

## 不同基源、产地对党参总多糖中低分子量果聚糖的影响

张霞, 李建宽, 曹玲亚, 高建平\*

(山西医科大学药学院, 山西 晋中 030600)

**摘要:** 目的 分析不同基源、产地对党参总多糖中低分子量果聚糖的影响。方法 通过高效凝胶渗透色谱 (HPGPC) 和高效液相色谱 (HPLC), 对潞党参、纹党参、白条党参、板桥党参总多糖及其单糖组成进行分析。结果 潞党参、纹党参、白条党参、板桥党参总多糖主要分布于  $4.41 \times 10^5 \sim 5.92 \times 10^6$ 、 $1.59 \times 10^3$ 、 $3.78 \times 10^3$  Da, 其中潞党参中  $1.59 \times 10^3$ 、 $3.78 \times 10^3$  Da 果聚糖峰面积没有显著差异; 纹党参、白条党参中  $1.59 \times 10^3$ 、 $3.78 \times 10^3$  Da 果聚糖峰面积有显著性差异, 且  $1.59 \times 10^3$  Da 高于  $3.78 \times 10^3$  Da; 板桥党参中  $1.59 \times 10^3$ 、 $3.78 \times 10^3$  Da 果聚糖峰面积有显著性差异, 且  $3.78 \times 10^3$  Da 高于  $1.59 \times 10^3$  Da 果聚糖面积。各品种党参总多糖的主要单糖组成均为果糖和葡萄糖, 以果糖含有量最高。结论 潞党参、纹党参、白条党参、板桥党参总多糖主要为低分子量果聚糖, 并且其分布与产地有关, 而与基源无关。

**关键词:** 党参; 总多糖; 低分子量果聚糖; HPGPC; HPLC

中图分类号: R284.1

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2020)01-0145-05

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2020.01.031

## Effects of different base sources and growing areas on low molecular weight fructans in total polysaccharides of *Codonopsis Radix*

ZHANG Xia, LI Jian-kuan, CAO Ling-ya, GAO Jian-ping\*

(School of Pharmaceutical Science, Shanxi Medical University, Jinzhong 030600, China)

**KEY WORDS:** *Codonopsis Radix*; total polysaccharides; low molecular weight fructans; HPGPC; HPLC

党参为桔梗科植物党参 *Codonopsis pilosula* (Franch.) Nannf.、素花党参 *Codonopsis pilosula* Nannf. var. *modesta* (Nannf.) L. T. Shen 或川党参 *Codonopsis tangshen* Oliv. 的干燥根, 具有补中益气、健脾益肺的功效<sup>[1]</sup>。目前, 市场上流通的党参主要有山西长治的潞党参 *Codonopsis pilosula* (Franch.) Nannf., 甘肃的纹党参 *Codonopsis pilosula* Nannf. var. *modesta* (Nannf.) L. T. Shen、白条党参 *Codonopsis pilosula* (Franch.) Nannf., 湖北恩施的板桥党参 *Codonopsis tangshen* Oliv.。党参中所含化学成分主要有多糖类、党参炔苷类、党参苷类、生物碱类、三萜类<sup>[2]</sup>, 多糖是有效成分之一<sup>[3]</sup>。不同党参属多糖的比较对于党参质量控制非常重要<sup>[4]</sup>。近年来, 从中分离获得了多种分子

大小、结构、单糖组成不同的多糖<sup>[5-10]</sup>。课题组前期对潞党参多糖研究发现, 它含有菊粉型结构的果聚糖, 并具有抗胃溃疡和促双歧杆菌增殖活性<sup>[11-12]</sup>; Fu 等<sup>[13]</sup>也从素花党参中分离获得了一个菊粉型果聚糖。基于党参中富含大量果聚糖类多糖, 本实验采用高效凝胶渗透色谱 (HPGPC) 结合高效液相色谱 (HPLC) 对不同基源、产地党参总多糖中低分子量果聚糖进行分析, 以期为该药材开发利用及质量控制提供理论依据。

### 1 材料

ACS-6 型电子计价秤 (永康市盛意电子科技有限公司); KDM 调温电热套 (山东鄞城华鲁电热仪器有限公司); RE-52AA 旋转蒸发器 (上海亚荣生化仪器厂); SHB-III 循环水式多用真空泵 (郑州

