

不同采收期牛膝的质量分析*

车奇涛, 杨慧辛, 王利丽, 陈随清**, 薛淑娟

(河南中医药大学 郑州 450046)

摘要:目的 考察不同采收期牛膝有机化学成分和无机元素的动态变化规律,探讨牛膝药材的最佳采收期。方法 采用高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)对不同采收时间牛膝中的有机化学成分进行含量测定,采用电感耦合等离子体质谱法(inductively coupled plasma mass spectrometry, ICP-MS)对不同采收时间牛膝样品中的17种无机元素和铅、砷、镉、汞、铜等5种重金属元素进行分析,采用SPSS 20.0对结果进行含量分析及主成分分析。结果 不同采收期牛膝有机成分和无机元素呈现动态变化,综合评价显示,11月15日采收的牛膝药材综合得分最高,质量最佳。结论 综合分析认为10月底至11月中旬为牛膝的最佳采收期。

关键词:有机化学成分 不同采收时间 牛膝 无机元素 含量测定 主成分分析

doi: 10.11842/wst.20181003001 中图分类号: 文献标识码: A

牛膝为苋科植物牛膝 *Achyranthes bidentata* B1. 的干燥根,为常用的大宗药材之一,始载于《神农本草经》,列为上品。其味苦、酸、平,具有逐瘀通经,补肝肾,强筋骨,利尿通淋,引血下行的功效^[1]。牛膝主产于河南省焦作市的武陟、温县、沁阳一带(古怀庆府所辖),为著名的四大怀药之一。采收时间是影响牛膝质量的重要因素,2015版《中国药典》^[2]规定牛膝于冬季茎叶枯萎时采挖,文献中关于牛膝的采收期研究较少,张华等^[3]对不同采收期牛膝中的甾酮含量进行研究,认为11月15日所采收的牛膝甾酮含量最高,但该研究仅采用薄层色谱法对甾酮进行了测定。牛膝中化学成分复杂,主要含有皂苷类、甾酮类、多糖类、生物碱类以及黄酮类,除此之外,牛膝中还含有大量的无机元素^[3-4]。药材中的无机元素对植物本身的生理活动和新陈代谢具有重要作用,且无机元素与药材的药理作用具有密切的关系。目前关于牛膝的研究主

要集中在对不同产地、不同商品规格等级牛膝的化学成分或药理活性上,鲜见对不同采收时期牛膝进行深入研究,尤其是对不同采收期牛膝中的有机化学成分和无机元素进行全面测定,牛膝采收期的确定还有待研究。为进一步探讨牛膝药材的最佳采收期,本研究对不同采收时间牛膝进行动态分析,首次采用有机化学成分和无机元素相结合的方法,进行综合分析,以便更好地控制牛膝药材的最佳采收期,为牛膝的质量控制提供依据。

1 仪器与材料

高效液相色谱仪(Waters公司);DAD检测器(Waters公司);iCAP Qc 电感耦合等离子质谱仪(赛默飞世尔科技有限公司);EHD-40 赶酸仪, MARS6 微波消解仪(美国CEM公司);BSA124S-CW 万分之一天平(北京斯多利斯科学仪器有限公司);Milli-Q

收稿日期:2018-10-03

修回日期:2019-10-10

* 2017年中医药公共卫生服务补助专项(财社[2017]66号):全国中药资源普查项目,负责人:陈随清;国家中药标准化项目(ZYBZH-Y-HEN-18):地黄等3种中药饮片标准化建设,负责人:陈随清;国家中药标准化项目(ZYBZH-Y-HEN-17):地黄等2种中药饮片标准化建设,负责人:陈随清。

** 通讯作者:陈随清,教授,博士生导师,主要研究方向:中药品种整理与质量标准研究。

Academic A10超纯水机(美国 Millipore); β -蜕皮甾酮对照品(上海源叶生物有限公司,批号:B21268);25R-牛膝甾酮对照品(上海诗丹德标准技术服务有限公司,批号:ST20270110MG);25S-牛膝甾酮对照品(上海诗丹德标准技术服务有限公司,批号:ST20260110MG);齐墩果酸对照品(成都普菲德生物科技有限公司,批号:16060809);葡萄糖对照品(中国食品药品检定研究所,批号:110833-200503);金属单元素标准溶液(购自国家有色金属及电子材料分析测试中心,标准值: $1\ 000\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$);水为双蒸水,由实验室自制。

牛膝样品采自于河南省武陟县,采收日期分别为2016年9月28日(Y1)、2016年10月18日(Y2)、2016年10月31日(Y3)、2016年11月15日(Y4)、2016年11月26日(Y5)、2016年12月6日(Y6)、2016年12月19日(Y7),每个采收日期收集3个样品,共21份样品,所有样品经河南中医药大学药学院陈随清教授鉴定为苋科植物牛膝(*Achyranthes bidentata* B1.)的干燥根。

