

荔枝草生药学研究

李小平, 邱俊铭 (海南省药物研究所, 海南海口 570311)

摘要 [目的]通过对荔枝草的生药学研究,为荔枝草的开发利用、质量标准的制定和生药学研究提供依据。[方法]采用性状鉴定、显微鉴定、理化鉴定的方法进行研究,并对其主要成分黄酮进行含量测定。[结果]荔枝草茎的横切面和叶的横切面显微特征较为明显,可作为荔枝草鉴别特征。方法学考察表明,芦丁在 0.005~0.105 mg/mL 线性关系良好($r=0.999\ 9$),平均加样回收率为 93.38% (RSD = 2.8%)。[结论]该研究结果可为荔枝草质量标准制定提供依据。

关键词 荔枝草;生药学;黄酮含量

中图分类号 R282.5 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2018)15-0158-02

Study On Pharmacognosy of *Sebastiania Herba*

LI Xiao-ping, QIU Jun-ming (Pharmaceutical Institute of Hainan Province, Haikou, Hainan 570311)

Abstract [Objective] The research aimed to provide the basis for the development and utilization of *Sebastiania herba*, the establishment of quality standards and the research of pharmacognosy through the pharmacogenetic study of *Sebastiania herba*. [Method] The plants were identified by the methods of trait identification, microscopic identification and physicochemical identification, and its main component flavonoid content was determined. [Result] The microscopic features of the stem cross-sections and leaf cross-sections of *Sebastiania herba* were obvious, which could be used as the identification characteristics of *Sebastiania herba*. The methodological investigation showed that rutin had a good linear relationship between 0.005 and 0.105 mg/mL ($r=0.999\ 9$), and the average recovery was 93.38% (RSD = 2.8%). [Conclusion] The results of this study can provide a basis for the quality standard of *Sebastiania herba*.

Key words *Sebastiania herba*; Pharmacognosy; Flavonoids content

荔枝草为大戟科地杨桃属植物地杨桃 [*Sebastiania chamaelea* (L.) Muell. - Arg] 的干燥全草,又名地杨桃、坡荔枝^[1],主要分布于广东、广西和海南等热带和亚热带省区。该植物生于山坡、草地、溪旁,海南各地常见^[2],根据《广西药用植物名录》记载,性味咸,寒,入肝经,民间广泛用全草入药^[3],治疗眩晕和头痛,尤其治疗美尼尔氏综合症效果明显,其汁液具有收敛、强壮之功效^[4]。目前,关于荔枝草的报道有地杨桃酯类化学成分分析^[5]和地杨桃中游离氨基酸分析^[6],而关于荔枝草相关质量标准的研究鲜见报道。为了更好地开发应用,笔者对荔枝草进行生药学的研究,并对其主要有效成分之一黄酮的测定方法进行考察,为荔枝草质量标准制定提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 研究对象。荔枝草采自海南省三亚地区,共 3 批,分别编号 120301、120401、120501,经海南大学黄世满教授鉴定为大戟科地杨桃属植物地杨桃 [*Sebastiania chamaelea* (L.) Muell. - Arg] 的全草。分别于 3、4、5 月初采摘,清洗干净,阴干,粉碎,过筛,备用。以 3 月份采摘的荔枝草全草(编号 120301)为主要对象进行研究。

1.1.2 主要仪器。粉碎机(天津市泰斯特仪器有限公司);BP211D 电子天平(德国 Sartorius);数显恒温水浴锅(常州澳华仪器有限公司);OLYMPUS 光学显微镜(奥林巴斯中国有限公司);DHG-9071A 电热恒温干燥箱(上海精宏实验设备有限公司);箱式电阻炉(上海华联环境试验设备有限公司恒昌仪器厂);紫外分光光度计(岛津 UV-2401PC)。

