

· 药材与资源 ·

人工栽培管花肉苁蓉的化学成分分析

王长林^{1,2}, 屠鹏飞^{1*}, 郭玉海², 雷 丽¹, 王树安²

(1. 北京大学医学部药学院, 北京 100083; 2. 中国农业大学农学与生物技术学院, 北京 100094)

摘要: 目的 分析栽培管花肉苁蓉 *Cistanche tubulosa* 的化学成分及其不同生长时间、部位化学成分的变化。方法采用 HPLC 法分析不同样品的指纹图谱。结果 不同生长时间、不同部位、栽培品与野生品、花期各部位之间苯乙醇苷类成分的种类基本一致, 只是各成分的含量有明显的差异。结论 管花肉苁蓉的栽培时间应在 3 年以上; 采挖时间应严格控制在开花以前; 栽培管花肉苁蓉的质量仍不如野生品, 应加强栽培技术的研究, 提高栽培品中有效成分的含量。

关键词: 管花肉苁蓉; 栽培; 松果菊苷; 高效液相色谱; 指纹图谱

中图分类号: R 282.6 **文献标识码:** A **文章编号:** 0253 2670(2004)06 0676 04

Chemical constituents in artificial cultivated *Cistanche tubulosa*WANG Chang-lin^{1,2}, TU Peng-fei¹, GUO Yu-hai², LEIL i¹, WANG Shu-an²

(1. School of Pharmaceutical Sciences, Health Science Center, Peking University, Beijing 100083, China;

2. College of Agronomy and Biotechnology, China Agricultural University, Beijing 100094, China)

Abstract: **Object** To analyze the chemical constituents and their variation at different growing time and segment in artificial cultivated *Cistanche tubulosa* (Schrenk) Wight. **Methods** Using HPLC to analyze the fingerprint spectrum of different samples. **Results** The sorts of phenylethanoid glycosides were almost the same among different growing time, different segments, cultivated and wild species, and every parts of *C. tubulosa* in blooming, but the contents of these chemical constituents are significantly different among various samples. **Conclusion** The cultivating time of *C. tubulosa* should be over three-years, its harvest time must be controlled strictly before blooming. The quality of cultivated plants is no better than wild ones still. So the cultivating technology should be promoted to improve the content of active compounds.

Key words: *Cistanche tubulosa* (Schrenk) Wight; cultivating; echinacoside; HPLC; fingerprint

肉苁蓉为著名的补肾阳中药, 具有补肾阳、益精血、润肠通便等功效, 大量用于中医临床处方、中成药和保健品。肉苁蓉属植物为沙漠、荒漠地区寄生植物, 其寄主为护沙先锋植物梭梭、柽柳、盐爪爪等。肉苁蓉种子在野生环境中自繁殖率很低, 近 20 多年来由于大量的采挖, 资源遭到严重的破坏。为了满足市场的大量需求, 同时结合西部退耕还林和退牧还草等发展战略, 肉苁蓉的人工栽培已在我国西北地区大规模展开。管花肉苁蓉 *Cistanche tubulosa* (Schrenk) Wight 主产于新疆天山以南塔克拉玛干沙漠周围, 为目前资源最丰富的肉苁蓉的基源植物, 其寄主为柽柳属 (*Tamarix* L.) 多种植物。化学成分分析和多年的栽培研究表明, 管花肉苁蓉不仅苯乙醇苷类成分含量高, 而且易于栽培, 因此成为栽培

肉苁蓉的首选品种。

随着管花肉苁蓉人工栽培规模的不断扩大, 对栽培管花肉苁蓉化学成分分析相对不足, 为了阐明栽培管花肉苁蓉的药用价值, 本实验采用建立的分析方法^[1], 以苯乙醇苷类成分指纹图谱和主要有效成分松果菊苷 (echinacoside) 含量为考察指标, 从生长时间、栽培品与野生品以及肉苁蓉植株的不同部位等多个角度对其活性成分进行了分析, 为管花肉苁蓉的人工栽培、适时采收以及科学入药提供重要的参考价值。

