

文章编号: 1000-5862(2014)05-0489-07

蛇足石杉中石杉碱甲含量测定及其时空动态

赖 政¹ 李希茜^{1,2} 汪 涯³ 颜日明¹ 张志斌¹ 朱 笃^{1,3*}

(1. 江西师范大学生命科学学院, 江西省亚热带植物资源保护与利用重点实验室, 江西 南昌 330022;

2. 江西中医药大学科技学院, 江西 南昌 330025;

3. 江西科技师范大学生命科学学院, 江西省生物加工过程重点实验室, 江西 南昌 330013)

摘要: 采用 HPLC 法首次测定江西庐山和井冈山蛇足石杉不同时期、不同组织部位中石杉碱甲(HupA)的含量。结果表明, 蛇足石杉中 HupA 含量随着季节的推移逐渐增加, 庐山和井冈山蛇足石杉植株 HupA 含量均在每年 12 月达到最高, 分别为 $211.9 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 和 $325.9 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 。蛇足石杉中不同组织部位 HupA 含量各不相同, 茎部和叶部 HupA 含量较高, 且表现出相同的变化趋势, 根部含量较少。本研究揭示了蛇足石杉中 HupA 含量的时空动态变化规律, 从而为合理利用该稀缺植物资源提供科学参考。

关键词: 蛇足石杉; 石杉碱甲; 含量测定; 时空动态

中图分类号: R 282

文献标志码: A

0 引言

石杉碱甲(Huperzine A, 简称 HupA) 是 20 世纪 80 年代刘嘉森等从石杉科 *Huperiaceae* 石杉属 *Huperzia* *Bemh* 珍贵药用蕨类植物蛇足石杉 [*Huperzia serrata* (thunb) Trex.] 中率先分离获得的具有抑制乙酰胆碱酯酶活性的新型石松类生物碱, 是目前治疗老年痴呆症最具有前景的药物之一^[1-2]。由于其还不能工业化合成生产, 目前几乎全从石杉科植物蛇足石杉中提取, 而蛇足石杉在自然界生长又极其缓慢, 植株矮小, HupA 含量极低, 野生资源十分有限^[3-4]。近年来, 随着国内外市场对 HupA 需求的日益增大, 蛇足石杉资源遭受了严重的破坏, 进而使得自然资源变得极为紧缺^[5]。鉴此, 为使其得到合理有效的保护和科学持续的利用, 开展高含量的优质种源勘探筛查对蛇足石杉人工繁育以及生物工程技术的研究运用都有重大意义。

目前, 已有研究报道对我国蛇足石杉中 HupA 含量进行了初步的测定, 但研究多为植株全株的含量测定, 而有关植株不同组织部位及时期变化过程中 HupA 含量的研究较少, 其中鲜见采集自我省植株的此类研究报道^[6-14]。本研究采用 HPLC 法系统

测定了江西庐山和井冈山蛇足石杉中 HupA 在不同时期和不同组织部位中的含量, 在此基础上探讨蛇足石杉中 HupA 含量的时空动态变化规律, 从而为勘探筛查高含量的优良种源和确定合适的植株采收时机及采集部位提供科学参考依据, 对实现有效保护和合理利用蛇足石杉资源具有重要意义。

1 材料与方法

1.1 材料

供试蛇足石杉样品分别于 2013 年的 3 月、6 月、9 月和 12 月采自江西庐山和井冈山, 样品采集的样地及生境见表 1。每次采样均选择长势基本相同的植株随机采集约 20 株, 并经江西庐山植物园张乐华研究员鉴定为蛇足石杉, 现标本存放于江西师范大学江西省亚热带植物资源保护与利用重点实验室。

1.2 仪器与设备

Waters1525 高效液相色谱仪, Waters 2996 二极管阵列检测器, RE-25AA 旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂), KQ5200 超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司), GG-47 分液漏斗(四川蜀牛玻璃仪器), 电子天平 CP114(奥豪斯仪器)。

