

# 闽北林下种植多花黄精的总黄酮含量分析及其生物活性评价

张传海<sup>1,2,\*</sup>, 林志奎<sup>2,3</sup>, 李宝银<sup>2,4</sup>, 华伟平<sup>1,2</sup>, 陈文翰<sup>1</sup>, 杨斌<sup>1</sup>

<sup>1</sup>武夷学院生态与资源工程学院; <sup>2</sup>福建省生态产业绿色技术重点实验室;

<sup>3</sup>武夷学院分析测试中心, 武夷山 354300; <sup>4</sup>福建江夏学院, 福州 350108

**摘要:**以四种不同林分类型的林下种植多花黄精为研究对象,探讨了超声波辅助提取多花黄精总黄酮的提取条件,分析了多花黄精总黄酮的含量变化,并对多花黄精总黄酮的羟基自由基清除能力和牛血清白蛋白结合效应进行了评价。结果表明,多花黄精总黄酮的适宜提取条件为:超声功率 250 W、乙醇体积分数 70%、超声提取时间 20 min、料液比 1:20 (g:mL)。在此优化提取条件下,测得毛竹林下套种多花黄精的总黄酮含量最高,为 (10.30 ± 0.05) mg/g;天然阔叶林、杉木林、人工阔叶林的多花黄精总黄酮含量依次为 (5.11 ± 0.06)、(5.00 ± 0.03)、(5.00 ± 0.05) mg/g。多花黄精总黄酮对羟基自由基的清除率达到 89.38%;对牛血清白蛋白具有一定的荧光淬灭活性,与 BSA 结合作用的指数方程为  $y = 1647 e^{-0.242x}$  ( $R = 0.9969$ )。

**关键词:**多花黄精;林下种植;总黄酮;羟基自由基清除作用;荧光淬灭能力

中图分类号:R931.6

文献标识码:A

DOI:10.16333/j.1001-6880.2018.2.009

## Content Analysis and Bioactivity Evaluation of the Total Flavonoids Extracted from *Polygonatum cyrtoneuma* Cultivated under Forest in North Fujian

ZHANG Chuan-hai<sup>1,2,\*</sup>, LIN Zhi-luan<sup>2,3</sup>, LI Bao-yin<sup>2,4</sup>, HUA Wei-ping<sup>1,2</sup>, CHEN Wen-han<sup>1</sup>, YANG Bin<sup>1</sup>

<sup>1</sup>College of Ecology and Resource Engineering, Wuyi University; <sup>2</sup>Fujian Provincial Key Laboratory of Eco-Industrial Green Technology; <sup>3</sup>Analysis and testing center, Wuyi University, Wuyishan 354300, China;

<sup>4</sup>Fujian Jiangxia University, Fuzhou 350108, China

**Abstract:** The suitable conditions for total flavonoids extraction assisted with ultrasonic wave were investigated with the research objects of *Polygonatum cyrtoneuma* cultivated under four common types of forest in North Fujian province, the different contents of total flavonoids were determined, and their hydroxyl radical scavenging capacities and combination effects with bovine serum albumin were evaluated respectively. The results showed that the suitable conditions for total flavonoids extraction were: ultrasonic power 250 W, ethanol volume fraction 70%, ultrasonic extraction time 20 min, solid-liquid ratio 1:20 (g:mL). Under these optimized conditions, the total flavonoids content of *Polygonatum cyrtoneuma* cultivated under moso bamboo forest was the highest which reached (10.30 ± 0.05) mg/g; and the total flavonoids content cultivated under natural broad-leaved forest, *Cunninghamia lanceolata* forest and managed broad-leaved forest was (5.11 ± 0.06), (5.00 ± 0.03) and (5.00 ± 0.05) mg/g respectively. The hydroxyl radical scavenging rate of the total flavonoids reached 89.38%, and owned obvious fluorescence quenching effect by combination with bovine serum albumin, the exponential equation was  $y = 1647 e^{-0.242x}$  ( $R = 0.9969$ ).

