

杠柳根皮、茎皮中元素累积及其与活性成分相关性研究

李国辉¹, 张春艳², 李天祥^{1*}, 李庆和¹, 张伯礼¹

1. 天津中医药大学, 天津 300193

2. 天津市滨海新区塘沽中医医院, 天津 300450

摘要: 目的 测定不同采收期杠柳 *Periploca sepium* 根皮、茎皮中 Mn、Cu、Zn、Fe、K、Ca、Mg 量, 探究元素累积变化规律及其与活性成分杠柳毒苷、4-甲氧基水杨醛的相关性, 揭示影响 2 种成分累积的主导元素。方法 电热板湿法消解, 火焰原子吸收测定元素量, SPSS 19.0 处理数据。结果 7 种无机元素在根皮、茎皮中分布具有一定的差异性。根皮中 Ca 与杠柳毒苷, Fe 与 4-甲氧基水杨醛的累积趋势基本同步, 茎皮中 Fe 与 4-甲氧基水杨醛, Ca 与 Mg 的累积趋势相近, 呈“双峰”型。基于杠柳毒苷, 在根皮中与 Ca 呈极显著正相关, 在茎皮中与 Zn 呈显著负相关。基于 4-甲氧基水杨醛, 在根皮中与茎皮中 4-甲氧基水杨醛、Fe 呈极显著正相关, 与茎皮中 Mn 呈显著负相关, 与根皮中 Fe 呈显著正相关; 在茎皮中与根皮、茎皮中 Fe 呈极显著正相关。结论 Ca、Zn、Fe、Mn 是杠柳 2 种活性成分累积的关键元素, 其中杠柳毒苷的主要影响元素为根皮 Ca 及茎皮 Zn, 间接影响元素为根皮 Mg, 4-甲氧基水杨醛的主要影响元素为 Fe 及茎皮 Mn, 茎皮 Ca、Mg 为其间接影响元素。

关键词: 杠柳; 元素; 杠柳毒苷; 4-甲氧基水杨醛; 累积变化

中图分类号: R282.21

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2014)12-1775-05

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2014.12.024

Correlation between elements accumulation and active components in velamen and stem bark of *Periploca sepium*

LI Guo-hui¹, ZHANG Chun-yan², LI Tian-xiang¹, LI Qing-he¹, ZHANG Bo-li¹

1. Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China

2. Tianjin Binhai New Area Tanggu Traditional Chinese Medicine Hospital, Tianjin 300450, China

Abstract: Objective To study the dynamic variation of Mn, Cu, Zn, Fe, K, Ca, and Mg in velamen and stem bark of *Periploca sepium* and their correlation with the elements such as periplocin and 4-methoxysalicylic aldehyde in different harvesting periods, and to reveal dominant factors on the accumulation of two active components. **Methods** The contents of periplocin and 4-methoxysalicylic aldehyde were detected by FAAS and electric heating wet digestion, and the data were analyzed by SPSS 19.0. **Results** The seven elements were varied widely in velamen and stem bark. The variation trends of Ca and periplocin, Fe and 4-methoxysalicylic aldehyde in velamen were similar, equally, those of Fe and 4-methoxysalicylic aldehyde, Ca and Mg in stem bark were similar and like double peaks. Periplocin has highly significant positive correlation with Ca in velamen and significant negative correlation with Zn in stem bark. To 4-methoxysalicylic aldehyde, when in velamen, it has highly significant positive correlation with 4-methoxysalicylic aldehyde and Fe in stem bark, significant negative correlation with Mn in stem bark, and significant positive correlation with Fe in velamen; when in stem bark, it has highly significant positive correlation with Fe in both velamen and stem bark. **Conclusion** Ca, Zn, Fe, and Mn are dominant elements of accumulation, the key factors for periplocin are Ca in velamen and Zn in stem bark, and Mg in velamen is indirect acting factors; The key factors for 4-methoxysalicylic aldehyde are Mn in stem bark and Fe, Ca and Mg in stem bark are indirect acting factors.

