

# 盾叶薯蓣中有效成分含量的影响因素研究

谢彩侠, 祝侠丽, 左春芳, 雷敬卫, 白雁\*, 王星  
(河南中医学院, 郑州 450046)

**[摘要]** 目的: 探讨影响盾叶薯蓣中有效成分含量的因素, 更好地控制其质量。方法: 参照2010年版《中国药典》(一部)测定水分, 高效液相色谱法测定薯蓣皂苷元的含量, 对含水量、生长年限、产地及土壤类型与薯蓣皂苷元含量的相关性进行研究。结果: 生长在沙土地上的盾叶薯蓣中薯蓣皂苷元含量相对较高, 一般生长3~5年薯蓣皂苷元含量达到最大值, 而且薯蓣皂苷元含量与盾叶薯蓣根茎中含水量呈正相关, 但3个产区的盾叶薯蓣薯蓣皂苷元的含量差别不大。结论: 本实验以薯蓣皂苷元为评价盾叶薯蓣质量的指标, 分析了生长年限、水分含量、土质、产地等对其质量的影响, 为指导工业生产和药农规范化种植, 获得更高的经济效益, 建立和完善盾叶薯蓣药材的质量标准体系提供参考。

**[关键词]** 盾叶薯蓣; 薯蓣皂苷元; 高效液相色谱

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)10-0090-04

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2014100090

## Study of Influence Factors on Content of Effective Component in *Dioscorea zingiberensis*

XIE Cai-xia, ZHU Xia-li, ZUO Chun-fang, LEI Jing-wei, BAI Yan\*, WANG Xing  
(Henan College of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the factors that affect the effective content in *Dioscorea zingiberensis* and control its quality of *D. zingiberensis*. **Method:** According to the method in the Chinese Pharmacopoeia (edition 2010), the water determination was adopted. The content of diosgenin was determined by HPLC. On the basis, the relation of diosgenin content with some factors were analysed, such as fresh samples water content, different growth years, different producing areas and different growth soil. **Result:** The results showed that diosgenin content of *D. zingiberensis* planted in the sandy land was relatively high, and generally, the diosgenin content reached the maximum after growth in 3-5 years, the content of diosgenin showed positive linear correlation with water content, but the content diosgenin of *D. zingiberensis* in three producing areas had little difference. **Conclusion:** These data provide the reference for standardized planting of *D. zingiberensis*.

**[Key words]** *Dioscorea zingiberensis*; diosgenin; HPLC

盾叶薯蓣是薯蓣科植物盾叶薯蓣的根茎, 主要成分薯蓣皂苷元(diosgenin)<sup>[1]</sup>, 是合成多种甾体激

素类和避孕类药物的重要原料<sup>[2-3]</sup>。盾叶薯蓣质量的好坏直接影响其临床及工业利用, 但由于影响盾叶薯蓣质量的因素很多, 质量难以控制。曹玉芳等<sup>[4]</sup>报道了关于薯蓣皂苷元的影响因素, 表明薯蓣皂苷元的含量与组织结构、性别等有关系, 在基本组织的3个不同区域内雄株的含量都较显著地高于雌株的含量, 而雌雄同株在雄株和雌株之间。秦松云<sup>[5]</sup>研究表明, 盾叶薯蓣的根状茎在盛花期薯蓣皂苷元的含量最高, 果期的含量低, 在枯萎前期薯蓣皂苷元的含量又有所回升; 老根茎含量高于新根茎, 水分含量高的根茎其薯蓣皂苷元含量也高。王建安等<sup>[6-7]</sup>研究