**Key words:** *Polygonatum cyrtoneuma*; planting under forest; total flavonoids; hydroxyl radical scavenging; fluorescence quenching capacity

多花黄精 (*Polygonatum cyrtoneuma* Hua) 为百合科黄精属 (*Polygonatum*) 多年生药用草本植物,以其

干燥根茎入药。现代药理学研究证明,多花黄精具有抗衰老、抗肿瘤、降血糖、降血脂、防动脉硬化、抗病毒、抗菌、提高机体免疫力等多种药理作用<sup>[1]</sup>。多糖和黄酮类是多花黄精根茎的主要有效成分,也是衡量其药材质量的重要指标<sup>[2]</sup>。

目前,国内学者对于多花黄精的林下种植已有研究报道。黄云鹏等<sup>[3]</sup>对在毛竹林、阔叶树林、杉

收稿日期:2017-07-20 接受日期:2017-11-15

基金项目:福建省自然科学基金(2015J01623);福建省科技厅高校产学研合作重点项目(2016N5011);南平市科技计划(N2014Z01);武夷学院引进人才科研启动基金(YJ201401);福建省教育厅科技项目(JA15521)

\* 通信作者 E-mail:190070900@qq.com

木林以及马尾松林4种林分类型下套种的多花黄精的根茎生长量及多糖含量进行了分析;樊艳荣等<sup>[4,5]</sup>研究了毛竹林下套种多花黄精的生长情况;郑林森<sup>[6]</sup>分析了杉木林上层密度对多花黄精根茎产量的影响。在多花黄精成分研究上,是以考察其多糖类成分居多,对其黄酮类的检测及其生物活性评价尚未见报道。

血清蛋白是血浆中含量最丰富的载体蛋白,可与许多内源性或外源性化合物结合<sup>[7]</sup>。当药物进入体内后,要通过血浆的贮存与运输,到达受体部位,进而发生药理作用。血清蛋白与药物的相互作用不仅影响药物在体内的吸收、分布,而且还影响药物在体内的代谢与排泄方式等<sup>[8]</sup>。由此,可作为考察天然产物生物活性的一种手段。

本文以闽北杉木林、毛竹林、人工阔叶林以及天然阔叶林4种林分下套种的多花黄精为研究对象,分析不同林分下套种的多花黄精根茎中的总黄酮含量,并对多花黄精总黄酮的羟基自由基清除能力和与牛血清白蛋白的相互作用进行了评价,以期为推动闽北多花黄精的资源开发利用提供科学依据。

## 1 材料与仪器

### 1.1 供试材料

多花黄精(*P. cyrtonea*)采集于福建省邵武市朱山村林下示范种植基地,起始种植时间为2012年3月,种植林分有杉木林、毛竹林、人工阔叶林、天然阔叶林4种类型,采样点内林分郁闭度均为0.6,共计12个样地,每个样地面积为5 m×5 m。挖取多花黄精的根茎,洗净,60℃烘干,用粉碎机粉碎,过60目筛备用。

### 1.2 主要试剂

95%乙醇、亚硝酸钠、硝酸铝、氢氧化钠、吡啶红、罗丹明B、十二烷基苯磺酸钠、七水合硫酸亚铁、30%过氧化氢(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)、浓硫酸、三羟甲基氨基甲烷(Tris)、浓盐酸为分析纯,芦丁对照品(批号:F20140802)、维生素C为生化试剂,均购自国药集团化学试剂有限公司;牛血清白蛋白(BSA)为生化试剂(批号:14080207),上海展云化工有限公司;高纯水,实验室自制。

### 1.3 主要仪器

电热恒温鼓风干燥箱 DHG-9070A(上海福玛实验设备有限公司);超声波清洗机 S10H(致微厦门仪器有限公司);紫外可见分光光度计 UV2550(日

本岛津公司);荧光分光光度计 F-4500(日本日立公司);小型高速中药粉碎机 WK-400A(山东青州精诚医药装备制造有限公司);RV10 旋转蒸发仪(广州仪科实验室技术有限公司);循环水式真空泵 SHB-II(郑州长城科工贸有限公司);电子天平 BS224S(北京赛多利斯仪器系统有限公司)。

## 2 实验方法

### 2.1 多花黄精总黄酮含量测定

参考莫启进等<sup>[9-11]</sup>的方法,以芦丁作为对照品,采用分光光度法测定各样品的总黄酮含量,主要步骤如下。

#### 2.1.1 显色

准确吸取试液 2.00 mL 于 25 mL 容量瓶中,加入 5% 亚硝酸钠溶液 0.50 mL,摇匀后静置 6 min;加入 5% 硝酸铝溶液 0.50 mL,摇匀后静置 6 min;加 4% 氢氧化钠溶液 5.00 mL,摇匀后静置 15 min;加水定容至刻度,显色完成。用紫外可见分光光度计测定 510 nm 波长下的吸光度。