Key words: *Periploca sepium* Bge.; elements; periplocin; 4-methoxysalicylic; accumulative variation

杠柳 *Periploca sepium* Bge. 为萝藦科植物, 根皮习称香加皮, 功能祛风湿、强筋骨, 《中国药典》2010 年版规定其质控指标 4-甲氧基水杨醛不得少

于 0.20%^[1]。随着香加皮的强心^[2]、抗肿瘤^[3]等药理作用^[4]不断被发现, 市场需求量日益增加。前期研究以 4-甲氧基水杨醛及强心成分杠柳毒苷为指标,

收稿日期: 2014-02-24

基金项目: 天津市科技支撑计划项目 (10ZCZDSY12400); 生多调查 (环): 第四次全国中药资源普查天津试点

作者简介: 李国辉 (1989—), 男, 硕士研究生, 研究方向为中药质量控制与资源开发。E-mail: liguohui815@163.com

*通信作者 李天祥 (1968—), 男, 副教授。Tel: (022)59596292 E-mail: litianxiang612@sina.com

考察其在不同部位的累积变化,发现基于杠柳毒苷,茎皮可作为新药部位^[5]。无机元素为植物体次生代谢关键酶、辅酶的影响因子,对活性成分的合成累积发挥重要的调节作用,本研究拟通过对不同采收期杠柳根皮、茎皮中 Mn、Cu、Zn、Fe、K、Ca、Mg 进行测定,明确不同无机元素的累积变化趋势;结合前期考察数据,使用 SPSS 19.0 分析元素与活性成分间的相关性,以阐明影响杠柳活性成分的元素关键因子,为杠柳的栽培、质量提高及资源开发奠定基础。

1 材料与仪器

1.1 材料

样品于 2011 年 5 月至 11 月采自天津蓟县下营镇,以半月为节点平行采样,其基原植物经天津中医药大学李天祥副教授鉴定均为萝藦科植物杠柳 *Periploca sepium* Bge.。样品于 40 °C 减压真空干燥 4 h,粉碎,过 60 目筛待测。

1.2 仪器与试剂

ICE 3500 原子吸收光谱仪(美国 Thermo Fisher Scientific 公司);EH35A plus 电加热板(Lab-Tech 公司);空心阴极灯(北京曙光电子光源仪器有限公司);FA 2104 电子天平(上海舜宇恒平科技仪器有限公司);SB25—12DT 超声波清洗机(宁波新芝生物科技股份有限公司);DFZ—6050 型真空干燥箱(上海新苗医疗器械制造有限公司)。

元素 Fe、Mn、Cu、Zn、K、Ca、Mg 标准溶液,离子质量浓度均为 1 000 μg/mL,购于天津傲然精细化工研究所;GBW 07603-生物成分分析-灌木枝叶成分分析标准物质,购于中国地质科学院地球物理地球化学勘察研究所;硝酸、高氯酸均为优级纯;实验用水为娃哈哈纯净水。

2 方法

2.1 样品的制备与测定

精确称取 0.5 g 试样于 50 mL 聚四氟乙烯烧杯

中,1 mL 纯净水润湿后加入 10 mL 硝酸-高氯酸(4:1)混合酸,盖上表面皿置于通风橱内浸泡过夜。次日于 100 °C 电热板上消解 2 h,中间补加硝酸 3 mL,然后 120、140 °C 各消解 2 h,2 mL 硝酸冲洗表面皿,继续加热至剩 1 mL 左右时加入硝酸 1 mL,赶酸至白烟冒尽,取下用 1%硝酸趁热冲洗烧杯壁,转移定容至 50 mL。同时消解质控样灌木枝叶标准物质及全程序空白,所有样品采用平行双样。