1 实验材料

1.1 仪器与药品: Waters 高效液相系统 (Waters 600 泵, Waters 2487 紫外检测器); 超声波清洗器为 Transsonic 890 (德国); 色谱纯乙腈为 J. T. Baker

* 收稿日期: 2003-09-09

基金项目: 国家经贸委 2000 年度中药材生产扶植资金项目 (国经贸医药[2000]877 号)

* 通讯作者 Tel: (010) 62092750 E-mail: pengfeitu@bjmu.edu.cn

(美国) 产品; 纯净水为娃哈哈公司产品; 松果菊苷对照品为本实验室自制, 纯度为 97%。

1.2 材料的取样与加工: 管花肉苁蓉为新疆于田大芸种植基地栽培。将采挖的新鲜肉苁蓉样品纵向切片, 用 90 ℃ 水烫 1 m in, 以灭活植物体内的水解酶, 晾 30 m in 后, 放入 50 ℃ 烘箱中烘干, 粉碎过 80 目筛, 作为待测样品。其中管花肉苁蓉主茎不同部位之间比较的试验取样方法为: 纵向不同部位分别取于主茎顶端 5 cm、正中部 5 cm、基部 5 cm; 横向 2 个部位分别为近表皮部 0.5 cm 的圆环区域和中间髓部直径为 0.5 cm 的区域。其他各样品均纵向取整个植株的一半进行粉碎。

2 方法与结果

2.1 色谱条件: 色谱柱: Waters Symmetry C₁₈ (250 mm × 5.6 mm, 5 μm); 流动相: 指纹图谱检测采用乙腈-0.095% 磷酸梯度洗脱, 洗脱梯度见表 1, 含量测定采用乙腈-0.095% 磷酸 (16 : 84); 流速: 1 mL / m in; 检测波长: 330 nm; 进样量: 10 μL。

2.2 松果菊苷对照品溶液的制备: 精密称取松果菊苷对照品 10 mg, 置入 10 mL 量瓶中, 加甲醇溶解, 并稀释至刻度, 精密吸取该溶液 1 mL, 移入 10 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 即得。

表 1 指纹图谱检测流动相梯度表

Table 1 Elution gradient of mobile phase for fingerprint

时间/m in	乙腈/%	0.095% 磷酸/%
0	4	96
18	12	88
40	15	85
65	15	85
75	20	80
90	20	80
91	4	96

2.3 供试品溶液的制备: 精密称取管花肉苁蓉粉末 1.0 g, 置三角烧瓶中, 精密加入 10 mL 甲醇, 精密称定质量, 浸泡 2 h, 间歇振摇, 超声提取 15 m in, 放至室温后称定质量, 补充损失质量, 滤过, 取续滤液 1 mL 于 10 mL 量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 用 0.45 μm 滤膜滤过, 即得。

2.4 不同生长时间的管花肉苁蓉成分分析: 分别对接种 2, 4, 6, 8, 10, 12, 15, 18, 24, 36 个月的管花肉苁蓉松果菊苷的含量和苯乙醇苷指纹图谱 (图 1, 2) 进行了分析。从图 1 可以看出, 接种 2~ 4 个月, 其组织正处于分化和发芽阶段, 生长旺盛, 此时松果菊苷含量很高 (24.97%), 至 6 个月, 含量下降, 至 8 个月, 含量又升高, 然后逐渐下降, 至 18 个月, 含量下降至最低值 (1.19%), 然后又逐渐升高, 并趋于稳

定。从图 2 可以看出, 不同生长期的管花肉苁蓉所含的苯乙醇苷类成分基本一致, 但各成分的含量有明显的差别, 各色谱峰的面积变化基本上与其主要成分松果菊苷的变化一致, 亦即接种 2~ 4 个月, 苯乙醇苷类各成分含量均较高, 至 6 个月各成分均下降, 至 8 个月又升高, 然后逐渐下降, 至 18 个月降至最低, 然后又逐渐升高。由此可见, 松果菊苷的含量变化, 基本上可以反映出管花肉苁蓉所含的苯乙醇苷类成分的变化, 测定松果菊苷的含量可以有效地控制管花肉苁蓉的质量。

