

蒺藜的活性成分积累和动态分布的研究

杨莉¹, 王国栋², 韩梅^{1*}

1. 吉林农业大学 植物化学与生态实验室, 吉林 长春 130118

2. 吉林敖东洮南药业股份有限公司, 吉林 洮南 137110

摘要: 目的 研究蒺藜总皂苷、总黄酮类物质的动态积累情况及其在根、茎、叶、果等部位的分布情况。方法 采用紫外分光光度法测定了成熟期内3种不同生长环境下蒺藜全草和各部位中总皂苷、总黄酮的量。结果 蒺藜总皂苷与总黄酮的高峰期出现时间、积累曲线等并不一致; 其中, 总皂苷主要集中在叶片中, 总黄酮主要在叶片和果实中积累。结论 以蒺藜总皂苷量确定蒺藜的最佳采收期并不适用于总黄酮类物质的积累, 应根据目标成分的变化掌握蒺藜的适宜采收期; 其次, 应重视蒺藜叶片的采集和利用。

关键词: 黄酮; 皂苷; 积累动态; 采收期; 生境

中图分类号: R282.21

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2013)09-1186-04

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2013.09.023

Accumulation dynamics and distribution of active components in *Tribulus terrestris*

YANG Li¹, WANG Guo-dong², HAN Mei¹

1. Key Laboratory for Phytochemistry and Ecology of Jilin Province, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China

2. Jilin Aodong Taonan Pharmaceutical Co., Ltd., Taonan 137110, China

Abstract: Objective To study the accumulation dynamics of total saponins and flavonoids in *Tribulus terrestris* and their distribution in roots, stems, leaves, and fruits. **Methods** The contents of total saponins and flavonoids in the whole herb and various parts of *T. terrestris* collected from three different habitats in maturation stage were determined by UV spectrophotometry. **Results** The peak periods and dynamic accumulation curves of total saponins and flavonoids were not similar, and the total saponins were enriched in the leaves while the total flavonoids were enriched both in the fruits and leaves. **Conclusion** Confirmed by the content of total saponins, the optimal collection period is not applicable to the accumulation of total flavonoids, so the suitable harvest time should be chosen with the target constituent changing. The preservation and utilization of *T. terrestris* leaves should be paid more attention in the harvest time.

Key words: flavonoids; saponins; accumulation dynamics; harvest time; habitat

蒺藜又名刺蒺藜, 我国常用中药, 来源于蒺藜科植物蒺藜 *Tribulus terrestris* L., 以果实入药, 由于其在心脑血管系统方面显示了良好的药理活性, 目前已被广泛应用于临床并显示了良好的疗效^[1-2]。现代药理学研究表明蒺藜具有对心脑血管系统、抗肿瘤^[3]、抗衰老^[4]、防治性功能减退^[5]等活性, 与蒺藜中含有的皂苷类和黄酮类物质密切相关^[6-8]。其中, 蒺藜总皂苷类物质在每年的8月中、下旬达到积累高峰^[9], 因此, 从获取皂苷类物质角度出发, 可将此时确定为蒺藜的最佳采收期, 但蒺藜中另一主要活性物质——黄酮类的动态积累以及在植物体

内的分布状况尚不清楚。为此, 本实验对蒺藜总皂苷和总黄酮类物质在8月中下旬的积累情况以及在根、茎、叶、果等各部位的分布动态进行了研究, 以期蒺藜药材质量的稳定控制以及药材的综合开发利用提供依据。

1 材料与仪器

在吉林洮南蒺藜种植基地及周边选择了蒺藜生长的3种典型生境进行取样, 产地包括包括田地仿生栽培、沙地仿生栽培和野生。实验从8月中旬蒺藜进入成熟期开始, 每隔5 d取样1次, 共取样5次, 取样阴干后留出一部分整体植株, 其余分根、

收稿日期: 2012-11-29

基金项目: 国家科技支撑计划(2006BAI06A05205); 吉林省科技发展计划(20040901202205)

