

不同生长年限与采收期玉竹活性成分累积动态变化

王兴¹, 谢宏赞¹, 罗纯清^{1*}, 黄蛟²

(1. 湘潭市中医医院, 湖南湘潭 411100; 2. 金侨医院, 湖南湘潭 411100)

[摘要] **目的:**测定不同生长年限与采收时间玉竹药材中主要活性成分的含量,探索其动态变化规律,为确定玉竹最佳采收期,控制玉竹质量提供指导。**方法:**采用紫外-可见分光光度法测定不同生长年限与采收时间玉竹药材中多糖类、黄酮类、皂苷类,醇浸出物的含量,运用多重方差分析对实验结果进行统计分析。**结果:**玉竹主要活性成分含量在采收时间内的变化规律为前期增长较慢,中期增长较快,后期增幅变缓,且在9月底之后各成分含量基本上都趋于平稳,此时玉竹中多糖、皂苷、黄酮、醇浸出物的质量分数分别为7.69%,0.453%,0.141%,57.48%。玉竹中多糖、皂苷、黄酮、醇浸出物的质量分数并没有随着生长年限的增加而持续高速增长,3年即达到峰值,质量分数分别为7.67%,0.436%,0.141%,55.59%。**结论:**玉竹主要活性成分随玉竹的生长发育不断累积,但含量并非都保持高速增长状态。最佳采收年限为3年生,最佳采收期为9月底,动态变化规律的研究可为提高玉竹药材质量提供参考依据。

[关键词] 玉竹; 活性成分; 多糖; 皂苷; 黄酮; 动态变化; 采收期

[中图分类号] R282 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2017)03-0030-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2017030030

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20161117.1604.030.html>

[网络出版时间] 2016-11-17 16:04

Accumulative Dynamic Variation of Active Ingredients in Polygonati Odorati Rhizoma from Different Growing Ages and Harvesting Time

WANG Xing¹, XIE Hong-zan¹, LUO Chun-qing^{1*}, Huang Jiao²

(1. Xiangtan Chinese Medicine Hospital, Xiangtan 411100, China; 2. Jinqiao Hospital, Xiangtan 411100, China)

[Abstract] **Objective:** To provide guidance for determining the optimal harvesting time, and controlling the quality of Polygonati Odorati Rhizoma by measuring the contents of main active ingredients in Polygonati Odorati Rhizoma from different growing ages and harvesting time, and exploring their dynamic variation rule. **Method:** UV-visible spectrophotometry was used to measure the contents of polysaccharides, flavonoids, saponins, alcohol-soluble extracts in Polygonati Odorati Rhizoma from different growing ages and harvesting time, multiple analysis of variance was used to analyze the experimental results. **Result:** The variation rule of the contents of main active ingredients in Polygonati Odorati Rhizoma in harvesting time was slow at the early growth, faster at medium-term, slow down at the late growth, and the contents of every ingredients changed to be steady after the end of September, the contents of polysaccharides, saponins, flavonoids, alcohol-soluble extracts in Polygonati Odorati Rhizoma were 7.69%, 0.453%, 0.141%, 57.48% at this stage. The contents of polysaccharides, saponins, flavonoids, alcohol-soluble extracts in Polygonati Odorati Rhizoma didn't sustained increase rapidly with the increase of growing years, and reached the peak after 3 years growth, the contents were 7.67%, 0.436%, 0.141%, 55.59%. **Conclusion:** The main active ingredients were constantly accumulated with plant growth, but its content did not always maintain a high growth state. The optimal harvest year was 3-year-old, the optimal

[收稿日期] 20160727(009)

[基金项目] 湘潭市医学科研项目(201648)

[第一作者] 王兴,主管药师,从事中药鉴定工作,Tel:0731-55519265,E-mail:303962509@qq.com

[通讯作者] *罗纯清,硕士,药师,从事中药制剂工作,Tel:0731-55519265,E-mail:546817327@qq.com

harvest time was the end of September, the study of dynamic variation rule could provide certain reference basis for improving the medical quality of *Polygonati Odorati Rhizoma*.

