

## 不同栽培龄期光果甘草不同部位总黄酮含量的分析

李娜<sup>a</sup>, 陆嘉惠<sup>a,b,c,①</sup>, 田润炜<sup>a</sup>, 秦忠立<sup>a</sup>, 李学禹<sup>c</sup>

(石河子大学: a. 生命科学学院, b. 新疆生产建设兵团绿洲生态农业重点实验室, c. 甘草研究所, 新疆 石河子 832003)

**Analysis of total flavonoids content in different parts of *Glycyrrhiza glabra* with different cultivated ages** LI Na<sup>a</sup>, LU Jia-hui<sup>a,b,c,①</sup>, TIAN Run-wei<sup>a</sup>, QIN Zhong-li<sup>a</sup>, LI Xue-yu<sup>c</sup> (Shihezi University: a. College of Life Science, b. The Key Laboratory of Oasis Eco-agriculture, Xinjiang Production and Construction Group, c. Institute of Licorice, Shihezi 832003, China), *J. Plant Resour. & Environ.* 2012, 21(2): 114-116

**Abstract:** The total flavonoids content in different parts (leaf, stem, root and rhizome) of two-year-old and eight-year-old cultivated *Glycyrrhiza glabra* L. collected in April, June, August and October were determined by UV-visible spectrophotometry method. The result shows that the average content of total flavonoids of two-year-old and eight-year-old plants reaches the highest in June with the average content of 35.55 and 39.97 mg · g<sup>-1</sup>, respectively. According to the average content of total flavonoids in different parts of two ages plants, the order from the highest to the lowest is basically same, all appear that upper leaf is the highest, middle leaf is the second, different under-ground parts are middle, and lower stem is the lowest. The comprehensive analysis results indicate that there are no obvious differences in change regularity of total flavonoids content in *G. glabra* with different cultivated ages. Two-year-old cultivated *G. glabra* could be harvested, the optimal harvesting time is October, and the harvesting parts are leaf and under-ground part.

**关键词:** 光果甘草; 总黄酮含量; 叶; 采收期

**Key words:** *Glycyrrhiza glabra* L.; total flavonoids content; leaf; collection time

中图分类号: Q946.8; R282.4; S567.23+9 文献标志码: A 文章编号: 1674-7895(2012)02-0114-03

光果甘草(*Glycyrrhiza glabra* L.)为甘草属(*Glycyrrhiza* L.)多年生草本植物,是药用甘草的原植物之一<sup>[1]</sup>。甘草属植物所含的黄酮类成分具有抗血栓、抗氧化、抗肿瘤、抗衰老、增加白细胞、抗动脉硬化、抗心律失常和抑制 HIV 等作用<sup>[2-5]</sup>;光果甘草中的黄酮类成分光甘草定具有良好的抗氧化、抗炎及抗菌作用,应用前景广阔<sup>[6]</sup>。目前关于光果甘草总黄酮含量已有一些报道<sup>[7-8]</sup>,但有关生长年限对栽培光果甘草总黄酮含量的影响却很少报道<sup>[9-10]</sup>,尤其是对不同栽培龄期光果甘草在不同采集时间各部位总黄酮含量的变化规律缺乏较全面的研究,致使光果甘草药材生产缺乏有力的理论指导依据。

作者采用超声提取及紫外-可见分光光度法对不同采集时间2年生和8年生光果甘草各部位的总黄酮含量进行了测定,以期确定为合理的光果甘草采收龄、采收期和采收部位提供科学依据。

### 1 材料和方法

#### 1.1 材料

供试2年生和8年生光果甘草均栽植于石河子大学甘草

资源圃,由石河子大学甘草研究所李学禹教授鉴定。分别于2010年4月、6月、8月和10月(即萌芽期、生长期、花果期和枯萎期)各采集10株生长状况一致的植株为样株(地上部分从6月份开始采收),将样株分为叶、茎、水平根茎、垂直根茎、主根、侧根和毛根7个部位,并按茎的节数将茎平均分为上部茎、中部茎和下部茎3个部位,着生于上部茎和中部茎上的叶片为上部叶和中部叶(下部茎上的叶片因栽培过密几乎全部脱落,未进行实验),总计10个部位的样品。将同一部位样品混合均匀后置于40℃烘箱中烘干,粉碎并过60目筛,粉末置于干燥闭光处保存、备用。

