

与样品1、2、3、4、6、8、9、10全部聚为一类。可见,江苏产太子参指纹图谱相似性较好,与5、7号外省样品有一定的区别。

2.5.3 色谱峰的重叠率:以太子参9号样品图谱为基准,按以下公式[待测样品与标准样品共有的峰数 $\times 2 /$ (待测样品与标准样品峰数和) $\times 100\%$ ]计算,分别求得另外9种样品色谱峰的重叠率依次为96.7%、95.1%、96.8%、95.2%、95.1%、94.9%、96.1%、95.3%、97.2%。结果表明:10张图谱内的重叠率较高,均大于94.0%。

2.5.4 共有峰的百分比:计算各样品中共有峰面积之和占峰总面积的百分比依次为:74.2%、82.0%、89.1%、93.3%、76.0%、73.3%、88.2%、75.0%、85.4%、83.2%。

### 3 讨论

3.1 本实验在样品制备、测试条件方面都经过大量的实验探索,通过对色谱图全貌(出峰数、分离度等)的反复考察,认为目前所选用的测试条件较为理想。方法学考察结果表明:仪器精密度良好,样品稳定性、重现性亦较好,谱图中各组分色谱峰的重叠率极高,从而说明该方法建立的指纹图谱准确可靠,特征指纹信息丰富,专属实用,这对从挥发性成分角度判断太子参药材的质量有一定的参考价值。

3.2 不同产地太子参中均含有吡咯、己醛、糠醛、糠醇、2-戊基咪唑、3-咪唑甲基乙酸酯、4-丁基-3-甲氧基-2,4-环己二烯-1-酮、4-丁基-3-甲氧基-2-环己烯-1-酮、未鉴定A、2-环己烯-1-醇-苯甲酸酯、未鉴定

B、正-十六烷酸等12种主要成分,占挥发性总成分的80%左右,具有突出的代表性,故以此12个特征性指标成分作为共有特征峰构建GC-MS指纹图谱。4-丁基-3-甲氧基-2,4-环己二烯-1-酮的质量分数高达40%以上,为最突出的指标,故以此作为参照峰分析指纹图谱。当然以上12种主要成分是否能完全揭示太子参挥发性成分的特征还有待进一步深入研究,需考虑栽培条件、采收加工、贮藏等多种因素的影响。

3.3 应用模糊聚类法作分析比较,能揭示挥发性成分中特征性成分质量分数的配比关系,更能全面、综合、准确地反映不同产地药材GC-MS指纹图谱的关系,结果显示江苏地产太子参指纹图谱相似性较好,与5、7号外省样品有一定的区别,从而提示江苏地产太子参挥发性成分中特征性指标成分呈现一种特定的配比关系——挥发性成分的道地性特征。

3.4 本实验初步建立太子参挥发性成分GC-MS指纹图谱分析方法,为太子参药材的质量评价和GAP实施提供科学依据。

### References:

- [1] Liu X H, Kan Y M. A survey of research of *Radix Pseudostellariae* [J]. *Shizhen J Tradit Chin Med Res* (时珍国医国药), 2000, 11(12): 1131-1132.
- [2] Liang X T. *Basic Studies on Chinese Materia Medica* (常用中药基础研究) [M]. Vol 1. Beijing: Science Press, 2003.
- [3] Liu X H, Wang M, Cai B C, et al. Analysis of essential components of *Radix Pseudostellariae* from different habitats by GC-MS [J]. *Shizhen J Tradit Chin Med Res* (时珍国医国药), 2007, 18(1): 5-7.