[Key words] *Polygonati Odorati Rhizoma*; active ingredients; polysaccharides; saponins; flavonoids; dynamic variation; harvesting time

玉竹为百合科植物玉竹的干燥根茎,有养阴润燥,生津止渴的功效,用于肺胃阴伤,燥热咳嗽,咽干口渴,内热消渴^[1]。亦可加工制成保健品、饮料、面条等,是药食两用中药品种。玉竹在我国分布较为广泛,湖南、东北三省、陕西、青海等地均有分布。目前因临床用药和其他相关产品的开发,其需求量越来越大,野生资源难以满足市场需求,因而对人工栽培技术的研究越来越受到关注。近年,湘潭地区玉竹栽培生产发展较快,种植面积达几千亩,成为玉竹的重要种植区之一。关于玉竹采收期和采收年限的研究可见相关报道,适宜的采收期有从 8 月底到 10 月中旬的差别;最佳采收年限有 3,6 年等不同研究结果^[2-5]。2015 年版《中国药典》分别规定了玉竹中多糖(以葡萄糖计不得少于 6.0%)和醇浸出物(不得少于 50.0%)的限量,也有文献报道了不同生长年限与采收期对长白山玉竹中皂苷、黄酮类成分的影响^[2]。文献报道的各地区玉竹的最佳采收期和采收年限存在差异,且考查的指标成分也有不同。玉竹在各生长发育阶段所含的化学成分含量可有差异,因此药材采收期及采收年限不同会直接影响药材的品质和产量。本实验拟通过考查不同生长年限与采收时间湘潭响塘地区玉竹药材中多糖、皂苷、黄酮、醇浸出物的累积动态变化规律,确定玉竹的最佳采收期,以期对玉竹的规范化栽培提供理论依据。

1 材料

UV1102 型紫外可见分光光度计(上海精科天美贸易有限公司),CP214 型电子天平(美国 Ohaus 公司),RE-52A 型旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂),HH 系列恒温水浴锅(江苏金坛中大仪器厂),SHB-3A 型循环水式真空泵(郑州杜甫仪器厂),电热恒温干燥箱(湖北省黄石市恒丰医疗器械有限公司),800-II 型台式定时离心机(盐城市科学仪器厂)。

无水葡萄糖(批号 110833-201205),芦丁(批号 100080-201409),薯蓣皂苷元(批号 111539-200001)对照品均购自中国食品药品检定研究院。水为蒸馏水,苯酚、硫酸等试剂均为分析纯。

玉竹均采自湖南省湘潭市响塘中药种植基地,经湘潭市中医医院王兴鉴定为百合科植物玉竹

Polygonatum odoratum 的根茎,切成厚片,晒干后备用。从 2015 年 7 月 1 日到 2015 年 11 月 30 日,每隔 15 d 采收种植基地内 2,3,4,5,6 年生玉竹。

2 方法与结果

2.1 多糖的测定^[1]

2.1.1 对照品溶液的制备 取无水葡萄糖对照品 30 mg,精密称定,置 50 mL 量瓶中,加水溶解并稀释至刻度,摇匀,即得质量浓度为 $0.6434 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的对照品溶液。

2.1.2 标准曲线的建立 精密量取对照品溶液 1.0,1.5,2.0,2.5,3.0 mL,分别置 50 mL 量瓶中,加水至刻度,摇匀。精密量取上述各溶液 2 mL,置具塞试管中,分别加 4% 苯酚溶液 1 mL,混匀,迅速加入硫酸 7.0 mL,摇匀,于 40 °C 水浴中保温 30 min,取出,置冰水浴中 5 min,取出,以相应试剂为空白,参照文献[6]在 490 nm 的波长处测定吸光度 A ,以 A 为纵坐标,质量浓度($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)为横坐标进行线性回归,得回归方程为 $Y = 62.548X + 0.01613$, $r = 0.9979$,结果表明葡萄糖在 $2.57 \sim 7.72 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 呈良好的线性关系。

2.1.3 样品中多糖的测定 取玉竹粗粉约 1 g,精密称定,置圆底烧瓶中,加水 100 mL,加热回流 1 h,用脱脂棉滤过,如上重复提取 1 次,合并 2 次滤液,浓缩至适量,转移至 100 mL 量瓶中,加水至刻度,摇匀,精密量取 2 mL,加乙醇 10 mL,搅拌,离心,取沉淀加水溶解,置 50 mL 量瓶中,并稀释至刻度,摇匀,精密量取 2 mL,照 2.1.2 项下方法,自“加 4% 苯酚溶液 1 mL”起,依法测定吸光度,从标准曲线上读出供试品溶液中无水葡萄糖的质量(mg),计算,即得。

2.2 皂苷的测定^[7]

2.2.1 对照品溶液的制备 取薯蓣皂苷元对照品 3 mg,精密称定,置 10 mL 量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,即得最终质量浓度为 $0.3005 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的对照品溶液。

