

## 不同产地和生长年限伊贝母地上部位与鳞茎生物碱含量研究

张鹏葛, 盛萍\*, 任慧梅 (新疆医科大学中医学院, 新疆乌鲁木齐 830011)

**摘要** [目的]研究不同产地和生长年限伊贝母地上部位与地下鳞茎总生物碱含量。[方法]采用酸性染料比色法测定总生物碱的含量。[结果]在不同产地和生长年限的伊贝母中,其地上部位与地下鳞茎的生物碱含量存在差异,4年生的伊贝母总生物碱含量比3年和5年的含量高,地上部位中总生物碱含量为地下鳞茎中的1.258~2.870倍,新疆伊犁州新源县中的伊贝母总生物碱含量均比其他产地的总生物碱含量低。[结论]不同产地和生长年限伊贝母中总生物碱含量因产地及生长年限不同而存在差异,但总体上地上部分的总生物碱含量高于地下鳞茎,存在进一步研究与开发的價值。

**关键词** 伊贝母;地上部位;地下鳞茎;生物碱;含量;酸性染料比色法

**中图分类号** S567;R284.1 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2015)19-082-02

Studies on Determination of Total Alkaloids in Aerial Parts and Bulb of *Fritillaria pallidiflora* in Different Origins and Years

ZHANG Peng-ge, SHENG Ping\*, REN Hui-mei (School of Traditional Chinese Medicine, Xinjiang Medical University, Urumqi, Xinjiang 830011)

**Abstract** [Objective] To measure and compare with the content of total alkaloid in the aerial parts and bulb of *Fritillaria pallidiflora* in different origins and years. [Method] Acid dye colorimetric methods were used to investigate the content of total alkaloid. [Result] The content of total alkaloid in the aerial parts and bulb are obviously different among the different organs and age of *Fritillaria pallidiflora*. The content of total alkaloid of *Fritillaria pallidiflora* of three-year old was equal to that of *Fritillaria pallidiflora* of five-year old, but they were lower than that of *Fritillaria pallidiflora* of four-year old, the content of total alkaloids in aerial parts were 1.258 - 2.870 times more than underground parts. [Conclusion] The content of total alkaloids with different origins and years there is a difference, but in general the content of total alkaloids in aerial parts were significantly higher than the bulbs, so there is a certain development and utilization value.

**Key words** *F. pallidiflora*; Aerial parts; Underground bulb; Alkaloids; Content; Acid dye colorimetric method

伊贝母是《中华人民共和国药典》记载的、常用名贵大宗药材,为百合科植物新疆贝母 *Fritillaria walujewii* Regel 或伊犁贝母 *Fritillaria pallidiflora* Schrenk 的干燥鳞茎。性微寒,味苦,归肺、心经,具有清热润肺、化痰止咳之功效。临床上常用于肺热燥咳、干咳少痰、阴虚劳咳、咳痰带血等症<sup>[1]</sup>。在临床应用方面与药材川贝母相同,是中医处方和中成药生产常用的名贵药材。其野生品种仅分布在我国新疆境内<sup>[2-3]</sup>,为国家三级重点保护野生药材。由于野生伊贝母药材资源破坏严重,近年伊贝母作为新疆道地药材的人工种植逐渐备受重视。

谢运飞等积极探索了川贝母地上部位的开发利用,结果表明川贝母地上部位含有与地下部位相同的有效成分,且含量可观,这对贝母地上部位变废为宝及资源的合理开发利用提供了一条新思路<sup>[4]</sup>。现代药理研究表明,伊贝母主要活性成分为总生物碱类成分<sup>[5]</sup>,但有关其地上部位与地下鳞茎中总生物碱含量差异以及不同产地和不同采收年限与药材主要活性成分含量方面的联系尚未见系统研究。因此,该试验采用酸性染料比色法对不同产地及年限的伊贝母地上部位与鳞茎生物碱含量进行了测定,为地上部分变废为宝、探讨其最佳产地、最佳生长年限及合理开发伊贝母药材资源提供科学依据。