作者简介: 杨莉(1981—), 女, 讲师, 博士, 研究方向为药用植物资源保护与利用。E-mail: yangliff@yahoo.com.cn

*通信作者 韩梅 E-mail: ylmh777@126.com

网络出版时间: 2013-03-28 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/12.1108.R.20130328.1122.012.html>

茎、叶、果 4 个部位分别粉碎备用。所有蒺藜样品均由吉林农业大学野生植物资源教研室韩梅教授鉴定为蒺藜科植物蒺藜 *Tribulus terrestris* L.。芦丁对照品 (批号 100080), 薯蓣皂苷对照品 (批号 111701) 均购自中国药品生物制品检定所; UV—1700 型紫外可见分光光度计 (日本岛津); DL—1000E 型超声波清洗器 (上海之信仪器公司); MARS—5 型微波反应器 (美国 CEM 公司); AUY—220 型电子天平 (日本岛津); 其余所用药品、试剂均为分析纯。

2 方法

2.1 标准曲线的建立

2.1.1 黄酮类成分标准曲线 精密称取芦丁对照品 10.4 mg, 置 50 mL 量瓶中, 加甲醇定容至刻度, 摇匀。精密吸取此溶液 0、1、2、3、4、5、6 mL 分别置于 25 mL 量瓶中, 加 4% NaNO_2 溶液 1 mL, 摇匀, 放置 6 min 后加入 10% AlNO_3 溶液 1 mL, 摇匀, 放置 6 min 后加入 10% NaOH 溶液 10 mL, 最后各用水稀释至刻度, 摇匀放置 15 min 后, 用第 1 瓶作空白, 在 510 nm 处测吸光度, 以吸光度为纵坐标 (Y), 芦丁质量浓度为横坐标 (X) 绘制标准曲线, 回归方程为 $Y=15.44X-0.0144$, $R^2=0.9997$, 线性范围 7.629~45.777 mg/L。

2.1.2 皂苷类成分的标准曲线 精密称取薯蓣皂苷对照品 9.2 mg, 置 50 mL 量瓶中, 加甲醇定容至刻度, 摇匀。分别精密吸取此液 0、0.20、0.40、0.60、0.80、1.00、1.20 mL 于具塞试管中, 水浴加热挥去溶剂, 在每支试管中分别精密加入高氯酸 5 mL, 密塞, 于 25 °C 水浴 30 min, 取出后立即放入冰水中冷却, 以第 1 管作空白, 于 409 nm 处测吸光度, 以吸光度为纵坐标 (Y), 薯蓣皂苷质量浓度为横坐

标 (X), 得标准曲线 $Y=27.242X-0.0503$, $R^2=0.9996$, 线性范围 7.36~44.16 mg/L。

2.1.3 供试品溶液制备 蒺藜各样品以石油醚回流 3 h, 阴干。精密称取 1 g 样品至微波反应罐, 加入一定量乙醇溶液, 微波提取后, 滤过, 滤液减压回收至干, 以甲醇冲洗并定容至 50 mL 量瓶, 滤过, 即得供试品溶液

3 结果与分析

3.1 蒺藜全草中总皂苷和总黄酮的积累动态规律

分别测定了 8 月中、下旬 3 种不同生境中蒺藜总黄酮和总皂苷量的变化情况, 见图 1。结果表明, 生长于不同生境的蒺藜中 2 类物质的动态积累情况基本一致。其中, 总皂苷积累曲线表现为先增加后降低, 从 8 月 10 日, 皂苷类物质质量分数开始持续增加, 在 8 月 21~26 日相继达到峰值后降低; 3 种生境间差异显著, 野生蒺藜总皂苷达到峰值时间最早, 下降幅度最大, 但其质量分数最低。

