

准收载,应加大金樱根药材的标准研究工作,并对地方习用的金樱根品种及阳枝进行系统的植物化学成分和药效学物质基础研究,并依据目前金樱根药材的实际收购情况进行标准的制定工作,使标准更有利于控制金樱根药材的质量,又能更好地扩大药源,保持金樱根药材资源可持续开发利用和质量控制具有重要的现实意义。

参考文献:

[1] 中国药典[S].一部.2005

- [2] 李时珍.本草纲目(第18卷)[M].北京:人民卫生出版社,1977
- [3] 吴其濬.植物名实图考[M].第22卷.上海:商务印书馆,1959
- [4] 江苏新医学院.中药大辞典[M].上海:上海人民出版社,1986
- [5] 广西壮族自治区卫生厅.广西中药材标准[M].南宁:广西科学技术出版社,1990
- [6] 湖南省卫生厅.湖南省中药材标准[M].长沙:湖南科学技术出版社,1993

远志主产区药材中远志皂苷元和多糖量的比较

滕红梅^{1,2},张书锋³,胡正海^{1*},房敏峰¹

(1. 西北大学 西部资源生物与现代生物技术省部共建教育部重点实验室,陕西 西安 710069; 2 运城学院 生命科学系,山西 运城 044000; 3 白求恩医学院 药理学教研室,河北 石家庄 050081)

摘要:目的 对远志主产区山西、陕西和河北的不同产地栽培远志的药材品质进行比较。方法 采用高效液相色谱法和分光光度法对主产区不同产地栽培远志药材中的皂苷元和多糖量进行测定。结果 多重比较分析结果表明,主产区不同产地远志药材中的皂苷元和多糖量差异显著,各地远志药材的质量存在较大差异。从皂苷元和多糖的量综合分析,山西闻喜、新绛的量都处于较高水平,而平遥和运城两地的皂苷元和多糖的量都处于较低水平。结论 主产区不同产地的远志药材皂苷元和多糖的量差异显著。

关键词:远志;不同产地;皂苷元;多糖

中图分类号:R282.6

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2009)07-1143-04

远志(又名细叶远志)*Polygala tenuifolia* Willd. 为远志科远志属多年生草本植物,以干燥的根入药,为我国大宗常用中药材,也是我国42种重点保护的野生中药材之一。作为药材,远志始载于《神农本草经》,列为上品,视为养命要药,具有祛痰、消肿、安神益智的功效^[1]。远志商品过去主要源于野生,近年由于需求量的增加,野生资源处于濒危状态。为满足市场需求,从20世纪80年代开始人工栽培远志。山西、陕西、河北为主要栽培产区,其中山西栽培的面积最大。关于远志药材的品质,传统认为山西、陕西两地远志的质量最好,为远志的道地产区^[2]。然而,主产区不同产地的栽培药材在品质上究竟有无区别,仅见赵云生等^[3]曾对山西不同气候区的远志药材的品质进行的比较,缺乏对远志主产区不同产地药材品质的比较研究。

远志中主要化学成分为三萜皂苷类、酮类、糖和糖酯苷类、生物碱类等。迄今为止,对于远志的质

量控制标准尚无很完善的方法。皂苷为远志中祛痰止咳、镇静的的主要活性成分,目前主要以皂苷的量作为远志的指标成分进行品质评价^[4~6]。多糖广泛存在于自然界,是多种中草药的有效成分之一,具有多种生物活性,是理想的免疫增强剂,能提高机体免疫系统的功能,而对正常细胞没有毒副作用,因此,多糖已经成为中药中极具开发价值的一种活性物质。赵云生等^[7]测定了晋产远志多糖的量,裴瑾等^[8]测定了远志及地上部分多糖的量,表明远志中多糖量较高,具有开发利用价值。本研究利用高效液相色谱法和紫外分光光度法对远志主产区不同产地药材的远志皂苷元和多糖的量进行比较分析,以期客观综合评价不同产地远志药材的质量,并为优良栽培品种的选育提供依据。

1 仪器与试剂

日本岛津 LC-10ATvp 高效液相色谱仪, SPD-10A vp 检测器, Class-VP 工作站; KS-80D

* 收稿日期:2008-11-12

基金项目:西北大学研究生创新教育项目(07YZZ25);陕西省自然科学基金资助项目(SJ08-ZY02)