采用火焰原子吸收光谱法测定供试液中元素量,若质量浓度超出线性范围,以 1%硝酸对试样及空白溶液稀释后测定。每份样品重复测定 3 次,取算术平均值。

2.2 数据分析

数据采用 Excel 及 SPSS 19.0 进行常规处理及相关性分析。

3 结果与分析

3.1 各元素在根皮、茎皮中的量及其分布特征

7 种元素在根皮、茎皮中均有分布,其中以大量元素 Ca、K 的量最多,Mg、Fe 次之,Cu、Zn 的量较少且相当,根皮中各元素量大小顺序为 K>Ca>Mg>Fe>Mn>Zn>Cu,茎皮中量顺序则为 Ca>K>Mg>Fe>Mn>Zn>Cu。从根皮、茎皮相对分布系数(根皮/茎皮)可以看出,各元素在两者的分布具有差异性,其中尤以 Fe、Ca、Zn 最明显,Fe 在根皮中有较大分布,而 Ca、Zn 主要存在于茎皮中;K 相对主要分布于茎皮中,根皮、茎皮中元素 Mn、Cu、Mg 量相当,分布并无明显差异,见表 1。

3.2 累积规律考察

3.2.1 杠柳根皮中元素及活性成分的累积变化规律 杠柳根皮中,Ca 与杠柳毒苷的累积趋势显示出较强的一致性,均呈“双峰”型,于 6 月 15 日及 9 月 1 日出现峰值。Fe 与 4-甲氧基水杨醛的变化趋势具有高度的同步性,在 6 月 15 日前,Fe 量的变化较平

表 1 7 种元素在根皮、茎皮中的质量分数及其分布系数(根皮/茎皮)

Table 1 Contents and distribution coefficients of seven elements in velamen and stem bark (velamen / stem bark)

元素	根皮 / (mg·g ⁻¹)	茎皮 / (mg·g ⁻¹)	均值 / (mg·g ⁻¹)	相对分布系数
Mn	0.15	0.18	0.17	0.83
Cu	0.02	0.02	0.02	1.00
Zn	0.02	0.04	0.03	0.50
Fe	2.07	0.76	1.42	2.72
K	12.16	18.13	15.15	0.67
Ca	10.50	23.45	16.98	0.45
Mg	2.59	2.54	2.57	1.02

缓, 4-甲氧基水杨醛无明显变化; 此后杠柳根部对 Fe 的吸收明显增加, 而根皮中 4-甲氧基水杨醛累积量亦明显增加, 在 7 月 1 日达到峰值, 然后均逐步降低, 至 9 月中旬左右, Fe 量与 4-甲氧基水杨醛均又达到新的峰值, 此后, 由于植物体进入枯萎期, 生命活动趋于相对静止, 各质量分数无明显变化。

K 与 4-甲氧基水杨醛的累积变化趋势相似, 不同之处在于 7 月 15 日达到第 1 个累积高峰, 滞后半个月。值得注意的是 K 与 Ca 均在 11 月份达到另 1 个累积高峰, 可能是植株枯萎前将各类营养向根部转移贮藏的体现。Mn、Cu、Zn、Mg 的量较低, 且在整個生长周期中未呈现明显变化, 见图 1。

