

湖南地区白花丹参的引种试验研究

杨先国, 刘塔斯*, 林丽美, 舒柯, 李钟, 褚思思
(湖南中医药大学, 长沙 410208)

[摘要] 目的: 探讨从山东莱芜引种到湖南地区的白花丹参药材的产量及质量。方法: 相同条件种植白花丹参和紫花丹参, 计算 2 种丹参根的条数、粗细、根的鲜干质量, 采用高效液相色谱法测定丹参中丹参酮 II_A 和丹酚酸 B 的含量, 并对根横切面的显微特征进行研究。结果: 引种后的白花丹参有效成分含量符合药典标准, 产量显著提高, 二者的根横切面显微特征有明显的差异。结论: 白花丹参适合在湖南种植, 可作为优质的丹参资源在湖南引种并开发利用。

[关键词] 白花丹参; 化学成分; 含量; 产量; 显微特征

[中图分类号] R282 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)01-0117-04

Introduction of *Salvia miltiorrhiza* bge. var. *alba* in Hunan

YANG Xian-guo, LIU Ta-si*, LIN Li-mei, SHU Ke, LI Zhong, CHU Si-si
(Hunan University of Traditional Chinese Medicine, Changsha 410208, China)

[Abstract] **Objection:** To study the yield and quality of *Salvia miltiorrhiza* bge. var. *alba* introduced from Shandong Laiwu, planted in Hunan province. **Method:** *Salvia miltiorrhiza* bge and *S. miltiorrhiza* bge. var. *alba* were planted samely, and the number, size, weight of two plant's radix were counted. The content of tanshinone II_A and salvianolic acid B were determined by high performance liquid chromatography (HPLC), microscopic characters of transverse section of radix were studied. **Result:** The content of chemical constituent accorded with the

[收稿日期] 2011-06-07

[基金项目] 湖南省科技厅科技计划项目(2010sk3013); 湖南省中医药管理局科研基金项目(201105)

[第一作者] 杨先国, 博士研究生, 从事中药资源与质量的研究, Tel: 0731-88458234, E-mail: yxg656@163.com

[通讯作者] * 刘塔斯, 教授, 博士生导师, 从事中药鉴定、中药质量与资源研究, Tel: 0731-88458234, E-mail: liutasi@126.com

增大而增大, 但是随着激素水平的继续增大, 愈伤组织增殖反而受到抑制, 其中 2,4-D 在三角叶黄连愈伤组织形成中的作用最大, 增殖培养中随着继代次数的增多, 愈伤组织出现大量根毛的分化; 在 6,7-V 培养基中, 提高 2,4-D 的浓度不仅可促进愈伤组织的生长, 而且可以抑制根毛的分化; NAA 浓度的增加更有利于根毛的分化; 2,4-D 和 KT 组合诱导的愈伤组织致密, 褐化严重。本实验应用响应面法中的 Box-Behnken 设计方法筛选出三角叶黄连茎尖愈伤组织继代的最适宜培养基为 6,7-V + 2,4-D 4.6 mg·L⁻¹ + KT 3.8 mg·L⁻¹ + NAA 2.4 mg·L⁻¹。

[参考文献]

[1] 兰进, 杨世林, 郑玉权, 等. 黄连的研究进展[J]. 中草药, 2001, 32(12): 1139.

- [2] Banik R M, Pandey D K. Optimizing conditions for oleanolic acid extraction from *Lantana camara* roots using response surface methodology [J]. *Industrial Crops and Products*, 2008, 27: 241.
- [3] 吴伟, 崔光华. 星点设计-效应面优化法及其在药学中的应用[J]. *国外医学·药学分册*, 2000, 27(5): 292.
- [4] Bahar Aliakbarian, Danilo De Faveri, Attilio Converti, et al. Optimisation of olive oil extraltion by means of enzyme processing aids using response surface methodology [J]. *Biochem Eng J*, 2008, 42: 34.
- [5] Baş D, Boyci I H. Modeling and optimization I: Usability of response surface methodology [J]. *J Food Engineering*, 2007, 78: 836.
- [6] 江苏省植物组织培养研究协会. 经济植物组织培养实用技术[M]. 南京: 江苏科学技术出版社, 1988.

