

- [3] Chen Y J, Zhang Z, Wang Y, et al. Screening endophytic fungus to produce taxol from *Taxus yunnanensis* [J]. *Biotechnology* (生物技术), 2003, 13(2): 10-11.
- [4] Li H Y, Wang Z J, Zhang L Q, et al. Isolation of an endophytic fungus associated with *Sinopodophyllu memodi* [J]. *J Yunnan Univ: Nat Sci* (云南大学学报:自然科学版), 1999, 21(3): 243.
- [5] Wei J C. *The Identification Handbook of Fungus* (真菌鉴定手册) [M]. Shanghai: Shanghai Scientific and Technical Publishers, 1979.
- [6] Barnett H L, Hunter B B. *The Diagram of the Fungi Imperfectic* (半知菌属图解) [M]. Beijing: Science Press, 1977.

连翘果实干物质与有效成分积累规律研究

李卫建^{1,2}, 李先恩^{1*}

(1. 中国医学科学院 中国协和医科大学药用植物研究所, 北京 100094; 2. 农业部环境保护科研监测所, 天津 300191)

摘要:目的 研究不同生长期连翘果实干物质及叶和果实中有效成分的积累规律。方法 采用百果质量研究果实干物质的积累, HPLC法测定连翘叶与果实中有效成分的量。结果 5~7月是连翘果实干物质积累的重要时期。在整个生长过程中, 种子、叶和壳中连翘酯苷、连翘苷、芦丁的量均呈下降趋势。8月下旬至9月上旬, 果实干物质积累已趋缓, 种子和壳中有效成分的量稳定, 变异小。壳中有效成分的量经9~10月的快速下降后, 10月20日左右质量分数趋于稳定且达最低。青翘中有效成分的量高于老翘, 青翘中连翘酯苷、连翘苷与芦丁的比例与老翘存在显著差异。结论 在北京地区, 8月下旬至9月上旬, 为青翘最佳采收期; 10月20日左右为老翘的最佳采收期。

关键词: 连翘; 干物质; 连翘酯苷; 连翘苷; 芦丁

中图分类号: R282.2

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2006)06-0921-04

Regulation of dry substance and active components accumulation in fruit of *Forsythia suspensa*

LI Wei-jian^{1,2}, LI Xian-en¹

(Institute of Medicinal Plant, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100094, China; 2. Environment Monitor Institute, Ministry of Agriculture, Tianjin 300191, China)

Abstract: **Objective** To study the regulation of dry substance and active components accumulation in the fruit of *Forsythia suspensa*. **Methods** The dry substance of the fruit was analyzed by the method of hundred grain mass. The contents of the active components in leaves, shucks, and seeds were analyzed by HPLC. **Results** The period for *F. suspensa* to accumulate the dry substance was mainly May and July. During the whole growth phase, the active components, such as forsythiaside, forsythin, and rutin in different parts, were decreasing. From the last ten-day of August to the first ten-day of September, the accumulation of the dry substance came to stability and the contents of active components in shucks and seed were stable. The contents of active components in shucks decreased rapidly from September to October, and then came to stability and the contents in shucks is the least during the last ten-day of October. So the contents of active components in younger *F. suspensa* are higher than that in elder one, and the proportion among forsythiaside, forsythins, and lution is also significantly different from elder seeds. **Conclusion** It is more preferable to pick younger *F. suspensa* from the last ten-day of August to the first ten-day of September and to pick elder *F. suspensa* during last ten-day of October.

