

紫参不同生长时期醌类成分的动态含量变化

贾延莎¹, 张雪佳^{3*}, 谭宁华^{1*}

(1. 中国药科大学中药学院, 江苏 南京 211198; 2. 新疆医科大学中医学院, 新疆 乌鲁木齐 830000)

【摘要】目的 研究紫参中醌类成分在不同生长时期的动态含量变化。**方法** 采用超高效液相色谱-串联三重四级杆质谱(UPLC-QqQ-MS/MS)联用技术, 色谱柱为 BEH C₁₈ (2.1 mm × 100 mm, 1.7 μm), 以 0.1% 甲酸水(A)-乙腈(B)为流动相, 梯度洗脱, 流速 0.3 mL · min⁻¹, 柱温 30 ℃, 进样量 2 μL; 质谱采用多反应监测(Multiple Reaction Monitoring, MRM)模式, 对二年生栽培紫参在一个生长周期内的不同时期 12 种醌类成分进行含量测定。**结果** 12 种醌类成分线性关系良好($r^2 > 0.9913$), 定量限为 0.03 ~ 5.56 ng · mL⁻¹, 回收率在 86.89% ~ 104.45%。结果表明, 紫参在不同生长时期中醌类成分含量变化波动明显, 12 种醌类成分总含量在 1547.27 ~ 4247.01 μg · g⁻¹ 范围内, 其中 7 月中旬的含量最高, 为 4247.01 μg · g⁻¹, 其次是 12 月, 含量为 3300.68 μg · g⁻¹, 而 9 月初的含量最低, 为 1547.27 μg · g⁻¹。蒽类苷和蒽类苷元的含量几乎呈相反变化趋势。**结论** 该方法灵敏简便, 结果准确, 为确定紫参药材合理采收期和资源开发利用提供依据。

【关键词】 紫参; 超高效液相色谱-三重四级杆串联质谱; 醌类成分动态含量

DOI 标识: doi:10.3969/j.issn.1008-0805.2024.10.23

【中图分类号】S567 【文献标识码】A 【文章编号】1008-0805(2024)10-2439-06

紫参 *Rubia yunnanensis* Diels 是茜草科茜草属多年生药用植物, 别名云南茜草或滇紫参, 其根和根茎入药, 通常被称为“小红参”, 主要分布在四川西南部(木里)和云南各地, 生长在海拔 1700 ~ 2500 m 的灌丛、草坡或路边^[1]。现代研究表明, 紫参具有抗肿瘤、抗血小板聚集和抗菌抗炎等多种药理作用^[2-5]。文献报道紫参主要含有醌类、环肽类和三萜类成分^[6], 其中, 醌类作为主要成分, 具有药用价值^[7,8], 还被广泛应用于染料、食品和化妆品等领域^[9,10]。我们前期在紫参中分离得到了 4 个新的蒽醌类化合物和 14 个已知的醌类化合物^[6]; 在紫参的转录组数据中发现 15 个参与蒽醌生物合成的潜在基因, 利用 RT-qPCR 技术对紫参的根、茎和叶中合成蒽醌的基因表达量进行分析, 发现其中 6 个靶基因在紫参根中表达量最高, 说明根可能是合成蒽醌的主要器官^[11,12]; 还建立能产蒽类成分的紫参毛状根组织培养体系^[13], 但对于紫参不同生长时期醌类成分的动态含量变化研究未见报道。因此本研究收集了 2021 年 6 月至 2022 年 5 月的两年生栽培紫参样品, 采用超高效液相色谱-串联三重四级杆质谱联用技术, 在多反应监测模式(MRM)下^[14], 对不同生长时期紫参中的 12 种主要醌类成分进行含量测定和分析。以期为揭示紫参中醌类成分的动态含量变化, 确定紫参的最佳采收时期和合理开发利用提供依据。

1 材料

1.1 仪器

Waters Acquity[®] UPLC H-Class 超高效液相色谱仪(美国 Waters 公司); Waters XEVO[®] TQD system 型三重四级杆质谱仪(美国 Waters 公司); KQ-200KDE 型大功率数控超声清洗器(昆山市超声仪器有限公司); XS105 型十万分之一电子天平(梅特勒-托利多公司)。

1.2 样品和试剂

两年生的栽培紫参样品, 采于 2021 年 6 月至 2022 年 5 月生长在云南省楚雄彝族自治州双柏县鄂嘉镇, 经谭宁华教授和张雪佳副教授鉴定为茜草科茜草属植物紫参 *Rubia yunnanensis*, 标本存放于中国药科大学中药学院谭宁华教授团队实验室。

