

不同种质地黄块根菊花心与非菊花心部位有效成分特征分析

谢彩侠^{1,2}, 李雅静¹, 张苗¹, 耿晓桐¹, 王丰青^{3*}, 张重义^{2*}

(1. 河南中医药大学, 郑州 450046; 2. 福建农林大学, 福州 350000;
3. 河南农业大学, 郑州 450000)

[摘要] **目的:**比较沁怀,85-5,北京1号,QH-1,1706,白选6种地黄生育期内菊花心与非菊花心中梓醇,毛蕊花糖苷,地黄苷A,D,益母草苷,多糖等指标性成分的含量,分析不同地黄种质资源菊花心的成分差异及质量特征,为地黄的质量评价及道地性揭示提供科学依据。**方法:**梓醇、毛蕊花糖苷含量测定参考2015年版《中国药典》;地黄苷A,D及益母草苷含量测定采用HPLC法,Dikma Diamonsil C₁₈色谱柱(4.6 mm×250 mm,5 μm),流动相乙腈-水(4:96),流速1 mL·min⁻¹,检测波长205 nm,柱温30℃,进样量20 μL;多糖含量测定采用苯酚-硫酸法。**结果:**不同种质地黄块根各指标性成分在菊花心与非菊花心部位富集量差异很大。85-5与1706地黄菊花心部位中梓醇含量远高于非菊花心部位,而北京1号与QH-1地黄则是非菊花心部位明显高于菊花心部位;85-5,1706及QH-1地黄中毛蕊花糖苷在菊花心部位中的含量明显高于非菊花心部位,其他3个种质分布相对均匀;沁怀和北京1号地黄块根非菊花心部位中地黄苷A的含量明显高于菊花心部位;85-5,北京1号,1706地黄块根非菊花心部位中地黄苷D的含量均明显高于菊花心中的含量,其他种质差异不大;85-5,白选和1706地黄菊花心与非菊花心部位益母草苷含量差异不大,而北京1号,沁怀,QH-1地黄则为菊花心部位远高于非菊花心部位,差异达2~4倍;6种地黄块根非菊花心部位中的多糖含量明显高于菊花心部位。**结论:**种质在一定程度上决定了地黄块根次生代谢产物在地黄菊花心与非菊花心部位的积累与分布。

[关键词] 地黄;菊花心;沁怀;85-5;北京1号;QH-1;1706;白选

[中图分类号] R284.1;R289;R22 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2018)20-0075-09

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20181709

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20180614.1205.020.html>

[网络出版时间] 2018-06-14 15:38

Feature Analysis of Active Principle Between Radial Striations (Xylem) and Un-radial Striations (Phloem and Periderm) in Tuberos Root of Different Germplasms *Rehmanniae Radix*

XIE Cai-xia^{1,2}, LI Ya-jing¹, ZHANG Miao¹, GENG Xiao-tong¹,
WANG Feng-qing^{3*}, ZHANG Zhong-yi^{2*}

(1. Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China;

2. Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350000, China;

3. Henan Agricultural University, Zhengzhou 450000, China)

[Abstract] **Objective:** To Compare the content of catalpol, acteoside, rehmaionoside A, rehmaionoside D, leonuride and polysaccharide between radial striations and non-radial striations of *Rehmannia glutinosa* during growth with six germplasms (Qinhuai, 85-5, Beijing-1, QH-1, 1706, Baixuan), and analyze the component differences and quality characteristics of radial striations in different germplasm resources of *R. glutinosa*, in order

[收稿日期] 20170814(018)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81473299);河南省科技攻关项目(182102311156)

[第一作者] 谢彩侠,博士,教授,从事中药质量控制研究,E-mail:1210571736@qq.com

[通信作者] *王丰青,博士,副教授,从事中药资源可持续利用,E-mail:heauzyq@126.com;

*张重义,博士,教授,从事中药资源可持续利用,E-mail:zyzhang@fafu.edu.cn

to provides a reference for quality evaluation and geoherbalism of *R. glutinosa*. **Method:** The method to determine the contents of catalpol and acteoside consulted *Chinese Pharmacopoeia* 2015 edition. The contents of rehmaionoside A, rehmaionoside D and leonuride were determined by HPLC. Chromatographic column was Dikma Diamonsil C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), with mobile phase of acetonitrile-water (4:96); flow rate was 1.0 mL·min⁻¹; detection wavelength was 205 nm; column temperature was 30 °C; sample size was 20 μL. The content of polysaccharide was determined by phenol sulfate method. **Result:** There were significant differences in accumulation amount between radial striations and non-radial striations, particularly in tuberous root with different germplasms *R. glutinosa*. The content of catalpol in radial striations was far higher than that in non-radial striations of 85-5 and 1706, whereas that in non-radial striations was far higher than that in radial striations of Beijing-1 and QH-1. The content of acteoside in radial striations was far higher than that in un-radial striations of 85-5, 1706 and QH-1, but with a relatively uniform distribution of the other three germplasms. The content of rehmaionoside A in non-radial striations was higher than that in radial striations evidently of Qinhuai and Beijing-1. The content of rehmaionoside D in non-radial striations was higher than that in radial striations, but it was substantial consistent with the other three germplasms. The content of leonuride was substantial consistent with radial striations and non-radial striations of 85-5, Baixuan, 1706; but the content in radial striations was far higher than non-radial striations of Qinhuai, Beijing-1, QH-1, with up to 2-4 times of differences. The content of polysaccharide in non-radial striations was higher than that in radial striations of all six germplasms. **Conclusion:** The accumulation and distribute of secondary metabolite between radial striations and non-radial striations in the tuberous root of *R. glutinosa* were decided by germplasms resource to a certain degree.