#### 2.1.2 标准曲线的制作

精确吸取浓度为 0.200 mg/mL 的芦丁标准溶液 0.00、1.00、2.00、3.00、4.00、5.00 mL,于 6 支 25 mL 具塞比色管中,参考 2.1.1 步骤显色完毕后,测定 510 nm 下的吸光度 A<sub>510</sub>。以浓度(mg/mL)为横坐标、吸光度为纵坐标作图,并进行线性回归,得到回归方程。

#### 2.1.3 单因素实验

以多花黄精提取液的总黄酮含量为指标,分别对超声提取功率(180、215、250、285、320 W),乙醇浓度(60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%),超声作用时间(10、15、20、25、30 min),料液比(1:10、1:15、1:20、1:25、1:30 g/mL)等有关因素进行考察和分析,确定适宜的水平。

#### 2.1.4 试样总黄酮的含量测定

准确称取不同样品的多花黄精粉末 0.500 g,按照单因素实验确定的优化条件,进行多花黄精总黄酮的超声提取;提取液经过抽滤和减压浓缩后,用 70% 乙醇定容至 25 mL;从中准确吸取 1.00 mL 加入 25 mL 比色管中,按 2.1.1 步骤显色后,测得 510 nm 下的吸光度 A<sub>510</sub>。然后根据 2.1.2 的芦丁标准曲线和回归方程,得到各样品测试液的总黄酮浓度(mg/mL);再按下式计算不同样品的总黄酮含量(mg/g):

总黄酮含量(mg/g) = (C × N × V) / m

式中,C:样品测试液(提取液的稀释溶液)的总黄酮浓度,mg/mL;N:稀释倍数;V:最初定容体积,mL;m:多花黄精粉末试样的质量,g。

## 2.2 羟基自由基的清除率测定

采用吖啶红光度法进行测定<sup>[12,13]</sup>。取2支10 mL比色管,一支管分别加入 $1.2 \times 10^{-5}$  mol/L吖啶红溶液、 $4.8 \times 10^{-5}$  mol/L罗丹明B溶液、 $5.0 \times 10^{-3}$  mol/L十二烷基苯磺酸钠溶液、0.4 mol/L H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>溶液、 $4 \times 10^{-4}$  mol/L FeSO<sub>4</sub>溶液各1.00 mL,另一支比色管多加入1.00 mL H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>(质量分数0.3%),皆定容至10 mL,反应30 min后,用荧光分光光度计测定其荧光强度,分别记为A<sub>a</sub>、A<sub>b</sub>,则自由基产生量可用 $\Delta A = A_a - A_b$ 表示。测定时,荧光分光光度计的光电压为700 V,发射起始波长为200 nm,发射终止波长为700 nm,激发狭缝为5 nm,发射狭缝为5 nm,扫描速度为1200 nm/min。

在该体系中,未加Fenton试剂(Fe<sup>2+</sup>和H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>的混合溶液)及黄酮体系的荧光值记为A<sub>1</sub>;未加黄酮体系的其荧光值记为A<sub>2</sub>;加入黄酮提取液2.00 mL后,测定体系的荧光值为A<sub>3</sub>。按下面公式计算黄酮类对羟基自由基的清除率:

羟基自由基清除率(%) =  $[(A_3 - A_2) / (A_1 - A_2)] \times 100$

## 2.3 牛血清白蛋白荧光淬灭效应的测定

参照李丽萍等<sup>[14]</sup>的方法进行。吸取1.00 mL浓度为 $1 \times 10^{-5}$  mol/L的牛血清白蛋白(BSA)溶液,2.00 mL pH7.40 Tris-HCl缓冲液(含0.15 mol/L NaCl),加入不同体积的多花黄精总黄酮乙醇试液,用纯水定容至10.00 mL,25 °C恒温静置5 min后,测定其荧光强度。荧光分光光度计的工作参数与上述相同。

## 3 结果与分析

### 3.1 多花黄精总黄酮含量分析

#### 3.1.1 芦丁标准曲线

结果表明,芦丁浓度在0.008 ~ 0.048 mg/mL范围内,对照品芦丁的浓度与吸光度之间呈现良好的线性关系,得到吸光度(y)与芦丁浓度(x)的回归方程为: $y = 1.1794x - 0.0072, R = 0.9991$ 。

#### 3.1.2 单因素实验结果

##### 3.1.2.1 超声功率对多花黄精总黄酮提取的影响

固定以70%乙醇为提取溶剂、料液比1:20、超声时间20 min,选择不同的超声功率(180、215、250、285、320 W)进行多花黄精总黄酮提取,其提取液总黄酮的含量如图1(A)。在超声功率为250 W时,多花黄精总黄酮含量达到最高值5.95 mg/g,而后呈现下降,因此选择超声提取功率250 W为佳。