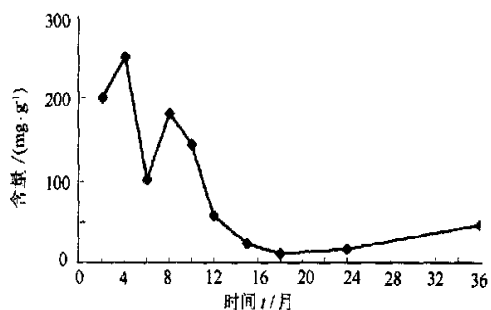
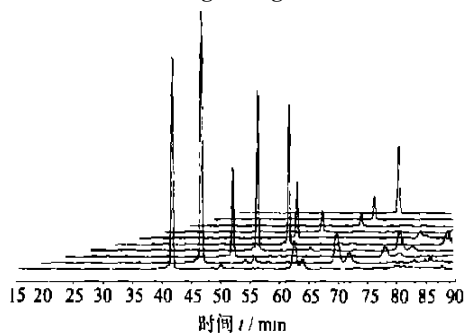


图 1 管花肉苁蓉不同生长时间松果菊苷的含量变化曲线 (n = 3)

Fig 1 Variation curve of echinacoside in *C. tubulosa* at different growing time (n = 3)



从前向后依次为 2, 4, 6, 8, 10, 12, 15, 18, 24, 36 个月

Order from front to rear is 2, 4, 6, 8, 10, 12, 15, 18, 24, and 36 months

图 2 不同生长时间管花肉苁蓉指纹图谱比较 (整体图谱)

Fig 2 Fingerprint comparison of *C. tubulosa* at different growing time (total chromatogram)

2.5 栽培与野生管花肉苁蓉的成分比较: 对栽培品和野生品的化学成分比较结果表明, 栽培品与野生品所含的苯乙醇苷类成分基本一致, 但各成分的含量比野生品低 (图 3), 其主要有效成分松果菊苷的含量, 栽培品为 2.48%, 而野生品为 5.0%。

2.6 管花肉苁蓉不同部位化学成分的比较: 对同一植株样品的基部、中部和顶端的化学成分进行了分析, 结果见表 2 和图 4。3 个部位所含的苯乙醇苷类成分的种类基本一致, 但基部各成分的含量明显高

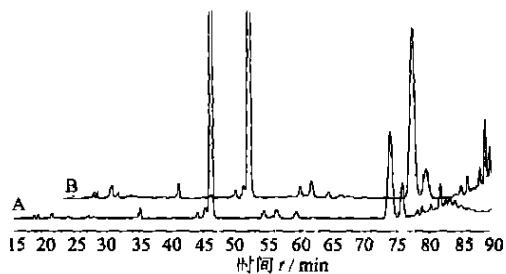


图 3 栽培肉苁蓉 (A) 与野生管花肉苁蓉 (B) 指纹图谱比较

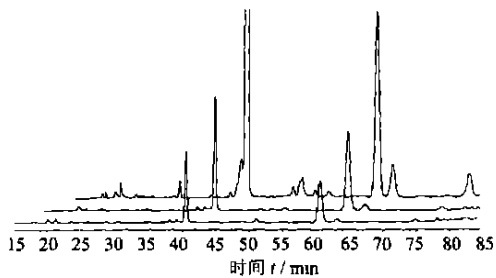
Fig 3 Fingerprint comparison of cultispecies (A) with wild *C. tubulosa* (B)

于中部和顶部; 主要有效成分松果菊苷的含量同样基部明显高于中部和顶端(表 2), 而中部和顶端没有明显的差别。另外, 笔者还对植株中部的皮层和髓部的化学成分进行了分析, 结果见表 2 和图 5。结果表明, 皮层和髓部在化学成分的种类上无明显的差别, 含量髓部稍高于皮层。

表 2 管花肉苁蓉不同部位松果菊苷含量的测定结果 (n=3)

Table 2 Echinacosides in *C. tubulosa* at different segments (n=3)

