

## 不同品系黄连产量和质量的研究

朱 强<sup>1</sup>, 王有为<sup>1,2\*</sup>, 齐海涛<sup>1</sup>, 王 庆<sup>1</sup>

(1. 中国科学院 武汉植物园, 湖北 武汉 430074; 2. 武汉大学药学院, 湖北 武汉 430072)

**摘要:**目的 考察和比较湖北黄连 GAP 基地选育的 3 个不同品系黄连(大花叶、无光叶、小花叶)的产量和质量。方法 采用田间随机区组设计, 连续 3 年采集 3 个品系黄连根茎样品, 分别以烘干法测定其质量, 用紫外分光光度法和高压液相色谱法分别测定其总生物碱和盐酸小檗碱的量。结果 在考察的 3 个品系药材样本中, 各品系三年生黄连产量没有显著差异 ( $P > 0.05$ ), 在四年生和五年生黄连中, 大花叶和无光叶品系产量均明显高于小花叶品系 ( $P < 0.05$ ); 在三年生、四年生、五年生黄连中, 各品系总生物碱和盐酸小檗碱的量无明显差异 ( $P > 0.05$ )。结论 大花叶和无光叶品系的黄连产量高、质量合格, 可作为黄连规范化种植的种子基原。

**关键词:** 黄连; 产量; 总生物碱; 盐酸小檗碱

中图分类号: R282.2

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2006)12-1866-04

### Yield and quality of *Coptis chinensis* from different varieties

ZHU Qiang<sup>1</sup>, WANG You-wei<sup>1,2</sup>, QI Hai-tao<sup>1</sup>, WANG Qing<sup>1</sup>

(1. Wuhan Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430074, China;

2. College of Pharmacy, Wuhan University, Wuhan 430072, China)

**Abstract: Objective** To study and compare the yield and quality of *Coptis chinensis* from three varieties (Dahuaye, Wuguangye, and Xiaohuaye) that bred in GAP cultivation habitat in Fubaoshan, Hubei Province. **Methods** Three samples were collected every year in the field, which were stochastically designed in past three-years and weighted by roasting for dryness. The weight and the contents of total alkaloids and berberine were determined by UV and HPLC, respectively. **Results** There was no significant difference among the three varieties on the yield of three-year-old samples ( $P > 0.05$ ), but the yields of four-year-old and five-year-old Dahuaye and Wuguangye samples were significantly higher than that of Xiaohuaye sample ( $P < 0.05$ ), there were no significant differences among the three varieties on the contents of total alkaloids and berberine ( $P > 0.05$ ). **Conclusion** The varieties of Dahuaye and Wuguangye are excellent in higher yield and better quality, and both of them can be used as origin seeds in the GAP plantation of *C. chinensis*.

**Key words:** *Coptis chinensis* Franch.; yield; total alkaloids; berberine

黄连 *Coptis chinensis* Franch. 为毛茛科黄连属植物, 又名味连, 为多年生常绿草本植物, 以根茎入药, 始载于东汉《神农本草经》并被列为上品<sup>[1]</sup>, 具有泻火、解毒、清热燥湿等功效。黄连的化学成分以季胺型生物碱类物质为主, 如盐酸小檗碱、巴马汀、药根碱、黄连碱, 其中盐酸小檗碱是其主要成分<sup>[2]</sup>, 现代药理学研究证明其有抗菌、抗肿瘤、保护肝脏等作用<sup>[3~6]</sup>。长期以来, 黄连在生产上以种子繁殖和分兜繁殖为主, 一般由药农自行采集留种或者在采挖时剪取分兜苗, 没有进行规范的人工选种, 导致后代群体良莠混杂, 植株性状参差不齐, 出现多种变异类型<sup>[7]</sup>。利川市福宝山黄连 GAP 基地根据长期经验,

从多种变异类型中选育了 3 个品系(大花叶、小花叶、无光叶)拟作为黄连规范化种植的种子基原。笔者在福宝山黄连 GAP 基地采用随机区组设计进行小区试验, 对 3 个品系黄连三年生、四年生、五年生药材的产量、总生物碱及盐酸小檗碱的量进行测定分析, 希望最终确定黄连种质, 为黄连 GAP 种植基地提供优良种子基原。