收稿日期: 2019-01-28

基金项目: 国家重点研发计划课题 (2018YFC1706304); 山西省重点研发计划重点项目 (201603D3111005)

作者简介: 张霞 (1995—), 女, 硕士生, 研究方向为中药化学成分及质量标准。Tel: 18435147974, E-mail: 1104264607@qq.com

\*通信作者: 高建平 (1963—), 女, 博士, 教授, 研究方向为中药药效物质基础与质量评价。Tel: (0351) 3985244, E-mail:

jgao123@sina.com

长城科工贸有限公司); DZF-6020 真空干燥箱 (上海博讯实业有限公司); BS124S 电子天平 [赛多利斯科学仪器 (北京) 有限公司]; KQ5200E 数显超声波清洗器 (昆山市超声仪器有限公司); 电热鼓风干燥箱 (南京实验仪器厂); 安捷伦 1260 高效液相系统 (美国安捷伦公司)。

95% 医用乙醇 (新乡市三伟消毒制剂有限公司); 无水乙醇、石油醚、甲醇 (分析纯, 天津市风船化学试剂科技有限公司); 丙酮为国产分析纯。不同分子量右旋糖酐对照品 (中国食品药品检定研究院, 批号 140637-201203 ~ 140646-201203); 木糖 (北京索莱宝科技有限公司, 批号 409C021, 质量分数  $\geq 98\%$ ); 无水葡萄糖 (北京世纪奥科生物技术有限公司, 批号 170724, 质量分数  $\geq 99\%$ ); 果糖 (美国 Sigma-Aldrich 公司, 批号 SLBQ0969V, 质量分数  $\geq 99\%$ )。

潞党参购自山西省平顺县佛堂岭, 白条党参购自甘肃省定西市渭源县清源镇红岷村, 经山西医科大学药学院高建平教授鉴定为桔梗科植物党参 *Codonopsis pilosula* (Franch.) Nannf. 的干燥根; 纹党参购自甘肃省定西市文县堡子坝方中岭山村, 经山西医科大学药学院高建平教授鉴定为桔梗科植物素花党参 *Codonopsis pilosula* Nannf. var. *modesta* (Nannf.) L. T. Shen 的干燥根; 板桥党参购自湖北省恩施市土家族苗族自治州板桥镇, 经山西医科大学药学院高建平教授鉴定为桔梗科植物川党参 *Codonopsis tangshen* Oliv. 的干燥根。潞党参 (20170604)、纹党参 (20180312)、白条党参 (20170704)、板桥党参 (20181208) 标本保存于山西医科大学药学院中药教研室。

## 2 方法

2.1 多糖提取 参照文献[14-15]。分别取潞党参、纹党参、白条党参、板桥党参药材各3份, 每份1 kg, 切段, 室温下分别加3 L 蒸馏水, 浸泡过夜, 在微沸状态下提取2 h, 滤过, 收集滤液, 药渣加2.5 L 蒸馏水, 微沸下提取1 h, 收集滤液, 药渣加2.0 L 蒸馏水, 微沸下提取1 h, 收集滤液, 合并3次滤液, 离心(4 000 r/min) 15 min, 得多糖溶液5.6 L, 旋蒸浓缩至1/4 体积, 加95% 乙醇使醇沉浓度为80%, 4 ℃ 静置过夜, 抽滤, 沉淀用无水乙醇、丙酮、石油醚各洗3次, 分别平均得到潞党参总多糖165.00 g、纹党参总多糖62.60 g、白条党参总多糖35.72 g、板桥党参总多糖127.39 g。

2.2 分子量分布测定 采用 HPGPC 对多糖的分子

量分布进行研究<sup>[11,16-17]</sup>。色谱条件为安捷伦 1260 高效液相配示差折光检测器; TSKgel G4000PW<sub>XL</sub> 分析柱; 检测器温度35 ℃; 柱温35 ℃; 室温25 ℃; 样品质量浓度1 mg/mL; 体积流量0.3 mL/min; 流动相超纯水进样量20  $\mu$ L。

