

百蕊草地上茎分枝数量对其药材品质的影响

宋玲珊, 张晓明, 郭巧生*, 刘亚杰, 陈璐, 王长林

南京农业大学中药材研究所, 江苏 南京 210095

摘要: 目的 研究 2 龄级百蕊草 *Thesium chinense* 地上茎不同分枝数量对其药材品质的影响。方法 以江苏句容、谷里、茅山等地野生 2 龄级百蕊草为材料, 按照其根茎分枝数量划分为 5 个级别。其中 1~3 分枝为 1 级, 4~6 分枝为 2 级, 7~9 分枝为 3 级, 10~20 分枝为 4 级, 20 分枝以上为 5 级。采用 HPLC 法测定其有效成分量, 同时结合其生长指标、产量等因素综合分析。结果 不同分枝数量百蕊草之间的药材品质存在显著差异, 其中 5 级分枝百蕊草单株干质量最高, 可达 5.710 6 g, 而 1 级分枝最低, 为 0.224 5 g, 单株产量相差高达 25.4 倍; 百蕊草植株内总黄酮量总体随分枝数量的增加而减少, 其中 1 级分枝质量分数最高, 为 4.02%, 显著高于其他级别。山柰酚量也随着分枝数的增大而减少, 其中 1 级分枝量最高为 3.38 mg/g, 显著高于 4 级分枝和 5 级分枝; 在不同分枝级别中, 百蕊草总黄酮和山柰酚之间为显著正相关关系。山柰酚与百蕊草根直径之间为显著负相关。结论 百蕊草分枝数量对其药材品质影响较大, 从外在品质考虑, 百蕊草分枝数量越多其产量越高, 且种子数量也越多, 但其有效成分的量却越低。

关键词: 百蕊草; 分枝; 品质; 生长指标; 总黄酮; 山柰酚

中图分类号: R282.4 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2017)07-1420-04

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2017.07.027

Study on medicinal materials quality of *Thesium chinense* in different branches

SONG Ling-shan, ZHANG Xiao-ming, GUO Qiao-sheng, LIU Ya-jie, CHEN Lu, WANG Chang-lin

Institute of Chinese Medicinal Materials, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China

Abstract: **Objective** To explore the effect of different amounts of branches on medicinal quality of *T. chinense*. **Methods** Wild *T. chinense* taken from Jurong, Guli, and Maoshan was used as experimental materials. *T. Chinense* was divided into five levels according to the number of branches. The first level has 1—3 branches, 4—6 branches as second. The third level has 7—9 branches, 10—20 branches as fourth, and the fifth level has 20 or more branches. Quality of *T. chinense* was measured by growth indicators and effective components. **Results** The quality of *T. chinense* in different levels was significantly different. The difference of dry weight of *T. chinense* could be up to 25 times, fifth level was 5.710 6 g, but the first level was only 0.224 5 g. The content of effective components and branch number were negatively correlated, flavonoids and kaempferol contents of *T. chinense* in level 1 were significantly higher than those in other levels which were 4.02% and 3.38 mg/g. In different branches levels of *T. chinense*, there was a significant positive correlation between flavonoids and kaempferol contents, but there was a significant negative correlation between kaempferol content and root crude of *T. chinense*. **Conclusion** The number of *T. chinense* branches has a great impact on its quality, the more branches, the higher yield, and the lower content of active ingredient.

Key words: *Thesium chinense* Turcz; branch; quality; growth index; total flavonoids; kaempferol

百蕊草 *Thesium chinense* Turcz 为檀香科多年生半寄生草本植物^[1], 但在长江中下游地区为两年生植物^[2], 其干燥全草入药, 具清热解毒、补肾涩精、止咳化痰等作用。现代药理研究发现, 百蕊草具较强抗菌消炎作用, 被誉为“植物抗生素”^[3-4]。前人

已对百蕊草生理、化学、寄生关系等各方面进行研究^[5-9], 并发现百蕊草中富含黄酮、有机酸、生物碱、多糖、甾醇、酚类等多种化学成分^[10], 其中黄酮类成分具较明显抗菌作用。生产上常常以总黄酮和山柰酚的量作为百蕊草内在品质的评判指标^[11-12]。

