

3 讨论

调查发现黄连群体中存在广泛的性状变异, 划分了 6 种变异类型, 应用方差分析的方法, 将环境变异与遗传变异区分开, 从整体上判断各变异类型间是否有显著差异, 并估算出各性状下的遗传变异方差 σ^2 及遗传变异系数 $GCV\%$ 。从单株叶数、叶长、叶芽数及中裂叶大小上研究了类型间变异, 表明变异类型间有较大的遗传变异度, 上述性状主要为可遗传变异, 从整体上说明在变异类型间进行选择是有效的, 可行的。黄连群体的性状变异的研究不多, 特别是针对性状遗传方式的研究, 更是少见, 黄连群体性状变异的深入研究, 应将各变异类型自交、杂交后代的性状分析与 DNA 分子标记方法结合运用^[6], 以探明各性状的遗传方式及遗传物质的真实

差异; 同时结合变异类型与黄连产量、药效成分含量等性状的相关分析, 以找出产量高、药用品质好的类型, 淘汰产量低、品质低的类型, 以达到改良群体, 提高利用价值的目的。

参考文献:

[1] 曾庆楣. 黄连人工栽培[M]. 武汉: 湖北科学技术出版社, 1993.
[2] 濮社班, 许翔鸿, 张宇和, 等. 黄连生长状况及生物碱含量的个体差异[J]. 中草药, 1999, 30(5): 375-377.
[3] 张丽萍, 杨世林, 杨春清, 等. 我国药材种子种苗产业存在的问题及其对策[J]. 中国中药杂志, 1999, (10): 579-581.
[4] 高之仁. 数量遗传学[M]. 成都: 四川大学出版社, 1996.
[5] 马育华. 植物育种的数量遗传学基础[M]. 南京: 江苏科学技术出版社, 1982.
[6] 郭宝林, 李家实, 阎玉凝. 中药材 DNA 分子标记研究的技术问题[J]. 中草药, 2000, 31(12): 951-954.

六味地黄超微细粉体显微特征观察

宋丽丽, 李 勉, 范丙义, 蒋士忠*

(河南大学药学院, 河南 开封 475001)

摘要: 目的 对中药复方六味地黄超微细粉体组织特征进行观察研究。方法 用对撞式气流粉碎机对六味地黄方剂药材进行细胞级超微粉碎; 对照常规粉碎细粉, 用显微观察法对其组织特征进行观察。结果 六味地黄方剂经超微粉碎后, 显微镜下观察基本无完整细胞存在。结论 中药复方经超微粉碎可使细胞破壁, 使其细胞内的各类有效成分充分暴露, 迅速释放。

关键词: 六味地黄; 超微粉碎; 细胞破壁; 显微特征

中图分类号: R 282. 710. 3 文献标识码: A 文章编号: 0253 - 2670(2002)06 - 0560 - 02

Microscopic characteristics of Liuwei Dihuang ultra micro pulverization

Song Li-li, Li Mian, Fan Bing-yi, Jiang Shi-zhong

(Pharmaceutical College of Henan University, Kaifeng Henan 475001, China)

Key words: Liuwei Dihuang; ultra micro-pulvexization; broken wall of cell; microscopic characteristics

超微粉碎是近年来迅速发展起来的一项高新技术, 是以植物类药材细胞破壁为目的的粉碎作业。细胞经破壁后, 胞内有效成分可充分暴露出来, 从而提高药物的释放速度和释放量。该技术在中药生产中已显露出特有的优势^[1, 2]。

六味地黄方剂出自宋代钱乙《小儿证药直诀》, 是临床应用广泛的滋阴补肾的代表方剂, 由熟地黄、

山茱萸、山药、丹皮、茯苓、泽泻六味药材组成。本文对该方剂六味药材进行了混合超微粉碎, 并对照常规粉碎细粉, 进行了粉体的显微特征观察^[3]。

1 仪器与材料

JGM-T50 型对撞式气流粉碎机 (华东理工大学气流粉碎分级技术装备中心)。XSZ-CTV 型彩色电视生物显微镜 (北京泰克仪器有限公司)。XS-200

* 收稿日期: 2001-12-03
作者简介: 宋丽丽 (1953-), 女, 河南鲁山县人, 在职硕士研究生, 高级工程师, 研究方向为中药研究与开发。Tel: (0378) 5660610 13903789260; E-mail: song0378@fm365.com
* 华东理工大学气流粉碎分级技术装备中心