## 广藿香挥发油的合成场所及储存部位研究

冯承浩<sup>1</sup>, 隋春花<sup>2</sup>, 吴 鸿<sup>3\*</sup>

(1. 韶关学院英东生物工程学院 农业工程系, 广东 韶关 512005; 2. 韶关学院 旅游系, 广东 韶关 512005;

3. 华南农业大学 生命科学院药用植物研究中心, 广东 广州 510642)

**摘要:**目的 揭示广藿香茎和叶中挥发油的合成场所、转运方式和储存部位。方法 超薄切片法、组织化学法。结果 在广藿香茎内的薄壁细胞中, 质体和线粒体内观察到电子致密度高的嗜银物质, 另外, 在细胞质中观察到有一些灰色小泡, 在小泡的外膜上附着一些小的、电子致密高的嗜银滴; 在液泡膜外侧, 聚集着大量的附着嗜银滴的灰泡。在叶中, 情况有所不同。由于栅栏组织细胞排列紧密, 体积较小, 且细胞内密集大量的叶绿体, 因此栅栏组织细胞内无大液泡, 质体、线粒体和小液泡相邻分布, 而前两者内分布有电子致密度高的嗜银物质。结论 在广藿香茎内, 质体是挥发油的主要合成场所, 合成的挥发油主要通过灰色小泡转运到液泡内储存。在叶中, 叶绿体不仅行使

收稿日期: 2006-03-07

基金项目: 广东省中医药管理局基金项目(F01032); 广东省科技攻关项目(2002C20147)

作者简介: 冯承浩(1973—), 男(汉族), 山东省泰安市人, 讲师, 硕士, 广东韶关学院英东生物工程学院工作, 主要从事药用植物学方面的研究。 Tel: (0751)8121376 E-mail: fchenghao@163.com

\* 通讯作者 吴 鸿 Tel: (020)85288393 E-mail: wh@scau.edu.cn

光合作用功能,而且还是挥发油的主要合成场所,合成的挥发油以渗透的方式进入小液泡内储存起来。

关键词:广藿香;挥发油;合成场所;转运方式;储存部位

中图分类号:R282.1

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2007)01-0116-04

## Synthesizing site and storing position of essential oil in *Pogostemon cablin*

FENG Cheng-hao<sup>1</sup>, SUI Chun-hua<sup>2</sup>, WU Hong<sup>3</sup>

(1. Department of Agricultural Engineering, Yingdong College of Bioengineering, Shaoguan College, Shaoguan 512005, China; 2. Tourism Department of Shaoguan University, Shaoguan 512005, China; 3. Center for Medicinal Plant Research, College of Life Science, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

**Abstract: Objective** To study the synthesizing site, transporting mode, and storing position of essential oil in *Pogostemon cablin* stems and leaves. **Methods** Ultrathin slicing and histochemical methods were used. **Results** In parenchyma cells in the stem of *P. cablin*, dark osmiophilic material was observed in plastids and mitochondria, otherwise, some small gray vesicles were also found in cytoplasm. Some dark osmiophilic droplets were found to adhere to outer membrane of small gray vesicles, and many small gray vesicles with osmiophilic droplets gathered in outer membrane of large vacuole. In leaves, it was different case. Because palisade tissue cells were arranged closely, which had smaller volume and rich chloroplasts, so there was not large vacuole in palisade tissue cells. Plastids, mitochondria, and small vacuole were distributed in high density, but the first two organelles contained more dark osmiophilic substance than latter. **Conclusion** The plastid is the main synthesis site of essential oil, and the essential oil was mainly transferred by small gray vesicles into large vacuole to store in the stem. In leaves, chloroplast not only has photosynthesis, but also is the main synthesis site of essential oil, and essential oil is permeated into small vacuole to store.

