

不同产地黄精薯蓣皂苷元含量的研究

周宝珍

(西安外事学院医学院, 陕西 西安 710100)

摘要:以不同产地、不同种属黄精中薯蓣皂苷元的含量差异为指标,采用酸水解法提取黄精薯蓣皂苷元,用UPLC法测定其含量,为鉴别黄精的不同来源和品质提供依据。结果表明:薯蓣皂苷元对照品回归方程: $Y = 1.84406e + 006X - 20367.7$ $R^2 = 0.9980043$,线性良好;不同产地、不同种属黄精薯蓣皂苷元含量有明显差异。江西的多花黄精和浙江的多花黄精薯蓣皂苷元含量较高。

关键词:超高效液相色谱法;薯蓣皂苷元;UPLC 指纹图谱;酸水解法

黄精是百合科黄精属植物的干燥根茎,分为滇黄精(*Polygonatum kingianum* Coll. et Hemsl.)、黄精(*Polygonatum sibiricum* Red.)或多花黄精(*Polygonatum cyrtoneuma* Hua),按照外形的不同,又可以叫做大黄精、鸡头黄精、姜形黄精^[1]。它具有养阴润肺,健脾益气,肺虚咳嗽,滋肾,内热消渴等功效^[2]。黄精根茎已广泛应用于许多食品的组成成分和添加剂,包括调味剂,饮用水,茶制剂等^[3]。这种药材在中国的储量相对较大,分布也普遍。滇黄精在云南省、四川省、贵州省、广西省等有分布;黄精在东北地区、西北地区、华北地区、华东地区等有分布^[4];多花黄精在华东地区、中南地区、四川省、贵州省等有分布^[3]。而来自不同产地的黄精的质量是不同的,其成分含量更是不同。

黄精药材的最主要有效成分被鉴定为薯蓣皂苷元^[5]。薯蓣皂苷元是从薯蓣科植物中提炼而出

的,它的主要作用有保护肝脏、促进胆汁分泌、防癌抑癌^[6]、医治骨质疏松、降血糖和血脂^[7]、消炎、诱导人红白血病(HEL)细胞和人早幼粒白血病(HL260)细胞的分化等^[8~9]。同时薯蓣皂苷元还可以用于医治某些皮肤上的炎症、去除多余的油脂、抗老化等,是化妆品业的一支重要力量,具有良好的发展前景。不同来源的黄精在薯蓣皂苷元的含量上是各不相同的,因此,本实验应用UPLC对不同来源的薯蓣皂苷元含量进行分析、比较,可以比较精确的为黄精的用量控制提供一些依据,还可以确定最佳产地的黄精薯蓣皂苷元。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

见表1和表2。

1.2 仪器与设备

见表3。

表1 黄精样品来源

样品号	产地(Growing areas)	采集日期
1	贵州(<i>Polygonatum sibiricum</i>)	2014.9.14
2	湖南(<i>Polygonatum cyrtoneuma</i>)	2014.9.15
3	江西(<i>Polygonatum cyrtoneuma</i>)	2014.9.22
4	云南(<i>Polygonatum kingianum</i> Coll. et Hemsl)	2014.9.22
5	浙江(<i>Polygonatum cyrtoneuma</i>)	2014.9.22

表2 试剂

名称	含量	来源
标准品薯蓣皂苷元	≥98%(HPLC)	北京世纪奥科生物科技有限公司
甲醇	分析纯	天津天力化学试剂有限公司
乙醇	分析纯	天津天力化学试剂有限公司
正丁醇	分析纯	天津天力化学试剂有限公司
盐酸	分析纯	天津天力化学试剂有限公司
色谱级乙腈	分析纯	Fisher Scientific 实验器材(上海)有限公司

表3 仪器设备

收稿日期:2017-02-01 修回日期:2017-04-10

作者简介:周宝珍(1984-),男,陕西西安人,硕士,讲师,研究方向:天然产物提取方向。

设备名称	型号	产地
烘箱	101-2AB	天津市泰斯特仪器有限公司
电子天平	AL104	梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司
超声波清洗器	KH-700DB	昆山禾创超声仪器有限公司
旋转蒸发器	RE 52-99	上海亚荣生化仪器厂
真空抽滤器	GM-0.33A	天津市津腾实验设备有限公司
循环水式真空泵	SHZ-D(Ⅲ)	巩义市弓华仪器有限责任公司
电热恒温水浴锅	ZD-420A	宁波江南仪器厂
超高效液相色谱仪	SHIMADZU LC-30AD	SHIMADZU COPORATION