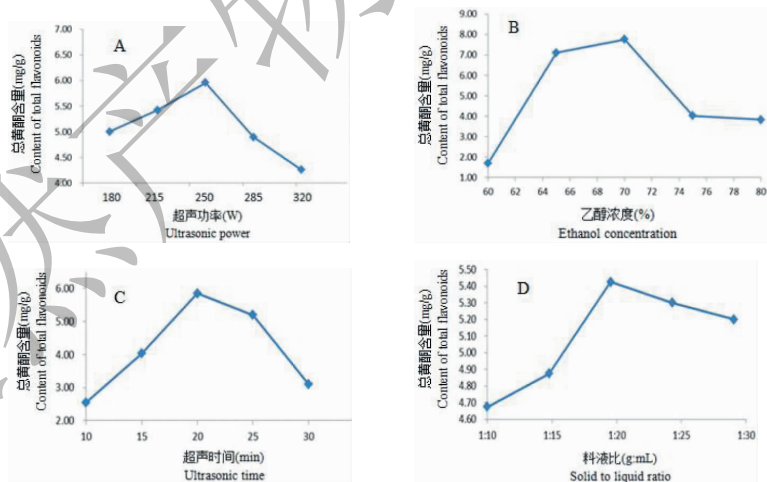


图1 超声功率、乙醇浓度、超声时间、料液比对总黄酮提取的影响

Fig. 1 Effects of ultrasonic power, ethanol concentration, ultrasonic time, solid-liquid ratio on total flavonoid extraction

##### 3.1.2.2 乙醇浓度对多花黄精总黄酮提取的影响

固定料液比在1:20(g:mL)、超声功率250 W、超声时间20 min,选择不同的乙醇浓度(60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%)进行多花黄精总黄酮

提取,各提取液的总黄酮含量结果见图1(B)。当乙醇体积分数为70%时,测得总黄酮含量达到最大值7.75 mg/g,随后提取率下降,因此选择乙醇浓度为70%为宜。

### 3.1.2.3 超声时间对多花黄精总黄酮提取的影响

固定料液比在 1:20 (g: mL)、超声功率 250 W、乙醇浓度 70%, 选择不同的超声时间 (10、15、20、25、30 min) 进行多花黄精总黄酮提取, 各提取液的总黄酮含量结果如图 1(C)。当超声提取时间为 20 min 时, 多花黄精总黄酮含量达到最大值 5.85 mg/g, 因此超声提取时间以 20 min 为优。

### 3.1.2.4 料液比对多花黄精总黄酮提取的影响

固定乙醇溶剂浓度为 70%、超声功率 250 W、超声时间 20 min, 选择不同的料液比 (1:10、1:15、1:

20、1:25、1:30) 进行多花黄精总黄酮提取, 各提取液的总黄酮含量结果如图 1(D)。当料液比小于 1:20 时, 总黄酮含量随着料液比的增大而增加, 当料液比达到 1:20, 总黄酮含量达到最大值 5.43 mg/g, 因此选择料液比 1:20 为优。

### 3.1.3 多花黄精各试样的总黄酮含量

准确称取 4 种不同类型林分下套种的多花黄精根茎粉末 0.500 g, 按照上述筛选的最佳因素水平条件提取总黄酮, 经过分光光度法检测, 并计算其总黄酮的含量, 结果见表 1。

表 1 四种林分类型下多花黄精的总黄酮含量

Table 1 Content of total flavonoids from *P. cyrtoneuma* planted under 4 types of forest

实验编号 No.	林分类型 Forest type	吸光度 Absorption	总黄酮含量 (mg/g) Total flavonoid content
1	人工阔叶林 Managed broad-leaved forest	0.039 ± 0.001	5.00 ± 0.05
2	天然阔叶林 Natural broad-leaved forest	0.041 ± 0.002	5.10 ± 0.06
3	毛竹林 Moso bamboo forest	0.090 ± 0.009	10.30 ± 0.05
4	杉木林 <i>Cunninghamia lanceolata</i> forest	0.040 ± 0.004	5.00 ± 0.03

由表 1 可见, 4 种林分类型下种植的多花黄精, 其总黄酮含量的对比表现为毛竹林 > 天然阔叶林 > 杉木林 > 人工阔叶林, 其中, 毛竹林下套种的多花黄精的总黄酮含量为 10.30 ± 0.05 mg/g, 明显高于其它三组, 而天然阔叶林、杉木林、人工阔叶林三组之间无显著差异。

