

太子参不同生长期多糖的含量测定

贺肇东¹, 蒋畅¹, 徐蔚¹, 胡娟^{2*}

¹福建省中医药科学院, 福建 福州

²福建中医药大学附属第二人民医院, 福建 福州

Email: jeckstone@hotmail.com, *huj@fjtc.edu.cn

收稿日期: 2021年1月18日; 录用日期: 2021年2月17日; 发布日期: 2021年2月26日

摘要

目的: 研究太子参育种期和成熟期的多糖含量差异, 考察其与太子参生长周期的关联性。方法: 样品粉碎后乙醇脱脂除杂后纯水回流, 用苯酚-硫酸比色法于486 nm波长处测定其吸光度并根据标准曲线计算含量。结果: 不同生长期太子参多糖具有差异性, 其中育种期多糖的含量较高。结论: 太子参培育过程中筛选保留的种参内所含多糖含量较高, 其可能是为萌芽所储存的能量物质, 为种参的选择提供了参考。

关键词

太子参, 生长周期, 多糖, 含量测定

Determination of Polysaccharides in *Pseudostellaria heterophylla* at Different Growth Stages

Zhaodong He¹, Chang Jiang¹, Wei Xu¹, Juan Hu²

¹Fujian Academy of Traditional Chinese Medicine Sciences, Fuzhou Fujian

²The Second People's Hospital Affiliated to Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou Fujian

Email: jeckstone@hotmail.com, *huj@fjtc.edu.cn

Received: Jan. 18th, 2021; accepted: Feb. 17th, 2021; published: Feb. 26th, 2021

Abstract

Objective: To study the difference of polysaccharide content between breeding stage and mature

*通讯作者。

文章引用: 贺肇东, 蒋畅, 徐蔚, 胡娟. 太子参不同生长期多糖的含量测定[J]. 药物化学, 2021, 9(1): 1-7.

DOI: 10.12677/hjmce.2021.91001

stage of *Pseudostellaria heterophylla*, and to investigate its correlation with the growth cycle of *Pseudostellaria heterophylla*. **Methods:** The sample was smashed, defatted with ethanol, and then refluxed with pure water. The absorbance was determined at 486 nm by phenol and sulfuric acid colorimetry, and the content was calculated according to the standard curve. **Results:** The polysaccharides in different growth stages were different, and the content of polysaccharides in breeding stage was higher. **Conclusion:** The content of polysaccharides in the seeds of *Pseudostellaria heterophylla* is higher, which may be the energy material stored for germination, which provides a reference for the selection of *Pseudostellaria heterophylla*.

Keywords

Pseudostellaria heterophylla, Growth Cycle, Polysaccharide, Content Determination

Copyright © 2021 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

太子参为石竹科多年生草本植物孩儿参(*Pseudostellaria heterophylla*)的干燥块根,在我国辽宁、内蒙古、河北、陕西、山东、江苏等地有野生分布,日本、朝鲜亦见相关报道[1],目前,国内主要有福建、贵州、安徽、江苏等太子参人工栽培产区。柘荣太子参以色泽晶黄、块根肥大、有效成分高而为医药界所重用,“柘荣太子参”是中国闻名的道地药材,其作为临床常用补益药,性甘平,味微苦,具益气健脾、生津润肺之功效,用于脾虚体倦、食欲不振、病后虚弱、气阴不足、自汗口渴、肺燥干咳等症[2]。研究显示,太子参主要包括太子参多糖[3]、蔗糖、麦芽糖、 α -槐糖[4]等糖类、太子参皂苷 A [5]、刺槐苷 [6]等苷类、环肽类[7] [8]、黄酮类、氨基酸、甾醇、油脂、挥发油等[6] [9] [10]化学成分。

中药多糖具有增强机体免疫功能及抗肿瘤等药理作用。太子参多糖是太子参中所含的一种水溶性组成成分,具有重要的药理作用。本课题组研究表明太子参多糖对糖尿病足溃疡,小肠溃疡均有良好的疗效,国内外的研究表明其具有抗心肌缺血、调节人体免疫、抗糖尿病作用。本研究对不同生长时期太子参多糖类成分进行提取,应用硫酸-苯酚比色法测定其含量,并对其进行比较分析,考察多糖类成分的含量变化特征,为确定最佳采收期、种植条件打下基础,也为种参的选择提供参考[11] [12] [13] [14]。

2. 材料、仪器与试剂

2.1. 材料

样品采集于柘荣县太子参种植地,分别在太子参成熟期和太子参的育种期选择采摘(图 1),标记分装,干燥,选择 3 块不同的地界选样(图 2),每批取样 3 份,干燥,粉碎过 3 号筛备用。