本研究中 12 个对照品编号为 A1 ~ A12, 其中, 3-氨基-2-甲氧羰基-1,4-萘醌(A1)、2-甲氧基-1,4-萘醌(A2)、异茜草素(A4)、1-羟基-2-甲基-蒽醌(A6)、1,3,6-trihydroxy-2-methyl-9,10-anthraquinone-3-O-(6'-O-acetyl)-β-D-glucopyranoside(A10)、1,3,6-trihydroxy-2-methyl-9,10-anthraquinone-3-O-α-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-(6'-O-acetyl)-β-D-glucopyranoside(A11)和 1,3,6-trihydroxy-2-methyl-9,10-anthraquinone-3-O-β-D-xylopyranosyl-(1→2)-

收稿日期: 2024-01-06; 修订日期: 2024-04-18

基金项目: 国家自然科学基金项目(32070356, 31900269)

作者简介: 贾延莎(1997-), 女(汉族), 山东济南人, 中国药科大学中药学院在读硕士研究生, 主要从事中药研究工作。

*通讯作者简介: 张雪佳(1989-), 男(汉族), 四川射洪人, 新疆医科大学中医学院副教授, 博士学位, 主要从事中药、民族药资源研究工作。

*通讯作者简介: 谭宁华(1963-), 女(汉族), 贵州遵义人, 中国药科大学中药学院教授, 博士学位, 主要从事含鞣质中药和止咳中药系统研究工作。

(6'-O-acetyl)- β -D-glucopyranoside(A12)由所在课题组前期从多种茜草属植物中分离得到,其结构采用 HR-ESI-MS、 ^1H -HMR 和 ^{13}C -NMR 等波谱技术鉴定,质量分数均在 95% 以上,且由专人专柜保管,符合对照品存储要求。茜草素(A3,批号 B1823031)、1,4-二羟基-蒽醌(A5,批号 F1722014)和 2-甲基蒽醌(A8,批号 E1506026)购自上海阿拉丁生化科技股份有限公司,2-羟甲基蒽醌(A7,批号 0000028686)购自美国 Sigma-Aldrich 公司,羟基茜草素(A9,批号 111898-202004)购自中国食品药品检定研究院,以上购买的对照品质量分数 $\geq 96\%$ 。乙腈(德国 Merck 公司);LC-MS 级甲酸(德国 Merck 公司);水为 Milli-Q 系统制备的超纯水。

2 方法与结果

2.1 药材采收

选择二年生的栽培紫参样品,在成熟后期的 2021 年 6 月至 2021 年 11 月每半个月取样 1 次,2021 年 12 月至 2022 年 5 月每月取样 1 次,共 18 个样品。

2.2 对照品溶液制备

精密称定适量的 12 种醌类对照品于 5 mL 或 10 mL 容量瓶中,用 83% 甲醇定容至刻度线,制成对照品的单标储备液,取各对照品的单标储备液适量,制成 A1~A12 质量浓度分别为 2.16、3.64、33.64、6.72、100.20、22.92、16.30、20.48、15.50、4.64、25.12、65.00 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的混合对照品溶液,并置于 4 $^{\circ}\text{C}$ 下保存备用。各对照品的结构见图 1。

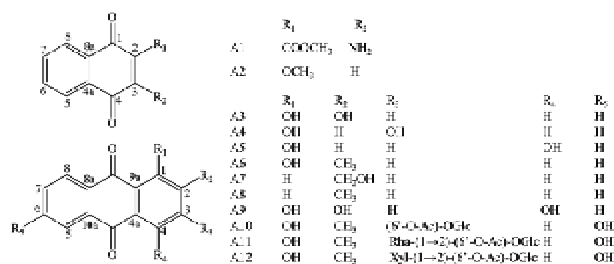


图 1 12 种醌类成分(A1~A12)的化学结构

2.3 供试品溶液制备

紫参样品用自来水冲洗以除去表面沉积物,然后在阴凉通风的环境中干燥。制备参考之前我们报道的方法^[14],即精密称定干燥至恒重的紫参样品粉末(过 65 目筛)0.20 g 至 15 mL 离心管中,精确加入 2 mL 的 83% 甲醇溶液,室温超声 86 min,取出放冷至环境温度,然后加入 83% 甲醇以补偿损失的体积,3750 r/min 离心 15 min 后将上清液转移到新管中,再重复提取 2 次,混匀后取上清液,12000 r/min 离心 15 min,上清液用 0.22 μm 微孔滤膜过滤,取滤液即为紫参药材供试品溶液。

2.4 UPLC-MS/MS 分析条件

2.4.1 色谱条件

Waters Acquity UPLC[®] BEH C₁₈ 色谱柱(2.1 mm $\times$ 100 mm, 1.7 μm),流动相为 0.1% 甲酸水溶液(A)-乙腈(B),洗脱条件为:0~6 min, 15% $\rightarrow$ 30% B; 6~8 min, 30% $\rightarrow$ 50% B; 8~10 min, 50% $\rightarrow$ 70% B; 10~15 min, 70% $\rightarrow$ 100% B; 15~15.1 min, 100% $\rightarrow$ 15% B; 15~18 min, 15% B,流速为 0.3 mL/min,柱温为 30 $^{\circ}\text{C}$,进样量为 2 μL 。

