

人参生殖器官皂苷含量动态变化

刘胜群¹, 徐海波², 李春龙³, 任跃英^{4*}

(1. 中国科学院 东北地理与农业生态研究所, 长春 130012; 2. 吉林大学 药学院, 长春 130021;

3. 山东省文登市农业局, 山东 文登 264400; 4. 吉林农业大学 中药材学院, 长春 130118)

摘要: 为了明确从现蕾、开花到结实过程中的人参生殖器官中各单体皂苷含量的动态变化,应用 HPLC 法测定了人工栽培的五年生人参不同时期生殖器官中的人参单体皂苷 Rb₁、Rb₂、Rb₃、Rc、Rd、Re、Rg₁ 和 Rg₃ 的含量。结果显示:从现蕾到果实成熟的过程中,人参单体皂苷 Rb₁、Rb₂、Rb₃、Rc、Rd、Re、Rg₁ 和 Rg₃ 的含量的平均值分别为 0.643%, 0.189%, 1.026%, 1.014%, 1.941%, 8.381%, 0.724% 和 0.041 mg·g⁻¹。从现蕾到果实成熟的过程中,人参单体皂苷 Rb₁ 含量的最高值在 7 月 16 日,单体皂苷 Rb₃、Rc、Rd 和 Rg₁ 含量的最高值在 7 月 11 日,单体皂苷 Rb₂ 和 Rg₂ 含量的最高值在 8 月 7 日。

关键词: 人参; HPLC; 单体皂苷; 生殖器官; 花蕾; 花; 果实

中图分类号: S567.5 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2010)05-0702-05

Monomer ginsenosides dynamic change of reproductive organs of *Panax ginseng*

LIU Sheng-Qun¹, XU Hai-Bo², LI Chun-Long³, REN Yue-Ying^{4*}

(1. Northeast Institute of Geography and Agricultural Ecology, Chinese Academy of Sciences, Changchun 130012, China;

2. College of Pharmacy, Jilin University, Changchun 130021, China; 3. Agricultural Bureau of Wendeng, Wendeng

264400, China; 4. College of Chinese Medicinal Materials, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China)

Abstract: The contents of monomer ginsenoside Rb₁, Rb₂, Rb₃, Rc, Rd, Re, Rg₁ and Rg₃ in reproduction organs (flower bud, flower and fruit) of *Panax ginseng* at growing stage were dynamically determined by HPLC method. The results indicated that the mean contents of Rb₁, Rb₂, Rb₃, Rc, Rd, Re, Rg₁ and Rg₃ of reproduction organs were 0.643%, 0.189%, 1.026%, 1.014%, 1.941%, 8.381, 0.724% and 0.041 mg·g⁻¹, respectively. From budding to the complete ripening of fruits, content of monomer ginsenoside Rb₁ of reproduction organs peaked at July 16th, content of Rb₃, Rc, Rd and Rg₁ peaked at July 11th, and content of Rb₂ and Rg₂ peaked at August 7th, respectively.

Key words: *Panax ginseng*; HPLC; monomer ginsenosides; reproductive organs; flower bud; flower; fruit

人参(*Panax ginseng*)为五加科人参属植物,随着人们生活水平的提高和保健意识的增强,人参研究愈加受到重视。人参主要活性成分是人参单体皂苷(ginsenoside),是其具有特征性的活性成分。人参的主根、须根、芦头、茎叶、花蕾和果实等部位中均含有皂苷,目前分离出的单体皂苷超过 30 种(张萍等,2004;王海南,2006)。人参传统的人药部位是

参根,但人参的地上部分的价值也逐渐受到重视,并得到了开发和利用(吴洪兰等,1998)。人参花蕾和果实的研究已逐渐深入(邱峰等,1998;王荣阁等,1990)。资料显示,人参花蕾、花及其果实中的单体皂苷含量与人参根中的皂苷含量存在差异(柯珏,2005;徐敏等,2007)。这说明人参生殖器官(花蕾、花和果实)中的单体皂苷含量具有与参根不同的特

收稿日期: 2009-10-10 修回日期: 2010-09-10

基金项目: 国家重点科技攻关项目(99-929-01-05);吉林省科技发展计划(20090166)[Supported by Key Scientific and Technological Project, National Ministry of Science and Technology (99-929-01-05); Plan Project for Science and Technology Development of Jilin Province(20090166)]

作者简介: 刘胜群(1976-),女,吉林省四平市人,博士,从事药用植物栽培和作物生理生态方面的研究, (E-mail)lsq@neigae.ac.cn.

