

区间均未超出参比制剂相应 AUC_{0-48} 和 $AUC_{0-\infty}$ 的 80%~125%; 试验制剂的 C_{max} 的 90% 可信区间, 也未超出参比制剂 C_{max} 的 70%~143%。试验制剂对参比制剂的相对生物利用度 F (以 AUC_{0-48} 作为评价依据) 为 $100\% \pm 13\%$ (71%~125%)。

表 2 健康受试者口服 750 mg 参比制剂与试验制剂后的药物动力学参数 ($n=20$)

参数	参比制剂	试验制剂
AUC_{0-48} ($\mu\text{g} \cdot \text{h} \cdot \text{mL}^{-1}$)	443.0 ± 136.3	435.6 ± 105.2
$AUC_{0-\infty}$ ($\mu\text{g} \cdot \text{h} \cdot \text{mL}^{-1}$)	460.4 ± 139.6	450.9 ± 108.2
C_{max} ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	30.91 ± 5.24	30.25 ± 5.82
$t_{1/2}$ (h)	10.24 ± 1.13	9.83 ± 0.96
t_{max} (h)	2.00 ± 0.74	1.88 ± 0.60
F (%)	100 ± 13	

3 讨论

相比国外所报道关于 HPLC 法测定夫西地酸血浆浓度的方法^[3-6], 本法具有以下优势: ①样品处理简单, 方法回收率高, 最小检出浓度为 $0.149 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。②本试验所建立的测定方法其线性范围很宽, 在 $0.298 \sim 76 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 呈良好线性关系, 灵敏度高, 准确。研究结果表明, 试验制剂夫西地酸干混悬剂与参比制剂在人体的吸收速度和吸收量差

异无显著性意义, 两药具有生物等效性。

参考文献

- [1] 陆一鸣, 望亭松. 夫西地酸国外应用现状及进展 [J]. 中国感染控制杂志, 2002, 10 (1): 71-74.
 - [2] 谭志荣, 欧阳冬生, 韩春婷, 等. 那格列奈胶囊和片剂的人体药物动力学及生物等效性研究 [J]. 中南药学, 2006, 4 (5): 343-345.
 - [3] Rohman A, Hoffman NE. High-performance liquid chromatographic determination of fusidic acid in plasma [J]. Journal of Chromatography, 1998, 433 (9): 159-166.
 - [4] Hanne S. Liquid chromatographic determination of fusidic acid in serum [J]. Journal of Chromatography, 1988, 430 (2): 400-405.
 - [5] John T. Fusidic acid pharmacology, pharmacokinetics and pharmacodynamics [J]. International Journal of Antimicrobial Agents, 1999, 12 (suppl 2): S23-S34.
 - [6] Bourget P, Duhamel JF, Sorensen H, et al. Pharmacokinetics of fusidic acid after a single dose of a new paediatric suspension [J]. J Clin Pharm Ther, 1993, 18 (3): 171-177.
- (收稿日期: 2006-03-07 修回日期: 2006-06-21)

应用组织培养对覆盆子快速繁殖的研究

刘计权 (山西中医学院, 太原 030024)

摘要: 目的 为覆盆子药材生产提供优质种苗。方法 用一年生带芽嫩茎作为组织培养的外植体进行覆盆子的快速繁殖研究。结果 优选出了覆盆子快速繁殖的最佳培养基。结论 通过该组织培养技术可大批量生产优质的覆盆子种苗。

关键词: 覆盆子; 组织培养; 快速繁殖

中图分类号: R282.2

文献标识码: A

文章编号: 1672-2981 (2006) 06-0426-03

Rapid propagation of *Rubus chingii* by plant tissue culture

Liu Ji-quan (Shanxi College of Traditional Chinese Medicine, Taiyuan 030024)

ABSTRACT: OBJECTIVE To provide seedlings of high quality *Rubus chingii* by plant tissue culture. **METHODS** The stems were taken as an exozoite of tissue cultivation. **RESULTS** The optimal medium for rapid propagation was selected. **CONCLUSIONS** A large number of *Rubus chingii* seedlings can be produced by the tissue culture technology. **KEY WORDS:** *Rubus chingii*; tissue culture; rapid propagation

