

川产麦冬及其须根组织学与麦冬皂苷量的对比研究

金虹¹, 王化东¹, 何礼¹, 江洪波¹, 左承学²

1. 四川中医药高等专科学校, 四川 绵阳 621000

2. 绵阳食品药品检验所, 四川 绵阳 621010

摘要: **目的** 考察四川麦冬基地麦冬须根的产量, 对麦冬及其须根进行显微特征观察比较, 并对块根和须根中麦冬皂苷质量分数进行对比。**方法** 统计麦冬植株块根与须根质量比值, 应用显微镜及显微摄影系统观察须根的表皮细胞、皮层、中柱以及髓部的显微特征; 采用 UV 法对麦冬块根及其须根的提取物进行了总皂苷测定, HPLC-ELSD 法测定麦冬块根及须根中麦冬皂苷 D 质量分数。**结果** 川麦冬植株麦冬须根与块根质量平均比值为 0.68, 两者在表皮细胞形状、皮层与中柱排列及比例有一定差异; 麦冬与须根平均总皂苷量为 1.204% 和 2.847%; 麦冬皂苷 D 在 0.416~10.40 μg 内与峰面积呈良好线性关系($r=0.9993$), 平均回收率为 99.12%, RSD 为 1.39%。麦冬块根与须根平均麦冬皂苷 D 质量分数分别为 0.035% 和 0.041%。**结论** 川产麦冬须根资源量大, 与麦冬组织学差异主要在于表皮细胞形状、皮层与中柱排列及比例, 而粉末特征无显著差异; 川产麦冬须根总皂苷质量分数明显高于麦冬, 而麦冬皂苷 D 质量分数与麦冬块根无显著性差异。

关键词: 麦冬须根; 显微特征; 麦冬总皂苷; 麦冬皂苷 D; 紫外分光光度法; HPLC-ELSD

中图分类号: R282.21 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2014)07-1002-04

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2014.07.020

Comparison on histology of root tubers and fibrous roots of *Ophiopogon japonicus* and ophiopogonins content

JIN Hong¹, WANG Hua-dong¹, HE Li¹, JIANG Hong-bo¹, ZUO Cheng-xue²

1. Sichuan College of Traditional Chinese Medicine, Mianyang 621000, China

2. Mianyang Institute for Food and Drug Control, Mianyang 621010, China

Abstract: **Objective** To study the yield of the fibrous roots of *Ophiopogon japonicus* in Sichuan province and to compare the microscopic characteristics and the content of total ophiopogonins between the root tubers and fibrous roots of *O. japonicus*. **Methods** The ratio for root tubers and fibrous roots of *O. japonicus* was compared by statistics; The microscopic characteristics of epidermal cell, cortex, stele arrangement, and pith were observed by microscope and photomicrography system; The total saponins in the extract from the root tubers and fibrous roots of *O. japonicus* were determined by UV, and the content of ophiopogonin D in the extract from the root tubers and fibrous roots of *O. japonicus* was determined by HPLC-ELSD. **Results** The average ratio of fibrous root weight and root tuber weight was 0.68, and there were some differences in the epidermal cell shape, stele arrangement, and proportion of the cortex between the fibrous roots and root tubers of *O. japonicus*. The average contents of total saponins in the root tubers and fibrous roots of *O. japonicus* were 1.204% and 2.847%, and the contents of ophiopogonin D were 0.034% and 0.041% in the root tubers and fibrous roots of *O. japonicus*. **Conclusion** The resource of fibrous roots of *O. japonicus* is rich, which has the histological differences in the epidermal cell shape, stele arrangement, and proportion of the cortex between the fibrous roots and root tubers of *O. japonicus*. There is no significant difference in powder between the root tuber and fibrous root; The content of total saponin in the fibrous roots is obviously higher than that in the root tubers while the content of ophiopogonin D between the root tubers and fibrous roots of *O. japonicus* is similar.

Key words: fibrous roots of *Ophiopogon japonicus*; microscopic characteristics; total ophiopogonins; ophiopogonin D; UV; HPLC-ELSD

麦冬为百合科植物麦冬 *Ophiopogon japonicus* (L. f.) Ker-Gawl. 的干燥块根, 始载于《神农本草经》, 是著名的川产道地药材, 也是中国麦冬药材

的主流商品之一, 并作为大宗药材出口日本、韩国等, 《中国药典》2010 年版收载的麦冬复方制剂有 95 个, 占总成方制剂数的 8.9%。传统中医用于肺

收稿日期: 2013-10-31

基金项目: 绵阳市科技局科技攻关项目 (11F019)

