

- Univ; Nat Sci (福建农林大学学报:自然科学版), 2002, 31 (4): 484-489.
- [10] Qiu Y X, Fu C X, He Y F. Identification of *Michelia tosi* types of using ISSR-PCR marker assays [J]. *Sci Silvae Sin* (农林科学), 2002, 38 (6): 49-52.
- [11] Zhou Y Q, Jing J Z, Li Z Y. Optimization of ISSR-PCR amplification in *Huai Rehmannia Glutinosa* [J]. *Acta Bot Boreal.-Occident Sin* (西北植物学报), 2004, 24 (1): 6-11.
- [12] Liao W F, Xia N H. Study on genetic diversity of *Manglietia deciduas* (Magnoliaceae) [J]. *Acta Bot Yunnan* (云南植物研究), 2004, 26 (1): 58-64.
- [13] Hong N. SPSS for Windows Statistical and Analytical Text-book (SPSS Windows 统计分析教程) [M]. Beijing: Electronic Industry Publishing House, 2000.
- [14] Rohlf F J. NTSYS-PC Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System [M]. (Version 2.0). New York: Exeter Software, Applied Biostatistics Inc., 1998.
- [15] Liu Z Y, Liang Z Y, Liu A Y. Investigation on microcycle conidiation of ascospores and conidiogenous structures of anamorph of *Cordyceps sinensis* [J]. *Guizhou Agric Sci* (贵州农业科学), 2003, 31 (1): 3-5.
- [16] Dong Y C, Luo D Q. Research for *Cordyceps sinensis* in China [J]. *Territ & Nat Resour Stud* (国土与自然资源研究), 1996, 3: 47-51.

莨菪发根培养体系的建立

陆倍倍¹, 张磊¹, 开国银², 张汉明¹, 丁如贤¹, 陈万生^{3*}

(1. 第二军医大学药学院 生药教研室, 上海 200433; 2. 上海交通大学植物生物技术研究中心 农业与生物学院复旦-交大-诺丁汉植物生物技术研发中心 生命科学技术学院, 上海 200030; 3. 第二军医大学长征医院, 上海 200003)

摘要:目的 建立莨菪 *Hyoscyamus niger* 的发根培养体系。方法 分别用 A4、LBA9402 和 C58C1 三种发根农杆菌菌株转化莨菪子叶受体, 获得发根; 测定发根的生长曲线和比较不同因素对发根生长量的影响; PCR 鉴定转化发根; 莨菪发根中生物碱类含量的测定。结果 首次利用发根农杆菌 A4、LBA9402、C58C1 三种菌株成功从莨菪中诱导出发根, 并建立了莨菪发根最优的培养体系; 经 PCR 鉴定证明 Ri 质粒的 T-DNA 已转化进莨菪的发根中。结论 莨菪发根培养体系的建立为利用遗传代谢工程手段调节莨菪次生代谢物含量和进行药用活性成分的工业化生产奠定了基础。

关键词: 莨菪; 发根农杆菌; 发根

中图分类号: R282.02

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2005)12-1864-05

Establishment of hairy root culture of *Hyoscyamus niger*

LU Bei-bei¹, ZHANG Lei¹, KAI Guo-yin², ZHANG Han-ming¹, DING Ru-xian¹, CHEN Wan-sheng¹

(1. Department of Pharmacognosy, School of Pharmacy, The Second Military Medical University, Shanghai 200433, China; 2. Plant Biotechnology Research Center of Shanghai Jiao Tong University, School of Agriculture and Biology, Fudan-SJTU-Nottingham Plant Biotechnology Research and Development Center, School of Life Science and Technology, Shanghai 200030, China; 3. Changzheng Hospital of the Second Military Medical University, Shanghai 200003, China)

Abstract: **Objective** To establish the cultural system for hairy root of *Hyoscyamus niger*. **Methods** Hairy root of *H. niger* was obtained from cotyledon explants after infected with *Agrobacterium rhizogenes* strains A4, LBA9402, and C58C1, respectively. The growth curves were determined and the effects of different factors on the growth of hairy root were compared. The transformation of Ri T-DNA was examined by PCR. And the contents of alkaloids in hairy root were determined. **Results** The hairy root of *H. niger* was successfully induced by using *A. rhizogenes* strains A4, LBA9402, and C58C1 for the first time and the best system of hairy root culture was established. The transformation of T-DNA from Ri plasmid to the hairy root was confirmed by PCR analysis. **Conclusion** The establishment of cultural system for hairy root of *H. niger* lays foundation for regulating the secondary metabolism of *H. niger* by genetic engineering technique and for the large-scale production of active drug components.

