

牛耳朵和黄花牛耳朵的显微和化学鉴别

王晓琴^{1,2}, 白贞芳¹, 刘勇^{1*}, 肖培根^{1,3}

(1. 北京中医药大学中药学院, 北京 100102; 2. 内蒙古医学院药学院, 呼和浩特 010059;
3. 中国医学科学院 中国协和医科大学 药用植物研究所, 北京 100094)

[摘要] 目的: 为苦苣苔科唇柱苣苔属植物牛耳朵和黄花牛耳朵的鉴定和分类提供解剖学和化学依据。方法: 采用石蜡制片法和水合氯醛透化法对 2 种药用植物的根状茎和叶横切面和粉末特征进行研究, 应用光学显微镜观察显微结构。采用 HPLC-UV 法进行化学鉴别。结果: 牛耳朵和黄花牛耳朵显微特征无明显区别, 但是化学特征有明显的差异。结论: 化学诞生特征鉴别方法可以作为 2 种药用植物的鉴定方法。

[关键词] 苦苣苔科; 唇柱苣苔属; 牛耳朵; 黄花牛耳朵

[中图分类号] R282 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)14-0099-03

Microscopic and Chemical Identification of *Chirita eburnean* and *Chirita lutea*

WANG Xiao-qin^{1,2}, BAI Zhen-fang¹, LIU Yong^{1*}, XIAO Pei-gen^{1,3}

(1. Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100102, China; 2. Inner Mongolia Medical College, Hohhot 010059, China; 3. Institute of Medicinal Plant Development, Peking Union Medical College & Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100094, China)

[Abstract] **Objective:** To provide anatomical and chemical evidences for the identification of *Chirita eburnean* and *C. lutea*. **Method:** The paraffin section method and the slide with chloral hydrate were applied for the microscopic identifications of rhizomes and leaves of the two original plants. **Result:** There were no differences on the microscopic structure of the two medicinal between *C. eburnean* and *C. lutea*. However, there are significant differences between chemical characteristics. **Conclusion:** The article provided the basis for the identification and the further development of the two medicinal plants.

[Key words] Gesneriaceae; *Chirita*; *Chirita eburnean*; *Chirita lutea*

牛耳朵 *Chirita eburnean* Hance 和黄花牛耳朵 *C. lutea* Yan Liu et Y. G. Wei 均为苦苣苔科唇柱苣苔属植物。牛耳朵为常用中草药, 根状茎和全草均可入药, 有补虚, 止咳, 止血, 除湿的功效, 用于阴虚咳嗽, 肺癆咳血, 崩漏, 带下病^[1-2]。文献报道从中分到 7 个甙体类、1 个三萜化合物^[3]和 5 个苯乙醇苷类化

合物^[4]。苯乙醇苷类化合物具有抗菌抗病毒、抗肿瘤、抗氧化等显著生理活性, 在本科中广泛分布, 已经成为研究的热点。黄花牛耳朵为最近发表的新种^[5], 其体态和叶形与牛耳朵相似, 但本种与牛耳朵的主要区别在于花序俯垂, 花冠黄色, 花药与退化雄蕊先端密被白色绵毛。

本研究首次对这 2 种植物的显微特征和化学特征进行比较研究, 以期对 2 种药用植物的鉴定、分类和进一步研究提供科学依据。

1 材料和方法

1.1 仪器 YL3 回转式切片机(上海仪表厂), TK-218 型恒温摊片烤片机, SQKC-III 生物制片快速处理仪(航天部兰州飞控仪器厂), 显微镜(Olympus CH-

[收稿日期] 20101122(006)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(30530860)

[第一作者] 王晓琴, 博士, 副教授, 研究方向: 中药活性成分及分布规律, Tel: 13948816535, E-mail: wangxiaqin760519@yahoo. com. cn

[通讯作者] * 刘勇, 博士, 教授, Tel: 010-84738656, E-mail: yliu0126@yahoo. com. cn

2), 数码相机 (Canon Powershot A80)。梅特勒-托利多电子天平 (AL204), ULVAC 薄膜真空泵 (DTC-21), C9860A 超声波清洗器。Thermo Surveyor 液质联用仪, UV 检测器, Thermo ODS Hypersil (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) 色谱柱。

1.2 试剂 二甲苯 (100%, 75%, 50%, 25%), 乙醇 (100%, 95%, 80%, 70%, 60%, 50%, 40%, 30%), 石蜡、液体石蜡、番红快绿混合染液, 加拿大树胶、水合氯醛, 稀甘油, 间苯三酚, 盐酸。甲醇, 乙腈为色谱醇, 纯净水 (杭州娃哈哈集团), 其余试剂均为分析纯。

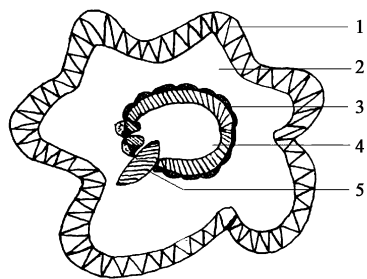
1.3 药材 牛耳朵和黄花牛耳朵样品采自于广西壮族自治区桂林市, 经中国科学院植物研究所李振宇研究员鉴定为苦苣苔科唇柱苣苔属牛耳朵 *C. eburnean* Hance 和黄花牛耳朵 *C. lutea* Yan Liu et Y. G. Wei, 凭证标本保存在北京中医药大学中药学院标本室。