[**Key words**] *Rehmannia glutinosa*; radial striations; Qinhuai; 85-5; Beijing-1; QH-1; 1706; Baixuan

地黄为玄参科植物地黄的新鲜或干燥块根,始载于《神农本草经》,被列为上品,为著名的“四大怀药”之一,被广泛应用于临床,在我国有悠久的药用历史,种植区域广泛,种质资源丰富,因受生产种植和自然环境双重影响,经过杂交和变异,形成了很多地黄栽培品种及其变种^[1];由于各个种质内部结构、外部形态及质量特征都存在一定的差异,从而造成地黄质量参差不齐,影响了其临床疗效的稳定与可控性^[2]。

历代文献均以横切面有“菊花心”作为药商鉴定地黄地道货的标志^[3-5]。“菊花心”作为地黄道地药材标志性特征被大家所熟知。现代研究发现,道地产区的怀地黄横切面有菊花心,而且菊花心的比例影响了梓醇及毛蕊花糖苷的含量^[6-8]。但是由于不同实验采用的地黄种质不同,导致以上研究结果不具有一致性,而菊花心这一特征与地黄质量之间具有的关系,能否作为评价地黄质量优劣及道地性的评价标准,不同地黄种质之间有没有相同的规律可循,依然没有得到解决。基于此,本实验对 6 个怀地黄品种在不同生育时期菊花心和非菊花心部位中梓醇,毛蕊花糖苷,地黄苷 A,地黄苷 D,益母草苷,多糖等指标性成分含量进行分析,探究不同种质地黄菊花心与非菊花心的主要化学成分特征,为怀地

黄种质资源优选、质量评价及地黄道地性的揭示提供依据。

1 材料

FW-100 型高速万能粉碎机,101-3AB 型电热鼓风干燥箱(天津泰斯特);2695 型高效液相色谱仪(美国 Waters 公司);WFZ UV-2000 型紫外-可见分光光度计(美国赛默飞公司);AL204 型分析天平(瑞士梅特勒-托利多公司);CPA225D 型 1/10 万分析天平(德国赛多利斯公司);Milli-Q Academic A 10 型超纯水机(美国密理博公司);KQ-500DE 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);DZKW-4 型电子恒温水浴锅(苏州江东精密仪器有限公司)。

甲醇、乙腈、磷酸、甲酸均为色谱纯;硫酸、苯酚均为分析纯;中美纯水;自制蒸馏水。毛蕊花糖苷及梓醇对照品均购于成都曼斯特生物科技有限公司(纯度均 ≥ 98%,批号分别为 MUST-13122711, MUST-14122411);地黄苷 A,地黄苷 D,益母草苷对照品均购于四川省维克奇生物科技有限公司(纯度均 ≥ 98%,批号分别为 81720-05-0, 81720-08-3, 52949-83-4);D(+)-无水葡萄糖对照品购于天津市登科化学试剂有限公司(纯度 ≥ 99%,批号 20161023)。

试验在地黄道地产区河南温县武德镇亢村 (N 35°3'31", E 113°7'17") 怀药种植基地进行。种植材料(种栽)于 2016 年 4 月中下旬种植。选取至少 10 年未种植过地黄,地势平坦,土壤为沙壤土,肥力较好的地块。种栽选取直径 2~4 cm 的地黄块根,掰成长约 1.5~2 cm 的小段。起垄种植,垄宽 40 cm,垄高 15 cm,垄间距 30 cm,双行种植。栽培管理同一般大田。采样品种为沁怀,85-5,北京 1

号,QH-1,白选,1706;分别于 9 月 10 日,9 月 30 日,10 月 10 日,10 月 20 日,10 月 30 日和 11 月 10 日取地黄植株的块根,每个种质随机选取 10 株长势一致的植株。所采样品经河南中医药大学董诚明教授鉴定为玄参科植物地黄 *Rehmannia glutinosa* 的新鲜块根。新鲜地黄块根洗净,除去泥沙,将“菊花心”(木质部)与非菊花心(周皮及韧皮部)分开,于 55 °C 干燥后打粉过 3 号筛,粉末至干燥器中备用。见表 1。