作者简介: 金虹 (1963—), 女, 重庆人, 教授, 主要从事中药有效成分分析及中药资源应用研发。

Tel: 18081258966 E-mail: Jh1120@139.com

燥咳嗽、津伤口渴，内热消渴，心烦失眠等症。国内外学者对麦冬进行大量的研究表明麦冬提取物具有耐缺氧、良好的心血管活性、调节机体免疫功能、降血糖、抗肿瘤以及抗辐射、抗衰老等诸多药理作用^[1-4]，其中皂苷类成分为麦冬活性物质，具有一定的抗心肌缺血、抗心律失常等作用^[5-6]。而麦冬皂苷D作为麦冬主要甾体皂苷之一，可作为其质量控制的指标成分^[7]。为研究麦冬及其须根的组织学特征差异，建立麦冬提取物质量控指标，本实验对四川麦冬基地麦冬须根的资源量进行了调研统计，并对两者总皂苷和麦冬皂苷D质量分数进行了测定，为川产麦冬资源可持续利用及后续产业化研究奠定基础。

1 材料与仪器

1.1 材料与试剂

麦冬由绵阳市三台县老马乡麦冬种植基地提供，经四川中医药高等专科学校金虹教授鉴定为麦冬 *Ophiopogon japonicus* (L. f.) Ker-Gawl. 的全株。麦冬皂苷D对照品（上海源叶生物科技有限公司，质量分数>98%）。乙腈（德国 Fisher Scientific）为色谱纯，其余试剂均为分析纯。

1.2 仪器

Motic BA210 生物显微镜及显微摄影系统；Dionex Ultimate3000 型高效液相色谱仪；Alltech ELSD3000 型蒸发光检测器；TU—1900 型双光束紫外分光光度计（北京普析有限责任公司）；FA1104 电子天平（上海恒平仪器有限公司）；FW—100 型高速节能粉碎机（北京中兴伟业仪器有限公司）；SENCO R—201 旋转蒸发器（上海申顺生物科技有限公司）；HH—S 型数显恒温水浴锅（北京中兴伟业仪器有限公司）。

2 方法与结果

2.1 麦冬须根质量分析

随机取新鲜的麦冬全株 10 株，分别分离出块根和须根，洗净后在 45℃ 干燥，分别称其质量，块根平均质量为 2.230 g，须根平均质量为 1.503 g，二者的比值为 0.683。

2.2 麦冬须根显微特征观察

取新鲜的麦冬全株经过分拣、清洗，分选出同一植株的块根和须根，一部分用防腐液保存供组织切片观察；另一部分经干燥后粉碎供粉末鉴定观察。

2.2.1 麦冬须根横切面显微观察 分别取同一植株的麦冬块根和须根，按文献的光学显微标本制作步

骤操作^[8]，先后选取块根和须根不同的部位分别进行横切，置显微镜观察，然后根据解像程度进行 40、100、400、1 000 倍显微摄影操作，麦冬须根横切面特征见图 1。其中（1）表皮细胞 1 列类圆形或多角形，根被为 3~4 列木化细胞，类圆形或多角型，有的具有纹孔。（2）皮层较宽，外层细胞细胞壁微木化，薄壁细胞类圆形，散有含草酸钙针晶的黏液细胞；内皮层细胞壁均匀增厚，木化，有通道细胞，其外侧为 1~2 列石细胞，其内壁及侧壁均增厚，纹孔细密。（3）中柱约占 1/3~1/4，中柱鞘为 1~2 列薄壁细胞；辐射型维管束，韧皮部束 16~24 个，木质部由导管、管胞、木纤维以及内侧的木化细胞连接成环层。（4）髓小，薄壁细胞类圆形。块根横切面特征与《中国药典》2010 年版描述一致^[8]。

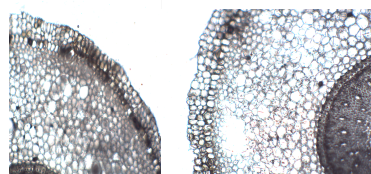


图1 麦冬须根横切面显微图 (10×40)

Fig. 1 Cross section micrograph of fibrous roots of *O. japonicus* (10 × 40)

2.2.2 麦冬须根粉末显微观察 取麦冬块根和须根粉末进行显微观察，结果麦冬须根与块根的粉末特征基本一致，主要有：草酸钙针晶散在或成束于黏液细胞；有散在柱状针晶。石细胞表面观类方形或类多角形，有的一边甚薄，孔沟明显。内皮层细胞呈长方形或长条形，纹孔点状稀疏。木纤维细长，末端倾斜，纹孔裂缝状，成十字形或人字形。有少数具缘纹孔导管。

