

细叶石斛有效成分分析及其水溶性 提取物的血管舒张活性

陈云龙¹, 张 铭¹, 何国庆², 傅 琛³

(1. 浙江大学生命科学学院, 浙江 杭州 310012; 2. 浙江大学生工食品学院, 浙江 杭州 310029; 3. 浙江大学药学院, 浙江 杭州 310031)

摘要: 对细叶石斛 (*Dendrobium hancockii* Rolfe) 茎上部、茎中部、茎下部和根中的多糖、生物碱和矿质元素含量进行了分析, 并研究了其水溶性提取物对 SD 大鼠胸主动脉血管的舒张效应。结果表明, 细叶石斛中总多糖含量较高, 并含有较多的钾、钙、镁、铁、锰、镉、钛和铜等元素, 与细茎石斛 [*D. moniliforme* (L.) Sw.] 及铁皮石斛 (*D. officinale* Kimura et Migo) 相比, 其水溶性多糖和生物碱的含量较低, 而且不同部位中的含量存在差异。细叶石斛水溶性提取物强烈拮抗苯肾上腺素所致的大鼠胸主动脉血管收缩作用, 对内皮完整和无内皮功能的 2 种样本均引起类似的浓度依赖性舒张效应, 相关系数有显著意义 ($> r_{0.01}$), 两者的 IC_{50} 分别为 0.309 和 0.404 g/L。

关键词: 细叶石斛; 多糖; 生物碱; 微量元素; 血管舒张

中图分类号: R284.2; R285.5 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-0978(2003)01-0006-04

Content analyses of polysaccharides, alkaloids and mineral elements from *Dendrobium hancockii* and vasodilation activity of its water-soluble extraction CHEN Yun-long¹, ZHANG Ming¹, HE Guo-qing², FU Chen³ (1. College of Life Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310012, China; 2. College of Biosystem Engineering and Food Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China; 3. College of Pharmaceutical Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310031, China), *J. Plant Resour. & Environ.* 2003, 12(1): 6-9

Abstract: Contents of alkaloids, polysaccharides and mineral elements in different parts of *Dendrobium hancockii* Rolfe and relaxed effects of its water-soluble extraction on isolated aortic rings of SD rats were researched. The experiment results showed that the medicinal plant *D. hancockii* has higher contents of total polysaccharides and mineral elements, while has relatively low in contents of alkaloids and water-soluble polysaccharides compared with Xijing Shi-hu [*D. moniliforme* (L.) Sw.] and Tiepi Shi-hu (*D. officinale* Kimura et Migo). Distributions of these ingredients in upper, middle, lower stem and root parts in *D. hancockii* were unequal. The water-soluble extraction of *D. hancockii* evoked analogous concentration-dependent relaxation on isolated aortic rings of SD rat with and without endothelium. The pharmacodynamic parameters indicated that the half inhibit concentration (IC_{50}) were about 0.309 and 0.404 g/L respectively.

Key words: *Dendrobium hancockii* Rolfe; polysaccharides; alkaloids; mineral elements; vasodilation

历代本草及现今的《中华人民共和国药典》均记载石斛具有生津养胃、清音明目、消炎止咳、益精壮骨等功效^[1], 历来为我国传统名贵药材, 其中尤以铁皮石斛 (*Dendrobium officinale* Kimura et Migo) 和细茎石斛 [*D. moniliforme* (L.) Sw.] 等加工成的枫斗最受市场欢迎, 由于资源稀缺, 价格高昂。传统商品石斛的生药质量向来以形态和感官鉴别为主, 对其有效成分研究较少^[1,2]。为此, 作者在前文中^[3]对细茎石斛不同部位的有效成分以及干燥工艺对其含量的

影响作了研究报道。为了进一步开发石斛药用植物资源, 了解细叶石斛跟铁皮石斛、细茎石斛之间的质量差异, 本文对细叶石斛 (*Dendrobium hancockii* Rolfe) 中的有效成分进行了分析, 并对其水溶性提取物在心血管方面的药理作用进行了研究。

收稿日期: 2002-06-05

基金项目: 浙江省自然科学基金资助项目 (301560)

作者简介: 陈云龙 (1967-), 男, 浙江磐安人, 讲师, 在职博士, 主要从事植物活性成分方面的基础研究。

1 材料与方法

1.1 实验材料

细叶石斛(*Dendrobium hancockii* Rolfe)和铁皮石斛(*D. officinale* Kimura et Migo)全草,2000年5月中旬采自云南腾冲,经浙江大学生命科学学院植物科学研究所傅承新教授鉴定,凭证标本存放于浙江大学生命科学学院细胞研究室。

