euphorbiaceae)。现在我国药厂生产、临床使用的龙血竭主要是取材于龙舌兰科龙血树属的植物。一般认为血竭是龙血树受到损伤后感染真菌等微生物, 两者相互作用产生某些生化反应, 改变龙血树生理代谢途径, 从而刺激龙血树产生的一种具有防御作用

的代谢产物。在自然条件下, 血竭形成缓慢, 同时血竭的基源植物龙血树在野生环境中资源储备少。随着血竭在医学临床中应用范围的拓展, 血竭有供不应求的趋势, 为了更好地利用血竭资源植物, 同时保证血竭稳质稳量的持续开发, 本实验对剑叶龙血树根、茎、叶中血竭成分作了检测, 试图寻找血竭可能的原料来源。

1 材料与方法

1.1 供试材料: 根、茎、叶均取自云南省勐仑镇中国科学院西双版纳热带植物园内自然生长的剑叶龙血树 *Dracaena cochinchinensis* (Lour.) S. C. Chen。

龙血竭为西双版纳雨林制药厂用于加工生产龙

* 收稿日期: 2004-11-20

基金项目: 国家发展和改革委员会现代中药产业化专项资助

作者简介: 陈定芳 (1980-), 女, 湖南衡阳人, 在读硕士, 主要从事药用植物化学研究。E-mail: chendf@xtbg.ac.cn

* 通讯作者: 宋启示 Tel: (0871) 5160902 E-mail: songqs@xtbg.ac.cn

血竭胶囊的血竭块,是剑叶龙血树含竭木的乙醇提取物。

1.2 材料处理: 分别称取一定量的剑叶龙血树根、茎、叶(均已风干,剑叶龙血树根总质量为 619.6 g,茎干总质量为 200 g,叶总质量为 5 495.8 g),用工业乙醇浸提 3 次,水浴加热,每次约 8 h,得到的初提物再分别蒸馏浓缩,称量后(根浓缩物质量为 164.4 g,茎干浓缩物质量为 22.6 g,叶浓缩物质量 660.5 g)用甲醇洗出(准确记录洗出液的体积:根提取物的洗出液为 420 mL,茎干提取物洗出液为 28 mL,叶子提取物洗出液为 1 600 mL),滤过后冷藏备用。

1.3 薄层色谱法: 使用氯仿-甲醇(9:1),加少量甲酸或水在硅胶薄层板上进行色谱分离,展开 1~2 次,用 10% 浓硫酸乙醇溶液加热显色。

1.4 高效液相色谱法

1.4.1 仪器和试剂: 日本岛津 LC-2010A_{HT} 型高效液相色谱仪。龙血素 A 对照品(本实验室分离得到,经质谱和核磁共振鉴定结构),龙血素 B(雨林制药厂用于质检的标准样品),乙腈(色谱纯),其他试剂均为分析纯。

1.4.2 色谱条件: 色谱柱: 20rbax-SB-C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm); 流动相: 1% 冰醋酸溶液-乙腈(63:37); 检测波长: 260 nm; 柱温: 30℃左右; 进样量: 10 μL; 体积流量: 1 mL/min。

1.4.3 对照品溶液的制备: 分别精密称取一定量的龙血素 A、B,用流动相溶液充分溶解,滤过,超声波处理 15~20 min,再定容到一定体积备用。

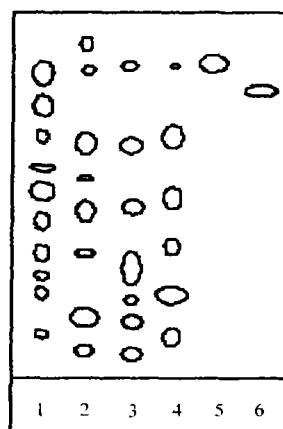
1.4.4 供试品溶液的制备: 精密称取龙血竭 0.250 g,用乙腈-1% 冰醋酸(50:50)溶解,滤过后超声波处理 15 min,再定容到 25 mL,充分摇匀备用。分别量取一定体积的剑叶龙血树根、茎、叶样品溶液,用甲醇-水(4:6)充分溶解,滤过,然后定容到一定体积备用(根提取物贮备液取 1 mL,用蒸馏水定容到 5 mL 备用;茎提取物贮备液直接取样 2 mL;叶提取物贮备液取 1 mL,用蒸馏水定容到 2 mL 备用)。根、茎、叶的备用溶液分别编号为 DMR、DS、DL。