1.3 黄精样品处理

将不同来源的黄精药材在 50℃ 烘箱中烘干,粉碎,过 40 目筛后制成黄精样品粉末。

1.4 黄精供试品溶液的制备

1.4.1 标品溶液的制备 准确称取薯蓣皂苷元 5 mg 倒入 5 mL 的量瓶中,加入甲醇至刻度,充分摇匀,用作对照品溶液(1 mg · mL⁻¹)。采用 0.22 μm 的滤膜过滤,低温保存,备用。

1.4.2 含量测定供试品溶液的制备 准确称取黄精样品粉末 2g 置茄形烧瓶内,加入 100 mL 的 80% 乙醇,充分摇匀,称重,加热回流 3 h,待冷却后再称量,减少的重量用乙醇补平,充分摇匀,抽滤,取滤液备用。

未水解:准确量取上述滤液 40 mL,旋干乙醇后加 20 mL 水,加 20 mL 正丁醇萃取,重复两次,保留正丁醇层,再次旋干,残渣加甲醇 10 mL 定容至刻度,再加 10 mg · mL⁻¹ 的壳聚糖冰醋酸溶液 0.001 mL,放过夜,采用 0.22 μm 的滤膜过滤,低温保存,此滤液作为供试品溶液(1)。

水解:另同法准确量取 40 mL 的滤液,旋干乙醇后加 100 mL、3 mol · L⁻¹ 的盐酸溶液溶解,加热回流 3h,待冷却后,再移到分液漏斗内,加入 20 mL 正丁醇萃取,重复两次,保留正丁醇层,再次旋干,残渣加甲醇 10 mL 定容至刻度,再加 10 mg · mL⁻¹ 的壳聚糖冰醋酸溶液 0.001 mL,放过夜,采用 0.22 μm 的滤膜过滤,低温保存,此滤液作为供试品溶液(2)。

1.5 黄精薯蓣皂苷元含量测定

1.5.1 液相色谱条件筛选 取制备好的浙江供试品溶液,每次进样 3 μL,筛选最适的色谱条件。

1.5.2 精密度实验 为了检查供试品溶液进样和仪器的精密度,取同一供试品,先后连续进样 5 次。

1.5.3 重现性实验 取浙江黄精六份,按供试品溶液制备方法制备供试样品,并进行分析,以外标法计算薯蓣皂苷元含量(%),考察测试方法的重现性。

1.5.4 稳定性实验 为了检查供试品溶液的稳

定性,在多个不同时间点对同一种样品进行检测分析,取江西黄精药材,按含量测定供试品溶液制备处理,分别在 0、2、4、8、12、24 个小时依次进样测定分析。

1.5.5 线性实验 将配好的薯蓣皂苷元标品溶液(0.5 uL、1 uL、2 uL、3 uL、5 uL、8 uL、10 uL)依次上样。

1.6 数据统计分析

选用 DPS 7.05、Excel 2010 进行数据处理并作显著性分析。

2 结果与分析

2.1 液相色谱条件的确定

取制备好的浙江供试品溶液,每次进样 3 μL,共筛选恒流方法 10 种(乙腈 10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、100%),梯度方法 15 种,通过比对图谱,确定出最优的色谱条件如下:

SHIMADZU UFLC-30AD 二元超高效液相色谱仪,SPD-20A 检测器,Shim-pack XR-ODS III 色谱柱(75 mm × 2.0 mm, 1.6 μm),以 A:乙腈和 B:水为流动相,采用二元梯度洗脱,梯度程序为:0~2 min,5%~10% A(v · v⁻¹);2~10 min,10%~35% A(v · v⁻¹);10~15 min,35%~60% A(v · v⁻¹);15~20 min,60%~80% A(v · v⁻¹);20~25 min,80%~100% A(v · v⁻¹)。流速 0.2 mL · min⁻¹,柱温 30℃,检测波长 203 nm,进样量 3 μL。

2.2 精密度实验结果

取贵州黄精供试品液(1)、(2),先后连续进样 5 次,其峰面积 RSD 分别为 1.76% 与 1.80%,说明仪器的精密度较好,对实验结果影响较少。

2.3 重现性实验结果

取浙江黄精六份,按供试品溶液制备方法制备供试样品(1)、(2),并进行分析,以外标法计算薯蓣皂苷元含量(%),考察测试方法的重现性,结果测定的薯蓣皂苷元平均含量为标示量的 100.41% 和 98.33%,RSD 为 1.47% 和 0.85%,表明

该提取方法的重现性较好。

2.4 稳定性实验结果

取江西黄精药材,按含量测定供试品溶液制备处理,分别在 0、2、4、8、12、24 个小时依次进样测定分析,其相对保留时间和相对保留峰面积 RSD 分别为 0.24% 和 0.51%。表明供试品溶液在一天 24h 内较为稳定,结果可靠。