所用的仪器及试剂和甘草苷标准品批号及来源与文献[11]相同。

#### 1.2 方法

1.2.1 标准曲线的绘制 参照文献[11-12]采用紫外-可见分光光度法测定标准品溶液的吸光值并绘制标准曲线。精密称取干燥至恒质量的甘草苷标准品5.0 mg,用甲醇溶解并定容至5 mL,配制成质量浓度1.0 mg · mL<sup>-1</sup>的甘草苷标准品储备液。精密吸取0、20、40、60、80、100和120 μL甘草苷标准品储备液,依次加入500 μL甲醇和250 μL质量体积分数10%

收稿日期: 2011-09-09

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30760028); 石河子大学研究生创新基金重点项目(YJXC2010-Z03)

作者简介: 李娜(1983—),女,山东成武人,硕士研究生,主要从事资源植物研究。

①通信作者 E-mail: ljhzwtom.com

KOH,摇匀后于室温下静置5 min,用甲醇定容至5 mL,于波长334 nm处测定溶液的吸光值,空白液为250  $\mu\text{L}$ 质量体积分数10% KOH和3.75 mL甲醇的混合溶液。

以吸光值为纵坐标 $y$ 、甘草苷质量浓度为横坐标 $x$ 绘制标准曲线,获得的标准曲线回归方程为: $y=0.0629x-0.0040$ , $r^2=0.9992$ ,甘草苷质量浓度在4.0000~24.0000  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 范围内线性关系良好。

1.2.2 样品溶液制备及测定 分别精密称取各样品粉末25.0 mg,参照文献[11]的方法提取并制备各样品的总黄酮提取液。精密吸取各部位的总黄酮提取液250  $\mu\text{L}$ ,按标准曲线测定程序于334 nm处测定溶液的吸光值,根据标准曲线计算总黄酮含量。每个样品设3次重复。

1.2.3 方法学考察 取2010年4月9日采集的2年生栽培光果甘草主根的总黄酮提取液250  $\mu\text{L}$ ,按标准曲线测定程序进行处理并测定吸光值,连续测定6次, $RSD$ 为1.52%,表明仪器精密度良好。

精密称取2010年4月9日采集的2年生栽培光果甘草主根粉末6份,每份25.0 mg,按上述方法制备总黄酮提取液并测定溶液的吸光值, $RSD$ 为1.98%,表明本方法的重现性较好。

精密称取2010年4月9日采集的2年生栽培光果甘草主根粉末6份,每份25.0 mg,按上述方法制备总黄酮提取液,采用标准曲线测定程序进行处理并分别于0、5、10、20、30和

40 min测定溶液的吸光值。随时间延长,吸光值逐渐降低,但吸光值在5~30 min内相对稳定, $RSD$ 为1.85%,故确定测定时间为5~30 min。

取总黄酮含量已知的2010年4月9日采集的2年生栽培光果甘草主根提取液6份,分别加入20、40、60、80、100和120  $\mu\text{L}$ 甘草苷标准品储备液,按上述标准曲线测定程序进行处理并测定溶液的吸光值。回收率为96.34%~102.44%,平均加样回收率为98.93%, $RSD$ 为2.10%。

## 2 结果和讨论

不同采集时间2年生和8年生栽培光果甘草各部位总黄酮含量见表1。

由表1可见:2年生植株总黄酮含量的平均值以6月份最高(35.55  $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ),10月份次之(34.55  $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ),4月份最低(18.05  $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ )。不同采收期各部位的总黄酮含量均为上部叶最高,中部叶次之,各地下部位居中,下部茎最低;不同部位按4个采收期总黄酮含量平均值从高至低依次排序为:上部叶、中部叶、毛根、水平根茎、侧根、主根、垂直根茎、上部茎、中部茎、下部茎。其中,2年生植株上部叶总黄酮含量的平均值最高,达到111.53  $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ;下部茎总黄酮含量的平均值最低,仅为4.22  $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 。