2 方法与结果

2.1 有机化学成分含量测定

含量测定指标有齐墩果酸、甾酮类(β -蜕皮甾酮、25R-牛膝甾酮、25S-牛膝甾酮)。

2.1.1 色谱条件

(1)齐墩果酸含量测定 色谱柱:Waters XBRidge C18($4.6\times 250\ \text{mm}$, $5\ \mu\text{m}$),流动相:乙腈-水-冰乙酸(90:10:0.1);流速: $1\ \text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$;检测波长为205 nm;柱温: $30\ ^\circ\text{C}$;进样量 $10\ \mu\text{L}$ 。对照品及样品的HPLC色谱图见图1。

(2)甾酮类含量测定 色谱柱:Waters XBRidge C18($4.6\times 250\ \text{mm}$, $5\ \mu\text{m}$),乙腈-水-甲酸(16:84:0.1);流速: $1\ \text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$;检测波长为250 nm;柱温: $30\ ^\circ\text{C}$;进样量 $10\ \mu\text{L}$ 。对照品及样品的HPLC色谱图见图1。

2.1.2 对照品溶液的制备

分别精密称量齐墩果酸标准品3.45 mg,置10 mL容量瓶中,称量 β -蜕皮甾酮对照品3.70 mg,25R-牛膝甾酮对照品0.69 mg,25S-牛膝甾酮对照品1.20 mg,置25 mL容量瓶中,用甲醇稀释并定容至相应刻度,摇匀后分别得浓度为 $0.345\ \text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的齐墩果酸标准品溶液,浓度为 0.148 、 0.0276 、 $0.048\ \text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的甾酮类混合对照品。

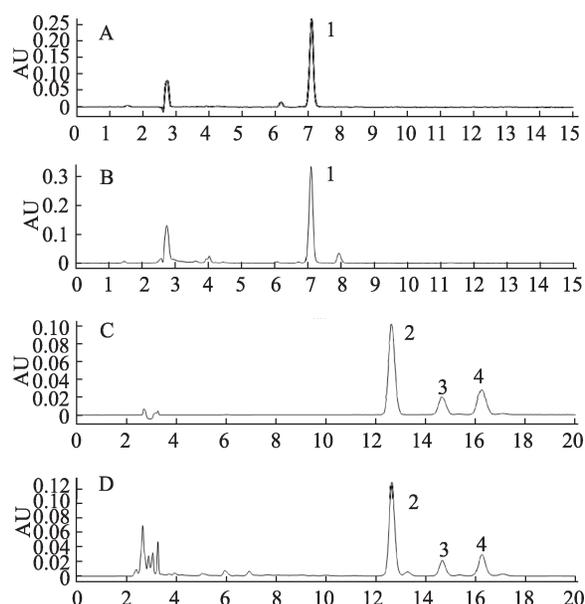


图1 齐墩果酸标准品(A)及其样品(B)、甾酮类标准品(C)及其样品(D)HPLC图

注:1. 齐墩果酸 2. β -蜕皮甾酮 3. 25R-牛膝甾酮 4. 25S-牛膝甾酮

2.1.3 供试品溶液的制备

(1)齐墩果酸供试品溶液的制备 取牛膝粉末(过三号筛)1 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入 $2\ \text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ HCl溶液 25 mL,浸泡过夜。称定重量, $100\ ^\circ\text{C}$ 水浴回流提取3 h,放冷,补足重量,过滤,滤渣用蒸馏水冲洗数次,将滤渣放入烘箱内 $60\ ^\circ\text{C}$ 烘干后,转移至锥形瓶中。精密加入三氯甲烷25 mL,加热回流提30 min(提取两次),滤过,合并滤液,蒸干,残渣用甲醇溶解并定容至25 mL,即得。

(2)甾酮类供试品溶液的制备 取牛膝粉末(过三号筛)2 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入水饱和正丁醇50 mL,密塞,浸泡过夜。称定重量,超声处理30 min,放冷,补足重量,滤过。精密量取25 mL滤液,蒸干,残渣加甲醇溶解并定容至5 mL,即得。

2.1.4 方法学考察

经过对牛膝中4种有机化学成分的方法学考察表明齐墩果酸、25R-牛膝甾酮和25S-牛膝甾酮的线性关系良好, r 值均在0.999 8以上;精密度试验、稳定性试验、重复性试验及加样回收率试验结果均良好,其中加样回收率试验RSD值分别为2.40%、2.49%、2.67%。

2.2 22种无机元素的含量测定

2.2.1 标准溶液的制备

准确移取一定体积的各元素标准溶液,用2%硝酸溶液配制混合标准溶液,逐级稀释,其中元素Pb,

表1 微波消解仪工作条件

步骤	爬升时间/min	保持时间/min	温度/℃	功率/W
1	05:00	03:00	120	1 600
2	05:00	05:00	150	1 600
3	05:00	10:00	180	1 600

Cd, Cr, As, Cu, Li, Ti, Mn, Co, Ni, Zn, Se, Sr, Ba 稀释为 100、50、10、5、1 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的标准系列浓度; 元素 Hg 稀释为 2、1、0.5、0.1、0.05 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的标准系列浓度; 元素 K, Na, Ca, Mg, P, Fe, Al 稀释为 300、200、150、100、50、20、10 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的标准系列浓度; 内标溶液为 10 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 Ge、Bi、In、Sc、Rh 混合内标溶液。

