

中国不同地区楝属植物中 川楝素含量测定*

张民力 张兴 赵善欢

(昆虫毒理研究室)

提 要

应用高速液相色谱(HPLC)对我国楝属(*Melia*)植物主要分布区的川楝、苦楝的树皮、果实及叶片中川楝素含量进行了测定。结果表明,采自不同地区川楝、苦楝样本中川楝素的含量差别较大。树皮中的含量以贵州(沿河)、陕西(西乡)采的苦楝及河南(扶沟)采的川楝较高,分别为5.160、4.697和4.223mg/g。果实中川楝素的含量都较低,苦楝果中仅含微量或测不出。杭州采的川楝果中川楝素含量却显著高于其它楝果样本,而且比其树皮的含量还高(分别为0.800和0.574mg/g)。所采的楝叶中在该测定条件下测不到川楝素存在。楝科中其它9种非楝属植物树皮中不含有川楝素。从整个测定结果可以看出,川楝素只存在于楝属植物树皮中,果中也有少量分布,川楝中川楝素的含量不一定高于苦楝。各样本中川楝素含量的差异是否与其分布区的地理环境、气候及土壤等因素有关,有必要作进一步研究。

关键词 川楝素; 苦楝; 川楝; 高速液相色谱

引 言

川楝素是我国科学工作者解放初在研究驱除人体蛔虫药物时从几种楝属植物树皮中分离出的一种三萜类化合物。近年来对这一天然产品在药理及杀虫方面做了深入研究并有了新的发现。赵善欢等^[1]已对川楝素的研究情况作了较全面的综述,阐明并肯定了进一步研究这一植物性物质的重要意义。

在楝属植物中的川楝素含量测定工作中,顾月翠等最早研究出了纸层析分光光度测定法。周继铭、顾月翠等^[2]曾用此法对四川省楝属植物树皮中川楝素含量的差异及不同季节树皮中川楝素含量的动态作了分析比较。但用较先进的分析方法来测定川楝素含

*中心实验室陈振声同志在HPLC分析中给予帮助;南开大学有机元素所尚雅珍教授提供川楝素纯品;四川宜宾制药厂刘志明,贵州化工研究所唐太斌,河南农业大学马淑健,山东农业大学王开运,西北农业大学王兴林,华中农业大学邓望喜等同志协助采集楝树样本,谨致谢忱。

1987年7月13日收稿

量还未见有报道。另外, 楝属植物在我国分布广泛, 地域不同是否可影响川楝素含量; 我国那些地区楝属植物中川楝素含量最高; 楝属植物果实、叶片中川楝素含量如何; 其它楝科植物是否也含有川楝素。对于这些问题的研究可为以后川楝素的生产及应用提供依据。为此, 我们分别从我国楝属植物主要分布区: 山东、河南、陕西、湖北、湖南、浙江、四川、贵州、广东、海南岛等地区共13个点采回了植物样本, 并在华南农业大学昆虫毒理研究室标本园采集了楝科中其它7属9种植物样本, 用高速液相色谱 (HPLC) 初步分析了各样本中川楝素的含量。

材 料 和 方 法

(一) 样本采集

于1986年10~12月间分别从各地采集川楝 (*Melia toosendan* Sieb. et Zucc.)、苦楝 (*Melia azedarach* Linn.) 的树皮 (只取韧皮部)、果实、叶片。在室温条件下风干。由于果实较难风干, 故在烘箱中于60~80°C条件下吹风干燥3~5小时。所有样品经机械粉碎并通过20号筛目。

(二) 样品提取

取粉碎样品10克装于三角瓶内, 加水60~70ml于80°C水浴中浸提20分钟, 过滤, 将残渣再加水重复提取5次。合并滤液于500ml分液漏斗中, 加50毫升石油醚脱脂, 重复3次。脱脂后的水提液用50ml氯仿萃取, 重复5次。合并萃取液, 经过装有无水硫酸钠漏斗过滤并脱水。减压浓缩滤液至干, 用甲醇转入刻度试管, 定容至10ml。所得的树皮提取物经稀释后直接进行HPLC测定。果实、叶片提取物测定前用硅脱, 共胶柱层析纯化; 取提取物5ml于 $\phi 2.0 \times 30$ cm的硅胶柱中, 用氯仿-丙酮(1:5)洗收集洗脱液60ml, 分两个流份, 每份30ml。取第二个流份减压浓缩后定容待测。用标准川楝素测得柱纯化的回收率为76.71%, 以此对样本进行校正。