覆盆子 (*Rubus chingii* Hu) 为蔷薇科 (Rosaceae) 药用植物, 以其未成熟的果实 (果实绿黄时) 入药, 具有补肝肾、固精缩尿、明目的功效^[1]。生产上覆盆子的繁殖一般采用扦插和分株法, 但这些方法受良种基数的限制, 繁殖系数低, 且容易积累病毒, 造成品种退化, 严重影响药材的产

量和品质^[2-3]。为从根本上解决这些问题, 我们采用了组织培养快速繁殖方法。

1 材料

组织培养材料采自山西中晋农业公司现代种植示范园, 经鉴定为蔷薇科植物覆盆子 *Rubus chingii* Hu, 以其一年生

嫩枝带芽茎段为外植体^[4]。

2 方法

2.1 材料的处理

2.1.1 预处理 用肥皂水和软毛刷将剪去叶片的枝条表面清洗干净,然后用自来水冲洗 10 min,每芽一段剪好备用。

2.1.2 乙醇消毒 在超净工作台上将剪好的茎段移入无菌杯,倒入 70% 的乙醇浸没材料,轻摇 1 min 后倒出乙醇,用无菌水冲洗 1 次。

2.1.3 HgCl₂ 消毒 用 0.1% HgCl₂ 浸没上述材料,轻摇 6~8 min 后倒出 HgCl₂ 液。

2.1.4 无菌水清洗 注入无菌杯适量的无菌水,晃动数次将水倒掉,如此重复 5 次,无菌纸吸干材料水分备用。

2.2 培养方法

以 MS 为基本培养基(含蔗糖 3%,琼脂 0.7%,pH 为 5.7),并附加不同浓度组合的激素,制好后分装入 150 mL 三角瓶灭菌,每瓶接种 4 个茎段,每日光照 14 h,光强 2 500 lx,培养温度 21℃~23℃。

3 结果与分析

3.1 腋芽的诱导

将无菌带芽嫩茎接种到 MS 并附加 IBA 和 6-BA 不同浓度组合的培养基上进行培养。实验结果表明,以 MS+IBA 0.3 mg·L⁻¹+6-BA 0.5 mg·L⁻¹ 这一组合的培养基为最适,接种 5 d 后,腋芽开始萌发,25 d 后长至 2~2.5 cm。将其切下进行继代培养。

3.2 最佳继代培养基的筛选

本试验用 L₄ (2³) 正交实验设计,以期对试管苗分化培养基适宜激素配比进行筛选。每种激素设 2 个浓度(mg·L⁻¹) 水平:IBA (0.1, 0.5), 6-BA (0.5, 1.0), GA₃ (0.01, 0.05)。

试验选用 IBA、6-BA 和 GA₃ 3 种激素,如表 1 共设计 4 个组合的处理,每个处理 20 瓶,每瓶接种 4 个试管苗,重复 2 次,25 d 后调查试管苗的增殖系数(增殖系数=增殖瓶数/接种瓶数),结果见表 1。

表 1 适宜继代激素配比 L₄ (2³) 试验结果与极差分析

试验号	IBA	6-BA	GA ₃	增殖系数	Tt
1	0.1	0.5	0.01	(1)6.35 (2)7.10	13.45
2	0.1	1	0.05	(1)8.10 (2)8.14	16.24
3	0.5	0.5	0.05	(1)6.92 (2)6.88	13.8
4	0.5	1	0.01	(1)7.45 (2)7.84	15.29
K ₁	29.69	27.25	28.74		
K ₂	29.09	31.53	30.04		
X ₁	14.85	13.63	14.37		
X ₂	14.55	15.77	15.02		
R	0.3	2.14	0.65		

注:IBA 为吲哚丁酸;6-BA 为 6-苄氨基嘌呤;GA₃ 为赤霉素。

表 1 结果表明,就 IBA、6-BA 和 GA₃ 3 种激素分别而言,其 K₁ (X₁) 和 K₂ (X₂) 值均说明,在一定范围内 3 种激素的高浓度均比低浓度更有利于芽的分化与增殖。但从 R 值来看,6-BA 的 R 值最大,说明 6-BA 的浓度为影响继代增殖系数的主导因子,其次为 GA₃ 和 IBA。