2.5 线性实验结果

按照含量测定的色谱条件,将配好的薯蓣皂苷元标准溶液(0.5 uL、1 uL、2 uL、3 uL、5 uL、8 uL、10 uL)依次上样。结果显示:回归方程: $Y = aX + b$, $a = 1.84406e+006$ $b = -20367.7$, $R^2 = 0.9980043$, $R = 0.9990016$,线性良好。

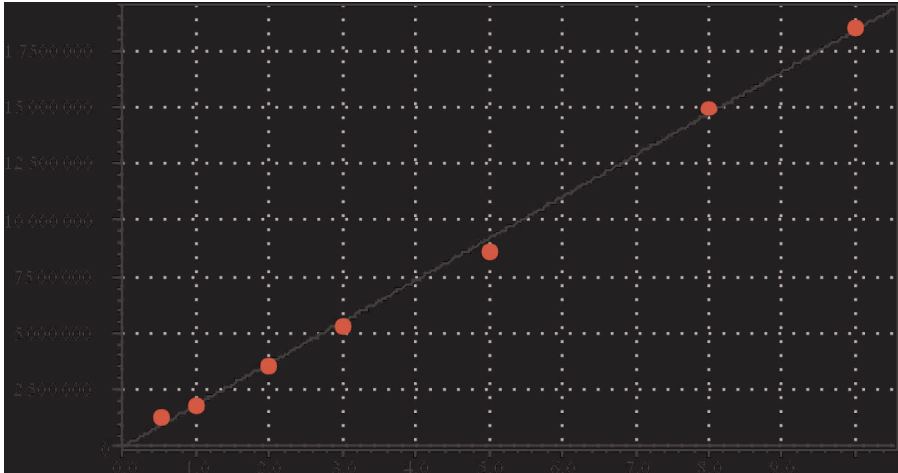


图 1 薯蓣皂苷元的标准曲线

表 4 不同来源的黄精薯蓣皂苷元含量比较

产地	未水解组/%	水解组/%
贵州(黄精)	0.0046±0.0001 bcB	0.0076±0.0005 bA
湖南(多花黄精)	0.0029±0.0002 cD	0.007±0.0009 bA
江西(多花黄精)	0.0068±0.0006 aA	0.0113±0.0019 aA
云南(滇黄精)	0.0034±0.0002 cCD	0.0075±0.0002 bA
浙江(多花黄精)	0.0055±0.0003 bAB	0.01±0.0001 abA

注:表中的数据为 3 次重复的平均值。同一列数据后不一样的小写字母表示经 Duncan 氏新复极差法检验差异显著 ($P < 0.05$),不一样的大写字母表示差异极显著 ($P < 0.01$),下同。

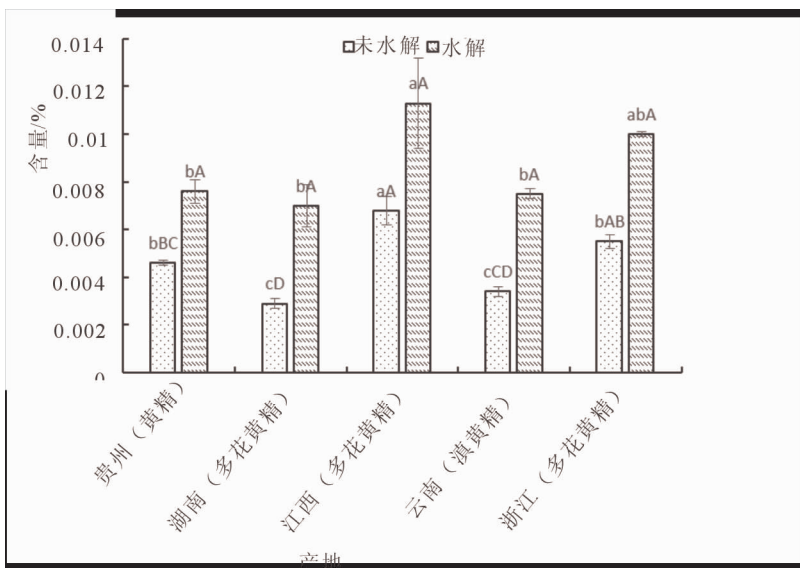


图 2 不同来源的黄精薯蓣皂苷元含量比较

2.6 不同来源的黄精薯蓣皂苷元含量

表 4 所示为测得的不同来源黄精薯蓣皂苷元未水解组和水解组的平均含量结果,可见,同一品

种多花黄精在湖南、江西、浙江这三个不同产地的薯蓣皂苷元和不同品种的黄精薯蓣皂苷元无论是未水解组还是水解组的含量都不一样。其中薯蓣

皂苷元含量最高是江西的多花黄精,未水解和水解的含量达到 0.0068 ± 0.0006 aA%、 0.0113 ± 0.0019 aA%,说明这个地区的多花黄精薯蓣皂苷元含量相对较高。而薯蓣皂苷元含量最低为湖南的多花黄精,未水解和水解的含量为 0.0029 ± 0.0002 cD%、 0.007 ± 0.0009 bA%,说明这个地区的多花黄精薯蓣皂苷元含量相对较低。图2所示为不同来源的黄精薯蓣皂苷元未水解组和水解组的含量比较柱形图。总体上看,同一样品水解测得的黄精薯蓣皂苷元含量都比未水解组的高,柱高差都相当,因此黄精通过水解处理测得的薯蓣皂苷元含量更为精确。