### 1 仪器与材料

1.1 仪器与试剂: DZF—真空干燥箱(上海精密试验设备有限公司), 722 紫外-可见分光光度计(上海市第三分析仪器厂), 日本岛津 LC—10A 高效液相色谱仪, SPD—10Avp 紫外检测器, 浙大智达 N2000

收稿日期: 2006-02-26

基金项目: 湖北省“十五”重大科技攻关项目(2001AA304A)

作者简介: 朱 强(1980—), 男, 陕西宝鸡, 硕士, 研究方向药用植物资源学。E-mail: zq1037@yahoo.com.cn

\* 通讯作者 王有为 Tel: (027) 87510392 E-mail: wyw@wbccas.cn

色谱工作站,盐酸小檗碱(中国药品生物制品检定所,批号:0713-9906,110713-200208),甲醇、乙腈为色谱醇,其余试剂均为分析醇。

1.2 材料:样品采自湖北省利川市福宝山黄连 GAP 基地试验小区,经中国科学院武汉植物园李建强研究员鉴定为毛茛科黄连属植物黄连 *Coptis chinensis* Franch.。标本保存于中国科学院武汉植物园植物标本馆。

2 方法与结果

2.1 产量测定

2.1.1 样品采集:2003—2005 年每年 10 月下旬在利川市福宝山黄连 GAP 基地试验小区采集黄连样品。每个重复随机采样 15 株,去净泥沙,于 100 ℃ 下烘 5 min,将根茎取下,除去须根。

2.1.2 质量的称定:将黄连样品根茎置于 80 ℃ 下烘至恒重,分别称质量并计算平均值,结果见表 1 (各重复中的样品质量均为 15 株的平均值)。方差分析结果见表 2。

表 1 不同品系黄连单株质量

Table 1 Single plant weight of *C. chinensis* from various varieties

品系	生长年限	单株质量/g			平均值/g
		重复 I	重复 II	重复 III	
大花叶黄连	三年	2.51	2.91	2.26	2.56
	四年	3.85	4.11	4.59	4.18
	五年	5.56	5.73	5.83	5.71
无光叶黄连	三年	2.44	2.78	1.79	2.34
	四年	3.77	3.65	4.47	3.96
	五年	5.43	4.94	6.11	5.49
小花叶黄连	三年	1.74	2.15	1.63	1.84
	四年	2.02	2.35	2.67	2.35
	五年	3.08	3.40	3.56	3.35

表 2 不同品系黄连单株质量方差分析

Table 2 Variance analysis of single plant weight of *C. chinensis* from various varieties

生长年限		平方和	自由度	均方	F 值	显著性 P
三年生	组间	0.815	2	0.407	2.806	0.138
	组内	0.871	6	0.145		
	总体	1.686	8			
四年生	组间	6.035	2	3.018	20.450	0.002
	组内	0.885	6	0.148		
	总体	6.921	8			
五年生	组间	10.223	2	5.112	36.201	0.000
	组内	0.847	6	0.141		
	总体	11.070	8			

2.2 总生物碱测定

2.2.1 对照品溶液的制备:精密称取盐酸小檗碱 9.9 mg,置于 25 mL 量瓶中,用甲醇溶解并定容至刻度,摇匀,备用。

2.2.2 标准曲线的制作:吸取对照品溶液 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 mL 分别置于 100 mL 量瓶中,以 0.05 mol/L H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 水溶液定容至刻度。在 345 nm 处测定吸光度,以吸光度 (Y) 为纵坐标,质量浓度 (X) 为横坐标绘制标准曲线,得回归方程为  $Y = 0.1521 X + 0.0137$ ,  $r = 0.9984$ ,线性范围为 1.98~9.9 μg/mL。

2.2.3 供试品溶液的制备:精密称取干燥黄连粉末 0.5 g,置于圆底烧瓶中,加入 50% 甲醇 40 mL,于水浴锅中回流 2 h,滤过;重复提取 2 次,合并滤液并置于 100 mL 量瓶中,以 50% 甲醇定容至刻度,吸取此滤液 1 mL,置于 100 mL 量瓶中,以 0.05 mol/L H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 水溶液定容至刻度,待测。

2.2.4 稳定性试验:取供试品溶液,在 0、0.5、1、2、4、8、12 h 测定吸光度,计算 RSD 为 1.6% (n=5)。表明供试品溶液在 12 h 内稳定。