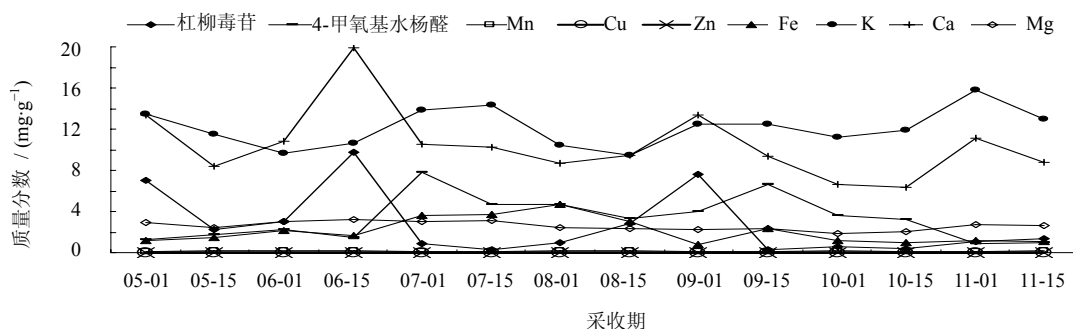


图 1 杠柳根皮中杠柳毒苷、4-甲氧基水杨醛及 7 种元素的累积变化

Fig. 1 Accumulative variations of periplocin, 4-methoxysalicylic aldehyde, and seven elements in velamen of *P. sepium*

3.2.2 杠柳茎皮中元素及活性成分的累积变化规律
杠柳茎皮中, Fe 与 4-甲氧基水杨醛、Ca 与 Mg 的累积趋势相近, 呈“双峰”型。在 7 月 1 日左右植物生长最旺盛时期, 植株对 Ca、Mg、Fe 的吸收逐渐增加至峰值, 同时 4-甲氧基水杨醛的累积量亦达到最大值, 此后, 对 Ca、Mg、Fe 的吸收逐步减缓, 4-甲氧基水杨醛的量无明显变化, 9 月下旬, 根皮

中 Fe 和 4-甲氧基水杨醛出现另一个小高峰, 而 Ca、Mg 的量达到最低后又逐步增加, 推测可能是元素在植物体内按需分配转移的结果。K 的累积趋势总体表现为在 6 月初植物生长旺盛期吸收达到最大, 后呈逐步减少趋势。考察元素与杠柳毒苷累积趋势不一致。Mn、Cu、Zn 的量较低, 且在整個年生长周期中未呈现明显变化, 见图 2。

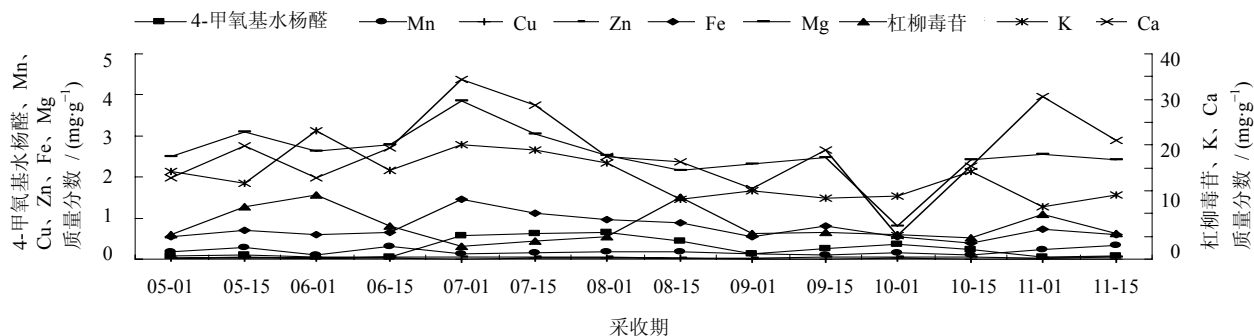


图 2 杠柳茎皮中杠柳毒苷、4-甲氧基水杨醛及 7 种元素的累积变化

Fig. 2 Accumulative variations of periplocin, 4-methoxysalicylic aldehyde, and seven elements in stem bark of *P. sepium*

3.3 相关性分析

3.3.1 杠柳根皮、茎皮中无机元素的相关性分析
由表 2 可知, 根皮中 Mn 与 K 呈极显著负相关, Cu 与 Zn、Ca 与 Mg 呈显著正相关; 茎皮中 Fe 与 Ca、Ca 与 Mg 呈极显著正相关, Fe 与 Mg、K 与 Mg 呈显著正相关; 根皮与茎皮中同种元素表现出极显著正相关, 如 Cu、Fe、Mg; 另外, 茎皮中 Cu 与根皮中 Mn、Zn 呈显著正相关, 与 K 呈显著负相关; 茎