2.2.1 标准曲线绘制 取不同分子量(2 700、5 250、9 750、13 050、36 800、64 650、135 350、300 600) 的右旋糖酐对照品, 用蒸馏水配制成1 mg/mL 对照品溶液, 经0.45  $\mu$ m 微孔滤膜过滤, 在“2.2.1”项色谱条件下进样, 记录各对照品的保留时间。待分析结束后, 以各标准糖的重均分子量( $M_w$ ) 的对数值为纵坐标( $\lg M_w$ ), 保留时间为横坐标( $t_R$ ) 作标准曲线, 结果见表1。

表1 右旋糖酐对照品分子量及保留时间

Tab.1 Molecular weights and retention time of dextran reference substance

$M_w$	$\lg M_w$	$t_R$ /min
2 700	3.431	33.226
5 250	3.720	32.171
9 750	3.989	31.079
13 050	4.116	30.561
36 800	4.566	27.954
64 650	4.811	26.363
135 350	5.131	24.786
300 600	5.478	22.636

2.2.2 样品测定 将潞党参、纹党参、白条党参、板桥党参总多糖用蒸馏水各配制成1 mg/mL 溶液, 在“2.2.1”项色谱条件下进样20  $\mu$ L, 分别记录各样品的图谱及保留时间, 结果见图1。根据保留时间和标准曲线, 计算相对应的分子量分布。

2.3 单糖组成测定 用 HPLC 法直接对多糖水解之后的单糖进行测定<sup>[18-20]</sup>。色谱条件为安捷伦 1260 HPLC 系统-RID 检测器; ZORBAX NH<sub>2</sub> 分析柱(4.6 mm  $\times$  250 mm, 5  $\mu$ m); 流动相乙腈-水(85:15); 体积流量1.0 mL/min; 示差检测器温度35 ℃; 柱温35 ℃; 进样量20  $\mu$ L。

精密称定果糖和葡萄糖, 配制成1 mg/mL 溶液, 在“2.2.1”项色谱条件下进样, 结果见图2。多糖中单糖组成的测定需要先将多糖水解为单糖, 具体方法为精密称定潞党参、纹党参、白条党、板桥党总多糖各10 mg, 置于具塞试管中, 加入2 mL 2 mol/L 三氟乙酸, 密封后, 100 ℃ 水解1 h<sup>[21-23]</sup>。取出水解液, 置于旋转蒸发器中50 ℃ 下旋干, 加入20 mL 甲醇, 再次旋干, 重复3次, 残渣用流动相溶解, 过0.45  $\mu$ m 微孔滤膜, 在“2.2.1”项色谱条件下进样, 结果见图3。