2.4.2 质谱条件

电喷雾离子源(ESI),监测模式为正离子或负离子模式,雾化气体为氮气,离子源电压为 3.0 kV,脱溶剂气温度为 550 $^{\circ}\text{C}$,离子源温度为 150 $^{\circ}\text{C}$,载气为氦气,扫描范围为 100~1000 m/z,采用多反应监测(MRM)的扫描方式,醌类成分的质谱分析参数见表 1,12 种醌类成分(A1~A12)的 MRM 色谱图见图 2。

表 1 12 种醌类成分(A1~A12)的质谱分析参数

编号	母离子 m/z	子离子 m/z	锥孔电压 /V	碰撞能量 /V	离子 模式
A1	232.02	200.09	5	10	ESI ⁺
A2	189.12	161.13	20	20	ESI ⁺
A3	241.03	139.12	42	36	ESI ⁺
A4	241.07	199.08	5	25	ESI ⁺
A5	241.03	157.12	48	26	ESI ⁺
A6	239.14	165.12	20	30	ESI ⁺
A7	239.01	152.21	20	35	ESI ⁺
A8	223.18	152.13	35	22	ESI ⁺
A9	257.10	187.10	30	20	ESI ⁺
A10	475.23	271.15	5	10	ESI ⁺
A11	619.42	269.27	20	30	ESI ⁻
A12	605.29	269.00	74	36	ESI ⁻

2.5 方法学考察

2.5.1 线性、检测限和定量限考察

通过稀释混合对照品溶液,得到 8 个不同浓度的混合对照品溶液,按照上述“2.4”项下的条件下测定,以峰面积 Y 为纵坐标,浓度 X($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)为横坐标,绘制标准曲线,计算得到回归方程。以信噪比 S/N=3 计算检测限, S/N=10 计算定量限^[15]。结果显示,所有醌类化合物的线性浓度范围在 0.017~100.200 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$,标准曲线的线性系数均大于 0.9913,说明在该浓度范围内线性良好。检测限在 0.01~1.66 ng $\cdot\text{mL}^{-1}$ 范围内,定量限在 0.03~5.56 ng $\cdot\text{mL}^{-1}$ 范围内,12 种醌类成分的方法学验证结果见表 2。

2.5.2 精密度试验

同一混合对照品溶液,按照上述“2.4”项下的条件,在同一天内连续进样 6 次,分别计算 12 种醌类成分峰面积的 RSD 值,为日内精密度。连续 3 天进样 6 次同一混合对照品溶液,计算各醌类成分峰面积的 RSD 值,为日间精密度^[15]。结果如表 2,日内精密度