收稿日期: 2014-07-20

基金项目: 国家自然科学基金(81260617), 江西省自然科学基金(20142BAB214020) 和江西省研究生创新基金(YC2013-S106) 资助项目。

通信作者: 朱 笃(1971-), 男, 江西高安人, 教授, 博士, 主要从事微生物资源、天然产物研究。

表 1 蛇足石杉采样地理位置及生境

居群位置	地理坐标	海拔/m	样品生境情况
井冈山自然保护区	28°92' N ,117°15' E	960 ~ 980	山脚阴面,潮湿树林、灌木下青苔和岩石上,公路旁,靠近水源
庐山自然保护区	29°54' N ,115°98' E	1 000 ~ 1 200	潮湿树林群落下

1.3 方法

1.3.1 色谱条件 参照马晓强等^[14]的方法,C18柱(5 μm 4.6 mm \times 150 mm) 流动相: 甲醇-水-三乙醇胺体积比为 60.00: 40.00: 0.02 流速: 0.5 mL \cdot min⁻¹ 柱温 30 $^{\circ}\text{C}$ 检测波长 310 nm 进样量 20 μL , 分析时间 15 min.

1.3.2 标准品溶液的制备 精密称取 HupA 标准品 5 mg 于 10 mL 容量瓶中以甲醇溶解并定容,制备成 500 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 贮备液,再分别稀释成 10, 20, 40, 60, 80 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 溶液.

1.3.3 供试品溶液的制备 将采集的新鲜蛇足石杉样品洗净并将根、茎和叶分开,置于 50 $^{\circ}\text{C}$ 烤箱中烘至恒重,粉碎后过 40 目筛.加入 2% 的酒石酸 30 mL,浸泡过夜,超声提取 1 h,离心取上清液,取残渣重复上述操作 2 次,合并滤液.浓缩滤液至原来体积的 1/3,用氨水调 pH 值至 9 ~ 10.再将上述溶液移至分液漏斗中,用氯仿反复萃取 3 次.合并氯仿相并浓缩至浸膏,再用 10 mL 甲醇定容,HPLC 测定前用 0.22 μm 滤膜过滤.

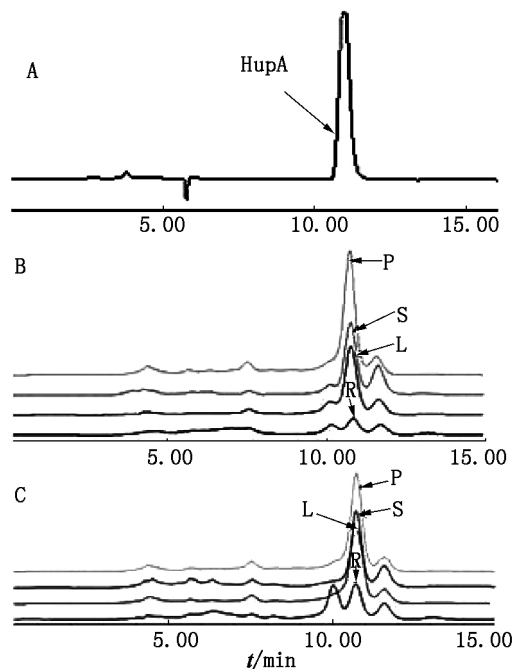
1.4 数据分析

对检测获得的数据,按照样地和时期的不同进行归类,用 SPSS 软件分别进行单因素方差分析,用最小显著差异法 LSD 检验差异显著性.分析主要包括样地内不同时期植株组织中 HupA 含量差异性分析、不同样地间相同时期植株中 HupA 含量显著差异性分析,以及不同样地间植株中 HupA 含量差异显著性分析.

2 结果

2.1 色谱条件的优化

参照马晓强等的方法,在流动相中加入微量的三乙醇胺,并调低流速,以峰面积按外标法定量分析.蛇足石杉不同组织供试品溶液中 HupA 出峰时间与标准品溶液相吻合,出峰时间约为 10.9 min 左右,在上述色谱条件下,各组分之间分离良好(见图 1).