1.1.3 主要试剂。芦丁对照品(中国药品生物制品检定所,批号 10080-200707);乙醇(分析纯,广州化学试剂厂);亚硝酸钠(广州化学试剂厂);硝酸铝(广州化学试剂厂);氢氧化钠(西陇化工股份有限公司);水合氯醛试剂(国药集团化学试剂有限公司);甘油(广州化学试剂厂)。

1.2 方法

1.2.1 显微鉴定方法。取荔枝草干燥药材在水中浸软后进行徒手切片,滴加水合氯醛透化,再滴加几滴甘油酒精,盖上盖玻片,制成临时切片,对茎和叶的横切面进行显微观察、描述、拍照。

1.2.2 对照品溶液的制备。精密称取芦丁对照品 20 mg,置 100 mL 容量瓶中,加 70% 甲醇适量,超声微热溶解,冷却后加 70% 甲醇至刻度,摇匀,即得 0.2 mg/mL 芦丁,作为对照品溶液。

1.2.3 标准曲线溶液的制备。精密量取对照品溶液 0.5、1.0、2.0、4.0、8.0、10.0 mL,分别置 25 mL 容量瓶中,各加 70% 甲醇至 10 mL,加 5% 亚硝酸钠溶液 1 mL,摇匀,放置 6 min,加 10% 硝酸铝溶液 1 mL,摇匀,放置 6 min;再加 4% 氢氧化钠溶液 10 mL,用 70% 甲醇稀释至刻度,摇匀,放置 15 min 待用。

1.2.4 供试品溶液的制备。取本品粉末(过四号筛)约 1 g,精密测定,加 70% 甲醇 30 mL,称定重量,加热回流提取 1 h,放冷,补重,过滤,收集续滤液,精密量取续滤液 1 mL 至 25 mL 容量瓶中,按照“1.2.3”标准曲线制备项下的方法,自“各加 70% 甲醇稀释至 10 mL”起,依法测定吸光度,从标准曲线上读出供试品溶液中含芦丁的重量,计算,即得。

1.2.5 紫外光谱测定波长。取芦丁对照品溶液,置紫外扫描仪中,在 400~800 nm 进行扫描,确定最大吸收波长为 508 nm(图 1)。

作者简介 李小平(1984—),女,海南澄迈人,助理研究员,从事黎药的质量标准研究。

收稿日期 2018-03-06

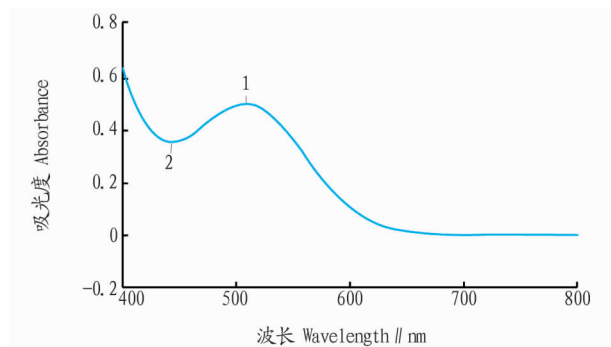


图1 芦丁对照品测定波长扫描

Fig.1 Rutin reference measurement wavelength scan

1.2.6 方法学考察。

1.2.6.1 线性关系的考察。以相应的试剂为空白,取“1.2.3”项下的标准曲线溶液,按照紫外-可见分光光度法,在 508 nm 波长处测定吸光度,以吸光度为纵坐标、浓度为横坐标绘制标准曲线。

1.2.6.2 稳定性试验。取同一供试样品溶液,分别在 0、5、10、20、30、40 min 测定吸光度,连续测定 6 次,计算 RSD。

1.2.6.3 精密度试验。取按“1.2.4”方法制备的供试品溶液,重复进样 6 次,计算吸光度的 RSD 值。

1.2.6.4 重复性试验。取同一批号的样品,按“1.2.4”方法制备供试品溶液 6 份(样品批号为 120301),按“1.2.5”项下的条件测定吸光度,计算平均含量和 RSD。

