

在着交互作用,而 NaOH溶液浓度与 NaOH溶液用量和提取时间之间没有交互作用。

以逐步回归方程对最佳试验条件进行分析,结果表明在所选试验条件范围内最佳提取溶剂浓度为 0.3%,最佳提取时间为 3 h,最佳 NaOH溶液用量为 16 mL/g原料。次

最佳提取溶剂浓度为 0.3%,最佳提取时间为 3 h,与通常的观念似乎相悖,但这可能均与喜树碱钠盐性质不稳定有关,喜树碱钠盐在常温便易分解,不宜长时间保存。提取溶剂浓度增加,或提取时间延长均会对分解反应起促进作用。

最佳 NaOH溶液用量为实验条件下的最大值,从理论上,也可得出提取溶剂的增加会提高提取率的结论。为了确定更有利于喜树碱提取的 NaOH溶液用量,进行了补充试验:在 NaOH溶液尝试为 0.3%、提取时间为 3 h的条件下,增加了每次的 NaOH溶液的加入量(17~20 mL/g原料。次)。喜树碱的最高提取率达到了 0.102%,但各实验间提取率变化很小。本试验中溶剂的用量为 16 mL/g原料。次,最佳提取率也达到了 0.1007%,说明进一步提高溶剂用量意义不是很大。因此在生产中可适当增加 NaOH溶液的用量,但不宜增加过多。

## 5 结论

确定的最佳工艺条件为:NaOH溶液浓度为 0.3%,提取时间为 3 h,NaOH溶液用量为 16 mL/g原料。次

喜树果实中喜树碱含量一般为 0.1%左右,根及根皮则还要低一些。而经分析我们所采集的喜树叶中的喜树碱含量为 0.114%,实验提取率也达到了 0.1%以上,因此喜树叶是一种喜树碱提取的优

质原料

以乙醇为溶剂提取喜树碱不仅成本高,且通常提取时间较长,能量消耗较大。以稀 NaOH溶液为溶剂成本低,提取反应在常温下进行,提取时间短,提取率也较高(本实验最佳条件下喜树碱提取率占原料中喜树碱含量的 88%)。

参考文献:

- [1] Wall M E, Wani M C, Cook C E, et al. Plant Antitumor Agents. I. The isolation and structure of camptothecin, a novel alkaloidal leukemia and tumor inhibitor from *Campotheca acuminata* [J]. J Amer Chem Soc, 1966, 88(16): 3888-3890.
- [2] Hsiang Y H, Herizberg R, Hecht S, et al. Camptothecin induces protein-linked DNA breaks via mammalian DNA topoisomerase I [J]. J Biol Chem, 1985, 260: 14873-14878.
- [3] Hsiang Y H, Liu L F, Wall M E, et al. DNA topoisomerase I-mediated DNA cleavage and cytotoxicity of camptothecin analogues [J]. Cancer Res, 1989, 49(16): 4385-4389.
- [4] Giovanella B C. Topoisomerase I inhibitors [A]. Teicher B A. Cancer Therapeutics: Experimental and Clinical Agents [C]. Totowa: Humana Press, 1997: 137-152.
- [5] 耿宝琴. 紫杉醇类喜树碱类的研究进展 [J]. 实用肿瘤杂志, 1995, 10(4): 199-201.
- [6] 翁绳美, 胥彬. 喜树碱类抗癌物质对拓扑异构酶 I 的作用研究进展 [J]. 肿瘤, 1991, 11(2): 74-77.
- [7] 上海药物研究所植化室喜树碱研究组. 喜树果中的抗癌有效成分喜树碱与 10-羟基喜树碱 [J]. 中草药通讯, 1975, (5): 17-18.
- [8] 徐任生, 赵志远, 林隆泽, 等. 抗癌植物喜树化学成分的研究 I. 喜树根的化学成分 [J]. 化学学报, 1977, 35(3, 4): 227-230.
- [9] 徐任生, 赵志远, 林隆泽, 等. 抗癌植物喜树化学成分的研究 II. 喜树果中的化学成分 [J]. 化学学报, 1977, 35(3, 4): 193-199.
- [10] Lopez-Meyer M, Nessler C L, Mcknight T D. Sites of accumulation of the antitumor alkaloid camptothecin in *Campotheca acuminata* [J]. Planta Med, 1994, 60: 558-560.