**Key words:** *Pogostemon cablin* (Blanco) Benth.; essential oil; synthesizing site; transporting mode; storing position

广藿香 *Pogostemon cablin* (Blanco) Benth. 为唇形科刺蕊草属植物,是常用的芳香化湿中药,有芳香化湿、开胃止呕、发表解暑之功效<sup>[1]</sup>。《中国药典》2000 年一部记载以其挥发油供中药制剂之用,是著名成药“藿香正气丸(水)”的君药。广藿香原产菲律宾,宋朝时引入我国<sup>[2]</sup>,在岭南一带引种成功,且普遍种植,故有南药之称,属著名的十大南药之一<sup>[3]</sup>。广藿香挥发油的合成和分布不同于木兰科<sup>[4]</sup>、藤黄科金丝桃属<sup>[5]</sup>、松科<sup>[6]</sup>等植物那样具有油细胞、分泌囊、分泌细胞团、分泌腔或树脂道等特化的合成和存贮脂类物质的分泌结构,也不同于唇形科植物薄荷,挥发油主要在腺毛中合成和贮存<sup>[7]</sup>。广藿香的挥发油主要分布在叶肉栅栏组织和茎皮薄壁细胞等活细胞中,缺乏特定的贮存结构,这种挥发油的合成及分布特性还未见相关报道。本研究对挥发油在广藿香茎、叶中的合成场所、转运方式和贮存部位作了系统研究,以便为该药材药用成分的细胞培养、提取开发以及应用等提供参考。

### 1 材料和方法

1.1 实验材料:本研究所用材料取自广东省高要市莲塘镇,经广东药学院罗集鹏教授鉴定为正品。凭证标本存于华南农业大学生命科学学院植物标本室。

1.2 实验方法:取茎尖及其下部几个节位的茎和叶,分割成体积约 1 mm<sup>3</sup> 左右的小块,固定于 4% 的多聚甲醛+5% 的戊二醛(用 0.1 mol/L 磷酸缓冲液配制)中,室温下固定 4 h 后,磷酸盐缓冲液清洗,再经 1% 锇酸固定(4 ℃),过夜,以同样的缓冲液清洗。系列丙酮脱水,Epon 812 环氧树脂包埋,奥地利产 Reichert—Jung 型超薄切片机切片,切片厚度 60~70 nm。醋酸双氧铀和柠檬酸铅染色 15~20 min,荷兰产 FEI—Tecnai 12 型分析透射电子显微镜观察并照相。