## 1 材料与方 法

**1.1 材料** 供试材料为不同产地和生长年限的新疆贝母和伊犁贝母新鲜茎、叶、鳞茎,样品信息如表1所示。经新疆医

科大学中医学院盛萍教授鉴定为百合科植物新疆贝母 *Fritillaria walujewii* Regel 或伊犁贝母 *Fritillaria pallidiflora* Schrenk。凭证标本存放于新疆医科大学中医学院中药资源教研室。药材经60℃烘干后粉碎,过80目筛,备用。对照品西贝素(批号110767-201005)购于中国药品生物制品检定所。

## 1.2 方 法

**1.2.1 对照品溶液的制备。**精密称取0.0051g西贝素置5ml容量瓶中,用少量氯仿溶解,并用氯仿定容至刻度,从中精密移取3ml至25ml容量瓶中并用氯仿定容至刻度(0.1248mg/ml),备用。

**1.2.2 供试品溶液的制备。**精密称取样品粉末(过80目筛)约1.0000g,置250ml圆底烧瓶中,加浓氨试液2ml,浸润12h。精密加入三氯甲烷-甲醇(4:1)混合溶液30ml,混匀,置80℃水浴加热回流提取4h,放冷,滤过,用三氯甲烷-甲醇(4:1)混合溶液洗涤2~3次圆底烧瓶,洗涤液与样品液一起过滤后,置已干燥至恒重的蒸发皿中,在60℃水浴上蒸干后,于烘箱中60℃干燥3h,残渣加少量氯仿分次溶解,定量移入25ml容量瓶中,加氯仿至刻度,摇匀备用。

## 1.2.3 方 法 学 考 察。

**1.2.3.1 线性关系考察。**从西贝素对照品溶液(0.1248mg/ml)中精密吸取0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6ml分别至25ml容量瓶中,分别精密加入pH5.0的溴麝香草酚蓝溶液4ml、氯仿2.6ml,密塞,振摇均匀后,移入分液漏斗中静置30min,分取氯仿层于装有0.25g无水硫酸钠的具塞锥形瓶中,在414nm处测定吸光度。以西贝质量分数为横坐标、吸光度为纵坐标,绘制标准曲线。

**1.2.3.2 精密度考察。**精密吸取对照品溶液5份,每份0.2ml于25ml容量瓶中,测定吸光度,并计算RSD值,要求

**基金项目** 国家自然科学基金项目(81160544)。

**作者简介** 张鹏葛(1991-),男,甘肃秦安人,硕士研究生,研究方向:特色中药资源质量标准。\*通讯作者,教授,博士,硕士生导师,从事特色中药资源质量标准研究。

**收稿日期** 2015-05-11

该值小于 3%。

**1.2.3.3 重现性考察。**取同一样品粉末 5 份,每份约 1.000 0 g,精密称定,按“1.2.2”方法进行制备。测定吸光度,计算总生物碱的含量,并计算 *RSD* 值,要求该值小于 3%。

**1.2.3.4 稳定性考察。**取同一供试品溶液,分别于配置溶液后 0、1、2、3、4、6、8 h,精密吸取 0.2 ml 至 25 ml 容量瓶中,加 pH 5.0 的溴麝香草酚蓝 4 ml、氯仿 2.6 ml,测定吸光度,计算总生物碱的含量,并计算 *RSD* 值。

**1.2.3.5 回收率试验。**取已知总生物碱含量的样品粉末(总生物碱含量为 0.65%)5 份,每份约 0.5 g,精密称定,置 250 ml 圆底烧瓶中,分别精密吸取含有西贝素 80%、100%、120% 样品中总生物碱量加入样品中,按“1.2.2”方法进行制备,测定吸光度,并计算平均回收率和 *RSD* 值。

**1.2.4 样品含量测定。**精密吸取供试品溶液于 25 ml 容量瓶中,加入 pH 5.0 的溴麝香草酚蓝溶液 4 ml、氯仿 2.6 ml,密塞,振摇均匀后,移入分液漏斗中静置,分取氯仿层于装有 0.25 g 无水硫酸钠的具塞锥形瓶中,在 414 nm 处测定吸光度,计算含量。