双目摄影生物显微镜 [江南光电 (集团) 股份有限公司]、S-250 扫描电子显微镜 (英国剑桥)。

水合氯醛透化液、稀甘油固定液按《中华人民共和国药典》规定配制。药材分别从亳州、禹州药材市场购得,经本院生药研究室鉴定为玄参科熟地黄 *Rehmannia glutinosa* (Gaerth.) Libosch ex Fisch. et Mey.、山茱萸科山茱萸 *Cornus officinalis* Sieb. et Zucc.、薯蓣科山药 *Dioscorea opposita* Thunb.、毛茛科牡丹皮 *Paeonia suffruticosa* Andr.、多孔菌科茯苓 *Poria cocos* (Schw.) Wolf 和泽泻科泽泻 *Alism orientae* (Sam.) Juzep.。

2 实验方法

2.1 粉体制备

2.1.1 混合细粉制备:按处方规定比例,取熟地黄、山药、山茱萸、泽泻、茯苓、牡丹皮净药材共 5 kg,常规粉碎,过 100 目筛,得混合细粉 (以下简称细粉)。

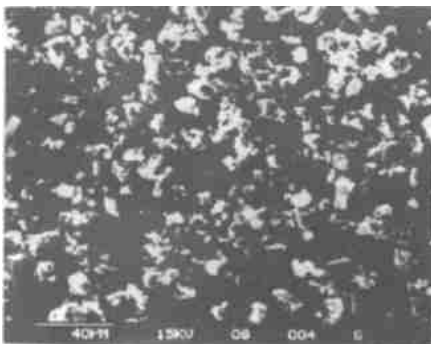
2.1.2 超微细粉体制备:取上述细粉 3 kg,置对撞式气流粉碎机中粉碎,得六味地黄超微细粉 (以下简称超微粉)。选择工艺条件为:耗气量 $0.9 \text{ m}^3/\text{min}$,压力 0.7 MPa;粒径 $D_{50} 10 \mu\text{m}$ $30 D_{max} 30 \mu\text{m}$ 无规则超细颗粒。

2.2 粉末形貌观察:分别取细粉和超微粉适量,置于扫描电镜载物板上,电镜观察。

2.3 粉体的显微特征观察:分别挑取细粉和超微粉少许,置载玻片上,蒸馏水湿润,水合氯醛液透化装片,稀甘油固定后置显微镜下,显微观察、摄影、测量、描绘。细粉观察目镜 $\times 10$,物镜 $\times 10$,超微粉观察目镜 $\times 10$,物镜 $\times 40$ 。

3 实验结果

3.1 扫描电镜观察显示,超微粉颗粒均匀,无原药材形貌特征 (图 1)。

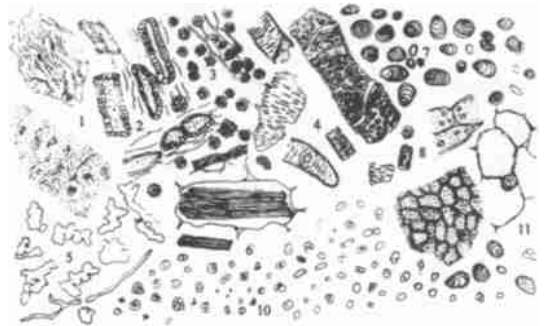


1 六味地黄超微粉体的扫描电子显微照片

3.2 显微观察^[4]发现,两种粉体的显微特征有很大区别:细粉可见淀粉粒三角状卵形或矩圆形,直径

24 ~ 40 μm ,脐点短缝状或人字状,草酸钙针晶束存在于薄壁细胞内或散在 (山药);不规则分枝状团块无色,遇水合氯醛溶化,菌丝无色,直径 4 ~ 6 μm (茯苓);薄壁组织灰棕色至黑棕色,细胞多皱缩,内含棕色核状物 (熟地);草酸钙簇晶存在于薄壁细胞中,有时数个排列成行 (丹皮);果皮表皮细胞橙黄色,表面观类多角形,垂周壁略连珠状增厚 (山茱萸);薄壁细胞类圆形,有椭圆形纹孔集成纹孔群 (泽泻)。(取上述细粉研磨,过 200 目筛,得极细粉。取极细粉显微观察,结果相同) (图 2)。

