

不同采收期栽培甘松的产量和质量研究

张宇霞^{1,2}, 马世震^{1*}, 冯海生¹, 李彩霞¹, 王统霞³

¹中国科学院西北高原生物研究所 中国科学院藏药研究重点实验室, 西宁 810001;

²中国科学院大学, 北京 100049; ³青海益欣药业有限责任公司, 西宁 810003

摘要: 通过测定甘松地下部分产量、生长指标, 采用水蒸气蒸馏法测定挥发油含量, 高效液相色谱法测定甘松新酮含量, 分析栽培甘松产量及有效成分(挥发油、甘松新酮)的变化规律。结果显示, 甘松长度、鲜重及干重在5月份至9月份均呈增加趋势, 三年生甘松鲜重及干重均高于二年生, 但长度却低于二年生甘松; 挥发油含量在7月份出现最大值, 且二年生与三年生甘松差异不大; 三年生甘松的甘松新酮含量明显高于二年生, 且9月份含量最高。产量、挥发油含量、甘松新酮含量出现的高峰时期不一致, 以有效成分的绝对含量和根部生物学产量可以确定栽培甘松最佳采收期为三年生9月份。

关键词: 甘松; 采收期; 产量; 挥发油; 甘松新酮

中图分类号: R932

文献标识码: A

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2015.S.023

Study on Yield and Quality of Cultivated *Nardostachys chinensis* Batal. in Different Harvesting Time

ZHANG Yu-xia^{1,2}, MA Shi-zhen^{1*}, FENG Hai-sheng¹, LI Cai-xia¹, WANG Tong-xia³

¹Northwest Institute of Plateau Biology, Chinese Academy of Sciences/ Key Laboratory of Tibetan

Medicine Research, Northwest Institute of Plateau Biology, Chinese Academy of Sciences,

Qinghai Xining 810001, China; ²University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China;

³Qinghai Yixin pharmaceuticals co., Ltd, Qinghai Xining 810003, China

Abstract: The yield and the growth index of the underground part of cultivated *Nardostachys chinensis* Batal. were calculated and compared. The content of essential oil were determined by steam distillation, and the content of nardosinone were determined by HPLC, and then to analyze the change rule of product and effective constituents (essential oil and nardosinone). The results showed that the length, fresh weight and dry weight increased from May to September. Fresh weight and dry weight of three years growth were higher than that of two years growth, but the length was just the opposite. The content of essential oil was highest in July and there was litter difference between two years growth and three years growth. The content of nardosinone was highest in September, and the content of three years growth was higher than that of two years growth. The fastigiums of product, essential oil content and nardosinone content are different, so the optimal harvest time is September, three years growth according to the absolute content of effective constituents and the product of underground part.

Key words: *Nardostachys chinensis* Batal.; harvest time; product; essential oil; nardosinone

甘松为败酱科植物甘松 (*Nardostachys chinensis* Batal.) 或匙叶甘松 (*N. jatamansi* DC.) 的干燥根及根茎, 具有理气止痛, 开郁醒脾的功能, 可治胃痛、胸腹胀满、头痛、瘕病、脚气等病症^[1]。现代研究表明, 甘松中主要成分为萜类和挥发油^[2], 具有抗心

律失常、影响黑斑产生、诱导神经干细胞选择性表达等药理作用^[3-5]。甘松新酮为倍半萜类化合物, 是甘松的主要有效成分, 也是甘松属植物特有的化学成分, 具有抗抑郁、促进 PC12D 细胞中神经因子诱导的神经突生长、保护神经元^[6-10]等作用。野生甘松的采收期通常为9月份左右, 但关于甘松中有效成分含量的动态变化鲜有报道, 且确定最佳采收期也是 GAP 建设要求的重要内容。所以本文通过分析对比不同采收期甘松生物量、有效成分的含量及当

收稿日期: 2014-12-11 接受日期: 2015-03-19

基金项目: 中国科学院藏药现代化重点实验室重点项目 (Y342910 Z1)