## 2 结果与分析

### 2.1 方法学考察

**2.1.1 线性关系考察。**按“1.2.3.1”方法操作,在 414 nm 处测定吸光度,绘制标准曲线,数据进行线性回归,得西贝素

的回归方程为  $A = 0.0084C + 0.00762$  ( $r = 0.9994$ ),表明西贝素在 12.48 ~ 74.88  $\mu\text{g}$  范围内呈良好的线性关系。

**2.1.2 精密度的考察。**按“1.2.3.2”方法操作,测得 *RSD* 值为 1.2%,表明精密度良好,符合含量测定要求。

**2.1.3 重现性考察。**按“1.2.3.3”方法操作,测定吸光度,计算总生物碱的含量,*RSD* 值为 1.9%,表明用此方法测定生物碱含量重现性良好。

**2.1.4 稳定性考察。**按“1.2.3.4”方法操作,测定吸光度,计算总生物碱的含量,*RSD* 值为 0.8%,表明样品溶液在 8 h 内稳定。

**2.1.5 回收率试验。**按“1.2.3.5”方法操作,测得平均加样回收率为 101.53% ( $n = 5$ ),*RSD* 为 2.67%,表明该方法回收率较好,方法可行。

**2.2 样品含量测定** 对不同产地和生长年限新疆贝母和伊犁贝母地上部位与地下鳞茎按“1.2.4”方法测定吸光度,并计算相应含量。由表 1 可见,不同产地和生长年限新疆贝母和伊犁贝母地上部位与地下鳞茎的生物碱含量存在差异,同品种在不同年限中的总生物碱含量不同,但所有样品中地上部分的总生物碱含量均高于地下鳞茎部分,地上部分的总生物碱含量为地下部分的 1.258 ~ 2.870 倍,且 4 年生的伊贝母总生物碱含量比 3 年生和 5 年生的含量高;新疆伊犁州新源县中的伊贝母总生物碱含量均比其他产地的总生物碱含量低。

表 1 不同产地和生长年限伊贝母地上部位与鳞茎的生物碱含量及含量比

种名	产地	年限	地上含量//%	地下含量//%	总含量//%	地上与地下含量比
新疆贝母 <i>F. walujewii</i>	新疆玛纳斯清水河乡	3	1.141	0.836	1.977	1.364
新疆贝母 <i>F. walujewii</i>	新疆玛纳斯清水河乡	4	1.194	0.884	2.078	1.351
新疆贝母 <i>F. walujewii</i>	新疆玛纳斯清水河乡	5	0.997	0.792	1.789	1.258
新疆贝母 <i>F. walujewii</i>	新疆呼图壁雀尔沟	3	1.171	0.794	1.965	1.474
新疆贝母 <i>F. walujewii</i>	新疆呼图壁雀尔沟	4	1.283	0.825	2.108	1.555
新疆贝母 <i>F. walujewii</i>	新疆呼图壁雀尔沟	5	1.023	0.725	1.748	1.411
新疆贝母 <i>F. walujewii</i>	新疆伊犁新源县	3	0.986	0.390	1.376	2.528
新疆贝母 <i>F. walujewii</i>	新疆伊犁新源县	4	1.051	0.422	1.473	2.489
新疆贝母 <i>F. walujewii</i>	新疆伊犁新源县	5	0.728	0.373	1.101	1.951
伊犁贝母 <i>F. pallidiflora</i>	新疆伊犁巩留县	3	1.465	0.581	2.046	2.521
伊犁贝母 <i>F. pallidiflora</i>	新疆伊犁巩留县	4	1.521	0.591	2.112	2.573
伊犁贝母 <i>F. pallidiflora</i>	新疆伊犁巩留县	5	1.426	0.504	1.930	2.829
伊犁贝母 <i>F. pallidiflora</i>	新疆伊犁新源县	3	0.838	0.308	1.146	2.721
伊犁贝母 <i>F. pallidiflora</i>	新疆伊犁新源县	4	0.961	0.672	1.633	1.430
伊犁贝母 <i>F. pallidiflora</i>	新疆伊犁新源县	5	0.899	0.567	1.466	1.585
伊犁贝母 <i>F. pallidiflora</i>	新疆伊犁霍城县	3	1.194	0.521	1.715	2.291
伊犁贝母 <i>F. pallidiflora</i>	新疆伊犁霍城县	4	1.224	0.661	1.885	1.851
伊犁贝母 <i>F. pallidiflora</i>	新疆伊犁霍城县	5	1.171	0.408	1.579	2.870

