

不同产地野生黄姜中薯蓣皂苷含量的比较[△]

白 桥*,刘珍珍,徐 皓*(陕西理工大学生物科学与工程学院,陕西 汉中 723000)

中图分类号 R917;R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2019)05-0681-04

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2019.05.21

摘要 目的:建立黄姜中薯蓣皂苷含量测定的方法,并对不同产地野生黄姜中薯蓣皂苷含量进行比较。方法:采用高效液相色谱(HPLC)法,色谱柱为Inertsil ODS-3,流动相为乙腈-水(50:50, V/V),流速为1.0 mL/min,柱温为30 ℃,检测波长为203 nm,进样量为10 μL。采用建立的方法测定不同产地(陕西商洛、陕西安康、河南内乡、云南宣威、四川德阳、湖北十堰、湖南张家界、湖南常德)野生黄姜中薯蓣皂苷的含量,并比较其差异。结果:薯蓣皂苷检测质量浓度线性范围为4.16~165.6 μg/mL($r=0.999\ 9$),精密性、重复性、稳定性试验的RSD均 $<2\%$ ($n=5$ 或 $n=6$),薯蓣皂苷平均回收率为101.18%(RSD=1.27%, $n=6$)。不同产地野生黄姜中薯蓣皂苷含量由高到低依次为四川德阳(1 405.36 μg/g) $>$ 陕西商洛(1 201.79 μg/g) $>$ 湖南张家界(1 035.18 μg/g) $>$ 陕西安康(632.64 μg/g) $>$ 湖南常德(598.64 μg/g) $>$ 云南宣威(425.34 μg/g) $>$ 河南内乡(350.13 μg/g) $>$ 湖北十堰(338.39 μg/g)。结论:该法操作简便、准确,可用于黄姜中薯蓣皂苷含量的测定;不同产地野生黄姜中薯蓣皂苷含量差异明显,其中四川德阳产地的薯蓣皂苷含量最高。

关键词 黄姜;不同产地;薯蓣皂苷;含量比较;高效液相色谱法

Comparison of Diosgenin Content in Wild *Dioscorea zingiberensis* from Different Habitats

BAI Qiao, LIU Zhenzhen, XU Hao (School of Bioscience and Engineering, Shaanxi University of Technology, Shaanxi Hanzhong 723000, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for the content determination of diosgenin in *Dioscorea zingiberensis*, and to compare the contents of diosgenin in wild *D. zingiberensis* from different habitats. METHODS: HPLC method was adopted. The determination was performed on Inertsil ODS-3 column with mobile phase consisted of acetonitrile-water (50:50, V/V) at the flow rate of 1.0 mL/min. The column temperature was set at 30 ℃. The detection wavelength was set at 203 nm, and sample size was 10 μL. Established method was used to determine the contents of diosgenin in wild *D. zingiberensis* from different habitats (Shaanxi Shangluo, Shaanxi Ankang, Henan Neixiang, Yunnan Xuanwei, Sichuan Deyang, Hubei Shiyang, Hunan Zhangjiajie, Hunan Changde). The differences of diosgenin content were compared. RESULTS: The linear range of diosgenin were 4.16-165.6 μg/mL ($r=0.999\ 9$). RSDs of precision, reproducible and stability tests were all lower than 2% ($n=5$ or $n=6$). The average recovery of diosgenin was 101.18% (RSD=1.27%, $n=6$). The content of diosgenin in wild *D. zingiberensis* from different habitats were in descending order, i.e. Sichuan Deyang (1 405.36 μg/g) $>$ Shaanxi Shangluo (1 201.79 μg/g) $>$ Hunan Zhangjiajie (1 035.18 μg/g) $>$ Shaanxi Ankang (632.64 μg/g) $>$ Hunan Changde (598.64 μg/g) $>$ Yunnan Xuanwei (425.34 μg/g) $>$ Henan Neixiang (350.13 μg/g) $>$ Hubei Shiyang (338.39 μg/g). CONCLUSIONS: Established method is simple, accurate and suitable for the content determination of diosgenin in *D. zingiberensis*. The contents of diosgenin in wild *D. zingiberensis* from different habitats are different significantly, and the content of diosgenin in the samples from Sichuan Deyang is the highest.