作者简介:滕红梅(1969—),女,山西运城人,副教授,在读博士,研究方向为结构植物学和资源植物学研究。

Tel: (0359) 2090177 E-mail: yethm@yahoo.com.cn

* 通讯作者 胡正海 Tel: (029) 88302684

型超声提取仪, MA200 电子天平, 752C 型紫外可见光分光光度计。

甲醇、乙腈为色谱纯, 水为双蒸水, 其他试剂为分析纯。远志皂苷购自中国药品生物制品检定所, 批号: 111572-200301。远志实验材料系笔者于 2008 年 10 月 3~15 日到产地实际调查后采集, 由西北大学胡正海教授鉴定。选择用自产种子连续栽培 6 年以上(含间歇轮作)的种植点, 采集在 5~8 月间播种的生长 3 年的远志植株(远志药材一般种植 3 年后采收)。选择健壮植株随机取材, 每份材料取

30 个样, 采挖后去净泥土及杂质, 先晾晒再阴干后, 剪取根部, 手工进行剥皮, 皮部即为远志筒, 为本研究的实验材料。

2 方法

2.1 远志皂苷元的测定

2.1.1 色谱条件: 色谱柱 V P ODS (150 mm × 4.6 mm); 流动相: 乙腈 0.05% 磷酸溶液 (pH 3.21) (40:60); 体积流量: 1 mL/min; 检测波长: 205 nm; 室温; 进样量: 20 μL。对照品和样品色谱图见图 1。

2.1.2 对照品溶液制备: 远志皂苷元减压干燥至恒

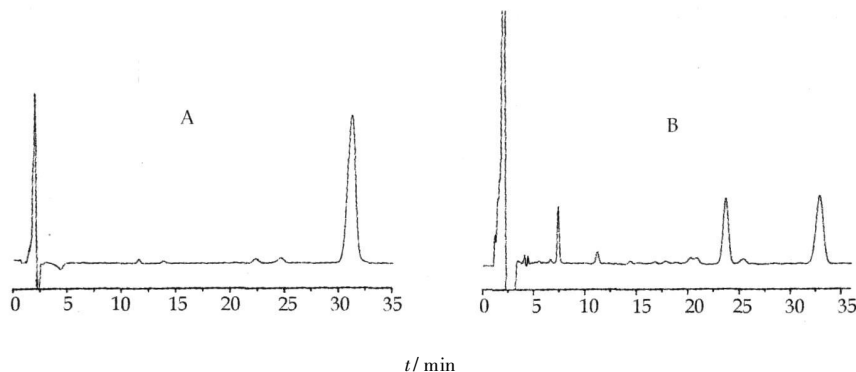


图 1 远志皂苷元对照品(A)和样品(B) HPLC 图谱

Fig 1 HPLC Chromatograms of senegenin reference substance (A) and sample solution (B)

重, 精密称量 5.0 mg, 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 得质量浓度为 0.5 mg/mL 的对照品储备液。

2.1.3 样品溶液的制备: 将不同产地的远志药材经 60 °C 干燥至恒重后粉碎, 过 40 目筛备用。精密称取粉末 1 g, 置锥形瓶中, 加入甲醇 10 mL; 超声振荡 30 min, 放置过夜。精密吸取上清液 2 mL 加入 3 倍量乙醚, 放置使其完全沉淀, 倾去上清液, 加 10% 盐酸 10 mL 使之溶解, 并转入圆底烧瓶中(少量多次, 使完全转入), 沸水浴回流 2 h, 滤过得褐色沉淀于滤纸上, 用甲醇 8 mL 少量多次洗滤纸, 使沉淀溶解并滤过于 10 mL 量瓶中, 用甲醇定容即得供试品溶液。

2.1.4 标准曲线的绘制: 分别精密量取对照品储备液稀释成 0.01、0.05、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5 mg/mL 的系列对照品溶液, 进样测定, 重复 3 次, 以峰面积的平均值为纵坐标, 对照品量为横坐标, 得线性回归方程: $Y = 7.232\,006X + 15\,124$, $r = 0.999\,0$, 远志皂苷元在 0.01~0.5 mg/mL 与峰面积呈现良好的线性关系。

2.1.5 精密度试验: 精密吸取远志皂苷元对照品溶液 5 μL, 连续进样 5 次, 按 2.1.1 项色谱条件进行分析, 峰面积的 RSD 为 0.62%, 表明精密度良好。