## 3.2 多花黄精总黄酮对羟基自由基的清除能力

### 3.2.1 激发波长与发射波长的确定

运用荧光分光光度计分别对芦丁、维生素 C 和空白试样进行 3D 扫描, 以确定多花黄精总黄酮对羟基自由基清除的最佳激发波长和发射波长, 结果见图 2。根据 3D 扫描结果, 确定本实验的检测条件为: 最大激发波长 561 nm, 最大发射波长 575 nm。

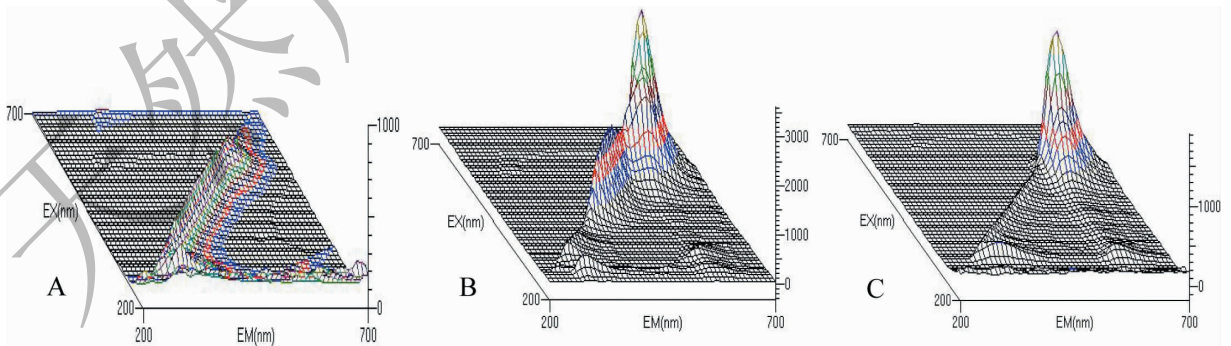


图 2 羟基自由基清除实验中对空白试样 (A)、芦丁 (B) 和维生素 C (C) 的 3D 扫描

Fig. 2 The 3D scan of blank sample (A), Rutin (B) and Vitamin C (C) in hydroxyl radical scavenging test

### 3.2.2 多花黄精总黄酮对羟基自由基的清除率

按照上述 1.4 实验步骤, 测定多花黄精总黄酮提取液对羟基自由基的清除作用, 并代入公式计算

其清除率, 结果见表 2。由表 2 可知, 来源于 4 种林分类型的多花黄精总黄酮提取液进行对比, 其对羟基自由基的清除能力表现为毛竹林 > 天然阔叶林 >

杉木林 > 人工阔叶林,毛竹林下套种的多花黄精的总黄酮对羟基自由基的清除率最高,达到 89.38%。

表 2 不同林分类型下多花黄精总黄酮对羟基自由基的清除作用

Table 2 Hydroxyl radical scavenging effect of total flavonoids samples of *P. cyrtoneuma* planted under 4 types of forest

实验编号 No.	测试体系 Test system	吸光度(A <sub>510</sub> ) Absorption	清除率(%) Scavenging capacity
1	A <sub>1</sub> (without Fenton and flavonoids)	3555	
2	A <sub>2</sub> (with Fenton but no flavonoids)	128	
3	A <sub>3</sub> -1 (with flavonoids under managed broad-leaved forest)	2524	69.92
4	A <sub>3</sub> -2 (with flavonoids under natural broad-leaved forest)	3130	87.60
5	A <sub>3</sub> -3 (with flavonoids under moso bamboo forest)	3191	89.38
6	A <sub>3</sub> -4 (with flavonoids under <i>Cunninghamia lanceolata</i> forest)	2707	75.26

### 3.2.3 多花黄精总黄酮、芦丁、维生素 C 对羟基自由基清除作用的比较

测试体系中分别加入 0.50、1.00、1.50、2.00、2.50 mL 的芦丁标准溶液、多花黄精总黄酮提取液、维生素 C 标准溶液,进行体外羟基自由基清除能力检测,实验结果见图 3。由图 3 可知,随着样品加入量的增多,对于羟基自由基的清除率也在增大。当总黄酮提取液加入量超过 1.50 mL 后,其羟基自由基清除能力超过维生素 C,羟基自由基的清除率大于 60%。