KEYWORDS *Dioscorea zingiberensis*; Different habitats; Diosgenin; Content comparison; HPLC

黄姜又称盾叶薯蓣(*Dioscorea zingiberensis* C. H. Wright)、火头根,是薯蓣科薯蓣属多年生缠绕性藤本植物,是我国特有种^[1-2]。黄姜分布范围较广,生态环境对其形态性状与活性成分积累等方面影响显著^[3-6]。黄姜以其根状茎入药,民间将其捣烂用于治疗各种外科炎症,如皮肤急性化脓性感染、蜂蜇、虫咬等^[7]。中医学认

为其味甘、苦、凉,具有祛痰、消食利水、舒筋活血以及败火的功效^[8]。由于市场上对薯蓣资源的需求增加,但又缺乏科学计划性的采挖,使得野生盾叶薯蓣资源量急剧下降^[9-10]。

黄姜主要活性成分薯蓣皂苷为甾体皂苷类,具有祛痰、脱敏、抗衰老、抗肿瘤、抗炎、降压、降血脂、改善动脉粥样硬化、保护血管内皮功能、抑制肝脏纤维化等作用,也是合成甾体激素和口服避孕药的原料^[11-15]。薯蓣皂苷在黄姜中含量较高,是筛选优良野生黄姜品种的首要物质基础^[16]。本研究建立高效液相色谱(HPLC)法测定黄姜中薯蓣皂苷的含量,并对不同产地(陕西商洛、陕西安康、河南内乡、云南宣威、四川德阳、湖北十堰、湖南张家界、湖南常德)野生黄姜中薯蓣皂苷含量进行比较,为筛

[△] 基金项目:陕西省科技统筹创新工程计划项目(No. 2015KTTSSF01-02);陕西理工大学2018年研究生创新基金项目(No. SLGYCX1836)

* 硕士研究生。研究方向:植物资源学。E-mail:799509802@qq.com

通信作者:副教授。研究方向:植物资源学。E-mail:420001844@qq.com

选高含量薯蓣皂苷的野生黄姜及其良种选育与栽培提供一定的数据基础。

1 材料

1.1 仪器

1260 HPLC 仪(美国安捷伦有限公司,配有 DAD 检测器);JJ224BC 电子分析天平(常熟市双杰测试仪器厂);HC-300Y2 中药材粉碎机(永康市天祺盛世工贸有限公司);DHC-9146A 电热恒温鼓风干燥箱(上海精宏实验设备有限公司);UPH-I-5/10/20T 超纯水仪(四川优普超纯科技有限公司)。

1.2 药品与试剂

陕西商洛、陕西安康、河南内乡、云南宣威、四川德阳、湖北十堰、湖南张家界、湖南常德野生黄姜于 2017 年 10 月采集(随机采样法^[17]采集),经陕西理工大学徐皓副教授鉴定为黄姜根茎;薯蓣皂苷对照品(上海源叶生物科技有限公司,批号:B21176,纯度:≥98%);乙腈、甲醇为色谱纯,乙醇为分析纯,水为超纯水。不同产地野生黄姜的基本信息见表 1。

表 1 不同产地野生黄姜的基本信息

Tab 1 General information of wild *D. zingiberensis* from different habitats

产地	海拔, m	经纬度	年降水量, mm	年均温度, °C	外观形态及截面
陕西商洛	681	E109° 52' N33° 31'	700	12	根系较发达,个体粗细中等,截面鲜黄,土质偏黄
陕西安康	236	E109° 21' N32° 50'	820	14	根系发达,个体中等,截面鲜黄,土质偏黄
河南内乡	195	E111° 7' N33° 11'	790	15	根系较发达,个体较粗大,截面鲜黄,土质偏红
云南宣威	1 894	E104° 29' N26° 23'	1 000	15	根系极少,个体粗大坚硬,截面浅黄,土质偏黑
四川德阳	528	E104° 35' N31° 03'	882	17	根系较发达,个体细长,截面橙黄,土质偏红
湖北十堰	278	E110° 25' N33° 03'	720	15	根系较少,个体粗大,截面鲜黄,土质偏黄
湖南张家界	486	E110° 33' N29° 03'	1 400	16	根系较少,个体粗大,截面鲜黄,土质偏黑
湖南常德	83	E111° 22' N29° 35'	1 600	16	根系较发达,个体中等,截面鲜黄,土质偏黑