8 月 10 日各个生境中总黄酮类成分的质量分数没有显著差异, 之后其上升, 但各个生境中上升速度并不一致, 以田地蒺藜上升速度最快, 野生蒺藜速度最慢, 8 月 31 日测得田地中总黄酮的质量分数为 7.42 mg/g, 弃耕沙地为 6.95 mg/g, 野生为 6.55 mg/g, 差异不显著。总体来看, 在 8 月 10 日至 8 月 31 日, 蒺藜总黄酮质量分数表现为积累上升, 未检测到质量分数达到最高峰后下降的情况。

3.2 蒺藜各部位总黄酮的分布与动态

对各生境中蒺藜的根、茎、叶、果中总黄酮量变化进行研究, 结果见图 2。蒺藜叶、果实中黄酮类物质在不同生境中积累曲线一致, 叶中表现为达到峰值后降低, 果实中表现为 8 月下旬剧烈增加;

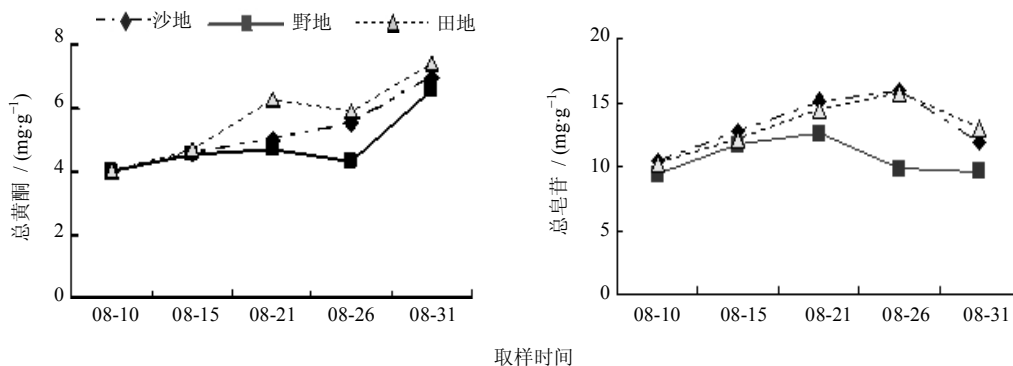


图1 不同生境中蒺藜全草的总黄酮和总皂苷积累动态

Fig. 1 Accumulation dynamics of total flavonoids and saponins in whole herb of *T. terrestris* from different habitats

根、茎中黄酮类物质质量分数相对较低,其变化情况与生境变化有关,其中野生蒺藜根、茎中黄酮类物质分别在8月21日至26日之间开始降低,而沙地、田地中蒺藜根、茎中黄酮还在缓慢增加。

由各部位总黄酮质量分数分析可看出,8月26日之前,蒺藜中黄酮类物质主要集中在叶中,其质量分数超过50%,其次为果实、茎、根;26日之后果实中黄酮类物质迅速增加,其余各部位中黄酮质量分数

降低,以叶中质量分数降低幅度最大。这可能与成熟期内蒺藜叶子开始衰老枯萎,叶片中的物质开始降解,代谢物质大量向果实合成转移,植物的生长中心转移至繁殖后代有关。

3.3 蒺藜各部位总皂苷的分布与动态

各生境下蒺藜的根、茎、叶、果中蒺藜总皂苷量的动态变化见图3。由图可见各生境中蒺藜各部位总皂苷质量分数均大致呈先上升后下降的趋势;