**[收稿日期]** 20130513(008)

**[基金项目]** 河南省高等学校青年骨干教师项目(2010GGJS-134); 河南省教育厅科学技术重点研究项目(13A360584)

**[第一作者]** 谢彩侠, 博士, 副教授, 从事中药质量控制研究, Tel:13673651577, E-mail:nanyang.xcx@163.com

**[通讯作者]** \*白雁, 教授, 从事现代仪器分析在中药质量评价研究中的应用, Tel:0371-65962967, E-mail:white\_yan@hotmail.com.cn

表明在根茎生长盛期,采用氮、磷、钾3种肥料单施与配施,均不同程度地提高了盾叶薯蓣根茎产量与薯蓣皂苷元含量,锰肥、锌肥、铁肥3种微肥使盾叶薯蓣根茎产量与薯蓣皂苷元量均有不同程度地增加。施用适当质量浓度的锰肥,对盾叶薯蓣的优质、高产栽培,具有重要的实践意义。另外,盾叶薯蓣中薯蓣皂苷元含量具有一定的遗传稳定性<sup>[8]</sup>。为了合理开发河南产区盾叶薯蓣资源,本实验以薯蓣皂苷元为评价盾叶薯蓣质量的指标,分析了生长年限、水分含量、土质、产地等对其质量的影响,为指导工业生产和药农规范化种植,获得更高的经济效益,建立和完善盾叶薯蓣药材的质量标准体系提供参考。

## 1 材料

1200 Series 高效液相色谱仪(Agilent), RT-01型粉碎机(浙江温岭市大海药材器械厂), FA2004A型1/万电子分析天平(上海精天电子仪器有限公司), AE240S型1/10万电子分析天平(METTLER TOLEDO), CS101-2D型电热鼓风干燥箱(中外合资重庆四达实验仪器有限公司), SHB-B<sub>95</sub>型循环式多用真空泵(河南巩义市英峪予华仪器厂), HHS-6型水浴锅(江苏省金坛市医疗仪器厂), SENCO®型旋转蒸发仪(上海申生科技有限公司), SZ-93型自动双重纯水蒸馏器。

甲醇(色谱纯,天津四友), 乙腈(色谱纯, TEDIA), 95%乙醇(分析纯,恒兴试剂), 双蒸水, 乙醇(分析纯,风船化学试剂科技有限公司), 薯蓣皂苷元对照品(批号512-04-9,成都曼斯特生物科技有限公司)。药材为2010年12月、2011年1月采自河南西峡、浙川、内乡的盾叶薯蓣,并经河南中医学院中药鉴定教研室主任陈随清教授鉴定为薯蓣科植物盾叶薯蓣 *Dioscorea zingiberis* C. H. Wright 的根茎。

## 2 方法

**2.1 含水量测定** 清除盾叶薯蓣根茎上的须根,洗净,晾干,均匀切片,厚度为1 mm左右,按照《中国药典》<sup>[9]</sup>一部附录 IX H 水分测定法中第一法(烘干法),测定其根茎中含水量。

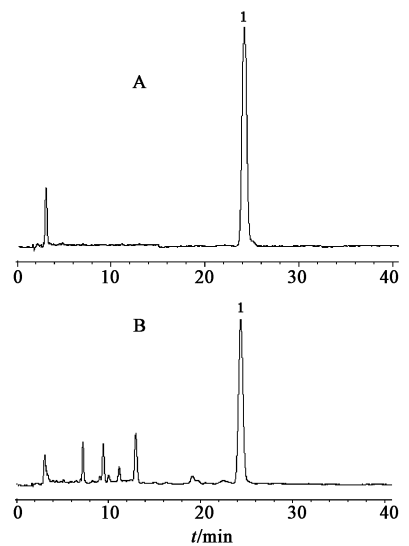
**2.2 薯蓣皂苷元含量测定**<sup>[8,10]</sup>

**2.2.1 对照品溶液的制备** 精密称取薯蓣皂苷元对照品5.12 mg,置5 mL量瓶中,加乙醇使溶解,稀释至刻度,摇匀,即得1.024 g·L<sup>-1</sup>薯蓣皂苷的对照品溶液。用0.45 μm的微孔滤膜过滤至进样瓶中,备用。另取薯蓣皂苷元对照品加甲醇制成1 g·L<sup>-1</sup>的溶液,作为对照品溶液。

**2.2.2 供试品溶液的制备** 将药材60℃烘干,粉

碎过40目筛。精确称取盾叶薯蓣粉末0.5 g,置锥形瓶中,加2.0 mol·L<sup>-1</sup>的硫酸50 mL,超声20 min,在100℃水浴锅中水解4 h,放冷过滤,药渣用蒸馏水洗至中性,60℃干燥,用石油醚(60~90℃)50 mL在90℃水浴中索氏提取5 h,提取液回收至干后用无水乙醇溶解,过滤至10 mL的量瓶中,用无水乙醇定容待测定。