部位	含量/(mg · g ⁻¹)	部位	含量/(mg · g ⁻¹)
顶端	9.64	皮层	14.08
中部	9.67	髓部	18.54
基部	101.36		



从前向后依次为主茎顶端 5 cm、主茎正中部 5 cm、主茎基部 5 cm
Order from front to rear is apical part (5 cm), median (5 cm), and base (5 cm) in main stem

图 4 管花肉苁蓉不同部位的指纹图谱比较

Fig 4 Fingerprint comparison of *C. tubulosa* at different segments

2.7 管花肉苁蓉花期不同部位化学成分的比较: 对盛花期的同一植株的主茎和花序轴的化学成分进行了分析, 同时对果期木质化的花序轴的化学成分进行了分析, 结果见表 3 和图 6。结果表明开花后管花肉苁蓉的苯乙醇苷类成分的种类没有明显的变化, 但含量明显下降, 主要有效成分松果菊苷的含量主茎明显低于花序轴; 木质化的花序轴在保留时间 23 min 左右的成分明显升高, 其他成分降低。

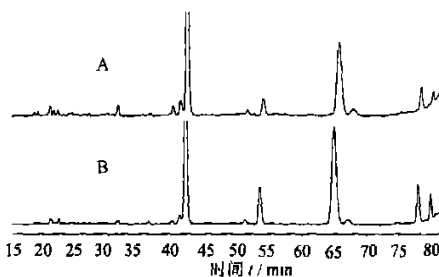


图 5 管花肉苁蓉皮层(A)和髓部(B)指纹图谱比较
Fig 5 Fingerprint comparison of cortex (upside) and medulla (underside) of *C. tubulosa*

表 3 管花肉苁蓉主茎、花序轴及木质化花序轴松果菊苷含量的测定结果 (n=3)

Table 3 Echinacoside in main stem, rachis and lignified rachis of *C. tubulosa* (n=3)

部位	含量/(mg · g ⁻¹)
主茎	1.43
花序轴	7.85
木质化花序轴	2.28

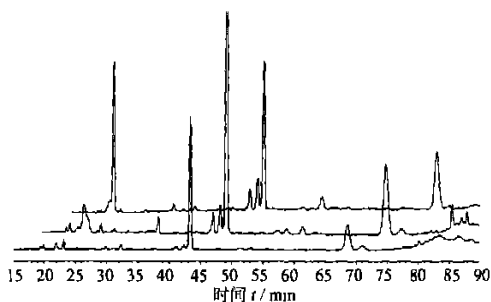


图 6 管花肉苁蓉花期的主茎(前)、花序轴(中)和木质化花序轴(后)的指纹图谱比较

Fig 6 Fingerprint comparison of main stem (front), rachis (median), and lignified rachis (rear) during blooming of *C. tubulosa*

3 讨论

3.1 从本实验各种样品的苯乙醇苷类指纹图谱可以看出, 管花肉苁蓉所含的苯乙醇苷类成分的种类基本相同, 说明该种化学成分变化较小。各成分含量的变化趋势与其主要有效成分松果菊苷含量的变化趋势基本一致, 所以采用松果菊苷含量为指标进行质量控制能够有效地控制管花肉苁蓉的质量。

3.2 对不同生长期管花肉苁蓉的化学成分和松果菊苷含量分析结果表明, 生长 3 年以上的管花肉苁蓉的有效成分含量较高, 而且较稳定, 从株产量和质量综合考虑, 建议管花肉苁蓉的栽培时间应在 3 年以上。目前少数栽培基地 2 年采收, 其质量值得考虑。

3.3 管花肉苁蓉开花后苯乙醇苷类成分含量明显

下降,传统在开花前采挖,是有一定科学道理的。

3.4 多年来,各栽培基地一直认为肉苁蓉的栽培环境、生长习性与野生品没有明显区别,其质量也不会有明显的变化,因此只重视产量,未对质量进行分析。本研究结果表明,栽培管花肉苁蓉的有效成分含

量明显低于野生品,因此在栽培技术上仍须研究,提高有效成分的含量。

Reference:

- [1] Tu P F, Wang B, Deyama T, et al Analysis of phenylethanoic glycosides of *Herba Cistanchis* by RP-HPLC [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 1997, 32(4): 294-300