2.2.5 精密度试验:取一定质量浓度的盐酸小檗碱对照品溶液测吸光度,计算 RSD 为 0.9% (n=5)。

2.2.6 重现性试验:取同一供试样品 5 份,制备供试品,测定总生物碱的质量分数,计算 RSD 为 2.1%,表明本方法具有较好的重现性。

2.2.7 加样回收率试验:取已测定的样品 5 份,每份约 0.25 g,精密加入盐酸小檗碱对照品适量,按 2.2.3 项制备供试品溶液,测定,平均回收率为 95.61%,RSD 为 2.10%。

2.2.8 样品的测定:取各品系黄连样品干燥粉末约 0.5 g,精密称定,按 2.3 项下方法制备供试品溶液,以分光光度法测定总生物碱的量。结果见表 3。方差分析见表 4。

2.3 盐酸小檗碱测定

2.3.1 色谱条件:日本岛津 SB-C<sub>18</sub> 色谱柱 (150 mm × 4.6 mm, 5 μm);流动相:乙腈-0.05 mol/L 磷酸二氢钾-三乙胺 (30:70:2,磷酸调 pH 3.5);体积流量:1.0 mL/min;检测波长 345 nm;灵敏度 0.100 0 Auf;柱温为室温;进样量:10 μL。

2.3.2 对照品的制备:精密称取盐酸小檗碱对照品 10.8 mg,置于 25 mL 量瓶中,加甲醇溶解并定容至刻度,混匀,备用。

2.3.3 标准曲线的制备:吸取对照品溶液 0.5、1.0、1.5、2.0、3.0、4.0、5.0 mL 分别置于 100 mL 量瓶中,以盐酸-甲醇 (1:100) 定容至刻度。将配制的不同质量浓度的对照品溶液进样 10 μL,以峰面积 (Y) 为纵坐标,质量浓度 (X) 为横坐标,绘制标准曲线,回归方程为  $Y = 4808X - 7505.8$ ,  $r =$

表 3 不同品系黄连总生物碱的量 (n=3)

Table 3 Total alkaloids in *C. chinensis* from various varieties (n=3)

品系	生长年限	总生物碱/%			平均值/g
		重复 I	重复 II	重复 III	
大花叶黄连	三年	16.54	14.48	15.46	15.49
	四年	17.45	17.55	17.35	17.45
	五年	18.50	18.50	18.70	18.57
无光叶黄连	三年	16.51	15.63	17.11	16.42
	四年	17.20	17.15	16.95	17.10
	五年	18.60	18.30	18.25	18.38
小花叶黄连	三年	15.73	14.53	14.52	14.93
	四年	16.75	17.10	17.30	17.05
	五年	17.30	17.65	17.70	17.55

表 4 不同品系黄连总生物碱量的方差分析

Table 4 Variance analysis of total alkaloids in *C. chinensis* from various varieties

年限	平方和	自由度	均方	F 值	显著性 P	
三年生	组间	3.394	2	1.697	2.424	0.169
	组内	4.200	6	0.700		
	总体	7.594	8			
四年生	组间	0.285	2	0.142	4.071	0.076
	组内	0.210	6	0.035		
	总体	0.495	8			
五年生	组间	0.184	2	0.092	0.858	0.470
	组内	0.643	6	1.100		
	总体	0.827	8			

0.999 5,线性范围为 15.9~174.1 μg/mL。

2.3.4 供试品溶液的制备:取黄连样品粉末约 50 mg 置于 100 mL 量瓶中,加盐酸-甲醇(1:100) 50 mL,于 60 °C 水浴锅中温浸 30 min,然后超声 30 min,以盐酸-甲醇(1:100)定容至刻度,摇匀,以微孔滤膜滤过,取滤液作为供试品溶液。

2.3.5 稳定性试验:取供试品溶液,在 0、0.5、1、2、4、8、12 h 分别进样,记录峰面积,计算 RSD 为 1.9% (n=5),表明供试品溶液在 12 h 内稳定。

2.3.6 精密度试验:取一定浓度的盐酸小檗碱对照品溶液,吸取 10 μL 进样,记录峰面积,计算 RSD 为 2.0% (n=6)。

2.3.7 重现性试验:取同一供试样品 5 份,精密称定,制备供试品,进样,测定盐酸小檗碱的量,计算 RSD 为 1.3%。

2.3.8 回收率试验:取已测定的样品 5 份,每份约 50 mg。分别精密加入盐酸小檗碱对照品适量,按 2.3.4 项制备供试品,进样测定,结果平均回收率为 97.22%,RSD 为 0.65%。