2.1.6 重现性试验: 取同一批样品, 按供试品溶液

制备方法平行制备 5 份, 进样分析, 远志皂苷元质量分数的 RSD 为 1.09%, 表明该方法重现性良好。

2.1.7 稳定性试验: 取同一供试品溶液分别于 0、1、2、4、8 h 依上述色谱条件进样 5 μL, 测得峰面积的 RSD 为 0.75%, 表明样品溶液在 8 h 内稳定。

2.1.8 回收率试验: 取同一批样品 5 份, 每份精密称定 1.0 g, 分别加入 0.5 mg/mL 的对照品溶液各 1 mL, 按供试品溶液制备方法制备所需溶液, 在拟定色谱条件下进行测定, 平均回收率为 98.65%, RSD 为 1.46%。

2.1.9 样品测定: 分别吸取制备好的不同供试样品溶液, 按上述高效液相色谱条件测定其峰面积, 并计算远志皂苷元的量。

2.2 紫外可见分光光度法测定远志药材中多糖的量

2.2.1 多糖的提取与精制: 精密称取远志药材根皮粉末 100 g, 置索氏提取器中, 加石油醚(60~90 °C)提取至无色(约 6 h), 滤过, 弃滤液; 滤渣挥干石油醚后, 加入 80% 乙醇, 用索氏提取器提取 3 h, 重复 1 次, 滤过。80% 乙醇洗涤滤渣, 挥干乙醇, 滤渣精密加入蒸馏水 1 000 mL, 加热提取 2 次, 每次 2 h, 趁热滤过, 滤液减压浓缩至 150 mL, 用 Sevage 法反复处理, 除去蛋白质, 加入乙醇使其体积分数为 80%,

静置 24 h, 抽滤, 滤渣依次用无水乙醇、丙酮多次洗涤除杂, 60 ℃真空干燥至恒重, 即得远志多糖。

2.2.2 5.0% 苯酚溶液的制备: 称取苯酚 5.0 g 溶于 100 mL 量瓶中, 用蒸馏水稀释至刻度, 摇匀, 避光保存。

2.2.3 葡萄糖对照品溶液的制备: 精密称取 105 ℃干燥至恒重的葡萄糖对照品, 加水溶解成 0.25 mg/mL 的对照品溶液备用。

2.2.4 样品溶液的制备: 分别精密称取不同产地的远志药材粉末 0.5 g, 加入 80% 乙醇回流提取 6 h, 趁热滤过, 滤渣用 80% 乙醇洗涤 3 次, 将药渣烘干, 连同滤纸加入蒸馏水 100 mL, 回流提取 2 次, 每次 2 h, 趁热滤过, 药渣及烧瓶热水洗涤 3 次(每次 10 mL), 将洗液并入滤液, 定容至 250 mL 作为供试液备用。

2.2.5 标准曲线的绘制: 精密量取葡萄糖对照品溶液 0.5、1、2、3、4、5 mL 分别置 10 mL 量瓶中, 用蒸馏水稀释至刻度, 摇匀。精密量取上述各溶液 1 mL, 加入 1 mL 5% 苯酚试液, 再快速加入 5 mL 浓硫酸, 室温静置 5 min, 于 40 ℃水浴上加热 15 min, 取出, 流水冷却, 室温静置 20 min。以蒸馏水 1 mL 按上述条件处理的溶液作为空白, 在 490 nm 处测定吸光度(A), 以 A 为纵坐标, 质量浓度为横坐标, 绘制标准曲线, 得回归方程: $A = 8.0502C - 0.0076$ ($r = 0.9991$, $n = 3$)。结果表明, 葡萄糖质量浓度在 0.0125~0.125 mg/mL 与 A 线性关系良好。

2.2.6 换算因子测定: 精密称取干燥至恒重的前述多糖纯品 4 mg, 加水适量溶解, 转移至 100 mL 量瓶中, 定容, 精密量取 1 mL, 按照 2.2.5 项下方法, 自“加苯酚试剂 1 mL”起, 测定 A 值, 求出远志多糖液中葡萄糖质量浓度, 按下式计算换算因子: $f = W/CD$, W 为多糖质量(g), C 为多糖液中葡萄糖的质量浓度, D 为多糖稀释因素。结果表明 $f = 4 \text{ mg}/CD = 3.676$ 。