2.2.2 供试品溶液的制备

取牛膝粉末(过三号筛)0.2 g, 精密称定, 置聚四氟乙烯消解罐中, 精密加入硝酸 6 mL 和过氧化氢 2 mL, 浸泡 12 h。然后将消解罐放入赶酸仪中 105℃ 预消解 20 min, 冷却至室温。放置于微波消解仪内, 按消解程序进行消解(样品消解程序见表 1), 消解完将消解液稀释并定容至 100 mL, 过滤, 即得待测液。同时同法制备试剂空白溶液。

2.2.3 ICP-MS 测定条件

等离子体 RF 功率 1 550 W, 载气流速 0.80 L·

min^{-1} , 雾化器流速 1.181 8 $\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$, 冷却气流速 13.94 $\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$, 雾化室温度 2.6℃, 分析时间: 0.6 s, 等离子体冷却水流速 0.55 $\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$, 等离子体排气压力 0.38×10⁻³ bar, 采样深度 5 mm, 测量次数: 3 次, 扫描方式: 跳峰。

2.2.4 方法学考察

2.2.4.1 线性关系考察

精密吸取 2.2.1 项下的对照品溶液, 按 2.2.3 项下的测定条件进行测定。以对照品溶液的浓度为横坐标(X), 峰面积为纵坐标(Y) 绘制标准曲线, 得各元素的回归方程, 线性范围及相关系数, 结果见表 2。线性相关系数 $r > 0.999$, 表明线性关系良好。

2.2.4.2 精密度试验、重复性试验、加样回收率试验

精密度试验、重复性试验、加样回收率试验结果均良好, RSD 值均小于 10%, 具体数值见表 3。

2.3 样品测定

不同采收时间牛膝样品中各成分的测定结果如下, 有机成分的测定结果见表 4, 22 种无机元素的测定结果见表 5。

2.4 数据处理

2.4.1 含量曲线分析

表2 各元素的回归方程、线性范围及相关系数

元素	回归方程	相关系数 r	线性范围/ $(\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1})$	检出限/ $(\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1})$
Li	$f(x) = 90\ 051.726\ 1x + 1\ 285.249\ 0$	0.999 8	1-100	0.000 6
Ti	$f(x) = 95\ 807.706\ 2x + 42\ 352.139\ 5$	0.999 7	1-100	0.008 0
Cr	$f(x) = 87\ 116.179\ 5x + 39\ 533.502\ 7$	0.999 8	1-100	0.011 0
Mn	$f(x) = 158\ 948.689\ 3x + 27\ 115.074\ 7$	0.999 9	1-100	0.012 1
Co	$f(x) = 106\ 031.336\ 5x + 1\ 586.647\ 4$	0.999 7	1-100	0.000 8
Ni	$f(x) = 21\ 721.580\ 0x + 2\ 458.305\ 6$	0.999 9	1-100	0.026 0
Cu	$f(x) = 43\ 944.291\ 1x + 12\ 670.478\ 9$	0.999 9	1-100	0.024 7
Zn	$f(x) = 20\ 242.987\ 7x + 65\ 281.101\ 2$	0.999 0	1-100	0.101 9
As	$f(x) = 10\ 548.656\ 7x + 253.446\ 7$	1.000 0	1-100	0.015 1
Se	$f(x) = 1\ 131.470\ 7x + 233.6320$	0.999 9	1-100	0.172 5
Sr	$f(x) = 176\ 399.482\ 8x + 18\ 241.450\ 1$	0.999 9	1-100	0.003 4
Cd	$f(x) = 16\ 275.858\ 0x + 93.365\ 7$	0.999 9	1-100	0.003 3
Ba	$f(x) = 24628.324\ 4x + 5\ 786.987\ 1$	0.999 9	1-100	0.031 6
Hg	$f(x) = 16\ 747.309\ 9x + 36.380\ 0$	0.999 5	0.05-2	0.005 0
Pb	$f(x) = 111\ 478.734\ 1x + 93\ 113.227\ 5$	0.999 9	1-100	0.041 9
Na	$f(x) = 923.021\ 3x + 264\ 350.571\ 1$	0.999 4	10-300	17.690 0
Mg	$f(x) = 476.023\ 0x + 5\ 338.473\ 2$	0.999 8	10-300	0.957 0
Al	$f(x) = 180.546\ 7x + 3910.584\ 7$	0.999 6	10-300	2.080 6
P	$f(x) = 8.953\ 5x + 55.077\ 7$	0.999 5	10-300	6.440 5
K	$f(x) = 421.303\ 8x + 16\ 299.320\ 4$	0.999 7	10-300	3.603 8
Ca	$f(x) = 25.765\ 3x + 6\ 720.309\ 5$	0.999 0	10-300	31.958 1
Fe	$f(x) = 254.279\ 4x + 2\ 190.914\ 4$	0.999 8	10-300	1.019 8