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱为 Inertsil ODS-3(150 nm×4.6 nm, 5 μm);流动相为乙腈-水(50:50, V/V);流速为 1.0 mL/min;检测波长为 203 nm;柱温为 30 °C;进样量为 10 μL。

2.2 溶液的制备

2.2.1 薯蓣皂苷对照品溶液 精密称取薯蓣皂苷对照品 6.90 mg,加甲醇溶解并定容至 25 mL,配制质量浓度为 0.276 mg/mL 的薯蓣皂苷对照品溶液,再经 0.45 μm 微孔滤膜滤过,备用。

2.2.2 供试品溶液 取湖南张家界野生黄姜样品,洗净,切片,60 °C 烘干后,粉碎过 60 目筛,精确称取粉末

0.28 g,置于具塞锥形瓶中,加入 60% 的乙醇溶液 25 mL,称质量,超声(功率:100 W,频率:50 Hz)处理 40 min 后,放置至室温,再次称质量,用 60% 乙醇溶液补足缺失质量,摇匀,经 0.45 μm 微孔滤膜滤过,即得。

2.3 系统适用性试验

取“2.2”项下薯蓣皂苷对照品溶液、供试品溶液各 10 μL,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录色谱图。结果,薯蓣皂苷出峰处未见其他干扰峰,且与相邻峰分离度大于 1.5,理论板数以薯蓣皂苷峰计大于 5 000。色谱图见图 1。

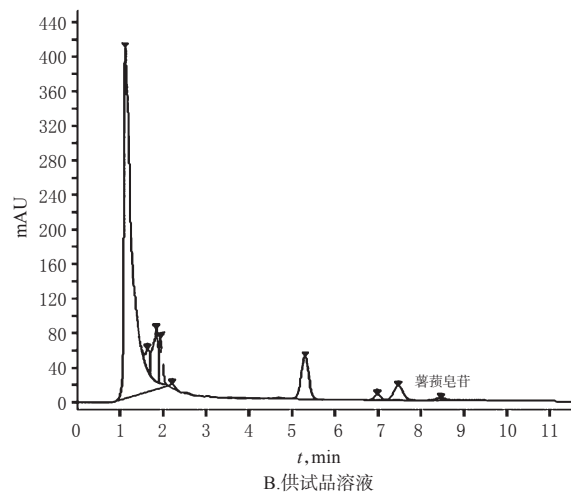
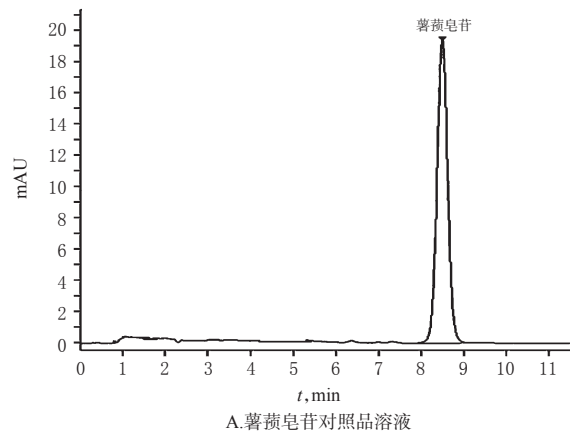


图 1 高效液相色谱图

Fig 1 HPLC chromatograms

2.4 线性关系考察

精密吸取“2.2.1”项下的薯蓣皂苷对照品溶液适量,制成质量浓度为 4.16、13.8、27.6、88.2、110.4、165.6 μg/mL 系列溶液,精密量取 10 μL,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以薯蓣皂苷峰面积为纵坐标(y)、薯蓣皂苷质量浓度为横坐标(x)进行线性回归,得线性回归方程为 $y=2.967 6x+8.662 8$ ($r=0.999 9$)。结果,薯蓣皂苷在 4.16~165.6 μg/mL 质量浓度范围内线性关系良好。