* 通讯作者(Author for correspondence, E-mail: sqliu1976@live.com)

征。人参从现蕾到开花结实,其生殖器官经历一系列的生理变化,这期间,人参单体皂苷含量呈现何种变化至今未见报道。明确从现蕾到果实成熟过程中人参生殖器官中单体皂苷含量的变化动态,对合理利用人参资源具有重要的理论意义。本文采用 HPLC 法测定人参生殖器官中皂苷含量的动态变化,可以为人参合理开发利用提供科学数据,同时可以为人参单体皂苷的转化生产提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 取样时间与方法

所用材料均采自抚松参场无公害人参栽培基地。采取五点取样法,分别从 6 月 26 日起,每 5 d 取样 1 次。所取人参参龄为五年生,摘取地上部生殖器官(花蕾或花或果实)后,立即冷冻,而后真空冷冻干燥,粉碎后过 60 目筛备用。

1.2 对照品溶液的制备

人参皂苷对照品 Rb_1 、 Rb_2 、 Rb_3 、 Rc 、 Rd 、 Re 、 Rg_1 和 Rg_3 由吉林大学药学院提供(相对纯度均 $\geq 98\%$)。取上述对照品经 60 °C 减压干燥至恒重后各精密称取 10 mg 至 10 mL 容量瓶中,加甲醇适量,超声使溶解,放冷后,定容至刻度,配制成 1 mg · mL⁻¹ 的对照品贮备液。

1.3 供试品的制备

制备方法主要参照陈光等(2002)的方法,略有改动。精密称取干燥粉末 1.0 g,用滤纸筒包好,甲醇浸泡 8 h 后,回流提取 3 次,每次 12 h,提取液合并,而后减压回收甲醇,将浸膏加适量蒸馏水,过大孔吸附树脂柱,吸附时间为 2 h。分别用水和 20% 乙醇洗脱,弃去洗脱液,之后用 60% 乙醇进行洗脱,收集洗脱液,减压回收乙醇,浸膏于真空干燥箱中干燥后称重。而后精密称取 0.1000 g 用甲醇定容至 10 mL 容量瓶中,超声处理 10 min,放冷,再次用甲醇定容,微孔滤膜过滤,作为供试品溶液。

1.4 稳定性试验

取上述对照品溶液和供试品溶液进样,分别于 1、2、4、8、12、24 h 各进样 20 μ L,记录峰面积。8 种皂苷峰面积的 RSD 分别为 0.54%~2.27%,说明稳定性较好。

1.5 精密度试验

吸取对照品溶液 20 μ L,连续重复进样 5 次,记录峰面积,8 种皂苷峰面积的 RSD 为 0.83%~

1.92%,表明精密度良好。

1.6 重现性试验

取同一批人参样品,在不同时间用该方法进行提取测定,结果人参皂苷含量的 RSD 为 2.02%。

1.7 仪器及色谱条件

高效液相色谱仪为 Waters 公司产,600E 双泵头柱塞往复泵,Waters 2487 双波长紫外检测器,Waters C18 ϕ 4.6 $\times$ 150 mm 色谱柱,chrom statim 数据处理系统,Nora-pakC18 保护柱。根据文献资料(William 等,1996;Chuang 等,1994;刘军等,1998),确定以下色谱条件,二元梯度洗脱:流动相 A 乙腈-0.05%磷酸溶液(2:8),流动相 B(8:2),流动相梯度洗脱程序为:15 min 内流动相 B 由 30%至 60%,进样量为 20 μ L,流速 1.0 mL/min,检测波长 203 nm,分析时间 20 min,柱温 40 °C(图 1)。

1.8 数据作图和数据分析

数据采用 Origin 7.5 软件作图,SPSS13.0 软件进行分析。

2 结果与分析

2.1 单体皂苷 Rb_1 、 Rb_2 和 Rb_3 的动态变化

各时期人参生殖器官中单体皂苷 Rb_1 、 Rb_2 和 Rb_3 含量的动态变化(图 2)不同。比较而言, Rb_3 含量最高, Rb_1 含量次之, Rb_2 含量最低。 Rb_1 含量在 7 月 16 日达到最高值,与 6 月 26 日相比较,其含量增加了 21.58%。 Rb_2 的含量呈现波动状态,7 月 16 日出现一个高峰,与 6 月 26 日相比较,其含量增加了 44.2%;从 7 月 16 日到 21 日 Rb_2 的含量迅速下降,7 月 21 日以后又逐渐升高,8 月 7 日达到最高值。从现蕾开始,人参单体皂苷 Rb_3 的含量逐渐增加,至 7 月 11 日达到最高值,与 6 月 26 日相比其含量增加了 67.7%。从 7 月 11 日到 26 日 Rb_3 的含量逐渐降低,而后又逐渐升高。从开始现蕾到果实成熟, Rb_3 含量平均值为 1.026%, Rb_1 为 0.643%, Rb_2 为 0.189%。