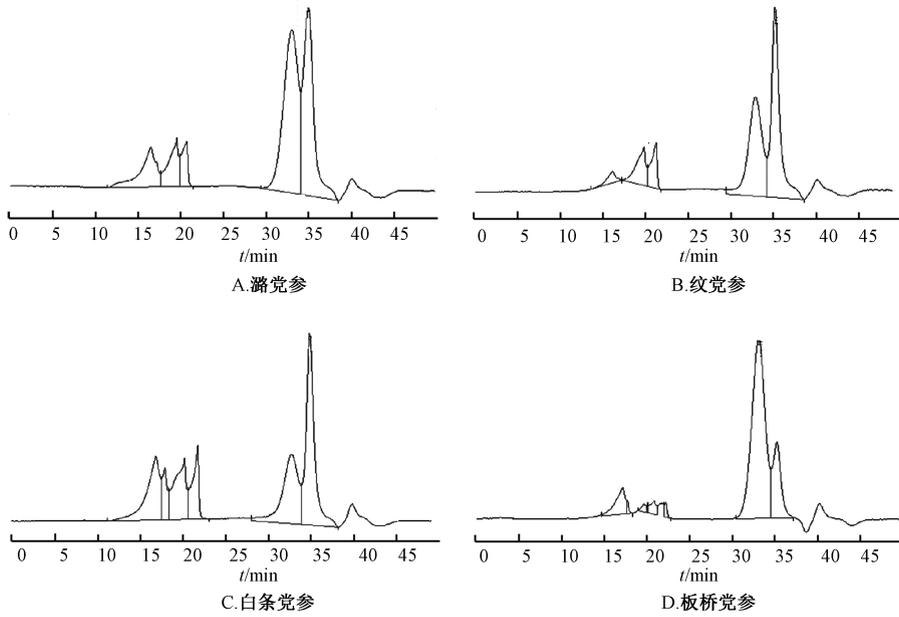


图1 各样品总多糖 HPGPC 图

Fig. 1 HPGPC chromatograms of various samples

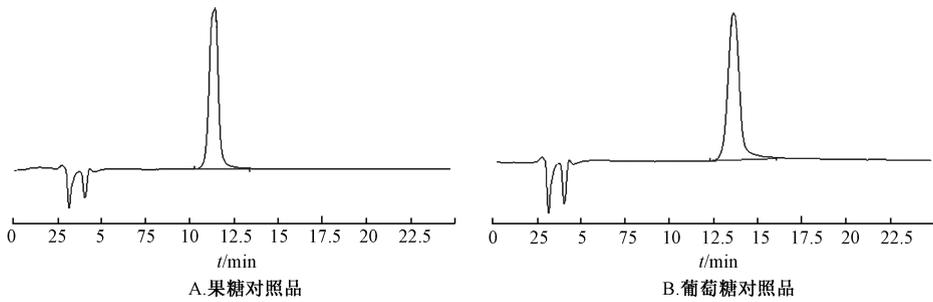


图2 各对照品 HPLC 图

Fig. 2 HPLC chromatograms of various reference substances

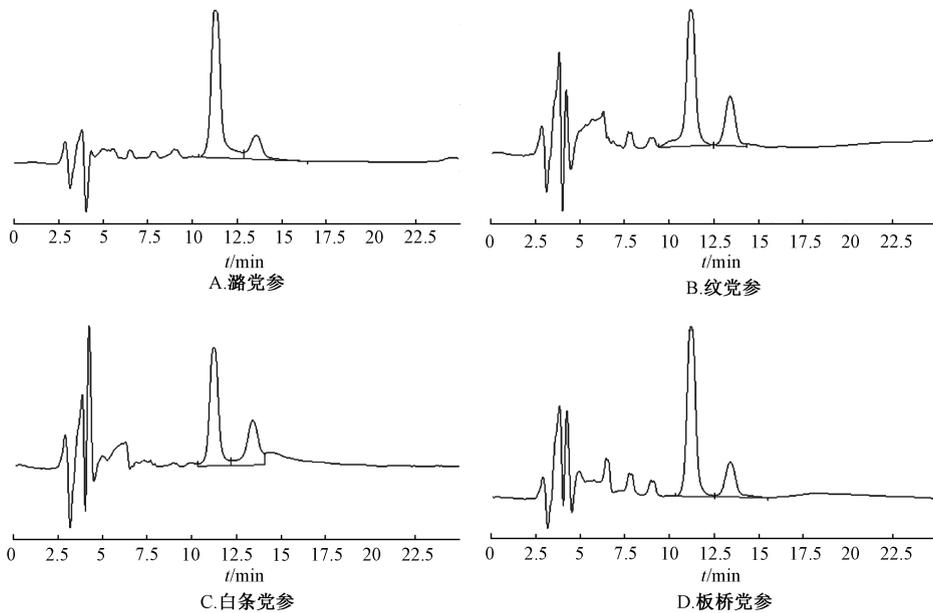


图3 各样品总多糖水解后 HPLC 图

Fig. 3 HPLC chromatograms of total polysaccharides in various samples after hydrolysis

### 3 结果

表1显示,不同分子量右旋糖酐对照品的标准曲线为  $\lg M_w = -0.187 9t_R + 9.778 8$  ( $R^2 = 0.992 1$ )。

图1表明,潞党参、纹党参、白条党参、板桥党参总多糖的分子量分布均在 16.000~22.000、33.000、35.000 min,根据标准曲线计算其分子量分布为  $4.41 \times 10^5 \sim 5.92 \times 10^6$ 、 $3.78 \times 10^3$ 、 $1.59 \times 10^3$  Da,主要多糖分布为低分子量  $3.78 \times 10^3$ 、 $1.59 \times 10^3$  Da,课题组前期研究表明此分布区的多