[责任编辑 邹晓翠]

standard of pharmacopoeia, the yield of *S. miltiorrhiza* bge. var. *alba* was higher significantly. Microscopic characters of transverse section of two plants showed significant difference. **Conclusion:** *S. miltiorrhiza* bge. var. *alba* as a high quality *S. miltiorrhiza* bge resource was fitted to plant in Hunan province for future development.

[**Key words**] *Salvia miltiorrhiza* bge. var. *alba*; chemical constituent; content; yield; microscopic character

白花丹参 *Salvia miltiorrhiza* bge. var. *alba* 为唇形科植物丹参 *S. miltiorrhiza* bge 的白花变型,其植株形态与丹参极相似,主要区别在于花白色。主要分布于山东的章丘、莱芜等地的山区地带,属珍稀濒危药用植物。在《山东中草药手册》及《泰山药用植物》中均有白花丹参的记载,具有治疗高血压、高血脂的作用。近年来白花丹参的栽培、化学、药理等方面的研究取得了明显的进展,引起广泛关注并被逐渐开发利用。其中白花丹参注射液具有良好的治疗血栓闭塞性脉管炎的作用^[1-3],白花丹参保健食品类型主要为袋泡茶,对高血脂、糖尿病有一定辅助治疗作用,并能改善睡眠^[4-5]。课题组从 2009 年从山东莱芜白花丹参种植基地进行引种试验,并与湖南地区大面积种植的紫花丹参品种从显微特征、药材产量及质量等方面进行对比研究。

1 材料与方 法

1.1 药材 2009 年 10 月,将取自山东省莱芜白花丹参规范化种植基地培育的白花丹参一年生小苗以及湖南地区培育的紫花丹参小苗,同时种植于长沙市岳麓区湖南中医药大学药用植物园内,保持二者的种植密度、田间管理措施等一致,于 2010 年 10 月收获,同时对丹参鲜根长度、根条数、根质量进行统计。

1.2 仪器 Agilent 1100 高效液相色谱仪(真空在线脱气机、四元泵、柱温箱、DAD 检测器、Chemstation 化学工作站),Zorbax XSB-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),真空干燥箱(上海福玛实验设备有限公司),三目荧光显微镜(BA400EF-UPR, Motic),Motic images Advanced 3.2 软件,AB104-N 型电子分析天平。

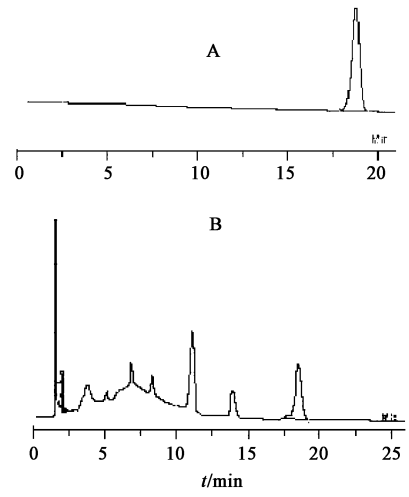
1.3 试验地自然条件概况 长沙地处平原向丘陵盆地过渡地带,属亚热带季风气候,四季分明。春末夏初多雨,夏末秋季多旱;严冬期短,暑热期长。全年无霜期约 275 d,年平均气温 16.8 ~ 17.2 °C,极端最高气温 40.6 °C,极端最低气温 -12 °C;年平均总降水量 1 422.4 mm;土壤种类以红壤、水稻土为主。