肉苁蓉花粉生活力测定研究

牛东玲^{1,2}, 宋玉霞^{1*}, 郭生虎¹, 高晓原¹, 马洪爱¹, 郑国琦^{1,2}

(1. 宁夏农业生物技术重点实验室, 宁夏 银川 750002; 2. 宁夏大学生命科学学院, 宁夏 银川 750021)

摘要:目的 了解肉苁蓉花粉在自然条件下的寿命。方法 采用花粉离体萌发法,对自然生长的肉苁蓉花粉生活力进行测定研究。结果 肉苁蓉花粉萌发的最佳条件为初花期花粉,在恒温 25℃,以 0.6% 琼脂+ 10% 蔗糖+ 0.1% 硼酸为离体培养基进行培养,有利于花粉的萌发和花粉管的生长;低温(4℃)条件下可进行短期的花粉贮藏,延长花粉的寿命。结论 为采用肉苁蓉花粉进行优良种质资源的保存和人工育种工作提供了理论依据。

关键词: 肉苁蓉; 花粉萌发; 生活力

中图分类号: R 282.21

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2004)06-0679-04

Studies on pollen viability of *Cistanche deserticola*

N U Dong-ling^{1,2}, S O N G Yu-xia¹, G U O Sheng-hu¹, G A O Xiao-yuan¹, M A Hong-ai¹, Z H E N G Guo-qi^{1,2}

(1. Ningxia Agricultural Biotechnology Key Laboratory, Yinchuan 750002, China;

2. School of Life Science, Ningxia University, Yinchuan 750021, China)

Abstract: **Object** To understand pollen life of *Cistanche deserticola* Y. C. Ma in natural conditions

Methods To determine pollen viability of *C. deserticola* in natural state by pollen germination method *in vitro*

Results The optimum conditions of *C. deserticola* pollen germination are pollens in primary flowering time and a culture medium with 0.6% agar + 10% sucrose + 0.1% boric acid, cultured in 25℃, which is benefit to pollen germination and pollen tube growth; low temperature (4℃) is benefit to pollen short-dated storage and can prolong pollen life

Conclusion The study provides a theoretical basis for conserving better seed resources and artificial cultivating by pollen of *C. deserticola*

Key words: *Cistanche deserticola* Y. C. Ma; pollen germination; viability

肉苁蓉 *Cistanche deserticola* Y. C. Ma 又名大芸、苁蓉、荒漠肉苁蓉,为列当科肉苁蓉属多年生寄生草本植物,以肉质茎入药,是我国沙漠地区特有的名贵药材^[1]。由于肉苁蓉的寄生生长特性及近年来的过度采挖,致使野生资源日趋减少,已被列为国家二级珍稀濒危保护植物^[2-4],因而保护和扩大肉苁蓉种质资源的研究工作尤为重要。有关植物种质资源保存的方法主要有种植保存、贮藏保存、试管保存等^[5]。花粉是种子植物的雄配子体,在有性繁殖中发挥着重要作用,利用花粉进行种质资源的贮藏保存

是非常重要的手段之一。目前有关肉苁蓉人工种植成功已有报道^[6,7],这为创造优良肉苁蓉种质资源,对其进行人工育种奠定了基础。而花粉生活力又是人工辅助授粉成败的关键因素,为此对野生肉苁蓉的花粉进行了生活力的测定研究,以期对肉苁蓉优良种质资源的保存和人工育种工作提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 材料: 试验所用肉苁蓉的花粉于 2003 年 5 月中旬采自内蒙古阿拉善盟阿拉善左旗苏海图苏木荒漠生境中自然生长的开花期肉苁蓉植株上,分别采

* 收稿日期: 2003-11-19

基金项目: 国家自然科学基金项目(30260008); 宁夏自然科学基金项目(C123)

作者简介: 牛东玲(1973—),女,讲师,硕士,2001年毕业于中国科学院西北高原生物研究所,主要从事植物学和药用植物学方面的教学与科研工作。

* 通讯作者 E-mail: songyx666@163.com