

中,当生根培养基中 NAA 为 0.05~0.1 mg/L 时,最有利于生根和成苗的 BA 为 0.15 mg/L。

表 4 NAA 与 BA 对比对姜试管苗生根及成苗的影响\*

Table 4 Effect of NAA and BA combination on rooting and seedling formation

NAA (mg·L <sup>-1</sup> )	BA (mg·L <sup>-1</sup> )	外植体 数/个	分化成苗数** /(个·外植体 <sup>-1</sup> )	平均根数 /(条·株 <sup>-1</sup> )	根发育 情况
0.05	0	20	1.4±0.4	8.1±2.1	正常
0.05	0.05	20	2.5±0.4	7.7±1.3	正常
0.05	0.15	20	3.9±0.4	8.7±1.0	正常
0.05	0.5	19	3.7±0.9	8.1±1.5	正常
0.1	0	20	1.3±0.6	11.2±2.7	轻度愈伤
0.1	0.05	20	3.4±0.9	14.1±3.0	正常
0.1	0.15	20	4.4±0.7	15.0±2.2	正常
0.1	0.5	20	3.9±1.2	9.0±1.9	正常
0.5	0	19	1.2±0.2	9.4±3.3	严重愈伤
0.5	0.05	20	2.4±0.8	10.6±2.8	轻度愈伤
0.5	0.15	19	3.9±1.4	9.9±2.4	正常
0.5	0.5	20	3.7±1.1	5.6±1.3	正常

\* 转接后 30 d 调查,生根率均为 100%; \*\* 指高于 3.0 cm 的芽苗的数量

\* Investigation on 30 th day after transferring, rooting rate was all 100%; \*\* Indicate numbers of seedlings higher than 3 cm

### 3 讨论

一般认为,在试管苗生长与分化过程中,细胞分裂素比率高时利于诱导芽,但在实际应用中不仅要考虑芽的增殖数量,更要注意分化芽苗的质量,只有具有一定高度和粗度的芽苗才是有效芽苗。本试验结果表明,细胞分裂素是姜芽分化增殖必不可少的,但过高的细胞分裂素会影响芽苗的生长。而适量添加生长素不仅可促进芽的分化增殖,更有利于芽苗的生长(表 3)。不过,NAA 质量浓度较高(0.4~1.0 mg/L)时,姜芽苗生长表现出细弱徒长趋势,不利于移栽成活及移栽后的生长,这一点与曾令波等在半夏组培中的结果相似<sup>[5]</sup>。

在不定根诱导形成中,生长素促进生根,而细胞分裂素一般对不定根分化有抑制作用<sup>[6,7]</sup>,多数组培苗生根单用生长素,也有在不含激素的培养基中诱导生根的。张秀清等<sup>[8]</sup>在莱芜片姜组培时将幼芽转到不含激素的空白培养基中诱导生根;徐燕等<sup>[9]</sup>的试验结果是在培养基中添加 NAA 0.1 mg/L,生姜的生根效果较好。但本试验发现,单用生长素,根易愈伤化,形成不正常根,而适量附加 BA,不仅可消除愈伤化、促进生根,而且可明显增加成苗数,当然,较高的 BA 则会对根的分化产生不利影响。本试验中,最适于姜不定根分化和成苗的激素配比为 NAA 0.1 mg/L 和 BA 0.15 mg/L。