表中结果显示,继代培养中芽的分化与增殖不仅仅取决于 IBA、6-BA 和 GA₃ 3 种激素的绝对量,而且取决于三者

的相对比例。利用 4 个组合的培养基进行继代培养,均表现为较高的增殖系数,平均增殖系数都在 6 以上。其中以第 2 组合 MS+IBA 0.1 mg·L⁻¹+6-BA 1.0 mg·L⁻¹+GA₃ 0.05 mg·L⁻¹ 为最佳继代培养基,使用该组合配制的继代培养基进行培养,平均增殖系数在 8 以上,为所有组合中最大。

3.3 最佳生根培养基的筛选

将来自上述最佳继代培养增殖后生长健壮、整齐一致的试管苗(苗高 1 cm 左右,具有 3~4 片小叶)接种到 1/2MS 上并配以 3 种激素的不同浓度进行生根培养。接种 5 d 后从下切口处发出白色根原基,20 d 后嫩根长至 2.5~4 cm。其间记录原接种苗数,根原基突出时间,根的条数,长度和生根试管苗数。为综合考虑生长量,同时计算生根率、生根系数和生根度。[生根率=(生根苗数/接种苗数)×100%,生根度=生根系数×根均长×生根率]

试验按 L₄ (2³) 设计 4 个组合,每次处理 20 瓶,每瓶接种 10 株,重复 2 次。结果见表 2。

表 2 适宜生根激素配比 L₄ (2³) 试验结果与极差分析

试验号	IBA	6-BA	GA ₃	生根率(%)	生根系数	生根度
1	0	0	0	89.5	2.45	2.34
2	0	0.01	0.01	84.63	1.78	1.54
3	0.01	0	0.01	96.49	4.04	3.85
4	0.01	0.01	0	89.97	2.01	2.89
K ₁	3.88	6.19	5.43			
K ₂	6.74	4.43	5.39			
X ₁	1.94	3.09	2.72			
X ₂	3.37	2.22	2.69			
R	1.43	0.87	0.03			

由表 2 可知,1/2MS+IBA 0.01 mg·L⁻¹+GA₃ 0.01 mg·L⁻¹ 为最适生根培养基,生根率达 96% 以上,且发根早,根生长快。其中 IBA 对生根作用明显(R=1.43 最大)。各处理对发根数量影响不大,多在 3~5 条之间。

另外,在采用培养基进行生根试验的同时,我们将不经生根的试管苗直接移入育苗盘中的栽植基质,基质配比为草炭土-珍珠岩-蛭石(1:1:1)^[5],看其是否能够生根。经过多次试验,结果表明,只要选取健壮的继代瓶苗,下切口整齐,不经生根培养基培养,直接栽入育苗盘中的栽植基质,加强温、湿管理,1 个月后即可生根,生根率可达 90%,这样就可大大缩短培养周期,降低成本^[6]。

3.4 生根苗的移栽

当生根苗长出发达根系,株高达 3~4 cm 时,移入温室打开瓶口,保持 3 d,洗净根系上的培养基,移入美式 72 穴育苗盘,基质配比为草炭土-珍珠岩-蛭石(1:1:1)。将育苗盘置于小荫棚培养,2 周后根系长满,撤去荫棚,移入 10 cm×10 cm 营养钵,成活率达 95% 以上。

4 讨论

初代培养中,将培养茎段上长出的新芽切下用于继代培养后,若原茎段还没有枯干时,将其重新接入新的培养基中,20 d 后可从切口处长出 1~3 个新芽,这样可在短期内迅速建立大量无性系。

在生根试验中,试管苗不经生根培养基培养也能生根,

而且生根率高,重现性好。从上述最适生根培养基中可以看出,配制生根培养基所需营养元素仅为初代、继代培养的一半,而且激素的用量也极少,IBA 为 $0.01 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, GA₃ 为 $0.01 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,说明健壮的无根试管苗通过自身叶片合成和下切口吸收的营养物质完全可以满足生根的需要,另外,其自身合成的内源激素亦能满足形成新根的需要,不需再添加外源激素,所以无需生根培养基培养就能生根。

经过组织培养获得的覆盆子幼苗,经过 2 年多的培养观察,与营养繁殖苗形态特征无显著差异,但生长势明显高于非组培繁殖苗,所以可以通过组织培养生产大量优质种苗。关于其内在药效成分是否有差异,有待于进一步研究^[7-8]。

参考文献

[1] 《全国中草药汇编》编写组. 全国中草药汇编 (上册) [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1975: 929-930.