Key words: *Forsythia suspensa* (Thunb.) Vahl; dry substance; forsythiaside; forsythin; rutin

连翘为木犀科植物连翘 *Forsythia suspensa* (Thunb.) Vahl 的干燥果实, 具有清热解毒、消肿散

结之功效。连翘药材来源以野生资源为主, 产区“采青”时间过长, 采收期混乱, 是造成连翘品质差异的

收稿日期: 2005-10-20

作者简介: 李卫建(1980—), 男, 江苏常州人, 现主要从事药用植物质量控制和农产品质量安全研究。

* 通讯作者 李先恩 Tel: (010)62810019 E-mail: xianenli@sina.com

一个重要原因。本研究连翘在整个生长周期中,连翘果实干物质、叶与果实中有效成分的积累规律,为确定连翘合理采收期提供理论依据,将有助于连翘及其制剂的质量控制。

1 材料与方法

1.1 材料:选中国医学科学院药用植物研究所植物园种植连翘为样株,从2004年4月2日至10月20日,每隔20 d左右采样一次,采收的部位为连翘的叶、果实(表1)。随机选取100颗果实,分开种子与壳,自然晾干后,称质量,重复3次。将干燥至恒重的叶、种子和壳研成粉末,过40目筛,备用。

表1 不同生长期样品采集情况

Table 1 Sample collected in various growth times

编号	日期	材料	编号	日期	材料
csq-1	04-02	叶	csq-7	07-06	叶果实
csq-2	04-09	叶	csq-8	07-25	叶果实
csq-3	04-20	叶	csq-9	08-18	叶果实
csq-4	05-04	叶果实	csq-10	09-10	叶果实
csq-5	05-25	叶果实	csq-11	10-07	叶果实
csq-6	06-15	叶果实	csq-12	10-20	叶果实

连翘酯苷对照品由实验室自制,质量分数96%;连翘苷、芦丁对照品购自中国药品生物制品检验所,质量分数分别为98%、99%。

1.2 仪器:Waters 600 高压液相色谱仪, Waters 2487 紫外检测器, Empower 色谱工作站。

1.3 方法:连翘有效成分测定参考张文婷 HPLC 指纹图谱法^[1]。

1.3.1 色谱条件:色谱柱 Zorbax SB-C₁₈ 柱(5 μm, 250 mm×4.6 mm);流动相:A-1%醋酸溶液,B-甲醇;B相洗脱梯度:0~25 min, 32%~36%;25~43 min, 36%~41%;43~66 min, 41%;60~65 min, 41%~32%;体积流量:1 mL/min;紫外检测波长:280 nm。

1.3.2 对照品溶液的制备:精密称取连翘苷、连翘酯苷、芦丁对照品 5.04、9.95、5.02 mg 置于10 mL 量瓶中,用甲醇定容至刻度,置于冰箱中(4℃)保存备用。

1.3.3 供试品溶液的制备:精密称取叶、种子或壳的干燥粉末约1.000 g 置于具塞三角瓶中,精确加入甲醇40 mL,精密称质量,超声提取30 min后,用甲醇补足质量,滤过,吸取上清液3 mL于具塞试管中,加2 mL 双蒸水,混匀,滤膜滤过,滤液作为各样品供试液。

1.3.4 标准曲线:对照品标准曲线的回归方程见表2。

2 结果与分析

万方数据

2.1 连翘果实中干物质的积累动态:由图1可以看出,5~7月,每百颗果实(壳)干质量由2.213 g 增加至7.896 g,增长了约2.6倍;种子干质量由0.645 g 升至3.108 g,增加了约3.8倍。7月后,壳和种子干物质的积累减缓。7~10月,壳干质量由7.896 g 升至8.345 g,种子干质量由3.108 g 升至3.536 g。因此,5~7月是连翘果实干物质积累的重要时期。8月底至9月初为青翘的采收期,10月中下旬为老翘采收期,因此,青翘采收对连翘的总产量影响不大。

表2 对照品标准曲线回归方程

Table 2 Regressive equation of calibration curve of reference substance

对照品	方程	R ²	线性范围 (mg·mL ⁻¹)
连翘酯苷	$Y=6.32 \times 10^5 X - 2.97 \times 10^5$	0.999 3	0.020~1.000
连翘苷	$Y=6.77 \times 10^5 X - 1.01 \times 10^4$	0.999 6	0.005~0.174
芦丁	$Y=5.18 \times 10^5 X - 2.75 \times 10^3$	0.999 5	0.005~0.121