皮中 K 与根皮中 Zn、Mg, 茎皮中 Ca 与根皮中 K、Mg 均呈显著正相关。

3.3.2 无机元素与活性成分间的相关性分析 基于杠柳毒苷, 在根皮中与 Ca 呈极显著正相关, 在茎皮中与 Zn 呈显著负相关; 而根皮中 Ca 与 Mg 呈显著正相关, 故杠柳毒苷的主要影响元素为根皮 Ca 及茎皮 Zn, 其累积受到根皮 Ca 的协同、茎皮 Zn 的拮抗作用, 根皮 Mg 间接影响杠柳毒苷。

基于 4-甲氧基水杨醛,在根皮中与茎皮中 4-甲氧基水杨醛呈极显著正相关,与茎皮中 Fe 呈极显著正相关,与根皮中 Fe 呈显著正相关,与茎皮中 Mn 呈显著负相关;在茎皮中与根皮、茎皮中 Fe 均呈极显著正相关。由上可知,4-甲氧基水杨醛的主要元

素影响因子为 Fe 及茎皮 Mn,其累积受到 Fe 的协同和茎皮 Mn 的拮抗作用。此外,茎皮 Fe 与茎皮中 Ca、Mg 分别呈极显著、显著正相关,故可认为茎皮 Ca、Mg 间接影响 4-甲氧基水杨醛在杠柳根皮、茎皮中的累积(表 2)。

表 2 杠柳根皮、茎皮中无机元素及其与杠柳毒苷、4-甲氧基水杨醛的相关性

Table 2 Correlation between elements and periplocin and 4-methoxysalicylic aldehyde in velamen and stem bark of *P. sepium*

因素	杠柳毒苷		4-甲氧基水杨醛		根皮								茎皮						
	根皮	茎皮	根皮	茎皮	Mn	Cu	Zn	Fe	K	Ca	Mg	Mn	Cu	Zn	Fe	K	Ca	Mg	
杠柳毒苷	根皮	1.000																	
	茎皮	0.108	1.000																
4-甲氧基水杨醛	根皮	-0.396	-0.473	1.000															
	茎皮	-0.501	-0.417	0.723**	1.000														
根皮	Mn	0.250	0.461	-0.266	0.015	1.000													
	Cu	0.218	0.384	-0.045	0.094	0.403	1.000												
	Zn	-0.006	0.172	-0.150	0.132	0.231	0.645*	1.000											
	Fe	-0.356	-0.134	0.605*	0.850**	0.287	0.435	0.348	1.000										
	K	-0.210	-0.470	0.048	-0.032	-0.679**	-0.432	-0.116	-0.146	1.000									
	Ca	0.867**	0.027	-0.251	-0.367	0.251	0.271	-0.048	-0.111	0.016	1.000								
	Mg	0.306	0.048	-0.116	-0.070	0.261	0.400	0.379	0.296	0.231	0.626*	1.000							
茎皮	Mn	0.239	0.162	-0.629*	-0.366	0.464	0.022	-0.016	-0.227	0.087	0.296	0.258	1.000						
	Cu	0.233	0.359	-0.263	0.165	0.601*	0.708**	0.645*	0.296	-0.536*	0.153	0.213	0.139	1.000					
	Zn	-0.185	-0.644*	0.175	0.229	-0.263	-0.172	-0.128	0.014	0.198	-0.083	-0.036	0.090	-0.172	1.000				
	Fe	-0.336	-0.246	0.686**	0.737**	0.066	0.127	0.087	0.817**	0.235	-0.014	0.403	-0.110	-0.011	0.017	1.000			
	K	0.025	-0.099	0.256	0.289	0.226	0.291	0.554*	0.473	-0.154	0.142	0.613*	-0.308	0.300	0.109	0.371	1.000		
	Ca	-0.258	-0.134	0.226	0.239	-0.152	-0.023	-0.011	0.415	0.591*	0.137	0.597*	0.218	-0.344	0.171	0.702**	0.210	1.000	
	Mg	0.033	-0.083	0.256	0.133	-0.029	0.199	0.254	0.392	0.309	0.285	0.695**	0.104	-0.182	0.140	0.617*	0.533*	0.823**	1.000