* 通讯作者 Tel: 86-013709763487; E-mail: szma@nwipb.cas.cn

地气候条件等因素,为确定甘松的最佳采收期以及甘松规范化种植与采收提供理论依据。

1 材料与仪器

1.1 材料与试剂

1-10 批栽培甘松来自青海省大通县宝库药材基地,分别为二年生 2013 年 6 月至 10 月、三年生 2014 年 5 月至 9 月每月月底采集,海拔为 2800 m,引种种源为青海省玉树藏族自治州巴塘乡野生种源,栽培种源为第二代自繁种源;第 11 批野生甘松来自青海省玉树藏族自治州巴塘乡,2013 年 9 月份采集,海拔为 3800 m;第 12 批甘松于 2013 年 9 月购自青海省西宁八一路药材市场。本文所用样品均经中国科学院西北高原生物研究所卢学峰教授鉴定为甘松(*Nardostachys chinensis* Batal.)。采回的甘松经除去泥沙等杂质后,在 2 h 内记录其鲜重及长度数据,然后快速洗净泥土,45 °C 下烘干,粉碎待试。

甘松新酮对照品(成都曼斯特生物科技有限公司,批次 MUST-13090901)。甲醇(色谱纯,山东禹王实业有限公司化工分公司),超纯水为实验室自制,其它试剂均为分析纯(天津市百世化工有限公司)。

1.2 仪器与设备

美国 Waters 515 型高效液相色谱仪,包括溶剂管理系统,二极管阵列检测器,Empower 色谱工作站(美国 Waters 公司);KQ100 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);挥发油提取器(上海玻璃仪器厂);MH-1000 型调温型电热套(北京科伟永兴仪器有限公司);ESJ182-4 型电子天平(沈阳龙腾电子有限公司);色谱柱为 Dikma Diamonsil C₁₈(250 mm×4.6 mm,5 μm),Phenomenex Synergi 4μHydro-RP 80A(250 mm×4.6 mm,4 μm),HPLC-PCartridge LIChrosop-Iher 100 RP-180(5 μm)。

2 结果与分析

2.1 栽培甘松地下生物量动态变化

测试结果见图 1。由图 1 可知,二年生栽培甘松地下部分的长度、鲜重及干重在 9 月份之前均呈现增长趋势,10 月份略降低;三年生栽培甘松地下部分的长度、鲜重及干重在 9 月份之前均呈现增长趋势。

2.2 挥发油含量测定

称取甘松样品粉末约 10 g,按照 2010 年版《中

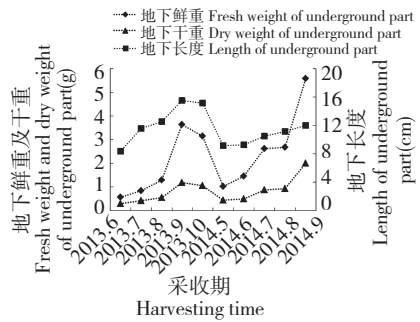


图 1 栽培甘松生物量动态变化

Fig. 1 Biomass dynamic change of the underground part of cultivated *N. chinensis*

国药典》第一部附录 X D 甲法测定挥发油含量,结果测得野生玉树甘松含量为 5.2% (mL/g),市售含量为 3.5% (mL/g)。栽培甘松挥发油含量动态变化见图 2。由图 2 可知,二年生甘松在 6 月份至 7 月份期间,挥发油含量增加较快,7、8 月份达到高峰值 5.0% (mL/g),之后逐渐下降;三年生甘松一年中挥发油含量波动较大,5 月份至 7 月份期间,挥发油含量逐渐增加,7 月份达到高峰值 5.0% (mL/g),至 8 月份期间呈下降趋势,而在 9 月份时挥发油含量又增加,含量为 3.6% (mL/g)。

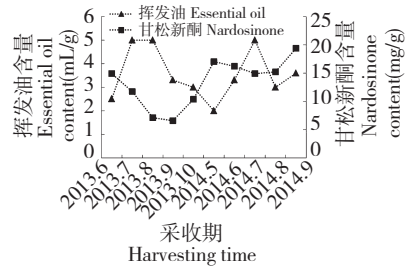


图 2 栽培甘松挥发油及甘松新酮含量动态变化

Fig. 2 The content dynamic change of essential oil and nardosinone of the underground part of cultivated *N. chinensis*

2.3 甘松新酮含量测定

2.3.1 色谱条件

色谱柱为 Dikma Diamonsil C₁₈(250 mm×4.6 mm,5 μm),流动相为甲醇—水(65:35),柱温 30 °C,波长 254 nm,进样量 10 μL。对照品和供试品色谱图见图 3。