3 结论与讨论

通过UPLC对五个不同来源的黄精的薯蓣皂苷元含量进行研究,发现不同品种的黄精薯蓣皂苷元含量不一样,由于温度、光照、地理环境等影响,同一品种不同产地的黄精薯蓣皂苷元含量也有差异,其中江西的多花黄精和浙江的多花黄精薯蓣皂苷元含量较高,从皂苷的角度来看,这两个地区的黄精质量相对较好。同时,水解法较未水解法处理供试样品溶液测得的黄精薯蓣皂苷元含量结果更佳。

本实验的优点在于目前还没有有关黄精的UPLC指纹图谱的具体报道,运用UPLC法较HPLC法简便,容易操作,省时省力,可以用作黄精质量控制的定量方法。但仍然还存在着一些不足之处,本实验只是对黄精UPLC指纹图谱做了较为初步的研究,为了达到更好的黄精质量评价

(上接第29页)

3 结论与讨论

(1)周10J5的播种适期为5月26日—6月5日,芝麻应在5月下旬及6月上旬播种,要抢墒播种,最迟不能晚于6月15日,否则会导致减产。

(2)在适宜播期内,周10J5的适宜播种密度为 $75\ 000 \sim 225\ 000$ 株 \cdot hm^{-2} ,其中6月5日播种与密度 $150\ 000$ 株 \cdot hm^{-2} 搭配的处理组合产量最高,达 $1\ 338.89$ kg \cdot hm^{-2} 。可根据当地气候特点及土壤墒情,将播种密度控制在 $75\ 000 \sim 225\ 000$ 株 \cdot hm^{-2} 。

(3)上述分析可见,周10J5要实现高产栽培,

应该对黄精UPLC指纹图谱的各个有效成分共有峰进行更加深入、彻底的分析。

参考文献:

- [1] 中国药典2010版一部[S].北京:中国医药科技出版社,2010:288.
- [2] 国家中医药管理局中华本草编委会.中华本草[M].上海:上海科学技术出版社,1999,(08):142-148.
- [3] Seung-Hoon Baek a, Jin Gyun Lee b, Seo Young Park b, et al. Gas chromatographic determination of azetidine-2-carboxylic acid in rhizomes of *Polygonatum sibiricum* and *Polygonatum odoratum*[J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2012, 25: 137-141.
- [4] 陈兴荣,王成军,李龙星等.滇黄精的化学成分级药理学研究进展[J].时珍国医国药,2002,13(09):560-561.
- [5] 孙隆儒,王素贤,李统.中药黄精化学成分的研究(1)[J].中草药,1997,28(增刊):47.
- [6] 高中礼,张景龙,宋世刚.黄精的药理研究与临床应用[J].长春中医药大学学报,1999,15(06):51.
- [7] 马海英,赵志涛,王丽娟等.薯蓣皂苷元和黄山药皂苷抗高血压脂症作用比较.中国中药杂志,2002,27(07):528-531.
- [8] Minaki K, Nakamura O, Sashida Y, et al. Steroidal saponins from the bulbs of *Lilium iongliflorum* and their antitumor promoter activity[J]. phytochemistry, 1994, 37: 227.
- [9] MeiDong, Xi Zhi Feng, Ben XiangWang, et al. Two novel furostanol saponins from the rhizomes of *Dioscorea panthaica* prainetburkill and their cytotoxic activity[J]. Tetrahedro. 2001, 57: 501.

在适宜播期和密度的基础上,还应掌握抢墒播种,一播全苗,及时间、定苗等栽培技术,达到合理密植,群体增产。建议在生产中要因地制宜,调整播期和密度,实现良种良法配套。

参考文献:

- [1] 李伟峰,张辉,等.芝麻新品种周10J5的选育及配套高产栽培技术[J].中国种业,2016,(12):67-68.
- [2] 官春云.植物育种理论与方法[M].上海:上海科学技术出版社,2004.
- [3] 南京农业大学.田间试验和统计方法[M].北京:农业出版社,1985:165-170.
- [4] 莫惠栋.农业试验设计[M].上海:上海科学技术出版社,1984:445-458.