表 1 地黄样品信息

Table 1 Information of different *Rehmannia glutinosa*

编号	品种	部位	采收日期	编号	品种	部位	采收日期	编号	品种	部位	采收日期
1	沁怀	菊花心	09-10	25	85-5	菊花心	09-10	49	北京 1 号	菊花心	09-10
2	沁怀	非菊花心	09-10	26	85-5	非菊花心	09-10	50	北京 1 号	非菊花心	09-10
3	沁怀	菊花心	09-30	27	85-5	菊花心	09-10	51	北京 1 号	菊花心	09-30
4	沁怀	非菊花心	09-30	28	85-5	非菊花心	09-10	52	北京 1 号	非菊花心	09-30
5	沁怀	菊花心	10-10	29	85-5	菊花心	10-10	53	北京 1 号	菊花心	10-10
6	沁怀	非菊花心	10-10	30	85-5	非菊花心	10-10	54	北京 1 号	非菊花心	10-10
7	沁怀	菊花心	10-20	31	85-5	菊花心	10-20	55	北京 1 号	菊花心	10-20
8	沁怀	非菊花心	10-20	32	85-5	非菊花心	10-20	56	北京 1 号	非菊花心	10-20
9	沁怀	菊花心	10-30	33	85-5	菊花心	10-30	57	北京 1 号	菊花心	10-30
10	沁怀	非菊花心	10-30	34	85-5	非菊花心	10-30	58	北京 1 号	非菊花心	10-30
11	沁怀	菊花心	11-10	35	85-5	菊花心	11-10	59	北京 1 号	菊花心	11-10
12	沁怀	非菊花心	11-10	36	85-5	非菊花心	11-10	60	北京 1 号	非菊花心	11-10
13	白选	菊花心	09-10	37	1706	菊花心	09-10	61	QH-1	菊花心	09-10
14	白选	非菊花心	09-10	38	1706	非菊花心	09-10	62	QH-1	非菊花心	09-10
15	白选	菊花心	09-30	39	1706	菊花心	09-30	63	QH-1	菊花心	09-30
16	白选	非菊花心	09-30	40	1706	非菊花心	09-30	64	QH-1	非菊花心	09-30
17	白选	菊花心	10-10	41	1706	菊花心	10-10	65	QH-1	菊花心	10-10
18	白选	非菊花心	10-10	42	1706	非菊花心	10-10	66	QH-1	非菊花心	10-10
19	白选	菊花心	10-20	43	1706	菊花心	10-20	67	QH-1	菊花心	10-20
20	白选	非菊花心	10-20	44	1706	非菊花心	10-20	68	QH-1	非菊花心	10-20
21	白选	菊花心	10-30	45	1706	菊花心	10.30	69	QH-1	菊花心	10-30
22	白选	非菊花心	10-30	46	1706	非菊花心	10.30	70	QH-1	非菊花心	10-30
23	白选	菊花心	10-10	47	1706	菊花心	11.10	71	QH-1	菊花心	11-10
24	白选	非菊花心	10-10	48	1706	非菊花心	11.10	72	QH-1	非菊花心	11-10

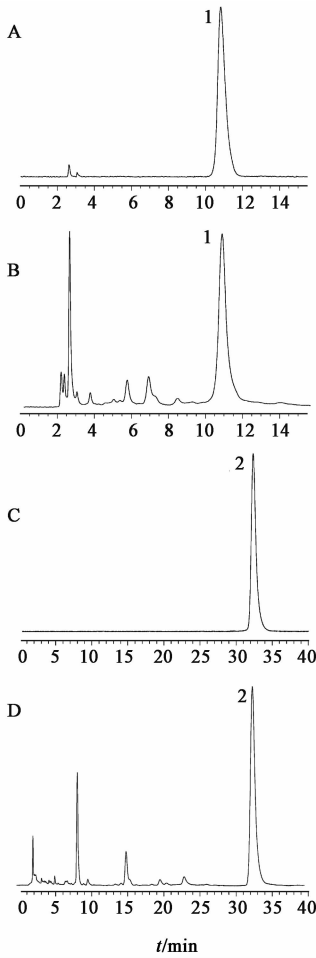
2 方法与结果

2.1 梓醇、毛蕊花糖苷含量测定^[9] 根据 2015 年版《中国药典》相关项进行。对梓醇、毛蕊花糖苷含量测定进行了方法学考察,重复性试验、精密度试验、稳定性试验以及加样回收率试验,结果均符合含量测定要求,梓醇与毛蕊花糖苷对照品及供试品

HPLC 色谱图见图 1。

2.2 地黄苷 A, 地黄苷 D 及益母草苷含量测定^[10-11]

2.2.1 色谱条件 Dikma Diamonsil C₁₈ 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相乙腈-水 (4:96), 流速 1 mL · min⁻¹, 检测波长 205 nm, 柱温 30 °C,



A, C. 对照品; B, D. 供试品; 1. 梓醇; 2. 毛蕊花糖苷

图 1 地黄测定梓醇、毛蕊花糖苷 HPLC 色谱

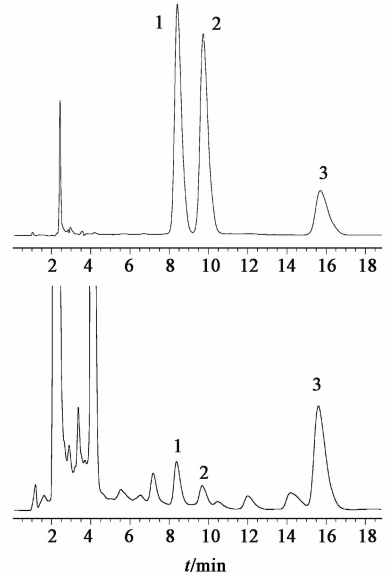
Fig. 1 HPLC of catalpol and mullein glycoside of *Rehmannia glutinosa*

进样量 20 μ L。见图 2。

2.2.2 对照品溶液的制备 精密称取地黄苷 A, 地黄苷 D, 益母草苷对照品适量, 用流动相定容至 5 mL, 得到地黄苷 A, 地黄苷 D, 益母草苷质量浓度分别为 0.270, 0.344, 1.224 $g \cdot L^{-1}$ 的对照品溶液。