2.2.2 标准曲线的建立 精密吸取对照品溶液 0.2,0.3,0.4,0.5,0.6,0.7,0.8 mL,分别置 10 mL 具塞试管中,加高氯酸至刻度,混匀,于 70 °C 水浴中加热 15 min,取出,立即置于冰水浴中 5 min,取出,以相应试剂为空白,在 408 nm 的波长处测定 A ^[6],

以 A 为纵坐标,质量浓度 ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) 为横坐标进行线性回归,得回归方程为 $Y = 34.894X - 0.07031$, $r = 0.9989$,表明薯蓣皂苷元在 $6.01 \sim 24.04 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 呈良好的线性关系。

2.2.3 样品中皂苷的测定 取玉竹粗粉约 5 g,精密称定,置索氏提取器中,加石油醚 60 mL,加热回流 2 h,回收石油醚液,药渣挥干,加 70% 乙醇 45 mL 浸泡 12 h,80 °C 水浴中回流提取 2 次,每次 1.5 h,合并 2 次滤液,蒸干,残渣加水 50 mL 使溶解,加正丁醇萃取 3 次,每次 20 mL,合并正丁醇液,蒸干,残渣加甲醇溶解,置 50 mL 量瓶中,并稀释至刻度,摇匀,精密量取 0.5 mL,照 2.2.2 项下的方法,自“加高氯酸至刻度”起,依法测定 A ,从标准曲线上读出供试品溶液中薯蓣皂苷元的质量 (mg),计算,即得。

2.3 黄酮的测定^[8-9]

2.3.1 对照品溶液的制备 取经 105 °C 干燥至恒重的芦丁对照品 10 mg,精密称定,置 50 mL 量瓶中,加 50% 乙醇适量微热使溶解,并稀释至刻度,摇匀,即得质量浓度为 $0.2035 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的对照品溶液。

2.3.2 标准曲线的建立 精密量取对照品溶液 0.0,2.0,4.0,6.0,8.0,10.0,12.0 mL,分别置 50 mL 量瓶中,加 5% NaNO_2 溶液 0.4 mL,摇匀,静置 5 min,加 10% AlNO_3 溶液 0.4 mL,摇匀,加 4% NaOH 溶液 4.0 mL,加 50% 乙醇至刻度,振荡 1 min,以相应试剂为空白,在 512 nm 的波长处测定 A ,以 A 为纵坐标,质量浓度 ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) 为横坐标进行线性回归,得回归方程 $Y = 10.88X + 0.00039$, $r = 0.9986$,结果表明芦丁在 $0 \sim 0.04884 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 呈良好的线性关系。

2.3.3 样品中黄酮的测定 取玉竹粗粉约 5 g,精密称定,置圆底烧瓶中,加 70% 乙醇 60 mL,浸泡 1 h,80 °C 水浴回流提取 2 h,滤过,如上重复提取 1 次,2 次滤液合并,浓缩至适量,转移至 25 mL 量瓶中,稀释至刻度,摇匀,精密量取 5 mL,照 2.3.2 项下的方法,自“加 5% NaNO_2 溶液 0.4 mL”起,依法测定 A ,从标准曲线上读出供试品溶液中芦丁的质量 (mg),计算,即得。

2.4 醇浸出物的测定^[1] 取能通过二号筛的玉竹样品约 4 g,精密称定,置 250 mL 的锥形瓶中,精密加 70% 乙醇 100 mL,密塞,冷浸,前 6 h 内时时振摇,再静置 18 h,用干燥滤器迅速滤过,精密吸取续滤液 20 mL,置已干燥至恒重的蒸发皿中,在水浴上蒸干后,于 105 °C 干燥 3 h,置干燥器中冷却 30 min,迅速精密称定质量,计算,即得。

2.5 综合评分的计算 采用归一化法解决指标间量纲不一致问题,以各指标的最大值作为参照对同一指标各数据进行标准化处理, P_i 表示各指标测定值的标准化数据, X 表示各指标的测定值, X_{\max} 表示各指标测定值中的最大值。