1.2.6.5 加样回收试验。取同一批号样品 6 份(样品批号为 120301),精密加入分别与样品中黄酮含量相等的对照品,按“1.2.4”方法制备供试品溶液,再按“1.2.5”项下的条件测定吸光度,计算平均回收率和 RSD。

1.2.7 样品的含量测定。按“1.2.4”方法分别精密称取 3 批不同时间段采集的药材进行含量测定。

2 结果与分析

2.1 药材性状 本品常互抱成团。根细长,为 10~20 cm,稍弯曲,红褐色,质轻脆,易折断,断面黄白色。茎细圆形,长 15~70 cm,直立或倾斜,多分枝,黄绿色。枝叶弯曲互抱呈团,叶片细长,呈披针形,干燥叶略皱缩或易破碎。气微,味淡。

2.2 显微鉴别

2.2.1 茎的横切面。直径约 2 mm,具四棱。表皮细胞 1 裂,长方形,外壁常具乳突突起,有腺毛和非腺毛。茎四棱处表皮内侧有厚角组织。皮层为数列椭圆形薄细胞。内皮层不明显,中柱鞘纤维成束或散在,壁微木化,断续排列成环。韧部细胞较小。形成层不明显。木质部在四棱处发达,导管圆形,木纤维多角,射线宽狭不一。髓部由大型薄壁细胞组成,茎中央常有裂隙。

2.2.2 叶的横切面。下表皮细胞垂围壁,波状弯曲;气孔直轴式(图 2);非腺毛 1~3 个细胞,长 32~282 μm ,基部细胞较大,直径约 64 μm ,壁厚 5~11 μm ,有疣状突起(图 3);小腺毛头部单细胞,偶见多细胞;腺鳞头部为 4 细胞,直径 40~64 μm ,柄短,单细胞。

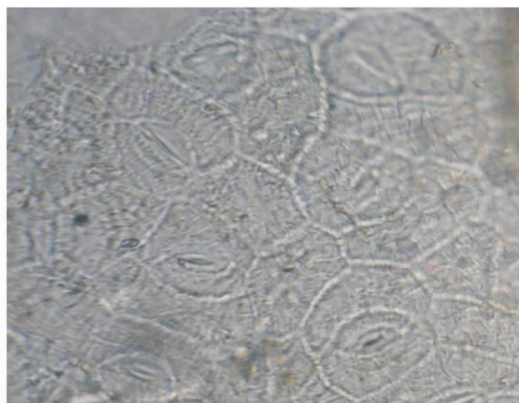


图2 荔枝草气孔显微

Fig.2 Stomatal microscopy of *Sebastiania herba*

图3 荔枝草非腺毛显微

Fig.3 Non-glandular microscopy of *Sebastiania herba*

2.3 方法学考察

2.3.1 线性关系的考察。按“1.2.6.1”方法操作,吸光度分别为 0.057、0.122、0.249、0.494、0.985、1.233,以对照品浓度(mg/mL)为横坐标、吸光度为纵坐标绘制标准曲线,计算得线性回归方程 $Y = 11.7660X - 0.0022$ ($R^2 = 0.9999$),表明芦丁在 0.005~0.105 mg/mL 线性关系良好。

2.3.2 稳定性试验。按“1.2.6.2”方法操作,计算吸光度的 RSD 为 2.9% ($n=6$),表明样品在 40 min 内基本稳定。

2.3.3 精密度试验。按“1.2.6.3”方法操作,计算吸光度的 RSD 为 0.20%,表明在此试验条件下精密度良好。

2.3.4 重复性试验。按“1.2.6.4”方法操作,计算得平均含量为 3.28%,RSD 为 2.40%,表明该方法重复性良好。

2.3.5 加样回收试验。按“1.2.6.5”方法操作,6 组样品的平均回收率为 93.38%,RSD 为 2.8% ($n=6$),表明该方法准确、可靠,可用于荔枝草药材中黄酮的含量测定。