R: 蛇足石杉根; S: 蛇足石杉茎; L: 蛇足石杉叶; P: 蛇足石杉全株.

图 1 标准品 (A) 和 12 月份庐山 (B) 及井冈山样品 (C) 中 HupA 的 HPLC 分析图谱

2.2 方法学考察

2.2.1 线性关系 取浓度分别为 10、20、40、60、80 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的 HupA 标准品溶液,按本文 1.3.1 节所述,分别进样 20 μL ,测定峰面积.以 HupA 标准品峰面积为纵坐标 (y)、HupA 标准品浓度为横坐标 (x) 制定标准曲线(图 2),线性回归方程: $y = 91\,403x + 7\,920.2$, $R^2 = 0.992\,1$.结果表明,HupA 进样量在 10 ~ 80 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 与峰面积呈良好的线性关系.

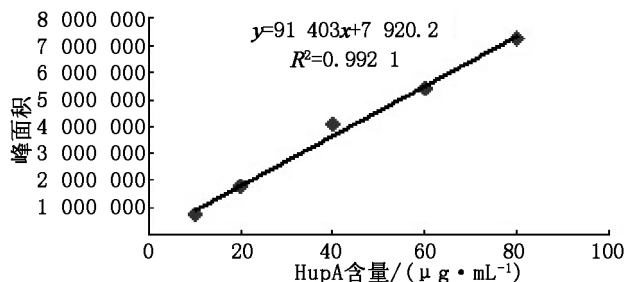


图 2 HupA 标准曲线

2.2.2 精密度试验 取 40 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ HupA 标准品溶液,按本文 1.3.1 节所述,重复进样 6 次,每次

20 μL ,计算 HupA 色谱峰面积的相对标准偏差为 2.8% ,结果表明 ,仪器精密度良好.

2.2.3 稳定性试验 随机选取 1 份蛇足石杉供试样品溶液 ,分别于 0、2、4、6、8、10 h 在本文 1.3.1 节所述色谱条件下分别进样 ,计算 HupA 色谱峰面积的相对标准偏差为 2.2% . 结果表明 ,样品溶液在 10 h 内稳定.

2.2.4 重复性试验 随机选取 6 份蛇足石杉样品 ,按本文 1.3.3 节的方法制备 6 份供试品溶液 ,在上

述色谱条件下分别进样 ,计算 HupA 色谱峰面积的相对标准偏差为 0.51% ,结果表明 ,方法重复性良好.

2.2.5 回收率试验 精密称取已知 HupA 含量的蛇足石杉样品 6 份 ,每份精密加入浓度为 $50\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的标准品溶液 10 mL ,按 1.3.3 节方法制备供试品溶液 ,按 1.3.1 节色谱条件下进行分析测定 ,计算回收率 ,结果 HupA 的平均回收率为 95.58% ,相对标准偏差为 1.36% ($n=6$) ,实验结果见表 2.

表 2 HupA 加样回收率实验结果($n=6$)

样品中含量/ μg	加入量/ μg	测定量/ μg	回收率/%	平均回收率/%	相对标准偏差/%
52.508 1	50	99.766 8	94.52	95.58	1.36
52.508 1	50	99.846 9	94.68		
52.508 1	50	99.505 3	93.99		
52.508 1	50	101.022 2	97.03		
52.508 1	50	100.549 3	96.08		
52.508 1	50	101.086 5	97.16		

2.3 蛇足石杉中 HupA 含量的时空动态变化

采用线性回归方程分别计算庐山和井冈山蛇足石杉不同时期、不同组织 HupA 含量 ,并进行方差分析 . 结果表明 ,江西庐山和井冈山蛇足石杉植株中 HupA 含量均较高 ,2 个样地的含量随着时期的推移有统计学意义上极显著性差异 ($P<0.01$) ,HupA 含量的动态变化规律为 12 月 > 9 月 > 6 月 > 3 月 ,且井冈山蛇足石杉植株中 HupA 含量显著高于庐山植株 (见图 3) . 此外 ,井冈山蛇足石杉在 4 个时期内 HupA 含量均有统计学意义上极显著性差异 ($P<0.01$) ,其中在 12 月份含量最高;而庐山 9 月和 12 月的蛇足石杉植株中 HupA 含量较高 ,但 2 个月份间无统计学意义上显著性差异 ($P>0.05$) .