2.3.2 对照品溶液的配制

取甘松新酮对照品适量,精密称定,加甲醇制成每 1 mL 含 1.45 mg 的溶液,即得。

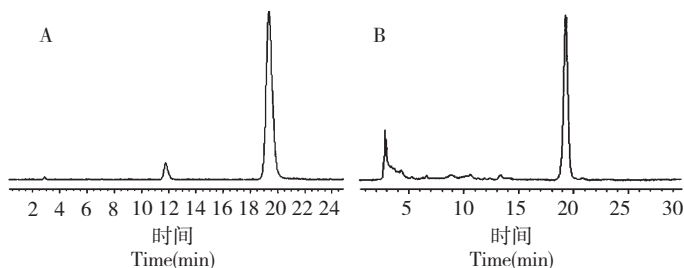


图3 甘松新酮对照品(A)和栽培甘松供试品(B)的HPLC色谱图

Fig. 3 HPLC chromatograms of nardosinone reference substance and cultivated *N. chinensis* sample

2.3.3 供试品溶液的制备

取本品粉末(过四号筛)约0.25 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入甲醇25 mL,密塞,称定重量,超声处理30 min,放冷,再称定重量,用甲醇补足减失的重量,摇匀,滤过,取续滤液,用微孔滤膜(0.45 μm)过滤,得供试品溶液。

2.3.4 标准曲线的制备

精密量取甘松新酮对照品溶液,加甲醇稀释成系列浓度,进样10 μL,记录峰面积值。按“2.1”项下色谱条件分别注入色谱仪测定,以对照品质量浓度对峰面积进行回归,得回归方程 $A = 2.9 \times 106C - 4.6 \times 105$, $r = 0.9955$,结果表明,甘松新酮进样量0.24~2.90 μg与峰面积有良好的线性关系。

2.3.5 精密度试验

取0.145 mg/mL的对照品溶液连续进样5次,测定峰面积,峰面积的RSD=0.15%。

2.3.6 重现性试验

取同一批药材样品5份,按上法平行制备供试品溶液,结果发现甘松新酮含量的RSD=1.72%。

2.3.7 稳定性试验

取供试品溶液,分别于0、2、4、6、8 h测定,结果表明,供试品在8 h内基本稳定,峰面积的RSD=0.29%。

2.3.8 回收率试验

取已知含量的样品(2013年9月玉树样品,甘松新酮含量为14.10 mg/g)5份,每份约0.9 g,精密称定,分别精密加入甘松新酮对照品溶液(0.145 mg/mL)4 mL,按供试品溶液制备方法制备加样回收供试品溶液,结果平均回收率为101.24%,RSD=2.85%。

2.3.9 样品测定

野生玉树及市售甘松中甘松新酮的含量分别为18.17、10.96 mg/g。栽培甘松中甘松新酮含量动态

变化见图2。甘松新酮为挥发性成分,但其含量动态变化趋势却与挥发油差异很大。二年生甘松在9月份之前,甘松新酮含量一直呈下降趋势,9月份以后含量回升;三年生甘松中甘松新酮在8月份时含量最低,而在9月份时急剧增加,含量高达19.39 mg/g,高于引种自玉树野生甘松中甘松新酮的含量。

2.4 栽培甘松最佳采收期确定

生物量以干重计。从上述生物量、挥发油及甘松新酮测试结果得出,三者的变化趋势相差较大,且峰值不在同一时期。挥发油绝对含量=地下干重×挥发油含量,甘松新酮绝对含量=地下干重×甘松新酮含量。综合分析栽培甘松挥发油及甘松新酮绝对含量动态变化,见图4。图中显示,三年生9月份的甘松的挥发油及甘松新酮的绝对含量明显高于其他采收期,所以初步确定该时期为最佳采收期,与野生甘松传统的采收期也较一致。

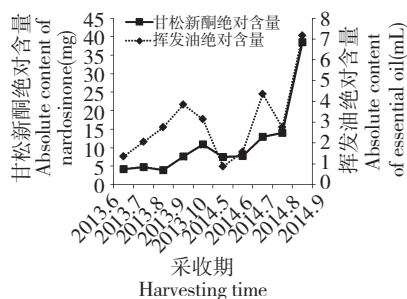


图4 栽培甘松挥发油及甘松新酮绝对含量动态变化

Fig. 4 The absolute content dynamic change of essential oil and nardosinone of the underground part of *N. chinensis*

3 结论

药材的品质与其采收期密切相关,所以在了解和掌握药材生物量和活性成分动态的基础上,确定

药材的最佳采收期非常必要。不同的药材采收期与产地、生长环境、市场需求、用药部位等因素有关,所以中藏药材的采收期如何确定,还需根据实际情况而定。如本文中根据甘松有效成分总量得出其最佳采收期为三年生9月份,但该时期的挥发油含量并不是最高值。药典中记载甘松的用药部位为根或根茎,但市场上流通的大多为全草,全草是否可以完全代替地下部分入药,或者用地上部分来代替地下部分入药,以便更加充分合理的利用药材资源,还需进一步研究。

