

不同生长年限园参形态与皂苷合成相关性研究

麻 锐, 靳 雯 棋, 冯 凯, 陈 伟, 姜 锐, 孙 立 伟

(北华大学 化学与生物学院, 吉林 吉林 132013)

摘 要:以不同生长年限园参为试材,测定园参根各部位的生物量、比根质量和比根长,描述园参生长过程中形态学变化;利用紫外分光光度法及高效液相色谱分析皂苷含量及组成,结合酶联免疫吸附测定法(ELISA)检测皂苷合成途径相关酶活性。结果表明:随生长年限的增加,园参须根的比根质量及比根长变化最大;皂苷含量以及皂苷合成相关酶法尼基二磷酸合酶(FDPS)、鲨烯环氧酶(SE)、鲨烯合成酶(SS)和环阿屯醇合成酶(CAS)活性均与生长年限呈正相关关系;初步发现了园参形态生长变化、功效物质皂苷合成与生长年限之间的关系,为传统的从形态学评价人参质量提供理论依据。

关键词:人参;生长年限;人参皂苷;形态学

中图分类号:S 312 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2016)13-0159-04

人参(*Panax ginseng* C. A. Mey)属五加科人参属多年生草本植物,因其具有大补元气、固脱生津、安神益智等功效而成为驰名国内外的滋补珍品。园参通常3年开花,5~6年生长成熟,入药疗效较好。也就是说园参质量可能与其生长年限呈正相关。随着生长年限的增加,园参外观的芦、芋、体、须等形态特征发生变化^[1],为此自古民间经验制定的人参质量评价多以其“五行”外观鉴别为主。现代药物学研究证明人参主要活性成分是人参皂苷,其种类及含量会随着生长年限的增加而变化^[2]。因此人参各皂苷含量比例的变化也是评价人参内在质量的重要指标^[3]。但在人参生长成熟的过程中,其外观形态与各皂苷含量积累变化的相关性关系却有待于进一步研究。

该研究旨在描述园参在生长过程中形态学的变化与皂苷含量、组成及皂苷合成途径调控酶活性之间的关系,以期在传统外观学评价人参质量及其后续探讨人参形态学与功效之间关系的研究提供理论依据和前期试验基础。

第一作者简介:麻锐(1982-),女,博士,讲师,研究方向为人参蛋白质组学。E-mail:maruijilin@163.com.

责任作者:冯凯(1976-),男,硕士,讲师,现主要从事植物生物科学等研究工作。E-mail:fengk544@163.com.

基金项目:吉林省教育厅科学技术研究资助项目(吉教科合字(2014)第193号);国家自然科学基金资助项目(81373932);吉林省科技计划发展资助项目(20150520138JH);吉林省中药生物技术科技创新中心资助项目(20130604039TC);吉林省人参转化关键技术研究与应用创新团队资助项目(20140519016JH)。

收稿日期:2016-02-14

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试1~5年生园参样品采购于吉林省抚松县露水河镇吴杰野山参基地,采样时间为2014年8月19—21日。经基地总经理吴杰鉴定,获得不同年限的园参各6株。

1.2 试验方法

1.2.1 人参生物量及比根质量、比根长测量和计算 人参分割成芦头、主根、侧根3部分,置于电子天平上称量各部分质量^[4],于坐标纸上测量各部分长度,并计算各部分比根质量(根质量/根长)、比根长(根长/根质量)^[5]。

1.2.2 人参总皂苷含量测定 人参总皂苷提取采用冷凝回流方法^[6],取样本0.2 g研磨后加入甲醇50 mL,90℃水浴加热回流,提取3 h后过滤,重复此操作3次。合并3次滤液,减压除甲醇,残余部分用15 mL纯水溶解。15 mL水饱和正丁醇萃取,收集正丁醇层,共萃取6次,减压除正丁醇,甲醇溶解并定容至2 mL,备用。人参皂苷含量检测方法参照2010版《中国药典》一部“人参总皂苷含量测定”^[7]。

1.2.3 人参皂苷单体含量测定 以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂,以乙腈为流动相A,以水为流动相B,梯度洗脱程序:0~35 min,19% A;35~55 min,19%~29% A;55~70 min,29% A;70~100 min,29%~40% A。柱温30℃,流速1.0 mL·min⁻¹,检测波长为203 nm,进样量20 μL。