2.5 精密度试验

取“2.4”项下制成的质量浓度为 27.6 μg/mL 的薯蓣皂苷对照品溶液,按照“2.1”项下色谱条件重复进样 6

次,记录峰面积,并计算峰面积RSD。结果,薯蓣皂苷峰面积的RSD为0.40% ($n=6$),表明仪器精密度良好。

2.6 稳定性试验

取陕西商洛野生黄姜样品,按照“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,室温下,分别放置0、2、4、6、8 h后按照“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果,薯蓣皂苷峰面积的RSD为0.73% ($n=5$),表明供试品溶液在8 h内稳定性良好。

2.7 重复性试验

取陕西安康野生黄姜样品,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液6份,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果,薯蓣皂苷峰面积的RSD为1.02% ($n=6$),表明本试验方法重复性良好。

2.8 加样回收率试验

精密称取已知含量的湖南张家界野生黄姜样品粉末0.28 g,平行6份,按“2.2.2”项下方法制成供试品溶液。再取5 mL的供试品溶液与1 mL“2.4”项下制成的质量浓度为88.2 $\mu\text{g/mL}$ 薯蓣皂苷对照品溶液混合,定容至10 mL量瓶中,过滤,取续滤液按“2.1”项下色谱条件进样测定。结果,薯蓣皂苷平均回收率为101.18%,RSD为1.27% ($n=6$)。回收率测定结果见表2。

表2 回收率测定结果($n=6$)

Tab 2 Results of recovery rate ($n=6$)

取样量, g	样品含量, μg	加入量, μg	测得量, μg	回收率, %	平均回收率, %	RSD, %
0.280 0	5.797	8.82	14.685	100.77	101.18	1.27
0.277 9	5.753	8.82	14.718	101.64		
0.280 9	5.816	8.82	14.892	102.90		
0.281 1	5.820	8.82	14.628	99.86		
0.279 0	5.776	8.82	14.572	99.73		
0.282 5	5.849	8.82	14.862	102.19		

2.9 样品含量测定

取陕西商洛、陕西安康、河南内乡、云南宣威、四川德阳、湖北十堰、湖南张家界、湖南常德野生黄姜样品,按照“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,每个产地平行制备3批,按照“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算薯蓣皂苷含量。结果,陕西商洛、陕西安康、河南内乡、云南宣威、四川德阳、湖北十堰、湖南张家界、湖南常德野生黄姜中薯蓣皂苷的含量分别为1 201.79、632.64、350.13、425.34、1 405.36、338.39、1 035.18、598.64 $\mu\text{g/g}$,详见表3。

表3 样品含量测定结果($n=3, \mu\text{g/g}$)

Tab 3 Results of content determination of samples ($n=3, \mu\text{g/g}$)

批次	陕西商洛	陕西安康	河南内乡	云南宣威	四川德阳	湖北十堰	湖南张家界	湖南常德
1	1 201.58	632.64	345.31	425.04	1 406.17	323.05	1 033.40	598.04
2	1 210.31	633.24	351.93	425.95	1 403.77	335.08	1 035.81	598.64
3	1 192.86	632.34	353.44	425.34	1 405.27	353.14	1 036.71	599.55
平均值	1 201.79	632.64	350.13	425.34	1 405.36	338.39	1 035.18	598.64

3 讨论

3.1 流动相的选择

盾叶薯蓣中甾体皂苷类成分种类多、结构相似,且均处于末端吸收,分离难度较大^[11]。笔者考察了流动相中乙腈与水的体积比分别为40:60、45:55、50:50、55:45、60:40时,对薯蓣皂苷峰形的影响,结果表明,当乙腈与水的体积比为50:50时,薯蓣皂苷峰形及分离度较好,灵敏度高,故在本试验中采用该体积比。

3.2 提取溶剂的选择

笔者在前期试验中以50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%乙醇溶液以及无水乙醇和甲醇为提取溶液,结果发现,以60%乙醇为提取溶液时,所测得的薯蓣皂苷峰面积最大,且杂峰少。