2.2.3 供试品溶液的制备 取供试品粉末 0.5 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 加 60% 甲醇 50 mL, 称定质量, 超声提取 40 min, 放冷, 再次称重, 用 60% 甲醇补足减失的质量, 过滤, 取续滤液 20 mL, 50 $^{\circ}C$ 水浴蒸干, 用流动相定容至 10 mL 量瓶中, 用 0.22 μ m 的微孔滤膜滤过, 即得。

2.2.4 线性关系考察 精密吸取 2.2.2 项下对照品溶液 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0, 1.2 mL, 分别置于 5 mL 量瓶中, 用流动相定容, 制得 6 个不同质量浓度的对照品溶液。取上述对照品溶液, 按 2.2.1 项下色谱条件进行分析, 测定峰面积, 以峰面积积分值



A. 对照品; B. 供试品; 1. 地黄苷 D; 2. 地黄苷 A; 3. 益母草苷

图 2 地黄苷 A, 地黄苷 D, 益母草苷对照品及供试品 HPLC 色谱
Fig. 2 HPLC chromatographic of glycoside A, digitalin D, leonidine of *Rehmannia glutinosa*

为纵坐标 (Y), 对照品质量浓度为横坐标 (X) 绘制标准曲线, 计算回归方程。结果见表 2。

表 2 地黄苷 A, 地黄苷 D, 益母草苷的标准曲线

Table 2 Standard curve of glycoside A, digitalin D, and leonurus

成分	回归方程	相关系数	线性范围/ μ g
地黄苷 A	$Y = 12.115X - 9.5933$	0.9997	0.216 ~ 1.296
地黄苷 D	$Y = 9.8175X - 12.773$	0.9996	0.275 ~ 1.651
益母草苷	$Y = 8.1179X + 27.56$	0.9996	0.979 ~ 5.875

2.2.5 精密度考察 精密吸取同一供试品溶液按 2.2.1 项下色谱条件连续进样 6 次, 记录峰面积, 结果地黄苷 A, 地黄苷 D, 益母草苷的峰面积 RSD 分别为 1.2%, 1.1%, 1.0%, 表明仪器的精密度良好。

2.2.6 稳定性考察 精密吸取同一供试品溶液按 2.2.1 项下色谱条件于 4, 8, 12, 16, 20, 24 h 连续进样 6 次, 记录峰面积, 结果地黄苷 A, 地黄苷 D, 益母草苷的峰面积 RSD 分别为 1.0%, 1.2%, 1.6%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.2.7 重复性考察 称同一样品 6 份, 按 2.2.3 项下分别制得供试品溶液, 按 2.2.1 项下色谱条件进样, 计算含量, 结果地黄苷 A, 地黄苷 D, 益母草苷的含量 RSD 分别为 1.3%, 1.5%, 0.7%, 说明该方法重复性良好。

2.2.8 加样回收率试验 精密称定已知含量的样品 9 份, 每份 0.25 g, 分别置于 50 mL 锥形瓶中,

精密加入一定量的地黄苷 A,地黄苷 D,益母草苷对照品,按 2.2.3 项下方法制备供试品溶液,再按 2.2.1 项下色谱条件进行测定,记录峰面积并计算加样回收率,结果地黄苷 A,地黄苷 D,益母草苷平均加样回收率分别为 100.01%,99.96%,99.61%,RSD 分别为 1.6%,2.9%,2.4%。

2.2.9 样品的含量测定 取各样品按 2.2.3 项下方法制备供试品溶液,按 2.2.1 项下色谱条件进行测定,记录峰面积并计算地黄苷 A,地黄苷 D,益母草苷的含量。

2.3 多糖的含量测定

2.3.1 对照品溶液的制备 精密称取 105℃干燥至恒重的无水葡萄糖对照品 0.1001 g,置于 100 mL 量瓶中,加蒸馏水溶解并定容至刻度,即得。

2.3.2 供试品溶液的制备 取地黄粉末 5.0 g 置具塞锥形瓶中,90℃加热回流 1 h,过滤,取续滤液 10 mL 至烧杯内,加无水乙醇 30 mL,4℃醇沉静置过夜,3 000 r·min⁻¹离心 5 min,取沉淀用蒸馏水溶解定容至 50 mL 量瓶,摇匀,移取 1 mL 置 10 mL 量瓶中,蒸馏水稀释定容,即得供试品溶液。

2.3.3 多糖含量测定 取供试品溶液 1 mL 置 10 mL 具塞试管中,加 5% 苯酚溶液 1 mL,摇匀,加浓硫酸 5 mL,静置 10 min,水浴加热 15 min,取出,冷却至室温,紫外-可见分光光度法测其吸光度。

2.3.4 线性关系考察 精密量取葡萄糖对照品溶液 1.0,2.0,3.0,4.0,5.0,6.0 mL 置于 50 mL 量瓶中,蒸馏水定容至刻度,摇匀,得葡萄糖溶液的质量浓度分别为 20.02,40.04,60.06,80.08,100.10,120.12 g·L⁻¹的对照品溶液。分别精密量取上述葡萄糖对照溶液 1 mL 置具塞试管中,加入 5% 苯酚 1 mL,浓硫酸 5 mL,静置 10 min,置沸水浴中水浴 15 min,与 490 nm 波长处测定吸光度 A,以吸光度为纵坐标,葡萄糖溶液浓度为横坐标(C),得回归方程 $A = 0.0076C - 0.0111$ ($r = 0.9995$)。表明葡萄糖在 20.02 ~ 120.12 g·L⁻¹吸光度呈良好线性关系。

