

黄连资源的利用与研究进展

沈建斌

(浙江医药高等专科学校, 浙江 宁波 315100)

文章编号: 1009-5519(2006)07-1038-02

中图分类号: R28

文献标识码: B

小檗碱在医药等工业方面有重要的应用价值,而且我国也是小檗碱的主要生产国。近年来,野生黄连过量采挖,资源濒临枯竭,有必要对黄连进行合理的利用和规划,特别是人工栽培、组织培养、化合及转基因工程技术等多方面的开发黄连资源,这对于保护高山植物是极为有利的。

1 黄连资源的现状

黄连是国家二类保护植物,其中的主要成分是小檗碱。小檗碱的药理作用主要体现在:(1)用于胃肠湿热、泻痢呕吐。黄连大苦大寒,善于清热燥湿。治湿热中阻、气机不畅脘腹痞满、恶心呕吐。(2)用于热盛火炽及烦躁。(3)用于痢症痔毒辣,皮肤湿疹,耳目肿痛。此外,近来研究报道,小檗碱对血管平滑肌有松弛作用,对子宫膀胱,胃肠道平滑肌松弛呈兴奋作用,小檗碱及其衍生物有抗癌的作用。

黄连为双子叶植物多年生草本,根茎黄色,常有分枝,叶基生,有长柄。为毛茛科(Ranunculaceae)黄连 *Coptis chinensis* Franch.、三角叶黄连 *Coptis deltoidea* C.Y.Cheng et Hsiao 或云连 *Coptis teeta wall* 的干燥根茎。药材依次称为“味连”、“雅连”、“云连”。(2000 年药典)味连主产于四川石柱县,湖北西部、陕西、甘肃等地亦产。雅连主产于四川洪雅、峨眉等地。云连主产于云南德钦、碧江及西藏地区。

此外,还有多种同属植物根茎作黄连用,主要有:峨眉黄连 *Coptis omeiensis* (Chen)C.Y.Cheng 野生于四川、云南地区。根茎结节密集,无“过桥”。短萼黄连 *Coptis chinensis* Franch. var. *brevise-pala* Wang et hsiao 产于广西、广东、福建、浙江、安徽。别名土黄连,主为野生。根茎多弯曲,无“过桥”。

2 栽培技术

黄连一般生长在海拔 1000~1800 米的高寒山区,喜阴凉爽的气候。冬季在零下 8 度以上能正常越冬。正因其特殊的生长环境,在栽培管理上讲究其科学。(1)选地整地:选取土壤肥沃、腐植质深厚、排水良好的土壤。(2)繁殖方法:黄连用种子繁殖和扦插繁殖,生产上多用种子繁殖。5 月上旬种子成熟后立即采收,种子用砂埋法处理到 11 月份种子开始裂口,即可播种。(3)搭荫棚:黄连幼苗怕日晒,必须搭棚遮荫。高度 70~80 cm 即可。(4)播种育苗:10~11 月份经砂埋的种子开口后即可播种。(5)苗田管理:黄连幼苗生长缓慢,要及时除掉杂草,追施速效氮肥,5 月下旬可出三片小叶,到第三年可出圃移栽。(6)采收加工:黄连移栽 5 年后方可收获,是生长期较长的药用植物。黄连最适宜的收获期是 10 月上旬和 11 月上旬上冻前。剪去须根和叶子,新出土后最好用炕烘干,烘干时火力不要过大,边烘边翻,直至干燥为止。

3 有机合成

长期以来国内外生产小檗碱主要有两种方法:一种是植物提取;另一种是有机合成。目前我国市场上的小檗碱几乎是从植物中提取,即从产于云南、四川等地含小檗碱的植物提取,如黄连、黄柏、三桠针等植物的树皮、根及茎中提取。但是植物资源的减少,破坏了生态平衡。化学合成小檗碱是东北制药总厂 70 年代的科研成果,它的研制成功为保护环境作出了贡献,同时合成的小檗碱标准高于 2000 年药典。另外,在国内有些厂家还利用黄樟素来有机合成小檗碱。具体合成路线见图 1:

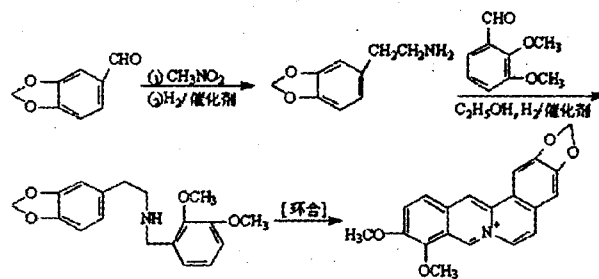


图 1 黄樟素合成小檗碱路线

4 小檗碱的植物提取和分离

从黄连等植物中提取小檗碱有多种方法,其中最常用的方法是利用黄连中小檗碱等生物碱盐的溶解度不同,以及药根碱和掌叶防己碱还原产物的极性差异进行分离(小檗碱盐在水中的溶解度)。提取小檗碱的具体流程见图 2:

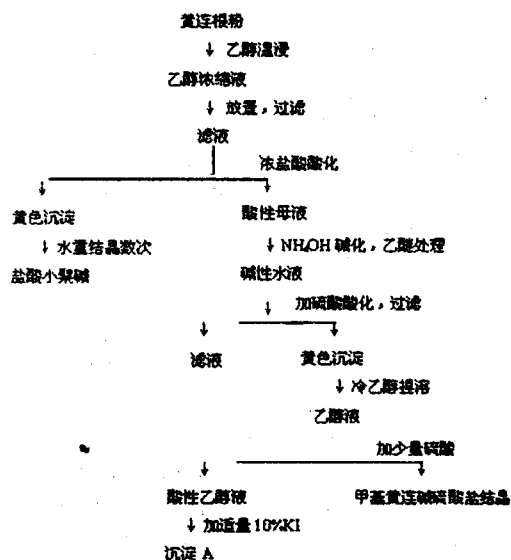


图 2 提取小檗碱的具体流程

但由于黄连生长周期性强,资源有限,故在制药工业提取小檗碱主要经三桠针作为原料提取小檗碱。

5 黄连的组织代谢

小檗碱能降低小鼠肝、脑匀浆的氧耗,且其作用与剂量相平行。组织培养实验中,也发现小檗碱能抑制组织代谢,降低组织耗氧并出现脂肪性变,降低蛙皮、鼠膈肌和酵母的氧耗,并认为是由于抑制中间代谢所致。小檗碱能抑制人的妊娠血浆二胺氧化酶的活性,在体外无作用,但 8 日连续口服则能使该酶的活性降低。小檗碱单分子插入小牛的胸腺 DNA 双螺旋中形成复合物,还能诱导酶突变,产生线粒体呼吸功能不足的小菌落,这也是因小檗碱插入质粒环 DNA,从而抑制 DNA 的合成、复制和转录所致。近来发现小檗碱体外抑制肉瘤 180 细胞的 DNA、RNA、蛋白质、脂类合成的原发作用,在于抑制葡萄糖的利用和其与核酸的相互作用。

6 黄连的组织培养

6.1 愈伤组织的诱导:丁葆祖等报道,切取黄连根、根茎、叶柄、花梗等部位,接种在附加 2,4-D 0.5~1 mg/L(单位下同)的 MS、B5、ER、6,7-V 和土豆等五种培养基上。经过 5 个月的培养,均诱导出了愈伤组织,但是 5 种培养基对黄连诱导愈伤组织的频率是不一致的。从结果看,以 6,7-V 表现最好,其次是

ER 和土豆培养基,表现最差的是 B5 和 MS,另外,不同外植体在同一培养基或者不同培养基中,对愈伤组织的诱导也有差异。花梗在 ER+2,4-D0.5~1 的培养基上的愈伤组织诱导率最高达 77.78%,而且质量好,生长迅速而嫩叶、叶柄的诱导率较低。

6.2 愈伤组织的生长及其小檗碱含量的分析

6.2.1 不同培养基的影响:芮和恺等人在研究不同培养基对愈伤组织的生长及小檗碱的含量影响中,也发现愈伤组织在 6,7-V 培养基中生长最好,B5 培养基中次之,而在 MS 培养基中最差。

6.2.2 不同激素的影响:在 6,7-V 培养基中,当 KT 存在的情况下,提高 2,4-D 的浓度,促进愈伤组织的生长,但是抑制小檗碱的合成;此外 NAA 有利于小檗碱的合成,在 6,7-V+KT0.1+2.5T 的培养基中,小檗碱的含量则增加 5 倍以上,达 2.86%。