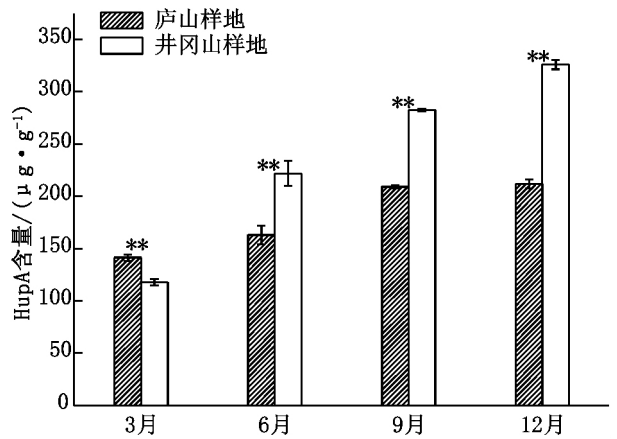


图 3 不同时期庐山和井冈山蛇足石杉植株 HupA 含量

研究结果还显示 ,庐山和井冈山蛇足石杉均为地上部分 (茎和叶) 中的 HupA 含量高于地下部分 (根) 的含量 ,并且庐山和井冈山蛇足石杉在茎、叶

及全株中 HupA 含量随着季节的推移而呈现出相同的变化趋势 ,它们的含量均为 3 月最低 ,依次分别为 178.7 、 85.7 、 $141.3\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 与 122.1 、 105.4 、 $117.7\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,而在 12 月达到最大 ,依次分别为 246.0 、 188.1 、 $211.9\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 与 369.6 、 298.9 、 $325.9\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (见图 4 和图 5) . 根中 HupA 含量的变化趋势与茎和叶不同 ,2 地蛇足石杉根中 HupA 含量均在 6 月最低 ,分别仅为 $24.5\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 和 $17.5\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,庐山蛇足石杉根中 HupA 含量在 3 月季最高 ,达到 $149.7\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (见图 4) ,井冈山地区蛇足石杉根中 HupA 含量在 12 月最高 ,达到 $97.1\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (见图 5) .

3 讨论

3.1 HPLC 分析方法的改进

本研究中 HupA 含量的测定方法是在参照马晓强等方法的基础上 ,经比较和优化多种不同溶剂系统和比例的流动相后 ,最终确定甲醇-水-三乙醇胺按体积比 60.00: 40.00: 0.02 为流动相效果最好 . 采用该流动相 ,在流速为 $0.5\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ 时 HupA 主峰能与杂质峰较好分离开 ,且峰型对称无拖尾 ,重复性良好 ,适用少量样品的定量分析检测.

3.2 蛇足石杉中 HupA 含量的动态变化

蛇足石杉中 HupA 的含量极少 ,在我国已报道的含量中平均值大约仅为 $188\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ [15] ,且不同地域的蛇足石杉中 HupA 含量也存在较大差异 (见