1.2.4 人参皂苷合成关键酶活性测定 利用酶联免疫吸附测定法(ELISA)试剂盒检测人参皂苷合成关键酶法

尼基二磷酸合酶、鲨烯环氧酶、鲨烯合成酶、环阿屯醇合成酶的活性。

2 结果与分析

2.1 不同生长年限园参生长参数的比较

由表 1 可知,5 年生园参须根质量约为 1 年生园参的 50 倍,明显大于总质量及主根质量的增长程度。须

表 1 不同年限园参生物量

Table 1 Biomass of cultivated ginseng in different years

参龄/年	总质量/g	总长/cm	主根质量/g	主根长/cm	须根质量/g	须根长/cm	芦头质量/g	芦头长/cm	总根比根长/(cm·g ⁻¹)	主根比根长/(cm·g ⁻¹)	须根比根长/(cm·g ⁻¹)	芦长比总长/cm	主根生物量比/(g·g ⁻¹)	须根生物量比/(g·g ⁻¹)	芦头生物量比/(g·g ⁻¹)
1	4.01±0.62	10.53±1.76	3.54±0.52	2.27±0.54	0.10±0.03	8.27±1.25	0.37±0.11	0.5±0.08	2.65±0.43	0.65±0.16	96.67±5.04	0.05±0.02	0.88±0.01	0.02±0.01	0.09±0.01
2	7.73±0.77	16.5±0.99	4.65±1.57	6.17±0.45	1.05±0.34	10.33±1.33	2.03±0.54	0.63±0.17	2.15±0.15	1.54±0.66	10.86±3.39	0.04±0.01	0.59±0.15	0.14±0.06	0.27±0.09
3	10.54±0.99	18.73±2.12	6.15±0.68	6.53±0.40	1.76±0.82	12.20±2.12	2.63±0.19	1.03±0.17	1.78±0.15	1.07±0.13	8.26±3.28	0.06±0.01	0.58±0.05	0.16±0.06	0.25±0.04
4	21.87±2.64	22.37±1.27	14.98±3.53	8.43±0.87	4.15±0.15	13.93±1.75	2.74±0.97	1.17±0.21	1.03±0.07	0.60±0.16	3.35±0.37	0.05±0.01	0.68±0.07	0.19±0.02	0.13±0.06
5	38.92±1.85	28.93±0.94	31.92±2.29	9.25±0.44	5.47±0.40	19.68±0.53	2.96±0.20	1.47±0.12	0.74±0.03	0.29±0.02	3.62±0.27	0.05±0.00	0.82±0.02	0.14±0.02	0.08±0.01

2.2 不同生长年限园参皂苷含量的比较

由图 1 可知,园参总皂苷含量随生长年限的增加而增加,其中 5 年生园参皂苷总量是 1 年生园参的近 4 倍。

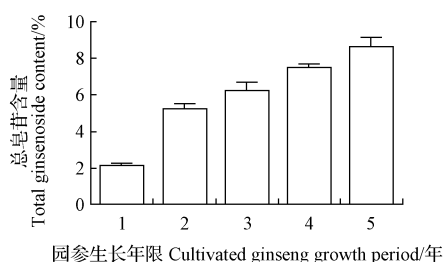


图 1 不同年限园参中皂苷含量

Fig. 1 Cultivated ginseng saponin content in different years

2.3 不同生长年限园参中各皂苷单体含量的比较

人参皂苷都具有相似的基本结构,都含有由 17 个碳原子排列成 4 个环的甾烷类固醇核^[8]。不同的皂苷单体,其药用功效也不相同。如 Rb1 具有降血糖作用^[9],有增加乙酰胆碱的合成和释放以及改善记忆力作用^[10]。Rb2 能够预防和减少高血脂症和动脉粥样硬化症的发生^[11]。Rg1 可快速缓解疲劳、改善学习记忆、

表 2 不同年限园参中单体皂苷含量

Table 2 Cultivated monomer ginsenoside content in different years

参龄/年	Rg1	Re	Rd	Rb2	Rc	Rb1
1	0.151±0.009	0.258±0.010	0.235±0.013	0.248±0.013	0.563±0.022	0.451±0.013
2	0.385±0.010	0.511±0.014	0.549±0.010	0.668±0.014	1.337±0.069	1.354±0.016
3	0.415±0.022	0.786±0.017	0.632±0.017	0.965±0.031	1.390±0.035	1.742±0.046
4	0.408±0.025	0.517±0.030	0.792±0.038	1.282±0.100	1.875±0.083	2.164±0.150
5	0.519±0.017	0.542±0.019	0.922±0.023	1.422±0.047	2.073±0.080	2.463±0.050