糖即为果聚糖<sup>[11-12]</sup>。图1、表2显示,潞党参中  $3.78 \times 10^3$ 、 $1.59 \times 10^3$  Da 果聚糖峰面积没有显著差异;纹党参和白条党参中  $3.78 \times 10^3$ 、 $1.59 \times 10^3$  Da 果聚糖峰面积有显著性差异,且  $1.59 \times 10^3$  Da 高于  $3.78 \times 10^3$  Da;板桥党参中  $3.78 \times 10^3$ 、 $1.59 \times 10^3$  Da 果聚糖峰面积有显著性差异,且  $3.78 \times 10^3$  Da 高于  $1.59 \times 10^3$  Da。由此可知,不同产地对党参中  $3.78 \times 10^3$ 、 $1.59 \times 10^3$  Da 果聚糖含有量有一定影响,而不同基源对其影响不大。

表2 果聚糖峰面积统计分析

Tab. 2 Statistical analysis of the peak areas of fructans

种类	基源	产地	峰面积 I (33 min)	平均峰面积 (n=3)	峰面积 II (35 min)	平均峰面积 (n=3)	P 值
潞党参总多糖	党参 <i>Codonopsis pilosula</i> (Franch.) Nannf.	山西省平顺县	318 732.3	316 193.4	303 673.8	306 856.5	>0.05
			304 807.3		303 826.9		
			325 040.7		313 068.8		
纹党参总多糖	素花党参 <i>Codonopsis pilosula</i> Nannf. var. <i>modesta</i> (Nannf.) L.T. Shen	甘肃省文县	233 461.0	254 443.5	433 827.4	437 727.6	<0.01
			267 401.8		439 988.0		
			262 467.7		439 367.5		
白条党总多糖	党参 <i>Codonopsis pilosula</i> (Franch.) Nannf.	甘肃省渭源县	207 322.0	216 318.3	316 686.2	317 626.3	<0.01
			223 853.9		316 779.1		
			217 779.0		319 413.6		
板桥党总多糖	川党参 <i>Codonopsis tangshen</i> Oliv.	湖北省板桥镇	378 204.1	378 100.1	100 865.2	99 903.9	<0.01
			377 988.9		98 967.1		
			378 107.4		99 879.5		

注:  $P < 0.01$  表示峰面积 I (33 min) 与峰面积 II (35 min) 比较, 差异有统计学意义。

表2~3显示,潞党参、纹党参、白条党参、板桥党参总多糖经 TFA 水解后,其水解产物主要

为果糖和葡萄糖,证实其  $3.78 \times 10^3$ 、 $1.59 \times 10^3$  Da 分子量多糖主要为果聚糖。

表3 各样品分子量分布及主要单糖

Tab. 3 Molecular weights distributions and main monosaccharides of various samples

种类	分子量/Da	主要单糖
潞党参总多糖	$6.81 \times 10^5 \sim 5.92 \times 10^6$ 、 $3.78 \times 10^3$ 、 $1.59 \times 10^3$	果糖、葡萄糖
纹党参总多糖	$4.41 \times 10^5 \sim 5.92 \times 10^6$ 、 $3.78 \times 10^3$ 、 $1.59 \times 10^3$	果糖、葡萄糖
白条党总多糖	$4.41 \times 10^5 \sim 3.84 \times 10^6$ 、 $3.78 \times 10^3$ 、 $1.59 \times 10^3$	果糖、葡萄糖
板桥党总多糖	$4.41 \times 10^5 \sim 3.84 \times 10^6$ 、 $3.78 \times 10^3$ 、 $1.59 \times 10^3$	果糖、葡萄糖

### 4 讨论

结果表明,潞党参、纹党参、白条党参、板桥党参总多糖在分子量分布范围、单糖组成上基本一致,但在  $3.78 \times 10^3$ 、 $1.59 \times 10^3$  Da 多糖含有量分布方面具有显著性差异,并与产地有一定关系,而与基源无关。因此,本研究建立的 HPGPC 结合 HPLC 方法可用于不同产地党参的鉴别。

### 参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2015年版一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015.
- [2] Gao S M, Liu J S, Wang M. Traditional uses, phytochemistry, pharmacology and toxicology of *Codonopsis* A review [J]. *J Ethnopharmacol*, 2018, 219: 50-70.
- [3] 郝艳艳, 聂春霞, 武晓伟, 等. 党参多糖及其结构改性对免疫调节作用影响的研究进展[J]. 中国医药导报, 2018, 15