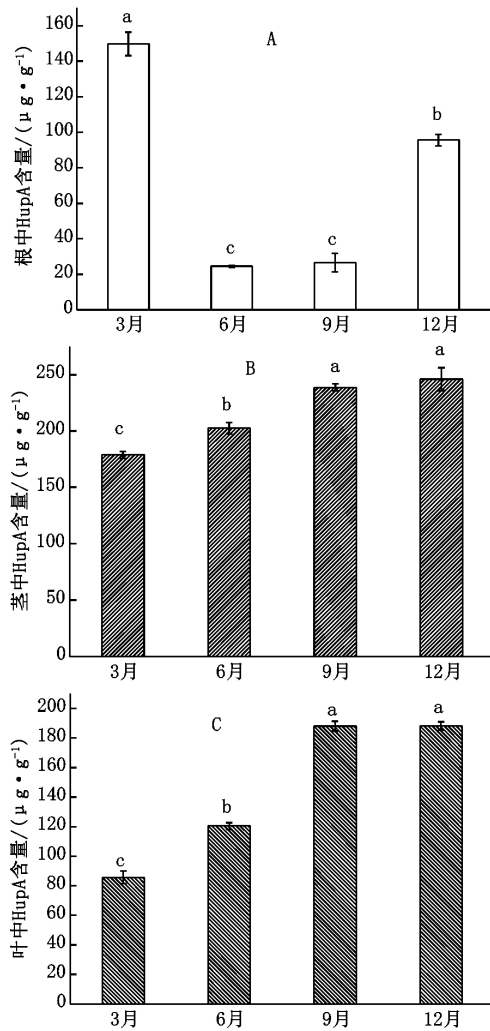


图4 庐山蛇足石杉不同时期根(A)、茎(B)、叶(C)中HupA含量

表3). 本研究对江西庐山和井冈山蛇足石杉不同时期、不同组织部位中HupA含量进行了HPLC分析, 结果显示, 采集自江西庐山和井冈山的蛇足石杉样品中HupA的含量均较高, 且均在12月达到最高, 分别为 $211.9 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 和 $325.9 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$, 可作为高HupA含量优质种源新的潜在资源. 本研究发现蛇足石杉植株中HupA的含量动态变化规律为12月>9月>6月>3月, HupA含量随季节更替而有相应的变化(见图3), 这与马晓强等报道的蛇足石杉中HupA含量随时期变化研究结果基本一致, 即在10月至12月的含量较高. 本研究还发现HupA的含量在植株的地上部分(茎和叶)明显高于地下部分(根), 这与文献[7-8]的研究报道一致. 上述的这些研究结果都为勘探筛选高HupA含量的优质蛇足石杉种源奠定了基础, 也为科学确定蛇足石杉的最佳采收时机和采集部位提供了参考依据.