### References:

- [1] Qu D Y, Li S D. *Survey of Vegetables Seed Industry in China* (中国蔬菜种业大观) [M]. Beijing: China Agriculture Press, 2001.
- [2] Surh Y J. *Chemopreventive Properties of Hot Chili Pepper and Ginger* [M]. Amsterdam: IOS Press, 1998.
- [3] Ma J J. Research and prospect on pharmacological effect of ginger [J]. *Anth Med* (医学文选), 1999, 18(3): 471-472.
- [4] Wang J Y, Fan G Q, Zhang P. Study on techniques of taking off virus and tissue culture of Ginger [J]. *Shandong Agric Sci* (山东农业科学), 1999, (6): 7-9.
- [5] Zeng L B, Zhou J Y, Zhao J, et al. The effect of plant hormones on morphogenesis in tissue culture of *Pinellia ternate* Breit. [J]. *J Anhui Normal Univ—Nat Sci* (安徽师范大学学报·自然科学版), 1995, 18(3): 42-46.
- [6] Pan R C, Dong Y D. *Plant Physiology* (植物生理学) [M]. Beijing: Higher Education Press, 1995.
- [7] Huang X L, Li Y J. *Morphogenesis and Regulation Higher Plant Tissue in Isolated Culture* (高等植物组织离体培养的形成建成及调控) [M]. Beijing: Science Press, 1995.
- [8] Zhang X Q, Wang C Y, Liu Y J, et al. Culture and propagation of ginger growing point *in vitro* [J]. *Plant Physio Commun* (植物生理学通讯), 1995, 31(3): 192-193.
- [9] Xu Y, Li Z X, Nie H L. Tissue culture research of green rhizomes [J]. *Changjiang Vegetables* (长江蔬菜), 2002, (Suppl): 104.

## 八大品种菊花中不同成分的含量比较

贾凌云<sup>1</sup>, 孙启时<sup>1</sup>, 黄顺旺<sup>2</sup>

(1. 沈阳药科大学中药学院, 辽宁 沈阳 110016; 2. 安徽省医药科技实业有限公司, 安徽 合肥 230001)

**摘要:**目的 研究八大品种菊花中不同成分的含量。方法 以绿原酸、木犀草素-7-O-β-D-葡萄糖苷及芹菜素-7-O-β-D-葡萄糖苷为指标,采用高效液相色谱法对不同品种的菊花进行了含量测定。结果 绿原酸含量以济菊和祁菊最高,川菊最低;木犀草素-7-O-β-D-葡萄糖苷含量以济菊最高,而亳菊最低;芹菜素-7-O-β-D-葡萄糖苷含量以济菊最高,而最低为贡菊、亳菊和怀菊。结论 绿原酸和黄酮类成分均高者才是优良品种。

收稿日期:2004-01-15

作者简介:孙启时(1945—),男,吉林松源人,教授,博士生导师,主要从事中药资源开发和利用的研究。  
Tel: (024) 23843711-3690 E-mail: sunqishi@sina.com

关键词:菊花;绿原酸;木犀草素-7-O-β-D-葡萄糖苷;芹菜素-7-O-β-D-葡萄糖苷;RP-HPLC  
中图分类号:R282.6 文献标识码:A 文章编号:0253-2670(2004)10-1180-04

## Comparison of various constituents in eight kinds of chrysanthemum

JIA Ling-yun<sup>1</sup>, SUN Qi-shi<sup>1</sup>, HUANG Shun-wang<sup>2</sup>

(1. School of Chinese Materia Medica, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China;

2. Anhui Medicinal Scientific and Technologic Industry Co., Ltd., Hefei 230001, China)

**Key words:** *Chrysanthemum morifolium* Ramat.; chlorogenic acid; luteolin-7-O-β-D-glucoside; apigenin-7-O-β-D-glucoside; RP-HPLC

菊花作为一种传统中药,具有疏风、清热、明目、解毒功效<sup>[1]</sup>。现代药理表明,菊花总黄酮具有降低血压,扩张冠状动脉,防止冠状动脉粥样硬化<sup>[2]</sup>等作用,临床上用于治疗高血压和冠心病<sup>[3]</sup>。但其品种较多,《中华人民共和国药典》2000年版一部载有滁菊、亳菊、贡菊和杭菊,而全国各地著名的菊花共有8个品种。《中华人民共和国药典》以绿原酸为指标进行含量测定,而其治疗心血管疾病的有效成分为黄酮类化合物,其中木犀草素-7-O-β-D-葡萄糖苷及芹菜素-7-O-β-D-葡萄糖苷是其有效成分之一<sup>[4,5]</sup>,本实验在对其化学成分和提取工艺进行研究的基础上<sup>[6,7]</sup>,为了控制菊花的质量,利用高效液相色谱法,对中国八大主流菊花的主要成分进行了比较研究。