2.2.7 精密度试验: 取同一样品溶液, 重复测定 A 值 5 次, RSD 为 1.16%, 结果表明精密度良好。

2.2.8 重现性试验: 取同一批样品溶液, 平行测定 A 值 6 份, RSD 为 1.32%, 表明重现性良好。

2.2.9 稳定性试验: 取样品溶液, 照样品测定方法操作, 每隔 0.5 h 测定 A 值, 连续 2 h, 结果 A 值基本无变化, 样品稳定性良好。

2.2.10 加样回收率试验: 精密称取已测定多糖量的样品粉末 0.5 g, 共 3 份, 依次加入不同量的多糖纯品, 置圆底烧瓶中, 按照样品的制备方法制备样品, 按照 2.2.5 项下方法, 自“加苯酚试剂 1 mL”起, 测定 A

值, 并以葡萄糖对照品溶液作对比测定, 计算多糖平均回收率为 98.62%, RSD 为 1.27% ($n = 5$)。

2.2.11 样品测定: 精确量取样品液 1 mL, 按照 2.2.5 项下方法, 自“加苯酚试剂 1 mL”起, 测定 A 值, 代入回归方程计算供试品中葡萄糖的质量浓度, 再按下式计算多糖的量。

$$\text{多糖的量}(\%) = CDf/W \times 100$$

式中 C 为供试液中葡萄糖的质量浓度(mg/mL), D 为供试液的稀释倍数(250), f 为换算因子(3.676), W 为供试品量。

3 结果与分析

3.1 远志皂苷元量比较: 主产区不同产地的远志药材中皂苷元和多糖的量测定结果见表 1。不同产地远志中的皂苷元量差异较大。其中山西闻喜远志皂苷元的量最高, 山西运城的量最低, 二者量差别 0.24%, 最高量为最低量的 1.37 倍。9 个产地中山西闻喜和新绛的远志皂苷元的量较高; 山西洪洞、临汾和陕西合阳、澄县 4 地的量处于中等水平, 4 者间差异不显著; 河北安国、山西平遥、运城 3 地的量处于较低水平, 3 者间差异不显著。在 3 省中, 山西各产地药材的皂苷元的量差别较大。

表 1 主产区不同产地远志药材中皂苷元和多糖的量测定结果($n = 3$)

Table 1 Determination of senegenin and polysaccharide in *P. tenuifolia* samples from different habitats of major producing areas ($n = 3$)

样号	产地	皂苷元/%	多糖/%
1	陕西合阳金家庄	0.760 ^{cd}	6.566 ^{bc}
2	陕西澄县李庄	0.756 ^{cd}	6.877 ^b
3	山西闻喜丰乐庄	0.898 ^a	8.276 ^a
4	山西洪洞燕壁村	0.764 ^c	6.830 ^b
5	山西临汾乔李镇	0.746 ^{cd}	6.321 ^c
6	山西平遥北湛旺村	0.687 ^d	5.386 ^d
7	山西新绛北池村	0.838 ^b	7.498 ^a
8	山西运城正北庄	0.658 ^d	5.295 ^d
9	河北安国市	0.707 ^d	7.976 ^a

表中同列相同标记的字母表示差异不显著, 有不同标记字母的表示显著差异($P < 0.05$)

In a row, data followed by same letter indicate no significant difference, while data followed by different letters indicate significant difference ($P < 0.05$)

3.2 多糖的量比较: 从表 1 可以看出主产区不同产地远志的多糖量差异显著。质量分数变化在 8.276%~5.295%, 平均值为 6.781%。最高量和最低量相差 1.56 倍。多糖的量以山西闻喜、新绛和河北安国的量较高, 3 者的差异不显著; 陕西澄县和山西洪洞的量中等, 2 者的差异不显著; 陕西合阳和山西临汾的量较低, 比较接近; 山西平遥和运城的量最低, 与其他产区的差异显著。

4 讨论

关于皂苷元的量在不同产地的远志药材中的差异,前人有一些研究报道。杨国红等^[5]曾对山西 6 产地远志的皂苷元量进行测定,结果为 1.47%~1.59%。赵云生等^[3]对山西不同产区远志药材的皂苷元量的测定结果为 0.624%~1.497%,而笔者的测定结果为 0.658%~0.898%。不同实验结果测得皂苷元的量存在差异的原因,除了不同地区的远志药材确实存在着药用成分量的差异外,远志的不同生长状况、不同采收加工方法以及采样的代表性问题等也都是造成数据相差的原因。为此,为了尽可能客观地体现不同产地远志之间的皂苷元量差异,本研究采取实地考察,亲自采样,并选择同一年份的远志药材,尽量扩大取样量,并在粉碎后将粉末充分混匀,以尽量保证各测试样品的客观条件基本平行,使测定结果更有代表性,能反映各地药材的差异。

