

行组织培养,建立甘肃道地黄芪的离体快繁体系。该试验最重要的一个突破就是将试管苗成功地移栽于盆土中且生长良好,这对于实现黄芪种苗工厂化生产具有非常重要的实践意义。

参考文献:

- [1] 康廷国. 中药鉴定学[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2004.
- [2] 高学敏. 中药学[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2004.
- [3] 张树森, 胡秋芳. 蒙古黄芪种子特性与发芽试验[J]. 内蒙古草原, 1995, 1: 59-62.
- [4] 杨继祥, 田义新. 药用植物栽培学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2004.
- [5] 王 蒂. 植物组织培养[M]. 北京: 中国农业出版社, 2004.
- [6] 陈 刚, 贾敬芬. 草木犀状黄芪高频离体再生体系的建立[J]. 西北植物学报, 2001, 21(1): 136-141.
- [7] 蔡晓剑, 李松龄. 青海省野生大黄组织培养研究初报[J]. 青海科技, 2004(6): 25-27.
- [8] 包英华, 苏格尔. 蒙古黄芪的组织培养研究[J]. 韶关学院学报, 2002, 23(9): 70-76.
- [9] 冉懋雄. 中药组织培养实用技术[M]. 北京: 科学技术文献出版社, 2004.
- [10] 王 忠. 植物生理学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000.
- [11] 包英华, 苏格尔. 蒙古黄芪不同外植体愈伤组织中黄芪甲苷含量比较[M]. 内蒙古大学学报, 2003, 21(1): 136-141.

产地和采收时间对美花石斛药材中多糖的影响

武孔媛¹, 王文全^{1*}, 金家兴², 孙志蓉¹, 龙友邻², 白 音³

(1. 北京中医药大学中药学院, 北京 100102; 2. 贵州兴义吉仁堂药业公司, 贵州 兴义 562400;
3. 韶关学院, 广东 韶关 512005)

摘 要:目的 研究不同产地和不同采收季节对美花石斛药材多糖的影响, 为确定美花石斛药材的最佳产地和采收时间提供依据。方法 采用苯酚-浓硫酸比色法比较不同产地和不同采收时间美花石斛药材的多糖量, 并对结果进行方差分析。结果 不同产地和生长年限美花石斛多糖量差异较大, 贵州则戎产的美花石斛药材多糖量最高, 为14.9%; 不同采收时期美花石斛药材的多糖量2年生均高于3年生, 4月时多糖量最低, 从4月开始量逐渐增高, 其中9月量达到最高。结论 以多糖量为指标来判断药材质量的好坏, 贵州则戎所产的美花石斛药材质量较好, 2年生药材的多糖量较高, 采收期安排在9月至次年1月份期间比较合适, 这一结果与传统石斛药材秋冬季节采收相符, 并为美花石斛药材的采收和质量评价提供了科学依据。

关键词: 美花石斛; 产地; 采收时间; 多糖量

中图分类号: R282.2

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2008)11-1732-04

石斛具有滋阴清热、益胃生津、润肺止咳之功效, 为传统名贵中药, 其来源植物有40多种, 美花石斛 *Dendrobium loddigesii* Rolfe 是《中国药典》2000年版收载的环草石斛药材的原植物, 化学成分含有多糖、生物碱和萜类化合物(stilbenoids)等^[1~3]。药理实验证明石斛的多糖类成分是石斛中具有免疫促进和抗肿瘤作用的活性成分^[4], 常以多糖的量高低来判断某一类石斛药材的质量好坏^[5]。因此, 多糖量可以作为评价环草石斛药材质量的指标。

《中国药典》2005年版中石斛的采收时间是全年均可采收, 对于石斛药材的采收时间没有明确的规定, 但是不同生长年限和生长月份的石斛中有效成分的量 and 积累是存在差别的, 药材的产地也影响药材有效成分。白音等^[5]研究了不同生长年限美花石斛茎的多糖量, 发现2年生药材的多糖量较高, 采

收期安排在第2年生长结束时比较合适, 但对具体的采收时间, 未进行动态分析。确定药材的适宜产地有利于发展药材的生产, 而药材适宜采收时间的确定有利于药农进行采收和确保药材中的有效成分的量, 从而确保临床药效。本实验采用苯酚-硫酸法对不同产地、不同生长年限和不同月份采收的美花石斛的多糖量进行测定, 并对测定结果进行比较分析, 初步确定美花石斛药材的适宜产地和采收时间, 为其质量评价及探索最佳采收期提供科学依据。