2.3.9 样品测定:取不同品系黄连样品干燥粉末 50 mg,精密称定,按 3.3 项下方法制备供试品溶液,进样测定。结果见表 5,方差分析见表 6。

表 5 不同品系黄连盐酸小檗碱的量 (n=3)

Table 5 Berberine in *C. chinensis* from various varieties (n=3)

品系	生长年限	盐酸小檗碱/%			平均值/%
		重复 I	重复 II	重复 III	
大花叶黄连	三年	8.30	9.12	8.25	8.56
	四年	8.58	8.15	8.95	8.63
	五年	9.04	8.40	8.77	8.74
无光叶黄连	三年	8.29	8.22	8.55	8.35
	四年	8.45	8.28	8.52	8.41
	五年	8.98	8.75	8.17	8.64
小花叶黄连	三年	7.66	7.22	8.35	7.74
	四年	8.06	7.83	8.08	7.99
	五年	8.04	8.15	8.30	8.18

表 6 不同品系黄连盐酸小檗碱量的方差分析

Table 6 Variance analysis of berberine in *C. chinensis* from various varieties

年限	平方和	自由度	均方	F 值	显著性 P	
三年生	组间	1.075	2	0.537	2.718	0.144
	组内	1.187	6	0.198		
	总体	2.262	8			
四年生	组间	0.527	2	0.264	4.061	0.077
	组内	0.390	6	0.065		
	总体	0.917	8			
五年生	组间	0.553	2	0.277	2.917	0.130
	组内	0.569	6	0.095		
	总体	1.122	8			

### 3 讨论

3.1 从表 1、2 可以看出,三年生不同品系黄连在产量上没有显著差异 (P>0.05)。但是四年和五年生大花叶和无光叶品系与相同年份的小花叶品系在产量上存在极显著差异 (P<0.01),同样年份大花叶和无光叶品系的产量没有显著差异 (P>0.05)。结果显示大花叶和无光叶品系从第四年起根茎生长明显快于小花叶品系。

3.2 表 3、4 表明各品系三年生、四年生和五年生样品黄连总生物碱的量没有显著差异 (P>0.05)。表 5、6 显示各品系三年生、四年生和五年生样品盐酸小檗碱的量也没有显著差异 (P>0.05)。由此可见,大花叶、无光叶品系与小花叶品系之间的差别主要体现在产量上,而在质量上并无多大差异。

3.3 经历年测产情况得知,五年生黄连产量为 3 750~4 500 kg/hm<sup>2</sup>,以 9×10<sup>5</sup> 株/hm<sup>2</sup>计,折合单株药材质量为 4.16~5 g。有报道说五年生黄连的单株质量可达 5.2 g<sup>[8]</sup>。而笔者测得大花叶和无光叶品系五年生单株平均干质量分别为 5.71 和 5.49 g,表明这两个品系确为高产品系。从质量上看,大花叶和无光叶品系各年份样品黄连总生物碱的量在 14.48%~18.70%,盐酸小檗碱的量在 7.22%~

9.12%，均达到《中国药典》(2005 年版一部)规定的标准，与黄小平和钟国跃最近报道的黄连总生物碱和盐酸小檗碱的量测定结果相近<sup>[9,10]</sup>，表明湖北利川市福宝山黄连 GAP 基地选育的大花叶和无光叶品系质量较好，高产性状突出，适合作为黄连种子基原用于 GAP 栽培。建议黄连产区在实施规范化种植的过程中将大花叶和无光叶品系作为优良种子予以推广。

References:

[1] Xu J T, Wang L Q, Xu B. Research development of *Coptis chinensis* [J]. *Acta Acad Med Sin* (中国医学科学院学报), 2004, 26(6): 704-707.  
 [2] Gernakova M, Kostalova D. Antimicrobial activity of berberine—a constituent of *Mahonia aquifolium* [J]. *Folia Microbiol*, 2002, 47(4): 375-378.  
 [3] Lizuka N, Miyamoto K, Okita K, et al. Inhibitory effect of *Coptidis Rhizoma* and berberine on the proliferation of human esophageal cancer cell lines [J]. *Cancer Lett*, 2000, 148(1): 19-25.