细叶石斛经洗净、去叶,把茎上细梢部分作为上部样品,粗壮茎一分为二,分别作中部和下部样品。铁皮石斛洗净后将茎部平均分成上、中、下3段,作为茎上、中和下部样品。样品于烘箱中100℃杀青5 min,然后于60℃烘干,粉碎,过60目筛备用。

1.2 实验方法

1.2.1 总多糖的测定 细叶石斛和铁皮石斛粉末用乙醇提取分离干扰组分后,再用2 mol/L硫酸水溶液水解提取多糖,适当稀释定容后,以浓硫酸-苯酚法测定含量^[2,3]。每样品平行处理测定3次,求平均值。

1.2.2 水溶性多糖的测定 细叶石斛和铁皮石斛粉末用乙醇提取分离干扰组分后,再用热水恒温提取多糖,过滤稀释定容后以硫酸-苯酚比色法^[2,3]测定含量。

1.2.3 总生物碱的测定 采用碱性氯仿提取生物碱,用溴甲酚绿酸性染料比色法测定其含量^[4]。

1.2.4 矿质元素分析 准确称取1.000 g粉末样品,加入15 mL浓硝酸,加盖浸泡过夜,微火湿法消化至无色透明,冷却后用去离子水把消化液转入50 mL容量瓶中定容,用ICP等离子体发射光谱法测定钾、钙、镁、铁、锰、锶、钛和铜等元素含量^[3]。

1.2.5 血管舒张活性测定^[5] 细叶石斛全草粉末先用乙醇提取色素等杂质,再用热水提取,乙醇沉淀,过滤,所得滤液经浓缩冻干后用于心血管活性试

验。

取SD大鼠15只,体重220~280 g,击晕后取胸主动脉,小心去除包绕结缔组织,切成2~3 mm长的血管环,分成2组:一组保留完整内皮,另一组用镊子刮去内皮,均悬置在盛有10 mL Krebs溶液〔组成(mmol/L): NaCl 118.0, KCl 4.7, KH₂PO₄·7H₂O 1.2, NaHCO₃ 25, Glucose 10, CaCl₂ 1.25〕的器官浴槽中,持续通入含95% O₂和5% CO₂的混合气体,稳定15 min后,将血管张力调整到2 g,稳定60~90 min。在此期间如血管张力下降则调回2 g。然后加入60 mmol/L的KCl,可以见到血管收缩,平稳后用Krebs溶液洗脱,共3次,以检验血管的反应性;加入10×10⁻⁶ mmol/L的苯肾上腺素,可见到血管收缩,平稳后,用10⁻⁵ mol/L的乙酰胆碱检验内皮功能。上述步骤完成后,加入3×10⁻⁷ mol/L的苯肾上腺素,待血管收缩平稳后,以累积剂量加入上述细叶石斛水溶性提取物,记录张力换能器测定的等张力,以苯肾上腺素引起的收缩为100%,计算不同浓度提取物对血管舒张的反应情况。

2 结果与分析

2.1 糖类含量

细叶石斛全草不同部位中总多糖、生物碱和矿质元素的定量测定结果见表1。细叶石斛中的总多糖除了根部含量较低外,其他几个部位差别不大,其中以茎中部稍高,其次是茎下部和茎上部。水溶性多糖含量按根部、茎上部、茎中部和茎下部的顺序依次升高,分别为9.4、32.8、42.0和54.7 g/kg。与细茎石斛^[3]及铁皮石斛相比,细叶石斛水溶性多糖的含量则要低得多,仅为铁皮石斛的25%(见表2)。由此可以解释细叶石斛粗壮茎水提多糖得率较低的问题。

表1 细叶石斛不同部位有效成分的含量

Table 1 Contents of active ingredients in different parts of *Dendrobium hancockii* Rolfe

样品 Samples	总生物碱含量 Content of alkaloides (mg/g)	总多糖含量 Content of polysaccharides (g/g)	矿质元素含量 Mineral elements (μg/g)							
			K	Ca	Mg	Fe	Mn	Sr	Ti	Cu
根部 Root	0.157 3	0.140	5 000	4 420	1 440	590.0	112.0	29.90	28.750	14.800
茎下部 Lower stem	0.151 0	0.175	9 250	4 280	1 970	162.5	100.5	38.80	3.050	7.500
茎中部 Middle stem	0.156 7	0.186	8 050	6 200	1 695	175.5	180.0	48.85	5.150	7.300
茎上部 Upper stem	0.292 7	0.173	10 100	6 900	1 800	266.5	261.0	40.90	6.400	11.100