1 仪器、试剂与材料

1.1 仪器与试剂: U—2000 紫外-可见分光光度计(日本, HITACHI); UV—2100 紫外-可见分光光度计(上海优尼柯仪器有限公司); 无水葡萄糖对照品(北京拜尔迪生物公司, 批号 G-8270, 供定量测定用)。浓硫酸、苯酚、乙醇均为分析纯(北京化工厂)。

收稿日期: 2008-04-05

作者简介: 武孔媛(1982—), 女, 贵州省六盘水人, 北京中医药大学中药学院在读硕士研究生, 主要从事中药质量方面的研究。

Tel: (010)84738623 E-mail: kongyuan112@163.com

* 通讯作者 王文全 Tel: (010)84738623 E-mail: wwq57@126.com

1.2 实验材料:不同产地的实验材料采自美花石斛的主要产区,不同采收月份的实验材料采自贵州省兴义则戎村,药材经广东韶关学院教授白音鉴定为美花石斛 *Dendrobium loddigesii* Rolfe 的茎。

1.2.1 不同产地野生美花石斛药材:美花石斛6个主要产地的野生美花石斛药材,样品情况见表1。

表1 不同产地美花石斛药材

Table 1 *D. loddigesii* from different habitats

样品代号	产地	采集时间
GZAL	贵州安龙县	2005-04
GZZR	贵州兴义则戎村	2005-04
YNWS	云南文山县	2005-04
GXJX	广西靖西县	2005-03
GXYL	广西玉林市	2005-03
YNGP	越南高平	2005-03

1.2.2 不同采收月份野生美花石斛药材:2006年2月~2007年1月的12个月中,每个月20日左右采集2年生和3年生美花石斛野生药材。样品情况见表2。

表2 不同采收月份的美花石斛药材

Table 2 *D. loddigesii* collected from different months

样品代号 (2年生)	采收时间	样品代号 (2年生)	采收时间
MHSH-202	2006-02-20	MHSH-302	2006-02-20
MHSH-203	2006-03-15	MHSH-303	2006-03-15
MHSH-204	2006-04-19	MHSH-304	2006-04-19
MHSH-205	2006-05-20	MHSH-305	2006-05-20
MHSH-206	2006-06-25	MHSH-306	2006-06-25
MHSH-207	2006-07-28	MHSH-307	2006-07-28
MHSH-208	2006-08-25	MHSH-308	2006-08-25
MHSH-209	2006-09-20	MHSH-309	2006-09-20
MHSH-210	2006-10-21	MHSH-310	2006-10-21
MHSH-211	2006-11-24	MHSH-311	2006-11-24
MHSH-212	2006-12-22	MHSH-312	2006-12-22
MHSH-201	2007-01-20	MHSH-301	2007-01-20

2 方法与结果

2.1 多糖的测定

2.1.1 石斛多糖的制备:美花石斛粉末20 g,置圆底烧瓶中,加石油醚(60~90℃)100 mL回流提取1 h,脱脂,滤过,滤渣挥干溶液,以80%乙醇100 mL回流提取1 h,趁热滤过,挥干溶液,滤渣置圆底烧瓶中,加蒸馏水500 mL,回流提取2次,每次1.5 h,趁热滤过,减压浓缩至60 mL,加入0.1%活性炭脱色,滤过,加入90%乙醇使溶液含醇80%,静置过夜,滤过,分出沉淀物溶于蒸馏水,Sevage法(氯仿-正丁醇按4:1多次萃取)脱蛋白。上清液醇沉,沉淀物依次用无水乙醇、丙酮、乙醚洗涤5次,每次各用10

mL。将沉淀再次脱色、醇沉得精制品供分析用。

2.1.2 换算因子测定:精密称取60℃干燥至恒重的美花石斛多糖10 mg,置于250 mL量瓶中,用蒸馏水稀释至刻度,摇匀,作贮备液。精密吸取贮备液0.3 mL,按标准曲线制备项下的方法测定吸光度。另精取葡萄糖对照品液0.3 mL(含葡萄糖30 μg),同法操作,求出美花石斛多糖中的葡萄糖量,计算换算因子 $[f = \text{多糖}(\mu\text{g/mL}) / \text{多糖溶液中的葡萄糖量}(\mu\text{g/mL}) \times \text{稀释倍数}]f = 1.40$,吸光度 $A = 0.072$,石斛多糖中葡萄糖量为8.8 μg。

