

紫外-可见分光光度法测定多花黄精多糖含量

曾婷^{1,2,3}, 周芳^{1,2,3}, 汤嫣然^{1,2,3}, 袁汉文^{1,2,3}, 刘永蓓^{1,2,3}, 李亚霖^{1,2,3}, 唐巧凤^{1,2,3}, 彭彩云^{1,2,3}, 王炜^{1,2,3}

(1. 湖南中医药大学中药民族药物创新发展国际联合实验室, 湖南长沙, 410208;

2. 中国-巴基斯坦中医民族医药研究国际合作基地, 湖南长沙, 410208;

3. 湖南中医药大学药学院创新药物研究所, 湖南长沙, 410208)

[摘要] 目的: 测定湖南洪江国家黄精标准化基地多花黄精中的多糖含量, 为多花黄精的进一步开发利用及药材质量标准研究奠定基础。方法: 以葡萄糖为标准品, 采用硫酸-蒽酮试剂显色, 应用紫外-可见分光光度法测定多花黄精多糖含量。结果: 葡萄糖在 3.28~19.68 μg/mL 范围内线性良好 ($r=0.9992$), 多花黄精多糖平均含量为 8.05%。结论: 洪江种植基地的多花黄精品质优良, 洪江是道地黄精药材种植理想基地。

[关键词] 多花黄精; 黄精多糖; 含量测定

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **DOI:** 10.16808/j.cnki.issn1003-7705.2018.09.074

Content determination of polysaccharides in *Polygonatum cyrtonema*

Hua by ultraviolet - visible spectrophotometry

ZENG Ting^{1,2,3}, ZHOU Fang^{1,2,3}, TANG Yan-ran^{1,2,3}, YUAN Han-wen^{1,2,3}, LIU Yong-bei^{1,2,3},

LI Ya-lin^{1,2,3}, TANG Qiao-feng^{1,2,3}, PENG Cai-yun^{1,2,3}, WANG Wei^{1,2,3}

(1. Laboratory of Traditional Chinese Medicine & Folk Medicine Innovation and International Development,

Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, Hunan, China;

2. China - Pakistan Traditional Chinese Medicine & Folk Medicine International Cooperation Base,
Changsha 410208, Hunan, China;

3. Innovative Drug Research Institute, School of Pharmacy, Hunan University of Chinese Medicine,
Changsha, 410208, Hunan, China)

Abstract: Objective: To investigate the method for content determination of polysaccharides in *Polygonatum cyrtonema* Hua from Hunan Hongjiang National *Polygonatum sibiricum* Standardized Base, and to lay a foundation for further development and utilization of *Polygonatum cyrtonema* Hua and research on quality standards of medicinal materials. Methods: With glucose as the standard substance, the sulfuric acid - anthrone method and ultraviolet - visible spectrophotometry were used to determine the content of polysaccharides in *Polygonatum cyrtonema* Hua. Results: Glucose showed a good linear relationship within the range of 3.28 ~ 19.68 μg/mL ($r=0.9992$), and the average content of polysaccharides in *Polygonatum cyrtonema* Hua was 8.05%. Conclusion: *Polygonatum cyrtonema* Hua from the Hongjiang plantation base has good quality, and Hongjiang is an ideal base for the plantation of genuine *Polygonatum sibiricum* medicinal material.

Key words: *Polygonatum cyrtonema* Hua; *Polygonatum sibiricum* polysaccharides; content determination

黄精 *Polygonati rhizome* 为百合科 (Liliaceae) 黄精属 *Polygonatum* Mill. 多年生草本植物^[1], 亦称“鹿竹”“土灵芝”“救命草”“老虎姜”“仙人余粮”等, 性平, 味甘, 归脾、肾、肺

经, 具有补肾益精、滋阴润燥的功效。《中国药典》收录滇黄精 (*P. kingianum* Collet-Hems.), 黄精 (*P. sibiricum* Red.) 和多花黄精 (*P. cyrtonema* Hua) 3 种植物为黄精的“原生药”^[2], 其

基金项目: 湖南省科技厅重点研发项目 (编号: 2018SK2119); 国家中医药管理局国家中药标准化项目 - 黄精标准化建设 (编号: ZYBZH - Y - HUN - 23); 湖南省长沙市科技计划项目 (编号: Kq1706055); 湖南省研究生创新性试验计划项目 (编号: CX2017B443); 湖南省大学生创新性试验计划项目 (编号: 201713); 湖南中医药大学助研计划项目 (编号: 201716)