## 植物生长调节剂对金钗石斛药用化学成分的影响

陈仕江<sup>1</sup>, 张明<sup>1</sup>, 李泉森<sup>1</sup>, 夏鸿西<sup>2</sup>, 朱利泉<sup>2</sup>, 别之龙<sup>2</sup>

(1. 重庆市中药研究院, 重庆 400065; 2. 西南农业大学, 重庆 400716)

摘要: 目的 研究植物生长调节剂对金钗石斛药用化学成分的影响。方法 用 6-BA GA3 两种植物生长调节剂浸根处理金钗石斛。结果与结论 表明两种植物生长调节剂在一定浓度下可使石斛可溶性总糖含量增加, 而对金钗石斛碱的含量无影响。GA3 能显著提高石斛总生物碱的含量。

关键词: 植物生长调节剂; 金钗石斛; 化学成分

收稿日期: 2001-02-12

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (39770903)

作者简介: 陈仕江, (1967-), 男, 四川人, 副研究员, 硕士。先后主持和主研国家“七·五”、“八·五”、“九·五”科技攻关、国家自然科学基金、重庆市教委、国家中医药管理局科研项目 10 余项, 获国家、省部级成果奖 3 项, 发表学术论文 40 余篇。研究方向: 药用动植物资源的再生及综合利用。Tel (023) 62462123 E-mail Shijiang Cher@ 163.com

中国分类号: R927.2 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2001)10-0884-03

**Effect of plant growth regulator on medicinal constituent of *Dendrobium nobile***CHEN Shi-jiang<sup>1</sup>, ZHANG Ming<sup>1</sup>, LI Quan-sen<sup>1</sup>, XIA Hong-xi<sup>2</sup>, ZHU Li-quan<sup>2</sup>, BIE Zhi-long<sup>2</sup>

(1. Chongqing Academy of Chinese Materia Medica, Chongqing 400065, China; 2. Southwest Agricultural University, Chongqing 400716, China)

**Abstract Object** To study the effect of plant growth regulator on medicinal constituents of *Dendrobium nobile* Lindl. **Methods** The root of *D. nobile* was treated by immersing in solutions of plant growth regulator 6-BA and GA<sub>3</sub>. **Results and Conclusion** Both plant growth regulator at certain concentration, resulted in an increase of total soluble sugar content, but without effect on the content of dendrobine. GA<sub>3</sub> can significantly elevate the content of total alkaloid in *D. nobile*.

**Key words** plant growth regulator; *Dendrobium nobile* Lindl.; chemical constituent

石斛是一种贵重常用中药,具有益胃生津,滋阴清热的功能,主治阴伤津亏,口干烦渴,食少干呕,病后虚热,目暗不明<sup>[1]</sup>。其主要含生物碱、多糖、精油等化学成分<sup>[2-4]</sup>。

金钗石斛 *Dendrobium nobile* Lindl. 是药用石斛的品种之一。由于近年来对其需求量的不断增加,加之其生长环境要求苛刻,有性繁殖困难,生长发育缓慢等原因,金钗石斛已属濒危中药植物。我们利用植物生长调节剂处理金钗石斛促进其生长和繁殖,结果表现 6-BA、GA<sub>3</sub>等能增加其生物产量和分蘖繁殖系数<sup>[5]</sup>。为了解植物生长调节剂除增加生物产量和分蘖繁殖系数外,是否对金钗石斛药用化学成分含量产生影响,特进行以下实验。

**1 材料**

金钗石斛 *Dendrobium nobile* Lindl. 种苗取自于四川合江。选取长势基本一致的石斛用不同浓度的 GA<sub>3</sub>(赤霉素)、6-BA(细胞分裂素)浸根 2 h 后于 2000 年 3 月 22 日种植在重庆市中药研究院标本园内供测试用。GA<sub>3</sub>、6-BA 浓度范围在原有筛选基础上,GA<sub>3</sub>设 0.1, 0.5, 1, 5 mg/L 4 个处理; 6-BA 设 2, 10, 50, 100 mg/L 4 个处理。