2.1.3 供试品溶液制备:精密称取药材粉末0.15 g,置圆底烧瓶中用5 mL石油醚回流提取0.5 h,滤过,残渣挥干溶剂后用80%乙醇50 mL回流提取1 h,滤过,残渣挥干溶剂后再用80 mL蒸馏水提取两次,每次1.5 h,趁热滤过,滤液定容到250 mL量瓶中,放置到室温。

2.1.4 标准曲线的制备:精密称定干燥至恒重的无水葡萄糖100.15 mg置100 mL量瓶中,溶解定容,取10 mL置100 mL量瓶中,配制成0.100 15 mg/mL葡萄糖对照品溶液。精密量取葡萄糖对照品溶液0.1、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mL分别置10 mL具塞试管中,加水至2.0 mL,加5%苯酚1.0 mL,摇匀,迅速加入浓硫酸5.0 mL放置5 min,沸水浴加热20 min取出立即冰水冷却2 min后取出,室温放置10 min,另以2.0 mL蒸馏水同样操作,作空白对照,按紫外可见分光光度法在490 nm波长处测定吸光度,以吸光度为纵坐标(A),葡萄糖对照品的量为横坐标(C),计算回归方程为: $A = 8.178 7 C + 0.000 2, r = 0.999 5 (n = 3)$,葡萄糖在0~0.100 15 mg与显色液呈良好的线性关系。

2.1.5 测定波长的选择:分别对显色后的石斛多糖溶液、葡萄糖对照品溶液在300~900 nm进行全波长扫描,吸收光谱见图1。从图中看出多糖显色后和标准葡萄糖溶液在490 nm处有最大吸收,故选择490 nm作为测定波长。

2.1.6 精密度试验:取同一样品溶液,重复测定吸光度6次,RSD为1.07%。

2.1.7 稳定性试验:取同一样品溶液,按样品测定方法操作,每隔10 min测定一次吸光度,结果120 min内吸光度RSD为0.36%。

2.1.8 重现性试验:取同一药材粉末5份,按样品测定方法操作,测定吸光度,计算多糖量,RSD为2.60%。

2.1.9 加样回收率试验:精密称取药材粉末0.15 g

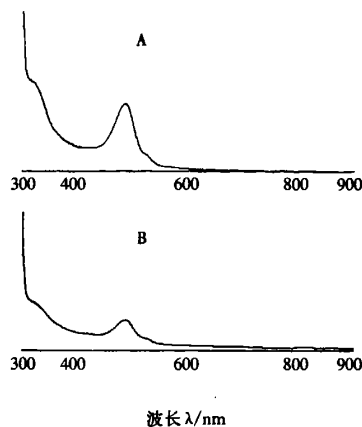


图 1 葡萄糖对照品(A)和美花石斛样品(B)紫外光谱扫描图

Fig. 1 UV Spectral scanogram of glucose reference substance (A) and *D. loddigesii* (B)

(6 份), 分别加入石斛总多糖 5.0 mg (3 份)、10.0 mg (3 份), 按样品测定方法测定吸光度, 计算, 回收率平均值为 100.67%, RSD 为 2.25% ($n=3$)。

2.2 结果: 对不同美花石斛药材进行多糖定量测定结果采用 SPSS 10.0 统计软件进行分析。

2.2.1 不同产地野生美花石斛: 不同产地美花石斛药材多糖定量测定及分析结果见表 3, 将多糖量结果进行聚类分析, 分析结果见图 2。

由表 3 方差分析结果可以看出, 各产地美花石斛多糖量存在显著差异 ($P<0.01$), 其中贵州则戎和贵州安龙 2 个产地的美花石斛药材的多糖量最高, 达到 14.90% 和 14.11%, 广西靖西的量其次, 为 13.04%, 云南文山的美花石斛多糖量最低, 仅为 5.32%。由聚类分析结果可以发现各产地根据多糖量的差异情况可将美花石斛的产地分为 3 类, 贵州

