

表 8 不同培养基激素浓度对根形成的影响
Table 8 Effect of culture media in different hormone concentration on root forming

培养基	接种数 株	生根数 株	株平均根 数 条	生根率 %	平均根长 /cm
(7)	30	30	3.17	98	3.88
(8)	30	30	2.94	100	4.86
(9)	30	30	3.68	100	3.28
(10)	30	30	3.49	100	3.86
(11)	30	30	3.43	100	4.09
(12)	30	30	2.88	100	5.06
(13)	30	29	2.23	97	4.18
(14)	30	30	2.30	100	5.25
(15)	30	30	3.55	100	2.85
(16)	30	26	2.17	90	3.06

一次杀菌剂和营养液,一个月后小苗则长出白色新根,然后控制水分,每 10~ 15天左右喷水一次,增加晒光时间,20~ 30 d后可直接大田定植,成活率基本能达到 83%。

3.2.4 脱毒苗快繁技术体系:在温度 25~ 28℃,光照 2 000~ 3 000 lx培养条件下,丹参根段或茎尖诱导不定芽培最佳培养基为 1/3 MS+ BA 1.0 mg/L+ IBA 0.02 mg/L+ 蔗糖 30 g/L, pH 5.8;丛生芽分化最适宜培养基为 MS+ BA 1.5 mg/L+ IBA 0.2 mg/L+ 蔗糖 30 g/L, pH 5.8;生根最适宜培养基为 1/2 MS+ IAA 1.0 mg/L+ 蔗糖 20 g/L, pH 5.8

芽体在分化培养基上 25~ 30 d继代一次,芽增殖系数基本保持在 8.0以上,瓶苗接种到生根培养基上一般 20 d即可全部生根,30 d开始练苗。练苗温度 20~ 30℃,湿度 90%以上,蛭石基质炼苗 30 d左右,控制水分,使根老化。炼苗期间真菌感染,是造

成组培苗大量死亡的重要原因,必须做到基质经 0.1% 高锰酸钾彻底消毒,洗净苗根部的培养基,每 3~ 5天喷施多菌灵、甲基托布津等杀菌剂一次。按上述优化的分化、生根培养基配方和培养条件,可进行丹参无毒苗工厂化规模繁育。

4 讨论

4.1 丹参不同种质类型在耐热性方面有较大差异,狭叶丹参> 大叶丹参> 皱叶丹参> 圆叶丹参,脱病毒率与耐热性成反比,圆叶丹参在热处理后两周植株基本死亡,未获得脱病毒植株,需进行变温或其他方法脱除病毒研究

4.2 丹参不定芽诱导同时,对丹参根茎进行了愈伤诱导,获得了大量愈伤组织,经愈伤调控和多次继代,获得了泥状、颗粒状、菜花状、棕红色等多种不同状态类型的丹参愈伤组织,部分类型愈伤容易再生出小植株,这一特性有利于愈伤法脱病毒或培育新品系等研究

4.3 脱毒丹参苗大田栽植后,前期生长缓慢,栽植半年后观察,与根茎栽植苗比较脱毒苗根系均匀、分枝增多、商品根多,需进一步研究其生长势、产量、药用成分含量等

References

[1] Peng S H, Yuan L M, Han M L. Survey of pharmacological study of *Radix Salviae Miltiorrhizae* [J]. *J Chin Med Mater* (中药材), 2000, 24(9): 690.
[2] Teng Y F. Advance in study on medicine resource of *Radix Salviae Miltiorrhizae* [J]. *Res Chin Wild Plant* (中国野生资源), 2001 (2): 1.
[3] Ding Y J, Wu Z M, Xie X L, et al. Identification of Danshen virus diseases from Danshen in Chin [J]. *China Tradit Herb Drugs* (中草药), 2003, 34(12): 1136-1139.

HPLC法测定山茱萸中球松素的含量

潘永峰¹, 卢玉斌², 张继敏², 肖万宏², 郭芙蓉^{2*}

(1. 河南省信阳市药品检验所, 河南 信阳 464000; 2. 河南羚锐制药股份有限公司, 河南 新县 465550)

樟科 (Lauraceae)山胡椒属 (*Lindera* Thunb.) 植物山茱萸 *L. reflexa* Hemsl. 为灌木或小乔木,已收载于《河南省中药材标准》(1993年版第 2册)。性温,行气止痛,止血消肿,主要用于胃疼。主要含黄酮类化合物和生物碱等,其中含量较高的是二氢黄酮

类化合物球松素 (pinostrobin)。因此本实验采用 HPLC法测定了其中球松素的含量

1 仪器 试剂与药品

日本岛津 LC-10A高效液相色谱仪, KA-500型医用超声清洗器(昆山仪器有限公司),甲醇

* 收稿日期: 2003-12-02
作者简介: 潘永峰,男,河南省信阳市人,副主任药师,主要从事药品检验工作。 Tel (0376) 6562739

为色谱纯,其余试剂均为分析纯。

球松素对照品由中国医学科学院药物研究所提供(纯度为 99.3%),山 药材由河南羚锐制药股份有限公司提供,经公司质量部按《河南省中药材标准》(1993年版第 2册)检验,结果符合规定。