RSD 值在 0.26% ~ 3.43% 的范围内,日间精密度在 0.28% ~ 5.87% 的范围内,结果表明仪器的精密度高。

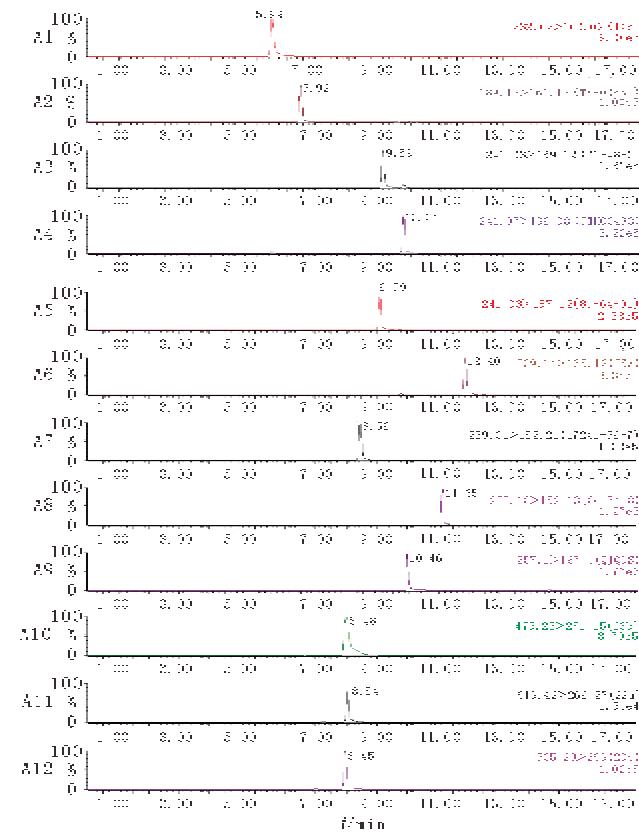


图 2 12 种黄酮成分(A1 ~ A12)的 MRM 色谱图

表 2 12 种黄酮成分(A1 ~ A12)的方法学验证结果

编号	回归方程	相关系数 R^2	线性范围 $/\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	检测限 $/\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$	定量限 $/\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$	精密度(RSD/%)		重复性 (RSD/%) $n=6$	24 h 稳定 性(RSD/%) $n=6$	回收率/%	
						日内 ($n=6$)	日间 ($n=6$)			平均值	RSD
A1	$Y=56331.00X-5661.60$	0.9921	0.017 ~ 2.160	0.01	0.03	1.55	4.86	5.20	3.64	86.89	2.37
A2	$Y=7071.30X-123.58$	0.9998	0.028 ~ 3.640	0.02	0.08	0.26	5.86	1.59	5.36	102.91	3.85
A3	$Y=509.44X-140.01$	0.9986	0.263 ~ 33.640	0.17	0.55	1.35	1.09	3.28	5.85	95.05	4.02
A4	$Y=2188.20X+98.80$	0.9978	0.053 ~ 6.720	0.01	0.05	1.75	1.35	3.39	1.37	104.45	1.68
A5	$Y=14.33X+63.22$	0.9949	0.783 ~ 100.200	0.84	2.79	3.43	0.97	3.44	3.32	97.07	3.94
A6	$Y=68.82X-28.16$	0.9963	0.179 ~ 22.920	0.08	0.26	3.26	1.57	5.88	4.67	104.28	2.62
A7	$Y=443.89X+51.80$	0.9988	0.127 ~ 16.300	0.14	0.47	3.09	1.16	4.40	6.82	101.54	2.47
A8	$Y=420.05X-233.55$	0.9913	0.160 ~ 20.480	0.03	0.11	3.33	1.69	5.33	5.69	93.46	3.21
A9	$Y=11866.00X-501.62$	0.9997	0.242 ~ 15.500	1.66	5.56	0.78	2.01	2.65	2.54	90.79	1.63
A10	$Y=8112.30X+561.10$	0.9959	0.036 ~ 4.640	0.03	0.08	2.82	2.17	2.85	4.56	100.78	2.02
A11	$Y=58.50X+35.73$	0.9938	0.196 ~ 25.120	0.35	1.18	3.19	0.28	2.49	5.73	103.16	3.84
A12	$Y=165.76X+391.57$	0.9957	0.508 ~ 65.000	0.47	1.50	2.29	5.87	2.10	3.39	89.65	2.47

黄酮苷元 A1 ~ A9 中,A1 含量从年初上升至 4 月,随后下降,直到 7 月初时达到最高,随后下降至趋于平稳;而 A2 含量在 6 月中旬、7 月中旬和 12 月含量

2.5.3 稳定性试验

精密吸取同一供试品溶液,按照上述“2.4”项下的条件,分别于 0、2、4、6、8、10、12、24 h 进样测定,计算各黄酮成分峰面积的 RSD 值^[15],结果如表 2,12 种黄酮化合物的 RSD 均在 1.37% ~ 6.82% 范围内,说明供试品在 24 h 内稳定性良好。

2.5.4 重复性试验

精密称定 6 份同一紫参样品粉末,按“2.3”项下方法制备供试品溶液,按照上述“2.4”项下的条件进样测定,计算供试品溶液中各黄酮成分峰面积的 RSD 值,结果如表 2,A1 ~ A12 的 RSD 均在 1.59% ~ 5.88%,结果表明方法的重复性良好。

2.5.5 加样回收率试验

精密称取紫参样品粉末 0.6 g,按“2.3”项下方法制备供试品溶液,加入适量已知浓度的混合对照品溶液,平行制备 6 份,按照上述“2.4”项下的条件进样测定,计算加样回收率。结果见表 2,12 种黄酮成分的加样回收率在 86.89% ~ 104.45%,RSD 值在 1.63% ~ 4.02%,结果表明该方法有较好的准确度。

2.6 样品含量测定

精密称取样品粉末 0.2 g,按“2.3”项下制备供试品溶液,按“2.4”项下 UPLC-MS/MS 条件进样分析,分别测定紫参样品中各黄酮成分含量(每份样品 3 次重复,计算平均值)。同一生长周期不同生长时期紫参中的 12 种黄酮成分的含量如表 3 所示,紫参中黄酮动态含量变化如图 3 所示,每种黄酮的含量变化趋势基本不相同,且变化规律较复杂。

较高;A3 含量在春季时平稳,从 4 月开始逐渐增加至 6 月中旬达到峰值,随后呈波浪式变化;A4 在 4 月达到最高后呈波浪式变化;A5 含量在下半年呈现间歇上升

趋势,且在 10 月中旬达到最高含量;A6 有 4 月和 6 月中旬两个含量峰值,在 7 月初至 11 月中旬期间含量处于平稳状态;A7 含量在春季平稳,于 6 月初达到峰值后呈较小的波动;A8 含量在上半年持续上升,至 6 月初达到峰值后降低至平稳;A9 含量在 3 月初时含量最高,整体呈波浪式变化。