1.4.5 线性关系考察: 分别精密称取适量的龙血素 A、B,用流动相充分溶解,使龙血素 A、B 的质量浓度分别为: 0.334、0.168 mg/mL; 0.840、0.320 mg/mL; 0.310、0.052 mg/mL。龙血素 A、B 对照液分别以 10 μL 进样,在上述色谱条件下,测定其峰面积积分值。以峰面积积分值(Y)对进样量(X)进行回归,结果表明龙血素 A 在 3.1~8.4 μg,龙血素 B 在 0.52~1.68 μg 呈现良好的线性关系。龙血素 A、B

的回归方程分别为: $Y = 4.033 \times 10^7 X - 3.778 \times 10^6$, $r = 0.9878$; $Y = 2.926 \times 10^7 X - 2.259 \times 10^5$, $r = 0.9664$ 。

2 结果

2.1 薄层色谱: 在氯仿-甲醇(9:1,加少量的甲酸或水)的溶剂系统中展开 1~2 次,用 10% 硫酸乙醇溶液显色,龙血竭、剑叶龙血树根、茎、叶酒精提取物在硅胶薄层板上均能较好地展开, R_f 值在 0.6~0.85,并且从显色的结果(显色点的大小、形状及颜色)可看出,这 4 者的成分组成间有一定的相关性,有共同的成分,但总的来说,4 者的化学成分组成间存在较大差别。结果见图 1。



1-龙血竭 2-剑叶龙血树根提取物 3-剑叶龙血树茎提取物
4-剑叶龙血树叶提取物 5-龙血素 A 6-龙血素 B

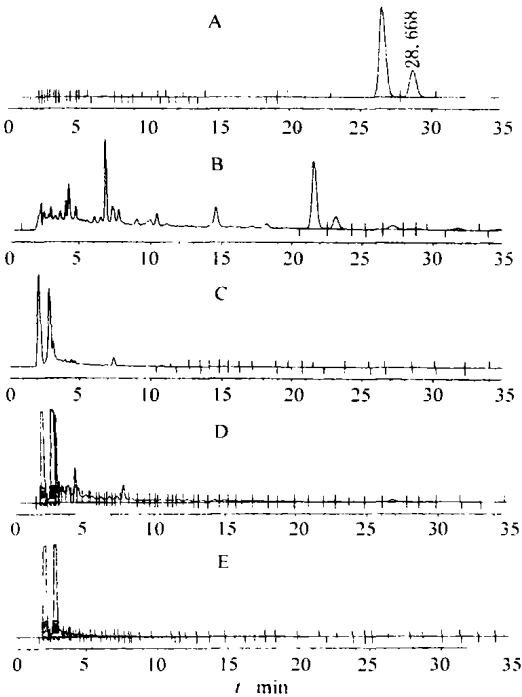
1-Dragon's blood 2-extracts of roots of *D. cochinchinensis*
3-extracts of stems of *D. cochinchinensis* 4-extracts of
leaves of *D. cochinchinensis* 5-loureirin A 6-loureirin B

图 1 龙血竭、剑叶龙血树根、茎、叶提取物薄层色谱图

Fig. 1 TLC of raw material of Dragon's blood
and extracts from roots, stem, and
leaves of *D. cochinchinensis*

2.2 高效液相色谱: 从高效液相色谱分析的各个峰积分面积与保留时间来看(图 2),剑叶龙血树的根、茎、叶成分与血竭原料的成分仅存在少量的相似性,它们之间在化学组成上的差异是显著的。根据高效液相色谱的定量分析,得知剑叶龙血树根、茎、叶样品中均含有一定量的龙血素 A(表 1),其质量分数分别为 58、53、15 μg/g,而对于龙血素 B,因为根、茎样品质量浓度过低,未能检测出来,只在剑叶龙血树叶的提取物中显示出有少量的存在,其质量分数 2 μg/g。剑叶龙血树根中龙血素 A 的量比茎、叶中的龙血素 A 量要大,但根、茎、叶中龙血素的量均远远小于龙血竭中龙血素的量。