收稿日期: 2016-09-06

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81173482)

作者简介: 宋玲珊 (1991—), 女, 贵州遵义人, 硕士, 主要从事药用植物资源研究。

*通信作者 郭巧生 (1963—), 男, 江苏苏州人, 教授, 博士生导师, 南京农业大学中药材研究所所长, 长期从事药用植物资源的教学科研工作。

本实验室早期研究发现在长江中下游地区百蕊草为两年生植物,且在其生长过程中存在越冬休眠现象。百蕊草休眠前后株体形态差异较大,1龄级百蕊草为实生苗,单茎直立生长。冬季休眠地上部分枯萎,根颈部位长出根颈芽。第2年春天,根颈芽萌发为新枝,百蕊草宿根苗快速生长为丛生苗,之后在夏季死亡^[2]。实地观察发现,越冬后自然环境下生长的百蕊草丛生苗分枝数量差异较大,分枝数量可少到2~3枝,也可多达20多枝,药材性状参差不齐。目前,尚无任何关于百蕊草分枝数量多少这一特性与其药材品质关系方面的研究报道,而分枝数量的多少可直接决定百蕊草药材产量的大小。故本实验以江苏句容、谷里、茅山等地的野生2龄级百蕊草为材料,按其分枝数量人为分成5个级别,其中1~3分枝为1级分枝,4~6分枝为2级分枝,7~9分枝为3级分枝,10~20分枝为4级分枝,20分枝以上为5级分枝。测定不同级别百蕊草的内在品质和外在品质差异,为百蕊草资源进一步开发利用和人工栽培规范化管理提供理论依据。

1 材料与试剂

1.1 材料

样品经南京农业大学郭巧生教授鉴定为檀香科植物百蕊草 *Thesium chinense* Turcz., 采自江苏句容(E119°12', N31°44')、谷里(E118°42', N31°53')、茅山(E119°16', N31°54')等地。于次年春天采收2龄级百蕊草,共200株,全株挖起,连土带回实验室,洗出后按照其分枝数量分级,105℃杀青,60℃烘干至恒定质量,打粉过40目筛,备用。山柰酚(批号CAS520-18-3)对照品购于南京森贝伽生物科技有限公司,质量分数大于98%。

1.2 仪器与试剂

756型UV-VIS分光光度计(上海精密科学仪器有限公司);HITACHI D2000 HPLC系统;提取溶剂甲醇为分析纯,HPLC用色谱甲醇。

2 方法

2.1 外在品质指标测定

用分析天平测量不同级别各株百蕊草的鲜质量和干质量,游标卡尺测量根直径,直尺测量株高。人工徒手数出各植株的百蕊草种子数量。因自然状态下20以上分枝的植株较少,第5级的样品数少于30株,其余各等级测定的样品数均不少于30株。

2.2 总黄酮测定^[10]

精密称取百蕊草粉末0.5000g,置于100mL圆

底烧瓶内,加30mL甲醇,浸泡30min,水浴回流6h。冷却,抽滤,滤液用甲醇定容至50mL,备用。精密吸取提取液1mL于25mL量瓶中,加甲醇5mL稀释摇匀,加0.154g/L三氯化铝液1mL,摇匀,用甲醇定容至刻度。暗处放置30min后,采用分光光度法于401nm处测定吸光度。实验重复3次^[10]。

2.3 山柰酚的测定^[10]

精密称取百蕊草粉末0.5000g,置于100mL圆底烧瓶内,加30mL甲醇,浸泡30min,水浴回流6h。冷却,抽滤,滤液用甲醇定容至50mL,吸取30mL置于100mL锥形瓶内,水浴蒸干,以30mL甲醇溶解,转移至100mL锥形瓶内,加5mL25%盐酸,水浴回流2h,转移定容至50mL,过0.45μm滤膜,进行测定^[10]。色谱条件:XDB-C₁₈柱(250mm×4.6mm,5μm);流动相为甲醇-0.5%磷酸水溶液(70:30);检测波长358nm;柱温30℃;体积流量1.0mL/min;进样量20μL。色谱图见图1。