2.4 含量测定 经测定,采集的 3 批荔枝草中黄酮含量分别为 3.28%、3.46%、3.44%,平均值为 3.39%。

3 结论与讨论

该研究对荔枝草的性状、茎的横切面、叶的横切面进行观察描述,因荔枝草茎的横切面和叶的横切面显微特征较为明显,如茎四棱处表皮内侧有厚角组织;皮层为数列椭圆形薄细胞;内皮层不明显,中柱鞘纤维成束或散在,壁微木化,

(下转第 162 页)

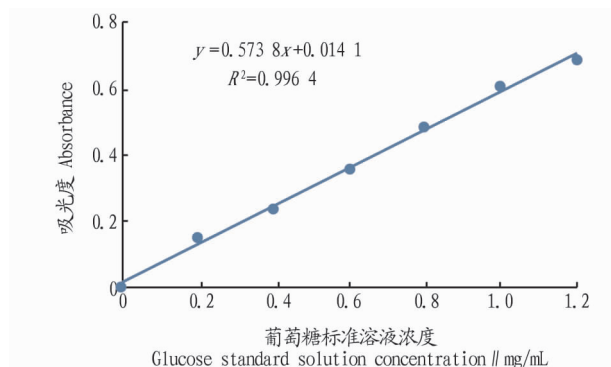


图2 无水葡萄糖标准曲线

Fig. 2 Standard curve of anhydrous glucose

项下的方法,自“挥干”起,同法操作,测定吸光度为0.013 0。根据标准曲线(图3),得出回归方程 $y = 1.5737x - 0.0011$,再根据回归方程计算得出供试品溶液中齐墩果酸的含量为0.89%,满足2015版《中国药典》不得少于0.50%的限量要求。

3 结论与讨论

已有研究表明,灵芝及其提取物抗氧化、抗肿瘤、调节免疫功能等药理作用与其灵芝多糖、三萜含量密切相关^[7-8]。该研究采用蒸馏水、乙醇溶液浸提,应用UV法测定灵芝多糖、三萜含量,结果表明,灵芝子实体供试品与对照品在色谱相应位置显现相同颜色荧光斑点;灰分和浸出物含量分别小于3.2%、大于3.0%;多糖、三萜含量分别大于0.90%、0.50%。可见,安徽大别山区金寨人工种植灵芝质量符合2015版《中国药典》限量要求,可为灵芝系列产品开发提供试验依据。