2.3.5 精密度考察 取上述质量浓度为 60.06 g·L⁻¹的对照品溶液,平行操作 6 次测其吸光度,测得结果 RSD 0.6%,表明仪器精密度良好。

2.3.6 稳定性考察 随机取某一样品供试品溶液,每隔 30 min 测定一次吸光度,连续 4 h,测得结果 RSD 1.1%,表明该供试品在 4 h 内稳定性良好。

2.3.7 重复性考察 随机取某一样品按供试品制备方法平行处理 6 份,测定其吸光度,测得结果 RSD 1.6%,表明该方法重复性良好。

2.3.8 加样回收率试验 随机取已知含量的样品 9 份,每份 2.5 g,分别置于 100 mL 锥形瓶中,精密加入一定量的葡萄糖对照品,按 2.3.2 项下方法制备供试品溶液,再按 2.3.3 项下方法测其吸光度,计算其加样回收率,结果多糖平均加样回收率为 99.88%,RSD 0.3%。

3 结果与分析

3.1 不同地黄种质菊花心与非菊花心梓醇的含量分析 梓醇是 2015 年版《中国药典》一部评价地黄质量是否合格的重要指标之一。由生育期内 6 种地黄菊花心及非菊花心部位中梓醇含量测定结果可以看出,梓醇是地黄块根中含量较高的环烯醚萜苷类成分,6 种地黄块根中梓醇的质量分数在 1.88% ~ 5.95%,明显高于 2015 年版《中国药典》一部规定的不低于 0.2% 的要求。整体而言,85-5,白选,1706,沁怀地黄中梓醇含量较高,北京 1 号,QH-1 地黄中梓醇含量相对较低;另外,85-5 与 1706 地黄菊花心部位中梓醇含量远高于非菊花心部位,北京 1 号与 QH-1 地黄非菊花心部位梓醇含量明显高于菊花心部位,而沁怀与白选地黄菊花心与非菊花心部位中梓醇含量差异不大;综合考察,6 种地黄生育期内两部位中梓醇含量平均值非菊花心部位均高于菊花心部位,见表 3。

3.2 不同地黄种质菊花心与非菊花心毛蕊花糖苷的含量分析^[12] 毛蕊花糖苷属于苯乙醇苷类成分,也是 2015 年版《中国药典》一部中评价地黄质量是否合格的指标之一。由生育期内 6 种地黄菊花心及非菊花心部位中毛蕊花糖苷含量测定结果,可以看出,毛蕊花糖苷在地黄块根中含量较低,且受生育期和种质的影响含量波动较大。6 种地黄块根菊花心中的毛蕊花糖苷含量均低于非菊花心部位,但差异程度不同;85-5,1706 及 QH-1 地黄中毛蕊花糖苷在菊花心与非菊花心部位含量差异明显,而其他 3 个种质分布相对均匀;白选在整个生育期内毛蕊花糖苷含量均明显高于其他地黄种质,约为其他种质的 2 倍,而 85-5 和 1706 地黄毛蕊花糖苷含量则较低;综合考察,6 种地黄生育期内两部位中毛蕊花糖苷含量平均值非菊花心部位均高于菊花心部位。见表 4。

3.3 不同地黄种质菊花心与非菊花心地黄苷 A 的含量分析 地黄苷 A 和梓醇一样属于环烯醚萜苷类成分,对骨髓造血及外周血细胞增殖具有促进作用,具有较好的免疫活性,而且与梓醇相比,其热稳定性好,在炮制加工过程中几乎不被

表 3 不同品种地黄菊花心与非菊花心中梓醇质量分数

Table 3 Catalpol content of different *Rehmannia glutinosa*

%

编号	梓醇	编号	梓醇	编号	梓醇	编号	梓醇	编号	梓醇	编号	梓醇
1	3.78	13	4.07	25	4.81	37	5.02	49	2.49	61	2.49
2	4.08	14	4.20	26	3.58	38	3.53	50	3.40	62	2.92
3	5.30	15	4.65	27	5.45	39	4.90	51	2.06	63	2.23
4	4.96	16	4.94	28	4.51	40	4.03	52	3.44	64	3.44
5	3.55	17	4.57	29	5.37	41	5.95	53	2.14	65	2.07
6	3.73	18	4.74	30	4.39	42	4.75	54	3.67	66	3.44
7	4.23	19	3.42	31	5.22	43	5.16	55	1.96	67	2.05
8	4.36	20	4.52	32	4.14	44	4.04	56	3.38	68	3.20
9	4.10	21	4.15	33	4.28	45	4.62	57	2.14	69	2.06
10	4.54	22	4.99	34	3.81	46	3.94	58	3.48	70	3.53
11	3.44	23	4.37	35	5.03	47	4.85	59	2.07	71	1.88
12	4.35	24	4.25	36	4.59	48	4.35	60	3.32	72	3.75