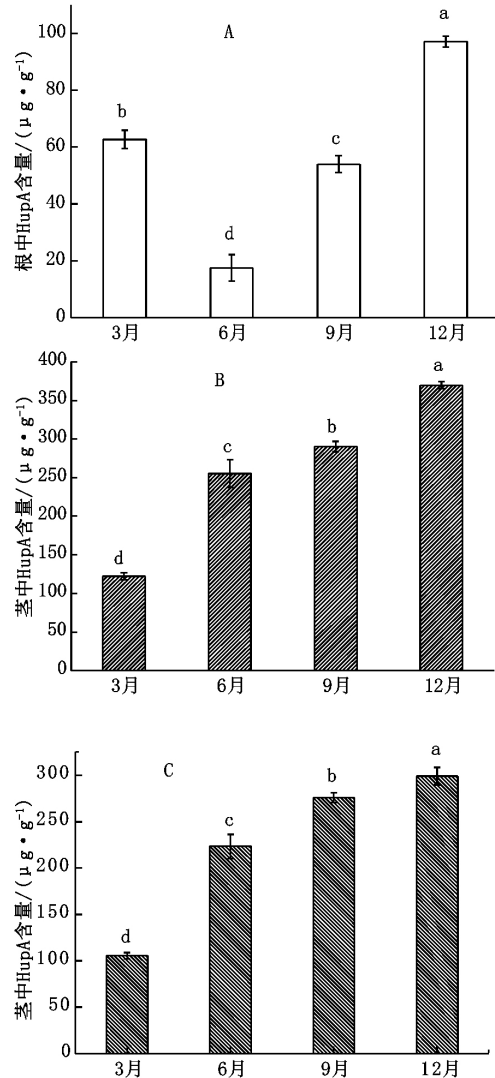


图5 井冈山蛇足石杉不同时期根(A)、茎(B)、叶(C)中HupA含量

3.3 HupA含量差异的原因

在比较江西庐山和井冈山蛇足石杉中HupA含量时发现, 井冈山植株中HupA含量显著高于庐山植株($P < 0.01$), 这在一定程度上印证了不同地域来源的蛇足石杉植株中HupA含量存在一定的差异性. 究其原因, 生境条件可能是决定HupA含量高低的主要因素之一^[16-17]. 采样的庐山蛇足石杉多分布在潮湿树林群落下, 而采样的井冈山蛇足石杉多分布在山脚阴面、潮湿灌木下、靠近水源的公路岩石和青苔上. 2地生境条件有较大的差异(见表1). 2地环境条件和生态气候类型迥异, 以及微环境的差异等因素长期共同自然选择, 极有可能导致蛇足石杉中HupA含量存在一定的差异. 另外, 蛇足石杉植株本身的遗传因素同样不能被忽视. 文献[16]对浙江、广西和重庆3个居群的蛇足石杉引种至同一生境后, HupA含量基本与原先未引种时的含量一致,

说明 HupA 含量的高低是遗传因素与环境因素共同作用的结果. 因而选育高含量品系植株, 同时选择适宜的生境条件对于植株中 HupA 的累积具有积极的意义.

目前, HupA 生产几乎完全依赖野生蛇足石杉资源, 价格昂贵, 长期开采势必破坏蛇足石杉天然资

源和生态环境. 因此, 拓宽 HupA 来源和选择新的途径显得尤为重要^[18]. 倘若能利用微生物发酵生产 HupA, 不仅能丰富 HupA 的来源途径、降低药品价格, 而且可以有效地保护生态环境. 鉴此, 本实验室多年来一直致力于产 HupA 蛇足石杉内生真菌的研究^[18-23], 相关的深入研究现正在进行中.

表 3 不同产地蛇足石杉中 HupA 含量

采样地理位置	根/ ($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$)	茎/ ($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$)	叶/ ($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$)	全株含量/ ($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$)	生境情况	参考文献
福建福州				481		[6]
安徽	35	132	63	200		
广东南昆山	20	123	129	210		[7]
贵州				180		
安徽	19	71	175	118		[8]
浙江遂昌大西坑		80	60			
浙江磐安大盘山		680	270			
浙江庆元百山祖		20	30			
浙江临安西天目山		30	30			[9]
浙江遂昌九龙山		110	100			
浙江金华北山		90	30			
浙江金华南山		70	50			
福建武夷山		100	90			
贵州习水				170		[10]
贵州台江				260		[11]
湖南永顺杉木河	203	457	582			
湖南古丈高望界	195	435	560			[12]
湖南保靖白云山	184	433	546			
湖南凤凰两头羊	180	438	552			
福建连城	209	609	573			[13]
云南金平				132.58 \pm 0.37	潮湿树林下青苔和岩石上	
云南滇常山				92.63 \pm 0.42	潮湿树林下	
重庆南川				114.45 \pm 0.48	潮湿树林阴凉处	
贵州雷公山				100.89 \pm 0.40	潮湿树林下	
广西龙胜				98.42 \pm 0.34	靠近悬崖的潮湿树林下	
海南白沙				79.85 \pm 0.35	山谷灌木和树林下	
湖北恩施				67.77 \pm 0.31	靠近悬崖的树林下	
湖南桑植				79.32 \pm 0.43	靠近悬崖的潮湿树林阴凉处	[14]
湖南洞口				76.39 \pm 0.43	山谷树林下	
湖南临澧				82.47 \pm 0.60	潮湿树林下	
安徽黄山				64.13 \pm 0.24	山谷树林边	
江西庐山				76.33 \pm 0.32	潮湿树林下	
福建连城				69.26 \pm 0.36	靠近悬崖树林下	
江苏宜兴				75.70 \pm 0.45	不太潮湿树林下	
浙江临安				54.27 \pm 0.30	靠近悬崖灌木下	
浙江嵊州				69.55 \pm 0.32	不太潮湿竹林下	
浙江仙居				105.70 \pm 0.34	山谷边, 潮湿竹林下	
吉林长白山				53.98 \pm 0.37	不太潮湿树林下	
黑龙江饶河				60.43 \pm 0.37	不太潮湿树林下	
湖南临澧	24.94 \pm 0.16	78.37 \pm 0.45	116.75 \pm 0.29	—		

