

文章编号: 1674-8085(2016)01-0095-03

不同山药种质资源的腺苷含量比较研究

*何文胜, 高华娟

(福建生物工程职业技术学院, 福建, 福州 350002)

摘要: **目的** 为了解山药资源腺苷含量情况, 进一步对该部分资源的腺苷含量进行分析。**方法** 采用高效液相色谱法测定不同种质资源山药腺苷含量。**结果** 不同种质薯蓣腺苷含量差异极显著, 其中腺苷含量最高的是山东兖州的山药 (0.199%); 最低是河南焦作的山药 (0.019%); 总平均含量为 0.095%。**结论** 不同种质来源的山药腺苷含量差异较大, 提示临床用药应注意不同种质来源, 同时也为薯蓣的引种提供依据。

关键词: 种质资源; 山药; 腺苷; 比较分析

中图分类号: R284.1

文献标识码: A

DOI:10.3969/j.issn.1674-8085.2016.01.019

ADENOSINE CONTENTS IN *DIOSCOREA OPPOSITA* THUNB. OF VARIOUS GERMPLASM RESOURCES: A COMPARATIVE STUDY

*HE Wen-sheng, GAO Hua-juan

(Fujian Vocational College of Bioengineering, Fuzhou, Fujian 350002, China)

Abstract Objective: To investigate the adenosine contents in *Dioscorea opposita* Thunb. of various germplasm resources. **Methods:** Adenosine contents in *D. posita* of various germplasm resources were determined using high-performance liquid chromatography. **Results:** Significant differences among various germplasm resources of *D. postita* were observed, the highest adenosine content of 0.199% was determined in the sample from Yanzhou, Shandong province, whereas the lowest (0.019%) from Jiaozuo, Henan province. The average adenosine content was 0.095% of the above samples. **Conclusion:** There were significant differences in adenosine contents of *D. posita* among various germplasm resources, which prompted the attention should be paid to in clinical treatment based on the resource differences and provided theoretical basis for the introduction of *D. posita*.

Key words: germplasm resource; *Disocorea opposita* Thunb; adenosine content; comparative analysis

薯蓣科植物薯蓣 (*Dioscorea opposita* Thunb.) 的干燥根茎—山药, 最早作为上品收载于《神农本草经》, 性平、味甘。有补脾养胃、生津益肺、补肾涩精的功效。山药中含有淀粉、蛋白质、游离氨基酸等营养成分以及多糖、尿囊素、腺苷等多种活性成分^[1-3]。腺苷作为内源性嘌呤核苷, 它是山药中的有效成分之一, 具有明显的药理作用。近年来的研究表明, 腺苷具有舒张血管、降低血压、防止心律失常、抑制血小板聚集、松弛血管平滑肌等生理

活性^[4]。在冬虫夏草质量评价中, 腺苷被作为主要指标性成分^[5-6], 但冬虫夏草由于其昂贵的价格让普通患者难以接受, 而山药作为一味中药, 又是一种常见蔬菜, 因其卓越的药用保健功效和糯香可口的风味品质而深得世人的喜爱^[7]。

本研究采用高效液相色谱法 (HPLC)^[8]对在同一生态环境条件下种植、采收时间和加工方法相同、种质资源不同的山药腺苷进行含量测定, 开展有效成分腺苷的品质评价, 为山药临床用药、质量

收稿日期: 2015-10-16; 修改日期: 2015-11-26

基金项目: 福建省科技计划项目: 福建省生物医药产业中试与检测技术公共服务平台 (2014Y2008); 福建省教育厅 2013 年中青年教师教育科研项目 (JB13316)

作者简介: *何文胜(1968-), 男, 福建福州人, 副教授, 副主任药师, 主要从事天然产物活性成分研究(E-mail: 462703907@qq.com); 高华娟(1981-), 女, 福建福州人, 讲师, 硕士, 主要从事中药化学研究(E-mail: 27011630@qq.com)。

评价和引种提供依据。

1 仪器与材料

HPLC-DAD (Agilent-1200), 色谱柱: Daisogel SP-ODS-BP C₁₈ 柱 (5 μm, 250 mm×4.60 mm), 电子天平 (AR2130, OHAUS; CP225D, SARTORIUS), 超声波提取器 (KQ-500E, 昆山市超声仪器有限公司), MILLI-Q 超纯水器, 低速离心机 (LXJ-IIB, 上海安亭科学仪器厂)。