### 3 小结与讨论

该试验中新疆贝母和伊犁贝母的生长年限为 3、4、5 年,结果表明,同品种在不同年限中的总生物碱含量不同,但所有样品中均 4 年生的伊贝母总生物碱含量均比 3 年生和 5 年生的含量高,这一结果与张鹏葛等的研究结果<sup>[6]</sup>相一致。同时研究发现同品种在不同产地中的总生物碱含量存在差异,但新疆伊犁州新源县产的新疆贝母及伊犁贝母总生物碱

含量均比其他产地的总生物碱含量低,表明不同产地的温度、水分、光照、土壤等条件均可能对生物碱含量有所影响。这为指导伊犁母人工种植环境提供了科学依据。

一直以来,人们都习惯用地下鳞茎作为贝母药用部位,而其植株的地上部分则在果期以后被丢弃。但根据现代研究发现,川贝母的生物碱类化合物为其主要活性成分,且地

(下转第 140 页)

生物数量以胡桃楸纯林显著最多,可能是其林下更为丰富的植被类型所导致的。从多样性指数的研究结果来看混交林有更高的显著效果,因此可在今后的营林工作中多种植混交林来增加林分物种多样性<sup>[14-16]</sup>。Emile Benizri 等<sup>[13]</sup>通过研

究发现:微生物功能多样性与林内物种多样性存在着明显的相关关系,并且生物多样性在维持林内生态系统平衡过程中扮演着重要的角色。改善土壤环境可以使林分中的生态系统更加稳定<sup>[17-20]</sup>。

表2 土壤理化性质与土壤微生物特性相关系数

	微生物数量	多样性指数	含水量	pH	有机质	水解氮	有效磷	速效钾
微生物数量	1							
多样性指数	0.879**	1						
含水量	0.328	0.156	1					
pH	0.436	-0.192	0.703*	1				
有机质	0.899**	0.752**	0.164	-0.387*	1			
水解氮	0.677**	0.658**	0.086	-0.138	0.918**	1		
有效磷	0.323	0.058	0.527*	-0.469*	0.315	-0.388	1	
速效钾	0.685**	0.582*	0.488*	-0.127	0.386	-0.678**	0.771*	1

注: \*\*表示在0.01水平下极显著相关,\*表示在0.05水平下显著相关。

综上所述,可以初步确定,与人工林相比,营建混交林在具有相对较高的物种多样性的同时也较为稳定,因此混交林的营造具有一定的现实意义和发展前景。在营林过程中人工林也占有相当大的资源比例,为土壤微生物学研究提供了理论依据和技术支持。然而由于人工林品种过于单一,微生物组成也不够丰富,因此提高人工林生物多样性成为必要的营林措施。今后将对土壤微生物量和土壤性质进行进一步研究。

#### 参考文献

- [1] 周丽霞,丁明慧. 土壤微生物学特性对土壤健康的指示作用[J]. 生物多样性,2007,15(2):162-171.
- [2] 华建峰,林先贵,蒋倩,等. 砷矿区农田土壤微生物群落碳源代谢多样性[J]. 应用生态学报,2013,24(2):473-479.
- [3] RODRIGUEZ-LOINAZ G, ONAINDIA M, AMEZAGA I, et al. Relationship between vegetation diversity and soil functional diversity in native mixed-oak forests[J]. Soil Biology & Biochemistry, 2008,40:49-60.
- [4] 范瑞英,杨小燕,王恩短,等. 黑土区不同林龄落叶松人工林土壤微生物群落功能多样性的对比研究[J]. 北京林业大学学报,2013,35(2):63-68.
- [5] 郭新春,曹裕松,刘苑秋,等. 3种人工林土壤微生物群落结构与可溶性有机氮的相关性[J]. 江西农业大学学报,2013,35(1):131-137.
- [6] 夏志超,孔垂华,王朋,等. 杉木人工林土壤微生物群落结构特征[J]. 应用生态学报,2012,23(8):2135-2140.
- [7] 郑诗樟,肖青亮,吴蔚东,等. 丘陵红壤不同人工林型土壤微生物类群、酶活性与土壤理化性状关系的研究[J]. 中国生态农业学报,2008,16

(1):57-61.