**2.2.3 色谱条件** Venusil XBPC<sub>18</sub>(L)色谱柱(4.6 mm×250 mm,5 μm)天津博纳艾杰尔科技公司,流动相乙腈-水(90:10),流速1 mL·min<sup>-1</sup>,柱温30℃,检测波长210 nm,进样量10 μL。理论塔板数按薯蓣皂苷计算不低于4 000,见图1。



A. 对照品;B. 样品;1. 薯蓣皂苷元

图1 薯蓣皂苷 HPLC

**2.2.4 线性关系** 精密称取适量的薯蓣皂苷元对照品置量瓶中,加乙醇溶解,分别配制成0.204 8, 0.409 6, 0.614 4, 0.819 2, 1.024 mg·L<sup>-1</sup>的溶液,测定峰面积,以对照品进样量为横坐标,峰面积积分为纵坐标绘制标准曲线,结果表明薯蓣皂苷元的进样量在2.048~10.24 μg线性良好,回归方程  $Y = 254.3X - 7.159$  ( $R^2 = 0.9999$ )。

**2.2.5 精密度试验** 取对照品溶液,连续进样重复测定6次,求得峰面积RSD 0.759%,精密度符合要求。

**2.2.6 稳定性试验** 取供试品溶液,分别在0, 2, 4, 6, 8, 10, 12 h进针,记录峰面积值,结果表明地黄中薯蓣皂苷元在12 h内基本稳定,RSD 1.71%。

**2.2.7 重复性试验** 在所确定的HPLC条件下进行测定,随机取某一样品平行处理6份,测定,结果RSD 2.24%,表明重复性良好。

**2.2.8 加样回收率实验** 采用加样回收法测定。

取已知含量的样品,研细,精密称取约 0.25 g,平行称取 6 份,分别加入一定量的薯蓣皂苷元对照品,在所确定的 HPLC 条件下进行测定,以外标一点法计算薯蓣皂苷元的含量,平均回收率为 99.98%,RSD 1.09%,结果见表 1。

表 1 薯蓣皂苷元加样回收率试验

No.	取样量	样品含量	回收率	平均	RSD
	/g	/mg	%	回收率/%	%
1	0.251 6	9.560 2	100.15	99.98	1.09
2	0.251 2	9.581 4	99.97		
3	0.252 4	9.574 5	99.97		
4	0.252 2	9.587 9	100.01		
5	0.251 0	9.553 2	99.98		
6	0.252 0	9.599 6	99.81		

注:加入量均为 4.75 mg。

### 3 结果与分析

**3.1 鲜样含水量与薯蓣皂苷元含量相关性** 选取河南南阳地区 26 份盾叶薯蓣鲜样,分别按照 2.1 和 2.2 项下的方法测定含水量及薯蓣皂苷元含量,结果见表 2。

表 2 水分及薯蓣皂苷元的含量 %

No.	鲜样含水量	薯蓣皂苷元含量	No.	鲜样含水量	薯蓣皂苷元含量
1	68.00	1.03	14	70.92	1.21
2	72.33	1.44	15	77.75	1.80
3	66.55	1.18	16	61.94	0.19
4	64.86	0.97	17	71.13	0.34
5	76.43	1.44	18	73.61	1.60
6	51.85	1.33	19	72.07	0.95
7	75.32	1.35	20	69.92	0.95
8	59.81	0.97	21	81.56	1.79
9	67.82	1.10	22	71.06	0.46
10	64.92	1.07	23	81.37	2.29
11	59.38	0.36	24	60.18	1.54
12	63.32	0.82	25	77.65	1.69
13	70.92	1.21	26	73.91	1.29

由于薯蓣皂苷元的含量与鲜样含水量的差异较大,所以将薯蓣皂苷元的含量同时放大 50 倍,在同一张折线图上表示,这样能够更加直观、清晰的观察、探讨二者的相关性,见图 2。

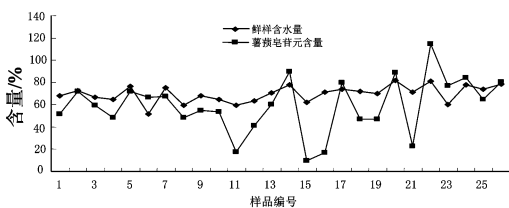


图 2 盾叶薯蓣鲜样含水量与薯蓣皂苷元含量相关性  
盾叶薯蓣中鲜样含水量与其薯蓣皂苷元含量的

走势图基本一致。运用 SPSS 17.0 分析软件对两组数据进行相关性分析,对两组数据进行正态性检验。由表 3,4 可以得出,二者的  $P$  分别为 0.726,0.704,均  $>0.05$ ,可认为两组数据都服从正态分布。