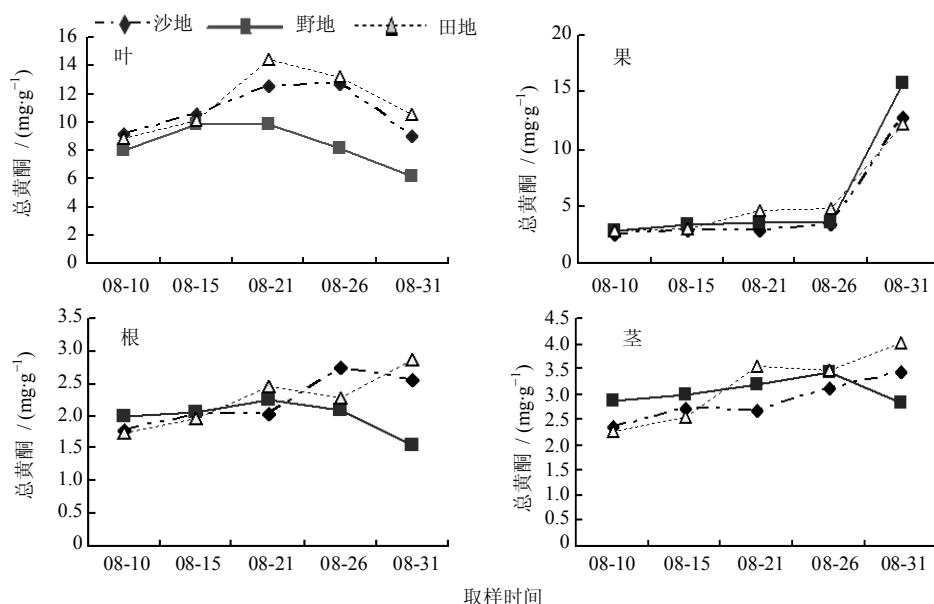


图2 不同生境中蒺藜根、茎、叶、果中总黄酮质量分数的动态变化

Fig. 2 Dynamic changes of total flavonoids contents in roots, stems, leaves, and fruits of *T. terrestris* from different habitats

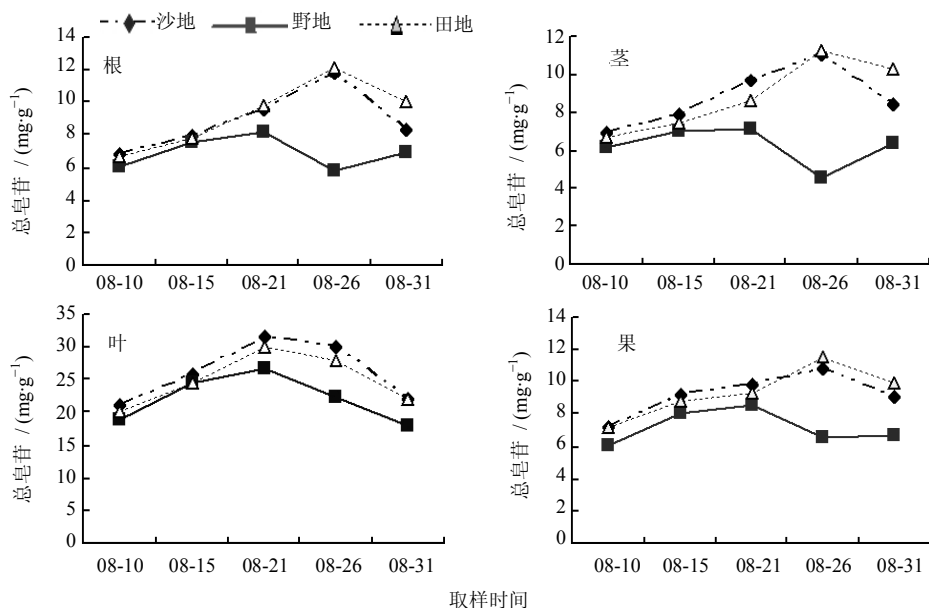


图3 不同生境蒺藜根、茎、叶、果中总皂苷质量分数的动态变化

Fig. 3 Dynamic changes of total saponins contents in roots, stems, leaves, and fruits of *T. terrestris* from different habitats