2.2. 仪器

UV-3200 型紫外可见分光光度计(配备 UV-VIS Analyst 紫外分光应用系统,上海美普达仪器有限公司); AE240S 电子分析天平(梅特勒-托利多有限公司); HH-6 数显恒温水浴锅(国华电器有限公司); DHG-9123A 电热恒温鼓风干燥箱(上海精宏实验设备有限公司)。



Figure 1. Breeding period and maturity stage of *Pseudostellariae heterophylla*. (A) Breeding period; (B) Maturity stage
图 1. 太子参育种期和成熟期。(A) 育种期; (B) 成熟期

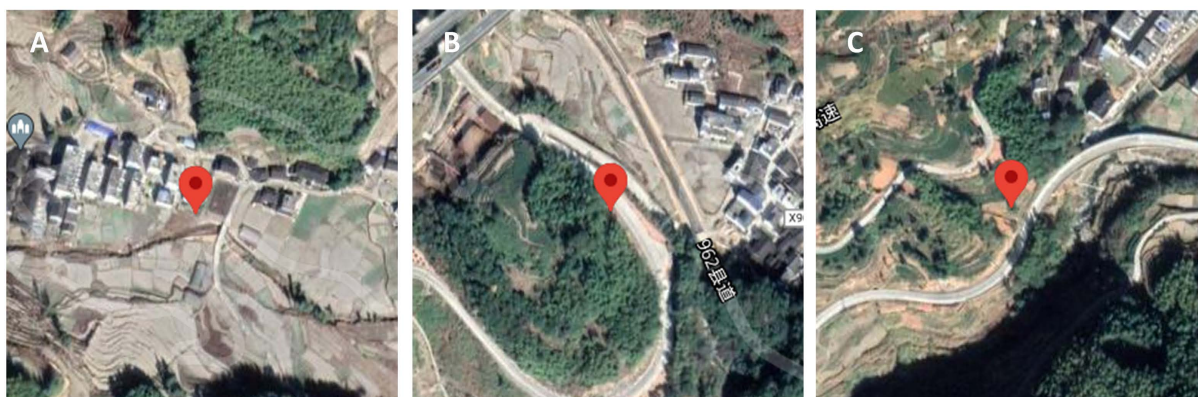


Figure 2. Sampling position. (A) 27.212 degree north and 119.849 east; (B) 27.205 degree north and 119.854 east; (C) 27.188 degree north and 119.826 east

图 2. 采样地点。(A) 北纬 27.212, 东经 119.849; (B) 北纬 27.205, 东经 119.854; (C) 北纬 27.188, 东经 119.826

2.3. 试剂

D-无水葡萄糖对照品(批号: 110833-201908, 中国食品药品检定研究院); 硫酸(分析纯, 批号: 190123, 西陇化工股份有限公司); 苯酚(分析纯, 批号: 0191018, 西陇化工股份有限公司)、无水乙醇(分析纯, 批号: 2021023, 西陇化工股份有限公司)。

3. 方法与结果

3.1. 供试品制备

取供试品粉末约 2.000 g, 置于索氏提取器中, 精密称定, 加入 90%乙醇 100 ml, 95℃水浴加热 3 h, 弃去乙醇溶液, 烘箱 50℃烘干, 药渣连同纸筒置于圆底烧瓶中, 准确加入 100 ml 蒸馏水, 称重; 100℃水浴加热回流提取 2 h, 冷却至室温, 加水补重, 混匀, 离心(转速为每分钟 4000 转) 15 分钟。精密量取上清液 2 ml, 置 15 ml 离心管中, 精密加入无水乙醇 10 ml, 摇匀, 冷藏 1 小时, 取出, 离心(转数为每分钟 4000 转), 弃去上清液, 必要时过滤, 沉淀加 80%的乙醇洗涤 2 次, 每次 8 ml, 离心, 弃去上清液, 沉淀加水溶解, 转移至 100 ml 量瓶中, 加水至刻度, 摇匀, 即得供试品溶液。

3.2. 对照品溶液的制备

准确称取葡萄糖标准品 8.12 mg, 溶解后在 100 ml 容量瓶内用蒸馏水准确定容至刻度即得浓度为 81.2 $\mu\text{g/ml}$ 的储备液。

3.3. 标准曲线的制备

精密量取对照品溶液 4.0 ml、5.0 ml、6.0 ml、7.0 ml、8.0 ml, 分别置 10 ml 容量瓶中, 各加水至刻度线定容, 得系列标准溶液。精密量取各对照品溶液 1 ml, 置 10 ml 具塞试管中精密加入 5% 苯酚溶液 1 ml (临用配制), 摇匀; 再精密加硫酸 5 ml, 摇匀。置沸水浴中加热 20 分钟, 取出, 置冰浴中冷却 5 分钟, 以相应试剂为空白, 照紫外-可见分光光度法(《中国药典》通则 0401), 在最大吸收波长处测定吸光度, 以吸光度为纵坐标, 浓度为横坐标, 绘制标准曲线。