4 参考文献

- [1] 刘嘉森,俞超美,周有作,等. 石杉碱甲和石杉碱乙的化学研究 [J]. 化学学报, 1986(10): 1035-1040.
- [2] Ma Xiaoqiang, Tan Changheng, Zhu Dayuan, et al. Huperzine A from *Huperzia* species: An ethnopharmacological review [J]. Journal of Ethnopharmacology 2007, 113(1): 15-34.
- [3] 殷帅文,刘丽萍,王安萍,等. 15 种植物不同溶剂萃取物乙酰胆碱酯酶抑制活性的初步研究 [J]. 井冈山大学学报: 自然科学版 2012, 33(4): 52-56.
- [4] 吴荭,庄平,冯正波,等. 中国蛇足石杉资源调查与评估 [J]. 自然资源学报 2005, 20(1): 59-67.
- [5] 张君诚,邢建宏,宋育红,等. 药用植物蛇足石杉研究新进展 [J]. 中国野生植物资源 2008, 27(2): 1-5.
- [6] 王峻,吴伟,潘胜利. HPLC 法测定 6 种石杉科植物中石杉碱甲的含量 [J]. 中草药 2003, 34(7): 607-608.
- [7] 孙远明,余红英,杨跃生,等. HPLC 法测定蛇足石杉中石杉碱甲含量 [J]. 中草药 2002, 33(12): 1078-1080.
- [8] 顾月华,吴庆庆. 高效液相色谱法测定蛇足石杉中石杉碱甲的含量 [J]. 中国药理学通报 2005, 21(8): 1017-1018.
- [9] 郭水良,李沛玲,李似姣,等. 石杉碱甲的含量测定方法及在蛇足石杉不同产地居群的含量比较 [J]. 浙江师范大学学报: 自然科学版 2006, 29(2): 177-180.
- [10] 黄静,杨理明,李齐激,等. HPLC 法测定台江产千层塔中的石杉碱甲的含量 [J]. 贵州医药, 2007, 31(7): 645.
- [11] 杨理明,黄静,李齐激,等. 习水产蛇足石杉石杉碱甲的含量测定 [J]. 贵州医药 2007, 31(7): 646.
- [12] 杜次,彭清忠,田向荣,等. 湘西蛇足石杉中石杉碱甲、乙和丙含量的测定 [J]. 广西植物 2013, 33(3): 406-409.
- [13] 郑雅焯,刘海元,张方方,等. HPLC 法测定蛇足石杉及闽浙马尾杉不同部位的石杉碱甲含量 [J]. 福建中医药大学学报 2013, 23(3): 42-43.
- [14] Ma Xianqiang, Tan Changheng, Zhu Dayuan, et al. Is there a better source of Huperzine A than *Huperzia serrata*? Huperzine A content of *Huperziaceae* species in China [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry 2005, 53(5): 1393-1398.
- [15] Jason Q D Goodger, Anne L Whincup, Ashley R Field, et al. Variation in Huperzine A and B in Australasian *Huperzia* species [J]. Biochemical Systematics and Ecology, 2008, 36: 612-618.
- [16] 黄骥,赵爱玲. 蛇足石杉石杉碱甲含量的动态变化分析 [J]. 中国中药杂志 2010, 35(19): 2511-2515.
- [17] 王德立,甘炳春,齐耀东,等. 蛇足石杉不同生长阶段中石杉碱甲含量变化的地区差异及生境影响的比较观察 [J]. 中国新药杂志 2014, 23(3): 326-332.
- [18] Zhu Du, Wang Jixiang, Zeng Qinggui, et al. A novel endophytic Huperzine A: producing fungus, *Shiraia* sp. S1f14, isolated from *Huperzia serrata* [J]. Journal of Applied Microbiology 2010, 109(4): 1469-1478.
- [19] Zhang Zhibin, Zeng Qinggui, Yan Riming, et al. Endophytic fungus *Cladosporium cladosporioides* LF70 from *Huperzia serrata* produces Huperzine A [J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology 2011, 27(3): 479-486.
- [20] Wang Ya, Zeng Qinggui, Zhang Zhibin, et al. Isolation and characterization of endophytic huperzine A: producing fungi from *Huperzia serrata* [J]. Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology 2011, 38(9): 1267-1278.
- [21] 汪涯,颜日明,曾庆桂,等. 一株产石杉碱甲的蛇足石杉内生真菌的分离和鉴定 [J]. 菌物学报 2011, 30(2): 255-262.
- [22] 汪涯,曾庆桂,张志斌,等. 蛇足石杉内生真菌分离及其抑制乙酰胆碱酯酶活性研究 [J]. 中国中药杂志, 2011, 36(6): 734-740.
- [23] Yan Riming, Zhang Zhibin, Wang Ya, et al. Efficient strategy for maintaining and enhancing the huperzine A production of *Shiraia* sp. S1f14 through inducer elicitation [J]. Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology, 2014, 41: 1175-1179.