- [8] 邱雪颖,耿莹莹,孙龙,等. 兴安落叶松林土壤微生物生物量季节动态及影响因素[J]. 东北林业大学学报,2012,40(5):1-4.
- [9] 陈立新. 土壤实验实习教程[M]. 哈尔滨:东北林业大学出版社,2005.
- [10] 侯晓杰,汪景宽,李世朋. 不同施肥处理与地膜覆盖对土壤微生物群落功能多样性的影响[J]. 生态学报,2007,2(2):655-661.
- [11] 林先贵. 土壤微生物研究原理与方法[M]. 北京:高等教育出版社,2010:170-172.
- [12] HARRIS J A, BIRCH P. Soil microbial activity in opencast coal mine restorations[J]. Soil Use and Management,1989,5(4):155-160.
- [13] BENIZRI E, AMIAUD B. Relationship between plants and soil microbial communities in fertilized grasslands[J]. Soil Biology & Biochemistry, 2005,37:2055-2064.
- [14] 王树力,孙悦,沈海燕,等. 不同密度杂种落叶松人工林的土壤微生物变化特征[J]. 中国水土保持科学,2009,7(3):59-66.
- [15] 赵萌,方晰,田大伦. 第2代杉木人工林地土壤微生物数量与土壤因子的关系[J]. 林业科学,2007,43(6):7-12.
- [16] 李永进,汤玉喜,吴敏,等. 洞庭湖滩地杨树人工林土壤微生物的研究[J]. 中南林业科技大学学报,2010,30(2):79-82.
- [17] 梁理勇. 雷州林业局桉树人工林地土壤微生物的分布规律[J]. 中南林业科技大学学报,2004,24(4):59-61.
- [18] 丁新华,黄金萍,顾伟,等. 扎龙湿地土壤养分与土壤微生物特性[J]. 东北林业大学学报,2011,39(4):75-77.
- [19] 邵元元,邹莉,王志英,等. 落叶松人工林土壤养分与微生物群落的变化动态[J]. 东北林业大学学报,2011,39(1):82-84.
- [20] 魏天凤,任艳林,曾辉,等. 降水改变对樟子松人工林土壤微生物量碳及微生物商动态变化的影响[J]. 北京大学学报:自然科学版,2008,4(4):52-59.

(上接第83页)

上和地下部分的化学成分相似,只是各部位生物碱类化合物的含量有所差异。该试验结果表明,不同产地和生长年限新疆贝母和伊犁贝母地上部分的总生物碱含量为地下部分的1.258~2.870倍,这一结果与马微微等的研究结果<sup>[7]</sup>相一致,表明地上部位茎和叶同样具有一定的药用价值,为伊犁贝母地上部位用药提供了理论依据,但由于伊犁贝母中的有效成分不仅仅为生物碱类成分,因此,合理评价伊犁贝母地上部位能否入药,尚需要进一步从多组分及药效试验比较进行深入研究。

#### 参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中国药典(2010版一部)[S]. 北京:化学工业出版社,2010:132.
- [2] 中国植物志编辑委员会. 中国植物志第14卷[M]. 北京:科学出版社,1980:102.
- [3] 新疆生物土壤沙漠研究所. 新疆药用植物志[M]. 乌鲁木齐:新疆人民出版社,1977:186-199.
- [4] 谢运飞,谭玉柱,赵高琼,等. 贝母地上部位的开发利用现状[J]. 亚太传统医药,2001,7(9):156-157.
- [5] 李萍,季晖,徐国钧,等. 贝母类中药的镇咳祛痰作用研究[J]. 中国药科大学学报,1993,24(6):360-362.
- [6] 张鹏葛,盛萍,安露莎,等. 不同栽培年限伊犁贝母组织化学研究[J]. 中国野生植物资源,2014,33(5):14-18.
- [7] 马微微,蔡妙婷,邹云峰,等. 不同生长期栽培及野生伊犁贝母的总生物碱分布[J]. 中国实验方剂学杂志,2014,20(9):118-119.