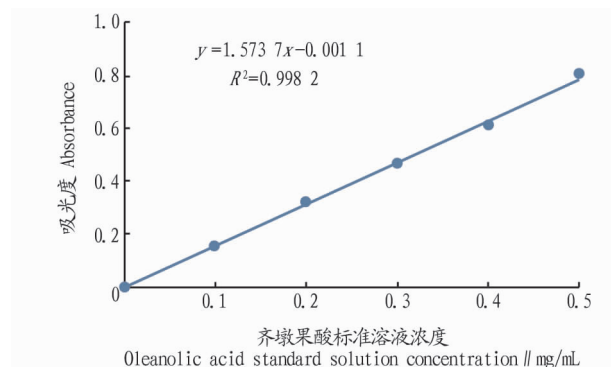


图3 齐墩果酸标准曲线

Fig. 3 Standard curve of oleanolic acid

参考文献

- [1] 中共中央,国务院. 中国农村扶贫开发纲要(2011-2020年)[A]. 2011.
- [2] 六安市人民政府. 2016-2020年六安市国民经济和社会发展第十三个五年规划纲要[A]. 2016.
- [3] 闫征,王宏旭,刘莉莹,等. 灵芝三萜类化合物的体外抗肿瘤活性研究[J]. 国际检验医学杂志,2017,38(5):633-634,637.
- [4] 陈杰,董扬,鲁吉珂,等. 3种不同产地灵芝子实体粗多糖体外抗氧化活性比较研究[J]. 食品工业科技,2016,37(21):100-104.
- [5] 陈杰. 不同产地灵芝子实体化学成分及抗氧化活性研究[D]. 天津:天津科技大学,2016.
- [6] WANG Y Y, KHOO K H, CHEN S T, et al. Studies on the immuno-modulating and antitumor activities of *Ganoderma lucidum* (Reishi) polysaccharides: Functional and proteomic analyses of a fucose-containing glycoprotein fraction responsible for the activities[J]. Bioorg Med Chem, 2002, 10: 1057-1062.
- [7] LIU J, SHIMIZU K, KONISHI F, et al. Anti-androgenic activities of the triterpenoids fraction of *Ganoderma lucidum* [J]. Food chemistry, 2007, 100: 1691-1696.
- [8] ZHOU X W, LI L Q, YIN Y Z, et al. Identification of medicinal *Ganoderma* species based on PCR with specific primers and PCR-RFLP[J]. Planta medica, 2008, 74(2):197-200.

(上接第159页)

断续排列成环;导管圆形,木纤维多角,射线宽狭不一;髓部由大型薄壁细胞组成,茎中央常有裂隙;叶横切面有气孔和非腺毛等,可作为荔枝草鉴别特征。

参考落地生根中黄酮物质的测定方法^[7-8],通过方法学考察,测定3个批次荔枝草中黄酮含量,最高含量为3.46%,最低含量为3.28%,按最低值的15%的规定下限浮度,规定本品按干燥品计算,含总黄酮以芦丁($C_{27}H_{30}O_{16}$)计不得少于2.80%。

参考文献

- [1] 中国科学院华南植物研究所. 海南植物志:第3卷[M]. 北京:科学出版

社,1965:179.

- [2] 中国科学院“中国植物志”编辑委员会. 中国植物志:第44卷第3分册[M]. 北京:科学出版社,1997.
- [3] 广西壮族自治区中医药研究所. 广西药用植物名录[M]. 南宁:广西人民出版社,1986.
- [4] 中国中医研究院中药研究所. 全国中草药名鉴:上册[M]. 北京:人民卫生出版社,1996:387.
- [5] 郭玲,何萌,林连波. 地杨桃酯类化学成分的GC-MS分析[J]. 中国热带医学,2005,5(6):1205-1206.
- [6] 艾朝辉,郭玲,何萌. 地杨桃中游离氨基酸的分析[J]. 中国热带医学,2005,5(7):1440-1441.
- [7] 刘德胜,韩景田,吕志华,等. 落地生根黄酮类成分分析及抗氧化活性研究[J]. 安徽农业科学,2011,39(32):19747-19750.
- [8] 庆伟霞,王勇,姚素梅,等. 三波长-分光光度法测定大叶落地生根中总黄酮的含量[J]. 分析实验室,2010,29(10):90-92.

科技论文写作规范——缩略语

采用国际上惯用的缩略语。如名词术语 DNA(脱氧核糖核酸)、RNA(核糖核酸)、ATP(三磷酸腺苷)、ABA(脱落酸)、ADP(二磷酸腺苷)、CK(对照)、CV(变异系数)、CMS(细胞质雄性不育性)、IAA(吲哚乙酸)、LD(致死剂量)、NAR(净同化率)、PMC(花粉母细胞)、LAI(叶面积指数)、LSD(最小显著差)、RGR(相对增长率),单位名缩略语 IRRI(国际水稻研究所)、FAO(联合国粮农组织)等。对于文中有些需要临时写成缩写的词(如表及图中由于篇幅关系以及文中经常出现的词而写起来又很长时),则可取各主要词首字母写成缩写,但需在第一次出现处写出全称,表及图中则用注解形式在下方注明,以便读者理解。