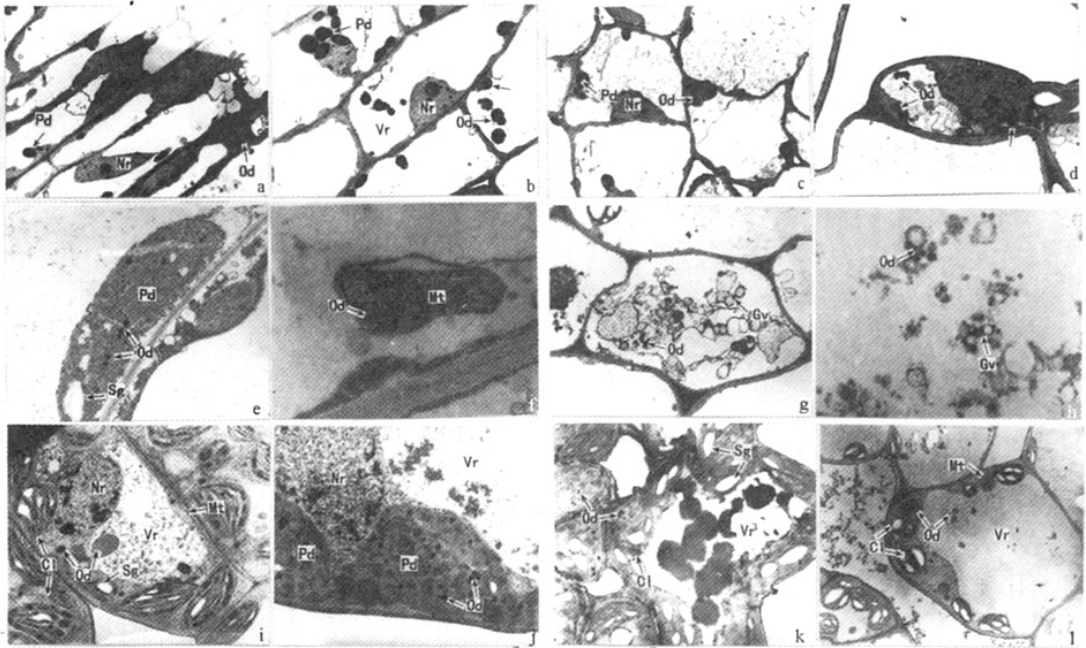
### 2 观察结果

2.1 茎中挥发油的合成场所及储存部位:在广藿香茎内,从生长点直至其次生结构,都未观察到油细胞、分泌囊、分泌腔或分泌细胞团等特化的合成和贮存挥发油的结构。但在电镜下观察到不同的发育阶段茎内部有部分细胞含有黑色嗜锇物质。广藿香茎、叶发育和不同发育期挥发油的分布部位及形成的原

因,笔者已做报道<sup>[8,9]</sup>,在此不做赘述。本实验是在前面工作的基础上,进一步研究广藿香挥发油的合成场所及贮存部位。在广藿香茎的初生分生组织区,髓、皮层基本分生组织和原形成层中均有一些含有黑色嗜铁物质的细胞,这些黑色嗜铁物质主要分布在质体和液泡中(图 1-a~d);在茎初生构造的皮层薄壁组织中,细胞内形成了大液泡,细胞质被挤到细胞的边缘,其中包括质体、线粒体,高尔基体、核糖体和内质网等细胞器。在质体中,有大量电子致密度高的物质,另外,在质体内还包含有一些淀粉粒(图 1-e、f)。在含有灰黑色嗜铁物质的质体和液泡周围,可观察到一些灰色小泡,在其外膜上附着着许多体积较小的电子致密度高的颗粒(图 1-g、h)。

2.2 叶中挥发油的合成场所及储存部位:在广藿香叶

内,也未观察到贮存挥发油的分泌结构。但在栅栏组织细胞内,含有大量的黑色嗜铁物质,而在海绵组织中,仅在部分细胞中含有较多的黑色嗜铁物质。由于栅栏组织细胞排列紧密,体积较小,细胞内密集叶绿体,因此除叶绿体和少量线粒体上,所含其他细胞器较少,也无大液泡,仅有一个比细胞核体积稍大的液泡,它与细胞核、叶绿体、线粒体相邻分布(图 1-i)。叶绿体内除有大量片层基粒外,还有一些淀粉粒和很多的灰色和黑色嗜铁物质(图 1-i~k)。有些液泡内分布有较大的团块状电子致密度很高的物质(图 1-k)。海绵组织中,细胞体积较大,形状不规则,有大的细胞间隙,且细胞内有大的液泡存在,细胞质被挤到细胞边缘,主要包括叶绿体、细胞核和少量的线粒体,在叶绿体和液泡中都观察到一些灰黑色的嗜铁物质(图 1-l)。



Pd-质体 Nr-细胞核 Od-挥发油滴 Vr-液泡 Mt-线粒体 Sg-淀粉粒 Gv-灰泡 Cl-叶绿体

Pd-plastid Nr-nucleus Od-oil drop Vr-vacuole Mt-mitochondrion Sg-starch grain Gv-gray vesicle Cl-chlorophyll

a-原形成层中的黑色嗜铁物质 b-皮层基本组织中的黑色嗜铁物质 c-髓基本组织中的黑色嗜铁物质 d-皮层薄壁细胞中挥发油的分布及合成部位 e-质体中的黑色嗜铁物质和淀粉粒 f-线粒体中的黑色嗜铁物质 g-茎皮层薄壁细胞中挥发油的分布及转运 h-小灰泡及其外膜上附着的黑色嗜铁物质 i-栅栏组织中挥发油的分布及合成部位 j-质体中的黑色嗜铁物质 k-挥发油的储存部位 l-海绵组织中挥发油的分布及合成部位