研究结果表明远志主产区山西、陕西、河北不同产地的药材中远志皂苷元、多糖的量变化较大,差异达到显著水平($P < 0.05$),反映各地远志药材的质量存在较大差异。总体看来,山西各产地药材的皂苷元的量和多糖差别较大,陕西和河北药材的皂苷元的量处于中等水平。药用植物有效成分的量与其

产地的气候、土壤等生态环境、栽培管理条件以及药材本身遗传因素有关,是多因素综合作用的结果。研究结果提示应对不同产地的各种因素进行综合分析,从而揭示影响药材品质的决定因素。

不同产地远志药材品质的差异性为远志品种选育工作提供了较丰富的材料。从皂苷元和多糖的量综合分析,山西闻喜、新绛的量都处于较高水平,而平遥和运城两地的皂苷元和多糖量都属于较低水平。该结果启示在今后远志品种选育时可优先考虑闻喜和新绛两地的品种。

参考文献:

- [1] 中国药典[S]. 一部. 2005
- [2] 徐国钧,徐璐珊. 常用中药材品种整理和质量研究[M]. 福州:福建科技出版社,1994
- [3] 赵云生,李占林,张丽萍,等. 晋产远志种质资源皂苷元含量测定[J]. 世界科学技术—中医药现代化,2006,8(4):68-70
- [4] 刘友平,万德光,刘涛,等. 分光光度法测定不同产地远志总皂甙的含量[J]. 成都中医药大学学报,2000,23(2):46-47
- [5] 杨国红,孙晓飞. 反相高效液相色谱法测定远志中远志皂苷元的含量[J]. 药物分析杂志,2001,21(4):260-263
- [6] 刘友平,万德光,宋英. HPLC 法测定远志中去羟基远志皂苷元含量[J]. 中草药,2001,32(9):786-787
- [7] 赵云生,严铸云,李占林,等. 晋产远志品种资源多糖含量测定[J]. 时珍国医国药,2005,16(9):867-868
- [8] 裴瑾,万德光,杨林. 苯酚-硫酸比色法测定远志及地上部分多糖的含量[J]. 华西药学杂志,2005,20(4):337-339

重庆地区灰毡毛忍冬药用成分量的变化研究

张雪^{1,2},李隆云^{2,3*},杨宪⁴,杨水平¹

(1. 西南大学,重庆 400716; 2. 重庆市中药研究院,重庆 400065; 3. 重庆市中药良种选育与评价工程技术研究中心,重庆 400065; 4. 重庆大学,重庆 400044)

摘要:目的 测定不同母株年龄及不同部位灰毡毛忍冬叶和枝中绿原酸和木犀草苷的量。方法 采用 HPLC-PDA 测定灰毡毛忍冬中绿原酸与木犀草苷的量,应用 Excel 和 SPSS 软件进行数据分析。结果 不同母株年龄的样品中,叶和枝中绿原酸及木犀草苷的量随着年龄没有明显的变化规律,上部叶的绿原酸量都高于中部和下部叶,而上部、中部、下部叶中木犀草苷的量没有明显的规律性;嫩叶绿原酸和木犀草苷的量明显高于老叶;不同个体中,叶中绿原酸的量在 0.15%~0.36%,木犀草苷的量在 0.056%~0.386%,枝中绿原酸的量 0.09%~0.157%,木犀草苷的量在 0.003%~0.051%,叶和枝的绿原酸及木犀草苷的量都有显著差异($P < 0.05$)。结论 重庆地区灰毡毛忍冬中的绿原酸和木犀草苷的量呈规律性变化,这对后续的品种选育具有指导作用。

关键词:灰毡毛忍冬; HPLC-PDA; 绿原酸; 木犀草苷

中图分类号:R282.6 文献标识码:A 文章编号:0253-2670(2009)07-1146-05

* 收稿日期:2008-11-18

基金项目:科技部支撑计划项目(编号:2006BAI06A12-14);重庆市科技攻关计划项目(编号:CSTC2008AB5031)

作者简介:张雪(1981—),河北安国人,研究生,从事药用植物栽培研究。

Tel: (023) 68251249 13752836711 E-mail: zhangxue0012003@163.com

* 通讯作者 李隆云 Tel: (023) 89029118 E-mail: lilongyun8@163.com