表3 精密度、重复性、加样回收试验RSD%计算结果

元素	精密度(RSD/%)	重复性(RSD/%)	加样回收率(RSD/%)	元素	精密度(RSD/%)	重复性(RSD/%)	加样回收率(RSD/%)
Li	1.90	3.72	7.86	Co	2.23	3.12	5.41
Na	4.37	2.96	8.01	Ni	2.16	1.54	7.85
Mg	2.45	2.08	8.65	Cu	2.14	8.14	8.77
Al	2.69	2.67	8.82	Zn	2.31	3.01	7.21
P	3.61	2.39	7.61	As	2.34	5.1	7.12
K	2.71	2.48	6.85	Se	2.2	4.45	6.92
Ca	5.05	5.68	7.86	Sr	2.16	5.78	7.52
Ti	2.09	8.17	6.96	Cd	2.83	7.98	8.14
Cr	2.54	1.52	6.23	Ba	2.22	4.18	8.72
Mn	2.08	3.11	8.52	Hg	2.38	4.19	7.25
Fe	1.60	6.54	7.11	Pb	2.3	4.96	6.69

表4 不同采收时间牛膝样品4种化学成分的含量($X \pm SD, n = 3$)

编号	齐墩果酸含量/%	β -蜕皮甾酮含量/%	25R-牛膝甾酮含量/%	25S-牛膝甾酮含量/%
Y1	1.701 0 \pm 0.380 5	0.110 3 \pm 0.007 1	0.023 2 \pm 0.002 4	0.034 0 \pm 0.001 9
Y2	1.153 0 \pm 0.023 6	0.104 7 \pm 0.000 5	0.019 9 \pm 0.000 3	0.030 7 \pm 0.000 6
Y3	1.609 7 \pm 0.434 1	0.128 0 \pm 0.022 6	0.024 2 \pm 0.003 3	0.036 8 \pm 0.005 7
Y4	1.014 3 \pm 0.102 4	0.129 7 \pm 0.011 8	0.024 0 \pm 0.002 2	0.036 2 \pm 0.002 9
Y5	1.335 0 \pm 0.486 0	0.116 0 \pm 0.023 7	0.023 1 \pm 0.004 2	0.033 4 \pm 0.006 7
Y6	1.631 7 \pm 0.195 9	0.119 0 \pm 0.006 2	0.024 6 \pm 0.002 6	0.034 7 \pm 0.001 5
Y7	1.272 3 \pm 0.018 9	0.102 3 \pm 0.008 6	0.019 3 \pm 0.002 2	0.029 4 \pm 0.003 4

表5 不同采收时间牛膝样品22种无机元素的平均含量($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)