a-osmiophilic material in protocambium b-osmiophilic material in cortex fundamental tissue c-dark osmiophilic material in pith fundamental tissue d-distribute and synthesize part of essential oil in cortex thin-walled cell e-dark osmiophilic material and starch grain in plastid f-dark osmiophilic material in mitochondrion g-distribution and transporting mode of essential oil in cortex thin-walled cell of stem h-small gray vesicles and dark osmiophilic droplets adhered to outer membrane of small gray vesicles i-showing distribution and synthesizing part of essential oil in palisade tissue j-dark osmiophilic material in plastid k-storing position of essential oil l-distribution and synthesizing part of essential oil in spongy tissue

图 1 挥发油的分布和合成部位

Fig. 1 Distribution and synthesizing site of essential oil

### 3 讨论

广藿香的挥发油为油脂类物质,它是萜烯类、醇类、酮类等物质的混合物<sup>[10]</sup>。脂类物质能与鞣酸形成嗜锶物质,在电子显微镜下显示为电子致密度高的物质。脂类物质合成场所的粗略定位,通常根据各种细胞器中嗜锶滴的分布特点来判断<sup>[11]</sup>。有关脂类物质在分泌细胞内合成的问题始终存在分歧。有些研究认为管状内质网参与了脂类物质的合成<sup>[12~14]</sup>。另外一些研究则支持质体是合成脂类物质的场所<sup>[15~17]</sup>。此外,West<sup>[18]</sup>认为油细胞中的油是在细胞质中产生的。

研究表明,在广藿香的茎中,仅在质体和线粒体内观察到大量的电子致密度高的嗜锶物质,而线粒体有细胞“动力站”之称,能够氧化脂类,并释放能量,供植物的生长发育。因此认为,在广藿香茎内,质体是挥发油的主要合成场所。在叶中,情况稍有不同,栅栏组织细胞中除叶绿体外,所含其他细胞器少,也无大液泡,质体、线粒体、细胞核和液泡相邻分布,质体内密集大小不等的电子致密度高的物质,而有的液泡内分布有较大的团块状电子致密度很高的物质。因此,认为在广藿香的叶中,质体不仅行使光合作用功能,还是挥发油的主要合成场所,合成的挥发油进入液泡内储存。

对于脂类物质的分泌方式,Fahn<sup>[11]</sup>曾报道过两种方式,吴鸿等<sup>[19]</sup>报道过一种方式。但油脂类物质在合成场所至贮存部位间的转运方式,较少报道。本研究中,在茎的皮层薄壁细胞中,有一些灰色小泡,其膜外侧附着大量的电子致密度高的小颗粒,这种灰色小泡在质体、线粒体和储有挥发油的液泡膜附近聚集。因此认为,广藿香茎内挥发油从合成场所至储存部位间是通过灰色小泡转运的。至于灰色小泡的来源,有待于进一步的研究。在叶肉组织,尤其是栅栏组织中,未发现灰色小泡,但合成挥发油的质体均与贮存挥发油的液泡相邻分布,据此认为,在叶肉组织中,挥发油以渗透的方式直接进入储存部位。

另外,无论是在光学显微镜下还是在透射电镜下,均未发现在广藿香茎、叶内有分泌结构,而皮层薄壁细胞,叶肉组织细胞等可合成和贮存挥发油。这一现象与木兰科、芸香科、藤黄科金丝桃属、松科等植物不同。虽有报道说广藿香茎内分布有间隙腺毛<sup>[20]</sup>,但这些细胞经一系列有机溶剂处理后,没有变化,所以认为,皮层中的那些通体呈黑色的细胞为一些黏液细胞,而不是油细胞或储油细胞。