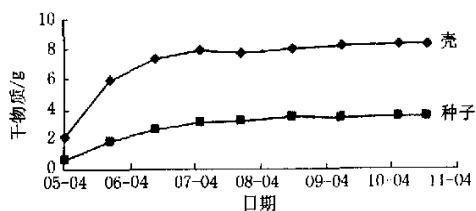


图1 果实干物质积累动态

Fig. 1 Accumulation of dry substance

2.2 不同部位有效成分积累动态研究:图2是不同部位中连翘酯苷的量积累动态过程,可知5~7月种子、叶和壳中连翘酯苷的量均呈不断下降的趋势。7~9月,种子中连翘酯苷的量保持在11%左右,叶和壳中连翘酯苷的量稍有回升,但变化不大。9~10月,壳中连翘酯苷的量急剧下降,由9.317%~0.594%,下降了93.6%,种子中连翘酯苷的量由10.999%降为5.745%,减少了1/2,叶中连翘酯苷的量变化较小,保持在9.521%左右。10月中下旬,种子、叶和壳中连翘酯苷的量趋于稳定,变化较小。在整个生长期,连翘酯苷的量为种子>壳>叶。

图3是不同部位中连翘苷的量积累动态过程,从图3可以看出,在整个生长过程中,叶中连翘苷的量一直远高于种子和壳,4月9日,叶中连翘苷的量最高为5.229%,其后开始下降,7月6日质量分数达最低为1.308%,7月至8月质量分数略有回升后继续下降,10月果实成熟期,量为1.372%。种子中连翘苷的量最低,5月4日的量最高为1.094%,随后种子中连翘苷的量呈不断下降趋势,10月20日

量达最低为0.039%。壳中连翘苷的量介于种子和壳之间,5月4日量最高为2.162%,随后种子中连翘苷的量呈不断下降趋势,10月20日量达最低为0.089%。在整个生长过程中,种子、叶和壳中连翘苷的量均呈下降趋势。

图4是不同部位芦丁积累动态过程,从图4可以看出,7~10月,种子和叶中芦丁的量均较稳定,变异小于10%。7~9月,壳中芦丁的量较稳定;9~10月,果实成熟,壳逐渐黄化,壳中芦丁的量急剧下降,由0.907%降为0.036%;10月中旬,壳中芦丁的量趋于稳定,质量分数达最低0.035%。

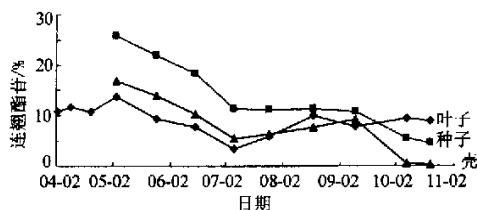


图2 不同部位中连翘酯苷的动态变化

Fig. 2 Accumulation of forsythiaside in different parts

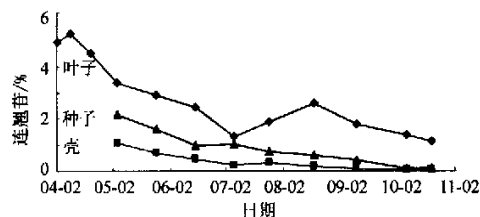


图3 不同部位中连翘苷的动态变化

Fig. 3 Accumulation of forsythoside in different parts

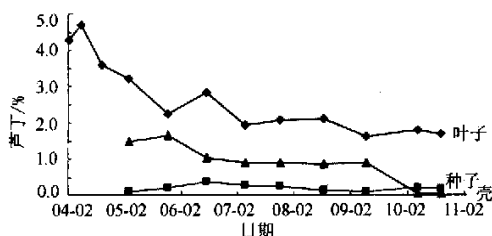


图4 不同部位中芦丁的动态变化

Fig. 4 Accumulation of rutin in different parts

2.3 同一部位不同有效成分的比例动态变化比较:以各时期连翘酯苷的量为1,连翘苷、芦丁的相对于连翘酯苷的比例作图,图5是种子中各有效成分比例的动态变化,图6是壳中各有效成分间比例的动态变化,图7是叶中有效成分比例的动态变化。从图5~7可以看出,在整个生长过程中,种子、叶和壳中连翘酯苷在3种有效成分中一直处于最高比例。比较种子、叶和壳中连翘苷、芦丁的比例,壳介于种子和叶之间,连翘苷和芦丁的比例种子中最低,叶最