元素	样品						
	Y1	Y2	Y3	Y4	Y5	Y6	Y7
Na	1 963.69 \pm 1.83	2 326.11 \pm 2.32	2 859.21 \pm 0.30	2 288.12 \pm 291.80	1 736.71 \pm 339.68	1 136.02 \pm 5.48	1 342.09 \pm 396.20
Mg	3 150.40 \pm 0.10	3 080.82 \pm 0.06	2 913.08 \pm 0.05	2 469.84 \pm 73.81	2 390.27 \pm 63.63	2 676.52 \pm 4.65	2 685.17 \pm 243.89
Al	148.61 \pm 0.06	149.34 \pm 0.18	139.49 \pm 0.05	129.27 \pm 13.54	138.98 \pm 30.63	114.60 \pm 0.46	113.31 \pm 5.99
P	3 939.60 \pm 0.18	3 832.69 \pm 1.14	3 307.10 \pm 0.30	3 109.65 \pm 344.64	3 205.22 \pm 242.97	3 703.85 \pm 13.40	3739.07 \pm 428.70
K	19 975.06 \pm 0.98	21 851.28 \pm 0.33	18 407.19 \pm 0.48	16 123.03 \pm 1 603.01	15 660.59 \pm 1 983.63	17 141.30 \pm 207.15	16 665.69 \pm 612.86
Ca	2 883.56 \pm 1.98	2 782.42 \pm 1.10	3 025.97 \pm 0.96	2 884.40 \pm 90.20	2 231.22 \pm 156.45	2 335.84 \pm 0.80	2 174.70 \pm 146.96
Fe	187.35 \pm 0.16	192.51 \pm 0.12	180.61 \pm 0.25	169.84 \pm 10.40	176.29 \pm 27.27	153.99 \pm 0.13	150.59 \pm 7.47
Li	0.62 \pm 0.000 7	0.68 \pm 0.000 8	0.75 \pm 0.000 9	0.63 \pm 0.13	0.46 \pm 0.09	0.44 \pm 0.003	0.40 \pm 0.02
Ti	9.94 \pm 0.02	9.41 \pm 0.04	10.16 \pm 0.04	9.57 \pm 0.48	8.33 \pm 0.45	8.07 \pm 0.07	7.38 \pm 0.46
Cr	10.88 \pm 0.12	11.04 \pm 0.04	10.86 \pm 0.09	11.02 \pm 0.43	11.22 \pm 0.17	11.37 \pm 0.31	10.85 \pm 0.19
Mn	35.01 \pm 0.12	38.76 \pm 0.17	35.56 \pm 0.05	33.05 \pm 3.88	36.25 \pm 5.81	29.21 \pm 0.09	31.01 \pm 1.80
Co	0.38 \pm 0.004	0.41 \pm 0.004	0.31 \pm 0.001	0.30 \pm 0.007 6	0.32 \pm 0.002	0.30 \pm 0.003	0.32 \pm 0.03
Ni	5.23 \pm 0.06	5.39 \pm 0.03	5.32 \pm 0.05	5.36 \pm 0.19	5.46 \pm 0.07	5.46 \pm 0.08	5.38 \pm 0.03
Cu	4.15 \pm 0.04	4.34 \pm 0.05	3.62 \pm 0.03	3.66 \pm 0.025	4.19 \pm 0.22	4.05 \pm 0.08	4.45 \pm 0.22
Zn	13.53 \pm 0.38	12.31 \pm 0.10	11.89 \pm 0.20	14.93 \pm 3.17	12.71 \pm 0.72	10.08 \pm 0.75	12.91 \pm 0.89
As	0.17 \pm 0.002	0.15 \pm 0.001	0.16 \pm 0.000 6	0.14 \pm 0.03	0.13 \pm 0.03	0.11 \pm 0.002	0.11 \pm 0.01
Se	0.02 \pm 0.000 4	0.02 \pm 0.000 5	0.02 \pm 0.000 4	0.02 \pm 0.01	0.02 \pm 0.007	0.01 \pm 0.000 4	0.02 \pm 0.006
Sr	31.63 \pm 0.58	33.33 \pm 0.64	32.93 \pm 0.57	30.79 \pm 4.00	26.82 \pm 2.36	25.93 \pm 1.07	26.85 \pm 1.51
Cd	0.05 \pm 0.001	0.06 \pm 0.001	0.10 \pm 0.000 4	0.05 \pm 0.008	0.05 \pm 0.01	0.04 \pm 0.000 8	0.04 \pm 0.009
Ba	5.27 \pm 0.14	6.08 \pm 0.12	5.37 \pm 0.09	4.71 \pm 0.31	4.20 \pm 0.45	4.35 \pm 0.10	3.85 \pm 0.55
Hg	0.03 \pm 0.001	0.02 \pm 0.000 9	0.02 \pm 0.000 9	0.016 \pm 0.001	0.014 \pm 0.001	0.02 \pm 0.002	0.02 \pm 0.001
Pb	0.43 \pm 0.04	0.59 \pm 0.01	1.23 \pm 0.05	0.49 \pm 0.02	0.56 \pm 0.07	0.43 \pm 0.01	0.43 \pm 0.09