GA<sub>3</sub>(上海化学试剂采购站), 6-BA(进口分装), 石斛碱标样(中国药品生物制品检定所), 硅胶 G(青岛海洋化工厂), 德国产 Stahl 薄层涂铺器, 其它试剂均为分析醇。

**2 实验方法**

2.1 可溶性糖含量的提取和测定: 方法采用硫酸-蒽酮比色法<sup>[6]</sup>, 以葡萄糖制作标准曲线。分别于 2000 年 3 月 27 日、4 月 4 日、4 月 11 日、4 月 18 日、4 月 25 日取金钗石斛测定其可溶性糖含量。

2.2 总生物碱含量的测定: 参照金蓉鸾<sup>[7]</sup>、丁亚平<sup>[8]</sup>等的方法提取和测定。取石斛鲜样(取样时间与

上同), 于 80℃ 烘干, 粉碎成粗粉, 过 60 目筛, 精确称取 0.4 g, 加 3~5 mL 浓 NH<sub>3</sub>·H<sub>2</sub>O 密塞润湿 30 min 后氯仿超声波提取 3 min 过滤, 残渣再用氯仿超声波提取 3 min, 残渣用氯仿少量多次洗涤, 合并所有滤液, 用氯仿定容至 10 mL, 即为石斛生物碱的提取液。吸取提取液 1 mL, 用氯仿稀释至 10 mL, 加入 0.2 mol/L pH 4. 邻苯二甲酸氢钾缓冲液 5 mL 和 0.04% 溴甲酚绿溶液 1.0 mL, 剧烈振荡 3 min, 静置 30 min 分层后取滤液 6 mL, 加 0.01 mol/L NaOH 无水乙醇液 1.0 mL 摇匀后于波长 630 nm 处测定其吸收值。以石斛碱标样制作标准曲线。

2.3 石斛碱的薄层层析: 称取 30 g 硅胶 G(青岛海洋化工厂), 加入 90 mL 2.5% 聚乙烯醇溶液, 调匀后用 Stahl 薄层涂铺器铺层。为防止气泡发生, 铺层前加 5~6 滴乙醇, 薄层厚度 0.3 mm。自然风干后 105℃ 活化 30 min。测式样品与前述总生物碱的提取方法相同进行制样。平头微开点样器点样 10 μL, 标样石斛碱作对照, 乙酸乙酯-氯仿-甲醇-二乙胺(8:2:2:1)层析。

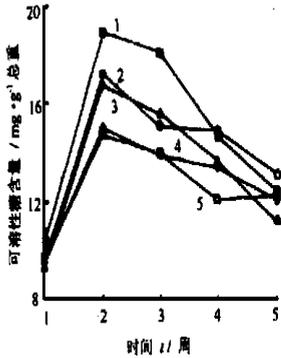
**3 结果与讨论**

3.1 生长调节剂对可溶性糖含量的影响: 可溶性糖是石斛重要的有效化学成分之一, 具有增强免疫活性等功能<sup>[10]</sup>。由图 1 可见 0.1, 0.5, 1, 5 mg/L GA<sub>3</sub> 处理后的可溶性糖含量随时间而发生变化, 其含量变化趋势与 CK 相似, 即在 4 月 4 日, 可溶性糖含量达到最高, 随着时间推移, 可溶性糖含量下降。在 4 月 4 日的测得的可溶性糖量又各不相同, 0.1 mg/L GA<sub>3</sub> 处理后含量 14.7 mg/g, 与 CK 15 mg/g 比有所下降; 而 0.5, 1, 5 mg/L GA<sub>3</sub> 处理后 4 月 4 日总糖含量分别为 17.2, 16.8, 18.9 mg/g, 均显著高于对照。6-BA 处理后, 以测得的糖含量对作图所得的 4 条曲线变化趋势与 GA<sub>3</sub> 和 CK 相似, 都是 4 月 4 日

达最大值,尔后下降 其中 10, 50 mg/L 6-BA处理,可溶性糖含量增加最显著,分别为 17.4, 17.2 mg/g 且当 6-BA处理浓度大于 10 mg/L时,随着浓度升高,可溶性糖含量有下降趋势