表 3 不同产地野生美花石斛药材多糖量 ($n=3$)

Table 3 Polysaccharide in *D. loddigesii* from different habitats ($n=3$)

样品代号	多糖量 ($\bar{x}\pm s$)/%	F	P
GZAL	14.11 $\pm$ 0.15	460.37	<0.01
GZZR	14.90 $\pm$ 0.21		
YNWS	5.32 $\pm$ 0.01		
GXYL	6.76 $\pm$ 0.83		
GXJX	12.87 $\pm$ 0.12		
YNGP	11.55 $\pm$ 0.24		

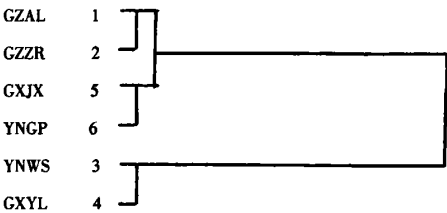


图 2 不同产地美花石斛药材多糖量聚类分析图

Fig. 2 Dendrogram of cluster analysis of polysaccharide in *D. loddigesii* from different habitats

安龙和则戎为一类, 多糖量最高; 广西镇宁和越南高平为一类, 多糖量次之; 云南文山和广西玉林为一类, 多糖量较低。

2.2.2 不同采收期美花石斛药材多糖量: 不同采收期美花石斛药材进行多糖量测定, 结果见表 4。不同采收期美花石斛药材的多糖量存在显著差异 ($P<0.01$), 从生长年限上看, 2 年生和 3 年生美花石斛药材的多糖量的变化趋势是一致的, 8~11 月份的量较高, 3~5 月份量较低, 2 年生美花石斛药材各月份多糖量均高于 3 年生美花石斛药材; 从不同采收月份上看, 4 月时多糖量最低, 从 4 月开始量逐渐增高, 其中 9 月份左右量达到最高。

表 4 不同采收期采收的美花石斛多糖的比较 ($n=3$)

Table 4 Comparison of polysaccharide in *D. loddigesii* during different collection periods ($n=3$)

样品	多糖 ($\bar{x}\pm s$)/%	F	P	样品	多糖 ($\bar{x}\pm s$)/%	F	P
MHSH-201	19.09 $\pm$ 0.07	1 426.232	<0.01	MHSH-301	13.78 $\pm$ 0.24	225.247	<0.01
MHSH-202	16.25 $\pm$ 0.20			MHSH-302	9.96 $\pm$ 0.57		
MHSH-203	14.85 $\pm$ 0.14			MHSH-303	10.37 $\pm$ 0.24		
MHSH-204	7.82 $\pm$ 0.05			MHSH-304	7.44 $\pm$ 0.16		
MHSH-205	7.48 $\pm$ 0.17			MHSH-305	6.70 $\pm$ 0.44		
MHSH-206	12.08 $\pm$ 0.19			MHSH-306	4.83 $\pm$ 0.06		
MHSH-207	12.17 $\pm$ 0.07			MHSH-307	11.40 $\pm$ 0.16		
MHSH-208	16.09 $\pm$ 0.12			MHSH-308	14.49 $\pm$ 0.26		
MHSH-209	14.54 $\pm$ 0.18			MHSH-309	12.72 $\pm$ 0.21		
MHSH-210	21.90 $\pm$ 0.04			MHSH-310	14.21 $\pm$ 0.18		
MHSH-211	21.29 $\pm$ 0.08			MHSH-311	16.99 $\pm$ 0.48		
MHSH-212	20.07 $\pm$ 0.08			MHSH-312	20.98 $\pm$ 0.21		

3 讨论

石斛的多糖类成分是石斛中具有免疫促进和抗肿瘤作用的活性成分,常以其量的高低来判断某一类石斛类药材的质量好坏。因此本实验以多糖作为测定指标,来研究美花石斛药材的适宜产地和采收时间。