高。8月20日至9月10日青翘采收期,种子中连翘酯苷、连翘苷与芦丁比为1:0.012:0.011,呈“\”型分布;连翘苷和芦丁的比例达最低;壳中连翘酯苷、连翘苷与芦丁比为1:0.063:0.103,呈“V”型分布;叶中连翘酯苷、连翘苷与芦丁为1:0.240:0.206,呈“\”型分布。10月20日左右老翘采收期,壳中连翘酯苷、连翘苷与芦丁比为1:0.168:0.066,呈“\”型分布;种子中连翘酯苷、连翘苷与芦丁比为1:0.008:0.033,呈“V”型分布;叶中连翘酯苷、连翘苷与芦丁比为1:0.124:0.189,呈“V”型分布。比较青翘采收期与老翘采收期连翘酯苷、连翘苷、芦丁的比例关系,种子、叶和壳中3者的分布存在明显的差异。

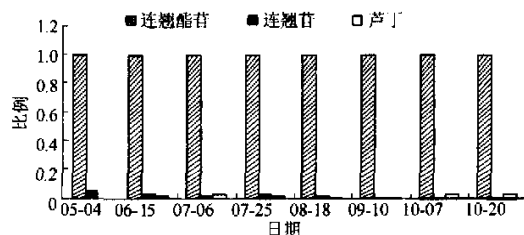


图5 种子中各有效成分比例的动态变化

Fig. 5 Proportion of active components in seeds

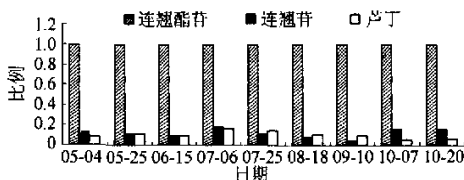


图6 壳中各有效成分比例的动态变化

Fig. 6 Proportion of active components in shells

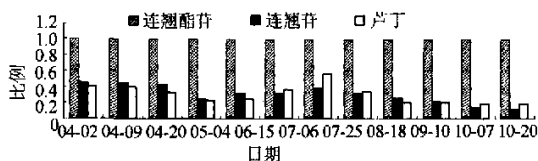


图7 叶中各有效成分比例的动态变化

Fig. 7 Proportion of active components in leaves

3 讨论

3.1 连翘为多年生灌木,3月气温回升,先叶开花,5~9 d花渐凋落,20 d左右4月中旬幼果出现,叶蒂形成;5月气温增高,展叶抽新枝,为来年的开花结果准备;9~10月果实成熟,果壳开裂,种子脱落。连翘酯苷与木质素具有共同的前体化合物^[2],5~7月连翘植株大量抽展新枝,大量合成木质素类物质,从而影响了连翘酯苷的合成和积累,连翘酯苷的量下降。9~10月,果实逐渐成熟,果壳黄化细胞死亡,

影响了种子和壳中有效成分的合成和转运,种子和壳中连翘酯苷、连翘苷和芦丁的量急剧下降;而叶仍能正常生长,叶中有效成分变化较小。

3.2 连翘分青翘和老翘(黄翘),青翘和老翘因采收时间和加工方法不同而成。秋季果实初熟尚带绿色时采收,除去杂质,蒸熟,晒干,习称“青翘”;果实熟透时采收,晒干,除去杂质,习称“老翘”。连翘产区“采青”时间过长,采收期混乱,造成连翘品质差异较大,质量不稳定,严重影响了连翘及以连翘为原料的制剂的进一步开发和利用。本实验研究表明,8月下旬至9月上旬,果实的干物质趋于稳定,种子和壳中连翘酯苷的量接近,且种子和壳中连翘酯苷、连翘苷和芦丁的量较稳定,波动小,此时采收青翘质量较稳定,有利于青翘的质量控制,且不会影响连翘的总产量。壳中连翘酯苷、连翘苷、芦丁的量经9~10月质量分数快速下降后,10月20日左右有效成分的量趋于稳定并达最低,果实黄化并开裂,种子脱落,此时采收老翘品质较好,且有助于老翘的质量控制。