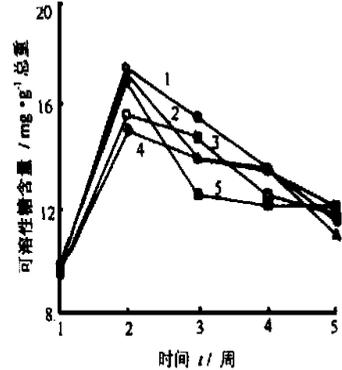
3.2 生长调节剂对金钗石斛总生物碱含量的影响:在 pH4.6的缓冲液中,石斛碱盐或其它生物碱盐的

阳离子与溴甲酚绿阴离子 1:1结合成黄色的离子对(IP),并定量地被氯仿提取 加碱碱化后,石斛碱变为碱式,IP被破坏,定量释放出溴甲酚绿,溶液呈碱式蓝色,它与石斛碱或其它生物碱含量成正比,在 630 nm处有最大的吸收峰 因此在此波长下比色即可测定总生物碱含量 结果如表 1



1-5(mg/L) 2-0.5 3-1 4-CK 5-0.1

图 1 GA3对可溶性糖含量的影响



1-10(mg/L) 2-50 3-2 4-CK 5-100

图 2 6-BA对可溶性糖含量的影响

表 1 GA3 6-BA处理对生物碱含量的影响 (n= 3)

处理	GA3(mg/L)				6-BA(mg/L)				CK
	0.1	0.5	1	5	2	10	50	100	
总生物碱含量	0.4215	0.4138	0.4267	0.3844	0.3792	0.4010	0.382	0.3856	0.3882

由表中可看出: 0.1, 0.5, 1 mg/L GA3处理测得的生物碱含量均显著高于对照, 5 mg/L GA3处理与对照差异不显著,这说明应用低浓度 GA3处理可以提高金钗石斛收获时有效化学成分含量 试验用 6-BA处理后,测定的生物碱含量除 10 mg/L处理组外,其它浓度处理与对照均无差异

生物碱为金钗石斛次生代谢产物,它是中药材中众多有效化学成分种类之一,其药理作用甚为广泛 GA3的处理使其次生代谢产物积累增加,在某种程度上提高了其在中药生产上的应用价值

3.3 植物生长调节剂对石斛碱含量的影响 (TLC分析):在展层剂前沿靠近薄层板顶端时停止展层,取出薄层板,挥干溶剂,用 1% 碘的乙醇溶液喷雾显色,结果通过展层分离出 3种物质, Rf分别为 0.44, 0.63, 0.84,通过与标样石斛碱相对照可知 Rf= 0.4即为石斛碱 中药石斛用此法仅分离鉴定出石斛碱 用 GA3 6-BA处理后, TLC法分离出的

石斛碱含量通过观察法粗略定量,发现与对照无差别,这说明 GA3 6-BA处理对石斛有效化学成分石斛碱含量无大的影响

参考文献:

- [1] 中华人民共和国药典 [S]. 2000年版一部 .
- [2] 王宪楷,赵国芳. 石斛属植物的化学成分与中药石斛 [J]. 药学通报, 1986, 21(11): 160-164.
- [3] 黄民权,黄步汉,蔡体育,等. 铁皮石斛多糖的提取 分离和分析 [J]. 中草药, 1994, 25(3): 128-129.
- [4] 李满飞,徐国钧,吴厚铭,等. 金钗石斛精油化学成分研究 [J]. 有机化学, 1991, 11: 219-224.
- [5] 夏鸿西,朱利泉,张 明,等. 植物生长调节剂对石斛生长的影响 [J]. 园艺学报, 1999, 26(4): 275-276.
- [6] 朱利泉. 基础生物化学实验原理与方法 [M]. 成都: 成都科技大学出版社, 1997.
- [7] 金蓉鸾,孙断军. 11种石斛总生物碱的测定 [J]. 南京药学院学报, 1981, 1: 9-13.
- [8] 丁亚平,杨道麒. 安徽霍山石斛总生物碱的测定及其分布规律研究 [J]. 安徽农业大学学报, 1994, 4: 503-506.
- [9] 章育中. 薄层层析法和薄层扫描法 [M]. 北京: 中国医学科学出版社, 1990.