2.3 提取工艺

参照文献方法^[9]将麦冬块根与麦冬须根样品干燥粉碎至 5~10 目粗粉，采用回流提取法，以麦冬总皂苷为主要指标，设计 $L_9(3^4)$ 正交试验，考察乙醇体积分数（A）、提取次数（B）、提取时间（C）、料液比（D）对回流提取效果的影响，确定提取工艺为 80%乙醇提取 3 次、每次回流时间 1 h，料液比为 1:10；样品乙醇提取液经旋蒸浓缩后加水溶解，以乙醚（1:1）萃取，水层用水饱和正丁醇（1:1）萃取 3 次，正丁醇液浓缩蒸干制备提取物。

2.4 麦冬总皂苷的测定

2.4.1 标准曲线的绘制 精密称取麦冬皂苷 D 对

照品适量,加甲醇定容配置成约 0.12 mg/mL 溶液,分别取 0、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0 mL,按《中国药典》2010 年版麦冬测定项下操作,在 395 nm 波长处依次测定吸光度 (A) 值,绘制标准曲线,回归方程 $Y=15.851 X-0.0843$, $r=0.9993$ 。

2.4.2 样品测定 分别取麦冬块根及须根提取物适量加甲醇溶解,定容,按《中国药典》2010 年版麦冬测定项下操作,制得供试品溶液,同法测定吸光度 (A),测得 6 份麦冬中总皂苷质量分数平均值为 1.204%, RSD% 为 2.05%; 6 份麦冬须根中总皂苷质量分数平均值为 2.847%, RSD 为 1.85%, 川产麦冬须根总皂苷量明显高于麦冬。

2.5 麦冬皂苷 D 的测定

2.5.1 色谱条件 色谱柱为 Acclaim C₁₈ ODS 柱 (250 mm×4.5 mm, 5 μm); 流动相为乙腈-水 (52:48); 雾化温度 65 °C; 蒸发温度 98 °C; 气体体积流量 2.5 mL/min; 进样量 20 μL。

2.5.2 供试品溶液制备 精密称取麦冬块根或须根提取物适量 (相当于原材料 2 g), 分别加甲醇溶解并定容, 备用。

2.5.3 标准曲线的绘制 精密称取麦冬皂苷 D 对照品适量, 加甲醇制成 0.52 mg/mL 的对照品溶液。精密量取对照品溶液 0.4、1.0、2.0、4.0、6.0、8.0、10.0 mL, 分别置于 10 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀。按上述色谱条件测定, 以对照品峰面积的自然对数值为纵坐标 (Y), 以进样量的自然对数值为横坐标 (X) 进行线性回归, 得回归方程: $Y=1.8624 X+2.173$, $r^2=0.9993$, 可见麦冬皂苷 D 在 0.416~10.40 μg 峰面积对数值与进样量具有良好的线性关系。对照品及麦冬样品的色谱图见图 2。

2.5.4 精密度试验 取麦冬皂苷 D 对照品溶液, 在上述色谱条件下进行测定, 连续进样 5 次, 每次进样 20 μL, 结果麦冬皂苷 D 的 RSD 为 1.06% ($n=5$)。

2.5.5 稳定性试验 取同一供试品溶液, 在室温下每间隔 1 h 按上述色谱条件测定 1 次, 共测 9 h, 结果麦冬皂苷 D 峰面积的 RSD 为 1.78% ($n=5$)。

2.5.6 加样回收率试验 取已知麦冬皂苷 D 质量分数的麦冬样品 (0.036 52%) 5 份, 精密称定, 分别加入麦冬皂苷 D 对照品溶液 (0.312 mg/mL), 按样品溶液制备项下处理, 按“2.5.3”项方法测定并计算, 结果平均回收率为 99.12%, RSD 为 1.39%。

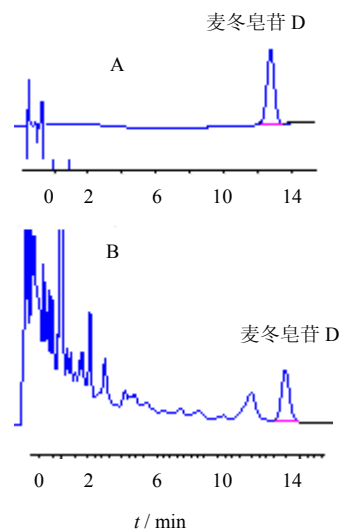


图2 对照品 (A) 和样品 (B) 的 HPLC 色谱图

Fig. 2 HPLC of ophiopogonin D reference substance (A) and sample (B)