1.4 方法 分别将牛耳朵和黄花牛耳朵 2 种药用植物随机抽取 10 个样本, 对其根状茎和叶横切面进行石蜡制片, 同时对上述 10 个样本的粉末分别进行 10 个重复的水合氯醛透化法制片, 然后应用光学显微镜观察显微结构。采用 HPLC-UV 法测定苯乙醇苷类成分在上述 2 种药用植物中的分布情况。

2 结果

2.1 横切面特征

2.1.1 牛耳朵根状茎 木栓层由 15~20 列木栓细胞组成, 细胞排列紧密; 皮层面积较小, 约 16 列薄壁细胞组成; 韧皮部不发达, 成环状; 形成层环明显; 木质部不发达, 由 11 层排列紧密的导管和木纤维等组织组成; 髓部面积很大, 由大量排列疏松的圆形或类圆形的薄壁细胞组成; 根迹维管束易见 (图 1)。

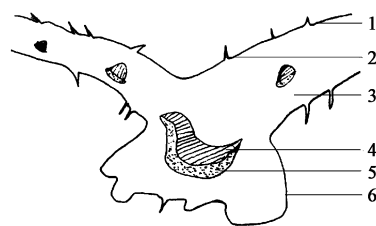


1. 木栓层; 2. 皮层; 3. 韧皮部; 4. 髓部; 5. 根迹维管束

图 1 牛耳朵根状茎横切面

2.1.2 牛耳朵叶 表皮由 2~3 层细胞组成, 有大量的毛茸, 栅栏组织和海绵组织界限非常不明显。主脉处下表皮内侧有多层薄壁细胞, 主脉横切面外

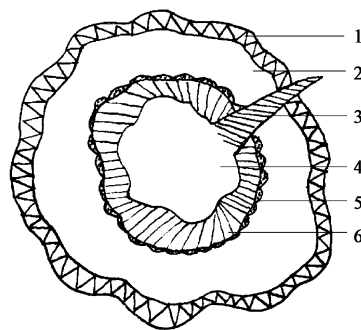
韧型维管束木质部靠近上表皮, 韧皮部靠近下表皮 (图 2)。



1. 上表皮; 2. 毛茸; 3. 叶肉组织; 4. 木质部; 5. 韧皮部; 6. 下表皮

图 2 牛耳朵叶横切面

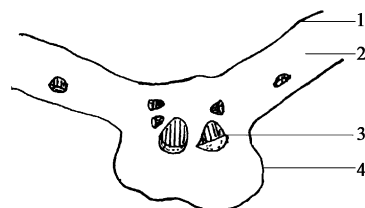
2.1.3 黄花牛耳朵根状茎 木栓层由 15~20 列木栓细胞组成, 细胞排列紧密; 皮层细胞面积较小, 约 16 列薄壁细胞组成; 韧皮部不发达, 成环状; 木质部面积小, 由 11 层排列紧密的导管和木纤维等组织组成; 髓部宽广, 由大量排列疏松的圆形或类圆形的薄壁细胞组成; 根迹维管束易见; 有方晶存在 (图 3)。



1. 木栓层; 2. 皮层; 3. 根迹维管束; 4. 髓部; 5. 韧皮部; 6. 木质部。

图 3 黄花牛耳朵根状茎横切面

2.1.4 黄花牛耳朵叶 表皮由 2~3 层细胞组成, 其上有毛茸, 栅栏组织和海绵组织界限不明显。主脉处下表皮内侧有多层薄壁细胞, 主脉横切面外韧型维管束排列成半圆形, 木质部靠近上表皮, 韧皮部靠近下表皮 (图 4)。