表 4 不同地黄种质菊花心与非菊花心的毛蕊花糖苷质量分数

Table 4 Mullein glycoside content of different *Rehmannia glutinosa*

%

编号	毛蕊花糖苷	编号	毛蕊花糖苷	编号	毛蕊花糖苷	编号	毛蕊花糖苷	编号	毛蕊花糖苷	编号	毛蕊花糖苷
1	0.010	13	0.051	25	0.036	37	0.004	49	0.006	61	0.010
2	0.028	14	0.064	26	0.017	38	0.015	50	0.013	62	0.015
3	0.016	15	0.105	27	0.003	39	0.017	51	0.008	63	0.016
4	0.036	16	0.129	28	0.025	40	0.021	52	0.016	64	0.039
5	0.087	17	0.057	29	0.022	41	0.042	53	0.061	65	0.052
6	0.056	18	0.144	30	0.101	42	0.070	54	0.168	66	0.111
7	0.200	19	0.218	31	0.007	43	0.008	55	0.065	67	0.046
8	0.180	20	0.227	32	0.042	44	0.045	56	0.060	68	0.049
9	0.067	21	0.147	33	0.012	45	0.025	57	0.035	69	0.017
10	0.098	22	0.133	34	0.093	46	0.075	58	0.039	70	0.134
11	0.037	23	0.087	35	0.014	47	0.013	59	0.016	71	0.084
12	0.090	24	0.082	36	0.106	48	0.040	60	0.042	72	0.235

分解^[13-14]。由 6 种地黄生育期内地黄苷 A 在块根菊花心及非菊花心中的含量可以看出,6 种地黄在块根膨大初期,地黄苷 A 在非菊花心部位中的含量均高于菊花心部位,随着地黄块根的不断膨大,85-5,1706,QH-1 和白选 4 种地黄非菊花心与菊花心部位中地黄苷 A 含量逐渐趋于一致,而沁怀和北京 1 号地黄块根非菊花心部位中地黄苷 A 的含量则明显高于菊花心部位的。整来分析,地黄苷 A 在菊花心和非菊花心含量均较高的地黄种质为 85-5 和 1706;综合考察 6 种地黄在生育期内非菊花心与菊花心部位地

地黄苷 A 含量的平均值,85-5 无太大差异,其余 5 种均为非菊花心部位高于菊花心部位,见表 5。

3.4 不同地黄种质菊花心与非菊花心地黄苷 D 的含量分析 虽然地黄苷 D 与地黄苷 A 均为环烯醚萜苷类成分,但与地黄苷 A 在不同地黄种质中的特征并不具有一致性。地黄块根非菊花心部位中地黄苷 D 的含量均高于菊花心部位,但种质之间差异较大。85-5,北京 1 号,1706 地黄块根非菊花心部位中地黄苷 D 的含量均明显多于菊花心中的含量,而沁怀,QH-1,白选 3 种地黄非菊花心部位中地黄苷 D

表 5 不同品种地黄菊花心与非菊花心的地黄苷 A 质量分数

Table 5 Glycoside A content of different *Rehmannia glutinosa*

%

编号	地黄苷 A	编号	地黄苷 A	编号	地黄苷 A	编号	地黄苷 A	编号	地黄苷 A	编号	地黄苷 A
1	0.065	13	0.099	25	0.164	37	0.114	49	0.071	61	0.055
2	0.148	14	0.165	26	0.159	38	0.135	50	0.143	62	0.109
3	0.075	15	0.072	27	0.123	39	0.097	51	0.079	63	0.060
4	0.124	16	0.114	28	0.176	40	0.136	52	0.174	64	0.089
5	0.075	17	0.066	29	0.181	41	0.134	53	0.054	65	0.076
6	0.116	18	0.111	30	0.147	42	0.134	54	0.109	66	0.085
7	0.078	19	0.053	31	0.147	43	0.119	55	0.033	67	0.103
8	0.184	20	0.095	32	0.168	44	0.101	56	0.122	68	0.091
9	0.078	21	0.059	33	0.115	45	0.092	57	0.068	69	0.079
10	0.273	22	0.084	34	0.115	46	0.078	58	0.221	70	0.072
11	0.088	23	0.064	35	0.119	47	0.083	59	0.206	71	0.063
12	0.100	24	0.068	36	0.098	48	0.086	60	0.090	72	0.070

的含量虽然高于菊花心部位中的,但差异不大。综合考察 6 种地黄在生育期内非菊花心与菊花心部位

地黄苷 D 含量的平均值,白选无太大差异,其余 5 种均为非菊花心部位高于菊花心部位。见表 6。

表 6 不同地黄种质菊花心与非菊花心的地黄苷 D 质量分数

Table 6 Glycoside D content of different *Rehmannia glutinosa*

%

编号	地黄苷 D	编号	地黄苷 D	编号	地黄苷 D	编号	地黄苷 D	编号	地黄苷 D	编号	地黄苷 D
1	0.251	13	0.195	25	0.144	37	0.190	49	0.099	61	0.102
2	0.235	14	0.117	26	0.230	38	0.354	50	0.205	62	0.283
3	0.183	15	0.086	27	0.141	39	0.129	51	0.146	63	0.114
4	0.220	16	0.149	28	0.191	40	0.219	52	0.233	64	0.193
5	0.183	17	0.091	29	0.155	41	0.179	53	0.139	65	0.134
6	0.209	18	0.131	30	0.179	42	0.208	54	0.270	66	0.141
7	0.179	19	0.098	31	0.147	43	0.170	55	0.122	67	0.167
8	0.184	20	0.142	32	0.142	44	0.157	56	0.189	68	0.109
9	0.145	21	0.222	33	0.217	45	0.142	57	0.163	69	0.192
10	0.159	22	0.099	34	0.216	46	0.226	58	0.213	70	0.144
11	0.156	23	0.094	35	0.202	47	0.156	59	0.192	71	0.162
12	0.246	24	0.155	36	0.251	48	0.208	60	0.255	72	0.173