Key words: *Hyoscyamus niger* L.; *Agrobacterium rhizogenes*; hairy roots

自从发根农杆菌 Ri 质粒被人们发现和认识以来,它在许多领域都显示出极其广泛的应用前景。药

收稿日期: 2005-02-21

基金项目: 江苏省药用植物生物技术重点实验室开放基金(KJS03080)

作者简介: 陆倍倍(1980—),男,第二军医大学在读硕士研究生,从事药用植物代谢工程方面的研究。

* 通讯作者 陈万生 Tel: (021) 25070394 E-mail: chenwansheng@21cn.com

用植物转化天然的发根农杆菌 *Agrobacterium rhizogenes* 载体系统可以为提高其次生代谢物的产量提供新的途径^[1]。因此利用发根农杆菌转化药用植物建立发根培养体系,实现次生代谢物质的工业化生产以解决中药资源的短缺问题越来越受到人们的重视。相对于常规细胞培养,发根培养体系具有生长快速、不需外源植物激素、合成次生代谢物质能力强而且稳定及向培养液释放部分代谢产物等优点^[2]。另外,Ri质粒还是植物基因工程理想的载体,以Ri质粒为载体可将抗虫、抗病基因或植物次生代谢物合成关键酶基因整合到植物基因组并得到表达,从而达到改良植物性状、提高次生代谢物含量的目的^[3~5]。

莨菪 *Hyoscyamus niger* L.,又名横唐《本经》、行唐《别录》,为常用中药,以种子、根、叶入药,具解痉镇痛、安心定痢之功效。其主要的药用化学成分是莨菪烷生物碱莨菪碱(其外消旋体阿托品)和东莨菪碱^[6]。在医用方面这两种成分是作用于副交感神经系统的抗胆碱药,具有麻醉、解痉、止痛的功能^[7~9]。由于两者对中枢神经系统有不同的作用,目前在商用市场东莨菪碱的需求量是(一)莨菪碱的10倍。一些茄科植物已经作为商业化生产莨菪烷生物碱的来源。

笔者利用发根农杆菌 Ri 质粒首次成功地从莨菪 *H. niger* L. 诱导出毛状根,筛选出了各自的生长快速的优质株系,建立了发根培养体系,为进一步利用遗传代谢工程手段调节莨菪次生代谢物含量和进行药用活性成分的工业化生产奠定了基础。

1 材料与方法

1.1 发根农杆菌菌株:A4,LBA9402,C58C1。

1.2 植物材料:选取胚率50%~90%的莨菪种子,先用75%乙醇浸泡1min后用无菌水洗一次;然后在0.1% HgCl₂ 溶液中浸泡10min,最后用无菌水冲洗3~5次,以达到种子表面灭菌的目的。将经过灭菌处理的种子在无菌操作条件下播种到MS空白培养基上,置于4000 lx×12 h 日光照,28℃条件下发芽。大约两周后种子发芽长出实生苗。

1.3 叶盘法转化莨菪:用无菌牙签挑取YEB选择平板上的阳性菌落,接种于2 mL YEB 液体于28℃,200 r/min 振荡培养24~36 h;室温下4000×g,离心10 min;弃上清,菌体用1/2 MS 液体培养基悬浮,稀释到原体积的5~20倍,使菌液的A_{600 nm}=1.0左右;取生长两周左右的莨菪无菌叶片,去掉其主叶脉,将其剪成约0.8 cm²的小叶盘;将叶盘放入制备好的菌液中,浸泡10~15 min,在无菌滤纸上