醌类苷 A10 ~ A12 中,A10 的含量一直处于较低水平,整体来说变化不大;A11 和 A12 的含量变化趋势相似,在 4 月时含量几乎没有,于 7 月初时达到低值,随后至 7 月中旬含量骤升到最高值,再降低,随后间歇上升。

综上所述,紫参中各醌类成分的最高含量出现时间各有不同,根据这些变化,对于醌类成分的最佳采收时期,可以选择 12 种醌类总含量较高的 7 月中旬和 12 月左右。

从图 3B 中发现,12 种醌类总量和其中 9 种醌类苷元总量变化趋势相似,而醌类苷和醌类苷元的变化趋势相反,这可能与结构上的糖基转移有关。醌类总量在 7 月中旬达到最高峰,12 月含量也维持在相对较高水平,而在 4 月、7 月初和 9 月初时则较低。醌类苷的总量同样在 7 月中旬达到峰值,而在 4 月和 7 月初时含量几乎没有。9 种醌类苷元总量在 6 月中旬出现峰值。此外,在 12 月左右,12 种醌类总量、3 种醌类苷和 9 种醌类苷元的含量均积累到较高水平,并呈现出相对稳定的趋势。醌类苷元 A2、A5 和 A6,醌类苷 A11 和 A12 的含量较高,占主导地位,是影响 12 种醌类总含量变化趋势的主要成分。因此,根据醌类含量变化的研究结果,紫参的最佳采收时期应选择在 7 月左右,12 月同样可作为另一个适合采收的季节。

表 3 不同生长时期紫参中 12 种醌类成分(A1 ~ A12)的含量测定结果

$\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$

采样时间	含量												总含量
	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8	A9	A10	A11	A12	
2022-01-01	1.55	33.08	52.76	29.72	32.02	170.76	7.76	8.10	232.15	80.30	1169.89	523.06	2341.15
2022-02-01	2.79	31.80	52.25	7.58	227.59	249.67	5.29	18.65	168.13	47.05	1010.91	458.22	2279.93
2022-03-01	2.46	71.30	62.34	48.09	61.44	225.16	9.33	20.75	289.42	50.57	1328.62	653.55	2823.03
2022-04-01	10.05	8.23	51.60	204.32	76.20	1224.79	10.01	32.66	124.77	—	—	—	1742.63
2022-05-01	3.89	92.99	90.03	50.35	43.20	268.46	30.54	32.38	230.81	28.93	737.86	271.02	1880.46
2021-06-01	1.25	209.07	147.26	33.31	222.43	247.19	65.96	38.99	192.08	31.86	687.68	248.94	2126.02
2021-06-15	2.08	296.42	170.00	35.48	391.12	1363.67	38.51	38.03	193.10	15.69	288.98	96.90	2929.98
2021-07-01	21.55	42.75	47.99	175.53	803.52	273.50	6.93	14.06	251.83	2.83	140.99	3.22	1784.70
2021-07-05	11.32	441.26	132.23	44.80	434.78	353.00	22.70	14.65	162.89	33.36	1938.36	657.66	4247.01
2021-08-01	2.60	104.45	35.89	51.92	508.44	310.73	8.39	13.91	87.50	40.99	731.76	200.82	2097.40
2021-08-15	5.22	146.59	5.74	127.95	671.30	452.72	10.38	13.98	59.21	24.87	600.72	119.16	2237.84
2021-09-01	0.28	46.72	51.69	36.20	51.41	128.97	6.79	11.68	124.14	29.65	815.82	243.92	1547.27
2021-09-15	0.79	64.92	18.21	78.79	75.40	130.75	2.64	11.04	99.55	33.65	802.15	276.20	1594.09
2021-10-01	1.62	85.53	64.92	10.48	634.57	246.74	21.04	22.72	54.41	6.95	607.40	156.72	1913.10
2021-10-15	2.97	248.69	58.21	13.65	1020.84	87.43	7.75	20.35	117.56	9.59	592.95	191.41	2371.40
2021-11-01	2.14	65.54	20.43	9.13	899.89	72.43	8.25	15.46	140.01	36.01	1009.72	355.87	2634.88
2021-11-15	1.18	61.32	21.07	10.02	761.76	74.42	7.49	13.85	89.93	36.87	1089.51	383.96	2551.38
2021-12-01	6.18	607.48	67.64	54.22	276.79	624.40	2.45	14.58	118.28	16.11	1340.35	172.20	3300.68