2.5.7 样品的测定 取麦冬块根和麦冬须根供试品溶液, 按上述色谱条件测定, 计算得 6 份麦冬块根中麦冬皂苷 D 质量分数平均值为 0.035%, RSD 为 2.48%, 6 份麦冬须根中麦冬皂苷 D 质量分数平均值为 0.041%, RSD 为 2.52%。

2.5.8 数据统计分析 采用 SPSS 17.0 软件对麦冬块根和须根中麦冬皂苷 D 质量分数进行独立样本 t 检验, 结果显示麦冬须根中麦冬皂苷 D 质量分数与块根无显著性差异。

3 讨论

川产麦冬块根与须根的组织学对比试验结果表明两者横切面显微特征主要差异为: 块根的表皮细胞长方形或多角形, 根被 2~5 列, 细胞类长方形或多角形; 须根表皮细胞 1 列类圆形或多角形, 根被为 3~4 列木化细胞, 类圆形或多角型, 有的具有纹孔。块根皮层宽广皮层薄壁细胞多角形较大, 有胶冻样特征性结构, 中柱约占 1/5~1/8; 须根皮层较宽, 外层细胞细胞壁微木化, 薄壁细胞类圆形, 相对较小, 散有含草酸钙针晶的黏液细胞较多, 中柱约占 1/3~1/4; 两者的粉末特征类型无显著差异。表明须根与块根的组织构造基本一致, 其化学成分类型基本一致, 但两者构造上细小的差异也提示内含物成分比例的差异。麦冬须根横切面的特征可作为其显微鉴别依据。

实验采用 HPLC-ELSD 法测定麦冬皂苷 D, 克服了现有 HPLC-UV 法误差较大的缺点, 具有灵敏

度高,稳定性好,结果准确可靠,可补充作为麦冬及麦冬提取物质控标准检测方法。结果显示,川产麦冬须根总皂苷量明显高于麦冬块根,而麦冬皂苷D量与块根无显著性差异。同时相关资料显示不同提取工艺对麦冬总皂苷提取效率影响较大^[10-11],同时不同产地的麦冬须根化学组分量差异也较大^[12-14]。表明川产麦冬须根皂苷类有效组分较麦冬块根具有优势。

实验表明麦冬须根约占麦冬块根总质量的70%,目前四川三台麦冬基地的年产量已达6 000 t左右,而麦冬历来以块根入药导致须根丰富的资源巨大的浪费,未能发挥其应有价值,麦冬须根扩大传统块根药用势在必行,川麦冬资源科学合理的可持续开发利用,将实现麦冬须根在增强免疫功能、抗氧化、抗辐射等方面广泛的药食两用及日用的产业化。

参考文献

- [1] 张卫星,王乃华.麦冬多糖对四氧嘧啶糖尿病小鼠血糖的降低作用[J].中草药,1993,24(1):20-31.
- [2] 陈屏,徐东铭,雷军.麦冬化学成分及药理作用的研究现状[J].长春中医学院学报,2004,20(1):35-36.
- [3] 田友清,余伯阳,寇俊萍.麦冬药理研究进展[J].中国医学生物技术应用杂志,2004(2):1-5.
- [4] 黄光辉,孙连娜.麦冬多糖的研究进展[J].现代药物与临床,2012,27(5):523-529.
- [5] 蒋凤荣,张旭,范俊,等.麦冬药理作用研究进展[J].中医药学刊,2006,24(2):18-22.
- [6] 高昌琨,高建,徐先祥.麦冬总皂苷对实验性高血糖小鼠的降糖作用[J].中国实验方剂学杂志,2007,13(5):201-204.
- [7] 孙红祥,曾宪武.麦冬类药材质量的综合评价[J].中草药,2001,32(5):313-315.
- [8] 王金发,何发明.细胞生物学实验教程[M].北京:科学出版社,2007.
- [9] 中国药典[S].一部.2010.
- [10] 周跃华,徐德生,冯怡,等.麦冬总皂苷提取工艺的研究[J].中草药,2002,33(12):1076-1078.
- [11] 车仁国,商秀梅,沈宏伟,等.麦冬总皂苷不同提取方法的比较研究[J].安徽农业科学,2008,36(7):2807-2809.
- [12] 吴笑如,徐德生,冯怡.沿阶草属主流商品麦冬块根与须根中大类成分含量的比较[J].时珍国医国药,2006,17(8):1467-1468.
- [13] 周芳美,潘佩蕾,陈宜涛,等.麦冬须根主要活性成分研究[J].中药材,2008,31(9):1307-1309.
- [14] 马军守,别继明,金虹.川麦冬及须根中多糖和黄酮类有效成分定量分析[J].西南科技大学学报,2001,23(1):83-85.