(三) 川楝素含量测定

用WATERS ALCIGPC 244型高速液相色谱仪对提取物进行测定。川楝素标准样由天津南开大学有机化学元素所提供。HPLC柱型为Zortax C₈, 柱规格为 $\phi 4.6$ mm $\times$ 25cm, 流动相为甲醇-水(65:35), 流速为1ml/min分钟, 柱压为1530~1580 lb./cm², 紫外检测波长217nm。测定时先注射标准样品, 测算出各项参数后输入电脑, 再注射各样本液, 由电脑计算出川楝素含量。

测 定 结 果

树皮中川楝素的含量测定结果表明, 不同地区采集的样本中川楝素的含量差异很大。贵州(沿河)的苦楝树皮含量最高, 达5.160mg/g。其次是陕西(西乡)的苦楝和河南(扶沟)的川楝, 含量分别为4.697mg/g和4.223mg/g。但在河南(郑州)和陕西(武功)采集的苦楝树皮中川楝素含量却最低, 仅为0.485mg/g和0.241mg/g (表1)。可见在不同地区所采的样本中川楝素在川楝树皮中的含量不一定高于在

苦楝树皮中的含量。

不同地区的川楝、苦楝树皮 HPLC 分析图形中除川楝素含量不同外，其它成份也有一定的差异。在所有树皮图谱中，除川楝素峰保留时间基本相同及保留时间2.95处均有一峰外，其它峰形及保留时间则差异较大。值得注意的是在杭州川楝、苦楝树皮HPLC分析图中，在川楝素峰上都有肩峰出现(图1, a、b)。四川的川楝树皮成份也较特别，在保留时间为11.38处有一很强的尖峰(图1,d)。其它地区的样本则没有这些现象，HPLC 图形基本和图1、c相似。

对果实的分析结果表明，川楝、苦楝果中川楝素的含量都较低，苦楝果中仅可测出痕量甚至测不出。杭州采的川楝果较为特别，其川楝素含量在果实样本中最高，且高于其树皮的含量。从总的情况来看，川楝果中有一定的川楝素，其含量高于苦楝果(表1)从表1还可看出，同一地区的样本中，树皮中川楝素含量高的，果实中含量不一定也高，二者之间在川楝素含量方面无明显关系。

另外，HPLC 分析结果表明，川楝、苦楝叶片中在该测定条件下测不出有川楝素存在。

为了判定川楝素在树皮、果实中的分布情况，我们还分别测定了四川(宜宾)的川楝外粗皮(木栓层)，贵州(沿河)的苦楝外粗皮及川楝、苦楝果的外果皮、果肉、果核、果核仁等组织的川楝素含量。HPLC 测定结果表明，四川川楝外粗皮中川楝素含量达0.149mg/g；贵州的苦楝外粗皮中测不出有川楝素存在(该样本树龄较小，外粗皮较薄而嫩，测不出川楝素是否与此有关尚待进一步研究)，苦楝果各组织均测不出有川楝素存在，川楝果除外果皮测不出川楝素外，其果肉、果核、果核仁的川楝素含量分别为1.543，0.178和0.020mg/g。可见，川楝果各组织中，以果肉中川楝素含量最高。