- [2] 刘国民. 药用植物离体培养与试管快繁 [A]. 见: 曹孜义. 实用植物组织培养技术教程 [M]. 甘肃: 科学技术出版社, 1999: 264-281.
- [3] 刘文萍. 月季脱毒苗的快繁技术 [J]. 中国农学通报, 1997, 13 (3): 59.
- [4] 李明军. 怀山药的茎段培养和快速繁殖 [J]. 植物生理通讯, 1997, 33 (4): 275.
- [5] 李玉芳. 荷兰菊组织培养快繁技术研究 [J]. 生物技术, 1996, 6 (5): 19.
- [6] 曹效东. 植物试管繁殖成本与效益浅析 [J]. 植物生理学通讯, 1996, 32 (4): 76.
- [7] 巢建国, 谷巍, 张瑜, 等. 应用组织培养法对半夏快速繁殖的研究 [J]. 中南药学, 2005, 3 (5): 264-265.
- [8] 刘国民. 苦丁茶树茎段离体培养的研究 [J]. 海南大学学报, 1997, 15 (4): 291.

(收稿日期: 2006-07-24 修回日期: 2006-09-25)

湘西落地生多糖的提取分离纯化和性能分析

毛小环, 田伟政, 戴文建, 杨军衡 (湖南环境生物职业技术学院, 衡阳 421005)

摘要: 目的 提取分离落地生水溶性多糖, 并研究其结构性质。方法 经提取、离心、沉淀、脱蛋白后的粗多糖, 进一步用 DEAE-纤维素、Sephacryl S-400HR 和 Sephacryl S-200HR 凝胶渗透柱色谱分离纯化, 对分离到的主要多糖应用高碘酸氧化、高效凝胶渗透色谱 (HPGPC)、TLC、GC、GC-MS、IR 等方法进行组成结构分析。结果 从落地生水溶性多糖提取物中分离到 8 种均一多糖: SIP1a-1、SIP1a-2、SIP2a-1、SIP3a-1、SIP4a-1、SIP5a-1、SIP6a-1 和 SIP7a-1, 其中 SIP1a-1 相对分子质量 (M_r) 为 28 000, 葡萄糖、甘露糖组成摩尔比为 1:4.798, 分子中 1→3、1→4 (或 1→2)、1→6 连接的糖苷键数比为 8.75:23.59:1, 红外光谱数据 displays 为 β-D-吡喃甘露聚糖。结论 8 种均一多糖从落地生中分离得到, 其中 SIP1a-1 为 β-D-吡喃型葡萄糖甘露聚糖。

关键词: 落地生; 多糖; 分离; 组成

中图分类号: R284.2

文献标识码: A

文章编号: 1672-2981 (2006) 06-0428-04

Isolation and characteristics of polysaccharide from *Sinocrassula indica* (Decne) Berger var. *Indica* of west Hunan

Mao Xiao-huan, Tian Wei-zheng, Dai Wen-jian, Yang Jun-heng (Hunan Environment and Biology Polytechnique College, Hengyang 421005)

ABSTRACT; OBJECTIVE To isolate the water-soluble polysaccharides from *S. indica* (Decne) Berger var. *Indica* and to investigate its structural features. **METHODS** Polysaccharides were prepared from *Sinocrassula indica* (Decne) Berger var. *Indica* and purified with column chromatography on DEAE-cellulose, Sephacryl S-400HR and Sephacryl S-200HR. The structural feature of the main polysaccharides was elucidated by periodate oxidation, HPGPC, TLC, GC, GC-MS, and IR, respectively. **RESULTS** Eight polysaccharides were obtained from *Sinocrassula indica* (Decne) Berger var. *Indica*. SIP1a-1 was a glucomannan with a 1:4.798 glucose-mannose ratio and the relative molecular weight was 28 000. Periodate oxidation analysis indicated SIP1a-1 containing β(1→3, 1→4, 1→6)

基金项目 湖南环境生物职业技术学院院长基金资助项目内容 (Z03-8)

作者简介: 毛小环, 男, 讲师, 主要从事生物制药与成分分析 Tel: (0734) 6219129 13017177288 E-mail: mxhcsu@sina.com; lymxh123@sohu.com