超微粉已无完整组织细胞,淡黄色、棕黄色、棕色小颗粒不规则,充满视野,直径 7 ~ 15 μm ;浅灰色、无色小颗粒不规则,直径 7 ~ 15 μm ;偶见石细胞,纤维和导管碎片,直径最大为 50 μm ;可见草酸钙针晶体 (图 3)。



1-薄壁组织碎片 (地黄) 2-石细胞 (山茱萸) 3-草酸钙簇晶 (山茱萸、牡丹皮) 4-网纹、具缘纹、螺旋导管 (地黄、泽泻、山茱萸) 5-菌丝团块 (茯苓) 6-草酸钙针晶束 (山药) 7-淀粉粒 (山药) 8-草酸钙方晶 (地黄) 9-表皮细胞 (山茱萸表面观) 10-淀粉粒 (牡丹皮、泽泻) 11-中柱薄壁组织碎片 (泽泻)

图 2 六味地黄细粉显微观察图



1-淀粉粒 (偶见) 2-草酸钙针晶碎片 (偶见) 3-导管碎片 (偶见) 4-石细胞 (偶见) 5-纤维碎片 (偶见) 6-小颗粒 (充满视野)

图 3 超微粉显微观察图

3.3 细粉与超微粉显微特征主要区别:见表 1。

4 讨论

本文依据中药方剂合煎的原理,对六味地黄复方进行混合粉碎加工。由观察结果可知,超微细粉体中基本无细胞形式存在,说明其组织中各类细胞均被破壁,此时细胞内的各类成分应呈释放状态,其中

(下转第 568 页)

轴浆流的阻滞,又可造成视网膜等处的缺血,灯盏细辛可以使高眼压状态下的 RGCs 形态及密度均得到较好地保存^[19]。上述实验性高眼压模型,经用灯盏细辛注射液治疗 20 d,轴浆运输可以部分恢复,40 d 后恢复明显,表现为被标记的 RGCs 数明显增多,灯盏细辛可能使某些濒临死亡的 RGCs 轴索恢复轴浆运输,从脑内靶细胞传出的神经营养信号或靶组织分泌的神经营养因子能顺利到达 RGCs 胞体,从而避免了部分 RGCs 的死亡。灯盏细辛对 RGCs 或视神经的保护作用是通过多种途径实现的^[20]。

3.6 对肝脏的作用:灯盏花注射液不但能减轻四氯化碳对大鼠肝脏的炎症反应、减轻转氨酶代谢异常及蛋白代谢的异常程度,还减轻了四氯化碳所致大鼠肝脏纤维化的进展程度,明显地抑制了大鼠血清和肝组织匀浆中透明质酸和层粘蛋白的含量^[21]。

4 小结

目前,对于灯盏花的化学组成已经有了比较全面的研究,但其药理作用的研究还不够完善,特别是在细胞水平和分子水平上对其作用机制的研究尚待进一步深入,灯盏花在动物及人体的药代动力学研究几乎为空白,灯盏花新剂型的研究也有待加强。

参考文献:

[1] 张德成,金吉琴,刘星楷,等.灯盏花化学成分的研究.一个新黄酮葡萄糖醛甲酸酯苷的分离和鉴定[J].中草药,1985,16(9):24.

[2] 胡昌奇,张德成,华云,等.灯盏花化学成分的研究[J].中草药,1985,16(10):12.

[3] 岳建民,赵勤实,林中文,等.灯盏细辛中酚类化合物的研究[J].植物学报,2000,42(3):311-315.

[4] 张卫东,陈万生,王永红,等.灯盏花黄酮苷化学成分的研究[J].中草药,2000,31(8):565-566.

[5] 张卫东,陈万生,孔德云,等.灯盏细辛化学成分的研究[J].中国药学杂志,2000,35(8):514-516.

[6] 林泳月,李文光.灯盏花素及其制剂中的含量测定[J].中成药研究,1985,5:10

[7] 李守拙,李沈明,范书铎,等.黄芩茎中野黄芩苷含量测定[J].中草药,2000,31(12):910.