2.4 不同生长年限园参皂苷合成关键酶活性的比较

人参中总皂苷及其单体含量逐年增强,这与皂苷合

根生物量比也逐年增加,这说明随着生长年限的增加,园参须根的生长幅度是整体根部组织中最高的。此外,主根比根长在第 2 年增至最高后逐渐降低,推测其原因可能是由于主根是根部贮存营养物质的主要部位,生长初期需建立足够的能源储备空间,为后续药效物质的合成提供基础。

延缓衰老^[12],具有兴奋中枢神经作用^[13]。

由表 2 可知,利用高效液相色谱法检测不同年限园参中人参皂苷 Rb1、Rb2、Rg1、Re、Rd、Rc 含量,发现不同皂苷单体整体呈现逐年递增的趋势。其中 Rb1、Rb2 含量随年限递增显著增加,Rg1、Rc、Rd 呈现逐年缓慢增加趋势。Re 含量在第 3 年达到最高值,随后趋于平缓。人参皂苷单体随生长年限增长率见图 2,人参中皂苷单体含量逐年增加势必导致其药效逐年增强。

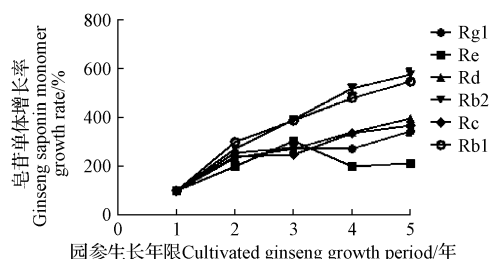


图 2 不同年限园参皂苷单体增长率

Fig. 2 Cultivated ginseng saponin monomer growth rate in different years

成关键酶的活性密切相关。鲨烯合成酶是鲨烯合成的关键酶,其含量和活性决定了合成皂苷的产量^[14-15]。鲨

烯环氧酶是甾醇生物合成途径中限速酶之一^[16]。法尼基二磷酸是三萜和三萜化合物生物合成的分支点^[17]。环阿屯醇合成酶既是植物甾醇合成的关键酶,也是调控三萜皂苷合成的重要调控点^[18]。

通过比较不同生长年限园参中法尼基二磷酸合酶、鲨烯环氧酶、鲨烯合成酶、环阿屯醇合成酶的活性,发现其呈现逐年递增的趋势(图3),与总皂苷及其单体含量变化趋势一致,均与生长年限呈正相关性。