$$P_i = X_j / X_{\max} (i = 1, 2, 3, 4, j \text{ 代表实验次数})$$

本研究综合评分的总分计为 1,其中玉竹多糖计 0.4,皂苷及黄酮各计 0.15,醇浸出物计 0.3。

$$\text{综合评分} = 0.4P_1 + 0.15P_2 + 0.15P_3 + 0.3P_4$$

2.6 玉竹不同采收时间活性成分含量的动态变化规律 取各采收时间的 3 年生玉竹样品,按上述方法分别测定多糖、皂苷、黄酮、醇浸出物的含量,结果见图 1。结果显示玉竹主要活性成分含量在采收时间内的变化规律基本为前期增长较慢,中期增长较快,后期增幅变缓,但各成分的快速增长期之间存在差异。其中多糖的快速增长期为 8 月中旬到 9 月底;皂苷、黄酮的快速增长期为 8 月底到 9 月底;醇浸出物在整个采收期内缓慢增长;全面考虑各成分含量的综合评分在 7 月底到 9 月底出现较快的增长。出现这种变化规律的原因可能是前期玉竹主要进行地上部分的生长,中期由于生殖生长的影响,含量累积而逐渐上升,后期新陈代谢活动减弱,主要活性成分含量趋于稳定。综合评分在 9 月底达到峰值,此时多糖的质量分数为 7.69%,皂苷的质量分数为 0.453%,黄酮的质量分数约为 0.141%,醇浸出物质量分数约为 57.48%。在 SPSS 17.0 软件处理下,运用多重方差分析对各采收时间玉竹的各指标进行两两对比分析,结果显示 9 月 30 日采收的玉竹各指标成分较之前采收的大部分有统计学差异 ($P < 0.01$),较之后采收的大部分没有统计学差异。玉竹中主要活性成分的含量在 9 月底之后,基本上都趋于平稳,没有大幅度的增长,且满足 2015 年版《中国药典》的相关规定(多糖质量分数 $\geq 6.0\%$,醇浸出物质量分数 $\geq 50.0\%$),故玉竹的最佳采收期为 9 月底。

2.7 玉竹不同采收年限活性成分含量的动态变化规律 取 9 月 30 日采收的 2,3,4,5,6 年生玉竹样品,按上述方法分别测定多糖、皂苷、黄酮、醇浸出物的含量,结果见图 2。结果显示玉竹中活性成分多糖、皂苷、黄酮、醇浸出物的含量并没有随着生长年限的增加而持续高速增加,一般 3 年生玉竹质量分数即达到峰值,分别为 7.67%,0.436%,0.141%,55.59%。综合评分在玉竹的生长年限达到 3 年后也趋于平稳。在 SPSS 17.0 软件处理下,运用多重

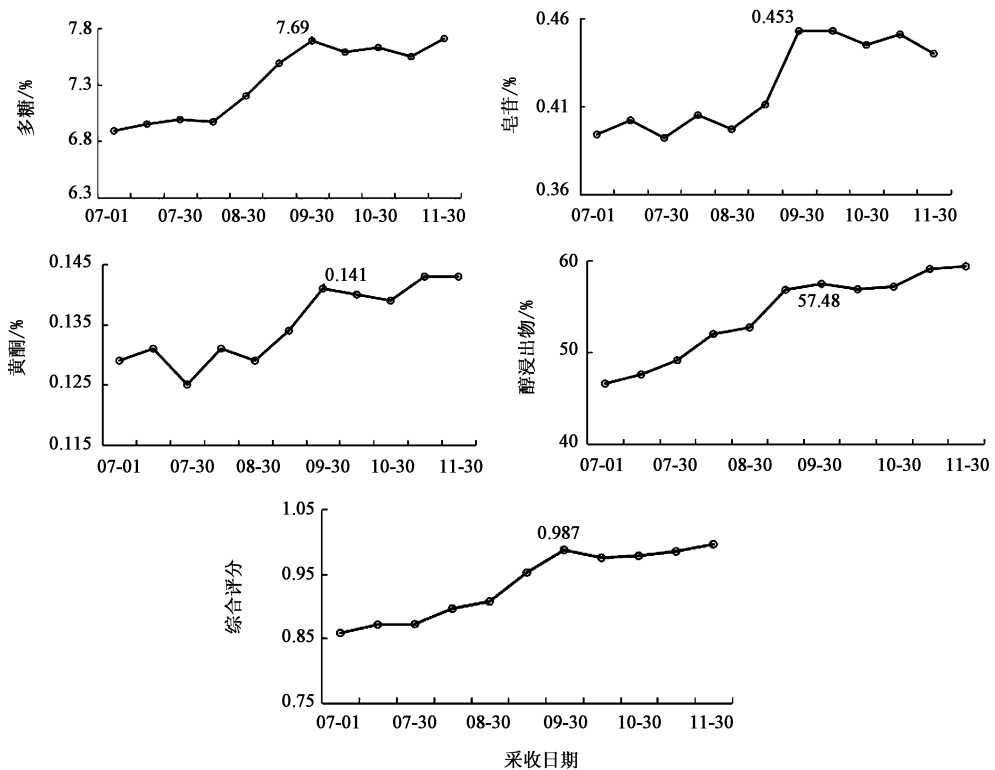


图 1 不同采收时间玉竹主要活性成分及综合评分变化趋势

Fig.1 Change trend of main active ingredients in Polygonati Odorati Rhizoma and comprehensive scores at different harvesting time