3 讨论



A-龙血素 A 和 B B-龙血竭 C-剑叶龙血树根提取物 D-剑叶龙血树茎提取物 E-剑叶龙血树叶提取物
A-loureirins A and B B-raw material of Dragon's blood C-extracts of roots of *D. cochinchinensis* D-extract of stem of *D. cochinchinensis* E-extracts of leaves of *D. cochinchinensis*

图 2 血竭原料及剑叶龙血树根、茎、叶乙醇提取物 HPLC 图
Fig. 2 HPLC Chromatogram of raw material of Dragon's blood and extracts from roots, stem, and leaves of *D. cochinchinensis*

表 1 血竭原料、剑叶龙血树根、茎、叶提取物 HPLC 数据及样品中龙血素 A 和 B (n= 3)

Table 1 Loureirins A and B of extracts of roots, stem, and leaves of *D. cochinchinensis* (n= 3)

品 种	提取物中龙血素/ (mg · g ⁻¹)		样品中龙血素/ (μg · g ⁻¹)	
	A	B	A	B
龙血竭	24. 4	5. 1		
剑叶龙血树根	0. 217	0. 000	58	0
剑叶龙血树茎	0. 466	0. 000	53	0
剑叶龙血树叶	0. 121	0. 019	15	2

随着血竭应用范围的扩增及市场需求的加大,

仅仅依靠现存野生龙血树进行原料取材已不能满足血竭的生产,为了保证龙血竭优质优量的市场供应,血竭的形成机制及原料来源问题亟待解决。近年来有关血竭的成分组成及临床药理药效等已有较全面系统的研究,现行的龙血竭质检标准是以龙血素 B 为准,其质量分数须大于或等于 0. 4%。本实验通过高效液相色谱技术对剑叶龙血树根、茎、叶化学组成的分析比较,检测了 3 者中的龙血素,期望能为解决血竭的原料来源问题提供一定的依据。从上述的实验结果来看,剑叶龙血树中的龙血素在根、茎、叶中逐渐递减,初步分析血竭的形成原因可能与植物组织器官的功能有关,剑叶龙血树根中的龙血素 A 比茎、叶中的高,这可能与根作为植物养分器官从土壤中汲取营养成分提供给植株,长期跟土壤中微生物接触有一定的关系,而剑叶龙血树叶及茎部分作为植物的光合器官和运输的中转部分,裸露在空气中,与微生物接触相对减少,血竭的形成可能相对缓慢。总的说来,剑叶龙血树根、茎、叶的化学成分组成均与龙血竭有很大的差异,且龙血素 A、B 过低,其提取物中龙血素 B 质量分数均低于 0. 4%的质量标准,它们都不能直接用作血竭原料。对于剑叶龙血树茎的化学组成曾有实验作过一定研究,但对于茎中的各个成分间及其成分与血竭间的相关性未作深入的分析,本实验室正进一步分析剑叶龙血素树叶子的化学成分及与剑叶龙血树相关的真菌等微生物代谢产物的组成成分,试图寻找剑叶龙血树根茎叶成分与血竭的内在联系及真菌等微生物与龙血树间的化学联系,为解决血竭的原料来源问题提供可能的途径与方法。

References:

[1] Zhu H, Huang H B, Tian H. Researches of the chemical constituents of Dragon's blood [J]. *J Guangxi Coll Tradit Chin Med* (广西中医学院学报), 2002, 5(4): 89-90.
[2] Xie Z W. The textual research on original plants of Dragon's blood [J]. *J Chin Med Mater* (中草药), 1989, 12(7): 40.
[3] Mimaki Y, Kuroda M, Takaashi Y, et al. Steroidal saponins from the stems of *Dracaena concinna* [J]. *Phytochemistry*, 1998, 7(7): 1351-1356.

欢迎订阅《中草药》杂志 2005 年增刊