1.4 方 法

1.4.1 根鲜重、根干重的测定 分别称定 10 株丹参根部鲜重,经晒干后,再分别称定干重并计算折

干率。

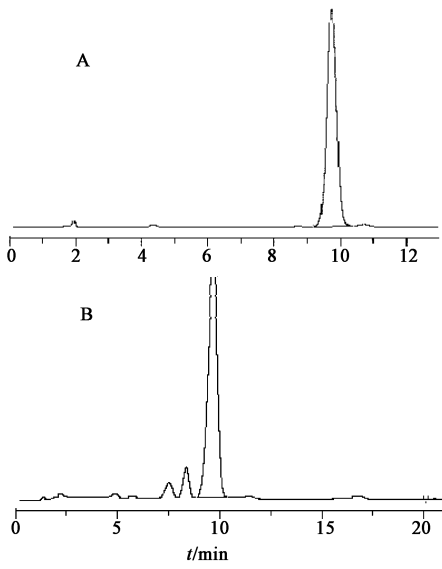
1.4.2 丹参酮 II_A 的含量测定 丹参酮 II_A 的含量测定方法按照《中国药典》2010 年版(一部)^[6]丹参项下丹参酮 II_A 含量测定方法进行,同时进行了线性关系考察,精密量取丹参酮 II_A 对照品(42.8 mg · L⁻¹)1.0,2.0,3.0,4.0,5.0 mL,分别置于 5 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,依次吸取 10 μL 注入液相色谱仪,测定。以峰面积为纵坐标(Y),以丹参酮 II_A 的量为横坐标(X)绘制标准曲线,得回归方程 $Y = 44\ 800 X - 324$ ($r = 0.999\ 6$),线性范围 0.085 6 ~ 0.428 μg。分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 10 μL,注入高效液相色谱仪,根据峰面积进行计算,即得。见图 1。



A. 对照品; B. 样品

图 1 丹参酮 II_A 对照品和丹参药材 HPLC

1.4.3 丹酚酸 B 含量测定 丹酚酸 B 按照《中国药典》2005 年版(一部)^[6]丹参项下丹酚酸 B 含量测定方法进行,同时进行了线性关系考察,精密量取丹酚酸 B 对照品(0.525 g · L⁻¹)2.0,4.0,6.0,8.0,10 mL,分别置于 25 mL 量瓶中,加水稀释至刻度,摇匀,依次吸取 10 μL 注入液相色谱仪,测定。以峰面积为纵坐标(Y),以丹酚酸 B 的量为横坐标(X)绘制标准曲线,得回归方程 $Y = 9\ 257\ 756 X - 2\ 100$ ($r = 0.999\ 7$),线性范围 0.42 ~ 2.1 μg。分别精密吸取对照品与供试品溶液各 10 μL,注入高效液相色谱仪,根据峰面积进行计算,即得。



A. 对照品; B. 样品

图2 丹酚酸B对照品和丹参药材HPLC

1.4.4 根的横切面鉴别 用徒手切片法分别取两种丹参鲜根的横切面,在显微镜下观察横切面结构。

2 结果与分析

2.1 2种丹参根的鲜重、干重及折干率比较 白花丹参的根的数量较多,除主根较粗外,其他的侧根较细、较短;而紫花丹参的主根较白花丹参粗,主根及侧根均较粗,通过单株产量的计算,紫花丹参根的鲜重、干重均高于白花丹参,分别是白花丹参的1.96,1.95倍,二者之间具有显著性差异,但折干率相差不大,说明紫花丹参的平均产量高于白花丹参,该试验结果与邵明辉^[7]报道的山东地区种植的紫花丹参、白花丹参相似;但湖南地区白花丹参、紫花丹参的鲜重、干重较山东产丹参(鲜、干重分别为白花丹参:68.47,22.81g;紫花丹参:144.08,48.23g)的产量高,产量增加约2.5倍。见表1。