3.4. 方法学考察

对葡萄糖标准品的精密度以及供试液中多糖的重现性、稳定性、回收率进行考察。

1) 葡萄糖标准品的精密度考察: 另精密量取葡萄糖对照品溶液 1.0 ml, 加水至 2.0 ml, 显色后分别测定吸光度, 重复测定 5 次, 计算 RSD。

2) 供试液中多糖的重现性考察: 另精密称取太子参 2.0 g, 按 2.1 方法平行制备供试液 5 份, 稀释 150 倍, 精密量取供试品溶液 1.0 ml, 依法测定吸光度。

3) 供试液中多糖的稳定性考察: 另精密称取太子参 2.0 g, 按 2.1 方法制备供试液, 密封放置于冰箱中储存, 精密量取供试品溶液 1.0 ml, 于显色后 0、12、24、48、72 h, 测定吸光度。

4) 供试液中多糖的回收率考察: 精密称取太子参样品 1.0 g 和葡萄糖 0.0205 mg 平行制备供试液 5 份, 测定吸光度。

5) 样品测定: 将不同生长期的样品分别制备供试品并进行测定。

4. 实验结果

4.1. 最大吸收

检测波长的确定以水为空白, 葡萄糖标准品溶液在 390~590 nm 波长范围内测吸光度, 在 486 nm 处有最大吸收度。最大吸收波长如图 3 所示:

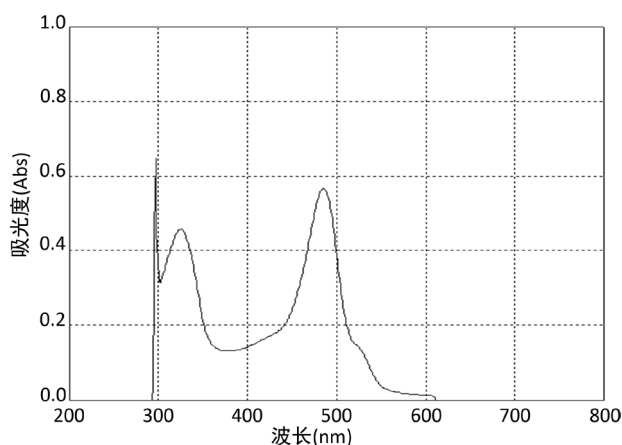


Figure 3. Maximum absorption of glucose reference substance

图 3. 葡萄糖对照品最大吸收图

4.2. 标准曲线

苯酚 - 硫酸法标准曲线在 486 nm 处测定各标准液的吸光度, 得回归方程 $A = 0.0106C - 0.007$, $r = 0.9947$, 表明葡萄糖对照品溶液在 20~80 $\mu\text{g/ml}$ 浓度范围内呈良好的线性关系。回归标准曲线由图 4 所示。

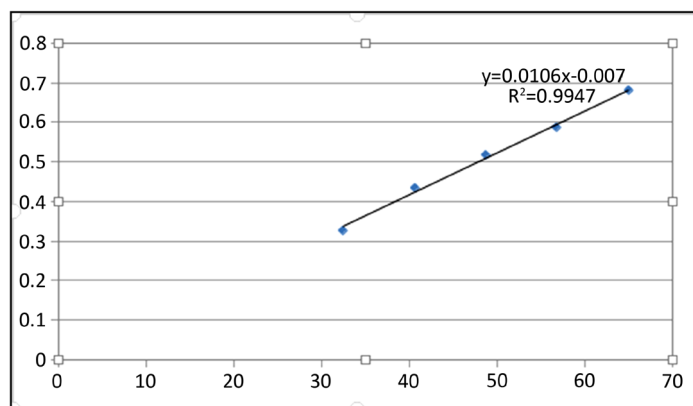


Figure 4. Standard curve of glucose reference substance

图 4. 葡萄糖对照品的标准曲线

4.3. 葡萄糖标准品的精密度考察

依 3.2 方法制备溶液, 重复测量 5 次吸光度, 计算其含量 RSD 为 0.15%。说明该标品的精密度良好。

4.4. 供试液中多糖的重现性考察

根据 3.1 过程制备供试液, 详细记录数据及测量每次的吸光度, 计算样品多糖含量的重现 RSD 为 0.98%。说明供试液多糖含量的重现性良好。

4.5. 供试液中多糖的稳定性考察

根据 3.1 过程制备供试液, 在不同的时段测定其吸光度, 记录。计算其含量 RSD 为 1.56%。结果表明供试液在显色后 72 h 内稳定。

4.6. 供试液中多糖的回收率考察

根据 3.1 过程制备供试液, 测定其吸光度, 取 5 次测定的平均值计算回收率为 99.56% ($n = 5$), 供试液中多糖回收率的 RSD 为 1.32%, 回收率实验结果见表 1。