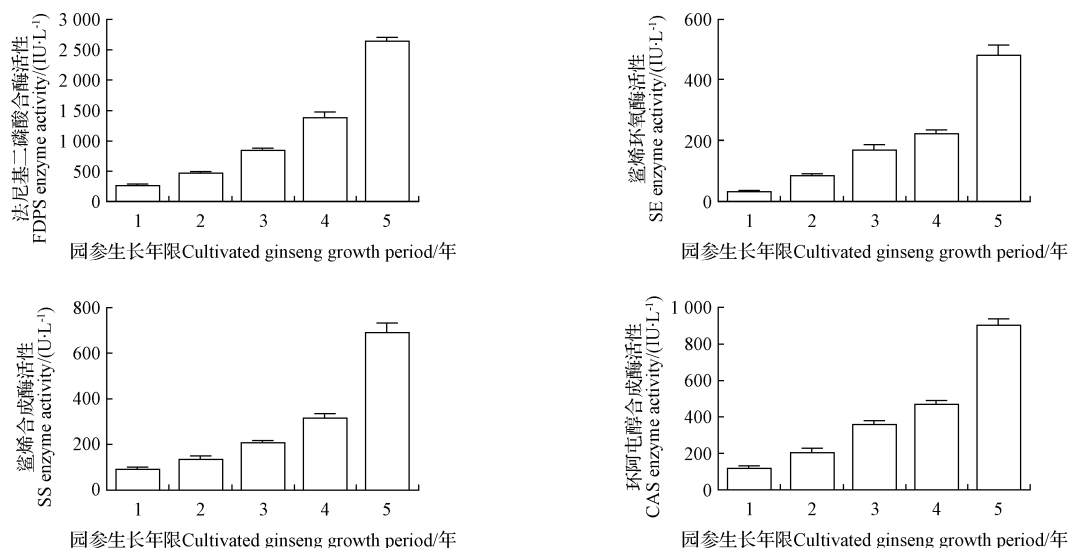


图3 不同年限园参皂苷合成酶活性

Fig. 3 Ginseng saponins synthetase enzyme activity in different years

3 结论

该研究通过对不同生长年限园参形态学和主要功效成分之一,人参皂苷含量、组成及其合成途径相关酶的分析,发现随着生长年限的增加,园参须根的生长程度相较于整体根部组织是最为优先的,且总皂苷含量及皂苷合成相关酶的活性也与生长年限呈正相关趋势。此外,在皂苷组成中,具有药用活性的皂苷单体含量也随生长年限的增加而增加。该研究结果仅描述了生长过程中园参形态学与皂苷合成能力的相关性,这初步为传统的形态学鉴别人参质量提供了理论依据。

参考文献

- [1] 徐世义,李可欣,史德武,等. 野山参、林下山参、趴货、园参性状及显微特征的比较研究[J]. 中草药,2013,44(16):2304-2307.
- [2] 何绍玉,李伟,郑毅男,等. 林下山参园参中腺苷和人参皂苷含量比较分析[J]. 药物分析杂志,2010(9):1701-1706.
- [3] 卢聪,鲍勇刚,石松传,等. 人参皂苷含量变化及其影响因素[J]. 世界中医药,2014(6):813-816.
- [4] LUM H K, FUNG K L, WONG M S, et al. Proteome of oriental ginseng *Panax ginseng* C. A. Meyer and the potential to use it as an identification tool[J]. Proteomics, 2002, 2(9):1123-1130.
- [5] 曲扬,乔铁,周志勋,等. 不同参龄的石柱林下山参外观形态及7种主要人参皂苷的含量测定[J]. 中华中医药学刊,2014(9):2198-2200.
- [6] 张晶,陈全成,弓晓杰,等. 不同提取方法对人参皂苷提取率的影响[J]. 吉林农业大学学报,2003,25(1):71-72.
- [7] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. 北京: 中药医药科技出版社,2010.
- [8] 史明,赵钢,饶志仁. 人参皂甙 Rd 在制备治疗神经病理性疼痛药物

中的应用;CN,CN 101804063 A[P]. 2010.

- [9] WENBIN S, YING Y, LIBIN Z, et al. Ginsenoside Rb1 stimulates glucose uptake through insulin-like signaling pathway in 3T3-L1 adipocytes[J]. Journal of Endocrinology, 2008(3):56-59.
- [10] XUE J F, LIU Z J, HU J F, et al. Ginsenoside Rb1 promotes neurotransmitter release by modulating phosphorylation of synapsins through a cAMP-dependent protein kinase pathway[J]. Brain Research, 2006, 1106(6):91-98.
- [11] EUNJU K, HYUNIL L, KYUNGJIN C, et al. The ginsenoside-Rb2 lowers cholesterol and triacylglycerol levels in 3T3-L1 adipocytes cultured under high cholesterol or fatty acids conditions[J]. Bmb Reports, 2009, 42(4):194-199.
- [12] 李成鹏,张梦思,刘俊,等. 人参皂苷 Rg₁ 延缓脑衰老机制研究[J]. 中国中药杂志,2014(22):4442-4447.
- [13] MING A N, ZHAO G J, WEI X C. Progress in pharmacological activity of ginsenoside Rg1 on the cardiovascular and central nervous system[J]. Chinese Journal of Clinical Pharmacology, 2012, 28(1):75-77.
- [14] 刘镛,吴耀生,胡艳玲,等. 陆生植物鲨烯合酶适应性进化正选择位点分析[J]. 中国生物化学与分子生物学报,2013(1):91-97.
- [15] UCHIDA H, YAMASHITA H, KAJIKAWA M, et al. Cloning and characterization of a squalene synthase gene from a petroleum plant, *Euphorbia tirucalli* L. [J]. Planta, 2009, 229(6):1243-1252.
- [16] HE F, ZHU Y, HE M, et al. Molecular cloning and characterization of the gene encoding squalene epoxidase in *Panax notoginseng* [J]. DNA Sequence, 2008, 19(3):270-273.
- [17] MCGARVEY D J, CROTEAU R. Terpenoid metabolism [J]. Plant Cell, 1995, 7(7):1015-1026.
- [18] 刘强,丛丽娜,张宗申. 植物甾醇与三萜类皂苷生物合成基因调控的研究进展[J]. 安徽农业科学, 2006, 34(19):4844-4846.