吸干菌液(无须进一步吸干);经浸染的叶片放于不含激素的MS固体培养基(可覆盖一层无菌滤纸)上,28℃暗培养48 h;叶片转到除菌培养基(B5+Cef 500 mg/L)上,25~28℃光照下培养,7~15 d 可以看到叶盘边缘伤口处有发根长出。待发根长到2~3 cm 时从叶盘边缘切下,不同部位长出的发根独立编号,在相同培养基上继续培养,25~30 d 继代1次。

1.4 发根离体培养体系的建立和液体振荡扩大培养:挑选平板上快速生长、除菌完全的发根建立发根系。大约100 mg 鲜质量(15 mg 干质量)的新鲜发根放入150 mL 灭菌三角瓶,加入40 mL 1/2 B5 液体培养基,置于摇床上25℃,100 r/min 振荡暗培养。每2周继代1次。

1.5 分别用A4,LBA9402和C58C1三种发根农杆菌菌株转化莨菪子叶受体,并在共培养和除菌培养基中添加100 μmol/L 的乙酰丁香酮和烟草浸出液,统计不同转化事件的发根转化率,比较不同农杆菌菌株及活化因子诱导莨菪子叶外植体发根情况。

1.6 液培的第1、7、14、21、28、35 d 分别记录1次鲜物质和干物质质量,以平均质量为指标绘制生长曲线。鲜物质质量系用布氏漏斗抽滤至无水滴下时测定,干物质质量系60℃烘干后测得。绘制不同菌株转化系的生长速率曲线,比较其形态上的差异。

1.7 挑选生长旺盛的株系LBA9402进行以下实验,分别考察不同外源激素、培养基、pH 和不同碳源对发根生长量的影响。1)配制MS₀、1/2B5、N6、White 4种培养液培养发根,置于摇床上25℃,100 r/min 振荡暗培养。每2周继代一次。28 d 后称质量,测定不同培养液对发根生长的影响;2)以1/2B5为基本培养基,分别添加1 mg/L 的外源植物生长激素NAA、IAA、IBA、2,4-D 培养发根,方法同上,测定不同激素对发根生长量的影响;3)配制pH 值分别为4.4、4.6、5.2、5.6 四种1/2 B5 培养基培养发根,方法同上,测定不同pH 值对发根生长的影响;4)在1/2B5 液体培养基中附加质量浓度为30 g/L 的蔗糖、果糖和葡萄糖,测定不同碳源对发根生长量的影响。

1.8 发根的鉴定:CTAB法提取总DNA为模板,PCR鉴定rol基因:1) primers for *rolB*: 5'-GCT CTT GCA GTG CTA GAT TT-3', 5'-GAA GGT GCA AGC TAC CTC TC-3'。2) primers for *rolC*: 5'-TAA CAT GGC TGA AGA CGA CC-3', 5'-AAA CTT GCA CTC GCC ATG CC-3'。3) 反应体

系(25 μ L);ddH₂O 18 μ L, 10 $\times$ PCR buffer 2.5 μ L, 25 mmol/L MgCl₂ 2.0 μ L, 10 mmol/L dNTP mix 0.25 μ L, 10 mmol/L primer 1 0.25 μ L, 10 mmol/L primer 2 0.25 μ L, *Taq* DNA polymerase 0.25 μ L (1.25 U), Template 基因组 DNA 1.5 μ L。4) PCR 程序:95 $^{\circ}$ C 5 min,30 个循环(94 $^{\circ}$ C 1 min, 53 $^{\circ}$ C 1 min, 72 $^{\circ}$ C 1.5 min), 72 $^{\circ}$ C 5 min。