3.3 不同产地黄姜中薯蓣皂苷含量差异分析

现有文献多是报道某个省份黄姜品种的品质,均不能准确体现出全国不同省份黄姜的品质^[18-26]。由于野生品种分布范围广且不集中,本试验的样品采自6个省份,且为了准确分析不同产地黄姜的品质差异,采用随机采样法进行样品收集。同时,本试验建立的含量测定方法操作简便准确,精密度、稳定性、重复性好,可用于黄姜的有效药用成分薯蓣皂苷的测定。结果表明,8个野生黄姜样品中薯蓣皂苷含量差异较为明显,薯蓣皂苷含量由高到低依次为四川德阳(1 405.36 $\mu\text{g/g}$)>陕西安康(632.64 $\mu\text{g/g}$)>湖南张家界(1 035.18 $\mu\text{g/g}$)>陕西安康(632.64 $\mu\text{g/g}$)>湖南常德(598.64 $\mu\text{g/g}$)>云南宣威(425.34 $\mu\text{g/g}$)>河南内乡(350.13 $\mu\text{g/g}$)>湖北十堰(338.39 $\mu\text{g/g}$)。

综上所述,本研究建立了HPLC法测定黄姜中薯蓣皂苷的含量,并比较了8个不同产地野生黄姜样品中薯蓣皂苷含量差异,可为黄姜药材良种选育与栽培提供一定的数据基础。

参考文献

- 曹玲伟.盾叶薯蓣中皂甙的提取分离、结构剖析及生物活性研究[D].武汉:华中师范大学,2008.
- 李静如.黄姜中薯蓣皂苷高效提取方法研究[D].郑州:河南大学,2012.
- 朱延钧,杨立华,张国才.武当山盾叶薯蓣生态环境及其分布规律[J].资源开发与市场,1998(3):124-125.
- 黄和平,高山林,黄鹏,等.中国薯蓣属根状茎组的分布、分类与药用资源分析[J].海峡药学,2010,22(1):64-66.
- 孙晶.光照强度对盾叶薯蓣生长发育及生理生态特性的影响[D].西安:陕西师范大学,2011.
- 蒋道松.盾叶薯蓣遗传多样性及多倍体新种质培育的研究[D].长沙:湖南农业大学,2006.
- 咎丽霞.盾叶薯蓣及楸树果实中的化学成分研究[D].西安:西北大学,2005.
- 王淑荣,凌霄,张庆光,等.薯蓣皂苷现代药理学研究进展[J].中国药理学通报,2017,33(2):161-166.
- 李明军,郭婧,李翔,等.盾叶薯蓣胚乳再生体系的建立及其染色体倍性鉴定[J].植物学报,2012,47(6):654-660.
- 赵猛,朱洪梅.盾叶薯蓣种质资源研究进展[J].陕西农业

醋炙乌药-木香对肝郁气滞型功能性消化不良模型大鼠胃排空及胃肠激素的影响^Δ

谭树慧^{1,2*},任卫琼¹,夏伯侯^{2,3},林丽美^{2,3},欧阳荣^{1#}(1.湖南中医药大学第一附属医院药学部,长沙 410007; 2.湖南中医药大学药学院,长沙 410208;3.湘产大宗药材品质评价湖南省重点实验室,长沙 410208)

中图分类号 R965.1 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2019)05-0684-05

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2019.05.22

摘要 目的:探讨醋炙乌药-木香对肝郁气滞型功能性消化不良(FD)模型大鼠胃排空及胃肠激素的影响。方法:将60只SD大鼠随机分为空白组($n=10$)和造模组($n=50$),造模组大鼠采用慢性应激束缚或食物剥夺或过度疲劳等多种手段复制肝郁气滞型FD模型。造模成功后,将造模组大鼠随机分为模型组(生理盐水)、醋炙乌药组(以生药量计为1.62 g/kg)、木香组(以生药量计为1.62 g/kg)、醋炙乌药-木香组(1:1, m/m ,以生药量计为1.62 g/kg)和莫沙必利组(阳性对照,1.35 mg/kg),每组10只。各给药组大鼠每天灌胃相应药物1次,空白组和模型组大鼠灌胃等体积生理盐水,连续给药14 d。末次给药2 h后,采用酚红含量法检测各组大鼠的胃排空率和小肠推进率;苏木精-伊红(HE)染色后,显微镜下观察其胃窦部组织病理学变化;并采用酶联免疫吸附法检测其血清中胃动素(MTL)、胃泌素(GAS)、胆囊收缩素(CCK)含量。结果:与空白组比较,模型组大鼠胃排空率、小肠推进率显著降低($P<0.01$);血清中MTL、GAS含量显著降低($P<0.01$),CCK含量显著升高($P<0.01$);各造模组大鼠造模后均未出现器质性损伤。与模型组、醋炙乌药组、木香组比较,醋炙乌药-木香组和莫沙必利组大鼠胃排空率和小肠推进率显著升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$);血清中MTL、GAS含量显著升高($P<0.01$),CCK含量显著降低($P<0.01$)。结论:醋炙乌药-木香能加速肝郁气滞型FD模型大鼠胃排空及小肠推进,升高其血清中MTL、GAS含量和降低血清中CCK含量,且其作用优于两药单用。