[8] 曲峻,王义明,罗国安,等.LC/MS/MS 的多反应监测方法定量测定灯盏乙素[J].药学报,2000,35(2):139-141.

[9] 帅杰,董为伟.PKC 抑制剂灯盏花素对缺血/再灌注脑损害的作用研究[J].中国药理学通报,1998,14(1):75-77.

[10] 陈小夏,何冰,杜淇璋,等.灯盏花素对缺血再灌注大鼠脑组织 ATPase 活性的保护作用[J].中药新药与临床药理,1998,9(4):214-216.

[11] 李浩,陈宇春.云南灯盏花注射液治疗脑梗塞的临床研究[J].中药新药与临床药理,1998,9(3):141-143.

[12] 盛净,徐济民,杨菊贤,等.灯盏细辛对犬急性心肌缺血时血小板聚集功能、TxB2 和 6-酮-PGF1α 的影响[J].中华心血管杂志,1995,23(1):53-55.

[13] 盛净,赵佩琪,许允隼,等.灯盏细辛干预血小板、凝血功能对急性冠状动脉血栓形成后溶栓的影响[J].中华心血管杂志,1999,27(2):115-117.

[14] 黄震华,徐济了,乐忠庆,等.灯盏花注射液对家兔血液粘度的影响[J].中成药研究,1987,11:25.

[15] 马春蓉.灯盏花注射液治疗高粘滞综合征 51 例疗效观察[J].川北医学院学报,1999,14(1):70.

[16] 陈一岳,王胜涛,曾文珊,等.灯盏花素对大鼠主动脉肌环的松弛作用[J].中药新药与临床药理,1994,5(2):15-19.

[17] 王丽娜,程嘉伦.灯盏花素注射液治疗冠心病 30 例疗效观察[J].现代中西医结合杂志,1999,8(7):1072.

[18] 贾莉君,刘忠浩,罗学港,等.青光康注射液对急性实验性高眼压大鼠视网膜节细胞代谢的作用[J].中华眼科杂志,1995,13(2):129-132.

[19] 朱益华,蒋幼芹,刘忠浩,等.灯盏细辛对高血压鼠视网膜神经节细胞超微结构的影响[J].湖南中医杂志,2000,16(3):71-72.

[20] 朱益华,蒋幼芹,刘忠浩,等.灯盏细辛注射液对鼠实验性高眼压视神经轴浆运输的影响[J].中华眼科杂志,2000,36(4):289-291.

[21] 李文凡,白娟,王立荣,等.灯盏花对实验性肝纤维化大鼠血清和肝匀浆中透明质酸和层粘蛋白含量的影响[J].兰州医学院学报,1999,25(6):28-30.

(上接第 561 页)

表 1 细粉与超微粉显微特征比较表

显微特征	细粉	超微细粉体
薄壁组织碎片(地黄)	数十个排列	未见
果皮表皮细胞(山茱萸)	多见	未见
薄壁细胞及草酸钙结晶(山茱萸)	多见	未见
石细胞群(山茱萸)	多见	偶见单细胞
网纹具缘纹导管(山药)	多见,直径 30~90 μm	偶见碎片
草酸钙针晶束(山药)	多见,成束长 80~240 μm	偶见碎片
草酸钙簇晶(牡丹皮)	多见,排列成行	未见
薄壁细胞(泽泻)	类圆形,有椭圆形纹孔集成纹孔群	未见
菌丝、团块(茯苓)	多见	未见

的水不溶性大分子有效成分,极有可能在混合粉碎的过程中通过药材中某些物质的作用,增加同水的亲和力,从而简化提取或机体吸收过程。粉体物理特性的改变对有效成分溶出特性的影响及其药动学和药效学的影响,我们将进行深入地研究和探讨。

参考文献:

[1] 王爱武,吕文海,耿晖.超微粉碎在中药生产中应用概况及展望[J].时珍国医国药,2000,11(7):669.

[2] 何煜,郭琪,杜晓敏.中药细胞级微粉碎对体内吸收的影响[J].中成药,1999,21(11):601-602.

[3] 宋丽丽,郭淑丽,李勉.蒲公英超微粉体显微特征观察[J].河南大学学报(医学科学版),2001(1):31-33.

[4] 中国药典[S].2000年版.一部.