

绞股蓝原植物及愈伤组织总皂甙动态分析

江西中医学院(南昌 330006) 罗光明* 唐福圃 刘贤旺 徐志杰

摘要 采用比色法和TLC法对江西省几个具有代表性分布的绞股蓝及所诱导的愈伤组织进行了总皂甙分析。结果表明:原植物中总皂甙的质与量因产地、生育期、器官的不同有较大差异;绞股蓝愈伤组织总皂甙的质与量也因无性系的来源不同有所差异,为绞股蓝药材的生产、收购提供了依据。

关键词 绞股蓝 总皂甙 动态分析

绞股蓝 *Gynostemma pentaphyllum* (Thunb.) Mak. 系葫芦科植物,药理和临床显示其有抗溃疡,抗糖皮质激素副作用,抗肿瘤、抗衰老、抗脂质代谢,促进细胞代谢,提高免疫力等广泛作用^[1]。近年来,绞股蓝的保健、治疗产品日渐增多^[2]。本文采用比色法和TLC法对江西省几个具代表性分布的绞股蓝及由其所诱导的愈伤组织中总皂甙进行了分析,以期为生产厂家生产、收购绞股蓝药材提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 原植物:绞股蓝采自地区及代号:GP1:武功山(野生种)、GP2:201甘型日本引进种(栽培种)、GP3:宁冈(野生种)、GP5:南城(野生种)、GP6:分宜(野生种)、GP7:井冈山(野生种)、GP9:九连山(野生种)、GP8:乐安万崇林场(野生种)。

1.2 仪器:岛津UV-260紫外/可见分光光度计日本岛津公司

1.3 试剂:人参皂甙R₆₁对照品购自中国药品生物制品检定所。

1.4 方法:①绞股蓝总皂甙含量测定采用比色法^[3]。

②绞股蓝总皂甙TLC定性分析:吸附剂:硅胶G-0.5%CMC-Na(1:3)。展开剂: I: CHCl₃-EtOA-EtOH-H₂O(80:160:80:23); II: CHCl₃-MeOH-H₂O(30:10:2) F层。显色剂:10%硫酸乙醇液于105℃加热10min显色。

③绞股蓝愈伤组织诱导参照文献^[4],培养基为: N₆+2, 4-D 5mg/L(F同)+6-BA1+KT0.5,继代培养培养基为: N₆+NAA2.5+6-BA0.5+Ade2.5+Gln10。

2 结果和讨论

2.1 绞股蓝原植物及愈伤组织总皂甙TLC比较:结果表明:不同产地的绞股蓝原植物中皂甙所显示的斑点有比较明显的差异。同一产地的绞股蓝器官不同所显示的斑点也有些差异。绞股蓝愈伤组织与原植物总皂甙TLC的R_f值及斑点面积有一些差异,而且经组织培养所产生的愈伤组织出现了一些原植物中所没有的斑点(图1、2)。

2.2 同一产地生育期不同的绞股蓝原植物总皂甙含量变化:由于绞股蓝栽培种与野生品种生长习性上有些差异,因此我们选用了一栽培种(GP2)和一野生种(GP6)比较其各生育期总皂甙含量,结果见表1、2。均表明盛叶期的总皂甙含量明显高于其它各期,故绞股蓝的最适采收期应以盛叶期为好。

2.3 不同产地不同器官绞股蓝总皂甙含量变化:通过对江西省几个具代表性地区所分布的绞股蓝原植物总皂甙含量分析(表3),发现武功山和宁冈产的绞股蓝总皂甙含量较高,其含量接近甚至高于201甘型日本引进种,因此,这两产地的绞股蓝具有开发价值。结果表明,即使同种植物,产地有差异,则其次生代谢产物的含量有明显差异。因此,在生产上应注意

*Address: Luo Guangming, Jiangxi College of TCM, Nanchang

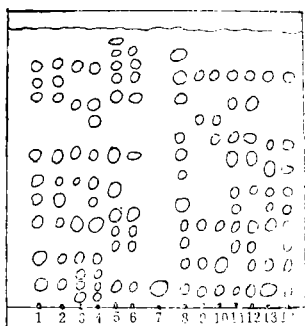


图1 不同产地原植物总皂甙TLC

(展开剂: I)

1-GP6S 2-GP6L 3-GP2S 4-GP2L
5-GP9S 6-PG9L 7-人参皂甙Rb1
8-GP7F 9-GP7S 10-GP7L 11-GP1S
12-GP1L 13-GP8L 14-GP8S (L-叶
S-茎 F-果实)