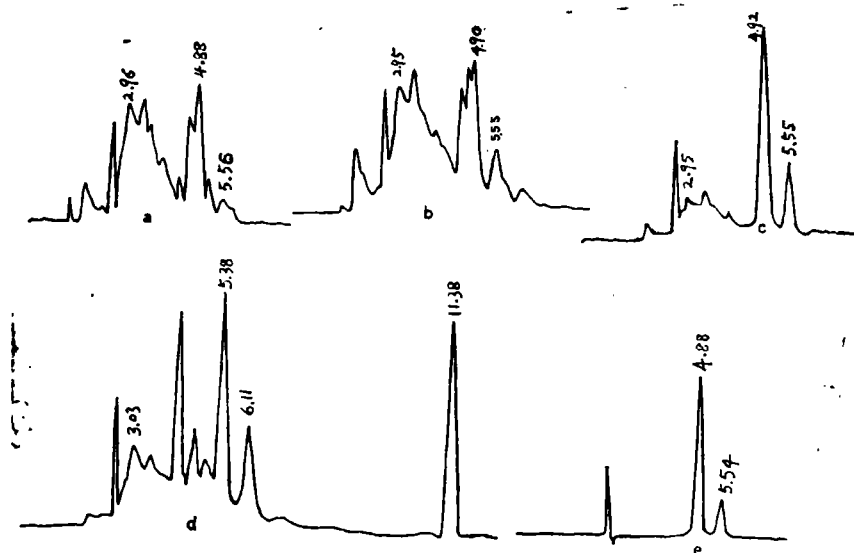
此外，我们从本校昆虫毒理研究室标本园中采集了印楝(*Azadirachta indica*)米仔兰(*Aglaia odorata*)、红果米仔兰(*Aglaia odorata* Lour. var. *Chamdocensis pellegrin*)、山楝(*Aphanamixis polystachya*)、大叶山楝(*Aphanamixis grandifolia*)、香椿(*Toona sinensis*)、非洲楝(*Khaya senegalensis*)、桃花心木

表1 各地区苦楝、川楝树皮、果实样品中川楝素含量HPLC测定结果 广州，1987年8月

树 种	采集地点	川楝素含量 (mg/g)	
		韧 皮	果 实
川楝	河南(扶沟)	4.223	0.071
	四川(宜宾)	3.034	0.255
	广东(乐昌)	0.610	0.027
	浙江(杭州)	0.574 ^a	0.800
	贵州(沿海)	—	0.436
苦楝	贵州(沿海)	5.160	痕 量
	陕西(西乡)	4.697	—
	湖南(源江)	2.455	0.007
	海南岛(万宁)	1.834	0.059
	湖北(武汉)	1.344	痕 量
	广东(乐昌)	1.259	痕 量
	山东(泰安)	1.048	测不出
	河南(郑州)	0.485	痕 量
	浙江(杭州)	0.377 ^a	—
泰国苦楝	陕西(武汉)	0.241	痕 量
	广东(广州)	2.503	—

a从泰国引种的苦楝树苗。b由于有杂质峰干扰结果可能有误差。

(*Swietenia mahagoni*) 毛麻楝 (*Chukrasia tabularis* var. *velutina*) 等楝科其它 7 个属的 9 种植物树皮, 用相同方法进行提取、处理和测定。测定结果表明, 这些非楝属植物中均不含有川楝素。



a. 浙江杭州苦楝, 川楝素峰: 4.88、5.56, 柱压力: 1580 1b/cm²; b. 浙江杭州川楝, 川楝素峰: 4.90、5.55, 柱压力: 1580 1b/cm²; c. 河南郑州川楝, 川楝素峰: 4.92、5.55, 柱压力: 1580 1b/cm²; d. 四川宜宾川楝, 川楝素峰: 5.38、6.11, 柱压力: 1530 1b/cm²; e. 川楝素标准样, 川楝素峰: 4.88、5.54, 柱压力: 1580 1b/cm²。

图 1 几个楝属植物树皮样本 HPLC 色谱图

讨 论

本试验由于涉及的地域广, 样本数量多, 在采集时间、取样标准性等方面难以求得一致, 果实经过 60~80°C 烘烤及在提取、纯化过程中的损失和误差等因素均可能会影响到测定结果的准确性。另外, 我们根据侯宽昭等^[4]及陈锡沐^[1]的分类方法将各地所采样本以果实子房数分为苦楝、川楝两个种进行测定, 至于是否存在着种的变异及其它分类学上的问题则另当别论。所以, 该测定结果是在这些特定情况下应用我们所摸索出的 HPLC 测定条件所分析出的川楝素相对含量数据, 仅供参考。