仅野生蒺藜总皂苷变化较为特殊,从整个生育期内的长期观测来看,野生蒺藜根、茎中总皂苷在8月21达到峰值后呈波动下降的趋势,以8月中、下旬波动最为剧烈,由于野生生境下蒺藜来源于没有人为干扰的沙丘,自然降水少,且沙土保水、保肥能力较差,因此,这种剧烈的波动是否是由生境造成的还需要更多的研究来加以说明。此外,相较于总黄酮,总皂苷的动态变化没有出现3种生境中根、茎、叶、果各部位峰值分别出现的现象,相对有规律。从总皂苷在各部位分布可知,蒺藜总皂苷主要集中在叶片中,高峰期其质量分数超过全草的50%,根、茎、果中各皂苷相对量仅为16%~18%,表明叶片是蒺藜皂苷的主要积累场所,在蒺藜的开发利用中应当予以重视。

4 讨论

在8月中、下旬,蒺藜果实中总黄酮和总皂苷类物质的积累动态是不一致的。在传统的蒺藜采收期内,黄酮类物质还没有达到积累高峰,而总皂苷类物质积累已经达到峰值并开始下降。总黄酮和总皂苷两类成分积累动态不同的原因可能与其合成途径不同有关:总皂苷中以甾体皂苷为主,其合成途径为甲戊二羟酸途径,由乙酰辅酶A聚合生成,其主要来源于糖酵解—三羧酸循环(EMP-TCA循环);而总黄酮则由莽草酸途径以及莽草酸和乙酸混合途径分支合成,其合成前体物质为苯丙氨酸,主要来源于磷酸戊糖(PPP)途径。其次,环境条件在次生代谢产物合成和积累中具有重要的诱导作用,同一环境因子对不同植物、不同物质的诱导作用可能不同,不同物质与环境因子之间的响应也存在很大差异,因此,次生代谢产物的积累曲线因合成途径、环境因子等因素的影响呈现出不同的动态变化^[10],故以蒺藜总皂苷质量分数确定的最佳采收期并不适用于总黄酮类物质,应根据目标成分的变化、实际生产的需要等,灵活掌握蒺藜的最适采收时间。

根据3种生境中总黄酮、总皂苷在各部位的动态分布研究,发现蒺藜叶片中含有丰富的皂苷和黄酮类物质,而传统的中药蒺藜与临床应用的蒺藜均是指蒺藜的果实,在采收过程中大量蒺藜叶片被当作废料而丢弃。因此,为了实现资源的合理利用和利用效率的最大化,在采收和加工的过程中应当重视蒺藜叶片的采集、保存与利用。

参考文献

- [1] 李君玲,杨松松.蒺藜皂苷化学及药理研究概况[J].中医学刊,2006,24(8):1509-1511.
- [2] 刘雪梅.脑缺血再灌注神经元损伤过程及心脑血管胶囊干预作用环节的研究[D].北京:北京中医药大学,2007.
- [3] 孙斌,瞿伟菁,柏忠江.蒺藜皂苷对乳腺癌细胞Bcap-37的体外抑制作用[J].中药材,2003,26(2):104-106.
- [4] 成之福,张桂英,祝英坤,等.蒺藜皂苷对D-半乳糖衰老模型小鼠的作用[J].中国医院药学杂志,2007,27(9):1228-1230.
- [5] Adimoelja A. Phytochemicals and the breakthrough of traditional herbs in the management of sexual dysfunctions[J]. *Int J Androl*, 2002, 23(2): 82-84.
- [6] 张静赞,李炜,杨飞快,等.蒺藜全草中甾体皂苷和总黄酮醇苷量的研究[J].中草药,2010,41(5):829-832.
- [7] 孔国珍,张洁,马百平.蒺藜中甾体皂苷类化学成分及其药理活性研究进展[J].中草药,2007,38(7):1111-1115.
- [8] 王云,韩继举,赵晓民,等.蒺藜总黄酮对大鼠血小板黏附和聚集功能的影响[J].中国医院药学杂志,2011,31(20):1714-1716.
- [9] 韩梅,杨利民,韩大勇,等.蒺藜适宜种植密度与最佳采收期研究[J].中国中药杂志,2008,33(7):750-753.
- [10] 苏文华,张光飞,李秀华,等.植物药材次生代谢产物的积累与环境的关系[J].中草药,2005,36(9):1415-1418.