表1 不同采收期2年生和8年生栽培光果甘草各部位总黄酮含量的比较<sup>1)</sup>

Table 1 Comparison of total flavonoids content in different parts of two-year-old and eight-year-old cultivated *Glycyrrhiza glabra* L. at different collection times<sup>1)</sup>

部位 Part	2年生植株不同采收期(MM-DD)总黄酮含量/ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ Total flavonoids content of two-year-old plants at different collection times (MM-DD)					8年生植株不同采收期(MM-DD)总黄酮含量/ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ Total flavonoids content of eight-year-old plants at different collection times (MM-DD)				
	04-09	06-06	08-10	10-09	M	04-11	06-13	08-11	10-10	M
UL	-	113.60	103.44	117.64	111.56	-	124.11	107.97	60.18	97.42
ML	-	75.74	75.71	92.63	81.36	-	96.23	78.44	50.90	75.19
US	-	16.89	9.06	15.81	13.92	-	24.64	11.53	8.39	14.85
MS	-	5.88	4.43	4.90	5.07	-	13.46	8.44	4.32	8.74
LS	-	5.12	2.87	4.68	4.22	-	6.02	6.70	3.25	5.32
MR	12.82	24.16	16.26	15.89	17.28	22.02	20.70	17.51	12.44	18.17
LR	16.05	33.49	16.91	19.21	21.42	31.68	25.53	19.35	25.47	25.51
VRH	17.03	15.48	13.33	19.43	16.32	20.21	15.04	19.83	17.02	18.03
HRH	21.30	29.62	23.32	24.28	24.63	29.46	26.25	24.97	21.06	25.44
HR	23.03	-	26.22	31.05	26.77	37.70	47.67	38.73	19.00	35.78
M	18.05	35.55	29.16	34.55	-	28.21	39.97	33.35	22.20	-

<sup>1)</sup> UL: 上部叶 Upper leaf; ML: 中部叶 Middle leaf; US: 上部茎 Upper stem; MS: 中部茎 Middle stem; LS: 下部茎 Lower stem; MR: 主根 Main root; LR: 侧根 Lateral root; VRH: 垂直根茎 Vertical rhizome; HRH: 水平根茎 Horizontal rhizome; HR: 毛根 Hair root; M: 平均值 Average. - : 未检出 Undetected.

由表1还可见:8年生植株总黄酮含量的平均值以6月份最高(39.97  $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ),8月份次之(33.35  $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ),10月份最低(22.20  $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ )。不同采收期各部位的总黄酮含量均为上部叶最高,中部叶次之,各地下部位居中,下部茎最低;不同

部位按4个采收期总黄酮含量平均值从高至低依次排序的顺序与2年生光果甘草基本一致,也表现为上部叶最高(97.42  $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ),下部茎最低(5.32  $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ )。

上述测定结果表明:2年生和8年生栽培光果甘草各部位

总黄酮含量的平均值均为6月份最高,且2种龄期植株的总黄酮含量无明显差异,分别为35.55和39.97  $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ,所以2年生栽培光果甘草也可以作为药材的采收对象。但6月份是植株的旺盛生长期,此时采收对植株的继续生长有影响,因此,建议将2年生栽培光果甘草的采收时间安排在总黄酮含量较高(34.55  $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ )的10月份。

光果甘草为多年生草本植物,在传统中药材生产过程中,通常在植株生长3~4 a后的秋季采挖其根及水平根茎作为甘草药材的主要来源,而忽略了地上部分的药用价值。本研究结果表明:2年生和8年生栽培光果甘草叶片特别是上部叶片的总黄酮含量均最高。这与不同种类植物体内总黄酮含量的分布状况相似<sup>[13-14]</sup>,据此推测叶片可能是植物合成黄酮类成分的主要器官。因此,光果甘草地上部分特别是叶片也可适时采收作为甘草药材的原料。

综上所述,若以黄酮类成分为采收目的,2年生光果甘草就可作为采收对象,最佳采收期为10月份,采收部位为叶和地下部位。因不同龄期光果甘草植株叶片的总黄酮含量无显著差异,因此可每年采收。

#### 参考文献:

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2005年版(一部)[M]. 北京: 化学工业出版社, 2005: 59-60.