方差分析对各生长年限玉竹的各指标进行两两对比分析,结果 3 年生玉竹较 2 年生玉竹各项指标均有统计学差异 ($P < 0.01$), 3 年生玉竹较 4, 5, 6 年生玉竹各指标大部分没有统计学差异。随着生长年限的增加,玉竹的单位产量有一定的提高,但综合考虑活性成分的量、土地利用效率、经济利益等因素,玉竹的最佳采收年限为 3 年。

3 讨论

玉竹中含有玉竹多糖、甾体皂苷、黄酮类、挥发油、氨基酸等多种化学成分,其中玉竹多糖具有降血糖、抗衰老、调血脂及抗脂质过氧化、抗肿瘤等作用^[10];玉竹皂苷具有降血糖、抗氧化等药理作用^[11-12];玉竹黄酮具有降血糖、抗氧化、抗衰老等药理作用^[13-15]。玉竹中的醇溶性成分也有负性肌力、负性频率,保护糖尿病大鼠肾脏等作用^[16-17]。以单一指标成分进行实验研究与中药多组分、多靶点的作用特点有一定的差别。故本实验研究了玉竹多糖、皂苷、黄酮、醇浸出物 4 个指标在不同采收年限与采收期的动态变化规律。

用多指标进行试验研究时,首先要解决指标间量纲不一致的问题,然后针对指标间的重要性差异给出各指标权重,综合评分后再进行分析。设置各指标的权重,需根据具体情况具体分析。本研究

主要通过各指标的质量分数与药理作用差异来确定其权重系数。玉竹多糖及醇溶性浸出物为 2015 年版《中国药典》玉竹含量测定及浸出物项下的测定指标,同时考虑其药理作用及纯度,分别确定其权重系数为 0.4, 0.3。玉竹中的皂苷与黄酮类物质含量均较少,药理作用也相仿,故确定其占综合评分的权重均为 0.15。利用综合评分进行数据分析对于多指标实验研究更具有科学性和合理性,同时也有着积极的指导意义。

根据当地的采收习惯,本课题在进行玉竹不同采收时间活性成分含量的动态变化规律研究时采用了 3 年生的玉竹样品。8 月份之前采收的 3 年生玉竹醇浸出物质量分数 $< 50%$, 不符合《中国药典》的相关规定。9 月底采收的 3 年生玉竹醇浸出物含量符合规定,且综合评分达到峰值,故以 9 月底之后采收最宜。中药材的规范化种植需要综合考虑活性成分的量、产量、土地利用效率、经济效益等因素。9 月底采收的 2 年生玉竹醇浸出物质量分数少于 50%, 不符合《中国药典》的相关规定。9 月底采收的 3 年生玉竹多糖量、醇浸出物量符合规定,再综合考虑土地周转效率、经济效益,以玉竹生长年限达到 3 年时采收最宜。研究结果与当地的采收习惯基本相一致。玉竹具有多种药理作用,其主要生物活性