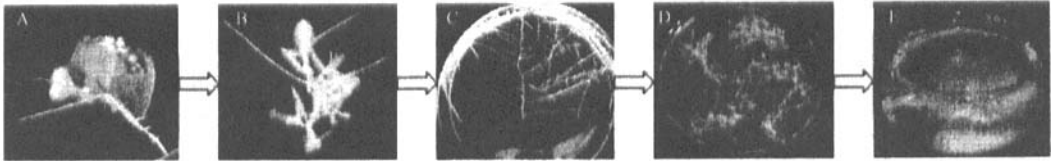
1.9 莨菪发根中生物碱类物质的测定:准确称取 60 $^{\circ}$ C 干燥 4 h 的干粉 0.05 g,置 20 mL 具塞试管中,加入乙醇-浓氨水-乙醚的混合液(5:4:10)数滴,使粉末湿润,放置过夜后,再加入乙醚 10 mL,涡旋振荡使粉末松动悬浮,置水浴(33~34 $^{\circ}$ C)煮沸,提取 3 h,倾出上层液,用脱脂棉滤过,滤液置小烧

杯中,管中药渣再分别以 10、10.5 mL 乙醚提取 3 次,每次 10 min,滤过,滤液并入小烧杯中,将小烧杯置水浴上蒸干,加入 0.25 mol/L 硫酸 1 mL,洗涤烧杯后倒入 5 mL 容量瓶中,再用蒸馏水适量洗烧杯数次,洗液并入容量瓶中,加入 0.5 mol/L NaOH 溶液 0.9 mL,用蒸馏水定容至刻度,高速离心(10 000 r/min) 10 min,取上清用 HPLC 测定生物碱含量。标准品购自 Sigma 公司。

2 结果与讨论

2.1 不同发根农杆菌菌株转化莨菪及其影响转化效率的因素

2.1.1 发根农杆菌转化莨菪子叶外植体后诱导发根及其生长情况:见图 1。



A-农杆菌 A4 感染 10 d 后从莨菪子叶伤口处诱导出的发根 B-在固体培养基(1/2 B5 和 30 mg/L 蔗糖)上生长 7 d 的第 1 代莨菪单克隆发根系;C,D-在相同培养条件下分别生长了 15 和 28 d 的继代单克隆发根系 E-1/2 B5 液体培养基大规模培养 3 周后的发根
A-hairy root induced from wounds of cotyledon explant of *H. niger* which was infected by A4 for 10 d B-first generation of monoclonal hairy root after growing on solid medium (1/2 B5 and 30 mg/L sucrose) for 7 d C, D-passage generation of monoclonal hairy root after growing on same condition for 15 and 28 d, respectively E-a large scale hairy root culture in liquid medium (1/2 B5) for 3 weeks

图 1 发根农杆菌感染莨菪子叶外植体后诱导的发根

Fig.1 Hairy root induced from wounds of cotyledon explant of *H. niger* infected by *A. rhizogenes*

2.1.2 不同农杆菌菌株转化莨菪及活化因子对转化效率的影响:用发根农杆菌 LBA9402 转化莨菪,100%长出了发根,说明 LBA9402 菌株有很强的“致病性”。用 A4 菌株诱导发根,只有不到 80%的外植体长出了发根。诱导发根具有明显的发根形态,固体培养基上呈现明显的非向地性,生长迅速,2 周内发根质量增加了 4 倍,而对照的莨菪非转化根质量却没有明显增加。说明 Ri 质粒中 T-DNA 区的 rol 基因已经转化进了发根并得到了表达。PCR 鉴定转化发根的结果见图 2。本实验还考察了乙酰丁香酮和烟草浸出液两种活化因子对农杆菌转化效率的影响,从表 1 可以看出,乙酰丁香酮和烟草浸出液均可显著提高农杆菌的转化率,其中以前者效果更佳。不同菌株诱导发根系液体扩大培养生长速率测定结果见图 3。

2.1.3 菌液浓度对转化效率的影响:在农杆菌介导的遗传转化中,适当的菌液浓度是转化成败的关键问题之一。菌液浓度过低,会使农杆菌细胞数目不足导致转化效率较低;菌液浓度过高,则由于营养不足造成菌液中死菌数目过多,实际有感染能力的农杆