腺苷 (1131668-26929, 中国药品生物制品检定所), 乙腈 (Merck)、甲醇 (Merck)。

山药: 福建省三明市农业科学研究所试验田提供, 从不同山药产地引种于 2009 年 6 月, 张大鹏教授 (福建农林大学) 鉴定为薯蓣科植物薯蓣 (*D. opposita* Thunb.)。与倪少云、阚建全、白冰^[1-3]等报道的薯蓣种植生态环境、栽培条件和根茎的加工方式相同。

2 方法与结果

2.1 水分测定

取山药块茎去皮除去非药用部分, 清水洗净, 切成厚约 0.5 cm 薄片, 称重, 置干燥至恒重的培养皿中, 于 60℃ 条件下干燥至恒重, 取出, 置干燥器中放冷, 称重, 测定其含水量为 10.6%。

2.2 色谱条件

流动相: 乙腈-水 (5:95); 检测波长: 260 nm; 流速: 1.0 mL·min⁻¹; 进样量: 10 μL; 柱温: 30℃, 理论板数按腺苷计算不低于 2000。

2.3 溶液的制备

2.3.1 对照品溶液制备

精密称取干燥至恒重的腺苷对照品约 4.5 mg, 置 25 mL 容量瓶中, 以 15% 甲醇为溶剂, 稀释至刻度, 摇匀, 作为储备液。精密移取 2 mL 储备液置 20 mL 容量瓶中, 以 15% 甲醇为溶剂, 稀释至刻度, 摇匀, 即得。

2.3.2 供试品溶液的制备

取不同种质资源的山药粉末约 1.0 g, 精密称定, 精密加入 15% 甲醇 10 mL, 称重, 摇匀, 超声提取 30 min, 静置, 称重, 用 15% 甲醇补重, 过滤, 取续滤液, 即得。

2.4 方法学考察

2.4.1 专属性试验

精密吸取 2.2 项下溶液各 10 μL, 按 2.1 项色谱条件分别注入液相色谱仪, 绘制色谱图, 结果见图 1 和图 2。

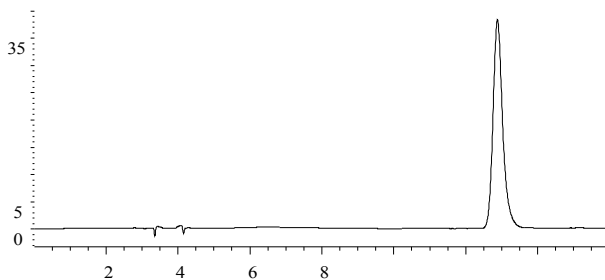


图 1 腺苷对照品的 HPLC 图谱

Fig.1 HPLC chromatograms of adenosine standard

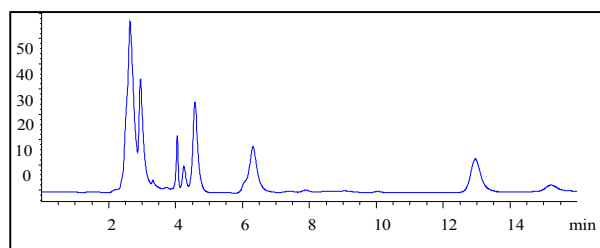


图 2 辽宁海城样品腺苷的 HPLC 图谱

Fig.2 HPLC chromatograms of adenosine in HaiCheng sample

2.4.2 腺苷的线性范围

精密吸取 2.2.1 项下腺苷对照品溶液 1、5、10、15、20、25 μL, 注入液相色谱仪, 按高效液相色谱法测定, 以对照品的量 X (g) 为横坐标, 峰面积为纵坐标, 绘制标准曲线, 进行线性回归, 得回归方程 $A = 3811.9C - 5.9624$, 相关系数 $r = 0.9999$ 。

2.4.3 精密度

取供试品溶液, 按 2.1 项下色谱条件重复进样 6 次, 腺苷色谱峰面积 RSD 为 1.1%。

2.4.4 稳定性

取同一供试品溶液, 分别于 0, 4, 8, 12, 16, 24 h 进行分析, 测得各腺苷峰面积 RSD 为 0.91%, 本供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.4.5 重复性

取同批次山药样品, 按 2.2 项下供试品溶液制备的方法重复制备 6 份, 分别进样测定, 测得腺苷峰面积的 RSD 为 0.9%, 表明本法重复性良好。

2.4.6 回收率

取 6 份已知腺苷含量的山药样品粉末约 0.5 g, 精密称定, 分别加入新配制的 0.2 mg·mL⁻¹ 腺苷对照品溶液 5 mL, 按 2.2 项下的方法制备供试品溶液, 测定含量见表 1, 本法的回收率为 100.6%, RSD 为 0.05%。