表1 白花丹参与紫花丹参的根质量与折干率比较

株号	根粗/cm		根的条数		根鲜重/g		干重(折干率)/g(%)	
	白花丹参	紫花丹参	白花丹参	紫花丹参	白花丹参	紫花丹参	白花丹参	紫花丹参
1	1.5	1.7	16	17	230	405	73(31.7)	145(35.8)
2	1.8	0.8	20	9	395	430	127(32.2)	140(32.6)
3	0.9	1.6	18	8	165	355	56(33.9)	122(34.4)
4	1.4	1.9	13	10	210	615	76(36.2)	225(36.6)
5	1.3	1.1	11	8	360	395	125(34.7)	135(34.2)
6	1.2	1.6	9	12	175	470	51(29.1)	155(33.0)
7	1.2	1.8	14	16	255	600	82(32.2)	210(35.0)
8	1.0	1.6	19	10	230	565	71(30.9)	185(32.7)
9	1.6	1.1	14	13	290	505	95(32.8)	176(34.9)
10	1.1	1.3	8	15	125	440	84(32.8)	150(34.1)
平均	1.3±0.3	1.5±0.4	14.2±4	11.8±3	244±85	478±90	84(32.8)	164(34.3)

2.2 有效成分的含量比较 通过测定两种丹参中丹参酮Ⅱ_A和丹酚酸B的含量,结果两种药材中的含量均符合《中国药典》2010年版(一部)中的标准,其中紫花丹参中丹参酮Ⅱ_A和丹酚酸B的含量均较白花丹参高。徐翠红^[8]报道白花丹参中的总丹参酮和总酚酸类的含量均高于紫花丹参,本试验结果与文献报道不一致。见表2。

2.3 显微特征

2.3.1 叶的显微特征 叶的上下表皮均密生绒毛,有非腺毛(细胞为2~4个)、腺毛及腺鳞。表皮细胞为扁平的长方形、多角形、不规则形状,部分上表皮细胞呈红棕色或浅棕色;上表面非腺毛较粗短,下

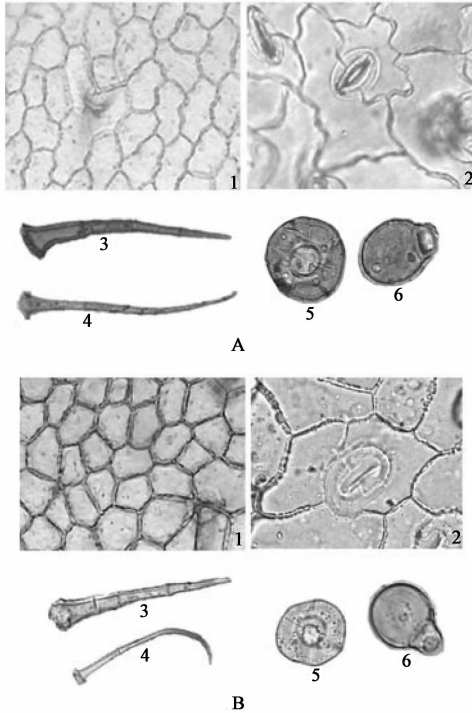
表2 白花丹参与紫花丹参中丹参酮Ⅱ_A,丹酚酸B的含量比较

样品	丹参酮Ⅱ _A		丹酚酸B	
	白花丹参	紫花丹参	白花丹参	紫花丹参
1	0.214	0.355	5.11	5.05
2	0.209	0.347	4.76	5.31
3	0.206	0.361	5.01	5.23
平均	0.21	0.35	4.96	5.20

表面非腺毛细长;上下表面均有气孔,下表皮气孔分布较密,直轴式。

与紫花丹参相比,白花丹参表皮细胞壁呈波状弯曲;叶表面气孔分布较密,气孔较小,气孔长

16.8 ~ 31.2 μm, 宽 14.4 ~ 19.2 μm, 紫花丹参气孔长 26.4 ~ 33.6 μm, 宽 16.8 ~ 24 μm, 副卫细胞的细胞壁波状弯曲明显, 气孔指数较高(白花丹参气孔指数为 26.0% ~ 45.2%, 紫花丹参为 21.3% ~ 39.4%), 见图 3。