表 1 不同农杆菌菌株及活化因子诱导的莨菪子叶外植体发根

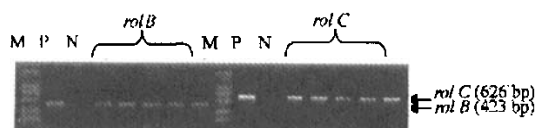
Table 1 Hairy root of cotyledon explant of *H. niger* induced by various *A. rhizogenes* strains and activation factors

菌 株	子叶外植体数量			发根产量/%		
	CK	AS*	TEC**	CK	AS	TEC
A4	147	112	98	68(46.3)	103(92.0)	74(75.5)
LBA9402	103	110	99	66(64.1)	98(89.1)	82(82.8)
C58C1	155	145	100	71(45.8)	101(69.7)	50(50.0)
Control	30	30	30	0(0.0)	3(10.0)	1(3.3)

* 乙酰丁香酮 ** 烟草浸出液

* acetosyringone ** extraction of tobacco

菌数目减少;此外,菌体产生的某些有害代谢产物对植物细胞造成伤害,引起转化效率下降;农杆菌的浓度太高,生长过盛就会造成外植体死亡;并且如果农杆菌在共培养培养基上生长过旺,即使用 500 mg/L、甚至 1 000 mg/L 的头孢菌素也不能将其杀死。选用适当菌液浓度的原则是能够达到最大转化效率的最小菌液浓度。因此在实验中,我们发现当菌液浓度在 A_{600 nm}值为 1.0~1.6 时,转化频率会维持在一



M-DL-2 000 DNA 分子质量标准(100~2 000 bp)

P-pRiA4 阳性对照 N-阴性对照

M-DNA Marker of DL-2 000 (100~2 000 bp)

P-positive control of pRiA4 N-negative control

图 2 转化发根中 *rolB* 和 *rolC* 基因的 PCR 检测结果

Fig. 2 PCR detection of *rolB* and *rolC* in transformed hairy root

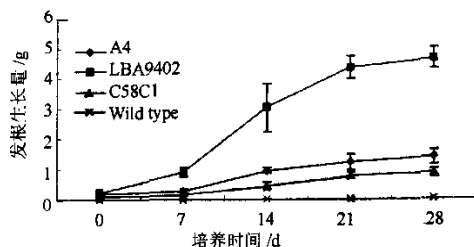


图 3 不同菌株诱导发根系液体扩大培养生长曲线

Fig. 3 Growth curves of hairy root in liquid culture induced by various *A. rhizogenes* strains

个相对稳定的值,不会随着菌液浓度的提高而增加;当菌液浓度过高时,转化频率反而会下降。

2.1.4 共培养的时间对转化效率的影响:共培养的时间以 3 天为好,此时转化效率达到最高值,进一步增加共培养时间,转化效率会急剧下降。究其原因可能是由于在共培养基上不含任何抗生素,植物细胞和细菌细胞都可以生长。而细菌细胞生长较快,其生长周期要比植物细胞的短。如果培养时间过长,过度生长的细菌细胞就会抑制植物细胞的正常生长,甚至会造成植物细胞的死亡。

2.1.5 共培养的温度、pH 对转化效率的影响:共培养的温度在 22 ℃时发根农杆菌的转化频率较高,因为它具有 2 个优点:1. 不容易发生质粒的丢失;2. 比较容易控制细菌的过度生长。缺点是植物细胞的生长也同时会受到一定程度的抑制。出于上述考虑,一般选择 25 ℃。在农杆菌与植物细胞进行共培养时,使用较低 pH 的培养基有利于转化频率的提高。原因可能是在偏酸的培养条件下,有利于农杆菌 *vir* 区基因的表达,但较低 pH 条件下,培养基的凝固状态较差,不利于试验操作,容易污染。pH 在 4.8~6.2 的范围内,对转化效率的负面影响较小。所以共培养时一般选择 pH 5.2 的条件。

2.2 不同激素、培养基、pH 和不同碳源对发根生长量的影响:本实验考察了不同激素、培养基、pH

和不同碳源对发根生长量的影响。从图 4 可以看出,在经过 28 d 的生长后,培养基以 1/2B5 和 MS 为佳;激素以 NAA 为最佳,1 mg/L 的 2,4-D 反而有抑制发根生长的作用;pH 为 5.2 时最适宜发根生长;蔗糖、果糖作为碳源具有相近的效果,而葡萄糖稍差。