3.3 青翘为连翘的整个果实,包含种子和壳,老翘

为种子脱落后果壳,研究表明,青翘中连翘酯苷的量约是老翘的20倍,连翘苷的量是老翘的4倍,芦丁的量是老翘的3倍;且青翘中连翘酯苷、连翘苷和芦丁的相对质量分数连翘酯苷>连翘苷>芦丁,而老翘中连翘酯苷>芦丁>连翘苷,青翘和老翘有效成分间的比例差异较大。药材中不同有效成分之间的量及其比例是药材药效好坏的决定因子,因此青翘和老翘应该进行区别使用,传统中医一般以老翘入药。文献报道,就抗菌效价而言青翘优于老翘,关于青翘与老翘的药效差异,有待于进一步研究。

3.4 叶中有效成分的种类与种子和壳相似;叶中连翘酯苷的量低于种子和壳,连翘苷和芦丁的量高于种子和壳,且在整个生长过程中,变化较小。叶是否可替代果实入药,有待进一步研究。

References:

- [1] Zhang W T, He A, Chen H. Fingerprint analyses of *Fructus Forsythiae* [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2002, 27(5): 357-360.
- [2] Buchanan B, Grussem W, Jones R. *Biochemistry & Molecular Biology of Plants* [M]. Reckville: The American Society of Plant Physiologists, 2004.

黄芩愈伤组织培养及黄芩苷合成调控的研究

王梦亮¹,任振兴²,黄登宇²,刘滇生¹

(1. 山西大学现代化学研究所,山西 太原 030006; 2. 山西大学生命科学与技术学院,山西 太原 030006)

摘要:目的 研究黄芩愈伤组织培养和黄芩苷合成调控的规律。方法 采用植物细胞培养技术诱导愈伤组织; HPLC法测定黄芩苷的量。结果 黄芩愈伤组织生长和黄芩苷积累的优势培养条件为:在基本培养基MS中氮源浓度为60 mmol/L($\text{NH}_4^+ : \text{NO}_3^-$ 为1:1), KH_2PO_4 浓度0.5~1.5 mmol/L,附加80 g/L蔗糖,0.3 mg/L IAA,2 mg/L 6-BA和200 mg/L蛋白胨,温度:(25±1)℃,暗培养。培养40 d后收获愈伤组织,生物量达28.7 g/L,黄芩苷为167.4 mg/g,明显高于野生黄芩的最高量。结论 黄芩愈伤组织的生长和黄芩苷的积累并不同步,而是先生长后合成。蔗糖对黄芩苷的合成具有明显的调节作用,在蔗糖质量浓度小于3%时,能有效促进愈伤组织的生长,但对黄芩苷的合成没有刺激作用;当蔗糖质量浓度在3%~8%时,愈伤组织表现出明显的生长和次生代谢功能,黄芩愈伤组织的生长及黄芩苷合成明显增加;当蔗糖质量浓度在8%时,两者均达到最大值。

关键词:黄芩;黄芩苷;愈伤组织培养;HPLC

中图分类号:R282.6

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2006)06-0924-05

Regulation of callus culture and baicalin synthesis in *Scutellaria baicalensis*

WANG Meng-liang¹, REN Zhen-xing², HUANG Deng-yu², LIU Dian-sheng¹

(1. Institute of Modern Chemistry, Shanxi University, Taiyuan 030006, China; 2. Institute of Life Science and Technology, Shanxi University, Taiyuan 030006, China)

Abstract: Objective To study the rule of callus culture and baicalin synthesis in *Scutellaria baicalensis*.

收稿日期:2005-11-02

基金项目:山西省攻关项目(051039-4)

作者简介:王梦亮(1966—),男,山西平遥人,山西大学现代化学研究所副所长,硕士生导师,从事中草药的研究开发、生物化工等的科研工作。 Tel: (0351)7016101 E-mail: mlwang@sxu.edu.cn