2 方法与结果

2.1 色谱条件:色谱柱 YWG-C₁₈ (150 mm× 4.6 mm,中国科学院大连化学物理研究所);流动相:甲醇-水 (80:20);体积流量:0.8 mL/min;紫外检测波长:290 nm;柱温:25℃。

2.2 对照品溶液的制备:取球松素适量,用乙醇制成 12.0 μg/mL,摇匀,即得。

2.3 供试品溶液的制备:取山 药材粗粉 0.5 g,精密称定,置 250 mL 烧瓶中,精密加入乙醇 50 mL,称定质量,加热回流 1 h,取出,用乙醇补足减失的质量,摇匀,滤过,弃去初滤液。精密量取续滤液 5 mL,置 25 mL 量瓶中,加流动相至刻度,摇匀,滤过,弃去初滤液,取续滤液作为供试品溶液。

2.4 标准曲线的制备:取球松素对照品适量,加流动相分别制成 4.0 8.0 12.0 16.0 20.0 μg/mL 的对照品溶液,各取 20 μL 进样,分别测定峰面积。以峰面积平均值为纵坐标,球松素质量浓度为横坐标进行回归处理,得回归方程 $Y = -810 + 2253.812X$, $r = 0.9997$,表明球松素在 0.08~0.40 μg 与峰面积线性关系良好。

2.5 精密度试验:取 12.0 μg/mL 球松素对照品溶液重复进样 6 次,测定峰面积值,计算其 RSD 为 0.83%。

2.6 重现性试验:取同一批号样品 6 份,按供试品溶液制备方法制备,依法测定球松素含量,计算得其 RSD 为 0.95%。

2.7 稳定性试验:取球松素对照品溶液,在 0 1 2 3 5 8 12 h 分别测定峰面积,计算得其 RSD 为 0.75%。

2.8 回收率试验:采用加样回收法。精密称取已知含量的样品,精密加入 12.0 μg/mL 球松素对照品溶液 5.0 mL,按供试品溶液的制备方法制备,依法测定,得平均回收率为 98.3%,RSD 为 1.13%。

($n = 5$)

2.9 样品测定:精密吸取上述对照品、供试品溶液各 20 μL,分别注入液相色谱仪中,测定峰面积,按外标法计算含量,结果见表 1,色谱图见图 1。

表 1 山 中球松素测定结果 ($n = 2$)

Table 1 Pinostrobin in *L. reflexae* ($n = 2$)

产 地	球松素 %
河南新县	0.62
河南新县	0.67
河南新县	0.65
河区	0.62
河区	0.66

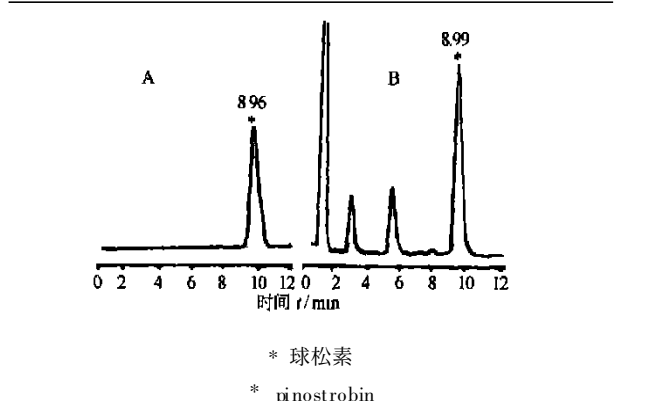


图 1 球松素对照品 (A) 和山 (B) 的 HPLC 色谱

Fig. 1 HPLC of pinostrobin (A) and *L. reflexae* (B)

3 讨论

3.1 波长的选择:取球松素对照品 4 mg,于 100 mL 量瓶中,加流动相适量,超声处理数分钟,使溶解,加流动相至刻度,摇匀,以流动相作为空白,于 UV-2401PC 型紫外分光光度计中 400~200 nm 波长扫描 3 次,结果均在 290 nm 波长处有最大吸收,故检测波长定在 290 nm 波长。

3.2 样品用乙醇加热回流提取和超声处理各 1 h 进行比较,结果加热回流提取明显高于超声处理法。

3.3 山 中球松素的含量测定未见报道,河南羚锐制药股份有限公司生产的以山 为主药的胃疼宁片已用于临床多年,主治胃脘胀满、胃寒痛疼、嗝气吐酸及消化性溃疡,疗效很好。为了阐明其活性成分,进一步提高药品疗效,增加科技含量,并为该植物资源的开发利用和新药的研究提供信息,对于山 的深入研究提供依据。

《新中医》征订启事

《新中医》(月刊)是由国家中医药管理局主管、广州中医药大学主办的一份国家级中医药学术刊物,从 2005 年第 1 期起,《新中医》由原来每期 80 页增加到每期 96 页。每期 7.8 元,全年 12 期,共 93.6 元。国内邮发代号:46-38,国外: M186,漏订者可直接向编辑部发行科订购,地址:广州市机场路 12 号大院广州中医药大学内,邮政编码:510405。