第一作者: 曾婷, 女, 2016 级硕士研究生, 研究方向: 药物化学

通讯作者: 彭彩云, 女, 教授, 硕士研究生导师, 研究方向: 天然产物化学成分与活性研究, E-mail: Caiyunpeng@qq.com;

王炜, 男, 教授, 博士研究生导师, 研究方向: 中药化学, E-mail: wangwei402@hotmail.com

中多花黄精(*P. cyrtonema* Hua)是黄精中的精品,具有多种功效,是研发治疗糖尿病、高脂血症、癌症等疾病新药的潜在药源。

黄精的主要成分有多糖、甾体皂苷、蒽醌、生物碱、黄酮类等^[3-4],其中黄精多糖是黄精的主要功能成分之一。研究表明,黄精多糖的药用价值非常高,具有抗肿瘤、抗氧化、免疫调节、抑菌抗炎、降糖降脂等活性^[5-9]。湖南省黄精产量占全国的 50% 以上。湖南西南部洪江市地处雪峰山区,地理环境非常适合多种植物生长发育,国家黄精标准建设种植基地即落户于此,盛产道地药材多花黄精。黄精多糖的含量是鉴定黄精质量的一项十分重要的指标,为配合国家中药材标准化建设,本研究按照现行 2015 版《中国药典》标准,采用蒽酮-硫酸比色法进行黄精多糖含量测定,评价洪江种植基地多花黄精品质,为提升黄精药材质量标准提供初步实验基础。

1 仪器与试药

1.1 药材 多花黄精药材(由湖南新汇制药有限公司提供,种植于湖南省怀化市洪江县),由湖南中医药大学药学院中药鉴定教研室龚力民老师鉴定为多花黄精;D-无水葡萄糖对照品(国药集团化学试剂有限公司,批号:20150603)。

1.2 主要试剂与仪器 紫外-可见分光光度计(上海佑科仪器仪表有限公司,型号 UV755B);智能磁力搅拌器(爱博特科技,型号 ZNCL-BGS);精密电子分析天平(上海舜宇恒平科学仪器有限公司,型号:FA1004);乙醇 AR 级(上海泰坦科技股份有限公司);蒽酮 AR 级(国药集团化学试剂有限公司)。

2 方法与结果

2.1 黄精大小性状的鉴定 肉眼将多花黄精药材分为大、中、小等 3 个部分。分别取大份药材(10 个)、中份药材(11 个)、小份药材(13 个),对其长度、宽度、圆盘茎痕及其干燥重量进行记录,取其平均值,结果见表 1。

表 1 黄精分级记录表

平均值	长度 (cm)	宽度 (cm)	最大圆盘状茎痕 (cm)	最小圆盘状茎痕 (cm)	重量 (g)
大份黄精	13.7	8.9	1.6	0.6	105.9
中份黄精	11.3	6.7	1.4	0.8	59.9
小份黄精	7.4	3.7	0.7	0.4	14.2

2.2 黄精多糖的提取 取经 60℃ 干燥至恒重的黄精细粉 0.25g,精密称定,置于 250mL 烧瓶中,加 80% 乙醇 150mL,90℃ 水浴回流提取 1h;趁热过滤,滤渣用 80% 乙醇洗涤 3 次(每次约 10mL);将滤渣及滤纸置于烧瓶中,加水 150mL,置沸水中水浴加热回流 1h;趁热过滤,滤渣及烧瓶用热水洗涤 4 次,每次 10mL;合并滤液及洗液,冷却,转移至 250mL 容量瓶中,加水至刻度,摇匀。

2.3 标准曲线的绘制 取经 105℃ 干燥至恒重的无水葡萄糖对照品(约 33mg),精密称定,置于 100mL 容量瓶中,加水

溶解并稀释至刻度,摇匀,即得(每 1mL 中含无水葡萄糖约 0.33mg)。精密称取对照品溶液 0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6mL,分别置于 10mL 具塞刻度试管中,各加水至 2.0mL,摇匀,在冰水浴中缓慢滴加 0.2% 蒽酮-硫酸溶液至刻度,混匀,冷却后至水浴中保温 40min,取出,立即置冰水浴中冷却 20min,取出,以相应试剂为空白,按照紫外可见分光光度法,在 582nm 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,结果见表 2。以对照品浓度为横坐标,吸光度为纵坐标求得回归方程为: $Y = 0.0411X + 0.0155$ ($r = 0.9992$)。葡萄糖浓度在 3.28 ~ 19.68μg/mL 范围内线性良好。