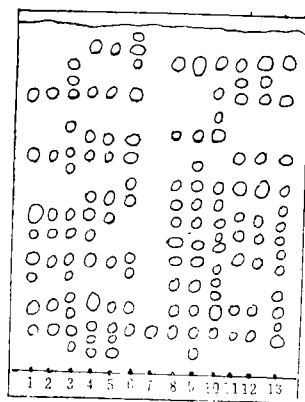


图2 绞股蓝原植物与培养物总皂甙TLC比较

(展开剂: II)

1-GP8S 2-GP8L 3-GP8C 4-GP2L
5-GP2S 6-GP2C 7-人参皂甙Rb1
8-GP3L 9-G P3S 10-GP3C
11-GP6L 12-GP6S 13-GP6C (L-叶
S-茎 C-愈伤组织)

这一“化学品系”问题。值得注意的是:通过对南城产绞股蓝原植物的总皂甙分析,表明其中不含有绞股蓝总皂甙。

表1 GP2不同生育期总皂甙含量变化 ($\bar{x} \pm SD$)

生育期	苗 期		盛叶期		衰老期	
器官	叶	茎	叶	茎	叶	茎
含量(%)	3.32 ± 0.08	1.54 ± 0.10	7.74 ± 0.14	3.57 ± 0.11	3.17 ± 0.16	1.13 ± 0.02

表2 GP6不同生育期总皂甙含量变化 ($\bar{x} \pm SD$)

生育期	苗 期		盛叶期		花 期		果 期	
器 官	叶	茎	叶	茎	叶	茎	叶	茎
含量(%)	1.94 ± 0.15	1.64 ± 0.11	2.71 ± 0.04	2.35 ± 0.03	2.10 ± 0.04	1.61 ± 0.03	1.93 ± 0.08	1.11 ± 0.03

表3 不同产地不同器官绞股蓝总皂甙含量变化 ($\bar{x} \pm SD$)

产地	新 建 (GP2)	武功山 (GP1)	九连山 (GP9)	分 宜 (GP6)	宁 冈 (GP3)	乐安万崇 (GP8)	南 城 (GP5)	井冈山 (GP7)
采收日期	1990-09	1990-09	1990-09	1990-09	1990-09	1990-10	1990-10	1990-11
含量 叶	7.74 ± 0.14	7.82 ± 0.12	4.83 ± 0.17	2.71 ± 0.04	7.54 ± 0.10	1.10 ± 0.08	0	1.32 ± 0.01
(%) 茎	3.57 ± 0.11	5.14 ± 0.19	3.47 ± 0.28	2.35 ± 0.03	5.01 ± 0.08	0.08 ± 0.02		1.28 ± 0.02
果实								2.42 ± 0.03

2.4 绞股蓝不同无性系愈伤组织的总皂甙含量变化:将不同无性系绞股蓝原植物茎诱导产生愈伤组织,经7~8代继代适应培养,分别测定其总皂甙含量(见表4),可见不同产地的绞股蓝均具有合成总皂甙类代谢产物的能力,只是在程度上有所差别。同一产地不同株系绞股蓝愈伤组织,其合成皂甙能力也有差别。原植株合成皂甙能力强的愈伤组织,仍有较高含量的总皂甙。但总皂甙含量也因愈伤组织生长状态而有差别,生长旺盛、质地疏松的愈伤组织其总皂甙含量一般低于生长缓慢、质地坚密的愈伤组织。若以愈伤组织总皂甙生产量作为

评价指标,则两者相差不大。十分有趣的是:经原植物茎诱导产生的愈伤组织,其总皂甙的含量大多高于原植物茎的皂甙含量,但均低于原植物叶的含量,说明绞股蓝各器官均有合成皂甙的能力,只是由于分配上的差异,从而造成了原植物不同器官皂甙含量上的差异。

表4 不同产地、不同无性系统绞股蓝愈伤组织生长量和皂甙含量

无性系	GP2-A	GP2-B	GP3-A	GP3-B	GP3-C	GP8-A	GP8-B	GP8-C	GP6
鲜重增长 速率(g/L·d)	2.5697	1.4193	5.5886	15.2467	14.3029	2.9439	2.6111	3.1656	2.0604
皂甙含量 (DW%)	3.27	1.79	1.36	0.76	0.88	1.52	1.80	1.83	1.69
皂甙产量 (mg/L)	147.1353	99.3385	77.4631	146.5355	168.4496	130.2789	131.4031	157.2485	82.4823