川楝素只存在于楝属植物中。本试验共测定了楝科 8 个属中 11 种植物, 发现只有楝属植物中含有川楝素。楝属的两种植物中的川楝素富集于树皮韧皮部, 叶片中检测不出有川楝素存在, 而在其果实中可测到一定量川楝素, 且集中含于果肉中。

川楝外粗皮中也含有一定量的川楝素, 可是在以往川楝素生产中是弃之不用的。因此, 在今后的川楝素生产中应予以考虑。但尚需进一步研究各地区、各树龄的树皮外粗皮中川楝素含量。

不同地区的楝属植物样本中川楝素含量差异很大。川楝韧皮样本中川楝素含量高的可达4.223mg/g,低的为0.574mg/g,相差7.4倍。苦楝韧皮样本中最高的可达5.160mg/g,低的仅有0.241mg/g相差达21倍之多。这种含量上的差异,除了取样,分析等因素外,可能与其生长区的地理环境、土壤和气候条件等生态因素有关。川楝素含量较高的地区,如贵州、四川、陕西(西乡)等地均为山区或川丘地带,气候相对较潮湿、冷凉,因此,在楝属植物的培育、栽培布局中应予以考虑,但是否与此密切相关,仍需进一步研究。

不同地区样本除川楝素含量差异外,其它化学成份的含量也有不同。在HPLC测试中发现,不同地区的同一种样本,尽管在抽提等方面尽量要求一致,但HPLC峰形上均表现出很大差异。特别是杭州的苦楝和川楝的韧皮样本在川楝素峰左右所出现的肩峰,及四川川楝韧皮样本迟迟出现的强峰与其它样本截然不同。峰形上的不同说明了在化学成份含量的差异,这种现象在对楝属植物物质的药理、毒理及生物活性的研究中应予以注意。但这些各自所含的特殊化合物是何种物质,在生物活性上有何作用,它们的出现与地域生态型的关系等问题尚需深入探讨。

引用文献

- 〔1〕陈锡沐。武汉植物学研究, 1986; 4 (2): 167—194
- 〔2〕周继铭, 顾月翠等。药学通报, 1981; 16 (6): 10—12
- 〔8〕赵善欢, 张兴。华南农业大学学报, 1987; 8 (2): 57—67
- 〔4〕侯宽昭, 陈德昭。植物分类学报, 1955; 4 (1): 1—49

CONTENTS OF TOSENDANIN IN PLANTS OF *MELIA*

GENUS FROM DIFFERENT PARTS OF CHINA

Zhang Minji Zhang Xing Chiu Shin-Foon

(Laboratory of Insect Toxicology)

ABSTRACT

The contents of toosendanin in plant of the *Melia* genus collected in different parts of China was analysed by means of HPLC. The samples of barks, fruits and leaves of *Melia azedarach* and *M. toosendan* were from Shandong, Shaanxi, Hubei, Hunan, Guangdong, Sichuan, Henan, Zhejiang, and Guizhou Provinces. The collected samples were air dried. Water was used for extraction. The extracts, after removal of the fat with petroleum ether, were partitionated in chloroform. The chloroform portion of fruit and leaf extracts were further purified by column chromatography. The chloroform or purified chloroform portions were then analysed by HPLC. Results showed that the content of toosendanin in *M. azedarach* or in *M. toosendan* varies with different region of origin. The bark of *M. azedarach* growing in Yanhe, Guizhou Province, Xixiang, Shaanxi Province and that of *M. toosendan* growing in Fugou, Henan Province were found to contain the highest amount of toosendanin among the tested samples (5.160, 4.679 and 4.223mg/g, respectively). Results of HPLC analyses also showed, the constituents of the bark of the plants growing in different regions vary greatly. Much less toosendanin was found in the fruits than in the bark of *M. azedarach* and *M. toosendan* with the exception of *M. toosendan* fruits collected in Hangzhou, Zhejiang Province, which had higher content of toosendanin than that in the bark (0.800 and 0.574 mg/g, respectively). No toosendanin was found in the leaves of these two plant species and the samples of other nine Meliaceae plants other than *Melia* genus.

Key words: Toosendanin; *Melia azedarach* Linn; *Melia toosendan* Sieb. et Zucc; HPLC