根际土壤化学性质对防风多糖含量的影响

孙晶波¹, 张秋菊², 张连学³

(1. 北华大学 药学院, 吉林 吉林 132013; 2. 通化师范学院 生命科学学院, 吉林 通化 134002;

3. 吉林农业大学 中药材学院, 吉林 长春 130118)

摘要:以防风为试材, 采用水提醇沉法提取防风多糖, 苯酚—硫酸—紫外分光光度法测定多糖含量; 根据国家标准方法测定防风根际土壤 pH, 速效 N、P、K, 全 N 及有机质的含量, 采用 SPSS 13.0 软件分析不同时间、不同采集地的防风根际土壤化学性质对防风多糖含量的影响。结果表明: 防风多糖含量随采集地及采集时间不同而差异显著。只有 10 月防风多糖含量与其根际土壤速效 K 含量之间呈显著非线性相关 ($P < 0.01$)。土壤 pH、水解 N 与速效 P 之间, 水解 N、速效 P 与速效 K 之间, 水解 N、速效 P 与有机质之间呈极显著相关 ($P < 0.01$); 速效 K 与有机质之间的相关性随时间的变化而变化, 其中 8 月时 $P < 0.01$, 10 月时 $P < 0.05$; 水解 N、有机质与全 N 之间呈显著相关 ($P < 0.05$)。防风多糖含量在不同采收期受其根际土壤的影响不同, 采集于 10 月中旬的防风多糖含量受其根际土壤速效 K 影响显著。土壤中各养分含量适宜且稳定时, 可提高多糖产率。

关键词: 防风; 多糖; 根际土壤; 相关性

中图分类号: S 567.23⁺9 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2016)13-0162-04

伞形科植物防风(*Saposhnikovia divaricata* (Turcz.) Schischk) 的干燥根为我国药典收录的常用大宗药材—

第一作者简介: 孙晶波(1978-), 女, 博士, 副教授, 研究方向为药用植物药活性成分及质量评价。E-mail: sjb781219@163.com.

基金项目: 国家科技支撑资助项目(2011BAI03B01)。

收稿日期: 2016-02-14

防风, 具有祛风解表、胜湿止痛、止痉等功效, 用于治疗感冒头痛、风湿痹痛、风疹瘙痒、破伤风等^[1]。防风中含有多种有效成分, 如色原酮^[2-3]、挥发油^[4-5]、多糖^[6-7]等。植物中各种有效成分的积累均与其生长环境密切相关^[8], 为探讨土壤环境对防风中多糖含量的影响, 该试验对吉林、甘肃、河北等 8 个省 13 个产地的防风及其根

Relations Between Morphology and Saponin Synthesis of Cultivated Ginseng in Different Growth Years

MA Rui, JIN Wenqi, FENG Kai, CHEN Wei, JIANG Rui, SUN Liwei
(Chemical and Biological Engineering College, Beihua University, Jilin, Jilin 132013)

Abstract: Taking cultivated ginsengs in different growth years as experimental materials, of which root biomass and root weight and longer were measured, the change on the grow process at the morphological level was described. Then the content and composition of ginsenosides of cultivated ginsengs in different growth years were tested by ultraviolet spectrophotometry and high performance liquid chromatography and the activities of the key enzymes related to ginsenoside biosynthesis were detected by enzyme-linked immuno sorbent assay (ELISA). The results showed that the changes of fibrous root weight and length were the largest with the increase of growth years. There was a positive correlation between the growth years and the content of ginsenosides and between the growth years and the activities of farnesyl diphosphate synthase (FDPS), squalene epoxidase (SE), squalene synthase (SS) and cycloartenol synthase (CAS). This study preliminary found the relationship among the morphological changes, ginsenoside biosynthesis and the growth years of cultivated ginsengs. It provided theoretical foundation for the traditional ginseng quality evaluation in morphology.

Keywords: ginseng; growth period; ginsenoside; morphology