表 1 腺苷加样回收率
Table 1 Recovery of allantoin

取样量 (g)	腺苷重量 (mg)	加入量 (mg)	测得总量 (mg)	回收率 (%)	平均值 (%)	RSD (%)
0.501	0.07558		0.1478	96.5		
0.500	0.07543		0.1465	94.8		
0.504	0.07604		0.1569	108.6		
0.501	0.07558	0.0752	0.1540	104.7	100.6	0.05
0.502	0.07573		0.1507	100.4		
0.501	0.07558		0.1493	98.6		

2.5 样品测定

20 个产地的样品(每个产地收集 4 个不同批次

样品)分别按上述方法测定峰面积,并根据标准曲线计算样品的腺苷含量,结果分析见表 2 和表 3。

表 2 薯蓣种质资源腺苷含量差异分析

Table 2 Difference analysis of adenosine content in *D. opposita*

来源地	平均含量 (%)	来源地	平均含量 (%)
山东兖州	0.205	福建永安	0.0892
河北保定	0.183	河南太古	0.0858
江西瑞昌	0.172	福建将乐	0.0816
浙江温州	0.130	江西上饶	0.0798
陕西谷城	0.116	辽宁海城	0.0750
福建长汀	0.114	福建政和	0.0578
安徽亳州	0.112	福建漳平	0.0501
福建建瓯	0.0925	福建建宁	0.0478
山东郓城	0.0910	福建宁化	0.0414
山西平遥	0.0892	河南焦作	0.0237

表 3 薯蓣资源腺苷含量方差分析

Table 3 The ANOVA of adenosine content in *D. opposita*

变异来源	平方和	自由度	均方	F 值	p 值
不同产地	0.170642	19	0.00898	38.1522	$F_{0.05}(19,60) = 1.76255$
误差	0.141242	60	0.00023		
总变异	0.184766	79			

3 讨论

本研究采用 HPLC 法通过对不同种质资源山药在相同生态环境、栽培技术和加工条件等因素下的腺苷含量比较,进一步阐述不同种质资源山药作为药材及食品的科学依据。

关于色谱条件中流动相的选择,根据文献报道的 HPLC 法检测山药中腺苷含量,主要选用了两种流动相^[9-10],其中一种是磷酸盐缓冲液(pH 6.5)-甲醇(85:15),另一种是乙腈-水(5:95),实验对比了这两种流动相,发现两种流动相均能有效分离腺苷,因此本实验选用后者。

对实测样品表 2 做单因素方差分析,结果 $F_{0.05}(19,60) = 1.76255 < 38.1522$,见表 3,可见不同产地来源的山药中薯蓣腺苷含量在 95%置信度下,均具有极显著差异,来自山东兖州薯蓣腺苷含量最高为 0.205%;比较高的还有来自江西瑞昌、河北保定的山药;最低是来自河南焦作的山药为 0.024%。极大的含量差别意味山药临床用药时必须考虑其产地因素。

参考文献:

- [1] 倪少云,宋学华. 山药的营养成分分析[J].江苏药学与临床研究,2002,10(2):26-27.
- [2] 阚建全,王雅茜,陈宗道,等. 山药活性多糖 抗突变作用的体外实验研究[J].营养学报,2001,23(1): 76-78.
- [3] 白冰,刘绣华,王勇,等.怀山药化学成分研究(II)[J].化学研究,2008,19(3):67-68.
- [4] 赵京林.腺苷与心脏保护的研究进展[J].中国心血管病研究杂志,2004,2(8):658-661.
- [5] 振玉.中草药现代研究(第 1 卷) [M].北京:北京医科大学出版社,1995:100-110.
- [6] 牛双,高翔,安金双,等.蛹虫草菌丝体中腺苷提取工艺的优化[J].时珍国医国药,2009,20(2):42-43
- [7] 何海玲,单承莺,张卫明,等.山药研究进展[J].中国野生植物资源,2006,25(6):1-6.
- [8] 韦国兵,胡奇军,廖夫生,等.HPLC 法测定小柴胡颗粒中黄芩苷的含量研究[J].井冈山大学学报:自然科学版,2013,34(6):78-80.
- [9] 郑琴,胡鹏翼,龚莹莹,等.HPLC 法测定不同产地山药饮品中尿囊素和腺苷的含量[J].江西中医学院学报,2013,25(3):32-35.
- [10] 陈华龙,李庆斌,谭小勇,等.HPLC 法测定不同生长期粤北产山药中腺苷的含量[J].广东药学院学报,2011,27(4):392-394.