表 2 标准曲线测定结果($n = 6$)

对照品浓度(μg/mL)	3.28	6.56	9.84	13.12	16.40	19.68
吸光度(A)	0.148	0.279	0.426	0.562	0.696	0.815

2.4 黄精多糖的含量测定 将冷却的黄精多糖样品取出,以相应的试剂为空白,精密量取供试品溶液 1mL,置 10mL 具塞干燥试管中,按照“2.3”项下方法,自“加水至 2.0mL”起,按照紫外可见分光光度法,在 582nm 波长处测定吸光度,由回归方程计算多糖溶液的浓度,并计算黄精中多糖的含量。结果见表 3。

表 3 样品测定结果(蒽酮-硫酸法)

编号	1	2	3	4	5	6	平均值
含量(%)	8.20	8.20	8.01	8.05	7.92	7.91	8.05

2.5 黄精多糖含量分析方法的考察

2.5.1 稳定性实验 精密量取供试品溶液 1mL,置 10mL 干燥具塞刻度试管中,按照“2.3”项下方法,自“加水至 2.0mL”起,显色 0、0.5、2、4、8、12、24h 后测定吸光度,计算得 RSD 为 1.37%,结果表明样品经显色后的 24h 内吸光度较稳定,结果见表 4。

表 4 稳定性试验测定结果

时间(h)	0	0.5	2	4	8	12	24
吸光度(A)	0.290	0.300	0.302	0.300	0.302	0.300	0.290

2.5.2 精密度实验 精密量取供试品溶液 0.4mL,至 10mL 干燥具塞刻度试管中,按照“2.3”项下方法,自“加水至 2.0mL”起,依法测定吸光度,重复测定 6 次,分别为 0.575、0.575、0.568、0.572、0.574、0.567。经计算 RSD 为 1.11%,结果表明仪器精密度良好。

2.5.3 重复性实验 取黄精细粉 6 份,每份约 0.25g,精密称定。按“2.2”项下的供试品溶液制备方法制备供试品溶液,精密量取供试品溶液 1mL,至 10mL 干燥具塞刻度试管中,照“2.3”项下方法,自“加水至 2.0mL”起,依照方法测定吸光度,分别为 0.440、0.353、0.341、0.344、0.315、0.340。经计算 RSD 为 1.11%,参考表 5(样品中被测成分含量水平与精密度 RSD% 可接受限度要求表),可知此方法重复性良好。

2.5.4 加样回收实验 取黄精细粉 9 份,每份约 0.125g,精密称定。按“2.2”项下的供试品溶液制备方法制备供试品

溶液,每份约含多糖 10mg,置于 250mL 容量瓶中,加蒸馏水溶解至刻度,摇匀。精密量取各样品溶液 1mL 于 25mL 具塞比色管中,分别精密加入一定量的对照品溶液后,按“2.3”项下方法,自“加水至 2.0mL”起,依照方法测定吸光度。按测定的各样品吸光度,计算加样回收率的平均值和相对标准偏差,结果平均加样回收率为 99.71%,RSD = 2.1%。结果见表 6。

表 5 样品中被测成分含量水平与
精密度 RSD% 可接受限度要求

被测成分含量水平	重复性 RSD(%)
100	1
10	1.5
1	2

表 6 加样回收率实验测定结果($n=9$)

编号	原有量 (g)	加样量 (g)	测得量 (g)	回收率 (%)	平均值 (%)	RSD (%)
1	0.0101	0.0101	0.0202	100.16	99.71	2.1
2	0.0101	0.0101	0.0204	101.99		
3	0.0101	0.0101	0.0201	99.34		
4	0.0101	0.0081	0.0184	102.31		
5	0.0101	0.0081	0.0181	99.29		
6	0.0101	0.0081	0.0183	101.71		
7	0.0101	0.0121	0.0221	99.36		
8	0.0101	0.0121	0.0219	97.82		
9	0.0101	0.0121	0.0217	95.64		