### 1 材料

1.1 样品来源:滁菊(安徽滁州)、贡菊(安徽歙县)、亳菊(安徽亳州)、杭白菊、祁菊、川菊、济菊、怀菊(河南武陵)分别购于当地的药材公司,经沈阳药科大学药用植物教研室孙启时教授鉴定为菊花 *Chrysanthemum morifolium* Ramat.。

1.2 仪器与试剂:高效液相色谱仪,日本岛津公司,型号 LC-10 AT;色谱柱, Kromasil C<sub>18</sub>(200 mm×4.6 mm, 5 μm),大连依利特有限公司;甲醇(色谱纯),山东禹王实业有限公司禹成化工厂;水(娃哈哈纯净水,杭州娃哈哈集团);其他为分析纯。绿原酸,中国药品生物制品检验所,批号 753-9406;木犀草素-7-O-β-D-葡萄糖苷及芹菜素-7-O-β-D-葡萄糖苷对照品,自制,纯度 98.5% 以上。

### 2 方法与结果

#### 2.1 绿原酸含量测定

2.1.1 色谱条件及系统适用性试验:色谱柱为十八烷基键合硅胶填充剂;0.1 mol/L 磷酸二氢钠缓冲液-甲醇(70:30)为流动相;检测波长:328 nm。理论塔板数按绿原酸峰计算不低于 5 000。

2.1.2 对照品溶液的制备:精密称取绿原酸对照品适量,置棕色量瓶中,加水制成 0.1 mg/mL 溶液,

即得(10℃以下保存)。

2.1.3 供试品溶液的制备<sup>[1]</sup>:称取菊花粉末(过一号筛)约 1 g,精密称定,置锥形瓶中,精密加入甲醇 50 mL,称定质量,加热回流 2 h,冷却,再称定质量,用甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,精密量取续滤液 10 mL,蒸干,残渣加氯仿 5 mL,浸渍 3 min,弃去氯仿液,残渣挥去氯仿,加水适量溶解,转移至 5 mL 量瓶中,加水至刻度,摇匀,微孔滤膜(0.45 μm)滤过,即得(应于当日测定)。

2.1.4 线性关系的考察:精密称取绿原酸对照品约 16 mg,置 25 mL 棕色量瓶,加水溶解并稀释至刻度,摇匀,再精确吸取 1.0、1.5、3.0、4.5、6.0 mL,置 10 mL 量瓶中,加水稀释至刻度,摇匀,分别精确吸取 10 μL 进样,按色谱条件测定峰面积,以质量浓度(C)为横坐标,峰面积值(A)为纵坐标绘制标准曲线,计算得回归方程  $A = 763\ 607\ C + 373.02$ ,  $r = 0.999\ 8$ 。结果表明绿原酸在 0.064~0.384 mg/mL 与峰面积线性关系良好。

2.1.5 精密度试验:取供试品溶液,重复进样 5 次,记录绿原酸的峰面积,  $RSD = 0.14\%$ 。

2.1.6 稳定性试验:取供试品溶液,分别在 0、2、4、6、8 h 测定,记录绿原酸的峰面积,  $RSD = 0.12\%$ ,结果样品在 8 h 内稳定。

2.1.7 重现性试验:精密称取供试品 5 份,按 2.1.3 项下方法分别制成供试品溶液,进样分析,测定绿原酸的峰面积,结果  $RSD$  为 3.0%,表明方法的重现性较好。

2.1.8 回收率试验:精密称取供试品 0.5 g,3 份,按高、中、低分别加入绿原酸,按 2.1.3 项下方法制备、测定,测得其中绿原酸的平均回收率为 98.0%,  $RSD$  为 2.1%。

2.1.9 样品的测定:分别精密称取样品 3 批各 1 g,按 2.1.3 项下制备方法,制成供试品溶液,进行测定,记录绿原酸的峰面积,计算含量,结果见图 1,表 1。