3 小结

- 3.1 绞股蓝原植物总皂甙的质量和数量因产地、生育期和器官的不同有所差异。
- 3.2 绞股蓝原植物的最适采收时期为盛叶期,此期总皂甙含量最高。
- 3.3 不同产地的绞股蓝中所含总皂甙的量有较大差异,有的品种甚至根本不含有总皂甙,该种是否存在“化学宗”,有待进一步研究。
- 3.4 通过诱导和培养所获得的绞股蓝愈伤组织,均具有母本所具有的合成总皂甙的能力,只是在程度上有所差异。

致谢:药材品种经本院徐志杰副教授鉴定;汪国宝老师协助含量测定。

参 考 文 献

1 周和平.药学通报,1988,23(12):72

2 丁树刊,等.国外医药·植物药分册,1991.6(3):99

3 何心范.中草药,1987,18(10):15

4 罗光明,等.中药材,1993,16(7):5

(1993-06-22收稿)

(上接第245页)

取5次,每次30ml,合并氯仿层,水浴蒸干,残留物用氯仿溶解,定容于10ml容量瓶中,并用氯仿稀释至刻度,作为供试品溶液。在薄层板上点样4μl和对照液2μl,展开,显色,扫描测定,以外标一点法定量,见表。

7 加样回收实验

取内容物0.8g,精密称定,准确加入一定量的粉防己碱对照品,按样品测定法测定计算结果,平均回收率99.98%,CV=1.89%(n=6)。

8 结果

8.1 本法测定止痛软胶囊中粉防己碱含量,结果稳定,操作方便,准确,重现性好,加样回收率为99.98%,CV=1.89%(n=6)。

8.2 薄层板展开后放置的时间和显色剂的用量均影响测出的面积积分值,经试验认为薄层板展开后放置约10min即显色,显色剂以喷湿润为宜,上覆盖一块同样大小的玻璃板,周围用胶布封好。

(1993-03-09收稿)

Effects of Compatibility Between Ginseng (*Panax ginseng*) and Trogopteris Dung of Complextoothed Flying Squirrel (*Trogopteris xanthipes*) Decoction On Immune Functions in Immunosuppressed Mice

Guo Guohua, Lu Yaohang, Jiang Maoheng, et al

Immunosuppression in mice was induced by intraperitoneal injection of cyclophosphamide 40mg/kg for 3 days. After administration of a decoction of *Panax ginseng* (5g/kg) or Trogopteris dung (5g/kg), alone or 1:1 mixture of the above two drugs at doses of 5g/kg and 10g/kg for 7 days, resulted in an increase of thymus gland weight ($P < 0.01$), promotion of hemolysin antibody formation ($P < 0.01$), and improvement of phagocytosis of macrophages ($P < 0.01$). These results illustrated compatibility between *Panax ginseng* and Trogopteris dung and without influences on immune-increasing action in mice as compared with each single drug.

(Original article on page 253)

A Comparative Study on the Morphology and Histology of Huangjing and Yuzhu

Lin Lin and Lin Shouquan

A systematic comparative study on the morphology and histology of the rhizomes of *polygonatum* including "Huangjing" and "Yuzhu" currently available on the Chinese market were presented. The differences between this two types of herbal medicines were given.

(Original article on page 261)

Dynamic Analysis of Crude Saponins in Crude Drugs and Callus of Fiveleaf Gynostemma (*Gynostemma pentaphyllum*)

Luo Guangming, Tang Fupu, Liu Xianwang, et al

Total saponins in crude drug and induced callus of *Gynostemma pentaphyllum* (Thunb.) Mak. grown in Jiangxi Province were analysed by spectrophotometry and TLC. Results showed that the quality and quantity of saponins in crude drugs varied considerably with culture area, the life cycle and their organs. The quality and quantity of saponins in callus also varied due to source of clone. It provided some evidence for the production and harvest of *G. pentaphyllum*.

(Original article on page 266)

(上接第252页)

- 3 Rowland C F. Cancer Res, 1969, 29 (1): 391
- 4 Schjeide O A. Anal Biochem, 1969, 27 (3): 473
- 5 Burton K A. Biochem J, 1956, 62: 315
- 6 Lowry O H, et al. J Biochem, 1951, 193: 263
- 7 匡培根, 等. 中国人民解放军军医进修学院报,

- 1982, 3 (2): 181
- 8 Neuringer M. Nutr Res, 1986, 44: 285
- 9 Nobuhiro Yamamoto, et al. J Lipid Res, 1987, 28: 144
- 10 Watanabe I, et al. A Biosciences, 1987, 62: 563

(1993-05-12收稿)