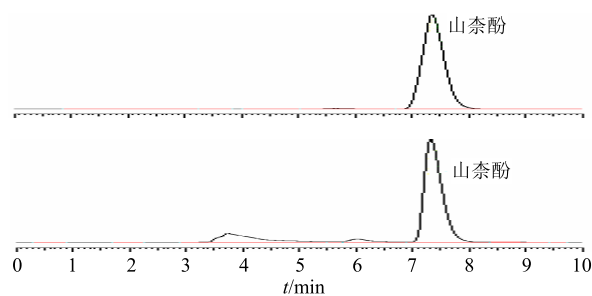


图1 山柰酚对照品(A)和样品(B)溶液HPLC图

Fig. 1 HPLC of kaempferol reference substance (A) and sample solution (B)

2.4 数据处理

由Excel 2007和SPSS 17.0软件统计分析实验结果,外在品质指标数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示。

3 结果与分析

3.1 不同分枝等级百蕊草外在品质指标

由表1可知,随着百蕊草分枝数的增加,其鲜质量、干质量、株高、根直径和种子数量均有差异。各等级间鲜质量差异显著,其中5级分枝鲜质量最大为27.237g,其余各级别百蕊草植株鲜质量均随着分枝数的减少而降低,且各级别之间均差异显著;百蕊草产量(干物质质量)随分枝数的增多而增大,各级别之间差异显著,其中5级分枝干质量最高为5.7106g,1级最低,为0.2245g,差异达25.4倍;百蕊草分枝数量的多少与主根直径度之间也存在一定关系,其中5级分枝的根最粗,显著高于其他级别。百蕊草分枝

表 1 不同分枝等级百蕊草外在品质差异 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)Table 1 Quality of *T. chinense* in different branch levels ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

分枝等级	鲜质量/g	干质量/g	根直径/cm	株高/cm	种子数/粒
1 级	1.275 2±0.09 ^c	0.224 5±0.01 ^d	0.242±0.01 ^d	21.49±0.81 ^b	33.2± 4.23 ^d
2 级	2.811 5±0.20 ^d	0.484 3±0.03 ^c	0.322±0.01 ^c	22.60±0.79 ^b	92.0± 9.79 ^d
3 级	4.274 8±0.32 ^c	0.821 1±0.06 ^b	0.367±0.01 ^{bc}	25.05±1.09 ^b	191.7±39.92 ^c
4 级	5.696 0±0.51 ^b	1.033 7±0.12 ^b	0.418±0.02 ^b	25.71±1.32 ^{ab}	270.0±52.43 ^b
5 级	27.237 0±2.50 ^a	5.710 6±0.35 ^a	0.503±0.03 ^a	28.30±1.62 ^{ab}	510.0±34.06 ^a

同列数值后的不同小写字母表示相应等级样品之间无显著性差异 ($P < 0.05$), 下同

Different letters on same column mean significant difference at 0.05 level between processing, same as below

级别对株高的影响不大, 结果分析发现, 百蕊草各分枝级别之间株高无显著差异; 百蕊草分枝数越多, 其种子数量越多。其中, 5 级分枝百蕊草的种子数量最多, 平均为 510.0 粒, 显著高于其他级别。

3.2 不同分枝等级百蕊草内在品质指标

从表 2 可知, 不同分枝等级百蕊草总黄酮量存在差异, 其中 1 级分枝最高为 4.02%, 5 级分枝最低, 为 3.24%。1 级分枝百蕊草总黄酮量显著高于其他级别 ($P < 0.05$), 2 级、3 级、4 级和 5 级之间质量分数有差异但不显著。百蕊草中黄酮量总体随

表 2 不同分枝等级百蕊草化学成分质量分数 ($n = 3$)Table 2 Chemical composition content of *T. chinense* in different branch levels ($n = 3$)

分枝等级	总黄酮/%	山柰酚/(mg·g ⁻¹)
1 级	4.02±0.21 ^a	3.38±0.58 ^a
2 级	3.33±0.08 ^b	2.86±0.32 ^{ab}
3 级	3.25±0.22 ^b	2.83±0.45 ^{ab}
4 级	3.28±0.03 ^b	2.54±0.18 ^b
5 级	3.24±0.06 ^b	2.52±0.16 ^b