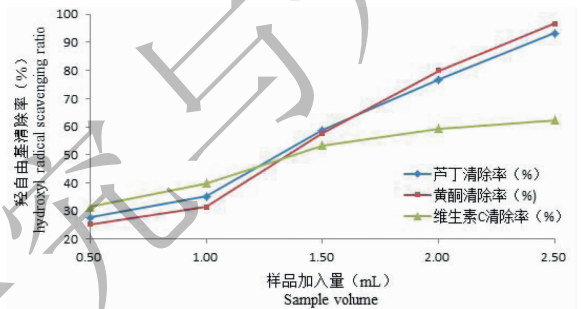


图 3 多花黄精总黄酮提取液与芦丁、维生素 C 对羟基自由基清除能力的比较

Fig. 3 Comparison of hydroxyl radical scavenging capacity of total flavonoids with Rutin and Vitamin C

### 3.3 多花黄精总黄酮与牛血清白蛋白 (BSA) 的相互作用

#### 3.3.1 激发波长与发射波长的确定

通过荧光分光光度计分别对芦丁、维生素 C 和空白试样进行 3D 扫描,确定多花黄精总黄酮与 BSA

相互作用的最佳激发波长和发射波长,结果如图 4。根据 3D 预扫描的结果和多次实验,最终确定测试条件为:最大激发波长 280 nm,最大发射波长 347 nm。

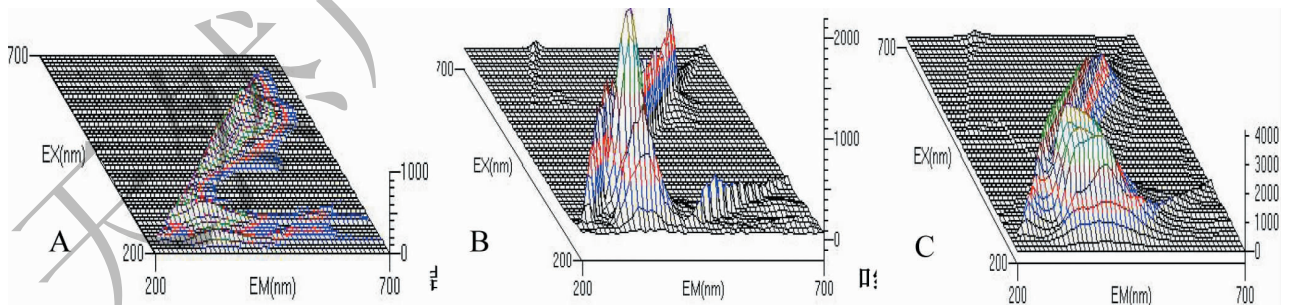


图 4 牛血清白蛋白结合实验中对空白试样 (A)、芦丁 (B) 和维生素 C (C) 的 3D 扫描

Fig. 4 The 3D scan of blank sample (A), Rutin (B) and Vitamin C (C) in BSA binding test

#### 3.3.2 多花黄精总黄酮提取液、芦丁对 BSA 的相互作用比较

实验体系中分别加入 0.50、1.00、1.50、2.00、2.50 mL 芦丁标准溶液、多花黄精总黄酮试液,考察

各自与 BSA 的相互作用,实验结果见图 5。

由图 5 可知,随着芦丁和多花黄精总黄酮提取液加入量的增加,由于与 BSA 之间产生了结合反应,体系中的荧光强度都呈规律性递减,对 BSA 起

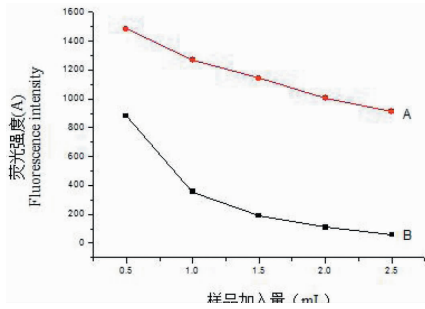


图5 多花黄精总黄酮(A)和芦丁(B)与BSA结合作用的荧光淬灭效应

Fig. 5 Fluorescence quenching effects of the total flavonoid extraction (A) and Rutin (B) after combination with BSA

表3 四种不同林分类型下多花黄精总黄酮对BSA的结合效应

Table 3 Combination effects of 4 different sources of total flavonoids with bovine serum albumin

实验编号 Test number	总黄酮来源 Source of total flavonoids	荧光强度(A) Fluorescence intensity
1	人工阔叶林 Managed broad-leaved forest	1768 ± 24
2	天然阔叶林 Natural broad-leaved forest	1678 ± 30
3	毛竹林 Moso bamboo forest	1634 ± 22
4	杉木林 <i>Cunninghamia lanceolata</i> forest	1835 ± 18