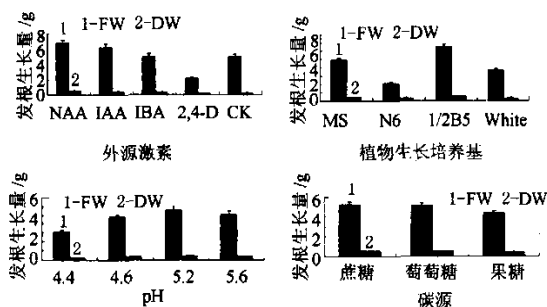


图 4 不同激素、培养基、pH 和碳源对发根生长量的影响

Fig. 4 Influence of various auxin, medium, pH value, and carbon sources on growth of hairy root

2.3 莨菪发根中生物碱类物质的量的测定结果:见表 2。其中转化发根的莨菪碱、东莨菪碱的量均要高于野生型的,这提示利用转化发根来大规模生产莨菪药用活性成分具有潜在的可行性。

表 2 莨菪发根中生物碱类物质

Table 2 Alkaloids in hairy root of *H. niger*

样 品	莨菪碱/($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	东莨菪碱/($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)
发 根	$2.24 \pm 0.69^*$	3.03 ± 1.12
愈 伤	0.59 ± 0.27	2.49 ± 0.84
野生型	0.77 ± 0.10	1.69 ± 0.34

3 结论

随着对莨菪烷生物碱代谢途径了解的深入,基因克隆和高效遗传转化系统的发展,利用遗传代谢工程手段在植物细胞工厂大量生产有用的次生代谢物成为研究的热点,主要目的是将莨菪碱转变为更有价值的东莨菪碱。将催化速率限制步骤的关键酶基因转入植物宿主中超量表达可以提高目标产物的含量。莨菪类生物碱的基本代谢途径已经研究得较为清楚,合成过程中第一个关键酶 PMT (putrescine *N*-methyltransferase) 1, 4-丁二胺-*N*-甲基转移酶催化腐胺变成 *N*-甲基腐胺;最后一个关键酶 H6H (hyoscyamine 6-hydroxylase) 莨菪碱 6-羟化酶两步催化莨菪碱变成东莨菪碱^[10]。Hashimoto 等^[11]已经从莨菪 *H. niger* 的根的 cDNA 文库中克隆到 *h6h* 基因。Jouhikainen 等在 *H. muticus* 发根中转入 *h6h* 东莨菪碱的量比对照提高了 100 倍,莨菪碱的量与对照相近^[12]。笔者尝

试将PMT和H6H构建到双价载体上,通过发根农杆菌转化莨菪,增加发根提高酶的表达活力,使东莨菪碱量最高的转化发根系比野生型(43 mg)提高了9倍,据了解这是目前利用遗传代谢工程在莨菪中获得的最大的东莨菪碱的量^[13]。

本实验利用发根农杆菌Ri质粒首次成功地从莨菪 *H. niger* L. 中诱导出毛状根,筛选出了各自的生长快速的优质株系,建立了发根培养体系,为进一步利用遗传代谢工程手段调节莨菪次生代谢物的量和进行药用活性成分的工业化生产奠定了基础。

References:

- [1] Hamill J D, Parr A J, Rhodes M J C, *et al.* New routes to plant secondary products [J]. *Biol Technol*, 1987, 5: 800-804.
- [2] Wang G L. *The Principle and Technology of Plant Genetic Engineering* (植物基因工程原理与技术) [M]. Beijing: Science Press, 1998.
- [3] Perlak F J, Fuchs R L, Dean D A, *et al.* Modification of the coding sequence enhances plant expression of insect control protein genes [J]. *Proc Natl Acad Sci*, 1991, 88: 3324-3328.
- [4] Dixon M S, Jones D A, Keddle J S, *et al.* The tomato Cf-2 disease resistance locus comprises two functional genes encoding Leucine-Rich repeat proteins [J]. *Cell*, 1996, 84: 451-459.
- [5] Canel C, Lopez-Cardoso M I, Whitmer S, *et al.* Effects of over-expression of strictosidine synthase and tryptophan decarboxylase on alkaloid production by cell cultures of *Catharanthus roseus* [J]. *Planta*, 1998, 205: 414-419.
- [6] Editorial Board of China Herbal, State Administration of Traditional Chinese Medicine, China. *China Herbal* (中华本草) [M]. Shanghai: Shanghai Scientific and Technical Publishers, 1999.
- [7] Phunchindawan M, Hirata K. Application of scopolamine in clinical practice [J]. *Neurol Psychiatr Ceskoslov*, 1950, 13 (1): 1-23.
- [8] Walton N, Christou P. A comparison of the central and peripheral effects of atropine, scopolamine and some synthetic atropine-like compounds [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 1952, 104 (4): 387-395.
- [9] Ruegenhagen C, Dietze P, Fecker L F, *et al.* Treatment of sprains with levorotatory scopolamine hydrobromide [J]. *Strasb Med*, 1953, 4 (3): 169-170.
- [10] Hashimoto T. Alkaloid biogenesis: molecular aspects [J]. *Plant Mol Biol*, 1994, 45: 257-285.
- [11] Matsuda J. Molecular cloning of hyoscyamine 6-hydroxylase, a 2-oxoglutarate-dependent dioxygenase, from cultured roots of *Hyoscyamus niger* [J]. *J Biol Chem*, 1991, 266: 9460-9464.
- [12] Jauhikainen K, Lindgren L, Jokelainen T, *et al.* Enhancement of scopolamine production in *Hyoscyamus muticus* L. hairy root cultures by genetic engineering [J]. *Planta*, 1999, 208: 545-551.
- [13] Zhang L, Ding R X, Chai Y R, *et al.* Engineering tropane biosynthetic pathway in *Hyoscyamus niger* hairy root cultures [J]. *Proc Natl Acad Sci*, 2004, 101: 6786-6791.

甘草药材 HPLC 指纹图谱研究

吴昭晖¹, 罗佳波¹, 游文玮²

(1. 南方医科大学 中药新药研究重点实验室, 广东 广州 510515; 2. 南方医科大学 化学系, 广东 广州 510515)

摘要:目的 建立甘草药材的 HPLC 指纹图谱。方法 采用反相高效液相色谱法, 选用 Zorbax SB-C₁₈ 柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) 色谱柱; 流动相为乙腈-1.2% 醋酸溶液 (梯度洗脱); 分析时间 70 min; 检测波长为 254 nm。结果 建立了甘草药材的 HPLC 指纹图谱, 标定了甘草药材 38 个共有指纹峰, 方法学考察结果符合指纹图谱技术要求。结论 方法稳定、可靠、重复性好, 可为甘草药材质控标准的制定和含甘草的中药方剂的物质基础研究提供参考。

关键词: 甘草; 指纹图谱; HPLC

中图分类号: R282.02

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2005)12-1868-05

Fingerprints of *Radix Glycyrrhizae* by HPLC

WU Zhao-hui¹, LUO Jia-bo¹, YOU Wen-wei²

(1. Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine and New Drug of Southern Medical University, Guangzhou 510515, China; 2. Department of Chemistry of Southern Medical University, Guangzhou 510515, China)

Abstract: Objective To establish the HPLC fingerprints of *Radix Glycyrrhizae*. **Methods** The RP-HPLC method was used, Zorbax SB C₁₈ column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) was employed; the

收稿日期: 2005-02-12

基金项目: 国家自然科学基金重点资助项目 (30030150)

作者简介: 吴昭晖 (1964—), 女, 福建省漳州市人, 1985 年厦门大学化学系毕业, 现为南方医科大学分析测试中心高级工程师, 研究方向为现代仪器分析。Tel: (020) 61648172 E-mail: youww@fimmu.com