表 3 不同分枝等级百蕊草内外指标之间相关性分析

Table 3 Correlation analysis about different indicators of *T. chinense* in different branch levels

指标	总黄酮	山柰酚	鲜质量	干质量	根直径	株高	种子数
总黄酮	1.000						
山柰酚	0.910 [*]	1.000					
鲜质量	-0.423	-0.612	1.000				
干质量	-0.409	-0.597	0.999 ^{**}	1.000			
根直径	-0.779	-0.928 [*]	0.845	0.835	1.000		
株高	-0.645	-0.811	0.928 [*]	0.922 [*]	0.970 ^{**}	1.000	
种子数	-0.621	-0.815	0.937 [*]	0.930 [*]	0.971 ^{**}	0.996 ^{**}	1.000

*表示在 0.05 水平 (双侧) 上显著相关。**表示在 0.01 水平 (双侧) 上显著相关

* indicates significant correlation at 0.05 level (bilateral). ** indicates significant correlation at 0.01 level (bilateral)

4 讨论

百蕊草在长江中下游地区生活史为 2 年, 其根为贮藏性根。其根内贮藏的碳水化合物类物质是越

分枝数量的增加而减少。

百蕊草中山柰酚量的变化趋势与总黄酮类似, 其中 1 级分枝的山柰酚量最高, 为 3.38 mg/g, 显著高于分枝级别较高的 4 级和 5 级 ($P < 0.05$)。而 5 级分枝内的山柰酚量最低, 仅为 2.52 mg/g, 质量分数总体降低了 25.44%。山柰酚量在 2 级、3 级、4 级和 5 级百蕊草之间均有差异但不显著, 与总黄酮量变化规律相似。

3.3 不同分枝百蕊草内外指标之间相关性分析

由表 3 可知, 百蕊草内在品质与外在品质各指标之间存在一定的变化规律。在自然条件下生长的百蕊草中, 其总黄酮和山柰酚之间为显著正相关关系。此外, 总黄酮和各个外在指标之间呈负相关关系, 但不显著。山柰酚与各外在指标之间也均呈负相关, 其中百蕊草株体内山柰酚量与百蕊草根直径呈显著负相关。百蕊草各外在指标之间也存在一定的关系, 其中干质量与鲜质量之间为极显著正相关, 株高与鲜质量、干质量之间呈显著正相关。此外, 百蕊草株高、根直径、种子数三者之间两两相互为极显著正相关关系。

冬休眠和翌年植株快速生长营养基础^[13]。多次在野外采样研究发现, 百蕊草主根越粗, 其越冬休眠时就会长出更多的根颈芽。翌年春天, 根颈芽萌发为

新枝, 2龄级百蕊草成为丛生苗。

本实验首次对越冬后百蕊草分枝数量与其品质关系进行了研究, 发现不同分枝数量的百蕊草之间品质存在明显的差异。从外在品质考虑, 百蕊草分枝数量越多其产量越高, 种子数量也越多, 其中1级分枝和5级分枝间差产量异最高可达26倍。然而, 有效成分量却是随着分枝数量增加而降低, 总黄酮和山柰酚量均在1级分枝中最高分别为4.02%和3.38 mg/g。对各指标之间进行相关性分析发现, 在自然条件下生长的百蕊草中, 其内在成分总黄酮和山柰酚之间为显著正相关关系, 说明两者可能在株体中存在相互协同的作用。研究结果显示, 百蕊草株体内山柰酚的含量与其根直径呈显著负相关, 说明百蕊草在越冬后, 其根越粗株体越大内部有效成分含量就越少。这可能是因为当百蕊草分枝数量越多时, 所消耗的营养物质便越多, 而影响有效成分的合成。也有可能是因为当百蕊草株体越大, 其群体密度也随之增大, 通风透光能力减弱而导致其有效成分积累减少^[14]。