## 4 结论

本文以杉木林、毛竹林、人工阔叶林、天然阔叶林4种常见林分类型林下套种的多花黄精为对象,探讨了超声波辅助提取多花黄精总黄酮的提取条件,检测了4种林下种植的多花黄精的总黄酮含量,同时,对于多花黄精总黄酮的羟基自由基清除效应和牛血清白蛋白相互作用效应进行了评价。实验结果表明,多花黄精总黄酮的适宜提取条件为:超声功率为250 W、乙醇体积分数为70%、超声提取时间为20 min、料液比为1:20;在此条件下,测得毛竹林下套种的多花黄精总黄酮含量最高,达到10.30 mg/g;其它三种林分下多花黄精总黄酮含量无显著差异,皆为5.00 mg/g左右。造成多花黄精总黄酮含量差异的机制有待进一步研究。

测定了多花黄精总黄酮对羟基自由基的清除率和对牛血清白蛋白的结合作用。结果表明,毛竹林下套种的多花黄精的总黄酮对羟基自由基的清除率最高,达到89.38%;4种林分下种植的多花黄精的总黄酮提取液,对羟基自由基的清除能力表现为毛竹林>天然阔叶林>杉木林>人工阔叶林。测定的

到了一定的荧光淬灭作用。芦丁与BSA相互作用的指数方程是 $y = 1508.1 e^{-1.324x}$  ( $R = 0.9954$ );多花黄精总黄酮与BSA结合作用的指数方程为 $y = 1647 e^{-0.242x}$  ( $R = 0.9969$ )。

### 3.3.3 不同来源多花黄精总黄酮与BSA相互作用的比较

准确称取不同林分类型林下套种的多花黄精根茎粉末0.500 g,按照上述1.5实验步骤,对其总黄酮提取液进行BSA结合作用测定,结果见表3。

由表3可知,4种不同林分类型下种植的多花黄精的总黄酮提取液对BSA的荧光淬灭能力,依次是毛竹林>天然阔叶林>人工阔叶林>杉木林。

多花黄精总黄酮对牛血清白蛋白具有一定的荧光淬灭作用,指数方程为 $y = 1647 e^{-0.242x}$  ( $R = 0.9969$ );4种不同林分下种植的多花黄精的总黄酮提取液对牛血清白蛋白的荧光淬灭能力依次是毛竹林>天然阔叶林>人工阔叶林>杉木林。

### 参考文献

- 1 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)[M]. Beijing: China Medical Science Press, 2010. Vol I, 288-289.
- 2 Chen Y(陈晔), Sun XS(孙晓生). Progress of *Polygonatum* on pharmacologica[J]. *Tradit Chin Drugs Res Clin Pharm* (中药新药与临床药理), 2010, 21: 328-330.
- 3 Huang YP(黄云鹏), Wang BF(王邦富), Fan FR(范繁荣), et al. Effect of forest types and canopy density on polysaccharide content of *Polygonatum cyrtonea*[J]. *Chin Agric Sci Bull* (中国农学通报), 2016, 32: 102-105.
- 4 Fan YR(樊艳荣), Chen SL(陈双林), Yang QP(杨清平), et al. The impact of understory vegetation structure on growth of *Polygonatum cyrtonea* in extensively managed *Phyllostachys edulis* plantation[J]. *Acta Ecol Sin* (生态学报), 2014, 34: 1471-1480.