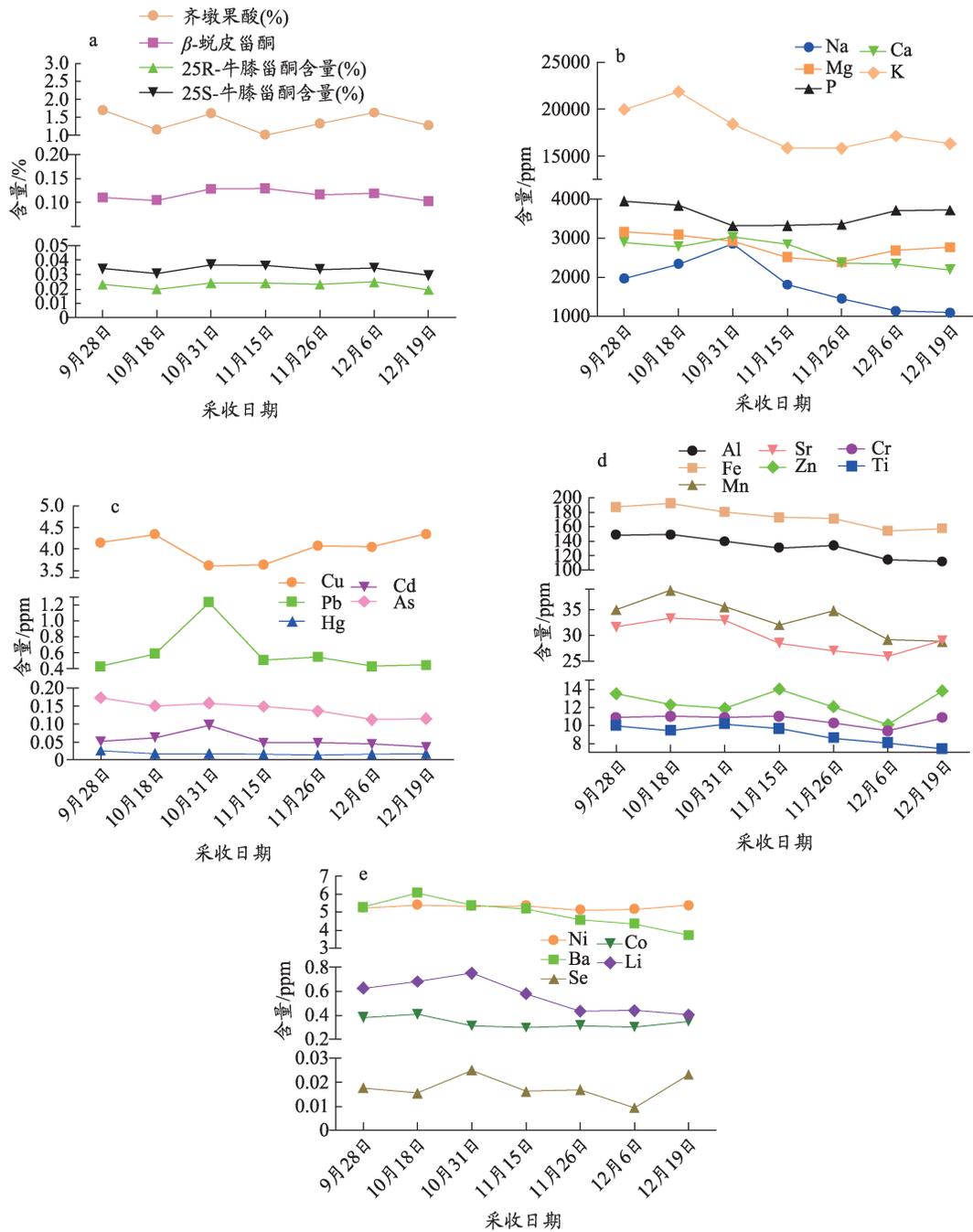


图2 4种有机成分(A)、宏量元素(B)、有害元素(C)、及微量元素(D、E)的含量变化曲线

对牛膝中的4种有机成分和22种无机元素的含量进行动态曲线分析,结果见图2。图2(A)有机成分中,齐墩果酸含量在9月28日为最大值1.701%,随后呈波动状态,分别在10月31日和12月6日达到顶值; β -蜕皮甾酮在11月15日达到最大值0.1297%,之后基本保持平稳,略有下降的趋势;25R-牛膝甾酮含量在10月底至12月初基本保持平稳,至12月底略有下降;25S-牛膝甾酮在10月31日和11月15日含量均较

高,达到0.0368%和0.0362%,之后随着生长期至12月初小幅度回升后又逐渐降低。

22种无机元素的含量变化范围为0.01-21851.60 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,其中K的含量最高,其次为P、Mg、Ca,Na含量最低。其中图2(B)表示的是宏量元素的含量变化趋势,可以看出,元素Ca、Na均在10月31日含量达到最高值,随后呈下降趋势;元素Mg在10月中旬含量最高,之后一直下降,到11月中旬有小幅度的回升后逐

渐降低,而元素P和K则随采收期先呈下降趋势至11月底逐渐回升。这5种元素含量均在 $1\ 000\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 以上,表明牛膝中上述5种元素含量较高,为其主要元素。

微量元素的含量变化见图2(C)、2(D)和2(E)。图2(C)显示的是一些有害元素的含量。国家《药用植物及制剂出口绿色行业标准》中对重金属限量的规定:铅(Pb) $\leq 5.0\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,镉(Cd) $\leq 0.3\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,汞(Hg) $\leq 0.2\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,铜(Cu) $\leq 20.0\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,砷(As) $\leq 2.0\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。从图中可以看出牛膝药材中所有重金属元素的含量在不同采收期均低于 $5\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,低于国家规定的重金属含量标准,提示牛膝药材不存在重金属超标的现象,符合药材安全性评价的指标。从重金属元素的变化趋势来看,其中元素Cd、Pb均在10月31日含量最高,之后基本保持平稳,相反,元素Cu则在10月31日达到最低值,随后呈逐渐增加的趋势。元素Hg和As则随着采收期基本呈稳定状态。

图2(D)和2(E)显示了一些常见的微量元素含量的变化情况,其中含量较高的是元素Fe、Al、Mn,达到 $30\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 以上。所有元素在不同采收期的含量具有一定的波动范围,其中元素Ni、Co、Cr、Al、Fe基本上呈稳定状态,Fe、Al在后期有缓慢下降的趋势;元素Li、As均在10月31日达到最高值,之后逐渐降低或有小幅度回升;元素Zn在11月15日含量最高,达到 $14.93\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,之后逐渐下降,从12月初又缓慢增加;元素Ba随采收期呈下降趋势;元素Mn则呈波动状态,分别在10月初和11月底呈增加趋势。

2.4.2 主成分分析

采用SPSS20.0对牛膝样品中的4种有机化学成分和22种无机元素进行主成分分析。由表6可以看出特征值大于1的有5个主成分,其累计贡献率达到96.365%。采用5个主成分对不同采收期的牛膝样品进行综合评价,以各成分因子得分与方差贡献率乘积

表6 变量总体描述

主成分	特征值	方差贡献率/%	方差总贡献率/%
1	11.608	46.430	46.430
2	5.965	23.858	70.288
3	3.216	12.864	83.152
4	2.223	8.891	92.044
5	1.080	4.321	96.365