* $P<0.05$ ** $P<0.01$

4 讨论

金属元素参与植物体内正常生理代谢活动从而调控次生代谢产物的合成及累积。元素 Zn 和 Mo 可以通过促进甘草酸生物合成关键酶基因的表达及甘草酸前体物角鲨烯的生成,最终提高甘草酸的合成累积^[6]。在杠柳不定根生长的指数末期加入浓度均为 0.05 mmol/L 的诱导子 Ag⁺和 La³⁺能显著提高杠柳毒苷的累积量。Fe 是叶绿素合成所必须的元素,同时,许多含铁物质是重要的电子传递者或催化剂,参与植物体内多种代谢。本研究发现,杠柳中 Fe 与 4-甲氧基水杨醛累积量呈显著正相关,推测 Fe 可有效激活 4-甲氧基水杨醛生物合成途径中关键酶的基因表达。植物对元素的吸收是有限度的,一定范围内,随着生长基质中元素浓度的增加而增强,但是过高浓度会影响其他元素的吸收平衡,不利于植株生长,甚至死亡。因此,需通过

可控实验考察在杠柳不同生长阶段施用 Fe 元素最佳浓度水平、配比以及施肥方式,如叶面喷洒或土壤条施等。

《中国药典》2010 年版^[1]以及《药用植物及制剂外经贸绿色行业标准》^[7]均规定,中药材重金属限量指标 Cu≤0.02 mg/g。杠柳根皮、茎皮中的 Cu 平均量均为 0.02 mg/g,存在含量超标的隐患。在考察中发现茎皮中 Cu 与根皮中 K 呈显著性拮抗,茎皮中 Cu 与根皮中 Cu 协同作用极显著,且根皮、茎皮中的 Cu 量与杠柳毒苷和 4-甲氧基水杨醛无明显关系,故可考虑在某阶段增施一定量钾肥以抑制杠柳对 Cu 元素的吸收,降低重金属对药材质量的影响。

本实验仅考察了 7 种无机元素,在下一步的研究中应考察其他无机元素对杠柳的生长及多种次生代谢产物累积的影响,研究范畴不仅仅局限于营

养元素的量,元素间的配比、重金属元素及环境因素^[8]的胁迫作用等因素均有待深入研究,以提高和控制药材质量。

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2010.
- [2] 李玉红,高秀梅,张伯礼,等. 香加皮提取物对离体心脏心功能的影响 [J]. 辽宁中医学院学报, 2005, 7(4): 396-397.
- [3] 张 静,单保恩,刘刚叁,等. 香加皮提取物抗肿瘤活性的研究 [J]. 癌变•畸变•突变, 2006(2): 108-111.
- [4] 阎雪梅. 香加皮的化学成分药理作用及临床应用研究进展 [J]. 天津药学, 2011, 23(5): 48-52.
- [5] 张春艳,李国辉,李天祥,等. 不同生长期杠柳各部位活性成分的累积变化 [J]. 中草药, 2012, 43(12): 2508-2511.
- [6] 梁新华. 微量元素对甘草中甘草酸形成与积累影响的研究 [D]. 北京: 北京林业大学, 2010.
- [7] WM/T 2-2004 药用植物及制剂外经贸绿色行业标准 [S]. 2005.
- [8] 蒋 妮,覃柳燕,李 力,等. 环境胁迫对药用植物次生代谢产物的影响 [J]. 湖北农业科学, 2012, 51(8): 1528-1532.