- 5 Fan YR(樊艳荣), Chen SL(陈双林), Yang QP(杨清平), *et al.* Population growth and biomass allocation of *Polygonatum cyrtonema* within a *Phyllostachys edulis* forest utilizing bamboo density treatments[J]. *J Zhejiang Agric Forest Univ* (浙江农林大学学报), 2013, 30:199-205.
- 6 Zheng LS(郑林森). Experimental study on the planting of *Polygonatum cyrtonema* under *Cunninghamia lanceolata* forest[J]. *Forest Prospect Design*(林业勘察设计), 2012:155-157.
- 7 Ran DH, Wu X, Zheng JH, *et al.* Study on the interaction between florasulam and bovine serum albumin[J]. *J Fluoresc*, 2007, 17:721-726.
- 8 Wu Q(吴琼), Wang EF(王二飞), Wu JJ(吴军军). Interaction of caffeine with human and bovine serum albumins; correction for inner filter effect in fluorescence spectroscopy [J]. *J Hubei Univ, Nat Sci* (湖北大学学报, 自科版), 2014, 36(1):83-89.
- 9 Mo QJ(莫启进), Zhuo MF(卓梅芳), Zhu HJ(朱海军). Uncertainty evaluation for the determination of total flavonoids in guilinggao by spectrophotometry [J]. *Sci Technol Food Ind* (食品工业科技), 2017, 38(4):77-80.
- 10 Ni XX(倪晓霞), Wang QF(王庆芬), Wei HZ(魏浩泽), *et al.* Determination of content of total flavonoids in *Pudiumema* by UV spectrometry [J]. *Guiding J Tradit Chin Med Pharm* (中医药导报), 2017, 23(2):57-59.
- 11 Du QX(杜庆鑫), Wei YX(魏艳秀), Liu PF(刘攀峰), *et al.* Determination on total flavonoids in male flowers and leaves of *Eucommia ulmoides* by spectrophotometry [J]. *J Central South Univ Forestry Technol*(中南林业科技大学学报), 2017, 37(5):96-100.
- 12 Zhang XH(张晓鹤), Xie H(谢红), Zhang SD(张泗达), *et al.* Determination of hydroxyl radical and antioxidant activity of eleocharis tuberosa peel extraction by spectrophotometry based on acridine red-rhodamine B alkaline dyestuff system [J]. *Chem Eng*(化学工程师), 2012, (11):15-18.
- 13 Luo YH(罗杨合), Fan Y(范瑜), Jiang ZL(蒋治良), *et al.* Determination of antioxidant activity of eleocharis tuberosa peel by spectrophotometry with acridine red [J]. *J Jiangxi Normal Univ, Nat Sci* (江西师范大学学报, 自科版), 2008, 32:277-280.
- 14 Li LP(李丽萍), Yang XY(杨雪滢), Shan XL(单香丽), *et al.* Study on the interaction between rutin and bovine serum albumin under different conditions [J]. *J Yunnan Univ, Nat Sci* (云南大学学报, 自科版), 2012, 34(1):72-76.
- (上接第 184 页)
- 13 Bijlsma S, Bobeldijk I, Elwin R, *et al.* Large-scale human metabolomics studies: a strategy for data (Pre-) processing and validation [J]. *Anal Chem*, 2006, 78:567-574.
- 14 Zhong LJ, Hua YL, Ji P, *et al.* Evaluation of the anti-inflammatory effects of volatile oils from processed products of *Angelica sinensis* radix by GC-MS based metabolomics [J]. *J Ethnopharmacology*, 2016, 6(27):1-41.
- 15 Li WX, Huang MY, Tang YP, *et al.* Metabolomic study of the action mechanism of nourishing blood effect of Fo-Shou-San on blood deficiency mice [J]. *Acta Pharm Sin*(药学学报), 2013, 48:1301-1306.
- 16 Kanehisa M, Goto S. KEGG for integration and interpretation of large-scale molecular data sets [J]. *Nucleic Acids Res* 2012, 40:109.
- 17 Kanehisa M, Goto S. KEGG for representation and analysis of molecular networks involving diseases and drugs [J]. *Nucleic Acids Res*, 2009, 38:355.
- 18 Miao MS, Zhang LP, Fang XY, *et al.* The effect of Danggui Buxue Tang on blood deficiency model mice induced by APH and CTX [J]. *Chin Basic Med Tradit Med*, 2002, 8(12):46-47.
- 19 Wu XT(伍先托). The abnormalities of nucleotide metabolic in red nucleus and hemolytic anemia [J]. *Foreign Blood Transfusion Hematology* (国外医学输血及血液学分册), 1992, 15(2):85-87.
- 20 Li, P, Yin YL, Li D, *et al.* Amino acids and immune function [J]. *Br J Nutr*, 2007, 98:237-252.
- 21 Fan JG(范建高), Zeng MD(曾民德), Hong J(洪健), *et al.* Effect of free unsaturated fatty acids on proliferation of L-02 and HLF cell lines and synthesis of extracellular matrix [J]. *World Chin J Digestion* (世界华人消化杂志), 1998, 6:502-504.
- 22 Wang YC(王彦超). Comparison of polysaccharide contents in different processed products of angelica and effects on hemopoiesis of anemia chickens [D]. Hebei: Hebei University of Agriculture, 2012.
- 23 Robert RW, John RA, John FB. Glucose metabolism in man: Responses to intravenous glucose infusion [J]. *Metabolism*, 1979, 28:210-220.
- 24 Wang M, Rang WQ, Zhang Q, *et al.* Metabolomics study of blood deficiency mice induced by radiation injury and the disproof of Si-Wu-Tang [J]. *Tianjin Tradit Chin Med*, 2010, 35:630-634.