由不同产地的美花石斛药材的多糖量结果看出,贵州所产美花石斛药材的多糖量最高,其次是越南、广西,云南最低。所比较的产地均为美花石斛的主要产地,因此笔者可以推出美花石斛的适宜产地是贵州。这一结果可能与各产地的地理经纬度和海拔高度等影响因素有关,贵州两地的经度和纬度都在105°和25°左右,但云南和广西的经度分别为104°和109°,纬度为23°和21°左右,越南和广西的海拔较贵州和云南的低,而且其余各产地的年均温度比贵州两地的年均温度高3~6℃,这一原因与聚类结果相符,它们都可能对药材的生长和有效成分的积累带来一定的影响。

不同采收期的美花石斛多糖成分量有明显差别,从采收年限上看,因为美花石斛药材现多为仿野生和移栽药材,所以不考虑1年生药材,而4年生药材茎多干枯,不做药用,因此只比较2年生和3年生药材。从结果可以看出,2年生药材的多糖量高于3

年生药材,因此建议美花石斛药材采收应该安排在第2年的生长期结束时比较合适。

不同采收时期美花石斛从采收的不同月份来看,总体上讲多糖量在春季(2~4月)最低,秋冬季(9~12月)量相对较高,所以美花石斛的采收季节可定为9月至次年1月(即秋季和冬末春初),由此可以看出传统上石斛药材的采收时间定于秋冬季是有科学道理的。

由于美花石斛中还含有其他有效成分,因此确定最终的最佳产地和采收时间还要结合其他有效成分的量 and 产地的地理气候因素,本实验通过多糖量的差异进行比较初步确定药材的适宜产地和采收时间,为今后继续研究美花石斛药材的有效成分和采收时间提供基础。

参考文献:

- [1] 李满飞,平田正义,徐国钧,等. 粉花石斛化学成分的研究[J]. 药学学报,1991,26(4):307-310.
- [2] 秦海林,张建新,王峰涛,等. 环草石斛的¹H-NMR 指纹图谱研究[J]. 中国中药杂志,2002,27(12):919-923.
- [3] 李满飞,徐国钧,平田正义,等. 中药石斛类多糖的含量测定[J]. 中草药,1990,21(10):10-12.
- [4] 张光浓,毕志明,王峰涛,等. 石斛属植物化学成分研究进展[J]. 中草药,2003,34(6):附5-8.
- [5] 白音,王文全,包英华,等. 美花石斛茎组织构造及多糖含量比较研究[J]. 北京中医药大学学报,2007,30(3):196-198.

不同产地短瓣金莲花中黄酮苷的测定

周欣¹,范国荣^{2*}

(1. 南京军区福州总医院 药学科,福建 福州 350025; 2. 第二军医大学 药物分析教研室,上海 200433)

摘要:目的 考察不同产地短瓣金莲花药材中3种黄酮苷的量。方法 采用HPLC同时测定短瓣金莲花中槲皮素-3-O-新橙皮糖苷、荭草苷及牡荆苷的量。结果 不同产地短瓣金莲花药材中槲皮素-3-O-新橙皮糖苷和荭草苷的量有较大差异。结论 所建立的分析方法准确可靠,可用于短瓣金莲花药材质量控制。本研究为短瓣金莲花的资源利用及质量控制提供了一定的科学依据。

关键词:短瓣金莲花;黄酮苷;HPLC

中图分类号:R282.6

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2008)11-1735-03

短瓣金莲花 *Trollius ledebouri* Reichb. 为毛茛科金莲花属植物的干燥花,属野生的多年生草本植物,主要分布于黑龙江及内蒙古东北部等地区^[1,2],具有抑菌和抗病毒等功效。现代药理研究表明黄酮

类化合物为金莲花属植物主要有效成分,生药鉴别和药品质量评价也均以黄酮为指标^[3~6],金莲花属植物已知成分的定量测定多采用高效液相色谱法、薄层扫描色谱法、分光光度法等方法,目前所报道的