“—”表示未检测到

2.7 聚类分析

聚类分析可以对数据进行分类,并对样本的相似性进行分析,从而更直观地了解数据间的规律以及数据与样本之间的关系。为了比较不同生长时期紫参中醌类成分的含量差异,对不同生长时期的 12 种醌类成分进行了聚类分析。如图 4 所示,12 种醌类总含量最高的 7 月中旬和 12 月初的样本聚类在一起,含量较低的 4 月初和 7 月初这两个样本聚集在一起,原因是这两个生长时期的醌类苷(A10、A11 和 A12)含量几乎无法检测到。此外还发现,3 种醌类苷与 9 种醌类苷元之间有明显的差异,A10、A11 和 A12 这三个醌类苷之间存在明显的相关性,因此可被归为同一类。在醌类苷元中,A1 和 A2 可以归为一类;A4、A5 和 A6 归为一

类;A3、A7、A8 和 A9 归为一类。聚类分析为不同月份的紫参样本提供了分类,显示 12 种醌类含量较高的 7 月中旬和 12 月样本更为接近。

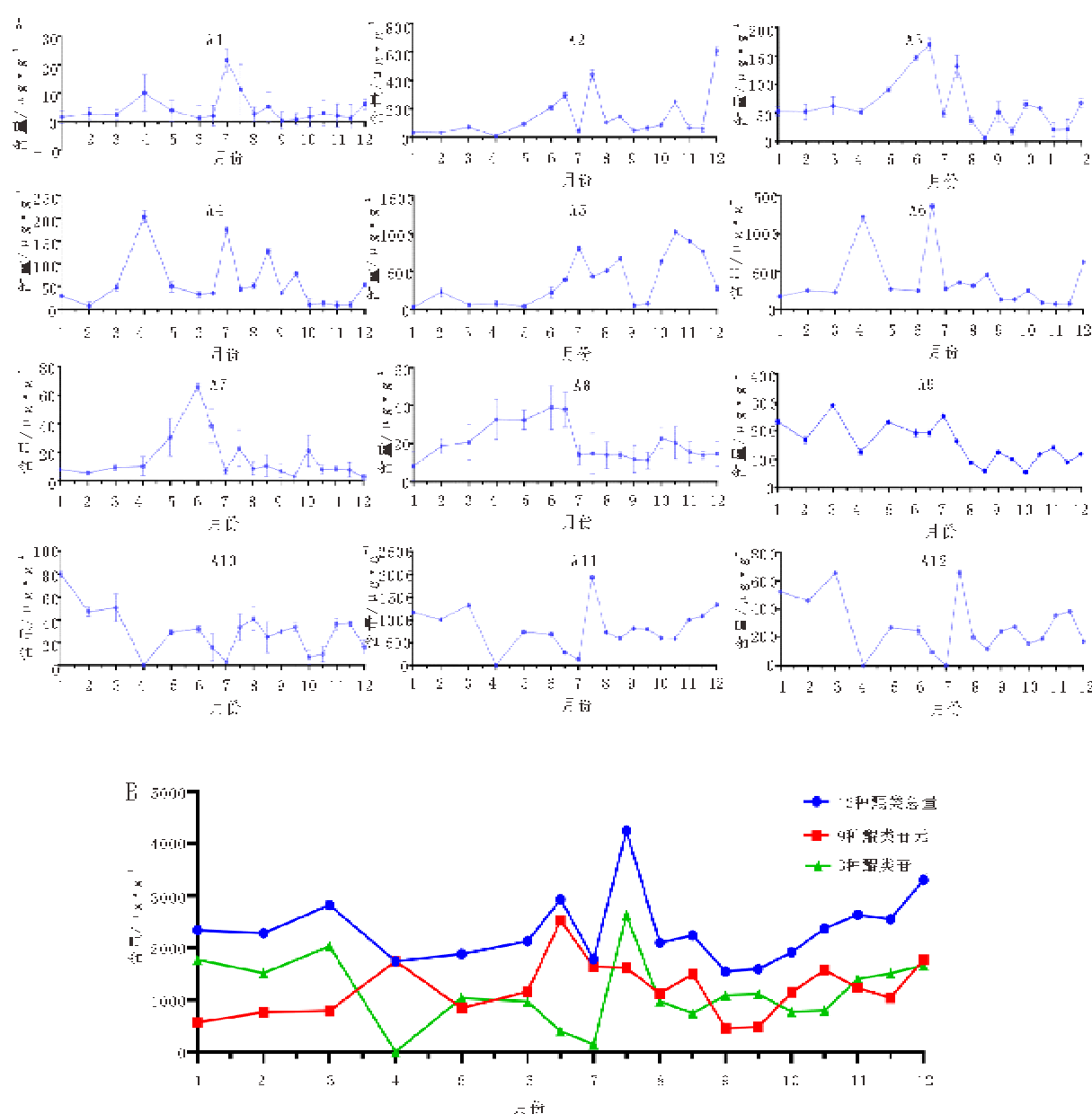
3 讨论

紫参作为我国一种重要的植物资源,具有较高的商业和药用价值,其所含的醌类成分是紫参根部有效成分之一^[16]。本文所分析的醌类化合物具有一定的药理活性和潜在的药物开发价值。例如,茜草素(A3)具有抗肿瘤、抗菌、抗氧化和抗炎等多种药理活性^[17];异茜草素(A4)具有抗丝虫寄生虫和乳腺癌细胞的药用潜力,可用作丝虫病和血吸虫病的主要治疗药物,并有望成为癌症治疗的候选药物^[18,19];A7 具有抗幽门螺旋杆