表2 细叶石斛和铁皮石斛不同部位的多糖和生物碱含量比较¹⁾Table 2 Comparison of contents of polysaccharides and alkaloids in different parts of *Dendrobium hancockii* Rolfe and *D. officinale* Kimura et Migo¹⁾ (g/kg)

植物种类 Species	样品 Samples	含量 Content ($X \pm S, n=3$)		
		生物碱 Alkaloids	总多糖 Polysaccharides	水溶性多糖 Water soluble polysaccharides
细叶石斛 <i>D. hancockii</i>	茎上部 Upper stem	0.290 ± 0.040	173 ± 8	32.8 ± 0.4
	茎中部 Middle stem	0.157 ± 0.018	186 ± 9	42.0 ± 1.2
	茎下部 Lower stem	0.151 ± 0.005	175 ± 1	55.0 ± 3.0
	根部 Root	0.157 ± 0.004	140 ± 6	9.4 ± 2.4
铁皮石斛 <i>D. officinale</i>	茎上部 Upper stem	0.640 ± 0.030	296 ± 19	141.0 ± 14.0
	茎中部 Middle stem	0.230 ± 0.020	338 ± 37	180.4 ± 1.0
	茎下部 Lower stem	0.171 ± 0.008	272 ± 34	163.0 ± 7.0
	根部 Root	0.449 ± 0.027	131 ± 14	10.6 ± 1.3

¹⁾ $X \pm S, n=3$

2.2 生物碱含量

细叶石斛生物碱的含量以茎上部最高,茎中部和下部以及根部的含量差异不大,其变化规律与细茎石斛和铁皮石斛相似,这与植物体内含氮有机物总是从根部吸收营养物质合成,并优先供给生长中心(茎上部),促进植物生长有关。比较而言,细叶石斛各部分的生物碱含量较低,其茎上部、中部和下部及根部的生物碱含量仅为铁皮石斛对应部位含量的45.3%、68.3%、88.3%和35.0%(见表1和表2)。

2.3 矿质元素含量

细叶石斛除了含有较高的常量元素钾和钙外,其镁、铁、锰、锶、钛和铜等矿质元素的含量也较高,不同部位中各元素的含量存在差异,其中根部钛、铜和铁的含量最高,也含有较高的钾、钙、镁和锰元素;钙、铁、锰和钛含量按茎下部、中部和上部顺序依次升高,其含量和分布规律与细茎石斛基本一致^[3]。矿质元素参与人体多种代谢,对维持人体免疫功能起着十分重要的作用。

2.4 舒张动脉血管作用

曾有文献报道金钗石斛(*Dendrobium nobile* Lindl.)水煎液对大鼠肠系膜的动脉血管有扩张作用^[6]。本研究发现细叶石斛水溶性提取物强烈抑制 3×10^{-7} mol/L苯肾上腺素引起的大鼠胸主动脉血管的收缩作用(见表3和表4),当提取物浓度在0.01 g/L的低浓度时,就可以见到明显的血管舒张活性作用;当浓度为10 g/L时,该提取物几乎完全拮抗苯肾上腺素对大鼠主动脉血管的收缩作用,对所有内皮完整和内皮功能已破坏的2种预收缩样本,均引起类似的浓度依赖性舒张效应,相关系数有显著意义,分别为0.923($> r_{0.01}$)和0.988($> r_{0.01}$),两者的 IC_{50} 分别为0.309和0.404 g/L。由此可见,细叶石斛舒张血管的作用主要是通过对血管平滑肌细胞的直接作用产生舒张效应,而不是通过刺激内皮细胞释放舒张因子间接起作用,该舒张效应中伴有cGMP的增高^[5]。很多中药,如党参[*Codonopsis pilosula* (Franch.) Nannf.]和丹参(*Salvia miltiorrhiza* Bge.)也

表3 细叶石斛水溶性提取物对内皮完整的大鼠胸主动脉血管的舒张作用($n=7$)Table 3 Effects of water-soluble extract from *Dendrobium hancockii* Rolfe on isolated aortic rings with endothelium of SD rats ($n=7$)