收稿日期:2008-01-04

作者简介:周欣(1977—),女,江西人,硕士研究生,目前研究方向为中药质量控制。

Tel: (0591)83373754 E-mail: zibaihuamao@yahoo.com.cn

* 通讯作者 范国荣 Tel: (021)25070388 E-mail: Guofan@yahoo.com.cn

产地和采收时间对美花石斛药材中多糖的影响

作者: [武孔媛](#), [王文全](#), [金家兴](#), [孙志蓉](#), [龙友邻](#), [白音](#)
作者单位: [武孔媛,王文全,孙志蓉\(北京中医药大学中药学院,北京,100102\)](#), [金家兴,龙友邻\(贵州兴义吉仁堂药业公司,贵州,兴义,562400\)](#), [白音\(韶关学院,广东,韶关,512005\)](#)
刊名: [中草药](#) [ISTIC](#) [PKU](#)
英文刊名: [CHINESE TRADITIONAL AND HERBAL DRUGS](#)
年, 卷(期): 2008, 39(11)
被引用次数: 1次

参考文献(5条)

1. [李满飞;平田正义;徐国钧](#) [粉花石斛化学成分的研究](#) 1991(04)
2. [秦海林;张建新;王峥涛](#) [环草石斛的1H-NMR指纹图谱研究\[期刊论文\]-中国中药杂志](#) 2002(12)
3. [李满飞;徐国钧;平田义正](#) [中药石斛类多糖的含量测定](#) 1990(10)
4. [张光浓;毕志明;王峥涛](#) [石斛属植物化学成分研究进展\[期刊论文\]-中草药](#) 2003(06)
5. [白音;王文全;包英华](#) [美花石斛茎组织构造及多糖含量比较研究\[期刊论文\]-北京中医药大学学报](#) 2007(03)

本文读者也读过(10条)

1. [孙卓然](#), [刘圆](#), [李晓云](#), [刘超](#), [SUN Zhuo-ran](#), [LIU Yuan](#), [LI Xiao-yun](#), [LIU Chao](#) [石斛不同种、不同药用部位中多糖含量测定\[期刊论文\]-时珍国医国药](#)2009, 20(8)
2. [李振坚](#), [于耀](#), [王雁](#), [彭镇华](#), [缪崑](#), [亢秀萍](#), [LI Zhen-Jian](#), [YU Yao](#), [WANG Yan](#), [PENG Zhen-Hua](#), [MIAO Kun](#), [KANG Xiu-Ping](#) [四种石斛兰种胚发育进程研究\[期刊论文\]-广西植物](#)2010, 30(3)
3. [潘春香](#), [白音](#), [包英华](#), [周展兴](#) [不同栽培基质对束花石斛根组织构造的影响\[期刊论文\]-安徽农业科学](#) 2009, 37(16)
4. [毛堂芬](#), [刘作易](#), [朱国胜](#), [黄永会](#) [培养基组成对环草石斛试管苗生长的影响\[期刊论文\]-安徽农业科学](#) 2009, 37(35)
5. [乔永旭](#), [张永平](#) [石斛兰的组织培养\[期刊论文\]-安徽农业科学](#)2010, 38(4)
6. [卢文芸](#), [何可群](#), [姜细艳](#), [次曲珍](#), [廖建华](#) [不同产地的石斛中总生物碱和多糖含量与其价格关系的探讨\[期刊论文\]-安徽农业科学](#)2010, 38(24)
7. [陈丹](#), [罗奇](#), [黄少军](#), [刘云](#), [CHEN Dan](#), [LUO Qi](#), [HUANG Shao-jun](#), [LIU Yun](#) [南宁市大棚种植石斛的气候评价\[期刊论文\]-湖北农业科学](#)2010, 49(12)
8. [王再花](#), [朱根发](#), [欧孟昌](#), [王碧青](#), [WANG Zai-hua](#), [ZHU Gen-fa](#), [OU Meng-chang](#), [WANG Bi-qing](#) [植物生长调节剂促进春石斛提前开花效果研究\[期刊论文\]-广东农业科学](#)2008(10)
9. [任建武](#), [王雁](#), [彭镇华](#), [REN Jian-wu](#), [WANG Yan](#), [PENG Zhen-hua](#) [3种温室栽培石斛冬季光合特性研究\[期刊论文\]-西北林学院学报](#)2009, 24(1)
10. [黄雪群](#), [李续娥](#), [李小梅](#) [中药石斛对大鼠胃热证的作用观察\[期刊论文\]-山东医药](#)2010, 50(21)

引证文献(1条)

1. [杨家福](#) [中药饮片的质量问题分析\[期刊论文\]-中国中医药现代远程教育](#) 2012(3)

本文链接: http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_zcy200811043.aspx