A. 白花丹参; B. 紫花丹参

- 1. 表皮细胞; 2. 气孔; 3. 上表面非腺毛
- 4. 下表面非腺毛; 5. 腺鳞; 6. 腺毛

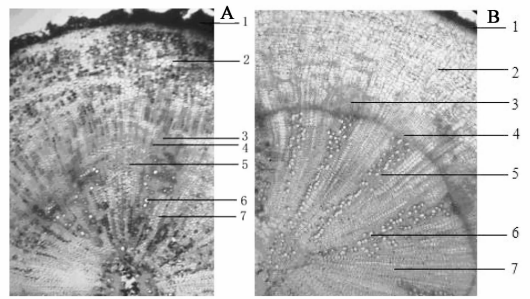
图 3 白花丹参、紫花丹参叶表面显微特征 (×10)

2.3.2 根横切面显微特征 横切面显微特征: 丹参木栓层 3 ~ 7 列, 木栓细胞长方形或方形, 含有红棕色物。皮层宽广, 薄壁细胞长方形或椭圆形。韧皮部较窄。木质部宽广, 排列成束由导管、木纤维和木薄壁细胞组成。导管类圆形, 多角形, 类椭圆形, 切向或径向排列。

二者的区别为: 白花丹参的皮层宽广, 约占整个横切面的 1/3, 木质部维管束较少, 多为 6 ~ 8 束, 导管数量较少, 形成层处分布较多, 至中央导管多呈单列; 紫花丹参皮部约占横切面的 1/2, 木质部维管束多达 12 ~ 22 束, 导管数量较多, 呈多列分布, 见图 4。

3 讨论

白花丹参作为一种珍稀的药用植物资源, 在引种到湖南后生长良好, 从四月初开始开花, 直到 12 月份地上部分才开始凋萎, 因而白花丹参的生长期



A. 白花丹参; B. 紫花丹参

- 1. 木栓层; 2. 皮层; 3. 韧皮部; 4. 形成层;
- 5. 木质部; 6. 导管; 7. 木纤维

图 4 白花丹参、紫花丹参根横切面 (×40)

较长, 与山东产白花丹参相比根的质量有显著的提高, 白花丹参的产量得到大幅度提高, 通过对引种白花丹参中有效成分的含量测定表明, 丹参酮 II_A 和丹酚酸 B 的含量均符合《中国药典》的标准, 说明湖南地区适合白花丹参的种植; 但白花丹参的产量比紫花丹参低, 因而种植白花丹参的经济效益较低; 由于白花丹参在治疗血栓闭塞性脉管炎方面的独特疗效, 因此, 可作为一种优良的种质资源予以保存并在湖南适度引种发展, 今后应在加强白花丹参化学、药理药效研究的基础上, 进一步开展白花丹参新产品的研究与开发利用。

[参考文献]

- [1] 尚德俊, 赵绚德. 活血化瘀法治疗血栓闭塞性脉管炎 144 例临床研究[J]. 山东中医杂志, 1986, 5(2): 14.
- [2] 张百铭. 白花丹参为主治疗血栓闭塞性脉管炎 113 例临床观察[J]. 山东中医药大学学报, 1979, 3(2): 40.
- [3] 李允尧, 赵华英, 陈沪宁, 等. 山东省白花丹参的植物资源[J]. 中药材, 2000, 23(2): 69.
- [4] 马丽虹, 翟树林, 王传杰. 白花丹参的开发进展[J]. 中国林副特产, 2005, 1: 72.
- [5] 王峰祥, 闫永亮, 毛淑敏, 等. 白花丹参野生资源濒危保护和开发利用研究[J]. 中国现代中药, 2009, 11(8): 17.
- [6] 中国药典: 一部[S]. 2005: 52.
- [7] 邵明辉, 张永清, 李长峰. 丹参与白花丹参产量及有效成分含量的比较研究[J]. 齐鲁药事, 2009, 28(1): 24.
- [8] 徐翠红, 舒志明, 王研, 等. 紫花丹参和白花丹参不同器官主要药用成分积累规律研究[J]. 时珍国医国药, 2010, 21(9): 2129.

[责任编辑 何伟]