6.2.3 呼吸量、季节变化、接种量及接种时间对黄连愈伤组织生长的影响:黄连组织在生长周期中,呼吸量最初随生长量的增加而增加,一定时间后呼吸量变化不大。经过多代培养和选择,季节的影响逐步减小。当接种量为 100~190 mg 时,细胞生长最好,培养 40 天,细胞生长量为接种量的 16.4 倍。

修稿日期:2005-12-15

粤东土茯苓水煎液体外抑菌效应试验

秦 瑞,吴达荣

(惠州市中心人民医院,广东 惠州 516001)

【摘要】目的:研究粤东土茯苓水煎液体外抑菌效应。**方法:**用水解蛋白冻肉汤测定药物对金黄色葡萄球菌,大肠杆菌,肺炎克雷伯菌等 5 种细菌的抑菌试验。**结果:**粤东土茯苓水煎液对金黄色葡萄球菌,白色念珠菌作用较强,其中的金黄色葡萄球菌 MIC 7.81 mg/L,白色念珠菌的 MIC 15.63 mg/L。**结论:**粤东土茯苓水煎液对白色念珠菌、金黄色葡萄球菌有较强抑菌作用,可供开发此品种作参考。

【关键词】粤东土茯苓;最小抑菌浓度

文章编号:1009-5519(2006)07-1039-02

中图分类号:R28

文献标识码:B

土茯苓(*Smilax glabra* Roxb)为百合科的植物。味甘,性平,具有清热、除湿、解毒之功效,粤东沿海产土茯苓,民间习用其治疗湿疹、牛皮癣、梅毒、尿路感染等疾病。由于产地不同,其作用也有不同。笔者就粤东土茯苓(以下简称土茯苓)的水煎液做体外抑菌作用试验,以供进一步开发利用作参考,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 实验资料

1.1.1 药物:土茯苓水煎液的配制,取粤东土茯苓干片 200 g,加蒸馏水 1 500 ml,煎煮 30 分钟过滤,滤渣加 1 000 ml 蒸馏水,煎煮 1 小时过滤,合并滤液,浓缩后冷藏 24 小时后减压过滤,滤液加入蒸馏水,配制成 500 mg/L 的药液,调节 pH 6.8~7.0。过滤,封口,高压煮沸 15 分钟消毒,备用。粤东土茯苓,秋末采集于广东惠阳(经南方医科大学中药鉴定教研室郑有顺教授鉴定为正品)。

1.1.2 菌种:白色念珠菌、肺炎克雷伯菌、金黄色葡萄球菌、乙型溶血性链球菌、大肠杆菌均由惠州市中心人民医院临床检验中心微生物实验室提供。

1.1.3 培养基:水解蛋白冻肉汤培养基、沙氏培养基(广东惠州市中心人民医院临床检验中心提供)。

1.1.4 仪器:美国 BACTEC9120 培养仪。

1.2 实验方法:采用液体二倍稀释试管法观察药物最低抑菌浓度。取无菌试管 50 支分为 5 组,每组 10 支,从各组第一号管加入土茯苓水煎液 1 ml 浓度为 500 mg/L 药液,分别加入无菌水解蛋白的冻肉汤培养基(第五组管用沙氏培养基)按照 2 倍稀释法类推。10 号管加 0.9%氯化钠注射液 1 ml,按上方法做空白校对。再用 0.9%氯化钠注射液调整 5 种细菌菌液浓度,各为 1×10^6 cfu/ml,分别取 0.05 ml 菌液接种于各试管中,摇匀,于 37℃培养 72 小时,取出后观察结果。记录澄明的无菌生长的试管,其浓度为土茯苓水煎液的最低抑菌浓度(MIC)。

2 结果

2.1 土茯苓水煎液体外抑菌效应试验表明,对乙型溶血性链球菌、肺炎克雷伯菌、金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、白色念珠菌均有不同程度的抑菌作用,对金黄色葡萄球菌、白色念珠菌抑菌作用较强,对乙型溶血性链球菌、肺炎克雷伯菌、大肠杆菌抑菌作用较弱,结果见表 1。

2.2 土茯苓水煎液对金黄色葡萄球菌、白色念珠菌的 MIC 分别为 7.81 mg/L 和 15.63 mg/L。

3 讨论