[4] Iizuka N, Miyamoto K, Hazama S, et al. Anticachectic effects of *Coptidis Rhizoma*, an anti-inflammatory herb, on esophageal cancer cells that produce interleukin 6 [J]. *Cancer Lett*, 2000, 158(1): 35-41.  
 [5] Fukuda K, Hibiya Y, Mutoh M, et al. Inhibition by berberine of cyclooxygenase-2 transcriptional activity in human colon cancer cells [J]. *Ethnopharmacology*, 1999, 66(2): 227-233.  
 [6] Huang J M, Wang C J, Chou F P, et al. Inhibitory effect of berberine on tert-butyl hydroperoxide-induced oxidative damage in rat liver [J]. *Arch Toxicol*, 2002, 76(11): 664-670.  
 [7] Wang D H. Studies on types of character variation of *Coptis chinensis* population [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2002, 33(6): 558-560.  
 [8] Zhao G Q, Du Z P. Effect on quality and yield of *Coptis chinensis* with its different age and month at different altitude [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2002, 33(12): 1119-1121.  
 [9] Huang X P, Zhang Y, Zhong G Y. Determination of total alkaloid in *Rhizoma Coptidis* of different growth years and from different places [J]. *Res Pract Chin Med* (现代中药研究与实践), 2004, 18(1): 42-43.  
 [10] Zhong G Y, Huang X P, Ma K S, et al. Quality assessment for *Coptis chinensis* in China [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2005, 30(7): 495-497.

## 金银花与山银花原植物叶表皮特征的比较研究

耿世磊<sup>1</sup>, 赵 晟<sup>1</sup>, 姚飞平<sup>1</sup>, 徐鸿华<sup>2</sup>

(1. 华南农业大学生命科学学院 药用植物研究中心, 广东 广州 510642; 2. 广州中医药大学中药学院, 广东 广州 510405)

**摘要:**目的 探求一种准确、简便、快速鉴定金银花药材和山银花药材植物来源的方法。方法 利用光学显微镜和扫描电子显微镜观察比较忍冬属 5 种植物(忍冬、华南忍冬、红腺忍冬、水忍冬、大花忍冬)的叶表皮特征。结果 在光学显微镜和扫描电镜下该属不同植物的叶表皮特征存在显著差异。结论 叶表皮特征可有效地用于金银花和山银花药材原植物的物种鉴别,并据此分别列出了光学显微镜和扫描电镜下忍冬属 5 种植物叶表皮特征的分种检索表。

**关键词:**金银花; 山银花; 叶表皮特征; 忍冬属; 扫描电镜

**中图分类号:**R282.7 **文献标识码:**A **文章编号:**0253-2670(2006)12-1869-04

### Comparison of leaf epidermis characters on *Flos Lonicerae* and *Lonicera confusa*

GENG Shi-lei<sup>1</sup>, ZHAO Sheng<sup>1</sup>, YAO Fei-ping<sup>1</sup>, XU Hong-hua<sup>2</sup>

(1. Research Center of Medicinal Plant, College of Life Sciences, South China Agriculture University, Guangzhou 510642, China; 2. College of Chinese Materia Medica, Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510405, China)

**Abstract; Objective** To explore an approach to identifying the plant source of *Flos Lonicerae* and *Lonicera confusa* rapidly, precisely, and efficiently. **Methods** Using LM and SEM to observe and compare the characters of leaf epidermis of the five species of *Lonicera* L. including *L. japonica*, *L. confusa*, *L. hypoglauca*, *L. dasystyla*, and *L. macrantha*. **Results** There are obvious differences in leaf epidermis among the five species of *Lonicera* L. under LM and SEM. **Conclusion** The characteristics of leaf epidermis can be used to identify the plant source of *Flos Lonicerae* and *L. confusa*. According to their characteristics under LM and SEM, the retrieval keys to the five species of *Lonicera* L. have been compiled.

**Key words:** *Flos Lonicerae*; *Lonicerae confusa* DC; leaf epidermis characters; *Lonicerae* L.; SEM

收稿日期:2006-02-19

基金项目:广东省自然科学基金项目(5006633);广东省中医药局科研项目(1040102);华南农业大学校长基金科研项目(K03156)

作者简介:耿世磊(1965—),男,博士,副教授,主要从事中药资源开发与利用方向的研究。