1. 上表皮; 2. 叶肉组织; 3. 主脉维管束; 4. 下表皮。

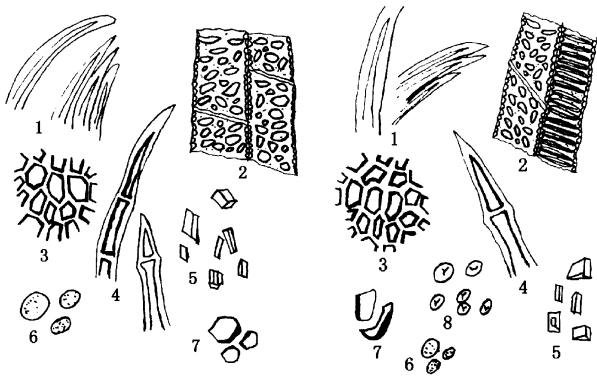
图 4 黄花牛耳朵叶横切面

2.2 粉末特征研究

2.2.1 牛耳朵 粉末黄棕色。①木栓细胞为多角形或类方形, 淡黄色。②纤维单个或成束, 微弯曲,

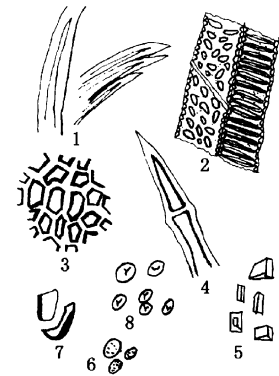
长 30~176 μm ,直径 3.3~7.5 μm 。③网纹导管成群,直径 4.5~12 μm 。④非腺毛由 2~5 个细胞组成,长 72~120 μm ,直径 3.3~11 μm ,细胞内充满黑棕色或黄棕色物质。⑤油细胞较少,类圆形,胞腔内充满棕黄色油状物。⑥方晶多见。⑦色素块较多,棕色或红棕色,形状不一(图 5)。

2.2.2 黄花牛耳朵 粉末黄棕色。①木栓细胞为多角形或类方形,黄棕色。②纤维单个散在或成束,直径 2.2~3.5 μm 。③网纹导管或环纹导管成群,直径 5.5~10 μm 。④淀粉粒可见,单粒类圆形或扁圆形,脐点点状或裂缝状;复粒由 2~5 分粒组成。⑤非腺毛,由 2~5 个细胞组成,长 88~140 μm ,直径 4~18 μm ,壁较厚,胞腔内充满棕黑色或黄色物质。⑥油细胞少见,类圆形,内充满黄棕色油状物。⑦方晶多见。⑧色素块散在,棕色或红棕色,形状不一(图 6)。



1. 纤维;2. 导管;3. 木栓细胞;
4. 非腺毛;5. 方晶;
6. 油细胞;7. 色素块

图 5 牛耳朵全草粉末特征



1. 纤维;2. 导管;3. 木栓细胞;
4. 非腺毛;5. 方晶;6. 油细胞;
7. 色素块;8. 淀粉粒

图 6 黄花牛耳朵全草粉末特征

3 化学特征成分研究

本研究以苦苣苔科 4 个常见苯乙醇苷类化合物 *acteoside*, *caleolarioside B*, *isoacteoside*, *isonuomioside A* 作为对照品,采用 HPLC-UV 法对 2 种样品粉末的甲醇溶液进行了检测。0.1% 磷酸水溶液-乙腈进行梯度洗脱,流速 1.0 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$,检测波长 280 nm,检测时间 35 min,进样量 5 μL 。结果在牛耳朵中没有检测到 *acteoside*, *isoacteoside*, *isonuomioside A*;检测到了 *caleolarioside B*,还有一系列未知结构的苯乙醇苷类成分;而在黄花牛耳朵中均没有检测到上述 4 种成分,二者的液相图谱有明显的差异。

4 讨论

首次对常用中草药牛耳朵和相似新种黄花牛耳朵的显微特征进行了研究。2 种药用植物在横切面特征和粉末特征上都没有明显的差异。二者根状茎横切面共同特点是:木栓层细胞排列紧密;皮层面积较小;韧皮部不发达,成环状;形成层环明显;木质部不发达;髓部宽广;根迹维管束易见。二者叶横切面共同特点是:表皮由 2~3 层细胞组成,有毛茸,栅栏组织和海绵组织界限不明显。主脉横切面外韧型维管束木质部靠近上表皮,韧皮部靠近下表皮。二者全草粉末无明显区别,其共同特征是:大量多角形或类方形木栓细胞多见,纤维单个或成束存在,网纹导管多,多细胞组成的非腺毛多见。因此,我们认为牛耳朵和黄花牛耳朵在显微特征上无明显区别。

初步的化学研究表明,牛耳朵中含有包括 *caleolarioside B* 在内的种类众多的苯乙醇苷类成分,说明了牛耳朵的良好开发利用前景,而在黄花牛耳朵中均没有检测到上述成分。同等液相色谱条件下,二者的液相图谱区别明显,牛耳朵中还有一系列未知结构的苯乙醇苷类成分有待于指认,相关的化学研究应该进一步深入,以期为二者的鉴定提供充分的化学证据。

牛耳朵是广西传统药用植物,黄花牛耳朵是同属发表的新种,其形态与牛耳朵相似。本研究表明二者的根状茎和叶显微特征无明显区别,但是所含的本科特征性化学成分苯乙醇苷类化合物却有明显的差异。

[参考文献]

[1] 中国药材公司. 中国中药资源志要[M]. 北京:科学出版社,1994:1177.
[2] 吴征镒,周太炎,肖培根,等. 新华本草纲要. 第 3 册[M]. 上海:上海科学出版社,1990:329.
[3] 蔡祥海,邓德山,马云保,等. 牛耳朵化学成分的研究[J]. 中草药,2005,36(4):510.
[4] 陈文娟,文永新,陈月圆,等. 牛耳朵苯乙醇苷类化学成分及其细胞毒活性研究[J]. 中成药,2010,36(6):510.
[5] 刘演,韦毅刚. 中国广西唇柱苣苔属(苦苣苔科)一新种——黄花牛耳朵[J]. 武汉植物学研究,2004,22(5):391.

[责任编辑 邹晓翠]