参考文献

- Jiang Su New Medicine College(江苏新医学院). The Great Herb Dictionary: top volume(中药大辞典:上册). Shanghai: Shanghai Scientific and Technical Publishers, 1985.
- Qiu Q(邱琴), Liu TL(刘廷礼), Cui ZJ(崔兆杰), et al. Extraction oil and analysis of the chemical components of the essential oil of *Nardostachys chinensis* Batal. *J Shandong Univ* (山东大学学报), 1999, 34: 192-197.
- Li XY(李翔宇), Luo J(罗骏), Ge YZ(葛郁芝), et al. Effect of volatile oil of *Nardostachys chinensis* on isolated ventricular myocytes I_k and I_{k1} in rats. *Lishizhen Med Mater Med Res*(时珍国医国药), 2013, 24: 1814-1817.
- Jang JY, Kim HN, Kim YR, et al. Partially purified components of *Nardostachys chinensis* suppress melanin synthesis through ERK and Akt signaling pathway with cAMP down-regulation in B16F10 cells. *J Ethnopharmacol*, 2011, 137: 1207-1214.
- Li ZH, Li W, Shi JL, et al. Nardosinone improves the proliferation, migration and selective differentiation of mouse embryonic neural stem cells. *PLoS one*, 2014, 9: e91260.
- Wu JJ(武姣姣), Shi JL(石晋丽), Tang MK(唐民科), et al. Effects of *Nardostachys Radix et Rhizoma* on the Despair animal models. *Chin J Exp Tradit Med Form* (中国实验方剂学杂志), 2012, 18: 205-207.
- Li W(李玮), Shi JL(石晋丽), Li Q(李琴), et al. Nardosinone reduces neuronal injury by oxygen-glucose deprivation in primary cortical cultures. *Acta Pharm Sin* (药理学报), 2013, 48: 1422-1429.
- Li P, Yamakuni T, Matsunaga K, et al. Nardosinone enhances nerve growth factor-induced neurite outgrowth in a mitogen-activated protein kinase-and protein kinase C-dependent manner in PC12D cells. *J Pharm Sci*, 2003, 93: 122-125.
- Li P, Matsunaga K, Yamamoto K, et al. Nardosinone, a novel enhancer of nerve growth factor in neurite outgrowth from PC12D cells. *Neurosci Lett*, 1999, 273: 53-56.
- Li P, Matsunaga K, Yamakuni T, et al. Nardosinone, the first enhancer of neurite outgrowth-promoting activity of staurosporine and dibutyryl cyclic AMP in PC12D cells. *Dev Brain Res*, 2003, 145: 177-183.
- Chinese Pharmacopoeia Commission(国家药典委员会). Pharmacopoeia of the People's Republic of China(中华人民共和国药典). Beijing: China Medical Science Press, 2010. Vol I, 78-79.
- Xu H(许晖), Sun LP(孙兰萍), Zhang B(张斌), et al. Optimization of supercritical carbon dioxide extraction of almond oil with response surface methodology. *J Chin Cereals Oils Assoc* (中国粮油学报), 2008, 23: 93-98.
- Wang ZH(汪朝晖), Xu NP(徐南平), Shi J(时钧). Application of supercritical fluid technique in the pharmaceutical industry (I) extraction of pharmaceutical and analysis. *Chem Ind Eng Prog*(化工进展), 1996, 2: 32-35.
- Zhang L(张丽), Song LJ(宋丽军), Chen JL(陈计峦), et al. Optimization of supercritical carbon dioxide extraction of walnut oil by response surface method and its physical-chemical properties. *Food Ferment Ind* (食品与发酵工业), 2009, 35(12): 70-73.
- Liu QH, Fu CL. Application of response surface methodology for extraction optimization of germinant pumpkin seeds protein. *Food Chem*, 2005, 92: 701-706.
- Ren F(任飞), Han F(韩发), Shi LN(石丽娜), et al. Application of supercritical CO₂ fluid extraction technology of vegetable oil. *China Oils Fats* (中国油脂), 2010, 35(5): 14-18.
- Liu TJ(刘同举), Min J(闵江), Li SF(李淑芬). Supercritical carbon dioxide extraction of lipid-soluble components from the roots of *Codonopsis pilosula*. *Food Sci* (食品科学), 2010, 31: 145-147.

(上接第 144 页)