2.2 单体皂苷 Rc 的动态变化

从现蕾开始,人参单体皂苷 Rc 的含量呈增加趋势(图 3),至 7 月 11 日达到最高值,与现蕾初期相比较, Rc 的含量增加了 1.56 倍。7 月 11 日至 8 月 1 日其含量逐渐下降,下降了 62.8%。8 月 1 日之后其含量迅速升高,到 8 月 7 日果实成熟时 Rc 的含量增加了 1.25 倍,但 8 月 7 日的 Rc 含量较 7 月

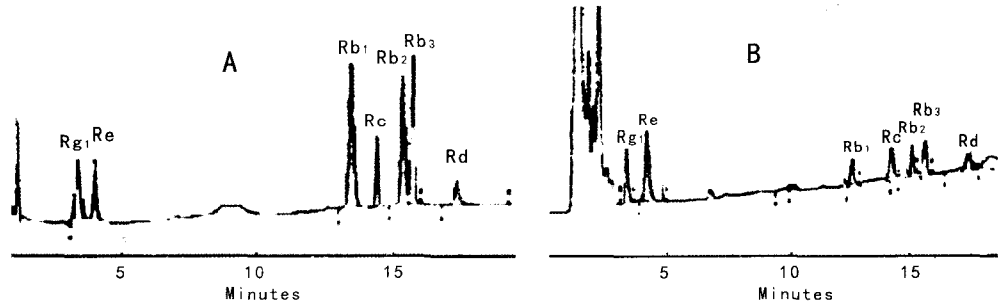


图 1 对照品(A)和样品(B)的 HPLC 图谱
Fig. 1 HPLC chromatogram of reference substrate(A)and sample of *Panax ginseng* (B)

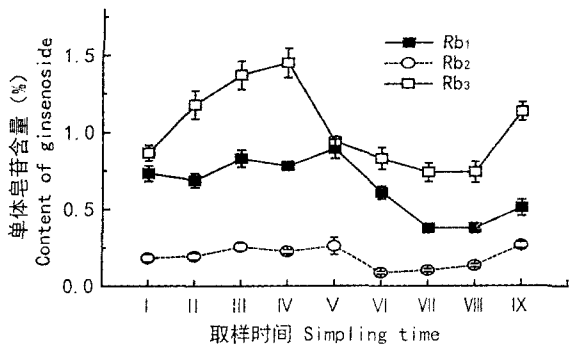


图 2 人参生殖器官中单体皂苷 Rb₁、Rb₂ 和 Rb₃ 的动态变化

Fig. 2 Dynamic of ginsenoside-Rb₁, ginsenoside-Rb₂ and ginsenoside-Rb₃ of reproductive organs of *Panax ginseng*

I、II、III、IV、V、VI、VII、VIII和IX依次代表取样日期为6月26日、7月1日、7月6日、7月11日、7月16日、7月21日、7月26日、8月1日和8月7日。下同。

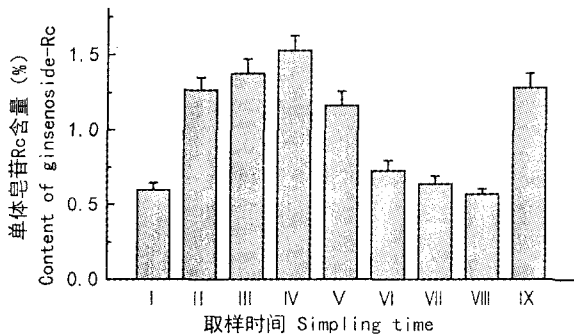


图 3 人参生殖器官中单体皂苷 Rc 的动态变化

Fig. 3 Dynamic of ginsenoside-Rc of reproductive organs of *Panax ginseng*

11 日的低 0.249。经计算,各时期 Rc 含量平均值为 1.014%。

2.3 单体皂苷 Rd 的动态变化

单体皂苷 Rd 的含量大体呈“W”形(图 4)。第

一个高峰值在 6 月 26 日,第二个高峰值在 7 月 11 日,7 月 11 日后 Rd 的含量逐渐降低,7 月 26 日达到最低。7 月 26 日后 Rd 的含量又升高,到 8 月 7 日果实成熟时,Rd 的含量又达到一个高值,但与 7 月 26 日相比较,8 月 7 日的 Rd 含量略低。整个生殖生长期,单体皂苷 Rd 的含量是前期高于后期。经计算,单体皂苷 Rd 各时期的平均值为 1.941%。