菌的作用^[20];羟基茜草素(A9)是2020版《中国药典》中评价茜草药材质量的指标成分^[21]。

根及根茎类药材一般在秋冬或者初春季节进行采收,此时,植物的叶已凋零,营养物质大量储存于根及根茎中^[22],如黄芩、白花丹参、半夏和柴胡等根及根茎药材的最佳采收时间通常在秋冬季节^[23~26]。紫参作为多年生药用植物,本次测定的醌类总量在7月中旬达到最高,然后经历了下降和再次回升的过程,直至秋冬季趋于稳定。这一现象可能是,7月中旬时紫参植物体内合成醌类的基因处于活跃状态,导致醌类含量达到最高;随着时间的推移,醌类逐渐分解,而在秋冬季

时,植物体内分解醌类基因的不再活跃表达,使得醌类含量得以积累。基于这些变化,后期可结合代谢组学和转录组学技术,筛选出醌类含量差异显著月份中存在的差异代谢物和差异表达基因,为紫参中醌类物质的生物合成提供参考。此外,本研究还发现醌类总量和醌类苷元的含量变化趋势相似,而醌类苷和醌类苷元的变化趋势相反,这可能与苷元的糖基转移有关,前期我们已挖掘到了紫参中醌类的糖基转移酶^[27],其活性表达情况是否与醌类苷含量高低相关,值得进一步探索。



(A) 12种醌类成分(A1~A12)含量的动态变化图;(B) 12种醌类成分总含量的动态变化图;
横坐标的6~12:2021年6月1日至2021年12月1月,1~5:2022年1月1日至2022年5月1日

图3 不同生长时期紫参中醌类成分的动态含量变化

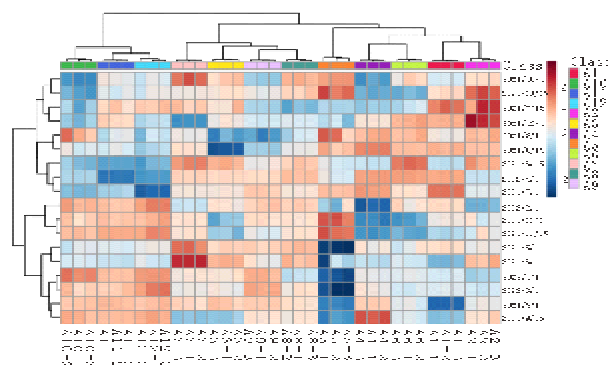


图4 不同生长时期紫参中
12种醌类成分(A1~A12)的聚类热图

根据《云南省中药材标准》^[28]记载和当地农户的采收经验认为,紫参通常在秋冬季节采收。紫参中12种主要的醌类成分含量大多从9月中旬到12月期间持续增长,且一直处于较高水平,从而验证紫参传统采收期在秋冬季的合理性,此外,12种醌类成分总含量在七月初也处于较高水平,因此可参考作为紫参的次要采收期。另外,由于受到栽培条件的限制,并未对不同生长年限的紫参样品开展研究,后期可对不同生长年限的紫参样品进行采集和检测,以期更全面地完善紫参采收期的研究。此外,本研究所用样品均来自同一地区,未对其他地区的紫参样品进行采集和检测,存在一定的地域局限性。中药的外在指标,如性状颜色等特征,也是确定采收期的重要因素^[29]。因此,对于紫参最佳的采收期仍需要进一步研究探讨。

参考文献:

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志[M]. 北京: 科学出版社, 1999, 71(2): 303.
- [2] Zeng G Z, Fan J T, Xu J J, et al. Apoptosis induction and G2/M arrest of 2-methyl-1,3,6-trihydroxy-9,10-anthraquinone from *Rubia yunnanensis* in human cervical cancer Hela cells[J]. *Pharmazie*, 2013, 68(4): 293.
- [3] Fan J T, Su J, Peng Y M, et al. Rubiyanmanins C-H, cytotoxic cyclic hexapeptides from *Rubia yunnanensis* inhibiting nitric oxide production and NF- κ B activation[J]. *Bioorg Med Chem*, 2010, 18(23): 8226.
- [4] Liou M J, Teng C M, Wu T S. Constituents from *Rubia ustulata* Diels and *R. yunnanensis* Diels and their antiplatelet aggregation activity[J]. *J Chin Chem Soc*, 2002, 49(6): 1025.
- [5] Fan J T, Chen Y S, Xu W Y, et al. Rubiyanmanins A and B, two novel cyclic hexapeptides from *Rubia yunnanensis* [J]. *Tetrahedron Lett*, 2010, 51(52): 6810.
- [6] Fan J T, Kuang B, Zeng G Z, et al. Biologically active arborinane-type triterpenoids and anthraquinones from *Rubia yunnanensis* [J]. *J Nat Prod*, 2011, 74(10): 2069.
- [7] Malik E M, Müller C E. Anthraquinones as pharmacological tools and drugs[J]. *Med Res Rev*, 2016, 36(4): 705.
- [8] Xu K, Wang P, Wang L, et al. Quinone derivatives from the genus *Rubia* and their bioactivities[J]. *Chem Biodiver*, 2014, 11(3): 341.
- [9] Duñossé L. Anthraquinone, the Dr Jekyll and Mr Hyde of the food