处理组 Treatment	浓度 Concentration	1	2	3	4	5	6	7	$X \pm S$
苯肾上腺素 Benzene adrenaline	3×10^{-7} mol/L	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	
细叶石斛 <i>D. hancockii</i>	0.01 g/L	92.50	90.10	88.50	94.10	96.70	73.30	76.50	87.40 ± 8.99
	0.03 g/L	92.00	88.80	82.40	94.90	97.40	77.80	70.60	86.30 ± 9.75
	0.10 g/L	65.70	73.70	62.60	91.50	96.10	86.70	66.20	77.50 ± 13.70
	0.30 g/L	52.20	58.60	68.70	88.10	89.60	77.80	57.40	70.30 ± 15.20
	1.00 g/L	26.90	29.60	37.40	50.00	66.20	64.40	35.30	44.30 ± 16.20
	3.00 g/L	14.90	19.70	19.90	7.63	14.30	13.30	11.80	14.50 ± 4.33
	10.00 g/L	9.70	9.87	-2.29	-6.78	0.00	-6.67	1.47	0.76 ± 6.90

表4 细叶石斛水溶性提取物对无内皮功能的大鼠主动脉血管的舒张作用($n=8$)Table 4 Effects of water-soluble extract from *Dendrobium hancockii* Rolfe on isolated aortic rings without endothelium of SD rats ($n=8$)

处理组 Treatment	浓度 Concentration	1	2	3	4	5	6	7	8	$X \pm S$
苯肾上腺素 Benzene adrenaline	3×10^{-7} mol/L	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	
细叶石斛 <i>D. hancockii</i>	0.01 g/L	93.50	97.10	98.50	95.90	101.60	92.10	88.50	75.40	92.80 ± 8.11
	0.03 g/L	92.20	93.40	98.50	89.70	92.20	92.10	82.10	47.70	85.70 ± 16.00
	0.10 g/L	76.40	89.70	94.70	83.50	89.10	91.10	61.50	49.20	79.40 ± 16.20
	0.30 g/L	65.00	49.30	84.20	66.00	75.00	73.30	46.20	28.50	60.90 ± 18.30
	1.00 g/L	40.70	28.70	43.60	41.20	53.10	41.60	24.40	4.61	34.70 ± 15.10
	3.00 g/L	32.50	25.00	18.10	28.90	35.90	26.70	15.40	-9.23	21.70 ± 14.20
	10.00 g/L	13.00	3.68	1.50	19.60	10.90	0.99	0.00	-13.90	4.48 ± 10.10

可扩张周围血管而起降压作用,但其舒张血管效应主要是内皮依赖性的,即通过间接途径发挥降压作用^[7]。

3 结 论

细叶石斛含有较高的总多糖和矿质元素,但水溶性多糖的含量较低,各部位之间的含量存在差异。与细茎石斛和铁皮石斛相比,其生物碱的含量比较低,钾、钙、镁、铁、锰、锶、钛和铜 8 种元素的含量和分布与细茎石斛基本一致。

细叶石斛水溶性提取物强烈拮抗苯肾上腺素引起的大鼠胸主动脉血管的收缩作用,对内皮完整和无内皮功能的 2 种不同样本,均引起类似的浓度依赖性舒张效应,说明细叶石斛主要是通过平滑肌细胞的直接作用而显示血管舒张活性,有望在心血管疾病的临床治疗方面发挥作用,但确切的作用机

制尚有待进一步深入研究。

参考文献:

- [1] 包雪声, 顾庆生, 陈立钻. 中国药用石斛彩色图谱[M]. 上海: 上海医科大学出版社, 复旦大学出版社, 2001. 6-12.
- [2] 吴庆生, 丁亚平, 徐玲, 等. 金钗石斛茎的不同部位中有效成分分析及其分布规律研究[J]. 中国中药杂志, 1995, 20(3): 148-149.
- [3] 陈云龙, 张铭, 华允芬, 等. 细茎石斛不同部位有效成分及分布规律研究[J]. 中国中药杂志, 2001, 26(10): 709-710, 附4.
- [4] 马雪梅, 章萍, 于苏萍, 等. 云南石仙桃及石斛总生物碱和多糖含量的分析[J]. 中草药, 1997, 28(9): 561-563.
- [5] 沃格尔 H G, 沃格尔 W H. 药理学实验指南——新药发现和药理学评价[M]. 杜冠华, 李学军, 张永祥, 等译. 北京: 科学出版社, 2001. 54-56.
- [6] 方秦惠. 石斛对大肠系膜的动脉血管的作用[J]. 南京中医药大学学报, 1991, 7(2): 100-101.
- [7] 李丹明, 李红芳, 李伟, 等. 党参和丹参对兔离体主动脉平滑肌运动的影响[J]. 甘肃中医学院学报, 2000, 17(2): 15-17.