3.5 不同地黄种质菊花心与非菊花心益母草苷的含量分析 益母草苷是一种环烯醚萜苷类成分,药理实验表明^[15],益母草苷在动物体内以原型入血,具有明显的药理活性,但 2015 年版《中国药典》一部并没有将其作为指标性成分来评价地黄的质量。由 6 种地黄生育期内块根菊花心与非菊花心部位中益母草苷含量可以看出,益母草苷在地黄块根中含量较高,而且不同种质地黄菊花心与非菊花心部位种益母草苷含量差异较大。85-5,白选和 1706 地黄

菊花心与非菊花心部位益母草苷含量差异不大,而北京 1 号,沁怀,QH-1 地黄菊花心部位益母草苷含量远高于非菊花心部位,差异达到 2~4 倍,其中以沁怀地黄块根菊花心部位的益母草苷含量最高,而且与非菊花心部位的差异最大;综合考察 6 种地黄生育期内菊花心与非菊花心部位益母草苷含量的平均值,沁怀,北京 1 号,QH-1 为菊花心部位高于非菊花心部位,白选,85-5,1706 为非菊花心部位高于菊花心部位。见表 7。

表 7 不同地黄种质菊花心与非菊花心的益母草苷质量分数

Table 7 Leonidine content of different *Rehmannia glutinosa*

编号	益母草苷	编号	益母草苷	编号	益母草苷	编号	益母草苷	编号	益母草苷	编号	益母草苷
1	0.857	13	0.331	25	0.385	37	0.445	49	0.847	61	0.616
2	0.348	14	0.404	26	0.504	38	0.527	50	0.338	62	0.270
3	0.997	15	0.272	27	0.448	39	0.378	51	0.671	63	0.540
4	0.293	16	0.331	28	0.473	40	0.406	52	0.314	64	0.256
5	0.882	17	0.236	29	0.379	41	0.517	53	0.693	65	0.529
6	0.258	18	0.278	30	0.406	42	0.512	54	0.299	66	0.243
7	0.695	19	0.212	31	0.396	43	0.368	55	0.647	67	0.598
8	0.273	20	0.305	32	0.439	44	0.394	56	0.298	68	0.265
9	0.718	21	0.199	33	0.267	45	0.308	57	0.646	69	0.488
10	0.313	22	0.358	34	0.421	46	0.403	58	0.323	70	0.281
11	0.730	23	0.171	35	0.325	47	0.325	59	0.695	71	0.568
12	0.300	24	0.297	36	0.358	48	0.430	60	0.299	72	0.313

3.6 不同地黄种质菊花心与非菊花心多糖的含量分析^[16] 多糖是地黄块根中重要的有效成分,具有抗氧化、抗肿瘤、增强免疫、抗焦虑、促进造血等诸多药理作用。由表 8 可以看出 6 种地黄块根中多糖含量均较高,且非菊花心部位明显高于菊花心部位。非菊花心是地黄块根周皮与韧皮部的总称,这与韧皮部主要负责输送碳水化合物等养分相一致。菊花

心中多糖含量主要在 1.5% ~ 3.1% 波动,而非菊花心部位中多糖含量主要在 2.2% ~ 4.5% 波动,沁怀,1706 地黄菊花心部位中多糖的平均含量约为非菊花心部位中的 76%,而其他 4 种地黄菊花心部位的则约为非菊花心部位的 65%,说明多糖在菊花心和非菊花心部位的分布相对具有一定的规律性。

表 8 不同品种地黄菊花心与非菊花心中的多糖质量分数

Table 8 Polysaccharide content of different *Rehmannia glutinosa*

编号	多糖	编号	多糖	编号	多糖	编号	多糖	编号	多糖	编号	多糖
1	2.090	13	2.187	25	1.571	37	1.686	49	1.912	61	1.918
2	2.587	14	3.738	26	3.505	38	2.698	50	3.649	62	3.250
3	2.182	15	2.092	27	1.518	39	1.839	51	1.895	63	1.557
4	2.278	16	3.120	28	3.434	40	3.068	52	3.382	64	3.034
5	2.149	17	2.444	29	1.922	41	1.892	53	2.679	65	1.498
6	3.342	18	3.635	30	3.611	42	2.599	54	4.076	66	3.385
7	2.836	19	2.740	31	2.525	43	3.131	55	2.256	67	2.856
8	4.421	20	4.516	32	3.110	44	3.837	56	3.603	68	3.915
9	2.289	21	2.944	33	2.940	45	2.973	57	2.854	69	3.019
10	2.706	22	4.310	34	3.203	46	3.686	58	3.955	70	3.738
11	2.378	23	2.912	35	2.982	47	3.402	59	2.865	71	2.980
12	2.968	24	4.085	36	3.698	48	3.725	60	3.504	72	4.319