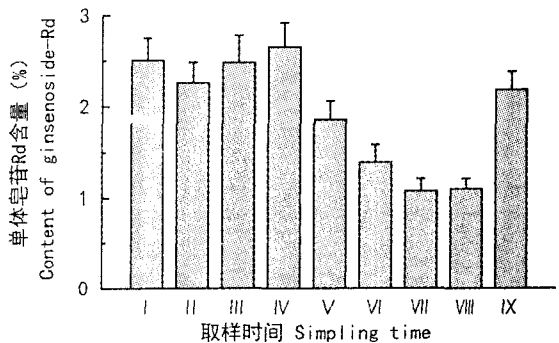


图 4 人参生殖器官中单体皂苷 Rd 的动态变化

Fig. 4 Dynamic of ginsenoside-Rd of reproductive organs of *Panax ginseng*

2.4 单体皂苷 Re 的动态变化

单体皂苷 Re 的含量的动态变化大体呈“N”形(图 5)。Re 的含量在前期是增加的,第一个高峰值出现在 7 月 11 日,到 8 月 7 日果实成熟时,Re 的含量又达到一个高值,但与 7 月 11 日的含量相比较,8 月 7 日的 Rd 含量略高。经计算,单体皂苷 Re 各时期的含量平均值为 8.381%。

2.5 单体皂苷 Rg₁ 和 Rg₃ 的动态变化

单体皂苷 Rg₁ 和 Rg₃ 的动态变化趋势不同(图 6)。6 月 26 日 Rg₁ 的含量较高,而 7 月 1 日其含量是整个生殖生长期间的含量最低值。生殖器官单体皂苷 Rg₃ 的含量在整个生育期内有三个高峰值,分别出现在 7 月 1 日,7 月 16 日和 8 月 7 日,其中以 8

月 7 日的含量为最高, 而单体皂苷 Rg_3 的含量最低值出现在 7 月 11 日。8 月 7 日的 Rg_3 含量是 7 月 11 日的 5.3 倍。经计算, 单体皂苷 Rg_1 的平均值为 0.724%, 单体皂苷 Rg_3 的平均值为 $0.041 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。

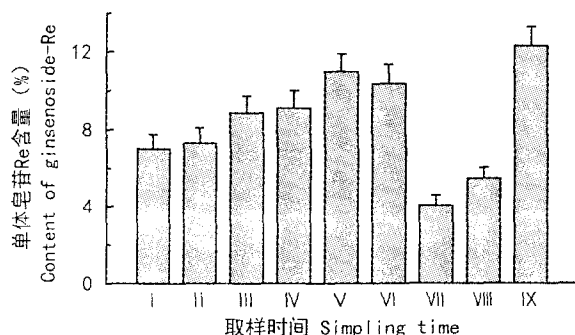


图 5 人参生殖器官中单体皂苷 Re 的动态变化
Fig. 5 Dynamic of ginsenoside-Re of reproductive organs of *Panax ginseng*

3 讨论

栽培人参 3 年以上开始开花结籽。实际生产中多在四、五年生留种采种。留种影响母根生长, 造成参根产量和质量的下落(杨继祥, 2004)。因此, 生产中一般采取对人参进行摘花或(和)蕾的处理方法, 用以降低弱势花和蕾对养分的消耗(王英平等, 1996)。摘下的人参花蕾(或花), 除极少数被加工成人参茶外, 大部分被丢弃。另外, 生产中收获人参种子时, 只保留种子, 而将果肉舍弃(孙伟娜等, 2009)。经本研究显示, 从现蕾到果实成熟, 人参生殖器官中单体皂苷 Rb_1 、 Rb_2 、 Rb_3 、 Rc 、 Rd 、 Re 、 Rg_1 和 Rg_3 的平均含量分别为 0.643%, 0.189%, 1.026%, 1.014%, 1.941%, 8.381%, 0.724% 和 $0.041 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。由此可以看出, 人参生殖生长期间, 其生殖器官中含有丰富的单体皂苷。因此, 从资源利用角度分析, 人参生产中将花蕾、花和果肉舍弃的做法是不合理的, 建议将这些人参花蕾、花和果肉作为原料, 对其进行综合开发利用, 达到充分利用人参资源, 充分发挥人参作用的目的。