之和相加,得出地黄各类成分总因子得分值 F ,综合评价函数为 $F = 0.481\ 8F_1 + 0.247\ 5F_2 + 0.133\ 4F_3 + 0.092\ 2F_4 + 0.044\ 8F_5$,按综合评价函数计算出综合得分,其中 F 为综合得分, F_1 – F_5 为各因子得分,其总得分与排序见表7。其中综合得分越高,其综合品质越好。从表7可以看出,牛膝在11月15日采收的样品综合得分最高,其次10月底及11月下旬所采收的牛膝样品品质也较好。对于牛膝采收期的记载,《本草经集注》^[5]中指出:“牛膝,二月,八月,十月采根,阴干。”,因古时采取阴历时间,对照我们现在的阳历时间应在三月、九月、十一月左右,这与我们得出的排名较为一致,即在十一月左右,10月31日及11月15日期间所采收的牛膝质量较佳。而在怀药产区,传统刨挖牛膝的最佳时间是“立冬”(11月7日左右)至“小雪”(11月22日左右)前后,最迟要在“冬至”(12月21日左右)前挖完。因此综合考虑牛膝中有机成分及无机元素含量的动态变化,牛膝药材应为11月上旬进行采挖,其品质最好。

3 讨论

本实验采用有机成分与无机元素相结合的方法对采于河南武陟的不同采收时期的牛膝药材质量进行了综合评价,结果显示牛膝的最佳采收期为10月底至11月中旬,此时牛膝中甾酮类, Ca、K、Zn等元素含量最高,综合评价最好。此结论与传统产地及本草古籍记载的采收时间相吻合,传统产地一般在“立冬”

表7 不同采收期牛膝的主成分因子及综合评价得分

日期	F_1	F_2	F_3	F_4	F_5	F	排序
9月28日	-0.537 34	-0.632 13	-1.015 33	-1.253 52	-0.202 53	-0.675 43	7
10月18日	-1.018 74	0.169 208	-0.068 74	-1.333 07	-0.062 74	-0.583 84	6
10月31日	1.529 443	0.518 228	1.629 697	1.311 576	0.332 126	1.218 355	2
11月15日	3.280 695	-1.637 05	1.607 552	-1.379 76	1.173 071	1.315 257	1
11月26日	0.505 753	-0.573 4	0.565 52	0.302 711	-0.673 47	0.174 933	4
12月6日	1.804 73	-2.120 98	0.132 344	0.451 383	0.185 888	0.412 175	3
12月19日	-1.888 14	1.274 575	0.841 681	-0.126 58	-1.135 32	-0.544 5	5

(11月7日左右)至“小雪”(11月22日左右)前后采收,而《本草经集注》^[5]以“二月,八月,十月采根”为最佳时期,采集时间均在10月底至11月中旬。本实验结果表明牛膝在10月底至11月中旬进行采挖质量最佳。

牛膝为多年生草本,主要含有甾醇类、多糖类等化学成分,其中甾酮类是牛膝的主要有效成分,具有调节糖代谢、抗脂质过氧化、影响细胞增殖等药理作用^[6]。在牛膝甾酮中其中以蜕皮甾酮为主发挥药效和药理作用,牛膝在10月底至11月中旬期间,其蜕皮甾酮含量最高,随着生长时间的增长,其含量基本保持稳定但具有逐渐降低的趋势,到12月底其含量最低。张华等^[2]通过对不同采收期牛膝中甾酮含量的对比研究,认为11月15日甾酮含量最高,这与本实验研究结果一致,并证明传统立冬前后刨收牛膝是比较合理的。

牛膝中除了含有甾酮类成分,无机元素也是药材中的主要成分,无机元素是生命活动必不可少的物质,与药材的质量、临床疗效、性能具有密切的关系^[7-8]。近年来,许多学者以无机元素作为药材质量评价的指标,通过无机元素的测定来综合评价药材质量^[9-10]。牛膝具有补肝肾、强筋骨的作用,与牛膝中的无机元素有着紧密的关系。管竞环等^[11]认为无机元素的含量是中药材中决定药性的物质基础,其具有含量少、作用大的特点,可直接作用于有机体发挥药效。研究表明,牛膝在10月底至11月中旬元素Na、Ca、K含量最高,其中K能维持机体肌肉正常的韧性,促进蛋白质以及碳水化合物的代谢,对强健筋骨具有一定的促进作用,而Ca是组成肌肉、骨骼的重要元素,

