

元宝草培养物的总黄酮含量

曾虹燕¹, 周朴华², 裴刚³

(1. 湘潭大学化工学院, 湖南湘潭 411105; 2. 湖南农业大学理学院, 湖南长沙 410128; 3. 湖南中医学院, 湖南长沙 410007)

Total flavonoid contents in cultural materials of *Hypericum sampsonii* Hance ZENG Hong-yan¹, ZHOU Pu-hua², PEI Gang³ (1. College of Chemical Engineering, Xiangtan University, Xiangtan 411105, China; 2. School of Natural Science of Hunan Agriculture University, Changsha 410128, China; 3. Hunan Traditional Chinese Medicine College, Changsha 410007, China), *J. Plant Resour. & Environ.* 2002, 11(1): 59-60

Abstract: The total flavonoid contents in cultural materials and natural plant of *Hypericum sampsonii* Hance were analysed and compared with that in cultural materials of *H. perforatum* Linn. The results showed that the total flavonoid contents reached 5.416% - 5.868% in *H. sampsonii* calli cultured for 30 d, which were higher than that of natural plant of this species (4.325% - 4.527%) and approached to cultural materials of *H. perforatum*.

关键词: 元宝草; 组织培养物; 黄酮

Key words: *Hypericum sampsonii* Hance; tissue culture; flavonoid

中图分类号: S567.23⁺9; Q946.83 文献标识码: A 文章编号: 1004-0978(2002)01-0059-02

元宝草(*Hypericum sampsonii* Hance)为藤黄科金丝桃属植物,分布于陕西及江南各地。全草入药,用于止血、生肌、调经、抗风湿,治疗内出血、肝炎、坐骨神经痛、牙痛和疮肿毒等症效果明显^[1,2]。金丝桃属的一些种在国内外民间被广泛作为药用,特别是该属所含的金丝桃素具有抗抑郁、抗病毒和治疗肿瘤的辅助作用,以及在癌症的光化学治疗及创伤治疗方面的应用,引起医药界的极大重视。国内外对贯叶连翘(*H. perforatum* Linn.)的研究已相当深入^[3-5],人们一直认为金丝桃素为抗抑郁主要活性成分,但近期报道,金丝桃属植物中的黄酮类成分也具有抗抑郁活性,黄酮类物质比金丝桃素类要稳定得多,因而有更好的开发前景^[6,7]。作者对元宝草组织培养物与自然植株总黄酮含量进行比较分析,并与贯叶连翘中总黄酮含量作对比,旨在为开发利用抗抑郁活性药用成分提供新的资源和途径。

1 材料与方 法

1.1 实验材料

元宝草自然植株采自长沙郊区,元宝草及贯叶连翘组织培养物,由湘潭大学化工学院实验室诱导。以叶、茎间和茎节为外植体,诱导愈伤组织及丛芽的培养基分别为MS+2,4-D 2 mg/L和MS+BA 2 mg/L;生根培养基为MS。培养温度(25±2)℃,光照12 h/d,弱光照诱导愈伤组织,强光照诱导丛芽分化和继代培养。取供试材料阴干粉碎过60目筛,60℃恒重备用。

乙晴为色谱纯,其他试剂为分析纯,水为重蒸水,对照品芦丁购自上海试剂一厂。美国BECKMAN公司DU-60型紫外/可见分光光度仪;检测波长500 nm;瑞士BUCHI公司R-134型旋转蒸发仪。

1.2 总黄酮的提取

准确称取元宝草、贯叶连翘不同培养时间组织培养物及不同生育期的元宝草自然植株与有花再生植株的供试材料各2.5 g,每个样品称3份,分别置于索氏提取器内用石油醚回流抽提至其内石油醚无色(约7 h),除脂,挥干石油醚。再加入200 mL甲醇水浴回流至无色(约7 h),回收甲醇至干,用甲醇溶解,并定容至100 mL容量瓶中,作为供试样液。

1.3 总黄酮含量测定

1.3.1 标准曲线的制备 精密称取干燥、恒重的芦丁4.5 mg,用甲醇溶解并定容于25 mL容量瓶中,摇匀后,量取15 mL溶液置25 mL容量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀(浓度为0.107 5 mg/mL),即标准液。准确吸取该溶液0.0、1.0、2.0、3.0、4.0和5.0 mL分别置于10 mL容量瓶中,分别加入5%亚硝酸钠溶液0.3 mL,摇匀,放置6 min,再加入10%硝酸铝溶液0.3 mL,摇匀,放置6 min,加入1 mol/L NaOH溶液4 mL,然后分别用甲醇溶液稀释至刻度,摇匀,放置15 min,以不加对照品为空白,在500 nm处测定吸收度,以溶液浓度(A)为横坐标,吸收度(C)为纵坐标,标准曲线回归方法为: $C = 9.369 0A - 0.037 3$, $r = 0.998 5$ 。