The Determination of Huperzine A and Temporal and Spatial Variation of *Huperzia serrata*

LAI Zheng¹, LI Xi-xi^{1,2}, WANG Ya³, YAN Ri-ming¹, ZHANG Zhi-bin¹, ZHU Du^{1,3*}

(1. Key Laboratory of Protection and Utilization of Subtropic Plant Resources of Jiangxi Province, Jiangxi Normal University, Nanchang Jiangxi 330022, China; 2. Science and Technology College, Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang Jiangxi 330025, China; 3. Key Lab of Bioprocess Engineering of Jiangxi Province, College of Life Sciences, Jiangxi Science and Technology Normal University, Nanchang Jiangxi 330013, China)

Abstract: This was the first time to use HPLC to detect the contents of huperzine A(HupA) in the whole plant and different organs of *Huperzia serrata* from Mount Lushan and Mount Jinggang in Jiangxi Province at different seasons. The results showed that the whole plant content of HupA collected from Mount Lushan and Mount Jinggang increased with season changed and reached the maximum in December which reached to $211.9 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ and $325.9 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$. The content of HupA in different organs collected from two sample sites were various. Stem and leaf contained more HupA ,while only a little HupA was detected in root. The results showed the temporal and spatial dynamic change rule of HupA in *H. serrata* and may provided scientific reference for the reasonable use of rare plant resources.

Key words: *Huperzia serrata*; huperzine A; content detection; temporal and spatial variation

(责任编辑: 刘显亮)

(上接第 458 页)

The Outlier Detection Method and Its Improvement in the Eea of Big Data

MIAO Yong-chun ,CHENG Yan*

(College of Computer Information and Engineering ,Jiangxi Normal University ,Nanchang Jiangxi 330022 ,China)

Abstract: The paper compared and analyzed major outlier detection method and their features and merit and demerit were summarized. In addition ,in view of the large amount of data and high dimension of the big data ,improvement strategies of outlier detection method were analyzed. Improvement strategies of outlier detection were further illustrated by T-ODCD and AROD algorithms.

Key words: big data; outlier detection method; improvement strategies

(责任编辑: 冉小晓)