表 3 盾叶薯蓣鲜样含水量正态性检验

项目	正态性检验					
	Kolmogorov-Smirnov <sup>1)</sup>			Shapiro-Wilk		
	统计量	df	Sig.	统计量	df	Sig.
鲜样含水量	103	26	200 <sup>2)</sup>	974	26	726

注: <sup>1)</sup> Lilliefors 显著水平修正, <sup>2)</sup> 真实显著水平的下限(表 4 同)。

表 4 盾叶薯蓣薯蓣皂苷元含量正态性检验

项目	正态性检验					
	Kolmogorov-Smirnov <sup>1)</sup>			Shapiro-Wilk		
	统计量	df	Sig.	统计量	df	Sig.
薯蓣皂苷元含量	0.125	26	0.200 <sup>2)</sup>	0.973	26	0.704

若两变量是计量资料且均服从正态分布,其相关密切程度可用 Pearson 积差相关系数(简单相关系数)描述。在 SPSS 分析软件中,选择 Bivariate(两两相关)进行相关分析,Pearson 相关系数  $r = 0.560$ ,  $P = 0.003 < 0.01$ ,可以认为盾叶薯蓣中鲜样含水量与薯蓣皂苷元含量呈正向直线相关。

薯蓣皂苷元与含水量这种正相关不是在整个生育过程都显著,仅在水分含量较低的枯萎期表现显著,笔者认为,水分对薯蓣皂苷元的积累十分重要。

**3.2 生长年限与薯蓣皂苷元含量的相关性** 盾叶薯蓣为多年生植物,因此探讨盾叶薯蓣的生长年限与薯蓣皂苷元含量的相关性、制定合理的生长期对提高盾叶薯蓣的质量、节约生产成本尤为重要。本研究选取了 28 份来自河南淅川的不同生长年限的盾叶薯蓣样品,土质均为黄土,样品信息及薯蓣皂苷元测定结果见图 3。

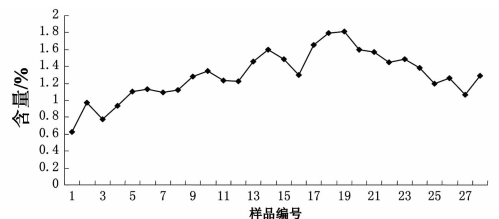


图 3 不同生长年限盾叶薯蓣中薯蓣皂苷元含量相关性

由图 4 可见,盾叶薯蓣中薯蓣皂苷元的含量是随着生长年限的不同而呈现一定的差异,1~4 号、5~8 号样品为 1 年生、2 年生,含量较低,9~12 号、13~16 号样品分别为 3 年生、4 年生,其薯蓣皂苷元含量均有所升高,且呈上升趋势,波动幅度不大。17~20 号样品,为 5 年生,在这个时期内,薯蓣皂苷元的含量达到了最高值,即在盾叶薯蓣中得到了最大限度的积

累。21~24号、25~28号样品分别为7年生和12年生,虽然这段时期内薯蓣皂苷元的含量也相对较高,但呈现下降的趋势。结合实际生产和经济效益,建议盾叶薯蓣的种植年限在3~5年采收。

**3.3 产地与薯蓣皂苷元含量的相关性** 我国的湖北、湖南、陕西以及河南均有盾叶薯蓣的种植基地。选择15份分别来自河南西峡、内乡、浙川的盾叶薯蓣样品,以5年生、黄土为例,进一步分析产地对盾叶薯蓣中薯蓣皂苷元含量的影响进行研究,测定结果见图4。

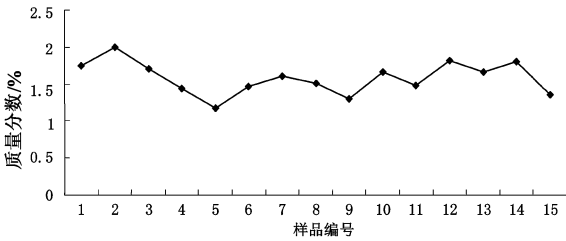


图4 不同产地的薯蓣皂苷元含量比较

1~5号样品采自西峡,6~10号样品采自内乡,11~15号样品采自浙川,但从薯蓣皂苷元含量的测定结果来看,其分布并没有呈现一定的区域性,因此可以说在河南3个产地的盾叶薯蓣样品中薯蓣皂苷元的含量没有明显的差异性。