Table 1. Experiment of recovery rate of test solution

表 1. 供试液回收率实验

取样量(g)	样品含量(μg)	加标量(μg)	检出量(μg)	回收率	平均回收率	RSD
1.0001	198.08	200.05	401.54	99.15%		
1.0005	201.24	200.02	406.33	98.76%		
1.0006	199.89	200.04	398.89	100.30%	99.56%	1.32
1.0007	204.34	200.03	398.59	101.45%		
1.0002	200.89	200.01	408.58	98.12%		

4.7. 不同生长期太子参含量测定

分别将当归三批样品,按 3.1 法制备供试液,分别稀释不同倍数,用苯酚-硫酸法显色,紫外分光光度法进行含量测定结果见表 2。

Table 2. Comparison of sugar content of *Pseudostellaria heterophylla* in different growth stages ($n = 3$)

表 2. 不同生长期太子参糖类含量的比较($n = 3$)

	育种期芽尖	育种期块根	成熟期块根
样地1	15.01%	25.38%	22.99%
样地2	16.46%	27.69%	23.63%
样地3	18.55%	23.58%	23.15%
平均	16.67%	25.55%	23.26%

5. 分析与讨论

1) 本实验通过乙醇脱脂除杂后纯水回流提取多糖,用苯酚-硫酸法显色,分别测量得出育种期和成熟期太子参的多糖含量,实验的方法学考察结果说明此法实验数据可靠,可用于多糖含量测定。

2) 由实验结果可知,相较于成熟期太子参,种参的多糖含量更高。太子参种参是成熟期太子参经人工筛选后保留于田中继续生长,发芽后扦插种植,实验结果说明了在这段时间内的植物体内多糖类物质仍在持续合成并储存,产生了大量的营养物质向块根进行了转移,保证了种参的正常发育和代谢产物的蓄积,符合植物的正常发展规律。

基金项目

福建省属公益类科研院所基本科研专项(2018R1035-6)。

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, 1996: 67.
- [2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 62.
- [3] Hu, J., Pang, W.S., Chen, J.L., Bai, S.W., Zheng, Z.Z. and Wu, X.H. (2013) Hypoglycemic Effect of Polysaccharides with Different Molecular Weight of *Pseudostellaria heterophylla*. *Complementary and Alternative Medicine*, **13**, 267. <https://doi.org/10.1186/1472-6882-13-267>
- [4] 王文凯, 贾静, 丁仁伟, 刘红宁. 太子参近年研究概况[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(12): 264-267.
- [5] 彭华胜, 刘文哲, 胡正海. 太子参的生物学与化学成分的研究进展[J]. 中草药, 2008, 39(3): 470-473.
- [6] 张健, 李友宾, 王大为, 殷志琦, 段金廛. 太子参化学成分研究[J]. 中国中药杂志, 2007, 32(11): 1051-1053.
- [7] Tan, N.H., Zhou, J., Chen, C.X. and Zhao, S.X. (1993) Cyclopeptides from the Roots of *Pseudostellaria heterophylla*. *Phytochemistry*, **32**, 1327-1330. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)95114-8](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)95114-8)
- [8] 傅兴圣, 刘训红, 许虎, 周逸芝, 陈菲. 太子参研究现状与研发趋势[J]. 中国新药杂志, 2012, 21(7): 757-760.
- [9] 李滢, 杨秀伟. 太子参(栝参 1 号)的化学成分[J]. 中国中药杂志, 2008, 33(20): 2353-2355.
- [10] 杨昌贵, 江维克, 周涛, 肖承鸿, 艾强, 张代金. 不同种源太子参中多糖和氨基酸含量的比较研究[J]. 中国现代中药, 2014, 16(1): 32-37.
- [11] 阚永军, 赵立, 陈达炜, 庞文生, 胡娟. 太子参均一多糖对大鼠小肠 α -糖苷酶活性影响[J]. 中国民族民间医药, 2019, 28(4): 18-20.
- [12] 林巧美, 庞文生, 曾洁, 胡娟. 福建栝荣不同品种太子参浸出物及多糖含量测定[J]. 中国民族民间医药, 2019, 28(3): 21-23.

- [13] 刘湘湘, 阮君山. 太子参多糖对大鼠心肌缺血的保护作用[J]. 中国民族民间医药, 2017, 26(17): 18-20.
- [14] 徐锦龙, 徐爱仁, 应景艳, 等. 太子参多糖对实验性糖尿病大鼠血糖及胰岛素的影响[J]. 中华中医药学刊, 2012, 30(2): 423-424.