2.2 木犀草素-7-O-β-D-葡萄糖苷(LG)及芹菜素-7-

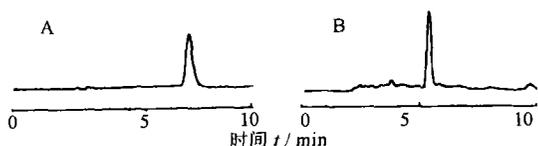


图 1 绿原酸对照品(A)与样品(B)的 HPLC 图

Fig. 1 HPLC of chlorogenic acid (A) and sample (B)

*O*-β-*D*-葡萄糖苷 (AG) 的含量测定

2.2.1 色谱条件及系统适用性试验:色谱柱为十八烷基键合硅胶填充剂;乙腈-甲醇-水(10:20:60)为流动相;柱温:室温;检测波长:332 nm;理论塔板数按木犀草素-7-*O*-β-*D*-葡萄糖苷峰计算应不低于 5 000,按芹菜素-7-*O*-β-*D*-葡萄糖苷峰计算应不低于 7 000。

2.2.2 对照品溶液的制备:精密称取木犀草素-7-*O*-β-*D*-葡萄糖苷及芹菜素-7-*O*-β-*D*-葡萄糖苷对照品约 10、20 mg,分别置 50 mL 量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀。精确吸取 7.0、1.0 mL 置 10 mL 量瓶,加甲醇稀释至刻度摇匀,即得。

2.2.3 供试品溶液的制备:精密称取菊花 1 g,置索氏提取器中,加甲醇 100 mL,回流提取 4 h,回收甲醇,残渣用适量甲醇溶解,滤过于 25 mL 量瓶中,并用甲醇洗涤残渣,洗液一并滤入量瓶,加甲醇稀释至刻度,摇匀,作为供试品溶液。

2.2.4 线性关系的考察:精密称取木犀草素-7-*O*-β-*D*-葡萄糖苷对照品约 10 mg,置 50 mL 量瓶,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,再精确吸取 0.5、1.5、3.5、5.0、7.0、9.0 mL,置 10 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,分别精确吸取 10 μL,按色谱条件测定峰面积,以质量浓度 (C) 为横坐标,峰面积值 (A) 为纵坐标绘制标准曲线,经计算得回归方程:  $A = 1.3664 \times 10^3 C + 1.9156 \times 10^3$ ,  $r = 0.9999$ 。结果表明木犀草素-7-*O*-β-*D*-葡萄糖苷在 0.01~0.18 mg/mL 与峰面积线性关系良好。

精密称取芹菜素-7-*O*-β-*D*-葡萄糖苷对照品约 20 mg,置 50 mL 量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,作为储备液。精确吸取储备液 1.0、2.5、5.0 mL,置 10 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,分别吸取 2.5 和 5.0 mL 置 10 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,分别精确吸取 10 μL,按色谱条件测定峰面积,以芹菜素-7-*O*-β-*D*-葡萄糖苷的质量浓度 (C) 为横坐标,峰面积值 (A) 为纵坐标绘制标准曲线,经计算得回归方程:  $A = 2.7001 \times 10^4 C + 2.197 \times 10^3$ ,  $r = 0.9999$ 。结果表明芹菜素-7-*O*-β-*D*-葡萄糖苷在 0.01~0.2 mg/mL 内,线性关系良好。

2.2.5 精密度试验:取供试品溶液,重复进样 5 次,记录木犀草素-7-*O*-β-*D*-葡萄糖苷和芹菜素-7-*O*-β-*D*-葡萄糖苷的峰面积,RSD 分别为 0.67%、0.81%。

2.2.6 稳定性试验:取供试品溶液,分别在 0、2.5、5.0、7.5、10.0 h 测定,记录木犀草素-7-*O*-β-*D*-葡萄糖苷和芹菜素-7-*O*-β-*D*-葡萄糖苷的峰面积,RSD 分别为 0.46%、0.85%,结果样品在 10 h 内稳定。

2.2.7 重现性试验:精密称取供试品 5 份,按 2.2.3 项下方法分别提取制成供试品溶液,进样分析,测定木犀草素-7-*O*-β-*D*-葡萄糖苷和芹菜素-7-*O*-β-*D*-葡萄糖苷的峰面积,RSD 分别为 0.82%、1.6%。