4 讨论

道地药材的形成是种质与环境双重作用的结果,为了更科学地分析不同种质地黄“菊花心”的特征,阐明“菊花心”与地黄质量的相关性。本研究选

取了产地栽培较多,外观形状差异较大的 6 个代表性地黄种质作为研究对象,将其种植于地黄道地产区相同的生长环境中,结果可以看出 6 种地黄在道地产区均形成了“菊花心”,这是否可以得出“菊花

心”是怀地黄的重要特征呢?虽然前人将“菊花心”作为鉴别道地产区地黄及评价地黄质量优劣的外在标准,但并没有对“菊花心”的具体特征做详细的描述。在采集地黄样品的过程中笔者发现,不同种质地黄在相同的生长环境下块根“菊花心”的形状及比例都不甚相同,且具有一定的规律性,说明在一定环境中不同地黄种质的内在基因决定了“菊花心”的特征。那么“菊花心”的形成主要是种质决定的,还是特定种质在道地产区的特殊环境作用下形成的。有文献报道,山东产地黄无明显的“菊花心”^[8],这种特征的形成是由于山东当地的地黄种质造成的,还是山东的产地环境引起的。后期可将不同种质的地黄种植于不同的产地环境中,进一步探讨“菊花心”形成的内在及外在原因,为地黄的产地鉴别及道地性揭示提供依据。

地黄的化学成分以苷类为主,其中又以环烯醚萜苷类为主。本研究选取了地黄块根中主要的4种环烯醚萜苷类成分,1种苯乙醇苷类成分和多糖作为评价地黄菊花心与非菊花心成分特征的指标,可以看出相同种类的成分在相同生长环境下不同地黄种质及相同地黄种质块根“菊花心”与“非菊花心”中的积累及分布差异很大,说明相同种类的成分在不同种质地黄及相同种质地黄“菊花心”与“非菊花心”中以不同的方式进行积累,这为环烯醚萜苷类成分生物合成途径的解析提供了参考。

临床上地黄的应用主要有鲜地黄、生地黄和熟地黄,3种地黄饮片的功能主治和相应的药效物质基础不尽相同,而中药药效是在多种有效成分协同作用下产生的,有效成分的种类、含量及相对比例决定了其药效的不同。本研究发现,不同地黄种质块根中主要化学成分在“菊花心”与“非菊花心”部位的含量与分布差异很大,那么古人以“菊花心”作为评价地黄质量优劣的指标所评价的用药对象是鲜地黄、生地黄还是熟地黄,评价的内在指标和“菊花心”这一形态特征具有什么关系?后期可继续收集更多种质的地黄,通过对不同地黄饮片块根“菊花心”与“非菊花心”部位 HPLC 指纹图谱以及相关药理药效进行谱效关系分析,结合前期的研究结果,进一步对“菊花心”的外在及内部特征进行系统性分析,阐明不同种质地黄饮片的“菊花心”整体特征与地黄质量的相关性,确定控制其质量的关键指标,为地黄饮片质量标准的完善、地黄种质资源开发以

及道地性揭示提供科学参考。

[参考文献]

- [1] 王丰青,田云鹤,黄勇,等.18个地黄种质的表型性状及相关统计学分析[J].植物资源与环境学报,2015,24(1):28-35.
- [2] 王莹.怀地黄种质资源评价与新种质创制研究[D].新乡:河南师范大学,2013.
- [3] 谢宗万.地黄的本草学研究[J].中医杂志,1990,31(5):48-50.
- [4] 翟胜利.“道地药材”是保证中药疗效的根源[J].首都医药,2006,8(15):34-37.
- [5] 张金鼎,曹鸿云.河南四大怀药[J].中药材,1987,29(3):55-56.
- [6] 董诚明,乔毅琳,曹利华.不同品种怀地黄断面与其质量相关性分析研究[C]//2013全国中药与天然药物高峰论坛暨第十三届全国中药和天然药物学术研讨会论文集,2013,杭州;出版社不详,2013:57.
- [7] 刘孟奇,王小巧,陈随清,等.地黄的组织化学研究[J].中药材,2013,36(11):1771-1773.
- [8] 王太霞,李建军,李景原,等.不同产区地黄的比较研究[J].河南农业科学,2005,23(10):69-73.
- [9] 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,2015:116.
- [10] 吴若男,张振凌,刘艳,等.微波干燥对鲜地黄中地黄苷A、D和益母草苷含量的影响[J].中国实验方剂学杂志,2016,22(8):28-31.
- [11] 谢彩侠,李雅静,张苗,等.怀地黄中地黄苷A,地黄苷D及益母草苷含量快速分析方法的建立[J].中国实验方剂学杂志,2018,24(6):47-54.
- [12] 王丰青,王丽娜,智惊宇,等.不同品种地黄中毛蕊花糖苷的动态积累规律变化[J].中国实验方剂学杂志,2017,23(24):78-83.
- [13] 张雅阁.地黄环烯醚萜苷类成分的制备及血清药物化学研究[D].开封:河南大学,2010.
- [14] 李更生,王慧森,刘明,等.地黄中环烯醚萜苷类化学成分的研究[J].中医研究,2008,21(5):17-19.
- [15] 王慧森,刘明,李更生,等.鲜地黄提取物中3种原型入血成分的含量测定[J].中国实验方剂学杂志,2013,19(12):66-70.
- [16] 王志江,魏国栋,马思缇.地黄多糖的化学和药理作用研究进展[J].中国实验方剂学杂志,2015,21(16):231-235.

[责任编辑 顾雪竹]