[2] TAMIR S, EIZENBERG M, SOMJEN D, et al. Estrogen-like activity of glabrene and other constituents isolated from licorice root [J]. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 2001, 78(3): 291-298.

[3] CINATL J, MORGENSTERN B, BAUER G, et al. Glycyrrhizin, an active component of liquorice roots, and replication of SARS-associated coronavirus[J]. *The Lancet*, 2003, 361: 2045-2046.

[4] AVIRAM M. Flavonoids-rich nutrients with potent antioxidant

activity prevent atherosclerosis development: the licorice example [J]. *International Congress Series*, 2004, 1262: 320-327.

[5] JACKSON K M, DELEON M, VERRET C R, et al. Dibenzoylmethane induces cell cycle deregulation in human prostate cancer cells[J]. *Cancer Letters*, 2002, 178(2): 161-165.

[6] 李 佳, 宋新波, 余保林, 等. 高效液相色谱法测定光果甘草中光甘草定的含量[J]. *天津中医药*, 2008, 25(2): 157-158.

[7] 王裔惟, 丁家宜, 周倩耘, 等. 光果甘草毛状根培养过程中对活性氧清除能力和总黄酮含量的变化[J]. *植物资源与环境学报*, 2004, 13(2): 6-9.

[8] 马淑燕, 木合布力·阿布力孜, 季晓娟, 等. 新疆甘草总黄酮的提取精制和含量测定[J]. *西北药学杂志*, 2008, 23(5): 276-278.

[9] 刘 红, 郁晓艺, 汪河滨, 等. 人工栽培光果甘草不同根系黄酮含量的测定[J]. *西北药学杂志*, 2005, 20(1): 11-12.

[10] 廖云海, 陆嘉惠, 李 娜, 等. 光果甘草营养器官结构及其总黄酮的组织化学定位和含量研究[J]. *西北植物学报*, 2010, 30(12): 2406-2411.

[11] 李 娜, 陆嘉惠, 秦忠立, 等. 光果甘草营养器官不同季节总黄酮消长规律的研究[J]. *西北植物学报*, 2012, 32(1): 162-165.

[12] 冯 薇, 王文全, 赵平然. 甘草总黄酮含量测定方法研究[J]. *时珍国医国药*, 2007, 18(11): 2608-2610.

[13] 李卫东, 张学静, 侯俊玲, 等. 甘草不同器官总黄酮和多糖含量动态变化及其茎叶开发意义[C]//中国中药杂志社. 《中国中药杂志》第九届编委会暨中药新药研发理论与技术创新论坛论文集. 北京: 中国中药杂志社, 2009: 147-149.

[14] 邵美红, 林 兵, 孙加焱, 等. 不同品种苦荞麦不同器官总黄酮含量的比较分析[J]. *植物资源与环境学报*, 2011, 20(1): 86-87.

(责任编辑: 佟金凤)

## 《植物资源与环境学报》启事

为了扩大科技期刊的信息交流,充分实现信息资源共享,《植物资源与环境学报》已先后加入“中国学术期刊(光盘版)”、“万方数据——数字化期刊群”和“中文科技期刊数据库”等数据库,因此,凡在本刊发表的论文将编入数据库供上网交流、查阅及检索,作者的著作权使用费与本刊稿酬一次性给付,不再另付。如作者不同意将文章编入数据库,请在来稿时声明,本刊将做适当处理。

《植物资源与环境学报》编辑部

2012-05