### References:

- [1] Luo J P, Feng Y F, Guo X L. Analysis of volatile oil of *Pogostemon cablin* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2001, 32(4): 299-302.
- [2] Du Y M, Chen L Z, Hu B R. Study progression of chemical component and pharmacologic action of *Pogostemon cablin* [J]. *Tradit Chin Drug Res Clin Pharmacol* (中药新药与临床药理), 1998, 9(4): 238-241.
- [3] Hao J D, Xie Z W. Continuity and development of Huoxiang medicinal breed [J]. *J Chin Med Mater* (中药材), 1994, 17(8): 44-47.
- [4] Cai X, Hu Z H. The relation of the ultrastructure variety and essential oil output in the developing process of *Liriodendron chinense* (Hemsl.) Sarg [J]. *Acta Boreal-Occident Sin* (西北植物学报), 2002, 22(2): 327-332.
- [5] Liu W Z, Lu H F, Hu Z H. Ultrastructure of the multicellular nodules in *Hypericum perforatum* leaves [J]. *Acta Bot Sin* (植物学报), 2002, 46(6): 649-656.
- [6] Wu H, He Y L, Hu Z H. The histochemistry and cytochemistry of resin-containing cell in *Pinus tabulaeformis* [J]. *Acta Boreal-Occident Sin* (西北植物学报), 1999, 19(1): 100-103.
- [7] Yan X X, Hu Z H. The ultrastructure study of peltate glandular hairs' secreting process of *Mentha haplocalyx* Briq [J]. *Acta Boreal-Occident Sin* (西北植物学报), 1998, 18(2): 256-261.
- [8] Feng C H, Wu H. Leave development and essential oil distribution in different development stages of *Pogostemon cablin* [J]. *J Shaoguan Univ: Nat Sci*, 2003, 24(12): 74-78.
- [9] Feng C H, Wu H. Stem development and essential oil distribution in different development stages of *Pogostemon cablin* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2005, 36(2): 271-274.
- [10] Luo J P, Feng Y F, Guo X L, et al. The essential oil component analysis of *Pogostemon cablin* produced in Gaoyao [J]. *J Chin Med Mater* (中药材), 1999, 22(1): 25-27.
- [11] Fahn A. *Secretory Tissue in Plants* [M]. London: Academic Press, 1979.
- [12] Schnep F E. Tubul a res endoplasmatisches Reticulum in Drüsen mit lipophilen Ausscheidungen von *Ficus*, *Ledum* und *salvia* [J]. *Biochem Physiol Pflanzen*, 1972, 163: 113-125.
- [13] Heinrich G. Entwicklung, feinaufbau und olgehalt der drüsenhäutchen von *Monarda fistulosa* [J]. *Planta Med*, 1973, 23: 154-166.
- [14] Werker E, Fahn A. Secretory hairs of *Inula viscosa* (L.) Ait-development, ultrastructure, and secretion [J]. *Bot Gaz*, 1981, 142: 461-476.
- [15] Akers C P, Weybrew J A, Long R C. Ultrastructure of glandular trichomes of leaves of *Nicotiana tabacum* L., CV. Xanthi [J]. *Amer J Bot*, 1978, 65: 140-151.
- [16] Amelunxen F, Gronau G. Elektronenmikroskopische untersuchungen an den olzellen von *Acorus calamus* L. Z. [J]. *Pflanzen Physiol*, 1969, 60: 156-168.
- [17] Wooding F B P, Northcote D H. The fine structure of the mature resin canal cells of *Pinus pinea* [J]. *J Ultrastructure Res*, 1965, 13: 233-244.
- [18] West W C. Ontogeny of oil cells in the woody Ranales [J]. *Bull Torrey Bot Club*, 1969, 96(3): 329-344.
- [19] Wu H, Muller M. An alternative mode of elimination of resin from epithelial cells of resin ducts in *Pinus sylvestris* [J]. *Acta Bot Sin* (植物学报), 1999, 41(2): 133-135.
- [20] Chen X X, Du Z M, Zhang J N, et al. The diagnosis of *Pogostemon cablin* and its mixtae *Ebimezedi indica* [J]. *J Chin Med Mater* (中药材), 2000, 23(5): 261-263.