2.2.8 回收率试验:精密称取已测知含量的供试品 0.5 g,3 份,按高、中、低分别加入木犀草素-7-*O*-β-*D*-葡萄糖苷 1 mg 和芹菜素-7-*O*-β-*D*-葡萄糖苷 0.3 mg,按 2.2.3 项下制备、测定,测得其中的木犀草素-7-*O*-β-*D*-葡萄糖苷和芹菜素-7-*O*-β-*D*-葡萄糖苷回收率分别为 98.4%、98.3%,RSD 分别为 1.34%、1.26%。

2.2.9 样品的测定:分别精密称取 3 批样品各 1 g,按 2.2.3 项下制备方法,制成供试品溶液,进行测定,记录木犀草素-7-*O*-β-*D*-葡萄糖苷和芹菜素-7-*O*-β-*D*-葡萄糖苷的峰面积,计算出含量,结果见表 1,图 2。

表 1 八大品种菊花不同成分测定结果 (n=3) %

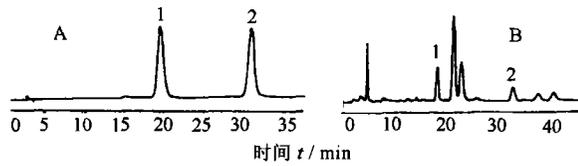
Table 1 Determination of various constituents in eight kinds of chrysanthemum (n=3) %

样品	绿原酸	木犀草素-7- <i>O</i> -β- <i>D</i> -葡萄糖苷	芹菜素-7- <i>O</i> -β- <i>D</i> -葡萄糖苷
滁菊	0.21	0.030 3	0.027 3
茱萸	0.21	0.048 5	0.018 7
亳菊	0.22	0.009 3	0.018 3
杭菊	0.20	0.040 7	0.058 8
祁菊	0.39	0.040 9	0.027 6
怀菊	0.18	0.046 9	0.018 5
济菊	0.42	0.013 5	0.100 0
川菊	0.11	0.019 1	0.038 6

3 讨论

木犀草素-7-*O*-β-*D*-葡萄糖苷和芹菜素-7-*O*-β-*D*-葡萄糖苷对照品的甲醇溶液经紫外分光光度计扫描,得最大吸收波长分别为 349、332 nm,芹菜素-7-*O*-β-*D*-葡萄糖苷在 HPLC 色谱图中峰面积较木犀草素-7-*O*-β-*D*-葡萄糖苷小,故选取芹菜素-7-*O*-β-*D*-葡萄糖苷吸收波长 332 nm 为检测波长。

对甲醇-水系统和乙腈-水系统及乙腈-甲醇-水系统分别进行考察,乙腈-甲醇-水(10:20:60)较



1-木犀草素-7-O-β-D-葡萄糖苷 2-芹菜素-7-O-β-D-葡萄糖苷  
1-luteolin-7-O-β-D-glucoside 2-apigenin-7-O-β-D-glucoside

图 2 木犀草素-7-O-β-D-葡萄糖苷及芹菜素-7-O-β-D-葡萄糖苷 (A) 和样品 (B) HPLC 图

Fig. 2 HPLC of luteolin-7-O-β-D-glucoside and apigenin-7-O-β-D-glucoside (A) and sample (B)

好, 可以作为流动相。

本实验对不同品种菊花的含量进行比较, 结果表明: 绿原酸含量以济菊和祁菊最高, 川菊最低; 木犀草素-7-O-β-D-葡萄糖苷含量以济菊最高, 其次是贡菊和怀菊, 而亳菊最低; 芹菜素-7-O-β-D-葡萄糖苷含量以济菊最高, 其次是杭菊, 而最低为贡菊、亳菊和怀菊。因此, 不能以单一成分定其质量的好坏,