自然条件下, 百蕊草多生长于光照、水分充足的田埂或草坡。在百蕊草生长过程中, 光照、水分、温度等环境因素的改变均会对其株形造成一定的影响^[15]。多次野外采样观察发现, 生长在相对潮湿且周边植物较茂盛的环境中的百蕊草株形较大且分枝较多, 而生长在干旱阳坡且周边植物较为低矮的环境中的百蕊草株形较小。说明可能光照和水分是直接影响百蕊草株体形态的2个因素, 而本实验研究结果显示, 分枝较多株形较大的百蕊草内相应的有效成分更低且差异显著, 故可能光照和水分也是影响自然条件下生长的百蕊草药材内在品质的关键因素。

百蕊草在长江流域为2年生植物, 其越冬休眠后根颈芽萌发变为丛生苗, 而其分枝数量的多少是产量高低的直接决定因素。作为生产上稀缺的中药材, 产量逐年减少^[16], 而产量的多少和质量的好坏均为其品质的评定标准^[17]。在人工栽培的过程中, 应适当调控环境因子, 把握百蕊草产量和质量之间的平衡点, 以达到药材品质好、产量高的栽培目的^[18]。本实验对百蕊草外在品质和内在品质之间的关系进行了初步探究, 可为日后人工栽培管理提供相应的理论依据, 更深层次的研究仍有待进一步探索。

参考文献

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志 (第二十四卷) [M]. 北京: 科学出版社, 1988.
- [2] 武祖发, 张功武. 百蕊草的生药研究与寄主调查 [J]. 中草药, 1993, 24(8): 429-430.
- [3] 杨军, 王静, 高美华, 等. 百蕊片药理作用的实验研究 [J]. 中国中药杂志, 1999, 24(6): 47-49.
- [4] 刘永松. 百蕊草抗菌有效成分的提取及其作用机制研究 [D]. 合肥: 安徽农业大学, 2006.
- [5] Luo F L, Guo Q S. Influences of host species on transpiration, photosynthesis, chlorophyll and mineral contents of medicinal hemiparasite *Thesium chinense* Turcz [J]. *Acta Physiol Plant*, 2010, 32: 1093-1102.
- [6] Guo Q S, Luo F L. Comparative studies on the growth, amino acids and minerals of *Thesium chinense* (Santalaceae) in association with different hosts [J]. *Nordic J Bot*, 2010, 28: 632-640.
- [7] 罗夫来, 郭巧生, 王长林, 等. 寄主对半寄生植物百蕊草影响的综合评价研究 [J]. 中国中药杂志, 2012, 37(9): 1174-1179.
- [8] 鲁云霞, 汪俊松. 百蕊草的化学成分研究 [J]. 中草药, 2004, 35(5): 491-493.
- [9] Zhang X M, Liu B, Guo Q S, et al. Construction of haustorium development associated SSH library in *Thesium chinense* and analysis of specific ESTs included by *imperata cylindrica* [J]. *Biochem System Ecol*, 2016, 64: 46-52.
- [10] 罗夫来, 郭巧生. 百蕊草药材内在品质研究 [J]. 中国中药杂志, 2011, 36(15): 2042-2046.
- [11] 邓玉林, 丁立群, 杨宾. 中药舒益欣的抗炎、镇痛和抑菌作用 [J]. 北京理工大学学报, 2004, 24(8): 747-750.
- [12] 刘洋, Zahida P, 邓玉林, 等. 百蕊草中黄酮类化合物研究 [J]. 中药材, 2009, 32(4): 518-520.
- [13] 强胜. 植物学 [M]. 北京: 高等教育出版社, 2006.
- [14] 雷天莉, 任宇豪, 李敬, 等. 北柴胡地上茎不同分枝对根中皂苷类成分量及根产量的影响 [J]. 中草药, 2014, 45(13): 1920-1923.
- [15] 罗夫来, 郭巧生. 百蕊草种子适宜萌发条件的研究 [J]. 中草药, 2012, 43(3): 588-591.
- [16] 袁艺, 田胜尼, 戴建勇, 等. 白蕊草组织培养和快速繁殖的研究 [J]. 激光生物学报, 2002, 11(5): 338-342.
- [17] 韩玲玲, 徐国兵. 百蕊草质量标准的研究 [J]. 中医药学报, 2010, 38(5): 90-91.
- [18] 杨利民, 张永刚, 林红梅, 等. 中药材质量形成理论与控制技术研究进展 [J]. 吉林农业大学学报, 2012, 34(2): 119-124.