**3.4 土壤与薯蓣皂苷元含量的相关性** 对南阳地区5年生不同土壤的盾叶薯蓣样品15份中的薯蓣皂苷元含量进行分析,结果见表5。

由表5可以明显的看出,在沙土种植的盾叶薯蓣其薯蓣皂苷元的含量略高于黄土和黏土,但黄土和黏土的差异不明显,建议盾叶薯蓣药材适宜种植在沙土地上,有利于提高盾叶薯蓣中薯蓣皂苷元的含量,提高经济效益。

表5 不同土壤的盾叶薯蓣样品中薯蓣皂苷元质量分数 %

No.	土壤	薯蓣皂苷元	No.	土壤	薯蓣皂苷元
1	沙土	1.46	9	黄土	1.15
2	沙土	1.49	10	黄土	1.03
3	沙土	1.81	11	黏土	1.39
4	沙土	1.51	12	黏土	1.01
5	沙土	1.80	13	黏土	1.21
6	黄土	1.09	14	黏土	1.29
7	黄土	1.28	15	黏土	1.01
8	黄土	1.07			

#### 4 讨论

药用植物的有效成分多数是其次生代谢物,其合成与积累受多种因素的影响。程若敏<sup>[11]</sup>总结了药用银花与环境因子特性中的气候因子、土壤因子、地形因子的相关性,分析了环境因子对药用银花的

影响,结果发现,光照可能是对药用银花影响最为重要的因素。盾叶薯蓣作为一种多年生草本植物,要保证皂苷类成分的含量符合工业和临床需要,必须要求盾叶薯蓣种植一定的年限,而皂苷在植物体内的合成受各种环境条件的调控,其状态是否适宜直接影响了皂苷的合成、积累及代谢。为了保证结果的可靠性,本研究在分析每个影响因素的同时,尽可能保证其他影响因素相对一致。结果发现,生长在砂土地上的盾叶薯蓣有效成分相对较高,而且薯蓣皂苷元的含量与含水量呈正相关,这与前人的研究结果一致,但生长年限和薯蓣皂苷原含量没有明显的相关性,且在采集样品过程中,药农也提出盾叶薯蓣生长到一定年限,就会出现根茎腐烂、生长量降低等现象。根据实验发现和相关资料报道,这有可能与土壤营养条件的改变及根际土壤出现特殊分泌物有关,其影响机制有待于进一步研究。

#### [参考文献]

[1] 王银红. 盾叶薯蓣化学成分研究[D]. 兰州:西北大学,2009.

[2] 丁志遵,唐世蓉,秦慧贞,等. 甾体激素药源植物[M]. 北京:科学出版社,1983:359.

[3] 徐成基,周瑾,豆永泽,等. 激素药源植物-薯蓣的栽培研究[J]. 中药通报,1983,8(4):3.

[4] 曹玉芳,王太霞,胡正海. 盾叶薯蓣根状茎不同部位和不同生长期薯蓣皂苷元含量的差异性研究[J]. 中草药,2004,35(5):562.

[5] 秦松云,丁季春,舒抒,等. 盾叶薯蓣根状茎产量、含水量与皂素含量关系的研究[J]. 作物杂志,2004,20(4):10.

[6] 王建安,徐增荣,吴国荣,等. 氮磷钾对盾叶薯蓣产量及薯蓣皂苷元含量的影响[J]. 中药材,2004,27(12):891.

[7] 王建安,林菲,李艳芝,等. 铁、锰、锌肥对盾叶薯蓣根状茎产量及薯蓣皂苷元的影响[J]. 中药材,2011,42(3):589.

[8] 谢彩侠,高山林,秦慧贞. 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.

[9] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010:90.

[10] 白雁,左春芳,谢彩侠,等. HPLC-ELSD法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.

[11] 程若敏,梁晓乐,陈少容,等. 药用银花环境因子特性研究概况[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(3):232.

[责任编辑 邹晓翠]