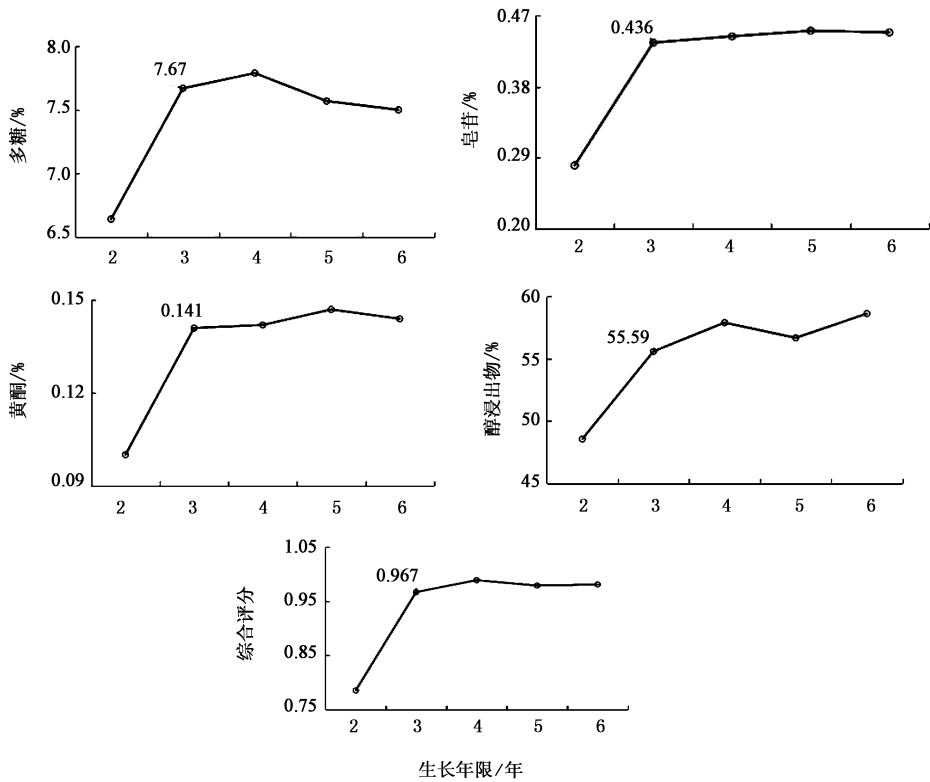


图2 不同生长年限玉竹主要活性成分及综合评分变化趋势

Fig.2 Change trend of main active ingredients in Polygonati Odorati Rhizoma and comprehensive scores at different growing ages

成分的含量受产地、采收时间及采收年限的影响很大。本实验的研究结果对于确定玉竹的最佳采收期,探讨玉竹中活性成分累积动态变化规律以及确保玉竹药品、保健品和提取物的质量有重要的理论意义和实际应用价值。

[参考文献]

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2015:84-85.

[2] 毕博,包京姗,吕晓茜,等. 不同生长年限与采收期对长白山玉竹质量的影响[J]. 中国现代中药,2010,12(12):14-16,27.

[3] 王艳玲,奚广生. 不同品系玉竹最佳采收期的确定[J]. 江苏农业科学,2013,41(4): 235-236.

[4] 阳华,王文渊. 不同采收期玉竹中总皂苷的含量比较研究[J]. 现代中药研究与实践, 2010,24(2):11-13.

[5] 王艳玲,谭起娇. 不同品系及不同生长年限关玉竹的品质比较[J]. 贵州农业科学,2012,40(5):157-158.

[6] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 四部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2015:38-40.

[7] 王冬梅,吕振江,王永红,等. 多指标综合评价玉竹蜜蒸炮制工艺研究[J]. 中草药,2012,43(10):1934-1938.

[8] 彭秧锡,陈启元,钟世安,等. 分光光度法测定玉竹中黄酮类化合物的含量[J]. 华西药学杂志,2006,21(6):604-605.

[9] 钟方丽,王晓林,王志敏,等. 大孔吸附树脂纯化玉竹总黄酮工艺研究[J]. 食品与机械,2013,29(1):131-134.

[10] 许丽丽,展晓日,曾昭武,等. 玉竹多糖的研究进展[J]. 中药材,2011,34(1):154-157.

[11] 郭常润,戴平,张欣,等. 玉竹总皂苷降血糖作用实验研究[J]. 海峡药学,2011,23(4):19-21.

[12] 林奇泗,李京华,杨冬芝,等. 玉竹三种提取物抗氧化活性比较[J]. 食品研究与开发,2013,34(21):25-28.

[13] SHU X S, LV J H, TAO J, et al. Antihyperglycemic effects of total flavonoids from *Polygonatum odoratum* in STZ and alloxan-induced diabetic rats [J]. J Ethnopharm,2009,124(3):534-539.

[14] 张轩铭,王冬梅,王瑾,等. 不同产地玉竹黄酮提取物体外抗氧化活性研究[J]. 西北植物学报,2011,31(3):628-631.

[15] 徐大量. 玉竹抗衰老有效成分研究[D]. 广州:广州中医药大学,2008.

[16] 吴美平,熊旭东,董耀荣,等. 玉竹乙醇提取物对心肌梗后心力衰竭大鼠血流动力学的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2009,15(11):67-70.

[17] 师海波,苗艳波,王力平,等. 玉竹乙醇提取物和分离部位对糖尿病大鼠肾脏的保护作用[J]. 中草药,2007,38(12):1846-1849.

[责任编辑 邹晓翠]