3 讨 论

黄精供试品无水葡萄糖线性范围为 3.28~19.68 $\mu\text{g/mL}$ ($r=0.9992$),计算得黄精多糖平均含量为 8.05%。且通过方法学考察说明仪器精密度好,方法重现性好,样品经显色后的 24h 内吸光度较稳定。

硫酸-蒽酮比色法是测定黄精多糖总糖量的一种灵敏、快速、简便的方法。实验显色过程中对温度与保温时间十分敏感,在合适温度及适宜水浴保温下反应更加完全,实验结果更加准确、可信。因此夏季操作本实验时可按 2015 版《中国药典》操作,而冬季操作时水浴保温最佳时间在 40min。实验时水浴温度除另有规定外均为 98℃~100℃。

实验所应用的多花黄精细粉、葡萄糖粉末标准品暴露于空气中极易吸潮结块,会降低干燥效率,影响实验进度甚至干扰实验结果,因此两者均应密封干燥保存,且每次使用前细粉必须干燥约 1h 至恒重。

黄精是中国传统的药食同源性中草药,其主要成分黄精多糖药用价值极高,在保健食品、治疗性药品、日常护肤品等方面的巨大发展潜力有着十分广阔的市场前景。黄精是湖南道地大宗药材,国家中药材标准化建设基地洪江种植基地的多花黄精经测定黄精多糖平均含量为 8.05%,品质较高。但是目前 2015 版《中国药典》中仅以黄精多糖含量为黄精药材质量控制的唯一标准显然是不够的,没有充

分挖掘药材中其他特征性功能成分并建立其分析鉴定体系,因此,有必要进一步对黄精的其他非多糖成分进行深入研究,提升并完善黄精药材质量标准体系。

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(第 15 卷)[M]. 北京:科学出版社,2000.
- [2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京:中国医药科技出版社,2015:306-307.
- [3] 王易芬,穆天慧,陈纪军,等. 滇黄精化学成分研究[J]. 中国中药杂志,2003,28(6):524-527.
- [4] 孙隆儒. 黄精化学成分及生物活性的研究[D]. 沈阳:沈阳药科大学,1999.
- [5] 祝凌丽,徐维平. 黄精总皂苷和多糖的药理作用及其提取方法的研究进展[J]. 安徽医药,2009,13(7):719-722.
- [6] 徐兵兵,于勇杰,吴帆,等. 黄精多糖研究综述[J]. 中国野生植物资源,2015(4):38-41.
- [7] 江华. 黄精多糖的抗肿瘤活性研究[J]. 南京中医药大学学报,2010,26(6):479-480.
- [8] 石娟,邓兴安,周玲,等. 黄精粗多糖对正常小鼠免疫功能的影响[J]. 中国现代应用药学,2011(1):18-21.
- [9] 杨新新,潘晓鹃,严寒静,等. 黄精粗多糖提取及蒽酮-硫酸分光光度法含量测定[J]. 四川中医,2016(1):103-106.

(收稿日期:2018-05-29)

咸蛋黄榨菜乌米团

主料:乌米 250g,鸭蛋黄 4 枚,榨菜适量。做

法:乌米洗净,入高压锅煮熟后盛出放凉。榨菜剁成碎末,取鸭蛋黄备用。手沾点凉水,取一份乌米饭,在手上反复摔实,再捏出一个小窝,放入咸蛋黄后,封好口,再用手反复搓圆。在乌米团子上撒入榨菜末后,即可食用。**功效:**乌米味甘,性平,归肝经。具有补血益气、润燥通便、调经止血等功效。对月经不调、崩漏、大便下血、便秘等有一定的食疗作用。乌米具有很高的营养和药用价值,含有较多的水溶性 B 族维生素和维生素 C 以及脂溶性维生素 D。多食乌米可促进大脑发育、防止动脉硬化、降血压与胆固醇。乌米中含有丰富的单糖、双糖和高分子多糖,可以显著提高机体免疫系统的功能。其丰富的蛋白质提供鲜味,这也是乌米口味鲜美的奥妙所在,是理想的天然保健食品。此道菜肴,加入蛋黄与榨菜,米、菜、蛋共食,营养均衡。菜品爽口美味,亦饭亦菜。适合各类人群食用。
(http://www.cntcm.com.cn/yskp/2018-09/07/content_49663.htm)