与Mg、K、Na等协同调节神经肌肉的兴奋,维持机体正常的生命活动^[12-13]。由此可见,这些无机元素很有可能是牛膝发挥功效的物质基础,在一定程度上解释了牛膝为什么具有补肝肾、强筋骨的作用。这也为确定牛膝的最佳采收期提供了依据。除了宏量元素之外,牛膝中还含有许多微量元素,如Fe、Mn、Zn等,元素Fe随着采收期基本呈稳定状态,而元素Zn则在11月中旬含量最高。Fe为生命必需元素之一,是人体造血过程中必不可少的部分,具有一定的补血作用,刘先化等^[14]通过对不同药效中药中的Fe元素进行研究,发现中药的补血作用与Fe元素含量呈正相关,本实验的研究结果显示不同采收期的牛膝中Fe的含量均可达到 $150 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,表明牛膝在补血方面具有一定的作用,而肝为贮存血液的主要器官,这为牛膝补肝肾的理论提供了依据。除此之外,Zn元素可促进机体的生长发育,调节机体的免疫能力,缺Zn导致机体生长发育缓慢,性发育缓慢,对机体的肝肾具有一定的影响,表明Zn元素也是牛膝发挥补肝肾作用的重要因素^[15-16]。由此可以看出,牛膝中的无机元素是牛膝发挥药效的重要基础,以无机元素的含量作为牛膝质量评价的指标,确定牛膝的最佳采收期,具有一定的可行性。

中药材成分复杂,其质量受到环境、产地、加工等因素的影响,本研究从有机化学成分和无机元素方面入手,研究了不同采收时期牛膝中4种有机化学成分和22种元素的含量变化特征,通过综合分析牛膝中主要药效成分的变化特征确定了牛膝的最佳采收期,为牛膝药材采收时间的确定提供了理论依据。

参考文献

- 1 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部). 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 72.
- 2 张华, 张子忠, 卫云. 不同采收期牛膝中甾酮含量探讨. 中药材, 2000, 23(12): 734-735.
- 3 胡婷婷, 张振凌. 中药牛膝化学成分、药理作用及储藏保管. 中国老年学杂志, 2016, 36(13): 3321-3322.
- 4 付国辉, 陈随清, 刘嘉, 等. 牛膝化学成分及等级分类研究. 海峡药理学, 2018, 30(2): 29-32.
- 5 南北朝·陶弘景. 本草经集注. 北京: 人民卫生出版社, 1994: 213.
- 6 郑义哲, 刘本. 牛膝中植物甾酮类成分的研究进展. 科技通报, 2008, 24(6): 820-826.
- 7 曹晓燕, 武玉翠, 王喆之. 4种秦艽药材中宏量元素与微量元素的比较分析. 光谱实验室, 2009, 26(5): 1202-1205.
- 8 黎晓敏, 贾仁勇, 王健, 等. 中药不同药性与无机元素关系的研究. 中国中药杂志, 1997, 22(8): 502-504.
- 9 戴仕林, 王新胜, 吴啟南. 不同产地三棱的无机元素分析及质量评价研究. 海峡药理学, 2017, 29(12): 35-38.
- 10 孔德平, 姚兰, 陈盛君, 等. 不同产地野生赤芍无机元素分析及其质量评价研究. 中国中医药现代远程教育, 2016, 14(7): 136-140.
- 11 管竞环, 李恩宽, 薛莎, 等. 植物类中药四性与无机元素关系的初步研究. 中国医药学报, 1990, 5(5): 40-43.
- 12 罗益远, 刘娟秀, 候娅, 等. 何首乌不同产地及商品药材中无机元素的ICP-MS分析. 中药材, 2015, 16(7): 1056-1064.
- 13 丁玲, 左旭, 任朝琴, 等. 不同种及不同产地千斤拔无机元素分析.

- 中药材, 2013, 36(1): 22-28.
- 14 刘先华, 纪娟, 周学春. 中药的补血作用与Fe元素含量相关性研究. 广东微量元素科学, 2015, 22(1): 15-18.
- 15 鲁忍, 薛瑞. 几种中药中Mn元素的测定. 光谱实验室, 2013, 30(3): 1144-1147.
- 16 胡焰, 韩光宇, 王健. 微量元素锌与人体健康初探. 当代医学, 2011, 17(31): 151-152.

Analysis on Quality of *Achyranthes bidentata* Bl. in Different Harvested Periods

Che Qitao, Yang Huixin, Wang Lili, Chen Suiqing, Xue Shujuan
(Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China)

Abstract: Objective To study the dynamic change rules of organic chemical composition and inorganic element in *Achyranthes bidentata* Bl. in different harvesting periods, and explore the optimal harvesting period of *Achyranthes bidentata* Bl. Method the contents of organic chemical composition in *Achyranthes bidentata* Bl. in different harvesting periods were determined by high performance liquid chromatography (HPLC), the contents of 17 kinds of inorganic elements and 5 kinds of heavy metals of Pb, As, Cd, Hg, Cu were determined by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS), and content change analysis and principal component analysis (PCA) was used by SPSS 20.0. Result There were dynamic changes of organic chemical composition and inorganic element in *Achyranthes bidentata* Bl. in different harvesting periods and PCA results showed that the quality of samples collected in November 15 were best. Conclusion The results showed that the optimal harvesting period is the end of October to mid-November.

Keywords: Organic chemical composition, different harvest periods, *Achyranthes bidentata* Bl., inorganic elements, determination of content, principal component analysis

(责任编辑: 闫 群, 责任译审: 钱灵姝)