1.3.2 样品含量的测定 分别准确吸取各供试液1.0 mL于25 mL容量瓶中,每个取3份,按“标准曲线的制备”项下操作测定各样品液的浓度。计算总黄酮的含量。

$$\text{总黄酮含量}(\%) = NV/W \times 100\%$$

式中N为测得样品液浓度(mg/mL),V为样品液体积(mL),W为称取样品的重量(mg)。

收稿日期: 2001-11-22

作者简介: 曾虹燕(1963-),女,河南洛阳人,博士,副教授,主要从事细胞工程和天然药物化学方面的工作。

1.4 精密度和准确度验证

精密吸取元宝草开花植株样液 5 份各 0.5 mL, 分别添加标准液(含标准品 0.107 5 mg/mL) 1.0、2.0、3.0、4.0 和 5.0 mL, 按前法进行测定, 以加标样液测定值减去供试液样值, 对加标量作图, 得标准加入法标准曲线 $C = 9.316 4A - 0.032 9$, $r = 0.996 4$ 。与本实验采用的标准曲线法相比, 二者极为相近, 这表明标准曲线法测定结果可靠。另外, 同样供试液每 10 min 1 次连续 1 h 的吸收度测定结果为 $0.342 9 \pm 0.001 6$, $RSD = 2.66\%$; 6 次平行吸收度测定结果为 $0.343 0 \pm 0.002 1$, $RSD = 2.14\%$ 。表明本实验稳定性较好, 精密密度较高。

2 结果与分析

不同来源元宝草和贯叶连翘中总黄酮含量见表 1。

表 1 不同来源元宝草和贯叶连翘中总黄酮含量(n=3)

Table 1 The contents of flavonoid in different samples of *Hypericum sampsonii* Hance and *H. perforatum* Linn.

样品 Sample	不同培养天数黄酮的百分含量 Content of flavonoids in different culture days (%)			
	15 d	30 d	45 d	60 d
元宝草试管苗 Plantlets of <i>H. sampsonii</i> ¹⁾	3.494	5.368	4.290	1.870
元宝草愈伤组织 Calli of <i>H. sampsonii</i> ¹⁾	3.328	5.416	4.548	2.341
元宝草愈伤组织 Calli of <i>H. sampsonii</i> ²⁾	4.927	5.868	4.819	3.765
贯叶连翘试管苗 Plantlets of <i>H. perforatum</i> ²⁾	5.312	5.948	5.121	3.731
贯叶连翘愈伤组织 Calli of <i>H. perforatum</i> ²⁾	4.819	6.072	5.295	3.754

¹⁾为 1999 年 6 月 15 日接种的外植体诱导产生的愈伤组织继代而来 The calli were induced from explants inoculated in June 15, 1999 and the plantlets were produced successive transfer culture; ²⁾为 2000 年 6 月 25 日接种的外植体诱导产生的愈伤组织继代而来 The calli were induced from explants inoculated in June 25, 2000 and the plantlets were produced successive transfer culture

2.3 元宝草与贯叶连翘组培物黄酮含量的比较

表 1 还显示, 元宝草愈伤组织中总黄酮含量与贯叶连翘愈伤组织的含量基本相近。

2.4 元宝草组培物与其自然植株黄酮含量的比较

不同时期采集的元宝草自然植株与花期再生植株黄酮含量测定结果为: 花前植株总黄酮含量为 4.325%, 开花植株为 4.045%, 结果期植株为 4.527%, 有花再生植株为 4.581%。此结果与表 1 相比较可知, 元宝草组织培养物中总黄酮含量(30 d)明显高于再生植株和自然植株; 再生植株和自然植株中总黄酮含量基本相似。表明金丝桃属植物组织培养可能是生产黄酮类物质的另一有效途径。

参考文献:

[1] 梁小燕. 金丝桃属植物的研究进展[J]. 广西植物, 1998, 18(3):

2.1 培养时间对黄酮含量的影响

从表 1 可以看出, 培养 30 d 元宝草培养物中总黄酮含量最高, 45 d 其次, 15 d 再次, 60 d 最低。贯叶连翘培养物黄酮含量的变化规律与元宝草相似, 最佳培养时间均为 30 d 左右。2000 年 6 月诱导的元宝草愈伤组织中总黄酮含量明显高于 1999 年 6 月诱导并继代培养的愈伤组织, 这可能是愈伤组织退化造成的。在继代培养中, 如何提高愈伤组织的总黄酮含量, 尚待深入研究。

2.2 不同培养物(试管苗和愈伤组织)黄酮含量的比较

从表 1 可以看出, 元宝草和贯叶连翘愈伤组织的总黄酮含量总体上高于试管苗, 这说明可以利用细胞培养技术对元宝草进行细胞悬浮培养, 进行工业化生产。

256-262.

- [2] 潘映红, 郭宝林. 国产金丝桃属有效成分研究概况[J]. 中药材, 1993, 16(8): 40-42.
- [3] 梁巧丽, 高宏成. 金丝桃素的研究进展[J]. 中草药, 30(9): 705-708.
- [4] 张静林, 胡正海, 赵桂仿. 金丝桃属药用植物的研究开发及一些看法[J]. 中成药, 1999, 21(12): 647-650.
- [5] Christopher H. 贯叶金丝桃的研究[J]. 马小军译. 国外医药 植物药分册, 1990, 5(4): 150-154.
- [6] 吴 暎, 李 萍, 周素娣. 贯叶金丝桃黄酮类成分研究[J]. 中草药, 2001, 32(3): 206.
- [7] Bombardelli E, Morazzoni P. *Hypericum perforatum* [J]. Fitoterapia, 1995, 66(1): 43-68.

(责任编辑: 宗世贤)