只有绿原酸和黄酮类成分均高, 才是质量优者。

#### References:

- [1] Ch P (中国药典) [S]. Vol 1. 2000.
- [2] The Group of Physiology. The experimental study of the function of chrysanthemum preparation on coronary artery [J]. *J Zhejiang Med Univ* (浙江医科大学学报), 1978, 7(4): 5-9.
- [3] Jiangsu New Medical College. *Dictionary of Chinese Materia Medica* (中药大辞典) [M]. Shanghai: Shanghai People's Publishing House, 1997.
- [4] Liu Z. A review on flavonoid cardiovascular active principles occurring in Chinese medicinal herbs [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1987, 18(4): 34-42.
- [5] Dai M, Liu Q, Li D Z, et al. Research of material bases on antifebrile and hypotensive effects of *Flos Chrysanthemi* [J]. *J Chin Med Mater* (中药材), 2001, 24(7): 505-506.
- [6] Jia L Y, Sun Y, Wang C Y, et al. Studies on extraction process of flavonoids of *Chrysanthemum morifolium* Ramat [J]. *J Chin Med Mater* (中药材), 2003, 26(1): 35-37.
- [7] Jia Y, Sun Q S, Huang S W. Isolation and identification of flavonoids from *Chrysanthemum morifolium* Ramat [J]. *J Chin Med Chem* (中国药物化学杂志), 2003, 13(3): 159-161.

## 五加的秋季扦插研究

王仕玉<sup>1</sup>, 杨灿光<sup>2</sup>, 郭凤根<sup>3</sup>

(1. 云南农业大学园林园艺学院, 云南 昆明 650201; 2. 云南农业大学动物科学技术学院, 云南 昆明 650201; 3. 云南农业大学农学与生物技术学院, 云南 昆明 650201)

五加 *Acanthopanax gracilistylus* W. W. Smith 又名刺五加、五加皮、五叶路刺或“戈哈”(哈尼语), 五加科落叶灌木<sup>[1]</sup>。其根、根皮及茎皮为传统中药, 具有祛风湿、壮筋骨、强腰膝、活血化瘀等功效, 以其为原料研制的维尔泰口服液等产品畅销国内外; 其生长季节萌生的嫩芽和嫩茎叶可作野菜食用, 营养丰富, 味美可口, 在市场上供不应求。随着五加的开发利用, 野生资源日趋减少, 人工繁殖技术的研究已迫在眉睫。为大量繁殖这一珍贵资源以供应市场, 同时保护好野生五加资源, 开展了五加的扦插繁殖研究。

### 1 材料与方法

1.1 材料处理: 2000年9月15日在云南农业大学中药资源圃内采集五加枝条, 剪成15~20 cm的带1个芽的茎段, 下端剪成斜口, 上端剪成距芽1~2

cm的平口, 将枝条斜面朝下盛放于小水桶中, 在水龙头下用小流水冲洗12 h后取出稍晾干备用。

1.2 正交试验设计: 本研究设3个因素, 每因素设2个水平(表1), 通过正交表 $L_4(2^3)$ 作正交试验设计<sup>[2]</sup>得到下列4个处理组合: ① $A_1B_1C_1$ 为嫩枝用NAA 1 000 mg/L速蘸10 s后扦插于河沙中; ② $A_1B_2C_2$ 为嫩枝用清水处理后扦插于红土中; ③ $A_2B_1C_2$ 为老枝用清水处理后扦插于河沙中; ④ $A_2B_2C_1$ 为老枝用NAA 1 000 mg/L速蘸10 s后扦插于红土中。每处理50枝, 重复2次。

1.3 扦插及插后管理和指标观测: 用于扦插的插床长宽分别为2和1 m, 插前给基质浇透水, 并在插穗上端用蜡封口。扦插株行距为18~20 cm×20~22 cm, 扦插深度5 cm左右, 插后用遮阳网遮阴并视基质情况浇水。插后10 d左右观察萌芽情况, 50 d左

收稿日期: 2004-01-24

基金项目: 云南省教委科研基金资助课题

作者简介: 王仕玉(1965—), 女, 重庆市合川县人, 1988年7月毕业于西南农业大学园艺系并获农学硕士学位, 同年分配到云南农业大学园艺系工作, 现在云南农业大学园林园艺学院任副教授, 在职攻读农学博士学位。主要从事园艺作物和中草药的研究, 主持或参与完成了十多项科研课题的研究工作, 在各种学术刊物上发表论文30多篇。Tel: 0871-5227724