- pigment family[J]. *Food Res Int*, 2014, 65: 132.
- [10] Caro Y, Anumale L, Fouilland M, et al. Natural hydroxyanthraquinoid pigments as potent food grade colorants: an overview[J]. *Nat Prod Bioprospect*, 2012, 2(5): 174.
- [11] Zhang R, Miao Y, Chen L, et al. *De novo* transcriptome analysis reveals putative genes involved in anthraquinone biosynthesis in *Rubia yunnanensis* [J]. *Genes*, 2022, 13(3): 521.
- [12] Yi S, Lin Q, Zhang X, et al. Selection and validation of appropriate reference genes for quantitative RT-PCR analysis in *Rubia yunnanensis* Diels based on transcriptome data [J]. *BioMed Res Int*, 2020, 2020: 5824841.
- [13] Miao Y, Hu Y, Yi S, et al. Establishment of hairy root culture of *Rubia yunnanensis* Diels: Production of Rubiaceae-type cyclopeptides and quinones[J]. *J Biotechnol*, 2021, 341: 21.
- [14] Hu Y, Zhang X, Zhang Z, et al. Qualitative and quantitative analysis of quinones in multi-origin *Rubia* species by ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry combined with chemometrics[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2020, 189: 113471.
- [15] 徐思易, 谭亚杰, 唐浩竣, 等. 玄参药材中多类型成分的定量分析方法建立及其在脉络宁口服液中的应用[J]. *中草药*, 2023, 54(11): 3446.
- [16] Xu K, Wang P, Yuan B, et al. Structural and bioactive studies of terpenes and cyclopeptides from the Genus *Rubia* [J]. *Chem Central J*, 2013, 7(1): 1.
- [17] Li Y, Jiang J G. Health functions and structure-activity relationships of natural anthraquinones from plants[J]. *Food Funct*, 2018, 9(12): 6063.
- [18] Dhananjayan M R, Milev Y P, Kron M A, et al. Synthesis and activity of substituted anthraquinones against a Human Filarial Parasite, *Brugia malayi* [J]. *J Med Chem*, 2005, 48(8): 2822.
- [19] Bajpai V K, Alam M B, Quan K T, et al. Cytotoxic properties of the anthraquinone derivatives isolated from the roots of *Rubia philippinensis* [J]. *BMC Complement Alternat Med*, 2018, 18: 1.
- [20] Park B S, Lee H K, Lee S E, et al. Antibacterial activity of *Tabechia imperiginosa* Martius ex DC (Tabecha) against *Helicobacter pylori* [J]. *J Ethnopharmacol*, 2006, 105(1-2): 255.
- [21] 国家药典委员会. 中国药典(一部) [S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 245.
- [22] 汤敏. 中药材及饮片的质量问题和控制措施[J]. *首都医药*, 2013, 20(8): 52.
- [23] 刘庆华. 中药黄芩有效成分含量和采收月份关系的探索[J]. *大众标准化*, 2021, (15): 239, 246.
- [24] 张锋, 王维婷, 薛静, 等. 白花丹参最佳采收期研究[J]. *山东农业科学*, 2014, 46(6): 82.
- [25] 曾建红, 彭正松. 半夏不同采收期总生物碱含量的动态变化研究[J]. *湖北林业科技*, 2004, (1): 1.
- [26] 王瑞娟, 王辉, 晋小军. 甘肃中部柴胡适宜采收期研究[J]. *甘肃农业科技*, 2018, (1): 54.
- [27] Yi S, Kuang T, Miao Y, et al. Discovery and characterization of four glycosyltransferases involved in anthraquinone glycoside biosynthesis in *Rubia yunnanensis* [J]. *Organ Chem Front*, 2020, 7(17): 2442.
- [28] 云南省食品药品监督管理局. 云南省中药材标准: 彝族药[S]. 昆明: 云南科学技术出版社, 2005: 11.
- [29] 刘锦茜, 赖长江生, 梁锋, 等. 中药采收期的机理与控制方法的研究进展[J]. *中药材*, 2022, 45(8): 2019.

(责任编辑:熊久林)