- (28): 25-28.
- [ 4 ] Hu D J. Characterization of polysaccharides from *Ganoderma* spp. using saccharide mapping[J]. *Carbohydr Polym*, 2013, 97(2): 398-405.
- [ 5 ] Li S P, Wu D T, Lv G P, et al. Carbohydrates analysis in herbal glycomics[J]. *Tal-trend Anal Chem*, 2013, 52: 155-169.
- [ 6 ] Wu D T, Xie J, Wang L Y, et al. Characterization of bioactive polysaccharides from *Cordyceps militaris* produced in China using saccharide mapping [J]. *J Funct Foods*, 2014, 9: 315-323.
- [ 7 ] Zhang Y J, Zhang L X, Yang J F, et al. Structure analysis of water-soluble polysaccharide CPPS<sub>3</sub> isolated from *Codonopsis pilosula* [J]. *Fiterapia*, 2010, 81(3): 157-161.
- [ 8 ] 李启艳, 胡德福, 张雪梅, 等. 党参多糖提取纯化工艺优化及其组成研究[J]. *中草药*, 2016, 47(15): 2663-2667.
- [ 9 ] Zhang P, Hu L, Bai R, et al. Structural characterization of a pectic polysaccharide from, *Codonopsis pilosula*, and its immunomodulatory activities *in vivo* and *in vitro*. [J]. *Int J Biol Macromol*, 2017: 104(Pt A): 1359-1369.
- [ 10 ] 杨丰榕, 李卓敏, 高建平. 党参多糖分离鉴定及体外抗肿瘤活性的研究[J]. *时珍国医国药*, 2011, 22(12): 2876-2878.
- [ 11 ] Li J, Wang T, Zhu Z, et al. Structure features and anti-gastric ulcer effects of inulin-type fructan CP-A from the roots of *Codonopsis pilosula* (Franch.) Nannf [J]. *Molecules*, 2017, 22: 2258.
- [ 12 ] Li J, Zhang X, Cao L, et al. Three inulin-type fructans from *Codonopsis pilosula* (Franch.) Nannf. roots and their prebiotic activity on *Bifidobacterium longum* [J]. *Molecules*, 2018, 23: 3123.
- [ 13 ] Fu Y P, Li L X, Zhang B Z, et al. Characterization and prebiotic activity *in vitro*, of inulin-type fructan from *Codonopsis pilosula* roots[J]. *Carbohydr Polym*, 2018, 193: 212-220.
- [ 14 ] 李瑞燕, 高建平. 党参多糖的提取工艺研究[J]. *长治医学院学报*, 2014, 28(4): 252-256.
- [ 15 ] 宋艺君, 郭涛. 党参多糖提取纯化工艺的研究[J]. *现代中医药*, 2010, 30(3): 77-78.
- [ 16 ] 龚力民, 刘伟, 卓海燕, 等. 五倍子多糖相对分子质量和单糖组成的测定[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2015, 21(24): 34-36.
- [ 17 ] 杨树娟, 姜文圣, 钱如贵, 等. HPGPC法测定库拉索芦荟多糖的分子量和含量[J]. *今日药学*, 2016, 26(11): 786-791.
- [ 18 ] 梁军, 孙黎明, 夏永刚, 等. 亲水作用色谱-质谱法测定麻黄根多糖单糖的组成[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2017, 23(7): 73-78.
- [ 19 ] 陈琴鸣, 刘文英. HPLC-ELSD在中药糖类分析中的应用[J]. *中草药*, 2008, 39(6): 955-957.
- [ 20 ] Zha Z, Wang S Y, Chu W, et al. Isolation, purification, structural characterization and immunostimulatory activity of water-soluble polysaccharides from *Lepidium meyenii*[J]. *Phytochemistry*, 2018, 147: 184-193.
- [ 21 ] 郭元亨, 张利军, 曹丽丽, 等. 植物多糖中单糖组成分析技术的研究进展[J]. *食品科学*, 2018, 39(1): 326-332.
- [ 22 ] Wang C, Hua D, Yan C. Structural characterization and antioxidant activities of a novel fructan from *Achyranthes bidentata* Blume, a famous medicinal plant in China[J]. *Ind Crop Prod*, 2015, 70: 427-434.
- [ 23 ] 张海珠, 史志婷, 王莹, 等. 柱前衍生化高效液相色谱分析云南松塔多糖的单糖组成[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2015, 21(24): 30-33.