文中所测定的 8 种单体皂苷药理活性强, 且这 8 种单体皂苷在人参中的含量较高。因此研究结果具有实际应用价值。本文测定结果显示, 从现蕾到果实成熟的过程中, 人参生殖器官中的各单体皂苷含量呈现动态变化。各单体皂苷在不同时期的含量差异较大, Rb_1 含量的最高值出现在 7 月 16 日,

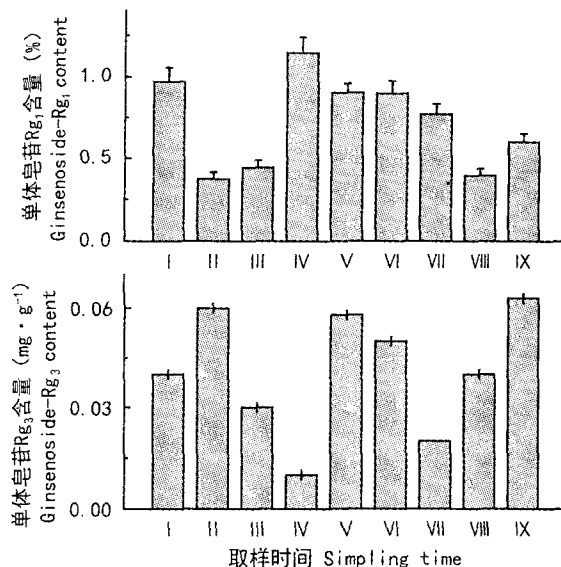


图 6 人参生殖器官中单体皂苷 Rg_1 和 Rg_3 的动态变化
Fig. 6 Dynamic of ginsenoside- Rg_1 and ginsenoside- Rg_3 of reproductive organs of *Panax ginseng*

Rb_3 、 Rc 、 Rd 和 Rg_1 含量的最高值出现在 7 月 11 日, 而 Rb_2 和 Rg_2 含量的最高值出现在 8 月 7 日。最新药理研究表明, 部分人参单体皂苷对于逆转白血病细胞耐药(Hasegawa 等, 1995)、抑制肿瘤细胞的增殖(Lee 等, 1996)以及细胞凋亡的保护(Kim 等, 2007)等具有很好的疗效。因此, 这些单体皂苷的价值受到瞩目。但时至今日, 人参单体皂苷全化学合成尚未实现, 单体皂苷临床应用只能从人参、西洋参中进行提取、分离和纯化来满足需要。因此, 若以得到不同的单体皂苷为生产目的, 在以地上部的花蕾、花或果实为原料进行人参单体皂苷的生产的前提下, 建议选择在某种或几种单体皂苷含量达到高峰期时进行采收, 这样可以充分挖掘人参自身合成单体皂苷的生物潜力。

从现蕾到果实成熟, 人参生殖器官经历了一系列复杂的生理生化过程。本研究结果也显示在生殖生长期间内, 人参生殖器官单体皂苷含量发生大幅变化。这种变化的生理生化机理如何, 发生变化的诱因何在, 通过怎样的手段可以在人参生长过程中定量增加某种或某几种人参单体皂苷, 这一系列的新课题有待于进一步深入研究。

参考文献:

- 杨继祥. 2004. 药用植物栽培学[M]. 北京: 中国农业出版社
Chuang WC, Sheu SJ. 1994. Determination of ginsenosides in gin-