关键词 醋炙乌药-木香;肝郁气滞型功能性消化不良;胃排空;胃肠激素;大鼠

科学,2009,55(1):71-74.

- [11] 谢彩侠,左春芳,白雁,等.盾叶薯蓣中薯蓣皂苷提取及检测条件的优化[J].中华中医药学刊,2012,30(9):2016-2019.
- [12] 王光忠,刘伟伟,葛如斌,等.分光光度法测定盾叶薯蓣总皂苷的含量[J].湖北中医学院学报,2008,10(2):44-45.
- [13] 张社利,许文静,张会菊,等.高效液相色谱法测定怀山药中的薯蓣皂苷元[J].理化检验(化学分册),2013,49(1):33-34,38.
- [14] 曾涌,罗建军,何文生,等.薯蓣属植物化学成分及药理活性的研究进展[J].中国药房,2016,27(31):4454-4459.
- [15] 王淑荣,凌霜,张庆光,等.薯蓣皂苷现代药理学研究进展[J].中国药理学通报,2017,33(2):161-166.
- [16] 李祥,马建中,史云东.盾叶薯蓣、薯蓣皂素研究进展及展望[J].林产化学与工业,2010,30(2):107-112.
- [17] 宋治军,赵锁劳.食品营养与安全分析测试技术[M].咸阳:西北农林科技大学出版社,2005:12.
- [18] 赵庆云,谢庆华,寸湘琴,等.云南高原盾叶薯蓣低产因子分析[J].作物杂志,2003(1):36-37.
- [19] 左春芳,吕亚新,张贤良.不同产地盾叶薯蓣质量综合评价比较[J].实用医药杂志,2016,33(12):1108-1111.
- [20] 张新新,梁晋如,苏琪,等.HPLC-ELSD法同时测定盾叶薯蓣根茎中5个皂苷的含量[J].药物分析杂志,2013,33(7):1235-1238,1258.
- [21] 钟世安,华怀杰,贺国文,等.反相高效液相色谱法测定盾叶薯蓣中薯蓣皂苷元[J].光谱实验室,2006,23(5):898-901.
- [22] 史君星,左春芳,谢彩侠.反相高效液相色谱法测定盾叶薯蓣中薯蓣皂苷的含量[J].中医学报,2012,27(8):983-984.
- [23] 梁艳丽,张轴,谢世清.不同盾叶薯蓣品系形态特征及产量的比较研究[J].中国农学通报,2009,25(24):130-136.
- [24] 谢彩侠,高山林,秦惠贞.不同产地来源的盾叶薯蓣中薯蓣皂苷元含量分析[J].河南中医学院学报,2009,24(1):58-60.
- [25] 咎丽霞,徐皓,赵桦,等.盾叶薯蓣根状茎中皂苷的组织化学定位及含量测定[J].湖北农业科学,2014,53(13):3103-3105.
- [26] 白雁,左春芳,谢彩侠,等.HPLC-ELSD测定盾叶薯蓣中伪原薯蓣皂苷的含量[J].中国实验方剂学杂志,2012,18(16):84-86.

^Δ 项目基金:湖南省教育厅重点项目(No.17A156);湖南省中医药科研计划项目(No.201709)

* 硕士研究生。研究方向:中药质量规范化。电话:0731-85600771。E-mail:tsh5706@163.com

通信作者:教授。研究方向:中药质量规范化。电话:0731-85600771。E-mail:ouyangrong64@126.com

(收稿日期:2018-09-11 修回日期:2018-12-31)
(编辑:唐晓莲)