- seng crude extracts by high-performance liquid chromatography [J]. *J Chromatogr A*, **685**:243-251.
- Chen G(陈光), Li XG(李向高), Li YL(李艳丽). 2002. Accumulation trend of saponins of *Panax quinquefolium* L. (西洋参皂苷积累动态的研究)[J]. *J Jilin Agric Univ*(吉林农业大学学报), **24**(4):70-72
- Hasegawa H, Sung JH, Matsumiya S, et al. 1995. Reversal of daunomycin and vinblastine resistance in multidrug-resistant P388 leukemia *in vitro* through enhanced cytotoxicity by triterpenoids [J]. *Planta Med*, **60**(5):409-413
- Ke Y(柯瑛). 2005. European scientists found that medicinal value of flower bud higher than medicinal value of root of ginseng(欧科学家发现人参花蕾药用价值远超人参根)[J]. *Beijing Agric*(北京农业), **4**:43
- Kim HY, Kim KY. 2007. Protective effect of ginseng on cytokine-induced apoptosis in pancreatic betacells [J]. *J Agric Food Chem*, **55**(8):2 816-2 823
- Lee YN, Lee HY, Chung HY, et al. 1996. *In vitro* induction of differentiation by ginsenosides in F9 teratocarcinoma cells [J]. *Eur J Cancer*, **32A**:1 420-1 428
- Liu J(刘军), Wang YH(王燕桓). 1998. Content of ginsenosides of ginseng by HPLC(高效液相色谱法分析人参皂苷)[J]. *Chin J Pharm Anal*(药物分析杂志), **18**(2):132-136
- Qiu F(邱峰), Ma ZZ(马忠泽). 1998. Study on chemical constituents of ginseng flower bud(人参花蕾化学成分的研究)[J]. *Chin J Med Chem*(中国药物化学杂志), **8**(3):205-207
- Sun WN(孙伟娜), Wang JY(王继彦). 2009. Analysis for amino acids from outer pulp of ginseng(人参果肉的氨基酸成分分析)[J]. *J Changchun Univ Trad Chin Med*(长春中医药大学学报), **25**(1):25-26
- Wang HN(王海南). 2006. Progresses in studies on pharmacologic effects of ginsenosides(人参皂苷药理研究进展)[J]. *Chin J Clin Pharm Ther*(中国临床药理学与治疗学), **11**(11):1 201-1 206
- Wang YP(王英平), Kong XY(孔祥义), Zhang LX(张连学), et al. 1996. Effect of flower bud picking on distribution of assimilation products in plant and ginsenosides(人参摘蕾对同化产物在植株体内及皂苷中分配的影响)[J]. *Special Wild Econ Animal Plant Res*(特产研究), **4**:16-18
- Wang RG(王荣阁), Wu WL(武文林). 1990. Comprehensive utilization of ginseng flower(人参花的综合利用)[J]. *Biol Speciality*(生物与特产), **6**:26-27
- William AC, John GH, Jama E. 1996. Erratum to 'reversed-phase high-performance liquid chromatographic determination of ginsenosides of *Panax quinquefolium*' [J]. *J Chromatogr A*, **755**:11-17
- Wu HY(吴洪兰), Qiao LW(乔丽文). 1998. Total ginsenosides of ginseng flower bud with spectrophotometry(分光光度法测定人参花蕾中总皂甙的含量)[J]. *Shizhen J Tradit Chin Med Res*(时珍国药研究), **9**(2):140
- Xu M(徐敏), Zhan ZJ(占扎君), Zhang XY(章小永). 2007. Study on chemical constituents of ginseng fruit(人参果的化学成分研究)[J]. *Chin Trad Herb Drugs*(中草药), **38**(5):667-669
- Zhang P(张萍), Wang JD(王金东), Xiao XY(肖新月), et al. 2004. Advances of research on method chemical composition analysis of ginseng(人参化学成分分析方法的研究进展)[J]. *Chin Trad Herb Drugs*(中草药), **35**(12):1 429-1 432

欢迎订阅 2011 年《农业研究与应用》

《农业研究与应用》是经新闻出版总署批准,在原《广西热带农业》的基础上改刊创办的综合性农业期刊,由广西壮族自治区农垦局主管;广西壮族自治区亚热带作物研究所和广西热带作物学会主办。新编国内统一连续出版物号:CN45-1380/S,国内外公开发行。

该刊报道内容包括农业基础研究、应用开发和理论探讨,涵盖选育种、生物技术、生态资源、耕作、植保、土肥、畜牧、园林、产品检测、加工贮藏、农业经济等专业学科。主要以农林领域的科研工作者、院校师生、管理干部、基层技术人员及生产者等为读者对象。欢迎广大农林工作者踊跃投稿!

该刊为双月刊,单月 10 日出版,大 16 开本,每期定价 5.00 元,全年 30 元。可通过各地邮局(所)订阅,邮发代号 48-117;或直接汇款到编辑部订阅,每期另加邮费 1 元,全年 36 元。

欢迎订阅! 欢迎投稿!

编辑部地址:广西南宁市邕武路 22 号,广西亚热带作物研究所内

邮编:530001

联系电话:0771-3348850、3348689

投稿邮箱:gxrz@chinajournal.net.cn